

Sultan Taskin

Dr. med.

## **Molekulare Veränderungen der Skelettmuskulatur im Rahmen des kachektischen Syndroms bei Tumor-Patienten**

### **Funktionelle Veränderungen des kontraktilen Apparates und ihr Zusammenhang mit proteolytischen Pathways**

Promotionsfach: Physiologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Oliver Friedrich

Ziel dieser Arbeit war es, die Muskelperformance humaner Muskelbiopsien von Tumorpatienten anhand von Kraftmessungen isolierter Muskelfaserbündel bezüglich ihrer Kraftentwicklung und Calciumsensitivität zu untersuchen. Hierzu wurden Faserbündel manuell aus den Gewebeproben isoliert und in einen Mikro-Force-Transducer zur Auflösung von Kräften im  $\mu\text{N}$ -Bereich eingespannt. Die Calciumsensitivität des kontraktilen Apparates wurde durch Exposition mit verschiedenen intrazellulären Lösungen und  $\text{Ca}^{2+}$ -Stufen zur Kraftinduktion ermittelt und für jeden Patienten individuell und im Patientenkollektiv analysiert. Anschließend wurde durch Proteinanalyse mittels Western-Blot der Ubiquitingehalt der einzelnen Muskelfasern bestimmt.

Mit dem angestrebten Projekt sollten Mechanismen der Tumorkachexie aufgeklärt werden, um neue Therapieansätze für Tumorpatienten herauszuarbeiten, die die Kachexie verhindern oder mindestens hinauszögern.

Die Methode der gehäuteten Muskelfasern ist für die Untersuchungen an isolierten Skelettmuskelpräparaten geeignet: Da unmittelbar Einfluss auf die kontraktilen Proteine genommen werden kann, lassen sich Aussagen über die direkte calciumabhängige Kraftentwicklung treffen.

Unsere Ergebnisse konnten veranschaulichen, dass die Patienten mit Kachexie eine stärkere Linksverschiebung der pCa-Kraft-Kurven aufwiesen als die Patienten ohne Kachexie. Die Calciumsensitivität nahm zu und die pCa-Kraft-Kurven verschiebten sich hin zu niedrigeren Calciumkonzentrationen. Die Calciumsensitivität war zwischen den Patientengruppen signifikant verändert. Bisher wurde in Untersuchungen eine Abnahme der Calciumsensitivität postuliert. Interessanterweise deuten unsere Ergebnisse einen anderen Sachverhalt an. Dies könnte verschiedene Ursachen haben. Innerhalb der einzelnen Gruppen war in unserer Studie z.B. keine große Altersstreuung vorhanden, so dass wir dadurch eine bessere Vergleichbarkeit unserer Ergebnisse erzielten. Außerdem verfügten wir über ein breites Patientenkollektiv für unsere Untersuchungen, so dass die Aussagekraft unserer Ergebnisse dadurch sehr hoch lag.

Man erkennt, dass bei Tumorpatienten, unabhängig davon ob eine Kachexie besteht oder nicht, die maximale Kraft im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant verändert ist.

Wir untersuchten die Verteilung der Ubiquitinisofomen auf Proteinebene. Bei der Auswertung der Blotgele wurde zum einen, wie in der Regel üblich, die Relation zu einem housekeeping Protein gebildet und die relativen Volumina abgeleitet. Unser Referenz-Protein war hierbei das GAPDH. Zum anderen wurden, als neuer Ansatz der Auswertung, anhand von Eichungskurven absolute Proteinmengen bestimmt. An unseren Ergebnissen erkennt man, dass die Eichung unheimlich wichtig ist. Wenn man das reine Signalvolumen betrachtet, wird ein anderes Ergebnis vorgetäuscht. Es fällt nämlich auf, dass bei Betrachtung der relativen Signalvolumina der Proteingehalt der Monomere signifikant höher liegt als der der Dimere. Mit der Eichung oder der Normierung auf GAPDH wird diese Signifikanz aber aufgehoben. Auf Proteinebene scheint das Ubiquitin selbst eine weniger herausragende Rolle zu spielen als bisher angenommen.