

Resposta Anabólica à Insulina no Pós-Operatório
Sob Nutrição Parenteral Convencional
e Hiperproteica.

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção de grau de Mestre.

RUBENS VALARINI

RESPOSTA ANABÓLICA À INSULINA NO PÓS-OPERATÓRIO
SOB NUTRIÇÃO PARENTERAL CONVENCIONAL E HIPERPROTÉICA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre.

CURITIBA
1990

ORIENTADOR

Prof. Dr. Miguel Carlos Riella

À memória de meu pai,

À minha mãe.

À minha esposa, **Sandra Beatriz**

AGRADECIMENTOS

Desejo manifestar meus agradecimentos a todas aquelas pessoas que de alguma maneira colaboraram na execução deste trabalho:

Ao Prof. Dr. Miguel Carlos Riella, pelo estímulo e incentivo na execução deste trabalho, dedicando momentos preciosos na orientação e no esclarecimento de dúvidas.

Ao Prof. Dr. Naji N. Abumrad, pelo excepcional interesse e indispensável colaboração, colocando à disposição os laboratórios do Departamento de Cirurgia da Universidade de Vanderbilt e, apesar da distância, mantendo contato constante no envio de dados.

Ao Prof. Dr. Sergio Brenner, a quem devo grande parte da minha formação cirúrgica, que, com paciência e dedicação, sempre transmitiu com grande responsabilidade seus conhecimentos cirúrgicos.

Ao Dr. Roberto Kalil e Dra. Margarete Mara da Silva, que prestaram grande colaboração com a participação direta na execução deste trabalho.

Às Bioquímicas Laurel B. Brawn e Barbara, que realizaram a análise bioquímica das amostras nos laboratórios da Universidade de Vanderbilt.

Ao Serviço de Diabetes do Hospital Evangélico de Curitiba e seu corpo de enfermagem que, sob a responsabilidade da *Dra. Mirnaluci Gama e Dr. Stenio Camacho*, realizaram o controle glicêmico dos pacientes.

Às nutricionistas Cristina Martins e Simone Teixeira Mercadante, que realizaram os cálculos da composição das soluções de nutrição parenteral utilizadas.

Às enfermeiras Yooko Yoshida e Roseana Fuerbringer, que prestaram inestimável colaboração preparando as soluções, supervisionando a infusão da nutrição parenteral e insulina, assim como nos cuidados gerais com os pacientes.

Ao professor de português *Ubiratan de Mattos*, pela minuciosa revisão do texto.

À Bibliotecária Áurea Maria Costin, pela revisão das referências bibliográficas.

LISTA DE TABELAS

TABELA 01 - Características antropométricas e clínicas dos pacientes estudados	09
TABELA 02 - Composição por 100 ml da solução de nutrição parenteral utilizada em todos os pacientes estudados	10
TABELA 03 - Características nutricionais, insulina administrada, níveis plasmáticos de insulina e níveis glicêmicos durante o estudo	21
TABELA 04 - Proteína e nitrogênio administrados, nitrogênio excretado, nitrogênio incorporado, balanço nitrogenado em gramas e balanço nitrogenado em gramas por kg de peso	22
TABELA 05 - Concentração plasmática dos aminoácidos essenciais (umol/L)	23
TABELA 06 - Concentração plasmática dos aminoácidos de cadeia ramificada (umol/L)	24
TABELA 07 - Concentração plasmática dos aminoácidos não essenciais (umol/L).....	25

S U M Á R I O

1.	RESUMO	viii
2.	INTRODUÇÃO	01
3.	MATERIAL E MÉTODOS	04
	3.1 - Fase do experimento	07
	3.2 - Coleta do material	13
	3.3 - Análise do material	13
4.	RESULTADOS	15
	4.1 - Excreção de nitrogênio	16
	4.2 - Balanço nitrogenado	16
	4.3 - Incorporação de nitrogênio	16
	4.4 - Concentração plasmática de aminoácidos	16
	4.5 - Níveis plasmáticos de insulina e glicose	18
	4.6 - Análise estatística	19
5.	DISCUSSÃO	26
6.	CONCLUSÕES	34
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

RESUMO

Os dados da literatura mostram claramente que a insulina exerce um papel importante na regulação do metabolismo protéico, agindo basicamente na inibição da proteólise e estímulo da síntese protéica.

Para avaliar este papel da insulina no metabolismo protéico, foi realizado um estudo com 16 pacientes em estado pós-operatório de cirurgias eletivas do aparelho digestivo de médio e grande portes, submetidos a nutrição parenteral total por um período de sete dias. Os pacientes foram divididos em dois grupos de oito, os quais receberam aportes protéicos diferentes. O grupo I recebeu dieta (A) normoprotéica (150 kcal/g/N), e o grupo II recebeu dieta (B) hiperprotéica (75 kcal/g/N). A insulina foi utilizada simultaneamente com a nutrição parenteral por via endovenosa periférica, na dosagem de 1 mu/kg/min em todos os pacientes. A euglicemia foi mantida com o uso de glicose 50%.

Foram colhidas amostras de urina de 24 horas para dosagem do nitrogênio urinário total, e amostras de plasma para dosagem dos aminoácidos e insulina. A quantidade de nitrogênio infundido foi em média $0,26 \pm 0,01$ g/kg para o grupo I e $0,46 \pm 0,03$ g/kg para o grupo II ($P < 0.001$). Os pacientes do grupo I apresentaram uma excreção média de nitrogênio de $142,5 \pm 23,7$ mg/kg e os pacientes do grupo II uma média de $178,7 \pm 21,2$ mg/kg (NS). O balanço nitrogenado foi positivo em ambos os grupos. Com a dieta normoprotéica na presença de insulina, o balanço nitrogenado foi de $+6,74 \pm 2,94$ g; com a dieta hiperprotéica, o balanço nitrogenado teve um aumento significativo para $+14,44 \pm 2,61$ g ($P < 0.001$). A incorporação

média de nitrogênio por kilo de peso foi de $41,3 \pm 6,20$ %N/kg para o grupo I e $58,3 \pm 4,53$ %N/kg para o grupo II ($P < 0.05$).

Os níveis plasmáticos de insulina foram em média de $67,7 \pm 6,7$ uU/ml para o grupo I, e de $54,6 \pm 9,3$ uU/ml para o grupo II (NS). A glicemia pós-operatória foi em média de $131,0 \pm 8,0$ mg/100ml para o grupo I, e $99,1 \pm 4,0$ mg/100ml para o grupo II (NS).

Os níveis basais dos aminoácidos foram obtidos de um grupo controle de setenta voluntários normais¹³.

A concentração plasmática total dos aminoácidos foi de 2495 umol/L para os pacientes do grupo I, 3935 umol/L para os pacientes do grupo II, e 2754 umol/L para o basal.

A concentração total para os aminoácidos de cadeia ramificada foi de 514 umol/L para o grupo I, e 704 umol/L para o grupo II, com um basal de 428 umol/L.

Os aminoácidos essenciais apresentaram uma concentração plasmática total de 970 umol/L para o grupo I, e 1330 umol/L para o grupo II, com um basal de 922 umol/L.

Com relação aos aminoácidos não essenciais, a concentração plasmática total para os pacientes do grupo I foi de 1557 umol/L, e para o grupo II 2618 umol/L, com um basal de 1688 umol/L.

A produção de uma hiperaminoacidemia através de um maior aporte de aminoácidos, associado à infusão contínua de insulina, determinou uma incorporação de nitrogênio por kg de peso significativamente maior, quando comparada com o grupo I, em que se produziu uma euaminocidemia.

2. INTRODUÇÃO

Há evidências inquestionáveis, na literatura, de que a insulina possui um papel importante na regulação do metabolismo protéico^{8,9,21,22,29,30,38,50}. A insulina parece agir "in vivo" basicamente inibindo a proteólise e, em menor intensidade, estimulando a síntese protéica^{13,16,18}. Há vários estudos nos quais a insulina, quando adicionada a preparações do músculo "in vitro" mostrou um predominate papel no estímulo da síntese protéica, e uma menor ação na inibição da proteólise^{17,30,39,40}. No entanto, estudos do metabolismo protéico "in vivo" não confirmaram estes achados^{8,13,16}.

Gelfand e Barrett²³ infundiram insulina diretamente na artéria braquial, e analisaram a taxa de síntese protéica e proteólise nos músculos do antebraço utilizando ¹⁴C-leucina e ³H-fenilalanina. A infusão de insulina na artéria braquial tem a vantagem de que os níveis circulantes de aminoácidos não estão diminuídos. Os autores verificaram que o principal efeito da insulina foi inibir a proteólise.

Outros estudos, empregando radioisótopos, verificaram os efeitos de diferentes concentrações de insulina na cinética dos aminoácidos "in vivo" e concluíram que o efeito principal da insulina era na supressão da proteólise^{13,16,44,45}. Nestes relatos verificou-se que a insulina também diminuiu a oxidação dos aminoácidos. A contrário dos estudos "in vitro", a insulina reduziu a síntese protéica.

Postula-se, aqui, que a razão para a redução da síntese protéica, foi que a infusão de insulina em humanos (mesmo mantendo a glicemia estável) resultou em níveis reduzidos de aminoácidos plasmáticos, e, portanto, causou uma hi-

poaminoacidemia generalizada. Isto também resultaria em níveis reduzidos de aminoácidos intracelulares. Portanto, mesmo na presença de altos níveis de insulina, a presença de baixos níveis de aminoácidos resulta na redução das concentrações de aminoácidos plasmáticos e intracelulares, reduzindo a disponibilidade de aminoácidos intracelulares que devem participar na síntese protéica.

Em função do exposto, formula-se a hipótese de que a disponibilidade de aminoácidos e insulina durante a nutrição parenteral deveriam atuar sinergicamente, melhorando o balanço nitrogenado e a incorporação de nitrogênio. Através desta hipótese, a melhora no balanço nitrogenado ocorreria porque a combinação de insulina e aminoácidos resultaria numa melhor supressão da taxa de proteólise, e poderia aumentar a taxa de síntese protéica (ou possivelmente prevenir a redução dela). A hiperaminoacidemia resultaria na estimulação da síntese protéica como foi previamente descrita por Tessari e cols.⁴².

3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Serviço de Suporte Nutricional e Departamento de Cirurgia do Hospital Evangélico de Curitiba e Departamento de Cirurgia da Universidade de Vanderbilt (USA), no período compreendido entre junho de 1988 a março de 1989. Foram estudados 16 pacientes de ambos os sexos, doze masculinos e quatro femininos (3:1), divididos em dois grupos de oito. A idade variou de 22 a 75 anos com uma média de 46 ± 6 anos para o grupo I, e 47 ± 5 anos para o grupo II. O peso variou de 34,5 a 69,5 kg, sendo em média de 59 ± 3 kg para o grupo I, e 55 ± 4 kg para o grupo II. Os pacientes não eram diabéticos e apresentavam funções renal e hepática normais. A glicemia sangüínea de jejum no pré-operatório variou de 65 a 102 mg/100ml, com uma média de 85 ± 4 mg/100 ml para o grupo I, e 88 ± 4 mg/100 ml para o grupo II. Os pacientes estavam cientes do estudo através de explicação prévia, e só eram incluídos no estudo após consentimento por escrito assinado pelo paciente ou, na impossibilidade deste, pelo parente mais próximo.

Todos os pacientes incluídos no estudo eram portadores de patologia cirúrgica do aparelho digestivo e foram submetidos a cirurgias eletivas de médio e grande portes (**Tabela 1**). Todos foram submetidos a anestesia geral com intubação oro-traqueal. A duração média das cirurgias foi de 177 ± 10 minutos para o grupo I, e 211 ± 14 minutos para o grupo II. As principais características dos pacientes estudados estão resumidas na tabela 1. O grupo controle constou de setenta voluntários normais, do sexo masculino, nos quais foram realizadas as dosagens dos níveis basais dos aminoácidos

na Universidade de Vanderbilt ¹³.

O estudo foi prospectivo, randomizado, duplo-cego. Os pacientes foram divididos em dois grupos de oito, de acordo com o aporte protéico que recebiam na alimentação parenteral. Foram excluídos do estudo os pacientes portadores de infecção.

A avaliação nutricional foi realizada através do "Body Mass Índice" (BMI) ou Índice de Quetelet, (peso (kg) dividido pela altura em m² ³², com valor médio de 21.9±0.74 para o grupo I, e 20.7±1.39 para o grupo II (NS) (Tabela 3). O cálculo da demanda nutricional de cada paciente foi realizado utilizando-se as equações clássicas de Harris e Benedict ²⁴, com base no peso (P), altura (A) e idade (I), multiplicado pelos fatores de atividade (F.A.) e injúria (F.I.).

GEB (homens)= 66,47+13,75xP+5xA-6,76xIx1.2(F.A.)x1.2(F.I.)

GEB (mulher)= 655,10+9,56xP+1,85xA-4,68xIx1.2(F.A.)x1.2(F.I.)

GEB= Gasto energético basal

F.A. = 1.2 para repouso no leito.

F.I. = 1.2 para cirurgias eletivas.

A demanda nutricional foi de 38.6±2.8 kcal/kg para os pacientes do grupo I, e 34.0±2.5 kcal/kg para os pacientes do grupo II (NS) (Tabela 2).

Todos os pacientes iniciaram o jejum 12 horas antes da cirurgia, sendo nesse período realizada a cateterização da veia sub-clávia com cateter Intracath N°14 (Sondaplast Material Médico-Hospitalar, Jaguara-SP), e mantida com soro glicosado 5% até o momento da cirurgia. Durante o ato opera-

tório os pacientes receberam hidratação básica e eletrólitos.

Todos receberam antibiótico profilático que teve início no ato operatório. Os pacientes permaneceram em jejum por um período de sete dias após a cirurgia. A nutrição parenteral total foi realizada do primeiro ao oitavo dia pós-operatório. Durante esse período os pacientes permaneceram em repouso no leito.

A infusão da nutrição parenteral total foi mantida constante com o auxílio de uma bomba de infusão B. Braun Melsungen A.G. modelo 870-203. Todos os pacientes receberam infusão endovenosa simultânea contínua de insulina simples U-40 (Biobras, Montes Claros-MG) em veia periférica, na dosagem de 1mu/kg/min , totalizando uma média de 85.3 ± 4.8 U/dia para os pacientes do grupo I e 79.6 ± 5.65 U/dia para os pacientes do grupo II (NS) (**Tabela 3**), com o auxílio de uma bomba de infusão de alta precisão Travenol modelo A.S. 209.

3.1 - Fase do experimento:-

O estudo constou de sete dias de jejum no pós-operatório de cirurgias eletivas, período em que os pacientes receberam nutrição parenteral total através de veia central, e infusão contínua simultânea de insulina simples em veia periférica. Foram utilizados dois tipos de dieta parenteral, dieta (A) normoprotéica com 150kcal/g/N , para o grupo I, e dieta (B) hiperprotéica com 75kcal/g/N , para o grupo II. A dosagem de insulina foi constante de 1mu/kg/min . para todos os pacientes.

As dietas foram preparadas de acordo com as necessidades calóricas de cada paciente, e apresentavam a composição mostrada na **tabela 2**. Os pacientes do grupo I receberam em média $38,6 \pm 2.8$ kcal/kg, sendo 83,3% dessa energia provenientes de carboidratos e 16,6% provenientes de aminoácidos (**Figura 1**); os pacientes do grupo II receberam em média 34.0 ± 2.5 kcal/kg, sendo 66,7% provenientes de carboidratos e 33,3% provenientes de aminoácidos (**Figura 2**). Os pacientes do grupo I receberam em média 1.60 ± 0.11 g/kg de proteínas, e os pacientes do grupo II receberam 2.83 ± 0.20 g/kg de proteínas ($P < 0.001$) (**Tabela 4**).

A quantidade de nitrogênio administrado para os pacientes do grupo I foi em média 0.26 ± 0.01 gN/kg, e para os pacientes do grupo II foi em média 0.46 ± 0.03 gN/kg ($P < 0.005$) . (**Tabela 4**).

A euglicemia foi mantida pela administração de glicose 50% quando necessário. O controle da glicemia foi realizado a cada 12 horas pelo método Destrostix (Amis) Glicoteste (Exata).

Tabela 1 - Características antropométricas e clínicas dos pacientes estudados.

Paciente	Sexo	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (cm)	Diagnóstico	Cirurgia
W.B.	M	24	71.5	170	Úlcera duodenal	Gastrectomia
J.M.G.	M	58	55.8	163	Úlcera duodenal	Gastrectomia
P.R.S.	M	50	69.5	172	Megacólon	Retossigmoidectomia
J.R.S.	M	31	53.0	153	Úlcera duodenal	Gastrectomia
N.D.L.	M	37	56.8	156	Cisto de retroperitônio	Ressecção
V.S.	M	75	50.0	160	CA gástrico	Gastroenteroanastomose
N.R.L.	M	43	65.2	172	Úlcera gástrica	Gastrectomia parcial
C.P.O.	M	49	49.0	163	Úlcera gástrica	Gastrectomia parcial
Z.V.O.	F	47	48.5	165	Megaesôfago	Esofagectomia
J.A.S.	M	41	66.5	170	Pancreatite	Pancreatectomia
L.T.R.M.	M	23	34.5	160	Estenose de esôfago	Cardioplastia (Thal)
P.P.	F	68	66.4	160	Hérnia hiato	Funduplicatura
S.F.	M	58	66.3	166	CA gástrico	Gastrectomia
O.S.A.	F	42	53.0	166	Úlcera duodenal	Gastrectomia
M.J.F.	F	45	55.1	158	Megacólon	Colectomia sub-total
E.P.R.	M	51	52.5	159	Úlcera duodenal	Gastrectomia

Tabela 2 - Composição por 1000 ml da solução de nutrição parenteral utilizada em todos os pacientes estudados.

L-Leucina	8,90 g
L-Isoleucina	5,10 g
L-Lisina acetato	7,90 g
L-Metionina	3,80 g
L-Fenilalanina	5,10 g
L-Treonina	4,10 g
L-Triptofano	1,80 g
L-Valina	4,80 g
L-Arginina	9,20 g
L-Histidina	5,20 g
L-Alanina	13,70 g
L-Prolina	8,90 g
Ácido L-aspártico	1,30 g
L-Asparagina	3,30 g
L-Cisteína cloridrato	0,65 g
Ácido glutâmico	4,60 g
L-Ornitina cloridrato	3,20 g
L-Serina	2,40 g
N-Acetil L-Tirosina	1,60 g
Ácido aminoacético (Glicina)	7,90 g
Água q.s.p.	1000,0 ml
Glicose 50%	250,0 g
Aminoácidos totais	100,00 g
Nitrogênio total	16,06 g
Alfa amino-nitrogênio	11,56 g
Conteúdo calórico	400 Kcal
CH ₃ COO-	38 mEq
Cl-	23 mEq
pH	6,0 - 7,0
Osmolaridade	=890 mOsm
Aminoplasmal L-10A (B.Braun S.A. RJ).	
<u>Eletrólitos</u>	
Glucanato de cálcio 10%	48 mEq
Cloreto de sódio 20%	34 mEq
Cloreto de potássio 19,1%	25 mEq
Sulfato de magnésio	81 mEq
Fosfato de potássio	20 mEq
Acetato de sódio	10 ml
<u>Oligoelementos</u>	
Zn	5,0 mg
Cu	1,0 mg
Mn	0,5 mg
Cr	10,0 mg
<u>Vitaminas</u>	
Vitamina B2	2 mg
Vitamina B6	4 mg
Vitamina B12	50 mcg
Nicotinamida	20 mg
Vitamina C	1 g

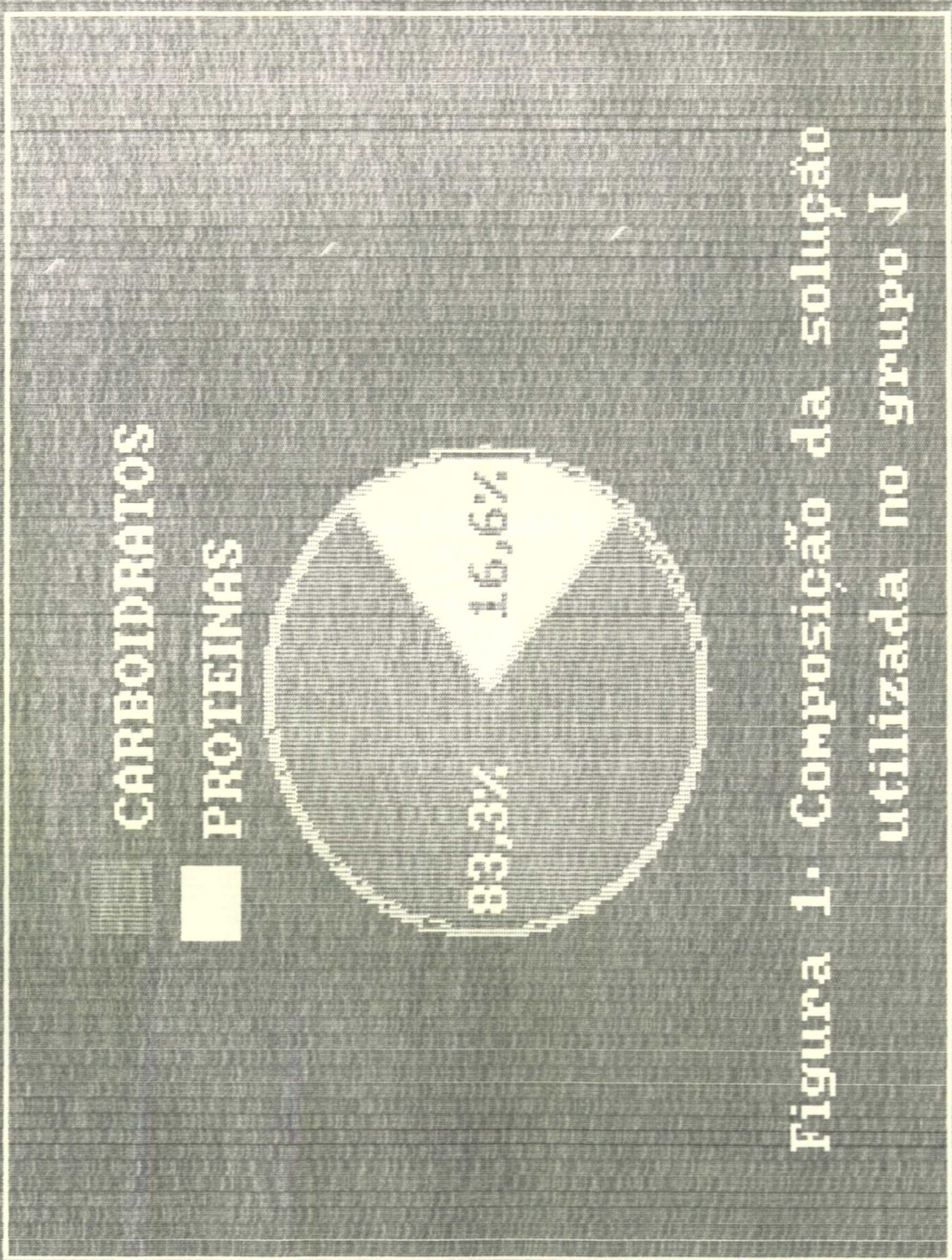


Figura 1. Composição da solução utilizada no grupo ↓

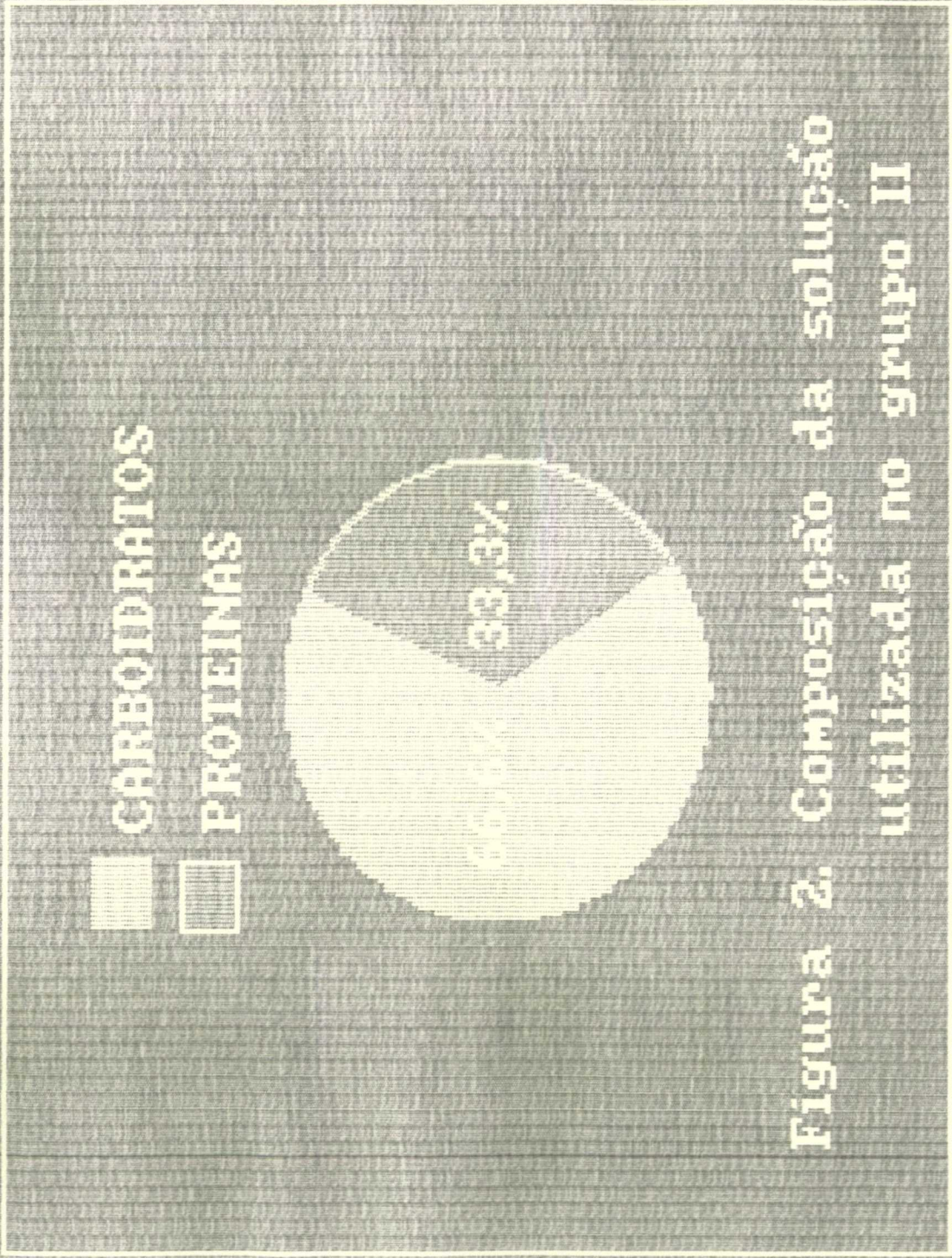


Figura 2. Composição da solução utilizada no grupo II

3.2 - Coleta do Material:

A urina era armazenada em frascos de vidro de 1000 ml esterilizados, com a adição de 5 ml de ácido clorídrico 1/6N. No final das 24 horas o volume total de urina era homogeneizado e uma amostra de 3 ml era colhida e armazenada em nitrogênio líquido. Essa urina foi utilizada para a dosagem do nitrogênio urinário total.

Amostras de 10 ml de sangue venoso eram colhidas diariamente, entre 8 e 9 horas, com seringa heparinizada. Logo após a coleta, o sangue era centrifugado a 9000 rpm, por 10 minutos, para separar o plasma. Uma amostra de 3 ml do plasma era armazenada em nitrogênio líquido, o restante do plasma era desproteínizado através da adição de Ácido Sulfossalicílico 6%, na proporção de 1:1. A mistura era centrifugada a 9000 rpm, por 10 minutos, o sobrenadante (plasma desproteínizado) era armazenado em nitrogênio líquido para dosagem dos aminoácidos.

3.3 - Análise das amostras:

Todas as amostras foram analisadas nos laboratórios do Departamento de Cirurgia da Universidade de Vanderbilt, Nashville (USA).

As amostras de urina de 24 horas foram submetidas a análise do nitrogênio total, utilizando-se o método de digestão microKjeldahl.

As dosagens dos aminoácidos foram realizadas segundo o método de "Reverse Phase High-Performance Liquid

Chromatography Pre-column Derivatization" com
Phenylisothiocyanate"²⁶.

A dosagem dos níveis de insulina plasmática foi
realizada pelo método de Radioimunoensaio⁴⁹.

4. RESULTADOS

4.1 - Excreção de Nitrogênio:

A excreção de nitrogênio foi em média de 142.5 ± 23.7 mg/kg para os pacientes do grupo I, e 178.7 ± 21.2 mg/kg para os pacientes do grupo II (NS) (**Tabela 4**).

4.2 - Balanco Nitrogenado:

O balanço nitrogenado individual cumulativo é mostrado na tabela 4. Observou-se que todos os pacientes do grupo II apresentaram um balanço nitrogenado individual significativamente maior ($P < 0.001$).

O balanço nitrogenado médio foi de $+6.7 \pm 2.94$ g para o grupo I e $+14.4 \pm 2.61$ g para o grupo II ($P < 0.001$), com um balanço nitrogenado médio por kilo de peso de $+0.11 \pm 0.03$ g/kg para o grupo I e $+0.27 \pm 0.10$ g/kg para o grupo II ($P < 0.007$) (**Tabela 4**). Houve um aumento significativo no balanço nitrogenado quando a solução de aminoácidos e glicose infundidas na presença de insulina continha uma taxa de 75 kcal/g/N.

4.3 - Incorporação de Nitrogênio:

A porcentagem média de nitrogênio por kilo de peso incorporado no período estudado foi de 41.3 ± 6.20 %N/kg para o grupo I e 58.3 ± 4.53 %N/kg para o grupo II ($P < 0.02$) (**Tabela 4**).

4.4 - Aminoácidos plasmáticos:

A concentração plasmática total para os aminoá-

cidos foi de 2495 umol/L para o grupo I, 3935 umol/L para o grupo II e 2754 umol/L para o basal (**Figura 3**). Os níveis plasmáticos totais para os aminoácidos de cadeia ramificada foram de 514 umol/L para o grupo I e 704 umol/L para o grupo II, para um basal de 428 umol/L. Houve um aumento significativo para os aminoácidos leucina e isoleucina do grupo II (**Tabela 6**).

A concentração plasmática total para os aminoácidos essenciais foi de 970 umol/L para os pacientes do grupo I e 1330 umol/L para os pacientes do grupo II, com um basal de 922 umol/L. Observou-se um aumento significativo dos níveis plasmáticos dos aminoácidos essenciais triptofano, fenilalanina, treonina, metionina, leucina e isoleucina do grupo II em relação ao basal, e dos aminoácidos essenciais lisina, treonina, metionina e isoleucina do grupo II em relação ao grupo I (**Tabela 5**).

A concentração plasmática dos aminoácidos não essenciais apresentou um total de 1557 umol/L para os pacientes do grupo I, e 2618 umol/L para os pacientes do grupo II, para um basal de 1688 umol/L. Observou-se um aumento significativo nos níveis dos aminoácidos não essenciais alanina, prolina, glicina e ornitina do grupo II em relação ao basal, e uma queda significativa dos aminoácidos não essenciais serina, citrulina, glutamina, taurina e arginina do grupo I em relação ao basal (**Tabela 7**).

4.5 - Níveis plasmáticos de insulina e glicose durante o estudo:

Os níveis médios de insulina plasmática não apresentaram variação significativa entre os dois grupos, sendo de 67.7 ± 6.7 uU/ml para os pacientes do grupo I e 54.6 ± 9.3 uU/ml para os pacientes do grupo II (NS) (Tabela 3). Estes níveis estão de acordo com a literatura quando se administra alimentação parenteral⁴¹.

O nível médio de glicemia pós-operatória para os pacientes do grupo I foi de $131,4 \pm 8.0$ mg/100ml e para os pacientes do grupo II, $99,1 \pm 4,0$ mg/100 ml (NS) (Tabela 3).

4.6 - Apresentação dos dados e análise estatística:

Os valores dos resultados são apresentados como Média \pm erro padrão da média, com exceção dos valores totais dos aminoácidos que são apresentados como a somatória. A análise estatística foi realizada utilizando-se o "teste t de Student", com nível de significância para ($P < 0.05$).

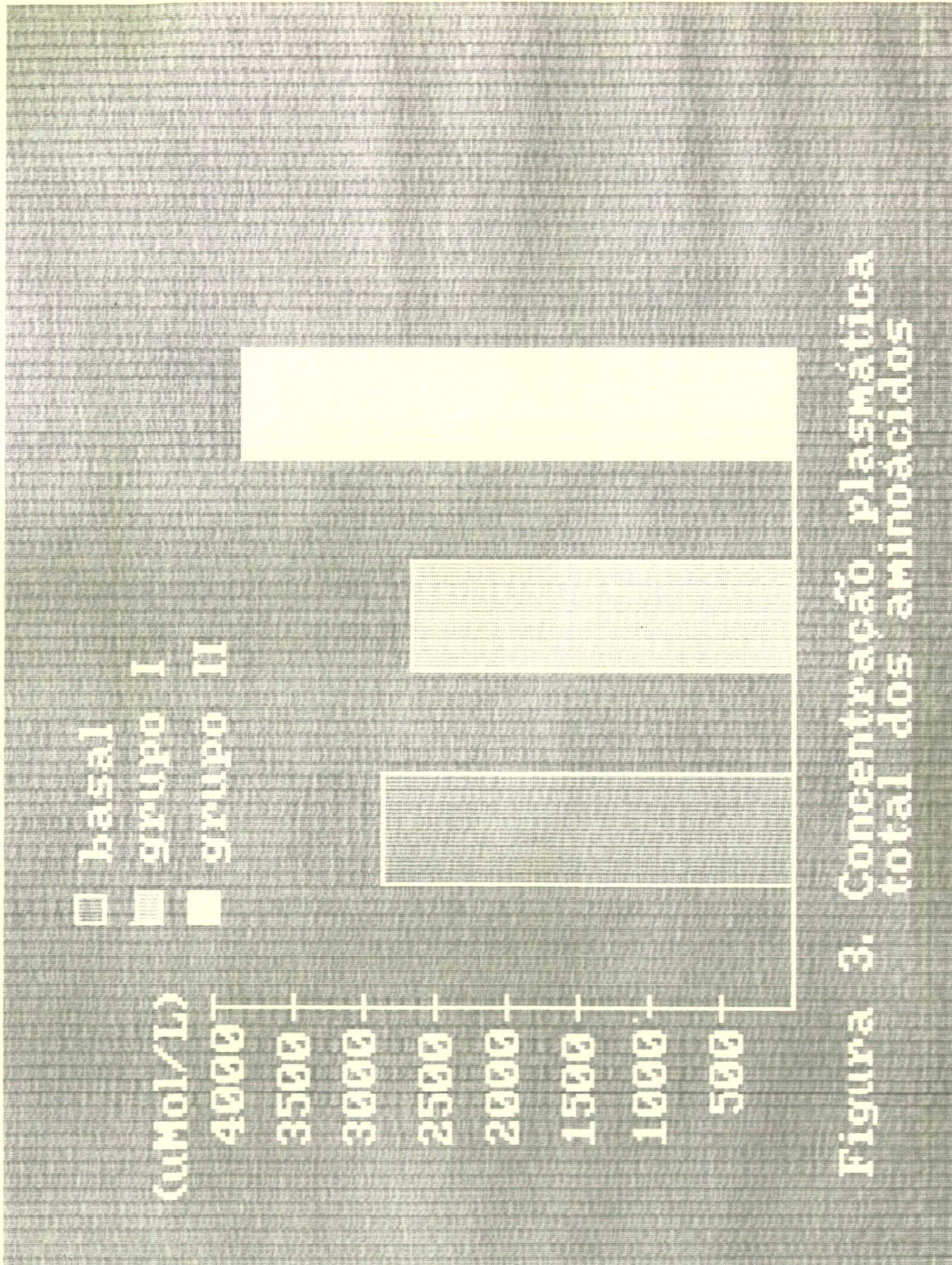


Figura 3. Concentração plasmática total dos aminoácidos

Tabela 3 - Características nutricionais, insulina administrada, níveis plasmáticos de insulina e níveis glicêmicos durante o estudo. Os dados são apresentados como valores individuais e médias dos grupos \pm erro padrão da média.

	Nº	BMI	Demanda energética (kcal/kg)	Insulina administ. (U/dia)	Insulina pós-operatória (uU/ml)	Glicemia pós-operat. (mg/100ml)
G R U P O	1	24	38	108	96.4	118
	2	21	32	80	48.3	109
	3	23	32	100	75.5	104
	4	23	36	76	55.5	153
	5	23	35	82	55.1	117
	6	19	35	72	46.7	139
I	7	22	46	94	88.7	142
	8	18	55	70	77.1	168
G R U P O	1	18	35	70	42.6	84
	2	23	27	96	43.1	102
	3	13	49	50	13.2	87
	4	26	27	96	74.2	118
	5	24	31	95	34.0	96
	6	19	34	76	59.0	93
II	7	22	33	79	79.5	108
	8	21	36	76	92.2	106
Média \pm erro padrão da média						
I		21.9	38.6	85.3	67.9	131.4
		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
		0.74	2.8	4.85	6.73	8.0
II		20.7	34.0	79.6	54.7	99.1
		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
		1.39	2.5	5.65	9.30	4.0
P		(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)

Tabela 4 - Proteína e nitrogênio administrados, nitrogênio excretado, nitrogênio incorporado, balanço nitrogenado em gramas e balanço nitrogenado em gramas por kg. Os dados são apresentados como valores individuais e médias dos grupos \pm erro padrão da média.

Nº	Proteína na dieta (g/kg)	Nitrogênio na dieta (g/kg)	Nitrogênio excretado (mg/kg)	Nitrogênio incorporado (%N/kg)	Balanço nitrogenado (g)	Balanço nitrogenado (g/kg)
1	1.57	0.25	90	61.2	+11.1	+0.15
2	1.34	0.22	80	61.9	+7.6	+0.13
3	1.32	0.21	80	60.4	+9.0	+0.12
4	1.52	0.25	190	20.0	+2.7	+0.05
5	1.44	0.23	140	37.3	+5.0	+0.08
6	1.45	0.23	110	27.8	+5.9	+0.11
7	1.91	0.31	180	38.6	+8.9	+0.13
8	2.29	0.37	270	23.6	+3.3	+0.06
<hr/>						
1	2.93	0.47	100	78.0	+18.1	+0.37
2	2.21	0.36	150	54.7	+13.6	+0.20
3	4.09	0.67	180	71.0	+16.3	+0.47
4	2.26	0.37	150	56.6	+13.9	+0.21
5	2.54	0.41	180	54.5	+15.2	+0.22
6	2.84	0.46	190	56.8	+14.0	+0.26
7	2.76	0.45	170	60.4	+15.0	+0.27
8	3.01	0.49	310	34.5	+9.1	+0.17
<hr/>						
Média \pm Erro padrão da média						
	1.60	0.26	142.5	41.3	+6.74	+0.11
	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
	0.11	0.01	23.7	6.20	2.94	0.03
<hr/>						
	2.83	0.46	178.7	58.3	+14.44	+0.27
	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
	0.20	0.03	21.2	4.53	2.61	0.10
<hr/>						
P	(0.0001)	(0.0001)	(NS)	(0.02)	(0.001)	(0.007)

Tabela 5 - Concentração plasmática dos aminoácidos essenciais (umol/L). Os valores representam as médias \pm erro padrão da média. (*) representa significância entre os valores dos grupos I, II e o basal. (\neq) representa significância entre os valores dos grupos I e II.

Aminoácidos essenciais	Basal	Grupo I	Grupo II
Triptofano	75 \pm 7	46 \pm 10*	48 \pm 4*
Fenilalanina	76 \pm 10	97 \pm 22	119 \pm 14*
Lisina	156 \pm 11	138 \pm 32	189 \pm 21 \neq
Treonina	146 \pm 8	131 \pm 11	188 \pm 16 \neq
Valina	255 \pm 39	245 \pm 46	308 \pm 30
Metionina	41 \pm 6	44 \pm 8	82 \pm 15* \neq
Leucina	111 \pm 3	175 \pm 37	259 \pm 31*
Isoleucina	62 \pm 4	94 \pm 15*	137 \pm 19* \neq
Total	922	970	1330

Tabela 6 - Concentração plasmática dos aminoácidos de cadeia ramificada (umol/L). Os valores representam as médias \pm erro padrão da média (*) representa significância entre os valores do basal e dos grupos I e II. (\neq) representa significância entre os valores dos grupos I e II.

A.A. de cadeia ramificada	Basal	Grupo I	Grupo II
Leucina	111 \pm 3	175 \pm 37	259 \pm 31*
Isoleucina	62 \pm 4	94 \pm 15*	137 \pm 19* \neq
Valina	255 \pm 39	245 \pm 46	308 \pm 30
Total	428	514	704

Tabela 7 - Concentração plasmática dos aminoácidos não essenciais ($\mu\text{mol/L}$). Os valores representam as médias \pm erro padrão da média. (*) representa significância entre os valores dos grupos I e II e o basal. (\neq) representa significância entre os valores dos grupos I e II.

Aminoácidos não essenciais	Basal	Grupo I	Grupo II
Alanina	267 \pm 30	316 \pm 46	537 \pm 95* \neq
Prolina	240 \pm 43	380 \pm 8*	579 \pm 40* \neq
Serina	113 \pm 9	85 \pm 9*	134 \pm 9 \neq
Glicina	233 \pm 16	214 \pm 19	414 \pm 63* \neq
Tirosina	50 \pm 3	52 \pm 11	60 \pm 8
Citrulina	52 \pm 11	14 \pm 3*	13 \pm 2*
Glutamina	450 \pm 25	264 \pm 32*	490 \pm 40 \neq
Ornitina	89 \pm 9	102 \pm 18	178 \pm 20* \neq
Taurina	60 \pm 6	35 \pm 4*	33 \pm 6*
Arginina	134 \pm 18	95 \pm 11*	180 \pm 23 \neq
Total	1688	1557	2618

5. DISCUSSÃO

O metabolismo protéico foi estudado em 16 pacientes, no período pós-operatório de cirurgias eletivas de médio e grande portes, sob nutrição parenteral total. Os pacientes foram divididos em dois grupos de oito, o grupo I recebeu alimentação parenteral normoprotéica (150kcal/g/N), e o grupo II recebeu alimentação parenteral hiperprotéica (75 kcal/g/N). Todos receberam infusão endovenosa contínua de insulina por veia periférica, na dosagem de 1mu/kg/min. Preferiu-se a infusão contínua de insulina por veia periférica para haver maior aproveitamento da dosagem utilizada, já que, quando adicionada à solução parenteral, ocorre uma absorção de aproximadamente 40% pelo frasco, como foi observado nos estudos de J. Powell-Tuck⁴⁸, e Impieri e cols.²⁷.

Acredita-se que o protocolo do estudo tenha sido adequado, satisfazendo os critérios estabelecidos na formulação da hipótese. Isto pode ser melhor apreciado examinando-se os níveis de aminoácidos plasmáticos alcançados nos grupos estudados. Comparando-se os níveis obtidos com um grupo controle, verifica-se que no grupo I alcançou-se euaminoacidemia. A evidência está no fato de que os níveis totais de aminoácidos essenciais foram idênticos ao grupo controle (970 versus 922 umol/L) (**Tabela 5**) e que os níveis também foram idênticos para os aminoácidos não essenciais (1688 versus 1572 umol/L) (**Tabela 7**). Entretanto, no grupo II foram obtidos níveis mais elevados (44%) para os aminoácidos essenciais (1330 umol/L) e mais elevados ainda (65%) para os aminoácidos não essenciais (2618 umol/L).

Embora os níveis combinados de aminoácidos essenciais e não essenciais tenham sido praticamente idênticos, houve variações dentro de cada grupo. No grupo I nota-se redução nos níveis de triptofano, enquanto que os níveis de fenilalanina, leucina e isoleucina estão elevados. Os níveis de aminoácidos de cadeia ramificada estão 20% mais elevados neste grupo. No grupo II nota-se queda significativa do triptofano, enquanto que a maior parte dos outros aminoácidos, particularmente a leucina, está significativamente elevada (**Tabela 5**). As razões para os níveis reduzidos do triptofano não são aparentes neste estudo. Isto pode ser o resultado do fato de que a concentração deste aminoácido nas dietas utilizadas foi relativamente baixa (1.80g/L). Além disto, este aminoácido não é estável em solução. O aumento nas concentrações dos outros aminoácidos pode estar relacionado a quantidades excessivas na solução utilizada. Portanto, quando administrados em maior quantidade, observam-se níveis plasmáticos maiores, sugerindo que o "clearance" de cada um destes aminoácidos não foi alterado pelo elevado ritmo de infusão.

As alterações nos aminoácidos não essenciais foram também interessantes. No grupo I notou-se redução significativa na concentração plasmática de serina, citrulina, glutamina, taurina e arginina, enquanto que os níveis dos outros aminoácidos não essenciais permaneceriam inalterados (**Tabela 7**). No grupo II notou-se elevação significativa nos níveis plasmáticos de alanina, glicina, ornitina e prolina. Os níveis de citrulina estão baixos, mas é interessante notar que os níveis de glutamina foram idênticos ao grupo controle (**Tabela 7**).

Este achado indica que o organismo tem a capacidade para transaminar outros aminoácidos e resultar em níveis adequados de glutamina no plasma, mesmo considerando-se que este aminoácido não foi fornecido.

Observou-se, neste estudo, uma média de excreção urinária de nitrogênio por kg de peso maior para o grupo de pacientes que receberam alimentação hiperprotéica (142.5 ± 23.7 mg/kg para o grupo I e 178.7 ± 21.2 mg/kg para o grupo II) (NS). O balanço nitrogenado observado foi positivo para os dois grupos, com o grupo I apresentando um balanço nitrogenado médio de 6.74 ± 2.94 g e o grupo II $+14.44 \pm 2.61$ g ($P < 0.01$). A incorporação média de nitrogênio por kg de peso, neste estudo, apresentou uma diferença significativa entre os dois grupos, sendo em média de 41.3 ± 6.20 %N/kg para o grupo I e 58.3 ± 4.53 %N/kg para o grupo II ($P < 0.05$) (**Tabela 4**).

O balanço nitrogenado está relacionado com a interação dos efeitos da quantidade de nutrientes, da severidade do trauma e do estado nutricional do paciente⁴². Há, indiscutivelmente, uma degradação protéica no período pós-trauma, que é proporcional a sua severidade, provocando, geralmente, um balanço nitrogenado negativo^{3,4,7}. O balanço nitrogenado pode tornar-se positivo, nesta fase, através da administração de aminoácidos e carboidratos^{5,6}, porém, o principal responsável pela melhora no balanço nitrogenado é a administração de proteínas, como foi observado pelos estudos de Greenberg²⁰ e Freeman¹⁴.

Estudos prévios "in vitro" indicaram claramente que

a insulina estimula a síntese protéica ao nível das fibras do músculo esquelético^{17,30,39,40}. Garlick, Fern & Preedy¹⁸ observaram, em estudo experimental com ratos, que as taxas de síntese protéica "in vivo" sofrem aumento quando a insulina é administrada no período pós-absortivo, não acontecendo o mesmo quando o animal é alimentado. Ainda nesse mesmo trabalho, esses autores mostraram que concentrações plasmáticas de 70uU/ml de insulina causaram um significativo aumento na síntese de proteínas, mas 40uU/ml ou menos não tiveram efeito.

Estudos com tecido muscular incubado e perfundido com aminoácidos mostraram que os aminoácidos podem aumentar o grau de síntese protéica, e que esta resposta pode ser atribuída, em grande parte, aos aminoácidos de cadeia ramificada, particularmente a leucina^{17,46}. Entretanto, não foi possível reproduzir estes efeitos quando a leucina foi injetada em ratos vivos alimentados, em jejum ou privados de proteínas¹⁸. Askanazi e cols.⁴ mostraram uma concentração muscular aumentada dos aminoácidos de cadeia ramificada, fenilalanina, tirosina, metionina e glicina, em pacientes com injúria⁴.

Maksoud e cols.³⁵ obtiveram um melhor balanço nitrogenado em coelhos, com a infusão de insulina e solução de aminoácidos enriquecida com aminoácidos de cadeia ramificada. Jaing e cols.²⁸ não observaram diferença na melhora do balanço nitrogenado com a utilização de solução de aminoácidos enriquecida com aminoácidos de cadeia ramificada, em pacientes no período pós-operatório.

O fornecimento de insulina exógena para os indiví-

duos não diabéticos no estado pós-trauma não está muito bem esclarecido⁴⁷.

Woolfson e cols.⁵¹ e Hinton e cols.²⁵ sugeriram que a produção de uréia de pacientes em estado pós-trauma pode ser reduzida pela infusão de insulina. A magnitude do efeito depende da taxa de produção de uréia antes da infusão de insulina que, por sua vez, depende do estado nutricional do paciente, do nitrogênio infundido, do grau do trauma, da temperatura ambiente e outros fatores (Cuthbertson & Tilstone¹²).

A dosagem do nitrogênio total, em pacientes gastroenterológicos submetidos a alimentação parenteral por mais de duas semanas, não mostrou uma retenção adicional de nitrogênio nos pacientes que receberam insulina exógena (Macfie, Yule & Hill³⁷). A respeito disso, parece que a renovação protéica pós-operatória, em pacientes subnutridos, pode ser estimulada pela alimentação parenteral, mas é pouco provável que a adição de insulina tenha algum impacto metabólico adicional⁴⁷.

Os estudos de J. Powell-Tuck⁴⁷ demonstraram um aumento na produção de uréia com a adição de insulina em pacientes não traumatizados, enquanto que Woolfson e cols.⁵¹ e Hinton e cols.²⁵ observaram que a produção de uréia poderia ser reduzida em pacientes traumatizados, alimentados parenteralmente, com a adição de insulina.

Estudos "in vitro" demonstraram que a insulina exerce o seu papel aumentando a entrada dos aminoácidos nas células do tecido muscular³⁹, estimulando a síntese protéica e inibindo a proteólise⁴⁰. Houve uma diminuição de 30 a 40% nos

aminoácidos de cadeia ramificada com uma hiperinsulinemia fisiológica de 70 a 80 uU/ml⁸. No presente estudo observou-se que os níveis dos aminoácidos de cadeia ramificada nos pacientes do grupo I permaneceram próximos do basal, com nível médio de insulina plasmática de 67.9+19.0 uU/ml, enquanto que os pacientes do grupo II apresentaram os níveis plasmáticos dos aminoácidos de cadeia ramificada elevados em relação ao basal e ao grupo I, com nível médio de insulina plasmática de 54.7+26.3 uU/ml.

O fluxo total de leucina (proteólise) apresentou uma queda significativa, após a infusão de insulina, nos estudos realizados por Fukagawa e cols.¹⁶, Tessari e cols.⁴⁴, em homens, e nos estudos de Abumrad e cols.² e Nissen e cols.⁴¹, em cães.

Flakoll e cols.¹³ concluíram, em recente trabalho, que a insulina exerce seu maior efeito no metabolismo de proteínas no homem, pela diminuição da proteólise. Este efeito é limitado pela disponibilidade dos níveis plasmáticos de aminoácidos, tanto que na presença de níveis plasmáticos de aminoácidos próximos do basal, a supressão proteolítica pela insulina está aumentada.

Em resumo, no presente estudo, observou-se um balanço nitrogenado positivo significativamente maior e uma hiperaminoacidemia no grupo de pacientes que receberam maior aporte protéico e insulina, não havendo, entretanto, uma diferença significativa na excreção de nitrogênio entre os dois grupos. A incorporação de nitrogênio, porém, foi significati-

vamente maior com a dieta hiperprotéica. Com a dieta normo-protéica observou-se uma euaminoacidemia.

Com base nos dados da literatura, pode-se dizer que com a hiperaminoacidemia e um maior balanço nitrogenado positivo, alcançados no grupo II, possivelmente se tenha obtido uma maior supressão na proteólise, e até uma melhora na síntese protéica. Entretanto, deve-se dar continuidade ao estudo com grupos de pacientes sem a infusão de insulina, para, com isso, obter-se um resultado mais conclusivo.

6. CONCLUSÕES

Após a observação dos dados foram possíveis as seguintes conclusões:

- a) O uso de infusão contínua de insulina por veia periférica foi seguro, e não foi associado a maiores problemas, particularmente hipoglicemia significativa.
- b) A infusão da dieta normoprotéica ($A=150\text{kcal/g/N}$), na presença de insulina, foi suficiente para estabelecer um balanço nitrogenado positivo e manter uma euaminoacidemia no grupo I.
- c) Aumentando-se a taxa de infusão de nitrogênio com a dieta ($B=75\text{kcal/g/N}$), na presença de insulina, houve uma hiperaminoacidemia, e um aumento significativo no balanço nitrogenado positivo e na porcentagem de incorporação de nitrogênio por kilo de peso no grupo II.
- d) Com a dieta hiperprotéica na presença de insulina, alcançou-se a hiperaminoacidemia desejada para proporcionar uma maior supressão na proteólise e melhora na síntese protéica.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AUN, F.; MEGUID, M.M.; EGDAHL, R.H.; ZTOLF, A.G. Resposta neuro-endócrina ao trauma. **A.M.B.**, 23:132-8, 1977.
2. ABUMRAD, N.N.; JEFFERSON, L.S.; RANNELS, S.R.; WILLIAMS, P.E.; CHERRINGYON, A.D.; LACY, W.W. Role of insulin in the regulation of leucine kinetics in the conscious do. **J.Clin.Invest.** 70:1031-41, 1982.
3. ASKANAZI, J.; ELWYN, D.H.; KINNEY, J.M.; GUMP, F.E.; MICHELSEN, C.B.; STINCHFIELD, F.E. Muscle and plasma amino acids after injury: The role of inactivity. **Ann.Surg.**, 188:797-803, 1978.
4. ASKANAZI, J.; FURST, P.; MICHELSEN, C.B.; ELWYN, D.H.; VINNARS, E.; GUMP, F.E.; STINCHFIELD, F.E.; KINNEY, J.M. Muscle and plasma amino acids after injury (hypocaloric glucose vs. amino acid infusion). **Ann.Surg.**, 191:465-72, 1980.
5. BLACKBURN, M.D.; FLATT, J.P.; CLOWES, G.H.A.; O'DONNELL, T.F.; HENSLE, T.E. Protein sparing therapy during periods os starvation with sepsis or trauma. **Ann.Surg.**, 177:588-93, 1973.
6. BARK, S.; HOLM, I.; HAKANSSON, I.; WRETLIND, A. Nitrogen-sparing effect of fat emulsion compared with glicose in the postoperative period. **Acta Chir.Scand.**, 142:423-7, 1976.
7. BURDGE, J.J.; CONKRIGHT, J.M.; RUBERG, R.L. Nutritional and metabolic consequences of thermal injury. **Clin.Plast.Surg.**, 13:49-55, 1986.
8. CASTELLINO, P.; LUZI, L.; SIMONSON, D.C.; HAYMOND, M.; DEFRONZO, R.A. Effect of insulin and plasma amino acid concentration on leucine metabolism in man. **J.Clin.Invest.**, 80:1784-93, 1987.

9. CACHILL, G.F. & BOSTON, M.D. Physiology of insulin in man. **Diabetes**, 20:785-99, 1971.
10. CERRA, F.B.; SIEGEL, J.H.; COLEMAN, B.; BORDER, J.R.; McMENAMY, R.R. Septic autocannibalism (A failure of exogenous nutritional support). **Ann.Surg.**, 192:570-80, 1980.
11. CUTHBERTSON, D.P. Observations on the disturbance of metabolism produced by injury to the limbs. **Quart.J. Med.**, 1:223-46, 1932.
12. CUTHBERTSON, D. & TILSTONE, W.J. Metabolism during the postinjury period. **Adv.Clin.Chem.**, 21:1-55, 1969.
13. FLAKOLL, P.J.; KULAYLAT, M.; STEED, F.M.; HOUARANI, H.; BROWN, L.L.; HILL, J.; ABUMRAD, N.N. Amino acids augment insulins supression of whole-body proteolysis. **Am.J.Physiol.**, 257:E839-E47, 1989.
14. FREEMAN, J.B.; STEGINK, L.D.; WITTINS, M.F.; DANNEY, M.M.; THOMPSON, R.G. Lack of correlation between nitrogen balance and serum insulin levels during protein sparing with and without dextrose. **Gastroenterology**, 73:31-6, 1977.
15. FLAIM, K.E.; PEAVY, D.E.; EVERSON, W.V.; JEFFERSON, L.S. The role of amino acids in the regulation of protein synthesis in perfused rat liver. **J.Biol. Chem.**, 257:2932-8, 1982.
16. FUKAGAWA, N.K.; MINAKEL, K.L.; ROWE, J.W.; GOODMAN, M. M., MATTEWS, D.G.; BIER, D.M.; YOUNG, V.R. Insulin-mediated reduction of whole body protein breakdown. **J.Clin.Invest.**, 76:2306-11, 1985.
17. FULKS, R.M.; LI, J.B.; GOLDBERG, A.L. Effects of insulin, glucose, and amino acids on protein turnover in rat diaphragm. **J.Biol.Chem.**, 250:290-8, 1975.

18. GARLICK, P.J.; FERN, M.; PEEDY, V.R. The effect of insulin infusion and food intake on muscle protein synthesis in postoperative rats. **Biochem.J.**, 210:669-76, 1983.
19. GAZZANIGA, A.B.; DAY, A.T.; BARTLETT, R.H.; WILSON, A. F. Endogenous caloric sources and nitrogen balance. **Arch.Surg.**, 111:1357-61, 1976.
20. GREEMBERG, G.R.; MARLISS, E.B.; ANDERSON, G.H.; LANGER, B.; SPENCE, W.; TOVEE, E.B.; JEEJEEBHOY, K.N. Protein sparing therapy in postoperative patients. **New Engl. J.Med.**, 294:1411-6, 1976.
21. GOLAY, A.; ZECH, L.; SHI, M.Z.; CHIOU, Y.A.M.; REAVEN, G.M.; CHEN, D.I. Effect of insulin deficiency on low density lipoprotein metabolism in rabbits. **Horm. Metabol.Res.**, 20:11-4, 1988.
22. GOLAY, A.; ZECH, L.; SHI, M.Z.; JENG, C.Y.; CHIOU, Y. A.M.; REVEN, G.M.; CHEN, Y.D.I. Role of insulin in regulation of high density lipoprotein metabolism. **J.Lipid.Res.**, 28:10-7, 1987.
23. GELFAND, R.A. & BARRETT, E.J. effect of physiologic hyperinsulinemia on skeletal muscle protein synthesis and breakdown in man. **J.Clin.Invest.**, 80:1-6, 1987.
24. HARRIS, J.A. & BENEDICT, F.G. **Biometric studies of basal metabolism in man.** Washington, 1919 (Carnegie Institute, publication n° 279).
25. HINTON, P.; LITTLEJOHN, S.; ALLISON, S.P.; LLOYD, J.C. Insulin and glucose to reduce catabolic response to injury in burned patients. **Lancet**, 1:767-9, 1971.
26. HEINRIKSON, R.L. & MEREDITH, S.C. Amino acid analysis by Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography: Precolumn derivatization with phenylisothiocyanate. **Anal.Biochem.**, 136:65-74, 1984.

27. IMPIERI, M.; CUCCHI, I.; BERETTA, G.; FRANCESCHINI, L.; BRIGLIA, R.; PERA, M.; GRECO, M.; MONTANARI, G.P.; GIAUME, M. II problema dell adizione dell insulina a soluzione di TPN. **Min.Med.**, 75:2033-6, 1984.
28. JOING, Z.; ZHANG, F.; ZHU, Y.; HE, G.; FEI, L.; TSENG, H.; SUGARBAKER, S.; WILMORE, D.W. Evaluation of parenteral nutrition in the post operative patient. **Surg.Gynecol.Obstet.**, 166:115-20, 1988.
29. JEFFERSON, L.S. Role of insulin in the regulation of protein syntesis. **Diabetes**, 29:487-95, 1980.
30. JEFFERSON, L.S.; KOEHLER, J.O.; MORGAN, H.E. Effect of insulin on protein synthesis in skeletal muscle of an isolated perfused preparation of rat hemicorpus. **Proc.Natl.Acad.Sci.USA.**, 69:816-20, 1972.
31. KINNEY, J.M.; DUKE JR., J.H.; LONG, C.L. Tissue fuel and weight loss after injury. **J.Clin.Pathol.**, 23 (suppl.4):65-72, 1978.
32. KHOSLA, T. & LOWE, C.R. Indices of obesity derived from body weight and height. **Br.J.Prev.Soc.Med.**, 21: 122-8, 1967.
33. KIPNIS, D.M. Nutriente regulation of insulin secretion in human subjects. **Diabetes**, 21(suppl.2):606-16, 1972.
34. KIPNIS, D.M. & NOALL, N.W. Stimulation of amino acids transport by insulin in the isolated rat diaphragm. **Biochem.Biophys.Acta.**, 28:226-227, 1958.
35. MAKSOUD, J.G. & TANNURI, U. effect of branched chain amino acids and insulin on post-injury protein catabolism in growing animals. **J.Parenter.Enter.Nutr.**, 8:416-20, 1984.

36. MILLER, J.D.B.; BLACKBURN, G.L.; BISTRAN, B.R.; RIENHOFF, H.Y.; TRERICE, M. Effect of deep surgical sepsis on protein-sparing therapies and nitrogen balance. **Am.J. Clin.Nutr.**, 30:1528-32, 1977.
37. MACFIE, J.; YULE, A.G.; HILL, G.L. Effect of added insulin on body composition of gastroenterologic patients receiving intravenous nutrition - a controlled clinical trial. **Gastroenterology**, 81:285-9, 1981.
38. MANCHESTER, K.L. Effect of insulin on protein synthesis **Diabetes**, 21(suppl.2):447-52, 1972.
39. MANCHESTER, K.L. & YOUNG, F.G. The effect of insulin on the incorporation of amino acid in to protein of normal rat diaphragm "in vitro". **Biochem.J.**, 70:353-8, 1958.
40. NAIR, K.S.; HALLIDAY, D.; GRIGGS, R.: Leucine incorporation into mixed skeletal muscle protein in humans. **J.Physiol.**, 254 E208-E13, 1988.
41. NISSEN, S.L. & HAYMOND, M.W. Change^{ES} in leucine kinetics during meal absorption. Effects of dietary leucine availability. **Am.J.Physiol.**, 13:E695-E701, 1986.
42. O'KEEFE, J.D.S.; MALDOWER, L.L.; YOUNG, V.R.;BLACKBURN, G.L. The influence of intravenous nutrition on protein dynamics following surgery. **Metabolism**, 30:1150-8, 1981.
43. SOERJODIBROTO, W.S.; HEARD, C.R.C.; JAMES, W.P.T.; FEW, J.D.; BLOOM, S.R. Metabolic and hormonal changes after surgery: Hiperinsulinemia during glucose infusion. **Europ.J.Clin.Invest.**, 7:579-86, 1977.

44. TESSARI, P.; NOSADINE, R.; TREVISAN, R.; KREUTZEMBERG, S.V.; INCHIOSTRO, S.; DUNER, E.; BIOLO, G.; MARESCOTTI, M.C.; TIENGO, A.; CREPALDI, G. Defective suppression by insulin of leucine-carbon appearance and oxidation in type 1, insulin-dependent diabetes mellitus. **J. Clin. Invest.**, 77:1797-1804, 1986.
45. TESSARI, P.; TREVISAN, R.; INCHIOSTRO, S.; BIOLO, G.; NOSADINI, R.; KREUTZENBERG, S.V.; DUNER, E.; TIENGO, A.; CREPALDI, G. Dose response curves of effects of insulin on leucine kinetics in humans. **Am.J.Physiol.**, 251:E334-E42, 1986.
46. TSALIKIAN, E.; HOUWARD, C.; GERICH, J.E.; HAYMOND, M.W. Increased leucine flux in short-term fasted human subjects: evidence for increased proteolysis. **Am.J. Physiol.**, 247:E323-E7, 1984.
47. TUCK, J.P.; FERN, E.B.; GARLICK, P.J.; WATERLOW, J.C. The effect of surgical trauma and insulin on whole body protein turnover in parenterally-fed undernourished patients. **Hum.Nutr.Clin.Nutr.**, 38C:11-22, 1984.
48. TUCK, J.P. & GLYNN, M.J. The effect of insulin infusion on whole body protein metabolism in patients with gastrointestinal disease fed parenterally. **Hum.Nutr. Clin.Nutr.**, 39C:181-91, 1985.
49. WIDE, L. & PORATH, J. Radioimmunoassay of protein with use of Sephadex-coupled antibodies. **Biochim. Biophys.Acta.**, 130:255-60, 1966.
50. WILMORE, D.W. Hormonal response and their effect on metabolism. **Surg.Clin.North.Am.**, 56:999-1018, 1976.
51. WOOLFSON, A.M.; HEATLEY, R.V.; ALLISON, S.P. Insulin to inhibit protein catabolism after injury. **New Engl. J.Med.**, 300:14-7, 1979.