Universitätsklinikum Ulm
Zentrum für Innere Medizin
Klinik für Innere Medizin II
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. W. Rottbauer

Modulation inflammatorischer Arteriosklerosemarker durch Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPARα)-aktivierende Fibratderivate

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

Corinna Glaser
geb. in Heidenheim an der Brenz

2012

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Thomas Wirth
1. Berichterstatter: Prof. Dr. Nikolaus Marx
2. Berichterstatter: PD Dr. Martin Bommer
Tag der Promotion: 08. Februar 2013

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis III

1. Einleitung

1.1. Arteriosklerose als inflammatorisches Geschehen 1

1.1.1 Endotheliale Dysfunktion 2

1.1.2 Leukozytenadhäsion 2

1.1.3 Leukozytenmigration 3

1.1.4 Progression der atherosklerotischen Läsion 4

1.2 Immun- und Entzündungsmechanismen der Entwicklung der Arteriosklerose 5

1.2.1 Cholesterolester 5

1.2.2 Phospholipide 7

1.2.3 Interleukin 6 (IL-6) 8

1.2.4 Fibrinogen 10

1.2.5 Tumor necrosis factor alpha (TNF α) 11

1.2.6 Serum Amyloid A (SAA) 13

1.3 Fenofibrat 14

1.4 Fenofibrat in Zusammenhang mit der Arteriosklerose 16

1.5 Ziel der Arbeit 20

2. Material und Methoden

2.1 Patientenrekrutierung 21

2.2 Probensammlung und Therapie 21

2.3 Labormessungen

2.3.1 Bestimmung von Cholesterolestern und Phospholipiden 22

2.3.2 Bestimmung von IL-6 und TNF α 23

2.3.3 Bestimmung von Fibrinogen und Serum Amyloid A 25

2.3.4 Liste der verwendeten Geräte, Instrumente und Reagenzienr 25

2.4 Statistik 26

3. Ergebnisse

3.1 Wirkung von Fenofibrat auf Cholesterolester 29

3.2 Wirkung von Fenofibrat auf Phospholipide 32

3.3 Wirkung von Fenofibrat auf IL-6 35

3.4 Wirkung von Fenofibrat auf Fibrinogen 38

3.5 Wirkung von Fenofibrat auf TNF α 40

3.6 Wirkung von Fenofibrat auf SAA 43

4. Diskussion

4.1 Einfluss der Fenofibrattherapie auf Cholesterolester in Bezug auf die koronare Herzkrankheit (KHK) 49

4.2 Einfluss der Fenofibrattherapie auf Phospholipide in Bezug auf die KHK 50

4.3 Einfluss der Fenofibrattherapie auf IL-6 in Bezug auf die KHK 51

4.4 Einfluss der Fenofibrattherapie auf Fibrinogen in Bezug auf die KHK 53

4.5 Einfluss der Fenofibrattherapie auf TNF α in Bezug auf die KHK 54

4.6 Einfluss der Fenofibrattherapie auf SAA in Bezug auf die KHK 55

4.7 Fazit 57

5. Zusammenfassung 58

6. Literaturverzeichnis 59

Danksagung 77

Lebenslauf 78

Abkürzungsverzeichnis

ACAT	Acyl-Coenzym-A-Cholesterol-Acyltransferase
AP-1	alkalische Phosphatase-1
BMI	body mass index
CETP	Cholesterinester-Transferprotein
CK	Creatinkinase
COX-2	Cyclooxygenase-2
CRP	C-reaktives Protein
DAIS	diabetes atherosclerotic intervention study
DR-1	direct repeat-1-Sequenz
EDTA	ethylene diamine tetraacetic acid (dt.: Ethylendiamintetraessigsäure)
ELISA	enzyme linked immuno assay
GH	growth hormon (dt.: Wachstumshormon)
GI-Trakt	Gastrointestinaltrakt
HDL	high density lipoprotein
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzym-A
ICAM-1/-2	intercellular adhesion molecule-1/-2
IDL	intermediate density lipoprotein
IFNγ	Interferon gamma
IL-1 [α/β]	Interleukin-1 (alpha/beta)
IL-2/6/8	Interleukin-2/6/8
KHK	koronare Herzkrankheit
LDL	low density lipoprotein
LPS	Lipopolysaccharid
MCP-1	monocyte chemotactic protein-1
M-CSF	macrophage colony-stimulating factor
NADH	reduziertes Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid
NADPH	reduziertes Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NCEH	neutrale Cholesterinester-Hydrolase

NF	nuclear factor
OxLDL	oxidiertes low density lipoprotein
P	statistisches Maß
P1-5	Zeitpunkt 1-5 der Probenentnahme
PDGF	platelet derived growth factor
PLTP	Phospholipid-Transferprotein
PPARα/γ/δ	peroxisome proliferator activated receptor alpha/gamma/delta
PPRE	peroxisome proliferator response element
PRL	Prolaktin
PUFA	polyunsaturated fatty acid
RXR	retinoic x receptor
SAA	Serum Amyloid A
TF	tissue factor
TFPI	tissue factor pathway inhibitor
TGF β	transforming growth factor beta
TNF α	tumor necrosis factor alpha
VCAM-1	vascular adhesion molecule-1
VLDL	very low density lipoprotein

1. Einleitung

Die Arteriosklerose und ihre Folgeerkrankungen stellen die Ursache für mehr als die Hälfte aller Todesfälle in den westlichen Industrienationen dar [106]. Nach jahrzehntelanger, asymptomatischer Progression der arteriosklerotischen Gefäßwandveränderungen kommt es schließlich zu schwerwiegenden klinischen Manifestationen wie der koronaren Herzkrankheit, dem akuten Myokardinfarkt, dem cerebralen Insult und der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit. Eine Vielzahl epidemiologischer und experimenteller Untersuchungen ergaben, dass die Arteriosklerose eine multifaktorielle Erkrankung darstellt, die von einer genetischen Disposition sowie von zahlreichen kardiovaskulären Risikofaktoren abhängig ist. Dazu zählen Fettstoffwechselstörungen, arterielle Hypertonie, Nikotinabusus und Diabetes mellitus.

1.1 Arteriosklerose als chronisch inflammatorisches Geschehen

Die WHO definiert Arteriosklerose als „eine variable Kombination von Veränderungen der Intima, bestehend aus einer herdförmigen Ansammlung von Fettsubstanzen, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutbestandteilen, Bindegewebe und Kalziumablagerungen, verbunden mit Veränderungen der „Arterienmedia“ [12]. Seit einigen Jahren geht man davon aus, dass die Arteriosklerose ein chronisch inflammatorisches Geschehen darstellt. Ross 1990 beschrieb arteriosklerotische Läsionen als Ergebnis einer ausgeprägten, entzündlich-proliferativen Reaktion auf vielfältige Reize auf Endothel und glatte Muskelzellen der Arterienwand [106]. An dieser Reaktion sind sowohl verschiedene Zellen wie Monozyten, Makrophagen, Endothelzellen, glatte Muskelzellen und Lymphozyten [106] als auch Lipide, Adhäsionsmoleküle, Wachstumsfaktoren, Zytokine und vasoaktive Substanzen beteiligt [93]. Beim Menschen entwickelt sich der arteriosklerotische Prozess im Verlauf vieler Jahre und durchläuft dabei verschiedene Stadien [65, 106]. Es entsteht eine

atheromatöse Plaque, die das Gefäßlumen einengen oder komplett verschließen kann. Im fortgeschrittenen Stadium haben Thrombozyten die Möglichkeit anzuheften und so einen Thrombus zu bilden, der den kompletten Verschluss des Gefäßes bedeuten kann und somit zur Ischämie führt [93].

1.1.1 Endotheliale Dysfunktion

Der Beginn arteriosklerotischer Gefäßwandveränderungen ist die endotheliale Funktionsstörung [93]. Endothelzellen übernehmen eine Vielzahl von Aufgaben im Blutkreislauf. Sie sorgen unter anderem für die Synthese von pro-und antithrombogen wirkenden Komponenten, für die Amplifikation von entzündlichen und immunmodulatorischen Signalen, für die Modifikation von in die Gefäßwand eingewanderten Lipoproteinen und für die Synthese von Zelladhäsionsmolekülen [12, 106]. Veränderungen einer oder mehrerer dieser Eigenschaften aufgrund kardiovaskulärer Risikofaktoren stellen die erste Manifestation endothelialer Dysfunktion dar [106].

1.1.2 Leukozytenadhäsion

Erste erkennbare Läsionen im arteriosklerotischen Prozess sind die so-genannten „fatty streaks“ [106], eine herdförmige Ansammlung von lipidreichen, in Schaumzellen umgewandelte Makrophagen [93], T-Lymphozyten [71, 115] und proliferierenden glatten Muskelzellen in der Intima, die schon in Autopsien jugendlicher Herzkranzgefäße zu sehen sind [106]. Wichtigster Schritt in der Entstehung der „fatty streaks“ ist die Adhäsion der im Blut zirkulierenden Leukozyten an das Endothel [19, 30]. In vivo und in vitro Versuche zeigten, dass es in intimalen Läsionen überwiegend zur Monozyten-Makrophagen-Akkumulation kommt [128]. Der Mechanismus der Leukozytenadhäsion erfolgt über spezifische, transmembranäre Glykoproteine der Endothelzellen, sogenannte Adhäsionsmoleküle und deren leukozytäre Gegenrezeptoren. Bevor es jedoch zu einer signifikanten Expression der Adhäsionsmoleküle an der Endothelzelloberfläche kommt, muss die Endothelzelle in einen aktivierten Zustand übergegangen sein [100]. Dabei zeigt die Endothelzelle als Reaktion auf chronische Belastung durch oben

angesprochene Risikofaktoren eine gesteigerte Proteinsyntheserate [136]. Adhäsionsmoleküle der Endothelzelle werden in 2 Gruppen kategorisiert: Selektine, darunter E- und P-Selektin, sind Glykoproteine, die erst nach Stimulation der Endothelzelle durch Zytokine an deren Oberfläche erscheinen. Sowohl E- als auch P-Selektin binden über spezifische Liganden an Monozyten und Neutrophile [30]. Zu den Adhäsionsmolekülen der Immunglobulinsuperfamilie zählen vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) und intercellular cell adhesion molecule-1/2 (ICAM-1/2). VCAM-1, wie ICAM-1/2 sind Glykoproteine, die an der Oberfläche stimulierter Endothelzellen, Makrophagen und glatter Muskelzellen exprimiert werden [30]. Über sog. Integrine an der Zelloberfläche binden zirkulierende Leukozyten an VCAM-1 und ICAM-1/2 [30]. Neben zellgebundenen Adhäsionsmolekülen wurden zirkulierende Formen von VCAM-1, ICAM-1/-2 und E-Selectin im Serum nachgewiesen [49]. Im Rahmen entzündlicher Prozesse wie der Arteriosklerose wurden erhöhte Blutkonzentrationen dieser Adhäsionsmoleküle beobachtet [106]. Laut Hwang et al 1997 könnten Serumkonzentrationen dieser Adhäsionsmoleküle als molekulare Marker einer präklinischen Arteriosklerose dienen [49].

Wichtigste Modulatoren der Leukozyten-Adhäsion sind neben IL-1, TNF α und IFN γ, freigesetzt durch Monozyten/Makrophagen und T-Lymphozyten, das oxidierte low density lipoprotein (oxLDL), produziert durch Endothelzellen und Makrophagen [35, 106]. OxLDL zeigt neben der induzierenden Wirkung auf die Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle desweiteren chemotaktische Wirkung auf zirkulierende Monozyten [35], zytotoxische Wirkung auf Endothel- und glatte Muskelzellen [136] sowie einen aktivierenden Effekt auf die Umwandlung von Monozyten in Makrophagen in der Gefäßwand [93].

1.1.3 Leukozytenmigration

Der Leukozytenadhäsion folgt die -migration in die Gefäßwand, die einen aktiven Prozess darstellt. Dabei spielen chemotaktisch wirksame Substanzen, sogenannte Chemokine, vorallem das chemotactic protein-1 [MCP-1],

sezerniert durch Endothelzellen, Makrophagen und glatte Muskelzellen [30, 128] eine entscheidende Rolle [30]. Zytokine wie Interleukin-1 (IL-1), Tumor necrosis factor α (TNF α) oder Interferon γ (IFN γ) steuern die Produktion und Freisetzung dieser chemotaktisch wirksamen Substanzen [30]. Befinden sich die Monozyten in der intimalen Gefäßwand, so sind sie einem Milieu aus modifizierten Lipoproteinen, Zytokinen, Chemokinen und Wachstumsfaktoren ausgesetzt, das seinerseits in der Lage ist, akkumulierende Monozyten zu aktivieren und in Makrophagen umzuwandeln [30]. Mit der Bildung zahlreicher biologisch aktiver Substanzen wie Wachstumsfaktoren und Zytokinen treten aktivierte Makrophagen in Interaktion mit sämtlichen, an der arteriosklerotischen Läsion beteiligten Zellen (Endothelzellen, glatte Muskelzellen, T-Lymphozyten) [1]. Daraus resultieren eine chemotaktische Wirkung sowie ein Proliferationsreiz auf alle involvierten Zellen [30, 106]. Neben der sekretorischen Funktion übernehmen aktivierte Makrophagen auch phagozytierende Aufgaben. Durch die Aufnahme modifizierten LDLs über, an der Oberfläche exprimierte, sogenannte Scavenger-Rezeptoren entwickeln sich Makrophagen zu Schaumzellen [10]. Neben Makrophagen sind T-Lymphozyten, Endothelzellen und glatte Muskelzellen (durch chemotaktische Reize aus der Tunica media in die Tunica intima gewandert) durch die Bildung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren für die Aufrechterhaltung und Fortschreitung der arteriosklerotischen Läsion im Sinne eines inflammatorischen Prozesses verantwortlich [67].

1.1.4 Progression der arteriosklerotischen Läsion

Dem Stadium der „fatty streaks“ können die sogenannten „intermediate lesions“ folgen [106, 119], die durch extrazelluläre Lipidanreicherung gekennzeichnet sind, welche die Struktur glatter Muskelzellen unterbrechen [119]. „Intermediate lesions“ stellen den Übergang von „fatty streaks“ zu fortgeschrittenen Läsionen („advanced lesions“) [106, 119], gekennzeichnet durch sogenannte atheromatöse Plaques, dar. Atheromatöse Plaques zeigen eine massive, zentrale Fettablagerung in Form von Schaumzellen, nekrotische Zellreste sowie teilweise Calziumablagerungen („lipid core“) [68], bedeckt von

extrazellulärer Matrix, hauptsächlich bestehend aus Kollagen, Elastin [70] und glatten Muskelzellen („fibrous cap“) [106]. Die sich im Plaque befindlichen Makrophagen synthetisieren eine Vielzahl an prokoagulatorischen Faktoren (z.B. tissue factor) [135], die bei Kontakt mit zirkulierendem Blut zur Aktivierung der Gerinnungskaskade und konsekutiv zur Thrombusbildung führen können [71]. Die Plaqueruptur ist sehr häufig Auslöser dieses Geschehens und kann sich im Folgenden klinisch in einem akuten Koronarsyndrom manifestieren [70]. Plaques, die zur Ruptur neigen werden als instabile Plaques oder „complicated lesions“ [93] bezeichnet und unterscheiden sich von stabilen Plaques vorallem durch eine brüchige Oberfläche mit vermindertem Kollagengehalt und gesteigerter Makrophagenakkumulation [70]. Diese exprimieren interstitielle Kollagenasen, sogenannte Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) [71], welche zum Abbau von Kollagen und Elastin innerhalb der fibrösen Kappe führen [37]. In den Stadien der „advanced“ und „complicated lesions“ kommt es in den meisten Fällen zur klinischen Manifestation der Arteriosklerose [119].

1.2 Immun- und Entzündungsmechanismen in der Entwicklung der Arteriosklerose

Da eine Vielzahl von Lipiden und Zytokinen in der Pathogenese der Arteriosklerose Schlüsselfunktionen übernehmen, wurde in der folgenden Arbeit der Schwerpunkt auf das Verhalten von Cholesterolestern, Phospholipiden und Interleukin-6 (IL-6) gelegt. Desweiteren wurde Augenmerk auf die Akut-Phase-Proteine Fibrinogen und Serumamyloid A (SAA) sowie auf den tumor necrosis factor α (TNF α) gerichtet.

1.2.1 Cholesterolester

Cholesterolester bilden die veresterte Form des Cholesterins und übernehmen im menschlichen Organismus verschiedene Aufgaben. Sie stellen einerseits die intrazelluläre Speicherform des Cholesterins dar, vorallem in Leber, Darm

und Nebenniere [27]. Andererseits sind sie in Form von apolaren Lipiden Bestandteil von Lipoproteinkomplexen wie Chylomikronen, VLDL, LDL, IDL und HDL, wobei im LDL die höchste Konzentration an Cholesterolestern vorliegt. Neben der Speicherfunktion sind Cholesterolester also auch am Transport von hydrophoben Lipiden im Blut beteiligt. Der Bedarf an Cholesterolestern wird zum einen exogen über die Nahrungsaufnahme gedeckt. Dabei kommt es zunächst zur enzymatischen Spaltung in Cholesterin und freie Fettsäuren im Darmlumen und daraufhin zur Resorption durch Enterozyten in Form von Mizellen. Intrazellulär wird Cholesterin reesterifiziert, um dann als Bestandteil von Chylomikronen die Zelle zu verlassen und über die Lymphe ins Blut zu gelangen. Zum anderen entstehen Cholesterolester endogen aus intrazellulärem Cholesterin, das durch das Enzym Azyl-CoA-Cholesterol-Acyltransferase (ACAT) verestert wird [14]. Die Freisetzung von Cholesterin aus seiner Speicherform erfolgt durch Hydrolyse mit Hilfe der Neutralen Cholesterolester-Hydrolase (NCEH) [99].

Cholesterolester haben im Zuge des Metabolismus von Lipiden auch klinische Relevanz bei der Entstehung der Arteriosklerose. Bekanntlich werden im Rahmen der Pathogenese der Arteriosklerose Lipoproteinkomplexe (vorallem LDL) und, als Bestandteil von Lipoproteinkomplexen somit auch Cholesterolester durch bestimmte Plasmabestandteile modifiziert. Dadurch entsteht unter anderem eine oxidierte Form des LDL. Dieses sogenannte oxLDL stellt den Ligand von Scavenger-Rezeptoren dar, die in hoher Dichte auf der Zelloberfläche von Zellen des retikuloendothelialen Systems (unter anderem Endothelzellen, Makrophagen) exprimiert werden [120]. Durch intrazellulär aufgenommenes oxLDL kommt es laut Yancey und Jerome 1998 zur Akkumulation von Cholesterolestern und Triglyzeriden in Endothelzellen sowie in, zuvor in die Gefäßwand eingewanderte, Makrophagen [139], welche sich dadurch reaktiv zu Schaumzellen umwandeln und somit zum frühen Stadium der Entwicklung einer atheromatösen Plaque beitragen.

1.2.2 Phospholipide

Phospholipide, auch Phosphoglyceride oder Glycerophospholipide genannt, haben wie die Trigyzeride den 3-wertigen Alkohol Glycerin als entscheidenden Bauteil, wobei zwei der drei Hydroxylgruppen des Glycerins mit langkettigen Fettsäuren verestert sind, die dritte mit Phosphorsäure. Daher werden Phospholipide auch als Derivate des Glycerin-3-Phosphats bezeichnet. Die Phosphatidsäure ist der einfachste Vertreter der Phospholipide und zugleich wichtigstes Zwischenprodukt in der Phospholipidbiosynthese. Alle anderen Phospholipidvertreter zählen zu den Phosphorsäurediestern, da die Phosphatidsäure mit einem weiteren Alkohol verestert ist. Dazu zählen Phosphatidylcholin, Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylglycerin, Phosphatidylinositol und Phosphatidylserin. In der Nahrung kommen Phospholipide nur in sehr geringen Mengen vor. Neben der energieaufwendigen denovo-Synthese durch den Körper kann auch durch Resynthese aus bereits abgebauten Phospholipiden oder durch Umwandlung unterschiedlicher Phospholipide der Bedarf gedeckt werden. Der Abbau von Phospholipiden erfolgt durch Phospholipasen, wobei für jeden der verschiedenen Substituenten des Glycerinskeletts eine eigene Phospholipase (A, A1, A2, B, C, D) existiert. Phospholipide sind integrale Bauteile aller biologischen Membranen, wobei das Verhältnis der verschiedenen Phospholipide untereinander von entscheidender Bedeutung für den Funktionszustand der jeweiligen Membran ist. Sie dienen in den Lungen als Bestandteil des Surfactants, in der Schleimhaut von Magen und Darm sowie in den Nieren als oberflächenaktive Substanzen. Durch das Vorkommen in der Galleflüssigkeit spielen sie auch in der Verdauung von Lipiden eine Rolle.

In Zusammenhang mit der Arteriosklerose scheint die Bedeutung der Phospholipide zum einen im Vorkommen in Lipoproteinkomplexen, wie Chylomikronen, VLDL, LDL, IDL und HDL, zum anderen in der Konzentration von oxidierten Phospolipiden im Serum zu liegen. Phospholipide, als Bestandteil von HDL, sind durch ihre amphiphile Eigenschaft, für den Abbau und den Abtransport von hydrophobem Cholesterol aus der arteriosklerotisch veränderten Gefäßwand zuständig [60] und Lan Hsia et al 2000 zufolge bei

gesunden Probanden höher konzentriert im Serum nachweisbar im Vergleich zu Patienten mit koronarangiographisch gesicherter KHK [61]. Desweiteren soll phospholipidreiches HDL die Gerinnung hemmen und könnte somit der Bildung von Thromben entgegen wirken [60]. Laut Tabas 2000 schützen in Schaumzellen auftretende Phospholipide die Zelle vor zytotoxischen Effekten des Cholesterins. Mit zunehmender Cholesterinakkumulation lässt dieser protektive Effekt jedoch nach und es kommt vermehrt zum Zelltod der Schaumzellen, was die Plaqueinstabilität fördert [123]. Erniedrigte HDL-Phospholipide bei Patienten mit KHK könnten laut Kunz et al 1994 Grund für die vermehrte Ablagerung und den reduzierten Abtransport von Lipiden in der arteriosklerotischen Läsion und somit zum Fortschreiten der KHK beitragen [60]. Navab et al 2002 zu Folge führen oxidierte LDL-Phospholipide zu zellulären Veränderungen, die im Sinne der Entwicklung von „fatty streaks“, im Anfangsstadium der Arteriosklerose, beobachtet werden [90]. Eine weitere proinflammatorische Wirkung von Phospholipiden ist die Aktivierung von PPARα-Rezeptoren in Endothelzellen durch den Phospholipidanteil von oxidiertem LDL [24], die in vitro zu einer Induktion der Expression von Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) und Interleukin-8 (IL-8) führt [63]. Kiechl et al 2007 zeigten in einer prospektiven Studie, dass die Höhe des Serumspiegels von an Apolipoprotein B100 gebundenen, oxidierten Phospholipiden über ein follow-up von 10 Jahren mit einem erhöhten Risiko, ein kardio-, bzw. cerebrovaskuläres Ereignis (kardiovaskulärer Tod, akuter Myokardinfarkt, Apoplex, transitorische ischämische Attacke) zu erleiden, korreliert [54].

1.2.3 Interleukin-6 (IL-6)

Zunächst war man der Auffassung, dass IL-6 ein aus T-Zellen stammendes Lymphokin sei, das den letzten Schritt in der B-Zell-Reifung, nämlich die Entwicklung zur antikörperbildenden Plasmazelle, induziert [89]. Weitere Studien machten jedoch deutlich, dass IL-6 mit einem Molekulargewicht von 26 kDa [17], ein pleiotropes Zytokin darstellt, das sowohl humorale als auch zelluläre Funktionen in der Immunreaktion übernimmt [130] und an der

Hämatopoese beteiligt ist [62]. Die wichtigste Funktion des IL-6 ist jedoch die Regulation der Akut-Phase-Reaktion in der Leber, die zur Ausschüttung von Akut-Phase-Proteinen wie C-reaktives Protein (CRP), Fibrinogen und Serum Amyloid A (SAA) führt [48, 140]. Zu den IL-6-synthetisierenden Zellen gehören unter anderem Monozyten/ Makrophagen, Endothelzellen und Fibroblasten. Interleukin-1α/β (IL-1-α/β), Tumor necrosis factor α (TNF α) und Interferon γ (IFN γ) sind als Synthesestimulatoren von Bedeutung [19]. Auch den glatten Muskelzellen wird eine mögliche Bedeutung bezüglich der Synthese von IL-6 zugesprochen [122]. Der Referenzwert von IL-6 im Serum liegt unter 30 pg/ml. Auch auf Wachstum und Differenzierung verschiedener Zelltypen wie Endothelzellen und Fibroblasten hat IL-6 Auswirkung [67]. Außerdem aktiviert es T-Zellen und stimuliert deren Proliferation [67].

Bezüglich der Arteriosklerose wurde bereits eine durch IL-6 induzierte endotheliale Expression von Chemokinen und Adhäsionsmolekülen gezeigt [105]. Yudkin et al 2000 zufolge kommt es durch glatte Muskelzellen und Schaumzellen in der atheromatösen Läsion zur Expression von IL-6, das zusammen mit anderen Zytokinen (IL-1, TNF α) zur Progression der arteriosklerotisch veränderten Gefäßwand führt [140]. Außerdem trägt die Wirkung von IL-6 auf Thrombozyten, Fibrinogenkonzentration und die Gerinnungskaskade laut Van der Poll et al 1994 [129] zu einem pro-koagulatorischen Milieu bei. Ridker et al 2000 wiesen bei gesunden Männern mit erhöhtem IL-6-Serumspiegel ein erhöhtes Risiko für das Auftreten eines akuten Myokardinfarktes in einem Zeitraum von 6 Jahren nach [103]. Sowohl bei Patienten mit chronisch stabiler KHK, als auch bei akutem Koronarsyndrom wurden erhöhte IL-6-Serumkonzentrationen gemessen [104]. Fisman et al 2006 zeigten, dass erhöhte IL-6-Serumspiegel bei Patienten mit KHK über einen Beobachtungszeitraum von ca. 6 Jahren deutlich mit dem Auftreten kardialer Ereignisse sowie einer gesteigerten Mortalität assoziiert sind [32]. Bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom wiesen laut Hartford et al 2007 Patienten mit einem erhöhten IL-6-Serumspiegel über ein follow-up von 75 Monaten eine gesteigerte Mortalitätsrate sowie eine häufigere stationäre

Behandlung aufgrund einer kardialen Dekompensation auf [45]. Ozdemir et al 2008 zeigten signifikant höhere IL-6-Serumspiegel bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom im Vergleich zu Patienten mit stabiler Angina pectoris [94]. Zuletzt bestätigte eine Metaanalyse von Niu et al 2012 den kausalen Zusammenhang zwischen zirkulierendem IL-6 und der Entwicklung der KHK [92]. Sodass IL-6 als prognostischer Marker bei gesunden Männern sowie bei Patienten mit chronisch stabiler KHK und akutem Koronarsyndrom bereits diskutiert wurde.

1.2.4 Fibrinogen

Das Plasmaprotein Fibrinogen mit einer Molekulargröße von 340 kDa gehört aufgrund seiner Fließeigenschaft in der Trägerelektrophorese der Fraktion der β-Globuline an. Die Synthese von Fibrinogen als ein Akut-Phase-Protein erfolgt im Hepatozyten, stimuliert durch Il-6. Die Konzentration des Plasmafibrinogen beim Gesunden liegt zwischen 1,8 und 3,5 g/l Erst bei Verletzungen, inflammatorischen oder tumorösen Prozessen kommt es zu einer Synthesesteigerung des Akut-Phase-Proteins. In der Gerinnungs-kaskade ist die enzymatische Umwandlung von löslichem Fibrinogen (Gerinnungsfaktor I) in unlösliche Fibrinmonomere, bedingt durch Thrombin, ein entscheidender Schritt in der Bildung eines blutstillenden Thrombus. Fibrinmonomere aggregieren zu Fibrinpolymeren, welche durch aktivierten Faktor XIII und Calzium zu Fibrin stabilisiert werden. Die nun einsetzende kovalente Vernetzung der Aminosäure-Seitenketten des Fibrins durch eine Glutamintransferase führt zur Bildung von Isopeptid-Bindungen und es entsteht ein fester Thrombus.

Im Zusammenhang mit der Arteriosklerose hat Fibrinogen eine pleiotrope Wirkung. Bindet Fibrinogen an Endothelzellrezeptoren (ICAM-1) führt dies zur Ausschüttung vasoaktiver Substanzen [47]. Fibrinogen und Fibrinogen-spaltprodukte führen zu vermehrter Permeabilität der Endothelzelle und haben chemotaktische Wirkung auf glatte Muskelzellen und Monozyten [57]. Außerdem ist es an der Bildung von Schaumzellen beteiligt [102]. Durch

Bindung an den Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptor auf Thrombozyten unterstützt Fibrinogen die Thrombozytenaggregation [110].

Hoffmeister et al 2001 wiesen auf eine signifikante Erhöhung der Fibrinogenplasmasspiegel bei Patienten mit koronarangiographisch gesicherter KHK im Vergleich zu Gesunden hin [48]. Weitere Studien zeigten, dass Patienten mit koronarangiographisch gesicherter KHK und erhöhten Fibrinogenspiegeln ein deutlich höheres Risiko hatten, ein kardiovaskuläres Ereignis zu erleiden, verglichen mit Patienten mit niedrigeren Fibrinogenspiegeln [84, 124]. Zwei weitere großangelegte Studien zeigten, dass sich erhöhte Fibrinogenspiegel sowohl bei Männern, als auch bei Frauen mit gesicherter KHK, als ein Prädiktor für die KHK-bedingte wie auch für die Gesamt-Mortalität erwies [7, 137]. Die FRISC-Studie 1997 war zur Beurteilung des klinischen Outcomes einer niedermolekularen Heparintherapie bei Patienten mit instabiler Angina pectoris oder nichttransmuralem Myokardinfarkt angelegt. Sie zeigte außerdem, dass nach einem Follow-up von 5 Monaten mit der Höhe des Fibrinogenspiegels das Risiko, einen akuten Myokardinfarkt und/oder einen KHK-bedingten Tod zu erleiden, anstieg [125]. De Luca et al 2011 zeigten an einer Population von 2121 Probanden signifikant den Zusammenhang zwischen KHK und hohen Fibrinogenplasmaspiegeln [25].

So ist davon auszugehen, dass erhöhte Fibrinogenkonzentrationen im Plasma einen weiteren, wichtigen und unabhängigen Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen darstellen.

1.2.5 Tumor necrosis factor α (TNF α)

TNF α, auch bekannt unter dem Namen Kachektin (rekombinantes TNF α führte bei Versuchstieren zu Appetit- und Gewichtsverlust) ist ein pleiotropes, proinflammatorisches Zytokin mit einem Molekulargewicht von ca. 26 kDa, dessen Referenzbereich im Plasma bei <10 pg/ml liegt. Für die Synthese von TNF α sind neben Monozyten/ Makrophagen auch Lymphozyten, glatte Muskelzellen und Endothelzellen verantwortlich [106].

TNF α, dessen Rezeptoren, TNF-R1 und -R2, zu einer Zytokinrezeptor-superfamilie bestehend aus 30 Rezeptoren gehören und mittels dem Transkriptionsfaktor NF-κB agieren [83], ist bekannt für seine zytolytische Wirkung auf Tumorzellen in vitro und für seine Beteiligung bei lokalen und systemischen, inflammatorischen Prozessen (unter anderem durch die vermehrte Ausschüttung von Akut-Phase-Proteinen wie z.B. CRP aus der Leber) [73]. Es steuert sowohl Apoptose, als auch Zellproliferation und –differenzierung [131]. Durch Förderung der Phagozytose von Makrophagen, der Ausschüttung weiterer Zytokine sowie der Migration von Neutrophilen ist TNF α ein wichtiges Zytokin der Immunreaktion [132]. Desweiteren ist der Einfluss auf Fieber und Appetit über Auswirkung auf den Hypothalamus sowie der Einfluss auf den Lipidmetabolismus, die Koagulation, die Insulinresistenz und die endotheliale Funktion bekannt.

Im Hinblick auf die Arteriosklerose gehört TNF α mit IL-1 und IL-6 laut Fiotti et al 1999 zu den wichtigsten proinflammatorischen Zytokinen [54]. TNF α führt zur gesteigerten Leukozytenadhäsion und –migration [11]. Neben IL-1 und IFN γ reguliert es die Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle wie VCAM-1 und ICAM-1/2 [35, 70, 97]. Die chemotaktische Wirkung von TNF α wird durch eine gesteigerte Sekretion des monocyte-chemotactic peptides-1 (MCP-1) durch Monozyten, glatte Muskelzellen und Endothelzellen [16] getriggert. TNF α führt außerdem zur vermehrten Sekretion von proteolytischen Enzymen durch glatte Muskelzellen (z.B. Gelatinase), welche den Abbau der extrazellulären Matrix in der fibrösen Kappe und damit eine Plaqueruptur fördern [39]. Desweiteren wurde die Interaktion von Endothelzellen, der Gerinnungskaskade, dem fibrinolytischen System und TNF α mit der Folge eines prokoagulatorischen Milieus [8, 88] gezeigt. Klinische Studien zeigten erhöhte TNF α-Plasmaspiegel bei Patienten mit stabiler KHK, sowie, noch deutlicher, bei akutem Koronarsyndrom im Vergleich zu gesunden Probanden [81, 82, 141].

1.2.6 Serum Amyloid A

Serum Amyloid A (SAA), ist ein polymorphes Protein mit einem Molekulargewicht von 200 kD, welches in den Akut-Phase-Isotyp (A-SAA) und den konstitutiven Isotyp (C-SAA) unterteilt werden kann [126]. Die Synthese findet vor allem in der Leber statt, aber auch die extrahepatische Bildung von SAA wurde beobachtet, sowohl in histologisch gesundem Gewebe wie Epithel- und Endothelzellen sowie Lymphozyten [38] als auch in pathologisch veränderter Umgebung, z.B. in arteriosklerotischen Läsionen [79], Alzheimer-Fibrillen [66], Tumorgewebe, im Rahmen der AA-Amyloidose [126, 127] und als Marker bei Transplantatabstoßungen [74]. Die Synthese wird durch Zytokine wie IL-1, IL-6 und TNF α induziert. Die SAA-Plasmakonzentration kann, ausgelöst durch inflammatorische Prozesse im Rahmen der Akut-Phase-Reaktion, um das 1000-fache ansteigen (Referenzwert:<10 mg/l). Systemisch zirkuliert SAA vor allem an HDL, aber auch an andere Lipoproteine wie VLDL und LDL gebunden [126, 127]. Der Abbau von SAA erfolgt nach gemeinsamer Aufnahme mit HDL im Hepatozyten [126]. Das A-SAA gehört wie CRP und Fibrinogen zu den Akut-Phase-Reaktanten des Körpers und stellt ein multifunktionales Protein dar. Als Akut-Phase-Protein moduliert es die entzündliche Reaktion unter anderem mit der „Entgiftung“ von Endotoxinen [6] und der Induktion der Adhäsion und Migration von Monozyten, Neutrophilen, Lymphozyten und Mastzellen [4]. Eine weitere Wirkung von A-SAA ist der Einfluss auf den Metabolismus und Transport von Cholesterin [65]. Die Mehrzahl der Studien über A-SAA konzentrieren sich auf die Rolle in der Akut-Phase-Reaktion. Aber auch bezüglich der Pathogenese der Arteriosklerose ist A-SAA von Bedeutung, da dessen Synthese durch einige Zelltypen in der arteriosklerotischen Läsion, z.B. Endothelzellen, glatte Muskelzellen und Monozyten/Makrophagen gezeigt werden konnte [79]. Liang et al 1996 wiesen in vitro auf den Transport und die Bindung von Cholesterin an aortalen glatten Muskelzellen bedingt durch A-SAA hin [65]. Außerdem wurde die chemotaktische Wirkung von A-SAA auf Monozyten beschrieben [3]. Desweiteren konnte die gesteigerte Sekretion von Kollagenasen in glatten Muskelzellen durch A-SAA gezeigt werden, was die Stabilität der

arteriosklerotischen Plaque beeinträchtigen kann [80]. Auch die hemmende Wirkung von A-SAA auf die Aggregation und Adhäsion von Thrombozyten an die endotheliale Gefäßwand und damit der Einfluss auf die Plaquestabilität wurde diskutiert [131]. Delanghe et al 2002 wiesen auf erhöhte SAA-Plasmaspiegel bei männlichen Patienten mit anamnestisch bekannter oder elektrokardiographisch vermuteter KHK im Vergleich zu Gesunden [21] hin. Bei Patienten nach Myokardinfarkt zeigten Sacks und Ridker 2000 einen erhöhten SAA-Plasmaspiegel in der Patientengruppe, welche erneut einen akuten Myokardinfarkt erlitt oder an einem kardialen Ereignis verstarb im Vergleich zu fortan diesbezüglich beschwerdefreien Patienten [108]. Laut Morrow et al 2000 wiesen erhöhte SAA-Plasmaspiegel zum Zeitpunkt des Auftretens einer instabilen Angina pectoris oder eines nichttransmuralen Myokardinfarktes auf eine erhöhte Mortalität über 14 Tage nach dem Ereignis hin [85]. Johnson et al 2004 zeigten, dass der basale SAA-Plasmaspiegel bei Frauen, welche eine elektive Koronarangiographie erhalten sollten, ein deutlicher und unabhängiger Prädiktor für das Auftreten zukünftiger kardiovaskulärer Ereignisse [3-Jahres-follow-up], vergleichbar wie das CRP, ist. Desweiteren konnte ein moderater, aber unabhängiger Zusammenhang zwischen angiographisch gesicherter KHK und erhöhten SAA-Plasmaspiegeln gezeigt werden [52].

Über die Funktion von C-SAA ist bislang wenig bekannt. Es scheint, als ob C-SAA verglichen mit A-SAA nur in sehr geringem Maße während der Entzündungsreaktion exprimiert wird [20].

1.3 Fenofibrat

Nach seiner Entwicklung Anfang der siebziger Jahre wird Fenofibrat, ein lipidsenkendes Medikament aus der Gruppe der Fibrate, seit 1978 therapeutisch verwendet [91]. Fenofibrat, das potentere Analogon des Clofibrats, kann zur Behandlung der primären Hypertriglyzeridämien, wie der Typ III (Remnant-) Hyperlipidämie, der familiären Hypertriglyzeridämie oder

dem Chylomikronämiesyndrom verwendet werden. Desweiteren findet Fenofibrat Anwendung bei familiären oder multifaktoriell bedingten kombinierten Hyperlipidämien mit überwiegender Hypertriglyzeridämie sowie bei der sekundären Dyslipoproteinämie bei Diabetes mellitus, der Hypothyreose oder der Alkoholkrankheit [29]. Durch die Aktivierung des „peroxisome proliferator-activated receptor alpha“ (PPAR α), welcher im Folgenden näher erläutert wird, führt Fenofibrat zu einer vermehrten Genexpression der Apolipoproteine A-I und A-II in der Leber und damit zu einer gesteigerten Synthese von HDL-Partikeln. Desweiteren führt die Aktivierung von PPAR α zu einer verminderten Genexpression des Apolipoproteins C-III [46] und damit über die Steigerung der Lipoproteinlipaseaktivität [112] zu einem vermehrten Abbau triglyzeridreicher Lipoproteine. Darüber hinaus wird eine verminderte Synthese von Triglyzeriden und freien Fettsäuren sowie die vermehrte Aufnahme dieser in die Leber induziert [111]. Veränderungen in der Plasma-LDL-Zusammensetzung führen zu einer gesteigerten Rezeptoraffinität und somit zu einer Plasma-LDL-Abnahme [36].

Tierexperimentelle Daten zeigen geringe toxische und karzinogene Potentiale des Fenofibrats nur bei Nagetieren, sowie fehlende Mutagenität [98]. Klinische Studien bezüglich der Fenofibrat-Verträglichkeit zeigten eine Häufigkeit der Nebenwirkungen von 6-11%, die vor allem bei längerer Einnahme (>1 Jahr) auftraten [5], darunter vor allem gastrointestinale Beschwerden (Übelkeit, Obstipation, Diarrhoe), Hautreaktionen (Urtikaria, Pruritus, Erythem), Impotenz und in selteneren Fällen eine Pankreatitis oder ein myositisähnliches Krankheitsbild mit Kreatinphosphokinase (CK)-Erhöhung [98]. Ein erhöhtes Myopathierisiko trat insbesondere unter der Kombinationstherapie mit Statinen auf. Kontraindiziert ist Fenofibrat bei Vorliegen einer schweren Nieren- oder Leberinsuffizienz sowie in der Schwangerschaft und Stillzeit [98].

Durch die Bindung von Fenofibrinsäure an Albumin kann es zur Verdrängung anderer therapeutischer Substanzen aus der Bindung und somit zu deren Wirkungsverstärkung kommen. So muss z.B. bei gleichzeitiger Einnahme von

Fenofibrinsäure und Cumarinen oder Sulfonylharnstoffen die Dosis dieser Präparate unter Umständen reduziert werden [99].
Das Präparat dieser Studie stellt eine mikronisierte Form des Fenofibrats dar, das eine verbesserte Verträglichkeit und Wirksamkeit verspricht. Durch seine Partikelgröße von weniger als 50 µm ist die Löslichkeit im Gastrointestinaltrakt verbessert, es kommt zu erleichterten Resorption, die Dosis kann reduziert werden und der Plasmaspiegel zeigt einen konstanteren Verlauf [98].

1.4 Fenofibrat in Zusammenhang mit der Arteriosklerose

Lipidsenkende Fibratderivate, wie Fenofibrat, Gemfibrozil oder WY14643 [33] sind neben vielfach-ungesättigten Fettsäuren (PUFA) und Eicosanoiden [55] Aktivatoren des „peroxisome proliferator-activated receptor alpha“ (PPAR α). PPAR-alpha (α) bildet mit PPAR-gamma (γ) und PPAR-delta (δ) die Gruppe der „peroxisome proliferator-activated receptors“ (PPARs) [36], welche zur nukleären Rezeptorfamilie gehören. PPARs sind ligandenaktivierte Transkriptionsfaktoren, welche die Expression spezifischer Zielgene regulieren [113]. Sie übernehmen eine Schlüsselrolle im Lipid- und Glucosemetabolismus und sind damit an metabolischen Dysfunktionen wie den Fettstoffwechselstörungen oder dem Diabetes mellitus, beides Prädispositionsfaktoren für die Arteriosklerose, beteiligt [114]. PPARs wurden im Jahre 1990 entdeckt [51] und erhielten ihre Bezeichnung durch die an Nagetieren beobachtete Peroxisomenproliferation in der Leber; am Menschen wurde dieses Phänomen nie beobachtet [36]. Ligandenaktivierte PPARs bilden Heterodimere mit dem Retinoic X receptor (RXR) und binden daraufhin an spezifische „PPAR-response elements“ (PPRE), die in der Promotorregion des jeweiligen Zielgens lokalisiert sind und deren Expression sie regulieren [36, 75]. PPRE bestehen aus direct-repeat 1 Sequenzen (DR-1), 2 Hexanukleotid-Sequenzen, die durch ein einzelnes Nukleotid getrennt sind

[112]. PPAR α, γ und δ unterscheiden sich durch ihre jeweiligen Liganden und ihre spezifischen Zielgene [75].

Diese Arbeit konzentriert sich in erster Linie auf den PPAR α-Rezeptor, seine Aktivierung durch lipidsenkende Fibratderivate und die sich möglicherweise daraus ergebende Modulation der Atherogenese.

PPAR α wird an unterschiedlichen Organen wie Leber, Herz und Niere exprimiert [3] und reguliert vor allem die Genexpression im Lipidmetabolismus [55].

Studien der letzten Jahre zeigten das Vorkommen von PPAR α in Endothelzellen, glatten Gefässmuskelzellen sowie in Monozyten/ Makrophagen und somit eine PPAR α-regulierte Genexpression im Rahmen des inflammatorischen Prozesses der Arteriosklerose [51, 76]. So konnte in vitro gezeigt werden, dass es in Endothelzellen durch PPAR α-aktivierende Fibratderivate zu einer Hemmung der Zytokin-induzierten VCAM-1-Expression und damit zu einer reduzierten Adhäsion von Monozyten an aktivierte Endothelzellen kommt [51, 76]. Desweiteren ergibt sich eine verminderte thrombininduzierte Endothelin-1-Expression, was sich in der Regulation des Gefäßtonus, sowie in der Proliferation glatter Muskelzellen auswirkt [21]. In vitro Daten von Staels et al 1998 zeigen eine Reaktion glatter Muskelzellen auf PPAR α-Aktivierung durch Fibratderivate mit einer reduzierten IL-1-induzierten IL-6-Sekretion, sowie einer verminderten Bildung von Prostaglandinen und IL-1-induzierten Cyclooxygenase-2 (COX-2) [118]. In Monozyten/Makrophagen kommt es durch die Fibratwirkung auf PPAR α zu einer Reduktion der Tissue Factor (TF)-Aktivität, des Proteins sowie der mRNA in vitro; der physiologische TF-Inhibitor TFPI ist davon nicht betroffen. Durch diesen Mechanismus könnte sich eine Limitierung des prokoagulatorischen Effektes in der Arteriosklerose ergeben [15, 77]. Ein weiterer beobachteter Mechanismus der fibratbedingten PPAR α-Aktivierung ist die Reduktion der Plasmakonzentration von CRP, IL-6 und Fibrinogen [36, 118], Akut-Phase-Proteine, die am inflammatorischen Prozess der Arteriosklerose beteiligt sind. Shu et al 2000 wiesen die reduzierte Gentranskription, Sekretion und enzymatische Aktivität von MMP-9

(Matrixmetalloproteinase-9) durch Aktivierung von PPAR α nach, welche von inflammatorischen Zellen der atheromatösen Läsion sezerniert werden und durch Abbau von extrazellulärer Matrix zur Plaqueruptur beitragen [116]. Folglich legen in-vitro Daten eine verminderte Synthese inflammatorischer Mediatoren in arteriosklerotischen Plaques durch vaskuläre Zellen nahe. Eine senkende Wirkung von Fenofibrat auf die im Blut messbaren inflammatorischen Mediatoren der Arteriosklerose, sogenannte Surrogatparameter, konnte durch in-vivo Studien unter anderem an CRP, TNF α, Fibrinogen und IL-6 beobachtet werden [96, 118].

Auf molekularer Ebene erklärt man sich die Wirkungsweise des aktivierten PPAR α durch inhibitorische Effekte auf andere transkriptionelle Signalwege (AP-1, NF-kB) [77, 118].

Für eine antiinflammatorische Aktivität und somit einen vorteilhaften Effekt auf arteriosklerotische Veränderungen der PPAR α-Aktivatoren sprechen zahlreiche klinische Studien: epidemiologische Untersuchungen zeigten eine gesenkte Inzidenz an kardiovaskulären Ereignissen unter PUFA-reicher Diät [59]. Die VAHIT-Studie 1998 zeigte bei männlichen Probanden mit gesicherter KHK sowie einer Hypertriglyzeridämie und einem erniedrigten HDL-Cholesterin unter einer Gemfibroziltherapie eine signifikante Abnahme der KHK-bedingten Mortalität und der akuten Myokardinfarkte, jedoch nicht der Gesamtmortalität [107]. Eine angiographischbelegte Studie beobachtete eine geringere Ausdehnung und Progression koronarer Stenosen bei KHK-Patienten unter Fenofibrattherapie [44]. Die LOCAT-Studie 1997 ergab bei Patienten nach koronarer Bypass-Operation mit erniedrigter HDL-Fraktion unter einer 32-monatigen Therapie mit Gemfibrozil eine koronarangiographisch kontrollierte, geringere Progression der koronaren arteriosklerotischen Veränderungen im Vergleich zur Kontrollgruppe [34]. In der DAIS-Studie (Diabetes Atherosclerosis Intervention Study) 1999 zeigte sich eine fenofibratbedingte Verringerung der angiographisch nachgewiesenen Progression fokaler Läsionen bei Typ II-Diabetikern [121]. Es bleibt jedoch fraglich, wie gut die Befunde aus koronaren Angiogrammen mit dem

tatsächlichen Risiko für einen Myokardinfarkt korrelieren, da der Stenosegrad einer Koronararterie wenig über die Gefahr einer Plaqueruptur aussagt [69]. Eine Behandlung der Hyperlipidämie von Typ-2-Diabetikern mit Fenofibrat hat in der FIELD (Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes)-Studie 2005, einer randomisierten, placebokontrollierten Studie, nicht die erhofften Resultate erzielt [53]. Die Rate der nichttödlichen Herzinfarkte wurde nur geringfügig gesenkt, im wichtigen Endpunkt der kardialen Todesfälle kam es sogar zu einem, wenn auch nicht signifikanten Anstieg unter Fenofibrat. Erst eine Subgruppenanalyse ergab eine signifikante Reduktion kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten mit Typ 2 Diabetes mellitus ohne vorbekannte KHK jedoch mit auffälligem Lipidprofil (erhöhten Triglyzeriden und niedrigem HDL-Spiegel). Die ACCORD (Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes)-Studie zeigte ebenfalls keine Reduktion von kardiovaskulären Ereignissen unter einer Kombinationstherapie aus Fenofibrat und Simvastatin im Vergleich zur Simvastatin-Monotherapie bei 5518 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2. Die Subgruppenanalyse ergab, ähnlich der FIELD-Studie, einen Vorteil für Patienten mit erhöhten Triglyzeriden und niedrigem HDL [42]. Mögliche Gründe für die unterschiedlichen Aussagen o.g. Arbeiten könnten proinflammatorische Wirkungen der PPAR α-Aktivierung durch Fibratderivate sein. So ist der Phospholipidanteil von oxLDL in der Lage PPAR α zu aktivieren [24, 63] und führt so zu einer vermehrten Sekretion von MCP-1 und IL-8 [63]. Ausserdem führt die PPAR α-Aktivierung zusammen mit TNF α und IFN γ zur Makrophagenapoptose in der arteriosklerotischen Läsion und damit zur Plaqueinstabilität [15].

Demzufolge ist der Nettoeffekt einer PPAR α-Aktivierung durch Fibratderivate weiter fraglich [75].

1.5 Ziel der Arbeit

In der vorliegenden Studie soll untersucht werden, ob eine Therapie mit dem lipidsenkenden PPAR α-Aktivator Fenofibrat über 4 Wochen einen Effekt auf die Serum- / Plasmaspiegel verschiedener Surrogatparameter der Arteriosklerose hat. Zusätzlich soll analysiert werden, ob es nach Absetzen der Therapie zu einer prolongierten Suppression der Parameter kommt oder ob unter Umständen ein Reboundphänomen auftritt.

Eine derartige antiatherogene Wirkung von Fenofibrat könnte dazu beitragen die atheroprotektiven Effekte dieser Substanz zu erklären, die in großen klinischen Studien über das Maß der Lipidsenkung hinaus beobachtet werden konnten. Darüberhinaus wird in dieser Studie geprüft, ob die in-vitro gefundenen antiinflammatorischen und antiatherogenen Effekte auf verschiedene Mediatoren auch in vivo zutreffen.

2. Material und Methoden

2.1 Patientenrekrutierung

Nach Vorlage des Studienprotokolls und Bewilligung der Studie durch die Ethikkommission der Universität Ulm wurden 31 männliche Patienten im Alter zwischen 30 und 80 Jahren in die Untersuchung einbezogen. Zur Zielgruppe gehören 21 Patienten mit angiographisch gesicherter koronarer Herzkrankheit [KHK]; die Kontrollgruppe umfasst 10 Patienten mit angiographisch ausgeschlossener KHK.

Als Ausschlusskriterien galten Gesamtcholesterinwerte über 7,5 mmol/l, Triglyzeridwerte über 3 mmol/l, sowie ein „body mass index“ (BMI) über 30 kg/m². Desweiteren ein mit Insulin oder oralen Antidiabetika eingestellter Diabetes mellitus Typ I/II, eine dekompensierte Niereninsuffizienz, Neoplasien, Operationen in den letzten 3 Monaten vor Studienbeginn oder geplante Operationen in den folgenden 6 Monaten nach Studienbeginn, ein Myokardinfarkt in den letzten 2 Monaten bzw. eine Koronarangiographie in den letzten 4 Wochen vor Studienbeginn. Bezüglich der Medikamenteneinnahme galten lipidsenkende Präparate aller Art, Antikoagulantien (Heparine, Cumarinderivate) und eine Steroidtherapie als Ausschlusskriterien.

2.2 Probensammlung und Therapie

Am Tag vor der Koranarangiographie wurde den Patienten Nutzen, Ablauf und mögliche Risiken der Studie erläutert, ihr Einverständnis eingeholt, sowie eine studienbezogene Anamnese erhoben.

Am Tag der Koronarangiographie wurde bei den Studienteilnehmern eine morgendliche Nüchtern-Blutentnahme vorgenommen. Am selben Tag begannen die Patienten eine 4-wöchige Therapie mit Normalip® pro, Firma Knoll (200 mg der mikronisierten Form von Fenofibrat). Es wurde darauf

hingewiesen, dass die Einnahme von einer Kapsel Normalip® pro abends zu einer Mahlzeit erfolgen sollte. Nach 4 Wochen wurde das Fenofibratpräparat abgesetzt und es wurde eine weitere morgendliche Nüchternblutentnahme im Rahmen eines ambulanten Termins durchgeführt. Außerdem wurden die Patienten über Verträglichkeit und Befinden befragt. Nach weiteren 6, 12 und 24 Wochen erfolgten erneut morgendliche, ambulante Nüchternblutentnahmen, sowie eine aktuelle Anamnese.

3 von 21 Patienten der Zielgruppe mussten die Studie nach der 3. bzw. 4. Blutentnahme vorzeitig abbrechen. Einer dieser Patienten wurde aufgrund einer symptomatischen Cholezystolithiasis operiert, die anderen beiden Patienten haben die Studie aus persönlichen Gründen vorzeitig beendet. Von 10 Patienten der Kontrollgruppe beendeten 10 die Studie mit der 5. und letzten Blutentnahme. Nur 2 von 31 mit Normalip® 250N retard behandelten Patienten gaben aufgetretene Nebenwirkungen an: ein Patient klagte über akneartige Hautveränderungen im Gesicht, sowie Myalgien und beendete die Fenofibrattherapie deshalb 3 Tage früher; der andere Patient litt nach Beginn der Therapie 2 Tage an Diarrhoe, was ihn jedoch nicht zum Therapieabbruch veranlasste.

Bei jeder der 5 Blutentnahmen wurden ca. 32 ml Blut mit je 2 Serum-, 2 EDTA- und 1 Gerinnungsmonovette der Firma Sarstedt abgenommen.

EDTA- und Gerinnungsmonovetten wurden gleich nach der Entnahme bei 3000 U/min für 10 Minuten zentrifugiert. Die Serummonovetten wurden erst 30 Minuten nach Entnahme bei 3500 U/min für 10 Minuten zentrifugiert. Das gewonnene Serum wurde abpipettiert und bei –70°C gelagert.

2.3 Labormessungen

2.3.1 Bestimmung von Cholesterolestern und Phospholipiden

Die Bestimmung der Cholesterolester- bzw. Phospholipidkonzentrationen im Serum erfolgte mittels den enzymatischen Farbtests „CHOL-H L-Type

20R/30R“ und „Phospholipids B“ der Firma Wako. Die Absorption der Proben wurde im Verhältnis zu der Standardlösung und des Reagenzleerwertes gemessen und damit nach einer bestimmten Formel die jeweilige Konzentration im Serum berechnet.
Beide Bestimmungen erfolgten in einem zertifizierten Labor gemäß ISO 9001 in einem „automated chemistry analyzer AU 640“ der Firma Olympus.

2.3.2 Bestimmung von IL-6 und TNF α

Die Bestimmung der Surrogatparameter IL-6 und TNF α wurden experimentell mit Hilfe der „Sandwich-Enzym-Immuno-Assay-Technik“ (ELISA=enzyme-linked-immuno-assay) durchgeführt. Die Serumkonzentrationen der einzelnen Surrogatparameter wurden dabei in jeder Serumprobe doppelt bestimmt und die Resultate dann gemittelt. Die Messung erfolgte für IL-6 aus dem Serum und für TNF α aus EDTA-Plasma.
Bei der Anwendung des ELISAs zur Bestimmung der Surrogatparameter wird ein immunologisches Verfahren mit einer enzymatischen Reaktion verknüpft. Am Beispiel der TNF α-Bestimmung wird das Prinzip des ELISAs dargestellt: Einer Probenplatte, die mit einem monoklonalen Antikörper gegen den zu bestimmenden Surrogatparameter, in diesem Fall TNF α, beschichtet ist, wird zunächst jeweils 50 µl „Assay Diluent HD1-11“, eine gepufferte, proteinreiche Base, zugefügt. Daraufhin werden die Standards, aus einer davor angefertigten Standardreihe mit „TNF α-Standard“ und „Calibrator Diluent HD6J“, sowie die gesammelten Patientenproben hinzugegeben. Der „Assay“ wird dann für 14-20 Stunden bei 2-8°C inkubiert. In dieser Zeit kommt es zur Bindung des in der Probe gelösten Surrogatparameters (TNF α) an den wandständigen Antikörper der Probenplatte. Nach der Inkubation werden in 4 Waschgängen mit, in destilliertem Wasser gelöstem, „Wash Buffer Concentrate“ der Überstand und die ungebundenen Substanzen entfernt. Daraufhin wird jeweils 200 µl eines „TNF α-Conjugates“, ein polyklonaler Antikörper gegen TNF α, der mit einer alkalischen Phosphatase konjugiert ist und an ein weiteres Epitop des TNF α bindet, hinzugefügt und dann 3 Stunden

bei Raumtemperatur inkubiert. Es erfolgen erneut 4 Waschgänge, nach deren Durchführung ein an der Plattenwand fixierter „Sandwich-Immunkomplex“ aus einem Antigen (Surrogatparameter) und seinen zwei Antikörpern vorliegt. Daraufhin wird der „Assay“ mit jeweils 50 µl „Substrate Solution“, in „Substrate Diluent“ gelöstem, gefriergetrocknetem NADPH (reduziertes Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat) versehen. Nach einer Stunde Inkubation bei Raumtemperatur wird mit jeweils 50 µl „Amplifier Solution“, in „Tetrazoliumsalz (INT-violet)“-haltigem „Amplifier Diluent“ gelöste, gefriergetrocknete Amplifikationsenzyme, hinzugefügt. In einer weiteren Inkubationszeit von 30 Minuten bei Raumtemperatur löst das an jeden Komplex gekoppelte Enzym (alkalische Phosphatase) durch Substrat- (NADPH) und Amplifierzugabe eine enzymatische Farbreaktion aus. Dabei dephosphorylieren die alkalischen Phosphatasen NADPH zu NADH. NADH reduziert mit Hilfe der Amplifikationsenzyme das Tetrazoliumsalz (INT-violet) wodurch es zur Farbentwicklung kommt. Die Konzentration des entstandenen Farbstoffes ist direkt proportional zur Konzentration des zu Beginn gebundenen Surrogatparameters (TNF α). Nach 30 Minuten wird die Farbreaktion mit jeweils 50 µl „Stop Solution“ (Schwefelsäure) abgebrochen. Jetzt kann die Konzentration des neu entstandenen Farbstoffes innerhalb von 30 Minuten bei 490 nm photometrisch bestimmt werden. Dabei ist die gemessene Extinktion von Licht einer bestimmten Wellenlänge der Ausgangskonzentration des Surrogatparameters (TNF α) proportional. Setzt man sie in Bezug zur Standardkurve, so können Werte für die vorliegenden Serumkonzentrationen angegeben werden.

Aufgrund weitgehend manueller Arbeitsweise ist die enzymimmunologische Methode des ELISAs fehleranfällig. Dies spiegelt sich in der Streuung der Lagemasse und in den zum Teil hohen Standardabweichungen wieder. Durch Doppelbestimmung jeder Probe und technisch standardisierter, mechanischer Ausführung des Spülvorgangs werden methodenbedingte Fehler minimiert und die Reproduzierbarkeit der Messwerte gesteigert.

2.3.3 Bestimmung von Fibrinogen und Serum Amyloid A

Die Konzentrationen von Fibrinogen und Serum Amyloid A in den Patientenproben wurde mit Hilfe der Nephelometrie bestimmt. Das immunchemische Verfahren zur Proteinbestimmung beruht auf einer Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen, welche zu einer Streuung von Licht führen. Licht mit einer Wellenlänge von 840 nm wird von der Leuchtdiode des Nephelometers ausgesendet und an den Antigen-Antikörper-Komplexen in einer Küvette gestreut. Das gestreute Licht wird gemessen und die Intensität des Streulichtes ist bei Antikörperüberschuss proportional der Menge der Antigen-Antikörper-Komplexe in der Probe. Bei konstanter Antikörpermenge ist das Signal proportional der Antigenmenge. Nach Erstellung einer Referenzkurve mit einem Standard, der bekannte Antigenmengen enthält, werden in Anlehnung an diese die Streulichtsignale der Proben ausgewertet und die Antigenkonzentrationen berechnet.

Fibrinogen, bzw. Serum Amyloid A, wurden im EDTA-Plasma, nach Zusatz des Antiserums und in Anlehnung an eine Standardkurve im Nephelometer gemessen.

2.3.4 Liste der verwendeten Geräte, Instrumente und Reagenzien

▪ Normalip® pro	Knoll
▪ Freka-Derm	Fresenius-Kabi
▪ Vliwasoft-Kompressen	Rauscher
▪ Ecoflo	Dispomed Witt oHG
▪ Multi-Adapter	Sarstedt
▪ EDTA KE 9 ml Monovetten	Sarstedt
▪ EDTA K 2,7 ml Monovetten	Sarstedt
▪ Gerinnung 5 ml Monovetten	Sarstedt
▪ Serum 7,5 ml	Sarstedt
▪ Zentrifuge	Hettich Universal
▪ Pipette Reference 1000 µl	Eppendorf

▪ Safe-Lock 1,5 ml	Eppendorf
▪ Phospholipids B	Wako Chemicals GmbH
▪ CHOL-H L-Type 20R/30R	Wako Chemicals GmbH
▪ Automated Chemistry Analyzer AU 640	Olympus
▪ Quantikine® HS IL-6 Immunoassay	R&D Systems
▪ Quantikine® HS TNF α Immunoassay	R&D Systems
▪ Behring Nephelometer Analyzer II	Dade Behring
▪ N Antiserum gegen Human-Fibrinogen	Behringwerke AG
▪ Aqua Spüllösung Delta-Pharma	Boehringer-Ingelheim
▪ Serologica pipet	Falcon
▪ Multipette plus	Eppendorf
▪ Pipetman 20/100/1000 µl	Abimed
▪ Pipetus-akku	Hirschmann
▪ Combitips plus 5/10 ml	Eppendorf
▪ Standardtips 100/1000 µl	Eppendorf
▪ Vortex-Genie 2	Scientific Industries
▪ Temperatur-Magnet-Rührer	Kika-Werke
▪ Falcon Blue Max	Becton Dickinson
▪ Phosphate Buffered Saline pH 7,4	Sigma
▪ Milenia Kinetic Analyzer	DPC
▪ Mikrotiterplatten-Vollwaschautomat	Tecan
▪ RM-5	Assistent
▪ Certomat H	B. Braun
▪ Digital-Waage	Sartorius Analytic

2.4 Statistik

Die Normalverteilung der Daten wurde mit dem Kolmogorow-Smirnow-Test geprüft. Unterschiede zwischen den Gruppen wurde mit Hilfe des Mann-Whitney U Tests analysiert. Differenzen zwischen verschiedenen Therapie-

und Abnahmezeitpunkten wurden mit Friedman repeated measurement ANOVA oder one way repeated measurement ANOVA, gefolgt von einem angemessenen Post-Hoc-Test untersucht. Nicht-normalverteilte Daten wurden als Median und Interquartilbereich, normal-verteilte Daten als Mittelwert±Standardabweichung dargestellt. Ein P-Wert <0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet.

3. Ergebnisse

Ob die in dieser Studie durchgeführte 4-wöchige Therapie mit dem lipidsenkenden PPAR α-Aktivator Fenofibrat einen Effekt auf verschiedene Surrogatparameter der Arteriosklerose hatte, wurde anhand der in vitro gemessenen Serum-/Plasmaspiegel dieser Parameter zu verschiedenen Zeitpunkten der Studie untersucht. Es erfolgte eine Probenentnahme direkt vor Therapiebeginn (zum Zeitpunkt P1), die Darauffolgende nach 4-wöchiger Therapie (zum Zeitpunkt P2). Jeweils 6, 12 und 24 Wochen nach Therapieende (zum Zeitpunkt P3, P4 und P5) wurden erneut Proben entnommen.

Tabelle 1 Basischarakteristika der Probanden der KHK- und Kontrollgruppe sowie Vergleich der medianen Ausgangswerte beider Gruppen

Tabelle 1 Vergleich der medianen Ausgangswerte der Probanden mit und ohne koronare Herzkrankheit (KHK). N=Anzahl der Probanden, M=männlich, [1] =Median (25./75. Perzentile), p=Signifikanzniveau berechnet mit Mann-Whitney-U-Test, IL-6=Interleukin-6; TNF α=Tumor necrosis factor alpha; SAA=Serum amyloid A

	KHK-Gruppe	Kontroll-Gruppe	P
N	21	10	
Alter (in Jahren)	61	57	
Geschlecht	M	M	
arterielle Hypertonie	12	4	
Nikotinabusus	8	4	
früherer Myokardinfarkt	11	0	
Cholesterolester (mg/dl) N	152(134/178,75)[1] 21	160(117,5/182,25)[1] 10	0,821
Phospholipide (mg/dl) N	236(206,75/275,5)[1] 21	217(193/269)[1] 10	0,398
IL-6 (pg/ml) N	3,366 (2,251/6,091)[1] 21	1,698 (1,195/2,498)[1] 10	0,006
Fibrinogen (g/l) N	2,99 (2,533/3,322)[1] 21	2,59 (2,28/3,495)[1] 8	0,479
TNF α (pg/ml) N	1,773 (1,337/3,34)[1] 21	2,2015 (1,38575/3,4915)[1] 10	0,532
SAA (mg/l) N	3,5 (1,6/8,425)[1] 21	5,5 (3,55/9,15)[1] 8	0,495

3.1 Wirkung von Fenofibrat auf Cholesterolester

Vor Beginn der Therapie mit Fenofibrat hat die KHK-Gruppe einen medianen Ausgangswert für Cholesterolester im Serum von 152 mg/dl (95/211). Die Kontrollgruppe liegt mit 160 mg/dl (109/207) geringfügig höher, der Vergleich beider Gruppen ist statistisch nicht signifikant (Tabelle 1, Abbildung 1).

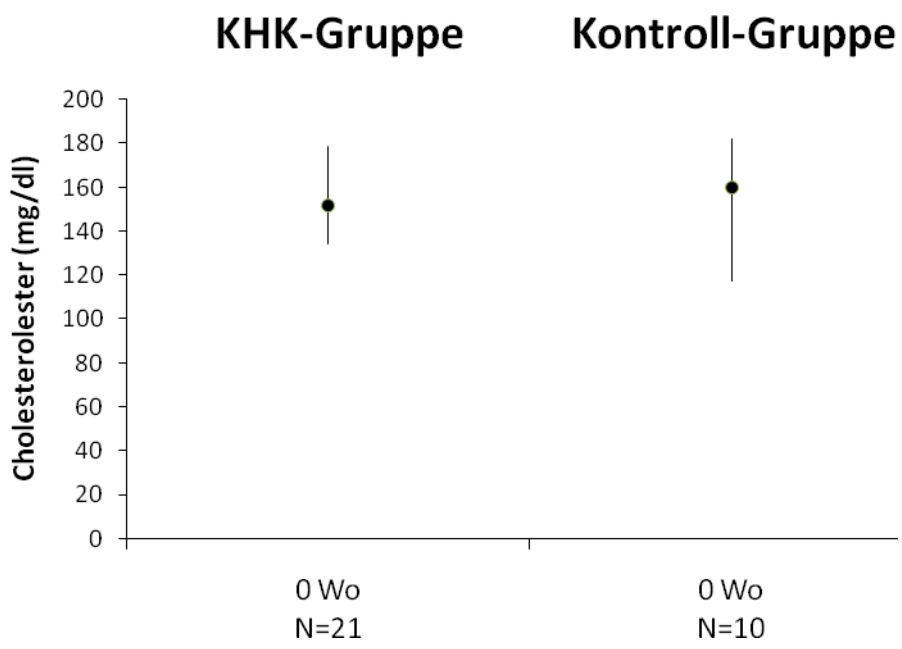

Abbildung 1: Vergleich der medianen Cholesterolesterausgangswerte im Serum der Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK-Gruppe) mit der Kontrollgruppe.

(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25., die obere die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo= 1. Blutentnahme vor Fenofibrattherapie.

Nach 4-wöchiger Therapie fällt der Serumcholesterolestergehalt in beiden Gruppen statistisch signifikant ab; jener der Probanden mit KHK auf 149 mg/dl (100/171) (p=0,002) und jener der gesunden Probanden deutlicher auf 142 mg/dl (108/181) (p=0,013). Im Zuge der 3. Kontrolle, 6 Wochen nach Therapieende kann ein statistisch signifikanter Anstieg des Cholesterolestergehaltes im Serum beider Gruppen beobachtet werden, der über 24 Wochen anhält (p=0,002 bzw. 0,013) (Abbildung 2, 3).

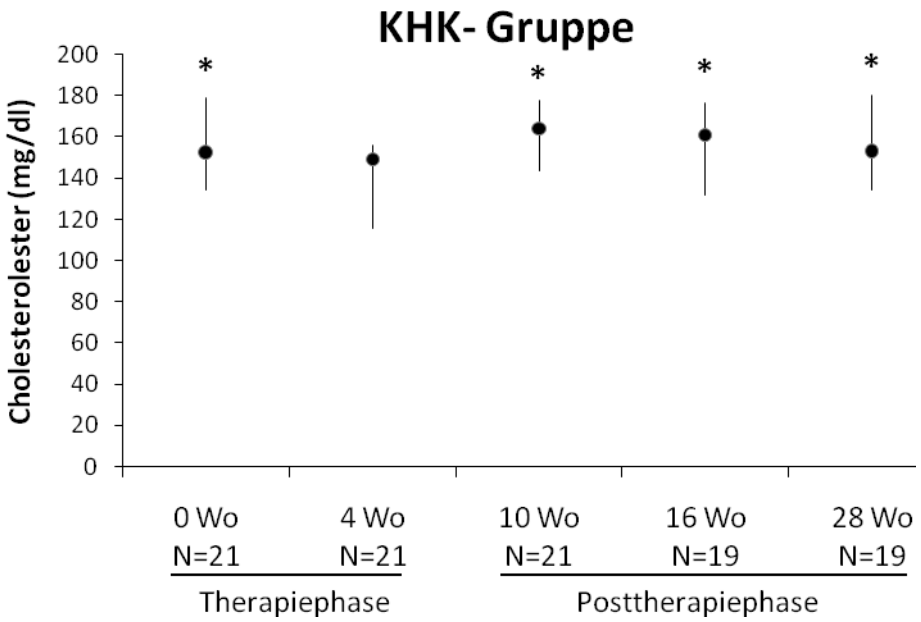

Abbildung 2: Veränderungen des medianen Cholesterolesterspiegels im Serum vor und nach der Therapie mit Fenofibrat bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK-Gruppe).
(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25. Perzentile, die obere Grenze die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo=1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe, 4 Wo=2. Blutentnahme nach 4-wöchiger Fenofibrattherapie, 10 Wo=3. Blutentnahme 10 Wochen nach Studienbeginn, 16 Wo=4. Blutentnahme 16 Wochen nach Studienbeginn, 28 Wo=5. Blutentnahme 28 Wochen nach Studienbeginn.*=p=0,002. Signifikanz besteht im Vergleich zu 4 Wo (Zeitpunkt nach 4-wöchiger Fenofibratgabe).

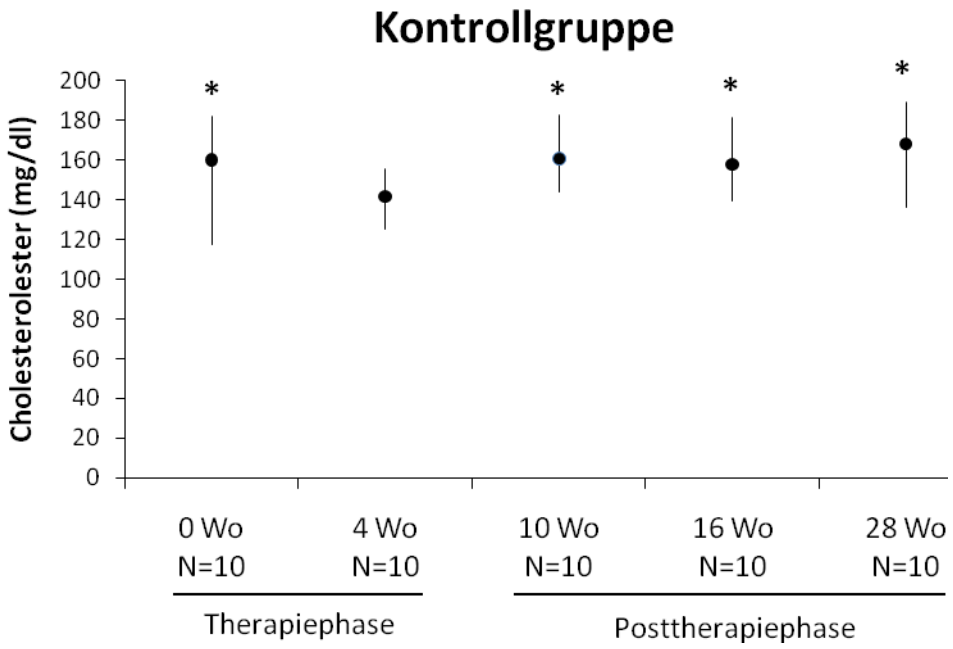

Abbildung 3: Veränderungen des Cholesterolesterspiegels im Serum vor und nach der Therapie mit Fenofibrat bei Patienten ohne koronare Herzkrankheit (Kontrollgruppe).
(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25. Perzentile, die obere Grenze die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo=1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe, 4 Wo=2. Blutentnahme nach 4-wöchiger Fenofibrattherapie, 10 Wo=3. Blutentnahme 10 Wochen nach Studienbeginn, 16 Wo=4. Blutentnahme 16 Wochen nach Studienbeginn, 28 Wo=5. Blutentnahme 28 Wochen nach Studienbeginn.*=p=0,013. Signifikanz besteht im Vergleich zu 4 Wo (Zeitpunkt nach 4-wöchiger Fenofibratgabe).

3.2 Wirkung von Fenofibrat auf Phospholipide

Die mediane Phospholipidausgangskonzentration im Serum der KHK-Gruppe unterscheidet sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe (Tabelle 1, Abbildung 4).

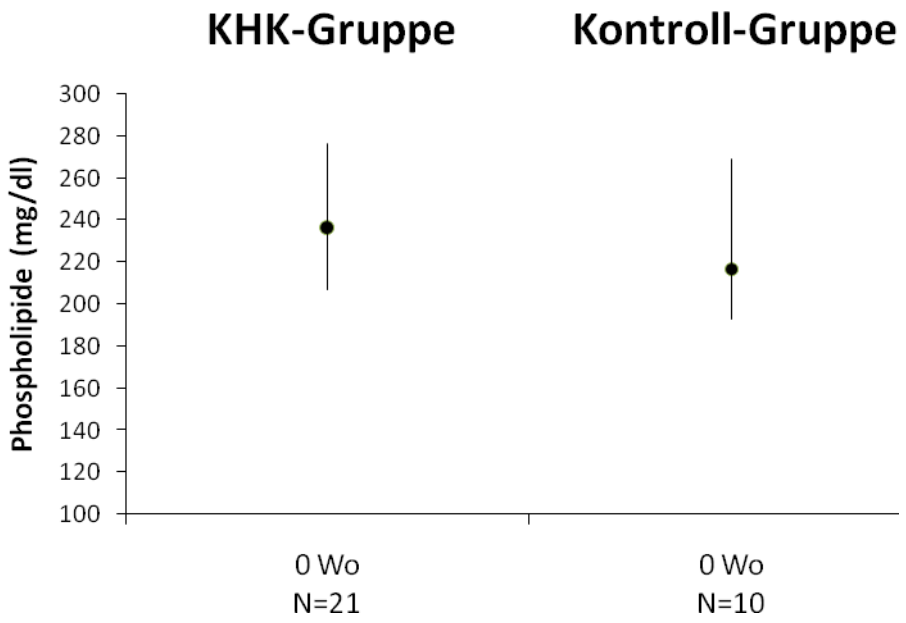

Abbildung 4: Vergleich der medianen Phospholipidausgangswerte im Serum der Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK-Gruppe) mit der Kontrollgruppe.

(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25., die obere die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo= 1. Blutentnahme vor Fenofibrattherapie.

Weder in der KHK- noch in der Kontrollgruppe kam es zu einer statistisch signifikanten Veränderung der Phospholipidserumkonzentrationen unter und nach Einwirkung von Fenofibrat (Abbildung 5, 6).

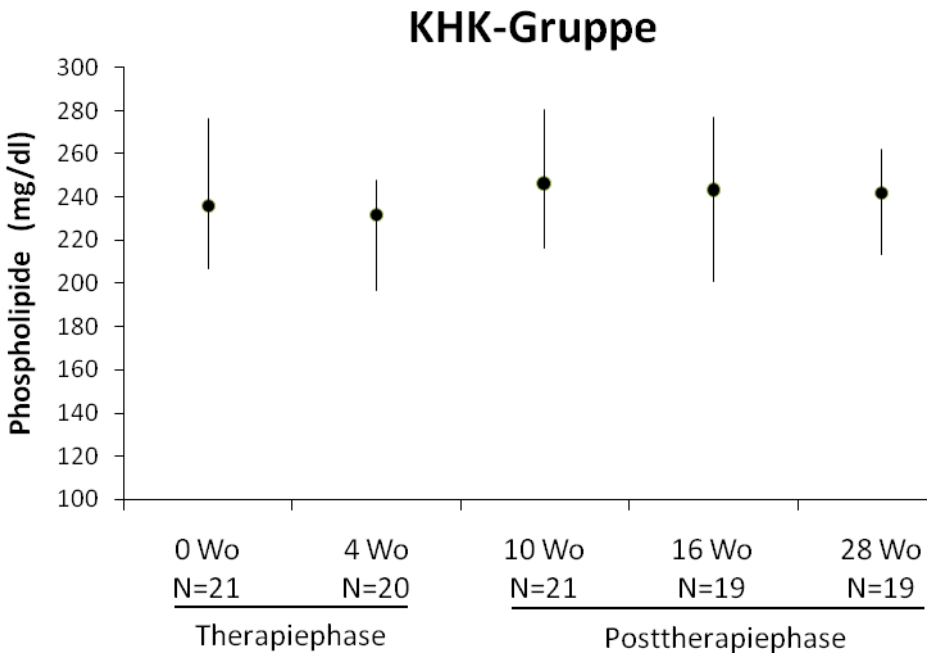

Abbildung 5: Veränderungen des medianen Phospholipidspiegels im Serum vor und nach der Therapie mit Fenofibrat bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK-Gruppe).

(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25. Perzentile, die obere Grenze die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo=1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe, 4 Wo=2. Blutentnahme nach 4-wöchiger Fenofibrattherapie, 10 Wo=3. Blutentnahme 10 Wochen nach Studienbeginn, 16 Wo=4. Blutentnahme 16 Wochen nach Studienbeginn, 28 Wo=5. Blutentnahme 28 Wochen nach Studienbeginn..

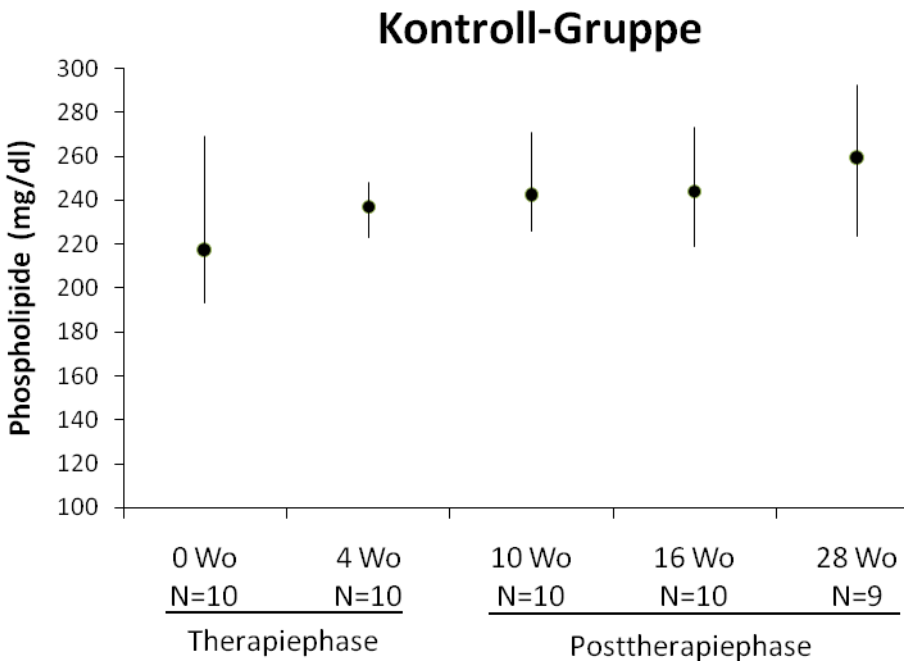

Abbildung 6: Veränderungen des Phospholipidspiegels im Serum vor und nach der Therapie mit Fenofibrat bei Patienten ohne koronare Herzkrankheit (Kontrollgruppe).
(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25. Perzentile, die obere Grenze die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo=1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe, 4 Wo=2. Blutentnahme nach 4-wöchiger Fenofibrattherapie, 10 Wo=3. Blutentnahme 10 Wochen nach Studienbeginn, 16 Wo=4. Blutentnahme 16 Wochen nach Studienbeginn, 28 Wo=5. Blutentnahme 28 Wochen nach Studienbeginn..

3.3 Wirkung von Fenofibrat auf Interleukin-6 (IL-6)

Der Ausgangswert von IL-6 im Serum liegt in der KHK-Gruppe mit einem Medianwert von 3,336 pg/ml (1,045/9,868) statistisch signifikant höher als in der Kontrollgruppe (1,698 pg/ml (0,775/3,929)), (p=0,006), (Tabelle 1, Abbildung 7).

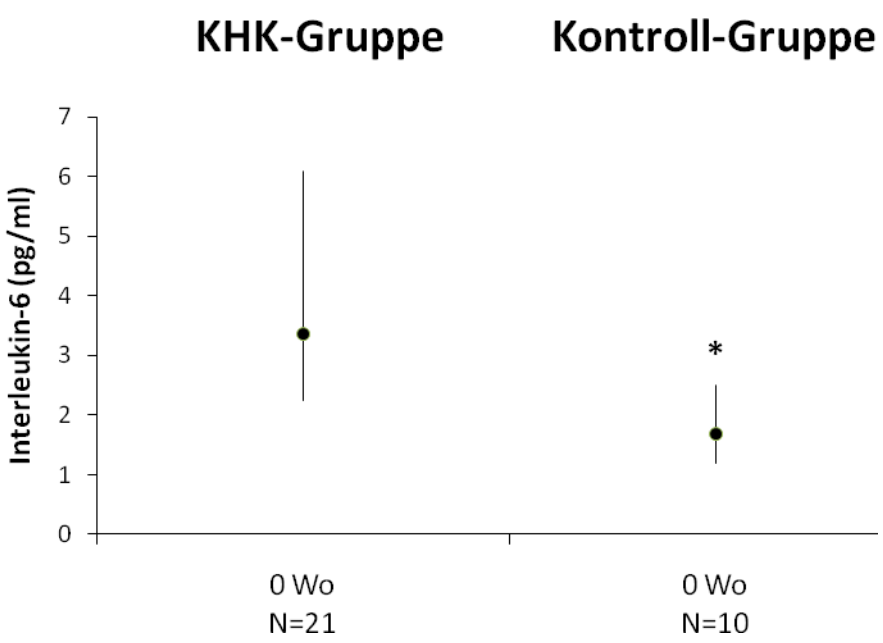

Abbildung 7: Vergleich der medianen Interleukin-6 (IL-6)-Ausgangswerte im Serum der Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK-Gruppe) mit der Kontrollgruppe.

(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25., die obere die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo= 1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe, *=p=0,006. Signifikanz besteht im Vergleich zur KHK-Gruppe zum Zeitpunkt 0 Wo (vor Therapiebeginn).

Unter und nach Therapie mit Fenofibrat zeigen sich keine signifikanten Veränderungen des IL-6-Serumspiegels in beiden Gruppen (Abbildung 8, 9).

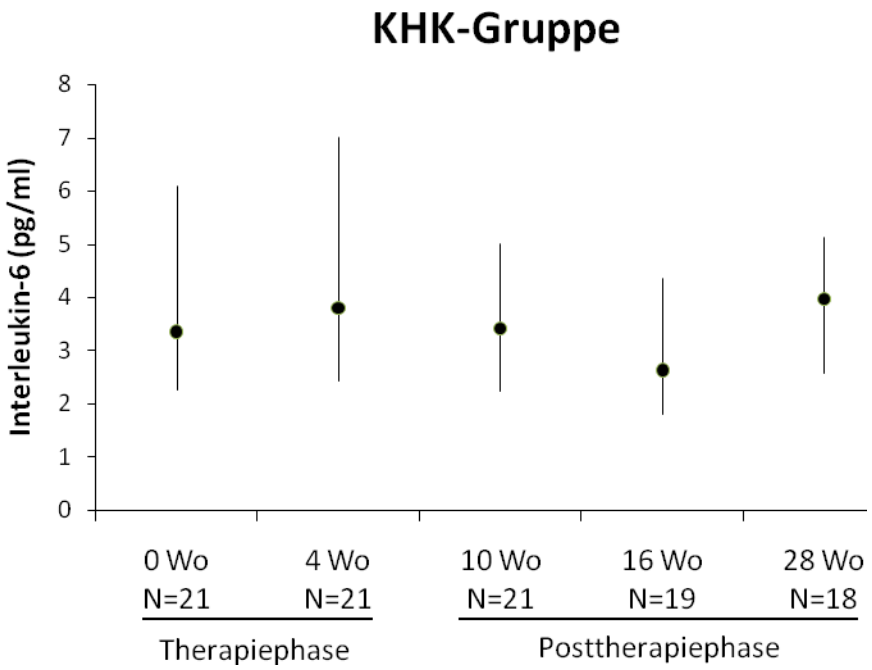

Abbildung 8: Veränderungen des medianen Interleukin-6 (IL-6)-Spiegels im Serum vor und nach der Therapie mit Fenofibrat bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK-Gruppe).
(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25. Perzentile, die obere Grenze die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo=1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe, 4 Wo=2. Blutentnahme nach 4-wöchiger Fenofibrattherapie, 10 Wo=3. Blutentnahme 10 Wochen nach Studienbeginn, 16 Wo=4. Blutentnahme 16 Wochen nach Studienbeginn, 28 Wo=5. Blutentnahme 28 Wochen nach Studienbeginn..

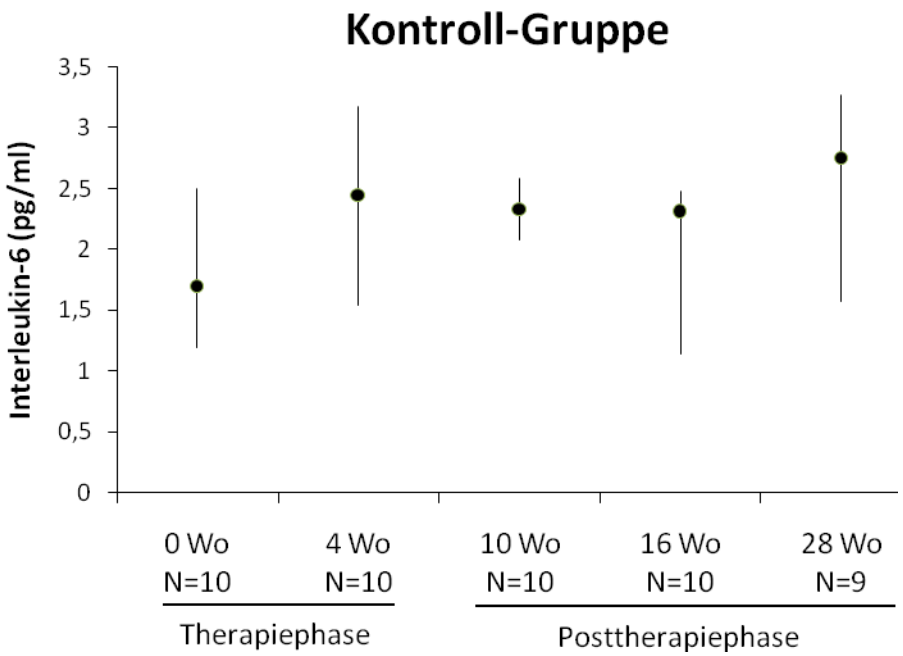

Abbildung 9: Veränderungen des medianen Interleukin-6 (IL-6)-Spiegels im Serum vor und nach der Therapie mit Fenofibrat bei Patienten ohne koronare Herzkrankheit (Kontrollgruppe). (●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25. Perzentile, die obere Grenze die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo=1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe, 4 Wo=2. Blutentnahme nach 4-wöchiger Fenofibrattherapie, 10 Wo=3. Blutentnahme 10 Wochen nach Studienbeginn, 16 Wo=4. Blutentnahme 16 Wochen nach Studienbeginn, 28 Wo=5. Blutentnahme 28 Wochen nach Studienbeginn..

3.4 Wirkung von Fenofibrat auf Fibrinogen

Weder in der KHK- noch in der Kontrollgruppe kam es vor, unter und nach der Therapie mit Fenofibrat zu statistisch signifikanten Veränderungen in der Fibrinogenplasmakonzentration (Tabelle 1, Abbildung 10, 11, 12).

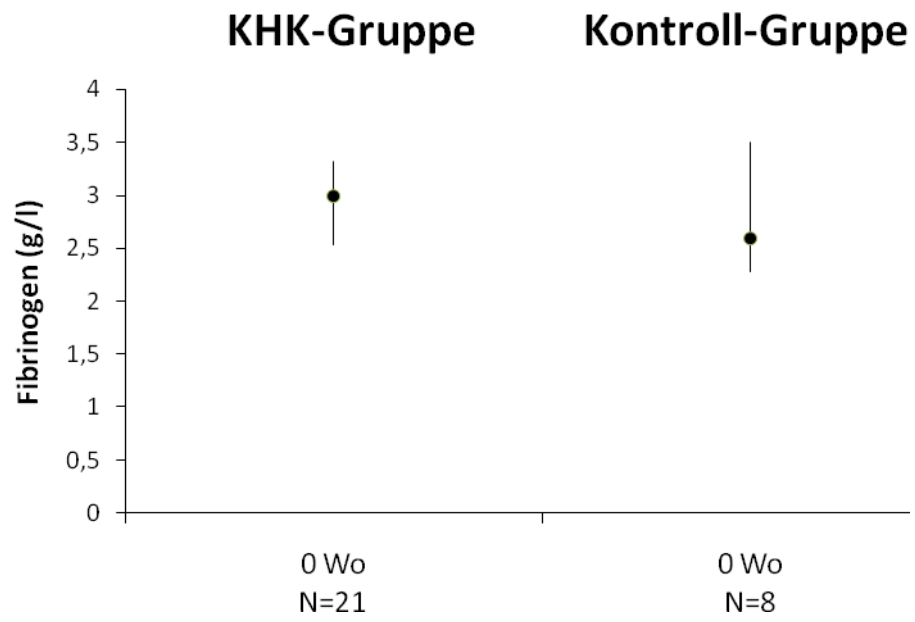

Abbildung 10: Vergleich der medianen Fibrinogenausgangswerte im Plasma der Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK-Gruppe) mit der Kontrollgruppe.

(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25., die obere die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo= 1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe.

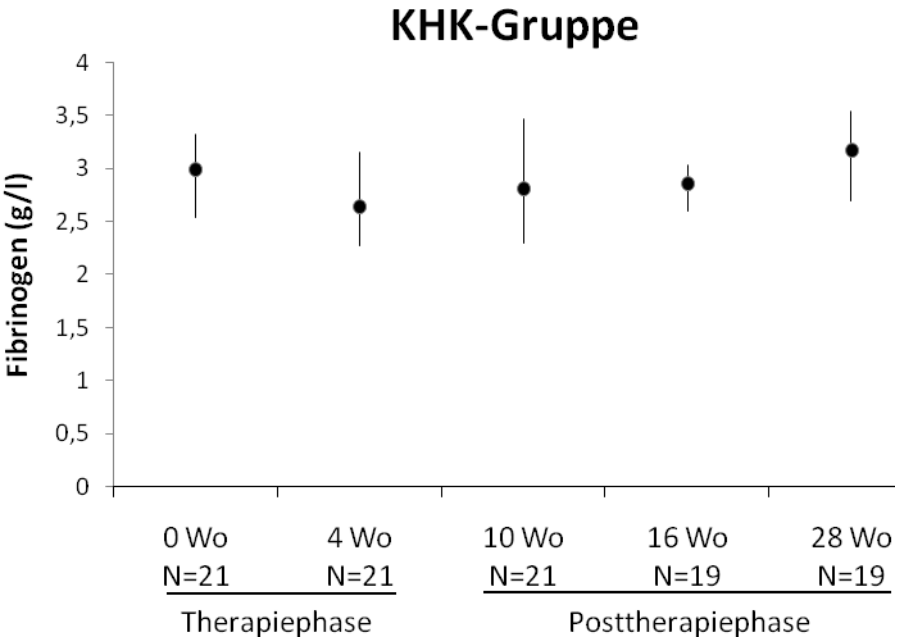

Abbildung 11: Veränderungen des medianen Fibrinogenspiegels im Plasma vor und nach der Therapie mit Fenofibrat bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK-Gruppe).

(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25. Perzentile, die obere Grenze die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo=1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe, 4 Wo=2. Blutentnahme nach 4-wöchiger Fenofibrattherapie, 10 Wo=3. Blutentnahme 10 Wochen nach Studienbeginn, 16 Wo=4. Blutentnahme 16 Wochen nach Studienbeginn, 28 Wo=5. Blutentnahme 28 Wochen nach Studienbeginn..

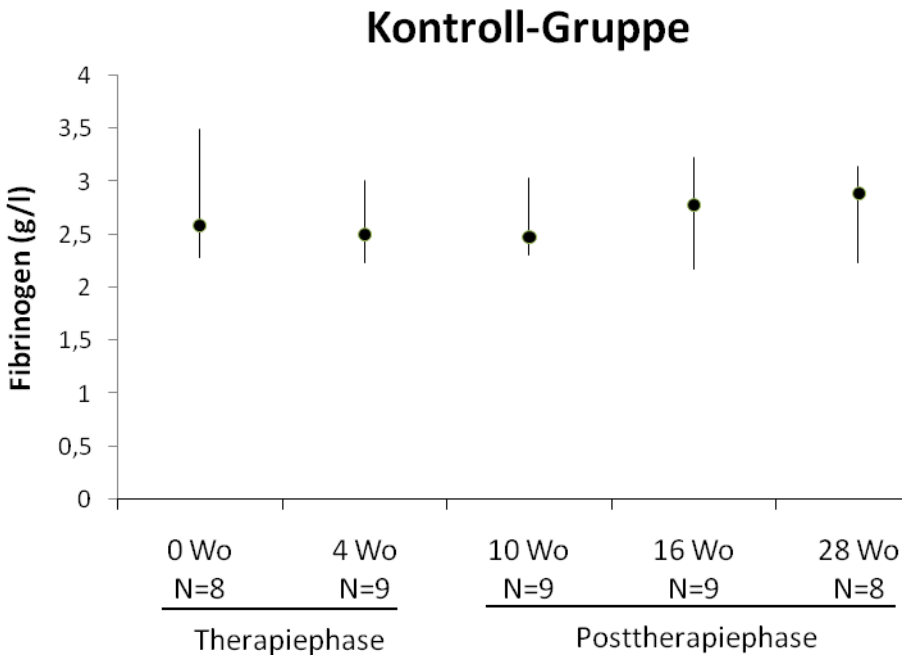

Abbildung 12: Veränderungen des Fibrinogenspiegels im Plasma vor und nach der Therapie mit Fenofibrat bei Patienten ohne koronare Herzkrankheit (Kontrollgruppe).

(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25. Perzentile, die obere Grenze die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo=1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe, 4 Wo=2. Blutentnahme nach 4-wöchiger Fenofibrattherapie, 10 Wo=3. Blutentnahme 10 Wochen nach Studienbeginn, 16 Wo=4. Blutentnahme 16 Wochen nach Studienbeginn, 28 Wo=5. Blutentnahme 28 Wochen nach Studienbeginn..

3.5 Wirkung von Fenofibrat auf TNF α

Im Vergleich der TNF α-Plasmawerte innerhalb der Therapie- und Kontrollgruppe, als auch im Vergleich beider Gruppen miteinander fanden sich zu sämtlichen Messzeitpunkten keine statistisch signifikanten Ergebnisse (Tabelle 1, Abbildung 13, 14, 15).

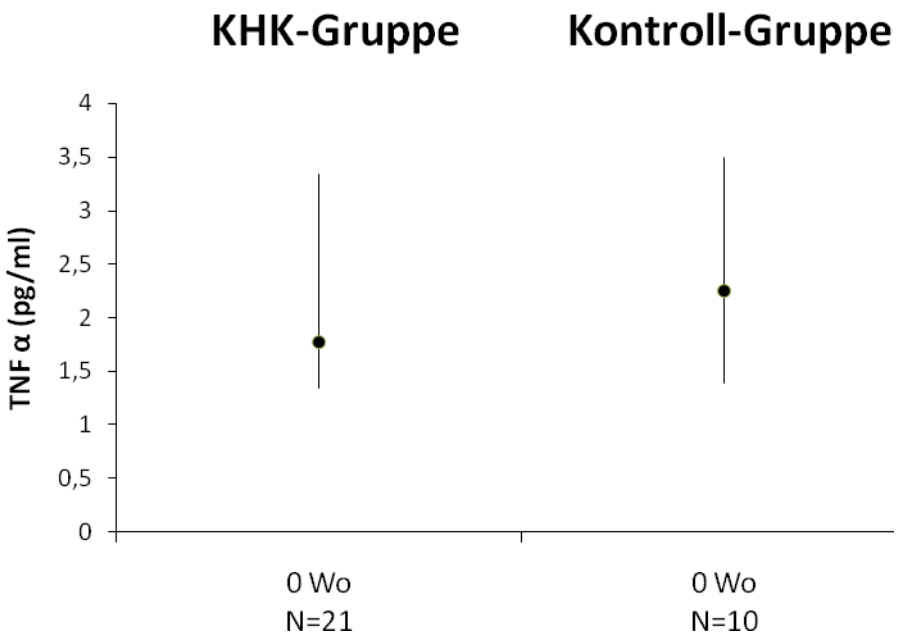

Abbildung 13: Vergleich der medianen tumor necrosis factor alpha (TNF α)-Ausgangswerte im Plasma der Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK-Gruppe) mit der Kontrollgruppe.
(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25., die obere die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo= 1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe.

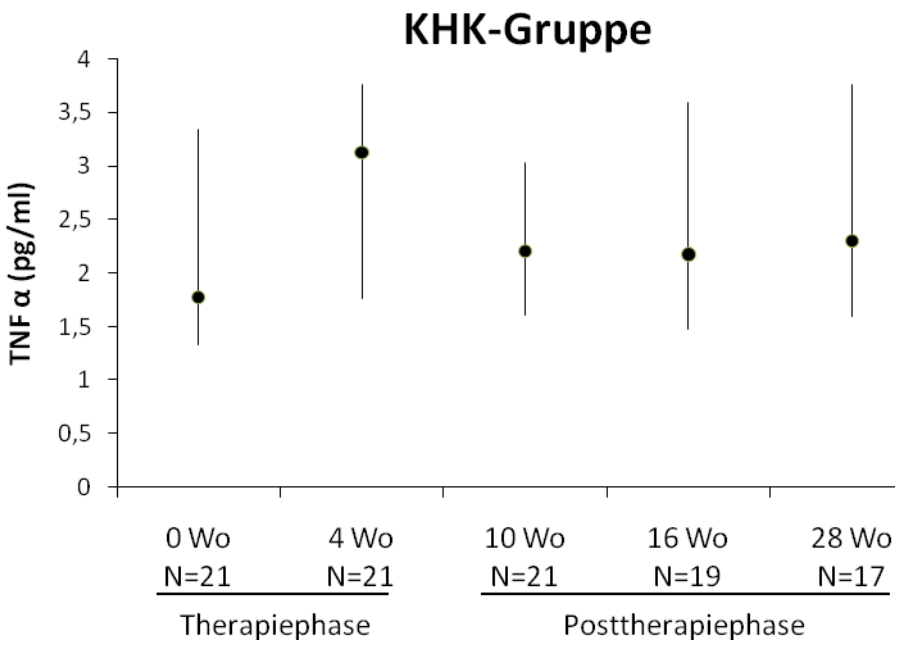

Abbildung 14: Veränderungen des medianen tumor necrosis factor alpha (TNF α)-Spiegels im Plasma vor und nach der Therapie mit Fenofibrat bei Patienten mit koronarer Herz-krankheit (KHK-Gruppe).

(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25. Perzentile, die obere Grenze die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo=1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe, 4 Wo=2. Blutentnahme nach 4-wöchiger Fenofibrattherapie, 10 Wo=3. Blutentnahme 10 Wochen nach Studienbeginn, 16 Wo=4. Blutentnahme 16 Wochen nach Studienbeginn, 28 Wo=5. Blutentnahme 28 Wochen nach Studienbeginn..

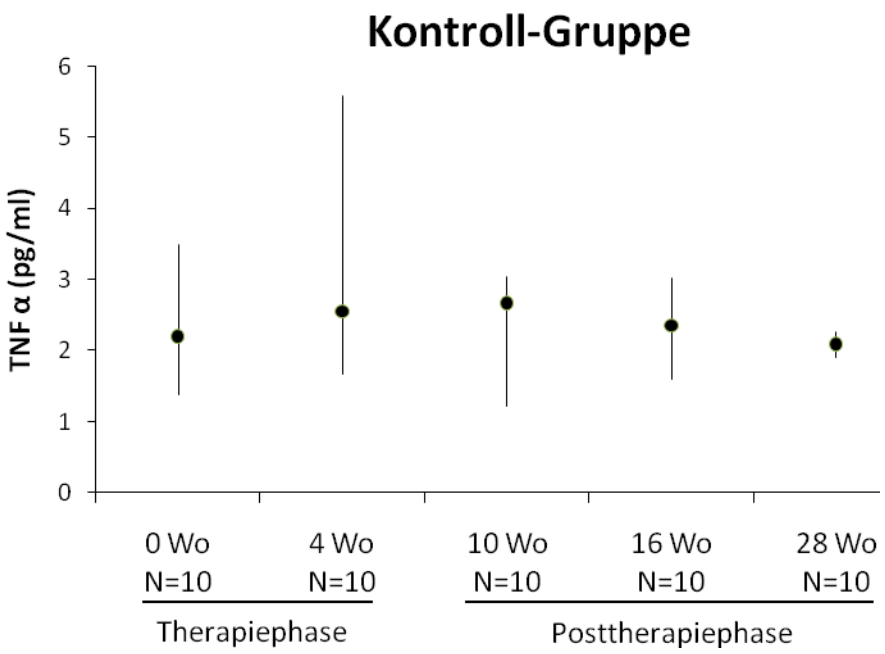

Abbildung 15: Veränderungen des medianen tumor necrosis factor alpha (TNF α)-Spiegels im Plasma vor und nach der Therapie mit Fenofibrat bei Patienten ohne koronare Herzkrankheit (Kontrollgruppe).

(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25. Perzentile, die obere Grenze die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo=1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe, 4 Wo=2. Blutentnahme nach 4-wöchiger Fenofibrattherapie, 10 Wo=3. Blutentnahme 10 Wochen nach Studienbeginn, 16 Wo=4. Blutentnahme 16 Wochen nach Studienbeginn, 28 Wo=5. Blutentnahme 28 Wochen nach Studienbeginn..

3.6 Wirkung von Fenofibrat auf Serum Amyloid A (SAA)

Der Vergleich der SAA-Ausgangswerte im Plasma zwischen beiden Gruppen zeigte keine statistisch signifikanten Unterschiede (Tabelle 1, Abbildung 16).

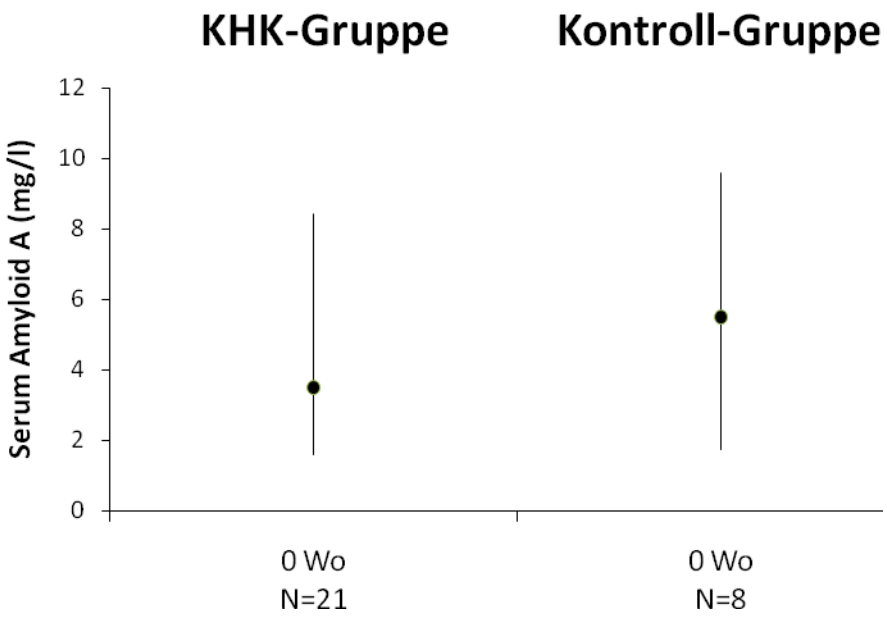

Abbildung 16: Vergleich der medianen Serum amyloid A (SAA)-Ausgangswerte im Plasma der Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK-Gruppe) mit der Kontrollgruppe.

(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25., die obere die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo= 1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe.

Weder in der KHK- noch in der Kontrollgruppe kam es unter bzw. nach Absetzen von Fenofibrat zu signifikanten Veränderungen der SAA-Konzentrationen (Abbildung 17,18).

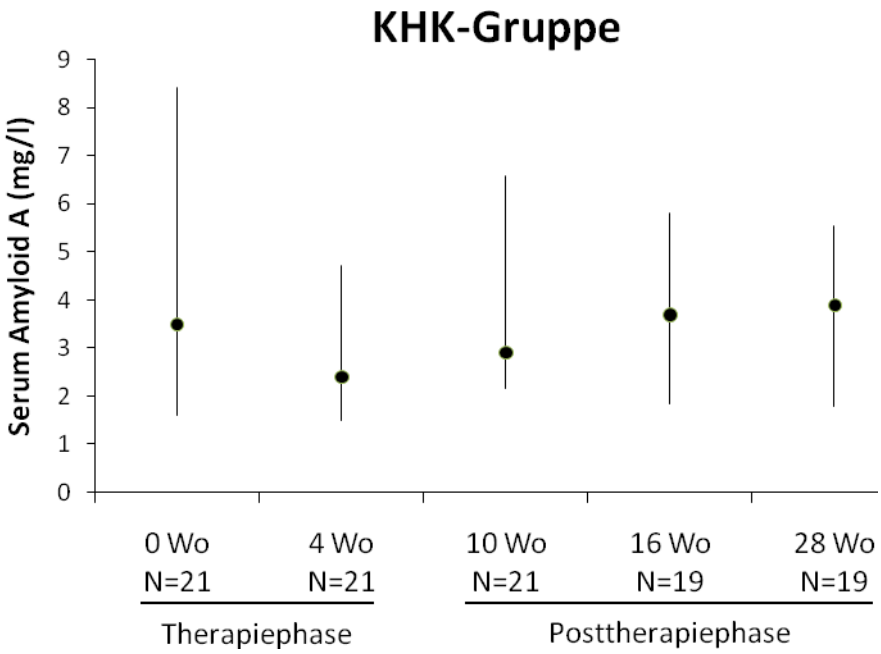

Abbildung 17: Veränderungen des medianen Serum amyloid A (SAA)-Spiegels im Plasma vor und nach der Therapie mit Fenofibrat bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK-Gruppe). (●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25. Perzentile, die obere Grenze die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo=1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe, 4 Wo=2. Blutentnahme nach 4-wöchiger Fenofibrattherapie, 10 Wo=3. Blutentnahme 10 Wochen nach Studienbeginn, 16 Wo=4. Blutentnahme 16 Wochen nach Studienbeginn, 28 Wo=5. Blutentnahme 28 Wochen nach Studienbeginn..

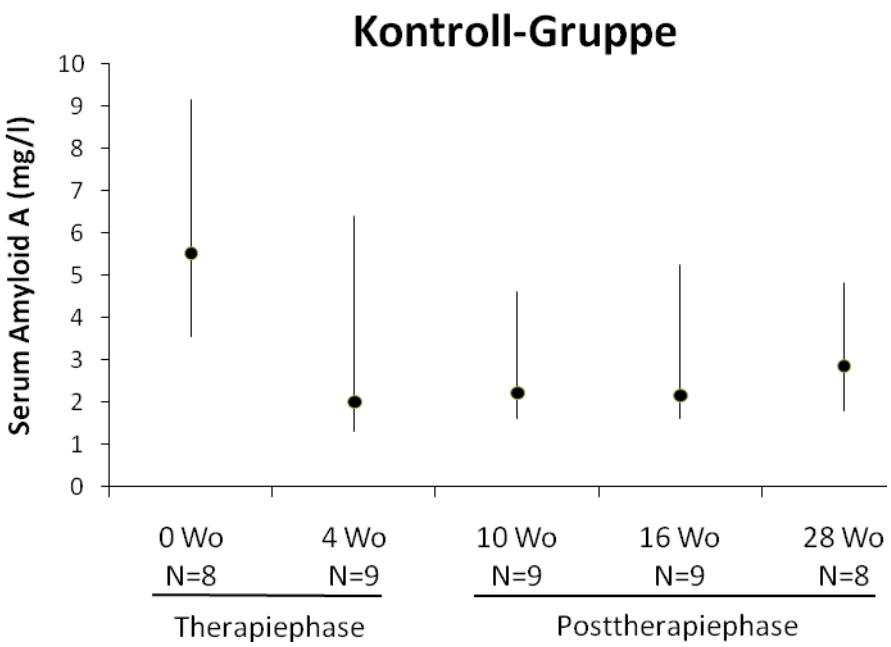

Abbildung 18: Veränderungen des Serum amyloid A (SAA)-Spiegels im Plasma vor und nach der Therapie mit Fenofibrat bei Patienten ohne koronare Herzkrankheit (Kontrollgruppe).

(●)=Median, die untere Grenze des Balkens repräsentiert die 25. Perzentile, die obere Grenze die 75. Perzentile. N=Anzahl der Probanden. 0 Wo=1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe, 4 Wo=2. Blutentnahme nach 4-wöchiger Fenofibrattherapie, 10 Wo=3. Blutentnahme 10 Wochen nach Studienbeginn, 16 Wo=4. Blutentnahme 16 Wochen nach Studienbeginn, 28 Wo=5. Blutentnahme 28 Wochen nach Studienbeginn.

Tabelle 2 Veränderung und zeitlicher Verlauf inflammatorischer Marker vor, während und nach Gabe von Fenofibrat in der Interventions- und Kontrollgruppe

Tabelle 2 Veränderung und zeitlicher Verlauf inflammatorischer Marker vor, während und nach Gabe von Fenofibrat in der KHK- und Kontrollgruppe. N-Zahl der untersuchten Probanden; p-Signifikanzniveau berechnet mit Mann-Whitney-U-Test; Perz.-Perzentile; P1=1. Blutentnahme vor Fenofibratgabe; P2=2. Blutentnahme nach 4-wöchiger Fenofibrateinnahme; P3=3. Blutentnahme 10 Wochen nach Studienbeginn; P4=4. Blutentnahme 16 Wochen nach Studienbeginn; P5=5. Blutentnahme 28 Wochen nach Studienbeginn; Interv.=KHK-Gruppe; Kontr.=Kontrollgruppe; STD=Standardabweichung; IL-6=Interleukin-6; TNF α=Tumor necrosis factor alpha; SAA=Serum amyloid A.

		Blutentnahmen					
		P1	P2	P3	P4	P5	p
Cholesterolester	N	21	21	21	19	19	
(mg/dl)	Median	152	149	164	161	153	0,002
Patienten	25./75. Perz.	134/178,75	115,5/156	143,5/177,5	131,5/176,25	134,25/18	
Cholesterolester	N	9	9	9	9	8	
(mg/dl)	Median	160	142	161	158	168	0,013
Kontrollen	25./75. Perz.	117,5/182,25	125/155,5	143,75/183	139,5/181,5	136,5/189	
Phospholipide	N	21	20	21	19	19	
(mmol/l)	Median	236	232	246	243	242	0,021
Patienten	25./75. Perz.	206,75/276,5	196,5/248	216,5/280,25	200,75/277	213,25/262	
Phospholipide	N	10	10	10	10	9	
(mmol/l)	Median	217	237	242	244	259	0,050
Kontrollen	25./75. Perz.	193/269	223/248	226/271	219/273	223,75/292,5	
IL-6	N	21	21	21	19	18	
(pg/ml)	Median	3,366	3,814	3,431	2,61	3,973	0,476
Patienten	25./75. Perz.	2,251/6,091	2,419/6,99	2,224/5,013	1,790/4,352	2,569/5,13	
IL-6	N	10	10	10	10	9	
(pg/ml)	Median	1,698	2,447	2,332	2,313	2,752	0,196
Kontrollen	25./75. Perz.	1,195/2,498	1,539/3,179	2,078/2,581	1,139/2,474	1,576/3,27	
Fibrinogen	N	21	21	21	19	19	
(g/l)	Median	2,99	2,64	2,81	2,86	3,17	0,025
Patienten	25./75. Perz.	2,533/3,322	2,278/3,15	2,302/3,47	2,6/3,038)	2,690/3,54	
Fibrinogen	N	8	9	9	9	8	
(g/l)	Median	2,59	2,5	2,48	2,78	2,89	0,681
Kontrollen	25./75. Perz.	2,28/3,495	2,237/3,015	2,313/3,032	2,18/3,232	2,24/3,15	
TNFα	N	21	21	21	19	17	
(pg/ml)	Median	1,773	3,129	2,205	2,174	2,302	0,129
Patienten	25./75. Perz.	1,337/3,34	1,762/3,764	1,606/3,035	1,4805/3,597	1,591/3,758	
TNFα	N	10	10	10	10	10	
(pg/ml)	Median	2,2015	2,549	2,6725	2,3555	2,094	0,266
Kontrollen	25./75. Perz.	1,38575/3,4915	1,6715/5,58775	1,2195/3,0435	1,59875/3,02575	1,90925/2,26	

SAA	N	21	21	21	19	19	
(mg/l)	Median	3,5	2,4	2,9	3,7	3,9	0,600
Patienten	25./75. Perz.	1,6/8,425	1,5/4,72	2,175/6,57	1,85/5,8	1,8/5,55	
SAA	N	8	9	9	9	8	
(mg/l)	Median	5,5	2	2,2	2,15	2,85	0,261
Kontrollen	25./75. Perz.	3,55/9,15	1,3/6,4	1,6/4,6	1,6/5,25	1,775/4,825	

4. Diskussion

Im Rahmen dieser Studie wurde der nach wie vor verordnete lipidsenkende PPAR α-Aktivator Fenofibrat auf seine antiatherogene Wirkung untersucht, indem der Plasma-/Serumspiegel verschiedener Inflammationsmarker der Arteriosklerose vor und nach Gabe dieser Substanz bestimmt wurde. Desweiteren wurde durch die Beobachtung der inflammatorischen Arteriosklerosemarker über einen längeren Zeitraum nach Absetzen von Fenofibrat hinaus, eine mögliche Langzeitwirkung der Substanz untersucht.
Dabei zeigte sich ein signifikanter Abfall der Cholesterolesterkonzentrationen im Serum beider Gruppen unmittelbar nach Beendigung der Fenofibrattherapie (P2) mit einem daraufhin folgenden, signifikanten Konzentrationsanstieg in den weiteren Messungen im Sinne eines Reboundphänomens.
In den Untersuchungen der weiteren Inflammationsmarker ergaben sich weder unter noch nach Therapie mit Fenofibrat statistisch signifikante Veränderungen in der KHK- und Kontrollgruppe.

4.1 Einfluss der Fenofibrattherapie auf Cholesterolester in Bezug auf die koronare Herzkrankheit

Cholesterolester gelangen als Bestandteile von Lipoproteinkomplexen (z.B. LDL) über Scavengerrezeptoren in Zellen der atheromatösen Läsion und sind somit an der Pathogenese der Arteriosklerose beteiligt [120, 139]. Im Rahmen dieser Studie wird das Verhalten der Cholesterolesterkonzentration im Serum unter und nach Fenofibrat-Therapie bei Patienten mit KHK sowie bei einer Kontrollgruppe untersucht. Bereits Bouly et al 2001 zeigten im Tierversuch (Mäuse) eine signifikante Abnahme der Veresterungsaktivität des Plasmacholesterins nach 2-wöchiger Fenofibrat-Therapie [9]. Die Arbeitsgruppe um Chapman et al 1998 beobachtete eine deutliche Abnahme des Cholesterolestertransfers von kardioprotektivem HDL auf atherogenes

VLDL im menschlichen Organismus nach 8-wöchiger Therapie mit 200 mg mikronisiertem Fenofibrat pro Tag. Der Transfer der Cholesterolester von HDL auf LDL war davon nicht betroffen [13]. Miyazaki et al 2010 zeigten bei Patienten mit KHK unter einer 25-wöchigen Fenofibrattherapie (300 mg/Tag) eine reduzierte Cholesterolestertransferaktivität im Vergleich zur Kontrollgruppe [87]. In der vorliegenden Arbeit fallen nach 4-wöchiger Fenofibrat-Therapie, zum Zeitpunkt P2, beide Gruppen in ihren Cholesterolesterkonzentrationen statistisch signifikant ab. Dies unterstreicht die supprimierende Wirkung von Fenofibrat auf den Cholesterolesterspiegel. 6 Wochen nach Therapieende sowie im weiteren Untersuchungszeitraum zeigen beide Gruppen einen signifikanten Anstieg der Cholesterolesterkonzentrationen im Vergleich zum Zeitpunkt P2. Dies kann als Rebound-Effekt diskutiert werden und könnte durch eine gesteigerte Syntheserate von Cholesterolestern durch cholesterinspeichernde Zellen als Antwort auf das abrupte Absetzen von Fenofibrat begründet sein.
Zusammenfassend kann auch in der vorliegenden Arbeit sowohl für die Therapie-, als auch für die Kontrollgruppe, von einer supprimierenden Wirkung von Fenofibrat auf die Cholesterolesterkonzentration gesprochen werden. Der dadurch entstehende kardioprotektive Effekt könnte sich durch eine verringerte Ablagerung von Cholesterolestern in Zellen der atheromatösen Läsion erklären lassen. Anhalt für eine prolongierte Fenofibratwirkung gab es jedoch nicht. Nach Beendigung der Therapie konnte ein Reboundeffekt beobachtet werden.

4.2 Einfluss der Fenofibrattherapie auf Phospholipide in Bezug auf die koronare Herzkrankheit

Im Vorfeld belegten zahlreiche Studien den Zusammenhang zwischen veränderten Phospholipidkonzentrationen im Serum und der Arteriosklerose, bzw. der koronaren Herzkrankheit (KHK) [60, 61, 90]. Keine bisher veröffentlichte Arbeit beobachtete die Serumphospholipidkonzentration unter

Einwirkung einer Therapie mit einem PPAR α-Aktivator in vivo. Bouly et al 2001 untersuchten im Tierversuch (Mäuse) die Wirkung einer 2-wöchigen Therapie mit Fenofibrat auf die Aktivität des Phospholipid Transfer Proteins (PLTP), ein Protein, das den HDL-Metabolismus beeinflusst, indem es den Transfer von Phospholipiden und freiem Cholesterin von triglyzeridreichen Lipoproteinen auf das HDL ermöglicht [9, 91]. Die Arbeitsgruppe beobachtete eine zunehmende Aktivität des PLTP im Plasma unter Fenofibrat. Parallel dazu kam es dosisabhängig zu einer ansteigenden hepatischen PLTP-Genexpression [9]. Dies würde einen durch Fenofibrat bedingten Anstieg der kardioprotektiven HDL-Phospholipide bedeuten. In einer doppelt-verblindeten, Placebo-kontrollierten crossover-Studie zeigten Watts et al 2006 bei männlichen Probanden mit metabolischem Syndrom einen Anstieg der PLTP-Plasmaaktivität nach 5-wöchiger Fenofibrattherapie [133]. Sowohl tierexperimentell [101], als auch in humanen Versuchsreihen [2, 86, 109] wurden jedoch auch proatherogene Wirkmechanismen des PLTP beschrieben. So wiesen Schlitt et al 2009 auf die PLTP-Aktivität als Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse bei KHK-Patienten unter einer Statintherapie hin [109]. Attia et al 2009 beschrieben eine erhöhte PLTP-Aktivität bei KHK-Patienten [2]. Die Rolle des PLTP in der Pathogenese der Arteriosklerose ist also nicht eindeutig geklärt [91].

Die Ergebnisse der Serum-Phospholipidbestimmungen in dieser Arbeit ergaben weder vor, noch nach Einnahme von Fenofibrat in beiden Gruppen statistisch signifikante Ergebnisse. Es lässt sich daher dem PPAR α-Aktivator Fenofibrat keine supprimierende Wirkung auf die Phospholipidsyntheserate zuordnen.

4.3 Einfluss der Fenofibrattherapie auf Interleukin-6 in Bezug auf die koronare Herzkrankheit

Ein Zusammenhang zwischen erhöhtem Interleukin-6 (IL-6) und dem Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen konnte bereits von einigen Studien belegt

werden [32, 50, 70, 99, 104, 118, 142]. So zeigten unter anderem Niu et al 2012 in einer Metaanalyse den Zusammenhang zwischen zirkulierendem IL-6 und der Entwicklung einer KHK [92]. Diese Aussage kann durch die in der vorliegenden Studie gemessenen, signifikant erhöhten IL-6-Ausgangswerte für Patienten mit KHK verglichen mit den gesunden Probanden bestätigt werden. Nach 4-wöchiger Therapie mit Fenofibrat sowie im weiteren Untersuchungszeitraum fanden sich jedoch keine statistisch signifikanten Veränderungen der IL-6-Konzentration im Serum beider Gruppen. Staels et al 1998 beobachteten nach einer PPARα-aktivierenden Fenofibrattherapie (250 mg/Tag) über 4 Wochen hingegen eine deutliche Reduktion der IL-6-Spiegel bei Gesunden und noch ausgeprägter bei KHK-Patienten [118]. Darüber hinaus zeigten Delerive et al 1999 eine vermehrte IL-6-Sekretion nach proinflammatorischer Stimulation mit Lipopolysaccharid (LPS) in aortalen Gefäßabschnitten von PPAR α-defizienten Mäusen [22]. Eine durch Fenofibrat bewirkte Unterdrückung der IL-6-Sekretion wurde bei diesen Mäusen, im Gegensatz zu Wildtypmäusen nicht beobachtet [22, 41]. Lee et al 2011 bestätigten im Tierversuch die Abnahme des IL-6-Serumspiegels unter PPAR-α-aktivierenden Therapie mit Fenofibrat [63]. Sebestjen et al 2004 zeigten eine IL-6-Reduktion nach 12-wöchiger Therapie mit 250 mg Fenofibrat pro Tag bei Patienten mit kombinierter Hyperlipoproteinämie, jedoch ohne bekannte KHK [115]. Dahingegen wiesen Despres et al 2003 auf keine signifikante Reduktion der IL-6-Spiegel unter 6-monatiger Therapie mit 1200 mg Gemfibrozil pro Tag bei männlichen Patienten mit metabolischem Syndrom ohne Hinweis auf KHK hin [26].

Das Fenofibrat über seine PPAR α-aktivierende Wirkung zu einer Senkung der IL-6-Plasmakonzentrationen führt, kann in dieser Studie nach 4-wöchiger Therapie nicht bestätigt werden. In den Arbeiten von Staels et al 1998 [118] sowie von Sebestjen et al 2004 [115] bzw. Despres et al 2003 [26] wurde jeweils eine mit dieser Arbeit vergleichbar geringe Patientenzahl untersucht, sodass weitere, größer angelegte Studien zur Klärung der antiatherogenen Wirkung des Fenofibrats durch Beeinflussung des IL-6-Serumspiegels notwendig erscheinen.

4.4 Einfluss der Fenofibrattherapie auf Fibrinogen in Bezug auf die koronare Herzkrankheit

Zahlreiche Studien zeigen, dass die KHK mit einer erhöhten Plasmakonzentration an Fibrinogen einhergeht [9, 18, 25, 80, 84, 118, 124, 127]. Dies spiegelt sich in den, in der vorliegenden Studie gemessenen, höheren Fibrinogenausgangswerten der KHK- verglichen mit der Kontrollgruppe wieder. Die erhobenen Fibrinogenkonzentrationen dieser Arbeit zeigen allerdings in beiden Gruppen zu keinem Zeitpunkt eine statistische Signifikanz. Eine mögliche Erklärung hierfür ist die geringe Probandenzahl dieser Studie. Kockx et al 1999 zeigten im Tierversuch (Ratten) unter 7-tägiger Gabe von Fenofibrat eine verminderte Fibrinogen-Genexpression im Hepatozyten, sowie eine daraus folgende verminderte Fibrinogenplasmakonzentration [56]. Darüber hinaus beobachteten Kockx et al 1999, dass sowohl den lipidsenkenden Statinen (HMG-CoA-Reduktaseinhibitoren), als auch den PPAR γ-aktivierenden Thiazolidinen diese fibrinogensupprimierende Wirkung fehlt [56]. Staels et al 1998 zeigten neben höheren Fibrinogenausgangswerten bei KHK-Patienten im Vergleich zu Probanden ohne KHK auch einen signifikanten Abfall der Fibrinogenkonzentration beider Gruppen nach 4-wöchiger Fenofibrattherapie [118]. In dem „Bezafibrate Coronary Atherosclerosis Intervention Trial“ 1996 konnte bei jungen, männlichen Patienten (< 45 Jahre) nach akutem Myokardinfarkt und mit erhöhten Serumcholesterol- bzw –triglyzeridkonzentrationen unter Bezafibrattherapie eine Reduktion der Fibrinogenkonzentration um 9% erreicht werden, welche jedoch nicht mit dem Rückgang kardialer Ereignisse einherging [28]. Laut Okopien et al 2006 kam es zu einer Reduktion der Fibrinogenplasmaspiegel bei Patienten mit Dyslipoproteinämie Typ IIb nach 4-wöchiger Therapie mit mikronisiertem Fenofibrat [95]. Bei männlichen Patienten mit Hypertriglyzeridämie und erniedrigtem HDL, ohne Anhalt für KHK, konnten Genest et al 2000 in einer randomisierten, doppeltverblindeten, placebokontrollierten Studie eine signifikante Reduktion der Fibrinogenspiegel um 12-15% nach 8-wöchiger

Therapie mit 200 mg Fenofibrat täglich zeigen [40]. Staels et al 1998 dehnten den Untersuchungszeitraum bis auf 6 Wochen nach Therapieende aus. Dabei sahen sie eine prolongierte Fibrinogensuppression auf Seiten der KHK-Gruppe, während die Kontrollgruppe zum Ausgangswert zurückkehrte [118]. Da erhöhtes Fibrinogen mit kardiovaskulärer Morbidität und Mortalität einhergeht, ist anzunehmen, dass die Einnahme von Fenofibrat, über seine fibrinogensupprimierende Wirkung einen kardioprotektiven Effekt ausübt. Ob sich diese Annahme bestätigt und, ob nach Absetzen der Fenofibrattherapie eine prolongierte Suppression von Fibrinogen vorliegt sollte in weiteren Studien mit einer größeren Probandenzahl untersucht werden.

4.5 Einfluss der Fenofibrattherapie auf Tumor necrosis factor alpha in Bezug auf die koronare Herzkrankheit

Als proinflammatorisches Zytokin spielt TNF α eine bedeutende Rolle in der Pathogenese der Arteriosklerose [31]. Gotsman et al 2008 weisen auf die Korrelation von TNF α und dem Schweregrad der KHK hin [43]. Xie et al 2010 konnten erhöhte TNF α-Serumwerte bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom im Vergleich zu Patienten mit stabiler Angina pectoris zeigen, sodass TNF α als Marker für vulnerable atherosklerotische Plaques bei Patienten mit KHK dienen könnte [141]. Die Arbeitsgruppe um Madej et al 1998 beobachtete bei Probanden mit Arteriosklerose und Dyslipoproteinämie IIb einen erhöhten TNF α-Plasmaspiegel im Vergleich zu gesunden Probanden und einen Rückgang von TNF α bei Patienten mit Arteriosklerose und Hyperlipoproteinämie IIb nach Fenofibratgabe über 4 Wochen [72]. In einer prospektiven, placebokontrollierten Studie durch Okopien et al 2006 wiesen Patienten mit gestörter Glucosetoleranz, jedoch ohne bekannte KHK, eine vermehrte Sekretion von TNF α durch LPS-stimulierte Monozyten im Vergleich zu gesunden Probanden auf, welche nach 30-tägiger Fenofibrattherapie supprimiert wurde [96]. Marx et al zeigten 2001 in in vitro-Studien eine Inhibition der LPS-induzierten TNF α-Genexpression in

Monozyten durch den PPAR α-Aktivator WY14643 [77] sowie 2002 eine Fenofibrat bedingte Hemmung der TNF α-Genexpression durch humane CD-4-positive T-Zellen [78]. Außerdem wiesen Despres et al 2003 auf keine signifikante Reduktion der TNF α-Plasmaspiegel unter 6-monatiger Therapie mit 1200 mg Gemfibrozil pro Tag bei männlichen Patienten mit metabolischem Syndrom ohne Hinweis auf KHK hin [26]. Diese Aussagen können durch die vorliegende Studie nicht bestätigt werden, da sich in sämtlichen Vergleichen der TNF α-Plasmakonzentrationen beider Gruppen, bedingt durch das kleine Patientenkollektiv und eine teilweise große Streuung der Messwerte, zu keinem Zeitpunkt eine statistische Signifikanz ergab.
Chinetti et al 1998 zeigten, dass eine Aktivierung von PPAR α durch WY14643 sowie von PPAR γ durch Rosiglitazon oder 15d-PGJ2 unter Einwirkung von TNF α und Interferon γ (IFN γ) zur Apoptose von Makrophagen führt und so zur Plaqueinstablität beitragen würde [15]. Dieser Aspekt stellt die Suppression von TNF α durch Fenofibrat im Sinne einer kardioprotektiven Wirkung in Frage.
Inwieweit Fenofibrat den TNF α-Plasmaspiegel senkt und dadurch, möglicherweise auch über ein Therapieende hinaus, einen antiatherogenen Effekt ausübt, sollte in weiteren Studien an einem größeren Patientenkollektiv untersucht werden.

4.6 Einfluss der Fenofibrattherapie auf Serum Amyloid A in Bezug auf die koronare Herzkrankheit

Zahlreiche Studien untersuchten die Serumkonzentration von Serum Amyloid A (SAA) bei Patienten mit bekannter KHK und verglichen sie mit dem SAA-Spiegel gesunder Probanden [21, 37, 134]. So beobachtete die Arbeitsgruppe um Delanghe et al 2002 in einer groß angelegten Studie erhöhte SAA-Werte bei Probanden mit KHK im Vergleich zu Gesunden. Ausserdem korrelierte die SAA-Konzentration mit CRP- und Fibrinogenwerten [21]. Whicher et al 1999 beschrieben ein erhöhtes Risiko für das Auftreten eines Myokardinfarktes,

eines Apoplexes oder einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK) beim Auftreten erhöhter SAA- und CRP-Spiegel. Dabei lagen die Werte für SAA und CRP teilweise noch im Referenzbereich [134]. Desweiteren zeigten Fyfe et al 1997 bei 85 KHK-Patienten erhöhte SAA-Werte im Vergleich zu einer Gruppe von 261 gesunden Probanden [37]. Song et al 2009 zeigten durch eine SAA-induzierte Ausschüttung von Tissue factor und TNF-α dessen prothrombotischen und proinflammatorischen Effekt bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom [117]. Die in der vorliegenden Studie gemachten Beobachtungen des SAA -Spiegels vor und nach Fenofibrat-Therapie zeigten in beiden Gruppen zu keinem Zeitpunkt eine statistische Signifikanz. Gervois et al 2007 zeigten bei Patienten mit milder Hyperlipoproteinämie, ohne gesicherte KHK, nach einer 4-wöchigen Therapie mit Fenofibrat reduzierte SAA-Plasmaspiegel [41]. Im Tierexperiment (Maus) konnten Kooistra et al 2006 unter einer Kombination aus Fenofibrat und cholesterinreicher Diät über 18 Wochen verglichen mit einer cholesterinarmen Diät neben einer Reduktion der arteriosklerotischen Läsionen, eine Abnahme des lokalen (ICAM 1, VCAM 1, MCP-1, u.a.), sowie des systemischen (SAA-, Fibrinogenplasmaspiegel) inflammatorischen Prozesses zeigen [58]. Yamazaki et al 2002 zeigten an einem Tierversuch (Mäuse) die Reduktion der SAA-Genexpression auf 1/7 nach Gabe von Fenofibrat. In einem weiteren Versuch beobachtete die Arbeitsgruppe ein Ausbleiben des Acetaminophen-induzierten SAA-Anstiegs nach 7-tägiger Fenofibrattherapie [138]. Der Abfall des SAA, einem inflammatorischen Marker der Arteriosklerose, nach Fenofibrat-Gabe weist auf eine positive Wirkung auf die KHK hin.

Bis zu diesem Zeitpunkt beschäftigte sich keine veröffentlichte Arbeit mit dem Verhalten von SAA über einen längeren Zeitraum nach Fenofibrat-Therapie, wie es in dieser Studie der Fall ist. Über die prolongierte Wirkung von Fenofibrat kann aufgrund der fehlenden Signifikanz, die durch das kleine Patientenkollektiv sowie die große Streuung der Messwerte bedingt sein kann, keine eindeutige Aussage gemacht werden.

4.7 Fazit

Inhalt dieser Arbeit ist es, die in vitro beobachteten antiinflammatorischen und antiatherogenen Effekte des PPARα-Aktivators Fenofibrat auf verschiedene Mediatoren der Arteriosklerose in vivo zu betrachten, um somit eine atheroprotektive Wirkung dieser Substanz zu analysieren. Desweiteren beschäftigt sich die vorliegende Studie mit der Fragestellung der prolongierten Wirkung von Fenofibrat über eine 4-wöchige Therapie hinaus.

Dabei konnte eine signifikante Senkung des Serumcholesterolesterspiegels unter Fenofibrat in der KHK- sowie in der Kontrollgruppe beobachtet werden. 6 Wochen nach Therapieende zeigten beide Gruppen einen signifikanten Wiederanstieg der Cholesterolesterspiegel im Sinne eines Reboundphänomens.

Desweiteren fiel ein signifikant höherer IL-6-Ausgangswert im Plasma der KHK-Gruppe verglichen mit der Kontrollgruppe auf.

Für die anderen, in dieser Arbeit untersuchten Surrogatparameter [Phospholipide, Fibrinogen, TNF α und Serum-Amyloid A] ergaben sich keine signifikanten Ergebnisse.

5. Zusammenfassung

Studien der letzten Jahre zeigten das Vorkommen von „peroxisome proliferator-activated receptor alpha“ (PPAR α) in Endothelzellen, glatten Gefässmuskelzellen sowie Monozyten/Makrophagen und somit eine PPAR α-regulierte Genexpression im Rahmen des inflammatorischen Prozesses der Arteriosklerose.

In der vorliegenden Studie solltel untersucht werden, ob eine Therapie mit dem lipidsenkenden PPAR α-Aktivator Fenofibrat einen Effekt auf die Serum-/Plasmaspiegel verschiedener Surrogatparameter der Arteriosklerose hat.

Dabei konnte gezeigt werden, dass eine 4-wöchige Therapie mit Fenofibrat bei Patienten mit angiographisch gesicherter beziehungsweise ausgeschlossener koronarer Herzkrankheit (KHK) zu einer signifikanten Reduktion der Cholesterolesterspiegel im Serum sowie zu einem signifikanten Wiederanstieg der Konzentration 6 Wochen nach Therapieende im Sinne eines Reboundphänomens führt. Desweiteren zeigte sich ein signifikant höherer Interleukin-6- (IL-6) Ausgangswert im Plasma der KHK-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe. Diese Beobachtung unterstreicht den vorbeschriebenen Zusammenhang zwischen erhöhten IL-6-Konzentrationen und dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse. Die Analyse der IL-6-Konzentrationen beider Gruppen unter und nach Fenofibrattherapie sowie der weiteren Surrogatparameter wie Fibrinogen, Phospholipide, tumor necrosis factor alpha und Serum Amyloid A ergaben zu keinem Messzeitpunkt eine statistische Signifikanz.

Die Ergebnisse dieser Studie sprechen zwar für die lipidsenkende Wirkung von Fenofibrat, jedoch weder für eine eindeutige antiatherogene Wirkung durch Modulation der untersuchten Inflammationsmarker, noch für eine prolongierte Wirkung des Fenofibrats nach Therapieende.

Lediglich die Ergebnisse für Cholesterolester sowie für IL-6 vor Therapiebeginn ergaben eine statistische Signifikanz. Als Ursachen dafür sind die kleine Population dieser Arbeit sowie eine mit unter große Streuung der Messwerte zu sehen.

6. Literaturverzeichnis

1. Adams D, Hamilton T: Macrophages as destructive cells in host defense. In: Gallin J, Goldestein I, Snyderman R, eds.: Inflammation-basic principles and clinical correlates. Raven Press, New York: S. 637-662 (1992)
2. Attia N, Domingo N, Lorec AM, Nakbi A, Hammami S, Ben Hamda K, Portugal H, Lairon D, Hammami M, Chanussot F: Reverse modulation of the HDL anionic peptide factor and phospholipid transfer protein activity in coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus. Clin Biochem 42: 845-851 (2009)
3. Auboeuf D, Risusset J, Fajas L, Vallier P, Frering V, Rion J, Staels B, Auwerx J, Laville M, Vidal H: Tissue distribution and quantification of the expression of mRNAs of PPARs and liver X-receptor-α in humans: no alteration in adipose tissue of obese and NIDDM patients. Diabetes 46: 1319-1327 (1997)
4. Badolato R, Wang J, Murphy W, Lloyd A, Michiel D, Bausserman L, Kelvin D, Opperheim J: Serum amyloid A is a chemoattractant: induction of migration, adhesion and tissue infiltration of monocytes and polymorphonuclear leukocytes. J Exp Med 180: 203-209 (1994)
5. Balfour J, McTavish D, Heel R: Fenofibrate: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and its therapeutic use in dyslipidaemia. Drugs 40: 260-290 (1990)
6. Baumberger C, Ulevitch R, Dayer J: Modulation of endotoxic activity of lipopolysaccharide by high-densitiy lipoprotein. Pathophysiology 59: 378-383 (1991)
7. Benderly M, Graff E, Reicher-Reiss H, Behar S, Brunner D, Goldbourt U, for the Bezafibrate Infarction Prevenetion (BIP) Study Group: Fibrinogen is a predictor of mortality in coronary heart disease patients. Arterioscler Thromb Vasc Biol 16: 351-356 (1996)
8. Bevilacqua M, Schleef R, Gimbrone M Jr, Loskutoff D: Regulation of

the fibrinolytic system of cultured human vascular endothelium by IL-1. J Clin Invest 78: 587-591 (1986)

9. Bouly M, Masson D, Gross B, Jiang X, Fievet C, Castro G, Tall A, Fruchart J, Staels B, Lagrost L, Luc G: Induction of the phospholipid transfer protein gene accounts for the high density lipoprotein enlargement in mice treated with fenofibrate. J Biol Chem 276: 25841-25847 (2001)
10. Brown M, Goldstein J: A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. Science 232: 34-47 (1986)
11. Bruce C, Chouinard R Jr, Tall A: Plasma lipid transfer protein, HDL and reverse cholesterol transport. Annu Rev Nutr 18: 297-330 (1998)
12. Bühling K: über Grundlagen zur Pathologie des Kreislaufes. In: Bühling K, Lepenies J, Witt K: Intensivkurs allgemeine und spezielle Pathologie. 2. Aufl., Urban und Fischer, München, Wien, Baltimore, S. 101 (2000)
13. Chapman M, Guerin M, Bruckert E: Atherogenic dense low-density lipoproteins. Pathophysiology and new therapeutic approaches. Eur Heart J 19A: A24-30 (1998)
14. Cheng D, Chang C, Qu X, Chang T: Activation of acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase by cholesterol or by oxysterol in a cell-free system. J Biol Chem 270: 685-695 (1995)
15. Chinetti G, Griglio S, Antonucci M, Torra I, Delerive P, Majd Z, Fruchart J, Chopman J, Najib J, Staels B: Activation of PPARα/γ induces apoptosis of human monocyte-derived macrophages. J Biol Chem 273: 25573-25580 (1998)
16. Colotta F, Borre A, Wang J, Tattanelli M, Maddalena F, Polentarutti N: Expression of a monocyte chemotactic cytokine by human mononuclear phagocytes. JImmunol 148: 760-765 (1992)
17. Content J, De Wit L, Pierard D, Derynck R, De Clercq E, Fiers W: Secretory proteins induced in human fibroblasts under conditions used for the production of interferon beta. Proc Natl Acad Sci USA

79: 2768-2772 (1982)

18. Corrado E, Rizzo M, Coppola G, Fattouch K, Novo G, Marturana I, Ferrara F, Novo S: An update on the role of markers of inflammation in atherosclerosis. J Atheroscler Thromb 17: 1-11 (2010)
19. Curtis W, Gillinov A, Wilson I, Bator J, Burch R, Cameron D, Gardner T: Inhibition of neutrophil adhesion reduces myocardial infarct size. Ann Thorac Surg 56: 1069-1073 (1993)
20. deBeer M, Yaun T, Kindy M, Asztalos B, Roheim P, deBeer F: Characterization of constitutive human serum amyloid A protein (SAA4) as an apolipoprotein. J Lipid Res 36: 526-534 (1995)
21. Delanghe J, Langlois M, De Bacquer D, Mak R, Capel P, Van Renterghem L, De Backer G: Discriminative value of serum amyloid A and other acute-phase proteins for coronary heart disease. Atherosclerosis 160: 471-476 (2002)
22. Delerive P, De Bosscher K, Besnard S, Vanden Berghe W, Peters J, Gonzalez F, Fruchart J, Tedgui A, Haegeman G, Staels B: Peroxisome proliferator-activated receptor alpha negatively regulates the vascular inflammatory gene response by negative cross-talk with transcription factors NF-kappaB and AP-1. J Biol Chem 274: 32048-32054 (1999)
23. Delerive P, Martin-Nizard F, Chinetti G, Trottein F, Fruchart J, Najib J, Duriez P, Staels B: PPAR activators inhibit thrombin induced endothelin-1 production in human vacular endothelial cells by inhibiting the activator protein-1-signaling pathway. Circ Res 85: 394-402 (1999)
24. Delerive P, Furman C, Teissier E, Fruchart J, Duriez P, Staels, B.: Oxidized phospholipids activate PPARα in a Phospholipase A2-dependent manner. FEBS Lett 471: 34-38 (2000)
25. De Luca G, Verdoia M, Cassetti E, Schaffer A, Cavallino C, Bolzani V, Marino P; Novara Atherosclerosis Study Group (NAS): High fibrinogen level is an independent predictor of presence and extent of

coronary artery disease among Italian population. J Thromb Thrombolysis 31: 458-463 (2011)

26. Despres J, Lemieux I, Pascol A, Almeras N, Dumont M, Nadeau A, Bergeron J, Prud´homme D: Gemfibrozil reduces plasma C-reactive protein levels in abdominally obese men with the atherogenic dyslipidaemia of the metabolic syndrome. Atherosclerosis Thrombosis and vascular Biology 23: 702-703 (2003)
27. Du H, Witte D, Grabowski G: Tissue and cellular specific expression of murine lysosomal acid lipase mRNA and protein. J Lipid Res 37: 937-949 (1996)
28. Ericsson C, Hamsten A, Nilsson J, Grip L, Svane B, de Faire U: Angiographic assessment of effects of bezafibrate on progression of coronary artery disease in young male postinfarction patients. Lancet 347: 849-853 (1996)
29. European Atherosclerosis Society. Recommendations of the European Atherosclerosis Society prepared by International Task Force for prevention of coronary heart disease. Prevention of coronary heart disease: scientific background and new clinical guidelines. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2: 113-156 (1992)
30. Faruqi R, Di Corleto P: Mechanisms of monocyte recruitment and accumulation. British Heart Journal 69: 19-29 (1993)
31. Fiotti N, Giansante C, Ponte E, Delbello C, Calabrese S, Zacchi T, Dobrina A, Guarneri G: Atherosclerosis and inflammation. Patterns of cytokine regulation in patients with peripheral arterial disease. Atherosclerosis 145: 51-60 (1999)
32. Fisman E, Benderly M, Esper R, Behar S, Boyko V, Adler Y, Tanne D, Matas Z, Tenenbaum A: Interleukin-6 and the risk of future cardiovascular events in patients with angina pectoris and/or healed myocardial infarction. Am J Cardiol 98: 14-18 (2006)
33. Forman B, Cen J, Evans R: Hypolipidemic drugs, polyunsaturated, fatty acids and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-

activated receptors α and δ. Proc Natl Acad Sci USA 94: 4312-4317 (1997)

34. Frick M, Syvanne M, Nieminen M, Kauma H, Majahalme S, Virtanen V, Kesäniemi Y, Pasternack A, Taskinen M: Prevention of the angiogpahic progression of coronary and vein-graft atherosclerosis by gemfibrozil after coronary bypass surgery in men with low levels of HDL cholesterol. Lopid Coronary Angiography Trial (LOCAT) Study Group. Circulation 96: 2137-2143 (1997)
35. Frostegard J, Wu R, Hagerstrand A, Patarroyo M, Lefvert A, Nilsson J: Mononuclear leukocytes exposed to oxidized low density lipoprotein secrete a factor that stimulates endothelial cells to express adhesion molecules. Atherosclerosis 103: 213-219 (1993)
36. Fruchart J, Staels B, Duriez P: The role of Fibric Acids in Atherosclerosis. Current Atherosclerosis Reports 3: 83-92 (2001)
37. Fyfe A, Rothenberg L, DeBeer F, Cantor R, Rotter J, Lusis A: Association between serum amyloid A proteins and coronary artery disease: evidence from two distinct arteriosclerotic processes. Circulation 96: 2914-2919 (1997)
38. Gabay C, Kushner I: Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. N Engl J Med 340: 448-454 (1999)
39. Galis Z, Muszynski M, Sukhova G, Simon-Morrisey E, Unemori E, Lark M, Amento E, Libby P: Cytokine-stimulated human vascular smooth muscle cells synthesize a complement of enzymes required for extracellular matrix digestion. Circ Res 75: 181-189 (1994)
40. Genest J, Nguyen N, Theroux P, Davignon J, Cohn J: Effect of micronized fenofibrate on plasma lipoprotein levels and hemostatic parameters of hypertriglyceridemic patients with low levels of high densitiy lipoprotein cholesterol in the fed and fasted state. J Cardiovasc Pharmacol 35: 164-172 (2000)
41. Gervois P, Fruchart J, Staels B: Drug Insight: mechanisms of action and therapeutic applications for agonists of peroxisome proliferator-

activated receptors. Nat Clin Pract Endocrinol Metab 3: 145-156 (2007)

42. Ginsberg HN, Elam MB, Lovato LC, Crouse JR III, Leiter LA, Linz P, Friedewald WT, Buse JB, Gerstein HC, Probstfield J, Grimm RH, Ismail-Beigi F, Bigger JT, Goff DC Jr, Cushman WC, Simons-Morton DG, Byington RP for the ACCORD study group: Effects of combination lipid therapy in type 2 diabetes mellitus. N Engl J Med 363: 233-244 (2010)
43. Gotsman I, Stabholz A, Planer D, Pugatsch D, Lapidus L, Novikov Y, Masrawa S, Soskolne A, Lotan C: Serum cytokine tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 associated with thr severity of coronary artery disease: indicators of an active inflammatory burden? Isr Med Assoc J 10: 494-498 (2008)
44. Hahmann H, Bunte T, Hellwig N, Hau U, Becker D, Dyckmans J, Keller H, Schieffer H: Progression and regression of minor coronary arterial narrowings by quantitative angiography after fenofibrate therapy. Am J Cardiol 67: 957-961 (1991)
45. Hartford M, Wiklund O, Mattson Helten L, Perrson A, Karlsson T, Herlitz J, Caidahl K: C-reactive protein, interleukin-6, secretory phospholipase A (2) group IIa and intercellular adhesion molecule-1 in the prediction of late outcome events after acute coronary syndromes. J Intern Med Oct 262: 526-536 (2007)
46. Hertz R, Bishera-Shieban J: Mode of action of peroxisome proliferators as hyperlipidemic drugs, suppression of apolipoprotein CIII. J Biol Chem 270: 13470-13475 (1995)
47. Hicks R, Golledge J, Mir-Hasseine R, Powll J: Vasoactive effects of fibrinogen on saphenous vein. Nature 379: 818-820 (1996)
48. Hoffmeister A, Rothenbacher D, Bazner U, Frohlich M, Brenner H, Hombach V, Koenig W: Role of novel marker of inflammation in patients with stable coronary heart disease. Am J Cardiol 87: 262-266 (2001)

49. Hwang S, Ballantyne C, Sharrett A, Smith L, Davis C, Gotto A, Boerwinkle E: Circulating Adhesion Molecule VCAM-1, ICAM-1, and E selectin in Carotid Atherosclerosis and Incident Coronary Heart Disease Cases. Circulation 96: 4219-4225 (1997)

50. Ikonomidis I, Stamatelopoulos K, Lekakis J, Vamvakou GD, Kremastinos DT: Inflammatory and non-invasive vascular markers: the multimarker approach for risk stratification in coronary artery disease. Atherosclerosis 199: 3-11 (2008)

51. Inone I, Shino K, Noji S, Awata T, Katayama S: Expression of PPARα in primary cultures of human vascular endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun 246: 370-374 (1998)

52. Johnson B, Kip K, Marroquin O, Ridker P, Kelsey S, Shaw L, Pepine C, Sharaf B, Bairey Merz C, Sopko G, Olson M, Reis S: Serum amyloid A as a predictor of coronary artery disease and cardiovascular outcome in women: the National Heart, Lung, and Blood Institute-Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). Circulation 109: 726-732 (2004)

53. Keech A, Simes R, Barter P, Best J, Scott R, Taskinen M, Forder P, Pillai A, Davis T, Glasziou P, Drury P, Kesäniemi Y, Sullivan D, Hunt D, Colman D, d´Emden P, Whiting M, Ehnholm C, Laakso M: FIELD Study Investigators. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. Lancet 366: 1849-1861 (2005)

54. Kiechl S, Willeit J, Mayr M, Viehweider B, Oberhollenzer M, Kronenberg F, Wiedermann C, Oberthaler S, Xu Q, Witztum J, Tsimikas S: Oxidizes phospholipids, lipoprotein (a), lipoprotein-associated phospholipase A2 activity, and 10-year cardiovascular outcomes:prospective results from the Bruneck Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol 27: 1788-1795 (2007)

55. Kliewer S, Sundseth S, Jones S, Brown P, Wisely G, Noble C,

Devchand P, Wahli W, Willson T, Lenhard J, Lehmann J: Fatty Acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with PPARα/γ. Proc Natl Acad Sci USA 94: 4318-4323 (1997)

56. Kockx M, Gervois P, Poulain P, Derudas B, Peters J, Gonzalez F, Princen H, Kooistra T, Staels B: Fibrates suppress fibrinogen gene expression in rodents via activation of the peroxisome proliferator-activated receptor-alpha. Blood 93: 2991-2998 (1999)
57. Koenig W: Fibrin(ogen) in cardiovascular disease: an update. Thromb Haemost 89: 601-609 (2003)
58. Kooistra T, Verschuren L, de Vries-van-der-Weij J, Koenig W, Toet K, Princen H, Kleemann R: Fenofibrate reduces atherogenesis in ApoE3 Leiden mice: evidence for multiple antiatherogenic effects besides lowering plasma cholesterol. Arterioscler Thromb Vasc Biol 26: 2322-2330 (2006)
59. Kromhout D, Bosschieter E, de Lezenne Coulander C: The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. N Engl J Med 312: 205-209 (1985)
60. Kunz F, Pechlaner C, Erhart R, Fend F, Muhlberger V: HDL and plasma phospholipids in coronary artery disease. Arterioscler Thromb 14: 1146-1150 (1994)
61. Lan Hsia S, Duncan R, Schob A, Chakko S, Mulingtapang R, He J, Perez G: Serum levels of high-density lipoprotein phospholipids correlate inversely with severity of angiographically defined coronary artery disease. Atherosclerosis 152: 469-473 (2000)
62. Leary A, Ikebuchi K, Hirai Y, Wong G, Yang Y, Clarc S, Ogawa M: Synergism between interleukin-6 and interleukin-3 in supporting proliferation of human hematopoietic stem cells: comparison with interleukin-1 alpha. Blood 71: 1759-1763 (1988)
63. Lee H, Shi W, Tontonoz P, Wang S, Subbanagaunder G, Hedrick C, Hama S, Borromeo C, Evans R, Berliner J, Nagy L: Role for PPARα in oxidized phospholipid-induced synthesis of monocyte chemotactic

protein-1 and Il-8 by endothelial cells. Circ Res 987: 516-521 (2000)

64. Lee DL, Wilson JL, Duan R, Hudson T, El-Marakby A: Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-α Activation Decreases Mean Arterial Pressure, Plasma Interleukin-6, and COX-2 While Increasing Renal CYP4A Expression in an Acute Model of DOCA-Salt Hypertension. PPAR Res 2011: 502631 (2011)
65. Liang J, Schreiber B, Salmona M, Phillip G, Gonnerman W, de Beer F, Sipe J: Amino terminal region of acute phase, but not constitutive, serum amyloid A (apoSAA) specifically binds and transports cholesterol into aortic smooth muscle and HepG2 cells. J Lipid Res 37: 2109-2116 (1996)
66. Liang J, Sloane J, Wells J, Abraham C, Fine R, Sipe J: Evidence for local production of acute phase response apolipoprotein serum amyloid A in Alzheimer`s disease brain. Neurosci Lett 225: 73-76 (1997)
67. Libby P, Hansson G: Involvement of the immune system in human atherogenesis: current knowledge and unanswered questions. Lab Invest 64: 5-15 (1991)
68. Libby P: Molecular bases of the acute coronary syndrome. Circulation 91: 2844-2850 (1995)
69. Libby P, Geng Y, Suhkova G, Simon D, Lee R: Molecular determinants of atherosclerotic plaque vulnerability. ANN N Y Acad Sci 811: 134-145 (1997)
70. Libby P, Aikawa M, Schönbeck U, Sukhova G, Mach F, Marx N, Plutzky J: Inflammation and plaque stability. Atherosclerosis XII. Elsevier Science B.V.: 67-80 (2000)
71. Mach F, Schönbeck U, Bonnefoy J, Pober J, Libby P: Activation on moncyte/macrophage functions relates to acute atheroma complication by ligation of CD 40. Induction of collagenase, stromelysin and tissue factor. Circulation 96: 396-399 (1997)
72. Madej A, Okopien B, Kowalski J, Zielinski M, Wysocki J, Szygula B,

Kalina Z, Herman Z: Effects of fenofibrate on plasma cytokine concentrations in patients with atherosclerosis and hyperlipoproteinemia IIb. Int J Pharmacol Ther 36: 345-349 (1998)

73. Malik S, Balkwill F: Antiproliferative and antitumor activity of TNF in vitro and invivo. Immunol Series 56: 239–268 (1992)
74. Malle E, De Beer F: Human serum amyloid A (SAA) protein: a prominent acute-reactant for clinical practice. Eur J Clin Invest 26: 427-435 (1996)
75. Marx N, Libby P, Plutzky J: PPARs and atherosclerosis-new modulators of the inflammatory response in the vessel wall. (1999, unveröffentliche Befunde)
76. Marx N, Sukhova G, Collins T, Libby P, Plutzky J: PPARα activators inhibit cytokine-induced VCAM-1 expression in human endothelial cells. Circulation 99: 3125-3131 (1999)
77. Marx N, Mackman N, Schönbeck U, Yilmaz N, Hombach V, Libby P, Plutzky J: PPARα activators inhibit TF-expression and activity in human monocytes. Circulation 103: 790-793 (2001)
78. Marx N, Kehrle B, Kohlhammer K, Grüb M, Koenig W, Hombach V, Libby P, Plutzky J: PPAR activators anti-inflammatory mediators in human T lymphocytes: implications for atherosclerosis and transplantation-associated arteriosclerosis. Circ Res 90: 703-710 (2002)
79. Meek R, Urieli-Shoval S, Benditt E: Expression of apolipopotein serum amyloid A mRNA in human atherosclerotic lesions and cultured vascular cells: implications for serum amyloid A function. Proc Natl Acad Sci USA 91: 3186-3190 (1994)
80. Migita K, Kawabe Y, Tominaga M, Origuchi T, Aoyagi T, Eguchi K: Serum amyloid A protein induces production of matrix metalloproteinases by human synovial fibroblasts. Lab Invest 78: 535-539 (1998)
81. Mizia-Stec K, Gasior Z, Zahorska-Markiewicz B, Janowska J, Szulc

A, Jastrzebska-Maj E, Kobielusz-Gembala I: Serum tumor necrosis factor alpha, interleukin-2 and interleukin-10 activation in stable angina and acute coronary syndromes. Coron Artery Dis 14:431-438 (2003)

82. Mizia-Stec K, Gasior Z, Zahorska-Markiewicz B, Holecki M, Kumor P: Inflammatory markers in a 2-year follow-up of CAD. Heart Vessels 21: 302-308 (2006)
83. Mocellin S, Rossi C, Pilati P, Nitti D: Tumor necrosis factor, cancer and anticancer therapy. Cytokine Growth Factor Rev 16: 35–53 (2005)
84. Morange P, Bickel C, Nicaud V, Schnabel R, Rupprecht H, Peetz D, Lackner K, Cambien F, Blankenberg S, Tiret L: Atherogene Investigators. Haemostatic factors and the risk of cardiovascular death in patients with coronary artery disease: “The Atherogene Study”. Arterioscler Thromb Vasc Biol 26: 2793-2799 (2006)
85. Morrow D, Rifai N, Antman E, Weiner D, McCabe C, Cannon C, Braunwald E: Serum amyloid A predicts early mortalitiy in acute coronary syndromes: A TIMI 11A substudy. J Am Coll Cardiol 35: 358-362 (2000)
86. Murdoch S, Carr M, Hokanson J, Brunzell J, Albers J: PLTP activity in premenopausal women: relationship with lipoprotein lipase, HDL, LDL, body fat, and insulin resistance. J Lipid Res 41: 237–244 (2000)
87. Miyazaki T, Shimada K, Miyauchi K, Kume A, Tanimoto K, Kiyanagi T, Sumiyoshi K, Hiki M, Mokuno H, Okazaki S, Sato H, Kurata T, Daida H: Effects of fenofibrate on lipid profiles, cholesterol ester transfer activity, and in-stent intimal hyperplasia in patients after elective coronary stenting. Lipids Health Dis 9: 122 (2010)
88. Nachman R, Hajjar K, Silverstein R, Dinarello C: Interleukin 1 induces endothelial cell synthesis of plasminogen activator inhibitor. J Exp Med 163:1595-1600 (1986)
89. Narazaki M, Kishimoto T: IL-6. In: Nicola N: Guidebook to Cytokines

and their receptors; 1.Aufl, Sambrook and Tooze Public. at Oxford Uni Press. S. 56-58 (1994)

90. Navab M, Hama S, Ready S, Ng C, Van Lenten B, Laks H, Fogelman A: Oxidized lipids as mediators of coronary heart disease. Curr Opin Lipidol 13: 363-372 (2002)

91. Nehmer H: Veränderungen der Lipoproteine bei Fettbelastung vor und nach Fenofibrat-Therapie. Vergleich von Patienten mit und ohne angiographisch gesicherter KHK. Med. Dissertation, Universität Ulm 1995

92. Niu W, Liu Y, Qi Y, Wu Z, Zhu D, Jin W: Association of interleukin-6 circulating levels with coronary artery disease: a meta-analysis implementing mendelian randomization approach. Int J Cardiol 157: 243-252 (2012)

93. Noll G: Pathogenesis of atherosclerosis: a possible relation to infection. Atherosclerosis 140 Suppl. I: 3-9 (1998)

94. Ozdemir O, Gundogdu F, Karakelleoglu S, Sevimli S, Pirim I, Acikel M, Arslan S, Serdar S: Comparison of serum levels of inflammatory markers and allelic variant of interleukin-6 in patients with acute coronary syndrome and stable angina pectoris. Coron Artery Dis 19: 15-19 (2008)

95. Okopien B, Haberka M, Madej A, Belowski D, Labuzek K, Krysiak R, Zielinski M, Basiak M, Herman Z: Extralipid effects of micronized fenofibrate in dyslipidemic patients. Pharmacol Rep 58: 729-35 (2006)

96. Okopien B, Krysiak R, Hermann Z: Effects of short-term fenofibrate treatment on circulating markers of inflammation and haemostasis in patients with impaired glucose tolerance. J Clin Endocrinol Metab 91: 1770-1778 (2006)

97. Osborn L, Hession C, Tizard R, Vassallo C, Luhowskyi S., Chi-Rosso G, Lobb R: Direct expression cloning of vascular cell adhesion molecule 1, a cytokine-induced endothelial protein that binds to

lymphocytes. Cell 59: 1203-1211 (1989)

99. Oxford Clinical Communications.The Fenofibrate Monograph. Oxford Clinical Communications on behalf of Laboratoires Fournier, Oxford, Daix, S. 1-62 (1995)

99. Ozasa S, Kempner E, Erickson S: Functional size of acyl coenzyme A: diacylglycerol acyltransferase by radiation inactivation. J Lipid Res 30: 1759-1762 (1989)

100. Pober J: Cytokine mediated activation of vascular endothelium. AJP 133: 426-433 (1988)

101. Qin S, Tall A, Jiang X: Phospholipid transfer protein deficiency reduces atherogenesis by inhibited LDL oxidation in LDL receptor knock out mice on western type diet. Circulation 104 (Supplement I): 325-329 (2001)

102. Retzinger G, DeAngelis A, Patuto S: Adsorption of fibrinogen droplets of liquid hydrophobic Phases. Functionality of the bound protein and biological implications. Arterioscler Thromb Vasc Biol 18: 1948-1957 (1998)

103. Ridker P, Rifai N, Stampfer M, Hennekens C: Plasma concentration of IL-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. Circulation 101: 1767-1772 (2000)

104. Ridker P, Stampfer M, Rifai N: Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. JAMA 285: 2481-2485 (2001)

105. Romano M, Sironi M, Toniatti C, Polentarutti N, Fruscella P, Ghezzi P, Faggioni R, Luini W, van Hinsbergh V, Sozzani S, Bussolino F, Poli V, Ciliberto G, Mantovani A: Role of IL-6 and its soluble receptor in induction of chemokines and leukocyte recruitment. Immunity 6: 315-325 (1997)

106. Ross R: The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the

1990s. Nature 362: 801-809 (1993)

107. Rubins H: Veterans Affairs-High Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial (VA-HIT). Scientific Sessions “American Heart Association”. Plenary Session XII “Late breaking clinical trials 1998”, Dallas. (1998)

108. Sacks F, Ridker P: Lipid lowering and beyond: results from the CARE study on lipoproteins and inflammation. Cholesterol and recurrent events. Herz 24: 51-56 (1999)

109. Schlitt A, Blankenberg S, Bickel C, Lackner KJ, Heine GH, Buerke M, Werdan K, Maegdefessel L, Raaz U, Rupprecht HJ, Munzel T, Jiang XC: PLTP activity is a risk factor for subsequent cardiovascular events in CAD patients under statin therapy: the AtheroGene study. J Lipid Res 50: 723-729 (2009)

110. Schneider D, Taatjes D, Howard D, Sobel B: Increased reactivity of platelets induced by fibrinogen independent of its binding to the IIb-IIIa-surface glycoprotein. A potential contributor to cardiovascular risk. J Am Coll Cardiol 33: 261-266 (1999)

111. Schoonjans K, Watanabe M, Suzuki H, Mahfoudi A, Krey G, Wahli W, Grimaldi P, Staels B, Yamamoto T, Auwerx J: Induction of the acyl-coenzyme A synthetase gene by fibrates and fatty acids is mediated by a peroxisome proliferator response element in the C Promotor. J Biol Chem 70: 19269-19276 (1995)

112. Schoonjans K, Peinado-Onsurbe J, Lefebure A, Heyman R, Briggs M, Deeb S, Staels B, Auwerx J: PPARα and PPARγ activators direct a distinct tissue-specific transcriptional response via a PPRE in the lipoprotein lipase gene. Embo J 15: 5336-5348 (1996)

113. Schoonjans K, Staels B, Auwerx J: Role of the PPAR in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. J Lipid Res 37: 907-925 (1996b)

114. Schoonjans K, Martin G, Staels B, Auwerx J: PPAR, orphans with ligands and functions. Curr Opin Lipidol 8: 159-166 (1997)

115. Sebestjen M, Keber I, Zequra B, Simcic S, Bezic M, Fressart M, Stegner M: Statin and fibrate treatment of combined hyperlipidaemia: the effects on some novel risk factors. Thromb Haemost 92: 1129-1135 (2004)

116. Shu H, Wong B, Zhou G, Li Y, Berger J, Woods J, Wright S, Cai T: Activation of PPAR α or γ reduces secretion of matrix metalloproteinase 9 but not interleukin-8 from human moncyte THP-1 cells. Biochem Biophys Res Commun 267: 345-349 (2000)

117. Song C, Shen Y, Yamen E, Hsu K, Yan W, Witting PK, Geczy CL, Freedman SB: Serum amyloid a may potentiate prothromboticand proinflammatory events in acute coronary syndromes. Atherosclerosis 202: 596-604 (2009)

118. Staels B, Koenig W, Habib A, Merval R, Lebret M, Torra IP, Delerive P, Faddel A, Chinetti G, Fruchart J, Najib J, Maclouff J, Tedgui A: Activation of human aortic smooth muscle cells is inhibited by PPARα but not by PPARγ activators. Nature 39; 790-793 (1998)

119. Stary H, Chandler A, Glagov S, Guyton J, Insult W, Rosenfeld M, Schaffer S, Schwartz C, Wagner W, Wissler R: A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis. American Heart Association. Circulation 89: 2462-2478 (1994)

120. Steinberg D: Lipoprotein modification and atherogenesis. Atherosclerosis Reviews 23: 115-121 (1991)

121. Steiner G, Stewart D, Hoshing J: Baseline characteristics of the study population in the DAIS, WHO Collaborating Centre for the Study of atherosclerosis in Diabetes. Am J Cardiol 84: 1004-1010 (1999)

122. Szekanecz Z, Shah M, Pearce W, Koch A: Human atherosclerotic abdominal aortic aneurysmas produce IL-6 and IFN-γ but not IL-2 and IL-4: the possible role for IL-6 and IFN-γ in vascular

inflammation. Agents Actions 42: 159-162 (1994)

123. Tabas I: Cholesterol and phospholipid metabolism in macrophages. Biochem Biophys Acta 1529: 164-174 (2000)

124. Thompson S, Kienast J, Pyke S, Haverkate F, van de Loo J for the European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina pectoris Study Group: Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. N Engl J Med 332: 635-641 (1995)

125. Toss H, Lindahl B, Siegbahn A, Wallentin L for the FRISC Study Group: Prognostic influence of increased Fibrinogen and C-reactive Protein levels in unstable coronary artery disease. Circulation 96: 4204-4210 (1997)

126. Uhlar C, Whitehead A: Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. Eur J Biochem 265: 501-523 (1999)

127. Urieli-Shoval S, Linke R, Matzner Y: Expression and function of serum amyloid A, a major acute-phase protein, in normal and disease states. Current Opinion in Hematology 7: 64-69 (2000)

128. Valente A, Rozek M, Sprague E, Schwartz C: Mechanisms in intimal monocyte-macrophage recruitment. A special role for monocyte chemotactic protein-1. Circulation 86 Suppl. 6: 20-25 (1992)

129. van der Poll T, Levi M, Hack C, ten Cate H, van Deventer S, Eerenberg A, de Groot E, Jansen J, Gallati H, Büller H, ten Cate J, Aarden L: Elimination of interleukin-6 attenuates coagulation activation in experimental endotoxemia in chimpanzees. J Exp Med 179: 1253-1259 (1994)

130. Van Snick, J: Interleukin-6: an overview. Annu Rev Immunol 8: 253-278 (1990)

131. Vilcek J, Palombella V, Henriksen-DeStefano D, Swenson C, Feinman R, Hirai M, Tsujimoto M: Fibroblast growth enhancing activity of tumor necrosis factor and its relationship to other polypeptide growth factors. J Exp Med 163: 632-643 (1986)

132. Vilcek J, Lee T: Tumor necrosis factor. New insights into the molecular mechanisms of its multiple actions. J Biol Chem 266: 7313-7316 (1991)

133. Watts G, Ji J, Chan D, Ooi E, Johnson A, Rye K, Barrett P: Relationship between changes in plasma lipid transfer proteins and apolipoprotein B-100 kinetics during fenofibrate treatment in the metabolic syndrome. Clin Sci 111: 193-199 (2006)

134. Whicher J, Biasucci L, Rifai N: Inflammation, the acute phase response and atherosclerosis. Clin Chem Lab Med 37: 495-503 (1999)

135. Wilcox J, Smith K, Schwartz S, Gordon D: Localization of tissue factor in the normal vessel wall and in the atherosclerotic plaque. Proc Natl Acad Sci USA 86: 2839-2842 (1989)

136. Witztum J, Steinberg D: Role of oxLDL in atherogenesis. J Clin Invest 88: 1785-1792 (1991)

137. Woodward M, Lowe G, Rumley A, Tunstall-Pedoe H: Fibrinogen as a risk factor for coronary heart disease and mortality in middle-aged men and women: the Scottish Heart and Health Study. Eur Heart J 19: 55-62 (1998)

138. Yamazaki K, Kuromitsu J, Tanaka I: Microarray analysis of gene expression changes in mouse liver induced by peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonists. Biochem Biophys Res Commun 290: 1114-1122 (2002)

139. Yancey P, Jerome W: Lysosomal sequestration of free and esterified cholesterol from oxidized low density lipoprotein in macrophages of different species. J Lipid Res 39: 1349-1361 (1998)

140. Yudkin J, Kumari M, Humphries S, Mohamed-Ali V: Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? Atherosclerosis 148: 209-214 (2000)

141. Xie P, Cao Y, Su P, Li Y, Gao Z, Borst M: Expression of toll-like receptor 4, tumor necrosis factor-alpha, matrix metalloproteinase-9

and effects of benazepril in patients with acute coronary syndromes. Cardiology 4: 89-93 (2010)

142. Zakynthinos E, Pappa N: Inflammatory biomarkers in coronary artery disease. J Cardiol 53: 317-333 (2009)

143. Zimlichman S, Danon A, Nathan I, Mozes G, Shainkin-Kestenbaum R: Serum amyloid A, an acute-phase protein, inhibits platelet activation. J Lab Clin Med 116: 180-186 (1990)

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Koenig möchte ich für seine freundliche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Marx für das interessante Thema dieser Arbeit, die gewährten Freiheiten und die stets motivierende Betreuung.

Frau G. Trischler, M. Grüb und H. Bach danke ich für eine ausgezeichnete Zusammenarbeit und Hilfestellung, die zu einer angenehmen und lehrreichen Laborarbeit beigetragen haben.

Bei Frau K. Gmelin möchte ich mich für die stets hilfreiche und harmonische Zusammenarbeit bedanken, die zur Durchführung und Fertigstellung meiner Dissertation entscheidend beigetragen hat.

Desweiteren möchte meiner Mutter, meinen Großeltern und meinem Freund L. Richter für die Unterstützung während meiner Promotionsarbeit danken.

Lebenslauf

Lebenslauf aus Gründen des Datenschutzes entfernt.