

Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik der Ludwig-Maximilians-
Universität München
(Direktor Professor Dr. med. Dr. h.c. mult. K.-W. Jauch)

Parenterale Kohlenhydratzufuhr und postoperative Albuminsynthese

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin an der Medizinischen
Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Frau Susanne Braun
München
2009

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität
München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Wolfgang Hugo Hartl

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Joachim Groh

Priv. Doz. Dr. Matthias Angstwurm

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Peter Rittler

Dekan: Prof. Dr. med. Dr h.c. M. Reiser, FACR,
FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 15.01.2009

Meiner Familie gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEIUNG	1
2. FRAGESTELLUNG	5
3. PATIENTEN UND METHODIK	6
3.1. Patienten	6
3.2. Vergleichbarkeit	6
3.2.1. präoperativ	6
3.2.2. perioperativ	6
3.2.3. postoperativ	7
3.3. Einschlusskriterien	7
3.4. Ausschlusskriterien	7
3.5. Aufklärung	8
3.6. Versuchsablauf	8
3.7. Abgeleitete Zielgrößen	10
3.8. Beschreibung der angewendeten Methodik zur Bestimmung der Albuminsyntheseraten	10
3.8.1. Material mit Bezugsquellen	10
3.8.2. Probenaufbereitung	10
3.8.2.1. Albuminisolation	10
3.8.2.2. Leucin – Derivatisierung	13
3.8.2.3. Ketoisocaprinsäure – Derivatisierung	14
3.8.3. Massenspektrometrische Analysen	14
3.8.3.1. Durchführung der Gaschromatographie – Isotopenverhältnis – Massenspektrometrie (GC-IRMS)	14
3.8.3.2. Durchführung der Gaschromatographie – Massenspektrometrie (GC – MS)	15
3.9. Berechnung der Fraktionellen Albuminsyntheseraten (FSR)	16
3.10. Messung der Albuminkonzentrationen	17
3.11. Berechnung der Absoluten Albuminsyntheseraten (ASR)	18
3.12. Messung der Glukosekonzentrationen	18
3.13. Messung der Insulinkonzentrationen	18

3.14.	Statistik	18
4.	ERGEBNISSE	19
4.1.	Anreicherung im Präkusorpool (Ketoisocaprinsäure – Anreicherung)	19
4.1.1.	Isotopomerenverhältnisse (M+1/M)	19
4.1.1.1.	Isotopomerenverhältnisse im Präkusorpool der Kontrollgruppe	19
4.1.1.2.	Isotopomerenverhältnisse im Präkusorpool der Kohlenhydratgruppe	19
4.1.2.	Tracer/Tracee – Verhältnisse	20
4.1.2.1.	Tracer/Tracee – Verhältnisse in der Kontrollgruppe	20
4.1.2.2.	Tracer/Tracee – Verhältnisse in der Kohlenhydratgruppe	21
4.2.	Albuminanreicherung	21
4.2.1.	Anreicherung des albumingebundenen Leucins in der Kontrollgruppe	21
4.2.2.	Anreicherung des albumingebundenen Leucins in der Kohlenhydratgruppe	22
4.3.	Fraktionelle Albuminsyntheseraten (FSR)	23
4.3.1.	Fraktionelle Albuminsyntheseraten in der Kontrollgruppe	23
4.3.2.	Fraktionelle Albuminsyntheseraten in der Kohlenhydratgruppe	23
4.4.	Plasmaalbuminkonzentrationen	24
4.5.	Absolute Albuminsyntheseraten (ASR)	25
4.5.1.	Absolute Albuminsyntheseraten in der Kontrollgruppe	25
4.5.2.	Absolute Albuminsyntheseraten in der Kohlenhydratgruppe	25
4.6.	Plasmaglukosekonzentrationen	26
4.6.1.	Plasmaglukosekonzentrationen in der Kontrollgruppe	26
4.6.2.	Plasmaglukosekonzentrationen in der Kohlenhydratgruppe	26
4.7.	Plasmainsulinkonzentrationen	27
4.7.1.	Plasmainsulinkonzentrationen in der Kontrollgruppe	27
4.7.2.	Plasmainsulinkonzentrationen in der Kohlenhydratgruppe	27
5.	DISKUSSION	28
5.1.	methodische Betrachtungen	28
5.1.1.	Wahl der Untersuchungstechnik	28
5.1.2.	Wahl der Methodik zum Erreichen einer Hyperinsulinämie	28

5.2.	Veränderungen des Kohlenhydratstoffwechsels beim Post- aggressionssyndrom	31
5.3.	Regulationsmechanismen der postoperativen Albuminsynthese durch Insulin und parenterale Substrate	35
5.4.	Ursachen für die mangelnde Effizienz einer physiologischen Hyper- insulinämie	37
6.	ZUSAMMENFASSUNG	40
7.	ANHANG	42
7.1.	Tabellen	42
7.2.	Verzeichnisse	52
7.2.1.	Tabellenverzeichnis	52
7.2.2.	Abbildungsverzeichnis	53
7.2.3.	Abkürzungsverzeichnis	54
7.2.4.	Literaturverzeichnis	56
8.	DANKSAGUNG	73
9.	LEBENS LAUF	74

1. EINLEITUNG

Chirurgische Traumata verursachen neben einer lokalen Reaktion auch eine Vielzahl von systemischen Sekundärreaktionen („Postaggressionssyndrom“, „host defense response“, „systemic inflammatory response syndrome (SIRS)“). Komplexe körpereigene Mechanismen (metabolisch, immunologisch, neuronal und endokrin) dienen dem Organismus zur Abschottung von Schadenszonen und zur Verhinderung bzw. Bekämpfung von Infektionen, und münden schließlich in der angestrebten Regeneration und Reparatur des eingetretenen Schadens. Die damit assoziierten metabolischen Umstellungen betreffen vor allem die Organsysteme des Splanchnikusgebiets und die Skelettmuskulatur, und den Substratflusses zwischen diesen Kompartimenten (53, 54, 72).

Diese metabolischen Veränderungen nach großen operativen Eingriffen laufen stereotyp in einer definierten zeitlichen Abfolge unterscheidbarer Phasen ab. Unmittelbar postoperativ setzt ein hypodynamer Zustand des Gesamtorganismus ein, welcher einige Stunden anhält. Charakteristikum dieser so genannten Akut- oder Ebbephase ist die Drosselung der meisten Körperfunktionen, so auch die Kreislauf- und Stoffwechsellleistung. Daran schließt sich eine hyperdynamische Phase an, die sich durch eine Überaktivierung sowohl hormoneller, als auch immunologischer Systeme, vor allem jedoch durch eine deutliche Eiweißkatabolie auszeichnet. Auch alle anderen Substratwege sind in dieser Flussphase gestört, sodass es zu Glukoseverwertungsstörung, Insulinresistenz und Fettstoffwechselstörungen kommt. Auch Veränderungen im Elektrolythaushalt sind möglich (96). Bei komplikationslosem Verlauf schließt sich nach ein bis zwei Wochen eine anabole Phase zur Normalisierung der Stoffwechselvorgänge, zum Eiweissaufbau und zur Rekonvaleszenz an (52, 61).

Die physiologische Aufgabe der postoperativen Stoffwechsellumstellungen umfasst zwei wesentliche Aspekte. Einmal soll sichergestellt werden, dass schnell verfügbare Energien in Form von Glukose für immunkompetente und regenerativ tätige Zellen zur Verfügung gestellt werden. Diese Zellen sind obligat glukoseabhängig und können ihre Glukoseaufnahme nur insulinunabhängig über eine Glukose-Konzentrationserhöhung steigern. Zum zweiten kommt es durch Umverteilung des Herzzeitvolumens in die verletzten Regionen zu einer relativen intestinalen Minderdurchblutung mit Einschränkung der Substratresorption. Um in dieser Situation ausreichend Aminosäuren für Reparaturvorgänge bzw. immunologische Reaktionen (Immunglobulin-Synthese), bzw. Fettsäuren für nicht obligat glukoseabhängige Gewebe

(Skelettmuskel) bereit stellen können, entsteht eine muskuläre Eiweißkatabolie in Verbindung mit einer gesteigerten Lipolyse im Fettgewebe (9, 79, 118). Das quantitative Ausmaß dieser Stoffwechsellumstellungen hängt von der Schwere des chirurgischen Traumas und vom präoperativen Ernährungszustand ab (52, 61). In der Leber, dem zentralen Stoffwechselorgan (53) findet konsekutiv die beschleunigte Synthese der benötigten Glukose und deren Abgabe ins Blut statt. Die zeitgleiche Aktivierung der Glukoneogenese und der Glykogenolyse hebt den Blutglukosespiegel postoperativ um ca. 10-15% an (99).

Durch dabei ablaufende glukoneogenetische Desaminierungsprozesse kommt es zu einem irreversiblen Stickstoffverlust in Form von Harnstoff aus dem Körper (142). Diese biochemische Beobachtung ist Ausdruck eines Nettoverlusts an körpereigener Eiweißsubstanz, beruhend auf dem Missverhältnis zwischen Proteinabbau und -synthese. Dieser Umstand ist als wichtigstes Phänomen des Postaggressionsstoffwechsels anzusehen, da die erhöhte Eiweißkatabolie die Morbidität, Mortalität, Rekonvaleszenz und Rehabilitation des Patienten signifikant beeinflusst (14, 22, 32, 57, 75, 81).

Die beschleunigte Kohlenhydratbereitstellung durch die Leber in Verbindung mit der regelhaft postoperativ bestehenden Insulinresistenz in mehreren Kompartimenten (Leber, Skelettmuskulatur, Fettgewebe) (34, 99) bedingt in der akuten posttraumatischen Phase eine Hyperglykämie mit zeitgleicher Hyperinsulinämie, als Ausdruck eines hormonellen Gegenregulationsversuches. Die Hyperinsulinämie ist jedoch im Verhältnis zur Hyperglykämie nicht adäquat, da im Postaggressionsstoffwechsel eine katecholamininduzierte Hemmung der β -Zellen zu beobachten ist.

Neben der Muskulatur ist auch der Eiweißgehalt des Plasmas vom Postaggressionssyndrom betroffen. Das quantitativ bedeutendste Plasmaprotein ist Albumin (97, 119), welches ausschließlich in der Leber synthetisiert wird (82, 92). Nach unverzüglicher Abgabe ins Plasma erfüllt es eine Reihe wichtiger Aufgaben. Mit einer normalen Konzentration von 35-53g/l (135) ist es das Protein mit der höchsten Plasmakonzentration und erfüllt so seine wohl herausragendste Funktion, nämlich den Aufbau eines onkotischen Druckes. Dieser beträgt 25 mmHg intravasal und ist zu 70-75% auf das Albumin zurückzuführen (97, 119). Albumin bindet und transportiert zusammen mit anderen Plasmaproteinen verschiedenste Liganden, wie körpereigene Metabolite und Arzneimittel. Daneben erfüllt Albumin eine metabolische Funktion, indem es einige Stoffe durch Bindung inaktiviert. Andererseits kann die alleinige

Bindung an Albumin Substanzen zeitweise vor dem Abbau schützen. Auch kann die Leber die postprandial in großer Menge anflutenden Aminosäuren, besonders die essentiellen Aminosäuren, durch Neusynthese von Albumin speichern und so für spätere Fastenzeiten konservieren (28). Durch reversible Bindungen, in diesem Falle von Protonen an verschiedenste saure und basische Aminosäurereste des Moleküls, machen Albumin auch zu einem potenten Teil des sogenannten Protein – Puffersystems (31, 32, 33, 97, 119).

Es kann somit festgehalten werden, dass Albumin eine zentrale Rolle bei der Aufrechterhaltung der Homöostase im Organismus spielt. Aufgrund dieser Tatsache sind postoperative Veränderungen des Albuminspiegels, wie sie seit Jahren bekannt sind, hinsichtlich ihrer Pathophysiologie von immensem klinischem Interesse. Dabei sind die Ursachen für die postoperativ regelhaft zu beobachtende Hypoalbuminämie (66,129) bis heute noch unklar. Mikrozirkulationsstörungen mit Sequestrierung in den so genannten dritten Raum (38, 63, 68, 136) sind ebenso möglich wie Einbußen in der Syntheseleistung der Leber (37, 97). Klar ist jedoch, dass Morbidität und Mortalität mit dem Ausmaß des Konzentrationsabfalls signifikant korrelieren

Der stärkste Stimulus der Albuminsynthese scheint der herrschende kolloidosmotische Druck in der die Leberzelle umgebenden Flüssigkeit zu sein (103, 119, 144). Neben einer adäquaten Ernährung (108) spielt zusätzlich das hormonelle Milieu eine wichtige Rolle bei der Regulation der Albuminkonzentration. Alle Faktoren können sich je nach Ausprägung in ihrem Effekt addieren oder aufheben (26, 87, 120). Das Hormonsystem hat dabei eine herausragende koordinative Bedeutung für die Proteinsynthese (113). Einige Hormone besitzen anabole Effekte (z.B. Insulin, growth hormone, insulin-like growth factor-1, und Testosteron), während anderen eine rein katabole Wirkung zugeschrieben wird (Glucagon, Glucocorticoide, Katecholamine). Daneben existieren weitere Substanzen und Mediatoren, deren metabolische Rolle noch nicht derart klar definiert werden konnte (4, 118, 141).

Unbestritten sind für den menschlichen Organismus die anabolen Eigenschaften des Hormons Insulin. Die Regulation der Proteinsynthese findet dabei auf molekularer Ebene statt, genauer auf der der Gene. Insulin reguliert potent die Expression von mehr als 150 Genen (101). Bis heute ist jedoch nicht genau bekannt, ob Insulin im Postaggressionssyndrom in der Lage ist, die viszerale Proteinsynthese günstig zu beeinflussen. Wegen der speziellen metabolischen

Bedeutung wären dabei Auswirkungen auf die postoperative Albuminsyntheserate (und damit auf die Normalisierung der Hypoalbuminämie) von besonderer Wichtigkeit.

Diese Frage ist auch für die Effizienz der perioperativen Ernährungstherapie relevant. Ziel dieser Therapie ist es, den posttraumatischen Eiweißverlust zu reduzieren und anabole Stoffwechselfvorgänge zu unterstützen. Da postoperativ bei einer Vielzahl von Patienten (speziell nach abdominalchirurgischen Eingriffen) eine enterale Ernährung nicht im ausreichenden Ausmaß möglich ist, müssen für eine gewisse Zeit Substrate auf parenteralem Weg zugeführt werden. Die heutigen Dosierungsempfehlungen für die parenterale Kohlenhydratzufuhr beruhen auf dem Konzept einer maximalen Konservierung des Gesamtkörpereiwweißbestandes. In der Regel werden 60% der Nichteiwweißenergie als Kohlenhydrate zugeführt, wobei 4g/kg KG/Tag (2,8 mg/kg/min) als Obergrenze gelten. Die aktuell empfohlene Kohlenhydratdosis für Patienten im Postaggressionssyndrom beträgt 3,0 – 3,5 g pro Kilogramm pro Tag (2,1 – 2,4 mg/kg KG/min) (60, 74). Auch im Rahmen des Postaggressionssyndroms ist unter einer derartigen Kohlenhydratzufuhr eine gewisse Steigerung der Insulinverfügbarkeit zu beobachten. Es ist allerdings bis heute unklar, welchen selektiven Einfluss diese Glukosedosierung und die dadurch induzierte Insulinkonzentration auf den viszerale Eiweißstoffwechsel haben.

2. FRAGESTELLUNG

In der vorliegenden Arbeit sollen folgende Fragen untersucht werden:

1. Welchen Einfluss hat eine Leitlinien-gerechte, parenterale Kohlenhydratzufuhr bzw. die dadurch induzierte physiologische Hyperinsulinämie bei nichtdiabetischen Patienten auf die postoperative Albuminsyntheserate
2. Werden fraktionelle und absolute Albuminsyntheserate dabei unterschiedlich beeinflusst?

3. PATIENTEN UND METHODIK

3.1 PATIENTEN

Es wurden zwei vergleichbare Patientenkollektive untersucht. Eine Kontrollgruppe mit alleiniger Infusion einer Kochsalzlösung und eine Untersuchungsgruppe mit zusätzlicher Infusion einer 10%igen Glukoselösung. Diagnosen und Art des operativen Eingriffs sind zum Vergleich im Anhang in Tabelle 1 zusammengestellt.

3.2 VERGLEICHBARKEIT

Beide Patientengruppen (Kontrolle, n=6; Kohlenhydratinfusion, n=10) bestanden aus Patienten mit lokal begrenzten, kolorektalen Karzinomen, die sich einem großen elektiven abdominalchirurgischen Eingriffes mit kurativem Ansatz unterzogen.

3.2.1 präoperativ

Jeder Patient wurde im Hinblick seiner Anamnese, körperlichen Untersuchung und Routinelaborparameter sorgfältig voruntersucht. Dabei bestand speziell Vergleichbarkeit zwischen beiden Gruppen hinsichtlich Körpergröße, präoperativem Körpergewicht, und auch Body Mass Index (BMI) (siehe Tabelle 5). Keiner der untersuchten Patienten hatte präoperativ eine positive Anamnese hinsichtlich eines starken Gewichtsverlustes oder einer schweren Mangelernährung.

3.2.2 perioperativ

Das perioperative Management aller eingeschlossenen Patienten war in allen nachfolgenden Faktoren vergleichbar. Diese umfassten neben der präoperativ durchgeführten Art der Darmreinigung (orthograde Spülung durch oral verabreichte Koloskopielösungen) und einer perioperativ antibiotischen Prophylaxe auch die gewählte Anästhesieart. Letztere beinhaltete in allen Fällen eine bedarfsangepasste Anästhetikaapplikation über einen epiduralen Katheter bis zum fünften postoperativen Tag. Operationsdauer und – ausmaß, sowie der dabei erlittene Blutverlust und das durchgeführte Flüssigkeitsmanagement waren vergleichbar.

3.2.3 postoperativ

Alle Patienten wiesen einen unkomplizierten postoperativen Verlauf auf und zeigten zum Zeitpunkt der Studie weder Zeichen einer Organdysfunktion, noch einer lokalen oder systemischen Infektion. Der Untersuchungszeitpunkt wurde in der postoperativen Flussphase, also zu einem Zeitpunkt des größten anzunehmenden Ganzkörperproteinverlustes bei gleichzeitig minimaler Muskelproteinsynthese (Tag 8 bis Tag 10 postoperativ) durchgeführt (61,109). Klinische und laborchemische Untersuchungen ergaben zum Zeitpunkt der Untersuchungen keinen Hinweis auf eine systemische Infektion. Auch eventuell aufgetretene Volumenverschiebungen durch das chirurgische Trauma waren abgeklungen und die Flüssigkeitsbilanz war ausgeglichen. Alle Patienten befanden sich so in derselben Phase der postoperativen Rekonvaleszenz.

3.3 EINSCHLUSSKRITERIEN

Eingeschlossen wurden Patienten mit vorangegangenen kurativen kolorektalen Operationen bei kolorektalen Karzinomen (Dukes B), Der Eingriff durfte nicht länger als 10 Tage zurückliegen. Ebenso Voraussetzung war ein komplikationsloser peri- und postoperativer Verlauf.

3.4 AUSSCHLUSSKRITERIEN

Keiner der eingeschlossenen Patienten wies eine positive Anamnese oder laborchemische Veränderungen hinsichtlich begleitender Stoffwechselerkrankungen (Diabetes mellitus, Fettstoffwechselstörungen) oder anderer schwerer Begleiterkrankungen auf. So waren Patienten mit systemisch entzündlichen Erkrankungen oder Autoimmunerkrankungen wie z.B. Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa ausgeschlossen. Dasselbe galt sowohl für Störungen der Blutgerinnung, als auch für septische Komplikationen im postoperativen Verlauf. Eine präoperativ bestehende Mangelernährung wurde anhand klinischer Untersuchungen und durch ein stabiles Körpergewicht über mindestens zwei Beobachtungswochen ausgeschlossen. Neben den standardisierten ernährungsmedizinischen Untersuchungsmethoden (subjective global assessment) wurden als objektivierbare Parameter laborchemische Werte wie kleines

Blutbild, Thrombozyten, Quick, PTT, CRP, Blutzucker, Albuminkonzentration zum Ausschluss oben genannter Kriterien herangezogen. Alle erhobenen Werte befanden sich innerhalb des verwendeten Referenzbereiches des bestimmenden Labors.

3.5 AUFKLÄRUNG

Die Aufklärung der Patienten erfolgte in einem ausführlichen Gespräch. Dieses beinhaltete neben dem genauen Ablauf des Studienprotokolls auch den Hinweis auf mögliche Komplikationen und auf die Bedeutung klinischer Studien zur Erweiterung des medizinischen Wissens. Nach Gesprächsabschluss taten alle Patienten ihr Einverständnis durch eigenhändige und freiwillige Unterschrift kund. Das verwendete Studienprotokoll wurde zuvor als Teil eines übergeordneten DFG-Projekt (Intestinale Proteinsynthese Ha 1439/4-1) durch die zuständige Ethikkommission genehmigt (Protokollnummer: #134/97).

3.6 VERSUCHSABLAUF

Alle Probanden wurden während eines regulären stationären postoperativen Aufenthaltes in die Studie aufgenommen. Die Kalorienzufuhr betrug bis einschließlich des dritten postoperativen Tages $15 \text{ kcal}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{Tag}^{-1}$. Anschließend wurden die Kalorien bis zum Untersuchungstage mittels einer gemischten Diät angeboten. Diese enthielt etwa $25 \text{ kcal}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{Tag}^{-1}$, welche sich etwa zu zwei Drittel aus enteraler (flüssige Kost) und zu etwa einem Drittel aus parenteralen Substraten zusammensetzte.

Im Rahmen des Studienprotokolls befanden sich die untersuchten Individuen ab 22:00 Uhr des Vortags bis zum Ende der Studie am Studientag im nüchternen Zustand, wobei innerhalb dieses Zeitraumes das Trinken von Mineralwasser erlaubt war. Die Untersuchung der Albuminsynthese erfolgte mittels der sog. Stabile-Isotopen-Technik. Am Studientag wurde eine kontinuierliche Infusion von $0,16 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{Min}^{-1}$ $1\text{-}[^{13}\text{C}]$ - Leucin (Tracer Technologies, Sommerville, MA, USA; 99,3 atom % enrichment) um 7:00 Uhr morgens begonnen, wobei eine Bolusinjektion von $9,6 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ des verwendeten Tracers voranging. Die Infusionsdauer betrug insgesamt zehn Stunden bzw. 600 Minuten.

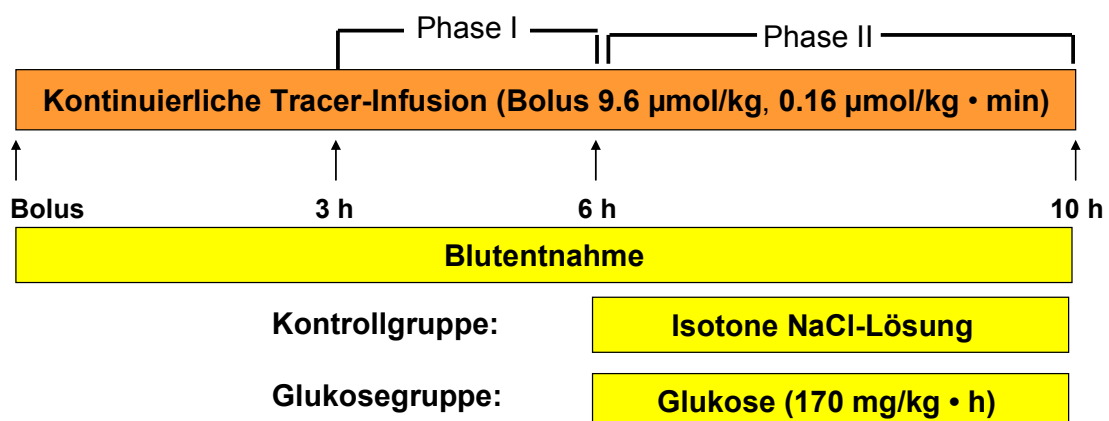
Vor Beginn der Isotopeninfusion wurde jedem untersuchten Patienten eine Blutprobe entnommen. Das nach Zentrifugation gewonnene Plasma diente zur Bestimmung der Hintergrundanreicherung des proteingebundenen Leucins und der Ketoisocapronsäure. Dem Studienprotokoll folgend wurden weitere Plasmaproben nach 180, 360 und 600 Minuten kontinuierlicher Isotopeninfusion zur Bestimmung der Isotopenanreicherung in Albumin und in der Ketoisocapronsäure entnommen. So ergaben sich zwei unterscheidbare Untersuchungsphasen. Phase I umfasste den Zeitraum zwischen 180 und 360 Minuten und Phase II denjenigen zwischen 360 und 600 Minuten (Abbildung 1).

Die in die Glukosegruppe eingeschlossenen Patienten erhielten in Phase II (zwischen Minute 360 und 600) eine kontinuierliche 10%ige Glukoseinfusion mit einer Laufrate von $170 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. In der Kontrollgruppe wurde im gleichen Zeitraum isotone Kochsalzlösung infundiert.

Abbildung 1: Studienaufbau

Studienaufbau

- Nüchtern ab 22 Uhr des Vortages
- Wasser + ungesüßter Tee erlaubt
- Tracer: $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Leuzin



3.7 ABGELEITETE ZIELGRÖßEN

a) Berechnung der fraktionellen Albuminsyntheserate (FSR) nach (137)

$$\text{FSR (\%/Tag)} = \frac{\text{Anstieg der Traceranreicherung im Albumin (Produktanreicherung)}}{\text{Durchschnittliches Tracer-Angebot (Präkursorpoolanreicherung)}}$$

Die Präkursorpoolanreicherung in der Leberzelle sollte idealerweise in der Leberzell-t-RNA bestimmt werden. Aus verschiedenen Publikationen geht jedoch hervor, dass die Bestimmung der Anreicherung in der Plasma-Ketoisocapronsäure (KIC) (dem Leucin-Abbauprodukt) als Ersatz für die Bestimmung der Anreicherung in der t-RNA der Leberzellen geeignet ist (3, 55, 124).

b) Berechnung der absoluten Albuminsyntheserate (ASR)

$$\text{ASR (mg/kg Tag)} = (\text{FSR} \times \text{Plasmavolumen} \times \text{Albuminkonzentration}) / \text{kg}$$

3.8 BESCHREIBUNG DER METHODIK ZUR BESTIMMUNG DER ALBUMIN-SYNTHESE RATEN

3.8.1 Material mit Bezugsquellen

Material und Bezugsquellen sind im Anhang in Tabelle 2 dargestellt.

3.8.2 Probenaufbereitung

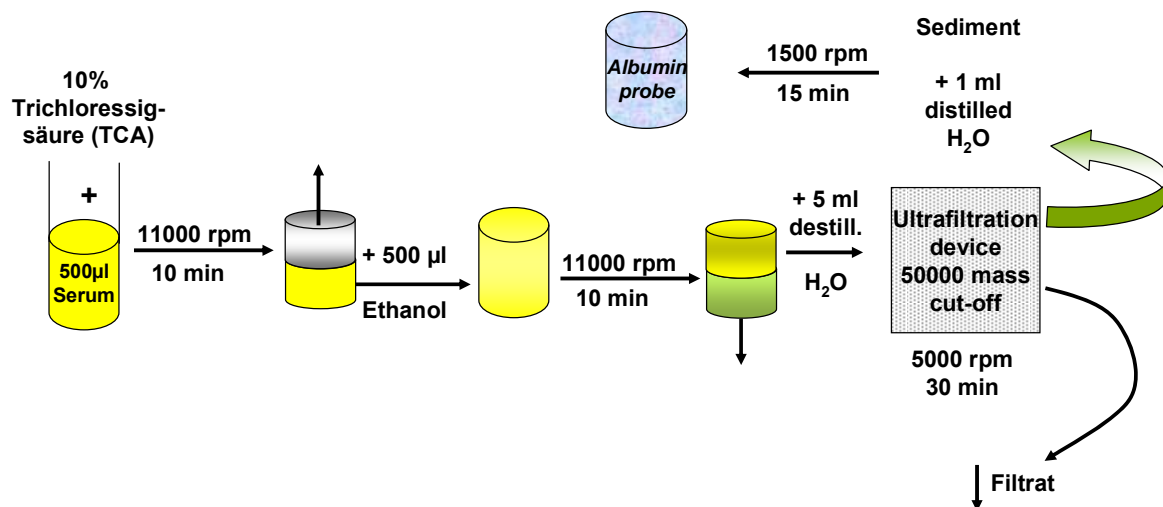
3.8.2.1 Albuminisolation

Die Methodik wurde bereits früher durch eine Mitarbeiterin der Arbeitsgruppe ausführlich erläutert (67). Ein zentraler Punkt dieser Arbeit war darüber hinaus die Isolation von Albumin aus Plasma in Reinform (67). Der erste Schritt um möglichst selektiv das Albumin aus dem Proteingemisch des Serums zu isolieren, war die Trichloressigsäurefällung mit anschließender Ethanolextraktion (Abbildung 2).

Abbildung 2: Albuminextraktion aus Plasma

Albuminisolation

a) Ethanolextraktion von Albumin aus Plasma



Dafür wurde die Proteinfraction der Serumproben (500 µl) dem modifizierten Verfahren nach Cohn folgend (21), also durch Versetzen der zu untersuchenden Serumprobe mit Trichloressigsäure (10%) bei 4°C im Verhältnis 1:1 gefällt. Zentrifugieren bei 11.000 rpm. Dabei resultieren zwei Phasen; Überstand und Sediment, wobei Ersteres verworfen und Letzteres in kaltem reinem Ethanol resuspendiert und erneut 10 Minuten lang bei 11.000 rpm zentrifugiert wurde. Darauf wurde die flüssige Phase gewonnen und in einer mit 5 ml aqua dest. befüllten Filtereinheit der Ausschussgröße von 50.000 Dalton bei 5.000 rpm durchschnittlich 30 Minuten zentrifugiert. Dieser Schritt eliminierte den Alkohol aus der Probe, die sich in Form eines Niederschlages auf der Filtereinheit wiederfand. Dieser wurde zurückgewonnen, indem der Filter umgedreht auf ein passendes leeres Gefäß gegeben wurde, 1000 µl Wasser auf der nun oben liegenden Filterseite zugegeben wurden und 15 Minuten lang bei 1.500 rpm zentrifugiert wurde.

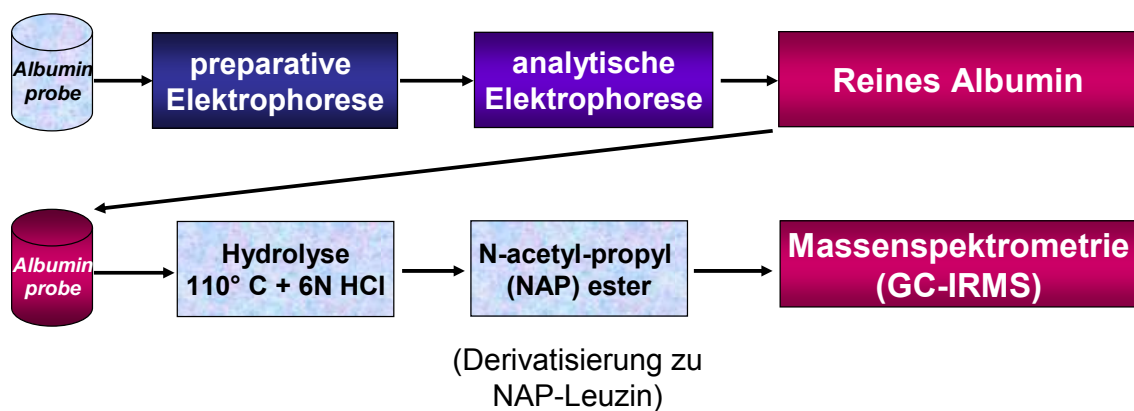
Daran schloss sich nach unserer modifizierten Methodik die Gewinnung hochreinen Albumins mittels präparativer SDS-PAGE an. Die Notwendigkeit dieses Zwischenschrittes

ergibt sich aus dem in dieser Arbeit geführten Beweis einer relevanten, nicht durch einmalige Elektrophorese zu verhindernder Verunreinigung der Proteinfraction (67). Das angewendete Prinzip ist es, die Proteine nach Molekülgröße getrennt in Fraktionen aufzuteilen, wodurch das Albumin selektiv, also rein aufzufinden war. Dieses wurde dann in seine Aminosäuren aufgespalten, wobei die Traceraminosäure Leucin freigesetzt wurde und so nach weiterer Derivatisierung massenspektrometrisch analysiert werden konnte (Abbildung 3).

Abbildung 3: Albuminpurifikation, Isolation der Tracer-Aminosäure, und Vorbereitung für die massenspektrometrische Analyse

Albuminisolation

b) Albuminpurifikation und Aufbereitung für die Messung der Anreicherung



Nach Gießen und Auspolymerisierung beider Elektrophoresegele (Trenngel in Laufrichtung nach Sammelgel; Zusammensetzung siehe Anhang 7.2) auf einer speziellen Polymerisationsplatte wurden diese in die endgültige Apparatur eingebaut. Die beiden Puffer (Zusammensetzung siehe Anhang 7.2) wurden in die entsprechenden Kammern gegeben, das 1:1 verdünnte Proben-Probenpuffergemisch (Zusammensetzung siehe Anhang 7.2) aufgetragen und die Zirkulation der Puffersysteme, sowie der Stromkreis geschlossen. Die Fließgeschwindigkeit des Elutionspuffers betrug 1ml/min, die Stromstärke zu Beginn 40 mA,

dann nach erstem Erscheinen des Bromphenolblaus in den aufgefangenen Eluaten 80 mA. Mit dem Erscheinen des Bromphenolblaus wurden 100 Proben von je 1,5 ml aufgefangen.

Mittels der als Standard etablierten, anschließenden analytischen vertikalen Elektrophorese wurde jede fünfte dieser gewonnenen 100 Fraktionen auf die enthaltenen Proteine (und deren Reinheit) untersucht. Hierzu wurden wiederum Sammel- und Trenngele (Zusammensetzung siehe Anhang 7.2) auf einer Polymerisationsplatte gegossen und nach abgeschlossener Polymerisation in die Apparatur für die analytische Elektrophorese montiert. Darauf folgte die Befüllung der Pufferkammer mit Elektrodenpuffer. Jede fünfte der aus der präparativen Elektrophorese gewonnenen Probe wurde mit Probenpuffer 1:1 gemischt und auf die Gele aufgetragen. Hier wurde konstant die Stromstärke von 50 mA gewählt. Die entstandenen Proteinbanden auf den Gelplatten wurden fixiert, anfärbt und konserviert (Zusammensetzung der Lösungen siehe Anhang 7.2).

Die auf diese Weise identifizierten, albuminhaltigen Proben wurden mittels Filtereinheiten mit Ausschussgröße 50.000 Dalton bei 6.000 rpm bis zur Trockenheit des Niederschlages zentrifugiert. Dieser, und damit das Albumin, wurden wiedergewonnen, indem die damit beladene Seite des Filters gleichsam ausgewaschen wurde. Dazu wurde die Filtereinheit umgekehrt auf ein dafür vorgesehenes leeres Gefäß gesetzt, mit 1000 µl Wasser auf der anderen, nun oben liegenden Filterseite, bestückt und bei 1500 Umdrehungen pro Minute 15 Minuten lang zentrifugiert. Die Albuminlösung wurde im Speedvac getrocknet und 48 Stunden in 6 N Salzsäure bei 110°C hydrolysiert, um ein Aminosäuregemisch zu erhalten.

3.8.2.2 Leucin-Derivatisierung

Zur Trennung und Analyse des zuvor in Albumin enthaltenen Leucins benutzen wir die Gaschromatographie-Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (GC-IRMS). Unabdingbare Voraussetzung hierfür ist die Herstellung volatiler Substanzen.

Dazu wurden 1 ml 8N HCl-Propanol, 20 µl 2,2-Dimethoxypropan zur jeweiligen Probe pipetiert. Diese Lösung wurde für 20 Minuten auf 110°C erhitzt. Daran schloss sich eine Trocknung unter Stickstoffatmosphäre an, die nach Zugabe von Propanol/Benzol wiederholt wurde. Daraufhin folgte der Zusatz von 1,5 ml einer frisch hergestellten Aceton-, Triethylamin-, Essigsäureanhydrid-Mischung und erneutes Erhitzen auf diesmal 60°C. Die

wiederum unter Stickstoffatmosphäre getrockneten Proben wurden mit 1 ml gesättigter Kochsalzlösung und 2 ml Ethylacetat ausgeschüttelt und die organische Phase bei Raumtemperatur unter Stickstoff getrocknet. Für die GC-IRMS-Messung wurden die Derivate in Ethylacetat gelöst.

3.8.2.3 Ketoisocapronsäure-Derivatisierung

Zur Trennung und Analyse der in Plasma enthaltenen KIC benutzten wir die Gaschromatographie- Massenspektrometrie (GCMS). Um KIC gaschromatographisch trennen zu können, muss auch die α -Ketocarbonsäure verdampfbar gemacht werden. Wir benutzten dazu die Methode nach Ford (39, 116).

Analog dem zweiten Schritt der Albuminisolation wurden 0,1 ml Serum mit 1,0 ml absolutem Alkohol gefällt, zentrifugiert und der Überstand unter Stickstoff getrocknet. Der Rückstand wurde in 0,2 ml Wasser gelöst und mit 0,1 ml einer frisch hergestellten o-Phenylendiamin-Lösung (2% in 4M HCl) eine Stunde lang bei 90°C umgesetzt. Die Lösung wurde zweimal mit 1 ml Ethylacetat ausgeschüttelt und die vereinigten Extrakte über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach trocknen unter Stickstoff wurde der Rückstand in 0,1 ml Pyridin gelöst und mit 0,1 ml BSTFA+1%TMCS 30 Minuten lang bei 120°C umgesetzt. Kurz vor der Messung wurde das überschüssige Reagenz bei Raumtemperatur unter Stickstoff abgedampft und der Rückstand in 50 μ l wasserfreiem n-Dekan, das 5% BSTFA enthält, gelöst und 5 μ l dieser Lösung in den Gaschromatographen eingespritzt. Für die Eichgerade verwendeten wir 100 μ l Lösungsmittel und injizierten 1 μ l.

3.8.3 Massenspektrometrische Analysen

3.8.3.1 Durchführung der Gaschromatographie-Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (GC-IRMS)

Das GC-IRMS stellt ein System dar, bei dem Gaschromatograph zur Separation der Tracer-Aminosäure, eine Verbrennungskammer zur Erzeugung des zugehörigen $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Gasgemisches aus dem verbrannten Aminosäuregemisch und ein Isotopenverhältnis-Massenspektrometer zur Bestimmung des $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses aneinander gekoppelt sind .

Vor Beginn der GC-IRMS Analyse muss das Aminosäuregemisch von der wasserlöslichen in eine volatile Form übergeführt werden. Dazu ist oben beschriebene Derivatisierung notwendig (2). Die volatilen Aminosäuren wurden in das GC-IRMS injiziert und dort mittels eines Temperaturgradienten aufgetrennt. Als Trägergas dient Helium (He). Nach Durchlaufen der Kapillarsäule wird das Helium-Trägergas mit dem Leucin bei 800°C mittels Kupferoxydgranulat (CuO) als Katalysator zu Kohlendioxyd und Wasser verbrannt. Das Kohlendioxydgemisch gelangt nun in das Massenspektrometer. Zusätzlich ist noch ein Referenzgas notwendig, da nur der Vergleich des Isotopenverhältnisses $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ der Probe mit dem Isotopenverhältnis in einem Referenzgas aussagekräftige Werte ergibt. Für unsere Untersuchungen verwendeten wir das Pee Dee Belemnate limestone (PDB) Eichgas mit einem Isotopenverhältnis von 0,011. Durch Elektronenbeschuss werden die Moleküle ionisiert und letztlich ihre Häufigkeit im Analysesegment registriert. Es wurden die Massen 45 ($^{13}\text{CO}_2$) und 44 ($^{12}\text{CO}_2$) registriert (67).

3.8.3.2 Durchführung der Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS)

Zur Bestimmung der KIC-Anreicherung wurde ein mit einem Gaschromatographen gekoppeltes Massenspektrometer verwendet. Nach Elektronenstoß-Ionisation waren die Massenspektren geeignet, die Anreicherungen zu messen. Wir bestimmten die Massen 259 und 260.

Die GC-MS-Anlage besteht aus einer Kopplung eines Gaschromatographen mit einem Massenspektrometer, ähnlich wie beim GC-IRMS. Auch für das GC-MS ist es erforderlich, die zu untersuchenden Substanzen zuvor zu derivatisieren, so dass sie volatil werden. Zusätzlich müssen sie hitzestabil sein und sich chemisch inert verhalten.

Nach abgeschlossener Derivatisierung (siehe oben) wird die Probe ebenfalls mit einem Helium- Trägergas in das GC-MS injiziert und verdampft. Die Auftrennung erfolgt wiederum mittels eines Temperaturgradienten. Die darauf folgende Ionenstoß-Ionosierung erlaubt die nachfolgende massenspektrometrische Messung. Bei allen Analysen wurden KIC-Standardkurven gemessen, um die Linearität in diesem Messbereich zu prüfen und die Isotopomerenverhältnisse in mole percent excess (MPE) umrechnen zu können (67).

3.9 BERECHNUNG DER FRAKTIONELLEN ALBUMINSYNTHESEERATEN (FSR)

Zur Berechnung der fraktionellen Proteinsyntheserate in metabolischen steady state ist es erforderlich, das Tracer/Tracee-Verhältnis des proteingebundenen L-[1-¹³C]-Leucins (z_{Prot}) und das Tracer/Tracee-Verhältnis des Präkursors, in unserem Fall der Ketoisocapronsäure (z_{KIC}) als anerkannten Indikator dafür zu ermitteln (3, 67,137).

Die Delta-Anreicherungen des proteingebundenen 1-¹³C-Leucins innerhalb des Albumins wurde mittels eines korrigierten Isotopenverhältnis von ¹³C zu ¹²C (¹³C/¹²C) bestimmt. Die GC-IRMS Analysen ergaben $\Delta^{13}\text{C}$ -Werte, welche in ein Isotopenverhältnis (¹³C/¹²C) durch folgende Formel umgeformt werden können.

$$^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = (\Delta^{13}\text{C}/(1000+1)) + 0,011 \quad <1>$$

Der Wert 0,011 entspricht dem Isotopenverhältnis ¹³C/¹²C des von uns verwendeten Pee Dee Belemnate limestone (PDB) Eichgases.

Das Tracer/Tracee-Verhältnis des proteingebundenen 1-¹³C-Leucins (z_{Prot}) kann aus dem durch GC-IRMS gemessenen Isotopenverhältnis (¹³C/¹²C) abgeleitet werden, wobei z_{Prot} aus der Differenz zwischen dem Isotopenverhältnis in der Probe (¹³C/¹²C)_P und dem Isotopenverhältnis im nicht markierten Hintergrund (¹³C/¹²C)_H berechnet werden kann, wenn diese Differenz ($R_{\text{NAP-Leucin}}$ genannt)

$$R_{\text{NAP-Leucin}} = (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{P}} - (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{H}} \quad <2>$$

mit einem Korrekturfaktor c multipliziert wird. Dieser Korrekturfaktor berücksichtigt die artifizielle Verminderung der Anreicherung des markierten NAP-Leucinmoleküls durch unmarkierten Kohlenstoff durch die Derivatisierung für die Gaschromatographie und die anschließende Verbrennung (55).

z_{Prot} kann durch $R_{\text{NAP-Leucin}}$ anhand folgender Formel berechnet werden:

$$z_{\text{Prot}} = c \cdot R_{\text{NAP-Leucin}} / (1 + [1-c] \cdot R_{\text{NAP-Leucin}}) \quad <3>$$

Hierbei entspricht der Korrekturfaktor dem Wert 10,02 (55). Mittels z_{Prot} kann nun die fraktionelle Proteinsyntheserate, bei bekannter Präkursorpool-Anreicherung, z_{KIC} , berechnet werden. Anhand der GC-MS Messung berechnet sich die Präkursorpool-Anreicherung aus der Differenz zwischen dem Isotopomerenverhältnis der Probe $(M+1/M)_P$ nach Isotopeninfusion und dem Isotopenverhältnis im nicht markierten Hintergrund $(M+1/M)_H$ wie folgt:

$$z_{\text{KIC}} = (M+1/M)_P - (M+1/M)_H \quad <4>$$

Hieraus ergibt sich für die fraktionelle Proteinsyntheserate FSR:

$$\text{FSR} = \frac{z_{\text{Prot}(t_{i+1})} - z_{\text{Prot}(t_i)}}{[z_{\text{KIC}(t_i)} + z_{\text{KIC}(t_{i+1})}]/2} \cdot \frac{1}{\Delta t} \cdot 60 \cdot 100 \quad (\%/h) \quad <5>$$

$z_{\text{Prot}}(t_i)$ und $z_{\text{Prot}}(t_{i+1})$ entsprechen dem Tracer/Tracee-Verhältnis des proteingebundenen Leucin in zwei zeitlich aufeinander folgenden Proben (i und $i+1$), die innerhalb eines Zeitintervalls Δt gewonnen wurden. $z_{\text{KIC}}(t_i)$ und $z_{\text{KIC}}(t_{i+1})$ repräsentieren das Tracer/Tracee-Verhältnis im Präkursorpool für die Albuminsynthese in zwei aufeinander folgenden Proben. Der Faktor 6000 ist erforderlich, um die Proteinsynthese in Stunden anzugeben und in % auszudrücken.

3.10 MESSUNG DER ALBUMINKONZENTRATIONEN

Die Messung der Albuminkonzentration erfolgte photometrisch nach der Umsetzung mit Albuminreagenz (BCG) gegen Standardsubstanz für die Einstellung der Proteinkonzentration für die Elektrophorese, oder mittels Brom Cresol Grün als Routinemethode der Klinischen Chemie für die Bestimmung der Albuminkonzentration im Plasma der Patienten (62).

3.11 BERECHNUNG DER ABSOLUTEN ALBUMINSYNTHESERATEN (ASR)

Die absolute Syntheserate (ASR), also die totale Menge die pro Stunde synthetisiert wurde (mg/kg h). Die Berechnung erfolgte, indem die FSR mit der intravaskulären Albuminmasse multipliziert und normalisiert für das Körpergewicht wurde. Die intravaskuläre Albuminmasse wurde mittels der Plasmaalbuminkonzentration und dem Plasmavolumen, das von Geschlecht, Alter und Gewicht abhängig ist, anhand eines Normogrammes abgelesen (23).

3.12 MESSUNG DER GLUKOSEKONZENTRATIONEN

Blutzuckerkonzentration wurde mittels einer standardisierten photometrischen Bestimmung aus Blutproben ermittelt, die zu den Zeitpunkten 0, 180, 360 und 600 Minuten nach Beginn der Tracerinfusion entnommen wurden (Beckman Glucose Analyzer; Beckman, Palo Alto, CA).

3.13 MESSUNG DER INSULINKONZENTRATIONEN

Ebenso wurde aus den Proben zu den Zeitpunkten 0, 180, 360 und 600 Minuten nach Beginn der Tracerinfusion die entsprechende Insulinkonzentration des Serums durch ein Radio-Immun-Essay bestimmt (59).

3.14 STATISTIK

Die Ergebnisse werden als Mittelwerte \pm SEM angegeben und wurden mittels gepaarter und ungepaarter t-Tests verglichen. Bei multiplen Vergleichen innerhalb einer Gruppe benutzen wir Dunnet's t-Test. Ein signifikanter Unterschied bzw. eine signifikante Korrelation wurde bei $p < 0,05$ angenommen.

4. ERGEBNISSE

4.1 ANREICHERUNG IM PRÄKUSORPOOL (KETOISOCAPRONSÄURE-ANREICHERUNG)

4.1.1 Isotopomerenverhältnisse (M+1/M)

4.1.1.1 Isotopomerenverhältnisse im Präkusorpool der Kontrollgruppe

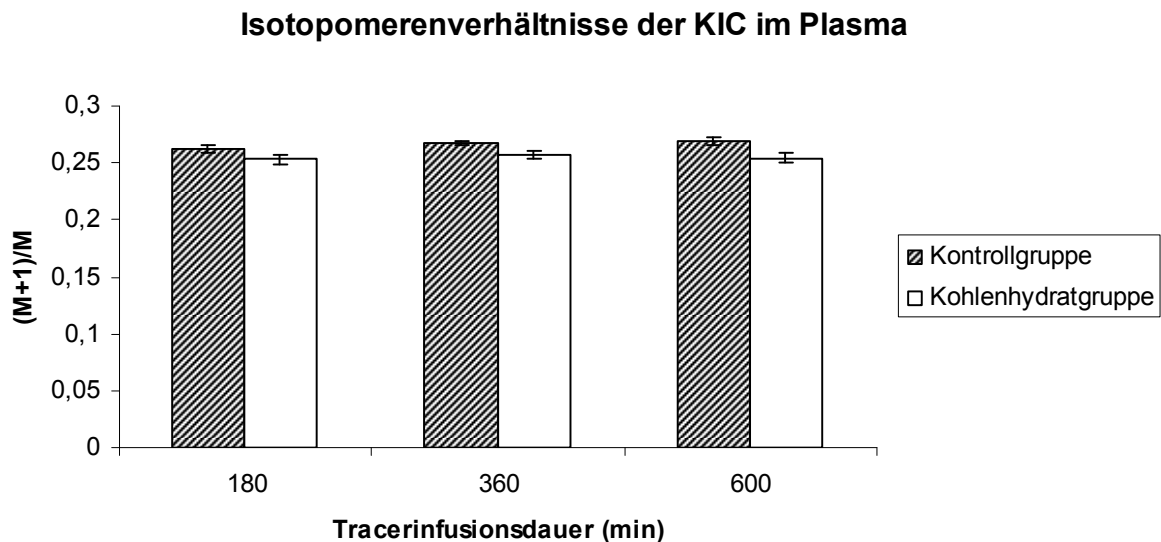
Es wurden die Werte der Patienten (n=6), die über den Zeitraum von zehn Stunden gemessen wurden berechnet. In der Gruppe der Kontrollgruppe betragen die Isotopomerenverhältnisse nach 180, 360 und 600 Minuten Tracer- Infusion durchschnittlich $0,2622 \pm 0,0028$; $0,2674 \pm 0,0015$; $0,2697 \pm 0,0034$. Es ist ein leichter Anstieg der Anreicherung zu beobachten. Deshalb führten wir t-Tests bei gepaarten Stichproben durch. Die Anstiege waren von Minute 180 zu Minute 360 (Phase I) mit einem p-Wert von 0,029 signifikant und von Minute 360 zu Minute 600 (Phase II) mit einem p-Wert von 0,39 nicht signifikant. Insgesamt war auch der Anstieg in der Anreicherung von Minute 180 zu Minute 600 mit einem p-Wert von 0,015 signifikant. Da der Anstieg allerdings nur 2,86% des Ausgangswertes betrug, nahmen wir für die Berechnung der fraktionellen Syntheserate des Albumins einen steady state an.

4.1.1.2 Isotopomerenverhältnisse im Präkusorpool der Kohlenhydratgruppe

Es wurden die Werte der Patienten (n=10), die über den Zeitraum von zehn Stunden gemessen wurden in die Berechnung eingeschlossen. In der Kohlenhydratgruppe betragen die Isotopomerenverhältnisse nach 180, 360 und 600 Minuten Tracer-Infusion durchschnittlich $0,2530 \pm 0,0037$; $0,2569 \pm 0,0038$ und $0,2543 \pm 0,0046$. Es ist kein kontinuierlicher Anstieg der Anreicherung zu beobachten. Wieder wurden t-Tests bei gepaarten Stichproben durchgeführt. Die p-Werte betragen für den Vergleich zwischen Zeitpunkt 180 min vs 360 min 0,21, zwischen Zeitpunkt 360 min vs 600 min II 0,35, und zwischen Minute 180 mit Minute 600 0,72. Somit unterschieden sich die gemessenen Werte der Isotopomerenverhältnisse zwischen benachbarten Messpunkten nicht signifikant voneinander und wir konnten auch in dieser Gruppe für die Berechnung der fraktionellen Albuminsyntheserate von einem steady state ausgehen.

Es fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollpatienten und Patienten mit Kohlenhydratinfusion.

Abbildung 4: Isotopomerenverhältnisse der Ketoisokapronsäure (KIC). Die Isotopomerenverhältnisse besitzen keine Einheit



4.1.2 Tracer/Tracee-Verhältnisse

Nach Subtraktion des Pre-Wertes der KIC-Anreicherung (Blut-Entnahmezeitpunkt vor Tracerinfusion) von jedem ermittelten Probenwert ergaben sich die Tracer/Tracee-Verhältnisse (z_{KIC}), die zur Berechnung der fraktionellen Albuminsynthese benötigt wurden. Siehe 3.9

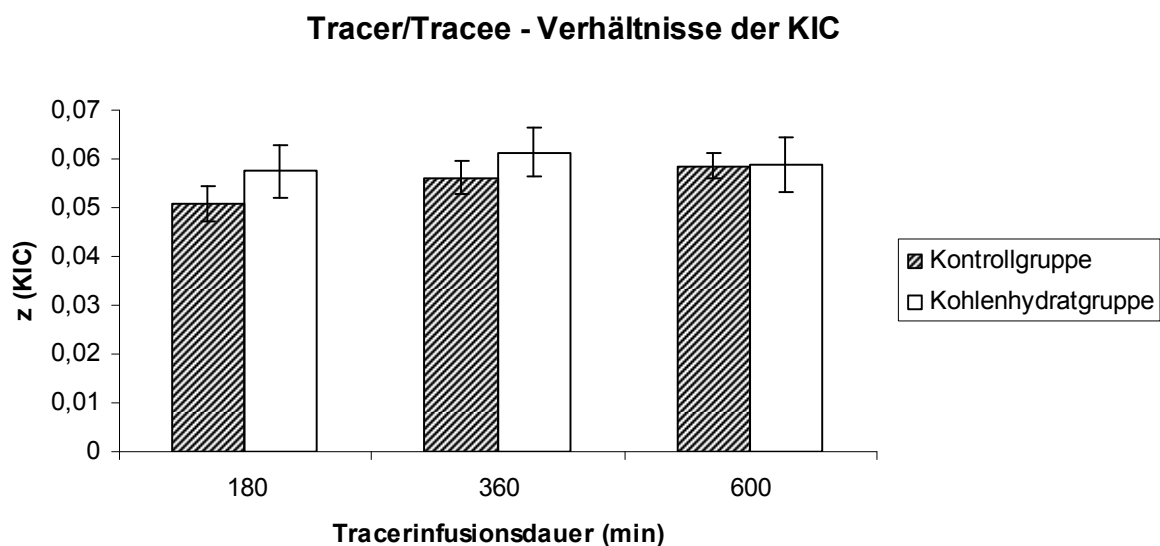
4.1.2.1 Tracer/Tracee-Verhältnisse in der Kontrollgruppe

In der Gruppe der Kontrollen (n=6) betragen die Tracer/Tracee – Verhältnisse nach 180, 360 und 600 Minuten Tracer – Infusion durchschnittlich $0,0510 \pm 0,0036$; $0,0562 \pm 0,0035$ und $0,0585 \pm 0,0026$.

4.1.2.2 Tracer/Tracee-Verhältnisse in der Kohlenhydratgruppe

In der Kohlenhydratgruppe (n=10) betragen die Tracer/Tracee – Verhältnisse nach 180, 360 und 600 Minuten durchschnittlich $0,0575 \pm 0,0054$; $0,0614 \pm 0,0050$ und $0,0588 \pm 0,0056$. Die wiederum in beiden Gruppen durchgeführten t – Tests ergaben ähnliche p-Werte wie die unter 4.1.1.1 bzw. 4.1.1.2 aufgeführten p-Werte für die entsprechenden Isotopomeren-verhältnisse. Es fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen Kontrollpatienten und Patienten mit Kohlenhydratinfusion.

Abbildung 5: Tracer/Tracee-Verhältnisse der Ketoisocapronsäure (KIC) in der Kontroll- und in der Kohlenhydratgruppe



4.2 ALBUMINANREICHERUNG

Nach Umrechnung der Delta-Anreicherungen des Albumins, wie unter 3.9 beschrieben, ergaben sich die Tracer/Tracee – Verhältnisse für das albumingebundene Leucin (z_{Prot}).

4.2.1 Anreicherung des albumingebundenen Leucins in der Kontrollgruppe

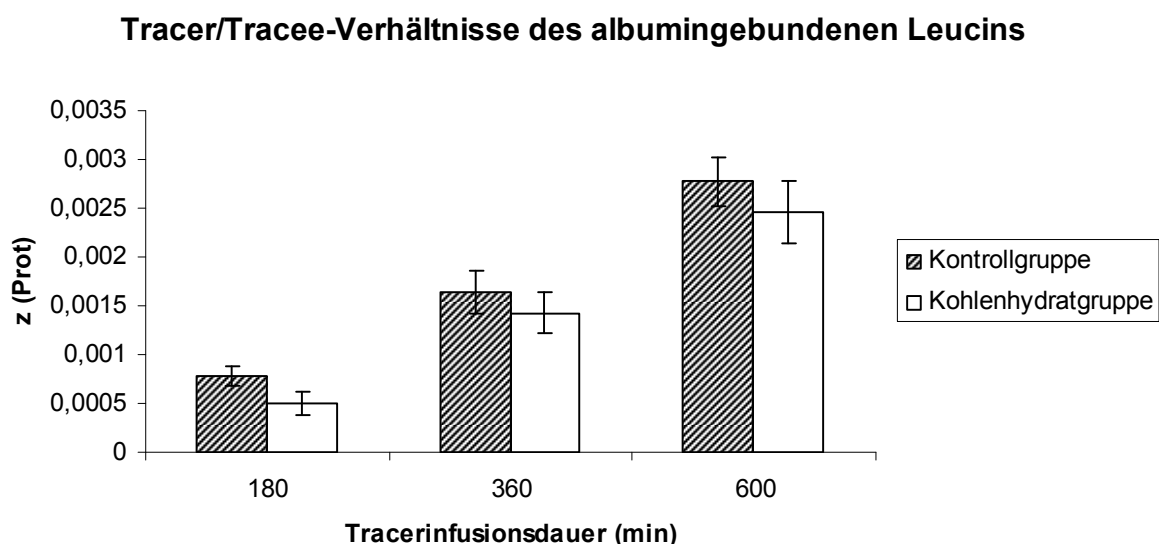
In der Gruppe der Kontrolle (n=6) betragen die Tracer/Tracee – Verhältnisse (z_{Prot}) für das albumingebundene Leucin nach 180, 360 und 600 Minuten durchschnittlich $0,7795 \cdot 10^{-3} \pm 0,0943 \cdot 10^{-3}$; $1,6358 \cdot 10^{-3} \pm 0,2225 \cdot 10^{-3}$ und $2,7701 \cdot 10^{-3} \pm 0,2544 \cdot 10^{-3}$. Die für diese Werte

durchgeführten t-Tests bei gepaarten Stichproben ergaben sowohl für die Vergleiche zwischen Zeitpunkt 180 min und 360 min, 360 min und 600 min, als auch für die Zeitspanne zwischen 180 und 600 Minuten p-Werte von $p < 0,05$. Die Unterschiede waren somit signifikant.

4.2.2 Anreicherung des albumingebundenen Leucins in der Kohlenhydratgruppe

In der Gruppe der Kohlenhydrate ($n=10$) betragen die Tracer/Tracee-Verhältnisse des albumingebundenen Leucins (z_{Prot}) nach 180, 360 und 600 Minuten durchschnittlich $0,4985 \cdot 10^{-3} \pm 0,1142 \cdot 10^{-3}$; $1,4223 \cdot 10^{-3} \pm 0,2117 \cdot 10^{-3}$ und $2,4654 \cdot 10^{-3} \pm 0,3170 \cdot 10^{-3}$. Die für diese Werte durchgeführten t- Tests bei gepaarten Stichproben ergaben sowohl für Vergleiche zwischen Zeitpunkt 180 min und 360 min, 360 min und 600 min, als auch für die Zeitspanne zwischen 180 und 600 Minuten p-Werte von $p < 0,05$. Die Unterschiede waren damit ebenfalls signifikant. Der Anstieg war für beide Gruppen somit signifikant bezüglich der Untersuchungszeit, es bestand jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

Abbildung 6: Tracer/Tracee – Verhältnisse des albumingebundenen Leucins in der Kontroll- und in der Kohlenhydratgruppe



4.3 FRAKTIONELLE ALBUMINSYNTHESERATEN (FSR)

Anhand der zuvor durch Berechnung gewonnenen Daten für Tracer/Tracee – Verhältnisse im Präkusorpool (z_{KIC}) und des im albumingebundenen Leucins (z_{Prot}) konnte mit Hilfe der unter 3.9 beschriebenen Formeln die fraktionellen Syntheseraten des Albumins sowohl für Phase I, Zeitraum von 180 bis 360 Minuten nach Beginn der Isotopeninfusion, und Phase II, Zeitraum von 360 bis 600 Minuten nach Infusionsbeginn, bestimmt werden.

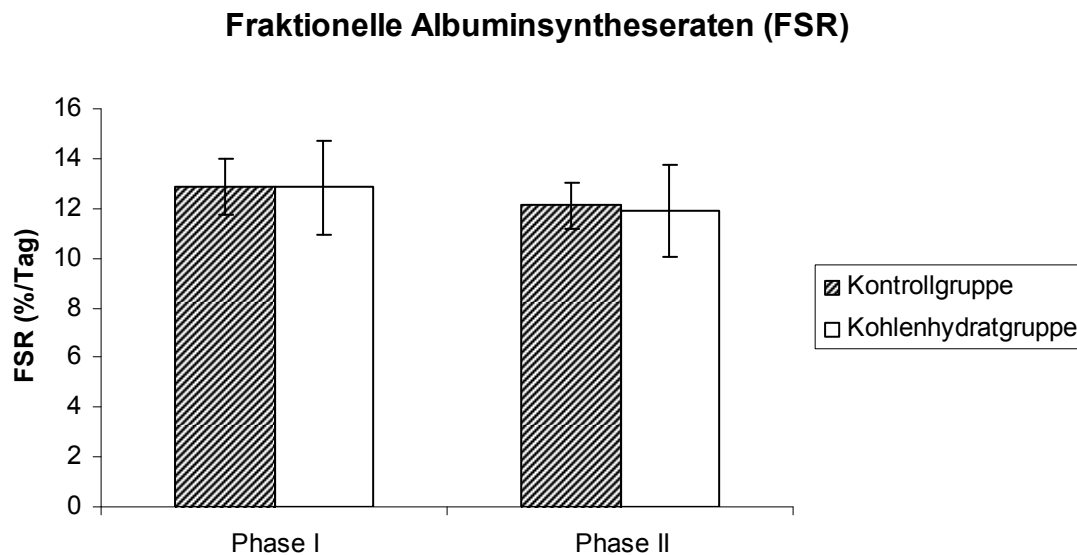
4.3.1 Fraktionelle Albuminsyntheseraten in der Kontrollgruppe

Für die Gruppe der Kontrolle ($n=6$) betrug die fraktionelle Albuminsyntheserate in diesen Phasen I bzw. II durchschnittlich $12,86 \pm 1,16$ %/Tag bzw. $12,11 \pm 0,90$ %/Tag. Der Unterschied in der fraktionellen Albuminsyntheserate zwischen Phase I und II ist mit einem p-Wert von 0,72 nicht signifikant.

4.3.2 Fraktionelle Albuminsyntheseraten in der Kohlenhydratgruppe

Für die Kohlenhydratgruppe ($n=10$) betrug die fraktionelle Albuminsyntheserate in Phasen I und II durchschnittlich $12,84 \pm 1,88$ %/Tag und $11,91 \pm 1,87$ %/Tag. Auch in dieser Gruppe ist der Unterschied zwischen Phase I und II mit einem p-Wert von 0,55 nicht signifikant. Die fraktionellen Albuminsyntheseraten in der Kontroll- und der Kohlenhydratgruppe unterschieden sich im Vergleich nicht signifikant (p-Wert von 0,99 in Phase I, p-Wert von 0,94 in Phase II).

Abbildung 7: Fraktionelle Albuminsyntheseraten (FSR) in der Kontroll- und in der Kohlenhydrat-Gruppe in Phase I (Basalperiode) und Phase II (Experimentalperiode) des Untersuchungsprotokolls



4.4 PLASMAALBUMINKONZENTRATION

Wie in der Charakteristik der untersuchten Patienten beschrieben waren alle Patienten am Untersuchungstag nüchtern. Die Plasmaalbumin-Werte betragen am Morgen des Untersuchungstags in der Kontrollgruppe $3,6 \pm 0,3$ mg/dl und in der Gruppe mit Kohlenhydratinfusion $3,7 \pm 0,2$ mg/dl. Somit waren die Plasmaalbumin-Konzentrationen der beiden Untersuchungsgruppen miteinander vergleichbar. Eine relevante Veränderung der Plasmaalbumin-Konzentration während des Untersuchungszeitraumes wurde nicht beobachtet.

4.5 ABSOLUTE ALBUMINSYNTHESEERATEN (ASR)

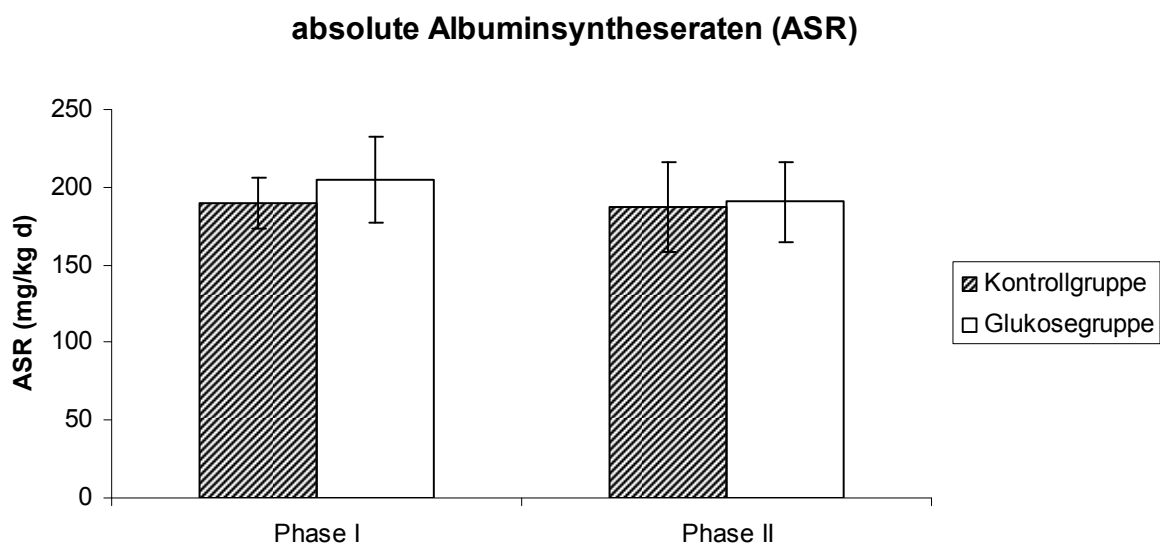
4.5.1 Absolute Albuminsyntheseraten in der Kontrollgruppe

Für die Kontrollgruppe (n=6) betrug die absolute Albuminsyntheserate in den Phasen I bzw. II durchschnittlich $189,72 \pm 16,72 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Tag}^{-1}$ bzw. $187,51 \pm 28,99 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Tag}^{-1}$. Der Unterschied in der fraktionellen Albuminsyntheserate zwischen Phase I und II war mit einem $p > 0,05$ nicht signifikant ($p = 0,949$).

4.5.2 Absolute Albuminsyntheseraten in der Kohlenhydratgruppe

Für die Kohlenhydratgruppe (n=10) betrug die absolute Albuminsyntheserate in den Phasen I und II durchschnittlich $204,67 \pm 28,11 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Tag}^{-1}$ bzw. $190,44 \pm 25,53 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Tag}^{-1}$. Auch in dieser Gruppe war der Unterschied zwischen Phase I und II nicht signifikant ($p = 0,580$). Die absoluten Albuminsyntheseraten in der Kontroll- und in der Kohlenhydratgruppe unterschieden sich im Vergleich ebenfalls nicht signifikant voneinander ($p = 0,72$ für Phase I und $p = 0,95$ für Phase II).

Abbildung 8: Absolute Albuminsyntheseraten (ASR) in der Kontroll- und der Kohlenhydratgruppe in Phase I (Basalperiode) und Phase II (Experimentalperiode) des Untersuchungsprotokolls



4.6 PLASMAGLUKOSEKONZENTRATIONEN

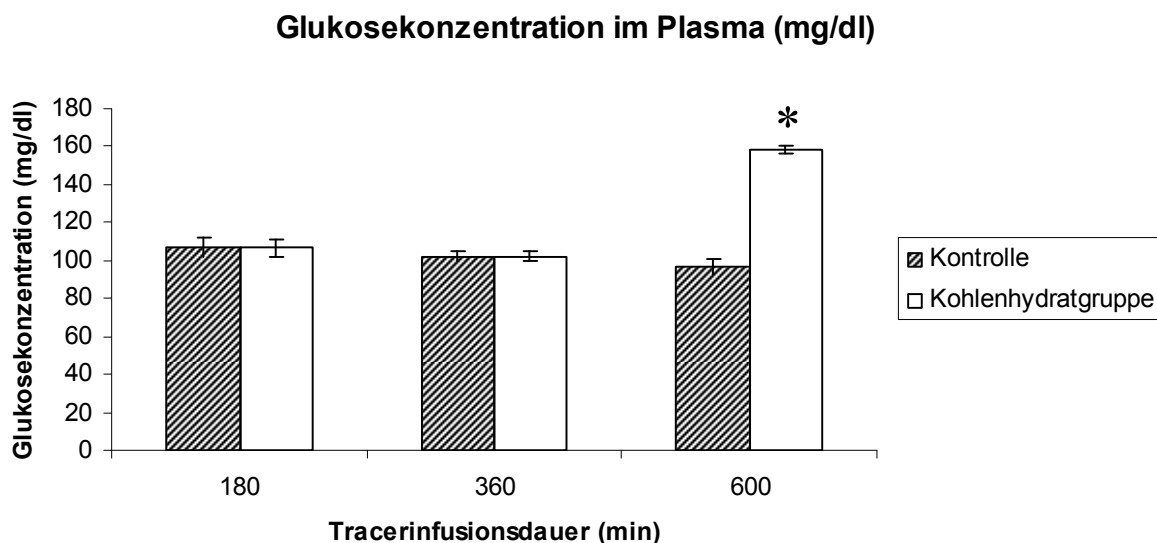
4.6.1 Plasmaglukosekonzentrationen in der Kontrollgruppe

In der Kontrollgruppe (n=6) betragen die Plasmaglukosekonzentrationen nach 180, 360 und 600 Minuten durchschnittlich $106,67 \pm 2,68$ mg/dl, $102,33 \pm 3,63$ mg/dl und $96,67 \pm 3,23$ mg/dl. Die für diese Werte durchgeführten t- Tests bei gepaarten Stichproben ergaben sowohl für den Vergleich Zeitpunkt 180 min vs 360 min ($p = 0,48$) und 360 min vs 600 min ($p = 0,14$), als auch für 180 min vs 600 min ($p = 0,09$) keine signifikanten Unterschiede.

4.6.2 Plasmaglukosekonzentrationen der Kohlenhydratgruppe

In der Kohlenhydratgruppe (n=10) betragen die Plasmaglukosekonzentrationen nach 180, 360 und 600 Minuten durchschnittlich $106,6 \pm 2,93$ mg/dl; $102,2 \pm 2,13$ mg/dl und $158,0 \pm 3,84$ mg/dl. Die für diese Werte durchgeführten t- Tests bei gepaarten Stichproben ergaben für den Vergleich Zeitpunkt 180 min vs 360 min ebenfalls keine Signifikanz. Für den Vergleich Zeitpunkt 360 min vs 600 min und den Vergleich zwischen 180 und 600 Minuten fanden sich jedoch p-Werte von $< 0,05$ und damit signifikante Unterschiede. Der Vergleich zwischen den beiden Gruppen führte nur zum Zeitpunkt 600 Minuten zu einem signifikanten Ergebnis.

Abbildung 9: Glukosekonzentrationen im Serum der Kontroll- und der Kohlenhydratgruppe
) $p < 0,05$ vs Kontrolle



4.7 PLASMAINSULINKONZENTRATIONEN

4.7.1 Plasmainsulinkonzentrationen in der Kontrollgruppe

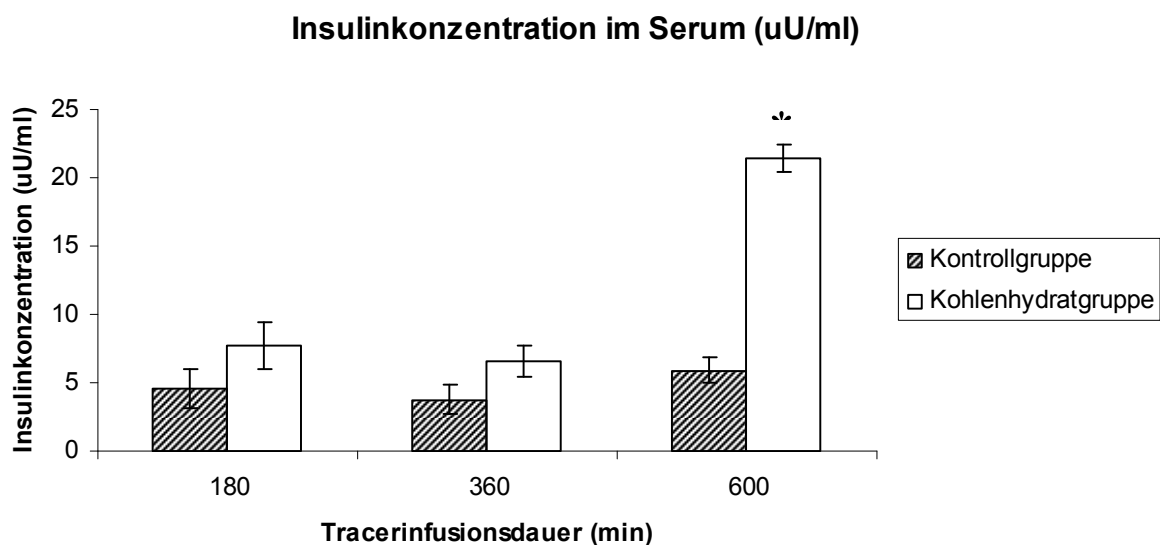
In der Kontrollgruppe (n=6) betragen die Plasmainsulinkonzentrationen nach 180, 360 und 600 Minuten durchschnittlich $4,64 \pm 1,06 \mu\text{U/ml}$; $3,74 \pm 0,92 \mu\text{U/ml}$ und $5,92 \pm 1,15 \mu\text{U/ml}$. Die für diese Werte durchgeführten t-Tests bei gepaarten Stichproben ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Messzeitpunkten.

4.7.2 Plasmainsulinkonzentrationen in der Kohlenhydratgruppe

In der Kohlenhydrat-Gruppe (n=10) betragen die Plasmainsulinkonzentrationen nach 180, 360 und 600 Minuten durchschnittlich $7,74 \pm 1,18 \mu\text{U/ml}$; $6,57 \pm 1,00 \mu\text{U/ml}$ und $21,41 \pm 2,11 \mu\text{U/ml}$. Die für diese Werte durchgeführten t-Tests bei gepaarten und ungepaarten Stichproben ergaben für den 600 Minuten-Messwert einen signifikante Unterschied, sowohl im Vergleich zu den vorangegangenen Werten (600 Minuten vs. 360 Minuten $p = 0,00003$ 600 Minuten vs. 180 Minuten $p = 0,00005$), wie auch zum entsprechenden Wert der Kontrollgruppe ($p = 0,0002$).

Abbildung 10: Insulinkonzentrationen im Serum der Kontroll- und der Kohlenhydratgruppe.

*) $p < 0,05$ vs Kontrolle



5. DISKUSSION

5.1 METHODISCHE BETRACHTUNGEN

5.1.1 Wahl der Untersuchungstechnik

In der einschlägigen Literatur werden bezüglich der Beurteilung der Proteinbiosynthese im lebenden Organismus zwei grundsätzlich verschiedene Methoden der Tracer-Infusionstechnik als Standardverfahren verwendet; die flooding dose- und die continuous infusion-Technik. Es gibt gewichtige Argumente dafür, dass die flooding dose-Technik Ergebnisse verfälschen könnte, weshalb wir uns für die continuous infusion-Technik entschieden haben. Kommt diese Technik zur Anwendung ist es zwingend notwendig die L-[1-¹³C] -Leucin -Anreicherung im Päkusorpool zu kennen. Der etablierte Marker hierfür ist, wie bereits in früheren Arbeiten ausgeführt, die Ketoisocapronsäure-Anreicherung (KIC) im Plasma. Die speziellen methodischen Aspekte der verwendeten Untersuchungstechnik wurden bereits früher ausführlich diskutiert (67).

5.1.2 Wahl der Methodik zum Erreichen einer Hyperinsulinämie

Das von uns untersuchte postoperative Patientenkollektiv befand sich vor Studienbeginn in einer katabolen Stoffwechsellage mit gleichzeitig, reduzierter Plasmaalbuminkonzentration (durchschnittlich $36,9 \pm 1,55$ g/l). Es konnte gezeigt werden, dass die unter diesen Umständen gefundenen Albuminsyntheseraten nicht ausreichen um das postoperative Albumindefizit rasch auszugleichen (116). Da Insulin die Proteinbilanz des Gesamtorganismus günstig beeinflussen kann, lag der Versuch nahe, die postoperativen Albuminsyntheseraten durch eine Erhöhung der Insulinkonzentration zu steigern. Bis heute ist jedoch umstritten, ob supranormale Insulinkonzentrationen die Syntheserate von Splanchnikuseiweiß, und speziell von Albumin unter katabolen Ausgangsbedingungen steigern können. Diese Kontroverse beruht zu einem großen Teil auf methodologischen Einschränkungen, und auf der Unkenntnis einer Dosis-Wirkungsbeziehung des Insulins am lebenden Organismus.

Es gibt mehrere grundsätzlich unterschiedliche Methoden zur Herbeiführung einer Hyperinsulinämie. Die wohl am häufigsten verwendete Möglichkeit zur Erforschung der Insulinwirkung auf den Proteinstoffwechsel bei in vivo Experimenten ist die

normoglykämische Hyperinsulinämie (16, 36, 43, 83, 130, 131, 132). In diesem Ansatz ist die Hyperinsulinämie das Steuerglied, deren Ausprägung durch exogene Zufuhr von Insulin mittel Infusion variiert werden kann. Die Plasmaglukosekonzentration wird dabei durch eine flexible exogene Glukoseinfusion derart konstant gehalten, dass möglichst durchgehend eine Normoglykämie gewährleistet ist. Diese Art von Experiment, ist jedoch mit zwei grundlegenden Problemen behaftet, wenn supraphysiologische Insulinwirkungen auf die hepatische Proteinsynthese untersucht werden sollen.

Zunächst ist bekannt, dass eine exogene, zentral- oder peripher-venöse Insulinzufuhr die Freisetzung von Aminosäuren aus der Peripherie, speziell aus der Skelettmuskulatur deutlich reduziert. Der Skelettmuskel ist das vorrangige Kompartiment für die Speicherung von Proteinen ($\pm 50\%$ des Gesamtkörpereiwisses) und freier Aminosäuren im Körpers (118). Die artifizielle exogene Insulinzufuhr induziert somit eine systemische Hypaminoazidämie und in der Folge eine verminderte Versorgung des Viszerums mit zirkulierenden Aminosäuren. Der reduzierende Effekt des Insulins auf die Plasmaaminoazidkonzentrationen betrifft dabei vor allem die verzweigt-kettigen Aminosäuren (40, 84, 100, 123).

Somit ergibt sich aus Sicht des viszeralen Eiweiß-Stoffwechsels das Problem, dass direkte anabole Insulin-Wirkungen am Zielorgan (z.B. der Leber) durch die gleichzeitige periphere Hypaminoazidämie antagonisiert werden könnten. In der Summe wäre dann unter Umständen keine Wirkung mehr am Zielorgan zu beobachten. Dieser Mechanismus könnte erklären, warum in der Vergangenheit derartig artifizielle Hyperinsulinämien verschiedenster Ausprägung weder am Hund, noch am Menschen in der Lage waren, die Aminosäurebilanzen des Splanchnikusgebietes und somit anabole viszerale Mechanismen günstig zu beeinflussen (1, 6, 65). Dabei blieb bei einzelnen Studien eine Steigerung der viszeralen Proteinsynthese nicht nur aus, sondern es zeigte sich trotz ausgeprägter Hyperinsulinämie sogar eine Verringerung der viszeralen Proteinsynthese. Die Gültigkeit dieser Befunde wird dadurch unterstrichen, dass diese Studien eine besonders subtile Methodik benutzten (Tracertechnik in Verbindung mit einer regionalen Kathetertechnik zur Blutentnahme direkt an den Zielorganen) (88).

Ein zweiter Kritikpunkt besteht darin, dass die meisten Studien ausschließlich die globale viszeral-abdominelle Proteinsynthese während einer Insulininfusion untersuchten. Heute ist aber bekannt, dass dieser summarische Ansatz (Messungen im Splanchnikusgebiet)

Schwierigkeiten in sich birgt, da Insulineffekte in verschiedenen Organsystemen deutlich differieren, ja sogar gänzlich konträr ausfallen können. Mehr noch, sogar innerhalb eines Organs, etwa der Leber, sind gegenläufige Insulineffekte auf Syntheseraten individueller Proteine bekannt.

Tatsächlich spiegeln Abschätzungen der gesamt viszeral-abdominellen Proteinsyntheserate lediglich Durchschnittswerte einer Mischung aus Proteinen mit verschiedenen Umsatzraten wieder. So kann es sein, dass ein stimulierender Effekt des Insulins auf die Synthese eines Proteins durch die zeitgleiche Syntheseinhibition eines anderen Proteins mit schnellerer Umsatzrate und/oder größerem Pools überdeckt wird. Dieses Argument wird durch Daten aus in vitro Studien gestützt, wonach Insulin die Produktion spezifischer mRNAs unterschiedlich reguliert (28, 35, 48), ebenso wie durch Daten aus Studien am Menschen, die deutlich machen, dass kurzfristige Variationen der Insulinverfügbarkeit tatsächlich gegensätzliche Effekte auf die Synthese hepatischer Proteine wie Albumin, Fibrinogen und Antithrombin aufweisen (25, 27, 78, 134). Dieses Charakteristikum der Insulinwirkung könnte erklären, warum eine Hyperinsulinämie bei gesunden Probanden die globale viszeral-abdominelle Proteinsynthese nicht steigern kann, auch wenn gleichzeitig durch exogene Aminosäurezufuhr die Plasmaaminosäurekonzentrationen auf Normalniveau gehalten werden (100). Diese Beobachtungen erlauben es somit nicht, eine anabole Insulinwirkung auf spezifische Proteine wie z.B. Albumin, auszuschließen.

Zusätzlich kann nicht ausgeschlossen werden, dass auch trotz gleichzeitiger systemischer Insulin- **und** Aminosäureinfusion, und unter Beibehaltung einer peripheren Euaminoazidämie die intrazellulären Aminosäurepools im Splanchnikusgebiet für die Steigerung der viszeralen Proteinsynthese zu klein sind (8). Im Vergleich zur natürlichen hepatischen Aminosäurezufuhr (über die Pfortader) kann die artifizielle Erhöhung des hepatischen Aminosäureangebots über die Leberarterie zu völlig andersartigen metabolischen Reaktionen in der Leber führen. Letztlich können alle künstlich induzierte Variationen der Aminosäurekonzentrationen (periphere Hypaminoazidämie bei supraphysiologischer Hyperinsulinämie, periphere Eu- oder Hyperaminoazidämie während exogener Aminosäurezufuhr) unabhängige Faktoren darstellen, die den hepatischen Proteinmetabolismus auf unnatürliche Weise beeinflussen (16, 41, 42, 44, 46, 78, 104, 132, 138). Die Beurteilung, ob ein beobachteter Effekt auf veränderte Aminosäurekonzentrationen,

auf das zugeführte Insulin, oder auf andere sekundäre Reaktionen zurückzuführen ist, fällt dabei schwer und ist mit einer großen Unsicherheit behaftet (42).

Eine alternative Form der Insulinzufuhr (organspezifisch intraarteriell oder portal-venös) hätte zwar den Vorteil einer weitgehend ungestörten peripheren Aminosäure-Homöostase, ist aber im humanbiologischen Experiment nicht durchführbar (6).

Aus diesen Gründen wählten wir ein Studiendesign, das einmal nur zu einer milden physiologischen Hyperinsulinämie führte, und bei dem zum anderen die Erhöhung der Insulinkonzentration auf natürlichem Weg (über die direkte Stimulation des Pankreas) in der Pfortader zustande kam. Dadurch konnten die systemischen, extraviszeralen Nebenwirkungen der Hyperinsulinämie weitgehend vermieden werden. Zusätzlich konzentrierten wir uns auf ein spezifisches Protein, um sich antagonisierende Summeneffekte zu vermeiden. Bei der Wahl der Glucoseinfusionsrate wurden die aktuellen Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Ernährungsmedizin herangezogen, die eine maximale parenterale Glucoseinfusionsrate von $170 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ empfehlen.

Die auf diese Weise artifiziell angehobene Blutglukosekonzentration führt beim nicht-diabetischen Individuum durch endogene pankreatische Insulinausschüttung zu einer physiologisch-reaktiven, deutlichen Erhöhung des portal-venösen Insulinangebotes. Auf diesem Wege werden zu keiner Zeit periphere supraphysiologische Plasmainsulinkonzentrationen (wie unter exogener Insulinzufuhr) erreicht. Es fand auch keine Supplementierung von Aminosäuren durch periphere Infusionen statt, da bei der von uns angestrebten geringen peripheren Hyperinsulinämie keine negativen Auswirkungen auf das hepatische Aminosäureangebot und damit auf die Albuminsynthese zu erwarten sind (1).

5.2 VERÄNDERUNGEN DES KOHLENHYDRATSTOFFWECHSELS BEIM POSTAGGRESSIONSSYNDROM

Patienten nach großen abdominalen Eingriffen zeigen im Rahmen des Postaggressionssyndroms eine charakteristische Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse. Als zentrales Stresshormon wird dabei Cortisol vermehrt aus der Nebennierenrinde ausgeschüttet. Die Aktivierung dieser Mediatorachse mit sekundärer

Cortisolfreisetzung ist zentraler Bestandteil eines allgemeinen Adaptationsmechanismus, der bei Erkrankung, Stress und Trauma aktiviert wird. Dieser Mechanismus dient im Wesentlichen der Aufrechterhaltung von zellulärer Homöostase und Organfunktionen. Die afferenten Signale zur Aktivierung dieser Achse sind vielfältig und beruhen bei chirurgischen Patienten auf Gewebsverletzungen oder Ischämie-Reperfusionsschäden, können aber auch durch ausgeprägte entzündliche Herde ausgelöst werden. In Regel kommt es dann zu einer Stimulation peripherer Nerven mit sukzessiver Hypothalamusaktivierung (85). Ein weiterer Mechanismus gerade bei chirurgischen Patienten umfasst den durch das Trauma ausgelösten Volumenmangel, der über eine erhöhte Baro-/Pressorrezeptorenaktivität ebenfalls den Hypothalamus stimulieren kann.

Zusätzlich zur vermehrten Cortisolausschüttung ist das Postaggressionssyndrom durch einen deutlichen Anstieg der Noradrenalin- und Adrenalin- sowie der Glukagon- und Wachstumshormonsfreisetzung charakterisiert (51, 126, 139). Die Insulinspiegel sind üblicherweise normal oder relativ zur Glukosekonzentration verringert trotz der peripheren Insulinresistenz (20, 24, 94). Eine gewisse Rolle bei diesen Veränderungen scheint dabei die Überaktivierung des sympathischen Nervensystems zu spielen. So kann die pankreatische Insulinfreisetzung durch vermehrte Aktivierung pankreatischer α -Rezeptoren (Noradrenalin) unterdrückt werden (94). Über den gleichen Mechanismus wird auch die verstärkte pankreatische Glukagonfreisetzung gesteuert. Zusätzlich können bestimmte Zytokine (Interleukin-1, Tumornekrosefaktor- α) die pankreatische Insulinfreisetzung hemmen (89). Die gesteigerte Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine ist direktes Resultat pathobiochemischer Abläufe im Bereich des traumatisierten Gewebes bzw. des entzündlichen Fokus. Somit geben die erniedrigten oder höchstens normalen Insulinkonzentrationen in Verbindung mit einer peripheren Insulinresistenz und mit einer gesteigerten Freisetzung der antiinsulinären Hormone das metabolische Milieu vor, in dem in der hyperdynamen Phase des posttraumatischen Verlaufs die Hyperglykämie zu beobachten ist.

Die Veränderungen des Gesamtkörperkohlenhydratstoffwechsels (Glukoseaufnahme und Glukoseoxidation) sind bei postoperativen bzw. septischen Patienten komplex und hängen sowohl vom Schweregrad der Erkrankung wie auch vom Stadium der Erkrankung ab. So kann die Insulin-unabhängige Glukoseaufnahme und Glukoseoxidation des gesamten Körpers im frühen Stadium von SIRS, Sepsis und Endotoxinämie erhöht sein (2). Eine ganz wesentliche Rolle spielen dabei proinflammatorische Zytokine, die für die Insulin-unabhängige

Steigerung der Glukoseaufnahme in immunkompetenten und reparativ tätigen Zellen (Monozyten, Makrophagen, Granulozyten, Fibroblasten) verantwortlich sind. Auf Organebene handelt es sich dabei um die Leber, die Milz, den Dünndarm, aber auch die Lunge (76, 122). Diese gesteigerte, nicht-insulinabhängige Glukoseaufnahme resultiert aus einer Synthesesteigerung bzw. Konzentrations- oder Aktivitätserhöhung des GLUT 1 Glukosetransporters, der im Körper ubiquitär ist und die basale Glukoseaufnahme regelt (10, 91). Nur unter Insulinzufuhr bzw. Insulinausschüttung im Rahmen einer exogenen Kohlenhydratzufuhr lässt sich dann das Krankheitsbild der Insulinresistenz beobachten. Im Vergleich zu gesunden Individuen ist bei gleichem Insulinspiegel die Glukoseutilisation und -oxidation verringert (2, 121). Trotzdem kommt es unter exogener Insulinzufuhr zu einer relativen Steigerung der Glukoseverwertung und -oxidation. Quantitativ und qualitativ grundsätzlich gestört ist die nicht-oxidative Glukoseverwertung (Glykogensynthese in Leber und Muskel), die als zentrales Charakteristikum des gestörten Glukosestoffwechsels bei allen operierten Patienten massiv eingeschränkt ist (2, 49, 121).

Die Mechanismen, die diese Veränderungen des Kohlenhydratstoffwechsels bei Patienten nach großen Operationen verursachen, sind komplex, beruhen jedoch nicht auf vorbestehenden Stoffwechseldefekten wie Diabetes mellitus. Sehr wahrscheinlich ist es eine Kombination mehrerer Faktoren, die das Phänomen der stressinduzierten Hyperglykämie bedingt (86). Zu diesen Faktoren zählen die erhöhten Spiegel der antiinsulinären Hormone (Glukagon, Wachstumshormon, Katecholamine und Glukokortikoide), eine vermehrte Ausschüttung bestimmter Zytokine (IL-1, IL-6, und TNF α), die therapeutisch oft notwendige exogene Katecholamingabe sowie typische ernährungsmedizinische Maßnahmen (Kohlenhydratzufuhr) in Verbindung mit dem relativen Insulinmangel.

Im nüchternen Zustand (also ohne exogene Kohlenhydratzufuhr) ist eine gesteigerte Glukoneogenese und Glykogenolyse der zentrale Mechanismus, auf dem die Hyperglykämie beruht (95). Unter solchen Umständen ist die gesteigerte hepatische Glukoseproduktion hinsichtlich der Erzeugung der stressinduzierten Hyperglykämie wichtiger als die periphere Insulinresistenz (69). Eine gewisse Rolle mag dabei auch eine direkte hepatische Insulinresistenz spielen, die auch durch intensive Insulintherapie nicht zu beeinflussen ist (90).

Die im vermehrten Ausmaß der Leber angebotenen glukoneogenetischen Substrate (glukoneogenetische Aminosäuren, Laktat und Glycerin) stellen die wichtigste Voraussetzung für die Steigerung der hepatischen Glukoseproduktion dar. Dazu kommt die Unfähigkeit von exogen zugeführter Glukose, die hepatische Glukoneogenese zu unterdrücken (17, 126), Permissiv auf die hepatischen glukoneogenetischen Enzyme wirkt dabei Glucagon als primärer hormoneller Mediator, dessen Serumkonzentration sehr stark ansteigen kann (126). Dieser Konzentrationsanstieg wird im Wesentlichen durch Katecholamine und Zytokine hervorgerufen (143). Zusätzlich können bestimmte Zytokine, Cortisol und Katecholamine unabhängig voneinander und synergistisch die hepatische Glukoseproduktion steigern (110, 117).

Die Insulinresistenz ist ein besonderes Charakteristikum des Postaggressionsstoffwechsels (2, 18, 49, 77, 94, 121). Die Insulinresistenz des Patienten ist dabei direkt proportional zum Schweregrad der Stressantwort (94). Es findet sich eine eingeschränkte Translokation, des, durch Insulin kontrollierten GLUT-4 Transporters mit konsekutiv verringerter peripherer Glukoseaufnahme und Insulinresistenz am Skelettmuskel wie auch in der Leber (107). Die genauen Mechanismen, durch die diese Abnormalitäten des Glukosestoffwechsels verursacht werden, sind unbekannt. Möglicherweise spielen hierbei ebenfalls proinflammatorische Zytokine (TNF- α) eine Schlüsselrolle. So konnte zumindest an Endothelzellen eindeutig gezeigt werden, dass TNF- α die Expression von Insulinrezeptoren hemmt (5). Mehrere für die molekulare Insulinwirkung wichtige pathobiochemische Reaktionsschritte auf Postrezeptor-Ebene können ebenfalls durch TNF- α signifikant eingeschränkt werden (64, 71, 98, 106).

Auch für Katecholamine sind direkte antiinsulinäre Mechanismen beschrieben. Diese Hormone können ebenfalls die Insulinbindung am Rezeptor behindern und die Translokation des GLUT-4 Transporters einschränken, wobei sowohl Rezeptor- wie auch Postrezeptormechanismen eine Rolle zu spielen scheinen (19, 50). Bekanntlich können auch Glukokortikoide die Insulin-vermittelte Glukoseaufnahme am Skelettmuskel einschränken, und zwar durch verringerte Synthese verschiedener Signalproteine. Dadurch kommt es zusätzlich zu einer Hemmung des GLUT-4 Glukosetransporters, der in seiner Translokation von den internen Membranspeichern hin zur Plasmamembran behindert wird (29). Auch Wachstumshormon kann die Insulinwirkung durch Reduktion der Insulinrezeptorzahl und Einschränkung molekularbiologischer Mechanismen auf Postrezeptorebene verringern (30, 127).

Somit entsteht das interessante Paradoxon im Glukosestoffwechsel, dass im Nüchternzustand, also ohne exogene Substratzufuhr und bei niedrigem Insulinspiegel, die Glukose-Clearance (als Hinweis für die nicht-insulinabhängige Glukoseutilisation) gesteigert ist. Bei entsprechender exogener oder endogener Erhöhung des Insulinangebotes ist andererseits eine deutlich reduzierte Insulinwirkung auf die Glukose-Clearance zu verzeichnen (125, 126).

Aus quantitativer Sicht lässt sich feststellen, dass gerade bei postoperativen Patienten primär eine deutliche Steigerung des Glukoseumsatzes besteht mit einer täglichen hepatischen Glukoseproduktion von knapp über 300 Gramm. Der größte Anteil dieser Produktion wird insulinunabhängig in den verstärkt tätigen immunkompetenten und reparativ tätigen Zellen utlisiert (bis 130 Gramm pro Tag). Der Rest der hepatischen Glukoseutilisation wird ebenfalls insulinunabhängig im Gehirn und in der Niere verstoffwechselt. Die muskuläre Glukoseaufnahme sowie die Glukoseutilisation der Leber spielt quantitativ aufgrund der Insulinresistenz nur noch eine äußerst geringe Rolle (56).

5.3 REGULATIONSMECHANISMEN DER POSTOPERATIVEN ALBUMIN-SYNTHESE DURCH INSULIN UND PARENTERALE SUBSTRATE

Der übergeordnete anabole Insulineffekt scheint in einer Reduktion der Differenz zwischen Proteinabbau und -synthese in den verschiedenen Geweben zu bestehen (88). Dieser Wirkungsmechanismus dient dem Zweck der Konservierung der körpereigenen Proteinmasse, im engeren Sinne des sich im Organismus befindenden Stickstoffs.

Insulin reguliert potent die Expression von mehr als 150 Genen, sodass diese Eigenschaft mittlerweile als die ausschlaggebende für die Wirkung des Insulins im Organismus angesehen wird (101). Zum einen werden rasch einzelne Komponenten des Translationsapparates, etwa eukaryote Initiations- und Elongationsfaktoren aktiviert, zum andern steigert Insulin langfristig die Kapazität der Proteinsynthese dadurch, dass der zelluläre Gehalt an Ribosomen vermehrt wird (111). In Studien an Zellkulturen aus Rattenhepatozyten wurden eine dosisabhängige Steigerung sowohl der Albumingenexpression, des Albumin-m-RNA-Gehalts, als auch der Albuminsynthese gefunden (73, 80). Dementsprechend bremste in Zellkulturen sowie im Tiermodell auch ein experimentell herbeigeführter Insulinmangel oben genannter Variablen des Albuminanabolismus deutlich (um 40-50%), Dieser Vorgang war jedoch unter

fortgesetzter Insulintherapie reversibel bzw. vermeidbar (70, 93, 140). Vergleichbare Veränderungen wurden auch bei an Diabetes mellitus erkrankten Menschen beobachtet. Ein Insulinmangel reduzierte die Albuminsynthese, und eine darauf folgende Insulinsubstitution war im Stande, die Syntheserate wieder auf das Normalniveau anzuheben (25).

Es ist allgemein bekannt, dass der Ernährungszustand einen wichtigen, regulierenden Einfluss auf die Albuminsynthese hat (26, 108). Die Albuminsynthese nimmt nach einer regulären Mahlzeit deutlich (um mehr als 100 %) zu (15). Bei funktionsuntüchtigem Gastrointestinaltrakt (wie es häufig postoperativ zu beobachten ist) müssen jedoch entsprechende Substrate, einschließlich Kohlenhydrate, parenteral (in Form von Glukose) zugeführt werden.

Bislang wurden nur jedoch erst sehr wenige klinische Studien durchgeführt, die die Auswirkungen von parenteralen Substraten auf den postoperativen Proteinmetabolismus selektiv untersuchten (7, 46, 47, 78, 100, 102, 114, 115). Die bei diesen Studien bislang gewonnenen Erkenntnisse sind zudem in Ihrer Aussage meist nicht selektiv hinsichtlich der Wirkung eines Substrates auf die Proteinbiosynthese eines bestimmten Organsystems, wie beispielsweise die Leber, sondern beschreiben lediglich den Einfluss auf Gesamtkörperproteinbestand. Die so beobachteten Effekte spiegeln somit nicht die reale Veränderung der Proteinbiosynthese eines Systems wieder, sind jedoch Grundlage für die derzeit gültigen Dosisempfehlungen zur parenteralen Ernährung. Gerade aus chirurgischer Sicht wären jedoch organspezifische Wirkungen von höchstem Interesse, da organbezogene Heilungsvorgänge (z.B. nach Leber- oder Darmresektionen) für einen komplikationsfreien postoperativen Verlauf von höchster Wichtigkeit sind.

Da es in dieser Hinsicht bis heute keine selektiven Studien an Patienten nach chirurgischen Trauma gibt, wollten wir den spezifischen Einfluss einer physiologischen Hyperinsulinämie auf dem Boden einer gängigen Standard-Kohlenhydratinfusion (in empfohlener Maximaldosierung) auf die postoperative hepatische Albuminsynthese gezielt untersuchen. Zentrales Ergebnis unserer Untersuchungen war es, dass bei Patienten, die alle ein vergleichbares chirurgisches Trauma erlitten hatten, eine Standard-Kohlenhydratdosis von $170 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ die hepatische Albuminsynthese postoperativ nicht signifikant bzw. relevant steigern kann.

5.4 URSACHEN FÜR DIE MANGELNDE EFFIZIENZ EINER PHYSIOLOGISCHEN HYPERINSULINÄMIE

Es besteht theoretisch die Möglichkeit, dass die Albuminsyntheserate während der Verabreichung der Kohlenhydratinfusion nicht angemessen ansteigt, wenn schon vor Beginn der Infusion gesteigerte Albuminsyntheseraten vorlagen. Dies ist hier zu berücksichtigen, da in der Studie von Rittler et al. (116) gezeigt wurde, dass die Albuminsynthese in der postoperativen Phase, in der sich auch unsere Patienten zum Untersuchungszeitpunkt befanden, bereits im Zustand der Nüchternheit signifikant beschleunigt ist.

Diese vorbestehende Steigerung der Syntheseraten bei unseren Patienten fiel jedoch zu gering aus, als dass es nicht potentiell möglich gewesen wäre die Syntheseraten durch supplementierende parenterale Substrate noch weiter zu steigern. Denn auch in anderen Situationen mit vergleichbar beschleunigten basalen Albuminsyntheseraten (wie beispielsweise während einer Hämodialyse) konnte durch exogene Substratzufuhr eine weitere Stimulierung der Albuminsyntheseraten erzielt werden (112). Folglich ist es unwahrscheinlich, dass die bereits basal stimulierte Albuminsynthese ein limitierender Faktor bei unseren Untersuchungen war.

Ferner könnte die parenterale Applikationsdauer der Kohlenhydrate mit vier Stunden zu kurz gewählt worden sein, um eine Stimulierung der Albuminsynthese durch die physiologische Hyperinsulinämie zuzulassen. Dies ist jedoch mit Sicherheit auszuschließen, vor dem Hintergrund, dass die Synthese bereits 30 Minuten nach Zufuhr eines geeigneten Triggers, (z.B. ein akut erhöhtes hepatisches Aminosäureangebot nach oraler Proteinzufuhr) signifikant zunimmt (15).

Auch der bereits oben diskutierte mögliche Abfall der arteriellen Aminosäurekonzentrationen eine mit damit einhergehender Abschwächung bzw. Aufhebung des stimulierenden Insulineffekts auf die Albuminsynthese ist aufgrund des gewählten Studienaufbaues nicht anzunehmen. Der Grad der peripheren Hyperinsulinämie in unserer Studie fällt gering genug aus, um nicht mit der intestinalen Aminosäureversorgung zu interferieren (1).

Die unsere Studie begleitende Hyperglykämie stellt ebenfalls keine potentielle Ursache für das fehlende Ansprechen der Albuminsyntheseraten dar. Hyperglykämie in Kombination mit

einer konstanten Insulinkonzentration beeinflusst die humane Proteinsynthese nicht. Die Plasmaleuzinkonzentration bleibt genauso wie die Leucinerscheinungsrate (als Mass der Proteinabbaues) bei einer selektiven Hyperglykämie unverändert (13, 58). Weder Variationen der Kohlenhydratkonzentrationen, noch der Glukoseinfusionsraten werden als Auslöser etwaiger Veränderungen der Proteinsynthese im Rahmen der hyperinsulinämischen Hyperglykämie gesehen (133).

Angesichts dieser Befunde müssen andere Gründe vorliegen, um die fehlende Insulinwirkung auf die hepatische Albuminsynthese zu erklären. Ein zentraler Mechanismus könnte in der bereits oben beschriebenen hepatischen Insulinresistenz liegen, die im Rahmen des Postaggressionssyndroms auch den Proteinstoffwechsel der Leber betreffen könnte. Die umfassende Analyse der verfügbaren Literatur lässt aber auch einen weiteren Erklärungsmechanismus erkennen. So scheint eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen Insulin und Albuminsyntheserate möglich. Zusätzlich ist eine Abhängigkeit von der untersuchten Spezies denkbar.

Beim Menschen sind alleinige Steigerungen der Insulinkonzentrationen im physiologischen Rahmen augenscheinlich sowohl bei standardisierter enteraler, als auch parenteraler Kohlenhydratzufuhr nicht dazu in der Lage, die Albuminsynthese signifikant zu beeinflussen. So konnte mithilfe einer auf Kohlenhydraten basierenden Diät ein Anstieg der Plasmainsulinkonzentrationen um das 2 bis 3-fache über den Vergleichswert erreicht werden. Allerdings war damit im Vergleich zu einer isokalorischen und im Proteingehalt identischen, jedoch auf Fett basierenden Diät kein signifikanter Effekt auf die fraktionellen oder die absoluten Albuminsyntheseraten verbunden (11). Ein ähnlich ausgeprägter Insulinkonzentrationsanstieg wurde von Ballmer et al. (7) in einem Kollektiv gesunder Probanden gemessen, denen Kohlenhydrate parenteral mit einer Infusionsrate von etwa $170 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ verabreicht wurden. Obwohl hierbei die „flooding dose“-Methode zur Anwendung kam, und obwohl diese Methode wie bereits unter 5.1.1 beschrieben per se das Risiko einer Verfälschung der Messergebnisse in sich birgt, konnten die Autoren ebenso wie wir keine relevanten Veränderungen der Albuminsyntheseraten feststellen. Auch wenn unsere negativen Studienergebnisse mittels der „continuous tracer infusion“-Methode an Patienten gewonnen wurden, so sind sie doch gut mit denen von Ballmer et al. bei gesunden Probanden vergleichbar.

Erst eine Erhöhung der systemischen Plasmainsulinkonzentration um mindestens das 3 bis 4-fache über den Basalspiegel scheint in der Lage zu sein die humane Albuminsyntheserate signifikant zu steigern. Derartig hohe Insulin-Konzentrationen können jedoch ausschließlich über exogene Insulinzufuhr per infusionem ($>0,4 \text{ mU}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) erreicht werden. Infusionsraten und Insulinkonzentrationen dieser Höhe führen jedoch bereits potentiell zu dem oben ausgeführten Problem der sekundären peripheren Hypaminoazidämie (27). Hierin ist eine Erklärung zu sehen, warum der experimentell Zusammenhang zwischen anabolem Insulineffekt und Albuminsyntheserate keine Linearität aufweist.

Die Forschungsgruppe um Pacy et al. (105) infundierte Insulin mit einer Flussrate von $0,7 \text{ mU}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, konnte darunter jedoch ebenfalls keine signifikanten Veränderungen der Albuminsyntheserate feststellen. Die naheliegendste Erklärung für diese negativen Ergebnisse ist die begleitende Hypaminoazidämie, der hierbei deutlicher ausfällt, als bei den niedrigeren Insulininfusionsraten. Dadurch wird der stimulierende Effekt des Insulins auf die Albuminsynthese verschleiert (105).

Auf der anderen Seite kann bei gleichzeitiger Aminosäuresubstitution die Albuminsynthese beim Menschen deutlich beschleunigt werden, und zwar unter der Voraussetzung, dass große Insulinmengen ($1,0 - 2,0 \text{ mU}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) bzw Kohlenhydratmengen ($250 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) infundiert werden (78, 112, 134). Interessanterweise scheint aber der Insulineffekt zudem speziesspezifisch zu sein, denn bei Schweinen wird durch Insulininfusionsraten von $0,7-0,8 \text{ mU}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ keine Steigerung der Albuminsyntheserate erreicht, auch dann nicht, wenn zeitgleich supranormale Aminosäure-Konzentrationen vorliegen (3, 45).

Somit lassen unsere Ergebnisse den Schluss zu, dass unter einer leitliniengerechten parenteralen Kohlenhydratzufuhr und bei physiologischen Hyperinsulinämie keine Steigerung der Albuminsyntheserate im Rahmen des Postaggressionsyndroms zu erwarten ist. Insgesamt gesehen ist es nicht sehr wahrscheinlich, dass irgendeine Form der üblichen perioperativen Ernährungstherapie die Albuminsyntheserate relevant beeinflussen kann. Die dazu nötigen Kohlenhydratmengen bzw. Hormonkonzentrationen sind derartig hoch, dass aus klinischer Sicht ein ausgeprägtes Nebenwirkungsrisiko (Leberverfettung, Hypo- und Hyperglykämie) besteht, welches die Anwendung eines solchen Konzepts für die routinemäßige Ernährungstherapie des operierten Patienten ausschließt.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Nach chirurgischen Traumata kommt es regelhaft zu Veränderungen des Kohlenhydratstoffwechsels, die speziell auch die Insulinwirkung miteinbeziehen. Es ist nicht bekannt, in wieweit dadurch auch der hepatische Eiweißstoffwechsel betroffen ist, und ob sich speziell der postoperativ veränderte Albuminmetabolismus durch Herbeiführung einer Hyperinsulinämie in einem physiologischen Konzentrationsbereich günstig beeinflussen lässt.

In der vorliegenden Arbeit wollten wir untersuchen, welchen selektiven Einfluss eine Glukoseinfusion in leitliniengerechter Dosierung auf die postoperative Albuminsynthese hat. Alle 16 in diese Studie aufgenommen Patienten mussten sich einem vergleichbar großen kolorektalen Elektiveingriff unterziehen. Dabei wurden in die Kontrollgruppe sechs Patienten, in die Untersuchungsgruppe weitere zehn Patienten eingeschlossen. Letztere erhielten parenteral Glukose in einer Maximaldosierung. Die Untersuchung der Patienten erfolgte nach Übernachtfasten zwischen dem 8. – 10. postoperativen Tag.

Um die fraktionellen Albuminsyntheseraten mittels der Stablen-Isotopen-Technik bestimmen zu können, begann das Studienprotokoll mit einer Tracer-Bolusinjektion von $9,6 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Traceraminosäure $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Leucin), woran sich eine 10-stündige Infusion von $0,16 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{Min.}^{-1}$ der Traceraminosäure anschloß. Die Kontrollgruppe erhielt nach einer Basalperiode (Phase I: 180 – 360 Minuten, Nüchtern-zustand) in der Phase II der Studie (360 – 600 Minuten nach Tracerinfusionsbeginn) eine Infusion mit 0.9. % NaCl – Lösung. In der Testgruppe wurde in der Phase II eine 10%ige Glukoselösung mit einer Laufrate $170 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ zugeführt. Diese Dosis entspricht den aktuellen Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Ernährungsmedizin.

Für die anschließenden massenspektrometrischen Analysen und die Messung der Albuminkonzentrationen im Serum wurden zu vier definierten Zeitpunkten Blutproben entnommen. Zunächst vor Beginn der Isotopeninfusion, sowie 180, 360 und 600 Minuten nach dem Start der Isotopenzufuhr. Die albumingebundene Tracer-Anreicherung wurde mit Hilfe der Gaschromatographie-Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (GC-IRMS), die Tracer-Anreicherung im Präkursorpool für die Albuminsynthese (Plasma-Anreicherung der Ketoisocaprinsäure) mit Hilfe des Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GCMS)

bestimmt. Mit Hilfe dieser bestimmten Anreicherungen konnten die fraktionelle und die absolute Albuminsyntheserate berechnet werden.

Trotz Anstieg der Insulinkonzentrationen von etwa 7 auf 21 $\mu\text{U}/\text{ml}$ bestand sowohl für die fraktionelle, als auch für die absolute Albuminsyntheserate kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden untersuchten Patientengruppen. Somit war eine kontinuierliche Glukoseinfusion bzw. die konsekutive milde, da auf endogener pankreatischer Exkretion beruhende physiologische Hyperinsulinämie nicht in der Lage, die postoperative Albuminsynthese signifikant zu steigern.

Anhand der Literatur konnte ausgeschlossen werden, dass ein zu kurzer Untersuchungszeitraum oder die bereits in der Basalperiode deutlich gegenüber dem Normalzustand erhöhte Albuminsyntheserate für den fehlenden Effekt verantwortlich waren. Als Ursache für den fehlenden Insulineffekt wäre auch eine postoperative hepatische Insulinresistenz denkbar. In Zusammenschau aller bekannten Befunde deutet alles jedoch mehr auf eine Konzentrationsabhängigkeit des Insulineffekts auf die menschliche Albuminsynthese hin. Ein eindeutig stimulierender Effekt wird erst bei Insulinkonzentrationen erreicht, die 3 bis 4 mal höher sind, als die Konzentrationen, die auf physiologischem Wege induzierbar sind. Gleichzeitig muss der Zustand der Euaminoazidämie gewährleistet sein. Die somit benötigten deutlich erhöhten Insulinkonzentrationen können jedoch nicht mittels der zurzeit als Standard empfohlenen maximalen Kohlenhydratapplikationsrate (200-250 g/d) erreicht werden. Lediglich mittels einer zusätzlichen Infusion großer Mengen an exogenem Insulin wäre ein stimulierender Effekt zu erwarten, der jedoch aus Gründen der Praktikabilität und Nebenwirkungen (Leberverschattung, Hypoglykämie) für die ernährungsmedizinische Praxis keine Bedeutung besitzt.

7 ANHANG

7.1 TABELLEN

Tabelle 1: Diagnosen und Operationen der untersuchten Patienten

Diagnose	
Kochsalzlösung	Glukose 10%
# 1 Rektumkarzinom	# 1 Rektumkarzinom
# 2 Rektumkarzinom	# 2 Rektumkarzinom
# 3 Sigmakarzinom	# 3 Rektumkarzinom
# 4 Rektumkarzinom	# 4 Analkarzinom
# 5 Sigmakarzinom	# 5 Sigmakarzinom
# 6 Rektumkarzinom	# 6 Rektumkarzinom
	# 7 Rektumkarzinom
	# 8 Rektumkarzinom
	# 9 Rektumkarzinom
	# 10 Rektumkarzinom

Operation	
Kochsalzlösung	Glukose 10%
# 1 tiefe anteriore Rektumresektion	# 1 abdomino-perineale Rektumexstirp.
# 2 anteriore Rektumresektion	# 2 abdomino-perineale Rektumexstirp.
# 3 Hemikolektomie	# 3 tiefe anteriore Rektumresektion
# 4 anteriore Rektumresektion	# 4 abdomino-perineale Rektumexstirp.
# 5 anteriore Rektumresektion	# 5 tiefe anteriore Rektumresektion
# 6 tiefe anteriore Rektumresektion	# 6 tiefe anteriore Rektumresektion
	# 7 tiefe anteriore Rektumresektion
	# 8 tiefe anteriore Rektumresektion
	# 9 tiefe anteriore Rektumresektion
	# 10 tiefe anteriore Rektumresektion

Tabelle 2: Material und Bezugsquellen

Acrylamid für die Elektrophorese	MERCK	1.10784.0100
N,N'-Methylen-bis-acrylamid	FLUKA	66669
Aqua ad iniectabilia	Braun	
Bromphenolblau	Merck	8122.0025
Tris(hydroxymethyl)-aminomethan p.a.	Merck	1.08382.1000
Salzsäure 6N	Apotheker Innenstadt	L 0025
Salzsäure 1N	Merck	1.09057.1000
Salzsäuregas	Labor Prof. Wanner; Institut für Pharmazie	
Glycerin	Merck	8.18709.1000
Natriumdodecylsulfat (=SDS) microselect	Fluka	71727
N,N,N',N'-tetramethyldiamid (TEMED)	Fluka	87689
Ammoniumperoxodisulfat p.a.	Fluka	09915
Coomassie R-250	Fluka	27816
Ethanol p.a.	Merck	1.00983.2500
Ethanol 96%	Apotheker im Haus	
Essigsäure p.a.	Merck	1.00062.1000
Natriumdihydrogenphosphat Dihydrat p.a.	Fluka	71500
Natriumhydroxid Granulat p.a.	Fluka	71691
Natriumhydroxid 1N	Merck	1.09137.1000
Glycin für die Elektrophorese	Merck	1.04169.1000
Trichloressigsäure pro analysis	Merck	1.00807.0250
Ammoniumsulfat microselect	Fluka	09978
Essigsäureanhydrid (98%)	Sigma	A-6404
Triethylamin p.a.	Fluka	90340
1-Propanol für die Chromatographie	Merck	1.01024.1000
Ethylacetat p.a.	Merck	1.109623.1000
Natriumchlorid p.a.	Merck	6404.1000
Natriumsulfat wasserfrei p.a.	Merck	6649.0500
bis(Trimethylsilyl)Trifluoroacetamid	Sigma	T-1506
α -Ketoisocaproensäure Natriumsalz (C ₆ H ₉ O ₃ M=152.1)	Sigma	
2,2-Dimethoxypropan Stock-Number:217725	Alltech	784+40
L-Leucine	Sigma	L-1512
α -Ketoisocaproensäure Natriumsalz 1- ¹³ C 13C: 99%	Cambridge Isotope Laboratories	

Tabelle 3: Darstellung der verwendeten Lösungen

Trenngellösung	
Acrylamidstammlösung	4.400 µl
Wasser	4.400 µl
Trenngelpuffer	3.000 µl
SDS – Lösung	120 µl (1g in Aqua dest. ad 10ml)
TEMED – Lösung	80 µl (30 µl in Aqua dest.ad 300 µl)
Ammoniumperoxodisulfat	60 µl (50 µl in Aqua dest.ad 500 µl)

Sammelgellösung	präparative E-phorese	analytische E-phorese
Acrylamidstammlösung	840 µl	1260 µl
Wasser	1700 µl	2550 µl
Sammelgelpuffer	1300 µl	1950 µl
SDS – Lösung	50 µl	75 µl
TEMED – Lösung	36 µl	54 µl
Ammoniumperoxodisulfat	72 µl	108 µl

Acrylamidstammlösung	
Acrylamid	30,0 g
Bisacrylamid	0,8 g
Aqua dest.	Ad 100 ml

Trenngelpufferlösung	
Tris/HCl 1,5 M (ph=8,8)	18,17 g
Aqua dest.	Ad 100 ml

Sammelgelpufferlösung	
Tris/HCl (ph=6,8)	3,02 g
Aqua dest.	Ad 50 ml

Probenpuffer	
Tris/HCl	1,21 g
Glycerin	20 g
SDS	4 g
Bromphenolblau	20 µg
Aqua dest.	Ad 100 ml

Elektrodenpufferlösung	
Glycin	144,1 g
Tris/HCl	30,2 g
SDS	10,0 g
Aqua dest.	Ad 1000 ml

Elutionspuffer	
Na-Dihydrogenphosphat (pH=7,2)	39,0 g
Aqua dest.	Ad 500 ml

Fixier- und Färbelösung	
Coomassie [®] -250	0,5 g
Ethanol absolut	200 ml
Essigsäure (96%) p.a.	52 ml
Aqua dest.	Ad 500 ml

Entfärberlösung	
Ethanol absolut	200 ml
Essigsäure (96%) p.a.	50 ml
Aqua dest.	250 ml

Tabelle 4: Plasmaalbuminkonzentration, Blutvolumen, Hämatokrit, Plasmavolumen

Kontrollgruppe

Nummer	Plasmaalbumin (mg/dl)	Blutvolumen (ml)	Hämatokrit	Plasmavolumen (ml)
# 1	2,7	5250	0,35	3412,5
# 2	4,6	5500	0,35	3575
# 3	3,4	3500	0,35	2275
# 4	3,7	3650	0,35	2372,5
# 5	4,3	4300	0,35	2795
# 6	2,9	5300	0,38	3275,4
MW	3,60	4583	0,36	2950,9
StAbw.	0,69	809	0,012	503,913
SEM	0,28	330	0,0049	205,721

Kohlenhydratgruppe

Nummer	Plasmaalbumin (mg/dl)	Blutvolumen (ml)	Hämatokrit	Plasmavolumen (ml)
# 1	3,5	5450	0,287	3885,9
# 2	3,13	4050	0,349	2636,6
# 3	3,45	4600	0,314	3155,6
# 4	2,7	3475	0,285	2484,6
# 5	3,48	4900	0,308	3390,8
# 6	3,72	5000	0,352	3240
# 7	4,51	4950	0,332	3306,6
# 8	4,35	4300	0,347	2807,9
# 9	4,27	4900	0,294	3459,4
# 10	4,29	5300	0,390	3233
MW	3,74	4693	0,326	3160
StAbw.	0,567	570	0,03235985	394,603
SEM	0,179	180	0,01023308	124,784

Tabelle 5: Alter, Größe, Gewicht und body mass index (BMI)

Kontrollgruppe

Nummer	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	BMI (kg / cm ²)
# 1	54	1,79	80,2	25
# 2	54	1,81	83	25
# 3	55	1,62	55	21
# 4	52	1,58	62	25
# 5	74	1,72	60	20
# 6	69	1,70	83,6	29
MW	59,7	1,70	70,6	24
StAbw.	8,54	0,083	11,87	2,9
SEM	3,49	0,034	4,84	1,2

Kohlenhydratgruppe

Nummer	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	BMI (kg / cm ²)
# 1	62	1,84	80,2	24
# 2	65	1,65	57,7	21
# 3	61	1,66	73,4	27
# 4	74	1,58	57,4	23
# 5	78	1,72	75	25
# 6	72	1,72	80	27
# 7	55	1,78	71	22
# 8	62	1,68	60	21
# 9	66	1,73	75	25
# 10	45	1,79	82	26
MW	64	1,72	71,2	24
StAbw.	9,17	0,072	8,98	2,0
SEM	2,87	0,023	2,841	0,6

Tabelle 6: Deltawerte des albumingebundenen Leucins,
 Deltawerte der Isotopomerenverhältnisse der Plasmaketoisocaproensäure,
 Tracer/Tracee - Verhältnisse für albumingebundenen Leucin und Plasma-
 ketoisocaproensäure

Kontrollgruppe

Nr.	Delta Albumin 0	Delta Albumin 1	Delta Albumin 2	Delta Albumin 3	Tracer/Tracee-Verhältnis Albumin 1	Tracer/Tracee-Verhältnis Albumin 2	Tracer/Tracee-Verhältnis Albumin 3
# 1	-26,4	-21,4	-16,2	-8,4	0,0005514	0,0011254	0,0019875
# 2	-25,9	-21,0	-15,7	-3,6	0,0005403	0,0011254	0,0024634
# 3	-25,2	-17,9	-10,3	-2,4	0,0008052	0,0016447	0,0025187
# 4	-27,7	-17,6	-5,9	3,0	0,0011143	0,0024080	0,0033941
# 5	-27,7	-22,1	-16,9	-5,5	0,0006176	0,0011917	0,0024523
# 6	-28,0	-18,5	-7,0	6,4	0,0010481	0,0023195	0,0038046
MW	-26,8	-19,8	-12,0	-1,8	0,0007795	0,0016358	0,0027701
StAb	1,05	1,80	4,48	5,02	0,0002311	0,0005450	0,0006232
SEM	0,43	0,73	1,83	2,05	0,0000943	0,0002225	0,0002544

Nr.	Delta KIC 0	Delta KIC 1	Delta KIC 2	Delta KIC 3	Tracer/Tracee-Verhältnis KIC 1	Tracer/Tracee-Verhältnis KIC 2	Tracer/Tracee-Verhältnis KIC 3
# 1	0,2153	0,2543	0,2654	0,2702	0,03900	0,05010	0,05490
# 2	0,2169	0,2648	0,2713	0,2687	0,04790	0,05440	0,05180
# 3	0,2153	0,2613	0,2647	0,2680	0,04600	0,04940	0,05270
# 4	0,2175	0,2739	0,2726	0,2834	0,05640	0,05510	0,06590
# 5	0,2153	0,2647	0,2687	0,2727	0,04940	0,05340	0,05740
# 6	0,1871	0,2543	0,2619	0,2555	0,06715	0,07475	0,06833
MW	0,2112	0,2622	0,2674	0,2697	0,050975	0,056192	0,058505
StAb	0,0108	0,0068	0,0038	0,0082	0,008861	0,008561	0,006378
SEM	0,0044	0,0028	0,0015	0,0034	0,003618	0,003495	0,002604

Kohlenhydratgruppe

Nr.	Delta Albumin 0	Delta Albumin 1	Delta Albumin 2	Delta Albumin 3	Tracer/Tracee-Verhältnis Albumin 1	Tracer/Tracee-Verhältnis Albumin 2	Tracer/Tracee-Verhältnis Albumin 3
# 1	-27,3	-22,5	-18,4	-11,7	0,0005293	0,0009818	0,0017221
# 2	-26,8	-19,4	-10,0	4,2	0,0008162	0,0018548	0,0034274
# 3	-26,7	-17,5	-7,7	3,9	0,0010150	0,0020981	0,0033830
# 4	-27,8	-18,2	-3,4	13,9	0,0010591	0,0026959	0,0046153
# 5	-24,2	-23,7	-7,5	-2,1	0,0000551	0,0018437	0,0024412
# 6	-24,9	-23,6	-17,5	-10,8	0,0001433	0,0008208	0,0015563
# 7	-24,2	-23,4	-14,5	-4,1	0,0000882	0,0010702	0,0022199
# 8	-25,1	-23,0	-21,9	-14,8	0,0002315	0,0003528	0,0011364
# 9	-27,5	-21,2	-13,6	-6,2	0,0006948	0,0015342	0,0023527
# 10	-26,1	-22,9	-17,3	-9,8	0,0003528	0,0009708	0,0017995
MW	-26,06	-21,54	-13,18	-3,75	0,0004985	0,0014223	0,0024654
StAb	1,30	2,22	5,56	8,45	0,0003613	0,0006696	0,0010026
SEM	0,41	0,70	1,76	2,67	0,0001142	0,0002117	0,0003170

Nr.	Delta KIC 0	Delta KIC 1	Delta KIC 2	Delta KIC 3	Tracer/Tracee-Verhältnis KIC 1	Tracer/Tracee-Verhältnis KIC 2	Tracer/Tracee-Verhältnis KIC 3
# 1	0,18846	0,24448	0,25084	0,24743	0,056020	0,062380	0,058970
# 2	0,19388	0,24744	0,24047	0,24770	0,053560	0,046590	0,053820
# 3	0,19052	0,24771	0,24973	0,22594	0,057190	0,059210	0,035420
# 4	0,18831	0,23748	0,24537	0,24719	0,049170	0,057060	0,058880
# 5	0,18379	0,27818	0,27752	0,27769	0,094385	0,093728	0,093899
# 6	0,20089	0,26547	0,27454	0,27696	0,064579	0,073649	0,076069
# 7	0,19705	0,25793	0,24839	0,25200	0,060884	0,051343	0,054944
# 8	0,19710	0,24702	0,26891	0,26344	0,049918	0,071813	0,066343
# 9	0,19354	0,26058	0,25980	0,25514	0,067040	0,066260	0,061600
# 10	0,22140	0,24376	0,25373	0,24941	0,022360	0,032330	0,028010
MW	0,19549	0,25300	0,25693	0,25429	0,057511	0,061436	0,058795
StAb	0,00987	0,01168	0,01209	0,01456	0,017008	0,015866	0,017690
SEM	0,00312	0,00369	0,00382	0,00460	0,005378	0,005017	0,005594

Tabelle 7: Fraktionelle Albuminsyntheserate (FSR), absolute Albuminsyntheserate (ASR)

Kontrollgruppe

Nummer	FSR Phase I (%/Stunde)	FSR Phase II (%/Stunde)	FSR Phase I (%/Tag)	FSR Phase II (%/Tag)	ASR Phase I (mg/kg/Tag)	ASR Phase II (mg/kg/Tag)
# 1	0,47	0,41	11,23	9,84	129,02	113,05
# 2	0,39	0,66	9,46	15,83	187,43	313,64
# 3	0,58	0,43	13,91	10,39	195,63	146,12
# 4	0,76	0,42	18,14	10,11	256,83	143,14
# 5	0,45	0,52	10,71	12,59	214,53	252,19
# 6	0,57	0,58	13,73	13,90	154,87	156,89
MW	0,537	0,503	12,863	12,111	189,72	187,51
StAbw.	0,120	0,093	2,845	2,214	40,94	71,01
SEM	0,049	0,038	1,162	0,904	16,72	28,99

Kohlenhydratgruppe

Nummer	FSR Phase I (%/Stunde)	FSR Phase II (%/Stunde)	FSR Phase I (%/Tag)	FSR Phase II (%/Tag)	ASR Phase I (mg/kg/Tag)	ASR Phase II (mg/kg/Tag)
# 1	0,26	0,30	6,18	7,08	104,87	120,14
# 2	0,65	0,80	15,64	19,11	223,64	273,35
# 3	0,59	0,68	14,26	16,29	211,44	241,67
# 4	0,95	0,89	22,87	21,28	267,33	248,76
# 5	0,66	0,16	15,74	3,94	247,61	61,93
# 6	0,35	0,25	8,45	6,10	127,34	91,88
# 7	0,67	0,55	16,05	13,20	337,13	277,25
# 8	0,06	0,29	1,54	7,01	31,41	142,72
# 9	0,41	0,33	9,91	7,91	195,17	155,84
# 10	0,74	0,72	17,78	17,20	300,78	290,88
MW	0,535	0,496	12,843	11,913	204,67	190,44
StAbw.	0,248	0,246	5,945	5,910	88,886	80,729
SEM	0,078	0,078	1,880	1,869	28,108	25,529

Tabelle 8: Glukosekonzentrationen, Insulinkonzentrationen

Kontrollgruppe

Nummer	Glukose i.S. (mg/dl) 0	Glukose i.S. (mg/dl) 1	Glukose i.S. (mg/dl) 2	Glukose i.S. (mg/dl) 3	Insulin i.S. (uU/ml) 0	Insulin i.S. (uU/ml) 1	Insulin i.S. (uU/ml) 2	Insulin i.S. (uU/ml) 3
# 1	120	110	109	111	6,37	5,84	4,26	5,5
# 2	100	119	90	90	10,1	8,42	5,8	10,78
# 3	89	100	111	100	5,65	2,9	1,74	5,57
# 4	100	107	109	90	2,39	1,8	1,6	3,04
# 5	121	100	90	89	11,82	7,05	7,37	8,04
# 6	117	104	105	100	2,63	1,82	1,66	2,56
MW	107,83	106,67	102,33	96,67	6,4933	4,6383	3,7389	5,9150
StAb.	12,130	6,574	8,901	7,909	3,5088	2,6007	2,2577	2,8283
SEM	4,952	2,684	3,634	3,229	1,4325	1,0617	0,9217	1,1547

Kohlenhydratgruppe

Nummer	Glukose i.S. (mg/dl) 0	Glukose i.S. (mg/dl) 1	Glukose i.S. (mg/dl) 2	Glukose i.S. (mg/dl) 3	Insulin i.S. (uU/ml) 0	Insulin i.S. (uU/ml) 1	Insulin i.S. (uU/ml) 2	Insulin i.S. (uU/ml) 3
# 1	110	104	101	162	7,06	7,61	8,23	23,75
# 2	103	103	96	155	9,25	8,8	6,49	22,05
# 3	106	99	100	169	14,64	2,75	4,69	21,76
# 4	117	119	105	147	4,56	3,3	2,51	12,07
# 5	96	104	94	160	14,3	10,1	9,2	24,3
# 6	100	104	103	142	7,7	6,6	6,0	20,2
# 7	142	128	119	159	18,1	14,8	9,4	30,8
# 8	100	95	99	146	4,7	4,7	2,3	8,5
# 9	128	108	107	186	5,6	6,1	4,2	20,1
# 10	121	102	98	154	20,4	12,6	12,7	30,58
MW	112,3	106,6	102,2	158,0	10,63	7,74	6,57	21,41
StAbw.	13,88	9,28	6,73	12,14	5,490	3,715	3,15	6,66
SEM	4,39	2,93	2,13	3,84	1,736	1,175	0,997	2,106

7.2 VERZEICHNISSE

7.2.1 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Diagnosen und Operationen der untersuchten Patienten	42
Tabelle 2:	Material und Bezugsquellen	43
Tabelle 3:	Darstellung der verwendeten Lösungen	44
Tabelle 4:	Plasmaalbuminkonzentration, Blutvolumen, Hämatokrit, Plasmavolumen	46
Tabelle 5:	Alter, Größe, Gewicht, body mass index (BMI)	47
Tabelle 6:	Deltawerte des albumingebundenen Leucins Deltawerte der Isotopomerenverhältnisse der Plasmaketoisocapronsäure Tracer / Tracee- Verhältnisse für albumingebundenes Leucin und Plasmaisocapronsäure	48
Tabelle 7:	Fraktionelle Albuminsyntheseraten (FSR), Absolute Albuminsyntheseraten (ASR)	50
Tabelle 8:	Glukosekonzentrationen, Insulinkonzentrationen	51

7.2.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Studienaufbau	9
Abbildung 2: Albuminextraktion aus Plasma	11
Abbildung 3: Albuminpurifikation, Isolation der Tracer-Aminosäure, und Vorbereitung für die massenspektrometrische Analyse	12
Abbildung 4: Isotopomerenverhältnisse der Ketoisocapronsäure (KIC)	20
Abbildung 5: Tracer/Tracee- Verhältnisse der Ketoisocapronsäure (KIC) in der Kontroll- und in der Kohlenhydratgruppe	21
Abbildung 6: Tracer/Tracee- Verhältnisse des albumingebundenen Leucins in der Kontroll- und in der Kohlenhydratgruppe	22
Abbildung 7: Fraktionelle Albuminsyntheseraten (FSR) in der Kontroll- und in der Kohlenhydratgruppe in Phase I und Phase II des Untersuchungsprotokolls	24
Abbildung 8: Absolute Albuminsyntheseraten (ASR) in der Kontroll- und in der Kohlenhydratgruppe in Phase I und Phase II des Untersuchungsprotokolls	25
Abbildung 9: Glukosekonzentrationen im Serum der Kontroll- und Kohlenhydratgruppe	26
Abbildung 10: Insulinkonzentrationen im Serum der Kontroll- und Kohlenhydratgruppe	27

7.2.3 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ASR	Absolute Syntheserate
BMI	Body – Mass – Index
BSTFA	bis(trimethyl)trifluoracetamid
C	Kohlenstoff
CO ₂	Kohlendioxid
CRP	C – reaktives Protein
Da	Dalton
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
FSR	Fraktionelle Syntheserate
GC	Gaschromatograph(ie)
GC – IRMS	Gaschromatographie-Isotopenverhältnis-Massen- Spektrometrie
GCMS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
HCl	Salzsäure
He	Helium
KG	Körpergewicht
KIC	Ketoisocapronsäure
M+1/M	Isotopomerenverhältnis
MPE	mole percent excess
M	mol pro Liter
M _r	Molekulargewicht
NaCl	Natriumchlorid
NaOH	Natriumhydroxid
NAP	N-acetyl-n-propyl
O	Sauerstoff
p.a.	pro analysis
r	Isotopenverhältnis
R _a	Erscheinungsrate
R _{NAP-Leucin}	Differenz Isotopenverhältnis Probe zu nicht markiertem Hintergrund

SDS-PAGE	Natriumlaurylsulfat-Polyacrylamid-Gel_Elektrophorese
SEM	Standardfehler der Mittelwerte
TCA	Trichloressigsäure
TEMED	Tetramethylethyldiamin
TMCS	Trimethylchlorsilan
TNF α	Tumornekrosefaktor α
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
t – RNA	Transfer – Ribonucleinsäure
U/min	Umdrehungen pro Minute
Z _{KIC}	Tracer/Tracee-Verhältnis im Präkusorpool
Z _{Prot}	Tracer/Tracee-Verhältnis

7.2.4 Literaturverzeichnis

1. Abumrad NN, Jefferson LS, Rannels SR, Williams PE; Role of insulin in the regulation of leucin kinetics in the conscious dog. *Journal of clinical investigation*, 1982. 70: p. 1031-1041.
2. Agwunobi AO, Reid C, Maycock P, Little RA, Carlson GL (2000) Insulin resistance and substrate utilization in human endotoxemia. *J Clin Endocrinol Metab* 85:3770–3778.
3. Ahlman B, Charlton M, Fu A, Berg C, O'Brien P, Nair KS; Insulin's Effect on Synthesis Rates of Liver Proteins: A Swine Model Comparing Various Precursors of Protein Synthesis. *Diabetes*, 2001. 50(5): p. 947-954.
4. Alberti KGMM, Batstone GF, Foster KJ, Johnston DG; Relative role of various hormones in mediating the metabolic response in injury. *J Parenter. Enter. Nutr.*, 1980. 4: p. 141-46.
5. Aljada A, Ghanim H, Assian E, Dandona P (2002) Tumor necrosis factor- α inhibits insulin-induced increase in endothelial nitric oxide synthase and reduces insulin receptor content and phosphorylation in human aortic endothelial cells. *Metabolism* 51:487–491.
6. Alvestrand A, DeFronzo RA, Smith D, Wahren J; Influence of hyperinsulinaemia on intracellular amino acid levels and amino acid exchange across splanchnic and leg tissues in uraemia. *Clin. Sci.*, 1988. 74: p. 155-163.
7. Ballmer PE, McNurlan, Margaret A, Essen Pia, Anderson SE, Garlick PJ; Albumin Synthesis Rates Measured with [2H5ring]Phenylalanine are not Responsive to Short-Term Intravenous Nutrients in Healthy Humans. *J. Nutr.*, 1995. 125(3): p. 512-519.
8. Bennet WM, Connacher AA, Smith K, Jung RT, Rennie MJ; Inability to stimulate skeletal muscle or whole body protein synthesis in type 1 (insulin-dependent) diabetic

- patients by insulin-plus-glucose during amino acid infusion: studies of incorporation and turnover of tracer L-[1-13C]leucine. . *Diabetologia*, 1990. 33: p. 43-51.
9. Bessey PQ, Lowe KA; Early hormonal changes affect the catabolic response to trauma. *Annals of Surgery*, 1993. 218(4): p. 476-91.
 10. Bird TA, Davies A, Baldwin SA, Saklatvala J (1990) Interleukin 1 stimulates hexose transport in fibroblasts by increasing the expression of glucose transporters. *J Biol Chem* 265:13578–13583.
 11. Bisschop PH, Dietary Carbohydrate Deprivation Increases 24-Hour Nitrogen Excretion without Affecting Postabsorptive Hepatic or Whole Body Protein Metabolism in Healthy Men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003. 88(8): p. 3801-3805.
 12. Bolder U, Ebener C, Hauner H, Jauch KW, Kreymann G, Ockenga J, Senkal M; eds. Carbohydrates. DGEM-guidelines for parenteral nutrition, ed. B. Koletzko, et al. Vol. 32. 2007.
 13. Bollman JL, Flock EV, Grindlay JH; Action of glucose and insulin on free amino acids of the dehepatized dog. *Am J Physiol*, 1953. 175: p. 467-470.
 14. Bozzetti F, Gianotti L, Braga M, Di Carlo V, Mariani L; Postoperative complications in gastrointestinal cancer patients: The joint role of the nutritional status and the nutritional support. *Clinical nutrition*, 2007. 31.
 15. Caso G, Feiner J, Mileva I, Bryan LJ, Kelly P, Autio K, Gelato MC, McNurlan MA; Response of albumin synthesis to oral nutrients in young and elderly subjects. *Am J Clin Nutr*, 2007. 85(2): p. 446-451.
 16. Castellino P, Luzi L, Simonson DC, Haymond M, DeFronzo RA; Effect of Insulin and Plasma Amino Acid Concentrations on Leucine Metabolism in Man. Role of Substrate Availability on Estimates of Whole Body Protein Synthesis. *Journal of clinical investigation*, 1987. 80(6): p. 1784-1793.

17. Cerra FB (1987) Hypermetabolism, organ failure, and metabolic support. *Surgery* 101:1–14.
18. Chambrier C, Laville M, Rhzioual BK, Odeon M, Bouletreau P, Beylot M (2000) Insulin sensitivity of glucose and fat metabolism in severe sepsis. *Clin Sci* 99:321–328.
19. Chiasson JL, Shikama H, Chu DT, Exton JH (1981) Inhibitory effect of epinephrine on insulin-stimulated glucose uptake by rat skeletal muscle. *J Clin Invest* 68:706–713.
20. Clowes GH, Martin H, Walji S, Hirsch E, Gazitua R, Goodfellow R (1978) Blood insulin responses to blood glucose levels in high output sepsis and septic shock. *Am J Surg* 135:577–583.
21. Cohn EJ, Hughes, Wear JH; Preparation and Properties of Serum and Plasma Proteins. XIII. Crystallization of Serum Albumins from Ethanol-Water-Mixtures. *Journal of the chemical society*, 1947.
22. Cuthbertson DP; Alterations in metabolism following injury: part I. *Injury*, 1980. 11(3): p. 175-189.
23. Dagher F, Lyons JH, Finlayson DC, Shamsai J, Moore FD; Blood volume measurement: a critical study prediction of normal values: controlled measurement of sequential changes: choice of a bedside method. *Adv urg*, 1965. 1: p. 69-109.
24. Dahn MS, Jacobs LA, Smith S, Hans B, Lange MP, Mitchell RA, Kirkpatrick JR (1985) The relationship of insulin production to glucose metabolism in severe sepsis. *Arch Surg* 120:166–172.
25. De Feo P, Gaisano MG, Haymond MW; Differential effects of insulin deficiency on albumin and fibrinogen synthesis in humans. *Journal of clinical investigation*, 1991. 88: p. 833-840.

26. De Feo P, Horber FF, Haymond MW; Meal stimulation of albumin synthesis: a significant contributor to whole body protein synthesis in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 1992. 263(4): p. E794-799.
27. De Feo P, Volpi E, Lucidi P, Cruciani G, Reboldi G, Siepi D, Mannarino E, Santeusanio F, Brunetti P, Bolli GB; Physiological Increments in plasma insulin concentrations have selective and different effects on synthesis of hepatic proteins in normal humans. *Diabetes*, 1993. 42: p. 995-1002.
28. Dillmann W; Diabetes mellitus-induced changes in the concentration of specific mRNAs and proteins. *Diabetes Metab Rev*, 1988. 4(8): p. 789-797.
29. Dimitriadis G, Leighton B, Parry-Billings M, Sasson S, Young M, Krause U, Bevan S, Piva T, Wegener G, Newsholme EA (1997) Effects of glucocorticoid excess on the sensitivity of glucose transport and metabolism to insulin in rat skeletal muscle. *Biochem J* 321:707–712.
30. Dominici FP, Cifone D, Bartke A, Turyn D (1999) Alterations in the early steps of the insulin-signaling system in skeletal muscle of GHtransgenic mice. *Am J Physiol* 277:E447–E454.
31. Doweiko JP, Nompleggi DJ; Role of albumin in human physiology and pathophysiology. *J Parenter. Enter. Nutr.*, 1991. 15: p. 207-11.
32. Elliot M, KGMM A; The hormonal and metabolic response to surgery and trauma. *New Asp Clin Nutr*, 1983. 1: p. 247-270.
33. Evans TW; Review article: albumin as a drug - biological effects of albumin unrelated to oncotic pressure. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2002. 16(s5): p. 6-11.
34. Felländer G, Nordenstrom J, Tjader I, Bolinder J, Arner P; Lipolysis during abdominal surgery. *J Clin Endocrinol Metab*, 1994. 78: p. 150-5.

35. Flaim KE, Hutson SM, Lloyd CE, Taylor JM, Shiman R, Jefferson LS; Direct effect of insulin on albumin gene expression in primary cultures of rat hepatocytes. *Am J Physiol*, 1985. 249(5 Pt 1): p. E447-E453.
36. Flakoll PJ, Kulaylat M, Frexes-Steed M, Hourani H, Brown LL, Hill JO, Abumrad NN; Amino acids augment insulin's suppression of whole body proteolysis. *Am J Physiol*, 1989. 257: p. E839-47.
37. Fleck A, Colley CM, Myers MA; Liver export proteins and trauma. *Br. Med. Bull.*, 1985. 41: p. 265-273.
38. Fleck A, Hawker F, Wallace PI, Raines G, Trotter J, Ledingham IM; Increased vascular permeability: a major cause of hypoalbuminaemia in disease and injury. *Lancet*, 1985: p. 781-4.
39. Ford GC, Cheng KN, Halliday D; Analysis of (1-13C)leucine and (13C)KIC in plasma by capillary gas chromatography/mass spectrometry in protein turnover studies. *Biological Mass Spectrometry*, 1985. 12(8): p. 432-436.
40. Forlani G, Vannini P, Marchesini G, Zoli M, Ciavarella A, Pisi E; Insulin-dependent metabolism of branched,chain amino acids in obesity. *Metab. Clin. Exp.*, 1984. 33: p. 147-150.
41. Frexes-Steed M, Lacy DB, Collins J, Abumrad NN; Role of leucine and other amino acids in regulating protein metabolism in vivo. *Am J Physiol*, 1992. 262: p. E925-E935.
42. Fryburg DA, Jahn LA, Hill SA, Oliveras DM, Barrett EJ; Insulin and Insulin-like Growth Factor-I Enhance Human Skeletal Muscle Protein Anabolism during Hyperaminoacidemia by Different Mechanisms. *Journal of clinical investigation*, 1995. 96(4): p. 1722-1729.
43. Fukagawa NK, Minaker KL, Rowe JW, Goodman MN, Matthews DE, Bier DM, Young VR; Insulin-mediated Reduction of Whole Body Protein Breakdown. Dose-

- response Effects on Leucine Metabolism in Postabsorptive Men. *Journal of clinical investigation*, 1985. 76(6): p. 2306-2311.
44. Fukagawa NK, Minaker KL, Young VR, Matthews DE, Bier DM, Rowe JW; Leucine metabolism in aging humans, effect of insulin and substrate availability. *Am J Physiol*, 1989. 256: p. E288-E294.
 45. Geevarghese SK, Flakoll PJ, Bradley AL, Wright JK, Chapman WC, Van Buren D, Sika M, Blair KT, Jabbour K, Williams PE, Hutchins CH, Phillips JL, Pinson CW; The effect of nutritional and hormonal supplementation on protein synthesis immediately after liver transplantation. *J Surg Res*, 1999. 81: p. 196-200.
 46. Gelfand RA, Glickman MG, Castellino P, Louard RJ, DeFronzo RA; Measurement of L-[1-14C]leucine kinetics in splanchnic and leg tissues in humans. Effects of amino acid infusion. *Diabetes*, 1988. 37: p. 1365-1372.
 47. Gil K, Gump FE, Starker PM, Askanazi J, Elwyn DH, Kinney JM; Splanchnic substrate balance in malnourished patients during parenteral nutrition. *Am J Physiol*, 1985. 248: p. 409-419.
 48. Granner D, Andreone T, Sasaki K, Beale E; Inhibition of transcription of the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene by insulin. *Nature*, 1983. 305(5934): p. 549-551.
 49. Green CJ, Campbell IT, O'Sullivan E, Underhill S, McLaren DP, Hipkin LJ, MacDonald IA, Russell J (1995) Septic patients in multiple organ failure can oxidize infused glucose, but nonoxidative disposal (storage) is impaired. *Clin Sci* 89:601-609.
 50. Haring H, Kirsch D, Obermaier B, Ermel B, Machicao F (1986) Decreased tyrosine kinase activity of insulin receptor isolated from rat adipocytes rendered insulin-resistant by catecholamine treatment in vitro. *Biochem J* 234:59-66.
 51. Hart BB, Stanford GG, Ziegler MG, Lake CR, Chernow B (1989) Catecholamines: study of interspecies variation. *Crit Care Med* 17:1203-1218

52. Hart DW, Wolf SE, Mlcak R, Chinkes DL, Ramzy PI, Obeng MK, Ferrando AA, Wolfe RR, Herndon DN; Persistence of muscle catabolism after severe burn. *Surgery*, 2000. 128(2): p. 312-319.
53. Hartl WH, Rittler P; Veränderungen des Substratstoffwechsels bei chirurgischen Erkrankungen unter besonderer Berücksichtigung des Eiweißhaushaltes. *Aktuelle Ernährungsmedizin*, 1997. 22: p. 154-163.
54. Hartl WH, Inthorn D, eds. Postoperative Systemkomplikationen. *Chirurgie*, ed. Berchthold. Vol. 17. 2000. 223-242.
55. Hartl WH, Demmelmair H, Jauch K-W, Schmidt HL; Determination of protein synthesis in human rectal cancer in situ by continuous [1-13C] leucine infusion. *Am J Physiol*, 1997. 272: p. E769-E802.
56. Hartl, W.H., K.W. Jauch (1994).. Postaggressionsstoffwechsel: Versuch einer Standortbestimmung. *Infusionstherapie* 21: 30-40.
57. Hassett J, Border J; The metabolic response to trauma and sepsis. *World Journal of Surgery*, 1983. 7(1): p. 125-131.
58. Heiling VJ, Campbell PJ, Gottesman IS, Tsalikian E, Beaufriere B, Gerich JE, Haymond MW; Differential effects of hyperglycemia and hyperinsulinemia on leucine rate of appearance in normal humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 1993. 76(1): p. 203-206.
59. Herbert V, Lau K, Gottlieb C, Bleicher S; Coated charcoal immunoassay of insulin. *J Clin Endocrinol Metab*, 1965. 25: p. 1375-84.
60. Heyland D, Dhaliwal R, Drover JW, Gramlich L, Dodek P; Canadian clinical practice guidelines for nutrition support in mechanically ventilated, critically ill adult patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 2003. 27(5): p. 355-373.

61. Hill GL, Douglas RG, Schroeder D; Metabolic basis for the management of patients undergoing major surgery. *World Journal of Surgery*, 1993. 17(2): p. 146-153.
62. Hill PG; The measurement of albumin in serum and plasma. *Ann Clin Biochem*, 1985. 22: p. 565-578.
63. Hoedet-Rasmussen K, Jarnum S; Investigation of postoperative hypoalbuminaemia. *Acta Chir Scand*, 1961. 122: p. 459-465.
64. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM (1996) IRS-1 mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity induced insulin resistance. *Science* 271:665– 668.
65. Hourani H, Williams PE, Morris JA, May ME, Abumrad NN; Effect of insulin-induced hypoglycemia on protein metabolism in vivo. *Am J Physiol*, 1990. 259: p. E342-E350.
66. Hu M, Louie S, Cross CE, Motchnik P, Halliwell B; Antioxidant protection against hypochlorous acid in human plasma. *J Lab Clin Med*, 1993. 121: p. 885-92.
67. Jacobs-Haage R; Postaggressionssyndrom und Albuminsynthese – longitudinale Untersuchungen mit einer modifizierten Methodik zur Albuminisolation. Promotionsarbeit Medizinische Fakultät der Ludwigs-Maximilian Universität München 2004.
68. Jarnum S; plasma protein exsudation in the peritoneal cavity during laparotomy. A comparative study in partial gastrectomy and protein-losing enteropathy. *Gastroenterology*, 1961. 41: p. 107-118.
69. Jeevanandam M, Young DH, Schiller WR (1990) Glucose turnover, oxidation, and indices of recycling in severely traumatized patients. *J Trauma* 30:582–589.
70. Jefferson LS, Liao WS, Peavy DE, Miller TB, Appel MC, Taylor JM; Diabetes-induced alterations in liver protein synthesis. Changes in the relative abundance of

- mRNAs for albumin and other plasma proteins. *J. Biol. Chem.*, 1983. 258(2): p. 1369-1375.
71. Kanety H, Feinstein R, Papa MZ, Hemi R, Karasik A (1995) Tumor necrosis factor alpha induced phosphorylation of insulin receptor substrate- 1 (IRS-1). Possible mechanism for suppression of insulin-stimulated tyrosine phosphorylation of IRS-1. *J Biol Chem* 270:23780–23784.
 72. Keel M, Wanner GA; eds. *Die systemische Traumareaktion*. 5 ed. Chirurgie, ed. H.-P. Bruch and O. Trentz. Vol. 3. 2006, Urban & Fischer: München.
 73. Kimball SR, Horetsky RL, Jefferson LS; Hormonal regulation of albumin gene expression in primary cultures of rat hepatocytes. *American Journal of Physiology*, 1995. 268(1 Pt 1): p. E6-E14.
 74. Koletzko B, Jauch KW, Krohn K, Verwied-Jorky S; DGEM - guidelines for parenteral nutrition , Available at <http://www.dgem.de>. 2007.
 75. Kudsk KA, Tolley EA, DeWitt RC, Janu PG, Blackwell AP, Yeary S, King BK; Preoperative albumin and surgical site identify surgical risk for major postoperative complications. *Journal of parenteral and enteral nutrition*, 2003. 27(1): p. 1-9.
 76. Lang CH, Dobrescu C (1991) Gramnegative infection increases noninsulin-mediated glucose disposal. *Endocrinology* 128:645–653.
 77. Lang CH (1992) Sepsis-induced insulin resistance in rats is mediated by a beta-adrenergic mechanism. *Am J Physiol* 263:E703–E711.
 78. Lecavalier L, De Feo P, Haymond MW; Isolated hypoisoleucinemia impairs whole body but not hepatic protein synthesis in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 1991. 261(5): p. E578-586.
 79. Ljungqvist O, Nygren J, Thorell A; Insulin resistance and elective surgery. *Surgery*, 2000. 128(5): p. 757-760.

80. Lloyd CE, Kalinyak JE, Hutson SM, Jefferson LS; Stimulation of albumin gene transcription by insulin in primary cultures of rat hepatocytes. *Am J Physiol* 1987. 252(2 Pt 1): p. C205-C214.
81. Lohsiriwat V, Chinswangwatanakul V, Lohsiriwat S, Akaraviputh T, Boonnuch W, Methasade A, Lohsiriwat D; Hypoalbuminemia is a predictor of delayed postoperative bowel function and poor surgical outcomes in right-sided colon cancer patients. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 2007. 16(2).
82. Lundsgaard-Hansen P; Physiology and pathophysiology of colloid osmotic pressure and albumin metabolism. *Curr Stud Hematol Blood Transfusion*, 1986. 53: p. 1-17.
83. Luzi L, Castellino P, Simonson DC, Petrides AS, DeFronzo RA; Leucine metabolism in IDDM: role of insulin and substrate availability. *Diabetes*, 1990. 39: p. 38-48.
84. Marchesini G, Forlani G, Zoli M, Dondi C, Bianchi G, Bua V, Vannini P, Pisi E; Effect of euglycemic insulin infusions on plasma levels of branched chain amino acids in patients with liver cirrhosis. *Hepatology*, 1983. 3: p. 184-187.
85. Marik PE, Zaloga GP (2002) Adrenal insufficiency in the critically ill: a new look at an old problem. *Chest* 122:1784–1796.
86. McCowen KC, Malhotra A, Bistrian BR (2001) Stress-induced hyperglycemia. *Crit Care Clin* 17:107–124.
87. McNurlan MA, Sandgren A, Hunter K, Essen P, Garlick PJ, Wernerman J; Protein synthesis rates of skeletal muscle, lymphocytes, and albumin with stress hormone infusion in healthy man. *Metabolism*, 1996. 45(11): p. 1388-1394.
88. Meek SE, Persson M, Ford GC, Nair KS; Differential regulation of amino acid >exchange and protein dynamics across splanchnic and skeletal muscle beds by insulin in healthy human subjects. *Diabetes*, 1998. 47(12): p. 1824-1835.

89. Mehta VK, Hao W, Brooks-Worrell BM, Palmer JP (1994) Low-dose interleukin 1 and tumor necrosis factor individually stimulate insulin release but in combination cause suppression. *Eur J Endocrinol* 130:208–214.
90. Mesotten D, Delhanty PJ, Vanderhoydonc F, Hardman KV, Weekers F, Baxter RC, Van den BG (2002) Regulation of insulin-like growth factor binding protein-1 during protracted critical illness. *J Clin Endocrinol Metab* 87:5516–5523
91. Meszaros K, Lang CH, Bagby GJ, Spitzer JJ (1987) Tumor necrosis factor increases in vivo glucose utilization of macrophage-rich tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 149:1–6.
92. Miller LL, Bly CG, Watson ML, Bale WF; The dominant role of the liver in plasma protein synthesis. A direct study of the isolated perfused rat liver with the aid of lysine-C 14. *J Exp Med*, 1951(94): p. 431-53.
93. Miller LL, Treat DE, Fridd B, Wemett D; Effects of streptozotocin diabetes in rat on blood levels of ten specific plasma proteins and on their net biosynthesis by the isolated perfused liver. *Hepatology*, 1990. 11(4): p. 635-645.
94. Mizock BA (2001) Alterations in fuel metabolism in critical illness hyperglycemia. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 15:533–551.
95. Mizock BA (1997) Alterations in fuel metabolism in critical illness. Hyperglycemia. In: Ober KP (ed) *Endocrinology of critical disease*. Humana Press, Totawa, New Jersey, pp 197–297.
96. Moore FD, Brennan MF; eds. *Surgical injury. Manual of Surgical Nutrition*, ed. W.F. Ballinger. 1975, Saunders: Philadelphia. 169-220.
97. Nicholson JP, Wolmarans MR, Park GR; The role of albumin in critical illness. *Br. J. Anaesth.*, 2000. 85(4): p. 599-610.

98. Nunes AL, Carvalheira JB, Carvalho CR, Brenelli SL, Saad MJ (2001) Tissue-specific regulation of early steps in insulin action in septic rats. *Life Sci* 69:2103–2112.
99. Nygren J, Thorell A, Efendic S, Nair KS, Ljungqvist O; Site of insulin resistance after surgery; the contribution of hypocaloric nutrition and bed rest. *Clin. Sci.*, 1997. 93: p. 137-46.
100. Nygren J, Nair KS; Differential Regulation of Protein Dynamics in Splanchnic and Skeletal Muscle Beds by Insulin and Amino Acids in Healthy Human Subjects. *Diabetes*, 2003. 52(6): p. 1377-1385.
101. O'Brien RM, Streeper RS, Ayala JE, Stadelmaier BT, Hornbuckle LA; Insulin-regulated gene expression. *Biochem. Soc. Trans.*, 2001. 29(Pt 4): p. 552-558.
102. O'Keefe S, Lemmer ER, Ogden JM, Winter T; The influence of intravenous infusions of glucose and amino acids of pancreatic enzyme and mucosal protein synthesis in human subjects. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 1998. 22: p. 253-258.
103. Oratz M, Rothschild MA, Schreiber SS; Effekt of dextran infusion on protein synthesis by hepatic microsomes. *Am J Physiol*, 1970. 218: p. 1108-12.
104. Pacy PJ, Garrow JS, Ford GC, Merritt H, Halliday D; Influence of amino acid administration on whole-body leucine kinetics and resting metabolic rate in postabsorptive normal subjects. *Clin. Sci.(Lond)*, 1988. 75: p. 225-231.
105. Pacy PJ, Read M, Halliday D; Influence of insulin on albumin and non-albumin protein fractional synthetic rates in post-absorptive type 1 diabetic patients. *Eur J Clin Nutr*, 1990. 44(5): p. 343-9.
106. Paz K, Hemi R, LeRoith D, Karasik A, Elhanany E, Kanety H, Zick Y (1997) A molecular basis for insulin resistance. Elevated serine/threonine phosphorylation of IRS-1 and IRS-2 inhibits their binding to the juxtamembrane region of the insulin receptor and impairs their ability to undergo insulin-induced tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem* 272:29911–29918.

107. Pessin JE, Saltiel AR (2000) Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *J Clin Invest* 106:165–169.
108. Peters TJ; ed. *Metabolism: albumin in the body. All about Albumin Biochemistry, Genetics And Medical Applications*. 1996, Academic Press: San Diego. 188-250.
109. Petersson B, Wernerman J, Waller SO, von der Decken A, Vinnars E; Elective abdominal surgery depresses muscle protein synthesis and increases subjective fatigue: effects lasting more than 30 days. *Br J Surg.*, 1990. 77: p. 796-800.
110. Petit F, Bagby GJ, Lang CH (1995) Tumor necrosis factor mediates zymosan-induced increase in glucose flux and insulin resistance. *Am J Physiol* 268:E219–E228.
111. Proud CG; Regulation of protein synthesis by insulin. *Biochem. Soc. Trans.*, 2006. 34(Pt 2): p. 213-216.
112. Pupim LB, Flakoll PJ, Ikizler TA; Nutritional Supplementation Acutely Increases Albumin Fractional Synthetic Rate in Chronic Hemodialysis Patients. *J Am Soc Nephrol*, 2004. 15(7): p. 1920-1926.
113. Rencurel F, Girard J; Regulation of liver gene expression by glucose. *Proceedings of the Nutrition Society*, 1998. 57(2): p. 265-275.
114. Rittler P, Schiefer B, Demmelmair H, Koletzko B, Roscher AA, Jacobs R, Krick M, Jauch KW, Hartl WH; Effect of amino acid infusion on human postoperative colon protein synthesis in situ, . *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 2005. 29: p. 255-261.
115. Rittler P, Schiefer B, Demmelmair H, Koletzko B, Vogeser M, Alpers DH, Jauch KW, Hartl, WH; The effect of hyperglycemic hyperinsulinemia on small-intestinal mucosal protein synthesis in patients after surgical stress,. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 2006. 30: p. 97-107.

116. Rittler P, Jacobs R, Demmelmair H, Kuppinger D, Braun S, Koletzko B, Jauch K-W, Hartl WH; Dynamics of albumin synthesis after major rectal operation. *Surgery*, 2007. 141(5): p. 660-666.
117. Roh MS, Moldawer LL, Ekman LG, Dinarello CA, Bistrian BR, Jeevanandam M, Brennan MF (1986) Stimulatory effect of interleukin-1 upon hepatic metabolism. *Metabolism* 35:419–424.
118. Rooyackers OE, Nair KS; Hormonal regulation of human muscle protein metabolism. *Annual Review of Nutrition*, 1997. 17(1): p. 457-485.
119. Rothschild MA, Oratz M, Schreiber SS; Serum albumin. *Hepatology*, 1988. 8: p. 385-401.
120. Rothschild MA, Schreiber SS, Oratz M, McGee HL; The Effects of Adrenocortical Hormones on Albumin Metabolism Studied with Albumin-I1311. *Journal of clinical investigation*, 1958. 37(9): p. 1229-1235.
121. Saeed M, Carlson GL, Little RA, Irving MH (1999) Selective impairment of glucose storage in human sepsis. *Br J Surg* 86:813–821.
122. Sakurai Y, Zhang XJ, Wolfe RR (1996) TNF directly stimulates glucose uptake and leucine oxidation and inhibits FFA flux in conscious dogs. *Am J Physiol* 270:E864–E872
123. Schauder P, Schroder K, Matthaei D, Henning V, Langenbeck U; Influence of insulin on blood levels of branched chain keto and amino acids in man. *Metab. Clin. Exp.*, 1983. 32: p. 323-327.
124. Schwenk WF, Beaufriere B, Haymond MW; Use of reciprocal pool specific activities to model leucine metabolism in humans. *Am J Physiol*, 1985. 249: p. E646-E650.
125. Shangraw RE, Jahoor F, Miyoshi H et al (1989) Differentiation between septic and postburn insulin resistance. *Metabolism* 38: 983-989.

126. Siegel JH, Cerra FB, Coleman B, Giovannini I, Shetye M, Border JR, McMenemy RH (1979) Physiological and metabolic correlations in human sepsis. Invited commentary. *Surgery* 86:163–193.
127. Smith TR, Elmendorf JS, David TS, Turinsky J (1997) Growth hormone-induced insulin resistance: role of the insulin receptor, IRS-1, GLUT-1, and GLUT-4. *Am J Physiol* 272:E1071–E1079.
128. Stuart CA, Shangraw RE, Prince MJ et al (1988) Bed-rest-induced insulin resistance occurs primarily in muscle. *Metabolism* 37: 802-806.
129. Sun X, Iles M, Weissman C; Physiological variables and fluid resuscitation in the postoperative intensive care unit patient. *Crit Care Med*, 1993. 21: p. 555-61.
130. Tessari P, Trevisan R, Inchiostro S, Biolo G, Nosadini R, De Kreutzenberg SV, Duner E, Tiengo A, Crepaldi G; Dose-response curves of effects of insulin on leucine kinetics in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 1986. 251(3): p. E334-342.
131. Tessari P, Nosadini R, Trevisan R, De Kreutzenberg SV, Inchiostro S, Duner E, Biolo G, Marescotti MC, Tiengo A, Crepaldi G; Defective Suppression by Insulin of Leucine-Carbon Appearance and Oxidation in Type 1, Insulin-dependent Diabetes Mellitus. Evidence for Insulin Resistance Involving Glucose and Amino Acid Metabolism. *Journal of clinical investigation*, 1986. 77(6): p. 1797-1804.
132. Tessari P, Inchiostro S, Biolo G, Trevisan R, Fantin G, Marescotti MC, Iorn E, Tiengo A, Crepaldi G; Differential Effects of Hyperinsulinemia and Hyperaminoacidemia on Leucine-Carbon Metabolism In Vivo - Evidence for Distinct Mechanisms in Regulation of Net Amino Acid Deposition. *Journal of clinical investigation*, 1987. 79(4): p. 1062-1069.
133. Tessari P; Effects of insulin on whole-body and regional amino acid metabolism. *Diab Metab Rev*, 1994. 3: p. 253-285.

134. Tessari P, Kiwanuka E, Millions R, Vettore M, Puricelli L, Zanetti M, Gucciardi A, Tosolini M, Cogo P, Carnielli V, Tiengo A, Barazzoni R; Albumin and Fibrinogen Synthesis and Insulin Effect in Type 2 Diabetic Patients With Normoalbuminuria. *Diabetes Care*, 2006. 29(2): p. 323-328.
135. Thomas L; Albumin, Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik, 1998: p. 668.
136. Toader C, Acalovschi I, Szantay I; Protein metabolism following surgical stress. Pre- and postoperative [⁷⁵Se]methionine incorporation in serum albumin. *Clinica Chimica Acta*, 1972. 37: p. 189-192.
137. Toffolo G, Foster DM, Cobelli C; Estimation of protein fractional synthetic rate from tracer data. *Am J Physiol*, 1993. 264: p. E128-E135.
138. van Acker BAC, Hulsewe KWE, Wagenmakers AJM, Deutz NEP, von Meyenfeldt MF, Soeters PB; Effect of surgery on albumin synthesis rate in humans. *Clinical Nutrition*, 1998. 17(Supplement 1): p. 14-15.
139. Van den Berghe G (2002) Neuroendocrine pathobiology of chronic illness. *Crit Care Clin* 18:509–528
140. Wanke IE, Wong NC; Diabetes mellitus decreases the activity of the albumin promoter in vitro. *J. Biol. Chem.*, 1991. 266(10): p. 6068-6072.
141. Wilmore DW, Black PR, Muhlbacher, eds. Injured man: trauma and sepsis. Nutritional Support of the Seriously Ill Patients, ed. R.W. Winters. 1983. 33-52.
142. Wolfe RR, Jahoor F, Hartl WH; Protein and amino acid metabolism after injury. *Diab Metab Rev*, 1989. 5: p. 149-164.
143. Wolfe RR (1997) Substrate utilization/insulin resistance in sepsis/trauma. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 11:645–657.

144. Yamauchi A, Fukuhara Y, Yamamoto S, Yano F, Takenaka M, Imai E; Oncotic pressure regulates gene transcripts of albumin and apolipoprotein B in cultured rat hepatoma cells. *Am J Physiol*, 1992. 263: p. C397-404.

8. DANKSAGUNG

Ich danke dem Klinikdirektor Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. K.-W. Jauch dafür, dass er mir die Möglichkeit gegeben hat, in der Chirurgischen Klinik und Poliklinik der LMU, Campus Großhadern zu promovieren.

Herrn Dr. Rittler, Frau Dr. Jacobs und Frau Dr. Krick danke ich für die Anleitung und Hilfe bei der Durchführung der Untersuchungen im Labor, sowie beim experimentellen Teil der Studie.

Für die technische Unterstützung und die massenspektrometrischen Messungen bedanke ich mich bei Herrn Prof. Koletzko und Herrn Dr. Demmelmaier.

Die Messungen der Glukose- und Insulinkonzentrationen übernahm dankenswerterweise Herr PD Dr. Vogeser aus dem Institut für Klinische Chemie der LMU

Besonders großen Dank schulde ich meinem Doktorvater Prof. Dr. W.H. Hartl für die Aufgabenstellung, seine unermüdliche und geduldige Unterstützung und für seine große Hilfe in allen wissenschaftlichen Fragen und bei der Literaturarbeit.

9. LEBENSLAUF

Persönliche Angaben

Name	Susanne Braun
Geburtsdatum	31.12.1980
Geburtsort	München
Anschrift	Westendstrasse 113, 80339 München
Familienstand	Ledig

Ausbildung

09/87-07/91	Grundschule Ismaning
07/91-05/00	Werner – Heisenberg – Gymnasium Garching
05/00	Allgemeine Hochschulreife
10/00-03/03	Grundstudium der Humanmedizin Ludwig-Maximilians-Universität München
03/03	Ärztliche Vorprüfung
08/04	Co – Assistenz im Kursus der Makroskopischen Anatomie; Anatomische Anstalt der LMU München
04/03-08/07	zweiter Abschnitt des Studiums der Medizin Ludwig-Maximilians-Universität München
08/07-05/08	Praktisches Jahr
06/08	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
Seit 09/08	Ärztin in Weiterbildung; chirurgischen Klinik des Kinikums der Universität München, Großhadern