



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Molecular and biochemical aspects of carnitine biosynthesis

Vaz, F.M.

Publication date
2002

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Vaz, F. M. (2002). *Molecular and biochemical aspects of carnitine biosynthesis*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

Samenvatting

Samenvatting voor iedereen

Samenvatting voor iedereen

Om voor iedereen duidelijk te maken wat ik ongeveer in de 4 jaar van mijn AIO-schap gedaan heb, moet ik eerst een aantal basisbegrippen uitleggen. Hieronder volgt een (zeer versimpelde) uitleg hoe een cel is opgebouwd en hoe deze functioneert, gevolgd door een inleiding over de stof carnitine, het molecuul waar dit proefschrift om draait.

De meeste organismen, inclusief de mens, zijn opgebouwd uit cellen. Een cel is ongeveer 10-20 μm (één tot twee duizendste centimeter) groot en is omhuld door de plasmamembraan, een fysieke barrière die impermeabel is voor de meeste moleculen. In de cel bevindt zich een vloeistof die het cytosol genoemd wordt, waarin subcellulaire structuren aanwezig zijn die organellen heten. In FIG. 1 is een schematisch overzicht van een cel te zien en zijn organellen. Belangrijke organellen zijn onder andere de celkern, de mitochondriën en peroxisomen. De celkern bevat het erfelijk materiaal, de mitochondriën en peroxisomen zijn betrokken bij de energievoorziening van de cel.

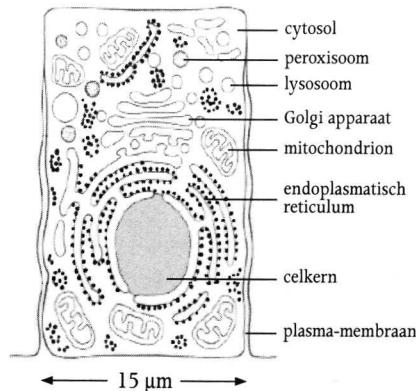


FIG 1. De cel en zijn organellen

In de *celkern* bevindt zich het erfelijk materiaal, beter bekend als DNA. Het DNA bevat alle informatie die nodig is om de cel te maken en in leven te houden. DNA bestaat uit een zeer lange ketting van vier verschillende bouwstenen, die nucleïnezuren worden genoemd. Deze zeer lange ketting is onderverdeeld in chromosomen, waarop zich genen bevinden. Eén gen bevat de informatie die nodig is om één eiwit te maken. Eiwitten vervullen bijna alle taken in de cel, zoals bijvoorbeeld het afbreken van suikers en vetten tot energie. Ook eiwitten zijn een soort ketting waarbij elke schakel één van de twintig verschillende zogenaamde aminozuren is. Een eiwit wordt gemaakt door het bijbehorende gen "af te lezen" en volgens de instructies die vastgelegd zijn in de DNA-volgorde de corresponderende aminozuren aan elkaar te koppelen. In *mitochondriën* en *peroxisomen* worden onder andere vetten afgebroken om energie te genereren die de cel nodig heeft om te blijven leven. Evenals de cel zelf, zijn organellen omhuld door een impermeabele membraan. Kleine moleculen als vetten, maar ook de grotere eiwitten moeten dan ook via speciale transportsystemen geïmporteerd (en geëxporteerd) worden.

Carnitine (4-trimethyl-3-hydroxybutyraat) is een klein molecuul dat in 1905 werd ontdekt in vleesextracten. De naam carnitine is dan ook afkomstig van de Latijnse woord *caro* dat "vlees" betekent. Carnitine is nodig om vetten de mitochondriën in te transporteren om te worden afgebroken tot water, koolzuur en energie. Bij dit transport wordt carnitine aan het

vet gekoppeld en dit adduct wordt door het transportsysteem de mitochondriën in getransporteerd. Vervolgens wordt carnitine weer van het vet losgekoppeld waarna het afgebroken kan worden.

De omnivore mens verkrijgt carnitine vooral via het voedsel (vooral vlees, vis, melkproducten bevatten veel carnitine), maar het menselijk lichaam kan carnitine ook zelf maken. De biosynthese van carnitine vindt plaats in de lever, nieren en hersenen. Carnitine wordt vanuit 6-N-trimethyllysine via 3-N-hydroxy-6-N-trimethyllysine, 4-N-trimethylaminobutyraldehyde en 4-N-butyrobetaine gemaakt. Omdat elke stap van de synthese wordt verzorgd door een eiwit, zijn er dus vier eiwitten nodig om 6-N-trimethyllysine om te zetten in carnitine (FIG 2). Omdat alleen lever, nieren en hersenen carnitine kunnen

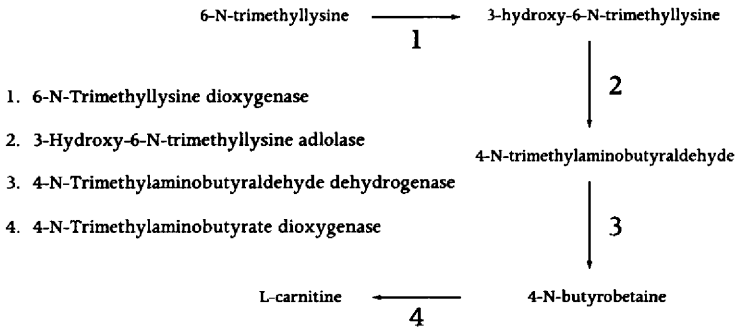


FIG 2. Carnitine biosynthese

synthetiseren zijn andere weefsels afhankelijk van carnitine-opname uit het bloed. Daarvoor zit in de plasma-membraan van cellen een transportsysteem dat zeer efficiënt carnitine kan opnemen en transporteren naar het cytosol. Deze transporter zorgt ook voor het opnemen van carnitine uit het voedsel en om carnitine te reabsorberen (lees recycleren) uit de urine. Er bestaan patiënten die lijden aan de zeldzame erfelijke aandoening, systemische carnitine deficiëntie, waarbij deze transporter niet meer functioneert. Hierdoor nemen deze patiënten slecht carnitine op en verliezen zij het via de urine. Omdat de vetverbranding in deze patiënten verstoord is door een tekort aan carnitine, komen weefsels die hun energie voornamelijk uit vetten halen (hart, spier) in de problemen. De belangrijkste symptomen van systemische carnitine deficiëntie zijn dan ook cardiomyopathie (vergroting van het hart) en myopathie (spierzwakte), en treden meestal op in het eerste levensjaar. Als dit defect op tijd ontdekt wordt, kan door middel van orale carnitine therapie de patiënt echter volledig herstellen. Daarnaast bestaan er patiënten met soortgelijke symptomen waarvan de oorzaak niet duidelijk is. Omdat een deel van deze patiënten ook goed reageert op carnitine therapie is het idee dat er misschien iets mis is met de carnitine biosynthese. De identiteit van de eiwitten van de carnitine biosynthese en het DNA dat ervoor codeert waren aan het begin van dit AIO-schap niet bekend. Ook bestond er geen makkelijke manier om de concentratie van de vijf metabolieten van de carnitine biosynthese in lichaamsvloeistoffen (bloed, urine) te bepalen. Daarom was het doel van deze studie meer inzicht te krijgen in de carnitine biosynthese op eiwit en DNA-niveau, en een methode te ontwikkelen om de concentratie van de metabolieten van dit pad te kunnen meten.

In de hoofdstukken 3 t/m 5 wordt de zuivering en identificatie beschreven van drie van de vier eiwitten van de carnitine biosynthese (stappen 1,3 en 4, FIG. 2). Door een deel van de aminozuur-volgorde van deze eiwitten te bepalen kan met behulp van online databases het

corresponderende DNA, en daarmee uiteindelijk het gen wat codeert voor deze eiwitten achterhaald worden. Ook is gevonden dat eiwit 1, 6-N-trimethyllysine dioxygenase, gelokaliseerd is in de mitochondrieën, wat opmerkelijk is omdat de drie andere eiwitten van de carnitine biosynthese in het cytosol aanwezig zijn. In hoofdstuk 6 wordt een nieuwe methode beschreven die het mogelijk maakt om in één keer de concentratie van vier van de vijf metabolieten van de carnitine biosynthese in urine te bepalen. In vergelijking met bestaande methoden, waar altijd maar één stof tegelijk gemeten kan worden, is deze methode veel minder bewerkelijk en bovendien een stuk gevoeliger. Tijdens mijn AIO-schap werd het gen gevonden dat codeert voor de carnitine transporter in het plasmamembraan, deze wordt OCTN2 genoemd. Ook werd er aangetoond dat het OCTN2 gen gemuteerd (veranderd) was in patiënten met systemische carnitine deficiëntie waardoor de transporter niet of niet goed meer functioneerde. In hoofdstuk 7 worden drie patiënten beschreven met systemische carnitine deficiëntie waarvan de mutaties in het OCTN2 gen achterhaald zijn. Ook laten wij zien dat als we het correcte OCTN2 DNA weer in gecultiveerde huidcellen van een patiënt brengen, het carnitine transport over de plasmamembraan hersteld wordt.