

Aus der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und
Gastroenterologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

„Einfluss von Acetylsalicylsäure und Statinen auf das
Lipidmediatorprofil in menschlicher Kolonmukosa“

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Heike Verena Gottschall

aus Limburg an der Lahn

Datum der Promotion: 06.09.2019

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Zusammenfassung	3
Abstract	4
1 Einleitung	5
1.1 Das kolorektale Karzinom und der Lipidstoffwechsel.....	5
1.2 Acetylsalicylsäure und das kolorektale Karzinom	7
1.3 Statine und das kolorektale Karzinom.....	8
2 Ziel der Studie	9
3 Methodik	10
3.1 Patientenkollektiv und Probengewinnung.....	10
3.2 Analytik	10
3.3 Statistische Auswertung	12
4 Ergebnisse	14
5 Diskussion	15
6 Literatur	19
7 Eidesstattliche Versicherung	23
8 Anteilserklärung	24
9 Auszug aus der Journal Summary List	25
10 Druckexemplar der ausgewählten Publikation	28
Article	<i>JLR 864 – 871</i>
Supplemental material	<i>1-5</i>
11 Lebenslauf	29
12 Publikationsliste	31
13 Danksagung	33

Zusammenfassung

Experimentelle und epidemiologische Studien zeigen einen protektiven Effekt einer Therapie mit Acetylsalicylsäure (ASS) auf die Entwicklung kolorektaler Karzinome (KRK). Eine Hemmung entzündungs- und tumorfördernder Prostaglandine durch ASS, insbesondere von Prostaglandin E₂ (PGE₂), dessen tumorfördernde Rolle in der kolorektalen Karzinogenese etabliert ist, kommt als Ursache dieser Effekte in Frage. Auch für die Medikamentengruppe der Statine konnte ein hemmender Einfluss auf die Bildung von Kolontumoren beobachtet werden. Mittels eines hochsensitiven Flüssigchromatographie (LC)/ Massenspektrometrie (MS)-Verfahrens führten wir eine umfassende *in vivo* Analyse des Lipidprofils menschlicher Kolonschleimhaut durch und untersuchten die Unterschiede zwischen den Lipidprofilen von Individuen unter ASS- und Statintherapie. Die Studie umfasste die Analyse der Lipidprofile von Individuen ohne ASS-/Statintherapie (n=24), Personen unter ASS-Therapie (n=16), Statintherapie (n=7) und Personen, die beide Pharmaka einnahmen (n=11). Es zeigten sich signifikant niedrigere Eicosanoidspiegel in der Kolonschleimhaut von Personen unter ASS-Therapie im Vergleich zu Personen ohne ASS, was die ASS-vermittelte Hemmung der Cyclooxygenase (COX) widerspiegelt. Im Gegensatz dazu zeigte sich ein Trend zu erhöhten Spiegeln aller gemessenen Lipidmetaboliten in der Kolonschleimhaut von Patienten unter Statintherapie. Interessanterweise war die Hemmung der Eicosanoidproduktion bei Personen, die unter simultaner ASS- und Statintherapie standen, ausgeprägter als bei Personen unter ASS-Monotherapie, was auf einen synergistischen Effekt der beiden Medikamente hinweist. Unsere Studie unterstützt die Hypothese, dass Veränderungen des Lipidprofils, vor allem die Hemmung der Eicosanoidsynthese, zu den beobachteten chemopräventiven Effekten einer ASS-Therapie beitragen und deutet auf einen synergistischen Effekt von ASS und Statinen in der Prävention kolorektaler Karzinome hin. Weitere Studien sind nötig, um den Einfluss einer simultanen ASS- und Statintherapie auf die kolorektale Karzinogenese im Menschen umfassend zu untersuchen.

Abstract

Epidemiological and experimental data propose a protective role for acetylsalicylic acid (ASA) treatment in the prevention and treatment of colorectal cancer (CRC). The effects may be mediated by the suppression of eicosanoid, mainly prostaglandin E₂ (PGE₂) formation, which has an established pro-tumorigenic role in colorectal carcinogenesis. Recent studies also revealed that statins have chemo-preventive effects in the development of CRC. Using a highly sensitive targeted metabolomics technology (LC-MS/MS) we aimed for a comprehensive *in vivo* analysis of the colonic lipid profile and the impact of ASA and/or statin treatment in humans. Our analysis included individuals without treatment (n=24), individuals with ASA treatment (n=16), statin treatment (n=7), or treatment with both drugs (n=11). We detected lower tissue eicosanoid levels of all cyclooxygenase (COX)-derived metabolites in individuals on a daily ASA medication in comparison to those without ASA treatment, reflecting the ASA-mediated COX inhibition. In contrast, lipid metabolite levels in individuals under statin treatment were higher in comparison to those without statin treatment. Individuals under dual ASA and statin treatment, however, showed a more pronounced suppression of COX-derived metabolites in colon tissue compared to subjects under ASA treatment. These results suggest a synergistic effect of ASA and statins on the alteration of colon tissue lipid metabolites levels. This study from a routine clinical setting supports the hypotheses that lipid mediator modification, particularly prostaglandin suppression, contributes to the observed chemopreventive effects of ASA treatment and proposes a synergistic effect of ASA and statin treatment in the prevention of colorectal cancer. Further studies are now necessary to directly investigate how dual ASA and statin treatment affects colon tumorigenesis in humans.

1 Einleitung

1.1 Das kolorektale Karzinom und der Lipidstoffwechsel

Das kolorektale Karzinom ist das dritthäufigste Karzinom weltweit (1). Aktuelle Hochrechnungen schätzen, dass das kolorektale Karzinom in Europa im Jahr 2018 die zweithäufigste Tumorentität und die zweithäufigste Ursache für tumor-assoziierte Sterblichkeit darstellt (2). Aus diesem Grund kommt der Ursachenforschung, der Identifikation von Risikofaktoren sowie der Entwicklung neuer Therapieansätze weiterhin eine besondere klinische Relevanz zu. In den letzten Jahren konnten Veränderungen des Lipidmetabolismus als charakteristisches Merkmal bei verschiedenen Tumortypen identifiziert werden, denen eine wesentliche Bedeutung bei der Entwicklung von Tumorwachstum und Metastasierung zukommt (3). In Kolonkarzinomgewebe wurden schon vor vielen Jahren erhöhte Spiegel des Arachidonsäurederivats Prostaglandin E₂ (PGE₂) gemessen (4). Seitdem konnten zahlreiche prokarzinogene Wirkungen von PGE₂ in der kolorektalen Karzinogenese belegt werden, u.a. sind Einflüsse von PGE₂ auf die Zellproliferation, -migration sowie Tumordinvasion, Apoptose, Angiogenese und die tumorbedingte Immunsuppression beschrieben (5, 6).

Die Bildung von PGE₂ aus Arachidonsäure (AA) erfolgt durch die Cyclooxygenase (COX), dem Schlüsselenzym der Prostaglandinsynthese, welches in zwei Isoformen vorliegt. COX-1 ist die konstitutiv exprimierte Isoform, während die COX-2 Expression induzierbar ist und vor allem in entzündlicher oder tumoröser Umgebung vorkommt (7). Die Cyclooxygenase katalysiert neben der Bildung von Prostaglandinen auch die Bildung von Thromboxanen (Tx). Neben der Arachidonsäure können auch andere mehrfach ungesättigte Omega-3 (n-3) und Omega-6 (n-6) Fettsäuren (*engl.*: polyunsaturated fatty acids, PUFA) als Substrat für die Cyclooxygenase dienen. Zudem erfolgt die Bildung zahlreicher bioaktiver Lipidmetaboliten aus n-3- und n-6-PUFA durch Lipoxygenasen (LOX), Cytochrom (CYP) P450 Monooxygenasen und Autooxidationsprozesse. Die so entstehende Vielzahl an Mediatoren weisen vielfältige biologische Wirkungen auf. Während n-6-PUFA-Derivate mit vorwiegend pro-entzündlichen Wirkungen lange Zeit im Fokus experimenteller Studien standen, konnten in den letzten Jahren stetig neue n-3-PUFA-Derivate mit entzündungshemmenden Eigenschaften identifiziert werden (8). Auch wenn deren Wirkmechanismen und Wechselwirkungen untereinander noch nicht ausreichend geklärt sind, bieten diese Erkenntnisse perspektivisch neue Möglichkeiten der Beeinflussung durch Medikamente oder Ernährung. Die biologischen Wirkungen der Lipidmediatoren hängen auch wesentlich von den jeweiligen klinischen Bedingungen ab. Dies wird eindrücklich durch eine Studie belegt, die zeigt, dass PGE₂ trotz seiner bekannten

entzündungs- und tumorfördernden Wirkungen auch die Regeneration entzündlich veränderter Kolonschleimhaut in Mausmodellen vermitteln kann (9). Die folgende Abbildung veranschaulicht schematisch die Hauptsignalwege und Metaboliten der Arachidonsäurekaskade.

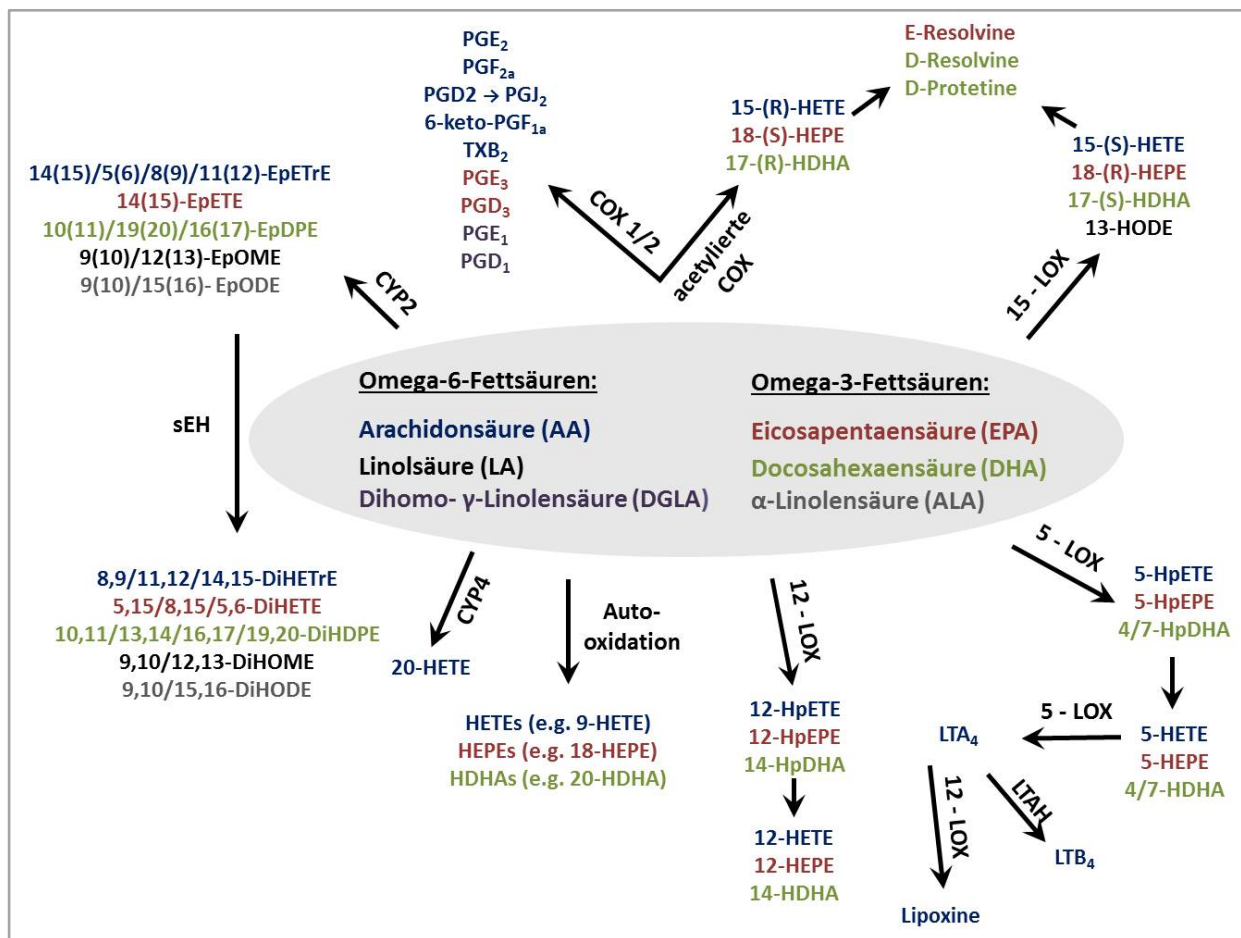


Abbildung 1 Die Arachidonsäurekaskade

Schematischer Überblick über Substrate, Schlüsselenzyme, Signalwege und Metaboliten der Arachidonsäurekaskade. Die Lipidmediatoren und deren mögliche Bildungswege sind aus Übersichtszwecken nicht vollständig abgebildet und stark vereinfacht dargestellt. Abkürzungen: DPE: Docosapentaensäure; DiH: Dihydroxy; Ep: Epoxy; EPE: Eicosapentaensäure; ETE: Eicosatetraensäure; ETrE: Eicosatriensäure; H: Hydroxy; Hp: Hydroxyperoxy; LT: Leukotrien ODE: Octadecadiensäure; OME: Octadecensäure; sEH: lösliche Epoxidhydrolase.

Die biologische Relevanz des Lipidmetabolismus auf die kolorektale Karzinogenese spiegelt sich in Studien zu den Effekten einer Omega-3-Fettsäure-reichen Ernährung wider. Ein protektiver Effekt erhöhter endogener Omega-3-Fettsäure-Spiegel auf die Entwicklung Kolitis-assoziiierter Kolonkarzinome konnte im Mausmodell belegt werden (10). Neben Vorteilen in der Karzinomprävention ließ sich zeigen, dass eine Omega-3-Fettsäure-reiche Diät den Verlauf des

Kolonkarzinoms beim Menschen auch bei bereits bestehender Erkrankung positiv beeinflussen kann (11). Um die Funktion von Lipidmediatoren besser zu verstehen, bedarf es analytischer Methoden, die simultan eine große Anzahl von n-3 und n-6 Fettsäurederivaten in biologischen Proben quantifizieren können. Durch die Entwicklung hochsensitiver Flüssigchromatographie (LC)/ Massenspektrometrie (MS)-Verfahren können aktuell mehr als 100 Lipidmetaboliten mit hoher Sensitivität in sehr kurzer Messzeit (etwa 25 Minuten) gleichzeitig aus einer einzigen Probe bestimmt werden (12).

1.2 Acetylsalicylsäure und das kolorektale Karzinom

Acetylsalicylsäure (ASS) ist ein weitverbreitetes Arzneimittel, dessen Wirkung auf der Hemmung des Enzyms Cyclooxygenase, dem Schlüsselenzym der Arachidonsäurekaskade, beruht. Hierdurch wird zum einen die Bildung entzündungsfördernder Prostaglandine verhindert, was aufgrund deren schmerzvermittelnder Wirkung den Einsatz als Analgetikum ermöglicht. Zum anderen wird die Thrombozytenaggregation durch verminderte Bildung von Thromboxanen gehemmt, was die breite Anwendung in der Therapie und Prophylaxe kardiovaskulärer Erkrankungen bedingt. Aufgrund der weiten Verbreitung lassen Auswertungen ursprünglich unter anderer Fragestellung entwickelter randomisierter Studien Rückschlüsse auf zusätzliche Effekte einer langjährigen Therapie mit Acetylsalicylsäure zu. Hierbei stellte sich heraus, dass sowohl die Inzidenz als auch die Sterblichkeit des kolorektalen Karzinoms unter einer Langzeittherapie (über 5 Jahre) mit ASS gesenkt werden (13). Auch die Einnahme von ASS nach Diagnosestellung kann die Mortalität von Patienten mit kolorektalem Karzinom senken (14). Interessanterweise konnte gezeigt werden, dass die Therapie mit ASS die Rezidivrate kolorektaler Adenome, den Vorläufern des invasiven Kolonkarzinoms, nach einjähriger Therapie senkt (15). Die positiven Auswirkungen auf Prävention und Therapie des KKK durch ein Medikament, welches ein Schlüsselenzym der Arachidonsäurekaskade blockiert, verdeutlicht die Relevanz des Lipidmetabolismus für dieses Krankheitsbild. Mit der Hemmung der Prostaglandinsynthese gehen jedoch auch Prostaglandin-vermittelte Schutzmechanismen verloren. So kommt es beispielsweise durch Verminderung protektiver Faktoren auf die Magenschleimhaut zu einem erhöhten Risiko für gastrointestinale Ulcera und durch die gleichzeitig bestehende Thrombozytenaggregationshemmung auch zu einem höheren Risiko für schwere gastrointestinale Blutungen. Diese und andere Nebenwirkungen verhindern die breite uneingeschränkte Anwendung in der Prävention des kolorektalen Karzinoms. Die zugrundeliegenden Mechanismen der positiven Auswirkungen einer Therapie mit ASS und

anderen nicht-steroidalen Antirheumatika (NSAR) auf das KRK müssen weiterführend untersucht werden. Durch tiefergehendes Verständnis der Wirkungsweise könnten gezielte Therapeutika unter Vermeidung der aktuell noch limitierenden Nebenwirkungen entwickelt werden.

1.3 Statine und das kolorektale Karzinom

Im Zusammenhang mit den protektiven Wirkungen einer langjährigen Therapie mit Acetylsalicylsäure auf die Entwicklung eines KRK rücken auch potentielle Auswirkungen einer oft begleitenden Statintherapie in den Fokus. Statine (3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase-Inhibitoren) hemmen die Cholesterinbiosynthese und haben eine plaque-stabilisierende Wirkung, wodurch sie in der Primär- und Sekundärprävention kardiovaskulärer und zerebrovaskulärer Erkrankungen eine weitverbreitete klinische Anwendung finden. In Bezug auf das Kolonkarzinom konnte eine große Fall-Kontroll-Studie zeigen, dass eine Statintherapie über fünf Jahre mit einer relativen Risikoreduktion für die Entwicklung eines KRK assoziiert ist (16). Diese Ergebnisse konnten im Verlauf in weiteren Kohorten, unter anderem in einer Patientengruppe mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen verifiziert werden (17). Während sich der chemo-präventive Effekt einer ASS-Therapie auch in einer reduzierten Anzahl kolorektaler Adenome widerspiegelt, führt eine Statintherapie zu einer verminderten Anzahl fortgeschrittener kolorektaler Adenome. Dies spricht dafür, dass Statine die neoplastische Transformation von Adenomen zu Karzinomen hemmen (18). Die Ursachen der beschriebenen Effekte sind noch nicht ausreichend geklärt. In Zellkultur- und Mausmodellexperimenten wiesen Statine eine pro-apoptotische und eine anti-angiogenetische Wirkung auf die kolorektale Karzinogenese auf (19). Die Wirkungsmechanismen einer Statintherapie auf die Aktivität von Enzymen des Lipidstoffwechsels und die Bildung von Lipidmediatoren sind in Bezug auf das kolorektale Karzinom bisher nicht systematisch untersucht worden. In einer experimentellen Studie zum Lungenkarzinom zeigte sich eine Statin-vermittelte COX-2-Induktion, die zu gesteigerter Apoptose führte (20). Die Untersuchung der Effekte einer Statintherapie auf den Lipidmetabolismus der Kolonschleimhaut ist daher essentiell, um weitere Erkenntnisse über potentielle Wirkmechanismen der Statine auf die kolorektale Karzinogenese zu erhalten.

2 Ziel der Studie

Durch die Komplexität der Arachidonsäurekaskade mit zahlreichen möglichen Wechselwirkungen der Signalwege können Veränderungen im Lipidmetabolismus nicht ausreichend durch isolierte Bestimmung einzelner veränderter Metaboliten in biologischen Proben beurteilt werden. Vielmehr ist ein möglichst umfassender experimenteller Ansatz nötig, der ein breites n-3 und n-6-Lipidmediatorprofil in einer Probe erfasst. Durch das hier angewandte hochsensitive LC/MS-Verfahren kann ein umfassendes Lipidprofil menschlicher Kolonschleimhaut aus einzelnen Kolonschleimhautbiopsien erstellt werden, die relativ risikoarm im Rahmen von Routinekoloskopien gewonnen werden können. Durch Vergleich mit Lipidprofilen der Kolonschleimhaut von Individuen unter pharmakologischer Behandlung können komplexe Veränderungen des Lipidmetabolismus erfasst werden.

Aus den Ergebnissen epidemiologischer Studien, die einen chemo-präventiven Effekt einer ASS-Therapie auf das Kolonkarzinom nahelegen, ergibt sich die Frage, welche Auswirkungen eine ASS-Therapie auf das Lipidprofil in Kolongewebe hat. Die präventive Wirkung der ASS-Therapie zeigt sich in einer reduzierten Kolontumorinzidenz erst mehrere Jahre nach Therapiebeginn. Diese zeitliche Latenz spricht für eine frühe Wirkung der ASS-Therapie auf die gesunde Kolonschleimhaut. In einer tierexperimentellen Studie konnte kürzlich eindrücklich gezeigt werden, dass der präventive Effekt einer Statintherapie auf die Ausbildung kolorektaler Adenome nur dann vorhanden ist, wenn die Therapie in noch adenomfreien Mäusen eingeleitet wird (21). Auch dies spricht dafür, dass die Wirkung von Statinen in der Kolontumorprävention auf Effekten in der gesunden, tumorfreien Kolonschleimhaut beruht.

Aufgrund dieser Beobachtungen ist es das Ziel dieser Studie, eine *in vivo* Analyse des Lipidmetabolismus tumorfreier menschlicher Kolonschleimhaut durch die simultane Bestimmung zahlreicher Metaboliten der Arachidonsäurekaskade durchzuführen. Lipidprofile von Individuen unter ASS-Therapie, Statintherapie oder der Therapie mit beiden dieser Wirkstoffe sollen mit Lipidprofilen von Individuen ohne diese Medikation verglichen werden.

3 Methodik

3.1 Patientenkollektiv und Probengewinnung

Um die Auswirkungen einer ASS- und Statintherapie auf die Lipidprofile der menschlichen Kolonschleimhaut zu untersuchen, wurden die Studienteilnehmer stichprobenartig aus einer Patientenkohorte gewählt, die sich im Rahmen einer Vorsorge- oder Kontrollkoloskopie in der gastroenterologischen Klinik des Sana Klinikums Lichtenberg vorstellte. Patienten, die an einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung, einem Kolonkarzinom in den letzten 10 Jahren oder einer Erkrankung mit systemischer entzündlicher Reaktion (Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis) leiden, wurden von der Studie ausgeschlossen. Alle Teilnehmer erteilten ihr schriftliches Einverständnis. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Charité Universitätsmedizin Berlin genehmigt. Das resultierende Patientenkollektiv enthielt 24 Individuen ohne ASS- oder Statintherapie, 16 Individuen unter laufender ASS-Therapie, 7 Individuen unter laufender Statintherapie und 11 Personen mit simultaner ASS- und Statintherapie. Als laufende ASS- und/oder Statintherapie wurde die tägliche Einnahme des entsprechenden Medikamentes oder beider Medikamente in den letzten 6 Monaten definiert. Zur Koloskopievorbereitung nahmen die Studienteilnehmer die Vorbereitungslösung MoviPrep® [Macrogol 3350 (100 g)/ Natriumchlorid (2,691 g)/ Natriumsulfat, wasserfreies (7,5 g)/ Kaliumchlorid (1,015 g)/ Ascorbinsäure (4,7 g)/ Natrium Ascorbat (5,9 g) pro 123 g Pulver] entsprechend den Anwendungsempfehlungen ein. Die Sedierung für den Eingriff erfolgte leitliniengerecht mit Propofol. Im Rahmen der Koloskopie wurden Zangenbiopsien aus makroskopisch unauffälliger Schleimhaut entnommen. Die Gewebeproben wurden unmittelbar auf Trockeneis gefroren und anschließend bis zur Weiterverarbeitung bei -80°C aufbewahrt.

3.2 Analytik

Die Quantifizierung der Lipidmediatoren in den Darmgewebeproben erfolgte durch flüssigchromatographische Trennung (LC) gekoppelt mit massenspektrometrischer Detektion (MS). Die Chromatographie dient dabei der Auftrennung von Substanzen in einem komplexen Gemisch, welche anschließend mittels Massenspektrometrie identifiziert und quantifiziert werden. Da die untersuchten Oxylipine in komplexen biologischen Matrices und niedrigen Konzentrationen (pmol/g) vorliegen, wurden die Analyte zunächst mittels Festphasenextraktion (SPE) aufgereinigt, um störende Matrixkomponenten zu entfernen und die Analyten aufzukonzentrieren. Zur Quantifizierung der oxidierten Fettsäure-Metaboliten in den

Gewebeproben erfolgte zu Beginn der Aufarbeitung die Zugabe sogenannter interner Standards (IS). Es handelt sich hierbei um Isotopen-markierte Oxylipine verschiedener Klassen, die jeweils für die Quantifizierung strukturell eng verwandter Oxylipine verwendet werden. In dieser Analyse wurden folgende IS eingesetzt (jeweils 10 µl von 100 nM): $^2\text{H}_4$ -6-keto-PGF $_{1\alpha}$, $^2\text{H}_4$ -PGE $_2$, $^2\text{H}_4$ -PGD $_2$, $^2\text{H}_4$ -thromboxane (Tx)B $_2$, $^2\text{H}_4$ -leukotriene (LT)B $_4$, $^2\text{H}_4$ -9-HODE, $^2\text{H}_8$ -5-HETE, $^2\text{H}_8$ -12-HETE, $^2\text{H}_6$ -20-HETE, $^2\text{H}_{11-14,15}$ -dihydroxyeicosatrienoic acid, $^2\text{H}_{11-14(15)}$ -epoxyeicosatrienoic acid, $^2\text{H}_4$ -9(10)epoxyoctadecenoic acid und $^2\text{H}_4$ -9,10-dihydroxyoctadecenoic acid). Zudem wurden 10 µl einer Antioxidans/Inhibitor-Lösung [0,2 mg/ml Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), 0,2 mg/ml Butylhydroxytoluol, 100 µM Indomethacin (COX-Inhibitor), 100 µM 1-(1-Methylsulfonyl-Piperidin-4-yl)-3-(4-Trifluoromethoxy-Phenyl)-Urea (sEH Inhibitor) in Methanol/Wasser (50/50, v/v)] zugesetzt. Nach Zugabe von 300 µl Methanol wurde das Gewebe mit Hilfe einer Kugelmühle (5 mm Edelstahlkugeln, 5–10 min, 15–20 Hz; Retsch, Haan, Deutschland) homogenisiert. Die homogenisierten Proben wurden für 10 Minuten bei 4°C und 20.000 g zentrifugiert und die Überstände mit 2700 µl eines 1 M Natriumacetat-Puffers verdünnt und auf einen pH-Wert von 6 eingestellt. Als Vorbereitung für die Festphasenextraktion wurden die verwendeten SPE-Kartuschen (BondElutTM Certify II Säulen, 3 ml, 200 mg; Agilent, Waldbronn, Deutschland) mit einem Säulenvolumen Methanol und einem Säulenvolumen eines 0,1 M Natriumacetatpuffer/Methanolgemischs (95/5, v/v) (pH 6,0) konditioniert. Zur Extraktion wurden die vorbereitenden Proben über die konditionierten SPE-Kartuschen geleitet, wo die Analyten unter Ausnutzung von unpolaren und ionischen Wechselwirkungen an dem Sorbens der Säule anreichern. Im Anschluss wurden die Säulen mit je einem Säulenvolumen Wasser und Methanol/Wasser-Gemisch (50/50, v/v) gewaschen und für 20 Minuten vakuumgetrocknet (~200 mbar). Die Elution der Analyte erfolgte mit Ethylacetat/*n*-Hexan [2 ml 75/25 (v/v), 1%iger Essigsäure] in Glasröhrchen, in welche 6 µl 30%igen Glycerols in Methanol vorgelegt wurde. Das Eluat wurde mit einer Vakuumzentrifuge (Christ, Osterode, Deutschland) evaporiert. Der Rückstand wurde in 50 µl Methanol resuspendiert und mittels LC-MS/MS analysiert. Die flüssigchromatographische Trennung erfolgte mit Hilfe einer Umkehrphasensäule (Agilent Zorbax Eclipse Plus C-18 reversed phase column, 2.1×150 mm, particle size 1.8µm, Agilent, Waldbronn, Deutschland) durch Gradientenelution mit einer Flussrate von 0,3 ml/min mit einem Agilent 1290 HPLC-System (Agilent, Waldbronn, Deutschland). Laufmittel A war 0,1%ige Essigsäure und Laufmittel B Acetonitril/Methanol/Essigsäure 800/150/1 (v/v/v).

Im Anschluss an die chromatographische Auftrennung erfolgte die Detektion und Quantifizierung der Oxylipine mittels Massenspektrometrie. Dazu wurde das Eluat durch

negative Elektrospray-Ionisation unter Atmosphärendruck verdampft und die darin erhaltenen Oxylipine ionisiert. Im Analysator des Triple-Quadrupol-Massenspektrometers wurde für jeden Analyt eine charakteristische Massentransition erfasst. Die Quantifizierung erfolgte durch externe Kalibrierung mit authentischen Standards (lineare Regression mit 1/x² Gewichtung) unter Verwendung der Peakflächenverhältnisse von Analyt zu entsprechendem internem Standard. Die Steuerung der Instrumente erfolgte mit der Analyst® 1.6.2 Software, Integration und Quantifizierung erfolgten mit der Multiquant 2.1.1™ Software von AB Sciex, Darmstadt, Deutschland.

3.3 Statistische Auswertung

In der durchgeführten Analyse ist für jeden untersuchten Metaboliten eine eigene Quantifizierungsgrenze (*engl.*: limit of quantitation, LOQ) definiert. Es handelt sich um die minimale Konzentration des Metaboliten über der eine quantitative Analyse mit ausreichender Präzision möglich ist. Diejenigen Metaboliten, die einen Anteil von Messwerten unter der Quantifizierungsgrenze von 30% oder mehr aufwiesen, wurden von der statistischen Analyse ausgeschlossen und als „Metaboliten mit Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze“ klassifiziert. In Fällen, in denen weniger als 30% der Messwerte unter dem LOQ lagen, wurde für diese Messwerte der Wert der entsprechenden Quantifizierungsgrenze für die statistischen Kalkulationen genutzt. Eine Auflistung der Metaboliten unterhalb der Nachweisgrenze und der entsprechenden Quantifizierungsgrenzen findet sich in der Tabelle S1 des Zusatzmaterials. Für die statistischen Kalkulationen wurde die GraphPad Prism5® Software (GraphPad, San Diego, USA) verwendet.

Die kategorischen Daten des Patientenkollektivs wurden mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests auf Unterschiede in den verschiedenen Gruppen untersucht. Numerische Daten des Patientenkollektivs wurden mittels einfacher Varianzanalyse (one-way ANOVA) und anschließend Post-Hoc-Test (Tukey-Test) auf signifikante Unterschiede in den Gruppen analysiert. Die Unterschiede in den Oxylipinkonzentrationen zwischen Studienteilnehmern mit und ohne ASS-Therapie wurden mit Hilfe des Mann-Whitney Tests auf ihre statistische Signifikanz überprüft. Ebenso erfolgte die Überprüfung der Unterschiede zwischen Studienteilnehmern unter laufender Statintherapie und denjenigen Studienteilnehmern ohne Statintherapie in der Subgruppe der Teilnehmer ohne ASS-Therapie durch den Mann-Whitney Test. Im Anschluss wurde eine zweifache Varianzanalyse (two-way-ANOVA) angewandt, um die Interaktion einer ASS-Therapie mit einer Statintherapie zu überprüfen. Bei 54 simultan

analysierten Metaboliten in einer Probe wendeten wir die Bonferroni-Korrektur für multiples Testen an. Hierdurch ergab sich bei einem initial festgelegten Signifikanzniveau von $p < 0.05$ ein Signifikanzniveau von $p < 0.00092$.

4 Ergebnisse

Die Lipidprofile in Kolonschleimhautbiopsien von Personen unter ASS-Therapie unterschieden sich durch signifikant niedrigere Spiegel der Arachidonsäurederivate 6-keto-PGF_{1α}, PGF_{2α}, PGD₂, PGJ₂, und TxB₂ von den Lipidprofilen der Personen ohne ASS-Therapie. Die PGE₂-Spiegel waren in Kolonschleimhautbiopsien bei Personen unter ASS-Therapie niedriger als bei unbehandelten Patienten, jedoch ohne das festgelegte Signifikanzniveau nach Korrektur für multiples Testen zu erreichen. Auch die Derivate der Omega-3-Fettsäure Eicosapentaensäure PGE₃, PGD₃, TxB₃ und die Derivate der Omega-6-Fettsäure Dihomogammalinolensäure PGE₁ und PGD₁ lagen in den Kolonschleimhautbiopsien bei Personen unter laufender ASS-Therapie in signifikant niedrigeren Konzentrationen vor als bei unbehandelten Patienten. Unter den untersuchten Monohydroxy-Lipidmetaboliten, die durch einfache Hydroxylierung aus n-3 und n-6 PUFA gebildet werden, zeigten sich erniedrigte Spiegel für die Metaboliten 11-HETE (AA-Derivat), 13-HODE (DHA-Derivat) und 9-HODE (LA-Derivat) bei Individuen unter ASS-Therapie im Vergleich zu unbehandelten Patienten.

Die Spiegel der gemessenen Lipidmediatoren in Kolonschleimhautbiopsien von Individuen unter laufender Statintherapie (ohne begleitende ASS-Therapie) waren tendenziell erhöht im Vergleich zu Personen ohne Statine in der Dauermedikation. Die Unterschiede waren nicht statistisch signifikant.

Personen, die unter einer simultanen ASS- und Statintherapie standen, wiesen eine stärkere Suppression der Prostaglandine in der Kolonschleimhaut als Individuen unter alleiniger ASS-Therapie im Vergleich mit unbehandelten Personen auf, was auf einen synergistischen Effekt der beiden Medikamente hinweist.

5 Diskussion

Die vorliegende Studie stellt eine umfassende *in vivo* Analyse des n-3 und n-6 Lipidmediatorprofils in tumorfreier menschlicher Kolonschleimhaut und dessen pharmakologische Beeinflussung durch Acetylsalicylsäure und Statine dar. Die detektierte Suppression der Eicosanoide in Kolonschleimhautbiopsien von Individuen unter ASS-Therapie spiegelt die ASS-vermittelte Hemmung des Enzyms Cyclooxygenase wider, dem Schlüsselenzym der Prostaglandinsynthese. Auch wenn erniedrigte PGE₂ Spiegel bereits in Biopsien gesunder Kolonschleimhaut von Kolonkarzinompatienten unter ASS-Therapie beschrieben wurden (22), existierte bisher keine umfassende Untersuchung der Auswirkungen einer laufenden ASS-Therapie auf das Lipidprofil nicht-neoplastischer Kolonschleimhaut. Eine tumor-fördernde Funktion von PGE₂ in der kolorektalen Karzinogenese wurde in zahlreichen Studien beschrieben (6). Im Gegensatz zu PGE₂ wurde für PGD₂ kürzlich eine tumor-supprimierende Wirkung auf das Kolitis-assoziierte Kolonkarzinom im Mausmodell postuliert (23). Die hier gezeigte PGD₂-Suppression in Kolonschleimhautbiopsien von Patienten unter ASS-Therapie erfordert daher weitere Untersuchungen über die Rolle von PGD₂ in der Entwicklung des Kolonkarzinoms beim Menschen. Sollte PGD₂ auch eine tumor-supprimierende Rolle in der Entwicklung des Kolitis-assoziierten Kolonkarzinoms beim Menschen spielen, könnte eine ASS-vermittelte PGD₂ Suppression potentielle tumor-inhibierende Effekte durch die Suppression prokarzinogener Prostaglandine aufheben oder abschwächen. In diesem Zusammenhang ist erwähnenswert, dass ein eindeutiger chemo-präventiver Effekt einer ASS-Therapie auf die kolorektale Karzinogenese bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen bisher nicht belegt ist (24). Die Cyclooxygenase kann neben den Prostanoiden auch die Monohydroxy-Fettsäuren 11-HETE, 13-HODE und 9-HODE bilden (25). Durch die hier vorliegende *in vivo* Analyse konnte die biologische Relevanz dieses Synthesewegs belegt werden, da Personen unter ASS-Therapie signifikant niedrigere Spiegel dieser Lipidmetaboliten in der Kolonschleimhaut aufwiesen als unbehandelte Personen.

Die simultane Quantifizierung zahlreicher Lipidmetaboliten in Kolonschleimhautbiopsien soll auch die Frage beantworten, ob durch die Suppression des Schlüsselenzyms Cyclooxygenase durch ASS eine Aktivierung anderer Signalwege der Arachidonsäurekaskade erfolgt, die potentiell mit der vermehrten Bildung entzündungs- oder tumorfördernder Lipidmetaboliten einhergeht. In diesem Kontext zeigten *in vitro* Experimente in kolorektalen Tumorzelllinien, dass eine Hemmung der Cyclooxygenase mit einer Aktivierung des 5-Lipoxygenase Signalwegs einhergeht (26). Eine Aktivierung anderer Signalwege der Arachidonsäurekaskade durch COX-Hemmung konnte in der hier vorliegenden Untersuchung gesunder Kolonschleimhautproben

nicht bestätigt werden. Die Spiegel von 5-Lipoxygenase- und 12-Lipoxygenasemetaboliten zeigten keine Unterschiede zwischen Personen mit und ohne ASS-Therapie.

In vitro Studien haben ferner gezeigt, dass die durch ASS acetylierte Form der Cyclooxygenase-2 die Hydroxy-Fettsäuren 15(R)-HETE aus Arachidonsäure (27) und die n-3-PUFA-Derivate 18-HEPE und 17-HDHA bilden kann. Diese Metaboliten wurden in den letzten Jahren als Vorläufer zahlreicher Lipidmediatoren mit entzündungshemmender Wirkung identifiziert (28, 29). Es stellt sich somit die Frage, ob die chemo-präventive Wirkung einer ASS-Therapie nicht allein auf der Hemmung tumorfördernder Prostaglandine beruht, sondern auch durch eine vermehrte Bildung entzündungshemmender Metaboliten bedingt ist. Die Spiegel für 15-HETE, 18-HEPE und 17-HDHA unterschieden sich in unserer Analyse nicht zwischen Patienten mit und ohne ASS-Therapie. Der Grund hierfür liegt am ehesten in einer fehlenden COX-2 Expression in gesunder Kolonmukosa (30). Eine COX- Expressionsanalyse war aufgrund der begrenzten Größe des Probenmaterials nicht möglich, was in diesem Zusammenhang als Limitation der Studie angesehen werden muss. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, die Lipidprofile in COX-2-exprimierender neoplastischer Kolonmukosa von Patienten mit und ohne ASS-Therapie auf eine vermehrte Bildung der genannten Vorläufermetaboliten durch COX-2- Acetylierung in weiteren Studien zu untersuchen.

Die Wirkung einer Statintherapie auf das Lipidprofil in menschlichen Kolonschleimhautbiopsien ist bisher nicht umfassend untersucht. Die in unserer Analyse vorliegende tendenzielle Erhöhung der gemessenen Lipidmetaboliten bei Personen unter Statintherapie ist in Übereinstimmung mit anderen Studien, die eine COX-2-Stimulation und erhöhte Prostaglandinspiegel unter dem Einfluss von Statinen in verschiedenen pathologischen Konstellationen aufzeigten (31, 32). Andere Untersuchungen weisen wiederum auf eine COX-2-Hemmung und eine verminderte Prostanoidsynthese durch Statine hin (33). Auch *Teraoka et al.* beschrieben eine COX-2 Suppression in nicht-neoplastischer Kolonschleimhaut von Mäusen nach Statintherapie (34). Kürzlich konnten *Ye et al.* das Prostaglandin 15-deoxy-delta-12,14-PGJ₂ (einem Produkt aus PGD₂) als Vermittler einer Atorvastatin-vermittelten Aktivierung des Peroxisom-Proliferator-aktivierte Rezeptors γ (PPAR γ) identifizieren (35), einem intrazellulären Rezeptor, für den ein fördernder Einfluss auf die kolorektale Karzinogenese beschrieben ist (36). Die unzureichende Datenlage bezüglich der Statinwirkung auf das Lipidprofil der Kolonschleimhaut bei gleichzeitig bestehenden Hinweisen auf eine protektive Wirkung hinsichtlich der Entwicklung kolorektaler Karzinome erfordern weitere Studien auf diesem Gebiet.

Überraschenderweise zeigten sich bei Patienten mit gleichzeitig bestehender ASS- und Statintherapie deutlich niedrigere Eicosanoidspiegel in Kolonschleimhautbiopsien im Vergleich zu Patienten ohne ASS- und Statintherapie und zu Patienten unter alleiniger ASS-Therapie. Dies weist auf einen bisher nicht beschriebenen synergistischen Effekt der beiden Medikamente in der Beeinflussung des Lipidprofils menschlicher Kolonschleimhaut hin. Ein synergistischer Effekt einer Statin- und NSAR-Therapie in der Prävention kolorektaler Neoplasien konnte im Tiermodell gezeigt werden (37, 38), wobei die zugrunde liegenden Mechanismen nicht geklärt sind. Die Auswertung einer Fall-Kontroll-Studie aus Deutschland deutet ebenfalls eine höhere Risikoreduktion für die Entwicklung eines kolorektalen Karzinoms unter dualer ASS- und Statintherapie über einen Zeitraum von fünf oder mehr Jahren im Vergleich zur Therapie mit einer der Substanzen an (39). In einer größeren Fall-Kontroll-Studie konnte dieser synergistische Effekt jedoch nicht detektiert werden (16). Große prospektive Fall-Kontroll-Studien oder randomisierte kontrollierte Studien sind nötig, um die Frage zu beantworten, ob NSAR und Statine sich in ihrer Wirkung auf die kolorektale Karzinogenese verstärken.

Bei der hier gezeigten Analyse handelt es sich um eine reine Beobachtungsstudie, was impliziert, dass Veränderungen des Lipidprofils vor und nach Therapieeinleitung nicht beurteilt werden können. Außerdem unterschieden sich die untersuchten Gruppen hinsichtlich des Alters und der Begleiterkrankungen, was wiederum Einflüsse auf das Lipidprofil haben kann. Diese methodischen Limitationen der Studie stellen jedoch vor dem Hintergrund der ausgeprägten beobachteten Effekte in einer routinemäßigen klinischen Umgebung keine wesentliche Einschränkung der Aussagekraft dar.

Unsere Studie belegt, dass eine orale Therapie mit Acetylsalicylsäure und Statinen das Lipidmediatorprofil menschlicher Kolonschleimhaut wesentlich beeinflusst. Diese Erkenntnisse liefern die biologische Grundlage für die These, dass die durch COX-Inhibition vermittelte Suppression entzündungs- und tumorfördernder Lipidmediatoren eine mögliche Ursache der chemo-präventiven Effekte einer ASS-Therapie auf die kolorektale Karzinogenese ist. Insbesondere die Tatsache, dass die chemo-präventiven Effekte erst nach langjähriger ASS-Einnahme in Form einer verminderten Karzinominzidenz zu Tage treten (13), spricht dafür, dass die chemo-präventive Wirkung Folge eines Langzeiteffekts auf die noch gesunde Kolonschleimhaut ist. In Übereinstimmung damit konnte kürzlich im Mausmodell eindrücklich gezeigt werden, dass die präventiven Effekte einer Statintherapie nachweisbar waren, wenn die Therapie vor dem Auftreten von Kolonneoplasien initiiert wird (21). Das Ansprechen auf chemo-präventive Pharmaka hängt also wesentlich von den pathophysiologischen Bedingungen der Kolonschleimhaut zu Therapiebeginn ab. Daher liefert unsere Analyse gesunder

Kolonschleimhautlipidprofile einen notwendigen Beitrag zum tieferen Verständnis von Veränderungen des Lipidmetabolismus in der kolorektalen Karzinogenese. Die sich hieraus unmittelbar ergebende weiterführende Fragestellung ist die Untersuchung des Lipidprofils in neoplastischer Kolonschleimhaut. Dabei sollen Veränderungen, die mutmaßlich den wesentlichen Beitrag zur kolorektalen Karzinogenese auf der Ebene des Lipidstoffwechsels leisten, identifiziert werden. Das langfristige Ziel ist es, aus diesen Beobachtungen Rückschlüsse zu ziehen, welche Lipidmediatoren als Angriffspunkte für die Therapie oder Chemoprävention des kolorektalen Karzinoms in Frage kommen, um neue therapeutische Ansätze mit einem geringeren Nebenwirkungsprofil als ASS zu entwickeln.

Die aus dieser Studie neu gewonnene Erkenntnis, dass die ASS- vermittelte Suppression der Eicosanoidlevel in menschlicher Kolonschleimhaut durch die gleichzeitige Gabe von Statinen verstärkt wird, erfordert weitere Untersuchungen zur Möglichkeit der Kombination beider Wirkstoffklassen in der Prävention kolorektaler Karzinome. Auch wenn die Chemoprävention mit diesen beiden Medikamenten aufgrund des Nebenwirkungsprofils nicht für breite Bevölkerungsgruppen mit sporadischem kolorektalem Karzinom in Frage kommt, so könnte doch eine Gruppe von Hochrisikopatienten mit genetisch bedingt erhöhtem Karzinomrisiko und geringer Gefahr gastrointestinaler Blutungen von einer effektiveren Chemoprävention durch beide Pharmaka profitieren.

6 Literatur

1. Ferlay, J., I. Soerjomataram, R. Dikshit, S. Eser, C. Mathers, M. Rebelo, D. M. Parkin, D. Forman, and F. Bray. 2015. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* **136**: E359-386.
2. Ferlay, J., M. Colombet, I. Soerjomataram, T. Dyba, G. Randi, M. Bettio, A. Gavin, O. Visser, and F. Bray. 2018. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. *Eur J Cancer*.
3. Beloribi-Djefafli, S., S. Vasseur, and F. Guillaumond. 2016. Lipid metabolic reprogramming in cancer cells. *Oncogenesis* **5**: e189.
4. Rigas, B., I. S. Goldman, and L. Levine. 1993. Altered eicosanoid levels in human colon cancer. *J Lab Clin Med* **122**: 518-523.
5. Wang, D., and R. N. Dubois. 2006. Prostaglandins and cancer. *Gut* **55**: 115-122.
6. Wang, D., and R. N. DuBois. 2013. An inflammatory mediator, prostaglandin E2, in colorectal cancer. *Cancer J* **19**: 502-510.
7. Dubois, R. N., S. B. Abramson, L. Crofford, R. A. Gupta, L. S. Simon, L. B. Van De Putte, and P. E. Lipsky. 1998. Cyclooxygenase in biology and disease. *Faseb j* **12**: 1063-1073.
8. Serhan, C. N. 2014. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature* **510**: 92-101.
9. Kim, H. B., M. Kim, Y. S. Park, I. Park, T. Kim, S. Y. Yang, C. J. Cho, D. Hwang, J. H. Jung, S. D. Markowitz, S. W. Hwang, S. K. Yang, D. S. Lim, and S. J. Myung. 2016. Prostaglandin E2 Activates YAP and a Positive-signaling Loop to Promote Colon Regeneration Following Colitis but Also Carcinogenesis in Mice. *Gastroenterology*.
10. Nowak, J., K. H. Weylandt, P. Habel, J. Wang, A. Dignass, J. N. Glickman, and J. X. Kang. 2007. Colitis-associated colon tumorigenesis is suppressed in transgenic mice rich in endogenous n-3 fatty acids. *Carcinogenesis* **28**: 1991-1995.
11. Song, M., X. Zhang, J. A. Meyerhardt, E. L. Giovannucci, S. Ogino, C. S. Fuchs, and A. T. Chan. 2016. Marine omega-3 polyunsaturated fatty acid intake and survival after colorectal cancer diagnosis. *Gut*.
12. Willenberg, I., A. I. Ostermann, and N. H. Schebb. 2015. Targeted metabolomics of the arachidonic acid cascade: current state and challenges of LC-MS analysis of oxylipins. *Anal Bioanal Chem* **407**: 2675-2683.
13. Rothwell, P. M., M. Wilson, C. E. Elwin, B. Norrving, A. Algra, C. P. Warlow, and T. W. Meade. 2010. Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality: 20-year follow-up of five randomised trials. *Lancet* **376**: 1741-1750.

14. Li, P., H. Wu, H. Zhang, Y. Shi, J. Xu, Y. Ye, D. Xia, J. Yang, J. Cai, and Y. Wu. 2015. Aspirin use after diagnosis but not prediagnosis improves established colorectal cancer survival: a meta-analysis. *Gut* **64**: 1419-1425.
15. Benamouzig, R., B. Uzzan, J. Deyra, A. Martin, B. Girard, J. Little, S. Chaussade, and G. Association pour la Prevention par l'Aspirine du Cancer Colorectal Study. 2012. Prevention by daily soluble aspirin of colorectal adenoma recurrence: 4-year results of the APACC randomised trial. *Gut* **61**: 255-261.
16. Poynter, J. N., S. B. Gruber, P. D. Higgins, R. Almog, J. D. Bonner, H. S. Rennert, M. Low, J. K. Greenon, and G. Rennert. 2005. Statins and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med* **352**: 2184-2192.
17. Ananthakrishnan, A. N., A. Cagan, T. Cai, V. S. Gainer, S. Y. Shaw, S. Churchill, E. W. Karlson, S. N. Murphy, K. P. Liao, and I. Kohane. 2016. Statin Use Is Associated With Reduced Risk of Colorectal Cancer in Patients With Inflammatory Bowel Diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* **14**: 973-979.
18. Jung, Y. S., C. H. Park, C. S. Eun, D. I. Park, and D. S. Han. 2016. Statin use and the risk of colorectal adenoma: A meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* **31**: 1823-1830.
19. Cho, S. J., J. S. Kim, J. M. Kim, J. Y. Lee, H. C. Jung, and I. S. Song. 2008. Simvastatin induces apoptosis in human colon cancer cells and in tumor xenografts, and attenuates colitis-associated colon cancer in mice. *Int J Cancer* **123**: 951-957.
20. Walther, U., K. Emmrich, R. Ramer, N. Mittag, and B. Hinz. 2016. Lovastatin lactone elicits human lung cancer cell apoptosis via a COX-2/PPARgamma-dependent pathway. *Oncotarget* **7**: 10345-10362.
21. Chang, W. L., C. Jackson, S. Riel, H. S. Cooper, K. Devarajan, H. H. Hensley, Y. Zhou, L. A. Vanderveer, M. T. Nguyen, and M. L. Clapper. 2017. Differential preventive activity of sulindac and atorvastatin in Apc⁺/Min-FCCCMice with or without colorectal adenomas. *Gut*.
22. Frommel, T. O., M. Dyavanapalli, T. Oldham, N. Kazi, H. Lietz, Y. Liao, and S. Mobarhan. 1997. Effect of aspirin on prostaglandin E2 and leukotriene B4 production in human colonic mucosa from cancer patients. *Clin Cancer Res* **3**: 209-213.
23. Iwanaga, K., T. Nakamura, S. Maeda, K. Aritake, M. Hori, Y. Urade, H. Ozaki, and T. Murata. 2014. Mast cell-derived prostaglandin D2 inhibits colitis and colitis-associated colon cancer in mice. *Cancer Res* **74**: 3011-3019.
24. Burr, N. E., M. A. Hull, and V. Subramanian. 2016. Does aspirin or non-aspirin non-steroidal anti-inflammatory drug use prevent colorectal cancer in inflammatory bowel disease? *World J Gastroenterol* **22**: 3679-3686.

25. Gabbs, M., S. Leng, J. G. Devassy, M. Monirujjaman, and H. M. Aukema. 2015. Advances in Our Understanding of Oxylipins Derived from Dietary PUFAs. *Adv Nutr* **6**: 513-540.
26. Che, X. H., C. L. Chen, X. L. Ye, G. B. Weng, X. Z. Guo, W. Y. Yu, J. Tao, Y. C. Chen, and X. Chen. 2016. Dual inhibition of COX-2/5-LOX blocks colon cancer proliferation, migration and invasion in vitro. *Oncol Rep* **35**: 1680-1688.
27. Lecomte, M., O. Laneuville, C. Ji, D. L. DeWitt, and W. L. Smith. 1994. Acetylation of human prostaglandin endoperoxide synthase-2 (cyclooxygenase-2) by aspirin. *J Biol Chem* **269**: 13207-13215.
28. Serhan, C. N., T. Takano, and J. F. Maddox. 1999. Aspirin-triggered 15-epi-lipoxin A4 and stable analogs on lipoxin A4 are potent inhibitors of acute inflammation. Receptors and pathways. *Adv Exp Med Biol* **447**: 133-149.
29. Serhan, C. N., C. B. Clish, J. Brannon, S. P. Colgan, N. Chiang, and K. Gronert. 2000. Novel functional sets of lipid-derived mediators with antiinflammatory actions generated from omega-3 fatty acids via cyclooxygenase 2-nonsteroidal antiinflammatory drugs and transcellular processing. *J Exp Med* **192**: 1197-1204.
30. Wiese, F. W., P. A. Thompson, J. Warneke, J. Einspahr, D. S. Alberts, and F. F. Kadlubar. 2003. Variation in cyclooxygenase expression levels within the colorectum. *Mol Carcinog* **37**: 25-31.
31. Dolkart, O., E. Amar, S. Shapira, S. Marmor, E. L. Steinberg, and A. A. Weinbroum. 2015. Protective effects of rosuvastatin in a rat model of lung contusion: Stimulation of the cyclooxygenase 2-prostaglandin E-2 pathway. *Surgery* **157**: 944-953.
32. Heeba, G. H., M. K. Hassan, and R. S. Amin. 2009. Gastroprotective effect of simvastatin against indomethacin-induced gastric ulcer in rats: role of nitric oxide and prostaglandins. *Eur J Pharmacol* **607**: 188-193.
33. Habib, A., I. Shamseddeen, M. S. Nasrallah, T. A. Antoun, G. Nemer, J. Bertoglio, R. Badreddine, and K. F. Badr. 2007. Modulation of COX-2 expression by statins in human monocytic cells. *FASEB J* **21**: 1665-1674.
34. Teraoka, N., M. Mutoh, S. Takasu, T. Ueno, M. Yamamoto, T. Sugimura, and K. Wakabayashi. 2011. Inhibition of intestinal polyp formation by pitavastatin, a HMG-CoA reductase inhibitor. *Cancer Prev Res (Phila)* **4**: 445-453.
35. Ye, Y., S. P. Nishi, S. Manickavasagam, Y. Lin, M. H. Huang, J. R. Perez-Polo, B. F. Uretsky, and Y. Birnbaum. 2007. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-gamma) by atorvastatin is mediated by 15-deoxy-delta-12,14-PGJ2. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* **84**: 43-53.

36. Lefebvre, A. M., I. Chen, P. Desreumaux, J. Najib, J. C. Fruchart, K. Geboes, M. Briggs, R. Heyman, and J. Auwerx. 1998. Activation of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma promotes the development of colon tumors in C57BL/6J-APCMin/+ mice. *Nat Med* **4**: 1053-1057.
37. Agarwal, B., C. V. Rao, S. Bhendwal, W. R. Ramey, H. Shirin, B. S. Reddy, and P. R. Holt. 1999. Lovastatin augments sulindac-induced apoptosis in colon cancer cells and potentiates chemopreventive effects of sulindac. *Gastroenterology* **117**: 838-847.
38. Reddy, B. S., C. X. Wang, A. N. Kong, T. O. Khor, X. Zheng, V. E. Steele, L. Kopelovich, and C. V. Rao. 2006. Prevention of azoxymethane-induced colon cancer by combination of low doses of atorvastatin, aspirin, and celecoxib in F 344 rats. *Cancer Res* **66**: 4542-4546.
39. Hoffmeister, M., J. Chang-Claude, and H. Brenner. 2007. Individual and joint use of statins and low-dose aspirin and risk of colorectal cancer: a population-based case-control study. *Int J Cancer* **121**: 1325-1330.

7 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Heike Verena Gottschall, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Einfluss von Acetylsalicylsäure und Statinen auf das Lipidmediatorprofil in menschlicher Kolonmukosa“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Berlin, den 14.01.2019

Unterschrift

8 Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

J Lipid Res. 2018 May;59(5):864-871. doi: 10.1194/jlr.M078725. Epub 2018 Feb 14.

Aspirin alone and combined with a statin suppresses eicosanoid formation in human colon tissue.

Gottschall H*, Schmöcker C*, Hartmann D, Rohwer N, Rund K, Kutzner L, Nolte F, Ostermann AI, Schebb NH, Weylandt KH. * authors contributed equally to this work as first authors

Heike Gottschall hatte folgenden Anteil an der genannten Publikation:

Heike Gottschall hat diese Publikation in geteilter Erstautorenschaft mit Herrn Dr. med. Ch. Schmöcker verfasst. Die Publikation ist gemäß §7 (1) der Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin vom 03.12.2012 nicht Bestandteil einer weiteren Dissertation. Von Heike Gottschall und Herrn Dr. Schmöcker stammt die Idee für dieses Projekt und die Planung des experimentellen Designs der Studie. Durch Heike Gottschall erfolgte die Auswahl der Studienteilnehmer und die Erhebung der Patientendaten inklusive Anamnese, Vorerkrankungen, Untersuchungsstatus und Medikation. In Zusammenarbeit mit Herrn Dr. med. Ch. Schmöcker als Mitbetreuer der Promotion erfolgte die Durchführung der Koloskopien mit Gewinnung der biologischen Proben. Die zur Durchführung der LC/MS-MS notwendigen Vorbereitungen der Gewebeproben (Einfrieren zur Stabilisierung bei Lagerung und Transport, Abwiegen und Zuschneiden der Gewebeproben auf eine standardisierte Probengröße) erfolgte ebenfalls durch Heike Gottschall. Die Messergebnisse nach LC/MS-MS wurden durch Heike Gottschall statistisch analysiert und graphisch dargestellt. Auf Basis der erhobenen Daten erfolgte nach selbstständiger Literatursuche und Einordnung der Ergebnisse in den aktuellen Forschungsstand die Erstellung von Einleitung, Ergebnisteil und Diskussion des Manuskripts durch Heike Gottschall. Nach Diskussion und Überarbeitung des Manuskripts mit den Co-Autoren unter Leitung von Prof. K-H. Weylandt hat Heike Gottschall die vorliegende Publikation fertiggestellt.

Prof. Dr. Dr. Karsten-H. Weylandt
Berlin, den 14.01.2019

Heike Gottschall
Berlin, den 14.01.2019

9 Auszug aus der Journal Summary List

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2017** Selected Editions: SCIE,SSCI
 Selected Categories: **"BIOCHEMISTRY and MOLECULAR BIOLOGY"** Selected
 Category Scheme: WoS
Gesamtanzahl: 292 Journale

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	NATURE MEDICINE	75,461	32.621	0.171980
2	CELL	230,625	31.398	0.583260
3	Annual Review of Biochemistry	19,873	20.154	0.030170
4	TRENDS IN BIOCHEMICAL SCIENCES	16,944	15.678	0.030830
5	MOLECULAR CELL	61,604	14.248	0.181170
6	Nature Chemical Biology	19,562	13.843	0.061240
7	NATURE STRUCTURAL & MOLECULAR BIOLOGY	27,547	13.333	0.081820
8	TRENDS IN MICROBIOLOGY	11,344	11.776	0.020970
9	MOLECULAR PSYCHIATRY	18,460	11.640	0.047200
10	NUCLEIC ACIDS RESEARCH	168,962	11.561	0.402470
11	NATURAL PRODUCT REPORTS	9,973	11.406	0.016090
12	TRENDS IN MOLECULAR MEDICINE	9,213	11.021	0.019720
13	EMBO JOURNAL	67,036	10.557	0.079780
14	MOLECULAR BIOLOGY AND EVOLUTION	44,664	10.217	0.101560
15	GENOME RESEARCH	38,842	10.101	0.105060
16	Molecular Plant	7,010	9.326	0.021690
17	CURRENT BIOLOGY	56,595	9.251	0.137200
18	PLOS BIOLOGY	28,750	9.163	0.058680
19	Cell Systems	1,129	8.982	0.009600
20	EMBO REPORTS	13,293	8.749	0.031350
21	Molecular Systems Biology	8,447	8.500	0.019830
22	PROGRESS IN LIPID RESEARCH	5,302	8.435	0.006750
23	PLANT CELL	48,393	8.228	0.063640
24	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA-REVIEWS ON CANCER	5,276	8.220	0.009300
25	MATRIX BIOLOGY	4,803	8.136	0.008500
26	CELL DEATH AND DIFFERENTIATION	18,865	8.000	0.031540
27	Molecular Cancer	10,301	7.776	0.017280
28	CURRENT OPINION IN CHEMICAL BIOLOGY	10,226	7.572	0.019010
29	MOLECULAR ASPECTS OF MEDICINE	5,157	7.344	0.009700
30	CURRENT OPINION IN STRUCTURAL BIOLOGY	10,619	7.179	0.024320
31	Redox Biology	4,083	7.126	0.012060

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
32	Molecular Ecology Resources	9,272	7.059	0.017390
33	ONCOGENE	66,411	6.854	0.075960
34	CELLULAR AND MOLECULAR LIFE SCIENCES	23,341	6.721	0.041340
35	ANTIOXIDANTS & REDOX SIGNALING	19,324	6.530	0.032120
36	CYTOKINE & GROWTH FACTOR REVIEWS	5,668	6.395	0.008050
37	Science Signaling	10,316	6.378	0.037220
38	MOLECULAR ECOLOGY	37,813	6.131	0.062120
39	FREE RADICAL BIOLOGY AND MEDICINE	40,089	6.020	0.043060
40	CHEMISTRY & BIOLOGY	12,036	5.915	0.022840
41	BIOMACROMOLECULES	36,807	5.738	0.040810
42	FASEB JOURNAL	41,572	5.595	0.051640
43	Cell Chemical Biology	936	5.592	0.005100
44	EXPERIMENTAL AND MOLECULAR MEDICINE	3,538	5.584	0.007100
45	ADDICTION BIOLOGY	3,947	5.578	0.009640
46	CRITICAL REVIEWS IN BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY	3,337	5.279	0.007160
47	RNA Biology	5,089	5.216	0.019400
48	Biochimica et Biophysica Acta-Genes Regulatory Mechanisms	7,047	5.179	0.019420
49	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA-MOLECULAR BASIS OF DISEASE	12,799	5.108	0.027740
50	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA-MOLECULAR AND CELL BIOLOGY OF LIPIDS	8,827	4.966	0.019590
51	Epigenetics	5,167	4.918	0.014110
52	STRUCTURE	14,417	4.907	0.036760
53	HUMAN MOLECULAR GENETICS	40,141	4.902	0.081220
54	JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY	59,295	4.894	0.047560
55	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA-MOLECULAR CELL RESEARCH	15,355	4.651	0.035090
56	JOURNAL OF NEUROCHEMISTRY	37,022	4.609	0.030710
57	ACS Chemical Biology	10,139	4.592	0.038480
58	FEBS Journal	17,495	4.530	0.034500

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
59	JOURNAL OF LIPID RESEARCH	22,697	4.505	0.029380
60	RNA	13,110	4.490	0.029440
61	BIOCONJUGATE CHEMISTRY	15,194	4.485	0.021530
62	BIOESSAYS	9,697	4.419	0.016870
63	JOURNAL OF NUTRITIONAL BIOCHEMISTRY	9,815	4.414	0.014150
64	MOLECULAR PHYLOGENETICS AND EVOLUTION	18,604	4.412	0.029490
65	NITRIC OXIDE-BIOLOGY AND CHEMISTRY	3,680	4.367	0.004970
66	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA-BIOENERGETICS	11,931	4.280	0.022190
67	ACS Chemical Neuroscience	4,336	4.211	0.013270
68	Computational and Structural Biotechnology Journal	933	4.148	0.003730
69	JOURNAL OF STEROID BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY	10,325	4.095	0.012650
70	Metallomics	4,240	4.069	0.009600
71	Journal of Genetics and Genomics	1,811	4.066	0.004100
72	International Journal of Biological Sciences	4,432	4.057	0.009970
73	AMYLOID-JOURNAL OF PROTEIN FOLDING DISORDERS	1,262	4.048	0.002420
74	CHROMOSOMA	3,527	4.021	0.005850
75	JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY	366,247	4.010	0.320840
76	METHODS	19,646	3.998	0.024790
77	APOPTOSIS	6,281	3.967	0.007390
78	BIOORGANIC CHEMISTRY	2,123	3.929	0.003030
79	INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES	20,621	3.909	0.030000
80	EXPERT REVIEWS IN MOLECULAR MEDICINE	1,790	3.865	0.001620
81	BIOCHEMICAL JOURNAL	47,538	3.857	0.037930
82	CURRENT OPINION IN LIPIDOLOGY	3,849	3.853	0.006100
83	MOLECULAR CARCINOGENESIS	5,244	3.851	0.007630
84	MOLECULAR MICROBIOLOGY	35,698	3.816	0.036170

10 Druckexemplar der ausgewählten Publikation

J Lipid Res. 2018 May;59(5):864-871. doi: 10.1194/jlr.M078725. Epub 2018 Feb 14.

Aspirin alone and combined with a statin suppresses eicosanoid formation in human colon tissue.

Gottschall H*, Schmöcker C*, Hartmann D, Rohwer N, Rund K, Kutzner L, Nolte F, Ostermann AI, Schebb NH, Weylandt KH.

* authors contributed equally to this work as first authors

<https://doi.org/10.1194/jlr.M078725>



Supplemental Material can be found at:
<http://www.jlr.org/content/suppl/2018/02/14/jlr.M078725.DC1.html>

patient-oriented and epidemiological research

Aspirin alone and combined with a statin suppresses eicosanoid formation in human colon tissue^S

Heike Gottschall,^{1,*} Christoph Schmöcker,^{1,*†} Dirk Hartmann,^{*} Nadine Rohwer,[§] Katharina Rund,^{**} Laura Kutzner,^{**} Fabian Nolte,^{**} Annika I. Ostermann,^{**††} Nils Helge Schebb,^{**††} and Karsten H. Weylandt^{2,†,§}

Department of Gastroenterology,^{*} Sana Klinikum Lichtenberg, Berlin, Germany; Medical Department,[†] Division of Gastroenterology, Oncology, Hematology, Rheumatology, and Diabetes, Ruppiner Kliniken, Brandenburg Medical School, Neuruppin, Germany; Medical Department,[§] Division of Hepatology and Gastroenterology, Campus Virchow-Klinikum, Charité University Medicine, Berlin, Germany; Institute for Food Toxicology,^{**} University for Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany; and Chair of Food Chemistry,^{††} Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Wuppertal, Wuppertal, Germany

ORCID ID: 0000-0002-7334-2154 (H.G.)

Abstract Eicosanoids, including prostaglandins (PGs) and thromboxanes, are broadly bioactive lipid mediators and increase colon tumorigenesis possibly through chronic inflammatory mechanisms. Epidemiological and experimental data suggest that acetylsalicylic acid (ASA) helps prevent colorectal cancer (CRC), possibly through cyclooxygenase (COX)-mediated suppression of eicosanoid, particularly PGE₂, formation. Recent studies suggest that statins prevent CRC and improve survival after diagnosis. We identified patients on ASA and/or statin treatment undergoing routine colonoscopy and measured eicosanoid levels in colonic mucosa with targeted metabolomics technology (LC-MS/MS). ASA-treated individuals (n = 27) had significantly lower tissue eicosanoid levels of most COX-derived metabolites than untreated individuals (n = 31). In contrast, COX-derived lipid metabolites tended to be higher in patients with statin treatment (n = 7) as compared with those not receiving statins (n = 24). This effect was not discernible in subjects treated with ASA and statins (n = 11); Individuals treated with both drugs showed a pronounced suppression of COX-derived eicosanoids in colon tissue, even compared with subjects treated with ASA alone. Our data from a routine clinical setting support the hypothesis that ASA and statins could inhibit CRC development via lipid mediator modification. Further studies should directly investigate the effect of dual ASA and statin treatment on colon tumorigenesis in humans.—Gottschall, H., C. Schmöcker, D. Hartmann, N. Rohwer, K. Rund, L. Kutzner, F. Nolte, A. I. Ostermann, N. H. Schebb, and K. H. Weylandt. **Aspirin alone and combined with a statin suppresses eicosanoid formation in human colon tissue.** *J. Lipid Res.* 2018. 59: 864–871.

Supplementary key words colorectal cancer • lipidomics • cyclooxygenase • arachidonic acid • acetylsalicylic acid

This work was supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft Grants WE 2908 and SCHE 1801. The authors declare no conflicts of interest.

Manuscript received 22 June 2017 and in revised form 10 February 2018.

Published, JLR Papers in Press, February 14, 2018
DOI <https://doi.org/10.1194/jlr.M078725>

Colorectal cancer (CRC) is the third most diagnosed cancer worldwide (1). Numerous epidemiological and observational studies show that long-term low-dose acetylsalicylic acid (ASA) intake reduces the incidence of CRC and that postdiagnosis ASA therapy exerts positive effects on CRC overall survival (2, 3). Prostaglandin (PG)E₂, one of the main cyclooxygenase (COX) products suppressed by the COX-inhibitor, ASA, has a well-established pro-tumorigenic role in CRC development (4–6) and oral treatment with ASA was found to decrease colonic tissue PGE₂ levels in individuals suffering from CRC (7). Several studies have shown that treatment with ASA or other COX-inhibitors (8, 9) can suppress the development of colonic neoplasia by suppressing the formation of colon polyps (10–12), which are neoplastic precursor lesions leading to most CRCs (13, 14). The preventive effect of ASA might thus occur within normal (neither neoplastic nor inflamed) colon mucosa. The protection from CRC in individuals treated with aspirin becomes visible in the rates of CRC incidence 8–10 years after the beginning of aspirin administration (15). This observation also supports the thesis of an early effect of aspirin treatment on healthy colonic mucosa.

In addition, a role in colon tumorigenesis chemoprevention has been postulated for statins (hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitors), which are widely used

Abbreviations: AA, arachidonic acid; ASA, acetylsalicylic acid; COX, cyclooxygenase; CRC, colorectal cancer; DGLA, dihomo γ -linolenic acid; HDHA, hydroxydocosahexaenoic acid; HEPE, hydroxyeicosapentaenoic acid; LA, linoleic acid; LOQ, limit of quantitation; LOX, lipoxygenase; LT, leukotriene; PG, prostaglandin; Tx, thromboxane.

¹H. Gottschall and C. Schmöcker contributed equally to this work as first authors.

²To whom correspondence should be addressed.

e-mail: karsten.weylandt@mhb-fontane.de

^S The online version of this article (available at <http://www.jlr.org>) contains a supplement.

Copyright © 2018 by the American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc.

This article is available online at <http://www.jlr.org>

for the reduction of serum cholesterol levels in the prevention of cardiovascular or cerebrovascular events. A large population-based case-control study demonstrated a relative risk reduction for CRC development for statin treatment over 5 years (16). Most recently, these findings were confirmed in different cohorts, including a large cohort of patients with inflammatory bowel disease (17, 18). Furthermore, statin use was found to be associated with a reduced incidence of advanced colorectal adenoma, suggesting a preventive role in the malignant transformation of adenomatous tissue (19, 20). Besides the effect in colon tumorigenesis prevention, several studies indicate positive effects on CRC-specific mortality and survival (21–23). The effect of statin treatment on eicosanoid formation is controversial, with studies demonstrating increased eicosanoid formation due to statin use (24–27) as compared with other data indicating suppression of eicosanoid formation (28–30).

Both drugs can modify the product spectrum of COX-2: While COX-2 acetylation by aspirin blocks prostanoid and 11-H(p)ETE formation, acetylated COX-2 still leads to the formation of 15-HETE (31–34). Interestingly, statins were shown to modulate COX-2 activity by increasing inducible nitric oxide synthase and S-nitrosylation of COX-2 (35). 15-HETE is a pathway marker of anti-inflammatory and pro-resolving lipoxins (36–39). Similarly, acetylated COX-2 enhances formation of EPA-derived 18-hydroxy eicosapentaenoic acid (HEPE) and DHA-derived 17-hydroxy (H)DHA, anti-inflammatory compounds and precursors of potent specialized pro-resolving mediators (40–42). The induction of those metabolites by aspirin or statin treatment could therefore contribute to a low-grade anti-inflammatory effect in the colon mucosa.

In this context, the current study was designed to investigate the profile of eicosanoids and other oxylipins in healthy colonic mucosa biopsies from individuals without or with ASA and/or statin treatment.

MATERIALS AND METHODS

Sample acquisition

Patients ($n = 58$) were randomly selected from a cohort of walk-in patients scheduled for screening or control colonoscopy in the Department of Gastroenterology, Sana Klinikum Lichtenberg, Berlin, Germany. Bowel preparation was performed with MoviPrep® [ascorbic acid (4.7 g)/potassium chloride (1.015 g)/polyethylene glycol 3350 (100 g)/sodium ascorbate (5.9 g)/sodium chloride (2.691 g)/sodium sulfate (7.5 g) per 123 g] according to the manufacturer's instructions on the day before and on the day of the procedure. Colonoscopy was performed with propofol sedation according to national guidelines. Each patient underwent biopsies of macroscopically intact colonic mucosa to test for hidden inflammation. All samples were immediately quick frozen on dry ice and then stored at -80°C . Patients were asked for their medication intake on the day of colonoscopy and were defined as ASA or statin users, if the corresponding drug was taken regularly over the last 6 months. ASA and statin medication was also taken on the day of the

colonoscopy. Patients with a history of CRC within the last 10 years, inflammatory bowel disease, or diseases related to a systemic inflammatory state (e.g., rheumatic diseases) were excluded from the study.

The study was approved by the local ethics committee of Charité Universitätsmedizin Berlin and procedures were in accord with the Declaration of Helsinki. All subjects provided written informed consent.

Sample extraction and analyses

Tissue samples were homogenized in 300 μl of methanol with a 5 mm metal bead using a ball mill (5–10 min, 15–20 Hz; Retsch, Haan, Germany) following addition of internal standards [10 μl of 100 nM $^2\text{H}_4$ -6-keto-PGF $_{1\alpha}$, $^2\text{H}_4$ -PGE $_2$, $^2\text{H}_4$ -PGD $_2$, $^2\text{H}_4$ -thromboxane (Tx)B $_2$, $^2\text{H}_4$ -leukotriene (LT)B $_4$, $^2\text{H}_4$ -9-HODE, $^2\text{H}_8$ -5-HETE, $^2\text{H}_8$ -12-HETE, $^2\text{H}_6$ -20-HETE, $^2\text{H}_{11-14,15}$ -dihydroxyeicosatrienoic acid, $^2\text{H}_{11-14}$ (15)-epoxyeicosatrienoic acid, $^2\text{H}_4$ -9(10)-epoxyoctadecenoic acid, and $^2\text{H}_4$ -9,10-dihydroxyoctadecenoic acid] and 10 μl of an antioxidant/inhibitor solution [0.2 mg/ml EDTA, 0.2 mg/ml butylated hydroxytoluene, 100 μM indomethacin, 100 μM 1-(1-methylsulfonyl-piperidin-4-yl)-3-(4-trifluoromethoxy-phenyl)-urea (sEH inhibitor) in methanol/water (50/50, v/v)]. Extraction was carried out on anion exchange BondElut Certify II cartridges (3 ml, 200 mg; Agilent, Waldbronn, Germany) preconditioned with one column volume of methanol and one column volume of 0.1 M sodium acetate buffer (pH 6.0)/methanol (95/5, v/v). Samples were centrifuged (10 min, 4°C , 20,000 g) and supernatants were diluted with 2,700 μl of 1 M sodium acetate buffer (pH 6.0) and loaded onto the preconditioned SPE cartridges. Cartridges were washed with one column volume of water and methanol/water (50/50, v/v) and dried by low vacuum (~ 200 mbar) for 20 min. Analytes were eluted with 2 ml 75/25 (v/v) ethyl acetate/*n*-hexane with 1% acetic acid in glass tubes containing 6 μl of 30% glycerol in methanol. Utilizing a Speedvac (Christ, Osterode, Germany), the extract was evaporated to dryness until only the glycerol plug was left. The residue was dissolved in 50 μl methanol. Oxylipin quantification by LC-MS/MS was carried out as described previously (43).

Statistical analysis

Only metabolites detectable above their limit of quantitation (LOQ) were included in the statistical analysis: Metabolites were excluded from the analysis and categorized as “below detectable levels” whenever 30% or more of the examined samples in one group showed lipid metabolite concentrations below the LOQ (supplemental Table S1). If single tissue samples were found with metabolite levels below their respective LOQ, we used the corresponding LOQ for calculation of the mean and further analysis (supplemental Table S1). Prism 5 software (GraphPad, San Diego, CA) was used for statistical analyses. Summary statistics are presented as mean \pm SEM.

Mann-Whitney testing was used to assess significance of differences between subjects treated with ASA and those without ASA and, in a separate analysis, to test for differences between subjects receiving statin treatment and those without in the subset of patients without ASA treatment. To correct for the multiple comparisons performed (54 metabolites analyzed), we used Bonferroni correction with an α of 5%, leading us to assume significance at a level of $P < 0.00092$.

Subsequently, two-way ANOVA was used to test for interaction between ASA and statin medication in the ASA-treated patients; results of this testing are shown in Fig. 3 and supplemental Table S2. Categorical data for the comparison of clinical characteristics of the study groups were analyzed by Chi-square test.

RESULTS

Clinical characteristics of study population

There were no significant differences in the number of female/male patients and BMI between the four study groups. Patients in the study group without ASA and statin medication were younger than individuals in the ASA-treated study group ($P < 0.01$). The number of patients suffering from type 2 diabetes and the number of smokers did not differ significantly between the groups (Table 1). Twenty-six out of 27 individuals under ASA treatment were on a daily dose of 100 mg ASA, while one individual took 250 mg ASA per day. Statin medication included treatment with simvastatin 10 mg ($n = 2$), simvastatin 20 mg ($n = 6$), simvastatin 30 mg ($n = 1$), simvastatin 40 mg ($n = 4$), atorvastatin 20 mg ($n = 1$), atorvastatin 40 mg ($n = 1$), and pravastatin 20 mg ($n = 2$). Two patients under simvastatin treatment were on a comedication with ezetimibe. The number of patients suffering from arterial hypertension and taking cardiac medication (including angiotensin-converting-enzyme inhibitors, angiotensin II receptor antagonists, diuretics, and β blockers) was higher in the study groups with ASA, statin, or dual therapy. The number of individuals with a history of colorectal adenoma did not differ between the four groups (Table 1).

Effect of ASA treatment on colon tissue eicosanoid levels

The most abundant PGs in human colorectal tissue samples were PGD₂, 6-keto-PGF_{1 α} , and PGE₂. Levels of LTB₄ were below detectable levels in 41 of 58 individuals. ASA-treated individuals showed significantly lower tissue levels of 6-keto-PGF_{1 α} , PGF_{2 α} , PGD₂, PGJ₂, and TxB₂ than individuals without ASA medication. However, after correcting for multiple testing using the Bonferroni approach the difference in PGE₂ levels failed to reach significance (Fig. 1A). The EPA-derived metabolites, PGE₃, PGD₃, and TxB₃, were also significantly lower in ASA-treated individuals compared with untreated subjects, as were dihomo γ -linolenic acid (DGLA)-derived metabolites, PGE₁ and PGD₁ (Fig. 1B). Monohydroxy oxylipins were also assessed, and while levels of the arachidonic acid (AA)-derived COX-metabolite 11-HETE were significantly lower in ASA-treated patients compared with untreated subjects, 15-HETE as well as EPA-derived HEPEs, 15-HEPE and 18-HEPE, did

not show differences in tissue levels between patients treated with ASA and those without ASA. Similarly, DHA-derived 17-HDHA was not increased in ASA-treated individuals, while 13-HDHA showed significant differences with ASA-treated subjects having lower 13-HDHA tissue levels than untreated ones. The most abundant hydroxy PUFA in human colorectal tissue samples was the linoleic acid (LA)-derived metabolite, 9-HODE. 9-HODE levels were significantly lower in tissue samples of individuals treated with ASA in comparison to untreated individuals (Fig. 1C).

Effect of statin treatment on colon tissue eicosanoid levels

Next, we analyzed whether statin treatment had an effect on the assayed PG and monohydroxy metabolites in the subset of patients not treated with ASA. Colon tissue from statin-treated patients had higher levels of these PGs and TxS in comparison to untreated patients. These differences only reached significance for PGD₂ and PGD₃ when assuming a significance level of $P < 0.05$ (Fig. 2A, B) for the individual tests (i.e., before Bonferroni correction for the multiple testing performed). There was also a trend toward higher monohydroxy metabolites derived from AA, EPA, DHA, and LA, such as 11-HETE, 15-HEPE, 18-HEPE, and 9-HODE. While these higher amounts were most notable for 15-HETE and 17-HDHA, even these differences were not significant (Fig. 2C).

Effect of ASA and statin treatment on colon eicosanoid levels

Given the finding of an oxylipin-lowering effect of ASA in contrast to a trend toward an increase of oxylipins in colon tissue from statin-treated patients, we then decided to analyze the subset of patients with ASA-only treatment versus those receiving ASA and statin medication. Interestingly, we observed markedly lower tissue PG levels in individuals simultaneously receiving ASA and statin treatment, as compared with untreated individuals or subjects receiving ASA monotherapy. Statistical testing for interaction between the effects of ASA and statin medication yielded P values < 0.05 for the metabolites, PGF_{2 α} , PGE₂, PGD₂, PGJ₂, PGE₃, PGD₃, 11-HETE, and 13-HDHA (Fig. 3), pointing toward the possibility of a synergistic effect of ASA and statin medication on PG suppression.

TABLE 1. Patient characteristics

Variable	-ASA -statin (n = 24)	+ASA (n = 16)	+Statin (n = 7)	+ASA +Statin (n = 11)	<i>P</i>
Age (years)	69.29 \pm 1.59	77.25 \pm 1.83	74.86 \pm 1.63	74.27 \pm 2.37	0.011
BMI (kg/m ²)	28.58 \pm 0.98	30.22 \pm 1.40	29.89 \pm 1.45	30.88 \pm 1.18	0.542
Gender (male:female)	15:9	9:7	5:2	6:5	0.880
Smoking	8/24	3/16	2/7	3/11	0.795
Type 2 diabetes mellitus	7/24	2/16	0/7	4/11	0.188
Oral antidiabetics	5/24	2/16	0/7	3/11	0.440
Arterial hypertension	14/24	14/16	7/7	10/11	0.027
Cardiac medication	14/24	14/16	6/7	10/11	0.074
History of colorectal adenoma	12/24	5/16	3/7	6/11	0.597

Variables represent frequencies (n/total) or mean \pm SEM. P values represent statistical differences as calculated by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparison test for age and BMI and by Chi-square test for categorical data.

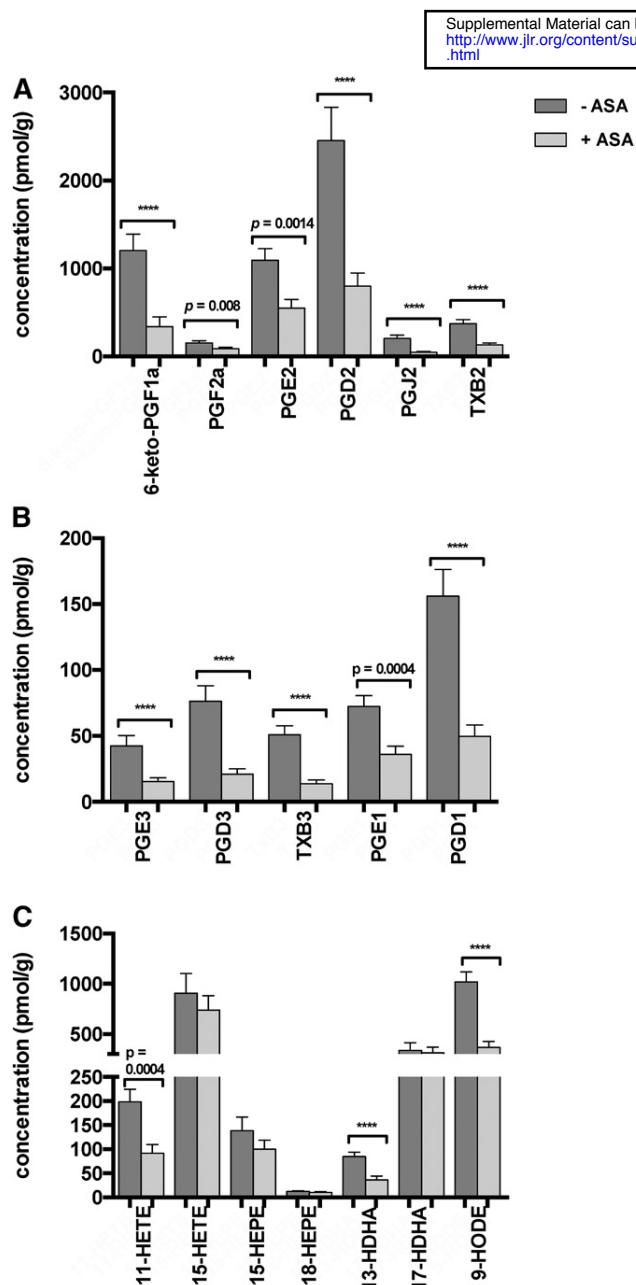


Fig. 1. Effect of ASA treatment on colon tissue lipid metabolite levels. Tissue levels of AA-derived (A) and EPA- and DGLA-derived (B) PGs and Tx, and AA-, EPA-, and DGLA-derived monohydroxy lipid metabolites (C) in healthy colonic tissue samples of individuals without ASA medication ($n = 31$ subjects), as compared with those with ASA medication ($n = 27$ subjects). Statistical analyses were performed using Mann-Whitney testing. P values are included when below 0.05; **** $P < 0.0001$; Using Bonferroni correction as indicated in the Materials and Methods, we assume $P < 0.00092$ as significant after controlling for multiple testing. Values are presented as mean \pm SEM.

Effect of ASA and statin treatment on other oxylipins

There were no significant differences in colon tissue epoxy- and dihydroxy-fatty acid levels between the four groups, but levels of epoxy- and dihydroxy-fatty acids tended to be higher in statin-treated subjects (supplemental Table S2).

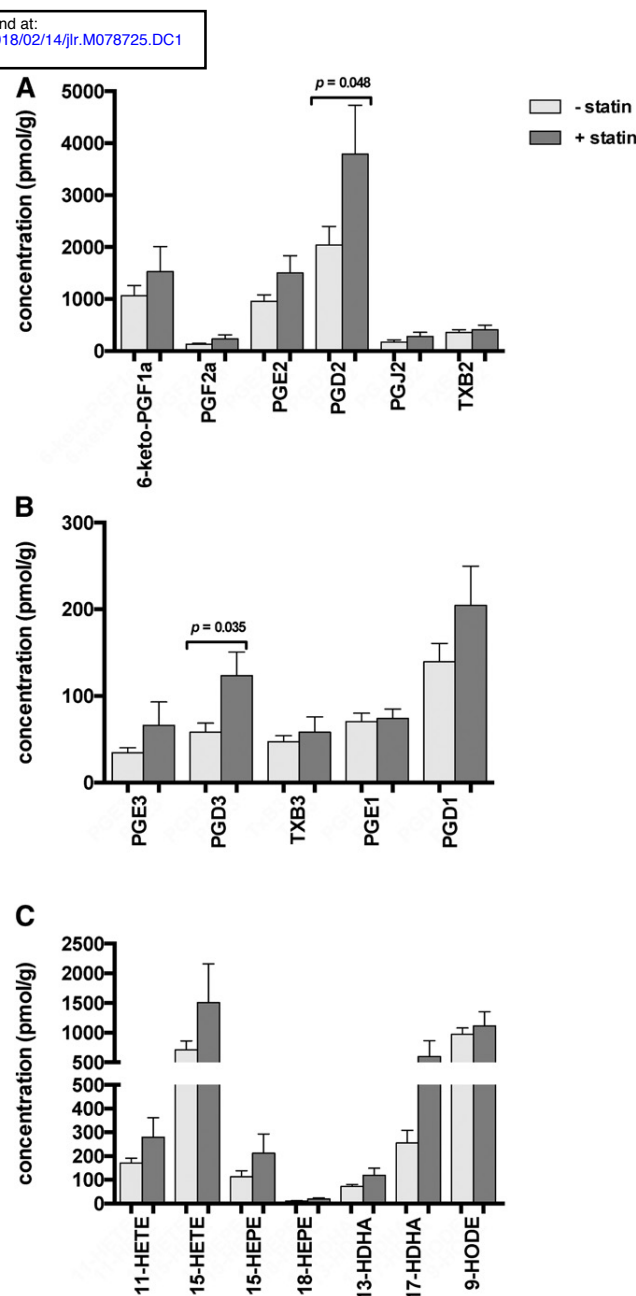


Fig. 2. Effect of statin treatment on colon tissue lipid metabolite levels. Tissue levels of selected AA-derived (A) and EPA- and DGLA-derived (B) PGs and Tx, and AA-, EPA-, and DGLA-derived monohydroxy lipid metabolites (C) in healthy colonic tissue samples of patients without statin medication ($n = 24$ subjects), as compared with those with statin medication ($n = 7$ subjects). Statistical analyses were performed using Mann-Whitney testing. P values are included when below 0.05; Using Bonferroni correction as indicated in the Materials and Methods, we assume $P < 0.00092$ as significant after controlling for multiple testing. Values are presented as mean \pm SEM.

DISCUSSION

This study examined differences in eicosanoid and other oxylipin levels in human colonic tissue from individuals receiving aspirin and/or statin treatment, two widely prescribed drugs with an attributed protective role in colorectal carcinogenesis.

Supplemental Material can be found at:
<http://www.jlr.org/content/suppl/2018/02/14/jlr.M078725.DC1.html>

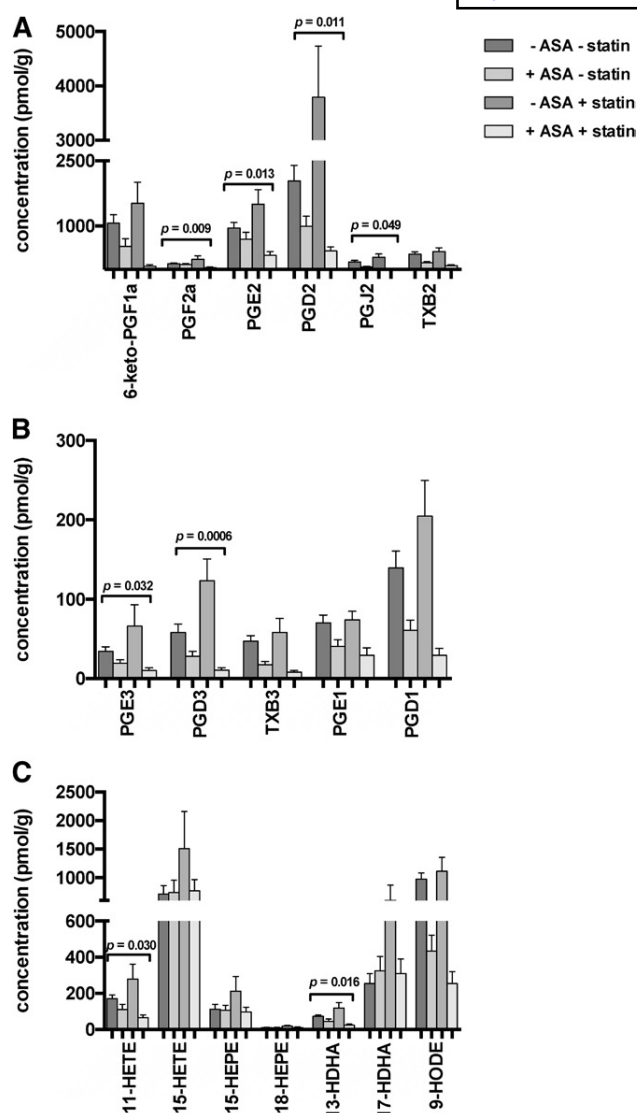


Fig. 3. Interaction between ASA and statin treatment. Tissue levels of AA-derived (A) and EPA- and DGLA-derived (B) PGs and Tx, and AA-, EPA-, and DHA-derived monohydroxy lipid metabolites (C) in colon tissue samples of individuals without ASA/statin medication ($n = 24$ subjects), with ASA medication ($n = 16$ subjects), with statin medication alone ($n = 7$), and with dual ASA and statin medication ($n = 11$). Statistical analysis was performed using two-way ANOVA. P values for interaction are indicated whenever $P < 0.05$. Values are presented as mean \pm SEM.

Aspirin-treated individuals had significantly lower PG and Tx tissue levels than untreated subjects, reflecting the ASA-mediated COX inhibition. PGs exert pro-inflammatory and anti-inflammatory effects in different pathophysiological settings and different tissue types. The pro-tumorigenic role of PGE₂ in colon tumorigenesis is well-established (5, 44, 45). In a more general context, PGE₂ has been shown to help tumor cells escape immune control (46). Nevertheless, the significance of PGE₂ for colonic mucosal homeostasis is rather complex, as it was also found to mediate regeneration of inflamed colon tissue in colitis (47). Furthermore, recent studies have indicated a protective role for PGD₂ in colorectal carcinogenesis (48). Our data provide insight into colonic lipid

metabolism under the influence of ASA medication in healthy humans and supports the widely hypothesized anti-tumorigenic effect due to aspirin's effect on PG suppression.

Some studies in CRC cell lines indicated that COX-2 inhibition results in an activation of the 5-lipoxygenase (LOX) pathway (49, 50). At least in healthy colon tissue, our findings do not support this hypothesis, as 5-LOX-derived eicosanoid levels remained essentially unaffected upon ASA treatment.

With respect to changes in the hydroxy-PUFAs formed as side products by COX-2 (51), ASA-treated subjects had significantly lower levels of 11-HETE, 9-HODE, and 13-HDHA compared with untreated individuals. In vitro data shows that ASA-acetylated COX-2 forms (hydroperoxy-)15-HETE and thereby induces the formation of 15-HETE-derived anti-inflammatory metabolites (33, 52, 53). Correspondingly, the n3-PUFA-derived metabolites, 17-HDHA and 18-HEPE, were shown to be formed by acetylated COX-2 and function as precursors of highly potent specialized pro-resolving lipid mediators (40). A redirection of COX-2 metabolism toward 15-HETE and its anti-inflammatory lipoxin derivatives upon ASA treatment has been demonstrated in rat hepatocytes (54) and human lung cancer cell lines (55). Furthermore, aspirin treatment led to the production of biologically active lipoxins in colon tissue of patients suffering from ulcerative colitis in vitro (56).

In this study, we found no suppression of 15-HETE, 17-HDHA, and 18-HEPE levels in the colon mucosa of ASA-treated individuals compared with untreated subjects, while 11-HETE, 9-HODE, and 13-HDHA levels were significantly lower, comparable to the observed decrease in prostanoic acid levels (Fig. 2). Compared with other studies (54, 55, 57, 58), we found an unchanged concentration and did not see higher levels of the acetylated-COX-2 hydro(peroxy)-PUFA in aspirin-treated patients compared with untreated patients. This might be due to the low levels of COX-2 activity that has been described for the normal non-inflamed colon mucosa (59) that was analyzed here. As the analysis of COX-1/COX-2 expression in tissue samples was impossible in this study due to lack of sufficient amounts of sample material for oxylipin and protein analysis, this should be addressed in future studies. Furthermore, we believe the question of relative contribution of COX-1 and COX-2 activity to the PGE₂ formation to be critical for the assessment of aspirin's anti-tumor effect in different stages of prevention, i.e., in the context of normal noninflamed mucosa (as in this study), or in the context of adenoma progression toward colorectal carcinoma. In this regard, recent observations in an established murine CRC model impressively revealed the significance of the tumor status on the time of treatment initiation for the efficacy of chemopreventive agents against adenoma formation (60).

With regard to the impact of statins on the AA cascade, effective COX-2 mRNA suppression has been shown in the small nonpolyp intestine of multiple intestinal neoplasia mice upon oral pitavastatin treatment (61). This is not in line with our findings, as we detected a trend to increased PG and Tx levels in colon tissue of statin-treated individuals compared with untreated subjects, but changes did not reach statistical significance. In agreement with our findings,


investigations in rat myocardial tissue and human umbilical venous endothelial cells described an upregulation of COX-2 upon atorvastatin treatment leading to increased levels of 15d-PGJ₂, a product of PGD₂ (62). As we were able to detect slightly higher levels of the COX-2 byproducts, 15-HETE, 13-HDHA, and 17-HDHA, in individuals under statin treatment compared with untreated or ASA-treated subjects (Fig. 2), there could be a combined effect of statin treatment to induce COX-2 expression and activation by S-nitrosylation leading to increased formation of 15-HETE, 13-HDHA, and 17-HDHA (36, 38, 39). More detailed studies in human colon tissue are now necessary to test these hypotheses.

Surprisingly, colon tissue levels of most COX-derived metabolites were notably lower in individuals under dual ASA and statin treatment compared with untreated subjects or subjects on ASA medication alone. The investigation of interaction between ASA and statin medication revealed remarkably small *P* values, which could suggest a synergistic effect of ASA and statins on lowering colonic tissue PG levels. It should be noted that COX products from different PUFAs and their metabolites showed the described tissue level differences consistently, whereas LOX- and CYP-pathway product concentrations remained unaffected by ASA treatment. To our knowledge, this potentially synergistic effect of aspirin and statins on eicosanoid level suppression in human colonic mucosa has not been described before. Cell culture experiments and investigations in animal models of colorectal carcinogenesis showed that comedication with COX-inhibitors and statins has synergistic effects on colon tumorigenesis prevention and induction of apoptosis, the underlying mechanisms are still unknown (63–66). While a large population-based case-control study did not provide evidence of an interaction between statins and COX inhibitors (16), another study detected a stronger CRC risk reduction for the combination of both drugs (67).

A limitation of the data presented here is that underlying medical conditions leading to the prescription of either ASA and/or statins may affect colon tissue lipid metabolite levels themselves. Furthermore, individuals without ASA and/or statin treatment were significantly younger than individuals receiving these treatments. The effects on colonic oxylipin levels of both, underlying medical conditions and age, could not be determined within this study design. This cross-sectional study did not allow for a comparison of lipid metabolite levels pre/post pharmaceutical treatment, which can be considered a study limitation. However, the robust *in vivo* effects observed here in a group of routine “walk-in” colonoscopy patients add credibility to the observed differences.

Our study is the first to quantify a wide range of eicosanoids and other oxylipins in human colon biopsy samples of individuals under aspirin and statin treatment, indicating that both drugs mainly affect the levels of COX-derived metabolites. While persons taking aspirin had significantly lower PG and Tx tissue levels (Fig. 1), statin-treated individuals showed a trend toward increased tissue levels of these metabolites (Fig. 2). Patients under dual treatment,

however, presented with a pronounced decrease of many PG and Tx levels, even in comparison to individuals under ASA monotherapy, possibly indicating a synergistic effect of both drugs (Fig. 3).

Our data add convincing human data from a routine clinical setting to support the hypotheses put forward in many studies arguing that lipid mediator modification effects might contribute to the chemopreventive effect of ASA (and statins) in the context of colon tumorigenesis. Further studies are now necessary to directly investigate how dual ASA and statin treatment affects colon tumorigenesis in humans. 

REFERENCES

1. Ferlay, J., I. Soerjomataram, R. Dikshit, S. Eser, C. Mathers, M. Rebelo, D. M. Parkin, D. Forman, and F. Bray. 2015. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int. J. Cancer*. **136**: E359–E386.
2. Rothwell, P. M., M. Wilson, C. E. Elwin, B. Norrving, A. Algra, C. P. Warlow, and T. W. Meade. 2010. Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality: 20-year follow-up of five randomised trials. *Lancet*. **376**: 1741–1750.
3. Li, P., H. Wu, H. Zhang, Y. Shi, J. Xu, Y. Ye, D. Xia, J. Yang, J. Cai, and Y. Wu. 2015. Aspirin use after diagnosis but not prediagnosis improves established colorectal cancer survival: a meta-analysis. *Gut*. **64**: 1419–1425.
4. Wang, D., and R. N. Dubois. 2006. Prostaglandins and cancer. *Gut*. **55**: 115–122.
5. Wang, D., and R. N. DuBois. 2013. An inflammatory mediator, prostaglandin E₂, in colorectal cancer. *Cancer J*. **19**: 502–510.
6. Rigas, B., I. S. Goldman, and L. Levine. 1993. Altered eicosanoid levels in human colon cancer. *J. Lab. Clin. Med.* **122**: 518–523.
7. Frommel, T. O., M. Dyavanapalli, T. Oldham, N. Kazi, H. Lietz, Y. Liao, and S. Mobarhan. 1997. Effect of aspirin on prostaglandin E₂ and leukotriene B₄ production in human colonic mucosa from cancer patients. *Clin. Cancer Res.* **3**: 209–213.
8. Wang, Y., F. C. Zhang, and Y. J. Wang. 2015. The efficacy and safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs in preventing the recurrence of colorectal adenoma: a meta-analysis and systematic review of randomized trials. *Colorectal Dis.* **17**: 188–196.
9. Thompson, P. A., E. L. Ashbeck, D. J. Roe, L. Fales, J. Buckmeier, F. Wang, A. Bhattacharyya, C. H. Hsu, S. H. Chow, D. J. Ahnen, et al. 2016. Celecoxib for the prevention of colorectal adenomas: results of a suspended randomized controlled trial. *J. Natl. Cancer Inst.* **108**: doi:10.1093/jnci/djw151.
10. Benamouzig, R., B. Uzzan, J. Deyra, A. Martin, B. Girard, J. Little, and S. Chaussade; Association pour la Prévention par l'Aspirine du Cancer Colorectal Study Group (APAAC). 2012. Prevention by daily soluble aspirin of colorectal adenoma recurrence: 4-year results of the APACC randomised trial. *Gut*. **61**: 255–261.
11. Baron, J. A., B. F. Cole, R. S. Sandler, R. W. Haile, D. Ahnen, R. Bresalier, G. McKeown-Eyssen, R. W. Summers, R. Rothstein, C. A. Burke, et al. 2003. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas. *N. Engl. J. Med.* **348**: 891–899.
12. Sandler, R. S., S. Halabi, J. A. Baron, S. Budinger, E. Paskett, R. Keresztes, N. Petrelli, J. M. Pipas, D. D. Karp, C. L. Loprinzi, et al. 2003. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas in patients with previous colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* **348**: 883–890.
13. O'Brien, M. J., S. J. Winawer, A. G. Zauber, L. S. Gottlieb, S. S. Sternberg, B. Diaz, G. R. Dickersin, S. Ewing, S. Geller, D. Kasimian, et al. 1990. The National Polyp Study. Patient and polyp characteristics associated with high-grade dysplasia in colorectal adenomas. *Gastroenterology*. **98**: 371–379.
14. Zauber, A. G., S. J. Winawer, M. J. O'Brien, I. Lansdorp-Vogelaar, M. van Ballegooijen, B. F. Hankey, W. Shi, J. H. Bond, M. Schapiro, J. F. Panish, et al. 2012. Colonoscopic polypectomy and long-term prevention of colorectal-cancer deaths. *N. Engl. J. Med.* **366**: 687–696.
15. Burn, J., A. M. Gerdes, F. Macrae, J. P. Mecklin, G. Moeslein, S. Olschwang, D. Eccles, D. G. Evans, E. R. Maher, L. Bertario, et al.

2011. Long-term effect of aspirin on cancer risk in carriers of hereditary colorectal cancer: an analysis from the CAPP2 randomised controlled trial. *Lancet*. **378**: 2081–2087.
16. Poynter, J. N., S. B. Gruber, P. D. Higgins, R. Almog, J. D. Bonner, H. S. Rennert, M. Low, J. K. Greenson, and G. Rennert. 2005. Statins and the risk of colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* **352**: 2184–2192.
17. Liu, J. C., W. R. Hao, Y. P. Hsu, L. C. Sung, P. F. Kao, C. F. Lin, A. T. Wu, K. S. Yuan, and S. Y. Wu. 2016. Statins dose-dependently exert a significant chemopreventive effect on colon cancer in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a population-based cohort study. *Oncotarget*. **7**: 65270–65283.
18. Ananthakrishnan, A. N., A. Cagan, T. Cai, V. S. Gainer, S. Y. Shaw, S. Churchill, E. W. Karlson, S. N. Murphy, K. P. Liao, and I. Kohane. 2016. Statin use is associated with reduced risk of colorectal cancer in patients with inflammatory bowel diseases. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **14**: 973–979.
19. Siddiqui, A. A., H. Nazario, A. Mahgoub, S. Pandove, D. CIPHER, and S. J. Spechler. 2009. The long-term use of statins is associated with a decreased incidence of adenomatous colon polyps. *Digestion*. **79**: 17–22.
20. Jung, Y. S., C. H. Park, C. S. Eun, D. I. Park, and D. S. Han. 2016. Statin use and the risk of colorectal adenoma: a meta-analysis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* **31**: 1823–1830.
21. Cardwell, C. R., B. M. Hicks, C. Hughes, and L. J. Murray. 2014. Statin use after colorectal cancer diagnosis and survival: a population-based cohort study. *J. Clin. Oncol.* **32**: 3177–3183.
22. Mace, A. G., G. A. Gantt, M. Skecal, R. Pai, J. P. Hammel, and M. F. Kalady. 2013. Statin therapy is associated with improved pathologic response to neoadjuvant chemoradiation in rectal cancer. *Dis. Colon Rectum*. **56**: 1217–1227.
23. Shao, Y. Y., C. H. Hsu, K. H. Yeh, H. M. Chen, Y. C. Yeh, C. L. Lai, Z. Z. Lin, A. L. Cheng, and M. S. Lai. 2015. Statin use is associated with improved prognosis of colorectal cancer in Taiwan. *Clin. Colorectal Cancer*. **14**: 177–184.e4.
24. Dolkart, O., E. Amar, S. Shapira, S. Marmor, E. L. Steinberg, and A. A. Weinbroum. 2015. Protective effects of rosuvastatin in a rat model of lung contusion: Stimulation of the cyclooxygenase 2-prostaglandin E-2 pathway. *Surgery*. **157**: 944–953.
25. Chen, J. C., K. C. Huang, B. Wingerd, W. T. Wu, and W. W. Lin. 2004. HMG-CoA reductase inhibitors induce COX-2 gene expression in murine macrophages: role of MAPK cascades and promoter elements for CREB and C/EBPbeta. *Exp. Cell Res.* **301**: 305–319.
26. Heeba, G. H., M. K. Hassan, and R. S. Amin. 2009. Gastroprotective effect of simvastatin against indomethacin-induced gastric ulcer in rats: role of nitric oxide and prostaglandins. *Eur. J. Pharmacol.* **607**: 188–193.
27. Dolkart, O., T. Liron, O. Chechik, D. Somjen, T. Brosh, E. Maman, and Y. Gabet. 2014. Statins enhance rotator cuff healing by stimulating the COX2/PGE2/EP4 pathway: an in vivo and in vitro study. *Am. J. Sports Med.* **42**: 2869–2876.
28. Habib, A., I. Shamseddeen, M. S. Nasrallah, T. A. Antoun, G. Nemer, J. Bertoglio, R. Badreddine, and K. F. Badr. 2007. Modulation of COX-2 expression by statins in human monocytic cells. *FASEB J.* **21**: 1665–1674.
29. Santodomingo-Garzón, T., T. M. Cunha, W. A. Verri, Jr., D. A. Valério, C. A. Parada, S. Poole, S. H. Ferreira, and F. Q. Cunha. 2006. Atorvastatin inhibits inflammatory hypernociception. *Br. J. Pharmacol.* **149**: 14–22.
30. Martín-Ventura, J. L., L. M. Blanco-Colio, A. Gómez-Hernández, B. Muñoz-García, M. Vega, J. Serrano, L. Ortega, G. Hernández, J. Tuñón, and J. Egido. 2005. Intensive treatment with atorvastatin reduces inflammation in mononuclear cells and human atherosclerotic lesions in one month. *Stroke*. **36**: 1796–1800.
31. Rowlinson, S. W., B. C. Crews, D. C. Goodwin, C. Schneider, J. K. Gierse, and L. J. Marnett. 2000. Spatial requirements for 15-(R)-hydroxy-5Z,8Z,11Z,13E-eicosatetraenoic acid synthesis within the cyclooxygenase active site of murine COX-2. Why acetylated COX-1 does not synthesize 15-(R)-hete. *J. Biol. Chem.* **275**: 6586–6591.
32. Schneider, C., W. E. Boeglin, J. J. Prusakiewicz, S. W. Rowlinson, L. J. Marnett, N. Samel, and A. R. Brash. 2002. Control of prostaglandin stereochemistry at the 15-carbon by cyclooxygenases-1 and -2. A critical role for serine 530 and valine 349. *J. Biol. Chem.* **277**: 478–485.
33. Lecomte, M., O. Laneuville, C. Ji, D. L. DeWitt, and W. L. Smith. 1994. Acetylation of human prostaglandin endoperoxide synthase-2 (cyclooxygenase-2) by aspirin. *J. Biol. Chem.* **269**: 13207–13215.
34. Mancini, J. A., G. P. O'Neill, C. Bayly, and P. J. Vickers. 1994. Mutation of serine-516 in human prostaglandin G/H synthase-2 to methionine or aspirin acetylation of this residue stimulates 15-R-HETE synthesis. *FEBS Lett.* **342**: 33–37.
35. Atar, S., Y. Ye, Y. Lin, S. Y. Freeberg, S. P. Nishi, S. Rosanio, M. H. Huang, B. F. Uretsky, J. R. Perez-Polo, and Y. Birnbaum. 2006. Atorvastatin-induced cardioprotection is mediated by increasing inducible nitric oxide synthase and consequent S-nitrosylation of cyclooxygenase-2. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **290**: H1960–H1968.
36. Birnbaum, Y., Y. Ye, Y. Lin, S. Y. Freeberg, S. P. Nishi, J. D. Martinez, M. H. Huang, B. F. Uretsky, and J. R. Perez-Polo. 2006. Augmentation of myocardial production of 15-epi-lipoxin-a4 by pioglitazone and atorvastatin in the rat. *Circulation*. **114**: 929–935.
37. González-Herrera, F., A. Cramer, P. Pimentel, C. Castillo, A. Liempi, U. Kemmerling, F. S. Machado, and J. D. Maya. 2017. Simvastatin attenuates endothelial activation through 15-epi-lipoxin A4 production in murine chronic Chagas cardiomyopathy. *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**: doi:10.1128/AAC.02137-16.
38. Planagumà, A., M. A. Pfeffer, G. Rubin, R. Croze, M. Uddin, C. N. Serhan, and B. D. Levy. 2010. Lovastatin decreases acute mucosal inflammation via 15-epi-lipoxin A4. *Mucosal Immunol.* **3**: 270–279.
39. Dalli, J., N. Chiang, and C. N. Serhan. 2015. Elucidation of novel 13-series resolvins that increase with atorvastatin and clear infections. *Nat. Med.* **21**: 1071–1075.
40. Serhan, C. N., C. B. Clish, J. Brannon, S. P. Colgan, N. Chiang, and K. Gronert. 2000. Novel functional sets of lipid-derived mediators with antiinflammatory actions generated from omega-3 fatty acids via cyclooxygenase 2-nonsteroidal antiinflammatory drugs and transcellular processing. *J. Exp. Med.* **192**: 1197–1204.
41. Serhan, C. N. 2014. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature*. **510**: 92–101.
42. Weylandt, K. H., C. Y. Chiu, B. Gomolka, S. F. Waechter, and B. Wiedenmann. 2012. Omega-3 fatty acids and their lipid mediators: towards an understanding of resolvins and protectin formation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* **97**: 73–82.
43. Ostermann, A. I., I. Willenberg, and N. H. Schebb. 2015. Comparison of sample preparation methods for the quantitative analysis of eicosanoids and other oxylipins in plasma by means of LC-MS/MS. *Anal. Bioanal. Chem.* **407**: 1403–1414.
44. Kawamori, T., N. Uchiya, T. Sugimura, and K. Wakabayashi. 2003. Enhancement of colon carcinogenesis by prostaglandin E2 administration. *Carcinogenesis*. **24**: 985–990.
45. Wang, D., and R. N. Dubois. 2010. Eicosanoids and cancer. *Nat. Rev. Cancer*. **10**: 181–193.
46. Zelenay, S., A. G. van der Veen, J. P. Bottcher, K. J. Snelgrove, N. Rogers, S. E. Acton, P. Chakravarty, M. R. Girotti, R. Marais, S. A. Quezada, et al. 2015. Cyclooxygenase-dependent tumor growth through evasion of immunity. *Cell*. **162**: 1257–1270.
47. Kim, H. B., M. Kim, Y. S. Park, I. Park, T. Kim, S. Y. Yang, C. J. Cho, D. Hwang, J. H. Jung, S. D. Markowitz, et al. 2017. Prostaglandin E₂ activates YAP and a positive-signaling loop to promote colon regeneration following colitis but also carcinogenesis in mice. *Gastroenterology*. **152**: 616–630.
48. Iwanaga, K., T. Nakamura, S. Maeda, K. Aritake, M. Hori, Y. Urade, H. Ozaki, and T. Murata. 2014. Mast cell-derived prostaglandin D2 inhibits colitis and colitis-associated colon cancer in mice. *Cancer Res.* **74**: 3011–3019.
49. Cianchi, F., C. Cortesini, L. Magnelli, E. Fantì, L. Papucci, N. Schiavone, L. Messerini, A. Vannacci, S. Capaccioli, F. Perna, et al. 2006. Inhibition of 5-lipoxygenase by MK886 augments the antitumor activity of celecoxib in human colon cancer cells. *Mol. Cancer Ther.* **5**: 2716–2726.
50. Che, X. H., C. L. Chen, X. L. Ye, G. B. Weng, X. Z. Guo, W. Y. Yu, J. Tao, Y. C. Chen, and X. Chen. 2016. Dual inhibition of COX-2/5-LOX blocks colon cancer proliferation, migration and invasion in vitro. *Oncol. Rep.* **35**: 1680–1688.
51. Gabbs, M., S. Leng, J. G. Devassy, M. Monirujjaman, and H. M. Aukema. 2015. Advances in our understanding of oxylipins derived from dietary PUFAs. *Adv. Nutr.* **6**: 513–540.
52. Sharma, N. P., L. Dong, C. Yuan, K. R. Noon, and W. L. Smith. 2010. Asymmetric acetylation of the cyclooxygenase-2 homodimer by aspirin and its effects on the oxygenation of arachidonic, eicosapentaenoic, and docosahexaenoic acids. *Mol. Pharmacol.* **77**: 979–986.
53. Serhan, C. N., T. Takano, and J. F. Maddox. 1999. Aspirin-triggered 15-epi-lipoxin A4 and stable analogs on lipoxin A4 are potent inhibitors of acute inflammation. Receptors and pathways. *Adv. Exp. Med. Biol.* **447**: 133–149.

54. Titos, E., N. Chiang, C. N. Serhan, M. Romano, J. Gaya, G. Pueyo, and J. Claria. 1999. Hepatocytes are a rich source of novel aspirin-triggered 15-epi-lipoxin A(4). *Am. J. Physiol.* **277**: C870–C877.
55. Clària, J., M. H. Lee, and C. N. Serhan. 1996. Aspirin-triggered lipoxins (15-epi-LX) are generated by the human lung adenocarcinoma cell line (A549)-neutrophil interactions and are potent inhibitors of cell proliferation. *Mol. Med.* **2**: 583–596.
56. Mangino, M. J., L. Brounts, B. Harms, and C. Heise. 2006. Lipoxin biosynthesis in inflammatory bowel disease. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* **79**: 84–92.
57. Kowalski, M. L., A. Ptasinska, B. Bienkiewicz, R. Pawliczak, and L. DuBuske. 2003. Differential effects of aspirin and misoprostol on 15-hydroxyeicosatetraenoic acid generation by leukocytes from aspirin-sensitive asthmatic patients. *J. Allergy Clin. Immunol.* **112**: 505–512.
58. Korosec, P., U. Tisler, N. Bajrovic, M. Silar, A. Mrhar, and M. Kosnik. 2011. Acetylsalicylic acid-triggered 15-HETE generation by peripheral leukocytes for identifying ASA sensitivity. *Respir. Med.* **105**(Suppl 1): S81–S83.
59. Wiese, F. W., P. A. Thompson, J. Warneke, J. Einspahr, D. S. Alberts, and F. F. Kadlubar. 2003. Variation in cyclooxygenase expression levels within the colorectum. *Mol. Carcinog.* **37**: 25–31.
60. Chang, W. L., C. Jackson, S. Riel, H. S. Cooper, K. Devarajan, H. H. Hensley, Y. Zhou, L. A. Vanderveer, M. T. Nguyen, and M. L. Clapper. Differential preventive activity of sulindac and atorvastatin in Apc⁺/Min-FCC mice with or without colorectal adenomas. *Gut*. Epub ahead of print. November 9, 2017; doi:10.1136/gutjnl-2017-313942.
61. Teraoka, N., M. Mutoh, S. Takasu, T. Ueno, M. Yamamoto, T. Sugimura, and K. Wakabayashi. 2011. Inhibition of intestinal polyp formation by pitavastatin, a HMG-CoA reductase inhibitor. *Cancer Prev. Res. (Phila.)* **4**: 445–453.
62. Ye, Y., S. P. Nishi, S. Manickavasagam, Y. Lin, M. H. Huang, J. R. Perez-Polo, B. F. Uretsky, and Y. Birnbaum. 2007. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-gamma) by atorvastatin is mediated by 15-deoxy-delta-12,14-PGJ2. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* **84**: 43–53.
63. Suh, N., B. S. Reddy, A. DeCastro, S. Paul, H. J. Lee, A. K. Smolarek, J. Y. So, B. Simi, C. X. Wang, N. B. Janakiram, et al. 2011. Combination of atorvastatin with sulindac or naproxen profoundly inhibits colonic adenocarcinomas by suppressing the p65/beta-catenin/cyclin D1 signaling pathway in rats. *Cancer Prev. Res. (Phila.)* **4**: 1895–1902.
64. Xiao, H., Q. Zhang, Y. Lin, B. S. Reddy, and C. S. Yang. 2008. Combination of atorvastatin and celecoxib synergistically induces cell cycle arrest and apoptosis in colon cancer cells. *Int. J. Cancer.* **122**: 2115–2124.
65. Agarwal, B., C. V. Rao, S. Bhendwal, W. R. Ramey, H. Shirin, B. S. Reddy, and P. R. Holt. 1999. Lovastatin augments sulindac-induced apoptosis in colon cancer cells and potentiates chemopreventive effects of sulindac. *Gastroenterology.* **117**: 838–847.
66. Reddy, B. S., C. X. Wang, A. N. Kong, T. O. Khor, X. Zheng, V. E. Steele, L. Kopelovich, and C. V. Rao. 2006. Prevention of azoxymethane-induced colon cancer by combination of low doses of atorvastatin, aspirin, and celecoxib in F 344 rats. *Cancer Res.* **66**: 4542–4546.
67. Hoffmeister, M., J. Chang-Claude, and H. Brenner. 2007. Individual and joint use of statins and low-dose aspirin and risk of colorectal cancer: a population-based case-control study. *Int. J. Cancer.* **121**: 1325–1330.

SUPPLEMENTAL INFORMATION:**Effect of aspirin and statin treatment on eicosanoid formation in human colon tissue**

Heike Gottschall^{1#}, Christoph Schmöcker^{1,2,#}, Dirk Hartmann¹, Nadine Rohwer³, Katharina Rund⁴, Laura Kutzner⁴, Fabian Nolte⁴, Annika I. Ostermann^{4,5}, Nils Helge Schebb^{4,5}, Karsten H. Weylandt^{2,3,*}

¹ Department of Gastroenterology, Sana Klinikum Lichtenberg, Berlin, Germany

² Medical Department, Division of Gastroenterology, Oncology, Hematology, Rheumatology and Diabetes, Ruppiner Kliniken, Brandenburg Medical School, Neuruppin, Germany

³ Medical Department, Division of Hepatology and Gastroenterology, Campus Virchow-Klinikum, Charité University Medicine, Berlin, Germany

⁴ University for Veterinary Medicine Hannover, Institute for Food Toxicology, Hannover, Germany

⁵ University of Wuppertal, Chair of Food Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Wuppertal, Germany

[#] authors contributed equally to the study as first authors

Supplemental Table S1 Lipid metabolites below detectable levels

Oxylipin	LOQ [pmol/g]	Oxylipin	LOQ [pmol/g]	Oxylipin	LOQ [pmol/g]	Oxylipin	LOQ [pmol/g]
PGB ₂	1.4	8-HETE	9.0	9(10)-EpODE	0.7	10,11-DiHDPE	1.8
15-deoxy-PGJ ₂	3.6	9-HETE	9.0	12(13)-EpODE	0.9	13,14-DiHDPE	0.9
11b-PGF _{2a}	7.2	20-HETE	1.8	15(16)-EpODE	0.9	16,17-DiHDPE	1.8
dihomo-PGF _{2a}	0.9	8-HEPE	2.3	5,6-DiHETE	1.8	19,20-DiHDPE	3.6
d17-6k-PGF _{1a}	3.6	19-HEPE	1.3	8,9-DiHETE	18	9,10-DiHODE	0.7
15-k-PGF _{1a}	0.9	20-HEPE	1.8	5,6-DiHETE	0.9	12,13-DiHODE	7.2
TxB ₁	0.9	8-HDHA	1.8	8,9-DiHETE	1.8	15,16-DiHODE	1.8
LXA ₄	0.6	21-HDHA	3.0	11,12-DiHETE	0.9	11,12-,15-TriHETE	3.6
LTB ₃	1.8	22-HDHA	5.0	14,15-DiHETE	0.9	5-oxo-EETE	7.2
LTB ₄	1.8	8(9)-EpETE	3.6	17,18-DiHETE	0.9	THF diol	0.9
6-trans-LTB ₄	1.8	11(12)-EpETE	1.8	8,15-DiHETE	2.9	RvE1	4.3
20-COOH-LTB ₄	3.6	14(15)-EpETE	0.9	5,15-DiHETE	0.9	RvE2	3.6
20-OH-LTB ₄	0.9	17(18)-EpETE	1.8	4,5-DiHDPE	7.2	18(S)-RvE3	3.6
LTB ₅	0.9	12-OH-17(18)-EpETE	0.4	7,8-DiHDPE	3.6	18(R)-RvE3	1.8
						RvDI	0.9

Supplemental Table S1 Lipid metabolites below detectable levels

In case that 30% or more of the examined tissue samples showed oxylipin levels below the level of quantification (LOQ), metabolites were excluded from the analysis and categorized as “below detectable levels”.

Supplemental Table S2 Oxylin levels in healthy colonic tissue samples of patients with/without ASA/statin medication

Oxylin (pmol/g)	- ASA - statin n = 24		+ ASA n = 16		+ statin n = 7		+ ASA + statin n = 11		two-way ANOVA P - value interaction
	mean	SEM	mean	SEM	mean	SEM	mean	SEM	
13,14dih-15k-PGF _{2a}	87.77	16.02	33.17	6.66	132.80	47.22	21.65	3.77	0.148
8-i-PGF _{2a}	8.86	1.52	7.11	1.53	16.37	5.71	3.38	0.65	0.015
5-iPF _{2a}	92.10	21.90	60.78	11.55	104.80	84.74	115.20	46.50	0.571
PGF _{1a}	19.88	3.09	14.74	3.07	21.41	5.43	6.06	1.98	0.168
13,14dih-15k-PGE ₁	107.00	20.09	37.87	10.42	87.50	23.40	29.84	10.63	0.774
15(S)-HETE	83.00	18.52	78.06	26.65	147.50	61.92	72.57	18.57	0.242
5-HETE	52.93	9.92	66.86	14.91	120.00	44.45	58.85	16.79	0.049
12-HETE	110.20	21.27	150.30	31.80	172.20	61.41	121.20	24.48	0.179
5-HEPE	9.76	1.68	13.74	3.32	16.76	5.37	7.36	1.69	0.030
12-HEPE	28.11	6.28	30.04	5.67	40.17	13.07	22.39	4.44	0.212
4-HDHA	3.75	0.77	6.44	2.29	8.17	3.07	5.36	2.05	0.166
7-HDHA	19.31	4.84	23.73	6.07	38.84	16.90	24.49	6.56	0.232
10-HDHA	2.77	0.61	4.16	1.41	4.34	1.60	8.97	5.97	0.554
11-HDHA	4.85	0.92	7.41	2.16	9.66	3.69	8.21	3.43	0.392
14-HDHA	47.44	9.44	64.85	14.56	113.10	47.72	63.39	14.51	0.075

16-HDHA	5.73	1.29	7.86	2.77	9.39	2.97	27.78	22.11	0.392
20-HDHA	14.29	3.09	19.26	6.29	24.01	8.69	87.12	71.55	0.339
9-HOTrE	5.04	1.12	2.94	0.28	4.49	1.84	3.00	0.57	0.798
13-HOTrE	12.65	2.61	9.19	2.03	13.36	6.12	7.96	1.48	0.763
13- HODE	439.00	55.12	353.80	68.71	611.10	192.40	267.40	45.40	0.133
5(6)-EpETrE	73.44	10.15	103.30	137.40	124.10	36.52	126.00	31.63	0.510
8(9)-EpETrE	17.08	2.12	23.09	4.07	23.77	5.47	27.47	6.09	0.789
11(12)-EpETrE	35.02	4.27	46.83	6.90	54.49	14.44	52.31	12.43	0.420
14(15)-EpETrE	28.53	3.40	36.57	5.31	42.99	11.02	42.16	9.89	0.514
10(11)-EpDPE	3.77	0.52	5.49	0.92	6.76	2.17	5.36	1.33	0.155
13(14)-EpDPE	3.08	0.31	3.74	0.62	4.26	1.09	3.56	0.84	0.277
16(17)-EpDPE	3.37	0.45	4.18	0.56	5.34	1.41	4.31	0.74	0.204
19(20)-EpDPE	4.90	0.73	6.84	1.20	9.66	2.91	7.27	1.90	0.148
9(10)-EpOME	27.91	2.99	34.16	4.97	48.50	17.37	29.39	4.13	0.049
12(13)-EpOME	28.20	2.90	33.71	5.29	62.51	26.26	30.95	4.18	0.027
9,10-Epoxy-stearic acid	108.70	10.96	116.20	9.69	208.80	101.70	115.20	13.76	0.101
11,12-DiHETrE	3.26	0.46	4.28	0.94	5.37	2.09	4.57	1.26	0.384
14,15-DiHETrE	4.36	0.61	6.95	1.67	7.93	3.38	6.01	1.41	0.156
9,10-DiHOME	5.43	0.42	5.97	1.01	23.74	17.80	6.18	0.70	0.056

12,13-DiHOME	11.31	0.89	12.84	1.52	36.13	20.47	10.42	1.01	0.015
9,10-Dihydroxy-stearic acid	1532.00	544.70	1.605.00	464.50	489.40	282.50	243.90	60.97	0.774

Supplemental Table S2 Oxylipin levels in healthy colonic tissue samples of patients with/without ASA/statin medication

Oxylipin levels in healthy colonic tissue samples of patients without ASA/statin medication, with ASA medication, with statin medication and with dual ASA and statin medication. Statistical analyses were performed using two-way ANOVA. Values are presented as mean \pm SEM.

11 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

12 Komplette Publikationsliste

Aspirin alone and combined with a statin suppresses eicosanoid formation in human colon tissue.

Gottschall H*, Schmöcker C*, Hartmann D, Rohwer N, Rund K, Kutzner L, Nolte F,
Ostermann AI, Schebb NH, Weylandt KH. *geteilte Autorenschaft

Journal of Lipid Research. 2018 May; 59(5):864-871

Impact Factor: 4,505

Extrapulmonale Sarkoidose mit Milzbefall.

Zander T, **Gottschall H**, Möller K, Hartmann D, Fiedler B, Niedobitek G.

Endoskopie heute. 2015 Jan; 27(04):221-226

Impact Factor: 0,188

Akute linksseitige Unterbauchschmerzen.

Gottschall H, Möller K, Mutze S, Hartmann D.

Der Gastroenterologe. 2014 Mar; 9(2)

Impact Factor: 0,05

Kurzvorträge/Posterpräsentationen

15-Lipoxygenase metabolites in human colon mucosa, adenoma and carcinoma tissues

H. Gottschall*, C. Schmöcker*, D. Hartmann, K. Rund, N. Rohwer, N.H. Schebb, K.H.
Weylandt *geteilte Autorenschaft

Posterpräsentation während der United European Gastroenterology Week, 10/2016 in Wien

Charakterisierung von humanem Kolonadenom- und Kolonkarzinomgewebe anhand des
Oxylipinprofils.

Heike Gottschall*, Christoph Schmöcker*, Dirk Hartmann, Katharina Rund, Nils H. Schebb,
Karsten H. Weylandt *geteilte Autorenschaft

Kurzvortrag auf der 71. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie,
Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten, 09/2016 in Hamburg

Quantitative profiling of hydroxylated lipid metabolites in human colon tissue reveals distinct lipidomic profiles for human colon carcinoma and adenoma tissue.

Heike Gottschall*, Christoph Schmöcker*, Dirk Hartmann, Katharina Rund, Nils H. Schebb, Karsten H. Weylandt *geteilte Autorenschaft

Posterpräsentation während der 14th International Conference on Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation, and Related Diseases, 07/2015 in Budapest

13 Danksagung

Sehr herzlich bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. Dr. Karsten Weylandt für die Möglichkeit dieses interessante Thema zu bearbeiten, seine engagierte fachliche Betreuung, die zahlreichen Hilfestellungen und die Vermittlung von Begeisterung für wissenschaftliches Arbeiten.

Herrn Prof. Dr. Nils Helge Schebb, Frau Dr. Annika Ostermann sowie Katharina Rund, Laura Kutzner und Fabian Nolte danke ich sehr herzlich für die professionelle Durchführung der LC(ESI)-MS/MS-Analytik, die nette Zusammenarbeit und die vielen weiteren konstruktiven Beiträge zu dieser Arbeit.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn PD Dr. med. D. Hartmann bedanken, der diese Arbeit während meiner Facharztausbildung durchgehend unterstützt hat.

Bei Herrn Dr. med. Christoph Schmöcker bedanke ich mich ganz besonders für die vielseitige Unterstützung, die freundschaftliche Zusammenarbeit und seinen unerschütterlichen Optimismus. Ein großes Dankeschön für ihre Hilfsbereitschaft geht außerdem an Dr. Nadine Rohwer.

Zuletzt möchte ich mich bei meiner Familie bedanken, deren Unterstützung mir immer die größte Hilfe ist.