

G. Ionescu und R. Kiehl

Biogene Amine und histaminabbauende Enzyme bei Psoriasis und atopischem Ekzem

Biogenic Amines and Histamine-Splitting Enzymes in Psoriasis and Atopic Dermatitis

Forschungsabteilung, Spezialklinik Neukirchen
(Med. Leiter: Priv. Doz. Dr. med. E. W. Jecht)

Schlüsselwörter: Atopisches Ekzem, biogene Amine, Diamin-Oxidase, Histamin, Monoamin-Oxidase, Polyamine, Psoriasis.

Key words: atopic dermatitis – biogenic amines – diamine oxidase – histamine – monoamine oxidase – polyamines – psoriasis.

Zusammenfassung: Im Gegensatz zu einem früheren Bericht haben wir im Serum und Blut von Psoriasis-Patienten normale Konzentrationen der biogenen Amine Putrescin, Cadaverin, Spermidin, Spermin und Tyramin gefunden. Dopamin-, Adrenalin- und Serotonin-Konzentrationen waren auch normal. Patienten mit atopischem Ekzem hatten ebenfalls normale Konzentrationen dieser biogenen Amine. Diese Amine sind daher nicht für die niedrigen Mono- und Diamin-Oxidase-Aktivitäten bei unseren Patienten verantwortlich. Die wahrscheinlichsten Kandidaten für die Diamin-Oxidase-Inhibierung sind Nikotin, Alkohol, Nahrungsmittelzusätze, andere Umweltchemikalien oder eventuell eine genetisch defekte Diamin-Oxidase.

Summary: Contrary to an earlier report, we found normal levels of the biogenic amines putrescine, cadaverine, spermidine, spermine, and tyramine in the sera and whole blood of psoriatic patients. The concentrations of dopamine, epinephrine, and serotonin were also found normal. Patients with atopic dermatitis, as well, showed normal levels of the biogenic amines mentioned above. We suppose, therefore, that these amines are not responsible for the decreased activities of the monoamine and diamine oxidase in these patients. The most likely causative factors of the inhibition of the diamine oxidase are nicotine, alcohol, food additives and other environmental chemicals, or perhaps a genetic defect of the diamine oxidase.

Einleitung

Wir haben vor kurzem berichtet, daß erhöhte Plasma-Histamin-Konzentrationen mit signifikant erniedrigten

Diamin- (DAO-) und Typ B Monoamin-Oxidase-(MAO-B)-Aktivitäten in Thrombozyten-reichem Plasma von atopischem Ekzem- (AE) und Psoriasis-Patienten assoziiert sind (7, 9).

Die Diamin-Oxidase zeigt fast normale Kofaktor-Konzentrationen (Pyridoxalphosphat und Cu^{2+} , während die Kofaktor-Konzentrationen der Typ B-Monoamin-Oxidase (Flavinadenin-Dinucleotid und Fe^{2+}) erniedrigt sind (9). Wir schließen daraus, daß im Gegensatz zur MAO-Aktivität für die erniedrigte Aktivität von DAO ein anderer Grund als die Kofaktor-Konzentrationen verantwortlich sein muß. Arzneimittel (17) können nicht verantwortlich sein, da die AE- und Psoriasis-Patienten in die Studie frei von irgendwelchen Arzneimitteln aufgenommen wurden. Biogene Amine, Nikotin, Alkohol, Nahrungsmittelzusätze (14) oder andere Umweltchemikalien sind die wahrscheinlichsten Kandidaten für die Inhibierung der DAO-Aktivität.

Die biogenen Amine (Polyamine), Spermidin und Spermin, werden als erhöht im Blut von Psoriasis-Patienten beschrieben (15). Erhöhte Polyamin-Konzentrationen sollen eine Rolle im schnellen Wachstum sowie bei Krebs spielen (8).

Ziel dieser Studie war, die Relation zwischen der Konzentration biogener Amine im Serum und Blut von AE- und Psoriasis-Patienten und deren gleichzeitig verminderte MAO- und DAO-Aktivitäten zu untersuchen.

Krankengut und Methoden

21 Patienten mit klinisch gesichertem atopischem Ekzem (5) (Alter: 15–43 Jahre), 14 Patienten mit klinisch gesicherter Psoriasis vulgaris (16) (Alter: 17–45 Jahre) mit mehr als 5 Jahren Krankheitsgeschichte und 13 gesunde Probanden ohne atopische Vorgeschichte oder Zeichen irgendeiner Hautkrankheit (Alter: 17–43 Jahre) gaben ihre Einwilligung, an der Studie teilzunehmen. Die AE-Patienten waren während des letzten Monats vor der Blutentnahme Kortikoid- und/oder Antihistaminika-frei.

Abkürzungen: AE: atopisches Ekzem, DAO: Diamin-Oxidase, HPLC: high-performance-liquid-chromatography, MAO-B: Monoamin-Oxidase B.

Tab. 1: Biogene Amine in Serum und Blut von atopischen Ekzem- und Psoriasis-Patienten

	Putrescin	Cadaverin	Spermidin	Spermin	Tyramin
a) Serum ($\mu\text{g/l}$)					
Kontrollen (n = 13)	22.8 \pm 6.0	4.9 \pm 1.3	35.2 \pm 14.2	6.0 \pm 4.6	1.4 \pm 1.0
Atopische Ekzem-Patienten (n = 21)	25.0 \pm 6.9	5.4 \pm 2.2	31.1 \pm 8.3	4.6 \pm 2.9	1.4 \pm 0.7
Statistische Auswertung Student t Test	NS	NS	NS	NS	NS
Psoriasis-Patienten (n = 12)	27.7 \pm 9.5	3.8 \pm 1.2	32.6 \pm 7.5	3.9 \pm 2.0	1.7 \pm 1.3
Statistische Auswertung Student t Test	NS	NS	NS	NS	NS
b) Blut ($\mu\text{g/l}$)					
Kontrollen (n = 13)	65.1 \pm 17.2	15.5 \pm 4.0	2150 \pm 644	1477 \pm 268	-
Atopische Ekzem-Patienten (n = 12)	95.4 \pm 35.5	18.7 \pm 14.3	2211 \pm 597	1349 \pm 410	-
Statistische Auswertung Student t Test	NS	NS	NS	NS	-
Psoriasis-Patienten (n = 14)	58.5 \pm 18.1	13.8 \pm 5.8	2061 \pm 722	1403 \pm 489	-
Statistische Auswertung Student t Test	NS	NS	NS	NS	-

Tab. 2: Monoamin- und Diamin-Oxidase-Aktivitäten in thrombozytenreichem Plasma von Psoriasis-, atopischen Ekzem-Patienten und gesunden Kontrollen

	Typ B-Monoamin-Oxidase ($\text{mmol min}^{-1} \text{l}^{-1}$)	Diamin-Oxidase ($\text{mmol min}^{-1} \text{l}^{-1}$)	Histamin ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
Kontrollen (n = 14)	0.394 \pm 0.091	0.535 \pm 0.133	2.25 \pm 1.00
Atopische Ekzem-Patienten (n = 21)	0.205 \pm 0.105	0.244 \pm 0.097	6.28 \pm 1.42
Statistische Auswertung Student t Test	p < 0.05	p < 0.001	p < 0.001
Psoriasis-Patienten (n = 12)	0.225 \pm 0.095	0.212 \pm 0.109	5.23 \pm 1.84
Statistische Auswertung Student t Test	p < 0.05	p < 0.001	p < 0.001

Die Psoriasis-Patienten vermieden alle Kortikoid- und/oder Phototherapie während der letzten 2 Monate.

MAO-B- und DAO-Aktivitäten in Thrombozytenreichem Plasma, ihre Kofaktor- sowie Plasma-Histamin-Konzentrationen wurden, wie früher beschrieben (7, 9), gemessen.

Nach Enteiweißung der Seren mit Sulfosalicylsäure wurden Putrescin und Cadaverin vom Überstand durch Festphasenextraktion isoliert. In der eluierten Flüssigkeit wurden Dansyl-Derivate mittels Dansylchlorid gebildet und diese dann mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet und der Rückstand in Acetonitril gelöst. Putrescin und Cadaverin wurden fluorimetrisch nach ihrer Trennung in einem HPLC-System mittels Gradienten-Elution gemessen (2, 3). Das System enthielt einen internen Standard. Spermidin und Spermin wurden ähnlich gemessen, aber ohne die Festphasenextraktion zu Beginn der Meß-Methode (2, 3). Tyramin wurde aus dem Serum durch Festphasenextraktion an Bond Elut RP-C18-Säulen isoliert. Es wurde gemessen nach Trennung in einem HPLC-System mittels elektrochemischer Detektion (4, 13). Auch dieses System enthielt einen internen Standard. Serotonin wurde mittels HPLC von Begleitsubstanzen abgetrennt und fluorimetrisch gemessen (1). Dopamin, Noradrenalin und Adrenalin wurden mit HPLC und elektrochemischer Detektion bestimmt (6).

EDTA-Blut-Proben wurden zweimal eingefroren und wieder aufgetaut, um Hämolyse zu induzieren. Das Hämolyat wurde 1:3 mit destilliertem Wasser verdünnt. Die Analyse der biogenen Amine wurde dann, wie für die Seren beschrieben, durchgeführt (2, 3).

Ergebnisse und Diskussion

Die Untersuchungen zeigen im Serum von atopischen

Ekzem- und Psoriasis-Patienten normale biogene Amin-(Putrescin, Cadaverin, Spermidin, Spermin, Tyramin)-Konzentrationen, wenn man mit Kontrollpersonen vergleicht (Tabelle 1). Bei atopischem Ekzem sind die Dopamin-(21.2 \pm 18.4 vs 16.6 \pm 13.7, NS)(6), Adrenalin-(36.4 \pm 17.5 vs 43.1 \pm 22.2, NS)(6) und Serotonin-(148 \pm 81 vs 125 \pm 75, NS)(nicht gezeigt)-Konzentrationen auch normal. Das einzige gemessene biogene Amin, das nicht in normaler Konzentration vorliegt, ist Noradrenalin (401.3 \pm 164.5 vs 174.3 \pm 55.8, p < 0.005). Die möglichen Ursachen für die höheren Noradrenalin-Werte werden von uns diskutiert (6). Für die Psoriasis-Patienten-Werte gilt dasselbe wie beim atopischen Ekzem (in Vorbereitung). In denselben Patienten sind zur gleichen Zeit, die MAO-B- und DAO-Aktivitäten im Thrombozyten-reichen Plasma erniedrigt sowie die Histamin-Konzentrationen erhöht (Tabelle 2, siehe dazu 7, 9). Da die Typ A- und B-Monoamin-Oxidase nur kleine Unterschiede in ihrer Substratspezifität haben, ist anzunehmen, daß die MAO-A-Aktivität auch erniedrigt ist. Wegen der Sensitivitätsgrenze unserer Meßmethode konnten wir dies jedoch nicht direkt bestätigen.

Wie auch immer, die oben beschriebenen biogenen Amine können nicht für die niederen Oxidase-Aktivitäten verantwortlich sein, da ihre Konzentrationen im Serum normal sind. Desweiteren haben wir für DAO fast normale Kofaktor-Werte, aber erniedrigte Kofaktor-Konzentrationen für MAO-B gefunden (9). Das heißt, die erniedrigten MAO-B-Aktivitäten sind mit den niederen Kofaktor-Konzentrationen zu erklären, jedoch gilt dies nicht für die gefundenen DAO-Werte. Als Kandidaten für die DAO-Inhibierung bleiben Nikotin, Alkohol, Nahrungsmittelzusätze (14) oder andere Umweltchemikalien. Diese starken Oxidase-Hemmer sind auch in der Lage, eine Histamin-Ausschüttung zu bewirken (pseudoallergische Reaktion),

was zu einem weiteren Histamin-Anstieg mit der Folge einer Oxidasen-Überladung führt. Natürlich sind auch allergische Reaktionen für einen Anstieg der Histamin-Konzentrationen verantwortlich. Wir können aber auch nicht ausschließen, daß eine genetisch defekte DAO (einschließlich einer Enzym-Repression) für unsere Ergebnisse verantwortlich ist. Weitere Untersuchungen, dieses Problem betreffend, werden zur Zeit durchgeführt.

Die biogenen Amine (Polyamine), Spermidin und Spermin, sollen im Blut von Psoriasis-Patienten erhöht sein (15). Dieselben Polyamine, plus Putrescin, werden auch in der Haut von Psoriasis-Patienten als erhöht beschrieben (10, 11). Es wird berichtet, daß erhöhte Polyamin-Konzentrationen im Plasma, Serum, in zerobrospinaler Flüssigkeit und Urin eine Rolle im schnellen Wachstum und Krebs spielen (8). Wenn die Erhöhung der beschriebenen Polyamine im Blut von Psoriasis-Patienten einfach eine Reflektion der von der wuchernden Epidermis in den großen Blutkreislauf freigesetzten Polyamine wäre, dann würde man zuerst eine höhere Konzentration der Polyamine im Serum oder Plasma von Blutproben erwarten. Wie oben schon diskutiert, die Konzentrationen der biogenen Amine im Serum von Psoriasis-Patienten (die freie gemessene Konzentration ist mit der totalen Konzentration identisch, 8) ist im Vergleich zu AE-Patienten oder Kontrollpersonen absolut normal. Die gefundenen erhöhten Polyamin-Konzentrationen in Blutproben (15) würden dann vollständig zu den Erythrozyten gehören (8, 12) und wären dann nicht von der schnell wachsenden Epidermis freigesetzt. Aufgrund dieser Schlußfolgerung entschlossen wir uns, die Konzentrationen der biogenen Amine im Blut (Erythrozyten) von Psoriasis- und AE-Patienten nochmals zu messen.

Die Di- und Polyamin- (Cadaverin, Putrescin, Spermidin, Spermin)-Konzentrationen in Blutproben von Psoriasis-Patienten sind fast normal, wenn man mit AE-Patienten und Kontrollpersonen vergleicht (Tabelle 1). Wegen dieses Ergebnisses können frühere Resultate (15) nicht bestätigt werden. Eine andere Diskrepanz stellen die Konzentrationen von Spermidin und Spermin in gesunden Kontrollen dar, in unserem Testsystem sind diese Konzentrationen 3 bis 4mal höher als früher berichtet (15). Diese Differenz kann wahrscheinlich durch die verschiedenen benutzten Methoden erklärt werden. Unsere Methode des Gefrierens und Wieder-Auftauens sollte die gesamte Blutprobe hämolysieren, und die Verdünnungs-Stufe, die wir einschließen, stellt sicher, daß alle Polyamine nach der Enteiweißung noch im Überstand sind. Ob diese Erklärung allerdings auch auf die gefundenen Unterschiede zwischen den Psoriasis- und normalen Blut-Polyaminen (15) zutrifft, ist nicht sicher. Außerdem benutzten wir ein HPLC-System anstelle eines Aminosäure-Analysators.

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, daß Polyamin-Messungen im Serum und Blut von Psoriasis- und AE-Patienten keine diagnostische oder klinische Bedeutung haben, wie für Krebs-Patienten beschrieben (8).

Wir danken dem Laboratorium Drs. Hofmeister, 8480 Weiden/Opf., für die Analyse der Di- und Polyamine.

Literatur

1. Anderson, G. M., Young, J. G., Cohen, D. J., Schlicht, K. R., Patel, N. (1981): Liquid-chromatographic determination of serotonin and tryptophan in whole blood and plasma, *Clin. Chem.* 27, 775-776.
2. Bontemps, J., Laschet, J., Dandrifosse, G. (1984): Analysis of dansyl derivatives of di- and polyamines in mouse brain, human serum and duodenal biopsy specimens by high performance liquid chromatography on a standard reverse-phase column, *J. Chromatogr.* 311, 59-67.
3. Brossat, B., Straczek, J., Belleville, F., Nabet P. (1983): Determination of free and total polyamines in human serum and urine by high performance liquid chromatography using a radial compression module, *J. Chromatogr.* 227, 87-99.
4. Causon, C., Brown, Y. M. (1984): Measurement of tyramine in human plasma utilising ion-pair extraction and high-performance liquid chromatography with amperometric detection, *J. Chromatogr.* 310, 11-17.
5. Hanifin, J. M., Lobitz, W. C. (1977): Newer concepts of atopic dermatitis, *Arch. Dermatol.* 113, 663-670.
6. Ionescu, G., Kiehl, R. (1989): Erhöhte Plasma-Noradrenalin-Werte bei schwerem atopischem Ekzem, *Z. Hautkr.* 64, 1036-1037.
7. Ionescu, G., Kiehl, R. (1989): Monoamine- and diamine-oxidase activities in psoriasis, *Acta Derm. Venerol. (Stockh.)* 69, 264-265.
8. Jänne, J., Rösö, H., Raina, A. (1978): Polyamines in rapid growth and cancer, *Biochem. Biophys. Acta* 473, 241-293.
9. Kiehl, R., Ionescu, G. (1989): Histamin-abbauende Enzyme bei atopischem Ekzem, *Z. Hautkr.* 64, 1121-1123.
10. Lauharanta, J., Kousa, M., Kapyaho, K., Linnamaa, K., Mustakallio, K. (1981): Reduction of increased polyamine levels in psoriatic lesions by retinoid and PUVA treatments, *Brit. J. Derm.* 105, 267-272.
11. Lowe, N. J., Breeding, J., Russell, D. (1982): Cutaneous polyamines in psoriasis, *Brit. J. Derm.* 107, 21-26.
12. Moulinoux, J. P., Le Calve, M., Quemener, V., Quash, G. (1984): In vitro studies on the entry of polyamines into normal red blood cells, *Biochemie* 66, 385-393.
13. Nilsson, E., Schick, Ch. (CIBA-GEIGY GmbH, Humanpharmakologisches Institut): Schnelle Extraktion von Tyramin aus Plasma mit Bond Elut RP-C18 für die HPLC-Analyse, Personal communication.
14. Paul, E. (1987): Allergische und pseudoallergische Hautreaktionen auf Nahrungsmittel und Nahrungsmittelbestandteile, *Med. Welt* 38, 847-851.
15. Proctor, M. S., Fletscher, H. V. jr., Shukla, J. B., Rennert, O. M. (1975): Elevated spermidine and spermine levels in the blood of psoriasis patients, *J. Invest. Derm.* 65, 409-411.
16. Psoriasis vulgaris. In: *Dermatologie und Venerologie*, Braun-Falco, O., Plewig, G., Wolf, H. H. (ed.), Springer-Verlag Berlin-Heidelberg 1984, 381-393.
17. Sattler, J., Lorentz, W. (1987): Nahrungsmittelinduzierte Histaminose, *Münch. Med. Wochenschr.* 129, 551-557.

Anschrift:

~~Prof. Dr. Reinhold Kiehl~~
Spezialklinik Neukirchen,
Krankenhausstr. 9,
W-8497 Neukirchen b. Hl. Blut.

Prof. Dr. Reinhold Kiehl
(PKI-Institut)

Reinhold Kiehl