

Aus der Klinik für Inneren Medizin III
Kardiologie, Angiologie und internistische Intensivmedizin
der Universität des Saarlandes, Homburg, Saar
Direktor: Prof. Dr. med. M. Böhm

Einfluss von Omega-3-Fettsäuren auf postprandiale Triglyceride und Aktivität von Monozyten

DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DES GRADES EINES DOKTORS DER MEDIZIN

an der Medizinischen Fakultät

der Universität des Saarlandes

2016

Vorgelegt von

Stephan Bernd Gisbert Binder,

geboren am 24.06.1985

in Heidelberg

INHALTSVERZEICHNIS

1	Zusammenfassung	1
1	Abstract	3
2	Einleitung	5
2.1	Atherosklerose: Bedeutung, Risikofaktoren und Therapieansätze	5
2.2	Die Pathogenese der Atherosklerose	6
2.3	Bedeutung von Rezeptoren und Botenstoffen in der Pathogenese	7
2.4	Einfluss monozytärer Subpopulationen auf die Atherogenese	9
2.5	Oxidativer Stress und Atherosklerose	10
2.6	Einfluss der Triglyceride auf die Atherogenese	11
2.7	Omega-3-Fettsäuren und KHK	15
2.8	Senkung der Triglyceridkonzentration durch Omega-3-Fettsäuren	17
2.9	Zielsetzungen der Studie	18
3	Material, Probanden und Methoden	19
3.1	Studienkollektiv	19
3.1.1	Einschlusskriterien	19
3.1.2	Ausschlusskriterien	20
3.2	Studienablauf	21
3.2.1	Randomisierung und Verblindung	22
3.2.2	Oraler-Triglycerid-Toleranz-Test (oTTT)	23
3.2.3	Omega-3-Säurenethylester 90 versus Placebo-Gabe	24
3.3	Erhobene Parameter	26
3.4	Bestimmung des Blutbildes und der Laborwerte aus Blutplasma	27
3.5	Durchflusszytometrische Messungen	27
3.6	Enzyme Linked Immunosorbent Assays (ELISA)	29
3.6.1	sICAM-1 ELISA	29
3.6.2	8-Isoprostan EIA (Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest)	30
3.7	Statistische Auswertung	32

4	Ergebnisse	33
4.1	Patientencharakteristika	33
4.2	Triglyceride	35
4.3	Cholesterin und Glucose	37
4.4	Entzündungsparameter	39
5	Diskussion	42
5.1	Diskussion der Methodik	43
5.1.1	Probandenkollektiv und Studiendesign	43
5.1.2	Auswahl des Studienmedikaments und der Dauer der Behandlungsphasen	44
5.1.3	oTTT und Messzeitraum	45
5.1.4	Analysemethoden	46
5.2	Diskussion der Ergebnisse	48
5.2.1	Einfluss des oTTT auf Triglyceride und Cholesterinwerte	48
5.2.2	Beeinflussung der Fettwerte durch ω 3-FS	50
5.2.3	Auswirkung des oTTTs auf inflammatorische Marker	52
5.2.4	Einfluss von ω 3-FS auf Entzündungsmarker	56
5.2.5	Messung des oxidativen Stresses	57
6	Schlussfolgerung	58
7	Literaturverzeichnis	59
8	Abkürzungsverzeichnis	72
9	Publikationen	74
10	Danksagung	75
11	Anhang	76
11.1	Fragebogen	76

1 Zusammenfassung

Der Einfluss von Triglyceriden (TG) auf die Atherosklerose ist nicht eindeutig geklärt. Einige epidemiologische Studien weisen darauf hin, dass ein Zusammenhang zwischen postprandialer Triglyceridserumkonzentration und kardiovaskulären Ereignissen besteht. In Untersuchungen, in denen die Wirkung von Omega-3-Fettsäuren (ω 3-FS) getestet wurde, zeigte sich in höheren Dosierungen ein senkender Einfluss auf die Nüchtern-Triglyceride. Bei der Pathogenese von atherosklerotischen Plaques spielen Makrophagen eine wichtige Rolle. Ob hohe Blutfettspiegel ausreichen um einen inflammatorischen Reiz mit Monozytenaktivierung auszulösen ist bisher nicht bekannt.

Im Rahmen der hier durchgeführten randomisierten placebokontrollierten Cross-Over-Studie sollte daher geklärt werden, ob ω 3-FS dazu geeignet sind auch in der postprandialen Phase die Triglyceride zu senken und eine Monozytenaktivierung zu attenuieren.

Hierfür wurden im Zeitraum zwischen dem 01.09.2009 und dem 27.11.2010 30 Patienten mit Koronarer Herzkrankheit (KHK) und ausgeschlossener Diabeteserkrankung für je drei Wochen mit 4g/Tag Omega-3-Säuremethylester 90 bzw. Placebo behandelt. Vor und nach jeder Behandlungsphase erfolgte ein oraler Triglycerid-Toleranz-Test (oTTT) mit 80 g Fett. In der mit ω 3-FS behandelten Gruppe zeigte sich ein Abfall der Nüchtern-Triglyceride im Vergleich zum Vortest von $137,1 \pm 12,9$ mg/dl auf $112,2 \pm 8,6$ mg/dl ($p < 0,05$). Die Messungen der Blut-Triglyceride während des oTTT zeigten eine Kurve mit Höhepunkt des Triglyceridanstieges nach 4 Stunden ($184,0 \pm 7,37$ % vom Ausgangswert / nichtbehandelte Kontrollen). In der Verum-Gruppe waren nach Behandlung die maximal erreichten Triglycerid-Spiegel ($205,9 \pm 17,1$ mg/dl) signifikant niedriger als davor ($244,8 \pm 24,6$ mg/dl) ($p < 0,05$) und gegenüber der Placebo-Gruppe ($242,4 \pm 21,0$ mg/dl) ($p < 0,05$). Dabei ähnelte der relative TG-Konzentrationsanstieg unter Verum ($192,8 \pm 12,7$ % vom Ausgangswert) dem unter Placebo.

Zur Identifikation von Monozytenaktivierung bzw. Veränderung leukozytärer und monozytärer Subpopulationen wurden die Oberflächenmarker CD11b, CD14, CD16 (Cluster of Differentiation 11b, 14 und 16) sowie CCR2 (C-C Chemokine Rezeptor 2) nach oTTT im Zeitverlauf mittels Durchflusszytometrie gemessen. Außerdem wurden s-ICAM-1

(soluble Intercellular Adhesion Molecul 1), ein Biomarker für endotheliale Entzündungsreaktionen, und 8-Isoprostan, als Marker des oxidativen Stresses bestimmt. Dabei zeigte sich bei keinem der gemessenen Parameter ein eindeutiger Einfluss weder durch die Fettaufnahme und den TG-Anstieg noch durch die Behandlung mit ω 3-FS.

Zusammenfassend kann man sagen, dass ω 3-FS nicht nur die Nüchtern-Triglyceride sondern auch die postprandialen Triglyceride im Blut signifikant senken. Eine durch eine hohe Triglyceridserumkonzentration ausgelöste Makrophagenaktivierung oder Entzündungsreaktion ließ sich durch die verwendeten Methoden nicht nachweisen. Ebenfalls wurde kein Einfluss von ω 3-FS auf die gemessenen inflammatorischen Parameter festgestellt.

1 Abstract

Effects of omega-3-fatty acids on postprandial triglycerides and monocyte activation

Data regarding the importance of triglycerides in the development of atherosclerosis are conflicting. Epidemiologic studies suggest an association between postprandial serum triglyceride concentrations and cardiovascular events. Omega-3 fatty acids (ω 3-FA) reduce fasting serum triglyceride concentrations when administered in high dose rates. Macrophages play an important role in the development of atherosclerosis. It is unknown if high serum triglyceride concentrations themselves are able to stimulate vascular inflammation with monocyte and macrophage involvement.

Therefore in the present randomized placebo-controlled cross-over-study we investigated if omega-3-fatty acids can reduce postprandial serum triglyceride concentrations. A second goal was to measure a possible effect of ω 3-FA on triglyceride induced activation of monocytes.

In the period between 01-09-2009 and 27-11-2010 30 non-diabetic patients with coronary heart disease (CHD) were treated for 3 weeks with 4 g/day ω 3-FA or placebo. Before and after every treatment period an oral triglyceride tolerance test (oTTT) with 80 g fat was performed. Omega-3-fatty acids reduced fasting triglycerides from 137.1 ± 12.9 mg/dl to 112.2 ± 8.6 mg/dl ($p < 0.05$). Measurements of triglycerides during the oTTT showed a maximum after 4 h (184.0 ± 7.37 % from controls). In the treatment-group maximum serum triglyceride concentrations were significant lower after treatment (from 244.8 ± 24.6 mg/dl to 205.9 ± 17.1 mg/dl) ($p < 0.05$) and also when compared to the placebo group (242.4 ± 21.0 mg/dl) ($p < 0.05$). The relative triglyceride increase was similar in the ω 3-FA group when checked against placebo.

In order to detect an effect on monocyte activation, we measured surface markers CD11b, CD14, CD16 (cluster of differentiation 11b, 14 and 16) and CCR2 (C-C chemokine receptor 2) following oTTT using flow cytometry. Additionally serum concentrations of s-ICAM-1 (soluble intercellular adhesion molecule 1), a biomarker for endothelium

inflammation, and 8-Isoprostan, a marker of oxidative stress, were investigated. Neither oTTT intake nor the treatment with ω 3-FA showed a clear influence on those parameters.

In conclusion ω 3-FA are able to reduce not only the fasting triglycerides but also postprandial serum triglyceride concentrations. No influence was detected of triglycerides or ω 3-FA on inflammatory parameters or monocyte activation.

2 Einleitung

2.1 Atherosklerose: Bedeutung, Risikofaktoren und Therapieansätze

Die Atherosklerose ist eine systemische entzündliche Gefäßerkrankung der Arterien multifaktorieller Genese. Je nach betroffener Gefäßregion gibt es vielfältige mögliche Krankheitsmanifestationen. Die Atherosklerose hat in ihren verschiedenen Formen, wie z. B. dem Ischämischen Insult oder der Koronaren Herzkrankheit (KHK), besonders in der westlichen Welt einen bedeutenden Anteil an der Gesamt-Morbidität und –Mortalität [71]. In der Entwicklung der Atherosklerose spielen sowohl genetische als auch erworbene beziehungsweise von der Lebensweise abhängige Faktoren eine wichtige Rolle [50][104]. Die Entstehung und Progression der Atherosklerose wird begünstigt durch Risikofaktoren wie arterielle Hypertonie, Tabakrauchen, Alter, Diabetes mellitus, chronische Niereninsuffizienz, Adipositas, Bewegungsmangel und Dyslipoproteinämie, insbesondere erhöhtes LDL-Cholesterin (Low Density Lipoprotein) und erniedrigtes HDL-Cholesterin (High Density Lipoprotein) [11][26]. Ob erhöhte TG (Triglyceride) als ein eigenständiger Risikofaktor anzusehen sind, ist dagegen weiterhin umstritten [61].

Die evidenzbasierte Therapie von Erkrankungsformen der Atherosklerose zielt, neben der gerinnungshemmenden und der interventionellen bzw. chirurgischen Behandlung von schon aufgetretenen Stenosen, hauptsächlich auf eine frühzeitige Reduktion dieser Risikofaktoren ab, um ein Fortschreiten der Krankheit zu verzögern. Die Forschung in diesem Bereich beschäftigt sich daher sowohl mit der Aufklärung der Pathogenese der Atherosklerose als auch mit der Identifikation weiterer Risikofaktoren, um die Behandlungsmöglichkeiten dieser Erkrankung zu verbessern.

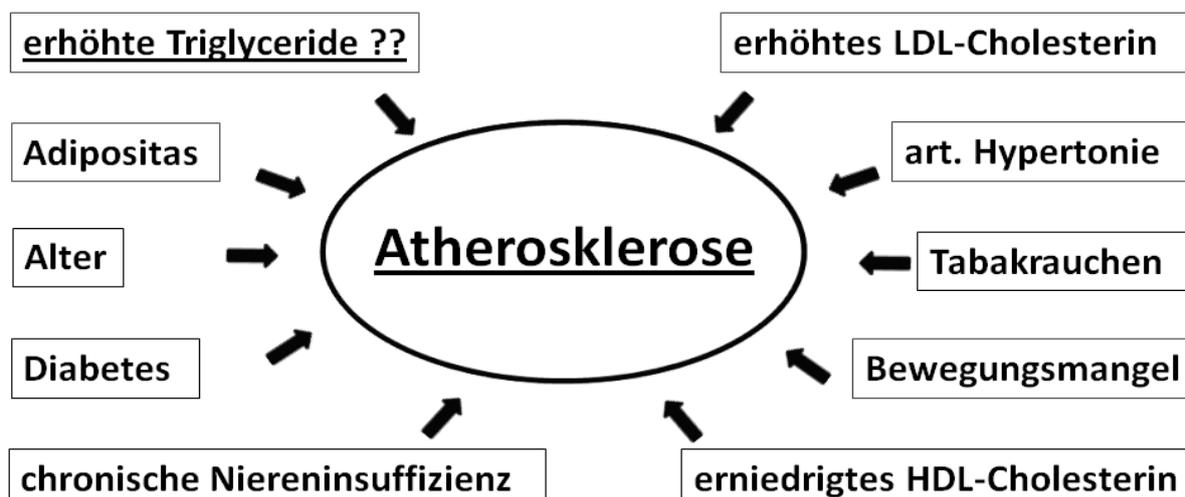


Abbildung 1 : Risikofaktoren der Atherosklerose

2.2 Die Pathogenese der Atherosklerose

Um die Genese atheromatöser Gefäßläsionen zu beschreiben formulierte die Arbeitsgruppe um R. Ross Ende der siebziger Jahre die „Response-to-Injury“-Hypothese [90]. Diese Theorie besagt, dass eine Schädigung der Gefäßintima durch mechanische, toxische und entzündliche Faktoren zu einem Remodeling-Prozess der Gefäßwand führt. Hierbei kommt es, durch Zytokine und andere Botenstoffe gesteuert, zu einer Einwanderung glatter Muskelzellen sowie zu Fetteinlagerungen in die Intima. Im weiteren Verlauf des Prozesses wandeln sich ebenfalls in die Gefäßwand eingewanderte Makrophagen in Schaumzellen um. Diese Hypothese ist im Grundsatz heute noch gültig, wurde jedoch aufgrund neuer Erkenntnisse leicht modifiziert. Das Frühstadium der Atherosklerose wird heutzutage als ein durch Einlagerung von Lipoproteinen in die Intima hervorgerufener entzündungsähnlicher Prozess verstanden. Den geschädigten Zustand des Endothels, der die Plaquebildung begünstigt, beschreibt man dabei als endotheliale Dysfunktion.

Oxidierten Lipoproteinen, wie oxLDL (oxidiertes Low Density Lipoprotein), schreibt man hierbei eine wichtige entzündungsfördernde Rolle zu. Die Oxidierung erfolgt in vivo wahrscheinlich sowohl unter dem Einfluss von freien Radikalen als auch als enzymatisch katalysierter Prozess. Alle Zelltypen, die in atherosklerotischen Plaques vorkommen, also Endothelzellen, glatte Muskelzellen und Makrophagen exprimieren ein oder mehrere dabei beteiligte Enzyme, wie z.B. Lipooxygenasen [108].

Die proinflammatorischen Eigenschaften der oxidierten LDL-Partikel führen zu einer vermehrten Expression von Adhäsionsmolekülen auf der Oberfläche von Endothelzellen und zu einer vermehrten Bildung von Botenstoffen [31]. Hierdurch werden Leukozyten angezogen.

Die Adhäsionsmoleküle unterstützen die Migration von Makrophagen ins Endothel. Dabei kommt es initial zu einer lockeren Integrin-vermittelten Bindung der Monozyten an die Gefäßwand. Sie rollen entlang der Endothelzellen bis es zu einer festeren Bindung kommt und sie die Endothelschicht durchwandern. Dies bezeichnet man als Diapedese. Die Monozyten nehmen das oxidierte LDL auf und wandeln sich in Schaumzellen um, die in ihrem Zytoplasma kleine Fetttropfen enthalten.

Im weiteren Verlauf der atherosklerotischen Plaquebildung entstehen aus absterbenden Zellen Fett-Nekrose-Nester in der Intima. Durch sie werden weitere Makrophagen angezogen.

Mediatoren, die von den Endothel- und Schaumzellen gebildet werden, sorgen für eine Einwanderung von glatten Muskelzellen aus der Tunica Media in die Tunica Intima. Diese bilden extrazelluläre Matrix und wandeln so die atheromatöse in eine fibröse Plaque um.

Bei den Prozessen, die zur Aktivierung und Einwanderung der Makrophagen in die Intima führen, spielt die Wechselwirkung von Endothelzellen und Makrophagen mittels einer Vielzahl von Chemokinen und Oberflächenrezeptoren eine entscheidende Rolle.

2.3 Bedeutung von Rezeptoren und Botenstoffen in der Pathogenese

Monozyten-Rekrutierung und -Aktivierung

Im Rahmen von Entzündungsreaktionen erfolgt die Rekrutierung von Monozyten vermittelt durch Chemokine, wie den Monozyten Chemotaxischen Proteinen (MCP) [51]. Diese werden von Monozyten mittels ihres G-Protein gekoppelten oberflächengebundenen C-C Chemokinin Rezeptor 2 (CCR2) erkannt und gebunden.

Auch bei der endothelialen Entzündungsreaktion während der Atherogenese spielt MCP und CCR2 eine bedeutende Rolle bei der Anlockung, der Aktivierung und der subendothelialen Migration von Monozyten in präatherosklerotische Läsionen. Das bedeutendste Chemokin dieser Gruppe ist hierbei MCP-1 [123]. Die CCR2-Expression auf Monozyten und damit die Sensitivität dieser Zellen auf MCP-1 ist beeinflussbar, z.B. durch verschiedene andere Botenstoffe, wie Interferon γ oder TNF α (Tumornekrosefaktor α) [98][103]. Ebenfalls konnte nachgewiesen werden, dass bei Patienten mit Hypercholesterinämie durch oxidiertes LDL die Genexpression von CCR2 deutlich hochreguliert ist [15][33]. Es ist anzunehmen, dass dieser Vorgang zu dem erhöhten vaskulären Risiko in dieser Patientengruppe beiträgt.

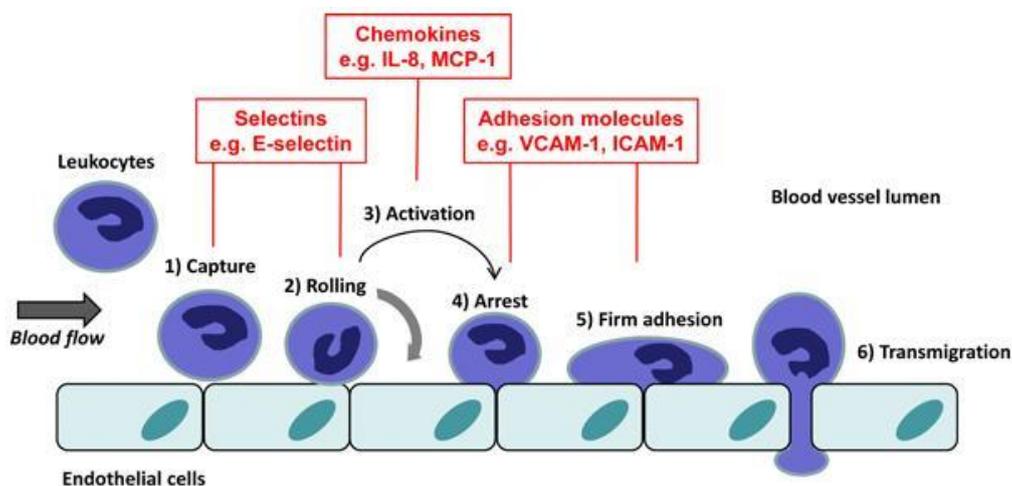


Abbildung 2 aus [114]: Einflussfaktoren auf Monozyten auf dem Weg von ihrer Rekrutierung, über das Anhaften und Rollen am Epithel und der festen Adhäsion bis zur Transmigration durch das Epithel

Initiale Bindung und Rollen

Die der Rekrutierung folgende lockere Bindung der Monozyten mittels E- und P-Selektinen ermöglicht den Zellen mit dem Blutfluss auf den Epithelzellen entlangzurollen (Abb. 2 Vorgang 1 und 2) bis es zu einer festen durch Adhäsionsmoleküle vermittelten Bindung kommt. Inflammatorische Chemokine und oxLDL beeinflussen die Expression dieser Selektine auf den Endothelzellen [21].

Monozyten Arrest und Diapedese

Für die feste integrinvermittelte Bindung sind VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1) und ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1) auf der Endothelseite sowie ihre monozytären Bindungspartner VLA-4 (Very Late Antigen-4) und MAC-1 (Macrophage-1-Antigen) verantwortlich. Diese Adhäsionsmoleküle und ihre Bindungspartner spielen auch bei der dem Arrest (Abb. 2 Vorgang 4 und 5) folgenden Transmigration (Vorgang 6) eine entscheidende Rolle [89].

MAC-1 ist ein Heterodimer bestehend aus CD18 und CD11b (Cluster of Differentiation 18 und 11b), das mit ICAM-1 interagiert. MCP-1 führt bei Monozyten, neben der chemotaktischen Komponente, zu einer vermehrten Präsentation von MAC-1-Integrinen aus intrazellulären Vesikeln an der Zelloberfläche der Monozyten [60]. Ein weiterer Stimulus für den Einbau von MAC-1-Molekülen in die Oberflächenmembran sind Hyperlipidämie und oxLDL [61][115]. Aufgrund der Stimulierbarkeit der CD11b-Expression, gilt CD11b auch als Marker monozytärer Aktivierung. Man geht davon aus, dass aktivierte Monozyten mit erhöhter MAC-1-Präsentation ein erhöhtes atherogenes Potential besitzen und möglicherweise als Frühindikator einer endothelialen Dysfunktion angesehen werden können. So wurden bei KHK-Patienten mit zwei oder mehr kardiovaskulären Risikofaktoren und bei Patienten mit instabiler Angina Pectoris auf Monozyten eine verstärkte monozytäre CD11b-Expression festgestellt [10][20].

ICAM-1 kommt neben seiner membrangebundenen Rezeptorform auch in einer gelösten Form als sICAM-1 (soluble Intercellular Adhesion Molecule 1) vor. Dieses wird mittels proteolytischer Abspaltung durch Cathepsine, Elastasen und Metalloproteinen aus ICAM-1 gebildet [24][88]. Inflammationsprozesse führen zu einer vermehrten Bildung von sICAM-1, entsprechend der dabei verstärkten ICAM-1-Expression auf Endothelzellen [63]. Es zeigte sich, dass die Plasmakonzentration von sICAM-1 mit dem Risiko für kardiovaskuläre

Ereignisse korreliert, so dass diskutiert wird, ob eine erhöhte sICAM-1-Plasmakonzentration sogar als selbstständiger atherosklerotischer Risikofaktor zu betrachten ist [87].

2.4 Einfluss monozytärer Subpopulationen auf die Atherogenese

Monozyten werden heute nicht mehr als einheitliche Zellfamilie betrachtet. Es hat sich stattdessen herausgestellt, dass sich Monozyten untereinander teilweise sehr deutlich in ihrer Expression von Oberflächenantigenen unterscheiden. Verschiedene Studien zeigten einen Einfluss dieser durch Oberflächenantigene definierten monozytären Subpopulationen auf die Atherogenese.

Wahrscheinlich präsentieren alle Monozyten auf Ihrer Oberfläche den Marker CD14. Dieser zellmembrangebundene Rezeptor bindet sowohl Komplexe aus Lipopolysacchariden (LPS) und LPS-Binding-Proteinen als auch Peptidoglycane von grampositiven Bakterien [18][119]. Auf diese Weise nimmt CD14 eine wichtige Funktion bei der Erkennung und Immunreaktion gegen gram-negative und gram-positive Bakterien ein. Nach Kontakt mit LPS exprimieren Monozyten verstärkt CD14 [52]. Daher gilt die CD14-Expression auf Monozyten als ein Marker für monozytäre Aktivierung. Bei Patienten mit Diabetes mellitus und KHK konnte eine Studie vermehrtes Vorkommen von CD14 auf Monozyten nachweisen, verglichen mit einer Kontrollgruppe mit Diabetes aber ohne KHK [80]. Dieses Ergebnis ist umso bemerkenswerter, da Statine, die von den meisten KHK-Patienten eingenommen werden, die Expression von CD14 vermindern [91].

Eine Subpopulation von ca. 10% aller Monozyten bei Gesunden exprimieren neben CD14 den FC-Fragment Rezeptor CD16 und wird daher als CD16⁺-Monozyten bezeichnet. Diese Monozyten besitzen im Vergleich zu denen ohne CD16 eine gesteigerte Phagozytose-Aktivität, eine erhöhte Adhäsionsrate an Endothelzellen und sezernieren verstärkt TFN α . Deshalb werden sie auch als proinflammatorische Monozyten bezeichnet [8][94][100]. Man geht davon aus, dass diese Gruppe eine Zwischenstufe zwischen jungen CD14⁺CD16⁻-Monozyten und Makrophagen darstellt, da sie eine höhere Expressionsrate an HLA-DR-Antigenen (Human Leukocyte Antigen, Genort: DR) besitzt und somit reifer erscheint [125]. Bei Untersuchungen von Monozyten von KHK-Patienten wurde eine vermehrte Expression von CD16 festgestellt, ein Indiz dafür, dass CD16 eine Bedeutung in der Pathogenese der Atherosklerose hat [41]. Im Gegensatz dazu fanden neue Studien eine

erhöhte Inzidenz von koronaren Ereignissen bei KHK-Patienten mit prozentual vermehrten CD16⁻-Monozyten. Dieser scheinbare Widerspruch ist möglicherweise mit plaque-destabilisierenden Eigenschaften von CD16⁻-Monozyten zu erklären [9][122].

Innerhalb der Gruppe der CD16⁺-Monozyten wird häufig noch zwischen einer Gruppe mit hoher und einer mit niedriger CD14-Expression unterschieden. CD16⁺-Monozyten mit geringer CD14-Expression fallen dabei dadurch auf, dass Sie kaum CCR2 aber dafür vermehrt den Fraktalin Rezeptor CY3CR1 exprimieren [58][126]. Bei dieser Unterscheidung gilt es zu beachten, dass es bisher keine einheitlichen Standards für die Trennung dieser Subgruppen gibt und es daher zu Unterschieden zwischen Studien kommt.

2.5 Oxidativer Stress und Atherosklerose

Oxidativer Stress ist ein gemeinsamer Mechanismus kardiovaskulärer Risikofaktoren, wie Rauchen, Hypercholesterinämie, Diabetes und Übergewicht. Die oxidativen Radikale wie H₂O₂, O₂⁻ und OH⁻, werden hauptsächlich in Makrophagen, Endothelzellen und glatten Muskelzellen gebildet [56]. Sie führen zu einer Oxidation von LDL zu oxLDL. Dies bedingt einerseits eine vermehrte Präsentation von Adhäsionsmolekülen und Freisetzung von Chemokinen wie MCP-1 und unterhält und verstärkt so den entzündlichen Prozess [15], andererseits schädigt oxLDL die Endothelzellen und wird durch Makrophagen aufgenommen. Diese wandeln sich dadurch in Schaumzellen um. Mehrere Mechanismen führen zu der Bildung von Sauerstoffradikalen, die neben ihrer schädigenden Wirkung auch Signalfunktion besitzen [22]. Endothelzellen, Makrophagen und glatte Muskelzellen generieren O₂⁻ mit Hilfe der NAD(P)H-Oxidase. Stimulierung dieser Zellen mittels TNF α , IL-1 (Interleukin-1) oder im Falle von Endothelzellen auch durch mechanische Reize, wie z. B. arterielle Hypertonie, führen zu einer erhöhten Radikal-Produktion über die NAD(P)H-Oxidase [29]. Lipoxygenasen von Makrophagen tragen zur Produktion von Sauerstoffradikalen bei, indem sie mehrfach ungesättigte Fettsäuren oxidieren. Die Deletion dieses Gens in Apolipoprotein-E-defizienten Mäusen verzögert die Entstehung früher atherosklerotischer Läsionen [16]. Weitere Radikale werden durch unvollständige Oxidation im mitochondrialen Citratzyklus gebildet.

Eine Möglichkeit den oxidativen Stress objektiv zu quantifizieren besteht über die Messung von Isoprostaglandinen. Im Gegensatz zu Prostaglandinen, die durch Cyclooxygenasen

gebildet werden, sind Isoprostaglandine nicht-enzymatischen Ursprungs und entstehen als Folge der Oxidation von Arachidonsäuren durch freie Sauerstoffradikale [68]. Sie kommen im Blut bei erhöhtem oxidativem Stress vor, oder artifiziell in falsch gelagerten Proben. 8-Isoprostan gilt als guter Marker für oxidativen Stress und wird dabei normalerweise stellvertretend für die gesamte Gruppe der Isoprostane gemessen [30].

Trotz deutlicher Anzeichen eines direkten Zusammenhangs zwischen erhöhtem oxidativem Stress und vaskulären Erkrankungen atherosklerotischer Genese, haben Studien bisher keinen klaren Erfolg bei Behandlung von KHK-Patienten mittels Antioxidantien hinsichtlich der Anzahl nichttödlicher und tödlicher kardiovaskulärer Ereignisse aufzeigen können [44]. Es konnte jedoch nachgewiesen werden, dass eine diese Ereignisse reduzierende Behandlung bekannter kardiovaskulärer Risikofaktoren, wie Rauchen, Hypercholesterinämie, Diabetes und Übergewicht zu einer Absenkung des Isoprostanspiegels und somit indirekt zu einer Verminderung des oxidativen Stresses führt [69].

2.6 Einfluss der Triglyceride auf die Atherogenese

Man geht davon aus, dass die verschiedenen Risikofaktoren der Atherosklerose zur Schädigung des Gefäßendothels beitragen und einen wichtigen modulierenden Einfluss auf die dem Intimadefekt folgende Entzündungsreaktion besitzen. Erhöhte TG werden seit langem als möglicher eigenständiger Risikofaktor der Atherosklerose diskutiert. Ihr Einfluss auf die Pathogenese bleibt aber bisher umstritten.

Ein Grund hierfür ist, dass Hypertriglyceridämie selten alleine auftritt, sondern häufig mit anderen Fettstoffwechselstörungen und dem Metabolischen Syndrom assoziiert ist [74].

In Studien über den Einfluss von TG auf die Atherogenese erfolgte die Bestimmung der Triglyceride bisher meist nach einer 12-stündigen Nahrungskarenz. Die bisherigen Richtlinien orientieren sich daher an nüchtern gemessenen TG und empfehlen, dass bei Patienten mit behandlungsbedürftigen Fettstoffwechselstörungen, wie z. B. bei Primärer Hypertriglyceridämie oder bei gemischten Hyperlipidämien, dieser Wert möglichst unter 150 mg/dl gesenkt werden soll.

Ähnlich wie bei der Glukosekonzentration bestehen auch bei der Plasma-triglyceridkonzentration erhebliche vor allem postprandiale Schwankungen. Nach Fettaufnahme kommt es zu einem Anstieg der TG-Konzentration im Blut mit einem

Maximum nach 4 h. Auch 8 h postprandial liegt die TG-Konzentration noch über dem Niveau der nüchtern gemessenen Ausgangswerte [59]. Eine Bestimmung der Triglyceride nach Nahrungskarenz ist somit für einen Großteil des Tages nicht aussagefähig, da sie die postprandialen Schwankungen der TG-Konzentration im Blut nicht berücksichtigen [61].

Neue große Kohortenstudien deuten darauf hin, dass es eine höhere Korrelation von postprandialen TG-Konzentration und vaskulären Ereignissen, als mit Nüchtern Triglyceriden gibt [25]. Besonders prospektive Studien, die das kardiale Risiko durch erhöhte postprandiale TG betrachteten, kamen zu diesem Schluss [64].

Die „Women’s Health Study“ (Abb. 3) verglich den prädikativen Wert von nüchtern gemessenen und postprandialen TG-Konzentrationen in Bezug auf tödliche und nicht tödliche kardiovaskuläre Ereignisse bei 26509 gesunden Frauen über einen medianen Follow-up-Zeitraum von 11,4 Jahren. Nur die postprandialen TG zeigten in dieser Studie eine starke Korrelation mit den gemessenen Endpunkten nach Adjustierung der Daten hinsichtlich weiterer kardialer Risikofaktoren [7]. Die „Copenhagen City Heart Study“, an der 7587 Frauen und 6394 Männer teilnahmen, bestätigte dieses Ergebnis auch für das männliche Geschlecht [76].

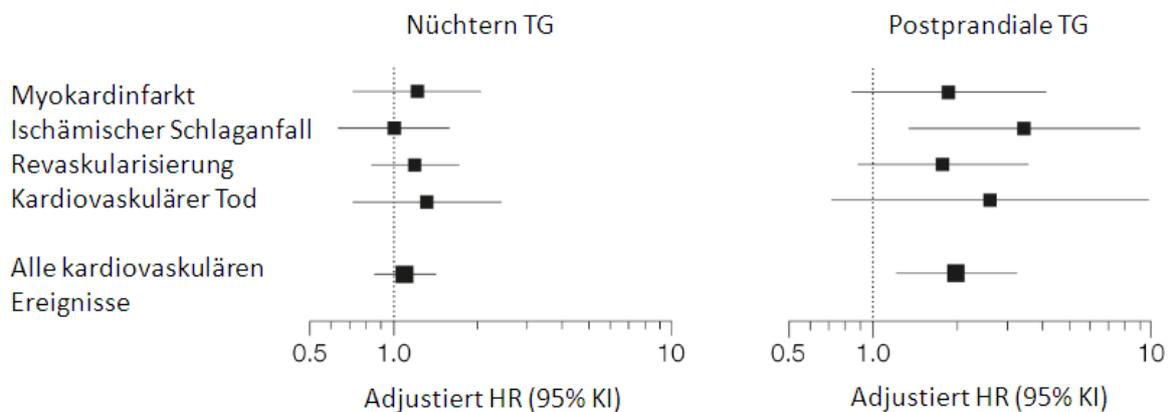


Abbildung 3 aus [7]: Korrelation vaskulärer Ereignisse mit nüchtern und postprandial bestimmten TG in der „Womens Health Study“, bereinigt bezüglich des Risikos auf weitere kardiale Risikofaktoren.

Zurzeit geht man davon aus, dass TG möglicherweise selbst nicht direkt atherogen wirken, jedoch wegen ihrer engen Korrelation mit atherogenen Faktoren wie Remnants und apo-CIII ein erhöhtes KHK-Risiko anzeigen können [61]. Zu den triglyceridreichen Lipoproteinen, die unabhängig von LDL proatherogen wirken, gehören VLDL (Very Low Density Lipoprotein), VLDL-Remnants und Chylomikronen-Remnants. Chylomikronen sind aufgrund ihrer Größe und ihrer daraus folgenden verlangsamten Aufnahme in die Gefäßintima wahrscheinlich

selbst nur geringgradig atherogen [102]. Es wird vermutet, dass die Chylomikronen-Remnants für das erhöhte kardiovaskuläre Risiko hoher postprandialer TG-Spiegel verantwortlich sind, da sie Cholesterin und TG zu den atherosklerotischen Plaques transportieren [105].

Remnant-Partikel entstehen im Rahmen der durch die Lipoproteinlipase (LpL) katalysierten Lipolyse von TG aus Chylomikronen und VLDL. Die triglyceridreichen Lipoproteine verlieren dabei zunehmend an Größe und werden so zu Remnants. Möglicherweise können diese dann ähnlich wie oxLDL in die Intima eingelagert werden und so zur Bildung von Schaumzellen aus Makrophagen beitragen (Abb. 4) [127].

Die Elimination der artherogenen Remnants aus dem Blutstrom geschieht im Wesentlichen über LDL-Rezeptoren der Leber. Bei Hypertriglyceridämie ist jedoch die Clearance von Remnants aus dem Blut verlangsamt [124].

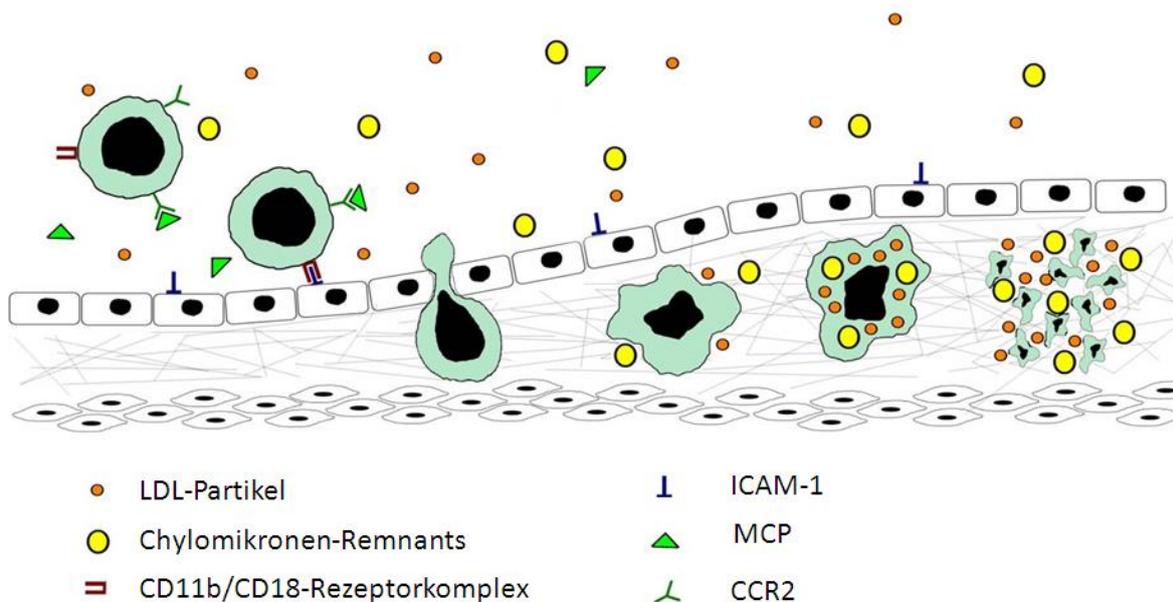


Abbildung 4 : Stark vereinfachtes Schema der Bildung einer atheromatösen Plaque von der Aktivierung der Monozyten über ihre Einwanderung in die Gefäßintima und der Aufnahme von LDL-Partikeln und Chylomikronen-Remnants bis zu ihrem Absterben und der Ausbildung von Fettnekrose Nestern.

Das Enzym Lipoproteinlipase wird hauptsächlich durch Skelett- und kardiale Muskelzellen sowie durch Fettgewebszellen exprimiert. Wie wichtig es für den Fettstoffwechsel ist, zeigt dass eine Deletion des entsprechenden Gens im Tierversuch zur Hypertriglyceridämie führt [4]. Die Expression der Lipoproteinlipase wird durch physische Aktivität beeinflusst. Inaktivität führt zu einer verminderten Fettaufnahme in Skelettmuskelzellen und daraus folgend zu einer Verfettung von Herz und Leber, wodurch es zur Entwicklung einer pathologischen Glucosetoleranz kommt [113].

Bei der Lipolyse von Chylomikronen werden oxidierte Phosphorlipide freigesetzt, die zum oxidativen Stress beitragen und Monozyten aktivieren könnten. Hierfür sprechen die Ergebnisse von Arbeiten verschiedener Forschergruppen, die einen Einfluss von hohen TG-Konzentrationen auf die Aktivierung von Leukozyten und insbesondere von Monozyten aufzeigen konnten. Zum Beispiel konnte bewiesen werden, dass erhöhte TG zur Expression von CD11b und CD18 auf Monozyten führen [28]. In Endothelzellen wurde dagegen eine gesteigerte Expression entzündungsfördernder Gene wie für ICAM-1, VCAM-1, MCP und IL-6 nach Inkubation mit postprandialen TG nachgewiesen [75]. Auch haben sich lipolytische Produkte als direkt cytotoxisch und apoptosefördernd bei isolierten Makrophagen gezeigt [117].

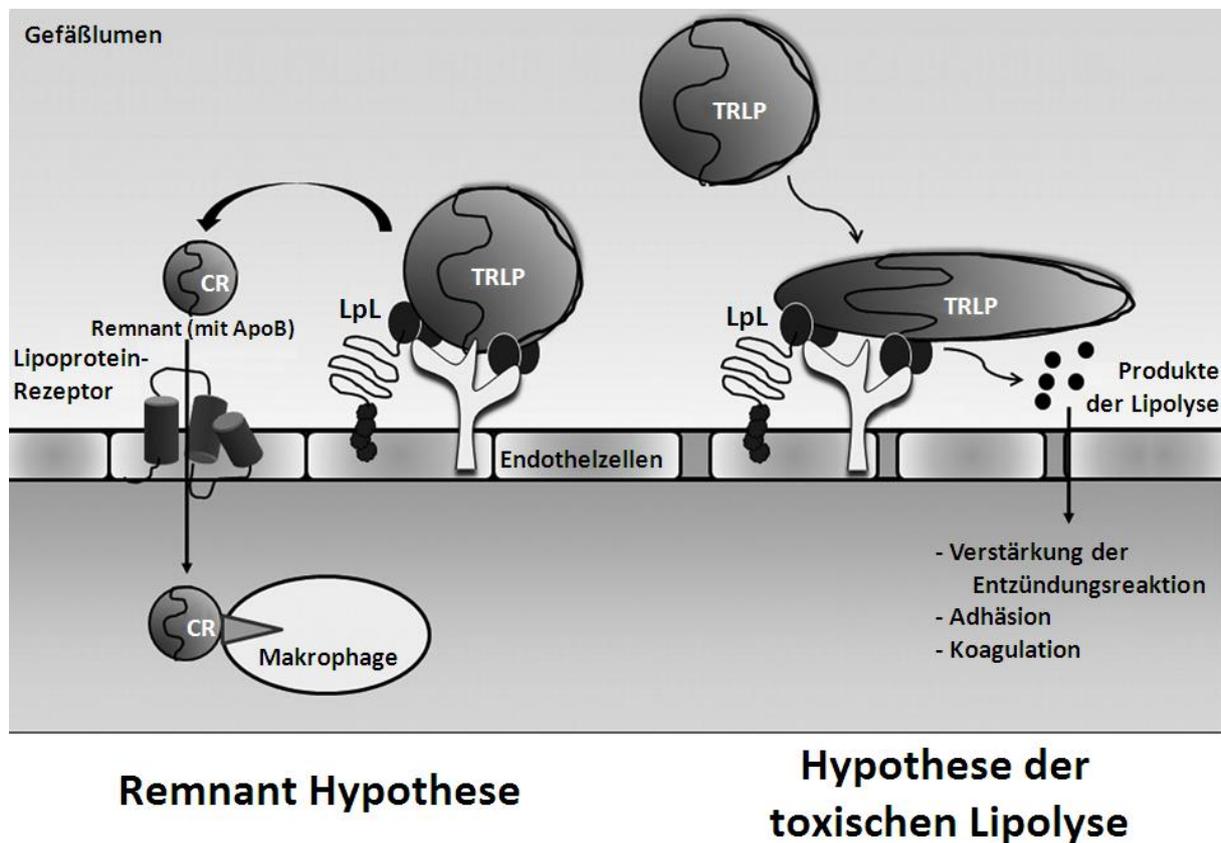


Abbildung 5 aus [27]: Mögliche Mechanismen der Beeinflussung der Pathogenese von atheromatösen Läsionen durch triglyceridreiche Lipoproteine.

Die Remnant Hypothese geht davon aus, dass durch den Abbau von TRL (Triglyceridreiche Lipoproteine) durch die LpL kleinere Remnant-Lipoproteine aus Triglyceriden und Cholesterin entstehen, die ab einer gewissen Größe die Endothelwand überwinden können und von Makrophagen aufgenommen werden. Diese wandeln sich dadurch in Schaumzellen um.

Die zweite Hypothese postuliert, dass bei der Lipolyse der TRL durch die LpL toxische Produkte, wie inflammatorische Lipide und Sauerstoffradikale entstehen. Diese rufen eine Entzündungsreaktion mit verstärkter Expression von Adhäsionsmolekülen und Cytokinen hervor und fördern koagulative Prozesse.

2.7 Omega-3-Fettsäuren und KHK

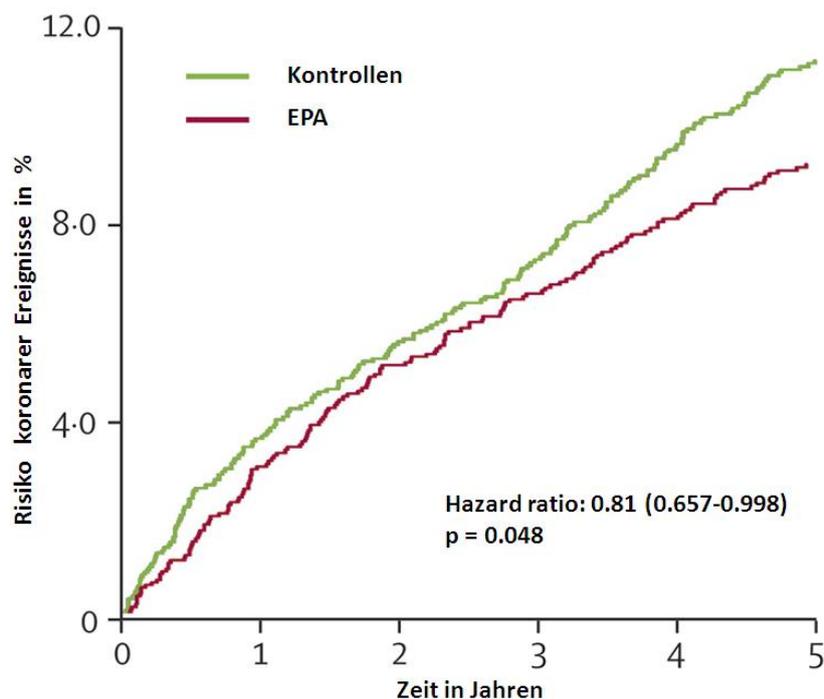
Schon sehr lange gibt es Hinweise auf eine protektive Wirkung von erhöhtem Fischverzehr auf die kardiovaskuläre Mortalität. Bei einer epidemiologischen Studie, die von 1950 bis 1974 durchgeführt wurde, fiel auf, dass die in Grönland lebende Bevölkerung trotz ihres größeren Fettverzehrs ein signifikant niedrigeres Myokardinfarkttrisiko besitzt als jene in Dänemark [48]. Dieser scheinbare Widerspruch wurde als Inuit-Paradoxon bezeichnet. Bei näherer Betrachtung zeigte sich, dass die Inuit im Vergleich mit den Dänen mehr als fünfmal mehr Omega-3-Fettsäuren (ω 3-FS) hauptsächlich Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA) in ihrer Nahrung zu sich nahmen. Weitere Studien konnten in der Folge eine inverse Korrelation zwischen hohem Fischkonsum und tödlichen kardialen Ereignissen bestätigen. Dazu gehörten unter anderem zwei große Kohortenstudien: die „Nurses` Health Study“ [40] und die „US Physicians` Health Study“ [1].

Die „Nurses` Health Study“ untersuchte mittels Fragebögen die Lebens- und Ernährungsgewohnheiten von 84.688 Krankenschwestern ohne bekannte KHK. Innerhalb des Beobachtungszeitraumes von 16 Jahren wurden bei Krankenschwestern mit hohem Fischkonsum signifikant weniger kardiovaskuläre Ereignisse beobachtet, verglichen mit denen die selten (1 x pro Monat) Fisch aßen [40]. Die „US Physicians` Health Study“, an der 20.551 männliche Ärzte teilnahmen, fand für Probanden, die häufiger als einmal pro Woche Fisch aßen, ein geringeres Risiko an einem plötzlichen Herztod zu sterben. Das Risiko einen Myokardinfarkt zu erleiden war dagegen nicht signifikant vermindert [1].

Auf diesen Ergebnissen aufbauend untersuchten zwei großen Studien, die „GISSI-Prevenzione Trial“ Studie (11324 Studienpatienten) und die „OMEGA Trial“ Studie (3851 Studienpatienten), die Auswirkung einer Langzeitbehandlung mit 1g ω 3-FS pro Tag bei Patienten nach koronarem Ereignis zusätzlich zu einer guideline-gerechten Therapie [32][86].

Während die doppelblinde, randomisierte und placebokontrollierte „OMEGA Trial“ Studie über einen Beobachtungszeitraum von einem Jahr keinen Vorteil einer Substitution von ω 3-FS zusätzlich zur Standardtherapie aufzeigen konnte, fand die randomisierte „GISSI-Prevenzione Trial“ Studie eine deutliche Risikoreduktion von ungefähr 30 % für tödliche kardiovaskuläre Ereignisse durch die Substitutionstherapie (Reduktion des Risikos von 6,8 % in der Kontrollgruppe auf 4,8 % in der mit ω 3-FS substituierten Gruppe).

Eine japanische Studie, die „Japan EPA Lipid Intervention Study“ (JELIS), zeigte ebenfalls eine signifikante Risikoreduktion von 19 % für koronare Ereignisse bei Patienten mit bekannter KHK und Hypercholesterinämie durch eine Kombinationsbehandlung mit 1800 mg EPA und Statin gegenüber einer Statin Monotherapie über einen mittleren Beobachtungszeitraum von 4,6 Jahren. Eine unterschiedliche Reduktion der Cholesterinkonzentration in den verschiedenen Behandlungsgruppen wurde im Rahmen dieser Studie nicht beschrieben [121]. Angesichts der Widersprüche zwischen den verschiedenen Studien kann bisher keine definitive Aussage hinsichtlich der Wirkung von ω 3-FS in der Sekundärprophylaxe des Herzinfarktes getroffen werden.



**Abbildung 6 aus [121]: Risiko für schwere koronare Ereignisse bei Patienten mit Hypercholesterinämie und Z. n. Herzinfarkt in der JELIS-Studie. Kontroll-Gruppe: Monotherapie mit Statin
EPA-Gruppe: Kombinationstherapie von Statin und EPA**

Die möglichen kardioprotektiven Effekte von ω 3-FS könnten mit einer antiinflammatorischen Wirkung auf Monozyten in Zusammenhang stehen. Allerdings ist die Studienlage auch in dieser Hinsicht bisher uneinheitlich [72]. Während einige Studien bei Patienten mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko eine Reduktion inflammatorischer Cytokine wie beispielsweise Interleukin 18 [106] oder gelösten Adhäsionsmolekülen wie sICAM-1 [39] unter einer Substitutionstherapie mit ω 3-FS aufzeigten, konnten derartige Ergebnisse durch andere vergleichbare Studien nicht bestätigt werden [67][92].

2.8 Senkung der Triglyceridkonzentration durch Omega-3-Fettsäuren

Im Gegensatz zu der noch umstrittenen Wirkung von ω 3-FS in der Sekundärprophylaxe des Herzinfarktes und der Herunterregulierung entzündlicher Prozesse wurde in verschiedenen Studien einheitlich eine Absenkung der Triglyceridkonzentration im Blut durch ω 3-FS beschrieben, wenn diese in einer Dosierung von (3-4 g/Tag) verabreicht wurden.

Eine Metaanalyse einiger Studien zum Effekt von ω 3-FS auf die TG-Konzentration konnte eine durchschnittliche Senkung der Nüchtern-TG um 27 % feststellen [6]. Der Effekt auf den Spiegel der TG scheint dabei umso stärker zu sein, je höher der TG-Ausgangswert ist. Harris et al. beobachteten eine TG-Reduktion von bis zu 45 % bei einem Patientenkollektiv mit schwerer Hypertriglyceridämie (500 bis 2000 mg/dl) [36]. Eine randomisierte und placebokontrollierte Studie belegte eine deutliche Überlegenheit einer Kombinationstherapie von Statinen und hochdosierten ω 3-FS im Vergleich zu einer Statin-Monotherapie bezüglich der TG-Senkung. Die Kombinationstherapie mit 4 g ω 3-FS führten in dieser Studie zu einer signifikanten TG-Reduktion um 35 % gegenüber der Alleingabe von Statinen [23].

Für die niedrigere Dosierung von 1 g ω 3-FS /Tag, die bei der „OMEGA Trial“ und der „GISSI-Prevenzione Trial“ Studie verwendet wurde, ist eine triglyceridsenkende Wirkung nicht beschrieben.

Verglichen mit Studien, die bei niedrigen Dosierungen von ω 3-FS einen kardioprotektiven Effekt feststellten, tritt die triglyceridsenkende Wirkung erst nach Gabe deutlich höherer Dosen von ω 3-FS auf. Ein kausaler Zusammenhang zwischen TG-Senkung und kardioprotektivem Effekt ist daher sehr unwahrscheinlich. Man geht eher davon aus, dass die triglyceridsenkende Wirkung und der in einigen Studien beschriebene kardioprotektive Effekt von ω 3-FS am ehesten über unterschiedliche Mechanismen zustande kommen.

Während der Effekt von ω 3-FS auf Nüchtern-TG gut erforscht ist, gibt es bisher nur wenige Studien, die die Auswirkung von ω 3-FS auf die postprandiale Kinetik von TG untersucht haben.

Omega-3-Fettsäuren sind eine Untergruppe der ungesättigten Fettsäuren, die sich innerhalb ihrer Subgruppe hinsichtlich ihrer Kohlenstoffkettenlänge und damit auch leicht in ihren Eigenschaften unterscheiden. Für die ω 3-FS EPA und DHA zeigten einige Studien, dass sie fast ausschließlich einen senkenden Effekt auf TG besitzen ohne einen ausgeprägten Effekt auf Gesamtcholesterin und LDL-Cholesterin auszuüben [17][65]. Daher lassen sich durch Medikamente auf Basis dieser ω 3-FS die TG relativ unabhängig von anderen Fetten senken.

2.9 Zielsetzungen der Studie

Die vorliegende randomisierte doppelblinde Cross-Over-Patientenstudie hatte zum Ziel herauszufinden, inwieweit beim Menschen die Einnahme von 4g Omega-3-Säurenethylester 90 (Zodin®) pro Tag die postprandiale Kinetik der TG beeinflusst. Hierfür verwendeten wir einen im Rahmen der „Homburg Cream and Sugar Study“ (HCS-Studie) etablierten oralen Triglycerid-Toleranz-Test (oTTT) [118]. Ebenfalls erwarteten wir von dieser Studie Erkenntnisse, inwieweit hohe postprandiale TG-Spiegel im Blut einen direkten Einfluss auf die Aktivität von Monozyten besitzen oder den oxidativen Stress fördern. Eine weitere Fragestellung war, ob die Gabe von ω 3-FS über einen Zeitraum von 3 Wochen eine Auswirkung auf die möglicherweise erhöhte Aktivität von Monozyten im Rahmen des oTTT hat.

Um die monozytäre Aktivität zu quantifizieren führten wir durchflusszytometrische Messungen der Oberflächenmarker CD11b, CCR2, CD14 und CD16 auf Monozyten durch. Zusätzlich bestimmten wir sICAM-1 als Marker einer endothelialen Gefäßreaktion und 8-Isoprostan zur Quantifizierung des oxidativen Stresses durch erhöhte postprandiale TG-Spiegel im Rahmen des oTTT.

Zur Steigerung der Aussagekraft und Minimierung der interindividuellen Schwankungen entschieden wir uns zu einem placebokontrollierten Cross-Over-Studiendesign in einem möglichst homogenen Studienkollektiv (Postinfarkt-Patienten ohne Diabetes).

3 Material, Probanden und Methoden

3.1 Studienkollektiv

Nach vorheriger Genehmigung durch die zuständige Ethikkommission (Votum Nr. 170/07), wurden aus dem Datensatz der „Homburg Cream und Sugar Study“ (HCS-Studie) (insgesamt n=515 Patienten) diejenigen Studienteilnehmer ausgewählt, deren postprandialer Triglycerid-Anstieg im Rahmen der HCS-Studie oberhalb des Medians lag und bei denen kein Diabetes nachgewiesen worden war (n=117). Diese Vorauswahl wurde telefonisch zu ihrem Interesse und der Eignung für die Teilnahme an der „Polyunsaturated Fatty Acid Study“ (PUFA-Studie) befragt. Zur Überprüfung der Eignung wurde der Datensatz der HCS verwendet [118].

Aus dem angefragten Kollektiv waren 30 Patienten, die alle Kriterien erfüllten, bereit an der Studie teilzunehmen.

Die Zulassung von Patienten zu der Studie erfolgte entsprechend der folgenden Ein- bzw. Ausschlusskriterien:

3.1.1 Einschlusskriterien

- Männer und Frauen mit stabiler koronarer Herzerkrankung
- Lebensalter > 18 Jahre
- schriftliche Einverständniserklärung
- relativer Serum-Triglyceridanstieg oberhalb des Medians in der HCS-Studie
- etablierte Leitlinien-gerechte Therapie der KHK
(Statin, Aspirin und Renin-Angiotensin-Aldosteron-System-Hemmer)

3.1.2 Ausschlusskriterien

- Überempfindlichkeit gegen Erdnuss oder Soja
- Therapie mit Antikoagulanzen
- bekannter IDDM, NIDDM oder oGTT Werte > 200 und/-oder HBA1c $> 7\%$
- akutes Koronarsyndrom
- kreislaufwirksame Rhythmusstörung
- therapiebedürftige pulmonale Hypertonie
- arterielle Hypotonie (RR systolisch < 90 mmHG)
- Vorliegen hochgradiger Klappenvitien
- schwere Erkrankungen mit akuter Beeinträchtigung des Patienten
(z. B. gastrointestinale Beschwerden, floride Infektionen, Exsikkose, Schmerzzustände, kardiale Dekompensation, kürzlich durchgeführte Operationen)
- schwere Leber- und Nierenfunktionsstörungen
(Erhöhung der Transaminasen um $> 2,5$ -faches der Norm, GFR < 30 ml/min)
- Unverträglichkeit für Lipidbelastungen
- intestinale Malabsorption
- Unverträglichkeit für Milch und Milchprodukte
- akute und chronische Pankreatitis
- symptomatische Choleozystolithiasis
- Schluckstörungen jedweder Art mit Gefahr der Aspiration
- Schwangerschaft oder Stillzeit
- Patienten mit malignen Erkrankungen
- Patienten, die nicht in der Lage sind schriftlich in die Studie einzuwilligen
- Patienten mit psychischen Erkrankungen, einschließlich Alkohol-Abusus und Drogenkonsum

3.2 Studienablauf

Die 30 an der Studie teilnehmenden Patienten wurden im Zeitraum vom September 2009 bis September 2010 in die Studie eingeschlossen.

Nach der Durchführung eines Aufklärungsgesprächs, der schriftlichen Einwilligung der Patienten zu der Teilnahme an der PUFA-Studie und der Befragung mittels eines kurzen Fragebogens hinsichtlich Lebensweise, Medikamenten und Ernährungsgewohnheiten (Anhang 1), wurden nach mindestens 10 Stunden Nahrungskarenz die Blutparameter venös bestimmt und ein oraler Triglycerid-Toleranz-Test (oTTT) durchgeführt.

Anschließend an den oTTT wurden die Patienten für 21 Tage gemäß der Randomisierung (siehe 3.2.2) doppelblind mit täglich 4 g Omega-3-Säurenethylenester bzw. Placebo zusätzlich zu Ihrer davon unbeeinflussten Begleitmedikation behandelt. Nach einem erneuten oTTT mit Parameter-Bestimmung folgte eine mindestens dreiwöchige Wash-Out-Phase um eine gegenseitige Beeinflussung der Medikamentenphasen untereinander zu verhindern.

Danach wurden Placebo- und Verum-Gruppe gemäß des Cross-Over-Designs der Studie getauscht, ehe nach einem erneuten Test direkt anschließend an die Wash-Out-Phase eine zweite dreiwöchige Behandlungsphase folgte, an deren Anschluss die Parameter regetestet wurden.

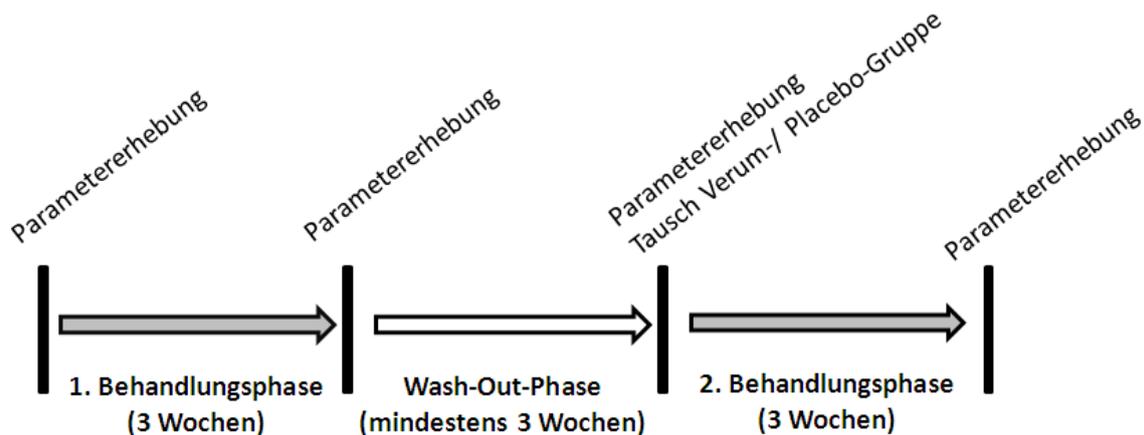


Abbildung 7 : Schema des Studienablaufes

3.2.1 Randomisierung und Verblindung

Gemäß den Eigenschaften und Erfordernissen einer doppelblinden und placebo-kontrollierten Cross-Over-Studie wurden die Patienten in Placebo- bzw. Verum-Gruppe randomisiert und erhielten in einer ersten Phase entsprechend Ihrer Gruppeneinteilung Omega-3-Säurenethylester 90 oder Placebo. In einer zweiten Medikamentenphase wurden die Verum- und Placebo-Gruppe getauscht. Die Randomisierung wurde durch die Apotheke des Universitätsklinikums des Saarlandes durchgeführt.

Um den gewünschten doppelblinden Charakter der Studie zu gewährleisten, wurden einheitliche Medikamentendosen verwendet, die mit Patientenummer und Phasennummer beschriftet waren. Für eine notfallmäßige Entblindung im Falle einer Medikamenten-unverträglichkeitsreaktion oder Ähnlichem standen dem Durchführenden der Studie zu den jeweiligen Medikamenten gehörende versiegelte Begleitbriefe zu Verfügung.

3.2.2 Oraler-Triglycerid-Toleranz-Test (oTTT)

Der oTTT misst die Triglyceridtoleranz des Patienten durch Trinken eines triglyceridreichen Getränks und anschließender mehrzeitiger Bestimmung der Blutfettwerte. Für diese Studie wurden 250 ml Landliebe Schlagsahne (entspricht 80 g Fett) (Tabelle 1) als definierte Triglyceridbelastung verwendet. Die Blutfettwerte wurden als Basiswert nach 10 Stunden Nahrungskarenz und unmittelbar vor der Triglyceridbelastung (T0h) sowie 3, 4 und 5 Stunden nach Exposition bestimmt. Während des Testes wurden die Patienten gebeten nichts außer Wasser zu sich zu nehmen. Diese Art von oralem Triglycerid-Toleranz-Test wurde im Rahmen der HCS-Studie an dem Universitätsklinikum des Saarlandes etabliert und charakterisiert [118].

Brennwert	1279 kJ / 310 kcal
Eiweiß:	2,4 g
Kohlenhydrate	3,2 g
Fett	32,0 g
davon gesättigte Fettsäuren	21,0 g
Ballaststoffe	0,0 g
Natrium	0,04 g

Tabelle 1: Durchschnittliche Zusammensetzung von 100 ml Landliebe Schlagsahne

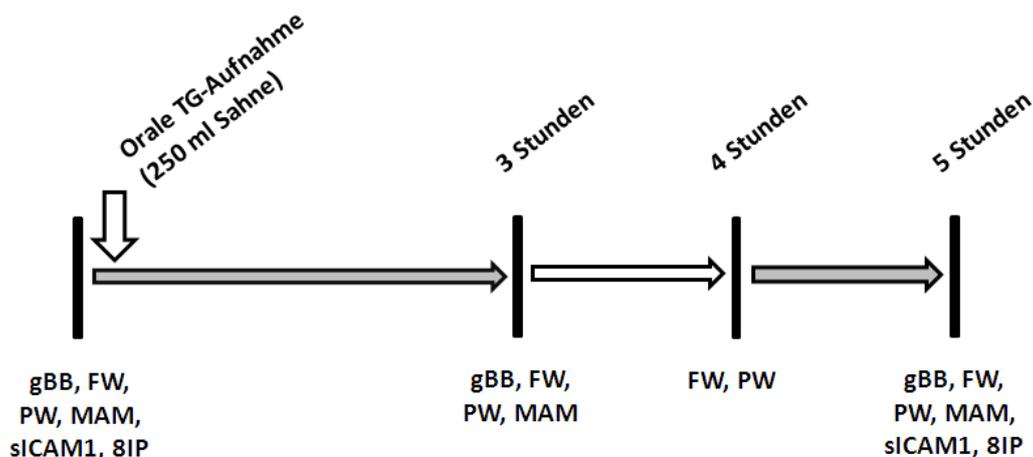


Abbildung 8 : Schema des oTTT und der Messwerte

gBB: großes Blutbild aus EDTA-Blut, FW: Fettwerte (TG, Cholesterin, HDL, LDL) aus Heparinplasma, PW: Plasmawerte (CRP, Kreatinin, Leberwerte, Elektrolyte) aus Heparinplasma, MAM: Monozyten-Aktivations-Marker (CCR2, CD11b, CD14, CD16), sICAM1, 8IP: 8-Isoprostan

3.2.3 Omega-3-Säurenethylester 90 versus Placebo-Gabe

Im Rahmen des Cross-Over-Designs der Studie wurden die Studienteilnehmer für je drei Wochen mit Omega-3-Säurenethylester 90 und Placebo behandelt. Zwischen den Behandlungsphasen wurde eine Wash-Out-Phase von mindestens 3 Wochen eingehalten, um eine gegenseitige Beeinflussung von Medikament und Placebo auszuschließen. Die Reihenfolge der Gabe wurde randomisiert.

Omega-3-Säurenethylester 90

Omega-3-Säurenethylester 90 (1000 mg) ist ein unter dem Handelsnamen Zodin zugelassenes Medikament. Es besteht zu 46 % aus Eicosapentaensäure (EPA, 20:5 ω -3) und zu 38 % aus Docosahexaensäure (DHA, 22:6 ω -3). Somit sind pro Kapsel 840 mg des Wirkstoffgemischs EPA/DHA enthalten. Die Wirkstoffe werden hauptsächlich aus Fischöl gewonnen. Im Gegensatz zu Fischöl liegen die ω 3-FS in diesem Präparat frei von gesättigten Fettsäuren vor und sind nicht an Glycerol sondern an Ethanol verestert, wodurch eine fast vierfach höhere Wirkstoffkonzentration als in Fischöl erreicht wird. [128]

Das Medikament hat eine niedrige Rate an bekannten unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW) oder Interaktionen (Tabelle 2). In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass die Wirkstoffe EPA und DHP fast ausschließlich die Triglyceride senken ohne Gesamtcholesterin- und LDL-Konzentration relevant zu beeinflussen [17][65]. Hieraus ergibt sich die Möglichkeit die Bedeutung der Triglyceride weitgehend unabhängig von Cholesterin und LDL zu untersuchen.

Placebo

Als Placebo für diese Studie diente Omacor-Placebo von Pronova BioPharma, Lysakar, Norway. Die Placebo-Kapseln waren äußerlich identisch mit dem ω 3-FS-Präparat und enthielten 1 g Olivenöl. Sie waren auf Freiheit von DHA und EPA getestet.

Dosierung und Verabreichung

Die Patienten nahmen entsprechend ihrer Behandlungsphase jeweils morgens und abends 2 Tabletten Placebo bzw. Omega-3-Säurenethylester 90 ein. Dies entsprach einer Tagesdosierung von 4 g Olivenöl bei dem Placebo-Präparat bzw. 3360 mg des Wirkstoffgemischs EPA/DHA bei Verum. Soweit möglich wurden am Ende jeder dreiwöchigen Behandlungsphase die nicht eingenommenen Tabletten der Patienten gezählt, um so einen Eindruck über die Compliance der Studienteilnehmer zu bekommen.

Risiken und Nebenwirkungen:	
- häufig (1/100 – 1/10)	Völlegefühl (Dyspepsie), Übelkeit;
- gelegentlich (1/1.000 – 1/100)	gastroenteritische Beschwerden, Schwindel, Störungen des Geschmacksempfindens, Bauchschmerzen, Gastritis, Oberbauchschmerzen, Überempfindlichkeitsreaktionen (Hypersensitivität)
- selten (1/10.000 – 1/1.000)	Hyperglykämie, Kopfschmerzen, gastrointestinale Schmerzen, Lebererkrankungen (Anstieg der Transaminasen), Akne und juckender Hautausschlag
- sehr selten (< 1/10.000)	Hypotonie, untere gastrointestinale Blutung, Urtikaria, Leukozytose, LDH-Anstieg, Trockenheit der Nasenschleimhäute
Arzneimittelwechselwirkungen:	mit Antikoagulanzen

Tabelle 2 : Unerwünschte Arzneimittelwirkungen und Arzneimittelinteraktionen von Omega-3-Säurenethylester 90 [128]

3.3 Erhobene Parameter

Folgende Parameter wurden aus venösem Blut zu den angegebenen Zeitpunkten bestimmt:

aus Heparinplasma:

- Glucose, Triglyceride, Cholesterin und HDL (T0h/ T3h/ T4h/ T5h);
das LDL wurde mit Hilfe der Friedewald-Formel errechnet
- Natrium, Kalium, Kreatinin, Harnstoff, Eiweiß, Albumin, CK, CRP, ASAT, ALAT, γ -GT, Alkalische Phosphatase, Lipase und LDH (T0h)
- sICAM und 8-Isoprostan wurde mittels Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) aus bei -80°C eingefrorenem Plasma bestimmt (T0h / T5h)
(nicht alle Probanden)

aus EDTA-Blut:

- Differentialblutbild (T0h/ T3h/ T5h)
- Die MFI (Mean Fluorescence Intensity= gemittelte Fluoreszenzintensität) folgender Zelloberflächenmarker mittels Durchflusszytometrie zu den Zeitpunkten (T0h/ T3h/ T5h):
 - MFI von CD14 , CD16, CCR2 und CD11b auf Monozyten
 - MFI von CD11b auf Granulozyten

3.4 Bestimmung des Blutbildes und der Laborwerte aus Blutplasma

Differenzialblutbild und die Standard-Blutplasmawerte (Glucose, Triglyceride, Cholesterin, HDL, LDL, Natrium, Kalium, Kreatinin, Harnstoff, Eiweiß, Albumin, CK, CRP, ASAT, ALAT, γ -GT, Alkalische Phosphatase, Lipase und LDH) wurden für diese Studie vom Zentrallabor der Universität des Saarlandes bestimmt. Die Messung des Blutbildes wurde dabei mittels des Hämatologie-Analysegerätes XE-5000 von Sysmex (Norderstedt, Deutschland) durchgeführt. Für die Blutplasmawerte wurde die analytische Systemplattform Cobas 8000 von Roche (Grenzach-Wyhlen, Deutschland) verwendet.

3.5 Durchflusszytometrische Messungen

Die Durchflusszytometrie ist eine Methode bei der Zellen durch Erfassung ihrer verschiedenen optischen Eigenschaften nach relativer Größe, relativer Granularität und spezifischer Fluoreszenz qualifiziert werden. Hierfür werden im FACS (Fluorescence-Activated-Cell-Sorter) einzelne Zellen mit Laserlicht bestrahlt, das von den Zellen in verschiedene Richtungen gebrochen wird.

Nach vorne gestreutes Licht wird detektiert und gibt über die relative Zellgröße (Forwardscatter) Auskunft. Licht, das an den Zellstrukturen im rechten Winkel weggebrochen wird, enthält Information über die relative Granularität (Sidescatter).

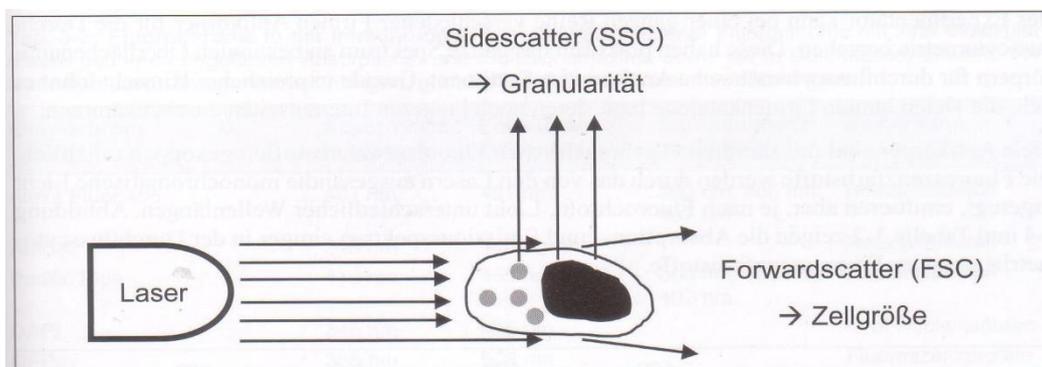
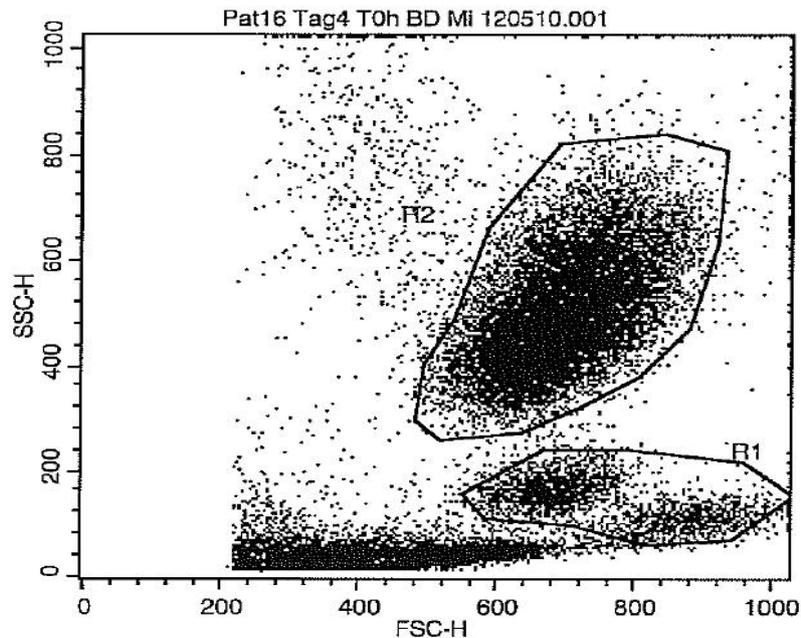


Abbildung 9 aus „Der Experimentator: Immunologie“ 3.Auflage [54]:
Strahlengang-Skizze eines Durchflusszytometers für die Bestimmung der Parameter SSC (Granularität) und FSC (Zellgröße).

Anhand der relativen Größe und Granularität lassen sich im Scatterplot Leukozyten aus lysiertem Vollblut in Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten unterteilen. Lässt man mit Fluoreszenzfarbstoff beladene Antikörper an Antigenen der Zellen binden, kann man über die Menge des emittierten spezifischen Fluoreszenzlichtes eine quantitative Aussage über das Vorkommen durch die Antikörper gebundenen Antigene auf oder in den Zellen treffen.



**Abbildung 10 : Scatterplot aus EDTA-Vollblut mit Aufteilung der Zellpopulationen nach Größe (FSC) und Granularität (SSC).
Ausgewählte Zellpopulationen: R1 = Monozyten, R2 = Granulozyten,
nicht ausgewählte Zellengruppe links unten im Scatterplot: Lymphozyten.
Die weitere Unterscheidung von Subpopulationen erfolgt mittels
Fluoreszenzfarbstoff beladenen Antikörpern**

Je nach Verteilungsmuster der Oberflächenmoleküle auf den Zellen lassen sich Subpopulationen von Zellen definieren und unterscheiden. Verwendet man dabei unterschiedliche Antikörper und Fluorochrome lassen sich so mehrere Oberflächenmoleküle gleichzeitig bestimmen.

Die FACS-Messungen erfolgten mit 50 µl direkt nach Abnahme gekühltem EDTA-Vollblut. Dieses wurde innerhalb von 20 Minuten nach Entnahme mit 2 ml FACS-Puffer (1 x PBS [Phosphat gepufferte Kochsalzlösung], 5 % FCS [Fötales Kälberserum], 0,5 % BSA [Rinderserumalbumin], 0,07 % Natriumazid) gewaschen. Hierfür wurde es mit gekühltem FACS-Puffer vermischt, dann bei einer Beschleunigung von 400 g und bei 4°C für 3 Minuten zentrifugiert und anschließend der Überstand bis auf das zurückbleibende Zellpellet abgesaugt. Dieses wurde in 50 µl FACS-Puffer resuspendiert und dann mit den Antikörpern für 45 min gekühlt und abgedunkelt inkubiert.

Für die Studie wurden zwei Antikörpermischungen verwendet.

Zum einen kam eine Dreifach-Immuntypisierung mit 5 µl anti-CD11b-FITS [MCA551F, AbD-Serotec], 5 µl anti-CD14-APC [MCA596APC, AbD-Serotec] und 2,5 µ anti-CD16-PE zum Einsatz. Als anti-CD16-PE wurde ursprünglich „MCA2537PE“ von AbD-Serotec benutzt, da die Produktion jedoch während der Studie eingestellt wurde kam es zu einem Umstieg auf „555407“ von BD Bioscience.

Zum anderen verwendeten wir eine Zweifach-Immuntypisierung mit 5 µl anti-CCR2-APC [FAB151A, R&DSystems] und 5 µl anti-CD11b-FITS [MCA551F, AbD-Serotec].

Nach der Inkubation wurde ein Lyse der Erythrozyten in den Ansätzen durch Beimischung von 1 ml 1/10 verdünnter Lysing-Solution [349202, BD Bioscience] bei Raumtemperatur und Dunkelheit initiiert und nach 10 min durch Zugabe von 1 ml FACS-Puffer gestoppt. Im Anschluss wurden die Ansätze, wie oben beschrieben, zwei weitere Male gewaschen und danach direkt mit Hilfe eines Durchflusszytometers (FACS Calibur [4CA E4379, BD Bioscience]) gemessen. Die Messergebnisse wurden mit „CellQuest Pro Software“ von BD Bioscience ausgewertet.

3.6 Enzyme Linked Immunosorbent Assays (ELISA)

Enzyme Linked Immunosorbent Assays sind Verfahren, mit denen Substanzen durch eine Anikörper-Antigenreaktion mit enzymmarkierten Antikörpern quantitativ bestimmt werden können.

3.6.1 sICAM-1 ELISA

Zur quantitativen Bestimmung von sICAM-1/CD54 wurde in dieser Studie das „Human sICAM-1/CD54 Immunoassay“-Kit von R&D Systems verwendet. Dieser Assay ist ein Sandwich-ELISA. Die Wells sind mit einem fixierten Antikörper ausgekleidet, durch den sICAM-1 gebunden wird. Ein weiterer freier gegen sICAM-1 gerichteter Antikörper ist mit dem Enzym Meerrettich-Peroxidase verlinkt. Nach Waschsritten wird durch Zugabe der Substrate (H₂O₂ und Tetramethylbenzin) eine Enzymreaktion in Gang gesetzt, die in den

Wells einen Farbumschlag von gelb auf blau hervorruft. Diese Reaktion wird durch Zugabe von Schwefelsäure gestoppt, ehe sie sich durch Substratmangel selbst limitiert. Dies hat ein erneutes Umschlagen der Farbe nach Gelb zur Folge.

Die Ausprägung des Farbumschlages korreliert mit der Menge des gebundenen Enzyms und entspricht der Menge von gebundenem sICAM-1. So lässt sich mit Hilfe einer Standardkurve erstellt aus Probenmessungen mit definierten sICAM-1-Konzentrationen über die Messung der Lichtabsorption die Konzentration von sICAM-1 in einer Probe bestimmen.

Die Messungen wurden mit Plasmaproben durchgeführt, die nach Abnahme abzentrifugiert und danach bei -80°C gelagert worden waren. Für diesen ELISA wurden die Proben nach dem Auftauen 20-fach verdünnt. Der im ELISA-Kit mitgelieferter Standard wurde mit 1 ml destilliertem Wasser rekonstituiert und daraus Verdünnungen von 50 ng/ml, 25 ng/ml, 12,5 ng/ml, 6,25 ng/ml, 3,13 ng/ml und 1,56 ng/ml hergestellt. In jedes Well wurde 100 μL sICAM-1 Conjugate (verbundener sICAM1-AK mit Peroxidase) pipettiert und dann dem Plate-Set-Up entsprechend entweder 100 μl Standard-Kontrolle oder Probe hinzugefügt. Dieser Ansatz wurde für 1½ Stunden auf einem Microplate-Shaker bei 500 rpm inkubiert und anschließend die Wells viermal mit Wash-Buffer gewaschen. Die Colour-Reagenzien A (H_2O_2) und B (Tetramethylbenzidin) wurden zu gleichen Teilen gemischt und jedem Well 200 μl dieses Gemisches hinzugefügt. Nach 30 Minuten Inkubation im Dunkeln wurde in jedes Well 50 μl Stopplösung pipettiert und dann die Platte mittels eines Microplate-Readers (ELISA Reader Model 550, Bio-Rad Laboratories) bei einer Wellenlänge von 450 nm mit einer λ -Korrektur bei 540 nm ausgelesen.

3.6.2 8-Isoprostan EIA (Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest)

Die Bestimmung von 8-Isoprostan erfolgte mittels dem „8-Isoprostane EIA Kit“ von Cayman (Item No. 516351). Das Prinzip dieses Kits ist das eines kompetitiven Immunassays. Bei Enzymtests dieses Typs konkurrieren der zu analysierende Stoff und ein ihm ähnlicher enzymmarkierter Stoff (Tracer) um Antikörperbindungsstellen. Je höher die Konzentration des zu analysierenden Stoffes gegenüber dem Tracer ist, desto weniger enzymmarkierter Tracer wird gebunden. Die Reaktionsgeschwindigkeit der durch das Enzym katalysierten

Reaktion, nach dem Auswaschen der freien Tracermoleküle, korreliert daher umgekehrt mit der Konzentration des zu analysierenden Stoffes. Beim diesem EIA wird eine Verbindung aus 8-Isoprostan und der Acetylcholinesterase von *Electrophorus electricus* als Tracer benutzt. Die Acetylcholinesterase spaltet Acetylthiocholin, wodurch Thiocholin entsteht. Dieses reagiert mit Ellman-Reagenz (5,5'-Dithio-bis(2-nitrobenzoesäure)) nichtenzymatisch zu 5-Thio-2-Nitrobenzoesäure, einem Stoff mit starker Lichtabsorption bei 412 nm.

Die zur Messung verwendeten Plasmaproben waren nach Abnahme abzentrifugiert und danach bei -80°C bis zur Durchführung des Tests gelagert worden. Für den Test wurden sie nach dem Auftauen auf Eis im Verhältnis 1 : 5 mit Eicosanoid Affinity Column Buffer verdünnt. In diesem Versuch wurde freies 8-Isoprostan gemessen; eine Lyse des an Lipide veresterten 8-Isoprostans vor der Messung fand nicht statt. Mithilfe des sich im Kit befindenden 8-Isoprostan-Standarts wurde eine 8-teilige Verdünnungsreihe von 500 pg/ml bis 0,8 pg/ml angelegt. Je 50 μl der Standartreihe oder Probe wurden in die dafür vorgesehenen mit Mäuse-Anti-Kaninchen-Immunglobulin-G beschichteten Wells verteilt. Danach wurde jedem dieser Wells 50 μl Tracer und 50 μl Kaninchen-8-Isoprostan-Antikörper beigefügt. Um die Auswertung zu ermöglichen wurden außerdem 8 Wells wie folgt verwendet:

- 2 Wells wurden als Blanko freigelassen
- 3 Wells wurden zum Messen der maximalen Bindungsfähigkeit benutzt
(Hinzufügen von Buffer statt Probe oder Standard)
- 2 Wells wurde benutzt um die nicht antikörpervermittelte Bindung festzustellen
(100 μl Buffer und 50 μl Tracer)
- mit 1 Well wurde das Absorpstionsmaximum bestimmt
(Hinzufügen von 5 μl Tracer nach den Waschsritten)

Die Ansätze wurden 18 Stunden lang bei 4°C inkubiert und anschließend fünfmal mit Wash-Buffer gewaschen. Danach wurden jedem Well 200 μl Ellman-Reagenz hinzugefügt und die Platte hinterher im Dunklen über 90 Minuten auf einem Microplate-Shaker entwickelt. Die Auslesung der Platte erfolgte bei einer Wellenlänge von 415 nm.

3.7 Statistische Auswertung

Statistische Auswertungen erfolgten mithilfe von SPSS (Version 18.0), Graphpad Prism 6, und Microsoft Excel 2010. Kontinuierliche Messgrößen wurden mittels des Kolmogorov-Smirnov Tests auf ihre Normalverteilung untersucht. Zur Beurteilung der Ergebnisse des oTTT zu den verschiedenen Messzeitpunkten in Bezug auf die Ausgangswerte wurden Varianzanalysen durchgeführt. Unterschiede der TG-Konzentration, der Expression von Monozytenoberflächenmolekülen und der Entzündungsmarker zwischen Placebo-Gruppe, Verum-Gruppe und Kontrollen wurden nach ANOVA (analysis of variance) Analyse mittels Wilks Lambda- und Dunnett- Test untersucht. Als Signifikant wurden hierbei p-Werte von $<0,05$ betrachtet. In der vorliegenden Arbeit werden die Studienergebnisse als Mittelwert \pm Standardfehler (sem) (standard error of the mean) angegeben.

4 Ergebnisse

4.1 Patientencharakteristika

Kurz nach Eintritt in die Studie brach einer der 30 Patienten aus persönlichen Gründen seine Teilnahme ab. Ein weiterer Patient beendete die Studie, da er im Rahmen des oTTTs an wiederkehrender Übelkeit und durchfallartigen Fettstühlen litt. Dies geschah in gegenseitigem Einvernehmen nach Abschluss der ersten Medikamenteneinnahmephase, bei der es sich um Verum handelte. Eine vergleichende Placebo-Kontrolle für diesen Patienten fehlt daher. Alle anderen Patienten beendeten die komplette Studie.

Die 29 Patienten, deren Daten in die Auswertung der Studie eingingen, hatten ein Durchschnittsalter von $66,7 \pm 1,4$ Jahren. Der Großteil dieser Patienten war männlich (22 Patienten / 76 %). Keiner der in der Studie eingeschlossenen Patienten hatte Diabetes. Im oralen Glukosetoleranz-Test (oGTT) waren allerdings 18 Patienten mit einer gestörten Glukosetoleranz (140-200 mg/dl 2 h nach Exposition) auffällig.

Vier der Patienten hatten Adipositas Grad I (BMI 30-34,9), einer Adipositas Grad II (BMI 35-39,9). Der durchschnittliche BMI aller Patienten lag bei $27,4 \pm 0,6$. Die durchschnittliche Waist-to-Hip-Ratio der Männer war $0,99 \pm 0,01$, die der Frauen bei $0,85 \pm 0,03$.

Die basale Serum-TG-Konzentration der Patienten vor Medikation lag bei $133,0 \pm 7,9$ mg/dl, die basale Konzentration des LDL-Cholesterins war $96,4 \pm 3,2$ mg/dl.

Fast alle Probanden der Studie waren gemäß der „Leitlinie zur Diagnose und Behandlung der chronischen koronaren Herzerkrankung der deutschen Gesellschaft für Kardiologie“ behandelt. Alle Patienten nahmen Aspirin und/oder Clopidogrel als Thrombozytenaggregationshemmer, 28 Patienten (96,6 %) einen Betablocker, 24 Patienten (82,8 %) nahmen einen ACE-Hemmer oder einen AT₁-Antagonisten und 26 (89,7%) ein Statin.

Keiner der Patienten nahm ein Fibrat oder ein anderes Medikament, von dem eine Beeinflussung der TG bekannt ist. Weitere Charakterisierungsmerkmale der Patientengruppe können der nachfolgenden Tabelle (Tabelle 3) entnommen werden.

Patienteneigenschaften	Patienten (n=29), $\bar{x} \pm \text{sem}$
Alter in Jahren	66,7 \pm 1,4
Männlich — Anzahl [%]	22 [75,9 %]
Weiblich — Anzahl [%]	7 [24,1 %]
Body-Mass-Index (BMI)	27,4 \pm 0,6
Adipositas Grad I — Anzahl [%]	4 [13,8 %]
Adipositas Grad II — Anzahl [%]	1 [3,4 %]
Bauchumfang (cm)	100,6 \pm 2,0
Hüftumfang (cm)	105,5 \pm 1,2
Waist-Hip-Ratio (WHR) Männer	0,99 \pm 0,01
Waist-Hip-Ratio (WHR) Frauen	0,85 \pm 0,03
Blutdruck systolisch (mmHg)	128,9 \pm 3,3
Blutdruck diastolisch (mmHg)	68,4 \pm 1,6
Puls (1/min)	66,7 \pm 1,7
Bekannter Bluthochdruck — Anzahl [%]	29 [100 %]
Bekannte Hyperlipidämie — Anzahl [%]	28 [96,6 %]
KHK in der Familienanamnese — Anzahl [%]	12 [41,4 %]
Raucher — Anzahl [%]	4 [13,8 %]
Ex-Raucher — Anzahl [%]	14 [48,3 %]
Diabetes — Anzahl [%]	0 [0 %]
Gestörte Glucosetoleranz — Anzahl [%]	18 [62,1 %]
Betablocker — Anzahl [%]	28 [96,6 %]
Statine — Anzahl [%]	26 [89,7 %]
ASS / Clopidogrel — Anzahl [%]	29 [100 %]
ACE-Hemmer / AT ₁ -Antagonisten — Anzahl [%]	24 [82,8 %]
Diuretika — Anzahl [%]	13 [44,8 %]

Tabelle 3: Patientencharakteristika

4.2 Triglyceride (Abb. 11)

Vor und nach Placebo-Einnahme wurden kaum veränderte Nüchtern-TG gemessen (vor: $128,8 \pm 9,1$ mg/dl, danach: $131,5 \pm 12,4$ mg/dl). Dagegen kam es nach der Einnahme von 4g ω 3-FS für 3 Wochen zu einer signifikanten Absenkung der Nüchtern-TG von $137,1 \pm 12,9$ mg/dl auf $112,2 \pm 8,6$ mg/dl ($p < 0,05$). Dies entspricht einer Senkung um 22,2 % (Abb. 11c).

Im Verlauf des oTTT kam es sowohl vor als nach Verum bzw. Placebo zu einem Anstieg der TG-Werte mit Höhepunkt 4 Stunden nach Fettbelastung.

Dieser Höhepunkt lag unter Placebo-Medikation bei $242,4 \pm 21,0$ mg/dl und entspricht damit prozentual einer Zunahme der TG auf $197,2 \pm 12,0$ % des Ausgangswertes. Nach der ω 3-FS Einnahme fiel dieser TG-Höchstwert mit $205,9 \pm 17,1$ mg/dl um 18,9 % niedriger aus als zuvor ($244,8 \pm 24,6$ mg/dl). Die Absenkung des Triglyceridspiegel-Höhepunkts nach ω 3-FS Einnahme war sowohl gegenüber dem Vortestwert ohne Medikation als auch gegenüber den TG-Werten unter Placebo signifikant (jeweils $p < 0,05$) (Abb. 11d).

Um herauszufinden, ob die TG über den gesamten postprandialen Zeitraum genauso deutlich abgesenkt werden wie zum Zeitpunkt des TG-Maximums, berechneten wir die Fläche unter den TG-Kurven über die gesamte Testzeit von 5 Stunden. Auch hier zeigte sich eine signifikante Verminderung auf 873,1 nach Verum sowohl im Vergleich zu 1033,1 nach Placebo Einnahme als auch zu dem Vortest ohne Medikation (1042,2) (jeweils $p < 0,05$) (Abb. 11e).

Im Gegensatz dazu ergaben sich bei Betrachtung des relativen Anstieges der TG während des oTTTs gegenüber den Nüchtern-TG-Werten keine bedeutenden Veränderungen durch die Einnahme von ω 3-FS im Vergleich zu den Werten nach Placebo und den Vortests. Nach Verum-Einnahme kam es zu einem Anstieg des TG-Spiegels um $192,8 \pm 12,7$ % des Ausgangswertes innerhalb von 4 Stunden und damit zu einem nur unwesentlich geringeren als unter Placebo ($197,2 \pm 12,0$ %) (Abb. 11f).

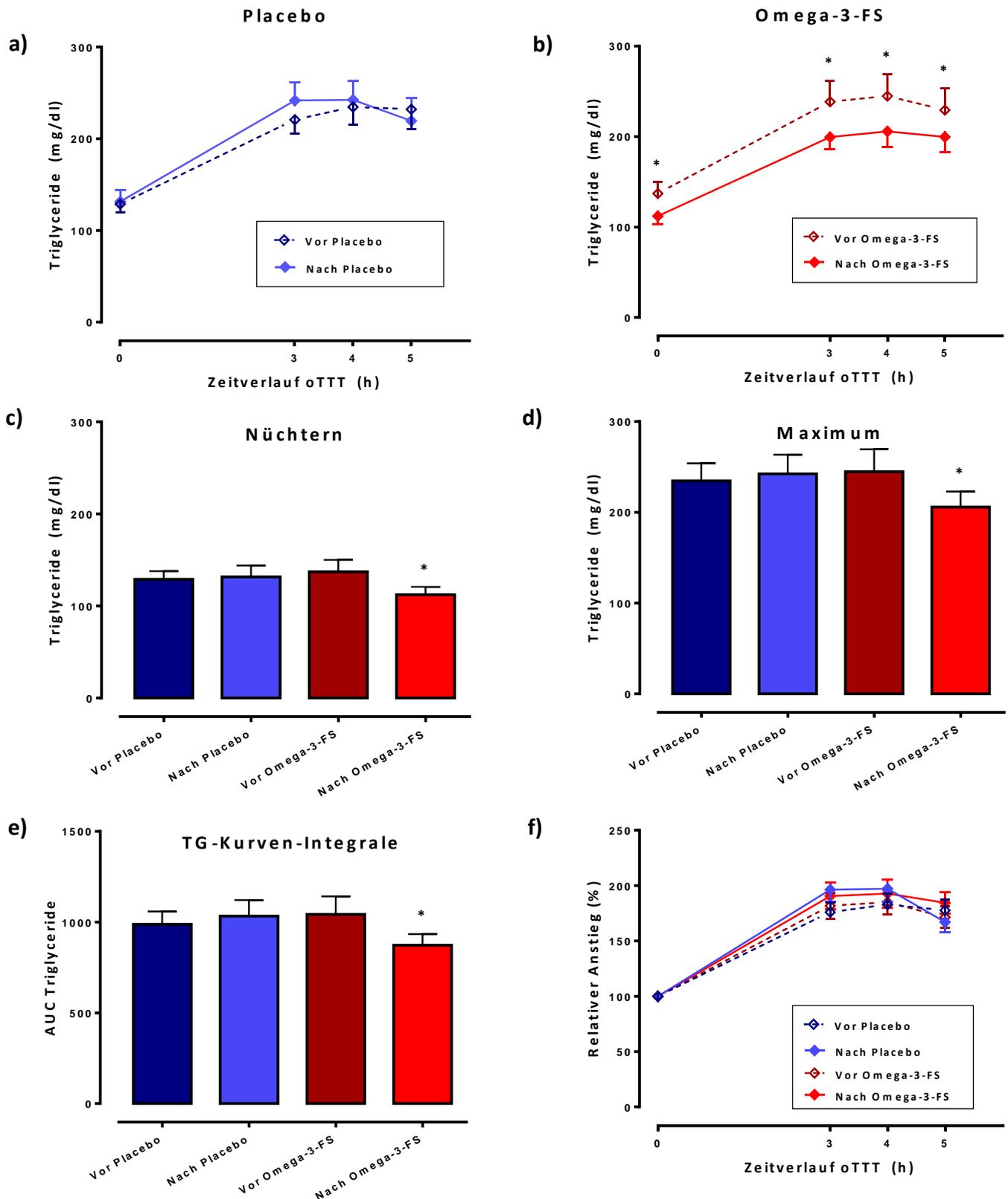


Abbildung 11 :
 Graphische Darstellung der Veränderungen der TG-Konzentration der Patienten während des oTTTs, vor und nach Einnahme von 4g ω 3-FS pro Tag bzw. Placebo für 3 Wochen.
 Nach Einnahme von ω 3-FS kam es zu einer signifikanten Absenkung der TG-Konzentration über den gesamten Messzeitraum des oTTTs im Vergleich zu den Vortests (Abb. 11b). In der Placebo-Gruppe wurden dagegen keine relevanten Veränderungen nachgewiesen (Abb. 11a). Die Absenkung der TG-Konzentration nach Einnahme von ω 3-FS war gegenüber den Vorwerten und der Placebo-Gruppe sowohl Nüchtern (Abb. 11c), beim Erreichen des TG-Maximums nach 4h (Abb. 11d) und auch über die Integrale der TG-Kurven (Abb. 11e) signifikant.
 Eine signifikante Änderung des relativen TG-Anstieges durch ω 3-FS oder Placebo über den Zeitraum des oTTTs konnte dagegen nicht nachgewiesen werden (Abb. 11e).

4.3 Cholesterin und Glucose (Abb. 12)

Der oTTT und die Behandlung mit ω 3-FS beeinflussten weder das HDL noch das Gesamt-Serum-Cholesterin wesentlich. Die Messwerte des Serum-Gesamtcholesterins schwankten in den 4 Messungen zu den Zeitpunkten 0, 3, 4 und 5 Stunden nach Sahneaufnahme nur gering und lagen alle im Mittel im Bereich zwischen 165 mg/dl und 175 mg/dl. Die Behandlung mit ω 3-FS sorgte für eine geringe Absenkung um 3,0% des nüchtern gemessenen Cholesterins von $169,1 \pm 6,0$ mg/dl auf $162,2 \pm 4,3$ mg/dl gegenüber dem Vortest und um 2,0% im Vergleich mit der Placebo-Messung ($165,6 \pm 5,0$ mg/dl) (jeweils $p > 0,05$). Auch während dem oTTT wurden in der mit ω 3-FS behandelten Gruppe leicht erniedrigte Cholesterinwerte festgestellt. Diese leichten Veränderungen unter Verum zeigten in den statistischen Auswertungen jedoch keine Signifikanz gegenüber der Placebo-Gruppe (Abb. 12b).

Das HDL reagierte nicht auf den oTTT und schwankte um 50 mg/dl. Nur in der Verum-Gruppe wurden auf 56 mg/dl erhöhte HDL-Werte vor Sahnetrunk gemessen. Dieser geringe HDL-Anstieg war aber ebenfalls nicht signifikant gegenüber den Vortests (Abbildung 12d). Die anhand der Friedewald-Formel errechneten LDL zeigten ebenfalls keine Änderung über die Zeit des oTTTs (Abb. 12c).

Die Serumglucose fiel im Verlauf des oTTTs minimal gleichmäßig ab von anfänglich 103,8 mg/dl auf 92,6 mg/dl nach 5 Stunden. Verum- oder Placebo-Einnahme zeigte darauf keinen Einfluss (Abb. 12a).

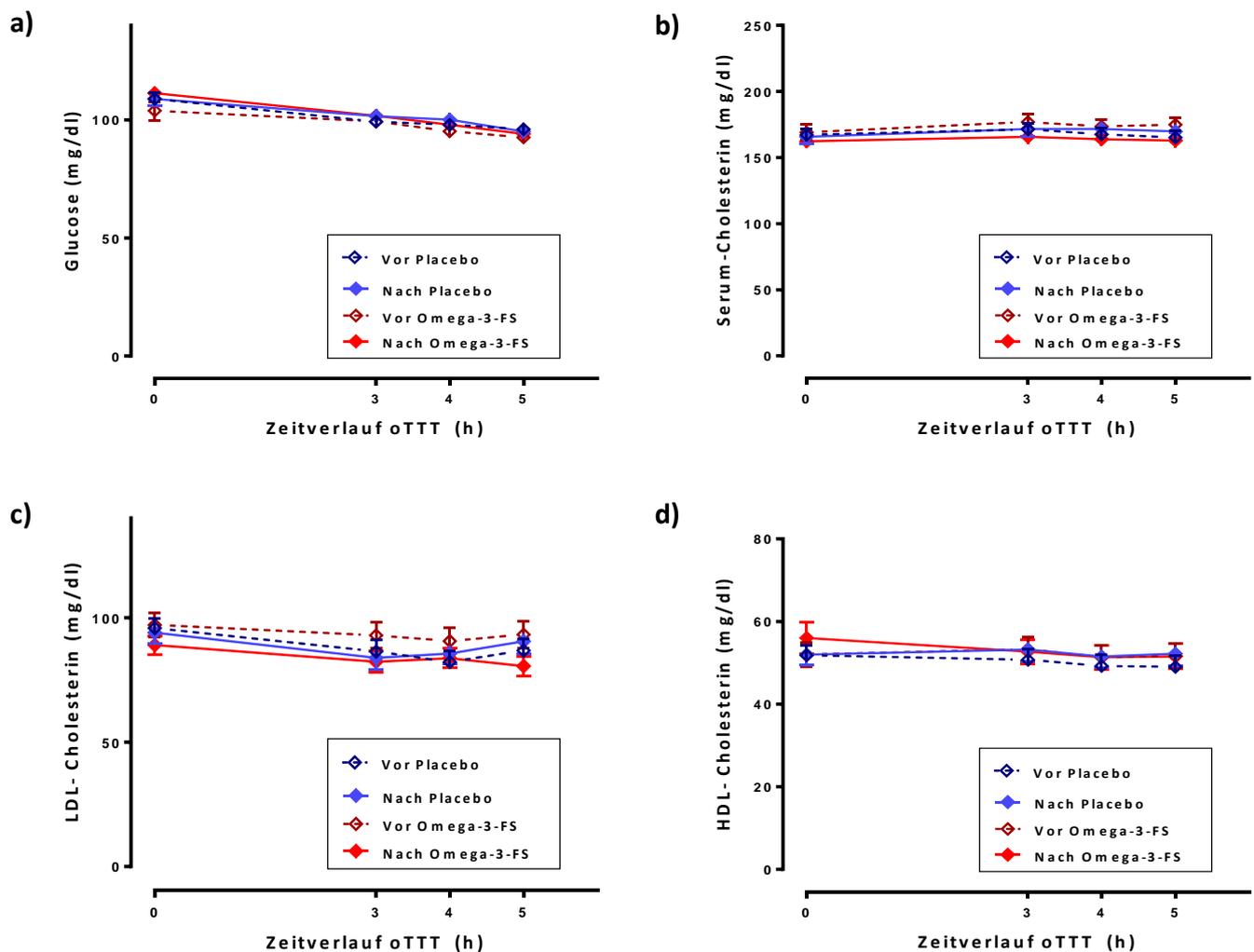


Abbildung 12:

Über den Zeitraum des oTTTs fiel die Serum-Glukose-Konzentration im Mittel leicht ab. Dieser Verlauf wurde durch die Vorbehandlung der Patienten mit Placebo oder ω 3-FS nicht wesentlich beeinflusst (Abb. 12a).

Eine relevante Beeinflussung der Gesamt-Cholesterin-Konzentration durch den oTTT konnte im Messzeitraum ebenfalls nicht nachgewiesen werden. Nach der Behandlung der Patienten mit ω 3-FS waren Nüchtern und im weiteren Verlauf des oTTTs die Gesamt-Cholesterinwerte leicht im Vergleich mit dem Vortest abgesenkt, dies war jedoch statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$) (Abb. 12b).

Das HDL-Cholesterin zeigte keine Veränderungen im Rahmen des oTTTs. Nach der Behandlungsphase mit ω 3-FS wurden leicht erhöhte HDL-Nüchtern-Werte gemessen. Im Vergleich zu den Vortests war diese Veränderung aber ebenfalls nicht signifikant ($p > 0,05$) (Abb. 12d).

Die LDL-Cholesterin-Konzentration wurde weder durch den oTTT noch durch die Vorbehandlung der Patienten mit Placebo oder ω 3-FS in einem relevanten Ausmaß beeinflusst (Abb. 12c).

4.4 Entzündungsparameter (Abb. 13, Abb. 14)

In den Messungen vor Verum-Gabe stieg bei Patienten im Verlauf der Durchführung des oTTTs das Verhältnis zwischen neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten von ursprünglich $1,86 \pm 0,20$ (T0h) um 32% in den ersten 3 Stunden auf $2,47 \pm 0,28$ ($p < 0,001$) an, bevor es erneut abfiel. Die Behandlung mit ω 3-FS über 3 Wochen modifizierten diesen Verlauf in keiner relevanten Weise (Anstieg von $1,85 \pm 0,14$ auf $2,40 \pm 0,23$, $p < 0,01$). Analog zum Verhältnis von Granulozyten und Lymphozyten bestimmten wir auch den Quotienten aus Lymphozyten und Monozyten. Hier zeigte sich in der Messung vor der Einnahme von ω 3-FS ebenfalls ein initialer Anstieg von $6,08 \pm 0,40$ auf $8,78 \pm 1,02$. Ähnlich wie bei dem Verhältnis von Granulozyten zu Lymphozyten kam es in der Folge zu einem erneuten Absinken der Werte nach 3 Stunden, das aber im Vergleich deutlich geringer ausfiel. Eine Beeinflussung dieses Verlaufs durch ω 3-FS ließ sich weder gegenüber den Vormessungen noch gegenüber den Testergebnissen nach Placebo-Einnahme feststellen (Abb. 13a und 13b).

Die durchflusszytometrisch erhobenen Marker für gesteigerte Monozytenaktivität zeigten im Messzeitraum keine durch den oTTT ausgelösten signifikanten Veränderungen. Bei den Messungen diente CD14 zur besseren Charakterisierung der Monozytenpopulation. Dieser Marker wurde auch zur Klassifizierung von CD16 positiven Monozyten in Subgruppen mit geringer und mit hoher CD14 Expression verwendet.

Eine Beeinflussung dieser Subgruppen und der Expression von CD11b, CD14 und des MCP1-Rezeptors CCR2 auf den Monozyten durch den hohen Blutfettgehalt ließ sich nicht feststellen. Die Einnahme von ω 3-FS hatte ebenfalls keine nachweisbare Wirkung auf diese Aktivationsmarker von Monozyten (Abb. 13c bis 13f).

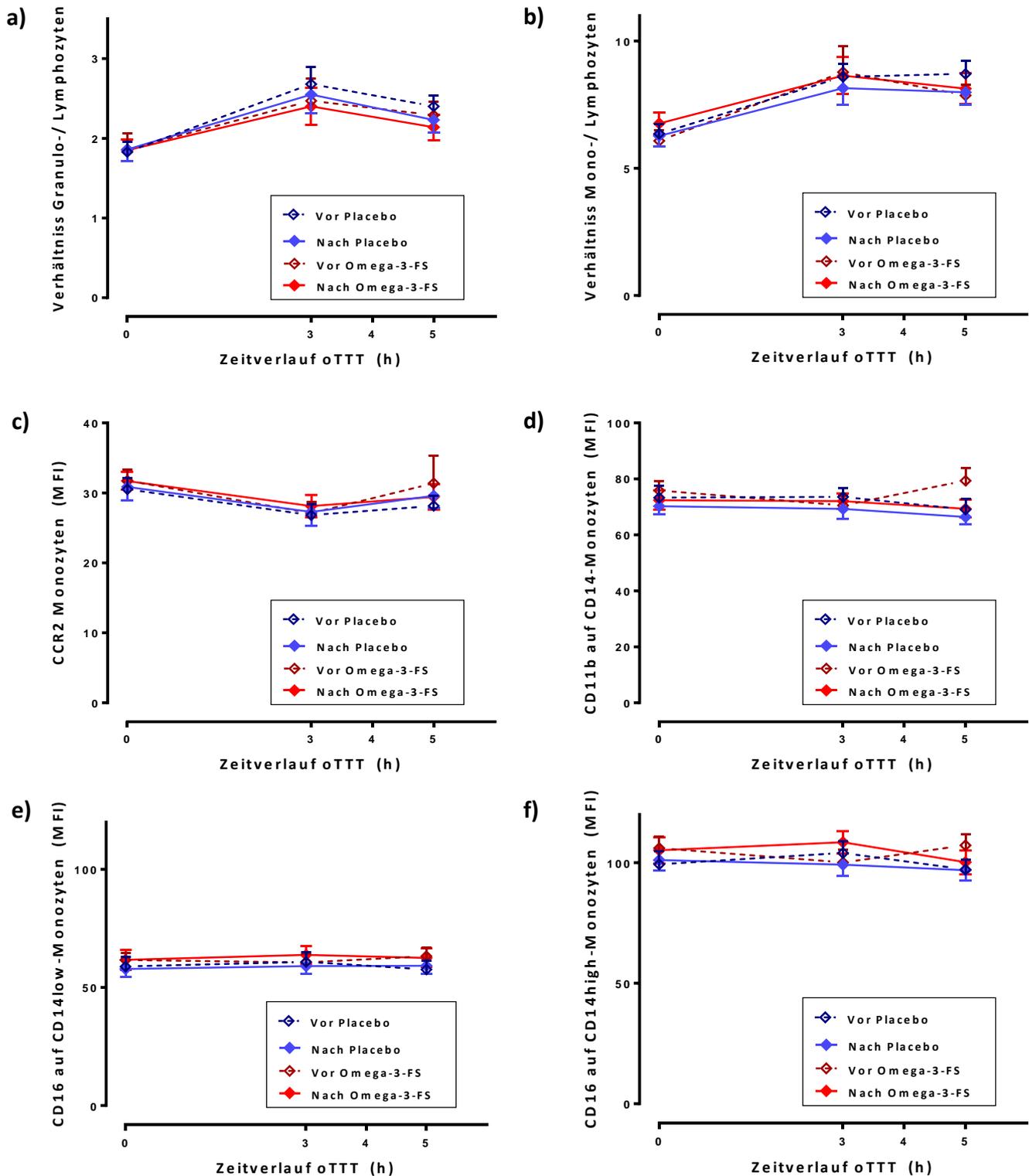


Abbildung 13:

Im Verlauf des oTTTs stieg das Granulozyten-/Lymphozyten-Verhältnis in den ersten 3 Stunden um 32% und fiel im weiteren Verlauf erneut ab ($p < 0,001$). Die Behandlung mit 4g ω 3-FS oder Placebo über 3 Wochen hatte hierauf keinen relevanten Einfluss (Abb. 13a).

Das Monozyten-/Lymphozyten-Verhältnis zeigte einen initialen Anstieg im oTTT Verlauf mit erneutem geringem Absinken in der Folge. Dieser Verlauf wurde durch Placebo oder Verum ebenfalls nicht beeinflusst (Abb. 13b).

Im Messzeitraum zeigten sich keine signifikanten Veränderungen der durchflusszytometrisch erhobenen Oberflächenmarker für gesteigerte Monozytenaktivität. Weder die Expression von CD11b, CD14 und CCR2 noch die CD16 Expression auf den Monozyten-Subgruppen mit hoher und niedriger CD14-Expression zeigten signifikante Veränderungen im Rahmen des oTTTs oder infolge der Einnahme von Placebo bzw. ω 3-FS (Abb. 13 c, 13d, 13e und 13f).

Anhand einer Stichprobe von 20 Patienten wurden zusätzlich mögliche Veränderungen der Plasmakonzentration von sICAM1, als Surrogatmarker der Stimulation und Schädigung von Endothelzellen bestimmt. Außerdem wurde 8-Isoprostan zur Bestimmung des oxidativen Stresses im Serum von 9 Patienten untersucht.

Das entscheidende Kriterium für die Auswahl der Stichproben war in beiden Fällen ein deutliches Ansprechen der Patienten auf ω 3-FS im Sinne einer ausgeprägten TG-Reduktion. Fünf Stunden nach Fettaufnahme zeigten sich bei keinem der beiden Marker signifikante Veränderungen gegenüber den Ausgangsmessungen. Auch die Behandlung mit ω -3FS hatte auf diese Parameter keinen entscheidenden Einfluss (Abb. 14a und 14b).

Zusätzlich erfolgte zu Beginn eines jeden Testtages die Bestimmung des CRP-Wertes, der im klinischen Alltag zurzeit neben der Leukozyten-Messung der weitverbreitetste Inflamationsparameter ist. An den einzelnen Testtagen sollte so ein akutes Entzündungsgeschehen bei den Patienten mit einer möglichen Relevanz für andere Inflamationsparameter ausgeschlossen werden. Auch auf diesen Parameter zeigte sich kein Effekt durch eine vorhergehende Einnahme von ω 3-FS über 3 Wochen im Vergleich zu den Messungen vor Behandlung oder nach Placebo-Einnahme (Abb. 14c).

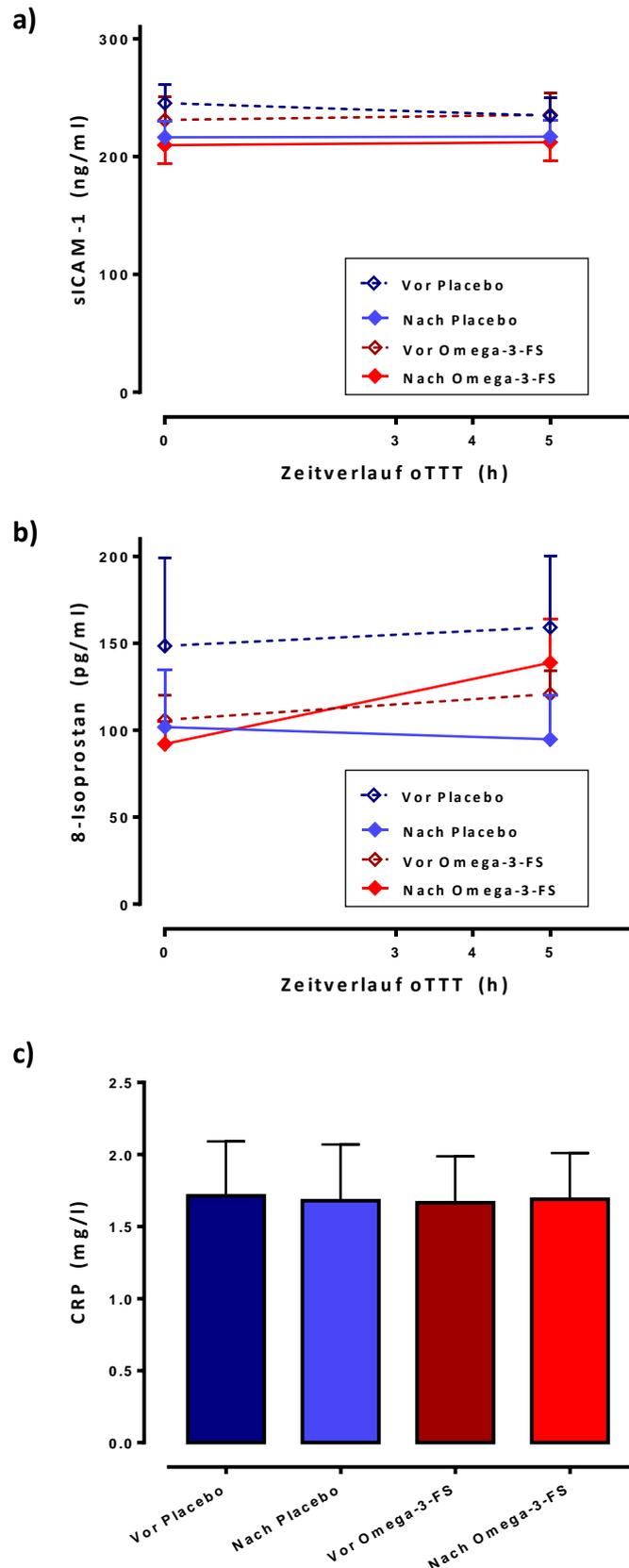


Abbildung 14: sICAM-1- und die 8-Isoprostan-Werte veränderten sich in keiner relevanter Weise im Verlauf des oTTT. Auch die Einnahme von ω 3-FS hatte keine signifikanten Änderungen zur Folge. Das CRP wurde durch Verum- oder Placebo-Einnahme nicht wesentlich beeinflusst.

5 Diskussion

In der vorliegenden Studie wurde die postprandiale TG-Toleranz bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit ohne Diabetes und ohne Hyperlipidämie mittels eines standardisierten oralen Tests gemessen. Nach diesem oralen Triglycerid-Toleranz-Test (oTTT) kam es bei den Patienten zu einem maximalen Anstieg der TG um 78% nach 4 Stunden. Eine signifikante Beeinflussung der Cholesterinwerte (Gesamtcholesterin, HDL und LDL) durch den oTTT ließ sich nicht feststellen. Die Behandlung der Patienten mit 4g ω 3-FS über 3 Wochen im Rahmen der vorliegenden doppelblinden Cross-Over-Studie senkte nicht nur die Nüchtern-TG um 18%, sondern auch die postprandialen TG um 16% signifikant. Andere Fettwerte wurden durch die Gabe von ω 3-FS nicht nennenswert beeinflusst. Weder der Anstieg der TG im Rahmen des oTTT noch die Behandlung mit ω 3-FS hatten einen Einfluss auf die Leukozyten-Zusammensetzung, die Expression der in dieser Studie bestimmten monozytären Oberflächenstrukturen (CD11b, CCR2, CD14 und CD16), die Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle (sICAM-1) oder den oxidativen Stress (8-Isoprostan).

5.1 Diskussion der Methodik

5.1.1 Probandenkollektiv und Studiendesign

Um trotz der niedrigen Probandenanzahl von nur 30 Patienten eine höchstmögliche Aussagekraft dieser Studie zu erreichen, wurde sie in einem randomisierten placebo-kontrollierten doppelblinden Cross-Over-Design durchgeführt. Das elaborierte Studiendesign ermöglicht es trotz des relativ kleinen Probandenkollektivs wissenschaftliche Aussagen zu treffen. Trotzdem bleibt die vergleichsweise geringe Studiengröße von 30 Patienten eine der Limitationen dieser Studie.

Die Probandengruppe wurde telefonisch bewusst aus einer verhältnismäßig homogenen Vorauswahl (Probanden der HCS-Studie mit KHK, Hypertriglyceridämie und ohne Diabetes) rekrutiert [118]. Gewisse Einflussfaktoren wie Fibrat-Einnahme wurden als Ausschlusskriterium bei der Rekrutierung des Studienkollektivs gewertet. Andere Einflussfaktoren wie Statin-Medikation und Ernährungsgewohnheiten wurden mittels Fragebogen erhoben, um die Interpretierbarkeit dieser Studie zu erleichtern und innerhalb dieser Gruppe fundierte Aussagen treffen zu können.

Durch die Einschränkungen bei der Auswahl des Probandenkollektivs ist eine Übertragbarkeit der Studienergebnisse auf andere Bevölkerungsgruppen nur bedingt möglich. Ebenfalls zu beachten ist, dass ein Großteil der Studienteilnehmer männlich war (76%) und Frauen in den Ergebnissen dieser Studie somit unterrepräsentiert sind.

5.1.2 Auswahl des Studienmedikaments und der Dauer der Behandlungsphasen

Omega-3-Säurenethylester 90 wurde aus mehreren Gründen als Studienmedikation für die vorliegende Studie ausgewählt:

Erstens ist das Medikament bereits für die Indikation Hypertriglyceridämie und zur Sekundärprophylaxe nach Herzinfarkt in Verbindung mit einer leitliniengerechten Therapie zugelassen.

Zweitens wurden bisher nur wenige unerwünschte Arzneimittelwirkungen und Arzneimittelinteraktionen für dieses Medikament beschrieben (siehe Tabelle 3, Seite 25) [128].

Ein weiterer Vorteil der Wirkstoffe EPA und DHA dieses Medikaments ist die in Studien bestätigte Senkung der TG ohne nennenswerte Beeinflussung des Gesamtcholesterins oder der LDL-Konzentration [17][65]. So konnten wir in dieser Studie den Einfluss von ω 3-FS auf die postprandialen TG-Erhöhung sowie mögliche Auswirkungen des oTTT und der Medikation auf die Aktivität von Monozyten weitgehend unabhängig von diesen Parametern untersuchen.

Andere Studien hatten gezeigt, dass es bereits nach nur einem Monat Behandlung mit 4g ω 3-FS zu einer signifikanten Reduktion des nüchtern gemessenen TG-Spiegels kommt [36]. Für die vorliegende Studie wurde daher eine 3-wöchige Behandlungsphase in gleicher Dosis für ausreichend empfunden. Zwischen die Behandlungsphasen wurde eine Wash-Out-Phase von ebenfalls 3 Wochen gelegt, wie es in vielen Medikamentenstudien mit Cross-Over-Design üblich ist, um eine gegenseitige Beeinflussung der Messergebnisse unter Placebo oder Verum zu vermeiden.

5.1.3 oTTT und Messzeitraum

Zur Messung der postprandialen Triglyceride gibt es noch kein einheitliches Standardverfahren. In den bisher zu diesem Thema durchgeführten Studien finden sich daher Unterschiede in der Herbeiführung eines postprandialen Zustandes [59][75][78][109]. In einigen Studien wurden genormte Testmahlzeiten verabreicht [12][28][81].

Diese Form ermöglicht es jedoch nicht die TG separat zu untersuchen, da in den Mahlzeiten neben anderen Fetten ebenfalls größere Mengen an Kohlenhydraten und Proteinen enthalten sind. Solche Studien können daher keine eindeutige Aussage dazu machen, welcher der verschiedenen Nahrungsbestandteile in den Testmahlzeiten für die beobachteten Effekte verantwortlich ist.

Einige Studien verwenden zur Herbeiführung einer postprandialen Hypertriglyceridämie Schlagsahne. Nach den Erfahrungen hinsichtlich Dosierung und Verträglichkeit in der HCS-Studie wurde auch in der vorliegenden Studie ein Sahnetrunke von definierter Menge verabreicht und das im Rahmen der HCS Studie etablierte Messprotokoll verwendet [118].

Da Glucose in der Lage ist eine erhöhte Monozytenaktivität und Entzündungsvorgänge mit einer Monozytenbeteiligung, wie z. B. eine verstärkte Expression CD11b, zu stimulieren [93], benutzen wir in unserem Test glucosefreie Sahne, deren Kohlenhydratanteil nur aus Laktose besteht (siehe Tabelle 1, Seite 23). Die verabreichte Fettmenge entsprach in dieser Studie 80 g. Andere Studien, die die postprandiale Kinetik von TG untersuchten, arbeiteten teilweise mit geringeren Fettmengen oder passten die applizierte Menge an das Körpergewicht oder Körperoberfläche der Probanden an [12][112].

Als Einschränkung für die Ergebnisse dieser Studie muss die mit anderen Studien vergleichsweise kurze Nachbeobachtungszeit von 5 h nach Fettaufnahme genannt werden [59][78][81][111]. Innerhalb dieses Zeitraumes wurden die Studienparameter engmaschig mit Messungen vor der Fettapplikation und nach 3, 4 und 5 Stunden überwacht.

Der limitierte Zeitraum der Überwachung lässt die Möglichkeit offen, dass entscheidende Veränderungen der Messparameter später als 5 Stunden nach oTTT in dieser Studie nicht erfasst worden sind.

Das Maximum des TG-Spiegels nach Fettbelastung wurde in dieser Studie nach 4 Stunden erreicht. Zwischen dem TG-Maximum und der letzten in dieser Studie durchgeführten Messung lag also nur eine Stunde. Es ist möglich, dass TG-getriggerte Entzündungsvorgänge, die auf Proteinebene in dieser Studie gemessen wurden, sich erst zu einem späteren Zeitpunkt manifestieren und daher in dieser Studie keine Berücksichtigung finden. Eventuelle frühe Abweichungen der Parameter vor 3 h sind durch das verwendete Messprotokoll möglicherweise ebenfalls unbemerkt geblieben.

5.1.4 Analysemethoden

In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Moleküle (CCR2, CD11b, CD14, CD16, sICAM-1 und 8-Isoprostan), die in der Literatur mit einer atherogenen endothelialen Entzündungsreaktion in Verbindung gebracht werden im venösen Blut untersucht [9][10][15][41][51][69][80][87]. Neben diesen Inflammationsmarkern werden auch die Leukozytenkonzentration und das Leukozyten-Verhältnis als Indiz für inflammatorische Prozesse betrachtet [5]. Sie wurden in dieser Studie ebenso berücksichtigt. Für Nachweis und Quantifizierung von Entzündungsreaktionen bestehen verschiedene Möglichkeiten. Die von uns in dieser Studie erhobenen Parameter werden auf unterschiedlichen Ebenen mit einer endothelialen Dysfunktion in Zusammenhang gebracht:

Differenzialblutbild	Leukozyten- Konzentration und -Verhältnis
CCR2	monozytärer Chemokinrezeptor
CD11b	monozytärer Oberflächenaktivationsmarker
CD14 + CD16:	monozytäre Subgruppen
sICAM-1	gelöstes endotheliales Adhäsionsmolekül
8-Isoprostan	Marker für oxidativen Stress

Wir betrachteten bewusst Cytokinrezeptoren, Oberflächenaktivationsmarker von Monozyten, Adhäsionsproteine und monozytäre Subpopulationen. Dies sollte garantieren, dass eine mögliche endotheliale Entzündungsreaktion, ausgelöst durch erhöhte TG und eventuell beeinflusst durch ω 3-FS, mit hoher Wahrscheinlichkeit nachgewiesen wird. Es

besteht jedoch trotzdem die Möglichkeit, dass Inflammationsprozesse über andere Mechanismen in dieser Studie unerkannt geblieben sind.

Bei Durchführung der Studie wurde sehr darauf geachtet eine artifizielle Aktivierung der Monozyten *ex vivo* nach der Blutabnahme zu verhindern und somit erzeugte Falschergebnisse zu vermeiden. Die Messung der monozytären Oberflächenstrukturen erfolgte deshalb direkt anschließend an die Abnahme des EDTA-Vollblutes und der unverzüglichen Aufbereitung bei 4°C Kühlung im Labor.

Da es nicht möglich war sICAM-1 und 8-Isoprostan direkt zu bestimmen, wurde Serum zu diesem Zweck direkt nach Probenabnahme abzentrifugiert und bei -80°C bis zur Durchführung der Messungen mittels standardisierten ELISA-Kits gelagert.

Diese Studie beschäftigte sich ausschließlich mit im Blut zirkulierenden Monozyten und Entzündungsmarkern, im Gegensatz zu anderen Studien, die endotheliale Entzündungsreaktionen direkt an Endothelgewebe untersucht haben. Es existieren bereits einige Studien, die eine Entzündungsreaktion im Bereich des Endothels mit Hilfe von erhöhten Entzündungsmarkern im Blut nachweisen konnten [20][37][45][80][87]. Trotzdem ist nicht ausgeschlossen, dass gerade aktivierte Monozyten aufgrund ihrer vermehrten Adhäsion am Endothel aus dem Blutstrom entfernt werden und so in unseren Messungen keine Berücksichtigung fanden.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Einfluss des oTTT auf Triglyceride und Cholesterinwerte

Getriggert durch den in dieser Studie verwendeten oTTT kam es zu einem maximalen Anstieg der Triglyceride auf $189,3 \pm 5,7$ % des Ausgangswertes nach 4 h bei Patienten mit KHK ohne Diabetes, die zu 89,7 % mit Simvastatin behandelt wurden und einem anschließenden Rückgang der gemessenen Werte. Innerhalb des Nachbeobachtungszeitraums dieser Studie von 5 h wurden die TG-Werte vor oTTT nicht erneut erreicht.

Da fast alle Studien zur postprandialen TG-Toleranz unterschiedliche Messprotokolle verwenden und oftmals keine genauen Angaben über die postprandiale TG-Kinetik angeben sind, ist ein Vergleich mit anderen Studien zu diesem Thema schwierig.

Im Rahmen der „Copenhagen City Heart Study“ wurden bei 66 gesunden Probanden ein Fetttoleranztest über 6 Stunden durchgeführt und die TG stündlich bestimmt. Auch in dieser Studie kam es wie in der PUFA-Studie zu einem postprandialen Maximum der TG-Serumkonzentration nach 4 Stunden [76]. Bis zur vollkommenen Normalisierung der TG-Werte nach einer Mahlzeit dauert es laut einer Metaanalyse zu diesem Thema länger als 8 Stunden [59].

Es ist inzwischen bekannt, dass verschiedene Erkrankungen, Medikamente und Verhaltensweisen einen Einfluss auf die postprandiale TG-Kinetik besitzen.

In Studien, die die postprandiale TG-Kinetik bei Patienten mit Diabetes Mellitus [42], Adipositas [14], Hypercholesterinämie, KHK [81] und arterieller Hypertonie [47] untersuchten, zeigte sich ein verstärkter TG-Anstieg. Jedoch lässt sich aufgrund des Studiendesigns dieser Studien nicht erschließen, ob diese Faktoren zu erhöhten postprandialen TG führen, oder diese Erkrankungen bei Personen mit einer veränderten TG-Toleranz vermehrt auftreten. Ebenfalls ist ein kausaler Zusammenhang über eine gemeinsame noch nicht bekannte Ursache denkbar.

In Interventionsstudien konnte gezeigt werden, dass bei übergewichtigen Männern eine deutliche Gewichtsreduktion [84] und akute sportliche Aktivität bei Jugendlichen [53] zu einer verminderten postprandialen TG-Serumkonzentration führt. Einige Medikamente wie z.B. Fibrate [101] oder Metformin [43] haben einen ähnlichen Effekt auf die postprandiale TG-Toleranz.

Eine Behandlung mit Statinen über 4 Wochen führte in einer Studie bei Männern ohne Hyperlipidämie zu einer signifikanten Reduktion sowohl der Nüchtern-TG (-30 %) als auch der, nach Gabe einer Testmahlzeit gemessenen, postprandialen TG (-27 %) [78].

In vorliegender PUFA-Studie waren 89,7 % der Probanden auf eine Dauertherapie mit Statinen eingestellt. Aus diesem Grund ist daher von einer Vorreduktion der TG bei diesen Patienten auszugehen.

In der von uns durchgeführten Studie kam es im Rahmen des oTTT zu keinen signifikanten Veränderungen des Gesamtcholesterins, des LDL- und des HDL-Cholesterins.

Nicht bei allen Studien, die sich mit induzierter postprandialer Triglyceridämie beschäftigen, werden Angaben zu diesen Werten gemacht. Ein Vergleich mit anderen Studien hinsichtlich der Cholesterinwerte ist daher schwieriger als bei den TG-Werten. Eine niederländische Studie, die einen körperoberflächenadaptierten TG-Toleranztest auf Sahnebasis benutzte, konnte jedoch ebenfalls keinen signifikanten Einfluss ihres Testes auf Gesamtcholesterin, LDL und HDL feststellen [112].

5.2.2 Beeinflussung der Fettwerte durch ω 3-FS

In Studien zur Auswirkung der Einnahme von ω 3-FS auf die Nüchtern-TG wird bei täglicher Einnahme von 3-4g ω 3-FS eine signifikante Reduktion der TG bis zu 45 % beschrieben [36][85]. Dabei scheint die Absenkung umso stärker auszufallen, je höher die ursprünglichen TG-Werte sind.

Ob eine Hoch-Dosis-Therapie mit ω 3-FS auch eine Auswirkung auf postprandiale TG hat, war bisher nur unzureichend untersucht. Es gab jedoch Hinweise darauf, denn eine Studie beschrieb schon vor über 20 Jahren reduzierte postprandiale TG-Anstiege im Blut nach 4-wöchiger fischölreicher Diät [35].

Die vorliegende randomisierte, doppelblinde Cross-Over-Studie zeigt nun, dass eine Behandlung von KHK-Patienten mit Dyslipidämie und ohne Diabetes mit ω 3-FS in einer Dosierung von 4 g pro Tag über einen Zeitraum von 3 Wochen nicht nur die Nüchtern-TG signifikant senkt (18 %), sondern ebenfalls die postprandialen TG in einer vergleichbaren Größenordnung (16 %) reduziert.

Zur Wirkung von ω 3-FS auf postprandiale TG gibt es bisher kaum Vergleichsstudien. Plat et al. verglichen den Effekt der Einnahme von 1,2 g EPA über einen Zeitraum von 6 Wochen auf die TG-Toleranz mit dem diätischer Maßnahmen und Gewichtsreduktion an einer Gruppe von 11 Probanden. In dieser Studie fanden Sie trotz der sehr niedrig gewählten Dosierung eine geringgradige Reduktion der postprandialen TG durch ω 3-FS, jedoch keine signifikante Reduktion der nüchtern gemessenen TG [84].

In Studien zur Wirkung von hochdosierten ω 3-FS auf Nüchtern-TG wurde dagegen bei Patienten mit schwerer Hypertriglyceridämie (500 - 2000 mg/dl) eine Absenkung um bis zu 45 % gemessen [36][85]. Bei Patienten mit milderer Formen der Hypertriglyceridämie (150 - 500 mg/dl) kam es in Studien zu einer Absenkung von etwa 30 % [99]. Dies lässt darauf schließen, dass die prozentuale Reduktion von Nüchtern-TG durch 4 g ω 3-FS umso stärker ausfällt, je schwerer die vorausgegangene Hypertriglyceridämie ist.

Im Gegensatz dazu ließ sich in dieser Studie während des postprandialen Maximums keine prozentual verstärkte Absenkung der TG beobachten.

In den oben genannten Studien wurden die Nüchtern-TG deutlich stärker gesenkt als in der vorliegenden Studie. Hierfür könnten verschiedene Gründe die Ursache sein:

Zum einen war ein sehr großer Teil der Studienpatienten im Rahmen ihrer KHK-Therapie bereits mit Statinen vorbehandelt (89,7%), die selbst eine deutliche triglyceridsenkende Wirkung sowohl nüchtern als auch postprandial besitzen [78].

Desweiteren lagen in unserer Studie die TG-Ausgangswerte der Patienten vor Gabe von 4 g ω 3-FS mit $137,1 \pm 12,9$ mg/dl deutlich unterhalb derer der Probanden der Studien zur Medikamentenwirkung auf die Nüchtern-TG bei schwerer Hypertriglyceridämie.

Drittens wurde die stärkste TG-Senkung in der Studie von Harris et al. erst nach einer Behandlungsphase von 4 Monaten erzielt, auch wenn nach bereits einem Monat eine deutliche TG-Reduktion nachweisbar war [36].

Bei Ende des Nachbeobachtungszeitraumes von 5 Stunden waren in der vorliegenden Studie die ursprünglichen Nüchtern-TG-Spiegel noch nicht wieder erreicht. Daher lässt sich anhand dieser Studie keine Aussage darüber treffen, ob die Gabe von hochdosierten ω 3-FS zu einer beschleunigten postprandialen Normalisierung des TG-Spiegels führt, verglichen mit der in einer Metastudie ermittelten Zeit von über 8 Stunden bis zur vollkommenden Normalisierung der TG-Werte ohne ω 3-FS Gabe [59].

Nach den Ergebnissen der von uns durchgeführten PUFA-Studie senken 4 g ω 3-FS nicht nur die Nüchtern-TG sondern ebenfalls die postprandialen TG. Sie sind damit zur Therapie der postprandialen Triglyceridämie geeignet.

Gesamtcholesterin und HDL wurden in dieser Studie vor und während des oTTT nicht wesentlich durch die Behandlung mit 4 g ω 3-FS beeinflusst. Das LDL-Cholesterin wurde nur in Ausnahmefällen (Triglyceride > 400 mg/dl) direkt bestimmt und ansonsten mittels der Friedwaldformel berechnet. Auch hier wurden keine signifikanten Veränderungen registriert.

Die Studienlage über den Einfluss der Wirkstoffe EPA und DPH auf Cholesterin ist allerdings nicht einheitlich. Während manche Studien, ähnlich wie unsere Studie trotz Verwendung von triglyceridsenkenden Dosierungen, keine stärkere Beeinflussung des LDLs und des Gesamtcholesterins feststellen konnten [17][65], kam es in anderen Studien mit hochdosierten ω 3-FS zu einem signifikanten Anstieg der HDL-Konzentration und einer Reduktion des Gesamtcholesterins und des LDLs [36][85].

5.2.3 Auswirkung des oTTTs auf inflammatorische Marker

Eine Entzündungsreaktion der Gefäße, die mit Aktivierung von Monozyten einhergeht, spielt bei der Pathogenese der Atherosklerose eine entscheidende Rolle [34].

In unserer Studienhypothese gingen wir davon aus, dass die Lipolyse von Chylomikronen- und VLDL-Remnants in der postprandialen Phase mit einer Freisetzung von Fettsäuren und oxidierten Phosphorlipiden einhergeht. Wir nahmen an, dass diese im Rahmen einer frühen Phase der endothelialen Dysfunktion eine Entzündungsreaktion bei den Zellen der angeborenen Immunantwort auslösen und so zu einer anhand von Oberflächenstrukturen nachweisbaren Aktivierung von Monozyten führen [97]. Dafür sprach, dass in ex vivo Studien bereits eine derartige Monozytenaktivierung durch postprandiale lipolytische triglyceridreiche Lipoproteine festgestellt werden konnte [19].

Unsere Studie konnte im Gegensatz zur Studienhypothese keinen stimulierenden Einfluss postprandialer Triglyceride auf die Expression der monozytären Oberflächenantigene C11b, CCR2, CD14 und CD16 im Messzeitraum von 5 Stunden finden. Somit ergibt sich aus dieser Studie kein Hinweis auf eine Stimulation von Monozyten durch postprandiale TG.

Ebenfalls wurden im Rahmen der Studie im Blut der Probanden keine erhöhten Serumkonzentrationen von sICAM-1 nach oTTT gemessen. Wir fanden also keinen Anhaltspunkt darauf, dass postprandiale TG, im Rahmen einer frühen Stufe der endothelialen Dysfunktion eine vermehrte Expression von ICAM-1 auf Endothelzellen auslösen.

Im Gegensatz hierzu konnte eine Arbeitsgruppe der Universität Utrecht nach Durchführung eines TG-Toleranztests in mehreren Versuchsreihen vermehrte CD11b Oberflächenmoleküle auf Monozyten durchflusszytometrisch nachweisen. Dabei kam es zu einem initialen Anstieg nach 1 Stunde und einem Maximum nach 6 Stunden [2][110]. Die Versuche in Utrecht wurden an gesunden Probanden durchgeführt. Eine lipidsenkende Therapie galt als Ausschlusskriterium. In einer weiteren Studie dieser Arbeitsgruppe zur Auswirkung einer Rosuvastatin-Therapie auf Leukozyten in der postprandialen Phase kam es erst nach 8 Stunden zu einem signifikanten Anstieg der MFI von CD11b auf Monozyten [111]. Eine andere Arbeitsgruppe beschrieb einen CD11b Anstieg auf Monozyten nach Verabreichung einer fettreichen Testmahlzeit [28].

Zur Auswirkung postprandialer Triglyceride auf ICAM-1 gibt es widersprüchliche Daten. In einem Tierversuch konnte bei Ratten nach einer fettreichen Diät über 4 Wochen eine vermehrte ICAM-1-Expression in der Aortenwand festgestellt werden [70]. Auf postprandial erhöhte sICAM-1-Spiegel beim Menschen fand sich dagegen in einer Studie zur Auswirkung von fettigem Essen an normal- und übergewichtigen Jungen kein Anhalt [55].

Da es bisher keinen Standard zur Erzeugung postprandialer Triglyceridämien gibt, fällt aufgrund unterschiedlicher Test- und Messprotokolle der direkte Vergleich zwischen Studien schwer. Für ihre Tests benutzte die Arbeitsgruppe der Universität Utrecht einem dem oTTT ähnlichen TG-Toleranztest, bei dem die Probanden Sahne mit 40% Fettgehalt tranken. Die Menge wurde dabei nach der Körperoberfläche bemessen [110]. Diese Studien erfolgten jedoch teilweise ohne Kontrollgruppen, daher sind die Ergebnisse schwierig einzuordnen bzw. zu interpretieren [2]. Auffällig an den Ergebnissen der Arbeitsgruppe der Universität Utrecht ist, dass Statine scheinbar die postprandiale Expression von CD11b auf Monozyten verzögern und es unter Statin-Therapie erst nach 8 Stunden zu einem milden Anstieg der MFI von CD11b auf Monozyten kommt [111].

In der vorliegenden Studie nahmen 89,7 % aller Teilnehmer im Rahmen ihrer KHK-Sekundärprävention Statine zur Cholesterinsenkung ein. Daher ist es möglich, dass der Nachbeobachtungszeitraum der vorliegenden Studie mit 5 Stunden zu kurz war um derartige Effekte beobachten zu können.

Dass Statine einen verzögernden und abschwächenden Effekt auf die triglyceridinduzierte CD11b Expression von Monozyten haben, ist angesichts der pleiotropischen Wirkweise dieser Medikamentenklasse nicht unwahrscheinlich. Hierfür spricht, dass Weber et al. in ihrer Studie eine geminderte CD11b-Expression bei Patienten mit Hypercholesterinämie unter Therapie mit Statinen fanden [116].

Es ist bekannt, dass HMG-CoA-Reduktasehemmer nicht nur den Cholesterinstoffwechsel beeinflussen, sondern auch eine relevante antiinflammatorische Effektkomponente besitzen [96]. In verschiedenen Studien wurden unter Statin-Therapie erniedrigte Serumkonzentrationen von CRP und von inflammatorisch wirksamen Cytokinen beobachtet [3]. So wurde für verschiedene Statine ein Einfluss beobachtet sowohl auf die Monozyten Migration und Adhäsion sowie die Ausschüttung von MCP-1 und sICAM-1 als auch auf die Expression von Monozyten-Oberflächenmolekülen wie TLR4 [62].

In der anderen Studie zur postprandialen CD11b-Expression wurden standardisierte Mahlzeiten verwendet. Diese bestanden überwiegend aus Fetten, aber auch aus Kohlenhydraten und Proteinen. Daher kann nicht ausgeschlossen werden, dass die in dieser Studie gemessenen Entzündungsreaktionen auf andere verwendete Nahrungsbestandteile zurückzuführen sind [28]. Besonders erhöhte Glucose-Spiegel könnten Ergebnisse in diese Richtung beeinflusst haben [73][93]. In der vorliegenden Studie fiel die Serumglucose während des Zeitraumes der oTTT-Messung leicht innerhalb ihrer physiologischen Grenzen ab. Diese Veränderung war aber so gering, dass von einem biologischen Einfluss auf die gemessenen Entzündungsmarker eher nicht auszugehen ist. Der beobachtete Abfall der Blutglucose während der Zeit des oTTTs ist am ehesten durch die lange Phase ohne relevante Zuckeraufnahme der Patienten, vom Abend des Vortages bis zur letzten Blutabnahme um etwa 13 Uhr des Testtages, zu erklären.

Das Maximum der Hochregulierung von ICAM-1, stimuliert durch Endotoxin, wird auf Endothelzellen von Ratten erst nach 9-12 Stunden erreicht [77]. Es ist dementsprechend gut möglich, dass Veränderungen von sICAM-1, das durch proteolytische Abspaltung aus ICAM-1 gebildet wird, erst nach Ende des Nachbeobachtungszeitraumes unserer Studie auftraten.

Alle in der PUFA-Studie gemessenen Oberflächenrezeptoren (CD14, CD16, CD11b, CCR2) und sICAM-1 werden aufgrund vielfältiger Studienergebnisse in einen direkten Zusammenhang mit der Pathogenese der Atherosklerose gebracht [10][20][41][80][87][123]. Des Weiteren ist die pathophysiologische Bedeutung von Monozyten für die Atherosklerose unumstritten. Allerdings können atherosklerotische Vorgänge beim Menschen nur schwer sichtbar gemacht werden. Unsere negativen Ergebnisse hinsichtlich der o.g. Parameter könnten auch damit zusammen hängen, dass aufgrund der verstärkten Aktivierung eine verstärkte Anheftung von Monozyten an das Endothel stattfindet und daher ein Teil dieser Zellen nicht im peripheren Blut messbar ist. In wieweit die im peripheren Blut messbaren Monozyten repräsentativ sind für die am Endothel gebundenen, an der Atherogenese beteiligten Monozyten und Makrophagen, ist leider bisher unzureichend untersucht.

Im Rahmen der Studie wurde das Verhältnis zwischen neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten bestimmt. Dies gilt bisher als der wichtigste bekannte Lymphozyten-Parameter zur Vorhersage der Langzeitmortalität eines kardialen Ereignisses [5]. Nach Fettaufnahme kam es in dieser Studie zu einem signifikanten Anstieg dieses Verhältnisses und ebenfalls des Verhältnisses zwischen Monozyten und Lymphozyten.

In den Studien der Arbeitsgruppe der Universität Utrecht wurde eine vergleichbare Änderung des Granulozyten- und Lymphozyten-Verhältnisses gefunden [109][110]. Auch hier kam es zu einem Anstieg der Neutrophilen mit Maximum 3 Stunden nach Sahnetrunk.

Im Fall der vorliegenden Studie ist es jedoch wahrscheinlich, dass die Veränderungen in der Leukozyten-Zusammensetzung des Blutes nicht durch den Anstieg der Blutfette hervorgerufen wurden. Eher lassen sich diese Veränderungen auf eine tageszeitabhängige Regulation des Immunsystems zurückführen. Dies konnte eine andere Arbeit der Forschungsgruppe unter Prof. Dr. U. Laufs aufzeigen, in der die Auswirkung des von uns benutzen oTTTs (250 ml Sahne, Zusammensetzung siehe Tab. 1, Seite 23) gegenüber 250 ml Wasser auf vaskuläre Entzündungsmarker und Monozytenaktivierung an gesunden Probanden untersucht wurde [95]. Diese tageszeitabhängigen Schwankungen in der Lymphozyten-Zusammensetzung stehen möglicherweise mit den Schwankungen des Kortisolspiegels in Zusammenhang [83].

5.2.4 Einfluss von ω 3-FS auf Entzündungsmarker

Während einige Studien zur Auswirkung von ω 3-FS auf die humoralen Entzündungsmarker CRP und auf sICAM-1, als Marker einer endothelialen Aktivierung existieren, findet sich in der Literatur bisher eine nur unzureichende Studienlage zum Effekt einer hochdosierten Gabe von ω 3-FS über mehrere Wochen auf monozytäre Oberflächenstrukturen.

In unserer Studienhypothese gingen wir von einer Reduktion inflammatorischer Entzündungsmarker aus, insbesondere von einer Attenuierung eines möglichen postprandialen Anstieges der gemessenen Inflammationsmarker.

Jedoch konnten wir in der vorliegenden Studie weder prä- noch postprandial eine signifikante Auswirkung der Einnahme von 4 g ω 3-FS pro Tag auf die untersuchten Oberflächenmarker monozytärer Aktivität (CD11b, CD14, CCR2 und CD16) sowie auf monozytäre Subgruppen, oder die humoralen Entzündungsmarker sICAM-1 und CRP feststellen. Die oben beschriebenen Veränderungen der Lymphozyten-Zusammensetzung während des Zeitraumes des oTTTs wurden ebenfalls nicht durch ω 3-FS-Einnahme beeinflusst.

Soweit bekannt untersuchte bisher nur eine andere Studie die Effekte ω 3-FS auf postprandiale Entzündungsvorgänge. In dieser Studie verglichen Plat et al. den Effekt einer Substitution von 1,2 g ω 3-FS mit dem einer diätisch forcierten Gewichtsreduktion [84]. Bei dieser Studie wurde eine Reduktion von MCP-1 durch ω 3-FS festgestellt, jedoch keine Auswirkung auf sICAM-1 und CRP. Diese Ergebnisse sind mit denen der PUFA-Studie kongruent. Anzumerken ist jedoch, dass angesichts der in Studie von Plat et al. sehr geringen ω 3-FS-Dosierung und der Größe von nur 11 Probanden, die Ergebnisse nur eingeschränkte Aussagefähigkeit besitzen. Aber auch in Studien, die ω 3-FS hochdosiert einsetzten, ließ sich keine signifikante Auswirkung auf den CRP-Spiegel feststellen [17][49].

Im Gegensatz hierzu stellte eine Metanalyse von 18 randomisierten Studien zur Wirkung von ω 3-FS auf die Konzentration gelöster Adhäsionsmoleküle fest, dass sICAM-1 bei Gesunden und bei Patienten mit Dyslipidaemie durch ω 3-FS signifikant gesenkt wird [120]. Dass ein derartiger Effekt in der vorliegenden PUFA-Studie nicht nachweisbar war, könnte an dem hohen Prozentsatz der Studienteilnehmer unter Dauertherapie mit Statinen und deren antinflammatorischen Wirkungskomponente gelegen haben.

5.2.5 Messung des oxidativen Stresses

In unserer Studienhypothese gingen wir davon aus, dass postprandial erhöhte TG zu verstärktem systemischen oxidativen Stress führen und diese Reaktion möglicherweise durch ω 3-FS beeinflusst wird. Um den oxidativen Stress in der vorliegenden Studie zu quantifizieren benutzen wir 8-Isoprostan. Dieses gehört zur Klasse der Isoprostaglandine, die bei der nicht-enzymatischen Oxidation von Arachidonsäure durch freie Sauerstoffradikale im Körper gebildet werden und als gute Surrogatparameter für den oxidativen Stress gelten [30][68]. Entgegen unserer Erwartungen konnten wir in dieser Studie keine erhöhten Plasmaspiegel von 8-Isoprostan nach Fettbelastung feststellen.

In der Literatur findet sich hinsichtlich der Fragestellung, ob erhöhte Konzentrationen von Fettsäuren zu oxidativem Stress führen, eine uneinheitliche Studienlage.

Während bei einigen Studien fettreiche Mahlzeiten zu einem Anstieg von Markern für oxidativen Stress führten [79][107], konnten andere Studien keinen Einfluss von Fetten auf den oxidativen Stress feststellen oder zeigten gar eine Verminderung des oxidativen Stresses nach Fettaufnahme [82].

Ex-vivo-Studien haben gezeigt, dass Fettsäuren ein desto höheres oxidatives Potential besitzen, je mehr ungesättigte Verbindungen sie aufweisen [13]. Daher besteht die Möglichkeit, dass ω 3-FS als mehrfach ungesättigte FS selbst zu einer Erhöhung des oxidativen Stresses führen könnten.

In-vivo-Studien zu diesem Thema ergaben unterschiedliche Ergebnisse. Eine Studie zeigte, dass die Substitution von ω 3-FS zu vermehrter Isoprostanbildung nach Sport führt [57]. Eine andere Studie fand keinen Unterschied zwischen Fettbelastungen mit gesättigten und ungesättigten Fettsäuren (EPA und DHA) auf der Plasmakonzentration von 8-Isoprostan [38]. In zwei weiteren Studien wurde eine Reduktion des oxidativen Stresses nach Substitution von ω 3-FS festgestellt [46][66].

In der vorliegenden Studie wurde die Konzentration von 8-Isoprostan im Plasma durch die Einnahme von 4g ω 3-FS über den Zeitraum von 3 Wochen nicht signifikant beeinflusst.

6 Schlussfolgerung

In der vorliegenden randomisierten placebokontrollierten Cross-Over-Studie führte die Einnahme von 4 g ω 3-FS pro Tag über einen Zeitraum von 3 Wochen bei KHK-Patienten ohne Diabetes und mit zusätzlicher Statin-Langzeittherapie zu einer signifikanten, prozentual vergleichbaren Reduktion sowohl der Nüchtern-TG als auch der postprandialen TG. Dieses Ergebnis zeigt, dass 4 g ω 3-FS in diesem Patientenkollektiv nicht nur zur Senkung der Nüchtern-Triglyceridkonzentration sondern auch von postprandialen TG geeignet sind.

Die TG-Senkung durch ω 3-FS erfolgte dabei selektiv ohne Beeinflussung des Gesamtcholesterins oder des HDL- und des LDL-Cholesterins. Dadurch sind ω 3-FS sehr gut für weiterführende Langzeitstudien geeignet, welche untersuchen inwieweit Patienten von einer selektiven triglyzeridsenkenden Therapie profitieren können. Solche Studien würden zum Verständnis des Einflusses erhöhter TG-Spiegel auf die Pathogenese der Atherosklerose beitragen.

Im Gegensatz zu unserer Studienhypothese konnten wir keinen Effekt von postprandialen TG auf monozytäre Aktivierung und Entzündungsprozesse nachweisen. Ebenfalls zeigte sich keine Modifikation von entzündlichen Prozessen oder der Monozyten-Aktivierung durch die Einnahme von 4 g ω 3-FS pro Tag.

Ein Großteil aller Studienteilnehmer nahmen Statine ein. Aufgrund der antiinflammatorischen Wirkung dieser Substanzgruppe ist nicht auszuschließen, dass in unserer Studie mögliche postprandiale inflammatorische Effekte abgeschwächt oder verzögert auftreten könnten und so während des Nachbeobachtungszeitraums nicht detektiert wurden. Weitergehende vergleichende Studien postinflammatorischer Effekte bei Patienten ohne Statineinnahme sind daher sicherlich sinnvoll.

Falls in dieser Studie die gleichzeitige Einnahme von Statinen tatsächlich dafür verantwortlich sein sollte, dass keine Effekte auf inflammatorische Parameter festgestellt werden konnten, scheint in Bezug auf die gemessenen Entzündungsparameter eine Kombinationstherapie von ω 3-FS mit Statinen keinen Vorteil gegenüber einer Statinmonotherapie zu besitzen.

7 Literaturverzeichnis

- [1] **Albert CM, Hennekens CH, O'Donnell CJ, Ajani UA, Carey VJ, Willett WC, Ruskin JN, Manson JE, (1998)** „Fish Consumption and Risk of Sudden Cardiac Death.“ *JAMA.*, 279: 23-8
- [2] **Alipour A, van Oostrom AJ, Izraeljan A, Verseyden C, Collins JM, Frayn KN, Plokker TW, Elte JW, Castro Cabezas M, (2008)** „Leukocyte Activation by Triglyceride-Rich Lipoproteins.“ *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 28: 792-7
- [3] **Antonopoulos AS, Margaritis M, Lee R, Channon K, Antoniades C, (2012)** „Statins as Anti-Inflammatory Agents in Atherogenesis: Molecular Mechanisms and Lessons from the Recent Clinical Trials.“ *Curr Pharm Des.*, 18: 1519-30
- [4] **Augustus A, Yagyu H, Haemmerle G, Bensadoun A, Vikramadithyan RK, Park SY, Kim JK, Zechner R, Goldberg IJ, (2004)** „Cardiac-specific Knock-out of Lipoprotein Lipase Alters Plasma Lipoprotein Triglyceride Metabolism and Cardiac Gene Expression.“ *J Biol Chem.*, 279: 25050-7
- [5] **Azab B, Zaher M, Weiserbs K, Torbey E, Lacossiere K, Gaddam S, Gobunsuy R, Jadonath S, Baldari D, McCord D, Lafferty J, (2010)** „Usefulness of neutrophil to lymphocyte ratio in predicting short- and long-term mortality after non-ST-elevation myocardial infarction.“ *Am J Cardiol.*, 106: 470–6
- [6] **Balk EM, A. Lichtenstein AH, Chung M, Kupelnick B, Chew P, Lau J, (2006)** „Effects of Omega-3 Fatty Acids on Serum Markers of Cardiovascular Disease Risk: a Systematic Review.“ *Atherosclerosis*, 189: 19-30
- [7] **Bansal S, Burning JE, Rifai N, Mora S, Sacks FM, Ridker PM, (2007)** „Fasting Compared with Nonfasting Triglycerides and Risk of Cardiovascular Events in Women.“ *JAMA.*, 298: 309-16
- [8] **Belge KU, Dayyani F, Horelt A, Siedlar M, Frankenberger M, Frankenberger B, Espevik T, Ziegler-Heitbrock L, (2002)** „The Proinflammatory CD14+CD16+DR++ Monocytes are a Major Source of TNF.“ *J Immunol.*, 168: 3536-42
- [9] **Berg KE, Ljungcrantz I, Andersson L, Bryngelsson C, Hedblad B, Fredrikson GN, Nilsson J, Björkbacka H, (2012)** „Elevated CD14++CD16- Monocytes Predict Cardiovascular Events.“ *Circ Cardiovasc Genet.*, 5: 122-31

- [10] **Berliner S, Rogowski O, Rotstein R, Fusman R, Shapira I, Bornstein NM, Prochorov V, Roth A, Keren G, Eldor A, Zeltser D, (2000)** „Activated Polymorphonuclear Leukocytes and Monocytes in the Peripheral Blood of Patients with Ischemic Heart and Brain Conditions Correspond to the Presence of Multiple Risk Factors for Atherothrombosis.“ *Cardiology*, 94: 19-25
- [11] **Chi YW, Jaff MR, (2008)** „Optimal Risk Factor Modification and Medical Management of the Patient with Peripheral Arterial Disease.“ *Catheter Cardiovasc Interv.*, 71: 475-89
- [12] **Cohn JS, McNamara JR, Cohn SD, Ordovas JM, Schaefer EJ, (1988)** „Plasma Apolipoprotein Changes in the Triglyceride-rich Lipoprotein Fraction of Human Subjects fed a Fat-rich Meal.“ *J Lipid Res.*, 29: 925-36
- [13] **Cosgrove JP, Church DF, Pryor WA, (1987)** „The Kinetics of the Autoxidation of Polyunsaturated Fatty Acids.“ *Lipids*, 22: 299-304
- [14] **Couillard C, Bergeron N, Prud'homme D, Bergeron J, Tremblay A, Bouchard C, Mauriège P, Després JP, (1998)** „Postprandial Triglyceride Response in Visceral Obesity in Men.“ *Diabetes*, 47: 953-60
- [15] **Cushing SD, Berliner JA, Valente AJ, Territo MC, Navab M, Parhami F, Gerrity R, Schwartz CJ, Fogelman AM, (1990)** „Minimally Modified Low Density Lipoprotein Induces Monocyte Chemotactic Protein 1 in Human Endothelial Cells and Smooth Muscle Cells.“ *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 87: 5134-8
- [16] **Cyrus T, Witztum JL, Rader DJ, Tangirala R, Fazio S, Linton MF, Funk CD, (1999)** „Disruption of the 12/15-Lipoxygenase Gene Diminishes Atherosclerosis in Apo E-Deficient Mice.“ *J Clin Invest.*, 103: 1597-604
- [17] **Damsgaard CT, Frøkiær H, Andersen AD, Lauritzen L, (2008)** „Fish Oil in Combination with High or Low Intakes of Linoleic Acid Lowers Plasma Triacylglycerols but does not Affect other Cardiovascular Risk Markers in Healthy Men.“ *J Nutr.*, 138: 1061-6
- [18] **da Silva Correia J, Soldau K, Christen U, Tobias PS, Ulevitch RJ, (2001)** „Lipopolysaccharide is in Close Proximity to Each of the Proteins in its Membrane Receptor Complex. Transfer from CD14 to TLR4 and MD-2.“ *J Biol Chem.*, 276: 21129-35
- [19] **den Hartigh LJ, Altman R, Norman JE und Rutledge JC, (2014)** „Postprandial VLDL Lipolysis Products Increase Monocyte Adhesion and Lipid Droplet Formation via Activation of ERK2 and NFκB.“ *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 306: 109-20

- [20] **De Servi S, Mazzone A, Ricevuti G, Mazzucchelli I, Fossati G, Gritti D, Angoli L, Specchia G, (1995)** „Clinical and Angiographic Correlates of Leukocyte Activation in Unstable Angina.“ *J Am Coll Cardiol.*, 26: 1146-50
- [21] **Dong ZM, Brown AA, Wagner DD, (2000)** „Prominent Role of P-Selectin in the Development of Advanced Atherosclerosis in ApoE-deficient Mice.“ *Circulation*, 101: 2290-5
- [22] **Dröge W, (2002)** „Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function.“ *Physiol Rev.*, 82: 47-95
- [23] **Durrington PN, Bhatnagar D, Mackness MI, Morgan J, Julier K, Khan MA, France M, (2001)** „An Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid Concentrate Administered for one Year Decreased Triglycerides in Simvastatin Treated Patients with Coronary Heart Disease and Persisting Hypertriglyceridaemia.“ *Heart*, 85: 544-8
- [24] **Fiore E, Fusco C, Romero P, Stamenkovic I, (2002)** „Matrix Metalloproteinase 9 (MMP-9/Gelatinase B) Proteolytically Cleaves ICAM-1 and Participates in Tumor Cell Resistance to Natural Killer Cell-Mediated Cytotoxicity.“ *Oncogene*, 21: 5213-23, 2002.
- [25] **Freiberg JJ, Tybjærg-Hansen A, Jensen JS, Nordestgaard BG, (2008)** „Nonfasting Triglycerides and Risk of Ischemic Stroke in the General Population.“ *JAMA.*, 300: 2142-52
- [26] **Frohlich J, Dobiasova M, Lear S, Lee KW, (2001)** „The Role of Risk Factors in the Development of Atherosclerosis.“ *Crit Rev Clin Lab Sci.*, 38: 401-40
- [27] **Goldberg IJ, Eckel RH, McPherson R, (2011)** „Triglycerides and Heart Disease: Still a Hypothesis?“ *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 31: 1716-25
- [28] **Gower RM, Wu H, Foster GA, Devaraj S, Jialal I, Ballantyne CM, Knowlton AA, Simon SI, (2011)** „CD11c/CD18 Expression is Upregulated on Blood Monocytes During Hypertriglyceridemia and Enhances Adhesion to Vascular Cell Adhesion Molecule-1.“ *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 31: 160-6
- [29] **Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M, (2000)** „NAD(P)H Oxidase: Role in Cardiovascular Biology and Disease.“ *Circ Res.*, 86: 494-501
- [30] **Griffiths HR, Møller L, Bartosz G, Bast A, Bertoni-Freddari C, Collins A, Cooke M, Coolen S, Haenen G, Hoberg AM, Loft S, Lunec J, Olinski R, Parry J, Pompella A, Poulsen H, Verhagen H, Astley SB, (2002)** „Biomarkers.“ *Mol Aspects Med.*, 23: 101-208

- [31] **Grundtman C, Wick G, (2011)** „The Autoimmune Concept of Atherosclerosis.“ *Curr Opin Lipidol.*, 22: 327-34
- [32] **Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico, (1999)** „Dietary Supplementation with n-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Vitamin E after Myocardial Infarction: Results of the GISSI-Prevenzione Trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico.“ *Lancet*, 354: 447-55
- [33] **Han KH, Tangirala RK, Green SR, Quehenberger O, (1998)** „Chemokine Receptor CCR2 Expression and Monocyte Chemoattractant Protein-1-Mediated Chemotaxis in Human Monocytes.“ *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 18: 1983-91
- [34] **Hansson KG, Libby P, (2006)** „The Immune Response in Atherosclerosis: a Double-edged Sword.“ *Nat Rev Immunol.*, 6: 508-19
- [35] **Harris WS, Connor WE, Alam N, Illingworth DR, (1988)** „Reduction of Postprandial Triglyceridemia in Humans by Dietary n-3 Fatty Acids.“ *J Lipid Res.*, 29: 1451-60
- [36] **Harris WS, Ginsberg HN, Arunakul N, Shachter NS, Windsor SL, Adams M, Berglund L, Osmundsen K, (1997)** „Safety and Efficacy of Omacor in Severe Hypertriglyceridemia.“ *J Cardiovasc Risk.*, 4: 385-91
- [37] **Hayaishi-Okano R, Yamasaki Y, Katakami N, Ohtoshi K, Gorogawa S, Kuroda A, Matsuhisa M, Kosugi K, Nishikawa N, Kajimoto Y, Hori M, (2002)** „Elevated C-Reactive Protein Associates with early-stage Carotid Atherosclerosis in Young Subjects with Type 1 Diabetes.“ *Diabetes Care*, 25: 1432-8
- [38] **Higdon JV, Liu J, Du SH, Morrow JD, Ames BN, Wander RC, (2000)** „Supplementation of Postmenopausal Women with Fish Oil Rich in eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid is not Associated with Greater in Vivo Lipid Peroxidation Compared with Oils Rich in Oleate and Linoleate as Assessed by Plasma Malondialdehyde and F(2)-Isoprostanes.“ *Am J Clin Nutr.*, 72: 714-22
- [39] **Hjerkinn EM, Seljeflot I, Ellingsen I, Berstad P, Hjermann I, Sandvik L, Arnesen H, (2005)** „Influence of Long-term Intervention with Dietary Counseling, Long-chain n-3 Fatty Acid Supplements, or Both on Circulating Markers of Endothelial Activation in Men with Long-standing Hyperlipidemia.“ *Am J Clin Nutr.*, 81: 583-9
- [40] **Hu FB, Bronner L, Willett WC, Stampfer MJ, Rexrode KM, Albert CM, Hunter D, Manson JE, (2002)** „Fish and Omega-3 Fatty Acid Intake and Risk of Coronary Heart Disease in Women.“ *JAMA*, 287: 1815-21

- [41] **Huang Y, Yin H, Wang J, Ma X, Zhang Y, Chen K, (2012)** „The Significant Increase of FcγRIIIA (CD16), a Sensitive Marker, in Patients with Coronary Heart Disease.“ *Gene*, 504: 284-7
- [42] **Iovine C, Vaccaro O, Gentile A, Romano G, Pisanti F, Riccardi G, Rivellese AA, (2004)** „Post-prandial Triglyceride Profile in a Population-based Sample of Type 2 Diabetic Patients.“ *Diabetologia*, 47: 19-22
- [43] **Jeppesen J, Zhou MY, Chen YD, Reaven GM, (1994)** „Effect of Metformin on Postprandial Lipemia in Patients with Fairly to Poorly Controlled NIDDM.“ *Diabetes Care*, 17: 1093-9
- [44] **Jialal I, Devaraj S, (2003)** „Antioxidants and Atherosclerosis: Don't Throw Out the Baby With the Bath Water.“ *Circulation*, 107: 926-8
- [45] **Kabłak-Ziembicka A, Przewłocki T, Stępień E, Pieniążek P, Rzeźnik D, Śliwiak D, Komar M, Tracz W, Podolec P, (2011)** „Relationship between Carotid Intima-media Thickness, Cytokines, Atherosclerosis Extent and a two-year Cardiovascular Risk in Patients with Arteriosclerosis.“ *Kardiol Pol.*, 69: 1024-31
- [46] **Kiecolt-Glaser JK, Epel ES, Belury MA, Andridge R, Lin J, Glaser R, Malarkey WB, Hwang BS, Blackburn E, (2013)** „Omega-3 Fatty Acids, Oxidative Stress, and Leukocyte Telomere Length: A Randomized Controlled Trial.“ *Brain Behav Immun.*, 28: 16-24
- [47] **Kolovou GD, Daskalova DCh, Iraklianiou SA, Adamopoulou EN, Pilatis ND, Hatzigeorgiou GC, Cokkinos DV, (2003)** „Postprandial Lipemia in Hypertension.“ *J Am Coll Nutr.*, 22: 80-7
- [48] **Kromann N, Green A, (1980)** „Epidemiological Studies in the Upernavik District Greenland. Incidence of Some Chronic Diseases 1950-1974.“ *Acta Med Scand.*, 208: 401-6
- [49] **Krysiak R, Gdula-Dymek A, Okopien B, (2011)** „Monocyte-Suppressing Effect of Bezafibrate but not Omega-3 Fatty Acids in Patients with Isolated Hypertriglyceridaemia.“ *Basic Clin Pharmacol Toxicol.*, 109: 23-9
- [50] **Kulbertus H, Lancellotti P, (2012)** „[Atherosclerosis: a Complex Disease].“ *Rev Med Liege*, 67: 273-8
- [51] **Kuziel WA, Morgan SJ, Dawson TC, Griffin S, Smithies O, Ley K, Maeda N (1997)** „Severe Reduction in Leukocyte Adhesion and Monocyte Extravasation in Mice Deficient in CC Chemokine Receptor 2.“ *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 94: 12053-8

- [52] Landmann R, Knopf HP, Link S, Sansano S, Schumann R, Zimmerli W, (1996) „Human Monocyte CD14 is Upregulated by Lipopolysaccharide.“ *Infect Immun.*,64: 1762-9
- [53] Lee S, Burns SF, White D, Kuk JL, Arslanian S, (2013) „Effects of Acute Exercise on Postprandial Triglyceride Response after a High-Fat Meal in Overweight Black and White Adolescents.“ *Int J Obes (Lond).*, 37: 966-71
- [54] Luttmann W, Bratke K, Kupper M, Myrtek D, (2009) „Der Experimentator Immunologie“ 3. Hrsg., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- [55] MacEneaney OJ, Harrison M, O’Gorman DJ, Pankratieva EV, O’Connor PL, Moyna NM, (2009) „Effect of Prior Exercise on Postprandial Lipemia and Markers of Inflammation and Endothelial Activation in normal Weight and Overweight Adolescent Boys.“ *Eur J Appl Physiol.*, 106: 721-9
- [56] Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS, (2005) „Oxidative Stress and Vascular Disease.“ *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 25: 29-38
- [57] McAnulty SR, Nieman DC, Fox-Rabinovich M, Duran V, McAnulty LS, Henson DA, Jin F, Landram MJ, (2010) „Effect of n-3 Fatty Acids and Antioxidants on Oxidative Stress after Exercise.“ *Med Sci Sports Exerc.*, 42: 1704-11
- [58] Mehta NN, Reilly MP, (2012) „Monocyte Mayhem: do Subtypes Modulate Distinct Atherosclerosis Phenotypes?“ *Circ Cardiovasc Genet.*, 5: 7-9
- [59] Mihas C, Kolovou GD, Mikhailidis DP, Kovar J, Lairon D, Nordestgaard BG, Ooi TC, Perez-Martinez P, Bilianou H, Anagnostopoulou K, Panotopoulos G, (2011) „Diagnostic Value of Postprandial Triglyceride Testing in Healthy Subjects: a Meta-Analysis.“ *Curr Vasc Pharmacol.*, 9: 271-80
- [60] Miller LJ, Bainton DF, Borregaard N, Springer TA, (1987) „Stimulated Mobilization of Monocyte Mac-1 and p150,95 Adhesion Proteins from an Intracellular Vesicular Compartment to the Cell Surface.“ *J Clin Invest.*, 80: 535-44
- [61] Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, Bittner V, Criqui MH, Ginsberg HN, Goldberg AC, Howard WJ, Jacobson MS, Kris-Etherton PM, Lennie TA, Levi M, Mazzone T, Pennathur S; American Heart Association Clinical Lipidology, Thrombosis, and Prevention Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism; Council on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology; Council on Cardiovascular Nursing; Council on the Kidney in Cardiovascular Disease, (2011) „Triglycerides and Cardiovascular Disease: a Scientific Statement from the American Heart Association.“ *Circulation*, 123: 2292-333

- [62] **Mizuno Y, Jacob RF, Mason RP, (2011)** „Inflammation and the Development of Atherosclerosis.“ *J Atheroscler Thromb.*, 18: 351-8
- [63] **Mohamed AA, Rashed L, Amin H, Abu-Farha M, El Fadl SA, Pakhoum S, (2010)** „K469E Polymorphism of the Intercellular Adhesion Molecule-1 Gene in Egyptians with Coronary Heart Disease.“ *Ann Saudi Med.*, 30: 432-6
- [64] **Mora S, Rifai N, Buring JE, Ridker PM, (2008)** „Fasting Compared with Nonfasting Lipids and Apolipoproteins for Predicting Incident Cardiovascular Events.“ *Circulation*, 118: 993-1001
- [65] **Mori TA, Burke V, Puddey IB, Watts GF, O’Neal DN, Best JD, Beilin LJ, (2000)** „Purified Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids have differential Effects on Serum Lipids and Lipoproteins, LDL Particle Size, Glucose, and Insulin in Mildly Hyperlipidemic Men.“ *Am J Clin Nutr.*, 71: 1085-94
- [66] **Mori TA, Puddey IB, Burke V, Croft KD, Dunstan DW, Rivera JH, Beilin LJ, (2000)** „Effect of Omega 3 Fatty Acids on Oxidative Stress in Humans: GC-MS Measurement of Urinary F2-Isoprostane Excretion.“ *Redox Rep.*, 5: 45-6
- [67] **Mori TA, Woodman RJ, Burke V, Puddey IB, Croft KD, Beilin LJ, (2003)** „Effect of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid on Oxidative Stress and Inflammatory Markers in Treated-Hypertensive Type 2 Diabetic Subjects.“ *Free Radic Biol Med.*, 35: 772-81
- [68] **Morrow JD, (2000)** „The Isoprostanes: their Quantification as an Index of Oxidant Stress Status in Vivo.“ *Drug Metab Rev.*, 32: 377-85
- [69] **Morrow JD, (2005)** „Quantification of Isoprostanes as Indices of Oxidant Stress and the Risk of Atherosclerosis in Humans“ *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 25: 279-86
- [70] **Motojima K, Azuma K, Kitahara Y, Miura K, Mita T, Hirose T, Fujitani Y, Kawamori R, Watada H, (2008)** „Repetitive Postprandial Hypertriglyceridemia Induces Monocyte Adhesion to Aortic Endothelial Cells in Goto-Kakizaki Rats.“ *Endocr J.*, 55: 373-9
- [71] **Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, de Ferranti S, Després JP, Fullerton HJ, Howard VJ, Huffman MD, Judd SE, Kissela BM, Lackland DT, Lichtman JH, Lisabeth LD, Liu S, Mackey RH, Matchar DB, McGuire DK, Mohler ER 3rd, Moy CS, Muntner P, Mussolino ME, Nasir K, Neumar RW, Nichol G, Palaniappan L, Pandey DK, Reeves MJ, Rodriguez CJ, Sorlie PD, Stein J, Towfighi A, Turan TN, Virani SS, Willey JZ, Woo D, Yeh RW, Turner MB, (2015)** „Heart disease and stroke statistics--2015 update: a report from the American Heart Association.“ *Circulation*, 131: e29-322

- [72] **Myhrstad MC, Retterstøl K, Telle-Hansen VH, Ottestad I, Halvorsen B, Holven KB, Ulven SM, (2011)** „Effect of Marine n-3 Fatty Acids on Circulating Inflammatory Markers in Healthy Subjects and Subjects with Cardiovascular Risk Factors.“ *Inflamm Res.*,60: 309-19
- [73] **Nandy D, Janardhanan R, Mukhopadhyay D, Basu A, (2011)** „Effect of Hyperglycemia on Human Monocyte Activation.“ *J Investig Med.*,59: 661-7
- [74] **National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III), (2002)** „Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report.“ *Circulation*, 106: 3143-421
- [75] **Norata GD, Grigore L, Raselli S, Redaelli L, Hamsten A, Maggi F, Eriksson P, Catapano AL, (2007)** „Post-prandial Endothelial Dysfunction in Hypertriglyceridemic Subjects: Molecular Mechanisms and Gene Expression Studies.“ *Atherosclerosis*, 193: 321-7
- [76] **Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A, (2007)** „Nonfasting Triglycerides and Risk of Myocardial Infarction, Ischemic Heart Disease, and Death in Men and Women.“ *JAMA*, 298: 299-308
- [77] **Panés J, Perry MA, Anderson DC, Manning A, Leone B, Cepinskas G, Rosenbloom CL, Miyasaka M, Kvietys PR, Granger ND, (1995)** „Regional Differences in Constitutive and Induced ICAM-1 Expression in Vivo.“ *Am J Physiol.*, 269: 1955-64
- [78] **Parhofer KG, Barrett PH, Schwandt P, (2000)** „Atorvastatin Improves Postprandial Lipoprotein Metabolism in Normolipidemic Subjects.“ *J Clin Endocrinol Metab.*, 85: 4224-30
- [79] **Patel C, Ghanim H, Ravishankar S, Sia CL, Viswanathan P, Mohanty P, Dandona P, (2007)** „Prolonged Reactive Oxygen Species Generation and Nuclear Factor-kappaB Activation after a High-Fat, High-Carbohydrate Meal in the Obese.“ *J Clin Endocrinol Metab.*, 92: 4476-9
- [80] **Patiño R, Ibarra J, Rodriguez A, Yagüe MR, Pintor E, Fernandez-Cruz A, Figueredo A, (2000)** „Circulating Monocytes in Patients with Diabetes Mellitus, Arterial Disease, and Increased CD14 Expression.“ *Am J Cardiol.*, 85: 1288-91
- [81] **Patsch JR, Miesenböck G, Hopferwieser T, Mühlberger V, Knapp E, Dunn JK, Gotto AM Jr; Patsch W, (1992)** „Relation of Triglyceride Metabolism and Coronary Artery Disease. Studies in the Postprandial State.“ *Arterioscler Thromb.*, 12: 1336-45

- [82] **Peairs AD, Rankin JW, Lee YW, (2011)** „Effects of Acute Ingestion of Different Fats on Oxidative Stress and Inflammation in Overweight and Obese Adults.“ *Nutr J.*, 10: 122
- [83] **Petrovsky N, McNair P, Harrison LC, (1998)** „Diurnal Rhythms of pro-inflammatory Cytokines: Regulation by Plasma Cortisol and Therapeutic Implications.“ *Cytokine*, 10: 307-12
- [84] **Plat J, Jellema A, Ramakers J, Mensink RP, (2007)** „Weight Loss, but not Fish Oil Consumption, Improves Fasting and Postprandial Serum Lipids, Markers of Endothelial Function, and Inflammatory Signatures in Moderately Obese Men.“ *J Nutr.*, 137: 2635-40
- [85] **Pownall HJ, Brauchi D, Kiliç C, Osmundsen K, Pao Q, Payton-Ross C, Gotto AM Jr, Ballantyne CM, (1999)** „Correlation of Serum Triglyceride and its Reduction by omega-3 Fatty Acids with Lipid Transfer Activity and the Neutral Lipid Compositions of High-Density and Low-Density Lipoproteins.“ *Atherosclerosis*, 143: 285-97
- [86] **Rauch B, Schiele R, Schneider S, Diller F, Victor N, Gohlke H, Gottwik M, Steinbeck G, Del Castillo U, Sack R, Worth H, Katus H, Spitzer W, Sabin G, Senges J, OMEGA Study Group (2010)** „OMEGA, a Randomized, Placebo-controlled Trial to Test the Effect of Highly Purified Omega-3 Fatty Acids on Top of Modern Guideline-Adjusted Therapy after Myocardial Infarction.“ *Circulation*, 122: 2152-9
- [87] **Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J, (1998)** „Plasma Concentration of Soluble Intercellular Adhesion Molecule 1 and Risks of Future Myocardial Infarction in Apparently Healthy Men.“ *Lancet*, 351: 88-92
- [88] **Robledo O, Papaioannou A, Ochietti B, Beauchemin C, Legault D, Cantin A, King PD, Daniel C, Alakhov VY, Potworowski EF, St-Pierre Y, (2003)** „ICAM-1 Isoforms: Specific Activity and Sensitivity to Cleavage by Leukocyte Elastase and Cathepsin G.“ *Eur J Immunol.*, 33: 1351-60
- [89] **Ronald JA, Ionescu CV, Rogers KA, Sandig M, (2001)** „Differential Regulation of Transendothelial Migration of THP-1 Cells by ICAM-1/LFA-1 and VCAM-1/VLA-4.“ *J Leukoc Biol.*, 70: 601-9
- [90] **Ross R, Glomset J, Harker L, (1977)** „Response to Injury and Atherogenesis.“ *American Am J Pathol.*, 86: 675-84
- [91] **Rothe G, Herr AS, Stöhr J, Abletshauser C, Weidinger G, Schmitz G, (1999)** „A More Mature Phenotype of Blood Mononuclear Phagocytes is Induced by Fluvastatin Treatment in Hypercholesterolemic Patients with Coronary Heart Disease.“ *Atherosclerosis*, 144: 251-61

- [92] **Sampson MJ, Davies IR, Brown JC, Morgan V, Richardson T, James AJ, Sampson AP, Hughes DA, (2001)** „n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation, Monocyte Adhesion Molecule Expression and Pro-Inflammatory Mediators in Type 2 Diabetes Mellitus.“ *Diabet Med.*, 18: 51-8
- [93] **Sampson MJ, Davies IR, Brown JC, Ivory K, Hughes DA, (2002)** „Monocyte and Neutrophil Adhesion Molecule Expression During Acute Hyperglycemia and after Antioxidant Treatment in Type 2 Diabetes and Control Patients.“ *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 22: 1187-93
- [94] **Scherberich JE, Nockher WA, (1999)** „CD14 ++ Monocytes, CD14 + /CD16 + Subset and Soluble CD14 as Biological Markers of Inflammatory Systemic Diseases and Monitoring Immunosuppressive Therapy.“ *Clin Chem Lab Med.*, 37: 209-13
- [95] **Schirmer SH, Werner CM, Binder SB, Faas ME, Custodis F, Böhm M, Laufs U, (2012)** „Effects of Omega-3 Fatty Acids on Postprandial Triglycerides and Monocyte Activation.“ *Atherosclerosis*, 225: 166-72
- [96] **Schönbeck U, Libby P, (2004)** „Inflammation, Immunity, and HMG-CoA Reductase Inhibitors: Statins as Antiinflammatory Agents?“ *Circulation*, 109: II18-26
- [97] **Schwartz EA, Reaven PD, (2012)** „Lipolysis of Triglyceride-Rich Lipoproteins, Vascular Inflammation, and Atherosclerosis.“ *Biochim Biophys Acta.*, 1821: 858-66
- [98] **Sica A, Sacconi A, Borsatti A, Power CA, Wells TN, Luini W, Polentarutti N, Sozzani S, Mantovani A, (1997)** „Bacterial Lipopolysaccharide Rapidly Inhibits Expression of C–C Chemokine Receptors in Human Monocytes.“ *J Exp Med.*, 185: 969-74
- [99] **Skulas-Ray AC, West SG, Davidson MH, Kris-Etherton PM, (2008)** „Omega-3 Fatty Acid Concentrates in the Treatment of moderate Hypertriglyceridemia.“ *Expert Opin. Pharmacother.*, 9: 1237-48
- [100] **Starikova EA, Lebedeva AM, Freidlin IS, (2010)** „[CD14++CD16- and CD14+CD16+ Human Monocytes Adhesion to Endothelial Cells.]“ *Tsitologiya*, 52: 380-3
- [101] **Syvänne M, Vuorinen-Markkola H, Hilden H, Taskinen MR, (1993)** „Gemfibrozil Reduces Postprandial Lipemia in non-insulin-dependent Diabetes Mellitus.“ *Arterioscler Thromb.*, 13: 286-95
- [102] **Talayero BG, Sacks FM, (2011)** „The Role of Triglycerides in Atherosclerosis.“ *Curr Cardiol Rep.*, 13: 544-52

- [103] **Tangirala RK, Murao K, Quehenberger O, (1997)** „Regulation of Expression of the Human Monocyte Chemotactic Protein-1 Receptor (hCCR2) by Cytokines.“ *J Biol Chem.*, 272: 8050-6
- [104] **Tegos Tj, Kalodiki E, Sabetai MM, Nicolaidis AN, (2001)** „The Genesis of Atherosclerosis and Risk Factors: a Review.“ *Angiology*, 52: 89-98
- [105] **Tomkin GH, Owens D, (2012)** „The Chylomicron: Relationship to Atherosclerosis.“ *Int J Vasc Med.*, 784536
- [106] **Trøseid M, Arnesen H, Hjerkin EM, Seljeflot I, (2009)** „Serum Levels of Interleukin-18 are Reduced by Diet and n-3 Fatty Acid Intervention in Elderly High-risk Men.“ *Metabolism*, 58: 1543-9
- [107] **Tsai WC, Li YH, Lin CC, Chao TH, Chen JH, (2004)** „Effects of Oxidative Stress on Endothelial Function after a High-Fat Meal“ *Clin Sci (Lond).*, 106: 315-9
- [108] **Tsimikas S, Miller YI, (2011)** „Oxidative Modification of Lipoproteins: Mechanisms, Role in Inflammation and Potential Clinical Applications in Cardiovascular Disease.“ *Curr Pharm Des.*, 17: 27-37
- [109] **van Oostrom AJ, Sijmonsma TP, Verseyden C, Jansen EH, de Koning EJ, Rabelink TJ, Castro Cabezas M, (2003)** „Postprandial Recruitment of Neutrophils may Contribute to Endothelial Dysfunction.“ *J Lipid Res.*, 44: 576-83
- [110] **van Oostrom AJ, Rabelink TJ, Verseyden C, Sijmonsma TP, Plokker HW, De Jaegere PP, Cabezas MC, (2004)** „Activation of Leukocytes by Postprandial Lipemia in Healthy Volunteers.“ *Atherosclerosis*, 177: 175-82
- [111] **van Oostrom AJ, Plokker HW, van Asbeck BS, Rabelink TJ, van Kessel KP, Jansen EH, Stehouwer CD, Cabezas MC, (2006)** „Effects of Rosuvastatin on Postprandial Leukocytes in mildly Hyperlipidemic Patients with Premature Coronary Sclerosis.“ *Atherosclerosis.*, 185: 331-9
- [112] **van Oostrom AJ, Alipour A, Sijmonsma TP, Verseyden C, Dallinga-Thie GM, Plokker HW, Castro Cabezas M, (2009)** „Comparison of Different Methods to Investigate Postprandial Lipaemia.“ *Neth J Med.*, 67: 13-20
- [113] **Wang H, Knaub LA, Jensen DR, Young Jung D, Hong EG, Ko HJ, Coates AM, Goldberg IJ, de la Houssaye BA, Janssen RC, McCurdy CE, Rahman SM, Soo Choi C, Shulman GI, Kim JK, Friedman JE, Eckel RH, (2009)** „Skeletal Muscle-specific Deletion of Lipoprotein Lipase Enhances Insulin Signaling in Skeletal Muscle but causes Insulin Resistance in Liver and other Tissues.“ *Diabetes*, 58: 116-24

- [114] **Warboys CM, N. Amini N, de Luca A, Evans PC, (2011)**, „The Role of Blood Flow in Determining the Sites of Atherosclerotic Plaques.“ *F1000 Med Rep.*, 3:5
- [115] **Weber C, Erl W, Weber PC, (1995)** „Enhancement of Monocyte Adhesion to Endothelial Cells by Oxidatively Modified Low-Density Lipoprotein is Mediated by Activation of CD11b.“ *Biochem Biophys Res Commun.*, 206: 621-8
- [116] **Weber C, Erl W, Weber KS, Weber PC, (1997)** „HMG-CoA Reductase Inhibitors Decrease CD11b Expression and CD11b-Dependent Adhesion of Monocytes to Endothelium and Reduce Increased Adhesiveness of Monocytes Isolated from Patients with Hypercholesterolemia.“ *J Am Coll Cardiol.*, 30: 11212-7
- [117] **Wehinger A, Tancevski I, Schgoer W, Eller P, Hochegger K, Morak M, Hermetter A, Ritsch A, Patsch JR, Foeger B, (2007)** „Phospholipid Transfer Protein Augments Apoptosis in THP-1-derived Macrophages Induced by Lipolyzed Hypertriglyceridemic Plasma.“ *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*27: 908-15
- [118] **Werner C, Filmer A, Fritsch M, Groenewold S, Gräber S, Böhm M, Laufs U, (2014)** „Risk Prediction with Triglycerides in Patients with Stable Coronary Disease on Statin Treatment.“ *Clin Res Cardiol.*, 103: 984-97
- [119] **Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC, (1990)** „CD14, a Receptor for Complexes of Lipopolysaccharide (LPS) and LPS Binding Protein.“ *Science*, 249: 1431-3
- [120] **Yang Y, Lu N, Chen D, Meng L, Zheng Y, Hui R, (2012)** „Effects of n-3 PUFA Supplementation on Plasma Soluble Adhesion Molecules: a Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials.“ *Am J Clin Nutr.*, 95: 972-80
- [121] **Yokoyama M, Origasa H, Matsuzaki M, Matsuzawa Y, Saito Y, Ishikawa Y, Oikawa S, Sasaki J, Hishida H, Itakura H, Kita T, Kitabatake A, Nakaya N, Sakata T, Shimada K, Shirato K; Japan EPA lipid intervention study (JELIS) Investigators, (2007)** „Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis.“ *Lancet*, 369: 1090-8
- [122] **Yu JS, Park CS, Choi YS, Kim JY, Chung WB, Lee MY, Oh YS, Youn HY, Chung WS, Ihm SH, (2013)** „Elevated CD14⁺⁺CD16⁻ Monocyte Count is a Risk Factor for Coronary Artery Disease.“ *J Am Coll Cardiol.*, 61(10_S)
- [123] **Zhang S, Wang X, Zhang L, Yang X, Pan J, Ren G, (2011)** „Characterization of Monocyte Chemoattractant Proteins and CC Chemokine Receptor 2 Expression during Atherogenesis in Apolipoprotein E-null Mice.“ *J Atheroscler Thromb*, 18: 846-56

-
- [124] **Zheng C, Khoo C, Furtado J, Sacks FM, (2010)** „Apolipoprotein C-III and the Metabolic Basis for Hypertriglyceridemia and the Dense Low-Density Lipoprotein Phenotype.“ *Circulation*, 121: 1722–34
- [125] **Ziegler-Heitbrock HW, Fingerle G, Ströbel M, Schraut W, Stelter F, Schütt C, Passlick B, Pforte A, (1993)** „The Novel Subset of CD14+/CD16+ Blood Monocytes Exhibits Features of Tissue Macrophages.“ *Eur J Immunol.*, 23: 2053-8
- [126] **Ziegler-Heitbrock HW, (2000)** „Definition of Human Blood Monocytes.“ *J Leukoc Biol.*, 67: 603-6
- [127] **Zilversmit DB, (1973)** „A Proposal Linking Atherogenesis to the Interaction of Endothelial Lipoprotein Lipase with Triglyceride-Rich Lipoproteins.“ *Circ Res.*, 33: 633-8
- [128] **Zodin Fachinformation Firma Trommsdorff** „Fachinformation Zodin 1000 mg Weichkapseln“ http://www.trommsdorff.de/fileadmin/trommsdorff/redaktion/Fachbereich/Zodin_1000_mg_Weichkapseln.pdf

8 Abkürzungsverzeichnis

γ -GT	=	Gamma-Glutamyl-Transferase
ω 3-FS	=	Omega-3-Fettsäure
ω 3-FA	=	Omega-3-Fattyacids
Abb.	=	Abbildung
ALAT	=	Alanin-Aminotransferase
ANOVA	=	Varianzanalyse (engl.: analysis of variance)
ASAT	=	Aspartat-Aminotransferase
AUC	=	Area Under the Curve
BMI	=	Körpermasseindex (engl.: Body-Mass-Index)
BSA	=	Rinderserumalbumin
CCR2	=	CC Chemokinin Rezeptor (CC steht für eine Cystein –Cystein-Aminosäureverbindung)
CD	=	Cluster of Differentiation
CHD	=	Coronary Heart Disease
CK	=	Creatin Kinase
CRP	=	C-reaktives Protein
DHA	=	Docosahexaensäure
EDTA	=	Ethylendiamintetraacetat
EIA	=	Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest
ELISA	=	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EPA	=	Eicosapentaensäure
FACS	=	Fluorescence-Activated-Cell-Sorter
FCS	=	Fötales Kälberserum (engl.: fetal calf serum)
FSC	=	Forwardscatter
GFR	=	Glomeruläre Filtrationsrate
HbA1c	=	Glykohämoglobin
HCS-Studie	=	Homburger Cream and Suger Studie
HDL	=	High Density Lipoprotein
HLA	=	Human Leukocyte Antigen

ICAM-1	=	Intercellular Adhesion Molecule 1 auch bekannt als CD54
IDDM	=	Insulin-Dependent Diabetes Mellitus
IL	=	Interleukin
JELIS	=	Japan EPA Lipid Intervention Studie
KHK	=	Koronare Herzkrankheit
LDH	=	Laktat-Dehydrogenase
LDL	=	Low Density Lipoprotein
LpL	=	Lipoproteinlipase
LPS	=	Lipopolysaccharid
MAC-1	=	Macrophage-1-Antigen
MCP	=	Monozyten Chemotaxisches Protein
MFI	=	Mean Fluorescence Intensity
NIDDM	=	Non Insulin-Dependent-Diabetes Mellitus
oGTT	=	oraler Glukosetoleranz-Test
oTTT	=	oraler Triglycerid-Toleranz-Test
oxLDL	=	oxidiertes Low-Density Lipoprotein)
PBS	=	Phosphat gepufferte Kochsalzlösung (engl. phosphate buffered saline)
PUFA-Studie	=	Polyunsaturated Fatty Acid Study
RR	=	Blutdruck
sd	=	Standardabweichung (engl.: standard deviation)
sem	=	Standardfehler (engl.: standard error of the mean)
sICAM-1	=	soluble Intercellular Adhesion Molecule 1
SSC	=	Sidescatter
Tab.	=	Tabelle
TG	=	Triglyceride
TGRL	=	Triglyceridreiche Lipoproteine
TNF α	=	Tumornekrosefaktor α
UAW	=	Unerwünschte Arzneimittelwirkung
VCAM-1	=	Vascular Cell Adhesion Molecul 1
VLA-4	=	Very Late Antigen-4 (Bindungspartner von VCAM-1)
VLDL	=	Very Low Density Lipoprotein

9 Publikationen

1. Schirmer SH, Werner CM, Binder SB, Faas ME, M. Böhm, Laufs U (2011)
„Effects of Omega-3 Fatty Acids on Postprandial Triglyceride Tolerance and Monocyte Activation.”
Posterpräsentation Scientific Sessions of the American Heart Association, Orlando, FL
2. Schirmer SH, Werner CM, Binder SB, Faas ME, Custodis F, Böhm M, Laufs U, (2012)
„Effects of Omega-3 Fatty Acids on Postprandial Triglycerides and Monocyte Activation.”
Atherosclerosis, 225: 166-72

10 Danksagung

Ich danke an dieser Stelle allen, die mich in Wort und Tat bei der Durchführung der Studie und dem Verfassen der vorliegenden Arbeit unterstützt haben.

Herrn Professor Dr. med. Ulrich Laufs danke ich für das Vertrauen und die Möglichkeit mit der Überlassung dieses Themas wissenschaftlich tätig zu werden. Insbesondere möchte ich ihm für seine Tätigkeit bei der Vorbereitung und Planung der Studie, sowie für seine Unterstützung in der Durchführung danken.

Ein ganz besonderer Dank an meinen Betreuer Herrn PD Dr. Dr. med. Stephan Schirmer für die Anregungen und Ratschläge, sowie für die jederzeit tatkräftige und umfassende Hilfe und besonders für die Geduld während des Verfassens der vorliegenden Arbeit.

Bei Dr. med. Christian Werner, Dr. med. Maria Faas und Dr. med. Nadine Kronenberger bedanke ich mich für die Zusammenarbeit im Rahmen der HCS-Studie. Den Mitarbeitern des Forschungslabors der Klinik für Innere Medizin III der Universität des Saarlandes, insbesondere Frau Ellen Becker und Frau Julia Marhofer, danke ich für die freundliche Arbeitsatmosphäre sowie für die Unterstützung und Hilfe im Labor, Frau Angelika Knoll für die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der klinischen Studie sowie der Probandenbetreuung.

Nicht vergessen möchte ich alle Probanden, deren Motivation, Mitarbeit und Durchhaltevermögen mich immer wieder aufs Neue beeindruckt hat und ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Auch ihnen herzlichen Dank.

Natürlich möchte ich an dieser Stelle auch meiner Familie und meiner Freundin Aude ein großes Dankeschön aussprechen, dafür dass sie immer an mich geglaubt und mich zu jeder Zeit moralisch unterstützt haben. Meiner Mutter und Frau Gabriela Helbig einen besonderen Dank fürs Korrekturlesen.

