

Parenterale Omega-3-Lipidbehandlung bei Patienten mit Psoriasis vulgaris: Metabolismus der Lipidmediatoren und klinischer Verlauf

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

des Fachbereichs Humanmedizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Charis Papavassilis

aus

Freiburg im Breisgau

Gießen 1997

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin

Medizinische Klinik II

Leiter: Prof. Dr. Seeger

des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter: Prof. Dr. Dr. Grimminger

Gutachter: Prof. Dr. Schill

Tag der Disputation: 6. Juli 1998



INHALTSVERZEICHNIS

1.	Vorwort	1
2.	Hintergrund und Fragestellung	
2.1.	Einleitung	2
2.2.	Übersicht zum System der Lipidmediatoren	3
2.2.1.	Cyclooxygenaseprodukte	4
2.2.2.	Lipoxygenaseprodukte	6
2.3.	Bildung von Eicosanoiden aus Eicosapentaensäure	9
2.4.	Das Konzept der pharmakologischen Ernährung mit Eicosapentaensäure	10
2.5.	Eicosanoide in der Pathogenese der Psoriasis	10
2.6.	Antiinflammatorische Behandlungsstrategien bei der Psoriasis	13
2.7.	Fragestellung	15
3.	Methodik und Material	
3.1.	Studiendesign	16
3.2.	Standard-Laborwerte	17
3.3.	Isolierung der Granulozyten	17
3.4.	Analytik der Eicosanoide	19
3.5.	Statistik	29
3.6.	Liste verwendeter Substanzen	30
3.6.1.	Wichtige experimentelle Agentien und Pharmaka	30
3.6.2.	Inkubationsmedien	32
3.6.3.	HPLC-Materialien und Lösungsmittel	33
3.6.4.	Authentische Standards	34

4.	Ergebnisse	
4.1.	Zusammensetzung der Patientengruppen	35
4.2.	Einfluß der Infusionen auf die Synthese von Lipidmediatoren	36
4.2.1.	Lipovenös-Gruppe: 5-Lipoxygenase-Produkte der AA	36
4.2.2.	Lipovenös-Gruppe: 5-Lipoxygenase-Produkte der EPA	37
4.2.3.	Omegavenös-Gruppe: 5-Lipoxygenase-Produkte der AA	38
4.2.4.	Omegavenös-Gruppe: 5-Lipoxygenase-Produkte der EPA	38
4.3.	Standard-Laborparameter	42
4.4.	Klinischer Verlauf	42
5.	Diskussion	
5.1.	Die Entwicklung des Studiendesigns	47
5.2.	Die Effekte der Lipidinfusionen auf den Metabolismus von leukozytären Lipidmediatoren	47
5.3.	Lipidmediator-unabhängige Effekte der ω -3-Lipidinfusionen	49
5.4.	Die Effekte der Lipidinfusionen auf den klinischen Verlauf	51
5.5.	Perspektiven	53
6.	Zusammenfassung	55
7.	Literaturverzeichnis	57
8.	Lebenslauf	71
9.	Danksagung	72



LISTE DER ABKÜRZUNGEN

AA	Arachidonsäure = Eicosatetraensäure
EPA	Eicosapentaensäure
fMLP	N-formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin
HETE	Hydroxyeicosatetraensäure
HEPE	Hydroxyeicosapentaensäure
HPETE	Hydroperoxyeicosatetraensäure
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
IL	Interleukin
LT	Leukotrien
NSAID	Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs
PAF	Platelet Activating Factor
PG	Prostaglandin
PLA ₂	Phospholipase A ₂
PMN	Polymorphkerniger neutrophiler Granulozyt
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acid
PUVA	Psoralen und UV A-Licht
RIA	Radio Immunosorbent Assay
RP-HPLC	Reversed Phase HPLC
SP-HPLC	Straight Phase HPLC
SRS-A	Slow Reacting Substance of Anaphylaxis
TX	Thromboxan

1. VORWORT

Der vorliegenden Dissertationsschrift liegen Untersuchungen zugrunde, die im Verlauf von drei Jahren in dem Labor von PD Dr. med Dr. rer. nat. F. Grimminger innerhalb der Klinischen Forschergruppe „Respiratorische Insuffizienz“ am Zentrum für Innere Medizin (Leiter: Prof. Dr. W. Seeger) durchgeführt wurden. Im Mittelpunkt standen dabei Untersuchungen zur Freisetzung von Produkten des Lipoxygenasemetabolismus aus endogenen und exogenen Fettsäurepools der isolierten Granulozyten, induzierbar durch verschiedene proinflammatorische Stimuli. Weitere Schwerpunkte waren die Untersuchung von Degranulation, Chemotaxis und oxidativem Burst. Dies geschah vor dem Hintergrund der Erkenntnis, daß bei verschiedenen Erkrankungen eine Störung der granulozytären Funktion mit autoaggressivem Verhalten eine pathogenetische Rolle zu spielen scheint, und diese mit einer parenteralen Gabe von ω -3-Fettsäuren zu supprimieren sein könnte.

Die vorliegende Arbeit setzt sich aus wesentlichen Teilen dieser Untersuchungen zusammen. In oben genanntem Zusammenhang wurde im Rahmen einer klinischen Studie an Patienten mit akut exanthematischer Psoriasis vulgaris geprüft, ob sich das inflammatorische Verhalten der Granulozyten durch intravenöse Gabe eines Fischölpräparates beeinflussen läßt, und inwieweit sich die Behandlung auf das klinische Bild der Erkrankung auswirkt.

Im Rahmen dieser Arbeit bestand eine Zusammenarbeit mit dem Zentrum für Dermatologie (Leiter: Prof. Dr. W.-B. Schill) sowie mit der Fresenius AG (Oberursel). Dr. P. Mayser, Dr. M. Thomas und Dr. K.-D. Hinsch übernahmen die Betreuung der Patienten sowie die Erhebung der klinischen Meßparameter. Die Kooperation mit der Fresenius AG, die das Infusionspräparat zur Verfügung stellte, fand über Herrn Dr. E. Schlotzer statt. Die Zellisolierung und die biochemischen Untersuchungen zum Metabolismus der Lipidmediatoren wurden von mir selbst durchgeführt.

2. HINTERGRUND UND FRAGESTELLUNG

2.1. Einleitung

Die im Mittelpunkt dieser Untersuchung stehende Zelle ist der polymorphkernige neutrophile Granulozyt (PMN). Dieser ist Teil der unspezifischen zellulären Körperabwehr. Im Rahmen einer Inflammation besitzt der PMN ein vielseitiges Reaktionsspektrum; seine Funktionen werden, der jeweiligen Situation entsprechend, in einer bestimmten Reihenfolge aktiviert. Zu den Reaktionsmöglichkeiten gehören Adhärenz und Diapedese, Chemokinese und Chemotaxis, Phagozytose, Bildung reaktiver Sauerstoffspezies und Degranulation (Wade 1983).

Die Steuerung dieses komplexen Ablaufs erfolgt unter anderem durch verschiedene Lipidmediatoren-Signalsysteme. Dabei kann eine adäquate Stimulierung spezifische Reaktionsmuster anregen (Omman 1987; Sandborg 1988). Nach Besetzung eines Rezeptors durch ein Molekül erfolgt der weitere Ablauf der Signaltransduktion innerhalb der Zelle über second messenger (Sandborg 1988; Lew 1990). Die Art der Reaktion hängt von der aktivierenden Substanz ab. Der PMN besitzt Rezeptoren für eine Vielzahl von verschiedenen Substanzen: für Komplementfaktoren (C5a), bakterielle Stoffwechselprodukte (z.B. fMLP) und Lipidmediatoren (PAF, Eicosanoide). Das Antwortverhalten des Granulozyten hängt aber auch von der Menge des aktivierenden Signalmoleküls ab. So besitzt der PMN zwei verschiedene Rezeptoren für das LTB₄, von denen jeder eine andere Dissoziationskonstante hat und unterschiedliche Reaktionen bewirkt (Goldman 1984+88, Lin 1984).

Die vom aktivierten Granulozyten gebildeten Lipidmediatoren wirken sowohl auf benachbarte Zellen als auch auf die synthetisierende Zelle selbst, wodurch eine Potenzierung der Stimulation erreicht wird (O'Flaherty 1985). Durch die chemische Instabilität der Mediatoren wird die Aktivierung zeitlich und räumlich limitiert. Daher gehören diese Substanzen zu den Lokalmediatoren. Die wichtigste Gruppe der Lipidmediatoren wird durch die Eicosanoide gebildet.

2.2. Übersicht zum System der Lipidmediatoren

Die Eicosanoide sind biologisch aktive Oxygenierungsprodukte der vierfach ungesättigten Fettsäure Arachidonsäure (= Eicosatetraensäure; siehe Abb. 1a) oder anderer 20C-PUFA (Davies 1984). Die AA gehört zur Gruppe der ω -6-Fettsäuren, weil sich ihre letzte Doppelbindung sechs Kohlenstoffatome vom freien Ende der Fettsäure entfernt befindet. Sie werden nach dem Enzym, welches das erste O_2 -Molekül einfügt, in zwei Gruppen eingeteilt: Produkte der Cyclooxygenase (Prostaglandine und Thromboxane) sowie Produkte der Lipoxygenase (Leukotriene und HETEs).

Die Synthese kann durch einen zytoplasmatischen Ca^{2+} -Anstieg ausgelöst werden, welcher z.B. durch rezeptorabhängige Calcium-Kanäle oder durch Calcium-Ionophore wie A 23187 getriggert sein kann (Rasmussen 1984, Berridge 1987, Carafoli 1987). Das erhöhte Ca^{2+} bewirkt eine Aktivierung der Phospholipase A_2 , welche in der Lage ist, aus Membranphospholipiden die an Position sn_2 befindliche Fettsäure abzuspalten (Ramesha 1986a+b, Chilton 1987). In den meisten Fällen handelt es sich dabei um die Arachidonsäure. Die für die Synthese der Eicosanoide notwendige freie Fettsäure kann aber auch aus exogenen Pools stammen, zum Beispiel nach Freisetzung aus Lipiden durch Endothel-ständige Lipasen in der Blutbahn (Peterson 1990). Die Zufuhr von exogenen freien Fettsäuren scheint entscheidend zu sein für die Produktion von Eicosanoiden durch PMN nach Stimulation mit physiologischen Stimuli (Grimminger 1992).

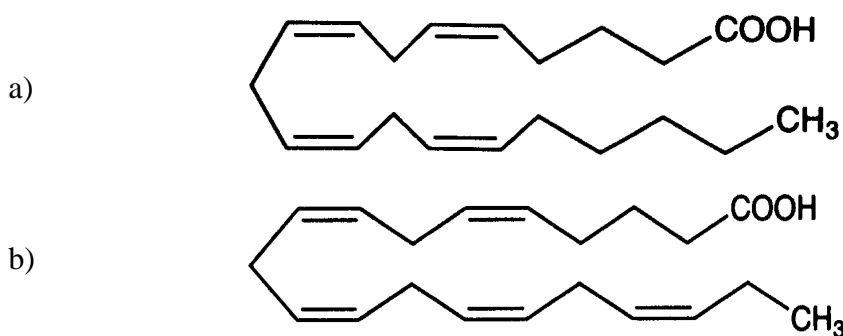


Abb. 1: Strukturformeln

- a) all-cis-5,8,11,14-Eicosatetraensäure = Arachidonsäure (C20:4 ω 6)
 b) all-cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaensäure (C20:5 ω 3)

2.2.1. Cyclooxygenaseprodukte

Die Cyclooxygenase vermittelt die Kopplung eines O_2 -Moleküls an die Arachidonsäure. Es entsteht ein 15-hydroperoxy-9,11-Endoperoxid mit einem substituierten Cyclopentanring (PGG_2). Das PGG_2 wird direkt zum ebenfalls sehr kurzlebigen PGH_2 reduziert. Beide Reaktionen werden durch funktionelle Untereinheiten der Cyclooxygenase mit Oxygenase- bzw. Hydroperoxydase-Aktivität katalysiert (Needleman 1986). Das PGH_2 steht in zentraler Position dieses Stoffwechsels (siehe Abb. 2); an dieser Stelle entscheidet sich die weitere Metabolisierung nach der Enzymausstattung der Zelle. Mit Hilfe entsprechender Synthetasen werden Thromboxane oder Prostaglandine gebildet. So bilden z.B. Endothelzellen PGI_2 (= Prostacyclin), Thrombozyten dagegen TXA_2 .

Die Produkte unterscheiden sich erheblich in ihrer biologischen Aktivität. Beispielsweise wirkt PGI_2 vasodilatierend und es hemmt die Thrombocytenaggregation, während TXA_2 vasokonstringierende und proaggregatorische Effekte hat (Isakson 1977, Gryglewski 1976, Seeger 1984).

Der Abbau der Prostanoiden findet in zwei Stufen statt (Andersen 1985). Eingeleitet wird der Katabolismus durch die beiden Prostanoid-spezifischen Enzyme PG-15-OH-Dehydrogenase und PG-13-Reduktase. Die bereits weitgehend inaktiven Produkte werden unspezifisch durch Enzyme des Fettstoffwechsels und durch Cytochrom P450-abhängige omega-Oxidation weiter abgebaut.

Neutrophile Granulozyten besitzen keine Cyclooxygenase und können daher keine Prostanoiden produzieren.

Cyclooxygenase

PG = Prostaglandin
DHK = Dihydro-keto

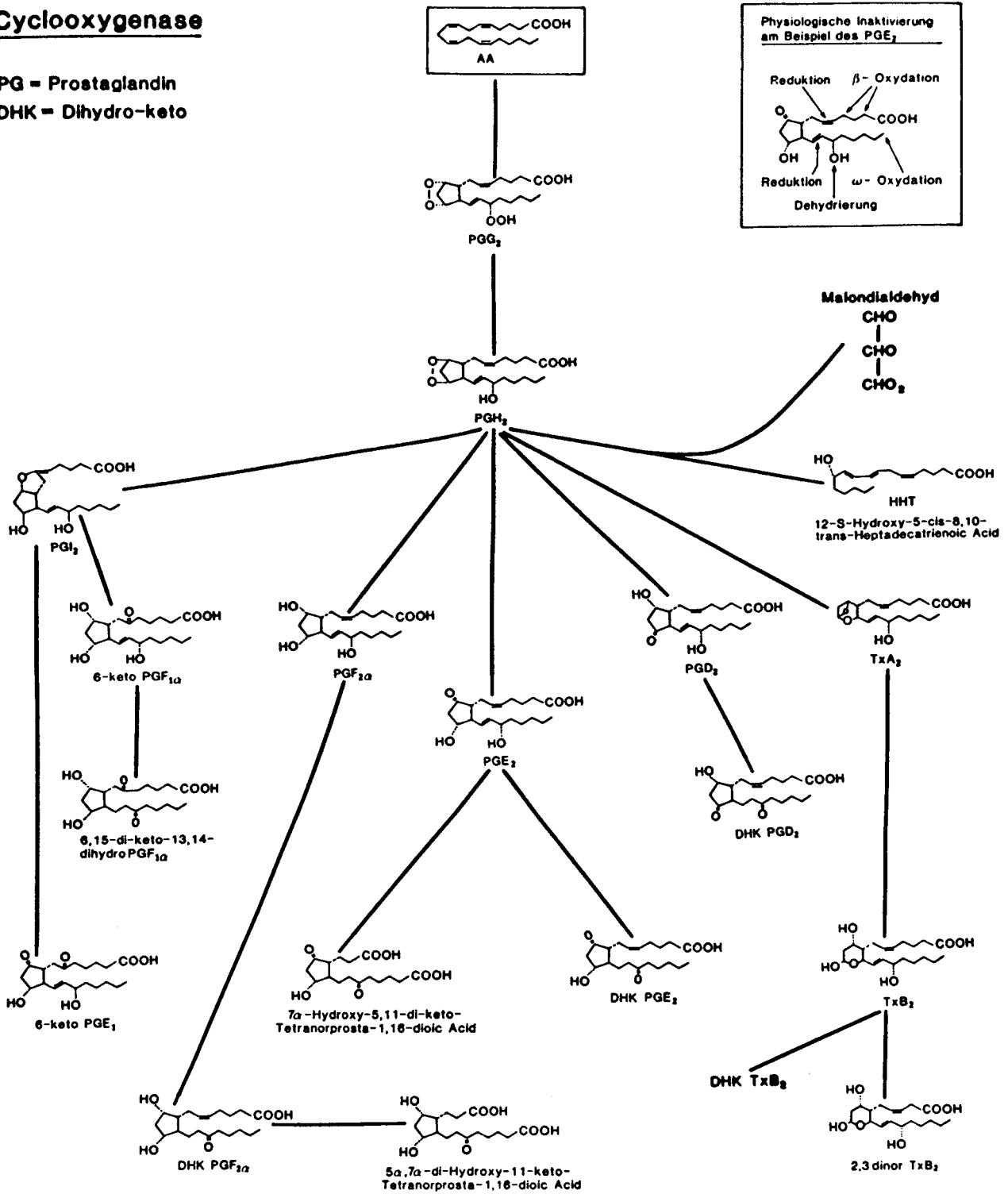


Abbildung 2: Schematische Übersicht über den Cyclooxygenase-Weg des Arachidonsäure-Metabolismus

Dargestellt sind die Entstehung über die Endoperoxide PGG₂ und PGH₂ sowie die wichtigsten Metabolismusschritte. Sämtliche Stoffwechselschritte werden enzymatisch katalysiert. Nicht-enzymatische („spontane“) Bildung eines Metaboliten findet sich lediglich bei der Umwandlung von PGH₂ in HHT und Malondialdehyd, von PGI₂ in 6-keto-PGF_{2α} sowie von TXA₂ in TXB₂. In dem oberen Ausschnitt der Abbildung sind die wichtigsten Ansatzpunkte der physiologischen Inaktivierung am Beispiel des PGE₂ dargestellt.

2.2.2. Lipoxygenaseprodukte

Der erste Schritt dieses Stoffwechselweges ist wieder der Einbau eines O₂-Moleküls, diesmal unter Entstehung von Hydroperoxiden ohne Ringbildung (HPETEs). Dies kann durch verschiedene Lipoxygenasen an sechs Stellen erfolgen, und entsprechend werden die Folgeprodukte 5-, 8-, 9-, 11-, 12- oder 15-HPETE genannt. Der weitere Metabolismus richtet sich nach der Position der Hydroperoxy-Gruppe und nach der Enzymausstattung der Zelle. Drei verschiedene Substanzklassen können entstehen: HETEs, Cysteinylleukotriene und Leukotrien B₄ mit Metaboliten (siehe Abb. 3).

HETEs: Die instabilen HPETEs werden sehr schnell durch Hydroperoxidasen in korrespondierende Monohydroxy-Fettsäuren (HETEs) umgewandelt. Diese können durch eine Reacylierung in Membranlipide aufgenommen werden und besitzen damit eine membranmodifizierende Potenz (Stenson 1979). Es sind aber auch andere biologische Aktivitäten nachgewiesen, besonders für 5-, 12- und 15-HETE. 12-HETE hat eine gewisse chemotaktische Wirkung auf PMN (Cunningham 1987, Malle 1987); außerdem scheint es die 5-Lipoxygenase zu aktivieren (Needleman 1986). 15-HETE dagegen hemmt die 5-Lipoxygenase in PMN (Vanderhoek 1980). 5-HETE kann durch Aktivierung membranständiger Phospholipasen und die daraus resultierende Freisetzung von Arachidonsäure zu einer deutlichen Verstärkung einer PAF-induzierten Leukozytendegranulation führen (Siegel 1982, O'Flaherty 1985, Bekoch 1981).

Leukotriene: Aus dem 5-HPETE entsteht Dehydrase-abhängig das LTA₄, welches extrem instabil ist und daher sofort umgesetzt wird. Es kann einen von zwei enzymatischen Wegen beschreiten und entweder zu den Cysteinyl-LTs oder zum LTB₄ reagieren. Andernfalls wird es nichtenzymatisch hydrolysiert; dabei entstehen die biologisch inaktiven stereoisomeren Paare des 6-trans-LTB₄ und des 5,6-DiHETE. Welche Reaktion stattfindet, hängt von der Enzymausstattung der synthetisierenden Zelle ab.

Cysteinylleukotriene: In Eosinophilen und in Mastzellen findet sich eine Glutathion-S-Transferase, die ein Glutathion an Position 6 in das LTA₄ einbaut (Weller 1983). Vom Reaktionsprodukt, LTC₄, wird durch Peptidasen zunächst Glutamin, dann Glycin abgespalten; es entstehen LTD₄ und LTE₄. Durch Assoziation von Glutamin entsteht schließlich LTF₄.

Die Leukotriene LTC₄-F₄ wurden schon 1938 als „slow reacting substance of anaphylaxis“ (SRS-A) beschrieben (Feldberg 1938); ihre strukturelle Identifizierung erfolgte

später (Murphy 1979). Sie haben bereits in niedrigen Konzentrationen eine ausgeprägte vasokonstringierende und bronchospastische Aktivität (Hammarström 1983, Davies 1984, Piper 1984, Needleman 1986). Im Gegensatz dazu bewirken sie in der Mikrozirkulation der Haut eine Vasodilatation und Permeabilitätssteigerung (Bisgaard 1982+1987).

Der Katabolismus der Cysteinylleukotriene findet extrazellulär durch Myeloperoxidase statt, wobei inaktive LT-Sulfoxide entstehen (Lee 1982). Außerdem können die Cysteinyl-LTs durch spontane Umlagerung in die 11-trans-Konfiguration inaktiviert werden. Die Eliminierung der Endprodukte erfolgt biliär und renal (Hagmann 1986, Denzlinger 1986, Örning 1985).

LTB₄: Makrophagen und neutrophile Granulozyten haben eine Hydrolase, die spezifisch LTA₄ durch Epoxidspaltung in LTB₄ überführt (Samuelsson 1983+89, Piper 1984, Ford-Hutchinson 1985). Die Bedeutung dieser Substanz wurde erst in jüngerer Zeit erkannt (Ford-Hutchinson 1980).

Das LTB₄ hat eine ausgeprägte chemotaktische Aktivität (Palmlblad 1981). Außerdem fördert es Adhärenz und Diapedese von Granulozyten am vaskulären Endothel (Dahlén 1981). Degranulation und Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (oxidativer Burst) durch den PMN werden gefördert (Bekoch 1981, O'Flaherty 1985). Es kann die Aktivität von B-Lymphocyten steigern (Yamaoka 1989). Schließlich wirkt das LTB₄ noch durch autokrine Sekretion in Form eines positiven Feedback auf seine eigene Synthese.

Abgebaut wird LTB₄ nach Wiederaufnahme in den Granulozyten durch Cytochrom P450-abhängige omega-Oxidation. Das zunächst entstehende ω-OH-LTB₄ wird über die kurzlebige Zwischenstufe des ω-CHO-LTB₄ zum Endprodukt ω-COOH-LTB₄ metabolisiert (Clancy 1984, Brom 1987+88, Soberman 1988). Diese Substanzen sind biologisch weitgehend inaktiv.

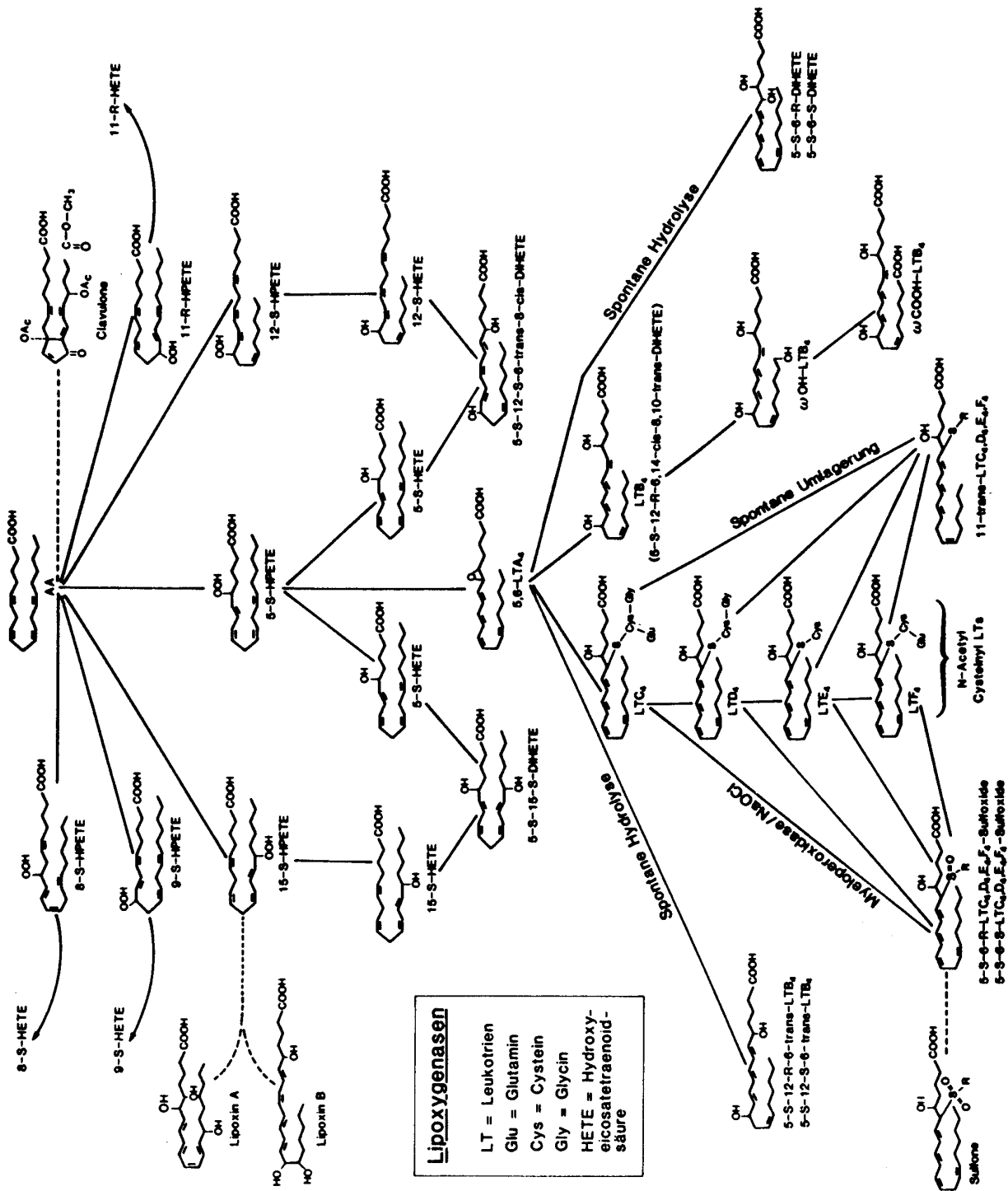


Abbildung 3: Schematische Übersicht über den Lipoxygenase-Weg des Arachidonsäure-Metabolismus

In der unteren Bildhälfte ist die Entstehung der Cysteinylleukotriene (LTC₄, LTD₄, LTE₄ und LTF₄) und des LTB₄ aus dem instabilen Intermediaten LTA₄ dargestellt. Die Katabolismuswege dieser biologisch aktiven Mediatoren sind ebenfalls skizziert. Der mit der enzymatischen Umsetzung konkurrierende Spontanzerfall des Epoxids zu den diastereomeren Paaren des 5,6-DiHETE und des 6-trans-LTB₄ ist auf den Bildaussenseiten angedeutet. Die obere Bildhälfte beinhaltet die übrigen Lipoxygenase-Reaktionen, welche die Entstehung der verschiedenen HETEs einleiten. Neben den Lipoxinen und Clavulonen sind exemplarisch die Produkte einer Doppellipoxygenierung, 5,15-DiHETE und 5,12-DiHETE, aufgeführt.

2.3. Bildung von Eicosanoiden aus Eicosapentaensäure

Prostanoide können nicht nur aus Arachidonsäure gebildet werden, sondern auch aus Eicosapentaensäure, welche im Vergleich zur AA dieselbe Länge hat, aber an Position 17 eine zusätzliche Doppelbindung enthält (siehe Abb. 1b). Daher gehört sie zur Gruppe der ω -3-Fettsäuren, deren letzte Doppelbindung sich drei Kohlenstoffatome vom freien Ende der Fettsäure entfernt befindet. Sie wird von denselben Enzymen wie die AA metabolisiert, und die Produkte der EPA unterscheiden sich strukturell von denen der AA auch nur durch die zusätzliche Doppelbindung. Es wurden analoge Produkte der Cyclooxygenase (Needleman 1979, Weber 1986, Fischer 1988) und der Lipoxygenase (Lee 1985, Prescott 1985) beschrieben. Es entstehen Prostaglandine und Thromboxane der 3er-Reihe bzw. Leukotriene der 5er-Reihe, benannt nach der Anzahl der Doppelbindungen.

Diese Substanzen unterscheiden sich zum Teil erheblich in ihrer biologischen Wirkung von ihren Analogen der 2er- bzw. 4er-Reihe. So ist zwar PGI_3 ähnlich antiaggregatorisch und vasodilatierend wirksam wie PGI_2 , aber beim TXA_3 ist die proaggregatorische und vasokonstringierende Wirkung im Vergleich zum TXA_2 deutlich abgeschwächt (Leaf 1988, Grimminger 1993b). Eine erniedrigte Aktivität findet man auch bei den Cysteinylleukotrienen der 5er-Reihe und beim LTB_5 . Letzteres wirkt jeweils mindestens um den Faktor 10 schwächer auf Aggregation, Chemotaxis und Degranulation von PMN (Goldman 1983, Lee 1984, Terano 1984, Heidel 1989).

Der Katabolismus scheint ebenfalls mit Hilfe derselben Enzyme wie bei den Produkten der AA stattzufinden (Schacky 1990).

Es läßt sich beobachten, daß durch EPA das inflammatorische Potential der AA gehemmt werden kann. Dies geschieht auf verschiedenen Ebenen. Zunächst findet auf der Ebene der Lipoxygenase eine kompetitive Hemmung statt: Beide Substrate konkurrieren um dasselbe Enzym, aber EPA wird bevorzugt metabolisiert und besetzt das Enzym für eine längere Zeit (Jakschik 1980, Grimminger 1992). Außerdem findet sich eine kompetitive Hemmung auf der Ebene der Produkte; so besetzen sowohl LTB_4 als auch LTB_5 denselben Rezeptor auf neutrophilen Granulozyten, letzteres jedoch mit einer um den Faktor 500 niedrigeren Dissoziationskonstante; dabei ist es ein partieller Antagonist (Goldman 1983, Kragballe 1987).

2.4. Das Konzept der pharmakologischen Ernährung mit Eicosapentaensäure

Aus der Beobachtung einer Hemmbarkeit der AA durch EPA entstand die Vorstellung von einer möglichen therapeutischen Intervention bei entzündlichen Erkrankungen. Bereits früh war beobachtet worden, daß Eskimos, die viel Fischöl zu sich nehmen, weniger häufig an Koronarsklerose erkranken (Dyerberg 1975+79). Man hat daher bei verschiedenen Krankheitsbildern versucht, durch orale Gabe von Fischölpräparaten, welche hohe Mengen an ω -3-Fettsäuren, besonders EPA, enthalten, Einfluß auf den Verlauf der Erkrankung zu nehmen. Dies geschah mit mäßigem bis gutem Erfolg bei der rheumatoiden Arthritis (Kremer 1987, Tempel 1990), der Colitis ulcerosa (Lorenz, 1989, Aslan 1992, Stenson 1992), bei arteriellem Hochdruck (Knapp 1989, Bonna 1990), Transplantatabstoßung (Heide 1993) und anderen Erkrankungen. Klinische Effekte waren zum Teil erst nach Monaten der Therapie erkennbar. Eine vermehrte Produktion von LTB_5 durch in vitro stimulierte PMN konnte beobachtet werden (Prescott 1985b, Strasser 1985). Bei Untersuchungen zur Prävention von Restenosierungen nach Koronarangioplastie ergaben sich widersprüchliche Befunde (Dehmer 1988, Reis 1989). In jüngerer Zeit wurden auch erste Untersuchungen mit intravenöser Applikation von Fischölpräparaten bei Tieren durchgeführt (Urakaze 1987, Mascioli 1988, Hamazaki 1992). Dabei zeigte sich eine erhebliche Beschleunigung des Wirkungseintrittes und u.a. eine verstärkte Hemmung der granulozytären Synthese von LTB_4 .

2.5. Eicosanoide in der Pathogenese der Psoriasis

Die Psoriasis, auch Schuppenflechte genannt, ist eine stark schuppige, entzündliche Dermatose, die zu den erblichen Fehlbildungen der Haut gerechnet wird (Barker 1991). Der inflammatorische Prozeß läßt sich makroskopisch an Rötung und Infiltration des befallenen Integumentes feststellen. Mikroskopisch finden sich in psoriatischer Haut Munro-Mikroabszesse, die aus Ansammlungen von neutrophilen Granulozyten im Stratum corneum bestehen (Jablonska 1982). Zu der Hyperproliferation der Epidermis paßt die erhöhte DNA-Synthese in psoriatischen Herden (Hell 1966, Goodwin 1973). Bei Patienten mit Schuppenflechte finden sich in der Haut erhöhte Konzentrationen von Arachidonsäure (Hammarström 1975, Barr 1984) sowie verschiedener Lipoxygenase-Produkte der AA: LTC_4 und LTD_4 (Brain 1985), LTB_4 und verschiedene HETEs (Hammarström 1975, Brain 1982, Grabbe 1982+84). Da die Migration von PMN in die

Haut zu den frühen Ereignissen in der Entstehung psoriatischer Läsionen gehört, wahrscheinlich noch vor Beginn einer Hyperproliferation (Braun-Falco 1977, Jablonska 1982), erscheint eine genauere Betrachtung der Bedeutung dieser Metabolite notwendig.

HETEs scheinen vorwiegend chemotaktisches Potential zu entfalten (Cunningham 1987). Die durch Cysteinylleukotriene bewirkte mikrozirkuläre Vasodilatation könnte zur Erythrodermie beitragen, die Permeabilitätssteigerung eine Migration der PMN erleichtern (Bisgaard 1982). Für besonders bedeutsam werden die erhöhten Konzentrationen an LTB₄ gehalten. Es besitzt eine wesentlich stärkere chemotaktische Aktivität als die HETEs und fördert auch alle anderen inflammatorischen Funktionen der Granulozyten (Samuelsson 1983). LTB₄ steigert aber auch die DNA-Synthese in kultivierten Keratinocyten um bis zu 100 % (Kragballe 1985). In vivo lassen sich Mikroabszesse und Hyperproliferation durch topische Applikation von LTB₄ erzeugen (Camp 1984, Bauer 1986). Intradermale Injektion von LTB₄ führt zu einer vermehrten Granulozyten-Extravasation in das umgebende Gewebe (Ruzicka 1988). In vitro lassen sich deutliche Hinweise auf eine stark vermehrte Synthese von LTB₄ durch Kooperation zwischen Granulozyten und Keratinozyten finden (Solá 1992, Iversen 1993, Mayser 1994). Aus diesen Beobachtungen läßt sich eine Hypothese über die Beteiligung von PMN und ihren Mediatoren in der Pathogenese der Psoriasis entwerfen (siehe Abb. 4).

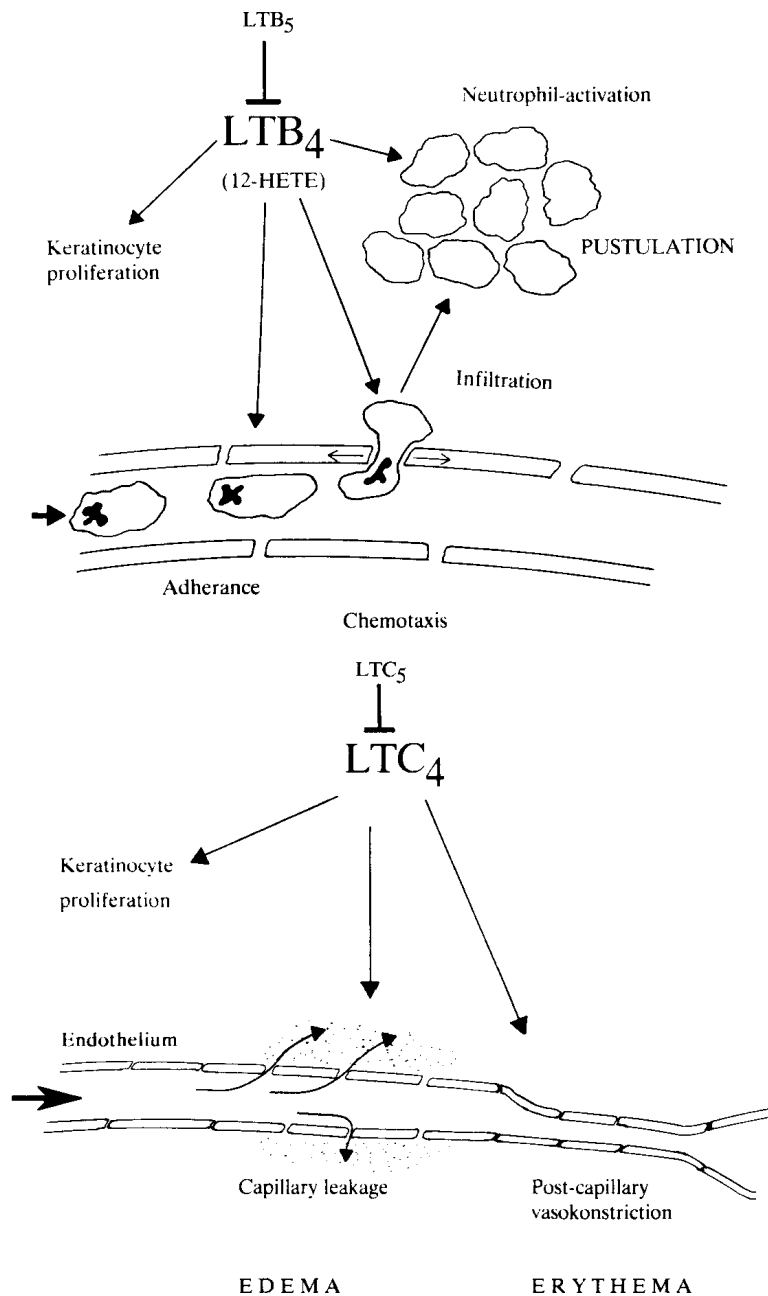


Abbildung 4: Lipidmediatoren in der Pathogenese der Psoriasis - Angriff der EPA

Bei der Psoriasis vulgaris lassen sich pathologische Veränderungen nachweisen, die auf die Wirkung von Lipidmediatoren zurückgeführt werden können. Dazu gehören Erythem- und perivaskuläre Ödembildung sowie Pustulation und übersteigerte Keratinozytenproliferation. Die postulierten Zusammenhänge sind hier vereinfacht schematisiert: Das vasoaktive LTC₄ bereitet die granulozytäre Gewebeeinfiltration vor (Zunahme des postkapillären Widerstandes und damit des kapillären Filtrationsdruckes, gleichzeitig Zunahme der vaskulären Permeabilität). Erythem und Ödembildung sind die Folge. Ebenso wie für das LTB₄ wurde für das LTC₄ eine proliferationssteigernde Aktivität an Keratinozyten nachgewiesen. LTB₄ gilt als Mediator der Granulozytenaktivierung. Es vermittelt sowohl Adhärenz und Diapedese als auch chemotaktische Gewebeeinfiltration und Abszeßbildung. Die wesentlichen Aspekte einer psoriatischen Hautläsion sind also durch diese Mediatoren auszulösen. Angedeutet sind die postulierten antiinflammatorischen Effekte der EPA-abgeleiteten Mediatoren.

2.6. Antiinflammatorische Behandlungsversuche bei der Psoriasis

Bereits früh wurde zur Behandlung der Psoriasis versucht, die entzündliche Aktivität zu hemmen. Nach Entdeckung der nichtsteroidalen antiinflammatorisch wirksamen Substanzen setzte man diese auch zur Behandlung der Psoriasis ein. Diese Therapie blieb aber erfolglos, das Krankheitsbild verschlechterte sich eher noch (Greaves 1987). Mit dem heutigen Wissen um den Wirkungsmechanismus dieser Medikamente, eine Hemmung der Cyclooxygenase (Vane 1971), erscheint dies auch verständlich. In den psoriatischen Läsionen scheinen vorwiegend Produkte der Lipoxygenase aktiv zu sein. Eine Hemmung der Cyclooxygenase in umgebendem Gewebe wird ein vermehrtes Angebot an AA für die Granulozyten bewirken. Die NSAID werden also das inflammatorische Geschehen in dieser Umgebung eher fördern als hemmen. Erfolgreich war dagegen eine Therapie mit Corticosteroiden (Hammarström 1977), die über eine Induktion des Lipocortins in der Zellmembran die Aktivität der Phospholipase A₂ hemmen und auf diese Weise das Substratangebot sowohl für die Cyclooxygenase als auch für die Lipoxygenase erniedrigen (Hong 1976, Blackwell 1980, Davidson 1987). Da diese Therapieform aber mit wesentlichen lokalen und systemischen Nebenwirkungen behaftet ist (Kehrl 1983, Gallant 1986, Garden 1986, Hirschmann 1986), war man auf der Suche nach selektiveren Heilmethoden.

Auch bei der Psoriasis wurde deshalb die bereits oben erwähnte Therapie mit oralen Fischölpräparaten, die hohe Mengen EPA enthalten, getestet. Obwohl hierzu eine große Zahl vielversprechender Untersuchungen existiert (Ziboh 1987, Maurice 1987, Bittiner 1988, Bjørneboe 1988, Kettler 1988, Gupta 1989, Kojima 1989, Kragballe 1989, Schena 1989, Lassus 1990, Kojima 1991, Linker 1991, Soyland 1993) können die Ergebnisse nicht vollständig zufrieden stellen. Die Wirkung der Therapie setzt oft erst nach sechs bis acht Wochen ein. Die mit der Behandlung verbundene Einnahme einer großen Zahl unangenehm schmeckender Kapseln mit der häufigen Nebenwirkung einer Steatorrhoe führt zu einer insgesamt niedrigen Compliance der Patienten. Die Verbesserung des klinischen Bildes ist gering. Die orale Fischöl-Therapie konnte bisher nur an chronisch-stationärer Psoriasis getestet werden; eine Behandlung der akut-exanthematischen Form ist bei den langen Latenzzeiten keine Perspektive dieser Darreichungsform. Auch wenn die klinischen Erfolge noch zu wünschen übrig lassen, konnten auf der biochemischen Seite der Untersuchungen interessante Veränderungen des Mediatorprofils in der Haut und von Granulozyten festgestellt werden. War vor der Therapie bei in vitro mit dem Calcium-

ionophor A 23187 stimulierten PMN noch keine Produktion von LTB₅ meßbar, so entstammte nach der Therapie bis zu einem Drittel des gebildeten LTB der 5er-Reihe (Maurice 1987, Kragballe 1989, Kojima 1991). Der Plasma-Gehalt an EPA stieg an ohne gleichzeitige wesentliche Änderung des AA-Spiegels (Bjørneboe 1988, Kojima 1991). Ebenso erhöhte sich der Gehalt an EPA in den Membranen der epidermalen Zellen (Ziboh 1986).

Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß der Therapieansatz mit EPA-haltigen Präparaten bei Psoriasis durchaus aussichtsreich ist. Die Fettsäure, deren antiinflammatorisches Potential in vitro nachgewiesen wurde, erreicht in vivo die Kompartimente, in denen eine Wirkung erwünscht ist (Plasma, Granulozyten und Keratinozyten). Der eingeschränkte Erfolg bei der Verbesserung des klinischen Bildes ist möglicherweise auf die niedrige Menge an Fettsäure, die nach oraler Gabe unverändert das Blut erreicht, zurückzuführen. Ein großer Teil des Präparates dürfte bereits in der Darmmucosa verstoffwechselt und in Membranlipide eingebaut werden.

2.7. Fragestellung

Vor dem oben beschriebenen Hintergrund erscheint das Konzept der pharmakologischen Ernährung mit ω -3-Lipiden in der Behandlung entzündlicher Erkrankungen erfolgversprechend zu sein. Der Weg einer oralen Administration des Präparates ist jedoch durch viele Mängel limitiert, die im wesentlichen auf einen hohen Verlust der EPA im Rahmen der intestinalen Resorptions- und Digestionsprozesse zurückzuführen sind. Im Rahmen dieser Dissertation sollten daher die Auswirkungen einer intravenösen Gabe eines Fischölpräparates (Omegavenös®, Fresenius) bei Patienten mit akut-exanthematischer Psoriasis geprüft werden. In einer Kontrollgruppe wurde ein herkömmliches Präparat zur parenteralen Versorgung mit Lipiden (Lipovenös®, Fresenius) verwendet. Im einzelnen sollten dabei folgende Fragen beantwortet werden:

- 1) Wie verändert sich das Profil der Lipidmediator-Synthese von in vitro-stimulierten Granulozyten der Patienten im Verlauf der Therapie?
- 2) Produzieren die Granulozyten Metabolite der Eicosapentaensäure?
- 3) Wie verhalten sich granulozytäre Funktionsparameter und klinisches Bild 30 Tage nach Absetzen der Infusion?
- 4) Wie ändern sich die Standard-Laborparameter, insbesondere die Lipide im Plasma?
- 5) Wie ändern sich während der Behandlung die makroskopisch beobachtbaren Parameter einer Aktivität der Erkrankung (Schuppung, Rötung, Infiltration)?
- 6) Wie ist die subjektive Beurteilung der Therapie durch die Patienten (Juckreiz, Wohlbefinden)?

3. METHODIK UND MATERIAL

3.1. Studiendesign

Das Projekt wurde als doppelblinde, randomisierte, Placebo-kontrollierte Studie angelegt. Die Patienten erhielten über zehn Tage entweder eine Infusion von Omegavenös, einer Lipid-Emulsion auf Fischöl-Basis (Versuchsgruppe), oder von Lipovenös, einer Lipid-Emulsion auf Sojaöl-Basis (Kontrollgruppe). Die Dosis betrug jeweils zweimal je 50 ml pro Tag in einem Abstand von zwölf Stunden.

Es nahmen 21 Patienten mit akut exanthematischer Psoriasis teil. Das Durchschnittsalter betrug 39,7 Jahre (mit einer Spanne von 21 bis 65 Jahren), 18 Patienten waren männlich und 3 weiblich. Alle Patienten hatten einen von der Psoriasis befallenen Anteil an der Körperoberfläche von mindestens 10 % (mit einer Spanne von 10 % bis 90 %), festgelegt nach der Neunerregel.

Ausschlußgründe waren eine systemische Therapie der Psoriasis (z.B. mit Methotrexat, Retinoiden, Psoralen oder Corticosteroiden) oder eine lokale Corticosteroidtherapie innerhalb der letzten fünf Tage vor Studienbeginn. Zusätzlich wurden alle Patienten mit Zweiterkrankungen oder fortlaufender Medikation ausgeschlossen. Während der Studie wurden die Patienten zusätzlich nur mit einer lokalen Applikation von 0,03%iger Cignolin-Vaseline behandelt.

Der Krankheitsverlauf wurde jeden Morgen von zwei unabhängigen Dermatologen anhand eines klinischen Score-Systems beurteilt. Dabei wurden Erythem, Infiltration und Schuppung an verschiedenen Körperbereichen bewertet: Kopf, Brustkorb, Rücken, Bauch, Anogenitalregion, Ober- und Unterarme, Hände, Ober- und Unterschenkel sowie Füße wurden beurteilt. Dabei konnte jeweils ein Score von 0-4 erreicht werden, so daß sich nach Addition der Werte für die elf Areale ein maximaler Score von 44 für jeden der drei Parameter ergab (44 = stärkste Symptomatik).

Die Patienten beurteilten ihr klinisches Befinden ebenfalls täglich anhand eines Scores von 1-10 für jeden der fünf Punkte Juckreiz, Brennen, Schmerzen, Aussehen und Einschränkung des täglichen Lebens. Dies ergab nach Addition einen Gesamtscore, der eine Spanne von 5 bis 50 einnehmen konnte (50 = geringster Leidensdruck).

An den Tagen 1 (dem Tag, an dem die Therapie begonnen wurde), 3, 5 und 10 sowie 40 (30 Tage nach Beendigung der Therapie) wurden Blutproben entnommen. Am ersten

Tag wurden zwei Proben entnommen: vor Beginn und eine Stunde nach Ende der morgendlichen Infusion. An den übrigen Tagen erfolgte jeweils nur eine einzelne Blutabnahme eine Stunde nach Ende der Infusion. An sämtlichen Tagen wurde eine Analytik der Lipidmediatoren durchgeführt. Zusätzlich wurde an den Tagen 1, 5 und 10 eine Reihe von Routine-Laborparametern bestimmt (siehe unten).

Die Patienten wurden vor Beginn der Therapie ausführlich aufgeklärt und ihr Einverständnis wurde eingeholt. Das Studienprotokoll wurde von der Ethik-Kommission der Justus-Liebig-Universität in Gießen genehmigt und entspricht den Vereinbarungen der Deklaration von Helsinki.

3.2. Standard-Laborwerte

An den Tagen 1, 5 und 10 wurden folgende Standard-Laborparameter bestimmt: Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit, C-reaktives Protein, Cholesterin, Triglyzeride, Harnstickstoff, Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), Glutamat-Oxalazetat-Transferrase (GOT), Gamma-Glutamyl-Transpeptidase (γ GT), alpha-Tokopherol, Amylase, Lipase und Gerinnungsparameter: partielle Thromboplastinzeit (PTT), Thrombinzeit und Thrombelastogramm. Die Bestimmung dieser Werte erfolgte mit den üblichen Routine-Labortechniken.

3.3. Isolierung der Granulozyten

Die Blutentnahme erfolgte aus Venen der Ellenbeuge in mit Liquemin (20 IE/ml Blut) vorheparinisierten Polyethylen-Einmalspritzen. Die Zellisolierung wurde modifiziert nach einem Verfahren von Hjorth mit Hilfe einer Dichtegradientenzentrifugation durchgeführt (Hjorth 1981). Hierzu wurden jeweils 4 ml 55 % Percoll in 12 ml-Polystyrolröhrchen pipettiert und mit 4 ml 69 % Percoll unterschichtet. Anschließend wurden 4 ml frisch entnommenes, heparinisiertes Patientenblut auf das 55 % Percoll vorsichtig aufgeschichtet. Die Zentrifugation erfolgte unmittelbar im Anschluß bei Raumtemperatur mit 350 g für 23 min. Der sich ausbildende Dichtegradient erbrachte eine gute Separation der gewünschten Zellpopulation, deren Bande abgesaugt und für die anschließenden Waschschritte in einem modifizierten Hanks/Hepes-Puffer suspendiert wurde. Hierzu folgten zwei weitere Zentrifugationsschritte (5 bzw. 7 min, 500 g, Raumtemperatur) die nach jeweiliger Resuspension der Zellen in frischem Puffer zur weitgehenden Reinigung des

Zellpellets von Percollresten führte. Bei allen Waschschrinen wurde Puffer mit niedriger Ca^{2+} -Konzentration (0,5 mM) verwendet, um das spontane Aggregationsverhalten der Granulozyten zu unterdrücken. Bei stärkeren Erythrozytenkontaminationen wurde vor Versuchsbeginn eine hypotone Hämolyse durchgeführt. Nach der Leukozytenzählung wurden die Zellen in einem Nährmedium (RPMI 1640) mit 10 % fetalem Kälberserum für 90 bis 120 min in Zwischenkultur genommen. Begasung erfolgte bei 37°C mit 95 % Raumluft und 5 % CO_2 in einem Inkubator. Das Differentialblutbild der so vorbereiteten Zellpräparationen ergab in 6 Kontrollversuchen folgende Leukozytenverteilung (Mittelwert \pm Standardabweichung aus 8 unabhängigen Isolationen):

Neutrophile Granulozyten	96,9 %	(3,2)
Eosinophile Granulozyten	0,2 %	(0,3)
Monozyten	1,5 %	(1,7)
Lymphozyten	0,7 %	(0,4)

Die Granulozyten-Gesamtausbeute lag bei etwa 180×10^6 Zellen aus 50 ml Spenderblut was einem Anteil von ca. 54 % des theoretischen Maximalwertes entspricht, wenn eine durchschnittliche Leukozytenzahl von 8000 / μl und ein abzuziehender Lymphozytenanteil von 20 % im Vollblut veranschlagt wird.

Standardprotokoll der Granulozytenversuche:

Vor Versuchsbeginn wurden die Granulozyten zunächst von dem FCS-haltigen RPMI-Medium der 90 bis 120 minütigen Zwischenkultur gereinigt. Hierzu folgten zwei weitere Zentrifugationsschritte (5 min, 500 g, Raumtemperatur), die nach jeweiliger Resuspension der Zellen in frischem Hanks-Hepes Puffer zur weitgehenden Reinigung des Zellpellets führten. Bei diesen Waschschrinen wurde ein modifizierter Puffer mit niedriger Ca^{2+} -Konzentration (0,5 mM) verwendet, um das spontane Aggregationsverhalten der Granulozyten zu unterdrücken. Nach dem letzten Schritt wurden die Zellen in normalem Hanks-Hepes Puffer aufgenommen und die Zelldichte auf 2×10^7 PMN/ml eingestellt. In 500 μl Portionen zu jeweils 10^7 Zellen wurden sie dann auf Eppendorfgefäße verteilt und vor Stimulusapplikation 15 Minuten im Schüttelwasserbad vorinkubiert. Anschließend wurde durch Zugabe von A 23187 in einer Endkonzentration von 1 μM die Zellreaktion gestartet, wobei durch Pufferzumischung ein Endvolumen von 1 ml eingestellt wurde und die Endkonzentration von verwendeten Lösungsmitteln niemals 0,05 % Volumen-

teil des Inkubationsansatzes überschritt. Die Inkubation der Zellen erfolgte im Schüttelwasserbad bei 37 °C und wurde nach Ablauf der Stimulationsperiode von 10 Minuten durch Kühlung, Zentrifugation und Abpipettieren des Zellüberstandes abgestoppt. Um eine Doppelbestimmung zu erhalten, wurden in jedem Versuch jeweils zwei Proben angesetzt.

3.4. Analytik der Eicosanoide

Zur Reinigung, Auftrennung, Identifizierung und Quantifizierung der untersuchten Arachidonsäuremetabolite diente eine Sequenz von Vorsäulenextraktion und drei verschiedenen HPLC-Verfahren, ergänzt durch radioimmunologische Assays und UV-Spektrenanalyse. Dieser analytische Aufwand erwies sich als notwendig, da der ausschließliche Vergleich mit Standardretentionszeiten auf einer bestimmten Chromatographiesäule keine befriedigende Zuverlässigkeit für die Charakterisierung dieser Verbindungen ergibt. Zur besseren Darstellung und Separation von eventuell koelutierenden Verunreinigungen wurde daher eine Erweiterung der HPLC-Methodik erforderlich, die neben Variationen der mobilen Phase, des Säulenpackmaterials und des Elutionsprogrammes auch die chemische Derivatisierung der extrahierten Verbindungen nötig machte. Im folgenden werden die einzelnen Schritte dieses Verfahrens beschrieben.

Behandlung der Zellüberstände:

Die nach dem oben beschriebenen Versuchsprotokoll gewonnenen Zellüberstände von 1 ml Volumen wurden unmittelbar nach der Abnahme auf Eis gestellt und ohne Unterbrechung der Kühlkette innerhalb von einer Stunde in Form der Vorsäulenextraktion weiterverarbeitet.

Vorsäulenextraktion:

Die erste Maßnahme im Rahmen der Aufarbeitung der Zellüberstände bestand in einer mehrstufigen Sequenz von Extraktionsschritten zur Anreicherung und Reinigung der zu chromatographierenden Eicosanoide. Eingesetzt wurden hierbei 1 cm³ Vorsäulen (Bond Elut), die bei einer Partikelgröße von 40 µm aus einer Silica-Gel Matrix bestanden, welche kovalent mit gesättigten C₁₈-Alkylresten verbunden war. Im einzelnen lief die Vorsäulenextraktion folgendermaßen ab: Zur Beschleunigung des Verfahrens wurden die Säulen in eine Extraktionsapparatur eingesetzt, die mittels Wasserstrahlpumpe eine ra-

schere Elution der eingesetzten Flüssigkeiten gestattet. Zunächst erfolgte eine Konditionierung der Vorsäulen durch jeweils zwei eisgekühlte Säulenfüllungen mit Methanol und Aqua dest., der sich die Aufgabe der gekühlten Zellübertände anschloß. Diese wurden über einen Zeitraum von ca. 3 min mit leichtem Unterdruck durchgesaugt. Zur weiteren Separation von polaren Bestandteilen wurden diese weitestgehend durch zwei anschließende Waschungen mit tridestilliertem Wasser (jeweils 1 ml) von der Säule gespült. Der Verdrängung der wäßrigen Phase von der Säulenmatrix diente das zweimalige rasche Durchsaugen von jeweils 0,5 ml Chloroform vor der nachfolgenden Methanolelu-tion der angereicherten Verbindungen. Diese wurde nach jeweils einminütiger Einwirkungszeit (ohne Unterdruck) mit zweimal 0,3 ml Methanol in 1,5 ml Eppendorfgefäße hinein durchgeführt. Die Proben wurden dann bis zum vollständigen Eindampfen des Lösungsmittels einem kontinuierlichen Stickstoffstrom ausgesetzt. Die an den Gefäßwänden haftenden getrockneten Probenbestandteile wurden schließlich in einem definierten Methanolvolumen (50 µl) aufgenommen und bis zur Derivatisierung und Chromatographie innerhalb von 2 Wochen bei -20 °C aufbewahrt. Aus diesem Verfahren resultierte eine weitgehende Anreicherung der Eicosanoide mit den in Tabelle 1 aufgelisteten Recoverydaten.

Tabelle 1: Recoverydaten der Eicosanoide
(Mittelwert ± Standardabweichung aus 8 unabhängigen Recoveryexperimenten)

Derivate der AA		Derivate der EPA	
Substanz	Recovery ± SEM	Substanz	Recovery ± SEM
ω-COOH-LTB ₄	78,6 % (2,5)	ω-COOH-LTB ₅	73,5 % (1,9)
ω-OH-LTB ₄	82,3 % (2,0)	ω-OH-LTB ₅	79,4 % (2,3)
LTB ₄	75,3 % (1,5)	LTB ₅	76,8 % (1,8)
6-trans-LTB ₄	80,4 % (1,4)	6-trans-LTB ₅	76,4 % (1,9)
6-trans-epi-LTB ₄	73,0 % (1,9)	6-trans-epi-LTB ₅	70,6 % (2,3)
5,6-DiHETE	67,2 % (4,1)	5,6-DiHEPE	64,9 % (3,4)
5,6-epi-DiHETE	64,4 % (3,1)	5,6-epi-DiHEPE	67,4 % (3,6)
LTC ₄	45,7 % (2,8)	LTC ₅	39,8 % (3,5)
LTD ₄	58,9 % (2,5)	LTD ₅	56,9 % (2,7)
LTE ₄	54,8 % (1,9)	LTE ₅	59,4 % (2,0)
5-HETE	60,8 % (2,4)	5-HEPE	64,6 % (3,4)
12-HETE	63,2 % (3,0)	12-HEPE	66,8 % (2,4)
15-HETE	65,8 % (1,7)	15-HEPE	69,7 % (2,3)

Derivatisierung:

Das Affinitätsverhalten gegenüber der stationären Phase und damit die Retentionszeiten der chromatographierten Leukotriene und HETEs auf der jeweiligen HPLC-Säule werden von der Polarität der Verbindungen bestimmt. Diese Polarität ist eine Funktion der innermolekularen Ladungsverteilung und steigt insbesondere mit der Anzahl dissoziierbarer Carboxylgruppen. Eine Methanolveresterung solcher Molekülstrukturen führt deshalb entsprechend der Anzahl der Akzeptorstrukturen zu einer erheblichen Modifikation des chromatographischen Verhaltens der Leukotriene und HETEs. Diese Reduktion der molekularen Polarität führt zu einer definierten Verlängerung der Retentionszeiten auf der Reversed-Phase-HPLC-Säule durch eine Affinitätszunahme gegenüber der apolaren stationären Phase. Der Retentionszeitenvergleich mit authentischen Standards vor und nach Derivatisierung der einzelnen Substanzen ist somit ein zusätzliches Identifikationskriterium. Darüberhinaus ist erst durch diese Manipulation eine sichere chromatographische Auflösung koeluierender polarer Metabolite möglich, die sonst in einer polaren Chromatogrammfront untergehen (siehe Abbildung 5). Weiterhin verschiebt die Derivatisierung der Leukotriene und HETEs durch Methanolveresterung die Polarität bestimmter dieser Verbindungen in einen Bereich, der eine Elution auch von der sonst ungeeigneten stationären Phase einer Silica-Säule (Straight-Phase-HPLC) erlaubt, und ermöglicht damit ein weiteres unabhängiges Trennverfahren.

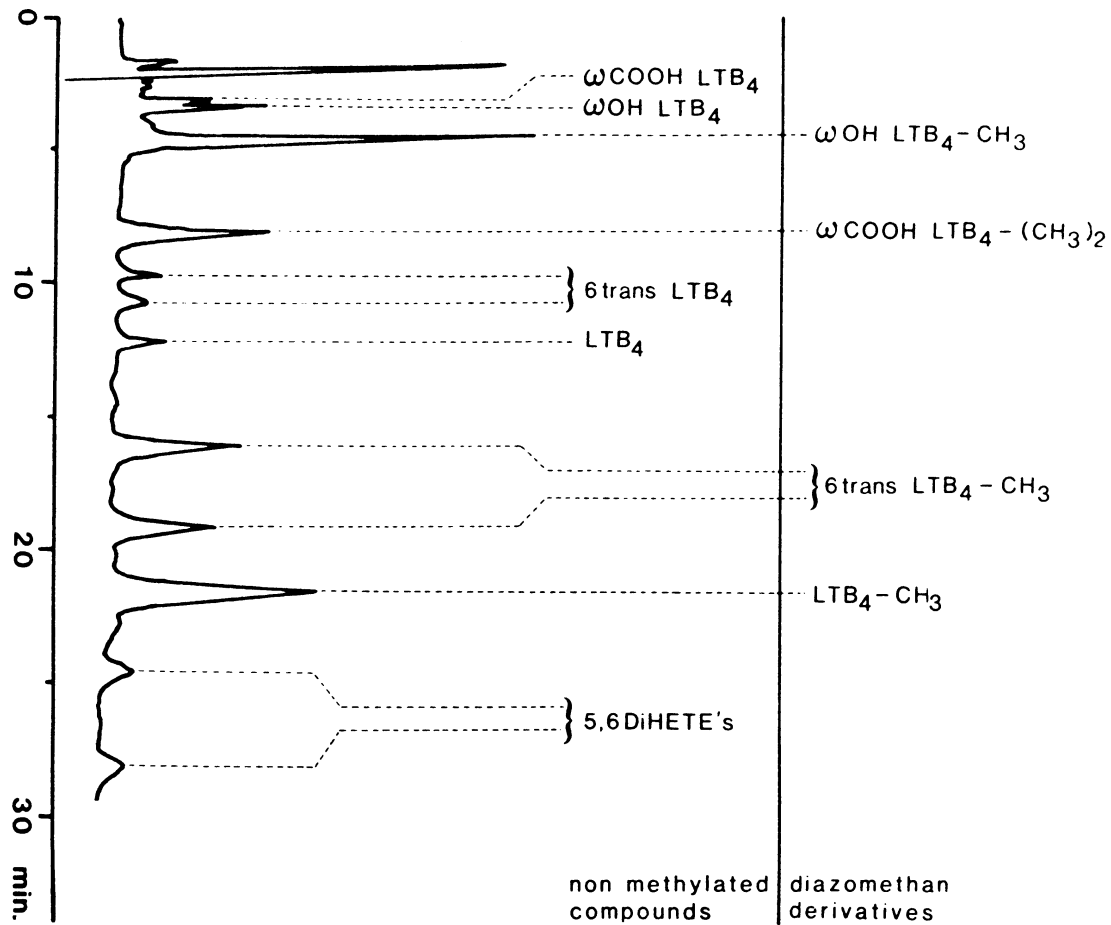


Abbildung 5: RP-HPLC-Chromatogramm von methylierten und unmethylierten Lipoxigenaseprodukten

Ein Gemisch verschiedener Lipoxigenase-Produkte (authentische Standards) wurde mit etherischem Diazomethan methyliert und anschließend zu Demonstrationszwecken einer partiellen Hydrolyse unterworfen. Das entstandene Gemisch von jeweils paarweise vorhandenen methylierten und unmethylierten Verbindungen wurde mittels RP-HPLC getrennt (ODS Hypersil-Säule; mobile Phase Methanol/H₂O/Essigsäure 72/28/0,16; pH 4,9). Es ist ersichtlich, daß die lipophileren (methylierten) Verbindungen, abhängig von der Anzahl der derivatisierbaren Carboxylgruppen, aufgrund einer Affinitätszunahme zur stationären Phase zu längeren Retentionszeiten verschoben werden. Der Retentionszeitenvergleich von Standard und Probe vor und nach Methylierung ist somit ein zusätzlicher Identifikationsschritt im Rahmen der RP-HPLC-Analytik. Darüber hinaus ist erst durch diese Maßnahme eine befriedigende Separation der beiden unterderivatisiert in der polaren Chromatogrammfront koeluiierenden Oxidationsprodukte des LTB₄ (OH-LTB₄ und COOH-LTB₄) möglich.

Zur Konversion der zu chromatographierenden Substanzen in die korrespondierenden Methylester stehen prinzipiell mehrere etablierte Methoden zur Verfügung. Die hohe Empfindlichkeit der Molekülstrukturen erlaubte jedoch im Falle der meisten Eicosanoide nicht die dabei übliche Erwärmung des Reaktionsgemisches. Aus diesem Grunde mußte mit dem besonders reaktiven Methylierungsreagenz Diazomethan gearbeitet werden, welches eine rasche und quantitative Veresterung auch in niedrigen Temperaturbereichen gestattete. Diese Chemikalie mußte jeweils kurz vor Reaktionsansatz aus dem Vorläufermolekül Nitroso-methyl-urea hergestellt werden. Die Darstellung des ebenfalls instabilen und wenig lagerungsfähigen Ausgangsstoffes gelang nach folgenden Ansatz:

1,5 mol Methylaminhydrochlorid und 5 mol Harnstoff werden in 400 ml Wasser gelöst und unter Rückfluß 3 h erhitzt. Nach dem Zulösen von 1,6 mol Natriumnitrit läßt man die auf -10 °C abgekühlte Lösung in eine mit Eis-Kochsalz abgekühlte Mischung von 600 g Eis und 110 g konzentrierter Schwefelsäure unter Rühren langsam einfließen. Die sich abscheidende Nitrosoverbindung wird abgesaugt und mit Eiswasser gewaschen; Ausbeute 80 %; Reinigung durch Umkristallisierung aus Methanol.

Präparation und Konditionierung der HPLC-Säulen:

Alle verwendeten HPLC-Säulen wurden mit einer Säulenpackvorrichtung der Firma Knauer selbst gepackt. Die benutzten Leersäulen (Shandon, Runcorn, U.K.) waren 25 cm lang bei einem Innendurchmesser von 0,46 cm und wurden vor der Füllung mit Methanol und Aceton gereinigt. Das Packungsmaterial wurde von der Firma Machery und Nagel (Duren, FRG) geliefert und bestand entweder aus Octadecylsilyl-Hypersil-5µm-Partikeln (Reversed-Phase-HPLC) oder aus Silica-Gel-5µm-Partikeln (Straight-Phase-HPLC). Jeweils 3,8 g der Trockensubstanzen wurden in 35 ml Isopropanol durch Schütteln in einem geschlossenen Glasfläschchen suspendiert und direkt vor dem Einfüllen in den Vorratsbehälter des Säulenpackgerätes für 5 min in einem Ultraschallbad (Shandon, Runcorn, U.K.) behandelt. Nach Fixation der Leersäule wurde die Suspension aus dem Behälter unter 440 bar-Druckstößen machinell mit einem Methanolstrom in den einseitig verschlossenen Säulenhohlraum geflutet. Die fertige Hauptsäule wurde verschlossen und durch Anschrauben einer handgepackten 3,3 cm langen Vorsäule ergänzt. Das Packungsmaterial dieser Vorsäule bestand aus 40 µm Silica-Gelpartikeln (Vydac SC-201RP) und diente dem Schutz der Trennsäule vor gröberen polaren Verunreinigungen. Zur Reduktion des unspezifischen Bindungsverhaltens von Cysteinylleukotrienen in Gegenwart von Schwermetallspuren wurde die Säulenkombination vor Inbetriebnahme mit einer

0,5g / 100ml Na₂EDTA-haltigen Methanol/Wasser (1:9) Lösung konditioniert (Metz 1982).

Herstellung der mobilen Phase:

Die verschiedenen Lösungsmittelkomponenten für Straight-Phase- und Reversed-Phase-HPLC wurden in „HPLC-Qualität“ von der Firma Fluka KG (Heidelberg, FRG) bezogen. Die fertig zusammengestellten Gemische wurden alle mit ca. 700 mbar Unterdruck mittels einer Wasserstrahlpumpe im Ganzglas HPLC-Filtersystem der Firma Schott durch eine Teflon- (Millipore) bzw. eine Tuffrynmembran (Gelman Sciences) von 0,45 µm Porenweite und eine Borosilikat Glasfritte von 250-500 µm maximaler Porenweite gesogen und dadurch sowohl gefiltert als auch entgast. Für die Verwendung in dem Reversed-Phase-HPLC-System mit Gradientenelution mußte eine zusätzliche Ultraschall-Entgastung der entsprechenden Lösungsmittel angeschlossen werden.

Reversed-Phase-HPLC (isokratisch):

Die für diese Methode installierte Anlage war technisch zusammengesetzt aus einer Gynkotheke M 600 Pumpe, kombiniert mit einem Spektroflow 773 UV-Detektor, einem Rheodyne-Probenaufgabeventil (Modell 7125 Syringe loading Sample Injektor) und einem Shimadzu-Integrator.

Das erstmals von Mathews et al. beschriebene Trennverfahren (Mathews 1981) wurde in leicht modifizierter Form angewendet. Die Chromatographiesäule (25 x 0,46 cm) wurde mit ODS-Hypersil (5 µm-Partikel) bei einem Druck von ca. 450 bar naß gepackt und kombiniert mit einer handgepackten Vydac 201-RP Vorsäule (3,3 x 0,46 cm) equilibriert mit 0,5 % EDTA in H₂O/Methanol (9:1). Eluiert wurde isokratisch bei einem konstanten Durchfluß von 1,3 ml/min. mit einem Druck von ca. 160 bar. Die mobile Phase bestand aus Methanol/H₂O/Essigsäure (72/28/0,16), wobei der pH-Wert mit 10 % NH₄OH auf 4,9 eingestellt war. Diese Methode eignete sich hervorragend zur Darstellung der Cysteinylleukotriene LTC₄, LTD₄ und LTE₄, der verschiedenen HETEs sowie zur Trennung des 6-trans-diastereomeren Paares des LTB₄ und der 5,6-DiHETEs. Nicht aufgelöst werden konnte dagegen der breite Lösungsmittelpeak der Chromatogrammfront, in der die polaren omega-Oxidationsderivate des LTB₄ koeluierten. Ein weiterer Nachteil war die schlechte Trennung des LTB₄ von dem Stereoisomeren 5s,12s-DiHETE. Die Detektion der einzelnen Verbindungen erfolgte UV-spektrometrisch bei

270 nm innerhalb der ersten 20 min Laufzeit und wurde zur Erfassung der im niedrigen Wellenlängenbereich absorbierenden HETEs anschließend auf 237 nm umgestellt.

Post-HPLC-Radioimmunoassay (RIA):

Ergänzend wurde in einigen Versuchen ein Post-HPLC-RIA mit den aufgefangenen Eluatfraktionen durchgeführt, unter Einsatz spezifischer Antikörper gegen LTB₄ sowie gegen LTC₄ mit definierten Kreuzreaktivitäten gegenüber den anderen Cysteinylleukotrienen. Die Korrelationskoeffizienten bei Vergleich der HPLC-Daten und der radioimmunologischen Quantifizierung dieser Leukotriene lagen bei 0,92 (LTC₄) und 0,97 (LTB₄).

Der LTB₄-RIA wurde nach dem Verfahren von Salmon durchgeführt (Salmon 1982). Die aufgefangenen HPLC-Eluat-Fraktionen wurden in einer Vakuumkühlzentrifuge getrocknet und anschließend in 1 ml RIA-Puffer (50 mM Tris, pH 8,6, plus 0,1 % Gelatine) rekonstituiert. Rabbit-anti-LTB₄ Serum (zur Verfügung gestellt von Dr J. Salmon, Wellcome Research Company, Beckenham, U.K.) wurde in einer 1:750 Verdünnung zugesetzt, ebenso wie 15.000 dpm tritiiertes LTB₄ (New England Nuclear, Dreieich, FRG) als Tracersubstanz, und durch Einsatz von definierten Standardmengen ließ sich eine Radioligandenbindungskurve ermitteln, die einen Meßbereich von 16 bis 1000 pg LTB₄ aufwies mit 50 %iger Bindung bei 120 pg. Nennenswerte Kreuzaffinitäten des Antikörpers gegenüber anderen Arachidonsäuremetaboliten lagen nicht vor.

UV-Spektrumanalyse:

Durch den Einsatz eines Photodiodenarray-Detektors (Waters Modell 990) wurde die Aufnahme der UV-Spektren aller eluierenden Peaks nach vorgeschalteter HPLC-Trennung ermöglicht. Dieses der üblichen HPLC-Analytik nachgeschaltete Verfahren trug wesentlich zur Identifizierung und Charakterisierung der verschiedenen Komponenten des Eluats bei (siehe Tabelle 2 und Abbildung 6) und erlaubte die sensitive Erfassung von unspezifischen Verunreinigungen innerhalb der Leukotrienfraktionen.

In Tabelle 2 sind die Haupt- und Nebenmaxima der untersuchten Mediatoren in nm einschließlich der korrespondierenden Absorptionskoeffizienten aufgelistet.

Tabelle 2: UV-Maxima von Lipidmediatoren
mit Absorptionskoeffizienten α

Substanz	UV-Maxima in nm (α)		
	Nebenmaximum	Hauptmaximum	Nebenmaximum
LTB ₄	260 (38000)	270 (51000)	281 (39000)
6-trans-LTB ₄	258 (42000)	268 (56000)	280 (44000)
6-trans-epi-LTB ₄	258 (42000)	268 (56000)	280 (44000)
LTC ₄	270	280 (40000)	292
LTD ₄	270	280 (40000)	292
LTE ₄	270	280 (40000)	290
5-HETE		235 (30500)	
12-HETE		237 (30500)	
15-HETE		237 (30500)	

Die Spektren der Eicosapentaensäurederivate stimmten mit denen der Arachidonsäurederivate überein. Als molare Absorptionskoeffizienten für die photometrische Quantifizierung der EPA-Metabolite wurden die Zahlen der korrespondierenden AA-Derivate angenommen.

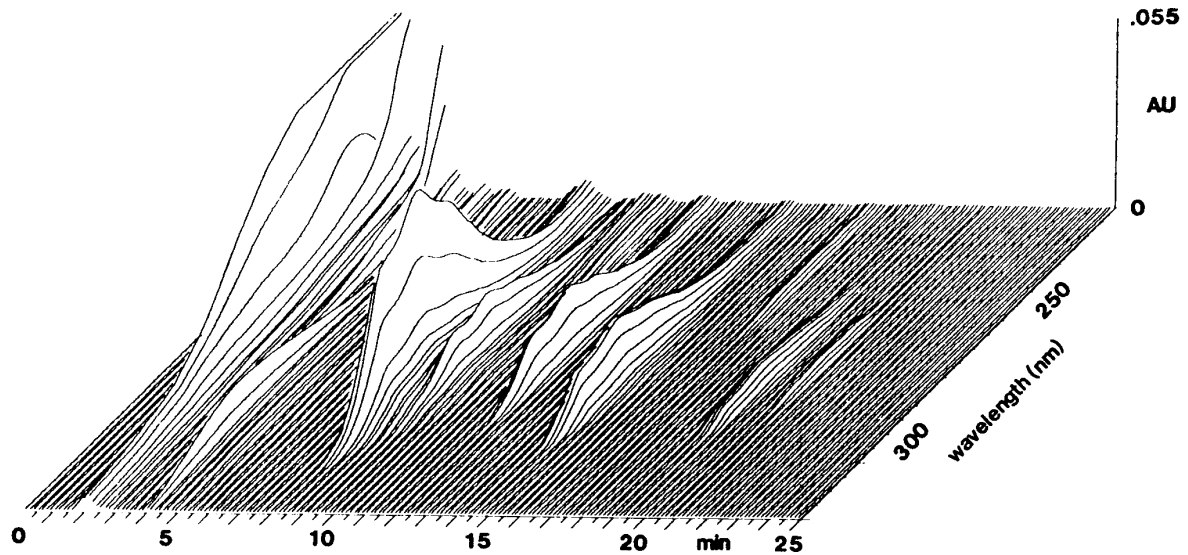


Abbildung 6: Dreidimensionale UV-Spektrenanalyse der Leukotriene mit dem Dioden-Array-Detektor

Die direkt im Anschluß an die Elution der chromatographischen Substanzen aufgenommenen UV-Spektren (Dioden-Array-Verfahren) identifizieren diese als Leukotriene. Dargestellt ist das dreidimensionale UV-Chromatogramm eines Leukotrien-haltigen Probenextraktes nach isokratischer RP-HPLC-Trennung underivatisierter AA-Metabolite.

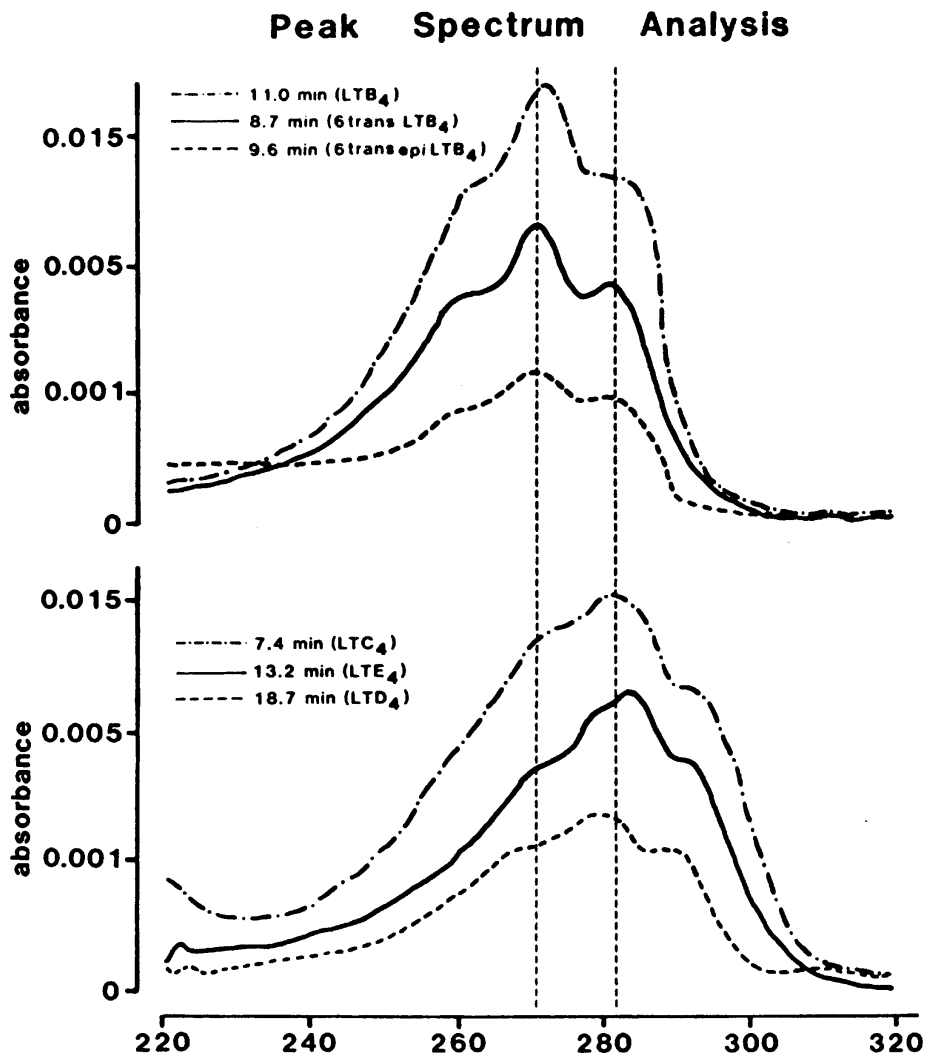


Abbildung 7: Zweidimensionale UV-Spektrenanalyse der Leukotriene

Dargestellt sind die UV-Spektren (Dioden-Array-Verfahren) der Leukotriene in einem zweidimensionalen Ausschnitt aus dem dreidimensionalen Chromatogramm der Abbildung 6. Das charakteristische Absorptionsprofil dieser Moleküle besteht aus einem Hauptmaximum mit zwei aufgesetzten Nebenmaxima, für welche die Strukturkomponente der drei konjugierten Doppelbindungen verantwortlich ist. Eine Differenzierung zwischen Leukotrienen ohne Thioetherbindung (LTB₄ und Isomere) und Leukotrienen mit Aminosäurekopplung an C-6 über Cystein (Cysteinylleukotriene LTC₄, LTD₄ und LTE₄) ist möglich. Als Ausdruck dieser enzymatischen Reaktion erfolgt bei den Cysteinylleukotrienen ein bathochromer Shift des gesamten Spektrums um 10 nm (LTC₄ bei ca. 8 min. und LTE₄ bei ca. 15 min.).

3.5. Statistik

Alle in der Untersuchung erhobenen Daten wurden, separat für die Behandlungsgruppen Omegavenös und Lipovenös, einer detaillierten deskriptiv-statistischen Analyse unterzogen. Dabei wurden in Abhängigkeit vom vorliegenden Meßskalenniveau absolute und relative Häufigkeiten (Nominalskalen), Mediane und Quartile (Ordinalskalen) sowie Mittelwerte und Standardabweichungen (Intervallskalen) berechnet.

Die Behandlungsgruppen wurden auf mögliche Unterschiede vor Therapiebeginn (z.B. anamnestischer Art) geprüft.

Der klinische Verlauf psoriatischer Hautläsionen sowie das Leukotrien-Profil in vitro stimulierter Granulozyten wurden über die Meßzeitpunkte hinweg einer interferenzstatistischen Prüfung von Unterschieden zwischen beiden Medikationsgruppen unterzogen. Dabei kamen zweifaktorielle Meßwiederholungs-Varianzanalysen bzw. bei Nichtvorliegen der Anwendungsvoraussetzungen geeignete nicht-parametrische Verfahren zum Einsatz. Das Signifikanzniveau betrug generell $p = 5\%$.

Die Veränderungen der begleitend erhobenen Routine-Laborparameter und die in den Patientenbögen dokumentierten unerwünschten Begleiterscheinungen wurden über die Meßzeitpunkte hinweg dargestellt und analysiert.

3.6 Liste verwendeter Substanzen

3.6.1. Wichtige experimentelle Agentien und Pharmaka

- Arachidonsäure (cis,cis,cis,cis-5,8,11,14-eicosatetraenoid-Säure; 20:4) von Calbiochem (La Jolla, USA)
- A 23187 (Calcium-Ionophor) von Calbiochem (La Jolla, USA)
- Eicosapentaensäure (cic,cis,cis,cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoid-Säure; 20:5) von Calbiochem (La Jolla, USA)
- fMLP (N-formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin; chemotaktischer Rezeptorligand) von Sigma (Deisenhofen)
- Lipovenös® (Lipidinfusion mit 10% Sojaöl; Zusammensetzung siehe Tabellen 3 und 4) von Fresenius (Oberursel)
- Liquemin® (Na-Heparin; Antikoagulans) 5000 IE/ml, von Hofmann La Roche (Grenzach-Wyhlen)
- Omegavenös® (Lipidinfusion mit 10% Fischöl; Zusammensetzung siehe Tabellen 3 und 4) von Fresenius (Oberursel)
- PAF (1-O-Hexadecyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphorylcholin; chemotaktischer Rezeptorligand) von Sigma (Deisenhofen)
- Percoll® - mit kolloidalem Polyvinylpyridin ummanteltes Kieselgel von Pharmacia (Schweden); Dichte: 1,130/ml, pH 8,8 ± 0,3; Osmolalität: 16 mOs /kg H₂O

Tabelle 3: Zusammensetzung der Lipidinfusionen

Die beiden Lipidemulsionen wurden mit identischen Verfahren und Additiven hergestellt.

Inhaltsstoff (g / l)	Omegavenös	Lipovenös
Sojaöl	- - -	100
Fischöl	100	- - -
Glycerin	25	25
Eilecithin	12	12

Tabelle 4: Fettsäurezusammensetzung von Fischöl und Sojaöl

Wiederholte gaschromatographische Analysen beider Emulsionen ergaben einen Gehalt von unter 0,3 % freier AA oder EPA bezogen auf die Gesamtmenge der veresterten Formen dieser Fettsäuren.

Fettsäure	Struktur	Gehalt in g/l	
		Fischöl	Sojaöl
	C12:0	0,2	
Myristinsäure	C14:0	5,5	0,1
Palmitinsäure	C16:0	14,2	11,0
Palmitolensäure	C16:1 ω 7	6,5	0,1
	C17:0		0,1
Stearinsäure	C18:0	3,2	4,4
Ölsäure	C18:1 ω 9	10,1	23,3
	C18:1 ω 7	3,1	1,55
Linolsäure	C18:2 ω 6	2,6	51,6
	C18:3 ω 6	0,2	
α -Linolensäure	C18:3 ω 3	0,7	6,6
	C18:4 ω 3	2,5	
	C20:0	0,2	0,3
	C20:1 ω 9	1,5	0,3
	C20:1 ω 7	1,8	
	C20:1 ω 5	0,2	
	C20:2 ω 6		0,5
	C20:3 ω 6		0,04
Arachidonsäure	C20:4 ω 6	1,6	0,1
Eicosapentaensäure	C20:5 ω 3	18,1	
	C22:0		0,4
	C22:1 ω 11	2,0	
	C22:1 ω 9	0,5	
	C22:1 ω 7	0,1	
Dokosapentaensäure	C22:5 ω 3	2,7	
Dokosahexaensäure	C22:6 ω 3	12,9	
	C22:6 ω 6		0,3

3.6.2 Inkubationsmedien

- FCS, Fetales Kälberserum (Gibco, Karlsruhe)
- Hepes: N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid;
Molekulargewicht 238,3; pKa 7,5 bei 25 °C, anwendbar 6,8-8,2 von Sigma
(Deisenhofen)
- Hanks/Hepes cum Ca/Mg - Puffer; Ansatz aus 10-fach-Konzentrat:
 - 100 ml Hanks BSS (10x) ohne Phenolrot von Gibco (Karlsruhe)
 - +900 ml aqua destillata
 - +6 g Hepes (\Rightarrow 25 mM)
 - +1N NaOH-Lsg. ad pH 7,4

Elektrolyt-Zusammensetzung des Inkubationsmediums:

Substanz(en)	Konzentration	Molarität der Ionen
CaCl ₂	0,14 g/l	1,26 mM Ca ²⁺
KCl + KH ₂ PO ₄	0,4 g/l + 0,06 g/l	5,77 mM K ⁺
NaCl + Na ₂ HPO ₄ x 7 H ₂ O	8,0 g/l + 0,09 g/l	137,2 mM Na ⁺
MgCl ₂ x 6H ₂ O + MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,1 g/l + 0,1 g/l	0,9 mM Mg ²⁺
Glucose	0,1 g/l	0,5 mM Glucose

- Hanks/Hepes cum Ca / sine Mg - Puffer; Ansatz aus 10-fach-Konzentrat:
 - 100 ml Hanks BSS (10x), ohne Ca, Mg und Phenolrot von Gibco (Karlsruhe)
 - +900 ml aqua destillata
 - +6 g Hepes (\Rightarrow 25 mM)
 - +73,51 mg CaCl x 2 H₂O
 - +1N NaOH-Lsg. ad pH 7,4
- Medium RPMI 1640 ohne L-Glutamin von Gibco (Karlsruhe)

3.6.3. HPLC-Materialien

- Ammoniakalische Lösung - zur pH-Einstellung; 25 %ige Lösung pro analysi von Merck (Darmstadt); daraus wurde mit hochreinem aqua tridestillata eine 10 %ige Ammoniaklösung hergestellt
- Aqua tridestillata - im Water I Laboratory Water System von Gelman Sciences (Ann Arbor, USA) entionisiert und gefiltert
- Chloroform - destilliert in Glas, UV-cutoff 203 nm, geeignet für HPLC; Fluka AG (Bern, Schweiz)
- Diethylether - destilliert in Glas pro analysi, Merck (Darmstadt)
- Ethanol - reinst, von J.T. Baker Chemicals (Deventer, Holland)
- Essigsäure - 100 %ig, pro analysi von Merck (Darmstadt)
- Methanol - destilliert in Glas; UV-cutoff 203 nm; geeignet für HPLC, von Burdick & Jackson Lab. Inc.; Vertrieb durch Fluka AG (Bern, Schweiz)
- EDTA - Titriplex (Calciumchelator), Ethylendiamintetraessigsäure- Dinatrium-Dihydrat; Molekulargewicht 372,24 g; pro analysi; von Merck (Darmstadt)
- Hexan - destilliert in Glas, pro analysi, geeignet für HPLC; von Fluka AG (Bern, Schweiz)
- Isopropanol - destilliert in Glas, pro analysi, geeignet für HPLC; von Fluka AG (Bern, Schweiz)
- Acetonitril - destilliert in Glas, pro analysi, geeignet für HPLC; von Fluka AG (Bern, Schweiz)

3.6.4. Authentische Standards

Tabelle 5: Authentische Standards

Hersteller: Hoechst AG, Frankfurt am Main; Merck-Frosst, Kanada; Paesel, Frankfurt am Main

Substanz	Menge in µg	gelöst in ml Lsg.-Mittel	Lösungsmittel	Hersteller
ω-COOH-LTB ₄	10	0,5	Methanol	Paesel
ω-OH-LTB ₄	10	0,5	Methanol	Paesel
LTB ₄	50	1,0	Methanol	Paesel
6-trans-LTB ₄	200	0,1	Hexan	Merck-Frosst
6-trans-epi-LTB ₄	200	0,1	Hexan	Merck-Frosst
5,6-DiHETE	200	0,1	Hexan	Merck-Frosst
5,6-epi-DiHETE	200	0,1	Hexan	Merck-Frosst
5S,12S-DiHETE	10	0,5	Methanol	Paesel
LTC ₄	50	0,5	H ₂ O	Hoechst
LTD ₄	50	0,5	H ₂ O	Hoechst
LTE ₄	50	0,5	H ₂ O	Hoechst
5-HETE	10	0,5	Methanol	Paesel
12-HETE	10	0,5	Methanol	Paesel
15-HETE	10	0,5	Methanol	Paesel
LTB ₅	10	1,0	Methanol	Paesel
LTA ₅	200	0,1	Hexan	Merck-Frosst
LTC ₅	50	0,5	H ₂ O	Paesel
LTD ₅	50	0,5	H ₂ O	Paesel
LTE ₅	50	0,5	H ₂ O	Paesel
5-HEPE	10	0,5	Methanol	Paesel

Alle authentischen Standards wurden vor ihrem Einsatz als Chromatographie-Referenzen UV-spektrometrisch auf ihre Reinheit geprüft und mit Hilfe der spezifischen Absorptionskoeffizienten quantifiziert. Im Falle erfaßbarer Verunreinigungen wurden diese in einem präparativen Chromatographieschritt (RP-HPLC) entfernt.

4. ERGEBNISSE

4.1. Zusammensetzung der Patientengruppen

In der Omegavenös-Gruppe beendeten 9 Patienten die Studie, in der Lipovenös-Gruppe waren es 11 Teilnehmer. Diese Patienten hatten als klinische Diagnose eine Psoriasis vom akut-exanthematischen Typ.

Bezüglich der Eingangsdaten Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Krankheitsbeginn und betroffene Körperfläche zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen (siehe Tab. 6). Auch bezüglich der im Verlauf der Behandlung beurteilten klinischen Parameter fanden sich vor Beginn der Therapie keine signifikanten Unterschiede (siehe Tab. 7).

Bei einer Patientin wurde als Eingangsdiagnose eine Psoriasis pustulosa generalisata festgestellt. Diese Patientin mußte aufgrund der Schwere des Krankheitsbildes und des Pilotcharakters der Studie bereits am zweiten Tag von der Untersuchung ausgeschlossen werden, um eine Standard-Therapie mit Retinoiden und PUVA einzuleiten. Der Ausschluß war also nicht nebenwirkungsbedingt. Die Patientin wurde gemäß der Randomisierungsliste ersetzt.

Es kam zu keinen weiteren Abbrüchen nach ärztlicher Indikationsstellung. Kein Patient beendete die Studie durch freiwilliges Ausscheiden vorzeitig.

Tabelle 6: Eingangsdaten der Patienten: Angaben zur Person

Alle Angaben (außer zum Geschlecht) erfolgen als Mittelwert \pm Standardabweichung (Omegavenös: n = 9, Lipovenös: n = 11). Es bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

Gruppe	Omegavenös	Lipovenös
Alter (Jahre)	38 \pm 14	39 \pm 15
Geschlecht (% / Anzahl männlich)	90,9 (n = 10)	77,8 (n = 7)
Gewicht (kg)	80,1 \pm 17,2	82,6 \pm 12,0
Größe (cm)	175 \pm 7	175 \pm 8
Krankheitsbeginn (Alter in Jahren)	26 \pm 7	24 \pm 17
betroffene Körperoberfläche (%)	18,00 \pm 9,57	30,78 \pm 25,60

Tabelle 7: Eingangsdaten der Patienten: klinische Parameter

Alle Angaben erfolgen als Mittelwert \pm Standardabweichung (Omegavenös: n = 9, Lipovenös: n = 11). Es bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

Gruppe	Erythem	Infiltration	Schuppung	subjektiver Score
Omegavenös	32,3 \pm 3,2	25,7 \pm 4,2	28,0 \pm 2,5	19,1 \pm 2,5
Lipovenös	25,6 \pm 1,9	17,0 \pm 3,2	21,3 \pm 2,3	25,4 \pm 2,8

4.2. Einfluß der Infusionen auf die Synthese von Lipidmediatoren

Bei der Auswertung wurden einige Produkte der 5-Lipoxygenase zusammengefaßt. Die omega-Oxidationsprodukte des LTB₄, ω -OH-LTB₄ und ω -COOH-LTB₄, sind in dem Wert „ ω -ox-LTB₄“ zusammengefaßt. Die Angabe „LTA-Metabolite“ umfaßt die nichtenzymatischen Abbauprodukte des LTA: 6-trans-LTB₄, 6-trans-epi-LTB₄, 5,6-diHET(P)E und 5,6-epi-diHET(P)E. Alle Angaben sind Durchschnittswerte der Ergebnisse aller Patienten der jeweiligen Gruppe (Omegavenös: n = 9; Lipovenös: n = 11), wobei zudem die individuellen Werte in Doppelbestimmungen erhoben wurden.

4.2.1. Lipovenös-Gruppe: 5-Lipoxygenase-Produkte der AA

Nach Stimulation von 10⁷ isolierten Granulozyten für 10 Minuten bei 37 °C mit dem Calcium-Ionophor A 23187 fanden sich im Zellüberstand bei den 5-Lipoxygenase-Produkten der Arachidonsäure in der Lipovenös-Gruppe, die eine Infusion auf der Basis von Sojaöl erhielt, im gesamten Verlauf der Therapie keine signifikanten Änderungen gegenüber den Ursprungswerten. Es ist jedoch eine Tendenz zu leicht erhöhten Meßwerten nach zehn Tagen ist zu erkennen. Im Folgenden sind die Metabolite einzeln aufgeführt.

Beim LTB₄ (siehe Abb. Nr. 8a) fand sich vor Beginn der Therapie ein Basiswert von 466,69 pmol / ml (100 %). Die Messung am Tag 10 ergab einen leicht erhöhten Wert von 578,62 pmol / ml (124 %). Das Ergebnis der Nachkontrolle entsprach ungefähr der Messung am Tag 10: 609,87 pmol / ml (131 %).

ω -ox-LTB₄ (siehe Abb. Nr. 8b), die Summe der omega-Oxidationsprodukte des LTB₄, konnte zu Beginn in einer Konzentration von 609,56 pmol / ml (100 %) bestimmt werden. Bei der Messung am Tag 10 fand sich ein leicht erhöhter Wert von 703,36 pmol / ml (115 %). Bei der Nachkontrolle wurde ein dem Tag 10 entsprechender Wert gemessen: 708,55 pmol / ml (116 %).

Beim **LTA₄** (siehe Abb. Nr. 8c), den nicht-enzymatischen Abbauprodukten des LTA₄, fand sich vor der Therapie ein Meßwert von 616,54 pmol / ml (100 %). Am zehnten Tag war dieser mit 553,31 pmol / ml (90 %) leicht erniedrigt. Bei der Bestimmung der Nachkontrolle hatte der Mediator fast wieder den Basiswert erreicht: 579,01 pmol / ml (94 %).

Die Ausgangskonzentration betrug beim **5-HETE** 400,92 pmol / ml (100 %) (siehe Abb. Nr. 8d). Dieser Wert veränderte sich kaum, denn am Tag 10 (435,44 pmol / ml; 109 %) und bei der Nachkontrolle (394,99 pmol / ml; 99 %) wurden ähnliche Werte bestimmt.

4.2.2. Lipovenös-Gruppe: 5-Lipoxygenase-Produkte der EPA

Die Lipovenös-Gruppe erhielt eine Infusion ohne Fischöl, und entsprechend fanden sich bei allen Untersuchungen Mengen an freigesetzten 5-Lipoxygenase-Produkten der EPA im Bereich der Nachweisgrenze. Die Messungen unterschieden sich in keinem Fall signifikant von den Ergebnissen am Tag 1, also vor Beginn der Behandlung. Sämtliche Mediatoren konnten nur knapp oberhalb der Nachweisgrenze bestimmt werden. Im Folgenden sind die Metabolite einzeln aufgeführt.

Das **LTB₅** (siehe Abb. Nr. 9a) konnte vor Beginn der Therapie in einer Konzentration von 3,29 pmol / ml (100 %) bestimmt werden. Eine ähnliche Messung ergab sich am Tag 10 mit 3,16 pmol / ml (96 %). Die Nachkontrolle unterschied sich nicht wesentlich von diesen beiden Messungen: 3,47 pmol / ml (106 %).

Die Bestimmung des **ω-ox-LTB₅** (siehe Abb. Nr. 9b) ergab einen Basiswert von 3,50 pmol / ml (100 %), der sich am Tag 10 (3,61 pmol / ml; 103 %) nur unerheblich verändert hatte. Am Tag 40 wurde ein ähnlicher Wert bestimmt: 4,00 pmol / ml (114 %).

Beim **LTA₅** (siehe Abb. Nr. 9c) wurden am ersten Tag 6,85 pmol / ml (100 %) gemessen. Zum Tag 10 war dieser Parameter mit 5,37 pmol / ml auf 78 % abgefallen. Zur Nachkontrolle wurde der Basiswert leicht überschritten: 7,96 pmol / ml (116 %).

Der Mediator **5-HEPE** (siehe Abb. Nr. 9d) fand sich vor Beginn der Therapie in einer Konzentration von 8,30 pmol / ml (100 %), die am zehnten Tag auf 7,20 pmol / ml (87 %) absank. Eine Nachkontrolle liegt für diesen Metaboliten nicht vor.

4.2.3. Omegavenös-Gruppe: 5-Lipoxygenase-Produkte der AA

Bei den 5-Lipoxygenase-Produkten der Arachidonsäure fanden sich in der Omegavenös-Gruppe, die eine Infusion auf Fischöl-Basis erhielt, im gesamten Verlauf der Therapie keine signifikanten Änderungen gegenüber den Ursprungswerten. Die Tendenz zu einer verminderten Produktion nach zehn Tagen ist jedoch bei allen gemessenen Mediatoren sichtbar. Im Folgenden sind die Metabolite einzeln aufgeführt.

Die Konzentration des **LTB₄** (siehe Abb. Nr. 8a) betrug vor Beginn der Therapie 499,33 pmol / ml (100 %). Die Messung am Tag 10 ergab einen erniedrigten Wert von 413,22 pmol / ml (83 %). Bei der Nachkontrolle war sie wieder auf 474,38 pmol / ml (95 %) angestiegen.

Zunächst fand sich beim **ω-ox-LTB₄** (siehe Abb. Nr. 8b) ein Basiswert von 760,44 pmol / ml (100 %), der sich am Tag 10 mit 744,11 pmol / ml (98 %) kaum verändert zeigte. 30 Tage nach Ende der Behandlung wurden 838,50 pmol / ml (110 %) gemessen, was einer leichten Erhöhung entspricht.

Der Ausgangswert des **LTA₄** (siehe Abb. Nr. 8c) betrug 573,56 pmol / ml (100 %). Sowohl am zehnten Tag (497,78 pmol / ml; 87 %) als auch bei der Nachkontrolle (497,38 pmol / ml; 87 %) war dieser Parameter mäßig erniedrigt.

Beim **5-HETE** (siehe Abb. Nr. 8d) wurden zu Beginn 337,44 pmol / ml (100 %) freigesetzt. Am Tag 10 wurden nur noch 282,67 pmol / ml (84 %) gemessen. Noch niedriger war das Ergebnis am Tag 40: 224,43 pmol / ml (67 %).

4.2.4. Omegavenös-Gruppe: 5-Lipoxygenase-Produkte der EPA

In der Omegavenös-Gruppe enthielt die Infusion Fischöl. Im Zellüberstand fand sich ein erheblicher Anstieg sämtlicher 5-Lipoxygenase-Produkte der EPA (LTB₅, ω-ox-LTB₅, LTA₅-Metabolite, 5-HEPE). Dieser war bereits am dritten Tag, also bei der ersten Untersuchung nach Beginn der Infusion, deutlich nachweisbar. Am zehnten Tag, der letzten Untersuchung während der Behandlungsphase, waren schließlich alle EPA-Produkte auf etwa das zehnfache des Ursprungswertes angestiegen (Signifikanzniveau in allen Fällen: $p < 0,001$). Bei der Nachkontrolle am Tag 40, also 30 Tage nach Beendigung der Infusionen, war die Menge der gebildeten Produkte wieder auf das Niveau vor Beginn der Therapie abgefallen. Bei den beiden Untersuchungen vor Therapiebeginn und bei der Nachkontrolle konnten fast sämtliche Mediatoren nur knapp oberhalb der Nachweis-

grenze bestimmt werden. Die Entwicklung der Werte im Verlauf der Untersuchung ist im Folgenden für jeden Metaboliten einzeln dargestellt.

Während das **LTB₅** (siehe Abb. Nr. 9a) vor Verabreichung der ersten Infusion noch in einer Konzentration von 2,99 pmol / ml (100 %) gemessen wurde, war es bereits am dritten Tag auf 5,89 pmol / ml (197 %) angestiegen. Als Maximum wurde nach 10 Therapietagen ein Wert von 21,77 pmol / ml LTB₅ gemessen (728 %). Bei der Nachkontrolle fand sich ein der Messung vor Beginn der Infusionen entsprechender Wert von 3,77 pmol / ml (126 %).

Ähnlich verhielt sich beim **ω-ox-LTB₅** (siehe Abb. Nr. 9b), wobei hier zunächst 4,74 pmol / ml (100 %) gemessen wurden. Dieser Wert war am dritten Tag auf 13,84 pmol / ml (292 %) angestiegen. Am Tag 10 hatte sich dieser Parameter fast verzehnfacht (42,84 pmol / ml LTB₅; 904 %). Die Nachkontrolle ergab einen immer noch deutlich erhöhten Wert von 7,28 pmol / ml (154 %).

Beim **LTA₅** (siehe Abb. Nr. 9c) verdreifachte sich der Basiswert von 6,31 pmol / ml (100 %) am dritten Tag auf 17,57 pmol / ml (278 %). Nach insgesamt 10 Therapietagen war ein weiterer deutlicher Anstieg auf 51,61 pmol / ml (818 %) festzustellen. Bei der Nachkontrolle war dieser Meßwert unter den Ursprungwert abgesunken (4,97 pmol / ml; 79 %).

Konnten zu Beginn beim **5-HEPE** (siehe Abb. Nr. 9d) nur 7,90 pmol / ml (100 %) nachgewiesen werden, so waren es am dritten Tag schon 29,54 pmol / ml (374 %). Am Tag 10 wurde der maximale Wert von 86,28 pmol / ml LTB₅ gemessen (1092 %). Auch am 30 Tage nach Therapieende war der Wert noch doppelt so hoch wie vor Beginn der Behandlung (16,45 pmol / ml; 208 %).

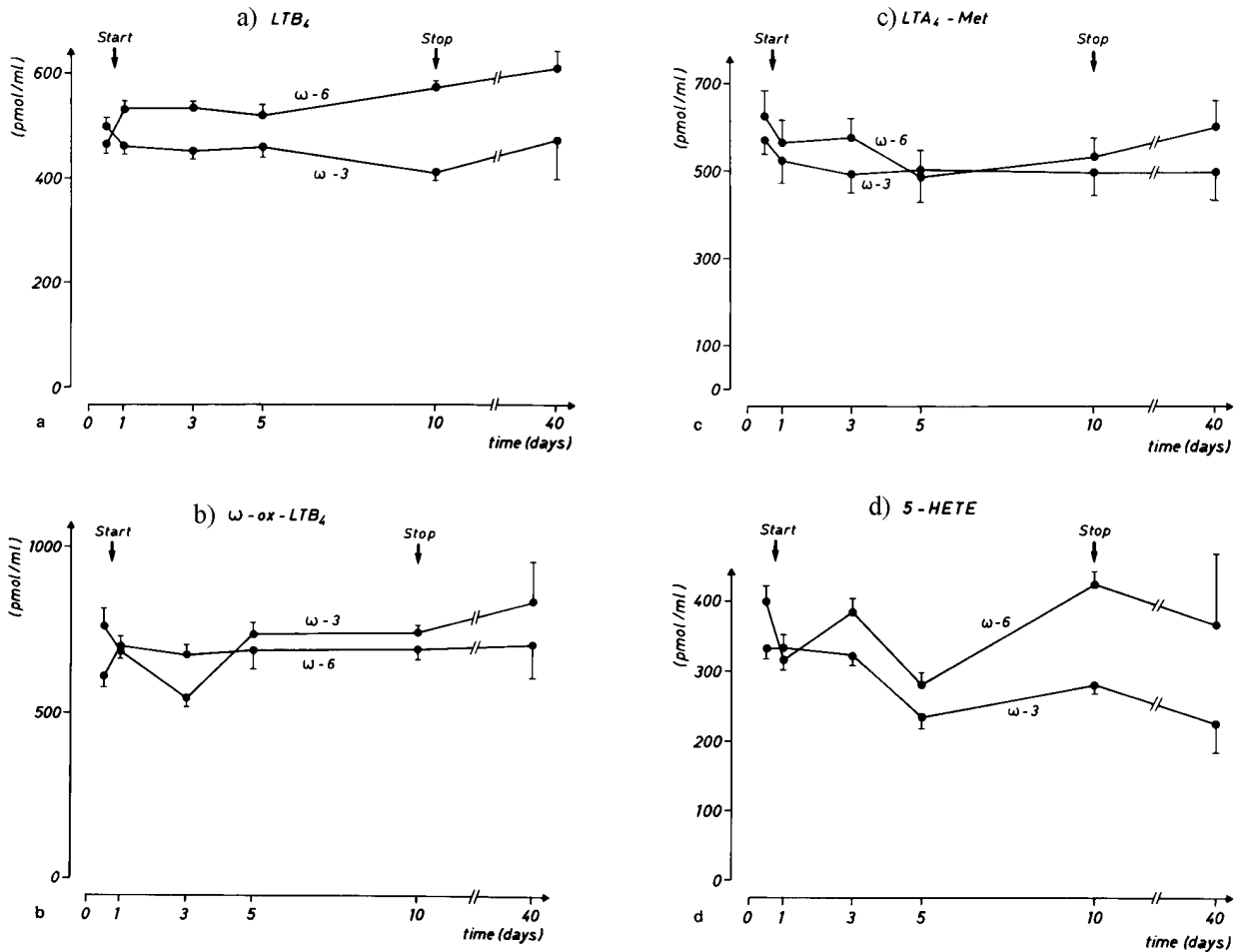


Abbildung 8: Verlauf der aus Arachidonsäure gebildeten Leukotriene

Dargestellt ist der zeitliche Verlauf der granulozytären Produktion von Leukotrienen der 4er-Reihe aus Arachidonsäure. Die Granulozyten wurden während der Infusionstherapie an den Tagen 1-10 und 30 Tage nach Ende der Behandlung aus dem Blut der Patienten gewonnen. Jeweils 10^7 PMN wurden ex vivo für 10 Minuten mit dem Kalzium-Ionophor A 23187 stimuliert. Angegeben sind die absoluten Mengen an (a) LTB_4 , (b) dessen Omega-Oxidationsprodukten (20-OH- LTB_4 und 20-COOH- LTB_4), (c) der nicht-enzymatischen Abbauprodukte des LTA_4 (= $LTA_4\text{-Met}$; entspricht der Summe von 6-trans- LTB_4 , 6-trans-12-epi- LTB_4 und der 5,6-DiHETEs), sowie (d) des 5-HETE. Alle Angaben erfolgen als Mittelwert \pm Standardabweichung.

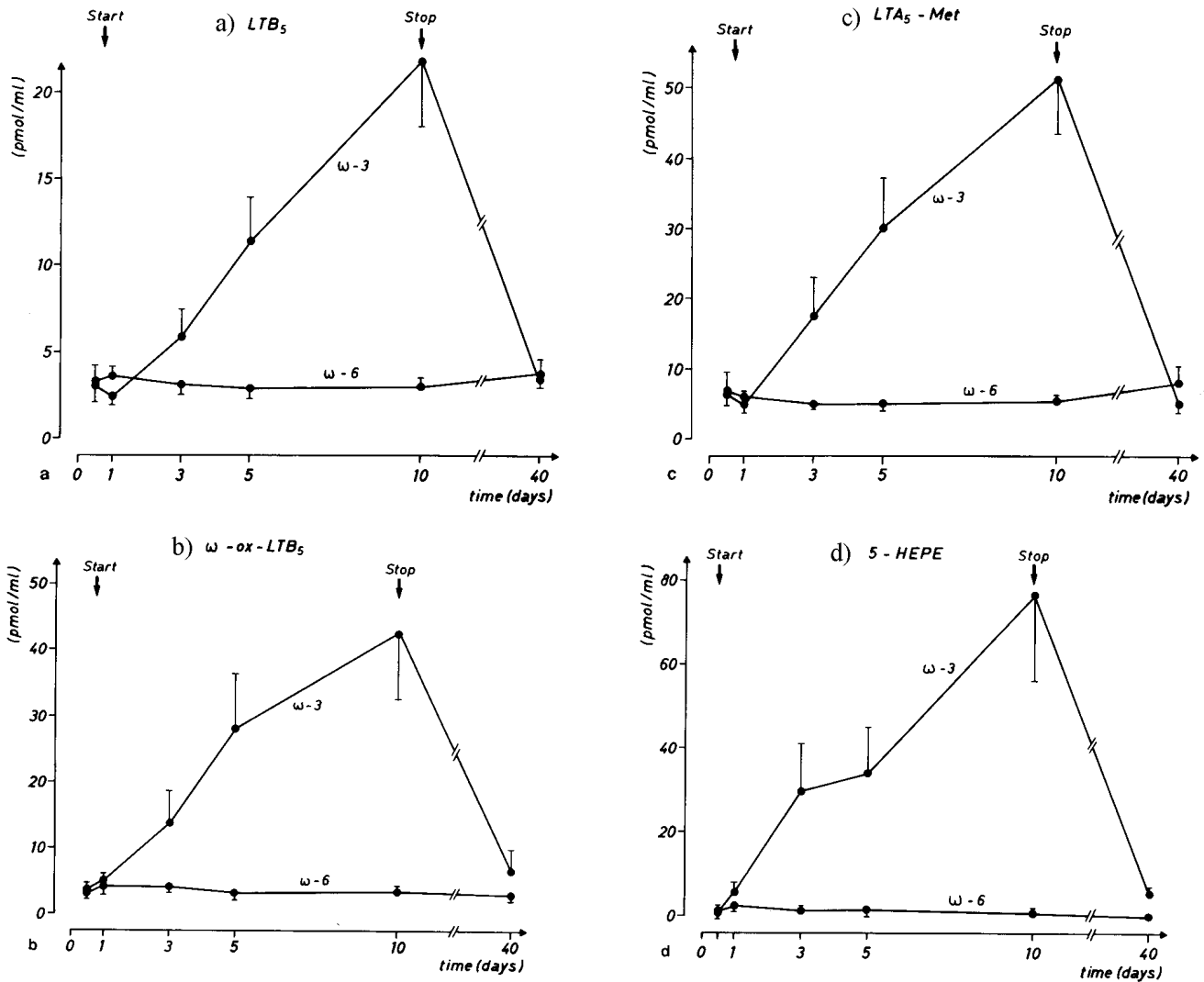


Abbildung 9: Verlauf der aus Eicosapentaensäure gebildeten Leukotriene

Dargestellt ist der zeitliche Verlauf der granulozytären Produktion von Leukotrienen der 4er-Reihe aus Eicosapentaensäure. Die Granulozyten wurden während der Infusionstherapie an den Tagen 1-10 und 30 Tage nach Ende der Behandlung aus dem Blut der Patienten gewonnen. Jeweils 10^7 PMN wurden ex vivo für 10 Minuten mit dem Kalzium-Ionophor A 23187 stimuliert. Angegeben sind die absoluten Mengen an (a) LTB_5 , (b) dessen Omega-Oxidationsprodukten (20-OH- LTB_5 und 20-COOH- LTB_5), (c) der nicht-enzymatischen Abbauprodukte des LTA_5 (= LTA_5 -Met; entspricht der Summe von 6-trans- LTB_5 , 6-trans-12-epi- LTB_5 und der 5,6-DiHEPEs), sowie (d) des 5-HEPE. Alle Angaben erfolgen als Mittelwert \pm Standardabweichung.

4.3. Standard-Laborparameter

Beim Gesamt-Cholesterin war eine signifikante Wechselwirkung nachweisbar. Dieser Parameter fiel in der Omegavenös-Gruppe unter der Behandlung ab, während er in der Lipovenös-Gruppe anstieg ($p < 0,05$). Diese Unterschiede waren jedoch klinisch nicht relevant, da die absoluten Differenzen zu niedrig waren.

Bei den Triglyceriden fanden sich im Mittel keine signifikanten Wechselwirkungen. Die Werte veränderten sich nicht während der Therapie. In zwei Einzelfällen von Patienten aus der Omegavenös-Gruppe, bei denen eine vorbestehende Hyperlipidämie festgestellt wurde, konnte jedoch ein deutlicher Abfall dieses Parameters beobachtet werden.

Bei allen anderen Routine-Laborwerten fanden sich keine statistisch signifikanten Änderungen, weder innerhalb einer Gruppe im Zeitverlauf noch im Gruppenvergleich.

4.4. Klinischer Verlauf

Bei beiden Gruppen zeigte sich hinsichtlich der ärztlich festgestellten Parameter (Erythem, Schuppung und Infiltration) und hinsichtlich der durch die Patienten angegebenen Parameter (subjektive Besserung und Juckreiz) ein statistisch signifikanter Rückgang der Symptomatik im Verlauf der Behandlung. Die Veränderungen der verschiedenen Parameter sind im Folgenden einzeln aufgeführt.

Der höchste erreichbare Gesamtscore hinsichtlich des Erythems betrug 44; dieser zeigt die stärkste Rötung an. In der mit Lipovenös behandelten Gruppe ging der Score von einem Durchschnittswert von durchschnittlich 25,6 Punkten am Tag 1 auf 19,1 Punkte am Tag 10 zurück. In der Omegavenös-Gruppe war eine stärkere Verminderung des Scores zu verzeichnen (von 32,3 Punkten auf 15,1 Punkte). Setzt man den Punktwert des ersten Therapietages auf 100 %, so tritt bei der Lipovenös-Gruppe eine Besserung von durchschnittlich 27,5 % ein, bei der Omegavenös-Gruppe jedoch von 52,9 %. In beiden Gruppen sind die Änderungen höchst signifikant ($p < 0,001$). Der Vergleich der beiden Gruppen ergibt eine hoch signifikant ausgeprägtere Besserung in der Omegavenös-Gruppe ($p < 0,01$); siehe Abbildung 10.

Der maximale Gesamtscore, der den stärksten Befall anzeigt, war für die Infiltration 44. Die mit Lipovenös behandelte Gruppe zeigte eine Besserung von 17,0 Punkten am ersten Tag auf 14,5 Punkte am Tag 10. Die Omegavenös-Gruppe zeigte einen Rückgang von durchschnittlich 25,7 Punkten auf 13,2 Punkte. Relativ gesehen verbesserten sich die

Bewertung in der Lipovenös-Gruppe um 16,5 %, in der Omegavenös-Gruppe dagegen um 48,8 %. Die Symptomatik ist in beiden Gruppen signifikant rückgängig ($p < 0,001$). Im Gruppenvergleich zeigt sich eine signifikant deutlichere Besserung bei der mit Omegavenös behandelten Gruppe ($p < 0,05$); siehe Abbildung 10.

Die Schuppung konnte mit insgesamt höchstens 44 Punkten bewertet werden, was einer maximalen Desquamation entspricht. Dabei ergab sich in der mit Lipovenös behandelte Gruppe eine Verbesserung von 21,3 Punkten am ersten Tag auf 16,8 Punkte am zehnten Tag. In der Omegavenös-Gruppe war der Rückgang deutlicher: von 28,0 Punkten auf 14,8 Punkte (Durchschnittswerte). Im Vergleich zum Tag 1 (100 %) tritt bei der Lipovenös-Gruppe eine Besserung von durchschnittlich 33,0 % ein, bei der Omegavenös-Gruppe von 55,0 %. Die Symptomatik ist in beiden Gruppen signifikant rückläufig ($p < 0,001$). Der Gruppenvergleich ergibt keinen signifikanten Unterschied; siehe Abbildung 10.

Der maximale Wert, der den geringsten Leidensdruck anzeigt, war bei der subjektiven Gesamtbeurteilung 50. Er besserte sich in der Lipovenös-Gruppe vom Tag 1 mit 25,4 Punkten auf 29,3 Punkte (Tag 10). Bei den mit Omegavenös behandelten Patienten besserte er sich sogar von durchschnittlich 19,1 Punkten auf 30,7 Punkte. Dies entspricht in relativen Angaben einer Verbesserung um 19,1 % in der Lipovenös-Gruppe, dagegen um 76,3 % in der Omegavenös-Gruppe. Bei beiden Patientenkollektiven konnte ein signifikanter Rückgang des Leidensdruckes beobachtet werden ($p < 0,001$). Dieser war in der mit Omegavenös behandelten Gruppe signifikant besser als in der Lipovenös-Gruppe ($p < 0,05$); siehe Abbildung 11.

Bei der Beurteilung des Juckreizes durch die Patienten war 10 der maximale Wert, der die geringste Symptomatik anzeigt. Er besserte sich in der Lipovenös-Gruppe von 4,1 Punkten (Tag 1) auf 5,0 Punkte (Tag 10). In derselben Zeit stieg der Wert in der Omegavenös-Gruppe von 3,2 Punkten auf 6,4 Punkte. Im relativen Vergleich zum ersten Tag ist dies in der Lipovenös-Gruppe eine Besserung um 38,0 %, in der Omegavenös-Gruppe sogar um 133,3 %. Dabei ist der Juckreiz in beiden Gruppen signifikant rückgängig ($p < 0,001$). Jedoch war die Besserung in der mit Omegavenös behandelten Gruppe signifikanz ausgeprägter ($p < 0,05$); siehe Abbildung 11.

Im Gesamtvergleich ist festzustellen, daß sich die klinischen Parameter in der Omegavenös-Gruppe statistisch signifikant ausgeprägter besserten. Zeigten sich in der Lipovenös-Gruppe Abweichungen zwischen 16 und 38 % zum Ausgangsscore, so lagen die

relativen Änderungen in der Omegavenös-Gruppe zwischen 45 und 133 %. Lediglich bei dem Merkmal Schuppung war die Unterscheidung zwischen den Gruppen nicht signifikant.

Bei einigen Patienten, deren Krankheitsbild sich unter der ω -3-Lipidinfusion erheblich gebessert hatte, traten innerhalb von ein bis zwei Wochen nach Ende der Infusionstherapie Rezidive der Erkrankung auf. Diese Beobachtungen konnten jedoch nicht statistisch ausgewertet werden, da die Patienten in dieser Phase mit individuell angepassten und daher unterschiedlichen Therapieschemata behandelt wurden.

Die klinischen und laborchemischen Kontrollen zeigen eine ausgezeichnete Verträglichkeit der Studienmedikation. Abweichungen in den pathologischen Bereich, die ärztlicherseits einen individuellen Studienabbruch zur Folge gehabt hätten, traten in keinem Fall auf.

Unerwünschte Begleiterscheinungen traten bei einigen Patienten in Form von Reizungen der für die Infusion punktierten Venen auf. Dies konnte im weiteren Verlauf vermieden werden, indem auf Venenverweilkanülen verzichtet wurde. Stattdessen wurden Schmetterlingskanülen verwendet, die nach jeder Infusion verworfen wurden.

Bei einigen Patienten der Omegavenös-Gruppe trat während der Infusion ein leichter traniger Geschmack auf. Dieser wurde jedoch nur als geringfügig störend empfunden.

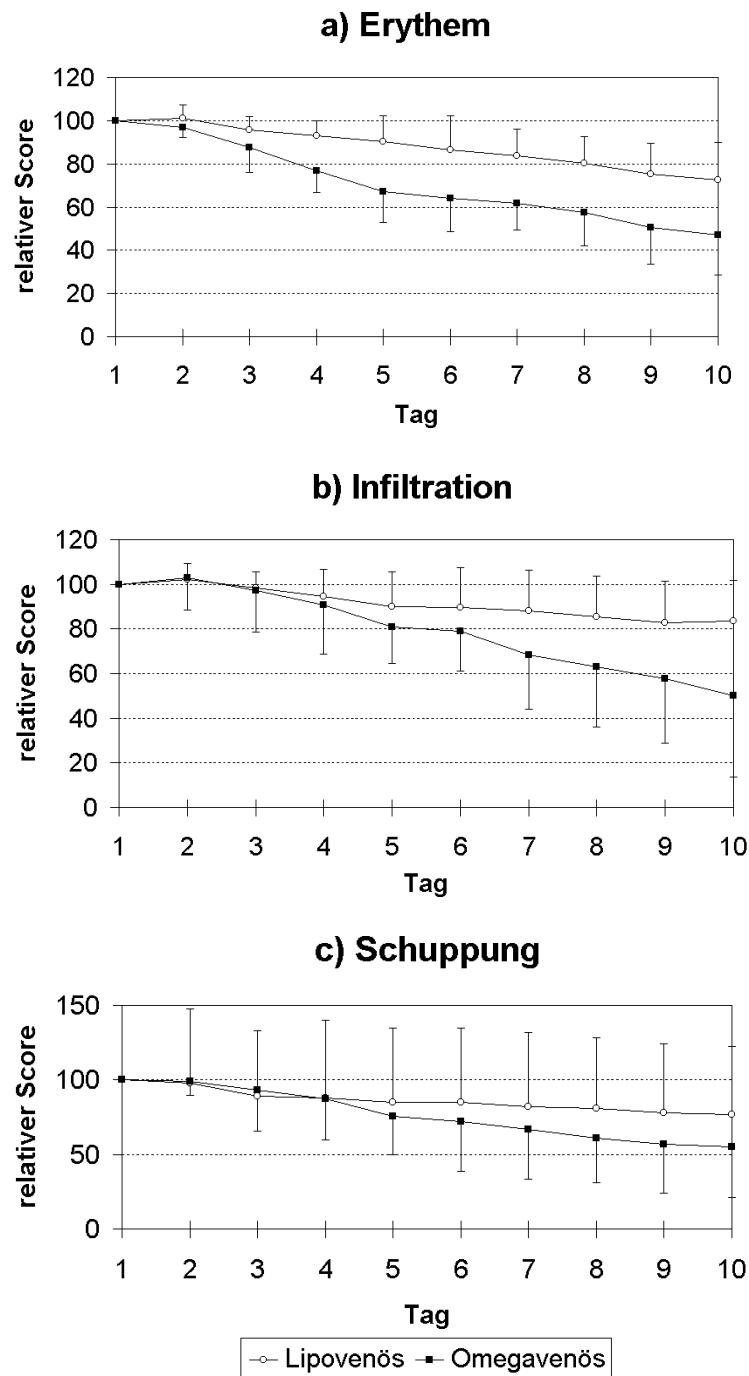
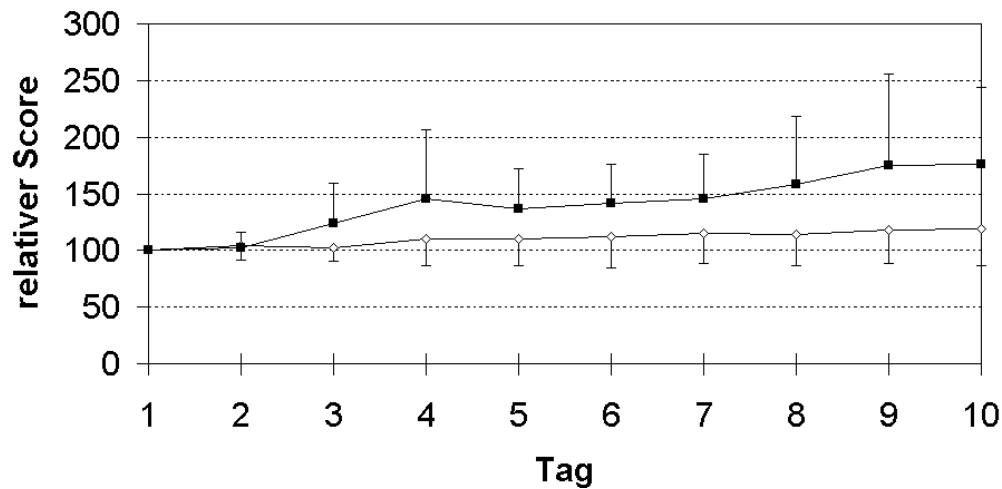


Abbildung 10: Klinischer Verlauf (ärztlich beurteilte Parameter)

Die Abbildungen geben den Verlauf der ärztlich beurteilten Parameter (Erythem, Infiltration und Schuppung) wieder, jeweils \pm Standardabweichung der Mittelwerte. Dargestellt ist jeweils der Score an den 10 Therapietagen in Relation zum Tag 1, dessen Wert auf 100 festgesetzt wurde. Beim Erythem (a) zeigt sich eine kontinuierliche Besserung des Befundes in beiden Gruppen. Diese verläuft jedoch in der Omegavenös-Gruppe deutlich schneller, denn der niedrigste Wert der Lipovenös-Gruppe von etwa 72% am Tag 10 wird in der Fischöl-Gruppe bereits am Tag 5 unterschritten, und am Tag 10 beträgt der Wert nur noch 45%. Ähnlich verhält es sich bei der Infiltration (b). Diese wurde in der Omegavenös-Gruppe ebenfalls am fünften Tag niedriger bewertet als in der Lipovenös-Gruppe am zehnten Tag. Am wenigsten unterscheiden sich die Verläufe den Parameter Schuppung betreffend (c). Hier bessert sich das klinische Bild während der ersten vier Tage in beiden Gruppen gleich gut. Bis zum Tag 10 unterscheiden sich die beiden Verläufe nur um etwa 20 Prozentpunkte.

a) subjektives Befinden



b) Beurteilung des Juckreizes

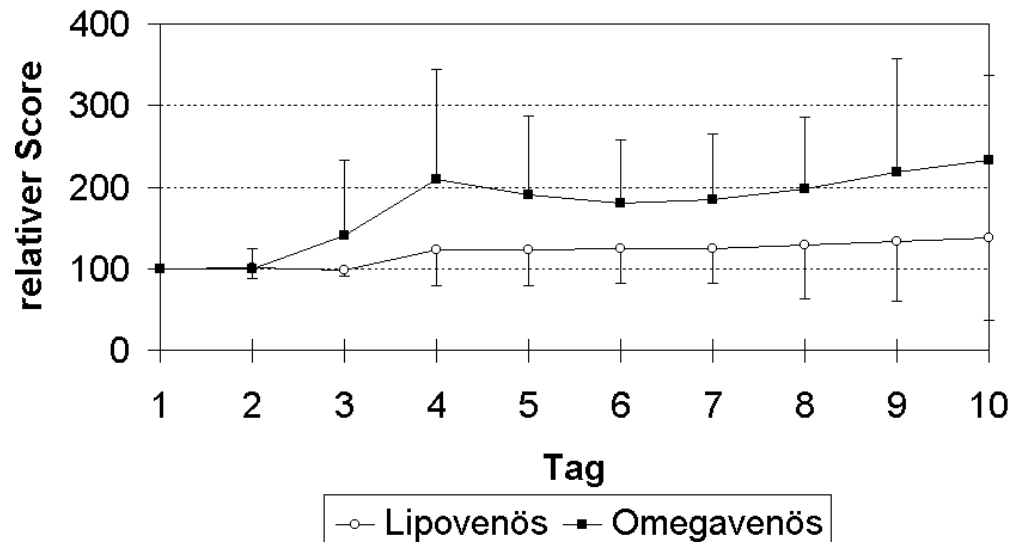


Abbildung 11: Klinischer Verlauf (von den Patienten beurteilte Parameter)

Dargestellt sind die durch die Patienten beurteilten Parameter (Juckreiz und subjektives Befinden), jeweils +/- Standardabweichung der Mittelwerte. Der Auftrag erfolgt relativ zum ersten Tag, dessen Score gleich 100 gesetzt wurde. Höhere Werte stehen dabei für eine klinische Besserung. Bereits am dritten Tag hat sich das subjektive Befinden (a) in der Omegavenös-Gruppe auf einen Wert verbessert, der in der Lipovenös-Gruppe erst am letzten Tag erreicht wird (ca. 120%). Erstere zeigt insgesamt eine Besserung des Befindens am Tag 10 bis auf ca. 175% des Basiswertes. Ähnlich deutlich unterscheiden sich die Befunde bei der Beurteilung des Juckreizes (b). Bessert sich die Sojaöl-Gruppe bis zum zehnten Tag kontinuierlich bis auf etwa 140%, so wird dieser Wert in der Fischöl-Gruppe schon am dritten Tag erreicht. Am Tag 10 erreicht die Omegavenös-Gruppe eine Besserung auf 240% des Ausgangswertes.

5. DISKUSSION

5.1. Die Entwicklung des Studiendesigns

Im Gegensatz zu früheren Untersuchungen zur Wirksamkeit von Fischöl-Präparaten bei Psoriasis, bei denen stets eine orale Medikamentengabe gewählt worden war, wurde in dieser Studie erstmalig Psoriasis-Patienten Fischöl auf intravenösem Wege verabreicht. Diese Form der Verabreichung wurde gewählt, um eine möglichst rasche Verfügbarkeit der wirksamen Fettsäuren zu gewährleisten. Besonders erwünscht waren dabei hohe Plasmaspiegel von nicht-veresterter freier Eicosapentaensäure, da diese ein direktes Substrat für die Synthese von EPA-abgeleiteten Lipidmediatoren darstellt. Wie bei Untersuchungen im Rahmen eines Therapieversuches bei Colitis ulcerosa gezeigt werden konnte, entsteht ausreichend plasmatisch frei verfügbare EPA, um das vermutete pathogenetische Wirkprinzip dieser neuen Behandlungsform zu stützen (Grimminger 1993a).

Eine Kontrollgruppe mit einer Kochsalzinfusion oder ganz ohne intravenöse Medikation wurde nicht angesetzt, da dies mit dem Doppelblindverfahren nicht vereinbar gewesen wäre. Stattdessen wurde als Kontrolle eine konventionelle Lipidinfusion auf Basis von Sojaöl verwendet. Beide Produkte stammten von demselben Hersteller, wurden mit einander entsprechenden Verfahren hergestellt, enthielten identische Additiva und waren isokalorisch.

In den meisten der Studien mit oraler Fischölgabe waren Patienten mit chronisch-stationärer Psoriasis untersucht worden. Die Patienten in dieser Studie wiesen als Eingangsdiagnose eine Psoriasis vom akut-exanthematischen Typ mit ausgedehntem Hautbefall auf. Dies geschah mit der Überlegung, daß diese stärker schubweise verlaufende Form wahrscheinlich besser auf eine akute Intervention ansprechen würde.

5.2. Die Effekte der Lipidinfusionen auf den Metabolismus von leukozytären Lipidmediatoren

Entsprechend den Ergebnissen von anderen Arbeitsgruppen (Kojima 1991, Kragballe 1989, Maurice 1987) konnten vor Beginn der Therapie nur sehr geringe Mengen an von PMN in vitro produzierten 5-Lipoxygenase-Produkten der EPA nachgewiesen werden. Dabei war das Verhältnis von EPA- zu AA-abgeleiteten Leukotrienen bei allen Patienten

unter 1:100. In der Gruppe mit ω -3-Lipidinfusion stiegen die Metabolite der Eicosapentaensäure innerhalb von 5 bis 10 Tagen auf mehr als das zehnfache der Basiswerte an, wobei sich das Verhältnis von EPA- zu AA-Produkten auf über 1:10 steigerte. Die Gesamtmenge an produzierten Metaboliten der Arachidonsäure nahm dabei jedoch nicht ab.

Dieses Mediator-Profil unterscheidet sich deutlich von den Ergebnissen oraler Studien (Lee 1985, Payan 1986, Kremer 1987, Maurice 1987, Kojima 1991). Dort hatte sich eine Abnahme der Produktion von LTB_4 um 20 - 50 % gezeigt, während nur sehr geringe Mengen an Metaboliten der EPA nachgewiesen werden konnten. Der in der vorliegenden Arbeit beschriebene schnelle Anstieg der Produktion von Leukotrienen der 5er-Reihe ist möglicherweise durch einen starken Anstieg der veresterten und freien EPA im Plasma nach Infusion des ω -3-Lipidpräparates zu erklären. Obwohl in dieser Studie keine Fettsäuren im Plasma bestimmt wurden, wird diese Vermutung durch andere Untersuchungen bestätigt (Grimminger 1996). Es konnte gezeigt werden, daß veresterte ω -3-Fettsäuren nach intravenöser Applikation bei Ratten sehr schnell hydrolysiert werden (Yamazaki 1991). Dabei scheinen vaskuläre lipolytische Stoffwechselwege eine wichtige Rolle zu spielen. Wahrscheinlich wird eine endotheliale Lipoproteinlipase von ihrer Membranbindung gelöst und gelangt in das Gefäßlumen (Lindholm 1984, Mascioli 1989, Peterson 1990, Yamazaki 1991). Die daraus resultierende erhöhte plasmatische lipolytische Aktivität wird zu einer Erhöhung der Menge an freier EPA aus der gebundenen Form der Triglyceride führen. Diese konkurriert dann mit der Arachidonsäure auf der Ebene der interzellulären Synthese von Eicosanoiden (Grimminger 1988a+b, Maysner 1994). Zudem konnte nach oraler Gabe von hochreinen EPA-Ethylestern über mehrere Monate bei Patienten mit Psoriasis ein Anstieg des Verhältnisses von LTB_5 zu LTB_4 aus granulozytärer Synthese festgestellt werden, wobei diese Vermehrung signifikant mit einer Erhöhung des Verhältnisses von EPA zu AA im Plasma korreliert war (Kojima 1989).

In der vorliegenden Studie wurden die neutrophilen Granulozyten *in vitro* in Abwesenheit von Plasma mit einem Calcium-Ionophor stimuliert. Es wäre möglich, daß der Anteil an EPA-Produkten der 5-Lipoxygenase bei Stimulation durch natürliche Liganden *in situ*, z.B. im Plasma oder im Gewebe, noch weiter ansteigen würde (Grimminger 1991a+b, Grimminger 1992). Auf jeden Fall deutet die Beobachtung eines schnellen Anstieges der Bildung von Leukotrienen der 5er-Serie *in vitro* darauf hin, daß ein oder mehrere Membranpools die im Plasma enthaltene EPA anreichern. Diese Pools stellen dann der granulozytären 5-Lipoxygenase eine erhöhte Menge an EPA als Substrat zur Verfügung, so-

daß auch auf diesem Weg die Produktion von proinflammatorischen Metaboliten der 4er-Serie gehemmt wird. Diese Anreicherung konnte nach täglicher Infusion großer Mengen Fischöl bei Kaninchen bereits nachgewiesen werden (Urakaze 1987).

5.3. Lipidmediator-unabhängige Effekte der ω -3-Lipidinfusionen

Die Infiltration und Proliferation von inflammatorisch aktiven Zellen wird durch Zell-Zell-Interaktionen und über Zytokine geregelt (Halloran 1993). LTB_4 kann T-Zell-Phänotypen verändern (Rola-Pleszcynski 1985a) und die Freisetzung von Cytokinen aus Lymphozyten stimulieren (Rola-Pleszcynski 1985b+c). Interferon- γ kann psoriatische Läsionen induzieren (Fierlbeck 1990) und wird von Kulturen menschlicher Lymphozyten, die mit LTB_4 stimuliert wurden, vermehrt freigesetzt (Rola-Pleszcynski 1985c). Umgekehrt können bei der Entzündungsreaktion beteiligte Zytokine den Eicosanoid-Metabolismus beeinflussen. So stimuliert Interleukin-1 den Arachidonsäure-Metabolismus in verschiedenen Zellen (Dayer 1977), u.a. die Produktion von 15-HETE (Godessart 1994), dessen Produktion auch durch Interleukin-8 gesteigert wird (Fogh 1992). Interleukin-6 wird bei Psoriatikern verstärkt gebildet (Grossmann 1989, Neuner 1991, Ohta 1994) und stimuliert die Proliferation von Keratinozyten (Grossmann 1989). IL-8, welches ebenfalls vermehrt in der Haut und im Blut von Psoriatikern nachgewiesen werden kann (Gillitzer 1991, Schulz 1993, Teranishi 1995), kann selektiv die Verstoffwechslung von AA durch die 5-Lipoxygenase neutrophiler Granulozyten anregen (Schröder 1989) und die Proliferation von Keratinozyten stimulieren (Reusch 1990). Die Aktivität dieses Netzwerkes gegenseitiger granulozytärer und lymphozytärer Stimulation wird durch EPA gemindert, da die Arachidonsäure als Substrat für die Produktion inflammatorischer Mediatoren bzw. als Ziel Zytokin-induzierter Aktivität in geringerem Umfang zur Verfügung steht. Zudem können freie Fettsäuren auch direkt die Aktivierung von Lymphozyten und damit deren Zytokinproduktion hemmen (Calder 1990+92). Die Reduktion der Lymphozyten-Aktivität durch Gabe von EPA konnte in vitro in verschiedenen Modellen gezeigt werden (Endres 1987, Yamashita 1991, Soyland 1993). Auch in den meisten klinischen Studien mit oraler Fischöl-Gabe konnte eine verminderte Produktion der verschiedenen Zytokine festgestellt werden (Blok 1996).

Eine weitere mögliche Komponente der antiinflammatorischen Wirkung der EPA ist die Hemmung des proinflammatorisch aktiven Plättchen-aktivierenden Faktors. PAF entsteht

über das Zwischenprodukt Lyso-PAF durch sequentielle Aktivität der Phospholipase A₂ und einer Acetyltransferase bei der Freisetzung von Arachidonsäure aus Phospholipiden der Zellmembran (Benveniste 1974, Hanahan 1980+86, Mueller 1983). PAF wirkt chemotaktisch auf Granulozyten und kann diese zu Aggregation, Degranulation und oxidativem „Burst“ anregen sowie die 5-Lipoxygenase stimulieren (Archer 1984+85, Michel 1992, Venable 1993). Die Menge an PAF ist in der Haut von Patienten mit Psoriasis erhöht (Mallet 1984+85), und durch intradermale Injektion von PAF läßt sich eine Entzündung provozieren (Archer 1984). Die antiinflammatorische Wirkung von EPA könnte u.a. darauf beruhen, daß im Rahmen einer teilweise stattfindenden Reacylierung die Synthese von PAF gehemmt wird (Grimminger 1992). Bei Ratten, die mit Fischöl gefüttert wurden, konnte im Plasma eine Verminderung der Konzentration von Lyso-PAF nachgewiesen werden (Croft 1986).

Die Produktion und Sekretion von Zytokinen und PAF wird durch Signaltransduktion über das Phospholid-/Arachidonsäure-second-messenger-System gesteuert (Abdel-Latif 1986, Majerus 1986, Berridge 1987). Es erscheint wahrscheinlich, daß dieses System bei intravenöser Gabe von Lipidemulsionen über eine Verschiebung des AA/EPA-Verhältnisses in den relevanten Membranphospholipid-Pools beeinflusst wird. Es konnte gezeigt werden, daß schon die orale Gabe von ω -3-Lipiden den AA/EPA-Quotienten in den Membranphospholipiden monozytärer Zellen reduziert und die Sekretion von Zytokinen reduziert (Ziboh 1986). Dies erscheint umso bedeutsamer, da die Haut Arachidonsäure nicht selbst synthetisieren kann (Chapkin 1985). Wahrscheinlich ist die erhöhte AA-Konzentration in der Haut von Psoriatikern auf eine gesteigerte Aktivität der Phospholipasen A₂ und C zurückzuführen (Forster 1983, Verhagen 1984, Bartel 1986+87, Fisher 1990, Bergers 1990). Die PLA₂ spaltet bei der Freisetzung von PAF aus Phospholipiden die in der Position sn₂ befindliche Fettsäure ab. Ist diese Position von einer anderen Fettsäure als Arachidonsäure besetzt, so wird in der Folge eine entsprechend geringere entzündliche Aktivität entfaltet, da keine AA als Substrat für die Lipoxygenase zur Verfügung steht. Die Sekretion von PAF und Leukotrienen ist in Granulozyten, deren Membran weniger Arachidonsäure enthält, deutlich reduziert (Ramesha 1986a+b). Die verringerte Produktion von Zytokinen wird zusätzlich wahrscheinlich mitbedingt durch eine verminderte autokrine Stimulation durch LTB₄, welches Monozyten aktivieren kann (Endres 1989).

5.4. Die Effekte der Lipidinfusionen auf den klinischen Verlauf

Bei den Patienten, die eine Standard-Lipidinfusion erhielten, schien sich im Verlauf der Behandlung das Krankheitsbild etwas schneller zu bessern als dies ohne Behandlung zu erwarten gewesen wäre. Dieser Effekt kann möglicherweise auf die relativ hohen Mengen an Linolensäure, die in Lipovenös enthalten sind, zurückgeführt werden (Mascioli 1989). Im Vergleich hierzu war jedoch der Rückgang der Krankheitserscheinungen bei den mit Omegavenös behandelten Patienten erheblich ausgeprägter.

In der Patientengruppe, welche die ω -3-Lipidinfusion erhielt, ließ sich bereits nach wenigen Tagen ein starker Rückgang der Krankheitserscheinungen beobachten. Parallel mit einer Verminderung von Erythem, Infiltration und Schuppung verbesserten sich auch die durch die Patienten beurteilten subjektiven Parameter erheblich. Die Geschwindigkeit der Besserung übertrifft die Ergebnisse von Studien mit oraler Gabe von Fischöl um ein Mehrfaches. Waren in der vorliegenden Studie Besserungen bereits nach drei bis fünf Tagen meßbar, so traf dies bei den verschiedenen früheren Untersuchungen erst nach mehreren Wochen bis Monaten zu. Für diese Unterschiede gibt es mehrere Erklärungen.

Für die vorliegende Studie wurden Patienten mit der Eingangsdiagnose einer akut-exanthematischen Psoriasis ausgewählt. In den früheren Studien waren Patienten mit einer chronisch-stationären Form der Psoriasis untersucht worden. Es erscheint wahrscheinlich, daß das akut-entzündliche Geschehen bei den Patienten der vorliegenden Untersuchung besser auf die antiinflammatorische Intervention anspricht als dies bei chronisch-entzündlichen Krankheitsbildern zu erwarten ist. Diese Vermutung wird gestützt durch die Beobachtung, daß die Invasion von Granulozyten in die Haut zu den frühen Ereignissen in der Pathogenese der Schuppenflechte gehört (Braun-Falco 1977, Ragaz 1979, van de Kerkhof 1990). Außerdem spricht das Auftreten von Rezidiven bei einigen Patienten innerhalb von ein bis zwei Wochen nach Absetzen der ω -3-Infusion für einen akut wirksamen entzündungshemmenden Wirkmechanismus von Omegavenös. Diese Beobachtung konnte jedoch durch die in der Phase nach der Infusion individuellen Behandlungsschemata der Patienten nicht statistisch ausgewertet werden.

Als ein weiterer Grund für die schnelle Wirksamkeit des Präparates ist die hier erstmalig gewählte intravenöse Applikationsform zu sehen. In früheren Studien war das Fischöl stets oral verabreicht worden. Durch die Umgehung der gastrointestinalen Absorption

und dem damit verbundenen Umbau von Fetten stehen die Wirksubstanzen sofort und ohne chemische Inaktivierung in dem pathophysiologischen wichtigen Kompartiment Blut zu Verfügung. Durch die dann aktivierte plasmatische lipolytische Aktivität kann freigesetzte EPA antiinflammatorisch wirksam werden (Peterson 1990).

Einzig hinsichtlich des Parameters Desquamation fand sich zwischen den beiden Therapiegruppen kein signifikanter Unterschied. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß sich die Schuppung besonders stark durch die externe Therapie beeinflussen läßt. Diese wurde in beiden Gruppen gleich gestaltet.

5.5. Perspektiven

Akut-exanthematische Formen der Psoriasis werden häufig mit Kortikosteroiden behandelt. Diese sind sehr hilfreich, aber bei der Behandlung muß oft eine Vielzahl von schwerwiegenden Nebenwirkungen in Kauf genommen werden. Zudem werden nach Absetzen der Medikation häufig Rezidive beobachtet. Andererseits ist der Erfolg einer Behandlung mit Kortikosteroiden ein deutlicher Hinweis auf die Wirksamkeit antiinflammatorischer Therapieansätze bei dieser Erkrankung.

Die intravenöse Applikation von Fischöl-Präparaten könnte in der Akutintervention bei Schuppenflechte eine Ergänzung zu den Kortikosteroiden werden. In der vorliegenden Studie wurde die gute Wirksamkeit einer ω -3-Lipidinfusion aufgezeigt. Gleichzeitig traten keine nennenswerten Nebenwirkungen auf. Es wäre möglich, daß die intravenöse Fischöl-Therapie die Verabreichung von Kortikosteroiden vermeiden hilft. In schweren Fällen, bei denen ω -3-Lipide zur Behandlung möglicherweise nicht ausreichen, könnte die Steroid-Dosis durch eine adjuvante Infusion von Omegavenös verringert werden.

Die vorliegende Studie zeigt die Wirksamkeit der ω -3-Lipidinfusion bei der akut-exanthematischen Form der Schuppenflechte auf. Bei diesem Erscheinungsbild steht die entzündliche Komponente der Erkrankung stärker im Vordergrund als bei den früher untersuchten chronisch-stationären Formen. Ein kausaler Zusammenhang zwischen der klinischen Besserung und der granulozytären Produktion von Leukotrienen konnte im Rahmen dieser Studie zwar nicht bewiesen werden, aber der aktuelle Stand der Forschung zur Pathogenese der Psoriasis läßt es wahrscheinlich erscheinen, daß der Behandlungserfolg auf eine Veränderung des granulozytären Lipidmediator-Profiles zurückzuführen ist. Durch die vermehrte Produktion von Metaboliten der Eicosapentaensäure statt der Arachidonsäure wird das inflammatorische Potential der Granulozyten vermindert. Daher wird sich wahrscheinlich die Wirksamkeit einer Fischöl-Behandlung besonders bei den akuten, stark entzündlichen Formen der Schuppenflechte zeigen.

Die in der vorliegenden Studie beobachteten Besserungen wurden mit einer relativ niedrigen Dosis von ω -3-Lipiden erreicht; zudem fand keine Anpassung an das Körpergewicht der Patienten statt. Es wäre daher denkbar, daß größere Mengen an Fischöl auch schwerere Krankheitsbilder behandelbar werden lassen.

Wie bei einer Behandlung mit Kortikosteroiden wurde auch in dieser Studie ein Auftreten von Rezidiven nach Absetzen der Behandlung beobachtet. Diese Rückfälle traten

jedoch mit einer Latenz von ein bis zwei Wochen auf. Bei zukünftigen Behandlungen könnte mit Beginn der intravenösen Therapie auch eine adjuvante orale Verabreichung von Fischöl-Präparaten begonnen werden. Diese kann dann auch nach Absetzen der Infusionen weitergeführt werden. Es ist denkbar, daß dieses Verfahren hilft, die Häufigkeit von Rezidiven zu vermindern.

Schließlich wäre es möglich, das Konzept einer antiinflammatorischen Intervention mit intravenös verabreichten ω -3-Lipiden auch auf andere entzündliche Erkrankungen, bei denen Granulozyten und Lipidmediatoren eine pathogenetische Rolle spielen, anzuwenden. Der mögliche Erfolg eines solchen Vorgehens wurde bereits an einem Einzelfall einer Patientin mit schwerer Colitis ulcerosa aufgezeigt (Grimminger 1993a). Auch konnte an Ratten bereits gezeigt werden, daß sich mit Infusionen von ω -3-Lipiden die Transplantatabstoßungszeit verlängern läßt (Grimm 1995, Grimminger 1996). Untersuchungen am Menschen liegen hierzu jedoch noch nicht vor. Andere Krankheiten, bei denen eine Verabreichung von ω -3-Lipiden erfolgversprechend sein könnte, sind die atopische Dermatitis, die Wegener-Vaskulitis und die Sepsis.

Neue Ergebnisse deuten an, daß bei diabetischen Ratten die Retinopathie durch Gabe von Fischöl verstärkt werden könnte (Hammes 1996). Dies ist die erste Beschreibung möglicher bedeutsamer negativer Effekte einer Gabe von ω -3-Lipiden. Es erscheint daher angebracht, bis zu einer weiteren Abklärung der beschriebenen Phänomene das Kollektiv der Diabetiker von der Behandlung mit Fischöl auszuschliessen.

Da für das Erreichen genügend hoher Blut- und Gewebespiegel an Eicosapentaensäure die Verabreichung von Fischöl in Form einer Infusion notwendig ist, stellt diese Behandlung einen zusätzlichen Aufwand für die Patienten dar. Das Krankheitsbild der Psoriasis wird in den meisten Fällen ambulant behandelt, und nur schwere Exacerbationen erfordern einen stationären Aufenthalt. Dagegen werden intensivmedizinisch versorgte Patienten häufig parenteral ernährt. Für die Gruppe dieser Patienten könnte sich der Austausch einer konventionellen Lipidquelle gegen eine Fischöl-haltige Infusion im Sinne der pharmakologischen Ernährung als antiinflammatorisches Behandlungskonzept bewähren.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Studie sollte bei Patienten mit Psoriasis vulgaris die Auswirkung einer parenteralen ω -3-Lipidbehandlung auf die granulozytäre Synthese von Lipidmediatoren sowie auf den klinischen Verlauf der Erkrankung untersucht werden.

Zwanzig Patienten mit der Eingangsdiagnose einer akut-exanthematischen Psoriasis vulgaris nahmen im Rahmen des zur Behandlung notwendigen stationären Aufenthaltes an der doppelblind durchgeführten Studie teil. Die Patienten erhielten randomisiert entweder eine Lipidinfusion auf Basis von Sojaöl (Lipovenös; 11 Patienten) oder eine Lipidinfusion auf Basis von Fischöl (Omegavenös; 9 Patienten). Über einen Zeitraum von zehn Tagen wurden täglich 100 ml des jeweiligen Präparates intravenös verabreicht.

Der klinische Befund wurde täglich erhoben. Ärztlich beurteilt wurden die Parameter Erythem, Infiltration und Schuppung. Die Patienten beurteilten die Werte Juckreiz und Wohlbefinden.

Die Freisetzung von Leukotrienen durch Granulozyten nach in vitro-Stimulation mit dem Calcium-Ionophor A 23187 wurde an den Tagen 0, 1, 3, 5, 10 und 40 bestimmt. Zu diesen Terminen wurden auch verschiedene Routine-Laborwerte gemessen, vor allem Triglyceride und Cholesterin im Serum.

In der Gruppe, die Lipovenös erhielt, wurde eine leichte Besserung des Krankheitsbildes beobachtet (um 16-25 % nach 10 Tagen bei allen Score-Systemen). In der Fischöl-Gruppe war dagegen ein erheblich stärkerer Rückgang der Krankheitserscheinungen festzustellen (um 45-76 % nach 10 Tagen bei allen Score-Systemen; $p < 0,05$ bei allen Werten). Bereits nach 4-7 Tagen war zwischen beiden Gruppen ein erheblicher Unterschied festzustellen. Wesentliche Nebenwirkungen wurden in beiden Gruppen nicht beobachtet.

Die klinischen Effekte waren von den im Folgenden genannten Veränderungen im Lipidmediatoren-Profil ex vivo stimulierter neutrophiler Granulozyten begleitet.

In der Omegavenös-Gruppe, nicht dagegen in der Lipovenös-Gruppe, war bei der granulozytären Produktion von 5-Lipoxygenase-Metaboliten der Eicosapentaensäure (LTB₅, dessen oxidative Abbauprodukte, nicht-enzymatische Abbauprodukte des LTA₅ sowie 5-HEPE) ein höchst signifikanter Anstieg auf mehr als das Zehnfache der Ausgangswerte zu verzeichnen ($p < 0,001$). Die freigesetzte Menge der entsprechenden Produkte der Arachidonsäure änderte sich in beiden Gruppen nicht. 30 Tage nach Ende der Therapie entsprach das Profil der Lipidmediatoren wieder dem Zustand vor Beginn der Behandlung.

Diese Ergebnisse lassen folgende Schlußfolgerungen zu:

- 1) Das Lipidmediator-Profil von in vitro stimulierten Granulozyten läßt sich bereits nach drei Tagen deutlich hin zu weniger inflammatorisch wirksamen Mediatoren verändern.
- 2) Die Granulozyten sind bereits nach drei Tagen einer Fischölinfusion in der Lage, nach Stimulation in vitro erhebliche Mengen an Lipoxygenase-Produkten der Eicosapentaensäure freizusetzen, die antiinflammatorische Wirksamkeit besitzen.
- 3) Durch eine intravenöse Verabreichung von ω -3-Lipiden läßt sich das klinische Bild der akut-exanthematischen Psoriasis, beurteilt an Hand der Parameter Schuppung, Rötung und Infiltration, innerhalb weniger Tage günstig beeinflussen. Die ärztlich festgestellte Besserung der Krankheitserscheinungen findet ihre Entsprechung in der subjektiven Beurteilung durch die Patienten. Relevante Nebenwirkungen wurden nicht beobachtet.
- 4) 30 Tage nach Ende der Therapie entspricht das Lipidmediator-Profil wieder dem Zustand vor der ersten Infusion; bei einigen Patienten war in diesem Zeitraum ein Rezidiv der Erkrankung zu beobachten.

Als Perspektive bietet sich die Gabe von Fischöl-haltigen Infusionen an als Ergänzung der Behandlung inflammatorischer Erkrankungen sowie als Kombination von parenteraler Ernährung und antiinflammatorischer Intervention bei Schwerkranken mit hyperinflammatorischen Krankheitsbildern.

7. LITERATURVERZEICHNIS

Abdel-Latif, A.A.: Calcium-mobilizing receptors, polyphosphoinositides and the generation of second messengers (Pharmacol. Rev. 38:227-272, 1986)

Andersen, N.H., C.J. Nartzell und B. De: Chemistry and structure of cyclooxygenase-derived eicosanoids: a historical perspective (Adv. Prost. Thromb. Leukotr. Res. 14:1-44, 1985)

Archer, C.B., C.P. Page, W. Paul, J. Morley und D.M. Mc Donald: Inflammatory characteristics of platelet-activating factor (PAF-acether) in human skin (Br. J. Dermatol. 110:45-50, 1984)

Archer, C.B., C.P. Page, W. Paul, J. Morley und D.M. Mc Donald: Inflammatory cell accumulation in response to intracutaneous PAF-acether: a mediator of acute and persistent inflammation? (Br. J. Dermatol. 113(suppl. 28):133-135, 1985)

Aslan, A., und G. Triadafilopoulos: Fish oil fatty acid supplementation in active ulcerative colitis: a double-blind, placebo-controlled crossover study (Gastroenterology 87:432-437, 1992)

Barker, J.N.W.N.: The pathophysiology of psoriasis (Lancet 338:227-230, 1991)

Barr, R.M., E. Wong, A.I. Mallet, L.A. Olins und M.W. Greaves: The analysis of arachidonic acid metabolites in normal, uninvolved and lesional psoriatic skin (Prostaglandins 28:57-65, 1984)

Bartel, R., C.L. Marcelo, D. Gorsulowsky und J.J. Voorhees: Phospholipase A₂ and C activity in normal, and psoriatic uninvolved and lesional skin (J. Invest. Dermatol. 86:462, 1986)

Bartel, R., C.L. Marcelo und J.J. Voorhees: Partial characterization of phospholipase C activity in normal, psoriatic uninvolved and lesional epidermis (J. Invest. Dermatol. 88:447-451, 1987)

Bauer, F.W., P.C.M. van de Kerkhof und R.M. Maassen-de Grood: Epidermal hyperproliferation following the induction of microabscesses by leukotriene B₄ (Br. J. Dermatol. 114:409-412, 1986)

Bekoch, G.M., und P.W. Reed: Effect of various lipoxygenase metabolites of arachidonic acid on degranulation of polymorphnuclear leukocytes (J. Biol. Chem. 256:5317-5323, 1981)

Benveniste, J.: Platelet-activating factor, a new mediator of anaphylaxis and immune complex deposition from rabbit and human basophils (Nature 249:581-582, 1974)

Bergers, M., P.C. van de Kerkhof, R. Happle und P.D. Mier: Membrane-bound phospholipase C activity in normal and psoriatic epidermis (Arch. Derm. Venereol.70:57-59, 1990)

Berridge, M.J.: Inositol triphosphate and diacylglycerol: two interacting second messengers (Ann. Rev. Biochem. 56:159-193, 1987)

Bisgaard, H., J. Kristensen und J. Søndergaard: The effect of leukotriene C₄ and D₄ on cutaneous blood flow in humans (Prostaglandins 23:797-801, 1982)

Bisgaard, H.J.: Vascular effects of leukotriene D₄ in the human skin (J. Invest. Dermatol. 88:109-114, 1987)

Bittiner, S.B., W.F.G. Tucker, I. Cartwright und S.S. Bleehen: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of fish oil in psoriasis (Lancet I:378-380, 1988)

Bjørneboe, A., A. Klemeyer Smith, G.A. Bjørneboe, P.O. Thune und C.A. Drevon: Effect of dietary supplementation with n-3 fatty acids on clinical manifestations of psoriasis (Br. J. Dermatol. 118:77-83, 1988)

Blackwell, G.J., R. Carnuccio, M. DiRosa, R.J. Flower, L. Parente und P. Persico: Macrocortin: a polypeptide causing the anti-phospholipase effect of glucocorticoids (Nature 287:147-149, 1980)

Blok, W.L., M.B. Katan und J.W. van der Meer: Modulation of inflammation and cytokine production by dietary (n-3) fatty acids (J. Nutr. 126:1515-1533, 1996)

Bonaa, K.H., K.S. Bjerve, B. Straume, I.T. Gram und D. Thelle: Effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on blood pressure in hypertension (N. Engl. J. Med. 322:795-801, 1990)

Brain, S.D., R.D.R. Camp und P.M. Dowd: Psoriasis and leukotriene B₄ (Lancet II:762-763, 1982)

Brain, S.D., R.D.R. Camp, A.K. Black, P.M. Dowd, M.W. Greaves, A.W. Ford-Hutchinson und S. Charleson: Leukotrienes C₄ and D₄ in psoriatic lesions (Prostaglandins 29:611-619, 1985)

Braun-Falco, O., und C. Schmoeckel: The dermal inflammatory reaction in initial psoriatic lesions (Arch. Derm. Res. 258:9-16, 1977)

Brom, J., W. König, M. Stüning, M. Raulf und M. Köller: Characterization of leukotriene B₄-omega-hydroxylase activity within polymorphonuclear granulocytes (J. Immunol. 25:283-294, 1987)

Brom, J., W. Schönfeld und W. König: Metabolism of leukotriene B₄ by activated human polymorphonuclear granulocytes (Immunology 64:509-518, 1988)

Calder, P.C., J.A. Bond, D.J. Harvey, S. Gordon und E.A. Newsholme: Uptake and incorporation of saturated and unsaturated fatty acids into macrophage lipids and their effect upon macrophage adhesion and phagocytosis (Biochem. J. 269:807-814, 1990)

Calder, P.C., S.J. Bevan und E.A. Newsholme: The inhibition of T-lymphocyte proliferation by fatty acids via an eicosanoid-independent mechanism (Immunology 75:108-112, 1992)

Camp, R.D.R., R.R. Jones, S.D. Brain, P. Woollard und M.W. Greaves: Production of intradermal microabscesses by topical application of leukotriene B₄ (J. Invest. Dermatol. 82:202-204, 1984)

Carafoli, E.: Intracellular calcium homeostasis (Ann. Rev. Biochem. 56:395-433, 1987)

Chapkin, R.S., V.A. Ziboh, C.L. Marcelo und J.J. Voorhees: Enzyme preparations from human epidermis lack the capacity to transform linoleic acid (18:2, n6) and gammalinoic acid (20:3, n6) into arachidonic acid (20:4, n6) (J. Lipid Res. 26:348, 1985)

Chilton, F.H., J.S. Hadley und R.C. Murphy: Incorporation of arachidonic acid into 1-acyl-2-lyso-sn-glycero-3-phosphocholine of the human neutrophil (Biochim. Biophys. Acta 917:48-56, 1987)

Clancy, R.M., C.A. Dahinden und T.E. Hugli: Oxidation of leukotrienes at the omega end: demonstration of a receptor for the 20-hydroxy derivate of leukotriene B₄ on human neutrophils and implications for the analysis of leukotriene receptors (Proc. Natl. Acad. Sci USA 81:5729-5733, 1984)

Croft, K.D., M.J. Sturm, J.P. Codde, R. Vandongen und L.J. Beilin: Dietary fish oil reduce plasma levels of platelet activating factor precursor (lyso-PAF) in rats (Life Sci. 38:1875-1882, 1986)

Cunningham, F.M., und P.M. Woollard: 12(R)-hydroxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid is a chemoattractant for human polymorphonuclear leukocytes in vitro (Prostaglandins 34:71-78, 1987)

Dahlén, S.E., J. Björk, P. Hedqvist, K.E. Arfors, S. Hammarström, J.A. Lindgren und B. Samuelsson: Leukotrienes promote plasma leakage and leukocyte adhesion in postcapillary venules: in vivo effects with relevance to the acute inflammatory response (Proc. Natl. Acad. Sci. 78:3887-3891, 1981)

Davidson, F., F.E.A. Dennis, M. Powell und J.R. Glenny Jr.: Inhibition of phospholipase A₂ by „lipocortins“ and calpactins: an effect of binding to substrate phospholipids (J. Biol. Chem. 262:1698-1705, 1987)

Davies, P., P.J. Bailey, M.M. Goldenberg und A.W. Ford-Hutchinson: The role of arachidonic acid oxygenation products in pain and inflammation (Ann. Rev. Immunol. 2:335-357, 1984)

Dayer, J., D.R. Robinson und S.M. Krane: Prostaglandin production by rheumatoid synovial cells: stimulation by a factor from human mononuclear cells (J. Exp. Med. 145:1399-1404, 1977)

Dehmer, G.J., J.J. Popma, E.K. van den Berg, E.J. Eichhorn, J.B. Prewitt, W.B. Campbell, L. Jennings, J.T. Willerson und J.M. Schmitz: Reduction in the rate of early restenosis after coronary angioplasty by a diet supplemented with n-3 fatty acids (N. Engl. J. Med. 319:733-740, 1988)

Denzlinger, C., A. Guhlmann, P.H. Scheuber, D. Wilker, D.K. Hammer und D. Keppler: Metabolism and analysis of cysteinyl leukotrienes in the monkey (J. Biol. Chem. 261:15601-15606, 1986)

Dyerberg, J., H.O. Bang und N. Hjörne: Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos (Am. J. Clin. Nutr. 28:958-966, 1975)

Dyerberg, J., und H.O. Bang: Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos (Lancet 2(8140):433-435, 1979)

Endres, S., V.E. Kelley und C.A. Dinarello: Effects of dietary omega 3 fatty acids on the in vitro production of human interleukine (J. Leukocyte Biol. 42:617, 1987)

Endres, S., R. Ghorbani, V.E. Kelley, K. Georgilis, G. Lonnemann, J.W.M. van der Meer, J.G. Rogers, M.S. Klempner, P.C. Weber, E.J. Schaefer, S.M. Wolff und C.A. Dinarello: The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells (New Engl. J. Med. 320:265-271, 1989)

Feldberg, W., und C.H. Kellaway: Liberation of histamine and formation of lysocithin-like substances by cobra venom (J. Physiol. 94:187-226, 1938)

Fierlbeck, G., G. Rassner und C. Muller: Psoriasis induced at the injection site of recombinant interferon gamma (Arch. Dermatol. 126:351-355, 1990)

Fischer, S., und P.C. Weber: Prostaglandin I₃ is formed in vivo in man after dietary eicosapentaenoic acid (Nature 307:168-171, 1988)

Fisher, G.J., H.S. Talwar, J.J. Baldassare, P.A. Henderson und J.J. Voorhees: Increased phospholipase C-catalyzed hydrolysis of phosphatidyl inositol-4,5-bisphosphate and 1,2-sn-diacylglycerol in psoriatic involved compared to uninvolved and normal epidermis (J. Invest. Dermatol. 95:428-435, 1990)

Fogh, K., C.G. Larsen, L. Iversen und K. Kragballe: Interleukin-8 stimulates the formation of 15-hydroxyeicosatetraenoic acid by human neutrophils in vitro (Agents Actions 35:227-231, 1992)

Ford-Hutchinson, A.W., M.A. Bray, M.V. Doig, M.E. Shipley und M.J.H. Smith: Leukotriene B, a potent chemokinetic and aggregating substance released from polymorphonuclear leukocytes (Nature, 286:264-265, 1980)

Ford-Hutchinson, A.W.: Leukotrienes: their formation and role as inflammatory mediators (Fed. Proc. 44:25-29, 1985)

Forster, S., E. Ilderton, R. Summerly und H.J. Yardley: The level of phospholipase A₂ activity is raised in the uninvolved epidermis of psoriasis (Br. J. Dermatol. 108:103-105, 1983)

Gallant, C., und P. Kenny: Oral glucocorticoids and their complications. A review (J. Am. Acad. Dermatol. 14:161-177, 1986)

Garden, J.M., und R.K. Freinkel: Systemic absorption of topical steroids (Arch. Dermatol. 122:1007-1010, 1986)

Gillitzer, R., R. Berger, V. Mielke, C. Müller, K. Wolff und G. Stingl: Upper keratinocytes of psoriatic skin lesions express high levels of NAP-1 / IL-8 mRNA in situ (J. Invest. Dermatol. 97:73-79, 1991)

Godessart, N., L. Vila, L. Puig und J. Ma de Moregas: Interleukin-1 increases 15-hydroxyeicosatetraenoic acid production in human dermal fibroblasts (J. Invest. Dermatol. 102:98-104, 1994)

Goldman, D.W., W.C. Pickett und E.J. Goetzl: Human neutrophil chemotactic and degranulating activities of leukotriene B₅ (LTB₅) derived from eicosapentaenoic acid (Biophys. Biochem. Res. Commun. 117:282-288, 1983)

Goldman, D.W., und E.J. Goetzl: Heterogeneity of human polymorphnuclear receptors for LTB₄ (J. Exp. Med. 159:1027-1041, 1984)

Goldman, D.W.: Regulation of the receptor system for Leukotriene B₄ on human neutrophils (Ann. NY Acad. Sci. 524:187-195, 1988)

Goodwin, P., S. Hamilton und L. Fry: A comparison between DNA synthesis and mitosis in uninvolved and involved psoriatic epidermis and normal epidermis (Br. J. Dermatol. 89:613-618, 1973)

Grabbe, J., B.M. Czarnetzki und M. Mardin: Chemotactic leukotrienes in psoriasis (Lancet II:1464, 1982)

Grabbe, J., B.M. Czarnetzki, T. Rosenbach und M. Mardin: Identification of chemotactic lipoxygenase products of arachidonate metabolism in psoriatic skin (J. Invest. Dermatol. 82:477-179, 1984)

Greaves, M.W.: Pharmacology and significance of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the treatment of skin diseases (J. Am. Acad. Dermatol. 16:751-764, 1987)

Grimm, H., A. Tibell, B. Norrind, J. Schott, R.M. Bohle, C. Papavassilis, D. Führer, K. Mayer und F. Grimminger: Immunsuppressivität parenteraler Fetteulsionen mit definierter Immunstimulation (Infusionstherapie und Transfusionsmedizin 22:110-116, 1995)

Grimminger, F., G. Becker und W. Seeger: High yield enzymatic conversion of intravascular LTA₄ in blood-free perfused lungs (J. Immunol. 141:2431-2436, 1988a)

Grimminger, F., M. Menger, G. Becker und W. Seeger: Potentiation of leukotriene generation following sequestration of neutrophils in isolated lungs (Blood 72:1687-1692, 1988b)

Grimminger, F., U. Sibelius, K. Aktories und W. Seeger: Inhibition of cytoskeletal rearrangement by Botulinum C₂ toxin amplifies ligand-evoked lipid mediator generation in human neutrophils (Mol. Pharmacol. 40:563-571, 1991a)

Grimminger, F., U. Sibelius, S. Bakhdi, N. Suttorp und W. Seeger: Escherichia coli hemolysin-induced secretory responses and PAF generation in human neutrophils is related to phosphoinositide hydrolysis (J. Clin. Invest. 88:1531-1539, 1991b)

Grimminger, F., U. Dürr und W. Seeger: Ligand-operated synthesis of 4-series and 5-series leukotrienes in human neutrophils: critical dependence on exogenous free fatty acid supply (Mol. Pharmacol. 41:757-766, 1992)

Grimminger, F., D. Führer, C. Papavassilis, E. Schlotzer, K. Mayer, K.-U. Heuer, L. Kiss, D. Walmrath, S. Piberhofer, F. Lübbecke, H.-J. Krämer, J. Stevens, G. Schütterle und W. Seeger: Influence of intravenous n-3 lipid supplementation on fatty acid profiles and lipid mediator generation in a patient with severe ulcerative colitis (Eur. J. Clin. Invest. 23:706-715, 1993a)

Grimminger, F., K. Mayer, H.-J. Krämer, J. Stevens, D. Walmrath und W. Seeger: Differential vasoconstrictor potencies of free fatty acids in the lung vasculature: 2- versus 3-series prostanoid generation (J. Pharmacol. Exp. Ther. 267:259-265, 1993b)

Grimminger, F., H. Grimm, D. Führer, C. Papavassilis, G. Lindemann, C. Blecher, K. Mayer, F. Tabesch, H.-J. Krämer, J. Stevens und W. Seeger: ω-3 Lipid Infusion in a Heart Allograft Model - Shift in Fatty Acid and Lipid Mediator Profiles and Prolongation of Transplant Survival (Circulation 93:365-371, 1996)

Grossmann, R.M., J. Krüger, D. Yourish, A. Granelli-Piperno, D.P. Murphy, L.T. May, T.S. Kupper, P.B. Sehgal und A.B. Gottlieb: Interleukin 6 is expressed in high levels in psoriatic skin and stimulates proliferation of cultured human keratinocytes (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:6367-6371, 1989)

Gryglewski, R.J., S. Bunting, S. Moncada, R.J. Flower und J.R. Vane: Arterial walls are protected against deposition of platelet thrombi by a substance (prostaglandin X) which they make from prostaglandin endoperoxides (Prostaglandins 12:685-713, 1976)

Gupta, A.K., C.N. Ellis, D.C. Tellner, T.F. Anderson und J.J. Voorhees: Double-blind, placebo-controlled study to evaluate the efficacy of fish oil and low-dose UVB in the treatment of psoriasis (Br. J. Dermatol. 120:801-807, 1989)

Hagmann, W., C. Denzlinger, S. Rapp, G. Weckbecker und D. Keppler: Identification of the major leukotriene metabolite in the bile of rats as n-acetyl leukotriene E₄ (Prostaglandins 31:239-241, 1986)

Halloran, P., T. Batiuk und N. Goes: An overview of the cytokines in transplantation (Transplantation Science 2:69-76, 1993)

Hamazaki, T.: Intravenous infusion of n-3 polyunsaturated fatty acids (Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 200:171-173, 1992)

Hammarström, S., S. Hamberg, B. Samuelsson, E. Duell, M. Stawiski und J.J. Voorhees: Increased concentrations of nonesterified arachidonic acid, 12L-hydroxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid, prostaglandin E₂, and prostaglandin F_{2α} in epidermis of psoriasis (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72:5130-5134, 1975)

Hammarström, S., M. Hamberg, E.A. Duell, M.A. Stawiski, T.F. Anderson und J.J. Voorhees: Glucocorticoid inflammatory proliferative skin disease reduces arachidonic and hydroxyeicosatetraenoic acids (Science 197:994-996, 1977)

Hammarström, S.: Leukotrienes (Ann. Rev. Biochem. 52:355-377, 1983)

Hammes, H.-P., A. Weiss, D. Führer, H.J. Krämer, C. Papavassilis und F. Grimminger: Acceleration of experimental diabetic retinopathy in the rat by omega-3 fatty acids (Diabetologia 39:251-255, 1996)

Hanahan, D.J., C.A. Demopoulos, J. Liehr und R.N. Pinckard: Identification of platelet activating factor isolated from rabbit basophils as acetyl glyceryl ether phosphorylcholine (J. Biol. Chem. 255:5514-5516, 1980)

Hanahan, D.J.: Platelet activating factor: A biologically active phosphoglyceride (Ann. Rev. Biochem. 55:483-509, 1986)

Heidel, J.R., S.M. Taylor, W.W. Laegreid, R.M. Silflow, H.D. Liggit und R.W. Leid: In vivo chemotaxis of bovine neutrophils induced by 5-Lipoxygenase metabolites of arachidonic and eicosapentaenoic acid (Am. J. Pathol. 134:671-676, 1989)

van der Heide, J.J.H., H.J.G. Bilo, J.M. Donker, J.M. Wilmink und M. Tegzess: Effect of dietary fish oil on renal function and rejection in cyclosporine-treated recipients of renal transplants (N. Engl. J. Med. 329:769-773, 1993)

Hell, E., und C. Hodgson: The uptake of ³H-thymidine by epidermal cells in normal and psoriatic subjects (Br. J. Dermatol. 78:262-268, 1966)

Hirschmann, J.V.: Some principles of systemic glucocorticoid therapy (Clin. Exp. Dermatol. 11:27-33, 1986)

Hong, S.C.L., und L. Levine: Inhibition of arachidonic acid release from cells as the biochemical action of anti-inflammatory corticosteroids (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 73:1730-1734, 1976)

Hjorth, R., A.-K. Jonson und P. Vretblad: A rapid method for purification of human granulocytes using Percoll®. A comparison with dextran sedimentation (J. Immunol. Methods 43:95-101, 1981)

Isakson, P.C., A. Raz, S.E. Denny, E. Pure und P. Needleman: A novel prostaglandin is the major product of arachidonic acid metabolism in rabbit heart (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74:101-105, 1977)

Iversen, L., K. Fogh, V.A. Ziboh, P. Kristensen, A. Schmedes und K. Kragballe: Leukotriene B₄ formation during human neutrophil keratinocyte interactions: evidence for transformation of leukotriene A₄ by putative keratinocyte leukotriene A₄ hydrolase (J. Invest. Dermatol. 100:293-298, 1993)

Jablonska, S., O. Chowaniec, E.H. Beutner, E. Maciejowska, M. Jarzabek-Chorzelska und G. Rzeska: Stripping of the stratum corneum in patients with psoriasis (Arch. Dermatol. 118:652-657, 1982)

Jakschik, B.A., A.R. Sams, H. Sprecher und P. Needleman: Fatty acid structural requirement for leukotriene biosynthesis (Prostaglandins 20:401-410, 1980)

Kehrl, J.H., und A.S. Fauci: The clinical use of glucocorticoids (Ann. Allergy, 50:2-8, 1983)

van de Kerkhof, P.C.M., und A. Chang: Migration of polymorphonuclear leukocytes in psoriasis (Skin Pharmacol. 2:138-154, 1990)

Kettler, A.H., R.E. Baughn, I.F. Orengo, H. Black und J.E. Wolf: The effect of dietary fish oil supplementation on psoriasis. Improvement in a patient with pustular psoriasis (J. Am. Acad. Dermatol. 88:1267-1273, 1988)

Knapp, H.R., und G.A. FitzGerald: The antihypertensive effect of fish oil (N. Engl. J. Med. 320:1037-1043, 1989)

Kojima, T., T. Terano, E. Tanabe, S. Okamoto, Y. Tamura und S. Yoshida: Effect of highly purified eicosapentaenoic acid on psoriasis (J. Am. Acad. Dermatol. 21:150-151, 1989)

Kojima, T., T. Terano, E. Tanabe, S. Okamoto, Y. Tamura und S. Yoshida: Long-term administration of highly purified eicosapentaenoic acid provides improvement of psoriasis (Dermatologica 182:225-230, 1991)

Kragballe, K., L. Desjarlais und J.J. Voorhees: Leukotriene B₄, C₄ and D₄ stimulate DNA synthesis in cultured human epidermal keratinocytes (Br. J. Dermatol. 113:43-52, 1985)

Kragballe, K., J.J. Voorhees und E.J. Goetzi: Inhibition by leukotriene B₅ of leukotriene B₄-induced activation of human keratinocytes and neutrophils (J. Invest. Dermatol. 88:555-558, 1987)

Kragballe, K., und K. Fogh: A low-fat diet supplemented with dietary fish oil (Max-EPA) results in improvement of psoriasis and formation of leukotriene B₅ (Acta Dermatol. Venereol. Stockh. 69:23-28, 1989)

- Kremer, J.M., W. Jubiz, A. Michalek, R.I. Rynes, L.E. Bartholomew, J. Bigaouette, M. Timchalk, D. Beeler und L. Lininger: Fish-oil fatty acid supplementation in active rheumatoid arthritis (Ann. Intern. Med. 106:497-502, 1987)
- Lassus, A., A.L. Dahlgren, M.J. Halpern, J. Snatalahti und H.P. Happonen: Effects of dietary supplementation with polyunsaturated ethyl ester lipids (Angiosan) in patients with psoriasis and psoriatic arthritis (J. Int. Med. Res. 18:68-73, 1990)
- Linker, U., M. Ständer und K. Oette: Besserung klinischer Symptome durch Fischöl (Akt. Dermatol. 17:70-74, 1991)
- Leaf, A., und P.C. Weber: Cardiovascular effects of n-3 fatty acids: medical progress (New Engl. J. Med. 318:549-557, 1988)
- Lee, C.W., R.A. Lewis, E.J. Corey, A. Barton, H. Oh, A.I. Tauber und K.F. Austen: Oxidative inactivation of leukotriene C₄ by stimulated polymorphonuclear leukocytes (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79:4166-4170, 1982)
- Lee, T.H., J.M. Mencia-Huerta, C. Shih, E.J. Corey, R.A. Lewis und K.F. Austen: Characterization and biologic properties of 5,12-dihydroxy-derivatives of eicosapentaenoic acid, including leukotriene B₅ and the double lipoxygenase products (J. Biol. Chem. 259:2383-2389, 1984)
- Lee, T.H., R.L. Hoover, J.D. Williams, R.I. Sperling, J. Ravalese, D.R. Robinson, E.J. Corey, R.A. Lewis und K.F. Austen: Effect of dietary enrichment with eicosapentaenoic acid on in vitro neutrophil function (N. Engl. J. Med. 312:1217-1233, 1985)
- Lee, T.H., T. Sethi, A.E. Crea, W. Peters, J.P. Arm, C.E. Horton, M.J. Walport und B.W. Spur: Characterization of leukotriene B₃: Comparison of its biological activities with leukotriene B₄ and leukotriene B₅ in complement receptor enhancement, lysozyme release and chemotaxis of human neutrophils (Clin. Sci. 74:467-475, 1988)
- Lew, P.D.: Receptors and intracellular signaling in human neutrophils (Am. Rev. Resp. Dis. 141:S127-S131, 1990)
- Lin, A.H., P.L. Ruppel und R.R. Gorman: Leukotriene B₄ binding to human neutrophils (Prostaglandins 28:837-849, 1984)
- Lindholm, M., J.O. Eklund, B. Hamberger und P.-O. Järnberg: Plasma catecholamine and free fatty acid levels during infusion of lipid emulsion in critically ill patients (Crit. Care Med. 12:953-956, 1984)
- Lorenz, R., P.C. Weber, P. Szimnau, W. Heldwein, T. Strasser und K. Loeschke: Supplementation with n-3 fatty acids from fish oil in chronic inflammatory bowel disease - a randomized, placebo-controlled, double-blind cross-over trial (J. Intern. Med. 225:757-766, 1989)
- Majerus, P.W., T.M. Connolly, H. Deckmyn, T.S. Ross, T.E. Bross, H. Ishii, V.S. Bansal und D.B. Wilson: The metabolism of phosphoinositide-derived messenger molecules (Science 234:1519-1526, 1986)

Malle, E., H.J. Leis, I. Karadi und G.M. Kostner: Lipoxygenases and hydroperoxy / hydroxy-eicosatetraenoic acid formation (Int. J. Biochem. 19:1013-1023, 1987)

Mallet, A.I., und F.M. Cunningham: Determination of platelet activating factor in psoriasis (Br. J. Dermatol. 111(suppl):706, 1984)

Mallet, A.I., und F.M. Cunningham: Structural identification of platelet activating factor in psoriatic scale (Biochem. Biophys. Res. Comm. 126:192-198, 1985)

Mascioli, E., L. Leader, E. Flores, S. Trimbo, B. Bistran und G. Blackburn: Enhanced survival to endotoxin in guinea pigs fed iv fish oil emulsion (Lipids, 23:623-625, 1988)

Mascioli, E.A., S. Lopes, S. Randall, K.A. Porter, G. Kater, Y. Hirschberg, V.K. Babayan, B.R. Bistran und G.L. Blackburn: Serum fatty acid profiles after intravenous medium chain triglyceride administration (Lipids 24:793-798, 1989)

Mathews, W.R., J. Rokach und R.C. Murphy: Analysis of leukotrienes by high-pressure liquid chromatography (Analyt. Biochem 118:96-101, 1981)

Maurice, P.D., B.R. Allen, A.S. Barkley, S.R. Cockbill, J. Stammers und P.C. Bather: The effects of dietary supplementation with fish oil in patients with psoriasis (Br. J. Dermatol. 117:599-606, 1987)

Mayser, P., A. Langrock, C. Papavassilis, L. Kiss, W.B. Schill und F. Grimminger: 4-series and 5-series eicosanoid formation during human neutrophil/keratinocyte interactions: Role of exogenous free fatty acid supply (Arch. Dermatol. Res. 286:A199, 1994)

Metz, S.A., M.E. Hall, T.W. Harper und R.C. Murphy: Rapid extraction of leukotrienes from biologic fluids and quantitation by high-performance liquid chromatography (J. Chromatography 233:193-201, 1982)

Michel, L., und L. Dubertret: Leukotriene B₄ and platelet-activating factor in human skin (Arch. Dermatol. Res. 284(suppl. 1):S12-S17, 1992)

Mueller, H.W., J.T. O'Flaherty und R.L. Wykle: Biosynthesis of platelet activating factor in rabbit polymorphonuclear neutrophils (J. Biol. Chem. 258:6213-6218, 1983)

Murphy, R.C., S. Hammarström und B. Samuelsson: Leukotriene C: A slow reacting substance from murine mastocytoma cells (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76:4275-4279, 1979)

Needleman, P., A. Raz, M.S. Minkes, J.A. Ferrendelli und H. Sprecher: Triene prostaglandins: prostacyclin and thromboxane biosynthesis and unique biological properties (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76:944-951, 1979)

Needleman, P., A. Raz, B.A. Jakschik, A.B. Morrison und J.B. Lefkowitz: Arachidonic acid metabolism (Ann. Rev. Biochem. 55:69-102, 1986)

Neuner, P., A. Urbanski, F. Trautinger, A. Moller, R. Kirnbauer, A. Kapp, E. Schopf, T. Schwarz und T.A. Luger: Increased IL-6 production by monocytes and keratinocytes in patients with psoriasis (J. Invest. Dermatol. 97:27-33, 1991)

Örning, L., L. Kaijser und S. Hammarström: In vivo metabolism of leukotriene C₄ in man: urinary excretion of leukotriene E₄ (Biochem. Biophys. Res. Commun. 130:214-220, 1985)

O'Flaherty, J.T.: Neutrophil degranulation: evidence pertaining to its mediation by the combined effects of leukotriene B₄, platelet activating factor and 5-HETE (J. Cell Phys. 122:229-239, 1985)

Ohta, Y., S. Nishiyama und K. Nishioka: In situ expression of interleukin-6 in psoriatic epidermis during treatment (J. Dermatol. 21:301-307, 1994)

Omman, G.M., R.A. Allen, G.M. Bokock, R.G. Painter, A.F. Traynor und L.A. Sklar: Signal transduction and cytoskeletal activation in the neutrophil (Physiol. Rev. 67:285-313, 1987)

Palmblad, J., C.L. Malmsten, A.M. Udén, Olof Radmark, L. Engstedt und B. Samuelsson: Leukotriene B₄ is a potent and stereospecific stimulator of neutrophil chemotaxis and adherence (Blood 58:658-661, 1981)

Peterson, J., B.E. Bihain, G. Bengtsson-Olivecrona, R.J. Deckelbaum, Y.A. Carpenter und T. Olivecrona: Fatty acid control of lipoprotein lipase: A link between energy metabolism and lipid transport (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:909-913, 1990)

Piper, P.J.: Formation and action of leukotrienes (Physiol. Rev. 64:744-761, 1984)

Prescott, S.M.: The effect of eicosapentaenoic acid on leukotriene B production in human neutrophils (J. Biol. Chem. 250:7615-7622, 1985)

Prescott, S.M., G.A. Zimmerman und A.R. Morrison: The effects of a diet rich in fish oil on human neutrophils: identification of leukotriene B₅ as a metabolite (Prostaglandins 30:209-227, 1985b)

Ragaz, A., und A.B. Ackerman: Evolution, maturation, and regression of lesions of psoriasis: New observations and correlations of clinical and histologic findings (Am. J. Dermatopathol. 1:199-214, 1979)

Ramesha C.S., und W.C. Pickett: Metabolism of platelet-activating factor by arachidonic acid-depleted rat polymorphonuclear leukocytes (J. Biol. Chem. 262:1698-1705, 1986a)

Ramesha C.S., und W.C. Pickett: Platelet-activating factor and leukotriene biosynthesis is inhibited in polymorphonuclear leukocytes depleted of arachidonic acid (J. Biol. Chem. 261:15519-15523, 1986b)

Rasmussen, H., und P.Q. Barrett: Calcium messenger system: an integrated view (Physiol. Rev. 64:938-984, 1984)

Reis, G.J., T.M. Boucher, M.E. Sipperly, D.I. Silverman, C.H. McCabe, D.S. Baim, F.M. Sacks, W. Grossman und R.C. Pasternak: Randomised trial of fish oil for prevention of restenosis after coronary angioplasty (Lancet 2(8656):177-181, 1989)

Reusch, M.K., M. Studtmann, J.-M. Schröder, M. Sticherling und E. Christophers: NAP-1 / IL-8 is a potent mitogen for human keratinocytes in vitro (J. Invest. Dermatol. 95:485, 1990)

Rola-Pleszczynski, M.: Differential effects of leukotriene B₄ on T4+ and T8+ lymphocyte phenotype and immunoregulatory functions (J. Immunol. 135:1357-1360, 1985a)

Rola-Pleszczynski, M., und I. Lemaire: Leukotrienes augment interleukin-1 production by human monocytes (J. Immunol. 135:3958-3960, 1985b)

Rola-Pleszczynski, M., P.A. Chavillaz und I. Lemaire: Stimulation of the interleukin-2 and interferon gamma production by leukotriene B₄ in human lymphocyte cultures (Prostaglandins Leukot. Med. 23:207-210, 1985c)

Ruzicka. T.: The physiology and pathophysiology of eicosanoids in the skin (Eicosanoids 1:59-72, 1988)

Salmon, J.A., P.M. Simmons und P.M.J. Palmer: A radioimmunoassay for LTB₄ (Prostaglandins 24:225-228, 1982)

Samuelsson, B.: Leukotrienes - mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation (Science 220:568-575, 1983)

Samuelsson, B., und C.D. Funk: Enzymes involved in the biosynthesis of leukotriene B₄ (J. Biol. Chem. 264:19469-19472, 1989)

Sandborg, R.R., und J.E. Smolen: Biology of disease - early biochemical events in leukocyte activation (Lab. Invest. 59:300-320, 1988)

von Schacky, C., C. Fahrner und S. Fischer: Catabolism of leukotriene B₅ in humans (J. Lipid Res. 31:1831-1838, 1990)

Schena, D., G.C. Chiericato, M. de Gironcoli, D. Girelli, O. Olivieri, A.M. Stanzial, R. Corrocher, A. Bassi, S. Ferrari, P. Perazzoli et al.: Increased erythrocyte membrane arachidonate and platelet malondialdehyde (MDA) production in psoriasis: normalization after fish-oil (Acta Derm. Venerol. Stockholm Suppl. 146:42-44, 1989)

Schröder, J.M.: The monocyte-derived neutrophil activating peptide (NAP/Interleukin-8) stimulates human neutrophil arachidonate-5-lipoxygenase, but not the release of cellular arachidonate (J. Exp. Med. 170:847-863, 1989)

Schulz, B.S., G. Michel, S. Wagner, R. Suss, A. Beetz, R.U. Peter, L. Kemeny und T. Ruzicka: Increased expression of epidermal IL-8 receptor in psoriasis. Down regulation by FK-506 in vitro (J. Immunol. 151:4399-4406, 1993)

Seeger, W., M. Bauer und S. Bhakdi: Staphylococcal alpha-toxin elicits hypertension in isolated rabbit lungs: evidence for thromboxane formation and the role of extracellular calcium (J. Clin. Invest. 74:849-858, 1984)

Siegel, M.I., R.T. McConnell, R.W. Bonser und P Cuatrecasas: The lipoxygenase product 5-HETE augments chemotactic peptide-stimulated arachidonic-acid release from HL60-granulocytes (Biochem. Biophys. Res. Commun. 104:874-881, 1982)

Snyderman, R. (editor): Regulation of leukocyte function. Vol. 14 In: Contemporary Topics in Immunobiology, Plenum Press, N.Y. and London, 1984

Soberman, R.J., J.P.Sutyak, R.T. Okita, D.F. Wendelborn, L.J. Roberts und K.F. Austen: The identification of 20-aldehyde leukotriene B₄ (J. Biol. Chem. 263:7996-8002, 1988)

Solá, J., N. Godessart, L. Vila, L. Puig und J.M. de Moragas: Epidermal cell-polymorphonuclear leukocyte cooperation in the formation of leukotriene B₄ by transcellular biosynthesis (J. Invest. Dermatol. 98:333-339, 1992)

Soyland, E., J. Funk, G. Rajki, M. Sandberg, P. Thune, L. Rustad, S. Helland, K. Middelfart, S. Odu, E.S. Falk et al.: Effect of dietary supplementation with very long chain n-3 fatty acids in patients with psoriasis (New Engl. J. Med. 328:1812-1816, 1993)

Soyland, E., M.S. Nenseter, L.R. Braathen und C.A. Drevon: Very long chain n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids inhibit proliferation of human T-lymphocytes in vitro (Eur. J. Clin. Invest. 22:112-121, 1993)

Stenson, W.F., D. Cort, J. Rodgers, R. Burakoff, K. DeSchryver-Keccskemeti, T.L. Gramlich und W. Beeken: Dietary supplementation with fish oil in ulcerative colitis (Ann. Intern. Med. 116:609-614, 1992)

Stenson, W.R., und C.W. Parker: Metabolism of arachidonic acid in ionophore-stimulated neutrophils: esterification of a hydroxylated metabolite into phospholipids (J. Clin. Invest. 64:1457-1465, 1979)

Strasser, T., S. Fischer und P.C. Weber: Leukotriene B₅ is formed in human neutrophils after dietary supplementation with icosapentaenoic acid (Proc. Natl. Acad. Sci. 82:1540-1543, 1985)

van der Tempel, H., J.E. Tulleken, P.C. Limburg, F.A.J. Muskiet und M.H. Rijswijk: Effect of fosh oil supplementaion in rheumatoid arthritis (Ann. Rheum. Dis. 49:76-80, 1990)

Teranishi, Y., H. Mizutani, M. Murata, M. Shimizu und K. Matsushima: Increased spontaneous production of IL-8 in peripheral blood monocytes from the psoriatic patient: relation to focal infection and response to treatment (J. Dermatol. Sci. 10:8-15, 1995)

Terano, T., J.A. Salmon und S. Moncada: Biosynthesis and biological activity of leukotriene B₅ (Prostaglandins 27:217-232 , 1984)

Urakaze, M., T. Hamazaki, M. Makuta, F. Ibuki, S. Kobayashi, S. Yano und A. Kumagai: Infusion of fish oil emulsion: effects on platelet aggregation and fatty acid composition in phospholipids of plasma, platelets, and red blood cell membranes in rabbits (Am. J. Clin. Nutr. 46:936-940, 1987)

Vanderhoek, J.Y., R.W. Bryant und J.M. Bailey: Inhibition of leukotriene biosynthesis by the leukocyte product 15-HETE (J. Biol. Chem. 255:10064-10065, 1980)

Vane, J.R.: Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs (Nature New Biol., 231:232-235, 1971)

Venable, M.E., G.A. Zimmermann, T.M. McIntyre und S.M. Prescott: Platelet-activating factor: a phospholipid autacoid with diverse actions (J. Lipid Res. 34:691-702, 1993)

Verhagen, A., M. Bergers, P.E. van Erp, J.M. Gommans, P.C. van de Kerkhof und P.D. Mier: Confirmation of raised phospholipase A2 activity in the uninvolved skin of psoriasis (Br. J. Dermatol. 110:731-732, 1984)

Wade, B.H., und G.L. Mandell: Polymorphnuclear leukocytes: dedicated professional phagocytes (Am. J. Med. 74:686-693, 1983)

Weber, P.C., S. Fischer, C. v. Schacky, R. Lorenz und T. Strasser: The conversion of dietary eicosapentaenoic acid to prostaglandins and leukotrienes in man (Prog. Lipid Res. 25:273.276, 1986)

Weller, P.F., C.W. Lee, D.W. Foster, E.J. Corey, K.F. Austen und R.A. Lewis: Generation and metabolism of 5-lipoxygenase pathway leukotrienes by human eosinophils - predominant production of leukotriene C₄ (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:7626-7630, 1983)

Yamaoka, K.A., H.E. Claesson und A. Rosen: Leukotriene B₄ enhances activation, proliferation and differentiation of human B lymphocytes (J. Immunol. 143:1996-2000, 1989)

Yamashita, N., M. Maruyama, K. Yamazaki, T. Hamazaki und S. Yanno: Effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on natural killer cell activity in human peripheral blood lymphocytes (Clin. Immunol. Immunopathol. 59:335-345, 1991)

Yamazaki, K., T. Hamazaki, S. Yano, T. Funada und F. Ibuki: Changes in fatty acid composition in rat blood and organs after infusion of docosahexaenoic acid ethyl ester (Am. J. Clin. Nutr. 53:620-627, 1991)

Ziboh, V.A., K.A. Cohn und C.N. Ellis: Effect of dietary supplementation of fish oil on neutrophil and epidermal fatty acids: modulation of clinical course of psoriatic subjects (Arch. Dermatol. 122:1277-1282, 1986)

LEBENS LAUF

Name: Charis Papavassilis
geboren: 13. April 1969 in Freiburg im Breisgau
Nationalität: deutsch
Familienstand: ledig

Schulbesuch

1975 bis 1977 Grundschule in Münster in Westfalen
1977 bis 1979 Grundschule in Emsdetten
1979 bis 1981 Gymnasium Martinum in Emsdetten
1981 bis 1988 Freiherr-vom-Stein-Gymnasium in Münster in Westfalen;
Abschluß mit Abitur

Studium

1988 bis 1995 Studium der Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität in Gießen
SS 1989 Aufnahme in die Studienstiftung des deutschen Volkes; Förderung bis zum Endes des Studiums
19.09.1990 Ärztliche Vorprüfung
29.08.1991 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
11.04.1994 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
08.05.1995 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Promotion

1990 bis 1994 Durchführung der experimentellen Arbeiten in den Labors von PD Dr. Dr. F. Grimminger und Prof. Dr. W. Seeger in der Klinischen Forschergruppe „Respiratorische Insuffizienz“ an der JLU Gießen

Ärztliche Tätigkeit

1995 bis 1996 Arzt im Praktikum am Zentrum für Dermatologie und Andrologie der JLU Gießen (Leiter: Prof. Dr. W.-B. Schill)
seit 01.01.97 Assistenzarzt am Zentrum für Dermatologie und Andrologie der JLU Gießen (Leiter: Prof. Dr. W.-B. Schill)

DANKSAGUNG

Ein besonderer Dank gebührt Herrn Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Friedrich Grimminger. Er überließ mir nicht nur das interessante Dissertationsthema, sondern ermöglichte darüberhinaus auch die Arbeit an weiteren wissenschaftlichen Projekten. Daß mir dabei die Bedeutung pathophysiologischer Zusammenhänge bewußt wurde, ist vor allem auf die häufigen, intensiven Diskussionen im Verlauf der Forschungsarbeiten zurückzuführen. Stets ergaben sich eine Vielzahl von wertvollen Anregungen und nicht wenige augenöffnende Momente. Damit verbunden war auch eine unschätzbare wertvolle Einführung in die Gepflogenheiten der „scientific community“.

So faszinierend auch molekular- oder zellbiologische Zusammenhänge sein mochten: Er legte immer großen Wert darauf, daß der Blick auf den gesamten Organismus am Ende der Überlegungen stehen müsse. Der Mensch als Ganzes stand stets im Mittelpunkt. Einen besseren wissenschaftlichen Lehrer konnte ich mir nicht wünschen.

Ein großer Dank sei auch den Angestellten und Mitdoktoranden der verschiedenen Labors ausgesprochen. Geprägt von Kollegialität und Verständnis war die Arbeitsatmosphäre freundlich und anregend und bot damit die idealen Voraussetzungen für wissenschaftliches Arbeiten. Besonders herausheben möchte ich die Kollegen der ersten Stunde. An erster Stelle sei hier Frau Christiane Diwisch gedankt, die durch ihre freundliche, geduldige Persönlichkeit und ihr großartiges technisches Geschick stets ein unentbehrlicher Anlaufpunkt war. Mit Herrn Dipl. Biol. Kay-Uwe Heuer führte ich einige wichtige Projekte gemeinsam durch, wobei wir viel zusammen lernen konnten.

All denen, die mir privat während dieser Zeit zur Seite gestanden haben, sei ein ganz besonders herzliches Dankeschön gesagt. Die Toleranz und Geduld, die mir entgegengebracht wurden, hat mir geholfen, auch in schwierigen Zeiten nicht den Mut zu verlieren.

Herrn Prof. Dr. med. Werner Seeger und Herrn PD Dr. med. Norbert Suttorp danke ich für anregende Diskussionen und für die Benutzung der Laborräume und Einrichtungen. Herrn Dr. med. Konstantin Mayer möchte ich für interessante Diskussionen danken.

Herrn Dr. Joshua Rokach, Kanada, und Herrn Dr. Bartmann, Hoechst, bin ich dankbar für die Überlassung von verschiedenen Leukotrienen.