

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV – Großhadern
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Martin Reincke

**Metabolischer Effekt von Walnusskonsum auf den Lipidstoffwechsel bei Ersatz
ausgewählter Makronährstoffe**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Andreas Roßmeier

aus Rotthalmünster

2021

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Klaus G. Parhofer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Olaf Adam

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. Katharina Lechner

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 10.11.2021

Eidesstattliche Versicherung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

**„Metabolischer Effekt von Walnusskonsum auf den Lipidstoffwechsel bei
Ersatz ausgewählter Makronährstoffe,,**

selbstständig verfasst, mich außer der angegeben keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Passau, 20.11.2021

Ort, Datum

Andreas Roßmeier

Unterschrift Doktorandin/Doktorand

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Physiologie des Lipid- und Lipoproteinstoffwechsels.....	1
1.2 Lipidstoffwechselstörungen und lipidassoziierte Erkrankungen	3
1.2.1 Lipidstoffwechselstörungen	3
1.2.2 Atherosklerose	4
1.2.3 Kardiovaskuläre Erkrankungen und deren epidemiologische Relevanz	7
1.3 Medikamentöse und nicht-medikamentöse Therapieoptionen bei Dyslipidämien und erhöhtem Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen	9
1.4 Reduktion des kardiovaskulären Risikos und lipidsenkende Eigenschaften von mediterraner Ernährung.....	13
1.5 Einfluss von Nüssen und Walnüssen auf Lipidmetabolismus und kardiovaskuläres Risiko.....	15
2. Studienziele und Eigenanteil	18
3. Material und Methoden.....	20
3.1 Studienaufbau.....	20
3.2 Studienkollektiv	21
3.3 Studienverlauf	23
3.4 Ernährung und Lebensstil	26
3.5 Messparameter und Labor	26
3.6 Statistik	28
3.7 Mikrobiom	30
4. Ergebnisse	31
4.1 Biometrische Daten und Stoffwechselfparameter zu Studienbeginn.....	31
4.2 Lipidsenkender Effekt in der Gesamtbetrachtung.....	32
4.3 Lipidsenkender Effekt bei Betrachtung und Vergleich der Ernährungsuntergruppen ...	33
4.4 Lipidsenkender Effekt bei Walnusskonsum zur Hauptmahlzeit oder als Zwischenmahlzeit	36
4.5 Auswirkungen von Walnusskonsum auf Glukosemetabolismus, CRP, VCAM-1 und Endothelin-1	38
5. Diskussion.....	39
5.1 Auswirkungen auf den Lipidmetabolismus	39
5.2 Lipidsenkender Effekt von Walnüssen und dafür ersetzte Makronährstoffe.....	40
5.3 Lipidsenkender Effekt und Konsumzeitpunkt von Walnüssen.....	42
5.4 Einfluss von Walnusskonsum auf Glukosemetabolismus, Inflammation, Körpergewicht, BMI und Blutdruck	42
5.5 Stärken und Limitationen	45

6. Zusammenfassung	47
7. Abkürzungsverzeichnis.....	49
8. Abbildungsverzeichnis.....	51
9. Tabellenverzeichnis.....	52
10. Literaturverzeichnis	53
11. Danksagung	58
12. Lebenslauf.....	Fehler! Textmarke nicht definiert.

1. Einleitung

1.1 Physiologie des Lipid- und Lipoproteinstoffwechsels

Lipide erfüllen im Körper eine Vielzahl an essentiellen Funktionen. Auf der einen Seite fungieren sie als Energiespeicher, auf der anderen Seite werden sie als wichtige Membranbestandteile benötigt. Zudem dienen sie als Ausgangssubstanz für z.B. fettlösliche Hormone oder Gallensäuren [1].

Aufgrund ihrer hydrophoben Eigenschaften ist ein Transport über sogenannte Lipoproteine notwendig, welche hydrophobe und hydrophile Eigenschaften vereinen. Die über die Nahrung aufgenommenen Lipide (dargestellt in **Abbildung 1**), hier überwiegend Triacylglyceride (TG) und Fettsäuren (FS), werden in der Darmmukosa zu sogenannten Chylomikronen (mit Apolipoprotein B-48 (ApoB-48) als zentralem Lipoprotein) synthetisiert und anschließend an das Lymphsystem abgegeben [1, 2].

Im peripheren Blut erfolgt eine lipolytische Abspaltung der gebundenen Fettsäuren über spezifische Enzyme zu freien Fettsäuren (FFS), welche dann über bestimmte Transportproteine in die Zellen der Peripherie aufgenommen werden. Die verbleibenden Reste der Chylomikronen (auch als „Remnants“ bezeichnet), die sich durch eine cholesterinreichere Zusammensetzung auszeichnen, gelangen über den Blutstrom zur Leber, wo sie über spezifische und unspezifische Rezeptoren aufgenommen werden [1, 2].

In der Leber wird das sogenannte Very-Low-Density-Lipoprotein (VLDL) synthetisiert, welches neben der hauptsächlich in der Leber produzierten TG einen erhöhten Anteil an verestertem Cholesterin enthält. Hier erfolgt eine Bindung an das Apolipoprotein ApoB-100. Nach der Sezernierung des VLDL werden ebenso wie bei Chylomikronen lipolytisch Fettsäuren in den peripheren Kreislauf abgespalten und von den Zellen aufgenommen. Durch immer weitere Abspaltung entsteht aus VLDL das Intermediate-Density-Lipoprotein (IDL) als kurzwährende Übergangsform [1, 2].

Durch weitere Abspaltung von Fettsäuren entsteht schließlich das cholesterinreiche Low-Density-Lipoprotein (LDL) mit einem Cholesterinanteil von bis zu 50%. Über das verbliebene Apolipoprotein ApoB-100 erfolgt die spezifische Aufnahme der LDL in die peripheren Zellen über den LDL-Rezeptor [1].

Um einen Cholesterinüberschuss in den Zellen zu vermeiden und eine optimale Verteilung zu ermöglichen, gibt es eine weitere Lipoproteinfraktion, das High-Density-Lipoprotein (HDL).

Dieses entsteht als sogenanntes Prä- β -HDL (Vorläufer-HDL) im peripheren Blut durch die Anlagerung von Phospholipiden aus Zellmembranen an das von Leber und Darm sezernierte Apolipoprotein ApoA-I. Durch Transportproteine, z.B. ATP-binding cassette, Unterfamilie A1 (ABCA1), erfolgt der Transport von Cholesterin aus den Zellen in das Plasma, wo es durch weitere Enzyme wieder zu Cholesterinestern umgewandelt wird und sich an das Vorläufer-HDL anlagert. Dadurch entsteht das reife α -HDL. Neben der Umverteilung von Cholesterin und dessen Rücktransport zur Leber gibt das HDL im Plasma auch noch wichtige gebundene Apolipoproteine an andere Lipoproteinfraktionen ab, welche z.B. für die Lipolyse benötigt werden [1, 2].

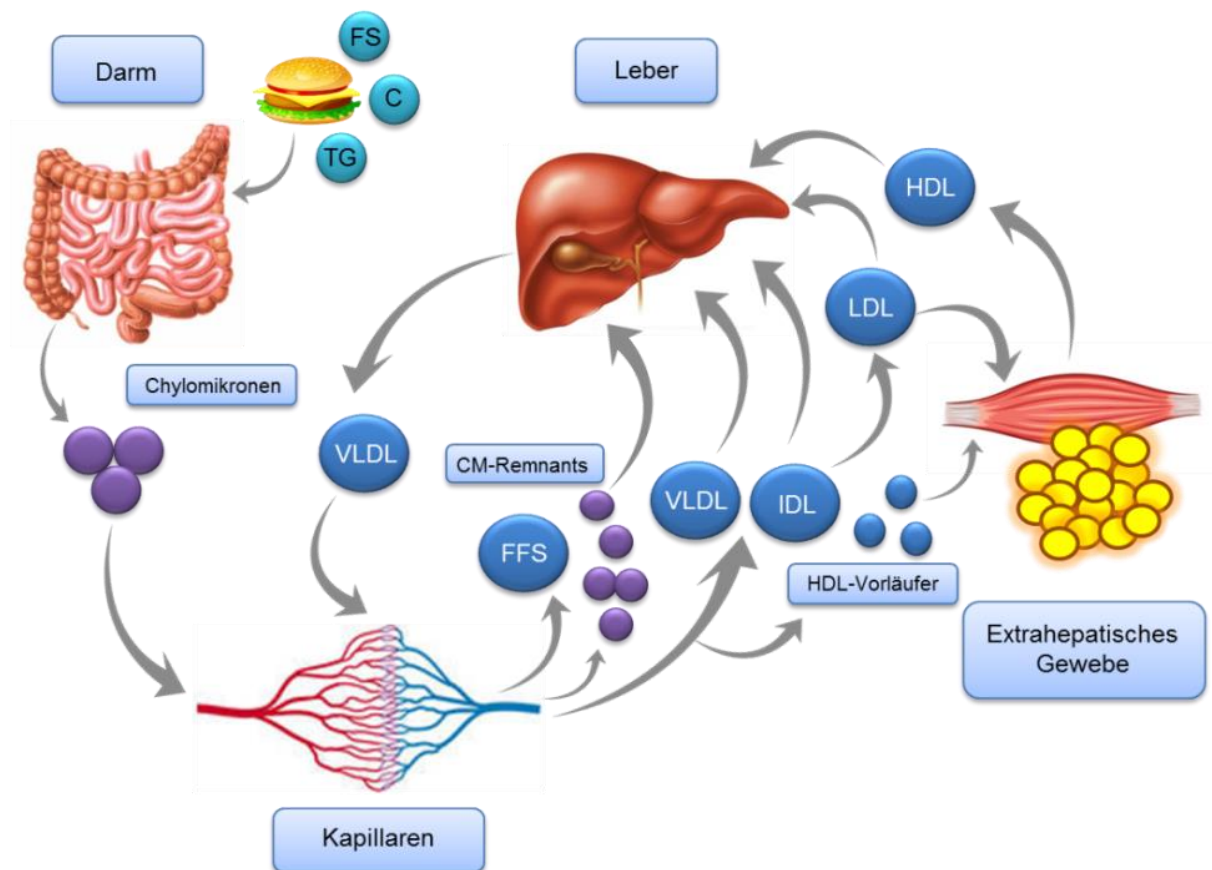


Abb. 1: Übersicht Lipid- und Lipoproteinstoffwechsel. C = Cholesterin; CM-Remnants = Chylomikronen-Remnants; FS = Fettsäuren; TG = Triglyzeride; FFS = freie Fettsäuren; VLDL= very-low-density-Lipoprotein; IDL = intermediate-density-Lipoprotein; LDL = low-density-Lipoprotein; HDL = high-density-Lipoprotein. Abbildung nach [1].

1.2 Lipidstoffwechselstörungen und lipidassoziierte Erkrankungen

Fettstoffwechselstörungen (veränderte Konzentration und/oder Komposition der Lipoproteine) resultieren aus einer Kombination genetischer und exogener Faktoren.

1.2.1 Lipidstoffwechselstörungen

Lipidstoffwechselstörungen (Dyslipidämien) sind Stoffwechselstörungen, die durch die Konzentrations- und/oder Kompositionsveränderung eines oder mehrerer Lipoproteine im Plasma gekennzeichnet sind. Fettstoffwechselstörungen können primäre und/oder sekundäre Ursachen haben. Primäre Fettstoffwechselstörungen beruhen auf genetisch bedingten metabolischen Störungen, wohingegen sekundäre Dyslipidämien als Folge anderer Grunderkrankungen (wie z.B. Diabetes mellitus, Hypothyreose u.a.) oder exogener Noxen (z.B. Alkohol, Medikamente) definiert werden (zusammengefasst in **Tabelle 1**) [3, 4]. In der Realität ist diese Unterteilung jedoch nur begrenzt anzuwenden, da die meisten Fettstoffwechselstörungen Resultate der verschiedenen oben genannten Komponenten sind.

Tab. 1: Übersicht über klinisch häufige Dyslipidämien [3, 4]. Lp(a) = Lipoprotein (a); TC = Gesamtcholesterin; LDL = low-density-Lipoprotein; HDL = high-density-Lipoprotein; TG = Triglyceride.

Primäre Dyslipidämien	Sekundäre Dyslipidämien	Abweichende Lipoproteinfraktion(en)
Familiäre Hypercholesterinämie	Hypercholesterinämie	LDL ↑↑↑ TC ↑↑↑
Familiäre Hypertriglyceridämie	Hypertriglyceridämie	TG ↑↑↑ HDL ↓
Kombinierte Hyperlipoproteinämie		LDL ↑ HDL ↓ TG ↑
Lp(a)-Erhöhung		Isoliert oder in Kombination mit anderen Dyslipidämien
	HDL-Cholesterol-Erniedrigung	HDL ↓

1.2.2 Atherosklerose

Atherosklerose ist eine komplexe systemische Erkrankung der arteriellen Gefäßwände. Laut einer Definition der WHO aus dem Jahre 1958 kann das Krankheitsbild der Atherosklerose definiert werden als „eine variable Kombination von Intimaveränderungen der Arterien, die aus einer fokalen Anhäufung von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutprodukten, fibrösem Gewebe und Kalkablagerungen bestehen und mit Mediaveränderungen einhergehen“ [5]. An ihren Folgeerkrankungen sterben weltweit jährlich Millionen (Mio.) von Menschen [6]. Aus diesem Grund kommt der Behandlung und vor allem der Prävention eine entscheidende Rolle zu.

Laut der sogenannten „Response-to-injury“-Hypothese stellt eine veränderte Permeabilität der Gefäßendothelzellen, welche die Arterien zum Lumen hin auskleiden und somit eine mechanische Barriere bilden, den ersten Schritt in der Entstehung einer atherosklerotischen Läsion dar. Diese Veränderungen der Permeabilität entstehen besonders an Aufzweigungen, Krümmungen und Verengungen der betroffenen Arterien. Grund dafür ist ein veränderter Blutfluss im Sinne von langsamerem, oszillierendem Scherstress. Während bei gleichmäßigem und schnellem Blutfluss (laminarer Scherstress) von Endothelzellen vasoprotektive und antiatherogene Substanzen ausgeschüttet werden, fallen diese positiven Effekte bei oszillierendem Scherstress weg und es kommt durch das Fehlen dieser Effekte zu einer erhöhten Permeabilität in der Gefäßintima [7, 8]. Die Initiierung einer Läsion der Arterienwand ist in **Abbildung 2** grafisch dargestellt. Als Folge dieser erhöhten Permeabilität gelangen Apolipoprotein-B-haltige Partikel wie LDL, VLDL sowie Lp(a) in die Gefäßwand und lagern sich subendothelial ab. Diese Ablagerung geschieht passiv per Diffusion und ist entsprechend eines Konzentrationsgradienten umso ausgeprägter, je höher die Plasmaspiegel der oben genannten Lipide ausfallen [7].

Im weiteren Verlauf kommt es zur Oxidation dieser abgelagerten Lipide, v.a. von LDL zum sogenannten minimal oxidierten LDL (mmLDLox). Diese Oxidation wird durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) verursacht, welche durch die oben genannte verminderte endotheliale Produktion von z.B. Stickstoffmonoxid (NO), Superoxid-Dismutase (SOD) oder Glutathion vermehrt entstehen können [7, 8].

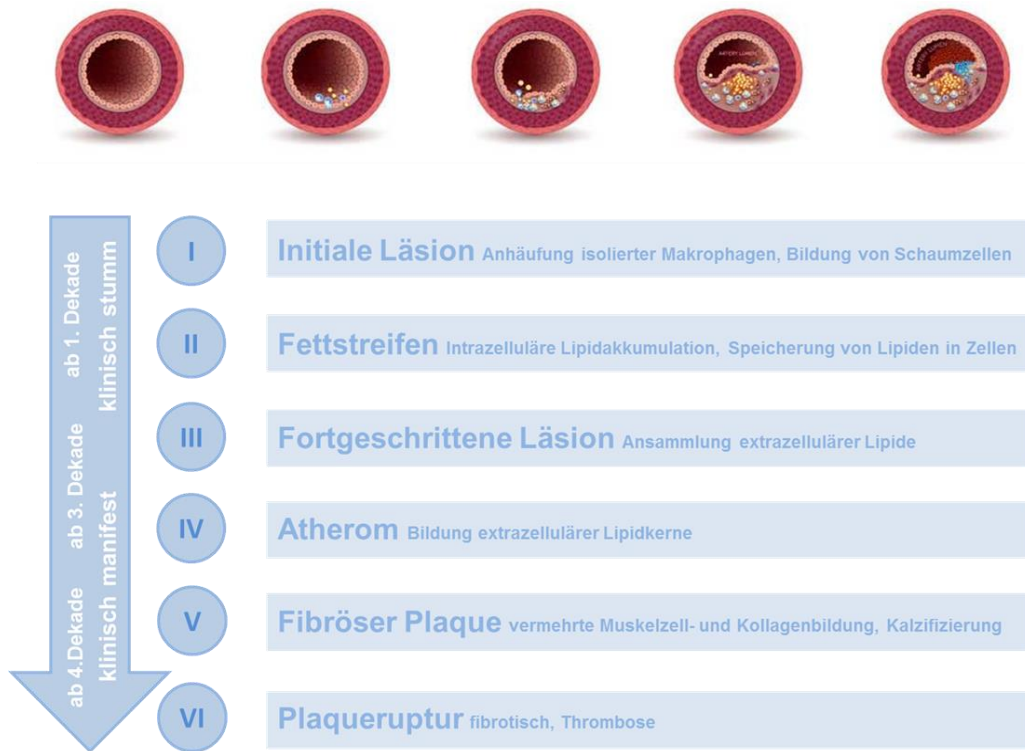


Abb. 2: Schrittweise Pathogenese der Atherosklerose. Abbildung nach [9].

Sowohl das mmLDLox als auch die ROS stimulieren das Endothel zur Produktion von Adhäsionsmolekülen und Chemokinen, wie z.B. Vasculäres Zelladhäsionsmolekül-1 (VCAM-1), Interzelluläres Adhäsionsmolekül-1 (ICAM-1), Monozyten-Chemoattraktor-Protein-1 (MCP-1) sowie Makrophagen-Koloniestimulierender Faktor (M-CSF). Diese Moleküle bewirken das Anheften und die Diapedese von frei im Blut befindlichen Monozyten durch das Endothel sowie deren Proliferation zu reifen Makrophagen [7, 8, 10].

Das mmLDLox wird durch das weitere Einwirken von ROS und weiteren oxidativ wirksamen Enzymen zum stark oxidierten LDL (LDLox) umgewandelt. In dieser Form kann es von den zuvor eingewanderten und proliferierten Makrophagen durch Scavenger-Rezeptoren, z.B. SR-A, CD36 und CD68, ohne Rückkopplung in großen Mengen phagozytiert werden. Die auf diesem Wege entstandenen sogenannten Schaumzellen sezernieren ihrerseits ebenfalls Chemokine, welche das Endothel beeinflussen und zur weiteren Rekrutierung neuer Monozyten und T-Lymphozyten beitragen [7, 10]. Im weiteren Verlauf kommt es zur Ansammlung und teilweisen Apoptose dieser Schaumzellen in der Gefäßwand mit konsekutiver extrazellulärer Ablagerung der zuvor phagozytierten Lipide, wodurch charakteristische Frühläsionen, auch „fatty streaks“ genannt, entstehen [7, 11].

In diesem entzündlichen Milieu werden durch aktivierte Makrophagen und T-Lymphozyten weitere Zytokine und Wachstumsfaktoren, wie z.B. diverse Interleukine, koloniestimulierende Faktoren für Granulozyten und Monozyten, Tumornekrosefaktor α sowie Interferon γ ausgeschüttet. Diese Moleküle führen zur Einwanderung von glatten Muskelzellen aus der Tunica media in die Tunica intima. Unter dem fortdauernden Einfluss der vorher genannten Zytokine und Wachstumsfaktoren kommt es zur Proliferation der eingewanderten glatten Muskelzellen. Diese platzieren sich im Verlauf unter den Endothelzellen und beginnen mit der Produktion von Kollagen und anderer extrazellulärer Matrix. Die sezernierte Matrix umgibt den lipidreichen Kern dabei zum Gefäßlumen hin und stabilisiert auf diese Weise die entstandene Plaque. Das Wachstum dieser lipidreichen Plaques erfolgt anfangs nach außen Richtung *Tunica adventitia*, im weiteren Verlauf jedoch in Richtung des Gefäßlumens, was folglich zu einer progredienten Einengung des Gefäßlumens führen kann [7, 10].

Je nach Beschaffenheit der fibrösen Matrix werden stabile von instabilen Plaques unterschieden [10, 12]. Stabile Plaques zeichnen sich durch einen kleinen bis mäßig großen Lipidkern, eine dicke fibröse Kappe, geringere Entzündungsaktivität und ein geringes Risiko einer nachfolgend beschriebenen Plaqueruptur aus [10].

Durch eine anhaltend hohe Entzündungsaktivität in der *Tunica intima* werden von Makrophagen diverse Matrix-Metalloproteinasen und andere proteolytisch wirksame Enzyme ausgeschüttet, welche in der Lage sind, das sich extrazellulär befindliche Kollagen und andere Komponenten der extrazellulären Matrix der fibrösen Kappe zu spalten, diese damit auszudünnen und folglich zu destabilisieren. Zudem hemmen andere Moleküle, z.B. Interferon γ sezerniert durch aktivierte T-Lymphozyten, die weitere Produktion von Kollagen durch glatte Muskelzellen, welches die sich ausdünnende fibröse Plaquekappe wieder stabilisieren könnte [7, 12]. Alle bisher beschriebenen Schritte in der Pathogenese werden in **Abbildung 2** dargestellt.

Bei Erreichen einer gewissen Dünne der Plaquekappe besteht durch weitere Ausdünnung und hämodynamischen Stress durch den kontinuierlichen Blutfluss die Gefahr einer Plaqueruptur. Bei dieser wird der Inhalt der lipidreichen Plaque frei und es kommt durch das Zusammentreffen von Gewebethromboplastin (Faktor III) und Proconvertin (Faktor VII) zur Aktivierung der Gerinnungskaskade und Thrombozytenrekrutierung mit nachfolgender Bildung eines Thrombus, der bei

ausreichender Größe am Ort der Entstehung zu einem Verschluss des Gefäßes führen oder, im Sinne einer Embolie, sich ablösen und weiter distal das Gefäß verschließen kann [10].

Solch ein Verschluss von Arterien kann bei Myokardinfarkten, ischämischen Schlaganfällen sowie bei viszeralen und peripheren Arterienverschlüssen beobachtet werden.

1.2.3 Kardiovaskuläre Erkrankungen und deren epidemiologische Relevanz

Laut einer Schätzung der Weltgesundheitsorganisation (WHO) starben im Jahr 2016 weltweit 17,9 Mio. Menschen an kardiovaskulären Erkrankungen (CVDs). Bei insgesamt ca. 57 Mio. geschätzten Todesfällen in 2016 machten die CVDs also 31% der Gesamttodesfälle aus [6].

Kardiovaskuläre Erkrankungen umfassen Krankheitsbilder unterschiedlicher Ursachen mit Beteiligung des Herzens und der Blutgefäße. Bei Betrachtung der zehn weltweiten Haupttodesursachen in 2016 befinden sich auf den ersten beiden Plätzen Vertreter der CVDs, nämlich die koronare Herzerkrankung (KHK) mit 9,4 Mio. Todesfällen und der Schlaganfall mit 5,8 Mio. Todesfällen. Beide Erkrankungen sind eng mit atherosklerotischen Vorschädigungen der versorgenden Blutgefäße verbunden [7]. Auf Platz drei und vier folgen die chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD) und Infektionen der unteren Atemwege (IuA) mit jeweils 3,0 Mio. Sterbefällen. Im Vergleich zu beiden letztgenannten Erkrankungen nahmen außerdem durch KHK und Schlaganfälle verursachte Todesfälle kontinuierlich während der letzten Jahre zu (siehe **Abbildung 3**) [13, 14].

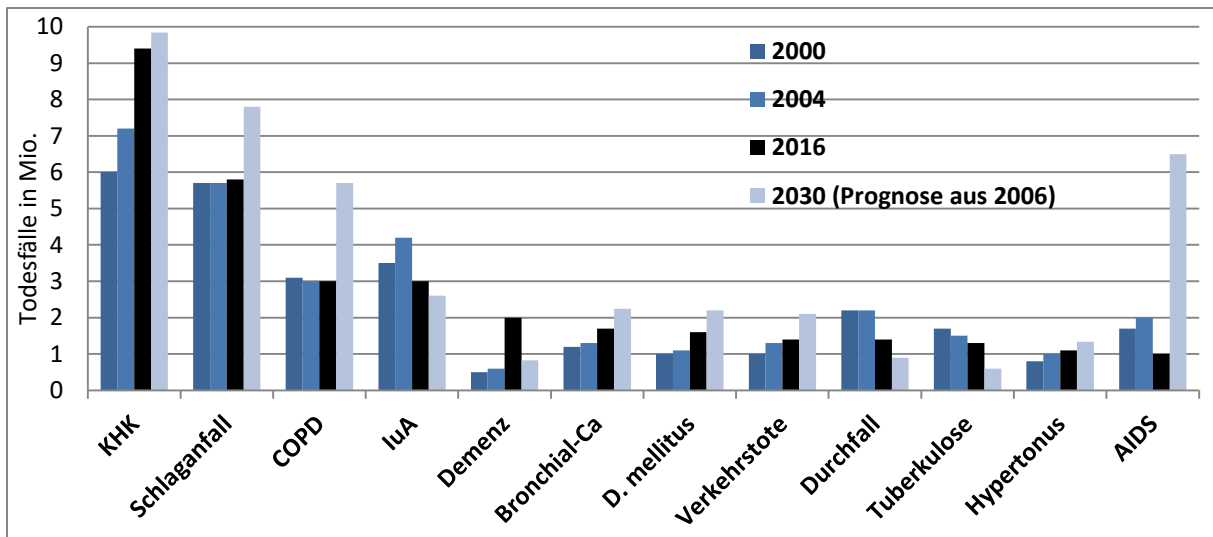


Abb. 3: Häufigste Todesursachen weltweit 2016 (schwarz). Dazu vergleichend häufigste Todesursachen 2000 (blau) und 2004 (blau) [13, 14]. Prognose aus 2006 (hellblau) für 2030 [15]. Angabe der Todesfälle in Millionen (Mio.). KHK = Koronare Herzerkrankung; COPD = chronisch obstruktive Lungenerkrankung; luA = Infektion der unteren Atemwege; Bronchial-Ca = Bronchialkarzinom; D. mellitus = Diabetes mellitus; AIDS = Acquired Immune Deficiency Syndrome.

Außerdem kommt erschwerend hinzu, dass vor allem Industrienationen mit hohem Einkommen bzw. Wohlstand wie Deutschland und die USA im Vergleich zu Entwicklungsländern sehr hohe relative Sterberaten durch CVDs zu beklagen haben. Mit abnehmendem Wohlstand verschiebt sich die Mortalität von chronischen Krankheiten wie CVDs oder COPD hin zu (akuten) Infektionserkrankungen wie AIDS, Infektionen der unteren Atemwege oder Durchfallerkrankungen (siehe **Abbildung 4**) [13].

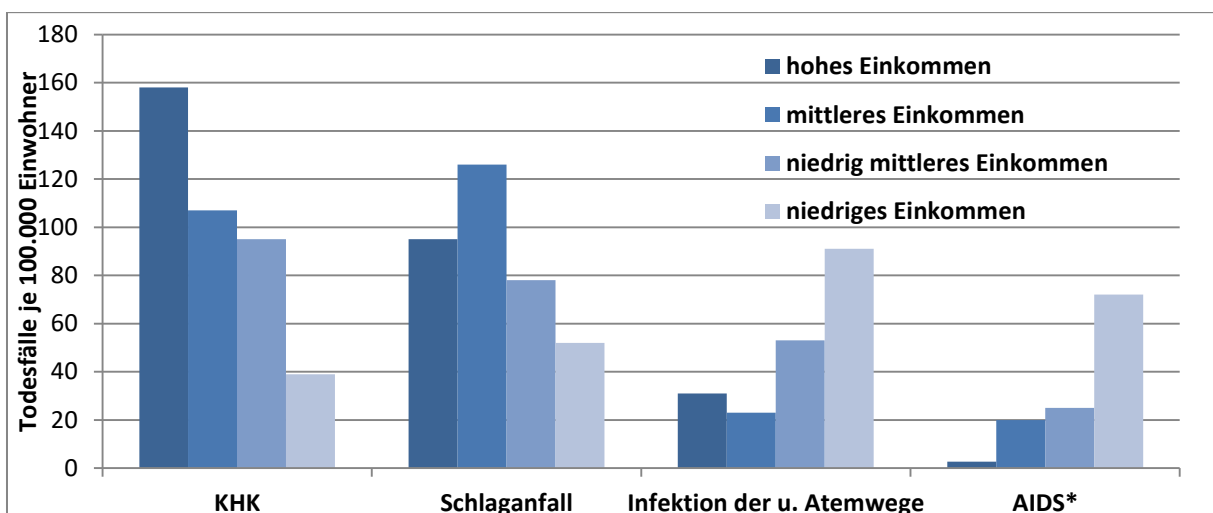


Abb. 4: Todesfälle je 100.000 Einwohner in 2012, in Abhängigkeit von Krankheit und Einkommen. *Daten aus 2011 [16, 17]. KHK = Koronare Herzerkrankung; AIDS = Acquired Immune Deficiency Syndrome.

In Deutschland starben im Jahr 2012 geschätzt ca. 346.000 Menschen durch CVDs, was bei insgesamt 866.000 Todesfällen einem Anteil von 40% an der Gesamtmortalität entspricht [16].

1.3 Medikamentöse und nicht-medikamentöse Therapieoptionen bei Dyslipidämien und erhöhtem Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen

Grundsätzlich sollte der jeweilige Therapieansatz in Abhängigkeit von der Serumkonzentration der betroffenen Lipidfraktion sowie unter Berücksichtigung des Gesamtrisikos (entspricht tödliche und nicht tödliche Ereignisse) für kardiovaskuläre Ereignisse gewählt werden. Das ebengenannte Risiko kann mit sog. Risikoscores (z.B. „SCORE Cardiovascular Risk Chart“ der ESC/EAS) abgeschätzt bzw. unter Einbeziehung von zusätzlichen Risikofaktoren/Parametern genauer berechnet werden [18]. **Abbildungen 5 und 6** geben einen Überblick bezüglich des therapeutischen Vorgehens zur Reduktion von LDL-Cholesterin und Triglyzeriden.

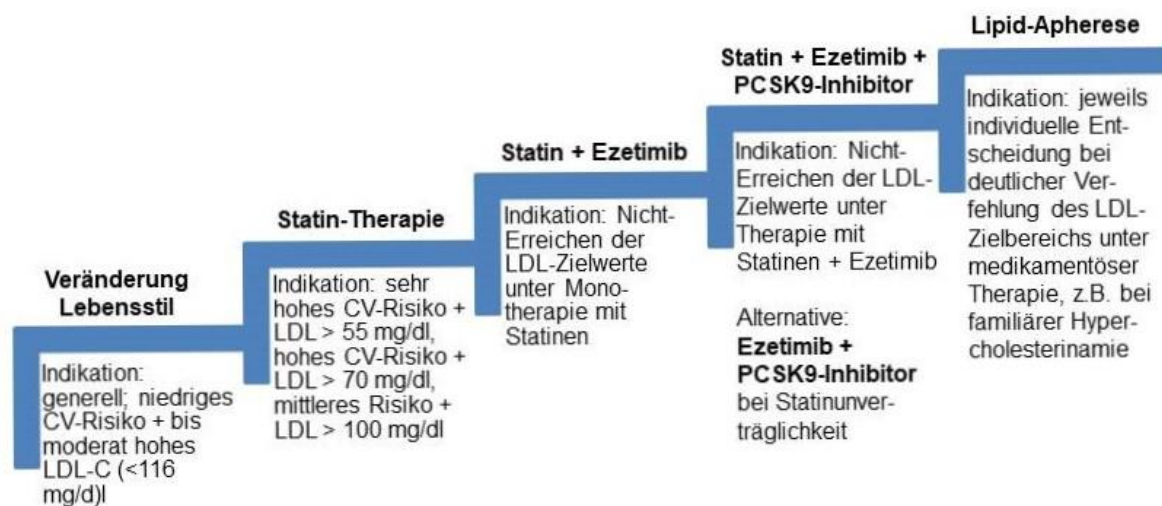
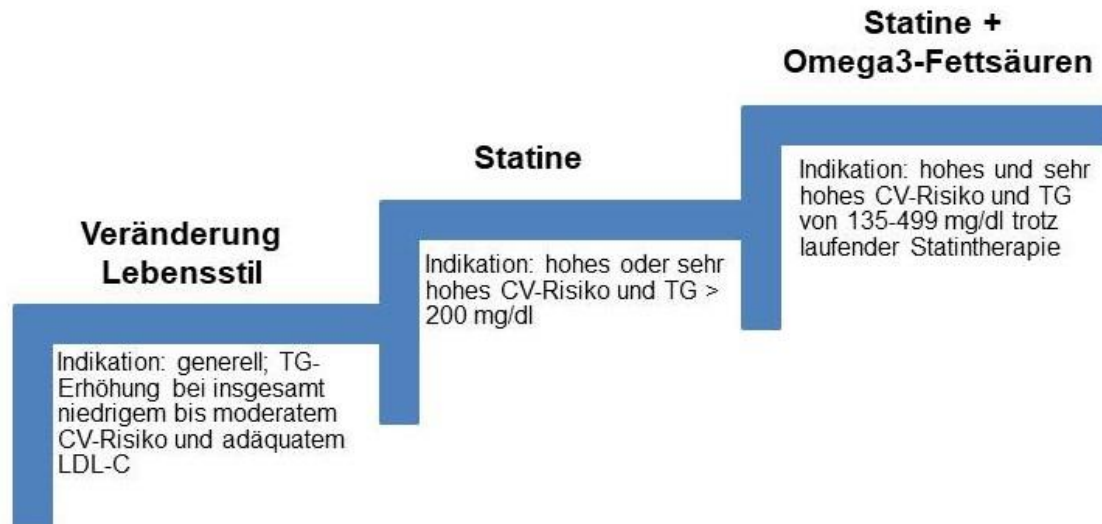


Abb. 5: Stufentherapie LDL-Cholesterin. Inhalt nach ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias 2019 [18]. Abbildung nach [4]. CV-Risiko = kardiovaskuläres Risiko; LDL-C = low-density-lipoprotein; C = Cholesterin; PCSK9 = Proproteinconvertase Subtilisin/Kexin Typ 9.

Patienten mit einem zurückliegendem atherosklerotisch bedingtem Ereignis (ACS, stabile Angina pectoris, durchgeführte koronare Revaskularisationstherapie, Schlaganfall, TIA, pAVK), Nachweis von atherosklerotischen Läsionen per CT der Koronarien oder per Duplex-Sonographie der Carotiden, Diabetes mellitus (mit entweder Endorganschädigung oder zusätzlichem Vorhandensein von 3 Hauptrisikofaktoren oder Bestehen seit über 20 Jahren), chronischer Niereninsuffizienz (Grad 4 oder höher) und familiärer Hypercholesterinämie (mit Bestehen eines zusätzlichen Hauptrisikofaktors) werden unabhängig von einem errechneten Scorewert in die Gruppe mit sehr hohem kardiovaskulärem Risiko eingeordnet. Für diese Gruppe gilt daher in den allermeisten Fällen eine grundsätzlich medikamentöse Therapieempfehlung [18].



Fibrate als Alternative mit geringerer Evidenz/Empfehlung:

- Primärpräventiv in Kombination mit Statinen bei TG > 200mg/dl und LDL-C im Zielbereich
- In Kombination mit Statinen bei hohem CV-Risiko und TG > 200mg/dl und LDL-C im Zielbereich

Abb. 6: Stufentherapie Triglyceride (TG) [18]. CV-Risiko = kardiovaskuläres Risiko; LDL-C= low-density-Lipoprotein; C = Cholesterin.

Präventiv bzw. als Basismaßnahme jeder therapeutischen Intervention bei Dyslipidämien und erhöhtem kardiovaskulärem Risiko sollte generell eine Optimierung des persönlichen Lebensstils erfolgen. Diese beinhaltet nach ESC Leitlinien 2019 [18]:

- Reduktion von Übergewicht, Erreichen von Normalgewicht (BMI 20-25 kg/m²)
- Ausreichende sportliche Betätigung und körperliche Bewegung (3,5-7 Stunden/Woche)
- Nikotinkarenz
- Verzicht auf Alkohol
- Gesunde Ernährung
 - Vermehrter Verzehr von Vollkornprodukten, Hülsenfrüchten, magerem Fisch, Obst und Gemüse, **ungesalzenen Nüssen**, pflanzlichen Ölen
 - Verzicht auf Trans-Fettsäuren; Reduktion von gesättigten Fettsäuren und raffinierten Kohlenhydraten, Salz, rotem Fleisch
 - Ggf. Verzehr von „funktionellen“ Lebensmitteln: Omega-3-Fettsäuren (Walnüsse, Fischöl, Leinöl), Phytosterole (siehe Lebensmittel 1. Unterpunkt), Monacoline (z.B. in Rotschimmelreis)
- Normotensive Blutdruckwerte (<140/90 mmHg)

Medikamentös stehen nachfolgende Wirkstoffgruppen zur Lipidsenkung zur Verfügung (siehe auch **Abbildung 5 und 6**). Hierbei sei auf die aktuelle Leitlinie der ESC von 2019 verwiesen [18]:

- **Statine: Aktuell Standardtherapeutika der Wahl**
 - Wirkung: Hemmung des Schlüsselenzyms der Cholesterinbiosynthese, der HMG-COA-Reduktase, und konsekutive Hochregulierung des LDL-Rezeptors
 - Reduktion von LDL-C > 50% sowie TG 10-20% des Ausgangswertes
 - zudem antiinflammatorische und antioxidative Effekte beschrieben
 - Nebenwirkungen: Myopathie, ALT-Erhöhung, Neuentstehung von Diabetes mellitus
- **Cholesterin-Absorptionshemmer** (i.e. Ezetimib):
 - Wirkung: Verminderte Aufnahme von Cholesterin an der Darmmukosa durch Interaktion mit dem Niemann-Pick C1-like protein 1 (NPC1L1) und vermehrter Expression von hepatischem LDL-Rezeptor
 - Monotherapie: Reduktion LDL-C von 15-22% und TG von ca. 8% des Ausgangswertes
 - Kombinationstherapie mit Statinen: zusätzliche LDL-C-Reduktion von 21-27% des Ausgangswertes beschrieben
 - Nebenwirkungen: sehr selten Leberversagen beschrieben
- **Gallensäurebinder:**
 - Aufgrund gastrointestinaler Nebenwirkungen (Flatulenz, Obstipation, Dyspepsie, Übelkeit) eingeschränkte Anwendbarkeit und somit Reservemedikament
 - Wirkung: Bindung von Gallensäuren im Darmlumen und konsekutive enterale Ausscheidung. Kompensativ Mehrbildung von Gallensäuren in der Leber mit Mehrverbrauch an LDL-Cholesterin
 - LDL-C-Reduktion von 18-25% des Ausgangswertes
- **PCSK9-Inhibitoren:**
 - Wirkung: Reduktion von funktionsfähigem PCSK9 im Plasma und somit verringerte Bindung und folglich reduzierter Abbau des LDL-Rezeptors
 - Monotherapie: Reduktion LDL-C von ca. 60% des Ausgangswertes

- Kombinationstherapie mit Statinen: LDL-C-Reduktion bis 73% des Ausgangswertes beschrieben
- TG-Reduktion von 25% in Phase II-Studien beschrieben
- Reduktion von Lp (a) von 30-40% in Phase-II-Studien beschrieben
- Nebenwirkungen: aufgrund fehlender Langzeitergebnisse keine sicherere Aussage bis dato möglich (Juckreiz an der Injektionsstelle beschrieben; Autoantikörperbildung und erhöhtes Risiko für Diabetes mellitus diskutiert)
- **Fibrate**
 - Wirkung: Agonismus am Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptor α (PPAR- α), was einen gesteigerten Fettsäureabbau in den Peroxisomen bewirkt
 - Reduktion TG von ca. 50% vom Ausgangswert, Reduktion von LDL-C bis 20% sowie Erhöhung HDL-C bis 20%
 - Nebenwirkungen: Myopathie (vor allem bei Kombination von Statinen mit Gemfibrozil), Leberwerterhöhung, Cholelithiasis
- **Omega-3-Fettsäuren**
 - Reduktion TG bis 45% des Ausgangswertes
 - Nebenwirkung: gastrointestinale Nebenwirkungen

Daneben gibt es weitere Lipidsenker, die vor kurzem zugelassen wurden (Volanesorsen, Bempedoinsäure, Lomitapide) [19-21] oder in Entwicklung sind (Inclisiran, Evinacumab, Lipoprotein(a)-Antisense-Oligonukleotid) [22-24].

Insgesamt wurde festgestellt, dass eine lineare proportionale Beziehung zwischen absoluter Reduktion des LDL-C und der Reduktion des kardiovaskulären Risikos besteht [25, 26].

1.4 Reduktion des kardiovaskulären Risikos und lipidsenkende Eigenschaften von mediterraner Ernährung

Wie bereits im vorherigen Kapitel erwähnt, spielen neben der medikamentösen Therapie auch nicht medikamentöse Maßnahmen eine gewichtige Rolle. Hierunter fällt auch eine „gesunde“ Ernährung reich an Obst und Gemüse, Fisch, Vollkornprodukten, Hülsenfrüchten, Nüssen und pflanzlichen Ölen. Diese Nahrungsmittel spiegeln sich vor allem in der mediterranen Ernährungsweise wider [27].

Diesbezüglich gibt es eine Vielzahl von Studien, die in der Vergangenheit einen positiven Effekt bezüglich einer Risikoreduktion für kardiovaskuläre Erkrankungen durch eine mediterrane Ernährung beschreiben [28].

In einer 2017 von Grosso et al. zu dieser Ernährungsweise veröffentlichten Meta-Analyse wurden 20 prospektive Studien und 4 randomisierte kontrollierte Interventionsstudien (RCTs) mit insgesamt 888.257 Teilnehmern miteinbezogen. Hierbei konnte signifikant ein deutlich niedrigeres Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse (tödliche und nicht tödliche Ereignisse) bei gewissenhafter Einhaltung einer mediterranen Diät (verglichen mit einer weniger gewissenhaften Einhaltung im Studienkollektiv) festgestellt werden. Gleiches konnte in einer Subgruppenanalyse für KHK, Myokardinfarkte und Schlaganfälle beobachtet werden. Hieraus wurde eine 30-prozentige Reduktion von Inzidenz und Mortalität an kardiovaskulären Ereignissen in den prospektiven Studien und sogar eine bis 45-prozentige aus den ausgewerteten RCTs abgeleitet. Als Lebensmittel mit einem signifikanten Beitrag zu diesem Ergebnis wurden Olivenöl, Gemüse und Obst sowie Hülsenfrüchte aufgeführt. [29].

Die größte der oben erwähnten RCTs war die 2013 erstveröffentlichte PREDIMED-Studie (Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet) mit über 7.000 Probanden aus Spanien, welche allesamt ein hohes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen (ohne ein bis dato manifestes kardiovaskuläres Ereignis) innehatten. In dieser konnte ebenfalls eine signifikant niedrigere Inzidenz von kardiovaskulären Ereignissen (tödlich und nicht tödlich) in den beiden Interventionsgruppen mit Verzehr von entweder gemischten Nüssen (7,5g Haselnüsse, 7,5g Mandeln, 15g Walnüsse) oder Olivenöl zusätzlich zu einer mediterranen Ernährung im Vergleich zu einer Kontrollgruppe mit fettarmer mediterraner Ernährungsweise beobachtet werden, ohne dass eine Beschränkung

der Kalorienzufuhr erfolgte. Die relative Risikoreduktion wurde mit 30% verglichen mit der Kontrollgruppe angegeben [30].

Die oben genannten positiven Auswirkungen von einer mediterranen Ernährungsweise auf das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen können auf der einen Seite durch Beeinflussung der traditionellen kardiovaskulären Risikofaktoren und auf der anderen Seite durch Modulation von Schritten der Pathogenese von Atherosklerose erklärt bzw. gezeigt werden [31, 32].

So zeigten sich durch eine mediterrane Ernährungsweise:

- Reduktion von Bluthochdruck (durch z.B. gesteigerte Synthese von NO sowie verminderte Synthese von Endothelin-1 (ET-1) oder Caveolin-2-Protein) [31, 33]
- Verbesserung einer diabetischen Stoffwechsellage bzw. gestörten Glukosetoleranz (durch Besserung der Insulinresistenz, Senkung des Plasma-Insulinspiegels, Steigerung von z.B. GLP-1) [31, 32, 34]
- Verbesserung des Lipidprofils (z.B. durch vermehrte Veresterung von Cholesterin durch LCAT, Erhöhung der Aktivität der Paraoxonase 1, Hemmung der intestinalen Absorption von Gallensäuren und Cholesterin durch Phytosterole, Verzehr von Omega-3-Fettsäuren) [31, 32, 35-37]
- Reduktion von das Endothel betreffenden Inflammationsparametern (z.B. VCAM-1, ICAM-1, CRP, IL-6) [31, 38-40]
- Reduktion von oxidativem Stress (z.B. durch Reduktion von mmLDLox, Erhöhung von Glutathion) [31, 32, 41-44]
- Verringerung der Plättchenaggregation (durch Hemmung der Aktivität von Cyclooxygenasen) [45]
- Günstige Beeinflussung des intestinalen Mikrobioms, welches laut aktuellen Forschungsergebnissen zunehmenden Einfluss auf kardiovaskuläre Erkrankungen haben könnte (z.B. in Folge einer verminderten Produktion von Trimethylamin-N-oxid durch verminderte intestinale Aufnahme von Cholin und L-Carnitin, vermehrte Produktion von intestinalen, kurzkettigen Fettsäuren) [32, 46]

1.5 Einfluss von Nüssen und Walnüssen auf Lipidmetabolismus und kardiovaskuläres Risiko

Ein fester Bestandteil einer mediterranen Ernährungsweise ist der Verzehr von verschiedenen Nussarten [27]. Nüsse enthalten einen hohen Anteil an einfach und mehrfach ungesättigten Fettsäuren und nur einen geringen an gesättigten Fettsäuren. Zudem sind sie reich an Vitaminen, Ballaststoffen, Elektrolyten und Spurenelementen, Phytosterolen, Polyphenolen, Carotinoiden und anderen antioxidativ wirksamen Stoffen. Für diese Inhaltsstoffe wurden positive Effekte in puncto oxidativem Stress, Lipid- und Glukosemetabolismus, Inflammation, Endothelfunktion und neuerdings des Mikrobioms beschrieben [47, 48].

In diversen Metanalysen und Reviews konnte bei regelmäßigem Nusskonsum eine reduzierte Inzidenz und Mortalität an KHK, Schlaganfällen sowie von kardiovaskulären Erkrankungen im Allgemeinen festgestellt werden [47-50]. Außerdem wurde eine geringere Gesamtsterblichkeit [47, 49] sowie in einer Metaanalyse ein geringeres Krebsrisiko beschrieben [47]. Beispielsweise wurde in einer Metaanalyse nach Aune et al. aus dem Jahr 2016 nach Auswertung von zwölf Studienprotokollen mit insgesamt 376.228 Teilnehmern eine Reduktion des kardiovaskulären Risikos auf 0,76 (95% KI: 0,69-0,84) und der Gesamtmortalität auf 0,80 (95% KI: 0,74-0,86) beschrieben. Hierbei wurde eine tägliche Verzehrmenge von 28g Nüssen zu Grunde gelegt [47]. In dieser Metaanalyse wurden auch positive Auswirkungen auf respiratorische Erkrankungen, Diabetes mellitus, neurodegenerative Erkrankungen, Infektionskrankheiten und Nierenerkrankungen beschrieben, jedoch mit breiten Konfidenzintervallen und einer deutlich geringeren Probandenanzahl als bei den vorher genannten Entitäten [47].

Die Walnuss (*Juglans regia*) hat unter allen Nussarten das höchste Verhältnis von Omega-3 zu Omega-6-Fettsäuren (Ω -3-FS: 14,0%, Ω -6-FS: 58,4%) [51], was ihrem hohen Gehalt (9%) an α -Linolensäure (ALA) zuzuschreiben ist [52]. Eine Übersicht über den Fettsäuregehalt von ausgewählten Nussarten ist **Tabelle 2** zu entnehmen. ALA ist eine pflanzliche, essentielle, 3-fach ungesättigte Fettsäure, welche als Vorläufer für Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA) dient [53]. Für die drei ebengenannten mehrfach ungesättigten, essentiellen Fettsäuren wurden eine Reduktion des Risikos für kardiovaskuläre Erkrankungen [53] und KHK [54] sowie ein antioxidative und antiatherogene Wirkungsweise beschrieben [54, 55].

Diese positiven Eigenschaften wurden bereits 2004 von der Food and Drug Administration (FDA) der USA in einem Health Claim berücksichtigt, welcher aussagt, dass der Verzehr von 1,5 Unzen ($\hat{=}$ 42,5g) Walnüssen pro Tag im Rahmen einer Ernährung, reduziert an gesättigten Fettsäuren und Cholesterin, das Risiko für Herzerkrankungen senken kann [56].

Tab 2: Übersicht Fettsäuregehalt von ausgewählten Nüssen. Angabe Gesamtfett (TF) in Prozent bezogen auf 100g Nahrungsmittel. Angabe von gesättigten (SFA), einfach ungesättigten (MUFA) und mehrfach ungesättigten (PUFA) Fettsäuren in Prozent bezogen auf Gesamtfett. Ω -3: Omega-3; Ω -6: Omega-6. Modifiziert nach [51].

Nussart	TF (%)	SFA (%)	MUFA (%)	PUFA (%) gesamt	Ω -3-PUFA (%)	Ω -6-PUFA (%)
Walnuss	<u>65,2</u>	9,4	13,6	<u>72,4</u>	<u>14,0</u>	<u>58,4</u>
Mandel	<u>76,0</u>	19,0	<u>63,0</u>	24,5	1,2	23,3
Pistazie	44,4	12,1	52,5	30,4	0,7	29,7
Erdnuss	<u>49,2</u>	13,8	<u>49,5</u>	31,7	0,09	31,6
Kastanie	2,3	17,0	34,0	39,1	4,4	34,7

Überdies wurde für Walnüsse, verglichen mit anderen Nusspezies, der höchste Gehalt an Polyphenolen (z.B. Phenolsäure, Flavinoide, Tannine u.a.) festgestellt. Diesen wurde eine antioxidative, antikanzerogene und ebenfalls antiatherogene Wirkung zugeschrieben [51].

Bereits in der Vergangenheit konnten mehrere interventionelle Ernährungsstudien zeigen, dass sich Walnussverzehr positiv auf die Zusammensetzung der menschlichen Lipoproteine auswirkt [57, 58]. Dieser Sachverhalt ist von besonderem Interesse, da die Zusammensetzung und Konzentration der Blutlipide, wie in Kapitel 1.2 und 1.3 bereits beschrieben, in Zusammenhang mit der Entstehung von Atherosklerose und konsekutiv kardiovaskulären Erkrankungen stehen.

Eine kürzlich veröffentlichte Metaanalyse von Guasch-Ferré et al. aus dem Jahr 2018 untersuchte erneut den Effekt von Walnusskonsum auf den Lipidmetabolismus und andere kardiovaskuläre Risikofaktoren. Hierbei wurden insgesamt 26 Interventionsstudien mit 1059 Probanden eingeschlossen, welche im Interventionszeitraum (4 Wo. – 1 Jahr, durchschnittlich 8 Wo.) täglich eine bestimmte Menge an Walnüssen (15-108g/d) verzehren sollten. Es erfolgte der Vergleich mit nussfreien, auf unterschiedlichen Ernährungsweisen basierenden Kontrollgruppen. Hierbei zeigte sich eine hoch signifikante Reduktion des Gesamtcholesterins (TC)

und des LDL (jeweils $p \leq 0,001$), sowie eine sehr signifikante Reduktion für ApoB ($p = 0,008$) und eine einfach signifikante Reduktion für die Triglyceride ($p = 0,03$). Keine signifikanten Unterschiede konnten festgestellt werden für: HDL, VLDL, BMI und Körpergewicht, Blutdruck, CRP, Marker von oxidativem Stress (z.B. oxidiertes LDL) und Glukosemetabolismus (Glukose, HbA1c, HOMA-IR). Ausgeprägtere lipidsenkende Effekte konnten berechnet werden, wenn eine American- oder Western-Type Diet in den Kontrollgruppen zugrunde gelegt wurde [59].

2014 erfolgte in unserer Abteilung für Stoffwechsel der Med. Klinik und Poliklinik II/IV am Campus Großhadern (München) unter Wu und Parhofer et al. [60] die Durchführung einer Interventionsstudie mit Verzehr von 43g Walnüssen pro Tag im kontrollierten, randomisierten Crossover-Design. Es wurde untersucht, wie sich der Konsum von Walnüssen auf den Lipid- und Glukosemetabolismus sowie die Endothelfunktion von gesunden, älteren (>50 Jahre) Probanden auswirkt, da die meisten Ernährungsstudien mit Walnüssen bis dato entweder an vorerkrankten [57] oder an jungen (<50 Jahren) und gesunden Probanden durchgeführt wurden [61-64]. Dies war von Interesse, da eine besondere Wirksamkeit von Walnusskonsum bei Probanden mit manifesten Hyperlipidämien und kardiovaskulären Vorerkrankungen beschrieben wurde [59].

Nach dem Konsum von 43g Walnüssen pro Tag über 8 Wochen zeigte sich im Vergleich zur nussfreien Kontrollgruppe eine signifikante Reduktion des non-HDL-Cholesterins um 7mg/dl ($p = 0,025$) sowie eine sehr signifikante Reduktion von ApoB um 4,8 mg/dl ($p = 0,009$). Ein Trend zur signifikanten Reduktion zeigte sich für das Gesamtcholesterin ($p = 0,073$). Keine signifikanten Veränderungen konnten für die restlichen untersuchten Lipidparameter, den Glukosemetabolismus (Glukose, HbA1c, HOMA-IR) sowie die Endothelfunktion festgestellt werden. Für die in den Walnüssen enthaltene Energie erfolgte in diesem Versuchsaufbau die Einsparung von 30g gesättigten Fettsäuren zum Erhalt einer isokalorischen Diät [60].

2. Studienziele und Eigenanteil

In den meisten bisher durchgeführten Studien und auch in unserer Vorstudie [60] wurde jeweils nicht festgelegt, welche Makronährstoffe (i.e. Kohlenhydrate, Fette, Proteine) statt der Walnüsse zum Erhalt einer isokalorischen Ernährung reduziert werden sollen.

Daraus ergab sich die Frage, ob Walnüsse unabhängig von den reduzierten Makronährstoffen das Non-HDL-Cholesterin und das LDL-Cholesterin senken können. Weiterhin ergab sich die Frage, ob der Zeitpunkt des Walnussverzehr einen Einfluss auf den lipidsenkenden Effekt haben könnte.

Diesen Fragen wurde im Rahmen der hier vorgestellten Studie an 204 gesunden Probanden nachgegangen. Konkret umfasste das Projekt folgende Fragen:

1. Hängt der Effekt des Walnussverzehr auf den Lipidstoffwechsels davon ab, auf welche Makronährstoffe (Kohlenhydrate, Fett oder beides) während des Walnusskonsums verzichtet wird, um die zusätzlichen Kalorien durch Walnüsse auszugleichen?
2. Hängt der Effekt des Walnussverzehr auf den Lipidstoffwechsel davon ab, ob die Walnüsse als Zwischenmahlzeit oder mit einer Hauptmahlzeit konsumiert werden?
3. Wirkt sich ein achtwöchiger Walnussverzehr auf das Darm-Mikrobiom aus?

Dieses Projekt wurde unter der Leitung von Prof. Dr. med. Parhofer von Februar 2015 bis Mai 2016 an der Medizinischen Klinik II und IV am Campus Großhadern der LMU München praktisch durchgeführt. Hierbei entstanden neben der hier vorliegenden Promotion auch eine kumulative Dissertation durch Fr. Dr. rer. biol. hum. Charlotte Bamberger sowie zwei Veröffentlichungen mit Fr. Dr. Bamberger als Erstautorin und mir als Zweitautor [65, 66]. Mein Eigenanteil an der Studiendurchführung umfasste dabei die telefonische und schriftliche Rekrutierung der Probanden, die Durchführung von Erst- und Folgeuntersuchungen, die Gewinnung und Weiterverarbeitung von Probenmaterial, die statistische Aufbereitung der erhobenen laborchemischen Daten (detailliert siehe Kapitel 3.5) sowie die fortlaufende Betreuung der Probanden.

An dieser Stelle sei betont, dass die beiden Veröffentlichungen gemeinschaftlich erarbeitet wurden, welches sich auch in der Autorenschaft widerspiegelt.

Auf die Frage, inwiefern sich Walnussverzehr auf das Darmmikrobiom von Probanden auswirken kann, wird in dieser Dissertation nicht näher eingegangen. Im Rahmen der Zusammenarbeit mit Fr. Dr. Bamberger wurde diese Fragestellung in ihrer kumulativen Dissertation thematisiert. An dieser Stelle sei auf die entsprechende Veröffentlichung aus dem Jahre 2018 verwiesen [65].

3. Material und Methoden

3.1 Studienaufbau

Bei der durchgeführten Studie handelte es sich um eine kontrollierte, randomisierte, prospektive Crossover-Studie (siehe **Abbildung 7**). Sie wurde als Single-Center-Studie am Campus Großhadern der Universität München durchgeführt.

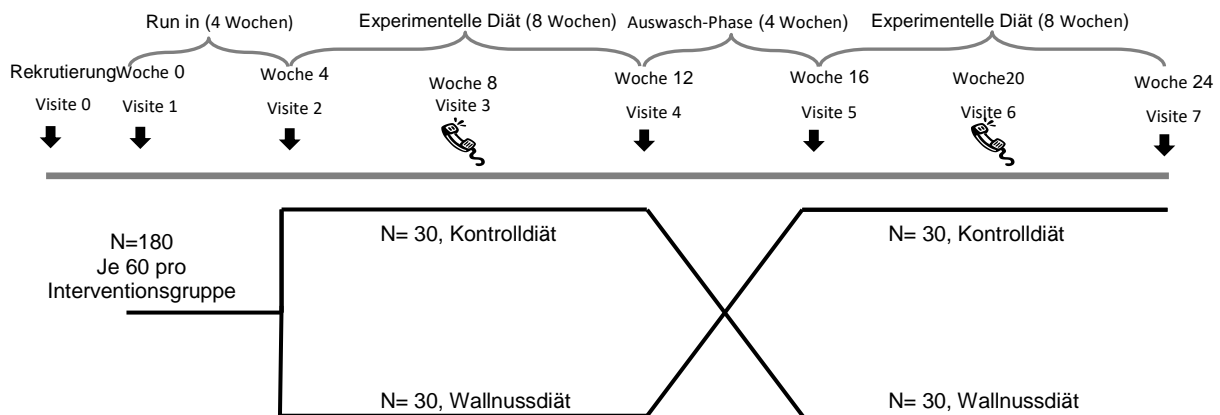


Abb. 7: Studienaufbau im Crossover-Design. N=180. Je Interventionsgruppe (SFA = Ernährungsgruppe 1 mit Reduktion von gesättigten Fettsäuren; CH= Ernährungsgruppe 2 mit Reduktion von Kohlenhydraten; LIB = ad libitum, Ernährungsgruppe 3 mit Einsparung von sowohl gesättigten Fettsäuren als auch Kohlenhydraten) wurden mindestens 60 Probanden zugeteilt.

Um ein statistisch aussagekräftiges Ergebnis zu erhalten, wurde eine Mindestteilnehmerzahl von 180 Probanden ermittelt (siehe Kapitel 3.6). Die Studiendauer betrug 24 Wochen pro Teilnehmer. Jeder der Teilnehmer sollte acht Wochen lang pro Tag 43g geschälte Walnüsse verzehren und wiederum acht Wochen lang nach dem Crossover-Prinzip eine Kontrolldiät durchlaufen, in welcher auf Nuss- und Mandelprodukte verzichtet werden sollte. Um in der achtwöchigen Walnussphase eine vorherzusehende Gewichtszunahme zu vermeiden, sollten die Teilnehmer die in den Walnüssen enthaltene Energie an anderer Stelle ihrer Ernährung einsparen. Dazu wurden die Probanden zufällig und gleichmäßig in drei Versuchs- bzw. Ernährungsgruppen mit einer Mindestzahl von 60 Personen aufgeteilt. Gruppe 1 sollte die Energie überwiegend in Form von gesättigten Fettsäuren (engl. Saturated Fatty Acids, SFA) einsparen. Gruppe 2 sollte vorwiegend Kohlenhydrate (engl. Carbohydrates, CH) reduzieren. Gruppe 3 sollte sowohl CH als auch SFA zu etwa gleichen Teilen reduzieren und war damit nicht auf eine bestimmte Nahrungsmittelkomponente (SFA oder CH) festgelegt. Die Teilnehmer konnten somit „freier“ (ad libitum, LIB) entscheiden, in welcher Form sie die Energiemenge

reduzierten. Um den Einfluss von Nuss- und Mandelprodukten auf Walnuss- und Kontrollphase zu minimieren, durchliefen die Teilnehmer zu Beginn der Studie eine vierwöchige „Run-In-Phase“ und nach Abschluss der ersten achtwöchigen Interventionsphase eine vierwöchige „Auswaschphase“. In beiden Zeiträumen sollten die Teilnehmer ebenfalls auf Nuss- und Mandelprodukte verzichten. So sollten bis zu Studienbeginn verzehrte Nuss- und Mandelprodukte in der Run-In-Periode und die studieneigenen Walnüsse, falls in der ersten achtwöchigen Interventionsphase konsumiert, in der Auswaschphase abgebaut werden. Des Weiteren wurden die Teilnehmer nochmals gleichmäßig in Subgruppen randomisiert, die den Zeitpunkt des Nusskonsums betrafen. Eine Gruppe sollte die Walnüsse zu den Mahlzeiten („Meal-Gruppe“), die andere als Zwischenmahlzeit („Snack-Gruppe“) essen.

Als primärer Endpunkt wurde das nüchtern bestimmte Non-HDL-Cholesterin festgelegt.

Als sekundäre Endpunkte wurden erhoben: Gesamtcholesterin, Triglyceride, VLDL-Cholesterin, VLDL-Triglyceride, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin, Apolipoprotein ApoB sowie Lp(a) (jeweils Nüchternbestimmung); zudem Nüchternblutglukose, HbA1c, hochsensitives CRP, Blutdruck, BMI und Hüftumfang.

Der Studienplan wurde der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilian-Universität München zur Prüfung vorgelegt und zustimmend bewertet.

3.2 Studienkollektiv

Um dem präventiven Charakter der Studie gerecht zu werden und ein größtenteils homogenes Probandenkollektiv zu erhalten, wurden gewisse Ein- und Ausschlusskriterien festgelegt. Zur Überprüfung dieser wurde beim ersten Kontakt telefonisch eine Checkliste abgearbeitet und daraufhin eine Erstuntersuchung durchgeführt.

Einschlusskriterien:

- Gesunde, postmenopausale Frauen und gesunde Männer
- Alter \geq 50 Jahre
- Unterschriebene Einverständniserklärung vor Studienbeginn

Ausschlusskriterien:

- Bekannte Nussallergie
- Alkohol- (♀ > 70g/Woche, ♂ > 140g/ Woche), Nikotin- oder Drogenabusus
- Übergewicht (BMI \geq 35 kg/m²)
- Diabetes mellitus (Nüchtern glukose > 126 mg/dl, HbA_{1c} \geq 6,5%)
- Unkontrollierte arterielle Hypertonie (RR >150/90 mmHg)
- LDL-Cholesterin >190 mg/dl
- Triglyceride > 350 mg/dl
- Bekannte atherosklerotische Vorerkrankungen
- Lebererkrankungen jeglicher Ätiologie
- Nierenerkrankungen jeglicher Ätiologie (GFR < 60ml/min/1,73)
- Unkontrollierte Schilddrüsenerkrankungen oder andere endokrinologische Erkrankungen
- Akute oder chronische Entzündungserkrankungen
- Aktive maligne Tumorerkrankungen
- Chronisch infektiöse Erkrankungen (HIV, Tuberkulose, chron. Hepatitiden etc.)
- Laufende oder kürzliche (innerhalb der zurückliegenden drei Monate) Therapie mit Antidiabetika/Insulin, cholesterinsenkenden Medikamenten, Antiphlogistika
- Hormonersatztherapie (Frauen)
- Konsum von Ω -3-Fettsäuren in Form von Nahrungsergänzungsmitteln
- Bestehende Essstörung
- Größerer chirurgischer Eingriff innerhalb der zurückliegenden drei Monate
- Veganer Lebensstil

Insgesamt wurden 268 Interessenten erstuntersucht, wovon 204 Personen als Probanden in die Studie eingeschlossen wurden, welche die oben genannten Kriterien erfüllten bzw. nicht erfüllten und somit geeignet waren (siehe **Abbildung 8**).

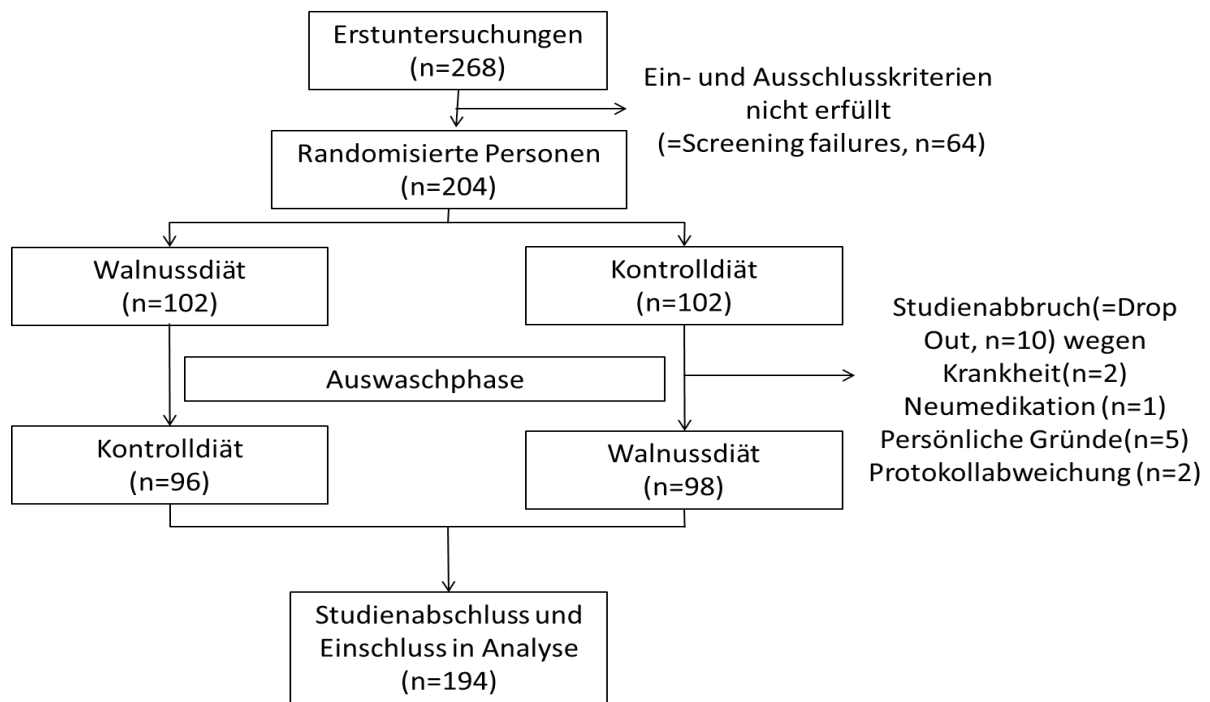


Abb. 8: Flowchart Erstuntersuchungen, randomisierte Probanden, Drop-Outs und Studienabschlüsse.

Die 204 Probanden wurden gleichmäßig (jeweils $n=102$) in die beiden möglichen Reihenfolgen des Diätablaufs (Crossover-Prinzip) randomisiert.

Von den 204 Studienteilnehmern schlossen 194 die Studie erfolgreich ab und wurden daraufhin in die statistische Auswertung übernommen. Die restlichen zehn Personen (entsprechen den „Drop Outs“ in **Abbildung 8**) beendeten aus folgenden Gründen das Studienprotokoll nicht:

- Auftreten einer nicht mit dem Studienprotokoll zu vereinbarenden Krankheit ($n=2$)
- Verordnung von Medikamenten, welche den Studienablauf beeinflussen könnten ($n=1$)
- Abbruch aus persönlichen Gründen ($n=5$)
- Nichteinhaltung des Studienprotokolls ($n=2$)

3.3 Studienverlauf

Interessenten wurden mittels Inseraten in Lokal- und Gesundheitsteilen von Tageszeitungen in und um München und im Magazin „Klinikum aktuell“ der Universitätsklinik München auf die Studie aufmerksam gemacht. Zudem wurden Aushänge und Poster angefertigt und Flyer ausgelegt.

Bei Erstkontakt per Telefon oder Email wurden die Interessenten kurz über die Studie informiert. Außerdem wurde eine ausführliche Anamnese erhoben, um unter Rücksicht auf oben genannte Kriterien eine Vorselektion der Interessenten vorzunehmen. Bei vorläufiger Eignung wurde ein Termin zur Erstuntersuchung vereinbart.

Die Interessenten fanden sich zu dieser Untersuchung (*Visite 0*, siehe **Abbildung 7**, Seite 20) nüchtern in der Medizinischen Poliklinik II/IV am Campus Großhadern ein. Sie wurden über Hintergrund und Ziel, Ablauf und Belastung sowie außerdem über Nebenwirkungen und Risiken der Studie aufgeklärt. Nach Unterzeichnen von schriftlichen Einverständniserklärungen zur Studienteilnahme, Datenschutz sowie Laborprobenarchivierung bis Studienende wurde eine Anamnese mit Fragen zu aktuellen Beschwerden, zur medizinischen Vorgeschichte, Medikamenteneinnahme, Nahrungsergänzungsmitteln und zur aktuellen Ernährung durchgeführt. Des Weiteren erfolgte eine Sozial- und Familienanamnese.

Bei der anschließenden körperlichen Untersuchung wurden folgende Befunde erhoben: Bestimmung von Taillenumfang, Körpergewicht und Größe, Palpation von Schilddrüse und Lymphknoten (cervikal, nuchal, submandibulär, supra- und infraclavikulär), Begutachtung der Mund- und Rachenschleimhaut, Auslösen des Pupillenreflexes, Begutachtung der Skleren, Auskultation von Herz, Lunge und Carotiden, Palpation und Auskultation des Abdomens, Palpation der Leber, Perkussion der Nierenlager, Überprüfung der unteren Extremität auf Ödeme und/oder Hautveränderungen sowie Erfassung von Pulsstatus und Blutdruck.

Anschließend wurde zum laborchemischen Screening der Probanden eine erste Nüchternblutentnahme vorgenommen (siehe **Tabelle 3**, *Safety Panel*, Seite 27).

Als Abschluss der Erstuntersuchung bekamen die Teilnehmer ein viertägiges Ernährungsprotokoll ausgehändigt und erklärt. Dieses sollte ausgefüllt und zugesandt werden, wenn die oben genannten laborchemischen Messwerte eine endgültige medizinische Eignung bestätigten, welche telefonisch mitgeteilt wurde. Dieses erste Ernährungsprotokoll diente der Überprüfung von geeigneten Ernährungsgewohnheiten vor Studienbeginn.

Als nächster Termin fand eine Ernährungsberatung durch unsere Ernährungswissenschaftlerinnen statt (*Visite 1*, siehe **Abbildung 7**, Seite 20). An diesem Termin wurde das Ernährungsverhalten anhand des ersten

Ernährungsprotokolls analysiert. Außerdem wurde den Teilnehmern ihr persönlicher Versuchsablauf mit der jeweiligen Reihenfolge der Interventionsphasen und die Gruppenzugehörigkeit mit der jeweiligen Einsparungsvorgabe mitgeteilt. Es wurden zudem auch Informationsmaterial, z.B. zur Ernährung während der Studie, und weitere Ernährungsprotokolle (ebenfalls viertägig) ausgehändigt, wovon wiederum ein Exemplar bis *Visite 2* (siehe **Abbildung 7**, Seite 20) ausgefüllt und zugesandt werden sollte. Mit dieser Ernährungsberatung begann bis *Visite 2* die oben schon genannte vierwöchige „Run-in-Phase“.

Mit *Visite 2* startete die erste der beiden achtwöchigen Interventionsphasen. Es wurde erneut eine kurze Anamnese und eine körperliche Untersuchung durchgeführt und zudem Blut zur Bestimmung der Baseline- und Zielp Parameter entnommen. In einer anschließenden Ernährungsberatung wurde nochmals das erwartete Ernährungsverhalten je nach anstehender Intervention (Walnuss- oder Kontrolldiät) besprochen. Bei Beginn der Walnussdiät wurden abgepackte Tagesrationen an Walnüssen je 43g für acht Wochen ausgegeben, ansonsten wurde die Kontrolldiät aus der „Run-in-Phase“ fortgeführt. Es sollte wiederum ein Ernährungsprotokoll bis zum nächsten Termin (*Visite 3*, siehe **Abbildung 7**, Seite 20) geführt werden.

Dieser Termin wurde vier Wochen nach *Visite 2* telefonisch durchgeführt. Er diente der Kontrolle des (nuss- und mandelfreien) Ernährungsverhaltens sowie der Nachfrage bezüglich neu aufgetretener die Ernährung betreffende oder medizinischer Probleme.

Als nächstes erfolgte *Visite 4* (siehe **Abbildung 7**, Seite 20), welche vier Wochen nach *Visite 3* terminiert war. Mit ihr endete die erste Interventionsphase. Auch bis zu diesem Termin sollte wieder ein Ernährungsprotokoll angefertigt werden. Der Ablauf dieses Termins entsprach *Visite 2*, mit dem Unterschied, dass mit diesem Termin für alle Teilnehmer die oben schon genannte vierwöchige, nussfreie „Auswaschphase“ begann, welche bis *Visite 5* (siehe **Abbildung 7**, Seite 20) andauerte und in welcher wieder ein Ernährungsprotokoll geschrieben werden sollte. In diesem Zeitraum sollten sich alle Probanden nach den Vorgaben der Kontrolldiät ernähren.

Die zweite achtwöchige Interventionsphase mit den *Visiten 5, 6* (telefonisch) und *7* (siehe **Abbildung 7**, Seite 20) lief nach dem Crossover-Prinzip analog zu den *Visiten 2, 3* und *4* ab.

3.4 Ernährung und Lebensstil

Die grundlegende Ernährung (Kontrolldiät) der Probanden sollte sich während der ganzen Studie an einer isokalorischen Diät vom Western-Typ orientieren. Diese setzte sich aus ca. 50% Kohlenhydraten, 20% ungesättigten und 15% gesättigten Fettsäuren sowie 15% Proteinen zusammen. Außerdem sollten keine Nuss- und Mandelprodukte verzehrt werden. Diese Diät galt für jeden Abschnitt der Studie, ausgenommen die Walnuss-Interventionsphase, in welcher sie modifiziert zum Einsatz kam.

In dieser Interventionsphase sollten alle Teilnehmer pro Tag 43g geschälte Walnüsse konsumieren. Diese Menge entspricht einer Energie von ca. 300 kcal. Diese Energie sollte je nach Zuteilung zu den Ernährungsgruppen 1-3 im Idealfall in Form von 300 kcal Kohlenhydraten (\cong ca. 70 – 75g reinen Kohlenhydraten), 300 kcal (vorwiegend gesättigter) Fettsäuren (\cong 30 – 35g reinen gesättigten Fettsäuren) oder 300 kcal in einer Kombination aus Kohlenhydraten und gesättigten Fetten in gleicher Energiemenge eingespart werden (siehe **Abbildung 7**, Seite 20).

Die Einhaltung dieser Ernährungsempfehlungen wurde mithilfe von sieben Ernährungsprotokollen überprüft, welche jeweils über vier Tage das Essverhalten der Probanden wiedergaben. Die Auswertung und Berechnung dieser Protokolle erfolgte mit PRODI® software, Version 6.2 (Nutri-Science GmbH, Hausach, Deutschland).

Die Teilnehmer sollten ihren bisherigen Lebensstil in puncto beruflicher Tätigkeit, privaten Aktivitäten, Sport und Kalorienaufnahme soweit möglich beibehalten, um eine dadurch bedingte Veränderung von Stoffwechsel und Gewicht zu vermeiden.

3.5 Messparameter und Labor

Insgesamt wurden fünf venöse Blutentnahmen (nüchtern) pro Proband vorgenommen, um das benötigte Untersuchungsmaterial für unten genannte laborchemische Messparameter zu erhalten. Es wurden EDTA- und Serumproben für das Institut für Laboratoriumsmedizin am Campus Großhadern und für das Labor der Stoffwechselabteilung der Med. Klinik IV am Campus Großhadern gewonnen.

Tabelle 3 gibt einen Überblick über die bei den jeweiligen Studienvisiten entnommenen Laborparameter.

Zum Ausschluss von allgemeinen hämatologischen Auffälligkeiten und einer hormonellen Schilddrüsendiffunktion wurden bei der Erstuntersuchung Serum- und EDTA-Blutproben entnommen und an die klinische Chemie im Haus weitergeleitet. Ein kleines Blutbild (KBB) wurde aus EDTA-Blut und das Thyroidea-stimulierende Hormon (TSH) aus Serum-Blut bestimmt.

Im weiteren Verlauf der Studie wurde zur Überprüfung des Glukosemetabolismus bei jedem Teilnehmer pro Studientermin jeweils eine EDTA-Blutprobe entnommen und zur Bestimmung des glykosylierten Hämoglobins (HbA_{1c}) ebenfalls an die klinische Chemie im Haus weitergeleitet.

Tab. 3: Übersicht über die während des Studienverlaufs bestimmten laborchemischen Messparameter.

TC= Gesamtcholesterin; LDL-C = low-density-lipoprotein-Cholesterin; HDL-C = high-density-lipoprotein-Cholesterin; VLDL-C = very low-density-lipoprotein-Cholesterin; Lp (a) = Lipoprotein (a); Gesamt-TG = Gesamttriglyceride; VLDL-TG = very low-density-lipoprotein-Triglyceride; ApoB = Apolipoprotein B; HbA_{1c} = glykosyliertes Hämoglobin; hsCRP = high sensitivity C-reaktives Protein; ALT = Alaninaminotransferase; GGT = Gamma-Glutamyltransferase; AP = alkalische Phosphatase; TBil = Gesamtbilirubin; Krea = Kreatinin; KBB = kleines Blutbild; TSH = Thyroidea-stimulierendes Hormon.

	<i>Screening</i>	<i>Visite 2</i>	<i>Visite 4</i>	<i>Visite 5</i>	<i>Visite 7</i>
Lipide	TC LDL-C HDL-C	TC LDL-C HDL-C VLDL-C Lp(a)	TC LDL-C HDL-C VLDL-C Lp(a)	TC LDL-C HDL-C VLDL-C Lp(a)	TC LDL-C HDL-C VLDL-C Lp(a)
	Gesamt-TG	Gesamt-TG VLDL-TG ApoB	Gesamt-TG VLDL-TG ApoB	Gesamt-TG VLDL-TG ApoB	Gesamt-TG VLDL-TG ApoB
Glukose- metabolismus	Glukose	Glukose HbA _{1c}	Glukose HbA _{1c}	Glukose HbA _{1c}	Glukose HbA _{1c}
Safety Panel	hsCRP ALT GGT AP TBil Krea	hsCRP	hsCRP ALT GGT AP TBil Krea	hsCRP	hsCRP ALT GGT AP TBil Krea
Sonstige	KBB TSH				

Zur Bestimmung der Lipid-, Glukose- und Safety Panel-Parameter der Erstuntersuchung (siehe **Tabelle 3**) wurden Serumproben verwendet, welche bei 4 °C mit 3000 Umdrehungen pro Minute (U/min) für jeweils 10 Minuten zentrifugiert und anschließend per Autoanalyser Response®910 und entsprechender Testkits (jeweils Firma DiaSys Diagnostic Systems, Holzheim, Deutschland) analysiert wurden.

Die bei Visite 2-7 gewonnenen EDTA-haltigen Blutproben wurden zur Gewinnung von Plasma ebenfalls bei 4 °C mit 3000 U/min für jeweils 10 Minuten zentrifugiert.

Im Anschluss wurden Gesamtcholesterin (TC), Gesamt-Triglyceride (TG), VLDL-Cholesterin, apoB, Lipoprotein (a), Nüchternglukose, hsCRP und die restlichen Werte des Safety Panels (siehe **Tabelle 3**) direkt aus dem gewonnenen Plasma mit Hilfe des Response®910 und der entsprechenden Testkits (jeweils Firma DiaSys Diagnostic Systems, Holzheim, Deutschland) ermittelt.

Anschließend wurden VLDL (Dichte < 1,0006 g/mL) per Ultrazentrifugation (Beckman L-60 Zentrifuge mit 50.4 Ti Rotor) von anderen Lipoproteinfraktionen höherer Dichte getrennt.

Um im Anschluss HDL-Cholesterin bestimmen zu können, wurde der durch die Ultrazentrifugation entstandene Unterstand mit Heparin und Magnesium-II-Chlorid vermengt und wieder per Analyser Response®910 (Firma DiaSys Diagnostic Systems, Holzheim, Deutschland) analysiert.

Die Berechnung des LDL-Cholesterins erfolgte per Subtraktion des HDL-Cholesterins vom Gesamt-Cholesterin im Unterstand nach Ultrazentrifugation. Das Non-HDL-Cholesterin wurde per Subtraktion des HDL-Cholesterins vom Gesamt-Cholesterin errechnet.

Zudem erfolgte die Bestimmung von VCAM-1 und ET-1 per ELISA.

3.6 Statistik

Als primärer Endpunkt zum Vergleich der unterschiedlichen Studiengruppen wurde Non-HDL-Cholesterin herangezogen. Weitere Sekundärparameter waren Gesamt-TG, TC, VLDL-C, VLDL-TG, LDL-C, HDL-C, ApoB, Lp(a), Glukose, HbA1c, CRP, BMI und der Bauchumfang in cm.

Auf Grundlage unserer vorangegangenen Studie [60] wurde eine Differenz des Non-HDL-C von 10mg/dl in jeder der drei Untergruppen im Vergleich zur jeweiligen Kontrolle erwartet. Die dafür durchgeführte Fallzahlschätzung ergab eine Mindestgruppengröße von 40 Versuchspersonen pro Untergruppe, was einer Gesamtteilnehmerzahl von 120 Personen entsprochen hätte. Um mögliche Studienabbrüche kompensieren zu können, wurde eine Rekrutierung von 60 Personen pro Untergruppe empfohlen, welche jedoch aufgrund der großen Resonanz höher ausfiel. Die statistische Power lag hierbei bei 80%.

Wie bereits erwähnt, erfolgte auch ein Vergleich bezüglich des Zeitpunkts des Walnusskonsums, entweder zu einer Hauptmahlzeit oder als Zwischenmahlzeit. Um einen 20-prozentigen Unterschied in einer dieser Ernährungsuntergruppen zu erfassen, lag die Power bei 30%. Um eine solche Differenz im gesamten Probandenkollektiv (unabhängig von der jeweiligen Einsparung) zu erfassen, lag die Power jedoch bei über 50%.

Die im Ergebnisteil genannten Baseline-Parameter wurden bei Visite 2 erhoben. Aus den erhobenen Laborparametern vor und nach einer Interventionsphase (Kontroll- oder Walnussphase) wurden Differenzen zum statistischen Gruppenvergleich gebildet. Ebenso wurde mit den aus den Ernährungsprotokollen gewonnenen Daten (Kalorienaufnahme, Gesamtfett mit Unterteilung, Eiweiß und Kohlenhydraten) verfahren.

Die statistische Analyse der Laborparameter erfolgte mit einem gemischten, allgemeinen linearen Modell für die erfolgten wiederholten Messungen, welches zusätzlich für die Baseline-Parameter, Alter, Geschlecht, Baseline-BMI sowie für die Interventionsreihenfolge, die jeweilige Einsparung (Fett, Kohlenhydrate, beides) und den Konsumzeitpunkt (zur Hauptmahlzeit oder als Zwischenmahlzeit) angepasst wurde. Demnach wurde zum Vergleich der beobachteten Unterschiede der Lipid- und Glukoseparameter in den jeweiligen Interventionsphasen ein allgemeines, lineares Regressionsmodell angewendet.

Die ernährungsbezogenen Daten wurden bei Normalverteilung mit einem gepaarten T-Test analysiert, bei nicht normalverteilten Daten mit einem nicht-parametrischen Wilcoxon-Test.

Das Signifikanzniveau wurde auf 5% ($p = 0,05$) festgelegt.

Alle Ergebnisse wurden als arithmetischer Mittelwert mit Standardfehler angegeben. Gegebenenfalls wurde der Bereich zwischen Minimum und Maximum angegeben.

Die Durchführung der endgültigen statistischen Berechnungen erfolgte durch Dr. Renée Stark (Helmholtz-Zentrum, München) mit SAS 9.3 (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA).

3.7 Mikrobiom

Dieses zusätzliche Subprojekt wurde kurz nach Studienbeginn geplant und umfasst deshalb nicht alle Studienteilnehmer. Es wurde nachträglich als Amendment eingereicht und genehmigt.

Da die Gesamtheit der Darmbakterien, auch als Mikrobiom bezeichnet, sehr stark auf äußere Einflüsse (z.B. Therapie mit Antibiotika, Ernährungsumstellung etc.) reagiert und damit sehr variabel ausfallen kann [67, 68], sollte mit diesem zusätzlichen Versuch geklärt werden, ob der Verzehr von einer größeren Menge an Walnüssen (43g/Tag) eine wesentliche Veränderung bei der Zusammensetzung und Menge dieser Mikroorganismen, der Stuhlbeschaffenheit und des Stuhlgangs im Allgemeinen bewirken kann.

Dazu wurden die Teilnehmer nach Unterzeichnen einer weiteren Einverständniserklärung gebeten, jeweils eine Stuhlprobe zu *Visite 4* und *7* (siehe **Abbildung 7**, Seite 20), also jeweils nach Abschluss der beiden achtwöchigen Interventionsphasen abzugeben, um diese dann im Vergleich beurteilen zu können. Als Material zur Probenabgabe dienten Stuhlsammelgefäße gefüllt mit 8 ml Stool DNA Stabilizer der Firma Stratec Molecular (#1038111100). Außerdem sollten die Teilnehmer die Form ihres Stuhls zum Zeitpunkt der Probenabgabe in einer Tabelle nach Vorbild des „Bristol stool chart“ angeben, um auch eventuelle makroskopische Stuhlveränderungen erfassen zu können.

Zur weiteren Aufbereitung und Analyse wurden diese Proben an die Core Facility „Intestinal Microbiome“ am Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung (ZIEL) der TU München in Freising verschickt.

Die endgültige Auswertung erfolgte in der Abteilung für Stoffwechsel der Med. Klinik und Poliklinik IV am Campus Großhadern.

Bezüglich der Ergebnisse wird auf die Veröffentlichung aus dem Jahr 2018 im *Nutrients Journal* [65] verwiesen.

4. Ergebnisse

Im Nachfolgenden werden die Ergebnisse der oben beschriebenen verschiedenen Interventionsgruppen dargestellt. Im Vordergrund stehen hierbei die laborchemischen Parameter des Lipidstoffwechsels.

Sämtliche Ergebnisse inklusive ernährungswissenschaftlichem Hintergrund wurden 2017 im Nutrients Journal veröffentlicht [66].

4.1 Biometrische Daten und Stoffwechselfparameter zu Studienbeginn

Insgesamt haben 194 Probanden, davon 134 Frauen und 60 Männer, die Studie erfolgreich beendet. Das Durchschnittsalter lag hierbei bei $63 \pm 0,54$ Jahren. Weitere biometrische Ausgangsdaten können **Tabelle 4** entnommen werden. Hierbei wurden die Baseline-Parameter bei *Visite 2* (siehe **Tabelle 3**, Seite 27) erfasst.

Tab. 4: Biometrische Daten bei Studienbeginn. Arithmetische Mittelwerte \pm Standardfehler (SEM). BMI = Body-Mass-Index.

<i>Biometrische Daten</i>	<i>Ausgangswert zu Studienbeginn</i>	<i>Minimum-Maximum</i>
Geschlecht	m=60 w=134	
Alter (in Jahre)	$63 \pm 0,54$	50-86
BMI (kg/m²)	$25,4 \pm 0,29$	17,2-35,3
Bauchumfang (cm)	$83,5 \pm 0,81$	62-108

Ebenso erfolgte die Erhebung der Baseline-Parameter des Lipid- und Glukosestoffwechsels, welche in **Tabelle 5** detailliert aufgeführt werden.

Tab. 5: Baseline-Parameter Lipid- und Glukosestoffwechsel. Arithmetische Mittelwerte \pm Standardfehler (SEM). TC = Gesamtcholesterin; Non-HDL-C = non high-density-lipoprotein-Cholesterin; LDL-C = low-density-lipoprotein- Cholesterin; HDL-C = high-density-lipoprotein-Cholesterin; TG = Triglyceride; HbA1c = glykosyliertes Hämoglobin.

<i>Stoffwechselfparameter</i>	<i>Ausgangswert zu Studienbeginn</i>	<i>Minimum-Maximum</i>
TC (mg/dL)	$231,6 \pm 2,7$	119-330
Non-HDL-C (mg/dL)	$161,7 \pm 2,6$	71-243
LDL-C (mg/dL)	$146,3 \pm 2,3$	54-206
HDL-C (mg/dL)	$68,6 \pm 1,2$	35-111
TG (mg/dL)	$101,2 \pm 4,0$	31-296
Glukose (mg/dL)	$91,4 \pm 0,7$	74-118
HbA1c (%)	$5,4 \pm 0,02$	4,0-6,4

Es konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich der Baseline-Parameter zwischen den verschiedenen Interventionsgruppen festgestellt werden.

4.2 Lipidsenkender Effekt in der Gesamtbetrachtung

Bei Gegenüberstellung der Walnussinterventionsphase mit der Kontrollphase zeigte sich eine hochsignifikante Reduktion des Non-HDL-Cholesterins, welches den primären Endpunkt der Studie darstellte. Hierbei konnte ein Absinken um 7,9 mg/dl ($p < 0,0001$) beobachtet werden.

Ebenso zeigten sich für die sekundären Endpunkte des Lipidstoffwechsels, ausgenommen HDL-Cholesterin und Lp(a), teils hochsignifikante Unterschiede.

Einen detaillierten Überblick in tabellarischer Form sowie eine graphische Darstellung verschaffen **Tabelle 6** und **Abbildung 9**.

Tab. 6: Veränderung der Parameter des Lipidstoffwechsels während der Walnussinterventionsphase und der Kontrollphase. Arithmetische Mittelwerte \pm Standardfehler (SEM). Lp (a) mit Angabe des Median mit Minimum und Maximum. Δ = Differenz; W= Walnusskonsum; K=Kontrolle; TC= Gesamtcholesterin; LDL-C = low-density-lipoprotein-Cholesterin; HDL-C = high-density-lipoprotein-Cholesterin; Non-HDL-C = non high-density-lipoprotein-Cholesterin; VLDL-C = very low-density-lipoprotein-Cholesterin; TG = Gesamttriglyceride; VLDL-TG = very low-density-lipoprotein-Triglyceride; Lp (a) = Lipoprotein (a); ApoB = Apolipoprotein B. * = einfach signifikant ($p \leq 0,05$); ** = sehr signifikant ($p \leq 0,01$); *** = hoch signifikant ($p \leq 0,001$).

Parameter	Baseline W	Δ Walnuss	Baseline K	Δ Kontrolle	p-Wert
TC (mg/dL)	231,7 \pm 2,7	-9,5	231,6 \pm 2,5	-2,2	0,0003***
LDL-C (mg/dL)	146 \pm 2,3	-7,3	146,0 \pm 2,1	-1,9	0,0009***
HDL-C (mg/dL)	68,6 \pm 1,1	0,5	68,8 \pm 1,2	-0,1	0,297
Non-HDL-C (mg/dL)	163,1 \pm 2,6	-9,4	162,8 \pm 2,4	-1,5	<0,0001***
VLDL-C (mg/dL)	16,7 \pm 1,1	-2,2	16,8 \pm 1,1	0,5	0,0021*
TG (mg/dL)	101,2 \pm 3,4	-5,5	102,8 \pm 3,5	3,4	0,0043*
VLDL-TG (mg/dL)	74,3 \pm 3,6	-3,0	77,8 \pm 3,7	3,9	0,0355
Lp (a) (mg/dL)	12 (1-139)	-0,4	11,5 (2-173)	-0,6	0,8079
apoB (mg/dL)	109,9 \pm 1,6	-6,8	109,5 \pm 1,5	-0,9	<0,0001***

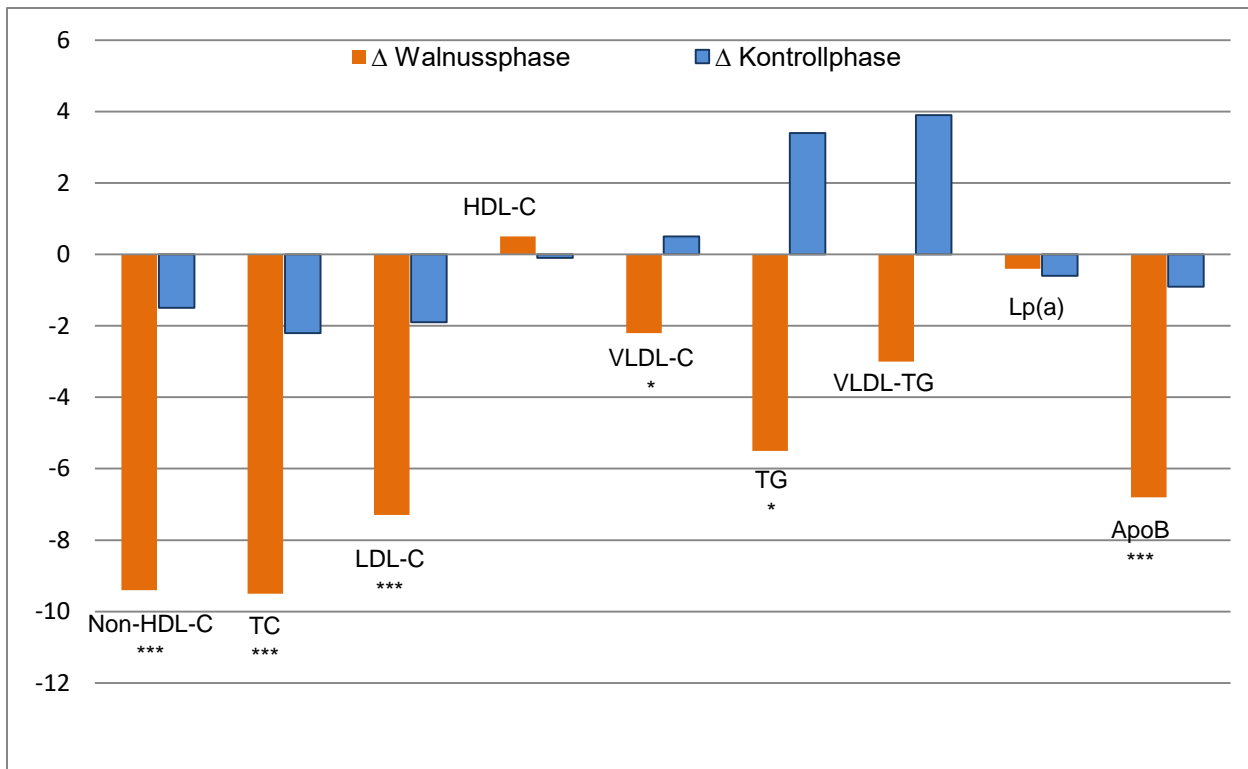


Abb. 9: Veränderung der Lipidparameter nach Walnussskonsum (braun) und Kontrolldiät (blau). Y-Achse in mg/dl. Δ = Differenz; TC = Gesamtcholesterin; LDL-C = low-density-lipoprotein-Cholesterin; HDL-C = high-density-lipoprotein-Cholesterin; Non-HDL-C = non high-density-lipoprotein-Cholesterin; VLDL-C = very low-density-lipoprotein-Cholesterin; TG = Gesamttriglyceride; VLDL-TG = very low-density-lipoprotein-Triglyceride; Lp(a) = Lipoprotein (a); ApoB = Apolipoprotein B. * = einfach signifikant ($p \leq 0,05$); ** = sehr signifikant ($p \leq 0,01$); *** = hoch signifikant ($p \leq 0,001$).

4.3 Lipidsenkender Effekt bei Betrachtung und Vergleich der Ernährungsuntergruppen

Bei Betrachtung der errechneten Differenzen der Plasmalipide in den Walnussinterventionsphasen der drei Ernährungsuntergruppen (Einsparung Kohlenhydrate (KH), Fett oder beides (Kombi)) zeigten sich folgende Ergebnisse für den primären Endpunkt Non-HDL-Cholesterin: Δ Walnuss_{KH}: $-11,2 \pm 2,3$ mg/dl, Δ Walnuss_{Fett}: $-9,6 \pm 2,3$ mg/dl, Δ Walnuss_{Kombi}: $-6,7 \pm 2,4$ mg/dl.

Bei Vergleich dieser Differenzen untereinander zeigte sich kein signifikanter Unterschied ($p = 0,38$). Ebenso zeigte sich bei dieser Vergleichsweise kein signifikanter Unterschied für das Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin, Triglyceride und ApoB. Alles Ebengenannte kann detailliert der linken Hälfte von **Tabelle 7** entnommen werden.

In den jeweiligen Ernährungsuntergruppen konnten bei Vergleich mit der Kontrollgruppe jeweils für die Kohlenhydrate- ($-8,6 \pm 3,1$ mg/dl; $p=0,0059$) und die

Fett- ($-10,0 \pm 3,0$ mg/dl; $p=0,0011$) einsparende Gruppe signifikante Unterschiede in der Reduktion des Non-HDL-Cholesterins festgestellt werden.

Für die zu gleichen Teilen einsparende Gruppe (Kombi/LIB) zeigte sich der Trend zur Reduktion ($-5,1 \pm 3,0$ mg/dl; $p=0,0886$). Gleiches gilt für den sekundären Endpunkt ApoB.

Eine ausführliche Darstellung ist **Abbildung 10** und der rechten Hälfte von **Tabelle 7** zu entnehmen.

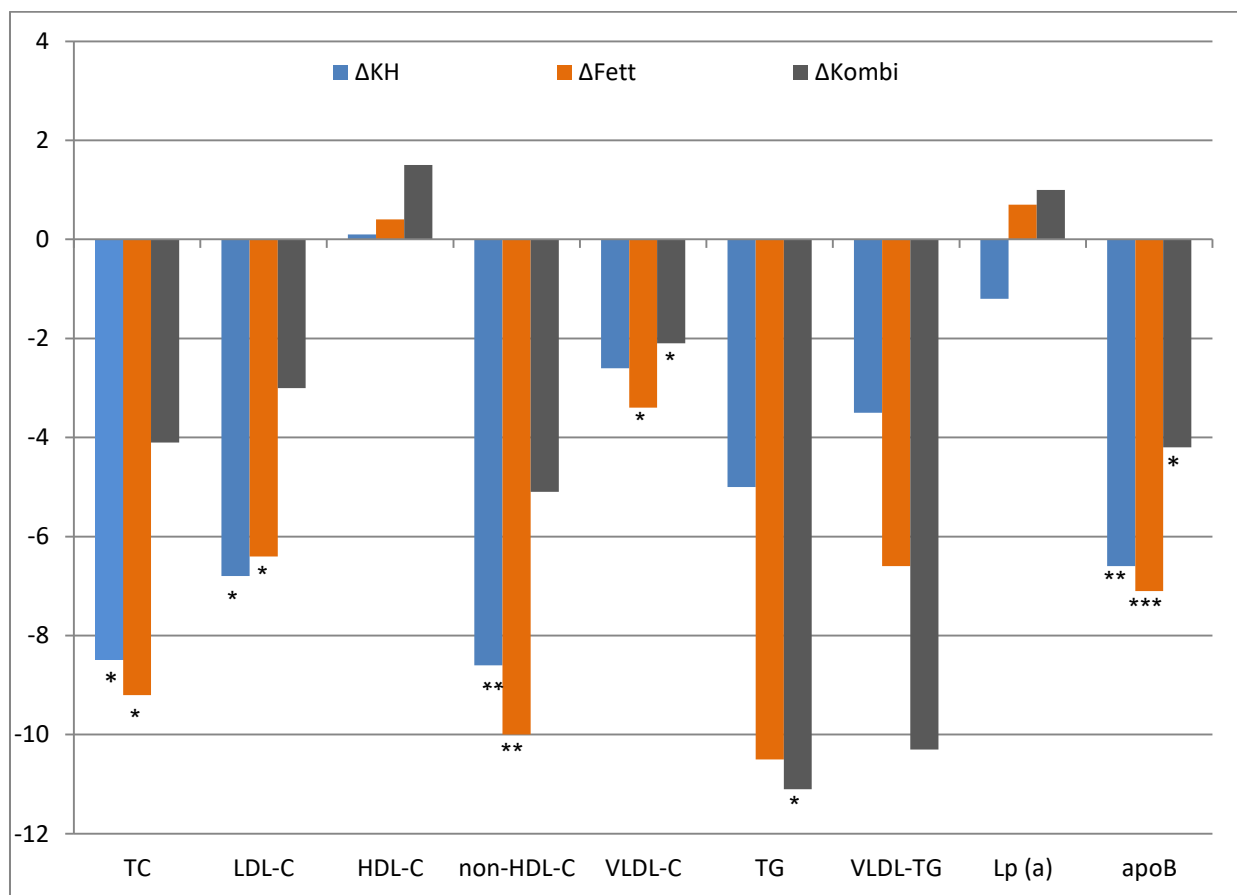


Abb. 10: Veränderung der Lipidparameter nach Walnusskonsum und Einsparung von entweder Kohlenhydraten (blau) oder gesättigten Fettsäuren (braun) oder Kohlenhydraten und gesättigten Fettsäuren kombiniert (grau). Y-Achse in mg/dl. Δ = Differenz; KH = Kohlenhydrate; Fett = gesättigte Fettsäuren; Kombi = Kohlenhydrate und gesättigte Fettsäuren kombiniert; TC= Gesamtcholesterin; LDL-C = low-density-lipoprotein-Cholesterin; HDL-C = high-density-lipoprotein-Cholesterin; Non-HDL-C = non high-density-lipoprotein-Cholesterin; VLDL-C = very low-density-lipoprotein-Cholesterin; TG = Gesamttriglyceride; VLDL-TG = very low-density-lipoprotein-Triglyceride; Lp (a) = Lipoprotein (a); ApoB = Apolipoprotein B. * = einfach signifikant ($p \leq 0,05$); ** = sehr signifikant ($p \leq 0,01$); *** = hoch signifikant ($p \leq 0,001$).

Tab. 7:

Linke Tabellenhälfte: Veränderung der Lipidparameter nach Walnussskonsum und Einsparung von entweder Kohlenhydraten oder gesättigten Fettsäuren oder Kohlenhydraten und gesättigten Fettsäuren kombiniert. P-Wert (5. Spalte von links) vergleicht diese Differenzen miteinander.

Rechte Tabellenhälfte: Veränderung der Lipidparameter nach Walnussskonsum und Einsparung von entweder Kohlenhydraten oder gesättigten Fettsäuren oder Kohlenhydraten und gesättigten Fettsäuren kombiniert im Vergleich zur jeweiligen Kontrollgruppe. P-Wert in Klammern mit Aussage über Signifikanzniveau bei Betrachtung der beobachteten Differenzen in den Walnussinterventionsphasen und den zugehörigen Kontrollphasen. P-Wert (1.Spalte von rechts) vergleicht diese Differenzen miteinander.

Arithmetische Mittelwerte ± Standardfehler (SEM). Lp (a) mit Angabe des Median mit Minimum und Maximum. Δ = Differenz; KH = Kohlenhydrate; Fett = gesättigte Fettsäuren; Kombi = Kohlenhydrate und gesättigte Fettsäuren kombiniert; TC= Gesamtcholesterin; LDL-C = low-density-lipoprotein-Cholesterin; HDL-C = high-density-lipoprotein-Cholesterin; Non-HDL-C = non high-density-lipoprotein-Cholesterin; VLDL-C = very low-density-lipoprotein-Cholesterin; TG = Gesamttriglyceride; VLDL-TG = very low-density-lipoprotein-Triglyceride; Lp (a) = Lipoprotein (a); ApoB = Apolipoprotein B.

Parameter	Walnüsse				Differenz zwischen Walnüssen und Kontrolle			
	Δ KH	Δ Fett	ΔKombi	p-Wert	Δ KH	Δ Fett	Δ Kombi	p-Wert
TC (mg/dL)	-11,9 ± 2,7	-9,7 ± 2,6	-6,2 ± 2,8	0,3158	-8,5 ± 3,5 (0,0148)	-9,2 ± 3,4 (0,0070)	-4,1 ± 3,3 (0,2202)	0,5113
LDL-C (mg/dL)	-9,0 ± 2,3	-6,9 ± 2,3	-5,6 ± 2,4	0,5681	-6,8 ± 2,8 (0,0166)	-6,4 ± 2,8 (0,0210)	-3,0 ± 2,7 (0,2677)	0,5657
HDL-C (mg/dL)	0,1 ± 0,8	0,7 ± 0,8	1,5 ± 0,9	0,4817	0,1 ± 1,1 (0,9185)	0,4 ± 1,1 (0,7153)	1,5 ± 1,1 (0,1863)	0,6688
Non-HDL-C (mg/dL)	-11,2 ± 2,3	-9,6 ± 2,3	-6,7 ± 2,4	0,3786	-8,6 ± 3,1 (0,0059)	-10,0 ± 3,0 (0,0011)	-5,1 ± 3,0 (0,0886)	0,4947
VLDL-C (mg/dL)	-2,8 ± 1,1	-2,7 ± 1,1	-0,8 ± 1,1	0,3232	-2,6 ± 1,5 (0,0871)	-3,4 ± 1,5 (0,0236)	-2,1 ± 1,5 (0,1591)	0,8191
TG (mg/dL)	-4,9 ± 3,8	-5,5 ± 3,7	-4,1 ± 3,9	0,9622	-5,0 ± 5,5 (0,3603)	-10,5 ± 5,3 (0,0509)	-11,1 ± 5,3 (0,0371)	0,6853
VLDL-TG (mg/dL)	-1,3 ± 3,9	-1,2 ± 3,8	-4,1 ± 4,0	0,8343	-3,5 ± 5,7 (0,5446)	-6,6 ± 5,6 (0,2383)	-10,3 ± 5,5 (0,0645)	0,6951
Lp (a) (mg/dL)	-1,4 ± 1,0	-0,3 ± 1,0	0,7 ± 1,0	0,3405	-1,2 ± 1,3 (0,3669)	0,7 ± 1,3 (0,5798)	1,0 ± 1,3 (0,4590)	0,4471
apoB (mg/dL)	-8,3 ± 1,6	-6,5 ± 1,6	-4,8 ± 1,6	0,2939	-6,6 ± 2,1 (0,0019)	-7,1 ± 2,0 (0,0007)	-4,2 ± 2,0 (0,0392)	0,5654

4.4 Lipidsenkender Effekt bei Walnusskonsum zur Hauptmahlzeit oder als Zwischenmahlzeit

Auch im Hinblick auf den Zeitpunkt des Walnusskonsums konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen einer die Walnüsse zu den Hauptzeiten (Meal) essenden und einer die Walnüsse als Zwischenmahlzeit (Snack) verzehrenden Versuchsgruppe ermittelt werden.

Die Differenz zwischen diesen beiden Gruppen lag für non-HDL-Cholesterin bei -4,3 mg/dl ($p=0,1039$) in den jeweiligen Walnussphasen. Bis auf ApoB (-4,1 mg/dl, $p=0,024$) zeigte sich auch bei den restlichen Lipidparametern (sekundäre Endparameter) keine signifikante Differenz zwischen Hauptmahlzeit und Zwischenmahlzeit (siehe auch **Tabelle 8** linke Hälfte).

Bei zusätzlicher Einbeziehung der jeweilig zugehörigen Kontrollgruppen ergab sich zwischen Δ Hauptmahlzeit ($=\Delta$ Meal_{Walnuss} – Δ Meal_{Kontrolle}) und Δ Zwischenmahlzeit ($=\Delta$ Snack_{Walnuss} – Δ Snack_{Kontrolle}) eine Differenz von -1,5 mg/dl ($p=0,6538$) für das Non-HDL-Cholesterin. Auch für die restlichen Lipide, inklusive ApoB, zeigte sich bei dieser Betrachtungsweise kein signifikanter Unterschied (siehe auch **Tabelle 8** rechte Hälfte).

Tab. 8:

Linke Tabellenhälfte: Veränderung der Lipidparameter nach Walnusskonsum entweder als Hauptmahlzeit (Meal) oder als Zwischenmahlzeit (Snack). P-Wert (4. Spalte von links) vergleicht diese Differenzen miteinander.

Rechte Tabellenhälfte: Veränderung der Lipidparameter nach Walnusskonsum entweder als Hauptmahlzeit (Meal) oder als Zwischenmahlzeit (Snack) bei Einbeziehung der jeweiligen Kontrollgruppen. P-Wert (1. Spalte von rechts) vergleicht diese Differenzen miteinander. P-Wert in Klammern mit Aussage über Signifikanzniveau bei Betrachtung der beobachteten Differenzen in den Walnussinterventionsphasen und den zugehörigen Kontrollphasen.

Parameter	Walnüsse			Differenz zwischen Walnüssen und Kontrolle		
	Meal	Snack	p	Meal	Snack	p
TC (mg/dl)	-11,6 ± 2,2	-7,0 ± 2,3	0,1277	-7,3 ± 2,7 (0,0077)	-7,1 ± 2,8 (0,0126)	0,9515
LDL-C (mg/dl)	-8,3 ± 1,9	-6,0 ± 2,0	0,3948	-5,2 ± 2,2 (0,0222)	-5,7 ± 2,3 (0,0150)	0,8714
HDL-C (mg/dl)	0,6 ± 0,7	0,9 ± 0,7	0,7889	1,4 ± 0,9 (0,1058)	-0,2 ± 0,9 (0,8646)	0,2120
Non-HDL-C (mg/dl)	-11,3 ± 1,9	-7,0 ± 2,0	0,1039	-8,6 ± 2,4 (0,0005)	-7,1 ± 2,5 (0,0056)	0,6538
VLDL-C (mg/dl)	-3,2 ± 0,9	-1,0 ± 0,9	0,0648	-3,8 ± 1,2 (0,0017)	-1,5 ± 1,2 (0,2254)	0,1809
TG (mg/dl)	-7,5 ± 3,0	-2,1 ± 3,2	0,2057	-12,9 ± 4,3 (0,0029)	-4,7 ± 4,4 (0,2919)	0,1820
VLDL-TG (mg/dl)	-4,5 ± 3,2	-0,1 ± 3,3	0,2964	-9,2 ± 4,5 (0,0427)	-4,4 ± 4,6 (0,3461)	0,4596
Lp (a) (mg/dl)	-0,3 ± 0,8	-0,3 ± 0,8	0,9745	0,4 ± 1,1 (0,7208)	-0,02 ± 1,1 (0,9841)	0,7927
apoB (mg/dl)	-8,6 ± 1,3	-4,5 ± 1,3	0,024	-6,5 ± 1,6 (0,0001)	-5,3 ± 1,7 (0,0022)	0,6024

4.5 Auswirkungen von Walnusskonsum auf Glukosemetabolismus, CRP, VCAM-1 und Endothelin-1

Es zeigte sich eine geringe, statistisch signifikante Zunahme des HbA1c von + 0,07 Prozentpunkten ($p = 0,0024$) in der allgemeinen Walnussphase ($n=194$) verglichen mit der dazugehörigen allgemeinen Kontrollphase ($n=194$). In Subgruppenanalysen zeigte sich keine Veränderung bezüglich des HbA1c.

Der Verzehr von Walnüssen führte zu keinen signifikanten Veränderungen der Nüchtern glukose.

Auch hsCRP, VCAM-1 und ET-1 zeigten sich unverändert.

5. Diskussion

In dieser Arbeit soll der Zusammenhang zwischen Walnusskonsum und den nüchtern bestimmten Parametern des Lipid- und Glukosemetabolismus unter Berücksichtigung der für den Walnussverzehr eingesparten Makronährstoffe untersucht werden. Zudem soll der Frage nachgegangen werden, ob der Zeitpunkt des Verzehrs von Bedeutung ist.

Hierfür wurden drei Interventionsgruppen gebildet, welche für acht Wochen 43g Walnüsse pro Tag essen und jeweils einen festgelegten Makronährstoff (entweder gesättigte Fettsäuren oder Kohlenhydrate oder beides ca. zu gleichen Teilen) für die in den Nüssen enthaltene Energie einsparen sollten.

5.1 Auswirkungen auf den Lipidmetabolismus

In einer Vielzahl von Beobachtungs- und Interventionsstudien wird ein positiver Einfluss von Nusskonsum auf das kardiovaskuläre Risiko beschrieben [47-50].

Diese positiven Effekte können auch bei alleiniger Betrachtung der Spezies Walnuss nachvollzogen werden [69-71]. Ein Teilaspekt hiervon ist die lipidsenkende Wirkung von Nüssen und Walnüssen, welche in diversen Studien gezeigt wird [57-59].

Wir konnten in unserer Walnussinterventionsgruppe verglichen mit der Kontrollgruppe hochsignifikante ($p \leq 0,001$) Veränderungen für Non-HDL-Cholesterin (-9,4 vs. -1,5 mg/dl), Gesamtcholesterin (-9,5 vs. -2,2 mg/dl), LDL-Cholesterin (-7,3 vs. -1,9 mg/dl) sowie ApoB (-6,8 vs. -0,9 mg/dl) feststellen. Für VLDL-Cholesterin (-2,2 vs. 0,5 mg/dl), Triglyceride (-5,5 vs. 3,4 mg/dl) und VLDL-Triglyceride (-3,0 vs. 3,9 mg/dl) zeigten sich normal signifikante ($p \leq 0,05$) Unterschiede. Keine signifikanten Veränderungen konnten für das HDL-Cholesterin und das Lipoprotein (a) beobachtet werden.

Verglichen mit unserer vorangegangenen Walnussstudie aus dem Jahr 2014 [60] konnten somit diese Veränderungen annähernd reproduziert werden. Die damaligen Ergebnisse waren wie folgt: Non-HDL-C: -10 vs. -3 mg/dl; ApoB: -5,0 vs. -0,2 mg/dl; TC: -8 vs. -2 mg/dl (als Trend bei $p = 0,073$ gewertet); LDL-C: -7 vs. -2 mg/dl ($p = 0,118$).

Bei Blick in die weiterführende Literatur berichten Sabaté et al. 2010 in einer Analyse von 25 Interventionsstudien mit 583 Probanden über insgesamt etwas stärker

ausgeprägte Effekte in der Reduktion der Lipide bei Gegenüberstellung einer Nuss- und einer Kontrolldiät (durchschnittliche Reduktion von TC -10,9 mg/dl und LDL-C -10,2 mg/dl). Jedoch werden erstens in diese Analyse mehrere Nussspezies (neben Walnüssen auch Mandeln, Macadamia, Erdnüsse, Pekanüsse, Pistazien) einbezogen und zweitens als Grundlage eine durchschnittliche Verzehrmenge von 67g Nüssen pro Tag herangezogen, was der eineinhalbfachen Menge unseres Versuchsaufbaus entspricht [58].

Eine Metaanalyse von 26 Interventionsstudien (1059 Probanden) mit ausschließlich Walnüssen von Guasch-Ferré et al. aus dem Jahr 2018 (welche die hier vorgestellte Studie mit berücksichtigt) gibt wiederum etwas niedrigere Unterschiede bei Vergleich mit den Kontrollgruppen an (TC: -7,0 mg/dl; LDL-C: -5,5 mg/dl; TG: -4,7 mg/dl; ApoB: -3,7 mg/dl). Als Erklärung hierfür könnte einerseits die große Spannweite der Verzehrmenge (15-108g/d), mit einem erheblichen Anteil an Studien mit niedrigeren Dosen an Walnüssen, und andererseits die Vielzahl an zu Grunde gelegten Kontrolldiäten (z.B. Western-Type, Mediterran, Japanisch, Gewohnheit, AHA-Guidelines, Low-Fat) herangezogen werden [59].

Eine mögliche Erklärung der beobachteten Veränderungen in der Lipidzusammensetzung könnte die erhöhte Zufuhr (ca. 15 %) an Ω -3-Fettsäuren durch den Walnusskonsum sein. Diesen wird ein lipidabsenkender Effekt, vermittelt durch vermutlich mehrere ursächliche Mechanismen zugeschrieben. Unter anderem wird eine Erhöhung des Anteils von α -Linolensäure an LDL-Partikeln und eine dadurch bedingte Veränderung des Bindungsverhaltens zum LDL-Rezeptor beschrieben [72]. Die genauen molekularen Vorgänge konnten jedoch bis dato nicht in Gänze entschlüsselt werden [73].

5.2 Lipidsenkender Effekt von Walnüssen und dafür ersetzte Makronährstoffe

Die Kernfrage der vorliegenden Studie war, wie sich die Einsparung der oben genannten Makronährstoffe auf die Absenkung der Blutlipide durch Walnusskonsum auswirkt.

Es wurden in der Vergangenheit diverse Veränderungen auf die Serumlipide durch Verzehr von Kohlenhydraten und gesättigten Fettsäuren bzw. deren Verzicht beschrieben. Bei reduziertem Verzehr von Kohlenhydraten zeigte sich ein Absinken

der Triglyceride und ein Anstieg des HDL-C, das LDL-C blieb unverändert [74, 75]. Der Ersatz von gesättigten Fettsäuren durch Kohlenhydrate resultierte in einer Erniedrigung des Gesamtcholesterin, des LDL-C und des HDL-C sowie einem leichten Ansteigen der Triglyceride [76, 77]. Einfach- und mehrfach ungesättigte Fettsäuren wiederum führten zu einer Reduktion von LDL-C und HDL-C, wenn gesättigte Fettsäuren durch diese ersetzt wurden [77].

In unserem Versuchsaufbau zeigte sich bei Vergleich der drei Ernährungsinterventionsgruppen für keinen der bestimmten Parameter ein signifikanter Unterschied bei insgesamt gleichmäßiger Veränderung dieser Parameter in allen drei Kollektiven. Einschränkend muss hier jedoch angeführt werden, dass sich bei Analyse des Ernährungsverhaltens kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen ergab, was nahelegt, dass die vor und während der Studiendurchführung gegebenen Empfehlungen in puncto Ernährungsumstellung und Einsparung der Makronährstoffe nicht vollständig umgesetzt wurden und sich die Diäten der einzelnen Gruppen ähnlicher waren als gewünscht. Dies kann als Ausdruck eines alltäglichen Problems gewertet werden, da es anscheinend nur schwer möglich ist, Makronährstoffe in Reinform zu reduzieren, vor allem vor dem Hintergrund eines ansonsten unveränderten Ernährungs- und Bewegungsverhaltens. Zur Verbesserung dieser Einschränkungen müsste eine wesentlich restriktivere Herangehensweise im Versuchsaufbau, z.B. mit bereitgestellten Mahlzeiten oder gar Überwachung in einem stationären Setting, gewählt werden, was wiederum negative Auswirkungen auf Teilnahmebereitschaft und Langzeit-Compliance hätte. In einer Subgruppenanalyse unserer Studie mit Probanden (10-30 Probanden pro Ernährungsuntergruppe), welche die Ernährungsempfehlungen wie gewünscht umsetzten und dadurch ein unterschiedliches Ernährungsprofil im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen hatten, zeigte sich jedoch ebenfalls kein signifikanter Unterschied in der Reduktion der erhobenen Lipid- und Glukoseparameter, was deren Unabhängigkeit von bestimmten Makronährstoffen andeutet.

5.3 Lipidsenkender Effekt und Konsumzeitpunkt von Walnüssen

Zusätzlich zur oben genannten unterschiedlichen Aufnahme der Makronährstoffe in drei Ernährungsgruppen wurde das Studienkollektiv gleichmäßig in zwei weitere Gruppen aufgeteilt, wovon eine Gruppe die Walnüsse zu den Hauptmahlzeiten (Meal) und die andere Walnüsse als Zwischenmahlzeit (Snack) essen sollten.

Grund für diesen Versuchsaufbau war eine 2013 veröffentlichte Ernährungsstudie von Tan et Mattes. In dieser Interventionsstudie wurde der Effekt von 43g Mandeln pro Tag, entweder zu Hauptmahlzeiten (Meal) oder als Zwischenmahlzeit (Snack) gegessen, auf die Parameter des Lipid- und Glukosestoffwechsels direkt postprandial sowie während und nach 4 Wochen Intervention untersucht. Hierbei zeigte sich postprandial ein ausgeprägteres Absinken der Serumglukose in den Snack- als in den Meal-Interventionsgruppen, jedoch ohne Erreichen von statistischer Signifikanz. Nach 4 Wochen Intervention zeigten sich weder in den Snack- noch in den Meal-Interventionsgruppen nennenswerten Effekte [78].

In unserer Studie zeigten sich diesbezüglich keine signifikanten Unterschiede für Non-HDL-C, TC, LDL-C, TG, ApoB sowie die Parameter des Glukosemetabolismus. Einschränkend muss hinzugefügt werden, dass verglichen mit Tan et Mattes in der vorliegenden Untersuchung keine postprandiale Bestimmung der Lipid- und Glukoseparameter vorgenommen wurde. Zudem war, wie im Folgenden nochmals aufgeführt, die statistische Power relativ gering, um einen Unterschied zu erfassen. Zur weiteren und exakteren Abklärung werden deswegen Studien mit stärkerer Fokussierung auf den Zeitpunkt des Walnusskonsums mit auch postprandialer Analyse der Stoffwechselfparameter benötigt.

5.4 Einfluss von Walnusskonsum auf Glukosemetabolismus, Inflammation, Körpergewicht, BMI und Blutdruck

Überraschenderweise konnten wir einen geringen, jedoch signifikanten Anstieg des HbA1c (+0,07 Prozentpunkte, $p = 0,0024$) bei Betrachtung der Walnussdiät verglichen mit der Kontrolldiät im Gesamten ($n=194$) feststellen.

Im Gegensatz dazu zeigen mehrere Interventions- und Beobachtungsstudien mit Walnüssen eine positive Beeinflussung des Glukosestoffwechsels bei Personen mit Diabetes mellitus Typ 2 sowie metabolischem Syndrom [79-81]. Gleiches kann für

Nüsse im Allgemeinen, beispielsweise auch die Inzidenz von Diabetes mellitus Typ 2 betreffend, gesagt werden [82-85]. In einer Metaanalyse von Aune et al. (2016) wurde für den Konsum unterschiedlicher Nusspezies sogar eine verringerte Sterblichkeit an Diabetes mellitus mit dosisabhängiger Ausprägung postuliert [47]. Als Mediatoren dieser positiven Effekte werden mehrere Inhaltsstoffe der Walnuss mit unterschiedlichen Wirkungsweisen vermutet [86]. Lange Zeit wurde eine positive Auswirkung hauptsächlich durch den Konsum von in Walnüssen enthaltenen Ω -3-Fettsäuren auf die Entstehung und den Verlauf einer diabetischen Stoffwechsellage angenommen, dies konnte eine groß angelegte Metaanalyse von Brown et al. (2019) jedoch nicht reproduzieren [87].

Um dieses beobachtete Ergebnis zu erklären, wurden in unserer Forschungsgruppe mehrere Möglichkeiten diskutiert: Erstens war bei Betrachtung der dokumentierten Ernährung der Probanden auffällig, dass sich diese trotz mehrmaliger Erklärung und Einweisung nicht komplett isokalorisch ernährten und im Schnitt während des Walnusskonsums mehr Energie (durchschnittlich 101 kcal) als zuvor zu sich nahmen. Die erhöhte Energiemenge könnte den Glukosestoffwechsel negativ beeinflussen [88]. Im Gegensatz dazu konnten wir jedoch keine signifikanten Veränderungen des Körpergewichts und des BMI feststellen. Zweitens wurde, da die exakte molekulare Wirkungsweise von Walnüssen auf den Lipid- und Glukosestoffwechsel noch nicht bekannt ist [73, 86, 87], ein den Glukosemetabolismus negativ beeinflussender Mechanismus diskutiert, welcher auch bei einer Therapie mit Statinen zu beobachten ist. In mehreren Beobachtungsstudien und Metaanalysen kann diesbezüglich eine erhöhte Inzidenz an Diabetes mellitus Typ II festgestellt werden [89, 90]. Als Ursache hierfür werden auf der einen Seite direkte zytotoxische Mechanismen der Statine an Zielzellen des Insulins sowie β -Zellen des Pankreas beschrieben [89, 90], auf der anderen Seite jedoch auch die Inhibition des Zielenzym, der HMG-CoA-Reduktase. Der zweitgenannte Sachverhalt konnte im Vergleich mit im Genom vorhandenen Varianten von bestimmten Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) festgestellt werden, welche mit einer verminderten Aktivität der HMG-CoA-Reduktase und folglich niedrigeren Serumkonzentrationen an LDL-C einhergehen. Bei Personen mit Vorhandensein dieser SNP zeigte sich jedoch auch ohne laufende Statintherapie ein Anstieg des Körpergewichts, des Hüftumfangs, der Serumglukose- und Plasmainsulinspiegel [89-91]. Eine dritte mögliche Erklärung ist, dass es sich um einen Zufallsbefund handelt, welcher unter klinischen Gesichtspunkten in seiner

Höhe keine Konsequenz hätte. Jedoch bedarf dieser Befund weiterer Abklärung mittels weiterführender Studien.

Es zeigte sich keine Veränderung bezüglich der Nüchtern glukose in unseren Versuchsgruppen.

Wir konnten keinerlei Einfluss von Walnusskonsum auf die von uns erhobenen Entzündungsparameter hsCRP, VCAM-1 und ET-1 feststellen. In wenigen Interventionsstudien mit Walnüssen konnte für das CRP zumindest ein Trend hin zu einer statistisch signifikanten Reduktion beobachtet werden. Diese Studien hatten jedoch eine geringe Teilnehmerzahl und wurden an nicht völlig gesunden Probanden (z.B. Übergewicht, Hyperlipidämie, metabolisches Syndrom) durchgeführt [92, 93]. Auch bei Betrachtung von Interventionsstudien mit anderen Nusspezies zeigt sich keine signifikante Beeinflussung des CRP [94].

VCAM-1 und ET-1 sind, wie in der Einleitung bereits dargestellt, bedeutende Moleküle in der Entstehung von Atherosklerose. In einer Teilanalyse (n=772) der PREDIMED-Studie zeigte sich eine signifikante Reduktion von VCAM-1 in der Nuss konsumierenden Interventionsgruppe. Jedoch zeigte sich diese Absenkung in ähnlicher Ausprägung auch für die Olivenöl-Interventionsgruppe der Studie, außerdem setzten sich die verzehrten Nüsse nur zur Hälfte aus Walnüssen zusammen (je ¼ zusätzlich an Mandeln und Haselnüssen). Zudem sei erwähnt, dass es sich bei den eingeschlossenen Probanden um deutlich vorerkrankte Personen mit mehreren Risikofaktoren und einem hohen Risiko der Entstehung einer kardiovaskulären Folgeerkrankung handelte [95]. Andere kleinere, nur Walnüsse verwendende Interventionsstudien zeigen eine signifikante Reduktion von VCAM-1 [59, 92, 96, 97]. In einem kürzlich erschienenen Review von Neale et al. (2017), welcher 32 RCTs mit insgesamt 652 Probanden umfasste und den Effekt von Nusskonsum (neben Walnüssen auch andere Nüsse) auf Inflammationsmarker und Endothelfunktion untersuchte, konnte jedoch wiederum kein signifikantes Ergebnis für VCAM-1 sowie ICAM-1, Adiponectin, Tumornekrosefaktor α und IL-6 festgestellt werden [94]. Auch unsere Vorstudie (2014) erbrachte keine veränderten Werte für VCAM-1, ICAM-1, Endothelin-1 und Adiponectin nach Walnusskonsum [60].

Bezüglich Körpergewicht und BMI kam es sowohl während des Walnussverzehr als auch während der Kontrolldiät zu keiner Veränderung. Gleiches gilt für unsere

Vorstudie [60] sowie andere Studien mit Walnüssen [59] und Nüssen im Allgemeinen [48].

Weder der systolische noch der diastolische Blutdruck zeigten während des Studienablaufs signifikante Veränderungen. Auch in der Literatur werden diesbezüglich nur geringe Schwankungen sowohl für Walnüsse selbst [59] als für Nüsse im Gesamten [48] angegeben.

5.5 Stärken und Limitationen

Eine Hauptstärke unsere Studie war ihr prospektives, randomisiertes, kontrolliertes Crossover-Design mit zwei Auswaschphasen zu Beginn und während der Studiendurchführung. Durch diese Auswaschphasen konnte das Risiko einer Beeinflussung der erhobenen Parameter durch Walnusskonsum vor Studienbeginn (1. Auswaschphase) und nach der ersten Interventionsphase (2. Auswaschphase) reduziert werden.

Eine weitere Stärke des vorliegenden Studienprotokolls war seine Größe mit 204 in die Studie eingeschlossenen und 194 in die Auswertung aufgenommenen Probanden. Dies erlaubte eine hohe statistische Aussagekraft bzgl. einer Veränderung der untersuchten Parameter bei Betrachtung des gesamten Studienkollektivs ohne Berücksichtigung der drei Ernährungsuntergruppen. Diesen Subgruppen konnten jeweils mehr als 60 Probanden zugeteilt werden, was für eine aussagekräftige statistische Beurteilung ausreichend war.

Eine Limitation des Versuchsaufbaus war die fehlende Doppelverblindung, welche sich bei natürlichen Lebensmitteln nur sehr schwer in die Realität umsetzen lässt.

Eine weitere Schwäche waren Dauer und Art der Erfassung der Ernährungsgewohnheiten durch die Probanden. Die eingereichten Protokolle umfassten nur die Ernährungsaufzeichnung über jeweils 4 Tage, was folglich immer nur eine kurze Zeitrumbetrachtung zuließ.

Zudem wurden diese Protokolle ohne weitere externe Kontrolle im privaten Umfeld angefertigt, was das Risiko für die Entstehung von Recall-Bias (Erinnerungsverzerrung) birgt.

Weiterhin wurde zur Vereinheitlichung eine Western-Type-Diet als Standard zu Grunde gelegt, welche selbst wiederum für manchen Probanden eine Veränderung der Ernährungsgewohnheiten bedeutete.

Als weiteren Kritikpunkt könnte man die Dauer der Interventionsphase von lediglich 8 Wochen anführen, da dies keine Langzeitintervention darstellt. Allerdings wurden von unseren Probanden bereits im Vorfeld Bedenken bzgl. der Einhaltung einer standardisierten Western-Type-Diet sowie einer zeitweise nussfreien Ernährung für einen solchen Zeitraum geäußert. Darüber hinaus ist fraglich, ob eine tägliche Zufuhr von 43g Walnüssen auf Dauer im Alltag als realistisch anzusehen wäre. Diesbezüglich berichten Guasch-Ferré et. al in einer Subgruppenanalyse ihres Review, dass jedoch auch bereits geringere tägliche Verzehrsmengen (<28g/d) zu einer signifikanten Reduktion des Gesamtcholesterins und des LDL-C führen, was der vorbeschriebenen Dosis-Wirkungs-Beziehung für Walnüsse entspricht [58, 59, 69].

Ein weiterer anzuführender Schwachpunkt ist die geringe errechnete Power bzgl. der Detektion signifikanter Unterschiede bei Vergleich der Meal- und Snack-Ernährungsgruppen. Diese wurde für die drei Ernährungsuntergruppen (n=62-67) mit jeweils 30% und für das gesamte Studienkollektiv (n=194) mit über 50% angegeben. Wie bereits in unserer Vorstudie [60] erwähnt, lässt sich weiterhin anführen, dass männliche Probanden nach wie vor unterrepräsentiert waren. Die Durchführung von Interventionsstudien mit einem höheren Männeranteil könnte diskutiert werden.

6. Zusammenfassung

Zahlreiche Studien belegen, dass ein regelmäßiger Nusskonsum das Risiko für kardiovaskulär bedingte Sterblichkeit und Gesamtmortalität reduziert. Walnüsse zeichnen sich durch einen besonders hohen Anteil an α -Linolensäure aus, was sich günstig auf das Lipidprofil auswirkt. Unklar ist bisher jedoch, inwiefern eine Veränderung in der Makronährstoffzusammensetzung und der Zeitpunkt des Nusskonsums einen Einfluss haben.

204 gesunde Männer und postmenopausale Frauen > 50 Jahre wurden in eine randomisierte, kontrollierte, prospektive Crossover-Studie über eine Studiendauer von insgesamt 24 Wochen eingeschlossen. Von diesen schlossen 194 (134 Frauen und 60 Männer, $63 \pm 0,54$ Jahre, BMI $25,4 \pm 0,29$ kg/m²) die Studie ab.

Die Probanden sollten die täglich zugeführten Kalorien aus 43g Walnüssen entweder in Form von Kohlenhydraten (KH, $70g \triangleq 300$ kcal), Fett ($30g \triangleq 300$ kcal) oder beidem einsparen. Das Ernährungsverhalten wurde anhand von viertägigen Ernährungsprotokollen überprüft. Zudem sollten die Probanden die Walnüsse entweder zu den Hauptmahlzeiten (Meal) oder als Zwischenmalzeit (Snack) zu sich nehmen. Die Veränderung im non-HDL-Cholesterinspiegel stellte den primären Endpunkt dar. Daneben wurden Gesamtcholesterin (TC), LDL-Cholesterin (LDL-C), HDL-Cholesterin (HDL-C), Triglyceride (TG), Apolipoprotein B (ApoB) und Lipoprotein a (Lp (a)), Glukose und HbA1c im Nüchternblut untersucht.

Nach achtwöchiger Walnussintervention zeigte sich eine signifikante Reduktion im non-HDL-C-Spiegel (Walnuss vs. Kontrolle $-9,4$ vs. $-1,5$ mg/dl; $p < 0.0001$) sowie in den Parametern TC ($-9,5$ vs. $-2,2$ mg/dl; $p=0.0003$), LDL-C ($-7,3$ vs. $-1,9$ mg/dl; $p=0.0009$), TG ($-5,5$ vs. $+3.4$ mg/dl; $p=0.0043$) und ApoB (-6.8 vs. $-0,9$ mg/dl; $p < 0.0001$).

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Ernährungsgruppen. Der Effekt war also unabhängig davon, ob die Probanden während der Walnussphase auf Kohlenhydrate, Fette oder beides verzichteten. Ebenso wenig hing der Effekt davon ab, ob die Walnüsse mit einer Hauptmahlzeit oder als Zwischenmahlzeit konsumiert wurden.

Der tägliche Konsum von 43g Walnüssen führte innerhalb von acht Wochen zu einer signifikanten Reduktion von non-HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Gesamtcholesterin, Triglyceriden und Apolipoprotein B, unabhängig davon, welche Makronährstoffe ersetzt oder ob die Walnüsse als Snack oder zu den Hauptmahlzeiten konsumiert wurden.

7. Abkürzungsverzeichnis

Abb	Abbildung
ACS	Akutes Koronarsyndrom
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ALA	α -Linolensäure
ALT	Alaninaminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
ApoB	Apolipoprotein B
BMI	Body Mass Index
C	Cholesterin
CH	Carbohydrates (dt. Kohlenhydrate)
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CT	Computertomographie
CV	kardiovaskulär
CVD	Cardiovascular Disease (dt. kardiovaskuläre Erkrankung)
dt	deutsch
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ET-1	Endothelin-1
FS	Fettsäuren
FFS	Freie Fettsäuren
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
Ggf	Gegebenenfalls
GGT	Gamma-Glutamyltransferase
GLP-1	Glucagon-like Peptide 1
HbA _{1c}	Glykosyliertes Hämoglobin
HDL	High-density-lipoprotein
HIV	Human immunodeficiency virus
HMG-CoA	β -Hydroxy- β -Methylglutaryl-Coenzym-A
hsCRP	High sensitivity C-reaktives Protein
ICAM-1	Interzelluläres Adhäsionsmolekül 1
IDL	Intermediate-density-lipoprotein
IL-6	Interleukin-6

IuA	Infektion der unteren Atemwege
KBB	Kleines Blutbild
KH	Kohlenhydrate
KHK	Koronare Herzerkrankung
LCAT	Lecithin-Cholesterol Acyltransferase
LDL	Low-density-lipoprotein
LIB	ad libitum ("frei")
Lp(a)	Lipoprotein (a)
mmLDLox	minimal oxidiertes LDL
NO	Stickstoffmonoxid
pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
PCSK9	Proproteinkonvertase Subtilisin/Kexin Typ 9
PON1	Paraoxonase 1
RCT	randomized controlled trial (dt. Randomisierte kontrollierte Studie)
ROS	Reactive Oxygen Species (dt. reaktive Sauerstoffspezies)
RR	Blutdruck nach Riva-Rocci
SFA	Saturated fatty acids (dt. gesättigte Fettsäuren)
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (dt. Einzelnukleotid-Polymorphismus)
Tab	Tabelle
TBil	Totales Bilirubin (Gesamtbilirubin)
TC	Total Cholesterol (dt. Gesamt-Cholesterin)
TG	Triglyceride
TIA	Transitorisch ischämische Attacke
TSH	Thyroidea-stimulierendes Hormon
vs	versus
VCAM-1	Vaskuläres Zelladhäsionsmolekül-1
VLDL	Very low-density-lipoprotein
WHO	World Health Organization
Wo	Wochen

8. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Übersicht Lipid- und Lipoproteinstoffwechsel.

Abb. 2: Schrittweise Pathogenese der Atherosklerose.

Abb. 3: Häufigste Todesursachen weltweit 2016. Dazu vergleichend häufigste Todesursachen 2000 und 2004. Prognose aus 2006 für 2030.

Abb. 4: Todesfälle je 100.000 Einwohner in 2012, in Abhängigkeit von Krankheit und Einkommen.

Abb. 5: Stufentherapie LDL-Cholesterin.

Abb. 6: Stufentherapie Triglyceride.

Abb. 7: Studienaufbau im Crossover-Design.

Abb. 8: Flowchart Erstuntersuchungen, randomisierte Probanden, Drop-Outs und Studienabschlüsse.

Abb. 9: Veränderung der Lipidparameter nach Walnusskonsum und Kontrolldiät.

Abb. 10: Veränderung der Lipidparameter nach Walnusskonsum und Einsparung von entweder Kohlenhydraten oder gesättigten Fettsäuren oder Kohlenhydraten und gesättigten Fettsäuren kombiniert.

9. Tabellenverzeichnis

- Tab. 1:** Übersicht über klinisch häufige Dyslipidämien.
- Tab. 2:** Übersicht Fettsäuregehalt von ausgewählten Nüssen.
- Tab. 3:** Übersicht über die während des Studienverlaufs bestimmten laborchemischen Messparameter.
- Tab. 4:** Biometrische Daten bei Studienbeginn.
- Tab. 5:** Baseline-Parameter Lipid- und Glukosestoffwechsel.
- Tab. 6:** Veränderung der Parameter des Lipidstoffwechsels während der Walnussinterventionsphase und der Kontrollphase.
- Tab. 7:** Linke Tabellenhälfte: Veränderung der Lipidparameter nach Walnusskonsum und Einsparung von entweder Kohlenhydraten oder gesättigten Fettsäuren oder Kohlenhydraten und gesättigten Fettsäuren kombiniert.
Rechte Tabellenhälfte: Veränderung der Lipidparameter nach Walnusskonsum und Einsparung von entweder Kohlenhydraten oder gesättigten Fettsäuren oder Kohlenhydraten und gesättigten Fettsäuren kombiniert im Vergleich zur jeweiligen Kontrollgruppe.
- Tab. 8:** Linke Tabellenhälfte: Veränderung der Lipidparameter nach Walnusskonsum entweder als Hauptmahlzeit (Meal) oder als Zwischenmahlzeit (Snack).
Rechte Tabellenhälfte: Veränderung der Lipidparameter nach Walnusskonsum entweder als Hauptmahlzeit (Meal) oder als Zwischenmahlzeit (Snack) bei Einbeziehung der jeweiligen Kontrollgruppen.

10. Literaturverzeichnis

1. Rasso, J., et al., *Duale Reihe Biochemie*. Vol. 3. 2012: Thieme Verlag. 243-249.
2. Rahman, M.S. and K. Woollard, *Atherosclerosis*. *Adv Exp Med Biol*, 2017. **1003**: p. 121-144.
3. Parhofer, K.G., *The Treatment of Disorders of Lipid Metabolism*. *Dtsch Arztebl Int*, 2016. **113**(15): p. 261-8.
4. Klose, G., *Therapie der Hyperlipidämie*. *Arzneimitteltherapie*, 2018. **36**(12): p. 422-9.
5. *CLASSIFICATION of atherosclerotic lesions; report of a study group*. *World Health Organ Tech Rep Ser*, 1958. **57**(143): p. 1-20.
6. WHO. *Cardiovascular diseases (CVDs). Fact sheet, updated May 2017*. Verfügbar unter: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). 2017.
7. Lusis, A.J., *Atherosclerosis*. *Nature*, 2000. **407**(6801): p. 233-41.
8. Pan, S., *Molecular mechanisms responsible for the atheroprotective effects of laminar shear stress*. *Antioxid Redox Signal*, 2009. **11**(7): p. 1669-82.
9. Kuhlmann, I., D. Chin, and G. Rimbach, *Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen und Atherosklerose*. 2014: Springer Spektrum.
10. Libby, P., *Inflammation in atherosclerosis*. *Nature*, 2002. **420**(6917): p. 868-74.
11. Libby, P., P.M. Ridker, and G.K. Hansson, *Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis*. *Nature*, 2011. **473**(7347): p. 317-25.
12. Aziz, M. and K. Yadav, *Pathogenesis of Atherosclerosis A Review*. *Med Clin Rev*, 2016. **2**(3).
13. WHO. *The top 10 causes of death. Fact sheet, updated May 2018*. Verfügbar unter: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. 2018.
14. WHO., *The global burden of disease 2004 update: 11-12*. Verfügbar unter: https://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004update_full.pdf. 2008.
15. Mathers, C.D. and D. Loncar, *Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030*. *PLoS Med*, 2006. **3**(11): p. e442.
16. WHO., *World Health Statistics 2013: 82*. Verfügbar unter: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/81965/9789241564588_eng.pdf?sequence=1. 2013.
17. WHO., *The top 10 causes of death. Fact sheet, updated June 2014*. . 2014.
18. Authors/Task Force, M., E.S.C.C.f.P. Guidelines, and E.S.C.N.C. Societies, *2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk*. *Atherosclerosis*, 2019. **290**: p. 140-205.
19. EMA (European Medicines Agency). *Waylivra (Volanesorsen)*. Updated May 2020. Verfügbar unter: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/waylivra>. 2020.
20. EMA (European Medicines Agency). *Nilemdo (Bempedoinsäure)*. Updated August 2020. Verfügbar unter: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/nilemdo>. 2020.
21. EMA (European Medicines Agency). *Lojuxta (Lomitapide)*. Updated March 2020. Verfügbar unter: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/lojuxta>. 2013.
22. EMA (European Medicines Agency). *Leqvio (Inclisiran)*. Updated October 2020. Verfügbar unter: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/summaries-opinion/leqvio>. 2020.
23. EMA (European Medicines Agency). *Evinacumab*. Updated August 2020. Verfügbar unter: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/paediatric-investigation-plans/emea-002298-pip01-17-m01>. 2020.
24. Tsimikas, S., E. Karwatowska-Prokopczuk, and S. Xia, *Lipoprotein(a) Reduction in Persons with Cardiovascular Disease. Reply*. *N Engl J Med*, 2020. **382**(21): p. e65.

25. Ference, B.A., et al., *Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel.* Eur Heart J, 2017. **38**(32): p. 2459-2472.
26. Baigent, C., et al., *Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins.* Lancet, 2005. **366**(9493): p. 1267-78.
27. Estruch, R. and J. Salas-Salvado, "*Towards an even healthier Mediterranean diet*". Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2013. **23**(12): p. 1163-6.
28. Sofi, F., et al., *Mediterranean diet and health status: an updated meta-analysis and a proposal for a literature-based adherence score.* Public Health Nutr, 2014. **17**(12): p. 2769-82.
29. Grosso, G., et al., *A comprehensive meta-analysis on evidence of Mediterranean diet and cardiovascular disease: Are individual components equal?* Crit Rev Food Sci Nutr, 2017. **57**(15): p. 3218-3232.
30. Estruch, R., et al., *Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet Supplemented with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts.* N Engl J Med, 2018. **378**(25): p. e34.
31. Tuttolomondo, A., et al., *Metabolic and Vascular Effect of the Mediterranean Diet.* Int J Mol Sci, 2019. **20**(19).
32. Tosti, V., B. Bertozzi, and L. Fontana, *Health Benefits of the Mediterranean Diet: Metabolic and Molecular Mechanisms.* J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2018. **73**(3): p. 318-326.
33. Storniolo, C.E., et al., *A Mediterranean diet supplemented with extra virgin olive oil or nuts improves endothelial markers involved in blood pressure control in hypertensive women.* Eur J Nutr, 2017. **56**(1): p. 89-97.
34. Tzima, N., et al., *Mediterranean diet and insulin sensitivity, lipid profile and blood pressure levels, in overweight and obese people; the Attica study.* Lipids Health Dis, 2007. **6**: p. 22.
35. Hernaez, A., et al., *Mediterranean Diet Improves High-Density Lipoprotein Function in High-Cardiovascular-Risk Individuals: A Randomized Controlled Trial.* Circulation, 2017. **135**(7): p. 633-643.
36. Gylling, H., et al., *Plant sterols and plant stanols in the management of dyslipidaemia and prevention of cardiovascular disease.* Atherosclerosis, 2014. **232**(2): p. 346-60.
37. Balk, E.M. and A.H. Lichtenstein, *Omega-3 Fatty Acids and Cardiovascular Disease: Summary of the 2016 Agency of Healthcare Research and Quality Evidence Review.* Nutrients, 2017. **9**(8).
38. Estruch, R., *Anti-inflammatory effects of the Mediterranean diet: the experience of the PREDIMED study.* Proc Nutr Soc, 2010. **69**(3): p. 333-40.
39. Mena, M.P., et al., *Inhibition of circulating immune cell activation: a molecular antiinflammatory effect of the Mediterranean diet.* Am J Clin Nutr, 2009. **89**(1): p. 248-56.
40. Dell'Agli, M., et al., *Minor components of olive oil modulate proatherogenic adhesion molecules involved in endothelial activation.* J Agric Food Chem, 2006. **54**(9): p. 3259-64.
41. Moreno-Luna, R., et al., *Olive oil polyphenols decrease blood pressure and improve endothelial function in young women with mild hypertension.* Am J Hypertens, 2012. **25**(12): p. 1299-304.
42. Dai, J., et al., *Association between adherence to the Mediterranean diet and oxidative stress.* Am J Clin Nutr, 2008. **88**(5): p. 1364-70.
43. Fito, M., et al., *Effect of the Mediterranean diet on heart failure biomarkers: a randomized sample from the PREDIMED trial.* Eur J Heart Fail, 2014. **16**(5): p. 543-50.
44. Hernaez, A., et al., *The Mediterranean Diet decreases LDL atherogenicity in high cardiovascular risk individuals: a randomized controlled trial.* Mol Nutr Food Res, 2017. **61**(9).

45. Beauchamp, G.K., et al., *Phytochemistry: ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil*. *Nature*, 2005. **437**(7055): p. 45-6.
46. Tang, W.H., et al., *Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk*. *N Engl J Med*, 2013. **368**(17): p. 1575-84.
47. Aune, D., et al., *Nut consumption and risk of cardiovascular disease, total cancer, all-cause and cause-specific mortality: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies*. *BMC Med*, 2016. **14**(1): p. 207.
48. Kim, Y., J.B. Keogh, and P.M. Clifton, *Does Nut Consumption Reduce Mortality and/or Risk of Cardiometabolic Disease? An Updated Review Based on Meta-Analyses*. *Int J Environ Res Public Health*, 2019. **16**(24).
49. Luu, H.N., et al., *Prospective evaluation of the association of nut/peanut consumption with total and cause-specific mortality*. *JAMA Intern Med*, 2015. **175**(5): p. 755-66.
50. Kelly, J.H., Jr. and J. Sabate, *Nuts and coronary heart disease: an epidemiological perspective*. *Br J Nutr*, 2006. **96 Suppl 2**: p. S61-7.
51. Hayes, D., et al., *Walnuts (*Juglans regia*) Chemical Composition and Research in Human Health*. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2016. **56**(8): p. 1231-41.
52. Robbins, K.S., et al., *Update on the healthful lipid constituents of commercially important tree nuts*. *J Agric Food Chem*, 2011. **59**(22): p. 12083-92.
53. Pan, A., et al., *alpha-Linolenic acid and risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis*. *Am J Clin Nutr*, 2012. **96**(6): p. 1262-73.
54. Mozaffarian, D. and J.H. Wu, *Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events*. *J Am Coll Cardiol*, 2011. **58**(20): p. 2047-67.
55. Baum, S.J., et al., *Fatty acids in cardiovascular health and disease: a comprehensive update*. *J Clin Lipidol*, 2012. **6**(3): p. 216-34.
56. FDA., *Qualified Health Claims: Letter of Enforcement Discretion - Walnuts and Coronary Heart Disease (Docket No 02P-0292)*. Veröffentlicht März 2004. Verfügbar unter:
<http://wayback.archiveit.org/7993/20171114183725/https://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/LabelingNutrition/ucm072910.htm>.
57. Banel, D.K. and F.B. Hu, *Effects of walnut consumption on blood lipids and other cardiovascular risk factors: a meta-analysis and systematic review*. *Am J Clin Nutr*, 2009. **90**(1): p. 56-63.
58. Sabate, J., K. Oda, and E. Ros, *Nut consumption and blood lipid levels: a pooled analysis of 25 intervention trials*. *Arch Intern Med*, 2010. **170**(9): p. 821-7.
59. Guasch-Ferre, M., et al., *Effects of walnut consumption on blood lipids and other cardiovascular risk factors: an updated meta-analysis and systematic review of controlled trials*. *Am J Clin Nutr*, 2018. **108**(1): p. 174-187.
60. Wu, L., et al., *Walnut-enriched diet reduces fasting non-HDL-cholesterol and apolipoprotein B in healthy Caucasian subjects: a randomized controlled cross-over clinical trial*. *Metabolism*, 2014. **63**(3): p. 382-91.
61. Sabate, J., et al., *Effects of walnuts on serum lipid levels and blood pressure in normal men*. *N Engl J Med*, 1993. **328**(9): p. 603-7.
62. Iwamoto, M., et al., *Serum lipid profiles in Japanese women and men during consumption of walnuts*. *Eur J Clin Nutr*, 2002. **56**(7): p. 629-37.
63. Torabian, S., et al., *Long-term walnut supplementation without dietary advice induces favorable serum lipid changes in free-living individuals*. *Eur J Clin Nutr*, 2010. **64**(3): p. 274-9.
64. Din, J.N., et al., *Effect of moderate walnut consumption on lipid profile, arterial stiffness and platelet activation in humans*. *Eur J Clin Nutr*, 2011. **65**(2): p. 234-9.
65. Bamberger, C., et al., *A Walnut-Enriched Diet Affects Gut Microbiome in Healthy Caucasian Subjects: A Randomized, Controlled Trial*. *Nutrients*, 2018. **10**(2).
66. Bamberger, C., et al., *A Walnut-Enriched Diet Reduces Lipids in Healthy Caucasian Subjects, Independent of Recommended Macronutrient Replacement and Time Point of Consumption: a Prospective, Randomized, Controlled Trial*. *Nutrients*, 2017. **9**(10).

67. Del Chierico, F., et al., *Mediterranean diet and health: food effects on gut microbiota and disease control*. Int J Mol Sci, 2014. **15**(7): p. 11678-99.
68. Cresci, G.A. and E. Bawden, *Gut Microbiome: What We Do and Don't Know*. Nutr Clin Pract, 2015. **30**(6): p. 734-46.
69. Kris-Etherton, P.M., *Walnuts decrease risk of cardiovascular disease: a summary of efficacy and biologic mechanisms*. J Nutr, 2014. **144**(4 Suppl): p. 547S-554S.
70. Guasch-Ferre, M., et al., *Nut Consumption and Risk of Cardiovascular Disease*. J Am Coll Cardiol, 2017. **70**(20): p. 2519-2532.
71. Becerra-Tomas, N., et al., *Nut consumption and incidence of cardiovascular diseases and cardiovascular disease mortality: a meta-analysis of prospective cohort studies*. Nutr Rev, 2019. **77**(10): p. 691-709.
72. Munoz, S., et al., *Walnut-enriched diet increases the association of LDL from hypercholesterolemic men with human HepG2 cells*. J Lipid Res, 2001. **42**(12): p. 2069-76.
73. Ander, B.P., et al., *Polyunsaturated fatty acids and their effects on cardiovascular disease*. Exp Clin Cardiol, 2003. **8**(4): p. 164-72.
74. Grundy, S.M., *Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for lowering plasma cholesterol*. N Engl J Med, 1986. **314**(12): p. 745-8.
75. Mensink, R.P., et al., *Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials*. Am J Clin Nutr, 2003. **77**(5): p. 1146-55.
76. Siri-Tarino, P.W., et al., *Saturated fatty acids and risk of coronary heart disease: modulation by replacement nutrients*. Curr Atheroscler Rep, 2010. **12**(6): p. 384-90.
77. Siri-Tarino, P.W., et al., *Saturated fat, carbohydrate, and cardiovascular disease*. Am J Clin Nutr, 2010. **91**(3): p. 502-9.
78. Tan, S.Y. and R.D. Mattes, *Appetitive, dietary and health effects of almonds consumed with meals or as snacks: a randomized, controlled trial*. Eur J Clin Nutr, 2013. **67**(11): p. 1205-14.
79. Tapsell, L.C., et al., *Long-term effects of increased dietary polyunsaturated fat from walnuts on metabolic parameters in type II diabetes*. Eur J Clin Nutr, 2009. **63**(8): p. 1008-15.
80. Wu, H., et al., *Lifestyle counseling and supplementation with flaxseed or walnuts influence the management of metabolic syndrome*. J Nutr, 2010. **140**(11): p. 1937-42.
81. Pan, A., et al., *Walnut consumption is associated with lower risk of type 2 diabetes in women*. J Nutr, 2013. **143**(4): p. 512-8.
82. Schwingshackl, L., et al., *Food groups and intermediate disease markers: a systematic review and network meta-analysis of randomized trials*. Am J Clin Nutr, 2018. **108**(3): p. 576-586.
83. Mazidi, M., et al., *Impact of different types of tree nut, peanut, and soy nut consumption on serum C-reactive protein (CRP): A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials*. Medicine (Baltimore), 2016. **95**(44): p. e5165.
84. Blanco Mejia, S., et al., *Effect of tree nuts on metabolic syndrome criteria: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials*. BMJ Open, 2014. **4**(7): p. e004660.
85. Salas-Salvado, J., et al., *Erratum. Reduction in the Incidence of Type 2 Diabetes With the Mediterranean Diet: Results of the PREDIMED-Reus nutrition intervention randomized trial*. Diabetes Care 2011;34:14-19. Diabetes Care, 2018. **41**(10): p. 2259-2260.
86. Casas-Agustench, P., M. Bullo, and J. Salas-Salvado, *Nuts, inflammation and insulin resistance*. Asia Pac J Clin Nutr, 2010. **19**(1): p. 124-30.
87. Brown, T.J., et al., *Omega-3, omega-6, and total dietary polyunsaturated fat for prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials*. BMJ, 2019. **366**: p. l4697.

88. Holmes, M.V., et al., *Causal effects of body mass index on cardiometabolic traits and events: a Mendelian randomization analysis*. Am J Hum Genet, 2014. **94**(2): p. 198-208.
89. Casula, M., et al., *Statin use and risk of new-onset diabetes: A meta-analysis of observational studies*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2017. **27**(5): p. 396-406.
90. Adhyaru, B.B. and T.A. Jacobson, *Safety and efficacy of statin therapy*. Nat Rev Cardiol, 2018. **15**(12): p. 757-769.
91. Swerdlow, D.I., et al., *HMG-coenzyme A reductase inhibition, type 2 diabetes, and bodyweight: evidence from genetic analysis and randomised trials*. Lancet, 2015. **385**(9965): p. 351-61.
92. Zhao, G., et al., *Dietary alpha-linolenic acid reduces inflammatory and lipid cardiovascular risk factors in hypercholesterolemic men and women*. J Nutr, 2004. **134**(11): p. 2991-7.
93. Schutte, A.E., et al., *Modulation of baroreflex sensitivity by walnuts versus cashew nuts in subjects with metabolic syndrome*. Am J Hypertens, 2006. **19**(6): p. 629-36.
94. Neale, E.P., et al., *The effect of nut consumption on markers of inflammation and endothelial function: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials*. BMJ Open, 2017. **7**(11): p. e016863.
95. Estruch, R., et al., *Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial*. Ann Intern Med, 2006. **145**(1): p. 1-11.
96. Ros, E., et al., *A walnut diet improves endothelial function in hypercholesterolemic subjects: a randomized crossover trial*. Circulation, 2004. **109**(13): p. 1609-14.
97. Canales, A., et al., *Effect of walnut-enriched meat on the relationship between VCAM, ICAM, and LTB4 levels and PON-1 activity in ApoA4 360 and PON-1 allele carriers at increased cardiovascular risk*. Eur J Clin Nutr, 2011. **65**(6): p. 703-10.

11. Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei Prof. Dr. med. K. G. Parhofer bedanken, der mir dieses Projekt ermöglichte, zu jeder Zeit ansprechbar war und bei der Durchführung mit Rat und Tat zur Seite stand.

Weiterhin möchte ich mich bei unserer Studienkoordinatorin Julia Altenhofer, unserer Laborantin Kerstin Henze sowie meiner Mitdotorandin Charlotte Bamberger für die hervorragende Zusammenarbeit und jederzeitige Hilfestellung während der Studienzeit bedanken.

Ebenso danke ich meiner Betreuerin Dr. med. Katharina Lechner sowie Dr. med. Elisa Waldmann für die stetige Hilfsbereitschaft bei Fragen und Problemen.

Außerordentlich danken will ich Fr. Dr. Stark vom Helmholtz-Zentrum München für die Durchführung unserer statistischen Berechnungen sowie die anschließende Beratung bei der Auswertung der statistischen Ergebnisse.

Des Weiteren gebührt Nina Schmidt und Rita Schinkmann Dank für die sehr unkomplizierte Organisation von Räumlichkeiten für die praktische Studiendurchführung.

Auch will ich mich bei Inge, Tatjana, Julian, Gerald, Liya und den Mitgliedern der Arbeitsgruppe Spitzweg für die Hilfe und Unterstützung bedanken.

Großer Dank gebührt natürlich allen Teilnehmerinnen und Teilnehmern an unserer Studie für ihre Mitarbeit und ihr Durchhaltevermögen.

Zu guter Letzt bedanke ich mich sehr herzlich bei meiner Freundin, meiner Schwester und meinen Eltern, welche durch ihre Unterstützung keinen unerheblichen Beitrag an der Fertigstellung dieser Arbeit sowie insgesamt des Studiums geleistet haben.