

## Zur Korrelation zwischen der Bronchokonstriktion durch Bradykinin und der Kininase-Aktivität im Plasma beim Meerschweinchen

von

H. ROSEGER, M. INNERHOFER, E. TROYER und H. KONZETT

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck; Vorstand: Univ.-Prof.  
Dr. H. KONZETT)

### On the correlation between the bronchoconstrictor action of bradykinin and the activity of kininase in the plasma of the guinea pig

Synopsis: 1. The activity of kininase in blood plasma and the bronchoconstrictor action of bradykinin ( $0,5 \mu\text{g}/\text{kg}$  i. v.) was measured in guinea pigs. 2. When the bronchoconstrictor action of bradykinin was weak, a high activity of kininase was found in the plasma of the same animal. A strong bronchoconstrictor action of bradykinin corresponded to a low activity of kininase.

3. The correlation coefficient between the activity of kininase in plasma and the bronchoconstrictor action of bradykinin was significant on the 0,1 level.

Bradykinin wirkt am Meerschweinchen in Urethan-Narkose bronchokonstriktorisch (COLLIER, HOLGATE, SCHACHTER und SHORLEY, 1960; KONZETT und STÜRMER, 1960). Als Schwellendosen für diesen Effekt wurden für das durch Inkubation von Rinderserum mit Trypsin hergestellte Bradykininpräparat  $0,02-0,04 \gamma/\text{kg}$  (COLLIER et al., 1960) und für das synthetische Bradykinin  $0,1-0,2 \gamma/\text{kg}$  (KONZETT und STÜRMER, 1960) angegeben. BHOOLA, COLLIER, SCHACHTER und SHORLEY haben später in Untersuchungen mit synthetischem Bradykinin  $0,5-1 \gamma/\text{kg}$  als kleinste wirksame Dosen zur Auslösung einer Bronchokonstriktion am Meerschweinchen angeführt (1962). Bei zahlreichen Versuchen, die im Lauf der letzten drei Jahre im Innsbrucker Pharmakologischen Institut mit dem Ziel unternommen wurden, Antagonisten gegen den Bradykinin-Effekt an der Bronchialmuskulatur zu finden, fiel wiederholt die wechselnde Empfindlichkeit der Bronchialmuskulatur gegenüber synthetischem Bradykinin auf.

Ein Grund für das wechselnde Ausmaß der Bronchokonstriktion nach exogenem zugeführtem Bradykinin am narkotisierten Meerschweinchen könnte in der verschieden schnellen Zerstörung dieses Wirkstoffes durch enzymatischen Abbau im Blut liegen. Um diese Möglichkeit zu prüfen, haben wir die Kininase-Aktivität im Plasma von Meerschweinchen untersucht, an denen wenige Tage später der Bradykinin-Effekt auf die Bronchialmuskulatur registriert wurde. Bei diesem Vorgehen kann am gleichen Tier sowohl das Ausmaß der Kininase-Aktivität im Plasma wie auch das durch Bradykinin bedingten bronchokonstriktorischen Effektes quantitativ bestimmt werden. Der Zusammenhang dieser beiden Meßgrößen läßt sich statistisch prüfen.

### Methodik

Für die Untersuchungen wurden männliche Meerschweinchen im Gewicht von 580—770 g verwendet.

Bei der Bestimmung der Kininase-Aktivität wurde in folgender Weise vorgegangen: 4—5 ml Blut wurden durch Herzpunktion mit einer silikonisierten, mit Heparinlösung durchspülten Spritze entnommen und in Plastikröhrchen 10 Minuten bei 500 g max. zentrifugiert. Das Plasma wurde mit einer silikonisierten Pipette abpipettiert und bis zur Kininase-Bestimmung in Plastikröhrchen bei  $-20^{\circ}$  C gelagert. Unmittelbar vor der Prüfung am isolierten Meerschweinchen-Ileum wurde das Plasma jedes Tieres mit Kochsalzlösung (0,9%) 1:8 bzw. 1:16 verdünnt. Je 0,4 ml der Verdünnungen wurden zu 2 ml einer Lösung von 1,2  $\gamma$ /ml synthetischem Bradykinin in 0,9% NaCl für 1 Minute bei Zimmertemperatur zugesetzt (Bradykinin-Plasma-Gemisch); dann wurde das Bradykinin-Plasma-Gemisch für 2 Minuten in ein siedendes Wasserbad gegeben, um die Kininase zu inaktivieren.

Das Bradykinin-Plasma-Gemisch wurde am isolierten Meerschweinchen-Ileum in sauerstoffdurchperlter Tyrode-Lösung vergleichend mit Bradykinin geprüft. Die Organbehälter faßten 10 ml. 0,2  $\gamma$ /ml Bradykinin in Kochsalzlösung bzw. in den Bradykinin-Plasma-Gemischen wurden in zufälliger Reihenfolge je 4mal dem Organbad von zwei verschiedenen Darmstücken zugesetzt. Die Darmkontraktionen wurden bei isotonischer Registrierung und 5facher Vergrößerung in mm gemessen. Die durchschnittliche Abschwächung des Bradykinin-Kontraktionseffektes infolge Inaktivierung von Bradykinin durch die Plasmaverdünnungen wurde in % des mittleren Kontraktionseffektes nach Bradykinin in Kochsalzlösung angegeben.

Bradykinin-Lösungen, die anstelle des verdünnten Plasmas zusätzlich 0,4 ml Kochsalzlösung enthielten und, wie oben angegeben, erhitzt wurden, verhielten sich nicht anders als entsprechend mit Kochsalzlösung verdünnte Bradykinin-Lösungen. Plasmaverdünnungen ohne Bradykinin-Zusatz hatten keine Wirkung auf den Darm.

Zur Bestimmung des durch Bradykinin veränderten Kontraktionszustandes der Bronchialmuskulatur wurde das von KONZETT und RÖSSLER (1940) beschriebene Verfahren der indirekten Messung des Luftvolumens angewendet, das die Lungen bei konstantem Aufblasungsdruck unter künstlicher Beatmung

mit einem gleichbleibenden Luftvolumen aufnehmen. Die Tiere waren mit Urethan (1,2 g/kg intraperitoneal) narkotisiert. Der maximale Aufblasungsdruck betrug 140 mm H<sub>2</sub>O, die Beatmungsfrequenz 45/Min. Der Hub einer „Miniature Ideal Respiration Pump“ nach Palmer war zwischen 6 und 10 ccm so eingestellt, daß der Ausschlag des Piston-Recorders etwa 10 mm betrug. Bis zur Verabreichung der ersten Bradykinin-Gabe wurden die Tiere ca. 30 Minuten mit der Atmungspumpe beatmet. Bradykinin wurde i. v. über eine in die V. jugularis externa eingebundene Kanüle injiziert.

Da der Bradykinin-Effekt im Laufe eines Versuches abnehmen kann, wurde in der vorliegenden Untersuchung jeweils nur der Effekt der ersten Bradykinin-Dosis (0,5  $\gamma$ /kg) bewertet. Der maximale Ausschlag des Piston-Recorders nach der Bradykinin-Gabe in mm wurde als Meßwert der Bronchokonstriktion bestimmt.

### Ergebnisse

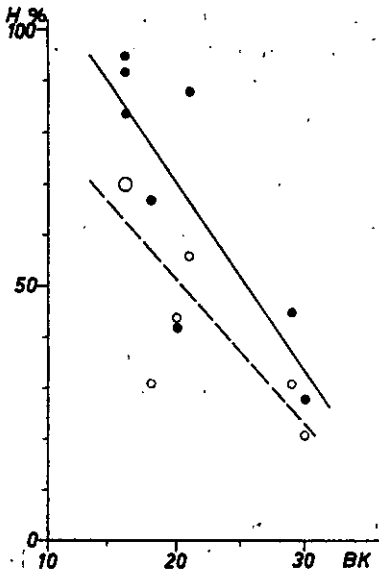
In der Tabelle 1 finden sich die bei den einzelnen Versuchstieren bestimmten Meßwerte der Bronchokonstriktion nach 0,5  $\gamma$ /kg Bradykinin sowie die prozentuelle Inaktivierung von 0,2  $\gamma$ /ml Bradykinin durch Zusatz von Plasma (Durchschnitts-

Tabelle 1.

Versuchstier	Messwert der Bronchokonstriktion (s. Text)	Prozentuelle Inaktivierung von 0,2 $\gamma$ /ml Bradykinin durch verdünntes Plasma (s. Text)	
		1:8	1:16
	x	y <sub>1</sub>	y <sub>2</sub>
E	16	95	70
D	16	92	70
G	16	84	70
F	18	67	31
K	20	42	44
L	21	88	56
J	29	45	31
H	30	28	21

werte), das entsprechend den Angaben in der Methodik verdünnt war. Die Wertepaare sind nach steigenden Meßwerten der Bronchokonstriktion geordnet. In der Abb. 1 sind die verschiedenen Werte graphisch dargestellt. Eine geringgradige Bronchokonstriktion nach der Standarddosis von 0,5  $\gamma$ /kg Bradykinin geht mit einer prozentuell hohen Inaktivierung von Bradykinin durch das Plasma des gleichen Versuchstieres einher. Andererseits entspricht eine starke Bronchokonstriktion nach der Bradykinin-Standarddosis einer prozentuell geringfügigen Inaktivierung von Bradykinin durch das Plasma des gleichen Tieres.

Die Abb. 2 und 3 geben die Auswertung des bronchokonstriktorischen Effektes nach Bradykinin sowie die Hemmung des Bradykinin-Effektes durch Plasma an



**Abb. 1:**

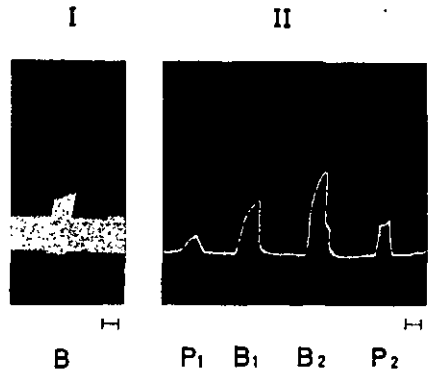
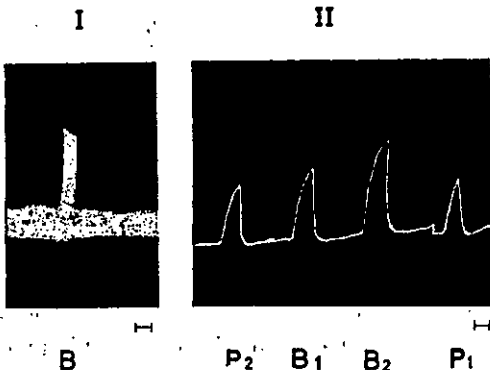
Graphische Darstellung der Beziehung zwischen Bronchokonstriktion und Kininase-Aktivität im Plasma von Meerschweinchen. (Betreffs Einzelheiten siehe Text).

Abszisse: Meßwert der Bronchokonstriktion; Ordinate: Hemmung des Bradykinineffektes am isolierten Meerschweinchen-Dünndarm durch verdünntes Plasma (1:8  $\bullet$ ; 1:16  $\circ$ ; der große Kreis entspricht 3 Wertepaaren).

**Abb. 2: Meerschweinchen G.**

I) Das von den Lungen nicht aufgenommene Atemvolumen mit einem Piston-Recorder registriert. Größerwerden der Ausschläge bedeutet Kontraktion der Bronchialmuskulatur. B: 0,5  $\gamma$ /kg Bradykinin i. v.

II) Isolierter Dünndarm. Kontraktionseffekte nach Bradykinin: 0,1  $\gamma$ /ml ( $B_1$ ), 0,2  $\gamma$ /ml ( $B_2$ ), 0,2  $\gamma$ /ml + 8fach verdünntes Plasma ( $P_1$ ), 0,2  $\gamma$ /ml + 16fach verdünntes Plasma ( $P_2$ ; siehe Text). Zeitmarken: 1 Minute.



**Abb. 3: Meerschweinchen J.**

I) Das von den Lungen nicht aufgenommene Atemvolumen mit einem Piston-Recorder registriert. Größerwerden der Ausschläge bedeutet Kontraktion der Bronchialmuskulatur. B: 0,5  $\gamma$ /kg Bradykinin.

II) Isolierter Dünndarm. Kontraktionseffekte nach Bradykinin: 0,1  $\gamma$ /ml ( $B_1$ ), 0,2  $\gamma$ /ml ( $B_2$ ), 0,2  $\gamma$ /ml + 8fach verdünntes Plasma ( $P_1$ ), 0,2  $\gamma$ /ml + 16fach verdünntes Plasma ( $P_2$ ; siehe Text). Zeitmarken: 1 Minute.

2 Versuchstieren wieder. In der Abb. 2 (Versuchstier G) ist einerseits der geringfügige bronchokonstriktorische Effekt nach 0,5  $\gamma$ /kg Bradykinin, andererseits die beträcht-

liche Abschwächung der Wirkung von 0,2  $\gamma$ /ml Bradykinin am isolierten Meerschweinchen-Dünndarm durch beide Plasmaverdünnungen ersichtlich. In der Abb. 3 (Versuchstier 'J') ist ein stärkerer bronchokonstriktorisches Effekt nach 0,5  $\gamma$ /kg Bradykinin, aber eine geringfügigere Abschwächung des Kontraktionseffektes von 0,2  $\gamma$ /ml Bradykinin am isolierten Meerschweinchen-Dünndarm durch beide Plasmaverdünnungen erkennbar.

Ermittelt man aus den 8 Wertepaaren  $x, y_1$  bzw.  $x, y_2$  der Tab. I das Bestimmtheitsmaß (0,662 bzw. 0,654) und den Korrelationskoeffizienten ( $-0,814$  bzw.  $-0,809$ ) so ergibt sich, daß beide Bestimmtheitsmaße und demnach auch beide Korrelationskoeffizienten mit einer Wahrscheinlichkeit von rund 98% gesichert sind.

Die beiden getrennt ermittelten Bestimmtheitsmaße können aber auf einfache Weise mit beträchtlichem Informationsgewinn zusammengefaßt werden. Daraus ergibt sich, daß ein Zusammenhang zwischen den Meßwerten der Bronchokonstriktion und der prozentuellen Inaktivierung von Bradykinin durch beide Plasmaverdünnungen mit über 99,9% gesichert ist; das entsprechende Bestimmtheitsmaß beträgt 0,658, der Korrelationskoeffizient also  $-0,811$ .

### Besprechung der Ergebnisse

Aus den oben angeführten Versuchsergebnissen, besonders aus der statistischen Berechnung der Signifikanz der Korrelation ergibt sich ein deutlicher Zusammenhang zwischen Kininase-Aktivität im Plasma und Reaktion der Bronchialmuskulatur auf exogen zugeführtes Bradykinin. Hohe Kininase-Aktivität im Plasma ist mit einem schwachen bronchokonstriktorisches Effekt von exogen zugeführtem Bradykinin in vivo gekoppelt, während niedrige Kininase-Aktivität im Plasma mit einem starken bronchokonstriktorisches Effekt auf exogen zugeführtes Bradykinin einhergeht.

Die Zerstörung von Bradykinin im Plasma erfolgt durch enzymatische Spaltung. Hierzu sind u. a. Carboxypeptidasen imstande, die im Plasma verschiedener Species, auch des Menschen, gefunden wurden (ERDÖS und YANG, 1966). In einzelnen Organen (z. B. Pankreas, Niere, Leber) wurden ebenfalls Carboxypeptidasen nachgewiesen, die Bradykinin abbauen (ERDÖS und YANG, 1966).

Die Beziehung zwischen der Kininase-Aktivität im Plasma und dem bronchokonstriktorisches Effekt auf exogen zugeführtes Bradykinin in vivo am Meerschweinchen ist noch aus folgendem Grund von Interesse: Die Verabreichung von Bradykinin in Form eines Aerosols löst nicht nur bei Meerschweinchen eine Bronchokonstriktion aus, sondern führt auch bei Asthmatikern zu einem Asthmaanfall; bei Nicht-Asthmatikern bleibt sie aber wirkungslos (HERXHEIMER und STRESEMANN, 1961). Es könnte sein, daß beim Asthmatiker, der auf ein Bradykinin-Aerosol mit einem Asthmaanfall antwortet, im Plasma oder/und in der Lunge weniger Kininase vorhanden ist als beim Nicht-Asthmatiker. Diesbezügliche Untersuchungen sind in Fortsetzung der hier beschriebenen Versuche am Meerschweinchen beabsichtigt.

## Zusammenfassung

1. Beim Meerschweinchen wurde die Kininase-Aktivität des Plasmas einerseits, die Reaktion auf 0,5  $\gamma$ /kg exogen (i. v.) zugeführtes Bradykinin an der Bronchialmuskulatur in vivo andererseits gemessen.

2. Tiere mit hoher Kininase-Aktivität im Plasma reagierten auf die i. v. verabreichte Bradykinin-Dosis mit einem schwachen Bronchospasmus.

3. Tiere mit geringer Kininase-Aktivität im Plasma reagierten auf die i. v. verabreichte Bradykinin-Dosis mit einem starken Bronchospasmus.

4. Der Korrelationskoeffizient zwischen Kininase-Aktivität im Plasma und bronchokonstriktorischer Reaktion auf exogenes Bradykinin in vivo beträgt rund  $-0,8$  und ist mit über 99,9% statistisch gesichert.

Herrn Univ.-Doz. Dr. E. OLBRICH danken wir für die Beratung und statistische Berechnung der Ergebnisse.

Herrn Dr. E. RIGL, SANDOZ-Pharmazeutika, Wien, danken wir für die Überlassung von synthetischem Bradykinin.

## Literatur

- BHOOLA, K. D., H. O. J. COLLIER, M. SCHACHTER, and P. G. SHORLEY (1962): Action of some peptides on bronchial muscle. *Brit. J. Pharmacol.*, **19**: 190—197.
- COLLIER, H. O. J., J. A. HOLGATE, M. SCHACHTER, and P. G. SHORLEY (1960): The bronchoconstrictor action of bradykinin in the guinea-pig. *Brit. J. Pharmacol.*, **15**: 290—297.
- ERDÖS, E. G. and H. Y. T. YANG (1966): Inactivation and potentiation of the effects of bradykinin. In: *HYPOTENSIVE PEPTIDES*, Proceedings of the Internat. Symposium, by E. G. Erdős, N. Back, F. Sicuteri and A. F. Wilde, S. 235, Springer Verlag, New York Inc.
- HERXHEIMER, H. und E. STRESEMANN (1961): The effect of bradykinin aerosol in guinea pigs and in men. *J. Physiol.*, **158**: 38 P.
- KONZETT, H. und R. RÖSSLER (1940): Versuchsanordnung zu Untersuchungen an der Bronchialmuskulatur. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharm.*, **195**: 71—74.
- KONZETT, H. und E. STÜRMER (1960): Biological activity of synthetic polypeptides with bradykinin-like properties. *Brit. J. Pharmacol.*, **15**: 544—551.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte des naturwissenschaftlichen-medizinischen Verein Innsbruck](#)

Jahr/Year: 1969

Band/Volume: [57](#)

Autor(en)/Author(s): Rosegger H., Troyer E., Konzett H., Innerhofer M.

Artikel/Article: [Zur Korrelation zwisachen der Bronchokonstriktion durch und der Kininase-Aktivität im Plasma beim Meerschweinchen. 179-184](#)