

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Klinik für Unfallchirurgie

Oxidativer Stress und der Einfluss von Immunonutrition bei  
Schenkelhalsfraktur

Fabian Schmidt

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin  
der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades  
eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr .E.J. Rummeny

Prüfer der Dissertation: 1. apl.Prof. Dr. A.K. Nüssler

2. Univ.-Prof. Dr. P. Biberthaler

Die Dissertation wurde am 18.12.2012 bei der Technischen Universität München  
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 26.02.2014 angenommen.

Für meine Eltern  
Sabine und Karsten Schmidt  
in ewiger Dankbarkeit



# Inhalt

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>4</b>
<b>1.1 Demografische Entwicklung weltweit und in Deutschland:</b> .....	<b>5</b>
<b>1.2 Immunsystem im Alter</b> .....	<b>9</b>
<b>1.3 Immunonutrition und Glutamin</b> .....	<b>11</b>
<b>1.4 Glutamin und die Effekte auf das Immunsystem</b> .....	<b>12</b>
<b>1.5 Oxidativer Stress</b> .....	<b>15</b>
1.5.1 Hämoxygenase-1 .....	16
1.5.2 Superoxiddismutase .....	18
1.5.3 Phosphorylierter Nuclear factor erythroid derived.....	19
<b>1.6 Insulin-like-Growth Factor-1 (IGF-1)</b> .....	<b>21</b>
<b>1.7 Hypothese/Forschungs-Ansatz</b> .....	<b>23</b>
1.7.1 Primäre und sekundäre Ziele der Studie .....	24
<b>1.8 Pilotstudie</b> .....	<b>25</b>
<b>2. Material und Methoden</b> .....	<b>26</b>
<b>2.1 Studiendesign</b> .....	<b>26</b>
<b>2.2 Ethische Aspekte</b> .....	<b>26</b>
2.2.1 Ethische Durchführung der Studie (Deklaration von Helsinki) .....	26
2.2.2 Aufklärung und Einverständnis der Studienteilnehmer .....	27
<b>2.3 Klinischer Teil</b> .....	<b>28</b>
2.3.1 Allgemeines Studiendesign .....	28
2.3.2 Ablaufdiagramm der klinischen Prüfung:.....	28
<b>2.4 Beschreibung des oralen Supplements Glutamine plus</b> .....	<b>30</b>
<b>2.5 Placebo</b> .....	<b>30</b>
<b>2.6 Auswahl der Studienpopulation</b> .....	<b>31</b>
2.6.1 Einschlusskriterien:.....	31
2.6.2 Ausschlusskriterien:.....	31
2.6.3 Nachträglicher Ausschluss von Studienpatienten .....	31
2.6.4 Verfahren bei vorzeitigem Ende der Behandlung im Rahmen der klinischen Prüfung .....	32
2.6.5 Abbruch der gesamten Studie .....	32
2.6.6 Methode zur Zuordnung der Patienten zu den Behandlungsgruppen .....	32
2.6.7 Verblindung.....	32
2.6.8 Einhaltung der Therapie.....	33
<b>2.7 Details zu den einzelnen Visiten</b> .....	<b>33</b>
<b>2.8 Experimenteller Teil</b> .....	<b>34</b>
2.8.1 Blutprobengewinnung.....	34
2.8.2 Isolation der Monozyten und Gewinnung der Proteine mittels Dichtegradient.....	36
2.8.3 Proteinmessung nach Lowry:.....	37
2.8.4 Western Blot .....	39
2.8.5 Filmverarbeitung .....	46
<b>2.9 Anamneseerhebung</b> .....	<b>47</b>
<b>2.10 Statistik</b> .....	<b>48</b>

<b>3. Ergebnisse.....</b>	<b>49</b>
<b>3.1 Komplikationen in den einzelnen Gruppen .....</b>	<b>51</b>
<b>3.2 Initiale antioxidative Parameter der gesunden Probanden verglichen mit den Patienten bei Aufnahme .....</b>	<b>55</b>
3.2.1 Vergleich der Superoxiddismutase-1 von Gesunden mit Patienten bei Aufnahme .....	55
3.2.2 Vergleich der Hämoxygenase-1 von Gesunden mit Patienten bei Aufnahme.....	56
3.2.3 Vergleich pNRF2 von Gesunden mit Patienten bei Aufnahme .....	57
<b>3.3 Quotient.....</b>	<b>58</b>
3.3.1 Vergleich der Superoxiddismutase-1 Expression (Quotient) zwischen Placebo und Glutamin über sieben Tage.....	59
3.3.2 Vergleich der Hämoxygenase-1 Expression (Quotient) zwischen Placebo und Glutamin über sieben Tage.....	60
3.3.3 Vergleich der pNRF2 Expression (Quotient) zwischen Placebo und Glutamin über sieben Tage.....	61
<b>3.4 Quotient der Expression bei den über 80-jährigen Patienten .....</b>	<b>62</b>
3.4.1 Vergleich der Superoxiddismutase-1 Expression (Quotient) zwischen Placebo und Glutamin über sieben Tage bei den über 80-Jährigen.....	63
3.4.2 Vergleich der Hämoxygenase-1 Expression (Quotient) zwischen Placebo und Glutamin über sieben Tage bei den über 80-Jährigen.....	65
3.4.3 Vergleich der pNRF2 Expression (Quotient) zwischen Placebo und Glutamin über sieben Tage bei den über 80-Jährigen .....	66
<b>3.5 Quotient der antioxidativen Parameter im Vergleich mit jungen Patienten nach vergleichbarer Fraktur .....</b>	<b>68</b>
3.5.1 Vergleich der Superoxiddismutase-1 Expression (Quotient) zwischen Placebo/Glutamin und jungen Patienten nach adäquater Fraktur.....	68
3.5.2 Vergleich der Hämoxygenase-1 Expression (Quotient) zwischen Placebo/Glutamin und jungen Patienten nach adäquater Fraktur.....	69
3.5.3 Vergleich der pNRF2 Expression (Quotient) zwischen Placebo/Glutamin und jungen Patienten nach adäquater Fraktur.....	71
<b>3.6 Expression antioxidativer Parameter der gesunden Probanden verglichen mit Patienten über sieben Tage .....</b>	<b>72</b>
3.6.1 Expression der Superoxiddismutase-1 von gesunden Probanden (jung/alt) und Patienten nach Fraktur (jung/alt) über sieben Tage .....	72
3.6.2 Expression der Hämoxygenase-1 von gesunden Probanden (jung/alt) und Patienten nach Fraktur (jung/alt) über sieben Tage.....	74
3.6.3 Expression des pNRF2 von gesunden Probanden (jung/alt) und Patienten nach Fraktur (jung/alt) über sieben Tage .....	75
<b>3.7 Beeinflussung des Immunsystems durch Glutamin .....</b>	<b>76</b>
3.7.1 Unterschiede in den Leukozytenwerten (Quotient) zwischen Placebo-und Glutamingabe über sieben Tage.....	76
3.7.2 Unterschiede in den Leukozytenwerten (Quotient) zwischen Placebo-und Glutamingabe bei den über 80 Jährigen in sieben Tage .....	78
3.7.3 Unterschiede in der Immunglobulin A Produktion (Quotient) nach sieben tägiger Glutamingabe, im Vergleich mit Placebogabe .....	79
3.7.4 Unterschiede in der Immunglobulin A Produktion (Quotient) nach sieben tägiger Glutamingabe, im Vergleich mit Placebogabe bei den über 80-Jährigen .....	80
3.7.5 Unterschiede in der Immunglobulin G Produktion (Quotient) nach sieben tägiger Glutamingabe, im Vergleich mit Placebogabe .....	81
3.7.6 Unterschiede in der Immunglobulin G Produktion (Quotient) nach sieben tägiger Glutamingabe, im Vergleich mit Placebogabe bei den über 80-Jährigen .....	82
<b>3.8 Einfluss auf nutritive Parameter.....</b>	<b>84</b>
3.8.1 Vergleich der bei Aufnahme erhobenen nutritiven Parameter (Albumin, Gesamteiweiß, IGF-1) zwischen Patienten unter 80 Jahren und Patienten über 80 Jahren.....	84

3.8.2 Einfluss durch die sieben tägige Glutamingabe auf den IGF-1, im Vergleich zu der Placebogruppe .....	85
3.8.3 Einfluss bei den über 80-Jährigen durch die sieben tägige Glutamingabe auf den IGF-1, im Vergleich zu der Placebogruppe .....	86
3.8.4 IGF-1 bei Patienten mit einem BMI < 22 .....	88
<b>3.9 Aufenthaltsdauer .....</b>	<b>89</b>
3.9.1 Unterschiede bei der Aufenthaltsdauer zwischen der Placebo- und Glutamingruppe .....	89
3.9.2 Unterschiede bei der Aufenthaltsdauer zwischen der Placebo- und Glutamingruppe der über 80-Jährigen .....	90
<b>3.10 Telefonische Nachkontrolle der über 80-jährigen Patienten: .....</b>	<b>92</b>
3.10.1 Telefonische Nachkontrolle der über 80-Jährigen in der Placebogruppe .....	92
3.10.2 Telefonische Nachkontrolle der über 80-Jährigen in der Glutamingruppe .....	94
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>95</b>
4.1 Alterstraumatologie .....	95
4.2 Oxidativer Stress .....	95
4.2.1 Superoxiddismutase-1 und pNRF2 .....	95
4.2.2 Hämoxygenase-1 .....	97
4.2.3 Defizit in der Hämoxygenase-1 Expression bei älteren Patienten .....	98
4.3 Immunsystem .....	99
4.4 Insulin-like-Growth Faktor-1 .....	100
4.5 Patienten über 80 Jahre .....	101
4.5.1 Nutritiver Status der über 80-Jährigen .....	103
4.5.2 Antioxidative Enzyme (SOD-1) der über 80-Jährigen .....	103
4.6 Kosten und Rehabilitation .....	104
4.7 Telefonische Nachkontrolle der über 80-jährigen Patienten .....	105
4.8 Diskussion des Studiendesigns .....	107
<b>5. Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>111</b>
<b>6. Verzeichnisse .....</b>	<b>114</b>
6.1 Abbildungen .....	114
6.2 Literatur .....	117
<b>7. Anhang .....</b>	<b>122</b>
<b>8. Danksagung .....</b>	<b>125</b>

# 1. Einleitung

Seit Jahrzehnten befassen sich Wissenschaftler mit Nahrungsergänzungsmitteln und dem Einfluss von Zusatzstoffen auf das Immunsystem und die Verdauung. Erstmals führte Nestle 1998 einen probiotischen Joghurt ein, welcher die Verdauung mit Hilfe von Bakterienkulturen anregen sollte.

Danone versucht mit dem Joghurt-Drink Actimel dem Verbraucher zu suggerieren durch den Verzehr des Getränks sein Immunsystem zu stärken. So wirbt das Produkt damit die Aktivität der körpereigenen Abwehrzellen um bis zu 25 % zu steigern. Der Markt für sogenanntes „Functional Food“ wächst stetig und damit auch die Diskussion um den Nutzen solcher Produkte(5,32,118). Dieses Thema erhält nun auch zunehmend Einzug in die Medizin und vor allem in die Rehabilitation.

In zahlreichen Studien wird auf die schlechte Rehabilitation bzw. Genese und die damit verbundene hohe Mortalität bei älteren Patienten nach einem traumatischen Ereignis berichtet. Es scheint, dass dies u.a. mit einem verschlechterten Immunstatus bzw. einer Malnutrition im Alter zusammenhängt. Des Weiteren wird mit dem Älter werden auf ein vermehrtes Auftreten oxidativen Stresses hingewiesen und der verminderten Kapazität älterer Patienten diesem entgegen zu wirken. In dieser Arbeit werden diese Aspekte analysiert und versucht durch Immunonutrition, im Rahmen einer klinischen doppelt-verblindeten, randomisierten Pilotstudie, diese Parameter zu modulieren. Als repräsentatives Trauma wurden die hüftgelenksnahen

Frakturen ausgewählt, da sie die häufigsten Frakturen im höheren Lebensalter darstellen und mit einer hohen Komplikationsrate bzw. Mortalität verbunden sind.

## 1.1 Demografische Entwicklung weltweit und in Deutschland:

Betrachtet man die demografische Entwicklung in Deutschland so kann man eine deutliche Zunahme der älteren Bevölkerung ausmachen. Im Jahr 2010 lebten in der Bundesrepublik Deutschland ca. 82,5 Millionen Menschen, davon waren ungefähr 17 Millionen Menschen (20%) über 65 Jahre alt. Laut statistischem Bundesamt wird die Zahl der Gesamtbevölkerung in Deutschland bis zum Jahr 2050 auf 73,02 Millionen zurückgehen, die Anzahl der über 65 Jährigen hingegen wird auf 25 Millionen steigen (34%).

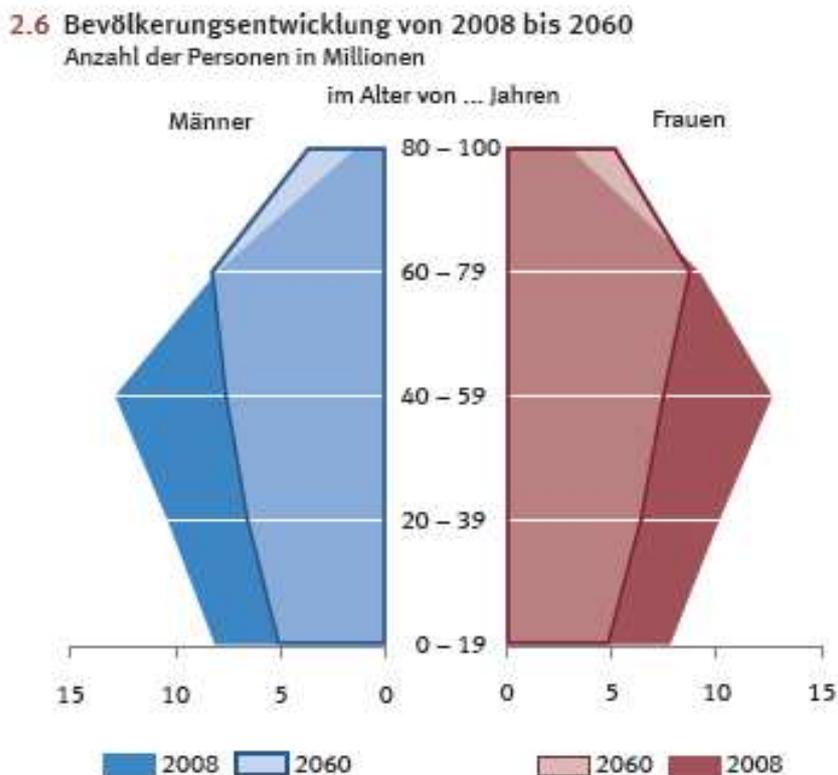


Abbildung 1 Demografische Entwicklung in Deutschland, Quelle: Statistisches Bundesamt, Deutschland – Land und Leute, 2009

Damit verbunden wird die Bedeutung der Geriatrie und der Alterschirurgie zunehmen. Nach Informationen des Bundesverbands der Betriebskrankenkasse entfielen auf einen 80-Jährigen ungefähr achtmal so viele Krankenhaustage wie auf einen durchschnittlichen 30- Jährigen(14). Wegen der Zunahme der älteren Bevölkerung wird die Zahl der Krankenhausfälle von derzeit 16 Millionen bis zum Jahr 2050 auf 19 Millionen ansteigen. Die Anzahl der Krankenhaustage der über 75-Jährigen wird von 40 Mio. (1998) bis zum Jahr 2050 auf 120 Mio. ansteigen(77).

Proximale Femurfrakturen (hüftgelenksnahe Oberschenkelbrüche) sind meist Frakturen des älteren Menschen (Altersdurchschnitt: 75-82 Jahre). Durch die im Alter, vor allem bei den Frauen nach der Menopause hinzukommende Osteoporose und die zunehmende Varisierung (Verkleinerung des zur Körpermitte gelegenen Winkels zwischen Schenkelhals und der Horizontalen) ist der Oberschenkelhals eine Prädilektionsstelle für Frakturen nach einem Sturz. Zurzeit liegt die Gesamtinzidenz für proximale Femurfrakturen bei 150/100.000, dies sind jährlich ca. 150.000 Frakturen allein in Deutschland. Die Inzidenz für die Oberschenkelhalsfraktur bei den über 65 Jährigen liegt derzeit bei 600-900/100.000 Einwohnern(83).

Somit beträgt das Lebenszeitrisiko einer proximalen Femurfraktur für Frauen 11 bis 23 % und bei den Männern 5 bis 11 %(76).

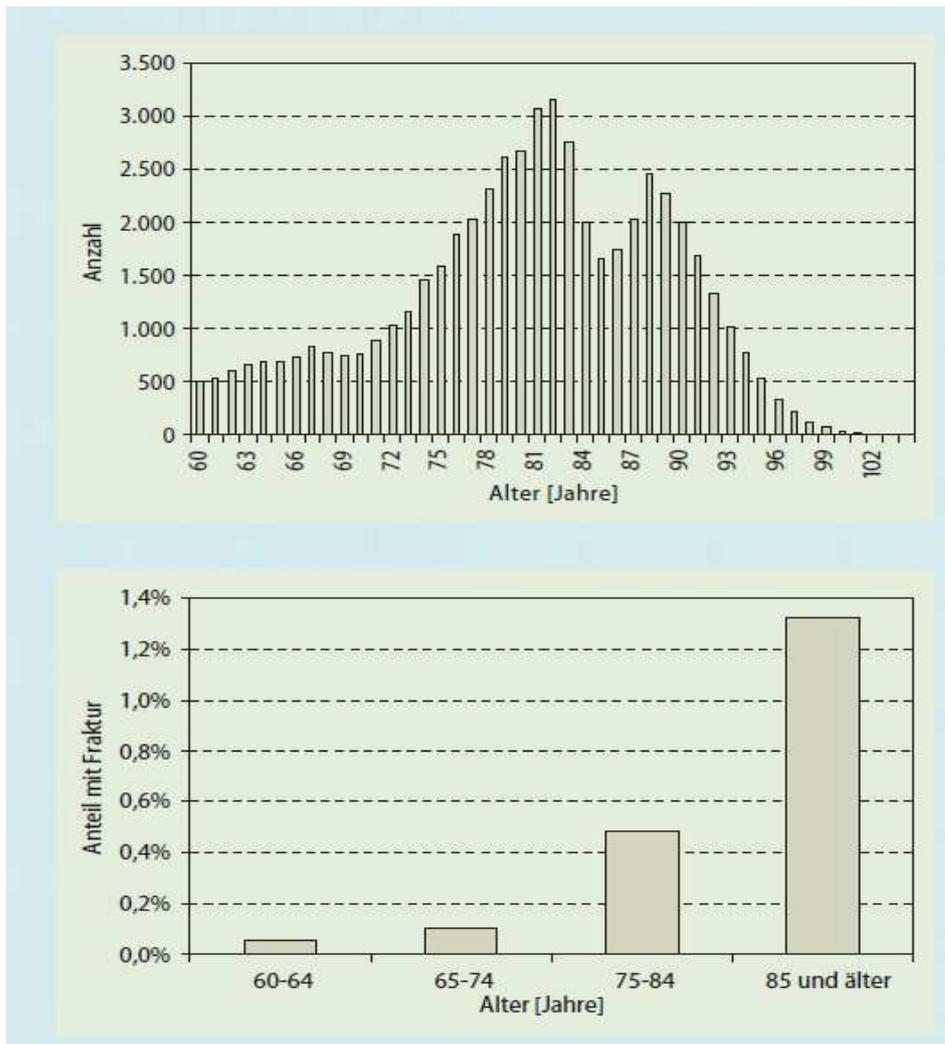


Abbildung 2 oben: Altersverteilung der Hüftgelenksnahen Frakturen von über 23Mio. Versicherten, unten: Altersabhängige Inzidenz der hüftgelenksnahen Frakturen pro Jahr(58)

In unserer „alternden“ Gesellschaft wird sich nach derzeitigen Prognosen die Inzidenz bis 2050 mehr als verdoppeln(58).

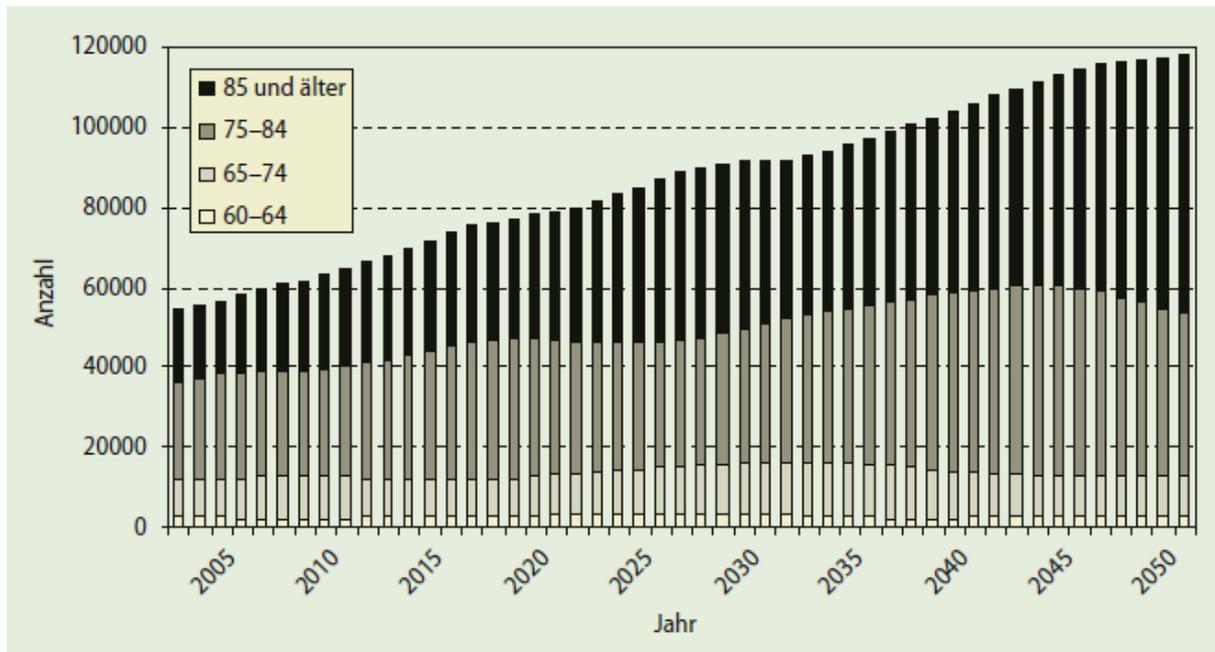


Abbildung 3 Entwicklung der Anzahl von proximalen Femurfrakturen bis zum Jahr 2050 in Abhängigkeit vom Alter(35)

Ein damit verbundenes Problem sind auch die zukünftigen Kosten für das Gesundheitssystem, denn hüftgelenknahe Frakturen machen in der Alterstraumatologie u.a. den größten Kostenfaktor aus, weil sie immer einer stationären Aufnahme bedürfen. So betragen die Behandlungskosten in Deutschland im Jahr 2005 ca. 2,5 Milliarden Euro(96).

Die in 97% der Fälle nötige operative Versorgung gestaltete sich aufgrund des fortgeschrittenen Alters und des oft schlechten Ernährungsstatus relativ komplikationsreich mit Infektionen und kardiovaskulären Problemen. So liegen die Komplikationsraten bei bis zu 50% und die 30 Tage Mortalität bei 9%(86,93). In einer Untersuchung von Smektala et al. wird eine postoperative Komplikationsrate von 26,1% angegeben; die Klinikletalität wird mit 6% beschrieben. Im 1. Jahr nach Schenkelhalsfraktur beträgt die Sterblichkeit 24,2% für alle Patienten (Durchschnittsalter: 78,6 Jahre). Im Vergleich hierzu ist zu erwähnen, dass die erwartete Sterberate in der Bevölkerung bei gleicher Alters- und

Geschlechtszusammensetzung bei ca. 11,3% liegt(94). Bezogen auf Bonnaire et al. sterben im ersten Jahr nach einer Schenkelhalsfraktur bis zu 30%(17). Diese Zahl wird auch von Zuckerman bestätigt der in den Vereinigten Staaten von Amerika eine 1 Jahres Mortalität von 14-36% erhebt(119). Bezüglich des Aktivitätsgrades der Patienten wird laut Beck und Rüter erwartet, dass nur 50 bis 60 % der Patienten denselben Aktivitätsgrad erreichen wie vor der Fraktur. Postoperativ wieder geh fähig sind 80% der Patienten, davon die Hälfte jedoch nur mit Gehhilfe. Des Weiteren sind 15% nur noch mobilisierbar und 5% auf die Dauer bettlägerig(12). Ein Viertel der Patienten ist dauerhaft auf pflegerische Unterstützung angewiesen(6,102,103).

## **1.2 Immunsystem im Alter**

Im Alter ist u.a. eine veränderte Immunreaktion mit ineffizienter Infektabwehr vorhanden(46). Man geht davon aus, dass der Vorgang des Älterwerdens durch einen ständigen entzündlichen Prozess mit einer kontinuierlichen, geringgradigen Aktivität der Zellen des Immunsystems begleitet wird. Dies könnte zu einer verstärkten Gewebsschädigung bei Infektionen führen(92).

Monozyten, welche dem angeborenen Immunsystem des Menschen angehören, findet man vor allem in der Milz und im Blut. Sie dringen schnell in entzündete Gebiete und bewirken somit eine rasche Immunantwort. Nach dem Erreichen des entzündeten Gewebes differenzieren sie zu Antigen präsentierenden Zellen, wie z.B. Makrophagen und dendritischen Zellen. Die Anzahl der Monozyten nimmt im Alter zu(26) bzw. bleibt gleich, parallel dazu kommt es hingegen zu einer Abnahme der Makrophagenfunktion, einer gesteigerten Apoptose und einer verringerten Makrophagenanzahl im Knochenmark von älteren Patienten(16,72).

In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass die Phagozytoseaktivität beeinträchtigt ist. Gleichmaßen ist die Wundheilung, bei der die Makrophagen involviert sind im Alter gestört(101). Die Anzahl der natürlichen Killerzellen steigt mit dem Alter, jedoch arbeiten auch diese Zellen ineffektiv, dies ist vor allem auf die Abnahme der Zytotoxizität mit zunehmenden Alter zurückzuführen(66).

Diese Veränderungen der Funktion der natürlichen Killerzellen könnten zurückzuführen sein, auf Veränderungen in der Zinkhomöostase von älteren Menschen. Es gibt u.a. eine Studie die auch hier eine Verbesserung durch Ernährungssupplementation mit Zink beschreiben(62).

Bei den Neutrophilen Zellen kommt es nicht zu einer Reduktion bezüglich der Zellzahl im Alter. Jedoch zeigen humane Neutrophile eine verringert mikrobizide Aktivität im Alter. Ebenfalls scheint bei älteren Spendern die Chemotaxis beeinflusst zu sein, was wiederum zu einem verspäteten Erreichen der Entzündung führt und somit kann diese sich weiter ausbreiten(109). In Wundbiopsien konnte ebenfalls ein verspätetes Erscheinen von Lymphozyten und Monozyten im Alter gezeigt werden(8).

Bei Betrachtung der humoralen Abwehr, die im Alter ebenfalls reduziert ist, lässt sich auf eine verminderte B-Zell Produktion schließen(3).

Zusammenfassend scheint es, dass die Zahl der immunkompetenten Zellen erhöht bzw. normal ist. Im Vergleich zu jüngeren Kontrollen sind diese Zellen jedoch in ihrer Aktivität und ihrem Wirkungsgrad vermindert. Ältere Menschen sind verglichen mit jungen Erwachsenen nicht in der Lage nach einer Infektion eine vergleichbar intakte Immunantwort aufzubauen(57). Sie sind anfälliger für virale, bakterielle oder opportunistische Infektionen und die Reaktivierung latenter Viren(31,81,85). Hieraus resultieren Wundinfektionen, Pneumonie, Harnwegsinfektionen etc. . Dies wiederum

bedingt eine verzögerte Rehabilitation und damit ein erhöhtes Risiko für u.a. kardiovaskuläre Ereignisse (Thrombose, Embolie, Angina pectoris, Myokardinfarkt, ...)(82).

Als ein maßgeblicher Grund für die schlechte Rehabilitation wird der reduzierte Allgemein- und vor allem Ernährungszustand der älteren Patienten angesehen. Andere Faktoren wie z.B. freie Radikale, die durch das Trauma (Fraktur/ Gewebeschäden/ Nekrosen) und die Operation zusätzlich entstehen, sind ebenso mit verantwortlich für das schlechte klinische Outcome. Die durch das primäre (Sturz) und sekundäre (OP) Trauma induzierte immunologische Reaktion des älteren und mangelernährten Organismus ist bisher nur unzureichend und teilweise auch widersprüchlich untersucht. Mittels Immunonutrition, wie z.B. glutaminreicher Ernährung wurde versucht diesem reduzierten Ernährungszustand entgegenzuwirken.

### **1.3 Immunonutrition und Glutamin**

Glutamin bildet im Blutplasma mit 20 % den größten Bestandteil freier Aminosäuren. In der Skelettmuskulatur macht es sogar 60 % aus(13). Glutamin ist eine wichtige Komponente für zahlreiche metabolische Funktionen, wie z.B. die Aufrechterhaltung des Säure-Basen Haushaltes, der Glukoneogenese, dem Stickstofftransport und der Synthese vieler Proteine und Nukleinsäuren(75). Es konnte gezeigt werden, dass Glutamin einer der wichtigsten Baustoffe für schnell proliferierende Zellen, wie z.B. die Zellen des Immunsystems, ist(22). Viele Untersuchungen deuten darauf hin, dass katabole Stoffwechselsituationen wie sie bei elektiven Operationen, schwerwiegenden Verletzungen und Infektionen vorkommen, zu einer Verminderung des Glutamingehalts um nahezu 50 % des ursprünglichen Wertes in den

Muskelzellen(37) führen. Diese Verminderung führt wiederum zu einem Substratmangel für die Produktion von Immunzellen. Aufgrund dessen liegt die Vermutung nahe, dass Glutamin in Situationen des katabolen Stresses zu einer essentiellen Aminosäure wird.

#### **1.4 Glutamin und die Effekte auf das Immunsystem**

Nach größeren operativen Eingriffen kommt es zu einer Immunsuppression. In einer Studie erhielten Patienten nach einer abdominalen Operation für 5 Tage Glutamin parenteral. Hier wurde die Anzahl der Lymphozyten postoperativ kontrolliert und der Gehalt von Cysteinyl-Leukotrienen aus eosinophilen Granulozyten wurde am ersten und sechsten Tag postoperativ untersucht. Cysteinyl-Leukotriene sind wichtige Mediatoren bei inflammatorischen Prozessen. Sie bewirken u.a. eine verbesserte Immigration von dendritischen Zellen, eine Aktivierung von Makrophagen oder Mastzellen und eine gesteigerte Proliferation bei der Wundheilung(50). Weiterhin wurde der Stickstoffmonoxidgehalt an mehreren Tagen nach der Operation berechnet. Stickstoffmonoxid ist ein Marker für die Schwere einer Entzündung. Es konnte gezeigt werden, dass der Verlust an Stickstoffmonoxid sich proportional zum Schweregrad des Traumas verhält(53). Die Patienten unter Glutamin hatten einen ausgeglicheneren Stickstoffmonoxidspiegel (zusammengefasst über 5 Tage(  $-7.9 \pm 3.6$  vs.  $-23.0 \pm 2.6$  g NO), einen schnelleren Anstieg der Lymphozyten am sechsten Tag ( $2.41 \pm 0.27$  vs.  $1.52 \pm 0.17$  Lymphozyten/nL) und der Krankenhausaufenthalt konnte um 6 Tage verkürzt werden, verglichen mit der Placebo Gruppe(67). Außerdem hatten diese Patienten einen höheren Wert der Cysteinyl-Leukotriene ( $25.7 \pm 4.89$  vs.  $5.03 \pm 3.11$  ng/mL). Die Leukotriene enthalten das potente Antioxidans Glutathion. Durch Oxidation von Glutathion werden ROS

abgefangen und somit gewebsschädliche Radikale reduziert. Jene Beobachtungen konnten auch in Tierversuchen und der Arbeit mit Zellen bestätigt werden(43,110). Auch im Darm ist Glutamin u.a. ein Substanzdonator für Glutathion und hat einen positiven Effekt auf dessen Produktion. In einer weiteren Studie an Mäusen konnte gezeigt werden, dass es durch parenterale Glutamin Supplementation zu einer Verbesserung bezüglich Infektionen des oberen Respirationstraktes aufgrund einer gesteigerten Ig A Produktion kam(56). Des Weiteren wird durch die Glutamingabe die zytotoxische Wirkung von natürlichen Killerzellen(4,9,44), sowie die Proliferation von Lymphozyten und Makrophagen verstärkt(22,41).

Aus zahlreichen Versuchen geht hervor, dass Glutamin Supplementation in vitro und in vivo die Aktivität zahlreicher immunkompetenter Zellen, wie z.B. Lymphozyten, Makrophagen oder natürlicher Killerzellen fördert. Weiterhin werden in der Literatur verschiedene klinische Studien beschrieben, welche auch eine Verbesserung bei der Prävention von Infektionserkrankungen suggerieren(45). Hier wurden in einer kontrollierten randomisierten Studie 60 Patienten mit multiplen Traumata, welche eine Glutaminsupplementation über eine Nasensonde (25–30g Glutamin pro Tag) für mindestens 5 Tage erhielten, untersucht. Es wurde eine signifikante Reduktion bei Infektionskrankheiten, wie Pneumonie, Bakteriämie oder einer Sepsis von 50% erreicht. Als messbare Größe für die systemische Inflammation wurden Tumornekrosefaktorrezeptoren (p55/p75) untersucht. Patienten mit Glutaminsupplementation zeigten im Vergleich zur Placebogruppe geringere Spiegel an TNF- Rezeptoren und damit eine Reduktion bei der Inflammation und Apoptose.

In einer weiteren Studie mit Patienten einer Intensivstation kam es unter enteraler Immunonutrition mit Glutamin zwar zu einem verbesserten Outcome bezüglich neu aufgetretener Infektionen (Pneumonie 5 vs. 14 Patienten  $p>0,02$ , Bakteriämie 2 vs. 13  $p<0,05$ , Sepsis 1 vs. 8  $p<0,02$ ), jedoch zu keiner Reduktion der Mortalität, da viele

Patienten bei Aufnahme schon an einer schweren Infektion litten(49). Jedoch konnten die Behandlungskosten aufgrund der geringeren Aufenthaltsdauer und Reduktion der neu aufgetretenen Infektionen signifikant verringert werden (\$23,000 in der Glutamingruppe versus \$30,900,  $p= 0,036$ ). Daraus lässt sich Schlussfolgern, dass die orale Glutamingabe bezüglich Reduktion von Mortalität sinnvoll ist, wenn man sie vor Auftreten einer schweren Infektion präventiv den Patienten verabreicht, um das Immunsystem gegen Infektionen zu verbessern.

In akuten, kritischen Krankheitssituationen erfahren die Patienten eine Verschlechterung des Ernährungszustandes. Dies ist wiederum verbunden mit einer Verringerung von Glutamin im Blutplasma(80). Diese Defizite sind nicht selten bei hospitalisierten Patienten und erhöhen somit das Risiko von Infektionen, sowie dem Organversagen und der damit verbundenen erhöhten Sterblichkeit(71). Ein Grund dafür könnte die verminderte Antwort von humanen Lymphozyten auf Stress während reduzierter Glutaminplasmaspiegel sein. Es scheint, dass Glutamin die Anfälligkeit von Leukozyten gegenüber Entzündungsmediatoren verringert(71).

Es wird vor allem ein positiver Effekt durch Supplementierung bei schlecht- bzw. unterernährten Patienten beschrieben. Zusammenfassend lässt sich festhalten: Untersuchungen haben erbracht, dass alle sich schnell vermehrenden Zellen, hauptsächlich diejenigen des Immunsystems, strikt auf die Verfügbarkeit von Glutamin angewiesen sind.

Das Auftreten von Infektionen, die Gesamtzahl und die Zahl der örtlich begrenzten mikrobiellen Besiedlung und die Dauer des Krankenhausaufenthaltes waren im Vergleich zu den Kontrollpatienten reduziert bzw. verkürzt(45,49,67).

## 1.5 Oxidativer Stress

Oxidativer Stress entsteht durch ein Ungleichgewicht zwischen dem Auftreten von oxidativen Substraten bzw. freien Radikalen und der Fähigkeit des Organismus diese zu eliminieren. Diese oxidativen Substrate werden reaktive Sauerstoffradikale (ROS, reactive oxygen species) genannt. Zu den ROS werden Sauerstoffradikale wie das Superoxidanion ( $O_2^-$ ), Hydrogenperoxid ( $H_2O_2$ ) oder das Hydroxylradikal ( $OH^-$ ) gezählt. Zahlreiche Systeme produzieren nebenbei ROS wie zum Beispiel die mitochondriale Atmungskette, das Cytochrom P450 System und Lipo- bzw. Cyclooxygenasen(36).

ROS führen innerhalb der Zelle und an zahlreichen Proteinen zu Schäden. Es kommt durch oxidative Schädigung zu Doppel- und Einzelstrangbrüchen der DNA. Dies wiederum bewirkt Fehler in der Replikation und Transkription und führt zu Mutationen und auch zu einer erhöhten Apoptoserate(42).

Die weitaus meisten Schäden können durch DNA-Reparatur oder Abbau beschädigter Proteine im Lysosom und Proteasom behoben werden. Im Alter kann es jedoch zu einer Akkumulation solcher Mutationen kommen und damit zu einer Funktionsbeeinträchtigung. ROS führen zu einer Lipidperoxidation, d.h. sie schädigen die Zellmembran. Dadurch muss mehr Energie aufgewendet werden, um das Membranpotenzial aufrechtzuerhalten, es kommt zur zellulären Dysfunktion. Weiterhin führen ROS zu Schäden an den Proteinen indem sie die Peptidketten aufbrechen. Diese Proteinmodifikationen können nicht repariert werden und die Proteine müssen durch Proteasomen und Lysosomen entsorgt werden(91).

ROS spielen eine wichtige Rolle bei vielen Krankheiten wegen ihrer hohen Reaktivität und Zellschädigung. Unter pathologischen Bedingungen wie einer akuten oder chronischen Infektion kommt es zu einer Überproduktion dieser hoch reaktiven

Metabolite und damit zu einem erhöhten Zellsterben bzw. zu Gewebsschäden(1,59,70). Zu den Krankheiten bzw. Prozessen, welche in einem Zusammenhang mit dem oxidativen Stress stehen gehören u.a. mikrobielle Infektionen, Entzündungen, Arteriosklerose, Diabetes und Ischämie– bzw. Reperfusionverletzungen(25,63).

Eine erhöhte Produktion von ROS wird bei Entzündungen im Altersprozess beschrieben(38,74). Weiterhin wird ebenfalls ein negativer Zusammenhang von oxidativen Stress sowie der Osteoporose und den damit verbundenen Frakturen beschrieben(10).

Um diese Schädigung durch freie Radikale und ROS so gering wie möglich zu halten hat der Körper ein Verteidigungssystem entwickelt:

In dieser Arbeit haben wir uns dazu entschieden

- a) die Hämoxygenase-1 (HO-1),
- b) die Superoxiddismutase 1 (SOD-1) und
- c) den Transkriptionsfaktor nuclear factor erythroid derived (NRF2) zu analysieren.

Diese Enzyme bzw. dieser Transkriptionsfaktor wiesen in zahlreichen Studien ein enormes antioxidatives Potenzial bei der Regulation/Beseitigung des oxidativen Stresses auf und spielen somit u.a. eine wichtige Rolle bei der Genesung älterer Patienten nach einem Trauma.

### **1.5.1 Hämoxygenase-1**

Die Hämoxygenase ist das Schlüsselenzym beim Abbau von Häm zu Biliverdin, Eisen und Kohlenstoffmonoxid (s. Abbildung 4). Durch die Biliverdin-Reduktase wird das Biliverdin zu Bilirubin reduziert. Das Eisen wird an Ferritin gebunden und kann dem Organismus wieder zur Verfügung gestellt werden(88).

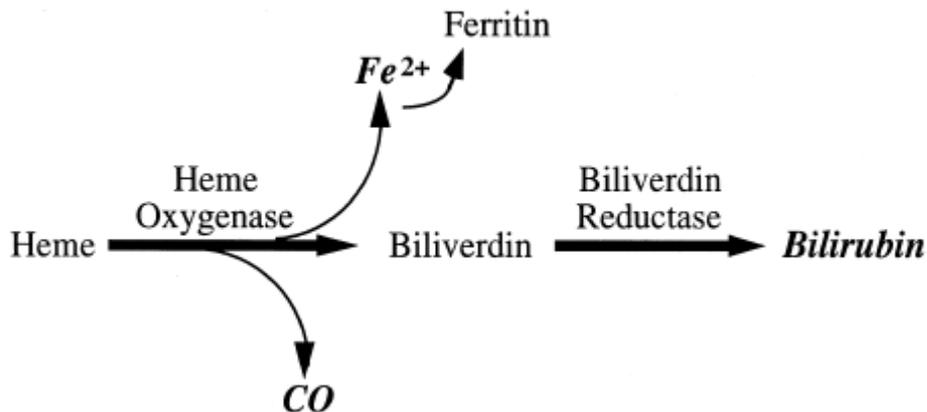


Abbildung 4 Enzymatische Reaktion der Hämoxigenase, (79)

Es existieren zwei Isoenzyme: Die Hämoxigenase-1 (HO-1) und die Hämoxigenase 2 (HO-2). Die HO-2 findet man hauptsächlich im Gehirn und Hoden und ist konstitutiv exprimiert, und somit wird die HO-2 als nicht induzierbare Isoform bezeichnet(104). Im Gegensatz hierzu ist HO-1 induzierbar. Man findet es in geringer Konzentration in fast allen Zellen. Kommt es nun zu einer Stimulation durch oxidativen Stress wird HO-1 vermehrt exprimiert. Aufgrund dessen wird vermutet, dass die vermehrte Expression von HO-1 eine zelluläre Antwort auf den oxidativen Stress ist(40,79). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Hämoxigenase-1 wichtige anti-inflammatorische und immunmodulatorische Funktionen erfüllt. Ein Beispiel hierfür wird in Tiermodellen beschrieben: In diesen Versuchen konnte gezeigt werden, dass eine vermehrte Expression von HO-1 zu einer Abschwächung der Entzündung führte(111). Mit Hilfe von HO-1 Knockout Mäusen wurde gezeigt, dass diese Mäuse eher eine chronische Entzündung entwickeln und eine deutlich erhöhte Anfälligkeit gegenüber einer experimentell induzierten Entzündung mittels einem Endotoxin aufwiesen(84). Auch bei humanen Hepatozyten konnte gegenüber oxidativem Stress, welcher durch eine Ethanolvergiftung induziert wurde, ein protektiver Effekt von HO-1 gezeigt werden(69,113). So konnte u.a. durch Gabe von Polyphenolen via Aktivierung von NRF2 Translokation (s. unten) die HO-1 Induktion gesteigert und

damit gleichzeitig Zellschäden verringert werden. Zusammenfassend konnte in experimentellen Modellen ein positiver Effekt von der HO-1 Expression auf die Entzündungsreaktion gezeigt werden. Jedoch sind noch nicht alle anti-entzündlichen Effekte von HO-1 im Detail verstanden. Es wird vermutet, dass der Abbau von pro-inflammatorisch wirkendem freiem Häm sowie die Produktion von Biliverdin und Kohlenstoffmonoxid ebenfalls eine antiinflammatorische Wirkung haben.

So konnte ein zytoprotektiver Effekt von Kohlenstoffmonoxid bei Endothelzellen gezeigt werden(18). Otterbein et al. beschreiben eine Inhibition von pro-inflammatorischen Zytokinen wie z.B. TNF und IL-1 und einen Anstieg der anti-inflammatorischen Cytokine, z.B. Interleukin-10 durch Kohlenstoffmonoxid(78). Interleukin 10 hat u.a. die Funktion den Organismus vor einer überschießenden Entzündungsreaktion zu bewahren und könnte eine Schlüsselrolle beim Schutz im septischen Schock haben.

Ebenfalls wird eine verstärkte Induktion von HO-1 durch Kohlenstoffmonoxid über den NRF2 Signalweg und damit eine positive Rückkopplung beschrieben(52). Biliverdin wird zu Bilirubin reduziert, welches ebenfalls eine potente antioxidative Wirkung hat(95). Dies konnte auch unter Stimulation mit Hydrogenperoxid gezeigt werden(11).

### **1.5.2 Superoxiddismutase**

Superoxide ( $O_2^-$ ) entstehen bei der Reduktion von Sauerstoff, z.B. in der Atmungskette aber auch durch Entzündungszellen. Im gesunden Zustand stehen diese Superoxide unter strenger Kontrolle durch die Superoxiddismutase und werden durch diese ständig eliminiert(65). Es existieren drei Formen der Superoxiddismutase: Mn-SOD in den Mitochondrien (SOD-2), eine

Superoxiddismutase auf der extrazellulären Oberfläche (SOD-3) und die Cu/Zn-SOD im Zytosol (SOD-1).

In vielen Studien konnte gezeigt werden, dass freie Sauerstoffradikale eine wichtige Rolle bei der Gewebsschädigung durch eine Ischämie bzw. Reperfusion oder bei einem septischen Schock spielen. Einen entscheidenden Anteil in diesem Pathomechanismus scheinen die neutrophilen Granulozyten zu haben. Aktivierte Granulozyten sezernieren neben pro-inflammatorischen Zytokinen und Proteasen ROS und schädigen damit auch gesundes Gewebe. Dieser Gewebsschädigung wirkt nun SOD entgegen. Es konnte gezeigt werden, dass SOD ein enormes Therapiepotenzial für die Behandlung der durch Neutrophilen hervorgerufenen Entzündung hat(68,89). Diese Wirkung beruht auf der einen Seite auf der Eliminierung der ROS und auf der anderen Seite scheint SOD die Apoptose der neutrophilen Granulozyten zu fördern(114).

Nach Reperfusion kommt es zu einer Anreicherung von Superoxiden durch z.B. die immunologische Antwort von aktivierten Neutrophilen(33). Die Reoxygenierung von ischämischem Gewebe führt ebenfalls zu einer gesteigerten Bildung von Superoxid und damit zu Gewebsschäden in zahlreichen Organen(89,115). Zusammengefasst konnte in Studien ein protektiver Einfluss und eine verbesserte Heilung von bzw. durch SOD gezeigt werden(21,64).

### **1.5.3 Phosphorylierter Nuclear factor erythroid derived**

Nrf2 (nuclear factor erythroid derived) ist ein Transkriptionsfaktor. Er ist u.a. verantwortlich, für die Expression von antioxidativen Enzymen, wie z.B. SOD-1 und HO-1(2,69) und damit wichtig für den Schutz der Zelle gegen oxidativen Stress und bei Entzündungsprozessen. Nrf2 bindet spezifisch an die sogenannte ARE

(antioxidative response elements)-Sequenz in der Gen-Promoter Region, welche dann wiederum die Expression von antioxidativen Enzymen bewirkt. Unter normalen Bedingungen befindet sich NRF2 im zytosolischen Kompartiment der Zelle. Es wird durch das Kelch-like ECH-assoziierte Protein 1 (KEAP1) gebunden, zum Proteasom geführt und dort schließlich degradiert. Kommt es nun vermehrt zu oxidativen Stress bzw. zu Entzündungen dissoziiert Nrf2 nach Phosphorylierung (pNRF2) von KEAP1 und transloziert in den Nukleus, um dort an das ARE zu binden(48). Dies wiederum bewirkt die Induktion von detoxifizierenden Phase 2 Enzymen (Konjugation von Giftstoffen) und von antioxidativen Genen.

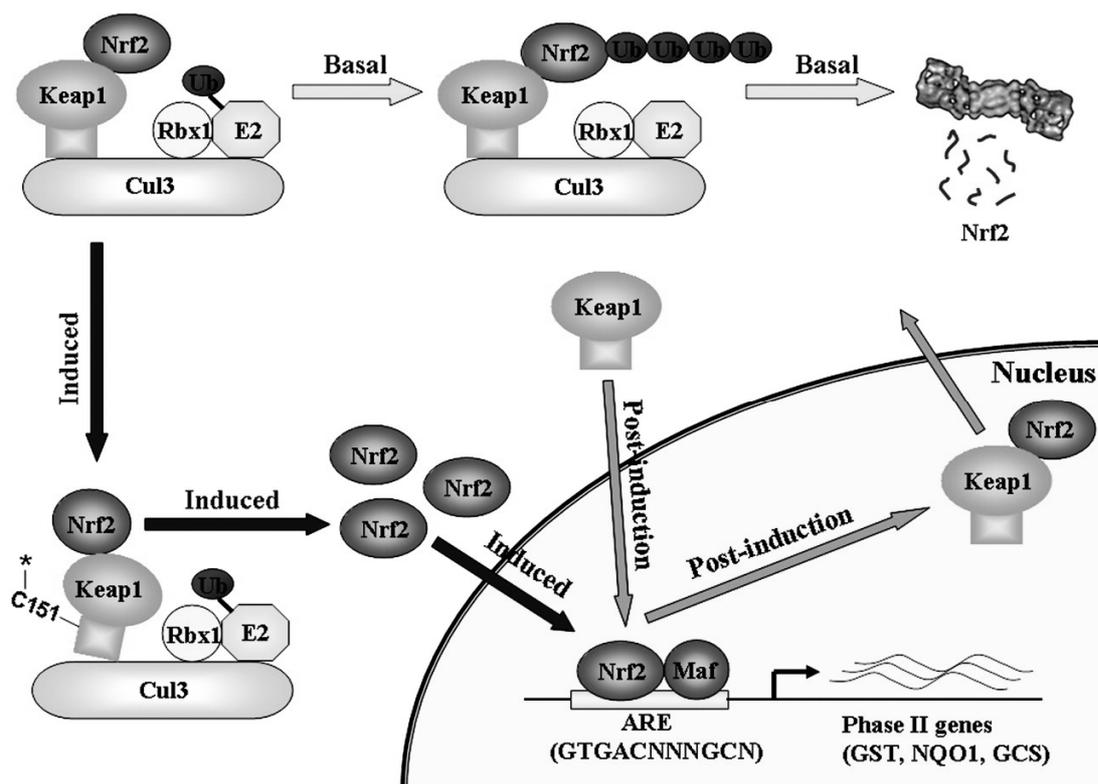


Abbildung 5 Schematisch dargestellt: oben: Model der Nrf2 Regulation durch Keap1 unter basalen Bedingungen: Keap1 in der Funktion der E3 Ubiquitin Ligase, bewirkt die kontinuierliche Ubiquitination und Degradation von Nrf2. Hieraus resultiert ein minimaler Level an Nrf2. Durch oxidativen Stress und Inflammation (unten) wird die Aktivität von Keap1 gehemmt, dadurch kommt es zum Anstieg von Nrf2 und der Translokation in den Nukleus um an die Zielgene zu binden. Nach dem Erreichen von zellulärer Redox-Homoestase gelangt Keap1 in den Nukleus um Nrf2 zu binden und in das Cytosol zurückzuführen, wo es schließlich wieder degradiert wird(116).

In zahlreichen Experimenten konnten Gewebsschäden, welche durch Entzündungen hervorgerufen wurden durch gezielte Induktion von Nrf2 vermindert bzw. verhindert werden. Bei Nrf2 <sup>-/-</sup> Mäusen zeigten isolierte Neutrophile eine gesteigerte ROS Produktion, sowie erhöhte Spiegel von den Entzündungsmediatoren TNF-alpha, IL-6 und von Chemokinen, verglichen mit Wild-Typ Neutrophilen(100).

Weiterhin zeigten Nrf2 <sup>-/-</sup> Makrophagen eine erhöhte Vulnerabilität gegenüber ROS und anderen Toxinen(118).Es konnte bei den Knockout Mäusen eine verringerte Induktion von Phase 2 Entgiftungsenzymen und HO-1 gezeigt werden. Gleichzeitig waren proinflammatorischen Mediatoren wie die induzierbare NO-Synthetase und die Cyclooxygenase 2 vermehrt induziert(51). In anderen Studien schien es, dass Nrf2 einen Schutz gegen eine chemisch induzierte Verletzung oder Entzündung im Lungengewebe bietet(24). Während einer experimentell induzierten Sepsis erwies sich Nrf2 als wichtiger Faktor bei der gesteigerten Antwort des angeborenen Immunsystems und somit des Überlebens(99). Zusammenfassend bewirkt die erreichte Abschwächung einer Entzündung aufgrund der Induktion antioxidativer Enzyme und einer Suppression proinflammatorischer Mediatoren durch den Nrf2-Signalweg einen geringeren Schaden bzw. eine geringere Verletzung und eine bessere Genesung. Deswegen ist der NRF2 Signalweg essentiell für den Schutz gegen Entzündungen.

Zur Beurteilung des nutritiven Status bzw. dessen Beeinflussung durch Glutamin analysierten wir u.a. den Insulin-like-Growth-Factor-1.

## **1.6 Insulin-like-Growth Factor-1 (IGF-1)**

IGF-1 reguliert verschiedene Stoffwechselprozesse, vor allem den Metabolismus von Kohlenhydraten und Proteinen und stimuliert das Knochen- und Muskelwachstum.

Nach Stimulation mit dem aus der Hypophyse stammenden Wachstumshormon Somatotropin/Growth Hormone wird das Insulin-ähnliche Hormon hauptsächlich von der Leber sezerniert. Mit dem zunehmenden Alter scheint die GH Sekretion und damit die IGF-1 Sekretion abzunehmen. Vergleicht man die GH- Sekretion von älteren Probanden mit der GH- Sekretion von jüngeren Probanden so beträgt diese im Alter nur noch 1/5 bis 1/20(105)(73) der Jüngeren. GH/IGF-1 sind die wichtigsten Hormone für das Knochenwachstum, indem sie die Aktivierung und Differenzierung von Osteoblasten, die Chondrozytenproliferation und die 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> 1α-Hydroxylase in der Niere fördern(39). Mäuse mit einem IGF-1 Defizit wiesen skeletale Malformationen, verspätete Mineralisation, reduzierte Chondrozytenproliferation und gesteigerte Chondrozytenapoptose auf(55).

Zahlreiche experimentelle Studien zeigen bestätigend für diese These einen Zusammenhang zwischen einem geringeren IGF-1 Spiegel und dem Verlust von Knochen und Muskelmasse bei älteren Menschen(27,90).

So scheint dieses Hormon bei hohen Werten mit einer erhöhten Knochendichte einherzugehen, und bei niedrigen Werten mit einem erhöhten Frakturrisiko assoziiert zu sein(73).

Die altersbedingte Atrophie von Muskulatur beeinträchtigt viele ältere Menschen ebenfalls in dem sie die alltägliche Unabhängigkeit und das Sturz- und Frakturrisiko negativ beeinflusst(98). Diese Atrophie könnte teilweise auch durch eine verminderte GH/IGF-1 Synthese mit zunehmendem Alter erklärt werden. Tatsächlich konnte eine geringere mRNA Expression von GHR in der Skelettmuskulatur von älteren Menschen verglichen mit Jüngeren gezeigt werden(61). Zusammengefasst scheint es, dass eine geringe Bioaktivität von IGF-1 bei Älteren mit Sarkopenie und Osteopenie assoziiert ist. Neben der geringeren Muskel-und Knochenmasse ist ein

niedriger IGF-1 Spiegel mit einer schlechteren physikalischen Fitness und einer herabgesetzten Immunfunktion assoziiert(108).

Bezüglich entzündlicher und oxidativer Prozesse konnte in einem weiteren Tierexperiment durch einen erhöhten IGF-1 Spiegel eine Reduktion von inflammatorischen Prozessen im Gefäßsystem und eine Reduktion des systemischen oxidativen Stresses(97) gezeigt werden. In einer prospektiven Studie, in der ältere Männer über einen Zeitraum von 8 Jahren bezüglich der IGF-1 Bioaktivität untersucht wurden, konnte eine verbesserte Gesamtüberlebensrate bei höheren IGF-1 Werten gezeigt werden. Das Mortalitätsrisiko bei den Probanden mit den niedrigsten IGF-1 Werten war verglichen mit Probanden ,welche in der Messung höhere IGF-1 Werte zeigten um das 1,8 fache erhöht(19).

## **1.7 Hypothese/Forschungs-Ansatz**

Im Rahmen dieser Doktorarbeit möchten wir die Auswirkung des oralen Supplements Glutamin auf das Outcome von Patienten, welche älter als 65 Jahre sind und eine hüftgelenksnahe Fraktur erlitten haben, untersuchen.

Wie oben beschrieben spielt oxidativer Stress und seine Entstehung eine entscheidende Rolle im Alter und bei entzündlichen Prozessen. Um die Reaktion der älteren Patienten auf eine Fraktur bzw. die operative Versorgung und den damit verbundenen Stress zu analysieren untersuchten wir im 1. Schritt die Proteinexpression wichtiger antioxidativer Enzyme (HO-1, SOD-1), sowie des Transkriptionsfaktors pNRF2. Diese Enzyme/ bzw. der Transkriptionsfaktor wurden zu verschiedenen Zeitpunkten aus den Monozyten der Patienten mittels Western Blot Analyse quantifiziert.

Im 2. Schritt erhoben wir klinische Parameter die u.a. den Immunstatus, den nutritiven Status und das Entzündungsgeschehen charakterisierten. Des Weiteren erhoben wir anamnestische Daten bezüglich Krankenvorgeschichte, Ernährungszustand und Aktivitätsgrad des Patienten.

Hieraus erhofften wir uns einen eventuellen Zusammenhang zwischen dem Heilungsprozess, Aufenthaltsdauer, Mobilisierung und der antioxidativen Immunantwort in Abhängigkeit des Alters von Patienten zu definieren.

Durch eine Verbesserung des Immunstatus und der resultierenden Immunantwort war mit weniger postoperativen Komplikationen nach der Versorgung von proximalen Femurfrakturen zu rechnen.

Neuere Studien zeigten positive Effekte auf das Immunsystem durch eine gezielte Ernährungstherapie(30). Wir planten eine klinische Vergleichsstudie als Pilotstudie zur Optimierung der Immunlage bei alten Patienten mit einer ergänzenden, bilanzierten Diät über einen Zeitraum von sieben Tagen.

### **1.7.1 Primäre und sekundäre Ziele der Studie**

Im Detail sollten folgende Fragen beantwortet werden:

1. Das primäre Ziel war die Beeinflussung von antioxidativen Parametern (HO-1, SOD-1, pNRF2) durch die Immunonutrition über 7 Tage.
2. Zu den sekundären Zielen zählten die Veränderung der immunologischen Labor-Parameter, wie die Anzahl der Leukozyten und Immunglobuline A und G.
3. Veränderungen der nutritiven Parameter wie IGF-1, Albumin und dem Gesamteiweiß bei Aufnahme der Patienten und nach sieben Tagen .

4. Die Beeinflussung von Komplikationen wie Wundheilungsstörungen, Infektionen, sowie die Beeinflussung der Aufenthaltsdauer und der 1,5 Jahresmortalität bei den über 80-jährigen Patienten.

## **1.8 Pilotstudie**

Die beschriebene Studie war vor allem als Pilotstudie geplant. Im Vordergrund standen hierbei Tendenzen bezüglich der Beeinflussung verschiedener Parameter durch die Immunonutrition. Des Weiteren wurde speziell auf die Durchführbarkeit und Machbarkeit des Studiendesigns geachtet.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Studiendesign**

Nur eine prospektive, randomisierte, kontrollierte klinische Studie erlaubte eine Aussage, ob eine gezielte Ernährung (Pharmakonutrition) unter therapeutischen und ökonomischen Gesichtspunkten in der Zukunft eventuell interessant ist, um diesen Ansatz klinisch einzusetzen und das Outcome nach hüftgelenksnahen Frakturen zu verbessern. In Hinblick auf eine evidenzbasierte Medizin und der zum jetzigen Zeitpunkt praktisch nicht vorhandenen Datenlage war ein methodisch möglichst hochwertiges, randomisiertes und kontrolliertes Studiendesign anzustreben. Die Studie wurde daher doppelt verblindet durchgeführt.

### **2.2 Ethische Aspekte**

Die Studie wurde erst nach Vorliegen einer zustimmenden Bewertung der Ethikkommission des Klinikum rechts der Isar der TU München begonnen.

#### **2.2.1 Ethische Durchführung der Studie (Deklaration von Helsinki)**

Die Studie wurde gemäß den ethischen Grundsätzen durchgeführt, wie sie in der Deklaration von Helsinki in der Fassung von 1996 (Somerset) niedergelegt sind.

### **2.2.2 Aufklärung und Einverständnis der Studienteilnehmer**

Ein Patient konnte nur in die Studie aufgenommen werden, wenn er die Einwilligung hierzu erteilt hatte, nachdem er durch einen Arzt mündlich und schriftlich über Wesen, Bedeutung und Tragweite der klinischen Prüfung in angemessener und verständlicher Weise aufgeklärt worden war und mit der Einwilligung zugleich erklärt hatte, dass er mit der im Rahmen der klinischen Prüfung erfolgenden Aufzeichnungen von Daten und ihrer Überprüfung durch die zuständige Überwachungs- oder Bundesbehörde einverstanden war. Der Patient wurde über den potenziellen Nutzen und Risiken des in der Studie verwendeten Produktes unterrichtet. Es musste ihm klar gewesen sein, dass er sein Einverständnis jederzeit und ohne Angabe von Gründen zurückziehen kann, ohne dass ihm hieraus Nachteile erwachsen. Das Original der schriftlichen Einverständniserklärung wurde im Studienordner des Prüfzentrums verwahrt. Dem Patienten wurde eine Kopie der schriftlichen Patientenaufklärung sowie der Einverständniserklärung ausgehändigt. Zudem wurden beide Dokumente in Kopie in der Patientenakte abgelegt.

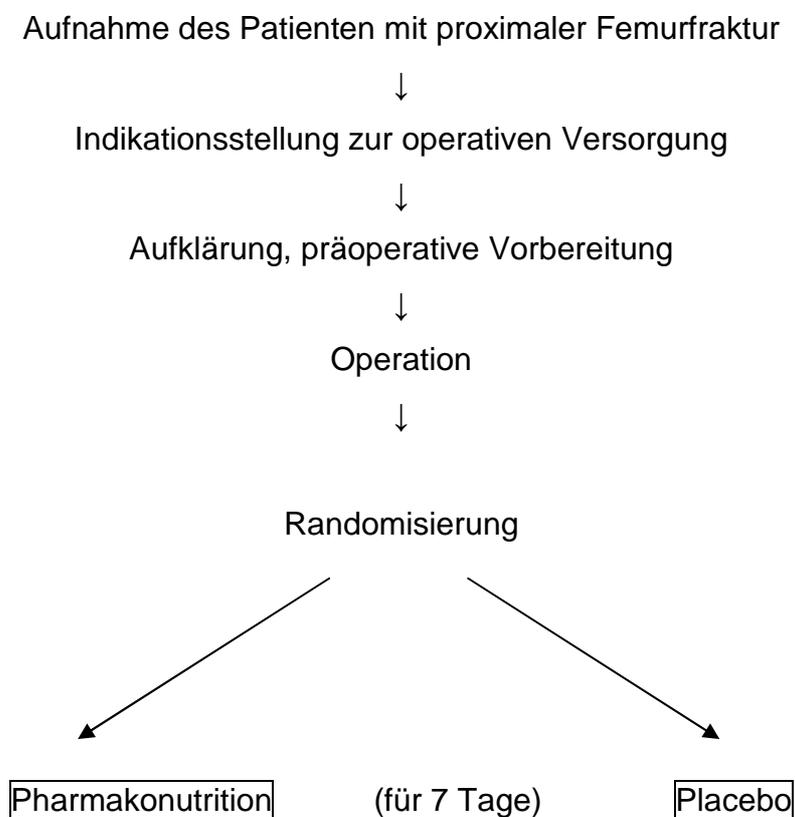
Im Rahmen des Monitorings wurde überprüft, ob die von der Ethikkommission befürwortete Patienteninformation vor Beginn der Studie vom betroffenen Patienten unterzeichnet worden ist.

## 2.3 Klinischer Teil

### 2.3.1 Allgemeines Studiendesign

Die Studie war eine Pilotstudie und wurde als zweiarmige, randomisierte, kontrollierte klinische Studie durchgeführt.

### 2.3.2 Ablaufdiagramm der klinischen Prüfung:



Im Detail sollte der Immunstatus und im Speziellen antioxidative Abwehrmechanismen beim alten Menschen nach operativer Versorgung von hüftgelenksnahen Frakturen in Gegenwart und Abwesenheit einer speziellen antioxidativen Ernährung untersucht werden. Hierzu wurden die im Rahmen der

stationären Krankenhausbehandlung routinemäßig entnommenen Blutproben (bei Aufnahme, 6h und 24 h postoperativ und nach sieben Tagen) untersucht.

Studienablauf:

Sobald die Indikation zur Durchführung einer Operation bei proximaler Femurfraktur gestellt worden ist, wurde die Therapie mit dem Patienten besprochen und der Patient wurde über das Studiendesign aufgeklärt (Aufnahme A). Hiernach erfolgte die operative Versorgung der Fraktur. Da es sich hier um eine Notfalloperation handelte und dies zum Teil nachts oder am Wochenende geschah, erfolgte eine ausführliche Aufklärung und endgültige Aufnahme in die Studie nach ausführlicher Besprechung teilweise auch erst am 1. postoperativen Tag durch den Prüfarzt. Nach schriftlicher Einwilligung des Patienten zur Studienteilnahme wurden im Rahmen der stationären Aufnahme die beschriebenen Befunde erhoben, die allesamt Bestandteil der regulären Heilfürsorge sind und dem jeweiligen Standard der Behandlung von proximalen Femurfrakturen entsprechen. Nach Randomisierung erfolgte nun die Therapie mit der Pharmakonutrition oder Placebo für 7 Tage. Die im weiteren postoperativen stationären Verlauf durchgeführten Untersuchungen entsprachen dem üblichen Vorgehen und sind Teil der regulären Heilfürsorge.

Behandlungsarm A (Pharmakonutrition)

Postoperativ wurde dem Patienten während des stationären Aufenthaltes für 7 Tage zum Frühstück, Mittag- und Abendessen eine Packung Glutamin plus als orales Supplement dargereicht.

Behandlungsarm B (Placebo)

Postoperativ wurde den Patienten während des stationären Aufenthaltes für 7 Tage zum Frühstück, Mittag- und Abendessen eine Packung Placebo dargereicht.

## **2.4 Beschreibung des oralen Supplements Glutamine plus**

Es handelt sich hierbei um ein diätetisches Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke (Bilanzierte Diät) mit einer Kombination aus Glutamin, Vitaminen (C, E,  $\beta$ -Carotin) und Spurenelementen (Zink, Selen). Eine ausführliche Produktbeschreibung sowie eine wissenschaftliche Produkt-Rationale der Firma Fresenius Kabi GmbH befinden sich auf folgender Internetseite: [http://www.enterale-ernaehrung.de/internet/kabi/enteral/entern.nsf/AttachmentsByTitle/Typanalysen\\_Trinknaehrungen/\\$FILE/Typanalysen\\_TN.pdf](http://www.enterale-ernaehrung.de/internet/kabi/enteral/entern.nsf/AttachmentsByTitle/Typanalysen_Trinknaehrungen/$FILE/Typanalysen_TN.pdf). Zur Vereinfachung wird im Folgenden von einer Glutamindiät gesprochen.

## **2.5 Placebo**

Das Placebo enthielt den Grundstoff Maltodextrin, ohne Glutamin, war gleich verpackt wie die Pharmakonutrition und enthielt den gleichen Energiewert.

Die Firma Fresenius Kabi GmbH stellt die Pharmakonutrition (Glutamin plus) und die gleich aussehenden Placebo-Packungen zur Verfügung. Es wurde sichergestellt, dass die Produkte original verpackt waren und innerhalb des angegebenen Haltbarkeits- bzw. Verfallsdatum verwendet wurden.

## **2.6 Auswahl der Studienpopulation**

### **2.6.1 Einschlusskriterien:**

- Alle operativ versorgten Patienten über 65 Jahre mit einer proximalen Femurfraktur und einem stationären Aufenthalt von mindestens 7 Tagen.
- Vorliegen der schriftlichen Einverständniserklärung nach schriftlicher und mündlicher Patientenaufklärung.

### **2.6.2 Ausschlusskriterien:**

- Polytrauma und Mehrfachverletzte
- Autoimmunerkrankung (evtl. unter Kortisontherapie)
- Manifester Infekt (CRP bei Aufnahme > 5 mg/dl)
- insulinpflichtiger Diabetes mellitus
- BMI über 30 bzw. unter 18
- postoperativ nötige parenterale Ernährung
- bekannter Morbus Alzheimer
- Teilnahme an anderen interventionellen Prüfungen, die mit der vorliegenden Prüfung interferieren könnten.
- Fehlende Bereitschaft zur Speicherung und Weitergabe der pseudoanonymisierten Krankheitsdaten, sowie psychiatrische Vorerkrankungen oder andere Umstände, die eine Mitarbeit durch den Patienten fraglich machen.

### **2.6.3 Nachträglicher Ausschluss von Studienpatienten**

Ausschluss von der Dokumentation bei Rückzug der Einverständniserklärung

#### **2.6.4 Verfahren bei vorzeitigem Ende der Behandlung im Rahmen der klinischen Prüfung**

Im Falle einer vorzeitigen Beendigung der Behandlung im Rahmen der klinischen Prüfung wird der Patient durch das standardisierte postoperative Behandlungsschema therapiert.

#### **2.6.5 Abbruch der gesamten Studie**

Die Studie sollte insgesamt abgebrochen, wenn

- sich das Nutzen-Risiko-Verhältnis für die Patienten deutlich verändert
- der Leiter der klinischen Prüfung aus Sicherheitsgründen einen Abbruch der Studie für notwendig erachtet
- die Anwendung des Nahrungsergänzungsmittels nicht länger vertretbar ist
- die Studie sich als nicht durchführbar erweist

#### **2.6.6 Methode zur Zuordnung der Patienten zu den Behandlungsgruppen**

Die Zuordnung der Patienten zu den Behandlungsgruppen erfolgte mittels Blockrandomisierung. Eine Randomisierungsliste, in welcher der jeweilige Behandlungsarm festgelegt wurde, wurde vorab durch die Statistik angefertigt.

#### **2.6.7 Verblindung**

Die Studie wurde doppelt verblindet durchgeführt, d.h. der Patient und der behandelnde Arzt wurden nicht explizit über das verwendete Produkt (Glutamin plus oder Placebo) aufgeklärt.

## 2.6.8 Einhaltung der Therapie

Es wurde im Rahmen des Monitorings stichprobenartig überprüft. Vor allem aber wurde die Einnahme durch die betreuenden Pflegekräfte der Station überwacht.

## 2.7 Details zu den einzelnen Visiten

Im Folgenden werden nochmals die einzelnen Visiten und deren Inhalte tabellarisch dargestellt:

Visite	Aufnahme	6h postop	24h	7d
Anamnese	X		X	
Körperliche Untersuchung + BMI	X		X	
Präoperative Maßnahmen <sup>1</sup>	X			
Aufklärung	X			
Aufnahme in Studie	X			
Randomisierung <sup>5</sup>	X			
Routinelabor <sup>2</sup>	X	X	X	X
Labor für Immunologie <sup>3</sup>	X			X
Labor für nutritive Parameter <sup>4</sup>	X			X
Labor für antioxidative Parameter <sup>6</sup>	X	X	X	X

<sup>1</sup> Präoperative Maßnahmen = Operationsaufklärung, EKG, Röntgen-Thorax und ggf. andere präoperative Untersuchungen, Prämedikation durch Anästhesie

<sup>2</sup> Routinelabor = Kleines Blutbild, Serumchemie (Na, K, Krea, CRP) , zusätzlich präoperativ Gerinnung (PTT, Quick, INR)

<sup>3</sup> 1x Serumröhrchen für immunologische Parameter (Ig A, Ig G)

<sup>4</sup> 1x Serumröhrchen mit 10ml für nutritive Parameter (ges. Eiweiß, Albumin, Cholinesterase, IGF-1)

<sup>5</sup> Die Randomisierung der Patienten für die Studie erfolgt nach Aufklärung und schriftlicher Einwilligung in die Studie.

<sup>6</sup> 4x EDTA- Röhrchen mit 8 ml für die Isolation der Monozyten und anschließende Bestimmung antioxidative Parameter (HO-1, SOD-1 und pNRF2)

## 2.8 Experimenteller Teil

### Geräte

Feinwaage	Kern, Ballingen-Frommern, Deutschland
Zentrifugen	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
FLUOstar Omega	BMG Labtech, Offenburg, Deutschland

### Verbrauchsmaterialien

Multiwellplatten	PAA Lab. GmbH, Pasching, Österreich
Pipetten 2,5, 5; 10, 25 ml	SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland
Pipettenspitzen	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Reaktionsgefäße 0,5; 1,5; 2 ml	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Reaktionsgefäße 15 + 50 ml	SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland

### 2.8.1 Blutprobengewinnung

#### Materialien

DPBS (Dulbecco`s Phosphate Buffered Saline)	PAA	H15-002
Betamercapto-Ethanol	Sigma	M6250-100ML
PMSF	Sigma	P7626
Pefabloc	Sigma	76307
0,4% NP40	Sigma	74385
LSM	PAA	J15-004
HEPES pH 7,9	Sigma	H3375
NaCL	Sigma	71379-5KG
EDTA	Sigma	8040.2
KCL	Sigma	60135
DTT (Dithiothreitol)	Sigma	43815

## Lösungen

Die für die Proteinextraktion verwendeten Lysepuffer enthalten:

**Puffer A:** 5 ml 10 mM HEPES pH 7,9; 1 ml 10mM KCL; 10 ml 0,1 mM EDTA, mit zweifach destilliertem Wasser (ddH<sub>2</sub>O) auf 100ml aufgefüllt.

**Lysepuffer B:** 10ml Puffer A, 10µl 10mM DTT, 40µl 1mM PMSF, 100µl Pefabloc, 40µl 0,4%NP40, mit ddH<sub>2</sub>O auf 10 ml aufgefüllt.

**Lysepuffer C:** 10ml 20mM HEPES pH 7,9; 8ml 0,4M NaCL; 0,2ml 1mM EDTA

Die Blutprobengewinnung erfolgte standardisiert bei Aufnahme des Patienten in der Ambulanz (innerhalb der ersten 60 Minuten nach Trauma), sowie nach Operationszeitpunkt, wobei sich die Studie an der Hautnaht am Ende der Operation orientierte, nach 6h, 24h und 7 Tagen (s. Abbildung 6). Hierbei wurde auf die genaue Einhaltung der Zeiten geachtet.

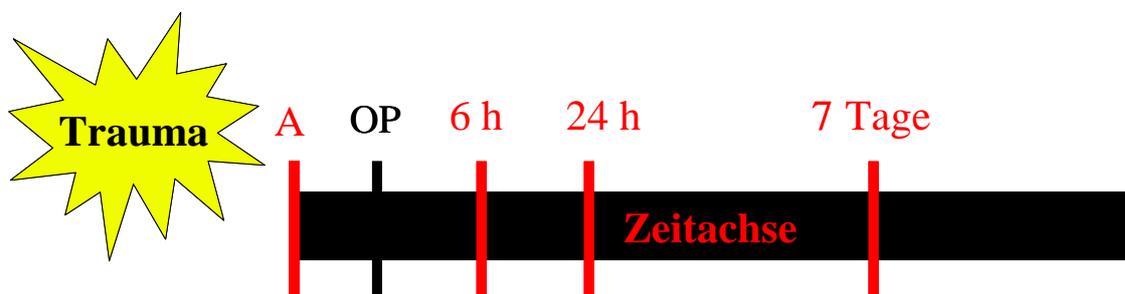


Abbildung 6 Trauma steht für die proximale Femurfraktur, A steht für Aufnahme in der Klinik, die schwarze Markierung zeigt die operative Versorgung der Fraktur an. Rote Markierungen bedeuten Blutabnahmen zu den jeweils darüber stehenden Zeiten: bei Aufnahme, 6 h postop, 24 h postop und 7 Tage postop.

Für die hier dargestellte Studie wurden 30ml EDTA Blut benötigt, sowie zum Aufnahmezeitpunkt und nach sieben Tagen noch ein Serumröhrchen mit 8ml.

### 2.8.2 Isolation der Monozyten und Gewinnung der Proteine mittels Dichtegradient

Mit einem Teil des EDTA-Blutes und dem Blut des Serumröhrchens wurde eine Zentrifugation für 10 Minuten bei 1000 rpm zur Gewinnung von Plasma/Serum durchgeführt. Aus dem restlichen EDTA Blut wurde mit Hilfe von LSM eine Trennung der Monozyten (s. Abbildung 7) und der anderen zellulären Blutbestandteile erreicht. Hierzu wurde erneut für 20 Minuten bei 1000 rpm (Bremse und Beschleunigung der Zentrifuge auf Null gestellt) zentrifugiert. Mit Hilfe einer Pipette konnte man nach der Zentrifugation die mononukleären Zellen absaugen (in Abbildung 7 die graue Zone).

Nach zweimaligen Waschen mit Dulbecco's-PBS durch erneute Zentrifugation für 10 Minuten bei 1000 rpm wurde das gewonnene Zellpellet mit 250 µl Puffer B resuspendiert und für 10 Minuten auf Eis gelagert, durch den Puffer B wurde eine Lyse der äußeren

Zellmembran herbeigeführt. Danach erfolgte eine erneute Zentrifugation für 10 Minuten bei 4°C und 1400 rpm. Der dabei sichtbar werdende Überstand entsprach der freigesetzten

zytosolischen Fraktion der lysierten Zellen. Durch Abpipettieren des Überstandes wurde diese Fraktion von dem nukleären Extrakt getrennt und in ein Eppendorf Reaktionsgefäße auf Eis gestellt.

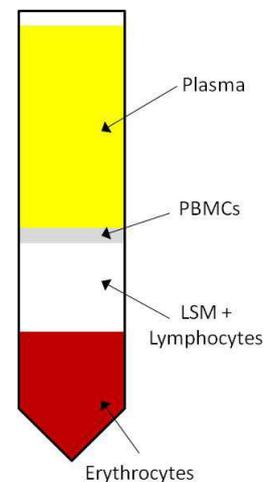


Abbildung 7 Schema zu Auftrennung der Monozyten

Dieser Vorgang wurde nochmals wiederholt, um eine höhere Ausbeute zu erhalten, bzw. um die Reinheit der Isolation zu verbessern. Das zytosolische Extrakt wies eine flüssige Konsistenz auf, während das nukleäre Extrakt eher zähflüssig war. Nach erfolgter Trennung wurde das zytosolische Extrakt bei  $-80^{\circ}\text{C}$  eingefroren. Die verbleibenden Pellets wurden mit eiskaltem Lysepuffer C resuspendiert und anschließend 15 Minuten kräftig geschüttelt. Dies führte über eine chemische und mechanische Lyse der Kernmembran zur Freisetzung von nukleärem Protein. Das nukleäre Protein der Monozyten wurde ebenfalls in Eppendorf Reaktionsgefäße überführt und bei  $-80^{\circ}\text{C}$  eingefroren.

### 2.8.3 Proteinmessung nach Lowry:

#### Materialien

Bovines Serum Albumin (BSA)	Sigma A4503
Na-K-Tartrate	Sigma 228729
$\text{CuSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Sigma 31293
$\text{Na}_2\text{CO}_3$	Sigma S2127
1 M NaOH	Merck 109137
Folin Reagent	Sigma 47641

#### Lösung A (frisch zubereitet zu jeder Proteinmessung):

20 $\mu\text{l}$  Na-K Tartrate Stock Lösung (2g Na-K Tartrate auf 100ml zweifach destilliertes Wasser (ddH<sub>2</sub>O))

20  $\mu\text{l}$  Cu SO<sub>4</sub> Stock Lösung (1 g Cu SO<sub>4</sub> 6H<sub>2</sub>O auf 100 ml ddH<sub>2</sub>O)

1,96 ml Na<sub>2</sub> Co<sub>3</sub> Stock Lösung (20 g Na<sub>2</sub>Co<sub>3</sub>, 900 ml ddH<sub>2</sub>O, 100 ml 1M NaOH)

#### Lösung B (frisch zubereitet zu jeder Proteinmessung):

500 $\mu\text{l}$  Folin Reagent

1000 ml zweifach destilliertes H<sub>2</sub>O

Um für die spätere Untersuchung mittels Western Blot für jede Probe dieselbe Proteinkonzentration zu verwenden erfolgte bei jeder Probe eine Proteinbestimmung nach Lowry. Zunächst wurden Standardlösungen in absteigenden Konzentrationen von 10 bis 2 µg/µl mit bovinen Serumalbumin hergestellt. Der 0-Wert wurde mit Wasser bestimmt.

Diese wurden in absteigender Folge und in Dreifachbestimmung, nach vorherigem Durchmischen, auf eine 96 Lochplatte pipettiert (jeweils 2µl).

Anschließend wurden die Patientenproben aufgetaut und gevortext (gemischt). Danach wurden 2µl aus jeder Patientenprobe in Form einer Dreifachbestimmung auf die restlichen Felder der 96 Well Platte pipettiert.

Im Weiteren wurde in jedes Well 150µl Lösung A (s. oben) hinzupipettiert.

Nachdem die 96 Lochplatte bei Raumtemperatur 10 Minuten schwenkend inkubiert wurde, wurde noch 30 µl Lösung B in jedes Well pipettiert.

Nach einer weiteren Inkubation von 1,5 Stunden, in der es zum Farbumschlag kam, wurde mit Hilfe eines Plate Readers die Absorption bei einer Wellenlänge von 750 nm gemessen. Nun konnte die Proteinkonzentration anhand der BSA Standardkurve (s. Abb. 8) bestimmt werden.

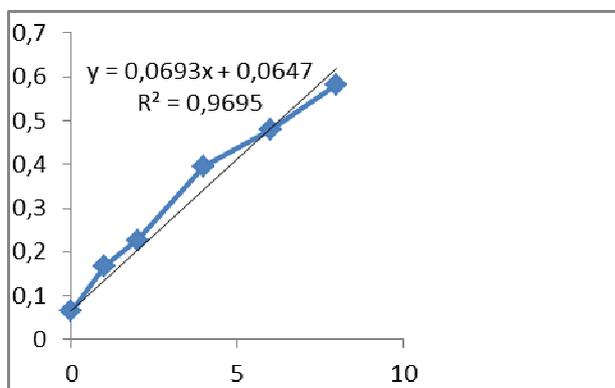


Abbildung 8 BSA Standardkurve

## 2.8.4 Western Blot

### Materialien

TRIS (hydroxymethyl) aminomethan	Sigma-Aldrich	T87602-3KG
EDTA	Sigma-Aldrich	E5134-500G
Glycerol	Sigma-Aldrich	G7893-500ML
Sodium Dodecyl Sulphate (SDS)	Sigma-Aldrich	L3771-100G
Brom Phenol Blau	Sigma-Aldrich	114391-5G
2-Mercaptoethanol	Sigma-Aldrich	M6250-100ML
Glycin	Sigma-Aldrich	G8898-500G
Ammonium Persulfat	Sigma-Aldrich	A3678-25G
Nitrozellulose Membran	Roth	160508
Whatmann Papier	Roth	CL 36.1
Ponceau S	Roth	5938.1
NaCl	Sigma-Aldrich	71379-5KG
Tween-20	Sigma-Aldrich	P1378-1L
Luminol	Sigma-Aldrich	09253-5G
p-CoumaricSäure	Sigma-Aldrich	C9008-25G
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Sigma-Aldrich	41639-500ML
30 % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Lösung	Sigma-Aldrich	H1009-100ML
Acrylamid-Bisacrylamid Lösung (37.5:1)	Roth	H5171
N,N,N',N'- TEMED	Sigma-Aldrich	T9281-25ML
Isopropanol	Apotheke	1L
Mini Protean 3 System	BioRad	165-8000

### Lösungen

- 1.5 M TRIS (pH = 8.8)**

181.7 g TRIS (für Elektrophoresen)  
 => auflösen in 900 ml ddH<sub>2</sub>O  
 => einstellen von pH auf 8.8 mit konz. HCl  
 => auffüllen auf 1 l mit ddH<sub>2</sub>O  
 Bei Raumtemperatur lagern.

$C_{\text{final}}$   
1.5 M
- Lämmli Ladepuffer (5X)**

6 ml 1 M TRIS (pH = 6.8)  
 10 ml 99 % Glycerol  
 200 µl 500 mM EDTA  
 2 g SDS  
 10 mg Brom Phenol Blau  
 2.5 ml β-mercaptoethanol  
 => Volumen auf 20 ml mit ddH<sub>2</sub>O  
 Aliquotieren (1 – 2 ml)  
 Lagern bei – 20 °C.

$C_{\text{final}}$   
300 mM  
50 %  
5 mM  
10 %  
0.05 %  
12.5 %
- Lämmli Laufpuffer Stock (10X)**

144 g Glycin  
 33.34 g TRIS (für Elektrophoresen)  
 10 g SDS  
 => auflösen in Totalvolumen von 900 ml mit ddH<sub>2</sub>O  
 pH einstellen auf 8.3 mit konz. HCl  
 => auf Totalvolumen auf 1 l mit ddH<sub>2</sub>O auffüllen  
 Lagern bei Raumtemperatur.

$C_{\text{final}}$   
2 M  
250 mM  
1 %
- Lämmli Laufpuffer (1X)**

100 ml Lämmli Laufpuffer Stock (10X)  
 900 ml ddH<sub>2</sub>O

- Bei Raumtemperatur lagerbar. Nach Benutzung verwerfen.
7. **0.4 M TRIS (pH = 6.8)**  $C_{\text{final}}$   
0.4 M
    - 60.6 g TRIS (für Elektrophoresen)
    - => auflösen in 900 ml ddH<sub>2</sub>O
    - => pH einstellen auf 6.8 mit konz. HCl
    - => auf Totalvolumen 1 l mit ddH<sub>2</sub>O auffüllen
    - Bei Raumtemperatur lagern.
  
  8. **10 % APS Lösung**  $C_{\text{final}}$   
10 %
    - 2 g Ammonium Persulfat
    - => auflösen in 20 ml ddH<sub>2</sub>O
    - Aliquotieren und bei - 20 °C lagern (nicht mehr als 2x auftauen).
  
  9. **10 % SDS Lösung**  $C_{\text{final}}$   
10 %
    - 2 g SDS
    - => auflösen in 20 ml ddH<sub>2</sub>O
    - Bei Raumtemperatur lagern.
  
  10. **Transfer Puffer Stock Lösung(10X)**  $C_{\text{final}}$   
0.5 M  
0.4 M  
0.375 %
    - 58 g TRIS (hydroxymethyl) aminomethan
    - 29 g Glycin
    - 3.75 g SDS
    - => auflösen in 1000 ml ddH<sub>2</sub>O
    - Bei Raumtemperatur lagern.
  
  11. **Transfer Puffer Arbeitslösung**  $C_{\text{final}}$   
20 %  
0.375 %
    - 100 ml Transfer Puffer Stock (10X)
    - 200 ml Methanol
    - 700 ml ddH<sub>2</sub>O
    - bei + 4 °C lagern
  
  12. **Ponceau S Lösung**  $C_{\text{final}}$   
0.1 %
    - 0.2 g Ponceau S
    - => auflösen in 200 ml 1% Essigsäure
    - Bei Raumtemperatur lagern.
  
  13. **TRIS gepufferte Salzlösung (TBS – 10X)**  $C_{\text{final}}$   
100 mM  
1.5 M
    - 12.1 g TRIS (für Elektrophorese)
    - 87.66 g NaCl
    - => dazu 800 ml ddH<sub>2</sub>O
    - pH einstellen auf 7.6 mit HCl
    - => Totalvolumen 1 l mit ddH<sub>2</sub>O
    - Bei Raumtemperatur lagern.
  
  14. **10 % Tween-20 Lösung**  $C_{\text{final}}$   
10 %
    - 100 ml Tween-20 (100 % -dickflüssig)
    - 900 ml ddH<sub>2</sub>O
    - Schäumt beim Mischen
    - Bei Raumtemperatur lagern.
  
  15. **TBS-T Wasch Puffer**  $C_{\text{final}}$   
0.1 %
    - 100 ml TRIS gepufferte Salzlösung (10X) TBS
    - 10 ml 10 % Tween-20 Lösung
    - 900 ml ddH<sub>2</sub>O
    - Bei Raumtemperatur lagern.
  
  16. **100 mM TRIS (pH = 8.5)**  $C_{\text{final}}$   
100 mM
    - 12.1 g TRIS (für Elektrophorese)
    - => hinzufügen 800 ml ddH<sub>2</sub>O
    - pH einstellen auf 8.5 mit HCl
    - => auf Totalvolumen 1 l mit ddH<sub>2</sub>O

- Bei Raumtemperatur lagern.
- |   |   |                              |
|---|---|------------------------------|
| <b>17. 250 mM Luminol Stock Lösung</b>        | 0.88 g Luminol<br>20 ml DMSO<br>Aliquotieren (200 µl)<br>Bei – 20 °C lagern.        | $C_{\text{final}}$<br>250 mM |
| <b>18. 90 mM p-Kumarin Säure Stock Lösung</b> | 0.15 g p-Kumarin Säure<br>10 ml DMSO<br>Aliquotieren (90 µl)<br>Bei – 20 °C lagern. | $C_{\text{final}}$<br>90 mM  |
| <b>19. 200 mM Natronlauge</b>                 | 200 ml 1 M NaOH<br>800 ml H <sub>2</sub> O  | $C_{\text{final}}$<br>200 mM |

#### 2.8.4.1 Optimierungsversuche

Um optimale Resultate der mittels Western Blot resultierenden Signale bzw. Proteinbanden zu erreichen, wurden zuerst verschiedene Proteinmengen in einer Konzentration von 20µg bis 30µg ausgetestet. Auf der einen Seite wollten wir eine ausreichende Proteinmenge verwenden, damit wir ein zufriedenstellendes Signal detektieren konnten, auf der anderen Seite durfte man nicht zu viel Protein verwenden um eine suffiziente Trennung zu erreichen.

Des Weiteren wurde die Acrylamidkonzentration im Gel zur bestmöglichen Auftrennung der Proteine in einer Spanne von 8 bis 16% ausgetestet. Je höher die Acrylamidkonzentration im Gel war, desto größere Proteine konnte man auftrennen. Niedrigere Konzentrationen erlaubten jedoch eine stärkere Auftrennung der Proteine. Die besten Ergebnisse ließen sich mit 25µg Protein und einem 15% Gel erzielen.

Um die beste Vergleichbarkeit zu erreichen wurde auf die Einhaltung der Antikörperinkubationszeiten und Filmentwicklungszeiten, sowie die Einhaltung der Konzentrationen geachtet. Des Weiteren wurde bei jedem Western Blot dieselbe Kontrolle mit untersucht, um bei der Auswertung alle Werte auf diese zu normieren. Damit erreichten wir eine Relativierung der mit der Zeit schwächer werdenden

Antikörpersignale. Diese Kontrollprobe wurde einmalig aus HepG2 Zellen gewonnen. Diese Zellen stammen ursprünglich aus einem hepatozellulären Karzinom und waren in unserem Labor zahlreich vorhanden. Auf eine ausreichende Menge an Kontrollprobe wurde geachtet.

#### 2.8.4.2 Methode:

Zunächst wurden die 15 % Gele zwischen entsprechenden Glasplatten mit einer Dicke von 1,5mm und 15 Taschen gegossen.

Danach wurde mit der Vorbereitung der Proben wie folgt begonnen:

Es wurden 5 $\mu$ l Lämmli Laufpuffer (5x) in ein 1,5ml Eppendorf Gefäß pipettiert. Durch das darin enthaltene Beta-2-Mercaptoethanol wird eine Reduktion der zwischenmolekularen Disulfidbrücken erreicht und somit eine gute Trennung gewährleistet. Weiterhin ist der Laufpuffer blau gefärbt, so dass man während der Auftrennung die Wanderung der Proteine im Gel verfolgen kann und ein Austreten der Proteine am unteren Ende des Gels verhindern kann. Nach dem Lämmli Laufpuffer wurden noch die benötigte Probenmenge für eine Proteinkonzentration von 25 $\mu$ g und ddH<sub>2</sub>O um auf ein Totalvolumen von 20 $\mu$ l zu kommen hinzupipettiert. Daraufhin wurden die Proben gevortext, zur Denaturierung 10 Minuten bei 99°C erhitzt und anschließend zentrifugiert, um sie dann in die Geltaschen zu verteilen.

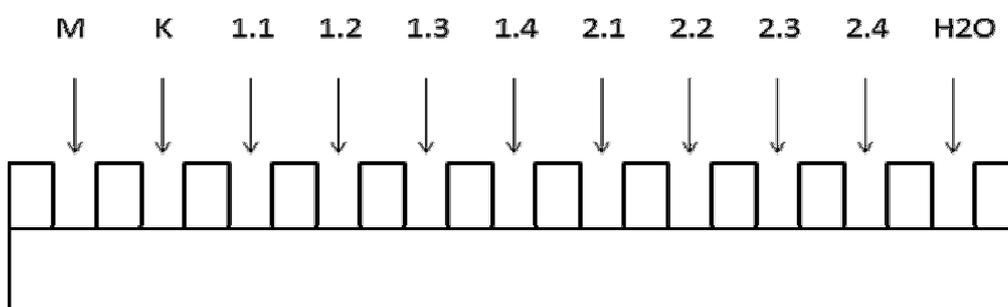
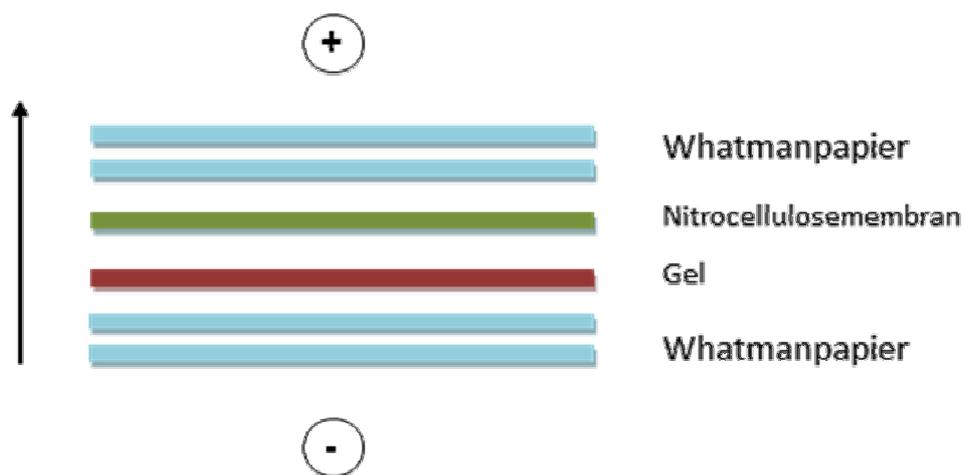


Abbildung 9 Schematische Darstellung von der Befüllung der Geltaschen. M = Marker, K = Kontrollprobe, 1.1-1.4 Patientenprobe, 2.1-2.4 zweite Patientenprobe, H<sub>2</sub>O= Wasser und Lämmli Laufpuffer zur Befüllung ungenutzter Kammern

Für die Bestimmung der Proteingröße wurde ein farblich akzentuierter Marker (Roti Marker Plus) in eine Kammer hineinpipettiert. Nachdem die Kontrolle hinzugefügt wurde, wurden die leeren Kammern, welche keine Probe enthielten mit ddH<sub>2</sub>O und 5µl Lämmli Laufpuffer aufgefüllt (s. Abb. 9).

Das Auftrennen der Proteine erfolgte mittels Gelelektrophorese bei 200 V.

Der Transfer auf das Nitrozellulosepapier erfolgte mittels Semi- dry- Blot bei 250mA für 30 Minuten bei einem Gel bzw. 50 Minuten bei zwei Gelen. Aufbau wie folgt:



*Abbildung 10 Transfer: Die negativ geladenen Proteine wandern im elektrischen Feld zu Kathode und damit vom Gel auf die Nitrozellulosemembran, wo sie nun fixiert sind*

Die vier Whatmanpapiere und die Nitrozellulosemembran wurden vorher in eine Transfer Puffer Lösung (s. Abb. 10) inkubiert.

Um zu kontrollieren ob der Transfer erfolgreich war, wurde die Nitrozellulosemembran im Anschluss mit Ponceau (s. Abb. 11) angefärbt.

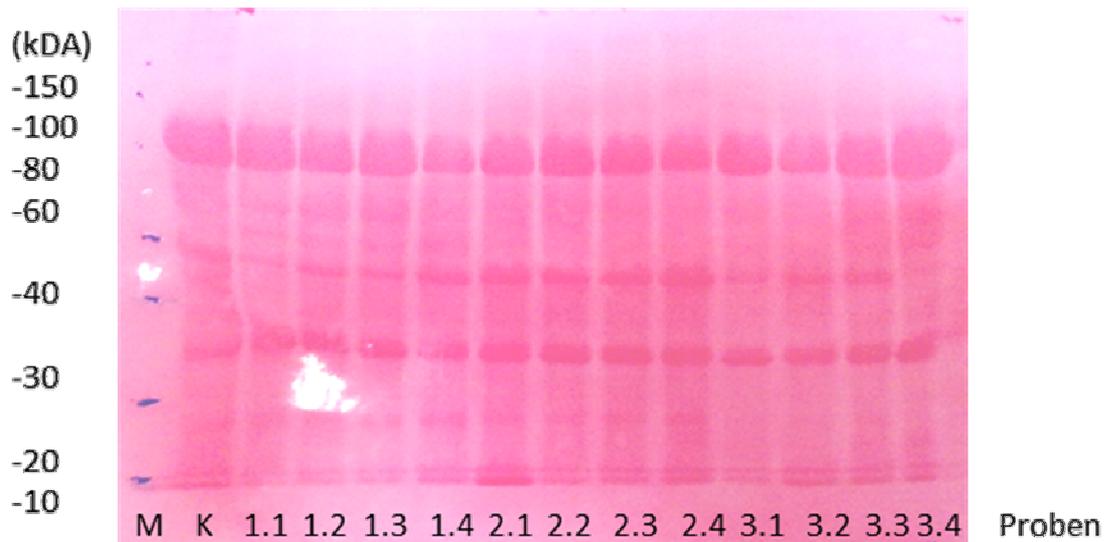


Abbildung 11 Ponceau Färbung nach Proteintransfer mittels Semi-dry-Blott

Um Material und Zeit zu sparen wurde die Membran im Anschluss unter Zuhilfenahme des Markers entsprechend zwischen den zu bestimmenden Proteinen geschnitten:

GAP-DH 37 kDa

HO-1 32kDa

SOD-1 23kDa

Nach einstündigem Blocken mittels 5% Fett freiem Milchpulver, um unspezifische freie Bindungsstellen zu blockieren und kurzem Waschen in TRIS Buffered Saline Washing Buffer (TBS-T), wurden die Membranabschnitte entsprechend mit ihrem jeweilig passenden Antikörper (AK) über Nacht bei 4°C inkubiert.

Es wurden die vom Hersteller empfohlenen Verdünnung verwendet:

GAP-DH (SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY) 1:5000

HO-1 (Epitomics) 1:1000

SOD-1 (SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY) 1:1000.

pNRF2 1:1000

Am folgenden Tag erfolgte nach dreimaligem Waschen mit TBS-T (jeweils für zehn Minuten), die Inkubation mit dem entsprechenden 2. Antikörper für 90 Minuten bei Raumtemperatur.

GAP-DH und pNRF2: anti-rabbit 2.AK (1:10000) (SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY)

SOD-1 und HO-1: anti-mouse 2.AK (1:10000) (SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY).

Nach erneutem, dreimaligen Waschen durch TBS-T wurde die Entwicklungslösung zubereitet:

Lösung A:

2,5ml 100mM TRIS (pH=8,5)

25µl 250mM Luminol Stock Lösung (0,88g Luminol, 20ml DMSO, bei -20°C)

11 µl 90mM p Coumarin Säure Stock Lösung (0,15 g p-Coumarin Säure, 10ml DMSO, bei- 20°C lagern)

Lösung B:

2,5ml 100mM TRIS (pH= 8,5)

2 µl 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Lösung

Kurz vor dem Entwickeln wurden beide Lösungen (A und B) vermischt und die Membran damit für 1 Minute inkubiert.

Anschließend wurde der Film abhängig von der Signalstärke der Antikörper in verschiedenen Zeitabständen belichtet. Danach erfolgte die Entwicklung:

1 min in Entwicklungslösung

1 min in Fixationslösung.

Dazwischen jeweiliges Eintauchen in ein Wasserbad, um die vorherige Lösung zu entfernen.

### **2.8.5 Filmverarbeitung**

Die Western Blot Filme wurden mit einem Canongerät (Canons Pixma MP210) eingescannt. Anschließend wurden die Dateien mittels ImageJ (Version 1.42q; National Institut of Health) entsprechend der Bedienungsanleitung bearbeitet und die Anzahl der Pixel von den jeweiligen Banden gemessen: Die Fotos wurden invertiert und Hintergrundstörungen heraus berechnet. Es erfolgte die densitometrische Auswertung der gesamten Bilder. Hierbei wurde die Bänderschwärzung in dreifacher Bestimmung analysiert und als Arbitrary Units festgelegt. Die jeweiligen Werte wurden auf die Werte des dazugehörigen GAP-DH normiert (Quotient gebildet) und anschließend auf die Kontrolle normiert (Quotient gebildet), siehe Abbildung 12.

Beispiel für die Bildung des Quotienten:

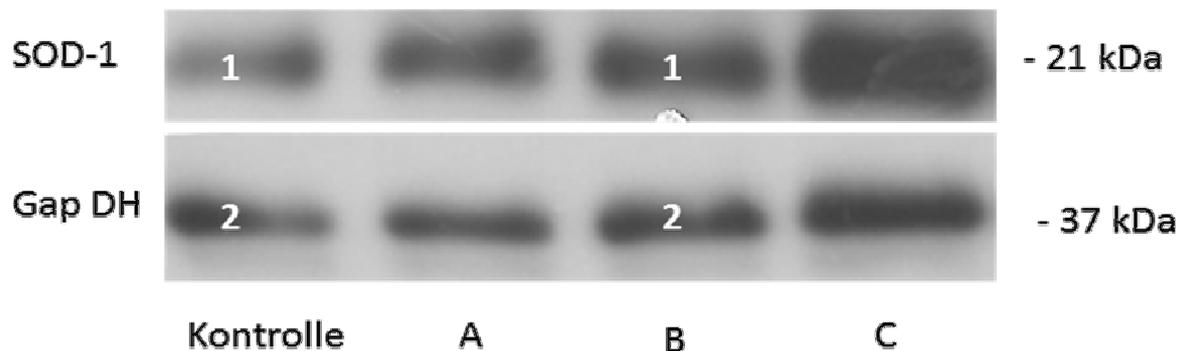


Abbildung 12 1) Wir haben 3 Proben: A, B, C. Zusätzlich die Kontrolle. 2) Nun bildeten wir von jedem SOD-1- Signal den Quotienten zu dem zu gehörigen Gap-DH (Bsp. für Probe B:  $B1/B2 = Q_B$  und für die Kontrolle:  $K1/K2 = Q_K$ ). 3) Im nächsten Schritt wird die Probe auf die Kontrolle normiert:  $Q_B/Q_K = Q_{Bn}$  - nun ist es möglich alle Western Blots, in der dieselbe Kontrolle untersucht wurde, zu vergleichen

## 2.9 Anamneseerhebung

Um den Ernährungszustand des Patienten zu bewerten wurden Daten anhand eines standardisierten Fragebogens, dem Subjective Global Assessment (SGA) (s. Anhang) erhoben und eine klinische Untersuchung durchgeführt. Der SGA Score wird auf Grundlage der Anamnese (Gewichtsveränderungen, Nahrungszufuhr, gastrointestinaler Symptome, Leistungsfähigkeit, Grunderkrankung) und der klinischen Untersuchung (Unterhautfettgewebe, Muskelmasse, Ödeme) gebildet. Folgende Punkte wurden entsprechend einem internationalem Standard(28) erhoben:

SGA Score A= gut ernährt

SGA Score B= mäßig mangelernährt bzw. V.a. Mangelernährung

SGA Score C= schwer mangelernährt.

Die körperliche Aktivität (Mobilität, Bett-Stuhl Transfer, Treppen steigen, Benutzung der Toilette) und Pflegebedürftigkeit (Körperpflege, Ernährung, An- und Auskleiden,

Harn- und Stuhlkontinenz) wurden ebenfalls anhand eines standardisierten Fragebogens (Barthel Index, s. Anhang) erhoben(60). Der Barthelindex ist im klinischen Alltag gegenwärtig und wird vom Pflegepersonal und den Rehabilitationskliniken täglich angewendet.

Weitere klinische Daten über zum Beispiel Vorerkrankungen, aktuelle Medikation, Körpertemperatur, waren neben der Patientenanamnese aus der Patientenakte, der Akte des Pflegepersonals, Anästhesieprotokollen, Operationsprotokollen und eines selbst entworfenen Fragebogens, welcher u.a. Information über Ernährung und Nahrungsergänzungsmittelsammelte, erhoben worden.

## **2.10 Statistik**

Die statistischen Auswertungen wurden mit Hilfe von GraphPad Prism ausgeführt.

Für die statistische Analyse von zwei Testbedingungen wurde ein t-Test durchgeführt. Bei drei oder mehr Testbedingungen erfolgte die statistische Auswertung mittels „one way ANOVA“, Bonferroni. Als statistisch ausreichendes Signifikanzniveau wurde für \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$  festgelegt.

### 3. Ergebnisse

Zwischen dem 25. Februar 2009 und dem 24. Juni 2010 wurden insgesamt 46 Patienten eingeschlossen. Fünf von den ursprünglich 46 eingeschlossenen Patienten entwickelten postoperativ ein Durchgangssyndrom und wurden innerhalb der ersten 24 Stunden nachträglich wieder ausgeschlossen. Ein Patient verweigerte am siebten Tag die Blutentnahme und musste nachträglich ausgeschlossen werden. Des Weiteren mussten drei weitere Patienten ausgeschlossen werden, da sie eine zu geringe Menge der Trinklösung zu sich nahmen. Die Auswertung wurde deshalb mit den Daten von 37 Patienten durchgeführt. Von den 37 Patienten erhielten 18 das Placebo und 19 Patienten die Immunonutrition (Glutamindiät).

Bei sieben Patienten kam es im Laufe des stationären Aufenthalts zu einer Komplikation: Davon waren vier Komplikationen in der Gruppe, welche das Glutamin erhielt und drei Komplikationen in der Placebogruppe. Die durchschnittliche Einnahme von den Trinklösungen betrug 16,24 pro Patient. D. h. das Glutamin wurde täglich ca. 2-3 mal pro Tag eingenommen.

Das durchschnittliche Alter der Patienten betrug 81,3 Jahre (Median 84 Jahre +/- 7,34) in der Placebogruppe und 83,5 Jahre (Median 87 Jahre +/- 9,26) in der Glutamindiät-Gruppe. Der durchschnittliche ASA Wert war in der Placebogruppe 2,3 und in der Glutamingruppe 2,5. Bezüglich des Barthelindex erzielte die Gruppe, welche das Placebomedikament erhielt durchschnittlich 95 Punkte und die Gruppe, welche die Immunonutrition einnahm 13 Punkte weniger. Der BMI Wert betrug in der Placebogruppe 22,6 Kg/m<sup>2</sup> und in der Glutamingruppe 23,6 Kg/m<sup>2</sup> (in beiden

Gruppen war der durchschnittliche SGA Score = A). Insgesamt ergab sich eine ungefähre Quote von Frauen zu Männern von 5:1. Um eine Relation mit dem Alter und eventuelle Differenzen bei der antioxidativen Kapazität zu untersuchen wurden 6 junge Patienten (Alter 18 bis 35 Jahre) mit einer vergleichbaren Fraktur (Fraktur der langen Röhrenknochen), welche ebenfalls operativ versorgt werden musste, eingeschlossen. Bei diesen Patienten betrug das Durchschnittsalter 29,4 Jahre (Median 27 Jahre +/-3,9), ASA 1, Barthelindex 100 und der BMI 22. In dieser Gruppe erlitten 3 Patienten eine mehrfragmentierte Humerusfraktur, 2 Patienten eine mehrfragmentierte Tibiakopffraktur und ein Patient eine mediale Schenkelhalsfraktur. Bei den Patienten war keine relevante Vorerkrankung bekannt und der postoperative Verlauf gestaltete sich komplikationslos. Auch hier wurden vier Blutabnahmen (A, 6h, 24h, 5-7d) durchgeführt. Dieses Patientenkollektiv erhielt über den Zeitraum keine Immunonutrition.

Weiterhin wurden um eine Relation mit dem Gesundheitszustand zu untersuchen 9 junge gesunde Probanden eingeschlossen, bei welchen einmalig eine Blutentnahme erfolgte. Das Durchschnittsalter dieser Probanden betrug 26,0 Jahre (Median 28 Jahre +/- 1,6). Keiner der Probanden litt an einer Grunderkrankung. Um eine Relation mit dem Alter bei gesunden Individuen zu untersuchen wurden zusätzlich 8 ältere (Durchschnittsalter: 67,7 Jahre (Median 67 Jahre +/- 2,56)) gesunde Probanden rekrutiert. Auch hier wurde einmalig eine Blutentnahme durchgeführt. Die Patienten kamen zur operativen Metallentfernung ungefähr 6 Monate nach einer Fraktur auf die unfallchirurgische Station. Bei den gesunden jungen oder alten Probanden haben wir einmalig die antioxidativen Enzyme ermittelt. Aus diesen Daten wollten wir erfahren, wie sich die antioxidativen Parameter (SOD-1, HO-1 pNRF2) bei völliger Gesundheit verhalten. Zusammenfassend im Folgenden nochmals die Daten der Patienten- bzw. Probanden tabellarisch im Überblick dargestellt:

<b>Gruppe</b>	<b>Placebo</b>	<b>Glutamin</b>	<b>jung, Fraktur</b>	<b>jung Gesund</b>	<b>Alt Gesund</b>
<b>Alter (Jahre)</b>	81,3	83,5	29,4	26	67,7
<b>Komplikationen</b>	3	4	keine	Keine	keine
<b>durchschnittl. Einnahme der Trinklösg./7d</b>	15	16	keine	Keine	keine
<b>ASA Wert</b>	2,3	2,5	1	1	1
<b>Barthel Index</b>	95	82	100	100	100
<b>BMI (Kg/m2)</b>	22,6	23,6	21,6	21,8	23,1

### **3.1 Komplikationen in den einzelnen Gruppen**

Aufgrund der geringen Anzahl an eingeschlossenen Patienten kam es zu keinem signifikanten Unterschied zwischen den beiden Patientengruppen. In der Gruppe, welche das Glutamin erhielt kam es zu vier Komplikationen. In der Gruppe mit dem Placebopräparat zu drei Komplikationen. In der Placebogruppe war es sogar nötig erneut operativ einen Prothesenwechsel nach Infektion durchzuführen (s. Abb. 13).

# Komplikationen

<b>Glutamin</b>	<b>N=</b>	<b>Placebo</b>	<b>N=</b>
Harnwegsinfektion mit Klebsiella spp.	1	Infektion der Prothese mit Prothesenwechsel und offenem Debridement	1
Pneumonie	1	Harnwegsinfektion	1
Konjunktivitis, Pneumonie	1	Wundheilungsstörungen	1
Magen-Darm-Infektion	1		

*Abbildung 13 Auflistung der Komplikationen in den jeweiligen Gruppen*

Im nächsten Schritt wird die Beeinflussung antioxidativer Parameter durch die Glutamingabe graphisch dargestellt.

Zur Vereinfachung und besseren Übersicht über die Probanden im folgenden eine Tabelle:

<b>Proband</b>	<b>Abkürzung</b>	<b>Bedeutung</b>
<b>JungGesund</b>	<b>JG</b>	Kein Trauma
		einmalige Blutabnahme zu einem willkürlichen Zeitpunkt
		Alter: 26,0 Jahre
		Insgesamt 9 Probanden
<b>Alt Gesund</b>	<b>AG</b>	Kein Trauma
		einmalige Blutabnahme zu einem willkürlichen Zeitpunkt
		Alter: 67,7 Jahre
		Insgesamt 8 Probanden
<b>Jung Fraktur</b>	<b>J(A, 6h, 24h, 7d)</b>	Fraktur der langen Röhrenknochen
		Blutentnahme bei Aufnahme (A), nach 6h, 24h und 7 Tagen (7d)
		Alter: 29,4 Jahre
		Insgesamt: 6 Patienten
<b>Placebo</b>	<b>P(A, 6h, 24h, 7d)</b>	Hüftgelenksnahe Fraktur
		Blutentnahme bei Aufnahme (A), nach 6h, 24h und 7 Tagen (7d)
		Alter: 81,3 Jahre
		Insgesamt: 18 Patienten
<b>Glutamin</b>	<b>G(A, 6h, 24h, 7d)</b>	Hüftgelenksnahe Fraktur
		Blutentnahme bei Aufnahme (A), nach 6h, 24h und 7 Tagen (7d)
		Alter: 83,4 Jahre
		Insgesamt: 19 Patienten



## **3.2 Initiale antioxidative Parameter der gesunden Probanden verglichen mit den Patienten bei Aufnahme**

### **3.2.1 Vergleich der Superoxiddismutase-1 von Gesunden mit Patienten bei Aufnahme**

Mittels eines Western Blots wurde die SOD-1 Expression von 9 jungen gesunden Probanden (JG) und 8 alten gesunden Probanden (AG) gemessen. Die Blutentnahme zur Probengewinnung erfolgte zu einem willkürlichen Zeitpunkt. Danach wurde in jeder Gruppe der durchschnittliche Wert errechnet. D.h. bei den 9 jungen Gesunden wurde der Mittelwert von neun Probanden und bei den alten Gesunden von 8 Probanden gebildet. Zusätzlich wurden die SOD-1 Werte bei der Aufnahme (A), von jungen (JA) und alten Patienten (PA= Placebogruppe bei Aufnahme, GA= Glutamingruppe bei Aufnahme) mit Fraktur dargestellt. Aufnahme bedeutet hier präoperativ, sprich die Blutabnahme in der Notaufnahme. Das Ziel dieser graphischen Auswertung war es, die Expression der Superoxiddismutase 1 nach einem Trauma bei jungen und alten Patienten darzustellen. In dem in Abbildung 14 dargestellten Graph sieht man in der Tendenz eine geringfügig stärkere Expression vom SOD-1 bei den älteren gesunden Probanden (AG) verglichen mit den jungen Gesunden (JG). Patienten nach einem Trauma (JA, PA, GA) hatten eine höhere SOD-1 Expression verglichen mit gesunden Probanden.

Hier zeigte sich in der Patientengruppe, welche später das Glutamin erhielt ein signifikanter Unterschied zu den jungen und alten Gesunden.

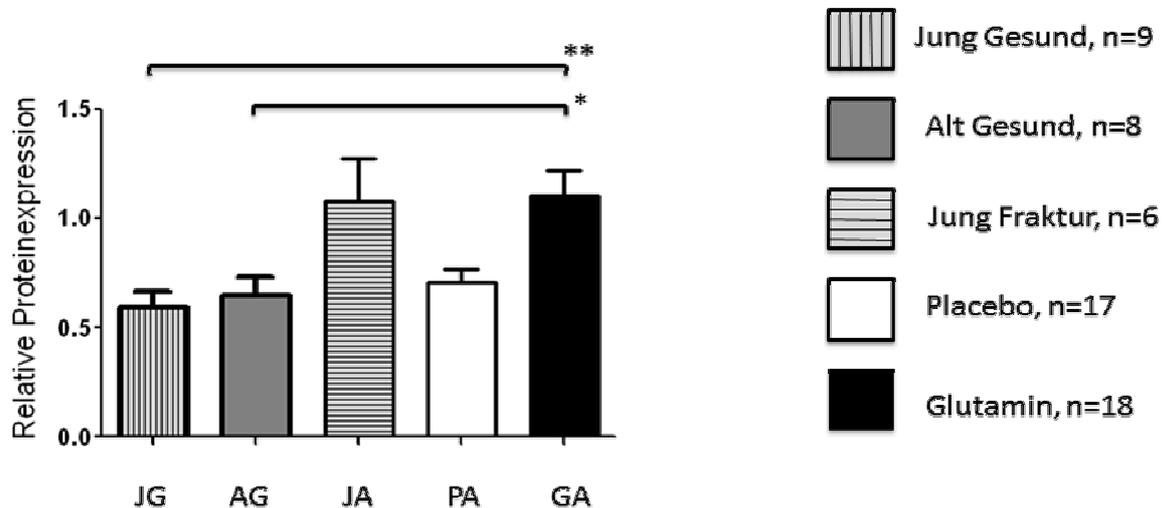


Abbildung 14 Relative Proteinmenge SOD-1 bei jungen und alten gesunden Probanden, sowie präoperativ bei jungen und alten Patienten nach Fraktur; \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$

### 3.2.2 Vergleich der Hämoxygenase-1 von Gesunden mit Patienten bei Aufnahme

In dem folgenden Graph in Abbildung 15 ist die durchschnittliche Expression der Hämoxygenase-1 dargestellt. Hier wurde wieder der Durchschnitt bei den jungen (JG) und alten Gesunden (AG) gebildet und auf der linken Seite aufgetragen. Die rechten Balken symbolisieren die durchschnittliche Expression der Hämoxygenase-1 von jungen (JA) und älteren Patienten (PA, GA) nach Fraktur. Hier wurden nur die Werte bei Aufnahme, sprich präoperativ dargestellt. Das Ziel dieser graphischen Auswertung war es die Expression der Hämoxygenase-1 nach einem Trauma bei jungen und alten Patienten darzustellen. Es zeigt sich eine signifikant verstärkte Expression ( $p < 0,05$ ) von der Hämoxygenase-1 bei den jungen gesunden Probanden (JG) gegenüber den alten Gesunden (AG) und den Patienten nach Fraktur (JA, PA, GA). Bei den Älteren ist die Hämoxygenase-1 nach Fraktur (PA) signifikant erhöht,

verglichen mit den alten Gesunden (AG). Vergleicht man die jungen Patienten nach einem Trauma mit den jungen Gesunden zeigt sich ein Rückgang in der Expression der Hämoxxygenase-1.

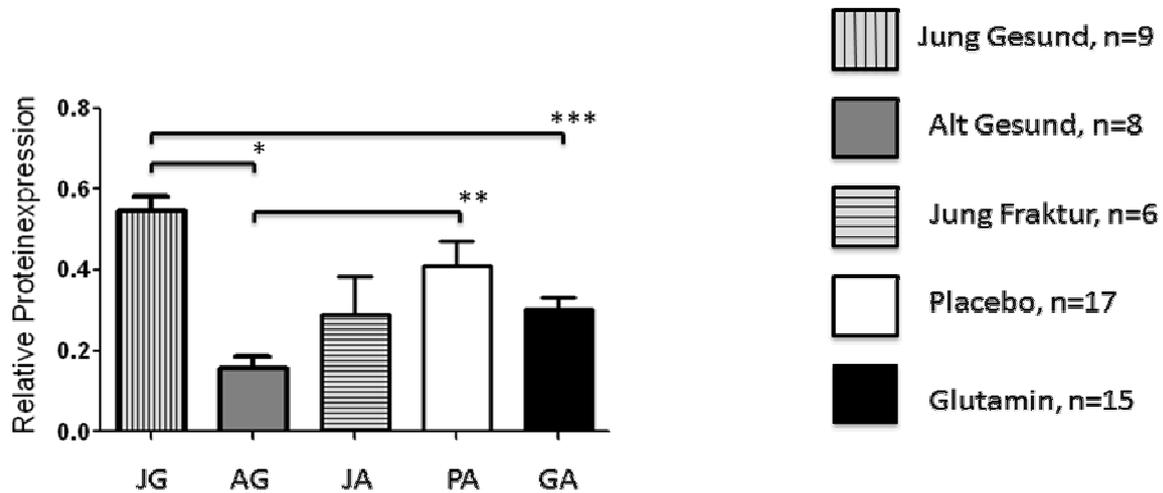


Abbildung 15 Relative Proteinmenge der Hämoxxygenase 1 bei jungen und alten gesunden Probanden, sowie präoperativ bei jungen und alten Patienten nach Fraktur; \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$ , \*\*\* =  $p < 0,001$

### 3.2.3 Vergleich pNRF2 von Gesunden mit Patienten bei Aufnahme

In dem folgenden Graph aus Abbildung 16 ist die durchschnittliche Expression des Transkriptionsfaktors pNRF2 dargestellt. Es wurde der Durchschnitt bei den jungen (JG) und alten Gesunden (AG) gebildet und auf der linken Seite aufgetragen. Die rechten Balken symbolisieren die durchschnittliche Expression von pNRF2 bei jungen (JA) und älteren Patienten (PA, GA) nach Fraktur. Hier wurden nur die Werte bei Aufnahme, sprich präoperativ dargestellt. Das Ziel dieser graphischen Auswertung war es die Expression von pNRF2 nach einem Trauma bei jungen und alten Patienten darzustellen. Es zeigt sich bei den jungen Gesunden (JG) eine leichte, nicht signifikant erhöhte Expression des phosphorylierten Transkriptionsfaktors NF-E2-related factor 2 gegenüber den alten Gesunden (AG).

Nach einer Fraktur ist die pNRF2 Expression in allen Gruppen (JA, PA, GA) stark erhöht verglichen mit den Gesunden (JG, AG).

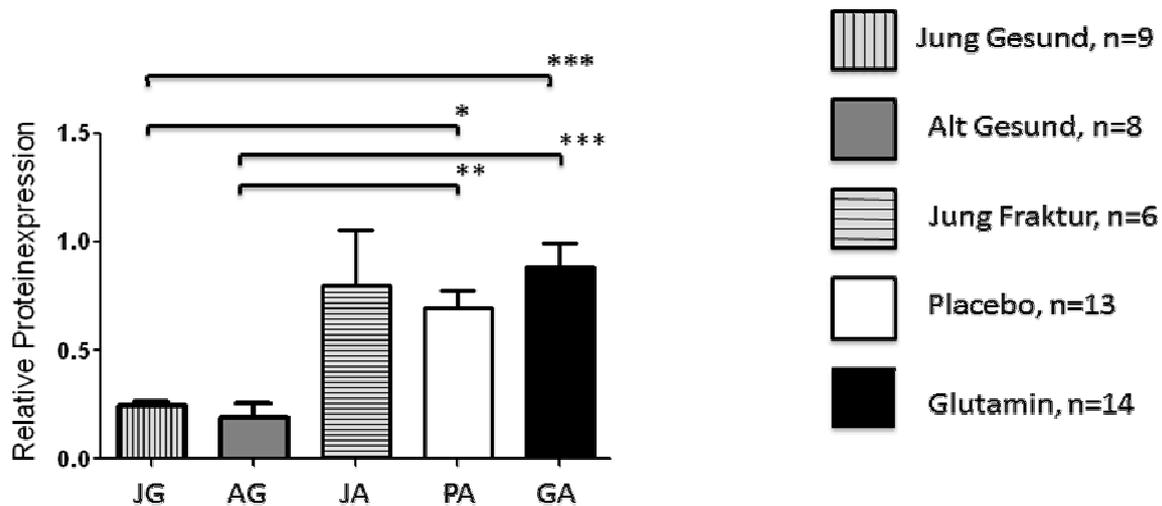


Abbildung 16 Relative Proteinmenge des Transkriptionsfaktors pNRF2 bei jungen und alten gesunden Probanden, sowie präoperativ bei jungen und alten Patienten nach Fraktur; \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$ , \*\*\* =  $p < 0,001$

### 3.3 Quotient

Damit man besser die Veränderungen zwischen den einzelnen Parametern nach 6h, 24h und 7 Tagen abschätzen kann haben wir bei jedem Wert den Quotienten zum Aufnahmewert (A) gebildet, d.h. wir haben die gemessenen Werte auf den Aufnahmewert (A) normiert:

Beispiel:  $A/A$ ,  $6h/A$ ,  $24h/A$ ,  $7d/A$

Ein weiterer Vorteil besteht nun dadurch, dass alle Werte bei Neuaufnahme 1 betragen und man somit eine bessere Vergleichbarkeit schafft.

Im Folgenden vergleichen wir die antioxidativen Parameter bei den Patienten nach einer hüftgelenksnahen Fraktur (Placebo vs. Glutamin). Von Abbildung 17 bis Abbildung 28 sind die Quotienten dargestellt.

### 3.3.1 Vergleich der Superoxiddismutase-1 Expression (Quotient) zwischen Placebo und Glutamin über sieben Tage

Nachdem in der Placebogruppe und der Glutamingruppe jeweils der Quotient zum Aufnahmewert, dem präoperativen Wert, gebildet wurde, zeigt sich in Abbildung 17 folgendes Bild: Die weißen Balken symbolisieren die Patienten, welche das Placebomedikament über die sieben Tage bekommen haben. Die schwarzen Balken stehen für die Patienten, welche über sieben Tage das Glutamin bekommen haben. Es zeigt sich ein kontinuierlicher Anstieg bei der SOD-1 Expression über die gesamten 7 Tage in beiden Gruppen. Der Unterschied zwischen der initialen Expression und der Expression nach 7 Tagen ist in der Glutamingruppe (schwarz) signifikant erhöht ( $p < 0,01$ ). In der Tendenz zeigt sich eine leicht höhere SOD-1 Expression der Glutamingruppe zu der Placebogruppe (weiß) am 7. Tag. Jedoch scheint es zu keinem signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen zu kommen.

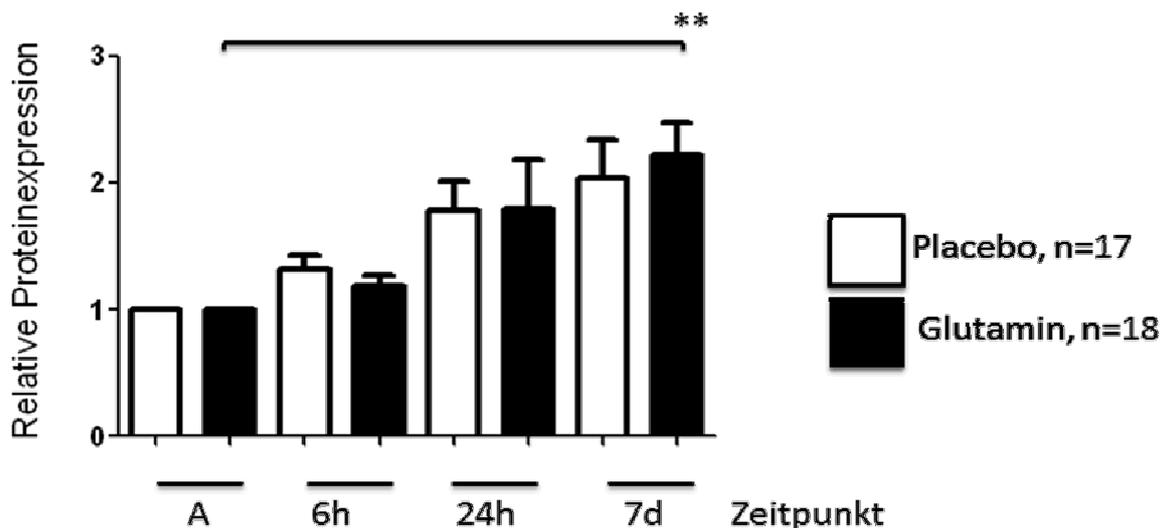


Abbildung 17 Relative Proteinexpression der Superoxiddismutase 1 in der Placebo und Glutamingruppe über 7 Tage, weiß: Patienten erhielten das Placebopräparat, schwarz: Patienten erhielten das Glutamin; \*\*= $p < 0,01$

### 3.3.2 Vergleich der Hämoxxygenase-1 Expression (Quotient) zwischen Placebo und Glutamin über sieben Tage

Nachdem in der Placebogruppe und der Glutamingruppe jeweils der Quotient zum Aufnahmewert, dem präoperativen Wert, gebildet wurde zeigt sich in Abbildung 18 folgendes Bild: Die weißen Balken symbolisieren die Patienten, welche das Placebo über die sieben Tage bekommen haben. Die schwarzen Balken stehen für die Patienten, welche über sieben Tage das Glutamin bekommen haben.

Bezüglich der Hämoxxygenase-1 Expression zeigen sich keine signifikanten Veränderungen zwischen den verschiedenen Zeitpunkten und den beiden Gruppen. In der Tendenz sieht man postoperativ einen leichten Anstieg der Expression mit einem Hochstand nach 24h in der Placebogruppe bzw. 7 Tagen in der Glutamingruppe. Nach sieben Tagen Glutamineinnahme findet sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Placebo- und Glutamingruppe.

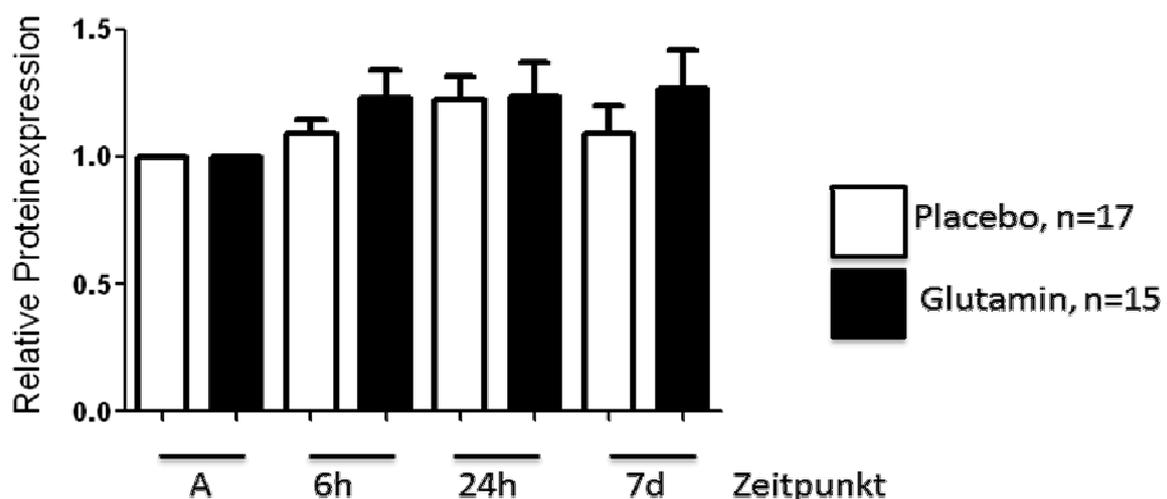


Abbildung 18 Relative Proteinexpression der Hämoxxygenase-1 in der Placebo und Glutamingruppe über 7 Tage, weiß: Patienten erhielten das Placebopräparat, schwarz: Patienten erhielten das Glutamin

### **3.3.3 Vergleich der pNRF2 Expression (Quotient) zwischen Placebo und Glutamin über sieben Tage**

Nachdem in der Placebogruppe und der Glutamingruppe jeweils der Quotient zum Aufnahmewert, dem präoperativen Wert, gebildet wurde zeigt sich in Abbildung 19 folgendes Bild: Die weißen Balken symbolisieren die Patienten, welche das Placebomedikament über die sieben Tage bekommen haben. Die schwarzen Balken stehen für die Patienten, welche über sieben Tage das Glutamin bekommen haben. In Abbildung 19 ist die Expression des Transkriptionsfaktors pNRF2 dargestellt. Wie zu erwarten war, steigt die Expression des Transkriptionsfaktors pNRF2 nach der femurnahen Fraktur und der operativen Versorgung in beiden Gruppen bis zum ersten postoperativen Tag (24h) signifikant,  $p < 0,001$  in der Placebogruppe und  $p < 0,05$  in Glutamingruppe, um dann wieder zum 7. Tag hin abzusinken. Es zeigen sich keine signifikanten bzw. relevanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. In Abbildung 20 sieht man den repräsentativen Western Blot zu den in Abbildung 19 graphisch dargestellten Ergebnissen.

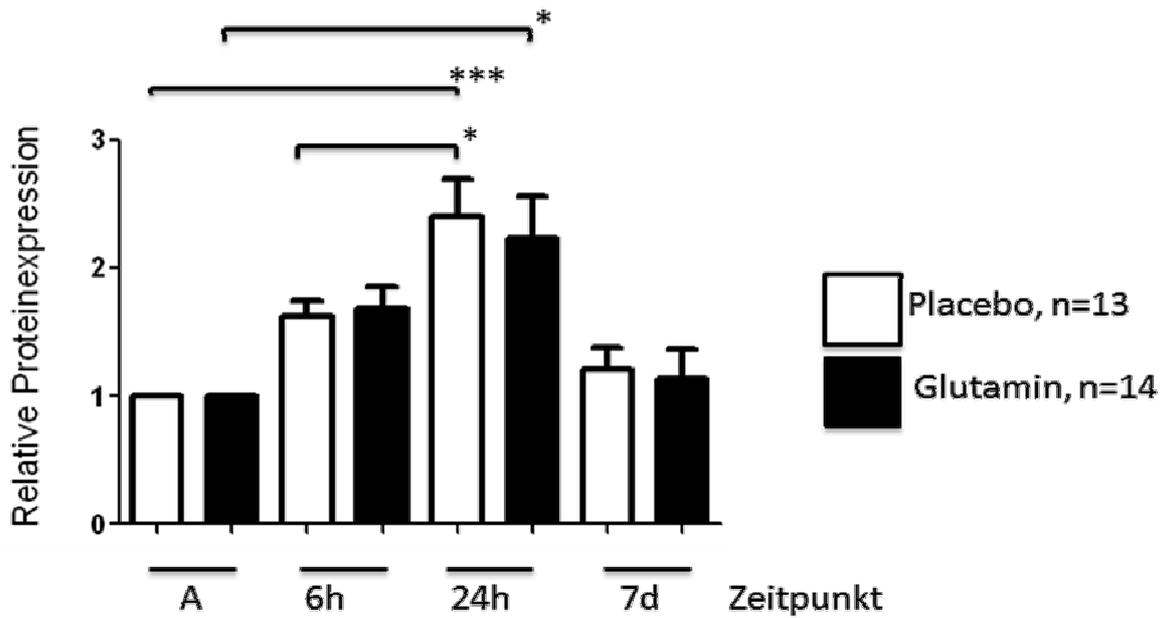


Abbildung 19 Relative Proteinexpression des Transkriptionsfaktors pNRF2 in der Placebo- und Glutamingruppe über 7 Tage ,weiß: Patienten erhielten das Placebopräparat, schwarz: Patienten erhielten das Glutamin; \*= $p<0,05$ , \*\*\*= $p<0,001$

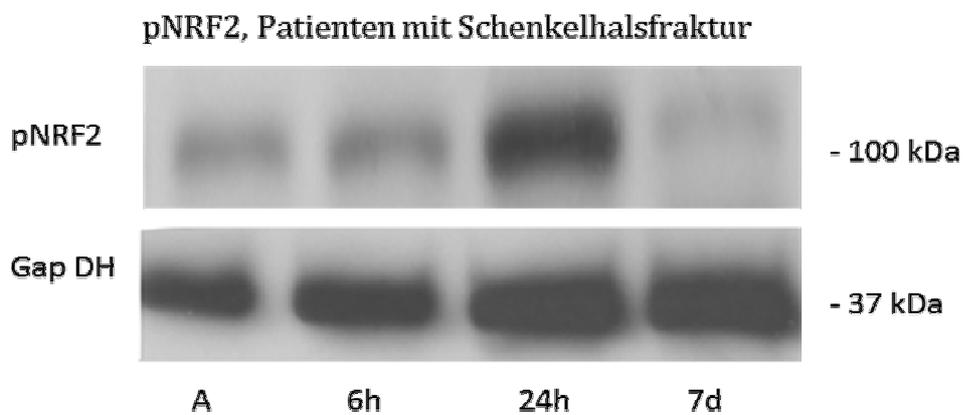


Abbildung 20 Expression des Transkriptionsfaktors pNRF2 von Patienten mit Schenkelhalsfraktur über 7 Tage im Western Blot

### 3.4 Quotient der Expression bei den über 80-jährigen Patienten

In der Literatur wird eine verminderte Immunantwort und ein verschlechterter Ernährungszustand mit zunehmendem Alter beschrieben(46). Damit verbunden

ergeben sich erhöhte Behandlungskosten, u.a. durch eine verlängerte Liegedauer der Patienten. Weiterhin suggerierten Daten in der Literatur ein Profitieren vor allem der älteren Patienten durch Immunonutrition(7,58). Deshalb analysierten wir speziell die Gruppe der über 80-Jährigen gesondert:

#### **3.4.1 Vergleich der Superoxiddismutase-1 Expression (Quotient) zwischen Placebo und Glutamin über sieben Tage bei den über 80-Jährigen**

Nachdem in der Placebogruppe und der Glutamingruppe jeweils der Quotient zum Aufnahmewert, dem präoperativen Wert, gebildet wurde zeigt sich in Abbildung 21 folgendes Bild: Die weißen Balken symbolisieren die Patienten, welche das Placebo über die sieben Tage bekommen haben. Die schwarzen Balken stehen für die Patienten, welche über sieben Tage das Glutamin bekommen haben. In der Placebogruppe gab es 10 Patienten mit einem Alter über 80 Jahren. Genauso viele Patienten über 80 Jahre waren es in der Glutamingruppe.

Vergleicht man die Expression der Superoxiddismutase-1 bei den über 80-jährigen Patienten (durchschnittliches Alter der Glutamingruppe: 90 Jahre, Placebogruppe: 86 Jahre) so erkennt man einen kontinuierlichen Anstieg der SOD-1 Expression über die gesamten sieben Tage in beiden Gruppen. Im Gegensatz zu der oben dargestellten gesamten Patientengruppe (Abbildung 17) zeigt sich jedoch am siebten Tag ein signifikanter SOD-1 Anstieg in der Glutamingruppe, verglichen mit der Placebogruppe. In Abbildung 22 ist ein repräsentativer Western Blot der über 80-Jährigen, welche das Placebo erhielten und der über 80-Jährigen, welche das Glutamin erhielten über sieben Tage, dargestellt.

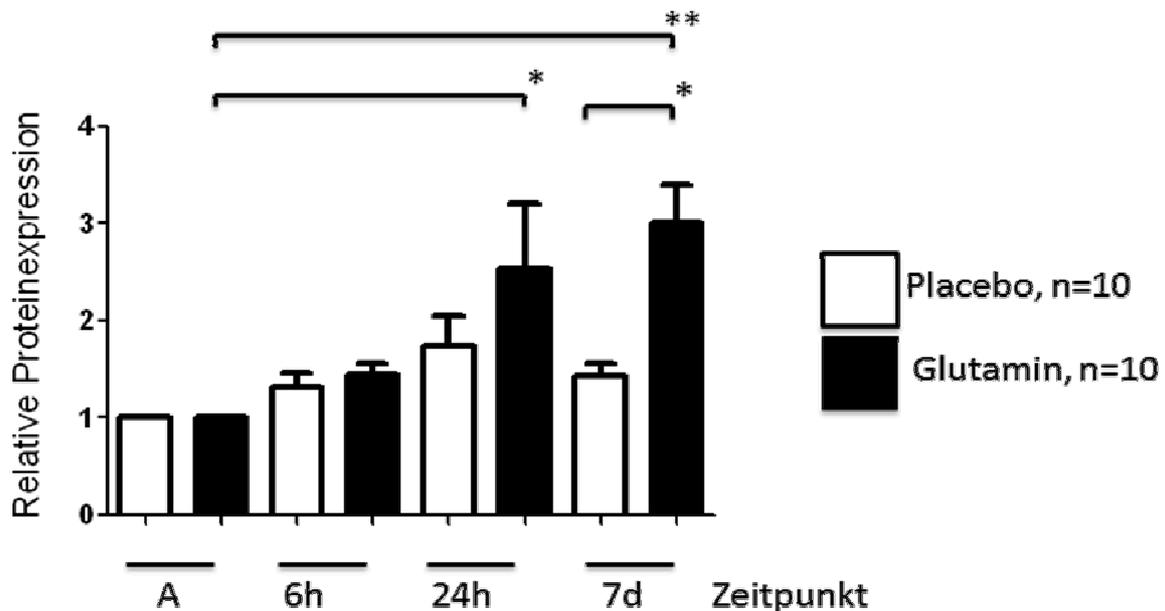


Abbildung 21 zeigt die relative Proteinmenge von der SOD-1 in den jeweiligen Gruppen bei den Patienten über 80 Jahren, weiß: Patienten erhielten das Placebopräparat, schwarz: Patienten erhielten das Glutamin; \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$ ,

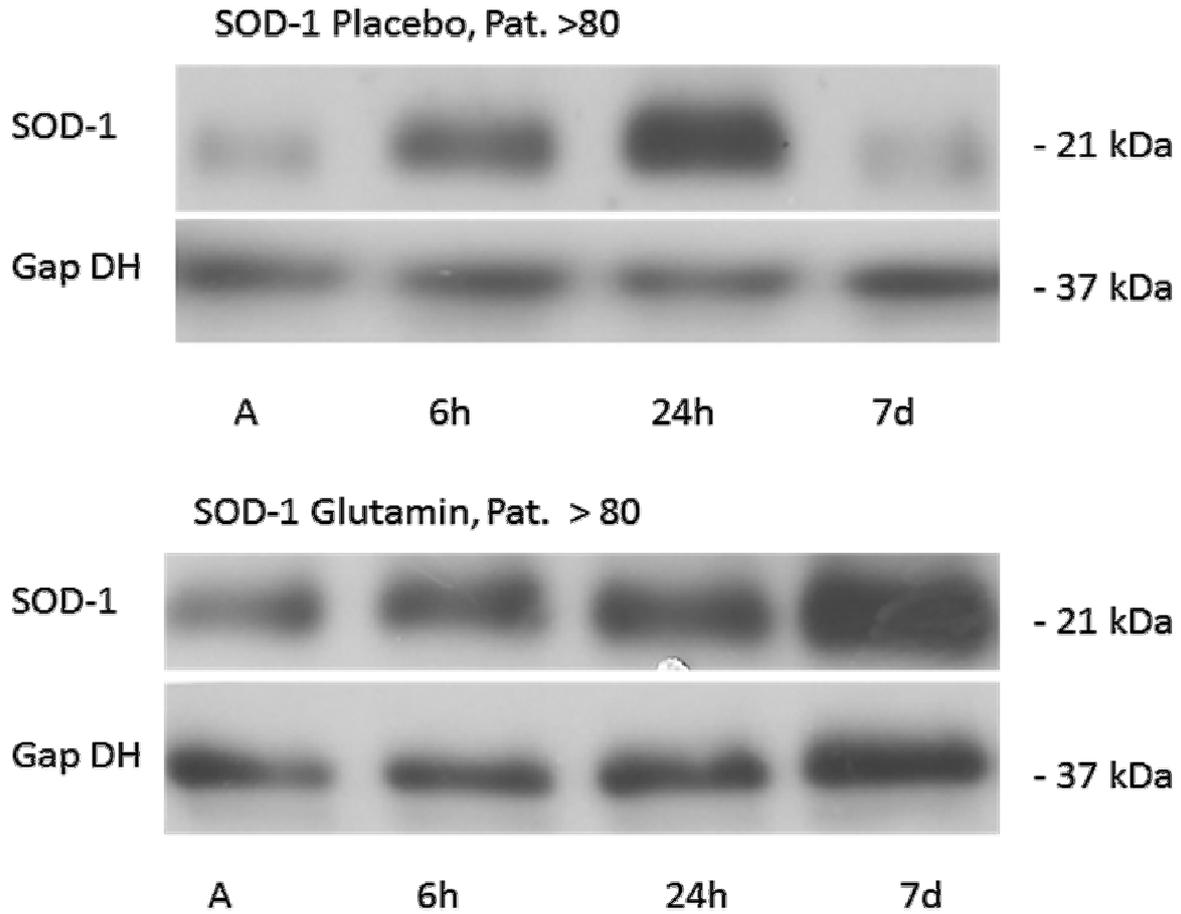


Abbildung 22 Expression des SOD-1 bei den über 80-jährigen Patienten im Western Blot. Oben: Patient unter Placebogabe. Unten: Patient unter Gabe von Glutamin

### 3.4.2 Vergleich der Hämoxygenase-1 Expression (Quotient) zwischen Placebo und Glutamin über sieben Tage bei den über 80-Jährigen

Nachdem in der Placebogruppe und der Glutamingruppe jeweils der Quotient zum Aufnahmewert, dem präoperativen Wert, gebildet wurde zeigt sich in Abbildung 23 folgendes Bild: Die weißen Balken symbolisieren die Patienten, welche das Placebo über die sieben Tage bekommen haben. Die schwarzen Balken stehen für die Patienten, welche über sieben Tage das Glutamin bekommen haben. In der Placebogruppe gab es 10 Patienten mit einem Alter über 80 Jahren. In der Glutamingruppe bekamen wir bei 9 Patienten ein Signal im Western Blot.

Betrachtet man die Expression der Hämoxxygenase-1 bei den Patienten über 80 Jahren so zeigt sich auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen der Placebo und der Glutamingruppe. Auch innerhalb der beiden Gruppen kommt es zu keiner wesentlichen Veränderung der HO-1 Expression über 7 Tage. Tendenziell steigt die HO-1 Expression nach 6 und 24 Stunden.

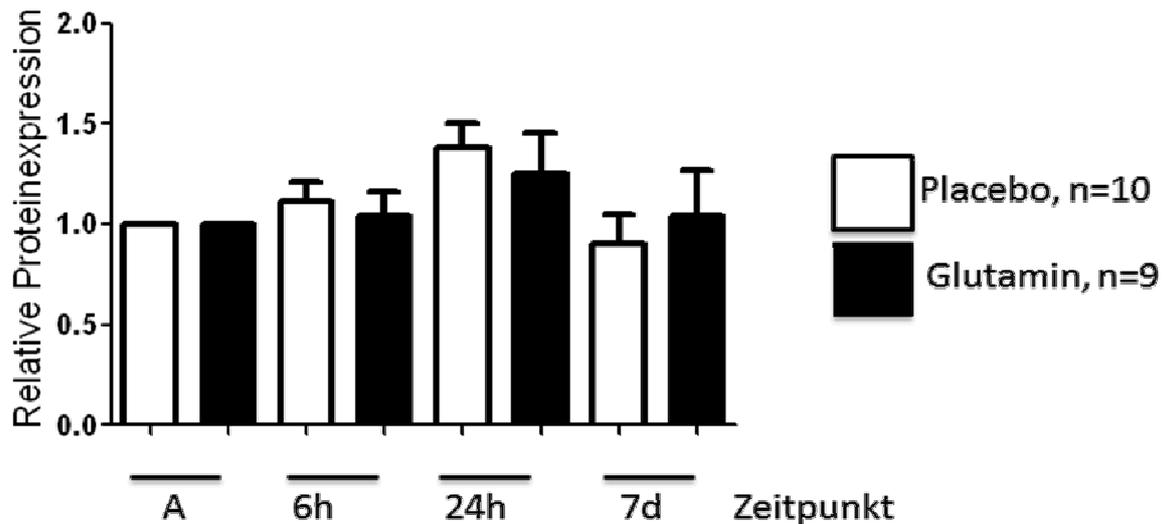


Abbildung 23 zeigt die relative Proteinmenge der HO-1 in den jeweiligen Gruppen bei den über 80-jährigen Patienten weiß: Patienten erhielten das Placebopräparat, schwarz: Patienten erhielten das Glutamin

### 3.4.3 Vergleich der pNRF2 Expression (Quotient) zwischen Placebo und Glutamin über sieben Tage bei den über 80-Jährigen

Nachdem in der Placebogruppe und der Glutamingruppe jeweils der Quotient zum Aufnahmewert, dem präoperativen Wert, gebildet wurde zeigt sich in Abbildung 24 folgendes Bild: Die weißen Balken symbolisieren die Patienten, welche das Placebo über die sieben Tage bekommen haben. Die schwarzen Balken stehen für die Patienten, welche über sieben Tage das Glutamin bekommen haben. In der Placebogruppe gab es 8 Patienten mit einem Alter über 80 Jahren und einem Signal im Western Blot. In der Glutamingruppe bekamen wir ebenfalls bei 8 Patienten ein Signal im Western Blot. Bei den Patienten über 80 Jahren zeigen sich in beiden

Gruppen signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Zeitpunkten. Insbesondere in der Glutamingruppe zeigt sich ein deutlicher Anstieg nach 24 Stunden. In der Placebogruppe ist der Anstieg der pNRF2 Expression nicht so dramatisch. Nach 24h erreichen wir in beiden Gruppen die höchste Expression. Diese Ergebnisse sind identisch mit den Ergebnissen der gesamten Patientengruppe aus Abbildung 19. Nach sieben Tagen zeigt sich ein Rückgang auf die präoperativen Ausgangswerte.

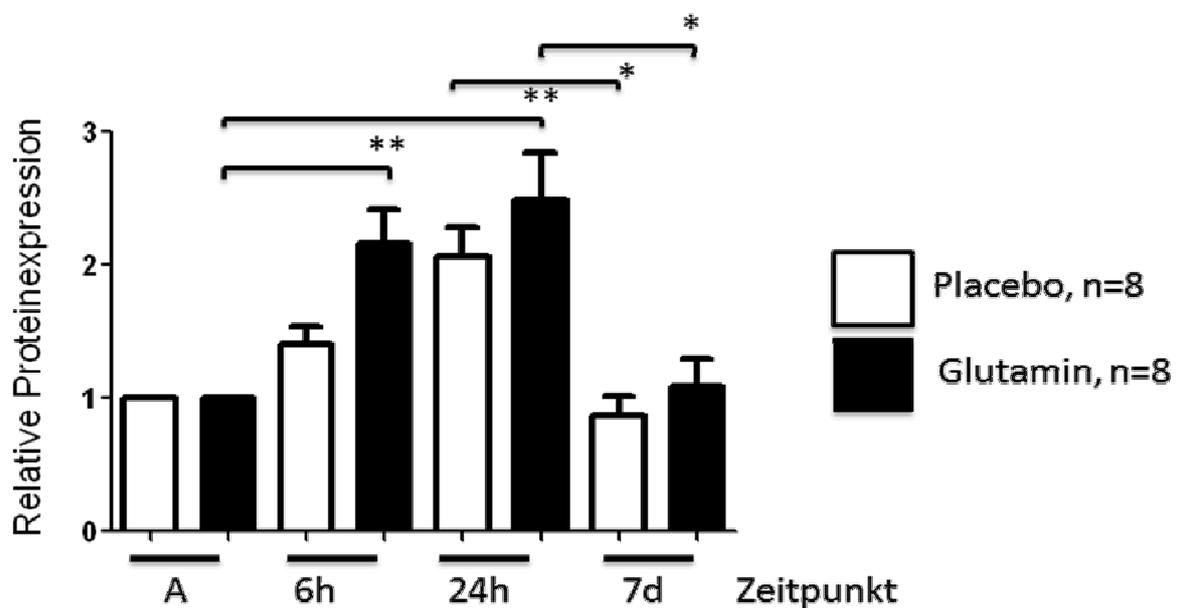


Abbildung 24 zeigt die relative Proteinmenge des pNRF2 in den jeweiligen Gruppen bei den über 80-jährigen Patienten; weiß: Patienten erhielten das Placebopräparat, schwarz: Patienten erhielten das Glutamin, \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$

Im nächsten Teil der Auswertung wird die antioxidative Reaktion von jungen und älteren Patienten auf ein Trauma und die darauffolgende operative Versorgung graphisch dargestellt. Hier war es uns vor allem wichtig Unterschiede bezüglich der antioxidativen Parameter bei der Bewältigung des oxidativen Stresses zwischen den jungen und den alten Patienten aufzuzeigen.

### **3.5 Quotient der antioxidativen Parameter im Vergleich mit jungen Patienten nach vergleichbarer Fraktur**

#### **3.5.1 Vergleich der Superoxiddismutase-1 Expression (Quotient) zwischen Placebo/Glutamin und jungen Patienten nach adäquater Fraktur**

In diesen beiden Gruppen wurde wieder jeweils der Quotient zum Aufnahmewert gebildet, um Veränderungen besser darzustellen.

Die grau gestreiften Graphen in Abbildung 25 stehen für die jungen Patienten mit Fraktur, welche operativ versorgt werden mussten. Die weißen Balken stellen die Patienten mit hüftgelenksnaher Fraktur dar, welche das Placebo erhalten haben und die schwarzen Balken diejenigen, welche das Glutamin erhalten hatten. Betrachtet man den Graph in seiner Gesamtheit erkennt man vom präoperativen SOD-1 Wert über 6 Stunden, 24 Stunden und schließlich sieben Tagen einen kontinuierlichen Anstieg in allen drei Gruppen.

Vergleicht man die Expression der Superoxiddismutase-1 der älteren Patienten, welche eine Schenkelhalsfraktur erlitten mit jungen Patienten, welche eine Fraktur der langen Röhrenknochen erlitten so sieht man eine generell stärkere Expression bei den älteren Patienten. Bei den jungen Patienten scheint die SOD-1 Expression über die sieben Tage lediglich eine geringe Steigerung bis zum siebten Tag zu machen. Allerdings lässt sich kein signifikanter Unterschied in der Expression der Superoxiddismutase bei jungen und alten Patienten beschreiben.

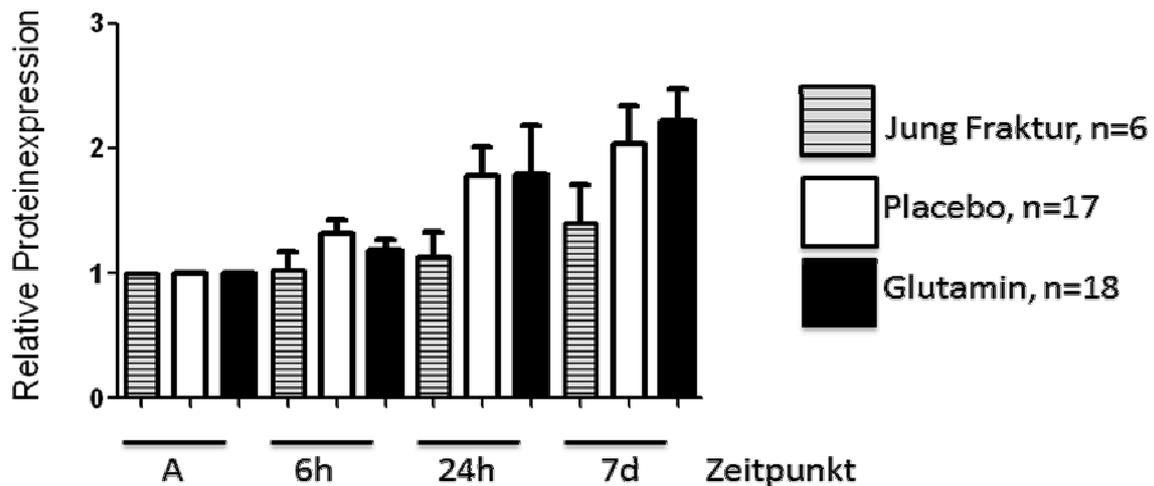


Abbildung 25 zeigt die relative Proteinmenge der SOD-1 in den jeweiligen Gruppen; grau: junge Patienten mit Fraktur, weiß: Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche das Placebopräparat erhielten, schwarz: Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche das Glutamin erhielten

### 3.5.2 Vergleich der Hämoxygenase-1 Expression (Quotient) zwischen Placebo/Glutamin und jungen Patienten nach adäquater Fraktur

Bei graphischer Darstellung (Abbildung 26) der Expression der Hämoxygenase-1 der älteren Patienten, welche eine Schenkelhalsfraktur erlitten mit jungen Patienten, welche eine Fraktur der langen Röhrenknochen erlitten sieht man keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Nach 24h findet man in allen drei Gruppen eine im Vergleich zum Aufnahmewert erhöhte HO-1 Expression. Vergleicht man den Quotienten nach 6h mit dem präoperativen Wert (A) so kommt es in der Gruppe der jungen Patienten tendenziell zu einem Absinken in der HO-1 Expression. Im Vergleich dazu zeigt sich bei den alten Patienten ein Anstieg der HO-1 Expression. Nach sieben Tagen ist die HO-1 Expression der jungen Patienten leicht höher. Bei den älteren Patienten zeigt sich auch eine erhöhte Expression, die jedoch nicht so ausgeprägt ist wie bei den jüngeren Patienten.

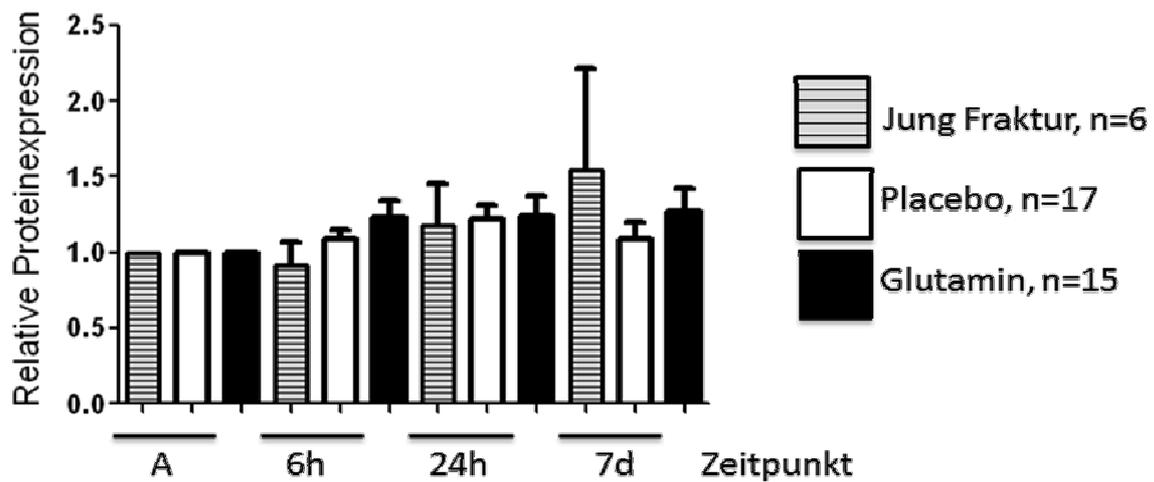


Abbildung 26 zeigt die relative Proteinmenge der HO-1 in den jeweiligen Gruppen; grau: junge Patienten mit Fraktur, weiß: Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche das Placebopräparat erhielten, schwarz: Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche das Glutamin erhielten

In der folgenden Abbildung 27 ist exemplarisch ein Western Blot der jungen Patienten nach einer Fraktur über sieben Tage dargestellt. Man erkennt die tendenziell stärkere Expression der Hämoxxygenase-1 vom siebten Tag im Vergleich zu 24h.

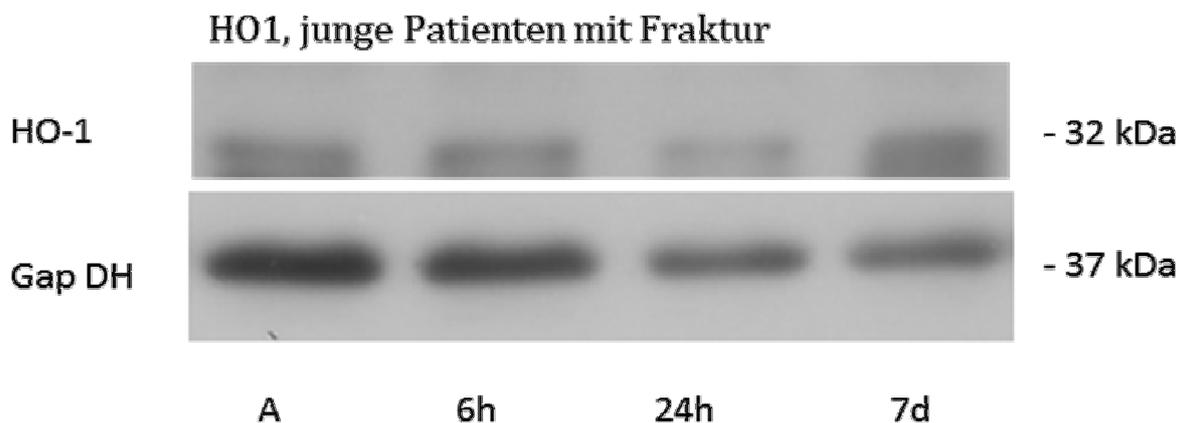


Abbildung 27 Expression der HO-1 bei jungen Patienten mit Fraktur im Western Blot

### **3.5.3 Vergleich der pNRF2 Expression (Quotient) zwischen Placebo/Glutamin und jungen Patienten nach adäquater Fraktur**

Vergleicht man in Abbildung 28 die Expression des Transkriptionsfaktors pNRF2 der älteren Patienten, welche eine Schenkelhalsfraktur erlitten mit jungen Patienten, welche eine Fraktur der langen Röhrenknochen erlitten, so sieht man eine generell stärkere Expression bei den älteren Patienten, vor allem nach 24h. Der Transkriptionsfaktor pNRF2 und die Hämoxigenase-1 (s. Abbildung 27), welche wie oben beschrieben eng verknüpft sind scheinen bei den jungen Patienten 6 Stunden postoperativ erniedrigt zu sein und dann am siebten Tag eine höhere Expression zu erreichen. Es hat den Anschein, dass bei jungen Patienten diese antioxidativen Enzyme in den ersten Tagen abfallen und sich erst nach sieben Tagen eine verstärkte Expression zeigt. Im Gegensatz hierzu kommt es bei den älteren Patienten innerhalb der ersten 24h zu einer erhöhten Expression und nach sieben Tagen wieder zu einem Abfall. Weiterhin zeigt sich bei den älteren Patienten, dass sich die pNRF2 Expression verglichen mit der Hämoxigenase-1 Expression in Abbildung 26 nicht kongruent verhält. So kommt es zwar zu einer vermehrten Expression von pNRF2 jedoch scheint daraus nicht eine vermehrte Expression von HO-1 zu resultieren.

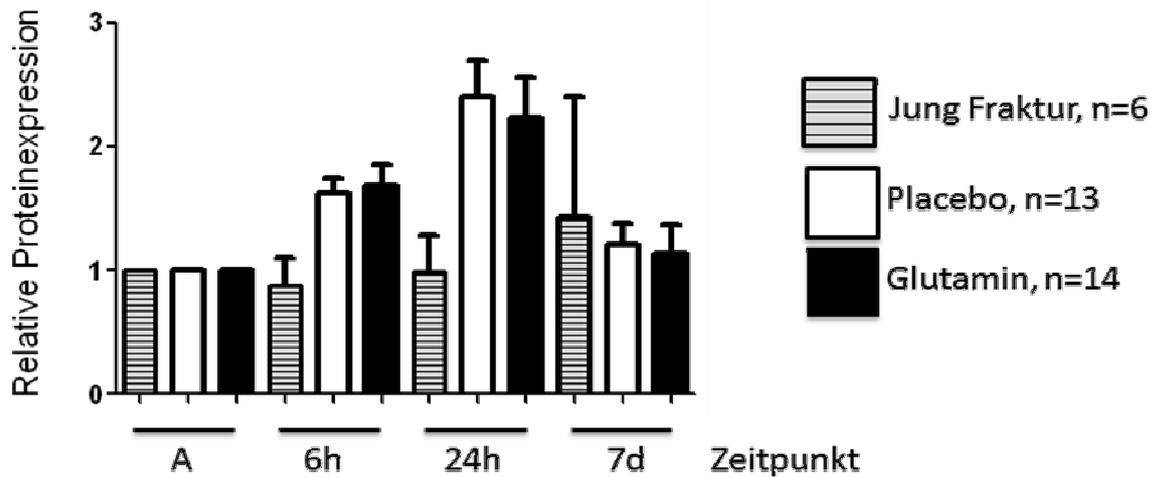


Abbildung 28 zeigt die relative Proteinmenge des pNRF2 in den jeweiligen Gruppen; grau: junge Patienten mit Fraktur, weiß: Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche das Placebopräparat erhielten, schwarz: Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche das Glutamin erhielten

Um den Unterschied von jungen und alten Probanden bei Gesunden und bei Patienten nach Fraktur zu analysieren werden im Folgenden alle Altersgruppen in einem Graph dargestellt. Hier war die Intention genau die Differenzen zwischen den Gesunden (jung/alt) und den Patienten nach einer Fraktur (jung/alt) im Verlauf über die sieben Tage zu verdeutlichen.

### 3.6 Expression antioxidativer Parameter der gesunden Probanden verglichen mit Patienten über sieben Tage

#### 3.6.1 Expression der Superoxiddismutase-1 von gesunden Probanden (jung/alt) und Patienten nach Fraktur (jung/alt) über sieben Tage

Abbildung 29 beschäftigt sich mit den Unterschieden in der SOD-1 Expression zwischen Gesunden und Patienten nach einem Trauma.

Die ersten beiden Balken aus Abbildung 29 stehen für die jungen Gesunden (JG, grau, senkrecht gestreift) und die alten Gesunden (AG, dunkelgrau). Danach folgen in der Reihenfolge die Patienten: Die grau, waagrecht gestreiften Balken

symbolisieren die jungen Patienten nach Fraktur (Jung Fraktur). Weiße Balken stehen für die älteren Patienten nach Fraktur, welche das Placebo erhielten (Placebo). Schwarze Balken für ältere Patienten, welche das Glutamin erhielten (Glutamin). Bei den Patienten sind die vier Blutabnahmen über die sieben Tage dargestellt (A, 6h, 24h, 7d). Betrachtet man den Graph in seiner Gesamtheit zeigt sich über den gesamten Zeitraum im Vergleich zu den gesunden Probanden eine verstärkte Expression der SOD-1 von den Patienten, welche ein Trauma erlitten hatten. Die jungen Patienten haben im Vergleich zu den jungen Gesunden nach der Fraktur bei Aufnahme eine erhöhte SOD-1 Expression. In den folgenden sieben Tagen zeigt sich keine wesentliche Änderung über den gesamten Zeitraum. Die älteren Patienten haben nach der Fraktur bei Aufnahme ebenfalls eine erhöhte SOD-1 Expression im Vergleich zu den alten Gesunden. Nach sieben Tagen zeigt sich in der Gruppe, welche das Glutamin erhielt ein signifikanter Anstieg der SOD-1 Expression.

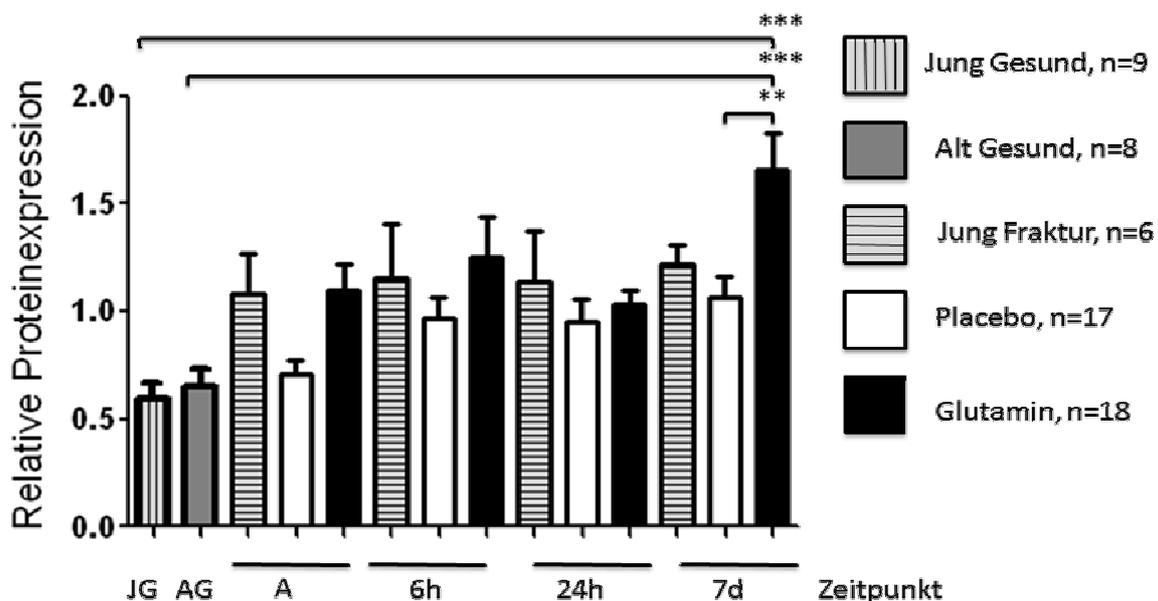


Abbildung 29 zeigt die relative Proteinmenge der Superoxiddismutase 1 der jeweiligen Gruppen; \*\*=  $p < 0,01$ , \*\*\*=  $p < 0,001$

### **3.6.2 Expression der Hämoxxygenase-1 von gesunden Probanden (jung/alt) und Patienten nach Fraktur (jung/alt) über sieben Tage**

Abbildung 30 beschäftigt sich mit den Unterschieden in der HO-1 Expression zwischen Gesunden und Patienten nach einem Trauma.

Die jungen gesunden Probanden zeigen die stärkste Expression von der Hämoxxygenase-1. Bei den alten gesunden Probanden zeigt sich die geringste Expression. Postoperativ scheint es bei den jungen Patienten zu einem Absinken in der HO-1 Expression zu kommen. Am siebten Tag zeigt sich schließlich der höchste Wert in der HO-1 Expression, jedoch wird der Wert der jungen Gesunden nicht erreicht. Bei den älteren Patienten kommt es nach dem Trauma zu einem Anstieg der Hämoxxygenase-1. Die erhöhte Expression besteht bis zum ersten Tag um dann am siebten Tag wieder abzusinken, jedoch zeigt sie sich im Vergleich mit den alten Gesunden noch erhöht. Insgesamt zeigt sich in Abbildung 30 eine Diskrepanz bezüglich der antioxidativen Parameter zwischen den jungen und den alten Patienten. Bei den jungen Patienten kommt es posttraumatisch zu einem Abfall der Hämoxxygenase-1 Expression, um dann bis zum siebten Tag wieder anzusteigen. Bei den älteren Patienten hingegen kommt es posttraumatisch zu einem geringen Anstieg der Hämoxxygenase-1 um dann zum siebten Tag wieder abzufallen.

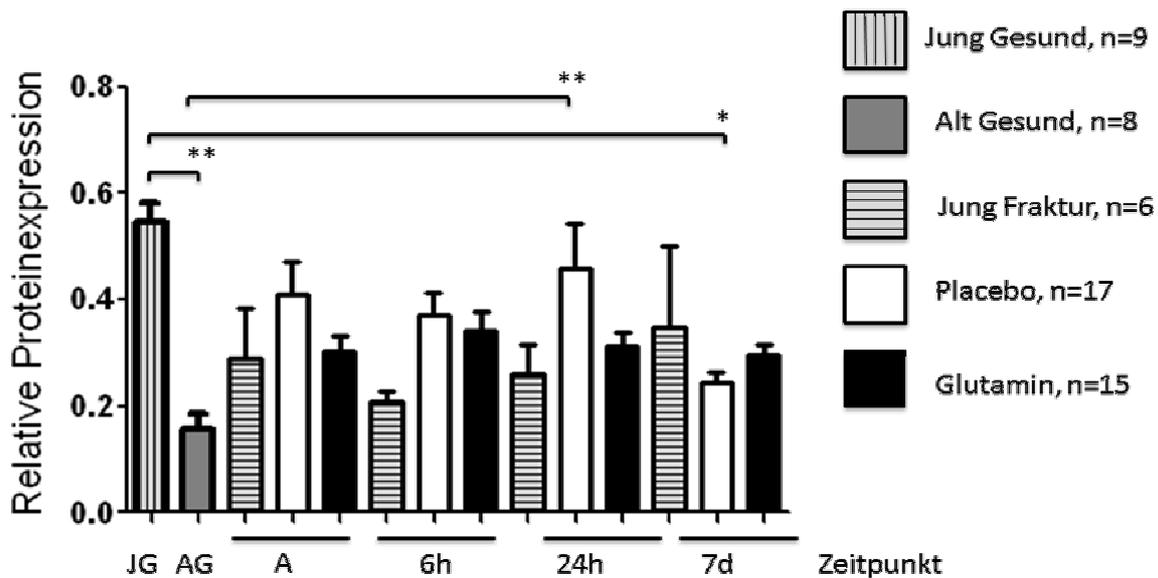


Abbildung 30 zeigt die relative Expression der Hämoxigenase-1 der jeweiligen Gruppen; \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$ ,

### 3.6.3 Expression des pNRF2 von gesunden Probanden (jung/alt) und Patienten nach Fraktur (jung/alt) über sieben Tage

Abbildung 31 beschäftigt sich mit den Unterschieden in der pNRF2- Expression zwischen Gesunden und Patienten nach einem Trauma.

Betrachtet man die Expression des Transkriptionsfaktors bei den gesunden Probanden und den Patienten nach einer Fraktur erkennt man eine erhöhte Expression nach dem Trauma schon bei Aufnahme (A). Nach operativer Versorgung der Fraktur kommt es zu einem erneuten Anstieg bei den alten Patienten (Placebo/Glutamin) bis zum einem Maximum nach 24 Stunden. Bei den jungen Patienten mit Fraktur (Jung Fraktur) zeigt sich nach dem Trauma und der operativen Intervention die pNRF2 Expression über die gesamten sieben Tage höher, verglichen mit den gesunden Probanden. Jedoch unterscheiden sich die Werte bei den jungen Patienten zwischen den verschiedenen Zeitpunkten nicht, sondern bleiben weitgehend konstant.

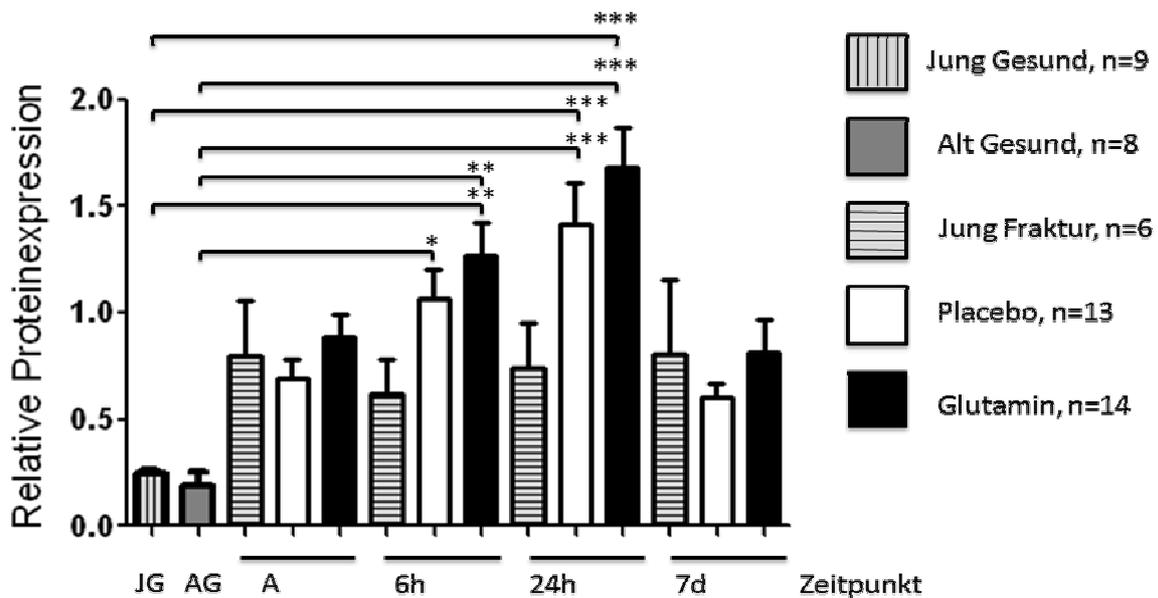


Abbildung 31 zeigt die relative Proteinmenge des Transkriptionsfaktors pNRF2 in der jeweiligen Gruppe; \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$ , \*\*\* =  $p < 0,001$

Durch die Glutamingabe sollte nicht nur Einfluss auf die antioxidativen Parameter genommen werden, sondern auch auf Zellen, welche sich schnell vermehren und somit auf ein großes Energieangebot angewiesen sind, wie z.B. die Zellen des Immunsystems. Auch hier wurde wieder der Quotient gebildet, um eine bessere Vergleichbarkeit zu schaffen.

### 3.7 Beeinflussung des Immunsystems durch Glutamin

#### 3.7.1 Unterschiede in den Leukozytenwerten (Quotient) zwischen Placebo- und Glutamingabe über sieben Tage

In Abbildung 32 werden die durchschnittlichen Werte der Leukozyten bei Aufnahme (A), nach 24 Stunden (24h) und nach sieben Tagen (7d) in der Placebo- bzw. Glutamingruppe dargestellt. Insgesamt wurde der Durchschnittswert von 18 Patienten aus der Placebogruppe und 19 Patienten aus der Glutamingruppe gebildet.

Nach 24h kommt es zu einem Rückgang der Leukozyten in beiden Gruppen, bezogen auf die Leukozytenzahl bei Aufnahme. Nach sieben Tagen fällt der Leukozytenwert der Placebogruppe erneut. Währenddessen zeigt sich der Wert unter Glutamin Plus Diät nach sieben Tagen konstant. Es konnte durch die sieben tägige Gabe von Glutamin kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen erzielt werden, jedoch ist der Abfall der Leukozyten in der Glutamingruppe geringer.

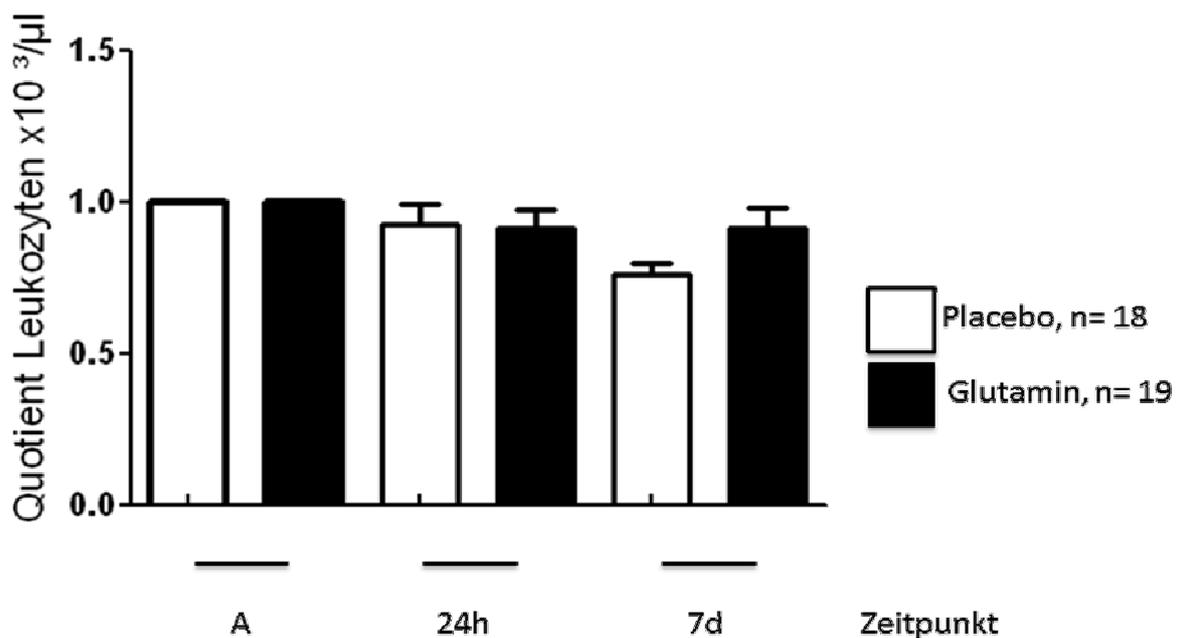


Abbildung 32 Veränderung der Leukozytenwerte nach 24h und 7 Tagen, bezogen auf den präoperativen Wert, weiß: Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche das Placebopräparat erhielten, schwarz: Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche das Glutamin erhielten.

Bezüglich der Leukozyten wollten wir nun wieder in der Gruppe der über 80-jährigen die Auswirkungen von der Glutamingabe untersuchen. Wie schon oben erwähnt erhofften wir uns durch die Gabe von Glutamin vor allem bei dieser Gruppe, welcher zumeist ein Unterangebot an Nahrungsstoffen zuteil wird, einen Effekt zu erzielen:

### 3.7.2 Unterschiede in den Leukozytenwerten (Quotient) zwischen Placebo- und Glutamingabe bei den über 80 Jährigen in sieben Tage

In Abbildung 33 wurden die durchschnittlichen Werte der Leukozyten bei Aufnahme (A), nach 24 Stunden (24h) und nach sieben Tagen (7d) in der Placebo- bzw. Glutamingruppe der über 80-Jährigen dargestellt. Insgesamt wurde der Durchschnitt von 11 Patienten aus der Placebogruppe und 10 Patienten aus der Glutamingruppe gebildet. In der Gruppe der über 80-jährigen Patienten kommt es 24 Stunden postoperativ zu einem Abfall der Leukozytenwerte in beiden Gruppen. Am siebten postoperativen Tag kommt es in der Gruppe, welche das Glutamin einnahm zu einem Anstieg der Leukozyten, im Gegensatz dazu kommt es zu einem weiteren Abfall in der Placebogruppe.

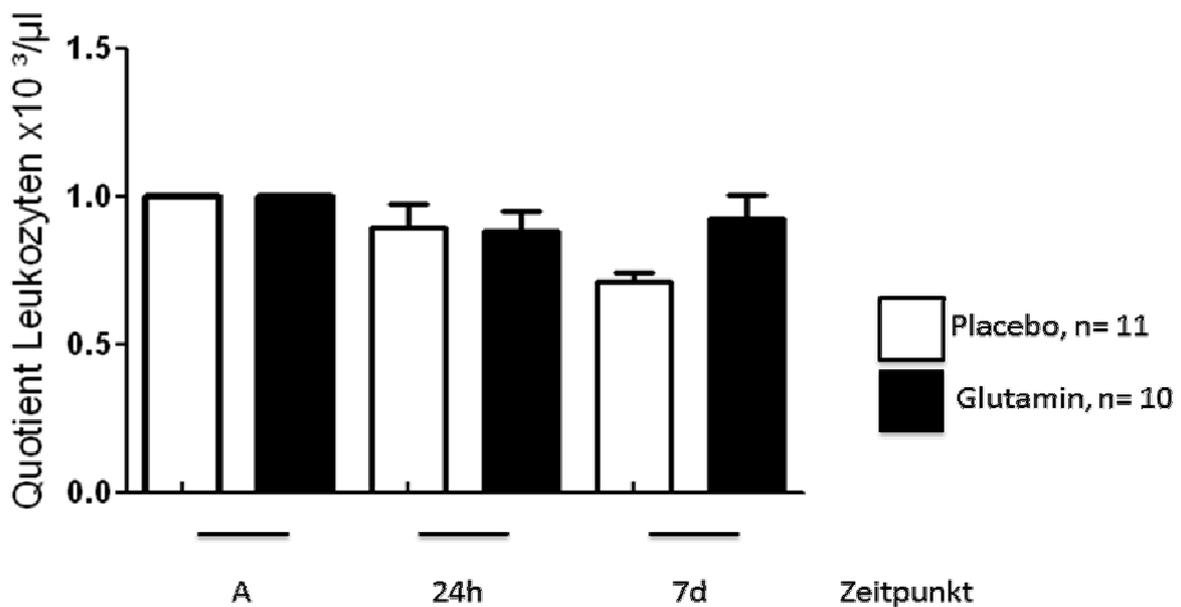


Abbildung 33 Veränderung der Leukozytenwerte der über 80-jährigen nach 24h und 7 Tagen, bezogen auf den präoperativen Wert

Wie schon in der Einleitung beschrieben geht aus zahlreichen Studien mit Glutamingabe hervor, dass ein Effekt auf das Immunsystem bzw. auf nutritive

Parameter erst nach einigen Tagen zu erzielen ist. Deswegen entschlossen wir uns die folgenden Parameter initial bei Aufnahme der Patienten und erst wieder nach sieben Tagen zu kontrollieren.

### **3.7.3 Unterschiede in der Immunglobulin A Produktion (Quotient) nach sieben tägiger Glutamingabe, im Vergleich mit Placebogabe**

Antikörper (Immunglobuline) spielen eine wichtige Rolle bei der Markierung und Beseitigung von Antigenen. In Abbildung 34 wurde der Quotient des durchschnittlichen Wertes von 18 Patienten in der Placebogruppe und 19 Patienten in der Glutamingruppe gebildet. Nun wurde speziell auf Unterschiede der Werte bei Aufnahme der Patienten und nach sieben tägiger Glutamin- bzw.- Placebogabe geachtet.

Nach sieben Tagen kommt es in der Gruppe, welche das Placebopräparat erhielt zu einer stärkeren Abnahme der Immunglobuline A, bezogen auf die jeweiligen Ausgangswerte bei Aufnahme. Somit könnte man davon ausgehen, dass durch das vermehrte Angebot an nutritivem Substrat auch eine vermehrte Produktion der Immunglobuline erreicht wird.

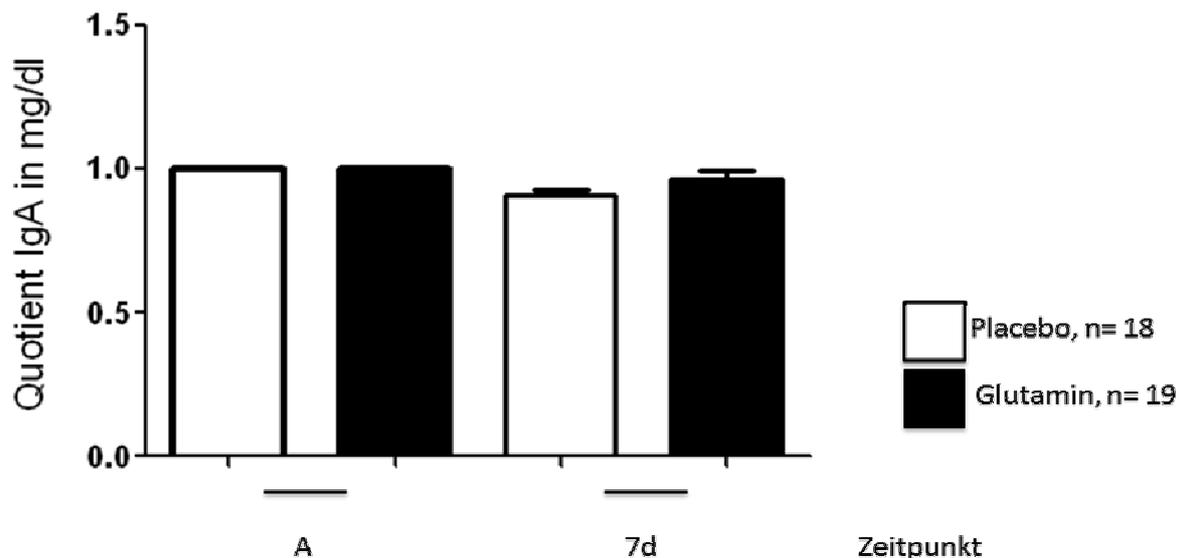


Abbildung 34 zeigt den Immunglobulin A Wert am siebten posoperativen Tag, bezogen auf den Aufnahmewert in der Placebo- und der Glutamingruppe

Im nächsten Schritt wollten wir auch isoliert die Immunglobulinproduktion der Patienten über 80 Jahre betrachten, da wir vor allem in dieser Gruppe von einem Profit ausgegangen sind.

### 3.7.4 Unterschiede in der Immunglobulin A Produktion (Quotient) nach sieben tägiger Glutamingabe, im Vergleich mit Placebogabe bei den über 80-Jährigen

In Abbildung 35 wurde der Quotient des durchschnittlichen Wertes von 10 Patienten in der Placebogruppe und 10 Patienten in der Glutamingruppe gebildet. Nun wurde auch hier auf Unterschiede der Werte bei Aufnahme der Patienten und nach sieben tägiger Glutamin- bzw.- Placebogabe geachtet.

In der Tat zeigt sich in der Abbildung 35 bei der Gruppe der über 80-Jährigen nach sieben Tagen Glutamingabe ein signifikant höheres Immunglobulin A bei den Patienten, verglichen mit der Placebogruppe. Es hat den Anschein, dass hier durch die Gabe von Glutamin als Nährstoff eine bessere Immunglobulin A Produktion möglich ist.

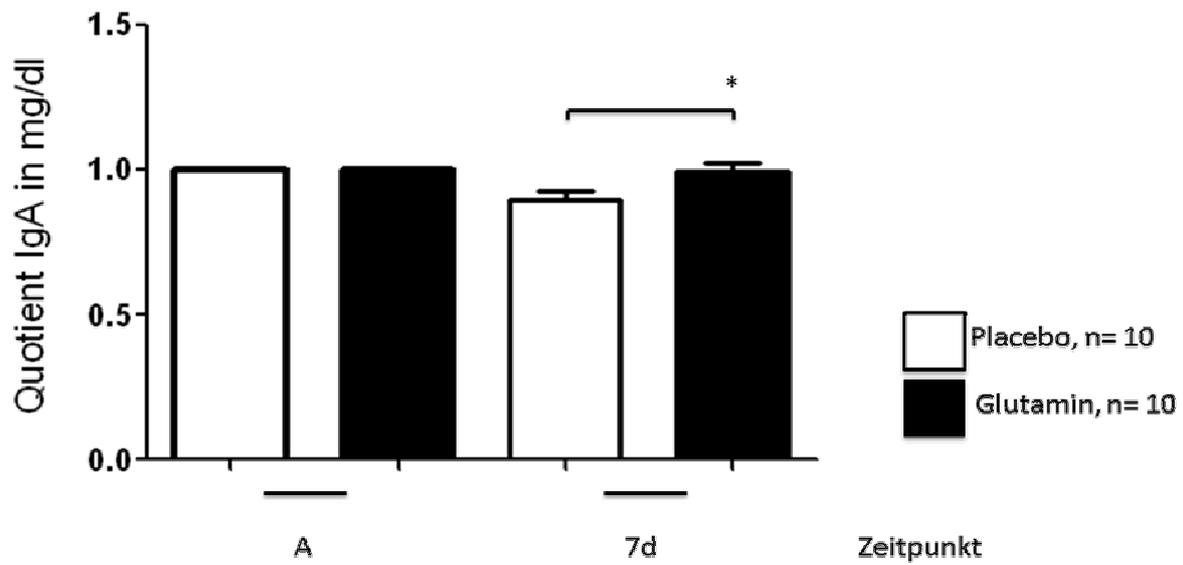


Abbildung 35 zeigt den Immunglobulin A Wert der über 80-jährigen Patienten am siebten postoperativen Tag, bezogen auf den Aufnahmewert; \*=  $p < 0,05$

Bei der Immunglobulinproduktion haben wir neben den Ig A auch die Ig G bei allen Patienten und bei den über 80-Jährigen analysiert:

### 3.7.5 Unterschiede in der Immunglobulin G Produktion (Quotient) nach sieben tägiger Glutamingabe, im Vergleich mit Placebogabe

In Abbildung 36 wurde der Quotient des durchschnittlichen Wertes von 18 Patienten in der Placebogruppe und 19 Patienten in der Glutamingruppe gebildet. Nun wurde auch hier auf Unterschiede der Werte bei Aufnahme der Patienten und nach sieben tägiger Glutamin- bzw.- Placebogabe geachtet. Sieben Tage nach operativer Versorgung der hüftgelenksnahen Fraktur zeigt sich durch die Glutamin Diät ein signifikant ( $p < 0,001$ ) höherer Immunglobulin G Spiegel, verglichen mit der

Placebogruppe. Es hat den Anschein, dass nicht nur die Immunglobulinproduktion der Ig A (Abbildung 34 und 35), sondern auch die der Ig G durch Glutamingabe gesteigert werden kann.

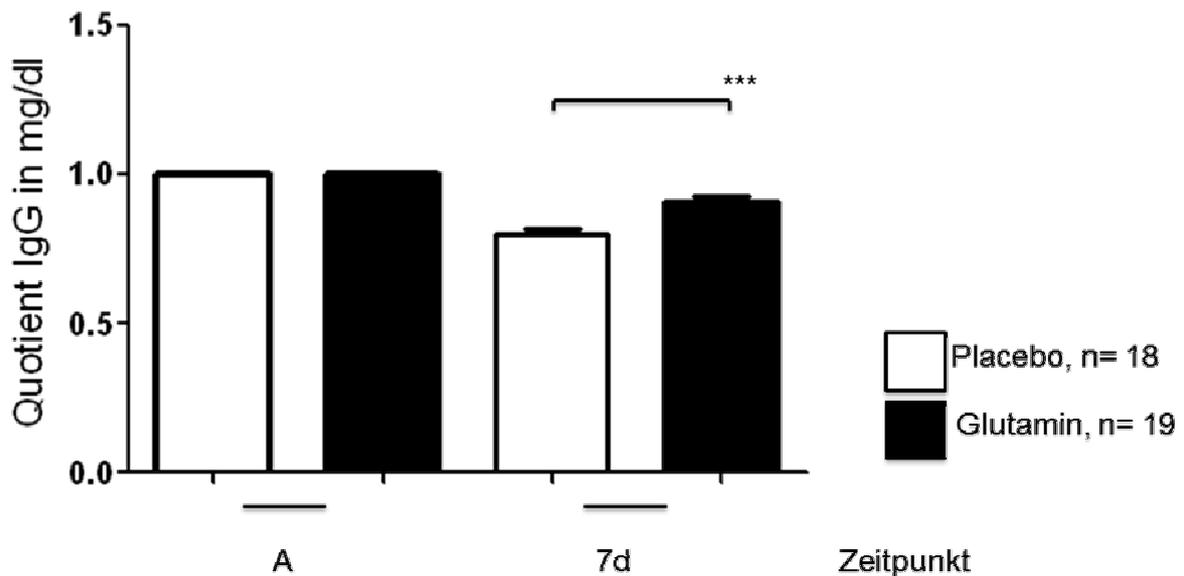


Abbildung 36 zeigt die Immunglobuline G Werte nach sieben Tagen postoperativ, verglichen mit den Werten bei Aufnahme; \*\*\*=  $p < 0,001$

Bei den Immunglobulinen G betrachteten wir die über 80-jährigen Patienten ebenfalls gesondert:

### 3.7.6 Unterschiede in der Immunglobulin G Produktion (Quotient) nach sieben tägiger Glutamingabe, im Vergleich mit Placebogabe bei den über 80-Jährigen

In Abbildung 37 wurde der Quotient des durchschnittlichen Wertes von 10 Patienten in der Placebogruppe und 10 Patienten in der Glutamingruppe gebildet. Nun wurde auch hier auf Unterschiede der Werte bei Aufnahme der Patienten und nach sieben tägiger Glutamin- bzw.- Placebogabe geachtet.

Die Immunglobuline G wurden bei Aufnahme und nach sieben Tagen bestimmt. In beiden Gruppen kam es über die sieben Tage zu einem Rückgang bei den

Immunglobulinen G. Jedoch zeigt sich bei den über 80-jährigen Patienten ein geringerer Rückgang der Immunglobuline G sieben Tage postoperativ. Dieser war jedoch nicht signifikant, sondern nur tendenziell zu sehen.

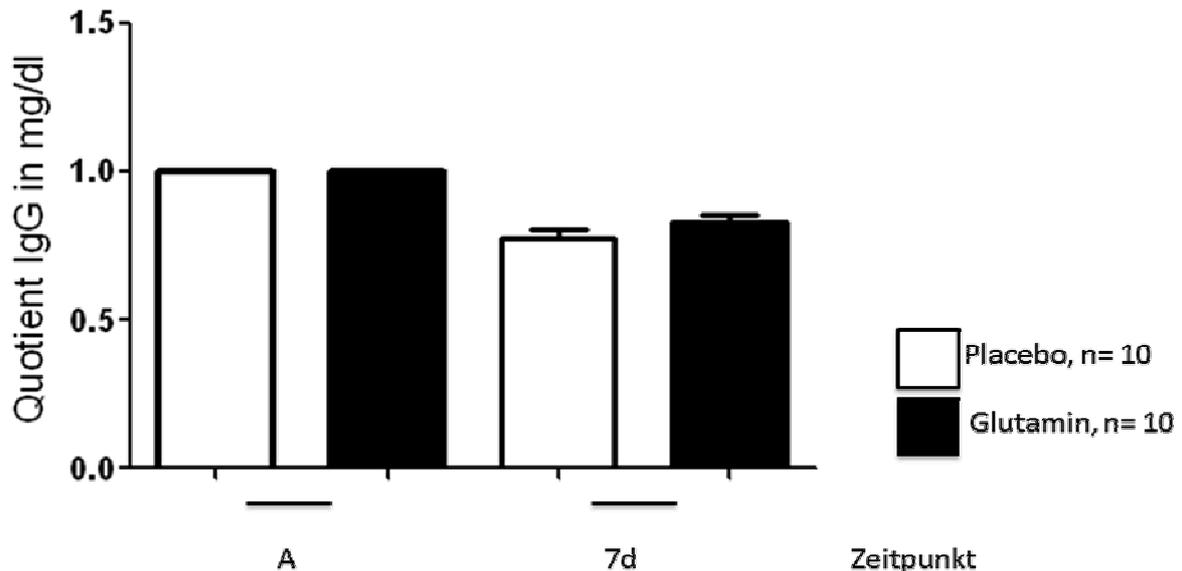


Abbildung 37 zeigt die Immunglobuline G Werte der über 80-jährigen Patienten nach sieben Tagen postoperativ, verglichen mit den Werten bei Aufnahme

Im Folgenden galt es zu überprüfen, ob auch in dieser Studie Patienten über 80 Jahre einen schlechteren nutritiven Status aufweisen verglichen mit Patienten unter 80 Jahren. Diesen nutritiven Status versuchten wir anhand von folgenden Parametern zu evaluieren: Albumin, Gesamteiweiß und dem Insulin-like Growth Faktor (IGF-1). Hier wollten wir den Einfluss durch die Gabe des Glutamins verhindern. Deshalb analysierten wir nur die bei Aufnahme ermittelten Werte.

## **3.8 Einfluss auf nutritive Parameter**

### **3.8.1 Vergleich der bei Aufnahme erhobenen nutritiven Parameter (Albumin, Gesamteiweiß, IGF-1) zwischen Patienten unter 80 Jahren und Patienten über 80 Jahren**

In Abbildung 38 werden die Verhältnisse der nutritiven Parameter, welche bei Patientenaufnahme erhoben worden sind, zwischen Patienten unter 80 Jahren (weißer Graph) und Patienten über 80 Jahren (schwarzer Graph) dargestellt. Links oben beginnend erkennt man den Mittelwert des Albumins bei 14 Patienten unter 80 Jahren und 23 Patienten über 80 Jahren. Es zeigt sich in der Tendenz ein erhöhter Albuminwert bei den unter 80-Jährigen. Rechts oben in Abbildung 38 wurde das Gesamteiweiß zwischen den beiden Gruppen verglichen: Auch hier lässt sich erkennen, dass die jüngeren Patienten einen höheren Gesamteiweißwert aufzeigen. In Abbildung 38 ist der IGF-1 dargestellt. Hier zeigt sich im Vergleich der höhere Wert bei den unter 80-Jährigen. Die oben beschriebenen Werte zeigen aufgrund der geringen Patientenzahl leider keine signifikanten Unterschiede. Jedoch zeigen sich alle hier bestimmten nutritiven Parameter (Albumin, Gesamteiweiß und IGF-1) bei den unter 80-Jährigen erhöht bzw. bei den über 80-Jährigen erniedrigt. Dies könnte ein Hinweis auf bestehende Mangelernährung sein.

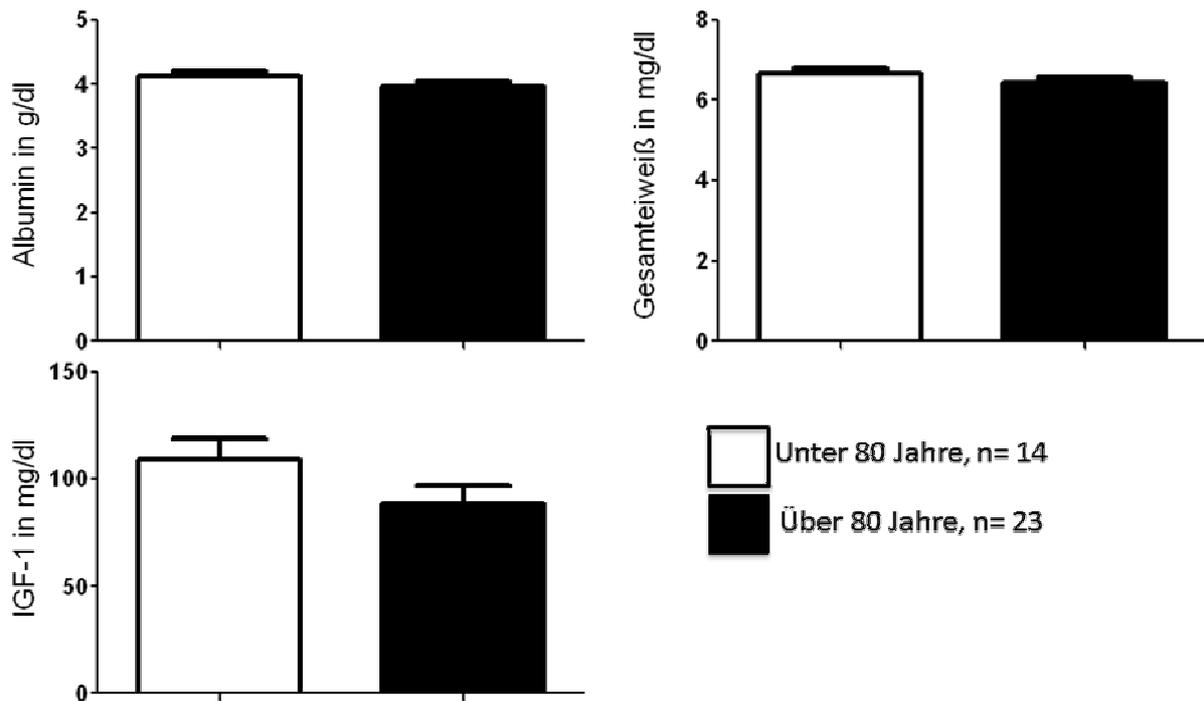


Abbildung 38 Nutritive Parameter der präoperativen Abnahme, im Vergleich die unter 80-Jährigen mit den über 80-Jährigen. Oben links: durchschnittlicher Albuminwert ,oben rechts durchschnittlicher Gesamteiweißwert, unten: durchschnittlicher Wert des IGF-1

In Abbildung 38 zeigt sich bei dem IGF-1 die tendenziell größte Differenz zwischen den unter- und den über 80-Jährigen. Deshalb haben wir uns dazu entschlossen den Einfluss von Glutamin bei diesem nutritiven Parameter unter verschiedenen Aspekten genauer zu untersuchen.

### 3.8.2 Einfluss durch die sieben tägige Glutamingabe auf den IGF-1, im Vergleich zu der Placebogruppe

In der folgenden Abbildung 39 sieht man den Einfluss von Glutamin auf diesen nutritiven Parameter nach sieben Tagen; wieder als Quotient dargestellt. Wir haben den IGF-1 Wert bei 18 Patienten aus der Placebogruppe und bei 19 Patienten aus der Glutamingruppe ermittelt. Im Vergleich mit der Darstellung der Immunparameter aus Abbildung 32 bis 37 zeigt sich in beiden Gruppen ein Rückgang des IGF-1.

Jedoch ließ sich scheinbar durch die Gabe von Glutamin ein in der Tendenz geringerer Rückgang des Insulinähnlichen Wachstumsfaktors, verglichen mit der Placebogruppe, erreichen.

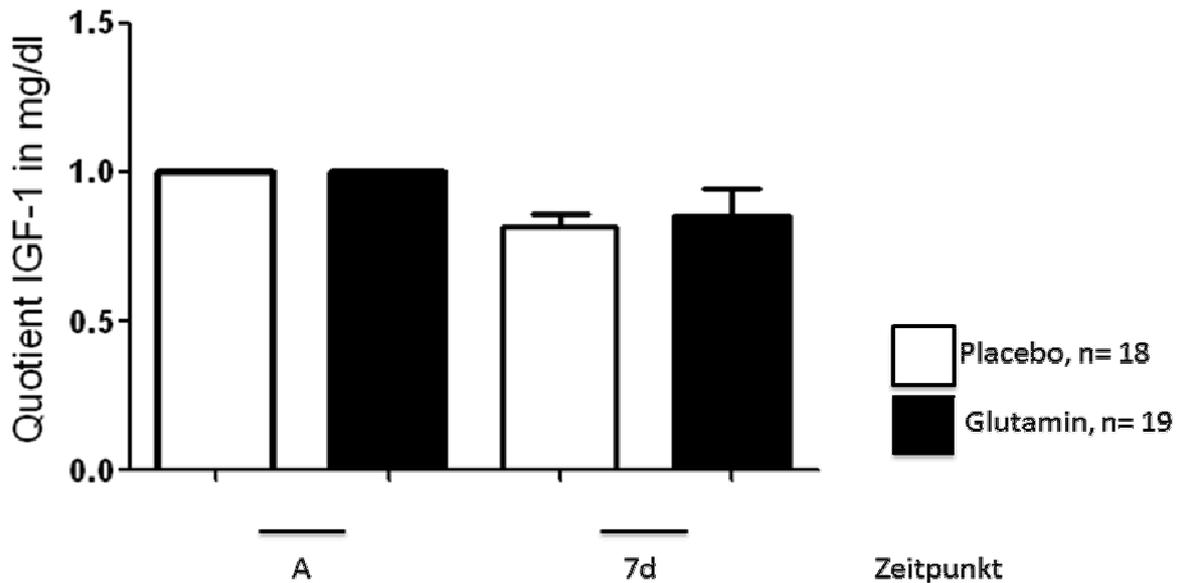


Abbildung 39 zeigt den Wert des Insulinähnlichen Wachstumsfaktors 1 sieben Tage nach der Operation, bezogen auf den präoperativen Wert bei Aufnahme.

Interessant war die Betrachtung des Insulin-like Growth Faktors vor allem bei den über 80-jährigen Patienten.

Bezüglich des IGF-1 ließ sich bei den über 80-jährigen Patienten folgende Aussage treffen:

### 3.8.3 Einfluss bei den über 80-Jährigen durch die sieben tägige Glutamingabe auf den IGF-1, im Vergleich zu der Placebogruppe

In der folgenden Abbildung 40 sieht man den Einfluss bei den über 80-Jährigen von Glutamin auf IGF-1 nach sieben Tagen; wieder als Quotient dargestellt. Der IGF-1 Wert wurde bei 11 Patienten aus der Placebogruppe und 10 Patienten aus der Glutamingruppe gebildet.

Wie schon bei dem gesamten Patientenkollektiv ist nach sieben Tagen ein Rückgang in beiden Gruppen zu verzeichnen. Bei den über 80-jährigen Patienten, welche das Glutaminpräparat einnahmen zeigte sich jedoch erneut ein höherer IGF-1 Wert am siebten Tag im Vergleich zur Placebo.

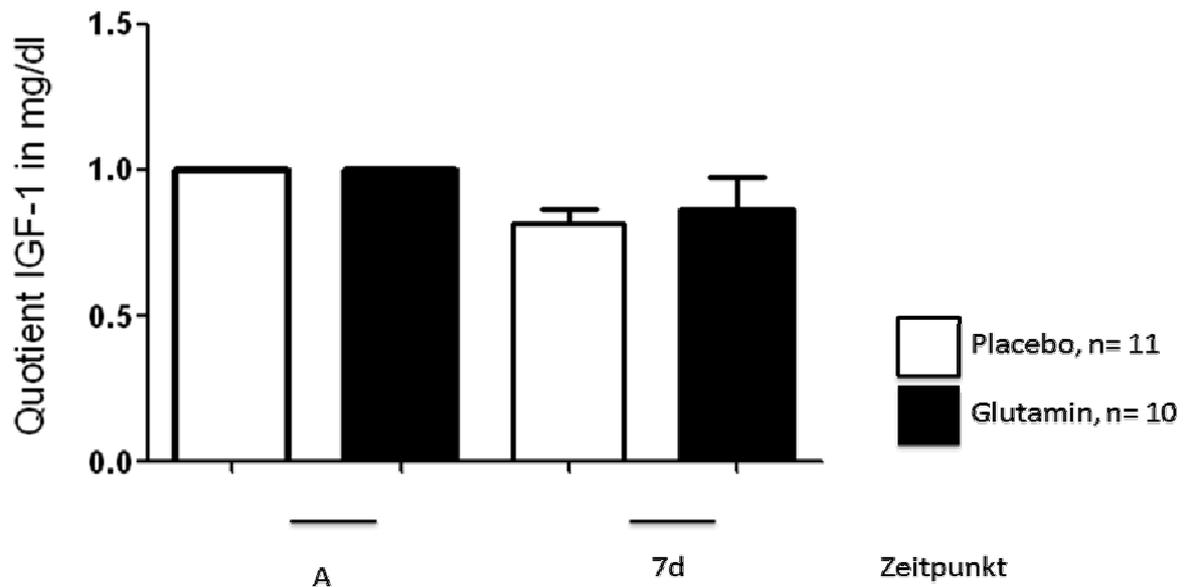


Abbildung 40 zeigt den Wert des Insulinähnlichen Wachstumsfaktors 1 bei den über 80-jährigen Patienten sieben Tage nach der Operation, bezogen auf den präoperativen Wert bei Aufnahme.

Ein weiterer wichtiger Indikator bezogen auf die Ernährung ist der Body Mass Index (BMI) eines Patienten. In unserer Studie durften aufgrund der Ausschlusskriterien keine untergewichtigen Patienten mit einem BMI unter 18 eingeschlossen werden. Wir versuchten trotzdem, unter den eingeschlossenen Patienten, diejenigen mit einem niedrigeren BMI herauszufiltern, um ein mögliches Profitieren durch die Glutamingabe darzustellen.

### **3.8.4 IGF-1 bei Patienten mit einem BMI < 22**

Im Folgenden untersuchten wir mit Hilfe des Body Mass Index (BMI) Patienten mit einem BMI <22 unter der Annahme, dass diese am unteren Normbereich des BMI liegenden Patienten ebenfalls einen schlechteren nutritiven Status haben als Patienten mit höheren BMI Werten und somit entscheidend von einer Glutaminsubstitution profitieren würden. Der durchschnittliche BMI war in der Placebogruppe 19,7 kg/m<sup>2</sup>. In der Glutamingruppe lag der durchschnittliche BMI bei 20,1 kg/m<sup>2</sup>.

In Abbildung 41 sind nur Patienten mit einem BMI unter 22 aufgeführt. Der IGF-1 Wert wurde bei 7 Patienten aus der Placebogruppe und 5 Patienten aus der Glutamingruppe gebildet. Bei der Gruppe, welche das Placebopräparat erhielt kam es wie auch bei dem gesamten Patientenkollektiv (s. Abb. 39) zu einem Rückgang des Insulin-like Growth Faktors.

Dahingegen erkennt man bei der Glutamingruppe am siebten postoperativen Tag sogar einen Anstieg des IGF-1 bezogen auf den Wert bei Aufnahme.

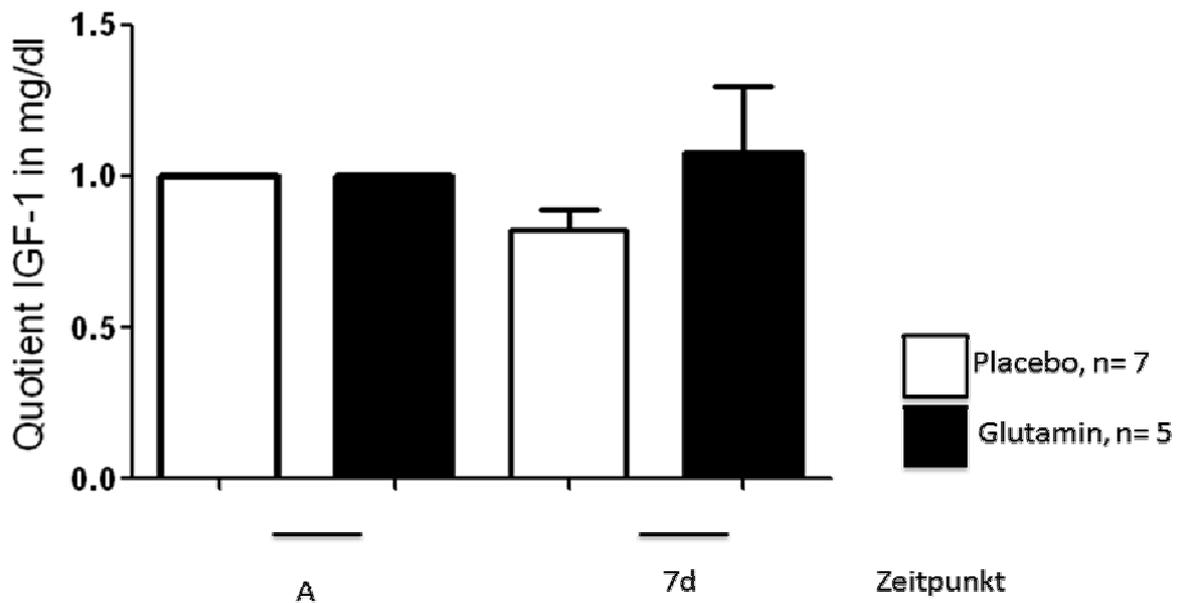


Abbildung 41 zeigt den Wert des Insulinähnlichen Wachstumsfaktors 1 bei den Patienten mit einem BMI unter 22 sieben Tage nach der Operation, bezogen auf den präoperativen Wert bei Aufnahme.

Ein wesentlicher Aspekt für die zukünftige Anwendung von Glutamin im stationären Alltag war die mögliche Kostenoptimierung die u.a. auch durch eine kürzere Aufenthaltsdauer zu erreichen ist.

### 3.9 Aufenthaltsdauer

#### 3.9.1 Unterschiede bei der Aufenthaltsdauer zwischen der Placebo- und Glutamingruppe

In Abbildung 42 wird die Aufenthaltsdauer des gesamten Patientenkollektivs dargestellt. Bei der Placebogruppe wurde von insgesamt 18 Patienten die durchschnittliche Krankenhausverweildauer errechnet. In dem Patientenkollektiv, welche das Glutamin erhielt aus 19 Patienten.

Die durchschnittliche Aufenthaltsdauer aller Patienten betrug in der Placebogruppe 14 Tage. In der Glutamingruppe dem hingegen nur 13 Tage. Damit ergibt sich

insgesamt eine Reduktion der Aufenthaltsdauer von einem Tag durch die Gabe von Glutamin. Die dargestellten Werte sind jedoch aufgrund der geringen Patientenzahl nicht signifikant ( $p= 0,8561$ ) und nur als eine Tendenz zu interpretieren.

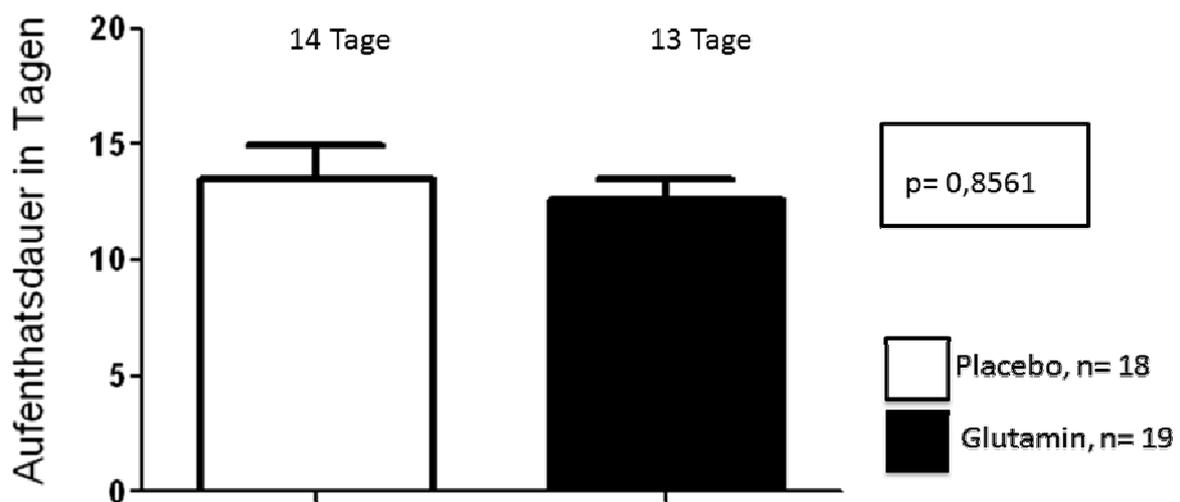


Abbildung 42 zeigt die Aufenthaltsdauer aller Patienten in graphischer Form, weiß: Placebogruppe, schwarz: Glutamingruppe

Bezogen auf das entscheidende Kriterium der Aufenthaltsdauer war es uns nun wichtig noch einmal gesondert das Patientenkollektiv zu betrachten, welches laut Literatur am ehesten von einer Glutamingabe profitieren sollte: Die Patienten über 80 Jahre wurden gesondert graphisch dargestellt.

### 3.9.2 Unterschiede bei der Aufenthaltsdauer zwischen der Placebo- und Glutamingruppe der über 80-Jährigen

In Abbildung 43 wird die Aufenthaltsdauer der Patienten über 80 Jahre dargestellt. Bei der Placebogruppe wurde von insgesamt 11 Patienten die durchschnittliche Krankenhausverweildauer errechnet. In dem Patientenkollektiv, welche das Glutamin erhielt aus 12 Patienten. Die durchschnittliche Aufenthaltsdauer aller Patienten betrug in der Placebogruppe 16 Tage. In der Glutamingruppe dem hingegen nur 13

Tage. Damit ergibt sich insgesamt eine Reduktion der Aufenthaltsdauer von drei Tagen durch die Gabe von Glutamin. Hier zeigen sich die dargestellten Werte aufgrund des zu kleinen Patientenkollektiv nicht signifikant ( $p=0,221$ ) und sind als Tendenz zu interpretieren.

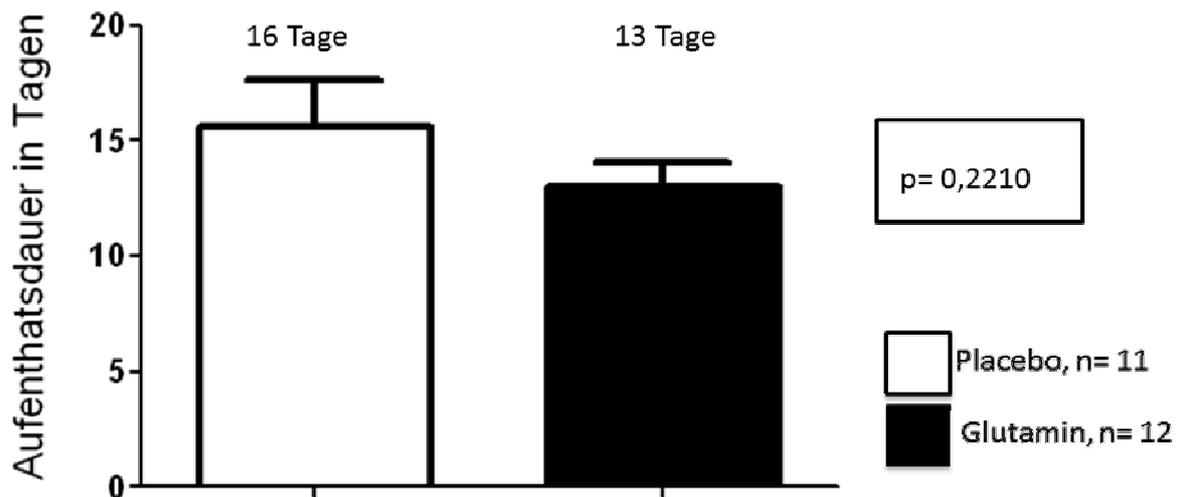


Abbildung 43 zeigt die Aufenthaltsdauer der über 80-jährigen Patienten in graphischer Form, weiß: Placebogruppe, schwarz: Glutamingruppe

In den vorherigen Abbildungen verdeutlicht sich, dass die über 80-jährigen Patienten am meisten von einer Glutaminsubstitution profitieren.

Um eine mögliche Langzeitwirkung bei dieser Altersgruppe durch die Gabe von Glutamin zu erfassen wurden ca. 1,5 Jahre nach Entlassung eine telefonische Nachkontrolle bei den Patienten durchgeführt.

### **3.10 Telefonische Nachkontrolle der über 80-jährigen Patienten:**

Insgesamt wurde versucht bei 11 Patienten aus der Placebogruppe und bei 12 Patienten aus der Glutamingruppe (alle über 80-Jährigen aus den jeweiligen Gruppen) eine telefonische Befragung durchzuführen. Die telefonische Befragung zielte vor allem auf den Aktivitätszustand bzw. auf die autonome Versorgung, sowie auf die 1,5-Jahres Mortalität ab. Diese Daten wurden unter Verwendung des Barthel Index, vorgefallener Komplikationen und einem möglichen Gewichtsverlust- bzw. zunahme erhoben. In beiden Gruppen konnten vier Patienten nicht mehr telefonisch kontaktiert werden, da die angegebenen Telefonnummern keine Gültigkeit mehr aufwiesen. Folgende Ergebnisse waren zu erheben:

#### **3.10.1 Telefonische Nachkontrolle der über 80-Jährigen in der Placebogruppe**

In der Placebogruppe (Abbildung 44) konnten insgesamt 7 Patienten bzw. Ehepartner telefonisch kontaktiert werden. Patientin SHF 6 wurde am 3.4.2009 in die Rehaklinik entlassen und verstarb am 15. Juni 2009 im Alter von 87 Jahren an einer Pneumonie. Vor dem Trauma hatte die Patientin einen Barthelindex von 85 Punkten. Patient SHF 37 wurde am 11.3.2010 in die Rehaklinik entlassen und verstarb am 9.12.2010 im Alter von 86 Jahren an einer respiratorischen Insuffizienz nach langjähriger chronisch obstruktiver Lungenerkrankung. Der Patient mit der SHF 34 konnte telefonisch kontaktiert werden, wollte jedoch keine Angaben zur eigenen Person machen.

Bei den restlichen 4 Patienten gab es eine Abnahme im Barthel Index von durchschnittlich 5 Punkten und einen Gewichtsverlust von durchschnittlich 0,75 Kg.

In dieser Gruppe entwickelte ein Patient eine Komplikation in Form eines Dekubitus an der Ferse. Die 1,5- Jahresmortalität in dieser Gruppe betrug 28 Prozent.

<b>Placebo &gt;80 J.</b>	<b>Barthel Index vor dem Unfall</b>	<b>Barthel Index nach dem Unfall</b>	<b>Gewicht vor dem Trauma/ Kg</b>	<b>Gewicht nach dem Trauma/ Kg</b>
<b>SHF4</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>42</b>	<b>40</b>
<b>SHF6</b>	<b>85</b>	<b>verstorben Mitte Juni 2009 an Pneumonie</b>		
SHF8	95	nicht telefonisch erreichbar		
SHF14	90	nicht telefonisch erreichbar		
SHF17	90	nicht telefonisch erreichbar		
<b>SHF22</b>	<b>95</b>	<b>85</b>	<b>45</b>	<b>45</b>
SHF26	80	nicht telefonisch erreichbar		
<b>SHF28</b>	<b>95</b>	<b>85</b>	<b>80</b>	<b>85</b>
<b>SHF34</b>	<b>100</b>	<b>lebt, will keine Angaben machen</b>		
SHF37	95	<b>verstorben am 9.12.10 aufgrund von Atemnot nach langjähriger COPD</b>		
<b>SHF39</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>78</b>	<b>78</b>

Abbildung 44 Daten der telefonischen Nachkontrolle bei den Patienten über 80 Jahren in der Placebogruppe

### 3.10.2 Telefonische Nachkontrolle der über 80-Jährigen in der Glutamingruppe

In der Glutamingruppe (Abbildung 45) konnten insgesamt 8 Patienten telefonisch kontaktiert werden. Patientin SHF 27 wurde am 18.09.2009 in die Rehaklinik entlassen und verstarb am 5. Juni 2011 im Alter von 89 Jahren an einer Pneumonie. Vor dem Trauma hatte die Patientin einen Barthelindex von 75 Punkten. Bei den restlichen 7 Patienten gab es eine Abnahme im Barthel Index von durchschnittlich 16 Punkten und einen Gewichtsverlust von durchschnittlich 0,33 Kg. In dieser Gruppe entwickelte ein Patient eine Komplikation ebenfalls in Form eines Dekubitus an der Ferse. Die 1,5- Jahresmortalität in dieser Gruppe betrug 12,5 Prozent.

Glutamin >80 J.	Barthel Index vor dem Unfall	nach dem Unfall	Gewicht vor dem Unfall/ Kg	Gewicht nach dem Unfall/ Kg
SHF2	50	nicht telefonisch erreichbar		
SHF7	100	90	54	57
SHF12	90	nicht telefonisch erreichbar		
SHF15	100	100	53	54
SHF16	100	85	70	68
SHF20	95	100	73	73
SHF21	40	10	57	keine Angabe
SHF25	45	35	60	60
SHF27	75	verstorben am 5. Februar 2011 an Pneumonie		
SHF29	70	nicht telefonisch erreichbar		
SHF31	45	nicht telefonisch erreichbar		
SHF40	100	45	70	70

Abbildung 45 Daten der telefonischen Nachkontrolle bei den Patienten über 80 Jahren in der Glutamingruppe

## **4. Diskussion**

### **4.1 Alterstraumatologie**

In Deutschland wird es laut statistischem Bundesamt in den nächsten Jahrzehnten zu einem Anstieg von 20 % auf 34% der über 65-jährigen an der Gesamtbevölkerung kommen. Damit erlangt auch die Alterstraumatologie in den kommenden Jahren immer mehr an Bedeutung. Mit der Alterstraumatologie steigen auch wiederum die speziell in dieser Fachrichtung auftretenden Probleme wie die schlechte Rehabilitation, Genese und die damit verbundene Mortalität nach einem Trauma an. Einige Gründe für diese Probleme stellen die Malnutrition, das verschlechterte Immunsystem und der im Alter vermehrt auftretende oxidative Stress dar. Hier gilt es adäquate Behandlungsmöglichkeiten zu definieren und mögliche Behandlungsansätze zu erforschen.

### **4.2 Oxidativer Stress**

#### **4.2.1 Superoxiddismutase-1 und pNRF2**

Bei den Patienten mit den hüftgelenksnahen Frakturen (Durchschnittsalter: 82 Jahre) zeigte sich in beiden Gruppen ein postoperativer Anstieg der antioxidativen Parameter SOD-1 und pNRF2 und damit die entstandene Entzündungsreaktion. Im Gegensatz hierzu kam es bei den jungen Patienten (Durchschnittsalter:< 30 Jahre) mit einem adäquatem Trauma, welche ebenfalls operativ versorgt werden mussten,

postoperativ, bei Betrachtung des Quotienten zu keinem wesentlichen Anstieg dieser antioxidativen Parameter und somit zu keiner signifikant verstärkten Expression von SOD-1 und pNRF2. Hier ist davon auszugehen, dass bei jüngeren Patienten andere kompensatorische Mechanismen bestehen, um der Entzündung und dem oxidativen Stress entgegenzuwirken oder so scheint es in diversen anderen Studien, dass bei jungen Patienten erst gar keine schwerwiegende systemische Entzündung entsteht. In der hier durchgeführten Studie macht es den Eindruck, dass ältere Patienten bei der Kontrolle einer systemischen Entzündung Defizite aufweisen. In einem Experiment wurde älteren Patienten mit einem Durchschnittsalter von 66 Jahren und jungen Probanden mit einem Durchschnittsalter von 24 Jahren intravenös ein Endotoxin injiziert. Es konnte gezeigt werden, dass ein hohes Alter mit einer prolongierten Akuten Phase Antwort, einer verlängerten systemischen Entzündung und länger anhaltendem Fieber assoziiert ist(54). In einer weiteren Studie wurden bei 22 Patienten verschiedenen Alters mit einer Pneumokokkeninfektion die Entzündungsparameter, wie z.B. TNF-alpha bestimmt. Der Tumornekrosefaktor war in der Gruppe der älteren Patienten (68-91 Jahre) nach einer Woche signifikant höher ( $p < 0,5$ ) als in der Gruppe mit den jüngeren Patienten (37-55 Jahre)(20). Präoperativ zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen jungen und alten Patienten mit einem Trauma. Erst postoperativ steigt bei Betrachtung des Quotienten die Expression von pNRF2 und SOD-1 bei älteren Patienten stärker an. Bei den jüngeren Patienten steigen die antioxidativen Enzyme lediglich geringfügig an, während sie bei Älteren persistieren.

Insgesamt betrachtet ist die Expression der antioxidativen Parameter SOD-1, pNRF2 nach einem Trauma im Vergleich zu gesunden Probanden gesteigert. Anders verhält es sich mit der Expression der Hämoxxygenase-1.

#### 4.2.2 Hämoxxygenase-1

Die Expression der Hämoxxygenase-1 ist bei den jungen gesunden Probanden (keine Fraktur, Durchschnittsalter: 26 Jahre) signifikant höher im Vergleich zu den alten gesunden Probanden und auch verglichen mit den Patienten nach einer Fraktur bzw. deren operativer Versorgung erhöht. In einem Tierexperiment mit Ratten wurde die Hämoxxygenase-1 Expression nach einer künstlich induzierten Hypoxie untersucht. Es wurde speziell auf altersbezogene Unterschiede bei der HO-1 Expression geachtet. Bei jungen Mäusen (3 Monate alt) konnte eine stärkere Hypoxie induzierte HO-1 Expression im Vergleich mit älteren Mäusen (24 Monate alt) gezeigt werden(29). Schon vor dem Sauerstoffabfall zeigte sich bei den jüngeren Ratten eine höhere HO-1 Expression. Als eine mögliche Ursache für die defizitäre Expression wird eine verschlechterte Funktion der Chemosensoren, welche den Sauerstoffabfall in den Aa. carotides messen, mit zunehmendem Alter genannt.

Betrachtet man die HO-1 Expression in unserer Studie bei Gesunden und Patienten nach einer Fraktur so hat es den Anschein, dass es bei den jungen Patienten zu einem Abfall der HO-1 Expression durch das Trauma kommt. Hier ist davon auszugehen, dass wir eventuell den Zeitpunkt des Anstiegs der HO-1 Expression verpasst haben und bei jungen Patienten bei Aufnahme im Krankenhaus bereits eine Normalisierung der Werte stattgefunden hat.

Auf die Expression von HO-1 scheint Glutamin nur eine geringe Wirkung zu haben, so zeigt sich nur eine minimale Steigerung der HO-1 Expression nach 7 Tage Glutamingabe. Auf die Expression des Transkriptionsfaktors pNRF2 wird durch die Glutamingabe ebenfalls kein Einfluss genommen. Es kommt in beiden Gruppen zu

einer kontinuierlich verstärkten Expression bis zu ungefähr 24h nach der Operation, um dann bis zum siebten Tag wieder abzunehmen.

#### **4.2.3 Defizit in der Hämoxygenase-1 Expression bei älteren Patienten**

In dieser Studie ist eine Diskrepanz zwischen der pNRF2 Expression und der Expression der Hämoxygenase-1 bei den älteren Patienten aufgefallen. So ist es über die sieben Tage nicht wie in der Literatur beschrieben(2) durch die vermehrte pNRF2 Expression zu einer gesteigerten HO-1 Expression gekommen. Das Maximum der HO-1 Expression haben wir nach 12 bis 24 Stunden erwartet, dieses Zeitfenster bestätigte sich auch in einer anderen Studie, in der humane Monozyten über einen bestimmten Zeitraum mit LPS aus E. coli stimuliert und die HO-1 Expression mittels Western Blot gemessen wurde. Hier zeigte sich ein Maximum an Expression 12 bis 24 Stunden nach Stimulation(87).

In unserer Studie kam es zwar zu einer vermehrten pNRF2 Expression bei den älteren Patienten, jedoch nicht zur vermehrten HO-1 Expression nach 24 Stunden. Deshalb kann man auch eine mögliche Fehlfunktion bei zunehmendem Alter in diesem Aktivierungsweg in Betracht ziehen. Diese Hypothese wird durch eine Studie mit Mäusen bekräftigt: Hier konnte gezeigt werden, dass bei älteren Mäusen nach einer künstlich erzeugten Ischämie in der Niere die Induktion der Hämoxygenase-1 verglichen mit jüngeren Mäusen reduziert war(34). In einer weiteren Studie wurde bei Mäusen unterschiedlichen Alters versucht durch die Stimulation mittels des bakteriellen Endotoxins Lipopolysaccharid eine verstärkte HO-1 Expression zu erzeugen. Hier wiesen die älteren Mäusen Defizite bei der Induktion auf. So kam es z.B. in Alveolarmakrophagen zu keiner Hochregulation der Hämoxygenase-1 bei 86-

96 Wochen alten Mäusen; bei 22 Wochen alten Mäusen hingegen schon(47). Es ist sinnvoll in Folgestudien mögliche Defizite bei älteren Menschen genauer zu untersuchen. Unsere Studie suggeriert u.a., dass der vermehrt anfallende oxidative Stress durch die Zellen via Rezeptoren registriert wird, es jedoch einen Fehler in der Signalkaskade nach der pNRF2 Induktion zu geben scheint und somit eine adäquate HO-1 Induktion verhindert wird. Hierzu passend ist, dass bei den jungen Patienten mit einer Fraktur, bei Betrachtung der Quotienten, trotz geringerer pNRF2 Expression im Vergleich zu den älteren Patienten eine vergleichbare HO-1 Expression erzielt wird.

### **4.3 Immunsystem**

Wie schon in der Literatur beschrieben deuten unsere Ergebnisse darauf hin, dass die Produktion der Leukozyten durch die Gabe von Glutamin gesteigert und ebenfalls die Anfälligkeit gegenüber Entzündungsmediatoren scheinbar verringert wird(71). Die Immunglobulinproduktion konnte durch die Supplementation gesteigert werden. Es zeigt sich eine signifikant gesteigerte Produktion bzw. ein signifikant geringerer Rückgang der Immunglobuline A und G sieben Tage nach der Glutamingabe. Dies konnte auch in anderen Studien gezeigt werden(56,106). Durch die verbesserte Bereitstellung von Energien wird das Immunsystem der Patienten effizienter und Infektionen könnten schneller bekämpft oder verhindert werden. Jedoch zeigte sich in dieser Studie bezüglich der Komplikationen aufgrund des geringen Patientenkollektivs innerhalb von sieben Tagen kein signifikanter Einfluss. Somit kann keine eindeutige Aussage über die Verhinderung von Komplikationen durch die Glutamingabe getroffen werden. In der Glutamingruppe kam es innerhalb von sieben Tagen zu vier Komplikationen, verglichen zu drei Komplikationen in der Placebogruppe. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass durch die orale

Glutamingabe keine kurzfristige Verbesserung des klinischen Outcomes erreicht werden kann, sondern ein Effekt erst nach einer längeren Glutamingabe und eines längeren Beobachtungszeitraumes ersichtlich wird. Dies konnte auch in anderen klinischen Studien dargestellt werden: Wischmeyer et al.(112) zeigten in einer doppelt verblindeten Placebo kontrollierten Studie bei 31 Patienten mit schweren Verbrennungen einen signifikanten Rückgang des C-reaktiven Proteins nach 14-tägiger Glutamingabe. In einer weiteren prospektiven Placebo kontrollierten Studie wurden 30 Patienten mit einem Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) eingeschlossen und in die Placebo- oder Glutamingruppe aufgeteilt(23). Durch eine 6-tägige Glutamingabe kam es zu keiner signifikanten Reduktion des C-reaktiven Proteins. Das C-reaktive Protein, in der Klinik der wichtigste Parameter für entzündliche Prozesse im Körper, konnte bei unserer Studie in der Glutamingruppe nach 6 Tagen im Vergleich zur Placebogruppe ebenfalls nicht stärker gesenkt werden. Die Unterschiede können auf die geringere Dauer der Glutamingabe (7 vs. 14 Tage) zurückzuführen sein. So sollte man in Zukunft eine Glutamingabe über mindestens 14 Tage anstreben und auch den Beobachtungszeitraum anpassen, um die Langezeitwirkung besser einschätzen zu können. Betrachtet man bei unserer Studie den Barthel Index zwischen den beiden Gruppen (82 in der Glutamingruppe vs. 95 in der Placebogruppe) so scheint es, dass die Glutamingruppe schon vor der hüftgelenksnahen Fraktur in einer schlechteren körperlichen Verfassung war. Dies könnte auch einen negativen Einfluss auf die Immunabwehr und damit auf den antiinflammatorischen Prozess haben.

#### **4.4 Insulin-like-Growth Faktor-1**

Der Insulin-like-Growth Faktor-1 stimuliert den Aufbau von Knochen- und Muskelmasse. Somit ist er nach einer Fraktur in der Phase der Rehabilitation von

enormer Bedeutung. Neben der geringeren Knochen- und Muskelmasse ist ein niedriger IGF-1 Spiegel mit einer schlechteren physikalischen Fitness und einer herabgesetzten Immunfunktion assoziiert(108).

Durch die 7 tägige Gabe von Glutamin konnte bei unserer Studie in der Tendenz der IGF-1 Wert in allen Gruppen gesteigert werden (um 4% bei allen Patienten, welchen das Glutamin substituiert wurde und sogar 5% in der Gruppe der über 80-Jährigen, verglichen mit den jeweiligen Placebogruppen). Eine deutliche Steigerung des IGF-1 ließ sich bei den Patienten mit einem Body Mass Index unter 22 erzielen. Hier betrug die Steigerung durch die sieben tägige Glutamingabe verglichen mit der Placebogruppe 26 %. Dies verdeutlicht wiederum, dass Patienten mit einem niedrigen Body Mass Index am ehesten von der Glutaminsubstitution profitieren. Ein niedriger Body Mass Index besteht gehäuft bei älteren Patienten aufgrund der verminderten Nahrungsaufnahme, der vermehrt vorkommenden Krankheiten und der damit verbundenen Appetitlosigkeit.

#### **4.5 Patienten über 80 Jahre**

Die älteren Patienten sind aufgrund ihres meist schlechten nutritiven Status, der reduzierten körperlichen Fitness und einer schlechteren Koordination gefährdeter für Frakturen. Zum Beispiel steigt in Deutschland die Inzidenz der proximalen Femurfraktur mit zunehmenden Alter mit einem Maximum von über 3000 Fällen um das 82 Lebensjahr: So beträgt die Inzidenz bei einem Alter zwischen 60 und 64 Jahren 0,06 %, während im Alter von 65 bis 74 Jahren die Inzidenz auf 0,11 % steigt. Am höchsten ist die Inzidenz jedoch bei den ca. 80-Jährigen mit 0,49 % bei den 75-84 Jährigen und 1,32 % bei den über 85 Jährigen(58). In den USA zeigen sich die extremen Unterschiede bei den Behandlungskosten bezogen auf das jeweilige Alter:

So betragen die durchschnittlichen Kosten für die proximale Femurfraktur eines 50-Jährigen 5200 \$ (4073 €) und die eines 90-Jährigen 14.000 \$ (10.966 €)(107).

In den Industrienationen kommt es zu einem kontinuierlichen Anstieg der Personen über 65 Jahre. Demografen sagen vorher, dass in Nordamerika oder Europa im nächsten Jahrzehnt die Gruppe der Personen im Alter über 80 Jahre am schnellsten wachsen wird(46). Dies bedeutet, dass geriatrische Patienten einen immer größeren Anteil der Patienten darstellen.

Die höheren Behandlungskosten haben u.a. mit der verlängerten Liegedauer der Patienten zu tun. Die verlängerte Liegedauer ist u.a. auf die verringerte Immunantwort und die verminderte Kapazität (antioxidative Enzyme) gegenüber oxidativem Stress zurückzuführen. Und die wiederum hat u.a. mit dem schlechteren Ernährungszustand im hohen Alter zu tun.

Je älter die Patienten werden, desto schlechter ist der nutritive Status und desto geringer fällt die Substratbereitstellung für die Proliferation immunkompetenter Zellen und antioxidativer Enzyme aus.

Aufgrund der Annahme, dass der Ernährungsstatus sich proportional zu dem Alter verschlechtert und den Daten in der Literatur kann man davon ausgehen, dass Patienten über 80 Jahre am ehesten von einer Glutaminsupplementierung profitieren würden.

Nach Durchsicht dieser Daten und Thesen, sowie dem möglichen, enormen Einsparungspotenzial bei den Behandlungskosten, untersuchten wir die über 80-jährigen Patienten in unserer Pilotstudie nochmals gesondert.

#### **4.5.1 Nutritiver Status der über 80-Jährigen**

Betrachtet man den nutritiven Status anhand von Albumin, Gesamteiweiß und IGF-1, so zeigen sich in dieser Studie geringere Werte bei den über 80-jährigen Patienten verglichen mit den unter 80-jährigen Patienten. In einer ebenfalls bei hüftgelenksnahen Frakturen durchgeführten Studie wurden Patienten in eine Gruppe von 65 bis 74 Jährigen und in eine Gruppe von über 85 Jährigen aufgeteilt. Hier zeigten sich signifikant verminderte nutritive Parameter wie Albumin und Cholesterol in der älteren Gruppe(7).

#### **4.5.2 Antioxidative Enzyme (SOD-1) der über 80-Jährigen**

Diese Ergebnisse führen zu der Schlussfolgerung, dass vor allem die über 80-Jährigen meist schlechter ernährten Patienten von einer immunonutritiven Supplementation profitieren würden und tatsächlich vergleicht man bei den über 80-Jährigen die Placebo- mit der Glutamingruppe bezüglich der Expression von SOD-1, so war auch in der Patientengruppe, welche das Glutamin erhielt eine signifikant erhöhte SOD-1 Expression nach sieben Tagen auszumachen. In einer experimentellen Studie wurde bei Ratten eine einstündige Ischämie der Leber induziert und die Aktivität der Superoxiddismutase zwei Stunden nach Reperfusion gemessen. Es zeigte sich eine signifikant gesteigerte Aktivität der Superoxiddismutase bei den Ratten, welche vier Stunden vor der Ischämie Glutamin erhielten im Vergleich zur Kontrollgruppe, welche lediglich eine Kochsalzlösung verabreicht bekam. Die Aktivität der Superoxiddismutase war proportional zur Dosis des verabreichten Glutamins gesteigert(117). In einer weiteren Studie mit neugeborenen Ratten wurden die Ratten entweder mit Muttermilch oder mit Muttermilch in Kombination einer enteral verabreichten Glutamindosis ernährt. Durch

die zusätzliche Gabe von Glutamin konnte die SOD Expression signifikant gesteigert werden. Dies ist auf der einen Seite auf die gesteigerte Proteinsynthese durch Glutamin zurückzuführen und auf der anderen Seite auf die Funktion des Glutamins als Radikalfänger. Der biochemische Hintergrund bei der Wirkung von Glutamin auf die SOD-1 Expression ist im Detail jedoch noch nicht verstanden. Wie schon oben beschrieben spielt SOD-1 eine wichtige Rolle bei antiinflammatorischen und antioxidativen Prozessen im Körper und fördert dadurch die Wundheilung und verhindert, dass sich weitere entzündliche Prozesse im Körper ausbreiten(21,64). Dies wird auch durch die tendenziell geringere Krankenhausverweildauer von durchschnittlich 3 Tagen in der Glutamingruppe bei den über 80-Jährigen bekräftigt. Insgesamt hat es den Anschein, dass die kürzere Aufenthaltsdauer von 3 Tagen auf der einen Seite durch den verbesserten nutritiven Status aufgrund der Glutamingabe und somit einer besseren Grundlage der Mobilisierbarkeit durch Physiotherapie und Pflegepersonal zurückzuführen ist. Auf der anderen Seite scheint auch die antientzündliche Wirkung einen positiven Effekt auf die Genesung der Patienten zu haben.

#### **4.6 Kosten und Rehabilitation**

Selbst, wenn unsere Daten auf Grund der geringen Patientenzahl nicht signifikant sind, so hat die geringere Krankenhausverweildauer in der Glutamingruppe bei den über 80-Jährigen natürlich auch eine enorme wirtschaftliche Bedeutung. Laut Bundeszentrale für politische Bildung betrug in Deutschland die durchschnittliche Ausgabe der Krankenhäuser pro Patient und Pflegetag 331,49 € (Stand 2001)(15). Hieraus ergibt sich, durch eine frühere Entlassung, eine theoretische Kosteneinsparung von 994,47 € pro Patient in der Glutamingruppe (nicht mit eingeschlossen die Kosten für die Glutamin Plus Therapie).

Betrachtet man nicht nur die über 80-Jährigen sondern alle Schenkelhalsfrakturen in dieser Studie, so ergibt sich ein Krankenhausaufenthalt von 14 Tagen in der Placebogruppe und von 13 Tagen in der Gruppe, welche das Glutamin erhielt. Dies ist immerhin eine Einsparung von 331,49 € pro Patient. Rechnet man diese Zahl nun auf die aktuell jährlich 150.000 Schenkelhalsfrakturen allein in Deutschland ergäbe sich eine Einsparung von ca. 49,8 Millionen Euro. Da sich die Inzidenz bis zum Jahr 2050 verdoppeln soll, könnte man durch die generelle Gabe von Glutamin nach Schenkelhalsfraktur ein enormes Einsparungspotential erzielen. Auf der Gegenseite betragen die Kosten für das Glutamin bei täglicher Gabe von 3x 22,4g nur maximal 3x 2,9 €, also 8,70 € am Tag.

Die Reduktion der Krankenhauverweildauer spielt ebenfalls eine wichtige Rolle bei der weiteren Genese und Rehabilitation der älteren Patienten. Nicht nur, dass dies zu einer Kostenminimierung führt, sondern durch die kürzere Aufenthaltsdauer wird das Risiko für nosokomiale Infektionen reduziert. Die Verlegung in eine Rehabilitationsklinik kann somit schneller erfolgen. Hier werden den Patienten intensivere und umfangreichere Übungsangebote wie Gruppenübungen und Einzelübungen angeboten. Während des stationären Aufenthalts erfolgt zwar eine halbstündige Betreuung durch die Physiotherapie, jedoch nicht in dem Umfang wie sie in der Rehabilitationsklinik (mehrstündige Übungsangebote) ermöglicht wird. Durch den kürzeren Krankenhausaufenthalt werden auch Atrophien der Muskulatur vorgebeugt und die Patienten erreichen schneller eine Unabhängigkeit in den Aktivitäten des alltäglichen Lebens.

#### **4.7 Telefonische Nachkontrolle der über 80-jährigen Patienten**

Bei der telefonischen Nachkontrolle, welche im Durchschnitt 1,5 Jahre nach Entlassung der Patienten erfolgte, konnten lediglich 7 Patienten aus der

Placebogruppe und 8 Patienten aus der Glutamingruppe kontaktiert werden. Aus der geringen Anzahl an Patienten lässt sich keine signifikante Aussage treffen. Jedoch zeigt sich in der Tendenz, dass sich bei 15 noch zu kontaktierenden Patienten eine geringere 1,5 Jahresmortalität von 12,5 zu 28 Prozent durch die Gabe von Glutamin ergibt. Auch der durchschnittliche Gewichtsverlust war mit 0,33 Kg zu 0,75 Kg in der Glutamingruppe geringer. Jedoch war der durchschnittliche Verlust an Punkten im Barthelindex und damit die Einschränkung der Autonomie in alltäglichen Aktivitäten mit 16 im Gegensatz zu 5 Punkten in der Glutamingruppe gesteigert. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass eine Verbesserung der Autonomie und der 1,5 Jahresmortalität durch die 7 tägige Gabe von Glutamin eher unwahrscheinlich ist und durch die geringe Anzahl an Patienten nur eine Tendenz und keine signifikante Aussage zulässt. Hier wäre eine Glutamingabe über mehrere Wochen sinnvoll und ein interessanter Ansatz für Folgestudien.

Da diese Studie als Pilotstudie angesetzt war ergeben sich nur geringe Patientenzahlen und damit verbunden eher tendenzielle Aussagen und nur wenig signifikante Ergebnisse. Die hier erzielten Ergebnisse bekräftigen jedoch das mögliche Potenzial einer oralen Supplementation besonders in der Alterstraumatologie bei den über 80-jährigen Patienten mit einem schlechteren nutritiven Status.

Die vorliegende Studie lässt keine Aussagen bezüglich der Funktionalität und der Aktivität einzelner antioxidativer Enzyme und immunkompetenter Zellen zu, so dass hier noch Möglichkeiten für weitere Forschungsansätze bestehen. Des Weiteren ist es sinnvoll den tatsächlichen oxidativen Stress in Blutproben der Patienten zu messen (z.B. mittels Malondialdehyd), um dann die Expression der antioxidativen Enzyme in Relation zu dem erfahrenen oxidativen Stress in den jeweiligen Gruppen zu setzen. Daraus ließe sich dann schlussfolgern ob junge Patienten postoperativ

überhaupt denselben oxidativen Stress erfahren wie ältere Patienten oder Mechanismen besitzen die oxidativen Stress erst gar nicht entstehen lassen.

#### **4.8 Diskussion des Studiendesigns**

Diese Studie war eine Pilotstudie und diente dazu eine Grundlage für eventuell weitere, umfassendere Studien zu bilden. Für diese Pilotstudie war vor allem die Machbarkeit im Vordergrund. Außerdem war es wichtig eine Tendenz für die Morbidität und Immunreaktion zu analysieren. Mit einer Signifikanz wurde aufgrund der geringen Patientenzahlen nicht gerechnet.

Unabhängig von den Ergebnissen der Studie sind im Folgenden die wichtigsten Kritikpunkte aufgeführt:

Ein Problem resultierte aus der mangelnden Compliance der älteren Patienten. So kam es in 5 Fällen vor, dass die Patienten ein Durchgangssyndrom nach der Operation entwickelten. Diesen Patienten war es aufgrund der desorientierten und teilweise psychotischen Symptomatik nicht möglich das Glutamin in adäquater Menge zu sich zu nehmen. Die Patienten wurden ausgeschlossen. Außerdem klagten viele Patienten über Übelkeit, teilweise auch Erbrechen nach Einnahme des oralen Supplements. Deswegen konnten 3 Patienten die erforderliche Mindestanzahl an Trinklösung (alle drei erhielten das Placebopräparat) nicht einnehmen. Die Übelkeit bzw. das Erbrechen wird in den ersten postoperativen Tagen hauptsächlich durch die Narkose begründet, jedoch klagten diese drei Patienten auch noch am 7. postoperativen Tag über eine Übelkeit, die sie persönlich auf die Einnahme des Supplements zurückführten. Es kam auch zu Beschwerden über den Geschmack und dadurch zur Abneigung gegenüber der Immunonutrition. Hier ist es eventuell

sinnvoll ein geschmacksneutrales glutaminhaltiges Produkt mit Säften oder anderen Getränken, welche dem Patienten geschmacklich zusagen zu vermischen.

Ein weiteres Problem stellte die schlechte Löslichkeit des Pulvers da. So hatten viele Patienten Probleme das Pulver zu lösen. Hinzu kam, dass die Patienten u.a. das richtige Mischverhältnis nicht erreichten und somit die Trinklösung zu dickflüssig und somit auch nicht gut zu trinken war.

Die Studie fand eine schlechte Akzeptanz beim Pflegepersonal, weil es dadurch zu einem vermehrten Zeitaufwand kam. Die Glutaminpäckchen wurden jeweils zum Essen ausgeteilt und mussten teilweise vom Pflegepersonal zubereitet werden. Dies ist auf der anderen Seite positiv zu werten, da somit sicher gestellt wurde, dass das Glutamin wirklich von den Patienten eingenommen wurde.

Eine Lösung für dieses Problem wäre es, wenn die Immunonutrition schon in Form von kleinen Trinkfläschchen von den Herstellern angeliefert werden würde.

Des Weiteren hatten viele ältere Patienten Schwierigkeiten bei der Nahrungsaufnahme. So waren sie nicht gewöhnt aufgrund ihres schlechten Ess- bzw. Trinkverhaltens ein Volumen von ca. 300-500 ml an Flüssigkeit oder Nahrung zu sich zu nehmen. Hier wäre es sinnvoll, das Trinkvolumen zu reduzieren. So war das optimale Mischverhältnis: auf ein Päckchen 300-500 ml Flüssigkeit. Dieses Volumen dreimal am Tag zusätzlich zu den regulären Mahlzeiten war vielen Patienten zu viel, so dass es sinnvoll wäre das totale Volumen auf 100 bis 200 ml zu beschränken und die fertige Trinklösung konzentrierter anzubieten. Diese Patientengruppe neigt ohnehin dazu zu wenig Flüssigkeit zu sich zu nehmen, so dass zusätzliche Trinklösungen von 3x 300ml eine enorme zusätzliche Belastung darstellen.

Trotz der großen Anzahl an hüftgelenksnahen Frakturen hat sich der Einschluss von 37 Patienten über ein Jahr hingezogen: Dies ist damit zu begründen, dass viele Patienten durch die strengen Ausschlusskriterien nicht an der Studie teilnehmen konnten. Eine starke Einschränkung beim Einschluss der Patienten war durch die Auflagen unserer Ethikkommission gegeben: Beispielsweise durften Patienten mit einer Demenz, aufgrund der Möglichkeit einer potentiellen Aggravierung der Demenz durch Umwandlung von Glutamin zu Glutamat und eine partielle Passage der Blut-Hirnschranke nicht eingeschlossen werden. Ebenfalls wurden häufig Patienten ausgeschlossen, weil bei ihnen ein Diabetes mellitus Typ 2 diagnostiziert wurde. Ferner waren Patienten mit systemischen Erkrankungen und Cortisondauertherapie ausgeschlossen. Patienten, welche eine schwere Niereninsuffizienz hatten konnten aufgrund der eingeschränkten Trinkmenge nicht eingeschlossen werden.

Zur Vereinfachung und zur Entlastung des in der Notaufnahme arbeitenden Arztes, welcher in der Regel den ersten Patientenkontakt hat ist es sinnvoll an den Arbeitsplätzen prägnante und kurzgehaltene Informationszettel zur Durchführung und Erinnerung auszuhängen. So hing z.B. in der Notaufnahme ein Informationszettel mit den Telefonnummern der betreuenden Ärzte bzw. Studenten und den wichtigsten Ein- und Ausschlusskriterien. Des Weiteren waren immer Blutabnahmeröhrchen gerichtet, so dass die Dienstärzte diese zusätzlich zu dem Routinelabor abnehmen konnten. Eine weitere Schwierigkeit war durch die nicht mögliche Planbarkeit des Patienteneinschlusses gegeben. Nachdem die Indikation für eine operative Versorgung gestellt worden war und der Patient sein Einverständnis für die Studie gegeben hatte wurde dem Patienten Blut abgenommen, welches innerhalb der nächsten Stunde verarbeitet werden musste (s. Material und Methoden). Die strikte Einhaltung des Zeitplanes für die Blutabnahmen (6h, 24h) gestaltete sich ebenfalls schwierig. Zum Beispiel: Kam es bei einem Patienten um 19h zu einem Trauma

musste das Blut der präoperativen Abnahme bis 20h im Labor bearbeitet worden sein. Um 22h wurde dann die operative Versorgung durchgeführt. Sechs Stunden später um vier Uhr morgens erfolgte dann zusammen mit der Hämoglobinabnahme (zur Bestimmung des postoperativen Blutverlustes) eine weitere Blutabnahme. Insgesamt wurde aufgrund des strikten Zeitplans für die Blutabnahmen und der Arbeit mit Traumapatienten ein enormes Maß an Flexibilität und Disziplin von allen Beteiligten abverlangt. Es hat sich bewährt hierfür einen Dienstplan zu erstellen, welcher vor allem die Wochenenden und Abende abdeckt.

## 5. Zusammenfassung und Ausblick

Die Ergebnisse dieser Pilotstudie suggerieren, dass vor allem die älteren Patienten aus diesem Patientenkollektiv von einer Immunonutrition profitieren. So zeigte sich bei den über 80-jährigen Patienten durch die sieben tägige Gabe von Glutamin eine signifikant erhöhte Expression der Superoxiddismutase-1 im Vergleich zu der Placebogruppe. Bei den immunologischen Parametern waren die Immunglobuline A nach sieben tägiger Glutamingabe signifikant erhöht gegenüber der Placebogruppe. Rekapituliert man die Ergebnisse der nutritiven Parameter (Albumin, Gesamteiweiß, IGF-1) in der Gruppe der über 80-Jährigen, so zeigen sich auch diese durch Glutamineinnahme erhöht. Die hier beschriebenen Ergebnisse könnten für die tendenziell um drei Tage kürzere Krankenhausverweildauer der Glutaminpatienten verantwortlich sein. Bedingt durch die epidemiologische Entwicklung (s. Einleitung) wird der Anteil der älteren Patienten kontinuierlich ansteigen. Aufgrund dessen ist es wichtig hier die Genesung und Rehabilitation dieser Patientengruppe zu optimieren. Den Patienten wird nach einem Trauma dadurch schneller die Möglichkeit gegeben Unabhängigkeit und eine bessere Lebensqualität zu erlangen. Ein weiterer Aspekt ist die durch Reduktion der Komplikationsrate und Senkung der Krankenhausverweildauer mögliche Senkung der Mortalitätsrate und die Kostenersparnis. Zusammenfassend sollten die Ergebnisse dieser Pilotstudie und die oben aufgeführte demografische Entwicklung Anlass für weitere Studien, welche sich mit Immunonutrition bei älteren Patienten beschäftigen, sein. Folgestudien sollten ein älteres Patientenkollektiv (über 75 Jahre) umfassen, da hier laut dieser Pilotstudie die

aussichtsreichsten Ergebnisse zu erwarten sind. Wesentlich ist es ein größeres Patientenkollektiv einzuschließen um signifikante Aussagen treffen zu können. Es wäre sinnvoll Folgestudien über einen längeren Zeitraum durchzuführen. Der Zeitraum sollte mindestens die Zeit in der Anschlussheilbehandlung erfassen. Diese Phase ist wichtig um zukünftig die Autonomie des Patienten wiederherzustellen. Gerade diese Phase beinhaltet einen Aufbau der Muskelmasse und somit ein erhöhten Bedarf an Substraten, wie z. B. Glutamin. Um jedoch Einfluss auf die weitere Rehabilitation und eventuell sogar auf die Mortalität durch die Immunonutrition zu nehmen, ist davon auszugehen den Zeitraum über Monate planen zu müssen. Man könnte den Patienten die Immunonutrition mit nach Hause geben und bei vorher vereinbarten Kontrollterminen die Kontrollparameter bestimmen. Falls die Immunonutrition enteral appliziert werden soll, ist es sinnvoll dies in schon in von dem Hersteller vorgefertigten Fläschchen an die Patienten weiterzureichen. Dies vereinfacht für die Patienten und das Pflegepersonal die Einnahme bzw. Applikation und verhindert die Nichteinnahme durch Non-Compliance. Ein weiterer Kritikpunkt an dieser Pilotstudie war, dass die älteren Patienten mit der dreimaligen Einnahme von 300-400 ml überfordert waren. Dies entsprach zusammen mit anderen Getränken und Speisen nicht Ihrer gewöhnlich geringeren Trinkmenge. Eine mögliche Lösung wäre die Menge der Immunonutrition konzentrierter in 100-150 ml anzubieten.

Neben diesen klinischen Ansätzen für Folgestudien gibt es in dieser Pilotstudie auch Ansätze für weitere experimentelle Folgestudien:

Wie schon in der Diskussion beschrieben ist in unserer Pilotstudie eine Diskrepanz zwischen der pNRF2 Expression und der Expression der Hämoxigenase-1 aufgefallen. Es ist über die sieben Tage nicht wie in der Literatur beschrieben(2) durch die vermehrte pNRF2 Expression zu einer gesteigerten HO-1 Expression

gekommen. In unserer Studie kam es zwar zu einer vermehrten pNRF2 Expression bei den älteren Patienten, jedoch nicht zur vermehrten HO-1 Expression nach 24 Stunden. Deshalb kann man auch eine mögliche Fehlfunktion bei zunehmendem Alter in diesem Aktivierungsweg in Betracht ziehen. Diese Hypothese wird durch mehrere experimentelle Studien mit Mäusen, in welcher sich ähnliche Resultate zeigten, bekräftigt(34,47) (s. Diskussion). Unsere Studie suggeriert, dass der vermehrt anfallende oxidative Stress durch die Zellen via Rezeptoren registriert wird, es jedoch einen Fehler in der Signalkaskade nach der pNRF2 Induktion zu geben scheint. Hierzu passend ist, dass bei den jungen Patienten mit einer Fraktur trotz geringerer pNRF2 Expression im Vergleich zu den älteren Patienten eine vergleichbare HO-1 Expression erzielt wird. Es ist sinnvoll in Folgestudien mögliche Defizite bei älteren Menschen genauer zu untersuchen.

## 6. Verzeichnisse

### 6.1 Abbildungen

Abbildung 1	Demografische Entwicklung in Deutschland, Quelle: Statistisches Bundesamt, Deutschland – Land und Leute, 2009.....	5
Abbildung 2	oben: Altersverteilung der Hüftgelenksnahen Frakturen von über 23Mio. Versicherten unten: Altersabhängige Inzidenz der hüftgelenksnahen Frakturen proJahr(58) .....	7
Abbildung 3	Entwicklung der Anzahl von proximalen Femurfrakturen bis zum Jahr 2050 in Abhängigkeit vom Alter (35).....	8
Abbildung 4	Enzymatische Reaktion der Hämoxygenase, (79) .....	17
Abbildung 5	Schematisch dargestellt: Model der Nrf2 Regulation durch Keap1(i) unter basalen Bedingungen: Keap1 in der Funktion der E3 Ubiquitin Ligase, bewirkt die kontinuierliche Ubiquitination und Degradation von Nrf2, hieraus resultiert ein minimaler Level an Nrf2(ii) Durch oxidativen Stress und Inflammation wird die Aktivität von Keap1 gehemmt, dadurch kommt es zum Anstieg von Nrf2 und der Translokation in den Nukleus um an die Zielgene zu binden. (iii) Nach dem Erreichen von zellulärer Redox-Homoestase gelangt Keap1 in den Nukleus um Nrf2 zu binden und in das Cytosol zurückzuführen, wo es schließlich wieder degradiert wird(116). .....	20
Abbildung 6	Trauma steht für die proximale Femurfraktur, A steht für Aufnahme in der Klinik, die schwarze Markierung zeigt die operative Versorgung der Fraktur an. Rote Markierungen bedeuten Blutabnahmen zu den jeweils darüberstehenden Zeiten: bei Aufnahme, 6 h postop, 24 h postop und 7 Tage postop. ....	35
Abbildung 7	Schema zu Auftrennung der Monozyten.....	36
Abbildung 8	BSA Standardkurve.....	38
Abbildung 9	Schematische Darstellung von der Befüllung der Geltaschen. M = Marker, K = Kontrollprobe, 1.1-1.4 Patientenprobe, 2.1-2.4 zweite Patientenprobe, H <sub>2</sub> O= Wasser und Lämmli Laufpuffer zur Befüllung ungenutzter Kammern .....	42
Abbildung 10	Transfer: Die negativ geladenen Proteine wandern im elektrischen Feld zu Kathode und damit vom Gel auf die Nitrozellulosemembran, wo sie nun fixiert sind .....	43
Abbildung 11	Ponceau Färbung nach Proteintransfer mittels Semi-dry-Blott.....	44
Abbildung 12	1)Wir habe 3 Proben: A, B, C. Zusätzlich die Kontrolle 2)Nun bildeten wir von jedem SOD-1- Signal den Quotienten zu dem zu gehörigen Gap-DH(Bsp. für Probe B: B1/B2= QB und für die Kontrolle: K1/K2=QK) 3)Im nächsten Schritt wird die Probe auf dieKontrolle normiert: QB/QK=QBn- nun ist es möglich alle Western Blots, in der dieselbe Kontrolle untersucht wurde zu vergleichen .....	47
Abbildung 13	Auflistung der Komplikationen in den jeweiligen Gruppen.....	52
Abbildung 14	Relative Proteinmenge SOD-1 bei jungen und alten gesunden Probanden, sowie präoperativ bei jungen und alten Patienten nach Fraktur;* = p<0,05, ** = p<0,01 .....	56
Abbildung 15	Relative Proteinmenge der Hämoxygease 1 bei jungen und alten gesunden Probanden, sowie präoperativ bei jungen und alten Patienten nach Fraktur;* = p<0,05, ** = p<0,01, *** = p<0,001.....	57
Abbildung 16	Relative Proteinmenge des Transkriptionsfaktors pNRF2 bei jungen und alten gesunden Probanden, sowie präoperativ bei jungen und alten Patienten nach Fraktur;* = p<0,05, ** = p<0,01, *** = p<0,001.....	58
Abbildung 17	Relative Proteinexpression der Superoxiddismutase 1 in der Placebo und Glutamingruppe über 7 Tage, weiß: Patienten erhielten das Placebopräparat, schwarz: Patienten erhielten das Glutamin;** = p<0,01,.....	59
Abbildung 18	Relative Proteinexpression der Hämoxygenase-1 in der Placebo und Glutamingruppe über 7 Tage, weiß: Patienten erhielten das Placebopräparat, schwarz: Patienten erhielten das Glutamin .....	60
Abbildung 19	Relative Proteinexpression des Transkriptionsfaktors pNRF2 in der Placebo- und Glutamingruppe über 7 Tage ,weiß: Patienten erhielten das Placebopräparat, schwarz: Patienten erhielten das Glutamin;* = p<0,05, *** = p<0,001 .....	62

Abbildung 20 Expression des Transkriptionsfaktors pNRF2 von Patienten mit Schenkelhalsfraktur über 7 Tage im Western Blot .....	62
Abbildung 21 zeigt die relative Proteinmenge von der SOD-1 in den jeweiligen Gruppen bei den Patienten über 80 Jahren, weiß: Patienten erhielten das Placebopräparat, schwarz: Patienten erhielten das Glutamin;*= p<0,05, **= p<0,01, .....	64
Abbildung 22 Expression des SOD-1 bei den über 80-jährigen Patienten im Western Blot. Oben: Patient x unter Placebogabe. Unten: Patient y unter Gabe von Glutamin.....	65
Abbildung 23 zeigt die relative Proteinmenge der HO-1 in den jeweiligen Gruppen bei den über 80-jährigen Patienten weiß: Patienten erhielten das Placebopräparat, schwarz: Patienten erhielten das Glutamin .....	66
Abbildung 24 zeigt die relative Proteinmenge des pNRF2 in den jeweiligen Gruppen bei den über 80-jährigen Patienten; weiß: Patienten erhielten das Placebopräparat, schwarz: Patienten erhielten das Glutamin, *= p<0,05, **= p<0,01 .....	67
Abbildung 25 zeigt die relative Proteinmenge der SOD-1 in den jeweiligen Gruppen; grau: junge Patienten mit Fraktur, weiß:Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche dasPlacebopräparat erhielten, schwarz: Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche das Glutamin erhielten.....	69
Abbildung 26 zeigt die relative Proteinmenge der HO-1 in den jeweiligen Gruppen; grau: junge Patienten mit Fraktur, weiß:Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche dasPlacebopräparat erhielten, schwarz: Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche das Glutamin erhielten.....	70
Abbildung 27 Expression der HO-1 bei jungen Patienten mit Fraktur im Western Blot.....	70
Abbildung 28 zeigt die relative Proteinmenge des pNRF2 in den jeweiligen Gruppen; grau: junge Patienten mit Frakturweiß:Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche dasPlacebopräparat erhielten, schwarz: Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche das Glutamin erhielten.....	72
Abbildung 29 zeigt die relative Proteinmenge der Superoxiddismutase 1 der jeweiligen Gruppen; **= p<0,01, ***= p<0,001.....	73
Abbildung 30 zeigt die relative Expression der Hämoxygenase-1 der jeweiligen Gruppen;*= p<0,05, **= p<0,01, .....	75
Abbildung 31 zeigt die relative Proteinmenge des Transkriptionsfaktors pNRF2 in der jeweiligen Gruppe;*= p<0,05, **= p<0,01, ***= p<0,001 .....	76
Abbildung 32 Veränderung der Leukozytenwerte nach 24h und 7 Tagen, bezogen auf den präoperativen Wert, weiß:Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche dasPlacebopräparat erhielten, schwarz: Hüftgelenksnahe Fraktur bei alten Patienten, welche das Glutamin erhielten.....	77
Abbildung 33 Veränderung der Leukozytenwerte der über 80-jährigen nach 24h und 7 Tagen, bezogen auf den präoperativen Wert.....	78
Abbildung 34 zeigt den Immunglobulin A Wert am siebten posoperativen Tag, bezogen auf den Aufnahmewert in der Placebo- und der Glutamingruppe.....	80
Abbildung 35 zeigt den Immunglobulin A Wert der über 80-jährigen Patienten am siebten posoperativen Tag, bezogen auf den Aufnahmewer;*= p<0,05 .....	81
Abbildung 36 zeigt die Immunglobuline G Werte nach sieben Tagen postoperativ, verglichen mit den Werten bei Aufnahme;***= p<0,001.....	82
Abbildung 37 zeigt die Immunglobuline G Werte der über 80-jährigen Patienten nach sieben Tagen postoperativ, verglichen mit den Werten bei Aufnahme .....	83
Abbildung 38 Nutritive Parameter der präoperativen Abnahme, im Vergleich die unter 80-Jährigen mit den über 80-Jährigen. Oben links: durchschnittlicher Albuminwert ,oben rechts durchschnittlicher Gesamtweißwert, unten: durchschnittlicher Wert des IGF-1 .....	85
Abbildung 39 zeigt den Wert des Insulinähnlichen Wachstumsfaktors 1 sieben Tage nach der Operation, bezogen auf den präoperativen Wert bei Aufnahme. ....	86
Abbildung 40 zeigt den Wert des Insulinähnlichen Wachstumsfaktors 1 bei den über 80-jährigen Patienten sieben Tage nach der Operation, bezogen auf den präoperativen wert bei Aufnahme.....	87
Abbildung 41 zeigt den Wert des Insulinähnlichen Wachstumsfaktors 1 bei den Patienten mit einem BMI unter 22 sieben Tage nach der Operation, bezogen auf den präoperativen Wert bei Aufnahme.....	89
Abbildung 42 zeigt die Aufenthaltsdauer aller Patienten in graphischer Form, weiß: Placebogruppe, schwarz:Glutamingruppe .....	90
Abbildung 43 zeigt die Aufenthaltsdauer der über 80-jährigen Patienten in graphischer Form, weiß: Placebogruppe, schwarz:Glutamingruppe.....	91

Abbildung 44 Daten der telefonischen Nachkontrolle bei den Patienten über 80 Jahren in der Placebogruppe .....	93
Abbildung 45 Daten der telefonischen Nachkontrolle bei den Patienten über 80 Jahren in der Glutamingruppe.....	94

## 6.2 Literatur

1. Akaike, T.; Ando, M.; Oda, T.; Doi, T.; Ijiri, S.; Araki, S.; Maeda, H. Dependence on O<sub>2</sub>-generation by xanthine oxidase of pathogenesis of influenza virus infection in mice. *J Clin Invest* 85(3):739-745; 1990.
2. Alam, J.; Stewart, D.; Touchard, C.; Boinapally, S.; Choi, A. M.; Cook, J. L. Nrf2, a Cap'n'Collar transcription factor, regulates induction of the heme oxygenase-1 gene. *J Biol Chem* 274(37):26071-26078; 1999.
3. Allman, D.; Miller, J. P. The aging of early B-cell precursors. *Immunol Rev* 205:18-29; 2005.
4. Alverdy, J. C. Effects of glutamine-supplemented diets on immunology of the gut. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 14(4 Suppl):109S-113S; 1990.
5. Amann, S. *Mit Joghurt Millionen scheffeln*. Spiegel Verlag; 2008.
6. Andress, H. J.; Grubwinkler, M.; Forkl, H.; Schinkel, C.; Lob, G. [Change of daily life activity after femoral hip fracture in elderly patients]. *Zentralbl Chir* 130(2):142-147; 2005.
7. Arinzon, Z.; Fidelman, Z.; Zuta, A.; Peisakh, A.; Berner, Y. N. Functional recovery after hip fracture in old-old elderly patients. *Arch Gerontol Geriatr* 40(3):327-336; 2005.
8. Ashcroft, G. S.; Horan, M. A.; Ferguson, M. W. Aging alters the inflammatory and endothelial cell adhesion molecule profiles during human cutaneous wound healing. *Lab Invest* 78(1):47-58; 1998.
9. Babst, R.; Horig, H.; Stehle, P.; Brand, O.; Filgueira, L.; Marti, W.; Fischer, M.; Oberholzer, M.; Gudat, F.; Furst, P. and others. Glutamine peptide-supplemented long-term total parenteral nutrition: effects on intracellular and extracellular amino acid patterns, nitrogen economy, and tissue morphology in growing rats. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 17(6):566-574; 1993.
10. Banfi, G.; Iorio, E. L.; Corsi, M. M. Oxidative stress, free radicals and bone remodeling. *Clin Chem Lab Med* 46(11):1550-1555; 2008.
11. Baranano, D. E.; Rao, M.; Ferris, C. D.; Snyder, S. H. Biliverdin reductase: a major physiologic cytoprotectant. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(25):16093-16098; 2002.
12. Beck, A.; Ruter, A. [Femoral neck fractures--diagnosis and therapeutic procedure]. *Unfallchirurg* 101(8):634-648; 1998.
13. Bergstrom, J.; Furst, P.; Noree, L. O.; Vinnars, E. Intracellular free amino acid concentration in human muscle tissue. *J Appl Physiol* 36(6):693-697; 1974.
14. Betriebskrankenkassen, B. d. Krankheitsarten Statistik 2002. In: Betriebskrankenkassen, B. d., ed. Essen; 2003.
15. Bildung, B. f. p. Ausgaben der Krankenhäuser pro Pflgeetag. 2004.
16. Boehmer, E. D.; Meehan, M. J.; Cutro, B. T.; Kovacs, E. J. Aging negatively skews macrophage TLR2- and TLR4-mediated pro-inflammatory responses without affecting the IL-2-stimulated pathway. *Mech Ageing Dev* 126(12):1305-1313; 2005.
17. Bonnaire, F. *Schenkelhalsfraktur*. Stuttgart, New York: Stürmer KM, Thieme; 2001.
18. Brouard, S.; Otterbein, L. E.; Anrather, J.; Tobiasch, E.; Bach, F. H.; Choi, A. M.; Soares, M. P. Carbon monoxide generated by heme oxygenase 1 suppresses endothelial cell apoptosis. *J Exp Med* 192(7):1015-1026; 2000.
19. Brughts, M. P.; Ranke, M. B.; Hofland, L. J.; van der Wansem, K.; Weber, K.; Frystyk, J.; Lamberts, S. W.; Janssen, J. A. Normal values of circulating insulin-like growth factor-I bioactivity in the healthy population: comparison with five widely used IGF-I immunoassays. *J Clin Endocrinol Metab* 93(7):2539-2545; 2008.
20. Bruunsgaard, H.; Skinhoj, P.; Qvist, J.; Pedersen, B. K. Elderly humans show prolonged in vivo inflammatory activity during pneumococcal infections. *J Infect Dis* 180(2):551-554; 1999.
21. Burton, K. P. Superoxide dismutase enhances recovery following myocardial ischemia. *Am J Physiol* 248(5 Pt 2):H637-643; 1985.
22. Calder, P. C. Glutamine and the immune system. *Clin Nutr* 13(1):2-8; 1994.
23. Cetinbas, F.; Yelken, B.; Gulbas, Z. Role of glutamine administration on cellular immunity after total parenteral nutrition enriched with glutamine in patients with systemic inflammatory response syndrome. *J Crit Care* 25(4):661 e661-666; 2010.
24. Cho, H. Y.; Reddy, S. P.; Yamamoto, M.; Kleeberger, S. R. The transcription factor NRF2 protects against pulmonary fibrosis. *FASEB J* 18(11):1258-1260; 2004.
25. Davies, K. J. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem Soc Symp* 61:1-31; 1995.
26. Della Bella, S.; Berti, L.; Presicce, P.; Arienti, R.; Valenti, M.; Saresella, M.; Vergani, C.; Villa, M. L. Peripheral blood dendritic cells and monocytes are differently regulated in the elderly. *Clin Immunol* 122(2):220-228; 2007.

27. Dennis, R. A.; Przybyla, B.; Gurley, C.; Kortebein, P. M.; Simpson, P.; Sullivan, D. H.; Peterson, C. A. Aging alters gene expression of growth and remodeling factors in human skeletal muscle both at rest and in response to acute resistance exercise. *Physiol Genomics* 32(3):393-400; 2008.
28. Detsky, A. S.; McLaughlin, J. R.; Baker, J. P.; Johnston, N.; Whittaker, S.; Mendelson, R. A.; Jeejeebhoy, K. N. What is subjective global assessment of nutritional status? *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 11(1):8-13; 1987.
29. Di Giulio, C.; Verratti, V.; Artese, L.; Petruccelli, G.; Walski, M.; Pokorski, M. Aging and expression of heme oxygenase-1 and endothelin-1 in the rat carotid body after chronic hypoxia. *J Physiol Pharmacol* 60 Suppl 5:41-44; 2009.
30. Dryden, G. W., Jr.; Deaciuc, I.; Arteel, G.; McClain, C. J. Clinical implications of oxidative stress and antioxidant therapy. *Curr Gastroenterol Rep* 7(4):308-316; 2005.
31. Effros, R. B. Genetic alterations in the ageing immune system: impact on infection and cancer. *Mech Ageing Dev* 124(1):71-77; 2003.
32. Etscheit, G. Lebensmittel mit Beipackzettel. *Süddeutsche Zeitung*; 2009.
33. Fantone, J. C.; Ward, P. A. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol* 107(3):395-418; 1982.
34. Ferencik, D. A.; Nkejibegba, N. C.; McKay, J.; Choudhary, A. K.; Vernon, M. A.; Beesley, M. F.; Clay, S.; Conway, B. C.; Marson, L. P.; Kluth, D. C. and others. The induction of macrophage hemeoxygenase-1 is protective during acute kidney injury in aging mice. *Kidney Int* 79(9):966-976; 2011.
35. Frerichmann, U.; Raschke, M. J.; Stockle, U.; Wohrmann, S.; Lohmann, R. [Proximal femoral fractures in the elderly. Data from health insurance providers on more than 23 million insured persons--part 2.]. *Unfallchirurg* 110(7):610-616; 2007.
36. Fruehauf, J. P.; Meyskens, F. L., Jr. Reactive oxygen species: a breath of life or death? *Clin Cancer Res* 13(3):789-794; 2007.
37. Furst, P. New parenteral substrates in clinical nutrition. Part I. Introduction. New substrates in protein nutrition. *Eur J Clin Nutr* 48(9):607-616; 1994.
38. Fusco, D.; Colloca, G.; Lo Monaco, M. R.; Cesari, M. Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clin Interv Aging* 2(3):377-387; 2007.
39. Giustina, A.; Mazziotti, G.; Canalis, E. Growth hormone, insulin-like growth factors, and the skeleton. *Endocr Rev* 29(5):535-559; 2008.
40. Gozzelino, R.; Jeney, V.; Soares, M. P. Mechanisms of cell protection by heme oxygenase-1. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 50:323-354; 2010.
41. Griffiths, M.; Keast, D. The effect of glutamine on murine splenic leukocyte responses to T and B cell mitogens. *Immunol Cell Biol* 68 ( Pt 6):405-408; 1990.
42. Halliwell B, G. J., ed. *Free Radicals in Biology and Medicine*. New York: Oxford University Press; 2001.
43. Hong, R. W.; Rounds, J. D.; Helton, W. S.; Robinson, M. K.; Wilmore, D. W. Glutamine preserves liver glutathione after lethal hepatic injury. *Ann Surg* 215(2):114-119; 1992.
44. Horig, H.; Spagnoli, G. C.; Filgueira, L.; Babst, R.; Gallati, H.; Harder, F.; Juretic, A.; Heberer, M. Exogenous glutamine requirement is confined to late events of T cell activation. *J Cell Biochem* 53(4):343-351; 1993.
45. Houdijk, A. P.; Rijnsburger, E. R.; Jansen, J.; Wesdorp, R. I.; Weiss, J. K.; McCamish, M. A.; Teerlink, T.; Meuwissen, S. G.; Haarman, H. J.; Thijs, L. G. and others. Randomised trial of glutamine-enriched enteral nutrition on infectious morbidity in patients with multiple trauma. *Lancet* 352(9130):772-776; 1998.
46. Ibs, K. H.; Rink, L. [The immune system in aging]. *Z Gerontol Geriatr* 34(6):480-485; 2001.
47. Ito, Y.; Betsuyaku, T.; Moriyama, C.; Nasuhara, Y.; Nishimura, M. Aging affects lipopolysaccharide-induced upregulation of heme oxygenase-1 in the lungs and alveolar macrophages. *Biogerontology* 10(2):173-180; 2009.
48. Itoh, K.; Wakabayashi, N.; Katoh, Y.; Ishii, T.; Igarashi, K.; Engel, J. D.; Yamamoto, M. Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain. *Genes Dev* 13(1):76-86; 1999.
49. Jones, C.; Palmer, T. E.; Griffiths, R. D. Randomized clinical outcome study of critically ill patients given glutamine-supplemented enteral nutrition. *Nutrition* 15(2):108-115; 1999.
50. Kanaoka, Y.; Boyce, J. A. Cysteinyl leukotrienes and their receptors: cellular distribution and function in immune and inflammatory responses. *J Immunol* 173(3):1503-1510; 2004.
51. Khor, T. O.; Huang, M. T.; Kwon, K. H.; Chan, J. Y.; Reddy, B. S.; Kong, A. N. Nrf2-deficient mice have an increased susceptibility to dextran sulfate sodium-induced colitis. *Cancer Res* 66(24):11580-11584; 2006.

52. Kim, K. M.; Pae, H. O.; Zheng, M.; Park, R.; Kim, Y. M.; Chung, H. T. Carbon monoxide induces heme oxygenase-1 via activation of protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase and inhibits endothelial cell apoptosis triggered by endoplasmic reticulum stress. *Circ Res* 101(9):919-927; 2007.
53. Kinney, J. M.; Elwyn, D. H. Protein metabolism and injury. *Annu Rev Nutr* 3:433-466; 1983.
54. Krabbe, K. S.; Bruunsgaard, H.; Hansen, C. M.; Moller, K.; Fonsmark, L.; Qvist, J.; Madsen, P. L.; Kronborg, G.; Andersen, H. O.; Skinhoj, P. and others. Ageing is associated with a prolonged fever response in human endotoxemia. *Clin Diagn Lab Immunol* 8(2):333-338; 2001.
55. Laviola, L.; Natalicchio, A.; Perrini, S.; Giorgino, F. Abnormalities of IGF-I signaling in the pathogenesis of diseases of the bone, brain, and fetoplacental unit in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 295(5):E991-999; 2008.
56. Li, J.; Kudsk, K. A.; Janu, P.; Renegar, K. B. Effect of glutamine-enriched total parenteral nutrition on small intestinal gut-associated lymphoid tissue and upper respiratory tract immunity. *Surgery* 121(5):542-549; 1997.
57. Linton, P. J.; Dorshkind, K. Age-related changes in lymphocyte development and function. *Nat Immunol* 5(2):133-139; 2004.
58. Lohmann, R.; Frerichmann, U.; Stockle, U.; Riegel, T.; Raschke, M. J. [Proximal femoral fractures in the elderly. Analysis of data from health insurance providers on more than 23 million insured persons--part 1]. *Unfallchirurg* 110(7):603-609; 2007.
59. Maeda, H.; Akaike, T. Oxygen free radicals as pathogenic molecules in viral diseases. *Proc Soc Exp Biol Med* 198(2):721-727; 1991.
60. Mahoney, F. I.; Barthel, D. W. Functional Evaluation: The Barthel Index. *Md State Med J* 14:61-65; 1965.
61. Marcell, T. J.; Harman, S. M.; Urban, R. J.; Metz, D. D.; Rodgers, B. D.; Blackman, M. R. Comparison of GH, IGF-I, and testosterone with mRNA of receptors and myostatin in skeletal muscle in older men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281(6):E1159-1164; 2001.
62. Mariani, E.; Neri, S.; Cattini, L.; Mocchegiani, E.; Malavolta, M.; Dedoussis, G. V.; Kanoni, S.; Rink, L.; Jajte, J.; Facchini, A. Effect of zinc supplementation on plasma IL-6 and MCP-1 production and NK cell function in healthy elderly: interactive influence of +647 MT1a and -174 IL-6 polymorphic alleles. *Exp Gerontol* 43(5):462-471; 2008.
63. McCord, J. M. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 108(8):652-659; 2000.
64. McCord, J. M. Superoxide dismutase: rationale for use in reperfusion injury and inflammation. *J Free Radic Biol Med* 2(5-6):307-310; 1986.
65. McCord, J. M.; Fridovich, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem* 244(22):6049-6055; 1969.
66. Mocchegiani, E.; Giacconi, R.; Cipriano, C.; Malavolta, M. NK and NKT cells in aging and longevity: role of zinc and metallothioneins. *J Clin Immunol* 29(4):416-425; 2009.
67. Morlion, B. J.; Stehle, P.; Wachtler, P.; Siedhoff, H. P.; Koller, M.; Konig, W.; Furst, P.; Puchstein, C. Total parenteral nutrition with glutamine dipeptide after major abdominal surgery: a randomized, double-blind, controlled study. *Ann Surg* 227(2):302-308; 1998.
68. Morpurgo, E.; Cadrobbi, R.; Morpurgo, M.; Rigotti, P.; Schiavon, F.; Schiavon, O.; Caliceti, P.; Ancona, E.; Veronese, F. M. Protective effect of superoxide dismutase and polyethylene glycol-linked superoxide dismutase against renal warm ischemia/reperfusion injury. *Transplantation* 62(9):1221-1223; 1996.
69. Nussler, A. K.; Hao, L.; Knobloch, D.; Yao, P.; Nussler, N. C.; Wang, Z.; Liu, L.; Ehnert, S. Protective role of HO-1 for alcohol-dependent liver damage. *Dig Dis* 28(6):792-798; 2010.
70. Oda, T.; Akaike, T.; Hamamoto, T.; Suzuki, F.; Hirano, T.; Maeda, H. Oxygen radicals in influenza-induced pathogenesis and treatment with pyran polymer-conjugated SOD. *Science* 244(4907):974-976; 1989.
71. Oehler, R.; Pusch, E.; Dungal, P.; Zellner, M.; Eliassen, M. M.; Brabec, M.; Roth, E. Glutamine depletion impairs cellular stress response in human leucocytes. *Br J Nutr* 87 Suppl 1:S17-21; 2002.
72. Ogawa, T.; Kitagawa, M.; Hirokawa, K. Age-related changes of human bone marrow: a histometric estimation of proliferative cells, apoptotic cells, T cells, B cells and macrophages. *Mech Ageing Dev* 117(1-3):57-68; 2000.
73. Ohlsson, C.; Mellstrom, D.; Carlzon, D.; Orwoll, E.; Ljunggren, O.; Karlsson, M. K.; Vandenput, L. Older men with low serum IGF-1 have an increased risk of incident fractures: The MrOS Sweden study. *J Bone Miner Res* 26(4):865-872; 2011.

74. Oliveira, B. F.; Nogueira-Machado, J. A.; Chaves, M. M. The role of oxidative stress in the aging process. *ScientificWorldJournal* 10:1121-1128; 2010.
75. Oliveira, G. P.; Dias, C. M.; Pelosi, P.; Rocco, P. R. Understanding the mechanisms of glutamine action in critically ill patients. *An Acad Bras Cienc* 82(2):417-430; 2010.
76. Orthopädie, B. d. F. f. Weißbuch Osteoporose. Berlin: Berufsverband der Fachärzte für Orthopädie e.V.; 2004:56.
77. Osterkamp, R. [Population developments in Germany until 2050]. *Chirurg* 76(1):10-18; 2005.
78. Otterbein, L. E.; Bach, F. H.; Alam, J.; Soares, M.; Tao Lu, H.; Wysk, M.; Davis, R. J.; Flavell, R. A.; Choi, A. M. Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway. *Nat Med* 6(4):422-428; 2000.
79. Otterbein, L. E.; Choi, A. M. Heme oxygenase: colors of defense against cellular stress. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 279(6):L1029-1037; 2000.
80. Oudemans-van Straaten, H. M.; Bosman, R. J.; Treskes, M.; van der Spoel, H. J.; Zandstra, D. F. Plasma glutamine depletion and patient outcome in acute ICU admissions. *Intensive Care Med* 27(1):84-90; 2001.
81. Pawelec, G.; Akbar, A.; Caruso, C.; Solana, R.; Grubeck-Loebenstien, B.; Wikby, A. Human immunosenescence: is it infectious? *Immunol Rev* 205:257-268; 2005.
82. Petersen, M. B.; Jorgensen, H. L.; Hansen, K.; Duus, B. R. Factors affecting postoperative mortality of patients with displaced femoral neck fracture. *Injury* 37(8):705-711; 2006.
83. Pfeifer M., W. R. Schenkelhalsfrakturen in Deutschland. *Dtsch. Arzteblatt*; 2001:98.
84. Poss, K. D.; Tonegawa, S. Reduced stress defense in heme oxygenase 1-deficient cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(20):10925-10930; 1997.
85. Prelog, M. Aging of the immune system: a risk factor for autoimmunity? *Autoimmun Rev* 5(2):136-139; 2006.
86. Qualitätssicherung, B. A. f. Jahresauswertung 2007 der Bayerischen Arbeitsgemeinschaft für Qualitätssicherung in der stationären Versorgung, Modul 17/1: Hüftgelenksnahe-Femurfrakturen. Bayerischen Arbeitsgemeinschaft für Qualitätssicherung in der stationären Versorgung; 2007.
87. Rushworth, S. A.; Chen, X. L.; Mackman, N.; Ogborne, R. M.; O'Connell, M. A. Lipopolysaccharide-induced heme oxygenase-1 expression in human monocytic cells is mediated via Nrf2 and protein kinase C. *J Immunol* 175(7):4408-4415; 2005.
88. Ryter, S. W.; Alam, J.; Choi, A. M. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiol Rev* 86(2):583-650; 2006.
89. Salvemini, D.; Riley, D. P.; Lennon, P. J.; Wang, Z. Q.; Currie, M. G.; Macarthur, H.; Misko, T. P. Protective effects of a superoxide dismutase mimetic and peroxynitrite decomposition catalysts in endotoxin-induced intestinal damage. *Br J Pharmacol* 127(3):685-692; 1999.
90. Savine, R.; Sonksen, P. Growth hormone - hormone replacement for the somatopause? *Horm Res* 53 Suppl 3:37-41; 2000.
91. Schmidt, R. F. u. L., F., ed. *Physiologie des Menschen*, 30. ed: Springer, Berlin 2007.
92. Shaw, A. C.; Joshi, S.; Greenwood, H.; Panda, A.; Lord, J. M. Aging of the innate immune system. *Curr Opin Immunol* 22(4):507-513; 2010.
93. Smektala, R.; Ohmann, C.; Paech, S.; Neuhaus, E.; Rieger, M.; Schwabe, W.; Debold, P.; Deimling, A.; Jonas, M.; Hupe, K. and others. [On the prognosis of hip fractures. Assessment of mortality after hip fractures by analyzing overlapping segments of longitudinal data]. *Unfallchirurg* 108(11):927-928, 930-937; 2005.
94. Smektala, R.; Wenning, M.; Ekkernkamp, A. [Fracture of femoral neck: analysis of the results of external quality assurance. A report on 22,556 patients]. *Chirurg* 70(11):1330-1338; discussion 1339; 1999.
95. Stocker, R.; Yamamoto, Y.; McDonagh, A. F.; Glazer, A. N.; Ames, B. N. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science* 235(4792):1043-1046; 1987.
96. Stöckle Ullrich, M. L., Norbert P. Haas<sup>1</sup>. Der Oberschenkelhalsbruch. *Deutsches Ärzteblatt*:9; 2005.
97. Sukhanov, S.; Higashi, Y.; Shai, S. Y.; Vaughn, C.; Mohler, J.; Li, Y.; Song, Y. H.; Titterington, J.; Delafontaine, P. IGF-1 reduces inflammatory responses, suppresses oxidative stress, and decreases atherosclerosis progression in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27(12):2684-2690; 2007.
98. Szulc, P.; Beck, T. J.; Marchand, F.; Delmas, P. D. Low skeletal muscle mass is associated with poor structural parameters of bone and impaired balance in elderly men--the MINOS study. *J Bone Miner Res* 20(5):721-729; 2005.

99. Thimmulappa, R. K.; Lee, H.; Rangasamy, T.; Reddy, S. P.; Yamamoto, M.; Kensler, T. W.; Biswal, S. Nrf2 is a critical regulator of the innate immune response and survival during experimental sepsis. *J Clin Invest* 116(4):984-995; 2006.
100. Thimmulappa, R. K.; Scollick, C.; Traore, K.; Yates, M.; Trush, M. A.; Liby, K. T.; Sporn, M. B.; Yamamoto, M.; Kensler, T. W.; Biswal, S. Nrf2-dependent protection from LPS induced inflammatory response and mortality by CDDO-Imidazolide. *Biochem Biophys Res Commun* 351(4):883-889; 2006.
101. Thomas, D. R. Age-related changes in wound healing. *Drugs Aging* 18(8):607-620; 2001.
102. Tidermark, J.; Zethraeus, N.; Svensson, O.; Tornkvist, H.; Ponzer, S. Femoral neck fractures in the elderly: functional outcome and quality of life according to EuroQol. *Qual Life Res* 11(5):473-481; 2002.
103. Tidermark, J.; Zethraeus, N.; Svensson, O.; Tornkvist, H.; Ponzer, S. Quality of life related to fracture displacement among elderly patients with femoral neck fractures treated with internal fixation. *J Orthop Trauma* 16(1):34-38; 2002.
104. Trakshel, G. M.; Kutty, R. K.; Maines, M. D. Purification and characterization of the major constitutive form of testicular heme oxygenase. The noninducible isoform. *J Biol Chem* 261(24):11131-11137; 1986.
105. Veldhuis, J. D.; Bowers, C. Y. Human GH pulsatility: an ensemble property regulated by age and gender. *J Endocrinol Invest* 26(9):799-813; 2003.
106. Wang, Z. D.; Peng, J. S.; Chen, S.; Huang, Z. M.; Huang, L. [Effects of perioperative enteral immunonutrition on nutritional status, immunity and inflammatory response of elderly patients]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 86(20):1410-1413; 2006.
107. Wehren, L. E.; Magaziner, J. Hip fracture: risk factors and outcomes. *Curr Osteoporos Rep* 1(2):78-85; 2003.
108. Weltman, A.; Weltman, J. Y.; Hartman, M. L.; Abbott, R. D.; Rogol, A. D.; Evans, W. S.; Veldhuis, J. D. Relationship between age, percentage body fat, fitness, and 24-hour growth hormone release in healthy young adults: effects of gender. *J Clin Endocrinol Metab* 78(3):543-548; 1994.
109. Wenisch, C.; Patruta, S.; Daxbock, F.; Krause, R.; Horl, W. Effect of age on human neutrophil function. *J Leukoc Biol* 67(1):40-45; 2000.
110. Wernerman, J.; Luo, J. L.; Hammarqvist, F. Glutathione status in critically-ill patients: possibility of modulation by antioxidants. *Proc Nutr Soc* 58(3):677-680; 1999.
111. Willis, D.; Moore, A. R.; Frederick, R.; Willoughby, D. A. Heme oxygenase: a novel target for the modulation of the inflammatory response. *Nat Med* 2(1):87-90; 1996.
112. Wischmeyer, P. E.; Lynch, J.; Liedel, J.; Wolfson, R.; Riehm, J.; Gottlieb, L.; Kahana, M. Glutamine administration reduces Gram-negative bacteremia in severely burned patients: a prospective, randomized, double-blind trial versus isonitrogenous control. *Crit Care Med* 29(11):2075-2080; 2001.
113. Yao, P.; Li, K.; Song, F.; Zhou, S.; Sun, X.; Zhang, X.; Nussler, A. K.; Liu, L. Heme oxygenase-1 upregulated by Ginkgo biloba extract: potential protection against ethanol-induced oxidative liver damage. *Food Chem Toxicol* 45(8):1333-1342; 2007.
114. Yasui, K.; Kobayashi, N.; Yamazaki, T.; Agematsu, K.; Matsuzaki, S.; Ito, S.; Nakata, S.; Baba, A.; Koike, K. Superoxide dismutase (SOD) as a potential inhibitory mediator of inflammation via neutrophil apoptosis. *Free Radic Res* 39(7):755-762; 2005.
115. Yoshikawa, T.; Naito, Y.; Ueda, S.; Ichikawa, H.; Takahashi, S.; Yasuda, M.; Kondo, M. Ischemia-reperfusion injury and free radical involvement in gastric mucosal disorders. *Adv Exp Med Biol* 316:231-238; 1992.
116. Zhang, D. D. Mechanistic studies of the Nrf2-Keap1 signaling pathway. *Drug Metab Rev* 38(4):769-789; 2006.
117. Zhang, W. X.; Zhou, L. F.; Zhang, L.; Bao, L.; Wang, C. C.; Meng, H. Y.; Yin, W. Protective effects of glutamine preconditioning on ischemia-reperfusion injury in rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 10(1):78-82; 2011.
118. Zhu, H.; Jia, Z.; Zhang, L.; Yamamoto, M.; Misra, H. P.; Trush, M. A.; Li, Y. Antioxidants and phase 2 enzymes in macrophages: regulation by Nrf2 signaling and protection against oxidative and electrophilic stress. *Exp Biol Med (Maywood)* 233(4):463-474; 2008.
119. Zuckermann, J. Hip fracture. *N Engl J Med* 334:1519-1525; 1996.

## 7. Anhang

SGA Score

Barthel Index

## Subjective Global Assessment (SGA) – Einschätzung des Ernährungszustandes

nach Detsky et al., JPEN 1987; 11: 8-13

Name, Vorname: \_\_\_\_\_ Untersuchungsdatum: \_\_\_\_\_

Geburtsdatum: \_\_\_\_\_ Station: \_\_\_\_\_

### A. Anamnese

#### 1. Gewichtsveränderung

- in den vergangenen **6 Monaten**: \_\_\_\_\_ kg ( \_\_\_\_\_ % Körpergewicht)
  - Abnahme < 5% Körpergewicht
  - Abnahme 5-10% Körpergewicht
  - Abnahme >10% Körpergewicht
- in den vergangenen **zwei Wochen**:
  - Zunahme
  - keine Veränderung
  - Abnahme

#### 2. Nahrungszufuhr

- Veränderungen im Vergleich zur üblichen Zufuhr:
  - nein
  - ja → Dauer: \_\_\_\_\_
- suboptimale feste Kost
- ausschließlich Flüssigkost
- hypokalorische Flüssigkeiten
- keine Nahrungsaufnahme

#### 3. Gastrointestinale Symptome (> 2 Wochen):

- nein
- ja:
  - Übelkeit  Erbrechen
  - Durchfall  Appetitlosigkeit

#### 4. Beeinträchtigung der Leistungsfähigkeit:

- in den vergangenen **6 Monaten**:
  - keine
  - mäßig / eingeschränkt arbeitsfähig
  - stark / bettlägerig
- in den vergangenen **zwei Wochen**:
  - Verbesserung
  - Verschlechterung

#### 5. Auswirkung der Erkrankung auf den Nährstoffbedarf:

- Hauptdiagnose: \_\_\_\_\_
- metabolischer Bedarf
  - kein / niedriger Stress
  - mäßiger Stress
  - hoher Stress

### B. Körperliche Untersuchung

- Verlust von subkutanem Fettgewebe
- Muskelschwund (Quadrizeps, Deltoideus)
- Knöchelödem
- präsakrale Ödeme (Anasarka)
- Aszites

normal	leicht	mäßig	stark

### C. Subjektive Einschätzung des Ernährungszustandes

- A = gut ernährt
- B = mäßig mangelernährt bzw. mit Verdacht auf Mangelernährung
- C = schwer mangelernährt

Übersetzt und bearbeitet von Dr. Tatjana Schütz und Prof. Dr. Matthias Plauth. Kontakt: elke-lajens.schuetz@charite.de, Tel. 030-450 514 059

## **Barthel Index (BI)**

	<b>Punkte</b>
<b>Essen</b>	
• Unabhängig, isst selbständig, benutzt Geschirr und Besteck	10
• Braucht etwas Hilfe, z.B. Fleisch oder Brot schneiden	5
• Nicht selbständig, auch wenn o.g. Hilfe gewährt wird	0
<b>Bett/(Roll-)Stuhltransfer</b>	
• Unabhängig in allen Phasen der Tätigkeit	15
• Geringe Hilfen oder Beaufsichtigung erforderlich	10
• Erhebliche Hilfe beim Transfer, Lagewechsel, Liegen/Sitz selbständig	5
• Nicht selbständig, auch wenn o.g. Hilfe gewährt wird	0
<b>Waschen</b>	
• Unabhängig beim Waschen von Gesicht, Händen; Kämmen, Zähneputzen	5
• Nicht selbständig bei o.g. Tätigkeit	0
<b>Toilettenbenutzung</b>	
• Unabhängig in allen Phasen der Tätigkeit (incl. Reinigung)	10
• Benötigt Hilfe, z.B. wg. unzureich. Gleichgewichtes od. bei Kleidung/Reinig.	5
• Nicht selbständig, auch wenn o.g. Hilfe gewährt wird	0
<b>Baden</b>	
• Unabhängig bei Voll- oder Duschbad in allen Phasen der Tätigkeit	5
• Nicht selbständig bei o.g. Tätigkeit	0
<b>Gehen auf Flurebene bzw. Rollstuhlfahren</b>	
• Unabhängig beim Gehen über 50 m, Hilfsmittel erlaubt, nicht Gehwagen	15
• Geringe Hilfe oder Überwachung erforderlich, kann mit Hilfsm. 50 m gehen	10
• Nicht selbständig beim Gehen, kann aber Rollstuhl selbständig bedienen, auch um Ecken und an einen Tisch heranfahren, Strecke mind. 50 m	5
• Nicht selbständig beim Gehen oder Rollstuhlfahren	0
<b>Treppensteigen</b>	
• Unabhängig bei der Bewältigung einer Treppe (mehrere Stufen)	10
• benötigt Hilfe oder Überwachung beim Treppensteigen	5
• Nicht selbständig, kann auch mit Hilfe nicht Treppe steigen	0
<b>An- und Auskleiden</b>	
• Unabhängig beim An- und Auskleiden (ggf. auch Korsett oder Bruchband)	10
• Benötigt Hilfe, kann aber 50% der Tätigkeit selbständig durchführen	5
• Nicht selbständig, auch wenn o.g. Hilfe gewährt wird	0
<b>Stuhlkontrolle</b>	
• Ständig kontinent	10
• Gelegentlich inkontinent, maximal einmal/Woche	5
• Häufiger/ständig inkontinent	0
<b>Urinkontrolle</b>	
• Ständig kontinent, ggf. unabhängig bei Versorgung eines DK/Cystofix	10
• Gelegentlich inkontinent, max. einmal/Tag, Hilfe bei ext. Harnableitung	5
• Häufiger/ ständig inkontinent	0

## 8. Danksagung

Diese Danksagung richtet sich vor allem an das Labor der Unfallchirurgie: Mein Dank gilt an erster Stelle meinem Doktorvater Prof. Dr. Andreas Nüssler. In regelmäßigen Treffen habe ich sehr gute Unterstützung erfahren und mit seiner konstruktiven Kritik hat er enorm zur Vollendung dieser Arbeit beigetragen. In den letzten Monaten sorgte Prof. Nüssler persönlich und in direkter Betreuung für die Vollendung dieser Arbeit. Nochmals herzlichen Dank für die Korrektur und dafür, dass Sie stets erreichbar waren und den Fortschritt dieser Arbeit gefördert haben. Ich möchte mich besonders bei Dr. Lila Schyschka bedanken, welche stets ein offenes Ohr für die auftretenden Probleme hatte. Sie stand mir mit wertvollen Ratschlägen zur Seite und hat durch ihr selbstloses und uneigennütziges Verhalten einen wesentlichen Anteil an dieser Arbeit. Vielen Dank Lila !

Weiterhin bedanke ich mich herzlich bei Marina Unger und Dr. Claudine Seelinger, welche mir eine große Hilfe bei der Einarbeitung in die Labortätigkeiten waren. Durch ihre fröhliche und lustige wurde es auch nie langweilig. Vielen Dank auch an Dr. Sabrina Ehnert und Fritz Seidl für die nette Unterstützung.

Auf klinischer Seite möchte ich mich bei den Organisatoren der Studie und meinen Betreuern bedanken. Frau Dr. Helen Vester und Dr. Markus Neumaier. Vielen Dank für meine sorgfältige und unermüdliche Einarbeitung. Ohne diese beiden Personen wäre die Studie nicht möglich gewesen.

Besonderer Dank gilt meiner Freundin Anke Sibbersen, welche mich stetig unterstützt hat und verständnisvoll an meiner Seite stand. Durch diese zeitintensive Arbeit war es bestimmt nicht immer leicht - gerade deswegen weiß ich was ich an dir habe.

Letztendlich möchte ich mich auch bei meinen besten Freunden Jan und Ruben bedanken ohne die ich bestimmt nicht so viel Spaß im Labor gehabt hätte und auch nicht unwesentlich: ohne die ich niemals so viel Probeblut für Testdurchläufe erhalten hätte.