

Über den Einfluß oral applizierter Triglyceride auf die Muskelproteolyse bei der Ratte

T. Kaufmann und H. Reinauer

Lehrstuhl für Klinische Biochemie und Biochemische Abteilung des
Diabetes-Forschungsinstituts an der Universität Düsseldorf

Zusammenfassung

Der Einfluß von Fetternährung auf das Verhalten der Plasmaamino­säurekonzentrationen sollte bei Ratten geprüft werden. In vorausgegangenen Untersuchungen am Menschen war beobachtet worden, daß nach Lipidinfusionen die Konzentration der Aminosäuren im Plasma bis zu 50 % vermindert war. In Kurz- und Langzeitversuchen wurde der Einfluß von Olivenöl auf die Konzentrationen der Aminosäuren im Plasma, auf die Ausscheidung von 3-Methylhistidin und von Gesamtstickstoff im Harn gemessen. Als Kontrollgruppen dienten hungernde Ratten und ad libitum ernährte Versuchstiere. In Kurzzeitversuchen konnte gezeigt werden, daß 2 ml Olivenöl über 12 Stunden einen kontinuierlichen Konzentrationsabfall von Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin bewirkte.

In mehrtägigen Versuchen stieg bei den Hungertieren die 3-Methylhistidin-Ausscheidung an, und im Blut werden die Konzentrationen von Leucin, Isoleucin, Valin, Tyrosin, Phenylalanin, Treonin, Glutamin erhöht. In den ölernährten Ratten blieb der Anstieg der Aminosäuren im Plasma aus. Da auch die 3-Methylhistidin-Ausscheidung während der Ölernährung unvermindert niedrig blieb, wird aus den Versuchen auf eine Hemmung der Proteolyse durch die Fett­ernährung geschlossen. Die Ursache der verminderten Aminosäurespiegel im Blut ist somit auf eine verminderte Bereitstellung von Aminosäuren in der Muskulatur zurückzuführen.

Summary

Earlier studies in man could demonstrate that intravenous lipids decreased the concentration of amino acids in plasma (to 50 %). In short- and long-term experiments in rat the effect of orally applied olive-oil on the concentration of amino acids in blood, on the excretion of 3-methylhistidin and of total nitrogen into urine was measured. Two control groups were used: rats with total restriction of food and rats which were fed ad libitum. 2 ml olive-oil given to rats within 12 hours decreased the concentration of alanine, valine, leucine, isoleucine. Whereas food restriction increased the excretion of 3-methylhistidin into urine and the blood concentration of leucine, isoleucine, valine, tyrosine, phenylalanine, threonine, and glutamine, the oil-fed rats showed no increase of amino acid levels in plasma and no increase of 3-methylhistidine excretion into urine. These experiments suggest that lipid application inhibits proteolysis in muscle, and thus diminishes the amino acid levels in blood.

Schlüsselwörter: Fett­ernährung, Aminosäurekonzentrationen im Blut, 3-Methylhistidinausscheidung

Einleitung

Nach einer Arbeit von Jansing und Reinauer (1) bewirken intravenöse Infusionen von Lipidemulsionen beim Menschen einen Konzentrations-

abfall fast aller Aminosäuren im Blut. Aus den Befunden wurde gefolgert, daß Lipidemulsionen die Freisetzung von Aminosäuren aus der Muskulatur hemmen. Andere Autoren (2) hatten bereits beschrieben, daß bei der Ratte die Stickstoffausscheidung im 24-h-Urin nach Applikation einer definierten eiweißhaltigen Testdiät signifikant erniedrigt ist, wenn die Tiere vor der Applikation der Testdiät über mehrere Tage mit einer nur aus Fett und Eiweiß bestehenden Diät anstelle einer kohlenhydrat- und eiweißreichen Nahrung gefüttert wurden. Dieses Phänomen wurde von den Untersuchern mit einer verminderten Induzierbarkeit der aminosäurenabbauenden Leberenzyme nach fettreicher Vorfütterung erklärt (2). Weiterhin ist bekannt, daß bei der Ratte durch eine eiweißfreie Kombinationsdiät aus Fett und Kohlenhydraten die Spiegel der verzweigtkettigen Aminosäuren im Plasma leicht abfallen (3). Es gibt allerdings bisher keine verlässlichen Untersuchungen mit geeigneten Parametern darüber, wie sich die Muskelproteolyse unter Applikation einer ausschließlich aus Fett bestehenden Diät verhält.

Ziel dieser Arbeit war es daher zunächst, an Ratten durch orale Applikation von Fett den beim Menschen beobachteten Effekt auf die Aminosäurespiegel im Blut zu bestätigen. In einem weiteren Schritt sollte in mehrtägigen Versuchen das Verhalten der Muskelproteolyse unter dem Einfluß einer nur aus Fett bestehenden Diät untersucht werden. Als geeigneten Parameter für die Muskelproteolyse wählten wir neben der Gesamtstickstoff-Ausscheidung die 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24-h-Urin, die als ein Maß für den Muskelprotein-Turnover gewertet wird.

Materialien und Methoden

Als Versuchstiere dienten bei allen Experimenten männliche Wistar-Ratten mit einem Körpergewicht von 200 g (Lieferant Firma Winkelmann, Paderborn). Bei dem zur Ernährung der Versuchstiere verwendeten Lipid handelte es sich um Oleum olivarium DAB 8, das von der Firma Caelo, Hilden, bezogen wurde. Die eigene gaschromatographische Analyse (Gaschromatograph Siemens L 350) ergab für die von uns verwendete Charge folgendes Verteilungsmuster der Esterfettsäuren (Tab. 1).

Im Rahmen unserer Untersuchungen wurden Kurzzeitversuche und mehrtägige Versuche durchgeführt. Die Versuchstiere erhielten bei allen Experimenten Wasser ad libitum.

Kurzzeitversuche

Die Kurzzeitversuche dienten zur Untersuchung des Verhaltens der Aminosäuren im Blut nach einmaliger Applikation von 2 ml Olivenöl bzw. 2 ml Kochsalzlösung (0,9 %) über eine Schlundsonde. 11 Ratten wurde zunächst über Nacht für 12 Stunden in Stoffwechselkäfigen das Futter entzogen. Im Anschluß daran wurde

Tab. 1. Esterfettsäuren-Verteilungsmuster des verwendeten Olivenöls.

| | | |
|---------------|------------------|------|
| Palmitinsäure | (C 16) | 8 % |
| Stearinsäure | (C 18) | 3 % |
| Ölsäure | (C 18:1) | 82 % |
| Linolsäure | (C 18:2) | 6 % |
| andere | (C 18:3, C 16:1) | 1 % |

den Ratten zur Bestimmung der Ausgangswerte Blut abgenommen. Danach erhielten 6 Ratten über eine Schlundsonde je 2 ml Olivenöl, während den 5 Ratten der Kontrollgruppe je 2 ml Kochsalzlösung (0,9 %) verabreicht wurden. In der Ölgruppe erfolgten sechs weitere Blutabnahmen in zweistündigen Abständen, während bei der Kontrollgruppe drei weitere Blutabnahmen in vierstündigen Abständen durchgeführt wurden.

Mehrtägige Versuche

Alle mehrtägigen Versuche wurden in speziellen Stoffwechselkäfigen durchgeführt, die eine quantitative Sammlung der 24-h-Urinausscheidung gewährleisteten. Der Urin wurde in sterilen Sammelgefäßen aufgefangen, in die zur Bakteriose je 1 ml HCl vorgelegt war. Die mehrtägigen Versuche dienten zur Untersuchung der 3-Methylhistidin-Ausscheidung und Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24-h-Urin sowie des Verhaltens der Aminosäuren im Blut unter den im folgenden aufgeführten Bedingungen:

Gruppe A

2 Ratten erhielten über 4 Tage ad libitum eine 3-Methylhistidin-freie Vollnahrung (Tab. 2). Diese enthielt neben den notwendigen Vitaminen und Elektrolyten als Kalorienträger Fett, Kohlenhydrate und Protein in den allgemein in der Rattenhaltung üblichen Anteilen (4). Der Proteinanteil war in Form eines 3-Methylhistidin-freien Aminosäurengemisches zugesetzt, das aus Aminosäureninfusionslösungen Aminohek (10 %) der Firma HEK Pharma GmbH durch Lyophilisierung gewonnen wurde. Während der vier Versuchstage wurde der Urin in 12-h-Intervallen gesammelt.

Gruppe B

5 Ratten wurden über 3,5 Tage gehungert. Der Urin wurde in 12-h-Intervallen gesammelt. Blutabnahmen erfolgten nach 12, 36, 60 und 84 Stunden.

Gruppe C

6 Ratten wurden zunächst über 24 h gehungert, um mit der Gruppe B vergleichbare Ausgangswerte zu erhalten. Vom 2. bis einschließlich 4. Tag erhielt jedes Tier täglich 2×2 ml Olivenöl über eine Schlundsonde. Dies entspricht nach den für Ratten ermittelten Werten für die metabolisierbare Energie von Lipiden (5) bei 8,77 kcal/g einer täglichen Kalorienzufuhr von 32,89 kcal je Versuchstier. Der tägliche Bedarf der Ratte, der zur Erhaltung des Körpergewichtes benötigt wird, wird in der Literatur nach der Gleichung von Brody und Proctor berechnet ($Q = 70,4 \times \text{Körpergewicht in kg}^{0,73}$ zuzüglich eines Zuschlags von 25 % für normale körperliche Aktivität) (5, 6). Danach ergibt sich für unsere Versuchstiere ein Bedarf von 27,17 kcal/die, der durch die Fütterung mit 4 ml Olivenöl gedeckt ist. Der Urin der

Tab. 2. Zusammensetzung des 3-Methylhistidin-freien Normalfutters für Versuchsgruppe A.

| auf 100 g | Anteil an Gesamtkalorien (100 %) |
|-----------------------------|----------------------------------|
| 25 g Aminosäurenlyophilisat | 26,95 % (Protein) |
| 50 g Stärke | } 65,77 % (Kohlenhydrate) |
| 11 g Saccharose | |
| 3 g Olivenöl | |
| 1 g Vitaminmischung | 7,28 % (Fett) |
| 6 g Elektrolytmischung | |
| 4 g Cellulose, pulverisiert | |

ölernährten Tiere wurde über die vier Versuchstage in 12-h-Intervallen gesammelt. Blutabnahmen erfolgten nach 12, 36, 60 und 84 Stunden. Die Blutabnahme nach 36, 60 und 84 Stunden wurden jeweils genau 12 Stunden postprandial durchgeführt.

Analysenverfahren

Zur Bestimmung der Aminosäuren im Blut wurden den Ratten mit einer heparinisierten Blutzuckerkapillare 40 µl Blut aus der Schwanzspitze entnommen. Das Blut wurde sofort mit Sulfosalicylsäure (3 %) enteiweißt, zentrifugiert und der klare Überstand bei -25 °C eingefroren. Die Aminosäureanalysen wurden auf einem Biotronic Aminosäuren-Analysator BC 6000 mit Spectraphysics Integrator System AA durchgeführt.

Zur Bestimmung der 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24-h-Urin wurde ein Aliquot jeder Sammelperiode in einem zugeschmolzenen Glaskolben mit 6M HCl über 18 Stunden bei 110 °C hydrolysiert. Die Analysen wurden auf einem Biotronic Aminosäuren-Analysator BC 6000 im Kurzprogramm durchgeführt.

Zur Bestimmung der Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24-h-Urin wurde ein Aliquot jeder Sammelperiode in einem Infrarot-Aufschlußgerät Büchi 430 mit konzentrierter Schwefelsäure und Selenreaktionsgemisch verascht. Die Bestimmung des Ammoniaks erfolgte unter Verwendung von Ninhydrin-Reagenz auf einem umgerüsteten Biotronic Aminosäuren-Analysator. Unter Umgehung der Chromatographiesäule gelangte die Probe aus dem Probengeber direkt in den Mischblock und von dort zusammen mit dem Reagenz über das Coil in die Durchflußküvette des Photometers.

Ergebnisse

Kurzzeitversuche

Die einmalige Applikation von 2 ml Olivenöl über eine Schlundsonde bewirkt im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, die 2 ml Kochsalzlösung

Tab. 3. Aminosäurenkonzentration im Blut nach einmaliger Applikation von 2 ml Kochsalzlösung (0,9 %) (µmol/l; n = 5; means ± SEM).

| | 0 | 4 h | 8 h | 12 h |
|-----|--------------|--------------|--------------|--------------|
| ASP | 46,2 ± 12,7 | 47,3 ± 17,5 | 38,8 ± 2,4 | 39,6 ± 5,5 |
| THR | 263,3 ± 15,4 | 250,0 ± 42,3 | 235,2 ± 37,4 | 218,9 ± 28,7 |
| SER | 282,5 ± 21,5 | 284,7 ± 34,6 | 262,1 ± 20,7 | 237,9 ± 10,5 |
| ASN | 88,9 ± 9,2 | 93,2 ± 14,8 | 98,7 ± 7,0 | 86,0 ± 8,0 |
| GLU | 289,3 ± 62,3 | 313,2 ± 37,1 | 293,7 ± 68,3 | 286,5 ± 24,8 |
| GLN | 914,0 ± 43,9 | 827,4 ± 94,6 | 758,2 ± 84,4 | 826,4 ± 46,4 |
| GLY | 512,6 ± 33,6 | 491,3 ± 32,7 | 475,8 ± 26,1 | 463,7 ± 48,5 |
| ALA | 328,2 ± 30,3 | 325,7 ± 57,8 | 304,3 ± 37,7 | 288,8 ± 30,3 |
| CIT | 58,8 ± 7,1 | 55,8 ± 5,2 | 51,6 ± 11,9 | 54,4 ± 9,9 |
| VAL | 220,9 ± 25,9 | 214,7 ± 22,6 | 217,8 ± 30,7 | 204,6 ± 11,7 |
| CYS | 27,9 ± 2,2 | 26,8 ± 3,2 | 25,2 ± 3,7 | 26,3 ± 2,3 |
| ILE | 119,6 ± 24,1 | 112,6 ± 12,6 | 107,6 ± 10,6 | 100,8 ± 9,6 |
| LEU | 185,0 ± 27,2 | 182,8 ± 21,0 | 168,8 ± 13,0 | 167,5 ± 9,2 |
| TYR | 72,8 ± 16,8 | 66,3 ± 4,7 | 65,8 ± 12,3 | 67,8 ± 10,5 |
| PHE | 92,1 ± 11,8 | 109,2 ± 10,8 | 99,8 ± 8,4 | 103,8 ± 15,6 |
| ORN | 67,8 ± 9,9 | 62,3 ± 8,0 | 62,2 ± 7,2 | 62,0 ± 8,5 |
| LYS | 498,3 ± 82,7 | 485,1 ± 46,2 | 482,0 ± 47,0 | 473,0 ± 44,2 |
| HIS | 78,2 ± 8,1 | 73,4 ± 6,4 | 72,5 ± 9,6 | 68,1 ± 3,6 |
| ARG | 195,8 ± 35,7 | 187,6 ± 28,1 | 173,7 ± 25,2 | 171,8 ± 20,0 |

Tab. 4. Aminosäurenkonzentrationen im Blut nach einmaliger Applikation von 2 ml Olivenöl ($\mu\text{mol/l}$; $n = 6$; $\bar{x} \pm \text{SEM}$).

| | 0 | 2 h | 4 h | 6 h | 8 h | 10 h | 12 h |
|-----|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|
| ASP | 61,6 \pm 1,1 | 58,9 \pm 7,3 | 51,9 \pm 7,3 | 48,5 \pm 6,3 | 54,6 \pm 4,0 | 51,6 \pm 2,2 | 56,2 \pm 13,0 |
| THR | 259,3 \pm 32,5 | 237,8 \pm 21,1 | 230,6 \pm 32,5 | 243,7 \pm 19,9 | 217,1 \pm 15,9 | 190,0 \pm 13,5 | 179,2 \pm 10,8 |
| SER | 283,7 \pm 24,0 | 245,9 \pm 21,9 | 235,0 \pm 33,7 | 230,2 \pm 28,8 | 242,3 \pm 35,8 | 206,1 \pm 22,3 | 210,6 \pm 19,8 |
| ASN | 74,3 \pm 16,4 | 64,2 \pm 12,2 | 64,4 \pm 24,6 | 58,8 \pm 11,7 | 54,4 \pm 17,4 | 42,5 \pm 13,9 | 41,2 \pm 1,7 |
| GLU | 329,4 \pm 44,4 | 308,3 \pm 37,4 | 291,8 \pm 38,4 | 301,1 \pm 35,2 | 321,6 \pm 56,0 | 295,8 \pm 29,5 | 308,6 \pm 48,0 |
| GLN | 827,5 \pm 109,0 | 737,8 \pm 96,8 | 692,9 \pm 134,8 | 673,3 \pm 92,3 | 671,8 \pm 72,8 | 670,4 \pm 52,8 | 707,0 \pm 49,5 |
| GLY | 453,1 \pm 37,7 | 468,8 \pm 119,0 | 428,5 \pm 53,4 | 469,7 \pm 79,8 | 458,5 \pm 100,8 | 451,7 \pm 81,4 | 452,8 \pm 65,5 |
| ALA | 306,0 \pm 28,0 | 246,6 \pm 35,9 | 221,1 \pm 46,5 | 205,0 \pm 33,1 | 183,0 \pm 35,2 | 175,0 \pm 33,4 | 191,7 \pm 30,3 |
| CIT | 56,7 \pm 10,0 | 53,2 \pm 3,7 | 43,1 \pm 4,9 | 43,0 \pm 2,5 | 43,7 \pm 5,9 | 43,9 \pm 5,5 | 40,7 \pm 7,8 |
| VAL | 236,4 \pm 15,8 | 208,5 \pm 22,7 | 190,5 \pm 28,1 | 193,5 \pm 41,7 | 177,1 \pm 32,2 | 158,6 \pm 34,2 | 146,0 \pm 24,7 |
| CYS | 21,7 \pm 3,4 | 23,1 \pm 1,3 | 19,0 \pm 2,1 | 18,2 \pm 2,4 | 15,8 \pm 2,0 | 16,5 \pm 1,6 | 16,9 \pm 1,4 |
| ILE | 120,9 \pm 11,6 | 108,1 \pm 11,7 | 98,0 \pm 12,7 | 97,2 \pm 12,4 | 94,5 \pm 9,1 | 80,7 \pm 15,8 | 75,1 \pm 11,3 |
| LEU | 179,3 \pm 14,0 | 161,5 \pm 15,1 | 148,9 \pm 18,9 | 153,5 \pm 21,9 | 142,5 \pm 18,2 | 124,6 \pm 20,3 | 116,7 \pm 12,6 |
| TYR | 83,1 \pm 18,3 | 70,6 \pm 14,1 | 58,4 \pm 13,4 | 60,0 \pm 13,7 | 59,1 \pm 11,2 | 51,8 \pm 11,6 | 59,9 \pm 15,8 |
| PHE | 83,9 \pm 12,9 | 80,2 \pm 11,3 | 78,9 \pm 12,3 | 89,1 \pm 21,8 | 84,1 \pm 17,0 | 83,2 \pm 6,8 | 79,9 \pm 15,5 |
| ORN | 51,4 \pm 4,6 | 55,4 \pm 5,8 | 51,9 \pm 5,3 | 52,5 \pm 5,2 | 51,8 \pm 2,1 | 46,5 \pm 2,6 | 44,7 \pm 4,4 |
| LYS | 501,7 \pm 47,9 | 517,2 \pm 53,5 | 476,9 \pm 47,3 | 526,0 \pm 46,9 | 518,8 \pm 35,5 | 512,3 \pm 38,5 | 500,6 \pm 29,0 |
| HIS | 66,2 \pm 8,3 | 69,8 \pm 10,0 | 64,5 \pm 10,3 | 66,4 \pm 5,5 | 58,1 \pm 4,1 | 59,1 \pm 6,1 | 57,9 \pm 6,3 |
| ARG | 186,2 \pm 10,9 | 179,1 \pm 19,0 | 156,3 \pm 9,4 | 156,9 \pm 7,2 | 156,9 \pm 11,7 | 152,0 \pm 8,4 | 146,2 \pm 11,7 |

(0,9 %) erhielt, über 12 h einen kontinuierlichen Konzentrationsabfall einiger Aminosäuren im Blut (Tab. 3 u. 4). Besonders ausgeprägt ist dieser Konzentrationsabfall bei Alanin sowie bei den verzweigtkettigen Aminosäuren. Alanin ist nach 10 h gegenüber der Kontrollgruppe um etwa 40 % vermindert (Abb. 1), während die Konzentrationen von Valin, Leucin und Isoleucin nach 12 h um 30 %, 30 % bzw. 25 % unter den Werten der Vergleichsgruppe liegen (Abb. 2-4). Weniger ausgeprägt, aber ebenfalls

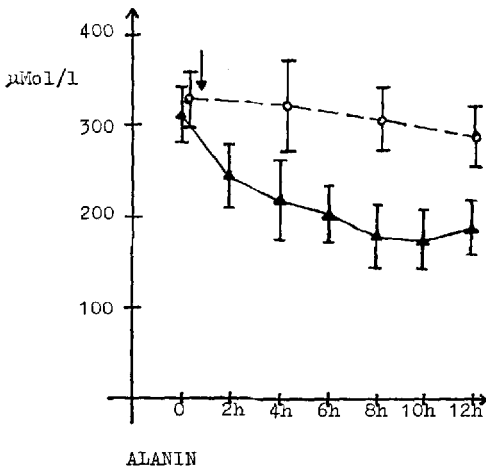


Abb. 1. Verlauf der Alaninkonzentration im Blut im Kurzzeitversuch nach Applikation von 2 ml Olivenöl bzw. nach Applikation von 2 ml NaCl (0,9 %). Zahl der Versuche = 6.

Kinetik ausgewählter Aminosäuren im Blut im Kurzzeitversuch (Abb. 1-4).

▲ — — — — — Nach Applikation von 2 ml Olivenöl (▲) (Means \pm SEM; n = 6)

○ — — — — — Nach Applikation von 2 ml NaCl (0,9 %) (○) (Means \pm SEM; n = 5)

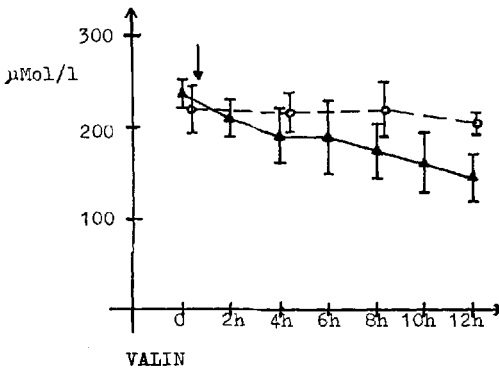


Abb. 2. Verlauf der Konzentrationen von Valin im Kurzzeitversuch. Versuchsbedingungen wie Abbildung 1.

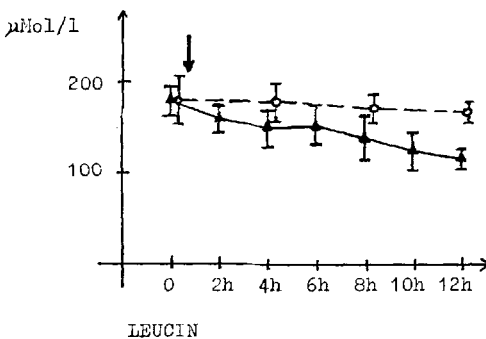


Abb. 3. Konzentrationsverlauf von Leucin im Kurzzeitversuch. Versuchsbedingungen wie Abbildung 1.

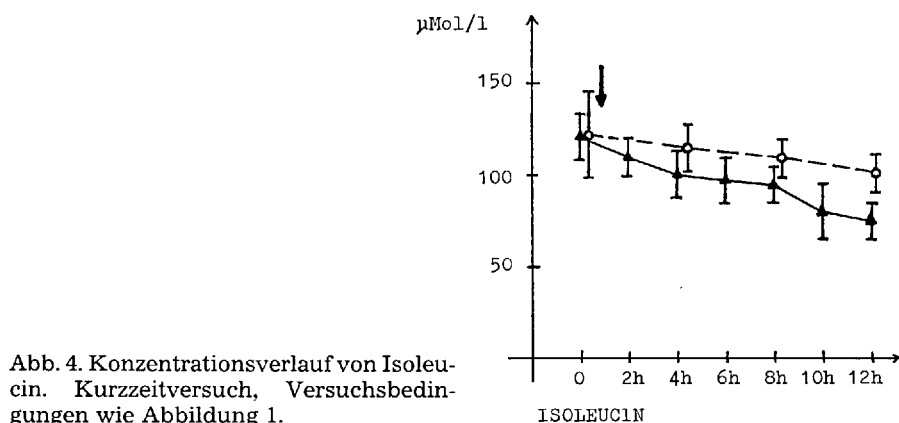


Abb. 4. Konzentrationsverlauf von Isoleucin. Kurzzeitversuch, Versuchsbedingungen wie Abbildung 1.

statistisch signifikant (alle Signifikanzprüfungen mit 2-Stichproben-t-Test für unverbundene Stichproben; $p < 0,025$) ist der Konzentrationsabfall bei Threonin, Serin, Glutamin und Cystin. Alle übrigen von uns gemessenen Aminosäuren zeigen nach Applikation von 2 ml Olivenöl keine signifikante Abweichung gegenüber der Kontrollgruppe. Somit werden die Befunde nach parenteraler Fettgabe (1) durch diesen Versuchsansatz bestätigt.

Mehrtägige Versuche

Zur Deutung dieser ausgeprägten Konzentrationsänderungen verschiedener Aminosäuren im Blut nach einmaliger oraler Lipidgabe wurden anschließend in mehrtägigen Versuchen bei drei Versuchsgruppen die 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24-h-Urin, die Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24-h-Urin und das Verhalten der Aminosäuren im Blut untersucht.

In der *Versuchsgruppe A*, deren Tiere über vier Tage ad libitum ein 3-Methylhistidin-freies Normalfutter (Tab. 2) erhielten, änderte sich erwartungsgemäß die 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24-h-Urin über vier Tage nicht (Tab. 5; Abb. 5).

Dagegen beobachteten wir in der *Versuchsgruppe B*, deren Tiere über 3,5 Tage gehungert wurden, eine starke Zunahme der 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24-h-Urin über 129 % am 2. Tag auf 165 % des Ausgangs-

Tab. 5. 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24-h-Urin pro Ratte im mehrtägigen Versuch ($\mu\text{mol 3MH/24 h}$; $\bar{x} \pm \text{SEM}$).

| | Gruppe A (normal; n = 5) | Gruppe B (Hunger; n = 5) | Gruppe C (Olivenöl; n = 6) |
|--------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| 1. Tag | $2,7 \pm 0,6$ | $3,1 \pm 0,2$ | $2,7 \pm 0,5$ |
| 2. Tag | $3,2 \pm 0,5$ | $3,9 \pm 0,5$ | $2,8 \pm 0,6$ |
| 3. Tag | $2,6 \pm 0,2$ | $5,1 \pm 1,2$ | $3,1 \pm 0,9$ |
| 4. Tag | $2,7 \pm 0,1$ | — | $3,0 \pm 0,9$ |

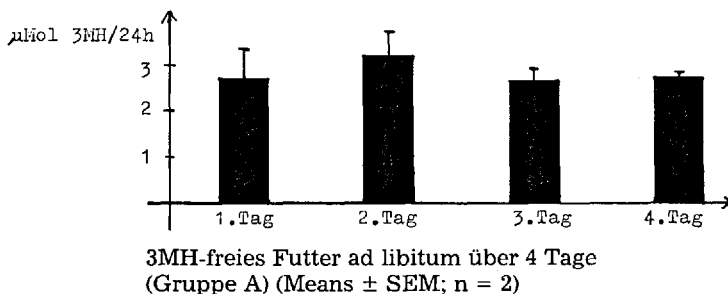


Abb. 5. Ausscheidung von 3-Methylhistidin im 24-h-Urin/Ratte im mehrtägigen Versuch. Verabreicht wurde 3-Methylhistidin-freies Futter ad libitum über 4 Tage. Mittelwert aus 5 Versuchen.

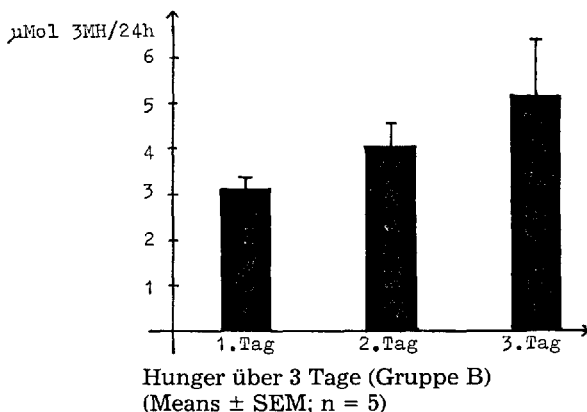


Abb. 6. Ausscheidung von 3-Methylhistidin im 24-h-Urin/Ratte im mehrtägigen Versuch. Versuchsbedingung: Hunger über 3 Tage (Gruppe B). Zahl der Versuche: n = 5.

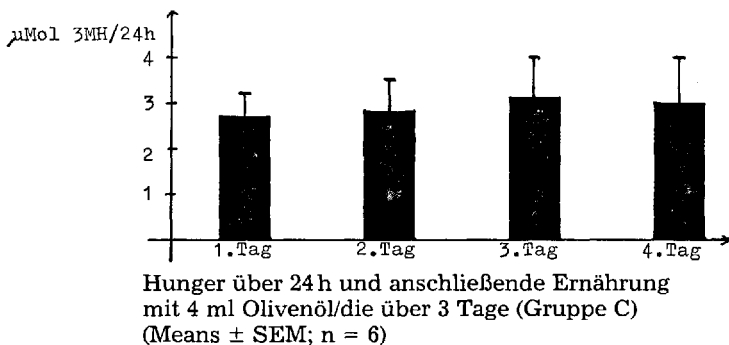


Abb. 7. 3-Methylhistidinausscheidung im 24-h-Urin/Ratte im mehrtägigen Versuch. Hunger über 24 Stunden und anschließende Ernährung mit 4 ml Olivenöl/Tag über 3 Tage (Gruppe C). Zahl der Versuche = 6.

Tab. 6. Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24-h-Urin pro Ratte im mehrtägigen Versuch (mg N/24 h; $\bar{x} \pm \text{SEM}$).

| | Gruppe B (Hunger; n = 5) | Gruppe C (Olivenöl; n = 6) |
|--------|-----------------------------|-------------------------------|
| 1. Tag | 138,3 \pm 20,8 | 143,5 \pm 25,7 |
| 2. Tag | 138,6 \pm 27,1 | 108,8 \pm 21,4 |
| 3. Tag | 149,2 \pm 20,0 | 105,5 \pm 29,2 |
| 4. Tag | — | 73,9 \pm 27,0 |

wertes am 3. Tag (Tab. 5; Abb. 6). Dieser Anstieg ist signifikant ($p < 0,025$) gegenüber dem Ausgangswert sowie gegenüber den Vergleichswerten der normalernährten Gruppe A und der ölernährten Gruppe C. Weiterhin zeigte die Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24-h-Urin bei den hungernden Tieren über drei Tage eine leichte Zunahme gegenüber dem Ausgangswert (Tab. 6; Abb. 8). Diese ist nicht signifikant ($p < 0,025$).

Bei den Tieren der *Versuchsgruppe C*, die nach 24 h Hunger über drei Tage mit 2×2 ml Olivenöl/die ernährt wurden, zeigten die 3-Methylhistidin- und die Gesamtstickstoff-Ausscheidung deutliche Abweichungen von den Werten der Hungergruppe B. Entgegen der starken Zunahme in der Hungergruppe blieb die 3-Methylhistidin-Ausscheidung in 24 h bei den ölernährten Tieren konstant. Die Werte waren sowohl vom eigenen Ausgangswert als auch von den Vergleichswerten der normalernährten Versuchsgruppe A nicht signifikant verschieden ($p < 0,025$), lagen aber am 2. und 3. Tag signifikant ($p < 0,025$) niedriger als die Vergleichswerte der Hungergruppe B (Tab. 5; Abb. 7). Weiterhin war ein Rückgang der Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24-h-Urin der ölernährten Gruppe

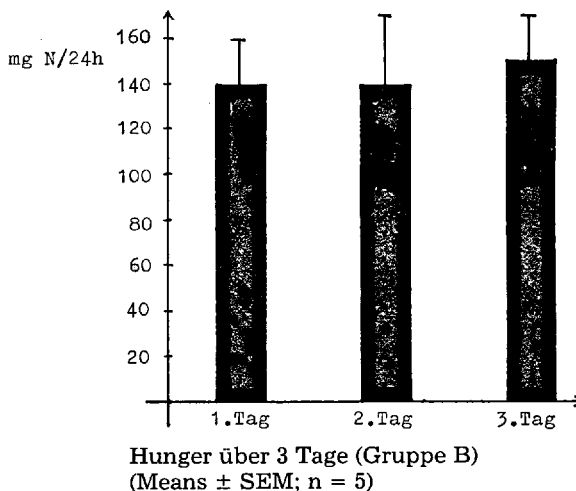


Abb. 8. Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24-h-Urin/Ratte im mehrtägigen Versuch. Nahrungsentzug über 3 Tage (Gruppe B). Zahl der Versuche = 5.

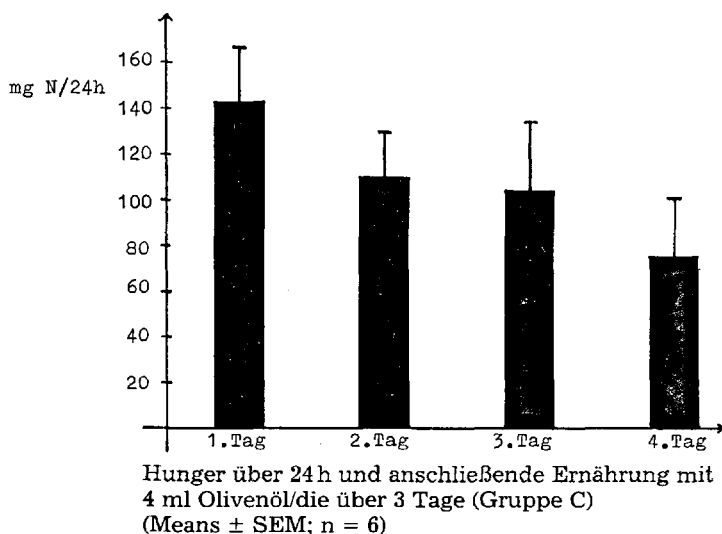


Abb. 9. Gesamtstickstoffausscheidung im 24-h-Urin/Ratte im mehrtägigen Versuch. Versuchsbedingung: Hunger über 24 Stunden und anschließende Ernährung mit 4 ml Olivenöl/Tag über 3 Tage (Gruppe C). Zahl der Versuche = 6.

über 76 % am 2. Tag und 73 % am 3. Tag auf 51 % des Ausgangswertes am 4. Tag zu beobachten (Tab. 6; Abb. 9). Diese Werte liegen signifikant niedriger als der Ausgangswert und als die Vergleichswerte der Hungergruppe

Tab. 7. Aminosäurenkonzentrationen im Blut bei Hunger über 3,5 Tage (Gruppe B) ($\mu\text{mol/l}$; n = 5; $\bar{x} \pm \text{SEM}$).

| | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag |
|-----|--------------|---------------|--------------|--------------|
| ASP | 111,2 ± 36,6 | 119,6 ± 16,3 | 87,3 ± 19,0 | 115,8 ± 12,3 |
| THR | 243,5 ± 31,5 | 252,9 ± 31,6 | 237,4 ± 28,9 | 238,7 ± 16,9 |
| SER | 248,9 ± 30,2 | 242,5 ± 16,3 | 252,6 ± 21,3 | 248,8 ± 30,7 |
| ASN | 51,8 ± 4,6 | 46,6 ± 8,1 | 57,7 ± 10,4 | 65,5 ± 13,4 |
| GLU | 315,9 ± 65,3 | 307,3 ± 53,3 | 303,1 ± 31,6 | 273,7 ± 31,2 |
| GLN | 730,4 ± 52,6 | 734,6 ± 59,6 | 853,1 ± 81,7 | 819,1 ± 54,2 |
| GLY | 467,1 ± 71,8 | 466,5 ± 129,6 | 510,6 ± 84,5 | 525,9 ± 72,2 |
| ALA | 317,9 ± 43,8 | 218,1 ± 26,3 | 280,2 ± 47,4 | 346,2 ± 43,2 |
| CIT | 55,9 ± 4,3 | 48,3 ± 9,6 | 50,9 ± 10,4 | 44,2 ± 5,2 |
| VAL | 139,2 ± 16,4 | 179,3 ± 11,2 | 200,7 ± 20,2 | 229,4 ± 22,6 |
| CYS | 23,1 ± 3,2 | 22,8 ± 1,2 | 18,8 ± 2,2 | 17,3 ± 1,9 |
| ILE | 72,1 ± 10,4 | 96,0 ± 4,6 | 109,4 ± 8,5 | 104,9 ± 9,7 |
| LEU | 105,4 ± 11,2 | 145,9 ± 4,7 | 175,9 ± 8,2 | 181,3 ± 15,1 |
| TYR | 80,2 ± 9,5 | 72,1 ± 7,7 | 72,2 ± 9,0 | 97,7 ± 14,0 |
| PHE | 72,2 ± 8,1 | 87,8 ± 11,7 | 92,4 ± 9,3 | 117,4 ± 20,9 |
| ORN | 57,6 ± 5,8 | 55,5 ± 2,1 | 64,1 ± 8,0 | 65,6 ± 10,1 |
| LYS | 512,1 ± 41,9 | 525,3 ± 53,8 | 537,0 ± 5,8 | 558,6 ± 56,1 |
| HIS | 65,5 ± 5,3 | 61,7 ± 4,7 | 74,0 ± 5,8 | 85,4 ± 11,2 |
| ARG | 206,6 ± 20,5 | 163,9 ± 12,9 | 185,5 ± 12,2 | 198,9 ± 13,0 |

Tab. 8. Aminosäurenkonzentrationen im Blut bei Hunger über 24 h und anschließender Ernährung mit 2×2 ml Olivenöl/die über 3 Tage (Gruppe C) ($\mu\text{mol/l}$; $n = 6$; $\bar{x} \pm \text{SEM}$).

| | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag |
|-----|-------------------|------------------|------------------|------------------|
| ASP | 63,9 \pm 24,3 | 86,0 \pm 53,6 | 75,5 \pm 17,9 | 64,4 \pm 14,3 |
| THR | 245,0 \pm 13,9 | 181,7 \pm 20,9 | 191,3 \pm 25,1 | 186,5 \pm 15,8 |
| SER | 281,9 \pm 40,2 | 247,0 \pm 58,2 | 278,8 \pm 42,4 | 315,6 \pm 43,1 |
| ASN | 66,0 \pm 26,9 | 40,5 \pm 0,5 | 43,4 \pm 2,9 | 52,1 \pm 7,6 |
| GLU | 261,4 \pm 18,5 | 250,2 \pm 39,6 | 247,1 \pm 52,9 | 292,9 \pm 60,7 |
| GLN | 722,1 \pm 101,1 | 648,3 \pm 48,0 | 637,9 \pm 89,7 | 636,9 \pm 89,3 |
| GLY | 421,3 \pm 65,2 | 418,7 \pm 44,8 | 496,8 \pm 76,0 | 575,4 \pm 60,4 |
| ALA | 358,8 \pm 76,4 | 208,4 \pm 49,5 | 245,7 \pm 47,1 | 251,2 \pm 28,3 |
| CIT | 62,7 \pm 12,3 | 41,7 \pm 4,1 | 47,6 \pm 12,9 | 59,3 \pm 15,1 |
| VAL | 148,7 \pm 19,3 | 139,5 \pm 9,5 | 147,2 \pm 16,5 | 134,3 \pm 13,7 |
| CYS | 23,9 \pm 2,8 | 20,9 \pm 5,6 | 18,5 \pm 2,6 | 19,8 \pm 1,4 |
| ILE | 73,7 \pm 11,4 | 73,1 \pm 3,9 | 82,4 \pm 10,0 | 76,9 \pm 6,2 |
| LEU | 123,2 \pm 18,7 | 112,5 \pm 4,9 | 123,8 \pm 17,8 | 116,9 \pm 9,9 |
| TYR | 70,0 \pm 17,9 | 63,5 \pm 11,1 | 72,9 \pm 20,2 | 56,8 \pm 6,5 |
| PHE | 79,6 \pm 18,4 | 81,1 \pm 26,2 | 100,3 \pm 20,8 | 88,4 \pm 23,7 |
| ORN | 58,7 \pm 16,0 | 48,0 \pm 4,7 | 52,5 \pm 10,4 | 62,5 \pm 11,3 |
| LYS | 535,2 \pm 46,1 | 528,9 \pm 26,7 | 563,6 \pm 87,1 | 567,4 \pm 81,1 |
| HIS | 71,6 \pm 4,3 | 57,2 \pm 8,3 | 65,3 \pm 3,0 | 63,1 \pm 10,6 |
| ARG | 229,2 \pm 29,7 | 189,8 \pm 27,3 | 199,5 \pm 37,6 | 197,0 \pm 33,5 |

($p < 0,025$). Somit ergibt sich zusammenfassend in 3-Methylhistidin-Ausscheidung und Gesamtstickstoff-Ausscheidung eine eindrucksvolle Diskrepanz zwischen hungernden und ölernährten Tieren.

Auch die Aminosäurenkonzentrationen zeigten im mehrtägigen Versuch bemerkenswerte Unterschiede zwischen hungernden und ölernährten Tieren (Tab. 7, 8). Bei Alanin fanden wir in beiden Gruppen zunächst vom 1. auf den 2. Tag einen Konzentrationsabfall um etwa 40 %. Die Alaninkonzentration stieg dann jedoch in der Hungergruppe am 3. und 4. Tag bis über den Ausgangswert an, während sie in der Ölgruppe mit etwa 70 % des Ausgangswertes signifikant ($p < 0,025$) unter dem Wert der hungernden Tiere blieb (Abb. 10). Ebenfalls auffällig ist der kontinuierliche Konzentrationsanstieg der verzweigtkettigen Aminosäuren bei den hungernden Tieren (Abb. 11–13). Valin erreichte dabei am 4. Tag 164 %, Leucin 172 % und Isoleucin 145 % der Ausgangskonzentration. Eine solche Konzentrationszunahme blieb bei den ölernährten Tieren aus (Abb. 11–13). Der von uns beobachtete Konzentrationsanstieg der verzweigtkettigen Aminosäuren im Blut unter Hungerbedingungen ist signifikant ($p < 0,025$) sowohl gegenüber den Ausgangswerten als auch gegenüber den Vergleichswerten der ölernährten Gruppe.

Ähnlich der verzweigtkettigen Aminosäuren zeigten unter Hungerbedingungen auch Tyrosin und Phenylalanin sowie Threonin, Glutamin und Histidin im viertägigen Versuch einen deutlichen Konzentrationsanstieg. Dieser ist signifikant ($p < 0,025$) gegenüber den Ausgangswerten (HIS, PHE, TYR) beziehungsweise den Vergleichswerten der Ölgruppe (HIS, PHE, TYR, GLN, THR). Bei den ölernährten Versuchstieren blieb hinge-

gen im mehrtägigen Versuch ein Konzentrationsanstieg der erwähnten Aminosäuren aus, oder aber es war sogar ein deutlicher Konzentrationsabfall zu beobachten (TYR, HIS, GLN, THR). Die Blutspiegel in der Ölgruppe lagen am vierten Tag bei Tyrosin 40 %, bei Phenylalanin, Histidin, Glutamin und Threonin um jeweils 25 % unter den Vergleichswerten der Hungergruppe. Als einzige Aminosäure lag am vierten Tag Serin in der Ölgruppe signifikant ($p < 0,025$) über dem Vergleichswert der Hungergruppe.

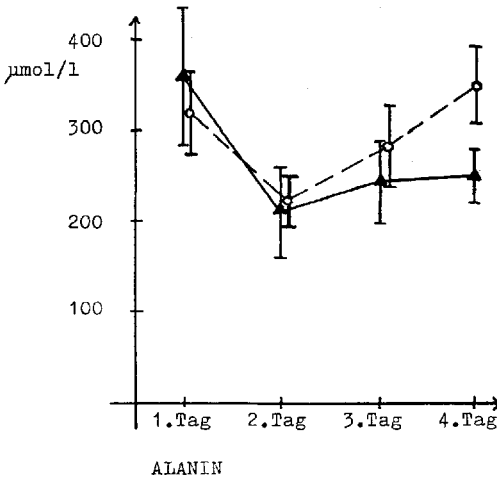


Abb. 10. Konzentrationsverlauf von Serumalanin im mehrtägigen Versuch. Versuchsbedingungen: Hunger über 3,5 Tage ($n = 5$) bzw. Hunger über 24 Stunden und anschließende Ernährung mit 2×2 ml Olivenöl/Tag über 3 Tage (Gruppe C). Zahl der Versuche = 6.

Kinetik ausgewählter Aminosäuren im Blut im mehrtägigen Versuch (Abb. 10–13).

○ — — — ○ Hunger über 3,5 Tage (Gruppe B) (Means \pm SEM; $n = 5$)
 ▲ — — — ▲ Hunger über 24 h und anschließende Ernährung mit 2×2 ml Olivenöl/die über 3 Tage (Gruppe C) (Means \pm SEM; $n = 6$)

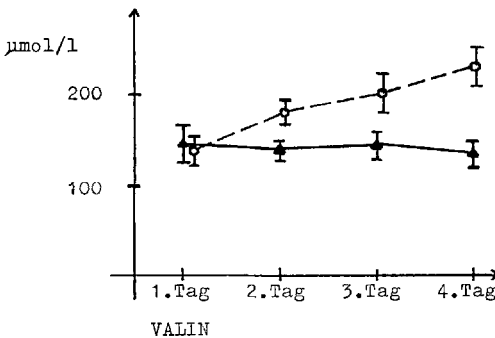


Abb. 11. Konzentrationsverlauf von Valin im Blut im mehrtägigen Versuch. Versuchsbedingungen wie in Abbildung 10.

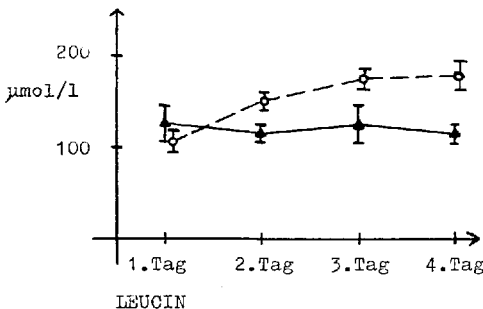


Abb. 12. Konzentrationsverlauf von Leucin im Blut im mehrtägigen Versuch. Versuchsbedingungen und Zahl der Versuche wie in Abbildung 10.

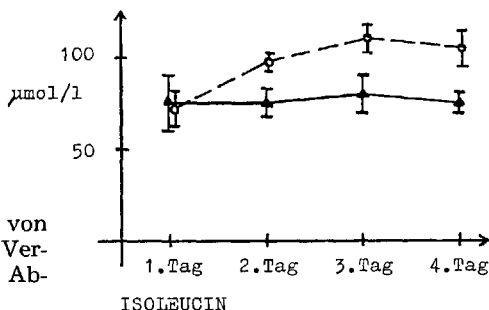


Abb. 13. Konzentrationsverlauf von Isoleucin im Blut im mehrtägigen Versuch. Versuchsbedingungen wie in Abbildung 10.

Alle übrigen gemessenen Aminosäuren zeigten im mehrtägigen Versuch in ihrer Kinetik keinen Unterschied zwischen hungernden und öler-nährten Tieren.

Diskussion

Der beobachtete deutliche Konzentrationsabfall einiger Aminosäuren – insbesondere von Alanin, Valin, Leucin und Isoleucin – im Blut nach einmaliger Applikation von 2 ml Olivenöl befindet sich in guter Übereinstimmung mit den beobachteten Effekten nach intravenöser Lipidinfusion beim Menschen (1). Dieser Befund ist ohne zusätzliche Informationen schwer deutbar. Es ist bekannt (7), daß bei der Ratte nach einmaliger Applikation von 5 ml Baumwollsaamenöl die Blutglucose nach 7 Stunden auf 160 % des Ausgangswertes ansteigt. Daher ist nicht anzunehmen, daß es sich bei dem von uns beobachteten Konzentrationsabfall einiger Aminosäuren um den Effekt einer Insulinausschüttung handelt. Der von Lenz et al. (7) beobachtete leichte Konzentrationsanstieg der Glucocorticoide im Plasma nach einmaliger Triglyceridapplikation kann den Konzentrationsabfall der Aminosäuren etwa im Sinne einer vermehrten Glucoseogenese ebenfalls nicht erklären, da Glucocorticoide wie bekannt die Muskelproteolyse steigern (8, 9) und hierdurch die Aminosäurespiegel im Blut erhöhen (10). Zudem müßte die Stickstoffausscheidung im Harn ansteigen.

Zusätzliche Anhaltspunkte für die Interpretation der beobachteten Veränderungen der Aminosäurespiegel im Blut nach einmaliger Olivenölgabe ergeben sich aus den Ergebnissen unserer mehrtägigen Versuche. Ziel dieser Experimente war die Messung der Muskelproteolyse unter einer ausschließlich aus Fett bestehenden, kalorisch ausreichenden Diät über mehrere Tage. Als ein Parameter der Muskelproteolyse wurde die 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24-h-Urin bei hungernden bzw. öler-nährten Tieren bestimmt.

Aus Untersuchungen von Goldstein und Curnow (11) ist bekannt, daß bei der Ratte im Hunger der Glykogenspeicher der Leber nach 24 Stunden bis auf 3 % des Ausgangswertes ausgeschöpft ist. Es ist also anzunehmen, daß in den ersten 24 Stunden des Hungers zunächst Glykogen und leicht-mobilisierbare Proteine (z. B. in Leber und Darm) abgebaut werden. Daher ist es nicht überraschend, daß die 3-Methylhistidin-Ausscheidung

sowohl in der Hungergruppe B als auch in der zunächst für 24 h hungernden Ölgruppe C während der ersten 24-h-Sammelperiode nicht über dem Vergleichswert der normalernährten Tiere der Gruppe A liegt.

Der bei den hungernden Tieren am 2. und 3 Tag beobachtete starke Anstieg der 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24-h-Urin steht in guter Übereinstimmung mit Ergebnissen von Untersuchungen an der wachsenden Ratte (9, 12, 13). Diese vermehrte 3-Methylhistidin-Ausscheidung ist sicherlich im Sinne einer Steigerung der Muskelproteolyse zu werten. Es ist bekannt (11), daß bei der Ratte im Hunger über mehrere Tage der Insulinspiegel im Plasma sehr stark abfällt. Da Insulin nach übereinstimmender Ansicht mehrerer Autoren (9, 14, 15) die Muskelproteolyse hemmt, liegt in diesem Insulinabfall sicherlich ein begünstigender Faktor für die gesteigerte Proteolyse, zumal es zum Überwiegen proteinkataboler Hormone wie etwa der Glucocorticoide (9) kommen dürfte.

Die Spezifität der 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24-h-Urin als Maß für den Muskelprotein-Turnover wird in der Literatur wieder kritischer gesehen. Nach seiner Identifizierung als Bestandteil von Aktin durch Asatoor und Armstrong (16) fanden andere Untersucher (17, 18), daß etwa 90 % des 3-Methylhistidin-Pools bei der Ratte in der Skelettmuskulatur angesiedelt sind. Die Tatsache, daß 3-Methylhistidin nach Freisetzung durch proteolytische Prozesse nicht reutilisiert werden kann (17, 18, 19), sondern rasch und nahezu quantitativ im Urin ausgeschieden wird (17, 19), ließ vielen Autoren die 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24-h-Urin als geeigneten Parameter des Muskelprotein-Turnovers erscheinen (12, 15, 17, 19). Die Umsatzraten der an der 3-Methylhistidin-Ausscheidung beteiligten Gewebe wurden allerdings nicht berücksichtigt. In neueren Turnover-Messungen fanden jedoch Nishizawa et al. (20), daß Haut und Gastrointestinaltrakt einen Anteil von mindestens 16,6 % an der 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24-h-Urin haben, und Millward et al. (21), daß maximal 74,5 % der 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24-h-Urin aus der Skelettmuskulatur stammen. Millward schränkte daher die Spezifität der 3-Methylhistidin-Ausscheidung im 24-h-Urin für die Muskelproteolyse ein (21). Allerdings gelten die von ihm angestellten Turnover-Messungen verschiedener an der 3-Methylhistidin-Ausscheidung beteiligter Organe und Gewebe für Tiere in quantitativ und qualitativ ausgeglichener Ernährungssituation. Daher läßt sich aus seinen Untersuchungen keinesfalls widerlegen, daß die von uns festgestellten Veränderungen der 3-Methylhistidin-Ausscheidung unter Hungerbedingungen (Abb. 6) oder bei Diabetes (15) überwiegend auf die Skelettmuskulatur zurückzuführen sind. Im Hunger ist keine Änderung der konstanten 3-Methylhistidin-Produktion im extramuskulären 3-Methylhistidin-Kompartiment, sondern vielmehr eine vom 2. Tag des Hungers an zunehmende 3-Methylhistidin-Freisetzung aus der Skelettmuskulatur im Sinne einer gesteigerten Muskelproteolyse zu erwarten (Stadium 2 des Hungers).

Ein weiteres Argument für die Annahme einer deutlich gesteigerten Proteolyse im Hunger ist der von uns beobachtete Konzentrationsanstieg zahlreicher Aminosäuren im Blut bei Hunger über mehrere Tage. Besonders deutlich sind die verzweigtkettigen Aminosäuren betroffen (Abb. 11–13), die bekanntermaßen auf Veränderungen der Stoffwechsellaage besonders empfindlich reagieren (3, 22). Nach Adibi (3) sind im Hunger

beim Menschen beobachtete Änderungen der Aminosäurespiegel durch Aktivitätsänderungen von Transaminasen und α -Ketosäuren-Dehydrogenasen in der Leber nicht erklärbar. Aufgrund unserer Ergebnisse nehmen wir an, daß ein verstärkter Eiweißabbau im Muskel die Ursache für die erhöhten Aminosäurespiegel im Blut unter Hungerbedingungen darstellt.

Schließlich zeigt der Vergleich der Gesamtstickstoff-Ausscheidung im 24-h-Urin, daß diese in der Hungergruppe geringfügig ansteigt, während sie in der ölernährten Gruppe auf 51 % des Ausgangswertes abfällt (Abb. 8, 9). Dieser Effekt dürfte auf die Unterbrechung der Stickstoffzufuhr über die Nahrung zurückzuführen sein und wird in der Hungergruppe durch vermehrten Anfall von durch Proteolyse freigesetztem Stickstoff überlagert. Ein Rückgang der Proteolyserate bei den ölernährten Tieren kann aus dem Abfall der Stickstoffausscheidung allerdings nicht gefolgert werden.

Die erhobenen Befunde zeigen, daß bei Zufuhr des zur Erhaltung des Körpergewichtes benötigten Energiebedarfs in Form von Fett die im Hunger auftretende Steigerung der Muskelproteolyse völlig unterdrückt wird, obwohl in dieser qualitativ unzureichenden Diät Kohlenhydrate und Aminosäuren fehlen. Offenbar ist entscheidend, daß ein ausreichendes Angebot an freien Fettsäuren und Ketonkörpern in der Lage ist, die im Hunger auftretende Steigerung der Proteolyse auf Substratebene zu hemmen. Für Glucose ist ein vergleichbarer hemmender Effekt auf die Muskelproteolyserate bei der Ratte aus Untersuchungen von Fulks et al. (14) bekannt. Ob es über den primär kalorischen einen spezifischen hemmenden Effekt der Fettsäuren auf die Proteolyserate des Skelettmuskels gibt, läßt sich anhand unserer Untersuchungen nicht beurteilen.

Literatur

1. Jansing, P., H. Reinauer: Über den Abbau von mittel- und langkettigen Triglyceriden nach intravenöser Infusion beim Menschen. *Infusionstherapie* **5**, 26–32 (1978).
2. Nakano, K., K. Ashida: Effect of Dietary Carbohydrate and Fat on Amino Acid-degrading Enzymes in Relation to their Protein Sparing Action. *J. Nutrition* **100**, 208–216 (1969).
3. Adibi, S. A.: Metabolism of Branched-chain Amino Acids in Altered Nutrition. *Metabolism* **25**, 1287–1302 (1976).
4. Rauen, H.: *Biochemisches Taschenbuch*. Springer (Berlin–Heidelberg–New York 1977).
5. Metta, V., H. Mitchell: Determination of the Metabolizable Energie of Organ Nutrients for the Rat. *J. Nutr.* **52**, 601–611 (1954).
6. Metta, V., J. Firth, B. Connor Johnson: Energy Requirements of the Adult Rat Fed an Amino Acid Diet. *J. Nutr.* **71**, 332–336 (1960).
7. Lenz, P., G. Wien, A. Fleischmann: Corticoid Release and Gluconeogenesis Following Triglyceride Ingestions in the Rat. *Lipids* **5**, 524–530 (1971).
8. Tomas, F., H. Munro, V. Young: Effect of Glucocorticoid Administration on the Rate of Muscle Protein Breakdown in vivo in Rats, as Measured by Urinary Excretion of N-Methylhistidine. *Biochem. J.* **178**, 139–149 (1979).
9. Nishizawa, N., M. Shimbo, T. Naguchi, S. Hareyama, R. Funabiki: Effect of Starvation, Refeeding and Hydrocortisone Administration on Turnover of Myofibrillar Proteins Estimated by Urinary Excretion of N-Methylhistidine. *Agric. Biol. Chem.* **42**, 2083–2089 (1978).

10. Izzo, J. L., S. R. Glasser: Comparative Effects of Glucagon, Hydrocortisone, and Epinephrine on the Protein Metabolism of the Fasting Rat. *Endocr.* **68**, 189–198 (1961).
11. Goldstein, D., R. Curnow: Effect of Starvation on Hepatic Glycogen Metabolism and Glucose Homeostasis. *Metabolism* **27**, 315–323 (1978).
12. Haverberg, L., L. Deckelbaum, C. Bilmazes, H. Munro, V. Young: Myofibrillar Protein Turnover and Urinary N-Methylhistidine Output. *Biochem. J.* **152**, 503–510 (1975).
13. Wassner, S., S. Orloff, M. Holliday: Protein Degradation in Muscle: Response to Feeding and Fasting in Growing Rats. *Amer. J. Physiol.* **233**, 119–123 (1977).
14. Fuls, R. M., J. B. Li, A. L. Goldberg: Effects of Insulin, Glucose and Amino Acids on Protein Turnover in Rat Diaphragm. *J. Biol. Chem.* **250**, 290–298 (1975).
15. Dahlmann, B., C. Schroeter, L. Herbertz, H. Reinauer: Myofibrillar Protein Degradation and Muscle Proteinases in Normal and Diabetic Rats. *Biochem. Med.* **21**, 33–39 (1979).
16. Asatoor, A., M. Armstrong: 3-Methylhistidine, a Component of Actin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **26**, 168–174 (1967).
17. Young, V., H. Munro: N-Methylhistidine and Muscle Protein Turnover: An Overview. *Fed. Proc.* **37**, 2291–2300 (1978).
18. Haverberg, L., P. Omstedt, H. Munro, V. Young: N-Methylhistidine Content of Mixed Proteins in Various Rat Tissues. *Biochem. Biophys. Acta* **405**, 67–71 (1975).
19. Ward, L., P. Buttery: N-Methylhistidine – an Index of the True Rate of Myofibrillar Degradation? An Appraisal. *Life Sci.* **23**, 1103–1116 (1978).
20. Nishizawa, N., T. Noguchi, S. Hareyama, R. Funabiki: Fractional Flux Rates of N-Methylhistidine in Skin and Gastrointestine: The Contribution of these Tissues to Urinary Excretion of N-Methylhistidine in the Rat. *J. Nutr.* **38**, 149–152 (1977).
21. Millward, D., P. Bates, G. Grimble, J. Brown: Quantitative Importance of Non-skeletal-muscle Sources of N-Methylhistidine in Urine. *Biochem. J.* **190**, 225–228 (1980).
22. Felig, P., O. Owen, J. Wahren, G. Cahill, Jr.: Amino Acid Metabolism During Prolonged Starvation. *J. Clin. Investig.* **48**, 584–594 (1969).
23. Felig, P., T. Pozefsky, E. Marliss, G. Cahill Jr.: Alanin: Key Role in Gluconeogenesis. *Science* **167**, 1003–1004 (1970).
24. Odessey, R., E. Khairallah, A. Goldberg: Origin and Possible Significance of Alanin Production by Skeletal Muscle. *J. Biol. Chem.* **249**, 7623–7629 (1974).

Eingegangen am 29. März 1983

Für die Verfasser:

Dr. T. Kaufmann, Lehrstuhl f. klinische Biochemie und Biochemische Abt. des Diabetes-Forschungsinstitutes an der Universität Düsseldorf, 4000 Düsseldorf