

Die Muskelatrophie in der Intensivmedizin: Molekulare Grundlagen und ihre klinische Relevanz*¹

Muscle atrophy in critical care medicine: Molecular mechanisms and clinical relevance

S. Hirner^{1,2} und S. Labeit¹

¹ Arbeitsgruppe Experimentelle Anästhesie, Universitätsklinikum Mannheim gGmbH (Leitung: Prof. Dr. S. Labeit)

² Institut für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Mannheim gGmbH

(Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. K. van Ackern)

► **Zusammenfassung:** Unterschiedliche pathologische Zustände können zu einer Skelettmuskelatrophie führen. Hierbei überwiegt die Proteindegradation gegenüber der Proteinsynthese. Bekannte Beispiele aus der Intensivmedizin sind die Critical-Illness-Myopathie und die Critical-Illness-Polyneuropathie. In diesen katabolen Zuständen findet man die Atrogine MuRF1 (Muscle specific ring finger protein 1) und MAFbx hochreguliert. Diese Gene kodieren für zwei Ubiquitinligasen, die die Ubiquitylierung von myofibrillären und anderen Proteinen vermitteln und somit deren Abbau im Ubiquitin-Proteasom-System ermöglichen. Im Folgenden zeigen wir molekulare Mechanismen und die mögliche klinische Relevanz von MuRF1 und MAFbx.

► **Schlüsselwörter:** MuRF1 – MAFbx – Atrophie – Proteolyse.

► **Summary:** Various pathological conditions can induce skeletal muscle atrophy due to the fact that rates of protein degradation exceed rates of protein synthesis. Common examples in the field of intensive care medicine are critical illness myopathy and critical illness polyneuropathy. In these catabolic states, the atrogins MuRF1 (Muscle specific ring finger protein 1) and MAFbx are upregulated. These genes encode for two ubiquitin ligases which mediate the ubiquitination of myofibrillar and other proteins and their subsequent degradation in the ubiquitin-proteasome system (UPS). The present article examines molecular mechanisms and the possible clinical relevance of MuRF1 and MAFbx.

► **Keywords:** MuRF1 – MAFbx – Atrophy – Proteolysis.

Einleitung

Die Fortschritte in der Medizin verschaffen schwerstkranken Patienten längere Überlebenszeiten, allerdings geht dies mit neuartigen Folgeerscheinungen einher. Ein mit zunehmender Häufigkeit auftretendes Problem sind Kachexie-induzierende Krankheits-

bilder. Hierbei liegt auf Ebene des Eiweißstoffwechsels ein Missverhältnis zwischen Proteinsynthese und Proteolyse vor, d.h. auf den Skelettmuskel bezogen, es überwiegen muskelabbauende Vorgänge gegenüber den anabolen, muskelaufbauenden Prozessen. Zu den Auslösemechanismen gehören unter anderem unzureichende Nahrungszufuhr, konsumierende Erkrankungen, Immobilisation, reduzierte neuronale Stimulation und inflammatorische Prozesse mit Zytokinfreisetzung. Besonders in der Intensivmedizin sieht man häufig eine durch Immobilität und Sepsis entstehende Muskelatrophie, wie sie z.B. bei der Critical-Illness-Myopathie und Critical Illness-Polypathie auftritt. In der Praxis erschwert diese Atrophie nach Bewältigung der Primärerkrankung oftmals die Mobilisation der muskulär geschwächten Patienten und das Entwöhnen vom Beatmungsgerät. Daraus resultieren längere Liegezeiten, erhöhte Sterberaten und möglicherweise bleibende muskuläre Schwächen. Ziel der aktuellen Grundlagenforschung ist es nun, die spezifischen Signaltransduktionswege, die zur Muskelatrophie führen, zu identifizieren. Die sich möglicherweise langfristig daraus entwickelnden therapeutischen Interventionsmöglichkeiten werden hier diskutiert.

Proteolyse

Die Skelettmuskulatur ist ein Organ, das trophisch und energetisch auf unterschiedlichste Anforderungen adäquat reagieren muss. In einer katabolen Situation, z.B. hervorgerufen durch Hungern oder bei Muskelentlastung, kann sich eine Muskelatrophie entwickeln. Bei immobilisierten, bettlägerigen Patienten kommt es zu einem Muskelmassenverlust von bis zu 0,3% pro Tag [1]. Der Muskelabbau kann durch unterschiedliche Auslösemechanismen induziert werden, wie z.B. Spannung/Entlastung auf die einzelnen Muskelzellen [2], die Applikation von Glukokortikoiden [3], reduzierte Mengen von Insulin oder Insulin-like growth factor (IGF-1), eine Resistenz

* Rechte vorbehalten

¹ Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Klaus van Ackern anlässlich seiner akademischen Verabschiedung gewidmet. ►

▶ gegen diese Hormone oder durch einen erhöhten TNF- α -Spiegel (Tumornekrosefaktor- α) [4,5]. Global betrachtet gibt es für die Degradation von Muskelproteinen mindestens fünf Effektorsysteme, die beim Abbau involviert sind [6]. Exogene Proteine werden durch Proteasen (z.B. Cathepsine) in den Lysosomen gespalten. Endogene Muskelproteine, besonders die myofibrillären, werden durch die Familien der Calpaine, der Caspasen (Calciumabhängige Cystein-Proteasen) und durch das ATP-Ubiquitin-Proteasom-System abgebaut [7,8]. Ein besonderer Forschungsschwerpunkt liegt derzeit auf dem ATP-Ubiquitin-Proteasom-System, für dessen Entdeckung der Nobel-Preis für Chemie 2004 verliehen wurde. In diesem System wird die Mehrheit der eukaryotischen intrazellulären Proteine selektiv und fein regulierbar abgebaut [9,10]. Zuerst müssen dazu die Substrat-Proteine mit Ubiquitin markiert werden. Dies geschieht mittels dreier hintereinandergeschalteter Enzyme (E1, E2 und E3). Die Ubiquitynylierung beginnt mit der ATP-abhängigen Aktivierung des Ubiquitins durch das Ubiquitin-aktivierende Enzym E1. Daraufhin wird das Ubiquitin an das Enzym E2 konjugiert und im letzten Schritt wird die Ligation von Ubiquitin und Zielprotein durch die E3-Ligase ermöglicht und katalysiert. Durch diese Hierarchie der drei Enzyme ergibt sich eine hohe Spezifität und Selektivität des Systems. Hervorzuheben ist hierbei die Diversität der E3-Ligasen, die sich in ihrer Struktur unterscheiden und jeweils spezifische Substrate erkennen [11]. Die Zielproteine werden nicht nur mono-, sondern polyubiquitynyliert, wodurch der Transport zum 26S-Proteasom eingeleitet wird. Dort werden die Proteine durch eine zentral im Proteasom gelegene Protease gespalten. Das Ubiquitin-Proteasom-System ist ein fein reguliertes und streng kontrolliertes System, welches die zelluläre Homöostase aufrecht erhält durch sein Mitwirken im Zellzyklus, bei DNA-Reparaturmechanismen, der Regulation von Natriumkanälen, der Immunantwort und der zellulären Antwort auf Stress [12,13]. Der Abbau unterschiedlichster Proteine in diesem System ist auch der Endpunkt von Signalwegen, die beim systemischen Muskelabbau involviert sind (Abb. 1).

MuRF1 und Atrogin-1/MAFbx

Zwei E3-Ubiquitinligasen sind aufgrund ihrer klinischen Relevanz intensiv untersucht und beschrieben worden, zum Ersten das Muscle ring finger protein 1 (MuRF1, auch als RNF28 oder TRIM61 bezeichnet) und zum Zweiten das Atrogin-1/MAFbx. MuRF1 bildet zusammen mit MuRF2 und MuRF3 eine RING-Finger-Gen-Unterfamilie, die für drei homologe Proteine kodieren. Die RING (really interesting new

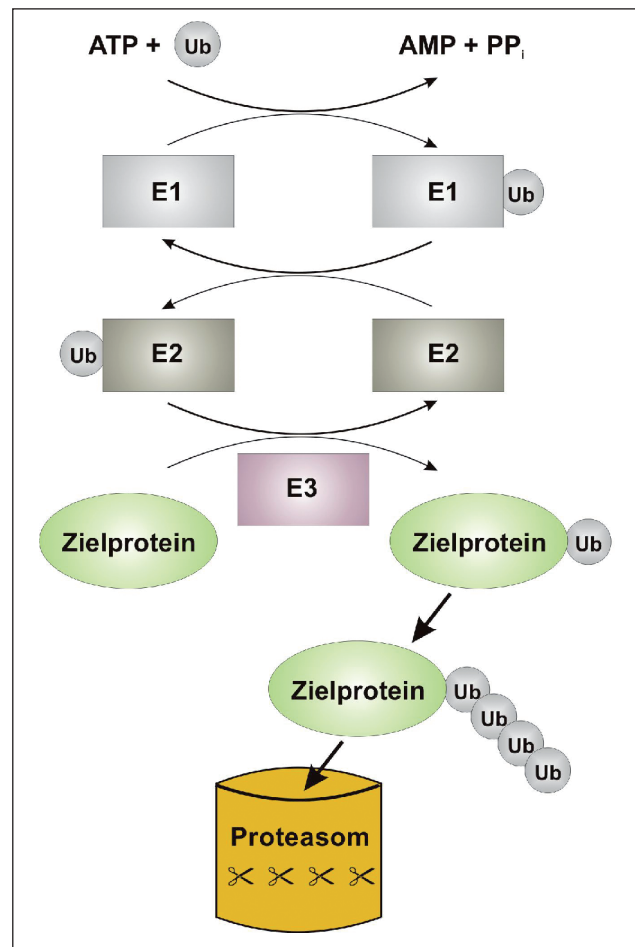


Abb. 1: Schematische Darstellung des Ubiquitin-Proteasom Systems.

Die Ubiquitynylierung der Zielproteine erfolgt mittels der drei hintereinandergeschalteten Enzyme E1, E2 und E3. Im ersten Schritt wird das Ubiquitin unter ATP-Verbrauch durch das Enzym E1 aktiviert und daraufhin an das Enzym E2 konjugiert. Im letzten Schritt wird die Ligation von Ubiquitin an das Zielprotein durch die E3-Ligase ermöglicht und katalysiert. Durch die Polyubiquitynylierung wird der Transport zum 26S-Proteasom eingeleitet und die Proteine werden abgebaut.

gene)-Domäne wird ursächlich für die Funktion als Ubiquitinligase angesehen, wobei bis heute diese Funktion nur für MuRF1 innerhalb der MuRF-Familie gezeigt wurde [14,15]. Es gibt für MuRF1 und MuRF2 einige gleiche myofibrilläre Zielproteine [16] und beschriebene, synergistische Funktionen [17]. Die RING-Struktur ist auch im Atrogin-1-Protein die funktionelle Domäne und ermöglicht die simultane Bindung des ubiquitynylierten Enzyms E2 mit dem Zielprotein sowie den Transfer des Ubiquitins.

MuRF1, Atrogin-1/MAFbx und Atrophie

Für MuRF1 und Atrogin-1 wird die Induktion in einer Vielzahl von sekundären Myopathien und bei ▶

► Muskelatrophie beschrieben. Somit nehmen sie die Funktion von „Atrogenen“ ein. Es zeigt sich im Skelettmuskel von Tieren, die der Schwerelosigkeit über einen längeren Zeitraum hinweg ausgesetzt sind, eine vermehrte Expression von MuRF1 im Vergleich zu Tieren in einem Umfeld mit normaler Gravitation. Bei Denervierungsversuchen werden MuRF1 und Atrogin-1 im nicht-innervierten Muskel vermehrt exprimiert und leiten eine Atrophie ein; der kausale Zusammenhang zeigt sich dadurch, dass MuRF1- und Atrogin-1-defiziente Mäuse vor dieser Atrophie geschützt sind [14]. Im Tiermodell zeigt sich ein Anstieg von MuRF1 und Atrogin-1 im Skelettmuskel bei Krankheiten, durch die sich sekundäre Myopathien entwickeln können. Dazu gehören die Sepsis [18], Diabetes [19], Tumorkachexie [20], Urämie [20] und die Dexamethasonapplikation [21]. Bei der glukokortikoidinduzierten Myopathie führen eine verminderte Produktion von IGF-I und eine vermehrte Produktion von Myostatin zur Muskelatrophie [22,23]. Auf molekularem Level antagonisiert IGF-I die katabolen Aktionen der Glukokortikoide, indem es, durch den PI3-Kinase/Akt Signalweg, die Aktivität vom Transkriptionsfaktor FOXO unterdrückt. FOXO wird somit durch Glukokortikoidgabe aktiviert und führt zur Bildung von einigen Atrogenen, darunter MuRF1 und Atrogin-1 [24,25]. Als spezifisches Zielgen von MuRF1 wurde hierbei Myosin identifiziert [21]. Diese vermehrte Bildung der Atrogine durch den oben aufgeführten Signalweg findet man auch im Skelettmuskel bei Patienten, die an einer COPD (chronic obstructive pulmonary disease) leiden [26]. Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, dass einige Autoren über eine Proteolyse unabhängig von der Expression dieser beiden Ubiquitinligasen bei einer Myopathie infolge von Alkoholgenuss oder einer Sepsis im Tierexperiment berichten. Dies unterstreicht die Existenz MuRF1- sowie Atrogin-1/MAFbx-unabhängiger bzw. alternativer Abbauwege myofibrillärer Proteine [27,28].

Ein weiterer interessanter Aspekt zeigt sich bei der Betrachtung von den E3-Ligasen und dem Diaphragma. Nach einer internationalen Studie werden 39 % der Patienten auf der Intensivstation mechanisch beatmet mit einem mittleren Beatmungszeitraum von sieben Tagen [29]. Die Entwöhnung von der mechanischen Beatmung, das „Weanen“, stellt eine große Herausforderung dar und kann sich über Tage bis Wochen hinziehen. Neue Daten zeigen, dass sich eine Zwerchfellatrophie histologisch schon nach 18 Stunden mechanischer Beatmung nachweisen lässt, da der Querschnitt von schnellen und langsamen Muskelfasern abnimmt. Molekular wird dies auf die vermehrte Expression von MuRF1 und Atrogin-1 zurückgeführt [30,31]. Dies wird bestätigt durch eine

weitere Studie, bei der die erhöhte Menge MuRF1- und Atrogin-1-mRNA mit der Reduktion der Zwerchfellfunktion korreliert wird, da die Behandlung mit dem Proteasominhibitor Bortezomib die Zwerchfellfunktion verbessert [32]. Ein weiterer interessanter Aspekt zeigt sich bei der Verwendung unterschiedlicher Muskelrelaxantien im Tiermodell: Während der kontrollierten mechanischen Beatmung gibt es auch hier eine signifikante Korrelation zwischen der MuRF1-mRNA, der Zwerchfellkraft und der Histologie (Typ IIx/b Fasern), wobei die Gabe des Muskelrelaxanz Rocuronium jeden dieser drei Parameter weiter verschlechtert [33]. Diese auch klinisch relevante Verminderung der Zwerchfellkraft kann teilweise durch das Ersetzen von Rocuronium durch Cis-Atracurium umgangen werden [34].

MuRF1 und Stoffwechsel

In jüngster Zeit gibt es neuere Daten, die MuRF1 nicht nur in seiner Funktion als Atrogin beschreiben. Eine bekannte Fähigkeit des Skelettmuskels ist seine Eigenschaft, in Zuständen von Mangelernährung seine Muskelproteine abzubauen und die Aminosäuren über die Blutbahn anderen Geweben zukommen zu lassen [35]. Dies versorgt den gesamten Organismus und hält die metabolische Homöostase aufrecht. Im Hungerversuch, d.h. unter einer aminosäurefreien Diät, sind MuRF1-defiziente Mäuse weniger anfällig für den Skelettmuskelabbau im Vergleich zu Wildtypen [36]. Auch die physiologischerweise im Hungerzustand reduzierte De-novo-Muskelproteinsynthese bleibt bei den MuRF1-defizienten Tieren auf dem gleichen Level wie im ungehungerten Zustand, und es werden insgesamt weniger essenzielle Aminosäuren im Blutplasma nachgewiesen. Transgene MuRF1-Tiere zeigen eine verminderte Pyruvatdehydrogenase und greifen somit in den Stoffwechsel ein. Des Weiteren entwickeln sie im Glukosetoleranztest eine Hyperinsulinämie und eine verstärkte Glykogensynthese in der Leber, was auf eine humorale Verbindung zwischen dem MuRF1-Signal im Skelettmuskel und dem Pankreas sowie der Leber hindeutet [37].

Klinische Implikationen

Zusammenfassend unterstreichen die bisherigen Daten das heute gültige Paradigma, dass „Atrogine“ bei einer Vielzahl kataboler Zustände im Muskel hochreguliert werden, um als E3-Ubiquitinligasen den katabolen Abbau der Proteine des Skelettmuskels einzuleiten. Es zeichnet sich weiter ab, dass die einzelnen Atrogine unterschiedlich regulierend in den Stoffwechsel eingreifen. So sind für MuRF1 ►

► unterschiedliche Zielproteine identifiziert worden, die den Muskelabbau und die Stoffwechselveränderungen erklären. Wichtig für die Atrophie und somit auch für die Kontraktilität ist die Ubiquitylierung der schweren Kette vom Myosin nach Dexamethasongabe [21,38] und des Troponin-I nach TNF- α -Gabe [15,39]. Die Effekte im Stoffwechsel ergeben sich teilweise aus der Ubiquitylierung der Kreatinkinase [36] und der 3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase (HIBADH) [40]. Für Atrogin-1 ist auch die schwere Kette vom Myosin als Zielprotein identifiziert worden und abweichend von MuRF1 MyoD [41]. Die Diversität zwischen MuRF1 und Atrogin-1 zeigt sich auch darin, dass der Anstieg von Atrogin-1 durch die Gabe von IGF-I verhindert werden kann, wohingegen es nur einen geringeren Einfluss auf die Expression von MuRF1 hat [42].

Wichtig ist es nun, die jeweiligen Signalwege und Funktion für jede einzelne Ubiquitinligase herauszufinden, um therapeutisch gegen die Muskelatrophie vorzugehen. Bisher wurde der Anstieg von MuRF1 und Atrogin-1 bei vielen intensivmedizinisch relevanten Zuständen gemessen wie der Immobilisation, der Steroidapplikation [14], Sepsis, erhöhtem TNF- α -Spiegel [39] und unter Aminosäuremangel [36]. Daraus ergibt sich, dass im klinischen Bereich zukünftig eine MuRF1/Atrogin-1-Messung in Biopsien diagnostisch sinnvoll sein könnte, um frühzeitig als Marker einer beginnenden Muskelatrophie genutzt zu werden. Darüber hinaus sollte nach Möglichkeit die Kombination von Zuständen vermieden werden, die zu einer immer höheren Atrogininduktion führen können (wie zum Beispiel längerfristigen Immobilisation, prolongierten Beatmung, Steroidapplikation, vermehrten Zytokinausschüttung und der Wahl des Muskelrelaxanz). Besonders auf der Intensivstation könnte dadurch die Problematik des erschwerten Entwöhnens vom Respirator verbessert werden, da die durch die Atrogin eingeleitete Zwerchfellatrophie den Entwöhnungsprozess stark erschwert und zu weiteren Komplikationen führt. Eine weitere z.Z. noch theoretische Behandlungsoption der Muskelatrophie bietet der Proteasominhibitor Bortezomib, der durch seine Gabe in Tierexperimenten mit einer verbesserten Zwerchfellfunktion korreliert wurde. Bortezomib ist bereits klinisch für die Behandlung des Plasmozytoms zugelassen und wird noch evaluiert für die Behandlung von soliden Tumoren [43,44,45]. Weitere Untersuchungen müssen nun zeigen, ob beispielsweise eine Anwendung zur Reduktion des Muskelabbaus bei intensivmedizinischen Krankheitsbildern möglich ist. Als letzte Möglichkeit sei noch der erhoffte zukünftige pharmakologische Einsatz von einzelnen oder kombinierten MuRF1/Atrogin-1-Hemmern erwähnt. Viele der oben

aufgeführten Zustände, die zu einer Muskelatrophie führen, lassen sich in den meisten Fällen nicht vermeiden oder umgehen. In diesem Fall könnte es von Nutzen sein, die Entwicklung einer Muskelatrophie teilweise durch den Einsatz von Atroginblockern zu stoppen, um so die sich daraus ergebenden Komplikationen zu verhindern und die Inzidenz von Krankheitsbildern wie der Critical-Illness-Myopathie und -Polyopathie zu senken.

Literatur

- Rittweger J, Frost HM, Schiessl H, Ohshima H, Alkner B, Tesch P, et al.** Muscle atrophy and bone loss after 90 days' bed rest and the effects of flywheel resistive exercise and pamidronate: results from the LTBR study. *Bone* 2005;36:1019-1029.
- Bassel-Duby R, Olson EN.** Signalling pathways in skeletal muscle remodeling. *Annu Rev Biochem* 2006;75:19-37.
- Hasselgren, P. O.** Glucocorticoids and muscle catabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1999;2:201-205.
- Ladner KJ, Caligiuri MA, Guttridge DC.** Tumor necrosis factor-regulated biphasic activation of NF-kappa B is required for cytokine-induced loss of skeletal muscle gene products. *J Biol Chem* 2003;278:2294-2303.
- Reid MB, Li YP.** Tumor necrosis factor-alpha and muscle wasting: a cellular perspective. *Respir Res* 2001;2:269-272.
- Kandarian SC, Jackman RW.** Intracellular signaling during skeletal muscle atrophy. *Muscle Nerve* 2006;33:155-165.
- Solomon V, Goldberg AL.** Importance of the ATP-ubiquitin-proteasome pathway in the degradation of soluble and myofibrillar proteins in rabbit muscle extracts. *J Biol Chem* 1996;271:26690-26697.
- Smith IJ, Dodd SL.** Calpain activation causes a proteasome-dependent increase in protein degradation and inhibits the Akt signalling pathway in rat diaphragm muscle. *Exp Physiol* 2007;92:561-573.
- Hershko A.** The ubiquitin system for protein degradation and some of its roles in the control of the cell division cycle. *Cell Death Differ* 2005;12:1191-1197.
- Ciechanover A.** Intracellular protein degradation: from a vague idea thru the lysosome and the ubiquitin-proteasome system and onto human diseases and drug targeting. *Cell Death Differ* 2005;12:1178-1190.
- Ciechanover A.** The ubiquitin-proteasome pathway: on protein death and cell life. *EMBO J* 1998;17:7151-7160.
- Malik B, Price SR, Mitch WE, Yue Q, Eaton DC.** Regulation of epithelial sodium channels by the ubiquitin-proteasome proteolytic pathway. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006;290:F1285-1294.
- Ciechanover A.** The ubiquitin proteolytic system: from a vague idea, through basic mechanisms, and onto human diseases and drug targeting. *Neurology* 2006;66:S7-19.
- Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, La VK, Nunez L, Clarke B A, et al.** Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science* 2001;294:1704-1708.
- Kedar V, McDonough H, Arya R, Li HH, Rockman HA, Patterson C.** Muscle-specific RING finger 1 is a bona fide ubiquitin ligase that degrades cardiac troponin I. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:18135-18140.
- Witt SH, Granzier H, Witt CC, Labeit S.** MURF-1 and MURF-2 target a specific subset of myofibrillar proteins redundantly: towards understanding MURF-dependent muscle ubiquitination. *J Mol Biol* 2005;350:713-722.
- Witt CC, Witt SH, Lerche S, Labeit D, Back W, Labeit S.** Cooperative control of striated muscle mass and metabolism by MuRF1 and MuRF2. *EMBO J* 2008;27:350-360.
- Wray CJ, Mammen JM, Hershko DD, Hasselgren PO.** Sepsis upregulates the gene expression of multiple ubiquitin ligases in skeletal muscle. *Int J Biochem Cell Biol* 2003;35:698-705. ►

- **19. Pepato MT, Migliorini RH, Goldberg AL, Kettelhut IC.** Role of different proteolytic pathways in degradation of muscle protein from streptozotocin-diabetic rats. *Am J Physiol* 1996;271:E340-347.
- 20. Lecker SH, Jagoe RT, Gilbert A, Gomes M, Baracos V, Bailey J, et al.** Multiple types of skeletal muscle atrophy involve a common program of changes in gene expression. *Faseb J* 2004;18:39-51.
- 21. Clarke BA, Drujan D, Willis MS, Murphy LO, Corpina RA, Burova E, et al.** The E3 Ligase MuRF1 Degrades Myosin Heavy Chain Protein in Dexamethasone-Treated Skeletal Muscle. *Cell Metab* 2007;6:376-385.
- 22. Latres E, Amini AR, Amini AA, Griffiths J, Martin FJ, Wei Y, et al.** Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) inversely regulates atrophy-induced genes via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR) pathway. *J Biol Chem* 2005;280:2737-2744.
- 23. McFarlane C, Plummer E, Thomas M, Henneby A, Ashby M, Ling N, et al.** Myostatin induces cachexia by activating the ubiquitin proteolytic system through an NF-kappaB-independent, FoxO1-dependent mechanism. *J Cell Physiol* 2006;209:501-514.
- 24. Jagoe RT, Lecker SH, Gomes M, Goldberg AL.** Patterns of gene expression in atrophying skeletal muscles: response to food deprivation. *FASEB J* 2002;16:1697-1712.
- 25. Schakman O, Gilson H, Thissen JP.** Mechanisms of glucocorticoid-induced myopathy. *J Endocrinol* 2008;197:1-10.
- 26. Doucet M, Russell AP, Leger B, Debigare R, Joannisse DR, Caron MA, et al.** Muscle atrophy and hypertrophy signaling in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176:261-269.
- 27. Poylin V, Fareed MU, O'Neal P, Alamdari N, Reilly N, Menconi M, et al.** The NF-kappaB inhibitor curcumin blocks sepsis-induced muscle proteolysis. *Mediators Inflamm* 2008;317851.
- 28. Vary TC, Frost RA, Lang CH.** Acute alcohol intoxication increases atrogen-1 and MuRF1 mRNA without increasing proteolysis in skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 294:R1777-1789.
- 29. Esteban A, Frutos F, Tobin MJ, Alia I, Solsona JF, Valverdu I, et al.** A comparison of four methods of weaning patients from mechanical ventilation. Spanish Lung Failure Collaborative Group. *N Engl J Med* 1995;332:345-350.
- 30. Levine S, Nguyen T, Taylor N, Friscia ME, Budak MT, Rothenberg P, et al.** Rapid disuse atrophy of diaphragm fibers in mechanically ventilated humans. *N Engl J Med* 2008;358:1327-1335.
- 31. Zhu E, Sassoon CS, Nelson R, Pham HT, Zhu L, Baker MJ et al.** Early effects of mechanical ventilation on isotonic contractile properties and MAF-box gene expression in the diaphragm. *J Appl Physiol* 2005;99:747-756.
- 32. van Hees HW, Li Y-P, Ottenheijm CAC, Jin B, Pigmans CJ, Linkels M, et al.** Proteasome inhibition improves diaphragm function in congestive heart failure rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008;294:L1260-1268.
- 33. Testelmans D, Maes K, Wouters P, Gosselin N, Deruisseau K, Powers S, et al.** Rocuronium exacerbates mechanical ventilation-induced diaphragm dysfunction in rats. *Crit Care Med* 2006; 34:3018-3023.
- 34. Testelmans D, Maes K, Wouters P, Powers SK, Decramer M Gayan-Ramirez G.** Infusions of rocuronium and cisatracurium exert different effects on rat diaphragm function. *Intensive Care Med* 2007;33:872-879.
- 35. Engel AG, Franzini-Armstrong C.** *Myology: basic and clinical.* 3rd edit, NewYork: McGraw-Hill Health Professions Division; 2004.
- 36. Koyama S, Hata S, Witt CC, Ono Y, Lerche S, Ojima K, et al.** Muscle RING-Finger Protein-1 (MuRF1) as a Connector of Muscle Energy Metabolism and Protein Synthesis. *J Mol Biol* 2008;376:1224-1236.
- 37. Hirner S, Krohne C, Schuster A, Hoffmann S, Witt S, Erber R, et al.** MuRF1-dependent Regulation of Systemic Carbohydrate Metabolism as Revealed from Transgenic Mouse Studies. *J Mol Biol* 2008;379:666-677.
- 38. Fielitz J, van Rooij E, Spencer JA, Shelton JM, Latif S, van der Nagel R, et al.** Loss of muscle-specific RING-finger 3 predisposes the heart to cardiac rupture after myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:4377-4382.
- 39. Adams V, Linke A, Wisloff U, Doring C, Erbs S, Krankel N, et al.** Myocardial expression of Murf-1 and MAFbx after induction of chronic heart failure: Effect on myocardial contractility. *Cardiovasc Res* 2007;73:120-129.
- 40. McElhinny AS, Kakinuma K, Sorimachi H, Labeit S, Gregorio CC.** Muscle-specific RING finger-1 interacts with titin to regulate sarcomeric M-line and thick filament structure and may have nuclear functions via its interaction with glucocorticoid modulatory element binding protein-1. *J Cell Biol* 2002;157:125-136.
- 41. Tintignac LA, Lagirand J, Batonnet S, Sirri V, Leibovitch MP, Leibovitch SA.** Degradation of MyoD mediated by the SCF (MAFbx) ubiquitin ligase. *J Biol Chem* 2005;280:2847-2856.
- 42. Lang CH, Huber D, Frost RA.** Burn-induced increase in atrogen-1 and MuRF-1 in skeletal muscle is glucocorticoid independent but downregulated by IGF-I. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007;292:R328-336.
- 43. Nawrocki ST, Carew JS, Pino MS, Highshaw RA, Dunner K Jr, Huang P, et al.** Bortezomib sensitizes pancreatic cancer cells to endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis. *Cancer Res* 2005;65:11658-11666.
- 44. Papandreou CN, Daliani DD, Nix D, Yang H, Madden T, Wang X, et al.** Phase I trial of the proteasome inhibitor bortezomib in patients with advanced solid tumors with observations in androgen-independent prostate cancer. *J Clin Oncol* 2004;22:2108-2121.
- 45. Richardson PG, Mitsiades C, Hideshima T, Anderson KC.** Bortezomib: proteasome inhibition as an effective anticancer therapy. *Annu Rev Med* 2006;57:33-47.

Korrespondenzadresse:

Dr. med. Stephanie Hirner
 Experimentelle Anästhesie
 Haus 20, Ebene 3
 Medizinische Fakultät Mannheim
 Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
 Theodor-Kutzer-Ufer 1 - 3
 68167 Mannheim, Deutschland
 Tel.: 0621 383-1626
 E-Mail:stephanie.hirner@anaes.ma.uni-heidelberg.de