GEFÖRDERT VOM

Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Veröffentlichung der Ergebnisse von Forschungsvorhaben im BMBF-Programm

AgroClustEr: FoCus – Food Chain Plus – Gesundheitliche Bewertung und Konsumentenverhalten
TP 4.2 HealthMap

Förderkennzeichen 0315540A
Zuwendungsempfänger: Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, 24098 Kiel
Ausführende Stelle: Christian-Albrechts-Universität zu Kiel – Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät – Institut für Humanernährung und Lebensmittelkunde, Olshausenstr. 40, 24118 Kiel

Verbundprojektleitung: Herr Prof. Dr. Döring
Teilprojektleitung: Herr Prof. Dr. Rimbach

Teilprojektlaufzeit: 1.10.2010-30.09.2014

Das diesem Bericht zugrundeliegende BMBF-Forschungsvorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 0315540A gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

I. Kurze Darstellung

Aufgabenstellung und Voraussetzungen

Ziel des Teilprojektes 4.2 HealthMap „Funktionelle Biomarker der Inflammation, Zelladhäsion und Chemotaxis“ war es, zu prüfen, ob bestimmte Ernährungsmuster (TP 4.4) und funktionalisierte Milchprodukte (TP 4.1) chronisch entzündliche Prozesse, im Kontext der Atherogenese, positiv oder negativ beeinflussen. Dazu wurde ein spezieller *in trans*-Ansatz unter Verwendung humaner Serumproben (TP 4.1) etabliert, um molekulare Mechanismen chronisch entzündlicher Prozesse, so wie diese im Gefäßsystem ablaufen, zumindest teilweise zu simulieren. Voraussetzung für die erfolgreiche Bearbeitung des Vorhabensplans war die Entwicklung bestimmter Ernährungsmuster (TP 4.4) sowie funktionalisierter Milchprodukte (TP 4.1), die chronisch entzündliche Prozesse im Kontext der Atherogenese potentiell modulieren können.

Planung und Ablauf des Vorhabens

Anfangs wurde das sogenannte *in trans*-Antizipationszellkulturmodell etabliert, wobei primäre humane Endothelialzellen aus Nabelschnurvenen isoliert, in *stocks* gelagert bzw. in zeitlich begrenzte Zellkultur (bis zu sieben Passagen) gebracht wurden. Die Bestimmung von molekularen Markern der Inflammation, Zelladhäsion und Chemotaxis nach geeigneter Stimulation wurde ebenfalls etabliert. Die Gewinnung humaner Serumproben vor und nach Durchführung der Interventionsstudie erfolgte durch TP 4.1. Währenddessen wurden potentiell bioaktive Inhaltsstoffe aus funktionalisierten Milchprodukten als Testsubstanzen in den vorbereiteten Assays eingesetzt und bewertet.

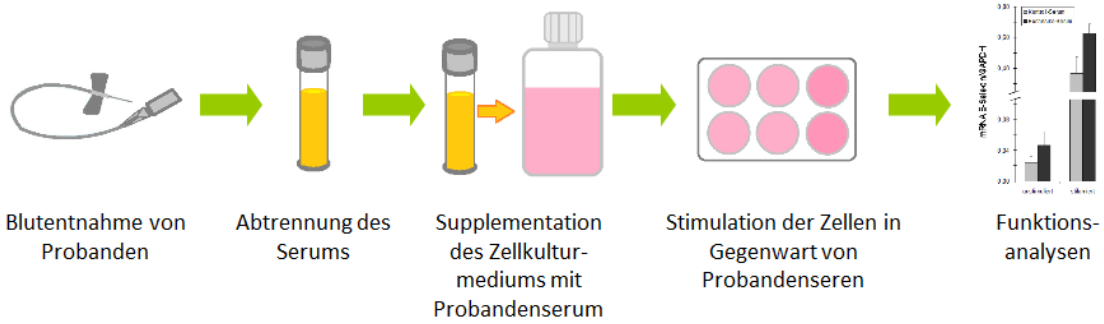


Abb. 1: Fließschema zum *in trans*-Antizipationszellkulturmodell. Inkubation von primären humanen Endothelzellen mit proinflammatorischen Stimuli in Gegenwart von Humanserum und anschließende Funktionsanalysen von Markern der Inflammation, Zelladhäsion und Chemotaxis.

Wissenschaftlicher und technischer Stand

Herzkreislauferkrankungen sind die häufigste Todesursache in den westlichen Industrieländern und werden vor allem durch atherosklerotische Veränderungen der Gefäßwände ausgelöst. Unter Atherosklerose versteht man einen morphologischen Symptomenkomplex, der durch Modifikationen der Intima mit diffusen Ansammlungen von Fett (insbesondere Cholesterin), Blutbestandteilen sowie fibrösen Geweben charakterisiert ist. Die pathophysiologischen Mechanismen, die zur Entwicklung der Atherosklerose führen, sind komplex - oxidativer Stress sowie chronische Entzündungsreaktionen sind an der Pathogenese der Atherosklerose zentral beteiligt (1). Gemäß der „*response to injury*"-Theorie sind die die Intima auskleidenden Endothelzellen kontinuierlichen Schädigungen durch chemische, mechanische oder immunologische Einflüsse ausgesetzt (2). Die geschädigten Zellen induzieren eine spezifische, chronische Entzündungsreaktion mit nachfolgender fibroproliferativer Antwort. Eine Dysfunktion des Endothels bedingt die Bildung von Adhäsionsmolekülen (z.B. VCAM1, ICAM-1, E-Selektin), chemotaktischen Faktoren (z.B. MCP-1) und Entzündungsmediatoren (z.B. TNFα, IL1β), die unter Kontrolle des redoxregulierten Transkriptionsfaktors NF-κB stehen (3). Die Freisetzung chemotaktischer Faktoren durch das Endothel bewirkt wiederum die Infiltration von Makrophagen in den subendothelialen Raum. Aktivierte Makrophagen differenzieren zu Schaumzellen, die über Scavenger(Rezeptoren (z.B. CD36) nicht(feed(back(reguliert Cholesterin akkumulieren und somit zur Bildung so genannter „fatty streaks" führen, die sich dann möglicherweise zu endothelialen Läsionen entwickeln (4). Klinische Folgen der Atherogenese sind die koronare Herzkrankheit, Schlaganfall, Thrombosen und periphere arterielle Verschlusskrankheiten (5).

Ein Nachteil von Zellkulturstudien besteht häufig darin, dass die eingesetzten Testsubstanzen häufig in nicht physiologischer Form bzw. zu hoher Konzentration appliziert werden. Dieses Problem wurde im Verbund mit dem TP 4.1 dahingehend umgangen, indem Seren von Probanden mit unterschiedlicher Ausprägung physiologischer Risikofaktoren (gesund/normales Risiko vs. Hochrisiko) vor und nach Intervention gewonnen und im sogenannten *in trans*-Ansatz eingesetzt wurden. Das gewonnene Serum wurde dann in der Zellkultur hinsichtlich funktioneller Parameter der Inflammation, Zelladhäsion und Chemotaxis getestet. Dieser kombinierte *in vivo*-Zellkulturansatz berücksichtigt die tatsächlichen Konzentrationen und Bindungsformen von Testsubstanzen und ist einem klassischen *in vitro*-Ansatz überlegen (6).

Literatur

(1) Kinlay S, Libby P, Ganz P. Endothelial function and coronary artery disease. Curr Opin
Lipidol 2001;12(4):383-9.
(2) Stocker R, Keaney JF, Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. Physiol Rev

2004;84(4):1381-478.
(3) Collins T, Cybulsky MI. NF-κB: pivotal mediator or innocent bystander in atherogenesis? J Clin Invest 2001;107(3):255(64.
(4) Uchida K. Lipid peroxidation and redox-sensitive signaling pathways. Curr Atheroscler Rep 2007;9(3):216-21.
(5) Kher N, Marsh JD. Pathobiology of atherosclerosis - a brief review. Semin Thromb Hemost 2004;30(6):665-72.
(6) Canali R, Ambra R, Stelitano C, Mattivi F, Scaccini C, Virgili F. A novel model to study the biological effects of red wine at the molecular level. Br J Nutr 2007;97(6):1053-8.

Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Durchführung der in trans-Experimente unter Verwendung humaner Seren erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Teilprojekt 4.1. Die Bestimmung potentiell protektiver Effekte von Oligopeptiden und Oligosacchariden aus funktionalisierten Milchprodukten erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Teilprojekt 3.2. Darüber hinaus erfolgte eine intensive Zusammenarbeit mit den anderen Teilprojekten des FoCus-Clusters. Der Austausch und die kritische Auseinandersetzung mit den gewonnen Ergebnissen zwischen den einzelnen Teilprojekten war von zentraler Bedeutung für den Erfolg des Vorhabens.

II. Eingehende Darstellung

Erzielte Ergebnisse und Zuwendungsverwendung

Erstes und zweites Jahr

Im ersten Jahr wurden die Studien an humanen Endothelzellen zur Zelladhäsion, Chemotaxis und Inflammation etabliert und die entsprechenden Assays validiert. Dazu wurde zunächst die Gewinnung primärer humaner Endothelzellen aus Nabelschnurvenen (HUVEC, *human umbilical vein endothelial cells*) etabliert, Zellen vervielfältigt und *stocks* (Cryokonservierung) in ausreichendem Umfang für die Durchführung der *in trans*-Studien angelegt. Für den Nachweis endothelialer Eigenschaften der Primärzellen wurden Fluoreszenzfärbungen mittels Antikörper spezifisch gegen den von-Willebrand-Faktor sowie den Oberflächenmarker CD31 durchgeführt (Abb. 1). Während der in trans-Ansatz aufgebaut wurde, wurden bereits ausgewählte Testsubstanzen mit möglichem anti-atherogenen Potential in alternativen Zellkulturmodellen untersucht. Zu den Testsubstanzen gehören natürliche Inhaltstoffe funktionalisierter Milchprodukte wie Oligopeptide, Oligosaccharide, Vitamin D Metabolite, Phytosterole sowie Spermidin. Zusätzlich haben wir Testsubstanzen pflanzlicher Herkunft (sekundäre Stoffwechselprodukte) mit potentiell gesundheitsfördernden Eigenschaften getestet, um weitere geeignete Kandidaten für den Einsatz in der humanen Interventionsstudie (TP 4.1) zu identifizieren. Als *Readouts* wurden die Expression der Paraoxonase 1 (PON1), welche die LDL-Oxidation im Gefäß verhindert, die Aktivierung des redox-sensitiven entzündungsvermittelnden Transkriptionsfaktors NF-κB sowie des zentralen Adhäsionsmarkers ICAM-1 bestimmt. Im ersten Schritt wurde der jeweilige Konzentrationsbereich der einzelnen Testsubstanzen für verschiedene Zellkulturmodelle (EAhy926, PON1-HuH7) im Viabilitätsassay mittels Neutralrotfärbung ermittelt.

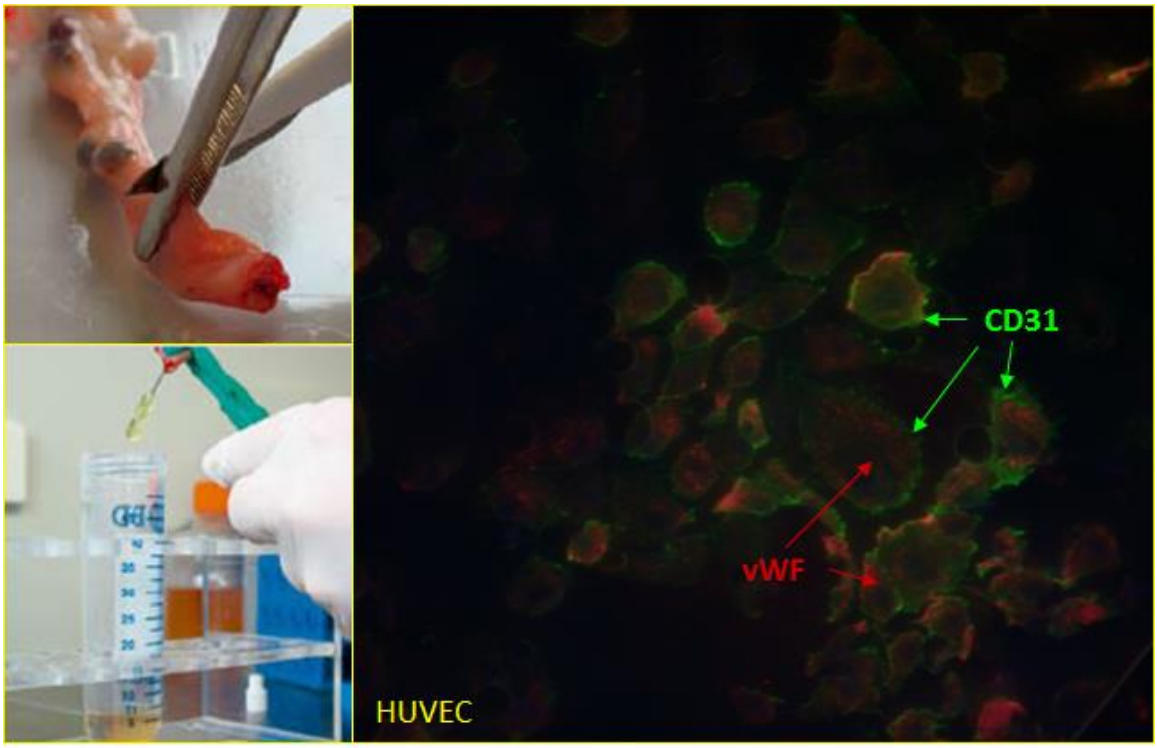


Abb. 1: Isolierung von HUVEC-Zellen aus Nabelschnurvenen (Bildausschnitte links) und Nachweis des endothelialen Ursprungs durch Inkubation mit primären Antikörpern gegen endothelzell-spezifische Marker (von-Willebrand-Faktor (vWF) und CD31) (Bildausschnitt rechts).

Zur Ermittlung der optimalen Konzentration ohne wesentliche zytotoxische Effekte wurden verschiedene Konzentrationsbereiche in mind. 6-stufiger Abstufung untersucht (Tab. 1). Die Wahl der Substanzkonzentration war abhängig von Testsubstanz (z.B. physiologische bzw. pharmakologische Serumlevel) und Zelllinie und wurde aufgrund zahlreicher Veröffentlichungen gewählt.

Tab. 1: Testsubstanzen und Konzentrationsbereiche im Zellviabilitätsassay. Ermittlung der optimalen Inkubationskonzentration in PON1-HuH7-Zellen unter Ausschluss zytotoxischer Effekte.

Testsubstanz	**Konzentrationsbereich**	**Eingesetzte maximale nicht-zytotoxische Konzentration**
Isoleucin-Prolin-Prolin, IPP	0,1 µM – 1000 µM	100 µM
Valin-Prolin-Prolin, VPP	0,1 µM – 1000 µM	100 µM
Oligopeptide (TP 3.2)	10 µg/ml – 1 mg/ml	1 mg/ml
Oligosaccharide (TP 3.2)	10 µg/ml – 1 mg/ml	1 mg/ml
β-Sitosterol	1 µM – 50 µM	10 µM

Campesterol	1 µM – 50 µM	10 µM
1,25-Dihydroxycholecalciferol	1 nM – 500 nM	25 nM
25-Hydroxycholecalciferol	10 nM – 1 µM	100 nM

Im anschließenden Assay zur Bestimmung der PON1-Aktivierung wurden entsprechende Testsubstanzkonzentrationen gewählt, die im nicht-zytotoxischen Bereich lagen. Keine der untersuchten Testsubstanzen führte zu einer gesteigerten Aktivierung des PON1-Promoters im Vergleich zur Positivkontrolle (Resveratrol, 25 µM) (Abb. 2).

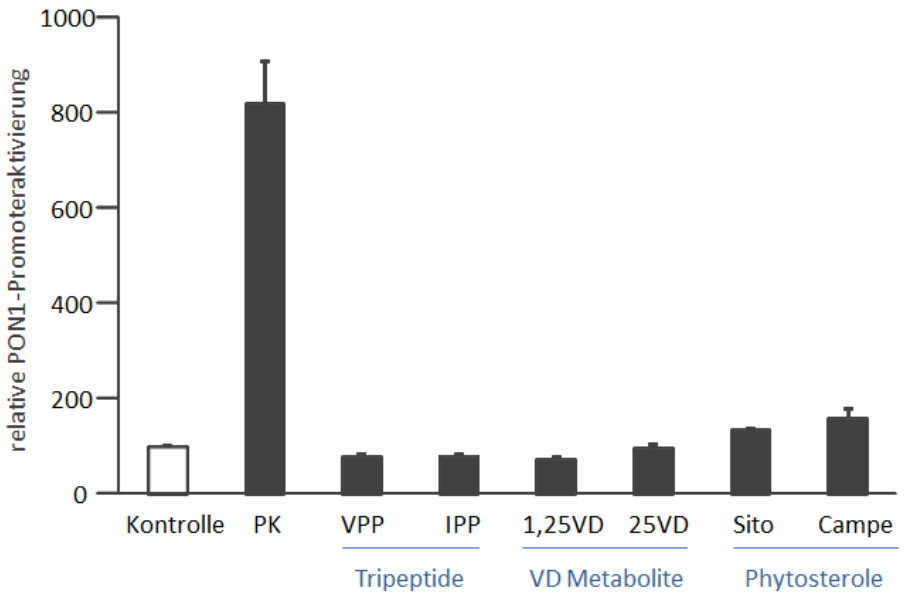


Abb. 2: Einfluss potentieller Inhaltsstoffe funktionalisierter Milchprodukte auf die PON1-Promoteraktivierung gemessen mittels Reportergen-Assay. Testsubstanzen sind in ihrer jeweils maximalen nicht-zytotoxischen Konzentration eingesetzt. PK, Positivkontrolle; VPP, Valin-Prolin-Prolin; IPP, Isoleucin-Prolin-Prolin; 1,25VD, 1,25-$(OH)_2$-Vitamin D; 25VD, 25-OH-Vitamin D; Sito, Sitosterol; Campe, Campesterol

Die in TP 3.2 isolierten Oligopeptide und –saccharide aus Milchproteinhydrolysaten wurden ebenfalls auf ihre potentielle Eigenschaft, die PON1-Promoteraktivierung zu modulieren, untersucht. Es wurde keine signifikante PON1-Aktivierung im Vergleich zur Positivkontrolle (Resveratrol, 25 µM) ermittelt (Abb. 3).

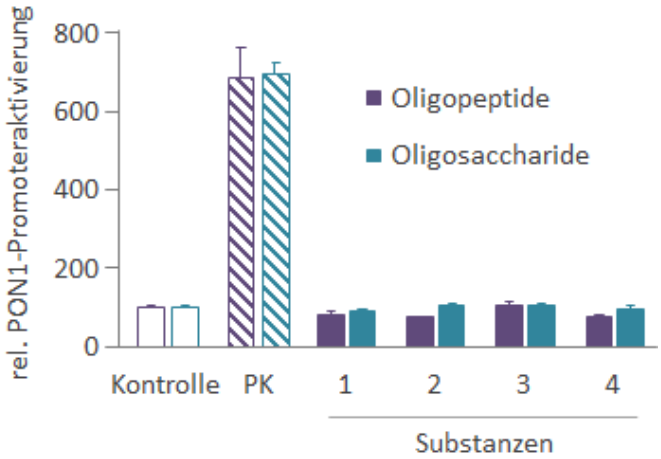
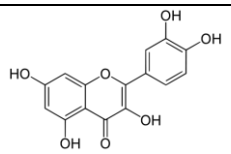
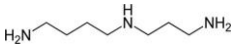
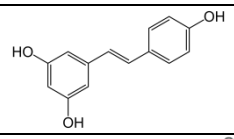
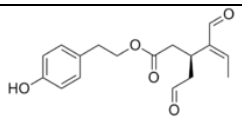


Abb. 3: Einfluss potentiell funktioneller Oligopeptide und Oligosaccharide aus Milchproteinhydrolysaten (TP 3.2) auf die PON1-Promoteraktivierung gemessen mittels Reportergen-Assay. PK, Positivkontrolle

Im nächsten Schritt wurden weitere Testsubstanzen, potentiell bioaktive Metabolite des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels, in die Analyse inkludiert. Die Ergebnisse deuten auf Quercetin als schwachen Induktor der PON1, während Naringenin, Malvidin, Cyanidin und Catechin keinen signifikanten Effekt zeigten.
Neben der PON1-Promoteraktivierung wurde die pro-inflammatorisch induzierte Expression des Adhäsionsmoleküls ICAM-1 in der humanen endothelialen Fusionszelllinie EAhy926 zur Evaluierung potentiell protektiver Eigenschaften von Testsubstanzen bestimmt. ICAM-1 ist ein transmembranäres Oberflächenprotein, welches die Adhäsion ans Endothel und die Transmigration in den subendothelialen Raum zirkulierender Leukozyten vermittelt und die Entzündung im Gefäß vorantreibt. Zunächst wurde der nicht-zytotoxische Konzentrationsbereich der Testsubtanzen durch den Viabilitätsassay in EAhy926-Zellen ermittelt (Tab. 2).

Tab. 2: Testsubstanzen und Konzentrationsbereiche im Zellviabilitätsassay. Ermittlung der optimalen Inkubationskonzentration in EAhy926-Zellen unter Ausschluss zytotoxischer Effekte.

Testsubstanz	**Strukturformel**	**Konzentrationsbereich**	**Eingesetzte maximale nicht-zytotoxische Konzentration**
Quercetin		1-100 µM	25 µM
Spermidin		1-100 µM	25 µM

Resveratrol		1-100 µM	50 µM
Oleacanthal		1-100 µM	10 µM

Die ICAM-1-Expression wurde nach Vorinkubation der Zellen mit steigenden Testsubstanzkonzentrationen und Stimulation mit dem proinflammatorischen Zytokin TNFα mittels Western Blot bestimmt. Unter den untersuchten Testsubstanzen war nur Quercetin in der Lage, die TNFα-stimulierte ICAM-1-Expression signifikant zu hemmen (Abb. 4). Gleichermaßen führte Quercetin zu einer Hemmung der mRNA und Proteinspiegel von IL1β, IL6, MIP1α und iNOS sowie einer Induktion von Nrf2 und HO-1 in Makrophagen.

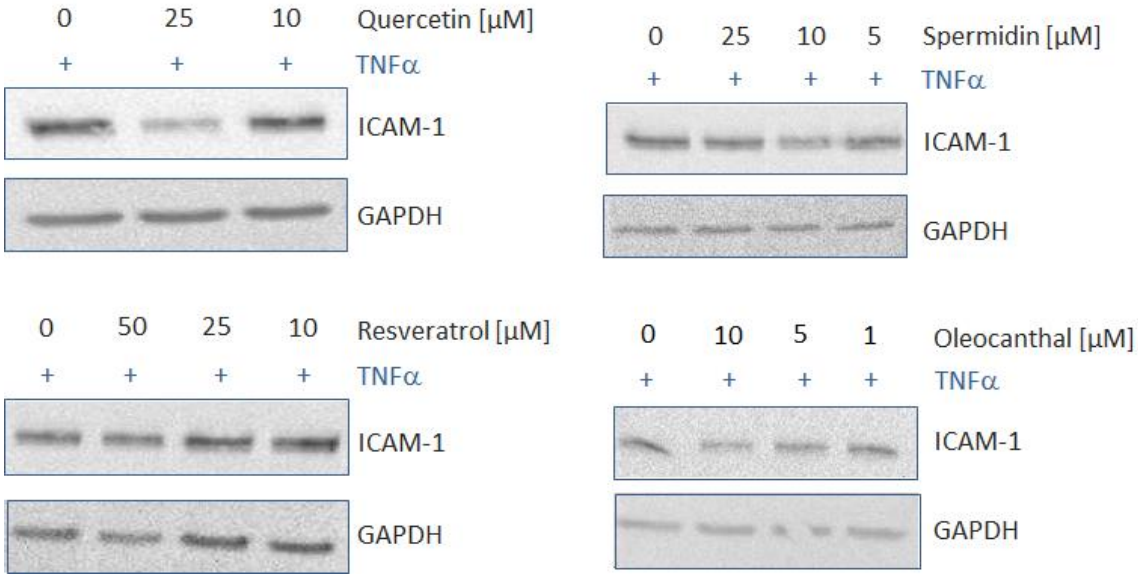


Abb. 4: Einfluss potentiell bioaktiver Pflanzensekundärmetabolite auf die ICAM-1-Expression nach TNFα-Stimulation von endothelialen EAhy926-Zellen.

Drittes und viertes Jahr

Nachdem HUVEC-*stocks* in ausreichendem Umfang angelegt waren und Humanseren zur Verfügung standen, wurden die Assays zur Bestimmung von Adhäsion, Chemotaxis und Inflammation für die Primärzellen im *in trans*-Ansatz optimiert. Dazu wurden verschiedene proinflammatorische Stimuli (TNFα, IL1β bzw. ein Zytokinmix aus TNFα, IL1β und IFNγ) für die Induktion des ICAM-1-Proteins in HUVEC-Zellen untersucht. Die Zellen wurden mit humanem Serum (TP 4.1) inkubiert, welches dem Medium anstelle des fötalen bovinen Serums zugesetzt wurde. Die Humanseren wurden in zwei Gruppen unterteilt: gesund und Hochrisiko,

wobei gesund als BMI < 25 und HOMA < 2 und Hochrisiko als BMI > 30 und HOMA > 4,5 definiert wurde. Der Zytokinmix induzierte im Vergleich zu TNFα und IL1β eine sehr deutliche ICAM-1-Antwort im *in trans*-Ansatz (Abb. 5), sodass nachfolgend nur noch mit dem Mix stimuliert wurde.

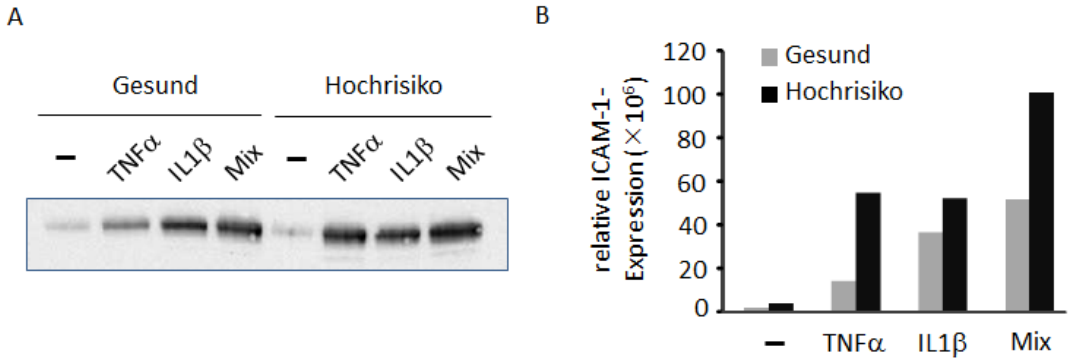


Abb. 5: ICAM-1-Expression im *in trans*-Ansatz nach Vorinkubation von primären endothelialen HUVEC-Zellen mit Humanserum (TP 4.1) und proinflammatorischer Stimulation mit TNFα, IL1β bzw. einem Zytokinmix. Die Humanseren wurden in gesund und Hochrisiko entsprechend des BMI und HOMA-Indexes unterteilt.

Es wurden insgesamt 2000 Probandenseren aus TP 4.1 in das Eingangsscreening inkludiert. Nach Exklusion der Seren, die nicht den Gruppenkriterien von *gesund* oder *Hochrisiko* (BMI, HOMA) entsprachen, wurden diese Humanseren in den *in trans*-Ansatz mitaufgenommen. Abbildung 6 zeigt zusammenfassend den Effekt aller untersuchten Seren auf die proinflammatorisch stimulierte ICAM-1-Proteinexpression in primären Endothelzellen (HUVEC). Aufgrund der hohen interindividuellen Variation und Standardabweichung des Gruppenmittelwertes sind keine Unterschiede in der ICAM-1-Expression zu beobachten gewesen.

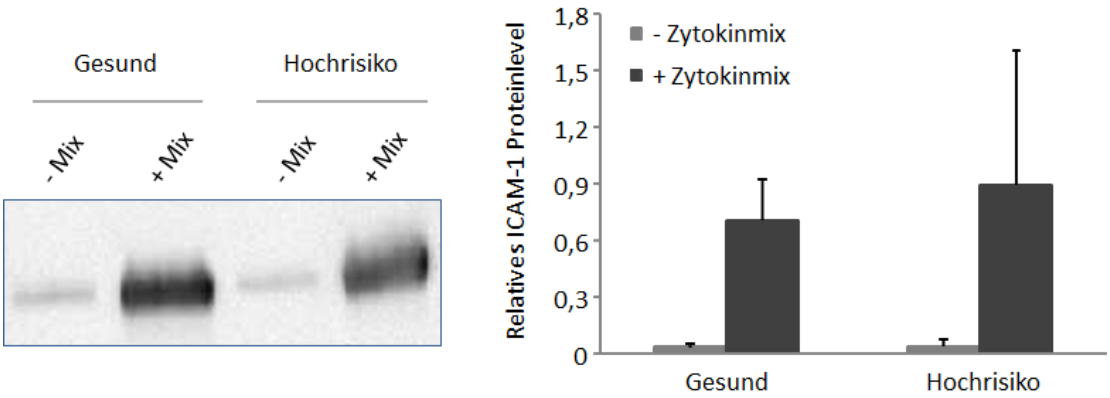


Abb. 6: ICAM-1-Proteinlevel im *in trans*-Ansatz nach Stimulation von primären Endothelzellen mit einem Zytokinmix aus TNFα, IL1β und IFNγ (Mix). Die Zellen wurden mit Humanserum vorinkubiert und anschließend stimuliert. Es werden ein repräsentativer Blot

sowie die zusammenfassende densitometrische Auswertung der ICAM-1-Expression aller Humanseren-Experimente gezeigt. Werte sind Mittelwerte + SEM.

Weiterhin wurde untersucht, ob potentiell bioaktive Testsubstanzen einen differentiellen Einfluss auf die ICAM-1-Expression nach Vorinkubation mit Humanseren haben. So wird die Zytokinmix-stimulierte ICAM-1-Expression beispielsweise durch Quercetin (25 µM) gehemmt, wobei kein Unterschied zwischen den Serumgruppen „gesund“ und „Hochrisiko“ ermittelt wurde (Abb. 7).

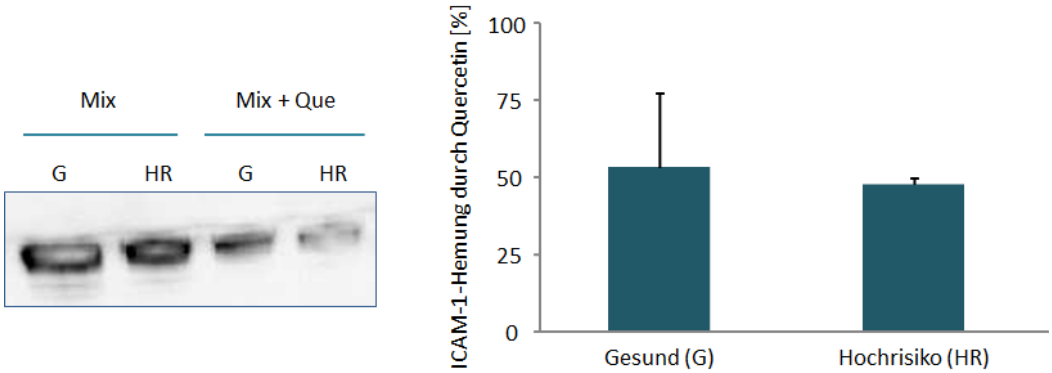


Abb. 7: ICAM-1-Proteinlevel im *in trans*-Ansatz nach Stimulation von primären Endothelzellen mit einem Zytokinmix aus TNFα, IL1β und IFNγ (Mix). Die Zellen wurden mit Humanserum sowie mit bzw. ohne Quercetin (Que, 25 µM) vorinkubiert. Es werden ein repräsentativer Blot sowie die zusammenfassende densitometrische Auswertung der ICAM-1-Expression aller Humanseren-Experimente gezeigt. Werte sind Mittelwerte + SEM.

E-Selektin vermittelt die Interaktion von zirkulierenden Leukozyten und dem Endothel und ist somit ein Schlüsselprotein in der Atherogenese. Durch proinflammatorische Stimulation produzieren Endothelzellen E-Selektin, wodurch die Akkumulation und Adhäsion von Leukozyten ausgelöst und begünstigt wird. Die E-Selektinkonzentration in Gegenwart von gesundem und Hochrisiko-Probandenserum wurde im *in trans*-Ansatz mittels ELISA bestimmt. Interessanterweise war die Sekretion von E-Selektin signifikant höher bei HUVEC-Zellen, die mit Hochrisiko-Probandenserum inkubiert waren (Abb. 8).

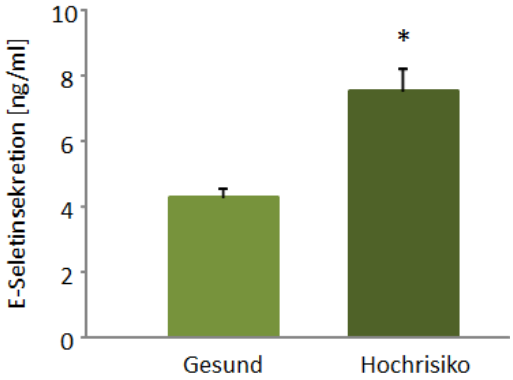


Abb. 8: E-Selektinkonzentration im *in trans*-Ansatz in Gegenwart von Probandenserum. Die E-Selektin-Proteinspiegel wurden mittels ELISA ermittelt. Werte sind Mittelwerte + SEM. * zeigt signifikanten (p=0,001) Unter-schied zwischen den Gruppen an, berechnet mittels T-Test.

Weitere Marker der Gefäßfunktion wurden auf transkriptioneller Ebene mittels *real time*-RT-PCR bestimmt. Tabelle 3 zeigt zusammenfassend die mRNA-Level von ausgweählten Genen: E-Cadherin (CDH1), P-Selektin (SELP), Endothelin-1 (EDN1), Arginase-2 (ARG2) und Tumor-Nekrosefaktor α (TNFα) nach Inkubation mit den unterschiedlichen Humanseren. Aufgrund der hohen interindividuellen Streuung innerhalb der Serumgruppen gibt es keine signifikanten Unterschiede in den mRNA-Leveln der Gene.

Tab. 3: mRNA-Level und Funktion ausgewählter Gene in HUVEC-Zellen nach Inkubation mit Humanserum. Werte sind Mittelwerte ± *SEM*. Signifikanzniveau berechnet mittels T-Test.

Gen	**Funktion**	**mRNA-Level *Gesund***	**mRNA-Level *Hochrisiko***	**Signifikanzniveau**
CDH1	Zelladhäsion	1,92 ± *0,66*	1,59 ± *0,32*	*0,681*
SELP	Chemotaxis	3,91 ± *0,44*	5,42 ± *0,89*	*0,202*
EDN1	Vasokonstriktion	0,94 ± *0,30*	0,71 ± *0,14*	*0,525*
ARG2	Vasodilatation	2,51 ± *0,31*	2,31 ± *0,27*	*0,654*
TNFα	Inflammation	0,49 ± *0,33*	0,03 ± *0,01*	*0,234*

Gene der Inflammation, Zelladhäsion und Chemotaxis stehen zum Teil unter der Kontrolle des redox-sensitiven Transkriptionsfaktors NF-κB (nukleärer Faktor κB), welcher eine zentrale Rolle in der Atherogenese spielt. Die NF-κB-Promoteraktivierung im *in trans*-Ansatz wurde mittels Reportergenassay ermittelt, wobei EAhy926-Zellen für die transiente Transfektion des Reportergenkonstruktes verwendet und mit Humanserum inkubiert wurden. Es wurden keine signifikanten Unterschiede in der NF-κB-Promoteraktivierung zwischen gesundem und Hochrisiko-Probandenserum beobachtet (Abb. 9).

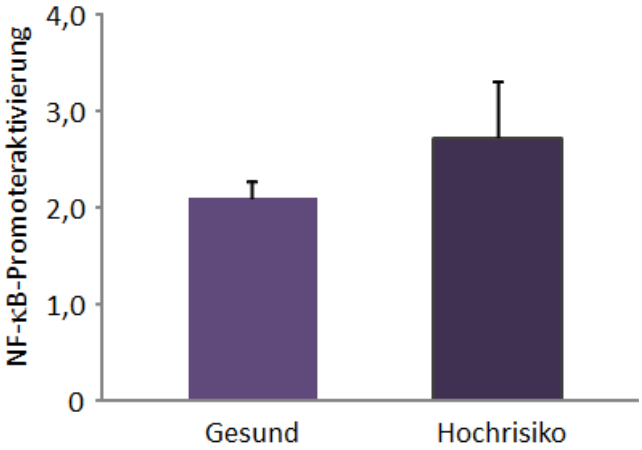


Abb. 9: Relative NF-κB-Promoter-aktivierung im *in trans*-Ansatz. EAhy926-Zellen wurden mit Probandenserum inkubiert und transient mit dem Reportergen-konstrukt transfiziert. Werte sind Mittelwerte + SEM.

Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Die bewilligten Mittel sind primär für die entstandenen Kosten durch das mit der Bearbeitung des Projektes betrauten qualifizierten Personals sowie für Sachmittel angefallen. Die Kosten sind gemäß Versuchsplan für Verbrauchsmaterialien angefallen (z.B. Western-Blot-Antikörper, Luziferasekit für Reportergenassay, Master Mix und Primer zur Durchführung von PCRs). In der Summe sind die für den gesamten Projektzeitraum geplanten und beantragten Kosten eingehalten worden.

Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die durchgeführten Arbeiten sowie die dafür verwendeten Ressourcen, sowohl materiell als auch personell, waren notwendig und angemessen, um das Projekt erfolgreich durchführen und abschließen zu können. Die im Rahmen dieses Projektes gewonnen Erkenntnisse eines jeden einzelnen Teilprojektes haben zum Erfolg des Gesamtprojektes beigetragen. Des Weiteren ergeben sich hierdurch neue Grundlagen für zukünftige Forschungsvorhaben.

Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die Ergebnisse der durchgeführten Studien liefern erste Erkenntnisse zu potentiell gefäßschützenden Eigenschaften sekundärer Pflanzenstoffe und Inhaltsstoffen funktionalisierter Milchprodukte. Der *in trans*-Ansatz wurde erfolgreich etabliert und steht für zukünftige Studien zur Verfügung.

Bekannt gewordene Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens

Während des Projektes wurde eine ausführliche Literaturrecherche durchgeführt. Zur Verfügung standen folgende Datenbanken, wie *PubMed, Medline* und *Web of Science*. Diese Recherchen ergaben keine Hinweise auf Arbeiten und Ergebnisse von dritter Seite, die unseren Ergebnissen ähneln.

Erfolgte oder geplante Veröffentlichung der Ergebnisse

Bisher sind keine Ergebnisse aus diesem Teilprojekt veröffentlich worden. Für das Jahr 2015 und 2016 ist die Anfertigung verschiedener Publikationen auf Basis der Ergebnisse dieses Projektes geplant.

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN Geplant	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Schlussbericht
3. Titel AgroClustEr: FoCus – Food Chain Plus Verbund „Gesundheitliche Bewertung und Konsumentenverhalten“ TP4.2 HealthMap	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Piegholdt, Stefanie Rimbach, Gerald	5. Abschlussdatum des Vorhabens 30.9.2014 6. Veröffentlichungsdatum 7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Prof. Dr. Gerald Rimbach Institut für Humanernährung und Lebensmittelkunde Abteilung Lebensmittelwissenschaft Hermann-Rodewald-Straße 6 24118 Kiel	9. Ber. Nr. Durchführende Institution 10. Förderkennzeichen 0315540A 11. Seitenzahl 13
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben 6 14. Tabellen 3 15. Abbildungen 9
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	

18. Kurzfassung

Herzkreislauferkrankungen sind die häufigste Todesursache in den westlichen Industrieländern und werden vor allem durch atherosklerotische Veränderungen der Gefäßwände ausgelöst. Unter Atherosklerose versteht man einen morphologischen Symptomenkomplex, der durch Modifikationen der Intima mit diffusen Ansammlungen von Fett (insbesondere Cholesterin), Blutbestandteilen sowie fibrösen Geweben charakterisiert ist. Die pathophysiologischen Mechanismen, die zur Entwicklung der Atherosklerose führen, sind komplex - oxidativer Stress sowie chronische Entzündungsreaktionen sind an der Pathogenese der Atherosklerose zentral beteiligt. Ziel des Teilprojektes war es, zu prüfen, ob bestimmte Ernährungsmuster und funktionalisierte Milchprodukte chronisch entzündliche Prozesse im Kontext der Atherogenese positiv oder negativ beeinflussen. Dazu wurde ein spezieller *in trans*-Ansatz unter Verwendung humaner primärer Endothelzellen und Serumproben etabliert, um molekulare Mechanismen chronisch entzündlicher Prozesse, so wie diese im Gefäßsystem ablaufen, zumindest teilweise zu simulieren. Die Humanserumproben wurden nach BMI und HOMA-Index in die Kategorien „gesund“ und „Hochrisiko“ eingruppiert. Zusätzlich wurden potentielle Inhaltsstoffe funktionalisierter Milchprodukte sowie potentiell bioaktive Pflanzensekundärmetabolite auf mögliche gefäßschützende Eigenschaften untersucht. Es wurden keine Unterschiede zwischen den Humanserumgruppen „gesund“ und „Hochrisiko“ hinsichtlich der Expression von Markern der Inflammation, Zelladhäsion und Chemotaxis im in trans-Antizipationsmodell gefunden. Quercetin und Resveratrol wurden als potentiell bioaktiv in der zytokinstimulierten ICAM-1-Expression bzw. PON1-Promoteraktivierung identifiziert und stellen somit geeignete Kandidaten für weitergehende Untersuchungen mit dem Ziel der Entwicklung funktionalisierter Milchprodukte dar.

19. Schlagwörter In trans-Antizipationsmodell, Humanseren, primäre humane Endothelzellen	
20. Verlag	21. Preis