

2. Themenstellung

Die Messung der Enzymaktivität des Carnitin-Palmityltransferasesystems ist in der neurologischen Diagnostik des CPT II-Mangels von entscheidender Bedeutung, da die myopathologische Untersuchung von Skelettmuskelbiopsien nicht aussagekräftig ist. Bisherige Enzymtest wurden bevorzugt mit der, in der Nahrung quantitativ am häufigsten vertretenen Fettsäure, Palmityl durchgeführt, da man diese als spezifisches Substrat der CPT vermutete. Jedoch wurde in der Arbeit von Schäfer et al. (1997) diese Annahme in Frage gestellt. Schaefer et al. untersuchten die Aktivität der Carnitin-Palmityltransferase I und II in Fibroblasten und peripheren Blutzellen und fanden eine maximale enzymatische Aktivität für das Substrat Lauryl-CoenzymA (Fettsäureester mit 12 Kohlenstoffatomen). Inwieweit dieses Ergebnis auch auf den Skelettmuskel übertragbar ist, ist noch offen [85].

Wird die Enzymaktivität der Carnitin-Acyltransferasen im menschlichen Skelettmuskel gemessen, so muss man davon ausgehen, dass neben der CPT noch andere Transferasen, wie zum Beispiel die Carnitin-Oktanyltransferase, die den Transfer von mittellangkettigen Fettsäuren durch die Peroxisomen und Mikrosomen katalysiert, vorhanden sind.

Ziel dieser Arbeit war, ein Profil der Substratspezifitäten der Carnitin-Acyltransferasen des menschlichen Skelettmuskels zu erstellen. Dies sollte unter den gleichen Versuchsbedingungen wie auch bei der Diagnostik des CPT II-Mangels erfolgen. Durch Ultrazentrifugation wurden die löslichen Transferasen, so auch COT, abgetrennt und gesondert auf ihre Substratspezifität untersucht.

Außerdem sollte die Sensitivität der Acyltransferasen für eine Inhibition durch Malonyl-CoA untersucht werden, um herauszufinden welcher Anteil der Hemmbarkeit der Transferasen im Skelettmuskel der CPT I beziehungsweise der COT zuzuschreiben ist.

Insgesamt liegt der Schwerpunkt der Arbeit bei folgenden Fragenstellungen:

1. Überschneidet sich die Aktivität der Carnitin-Palmityltransferase mit der der Carnitin-Oktanyltransferase?
2. Wie verhält sich die Substratspezifität der Acyltransferasen im gesamten Homogenat?

3. Welches Substrat ist am ehesten geeignet, um die Enzymaktivität der Carnitin-Acyltransferasen oder speziell die Aktivität der Carnitin-Palmityltransferase sicher zu messen?
4. Ist die Acyltransferase-Aktivität für Lauryl-CoA größer als für die anderen Substrate?
5. Wie verhalten sich K_m -Werte, Maximalgeschwindigkeiten, die katalytische Effizienz sowie die Malonyl-CoA-Sensitivität der CPT und COT?