

Robin Schürfeld

Dr. med.

Die Carnosinase 2 als zentrale Dipeptidase im Aminosäure- und Glutathionstoffwechsel

Fach/Einrichtung: Kinderheilkunde

Doktormutter: Frau Prof. apl. Dr. rer. nat. Verena Peters

Der Diabetes mellitus stellt die achthäufigste Todesursache der Welt dar. Dafür verantwortlich sind insbesondere seine mikro- und makroangiopathischen Folgeschäden, zu denen auch die diabetische Nephropathie gezählt wird. Sie ist die häufigste Ursache einer chronischen, terminalen Niereninsuffizienz weltweit. Aufgrund der weltweit zunehmenden Risikofaktoren Übergewicht und Bewegungsmangel wird eine stark zunehmende Prävalenz für den Diabetes mellitus und daher auch für die diabetische Nephropathie prognostiziert. Da die aktuellen Therapien eine einmal diagnostizierte diabetische Nephropathie nur in der Progression verlangsamen, aber nicht heilen können und da es große interindividuelle Unterschiede in der Entwicklung der diabetischen Nephropathie gibt, ist ein genaueres Verständnis über die Pathogenese unabdingbar. Im Rahmen dessen wurden das Dipeptid Carnosin und das dazugehörige abbauende Enzym Carnosinase 1 in epidemiologischen und interventionellen Studien mit der diabetischen Nephropathie in Verbindung gebracht. Auch für die Carnosinase 2 wurde lange eine Rolle im Carnosinstoffwechsel postuliert und Einzelnukleotidpolymorphismen im zugehörigen Gen konnten mit der diabetischen Nephropathie assoziiert werden. Dennoch ist bis heute über die Carnosinase 2 insbesondere im Vergleich zur Carnosinase 1 deutlich weniger im Hinblick auf ihre Rolle und Funktion bekannt. Die vorliegende Arbeit bestätigt zum einen die in letzter Zeit hervorgebrachten Zweifel an der Carnosinase 2 im Carnosinabbau und weist auf eine zu unter physiologischen Bedingungen vernachlässigende Rolle der Carnosinase 2 im Carnosinabbau *in vivo* hin. Gleichzeitig wurde die ubiquitäre Expression der Carnosinase 2 mit einer maximalen Abundanz in der Niere bestätigt. Serin-Glutamin und Cysteinylglycin konnten als Substrate der Carnosinase 2 anhand eines rekombinanten Enzyms verifiziert werden. Mittels eines Carnosinase-2-Knock-Out-Tubuluszellmodells konnte gezeigt werden, dass der Abbau von Serin-Glutamin, Alaninylglutamat und Serin-Alanin hochspezifisch durch die Carnosinase 2 erfolgt. Auch der Abbau von Glutamat-Serin, Cysteinylglycin und Serin-Histidin wird in humanen proximalen Tubuluszellen hauptsächlich durch die Carnosinase 2 realisiert. So wurden weitere, zuvor nicht bekannte Dipeptide dem Substratspektrum der Carnosinase 2 hinzugefügt und die unter anderem von Teufel et al. hervorgebrachte Forderung, die Carnosinase 2 als „zytosolische

unspezifische Dipeptidase“ zu bezeichnen, bestärkt. Der Knock-Out der Carnosinase 2 führt über die reduzierte dipeptidabbauende Aktivität zu einer Depletion der Aminosäure Glutamin, deutlich reduziert sind infolgedessen zusätzlich Aspartat, Alanin, Glutamat, Serin und Cystein. Da Cystein das limitierende Substrat in der Glutathionsynthese ist, ist auch die Glutathionmenge in den Carnosinase-2-Knock-Out-Tubuluszellen verringert. Dies bietet einen gänzlich neuen Erklärungsansatz dafür, wieso unter diabetischen Bedingungen verminderte Glutathionlevel nachweisbar sind und könnte neue Erkenntnisse über die Pathogenese der diabetischen Nephropathie bringen. Das liegt darin begründet, dass Glutathion reaktive Sauerstoffspezies detoxifizieren kann und zur Reduktion von oxidativem Stress beiträgt, welche beide eine wichtige Rolle in der Entwicklung der diabetischen Nephropathie einnehmen. Aufgrund der verminderten Aminosäure- und Glutathionmenge weisen die Carnosinase-2-Knock-Out-Tubuluszellen eine beeinträchtigte Zellviabilität und Proliferationsrate auf. Ebenso zeigen sich verkleinerte Zellkörper in der lichtmikroskopischen Darstellung. Diese Mechanismen könnten einen neuen Erklärungsansatz für die in den späteren Stadien der diabetischen Nephropathie gefundene tubuläre Atrophie darstellen, welche sehr gut mit der klinischen Nierenfunktion korreliert. Nichtsdestotrotz weisen die Carnosinase-2-Knock-Out-Tubuluszellen keine erhöhte Apoptoserate auf, sind nicht anfälliger für diabetische Stressoren und stellen sich in der elektronenmikroskopischen Darstellung nahezu identisch zu den Wildtyp-Tubuluszellen dar. Zuletzt konnte in der diabetischen Niere von Mäusen eine verringerte Carnosinase-2-Aktivität detektiert werden. Daher könnte ein Carnosinase-2-Knock-Out-Zellsystem auch in Zukunft ein interessantes Modell zur Untersuchung diabetischer Pathomechanismen darstellen. In renalen diabetischen Mäusegeweben führt die verringerte Carnosinase-2-Aktivität zu einer Reduktion der Aminosäuren Cystein und Glycin, ohne jedoch weitere Aminosäuren zu beeinflussen. Zusammenfassend hat diese Arbeit neue Stoffwechselwege und Rollen der Carnosinase 2 identifiziert und Verbindungen zum Diabetes aufgezeigt. Zukünftig muss bestätigt werden, inwieweit die verringerte Carnosinase-2-Aktivität und die damit verbundenen metabolischen Veränderungen zur Nierenpathogenese beitragen und inwieweit die Befunde von der Maus auf den Menschen übertragbar sind. Die Rolle der Carnosinase 2 bei der Früherkennung von diabetischen Spätfolgen oder als möglicher Biomarker im Blut für eine frühe Diagnostik bleibt zu klären.