

R. Kiehl und G. Ionescu

Histamin-Abbauende Enzyme bei Atopischem Ekzem

Enzymes of Histamine Catabolism in Atopic Dermatitis

Forschungsabteilung, Spezialklinik Neukirchen
Med. Leiter: Prov. Doz. Dr. med. E.W. Jecht

Schlüsselwörter: Atopisches Ekzem — Diamin-Oxidase — Histamin — Kofaktor-Werte, Typ B-Monoamin-Oxidase

Key words: atopic dermatitis — diamine oxidase — histamine — cofactor levels — monoamine oxidase type B

Zusammenfassung: Erhöhte Plasma-Histamin-Werte korrelieren mit signifikant erniedrigten Diamin- und Typ B-Monoamin-Oxidase-Aktivitäten in Thrombozyten reichem Plasma von atopischen Ekzem (AE) Patienten. Die Diamin-Oxidase zeigt fast normale Kofaktor-Konzentrationen (Pyridoxal-phosphat und Cu^{2+}), während die Kofaktor-Konzentrationen der Typ B-Monoamin-Oxidase (Flavin-adenin-Dinucleotid und Fe^{2+}) erniedrigt sind.

Summary: Increased plasma histamine levels were associated with significantly lowered diamine and type B monoamine oxidase activities in platelet rich plasma of atopic eczema (AE) patients. The diamine oxidase has almost normal cofactor levels (pyridoxal phosphate and Cu^{2+}) but the cofactor levels for type B monoamine oxidase (flavin adenine dinucleotide and Fe^{2+}) are lowered.

Einleitung

Mehrere Versuche wurden unternommen, die Aktivität der mitochondrialen Typ B-Monoamine-Oxidase der Thrombozyten für die Diagnose von Nervenkrankheiten zu benutzen. Die Ergebnisse sind aber widersprüchlich. Ähnliche Versuche zur Klärung der diagnostischen Signifikanz der Diamin-Oxidase sind bisher erfolglos geblieben, wegen Schwierigkeiten bei der Abgrenzung der normalen und pathologischen Bereiche.

Die bevorzugten Substrate der Typ B-Monoamine-Oxidase sind Benzylamin, 2-Phenyläthylamin, Dopamin, Tyramin und mit niedriger Aktivität, Tryptamin. Auch N-Methylhistamin wird von der Typ B-Monoamin-Oxidase oxidiert. Die Diamin-Oxidase wandelt einige kurzkettige aliphatische Diamine wie Putrescin und Cadaverin um. Diamin-Oxidase ist auch ein wichtiges, Histamin-katabolisierendes Enzym.

Ziel dieser Studie ist die parallele Aktivitäts-Untersuchung der Histamin-katabolisierenden Enzyme, Monoamin- und Diamin-Oxidase, sowie Ermittlung ihrer Kofaktor-Werte bei Patienten mit atopischem Ekzem und gesunden Probanden.

Krankengut und Methoden

20 Patienten mit klinisch gesichertem atopischem Ekzem (1) (Alter: 15–44 Jahre) und 11 gesunden Probanden ohne allergische Vorgeschichte (Alter: 16–39 Jahre) gaben ihre Einwilligung an der Studie teilzunehmen. Die Patienten waren Kortikoid- und/oder Antihistaminika-frei während der letzten 3 Monate vor der Blutentnahme.

Trombozytenreiches Plasma (TRP) wurde durch Zentrifugieren des stabilisierten Blutes (EDTA) bei 53 g (600 rpm) für 10 Minuten bei 20 °C gewonnen. Die Oxidasen wurden mittels der Methode von Köchli und Wartburg (3) mit kleinen Änderungen gemessen. 0,6 ml Peroxidase-Puffer (8,3 mg Peroxidase in 100 ml 0,1 M Na-phosphat, pH 7,15), 0,2 ml TRP und 10 µl 10 % Triton X-100 wurden gemischt; nach 5 Minuten wurden 0,2 ml 0,25 mM 2', 7'-Dichlorofluorescein diacetat gelöst in 0,01 N NaOH und 10 µl 1 mM Benzylamin (für Monoamin-Oxidase) oder 10 µl 50 mM Putrescin (für Diamin-Oxidase) addiert und gemischt. Die Absorption bei 502 nm wurde während 15 bis 25 Minuten an einem Shimadzu-UV-160-Spektrophotometer bei 20 °C registriert. Histamin in EDTA-Plasma wurde nach der Methode von Shore (7) mit einem Perkin-Elmer LS-2 Filterfluorimeter gemessen. Serum Kupfer (14), Serum Pyridoxalphosphat (11), Serum Eisen (8), EDTA-Blut Hämoglobin (12) und Flavin-adenin-dinucleotid (FAD) in EDTA-Blut (9) wurden — wie beschrieben — mit Routine Methoden gemessen.

Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse zeigen, im Vergleich zu Kontrollpersonen, erniedrigte Typ B Monoamin- und Diamin-Oxidase-Aktivitäten in Trombozytenreichem Plasma von AE-Patienten (Tabelle 1). Die Differenz war hoch signifikant für das Histamin-katabolisierende Enzym, Diamin-Oxidase ($p < 0,001$) und signifikant für das Methyl-Histamin katabolisierende Enzym Monoamin-Oxidase-B ($p < 0,05$). Gleichzeitig mit der Reduktion der Monoamin- und Diamin-Oxidase-Aktivitäten waren die Plasma-Histamin-Werte erhöht (Tabelle 1). Hohe Plasma-Histamin-Spiegel wurden schon bei AE-Patienten in nüchternem Zustand

Tab. 1: Monoamin und Diamin-Oxidase-Aktivitäten in trombozytenreichem Plasma von atopischen Ekzem-Patienten und gesunden Kontrollen

	Typ B Monoamin Oxidase (mmol min ⁻¹ l ⁻¹)	Diamin Oxidase (mmol min ⁻¹ l ⁻¹)	Histamin (ng ml ⁻¹)
Atopische Ekzem Patienten	0,223 ± 0,11 (n=19)	0,270 ± 0,089 (n=18)	6,63 ± 1,64 (n=19)
Kontrollen	0,371 ± 0,085 (n=11)	0,511 ± 0,125 (n=10)	2,15 ± 0,96 (n=10)
statistische Auswertung			
Student t Test	p < 0,05	p < 0,001	p < 0,0001

Tab. 2: Monoamin-Oxidase-Aktivität, Kofaktor-Werte und Hämoglobin-Konzentrationen in atopischem Ekzem

	Typ B Monoamin Oxidase (mmol min ⁻¹ l ⁻¹)	FAD (µg/l)	Eisen (µg/dl)	Hämoglobin (g/dl)
Atopische Ekzem-Patienten (n)	0,223 ± 0,110 (19)	79,6 ± 13,1 (16)	m 94,6 ± 25,8 (7) w 73,6 ± 27,0 (13)	m 13,6 ± 1,5 (7) w 13,2 ± 0,9 (13)
Kontrollen (n)	0,371 ± 0,085 (11)	132 ± 42 (11)	m 130 ± 50* w 110 ± 50	m 15,5 ± 2,5* w 14 ± 2
statistische Auswertung				
Student t Test	p < 0,05	p < 0,005	NS	NS
* überall anerkannte Normalwerte				

Tab. 3: Diamin-Oxidase-Aktivität und Kofaktor-Werte in atopischen Ekzem-Patienten und gesunden Kontrollen.

	Diamin Oxidase (mmol min ⁻¹ l ⁻¹)	Kupfer (µg/dl)	Pyridoxalphosphat (µg/l)
Atopische Ekzem-Patienten (n)	0,270 ± 0,089 (18)	125,3 ± 28,9 (18)	12,1 ± 9,4 (17)
Kontrollen (n)	0,511 ± 0,125 (10)	115 ± 50*	10,8 ± 7,2 (11)
statistische Auswertung			
Student t Test	p < 0,001	NS	NS
* überall anerkannte Normalwerte			

als auch nach Nahrungsaufnahme (2, 5) berichtet. Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, daß niedrige Monoamin- und Diamin-Oxidase-Aktivitäten für erhöhte Histamin-Spiegel endogener und exogener Herkunft verantwortlich sind. Die Kofaktor Konzentrationen für die Monoamin-Oxidase, FAD und Eisen (13), sind in AE-Patienten im Vergleich mit Kontrollpersonen erniedrigt (Tabelle 2). Die Eisen-Werte befinden sich im unteren Normbereich. Gleichzeitig sind die Hämoglobin Werte fast normal (Tabelle 2), was darauf hindeutet, daß AE-Patienten ein leichtes Speichereisen-Defizit haben. Bei diesen Patienten ist FAD, verglichen mit der Kontrollgruppe, signifikant erniedrigt ($p < 0,005$; Tabelle 2). Die Monoamin-Oxidase-Aktivität kann durch Eisen und Vitamin B₂ Gaben verbessert werden. Die Kofaktor Werte für die Diamin-Oxidase, Pyridoxalphosphat und Kupfer (10), sind in der atopi-

schen Gruppe fast normal (Tabelle 3). Wir schließen daraus, daß im Gegensatz zur Monoamin Oxidase Aktivität ein anderer Grund als die Kofaktor Konzentrationen für die erniedrigte Aktivität der Diamin Oxidase verantwortlich ist. Biogene Amine, Nahrungsmittelzusätze oder Arzneimittel (4, 6) sind die wahrscheinlichsten Kandidaten für die Hemmung der Enzym-Aktivität. Weitere Untersuchungen in Bezug auf Diamin-Oxidase-inhibierende Faktoren werden in unserem Labor durchgeführt.

Wir danken dem Labor Drs. Hofmeister, 8480 Weiden/Opl., für die Durchführung der HPLC-Analysen von FAD und Pyridoxalphosphat.

Literatur

1. Hanifin, J.M., W.C. Lobitz (1977): Newer concepts of atopic dermatitis, *Arch. Dermatol.* 113, 663–670.
2. Ionescu, G., D. Radovici, A. Negoescu, I. Preda, H. Mahal (1985): Circulating immune complexes, specific IgE against food and respiratory allergens, serum histamine levels and intestinal permeability changes in atopic dermatitis patients before and after challenge meals, *Immun. Infekt.* 13, 147–155.
3. Köchli, H., J.P. Wartburg (1978): A sensitive photometric assay for monoamine oxidase, *Anal. Biochem.* 84, 127–135.
4. Paul, E. (1987): Allergische und pseudoallergische Hautreaktionen auf Nahrungsmittel und Nahrungsmittelbestandteile. *Die Medizinische Welt* 38, 847–851.
5. Ring, J. (1983): Plasma histamine concentrations in atopic eczema, *Clin. Allergy* 13, 545–549.
6. Sattler, J., W. Lorentz (1987): Nahrungsmittelinduzierte Histaminose, *Münch. med. Wochenschrift* 129, 551–557.
7. Shore, P.A. (1971): Fluorometric assay of histamine, *Methods Enzymol.* 17 B, 842–845.
8. Siedel, J., A.W. Wahlefeld, J. Ziegenhorn (1984): Improved, Ferrocine[®]-Based reagent for the determination of serum iron (transferin iron) without deproteinization, *Clin. Chem.* 30, 975.
9. Speek, A.J., F. van Schalk, J. Schrijver, W.H.P. Schreurs (1982): Determination of the B₆ vitamin flavin adenine dinucleotide in whole blood by high performance liquid chromatography with fluorometric detection, *J. of Chromatographie* 228, 311–316.
10. Summary of an international workshop on diamine oxidase held at the department of biogenic amines. Polish Academy of Sciences, Lodz, Poland, June 7–8, 1979, *Agents and Actions* 11, 3–8, 1981.
11. Ubbink, J.B., W.J. Serfontein, L.S. Villiers (1985): Stability of pyridoxal-5-phosphate semicarbazone: Applications in plasma vitamin B₆ analysis and population surveys of vitamin B₆ nutritional status, *J. of Chromatographie* 342, 277–284.
12. Van Kampen, E.J., W.G. Zylstra (1961): Standardization of haemoglobinometry. II. The haemiglobincyanide method, *Clin. Chem. Acta* 6, 538.
13. Youdim, M.B.H., M. Holzbauer (1976): Physiological and pathological changes in tissue monoamine oxidase activity, *J. of Neural Transmission* 38, 193–229.
14. Zak, B. (1958): Simple procedure for the single sample determination of serum copper and iron, *Clin. Chim. Acta* 3, 328–334.

Anschrift:
Dr. G. Ionescu,
Dr. R. Kiehl,
Spezialklinik Neukirchen,
Krankenhausstr. 9,
D-8497 Neukirchen b. Hl. Blut.