

Aus der Abteilung für Viszeral-, Thorax- und metabolischer Chirurgie der Amper
Kliniken AG, Klinikum Dachau

Chefarzt: Professor Dr. med. H.-G. Rau

in Kooperation mit

der Chirurgischen Klinik und Poliklinik II,

des Klinikums der Universität München, Klinikum Großhadern

Direktor: Professor Dr. med. B. Göke

**Anwendung von Omega-3 Fettsäuren aus Fischöl vor
kolonchirurgischen Eingriffen und die Auswirkungen auf
postoperative Komplikationen und die Wundheilung**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Gertraud Maria-Anna Helf

aus

Rosenheim

2011

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Professor Dr. med. Horst-Günter Rau
Mitberichterstatter:	Professor Dr. med. Peter Claus Weber; Professor Dr. med. Martin Kreis; Professor Dr. med. Klaus Hallfeldt
Mitbetreuung durch die promovierten Mitarbeiter:	Dr. rer. nat. Jürgen Müller; Dr. rer. nat. Thomas Fischer
Dekan:	Professor Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR
Tag der mündlichen Prüfung:	14.02.2011

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Darstellungsverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	VII
1 Einleitung	1
1.1 Aufbau und Vorkommen von Omega-3 und Omega-6 Fettsäuren	1
1.2 Biosynthese der Eicosanoide	3
1.3 Die gegensätzlichen Effekte der von Omega-3 und Omega-6 Fettsäuren abgeleiteten Eicosanoide	6
1.4 Physiologische Funktionen der Omega-3 Fettsäuren und ihr therapeutisches Potential	8
1.5 Postoperative Komplikationen in der kolorektalen Chirurgie	10
1.6 Klinischer Hintergrund und Ziel der Arbeit	11
2 Allgemeine ethische und rechtliche Rahmenbedingungen	14
3 Material und Methoden	15
3.1 <i>In vitro</i> Versuche	15
3.1.1 Ussing-Kammer	15
3.1.1.1 Vorbereitung der Kammern	15
3.1.1.2 Aufnahme von ¹⁴ C-EPA und ¹⁴ C-DHA	18
3.1.1.3 Gewebeanreicherung von ¹⁴ C-EPA und ¹⁴ C-DHA	20
3.1.2 Zellkultur aus Kolonepithelzellen	21
3.1.2.1 Isolierung der IECs (intestinal epithelial cells)	21
3.1.2.2 WST-8 Test und CYP450-Aktivität	24
3.1.2.3 Aufnahme von Omega-3 Fettsäuren durch die IECs	26
3.1.2.4 Homogenisierung der kultivierten Zellen	26

3.1.2.5	Proteinbestimmung nach Lowry	27
3.2	Klinische Untersuchung	27
3.2.1	Untersuchungsdesign	27
3.2.2	Patienten	29
3.2.3	Medikamentöse Intervention	30
3.2.4	Analytische Bestimmung von Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA) aus Darmgewebehomogenat	32
3.2.4.1	Extraktion der Fettsäuren aus dem Darmgewebe	32
3.2.4.2	Quantitative Bestimmung der Fettsäuren	33
3.2.5	Photometrische Bestimmung von Hydroxyprolin	35
3.2.6	Statistische Analyse	37
4	Ergebnisse	38
4.1	<i>In vitro</i> Versuche	38
4.1.1	Ussing-Kammer	38
4.1.1.1	Aufnahme von ¹⁴ C-EPA und ¹⁴ C-DHA	38
4.1.1.2	Anreicherung von ¹⁴ C-EPA und ¹⁴ C-DHA im Gewebe	39
4.1.2	Zellkultur aus Kolonepithelzellen	40
4.1.2.1	Vitalität und Funktionsfähigkeit der Zellkultur	40
4.1.2.2	Aufnahme von Omega-3 Fettsäuren durch die Intestinalen Epithelzellen (IECs)	44
4.2	Auswertung der klinischen Daten	45
4.2.1	Primäre Evaluationsparameter	45
4.2.2	Sekundäre Evaluationsparameter	53
4.2.3	Zusammenfassung	71
4.2.4	Matched-pairs Analyse	74
4.2.5	Kosten-Nutzen-Analyse	77
5	Diskussion	79
6	Zusammenfassung	97

Literaturverzeichnis	99
Anhang	109
Erklärung	151
Danksagung	152

Darstellungsverzeichnis

- Darstellung 1:* Gehalt der Omega-3 Fettsäuren in 100g fettreichen Kaltwasser-Fischen (essbarer Anteil)
- Darstellung 2:* Metabolismus der Omega-3 und Omega-6 Fettsäuren
- Darstellung 3:* Eicosanoide aus Omega-6 Fettsäuren
- Darstellung 4:* Eicosanoide aus Omega-3 Fettsäuren
- Darstellung 5:* n-3 and n-6 fatty acid derived messengers
- Darstellung 6:* Ussing Kammer
- Darstellung 7:* Aufbau Ussing Kammer und Apparatur (6 Ussing Kammern)
- Darstellung 8:* Präparation der Darmmukosa
- Darstellung 9:* Versuchsaufbau zur Aufnahme von ^{14}C -EPA und ^{14}C -DHA
- Darstellung 10:* Apparatur 1 zur Messung der Gewebeanreicherung von ^{14}C -EPA
- Darstellung 11:* Isolierung der IECs
- Darstellung 12:* Strukturformeln von WST-8 und Formazan
- Darstellung 13:* Das Prinzip der Zellvitalitätsbestimmung anhand des WST-8 Tests
- Darstellung 14:* Patientenkenndaten und chirurgische Parameter
- Darstellung 15:* Zusammensetzung der Fischöl-Kapseln
- Darstellung 16:* Fließmittelgradient
- Darstellung 17:* LC-MS/MS Chromatogramm der EPA/ DHA Quantifizierung
- Darstellung 18:* Ussing Kammer Messergebnisse
- Darstellung 19:* Zeitlicher Verlauf der Anreicherung von ^{14}C -Docosahexaensäure und ^{14}C -Eicosapentaensäure im Kolongewebe, Teil I
- Darstellung 20:* Zeitlicher Verlauf der Anreicherung von ^{14}C -Docosahexaensäure und ^{14}C -Eicosapentaensäure im Kolongewebe, Teil II
- Darstellung 21:* Krypten isoliert aus humanem *Kolon ascendens*, I (Phasen-Kontrast Mikroskop; 100x)
- Darstellung 22:* Krypten isoliert aus humanem *Kolon ascendens*, II (Phasen-Kontrast Mikroskop; 100x)
- Darstellung 23:* Kultur I aus humanen Kolonocyten auf Kollagen I beschichteten 6-well Platten (12 Std. nach dem Ausplattieren) (Phasen-Kontrast Mikroskop; 100x)

- Darstellung 24:* Kultur II aus humanen Kolonocyten auf Kollagen I beschichteten 6-well Platten (12 Std. nach dem Ausplattieren) (Phasen-Kontrast Mikroskop; 100x)
- Darstellung 25:* Kultur aus humanen Kolonocyten auf Kollagen I beschichteten 6-well Platten (12 Std. nach dem Ausplattieren); homogene Verteilung (Phasen-Kontrast Mikroskop; 100x)
- Darstellung 26:* Gehalt an EPA und DHA/ mg Protein in den Zellhomogenaten
- Darstellung 27:* Patienten- und chirurgische Kenndaten
- Darstellung 28:* Infektiöse und nicht-infektiöse Komplikationen
- Darstellung 29:* Gruppen und Kategorien des χ^2 -Tests
- Darstellung 30:* Komplikationsraten in den beiden Gruppen ($p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Pearson's 2xk χ^2 -Tests)
- Darstellung 31:* Ergebnis des 2x3 χ^2 -Tests
- Darstellung 32:* Gruppen und Unter-Kategorien des χ^2 -Tests (Infektiöse Komplikationen)
- Darstellung 33:* Gruppen und Unter-Kategorien des χ^2 -Tests (Nicht-infektiöse Komplikationen)
- Darstellung 34:* Verteilung der PDA in den beiden Gruppen; Säulendiagramm ($p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; χ^2 -Test)
- Darstellung 35:* Postoperativer Verlauf der CRP-Werte
- Darstellung 36:* Gehalt an EPA, DHA und Hydroxyprolin ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test bzw. t-Test)
- Darstellung 37:* Unterschiede EPA-, DHA-, und Hydroxyprolin-Gehalt; Säulendiagramm ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test bzw. t-Test)
- Darstellung 38:* Unterschiede EPA-, DHA-, und Hydroxyprolin-Gehalt; Box-Plots ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test bzw. t-Test)
- Darstellung 39:* Gehalt an EPA [mg/g Darmgewebe] in verschiedenen Patientengruppen ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Patienten ohne Komplikation; Mann-Whitney-U-Test)
- Darstellung 40:* Zusammenhang zwischen den CRP-Werten (Tag 3, bzw. 4) und dem EPA-Gewebespiegel
- Darstellung 41:* CRP-Werte [mg/dl] mit den dazugehörigen EPA-Gewebespiegeln [mg/g Darmgewebe]
- Darstellung 42:* Übersicht Analgetikatherapie
- Darstellung 43:* Analyse des Analgetikaverbrauchs ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)

- Darstellung 44:* Unterschiede Analgetikaverbrauch; Säulendiagramm ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)
- Darstellung 45:* Unterschiede Analgetikaverbrauch; Box-Plots ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)
- Darstellung 46:* Unterschiede Analgetika Behandlungsdauer; Säulendiagramm ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)
- Darstellung 47:* Unterschiede Analgetika Behandlungsdauer; Box-Plots ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)
- Darstellung 48:* Übersicht Antibiotikatherapie
- Darstellung 49:* Analyse des Antibiotikaverbrauchs ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)
- Darstellung 50:* Unterschiede Antibiotikaverbrauch; Säulendiagramm ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)
- Darstellung 51:* Antibiotikaverbrauch gesamt (parenteral und enteral); Box-Plots ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)
- Darstellung 52:* Unterschiede Antibiotika Behandlungsdauer; Säulendiagramm ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)
- Darstellung 53:* Analyse des stationären Aufenthalts ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)
- Darstellung 54:* Unterschiede Krankenhaus-Aufenthaltsdauer; Säulendiagramm ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)
- Darstellung 55:* Zusammenfassung der Ergebnisse aus den statistischen Tests
- Darstellung 56:* Eigene Festlegung der Match-Kriterien
- Darstellung 57:* Matched-pairs Analyse- Ergebnisse des gepaarten t-Tests ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe)
- Darstellung 58:* Mittlere Behandlungskosten pro Patient
- Darstellung 59:* Verteilung der CYP450 Isoenzyme entlang des Kolons
- Darstellung 60:* Einflussfaktoren auf die Anastomosenheilung
- Darstellung 61:* Phasen der Wundheilung
- Darstellung 62:* Hydroxyprolin Biosynthese
- Darstellung 63:* Fehler erster und zweiter Art

Abkürzungsverzeichnis

AA	Arachidonsäure
ALA	α -Linolensäure
ASA	American Society of Anesthesiologists
BMI	Body-Mass-Index
BPE	Bovine Pituitary Extract
BSA	Bovine Serum Albumin
Ca	Karzinom; bösartige Darmerkrankung
COX-2	Cyclooxygenase 2
CRP	C-reaktives Protein
DHA	cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaensäure
¹⁴ C-DHA	cis-4,7,10,13,16,19-[1- ¹⁴ C] Docosahexaensäure
DPM	Desintegrations per minute
DRG	Diagnosis Related Groups
DTT	1,4-Dithio-DL-threitol
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EGF	Epidermal Growth Factor
EPA	cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaensäure
¹⁴ C-EPA	cis-5,8,11,14,17-[1- ¹⁴ C] Eicosapentaensäure
ESI	Elektrospray-Ionisation
eV	Elektronenvolt
FABPpm	Plasma membrane fatty acid binding protein
FAT/CD3	Fatty acid translocase/ Cluster of differentiation 3
FATP	Fatty acid transport protein
GC	Gaschromatographie
GDNF	Glial Derived Neurotrophic Factor
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HBSS	Hank's buffered salt solution
HDL	High density lipoprotein
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure

5-HETE	5-Hydroxyleicosatetraensäure
HMG-CoA-Reduktase	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (High Performance Liquid Chromatography)
ICU	Intensive Care Unit (= Intensivstation)
IEC	Intestinal Epithelial Cells
IgG	Immunglobulin G (= Gammaglobulin)
IL	Interleukin, z. B. IL-1; IL-6
KHK	Koronare Herzkrankheit
KRB-Puffer	Krebs-Ringer-Bicarbonat-Puffer
lap	laparoskopisch
LC-MS/MS	Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit Tandemmassenspektrometrie
LSC	Flüssigkeitsszintillations-Spektrometer (liquid scintillation counting)
LT(X _Y)	Leukotrien(X _Y), z. B. LTB ₄ ; LTB ₅
M	Mean (= Mittelwert)
MRM	Multiple-Reaction-Modus ein Detektionsmodus in der Tandemmassenspektrometrie bei dem beide Quadrupole statisch sind und nur ausgewählte Fragment-Ionen des Zielanalyten detektiert werden
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
NAD/ NADH	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid
NFκB	Nuklear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NO	Stickstoffmonoxid
Non-Ca	wörtlich: "kein Karzinom"; gutartige Darmerkrankung
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase (= Nitric Oxide Synthase)
n.s.	(statistisch) nicht signifikant
O	Sauerstoff

P_{app}	Apparent Permeability [cm/s] (\equiv Absorptionsschwindigkeit durch die Mukosa)
PAF	Plättchen-aktivierender Faktor
PBS	Phosphate buffered saline
PDA	Periduralanalgesie
PDK	Periduralkatheter
PLA ₂	Phospholipase A ₂
PG(X _Y)	Prostaglandin(X), z. B. PGE ₂ ; PGE ₃ ; PGI ₃
PGI ₂	Prostazyklin
PUFA	Polyunsaturated fatty acids
RNS	Ribonukleinsäure
RP	Reversed Phase (Umkehr-Phasen-)
SD	standard deviation (= Standardabweichung)
SDD	selektive Dekontamination des Verdauungstraktes (<i>selective decontamination of the digestive tract</i>)
SFM	Serum-free medium
TNF α	Tumor-Nekrose-Faktor α
TPN	Total parenteral nutrition; Parenterale Ernährung
TST	Testosteron
TVT	Tiefe Venenthrombose
TX(X _Y)	Thromboxan(X), z. B. TXA ₂ ; TXB ₂
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule-1
VLDL	Very low density lipoprotein

1 Einleitung

1.1 Aufbau und Vorkommen von Omega-3 und Omega-6 Fettsäuren

Omega-3 Fettsäuren sind Bausteine von fetten Ölen aus Pflanzen und Fischen und bilden neben den Omega-6 Fettsäuren eine Gruppe innerhalb der ungesättigten Fettsäuren. Chemisch betrachtet, handelt es sich um Carbonsäuren, deren erste Doppelbindung, ausgehend vom Methyl-Ende des Moleküls, am dritten Kohlenstoffatom lokalisiert ist (Omega-3), Omega-6 Fettsäuren sind Fettsäuren, deren erste Doppelbindung am sechsten Kohlenstoffatom anzutreffen ist. Der Mensch ist im Gegensatz zu den Pflanzen nicht in der Lage, alle diese mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFAs = polyunsaturated fatty acids) selbst zu synthetisieren. Er benötigt als Vorstufen α -Linolensäure (ALA; Omega-3) und Linolsäure (Omega-6), die somit essentiell sind und mit der Nahrung aufgenommen werden müssen. Aus diesen Fettsäuren können im Körper in einer Reihe von Enzymreaktionen Arachidonsäure (Omega-6) und zu einem geringen Prozentsatz auch Eicosapentaensäure (EPA; Omega-3) gebildet werden, als Vorstufen verschiedener Prostaglandine und Leukotriene (s. 1.2). Ein Umbau von Omega-6- in Omega-3 Fettsäuren ist nicht möglich. Auch liegt die Konversionsrate von ALA in EPA mit durchschnittlich 0,2% deutlich tiefer, als in den meisten Übersichtsarbeiten zu lesen ist.¹

Einen hohen Gehalt an ALA findet man in Pflanzenölen wie z. B. Leinöl und Perillaöl, einen geringeren Gehalt auch in Raps-, Soja- und Walnussöl.

cis-5, 8, 11, 14, 17-Eicosapentaensäure (EPA; C20:5, n-3) ist eine fünffach ungesättigte C20-Carbonsäure, und neben *cis*-4,7,10,13,16,19-Docosahexaensäure (DHA; C22:6, n-3), einer sechsfach ungesättigten C22-Carbonsäure, Hauptbestandteil im Öl fetter Seefische, wie z. B. Thunfisch, Lachs, Hering und Makrele (s. *Darst. 1*).

¹ S. Pawlosky, R. J., et al, α -Linolenic acid metabolism, 2001, S.1264

1 Einleitung

Fischart	EPA-Gehalt (in mg/ 100g)*	DHA-Gehalt (in mg/ 100g)*	EPA/ DHA gesamt (in mg/ 100g)*
Thunfisch	1.385	2.082	3.467
Lachs	749	1.860	2.609
Hering	740	1.170	1.910
Makrele	640	1.138	1.778

* Die Werte unterliegen natürlichen Schwankungen

Quelle: *Arbeitskreis Omega-3 e. V.*: Verzehrsstudie: Zufuhr an Omega-3-Fettsäuren unzureichend/ zu wenig Fisch, 09.06.2008, <http://www.journalmed.de/newsview.php?id=21581> (2008-10-08)

Darst. 1: Gehalt der Omega-3 Fettsäuren EPA und DHA in 100g fettreichen Kaltwasserfischen (essbarer Anteil)

Während Omega-6 Fettsäuren, welche in Lebensmitteln tierischer Herkunft enthalten sind, v. a. in Fleisch- und Wurstwaren und Eigelb, aber auch in Sonnenblumen-, Maiskeim- und Distelöl, meist ausreichend mit der Nahrung aufgenommen werden, haben die Ergebnisse der zweiten Nationalen Verzehrsstudie NVS II gezeigt, dass nur etwa die Hälfte der empfohlenen Wochenmenge von 200g (ca. 30g/ Tag) Fisch konsumiert wird. Bei Jugendlichen zwischen 14 und 18 Jahren liegt der Konsum mit 5g Fisch/ Tag sogar sehr weit unter dieser Empfehlung.¹ Das Verhältnis von Omega-6 zu Omega-3 Fettsäuren liegt derzeit bei etwa 7:1, im Gegensatz zu einem empfohlenen Verhältnis von 4-5:1.² Ein zu hoher Konsum an gesättigten, tierischen Fetten erhöht nicht nur das Risiko an Darmkrebs zu erkranken, sondern stellt auch einen Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen dar.^{3, 4}

¹ S. *Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel (Hrsg.)*, NVS II-Ergebnisbericht Teil 2, 2008, S. 46

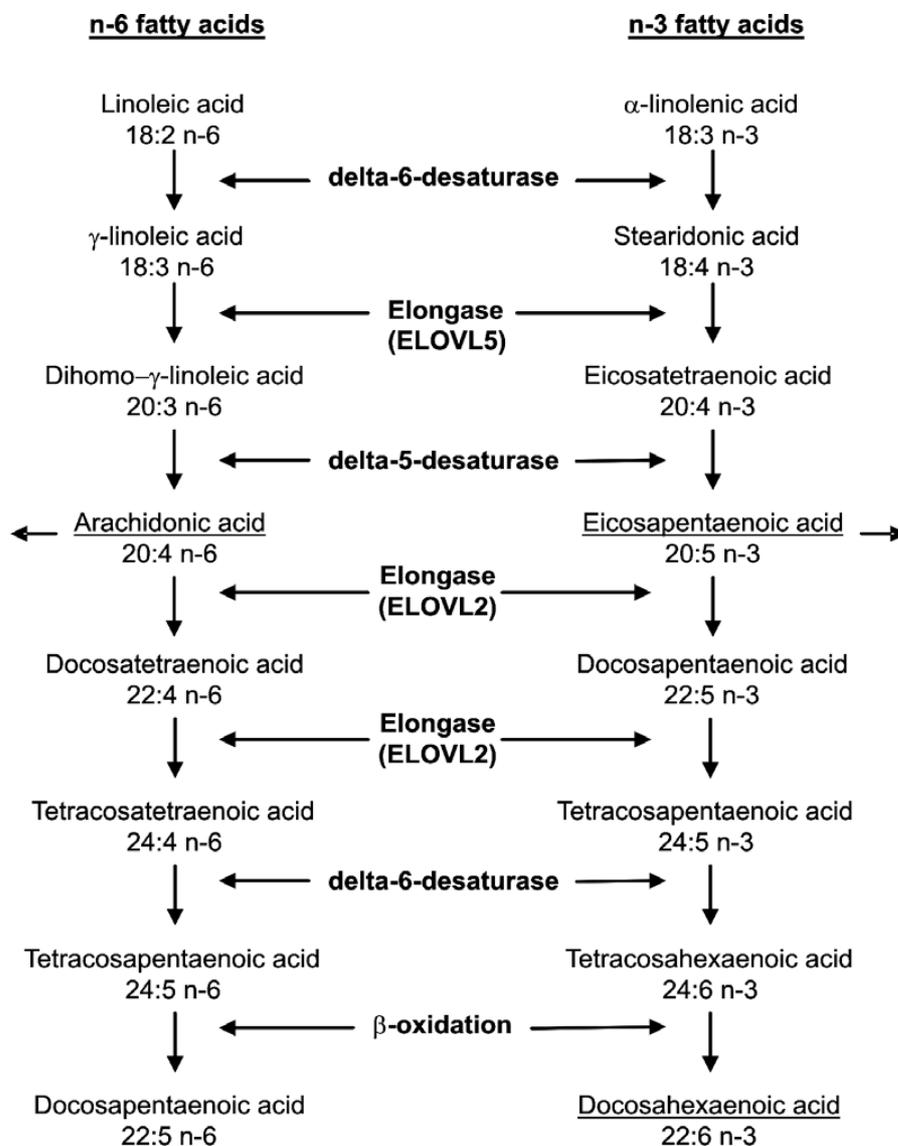
² S. *Deutsche Gesellschaft für Ernährung e. V.*, Ernährungsbericht 2004, Kapitel 1

³ S. *Yokoyama, M., Origasa, H., et al.*, Effects of EPA on major coronary events, 2007, S. 1090

⁴ S. *MacLean, C. H., Newberry, S.*, Effects of n-3 fatty acids on cancer risk, 2006, S. 410

1.2 Biosynthese der Eicosanoide

Die aufgenommenen Omega-3 und Omega-6 Fettsäuren werden von denselben Enzymen metabolisiert (s. *Darst. 2*), aber jeweils zu unterschiedlichen wichtigen Botenstoffen mit hormonalen Eigenschaften (s. *Darst. 3* und *4*). Die beiden Klassen von Fettsäuren konkurrieren daher miteinander im Stoffwechselprozess, wobei ein Überschuss der einen Fettsäureklasse einen deutlichen Rückgang der anderen zur Folge hat.

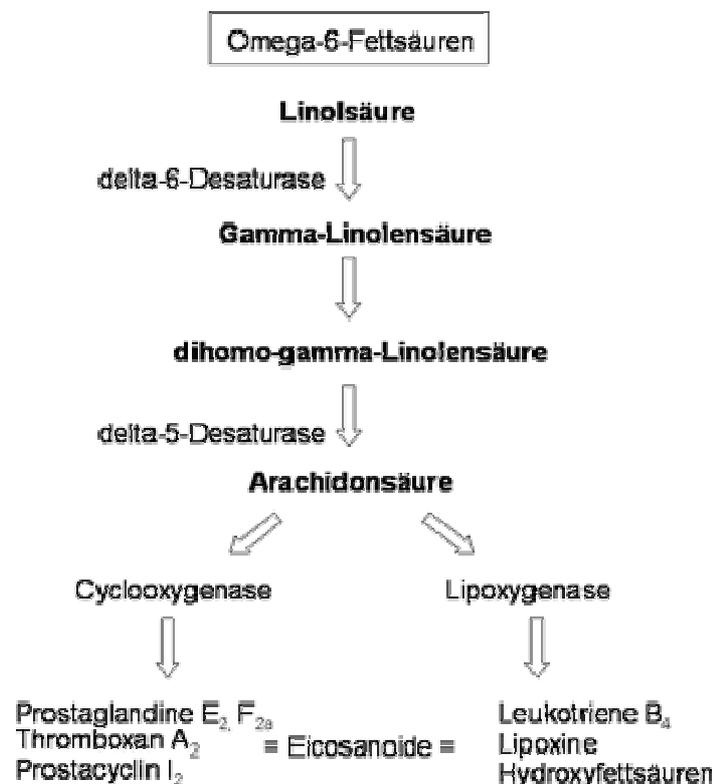


Quelle: Schmitz, G., Ecker, J.: The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids, Progress in Lip Res, 2008 (47), S. 148

Darst. 2: Metabolismus der Omega-3 und Omega-6 Fettsäuren

1 Einleitung

Linolsäure (C18:2, n-6) aus der Nahrung wird durch verschiedene Desaturase- und Elongase-Enzyme umgebaut zu γ -Linolensäure (C18:3, n-6) und dihomogamma-Linolensäure (C20:3, n-6), zum Schlüsselzwischenprodukt Arachidonsäure (AA) (C20:4, n-6). Arachidonsäure wird danach weiter verstoffwechselt zu Docosapentaensäure (C22:5, n-6) oder zu Eicosanoiden wie z. B. Prostaglandine der 2er Serie, Thromboxane der 2er Serie, Leukotriene der 4er Serie, Epoxyeicosatriensäure-Derivate, Hydroxyeicosatetraensäure-Derivate und Lipoxine (s. *Darst. 2 und 3*).

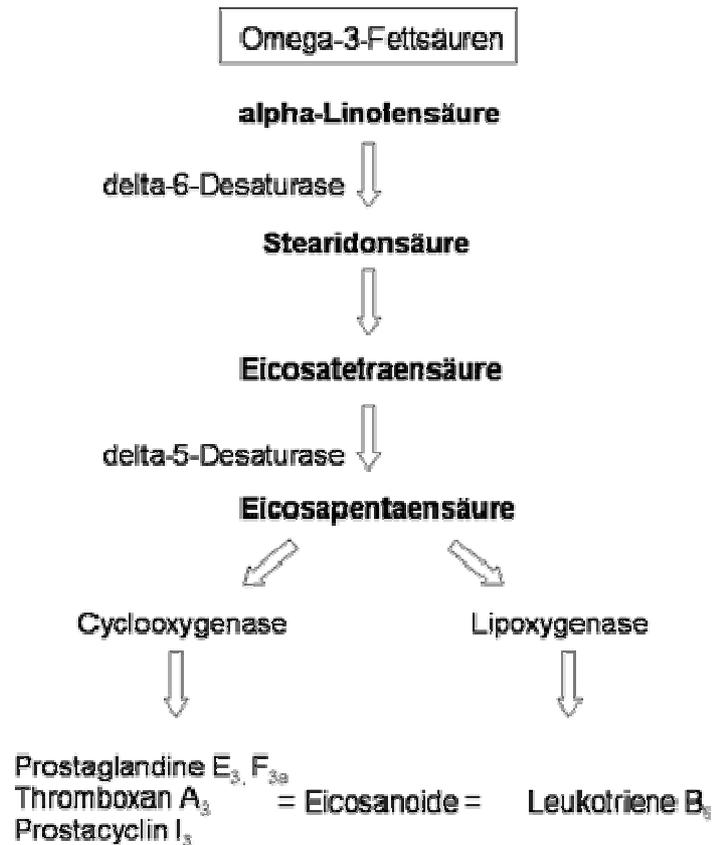


Quelle: http://www.vis.bayern.de/ernaehrung/ernaehrung/ernaehrung_krankheit/pic/omega6.gif

Darst. 3: Eicosanoide aus Omega-6 Fettsäuren

Die Omega-3 Fettsäure α -Linolensäure (C18:3, n-3) wird durch dieselben Enzyme, die auch die Linolsäure metabolisieren, umgebaut zu Stearidonsäure (C18:4, n-3) und Eicosatetraensäure (C20:4, n-3) bis zum Zwischenprodukt Eicosapentaensäure (EPA) (C20:5, n-3). EPA wird anschließend weiter modifiziert zu Docosahexaensäure (DHA) (C22:6, n-3) und Eicosanoiden, wie z. B. Prostaglandine der 3er Serie, Thromboxane der 3er Serie, Leukotriene der 5er Serie und Resolvine (s. *Darst. 2 und 4*).

1 Einleitung



Quelle: http://www.vis.bayern.de/ernaehrung/ernaehrung/ernaehrung_krankheit/pic/omega3.gif

Darst. 4: Eicosanoide aus Omega-3 Fettsäuren

Eicosanoide sind die Schlüsselprodukte, die aus den C-20 mehrfach ungesättigten Fettsäuren Arachidonsäure und EPA synthetisiert werden. Da die Zellmembranen im Körper vor allem Arachidonsäure enthalten und nur sehr wenig EPA, ist Arachidonsäure der Hauptausgangsstoff für die Eicosanoid Biosynthese.

Die Carboxylgruppen der Fettsäuren sind verestert mit den Hydroxylgruppen von Phospholipiden oder Glyceriden und sind in der veresterten Form Bestandteil der Phospholipid Doppelschicht der Zellmembranen. Sie können daraus durch das Enzym Phospholipase A₂ (PLA₂) wieder freigesetzt werden. Cyclooxygenasen und Lipoxygenasen katalysieren dann die Metabolisierung zu den einzelnen Eicosanoiden.

1.3 Die gegensätzlichen Effekte der von Omega-3 und Omega-6 Fettsäuren abgeleiteten Eicosanoide

Der Unterschied zwischen den aus Omega-3 Fettsäuren entstandenen Eicosanoiden und denen aus Omega-6 Fettsäuren besteht darin, dass die Mediatoren, die aus EPA und DHA gebildet werden, antiinflammatorisch wirken, während die aus AA gebildeten proinflammatorisch sind, oder andere krankheitsauslösende Effekte besitzen (vgl. *Darst. 5*). Prostazyklin (PGI₂) und Prostaglandin E₂, gebildet aus AA haben proarrhythmische Wirkung, während die aus EPA abgeleiteten Prostaglandine PGI₃ und PGE₃ antiarrhythmisch wirken. Im Entzündungsgeschehen besitzt PGE₂ sowohl entzündungshemmende als auch entzündungsfördernde Effekte. PGE₂ induziert die Bildung von COX-2 und steigert so, neben seiner eigenen, die Produktion des proinflammatorischen Cytokins IL-6 in Makrophagen.

	Arachidonic acid (n-6) derived messengers	←	→	EPA and DHA (n-3) derived messengers
		Physiological effects	Physiological effects	
Prostaglandins	PGD ₂ PGE ₂ PGF ₂ PGI ₂	Pro-arrhythmic Pro-arrhythmic	Anti-arrhythmic Anti-arrhythmic	PGD ₃ PGE ₃ PGF ₃ PGI ₃
Thromboxanes	TXA ₂ TXB ₂	Platelat activator Vasoconstriction	Platelat inhibitor Vasodilatation	TXA ₃ TXB ₃
Leukotrienes	LTA ₄ LTB ₄ LTC ₄ LTD ₄ LTE ₄	Pro-inflammatory	Anti-inflammatory	LTA ₅ LTB ₅ LTC ₅ LTD ₅ LTE ₅
Epoxyeicosatri-enoic derivatives	5,6-EET 8,9-EET 11,12-EET 14,15-EET	Inflammatory		
Hydroxyleicosatetra-enoic derivatives	5-HETE 12-HETE 15-HETE			
Lipoxins	LXA ₄			
Resolvins			Anti-inflammatory Anti-inflammatory	RVE1 RVD
Neuroprotectin			Anti-inflammatory	NPD1

Quelle: Schmitz, G., Ecker, J.: The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids, Progress in Lip Res, 2008 (47), S. 150

Darst. 5: n-3 and n-6 fatty acid derived messengers

1 Einleitung

Andererseits inhibiert PGE₂ das Enzym 5-Lipoxygenase und senkt dadurch die Bildung proinflammatorischer Leukotriene der 4er Serie. PGE₂ induziert außerdem die Bildung von 15-Lipoxygenase und dadurch die Produktion antientzündlicher Lipoxine.

LTB₄ (aus n-6) erhöht die Gefäßpermeabilität, wirkt stark chemotaktisch auf Leukozyten, induziert die Freisetzung lysosomaler Enzyme und beschleunigt die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies. Außerdem führt es zur Bildung inflammatorischer Cytokine wie z. B. TNF α , IL-1 und IL-6.¹

LTB₅ hingegen entsteht aus Omega-3 Fettsäuren und verhindert die Bildung des hoch entzündlichen LTB₄.¹

Die Resolvine der E-Serie, oxidative Derivate von EPA, üben entzündungshemmende Funktionen aus. Resolvin E1 vermindert das Entzündungsgeschehen durch Inaktivierung von NF κ B und verhindert damit die Entstehung inflammatorischer Cytokine und Chemokine. Die von DHA abgeleiteten Resolvine der D-Serie, Docosatriene und Neuroprotektine, wirken entzündungshemmend und –auflösend.¹

Da EPA, DHA und AA als Substrate um die Enzyme des Eicosanoid-Stoffwechsels konkurrieren, verringert die ergänzende Einnahme von Fischöl zusätzlich zur Standard Ernährung die Produktion von PGE₂^{2, 3, 4}, TXB₂³, LTB₄ und 5-HETE^{5, 6} und beschleunigt die Synthese von antiinflammatorischem LTB₅, LTE₅ und 5-Hydroxy-EPA in Entzündungszellen^{5, 6}.

Das Verhältnis von Omega-3 zu Omega-6 Fettsäuren in der Nahrung beeinflusst daher stark die Bildung der Gewebshormone. Die erhöhte Aufnahme von Omega-3 Fettsäuren führt zu einer verminderten Produktion inflammatorischer Eicosanoide aus AA, und einer gesteigerten Bildung von antientzündlichen Mediatoren aus Omega-3 Fettsäuren. Außerdem ist die Eicosanoidbildung insgesamt reduziert, weil EPA zwar an die Enzyme gebunden wird, wegen der sterischen Hinderung durch die zusätzliche Doppelbindung aber nur in geringerem Umfang metabolisiert werden kann.

¹ S. Schmitz, Gerd, Ecker, Josef, n-3 and n-6 fatty acids, 2008, S. 149

² S. Endres, S., Ghorbani, R., Kelley VE., et al., Supplementation with n-3 fatty acids, 1989, S. 265

³ S. Caughey, G. E., Mantzioris, E., Gibson, R. A., Cleland, L. G., James, M. J., Fish oil diet, 1996, S. 116

⁴ S. Trebble, T. M., Wootton, S. A., Miles, E. A., et al., Prostaglandin E2 production, 2003, S. 376

⁵ S. Lee, T. H., Hoover, R. L., Williams, J. D., et al., Dietary enrichment with EPA, 1985, S. 1219

⁶ S. Sperling, R. I., Benincaso, A. I., Knoell, C. T., et al., Omega-3 fatty acids inhibit chemotaxis, 1993, S. 651

1.4 Physiologische Funktionen der Omega-3 Fettsäuren und ihr therapeutisches Potential

Die langkettigen, mehrfach ungesättigten Omega-3 Fettsäuren EPA und DHA wirken antiarrhythmisch, entzündungshemmend, blutdrucksenkend und endothelprotektiv.¹ Sie besitzen in der Prävention und Therapie zahlreicher chronisch-degenerativer und entzündlicher Erkrankungen ein hohes therapeutisches Potential.² Nachfolgend sollen kurz die Funktionen der beiden Fettsäuren aufgezeigt werden.

DHA ist essentiell für die Entwicklung der Hirn- und Nervenzellen, sowie der Zellmembranen der Netzhaut.

Durch kompetitive Verdrängung der AA nehmen sie Einfluss auf den Eicosanoidstoffwechsel (s. 1.3): sie bewirken die Synthese antiinflammatorischer, anti-thrombogener, antichemotaktischer und vasodilatatorischer Prostanoiden und Leukotriene. Dadurch beeinflussen EPA und DHA auch die Blutrheologie, d. h. sie senken den Fibrinogenspiegel, sowie die Thrombozytenaggregation, erhöhen gleichzeitig die NO-Synthese (NO = Stickstoffmonoxid). Dies führt zu einer NO-vermittelten Gefäßrelaxation am Gefäßendothel, wo außerdem die Expression von Adhäsionsmolekülen (z. B. VCAM-1) reduziert wird, was zu einer verminderten Leukozytenadhäsion und –einwanderung ins Gewebe führt. Dadurch sinkt die Synthese proinflammatorischer Cytokine (z. B. TNF α , IL1), die Zellproliferation und die Freisetzung von PAF (Plättchen-aktivierender-Faktor). Es ergeben sich Einflüsse auf die Hämodynamik, d. h. der Blutdruck (diastolisch/ systolisch) sinkt, die renale Durchblutung nimmt zu, es kommt zu einer verbesserten Mikrozirkulation mit Abnahme der Blutviskosität und einer Zunahme der Blutrheologie.

Entscheidend ist der Einfluss der mehrfach ungesättigten Fettsäuren auf die Fluidität und Flexibilität der Membranen. Durch die große Zahl an ungesättigten Doppelbindungen in den beiden Fettsäuren EPA und DHA ergibt sich eine gewinkelte Struktur, die Anziehungskräfte zwischen den Molekülen sind schwächer und diese dadurch beweglicher. Als Bestandteil der Zellmembranen sind diese Fettsäuren in der

¹ S. Gröber, Uwe, Mikronährstoffe, 2006, S. 384

² S. Dupont, I., Carpentier, Y., Clinical use of lipid emulsions, 1999, S. 141

1 Einleitung

Lage membrangebundene Strukturen wie Ionenkanäle und Rezeptoren zu verändern. Auch Cholesterin, das die Fluidität und Flexibilität von Membranen herabsetzt, kann sich in DHA-reiche Membranbereiche schlechter einlagern.¹

Omega-3 Fettsäuren beeinflussen den Lipidstoffwechsel außerdem durch Senkung der non-HDL-Werte, der Triglycerid-Werte und VLDL-Werte, sowie durch Erhöhung der HDL-Werte. Therapeutisch genutzt werden bereits die kardioprotektiven Eigenschaften der beiden Omega-3 Fettsäuren. Aufgrund ihres anitarrhythmischen Potentials, wahrscheinlich durch ihre Einlagerung in das Endothel der Kardiomyozyten begründet, und ihrer blutdrucksenkenden Wirkung, werden sie in der Primär-, sowie Sekundärprävention der Koronaren Herzkrankheit (KHK) eingesetzt. Auch bei der Behandlung der Hypertriglyceridämie werden Omega-3 Fettsäuren zusätzlich zu diätetischen Maßnahmen oder in Kombination mit Statinen (HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren) eingesetzt.²

Die antientzündlichen Eigenschaften werden in der Therapie der Rheumatoiden Arthritis ausgenutzt: in einer Reihe von Studien haben Fischölpräparate mit einem hohen Gehalt an EPA eine günstige Wirkung auf klinische Parameter gezeigt, dazu gehört eine bessere Beweglichkeit der befallenen Gelenke, ein Rückgang der Morgensteifigkeit, sowie eine Abnahme der Entzündungsparameter.^{3, 4, 5}

Eine Substitution mit DHA in Schwangerschaft und Stillzeit bewirkt eine Senkung des Frühgeburtrisikos und fördert die Entwicklung des Gehirns und der geistigen Fähigkeiten in den letzten drei Schwangerschaftsmonaten und in den ersten Lebensmonaten.⁶

Neuere Untersuchungen haben auch eine antidepressive Wirkung der Omega-3 Fettsäuren gezeigt. Die Fettsäuren wirken offenbar direkt auf bestimmte Zentren im Gehirn, indem sie in die Neurotransmission zwischen den Nervenzellen eingreifen.⁷

¹ S. Stillwell, W., Wassall SR., DHA membrane properties, 2003, S. 9

² S. Yokoyama, M., Origasa, H., et al., Effects of EPA on major coronary events, 2007, S. 1090

³ S. Kolahi, S., Ghorbanihaghjo, A., et al., Fish oil in patients with rheumatoid arthritis, 2009

⁴ S. Berbert, A. A., Kondo, C. R., et al., Supplementation of fish oil, 2005, S. 131

⁵ S. Grünwald, J., Graubaum, H. J., Harde, A., Cod liver oil in rheumatoid arthritis, 2002, S. 101

⁶ S. Olsen, S. F., Secher, N. J., et al., Fish oil in high risk pregnancies, 2000, S. 382

⁷ S. Tiemeier, H., Ruud van Tuijl, H., et al., Plasma fatty acid composition and depression, 2003, S. 40

1.5 Postoperative Komplikationen in der kolorektalen Chirurgie

In früheren klinischen Studien konnte eine Komplikationsrate von 30 % für kolorektale Resektionen bei Krebspatienten gezeigt werden.¹ In ca. 82 % der Fälle handelte es sich um kleinere Komplikationen, in 18 % der Fälle sogar um schwere Komplikationen.²

Es kann unterschieden werden in infektiöse und nicht-infektiöse Komplikationen, wobei die Anastomoseninsuffizienz getrennt aufgeführt wird.^{1,2} Häufig auftretende infektiöse Komplikationen sind Atemwegsinfektionen, Wundinfektionen, Harnwegsinfektionen, Kolitis, Peritonitis, abdominaler Abszess, Bakteriämie und Sepsis. Zu den häufig zitierten nicht-infektiösen Komplikationen gehören Atemwegsinsuffizienz, Pleuraerguss, Kreislaufinsuffizienz, Blutung, das Aufplatzen der Wunde, Nieren- und Leberfunktionsstörung, sowie Thrombosen der tiefen Beinvenen (TVT). Verschiedene Arbeitsgruppen konnten zeigen, dass durch die präoperative Gabe von Immunonutrition, d. h. einer Ernährung angereichert mit Arginin, Omega-3 Fettsäuren und RNS-Nukleotiden, die Komplikationsrate gesenkt und auch die Dauer des postoperativen Krankenhausaufenthalts reduziert werden konnte.^{1, 2, 3} Durch diese Ernährung konnte die Entzündungsreaktion der Patienten kontrolliert werden, die Synthese von Akut-Phase-Proteinen moduliert, die Sauerstoffversorgung und die Barrierefunktion des Darms verbessert werden.³

Die Art der Nahrungszufuhr beeinflusst signifikant das Komplikationsrisiko. Unter parenteraler Ernährung (TPN) kam es häufiger zu Komplikationen als unter enteraler Ernährung. Unter immunstimulierender enteraler Nahrung gab es die wenigsten Komplikationen.³ Keinen Einfluss auf die Komplikationsrate haben die Faktoren Geschlecht, Hämoglobin-Wert und Lymphozytenzahl. Pankreaschirurgie, fortgeschrittenes Alter, Gewichtsverlust und niedriges Serumalbumin als Parameter für den Ernährungszustand des Patienten, haben sich als unabhängige Risikofaktoren für das Auftreten von Komplikationen erwiesen.² Gewichtsverlust und Art der Ernährung

¹S. Braga, M., Gianotti, L., et al., Outcome after colorectal resection for cancer, 2002, S. 805

² S. Bozzetti, F., Gianotti, L., Braga, M., et al., Postoperative complications, 2007, S. 700

³ S. Gianotti, L., Braga, M., et al., Preoperative oral supplementation, 2002, S. 1766

sind korreliert mit infektiösen Komplikationen, wohingegen Blutverlust und OP-Dauer nur mit nicht-infektiösen Komplikationen korrelieren.¹

Die internen Kennzahlen des Darmzentrums Dachau aus dem Jahr 2007 zu postoperativer Mortalität bzw. Morbidität bei der radikalchirurgischen Therapie des Kolon- und Rektumkarzinoms zeigen, dass in 4,0 % der 81 Fälle eine Revisionsoperation aufgrund von intra- bzw. postoperativen Komplikationen (in der eigenen Einrichtung) nötig war. In 4,9 % der Fälle kam es zu postoperativen Wundinfektionen und in 3,0 % der Fälle zu Anastomoseninsuffizienzen. Die postoperative Mortalität jedoch betrug 0 %.

1.6 Klinischer Hintergrund und Ziel der Arbeit

Verschiedene Studien weisen darauf hin, dass die präoperative Supplementierung mit Omega-3-Fettsäuren das Risiko postoperativer Komplikationen durch eine Modulation der Immunantwort vermindern kann. Durch die Gabe von Omega-3-Fettsäuren aus Fischöl werden bevorzugt Prostaglandine der 3-er Serie und Leukotriene der 5-er Serie gebildet, anstatt Prostaglandine der 2-er, und Leukotriene der 4-er Serie.² Diese Veränderung im Eicosanoid-Muster ist verbunden mit einer erhöhten Immunkompetenz und einer abgemilderten Entzündungsreaktion bei Gewebeschädigung³, sowie einer geringeren Rate an Wundinfektionen.⁴

Die eindeutige Interpretation dieser Studien wird jedoch erschwert durch die Unterschiede in der Art der Applikation (oral vs. parenteral), durch die unterschiedlichen Zeiten der Intervention (präoperativ vs. postoperativ), durch das stark unterschiedliche Patientenkollektiv (unterernährte Krebspatienten vs. Gemischtchirurgische Patienten) und auch wegen der Verwendung von Immunonutrition,

¹ S. Bozzetti, F., Gianotti, L., Braga, M., et al., Postoperative complications, 2007, S. 704

² S. Köller, M., Senkal, M., et al., Impact of omega-3 fatty acids, 2003, S. 59

³ S. Braga, M., Gianotti, L., et al., Nutrition after abdominal surgery, 1998, S. 27

⁴ S. Tsekos, E., Reuter, C., et al., Perioperative administration of parenteral fish oil, 2004, S. 327

1 Einleitung

bestehend aus Omega-3-Fettsäuren, Arginin und RNS-Nukleotiden, vs. der Anwendung von reinen Omega-3 Fettsäuren aus Fischöl.

Die biologischen Effekte von Fischöl beruhen auf ihrem Gehalt an Omega-3-Fettsäuren, welche in die Zellmembranen eingebaut werden¹ und dort die Funktion von Rezeptoren, die Aktivität von Enzymen und, wie oben beschrieben, die Produktion von Lipidmediatoren beeinflussen können.

Die Zellen des Immunsystems verüben ihre Funktion anhand membranassoziierter Vorgänge, wie z. B. die Sekretion von Cytokinen, Antikörpern und die Lymphozytentransformation. Diese Funktionen können durch Veränderung der Membranstruktur betroffen sein.

Viele Studien betrachten neben dem aussagekräftigen Effektparameter der postoperativen infektiösen Komplikation, lediglich Surrogatparameter wie z. B. verschiedene Interleukine oder Leukotriene und ihr Verhältnis zueinander, wodurch kein eindeutiger klinischer Effekt abgeleitet werden kann.

Das Fast-Track-Konzept in der Kolonchirurgie sieht einen möglichst kurzen stationären Aufenthalt nach der Operation vor. Durch die chirurgische Frührehabilitation sollen physiologische Parameter verbessert und Komplikationen vermindert werden. Das Behandlungskonzept setzt sich zusammen aus einzelnen operativen und konservativen Therapiemaßnahmen, die sich in kontrollierten, randomisierten Studien als erfolgreich erwiesen haben.^{2, 3} In der vorliegenden Arbeit soll nun diskutiert werden, ob sich die präoperative Einnahme von Omega-3-Fettsäuren als therapeutische Maßnahme positiv auf das Auftreten und die Häufigkeit von postoperativen infektiösen und nicht-infektiösen Komplikationen auswirkt. Denn jede Maßnahme, die zur schnelleren Regeneration beiträgt, verbessert nicht nur die Situation des einzelnen Patienten, sondern ist seit Einführung der *Diagnosis Related Groups* (DRGs; Fallpauschalensystem) in die Vergütung der Krankenhausfälle auch wirtschaftlich vorteilhaft für das behandelnde Klinikum.

¹ S. Senkal, M., Haaker, R., et al., Phospholipid fatty acid patterns, 2005, S. 236

² S. Schwenk, W., et al., Beschleunigte Frührehabilitation, 2005, S. A1514-1521

³ S. Ritz, J.-P., Buhr, H.J., Fast-Track in der Abdominalchirurgie, Chirurgische Klinik und Poliklinik I, Carité Universitätsmedizin Berlin

1 Einleitung

In Studien konnte gezeigt werden, dass die Komplikationsrate von 20 – 30 % auf unter 10 % gesenkt werden kann und auch die Krankenhausverweildauer im Median statt 15 Tage nur mehr durchschnittlich 5 - 7 Tage betrug.^{1, 2, 3} Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte klinische Untersuchung vergleicht daher auch die Länge des Krankenhausaufenthaltes, sowie die Tage auf der Intensivstation zwischen Patienten, die mit Omega-3-Fettsäuren behandelt wurden und Kontrollpersonen.

Senkal et al. konnten in ihren Arbeiten bereits zeigen, dass präoperativ oral supplementierte, langkettige Omega-3-Fettsäuren (EPA und DHA) in verschiedene Körpergewebe, u. a. auch in die Darmmukosa eingebaut werden und zu einer Veränderung bei der Leukotriensynthese führen: es werden weniger proinflammatorische Leukotriene und Interleukine gebildet, zugunsten biologisch weniger aktiver Typen.^{4, 5} Das könnte die postoperative Entzündungsreaktion und die Wundheilung positiv beeinflussen. Außerdem haben Braga et al. in einer ihrer Arbeiten beobachtet, dass die präoperative Gabe von Immunonutrition zu einer signifikanten Verbesserung des Immunstatus führt, zu einer verbesserten Durchblutung und damit Oxygenierung des Darms, dass aber die postoperative Verlängerung der Supplementierung keinen zusätzlichen Effekt hatte.⁶

Ziel der Arbeit war es daher festzustellen, ob durch die präoperative orale Einnahme von Omega-3 Fettsäuren aus Fischöl vor Kolon- oder Rektumresektionen, postoperative infektiöse, sowie nicht-infektiöse Komplikationen vermindert werden können und ob durch die Konditionierung des Darms mit EPA und DHA die Wundheilung positiv beeinflusst werden kann (vgl. auch 6. Studienrationale, Studienprotokoll im Anhang).

¹ S. Ferreras, N., Artigas, V., et al., Immunonutrition in surgical patients, 2005, S. 61

² S. Helminen, H., Raitanen, M., Kelloso, J., Immunonutrition, 2007, S. 46

³ S. Klek, S., Kulig, J., et al. Infectious complications, 2008, S. 212

⁴ S. Senkal, M., Haaker, R., et al., Phospholipid fatty acid patterns, 2005, S. 236

⁵ S. Senkal, M., et al., Phospholipid pattern, 2007, S. 12

⁶ S. Braga, M., Gianotti, L., et al., Preoperative oral n-3 fatty acids and outcome, 2002, S. 813

2 Allgemeine ethische und rechtliche Rahmenbedingungen

Alle im Rahmen dieser Arbeit verwendeten menschlichen Gewebe wurden während Kolon- oder Rektumresektionen aufgrund einer Krebserkrankung oder Divertikulose entnommen, mit der schriftlichen Einverständniserklärung der Patienten.

Alle Patienten wurden im Rahmen der Aufklärung über den Ablauf und die Risiken der Operation darüber informiert, dass neben den kranken Gewebeteilen auch gesunde entfernt werden müssen, um ausreichende Sicherheitsabstände zwischen krankem und gesundem Gewebe einhalten zu können, und dass überschüssiges Gewebe, das für die pathologische Untersuchung nicht benötigt wird, der Forschung zugeführt werden sollte. Die Operation wurde dadurch in keiner Weise beeinträchtigt, insbesondere verlängerte sich dadurch nicht die Dauer und das Ausmaß des Eingriffs. Die Patienten wurden darauf hingewiesen, dass die Zustimmung auf Freiwilligkeit beruhte und ohne irgendwelche Nachteile für die bevorstehende Operation und weitere medizinische Versorgung auch abgelehnt werden konnte. Im Anschluss an das Gespräch mit dem Arzt unterzeichneten die Patienten gegebenenfalls eine entsprechende Einverständniserklärung (s. Anhang).

Die Planung und Durchführung der Pilotstudie am Menschen wurde in einem Versuchsprotokoll (s. Anhang) niedergelegt. Beim Einschluss der Patienten wurden diese über die Ziele, Methoden und erwarteten Nutzen und Risiken des Versuches anhand einer schriftlichen Patienteninformation (s. Anhang) aufgeklärt. Die Versuchspersonen wurden darauf hingewiesen, dass sie das Recht haben, die Teilnahme zu verweigern oder eine einmal gegebene Einwilligung jederzeit zu widerrufen, ohne dass ihnen irgendwelche Nachteile entstehen. Von jedem teilnehmenden Patienten wurde die freiwillige, schriftliche Einwilligung nach Aufklärung („*informed consent*“) eingeholt.

3 Material und Methoden

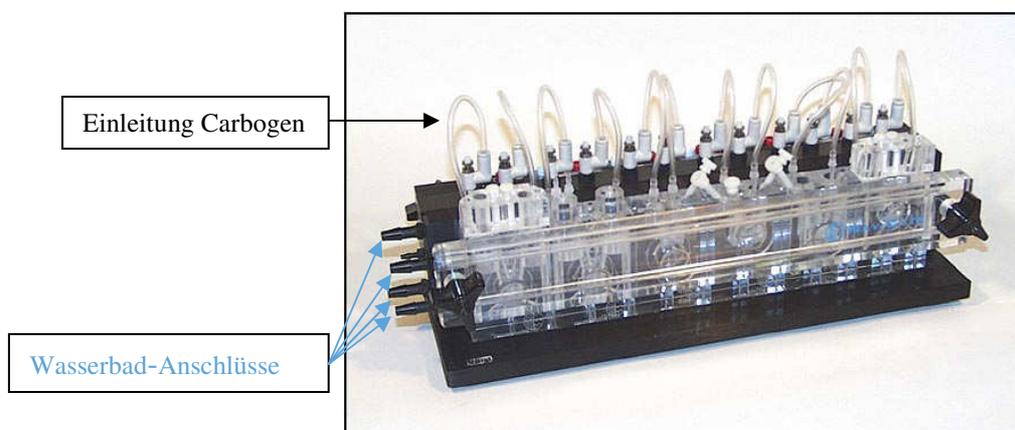
3.1 *In vitro* Versuche

3.1.1 Ussing-Kammer

3.1.1.1 Vorbereitung der Kammern

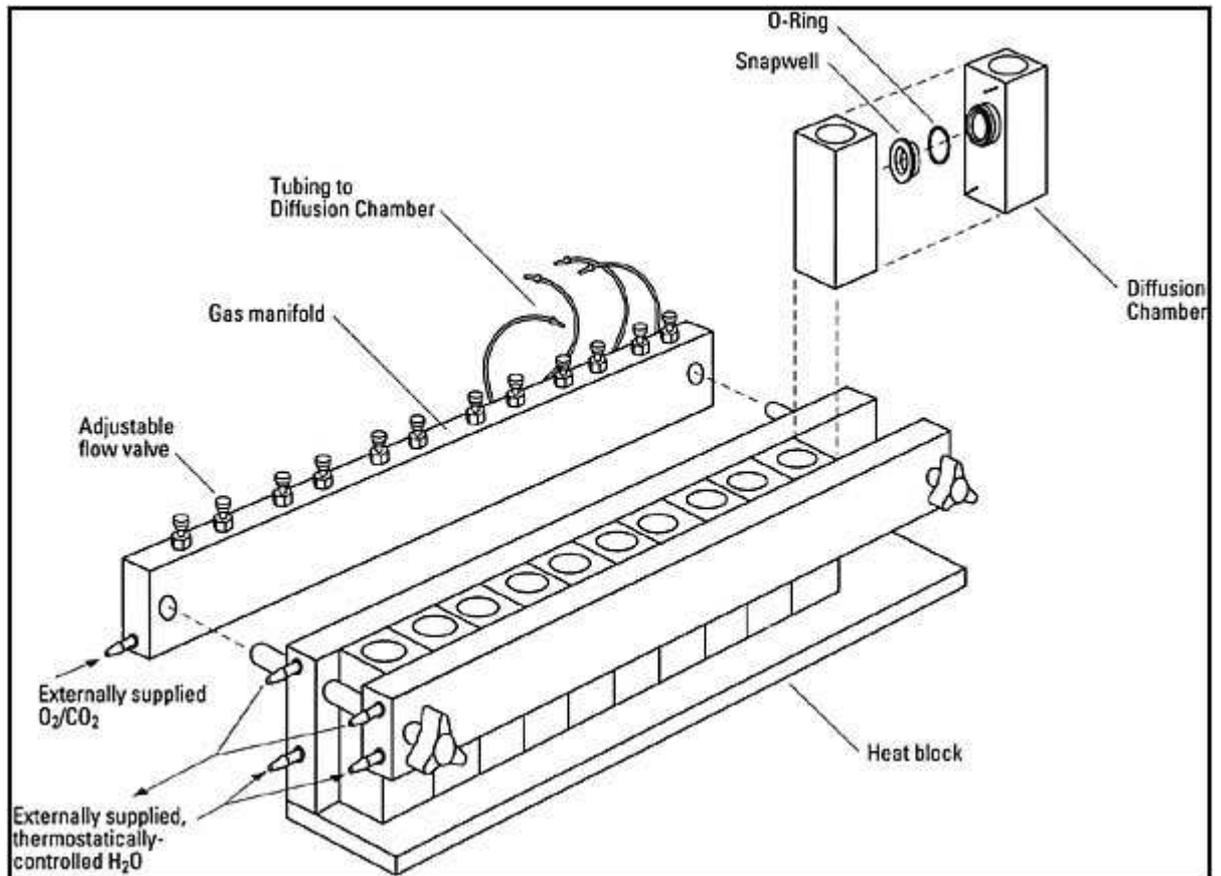
Bei der *Ussing*-Kammer handelt es sich um eine vertikale Diffusionskammer (vgl. *Darst. 6*). Eine solche Kammer besteht aus zwei Halbzellen, die zusammengespannt werden, mit einer ovalen Öffnung zwischen den beiden Halbzellen, dort wo das chirurgisch entfernte Gewebe (hier: Darmmukosa) eingespannt wird. Der für dieses Experiment verwendete Versuchsaufbau bestand aus sechs einzelnen Diffusionskammern, die in einen Heizblock eingespannt wurden und deren Kammerhälften einzeln mit Carbogen begast werden können.

Der Heizblock wurde an ein zirkulierendes Wasserbad angeschlossen, das auf 37°C vorgewärmt wurde. Das *in vitro* Experiment diente zum Nachweis der Aufnahme der Omega-3 Fettsäuren aus dem Darmlumen über die Darmmukosa auf die basolaterale Seite (s. *Darst. 6* und *7*).



Graphik: Warner Instruments (mit eigener Beschriftung)

Darst. 6: Ussing Kammer



Graphik: Warner Instruments

Darst. 7: Aufbau Ussing Kammer und Apparatur (6 Ussing-Kammern)

Für diesen Versuch musste zunächst das chirurgisch entfernte Kolongewebe so präpariert werden, dass die Mukosaschicht von den darunterliegenden Muskelschichten (*Tunica muscularis propria*) abgetrennt wurde (s. Darst. 8).

Das Darmstück wurde direkt im Operationssaal in 2-8°C kalte Viaspan®-Pufferlösung (Fa. Bristol Myers Squibb GmbH & CoKG; M087302/00) gegeben und in der Kühlbox zum Labor transportiert. Von der Entnahme des Gewebes bis zum Beginn der Präparation dauerte es ca. 60 Minuten.

Im Labor wurde das Darmstück in Krebs-Ringer-Bicarbonat-Puffer pH = 7,4 mit Calciumchlorid 1mM und HEPES 10mM (KRB-Puffer; Fa. Sigma-Aldrich, Art.-Nr. K4002) kurz gewaschen und das anhängende Fettgewebe entfernt. Anschließend wurde das Gewebe längs aufgeschnitten und mit der Mukosaseite nach unten auf eine Styroporplatte aufgespannt, die mit Pufferlösung übergossen war. Das Gewebe wurde dann nur an der Mukosa mit Gewebenadeln befestigt, die obere Muskelschicht wurde

3 Material und Methoden

mit einer Pinzette angehoben und die elastischen Sehnen zwischen Muskel und Mukosa, bzw. Submukosa mit einer Schere durchtrennt (vgl. *Darst. 8*). Sobald die *Tunica muscularis* komplett entfernt war, wurde die Mukosa in sechs Stücke geschnitten und diese in den Diffusionskammern aufgespannt.



Quelle: Dr. J. Müller, Daiichi-Sankyo Europe

Darst. 8: Präparation der Darmmukosa

Die Diffusionskammern wurden zum Aufbringen der Darmmukosastücke in die Halbzellen zerlegt und das Gewebe auf Nadeln seitlich der Öffnung zwischen den Zellen aufgespannt. Die Mukosa wurde so aufgebracht, dass die Öffnung komplett bedeckt war und anschließend so abgeschnitten, dass kein Gewebe über den Rand der Kammer hinaus ragte. Dann wurden die beiden Hälften der Kammer zusammengespannt und in den auf 37°C temperierten Heizblock gestellt. In beide Seiten wurden 5ml Pufferlösung pH = 7,4 (KRB-Puffer mit Calciumchlorid 1mM und HEPES 10mM) eingefüllt und jede Hälfte an das Gasrohr angeschlossen. Begast wurde mit Carbogen, einem Gasmisch aus 95 % Sauerstoff und 5 % Kohlenstoffdioxid, um das Gewebe mit Sauerstoff zu versorgen und somit die Vitalität zu gewährleisten. Nach zwanzig Minuten wurden die Kammern geleert und noch einmal mit 5ml vorgewärmter Pufferlösung gewaschen. Ab jetzt wurde darauf geachtet, dass auf die Lumenseite der aufgespannten Mukosa, KRB-Puffer pH = 7,4 ohne BSA (*Bovine Serum Albumin*) pipettiert wurde, auf die basolaterale Seite („Blutseite“), die die Empfängerseite (= *Receiverseite*) darstellte, jedoch KRB-Puffer pH = 7,4 mit 1% BSA versetzt. BSA wurde zuvor dem Puffer zugesetzt, damit die radioaktiv-markierte Prüfsubstanz nach

dem Durchtritt durch die Mukosa sich nicht an die Plastikwand der Diffusionskammer adsorbierte, sondern an das Protein und somit nachweisbar blieb. Nach insgesamt vierzig minütigem Spülen der Kammern mit Puffer wurde dann die Probenlösung aufgegeben.

3.1.1.2 Aufnahme von ^{14}C -EPA und ^{14}C -DHA

Für diesen Versuch wurde die Kammer wie unter 3.1.1.1 beschrieben vorbereitet. Als Probenlösung wurde eine $1,8\mu\text{M}$ Lösung von ^{14}C -Docosahexaensäure (^{14}C -DHA; Fa. Biotrend; ARC-0380-10) bzw. ^{14}C -Eicosapentaensäure (^{14}C -EPA; Fa. Biotrend; ARC-0342-10) in Pufferlösung ohne BSA und als Kontrollen $1,8\mu\text{M}$ ^{14}C -Mannitol (Fa. Perkin Elmer; NEC314050UC) und $1,8\mu\text{M}$ ^{14}C -Iodoantipyrin (Fa. Perkin Elmer; NEC712250UC) verwendet. Die Probenlösungen wurden zuerst mit einem Flüssigszintillations-Spektrometer (LSC) (Fa. Perkin Elmer; Tri-Carb 2900TR) vermessen (Aliquote von $100\mu\text{l}$), damit später anhand der gemessenen Radioaktivität in der *Receiver*lösung auf die darin enthaltene Konzentration in Mol rückgerechnet werden konnte. Die einzelnen Kammern wurden nacheinander befüllt: zunächst 5 ml Pufferlösung mit 1 % BSA in die *Receiver*-Hälfte, dann 5 ml der vorbereiteten Probenlösung in die Donorseite, danach die nächste Kammer in gleicher Reihenfolge (s. *Darst. 9*).

Die Absorptionsgeschwindigkeit der Substanzen über die Darmmukosa wurde mit folgender Formel abgeschätzt:¹

$$P_{\text{app}} = \frac{dQ}{dt \cdot A \cdot c_0}$$

P_{app} = *Apparent Permeability* [cm/s], Maß für Absorptionsgeschwindigkeit

dQ/dt = die pro Zeiteinheit t aufgenommene Menge an Substanz

A = Fläche der Darmmukosa, über die der Substanztransport stattfindet (*exposed area*)

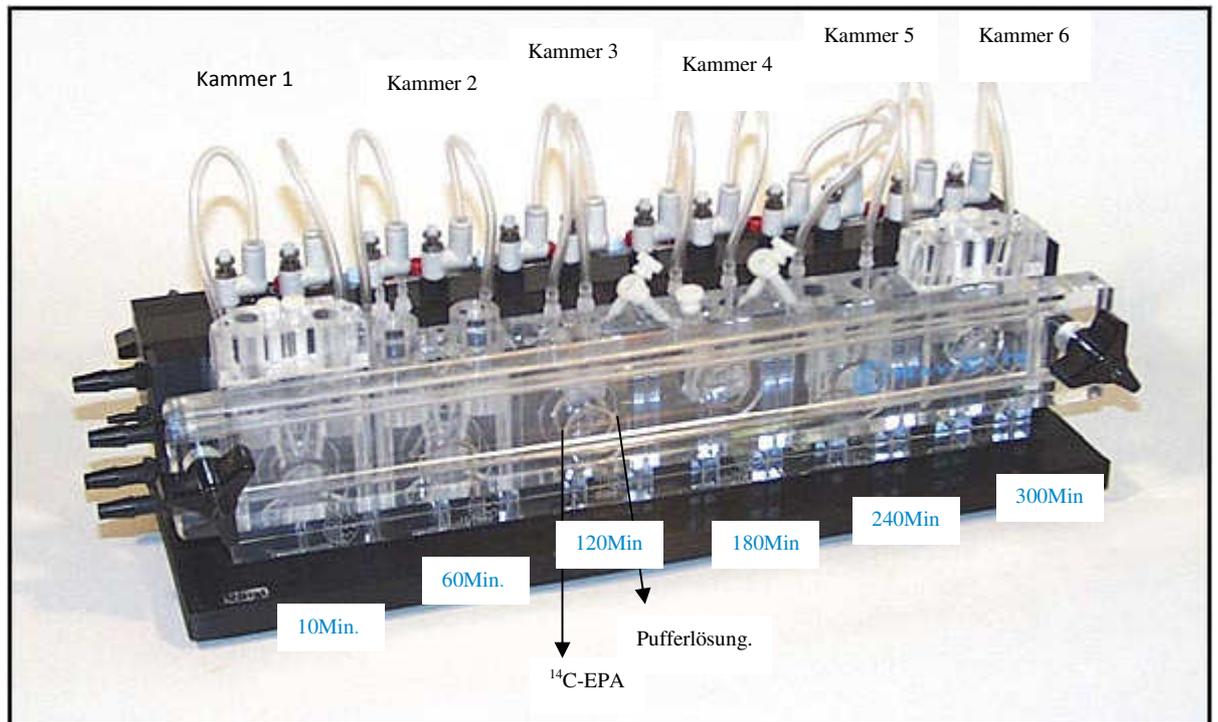
c_0 = Donorkonzentration der Probensubstanz zum Zeitpunkt 0

3.1.1.3 Gewebeanreicherung von ¹⁴C-EPA und ¹⁴C-DHA

Für die Messung der Gewebeanreicherung von ¹⁴C-EPA und ¹⁴C-DHA wurden die Kammern analog 3.1.1.1 vorbereitet. Es wurden parallel 12 Kammern vorbereitet: in 6 davon (Kammern 1 – 6) wurde nach dem 40-minütigen Spülen als Probenlösung vorgewärmte 1,8µM ¹⁴C-EPA in Pufferlösung (5 ml) gegeben, in die zweite Apparatur mit weiteren 6 Kammern (Kammern 7 – 12) wurde 1,8µM ¹⁴C-DHA-Lösung (37°C) eingefüllt. Die *Receiverseite* aller 12 Kammern wurde mit jeweils 5 ml vorgewärmtem KRB-Puffer befüllt (Befüllung der einzelnen Kammern analog *Darst. 9*; Versuchsaufbau s. *Darst. 10*).

Anstatt der Probenahme aus der *Receiverhalbzelle* nach definierten Zeitpunkten wurde hier jeweils eine gesamte Kammer aus dem System entfernt, d. h. bereits nach 10 Minuten wurden die Kammern 1 und 7 entleert, die Gewebe entnommen und getrennt voneinander in Pufferlösung gewaschen. Nach 60 Minuten wurden die nächsten Kammern (Kammern 2 und 8) geleert, die weiteren folgten nach 120 Minuten (Kammern 3 und 9), 180 Minuten (Kammern 4 und 10), 240 Minuten (Kammern 5 und 11), und die beiden letzten (Kammern 6 und 12) nach 300 Minuten. Nach Auflösung der Mukosa in 1 ml Solvable™ (Lagerung im Inkubator bei 37°C für ca. 2 Tage) wurde der Gehalt an ¹⁴C-EPA, bzw. ¹⁴C-DHA (DPM) in der verbleibenden Lösung mit dem LSC gemessen.

¹ S. Boisset, M., Botham, R., et al., Absorption in Ussing chambers, 2000, S. 217



Graphik: Warner Instruments (mit eigener Beschriftung)

Darst. 10: Apparatur 1 zur Messung der Gewebeanreicherung von ^{14}C -EPA

3.1.2 Zellkultur aus Kolonepithelzellen

3.1.2.1 Isolierung der IECs (intestinal epithelial cells)

Für weitere *in vitro* Untersuchungen zur Resorption von Omega-3 Fettsäuren und ihren Auswirkungen auf und in den Zellen, z. B. auf die Wundheilung, wurden Primärkulturen aus Kolonepithelzellen verwendet.

In der Literatur waren bereits einige Verfahren zur Isolierung und Kultivierung von intestinalen Epithelzellen (IEC) aus menschlichem Darmgewebe (*ex-vivo*) beschrieben,^{1, 2, 3, 4} aber keine der Methoden hatte sich als Standardverfahren durchsetzen können. Die Kultivierung von IEC ist erschwert durch die Kurzlebigkeit der Epithelzellen.

¹ S. Perreault, N., Beaulieu, J.-F., Primary cultures of human intestinal epithelial cells, 1998, S. 34-42

² S. Simon-Assmann, P., Turck, N., et al., Models of epithelial cell differentiation, 2007, S. 244

³ S. Fonti, R., Latella, G., et al., Human colonocytes in primary culture, 1994, S. 13-22

⁴ S. Baten, A., Sakamoto, K., et al., Long-term culture of human colonic epithelial cells, 1992, S. 2727

Besonders bei Verlust des Zell-Zell- oder Zell-Matrix-Kontakts gehen die Kolonocyten in Apoptose.

Das nachfolgende Protokoll orientiert sich an einem Isolierungsverfahren, das an der Universitätsklinik Regensburg unter der Leitung von Dr. med. J. Grossmann und Mitarbeitern entwickelt wurde.¹

Für die Isolierung wurde humanes Kolongewebe ($5 \times 10 \text{ cm}^2$) verwendet, das bei chirurgischer Resektion von Karzinompatienten entnommen wurde. Das Gewebestück wurde direkt im Operationssaal in 2-8°C kalte Viaspan®-Pufferlösung gegeben und in der Kühlbox zum Labor transportiert. Von der Entnahme des Gewebes bis zum Beginn der Isolierung dauerte es ca. 60 Minuten.

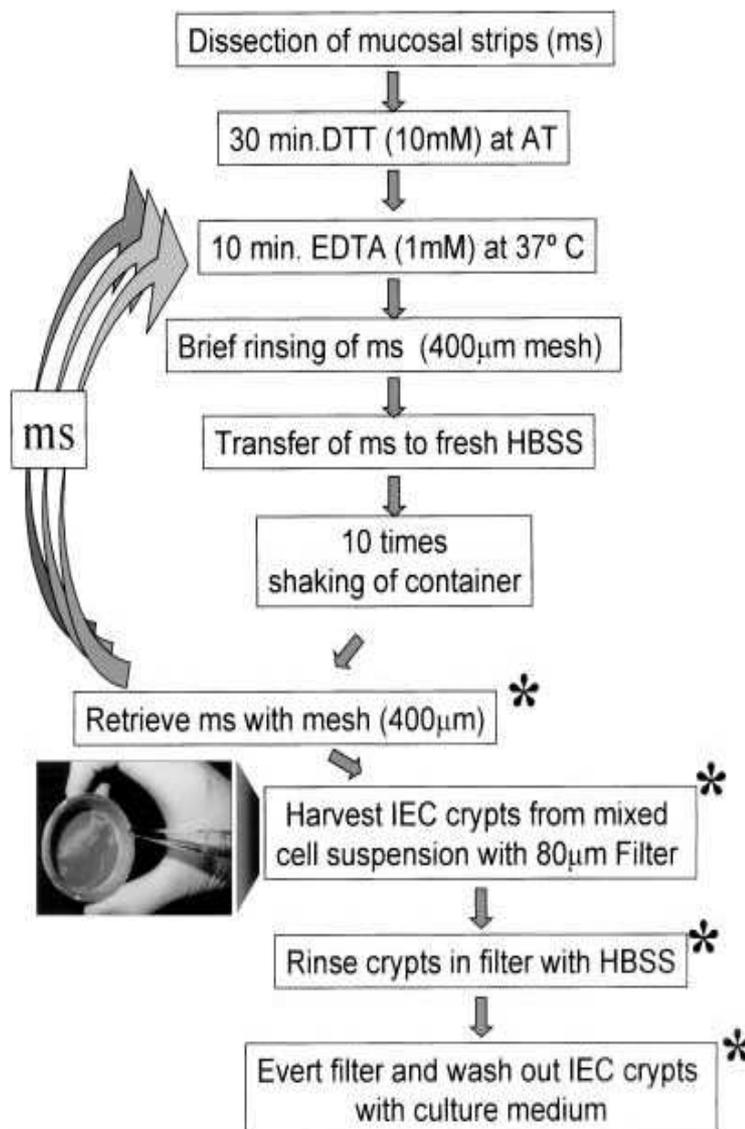
Nach der Entfernung von Verunreinigungen und Stuhlresten durch mehrmaliges waschen mit *Phosphate-buffered saline* (PBS; Fa. Gibco; 70011), wurde die Mukosa in schmalen Streifen ($3 \times 20 \text{ mm}^2$) von der darunter liegenden Muskelschicht abgetrennt.

Die so gewonnenen Mukosastreifen wurden zur Mukus-Entfernung 30 Minuten bei Raumtemperatur in 10mM DTT (1,4-Dithio-DL-threitol; Fa. Fluka; 43817) in 100 ml *Hank's buffered salt solution* (HBSS 1x; Fa. Sigma-Aldrich; Art.-Nr. H9394) inkubiert. Danach wurden die Streifen erneut mit PBS gewaschen um Reste des DTTs zu entfernen, anschließend in vorgewärmte 1mM Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)-Lösung pH = 8,2 überführt und 10 Minuten bei 37°C gerührt. Dies führte zur Ablösung der IEC als vollständige Krypten. Die Mukosastreifen wurden durch Abgießen über ein Sieb (ca. 400 µm Maschenweite) abgetrennt, kurz mit vorgewärmtem HBSS gespült und sofort in ein 50 ml Falcon-Tube mit eisgekühltem HBSS überführt. Zur Abtrennung der Krypten in die Lösung, musste mehrmals hintereinander kurz und kräftig geschüttelt werden. Diese erste gewonnene Fraktion wurde sofort auf Eis gestellt. Die Mukosastreifen wurden noch mindestens zwei weitere Male in 1mM EDTA-Lösung inkubiert und ebenfalls mit HBSS ausgeschüttelt. Die einzelnen Fraktionen wurden vereinigt, wobei die erste, durch Zellbruchstücke verunreinigte, stets verworfen wurde, und zur Reinigung der Krypten von einzelnen Zellen, wie z. B. Erythrozyten, Leukozyten oder Fibroblasten, durch ein 80 µm Zellsieb gegeben. Die Einzelzellen können dabei das Sieb ungehindert passieren, während die Krypten zurückgehalten werden und mit Zellkulturmedium durch Umdrehen des Siebs zurückgespült werden

¹ S. Grossmann, J., et al., Ex-vivo culture of highly purified human intestinal cells, 2003, S. 262-270

können. Verwendet wurde das Zellkulturmedium Keratinocyte SFM unter Zusatz von BPE (*Bovine Pituitary Extract*) und EGF (*Epidermal Growth Factor*; Kit Fa. Gibco; 17005075), 10µM GDNF (*Glial Derived Neurotrophic Factor*; Fa. Chemicon; GF030) und Antibiotika (100.000 I.E./l Penicillin, 0,2mM Streptomycin, 0,1mM Gentamicin, 1µM Amphotericin B, 25µM Ciprofloxacin).

Die gereinigte Zellsuspension wurde sofort auf Kollagen I beschichtete 12-well-Kulturplatten ausplattiert (1 – 1,5 ml/ well). Bereits nach 3 bis 4 Stunden wurde der erste Medienwechsel durchgeführt.



Quelle: Grossmann, J., et al., Progress on isolation and short-term ex-vivo culture of highly purified non-apoptotic human intestinal cells (IEC) ; EJC 2003 (82); S. 262

Darst. 11: Isolierung der IECs

3.1.2.2 WST-8 Test und CYP450-Aktivität

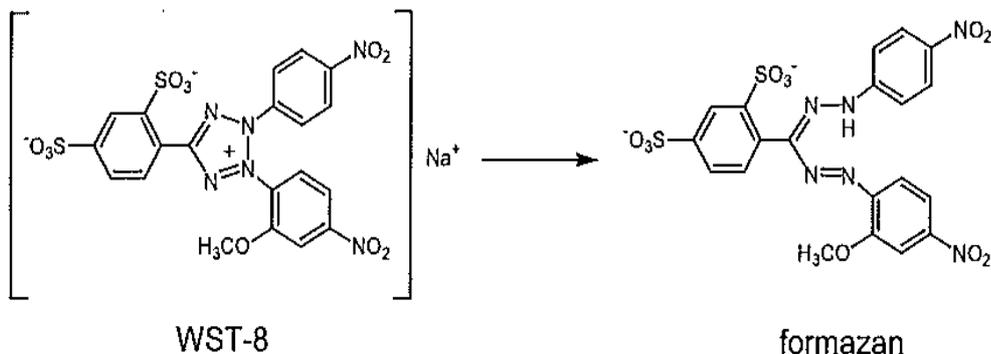
Der WST-8-Test diente zur Bestimmung der Vitalität der Zellen. Bei diesem Test wurde ein wasserlösliches farbloses Tetrazolium Salz (2-(2-Methoxy-4-Nitrophenyl)-3-(4-Nitrophenyl)-5-(2,4-Disulfophenyl)-2*H*-Tetrazolium Mononatrium Salz) von Dehydrogenasen in den Mitochondrien der Zellen zu orange-farbenem Formazan reduziert, das im Zellkulturmedium gelöst vorlag (vgl. *Darst. 12* und *13*). Die Menge an gebildetem Formazan war direkt proportional zur Anzahl lebender Zellen.

Die Farbintensität wurde photometrisch bestimmt, durch Messung der Absorption bei einer Wellenlänge von 460 nm. Je höher die Absorption, umso besser war die Vitalität der Zellkultur.

Etwa 8 bis 10 Stunden nach dem Ausplattieren der Kolonepithelzellen wurde die Zellkultur zweimal mit vorgewärmtem William's E Zellkulturmedium (Fa. Gibco; 32551) gespült und anschließend wurden pro well 500 µl der vorgewärmten, vorbereiteten WST-8-Mischung hinzu pipettiert.

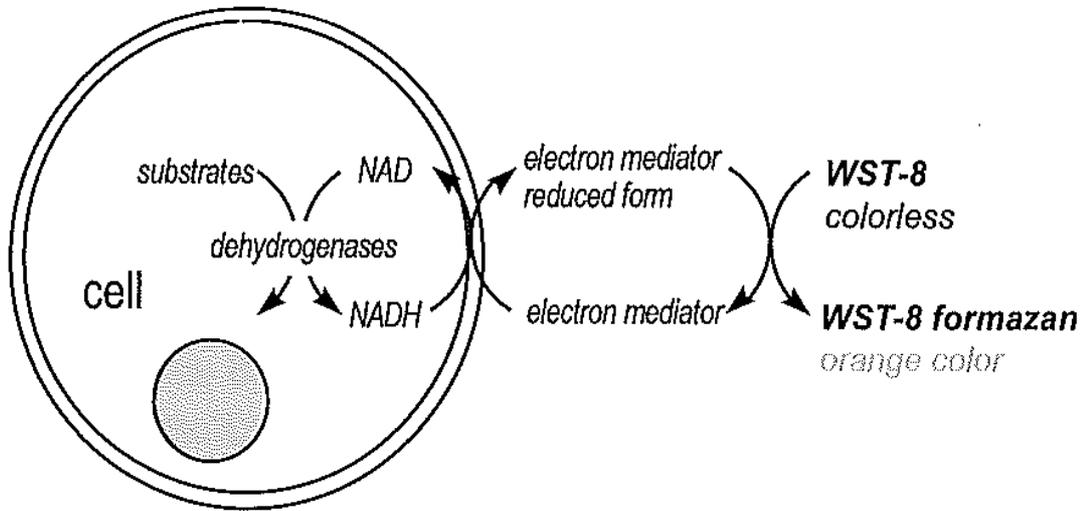
Die WST-8-Mischung bestand aus 15 ml William's E Zellkulturmedium gemischt mit 1,5 ml WST-8-Lösung (Cell Counting Kit-8; Fa. Dojindo Laboratories; CK04).

Nach dem Aufbringen der WST-8-Mischung auf die Zellen wurden die Platten 3 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde die Absorption mit dem Platerreader Fluostar Galaxy V4.31 (Fa. BMG Labtech) gemessen.



Quelle: Technical Manual for CCK-8 (Dec. 18, 2007); Fa. Dojindo Laboratories; Japan

Darst. 12: Strukturformeln von WST-8 und Formazan



Quelle: Technical Manual for CCK-8 (Dec. 18, 2007); Fa. Dojindo Laboratories; Japan

Darst. 13: Das Prinzip der Zellvitalitätsbestimmung anhand des WST-8 Tests

Durch die Messung der CYP450-Aktivität der Zellkultur lassen sich Aussagen über deren Funktionsfähigkeit treffen. Zur Bestimmung der CYP450-Aktivität wurde die Umsetzung von Testosteron (TST) in Hydroxytestosteron quantitativ gemessen.

Pro well wurden 500 µl Testosteron-Lösung (0,25mM) benötigt, d. h. für zwei Platten wurden 12 ml benötigt, mit Zugabe aber insgesamt 15 ml vorbereitet. Zu 15 ml vorgewärmtem William's E Medium wurden 150 µl TST 25mM pipettiert und gevortext. Von den Zellkulturplatten wurde das Medium abgesaugt, jeweils 500 µl TST-Lösung zugegeben und die Platten anschließend für 2 Stunden in den Inkubator bei 37°C gestellt.

Nach der Inkubationszeit wurden je 50 µl Überstand pro well entnommen, 50 µl William's E, sowie 50 µl Niflumic acid 1µM (Fa. Sigma-Aldrich, Art.-Nr. N0630) als interner Standard hinzugefügt und der Gehalt an Hydroxytestosteron in diesen Proben mit LC-MS/MS (Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit Tandemmassenspektrometrie; s. Kapitel 3.2.4.2) bestimmt.

3.1.2.3 Aufnahme von Omega-3 Fettsäuren durch die IECs

Nachdem die Vitalität und Funktionalität der Zellkultur nachgewiesen worden war, wurden die Aufnahme der beiden Omega-3 Fettsäuren DHA und EPA in die Epithelzellen untersucht.

In der Literatur ist beschrieben, dass langkettige Fettsäuren nicht nur in Form von Mizellen absorbiert werden, sondern im Blutkreislauf an Albumin gebunden zirkulieren und nach spontaner Dissoziation passiv über die Zellmembranen hinweg aufgenommen werden.

Für die Inkubation der Zellen wurden die Fettsäuren 1:2 mit BSA (*Bovine Serum Albumin*; Fa. Calbiochem; 12659) komplexiert, wobei die Endkonzentration von EPA und DHA im Zellkulturmedium (Keratinocyte SFM; s. 3.1.2.1) jeweils 0,1mM betrug. Diese Mischung wurde vor dem Gebrauch ca. 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Anschließend wurden davon je 2 ml pro well auf die mit PBS gewaschenen Zellkulturplatten gegeben und die Zellen 24 Stunden bei 37°C damit bebrütet.

3.1.2.4 Homogenisierung der kultivierten Zellen

Die kultivierten Kolonepithelzellen wurden mit Trypsin und EDTA abgelöst und anschließend mittels Ultraschall homogenisiert.

Zunächst wurde das Zellkulturmedium abgesaugt und die Platten zweimal mit PBS versetzt mit 0,1mM BSA gewaschen. Danach wurden pro well der 12-well Platte 100 µl einer 25%igen Trypsin/EDTA-Lösung (Fa. Sigma-Aldrich; Art-Nr. T4049) zugegeben und die Zellen genau 10 Minuten bei 37°C inkubiert. Die Zellen wurden durch leichtes Klopfen an den Rand der Kulturplatten abgelöst. Anschließend wurden 100 µl eiskalter Proteaseinhibitor Cocktail (Proteaseinhibitor Cocktail Tabletten, Fa. Roche; 1697498; vor Gebrauch eine Tablette in 50 ml PBS lösen) in jedes well gegeben und mehrmals auf- und abpipettiert, bis alle Zellen abgelöst waren. Die Zellsuspension wurde sofort auf Eis gestellt und durch drei Ultraschallstöße mit dem Handdispergiergerät Polytron PT 1300 D insgesamt 5 Sekunden homogenisiert.

Danach wurde der Proteingehalt (s. 3.1.2.5) in der Zellsuspension bestimmt, sowie der Gehalt an DHA und EPA (s. 3.2.4.2).

3.1.2.5 Proteinbestimmung nach Lowry

Die Proteinkonzentration in den Epithelzellhomogenaten wurde mit Hilfe des Platereaders Fluostar Omega (Fa. BMG Labtech GmbH) durchgeführt. Zunächst wurde unter Verwendung eines lyophilisierten Proteinstandards (Protein Assay Standard II = lyophilisiertes Rinder-Serum-Albumin (BSA); Fa. BioRad 500-007) in destilliertem Wasser (Stammlösung mit 1,4 mg/ml) eine Kalibriergerade hergestellt.

In eine 96-well Platte wurden in Doppelbestimmung je 5 µl destilliertes Wasser für den Blindwert und die Aliquots der Kalibrierreihe pipettiert, sowie je 5 µl der zu bestimmenden Zellsuspensionen in Dreifachbestimmung.

Zu diesen Vorlagen wurden je 25 µl Protein Assay Reagenz A (= alkalische Kupfer-Tartrat-Lösung; Fa. BioRad; 500-0113) und anschließend je 200 µl Protein Assay Reagenz B (= Folin Reagenz; Fa. BioRad; 500-0116) gegeben und vermischt. Nach 30 Minuten Stehenlassen bei Raumtemperatur wurde die Absorption bei 705 nm am Platereader gemessen.

3.2 Klinische Untersuchung

3.2.1 Untersuchungsdesign

Die Untersuchung wurde als prospektive, longitudinale Interventions(pilot)studie im Klinikum Dachau, Amper Kliniken AG, Abteilung für Viszeral-, Thorax- und metabolische Chirurgie durchgeführt. Der Patienteneinschluss erfolgte konsekutiv. Eingeschlossen wurden 52 Patienten, ausgewertet wurden die Daten von 45 Patienten nach Kolon- oder Rektumresektion von August 2008 bis Juni 2009 (s. 3.2.2). Der behandelnde Arzt wusste i. d. R. nicht, welche der Patienten mit Fischöl vorbehandelt waren.

Als primäre Evaluationsparameter wurden die Häufigkeit postoperativer infektiöser Komplikationen, definiert als Infektion der Atemwege, Wundinfektion, Infektion der Harnwege, (pseudomembranöse) Kolitis, Peritonitis und/ oder

¹ S. Farreras, N., Artigas, V., Effect of immunonutrition on wound healing, 2005, S. 56

3 Material und Methoden

Anastomoseninsuffizienz, als Bakteriämie/ Sepsis, und das Auftreten postoperativer nicht-infektiöser Komplikationen, definiert als Blutung, Diarrhö, Platzbauch, Übelkeit/ Erbrechen, Nieren- und Leberfunktionsstörung, tiefe Venenthrombose und Revisionsoperationen, betrachtet nach präoperativer Konditionierung des Darms mit Omega-3 Fettsäuren. Sekundäre Evaluationsparameter waren der Gehalt an EPA und DHA im Darmgewebe, der Gehalt an Hydroxyprolin im Darmgewebe als Parameter für die Wundheilung, die Analyse des post-operativen Antibiotika- und Analgetikaverbrauchs, die Dauer des stationären Krankenhausaufenthaltes, sowie Dauer des Aufenthaltes auf der Intensivstation. Die Datenerhebung erfolgte anhand der Patientenakten (z. B. Entlassbrief; Entlassungsschein; Pflegedokumentationsbögen; Laborbefund; etc.).

Von allen Patienten wurden außerdem folgende Daten und Parameter erfasst:

Geschlecht, Alter, Diagnose, Körpergewicht, Körpergröße, Gewichtsverlust der letzten 3 Monate ($\geq 5\%$; bzw. $< 5\%$), Gesamteiweiß, C-reaktives Protein (CRP), ASA (*American Society of Anesthesiologists*) Score. Aus Körpergröße und Gewicht bei Aufnahme wurde der sogenannte body-mass-index (BMI) bestimmt.

Zu den operativen Daten wurden erfasst: Art der Operation, Operationszugang (offen oder laparoskopisch), Dauer des Eingriffs, Homologe Bluttransfusion (erfolgt/ nicht erfolgt).

Verglichen wurden die Daten von Patienten nach präoperativer Einnahme von Omega-3 Fettsäuren (= Fischöl-Gruppe) mit Kontrollpersonen unter Standard-Op-Vorbereitung (= Kontroll-Gruppe).

Die Vorgaben, die an das Studienkollektiv gemacht wurden, können dem Studienprotokoll (s. 11.2 und 11.3, Ein- und Ausschlusskriterien) im Anhang entnommen werden.

3.2.2 Patienten

In der Abteilung Viszeral-, Thorax- und metabolische Chirurgie im Klinikum Dachau wurden von August 2008 bis Juni 2009 67 Kolon- und Rektumkarzinomresektionen durchgeführt, sowie ca. 35 Sigmadivertikulitisoperationen.

In die Bewertung eingeschlossen wurden 45 Patienten. 7 Patienten mussten ausgeschlossen werden, weil in einem Fall die Patientin sofort nach der Operation verlegt worden war, eine weitere die Kapsleinnahme aufgrund von eintretenden Durchfällen abgebrochen hatte, ein Patient die Operation kurzfristig abgelehnt hatte, und von 4 Patienten bei der Resektion kein Gewebe für die Untersuchung abgefallen war.

Der Einschluss erfolgte konsekutiv. 20 (44 %) waren Frauen und 25 (56 %) Männer in einem Alter von 41 bis 85 Jahren (Mittelwert $64,8 \pm 10,6$; Median 67). Der BMI betrug durchschnittlich 26,1.

Von diesen Patienten wurden 29 (64 %) aufgrund einer bösartigen Erkrankung (= Ca) und 16 (36 %) aufgrund einer gutartigen Erkrankung (= Non-Ca) operiert. Bei 24 Operationen (53 %) handelte es sich um Resektionen des Sigmas, es waren 10 (22 %) Rektumresektionen, 4 (9 %) Kolonresektionen, 6 (13 %) Hemikolektomien rechts und eine (2 %) Hemikolektomie links. Von diesen Operationen wurden 21 (47 %) offen und 24 (53 %) laparoskopisch durchgeführt (s. *Darst. 14*).

3 Material und Methoden

	<i>Fischöl-Gruppe</i> (n = 22)	<i>Kontroll-Gruppe</i> (n = 23)	<i>Gesamt</i> (n = 45)
Alter [Jahren]	64,1 ± 9,2	65,4 ± 12,0	64,8 ± 10,6
Median Alter	66	67	67
Frauenanteil	9 (41 %)	11 (48 %)	20 (44 %)
Männeranteil	13 (59 %)	12 (52 %)	25 (56 %)
Ø BMI	25,7 ± 2,2	26,5 ± 3,8	26,1 ± 3,1
Ca	13 (59 %)	16 (70 %)	29 (64 %)
Non-Ca	9 (41 %)	7 (30 %)	16 (36 %)
<i>Operationen:</i>			
Kolonresektionen	1	3	4
Rektumresektionen	2	8	10
Sigmaresektionen	13	11	24
Hemikolektomien li	1	0	1
Hemikolektomien re	5	1	6
offen	9	12	21
laparoskopisch	13	11	24
Gesamteiweiß [g/dl]	6,7 ± 0,5	7,3 ± 1,5	7,0 ± 1,2
ASA-Score	II	II	II
OP-Dauer [Min]	221,2 ± 97,6	204,2 ± 78,8	212,5 ± 87,9
Homologe Bluttransfusion (während der OP)	2 EKs	1 EK	3 EKs

EK: Erythrozytenkonzentrat

Quelle: Patientenakten; Amper Kliniken AG, Dachau

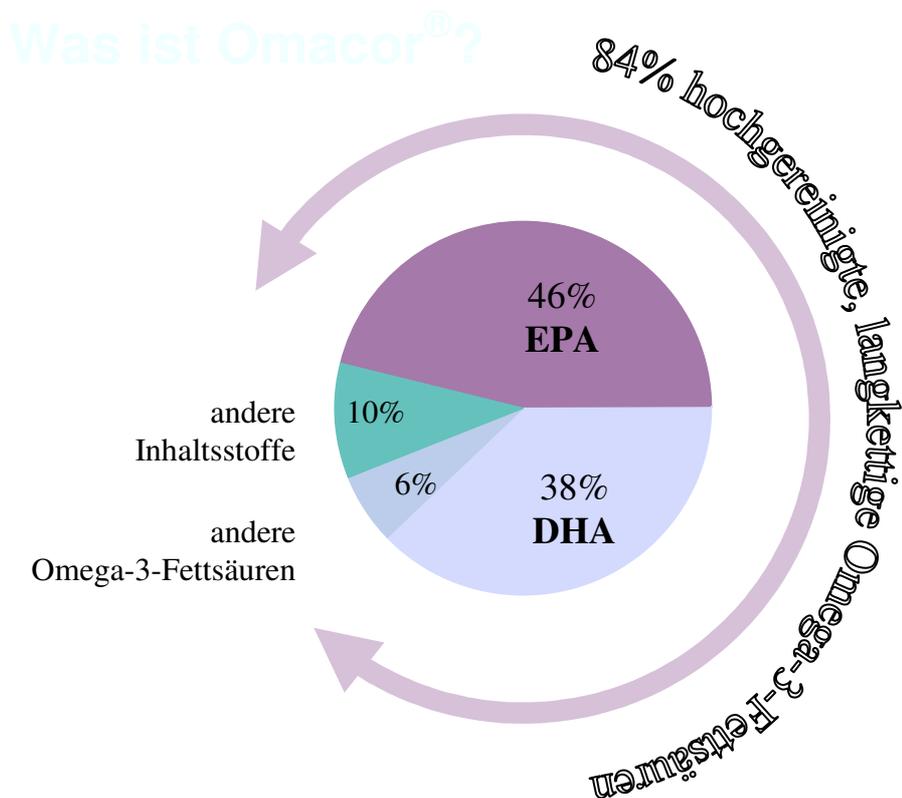
Darst. 14: Patientenkenndaten und chirurgische Parameter

3.2.3 Medikamentöse Intervention

Die therapeutische Maßnahme bestand in der dreimal täglichen Einnahme von jeweils 380 mg Doconexent-Ethyl und 460 mg Icosapent-Ethyl in Form einer Weichkapsel (Vertrieb Fa. Solvay Arzneimittel GmbH; Zul.Nr. 37312.00.00). Das heißt, es wurde nicht der Gesamtfischölextrakt verwendet, sondern die, aus natürlichem Fischöl, isolierten Omega-3 Fettsäureethylester. In mehreren Konzentrations- und

3 Material und Methoden

Reinigungsschritten wurde das Fischöl von fettlöslichen Verunreinigungen befreit, gesättigte und einfach ungesättigte Fettsäuren abgetrennt und der Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren auf 90 % aufkonzentriert (s. *Darst. 15*). Die Einnahme begann in der Regel 5 Tage vor dem geplanten Operationstermin und endete jeweils am Tag vor dem geplanten Eingriff. Die Patienten wurden gebeten, jede Kapselinnahme auf einem Dokumentationsbogen einzutragen und zu bestätigen. Pro Patient wurden präoperativ durchschnittlich 14 Weichkapseln eingenommen, das entspricht 11,92 g Omega-3 Fettsäureethylester.



Fachinformation Omacor®, August 2002

Quelle: Solvay Arzneimittel GmbH

Darst. 15: Zusammensetzung der Fischöl-Kapseln

3.2.4 Analytische Bestimmung von Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA) aus Darmgewebehomogenat

3.2.4.1 Extraktion der Fettsäuren aus dem Darmgewebe

Für die quantitative Bestimmung der beiden Omega-3 Fettsäuren EPA und DHA wurde zunächst eine Methode entwickelt zur Extraktion dieser Substanzen aus chirurgischem Material, das während der Darmoperation entnommen wurde.

Das Kolongewebe wurde sofort nach Entnahme zum Transport in kalte (2 – 8°C) Pufferlösung (Viaspan®) gegeben und in eine Kühlbox verpackt, spätestens eine Stunde später daraus entnommen und ohne Flüssigkeit bei -70°C tief gefroren.

Für die Extraktion wurde das gefrorene Gewebe im Wasserbad bei 37°C ca. 15-20 Minuten lang aufgetaut, danach die Muskelschicht, sowie anhängendes Fettgewebe von der Mukosa abgetrennt und jeweils ca. 1 g schwere Mukosastücke abgewogen.

Die Homogenisierung des Darmstücks erfolgte in Anlehnung an die Methode von Folch et al.¹ Dabei wurde das Kolonstück mit 20 ml einer Chloroform-Methanol-2:1-Mischung versetzt und mit dem Ultra Turrax T 25 ca. 2 Minuten homogenisiert. Das Lösungsmittel wurde dabei sukzessive zugegeben.

Nach der Zerkleinerung wurden die Fettsäureester für 30 Minuten bei Raumtemperatur unter Rühren extrahiert.

Anschließend wurde 15 Minuten bei 1500g zentrifugiert, um die flüssige Phase von den Gewebetrümmern abzutrennen. Diese wurde dann mit dem 0,2fachen Volumen, d.h.

4 ml 0,9 %-iger Natriumchlorid-Lösung versetzt, kurz gevortext und anschließend bei einer Geschwindigkeit von 2000 rpm 10 Minuten zentrifugiert, um die beiden Phasen aufzutrennen. Die obere wässrige Phase wurde abgenommen und verworfen, die untere Chloroform-Phase wurde unter Vakuum verdampft. Der ölige Rückstand, der nach dem Entfernen des Lösungsmittels übrig blieb, wurde in Eppendorf-Gefäße (2 ml) überführt und bei -20°C bis zur Probenvermessung aufbewahrt (s. 3.2.4.2).

¹ S. Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G. H., Isolation of Lipides [!], 1957, S. 497

3.2.4.2 Quantitative Bestimmung der Fettsäuren

In fast allen Publikationen wird für die Analytik der aufgenommenen und eingebauten Fettsäuren die Gaschromatographie (GC) verwendet^{1, 2, 3}. In diesem Fall musste jedoch eine neue Messmethode gefunden werden, da kein entsprechendes Gerät zur Verfügung stand. Daher wurde zunächst versucht, die beiden Fettsäuren EPA und DHA mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) mit UV-Detektion zu bestimmen, was jedoch fehlschlug. Die beiden Fettsäuren konnten nicht getrennt detektiert werden, obwohl Versuche mit diversen Reversed-Phase-Säulen (RP) unterschiedlicher Länge, verschiedenen Lösungsmitteln und Gradienten gemacht wurden.

Deshalb erfolgte die Umstellung von HPLC auf Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit Tandemmassenspektrometrie (LC-MS/MS). Verwendet wurde eine Anlage der Firma Waters (Waters Alliance 2795 LC), mit gekoppeltem Massenspektrometer (Micromass Quattro Micro). Die Trennung erfolgte auf einer C18-Reversed Phase Säule der Firma Shiseido (CapCell MGII; C18; 2 x 150mm; 5µm). Es wurde ein Gradient aus zwei Fließmitteln A und B gefahren:

- Fließmittel A: 95 % Methanol, 5 % Ammoniumacetatlösung (0,1M)
- Fließmittel B: 5 % Methanol, 90 % demineralisiertes Wasser, 5 % Ammoniumacetatlösung (0,1M)

Die Änderung der Fließmittelzusammensetzung von 100 % Fließmittel B auf 100 % Fließmittel A während des sechsminütigen Laufes zeigt die nachfolgende Tabelle (s. *Darst. 16*).

¹ S. *Gee, J. M., Watson, M., Matthew, J. A. et al*, Incorporation of EPA into Colonic Mucosa, 1999, S. 1862

² S. *Senkal, M., Haaker, R., Linseisen, J., Wolfram, G., Homann, H.-H., Stehle, P.*, Long-Chain Ω -3 Fatty Acids alter Phospholipid Fatty Acid Patterns, 2005, S. 236

³ S. *Ruthig, D. J., Meckling-Gill, K. A.*, Fatty Acids Stimulate Wound Healing, 1999, S. 1791

3 Material und Methoden

Zeit [min]	A %	B %	Flussrate [ml/min]
0.00	0.0	100.0	0.5
0.10	0.0	100.0	0.5
2.00	100.0	0.0	0.5
5.00	0.0	100.0	0.5

Quelle: Eigene Darstellung (Method Report)

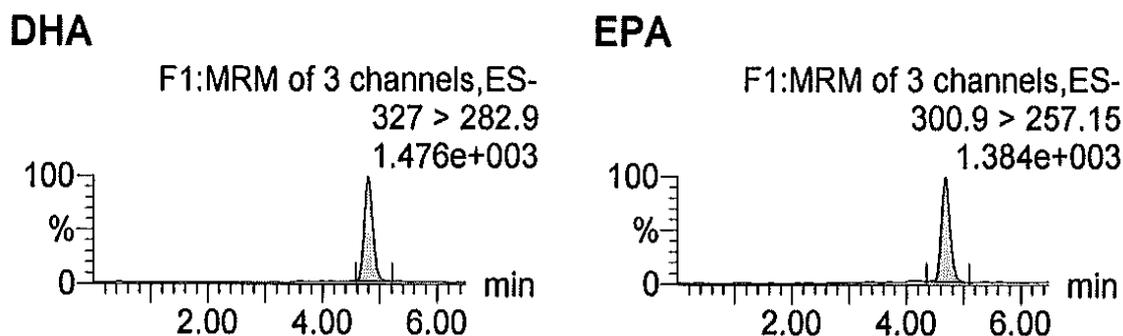
Darst. 16: Fließmittelgradient

Die Säulentemperatur betrug 50°C. Zur Erstellung der Kalibriergerade und für die Entwicklung der Methode wurden DHA- (Art.Nr. D2534), bzw. EPA (Art.Nr. E2011)-Standards der Firma Sigma-Aldrich verwendet. Als interner Standard fungierte Niflumic acid (Fa. Sigma-Aldrich, Art.-Nr. N0630).

Die Proben, d. h. die öligen Rückstände, die nach der Lipidextraktion (s. 3.2.4.1) aus den Darmgewebekomogenaten gewonnen und bei -20°C aufbewahrt worden waren, wurden aufgetaut und jeweils 1:3 (50 µl Probe + 50 µl Acetonitril + 50 µl Niflumic acid (1µM)) mit internem Standard verdünnt und vermessen.

Die Retentionszeiten der drei Substanzen betragen 4.1 Minuten für Niflumic acid, 4.9 Minuten für EPA und 5.1 Minuten für DHA.

Für die Detektion mittels Massenspektrometrie wurden die Analytmoleküle durch Electrospray-Ionisation (ESI(-)) in Gasphasen-Ionen überführt. Als Konusspannung waren 25 V für EPA und DHA gewählt worden, die Kollisionsenergie betrug 12 eV für EPA und 11 eV für DHA. Die Quantifizierung erfolgte im MRM-Modus (*Multiple-Reaction-Monitoring*) und folgende Massen-Übergänge bzw. Fragment-Ionen wurden betrachtet: DHA $m/z = 327.0 > m/z = 282.9$ und EPA $m/z = 300.9 > m/z = 257.15$, d. h. es kam jeweils zur Abspaltung eines Moleküls Kohlenstoffdioxid. In Darstellung 17 ist ein Beispielchromatogramm der analytischen Bestimmung mittels Tandemmassenspektrometrie dargestellt.



Quelle: Sample Report MassLynx 4.0 vom 24.04.2009; Martinsried

Darst. 17: LC-MS/MS Chromatogramm der EPA/ DHA Quantifizierung

Die erhaltenen Chromatogramme wurden nach der internen Standardmethode über die jeweiligen Peak-Flächen ausgewertet. Die Berechnung der Konzentration erfolgte mit Hilfe der LC-MS Software Analyst 4.0 über die *peak area ratios* (PAR) mit $1/x^2$ (x = Konzentration) gewichteter linearer Regression.

3.2.5 Photometrische Bestimmung von Hydroxyprolin

Um analysieren zu können, ob die präoperative Einnahme von Omega-3 Fettsäuren die Wundheilung beeinflusst, wurde nach einem Parameter gesucht, der als Maß für die Wundheilung dienen kann. Die Literaturrecherche ergab, dass die Quantifizierung des Hydroxyprolingehaltes zur Abschätzung der Wundheilung herangezogen werden kann.¹

² Die Aminosäure Hydroxyprolin kommt im Körper in Kollagen und Elastin vor, zur Stabilisierung der Kollagen-Tripelhelix über Wasserstoffbrückenbindungen. Ein erhöhter Hydroxyprolingehalt im Gewebe weist auf eine vermehrte Kollagensynthese hin, die als Reparaturmechanismus bei der Wundheilung stattfindet.

¹ S. Ferreras, N., Artigas, V., et al, Postoperative enteral immunonutrition, 2004, S. 55

² S. Ruthig, D., Meckling-Gill, K., Wound healing in IEC-6, 1999, S. 1791

3 Material und Methoden

Die Quantifizierung von Hydroxyprolin erfolgte nach der Methode von J. F. Woessner jr.¹. Mit dieser Methode ist die Bestimmung aus biologischem Material bis zu einer Bestimmungsgrenze von einem Teil Hydroxyprolin in 4000 Teilen Aminosäuren möglich.

Zunächst musste die Gewebeprobe vorbereitet werden. Das Gewebe wurde aus dem -70°C Gefrierschrank entnommen und im Wasserbad bei 37°C ca. 15 Minuten aufgetaut. Mit Hilfe einer Gewebepresse (Tissue Coring Press MD 2300; Fa. Alabama Research and Development Munford) wurde aus dem Darmstück ein runder Zylinder mit einem Durchmesser von ca. 9 mm ausgestant. Die Probe wurde gewogen und in einem 2 ml Eppendorf-Tube mit 1 ml einer 6N Salzsäure versetzt und anschließend drei Stunden bei 100°C unter leichtem Schütteln hydrolysiert. Der Inhalt wurde dann in einen 10 ml Messkolben überführt, und der pH-Wert der Lösung mit verdünnter Natronlauge auf pH 6-7 eingestellt. Es wurden jeweils 200 µl der hydrolysierten Proben verwendet.

Für die Messung wurde zunächst eine Hydroxyprolin-Stammlösung aus 25 mg Hydroxyprolin (trans-4-Hydroxy-L-Prolin ≥99 %, Fa. Sigma-Aldrich, Art.-Nr. H54409) in 250 ml 0,001N Salzsäure hergestellt, die dann verdünnt wurde zu Konzentrationen von 1-10 µg/ 200 µl als Standards für die Eichgerade.

Durch Zugabe von 100 µl frisch zubereiteter 0,05M Chloramin T Lösung (Fa. Fagron; Art.-Nr. 181970-0050) zu den Proben und Standards, erfolgte die Oxidation des Hydroxyprolins. Nach 20 Minuten wurde die überschüssige Chloramin T Lösung durch Zugabe von 100 µl 3,15M Perchlorsäure (Fa. Sigma-Aldrich; Art.-Nr. 244252) zerstört. Mit Ehrlich's Reagenz, d. h. einer 20 %igen p-Dimethylaminobenzaldehyd-Lösung (Fa. Sigma-Aldrich; Art.-Nr. 156477) in 2-Methoxyethanol, bildete das Oxidationsprodukt des Hydroxyprolins ein rot gefärbtes Kondensationsprodukt, dessen Absorption bei 544 nm am Platerader Fluostar Galaxy V4.31 (Fa. BMG Labtech) vermessen wurde.

¹ S. Woessner jr., J. F., Determination of Hydroxyproline, 1961, S 440

3.2.6 Statistische Analysen

Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe der Programme Microsoft®Excel 2003, SigmaStat® 3.5, SigmaPlot® 10 und R 2.9.2/ Statistiklabor durchgeführt. Alle Ergebnisse sind als Mittelwerte mit Standardabweichung ($M \pm SD$) angegeben. Die quantitativen Variablen (Alter, BMI, Operationsdauer, Gehalt an EPA und DHA, Hydroxyprolin-Gehalt, Verbrauch an Antibiotika und Analgetika, Krankenhausaufenthaltsdauer) wurden mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests, bzw. t-Tests für normalverteilte Variablen bestimmt, die qualitativen und deskriptiven Variablen (Geschlechterverteilung, Operationszugang, Komplikationen) wurden mit Kreuztabellen berechnet. Als Signifikanzkriterium wurde einheitlich $p < 0,05$ definiert.

4 Ergebnisse

4.1 *In vitro* Versuche

4.1.1 Absorption der Omega-3 Fettsäuren *in vitro*

4.1.1.1 Aufnahme von ^{14}C -EPA und ^{14}C -DHA in der Darmmukosa

Es zeigte sich, dass die beiden Fettsäuren ^{14}C -Eicosapentaensäure und ^{14}C -Docosahexaensäure im Kolon über die Mukosa aufgenommen werden und auf der *Receiver*-Seite, sowie im Gewebe, nachgewiesen werden konnten. Die Resorptionsgeschwindigkeit lag zwischen der von ^{14}C -Mannitol ($2,58\text{E-}06 \pm 6,60\text{E-}07$ cm/s), das ausschließlich über die Zellzwischenräume (*tight junctions*) diffundiert, und der von ^{14}C -Jodoantipyrin ($3,96\text{E-}05 \pm 6,94\text{E-}06$ cm/s), welches durch passiven transzellulären Transport aufgenommen wird und daher in diesen Versuchen als Positivkontrolle diente. Die Resorptionsgeschwindigkeit von ^{14}C -EPA war nicht signifikant höher als die von ^{14}C -DHA, jedoch signifikant höher als die von ^{14}C -Mannitol. Im Vergleich dazu ergab sich für die Aufnahme von ^{14}C -DHA und ^{14}C -Mannitol kein signifikanter Unterschied (s. *Darst. 18*).

Nach zwei Stunden hat man auf der *Receiver*seite eine 20 fach erhöhte Konzentration von ^{14}C -Jodoantipyrin im Vergleich zu ^{14}C -Mannitol gemessen. Die Endkonzentrationen der beiden radioaktiv markierten Fettsäuren auf der *Receiver*seite hingegen unterschieden sich kaum von der ^{14}C -Mannitols, trotz der erhöhten Absorptionsgeschwindigkeit.

<i>Substanz</i>	P_{app} [cm/s] [#]	<i>Gewebekonz. DPM</i>	<i>gesamt DPM</i>	<i>ratio</i> *
^{14}C -Mannitol	$2,58\text{E-}06 \pm 6,60\text{E-}07$	7755 ± 1422	1300850 ± 222103	0,00596
^{14}C -Iodoantipyrin	$3,96\text{E-}05 \pm 6,94\text{E-}06$	22828 ± 1939	1314933 ± 128762	0,01736
^{14}C -DHA	$3,10\text{E-}06 \pm 9,06\text{E-}07$	26058 ± 13378	1087575 ± 214197	0,02396
^{14}C -EPA	$3,82\text{E-}06 \pm 8,21\text{E-}07$	44813 ± 8555	1039475 ± 110649	0,04311

* ratio: Gewebe DPM/gesamt DPM (DPM = *Desintegrations per minute*)

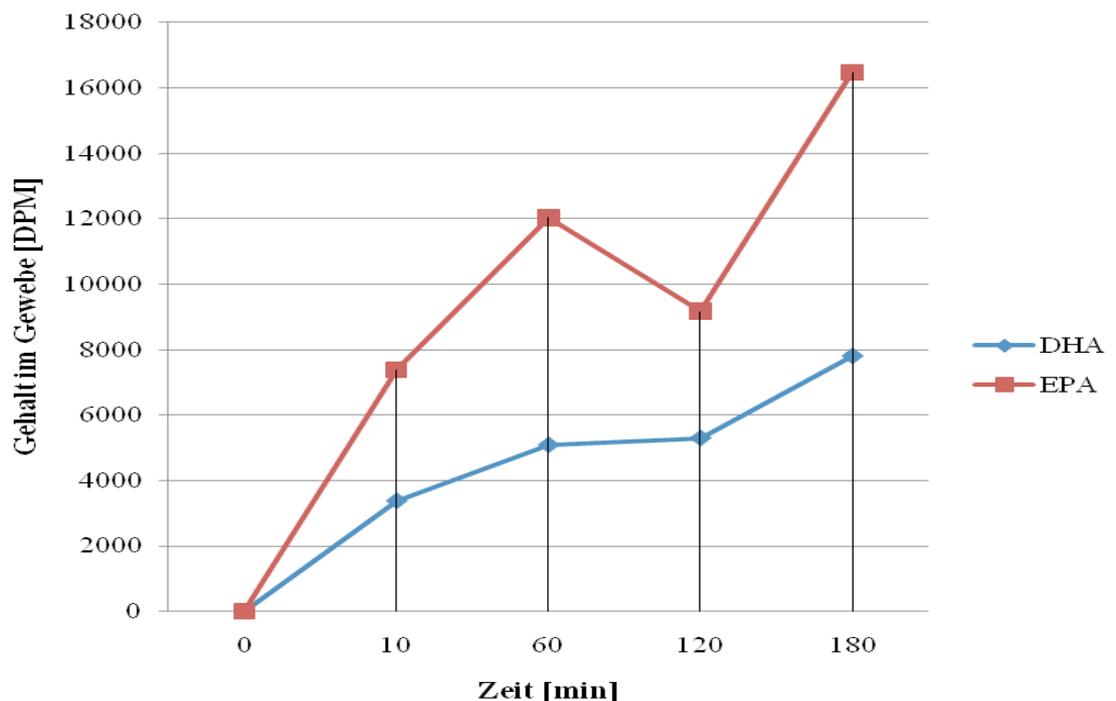
Apparent Permeability (P_{app}) s. 3.1.1.2

Quelle: Eigene Messergebnisse (Mittelwerte aus 5 Versuchen; jeweils Doppelbestimmung); 2008/ 2009

Darst. 18: Ussing Kammer Messergebnisse

4.1.1.2 Anreicherung von ^{14}C -EPA und ^{14}C -DHA im Gewebe

Während der Versuche zur Absorption von ^{14}C -EPA und ^{14}C -DHA fiel auf, dass sich die beiden Fettsäuren stärker im Gewebe akkumulierten als die Referenzsubstanzen. Eine zweite Versuchsreihe wurde durchgeführt zur Untersuchung der Kinetik der Gewebeanreicherung. Die Vorbereitung der Kammern erfolgte analog Kapitel 3.1.1.3. Das Experiment wurde mit ^{14}C -EPA und ^{14}C -DHA je zweimal durchgeführt. Anhand der Messdaten ließ sich der zeitliche Verlauf der Gewebeanreicherung darstellen (s. *Darst. 19*).



Graphik: Eigene Darstellung (Messergebnisse 05. März 2009 – 23. Juni 2009)

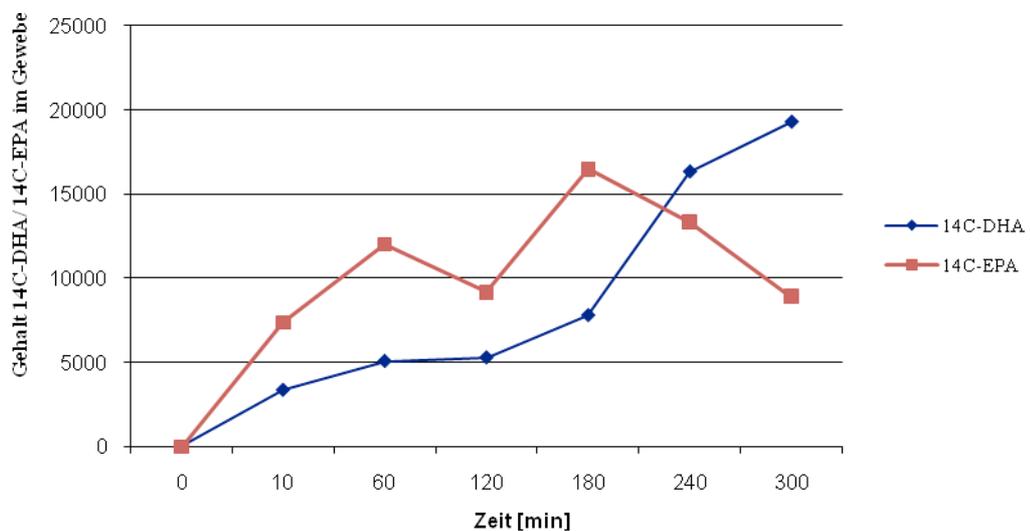
Darst. 19: Zeitlicher Verlauf der Anreicherung von ^{14}C -Docosahexaensäure und ^{14}C -Eicosapentaensäure im Kolongewebe, Teil I

Die Resorptionskinetik von ^{14}C -DHA wies zwischen ca. 60 und 120 Minuten eine *steady-state*-Phase auf, d. h. in dieser Phase wurde genauso viel Substanz aus der Probenlösung in das Darmgewebe eingelagert wie auf der basolateralen Seite der Mukosa in die Pufferlösung abgegeben wurde. Eine Wiederholung deutete sich nach ca.

4 Ergebnisse

300 Minuten an (Daten nicht gezeigt). Dazwischen wurde vermehrt Substanz ins Gewebe eingelagert.

Die Kinetik der Gewebeanreicherung von ^{14}C -EPA funktioniert schneller als die von ^{14}C -DHA. Obwohl sich anders als bei ^{14}C -DHA keine eindeutigen *steady-state*-Phasen einstellten, wurden nach ca. 60 und 180 Minuten Konzentrationsmaxima im Gewebe erreicht. Danach sank der Gewebesiegel jeweils wieder ab (s. *Darst. 20*).



Graphik: Eigene Darstellung (Messergebnisse 13. Januar 2009 – 23. Juni 2009)

Darst. 20: Zeitlicher Verlauf der Anreicherung von ^{14}C -Docosahexaensäure und ^{14}C -Eicosapentaensäure im Kolongewebe, Teil II

4.1.2 Zellkultur aus Kolonepithelzellen

4.1.2.1 Vitalität und Funktionsfähigkeit der Zellkultur

Zur Kontrolle der Aktivität und Funktionalität der Zellkultur wurde der WST-8 Test durchgeführt, sowie die CYP450-Aktivität bestimmt.

Der WST-8 Test zeigte ca. 8 bis 10 Stunden nach dem Ausplattieren eine niedrige mitochondriale Enzymaktivität der Zellen an. Das lag zum einen an der relativ kleinen

4 Ergebnisse

Zellzahl pro well und zum anderen an der geringen Vitalität der Kolonepithelzellen in der Kultur.

Zur Überprüfung der Funktionsfähigkeit der Zellkultur wurde hier die CYP450-Aktivität bestimmt durch Inkubation mit Testosteron (TST). Das Testosteron wurde vom P450 System der Zellen stereoselektiv zu einem Hydroxytestosteron metabolisiert. Die beiden Tests belegten, dass es sich bei der aus humanem Gewebe gewonnenen Primärkultur um lebende, funktionsfähige Zellen handelte.

Die ersten beiden Bilder (*Darst. 21* und *22*) zeigen die Krypten aus humanem *Kolon ascendens* unmittelbar nach dem Ausplattieren auf Kollagen I beschichtete 6-well Platten. Die folgenden Bilder (*Darst. 23, 24* und *25*) zeigen die Zellkultur ca. 12 Stunden nach dem Ausplattieren und dem zweiten Mediumwechsel. Die Kolonepithelzellen hatten sich als Einzelzellen auf der Kollagenschicht angeheftet, teilweise war noch die Struktur der Krypten erkennbar, in *Darst. 25* sieht man, dass sich die Zellen bereits homogen über die Platte verteilt hatten.

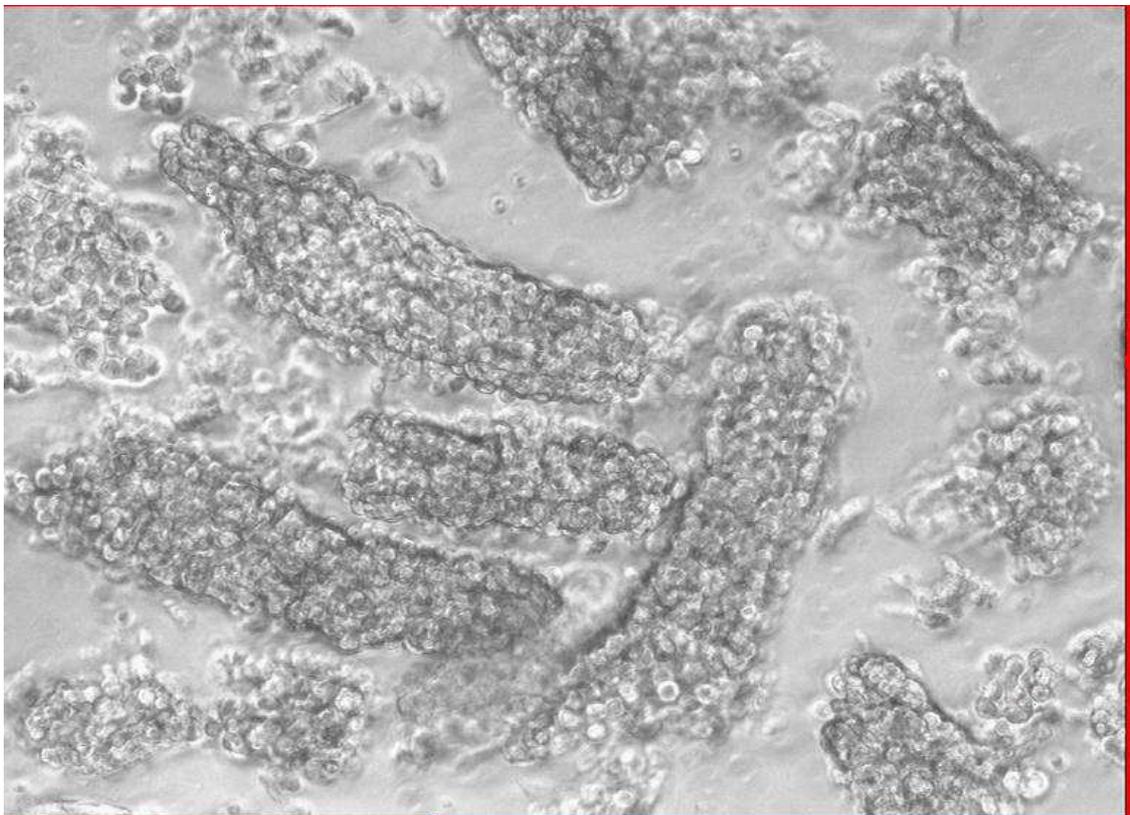


Bild: G. Helf

Darst. 21: Krypten isoliert aus humanem *Kolon ascendens*, I (Phasen-Kontrast Mikroskop; 100x)

4 Ergebnisse



Bild: G. Helf

Darst. 22: Krypten isoliert aus humanem *Kolon ascendens*, II (Phasen-Kontrast Mikroskop; 100x)

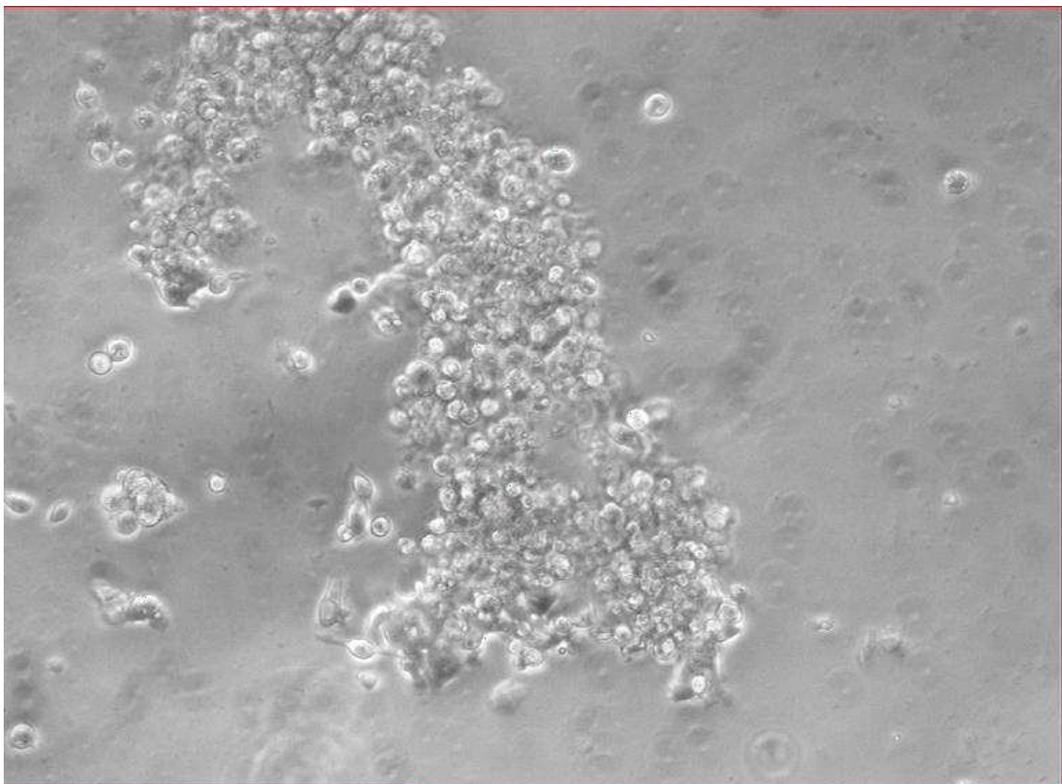


Bild: G. Helf

Darst. 23: Kultur I aus humanen Kolonocyten auf Kollagen I beschichteten 6-well Platten (12 Std. nach dem Ausplattieren) (Phasen-Kontrast Mikroskop; 100x)

4 Ergebnisse

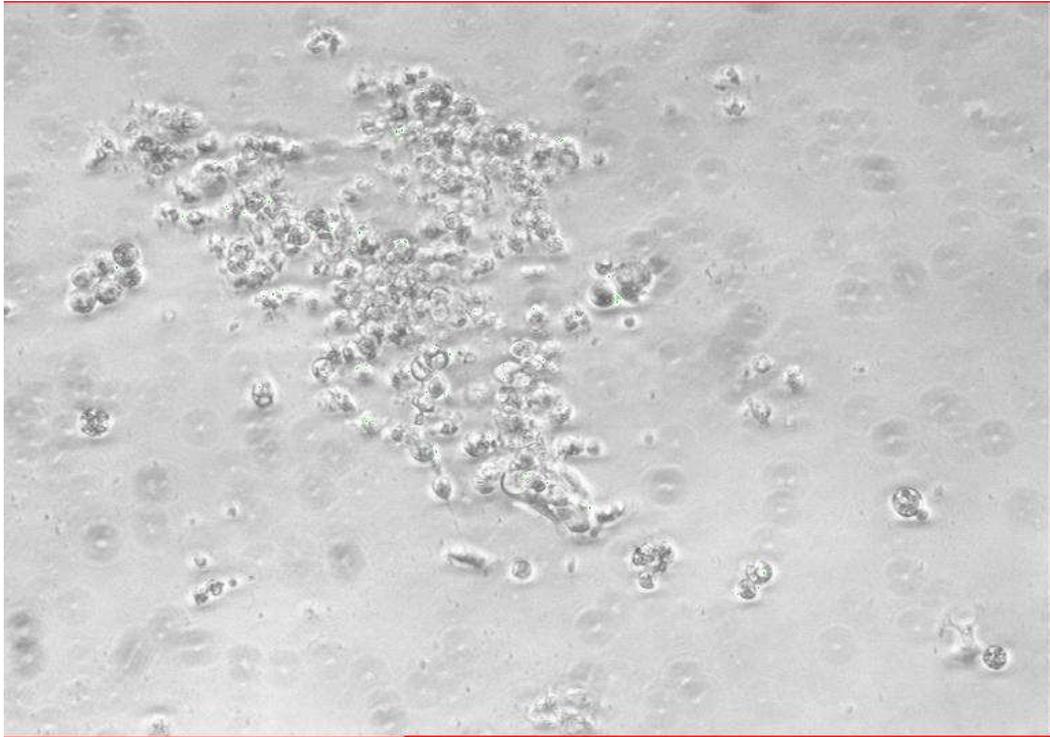


Bild: G. Helf

Darst. 24: Kultur II aus humanen Kolonocyten auf Kollagen I beschichteten 6-well Platten (12 Std. nach dem Ausplattieren) (Phasen-Kontrast Mikroskop; 100x)

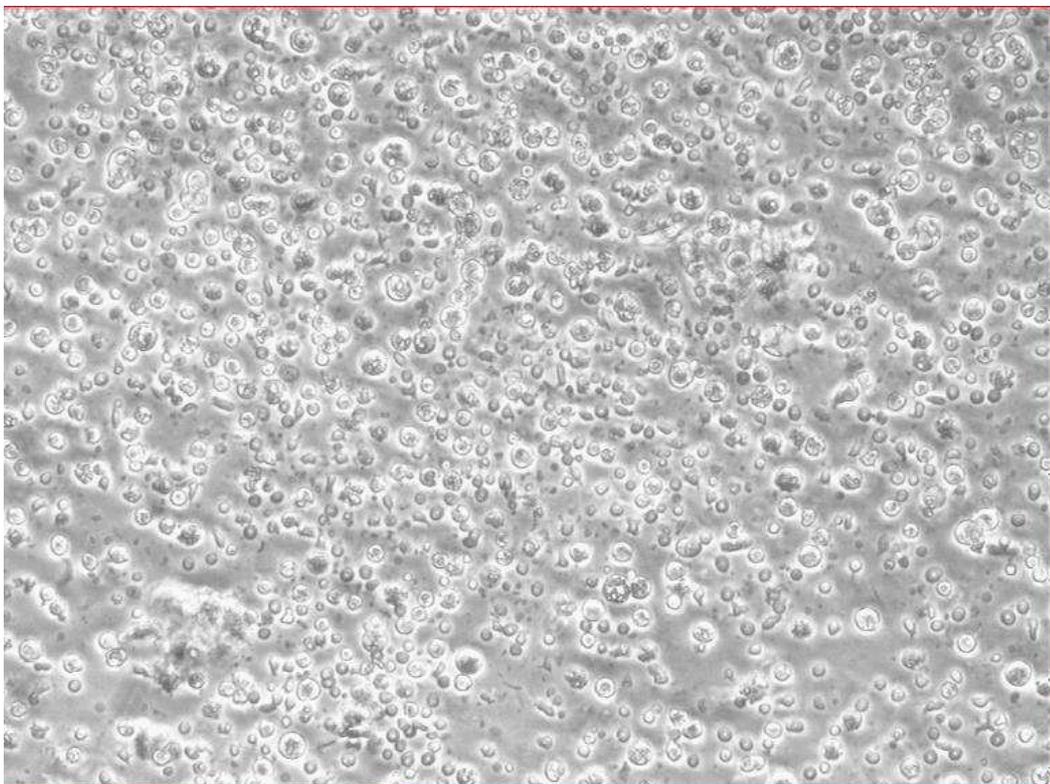


Bild: G. Helf

Darst. 25: Kultur aus humanen Kolonocyten auf Kollagen I beschichteten 6-well Platten (12 Std. nach dem Ausplattieren); homogene Verteilung (Phasen-Kontrast Mikroskop; 100x)

4.1.2.2 Aufnahme von Omega-3 Fettsäuren durch die Intestinalen Epithelzellen (IECs)

Die kultivierten Zellen wurden wie unter 3.1.2.3 beschrieben mit den beiden Omega-3 Fettsäuren EPA und DHA inkubiert. Nach 24 Stunden wurden die Zellen von der Platte abgelöst, lysiert, und der Gesamtproteingehalt (s. 3.1.2.5), sowie der Gehalt an EPA und DHA in der Zellsuspension mittels LC-MS/MS bestimmt.

Der jeweilige Gehalt an EPA und DHA in den homogenisierten Zellen wurde auf den Proteingehalt in der Suspension bezogen. Obwohl die Konzentration der beiden Omega-3 Fettsäuren im Bereich der Bestimmungsgrenze lag, konnte in den mit EPA und DHA inkubierten Zellen ein annähernd doppelt so hoher Gehalt an EPA, bzw. DHA/ mg Protein gemessen werden, als in den Kontrollzellen (s. *Darst. 26*)

<i>Zellkultur</i>		<i>Gehalt DHA/ mg Protein</i>	<i>Gehalt EPA/ mg Protein</i>
270308DAH	Kontrolle	0,210	0,490
	Fischöl	0,399	0,505
220408DAH	Kontrolle	0,028	0,050
	Fischöl	0,046	0,052
121109G	Kontrolle	0,013	0,033
	Fischöl	0,030	0,083

Quelle: Eigene Messergebnisse

***Darst. 26:* Gehalt an EPA und DHA/ mg Protein in den Zellhomogenaten**

4.2 Auswertung der klinischen Daten

4.2.1 Primäre Evaluationsparameter

Die Omega-3 Fettsäure enthaltenden Weichgelatine kapseln wurden von fast allen Patienten gut vertragen, nur eine Patientin berichtete über Durchfall nach der Einnahme und brach daraufhin die Studie nach der zweiten Kapseleinnahme ab.

Die statistische Auswertung der Patientendaten zeigte, dass sich Fischöl-Gruppe und Kontroll-Gruppe nicht signifikant unterschieden hinsichtlich der Altersstruktur (64 vs. 65 Jahre; $p > 0,05$) und der Geschlechterverteilung (9 Frauen und 13 Männer in der Fischöl-Gruppe, 11 Frauen und 12 Männer in der Kontroll-Gruppe; $p > 0,05$). Auch waren die Patienten der beiden Gruppen vergleichbar schwer (BMI 25,7 vs. 26,5; $p > 0,05$). Es zeigte sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied bei Betrachtung der Art der Eingriffe, des Operationszugangs, d. h. laparoskopisch vs. offen, und der Operationsdauer (221,2 vs. 204,2 Minuten; $p > 0,05$). Außerdem unterschieden sich die Gruppen nicht signifikant in der Verteilung an gutartigen und bösartigen Erkrankungen (Non-Ca vs. Ca in der Fischöl-Gruppe 9 : 13; in der Kontroll-Gruppe 7 : 16; $p > 0,05$). Trotz des konsekutiven Vorgehens bei der Einteilung der Patienten entstanden statistisch vergleichbare Gruppen (s. *Darst. 27*).

	Fischöl-Gruppe (n = 22)	Kontroll-Gruppe (n = 23)	p-Wert
Parameter ohne signifikanten Unterschied			
<i>Alter [Jahre]</i>	64 ± 9	65 ± 12	p > 0,05#
<i>Geschlechterverteilung</i>	9 Frauen : 13 Männer	11 Frauen : 12 Männer	p > 0,05*
<i>BMI</i>	25,7 ± 2,2	26,5 ± 3,8	p > 0,05#
<i>Operationsarten</i>			
<i>Kolonresektion</i>	1	3	p > 0,05*
<i>Rektumresektion</i>	2	8	
<i>Sigmaresektion</i>	13	11	
<i>Hemikolektomie links</i>	1	0	
<i>Hemikolektomie rechts</i>	5	1	

4 Ergebnisse

	Fischöl-Gruppe (n = 22)	Kontroll-Gruppe (n = 23)	p-Wert
<i>Operationsdauer [Min.]</i>	221,2 ± 97,6	204,2 ± 78,8	p > 0,05#
<i>lap vs. offen</i>	9 : 13	11 : 12	p > 0,05*
<i>Ca vs. Non-Ca</i>	13 : 9	16 : 7	p > 0,05*

* Chi-Quadrat-Test; # Mann-Whitney-U-Test

Quelle: Eigene statistische Auswertung

Darst. 27: Patienten- und chirurgische Kenndaten

Bei insgesamt 23 (51 %) Patienten sind Komplikationen nach der Operation aufgetreten: 14 Patienten entwickelten ausschließlich nicht-infektiöse Komplikationen, 1 Patient erlitt postoperativ eine Infektion und 8 Patienten hatten sowohl infektiöse, als auch nicht-infektiöse Folgeerkrankungen.

An infektiösen Komplikationen aufgetreten sind: eine Pneumonie (Kontroll-Gruppe), eine Wundinfektion (Fischöl-Gruppe), ein Harnwegsinfekt (Kontroll-Gruppe), fünf Kolitiden (3 mal in der Kontroll-Gruppe, 2 mal in der Fischöl-Gruppe), zwei Anastomoseninsuffizienzen (je ein Fall in beiden Gruppen), und ein Fall von Sepsis (Kontroll-Gruppe) (vgl. Darst. 28). Die Rate an infektiösen Komplikationen betrug in der Fischöl-Gruppe 18,2 %, in der Kontroll-Gruppe 30,4 %. Bei den nicht-infektiösen Komplikationen lag die Rate höher, mit 31,8 % in der Fischöl-Gruppe und 65,2 % in der Kontroll-Gruppe.

Aufgetretene Komplikationen	<i>Fischöl-Gruppe</i> (n = 22)	<i>Kontroll-Gruppe</i> (n = 23)	<i>Gesamt</i> (n = 45)
-----------------------------	-----------------------------------	------------------------------------	---------------------------

Infektiöse Komplikationen:

Pneumonie	-	1	1
Wundinfektion	1	-	1
Harnwegsinfekt	-	1	1
Kolitis	2	3	5
Anastomoseninsuffizienz	1*	1	2
Bakteriämie/ Sepsis	-	1	1

4 Ergebnisse

Aufgetretene Komplikationen	<i>Fischöl-Gruppe</i> (n = 22)	<i>Kontroll-Gruppe</i> (n = 23)	<i>Gesamt</i> (n= 45)
<i><u>Nicht-infektiöse Komplikationen:</u></i>			
Blutung	2	5	7
Diarrhö	4	8	12
Übelkeit/ Erbrechen	2	7	9
Nierenfunktionsstörung	-	1	1
Leberfunktionsstörung	-	1	1
Tiefe Venenthrombose	-	1	1
Revisionsoperationen	1	-	1

* Es handelte sich um eine Insuffizienz der Anastomose, die bereits am ersten postoperativen Tag aufgetreten war; die behandelnden Ärzte gingen deshalb von einer mechanisch, während der OP verursachten (bei endoskopischer Kontrolle), Leckage aus.

Quelle: Patientenakten; Amper Kliniken AG, Dachau

Darst. 28: Infektiöse und nicht-infektiöse Komplikationen

Wie bereits in der obigen Darstellung angemerkt, handelte es sich bei der beschriebenen Anastomoseninsuffizienz in der Fischöl-Gruppe sehr wahrscheinlich um eine mechanisch, während der Operation bei der endoskopischen Kontrolle verursachte, Undichtigkeit der Naht, da sie bereits am ersten postoperativen Tag aufgetreten war. Es war eine operative Revision nötig, die in *Darst. 29* unter „Nicht-infektiöse Komplikationen“ aufgeführt ist.

An nicht-infektiösen Komplikationen sind bei 7 Patienten (2 mal in der Fischöl-Gruppe; 5 mal in der Kontroll-Gruppe) postoperativ Blutungen aufgetreten, die in 4 Fällen durch Gabe von zwei bis zu vier Erythrozytenkonzentraten behandelt wurden. 12 Patienten (4 aus der Fischöl- und 8 aus der Kontroll-Gruppe) entwickelten Diarrhöen, definiert als mehr als drei ungeformte Stühle pro Tag. 9 Patienten litten unter Übelkeit und/ oder Erbrechen, wobei die post-narkotische Phase nicht betrachtet wurde, sondern es erst ab dem dritten postoperativen Tag als Komplikation gewertet wurde. Desweiteren traten eine Nieren-, sowie eine Leberfunktionsstörung auf. Als Nierenfunktionsstörung wurde laut Protokoll eine Erhöhung des Serum-Harnstoffs oder des Serum-Kreatinin Spiegels (50 % über Normalwert) oder der Glomerulären Filtrationsrate (50 % über Normalwert)

definiert, unter Leberfunktionsstörung wurde ein erhöhtes Serumbilirubin oder erhöhte Leberenzyme (50 % über Normalwert) zusammengefasst.

Bei einer Patientin der Kontroll-Gruppe trat trotz Thrombose-Prophylaxe mit täglich 0,4 ml Enoxaparin-Natrium (4000 I.E. anti-Faktor-Xa-Aktivität) an Tag 8 nach der OP eine tiefe Beinvenenthrombose links auf. Die Diagnosestellung erfolgte sonographisch durch eine Duplexuntersuchung der Beinvenen.

Statistische Auswertung mit Kreuztabellen:

Für die statistische Auswertung der beiden Stichproben wurde der Pearson's $2 \times k \chi^2$ -Test verwendet.

Die Gesamt-Komplikationsrate (d. h. infektiöse und nicht-infektiöse Komplikationen zusammen betrachtet) war in der Fischöl-Gruppe tendenziell niedriger als in der Kontroll-Gruppe ($p = 0,102$), der Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant (s. *Darst. 29* und *30*).

Auch wenn man die infektiösen und nicht-infektiösen Komplikationen als getrennte Kategorien aufführt, bleibt der Unterschied zwischen den Gruppen statistisch nicht signifikant ($p = 0,068$).

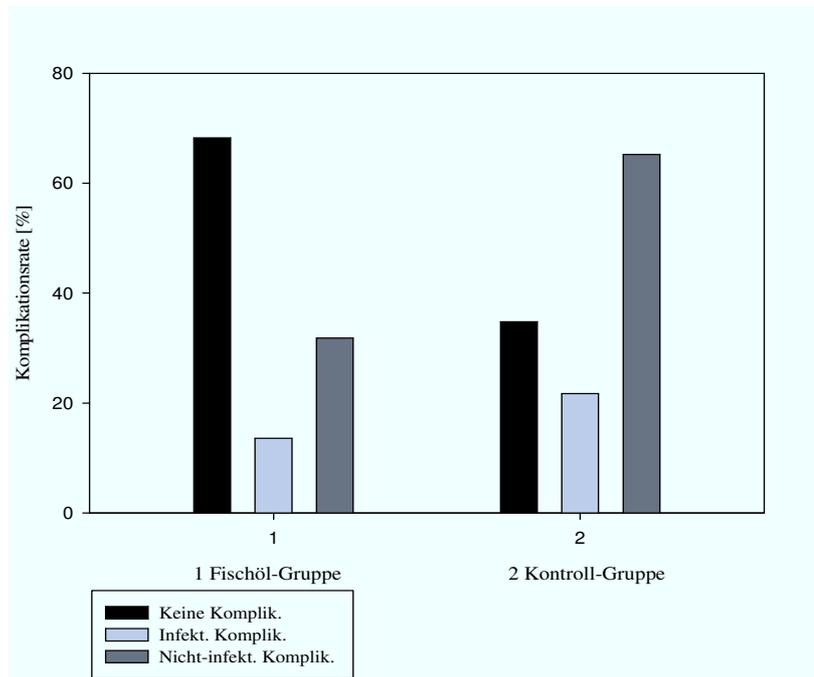
Bei einem begrenzten Kollektiv von 45 Patienten zeigt ein p-Wert von 0,068 allerdings bereits einen deutlichen Trend an. Die Komplikationsrate scheint also unter Einnahme von Omega-3 Fettsäuren zu sinken (s. *Darst. 31*).

	<i>Keine Komplikationen</i>	<i>Infektiöse Komplikationen</i>	<i>Nicht-infektiöse Komplikationen</i>
<i>Fischöl-Gruppe</i>	15	3	7
<i>Kontroll-Gruppe</i>	8	5	15

Quelle: Patientenakten; Amper Kliniken AG, Dachau

Darst. 29: Gruppen und Kategorien des χ^2 -Tests

4 Ergebnisse



Graphik: Eigene Darstellung

Darst. 30: Komplikationsraten in den beiden Gruppen ($p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Pearson's 2×2 χ^2 -Test)

Subjects	keine Kompl.	Infekt. Komplik.	Nicht-infekt. Kompl.	
Row 1	15.000	3.000	7.000	Counts
	10.849	3.774	10.377	Expected Counts
	60.000	12.000	28.000	Row %
	65.217	37.500	31.818	Column %
	28.302	5.660	13.208	Total %
Row 2	8.000	5.000	15.000	Counts
	12.151	4.226	11.623	Expected Counts
	28.571	17.857	53.571	Row %
	34.783	62.500	68.182	Column %
	15.094	9.434	28.302	Total %
Chi-square= 5.387 with 2 degrees of freedom. (P = 0.068)				

Quelle: Protokoll SigmaStat 3.5 vom 06.10.09; Martinsried

Darst. 31: Ergebnis des 2×3 χ^2 -Tests

4 Ergebnisse

Im zweiten Schritt wurde eine weitere Unterteilung in Kategorien vorgenommen, d. h. in die einzelnen Folge-Erkrankungen, die postoperativ in den beiden Gruppen aufgetreten sind.

Zunächst wurden die infektiösen Komplikationen aufgegliedert in die Kategorien Pneumonie, Wundinfekt, Harnwegsinfekt, Kolitis, Anastomoseninsuffizienz und Sepsis (s. *Darst. 32*):

	<i>Pneumonie</i>	<i>Wundinfekt</i>	<i>Harnwegsinfekt</i>	<i>Kolitis</i>	<i>Anastomoseninsuffizienz</i>	<i>Sepsis</i>
<i>Fischöl-Gruppe</i>	0	1	0	2	0	0
<i>Kontroll-Gruppe</i>	1	0	1	3	1	1

Quelle: Patientenakten; Amper Kliniken AG, Dachau

Darst. 32: Gruppen und Unter-Kategorien des χ^2 -Tests (Infektiöse Komplikationen)

Die statistische Auswertung ergab keine statistische Signifikanz ($p = 0,509$), aufgrund der Seltenheit der eingetretenen Ereignisse bei dem begrenzten Studienkollektiv.

Ein ähnliches Ergebnis erhielt man bei der Zerlegung der nicht-infektiösen Komplikationen in die einzelnen Unter-Kategorien (vgl. *Darst. 33*).

	<i>Diarrhö</i>	<i>Blutung</i>	<i>Übelkeit/ Erbrechen</i>	<i>Nierenfktst.*</i>	<i>Leberfktst.~</i>	<i>TVT</i>	<i>Revisions-OP</i>
<i>Fischöl-Gruppe</i>	4	2	2	0	0	0	1
<i>Kontroll-Gruppe</i>	8	5	7	1	1	1	0

14 Patienten der Fischöl-Gruppe und 8 Patienten der Kontroll-Gruppe hatten postoperativ keine Komplikationen entwickelt

* Erhöhter Serum-Harnstoff oder Serum-Kreatinin Spiegel (50% über Normalwert) oder GFR (50% über Normalwert)

~ Erhöhtes Serum-Bilirubin oder erhöhte Leberenzyme (50% über Normalwert)

Quelle: Patientenakten; Amper Kliniken AG, Dachau

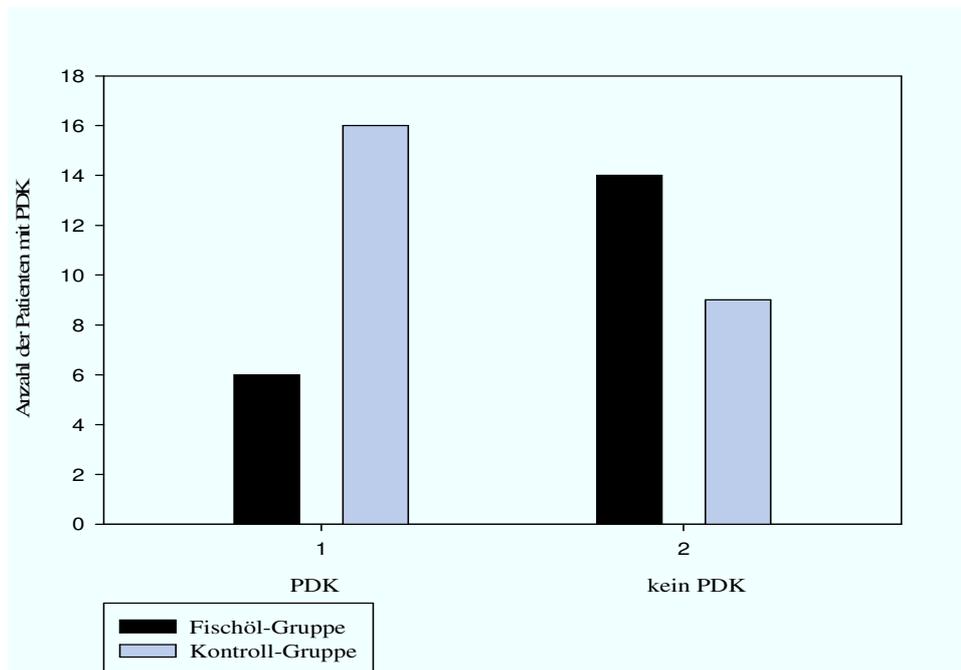
Darst. 33: Gruppen und Unter-Kategorien des χ^2 -Tests (Nicht-infektiöse Komplikationen)

4 Ergebnisse

Auch hier ergab sich kein signifikanter Unterschied ($p = 0,185$) zwischen den beiden Gruppen hinsichtlich des Auftretens der o. g. nicht-infektiösen Komplikationen.

Geht man davon aus, dass das Vorhandensein eines Periduralkatheters (PDK) die Wundheilung und somit die Komplikationsrate positiv beeinflusst, so muss die Verteilung der PDK in Fischöl- und Kontroll-Gruppe analysiert werden. Durchschnittlich 44 % aller Patienten erhielten über $3,7 \pm 1,5$ Tage Schmerzmittel (v. a. Piritramid, Sufentanil) über einen Periduralkatheter, 6 (27 %) Patienten der Fischöl-Gruppe und 14 (61 %) Patienten der Kontroll-Gruppe (s. *Darst. 34*). Das ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p = 0,049$).

Es konnte festgestellt werden, dass die Komplikationsrate in der Fischöl-Gruppe trotz signifikant weniger Patienten mit PDK, niedriger war, als in der Kontroll-Gruppe.

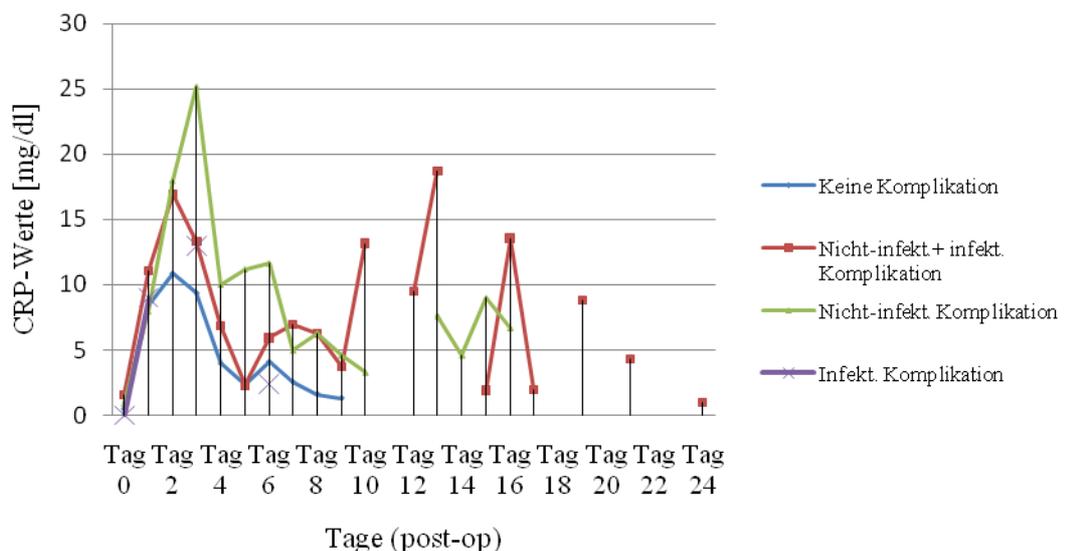


Graphik: Eigene Darstellung

Darst. 34: Verteilung der PDA in den beiden Gruppen; Säulendiagramm ($p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; χ^2 -Test)

CRP-Wert und Komplikationsrate

Bei allen Patienten wurde der postoperative Verlauf des C-reaktiven Proteins (CRP), als objektiver Serumparameter des postoperativen Traumas, bestimmt und dokumentiert. Die graphische Darstellung zeigt Konzentrationsmaxima 48 – 96 Stunden nach der Operation und eine Normalisierung der Werte bei regelrechter Wundheilung nach ca. 8 – 10 Tagen. Bei Patienten mit infektiösen und/ oder nicht-infektiösen Komplikationen blieben die CRP-Werte auch nach dem 6.-10. postoperativen Tag erhöht (> 5-10 mg/dl). Die höchsten CRP-Werte im Verlauf zeigten die Patienten mit nicht-infektiösen Komplikationen. Ebenfalls sehr hohe CRP-Werte, die nur langsam rückläufig waren, wiesen Patienten mit sowohl infektiösen als auch nicht-infektiösen Komplikationen auf. Den postoperativ niedrigsten CRP-Verlauf zeigten wie erwartet die Patienten, die keine Komplikationen erlitten hatten (s. *Darst. 35*).



Graphik: Eigene Darstellung

Darst. 35: Postoperativer Verlauf der CRP-Werte

Die statistische Auswertung zeigt einen signifikanten Unterschied in der Höhe der CRP-Werte an den postoperativen Tagen 3 ($p = 0,014$; Mann-Whitney-U-Test) und 6 ($p = 0,027$; Mann-Whitney-U-Test) beim Vergleich der Patienten mit nicht-infektiösen Komplikationen und der Patienten ohne Komplikation. Kein signifikanter Unterschied ergibt sich an den postoperativen Tagen 1, 4 und 7.

Der Vergleich der CRP-Werte von Patienten mit infektiösen Komplikationen, bzw. mit infektiösen und nicht-infektiösen Komplikationen mit den Patienten, die im postoperativen Verlauf keine Komplikationen entwickelten, zeigt im Verlauf ebenfalls keine statistisch signifikanten Unterschiede.

4.2.2 Sekundäre Evaluationsparameter

Sekundäre Evaluationsparameter der klinischen Untersuchung waren der Gehalt an EPA und DHA im Darmgewebe, sowie der Gehalt an Hydroxyprolin, einer Aminosäure, die als Parameter für die Wundheilung betrachtet werden kann. Weitere Untersuchungsparameter waren die Analyse des postoperativen Analgetikaverbrauchs (oral/ parenteral; Dauer), die Analyse der postoperativen Antibiotikatherapie (Art; Dauer) und die Dauer des Krankenhaus-Aufenthalts.

Gehalt an EPA, DHA und Hydroxyprolin

Der Gehalt an EPA, DHA und Hydroxyprolin wurde quantitativ aus Kolongewebe bestimmt, das von jedem Studienpatienten bei der Operation entnommen wurde. Die Extraktion und Bestimmung der Fettsäuren erfolgte wie in Kapitel 3.2.4 beschrieben. Die photometrische Bestimmung von Hydroxyprolin erfolgte analog Kapitel 3.2.5. Der durchschnittliche Gehalt an EPA in der Fischöl-Gruppe betrug $12,13 \pm 12,63$ mg/ g Darmgewebe nach präoperativer Einnahme von durchschnittlich $11,92$ g Omega-3 Fettsäureethylester in Form von Weichkapseln über $4,4 \pm 1,1$ Tage. Im Vergleich dazu betrug der durchschnittliche EPA-Gehalt in der Kontroll-Gruppe, die nicht mit Omega-3 Fettsäuren vorbehandelt worden waren, $4,63 \pm 5,28$ mg/ g Darmgewebe.

Der Unterschied zwischen den beiden untersuchten Gruppen hinsichtlich des Gehaltes an DHA ist deutlich geringer: in der Fischöl-Gruppe betrug der Durchschnittsgehalt $2,55 \pm 1,84$ mg/ g Darmgewebe, in der Kontroll-Gruppe $1,88 \pm 2,13$ mg/ g Darmgewebe. Das mit EPA und DHA vorbehandelte Patientenkollektiv zeigt aber auch hier wie erwartet den höheren Gewebegehalt.

4 Ergebnisse

Im Gegensatz dazu lässt sich beim Vergleich des Hydroxyprolinegehalts im entnommenen Gewebe kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen feststellen. In der Fischöl-Gruppe konnten durchschnittlich $0,30 \pm 0,07$ g Hydroxyprolin /100 g Darm gemessen werden, in der Kontroll-Gruppe $0,31 \pm 0,06$ g Hydroxyprolin/ 100 g Darm. Dieser Parameter wurde untersucht um eventuelle Unterschiede bei der Wundheilung erkennen zu können.

Statistische Auswertung mit Mann-Whitney-U-Test:

Die statistische Auswertung der o. g. Parameter zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen Fischöl- und Kontroll-Gruppe beim Vergleich des Gehaltes an EPA ($p = 0,013$, Mann-Whitney-U-Test). Das heißt, die Patienten, die vor der Operation über mehrere Tage Fischöl-Kapseln eingenommen hatten, verfügten über einen signifikant höheren Gewebespiegel an EPA in der Kolonmukosa.

Ein deutlicher Trend war auch bei der Auswertung des Gehaltes an DHA in den Gewebeproben erkennbar: der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war zwar statistisch nicht signifikant ($p = 0,073$; Mann-Whitney-U-Test), das Ergebnis weist aber darauf hin, dass auch hier die Konditionierung des Darms zu erhöhten Gewebespiegeln führt.

	<i>EPA</i>		<i>DHA</i>		<i>Hydroxyprolin</i>	
	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>
<i>Fischöl-Gruppe</i>	12,13	12,63	2,55	1,84	0,30	0,07
<i>Kontroll-Gruppe</i>	4,63	5,28	1,88	2,13	0,31	0,06
<i>p-Wert</i>	0,013		n.s. (0,073)		n.s. (0,459)	

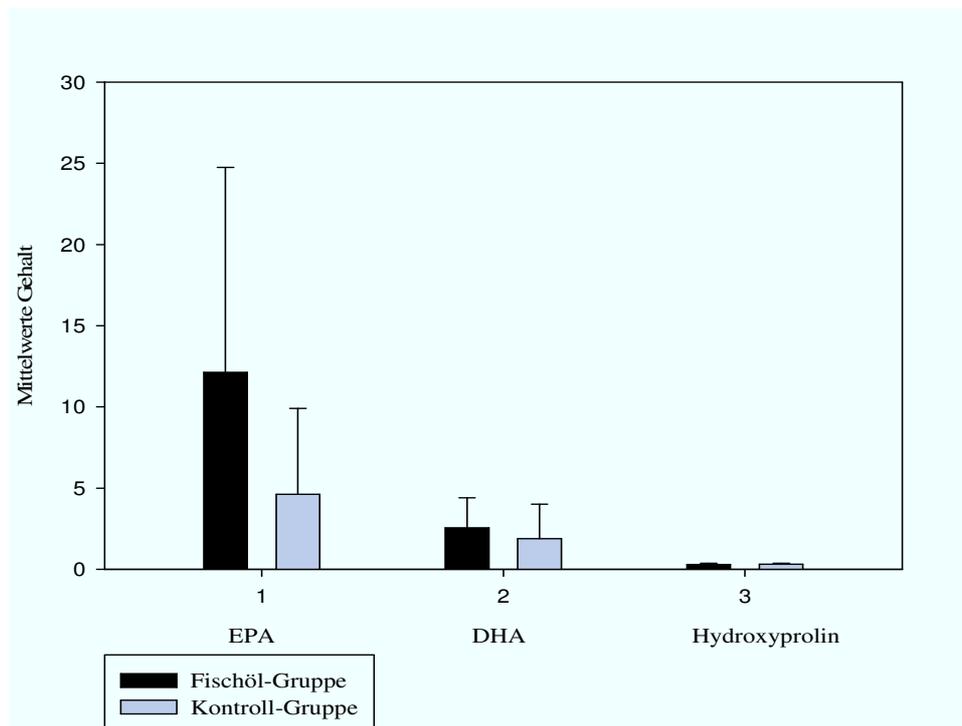
M = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n.s. = nicht signifikant

Quelle: Eigene Messergebnisse aus Gewebeproben (Patienten.Nr. 210808 – 160609)

Darst. 36: Gehalt an EPA, DHA und Hydroxyprolin ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test bzw. t-Test)

4 Ergebnisse

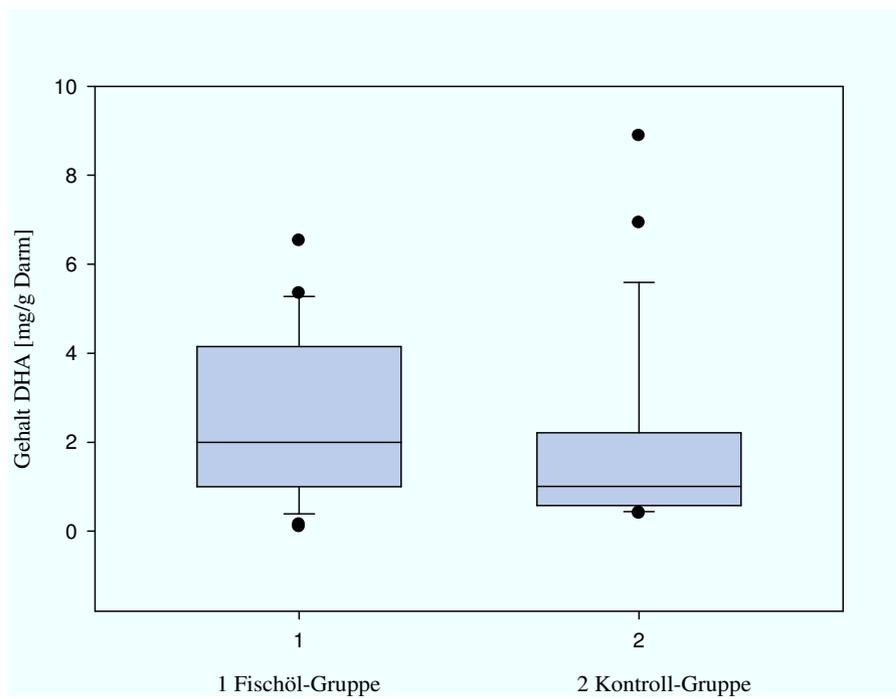
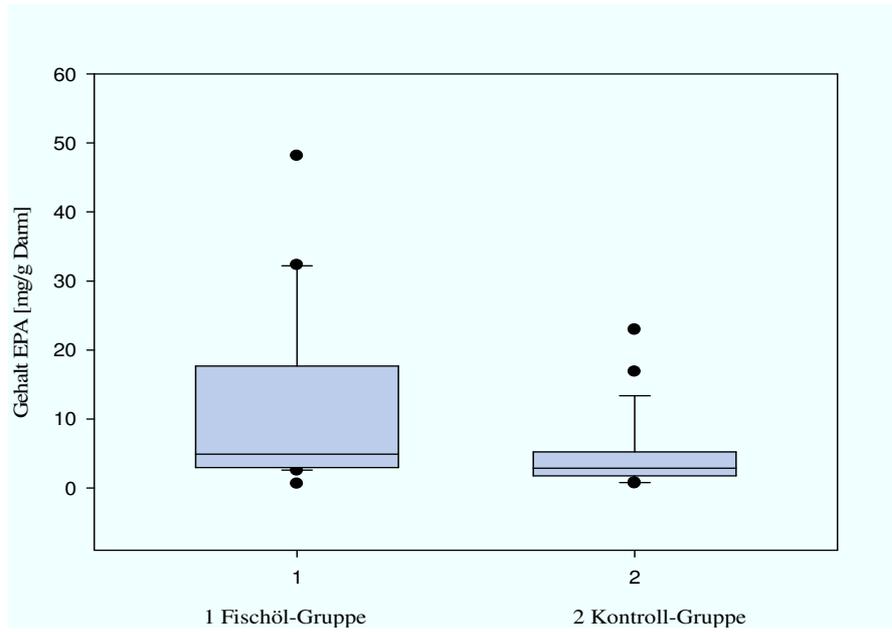
Beim Vergleich des Hydroxyprolin-Gehalts konnten zum Zeitpunkt der Operation keine Unterschiede zwischen Fischöl- und Kontroll-Gruppe festgestellt werden, es ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,459$; t-Test) (s. *Darst. 36*). Die Ergebnisse wurden zusammengefasst und graphisch dargestellt (vgl. *Darst. 37* und *Darst. 38*)



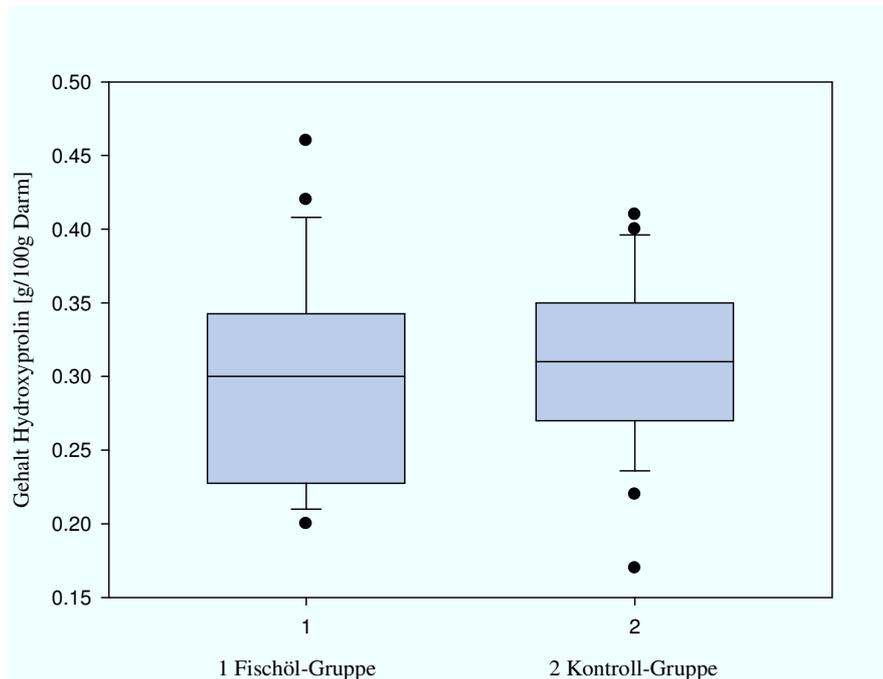
Graphik: Eigene Darstellung

Darst. 37: Unterschiede EPA-, DHA-, und Hydroxyprolin-Gehalt; Säulendiagramm ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test bzw. t-Test)

4 Ergebnisse



4 Ergebnisse



Graphik: Eigene Darstellung

Darst. 38: Unterschiede EPA-, DHA-, und Hydroxyprolin-Gehalt; Box-Plots ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test bzw. t-Test)

Zusammenhang zwischen dem Gehalt an EPA und dem Auftreten von Komplikationen

Bei den insgesamt 9 Patienten mit infektiösen Komplikationen betrug der durchschnittliche Gehalt an EPA im untersuchten Gewebe $5,16 \pm 5,20$ mg/ g. Im Vergleich dazu hatten die Patienten ohne eine Komplikation einen annähernd doppelt so hohen EPA-Durchschnittsgehalt im Darmgewebe mit $9,63 \pm 9,71$ mg/ g. Der Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant.

Vor allem die Patienten der Kontroll-Gruppe mit infektiösen Folgeerkrankungen wiesen mit $3,32 \pm 3,09$ mg/ g einen sehr niedrigen Durchschnittsgehalt an EPA im Darmgewebe auf. Deutlich geringer war der Unterschied an EPA im Gewebe zwischen den 22 Patienten, bei denen nicht-infektiösen Komplikationen aufgetreten sind, und den Patienten ohne Komplikationen: der Gehalt an EPA lag hier bei $8,04 \pm 11,49$ mg/ g Darmgewebe, vs. $9,63 \pm 9,10$ mg/ g. Auch dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant. Betrachtet man hier Kontroll- und Fischöl-Gruppe getrennt voneinander, so

4 Ergebnisse

ist bei den Kontrollpersonen mit Komplikation der Gehalt an EPA mit $4,18 \pm 4,18$ mg/g kleiner als bei den Kontrollpersonen ohne Komplikation mit $8,08 \pm 9,38$ mg/ g. Im Gegensatz dazu lassen sich bei den Patienten der Fischöl-Gruppe mit einer nicht-infektiösen Komplikation höhere EPA-Werte im Gewebe messen, als bei den Patienten ohne Komplikation ($16,29 \pm 17,45$ mg/ g vs. $10,51 \pm 10,13$ mg/ g).

Die nachfolgende Tabelle zeigt eine Übersicht über die durchschnittlichen Gehalte an EPA in den einzelnen Kategorien (s. *Darst. 39*).

<i>EPA</i> [mg/g Darm]:	<i>Infektiöse</i> <i>Kompli-</i> <i>kation</i>	<i>Nicht-</i> <i>infektiöse</i> <i>Komplikation</i>	<i>Infekt.+</i> <i>nicht-infekt.</i> <i>Komplikation</i>	<i>Keine infek.</i> <i>Komplikation</i>	<i>Keine nicht-</i> <i>infekt.</i> <i>Komplikation</i>	<i>Keine</i> <i>Komplikation</i>
<i>M</i>	5,16	8,04	7,81	8,26	8,42	9,63
<i>M (K)</i>	3,32	4,18	4,18	4,99	5,45	8,08
<i>M (FO)</i>	8,23	16,29	14,62	11,53	10,00	10,51
<i>SD</i>	5,20	11,49	11,28	10,43	9,19	9,71
<i>SD (K)</i>	3,09	4,18	4,18	5,76	7,18	9,38
<i>SD (FO)</i>	7,28	17,45	16,84	12,96	9,96	10,13
<i>p-Wert</i>	n.s.*	n.s.~	n.s.#			

M = Mittelwert; SD = Standardabweichung; K = Kontroll-Gruppe; FO = Fischöl-Gruppe

* Mann-Whitney-U-Test vs. „Keine infektiöse Komplikation“

~ Mann-Whitney-U-Test vs. „Keine nicht-infektiöse Komplikation“

Mann-Whitney-U-Test vs. „Keine Komplikation“

Quelle: Eigene Messergebnisse aus Gewebeproben

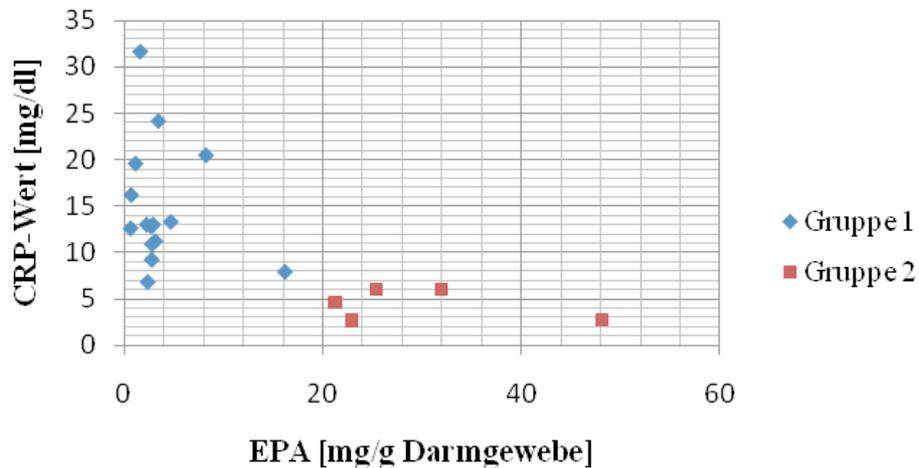
***Darst. 39:* Gehalt an EPA [mg/g Darmgewebe] in verschiedenen Patientengruppen ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Patienten ohne Komplikation; Mann-Whitney-U-Test)**

Zusammenhang zwischen dem Gehalt an EPA und den CRP-Werten

Patienten, bei denen an den postoperativen Tagen 3 oder 4 sehr hohe CRP-Werte (> 12 mg/ dl) gemessen wurden, zeigten relativ niedrige EPA-Gewebespiegel (< 5 mg/ g Darmgewebe) (= Gruppe 1). Umgekehrt hatten die Patienten mit relativ hohen EPA-Konzentration im Gewebe (> 15 mg/ g) an den postoperativen Tagen 3, bzw. 4, deutlich niedrigere CRP-Werte (< 5 mg/ dl) (= Gruppe 2). Die nachfolgende Darstellung zeigt diesen Zusammenhang graphisch (s. *Darst. 40*).

4 Ergebnisse

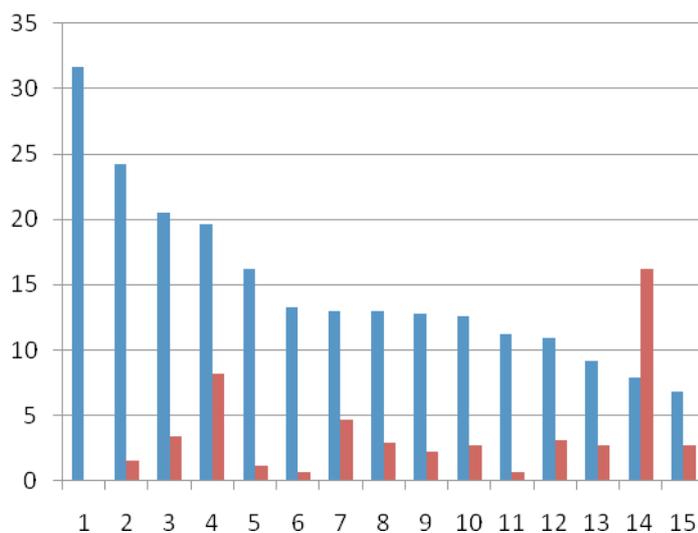
Diese Beobachtung lässt sich nur an den Tagen 3 und 4 im postoperativen Verlauf machen. Später, am postoperativen Tag 6, weisen die Patienten mit deutlich erhöhten CRP-Werten keine eindeutig niedrigeren EPA-Gewebespiegel auf.



Graphik: Eigene Darstellung

Darst. 40: Zusammenhang zwischen den CRP-Werten (Tag 3, bzw. 4) und dem EPA-Gewebespiegel

Das folgende Säulendiagramm (s. *Darst. 41*) zeigt in blau den CRP-Wert der 15 Patienten, bei denen am 3. postoperativen Tag ein CRP-Spiegel > 5mg/ dl gemessen wurde, und in rot den dazugehörigen Gehalt an EPA im Gewebe.



Graphik: Eigene Darstellung

Darst. 41: CRP-Werte [mg/ dl] mit den dazugehörigen EPA-Gewebespiegeln [mg/ g Darmgewebe]

Analgetikaverbrauch und Behandlungsdauer

Der Verbrauch an Schmerzmitteln wurde aus den Pflegedokumentationsbögen der einzelnen Patienten erfasst. Dabei wurde neben der Standardmedikation auch die Bedarfsmedikation berücksichtigt. Die durchschnittliche Therapiedauer mit Analgetika betrug $8,5 \pm 3,5$ Tage, wobei die Behandlungsdauer in der Fischöl-Gruppe mit $7,3 \pm 2,9$ Tagen deutlich kürzer war als in der Kontroll-Gruppe mit $9,6 \pm 3,5$ Tagen.

Die folgende Tabelle (s. Darst. 42) zeigt, welche Wirkstoffe verordnet wurden, sowie den Verbrauch pro Patient.

Wirkstoff	Gesamtverbrauch	Fischöl-Gruppe	Verbrauch pro Patient (n=22)	Kontroll-Gruppe	Verbrauch pro Patient (n=23)
<u>Parenteral:</u>					
Metamizol	534 g	278 g	12,64 g	256 g	11,13 g
Paracetamol	25 g	-	-	25 g	1,09 g
Piritramid	210 mg	37,5 mg	1,70 mg	172,5 mg	7,49 mg
<u>Transdermales (Pflaster):</u>					
Buprenorphin	65 mg	-	-	65 mg	2,83 mg
Fentanyl	4,2 mg	-	-	4,2 mg	0,18 mg
<u>Oral:</u>					
Ibuprofen	1,2 g	0,6 g	0,03 g	0,6 g	0,03 g
Metamizol	407,8 g	154,5 g	7,02 g	253,3 g	11,01 g
Oxycodon	210 mg	-	-	210 mg	9,13 mg
Paracetamol	0,5 g	0,5 g	0,02 g	-	-
Tramadol	50 mg	-	-	50 mg	2,17 mg
<u>Rektal:</u>					
Diclofenac	0,5 g	-	-	0,5 g	0,02 g

- = kein Verbrauch

Quelle: Pflegedokumentationsbögen; Amper Kliniken AG, Dachau

Darst. 42: Übersicht Analgetikatherapie

Beim Verbrauch an analgetischen Substanzen muss berücksichtigt werden, dass knapp die Hälfte der Patienten für durchschnittlich $3,7 \pm 1,5$ Tage postoperativ einen

4 Ergebnisse

Periduralkatheter erhielten (s. auch Kapitel 4.2.1). Der Substanzverbrauch für die Periduralanalgesie (PDA) wurde hier nicht berücksichtigt. Da signifikant mehr Patienten aus der Kontroll-Gruppe einen Periduralkatheter bekommen hatten (vgl. Kapitel 4.2.1) als Patienten der Fischöl-Gruppe, erwartete man einen höheren Analgetikaverbrauch in der Fischöl-Gruppe.

Der durchschnittliche Gesamtverbrauch pro Patient an Analgetika (parenteral und oral) war aber mit $19,7 \pm 6,7$ g (verschiedene Wirkstoffe) in der Fischöl-Gruppe wider Erwarten niedriger als in der Kontroll-Gruppe mit $23,7 \pm 7,7$ g. Betrachtet man die parenteral verabreichten Analgetika getrennt von den oral verabreichten, dann unterschieden sich die Gruppen in der Verordnung der i.v. Schmerzmittel kaum: $12,6 \pm 3,9$ g in der Fischöl-Gruppe vs. $12,2 \pm 7,2$ g in der Kontroll-Gruppe. Der Verbrauch an oralen Substanzen betrug in der Fischöl-Gruppe $7,1 \pm 4,9$ g, vs. $11,2 \pm 6,9$ g in der Kontroll-Gruppe. Die nachfolgende Tabelle zeigt eine Übersicht der Ergebnisse (s. *Darst. 43*).

	<i>Analgetikaverbrauch gesamt [g]</i>		<i>Analgetikaverbrauch parenteral [g]</i>		<i>Analgetikaverbrauch oral [g]</i>		<i>Behandlungs- dauer [Tage]</i>	
	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>
<i>Fischöl- Gruppe</i>	19,71	6,71	12,64	3,90	7,07	4,92	7,3	2,9
<i>Kontroll- Gruppe</i>	23,69	7,74	12,23	7,20	11,16	6,85	9,6	3,5
<i>p-Wert</i>	n.s. (0,073)		n.s. (0,765)		0,039		0,021	

M = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n.s. = nicht signifikant

Quelle: Pflegedokumentationsbögen; Amper Kliniken AG, Dachau

Darst. 43: Analyse des Analgetikaverbrauchs (M \pm SD; p < 0,05 vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)

Statistische Auswertung mit Mann-Whitney-U-Test:

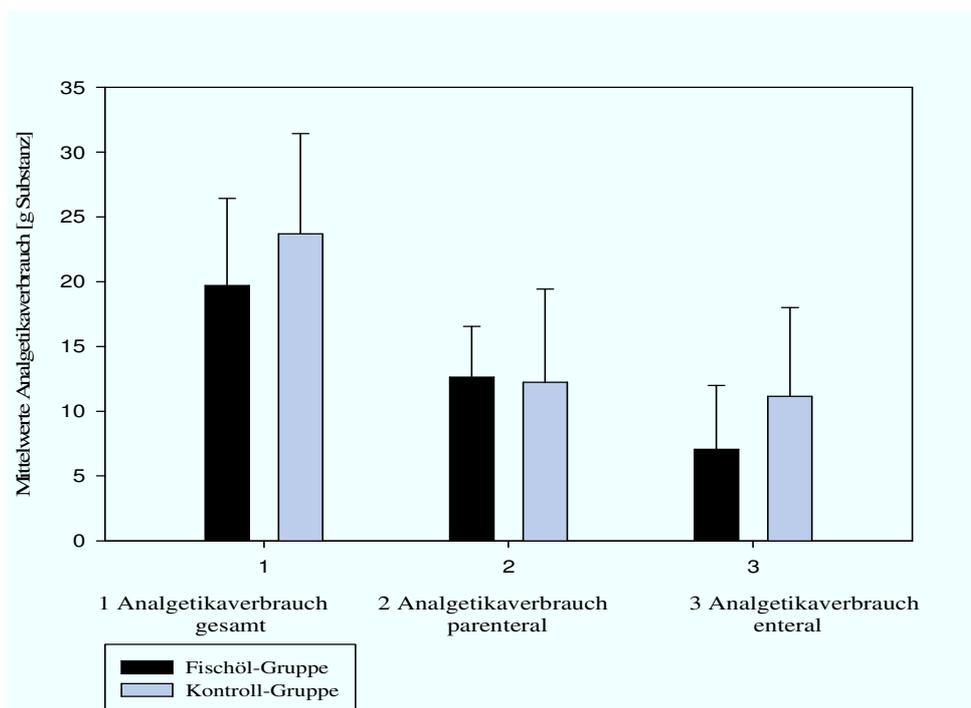
Tatsächlich ergibt die statistische Analyse des Gesamtverbrauchs (parenteral und oral) keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Es deutet sich aber ein Trend

4 Ergebnisse

dahingehend an, dass in der Fischöl-Gruppe wider Erwarten weniger Schmerzmittel verbraucht wurden.

Beim Verbrauch an parenteralen Substanzen konnte kein Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden. Das liegt daran, dass die Patienten standardmäßig an den ersten 3 Tagen nach der Operation i. d. R. pro Tag 4 Ampullen Metamizol zu je 1 g und Prokinetika bekamen und je nach individueller Schmerzlage zusätzlich Bedarfsmedikation gegeben wurde, bzw. die Patienten noch über die PDA versorgt waren.

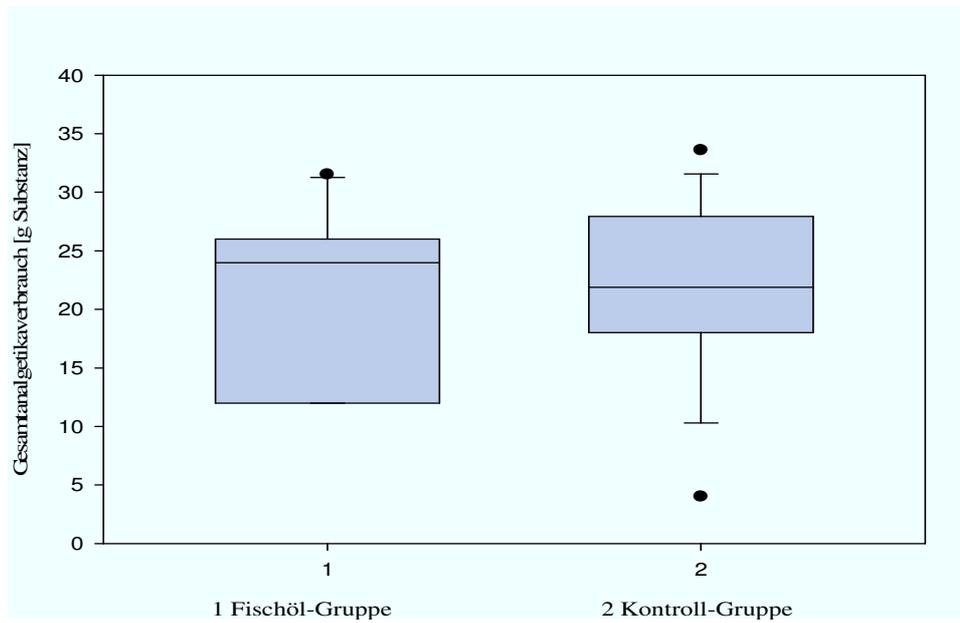
Die Auswertung des oralen Analgetikaverbrauchs zeigte aber einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen. In der Fischöl-Gruppe mussten nach der Operation signifikant weniger ($p = 0,039$; Mann-Whitney-U-Test) Schmerzmittel verordnet werden als in der Kontroll-Gruppe (s. *Darst. 44* und *Darst. 45*).



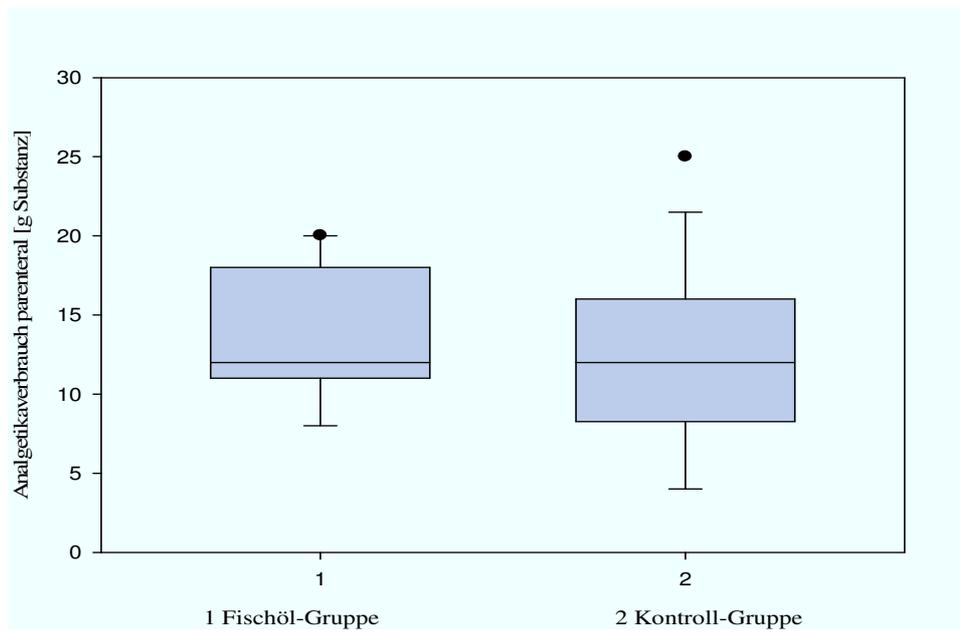
Graphik: Eigene Darstellung

Darst. 44: Unterschiede Analgetikaverbrauch; Säulendiagramm ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)

4 Ergebnisse

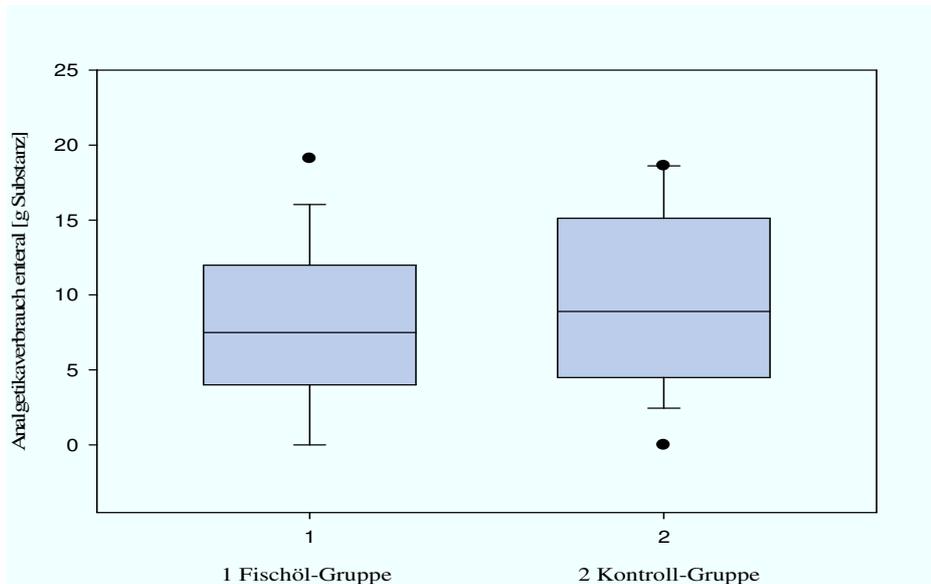


Analgetikaverbrauch gesamt



Verbrauch parenteraler Analgetika

4 Ergebnisse

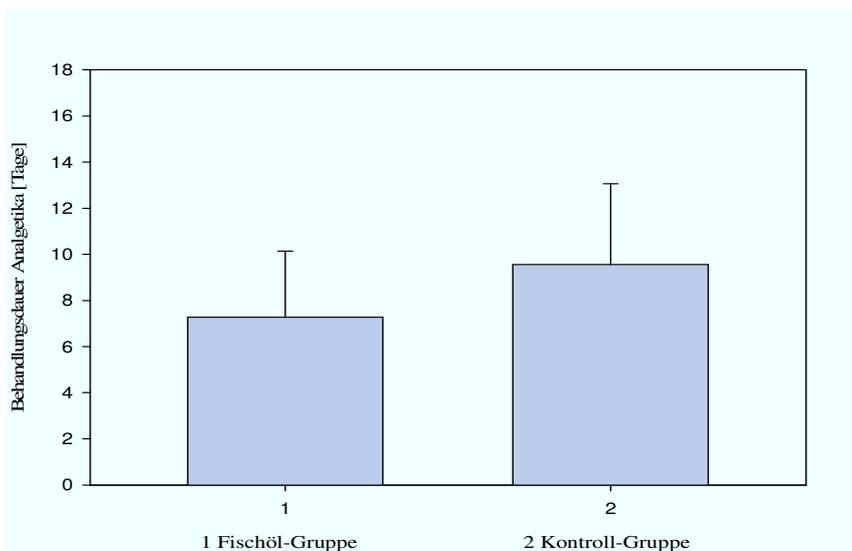


Verbrauch oraler Analgetika

Graphik: Eigene Darstellung

Darst. 45: Unterschiede Analgetikaverbrauch; Box-Plots ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)

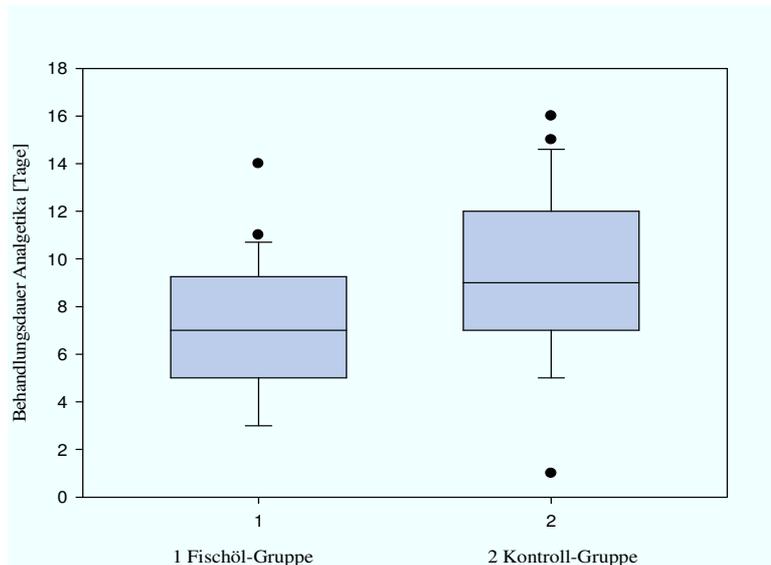
Auch die Auswertung der Behandlungsdauer in Tagen ergab einen signifikanten Unterschied zwischen Fischöl- und Kontroll-Gruppe ($p = 0,021$), d. h. bei den Patienten, die präoperativ Omega-3 Fettsäuren eingenommen hatten, konnte die Schmerzmitteltherapie ca. 2 Tage früher beendet werden (s. *Darst. 46* und *47*).



Graphik: Eigene Darstellung

Darst. 46: Unterschiede Analgetika Behandlungsdauer; Säulendiagramm ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)

4 Ergebnisse



Graphik: Eigene Darstellung

Darst. 47: Unterschiede Analgetika Behandlungsdauer; Box-Plots ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)

Antibiotikaverbrauch und Behandlungsdauer

Der Verbrauch an antimikrobiellen Substanzen wurde aus den Pflegedokumentationsbögen der einzelnen Patienten erfasst. Dabei wurde auch die topische selektive Darmdekontamination (SDD) mit einer Colistin, Tobramycin, Vancomycin und Amphotericin B enthaltenden Suspension (= PTV-Suspension) berücksichtigt. Bei 10 (45 %) Patienten der Fischöl-Gruppe und 17 (74 %) Patienten der Kontroll-Gruppe wurde für durchschnittlich $2,5 \pm 1,5$ bzw. $3,9 \pm 2,1$ Tage eine topische Darmdekontamination durchgeführt. Dazu erhielten die Patienten viermal täglich die o. g. Suspension über einen Rektalkatheter. Die durchschnittliche Therapiedauer mit Antibiotika betrug $6,1 \pm 3,0$ Tage (bezogen auf die Patienten, die mit Antibiotika behandelt wurden), d. h. $5,9 \pm 3,7$ Tage in der Fischöl-Gruppe und $6,4 \pm 2,4$ Tage in der Kontroll-Gruppe. Die folgende Tabelle (s. *Darst. 48*) zeigt, welche Wirkstoffe verordnet wurden, sowie den Verbrauch pro Patient.

4 Ergebnisse

<i>Wirkstoff</i>	<i>Gesamtverbrauch [g]</i>	<i>Fischöl-Gruppe [g]</i>	<i>Verbrauch pro Patient (n=22) [g]</i>	<i>Kontroll-Gruppe [g]</i>	<i>Verbrauch pro Patient (n=23) [g]</i>
Ceftriaxon	58	16	0,73	42	1,83
Ciprofloxacin i.v.	5,6	-	-	5,6	0,24
Ciprofloxacin oral	11	11	0,5	-	-
Metronidazol i.v.	36	8	0,36	28	1,22
Metronidazol oral	30	16,8	0,76	13,2	0,57
Piperacillin	36	-	-	36	1,57
PTV-Suspension (10 g Fl.)	326	87	3,95	239	10,39
(Sulbactam	18	-	-	18	0,78)
Vancomycin oral	26	14	0,64	12	0,52

Quelle: Pflegedokumentationsbögen; Amper Kliniken AG, Dachau

Darst. 48: Übersicht Antibiotikatherapie

Da sich die Rate an infektiösen Komplikationen in den beiden Gruppen nicht signifikant unterschied, erwartete man auch einen ähnlichen Verbrauch an Antibiotika.

Der durchschnittliche Gesamtverbrauch an Antibiotika pro Patient betrug $6,9 \pm 8,4$ g Substanz (verschiedene Wirkstoffe) in der Fischöl-Gruppe und $15,8 \pm 15,8$ g Substanz in der Kontroll-Gruppe.

Es mussten 5 (23 %) Patienten der Fischöl-Gruppe und 7 (30 %) Patienten der Kontroll-Gruppe postoperativ antibiotisch behandelt werden. Zählt man die SDD zur antimikrobiellen Behandlung hinzu, so erhöhen sich diese Zahlen auf 12 (55 %) bzw. 19 (83 %) Patienten. In der Fischöl-Gruppe wurden im Durchschnitt pro Patient $1,1 \pm 2,9$ g Antibiotika parenteral verabreicht, $1,9 \pm 3,7$ g oral. In der Kontroll-Gruppe wurden im Vergleich dazu $5,6 \pm 8,5$ g Antibiotika intravenös gegeben und $1,1 \pm 3,0$ g oral.

Die nachfolgende Tabelle zeigt eine Übersicht der Ergebnisse (s. Darst. 49).

4 Ergebnisse

	<i>Antibiotikaverbrauch gesamt [g] (mit PTV)</i>		<i>Antibiotikaverbrauch parenteral [g]</i>		<i>Antibiotikaverbrauch oral [g] (ohne PTV)</i>		<i>Behandlungs- dauer [Tage]*</i>	
	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>
<i>Fischöl- Gruppe</i>	6,95	8,44	1,09	2,91	1,90	3,65	5,9	3,7
<i>Kontroll- Gruppe</i>	15,82	15,77	5,11	8,49	1,10	3,05	6,4	2,4
<i>p-Wert</i>	0,019		0,029		n.s. (0,130)		n.s. (0,639)	

M = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n.s. = nicht signifikant

* nur bezogen auf die Patienten, die mit Antibiotika behandelt wurden

Quelle: Pflegedokumentationsbögen; Amper Kliniken AG, Dachau

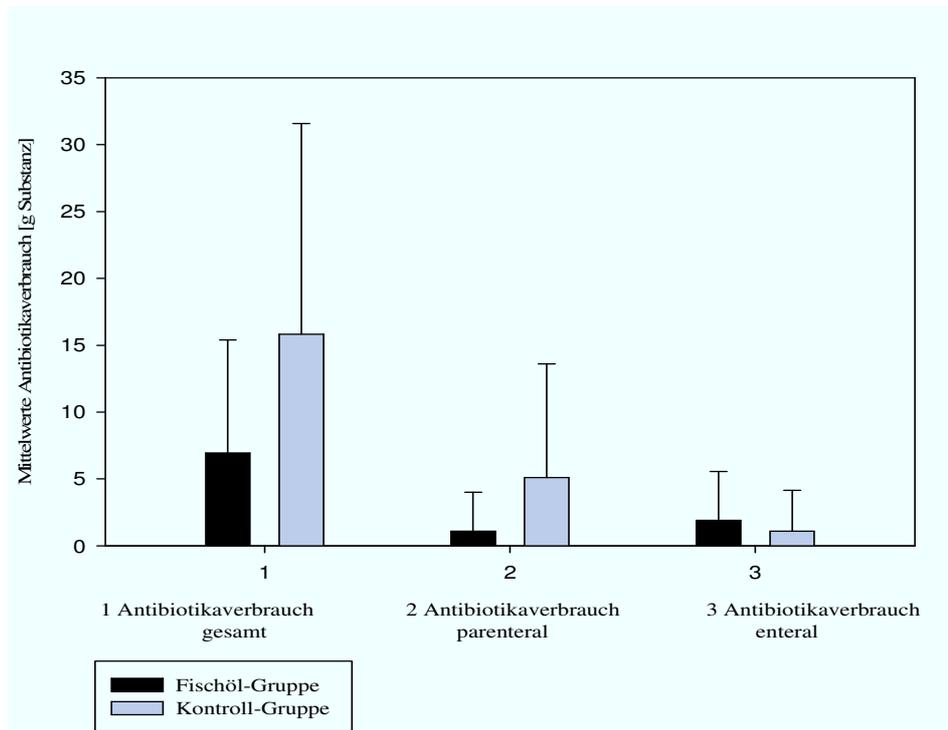
Darst. 49: Analyse des Antibiotikaverbrauchs (M ± SD; p < 0,05 vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)

Statistische Auswertung mit Chi-Quadrat-Test und Mann-Whitney-U-Test:

Vergleicht man die Anzahl an Patienten, die mit Antibiotika behandelt werden mussten in beiden Gruppen, so zeigt sich kein signifikanter Unterschied, wurden in der Fischöl-Gruppe tendenziell weniger Antibiotika eingesetzt ($p = 0,087$; χ^2 -Test). Die statistische Auswertung des Antibiotika-Gesamtverbrauchs (inklusive SDD) zeigt einen signifikanten Unterschied zwischen Fischöl- und Kontroll-Gruppe ($p = 0,019$; Mann-Whitney-U-Test). In der mit Omega-3 Fettsäuren vorbehandelten Fischöl-Gruppe wurden signifikant weniger Antibiotika verbraucht als in der Kontroll-Gruppe, obwohl sich die Gruppen hinsichtlich der Durchführung der postoperativen selektiven Darmkontamination nicht signifikant unterschieden. Der Mehrverbrauch in der Kontroll-Gruppe beruht vorwiegend auf infektiösen Komplikationen.

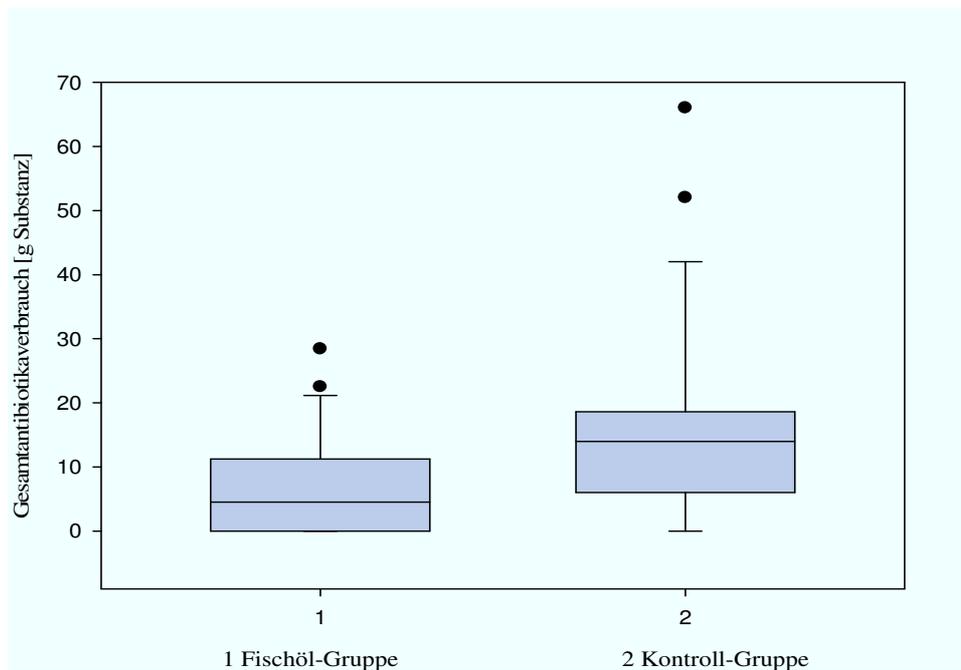
Bei der getrennten Betrachtung von parenteral und enteral applizierten Antibiotika zeigt sich kein signifikanter Unterschied beim Vergleich der oral verabreichten Substanzmengen, jedoch mussten in der Fischöl-Gruppe signifikant weniger intravenöse Antibiotika gegeben werden ($p = 0,029$; Mann-Whitney-U-Test) (s. *Darst. 50* und *51*).

4 Ergebnisse



Graphik: Eigene Darstellung

Darst. 50: Unterschiede Antibiotikaverbrauch; Säulendiagramm ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)

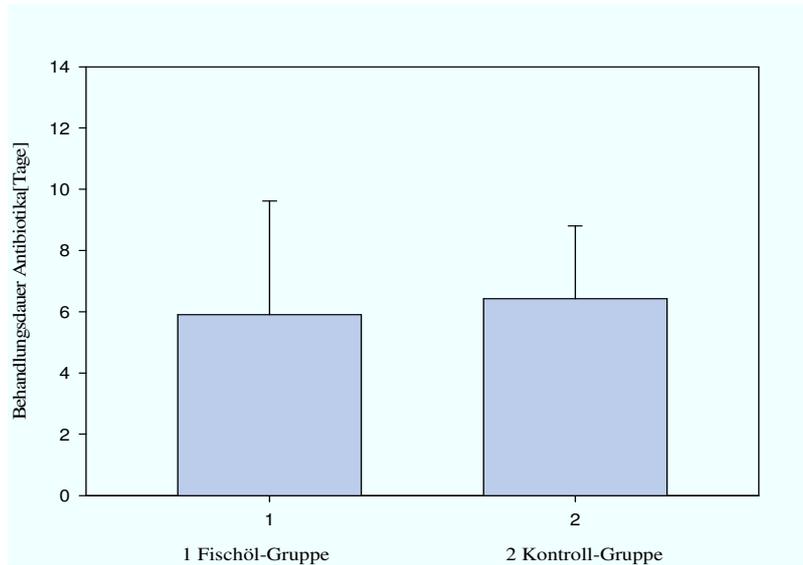


Graphik: Eigene Darstellung

Darst. 51: Antibiotikaverbrauch gesamt (parenteral und enteral); Box-Plots ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)

4 Ergebnisse

Die Therapiedauer, bezogen auf die tatsächlich mit antimikrobiellen Substanzen behandelten Patienten, unterschied sich nicht zwischen den beiden Gruppen (s. *Darst. 52*).



Graphik: Eigene Darstellung

Darst. 52: Unterschiede Antibiotika Behandlungsdauer; Säulendiagramm ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)

Krankenhausaufenthaltsdauer (length of hospital stay) und Aufenthaltsdauer in ICU (intensive care unit)

Die postoperative, stationäre Aufenthaltsdauer betrug durchschnittlich 11 ± 4 Tage. Mit 10 ± 3 Tagen konnten die Patienten der Fischöl-Gruppe ungefähr 2 Tage früher entlassen werden als die Kontroll-Personen, die nach der Operation durchschnittlich 12 ± 4 Tage in der Klinik bleiben mussten. Da die Patienten zwar in der Regel einen Tag vor der Operation stationär aufgenommen wurden, aber auch Patienten in die Studie eingeschlossen wurden, die bereits einige Tage in der Klinik behandelt worden waren (z. B. wegen akuter Beschwerden aufgrund von Divertikeln), wurde nur die Dauer des postoperativen Krankenhaus-Aufenthalts verglichen.

Während 3 Patienten der Kontroll-Gruppe zumindest für einen Tag zur Überwachung auf die Intensivstation verlegt werden mussten, war das bei keinem Patienten der

4 Ergebnisse

Fischöl-Gruppe nötig. Die Aufenthaltsdauer in der ICU betrug für die Kontroll-Gruppe durchschnittlich 1 ± 2 Tage (s. *Darst. 53*).

	<i>Krankenhaus- Aufenthaltsdauer [Tage]</i>		<i>Aufenthaltsdauer ICU [Tage]</i>	
	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>
<i>Fischöl- Gruppe</i>	9,8	3,5	0	0
<i>Kontroll- Gruppe</i>	11,6	4,5	0,6	2,5
<i>p-Wert</i>	0,049		n.s. (0,088)	

M = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n.s. = nicht signifikant

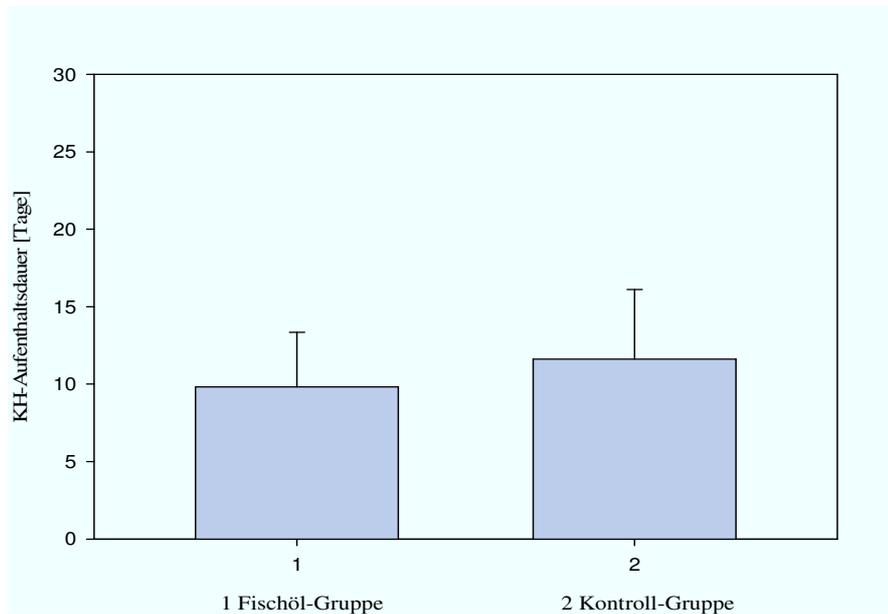
Quelle: Patientendokumentation; Amper Kliniken AG, Dachau

Darst. 53: Analyse des stationären Aufenthalts (M \pm SD; p < 0,05 vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)

Statistische Auswertung mit Mann-Whitney-U-Test:

Die statistische Analyse bestätigte einen signifikant kürzeren postoperativen Krankenhaus-Aufenthalt für die Fischöl-Gruppe ($p = 0,049$) (s. *Darst. 54*). Wegen der kleinen Zahl an Patienten, die postoperativ intensivmedizinisch überwacht werden mussten, bzw. wegen septischer Komplikationen dorthin verlegt wurden, ergab sich zwischen den beiden Gruppen kein statistisch signifikanter Unterschied hinsichtlich der Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation.

4 Ergebnisse



Graphik: Eigene Darstellung

Darst. 54: Unterschiede Krankenhaus-Aufenthaltsdauer; Säulendiagramm ($M \pm SD$; $p < 0,05$ vs. Kontroll-Gruppe; Mann-Whitney-U-Test)

4.2.3 Zusammenfassung

Hinsichtlich der Komplikationsrate konnten keine Unterschiede zwischen der mit Omega-3 Fettsäuren vorbehandelten Patienten und den Kontrollpersonen festgestellt werden. Es zeichnete sich aber ein Trend dahingehend ab, dass in der Fischöl-Gruppe weniger postoperative Komplikationen auftraten. Dies lässt sich vor allem bei der isolierten Betrachtung der infektiösen Komplikationen beobachten, kaum jedoch beim Vergleich der nicht-infektiösen Komplikationen.

Bei der Analyse der quantitativen Parameter konnte gezeigt werden, dass die Patienten der Fischöl-Gruppe einen signifikant höheren Gehalt an EPA in der Darmmukosa aufwiesen. Es ließen sich aber keine signifikanten Unterschiede zur Kontroll-Gruppe bzgl. des DHA- und Hydroxyprolin-Gehalts nachweisen, wobei in der Fischöl-Gruppe der DHA-Gehalt tendenziell höher lag.

4 Ergebnisse

Obwohl in der Fischöl-Gruppe signifikant weniger Patienten eine postoperative Periduralanalgesie bekamen als in der Kontroll-Gruppe, wurden weniger Analgetika oral verabreicht ($p = 0,039$). Bei der Applikation parenteraler Schmerzmittel hingegen, konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Die Behandlungsdauer mit Analgetika war in der Fischöl-Gruppe um durchschnittlich 2 Tage, und somit signifikant, kürzer ($p = 0,021$) als in der Kontroll-Gruppe.

In der Fischöl-Gruppe mussten außerdem signifikant weniger antimikrobielle Wirkstoffe ($p = 0,019$) verordnet werden. Bei getrennter Betrachtung parenteraler vs. enteraler Antibiotika zeigte sich, dass vor allem signifikant weniger parenterale Antibiotika ($p = 0,029$) eingesetzt werden mussten. Kein Unterschied zwischen den Gruppen ließ sich hinsichtlich der Therapiedauer feststellen. Die beiden Gruppen unterschieden sich auch nicht in der Durchführung der postoperativen selektiven Darmdekontamination.

Die Auswertung ergab außerdem, dass die Patienten der Fischöl-Gruppe durchschnittlich 2 Tage früher entlassen werden konnten, die Aufenthaltsdauer im Krankenhaus somit signifikant kürzer war ($p = 0,049$) als in der Kontroll-Gruppe.

Die nachfolgende Tabelle zeigt eine Übersicht der besprochenen Ergebnisse (vgl. *Darst. 55*):

	Fischöl-Gruppe ($n = 22$)	Kontroll-Gruppe ($n = 23$)	p-Wert*
Parameter ohne signifikanten Unterschied			
<i>Alter [Jahre]</i>	64,1 ± 9,2	65,4 ± 12,0	p > 0,05
<i>BMI</i>	25,7 ± 2,2	26,5 ± 3,8	p > 0,05
<i>Operationsdauer [Min.]</i>	221,2 ± 97,6	204,2 ± 78,8	p > 0,05
<i>Geschlechterverteilung</i>	9 Frauen : 13 Männer	11 Frauen : 12 Männer	p > 0,05
<i>lap vs. offen</i>	9 : 13	11 : 12	p > 0,05

4 Ergebnisse

	Fischöl-Gruppe (n = 22)	Kontroll-Gruppe (n = 23)	p-Wert*
<i>Ca vs. Non-Ca</i>	13 : 9	16 : 7	p > 0,05
<i>Infektiöse Komplikationen</i>	4	5	p > 0,05
<i>Nicht-infektiöse Komplikationen</i>	7	15	p > 0,05
<i>Gehalt DHA [mg/ g Darmgewebe]</i>	2,55 ± 1,84	1,88 ± 2,13	p > 0,05
<i>Gehalt Hydroxyprolin [g/100g Darmgewebe]</i>	0,30 ± 0,07	0,31 ± 0,06	p > 0,05
<i>Analgetikaverbrauch parenteral [g]</i>	12,64 ± 3,90	12,23 ± 7,20	p > 0,05
<i>Antibiotikaverbrauch oral [g]</i>	1,90 ± 3,65	1,10 ± 3,05	p > 0,05
<i>Antibiotika Behandlungsdauer [Tage]</i>	5,90 ± 3,71	6,43 ± 2,37	p > 0,05
<i>Aufenthaltsdauer ICU [Tage]</i>	0	0,6 ± 2,5	p > 0,05
Parameter mit signifikantem Unterschied			
<i>Gehalt EPA [mg/g Darmgewebe]</i>	12,13 ± 12,63	4,63 ± 5,28	0,013
<i>Analgetikaverbrauch oral [g]</i>	7,07 ± 4,92	11,16 ± 6,85	0,039
<i>Analgetika Behandlungsdauer [Tage]</i>	7,3 ± 2,9	9,6 ± 3,5	0,021
<i>Antibiotikaverbrauch gesamt [g]</i>	6,95 ± 8,44	15,82 ± 15,77	0,019
<i>Antibiotikaverbrauch parenteral [g]</i>	1,09 ± 2,91	5,11 ± 8,49	0,029
<i>KH-Aufenthaltsdauer [Tage]</i>	9,8 ± 3,5	11,6 ± 4,5	0,049

* t-Test, Mann-Whitney-U-Test, Chi-Quadrat-Test

Quelle: Eigene statistische Auswertung

Darst. 55: Zusammenfassung der Ergebnisse aus den statistischen Tests

4.2.4 Matched-pairs Analyse

Bei dieser Analyse wurde jedem Patienten der Fischöl-Gruppe ein Patient aus der Kontroll-Gruppe zugeordnet, wobei den Patienten mit einer bösartigen Erkrankung ein Partner mit ebenfalls einer Tumorerkrankung zugeteilt wurde und die Patienten mit einer gutartigen Erkrankung auch einen solchen Partner erhielten. Weitere Kriterien für die Paarbildung waren das Alter der Patienten (< 75 Jahre vs. > 75 Jahre), ein BMI Unterschied von nicht mehr als 4 Punkten, die Anlage eines PDK für die postoperative Phase oder nicht, und ein CRP-Wert kleiner bzw. größer als 2 mg/ dl (s. *Darst. 56*).

Kriterien für die Matched-pairs Analyse
Ca bzw. Non-Ca
Alter < 75 Jahre bzw. > 75 Jahre
BMI-Unterschied < 4 Punkte
PDK nein bzw. PDK ja
CRP < 2 mg/ dl bzw. CRP > 2 mg/ dl



absteigende Reihenfolge

Darst. 56: Eigene Festlegung der Match-Kriterien

Diese Art der Auswertung sollte durch gezieltes Zusammenfügen zweier möglichst ähnlicher Partner, d. h. die in definierten Kriterien möglichst exakt übereinstimmen, den Erfolg der Therapie aufzeigen. Als Testverfahren wurde für die normalverteilten Parameter ein gepaarter t-Test gewählt, für die nicht normalverteilten Daten der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test.

Tatsächlich zeigte sich bei dieser Darstellung, dass bei den Patienten, die präoperativ Omega-3 Fettsäuren eingenommen hatten, signifikant weniger infektiöse und nicht-infektiöse Komplikationen nach der Operation auftraten ($p = 0,043$; McNemar's Test). Ansonsten konnten die Ergebnisse der in Kapitel 4.2.1 und 4.2.2 geschilderten

4 Ergebnisse

Testverfahren bestätigt werden: der Gehalt an EPA in den Gewebeproben der vorbehandelten Patienten war signifikant höher als bei den Kontroll-Personen. Die Patienten der Fischöl-Gruppe erhielten außerdem signifikant weniger orale Analgetika, auch mussten sie weniger lange mit Schmerzmittel behandelt werden. Der Antibiotikaverbrauch war in dieser Gruppe signifikant niedriger als in der Kontroll-Gruppe und auch der postoperative Aufenthalt im Krankenhaus war in der Fischöl-Gruppe signifikant kürzer.

Für die übrigen Parameter- Gehalt an DHA und Hydroxyprolin, Verbrauch parenteraler Analgetika, Aufenthaltsdauer in der Intensivabteilung- konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Die Ergebnisse des gepaarten t-Tests sind in nachfolgender Tabelle zusammengefasst (s. *Darst. 57*).

	Gruppe	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standardfehler des Mittelwerts	p- Wert
<i>Alter [Jahre]</i>	Fischöl- Gruppe	22	64,64	8,94	1,91	n.s.
	Kontroll- Gruppe	22	65,36	12,273	2,62	
<i>BMI</i>	Fischöl- Gruppe	22	25,70	2,22	0,47	n.s.
	Kontroll- Gruppe	22	26,53	3,91	0,83	
<i>Gehalt EPA [mg/g]</i>	Fischöl- Gruppe	22	12,00	12,74	2,72	0,031
	Kontroll- Gruppe	22	4,60	5,40	1,15	
<i>Gehalt DHA [mg/g]</i>	Fischöl- Gruppe	22	2,55	1,84	0,39	n.s.
	Kontroll- Gruppe	22	1,83	2,17	0,46	

4 Ergebnisse

	Gruppe	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standardfehler des Mittelwerts	p- Wert
<i>Gehalt Hydroxyprolin [g/100g]</i>	Fischöl- Gruppe	22	0,30	0,07	0,015	n.s.
	Kontroll- Gruppe	22	0,31	0,06	0,013	
<i>Analgetikaverbrauch parenteral [g]</i>	Fischöl- Gruppe	22	12,64	3,90	0,83	n.s.
	Kontroll- Gruppe	22	12,24	7,37	1,57	
<i>Analgetikaverbrauch oral [g]</i>	Fischöl- Gruppe	22	7,10	4,92	1,05	0,034
	Kontroll- Gruppe	22	11,22	7,00	1,49	
<i>Behandlungsdauer Analgetika [d]</i>	Fischöl- Gruppe	22	7,27	2,87	0,61	0,014
	Kontroll- Gruppe	22	9,68	3,54	0,75	
<i>Antibiotikaverbrauch [g]</i>	Fischöl- Gruppe	22	6,95	8,44	1,80	0,012
	Kontroll- Gruppe	22	15,72	16,13	3,44	
<i>Behandlungsdauer Antibiotika [d]</i>	Fischöl- Gruppe	22	2,30	3,01	0,64	n.s.
	Kontroll- Gruppe	22	3,73	2,84	0,61	
<i>KH-Aufenthalts- dauer [d]</i>	Fischöl- Gruppe	22	9,82	3,53	0,75	0,023
	Kontroll- Gruppe	22	11,82	4,48	0,96	

Quelle: Eigene statistische Auswertung

Darst. 57: Matched-pairs Analyse- Ergebnisse des gepaarten t-Tests (M ± SD; p < 0,05 vs. Kontroll-Gruppe)

4.2.5 Kosten-Nutzen-Analyse

Bei dieser Form der Analyse wurden Kosten und Nutzen der Therapie in Geldeinheiten gemessen. Ziel dieser Aufstellung war es herauszufinden, ob die beobachteten positiven klinischen Ergebnisse, die Kosten der präoperativen Behandlung rechtfertigten. Ermittelt wurde ausschließlich der Nutzen durch die Ersparnisse bei der Therapie mit Schmerzmitteln und Antibiotika, und die Einsparung durch die verkürzte stationäre Liegedauer. Das entspricht den Parametern, bei denen signifikante Unterschiede zwischen Fischöl- und Kontroll-Gruppe festgestellt werden konnten.

Der Apothekeneinkaufspreis (AEK) für die Omega-3 Fettsäure-Kapseln, die zur präoperativen Konditionierung des Darms verwendet worden waren, betrug laut Lauer-Taxe (Stand 20.01.2010) 0,95 € pro Kapsel, der tatsächliche Klinikpreis lag jedoch bedeutend tiefer, in der vorliegenden Studie bei 0,01 € pro Kapsel. Zur Berechnung wurden daher die aktuell gültigen Apothekeneinkaufspreise unserer Klinikapotheke verwendet (s. *Darst. 58*).

Addiert man die Kosten pro Patient für die Supplementierung mit Fischöl, Analgetika- und Antibiotikatherapie, und für die stationäre Behandlungsdauer, so errechnet sich eine Gesamtsumme von 5462,22 € für einen Patienten der Fischöl-Gruppe und 6473,14 € für einen Patienten der Kontroll-Gruppe. Es ergibt sich also eine Differenz von ca. 1000 € pro Patient zugunsten der vorbehandelten Fischöl-Gruppe. Die Kosten für die präoperative Konditionierung des Darms mit Omega-3 Fettsäuren betragen 0,14 € (0,003 % der Gesamtkosten) pro Patient. Die Investition von 0,14 € in die Vorbehandlung hatte in diesem konkreten Fall also eine Kosteneinsparung von ca. 1000 € zur Folge, wobei die Kostenminderung durch die niedrigere Rate an postoperativen Komplikationen hier noch nicht berücksichtigt ist.

4 Ergebnisse

<i>ØTherapiekosten[#] pro Patient</i>	<i>Fischöl-Gruppe</i>	<i>Kontroll-Gruppe</i>	<i>Differenz</i>
„Fischöl“ Ø 14 Kapseln x 0,01 €	0,14 €	-	+ 0,14 €
<i>Analgetika oral</i> 1,2g Ibuprofen: 0,15 € 25g Metamizol: 0,98 € 10mg Oxycodon: 0,24 € 0,5g Paracetamol: 0,03 € 50mg Tramadol: 0,09 €	0,28 €	1,69 €	- 1,41 €
<i>Analgetika intravenös</i> 1g Metamizol: 0,15 € 1g Paracetamol: 2,17 € 15mg Piritramid: 0,88 €	2,-- €	4,48 €	- 2,48 €
<i>Antibiotika oral</i> 0,5g Ciprofloxacin: 0,10 € 0,4g Metronidazol: 0,08 € 0,5g Vancomycin: 2,02 €	2,84 €	2,21 €	+ 0,63 €
<i>Antibiotika intravenös</i> 2g Ceftriaxon: 1,17 € 0,4g Ciprofloxacin: 2,42 € 0,5g Metronidazol: 0,53 € 2g Piperacillin: 1,28 €	0,81 €	6,46 €	- 5,65 €
<i>Kosten stationärer Aufenthalt</i> 556,75 €/ Tag ⁺ :	5456,15 €	6458,30 €	- 1002,15 €
<i>Gesamtkosten</i>	5462,22 €	6473,14 €	- 1010,92 €

[#] Apothekeneinkaufspreis (inkl. MwSt) der Apotheke der Amper Kliniken AG;
Stand 20.01.2010

⁺ berechnet aus den häufigsten DRG´s bei Kolonresektionen (Bewertungsrelation x Basisfallwert (z. Zt. 2982,50€)/ mittlere Verweildauer)

Quelle: Eigene Erhebung

Darst. 58: Mittlere Behandlungskosten pro Patient

5 Diskussion

Die beiden Omega-3 Fettsäuren werden über zwei unterschiedliche Wege in die Zellen aufgenommen: aktiver proteinvermittelter Transport, sowie passive Diffusion durch den Phospholipidbilayer ohne Proteinbeteiligung.¹

Die Diffusion freier Fettsäuren läuft in mehreren Schritten ab: 1) zuerst die Adsorption an die äußere Seite der Membran, 2) die Einlagerung in die äußere Schicht des Bilayers, 3) „flip-flop“ von der äußeren auf die innere Seite der Phospholipid-Doppelschicht (= geschwindigkeitsbestimmender Schritt), und 4) die Desorption.² Durch den sog. „flip-flop“-Mechanismus - dabei klappen die protonierten Fettsäuren von der äußeren zur inneren Schicht der Phospholipid-Doppelmembran - ist die Geschwindigkeit der Transmembranbewegung der langkettigen Fettsäuren begrenzt.² Der Grund für dieses „Umklappen“ ist die amphiphile Eigenschaft der Fettsäuren, d. h. sie besitzen eine stark hydrophile Carboxylgruppe, die den Membrandurchtritt behindert und andererseits eine lange, lipophile Kohlenstoffkette mit der sie sich in die Phospholipidschichten einlagern können.

Die Hauptresorption der Omega-3 Fettsäuren findet im oberen Dünndarm, d. h. Duodenum und Jejunum nach Mizellenbildung mit Gallensäuren statt und sie erreichen *in vivo* das Kolon über die Blutbahn³. Der Dickdarm ist aber prinzipiell auch in der Lage, dort ankommende Fettsäuren aufzunehmen.

Die im Vergleich zu ¹⁴C-Jodoantipyrin, welches wegen seiner besonders guten transzellulären Permeabilität (pro Zeiteinheit aufgenommene Substanzmenge) als Positivkontrolle gewählt worden war⁴, langsamere Resorptionsgeschwindigkeit in die Kolonmukosa, kann also damit begründet werden, dass der Transmembran-Transport der Fettsäuren im Gegensatz zu ¹⁴C-Jodoantipyrin zum überwiegenden Teil durch Proteine, wie z. B. der FATP (*fatty acid transport proteins*)-Familie, FAT/CD36 oder FABPpm (*Plasma membrane fatty acid binding protein*) vermittelt wird,¹ die im Kolon

¹ S. Mansbach, C. M., Gorelick, F., Intestinal Lipid Absorption, 2007, S.645

² S. Kampf, J. P., Kleinfeld, A. M., Membrane Transport of FFA, 2007, S. 8/9

³ S. Siegenthaler. W. (Hrsg.), Klinische Pathophysiologie, 1982, S. 893

⁴ S. Dugas, M., Wechsler, R., Iodoantipyrine measuring gastrointestinal tissue blood flow, 1982, S. G161

weniger vorhanden sind als am Hauptresorptionsort¹, und auch die passive Diffusion ist, wie oben beschrieben, in ihrer Geschwindigkeit begrenzt durch den „flip-flop“-Mechanismus.

Da es sich bei den Fettsäuren außerdem um sehr lipophile Substanzen handelt, reichern sie sich zunächst vermehrt in der Mukosa an und werden nur langsam zur Serosa-Seite hin abgegeben. Eine Studie, die an einer Zellkultur aus Kolonkarzinomzellen (Caco-2 Zellen) durchgeführt wurde, konnte zeigen, dass diese Zellen erst nach zweistündiger Inkubation mit Lipidmizellen begannen, reesterifizierte Triglyceride ans basolaterale Medium abzugeben.²

Nach der Einlagerung können die freien Fettsäuren durch Reesterifikation als Triglyceride gespeichert werden. Studien konnten zeigen, dass sich durch Ergänzung der Ernährung durch Fischölpräparate die Fettsäurezusammensetzung verschiedener Zellen und Gewebe veränderte. Nach Supplementierung konnten EPA und DHA im Blutserum, in der Erythrozytenmembran, Leukozyten, in Leber, Darmmukosa (hier: Ileum), Tumorgewebe und auch in der Kolonmukosa nachgewiesen werden.^{3,4,5}

Bei den *in vitro* Versuchen mit der Ussing-Kammer konnten die beiden radioaktiv markierten Fettsäuren ¹⁴C-DHA und ¹⁴C-EPA nach Probenaufgabe auf die Lumenseite in der Kolonmukosa nachgewiesen werden. Die Anreicherung im Gewebe ist proportional zur Lipophilie der Probensubstanzen.⁶ Die Kinetik der ¹⁴C-DHA-Aufnahme zeigte *steady-state*-Phasen, in denen sich ein Gleichgewicht zwischen der Aufnahme in die Mukosa und der Abgabe in die Pufferlösung auf der basolateralen Seite einstellten. Die Beobachtung von ¹⁴C-EPA ergab Konzentrationsmaxima im Gewebe nach ca. 60 und 180 Minuten. Danach sank der Gewebespiegel jeweils wieder ab, vermutlich aufgrund des passiven Übertritts von ¹⁴C-EPA aus der Mukosa in die Pufferlösung gemäß dem Konzentrationsgefälle. Denkbar ist aber auch, dass die

¹ S. Mansbach, C. M., Gorelick, F., Intestinal Lipid Absorption, 2007, S.G645

² S. Tsuzuki, W., Absorption properties of micellar lipid metabolites into Caco-2 cells, 2007, S. 613

³ S. Senkal, M., Haaker, R., et al, Fatty acid patterns, 2005, S. 238

⁴ S. Gee, F. M., Watson, M., et al, Incorporation of EPA into colonic mucosa, 1999, S. 1863

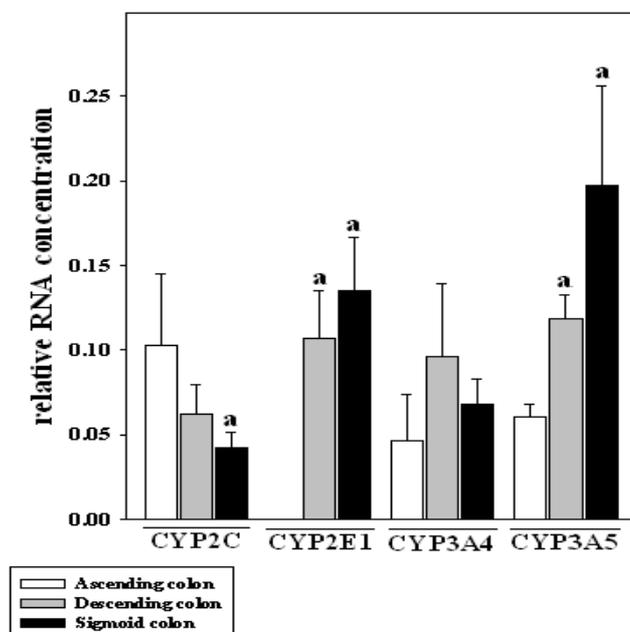
⁵ S. Tsekos, E., Reuter, C., et al, Administration of parenteral fish oil supplements, 2004, S. 328

⁶ S. Arellano, C., Philibert, C., et al, Metabolism of midazolam, 2007, S. 29

entsprechenden Transporter ab einer gewissen Schwellen-Konzentration beginnen, die beiden Fettsäuren aktiv ins Medium abzugeben.

Die *in vitro* Versuche mit der Ussing-Kammer zeigten, dass die Omega-3 Fettsäuren von den Kolonozyten aufgenommen werden können und in der Mukosa angereichert werden.

Um weitere Erkenntnisse über die Aufnahme und den Verbleib der Fettsäuren in den Kolonepithelzellen zu gewinnen, wurde die Kultur aus humanen Kolonozyten etabliert. Neben den Hepatozyten der Leber besitzen auch Enterozyten des Darms eine große Anzahl von Enzymen, die Xenobiotika metabolisieren können. Wichtig sind vor allem die Enzyme des Cytochrom P450 Komplexes, die als Cofaktoren Sauerstoff und NADPH benötigen und dadurch als Marker für die Aktivität der Zellkultur fungieren. Im Dickdarm findet man am häufigsten das Isoenzym CYP3A5 (vor allem im sigmoiden Teil des Kolons), aber auch CYP3A4, CYP2E1, CYP2C(8), u. a.¹ Die Verteilung der Isoenzyme variiert entlang des Dickdarms (s. *Darst. 59*).



Graphik: Bergheim, I., Bode, C., Parlesak, A., Distribution of cytochrome P450 2C, 2E1, 3A4, and 3A5 in human colon mucosa, in: BMC Clinical Pharmacology 27 (2005), 5:4

Darst. 59: Verteilung der CYP450 Isoenzyme entlang des Kolons

¹ S. Bergheim, I., Bode, C., Parlesak, A., Distribution of cytochrome P450 in human colon mucosa, 2005

Das Steroidhormon Testosteron wird von den Enzymen des Cytochrom-P 450 Komplexes stereoselektiv hydroxyliert zu 2 α -, 6 α -, 7 α -, 15 α -, 16 α -, 2 β -, 6 β -, 11 β -, 15 β - und 16 β -Hydroxytestosteron.¹

Der Nachweis von Hydroxytestosteron in der Zellkultur zeigt, dass das zugegebene Substrat Testosteron umgesetzt wurde und es sich somit um metabolisch aktive und funktionsfähige Zellen handelte.

In Studien wurde die Aufnahme von Lipiden an Caco-2 Zellen untersucht, die als *in vitro* Modell für das Darmwandepithel verwendet werden und ursprünglich aus einem humanen Kolon-Adenokarzinom stammen. Es konnte gezeigt werden, dass sowohl freie Fettsäuren, als auch mizellare und an BSA gebundene Fettsäuren innerhalb von Sekunden in die Enterozyten aufgenommen wurden.^{2, 3} Als Referenz für langkettige Fettsäuren wurde die Ölsäure, eine C-18 Säure mit einer Doppelbindung an C-9 verwendet. Durch ihre Abstammung von Tumorzellen weist diese Zellkultur allerdings einige Unterschiede zu intestinalen Epithelzellen auf. Sie besitzt morphologisch und biochemisch größere Ähnlichkeit mit Enterozyten des Dünndarms, bzw. des fetalen Kolons, als mit adulten Kolonepithelzellen.⁴

Im Gegensatz zur immortalisierten Zellkultur bildet die Primärkultur, isoliert aus humanem Spendergewebe, keinen konfluenten Monolayer, d. h. die Zellen adhären an der Oberfläche des Kulturgefäßes, es findet aber keine weitere Zellteilung statt.

Studien zur Wundheilung konnten daher an diesem Modell nicht durchgeführt werden, aber die Aufnahme der langkettigen Fettsäuren in die Kolonozyten konnte untersucht werden. Anders als bei der Ussing-Kammer, bei der die Mukosa als Ganzes verwendet wird, ist die Transportrichtung in diesem System nicht vorgegeben, d. h. dieses Modell dient sowohl zur Betrachtung der Absorption aus dem Darmlumen, als auch aus dem Blutkreislauf. Nach Inkubation konnten in der Suspension der lysierten Zellen die beiden Omega-3 Fettsäuren EPA und DHA nachgewiesen werden. Bereits nach relativ kurzer Zeit, ca. 30 Minuten, reichern sie sich in den Kolonozyten an. Der Darm scheint

¹ S. Usmani, K. A., Rose, R. L., Hodgson, E., Cytochrome P450 metabolism of testosterone, 2002, S. 385

² S. Tsuzuki, W., Absorption properties of micellar lipid metabolites into Caco-2 cells, 2007, S. 613

³ S. Trotter, P. J., Ho, S. Y., Storch, J., Fatty acid uptake by Caco-2 human intestinal cells, 1996, S. 342

⁴ S. Sambuy, Y., De Angelis, I., et al, The Caco-2 cell line, 2005, S. 2

somit in der Lage, ihm angebotene Fettsäuren, sei es aus dem Lumen, vor allem aber aus dem systemischen Kreislauf, aufnehmen und speichern zu können.

Die Ergebnisse aus den *in vitro* Versuchen führten zur Ausarbeitung des Studienplanes für die klinische Pilotstudie, v. a. zur Festlegung des Einnahmeschemas, zusammen mit den Ergebnissen aus einer von *Heller et al.* durchgeführten Studie, die zeigte, dass die präoperative Veränderung der Zusammensetzung der Zellmembranen, bevor die Entzündungskaskade in Gang kommt, zu einem besseren Ergebnis für den Patienten führt, hinsichtlich Cytokinausschüttung und des gesamten Genesungsprozesses, als die bloße postoperative Ernährungstherapie.¹ Aus diesen Beobachtungen heraus, wurde die präoperative Einnahme der Omega-3 Fettsäuren festgelegt ohne postoperative Verlängerung.

Eine italienische Studie untersuchte verschiedene Faktoren, die mit einer erhöhten postoperativen Komplikationsrate korrelierten. An ihr orientierte sich auch die Auswahl der Match-Kriterien. Untersucht wurden Patienten mit Tumoren im Gastrointestinaltrakt nach abdominalchirurgischen Eingriffen. Es zeigte sich, dass das Geschlecht, der Hämoglobin-Spiegel und die Zahl an Lymphozyten im Blut keinen signifikanten Einfluss auf die Komplikationsrate hatten. Faktoren, die mit einer erhöhten postoperativen Komplikationsrate korrelierten, waren: Pankreas-Chirurgie, fortgeschrittenes Alter, Gewichtsverlust $\geq 10\%$ in den letzten 6 Monaten, niedriges Serum-Albumin. Gewichtsverlust und die Art der Ernährung (intravenös Flüssigkeit, parenteral, enteral, Immunonutrition) korrelierten direkt mit infektiösen Komplikationen, Blutverlust und OP-Dauer nur mit nicht-infektiösen Komplikationen.² Da sich in dieser Pilotstudie hinsichtlich der Geschlechterverteilung und der Altersstruktur, der Gewichtsverteilung und der Operationsdauer keine signifikanten Unterschiede zwischen Fischöl- und Kontrollgruppe ergaben, wird davon ausgegangen, dass die Einflussfaktoren auf die Komplikationsrate homogen verteilt sind. Auch die Kriterien für die Matched-pairs Analyse wurden so gewählt, dass die Paare hinsichtlich

¹ S. Heller, A., Rössler, S., et al., Omega-3 fatty acids improve clinical outcome, 2006, S. 978

² S. Bozzetti, F., Gianotti, L., Braga, M., et al., Postoperative complications in gastrointestinal cancer patients, 2007, S. 704

Immunstatus (Divertikel-Patienten hatten präoperativ tendenziell erhöhte Entzündungswerte im Gegensatz zu den Karzinompatienten), Alter und Gewicht möglichst gut zueinander passten. Da der Periduralkatheter (PDK) die Wundheilung beeinflusst (s. S. 89.), wurde außerdem darauf geachtet, dass Fischöl-Patient und Kontrollperson in diesem Punkt übereinstimmten.

Braga et al. hatten in einer Studie die Auswirkungen von Immunonutrition (Ernährungsprodukte, die die Heilung durch Beeinflussung des Immunsystems begünstigen sollen; enthalten v. a. Arginin, Omega-3 Fettsäuren und RNS-Nukleotide) auf die Immunantwort, die Darmdurchblutung und auf die Rate an postoperativen, infektiösen Komplikationen untersucht. Es zeigte sich, dass nach präoperativer Einnahme über 5 Tage eine signifikant höhere Mikroperfusion des Darms erreicht werden kann, was essentiell zur Wundheilung beiträgt. Die Infektionsrate war signifikant niedriger, allerdings ergab sich kein Unterschied in Bezug auf die nicht-infektiösen Komplikationen.¹ Die Verlängerung der Einnahme auch nach der Operation brachte keine zusätzlichen Effekte.² Auch *Farreras et al.* konnten in ihrer Studie eine signifikant niedrigere Gesamt-Komplikationsrate und eine signifikant geringere Zahl an Wundinfektionen nach frühzeitiger, postoperativer Immunonutrition zeigen.³ *Gianotti et al.* verglichen die Auswirkungen von perioperativer Ernährung mit immunmodellierenden Diäten mit präoperativer ergänzender Nutrition. Sie fanden bei beiden Ernährungsformen eine signifikant geringere Inzidenz an postoperativen infektiösen Komplikationen. Die präoperative Supplementierung war genauso effektiv wie die perioperative.⁴ *Tsekos et al.* berichten sogar eine signifikant niedrigere Mortalität nach der perioperativen parenteralen Gabe von Fischöl.⁵ Im Gegensatz dazu konnte eine Forschergruppe aus Peking in ihren Arbeiten keinen signifikanten Unterschied bezüglich Mortalität und der Zahl an infektiösen Komplikationen feststellen.⁶ Allerdings hatten sie erst postoperativ mit der parenteralen Gabe von

¹ S. *Braga, M., Gianotti, L., et al.*, n-3 fatty acid supplementation improves outcome, 2002, S. 805

² S. *Zheng, Y., Li, F., et al.*, Application of perioperative immunonutrition, 2007, S. 254

³ S. *Farreras, N., Artigas, V., et al.*, Effect of immunonutrition on wound healing, 2005, S. 55

⁴ S. *Gianotti, L., Braga, M., et al.*, Preoperative oral supplementation, 2002, S. 1763

⁵ S. *Tsekos, E., Reuter, C., Stehle, P., et al.*, Administration of parenteral fish oil, 2004, S. 327

⁶ S. *Liang, B., Wang, S., et al.*, Impact of omega-3 fatty acid-supplemented nutrition, 2008, S. 2434

Omega-3 Fettsäure-enthaltender Ernährung begonnen.

Zwar konnte in der vorliegenden Pilotstudie hinsichtlich der Komplikationsrate nur knapp die Signifikanz erreicht werden (Matched-pairs Analyse), trotzdem zeigte die Auswertung einen deutlichen Trend an: in der Fischöl-Gruppe traten bei 18,2 % der Patienten infektiöse Komplikationen auf, und damit bei etwas mehr als halb so vielen Patienten wie in der Kontroll-Gruppe mit 30,4 % der Patienten. Noch deutlicher zeigt sich dieser Trend bei Betrachtung der Rate an nicht-infektiösen Komplikationen: hier waren in der Fischöl-Gruppe weniger als halb so viele Patienten (31,8 %) betroffen, verglichen mit der Kontroll-Gruppe (65,2 %). Die präoperative Einnahme von immunmodulierenden Omega-3 Fettsäuren scheint positive Auswirkungen auf das klinische Ergebnis nach der Operation zu haben.

Obwohl die zuvor aufgeführten Studien den positiven Effekt der Omega-3 Fettsäuren auf die Komplikationsrate belegen, wurden bisher in keiner die klinischen Beobachtungen im Zusammenhang mit dem Gewebespiegel an Omega-3 Fettsäuren betrachtet. In der vorliegenden Untersuchung konnte zum ersten Mal, wenn auch nicht statistisch signifikant, der Zusammenhang zwischen dem Gehalt an EPA in der Darmmukosa und dem Auftreten von Komplikationen nachgewiesen werden. Es konnte gezeigt werden, dass die Patienten, die postoperative Komplikationen entwickelten, durchschnittlich einen, im Vergleich zum Durchschnittswert, deutlich niedrigeren Spiegel an EPA im Gewebe aufwiesen, als Patienten, die in der Folge keine, oder ausschließlich nicht-infektiöse, Komplikationen hatten. Kein Zusammenhang ließ sich feststellen bei Betrachtung der EPA-Spiegel der Patienten mit nicht-infektiösen Folgeerkrankungen verglichen mit denen der Patienten mit regelrechter Wundheilung. Die Wirkung der Omega-3 Fettsäuren beruhte vor allem auf der Verhinderung von infektiösen Komplikationen, sie beeinflussten nicht das Auftreten nicht-infektiöser Komplikationen. Das zeigte sich auch daran, dass in der Fischöl-Gruppe bei den Patienten mit einer nicht-infektiösen Folgeerkrankung sogar höhere EPA-Werte im Gewebe messbar waren, als bei den Patienten ohne Komplikation.

Wie bereits erwähnt, konnten *Senkal et al.* in einer Studie mit 40 Patienten, die aufgrund von Tumoren im Gastrointestinaltrakt operiert wurden, die Aufnahme von Omega-3

Fettsäuren aus präoperativ applizierter enteraler Ernährung in das Serum, die Leber, Darmmukosa und in Tumorgewebe nachweisen. Bereits nach 5 tägiger oraler Einnahme zeigte sich ein signifikanter Anstieg an EPA und DHA in diesen Geweben.¹ Diese *in vivo* Daten lassen, ebenso wie die eigenen *in vitro* Versuche, darauf schließen, dass eine präoperative Konditionierung des Darms mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren möglich ist und dadurch die postoperative Immunreaktion zum Vorteil des Patienten beeinflusst werden kann. Tatsächlich konnte auch in der vorliegenden klinischen Untersuchung gezeigt werden, dass die Patienten der Fischöl-Gruppe signifikant höhere EPA-Konzentrationen in den bei der Operation entnommenen Darmgewebeproben aufwiesen, als die Patienten der Kontroll-Gruppe, bei denen keine präoperative Supplementierung mit Omega-3 Fettsäuren durchgeführt wurde. In älteren Studien konnten die maximalen Gewebespiegel an EPA und DHA 5 Tage nach parenteraler Gabe von Fischölemulsion gemessen werden.^{2, 3, 4} Dass die Konzentration an DHA im Gewebe in diesem Fall durch die orale Einnahme nicht signifikant erhöht werden kann, hat keinen negativen Einfluss auf die Immunsituation in den operierten Patienten. In einer Studie an humanen alveolaren Makrophagen konnte demonstriert werden, dass EPA die Expression von TNF- α und IL-1 β mRNA, sowie die Bildung von LTB₄, PGD₂, TNF- α und IL-1 β in wesentlich größerem Umfang inhibiert, als DHA. Die Hauptwirkung, d. h. die Verhinderung der Produktion des hoch entzündlichen LTB₄, welches die Gefäßpermeabilität erhöht, stark chemotaktisch auf Leukozyten wirkt, die Freisetzung lysosomaler Enzyme induziert (auch Kollagenase) und zur Bildung inflammatorischer Cytokine führt, geht also von EPA aus, welches durch präoperative Einnahme angereichert werden kann.⁵

Die Konditionierung des Darms mit Omega-3 Fettsäuren scheint einen günstigen Einfluss auf die Rate an postoperativen infektiösen Komplikationen auszuüben, konnte aber nicht mit Signifikanz bewiesen werden. Wenn man außerdem berücksichtigt, dass

¹ S. Senkal, M., Haaker, R., Linseisen, J., et al., Oral supplementation alters fatty acid patterns, 2005, S. 238

² S. Fürst, P., Kuhn, K. S., Fish oil emulsions: What benefits can they bring?, 2000, S. 10

³ S. Morlion, B. J., Torwesten, E., et al., Effect of parenteral fish oil, 1996, S. 1210

⁴ S. Wachtler, P., König, W., Senkal, M., et al., Influence of TPN, 1997, S. 193

⁵ S. Mickleborough, T., Tecklenburg, S., et al., EPA is more effective than DHA, 2008, S. 73

in der Fischöl-Gruppe signifikant weniger Patienten perioperativ einen PDK bekommen hatten im Vergleich zur Kontroll-Gruppe, dann gewinnt dieses Ergebnis noch zusätzlich an Gewicht. Geht man nämlich davon aus, dass durch den PDK die Sauerstoffversorgung des Wundgebietes verbessert wird (s. S. 89) und somit eine der wichtigsten Voraussetzungen für die adäquate Anastomosenheilung gegeben ist, so hatten die Patienten der Kontroll-Gruppe einen nicht zu unterschätzenden Vorteil gegenüber den Patienten der Fischöl-Gruppe. Trotzdem war die Komplikationsrate bei den mit Omega-3 Fettsäuren vorbehandelten Patienten niedriger.

Ein Grund könnte die abgemilderte Entzündungsreaktion bei diesen Patienten sein. Durch die präoperative Einnahme von Omega-3 Fettsäuren, bzw. Immunonutrition kommt es zu einem signifikant niedrigeren Anstieg an Entzündungsparametern nach der Operation. In Studien konnte gezeigt werden, dass es zwar zu einem postoperativen Anstieg an IL-6 (Maximum an Tag 1) im Blutplasma kommt, der jedoch signifikant niedriger verläuft als in der Kontroll-Gruppe, die keine immunmodulierende Diät erhalten hatte.^{1, 2, 3} Es konnten signifikant niedrigere Spiegel an TNF α gemessen werden, sowie ein gesteigertes Verhältnis von T-Helferzellen (CD4+) zu *Natural killer*-Zellen (CD8+).³

Die Entzündungsreaktion hat systemische Auswirkungen: der Kollagengehalt im gesamten Organismus nimmt ab, spezifisch das nicht-lösliche Kollagen, und die Wundheilung wird dadurch verzögert. Die Verringerung des Kollagengehaltes speziell in der Darmwand führt zu einer signifikant höheren Komplikationsrate.⁴ IL-6 supprimiert dabei die Fibroblastenproliferation, -aktivierung und -migration, welche essentiell für die Kollagenproduktion und somit für den Verschluss der Wundränder ist.⁴ Die verminderte Entzündungsreaktion nach präoperativer Einnahme von Omega-3 Fettsäuren, v. a. der niedrigere IL-6 Spiegel, begünstigt somit die Kollagensynthese und damit die Wundheilung. Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass Mäuse nach einer Diät mit Omega-3 Fettsäuren eine dickere Submukosa aufwiesen, die größere

¹ S. Braga, M., Gianotti, L., et al., Preoperative oral arginine and n-3 fatty acid supplementation, 2002, S. 809

² S. Zheng, Y., Li, F., et al., Application of perioperative immunonutrition, 2007, S. 254

³ S. Liang, B., Wang, S., et al., Impact of omega-3 fatty acid-supplemented nutrition, 2008, S. 2434

⁴ S. Prof. Dr. med. H. M. Schardey, Habilitationsschrift, 1997, S. 13

Mengen an Typ I Kollagen produzierte.¹ Auch in kultivierten Fibroblasten erreichte man eine Steigerung der Kollagensynthese durch die Zugabe von EPA.²

Omega-3 Fettsäuren beeinflussen nicht nur die Entzündungsreaktion und Immunantwort des Körpers, sie sind außerdem in der Lage durch Bildung von Eicosanoiden wie TXA₃ oder TXB₃ die Blut rheologie zu verändern. So konnte nachgewiesen werden, dass die Mikroperfusion des Kolons nach präoperativer Behandlung mit Immunonutrition signifikant höher war, als bei Kontroll-Personen.³ Wie bereits geschildert, ist die Durchblutung der Darmenden mit ausreichend Sauerstoff für die komplikationslose Anastomosenheilung eine der wichtigsten Voraussetzungen.⁴ Mangelnde Durchblutung verursacht ein hypoxisches, azidotisches, hyperlactämisches Wundmilieu. Unter solchen Bedingungen können Endothelzellen und Fibroblasten keine Angiogenesefaktoren sezernieren, die Vaskularisierung des Gewebes wird behindert.⁵ Eine adäquate Sauerstoffversorgung ist Voraussetzung für die Hydroxylierung von Lysin und Prolin während der Kollagensynthese.⁶ Es besteht ein direkter Zusammenhang zwischen dem Sauerstoffpartialdruck im Gewebe, der Stabilität der Anastomose und dem Hydroxyprolinegehalt.⁵

Omega-3 Fettsäuren verbessern die Mikrozirkulation im Darm und somit die Regeneration des Gewebes nach der OP. Die Vorgänge sind in nachfolgender Grafik zusammengefasst (s. *Darst. 60*).

¹ S. Whiting, C., Nland, P., Tarlton, J. F., n-3 PUFA reduce disease, 2005, S. 348

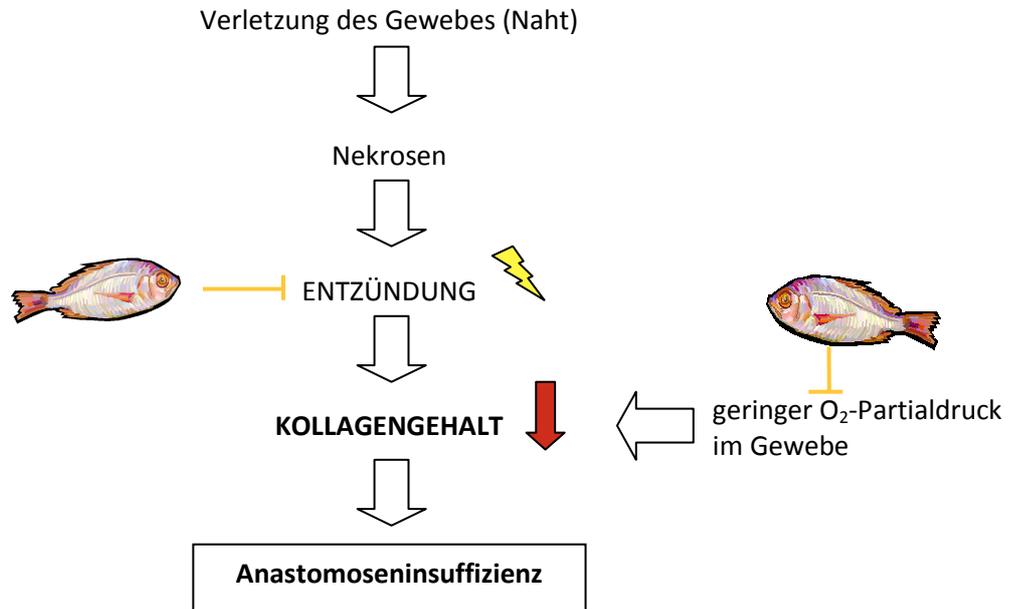
² S. Hankenson, K. D., Watkins, B. A., et al., Omega-3 fatty acids enhance collagen formation, 2000, S.88

³ S. Braga, M., Gianotti, L., et al., Preoperative oral arginine and n-3 fatty acid supplementation, 2002, S. 809

⁴ S. Prof. Dr. med. H. M. Schardey, Habilitationsschrift, 1997, S. 14 und 23

⁵ S. Jensen, J. A., Hunt, T. K., et al., Effect of lactate on angiogenesis, 1986, S. 574

⁶ S. Thornton, F. J., Barbul, A., Healing in the GI tract, 1997, S. 555



Grafik: Eigene Darstellung

Darst. 60: Einflussfaktoren auf die Anastomosenheilung

Wie oben beschrieben beeinflusst der Sauerstoffgehalt im Wundgebiet die Stabilität der Anastomose und somit die Wundheilung. Der Einfluss eines Periduralkatheters (PDK) auf die Sauerstoffversorgung des Gewebes und die Anastomosenheilung wird kontrovers diskutiert.^{1, 2} In einer Publikation von *Kabon et al.* wurde beschrieben, dass es bei der Verwendung einer Kombination aus Allgemein- und Periduralanästhesie zur Erhöhung des Sauerstoffpartialdruckes im Gewebe kommt. Geht man davon aus, dass es während der postoperativen Periduralanalgesie (PDA), die für durchschnittlich 3 bis 4 Tage durchgeführt wurde, zu einer verbesserten Sauerstoffversorgung des Wundgebietes kam, so hatten die Patienten mit PDK bessere Voraussetzungen für die Anastomosenheilung als die Patienten ohne PDK. Es bleibt daher festzuhalten, dass die Patienten der Fischöl-Gruppe trotz signifikant weniger PDA, tendenziell weniger postoperative Komplikationen aufwiesen als die Patienten der Kontroll-Gruppe.

Das C-reaktive Protein (CRP) dient als bekannter Serumparameter zum Nachweis und zur Verlaufskontrolle von akut-entzündlichen, bakteriell-infektiösen, nekrotisierenden

¹ S. Kabon, B., Fleischmann, E., et al., Epidural anesthesia increases tissue oxygenation, 2003, S. 1812

² S. Blass, C. E., Kirby, B. M., et al., Effect of epidural anesthesia on healing of colonic anastomoses, 1987, S. 75

und neoplastischen Erkrankungen. Mit dem CRP lässt sich außerdem die Immunantwort des OP-Traumas objektivieren.¹ Nach einer Operation kommt es zu einem CRP-Anstieg mit einem typischen zeitlichen Verlauf aufgrund des postoperativen inflammatorischen Prozesses, welcher die Schwere des Eingriffs widerspiegelt. Bereits ca. 6 Stunden nach Operationsende lassen sich CRP-Konzentrationen von mehr als 1mg/dl im Serum nachweisen. Konzentrationsmaxima werden ca. 48 Stunden nach Operationsende im Blut gemessen. Nach ca. 7 – 10 Tagen erfolgt die Normalisierung der Werte.

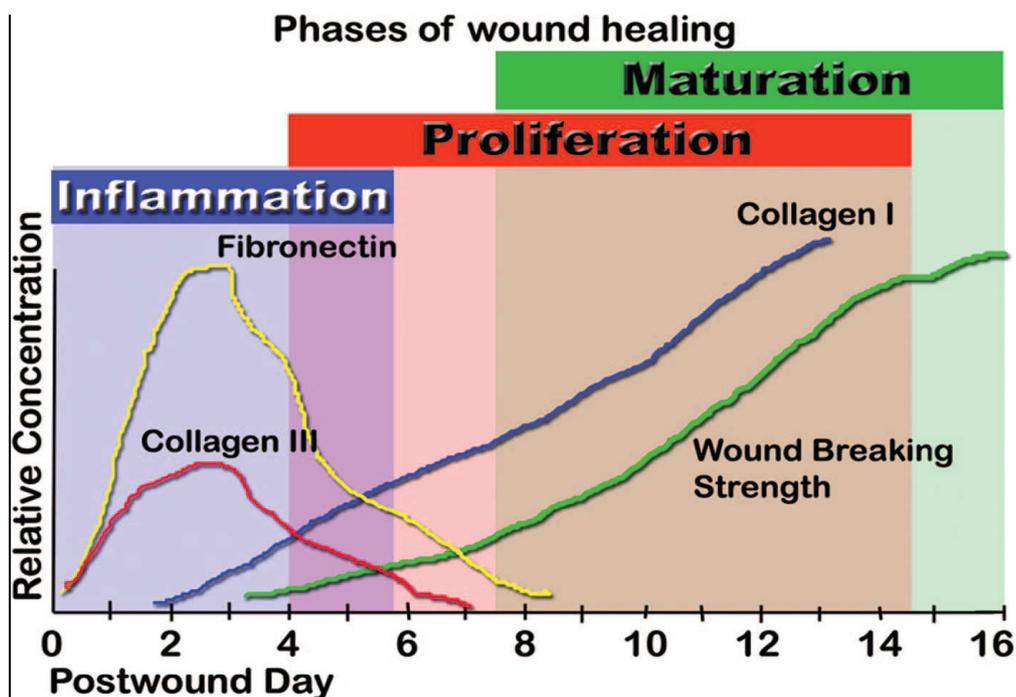
Da es auch bei Infektionen zum CRP-Anstieg kommt, kann es in der frühen postoperativen Phase zu einer Überschneidung der Immunreaktion von OP-Trauma und Frühinfektion kommen. Überraschenderweise zeigten bei der Auswertung der Patientendaten die Patienten mit nicht-infektiösen Komplikationen die höchsten CRP-Konzentrationen im postoperativen Verlauf, gefolgt von den Patienten mit sowohl infektiösen, als auch nicht-infektiösen Komplikationen und den Patienten mit Infektionen. Wie erwartet zeigten die Patienten, die keine Komplikationen erlitten hatten den geringsten Anstieg der CRP-Werte. Mit Hilfe des objektiven Serumparameters CRP lässt sich das OP-Trauma einschätzen und eine mögliche Frühinfektion erkennen. Darauf deuten vor allem auffällig hohe CRP-Werte ab dem 6. postoperativen Tag hin. Eine chinesische Studie fand heraus, dass der CRP-Spiegel durch die Applikation von Immunonutrition unverändert blieb und nicht beeinflusst wurde,² während eine italienische Studie das Gegenteil zeigen konnte: Patienten, die eine Trinknahrung angereichert mit Arginin, RNS, und Omega-3 Fettsäuren einnahmen, zeigten signifikant niedrigere CRP-Spiegel als ihre Kontrollen.³ Die eigenen Untersuchungen ergaben, dass Patienten, die an den postoperativen Tagen 3, bzw. 4 relativ hohe CRP-Werte aufwiesen, niedrige EPA-Konzentrationen im Gewebe hatten. Die Patienten mit hohen EPA-Gewebekonzentrationen dagegen, zeigten deutlich niedrigere CRP-Werte. Die Omega-3 Fettsäuren scheinen tatsächlich in der Lage zu sein, die posttraumatische Immunantwort zu modifizieren.

¹ S. Neumaier, M., Scherer, M. A., Stöckle, U., Detektion von Frühinfekten mit Hilfe des CRP, 2009

² S. Zheng, Y., Li, F., et al., Application of perioperative immunonutrition, 2007, S. 254

³ S. Braga, M., Gianotti, L., et al., Gut function and immune response, 1996, S. 125

Die Aminosäure L-4-Hydroxyprolin wurde untersucht, um eventuelle Unterschiede bei der Wundheilung erkennen zu können. Da Hydroxyprolin als Baustein des Kollagens benötigt wird und außerdem in anderen Strukturen des Körpers so gut wie nicht vorkommt, eignet sich die Bestimmung besonders gut als Parameter für die Quantifizierung der Wundheilung.¹ Das Kollagenmolekül besteht aus einer sich wiederholenden Sequenz von Glycin- Prolin- Hydroxyprolin. Während der proliferativen Phase der Wundheilung (4. – 14. Tag) und Narbenbildung, wird Kollagen synthetisiert und der Gehalt an Hydroxyprolin ist erhöht (s. *Darst. 61*).²



Graphik: Witte, M., Barbul, A., General principles of wound healing, Surg Clin North Am 77 (1997), S. 509

Darst. 61: Phasen der Wundheilung

¹ S. Farreras, N., Artigas, V., et al., Effect of immunonutrition on wound healing, 2005, S. 55

² S. Broughton, G., Janis, J., Attinger, C., wound healing, 2006, S. 18S

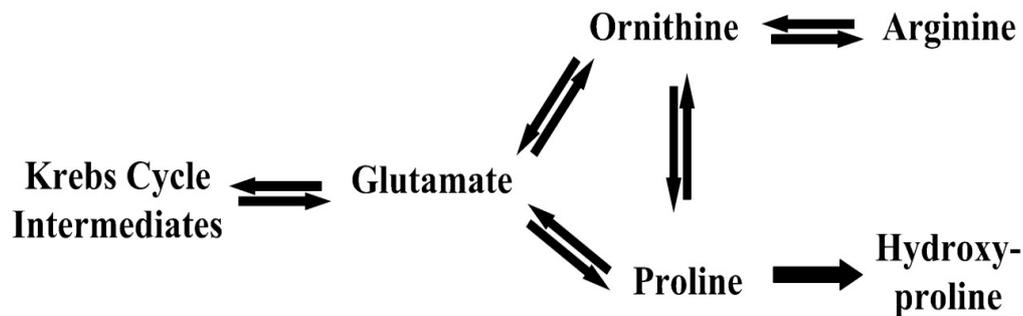
Da die Gewebeproben, mit denen die Hydroxyprolinbestimmung durchgeführt wurde, zum Zeitpunkt der Operation entnommen werden mussten, war nicht zu erwarten, dass ein eventuell vorhandener Einfluss der Omega-3 Fettsäuren auf den Hydroxyprolingehalt, und damit auf die Wundheilung, festgestellt werden würde.

Wie oben beschrieben, beginnt nämlich die Narbenbildung, d. h. die Kollagensynthese erst ab dem 4. postoperativen Tag, also können etwaige Unterschiede in der Hydroxyprolinkonzentration auch erst postoperativ gemessen werden. In dieser Arbeit ist es daher nicht möglich zu beurteilen, ob die präoperative Einnahme von Omega-3 Fettsäuren zur Beschleunigung der Wundheilung beiträgt. *Farreras* und Kollegen wählten zur Quantifizierung des Hydroxyprolin-Spiegels eine Methode, bei der den Patienten nach der OP ein subkutaner Katheter in den Bereich des rechten Deltamuskels gelegt wurde und dann über den Katheter die abgesetzten Mengen an Hydroxyprolin in nmol/cm Katheter bestimmt wurden.¹ In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass Patienten, die nach einer OP aufgrund eines Karzinoms im Gastrointestinaltrakt Immunonutrition verabreicht bekommen hatten, signifikant höhere Hydroxyprolin-Spiegel aufwiesen im Vergleich zu Kontroll-Personen, die eine isokalorische Formulierung mit äquivalenten Stickstoffmengen erhalten hatten. Außerdem konnten bei den Patienten, die keine postoperativen Wundheilungsstörungen entwickelt hatten, höhere Hydroxyprolin-Konzentrationen gemessen werden, als bei den Patienten mit Wundheilungsstörungen. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant. Der Grund warum hier tatsächlich ein Einfluss der immunmodellierenden Diät auf den Wundheilungsparameter Hydroxyprolin festgestellt werden konnte, mag auch an der Zusammensetzung der Formulierung liegen. Während in der eigenen Untersuchung ausschließlich die reinen Omega-3 Fettsäureester appliziert wurden, verwendete diese Gruppe eine normokalorische Sondennahrung angereichert mit Arginin (1,3 g/100 ml), Omega-3-Fettsäuren (0,33 g/100 ml) und RNS-Nukleotiden (0,13 g/100 ml). Arginin wird in Wunden durch das Enzym Stickstoffmonoxid-Synthase NOS (NOS = *Nitric Oxide Synthase*) zu Stickstoffmonoxid und Citrullin, bzw. durch das Enzym Arginase zu Harnstoff und Ornithin umgewandelt. Ornithin führt zur Bildung von Hydroxyprolin und somit zu vermehrter Kollagensynthese (s. *Darst. 62*)². Der in der Studie

¹ S. *Farreras, N., Artigas, V., et al.*, Effect of immunonutrition on wound healing, 2005, S. 57

² S. *Barbul, A.*, Proline precursors and collagen synthesis, 2008, S. 2022S

beobachtete positive Effekt auf die Wundheilung könnte also auf der Aminosäure Arginin beruhen, nicht auf den Omega-3 Fettsäuren.



Quelle: *Barbul, A.*, Proline precursors to sustain mammalian collagen synthesis, in: *J Nutr* 138 (2008); S. 2022

Darst. 62: Hydroxyprolin Biosynthese

Die Auswertung der postoperativen Schmerzmitteltherapie zeigte einen niedrigeren Verbrauch in der Fischöl-Gruppe und eine signifikant kürzere Behandlungsdauer. Da signifikant mehr Patienten aus der Kontroll-Gruppe einen Periduralkatheter für die postoperative Analgesie bekommen hatten als Patienten der Fischöl-Gruppe, erwartete man einen höheren Analgetikaverbrauch (Substanzen für die PDA wurden hier nicht berücksichtigt) in der Fischöl-Gruppe. Tatsächlich war aber der durchschnittliche Gesamtverbrauch, hierzu zählte Standard- und Bedarfsmedikation, in der Fischöl-Gruppe wider Erwarten niedriger als in der Kontroll-Gruppe, was vor allem auf einen signifikant niedrigeren Verbrauch an oralen Analgetika in der Fischöl-Gruppe zurück zu führen ist. Beim Verbrauch an parenteralen Substanzen konnte kein Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden, da alle Patienten standardmäßig an den ersten drei postoperativen Tagen Schmerzmittel (i. d. R. 4g Metamizol/ Tag) und Prokinetika parenteral verabreicht bekamen.

Der Analgetikaverbrauch und die Behandlungsdauer mit Schmerzmitteln wurde in den bisherigen Untersuchungen zur Applikation von Fischöl nicht betrachtet. Bei der Darstellung des Schmerzmittelverbrauchs in Gramm bleiben die hochpotenten Wirkstoffe, wie z. B. die Opioide (Piritramid, Fentanyl, Buprenorphin) unberücksichtigt. Allerdings wurden diese Substanzen nicht standardmäßig in der postoperativen Phase verabreicht, höchstens als Bedarfsmedikation, sondern v. a. die Substanzklasse der Nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAID), und die Einzeldosis

dieser Wirkstoffe liegt im Bereich von 0,5 – 1g Substanz. Trotzdem kann nicht direkt vom Analgetikaverbrauch in Gramm auf die Intensität der Schmerzen des Patienten rückgeschlossen werden. Dass Patienten, die präoperativ Omega-3 Fettsäuren eingenommen hatten, signifikant weniger orale Analgetika verbrauchten und außerdem die Schmerzmitteltherapie etwa zwei Tage früher beendet werden konnte als bei den Kontroll-Personen, ist möglicherweise auf die abgeschwächte Entzündungsreaktion in diesen Patienten zurückzuführen.^{1,2}

Die Analyse des Gesamtverbrauches an antimikrobiellen Substanzen zeigte ebenfalls einen signifikanten Unterschied zwischen Fischöl- und Kontroll-Gruppe, der auf dem Mehrverbrauch an Antibiotika in der Kontroll-Gruppe, aufgrund von infektiösen Komplikationen, beruhte. Die Anzahl an Patienten, die behandelt werden mussten, unterschied sich indes nicht signifikant, allerdings war ein leichter Trend dahingehend erkennbar, dass in der Fischöl-Gruppe tendenziell weniger Patienten therapiert werden mussten.

Nur eine klinische Studie konnte in der Literatur gefunden werden, die auch den Verbrauch an antimikrobiellen Substanzen untersucht hatte. *Heller et al.* beschrieben, dass durch die parenterale Applikation einer 10%igen Fischölemulsion in Dosen von 0,15 bis 0,20 g/kg/Tag der Verbrauch an Antibiotika gesenkt werden konnte.³

Der nur geringfügige Unterschied im Verbrauch an oralen Antibiotika in beiden Gruppen kann mit dem Auftreten von Kolitiden in der postoperativen Phase erklärt werden. Mit 2 betroffenen Patienten in der Fischöl-Gruppe und 3 Fällen in der Kontroll-Gruppe trat diese Komplikation in beiden Gruppen annähernd gleichhäufig auf. Die Behandlung der Kolitiden erfolgte durch die orale Gabe von Metronidazol oder/ und Vancomycin, wodurch sich der Verbrauch an oralen Antibiotika somit kaum unterschied. Kein Unterschied zeigte sich außerdem bei Betrachtung der Behandlungsdauer. Da die antibiotische Therapie über relativ genau definierte Zeiträume zu erfolgen hat (in der Regel 7-10 Tage) um die ausreichende Wirksamkeit

¹ S. Weiss, G., Meyer, F., et al., Immunmodulation by n-3 fatty acids, 2002, S. 90

² S. Grimm, H., Mayer, K., et al., n-3 fatty acids in inflammatory process, 2002, S. 60

³ S. Heller, A., Rössler, S., et al., Omega-3 fatty acids improve clinical outcome, 2006, S. 975

zu gewährleisten und einen Rückfall zu verhindern, war nicht zu erwarten, dass sich in diesem Punkt Unterschiede erkennen lassen, obwohl dies in einer italienischen Studie von *Braga* und Mitarbeitern gezeigt werden konnte. Sie sahen eine signifikant kürzere Therapiedauer bei Patienten mit postoperativen infektiösen Komplikationen, die prä- bzw. perioperativ Immunonutrition bekommen hatten.¹

In der vorliegenden Pilotstudie konnten die Patienten der Fischöl-Gruppe durchschnittlich 2 Tage, und somit signifikant früher, entlassen werden, als die Patienten der Kontroll-Gruppe. Hinsichtlich der Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation ergab sich aufgrund der Seltenheit des Ereignisses kein signifikanter Unterschied. Es gibt einige Studien, die bestätigen, dass man durch die Supplementierung von Omega-3 Fettsäuren, entweder allein, oder in Kombination mit Arginin und RNS-Nukleotiden, die Verkürzung der postoperativen Krankenhaus-Aufenthaltsdauer erreichen kann.^{2, 3, 4, 5, 6, 7} *Tsekos et al.* konnten zeigen, dass die Patienten, die, beginnend 1-2 Tage vor der Operation, sowie in der postoperativen Phase, eine parenterale Ernährung substituiert mit Fischöl erhalten hatten, durchschnittlich 5-7 Tage früher entlassen werden konnten als die Patienten der Kontroll-Gruppe ($p < 0,05$), die mit einer Standardernährung versorgt worden waren.² Die Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation (ICU) wurde durch die Ernährung nicht beeinflusst.² Das entspricht auch den eigenen Beobachtungen, die dahingehend keinen signifikanten Unterschied zwischen Fischöl- und Kontroll-Gruppe aufwiesen.

Im Gegensatz dazu fanden *Heller* und Mitarbeiter nicht nur eine dosisabhängige signifikante Reduktion der postoperativen stationären Aufenthaltsdauer durch die parenterale Applikation von Fischöl, sondern gleichzeitig auch eine Verkürzung der intensivmedizinischen Behandlungszeit.⁴ Drei weitere Studien belegen eine signifikant

¹ S. *Braga, M., Gianotti, L. et al.*, n-3 fatty acid supplementation improves outcome, 2002, S. 810

² S. *Tsekos, E., Reuter, C., Stehle, P., et al.*, Administration of parenteral fish oil, 2004, S. 327

³ S. *Zheng, Y., Li, F., et al.*, Meta-analysis of randomized controlled trials, 2007, S. 254

⁴ S. *Heller, A., Rössler, S., et al.*, Omega-3 fatty acids improve clinical outcome, 2006, S. 974

⁵ S. *Gianotti, L., Braga, M.*, Supplementation with a specialized diet, 2002, S. 1766

⁶ S. *Braga, M., Gianotti, L.*, Nutritional approach in surgical patients, 2002, S. 176

⁷ S. *Braga, M., Gianotti, L.*, Perioperative Immunonutrition, 1999, S. 429

kürzere postoperative Krankenhaus-Aufenthaltsdauer durch die prä-, bzw. perioperative Nahrungsergänzung mit Omega-3 Fettsäuren,^{1, 2, 3} eine weitere zeigt zumindest die Tendenz zur verkürzten Aufenthaltsdauer an, erreicht jedoch keine statistische Signifikanz.⁴ Eine skandinavische Studie aus dem Jahr 2007 hingegen konnte keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der stationären Aufenthaltsdauer zwischen Patienten mit Immunonutrition und Kontrollpersonen feststellen.⁵

Obwohl in der vorliegenden Pilotstudie die behandelnden Ärzte in der Regel nicht wussten, welche der Patienten mit Fischöl vorbehandelt waren und somit deren Aufenthaltsdauer nicht aktiv verkürzen konnten, existieren dennoch nicht nur objektive Kriterien dafür, wann ein Patient entlassen werden kann. Auch persönliche und häusliche Umstände im Umfeld des Patienten können dabei eine Rolle spielen.

Nur zwei der Studien, die sich mit dem klinischen Ergebnis nach prä- oder perioperativer Verabreichung von Omega-3 Fettsäuren befassten, konnten auch eine Reduktion der Mortalität in der Fischöl-Gruppe zeigen.^{6, 7}

Der positive wirtschaftliche Aspekt, den die Behandlung mit Omega-3 Fettsäuren mit sich bringt, beruht vor allem auf der verkürzten Liegedauer der Fischöl-Patienten. Der geringere Substanzverbrauch an Analgetika und Antibiotika fällt demgegenüber nur wenig ins Gewicht. Zusätzlich werden Kosten eingespart durch weniger postoperative Komplikationen und den dadurch verursachten ärztlichen und pflegerischen Aufwand⁸, die in der hier angestellten Kosten-Nutzen-Analyse nicht berücksichtigt wurden.

¹ S. Gianotti, L., Braga, M., Supplementation with a specialized diet, 2002, S. 1766

² S. Braga, M., Gianotti, L., Nutritional approach in surgical patients, 2002, S. 176

³ S. Braga, M., Gianotti, L., Perioperative Immunonutrition, 1999, S. 429

⁴ S. Liang, B., Wang, S., et al., Impact of omega-3 fatty acid-supplemented nutrition, 2008, S. 2436

⁵ S. Helminen, H., Raitanen, M., Kelloso, J., Immunonutrition, 2007, S. 46

⁶ S. Tsekos, E., Reuter, C., Stehle, P., et al., Administration of parenteral fish oil, 2004, S. 327

⁷ S. Heller, A., Rössler, S., et al., Omega-3 fatty acids improve clinical outcome, 2006, S. 974

⁸ S. Senkal, M., Zumtobel, V., et al., Cost-effectiveness of perioperative enteral immunonutrition, 1999, S. 1311

6 Zusammenfassung

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurde die Aufnahme und der Verbleib der beiden Omega-3 Fettsäuren EPA und DHA aus Fischöl in die Darmmukosa anhand zweier *in vitro* Modelle, der Ussing-Kammer und der Primärkultur aus humanen Kolonepithelzellen, untersucht. Die Erkenntnisse aus den Experimenten dienten als Grundlage für die Durchführung einer klinischen Pilotstudie, in der an Patienten mit Kolon- bzw. Rektumresektionen die Auswirkungen der präoperativen Konditionierung des Darms mit EPA und DHA auf postoperative Komplikationen und die Wundheilung analysiert wurden. Das Ziel der Arbeit war es festzustellen, ob durch die präoperative, orale Einnahme von Fischöl-Kapseln, postoperative infektiöse, sowie nicht-infektiöse Komplikationen vermindert werden können und die Wundheilung gefördert werden kann.

Die *in vitro* Versuche mit der Ussing-Kammer und der Kultur aus humanen intestinalen Epithelzellen haben gezeigt, dass die Omega-3 Fettsäuren nach Applikation über die Darmmukosa aufgenommen und in das Darmgewebe eingelagert werden. Aus den Zellkulturversuchen ließ sich ableiten, dass die Absorption der Omega-3 Fettsäuren in die Enterozyten sowohl aus dem Darmlumen, als auch aus dem Blutkreislauf erfolgt.

Die präoperative Konditionierung des Darms durch die orale Einnahme von Omega-3 Fettsäuren ist möglich und führt zur Veränderung der Phospholipidmuster in den Darmzellen. Es ist wichtig, dass die Omega-3 Fettsäuren vor dem Eintreten der posttraumatischen Entzündungsreaktion in die Zellmembranen eingebaut werden, um die Modifikation der ausgeschütteten Cytokine und anderen Entzündungsparameter hin, zu abgemilderten, weniger inflammatorischen Mediatoren zu erreichen, und damit eine schnellere Regeneration des Patienten zu gewährleisten.

Die vorliegende Pilotstudie hat gezeigt, dass durch die präoperative Anwendung von Omega-3 Fettsäuren weniger postoperativen Komplikationen auftraten, wobei eine erhöhte Konzentration an EPA im Gewebe mit einer verminderten Rate an infektiösen Komplikationen korrelierte. Der Gehalt an DHA im Gewebe unterschied sich nicht

signifikant zwischen den Patientengruppen. Der CRP-Spiegel als objektiver Parameter für den postoperativen Entzündungsprozess war in den Patienten mit hohen EPA-Gewebekonzentrationen deutlich niedriger als in den Kontrollpersonen. Zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme konnte allerdings kein Effekt auf den Wundheilungsparameter Hydroxyprolin beobachtet werden.

Durch die präoperative Anwendung der Omega-3 Fettsäuren wurde der Verbrauch an Analgetika und Antibiotika gesenkt, sowie die Behandlungsdauer mit Schmerzmitteln verkürzt. Die Patienten der Fischöl-Gruppe konnten durchschnittlich zwei Tage früher entlassen werden als die Patienten der Kontroll-Gruppe.

Die Betrachtung des wirtschaftlichen Aspektes der Vorbehandlung mit Fischöl zeigte die Möglichkeit zur Kosteneinsparung durch die verkürzte Liegedauer und weniger ärztlichen und pflegerischen Aufwand.

Die präoperative Applikation von Omega-3 Fettsäuren aus Fischöl wirkte sich insgesamt positiv auf den Genesungsprozess der Patienten aus und kann daher als unterstützende Maßnahme für einen verbesserten Heilungsverlauf nach Kolon- und Rektumresektion empfohlen werden.

Literaturverzeichnis

- Arellano, Cécile, Philibert, Claude, Vachoux, Christelle, et al.* [metabolism of midazolam, 2007] : The metabolism of midazolam and comparison with other CYP enzyme substrates during intestinal absorption : in vitro studies with rat everted gut sacs, in : J Pharm Pharmaceut Sci 10 (2007), S. 26-36
- Barbul, Adrian* [Proline precursors and collagen synthesis, 2008]: Proline precursors to sustain mammalian collagen synthesis, in: J Nutr 138 (2008), S. 2021S-2024S
- Baten, A., Sakamoto, K., Shamsuddin, A. M.* [Long-term culture of human colonic epithelial cells, 1992]: Long-term culture of normal human colonic epithelial cells in vitro, in: FASEB J 6 (1992), S. 2726-2734
- Berbert, A. A., Kondo, C. R., Almendra, C. L., Matsuo, T., Dichi, I.* [Supplementation of fish oil, 2005]: Supplementation of fish oil and olive oil in patients with rheumatoid arthritis, in: Nutr 21 (2005), S. 131-136
- Bergheim, Ina, Bode, Christiane, Parlesak, Alexandr* [Distribution of cytochrome P450 in human colon mucosa, 2005]: Distribution of cytochrome P450 2C, 2E1, 3A4, and 3A5 in human colon mucosa, in: BMC Clinical Pharmacology 27. Okt. 2005, 5:4
- Blass, C. E., Kirby, B. M., Waldron, D. R., Turk, M. A., Crawford, M. P.* [Effect of epidural anesthesia on healing of colonic anastomoses, 1987]: The effect of epidural anesthesia on healing of colonic anastomoses, in: Vet Surg 16 (1987), S. 75-79
- Boisset, Michel, Botham, Roger, Haegele, Klaus D., Lenfant, Bernard, Pachot, Jean I.* [Absorption in Ussing chambers, 2000]: Absorption of angiotensin II antagonists in Ussing chambers, Caco-2, perfused jejunum loop and in vivo:: Importance of drug ionisation in the in vitro prediction of in vivo absorption, in: Eur J Pharm Sci 10 (2000), S. 215-224
- Bozzetti, Federico, Gianotti, Luca, Braga, Marco, et al.* [Postoperative complications, 2007] [Postoperative complications in gastrointestinal cancer patients, 2007]: Postoperative complications in gastrointestinal cancer patients: the joint role of the nutritional status and the nutritional support, in: Clin Nutr 26 (2007), S. 698-709
- Braga, Marco, Gianotti, Luca, Cestari, Andrea, Vignali, Andrea, Pellegatta, Fabio, Dolci, Alberta, Di Carlo, Valerio* [Gut function and inflammatory responses, 1996]: Gut function and inflammatory responses in patients perioperatively fed with supplemented enteral formulas, in: Arch Surg 131 (1996), S. 1257-1264
- Braga, Marco, Gianotti, Luca, Nespoli, Luca, Radaelli, Giovanni, Di Carlo, Valerio* [Nutritional approach in surgical patients, 2002]: Nutritional approach in malnourished surgical patients, in: Arch Surg 137 (2002), S. 174-180

- Braga, Marco, Gianotti, Luca, Radaelli, Giovanni, Vignali, Andrea, Mari, Gilberto, Gentilizi, Oreste, Di Carlo, Valerio* [Perioperative Immunonutrition, 1999]: Perioperative Immunonutrition in patients undergoing cancer surgery, in: *Arch Surg* 134 (1999), S. 428-433
- Braga, Marco, Gianotti, Luca, Vignali, Andrea, Cestari, Andrea, Bisagni, Pietro, Di Carlo, Valerio* [Nutrition after abdominal surgery, 1998]: Artificial nutrition after major abdominal surgery: Impact of route of administration and composition of the diet, in: *Crit Care Med* 26 (1998), S. 24-30
- Braga, Marco, Gianotti, Luca, Vignali, Andrea, Di Carlo, Valerio* [Immunonutrition in surgical patients, 1998]: Immunonutrition in gastric cancer surgical patients, in *Nutrition* 14 (1998), S. 831-835
- Braga, Marco, Gianotti, Luca, Vignali, Andrea, Di Carlo, Valerio* [Outcome after colorectal resection for cancer, 2002] [Preoperative oral n-3 fatty acids and outcome, 2002] [Preoperative oral arginine and n-3 fatty acid supplementation, 2002] [n-3 fatty acid supplementation improves outcome, 2002]: Preoperative oral arginine and n-3 fatty acid supplementation improves the immunometabolic host response and outcome after colorectal resection for cancer, in: *Surgery* 132 (2002), S. 805-814
- Broughton, George, Janis, Jeffrey E., Attinger, Christopher E.* [wound healing, 2006]: The basic science of wound healing, in: *Plast Reconstr Surg* 117 Suppl (2006), S. 12S-34S
- Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel (Hrsg.)* [NVS II-Ergebnisbericht Teil 2, 2008]: Nationale Verzehrsstudie II, Ergebnisbericht Teil 2, 2008, S. 1-307
- Calder, P. C.* [n-3 fatty acids, inflammation, and immunity, 2004]: n-3 fatty acids, inflammation, and immunity--relevance to postsurgical and critically ill patients, in: *Lipids* 39 (2004), S. 1147-1161
- Camuesco, Desirée, Gálvez, Julio, Nieto, Ana, Comalado, Mònica, Rodríguez-Cabezas, Concha, Angel, Xaus, Jordi, Zarzuelo, Antonio* [Fish oil attenuates colonic inflammation, 2005]: Dietary olive oil supplemented with fish oil, rich in EPA and DHA (n-3) in rats with DSS-induced colitis, in: *J Nutr* 2005, S. 687-694
- Caughey, G. E., Mantzioris, E., Gibson, R. A., Cleland, L. G., James, M. J.* [Fish oil diet, 1996]: The effect on human tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil, in: *Am J Clin Nutr* 63 (1996), S. 116-122
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung e. V.* [Ernährungsbericht 2004]: Ernährungsbericht 2004 – Ernährungssituation in Deutschland (Kapitel 1)
- Di Carlo, Valerio, Gianotti, Luca, Balzano, Gianpaolo, Zerbi, Alessandro, Braga, Marco* [Complications of pancreatic surgery, 1999]: Complications of pancreatic surgery and the role of perioperative nutrition, in *Dig Surg* 16 (1999), S. 320-326

- Dindo, Daniel, Clavien Pierre-Alain* [What is a surgical complication?, 2008]: What is a surgical complication?, in *World J Surg* 32 (2008), S. 939-941
- Dugas, Marcus, Wechsler, Richard* [Iodoantipyrine measuring gastrointestinal tissue blood flow, 1982]: Validity of iodoantipyrine clearance for measuring gastrointestinal tissue blood flow, in: *Am J Physiol* 243 (1982), S. G155-G171
- Dupont, Isabelle E., Carpentier, Yvon A.* [Clinical use of lipid emulsions, 1999]: Clinical use of lipid emulsions, in: *Curr Opin Clin Nutr Met Care* 2 (1999), S. 139-145
- Endres, S., Ghorbani, R., Kelley, V. E., et al.* [Supplementation with n-3 fatty acids, 1989] : The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells, in: *N Engl J Med* 320 (1989), S. 265-271
- Farreras, Núria, Artigas, Vicenç, Cardona, Daniel, et al.* [Immunonutrition in surgical patients, 2005] [Effect of immunonutrition on wound healing, 2005]: Effect of early postoperative enteral immunonutrition on wound healing in patients undergoing surgery for gastric cancer, in: *Clin Nutr* 24 (2005), S. 55-65
- Folch, Jordi, Lees, M., Sloane Stanley, G. H.* [Isolation of Lipides, 1957]: A simple method for the isolation and purification of total lipides [!] from animal tissues, in: *J Biol Chem* 226 (1957), S. 497-509
- Fonti, R., Latella, G., Bises, G., Magliocca, F., Nobili, F., Caprilli, R., Sambuy, Y.* [Human colonocytes in primary culture: a model to study epithelial growth, metabolism and differentiation, in: *Int J Colorect Dis* 9 (1994), S. 13-22
- Fürst, P., Kuhn, K. S.* [Fish oil emulsions, 2000]: Fish oil emulsions: what benefit can they bring?, in: *Clin Nutr* 19 (2000), S. 7-14
- Gee, Jennifer M., Watson, Mark, Matthew, Jennifer A., Rhodes, Michael, Speakman, Christopher J. M., Stebbings, William S. L., Johnson, Ian T.* [Incorporation of EPA into Colonic Mucosa, 1999]: Consumption of fish oil leads to prompt incorporation of Eicosapentaenoic acid into colonic mucosa of patients prior to surgery for colorectal cancer, but has no detectable effect on epithelial cytokinetics, in: *J Nutr* 129 (1999), S. 1862-1865
- Gianotti, Luca, Braga, Marco, Nespoli, Luca, et al.* [Preoperative oral supplementation, 2002] [Supplementation with a specialized diet, 2002]: A randomized controlled trial of preoperative oral supplementation with a specialized diet in patients with gastrointestinal cancer, in: *Gastroenterology* 122 (2002), S. 1763-1770
- Grimm, H., Mertes, N., Göters, C., Schlotzer, E., Mayer, K., Grimminger, F., Fürst, P.* [Lipid emulsion in surgical patients, 2006]: Improved fatty acid and leukotriene pattern with a novel lipid emulsion in surgical patients, in: *Eur J Nutr* 45 (2006), S. 55-60

- Grimm, H., Mayer, K., Mayser, P., Eigenbrodt, E.* [n-3 fatty acids in inflammatory process, 2002]: Regulatory potential of n-3 fatty acids in immunological and inflammatory processes, in: *Brit J Nutr* 87 (2002), S. 59-67
- Gröber, Uwe* [Mikronährstoffe, 2006]: Mikronährstoffe für die Kitteltasche - Beratungsempfehlungen für die Praxis, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2006
- Grossmann, Johannes, Walther, Kathrin, Artinger, Monika, Kiessling, Stephan, Steinkamp, Martin, Schmautz, Wolf-Kuno, Stadler, Florian, Bataille, Frauke, Schultz, Michael, Schölmerich, Jürgen, Rogler, Gerhard* [Isolation, 2003]: Progress on isolation and short-term ex-vivo culture of highly purified non-apoptotic human intestinal epithelial cells (IEC), in: *J Cell Biol* 82 (2003), S. 262-270
- Grünwald, J., Graubaum, H. J., Harde, A.* [Cod liver oil in rheumatoid arthritis, 2002]: Effect of cod liver oil on symptoms of rheumatoid arthritis, in: *Adv Ther* 19 (2002): S. 101-107
- Hankenson, K. D., Watkins, B. A., Schoenlein, I. A., et al.* [Omega-3 fatty acids enhance collagen formation, 2000]: Omega-3 fatty acids enhance ligament fibroblast collagen formation in association with changes in interleukin-6 production, in: *Proc Soc Exp Biol Med.* 223 (2000), S. 88-95
- Harris, W. S.* [Omega-3 fatty acids and bleeding, 2007]: Expert opinion: omega-3 fatty acids and bleeding-cause for concern?, in: *Am J Cardiol* 19 (2007), S. 44C-46C
- Heller, Axel, Rössler, Susann, Litz, Rainer, Stehr, Sebastian, Heller, Susanne, Koch, Rainer, Koch, Thea* [Omega-3 fatty acids improve clinical outcome, 2006]: Omega-3 fatty acids improve the diagnosis-related clinical outcome, in: *Crit Care Med* 34 (2006), S. 972-979
- Helminen, H., Raitanen, M., Kellosoalo, J.* [Immunonutrition, 2007]: Immunonutrition in elective gastrointestinal surgery patients, in: *Scand J Surg* 96 (2007), S. 46-50
- Iverson, Sara J., Lang, Shelley L. C., Cooper, Margaret H.* [Comparison of the Bligh and Dyer and the Folch method, 2001]: Comparison of the Bligh and Dyer and Folch methods for total lipid determination in a broad range of marine tissue, in: *Lipids* 36 (2001), S. 1283-1287
- Jensen, J. A., Hunt, T. K., Scheuenstuhl, H., Banda, M. J.* [Effect of lactate on angiogenesis, 1986]: Effect of lactate, pyruvate and pH on secretion of angiogenesis and mitogenesis factors by macrophages, in *Lab Invest* 54 (1986); S. 574-578
- Jia, Yi, Turek, John J.* [PUFA altered wound healing, 2005]: Inducible nitric oxide synthase links NFκB to PGE₂ in polyunsaturated fatty acid altered fibroblast *in-vitro* wound healing, in: *Lipids* 4 (2005), S. 14-24

- Kabon, B., Fleischmann, E., Treschan, T., Taguchi, A., Kapral, S., Kurz, A.* [Epidural anesthesia increases tissue oxygenation, 2003]: Thoracic epidural anesthesia increases tissue oxygenation during major abdominal surgery, in: *Anesth Analg* 97 (2003), S. 1812-1817
- Kampf, J. Patrick, Kleinfeld, Alan M.* [Membrane Transport of FFA, 2007]: Is Membrane Transport of FFA mediated by lipid, protein, or both?, in *Physiology* 22 (2007), S. 7-14
- Klek, S., Kulig, J., Sierzega, M., Szybinski, P., Szczepanek, K., Kubisz, A., Kowalczyk, T., Gach, T., Pach, R., Szczepanik, A. M.* [Infectious complications, 2008]: The impact of immunostimulating nutrition on infectious complications after upper gastrointestinal surgery: a prospective, randomized, clinical trial, in: *Ann Surg* 248 (2008), S. 212-220
- Köller, M., Senkal, M., Kemen, M., König, W., Zumtobel, V., Muhr, G.* [Impact of omega-3 fatty acids, 2003]: Impact of omega-3 fatty acid enriched TPN on leukotriene synthesis by leukocytes after major surgery, in: *Clin Nutr* 22 (2003), S. 59-64
- Kobayashi, Minako, Mohri, Yasuhiko, Inoue, Yasuhiro, Okita, Yoshiki, Miki, Chikao, Kusunoki, Masato* [Surgical Site Infections, 2008]: Continuous Follow-up of surgical site infections for 30 days after colorectal surgery, in: *World J Surg* 32 (2008), S. 1142-1146
- Kolahi, S., Ghorbanihaghjo, A., Alizadeh, S., Rashtchizadeh, N., Argani, H., Khabazzi, A. R., Hajialilo, M., Bahreini, E.* [Fish oil in patients with rheumatoid arthritis, 2009]: Fish oil supplementation decreases serum soluble receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand/ osteoprotegerin ratio in female patients with rheumatoid arthritis, in: *Clin Biochem*, Online-Version vom 23. Dez. 2009
- Kudsk, K. A.* [Immunonutrition in surgery and critical care, 2006]: Immunonutrition in surgery and critical care, in: [Annu Rev Nutr](#) 26 (2006), S. 463-479
- Lee, T. H., Hoover, R. L., Williams, J. D., et al.* [Dietary enrichment with EPA, 1985]: Effect of dietary enrichment with eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on in vitro neutrophil and monocyte leukotriene generation and neutrophil function, in: *N Engl J Med* 312 (1985), S. 1217-1224
- Liang, Bin, Wang, Shan, Ye, Ying-Jiang, Yang, Xiao-Dong, et al.* [Impact of omega-3 fatty acid-supplemented nutrition, 2008]: Impact of postoperative omega-3 fatty acid-supplemented parenteral nutrition on clinical outcomes and immunomodulations in colorectal cancer patients, in: *World J Gastroenterol* 14 (2008), S. 2434-2439
- Liebich, H. M., Jakober, B., Wirth, C., Pukrop, A., Eggstein, M.* [Analysis of the fatty acid composition, 1991]: Analysis of the fatty acid composition of the lipid classes in human blood serum under normal diet and when supplemented with fish oil, in: *J High Resolut Chromatogr* 14 (1991), S. 433-437
- MacLean, Catherine H., Newberry, Sydne J., Mojica, Walter A., Khanna, Muja, Issa, Amalia, Suttorp, Marika, Lim, Yee-Wee, Traina, Shana B., Hilton, Lara, Garland,*

- Rena, Morton, Sally C.* [Effects of n-3 fatty acids on cancer risk, 2006]: Effects of Omega-3 Fatty Acids on Cancer Risk, in: *J Am Med Assoc* 295 (2006), S. 403-415
- Mansbach, Charles M., Gorelick, Fred* [Intestinal Lipid Absorption, 2007]: Development and Physiological Regulation of Intestinal Lipid Absorption. II. Dietary lipid absorption, complex lipid synthesis, and the intracellular packaging and secretion of chylomicrons, in *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 293 (2007), S. G645-G650
- Matheson, P. J., Lusco, V., Wilson, M. A., Garrison, R. N.* [Omega-3 fatty acids in immune-enhancing enteral diets, 2002]: Omega-3 fatty acids in immune-enhancing enteral diets selectively increase blood flow to the ileum by a bile acid dependent mechanism, in: *Surgery* 132 (2002), S. 673-680
- Morlion, B. J., Torwesten, E., Lessire, A., Sturm, G., Peskar, B. M., Fürst, P., Puchstein, C.* [Effect of parenteral fish oil, 1996]: The effect of parenteral fish oil on leukocyte membrane fatty acid composition and leukotriene-synthesizing capacity in postoperative trauma, in *Metabolism* 45 (1996), S. 1208-1213
- Nakamura, Takatoshi, Mitomi, Hiroyuki, Ihara, Atsushi, Onozato, Wataru, Sato, Takeo, Ozawa, Heita, Hatade, Kazuhiko, Watanabe, Masahiko* [Risk factors for wound infection, 2008]: Risk factors for wound infection after surgery for colorectal cancer, in: *World J Surg* 32 (2008), S. 1138-1141
- Neumaier, M., Scherer, M. A., Stöckle, U.* [Detektion von Frühinfekten mit Hilfe des CRP, 2009]: Detektion von Frühinfekten mit Hilfe des CRP nach operativer Versorgung von Extremitätenfrakturen, 126. Kongress der dt. Gesellschaft für Chirurgie 2009, Meeting Abstract
- Olsen, S. F., Secher, N. J., Tabor, A., Weber, T., Walker, J. J., Gluud, C.* [Fish oil in high risk pregnancies, 2000]: Randomised clinical trials of fish oil supplementation in high risk pregnancies. Fish Oil Trials In Pregnancy (FOTIP) Team, in: *BJOG* 107 (2000), S. 382-395
- Pawlosky, Robert J., Hibbeln, Joseph R., Novotny, Janet A., Salem, Norman Jr.* [α -linolenic acid metabolism, 2001]: Physiological compartmental analysis of α -linolenic acid metabolism in adult humans, in: *J Lipid Res* 42 (8) (2001), S.1257-1265
- Perreault, Nathalie, Beaulieu, Jean-François* [Primary cultures of human intestinal epithelial cells, 1998]: Primary cultures of fully differentiated and pure human intestinal epithelial cells, in: *Exp Cell Res* 245 (1998), S. 34-42
- Ping Shi, Han, Efron, David, Most, Daniel, Barbul, Adrian* [The role of iNOS in wound healing, 2001]: The role of iNOS in wound healing, in: *Surgery* 130 (2001), S. 225-229

- Ritz, J.-P., Buhr, H.J.* [Fast-Track in der Abdominalchirurgie]: Fast-Track in der Abdominalchirurgie, Chirurgische Klinik und Poliklinik I, Carité Universitätsmedizin Berlin, Hrsg. Ethicon
- Ruthig, Derek J., Meckling-Gill, Kelly A.* [Fatty Acids Stimulate Wound Healing, 1999]: Both (n-3) and (n-6) fatty acids stimulate wound healing in the rat intestinal epithelial cell line, IEC-6, in: *J Nutr* 129 (1999), S. 1791-1798
- Sambuy, Y., De Angelis, I., Ranaldi, G., Scarino, M. L., Stammati, A. and Zucco, F.* [The Caco-2 cell line, 2005]: The Caco-2 cell line as a model of the intestinal barrier: influence of cell and culture-related factors on Caco-2 cell functional characteristics, in: *Cell Biol Toxicol* 21 (2005), S. 1-26
- Schardey, H. M.* [Habilitationsschrift, 1997]: Die Prävention der Nahtinsuffizienz nach Gastrektomie durch eine lokale antimikrobielle Prophylaxe, Habilitationsschrift, LMU München 1997
- Schmitz, Gerd, Ecker, Josef* [Opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids, 2008] [n-3 and n-6 fatty acids, 2008]: The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids, in: *Prog Lipid Res* 47 (2008), S. 147-155
- Schreiter, Dierk, Rabald, Steffen, Bercker, Sven, Kaisers, Udo X.* [Perioperative Immunonutrition, 2008]: Stellenwert der perioperativen Immunonutrition, in: *AINS* 43 (2008), S. 540-545
- Schumacher, Martin, Schulgen, Gabi* [Methodik klinischer Studien, 2007]: Methodik klinischer Studien, 2. Auflage 2007, Springer-Verlag
- Schwenk, Wolfgang, Spies, Claudia, Müller, Joachim* [Beschleunigte Frührehabilitation, 2005]: Beschleunigte Frührehabilitation in der operativen Medizin: „Fast-track“-Rehabilitation, in: *Dt. Ärzteblatt* 102 (2005), S. A1514-1521
- Senkal, Metin, Haaker, Rolf, Linseisen, Jakob, Wolfram, Günther, Homann, Heinz-Herbert, Stehle, Peter* [Phospholipid fatty acid patterns. 2005] [Long-Chain Ω -3 Fatty Acids alter Phospholipid Fatty Acid Patterns, 2005] [Fatty acid patterns, 2005]: Preoperative oral supplementation with long-chain Ω -3 fatty acids beneficially alters phospholipid fatty acid patterns in liver, gut mucosa, and tumor tissue, in: *J Parenter Enteral Nutr* 29 (4) (2005), S. 236-240
- Senkal, Metin, Geier, Bruno, Hannemann, Martin, Deska, Thomas, Linseisen, Jakob, Wolfram, Günther, Adolph, Michael* [Phospholipid pattern, 2007]: Supplementation of Ω -3 fatty acids in parenteral nutrition beneficially alters phospholipid fatty acid pattern, in: *J Parenter Enteral Nutr* 31 (2007), S. 12-17
- Senkal, M., Kemen, M., Homann, H. H., Eickhoff, U., Baier, J., Zumbel, V.* [Modulation of postoperative immune response, 1995]: Modulation of postoperative immune response by enteral nutrition with a diet enriched with arginine, RNA, and omega-3 fatty acids in patients with upper gastrointestinal cancer, in: *Eur J Surg* 161 (1995), S. 115-122
- Senkal, Metin, Mumme, Achim, Eickhoff, Ulrich, Geier, Bruno, Späth, Georg, Wulfert, Dietmar, Joosten, Uwe, Frei, Andreas, Kemen, Matthias* [Enteral immunonutrition, 1997]: Early postoperative enteral immunonutrition: Clinical

- outcome and cost comparison analysis in surgical patients, in: *Crit Care Med* 25 (1997), S. 1489-1496
- Senkal, Metin, Zumtobel, Volker, Bauer, Karl-Heinz, Wolfram, Günther, Frei, Andreas, Eickhoff, Uwe, Kemen, Matthias* [Cost-effectiveness of perioperative enteral immunonutrition, 1999]: Outcome and cost effectiveness of perioperative enteral immunonutrition in patients undergoing elective upper gastrointestinal tract surgery: a prospective randomized study, in: *Arch Surg* 134 (1999), S. 1309-1316
- Siegenthaler, Walter (Hrsg.)* [Klinische Pathophysiologie, 1982]: *Klinische Pathophysiologie*, Thieme-Verlag Stuttgart, New York, 5. Auflage 1982
- Simon-Assmann, P., Turck, N., Sidhoum-Jenny, M., Gradwohl, G., Kedinger, M.* [Models of epithelial cell differentiation, 2007]: *In vitro* models of intestinal epithelial cell differentiation, in: *Cell Biol Toxicol* 23 (2007), S. 241-256
- Sperling, R. I., Benincaso, A. I., Knoell, C. T., et al.* [Omega-3 fatty acids inhibit chemotaxis, 1993]: Dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids inhibit phosphoinositide formation and chemotaxis in neutrophils, in: *J Clin Invest* 91 (1993), S. 651-660
- Stillwell, W., Wassall, S. R.* [DHA membrane properties, 2003]: Docosahexaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid, in: *Chem Phys Lipids* 126 (2003), S. 1-27
- Teng, J. I., Made Gowda, N. M.* [Analysis of n-3 fatty acids in fish oils, 1993]: Analysis of n-3 fatty acids in fish oils by High-performance Liquid Chromatography, in: *Chromatogr* 35 (1993), S. 627-630
- Thornton, Frank J., Brabul, Adrian* [Healing in the GI tract, 1997] : Healing in the gastrointestinal tract, in : *Surg Clin North Am* 77 (1997), S. 549-573
- Tiemeier, H., Ruud van Tuijl, H., et al.* [Plasma fatty acid composition an depression, 2003]: Plasma fatty acid composition and depression are associated in the elderly : The Rotterdam Study, in : *Am J Clin Nutr* 78 (2003), S. 40-46
- Trebble, T. M., Wootton, S. A., Miles, E. A., et al.* [Prostaglandin E2 production, 2003]: Prostaglandin E2 production and T cell function after fish-oil supplementation: response to antioxidant cosupplementation, in: *Am J Clin Nutr* 78 (2003), S. 376-382
- Trotter, Pamela J., Ho, Shiu Ying, Storch, Judith* [Fatty acid uptake, 1996]: Fatty acid uptake by Caco-2 human intestinal cells, in: *J Lipid Res* 37 (1996), S. 336-346
- Tsekos, Evangelos, Reuter, Clemens, Stehle, Peter, Boeden, Gerhard* [Perioperative administration of parenteral fish oil, 2004] [Administration of parenteral fish oil, 2004]: Perioperative administration of parenteral fish oil in a routine clinical setting improves patient outcome after major abdominal surgery, in *Clin Nutr* 23 (2004), S. 325-330

- Tsuzuki, Wakako* [Micellar Lipid, 2007]: Absorption properties of micellar lipid metabolites into Caco2 cells, in: *Lipids* 42 (2007), S. 613-619
- Usmani, Khawja A., Rose, Randy L., Hodgson, Ernest* [cytochrome P450 metabolism of testosterone, 2002]: Inhibition and activation of the human liver microsomal and human cytochrome P450 3A4 metabolism of testosterone by deployment-related chemicals, in: *DMD* 31 (2002), S. 384-391
- Wachtler, P., König, W., Senkal, M., Kemen, M., Köller, M.* [Influence of TPN, 1997]: Influence of a total parenteral nutrition enriched with omega-3 fatty acids on leukotriene synthesis of peripheral leukocytes and systemic cytokine levels in patients with major surgery, in: *J Trauma* 42 (1997), S. 191-198
- Waitzberg, D. L., Torrinhas, R. S.* [Fish oil lipid emulsions and immune response, 2009]: Fish oil lipid emulsions and immune response : what clinicians need to know, in: *Nutr Clin Pract* 24 (2009), S. 487-499
- Weiss, G., Meyer, F., Matthies, B., Pross, M., Koenig, W., Lippert, H.* [Immunomodulation by n-3 fatty acids, 2002]: Immunomodulation by perioperative administration of n-3 fatty acids, in: *Brit J Nutr* 87 (2002), S. 89-94
- Whiting, C., Bland, P., Tarlton, J. F.* [n-3 PUFA reduce disease, 2005]: Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids reduce disease and colonic proinflammatory cytokines in a mouse model of colitis, in: *Inflamm Bowel Dis* 11 (2005), S. 340-349
- Woessner, J. F. jr.* [Determination of Hydroxyprolin, 1961]: The determination of hydroxyprolin in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid, in: *Arch Biochem Biophys* 93 (1961), S. 440-447
- Xu, J., Yunshi, Z., Li, R.* [Immunonutrition in surgical patients, 2009]: Immunonutrition in surgical patients, in: *Curr Drug Targets* 10 (2009), S. 771-777
- Yamamoto, Seiichiro, Fujita, Shin, Ishiguro, Seiji, Akasu, Takayuki, Moriya, Yoshihiro* [Wound infection, 2008]: Wound infection after a laparoscopic resection for colorectal cancer, in *Surg Today* 38 (2008), S. 618-622
- Yokoyama, M., Origasa, H., Matsuzaki, M., Matsuzawa, Y., Saito, Y., Ishikawa, Y., Oikawa, S., Sasaki, J., Hishida, H., Itakura, H., Kita, T., Kitabatake, A., Nakaya, N., Sakata, T., Shimada, K., Shirato, K.* [Effects of EPA on major coronary events, 2007]: Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis, in: *Lancet* 31 (2007), S. 1090-1098
- Zheng, Yamin, Li, Fei, Qi, Baoju, Lu, Bin, et al.* [Application of perioperative immunonutrition, 2007] [meta-analysis of randomized controlled trials, 2007]: Application of perioperative immunonutrition for gastrointestinal surgery: a meta-

Literaturverzeichnis

analysis of randomized controlled trials, in: Asia Pac J Clin Nutr 16 (Suppl 1) (2007), S. 253-257

**„OMEGA-3 FETTSÄUREN IN DER
FAST-TRACK-CHIRURGIE VOR KOLON-EINGRIFFEN
UND IHRE AUSWIRKUNGEN AUF
POSTOPERATIVE KOMPLIKATIONEN“**

**Studienplan
Version Juli 2008**

1 Inhaltsverzeichnis

1	Inhaltsverzeichnis	4
2	Unterschriften	6
3	Abkürzungsverzeichnis	7
4	Zusammenfassung	8
5	Klinischer Hintergrund	11
6	Studienrationale	13
7	Studienziele	14
7.1	Primäre Zielparameter	14
7.2	Sekundäre Zielparameter	14
8	Diagnostische Kriterien der Studienendpunkte	15
8.1	Infektiöse Komplikationen	15
8.2	Nicht-infektiöse Komplikationen	16
9	Studiendesign	17
10	Prüfzentrum	17
11	Patienten	17
11.1	Patientenzahl	17
11.2	Einschlusskriterien	18
11.3	Ausschlusskriterien	18
11.4	Patienteneinschluss	18
12	Medikamentöse Intervention	19
13	Datenerhebung	20
13.1	Ernährungsfragebogen	21
13.2	CRFs – Case Report Forms	22
13.3	Patientenakte	23
14	Qualitätssicherung	24
15	Projektablauf	25
15.1	Rekrutierungsphase	25
15.2	Auswertung und Ergebnispräsentation	25

Anhang

16	Rechtliche Bestimmungen	25
16.1	Patientenaufklärung	26
16.2	Einwilligung zur Teilnahme an der Studie	26
16.3	Datenschutz	26
16.4	Meldung unerwünschter Wirkungen und Ereignisse	27
17	Analyse der Daten	28
17.1	Beschreibung des Patientenkollektivs	28
17.2	Beschreibung der aufgetretenen Komplikationen	28
17.3	Analyse der sekundären Studienendpunkte	29
18	Literatur	30

ANLAGE

2 Abkürzungsverzeichnis

CRF	Case report form
DHA	cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaensäure
EPA	cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaensäure
LC-MS/MS	Flüssigkeitschromatographie mit Massenspektrometrie gekoppelt
OP	Operation
QM	Qualitätsmanagement

3 Zusammenfassung

Titel: „Omega-3 Fettsäuren in der Fast-Track-Chirurgie vor Kolon-Eingriffen und ihre Auswirkungen auf postoperative Komplikationen“

Studienkollektiv:

Patienten mit am Krankenhaus geplanter Kolon- oder Rektumresektion.

Studienziele:

Primäre Evaluationsparameter:

- Häufigkeit postoperativer infektiöser Komplikationen, definiert als: Infektion der Atemwege (Pneumonie), Wundinfektion, Infektion der Harnwege, (pseudomembranöse) Kolitis, Peritonitis (inkl. Insuffizienz der Anastomose) und Bakteriämie/ Sepsis, und nicht-infektiöser Komplikationen, definiert als: Blutung, Platzbauch, erhöhte Stuhlfrequenz, Ateminsuffizienz, Pleuraerguss nach Einnahme von Omega-3-Fettsäuren (Eicosapentaensäure/ EPA und Docosahexaensäure/ DHA) für 5 Tage präoperativ.

Sekundäre Evaluationsparameter:

- Gehalt an EPA und DHA im Darmgewebe
- Gehalt an Hydroxyprolin im Darmgewebe als Parameter für die Wundheilung (analytisch bestimmt: Querschnitt durch die Darmwand mit 9mm Durchmesser)
- Analyse der postoperativen Antibiotikatherapie (Dauer, Art)
- Analyse des Analgetikaverbrauches (parenteral/ oral)
- Dauer des Krankenhausaufenthaltes (length of hospital stay) und Dauer des Aufenthaltes auf der Intensivstation (length of stay in ICU)
- Mortalität während des KH-Aufenthaltes. Aufgrund des kleinen Patientenkollektivs wird keine signifikante Reduktion der Mortalität gezeigt werden können.

Studiendesign:

Die Untersuchung wird als prospektive, longitudinale Interventionsstudie angelegt. Der Patienteneinschluss erfolgt konsekutiv.

Voraussichtliche Patientenzahl:

Die Rekrutierung in die Studie soll über zehn Monate hinweg erfolgen, wodurch eine Zahl von 60 Patienten (davon 30 Kontrollen) angestrebt wird. (Am Prüfungszentrum wurden im Vorjahr an 85 Patienten Kolon- und Rektumresektionen durchgeführt.) Die geforderte Mindestanzahl beträgt 20 Patienten. Die Patienten werden am Klinikum Dachau und in umliegenden Arztpraxen eingeschlossen.

Einschlusskriterien:

- Männer und Frauen im Alter zwischen 18 und 85 Jahren
- Kolon- oder Rektumresektion, ASA Score 1-3 (vgl. Anlage 1)

Ausschlusskriterien:

- Dyslipoproteinämie
- Schwere hämorrhagische Störungen
- Notfalloperation (akute OP)
- Bekannte Alkohol- (>5 drinks per day), Nikotin- oder Drogenabhängigkeit
- Bekannte Allergien gegen Soja und/ oder Erdnuss
- Nicht deutsch sprechende Personen
- Schwangere oder stillende Frauen
- Patienten mit Leber- (Bilirubin > 2mg/dl) oder Niereninsuffizienz (SerumCrea > 2mg/dl)
- Bestehende Infektion

Datensammlung:

Die Patienten werden über die Dauer ihres stationären Aufenthaltes beobachtet. Demographische und medizinische Informationen werden per Fragebogen (CRF = Case Report Form) erhoben, oder aus der Krankenakte entnommen.

Beim Einschluss wird dem Patienten ein Ernährungs-Fragebogen ausgehändigt, in dem dieser nach Essgewohnheiten, Normalgewicht und etwaigem Gewichtsverlust gefragt wird.

Die Dokumentation der aufgetretenen Komplikationen erfolgt ebenfalls aus der Krankenakte, ebenso wie Antibiotika- und Analgetikaverbrauch, sowie Dauer des Krankenhausaufenthaltes.

Der Gehalt an EPA, DHA und Hydroxyprolin im Darmgewebe wird analytisch aus einer Gewebeprobe bestimmt, die während der Operation entnommen wurde.

4 Klinischer Hintergrund

Seit einigen Jahren kommt in der elektiven Kolonchirurgie ein neuer Ansatz zur Anwendung, der die Frührehabilitation des Patienten zum Ziel hat und als so genanntes Fast-Track-Konzept etabliert wurde. Im Rahmen dieses Konzepts- auch ERAS (enhanced recovery after surgery) sollen pathophysiologische Veränderungen im Rahmen des operativen Traumas, wie z. B. Abgeschlagenheit, Darmatonie, Insulinresistenz, etc. die zu erhöhten postoperativen Komplikationen führen könnten, positiv beeinflusst werden. Ziel dieses Konzepts ist daher unter anderem der schnelle enterale Kostaufbau und frühe Mobilisation des Patienten um postoperative Komplikationen zu vermeiden.

Verschiedene Studien weisen darauf hin, dass die präoperative Supplementierung von Omega-3-Fettsäuren das Risiko postoperativer Komplikationen durch eine Modulation der Immunantwort vermindern kann. Durch die Gabe von Omega-3-Fettsäuren aus Fischöl werden bevorzugt Prostaglandine der 3-er Serie und Leukotriene der 5-er Serie gebildet, anstatt Prostaglandine der 2-er, und Leukotriene der 4-er Serie (vgl. Köller et al, Clin Nutr. 2003, 22(1): 59-64). Diese Veränderung im Eicosanoid-Muster ist verbunden mit einer erhöhten Immunkompetenz und einer abgemilderten Entzündungsreaktion bei Gewebeschädigung (vgl. Braga et al, Crit Care Med 1998, Jan; 26 (1); 24-30) [10], sowie einer geringeren Rate an Wundinfektionen (vgl. Reuter et al, Clin Nutr. 2004; 23: 325-330).

Die eindeutige Interpretation dieser Studien wird jedoch erschwert durch die Unterschiede in der Art der Applikation (oral vs. parenteral), durch die unterschiedlichen Zeiten der Intervention (präoperativ vs. postoperativ), durch das stark unterschiedliche Patientenkollektiv (unterernährte Krebspatienten vs. Gemischt-chirurgische Patienten) und auch wegen der Verwendung so genannter Immunonutrition, bestehend aus Omega-3-Fettsäuren, Arginin und RNS-Nukleotiden.

Die biologischen Effekte von Fischöl beruhen auf ihrem Gehalt an Omega-3-Fettsäuren, welche in die Zellmembranen eingebaut werden (vgl. Senkal et al, J Parenter Enteral Nutr. 2005 Jul-Aug;29 (4):236-40) und dort die Funktion von Rezeptoren, die Aktivität von Enzymen und wie o. g. die Produktion von Lipidmediatoren beeinflussen können.

Die Zellen des Immunsystems verüben ihre Funktion anhand membran-assoziiierter Vorgänge, wie z. B. die Sekretion von Cytokinen, Antikörpern und die Lymphozytentransformation. Diese Funktionen können durch Veränderung der Membranstruktur betroffen sein.

Viele der o. g. Studien betrachten neben dem Effektparameter der postoperativen infektiösen Komplikation Surrogatparameter wie z. B. verschiedene Interleukine oder

Leukotriene und ihr Verhältnis zueinander, wodurch kein eindeutiger klinischer Effekt abgeleitet werden kann.

Neben den infektiösen Komplikationen treten auch nicht-infektiöse Komplikationen auf, wie z. B. Blutung, Platzbauch, erhöhte Stuhlfrequenz, Ateminsuffizienz, Thromboembolien.

5 Studienrationale

Das Konzept der Fast-Track in der Kolonchirurgie sieht einen möglichst kurzen stationären Aufenthalt nach der Operation vor. Durch die chirurgische Frührehabilitation sollen physiologische Parameter verbessert und allgemeine Komplikationen vermindert werden. Das Behandlungskonzept setzt sich zusammen aus einzelnen operativen und konservativen Therapiemaßnahmen, die sich in kontrollierten, randomisierten Studien als erfolgreich erwiesen haben [4; 5]. In der vorliegenden Studie soll nun überprüft werden, ob sich die präoperative Einnahme von Omega-3-Fettsäuren als therapeutische Maßnahme positiv auf das Auftreten und die Häufigkeit von postoperativen infektiösen und nicht-infektiösen Komplikationen auswirkt. Denn jede Maßnahme, die zur schnelleren Regeneration beiträgt, verbessert nicht nur die Situation des einzelnen Patienten, sondern ist seit Einführung der Diagnosis Related Groups (DRGs) auch wirtschaftlich vorteilhaft für das Klinikum. So konnte in verschiedenen Publikationen gezeigt werden, dass die Komplikationsrate von 20 – 30% auf unter 10% gesenkt werden kann und auch die Krankenhausverweildauer im Median statt 15 Tage nur mehr durchschnittlich 5 - 7 Tage betrug. Die Studie vergleicht daher auch die Länge des Krankenhausaufenthaltes, sowie die Tage auf der Intensivstation zwischen Patienten, die mit Omega-3-Fettsäuren behandelt wurden und Kontrollpersonen. Senkal et al. konnten in ihren Arbeiten bereits zeigen, dass präoperativ oral supplementierte, langkettige Omega-3-Fettsäuren (EPA und DHA) in verschiedene Körpergewebe, u. a. auch in die Darmmukosa eingebaut werden und zu einer Veränderung bei der Leukotriensynthese führen: es werden weniger proinflammatorische Leukotriene und Interleukine gebildet, zugunsten biologisch weniger aktiver Typen [1; 2]. Das könnte die postoperative Entzündungsreaktion und die Wundheilung positiv beeinflussen. Außerdem haben Braga et al. in einer ihrer Arbeiten gesehen, dass die präoperative Gabe von Immunonutrition zu einer signifikanten Verbesserung des Immunstatus führt, zu einer verbesserten Durchblutung und damit Oxygenierung des Darms, dass aber die postoperative Verlängerung der Supplementierung keinen zusätzlichen Effekt bringt [3].

6 Studienziele

6.1 Primäre Zielparameter

Primäres Ziel dieser Interventionsstudie ist die Verminderung der Komplikationshäufigkeit nach kolorektaler Resektion im Vergleich zur Standardbehandlung. Betrachtet werden hierbei infektiöse Komplikationen:

- Pneumonie
- Wundinfektion
- Harnwegsinfekt
- (Pseudomembranöse) Kolitis
- Peritonitis/ Anastomoseninsuffizienz
- Bakteriämie

sowie nicht-infektiöse Komplikationen:

- Blutung
- Platzbauch
- Erhöhte Stuhlfrequenz
- Übelkeit, Erbrechen
- Ateminsuffizienz
- Nierenfunktionsstörung
- Leberfunktionsstörung
- Pleuraerguss
- Venöse Thromboembolie (TVT)
- Revisionsoperationen

6.2 Sekundäre Zielparameter

- Bestimmung des Gehaltes an EPA und DHA im Darmgewebe (analytisch bestimmt mit LC-MS/MS; Gehalt/ g Darmgewebe)
- Bestimmung des Gehaltes an Hydroxyprolin im Darmgewebe als Parameter für die Wundheilung (kolorimetrisch bestimmt anhand eines Querschnitts durch die Darmwand mit 9mm Durchmesser; Gehalt/ g Darmgewebe)
- Analyse der postoperativen Antibiotikatherapie (Dauer, Art)
- Analyse des Analgetikaverbrauches (parenteral/ oral)
- Dauer des Krankenhausaufenthaltes (length of hospital stay) und Dauer des Aufenthaltes auf der Intensivstation (length of stay in ICU)

- Mortalität während des KH-Aufenthaltes. Aufgrund des kleinen Patientenkollektivs wird keine signifikante Reduktion der Mortalität gezeigt werden können.

7 Diagnostische Kriterien für die Studienendpunkte

Im Folgenden werden die einzelnen Kriterien für die o. g. Studienendpunkte definiert:

7.1 Infektiöse Komplikationen

Pneumonie: Rö-Thorax (Infiltrate) mit mind. 2 klinischen Befunden: Fieber $> 38^{\circ}\text{C}$, Leukozyten $> 10.000/\mu\text{l}$, produktiver Husten, purulenter Auswurf, NW im Trachealsekret, CRP $> 5\text{mg/dl}$

Wundinfektion: Jede Rötung/ Schwellung/ Schmerz/
Druckempfindlichkeit der Wunde ohne oder mit Austritt von Pus

Harnwegsinfekt: Urin > 100.000 KBE/ ml

Kolitis: chronische wässrige (sekretorische) Durchfälle (bis 2l/Tag), Bauchschmerzen; pseudomembranöse Colitis: Nachweis von Clostridium-difficile-Toxin (CDT) im Stuhl; evtl. Koloskopie der Darmschleimhaut

Peritonitis/ Anastomoseninsuffizienz: Jede Ruptur mit klinischem und radiologischem Nachweis: trockene Zunge, Facies abdominalis, Fieber, Schüttelfrost, Magenrückfluss, Tachypnoe, Tachykardie, Leukozytose, Sekretmenge und Beschaffenheit über Drainage; evtl. Rectoskopie

Bakteriämie: Pathogener Erreger in Blutkultur oder Fieber $> 38^{\circ}\text{C}$ oder Schüttelfrost oder Hypotension systolisch $< 90\text{mmHg}$

Sepsis: Kriterien I und II

I Nachweis der Infektion

Diagnose einer Infektion über den mikrobiologischen Nachweis oder durch klinische Kriterien

II Severe inflammatory host response (SIRS) (mind. 2 Kriterien)

- Fieber ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) oder Hypothermie ($\geq 36^{\circ}\text{C}$) bestätigt durch eine rektale oder intravasale oder -vesikale Messung
- Tachykardie: Herzfrequenz ≥ 90 /min
- Tachypnoe (Frequenz ≥ 20 /min) o. Hyperventilation ($\text{PaCO}_2 \leq 4.3 \text{ kPa} / \leq 33 \text{ mmHg}$)
- Leukozytose ($\geq 12000/\text{mm}^3$) oder Leukopenie ($\leq 4000/\text{mm}^3$) oder $\geq 10\%$ unreife Neutrophile im Differentialblutbild

7.2 Nicht-infektiöse Komplikationen

Blutung: Notwendigkeit einer Bluttransfusion (≥ 2 Einheiten)

Platzbauch: Jedes Aufplatzen der Faszie länger als 3 cm

Ateminsuffizienz: Dyspnoe oder $\text{PaO}_2 < 70\text{mmHg}$

Nierenfunktionsstörung: Erhöhter Serum-Harnstoff oder Serum-Crea Spiegel (50% über Normalwert) oder GFR (50% über Normalwert)

Leberfunktionsstörung: Erhöhtes Serumbilirubin oder erhöhte Leberenzyme (50% über Normalwert); Child-Pugh-Klassifikation A-C

Pleuraerguss: stark abgeschwächtes Atemgeräusch.
Thoraxröntgen

Venöse Thromboembolie (TVT): Einseitige Beinschwellung, Ödem oder Erythem, Sonographie

Stuhlfrequenz: erhöhte Stuhlfrequenz (> 3 x/d)

8 Studiendesign

Es handelt sich um eine prospektiv angelegte, longitudinale Interventionsstudie zur Erhebung der Komplikationsrate. Der Patienteneinschluss erfolgt konsekutiv. Die Patienten werden bis zur Entlassung aus dem Krankenhaus beobachtet. Hinsichtlich der Patientenauswahl werden Vorgaben (siehe Ein- und Ausschlusskriterien) gemacht.

Die Daten werden für jeden Patienten aus der Krankenakte und dem Patientenfragebogen erfasst.

9 Prüfzentrum

Amper Kliniken AG

Klinikum Dachau

Abteilung für Gefäß-, Viszeral- und Thoraxchirurgie

Krankenhausstr. 15

85221 Dachau

Tel.: +49/8131/76-4501

10 Patienten

Die Untersuchung beschränkt sich auf Patienten mit Indikation zur Kolon- oder Rektumresektion.

10.1 Patientenzahl

Die Rekrutierung in die Studie soll über zehn Monate hinweg erfolgen, wodurch eine Zahl von 60 Patienten (davon 30 Kontrollen) angestrebt wird. (Am Prüfungszentrum wurden im Vorjahr an 85 Patienten Kolon- oder Rektumresektionen durchgeführt.) Die geforderte Mindestanzahl beträgt 20 Patienten. Die Patienten werden am Klinikum Dachau und in umliegenden Arztpraxen eingeschlossen.

10.2 Einschlusskriterien

Die im Folgenden genannten Kriterien dienen der Definition des Studienkollektivs und der Einhaltung datenrechtlicher Aspekte.

- Männer und Frauen im Alter zwischen 18 und 85 Jahren
- Kolon- oder Rektumresektion, ASA Score 1-3 (vgl. Anlage 1)
- Unterschriebene Einverständniserklärung

10.3 Ausschlusskriterien

- Dyslipoproteinämie
- Schwere hämorrhagische Störungen
- Notfalloperation (akute OP)
- Bekannte Alkohol- (>5 drinks per day), Nikotin- oder Drogenabhängigkeit
- Bekannte Allergien gegen Soja und/ oder Erdnuss
- Nicht deutsch sprechende Personen
- Schwangere oder stillende Frauen
- Patienten mit Leber- (Bilirubin > 2mg/dl) oder Niereninsuffizienz (SerumCrea > 2mg/dl)
- Bestehende Infektion

10.4 Patienteneinschluss

Alle Patienten, die die Einschlusskriterien erfüllen, werden gebeten, an der Studie teilzunehmen. Der einweisende Arzt informiert den Patienten über den geplanten Studienablauf, die Einnahme der Studienmedikation und Datenerhebung, holt das schriftliche Einverständnis des Patienten ein. Sollte der Patient die Teilnahme ablehnen, wird ihm angeboten, als Kontrollperson zu fungieren. Dabei muss er der Entnahme einer Gewebeprobe während der OP zu analytischen Zwecken zustimmen und sich bereit erklären, einen Patientenfragebogen zur Überprüfung der Ernährungsgewohnheiten auszufüllen. Die Einnahme der Studienmedikation entfällt. Beim Einschluss muss darauf geachtet werden, dass nicht mehr als ca. 30 Patienten in die Interventionsgruppe eingeschlossen werden und dass eine übereinstimmende Zahl an Kontrollpersonen eingeschlossen wird.

Jeder Patient erhält bei seinem Einschluss eine Patientenaufklärung mit kurzer Beschreibung der Inhalte der Studie, deren Ablauf und Zielsetzung, sowie einen Fragebogen zu den Ernährungsgewohnheiten. Diejenigen Patienten, die sich zur Einnahme der Studienmedikation bereit erklären, erhalten zusätzlich einen Einnahmeplan, auf dem der Patient jede eingenommen Dosis mit Datum und Uhrzeit abzeichnet, sowie ein Gefäß mit 15 Weichkapseln (= Studienmedikation) zur präoperativen Einnahme.

Die Patienten werden gebeten, die ausgefüllten Studienunterlagen (Ernährungsfragebogen, evtl. Einnahmeplan) zur Operation in die Klinik mit zu bringen.

11 Medikamentöse Intervention

Die therapeutische Maßnahme besteht in der dreimal täglichen Einnahme von jeweils 380mg Doconexent-Ethyl und 460mg Icosapent-Ethyl in Form einer Weichkapsel. Das heißt, es werden die isolierten Omega-3-Fettsäurenethylester angewendet, statt dem Gesamtfischölextrakt. Bei der Studienmedikation handelt es sich um das Arzneimittel Omacor® der Firma Solvay, welches zugelassen ist zur Sekundärprävention nach Herzinfarkt und zur Therapie der Hypertriglyceridämie. Die hier verwendete Dosierung ist laut Fachinformation zulässig und könnte sogar auf vier Kapseln täglich (= in der Fachinformation angegebene Höchstdosierung) gesteigert werden.

Die Einnahme beginnt ca. 5 Tage vor dem geplanten Operationstermin und endet am Tag vor der OP (Einnahme der letzten Weichkapsel am Abend vor dem OP-Tag).

Bsp.: Festgesetzter OP-Termin ist Donnerstag der 22. Mai 2008 ⇒ Die Einnahme der ersten Omacor® Kapsel erfolgt am 17. Mai 2008 morgens zum Frühstück.

Es soll dreimal täglich eine Kapsel eingenommen werden, jeweils direkt zum Essen, nicht nüchtern und auch nicht nach dem Essen, damit „fischiges“ Aufstoßen vermieden werden kann. Dabei ist auch darauf zu achten, dass keine heißen Getränke, oder Suppe unmittelbar dazu getrunken oder gegessen werden. Insgesamt schluckt der Patient ca. 15 Kapseln bis zur Operation.

Abbildung 2 zeigt die Aufteilung des Studienkollektivs in zwei Gruppen.

Abbildung 2:

Studienarme	Zugeteilte Intervention
A: Experimentell	Omacor® Kapseln: 3 x täglich eine Kapsel (1 Kps. entspricht 1g Omega-3-Säurenethylester 90%ig)
B: Kontrollarm	Keine Supplementation

12 Datenerhebung

Demographische und medizinische Daten werden aus folgenden Datenquellen und Erhebungsinstrumenten ermittelt:

- Patientenakte
- CRFs (=Case report forms) zur Erhebung verschiedener Patientendaten (siehe Anlage x-y): Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien, Demographie und Anamnese, Ernährungsfragebogen, Einnahmeplan, OP-Daten, Unerwünschtes Ereignis, Studienabbruch
- Beobachtungsblatt
- Kodierliste

Erhoben werden das Auftreten und die Häufigkeit folgender Komplikationen:

- Pneumonie
- Wundinfektion
- Harnwegsinfekt
- (Pseudomembranöse) Kolitis
- Peritonitis/ Anastomoseninsuffizienz
- Bakteriämie
- Sepsis
- Blutung
- Platzbauch
- Stuhlfrequenz
- Übelkeit, Erbrechen
- Ateminsuffizienz
- Nierenfunktionsstörung
- Leberfunktionsstörung
- Pleuraerguss
- Venöse Thromboembolie (TVT)
- Revisionsoperationen
- Gehalt an EPA und DHA im Darmgewebe
- Gehalt an Hydroxyprolin im Darmgewebe
- Antibiotikaverbrauch (post-op)
- Analgetikaverbrauch (parenteral/ oral)
- Dauer des Krankenhausaufenthaltes (length of hospital stay)

- Dauer des Aufenthaltes auf der Intensivstation (length of stay in ICU)
- Mortalität während des KH-Aufenthaltes

12.1 Ernährungsfragebogen

Jeder Patient erhält bereits beim Einschluss in die Studie einen Fragebogen, der dessen Ernährungsgewohnheiten beleuchten soll. Ziel ist es heraus zu finden, welche Fette der Patient hauptsächlich zu sich nimmt und welchen Anteil dabei die ungesättigten Fettsäuren ausmachen. Dabei werden auch Nahrungsergänzungs- und Arzneimittel mit Omega-3 Fettsäuren berücksichtigt.

Neben den Ernährungsgewohnheiten wird auch der Ernährungsstatus (neben dem BMI) des Patienten erhoben, da eine eventuelle Mangel- bzw. Unterernährung negative Auswirkungen auf das Komplikationsrisiko haben kann.

Der Patient wird gebeten, den Fragebogen zu Hause auszufüllen, und zum Operationstermin in die Klinik mitzubringen.

Der Ernährungsfragebogen wird persönlich beim Patienten abgeholt, wodurch die Möglichkeit besteht, im direkten Gespräch weitere Daten nachzufragen, Unklarheiten zu beseitigen, oder den Fragebogen gemeinsam auszufüllen.

12.2 CRFs – Case Report Forms

Diese Dokumentationsbögen dienen zur Erfassung von Patientendaten. Mit ihrer Hilfe ist es möglich, die Daten standardisiert und konsistent über alle Patienten hinweg zu erheben. Die CRFs werden entweder vom Prüfarzt, oder einem Mitarbeiter des Studienzentrums ausgefüllt.

Abbildung 1 zeigt eine Übersicht über die CRFs. Je ein Muster der Formulare ist im Anhang zu finden.

Abbildung 1: Aufteilung der zu erhebenden Patientendaten nach Themen und zeitlicher Abfolge von Untersuchungen

CRF Titel	ambulant	stationär
Ein- und Ausschlusskriterien	x	-
Demographie und Anamnese	(x)	x
Ernährungs-Fragebogen	x	(x)
Einnahme-Plan	x	(x)
OP-Daten	-	x
Studienabbruch	(x)	(x)
Unerwünschtes Ereignis	(x)	(x)
x	=	CRF muss ausgefüllt werden
(x)	=	CRF kann bei Bedarf ausgefüllt werden
-	=	CRF muss nicht ausgefüllt werden

12.3 Patientenakte

Die Extraktion der Daten aus der Patientenakte erfolgt durch die Studiendurchführende.

Die Beurteilung der Komplikationen erfolgt durch den behandelnden Arzt anhand festgelegter Kriterien (siehe 8. Diagnostische Kriterien der Studienendpunkte).

Zur Charakterisierung des Patientenkollektivs um die Vergleichbarkeit der Gruppen darzustellen, und für die Matched-Pair-Analyse werden folgende Kenngrößen von allen an der Studie teilnehmenden Patienten erfasst:

Anhang

- Alter (y)
- Geschlecht (m/ w)
- Körpergewicht (kg); Körpergröße (cm) \Rightarrow BMI
- Gewichtsverlust in den letzten 2 Monaten ($\geq 10\%$, bzw. $< 10\%$ bezogen auf das „normale“ Gewicht)
- Serum-Albumin (g/ dl) bzw. Gesamteiweiß (g/dl)
- CRP (>2 bzw. < 2)
- Ca/ Non-Ca
- Differentialblutbild
- ASA Score
- Karnofsky-Index
- Art der Operation
- Dauer des Eingriffs (min)
- Blutverlust während der Operation (ml)
- Homologe Bluttransfusion (erfolgt/ nicht erfolgt)

Das Vorhandensein weiterer Krankheiten oder Gesundheitsstörungen bei den Studienteilnehmern, abgesehen von denen, die einen Ausschluss aus der Studie bewirkt hätten (siehe Ausschlusskriterien), wird für jeden Patienten aus der Patientenakte dokumentiert. Bei der Auswertung der Studie werden diese in Gruppen zusammengefasst und dienen zur Charakterisierung des Patientenkollektivs.

13 Qualitätssicherung

Vor Studienbeginn erhalten alle beteiligten Personen eine ausführliche Einweisung in ihre jeweiligen Aufgaben.

Die Erhebung der Daten erfolgt anhand standardisierter Dokumentationsbögen.

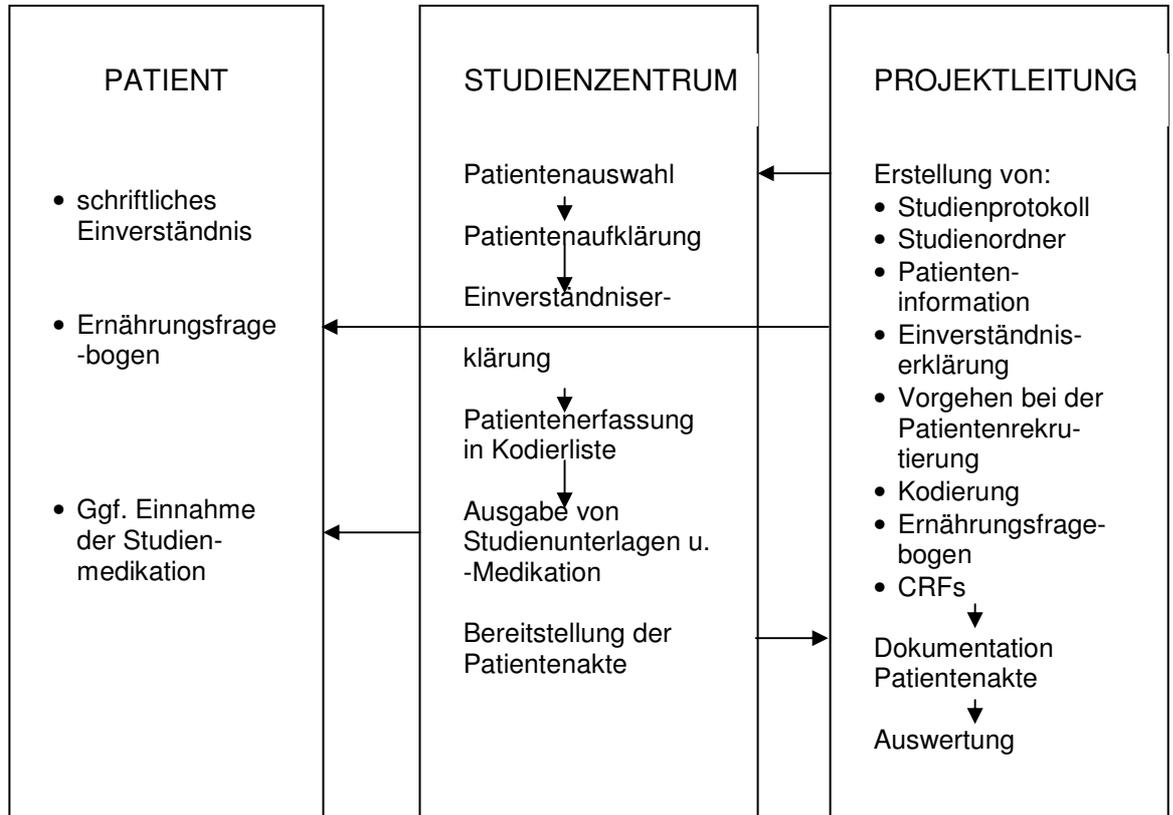
Die Dokumentation der Daten erfolgt in einem PC basierten Erfassungssystem.

Da die Patienten nicht bereits fünf Tage präoperativ stationär aufgenommen werden können, muss die Einnahme der Studienmedikation zu Hause erfolgen.

Um die Compliance des Patienten zu überprüfen, erhält jeder Teilnehmer einen Einnahmeplan, auf dem er jede Einnahme mit Datum und Uhrzeit dokumentieren muss.

Der Einnahmeplan wird, sobald er vollständig ausgefüllt ist, in den entsprechenden Rückumschlag gegeben und von der Studienorganisatorin persönlich abgeholt.

Abbildung 3: Patientenrekrutierung und Studienorganisation



14 Projektablauf

14.1 Rekrutierungsphase

Der Patienteneinschluss ist für einen Zeitraum von etwa 10 Monaten geplant und wird voraussichtlich Mitte 2009 abgeschlossen sein. Es müssen jedoch mindestens 20 Patienten eingeschlossen werden.

14.2 Auswertung und Ergebnispräsentation

Nach Abschluss der Dateneingabe erfolgt die statistische Auswertung im Matched-pair-Design. Jedem Patienten, der präoperativ die Studienmedikation verabreicht bekommen hat, wird zum

statistischen Vergleich eine Kontrollperson zugeordnet, die in zuvor definierten Match-Kriterien mit o. g. Patienten übereinstimmt.

Match-Kriterien:

- Alter zwischen 50-75 Jahren bzw. > 75 Jahre
- BMI Unterschied ≤ 2 Punkte
- Ca bzw. Non-Ca
- CRP ≤ 2 mg/dl bzw. > 2 mg/dl
- (Periduralkatheter vorhanden bzw. nicht vorhanden)

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt in Tabellenform. Der Ergebnisbericht wird als Teil einer Doktorarbeit erstellt.

15 Rechtliche Bestimmungen

Im Rahmen der Studie werden keine zusätzlichen Screening- oder diagnostischen Maßnahmen durchgeführt. Die OP-Vorbereitung, sowie sämtliche postoperative Maßnahmen (Kostaufbau, Mobilisation, Laborkontrollen, Schmerztherapie, Drainagen- und Verbandkontrolle etc.) orientieren sich am Standard des QM-zertifizierten Studienzentrums.

15.1 Patientenaufklärung

Vor Aufnahme in die Studie wird jeder Patient in einem Aufklärungsgespräch von einem Arzt (einweisender Hausarzt bzw. Arzt am Studienzentrum) über folgende Punkte informiert:

- Studienziele
- Ablauf der Studie, seine Aufgaben im Rahmen der Studie
- Entnahme einer Gewebeprobe bei der Operation zur analytischen Untersuchung
- Datenrechtliche Aspekte

Zusätzlich erhält der Patient eine kurze Information auch in schriftlicher Form. Die Patienten werden darüber informiert, dass ihre Daten in anonymisierter Form gespeichert und für wissenschaftliche Auswertungen verwendet werden. Die Einwilligung kann jederzeit widerrufen werden. Die bis zu diesem Zeitpunkt erhobenen Daten bleiben weiterhin gespeichert und werden ggf. in die Auswertung miteinbezogen.

15.2 Einwilligung zur Teilnahme an der Studie

Jeder Patient muss seine Einwilligung schriftlich erklären. Die Einwilligungserklärung wird vom Patienten und vom behandelnden Arzt unterzeichnet.

Ein Muster der Einwilligungserklärung und der Patienteninformation ist als Anhang beigelegt.

15.3 Datenschutz

Datenerhebung, Auswertung, Weiterleitung (auch elektronisch) und Archivierung der Daten werden anonymisiert und gemäß den Vorgaben des Datenschutzes durchgeführt. Die Zuordnung des Ernährungsfragebogens und der CRFs zur Patientenakte erfolgt über Codenummern und ist nur für das Studienzentrum ersichtlich. Die Patienten werden darüber informiert, dass ihre krankheitsbezogenen Daten in anonymer Form gespeichert und für wissenschaftliche Auswertungen verwendet werden.

15.4 Meldung unerwünschter Wirkungen und Ereignisse

Der behandelnde Arzt dokumentiert das Auftreten unerwarteter Ereignisse im Rahmen der täglichen Routineuntersuchung und meldet schwerwiegende unerwünschte Ereignisse unverzüglich an die Studienleitung.

Die in der Studie verwendete Dosierung der Omacor® Kapseln liegt unter der in der Fachinformation angegebenen Höchstdosierung von 4 Kapseln täglich. Folgende Nebenwirkungen im Zusammenhang mit dem Arzneimittel werden berichtet (siehe Fachinformation Omacor®):

häufig $\geq 1\%$, $< 10\%$:

- Dyspepsie, Übelkeit

gelegentlich $\geq 0,1\%$, $< 1\%$:

- Gastroenteritis
- Hypersensitivität
- Schwindel, Störung des Geschmackempfindens
- Bauchschmerzen, gastrointestinale Störungen, Gastritis, Oberbauchschmerzen

selten $\geq 0,01\%$, $< 0,1\%$:

- Hyperglykämie
- Kopfschmerzen
- Gastrointestinale Schmerzen

- Lebererkrankungen
- Akne, juckender Hautausschlag

sehr selten < 0,01%:

- Hypotonie
- Nasale Trockenheit
- Untere Gastrointestinalblutung
- Urtikaria
- Leukozytose, Erhöhung der Laktatdehydrogenase

16 Analyse der Daten

16.1 Beschreibung des Patientenkollektivs

Unter Verwendung der Standardmethoden der deskriptiven Statistik werden die klinischen und demographischen Charakteristika der Studienpopulation analysiert (siehe auch 13.

Patientenakte):

- Alter (y)
- Geschlecht (m/ w)
- Körpergewicht (kg); Körpergröße (cm) \Rightarrow BMI
- Gewichtsverlust in den letzten 2 Monaten ($\geq 10\%$, bzw. $< 10\%$ bezogen auf das „normale“ Gewicht)
- Serum-Albumin (g/ dl) bzw. Gesamteiweiß (g/dl)
- CRP (>2 bzw. < 2)
- Ca/ Non-Ca
- Differentialblutbild
- ASA Score
- Karnofsky-Index
- Art der Operation
- Dauer des Eingriffs (min)
- Blutverlust während der Operation (ml)
- Homologe Bluttransfusion (erfolgt/ nicht erfolgt)
- Komorbiditäten

16.2 Beschreibung der aufgetretenen Komplikationen

Die Komplikationen, die im Rahmen des kolorektalen Eingriffs auftreten können, werden unterteilt in infektiöse Komplikationen und nicht-infektiöse Komplikationen (siehe 13. Datenerhebung). Sie werden für jeden einzelnen Patienten aus der Akte in Tabellenform mit ja oder nein dokumentiert.

Zum Beispiel:

Infektiöse Komplikationen

Pat. Nr.:	Pneumonie	Wundinfektion	Harnwegsinfekt	Colitis	Peritonitis	Anastomosensuffizienz	Bakteriämie	Sepsis
12	x	x	o	x	o	o	o	o
13	o	o	x	o	o	o	o	o
14	o	o	o	o	o	o	o	o
15	o	x	o	x	o	o	o	o

x = ja (diese Komplikation ist aufgetreten)

o = nein (diese Komplikation ist nicht aufgetreten)

16.3 Analyse der sekundären Studienendpunkte

Der Gehalt an EPA und DHA wird analytisch (LC-MS/MS) bestimmt anhand des bei der Operation entnommenen Gewebestücks. Aus dem Gewebe werden die Fette extrahiert, verseift, anschließend chromatographisch aufgetrennt und über ein Massenspektrometer detektiert. Der Gehalt wird pro g Darmgewebe angegeben.

Der Gehalt an Hydroxyprolin im Darmgewebe wird bestimmt als Parameter für die Wundheilung. Die Aminosäure Hydroxyprolin befindet sich im Körper fast ausschließlich als Bestandteil des Kollagens, welches bei der Narbenbildung zum Verschluss einer Wunde gebildet wird. Aus dem Gewebe wird ein Zylinder von ca. 9mm Durchmesser ausgestanzt (quer durch alle Schichten) und das darin enthaltene Hydroxyprolin kolorimetrisch bestimmt. Die Angabe des Gehalts erfolgt pro mg Gesamtprotein.

Der postoperative Verbrauch an Antibiotika wird in Tagen angegeben, genauso wie der Verbrauch an parenteralen und oralen Schmerzmitteln.

Außerdem werden für jeden Patienten die Tage auf der Intensivstation, sowie die Dauer des Krankenhausaufenthaltes notiert.

18 Literatur

1. Senkal, M., et al., *Supplementation of omega-3 fatty acids in parenteral nutrition beneficially alters phospholipid acid pattern.* J Parenter Enteral Nutr. 2007. **31**(1): p.12-19
2. Senkal, M., et al., *Preoperative oral supplementation with long-chain Omega-3 fatty acids beneficially alters phospholipid fatty acid patterns in liver, gut mucosa, and tumor tissue.* J Parenter Enteral Nutr. 2005. **29**(4): p. 236-240
3. Braga, M., et al., *Preoperative oral arginine and n-3 fatty acid supplementation improves the immunometabolic host response and outcome after colorectal resection for cancer.* Surgery 2002. **132**(5): p. 805-814
4. Schwenk, W., et al., *Beschleunigte Frührehabilitation in der operativen Medizin.* Dt. Ärzteblatt 2002. **102**(21): p. A1514-1521
5. Ritz, J.-P., Buhr, H.J., *Fast-Track in der Abdominalchirurgie.* Charité Universitätsmedizin, Campus Benjamin Franklin, Chirurgische Klinik und Poliklinik I
6. Köller, M., et al., *Impact of omega-3 fatty acid enriched TPN on leukotriene synthesis by leukocytes after major surgery.* Clin Nutr. 2003. **22**(1): p. 59-64
7. Tsekos, E., et al. *Perioperative administration of parenteral fish oil supplements in a routine clinical setting improves patient outcome after major abdominal surgery.* Clin Nutr. 2004. **23**: p. 325-330
8. Wachtler, P., et al. *Influence of a Total Parenteral Nutrition enriched with omega-3 fatty acids on leukotriene synthesis of peripheral leukocytes and systemic cytokine levels in patients with major surgery.* J Trauma 1997. **42**(2): p. 191-198
9. Kemen, M., et al., *Early postoperative enteral nutrition with arginine-omega-3 fatty acids and ribonucleic acid-supplemented diet versus placebo in cancer patients: An immunologic evaluation of Impact®.* Crit Care Med. 1995. **23**(4): p. 652-659
10. Heller, A. R., et al., *Omega-3 fatty acids improve the diagnosis-related clinical outcome.* Crit Care Med. 2006. **34**(4): p. 972-979
11. Nakamura, K., et al., *Influence of preoperative administration of omega-3 fatty acid-enriched supplement on inflammatory and immune responses in patients undergoing major surgery for cancer.* Nutrition 2005. **21**: p. 639-649

ANLAGE 1:

ASA-Score

- ASA I: keine organische Erkrankung oder Störung des Allgemeinbefindens, ansonsten gesunder Patient.
- ASA II: leichte Allgemeinerkrankung ohne Leistungsminderung.
- ASA III: schwere Allgemeinerkrankung mit Leistungsminderung.
- ASA IV: lebensbedrohliche Allgemeinerkrankung.
- ASA V: moribunder Patient, der ohne Operation 24 Stunden voraussichtlich nicht überleben wird.
- ASA VI: hirntoter Patient, dessen Organe zur Organspende entnommen werden.

ANLAGE 2:

ECOG Leistungsstatus - KARNOFSKY Index

ECOG Leistungsstatus	KARNOFSKY Index (%)	
0 Normale uneingeschränkte Aktivität wie vor der Erkrankung.	100	Normalzustand, keine Beschwerden keine manifeste Erkrankung
	90	Minimale Krankheitssymptome
1 Einschränkung bei körperlicher Anstrengung, aber gehfähig; leichte körperliche Arbeit bzw. Arbeit im Sitzen (z.B. leichte Hausarbeit oder Büroarbeit) möglich.	80	Normale Leistungsfähigkeit mit Anstrengung
	70	Eingeschränkte Leistungsfähigkeit, arbeitsunfähig, kann sich alleine versorgen
2 Gehfähig, Selbstversorgung möglich, aber nicht arbeitsfähig; kann mehr als 50% der Wachzeit aufstehen.	60	Gelegentliche fremde Hilfe
	50	Krankenpflegerische und ärztliche Hilfe, nicht dauernd bettlägrig
3 Nur begrenzte Selbstversorgung möglich; 50% oder mehr der Wachzeit an Bett oder Stuhl gebunden.	40	Bettlägrig, spezielle Pflege erforderlich
	30	Schwer krank, Krankenhauspflege notwendig
4 Völlig pflegebedürftig, keinerlei Selbstversorgung möglich; völlig an Bett oder Stuhl gebunden.	20	Krankenhauspflege und supportive Maßnahmen erforderlich
	10	Moribund, Krankheit schreitet schnell fort
5 Tod	0	Tod

Karnofsky DA, Burchenal JH. The Clinical Evaluation of Chemotherapeutic Agents in Cancer. In: MacLeod CM (Ed), Evaluation of Chemotherapeutic Agents. Columbia Univ Press, 1949:196.

ANLAGE 3:

Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien

<p>Studie:</p> <p>Omega-3 Fettsäuren in der Fast-Track-Chirurgie vor Kolon-Eingriffen und ihre Auswirkungen auf postoperative Komplikationen</p>	<p style="text-align: center;">Ein- und Ausschlusskriterien</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 20px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;">1</div> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 20px;"></div> </div> <p style="text-align: center;">Bogen Initialen</p>	<p style="text-align: center;">Random-Nr.:</p> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 40px; margin: 0 auto;"></div>
--	--	---

Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien:

- | | | |
|--|------|--------|
| 1. Ist der Patient/ die Patientin zwischen 18 und 80 Jahren alt? | o ja | o nein |
| 2. Handelt es sich bei der geplanten Operation um eine Kolon- oder Rektumresektion? | o ja | o nein |
| 3. Hat der Patient/ die Patientin ansonsten eine lebensbedrohliche Allgemeinerkrankung? | o ja | o nein |
| 4. Hat der Patient/ die Patientin eine der folgenden Begleiterkrankungen: | | |
| · Dyslipoproteinämie? | o ja | o nein |
| · schwere hämorrhagische Störungen? | o ja | o nein |
| 5. Bei der Operation handelt es sich um eine Notfalloperation? | o ja | o nein |
| 6. Ist bei dem Patienten/ der Patientin eine bestehende Alkohol- (> 5 drinks per day), Nikotin- oder Drogenabhängigkeit bekannt? | o ja | o nein |
| 7. Hat der Patient/ die Patientin eine bekannte Allergie gegen Soja und/ oder Erdnuss? | o ja | o nein |
| 8. Der Patient/ die Patientin spricht kein deutsch? | o ja | o nein |
| 9. Die Patientin ist schwanger oder stillt? | o ja | o nein |
| 10. Es handelt sich um einen Patienten/ eine Patientin mit Leber- (Bilirubin > 2mg/dl) oder Niereninsuffizienz (SerumCrea > 2mg/dl)? | o ja | o nein |
| 11. Der Patient/ die Patientin hat eine bestehende Infektion? | o ja | o nein |

WICHTIG!:

Die Fragen 1 und 2 wurden mit **ja** beantwortet; die Fragen 3 - 12 wurden mit **nein** beantwortet
Nur wenn diese Bedingung erfüllt ist, kann der Einschluss in die Studie erfolgen!

ANLAGE 4:

Demographie und Anamnese

Studie: Omega-3 Fettsäuren in der Fast-Track-Chirurgie vor Kolon-Eingriffen und ihre Auswirkungen auf postoperative Komplikationen	Charakterisierung der Patienten <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 20px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;">2</div> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 20px;"></div> </div> <p style="text-align: center;">Bogen Initialen</p>	Random-Nr.: <div style="border: 1px solid black; width: 80px; height: 40px; margin: 0 auto;"></div>
---	--	---

Demographie

Geburtsdatum _____

Tag Monat Jahr

Körpergröße cm

Körpergewicht kg

Geschlecht weiblich männlich

Anamnese

Gewichtsverlust in den letzten 3 Monaten (bezogen auf das "normale" Gewicht) $\geq 5\%$ $< 5\%$

Serum-Albumin g/dl

ASA-Score ASA I ASA IV
 ASA II ASA V
 ASA III ASA VI

ASA I: keine organische Erkrankung oder Störung des Allgemeinbefindens, ansonsten gesunder Patient.
 ASA II: leichte Allgemeinerkrankung ohne Leistungsminderung.
 ASA III: schwere Allgemeinerkrankung mit Leistungsminderung.
 ASA IV: lebensbedrohliche Allgemeinerkrankung.
 ASA V: moribunder Patient, der ohne Operation 24 Stunden voraussichtlich nicht überleben wird.
 ASA VI: hirntoter Patient, dessen Organe zur Organspende entnommen werden.

Komorbidität: _____

ANLAGE 5:

Fragebogen Ernährungsgewohnheiten

Studie: Omega-3 Fettsäuren in der Fast-Track-Chirurgie vor Kolon-Eingriffen und ihre Auswirkungen auf postoperative Komplikationen	Ernährungs- gewohnheiten <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 20px; text-align: center; line-height: 20px;">3</div> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 20px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 20px;"></div> </div> <p style="text-align: center;">Bogen Initialen</p>	Random-Nr.: <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 30px; margin: 0 auto;"></div>
---	---	---

Ernährungs-Fragebogen	Seite 1
------------------------------	----------------

<u>Welche Mahlzeiten nehmen Sie üblicherweise regelmäßig ein?</u>	Mo - Fr	Sa - So					
Frühstück	o	o					
2. Frühstück	o	o					
Mittagessen	o	o					
Zwischenmahlzeit am Nachmittag	o	o					
Abendessen	o	o					
Spätessen	o	o					
<u>Wann nehmen Sie die Hauptmahlzeit ein?</u>	Mo - Fr	Sa - So					
am Morgen	o	o					
am Vormittag	o	o					
am Mittag	o	o					
am Nachmittag	o	o					
am Abend	o	o					
<u>Welche Fette/ Öle verwenden Sie?</u>	ja	nein					
Butter	o	o					
Margarine	o	o					
Sonnenblumenöl	o	o					
Maiskeimöl	o	o					
Distelöl	o	o					
Olivenöl	o	o					
Leinöl	o	o					
Rapsöl	o	o					
<u>Wie oft verzehren Sie folgende Lebensmittel?</u>	1	2	3	4	5	6	7
Fleisch	o	o	o	o	o	o	o
Wurstwaren, Schinken	o	o	o	o	o	o	o
fettreichen Fisch, z.B. Hering, Lachs, Makrele, Thunfisch	o	o	o	o	o	o	o
fettarmen Fisch, z.B. Kabeljau, Schellfisch	o	o	o	o	o	o	o
Fischölkonzentrat, Lebertran	o	o	o	o	o	o	o
Pommes frites, Bratkartoffeln	o	o	o	o	o	o	o
Hülsenfrüchte (z.B. Bohnen, Linsen, Erbsen, Soja)	o	o	o	o	o	o	o
grünes Blattgemüse (z.B. Salat, Spinat, Mangold)	o	o	o	o	o	o	o
Nüsse, Samen, Keime	o	o	o	o	o	o	o
1 = mehrmals täglich	2 = täglich	3 = mehrmals in der Woche	4 = etwa einmal in der Woche	5 = mehrmals im Monat	6 = etwa einmal im Monat	7 = nie	
<u>Was essen Sie am häufigsten?</u>	Mo - Fr	Sa - So					
Fertigprodukte, Schnellgerichte	o	o					
Instantsuppen	o	o					
selbst zubereitetes/ gekochtes Essen	o	o					

Anhang

Studie: Omega-3 Fettsäuren in der Fast-Track-Chirurgie vor Kolon-Eingriffen und ihre Auswirkungen auf postoperative Komplikationen	Ernährungs- gewohnheiten <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 40px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;">3</div> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 40px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 40px;"></div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 5px;"> Bogen Initialen </div>
---	--

Ernährungs-Fragebogen

<u>Essen Sie täglich verschiedenes Obst und Gemüse?</u>	Mo - Fr
mind. 5 Portionen (Portion = eine Hand voll) täglich	o
9 und mehr Portionen täglich	o
wenigstens 3 Portionen täglich	o
wenigstens 2 Portionen täglich	o
oft weniger als 2 Portionen täglich	o
<u>Haben Sie in letzter Zeit unbeabsichtigt Gewicht verloren?</u>	
≥ 5% innerhalb der letzten 3 Monate	o
< 5% innerhalb der letzten 3 Monate	o
kein Gewichtsverlust	o
<u>Haben Sie in den letzten Wochen weniger als normal gegessen?</u>	o ja
Wenn ja, <u>warum</u> haben Sie weniger gegessen?	
Appetitverlust	o
allgemeine Schwäche	o
chron. Leber-, Lungenerkrankung	o
Depression	o
Essstörungen	o
Gastrointestinale Erkrankung (z.B. Durchfall, Erbrechen)	o
Hals-Nasen-Ohren- oder Zahnerkrankung	o
Infektion	o
Medikamente	o
Tumorerkrankung	o
<u>Nehmen Sie zusätzlich Nahrungsergänzungsmittel ein?</u>	
Calcium, Magnesium, Kalium, Zink oder Selen	o
Vitaminpräparat (z.B. Centrum, Vitalux, Centrovision)	o
Omega-3-Fettsäuren (z.B. Lachsölkapseln, Perillaöl, Mikroalgenölkapseln, etc.)	o
Sonstiges: _____	
<u>Haben Sie von Ihrem Arzt nach einem Herzinfarkt oder zur Behandlung erhöhter Blutfettwerte eines der nachfolgenden Medikamente verschrieben bekommen?</u>	
Omacor® Kapseln	ja o
Zodin® 1000mg Weichkapseln	o

Bitte vergessen Sie nicht, Ihren ausgefüllten Fragebogen zu Ihrem Operationstermin in die Klinik mitzubringen!

ANLAGE 6:

Einnahmeplan

Studie: Omega-3 Fettsäuren in der Fast-Track-Chirurgie vor Kolon-Eingriffen und ihre Auswirkungen auf postoperative Komplikationen	Einnahmeplan <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; width: 30px;">4</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; width: 60px;">Vorn.</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; width: 60px;">Nachn.</div> </div> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">Bogen Initialen</p>	Random-Nr. <div style="border: 1px solid black; width: 100px; height: 40px; margin: 0 auto;"></div>																																										
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th style="width: 15%;"></th> <th style="width: 15%;">Datum</th> <th style="width: 20%;">Einnahme:</th> <th style="width: 20%;">morgens</th> <th style="width: 20%;">mittags</th> <th style="width: 20%;">abends</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Beispiel*</td> <td>10.06.2008</td> <td>9:00 Uhr: 1 Kapsel U. Muster</td> <td></td> <td>12:15 Uhr: 1 Kapsel U. Muster</td> <td>18:00 Uhr: 1 Kapsel U. Muster</td> </tr> <tr> <td>Tag 1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Tag 2</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Tag 3</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Tag 4</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Tag 5 (= Tag vor der OP)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 10px;">* Bitte jeweils die Uhrzeit eintragen, zu der die Kapsel eingenommen wurde und jede Eintragung durch Unterschrift abzeichnen!</p>				Datum	Einnahme:	morgens	mittags	abends	Beispiel*	10.06.2008	9:00 Uhr: 1 Kapsel U. Muster		12:15 Uhr: 1 Kapsel U. Muster	18:00 Uhr: 1 Kapsel U. Muster	Tag 1						Tag 2						Tag 3						Tag 4						Tag 5 (= Tag vor der OP)					
	Datum	Einnahme:	morgens	mittags	abends																																							
Beispiel*	10.06.2008	9:00 Uhr: 1 Kapsel U. Muster		12:15 Uhr: 1 Kapsel U. Muster	18:00 Uhr: 1 Kapsel U. Muster																																							
Tag 1																																												
Tag 2																																												
Tag 3																																												
Tag 4																																												
Tag 5 (= Tag vor der OP)																																												

ANLAGE 7:

OP-Daten Abfrage

<p>Studie:</p> <p>Omega-3 Fettsäuren in der Fast-Track-Chirurgie vor Kolon-Eingriffen und ihre Auswirkungen auf postoperative Komplikationen</p>	<p>OP-Daten</p> <p> <input type="text" value="5"/> <input type="text"/> <input type="text"/> </p> <p>Bogen Initialen</p>	<p>Random-Nr.:</p> <p><input type="text"/></p>
--	---	---

OP-Daten

1. Diagnose:

- Kolon-Ca
- Rektum-Ca
- Divertikulitis
- Polyp
- Sonstiges _____

2. Art der Operation: _____ (z.B. Sigma-Resektion)

- offen laparoskopisch
- konvertiert

3. Dauer der Operation: _____ [min]

4. Blutverlust während der OP: _____ [ml]

5. Transfusion/ Blutkonserven: _____ [l] EK

ANLAGE 8:

Patienteninformation und Einverständniserklärung

für die Untersuchung

Auswirkungen der Einnahme von Omega-3 Fettsäuren aus Fischöl vor Kolon-Eingriffen auf postoperative Komplikationen

Liebe Patientin, lieber Patient,

in dieser Untersuchung soll gezeigt werden, dass Omega-3 Fettsäuren gewonnen aus Fischöl, wenn sie über einen bestimmten Zeitraum (ca. 5 Tage) vor der Operation eingenommen werden, in der Lage sind, postoperative infektiöse, sowie nicht-infektiöse Komplikationen zu vermindern.

Was versteht man unter Omega-3 Fettsäuren?

Omega-3 Fettsäuren sind Bausteine von fetten Ölen aus Pflanzen und Fischen, die für den menschlichen Körper sehr wichtig sind, weil sie Bestandteile der Zellmembranen darstellen und außerdem Ausgangsstoff sogenannter Eicosanoide (= „Gewebshormone“) sind, die an zahlreichen Stoffwechselfvorgängen beteiligt sind.

Diese Fettsäuren sind für den Körper essentiell, d. h. er kann diese Substanzen nicht selbst herstellen, sie müssen (zumindest Vorstufen davon) mit der Nahrung zugeführt werden. Zwei der wichtigsten dieser Omega-3 Fettsäuren, Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA) sind vor allem in fettem Meeresfisch (Hering, Lachs, Makrele) enthalten.

Welchen Einfluss haben Omega-3 Fettsäuren auf den Darm?

EPA und DHA wirken entzündungshemmend und sorgen für eine verbesserte Sauerstoffversorgung des Darms.

Werden diese beiden Substanzen vor der Operation über mehrere Tage eingenommen, so können sie direkt in das Darmgewebe eingebaut werden und dort ihre positiven Effekte ausüben. Es gibt Hinweise darauf, dass es seltener zu infektiösen Komplikationen (z. B. Wundinfektion, Kolitis, Infektion der Harnwege, etc.) und nicht-infektiösen Komplikationen (z. B. Aufplatzen der Naht, Blutung, erhöhte Stuhlfrequenz, Atembeschwerden, etc.) kommt, und dass die Wundheilung im Darm gefördert wird.

Was ist das Ziel der klinischen Untersuchung?

Ziel dieser Untersuchung ist es heraus zu finden, ob unsere Patienten von der Einnahme der Omega-3 Fettsäuren profitieren, das heißt, sich von der Operation schneller erholen, schneller wieder fit und mobil sind, im Vergleich zu unbehandelten Patienten.

Was erwartet Sie, wenn Sie an der Untersuchung teilnehmen?

Sofern Sie bereit sind, an dieser klinischen Untersuchung teilzunehmen und Ihr schriftliches Einverständnis geben, dann ergibt sich folgender Ablauf:

Anhang

Sie werden gebeten in den letzten mind. 5 Tagen vor der Operation, **3 x täglich eine Kapsel** einzunehmen, die die o. g. Fettsäuren, EPA und DHA, in hochgereinigter, konzentrierter Form enthalten. Im Idealfall sind es bis zur geplanten Operation insgesamt 15 Weichkapseln. Im Rahmen der bevorstehenden chirurgischen Behandlung wird bei Ihnen Darmgewebe entnommen. Regelmäßig müssen dabei neben dem kranken Befund auch normale Gewebeteile entfernt werden, um ausreichende Sicherheitsabstände zwischen krankem und gesundem Gewebe einhalten zu können. Ihr behandelnder Arzt trifft diese Entscheidung je nach der vorliegenden Situation im Operationsgebiet.

Nur kleine Anteile der gesunden Organstücke werden für die feingewebliche Untersuchung benötigt. Der Rest wird in der Regel verworfen. Dieses Gewebe soll im Rahmen der Untersuchung der Forschung zugeführt werden, indem geringe Anteile dieser ansonsten verworfenen Organreste aufbewahrt, aufbereitet, Zellkulturen daraus angelegt werden, sowie analytisch untersucht werden.

Für Sie selbst entsteht aus der Untersuchung Ihres Gewebes kein Schaden. Die Operation wird in keiner Weise beeinträchtigt, insbesondere verlängert sich nicht die Dauer und das Ausmaß des Eingriffs. Das Gewebe, das Ihnen entnommen wird, wird ansonsten nicht anderweitig verwendet, sondern vernichtet.

Welche Risiken hat die Behandlung mit Omega-3 Fettsäuren?

Bei dem Präparat, das Sie verabreicht bekommen, handelt es sich um ein bereits zugelassenes Arzneimittel. Auch die Dosierung, die Sie erhalten (3 x täglich eine Kapsel) liegt im Rahmen der Normdosis und übersteigt die Höchstdosis nicht.

Es handelt sich um ein sehr sicheres Medikament, über das nur wenige und geringfügige Nebenwirkungen berichtet werden. Es kann zu Blähungen, Völlegefühl und Übelkeit kommen, selten (< 1%) zu Bauchschmerzen, Störungen im Gastrointestinaltrakt und Hypersensitivität. Wichtig zur Vermeidung möglicher Nebenwirkungen ist, dass das Arzneimittel richtig eingenommen wird.

Bitte beachten Sie bei der Einnahme:

- Einnahme jeweils zu den Mahlzeiten
- Nicht zusammen mit heißen Getränken oder Suppe

Was Sie noch wissen sollten:

Im Rahmen der klinischen Untersuchung werden Ihre Krankheitsdaten aus der Patientenakte ermittelt, ohne Nennung des Namens aufgezeichnet, wissenschaftlich ausgewertet und archiviert. Dabei werden strenge Vertraulichkeit gewahrt und die Grundsätze des Datenschutzes beachtet.

Wir möchten Sie darauf hinweisen, dass Ihre Einwilligung auf freiwilliger Basis erfolgt. Sie haben das Recht, Ihre Einwilligung jederzeit zurückzuziehen, ohne dass dies Ihre übliche ärztliche Versorgung oder Ihr Verhältnis zu dem Sie betreuenden Arzt/ Personal beeinflussen würde.

Wir bitten Sie um Ihre Mitwirkung, damit in Zukunft eine evtl. noch bessere OP-Vorbereitung durchgeführt werden kann.

Einwilligung der Patientin / des Patienten

(Vorname, Name)

zur Teilnahme an der klinischen Untersuchung

Ich bin über Sinn, Bedeutung und Verlauf der Untersuchung sowie über mögliche Risiken durch Herrn/ Frau _____ anhand der schriftlichen Patienteninformation ausführlich und verständlich aufgeklärt worden. Mit meiner Unterschrift bestätige ich, dass ich die vorliegende Information gelesen und verstanden habe. Alle meine Fragen wurden zu meiner Zufriedenheit vollständig beantwortet. Ich stimme der Teilnahme an dieser Untersuchung freiwillig zu. Ich weiß, dass ich meine Zustimmung jederzeit ohne Begründung und ohne Nachteile für meine weitere medizinische Versorgung widerrufen kann.

Außerdem übertrage ich hiermit dem Klinikum Dachau, Abteilung Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie, das Eigentum an dem Gewebe, das im Rahmen der medizinisch indizierten Operation zu entfernen ist, zur weiteren Verwendung entsprechend der o. a. Informationen.

Datum: _____ Unterschrift: _____
(auszufüllen vom Patienten zum Zeitpunkt der Einwilligung)

Aufklärender Arzt/ Apotheker

Datum: _____ Unterschrift: _____

Patienteninformation

Liebe Patientin, Lieber Patient,

bei Ihnen soll im Rahmen einer bevorstehenden chirurgischen Behandlung Darmgewebe entnommen werden. Regelmäßig müssen dabei neben dem kranken Befund auch normale Gewebeanteile entfernt werden, um ausreichende Sicherheitsabstände zwischen krankem und gesundem Gewebe einhalten zu können. Ihr behandelnder Arzt trifft diese Entscheidung je nach der vorliegenden Situation im Operationsgebiet.

Nur kleine Anteile der gesunden Organstücke werden für die feingewebliche Untersuchung benötigt. Der Rest wird in der Regel verworfen. Dieses Gewebe soll der Forschung zugeführt werden, indem geringe Anteile dieser ansonsten verworfenen Organreste aufbewahrt, aufbereitet sowie Zellkulturen angelegt werden sowie zur weiteren, auch entgeltlichen Forschung verwendet werden.

In Betracht kommen hier insbesondere Versuche mit neuen Medikamenten, deren Einfluss auf das Krankheitsgeschehen des Menschen an diesen Zellen untersucht werden kann. Auf diese Weise kann die Anzahl der erforderlichen Tierversuche und der klinischen Versuche an Menschen erheblich eingeschränkt werden.

Um die ärztliche Schweigepflicht und den Datenschutz zu wahren, werden die für die wissenschaftlichen Untersuchungen benötigten Krankheitsdaten anonymisiert, d.h. die nötigen Einzelheiten über Ihre Krankheit werden ohne Ihren Namen übermittelt. Die Bestimmungen des Datenschutzes werden eingehalten.

Wir bitten deshalb um Ihre Zustimmung, das Ihnen entnommene Gewebe der Forschung zur Verfügung zu stellen.

Für Sie selbst entsteht aus der Untersuchung Ihres Gewebes kein Schaden. Sollten Sie eine solche Untersuchung nicht wünschen, ändert dies nicht Ihre Behandlung. Die Operation wird in keiner Weise beeinträchtigt, insbesondere verlängert sich nicht die Dauer und nicht das Ausmaß des Eingriffs. Das Gewebe, das Ihnen entnommen wird, wird dann nicht anderweitig verwendet, sondern vernichtet.

Wir möchten Sie darauf hinweisen, dass Ihre Einwilligung auf freiwilliger Basis erfolgt. Sie haben das Recht, Ihre Einwilligung jederzeit zurückzuziehen, ohne dass dies Ihre übliche ärztliche Versorgung oder Ihr Verhältnis zu dem Sie betreuenden Arzt/Personal beeinflussen würde.

Wir bitten um Ihre Mitwirkung, damit in Zukunft eine bessere medizinische Versorgung auf diesem Gebiet möglich ist.

Einwilligung

Name des Patienten:

Art des operativen Eingriffs:

Datum der OP:

Hiermit übertrage ich dem Klinikum Dachau, Abteilung Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie, das Eigentum an dem Gewebe, das im Rahmen der medizinisch indizierten Operation zu entfernen ist, zur weiteren, auch entgeltlichen Verwendung entsprechend der o.a. Informationen.

Ich bin weiterhin damit einverstanden, dass Blutuntersuchungen zum Ausschluss einer Infektiösität des Gewebes (Hepatitis, HIV) durchgeführt werden.

Datum und Unterschrift des aufklärenden Arztes

.....

Datum und Unterschrift des Patienten

.....

Fallzahlplanung für eine randomisierte klinische Studie

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Pilotstudie sollte nun die Fallzahlplanung für eine randomisierte klinische Anschlussstudie erfolgen.

Eine Fallzahlplanung zielt darauf ab, bestimmte Effekte statistisch signifikant nachzuweisen. Die Stichprobengröße wird unter anderem beeinflusst durch das verwendete Testverfahren und durch die Aufteilung der Patienten auf die Gruppen. Hier wurde eine zweiseitige Fragestellung zugrunde gelegt und eine 1:1 Aufteilung der Patienten auf die Gruppen.

Als Signifikanzniveau α , der Wahrscheinlichkeit für eine falsch positive Entscheidung (Fehler 1. Art), wurde ein Wert von 5 % definiert mit einer Mindestpower ($1-\beta$) von 80%.¹ Damit bleibt ein Restrisiko von 20 % (β), dass die Anschluss-Studie keinen Vorteil der Prämedikation mit Omega-3 Fettsäuren zeigt, obwohl dieser tatsächlich vorliegt (Fehler 2. Art). In der nachfolgenden Darstellung sind die möglichen Arten von Fehlentscheidungen aufgeführt.

		Wirklichkeit	
		Wirkungsunterschied vorhanden	Wirkungsunterschied nicht vorhanden
Testergebnis	Entscheidung für den positiven Effekt der Omega-3 Fettsäuren	korrekt	falsch positiv (α) Fehler 1. Art
	Entscheidung gegen den positiven Effekt der Omega-3 Fettsäuren	falsch negativ (β) Fehler 2. Art	korrekt

Quelle: Schumacher, M., Schulgen, G., Methodik klinischer Studien, 2. Auflage 2007, Springer-Verlag

Darst 63.: Fehler erster und zweiter Art

Im Folgenden ist die Fallzahlkalkulation für verschiedene Kriterien dargestellt.

Zunächst wurde ein dichotomes Merkmal, das Auftreten von Komplikationen, als Hauptzielkriterium betrachtet.

¹ S. Schumacher, M., Schulgen, G., Methodik klinischer Studien, 2. Auflage 2007, Springer-Verlag, S. 174

Da die vorliegende Pilotstudie gezeigt hat, dass die präoperative Anwendung von Omega-3 Fettsäuren vor kolonchirurgischen Eingriffen vor allem das Auftreten von infektiösen Komplikationen beeinflusst, wurde als Hauptkriterium die Rate an infektiösen Komplikationen festgelegt.

Zum Nachweis dafür, dass die präoperative Applikation von Fischöl-Kapseln die postoperative Zahl an infektiösen Komplikationen vermindert, ging man von der Hypothese aus, dass kein positiver Effekt vorlag (H_0). Die Rate an infektiösen Komplikationen lag in der Vorstudie bei den Patienten der Fischöl-Gruppe bei 18,2 %, bei den Patienten der Kontroll-Gruppe bei 30,4 % (s. 4.2.1). Somit wurde als Ereigniswahrscheinlichkeit P_1 in der Gruppe der mit Fischöl-Kapseln behandelten Patienten, 18,2 % festgelegt, die Wahrscheinlichkeit für das Ereignis „infektiöse Komplikation“ in der Kontroll-Gruppe P_2 , wurde als 30,4 % definiert.

Die Nullhypothese H_0 lautete: „Die Ereigniswahrscheinlichkeiten in den beiden Gruppen sind gleich“ ($H_0: P_1 = P_2$),

die Alternativhypothese H_1 lautete: „Die Ereigniswahrscheinlichkeiten in den beiden Gruppen sind verschieden“ ($H_1: P_1 \neq P_2$).

Für ein zweiseitiges Testproblem mit gleichen Stichprobenumfängen in den beiden Gruppen erhielt man folgende Formel für den Stichprobenumfang n pro Gruppe:¹

$$n = \frac{[u_{(1-\alpha/2)} \cdot \sqrt{2 \cdot P \cdot Q} + u_{(1-\beta)} \cdot \sqrt{P_1 \cdot Q_1 + P_2 \cdot Q_2}]^2}{(P_2 - P_1)^2}$$

Dabei bezeichneten α und β die vorher festgelegten Wahrscheinlichkeiten für den Fehler erster, bzw. zweiter Art. P_1 und P_2 waren die erwarteten Wahrscheinlichkeiten in den beiden Gruppen. Die Größen Q_1 , Q_2 , P und Q bestimmten sich durch:

$$Q_1 = 1 - P_1, Q_2 = 1 - P_2, P = (P_1 + P_2)/2, Q = 1 - P$$

¹ S. Schumacher, M., Schulgen, G., Methodik klinischer Studien, 2. Auflage 2007, Springer-Verlag, S. 177

Für die Anschluss-Studie ergibt sich demnach folgender Stichprobenumfang n pro Gruppe:

α : 0,050

β : 0,200

P_1 : 0,182

P_2 : 0,304

Q_1 : 0,818

Q_2 : 0,696

P : 0,243

Q : 0,757

$u_{0,975}$: 1,96¹

$u_{0,800}$: 0,84¹

$$n = \frac{[1,96 \cdot \sqrt{2 \cdot 0,243 \cdot 0,757} + 0,84 \cdot \sqrt{0,182 \cdot 0,818 + 0,304 \cdot 0,696}]^2}{(0,304 - 0,182)^2}$$

$$n \approx 192$$

Es müssten also ca. 195 Patienten pro Gruppe eingeschlossen werden, um bei einem vorgegebenen Signifikanzniveau von $\alpha = 5 \%$ eine Verringerung der postoperativen Rate an infektiösen Komplikationen von 30,4 % auf 18,2 % mit einer Power von 80 % ($\beta = 20 \%$) nachweisen zu können.

Betrachtet man nun nicht die Komplikationsrate als Hauptzielkriterium, sondern einen stetigen Parameter wie z. B. Hydroxyprolin als Parameter für die Wundheilung, so ergibt sich folgende Formel für die Fallzahlplanung:¹

¹ S. Schumacher, M., Schulgen, G., Methodik klinischer Studien, 2. Auflage 2007, Springer-Verlag, S. 177/178

$$n = \frac{2 \cdot [u_{(1-\alpha/2)} + u_{(1-\beta)}]^2}{(\delta/\sigma)^2} = \frac{15,698}{(\delta/\sigma)^2}$$

Für die Fallzahlplanung war δ ein Wert, der einen klinisch relevanten Unterschied zwischen Fischöl- und Kontroll-Gruppe darstellte: $\delta = M_1 - M_2$ (Differenz der Mittelwerte), σ bezeichnete die Standardabweichung.

Da in der Vorstudie der Hydroxyprolin-Gehalt nur zum Zeitpunkt der Operation im entfernten Gewebe bestimmt worden war und sich kein Unterschied zwischen den Gruppen abgezeichnet hatte, wurde für die nachfolgende Berechnung auf die Untersuchung von *Farreras et al.* zurück gegriffen, die an den ersten sieben postoperativen Tagen die Menge an Hydroxyprolin in einem subkutan (im Bereich des rechten Deltamuskels) platzierten Katheter quantifizierten¹.

Für δ ergab sich daher $59,7 \text{ nmol} - 28,0 \text{ nmol} = 31,7 \text{ nmol}$, für die Standardabweichung wird anhand des angegebenen Messwertebereiches angenommen, dass sie etwa dreimal so hoch sein würde (3δ).

Somit wären bei vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeiten von $\alpha = 5 \%$ und $\beta = 20 \%$ mindestens

$$n = \frac{15,698}{(1/3)^2} \approx 142$$

Patienten je Gruppe erforderlich.

Definiert man also die Häufigkeit postoperativer infektiöser Komplikationen und den Gehalt an Hydroxyprolin im Gewebe als Primärparameter für die Anschluss-Studie, so müssten etwa 195 Patienten pro Gruppe eingeschlossen werden um einen etwaigen Vorteil durch die Behandlung mit Fischöl-Kapseln nachweisen zu können.

¹ S. *Farreras, N., Artigas, V., et al.*, Effect of immunonutrition on wound healing, 2005, S. 55

Anhang

Mit dieser Fallzahl könnte außerdem der Unterschied in der DHA-Gewebekonzentration ($\delta = 0,67$ mg/ g; $\sigma = 1,9$) zwischen Fischöl-Patienten und Kontroll-Personen statistisch signifikant nachgewiesen werden (berechnet: $n \approx 140$), sowie der Unterschied im Schmerzmittelgesamtverbrauch ($\delta = 4,0$ g; $\sigma = 7,2$; berechnet: $n \approx 52$).

Um anhand der Ergebnisse ($\delta = 0,8$ g; $\sigma = 3,4$) aus der Pilotstudie einen eventuell vorhandenen Unterschied im Verbrauch an oralen Antibiotika zwischen den Gruppe feststellen zu können, wären allerdings mehr als 275 Patienten pro Gruppe nötig.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich diese Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die darin angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Ferner erkläre ich, dass diese Arbeit bisher von mir weder an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, noch an einer anderen wissenschaftlichen Einrichtung zum Zwecke der Promotion eingereicht wurde.

München, 10.07.2010

.....

(Gertraud Helf)

Danksagung

Die vorliegende Dissertation wurde in der Zeit vom April 2007 bis Juni 2010 in der Abteilung für Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie der Amper Kliniken AG, Klinikum Dachau, und im Labor für Drug Metabolism der Daiichi-Sankyo Europe GmbH in Martinsried unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. H. G. Rau angefertigt, in Kooperation mit Herrn Prof. Dr. med. R. Zachoval aus dem Klinikum der Universität München in Großhadern.

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denen bedanken, die zum erfolgreichen Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein erster Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. H. G. Rau für die interessante Themenstellung und für sein beständiges Interesse am Fortgang der Arbeit, sowie seine vielen hilfreichen Hinweise und Anregungen.

Bei Herrn Prof. Dr. med. R. Zachoval bedanke ich mich für die bereitwillige Übernahme der Mitbetreuung.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. rer. nat. Jürgen Müller und Herrn Dr. rer. nat. Thomas Fischer von der Abteilung Drug Metabolism der Daiichi-Sankyo Europe GmbH in Martinsried für die großzügige Bereitstellung aller Einrichtungen, Gerätschaften und Verbrauchsmaterialien für den experimentellen Teil der Arbeit, sowie für ihre wertvollen Ratschläge, konstruktiven Diskussionen und uneingeschränkte fachliche und persönliche Unterstützung, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Allen Mitarbeitern von Daiichi-Sankyo Europe GmbH in Martinsried danke ich für die herzliche Aufnahme ins Team und die angenehme Arbeitsatmosphäre und ihre große Hilfsbereitschaft während der gesamten Promotionszeit. Dabei möchte ich mich besonders bei Ursula Höpner und Stefan Beck für die Unterstützung bei der Durchführung einiger Experimente bedanken, sowie bei Silvia Zaja für die Hilfe bei den analytischen Messungen.

Ein großes Dankeschön geht an Frau Stichlmayr, für ihre uneingeschränkte Unterstützung bei allen organisatorischen Fragestellungen und ihre Hilfe, wo und wann immer diese nötig war, Herrn Dr. med. M. Friedel für die Beantwortung zahlreicher Fragen, und an alle Mitarbeiter der Abteilung für Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie in Dachau, sowie an das OP-Personal für die Bereitstellung der Gewebe.

In diesem Zusammenhang möchte ich mich auch besonders bei Herrn Dr. rer. biol. hum. C. Sturm bedanken für die Ermöglichung dieser Arbeit neben meiner beruflichen Tätigkeit in der Apotheke der Amper Kliniken AG, die flexible Gestaltung meiner Arbeitszeiten, seine äußerst freundliche Unterstützung und sein Interesse.

Auch meinen netten Kolleginnen in der Apotheke gilt ein herzliches Dankeschön für ihre Hilfe.

Meinen Eltern bin ich für die Ermöglichung des Studiums, ihrem immer vorhandenen Verständnis und ihrer großzügigen Unterstützung ewig dankbar.