



**Ruprecht-Karls-Universität
Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung**

Über einen neuen Assay zur quantitativen Bestimmung der Serum-Carnosinase und dessen klinische Bedeutung

Autor: Katja Adelmann
Institut / Klinik: V. medizinische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. B. Yard

Die drei Dipeptide Carnosin, Anserin und Homocarnosin stehen im Zentrum eines kleinen, in sich abgeschlossenen Stoffwechselweges mit einem synthetisierenden Enzym, der Carnosin-Synthetase CARNS1, und zwei hydrolysierenden Enzymen, der zytosolischen unspezifischen Dipeptidase CN2 und der Serum-Carnosinase CN1. Obwohl die genaue physiologische Funktion dieser Dipeptide noch nicht geklärt ist, werden vor allem Carnosin zahlreiche protektive Wirkungen zugeschrieben, so wirkt es unter anderem als Antioxidans, verhindert Protein-DNA-Crosslinking und die Bildung von AGEs, es fungiert als ROS-Scavenger und verhindert Aldehyd-vermittelte Schädigungen. Es existieren viele Hinweise, dass eine Mutation im Signalpeptid der Serum-Carnosinase mit der Entwicklung einer diabetischen Nephropathie assoziiert ist. Dies wird auf eine gain-of-function Mutation zurückgeführt, durch welche weniger des schützenden Substrates Carnosin vorhanden ist. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass die Inzidenz der diabetische Nephropathie immer weiter wächst und die Erkrankung meist in eine terminale Niereninsuffizienz mündet, macht dies die Serum-Carnosinase zu einem sehr interessanten und wichtigen pharmakologischen Target.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein ELISA-System zur quantitativen Messung der CN1-Menge entwickelt und kleine Kollektive von Kindern, erwachsenen Kontrollen, Diabetikern und Vaskulitis-Patienten hinsichtlich CN1-Genotyp, Menge und Aktivität untersucht. Der neue Assay bietet methodisch Vorteile gegenüber der etablierten Aktivitätsmessung und erlaubt außerdem die Identifizierung von aktivitätsmodulierenden Faktoren über die Analyse des Zusammenhangs von Menge und Aktivität. Obwohl bei gesunden Kontrollen im Einklang mit anderen Arbeiten gezeigt werden konnte, dass der Wildtyp der CN1 mit einer niedrigeren Menge und Aktivität einhergeht, konnte dies jedoch nicht in einem Kollektiv mit Diabetes-Patienten bestätigt werden. Es zeigte sich weiterhin, dass der Zusammenhang zwischen Menge und Aktivität mit Alter und Morbidität der Probanden geringer wurde. So korrelierte die Menge bei gesunden Kindern hoch mit der Aktivität, während bei erwachsenen Kontrollen die Streuung größer wurde, bei Diabetikern war der Zusammenhang gerade noch signifikant und bei Vaskulitis-Patienten gar nicht mehr vorhanden. Als mögliche aktivitätsmodulierende Faktoren wurde im Kollektiv der Diabetiker die Niereninsuffizienz und der Raucherstatus identifiziert.

Bei Untersuchungen mit einem modifizierten ELISA-System, dessen detecting antibody nur an bestimmte Konformationen band, zeigte sich, dass in einer kleinen Stichprobe von Kindern eine veränderte CN1-Konformation vorlag. Während bei Erwachsenen im Plasma in diesem rein qualitativen ELISA-System Konzentrationen von etwa 1 µg/ml gemessen wurden, konnte im überwiegenden Anteil der Seren keine CN1 detektiert werden. Bei Kindern hingegen lag die Serumkonzentration ähnlich hoch wie die Konzentration im Plasma, beides in der Größenordnung der Konzentration von Erwachsenen. Als Ursachen kamen unterschiedliche Metallionen nahe des aktiven Zentrums der CN1 oder das Vorhandensein eines allosterischen Aktivators bei Erwachsenen in Frage, die abweichende Konformation konnte jedoch nicht abschließend aufgeklärt werden. In einem größeren Kollektiv von Kindern bestätigte sich durch eine Kovarianzanalyse der Daten des quantitativen ELISA-Systems, dass Kinder bei rechnerisch gleicher CN1-Menge eine geringere Aktivität aufwiesen, was ebenfalls für das Vorliegen einer abweichenden Konformation bei Kindern sprach.