

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
10. Jg. 1972, S. 132—135

Geschlechtsspezifische Unterschiede der freien Aminosäuren im Serum von Erwachsenen

Von N. LIAPPIS

Aus der Universitäts-Kinderklinik (Direktor: Prof. Dr. H. Hungerland) Bonn

(Eingegangen am 22. September 1971)

Bei 75 gesunden Erwachsenen wurden die freien Aminosäuren im Serum des Nüchternbluts quantitativ bestimmt. Das Serum wurde mit 5proz. Sulfosalicylsäure enteiweißt; die Auftrennung der Aminosäuren erfolgte durch Chromatographie an Ionenaustauschersäulen. Es wurden 37 Männer (Alter 25—50 Jahre) und 38 Frauen (Alter 20—50 Jahre, davon 28 ohne Einnahme und 10 mit Einnahme von oralen Kontrazeptiva), bei denen für Leberschäden und Stoffwechselstörungen keine Anhaltspunkte bestanden, untersucht. Statistisch signifikant niedrigere Mittelwerte ergaben sich beim Vergleich mit der Gruppe der Männer in der Gruppe der Frauen, die keine oralen Kontrazeptiva einnahmen, bei folgenden Aminosäuren: Isoleucin, Leucin, Methionin, Ornithin, Phenylalanin, Prolin, Tyrosin und Valin.

Zwischen den Gruppen der Frauen konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Sex-specific differences in the free amino acids in adult serum

Free amino acids were determined quantitatively in serum from the fasting blood of 37 healthy men (ages 25—50) and 38 women (ages 20—50). 10 of the women were taking oral contraceptives, and none of the 75 subjects showed any evidence of liver damage or metabolic disturbances. Serum was deproteinised by adding an equal volume of 5% sulphosalicylic acid, and the amino acids were separated by ion exchange column chromatography. Compared with the male group, the 28 females not taking oral contraceptives had statistically significant lower values for the average concentrations of the following amino acids: isoleucine, leucine, methionine, ornithine, phenylalanine, proline, tyrosine and valine. No statistically significant differences could be found between the two female groups.

In den letzten 10 Jahren konnten mit Hilfe der neu entwickelten Methoden für die Bestimmung der Aminosäuren in biologischen Flüssigkeiten mehr als 40 angeborene Störungen des Aminosäurestoffwechsels entdeckt werden.

In zahlreichen Arbeiten wurde über das Verhalten der Aminosäuren im Blut und Urin des gesunden und kranken Menschen berichtet. Im Vergleich zu den mikrobiologischen, kolorimetrischen und enzymatischen Analysemethoden für einzelne Aminosäuren in biologischen Flüssigkeiten besitzt die Chromatographie an Ionenaustauschersäulen (1—3) bei weitem die größte Bedeutung. Sie ermöglicht die gleichzeitige Bestimmung einer erheblichen Anzahl von Aminosäuren.

Während die Normalkonzentration der freien Aminosäuren im Blutplasma von Erwachsenen (4—11) schon mehrfach bestimmt wurde, ist über die Konzentration der freien Aminosäuren im Serum nur eine geringe Anzahl von Untersuchungen durchgeführt worden (12—19).

In der vorliegenden Arbeit wurde zur Aufstellung von Normalwerten für die Konzentration der freien Aminosäuren im Nüchternserum von Erwachsenen das säulenchromatographische Verfahren mit dem Aminosäuren-Auto-Analysator der Fa. Technicon (Frankfurt/Main) angewandt.

Methodik

Die Bestimmung der freien Aminosäuren im Nüchternserum wurde bei insgesamt 37 Männern und 38 Frauen, bei denen für Leberschäden und Stoffwechselstörungen keine Anhaltspunkte

bestanden, durchgeführt. Die weiblichen Normalpersonen wurden in die Gruppe ohne Einnahme von oralen Kontrazeptiva ($n = 28$) und in die Gruppe mit Einnahme von oralen Kontrazeptiva ($n = 10$) aufgeteilt. Das Serum wurde unmittelbar nach der Blutentnahme in üblicher Weise gewonnen. Anschließend wurde nach BREUER und Mitarbeitern (12) mit 5proz. Sulfosalicylsäure 1:1 (v/v) enteiweißt. Die Aufbewahrung erfolgte bei -20° .

Die säulenchromatographische Bestimmung der Aminosäuren (20) erfolgte mit dem Aminosäuren-Auto-Analysator der Fa. Technicon. Nach dem Auftragen der enteiweißten Serumproben mit Norleucin als Standard-Aminosäure, wurde unter Verwendung der Autograd-Technik (21, 22) mit verschiedenen Puffersystemen eluiert. Während der Analysendauer von etwa 11 Stdn. betrug die Arbeitstemperatur der Chromatographiesäulen 60° , die Durchflußmenge 1 ml/Min. und der Druck 300 bis 400 pounds/square inch. Der Nachweis der freien Aminosäuren erfolgte durch Reaktion mit Ninhydrin-Hydrindantin-Reagenz.

Die Auswertung der Aminosäurenchromatogramme wurde halbautomatisch mit einem Technicon Integrator/Kalkulator durch Vergleich mit Chromatogrammen einer Standard-Aminosäuren-Lösung, die 20 Aminosäuren (Fa. Cyclo-Chemical-Corporation, Los Angeles, California) in Konzentrationen von je 2,5 mMol/l enthielt, durchgeführt.

Die Kontrolle der Methode erfolgte durch die Bestimmung von 10 Analysen im Nüchternserum eines Erwachsenen. Der Variationskoeffizient für die einzelnen, freien Aminosäuren im Serum schwankte zwischen 1,30 und 9,72%.

Ergebnisse

In Tabelle 1 ist der Mittelwert und die Standardabweichung von 20 freien Aminosäuren im Serum von 75 nüchternen erwachsenen Normalpersonen geschlechtsspezifisch dargestellt.

Bei den weiblichen Normalpersonen wurde die Einnahme von Hormonen (orale Kontrazeptiva) berücksichtigt.

Tab. 1

Verhalten der freien Aminosäuren im Nüchternserum gesunder Männer (n = 37) und Frauen (n = 38) — aufgeteilt in die Gruppe ohne Einnahme von oralen Kontrazeptiva (Q—, n = 28) und in die Gruppe mit Einnahme von oralen Kontrazeptiva (Q+, n = 10)
Zusammenstellung der in der Literatur beschriebenen Werte für die normale Konzentration der freien Aminosäuren im Serum von Erwachsenen; Angaben in $\mu\text{Mol/l}$

	Eig. Ergebnisse	Breuer, J. u. Mitarbeiter (12)	Gerok (13)	Oepen u. Oepen (14)
Alanin	404,0 ± 94,3	378,2 ± 51,6	652,1 ± 55,2	Q- 319,3 ± 18,9
	376,5 ± 107,7			Q+ 306,5 ± 25,7
Arginin	345,1 ± 101,6	106,8 ± 25,8	85,5 ± 6,1	Q- 75,4 ± 6,0
	92,4 ± 22,4			Q+ 73,4 ± 4,1
Asparaginsäure	95,9 ± 25,0	36,1 ± 10,6	33,1 ± 3,6	Q- 14,6 ± 1,5
	92,0 ± 20,6			Q+ 15,3 ± 3,3
Citruillin	21,0 ± 5,3	50,8 ± 13,7	28,0 ± 1,9	Q- 18,7 ± 1,9
	20,2 ± 5,1			Q+ 13,6 ± 2,3
Cystin*)	22,6 ± 6,3	102,3 ± 14,1	90,7 ± 8,8	Q- 115,1 ± 21,5
	46,1 ± 9,7			Q+ (129,1)
Glutaminsäure	40,3 ± 10,9	166,0 ± 46,6	116,3 ± 21,1	Q- 63,1 ± 5,6
	34,1 ± 14,3			Q+ 54,1 ± 6,2
Glycin	109,0 ± 18,3	249,0 ± 36,0	527,3 ± 34,6	Q- 229,2 ± 11,6
	106,8 ± 23,0			Q+ 219,2 ± 25,2
Histidin	98,3 ± 13,8	103,7 ± 11,0	83,8 ± 4,5	Q- 67,1 ± 3,2
	225,9 ± 84,8			Q+ 61,3 ± 1,6
Isoleucin	213,8 ± 71,3	67,1 ± 12,2	73,9 ± 6,3	Q- 64,6 ± 3,2
	244,3 ± 63,0			Q+ 44,8 ± 2,2
Leucin	242,3 ± 43,9	122,0 ± 16,8	141,0 ± 6,4	Q- 113,5 ± 5,6
	257,9 ± 64,3			Q+ 82,3 ± 5,2
Lysin	223,5 ± 61,8	186,7 ± 29,4	194,9 ± 6,8	Q- 139,9 ± 6,6
	76,7 ± 11,6			Q+ 133,3 ± 13,2
Methionin	70,4 ± 15,6	24,8 ± 2,0	25,5 ± 1,0	Q- 21,4 ± 2,2
	74,9 ± 11,6			Q+ 18,6 ± 2,0
Ornithin	80,8 ± 17,5	84,7 ± 27,2	99,8 ± 11,6	Q- 75,3 ± 6,6
	56,4 ± 12,3			Q+ 60,9 ± 6,6
Phenylalanin	54,9 ± 11,6	56,9 ± 3,2	56,3 ± 4,5	Q- 48,2 ± 1,9
	157,0 ± 29,7			Q+ 42,8 ± 1,7
Prolin	115,1 ± 22,9	158,1 ± 53,0	267,6 ± 12,9	Q- 246,3 ± 23,3
	114,1 ± 17,7			Q+ 177,3 ± 19,7
Serin	221,6 ± 49,9	151,3 ± 35,2	—	—
	196,1 ± 52,5			—
Taurin	194,1 ± 36,3	—	—	Q- 78,2 ± 5,7
	26,1 ± 6,0			Q+ 87,5 ± 13,3
Threonin	21,0 ± 6,8	187,2 ± 41,1	—	Q- 109,3 ± 18,8
	23,8 ± 6,2			Q+ 88,7 ± 11,2
Tyrosin	84,7 ± 24,2	59,1 ± 6,6	50,2 ± 3,4	Q- 44,8 ± 4,2
	66,6 ± 18,9			Q+ 42,8 ± 1,8
Valin	57,2 ± 16,7	248,5 ± 66,6	258,8 ± 8,1	Q- 198,7 ± 12,1
	56,9 ± 12,7			Q+ 152,9 ± 6,9
	48,4 ± 11,3			
	46,9 ± 8,2			
	273,7 ± 61,7			
	217,6 ± 62,7			
	186,5 ± 34,2			
	137,0 ± 35,2			
	142,2 ± 34,6			
	135,6 ± 23,5			
	67,1 ± 24,8			
	65,9 ± 17,4			
	58,1 ± 11,6			
	206,5 ± 57,9			
	193,0 ± 57,6			
	197,4 ± 38,9			
	72,3 ± 12,1			
	62,6 ± 15,2			
	55,9 ± 15,3			
	274,1 ± 52,9			
	214,2 ± 40,9			
	213,0 ± 31,0			

*) Als 1/2 Cystin berechnet.

In Tabelle 1 sind zusätzlich die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse (12, 13, 19) dargestellt.

Aus unseren Untersuchungen ergaben sich folgende wichtige Befunde:

1. Mit Ausnahme von Arginin, Glycin und Serin ist die Konzentration der übrigen 17 untersuchten freien Aminosäuren im Nüchternserum der weiblichen Normalpersonen — ohne Einnahme von oralen Kontrazeptiva — niedriger.
2. Signifikant niedriger ist die Konzentration der freien Aminosäuren im Nüchternserum dieser weiblichen Normalpersonen bei folgenden Aminosäuren: Isoleucin, Leucin, Methionin, Ornithin, Phenylalanin, Prolin, Tyrosin und Valin.
3. Bedeutend niedriger als bei den männlichen Normalpersonen ist die Konzentration der freien Aminosäuren im Nüchternserum dieser weiblichen Normalpersonen

bei folgenden Aminosäuren: Alanin, Citruillin, Histidin, Lysin und Threonin.

4. Im Vergleich zu den männlichen Normalpersonen ist die Konzentration von Arginin, Glycin und Serin im Nüchternserum der weiblichen Normalpersonen — ohne Einnahme von oralen Kontrazeptiva — nur geringfügig erhöht.

5. Die Konzentrationen der freien Aminosäuren im Nüchternserum sind in der Gruppe der weiblichen Normalpersonen, die orale Kontrazeptiva einnahmen, niedriger als in der Gruppe ohne Einnahme von Hormonen. Ausnahme bildeten Asparaginsäure, Glutaminsäure, Histidin, Methionin und Threonin.

Diskussion

Quantitative Bestimmungen der freien Aminosäuren im Serum von Normalpersonen wurden bisher mit

Hilfe der Säulenchromatographie nur in geringer Anzahl durchgeführt.

Die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse (12, 13, 19) sind in Tabelle 1 angeführt. Geschlechtsspezifische Untersuchungen wurden nur von OEPEN und OEPEN (19) durchgeführt. BREUER und Mitarbeiter untersuchten 5 männliche und 2 weibliche Normalpersonen, GEROK insgesamt 8 ohne weitere Angabe und OEPEN und OEPEN 12 männliche und 7 weibliche Normalpersonen. GEROK und OEPEN und OEPEN enteweißten das Serum mit 20proz. Trichloressigsäure.

Mit der beschriebenen Methode konnte Glutaminsäure und Asparaginsäure nicht exakt bestimmt werden, da Asparagin und Glutamin während der Enteweißung des Serums und der säulenchromatographischen Analyse teilweise hydrolysiert werden.

Wie in vorliegender Arbeit gezeigt werden konnte, sind die durchschnittlichen Konzentrationen bei den meisten der 20 untersuchten freien Aminosäuren im Nüchternserum weiblicher Normalpersonen, die keine Hormonpräparate einnahmen, niedriger als bei den männlichen Normalpersonen. Es handelt sich um folgende 17 Aminosäuren: Alanin, Asparaginsäure, Citrullin, Cystin, Glutaminsäure, Histidin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Ornithin, Phenylalanin, Prolin, Taurin, Threonin, Tyrosin und Valin. Ein unseren Ergebnissen gleiches Verhalten beschreiben OEPEN und OEPEN (19) bei Alanin, Glutaminsäure, Histidin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Ornithin, Phenylalanin, Prolin, Citrullin, Threonin, Tyrosin und Valin. Ein entgegengesetztes Verhalten zu den ebenfalls geschlechtsspezifischen Untersuchungen von OEPEN und OEPEN zeigen Arginin, Asparaginsäure, Glycin und Taurin. Serin wurde von OEPEN und OEPEN nicht bestimmt. Serin ergab bei unseren Untersuchungen einen geringfügig niedrigeren Wert bei den männlichen Probanden.

Diese Abweichungen von der allgemeinen Tendenz zu niedrigeren Aminosäuren-Konzentrationen bei den weiblichen Normalpersonen ließen sich statistisch nicht sichern.

Wie OEPEN und OEPEN (19) bestimmten wir statistisch signifikant niedrigere Werte bei Isoleucin, Leucin und Valin. Außerdem ließen sich statistisch signifikant niedrigere Werte im Serum weiblicher Probanden, die keine oralen Kontrazeptiva einnahmen, bei Methionin, Ornithin, Phenylalanin, Prolin und Tyrosin feststellen.

Abgesehen von der Feststellung, daß jeder Mensch ein charakteristisches Aminosäurespektrum besitzt, spielen der Ernährungszustand und das Alter der Probanden (23, 24) eine gewisse Rolle für den Aminosäuregehalt des Serums.

Um den Nahrungseinfluß weitgehend auszuschließen, wurden nur Nüchternseren von normal ernährten Probanden untersucht. Eindeutig auf einen hormonell gesteuerten Mechanismus weisen die niedrigen Aminosäuren-Konzentrationen im Plasma während der Schwangerschaft (6, 19, 25, 26) und der Corpus-luteum-Phase des Menstruationszyklus (6, 26, 27).

Bekannt ist auch das Auftreten von Veränderungen im Proteingehalt des Plasmas bei Frauen nach Einnahme von Östrogenen kombiniert mit Gestagenen (28) und von Östrogenen allein (29).

Ebenso ergaben die Untersuchungen von LANDAU und Mitarbeiter (30, 31) nach intramuskulärer Gabe von Progesteron eine deutliche Abnahme des gesamten Aminosäuregehalts und der freien Aminosäuren im Plasma.

Wie schon von CRAFT und WISE (32, 33) beschrieben wurde, konnte auch in vorliegender Arbeit der Einfluß der oralen Kontrazeptiva auf den Aminosäuregehalt des Serums festgestellt werden. Mit Ausnahme von Asparaginsäure und Glutaminsäure — die aus methodischen Gründen ohne Bedeutung sind —, Histidin, Methionin und Threonin wurden im Serum von normalen Frauen, die orale Kontrazeptiva einnahmen, niedrigere Aminosäuren-Konzentrationen beobachtet. Dieser Befund ließ sich statistisch nicht sichern.

Im Gegensatz zu der Wirkung der Östrogene zeigte die Untersuchung von Knaben vor und nach der Pubertät, entsprechend der Androgen-Konzentration, daß die Konzentration von Glutaminsäure, Valin, Methionin, Isoleucin, Leucin und Phenylalanin im Plasma von Knaben nach der Pubertät signifikant höher liegt (34).

Aufgrund dieser Befunde werden die durchschnittlich niedrigeren Konzentrationen der freien Aminosäuren im Nüchternserum weiblicher Normalpersonen hauptsächlich auf einen hormonellen Einfluß zurückgeführt.

Frau G. SERVOS und Fräulein A. JÄKEL danken wir für die unermüdliche und gewissenhafte Mitarbeit. Ferner danken wir den Mitarbeitern der Klinik und des Instituts für Klinische Chemie der Universität Bonn für die Blutspenden.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Literatur

1. BENSON, J. V., in: *New Techniques in Amino Acid, Peptide and Protein Analysis* (Editors: A. Niedewieser and G. Pataki), Ann Arbor Science Publ. Inc., Ann Arbor, Michigan (1970).
2. HAMILTON, P. B., in: *Advances of Chromatography*, Vol. 2, S. 3—62 (Editors: J. C. Giddings and R. A. Keller), Marcel Dekker, New York (1966).
3. HAMILTON, P. B., in: *Handbook of Biochemistry, Selected Data for Molecular Biology*, S. B-43 bis B-55 (Editor: H. A. Sober), The Chemical Rubber Co., Cleveland, Ohio (1968).
4. SOUPART, P., in: *Amino Acid Pools, distribution, formation and function of free amino acids*, S. 220—262, (Editor: J. T. Holden), Elsevier Publ. Co., Amsterdam, London, New York (1962).
5. STEIN, W. H. und S. MOORE, *J. biol. Chem.* 211, 915 (1954).
6. CHRISTENSEN, J. P., J. W. DATE, F. SCHÖNHEYDER und K. VOLQVARTZ, *Scand. J. Clin. Laborat. Invest.* 9, 54 (1957).
7. FRAME, E. G., *J. clin. Invest.* 37, 1710 (1958).
8. CUSWORTH, D. C. und C. E. DENT, *Biochem. J.* 74, 550 (1960).
9. EVERED,

- D. F., *Biochem. J.* 62, 416 (1956). — 10. KNAUFF, H. G., P. DIETERLE und H. ZICKGRAF, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 316, 186 (1959). — 11. ARROW, V. K. und G. WESTALL, *J. Physiol., London* 142, 141 (1958). — 12. BREUER, J., G. KAESE und H. BREUER, *diese Z.* 6, 298 (1968). — 13. GEROK, W., *Klin. Wschr.* 38, 1212 (1960). — 14. OEPEN, H. und I. OEPEN, *Klin. Wschr.* 41, 1048 (1963). — 15. SCHREIER, K. und H. BERGMANN, *Klin. Wschr.* 29, 608 (1951). — 16. SCHREIER, K. und H. BERGMANN, *Klin. Wschr.* 29, 285 (1951). — 17. SCHREIER, K. und H. PLÜCKTHUN, *Biochem. Z.* 320, 447 (1950). — 18. HAMILTON, P. B., *Analytic. Chem.* 30, 914 (1958). — 19. OEPEN, H. und I. OEPEN, *Klin. Wschr.* 43, 211 (1965). — 20. HAMILTON, P. B., *Analytic. Chem.* 35, 2055 (1963). — 21. PIEZ, K. A. und L. MORRIS, *Analytic. Biochem.* 1, 187 (1960). — 22. BRODEHL, J., A. JÄKEL und W. HAGGE, *Automation in der analytischen Chemie, Technicon-Symposium* S. 473 (1965). — 23. ACKERMANN, P. G. und T. KHEIM, *Clin. Chem., New York* 10, 32 (1964). — 24. WEHR, R. F. und G. T. LEWIS, *Proc. Soc. exper. Biol., New York* 121, 349 (1966). — 25. KYLE, L. H. und W. C. HESS, *J. Laborat. clin. Med., S. Louis* 47, 278 (1956). — 26. SOUPART, P., *Ann. Soc. roy. Sci. méd. nat. Brux.* 12, 33, 105 (1959). — 27. SOUPART, P., *Clin. Chim. Acta, Amsterdam* 5, 235 (1960). — 28. LAURELL, C. B., S. KULLANDER und J. THORELL, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 21, 337 (1968). — 29. MUSA, B. U., R. P. DOE und U. S. SEAL, *J. clin. Endocr., Springfield* 27, 1463 (1967). — 30. LANDAU, R. L. und K. LUGIBIHL, *Rec. Progr. Hormone Res.* 17, 249 (1960). — 31. LANDAU, R. L. und K. LUGIBIHL, *Metabolism* 12, 1114 (1967). — 32. CRAFT, I. L. und I. WISE, *Lancet, London* 1969/II, 1138. — 33. CRAFT, I. L. und I. WISE, *Nature, London* 222, 487 (1969). — 34. ZACHMANN, M., W. W. CLEVELAND, D. H. SANDBERG und W. L. NYHAN, *Amer. J. Dis. Child.* 112, 283 (1966).

Dr. rer. nat. N. Liappis
53 Bonn
Adenauerallee 119