

Biochemische Aspekte des Aminosäuren-Stoffwechsels bei *Psoriasis vulgaris*

Biochemical Aspects of Amino Acid Metabolism in *Psoriasis vulgaris*

G. Peter, H. Angst und U. Koch

Biochemische Abteilung der Dermatologischen Universitätsklinik Würzburg

(Z. Naturforsch. **28 c**, 446–449 [1973]; eingegangen am 16. April/17. Mai 1973)

Amino acid metabolism, *Psoairiss vulgaris*

Free and protein-bound amino acids in serum and scales were investigated. In serum the bound amino acids of psoriatics are significantly higher with exception of Pro, Met, Tyr and Phe in contrast to normal subjects. For free amino acids the differences between normal subjects and psoriatics found in serum and scales are not significant. Results are discussed in relation to the single amino acids and the biochemical correlations are outlined which takes the pathological process as a basis.

Untersuchungen über Zusammensetzung und Konzentration freier und peptidartig gebundener Aminosäuren (AS) im Blut und Schuppen von Hautgesunden (HS) und Psoriatikern (PS) sind schon häufig durchgeführt worden^{1–9, 11–19}. Die von den verschiedenen Autoren angewandten unterschiedlichen Analysentechniken und Fragestellungen sowie die oft fehlenden Signifikanzberechnungen waren für uns maßgebend, das Problem erneut aufzugreifen.

Material und Methoden

Als Ausgangsmaterial diente Serum und Schuppen von 40 Psoriatikern und 10 Hautgesunden. Das Alter der Probanden lag zwischen 12 und 84 Jahren. Die Schuppen wurden mechanisch gewonnen, gewogen und bis zu ihrer Verarbeitung bei –20 °C aufbewahrt.

Gewinnung freier AS

2 ml Serum wurden mit 2 ml 10-proz. CCl_3COOH - (TCA) versetzt, 10 min zentrifugiert ($1000 \times g$), der Überstand 5mal mit je 10 ml Äther extrahiert, die wässrige Phase im Vakuumexsicator getrocknet und der Rückstand mit 2 ml Citratpuffer (pH 2,2) aufgenommen.

50–100 mg Schuppen wurden mit 5 ml P-Puffer (pH 7,2) versetzt, unter Eiskühlung 10 min homogenisiert, 2 Stdn. in der Kälte extrahiert und 15 min

Sonderdruckanforderungen an Dr. Gernot Peter, Dermatologische Universitäts-Klinik, D-8700 Würzburg, Josef-Schneider-Str. 2.

bei $10\,000 \times g$ zentrifugiert. Dieser Prozeß wurde zweimal wiederholt, das Extrakt-Volumen auf 10 ml gebracht, 2 ml entnommen und wie bei Serum beschrieben weiter verarbeitet.

Gewinnung gebundener AS

1 ml Serum bzw. 50–100 mg Schuppen wurden mit 15 ml 6 N HCl versetzt, 24 Stdn. bei 105 °C hydrolysiert, nach Abkühlung zentrifugiert ($1000 \times g$), im Vakuumexsicator getrocknet und der Rückstand mit 5 ml Citratpuffer (pH 2,2) aufgenommen.

Durchführung der AS-Analyse

Die Auftrennung erfolgte mit dem AS-Analysator LC 4010 (Fa. Biotronik) und angeschlossenem Integrator (Fa. Vidar Autolab). Die Analyse wurde im Einsäulen-Verfahren durchgeführt. Die Starttemperatur betrug 55 °C; Temperaturwechsel nach 115 min auf 62 °C. Durchflußgeschwindigkeit: Puffer 70 ml/Stde., Ninhydrin 35 ml/Stde.

Ninhydrinherstellung

3750 ml Methylcellosolve wurden mit 1250 ml 4 M CH_3COONa -Puffer (pH 5,50), 100 g Ninhydrin und 2 g SnCl_2 versetzt und nach vollständiger Auflösung des Ninhydrins 20–30 min N_2 in die Vorratsflasche eingeleitet.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

Pufferlösungen

a. Puffer für AS-Analyse

	pH	3.28	4.25	6.50
Na-Ionenkonzentration		0.2 N	0.2 N	0.6 N
Na-citrat · 2 H ₂ O [g]	392	392	1176	
conc. HCl (32-proz.) [ml]	~290	~195	32	
C ₂ H ₅ OH abs. [ml]	800	—	—	
Pentachlorphenol [ml]	2	2	2	
Caprylsäure [ml]	2	2	2	

b. Puffer für Schuppenextraktion

A : 13,61 g KH₂PO₄/l; B : 17,8 g Na₂HPO₄/l;
72 ml von B + 28 ml von A + 74,45 mg EDTA.

Auswertung der Chromatogramme

Die Zuordnung der Peaks erfolgte mit Hilfe eines Testchromatogramms; für die Berechnung wurden die vom Integrator erfassten Peakflächen von Probe und Test verglichen. Das benutzte AS-Testgemisch mit bekannter Konzentration wurde von der Firma BioRad bezogen.

Signifikanztests

Für die Berechnung wurde die t-Verteilung gewählt.

Ergebnisse

Die Resultate unserer Untersuchungen sind in den Tabn. I und II aufgeführt.

Diskussion

a. Aminosäuren im Serum

Qualitativ gesehen haben wir im Serum von Hautgesunden und Psoriatikern im Vergleich zu anderen Autoren ^{3, 5, 8, 11, 16, 17} nahezu die gleichen AS gefunden. Gewisse Unterschiede sind nur bei einigen Komponenten erkennbar; so wurden zusätzlich Cit, α -ABS, OH-Pro, Äthanolamin ⁴ und Try ¹¹ gefunden, während von uns Phosphoserin nachgewiesen werden konnte.

Aus Tab.I geht hervor, daß Phosphoserin in überwiegendem Maße bei Psoriatikern angetroffen wird. Da diese Substanz bei Hautgesunden nur

Tab. I. Mittelwerte freier und proteingebundener Aminosäuren (mg/100 ml) im Serum von Normalpersonen und Psoriatikern und t-Test für proteingebundene As (Vergleich zwischen HS und PS).

	Normalpersonen		Psoriatiker		p [%]
	Freie AS	Gebundene AS	Freie AS	Gebundene AS	
Phosphoserin	0,11	—	0,20	6,2	—
Asp	0,40	389,0	0,30	726,0	<0,1
Thr	2,90	221,0	2,90	424,0	<0,1
Ser	1,20	199,0	1,00	395,0	<0,1
Glu	2,20	593,0	1,40	1029,0	<0,1
Pro	3,00	224,0	4,10	394,0	2>p>1
Gly	1,20	94,0	1,10	197,0	<0,1
Ala	2,30	258,0	2,00	449,0	<0,1
(Cys) ₂	0,50	77,0	0,50	229,0	<0,1
Val	2,20	227,0	1,60	450,0	<0,1
Met	0,30	12,0	0,30	30,0	p=20
Ile	1,00	75,0	0,60	145,0	<0,1
Leu	1,60	386,0	1,10	666,0	<0,1
Tyr	0,70	64,0	0,80	138,0	5>p>2
Phe	0,70	111,0	0,70	229,0	1>p>0,2
His	1,50	153,0	1,00	307,0	<0,1
1-MetHis	—	—	0,10	—	—
Orn	1,10	—	0,90	—	—
Lys	2,30	467,0	1,70	706,0	<0,1
Arg	1,40	151,0	1,20	344,0	<0,1

Tab. II. Konzentration freier und proteingebundener AS in Normalschabseln und Psoriasis-Schuppen [g%].

	Normalpersonen		Psoriatiker	
	Freie AS	Gebundene AS	Freie AS	Gebundene AS
Phosphoserin	0,4	1,6	0,7	0,2
Asp	6,1	8,3	4,0	10,5
Thr	6,8	3,9	5,8	5,2
Ser	23,7	11,7	10,7	7,9
Glu	4,7	14,8	5,8	15,7
Cit	9,6	1,3	2,8	n.g.
Pro	2,0	7,6	5,0	7,4
Gly	8,6	10,8	5,9	6,9
Ala	6,5	3,8	7,6	4,7
(Cys) ₂	n.g.*	1,2	n.g.	0,2
Val	2,9	3,8	4,5	5,4
Met	0,8	n.g.	3,2	n.g.
Ile	2,0	3,5	4,0	5,0
Leu	2,3	6,5	6,2	9,3
Norleu	0,3	n.g.	0,2	n.g.
Tyr	3,0	0,8	4,5	0,9
Phe	1,6	0,9	4,1	1,5
His	4,2	3,2	6,5	2,6
Orn	4,0	2,0	4,1	n.g.
Lys	4,1	9,6	8,7	9,6
Arg	6,5	4,7	5,5	7,0

* n.g. = Nicht gefunden.

gelegentlich, bei Psoriatikern in allen untersuchten Proben vorhanden war, halten wir es für unwahrscheinlich, daß es sich hier um ein Zufallsphänomen

handelt. Wenn man berücksichtigt, daß das C-Skelett des Phosphoserins von Verbindungen des Kohlenhydratabbaues wie z. B. vom 3-Phosphoglycerat, geliefert wird, muß vermutet werden, daß bei Psoriatikern eine ausgeprägtere Beziehung zwischen dem Stoffwechsel der Phospholipoide und dem der Kohlenhydrate besteht.

Nach¹ sollen bei Psoriatikern die S-Aminosäuren wegen der erhöhten Keratinisierung vorherrschen. Dieser Sachverhalt gilt nach unseren Ergebnissen aber nur für die proteingebundenen, nicht für die freien AS. Dieser Befund steht im Gegensatz zu den bei Schuppen erhaltenen Ergebnissen, auf die später eingegangen wird. *Ornithin* wurde in Übereinstimmung mit^{3, 4, 16, 17} nur in der Gruppe der freien AS angetroffen. Ein signifikanter Unterschied zwischen HS und PS konnte nicht festgestellt werden.

Dem *1-Methylhistidin*, das nur einmal gefunden wurde, darf vermutlich keine große Bedeutung beigemessen werden. Es wird zwar über das Vorkommen dieser AS berichtet^{3, 4, 16, 17}, scheint aber nicht obligater Bestandteil des Serums zu sein.

Hinsichtlich der Mengenhäufigkeit kommen Thr, Glu, Pro, Ala, Val, Lys in der Gruppe der freien AS und Asp, Glu, Leu, Lys bei den proteingebundenen AS am stärksten vor. Diese Verhältnisse gelten in gleichem Maße für Hautgesunde und Psoriatiker.

Signifikanzberechnungen ergaben, daß die Unterschiede zwischen HS und PS bei den freien AS nicht signifikant sind, während bei den gebundenen AS – mit Ausnahme von Pro, Met, Tyr und Phe – ein signifikanter Unterschied (Tab. I) zwischen Hautgesunden und Psoriatikern beobachtet werden konnte. Hieraus folgt, daß beim Psoriatiker ein verstärkter Protein- bzw. Aminosäure-Stoffwechsel vorliegt. Diese interessanten Relationen haben wir in der uns zugänglichen Literatur bisher nicht gefunden.

b. Aminosäuren in Schuppen

Analog dem Serum haben wir auch im Schuppenmaterial eine mit anderen Autoren^{6, 7, 12, 15, 19} übereinstimmende qualitative AS-Zusammensetzungen gefunden (Tab. II). Dieses Ergebnis ist jedoch nicht überraschend, denn von einigen früheren Beobachtungen abgesehen^{9, 14} gilt heute die generelle Meinung, daß Diskrepanzen ausschließlich quantitativer Natur sind.

In der Gruppe der freien AS kommt bei HS und PS *Serin* mengenmäßig am stärksten vor (bei HS 1/4 und bei PS 1/9 aller AS).

Bei den proteingebundenen AS kommen Ser, Glu, Gly, Lys (Hälfte aller AS) in HS und Asp, Glu, Leu, Lys (Hälfte aller AS) in PS am häufigsten vor. *Phosphoserin*, das wir, im Gegensatz zu anderen Autoren, in freien und proteingebundenen AS bei HS und PS fanden, ist gegenüber HS in PS bei den freien AS um den Faktor 2 erhöht und bei den gebundenen AS um den Faktor 8 erniedrigt.

In Übereinstimmung mit^{2, 6, 7, 18, 19} fanden wir in HS und PS bei freien AS kein *Cystin*. Dieser Effekt wird verständlich, wenn man die biochemischen Prozesse während der Keratinisierung berücksichtigt. Einer der grundlegenden Vorgänge bei der Verhornung besteht ja in der Transformation von SH-Gruppen zu –S–S-Brückenbindungen. Demgemäß mußte diese AS folgerichtig bei den proteingebundenen AS gefunden werden.

Methionin wurde, im Gegensatz², nur bei den freien AS gefunden. Verglichen mit HS ist es in PS etwa 4mal so hoch. Bei den gebundenen AS konnten wir diese Komponente nicht nachweisen.

Ornithin, das durch die Arginase-Reaktion mit *Arginin* in Zusammenhang steht, wurde in HS bei freien und gebundenen AS und in PS nur bei freien AS angetroffen. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit Resultaten von^{7, 12, 19}. Aus diesen Befunden könnte gefolgt werden, daß die Arginase-Aktivität durch einmal gebildetes Orn, das als Inhibitor fungiert und somit eine Repressor-Funktion ausübt, gehemmt wird. Bei *Citrullin* fällt auf, daß die Werte bei PS gegenüber HS stark vermindert sind. Außerdem war es in gebundenen AS bei PS nicht nachweisbar. Aufgrund des geringen Citrullingehaltes bei PS ergeben sich einige interessante Wechselbeziehungen mit der Nukleotid-Synthese. Offensichtlich unterliegt die Citrullinbildung einer Repression, während die Bildung der Aspartat-Transcarbamylase induziert wird. Das dabei entstehende Carbamyl-aspartat stellt seinerseits eine wichtige Schlüsselverbindung bei der Pyrimidinsynthese dar. Da wir eine stark ausgebauten Pyrimidinsynthese beobachten konnten¹⁰, findet dieser Effekt eine logische Erklärung. Als weiterer indirekter Beweis für diese Annahme muß das Fehlen von Harnstoff bei PS angesehen werden. Wir hätten sonst diese Substanz, die aus Citrullin mittels Ornithincarbamylase gebildet wird,

bei Überwiegen des katabolen Weges, finden müssen.

Die im Gegensatz zu HS starke Verminderung von Serin bei PS hängt offenbar mit dem erhöhten Abbau zu Pyruvat zusammen, der bei PS stärker erfolgt als bei HS.

Im Gegensatz zu ¹³ ist die Glutaminsäure bei freien und gebundenen AS in PS gegenüber HS nicht erhöht.

Angesichts der gewonnenen Resultate erhebt sich mit Recht die Frage, ob die gefundenen Unterschiede rein zufällige, individuelle Schwankungen darstellen und/oder auf genetische Determinanten zurückgeführt werden können. Im derzeitigen Stadium der Untersuchungen kann diese Frage noch nicht eindeutig beantwortet werden. Weiterführende Experimente ¹⁰ lassen jedoch erkennen, daß in molekulärbiologischer Hinsicht eine Beteiligung genetischer Strukturen nicht auszuschließen ist.

- ¹ O. Braun-Falco, Klin. Wschr. **35**, 1182 [1957].
- ² H. Cornish, W. D. Block u. W. A. Lea, J. invest. Derm. **32**, 43 [1959].
- ³ D. C. Cusworth u. C. E. Dent, Biochem. J. **74**, 550 [1960].
- ⁴ R. W. Hubbard, B. F. Steele, V. Spear u. W. D. Block, J. invest. Derm. **38**, 183 [1962].
- ⁵ B. El-Kammah, A. M. El-Mofty u. M. Nada, Acta dermatovenerol. [Stockholm] **48**, 413 [1968].
- ⁶ G. Kloss u. E. Schwarz, Arch. klin. exp. Dermatol. **228**, 188 [1967].
- ⁷ M. Liss u. W. F. Lever, J. invest. Derm. **40**, 45 [1963].
- ⁸ N. E. Nikiforova, Vestn. derm. vener. **38**, 10 [1964].
- ⁹ J. M. Paschoud u. B. Schmidli, Dermatologica [Basel] **110**, 323 [1955].
- ¹⁰ G. Peter, in Vorbereitung.
- ¹¹ J. Rosner u. B. Baranowska, Pol. Med. J. **3**, 698 [1964].
- ¹² S. Rothberg, R. G. Crounse, L. Davis, L. Avogadro u. J. Lamas, J. invest. Derm. **44**, 320 [1965].
- ¹³ Y. Satoh, Jap. J. Derm. **70**, 26, 29 [1960].
- ¹⁴ E. Schwarz, Arch. klin. exp. Dermatol. **225**, 299 [1966].
- ¹⁵ E. Schwarz u. G. Kloss, Arch. klin. exp. Dermatol. **231**, 311 [1968].
- ¹⁶ P. Soupart, J. T. Holden, Amino acid pools, Elsevier, Amsterdam 1962.
- ¹⁷ W. H. Stein u. S. Moore, J. biol. Chemistry **211**, 915 [1954].
- ¹⁸ K. Steiner, J. invest. Derm. **34**, 189 [1960].
- ¹⁹ H. Zahnd u. M. Citron, Arch. Dermatology **81**, 936 [1960].

Bürzeldrüsensekrete von Webervögeln (Ploceidae)

The Uropygial Gland Secretion of Weaver-birds

Jens Poltz und Jürgen Jacob

Universität Hamburg

(Z. Naturforsch. **28 c**, 449–452 [1973]; eingegangen am 30. April 1973)

Uropygial gland fat, weaver-birds, ploceidae, branched fatty acids

The uropygial gland wax of the genus *Ploceus* is found to be mainly one wax consisting of 2,4-dimethyl-heptanoic acid and *n*-octadecanol. The wax of one species of the genus *Quelea* investigated, mainly has two components consisting of 2,4,6-trimethyl-nonanoic acid and *n*-octadecanol as well as *n*-hexadecanol. The wax of the sparrows (Passerinae) belonging to the same family Ploceidae is quite different from the uropygial gland fat of these genera by the occurrence of 3-methyl fatty acids and 3-methyl-alcanols.

In der Systematik der Vögel unterscheiden sich die Bürzeldrüsensekrete in charakteristischer Weise von Ordnung zu Ordnung in qualitativer Hinsicht; innerhalb einzelner Ordnungen scheinen vor allem quantitative Unterschiede zu bestehen ^{1–3}. Wie weit anhand der chemischen Zusammensetzung der Wachse auch nahe verwandte Arten unterscheidbar sind, wurde bisher nur wenig untersucht ^{2–6}.

In der vorliegenden Arbeit werden die Ergebnisse der Untersuchung an fünf Arten der Familie Plo-

ceidae aus zwei Gattungen (*Ploceus*, *Quelea*) mitgeteilt.

Material und Methoden

Die Bürzeldrüsen der frischtoten Vögel wurden in Aceton konserviert und mit CHCl₃/CH₃OH (2 : 1) extrahiert * und in der üblichen Weise aufgearbeitet. Die Extrakte wurden säulenchromatographisch gereinigt, die Wachse mit 1 N methanolischer NaOH

* Für die Hilfe bei der Materialbeschaffung und bei der Bestimmung der Arten danken wir Herrn Dr. H. Hoerschelmann vom Zoologischen Institut der Universität Hamburg.