



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Ubiquitin-Protein konjugierende Aktivität in humanem
Skelettmuskel nach Weichteiltrauma**

Autor: Moritz Seiffert
Institut / Klinik: Klinik für Unfallchirurgie
Doktorvater: Prof. Dr. U. Obertacke

Dem Ubiquitin-Proteasom-System (UPS) wird eine wesentliche Bedeutung bei der Regulation des posttraumatischen Hypermetabolismus zugeschrieben, der mit gesteigertem Muskelproteinabbau und erhöhten Komplikationsraten für die Patienten einhergeht. Dabei wird Ubiquitin, ein kleines ($m = 8.6$ kDa) und höchst konserviertes Protein aller eukaryoten Zellen, zunächst kovalent an Zielproteine gebunden (Ubiquitilierung). Die so markierten Proteine werden anschließend durch das Proteasom, einen proteolytischen Multienzymkomplex, erkannt und abgebaut. Eine Reihe von Untersuchungen hat sich bereits mit verschiedenen intrazellulären Funktionen des UPS befasst, wie etwa der Transkriptionsregulation, der Antigenpräsentation und dem Proteinmetabolismus. Ein Zusammenhang verschiedener Erkrankungen, z.B. Sepsis und Tumorleiden, mit Veränderungen des UPS wird diskutiert. Der Einfluss eines direkten Traumas mit Weichteilschädigung auf diesen Stoffwechselweg in humanem Skelettmuskel ist allerdings noch nicht untersucht worden.

Im Rahmen von Experimenten zum posttraumatischen Proteinstoffwechsel wurde daher in der vorliegenden Arbeit die Aktivität des UPS in humaner Skelettmuskulatur analysiert. Hierzu wurden Muskelproben von Patienten mit Weichteiltrauma bei Fraktur sowie mit ungeschädigtem Muskelgewebe bei konsolidierter Fraktur bzw. Coxarthrose untersucht. Es erfolgte die Bestimmung der Ubiquitilierungsaktivität mittels Enzymkinetik und Immunoblot-Verfahren sowie die Messung der cytosolischen Ubiquitin-Konzentration in-vitro, um eine Beteiligung des UPS an den posttraumatischen Vorgängen zu untersuchen.

Erstmals konnte dabei gezeigt werden, dass die Ubiquitilierungsaktivität in der Skelettmuskulatur von Patienten mit Weichteilschaden nach Fraktur im Vergleich zu ungeschädigter Muskulatur signifikant erniedrigt ist (Weichteiltrauma: $0,89 \pm 0,13$ fkat / μg Gesamtprotein, $n = 11$; Kontrolle: $1,52 \pm 0,22$ fkat / μg Gesamtprotein, $n = 11$ bzw. $1,74 \pm 0,23$ fkat / μg Gesamtprotein, $n = 11$; jeweils $MW \pm SEM$, $p < 0,05$ ANOVA). Die Daten implizieren außerdem, dass die Verminderung der Enzymaktivität möglicherweise mit der Schwere der Weichteilschädigung korreliert.

Als Ursache dieser Veränderungen im Proteinmetabolismus sind u.a. protektive Funktionen zu diskutieren. Die verminderte Aktivität der Ubiquitin-Protein Konjugation könnte einen Schutzmechanismus darstellen, der über ein reduziertes Substratangebot für das Proteasom eine unkontrollierte Proteolyse im Rahmen eines Weichteiltraumas verhindert und so einer übermäßigen Zellschädigung vorbeugt.

Die Konzentration cytosolischen Ubiquitins zeigte – sowohl in freier Form, als auch an Substratproteine gebunden – keine Unterschiede zwischen geschädigter und ungeschädigter Muskulatur. Dieser Aspekt könnte die bereits in der Literatur beschriebene enge Regulation der intrazellulären Ubiquitin-Konzentrationen widerspiegeln, die nach heutigem Wissensstand für den Zellmetabolismus essentiell ist.

Zusammengenommen zeigen die vorliegenden Daten erstmals Veränderungen der Aktivität des UPS im posttraumatischen Proteinstoffwechsel humaner Skelettmuskulatur. In geschädigtem Muskelgewebe ist mit dem UPS demzufolge einer der entscheidenden Wege der posttranslationalen Proteinmodifikation beeinträchtigt. Zur vollständigen Klärung der Regulationsmechanismen und Identifikation aller beteiligten Faktoren bedarf es allerdings noch weiterer systematischer Untersuchungen, aus denen abschließend möglicherweise eine therapeutische Strategie zur Verbesserung der Wundheilung bei Patienten mit Weichteilverletzungen abgeleitet werden könnte.