



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

**Entwicklung einer quantitativen Nachweismethode zur Detektion  
der humanen Serum-Carnosinase mittels Enzyme-linked  
Immunsorbent Assay (ELISA)**

Autor: Dirk Alexander Frey  
Institut / Klinik: V. Medizinische Klinik  
Doktorvater: Prof. Dr. B. Yard

In bisherigen Studien wurde postuliert, dass der CNDP1-Polymorphismus mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit der Entwicklung einer diabetischen Nephropathie vergesellschaftet ist. Dementsprechend wurde bisher die These aufgestellt, dass eine hohe Carnosinase-Aktivität zu niedrigen Carnosin-Konzentrationen führt und dadurch zu einem Verlust der für Carnosin postulierten protektiven Eigenschaften für die Entwicklung diabetischer Folgeschäden und Komplikationen. Es stellte sich jedoch heraus, dass die CNDP1-Aktivität einer Vielzahl verschiedener Faktoren ausgesetzt ist und eine CNDP1-Konzentrationsmessung im Serum bis vor kurzem nicht etabliert war.

In der vorliegenden Arbeit wurden deshalb zuerst verschiedene Faktoren, die die CNDP1-Aktivität beeinflussen, bewertet und untersucht. In einem zweiten Schritt wurde der Versuch vorgenommen, ein ELISA-basiertes Testverfahren zu entwickeln, um die im Serum vorhandene CNDP1-Menge zu quantifizieren.

Die zentralen Ergebnisse dieser Studie sind:

- 1.) Die CNDP1-Aktivität steigt in Abhängigkeit des Alters an.
- 2.) Die CNDP1-Aktivität im Liquor ist wesentlich geringer als diejenige im Serum.
- 3.) Die CNDP1-Aktivität hängt von der Menge und dem Verhältnis der verschiedenen CNDP1-Substrate ab.
- 4.) Die CNDP1 kommt im Serum in unterschiedlichen Konformationen vor.
- 5.) Der monoklonale Antikörper RYSK-173 erkennt eine bestimmte Form (Qualität) der CNDP1, aber nicht deren Gesamtmenge (Quantität).

Obwohl es im Rahmen dieser Arbeit noch nicht abschließend gelungen ist, ein quantitatives ELISA-System zur Bestimmung von CNDP1-Konzentrationen zu entwickeln und zu etablieren, wurde dieses Ziel vor kurzem von Adelman et al. erreicht und im Rahmen einer Anschluss-Promotionsarbeit veröffentlicht. Unter Verwendung des auf den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit basierenden, modifizierten ELISA-Systems stellte sich heraus, dass der (CTG)<sub>5</sub>-(CTG)<sub>5</sub>-Genotyp in der Tat mit niedrigeren CNDP1-Serum-Konzentrationen vergesellschaftet ist. Außerdem zeigte sich, dass bei Frauen höhere CNDP1-Konzentrationen vorhanden sind als bei den entsprechenden genotypisierten männlichen Individuen.

Der qualitative CNDP1-ELISA, der im Rahmen meiner Studie entwickelt wurde, zeigt eine inverse Relation zwischen RYSK-173 und CNDP1-Aktivität auf. Das RYSK-173-Epitop befindet sich aller Wahrscheinlichkeit nach in der Zink-Bindungs-Domäne der CNDP1, wie auch aktuell andauernde Studien von Yard et al. vermuten lassen. Dies erklärt, warum EDTA die Erkennungsrate von CNDP1 durch RYSK-173 erhöht. Ebenso legt die Protein-Denaturierung durch Erhitzen oder durch Hinzufügen von DTT nahe, dass RYSK-173 kein konformationelles Epitop ist, sondern vielmehr ein lineares, kryptisches Epitop, das wahrscheinlich durch Metallionenbindung maskiert wird.

Weil nicht alle Diabetiker, die den (CTG)<sub>5</sub>-(CTG)<sub>5</sub>-Genotyp besitzen, vor der Entwicklung einer diabetischen Nephropathie gefeit sind, wird in weiteren Studien zu klären sein, ob sich die CNDP1-Qualität, so zum Beispiel die RYSK-173-Konformation, zwischen Patienten, die eine diabetische Nephropathie entwickeln und denen, die dies nicht tun, unterscheidet.