

Klinik für Anästhesiologie

Universität Ulm

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. M. Georgieff

Einfluss von ω -3-Fettsäuren auf das Immunsystem:
Eine prospektive randomisierte Doppelblindstudie mit fischöhlhaltiger
parenteraler Ernährung bei postoperativen Patienten

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

vorgelegt von Florian Wagner
geboren in Ilshofen

2003

Amtierender Dekan: Prof. Dr. med. R. Marre

1.Berichterstatter: Prof. Dr. med. H. Suger-Wiedeck

2.Berichterstatter: PD Dr. med. K. Buttenschön

Tag der Promotion: 16.01.2004

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abkürzungsverzeichnis	III
1 Einleitung	1
1.1 Die total parenterale Ernährung (TPE).....	2
1.2 ω -3-FS	4
1.3 Mediatoren	6
1.4 Granulozyten	8
1.5 Klinische Parameter	9
1.6 Zielsetzung	9
1.7 Fragestellung	9
2 Material und Methoden	11
2.1 Studiendesign	11
2.2 Patienten	11
2.3 Infusionslösungen.....	13
2.4 Gewinnung der Blutproben	14
2.5 Aufbereitung der Blutproben	15
2.6 Dokumentation	25
2.7 Statistik.....	27
3 Ergebnisse	28
3.1 Demographische Daten	28
3.2 Plasmafettsäuren-Profil	29
3.3 Konzentration der Lipidmediatoren im Serum.....	34
3.4 Zytokin-Produktion nach ex vivo-Stimulation.....	36
3.5 C-reaktives Protein.....	39
3.6 Funktion, Aktivierung und Apoptose der Granulozyten.....	40
3.7 Klinischer Verlauf.....	43
3.8 Gerinnungsfunktion.....	46

4	Diskussion	49
4.1	Immunfunktion und operativer Stress	50
4.2	Plasmafettsäuren Profil	51
4.3	Lipidmediatoren	53
4.4	Zytokine	54
4.5	Granulozytenfunktion.....	56
4.6	Gerinnungsfunktion.....	58
4.7	Klinischer Verlauf	59
4.8	Schlussfolgerung	59
5	Zusammenfassung.....	61
6	Literaturverzeichnis.....	63
7	Danksagung.....	77
8	Lebenslauf.....	78

Abkürzungsverzeichnis

AA	-	Arachidonsäure
ALT	-	Alanin-Amino-Transferase
APACHE II	-	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II
ASPEN	-	American Society for Parenteral Nutrition
ACCP	-	American College of Chest Physicians
AST	-	Aspartat-Amino-Transferase
CRP	-	C-reaktives Protein
DHA	-	Docosahexaensäure
E.coli	-	Escherichia coli
EPA	-	Eicosapentaensäure
Fc	-	fragment cristallyzable (eines Immunglobulins)
FITC	-	Fluoresceinthiocyanat
fMLP	-	N-formyl-methionyl-leucyl-Phenylalanin
FO	-	Fischöl
IgG	-	Immunglobulin G
IL-1 β	-	Interleukin-1 β
IL-6	-	Interleukin-6
kcal/kg KG	-	Kilokalorien pro Kilogramm Körpergewicht
M	-	Molar
MZP	-	Messzeitpunkt
NF- κ B	-	nuclear factor- κ B
NYHA	-	New York Heart Association
PAF	-	platelet activating factor = Plättchenaktivierender Faktor
PBS	-	phosphat puffered saline
pg/ml	-	Pikogramm pro ml
PGE ₂	-	Prostaglandin E ₂
PGF ₁ - α	-	Prostaglandin F ₁ - α
PMN	-	polymorphnuclear cells = neutrophile Granulozyten
PTT	-	partielle Thromboplastinzeit
SCCM	-	Society of Critical Care Medicine

SIRS	-	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SO	-	Sojabohnenöl
TNF- α	-	Tumor Nekrose Faktor- α
TPE	-	Total parenterale Ernährung
TXA ₂	-	Thromboxan A ₂
U/min	-	Umdrehungen pro Minute
xg	-	fache Erdbeschleunigung
γ GT	-	γ -Glutamyl-Transpeptidase
μ l	-	Mikroliter
μ mol	-	Mikromol

1 Einleitung

Postoperative Komplikationen stellen ein großes Problem im intensivmedizinischen Bereich dar. Durch verbesserte Operationsverfahren und hochentwickelte postoperative Intensivtherapie hängt die Prognose der Patienten nach großen chirurgischen Eingriffen oft von sekundären Komplikationen, wie Infektionen, der Entwicklung eines Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) oder eines daraus resultierenden Organversagens ab [4]. Diese Komplikationen stellen die häufigste Todesursache bei kritisch kranken Patienten dar [24]. Große Operationen führen zu einer Dysregulation der Immunfunktion, charakterisiert durch die Suppression des spezifischen und unspezifischen Abwehrsystems, einer damit gesteigerten Empfindlichkeit gegenüber mikrobiellen Erregern und dem vermehrten Auftreten von nosokomialen Infektionen [27, 100, 101]. Insbesondere gilt dies für Patienten, die sich aufgrund eines Tumorleidens einem großen chirurgischen Eingriff unterziehen müssen. Bei diesem Patientengut zeigt sich bereits präoperativ eine beeinträchtigte zelluläre und humorale Immunfunktion [54], die in Kombination mit dem großen Eingriff, der gegebenenfalls erforderlichen Transfusion von Blutpräparaten und der langen Anästhesiezeit in einer Zunahme der postoperativen Immunsuppression resultiert [23, 54, 101]. Diese Patienten sind in der postoperativen Phase besonders gefährdet, über eine unzureichend beherrschte Infektion sowie eine inadäquate Regulation der pro- und antiinflammatorischen Immunantwort eine Sepsis und daraus resultierende Organinsuffizienzen bis hin zum Multiorganversagen zu entwickeln [10, 101]. Diese Komplikationen beeinflussen demnach Mortalität, Morbidität der Erkrankung und darausfolgend, Intensivtage, Beatmungstage und schließlich die Krankenhausverweildauer der Patienten [95, 100].

Seit mehreren Jahren werden verschiedenste immunmodulierende Therapien im Rahmen der Infusions- und Ernährungstherapie entwickelt, um diesen Komplikationen vorzubeugen bzw. entgegenzuwirken.

Postoperative Malnutrition stellt einen zusätzlichen Stressfaktor dar, der selbst zu Komplikationen führen oder diese zusätzlich verschlimmern kann [23]. Aus diesem Grund spielt die postoperative Ernährung im Krankheitsverlauf des Patienten eine wichtige Rolle,

denn die rechtzeitige, adäquate Infusions- und Ernährungstherapie hat einen positiven Einfluss auf die Genesung schwerkranker Menschen.

In der postoperativen Phase führt die gesteigerte Ausschüttung von inflammatorischen Mediatoren und Stresshormonen zu einer Störung der Stoffwechselfysiologie [4, 34]. Dieser Zustand führt durch den erhöhten Bedarf an Energie und essentiellen Nährstoffen zu Stoffwechselveränderungen, die durch neuro- und systemendokrine Reaktionen initiiert werden [84]. Das Ziel dieser Reaktionen ist, über eine vermehrte Energiebereitstellung, die Intaktheit des gefährdeten Struktur- und Energiestoffwechsels der Zellen sicherzustellen [105]. Der postoperative Stoffwechsel ist aufgrund der Dominanz der antiinsulinären Faktoren und der Suppression des Insulins durch erhöhte Blutglukosespiegel, den Eiweißkatabolismus, den Anstieg der freien Fettsäuren, sowie durch eine negative Energie- und Stickstoffbilanz gekennzeichnet [105].

Mediatoren des körpereigenen Abwehrsystems, wie IL-1, TNF und CRP greifen ebenfalls in diese metabolischen Veränderungen mit ein [8, 46]. Die während postoperativer Stressreaktionen freigesetzten Zytokine IL-1 und TNF führen zu einer vermehrten Proteolyse in der Skelettmuskulatur.

Das primäre Ziel der Ernährungstherapie ist die optimale und an den Krankheitszustand und die Stoffwechsellaage des Patienten angepasste Zufuhr von Energie und Nährsubstraten, um Komplikationen zu vermindern und die Ausgeglichenheit der Stickstoffbilanz zu erhalten [45, 72, 107].

1.1 Die total parenterale Ernährung (TPE)

Nach den Empfehlungen der ASPEN aus dem Jahre 1986 ergibt sich für Patienten, die sich einem großen operativen Eingriff im oberen Gastrointestinaltrakt unterziehen müssen, die Indikation zur parenteralen Ernährung, da in diesem Falle eine enterale Nahrungskarenz über mehrere Tage erforderlich ist [44, 102].

Der Ernährungszustand des Patienten und das Ausmaß der Katabolie bestimmen die Energiezufuhr. Sie sollte auch in der Akut-Phase ein Minimum von 10 kcal/kg KG/d nicht unterschritten werden. Bei vollständig aufgebauter parenteraler Ernährung liegt die optimale Energiezufuhr am Tag zwischen 30-40 kcal/kg KG [102].

Als Bestandteile der konventionellen parenteralen Ernährung stehen die folgenden Nährsubstrate zur Verfügung:

Kohlenhydrate sind aufgrund ihrer günstigen metabolischen Eigenschaften ein idealer Energieträger für die parenterale Ernährung. Die Homöostase des Blutglukosespiegels, die Normalisierung der gesteigerten Glukoseproduktion, sowie die Reduktion der Aminosäurenverwertung mittels Gluconeogenese stellen die wesentlichen Ziele der Kohlenhydratzufuhr dar [84]. Sie sollte zu Beginn der parenteralen Ernährung proTag bei mindestens 1 g/kg KG liegen und kann bis maximal 6g/kg KG gesteigert werden [102].

Die Zufuhr von Aminosäuren ist vor allem vom Ausmaß der Katabolie abhängig, sie sollte zwischen 0,8-1,6 g/kg KG am Tag liegen [44]. Aufgrund des erhöhten Bedarfs an Aminosäuren für die Proteinsynthese ist die exogene Zufuhr dieser Nährsubstrate besonders wichtig [91].

Fette eignen sich wegen ihrer Eigenschaft als kompakter Energieträger mit hohem Brennwert besonders als Bestandteil der parenteralen Ernährung. Durch die geringe Osmolarität ist auch eine Zufuhr über einen periphervenösen Zugang möglich. Die verschiedenen verwendbaren Lösungen unterscheiden sich hinsichtlich der mit dem Glycerolmolekül veresterten Fettsäuren (Kettenlänge). Die tägliche Zufuhr sollte bei 1-1,5 g/kg KG liegen [102]. Eine ausreichende Sauerstoffverfügbarkeit ist für die optimale Ausnutzung der Fette als Energieträger unbedingt erforderlich, da Fette obligat aerob metabolisiert werden [84].

Die einzelnen Nährsubstrate werden unter ständigem Monitoring verschiedener Laborparameter, wie Blutglukosespiegel, Serumharnstoff, sowie Triglyzeridspiegel zugeführt.

Im Rahmen der konventionellen TPE können die energetischen Ziele der postoperativen Ernährungstherapie zwar erreicht werden, eine Modulation der geschwächten Immunfunktion gelingt jedoch nicht [102].

In verschiedenen experimentellen und klinischen Studien konnte jedoch gezeigt werden, dass eine mit ω -3-Fettsäuren angereicherte Ernährung in einem vorteilhaften immunmodulatorischen Effekt resultiert.

1.2 ω -3-FS

In einem Brief von Sinclair aus dem Jahre 1956 wurde erstmals über den Einfluss einer fischölrreichen Ernährung in Bezug auf das geringere Auftreten verschiedener Erkrankung bei Eskimos berichtet [87]. Durch epidemiologische Studien von Bang und Dyerberg [5, 26] erlangten ω -3-Fettsäuren zunehmende Bedeutung in der Ernährungsforschung. So konnte bei Eskimos, die sich überwiegend von Fisch ernähren, eine deutlich geringere Inzidenz von Myokardinfarkten, koronarer Herzkrankheit und Thrombosen gegenüber der Bevölkerung westlicher Industrieländer nachgewiesen werden. Neben den vorteilhaften Effekten auf kardiovaskuläre [15, 61] und neoplastische [55] Erkrankungen, sowie Diabetes mellitus [106] konnte in zahlreichen Untersuchungen auch ein positiver Einfluss von ω -3-Fettsäuren auf das Immunsystem nachgewiesen werden [16, 53, 60, 71].

Im Rahmen der Ernährungstherapie mit Fetten steht neben der Kettenlänge vor allen Dingen das Verhältnis von ω -6- zu ω -3- mehrfach ungesättigten Fettsäuren im Vordergrund der klinischen und experimentellen Forschung. Da diese essentiellen Fettsäuren vom menschlichen Organismus nicht synthetisiert werden können, müssen sie dem Körper mit der Nahrung zugeführt werden [17, 84]. Durch den Einbau in Zellmembranen erfüllen sie wichtige Funktionen als Membranbausteine und Modulatoren biochemischer Prozesse. Des Weiteren spielen sie als Präkursoren der Eikosanoidsynthese eine wichtige Rolle in der Immunabwehr und bei Entzündungsreaktionen.

Die essentiellen Fettsäuren werden in zwei Gruppen eingeteilt: die ω -6- und die ω -3-Lipidfamilie (siehe Abb. 1). Dabei stellt Linolsäure die Muttersubstanz der ω -6-Fettsäuren und α -Linolensäure die Muttersubstanz der ω -3-Fettsäuren dar, die dann wiederum durch Desaturation und Kettenverlängerung in die biologisch wichtigen Ausgangsprodukte der Eikosanoidsynthese Arachidonsäure (AA) bzw. Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA) umgewandelt werden können. Allerdings erfolgt diese Biosynthese im menschlichen Organismus nur in geringem Umfang und sehr langsam. Aus diesem Grunde sollten ω -6-Fettsäuren als AA und ω -3-Fettsäuren in der Form von EPA

und DHA zugeführt werden. Dabei stellt Seefisch und die daraus gewonnenen Fischöle die Hauptquelle der ω -3-Fettsäuren, wie EPA und DHA für den Menschen dar [86]. Die Hauptquelle der ω -6-FS beziehen wir aus tierischen und pflanzlichen Fetten.

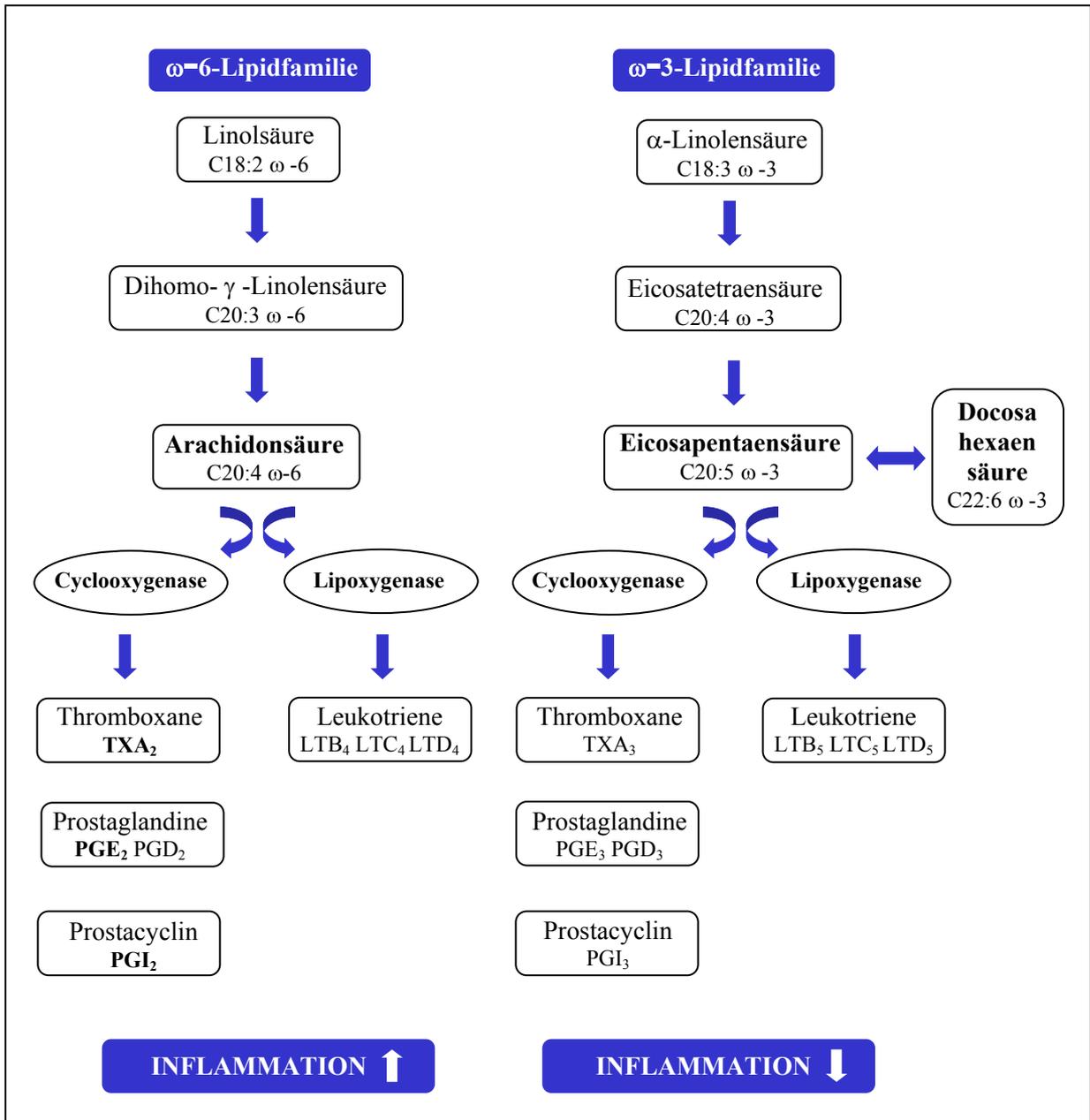


Abbildung 1: Biosynthese der Fettsäuren und Eicosanoide (modifiziert nach [86])

Durch die Supplementierung der Nahrung mit ω -3-Fettsäuren kommt es zu einer Veränderung der Membranzusammensetzung verschiedener Zellpopulationen, wie z.B.

Erythrozyten [13], Granulozyten [20, 73], Thrombozyten [83], Monozyten [21] und Endothelzellen, sowie verschiedener Gewebe [12] zugunsten der ω -3-Fettsäuren.

Dadurch greifen die ω -3-Fettsäuren auf verschiedenen Ebenen des Immunsystems ein und können so das zelluläre Abwehrsystem, sowie die Synthese diverser Mediatoren beeinflussen, was wiederum zu einer veränderten Entzündungsantwort führt und somit möglicherweise in einem positiven Einfluss auf den Krankheitsverlauf gefährdeter Patienten resultieren kann [92].

1.3 Mediatoren

1.3.1 Eicosanoide

Zahlreiche Stimuli führen Calcium-vermittelt zur Aktivierung der Phospholipase A₂ und damit zur Freisetzung von AA bzw. EPA aus dem Phospholipidpool der Zellmembranen. Die beiden Fettsäuren konkurrieren anschließend um die Metabolisierung durch die gleichen Enzymsysteme, wobei eine Fettsäure durch ein gesteigertes Angebot die andere aus dem weiteren Syntheseweg verdrängen kann [31, 88]. Der weitere Weg der Eicosanoidsynthese führt einerseits über die Cyclooxygenase zu den Prostaglandinen und Thromboxanen, sowie andererseits über das Enzym Lipoxygenase zu den Leukotrienen [60]. Durch ihren Einfluss auf die Aktivierung verschiedener Zellen, wie PMN und Thrombozyten, sowie auf Chemotaxis, Broncho- und Vasotonus, spielen diese Mediatoren eine wichtige Rolle bei Entzündungs- und Immunreaktionen [35, 64, 81]. Im Rahmen der postoperativen Stressreaktion, während SIRS und Sepsis kommt es zu einer gesteigerten Ausschüttung der Eicosanoide [37, 68].

Die aus EPA gebildeten Produkte unterscheiden sich von den analogen AA-Derivaten hinsichtlich Struktur und biologischer Aktivität [11]. Die Einschleusung von ω -3-Fettsäuren in den Cyclooxygenaseweg führt zur Bildung von Prostanoiden der 3er Reihe, wie z.B. Thromboxan A₃, das im Vergleich zu dem von der AA abgeleiteten Prostanoid der 2er Reihe Thromboxan A₂ erheblich reduzierte proaggregatorische, vasokonstriktorische [60] und PMN-aktivierende Eigenschaften besitzt. Ebenso besitzt das aus EPA gebildete Prostaglandin E₃ (PGE₃) eine deutlich verminderte Fähigkeit zur Aktivierung von PMN im Vergleich zu dem entsprechenden AA-Derivat PGE₂. Die Wirkung von Prostaglandin I₃ und Prostaglandin I₂ unterscheiden sich dagegen nicht [26].

Allerdings zeigen die aus EPA gebildeten Leukotriene der 5er-Serie wiederum partiell antagonistische Effekte im Vergleich zu den analogen AA-Derivaten (Leukotriene der 4er-Serie) [63, 64], die potente Stimuli der PMN-Aktivierung und Chemotaxis darstellen [90]. Eine Supplementierung der Ernährung mit ω -3-Fettsäuren führt demnach zu einer Modulation des Eicosanoidspektrums, charakterisiert durch eine reduzierte Synthese von proinflammatorischen AA-Metaboliten [29, 60], bei gleichzeitig vermehrter Bildung von Eicosanoiden aus EPA mit deutlich geringerer biologischer Wirksamkeit [64] bzw. antiinflammatorischen Eigenschaften [63].

1.3.2 Zytokine

ω -3-Fettsäuren führen einerseits über die Modulation des Eicosanoidspektrums und andererseits direkt über die Beeinflussung bestimmter intrazellulärer Signaltransduktionswege zu einer veränderten Synthese inflammatorischer und immunregulatorischer Zytokine. So konnte in verschiedenen tierexperimentellen Studien sowie diversen Untersuchungen an gesunden Menschen durch eine Supplementierung der Ernährung mit ω -3-Fettsäuren eine verminderte Produktion von proinflammatorischen Zytokinen, wie IL-1 β , TNF- α und IL-6 gegenüber einer Ernährung mit ω -6-Fettsäuren gezeigt werden [28, 47, 59]. Die aus AA gebildeten Eicosanoide PGE₂ und LTB₄ gelten dabei als wichtige Regulatoren der Synthese dieser Zytokine [18]. Des Weiteren führt der Einbau von ω -3-Fettsäuren durch die Aktivitätsminderung von Proteinkinase C-Isoformen und die herabgesetzte Ceramid-Produktion zu einer reduzierten Aktivierung von NF- κ B, was wiederum in einer verminderten Expression von zytokinspezifischen Genen resultiert [56, 96].

Nach großen operativen Eingriffen, sowie im Rahmen von SIRS und Sepsis kommt es zu einer vermehrten Freisetzung von IL-1 β und TNF- α , vor allem aus aktivierten Monozyten und Makrophagen, resultierend in einer gesteigerten Lymphozytenproliferation, der Induktion von Fieber, sowie einer vermehrten Produktion anderer proinflammatorischer Zytokine und Akute-Phase-Proteine. Die Zufuhr von ω -3-Fettsäuren führt somit durch die reduzierte Freisetzung dieser proinflammatorischen Mediatoren zu einer geringeren Granulozyteninfiltration, einer erniedrigten Gefäßwandpermeabilität, sowie zu einer reduzierten Produktion von toxischen Sauerstoffradikalen.

1.3.3 Andere Mediatoren

Im Rahmen einer fischölreichen Ernährung konnte eine reduzierte Produktion des Plättchen-aktivierenden Faktors (PAF) gezeigt werden, indem EPA ähnlich wie bei der Eicosanoidsynthese mit dem Präkursorpool von PAF interferiert [76].

1.4 Granulozyten

Neutrophile Granulozyten (PMN) spielen als Bestandteil des unspezifischen Immunsystems eine wichtige Rolle in der schnellen Abwehr und Eliminierung eingedrungener Mikroorganismen. Durch Chemotaxis wandern die PMN an den Entzündungsort, wo dann die Elimination des Pathogens durch Phagozytose und anschließender intrazellulärer Abtötung mittels oxidativem Burst erfolgt [1, 52].

Während eines SIRS, sowie nach großen operativen Eingriffen kommt es zu einer Verschlechterung dieser Granulozytenfunktionen, die durch das Auftreten von Infektionen in einer Sepsis resultieren kann.

Verschiedene Studien untersuchten den Einfluss einer fischölreichen Ernährung auf Phagozytose und Bildung von freien Sauerstoffradikalen. So konnte in tierexperimentellen Studien von Waitzberg und Cukier eine verbesserte Phagozytosefunktion der Leber- und Alveolarmakrophagen von Wistar-Ratten nach TPE mit ω -3-Fettsäuren gezeigt werden [22]. In verschiedenen Studien bei Gesunden führte eine Zufuhr hoher Konzentrationen an ω -3-Fettsäuren zu einer verminderten Produktion von Sauerstoffradikalen, möglicherweise über die Beeinflussung der NADPH-Oxidase-Aktivität, allerdings erfolgten diese Untersuchungen an gesunden Probanden, die keine eingeschränkte PMN-Funktion aufwiesen.

Der Einfluss einer fischölreichen Ernährung auf die Granulozytenfunktion postoperativer Patienten ist bisher nicht analysiert worden.

Ebenso gilt dies für die Expression des Fc-Rezeptor Typ I (Fc γ RI bzw. CD64), der nach gesteigerter Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen vermehrt auf Granulozyten exprimiert wird [52]. Die Expression des Fc-Rezeptors und die anschließende hochaffine Bindung an den Fc-Teil von Immunglobulinen, vor allem IgG erlaubt es den Granulozyten, an Pathogene zu binden und diese zu eliminieren [1]. Die

Expression von CD64 auf Granulozyten führt demnach zu einer Aktivitätsänderung dieser Zellen. Bei Patienten mit SIRS und Sepsis konnte eine vermehrte Expression von CD64 auf PMN gezeigt werden [51, 79].

1.5 Klinische Parameter

In verschiedenen tierexperimentellen Studien konnte durch die Zufuhr von ω -3-Fettsäuren eine geringere Mortalität [6, 66], sowie eine verbesserte Elimination translozierter Bakterien bei septischen Tieren gezeigt werden [78].

Diese Ergebnisse konnten in klinischen Untersuchungen nur zum Teil belegt werden, so zeigte Gottschlich bei Verbrennungspatienten ein geringeres Auftreten von Infektionen, sowie eine Verkürzung der Behandlungsdauer und eine geringere Mortalität durch Zufuhr einer fischölreichen Ernährung [36]. Allerdings konnten diese Resultate in anderen Studien nicht bestätigt werden [101].

1.6 Zielsetzung

Die Zielsetzung der vorliegenden Studie war, zu untersuchen, inwiefern Organfunktionen und immunologische Reaktionen durch eine ausgewogene Zufuhr von ω -3-Fettsäuren im Rahmen der parenteralen Ernährung bei Tumorpatienten nach großen abdominalchirurgischen Eingriffen beeinflusst werden können. Hierzu wurden die in die Studie aufgenommenen Patienten in zwei Gruppen randomisiert, zum einen in die Fischöl (FO)- bzw. Omegaven[®]-Gruppe, die ihr im Rahmen der parenteralen Ernährung benötigtes Fett als ω -3-FS in Form von Omegaven[®] erhielten und zum anderen in die Sojabohnenöl (SO)- bzw. Lipovenös[®]-Gruppe, die ihr Fett als ω -6-FS in Form von Lipovenös[®] erhielten.

1.7 Fragestellung

Daraus ergaben sich im Einzelnen folgende Fragestellungen:

- Resultiert die Fetttherapie in einer Modulation des Plasmafettsäuren-Profil, insbesondere in einem Anstieg von EPA (Eicosapentaensäure) und DHA (Docosahexaensäure)?

- In welchem Ausmaß führt dies zu einer Veränderung des Eicosanoidspektrums im Plasma, festgemacht an der Konzentration der Lipidmediatoren PGE₂, TXB₂ und 6-keto PGF_{1α}?
- Inwieweit kann die Zytokin-(IL-1β und TNF-α) Produktion durch isolierte Monozyten moduliert werden?
- Kann die Aktivität und Funktion neutrophiler Granulozyten, d.h. die Expression von CD 64, die Phagozytosefähigkeit sowie die Burstaktivität beeinflusst werden?
- Resultiert die Supplementierung der Ernährung mit Omegaven[®] in einem positiven Einfluß auf den postoperativen Verlauf, insbesondere auf Intensiv- und Krankenhausverweildauer, sowie Infektions- und Komplikationsraten?

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Randomisierte, kontrollierte und prospektive klinische Doppelblindstudie

2.2 Patienten

Es wurden insgesamt 34 Patienten in die Studie aufgenommen, die sich in der Zeit vom 1. Februar 1999 bis zum 31. Mai 2001 einer Oesophagusresektion oder einer Gastrektomie aufgrund eines Tumorleidens an der chirurgischen Universitätsklinik Ulm (Leiter: Prof. Dr. H. G. Beger) unterziehen mussten. Von den 34 Patienten konnten allerdings nur 30 in die Auswertung aufgenommen werden.

Dabei wurden folgende Kriterien berücksichtigt:

Einschlußkriterien:

- Patienten mit Oesophagusresektion oder Gastrektomie, die postoperativ einer total parenteralen Ernährung bedürfen.
- 80 Jahre < Lebensalter > 18 Jahre

Ausschlußkriterien:

- Schwangerschaft
- Endokrinologische und metabolische Entgleisung (Dyslipoproteinämien, Hyperurikämie, insulinpflichtiger Diabetes mellitus)
- Hämorrhagische Diathese
- Sepsis (definiert nach den Sepsiskriterien der ACCP/SCCM Consensus Conference)
- Chronische Erkrankung (chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD), M. Crohn, Colitis ulcerosa)
- Niereninsuffizienz (Serum - Kreatinin > 1,5mg/dl)
- Leberinsuffizienz (> Child - Pugh A)
- New York Heart Association (NYHA) > III

- Immunsuppression durch Chemotherapie , Radiotherapie 6 Monate präoperativ
- Cyclooxygenase - Hemmer - Einnahme bis 2 Wochen präoperativ, Steroid - Einnahme
- Autoimmunerkrankung
- Sedierung mit Propofol (aufgrund der Verwendung von Sojabohnenöl als Trägermedium für den pharmakologischen Wirkstoff und damit Beeinflussung des Plasmafettsäurenprofils)

Tabelle 1: Regime der total parenteralen Ernährung (TPE)

postop Tag	Beide Gruppen		Sojaöl-Gruppe (SO)	Fischöl-Gruppe (FO)
	Kohlenhydrate	Aminosäuren	Fett	Fett
1	1,5 g/kg pro d	0,9g/kg pro d		
2-6	5 g/kg pro d	1,3 g/kg pro d	1,0 g SO/kg pro d	0,8 g SO/kg pro d +0,2 g FO/kg pro d

Die Patienten wurden bei Vorliegen der Einschlusskriterien anhand eines Randomisierungsprotokoll den zwei Studiengruppen zugeteilt:

Sojaöl - Gruppe (SO) = Lipovenös®-Gruppe = Standardtherapie - Gruppe:

Die Patienten dieser Gruppe erhielten die übliche postoperative totalparenterale Ernährung, bestehend aus 5 g/kg KG/d Kohlenhydrate (GX® 20 %), 1,3 g/kg KG/d Aminosäuren (Intrafusin® 10 %) und 1 g/kg KG/d Fett in Form von Sojabohnenöl (Lipovenös® 10 %).

Fischöl-Gruppe (FO) = Omegaven®-Gruppe:

Die Patienten dieser Gruppe erhielten abweichend von der Standardtherapie ihre Fettzufuhr als Sojabohnenöl (Lipovenös® 10 %) und Fischöl (Omegaven® 10 %) im Verhältnis 4:1, d.h. 0,8 g/kg KG/d Sojaöl und 0,2 g/kg KG/d Fischöl.

Die TPE wurde am zweiten postoperativen Tag begonnen und wurde für die Dauer von 5 Tagen durchgeführt.

Das Randomisierungsprotokoll wurde von Herrn Dr. rer. nat. Högel (Abteilung Biometrie, Leiter: Prof. Dr. phil. W. Gaus) erstellt.

Die Blindung der Studie erfolgte in der Klinikumsapotheke durch Herrn Dr. Maier bzw. Herrn Dr. Dörje.

Nachdem alle Patienten spätestens am letzten präoperativen Tag über die Art der Studie und die Risiken und Nebenwirkungen der beiden verwendeten Fettemulsionen aufgeklärt wurden, unterzeichneten sie eine schriftliche Einverständniserklärung, mit der sie sowohl die Teilnahme an der Studie, als auch die Erlaubnis zur wissenschaftlichen Auswertung, der von ihnen erhobenen Daten und Messwerte bestätigten.

Die Studie wurde von der Ethikkommission Ulm genehmigt.

2.3 Infusionslösungen

Kohlenhydratlösung

GX[®] 20 % E (Fa.Baxter, Unterschleißheim)

Aminosäurelösung

Intrafusin[®] 10 % (Fa.Baxter, Unterschleißheim)

Fettlösungen (Zusammensetzung der beiden Lösungen siehe Tabelle 1)

1. Lipovenös[®] 10 % (Fa.Baxter, Unterschleißheim)

2. Omegaven[®] (Fa. Fresenius, Bad Homburg)

Zusätzlich zu den in Tabelle 1 aufgeführten Fettsäuren ist im Gegensatz zu Lipovenös[®] folgendes Antioxidans in Omegaven[®] enthalten:

- all-rac- α -Tocopherol.....0,15-0,296 g/l

Tabelle 2: Zusammensetzung der Lipidemulsionen

		Lipovenös® 10 % in g/l, Sojabohnenöl (SO)	Omegaven® 10% in g/l, Fischöl (FO)
Eicosapentaensäure	C20 : 5 ω-3	-	12,5 - 28,2
Docosahexaensäure	C22 : 6 ω-3	-	14,4 - 30,9
Tetradecansäure	C14 : 0	0,06	1,0 - 6,0
Palmitinsäure	C16 : 0	12,00	2,5 - 10,0
Palmitoleinsäure	C16 : 1 ω-7	4,0	3,0 - 9,0
Stearinsäure	C18 : 0	22,42	0,5 - 2,0
Ölsäure	C18 : 1 ω-9	46,1 - 55,7	6,0 - 13,0
Linolsäure	C18 : 2 ω-6	4,8 - 10,6	1,0 - 7,0
Linolensäure	C18 : 3 ω-3	-	< 2,0
Octadecatetraensäure	C18 : 4 ω-3	-	0,5 - 04,0
Eicosaensäure	C20 : 1 ω-9	-	0,5 - 03,0
Arachidonsäure	C20 : 4 ω-6	-	1,0 - 4,0
Docosaensäure	C22 : 1 ω-9	-	< 1,5
Docosapentaensäure	C22 : 5 ω-3	-	1,5 - 4,5
Andere Fettsäuren		-	10,51

2.4 Gewinnung der Blutproben

Die Blutentnahmen erfolgten an 4 verschiedenen Messzeitpunkten (MZP) bzw. Abnahmezeitpunkten entweder durch periphervenöse Entnahme oder über einen Katheter (arterielle Verweilkanüle).

Messzeitpunkte/Abnahmezeitpunkte:

1. **MZP -1:** 1 Tag präoperativ
2. **MZP 1:** 1. postoperativer Tag = 1 Tag vor Beginn der TPE
3. **MZP 5:** 5. postoperativer Tag = 3. Tag der TPE
4. **MZP 7:** 7. postoperativer Tag = 5. Tag der TPE

2.5 Aufbereitung der Blutproben

2.5.1 Routine-Laborwerte

Zu allen vier Messzeitpunkten wurden im Notfalllabor der Abteilung für Klinische Chemie (Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. Dr. A. Grünert) folgende Laborwerte bestimmt:

Lithium-Heparin-Plasma

Elektrolyte: *Natrium, Kalium, Calcium*;

Nierenfunktionsparameter: *Harnstoff, Kreatinin*;

Enzymaktivitäten: *AST, ALT, γ -GT, Alkalische Phosphatase*;

Leberstoffwechsel: *Bilirubin gesamt*;

Lipidstoffwechsel: *Triglyzeride*;

Proteine: *Albumin, C-reaktives Protein*;

und *Glucose*

Citrat-Plasma

Gerinnungsparameter: *Prothrombinzeit (Quick-Test), partielle Thrombinzeit*

EDTA-Plasma

Kleines Blutbild: *Leukozyten, Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, MCV, MCH, MCHC, Thrombozyten*

Mit Hilfe eines Blutgasanalysengerätes (Fa. NOVA biomedical, Rödermark) wurden zu jedem Messzeitpunkt auf der Intensivstation folgende Werte aus heparinisiertem Vollblut analysiert:

pH-Wert, pO₂-Konzentration, Laktat und Bikarbonat

2.5.2 Bestimmung der Fettsäuren im Plasma

Für die Bestimmung der Plasmafettsäuren wurden zu jedem Messzeitpunkt 7,5 ml in einer Lithium - Heparin - Monovette[®] (Fa. Sarstedt, Nürnbrecht) entnommen.

Die Blutproben wurden anschließend bei 3000 U/min in einer Kühlzentrifuge (Fa. Hettich) für 10 min zentrifugiert, um anschließend das gewonnene Plasma pro Messzeitpunkt in

fünf 2 ml Eppendorf-Winzlinge zu pipettieren, und diese bis zur endgültigen Fettsäurenbestimmung bei -20°C zu lagern.

Die Bestimmung der Fettsäuren erfolgte im Institut für Klinische Chemie (Leiter: Prof. Dr. Dr. A. Grünert) der Universität Ulm.

Materialien

Reagenzien:

2 M Calciumcarbonat

Methyljodid

Aceton mit Heptadecansäure (C_{17})

Chloroform

Geräte:

1 ml und 5 ml Reacti-Vials-Reaktionsgefäße (Fa. Pierce Chemical Co.)

Gaschromatograph HP6890 GC (Fa. Hewlett und Packard, USA)

Fused Silica Glaskapillarsäulen: 60 m Länge, 320 μm Innendurchmesser, Filmdicke 20 μm

Methodik

Extraktion und Veresterung der freien Fettsäuren im Plasma

Im ersten Schritt wurden folgende Reagenzien in ein Reaktionsgefäß gegeben:

100 μl 2 M Kaliumcarbonat

100 μl Methyljodid

500 μl Aceton mit 0,1 μmol 54,08 mg Heptadecansäure (C_{17}) als interner Standard

Anschließend wurden die Reaktionsgefäße verschlossen und der Ansatz gemischt.

Im nächsten Schritt wurden 200 μl der Lithium – Heparinat – Plasma - Probe zugegeben, gemischt und zur Aktivierung des Veresterungsschrittes die geschlossenen Gefäße im Ultraschallbad für 10 min bei 75°C behandelt.

Zur Extraktion der Ester gab man nun 500 μl Folch-Extrakt (Chloroform-Methanol, 2:1) hinzu und die Proben wurden durch Schütteln homogenisiert. Nach 20 minütiger Zentrifugation bei 3000 U/min trennte sich die Eiweißschicht von dem Extrakt.

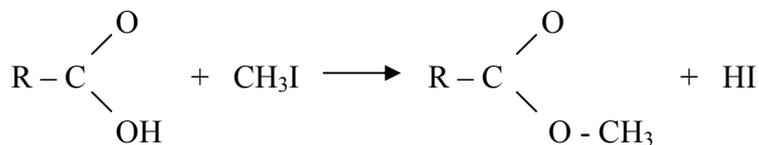
Anschließend wurde 1 ml aus der unteren organischen Phase mit einer Hamiltonspritze entnommen und in ein verschließbares Reaktionsgläschen übertragen. Dabei mußte die

Proteinschicht vorsichtig beiseite geschoben werden, damit keine Proteinreste in die organische Phase gelangen konnten.

Über Nacht wurden die Proben unverschlossen in den Abzug gestellt und am nächsten Tag mit dem Exsikator restgetrocknet.

Im letzten Schritt wurde der Trockenrückstand in 100 µl Chloroform gelöst, danach zweimal homogenisiert, in Probengefäße für den Probengeber des Gaschromatographen übertragen und mit einer teflonbeschichteten Gummidichtung verschlossen um anschließend im Gaschromatographen gemessen zu werden .

Chemische Reaktion der Derivatisierung:



Extraktion der veresterten Fettsäuren

Für die Bestimmung der veresterten Fettsäuren im Plasma diente ebenfalls 0,1 µmol Heptadecansäure (C₁₇) als interner Standard, der zusammen mit 500 µl Aceton zu 100 µl der Heparinat-Plasma-Probe gegeben wurde. Die Lipide wurden ebenso wie bei der Bestimmung der freien Fettsäuren mittels Zugabe von 500 µl Folch-Extrakt (Chloroform-Methanol, 2:1) extrahiert und anschließend nach Trocknung der Proben und Zugabe von 100 µl Folch-Extrakt im Gaschromatographen gemessen.

Messung

Die Messung der Fettsäuren erfolgte mit vorgegebenen Einstellungen des Gaschromatographen (CP HP 6890, Hewlett & Packard), die anhand von Erfahrungswerten aus anderen Arbeiten ermittelt wurden [43] Mittels eines Flammenionisationsdetektors wurden die Fettsäurenmethylester anschließend erkannt, um schließlich mit Hilfe eines Integrators als Chromatogramm aufgezeichnet zu werden.

Dabei diente Heptadecansäure als interner Standard.

Die Konzentrationen der einzelnen Fettsäuren wurden in Prozent der gesamten freien bzw. veresterten Fettsäuren angegeben.

2.5.3 Bestimmung der Lipidmediatoren

Zu jedem Messzeitpunkt wurden direkt vor der Blutabnahme 400 µl bei 7° C gelagertes Indometacin 1 % (Fa. Sigma) in eine 7,5 ml EDTA-Monovette[®] pipettiert. Das Indometacin als ein nichtsteroidales Antiphlogistikum (NSAID) wirkt durch Hemmung der Cyclooxygenase, dadurch wird die weitere Synthese von Eicosanoiden in der Blutprobe unterdrückt.

Nach der Blutentnahme wurden die Blutproben ebenfalls bei 3000 U/min in einer Kühlzentrifuge (Fa. Hettich) für 10 min zentrifugiert. Das dadurch gewonnene Plasma wurde pro Messzeitpunkt in acht 2 ml Eppendorf-Winzlinge pipettiert und anschließend bis zur Bestimmung der Lipidmediatoren bei -90° C gelagert.

Materialien

TXB₂: EIA System RPN 220 (Biotrak, Amersham International, England)

6-keto PGF_{1α}: EIA System RPN 221 (Biotrak, Amersham International, England)

PGE₂: EIA System RPN 222 (Biotrak, Amersham International, England)

Methodik

Die Messung der Lipidmediatoren TXB₂, 6-keto PGF_{1α} und PGE₂ erfolgte mittels ELISA-Technik in der Sektion Pathophysiologie und Verfahrensentwicklung der Abteilung für Anästhesiologie und Intensivmedizin (Universität Ulm). Die Bestimmungen erfolgten nach bereits etablierter Methodik [14].

2.5.4 Zytokin-Produktion nach ex vivo Stimulation

Für diese Bestimmungen wurden zu jedem Messzeitpunkt 5 ml Blut mit einer Citrat-Monovette[®] entnommen.

Die Weiterverarbeitung erfolgte in einem sogenannten ex vivo-System (Hartung, Konstanz), das aus einem Kontrollröhrchen und einem Teströhrchen bestand. Das Teströhrchen enthielt, zusätzlich zu der im Kontrollröhrchen enthaltenen Lösung 10 µg/ml Lipopolysaccharid (Endotoxin) als Stimulus für die Produktion von Zytokinen.

In jedes der beiden Röhrchen wurden pro Messzeitpunkt 1ml Citrat-Blut pipettiert. Die beiden Röhrchen wurden anschließend für 24 h bei 37° C inkubiert. Nach 24 h Inkubation

wurden die beiden Röhrchen für 10 min in einer Kühlzentrifuge bei 3000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde pro Messzeitpunkt und Kontroll- bzw. Teströhrchen in drei 2ml Cryo-Röhrchen pipettiert und bis zur Zytokin-Bestimmung bei -20° C gelagert.

Materialien

Reagenzien:

IL-1 β -Chemolumineszenz-Immunoassay (Fa. DPC Biermann, Bad Nauheim)

TNF- α -Chemolumineszenz-Immunoassay (Fa. DPC Biermann, Bad Nauheim)

Geräte:

Immulite-Gerät (Fa. DPC Biermann, Bad Nauheim)

Methodik

IL-1 β und TNF- α , wurde mittels eines Chemolumineszenz-Immunoassay bestimmt. Die Bestimmung dauerte ca. 60 Minuten und wurde am Immulite-Gerät durchgeführt.

Die ex vivo Stimulation mittels Endotoxin führt zu einer weit höheren Zytokin - Konzentration in den Teströhrchen im Vergleich zu unstimulierten Proben, weshalb die Teströhrchen nach dem Auftauen in einem Verhältnis von 1 : 10 verdünnt wurden (1 Teil Testlösung, 9 Teile Verdünnungslösung).

Testprinzip:

Eine Immulite- Testeinheit ist mit einem ligand-gebundenen Antikörper gegen IL-1 β bzw. TNF- α beschichtet. Patientenproben und ein zweiter enzymgebundener (Phosphatase) monoklonaler Antikörper werden dazugegeben. Während der folgenden 30 minütigen Inkubation bildet sich ein „Sandwich-Komplex“ zwischen dem vorhandenen IL-1 β bzw. TNF α und den beiden Antikörpern, welche an unterschiedlichen Epitopen des IL-1 β - bzw. TNF- α - Moleküls binden, aus. Ungebundene Substanzen werden im nächsten Schritt, dem Waschen, entfernt. Nun wird chemilumineszenzmarkiertes Substrat (Phosphatester) zugegeben und zehn Minuten lang erneut inkubiert. Das Substrat wird in der Anwesenheit des Enzyms hydrolysiert, wodurch Licht freigesetzt wird, welches im Luminometer gemessen wird. Der mit dem Luminometer gemessene Photonenausstoß ist proportional zum vorhandenen IL-1 β bzw. TNF α .

Das Immulite-System regelt automatisch die Zugabe der Reagenz, des Substrates, den Inkubation- und Waschvorgang sowie die Messung des Photonenausstoßes.

Auswertung

Den Wert der Zytokin-Produktion erhielt man anschließend durch Subtraktion des Ergebnisses des Kontrollröhrchens (ohne LPS) von dem Ergebnis des Teströhrchens (mit LPS).

2.5.5 Funktion und Aktivierung der Granulozyten

Es wurden zu jedem Messzeitpunkt 5 ml Blut mit einer Lithium-Heparin-Monovette[®] und 3,5 ml Blut in einer EDTA- Monovette[®] abgenommen. Innerhalb von 20 min nach Probenentnahme wurde mit dem Testansatz begonnen.

Materialien

Reagenzien:

- Bursttest[®]-Kit (Fa. Orpegen, Heidelberg[®])
- Phagotest[®]-Kit (Fa. Orpegen, Heidelberg[®])
- FITC-markierte Maus-IgG 1-Antikörper (Fa. Becton und Dickinson, USA)
- PE-markierte Maus-IgG 2a-Antikörper (Fa. Becton und Dickinson, USA)
- FITC-markierte monoklonale CD 64-Antikörper (Fa. Becton d Dickinson, USA)
- PE-markierte monklonale CD 14-Antikörper (Fa. Dako, Dänemark)
- Lyselösung (Fa. Becton und Dickinson, USA)
- PBS-Puffer (Fa. Gibco, USA)
- Ampuwa, bidestilliertes Wasser (Fa. Fresenius, Bad Homburg)
- Waschlösung für Antikörper-Test

Geräte:

- Eisbad mit Deckel
- Wasserbad

- Kühlzentrifuge (Fa. Heraeus Sepatech)
- Durchflußzytometer (Fa. Becton & Dickinson, USA)
- 5 ml Falcon-Einmal-Probenröhrchen (Fa. Becton & Dickinson, USA)
- Pipetten und Pipettenspitzen (Fa. Eppendorf, Hamburg)

Methodik

Oxidative Burstaktivität

Testansatz:

Die Bestimmung der oxidativen Burstaktivität erfolgte mit Hilfe des kommerziell erhältlichen Bursttest[®] - Kits.

Dieser Test ermöglicht die quantitative Bestimmung des oxidativen Burst von Leukozyten in heparinisiertem Vollblut.

Heparinisiertes Vollblut wurde, falls nötig, mit PBS so verdünnt, daß die Leukozytenkonzentration 4 – 5 G/l betrug. Es wurden nun jeweils 50 µl dieses Blutes in drei verschiedene Teströhrchen pipettiert und für 10 min auf Eis inkubiert. Anschließend wurden die Proben mit 10 µl zweier verschiedener Stimuli für 10 min bei 37° C im Wasserbad inkubiert, dabei diente das chemotaktische Peptid N-formyl-methionyl-leucyl-Phenylalanin (fMLP, 1 mM) als physiologischer „low stimulus“ und die opsonierten Escherichia coli-Bakterien (1 x 10⁹ Bakterien pro ml Suspension) als partikulärer Stimulus. Eine Probe ohne Stimulus diente als Negativkontrolle. Nach Stimulation produzieren Granulozyten und Monozyten reaktive Sauerstoffmetabolite (Superoxid-Anion, Wasserstoffperoxid). Die Bildung dieser reaktiven Sauerstoffradikale während des oxidativen Burst kann durch Zugabe und Oxidation von Dihydrorodamin 123 zu Rodamin 123 verfolgt werden. Durch die Oxidation wird das Rodaminmolekül zur Fluoreszenz angeregt, die wiederum später am Durchflußzytometer gemessen werden kann. Deshalb wurden die Testansätze mit 10 µl Dihydrorodamin 123 je Probe für weitere 10 min bei 37° C im Wasserbad inkubiert. Zum Abstoppen der Reaktion und Entfernung der Erythrozyten wurden 2 ml Lyselösung zugegeben und die Proben für 20 min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurden die Proben für 5 min mit 250 x g bei 4° C zentrifugiert und der Überstand dekantiert. Nach einem Waschschrift mit Waschlösung, erneuter Zentrifugation und Dekantierung des Überstands wurde 100 µl Propidiumjodid zum

Ausschluß von Bakterien- und Zellaggregationsartefakten zu jeder Probe zugefügt und für weitere 10 min im verschlossenen Eisbad inkubiert. Die Proben mußten im Dunkeln inkubiert werden, weil die Propidiumjodidlösung lichtinstabil ist.

Messung:

Die Zellen wurden nun im Durchflußzytometer bei blaugrüner Lichtanregung analysiert (488 nm Argonlaser, FACScanTM-Software). Während der Messung wurde ein sogenanntes Live - gate im Histogramm der Rotfluoreszenz (Fluoreszenz - 2 - Kanal) auf diejenigen Ereignisse gesetzt, die mindestens den Gehalt einer diploiden Zelle besitzen. Dies dient zum Ausschluß von von Bakterienaggregaten, welche die gleichen Streulichteigenschaften wie Leukozyten besitzen. Pro Probe wurden 10 000 - 15 000 Leukozyten akquiriert.

Auswertung:

Ausgewertet wurde die mittlere Fluoreszenzintensität der Zellen, und damit die Menge an umgesetztem Substrat (Rodamin 123), was der Enzymaktivität der einzelnen Zelle entspricht.

Zu Beginn grenzte man in einem Rotfluoreszenz - Histogramm (Fluoreszenz - 2 – Histogramm) die durch DNA-Färbelösung markierte Leukozyten - DNA ein, um Bakterien und Zellaggregationsartefakte auszuschließen. Im nächsten Schritt wurden die Granulozyten im Streulichtdiagramm (lin FSC gegen lin SSC) eingegrenzt. Anschließend wurde deren Grünfluoreszenz im Fluoreszenz -1 - Histogramm analysiert.

Nach diesem Auswertungsverfahren wurden alle drei Testansätze (Negativkontrolle, fMLP - Stimulation und E. coli - Stimulation) ausgewertet.

Die mittlere Burstaktivität der Granulozyten nach Stimulation mit fMLP erhielt man durch Subtraktion der mittleren Grünfluoreszenzintensität (= Meanwert (All) im Fluoreszenz - 1 - Histogramm) der Granulozyten der Negativkontrolle von der mittleren Grünfluoreszenzintensität des fMLP - Ansatzes.

Ebenso erhielt man die Burstaktivität der Granulozyten nach E. coli - Stimulation durch Subtraktion der mittleren Grünfluoreszenzintensität der Granulozyten der Negativkontrolle von der mittleren Grünfluoreszenzintensität des E. coli - Ansatzes.

Phagozytoseaktivität

Testansatz:

Zur Bestimmung der Phagozytoseaktivität wurde ebenfalls ein kommerziell erhältlicher Testkit, der Phagotest[®] verwendet.

Mit diesem Test ist es möglich quantitativ die Phagozytose der Leukozyten aus heparinisiertem Vollblut zu bestimmen.

Analog zum Bursttest verdünnte man das heparinisierte Vollblut so, daß die Leukozytenkonzentration 4 – 5 G/l betrug. Zwei Testansätze mit jeweils 50 µl verdünntem Blut wurden für 10 min auf Eis inkubiert. Im nächsten Schritt wurde in beide Proben 10 µl opsonierte, Fluoresceinthiocyanat (FITC) - markierte E. coli - Bakterien (1×10^9 Bakterien pro ml Suspension) zugegeben. Der sogenannte Positivansatz wurde für 10 min bei 37° C im Wasserbad inkubiert, die andere Probe diente als Negativkontrolle und wurde auf Eis belassen. Die Phagozytose wurde nun durch Zugabe von 100 µl eiskalter Quenchlösung abgestoppt. Nach zwei Waschschritten mit je 3 ml Waschlösung, darauffolgender Zentrifugation für 5 min mit 250 x g bei 4° C und anschließendem Dekantieren des Überstands, wurden die Erythrozyten durch Zugabe von 2 ml Lyselösung und 20 minütiger Inkubation bei Raumtemperatur entfernt. Anschließend wurden die Proben für 5 min mit 250 x g bei 4° C zentrifugiert und der Überstand dekantiert. Nach einem Waschschriff mit Waschlösung, erneuter Zentrifugation wurde der Überstand dekantiert. Darauffolgend wurden 50 µl Propidiumjodid zum Ausschluß von Bakterien- und Zellaggregationsartefakten zu jeder Probe zugefügt und für weitere 10 min im verschlossenen Eisbad inkubiert. Die Proben mußten im Dunkeln inkubiert werden, weil die Propidiumjodidlösung lichtinstabil ist.

Messung:

Die Messung der Phagozytoseaktivität erfolgte analog der Analyse der oxidativen Burstaktivität im Durchflußzytometer bei blaugrüner Lichtanregung. Nach Ausschluß von

von Bakterienaggregaten wurden ebenfalls 10 000 – 15 000 Leukozyten je Probe akquiriert.

Auswertung:

Während der Phagozytose kommt es zur Aufnahme von E. coli - Bakterien, welche durch ihre FITC - Markierung fluoreszieren, und damit im Histogramm der Grünfluoreszenz (Fluoreszenz -1 - Histogramm) quantitativ erfaßt werden können.

Ausgewertet wurde die mittlere Fluoreszenzintensität der Zellen, was wiederum der Menge der aufgenommenen Bakterien pro Zelle entspricht.

Zu Beginn grenzte man in einem Fluoreszenz - 2 - Histogramm die durch DNA - Färbelösung markierte Leukozyten - DNA ein, um Bakterien- und Zellaggregationsartefakte auszuschließen. Im nächsten Schritt wurden die Granulozyten im Streulichtdiagramm (lin FSC gegen lin SSC) eingegrenzt. Anschließend wurde deren Grünfluoreszenz im Fluoreszenz - 1 - Histogramm analysiert. Nach diesem Auswertungsverfahren wurden beide Testansätze (0° C - Ansatz und 37° C - Ansatz) ausgewertet.

Die mittlere Phagozytoseaktivität der Granulozyten erhielt man durch Subtraktion der mittleren Grünfluoreszenzintensität (= Meanwert (ALL) im Fluoreszenz - 1 - Histogramm) der Granulozyten in der Negativkontrolle von der mittleren Grünfluoreszenzintensität des Positivansatzes (37° C - Ansatz).

Expression von CD 64 auf polymorphnukleären Granulozyten (PMN)

Testansatz:

Im ersten Schritt wurden jeweils 5 µl Antikörperlösung wie folgt in die einzelnen Teströhrchen vorgelegt:

- Röhrchen 1: keine Antikörper => Negativkontrolle
- Röhrchen 2: anti-IgG 1-FITC, anti-IgG 2a-PE
- Röhrchen 3: anti-CD64-FITC, anti-CD14-PE

Nach Zugabe von je 100 µl EDTA - Blut wurden die Röhrchen für 25 min auf Eis inkubiert, um eine Bindung der monoklonalen Antikörper an die Rezeptoren der Zellen zu erreichen. Anschließend wurden die Erythrozyten durch Zugabe von je 1 ml 10 % FACS™

- Lyse - Lösung und 10 minütiger Inkubation auf Eis entfernt. Im nächsten Schritt wurden die Ansätze für 5 min mit 1000 Umdrehungen/min bei 4° C zentrifugiert, der Überstand dekantiert und die Röhren mit jeweils 2 ml Waschlösung aufgefüllt. Nach zweimaliger Wiederholung dieses Waschschrilles und anschließender Zugabe von 400 µl PBS-Puffer wurden die Proben schließlich am Durchflußzytometer gemessen.

Messung:

Im Messprotokoll wurden im Streulichtdiagramm (lin FSC gegen lin SSC) die Ereignisse eingegrenzt, die den Leukozyten entsprachen, um sonstige Aggregationsartefakte auszuschließen. Es wurden je 10 000 - 15 000 Leukozyten pro Testansatz akquiriert.

Auswertung:

Im Streulichtdiagramm der Negativkontrolle wurden die einzelnen Leukozytenpopulationen markiert. Diese Einstellungen wurden für die weitere Auswertung beibehalten. Zur weiteren Auswertung wurde ein sogenanntes dot - plot - Diagramm verwendet, in dem die Rotfluoreszenz (Fluoreszenz - 2 - Kanal) gegen die Grünfluoreszenz (Fluoreszenz - 1 - Kanal) aufgetragen wurde, d.h. die mittlere Fluoreszenzintensität der FITC - markierten CD64 - positiven Zellen konnte auf der Abszisse abgelesen werden. Die durchschnittliche Expression von CD64 auf Granulozyten erhielt man schließlich durch Subtraktion der mittleren Fluoreszenzintensität (auf der Abszisse) der Granulozyten im Isotyp - Ansatz von der mittleren Fluoreszenzintensität (auf der Abszisse) der Granulozyten im CD64/14 - Ansatz.

2.6 Dokumentation

2.6.1 Patientendaten

In einem Dokumentationsbogen wurden die Grunddaten der Patienten wie folgt aufgenommen:

- Name, Vorname, Geburtsdatum, Größe und Gewicht des Patienten
- Diagnose
- Ausschlußkriterien
- Vorerkrankungen

- Medikation
- Operationen, OP-Datum
- Dauer des Klinikaufenthalts und Dauer des Aufenthalts auf Intensivstation, sowie Tage mit Beatmung
- Organversagen, besondere Ereignisse
- Entlassdatum und Diagnosen bei Entlassung

2.6.2 Klinische Daten

Zusätzlich zu den Grunddaten der einzelnen Patienten wurden zu jedem Messzeitpunkt verschieden klinische Daten in einem Dokumentationsbogen aufgenommen:

- Mittlerer arterieller Druck (Minimum und Maximum) in mmHg
- Herzfrequenz (Minimum und Maximum) in 1/min
- Körpertemperatur (Minimum und Maximum) in ° Celsius
- Beatmung ja/nein
- Inspiratorische Sauerstoffkonzentration (Minimum und Maximum) in Liter
- Atemfrequenz (Minimum und Maximum) in 1/min und Atemminutenvolumen (Minimum und Maximum) in ml /min
- Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II-Score[62]
- Katecholamine ja/nein
- Blutverlust in ml
- Menge an verabreichten Erythrozytenkonzentraten und Kolloiden
- Besondere Ereignisse und besondere Medikation

2.6.3 Routinelaborwerte und Mikrobiologie

In diesem Bogen wurden die unter 2.5.1 aufgeführten Routinelaborparameter und die mikrobiologischen Befunde des Patienten zu jedem Messzeitpunkt dokumentiert.

2.7 Statistik

Zum Vergleich der beiden Behandlungsgruppen miteinander wurde der Mann-Whitney U-Test angewandt. Verläufe innerhalb der Gruppen wurden mit dem Wilcoxon-Rang-Test bestimmt. Der klinische Verlauf der beiden Behandlungsgruppen, wie z.B. Krankenhausaufenthaltsdauer, sowie das Auftreten von Komplikationen wurde mittels dem Fisher's Exact Test miteinander verglichen. Ab $p < 0.05$ wurden Differenzen als statistisch signifikant akzeptiert. In Tabellen sind die Werte als Median, sowie Minimum und Maximum angegeben. Die Abbildungen sind als Box-Plot (Median, 25%- und 75 %-Perzentile, sowie Minimum und Maximum) präsentiert.

3 Ergebnisse

3.1 Demographische Daten

Von den insgesamt 34 in die Studie aufgenommenen Patienten galten vier als so genannte Drop outs, d.h. nach initialer Aufnahme konnte die geplante total parenterale Ernährung (TPE) nicht durchgeführt werden. Vor Beginn der geplanten TPE traten bei drei dieser Patienten Triglyzeridspiegel größer als 3 mmol/l und bei einem Patienten deutlich erhöhte Transaminasen im Serum auf, weshalb diese Patienten aus der Studie ausgeschlossen wurden.

Somit kamen insgesamt 30 Patienten in die Auswertung, wovon bei 29 Patienten die geplante Therapie vollständig durchgeführt werden konnte. Bei einem Patienten der Sojaöl-Gruppe musste die Therapie am fünften postoperativen Tag abgebrochen werden, da dieser Patient einen katecholaminpflichtigen septischen Schock entwickelte. Der Patient wurde allerdings als sog. Intention to treat bezeichnet und in die Auswertung mit aufgenommen, da er die Therapie an vier der geplanten fünf Tagen erhalten hatte.

Die Entblindung der Studie ergab sechzehn Patienten in der Sojaöl- Gruppe und vierzehn Patienten in der Fischöl-Gruppe, wobei sich die beiden Gruppen hinsichtlich demographischer Daten nicht signifikant unterschieden (siehe Tabelle 3). Das Alter lag in der Sojaöl-Gruppe im Median bei 56 und in der Fischöl-Gruppe bei 64 Jahren ($p=0,07$); auch hinsichtlich des Body mass indexes ($p=0,24$) und der Geschlechterverteilung gab es keine signifikanten Unterschiede. Der APACHE II-Score, der als Klassifikationssystem zur Prognoseabschätzung unter Berücksichtigung von akuten Funktionsstörungen, Alter und vorbestehendem Gesundheitszustand dient, zeigte am Tag der Studienaufnahme ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Studiengruppen ($p=0,15$). In der Sojaöl-Gruppe wurden neun Patienten oesophagektomiert und sieben gastrektomiert, in der der Fischöl-Gruppe sechs Patienten oesophagektomiert und acht gastrektomiert. Dabei zeigten sich keine signifikante Unterschiede in der Operations-Dauer ($p=0,49$), die in der Sojaöl-Gruppe im Median bei 480 (270-720) und in der Fischöl-Gruppe bei 435 (220-660) Minuten lag.

Der folgenden Tabelle sind die wesentlichen demographischen Daten der beiden Studiengruppen zu entnehmen.

Tabelle 3: Demographische Daten, dargestellt als absolute Zahlen bzw. Mediane, sowie Minima und Maxima; MZP-1 = Messzeitpunkt -1 = 1 Tag präoperativ, p=Signifikanz

Patienten	Sojaöl-Gruppe (SO)	Fischöl-Gruppe (FO)	p
Anzahl	16	14	
Geschlecht (♂/♀)	14/2	10/4	
Alter (Jahre)	56 (30-77)	64 (56-77)	0,1
Body mass index	29 (18-32)	24 (22-34)	0,2
APACHE II (MZP-1)	5 (0-10)	5,5 (3-8)	0,2
<i>Operation</i>			
Oesophagusresektion	9	6	
Gastrektomie	7	8	
OP-Dauer (min)	480 (270-720)	435 (220-660)	0,5

Die Studienmedikation wurde von allen Patienten sehr gut vertragen und es traten keinerlei Nebenwirkungen auf.

3.2 Plasmafettsäuren-Profil

3.2.1 Veresterte Fettsäuren

In der nachfolgenden Tabelle sind die Zusammensetzungen der veresterten Plasmafettsäuren der Sojaöl (SO)- und der Fischöl (FO)-Gruppe zum Zeitpunkt der Studienaufnahme, sowie am ersten, fünften und siebten postoperativen Tag dargestellt.

Tabelle 4: Plasmafettsäuren-Profil (veresterte FS), dargestellt als Mediane; MZP = Messzeitpunkt, + $p < 0,05$, # $p < 0,005$, * $p < 0,0005$ im Vergleich zwischen den beiden Behandlungsgruppen

	MZP	Sojaöl-Gruppe (SO)				Fischöl-Gruppe (FO)			
		-1	1	5	7	-1	1	5	7
Palmitinsäure	C16 : 0	26,65	28,85	24,00	24,60	27,45	28,65	25,00	25,00
Stearinsäure	C18 : 0	7,40	6,65	8,30 +	8,60	7,25	6,80	9,15 +	9,35
Linolsäure	C18 : 2 ω -6	23,75	22,35	24,80 #	25,60 #	22,30	21,60	23,05 #	22,70 #
Linolensäure	C18 : 3 ω -3	0,45	-	1,25	1,40	0,40	-	0,90	0,85
Arachidonsäure	C20 : 4 ω -6	5,10	5,65	4,30	4,00	4,85	5,35	4,35	4,30
Eicosapentaensäure	C20 : 5 ω -3	0,40	-	0,25 *	0,30 *	0,30	-	1,90 *	2,00 *
Docosahexaensäure	C22 : 6 ω -3	1,10	1,15	0,90 *	0,80 *	0,95	1,10	1,60 *	1,75 *

Zum Zeitpunkt der Studienaufnahme (Messzeitpunkt (MZP) -1) zeigt das Plasma-Profil an veresterten FS erwartungsgemäß keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Studiengruppen.

Der operative Eingriff führte zu charakteristischen Veränderungen der einzelnen Phospholipid-Konzentrationen am ersten postoperativen Tag (MZP 1). Diese Veränderung, wie beispielsweise ein signifikanter Abfall der Eicosapentaensäure (EPA)- und Linolensäure-Konzentration, zeigten sich sowohl in der SO-, als auch in der FO-Gruppe.

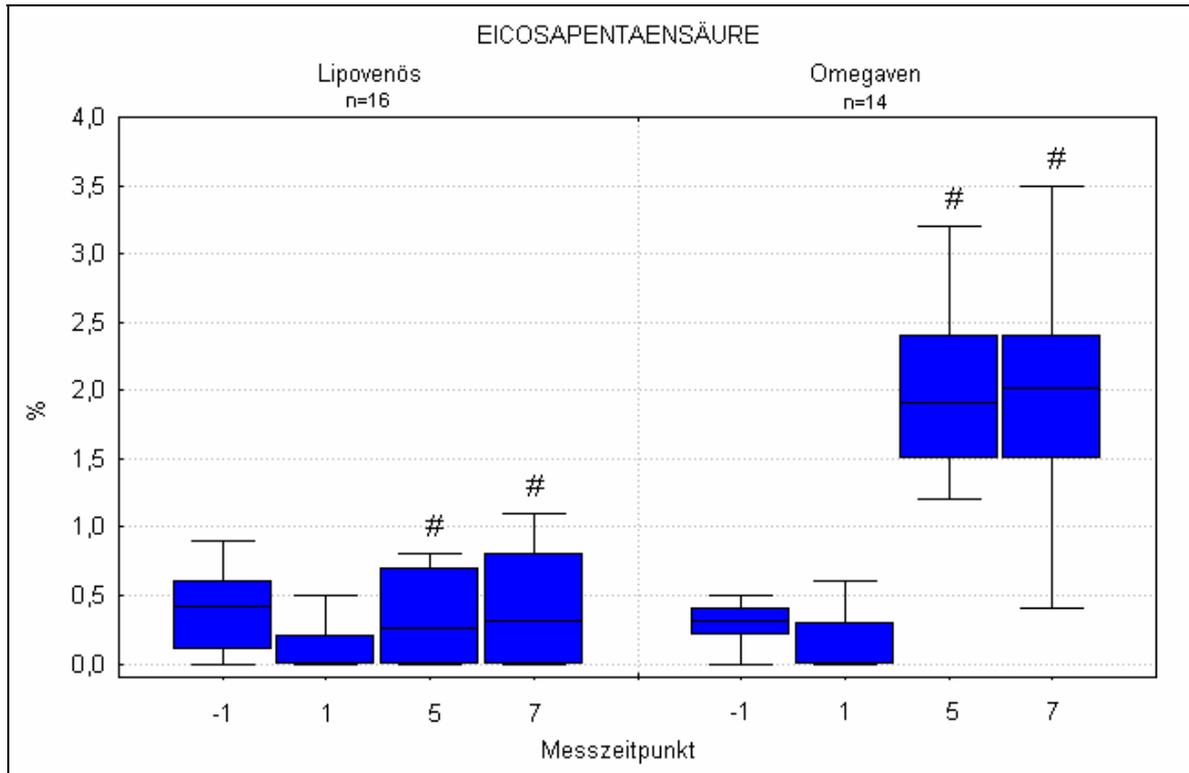


Abbildung 2: Verlauf von Eicosapentaensäure in der Lipovenös® (SO)- bzw. Omegaven® (FO)-Gruppe in Prozent der Gesamtfettsäuren, dargestellt als Boxplots (Mediane, 25- und 75%-Quartile, sowie Minima und Maxima); # $p < 0,0005$ im Vergleich zwischen den beiden Behandlungsgruppen

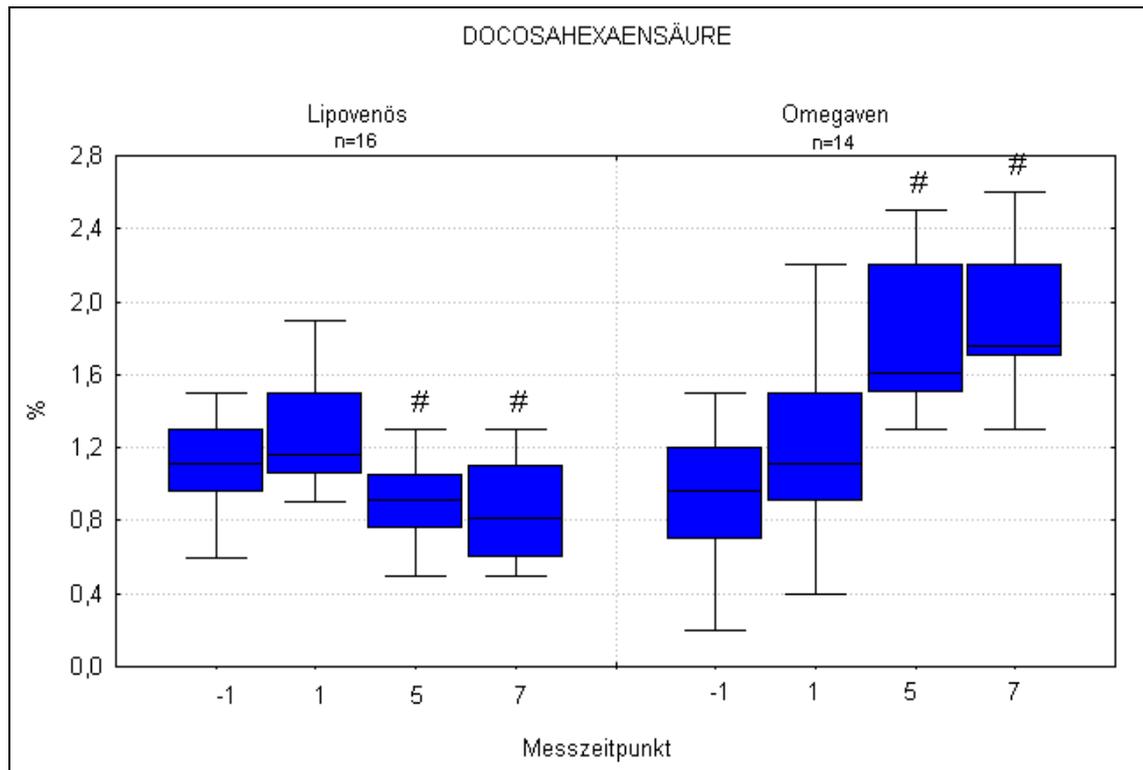


Abbildung 3: Verlauf von Docosahexaensäure in der Lipovenös® (SO)- bzw. Omegaven® (FO)-Gruppe in Prozent der Gesamtfettsäuren, dargestellt als Boxplots (Mediane, 25- und 75%-Quartile, sowie Minima und Maxima); # $p < 0,00001$ im Vergleich zwischen den beiden Behandlungsgruppen

Nachdem die TPE mit Lipovenös® bzw. Omegaven® am zweiten postoperativen Tag begonnen wurde, kam es bereits nach einer dreitägigen Therapiedauer am fünften postoperativen Tag (MZP 5) zu deutlichen Modifikationen der Plasmalipidzusammensetzung beider Gruppen, wobei sich Unterschiede zwischen den beiden Gruppen aufzeigten. In der FO-Gruppe kam es sowohl am fünften als auch am siebten postoperativen Tag zu einem signifikanten Anstieg der beiden ω -3-Fettsäuren EPA und Docosahexaensäure (DHA) im Vergleich zur SO-Gruppe ($p < 0,0005$). Zwischen den beiden Gruppen zeigten sich am fünften und siebten postoperativen Tag ebenfalls signifikant unterschiedliche Konzentration an Linolsäure, der Muttersubstanz der ω -6-Fettsäuren ($p < 0,005$).

3.2.2 Freie Fettsäuren

Zusätzlich zu den veresterten Fettsäuren wurden zu jedem Messzeitpunkt die freien unveresterten Fettsäuren im Plasma bestimmt. Dabei zeigte sich in der SO-Gruppe im Gegensatz zur FO-Gruppe ähnlich wie bei den veresterten Fettsäuren am dritten und fünften Tag nach Beginn der TPE ein signifikanter Anstieg der Linolsäure ($p < 0,03$). Die Linolsäure stellt die Muttersubstanz der ω -6-FS dar und ist in der Lipovenös[®]- höher konzentriert als in der Omegaven[®]-Fettlösung. Des Weiteren konnten wir bei den mit Fischöl ernährten Patienten im Gegensatz zu den mit Sojabohnenöl ernährten Patienten signifikant höhere Spiegel an Docosahexaensäure beobachten ($p < 0,05$). Der Gehalt an DHA stieg in der Fischöl-Gruppe auf 0,9 % am fünften bzw. 1,7 % am siebten postoperativen Tag an. In der Sojaöl-Gruppe war am fünften und siebten postoperativen Tag keine freie DHA im Plasma nachweisbar. Im Gegensatz zur veresterten EPA konnte weder in der SO- noch in der FO-Gruppe an den letzten beiden Messzeitpunkten der Gehalt an freier EPA nachgewiesen werden.

In der nachfolgenden Tabelle sind die Zusammensetzungen der freien Plasmafettsäuren der Sojaöl (SO)- und der Fischöl (FO)-Gruppe zum Zeitpunkt der Studienaufnahme, sowie am ersten, fünften und siebten postoperativen Tag dargestellt.

Tabelle 5: Plasmafettsäuren-Profil (freie FS), dargestellt als Mediane; MZP = Messzeitpunkt, + $p < 0,03$, * $p < 0,05$ im Vergleich zwischen den beiden Behandlungsgruppen

	MZP	Sojaöl-Gruppe (SO)				Fischöl-Gruppe (FO)			
		-1	1	5	7	-1	1	5	7
Palmitinsäure	C16 : 0	30,10	29,60	27,40 +	30,10	31,70	28,60	30,30 +	29,600
Stearinsäure	C18 : 0	10,90	8,70	10,40	11,80	10,90	8,50	11,10	10,70
Linolsäure	C18 : 2 ω -6	12,00	11,90	21,10 +	21,20 +	11,80	11,60	19,10 +	20,00 +
Linolensäure	C18 : 3 ω -3	-	-	-	-	-	-	-	-
Arachidonsäure	C20 : 4 ω -6	1,70	1,30	2,60	2,30	1,50	1,60	2,50	2,80
Eicosapentaensäure	C20 : 5 ω -3	-	-	-	-	-	-	-	-
Docosahexaensäure	C22 : 6 ω -3	0,60	-	- *	- *	0,20	0,40	0,90 *	1,70 *

3.3 Konzentration der Lipidmediatoren im Serum

Zu jedem Messzeitpunkt wurden die Konzentrationen von Prostaglandin E₂, Thromboxan B₂, sowie 6-keto Prostaglandin F_{1α} im Serum mittels ELISA bestimmt. Dabei zeigte sich zu keinem der Messzeitpunkte ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Behandlungsgruppen.

3.3.1 Thromboxan B₂

Die TXB₂-Spiegel fielen postoperativ in beiden Gruppen ab, wobei sich diese postoperative Reduktion im Vergleich zum präoperativen MZP -1 nur in der FO-Gruppe zu allen Messzeitpunkten als signifikant herausstellte.

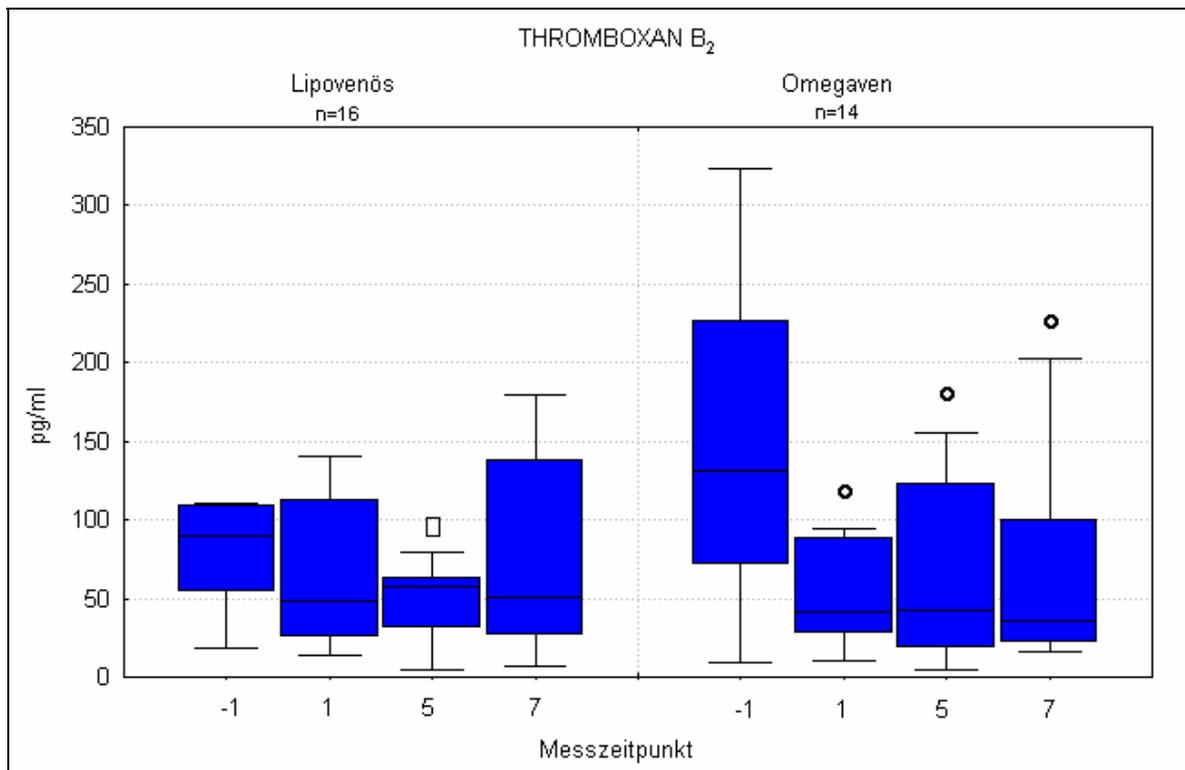


Abbildung 4: Verlauf von Thromboxan B₂ in der Lipovenös® (SO)- bzw. Omegaven® (FO)-Gruppe in pg/ml, dargestellt als Boxplots (Mediane, 25- und 75%-Quartile, sowie Minima und Maxima); ○ p<0,008 bzw. □ p<0,03 im Vergleich zum präoperativen Messzeitpunkt -1

3.4.1 6-keto Prostaglandin $F_{1\alpha}$

Für 6-keto $PGF_{1\alpha}$, der aktive Metabolit von Prostazyklin, zeigten sich sowohl zwischen den beiden Behandlungsgruppen als auch innerhalb der einzelnen Gruppen keine Signifikanzen auf. In den beiden Verläufen für SO und FO lässt sich jedoch ein postoperativer Abfall der 6-keto $PGF_{1\alpha}$ -Spiegel erkennen.

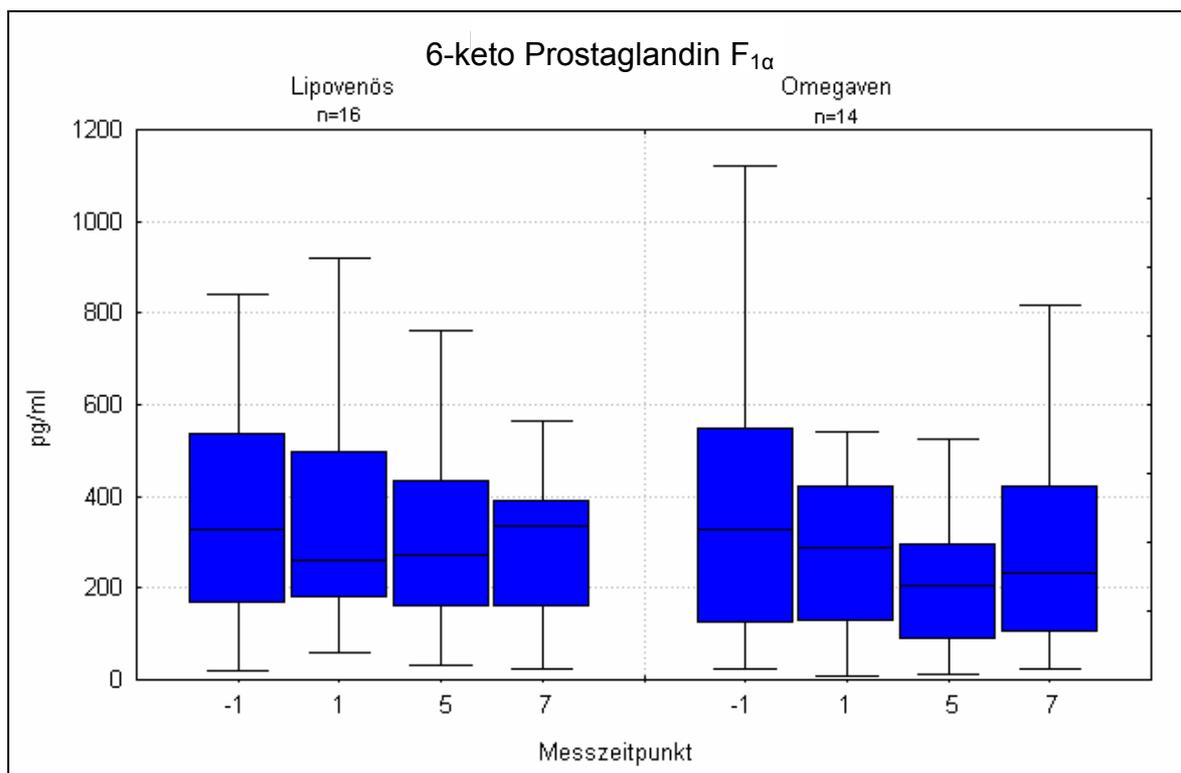


Abbildung 5: Verlauf von 6-keto Prostaglandin $F_{1\alpha}$ in der Lipovenös® (SO)- bzw. Omegaven® (FO)-Gruppe in pg/ml, dargestellt als Boxplots (Mediane, 25- und 75%-Quartile, sowie Minima und Maxima)

3.3.3 Prostaglandin E_2

In beiden Behandlungsgruppen kam es postoperativ zu einem signifikanten Anstieg der PGE_2 -Spiegel im Serum, d.h. die PGE_2 -Spiegel am präoperativen Tag zeigten im Vergleich mit dem ersten, fünften und siebten postoperativen Tag einen signifikanten Anstieg in beiden Gruppen. Der Vergleich der PGE_2 -Spiegel an MZP5 mit denen an

MZP7, dem fünften Tag der TPE, zeigten im Gegensatz zur FO-Gruppe lediglich in der SO-Gruppe einen signifikanten Anstieg.

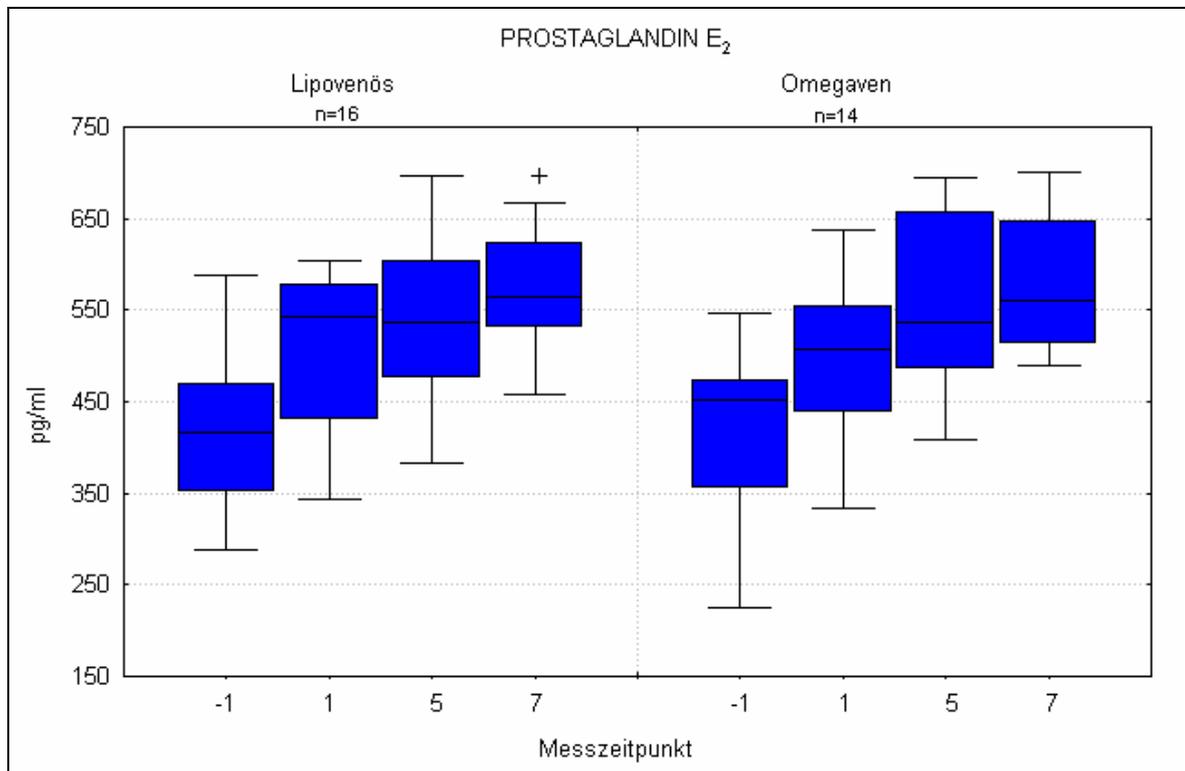


Abbildung 6: Verlauf von Prostaglandin E₂ in der Lipovenös[®] (SO)- bzw. Omegaven[®] (FO)-Gruppe in pg/ml, dargestellt als Boxplots (Mediane, 25- und 75%-Quartile, sowie Minima und Maxima); + p<0,05 im Vergleich Messzeitpunkt 5

3.4 Zytokin-Produktion nach ex vivo-Stimulation

Zu allen vier Messzeitpunkten wurden die nach Stimulation mit Endotoxin freigesetzten Zytokine Interleukin-1 β und Tumor-Nekrose-Faktor- α bestimmt. Auch hierbei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der SO- und der FO-Gruppe. Allerdings zeigten sich innerhalb der Gruppen signifikante Unterschiede im Vergleich der verschiedenen Messzeitpunkte.

3.4.1 Interleukin-1 β

Im Vergleich zum präoperativen Messzeitpunkt -1 waren die postoperativen Konzentrationen an freigesetztem IL-1 β sowohl in der SO- als auch in der FO-Gruppe signifikant erniedrigt. Vom ersten postoperativen zum fünften postoperativen Tag, dem dritten Tag der TPN kam es in keiner der beiden Gruppen zu einer signifikanten Veränderung der IL-1 β -Produktion. In der SO-Gruppe zeigte sich allerdings im Gegensatz zur FO-Gruppe im Verlauf der letzten beiden Messzeitpunkte, also MZP5 und MZP7, ein signifikanter Anstieg der Produktion von IL-1 β . Am fünften Tag der TPN (MZP7) ergab sich für IL-1 β eine ex vivo-Produktion im Median von 2335 pg/ml in der SO-Gruppe und von 1618 pg/ml in der FO-Gruppe. Somit konnte in der Lipovenös-Gruppe ein rascherer Wiederanstieg der postoperativ reduzierten IL-1 β -Freisetzung beobachtet werden.

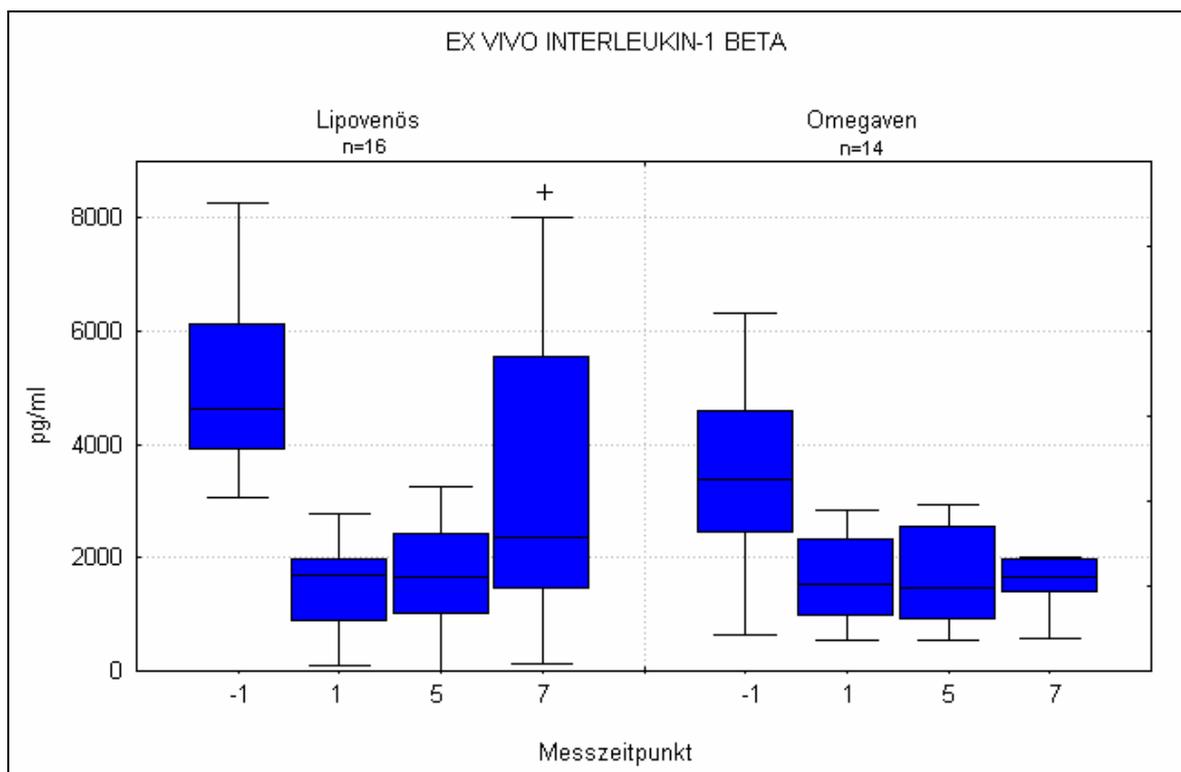


Abbildung 7: Verlauf von Interleukin-1 β in der Lipovenös[®] (SO)- bzw. Omegaven[®] (FO)-Gruppe in pg/ml, dargestellt als Boxplots (Mediane, 25- und 75%-Quartile, sowie Minima und Maxima); + p<0,05 im Vergleich zu Messzeitpunkt 5

3.4.2 Tumor-Nekrose-Faktor- α

Für TNF- α zeigte sich gegenüber dem präoperativen Messzeitpunkt postoperativ ein ähnlicher Verlauf wie für IL-1 β – in beiden Gruppen wurde postoperativ eine signifikant reduzierte ex vivo-Produktion von TNF- α beobachtet. In der SO-Gruppe kam es zu einem rascheren im Vergleich zur FO-Gruppe signifikanten Wiederanstieg der TNF- α -Freisetzung.

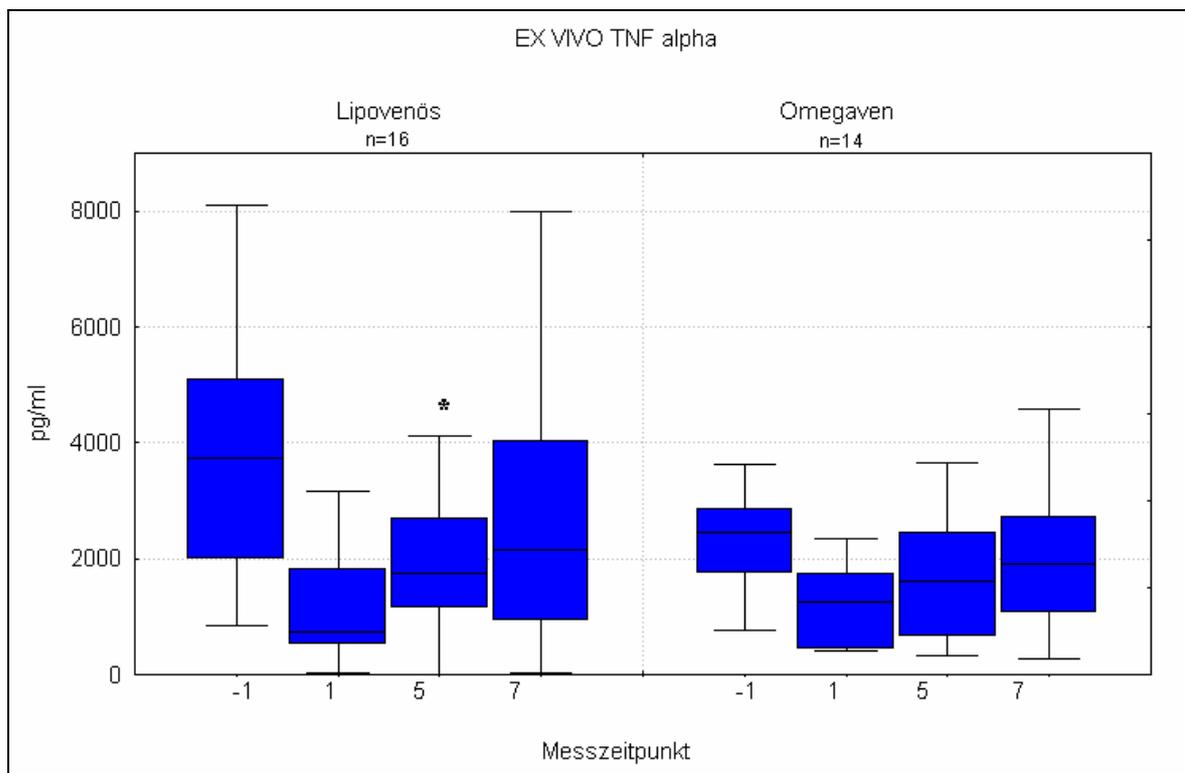


Abbildung 8: Verlauf von Tumor-Nekrose-Faktor- α in der Lipovenös[®] (SO)- bzw. Omegaven[®] (FO)-Gruppe in pg/ml, dargestellt als Boxplots (Mediane, 25- und 75%-Quartile, sowie Minima und Maxima); * $p < 0,01$ im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

3.5 C-reaktives Protein

Im Rahmen der Bestimmung der Routine-Laborwerte führten wir auch die Messung des C-reaktiven Proteins durch. Dieser Parameter wird im klinischen Alltag als Marker für Entzündungsreaktionen verwendet.

Dabei zeigte sich ähnlich der ex vivo bestimmten Zytokine IL-1 β und TNF- α zu keinem der Messzeitpunkte ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Behandlungsgruppen. Im Verlauf ergab sich allerdings innerhalb der beiden Gruppen im Vergleich zum präoperativen Messzeitpunkt -1 zu allen postoperativen Messzeitpunkten ein signifikanter Anstieg des CRP. Lediglich in der FO-Gruppe kam es vom fünften zum siebten postoperativen Tag zu einem signifikanten Abfall ($p < 0,05$) des CRP.

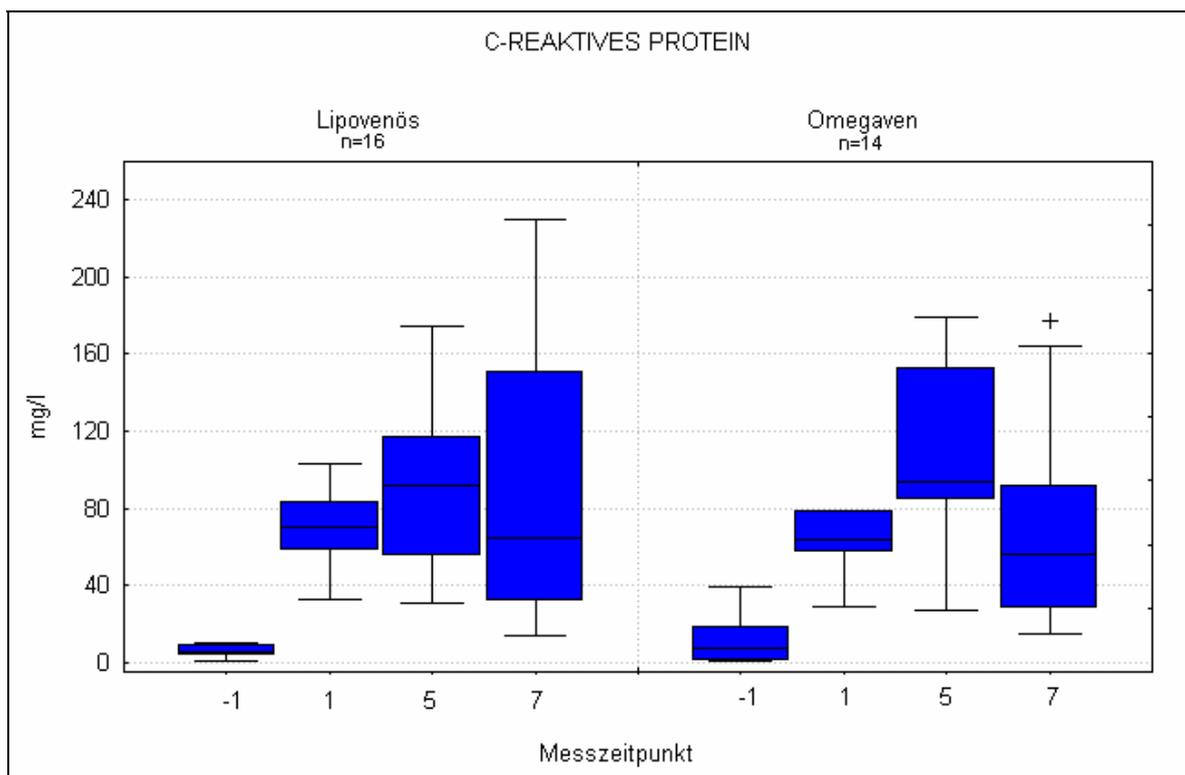


Abbildung 9: Verlauf des C-reaktiven Proteins in der Lipovenös[®] (SO)- bzw. Omegaven[®] (FO)-Gruppe in mg/ml, dargestellt als Boxplots (Mediane, 25- und 75%-Quartile, sowie Minima und Maxima); + $p < 0,05$ im Vergleich zu Messzeitpunkt 5

3.6 Funktion und Aktivierung der Granulozyten

Aufgrund diverser methodischer Probleme zu Beginn der Studie fehlen in der SO-Gruppe bei zwei Patienten und in der FO-Gruppe bei einem Patienten die Werte für die Burstaktivität und die Expression von CD64. Bei jeweils einem Patienten je Gruppe fehlen ebenfalls aufgrund der oben genannten Schwierigkeiten die Werte für die Phagozytosefähigkeit.

3.6.1 PMN-Funktion

Die Granulozytenfunktion wurde einerseits anhand der Bestimmung der Burstaktivität der Granulozyten, d.h. anhand der Sauerstoffradikal-Bildung nach Stimulation mit *Escherichia coli*-Bakterien und andererseits mittels der Bestimmung der Phagozytosefähigkeit der Granulozyten ermittelt.

Für die Burstaktivität, dargestellt als mittlere Fluoreszenzintensität der Zellen (MnI), zeigten sich zu allen vier Messzeitpunkten deutlich höhere Werte in der FO-Gruppe im Vergleich zur SO-Gruppe, allerdings ergab sich ausschließlich für den ersten postoperativen Tag ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p < 0,01$). Vor allen Dingen konnte durch die unterschiedliche Fett-Therapie keine signifikant differente Sauerstoffradikalbildung nachgewiesen werden.

Postoperativ kam es sowohl in der Lipovenös- als auch in der Omegaven-Gruppe im Vergleich zum präoperativen Ausgangswert zu einer Reduktion der Burstaktivität. Im postoperativen Verlauf zeigte sich in der FO-Gruppe im Gegensatz zur SO-Gruppe eine signifikante Abnahme der Sauerstoffradikalbildung vom ersten postoperativen zum fünften, sowie siebten postoperativen Tag ($p < 0,05$). Die Burstaktivität erreichte in der Omegaven-Gruppe einen Tag nach dem operativen Eingriff eine mittlere Fluoreszenzintensität von 128 MnI und fiel anschließend am fünften postoperativen Tag auf 84,06 MnI und am siebten Tag nach OP auf 80,37MnI ab. In der SO-Gruppe zeigte sich an den letzten beiden Messzeitpunkten zwar ebenfalls eine Einschränkung der Burstaktivität im Vergleich zum ersten postoperativen Tag, allerdings ohne Signifikanz.

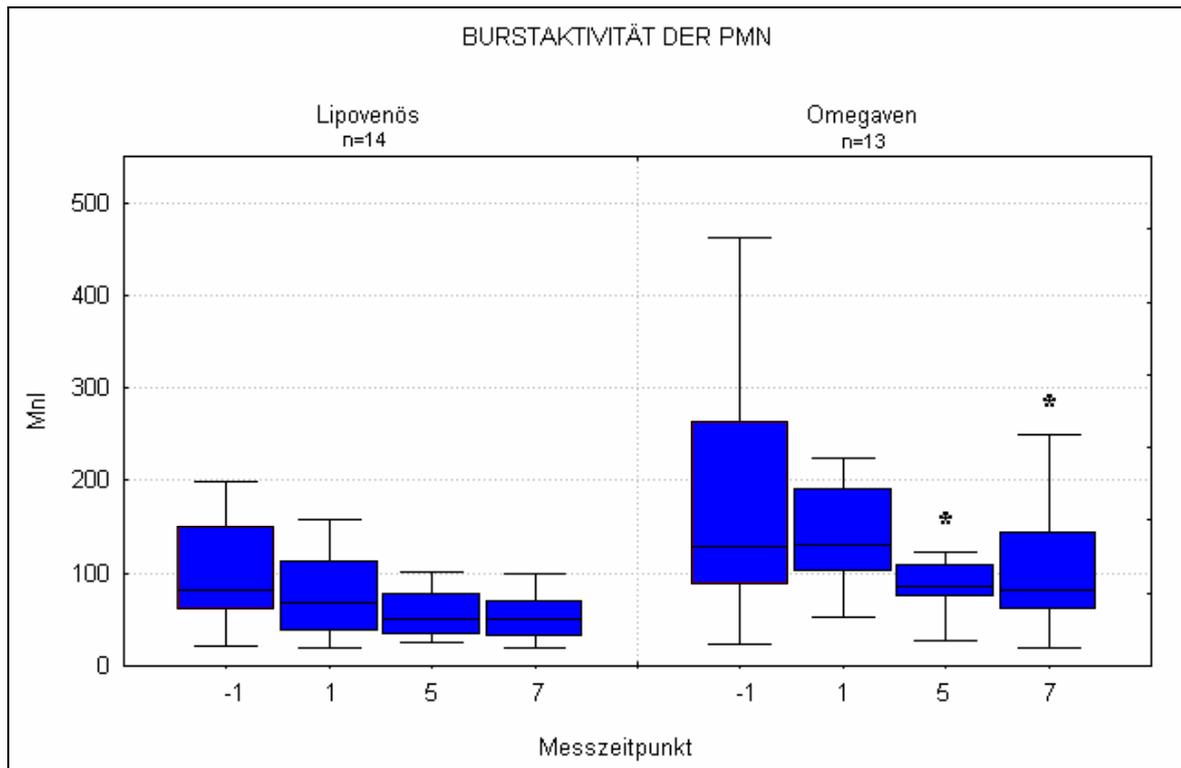


Abbildung 10: Verlauf der mittleren oxidativen Burstaktivität der neutrophilen Granulozyten (PMN) in der Lipovenös® (SO)- bzw. Omegaven® (FO)-Gruppe, dargestellt als Boxplots (Mediane, 25- und 75%-Quartile, sowie Minima und Maxima); Mfl = mittlere Fluoreszenzintensität, * $p < 0,05$ im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

Die Phagozytosefähigkeit wurde anhand der aufgenommenen fluoreszenzmarkierten Escherichia coli-Bakterien ermittelt und als mittlere Fluoreszenzintensität der PMN angegeben. Dabei zeigte sich zu keinem der Messzeitpunkte ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Behandlungsgruppen. Allerdings konnte wiederum zwischen den einzelnen Messzeitpunkten signifikant unterschiedliche Verläufe innerhalb der beiden Gruppen beobachtet werden.

Im Anschluss an den operativen Eingriff kam es in beiden Gruppen zu einem signifikanten Abfall der Phagozytoseleistung. Anschließend zeigte sich am fünften postoperativen Tag wieder eine Verbesserung der Phagozytosefähigkeit der PMN, die sich jedoch nur in der SO-Gruppe als signifikant herausstellte ($p < 0,008$) und somit an eine frühere Erholung der Phagozytosefähigkeit in der Lipovenös-Gruppe denken lässt.

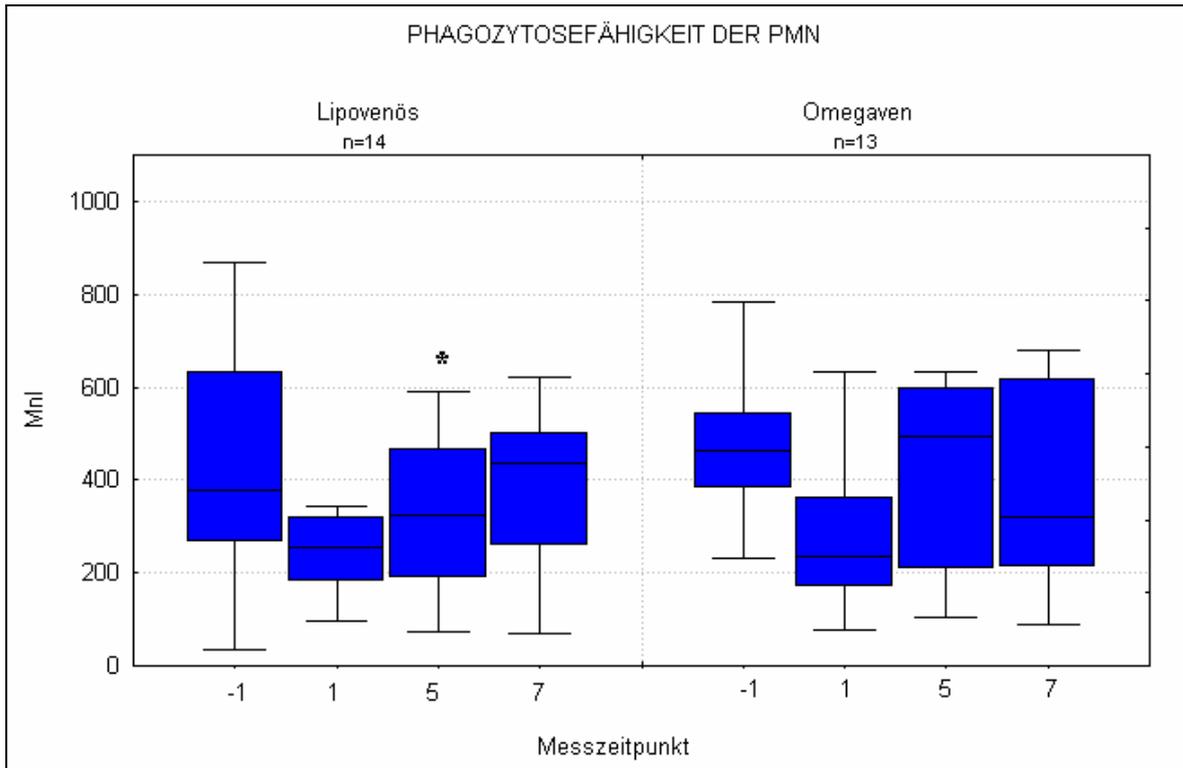


Abbildung 11: Verlauf der Phagozytosefähigkeit der neutrophilen Granulozyten (PMN) in der Lipovenös® (SO)- bzw. Omegaven® (FO)-Gruppe, dargestellt als Boxplots (Mediane, 25- und 75%-Quartile, sowie Minima und Maxima); MFI=mittlere Fluoreszenzintensität, * $p < 0,008$ im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

3.6.2 PMN-Aktivierung

Zur Ermittlung der Aktivierung von Granulozyten wurde die Expression des Fcγ-Rezeptors Typ I (CD64) auf der Zelloberfläche bestimmt und ebenfalls als mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) angegeben.

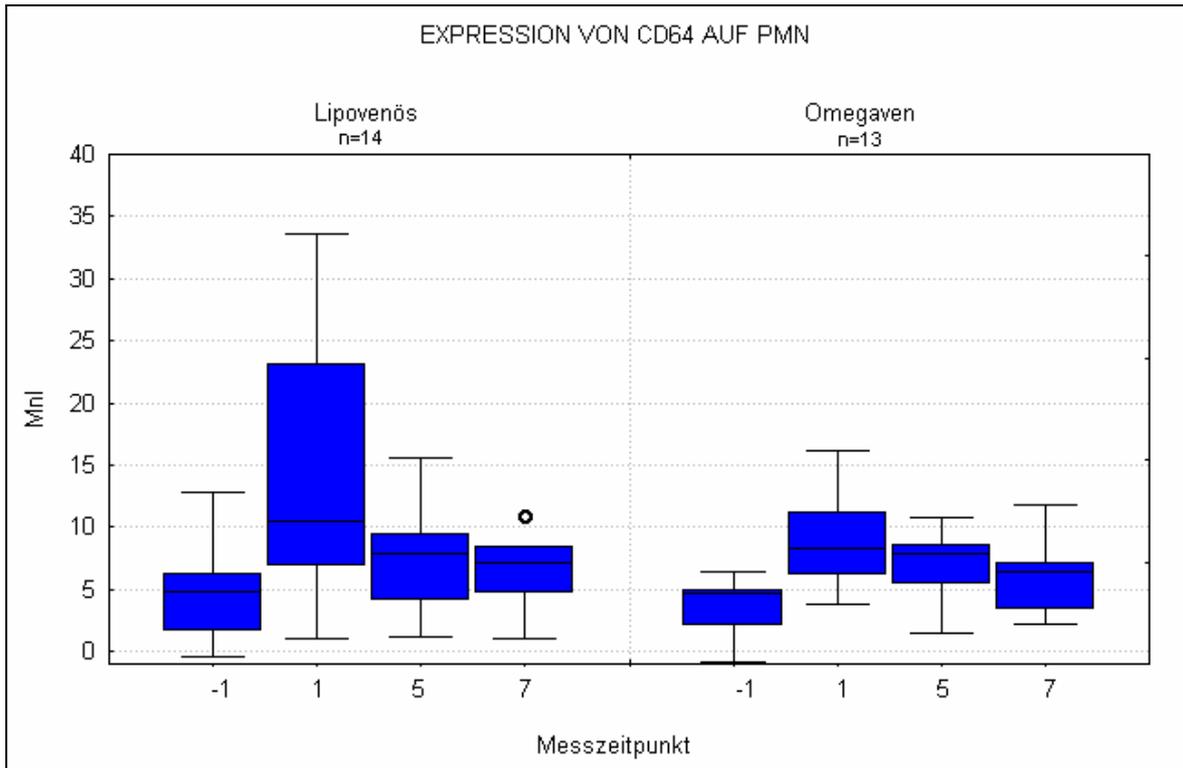


Abbildung 12: Verlauf der Expression von CD64 auf neutrophilen Granulozyten (PMN) in der Lipovenös® (SO)- bzw. Omegaven® (FO)-Gruppe, dargestellt als Boxplots (Mediane, 25- und 75%-Quartile, sowie Minima und Maxima); MFI=mittlere Fluoreszenzintensität, ^o p<0,003 im Vergleich zu Messzeitpunkt 1

Auch hierbei zeigte sich zu keinem der Messzeitpunkte ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Behandlungsgruppen. Sowohl in der SO- als auch in der FO-Gruppe stieg die CD64-Expression postoperativ signifikant an ($p < 0,05$), um sich anschließend im weiteren postoperativen Verlauf wieder den präoperativen Ausgangswerten zu nähern.

3.7 Klinischer Verlauf

Anhand eines Dokumentationsbogens wurden verschiedene klinische Werte sowie mikrobiologische Befunde erfasst und ausgewertet. Die klinischen Daten sind der Tabelle 6 zu entnehmen.

Tabelle 6: Klinischer Verlauf der Sojaöl- bzw. Fischöl-Gruppe, dargestellt als absolute Zahlen bzw. Mediane, sowie Minima und Maxima; p = Signifikanzbereich

Parameter	Sojaöl-Gruppe (SO)	Fischöl-Gruppe (FO)	p
Infektionen	5	3	0,71
Pulmonale Infektionen	3	3	1,00
Wundinfekte	3	2	1,00
Positive Blutkulturen	3	2	1,00
Sepsis	4	2	0,67
Mortalität	2	1	1,00
Beatmungsdauer	1,5 (0-41)	1 (0-43)	0,36
Intensivliegedauer	5,5 (0-56)	2 (0-43)	0,28
Krankenhausaufenthaltsdauer	23 (13-56)	19 (12-56)	0,29

Der APACHE II-Score, als allgemein gebräuchliches Dokumentationssystem zur Prognoseabschätzung von Intensivpatienten war in den beiden Behandlungsgruppe im Verlauf nicht verschieden (siehe Abb. 13).

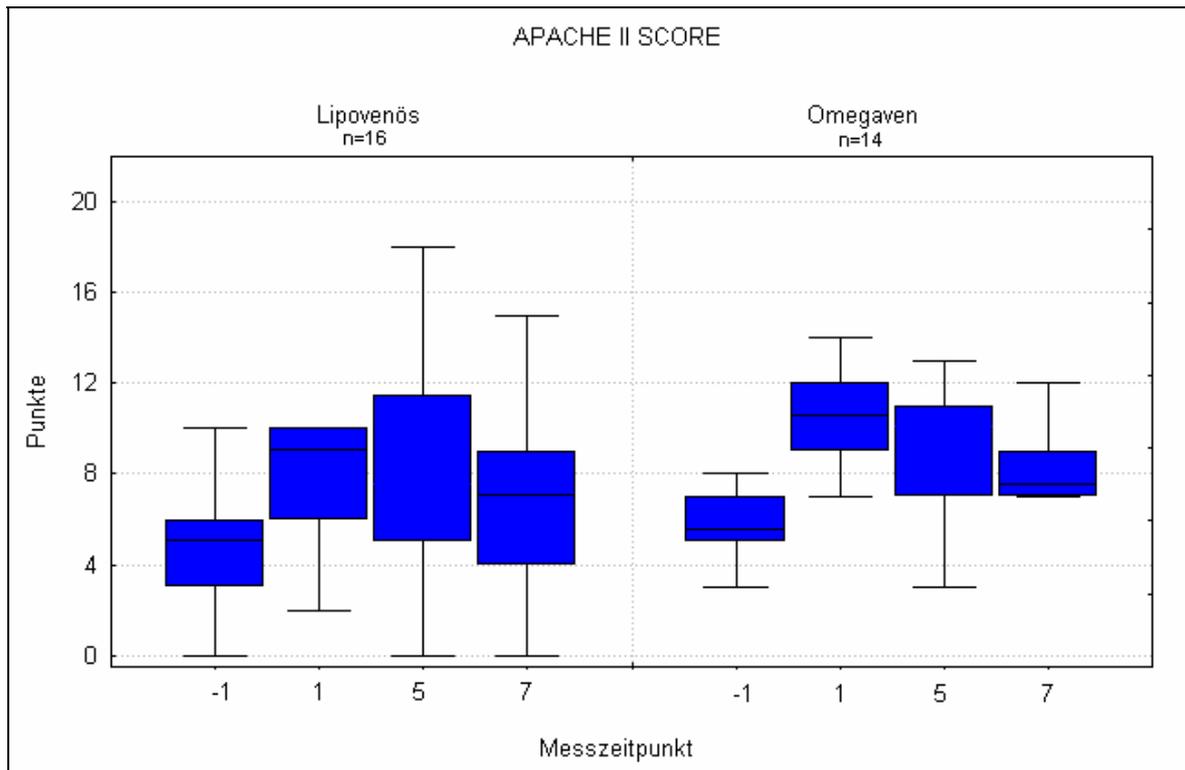


Abbildung 13: Verlauf des APACHE II-Scores in der Lipovenös® (SO)- bzw. Omegaven® (FO)-Gruppe, dargestellt als Boxplots (Mediane, 25- und 75%-Quartile, sowie Minima und Maxima)

Infektionen traten bei fünf von sechzehn (31 %) in der Lipovenös®- und bei drei von vierzehn (21 %) Patienten in der Omegaven®-Gruppe auf. Die Inzidenz von septischen Komplikationen in dieser Studie betrug insgesamt 20%, wobei 14% (2/14 Pat.) der Fischöl-Patienten und 25% (4/16 Pat.) der Sojabohnenöl-Patienten an einer Sepsis erkrankten (Tab. 3).

Insgesamt betrug die Intensivliegedauer im Median 5.5 bzw. 2 Tage und die Krankenhausaufenthaltsdauer 23 bzw. 19 Tage in der SO- bzw. FO-Gruppe. Diese klinischen Daten zeigen eine Tendenz zu einem besseren klinischen Verlauf in der Omegaven®-Gruppe, ohne jedoch in der statistischen Auswertung einen signifikanten Unterschied zu ergeben.

In der untersuchten Patientenpopulation betrug die Mortalität insgesamt 10% (3 von 30 Patienten). Bei den Patienten, die nur Lipovenös® in der TPN erhielten betrug die Mortalität 12.5% (2/16). Diese Rate war in der Omegaven®-Gruppe nicht signifikant

niedriger. In dieser Gruppe verstarb einer von vierzehn Patienten (7%). Die Todesursachen waren Sepsis, sowie Multiorganversagen.

3.8 Gerinnungsfunktion

Die Gerinnungsfunktion wurde anhand der im Routinelabor gemessenen Prothrombinzeit (Quick-Wert) und partiellen Thrombinzeit (PTT) bestimmt.

Die präoperativen Ausgangswerte von Quick (SO: 99% vs. FO 100%) und PTT (SO: 29.5 s vs. FO: 30 s) waren in beiden Behandlungsgruppen vergleichbar, und es zeigte sich auch im weiteren postoperativen Verlauf kein signifikanter Unterschied zwischen der Lipovenös[®]- und der Omegaven[®]-Gruppe.

Erwartungsgemäß kam es im Anschluss an den operativen Eingriff in beiden Gruppen zu einer signifikanten Reduktion des Quick-Wertes (SO: 72% vs. FO: 78% im Median) und einer signifikanten Verlängerung der PTT (SO: 42 s vs. FO: 38,5 s im Median) ($p < 0,05$). Anschließend erholte sich die Gerinnungsfunktion im weiteren Verlauf, um sich schließlich am siebten postoperativen Tag wieder den Ausgangswerten anzunähern.

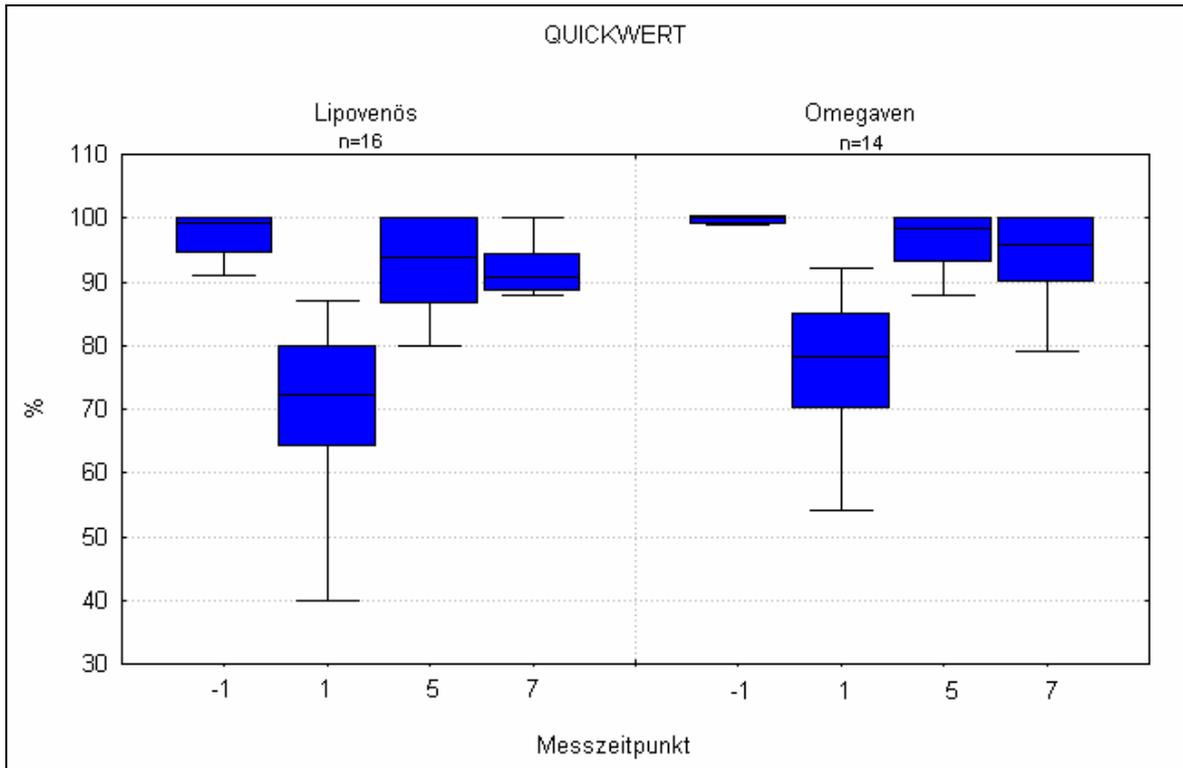


Abbildung 14: Verlauf der Prothrombinzeit in der Lipovenös® (SO)- bzw. Omegaven® (FO)-Gruppe in Prozent, dargestellt als Boxplots (Mediane, 25- und 75%-Quartile, sowie Minima und Maxima)

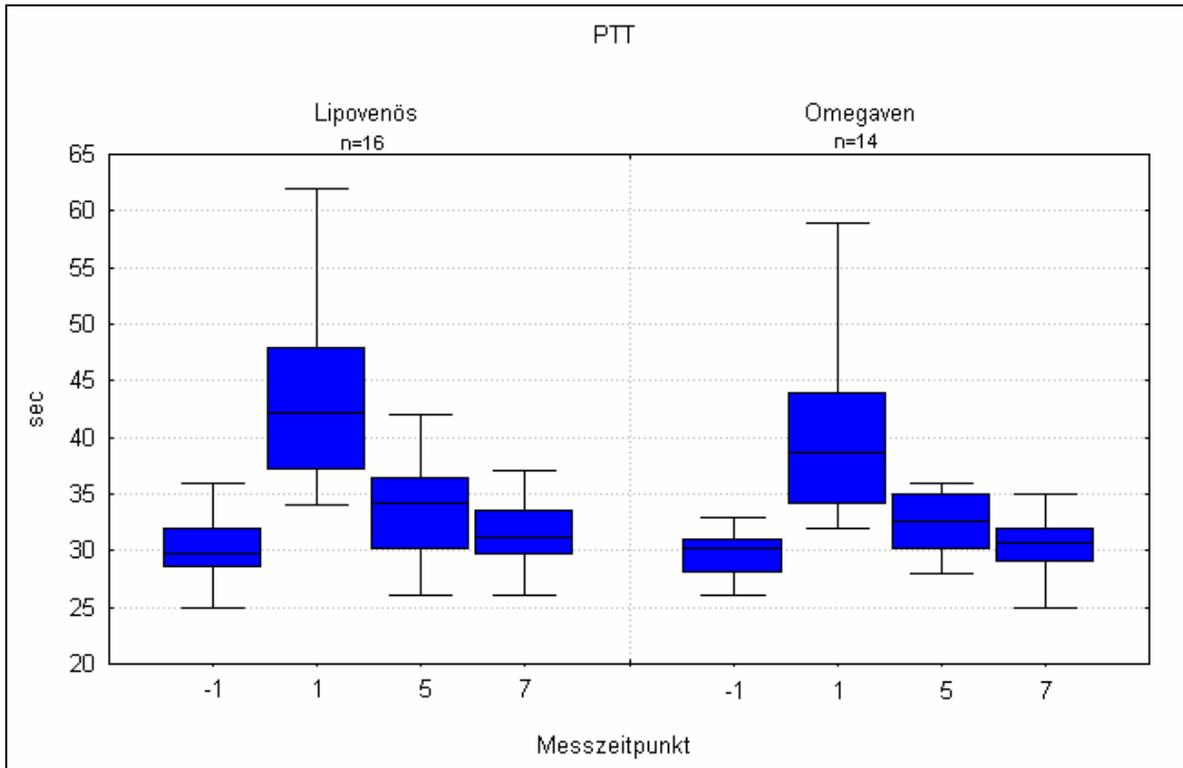


Abbildung 15: Verlauf der partiellen Thromboplastinzeit in der Lipovenös® (SO)- bzw. Omegaven® (FO)-Gruppe in Prozent, dargestellt als Boxplots (Mediane, 25- und 75%-Quartile, sowie Minima und Maxima)

4 Diskussion

Im Rahmen der vorliegenden Doppelblindstudie galt es, den Einfluss einer mit ω -3-Fettsäuren angereicherten total parenteralen Ernährung (TPE) auf das Immunsystem und den postoperativen klinischen Verlauf bei Patienten nach einem großen abdominalchirurgischen Eingriff zu untersuchen. Durch die Supplementierung der parenteralen Ernährung mit ω -3-Fettsäuren (ω -3-FS) könnte die perioperativ gestörte Immunantwort möglicherweise beeinflusst werden. Zahlreiche klinische und experimentelle Studien untersuchten diese perioperativen Veränderungen des Immunsystems [25, 30, 58]. Die Verletzung von Gewebe führt zu einer Freisetzung von verschiedenen Faktoren, die zur Aktivierung des Monozyten/Makrophagen-Systems führt. Dadurch freigesetzte proinflammatorische Zytokine wie Interleukin-1 β (IL-1 β), Tumornekrose-Faktor- α (TNF- α), sowie Interleukin-6 (IL-6) und Interleukin-8 (IL-8), stimulieren wiederum andere Zellen des Immunsystems, was in einer Freisetzung weiterer Entzündungsmediatoren, wie z.B. Prostaglandin E₂ (PGE₂) resultiert [2, 30, 37]. Diese zuerst einsetzenden sinnvollen Reparaturprozesse können in Abhängigkeit von der Schwere des operativen Eingriffs in unkontrollierte Reaktionen des Immunsystems übergehen. Überschießende Reaktionen können zu Imbalancen zwischen pro- und antiinflammatorischen Mediatoren führen und somit in ein „systemic inflammatory response syndrome“ (SIRS) und schließlich in einem Multiorganversagen münden [9, 10, 101]. So ist bekannt, dass eine überschießende Produktion proinflammatorischer Zytokine eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie des SIRS und des Multiorganversagens spielt [68]. Neben dieser proinflammatorischen Immunantwort verfügt der Körper auch über eine antiinflammatorische Antwort. Als so genannte antiinflammatorische Zytokine werden z. B. IL-4, IL-10, sowie IL-13 und Transforming-Growth-Factor- β (TGF- β) bezeichnet, deren Freisetzung zu einer Unterdrückung der T- und B-Lymphozyten-Aktivität führt und schließlich als überschießende Reaktion in einem „compensatory anti-inflammatory response syndrome“ (CARS) resultieren kann [2, 9, 30]. Manifestiert sich dieses CARS besonders schwer, so spricht man von Anergie, und es besteht ein deutlich erhöhtes Risiko für das Auftreten von Infektionen. Für einen optimalen Krankheitsverlauf und eine

schnelle Genesung ist es somit besonders wichtig die Balance zwischen pro- und antiinflammatorischen Reaktionen aufrecht zu erhalten.

4.1 Immunfunktion und operativer Stress

Bei chirurgischen Patienten resultiert der operative Eingriff zunächst in einer Unterdrückung der zellulären Abwehrfunktion und einer gesteigerten systemischen Entzündungsreaktion. Operativer Stress führt zu einer verminderten Phagozytosefähigkeit und zur Supprimierung der oxidativen Burstaktivität neutrophiler Granulozyten, sowie zu einer Abnahme der Lymphozytenzahl und- funktion [25]. Des Weiteren zeigt sich im Anschluss an den operativen Eingriff eine Konzentrationszunahme des antiinflammatorischen Zytokins IL-10, sowie eine Suppression der Endotoxin-induzierten TNF- α -Produktion [58, 92].

Diese Beobachtungen konnte in der vorliegenden Studie bestätigt werden: Am ersten postoperativen Tag zeigte sich eine deutlich gesteigerte Entzündungsreaktion mit einer Konzentrations-Erhöhung von PGE₂ und einem Anstieg des C-reaktiven Proteins, einem wichtigen Akut-Phase-Protein. Ferner kam es zu einer Zunahme der Leukozytenzahl sowie der Granulozytenaktivität, festgemacht an der Expression von CD64. Die Supprimierung der zellulären Abwehrfunktion offenbarte sich in einer gegenüber dem präoperativen Messzeitpunkt reduzierten Granulozytenfunktion mit verminderter Phagozytosefähigkeit und Burstaktivität, sowie einer herabgesetzten Endotoxin induzierten IL-1 β - und -TNF- α -Produktion.

Die postoperative Unterdrückung der zellulären Immunfunktion wird vor allem dem in hohen Konzentrationen immunsuppressiv wirkenden PGE₂ zugeschrieben [2, 30]. Systemische Entzündungsreaktionen können durch Lipidmediatoren der ω -6-Familie verstärkt werden, indem vermehrt proinflammatorische Mediatoren wie Leukotrien B₄ und Leukotrien C₄ gebildet werden.

Die Steuerung der inflammatorischen Prozesse ist somit eng mit dem Metabolismus der Lipidmediatoren verknüpft. Die oben genannten Eicosanoide sind Oxygenationsprodukte der ω -6-FS, vor allen Dingen der Arachidonsäure. Allerdings existieren neben den proinflammatorischen ω -6-FS die sogenannten ω -3-FS, wie Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA). Die Supplementierung der Ernährung mit ω -3-FS, führt dazu,

dass AA und EPA um die Enzyme der Lipidmediatorsynthese konkurrieren und vermehrt Eicosanoide aus ω -3-FS gebildet werden, die weniger proinflammatorische und immunsuppressive Eigenschaften besitzen [63, 64]. Dieses Phänomen stellt den therapeutischen Ansatz der ω -3-Lipid-Therapie dar.

4.2 Plasmafettsäuren Profil

Viele Studien wählten den enteralen Weg, die ω -3-FS über einen längeren Zeitraum zuzuführen [48, 108]. Dieser Einsatz der diätetischen ω -3-FS hatte dabei allenfalls dauerprophylaktische Indikation ohne die Perspektive eines akut-immunmodulierenden Ansatzes. Denn im Rahmen der enteralen Zufuhr wird nur ein geringer Prozentsatz der inkorporierten EPA und DHA am Ort der Entzündungsreaktion in den für die Mediatorsynthese relevanten Pool der freien FS freigesetzt und kann dort tatsächlich mit der AA konkurrieren.

In der vorliegenden Studie erfolgte die Zufuhr der ω -3-FS (FO-Gruppe) als Teil der bei Patienten nach gastrointestinalem Eingriff üblichen parenteralen Ernährung. Als Vergleichsgruppe (SO-Gruppe) diente ein Kollektiv, deren Fettzufuhr ausschließlich mit einer ω -6-FS-haltigen Emulsion erfolgte. Dabei gab es keine Unterschiede zwischen den beiden Behandlungsgruppen, hinsichtlich ihrer demographischen Daten und der präoperativen Immunfunktion. Wie auch in anderen zuvor durchgeführten Studien an gesunden Probanden [48, 108], sowie postoperativen Patienten [50, 73, 83, 101, 104] wurde die Lipidemulsion gut vertragen, und es traten keinerlei unerwünschte Nebenwirkungen auf.

Fettsäuren werden im Rahmen parenteraler Lipidemulsionen mit Glycerol verestert in Form von Triglyceriden, umhüllt von einer Phospholipidhülle intravenös verabreicht. Diese im Plasma zirkulierenden Liposomen werden durch kapillarständige Lipoproteinlipasen hydrolysiert und können anschließend in Form freier Fettsäuren in die Zelle aufgenommen werden. In der Zelle können diese freien Fettsäuren in die Phospholipiddoppelschicht als Bestandteil von Zellmembranen eingebaut und nach Reveresterung wieder ins Plasma abgegeben werden und zur Energiegewinnung in die β -Oxidation eingeschleust [84]. Die Supplementierung der parenteralen Ernährung mit Fischöl führt innerhalb kurzer Zeit zu einer effektiven Anreicherung von ω -3-FS im

Organismus. Bereits nach einer drei- bis viertägigen Infusion von ω -3-FS konnte ein deutlich erhöhter Gehalt an EPA bzw. DHA in Thrombozyten [83], PMN [73], verschiedenen Geweben [12], sowie im Plasmaphospholipid-Pool [12, 65] nachgewiesen werden. In der vorliegenden Studie konnten diese Ergebnisse bestätigt werden: Bereits nach drei Tagen konnten wir in der FO-Gruppe signifikant erhöhte Spiegel an veresterter EPA und DHA in den Plasmaphospholipiden nachweisen. Dieser Anstieg zeigte sich sowohl in Bezug zu den Ausgangswerten, als auch im Vergleich zur SO-Gruppe. Unsere Ergebnisse korrelieren damit mit den Resultaten von Linseisen, der ebenfalls im Rahmen einer postoperativen TPE mit Fischöl erhöhte ω -3-FS-Spiegel nachweisen konnte, allerdings zeigte sich in seinen Untersuchungen kein signifikanter Anstieg der Docosahexaensäure [65].

Die in veresterter Form an Phospholipide gebundenen Fettsäuren müssen zunächst aus der kovalenten Bindung mittels einer spezifischen Phospholipase freigesetzt werden, um für die Lipidmediatorsynthese bereitzustehen. Erst der Anstieg der freien Fettsäuren und somit des Substratangebotes in der synthetisierenden Zelle oder ihrer Umgebung führt zur Mediatorbildung und somit zur Ausbreitung der Entzündungsreaktion [42]. Bei der enteralen Ernährung mit Lipiden werden die Mediatorpräkursoren AA, EPA und DHA nach Digestion und Resorption sofort in Membranphospholipide integriert, ohne als freie FS im Plasma in Erscheinung zu treten. Durch die parenterale Zufuhr gelingt es allerdings den Anteil der wirksamen freien FS im Plasma zu erhöhen und damit den freien FS-Pool im gesamten Organismus zu beeinflussen [12, 75]. Der Anstieg der freien FS beruht höchstwahrscheinlich auf einer Interaktion der infundierten Lipide mit der kapillarständigen Lipoproteinlipase. Diese wird im Rahmen der Konfrontation mit den Lipidaggregaten und auch während Entzündungsreaktionen von ihrer endothelständigen Bindungsstelle abgelöst und ins freie Plasma transloziert. Die resultierende erhöhte freie lipolytische Aktivität im Plasma führt somit zu einer Freisetzung der Fettsäuren aus den zirkulierenden Lipiden, ohne den endothelialen Aufnahmemechanismen zu unterliegen [77]. Die freien FS stehen damit sofort für die Lipidmediatorsynthese bereit. Dieser Mechanismus erklärt den in der vorliegenden Studie nach fünftägiger TPE beobachteten signifikanten Anstieg der freien DHA in der FO-Gruppe und der freien AA in der SO-Gruppe. Unklar bleibt allerdings aus welchem Grund sich dies nicht ebenfalls für die freie EPA bestätigen konnte.

4.3 Lipidmediatoren

Mehrfach ungesättigte Fettsäuren, wie EPA und AA stellen die Ausgangsprodukte verschiedener Eicosanoide, wie Prostaglandine, Thromboxane, sowie Leukotriene dar. Die in Zellmembranen als Triglyzeride eingebauten Fettsäuren werden vor allen Dingen mittels Phospholipase A₂ mobilisiert und können dann im Cyclooxygenase- bzw. Lipoxygenasemetabolismus in Eicosanoide umgebaut werden [60]. Diese Lipidmediatoren spielen eine wichtige Rolle in der Regulation der Entzündungs- und Immunantwort [35, 64, 81].

Aus diesem Grunde untersuchten wir die Eicosanoid-Biosynthese anhand der Bestimmung der stabilen Hydrolyseprodukte von Prostacyclin und Thromboxan A₂, 6-keto-Prostaglandin F_{1α} und Thromboxan B₂, sowie anhand der Bestimmung von Prostaglandin E₂. Arachidonsäure stellt das Ausgangsprodukt für diese Mediatoren im Cyclooxygenaseweg dar. Andere Fettsäuren, wie EPA konkurrieren mit AA um die Verstoffwechslung mittels der Cyclooxygenase und führen zu geringerer Bildung der AA-Produkte. Die aus EPA gebildeten Eicosanoide werden als wesentlich weniger potente Entzündungsmediatoren bezeichnet und besitzen somit im Gegensatz zu den aus AA produzierten vor allen Dingen antiinflammatorische Eigenschaften [11, 60].

In der vorliegenden Studie konnte in der FO-Gruppe im Gegensatz zur SO-Gruppe im postoperativen Verlauf im Vergleich zu den präoperativen Werten eine signifikant reduzierte TXB₂-Produktion beobachtet werden. Desweiteren zeigte sich lediglich in der SO-Gruppe vom dritten Tag der TPE zum fünften Tag der TPE ein signifikanter Anstieg der PGE₂-Produktion. Somit führte die Supplementierung der parenteralen Ernährung mit ω-3-FS zu herabgesetzten Thromboxan B₂- und Prostaglandin-E₂-Spiegeln. Allerdings konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Behandlungsgruppen nachgewiesen werden.

In der Literatur zeigen sich bei der Behandlung postoperativer Patienten mit ω-3-FS ähnliche Ergebnisse hinsichtlich der Lipidmediator-Produktion: So konnten Swails et. al. im Rahmen einer enteralen Zufuhr von Fischöl bei Patienten nach tumorchirurgischen Eingriffen ebenfalls keine signifikant unterschiedlichen TXB₂-, 6-keto-PGF_{1α}-, sowie PGE₂-Spiegel im Vergleich zur Zufuhr einer sojaöhlhaltigen Lipidemulsion beobachten

[94]. Indessen zeigte sich in dieser Studie eine Abhängigkeit der Eicosanoid-Produktion von der Stimulation der Monozyten durch LPS. Eine Stimulation mit 100 µg Endotoxin führte zu einer gesteigerten Bildung von 6-keto-PGF_{1α} (signifikant), sowie PGE₂ (nicht signifikant), was möglicherweise einen Vorteil von Fischöl für Patienten mit postoperativem Stress erklären könnte. Lediglich in tierexperimentellen Studien konnten bisher signifikant unterschiedliche Eicosanoidspiegel zwischen einer mit ω-3-FS und einer mit ω-6-FS behandelten Gruppe beobachtet werden. Breil et. al. zeigten in einem isolierten Kaninchenlungen-Modell signifikant reduzierte Plasmaspiegel an Thromboxan B₂ in einer mit Fischöl behandelten Gruppe im Vergleich zu einer mit Sojabohnenöl behandelten Gruppe [12].

Der Einfluss einer Supplementierung der parenteralen Ernährung mit ω-3-FS auf die Produktion von Prostaglandinen und Thromboxanen der 3er Reihe konnte in der vorliegenden Studie nicht behandelt werden. Allerdings resultiert eine Mehrproduktion von z.B. TXA₃ durch eine Zufuhr von ω-3-FS in einer Veränderung des Verhältnisses von TXA₂ zu TXA₃ und somit in einer Minderproduktion an TXA₂. Diese Verschiebung des TXA₂/TXA₃-Verhältnisses wurde von Grimm et. al. in einem tierexperimentellen Modell nach parenteraler Zufuhr einer fischöl- bzw. sojaöhlhaltigen TPE untersucht. Dabei zeigte sich in der Fischöl-Gruppe ein signifikanter Abfall der TXA₂- und ein signifikanter Anstieg der TXA₃-Spiegel [41]. Dieser Anstieg von Thromboxan A₃ konnte auch in einer Studie an Patienten mit Psoriasis beobachtet werden, die ebenfalls eine fischöhlhaltige Lipidemulsion parenteral erhielten [69]. Bei postoperativen Patienten wurde das Verhältnis von Prostanoiden der 2er zu denen der 3er Reihe allerdings bisher noch nicht untersucht.

4.4 Zytokine

Die proinflammatorischen Zytokine IL-1β und TNF-α spielen eine wichtige Rolle in der Entstehung von Akut-Phase-Reaktionen, sowie in der Pathophysiologie verschiedenster Krankheitsbilder wie Sepsis, SIRS und Multiorganversagen [68]. Sie werden vor allen Dingen durch die Stimulation mittels Endotoxin von aktivierten Monozyten und Makrophagen freigesetzt und führen anschließend zur Freisetzung weiterer Zytokine und Akute-Phase-Proteine. Des Weiteren induzieren sie die Aktivierung verschiedener Zellen des Immunsystems, wie PMN sowie die Proliferation von B- und T-Lymphozyten [2, 30].

Im Anschluss an große operative Eingriffe bzw. Traumata kann die Überproduktion von IL-1 β und TNF- α zu überschießenden systemischen Entzündungsreaktionen, wie SIRS und schließlich zu einem letal endenden Multiorganversagen führen [9, 10, 101]. Es ist bekannt, dass die Produktion dieser Zytokine durch die Supplementierung der Ernährung mit ω -3-Fettsäuren beeinflusst wird und damit in einer veränderten inflammatorischen Antwort resultieren kann [28, 47, 59].

In der vorliegenden Studie wurden die Zytokine vor und nach Stimulation mit Endotoxin in einem ex-vivo-System bestimmt. Der Vergleich der beiden Studiengruppen erreichte zwar zu keinem der Messzeitpunkte signifikante Differenzen, allerdings zeigte sich sowohl für die Produktion von IL-1 β , als auch für TNF- α lediglich in der SO-Gruppe nach Beginn der TPE ein signifikanter Anstieg der am ersten postoperativen Tag erniedrigten Werte. Die Zytokin-Produktion in der FO-Gruppe hielt sich dagegen weiterhin auf niedrigem Niveau.

Diese Ergebnisse korrelieren im Wesentlichen mit anderen Untersuchungen, welche ebenfalls erniedrigte Zytokin-Level bei Patienten beobachteten, die Fischöl im Rahmen einer TPE erhielten. So konnten Weiss et al im Rahmen einer perioperativen und Wachtler et al im Rahmen einer postoperativen parenteralen ω -3-FS-Gabe ebenso erniedrigte TNF- α -Werte bei den mit Fischöl ernährten Patienten beobachten [101, 104].

In verschiedenen Studien konnte auch bei gesunden Probanden nach Zufuhr von ω -3-FS eine erniedrigte Produktion von TNF- α und IL-1 β nachgewiesen werden [19, 28, 59, 70]. Jedoch erfolgte bei diesen Untersuchungen die Zufuhr der ω -3-FS auf oralem Wege und die Auswirkungen auf die Zytokin-Produktion stellten sich erst nach mehrwöchiger Therapie ein. Diese Ergebnisse zeigen, dass die parenterale Supplementierung der geeignete Weg zu sein scheint, um bei postoperativen Patienten in der akuten Phase einen schnellen Effekt zu erzielen.

Der genaue Mechanismus, wie ω -3-Fettsäuren die Produktion proinflammatorischer Zytokine beeinflusst ist bisher noch nicht vollständig geklärt. Vermutlich wird die Modulation der Zytokin-Synthese durch die Veränderung der Fettsäuren-Zusammensetzung verschiedener Zellmembranen[38, 40] und Transkriptionsfaktoren[85] beeinflusst. Dies führt erstens zur Änderung der Membranfluidität und zweitens zu einer Alteration des aus den Membranphospholipiden freigesetzten Eicosanoidspektrums.

Die Modifikation der Membranfluidität beeinflusst möglicherweise die Bindungseigenschaften von Zytokinen und zytokinfreisetzenden Agonisten [74, 89]. Des Weiteren führt die Fluiditätsänderung wahrscheinlich zu einer Beeinflussung von Komponenten der Signaltransduktion, wie G-Protein-, PhospholipaseA₂- und Phospholipase C-Aktivität, sowie von second messenger, wie Diacylglycerol und Ceramid [38-40, 82].

Die durch Hydrolyse aus den Zellmembranen freigesetzten Eicosanoide zeigen ebenfalls unterschiedliche Eigenschaften hinsichtlich der Zytokin-Produktion, so konnte in einer Studie von Rola-Pleszczynski eine verstärkte IL-1-Produktion durch LTB₄ nachgewiesen werden [38, 40, 81].

ω -3-FS können vermutlich auch auf Gen-Transkriptions-Ebene Einfluss auf die Zytokinproduktion und -freisetzung nehmen [3, 56, 57]. So konnte in neuesten in vitro und tierexperimentellen Studien gezeigt werden, dass ω -3-FS die Transkription des TNF Gens vermindert, indem es die Translokation des Nukleären Faktors κ B (NF κ B) hemmt. NF κ B stellt ein wichtiges Element der Transkriptionsregulation vom Zytoplasma zum Zellkern dar. Er liegt normalerweise gebunden an I κ B im Zytoplasma vor. Im Rahmen von Infektion und Stress kommt es rezeptorgebunden zur Phosphorylation des NF κ B-I κ B-Komplexes und damit zur Translokation von NF κ B in den Zellkern und somit zur Bindung an der Promoterregion des TNF-Gens, resultierend in einer vermehrten Transkription dieses Zytokins [82]. Fischöl führt demnach über die Stabilisierung des NF κ B-I κ B-Komplexes zu einer verminderten Freisetzung von TNF.

4.5 Granulozytenfunktion

Neutrophile Granulozyten (PMN) spielen aufgrund ihrer Fähigkeit zur Phagozytose und Bildung von freien Sauerstoffradikalen eine essentielle Rolle im Rahmen der Abwehr und Eliminierung von Mikroorganismen, wie Bakterien und Pilze. Um diese Funktionen auszuüben, kommt es durch Stimulation von proinflammatorischen Zytokinen zu einer erhöhten Expression des Fc-Rezeptors Typ I (Fc γ RI bzw. CD64) auf neutrophilen Granulozyten und damit zu einer erhöhten Aktivität dieser Zellen [1, 52].

Aus diesem Grunde wählten wir die Expression von CD64 auf PMN bzw. deren Phagozytosefähigkeit und oxidative Burst-Aktivität als Marker für die Aktivität bzw.

Funktion von neutrophilen Granulozyten. Welchen Einfluss eine Supplementierung der parenteralen Ernährung mit ω -3-Fettsäuren auf diese wichtigen Bestandteile des unspezifischen Immunsystems hat, galt es in der vorliegenden Studie zu untersuchen. Die Bestimmung der Aktivität und Funktion der neutrophilen Granulozyten erfolgte mittels durchflusszytometrischer Messung.

In der vorliegenden Studie zeigte sich postoperativ eine Zunahme der Granulozytenaktivierung, festgemacht an der Expression von CD64 auf PMN ohne signifikante Unterschiede zwischen den beiden Studiengruppen.

Für die Funktion der neutrophilen Granulozyten konnten wir allerdings Unterschiede zwischen den postoperativen Verläufen der beiden Gruppen beobachten. So zeigte sich in der SO-Gruppe eine signifikante Erholung der postoperativ reduzierten Phagozytoseleistung. In der FO-Gruppe dagegen konnte diese signifikante Veränderung nicht nachgewiesen werden und es zeigte sich im Vergleich zur SO-Gruppe zusätzlich eine signifikante Abnahme der oxidativen Burstaktivität nach Beginn der TPN mit FO. Somit lässt sich zusammenfassend für die FO-Gruppe eine reduzierte PMN-Funktion vermuten, die sich allerdings im Vergleich zwischen den beiden Gruppen jedoch zu keinem Messzeitpunkt als signifikant herausstellte.

In der Literatur konnte im Rahmen klinischer Studien mit ω -3-FS, die den Einfluss auf die Funktion von neutrophilen Granulozyten untersuchten, keine Unterschiede zwischen einer mit ω -3-FS und einer mit ω -6-FS angereicherten TPE gezeigt werden. Weiss und Mitarbeiter beobachteten in ihrer Studie mit perioperativer TPE mit SO bzw. FO lediglich ebenfalls eine postoperative Abnahme der oxidativen Burstaktivität ohne signifikant unterschiedliche Verläufe der beiden Studiengruppen [104].

Die Studien die sich mit dem Einfluss von Fischöl auf die Funktion neutrophiler Granulozyten befassten ergeben zusammengefasst bisher kontroverse Ergebnisse [103]. In tierexperimentellen Studien an Ratten, denen eine mit ω -3-FS supplementierte TPE zugeführt wurde, konnte eine verbesserte Granulozytenfunktion, festgemacht an der Phagozytosefähigkeit gezeigt werden [22, 102]. Viele andere Studien präsentierten dagegen entweder eine reduzierte oder allenfalls unveränderte Granulozytenfunktion unter der Gabe von ω -3-Fettsäuren. Heine und Mitarbeiter beobachteten eine herabgesetzte Burstaktivität [49] und Fisher und Thompsen eine geringere Chemilumineszenz von PMN durch ω -3-FS [32, 98]. Untersuchungen an gesunden Probanden, die ihre Ernährung über

einen längeren Zeitraum durch oral zugeführte ω -3-FS supplementierten, ergaben eine unveränderte PMN-Funktion, hinsichtlich Chemotaxis und Sauerstoffradikalbildung [48, 97].

Der Einfluss von ω -3-Fettsäuren auf die Expression von CD64 auf neutrophilen Granulozyten wurde bisher weder in klinischen noch in tierexperimentellen Studien untersucht. Eine Beeinflussung der PMN-Aktivierung durch Supplementierung der Ernährung mit Fischöl scheint allerdings über die Veränderung des Eicosanoidspektrums möglich zu sein. So führen die aus ω -6-FS gebildeten Eicosanoide TXA₂, PGE₂, sowie LTB₄ zu einer Zunahme und die aus ω -3-FS gebildeten Eicosanoide TXA₃ und PGE₃ zu einer Abnahme der Granulozytenaktivierung [64]. Dies ist nur eine Möglichkeit, wie ω -3-FS die Aktivierung von PMN beeinflussen können.

Der Einfluss von ω -3-Fettsäuren auf die Funktion und Aktivierung von Granulozyten ist aufgrund der Vielzahl an regulierenden Faktoren des komplexen Immunsystems auf verschiedenen Ebenen denkbar.

4.6 Gerinnungsfunktion

Neben der Beeinflussung des Immunsystems greifen ω -3-FS auch in das Hämostasesystem des menschlichen Körpers ein. So zeigten Bang und Dyerberg in ihren frühen epidemiologischen Studien, dass im Vergleich mit der europäischen Bevölkerung bei Eskimos die Rate an Myokardinfarkten deutlich geringer ist und führten diese Erkenntnis auf eine verlängerte Blutungszeit und Veränderungen der Thrombozytenaggregation nach Ernährung mit ω -3-FS zurück [5, 26]. Jüngere Studien dagegen zeigten keine bzw. lediglich klinisch irrelevante Veränderungen der Gerinnungsfunktion und Thrombozytenaggregation durch eine Ernährung mit ω -3-FS [50, 80, 93]. In der vorliegenden Studie beobachteten wir keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Studiengruppen bezüglich der von uns gemessenen Gerinnungsparameter Prothrombinzeit und partielle Thrombinzeit. Somit stellte sich die Ernährung postoperativer Patienten mit ω -3-FS als sicher gemäß der von uns untersuchten Gerinnungsparameter heraus.

4.7 Klinischer Verlauf

In der Literatur finden sich unterschiedliche Ergebnisse bezüglich der Beeinflussung klinischer Parameter durch eine Supplementierung der parenteralen Ernährung mit ω -3-FS. So beobachteten Wachtler und Mitarbeiter keine signifikanten Vorteile einer Ernährung mit ω -3-FS im Hinblick auf das Auftreten von Infektionen, der Intensivliegedauer und der Krankenhausverweildauer [101]. Hingegen konnten zwei Studien einen signifikanten Unterschied in Bezug auf die Krankenhausverweildauer für Patienten, die postoperativ ω -3-FS parenteral zugeführt bekamen, verglichen mit Patienten ohne ω -3-FS-Supplementierung, beobachten [67, 104].

In der vorliegenden Studie konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen hinsichtlich des Auftretens von Infektionen, der Beatmungstage, der Intensivliegedauer, der Krankenhausverweildauer oder der Mortalität berechnet werden. Jedoch zeigt sich in der Gruppe der Patienten, die ω -3-FS bekamen, eine Tendenz zu einer geringeren Beatmungsdauer, Intensivliegedauer und Krankenhausverweildauer verglichen mit der Gruppe der Patienten, die Sojabohnenöl erhielten.

Es gibt Untersuchungen, die im Rahmen einer enteralen Zufuhr von ω -3-FS Vorteile bei intensivtherapiepflichtigen Patienten zeigen konnten [7, 33, 36, 99]. Diese Ergebnisse lassen sich jedoch nur bedingt vergleichen, da es sich hier um eine enterale Zufuhr von ω -3-FS handelte.

4.8 Schlussfolgerung

Im Rahmen der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass durch eine Supplementierung der postoperativen total parenteralen Ernährung mit ω -3-Fettsäuren bereits binnen drei Tagen die Verfügbarkeit von Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexensäure (DHA) gewährleistet werden kann. Dies konnte durch signifikant unterschiedliche EPA- und DHA-Plasmaspiegel in der mit ω -3-FS ernährten Patientengruppe gegenüber einer ausschließlich mit ω -6-FS ernährten Gruppe nachgewiesen werden.

Die aufgrund experimenteller Untersuchungen vermuteten Vorteile einer Ernährung mit ω -3-FS gegenüber der mit ω -6-FS bezüglich der postoperativen Immunfunktion konnte nicht

durch signifikant unterschiedliche Ergebnisse im Vergleich zwischen den beiden Gruppen bestätigt werden. Allerdings lassen sich aufgrund der innerhalb der beiden Patientengruppen zum Teil signifikant unterschiedlichen Verläufe zwischen den Messzeitpunkten, Tendenzen hinsichtlich einer antiinflammatorischen Wirkung der ω -3-FS vermuten. So beobachteten wir in der Fischöl-Gruppe im Gegensatz zur Sojaöl-Gruppe postoperativ keinen signifikanten Anstieg der Prostaglandin E_2 -Spiegel, der Zytokinproduktion und der Phagozytosefunktion. Des Weiteren zeigte sich lediglich bei den mit Fischöl ernährten Patienten eine signifikante postoperative Reduktion für CRP, Thromboxan B_2 , sowie für die Burstaktivität der Granulozyten.

Bezüglich des klinischen Verlaufs beobachteten wir ebenfalls Tendenzen zu einer günstigen Wirkung der ω -3-FS, obgleich sich in der statistischen Auswertung keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Behandlungsgruppen berechnen ließen.

Der Grund für die sowohl in Bezug auf die Immunfunktion als auch auf den klinischen Verlauf fehlenden signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Patientengruppen findet sich möglicherweise in der limitierten Anzahl der Studienpatienten und dem nur sieben postoperative Tage umfassenden Beobachtungszeitraum.

Aus physiologischer Sicht wäre die präoperative Gabe von ω -3-Fettsäuren und konsekutive Bereitstellung von Eicosapentaensäure bereits vor dem chirurgischen Eingriff sinnvoll und erfolgsversprechend.

Aufgrund der aus der vorliegenden Studie gewonnenen Ergebnisse erscheint es empfehlenswert weitere Studien mit größeren Patientenzahlen und einer zusätzlichen präoperativen Supplementierung der Ernährung mit ω -3-Fettsäuren durchzuführen.

5 Zusammenfassung

Der klinische Verlauf nach großen abdominalchirurgischen Eingriffen wird wesentlich durch das Auftreten von postoperativen Komplikationen beeinflusst. Im Anschluss an große Operationen können sinnvolle Reparaturprozesse zu Dysregulationen und überschießenden Reaktionen des Immunsystems führen. Die Entstehung von Imbalancen zwischen pro- und antiinflammatorischen Mediatoren begünstigen das Auftreten von Infektionen sowie die Entstehung eines „systemic inflammatory response syndrome“ (SIRS) oder einer Sepsis, welche schließlich in einem Multiorganversagen münden können.

Es ist bekannt, dass die in Fischöl enthaltenen ω -3-Fettsäuren in der Lage sind die Immunfunktion auf verschiedenen Ebenen zu beeinflussen.

Daher war das Ziel der vorliegenden Studie, den Einfluss einer mit ω -3-Fettsäuren angereicherten total parenteralen Ernährung auf das Immunsystem und den postoperativen klinischen Verlauf bei Patienten nach einem großen abdominalchirurgischen Eingriff zu untersuchen. Es wurden insgesamt 30 Patienten, die sich einer Oesophagusresektion oder einer Gastrektomie aufgrund eines Tumorleidens unterziehen mussten, in die Auswertung aufgenommen. Die Patienten wurden in zwei Gruppen randomisiert, zum einen in die Fischöl (FO)- bzw. Omegaven[®]-Gruppe, die ihr im Rahmen der parenteralen Ernährung benötigtes Fett als ω -3-FS in Form von Omegaven[®] erhielten und zum anderen in die Sojabohnenöl (SO)- bzw. Lipovenös[®]-Gruppe, die ihr Fett als ω -6-FS in Form von Lipovenös[®] erhielten. Die parenterale Ernährung wurde am zweiten postoperativen Tag begonnen.

Die Gewinnung von Blutproben erfolgte an vier verschiedenen Messzeitpunkten; am Tag vor der Operation, am Tag nach der Operation, sowie am fünften und siebten postoperativen Tag.

Aus diesen Proben wurden die freien und veresterten Plasmafettsäuren mittels Gaschromatographie und die Eicosanoide Thromboxan B₂, 6-keto-Prostaglandin F_{1 α} , sowie Prostaglandin E₂ mittels ELISA bestimmt. Ferner wurde die Produktion der Zytokine Interleukin-1 β und TNF- α nach ex vivo-Stimulation mit Endotoxin mit Hilfe eines Chemolumineszenz-Immunoassays ermittelt. Die Bestimmung der

Granulozytenfunktionen Phagozytosefähigkeit und oxidative Burstaktivität, sowie die anhand der Expression von CD64 ermittelte Granulozytenaktivierung erfolgte unmittelbar im Anschluss an die Blutentnahme mittels Durchflusszytometrie. Der klinische Verlauf wurde anhand eines Dokumentationsbogens erfasst.

Im Rahmen der vorliegenden Studie erwies sich die parenterale Zufuhr von Omegaven® als eine sichere und nebenwirkungsarme Möglichkeit der Applikation von ω -3-Fettsäuren bei Patienten nach großen abdominalchirurgischen Eingriffen. Es konnte gezeigt werden, dass durch die Supplementierung der postoperativen total parenteralen Ernährung mit ω -3-Fettsäuren bereits innerhalb von drei Tagen die Verfügbarkeit von Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexensäure (DHA) gewährleistet werden kann.

Bezüglich der postoperativen Immunkompetenz weisen die Ergebnisse auf eine antiinflammatorische Wirkung der ω -3-Fettsäuren hin.

So beobachteten wir in der Fischöl-Gruppe im Gegensatz zur Sojaöl-Gruppe postoperativ keinen Anstieg der Prostaglandin E_2 -Spiegel, der Zytokinproduktion und der Phagozytosefunktion. Des Weiteren zeigte sich lediglich bei den mit Fischöl ernährten Patienten eine postoperative Reduktion für das C-reaktive Protein, Thromboxan B_2 , sowie für die Burstaktivität der Granulozyten. Es ließen sich Tendenzen beobachten, signifikant unterschiedliche Ergebnisse im Vergleich zwischen den beiden Gruppen konnten nicht berechnet werden, was vermutlich auf die geringe Patientenzahl zurückzuführen ist.

Ebenfalls spiegelte sich im klinischen Verlauf eine günstige Wirkung der ω -3-Fettsäuren wieder. So zeigte sich eine Tendenz zu einer geringeren Beatmungs- und Intensivliegedauer, sowie einer kürzeren Krankenhausverweildauer in der Gruppe der Patienten, die ω -3-Fettsäuren erhielten.

Der Einsatz von ω -3-Fettsäuren im Rahmen der parenteralen Ernährung nach großen abdominalchirurgischen Eingriffen erscheint aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Studie sinnvoll. Die Resultate sind durch weitere Studien, gegebenenfalls mit größeren Patientenzahlen, zu bestätigen. Eine präoperative Supplementierung der Ernährung mit ω -3-Fettsäuren wäre zu diskutieren, um bereits zum Zeitpunkt des operativen Eingriffs ein verändertes Plasmaphospholipidspektrum bei den Patienten zu erreichen.

6 Literaturverzeichnis

- 1 Anderson CL, Shen L, Eicher DM, Wewers MDundGill JK: Phagocytosis mediated by three distinct Fc gamma receptor classes on human leukocytes. *J Exp Med*; 171: 1333-45 (1990)
- 2 Ayala AundChaudry IH: Dietary n-3 polyunsaturated fatty acid modulation of immune cell function before or after trauma. *Nutrition*; 11: 1-11 (1995)
- 3 Babcock T, Helton WSundEspat NJ: Eicosapentaenoic acid (EPA): an antiinflammatory omega-3 fat with potential clinical applications. *Nutrition*; 16: 1116-8 (2000)
- 4 Baker CCundHuynh MD: Sepsis in the critically ill patient. *Curr Probl Surg*; 32: 1013-83 (1995)
- 5 Bang HO DJ, Nielsen AB: Plasma lipid and lipoprotein pattern in Greenlandic west-coast Eskimos. *Lancet*; 1: 1143-1145 (1971)
- 6 Barton RG, Wells CL, Carlson A, Singh R, Sullivan JJundCerra FB: Dietary omega-3 fatty acids decrease mortality and Kupffer cell prostaglandin E2 production in a rat model of chronic sepsis. *J Trauma*; 31: 768-73; discussion 773-4 (1991)
- 7 Bastian L, Weimann A, Bischoff W, Meier PN, Grotz M, Stan CundRegel G: [Clinical effects of supplemental enteral nutrition solution in severe polytrauma]. *Unfallchirurg*; 101: 105-14 (1998)
- 8 Boehles HJ GG, Jauch KW, Kreymann G, v. Rücker A, Schmitz JE: Anabolie-Katabolie: Eine Standortbestimmung. *Akt. Ernähr.-Med.*; 340 (1996)

-
- 9 Bone RC: Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS and CARS. *Crit Care Med*; 24: 1125-1128 (1996)
- 10 Bone RC: Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: what we do and do not know about cytokine regulation. *Crit Care Med*; 24: 163-72 (1996)
- 11 Bourre JM, Bonneil M, Dumont O, Piciotti M, Calaf R, Portugal H, Nalbone GundLafont H: Effect of increasing amounts of dietary fish oil on brain and liver fatty composition. *Biochim Biophys Acta*; 1043: 149-52 (1990)
- 12 Breil I, Koch T, Heller A, Schlotzer E, Grunert A, van Ackern KundNeuhof H: Alteration of n-3 fatty acid composition in lung tissue after short-term infusion of fish oil emulsion attenuates inflammatory vascular reaction. *Crit Care Med*; 24: 1893-902 (1996)
- 13 Brown AJ, Pang EundRoberts DC: Persistent changes in the fatty acid composition of erythrocyte membranes after moderate intake of n-3 polyunsaturated fatty acids: study design implications. *Am J Clin Nutr*; 54: 668-73 (1991)
- 14 Bruckner UB, Rosch M, Kelbel MWundGebhard F: [Prostanoid release and lipid peroxidation in patients with thoracic trauma]. *Zentralbl Chir*; 124: 144-58 (1999)
- 15 Burr ML, Fehily AM, Gilbert JF, Rogers S, Holliday RM, Sweetnam PM, Elwood PCundDeadman NM: Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet*; 2: 757-61 (1989)
- 16 Burton JL: Dietary fatty acids and inflammatory skin disease. *Lancet*; 1: 27-31 (1989)

-
- 17 Calder PC: Dietary fatty acids and the immune system. *Nutr Rev*; 56: S70-83 (1998)
- 18 Calder PC: n-3 polyunsaturated fatty acids and cytokine production in health and disease. *Ann Nutr Metab*; 41: 203-34 (1997)
- 19 Caughey GE, Mantzioris E, Gibson RA, Cleland LGundJames MJ: 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. *Am J Clin Nutr*; 63: 116-22 (1996)
- 20 Chilton FH, Patel M, Fonteh AN, Hubbard WCundTriggiani M: Dietary n-3 fatty acid effects on neutrophil lipid composition and mediator production. Influence of duration and dosage. *J Clin Invest*; 91: 115-22 (1993)
- 21 Croset M, Bayon YundLagarde M: Incorporation and turnover of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in human blood platelets in vitro. *Biochem J*; 281 (Pt 2): 309-16 (1992)
- 22 Cukier C, Waitzberg DL, Logullo AF, Bacchi CE, Travassos VH, Torrinhas RS, Soares SR, Saldiva PH, Oliveira TSundHeymsfield S: Lipid and lipid-free total parenteral nutrition: differential effects on macrophage phagocytosis in rats. *Nutrition*; 15: 885-9 (1999)
- 23 Daly JM, Weintraub FN, Shou J, Rosato EFundLucia M: Enteral nutrition during multimodality therapy in upper gastrointestinal cancer patients. *Ann Surg*; 221: 327-38 (1995)
- 24 Deitch EA: Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy. *Ann Surg*; 216: 117-34 (1992)

-
- 25 Dietz AH, F.; Daniel, V.: Immunomodulating effects of surgical intervention in tumors of the head and neck. *Otolaryngol Head Neck Surg*; 123: 132-139 (2000)
- 26 Dyerberg J, Bang HO, Stoffersen E, Moncada SundVane JR: Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? *Lancet*; 2: 117-9 (1978)
- 27 Edgeworth JD, Treacher DFundEykn SJ: A 25-year study of nosocomial bacteremia in an adult intensive care unit. *Crit Care Med*; 27: 1421-8 (1999)
- 28 Endres S, Ghorbani R, Kelley VE, Georgilis K, Lonnemann G, van der Meer JW, Cannon JG, Rogers TS, Klempner MS, Weber PCundet al.: The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N Engl J Med*; 320: 265-71 (1989)
- 29 Engstrom K, Luostarinen RundSaldeen T: Whole blood production of thromboxane, prostacyclin and leukotriene B4 after dietary fish oil supplementation in man: effect of vitamin E. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*; 54: 419-25 (1996)
- 30 Faist EundWichmann MW: [Immunology in the severely injured]. *Chirurg*; 68: 1066-70 (1997)
- 31 Fischer SundWeber PC: Prostaglandin I3 is formed in vivo in man after dietary eicosapentaenoic acid. *Nature*; 307: 165-8 (1984)
- 32 Fisher M, Levine PH, Weiner BH, Johnson MH, Doyle EM, Ellis PAundHoogasian JJ: Dietary n-3 fatty acid supplementation reduces superoxide production and chemiluminescence in a monocyte-enriched preparation of leukocytes. *Am J Clin Nutr*; 51: 804-8 (1990)

-
- 33 Gadek JE, DeMichele SJ, Karlstad MD, Pacht ER, Donahoe M, Albertson TE, Van Hoozen C, Wennberg AK, Nelson J, Lund, Noursalehi M: Effect of enteral feeding with eicosapentaenoic acid, gamma-linolenic acid, and antioxidants in patients with acute respiratory distress syndrome. Enteral Nutrition in ARDS Study Group. *Crit Care Med*; 27: 1409-20 (1999)
- 34 Gallagher H, Dundaly JM: Malnutrition, injury, and the host immune response: nutrient substitution. *Curr Opin Gen Surg*; 92-104 (1993)
- 35 Goodwin JS, Webb DR: Regulation of the immune response by prostaglandins. *Clin Immunol Immunopathol*; 15: 106-22 (1980)
- 36 Gottschlich MM, Jenkins M, Warden GD, Baumer T, Havens P, Snook JT, Alexander JW: Differential effects of three enteral dietary regimens on selected outcome variables in burn patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*; 14: 225-36 (1990)
- 37 Grbic JT, Mannick JA, Gough DB, Rodrick ML: The role of prostaglandin E2 in immune suppression following injury. *Ann Surg*; 214: 253-62; discussion 262-3 (1991)
- 38 Grimble RF: Dietary lipids and the inflammatory response. *Proc Nutr Soc*; 57: 535-42 (1998)
- 39 Grimble RF: Dietary manipulation of the inflammatory response. *Proc Nutr Soc*; 51: 285-94 (1992)
- 40 Grimble RF: Nutritional modulation of cytokine biology. *Nutrition*; 14: 634-40 (1998)

- 41 Grimm H, Schott J und Schwemmler K: [Development of an immuno-neutral lipid emulsion for optimal postoperative management of intensive care patients].
Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd; 115: 599-604 (1998)
- 42 Grimminger F, Durr U und Seeger W: Ligand-operated synthesis of 4-series and 5-series leukotrienes in human neutrophils: critical dependence on exogenous free fatty acid supply. Mol Pharmacol; 41: 757-66 (1992)
- 43 Grunert A: Proceedings: Problems of fatty acid analysis: critical review of methods and presentation of a new gaschromatographic assay with special reference to structural problems. Hoppe Seylers Z Physiol Chem; 355: 1199 (1974)
- 44 Hackl JM: [Parenteral and enteral feeding]. Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther; 33: 731-52 (1998)
- 45 Hackl JM BD: Indikation zur parenteralen Ernährung - Was ist gesichert? Akt. Ernähr.-Med.; 22: 146 (1997)
- 46 Hartl WH RP: Veränderungen des Substratstoffwechsels bei chirurgischen Erkrankungen unter besonderer Berücksichtigung des Eiweißhaushaltes. Akt. Ernähr.-Med.; 22: 154 (1997)
- 47 Hayashi N, Tashiro T, Yamamori H, Takagi K, Morishima Y, Otsubo Y, Sugiura T, Furukawa K, Nitta H, Nakajima N, Suzuki N und Ito I: Effects of intravenous omega-3 and omega-6 fat emulsion on cytokine production and delayed type hypersensitivity in burned rats receiving total parenteral nutrition. JPEN J Parenter Enteral Nutr; 22: 363-7 (1998)
- 48 Healy DA, Wallace FA, Miles EA, Calder PC und Newsholm P: Effect of low-to-moderate amounts of dietary fish oil on neutrophil lipid composition and function. Lipids; 35: 763-8 (2000)

- 49 Heine J, Scheinichen D, Jaeger K, Andre MundLeuwer M: In vitro influence of parenteral lipid emulsions on the respiratory burst of neutrophils. *Nutrition*; 15: 540-5 (1999)
- 50 Heller AR, Fischer S, Rossel T, Geiger S, Siegert G, Ragaller M, Zimmermann TundKoch T: Impact of n-3 fatty acid supplemented parenteral nutrition on haemostasis patterns after major abdominal surgery. *Br J Nutr*; 87 Suppl 1: S95-101 (2002)
- 51 Hirsh M, Mahamid E, Bashenko Y, Hirsh IundKrausz MM: Overexpression of the high-affinity Fc γ receptor (CD64) is associated with leukocyte dysfunction in sepsis. *Shock*; 16: 102-8 (2001)
- 52 Hoffmeyer F, Witte KundSchmidt RE: The high-affinity Fc γ RI on PMN: regulation of expression and signal transduction. *Immunology*; 92: 544-52 (1997)
- 53 Hwang D: Essential fatty acids and immune response. *Faseb J*; 3: 2052-61 (1989)
- 54 Imoberdorf R: Immuno-nutrition: designer diets in cancer. *Support Care Cancer*; 5: 381-6 (1997)
- 55 Jenski LJ, Zerouga MundStillwell W: Omega-3 fatty acid-containing liposomes in cancer therapy. *Proc Soc Exp Biol Med*; 210: 227-33 (1995)
- 56 Jolly CA, Jiang YH, Chapkin RSundMcMurray DN: Dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids suppress murine lymphoproliferation, interleukin-2 secretion, and the formation of diacylglycerol and ceramide. *J Nutr*; 127: 37-43 (1997)
- 57 Jolly CA, Muthukumar A, Reddy Avula CPundFernandes G: Maintenance of NF- κ B activation in T-lymphocytes and a naive T-cell population in autoimmune-prone (NZB/NZW)F(1) mice by feeding a food-restricted diet enriched with n-3 fatty acids. *Cell Immunol*; 213: 122-33 (2001)

- 58 Kawasaki TO, M.; Kawasaki, C.: Surgical stress induces endotoxin hyporesponsiveness and an early decrease of monocyte CD14 and HLA-DR expression during surgery. *Anaesth Analg*; 92: 1322-1326 (2001)
- 59 Kelley DS, Taylor PC, Nelson GJ, Schmidt PC, Ferretti A, Erickson KL, Yu R, Chandra RKundMackey BE: Docosahexaenoic acid ingestion inhibits natural killer cell activity and production of inflammatory mediators in young healthy men. *Lipids*; 34: 317-24 (1999)
- 60 Kinsella JE, Lokesh B, Broughton SundWhelan J: Dietary polyunsaturated fatty acids and eicosanoids: potential effects on the modulation of inflammatory and immune cells: an overview. *Nutrition*; 6: 24-44; discussion 59-62 (1990)
- 61 Knapp HRundFitzGerald GA: The antihypertensive effects of fish oil. A controlled study of polyunsaturated fatty acid supplements in essential hypertension. *N Engl J Med*; 320: 1037-43 (1989)
- 62 Knaus WAD, E.A. Wagner, D.P. Zimmermann, J.E.: APACHE II: a severity of disease classification. *Crit Care Med*; 818-829 (1985)
- 63 Lee TH, Hoover RL, Williams JD, Sperling RI, Ravalese J, 3rd, Spur BW, Robinson DR, Corey EJ, Lewis RAundAusten KF: Effect of dietary enrichment with eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on in vitro neutrophil and monocyte leukotriene generation and neutrophil function. *N Engl J Med*; 312: 1217-24 (1985)
- 64 Lee TH, Sethi T, Crea AE, Peters W, Arm JP, Horton CE, Walport MJundSpur BW: Characterization of leukotriene B3: comparison of its biological activities with leukotriene B4 and leukotriene B5 in complement receptor enhancement, lysozyme release and chemotaxis of human neutrophils. *Clin Sci (Lond)*; 74: 467-75 (1988)

- 65 Linseisen J, Hoffmann J, Lienhard S, Jauch KWundWolfram G: Antioxidant status of surgical patients receiving TPN with an omega-3-fatty acid-containing lipid emulsion supplemented with alpha-tocopherol. *Clin Nutr*; 19: 177-84 (2000)
- 66 Mascioli EA, Iwasa Y, Trimbo S, Leader L, Bistran BRundBlackburn GL: Endotoxin challenge after menhaden oil diet: effects on survival of guinea pigs. *Am J Clin Nutr*; 49: 277-82 (1989)
- 67 Matthies: Influence of total parenteral nutrition enriched with omega-fatty-acids on cytokine levels in patients with major surgery. *Shock*; 13: 167 (Abstract) (2000)
- 68 Mayer K, Seeger WundGrimminger F: Clinical use of lipids to control inflammatory disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*; 1: 179-84 (1998)
- 69 Mayser P, Mrowietz U, Arenberger P, Bartak P, Buchvald J, Christophers E, Jablonska S, Salmhofer W, Schill WB, Kramer HJ, Schlotzer E, Mayer K, Seeger WundGrimminger F: Omega-3 fatty acid-based lipid infusion in patients with chronic plaque psoriasis: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled, multicenter trial. *J Am Acad Dermatol*; 38: 539-47 (1998)
- 70 Meydani SN, Endres S, Woods MM, Goldin BR, Soo C, Morrill-Labrode A, Dinarello CAundGorbach SL: Oral (n-3) fatty acid supplementation suppresses cytokine production and lymphocyte proliferation: comparison between young and older women. *J Nutr*; 121: 547-55 (1991)
- 71 Miles EAundCalder PC: Modulation of immune function by dietary fatty acids. *Proc Nutr Soc*; 57: 277-92 (1998)
- 72
- 73 Morlion BJ, Torwesten E, Lessire H, Sturm G, Peskar BM, Furst PundPuchstein C: The effect of parenteral fish oil on leukocyte membrane fatty acid composition and

- leukotriene-synthesizing capacity in patients with postoperative trauma.
Metabolism; 45: 1208-13 (1996)
- 74 Murphy MGundByczko Z: Effects of membrane polyunsaturated fatty acids on adenosine receptor function in intact N1E-115 neuroblastoma cells. Biochem Cell Biol; 68: 392-5 (1990)
- 75 Nau SH-O, I.; Sturm, G.; Fürst, P.: The influence of parenteral n-3 fatty acids on nitrogen and lipid metabolism in rats. Am J Nutr; 57 (Suppl 1): 821S-822S (1993)
- 76 Oh-hashii K, Takahashi T, Watanabe S, Kobayashi TundOkuyama H: Possible mechanisms for the differential effects of high linoleate safflower oil and high alpha-linolenate perilla oil diets on platelet-activating factor production by rat polymorphonuclear leukocytes. J Lipid Mediat Cell Signal; 17: 207-20 (1997)
- 77 Peterson J, Bihain BE, Bengtsson-Olivecrona G, Deckelbaum RJ, Carpentier YAundOlivecrona T: Fatty acid control of lipoprotein lipase: a link between energy metabolism and lipid transport. Proc Natl Acad Sci U S A; 87: 909-13 (1990)
- 78 Pscheidl E, Schywalsky M, Tschakowsky KundBoke-Prols T: Fish oil-supplemented parenteral diets normalize splanchnic blood flow and improve killing of translocated bacteria in a low-dose endotoxin rat model. Crit Care Med; 28: 1489-96 (2000)
- 79 Qureshi SS, Lewis SM, Gant VA, Treacher D, Davis BHundBrown KA: Increased distribution and expression of CD64 on blood polymorphonuclear cells from patients with the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). Clin Exp Immunol; 125: 258-65 (2001)
- 80 Rogers S, James KS, Butland BK, Etherington MD, O'Brien JRundJones JG: Effects of a fish oil supplement on serum lipids, blood pressure, bleeding time,

- haemostatic and rheological variables. A double blind randomised controlled trial in healthy volunteers. *Atherosclerosis*; 63: 137-43 (1987)
- 81 Rola-Plezcunski: Immunoregulation by leukotrienes and other lipoxigenase metabolites. *Immunology Today*; 6: 302-307 (1985)
- 82 Ross JA, Moses AGundFearon KC: The anti-catabolic effects of n-3 fatty acids. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*; 2: 219-26 (1999)
- 83 Roulet M, Frascarolo P, Pilet MundChapuis G: Effects of intravenously infused fish oil on platelet fatty acid phospholipid composition and on platelet function in postoperative trauma. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*; 21: 296-301 (1997)
- 84 Schricker T, Geisser WundGeorgieff M: [Parenteral nutrition therapy. Energy and non-energy actions of carbohydrates and fats]. *Anaesthesist*; 46: 371-84 (1997)
- 85 Sessler AMundNtambi JM: Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *J Nutr*; 128: 923-6 (1998)
- 86
- 87 Sinclair H: Deficiency of essential fatty acids and atherosclerosis, etcetera. *Lancet*; 1: 381-383 (1956)
- 88 Strasser T, Fischer SundWeber PC: Leukotriene B5 is formed in human neutrophils after dietary supplementation with icosapentaenoic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 82: 1540-3 (1985)
- 89 Stubbs CDundSmith AD: The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. *Biochim Biophys Acta*; 779: 89-137 (1984)

- 90 Subbaiah PV, Kaufman DundBagdade JD: Incorporation of dietary n-3 fatty acids into molecular species of phosphatidyl choline and cholesteryl ester in normal human plasma. *Am J Clin Nutr*; 58: 360-8 (1993)
- 91 Suchner U FT, Senftleben U: Ernährung für kritisch Kranke: Gibt es ein universelles Ernährungskonzept für kritisch Kranke? *Journal für Anästhesie und Intensivbehandlung*; 2: 104-112 (1996)
- 92 Suchner U und Senftleben U: Immune modulation by polyunsaturated fatty acids during nutritional therapy: interactions with synthesis and effects of eicosanoids. *Infusionsther Transfusionsmed*; 21: 167-82 (1994)
- 93 Swails WS, Bell SJ, Bistran BR, Lewis EJ, Pfister D, Forse RA, Kelly SundBlackburn GL: Fish-oil-containing diet and platelet aggregation. *Nutrition*; 9: 211-7 (1993)
- 94 Swails WS, Kenler AS, Driscoll DF, DeMichele SJ, Babineau TJ, Utsunamiya T, Chavali S, Forse RA und Bistran BR: Effect of a fish oil structured lipid-based diet on prostaglandin release from mononuclear cells in cancer patients after surgery. *J Parenter Enteral Nutr*; 21: 266-74 (1997)
- 95 Talmor M, Hydo LundBarie PS: Relationship of systemic inflammatory response syndrome to organ dysfunction, length of stay, and mortality in critical surgical illness: effect of intensive care unit resuscitation. *Arch Surg*; 134: 81-7 (1999)
- 96 Tappia PS, Man WJ und Grimble RF: Influence of unsaturated fatty acids on the production of tumour necrosis factor and interleukin-6 by rat peritoneal macrophages. *Mol Cell Biochem*; 143: 89-98 (1995)
- 97 Thies F, Miles EA, Nebe-von-Caron G, Powell JR, Hurst TL, Newsholme EA und Calder PC: Influence of dietary supplementation with long-chain n-3 or n-6

- polyunsaturated fatty acids on blood inflammatory cell populations and functions and on plasma soluble adhesion molecules in healthy adults. *Lipids*; 36: 1183-93 (2001)
- 98 Thompson PJ, Misso NL, Passarelli M, Phillips MJ: The effect of eicosapentaenoic acid consumption on human neutrophil chemiluminescence. *Lipids*; 26: 1223-6 (1991)
- 99 Tsekos A: Omega-3-FS und ihr Einfluss auf den postoperativen Verlauf. *Anästhesiologie Intensivmedizin*; 42: 492 (2001)
- 100 Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoin MH, Wolff M, Spencer RC, Hemmer M: The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *Jama*; 274: 639-44 (1995)
- 101 Wachtler P, König W, Senkal M, Kernen M, Köllner M: 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*; 42: 191-8 (1997)
- 102 Waitzberg DL, Plopper C, Terra RM: Postoperative total parenteral nutrition. *World J Surg*; 23: 560-4 (1999)
- 103 Waitzberg DLL, P.H.; Logullo, A.F.; Torrinhas, R.S.M.; Pereira, C.C.A.; Meier, R.: Parenteral lipid emulsions and phagocytic systems. *Br J Nutrition*; 87 (Suppl): S49-S57 (2002)

- 104 Weiss G, Meyer F, Matthies B, Pross M, Koenig WundLippert H:
Immunomodulation by perioperative administration of n-3 fatty acids. Br J Nutr; 87
Suppl 1: S89-94 (2002)
- 105 Weissman C: The metabolic response to stress: an overview and update.
Anesthesiology; 73: 308-27 (1990)
- 106 Westerveld HT, de Graaf JC, van Breugel HH, Akkerman JW, Sixma JJ, Erkelens
DWundBanga JD: Effects of low-dose EPA-E on glyceimic control, lipid profile,
lipoprotein(a), platelet aggregation, viscosity, and platelet and vessel wall
interaction in NIDDM. Diabetes Care; 16: 683-8 (1993)
- 107 Wojnar MM, Hawkins WGundLang CH: Nutritional support of the septic patient.
Crit Care Clin; 11: 717-33 (1995)
- 108 Wu DundMeydani SN: n-3 polyunsaturated fatty acids and immune function.
Proc Nutr Soc; 57: 503-9 (1998)

7 Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Michael Georgieff danke ich für die Möglichkeit, in seiner Abteilung promovieren zu dürfen.

Des Weiteren möchte ich allen Mitarbeitern der Sektion für Experimentelle Anästhesiologie, insbesondere Herrn PD Dr. med. Manfred Weiss und Frau Heidelinde Feist für ihre Unterstützung und Hilfe bei der Erstellung dieser Arbeit danken.

Ein großes Dankeschön geht auch an Frau Tanja Schulz aus der Sektion für Anästhesiologische Pathophysiologie und Verfahrensentwicklung, sowie Frau Annemarie Wersching aus der Abteilung für Klinische Chemie für die unkomplizierte und reibungslose Zusammenarbeit.

Dem ärztlichen und vor allen Dingen dem pflegerischen Personal der anästhesiologischen Intensivstation danke ich für ihre Unterstützung und Kooperation, ohne diese die Durchführung dieser Studie nicht möglich gewesen wäre.

Der größte Dank allerdings gilt Frau Prof. Dr. med. Heidemarie Suger-Wiedeck und Frau Dr. med. Irmgard Kelbel für die hervorragende Betreuung und Hilfestellung während dieser Arbeit. Sie unterstützten mich zu jedem Zeitpunkt und standen mir in allen Belangen stets zur Seite. Vielen Dank!

8 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name, Vorname: Wagner, Florian Daniel
Adresse: Heilmeyersteige 157/2,
89075 Ulm
Geburtsdatum: 08.11.1975
Geburtsort: Ilshofen

Schulbildung

Sept. 1983 - Aug. 1987 Leonhard-Sachs-Grund- und Hauptschule Crailsheim
Sept. 1987 - Juli 1995 Albert-Schweitzer-Gymnasium Crailsheim
Juli 1995 Allgemeine Hochschulreife

Zivildienst

Aug. 1995 - Aug. 1996 Rettungsdienst (Deutsches Rotes Kreuz)

Studium

Okt. 1996 Beginn des Medizinstudiums an der Universität Ulm
Aug. 1998 Ärztliche Vorprüfung
Aug. 1999 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

