

AUSMASS UND BEEINFLUSSUNG DER
HAUTPROTEOLYSE (ENDOPEPTIDASEN) BEI
ALLERGISCHEN UND NICHT ALLERGISCHEN
HAUTPROZESSEN

Von

G. STÜTTGEN

Düsseldorf, Deutschland

Es ist hinreichend gesichert, dass es im Verlaufe einer allergischen Reaktion zu einer Freisetzung von pharmakodynamisch wirksamen Substanzen kommt, die entweder neu entstehen oder aus einer inaktiven Bindung herausgelöst werden. Die Zahl für derartige Wirkungen verantwortliche Substanzen nimmt mit steigender Einsicht in das Geschehen einer allergischen Reaktion zu.

Es liegt nahe, für die Vielfalt der freigesetzten Substanzen einen einheitlichen Mechanismus anzunehmen, der in der Lage ist, ein breites Spektrum von Wirkstoffen zu bilden.

Es ist das Verdienst von *Ungar* enzymatische proteolytische Vorgänge in dieser Hinsicht in den Vordergrund gestellt zu haben. Fermentchemisch stellt eine derartige Arbeitshypothese eine plausible Basis für die vielfältigen Auswirkungen einer allergischen Reaktion dar, weil im Verlaufe einer Proteolyse über die Spaltprodukte einer fermentativen Hydrolyse von Eiweissen die verschiedenartigsten Substanzen von Polypeptiden bis zu Aminosäuren entstehen, deren Wirkungen einer gewissen Klassifizierung bereits unterworfen sind.

Unsere Fragestellung war die, ob es während einer Hautentzündung zu Veränderungen der proteolytischen Aktivität

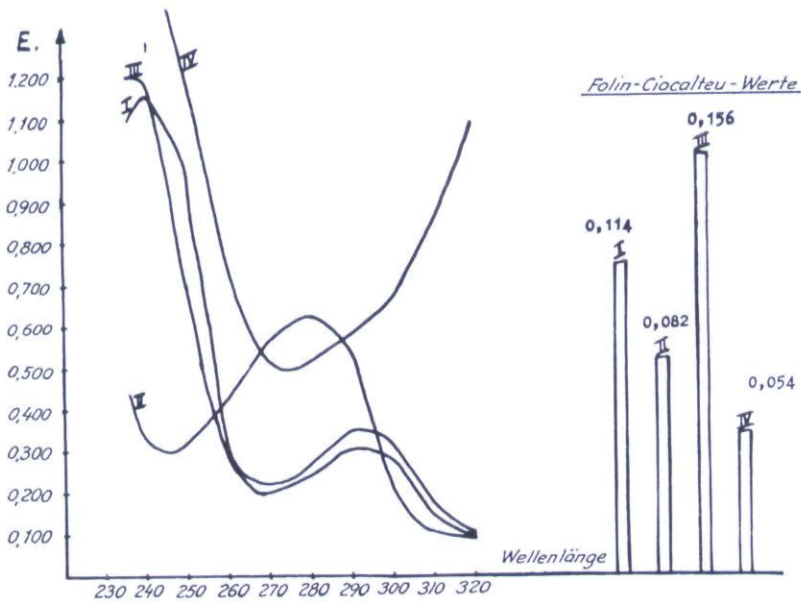


Abb. 1.

Absorptionskurven aequimolekularer Lösungen (0,01 m) bei pH 12,0.
Daneben deren Folin-Ciocalteu-Werte.

- I = l-Tyrosin
II = Tryptophan
III = Tyramin
IV = Testacid.

kommt, und insbesondere ob die allergisch bedingte Hautveränderung eine Sonderform einnimmt.

In der Haut sind verschiedenen protolytische Systeme nachzuweisen.

Wir stellten einmal die saure katheptische Endopeptidase dar, und zum anderen die alkalische Endopeptidase, die nur in der Haut gefunden wird, und als Dermoprotease bezeichnet wird.

Methodisch untersuchten wir diese Fermente nach 3 Methoden.

1. Inkubation von Hautextrakten (KCL 5 %ig, Kaliumrhodanid 2,5 %ig, allein oder mit Ringerlösung verdünnt als Extraktionsmittel) mit Kasein und nachfolgende Fällung mit

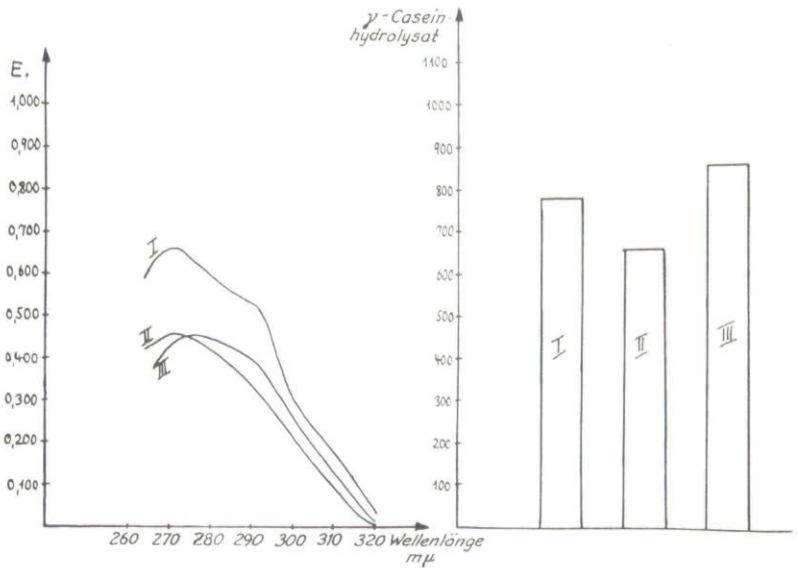


Abb. 2.

Mammahaut (Acetonextrakt).

I = Proteolyse bei pH = 5,6

II = Proteolyse bei pH = 7,0

III = Proteolyse bei pH = 8,0

Aethylalkohol. Messung der Extrakte in Spektrophotometer von 220–320 mμ. Maximum von Tyrosin und Tryptophan um 276 mμ, das der übrigen Aminosäuren um 235 mμ.

2. Extraktion der Haut mit KCL 5 %ig, nach Inkubation mit Casein, Fällung mit Trichloressigsäure und spektrophotometrische Messung nach Zusatz von Natronlauge bei pH 12,0 von 260–320 mμ. Maximum Tryptophan bei 280 mμ, von Tyrosin bei 290 mμ. (s. Abb. 1).

3. Der alkalische im Spektrophotometer gemessene Extrakt wurde mit dem Reagens nach Folin-Ciocalteu versetzt, und die entstandene Blaufärbung als Mass für aromatische Aminosäuren colorimetrisch gemessen.

Zur Untersuchung gelangten Flachschnitte der Haut, die nach Lokalanästhesie mit dem Rasiermesser, Dermatom oder bei Tumoren nach Excision gewonnen wurden.

ERGEBNISSE

A. Methode 1, Fällung der Extrakte mit Aethylalkohol.

Abhängig von dem Entzündungsgrad sinkt mit steigender Exsudationsneigung das erste Maximum bei 235 m μ , während relativ das 2. Maximum bei 276 m μ ansteigt, und schliesslich bei chronisch entzündlichen Prozessen absolut erhöht ist, während bei rein exsudativen Prozessen, wie Pemphigus, auch das 2. Maximum absolut sinkt.

Diese Untersuchungen wurden lediglich beim pH 5,6 durchgeführt.

Hinsichtlich allergischer Hautentzündungen, wie Kontakt-ekzeme und allergische Streuphänomene, lässt sich die Beobachtung machen, dass insbesondere bei chronischen Veränderungen das Maximum bei 276 m μ eindeutig erhöht ist. Dieser Befund ist nicht spezifisch, da z.B. auch eine exsudative Psoriasis diesen Befund aufweist.

Das Maximum bei 276 m μ ist allerdings nicht spezifisch für aromatische Aminosäuren, sondern lässt auch eine Entstehung von Nukleinsäuren und deren Umwandlungsprodukte vermuten.

B. Methode der Trichloressigsäurefällung der Hautextrakte nach Inkubation.

Es wurde bei dieser Methode systematisch Autolyse wie auch die Proteolyse unter Zusatz von Kasein beim pH 5,6 und 7,6 erfasst. Gemessen nach der Aktivität der Extrakte im Hinblick auf ihren quantitativen Extraktionsmodus, nämlich 1,0 g Haut auf 10,0 ccm Extraktionslösung, zeigt sich eine eindeutige Erhöhung der Maxima bei 280 bzw. 290 m μ bei entzündlichen Hautprozessen, ohne aber das wiederum, wie bei der Darsteellung nach Methode 1, diese Extinktionserhöhung ein spezifisches Merkmal für einen allergischen Vorgang ist. Im deutlich sauren, also pH 5,6 ist die proteolytische Aktivität gegenüber dem neutralen oder leicht alkalischen erhöht, während z.B. pH 8,0 wiederum eine verstärkte proteolyse darstellbar ist.

C. *Fällung der Hautextrakte mit Trichloressigsäure und Reaktion nach Folin-Ciocalteu.*

Diese Reaktion geht in ihren Extinktionswerten nicht parallel der spektrophotometrischen Bestimmung im Hinblick auf das Maximum bei $290\text{ m}\mu$. Eine derartige Parallelität ist auch nicht zu erwarten, weil spektrophotometrisch und colorimetrisch sich hinsichtlich der Extinktionen für Tyrosin und Tryptophan verschiedene Werte ergeben (s. Abb. 1). Es ist aber wiederum deutlich erkennbar, dass die entzündlich veränderte Haut wesentlich höhere Werte ergibt als die normale. (Abb. 3).

Diese Ergebnisse erfahren aber eine Einschränkung, wenn man die Extinktionswerte nicht auf Gamma-Kaseinhydrolysat pro Stunde und ccm bezieht, sondern zusätzlich nun die Werte mit dem Faktor korrigiert, der sämtliche Eiweisswerte der Extrakte auf $1,0\text{ g \%}$ Eiweiss bringt (Biuretwerte). Unter dieser Darstellung ergibt sich zwischen normaler und entzündlich veränderter Haut und sogar zu Tumoren kein Unterschied. Diese Darstellungsweise muss aber insofern kritisch beleuchtet werden, da eine Verdopplung der Eiweisswerte der Extrakte oder eine dementsprechende Verdünnung der Extrakte keine lineare Funktion zur Fermentaktivität besitzt, d.h. durch eine Verdünnung wird eine Verschiebung der unterschiedlich im Extrakt vorhandenen Aktivatoren und Inhibitoren der Proteolyse erreicht deren Summe zusammen mit der absoluten Fermentkonzentration das Ausmass der Proteolyse bestimmt.

Es muss somit der Aussagewert nach Methode 1 höher bewertet werden, wo die Extrakte durch Verdünnung auf einen annähernd gleichen Eiweisswert gebracht wurden, und wo sich eine relative und absolute Erhöhung der Absorptionsspektren ergab, die auf aromatische Aminosäuren hinweisen, und deren Natur als derartige Maxima durch die beiden anderen methodischen Variationen belegt werden konnten.

Fragen wir uns zum Schluss nach der Beeinflussung der Proteolyse durch humorale und hormonelle Einflüsse, so ist

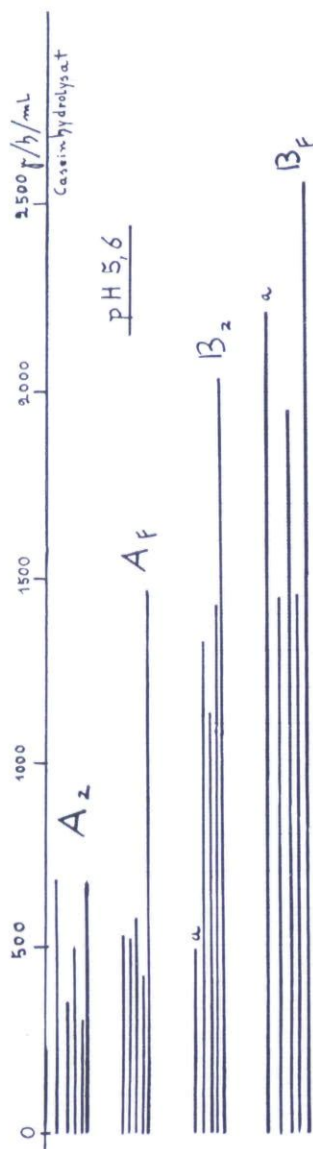


Abb. 3.

Proteolyse normaler und entzündeter Haut.
Extraktion von 1 g Haut (Aceton-Trockenpulver) mit 10 ml KCL 5 %.

Extinktionswerte nach Folin-Ciocalteu und
Spektrophotometrie (290 m μ) umgerechnet auf
Caseinhydrolysat nach Eichkurven.

AZ = normale Haut Spektrophotometrie

AF = normale Haut Folin-Ciocalteu

BZ = entzündete Haut Spektrophotometrie

BF = entzündete Haut Folin-Ciocalteu

a = akut entz., Haut

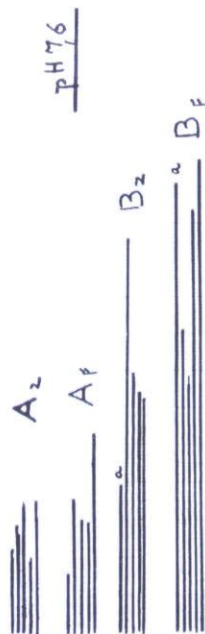


TABELLE 1

Vergleich zwischen der Proteolyse und Autolyse normaler und veränderter Haut.

Diagnose	Spektrophot. 290 ml ¹		Folin-Ciocalteu		Eiweiss	
	Auto-lyse	Proteo-lyse	Auto-lyse	Proteo-lyse	pH	g ⁰ / ₀
Normale Haut						
O.-Schenkel	10	200	60	120	7,6	0,1
	40	680	120	520	5,6	0,1
Knie	130	260	60	340	7,6	0,16
	20	340	40	510	5,6	0,16
Kopfhaut	60	340	120	220	7,2	0,1
	—	500	10	570	5,6	0,1
Allerg. Ekzem						
subakut, O.-Schenkel ...		360		1200	7,2	0,8
		480		2200	5,6	0,8
Allerg. Ekzem						
chron., U.-Schenkel	340	1320	150	1440	5,6	0,5
Allerg. Erythrodermie .				2230	5,6	0,2
Allerg. Erythrodermie						
chron., Bauchhaut		740		1220	5,6	0,15
Psoriasis						
U.-Schenkel	500	980	60	800	7,6	0,38
Psoriasis						
Cignolinreizung						
akute Rötung	220	1140	60	1440	5,6	0,35
Psoriasis						
Cignolinreizung						
abklingende Rötung	280	1420	340	2600	5,6	0,65

herauszustellen, dass Serum bzw. Plasma insbesondere im alkalischen Bereich die Aktivität der Endopeptidasen hemmen kann, dass aber schliesslich auch aktivierende Einflüsse zu erkennen sind, die insbesondere bei der sauren katheptischen Endopeptidase auffällig sind.

Von einem hemmenden Einfluss von Cortison und seinen Derivaten haben wir uns bisher auf die erwähnten Fermente nicht überzeugen können.

TABELLE 2

Material	pH 5,6		pH 8,0	
	Spektro.	Folin	Spektro.	Folin
<i>Unterschenkel – Haut</i>				
Kontrolle	540	530	700	630
+ Serum	580	430	160	300
+ Glob.	480	860	540	360
<i>Mamma – Haut</i>				
Kontrolle	500	190	940	360
+ Serum	680	460	320	230
+ Glob.	820	560	560	360
<i>Mamma – Haut</i>				
Kontrolle	70	360	400	500
+ Serum	400	355	600	400
<i>Mamma – Haut</i>				
Kontrolle			200	500
+ Serum			180	300
<i>Knie – Haut</i>				
Kontrolle	2400	1000	1600	400
+ Glob.	1900	1200	1400	120
+ Decortin	2300	1500	1100	400
+ Trypsin-Inaktivator (niedermol.)	1600	800	700	250

Caseinproteolyse durch Hautextrakte unter Zugabe von:

Serum 0,4 ccm einer Verdünnung 1:2 mit Aqu. dest pro 5 ml Ansatz
 Gamma-Globulin 0,2 ccm (Behring-Werke) pro 5 ml Ansatz
 Decortin-Na. succ. (Merck) 120 Gamma pro 5 ml Ansatz

Inkubation 1 Std. bei 37° C, pH. 5,6 u. 8,0 Berechnung auf Caseinhydrolysat in Gamma.

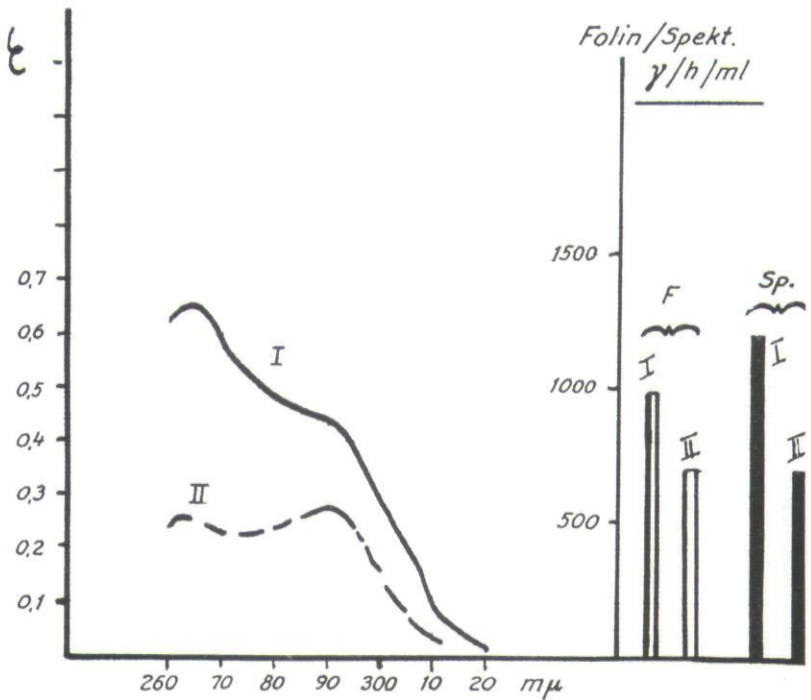


Abb. 4.

Proteolytische Aktivität der Meerschweinchen-Leber (Azeton-Trockenpulver bei pH 5,6 nach Serum-Shock.

Eiweisswerte beider Extrakte = 0,2 %.

Absorptionskurve des Trichloressigsäurefiltrate bei pH (+2nNaCl).

I = gesunde Kontrolle

II = Shocktier

Gamma Caseinhydrolysat/Std./ml nach Folin-Ciocalteu (F) und Spektrophot (Sp.)

ZUSAMMENFASSUNG

Unter chronischen allergischen Hautveränderungen kommt es zu einer Erhöhung der proteolytischen Aktivität, die aber kein Spezificum für eine Allergie darstellt. Bei akuten exsudativen Prozessen nehmen offenbar hemmende Faktoren der Proteolyse überhand. Dieser Befund steht im Einklang mit einer Erniedrigung der proteolytischen Fermente der Leber im anaphylaktischen Schock. Auch wir konnten wie Greuer bei

diesem Sonderfall keine Erhöhung der Proteolyse im Acetontrockenextrakt der Meerschweinchenleber, sondern eher eine Erniedrigung feststellen (Abb. 4). Insgesamt zeigt sich aus unseren Untersuchungen, dass unspezifisch bei einer Hautentzündung, aber auch bei einer Zellproliferation der Epidermis im allgemeinen die proteolytische Aktivität der Endopeptidasen ansteigt, soweit es die Freisetzung von aromatischen Aminosäuren betrifft. Bei akut exsudativen Veränderungen überwiegt eine Minderung der proteolytischen Aktivität. Die Veränderung der Proteolyse zeigt bei dem dargestellten Untersuchungsmaterial und den verwandten Methoden keine spezifische Veränderung für allergische Prozesse im Rahmen einer AAR.

SUMMARY

The proteolytic action of dermal tissue during chronic allergic dermatosis in man is higher than in normal skin, but it is not a specific sign for allergic conditions. During acute exudative inflammation the proteolytic action of skin—presented by the acid catheptic endopeptidase and the alkaline dermoprotease—is diminished. Also in anaphylactic albumine shock in guinea-pig and rabbit no increase of the proteolytic action of the liver catheptic endopeptidase can be demonstrated. The increase of proteolytic action of the skin apparently depends on the epidermal acanthosis. There is no linear correlation between the content of albumine of the extracts (skin) and the activity of different proteolytic endopeptidasen.

BIBLIOGRAPHIE

- Beloff, A. & Peters, R. A.*: J. Physiol. 103, 461, 1945.
Greuer, W.: Arzneimittelforschung 7, 1957.
Ungar, W.: Internat. Arch. Allergy 4, 258, 1953.

This document is a scanned copy of a printed document. No warranty is given about the accuracy of the copy. Users should refer to the original published version of the material.