

Elektrophoretische Analyse der Proteaseinhibitoren von Pferdeserum

Autor(en): **Fellenberg, R. von**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **120 (1978)**

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-593490>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Aus dem Institut für Veterinärphysiologie der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. H. Spörri)

Elektrophoretische Analyse der Proteaseinhibitoren von Pferdeserum

von R. von Fellenberg*

Einleitung und Fragestellung

Leukozytäre Proteasen sind möglicherweise an der Entstehung der chronisch-obstruktiven Lungenerkrankungen beteiligt. Der Gruppe der neutralen Proteasen – den Elastasen und dem Kathepsin G – wird dabei die Hauptrolle beigemessen [14]. Normalerweise werden freigesetzte, lysosomale Enzyme durch die Proteaseinhibitoren des Blutes und der Gewebe inaktiviert. Totaler oder partieller Mangel bestimmter Inhibitoren könnte deshalb ein prädisponierender Faktor für chronisch-obstruktive Lungenerkrankungen sein. Beim Menschen ist hereditärer α_1 -Antitrypsinmangel eindeutig mit dem Auftreten von chronisch-obstruktiven Lungenerkrankungen verbunden [5]. α_1 -Antitrypsinmangel ist jedoch selten. Der weitaus grössere Teil der Patienten mit diesem Krankheitskomplex besitzt normale α_1 -Antitrypsinspiegel [5]. Andere pathogenetische Faktoren, wie z. B. das Fehlen von Gewebsproteaseinhibitoren, oder selektiver Mangel an Serumproteaseinhibitoren für andere Proteasen müssen deshalb in Erwägung gezogen werden [16].

Das Pferd besitzt eine besonders grosse Anfälligkeit für chronisch-obstruktive Lungenerkrankungen (= «Lungendampf») [4]. Ob Mangel an Proteaseinhibitoren als pathogenetischer Faktor hier eine Rolle spielt, ist noch unbekannt. Wir haben uns deshalb die Aufgabe gestellt, diese Frage näher zu untersuchen.

Das Pferd dient uns dabei auch als Modell für den Menschen, denn es stellt das einzige Haustier dar, das spontan und häufig an chronisch-obstruktiven Lungenerkrankungen leidet.

In einer ersten Arbeit haben wir die Trypsininhibitoren aus dem Lungengewebe und Serum von Pferd und Rind miteinander verglichen [16]. Das Rind wurde gewählt, weil bei ihm chronisch-obstruktive Lungenerkrankungen äusserst selten angetroffen werden. In der vorliegenden Arbeit haben wir die Serumproteaseinhibitoren für Chymotrypsin, Elastase, Plasmin und Trypsin bei 18 Pferden elektrophoretisch analysiert und charakterisiert. Die Versuche dienen als Grundlage für die Analyse von Proteaseinhibitoren aus Lungengewebe und möglicherweise später für klinische Versuche.

Material und Methoden

Tiere. 18 Pferdepatienten der Chirurgischen und Medizinischen Klinik. Die Blutproben wurden blind, d. h. ohne Wissen um die Fragestellung, entnommen. Wir verzichten auf die Mitteilung der Diagnosen, da in dieser Arbeit die Proteaseinhibitoren vorerst rein analytisch beschrieben werden sollen.

* Adresse: PD Dr. R. von Fellenberg, Institut für Veterinärphysiologie, Winterthurerstrasse 260, CH-8057 Zürich.

Tab. 1 Enzymlösungen zum Nachweis der entsprechenden Inhibitoren nach elektrophoretischer Auftrennung

Enzym	Stammlösung	Gebrauchslösung
Trypsin	5 mg Trypsin in 1,0 ml 0,001 N HCl auflösen ¹	0,13 ml Stammlösung zu 50 ml Triäthanolaminpuffer, pH 7,8 ² = 13 µg Trypsin/ml
Chymotrypsin	10 mg Chymotrypsin in 1,0 ml 0,001 N HCl auflösen ¹	0,1 ml Stammlösung zu 50 ml Triäthanolaminpuffer, pH 7,8 ² = 20 µg Chymotrypsin/ml
Elastase	5 mg Elastase in 5,0 ml Tris-Barbi- turatpuffer, pH 8,6, auflösen ³	1,3 ml Stammlösung zu 48,7 ml Tris-Barbituratpuffer, pH 8,6 ³ = 26 µg Elastase/ml
Plasmin	—	10 Novoeinheiten Lysofibrin* in 50 ml Lösungsmittel zur Infusion ⁴ (L- Lysin-HCl als Stabilisator enthaltend) auflösen

¹ Eine Woche Woche haltbar bei 4 ° C.

² 18,6 g Triäthanolamin und 1,47 g CaCl₂ · 2H₂O in 450 ml Wasser lösen, mit 2 N NaOH auf pH 7,8 einstellen, dann mit Wasser auf 500 ml auffüllen.

³ Stammlösung: 22,4 g Diäthylbarbitursäure, 44,3 g Tris, 0,533 g Kalziumlaktat, 0,650 g Natriumazid in 1,0 l H₂O auflösen. Zum Gebrauch 1:4 verdünnen.

⁴ Teil des Lysofibrinsets zur Infusion.

Chemikalien. Triäthanolamin-Hydrochlorid, Chymotrypsin (75 U/mg): Böhringer, Mannheim. Tris(hydroxymethyl)-amino-methan, Diäthylbarbitursäure, Calciumlactat, Natriumacid, Calciumchlorid-2 hydrat: Merck, Darmstadt. Agarose: Sea Kem, mci biomedical, distributed by analytical systems division of Bausch and Lomb. Bovines Fibrinogen: Calbiochem, San Diego, Calif. Trypure[®], kristallines Trypsin und Lysofibrin*, Plasmin: Novo Industri, Kopenhagen, Elastase (120 U/mg): Serva, Heidelberg.

Fibrinogenplattenelektrophorese. Die Methode, die zur Charakterisierung von Proteaseinhibitoren verschiedenster Spezifität angewendet werden kann, ist schon eingehend beschrieben worden [16]. Einige kleine Modifikationen wurden jedoch im Laufe unserer Untersuchungen vorgenommen. So wurden zur detaillierten Analyse der stark anodischen, im Albumin-Präalbumin-Bereich wandernden Inhibitoren die Proben nicht in der Plattenmitte, sondern kathodenwärts aufgetragen und die Dauer der Elektrophorese von einer halben auf eine Stunde verlängert. Auch wurden die Platten nach der Inkubation mit Enzymlösung im Kühlschrank mit destilliertem Wasser über Nacht gespült.

Die Stamm- und Gebrauchslösungen mit den optimalen Konzentrationen für die getesteten Enzyme sind in Tab. 1 zusammengefasst. Die Enzymkonzentration erwies sich als besonders kritisch, denn zu hohe Konzentrationen verringerten die Empfindlichkeit, zu niedrige verursachten Artefakte, z. B. verwischte Banden oder zu stark gefärbten Untergrund. Die Inkubationsbedingungen von 15 Minuten bei Zimmertemperatur [16] wurden für alle Enzyme konstant gehalten.

Besondere Aufmerksamkeit wurde der Behandlung der Serumproben geschenkt. Zehnmaliges Einfrieren und Auftauen von unverdünntem Serum veränderte die Inhibitorenmuster nicht. Demgegenüber wurde α_2 -Makroglobulin (α_2 M), das 1:4 verdünnt war, durch die gleiche Behandlung von Serumproben inaktiviert. Bei der Analyse von verdünnten Proben wurden diese deshalb unmittelbar vor Gebrauch hergestellt.

Resultate

In den 18 Pferden wurden zwei Inhibitorclassen festgestellt. Die eine entsprach dem menschlichen α_2M sowohl in bezug auf die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit als auf die Spezifität der Enzymhemmung. Neben Trypsin, Chymotrypsin und Elastase (Abb. 2–6) wurde Plasmin selektiv durch Pferde- α_2M gehemmt (Abb. 1). Dies stimmte mit dem menschlichen α_2M überein, welches als «rascher» Plasmininhibitor für den grössten Teil der Plasminhemmung im Blut verantwortlich ist [3, 7]. Die zweite Inhibitorclassen war im stark anodischen Albumin-Präalbumin-Bereich lokalisiert. Sie war heterogen und hemmte Plasmin nur in Spuren (Abb. 1). Wir haben diese Inhibitoren ihrer Funktion entsprechend als Antitrypsine (AT), Antichymotrypsine (AC) und Antielastasen (AE) bezeichnet (Abb. 2–6). Weiter wurden die Inhibitoren mit einer Zahl versehen, wobei die Numerierung bei der am stärksten gegen die Anode wandernden Bande begonnen wurde.

Neben den beiden eben umschriebenen Hauptgruppen konnten zudem Inhibitorbanden mit nur geringer Hemmaktivität beobachtet werden. Wir verzichten vorläufig auf ihre Bezeichnung, da wir vermuten, es handle sich um Inhibitoren mit einer Hauptaktivität gegen andere, uns noch nicht bekannte Enzyme. Sie sind in Abb. 1 und 2 mit einem Fragezeichen gekennzeichnet.

Antichymotrypsine. In den 18 Pferdeseren stellten wir 3 Antichymotrypsine, nämlich AC1, AC2 und AC3, fest (Abb. 2 und 3). Die Tiere konnten in vier Gruppen mit gleichem Inhibitorenmuster eingeteilt werden. 9 Pferde besaßen AC1 und AC3; bei vier dieser Pferde war AC3 jedoch nur in Spuren nachweisbar. 4 Pferde hatten

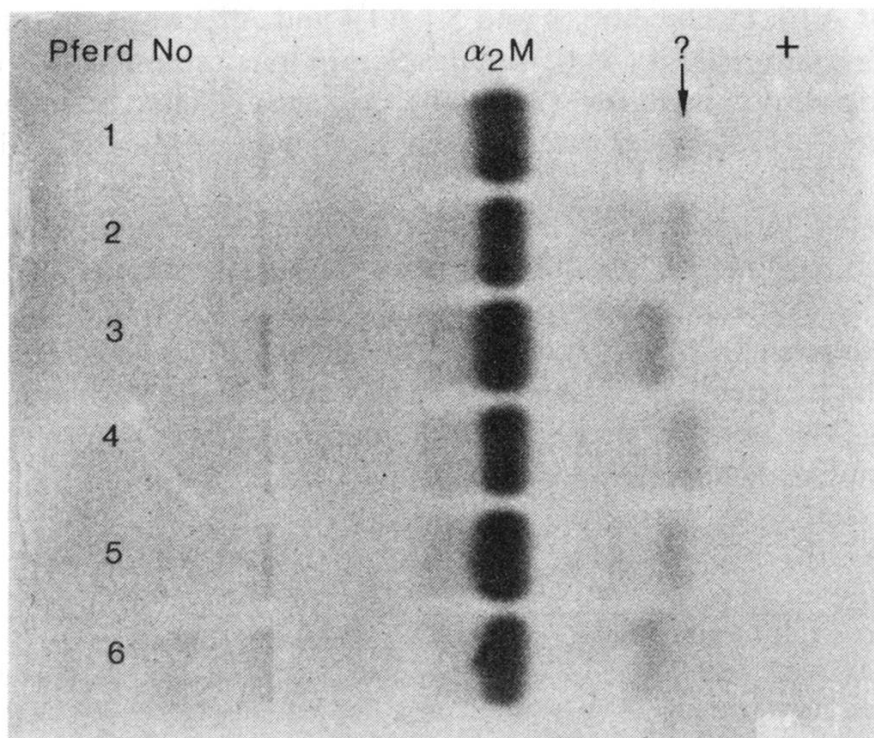


Abb. 1 Die Plasmininhibitoren. Fibrinogenplattenelektrophorese der Seren Nr. 1–6.

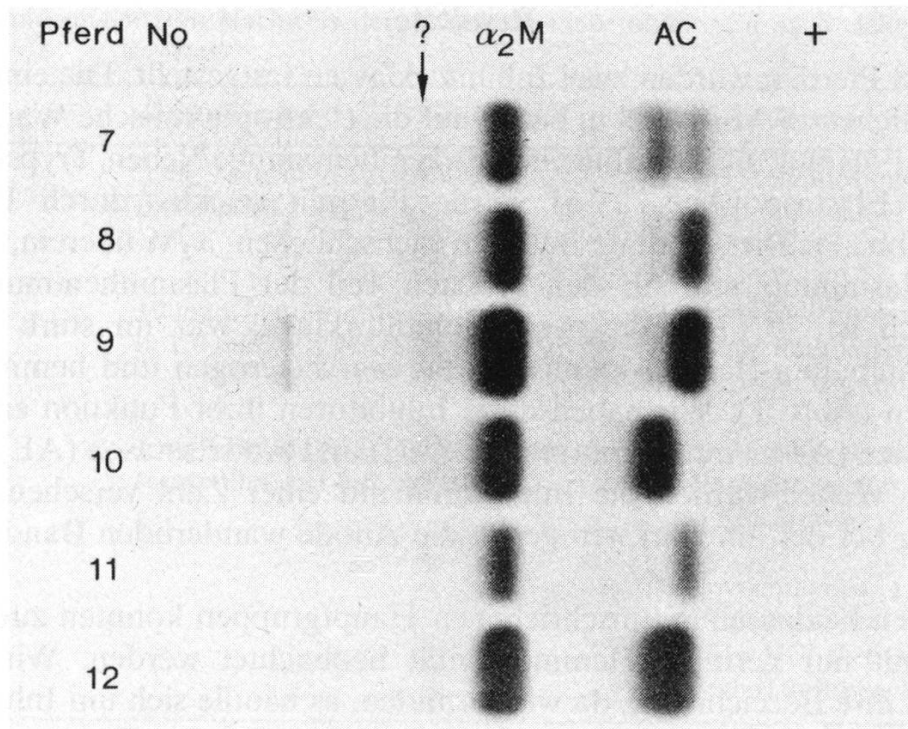


Abb. 2 Die Chymotrypsininhibitoren. Fibrinogenplattenelektrophorese der Seren Nr. 7–12.

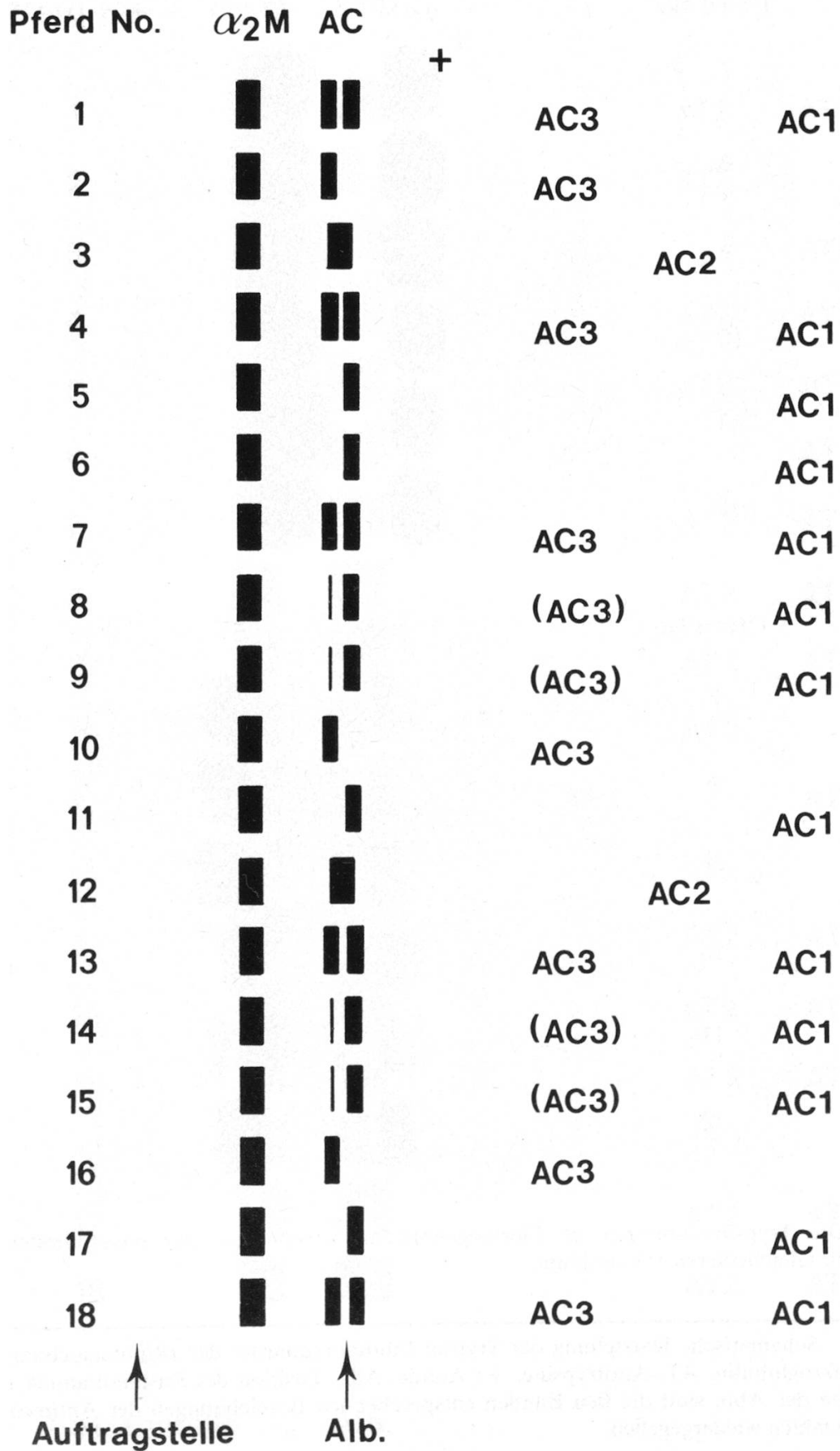
AC1, 2 Pferde AC2 und 3 Pferde AC3 als einziges Antichymotrypsin. In keinem der untersuchten Seren wurden alle drei AC zusammen gefunden (Abb. 3).

Antitrypsine. Drei Antitrypsine – AT1, AT2 und AT3 – wurden identifiziert, wobei die Pferde in 3 Gruppen mit gleichem Inhibitorenmuster eingeteilt werden konnten. 11 Pferde besaßen AT1 und AT2, 4 Pferde nur AT2 und 3 Pferde AT1 zusammen mit AT3. (Siehe Abb. 4 und 5.) AT2 und AT3 waren in unverdünntem Serum sehr stark ausgeprägt (Abb. 4a), das Serum musste deshalb für ihre eindeutige Zuordnung verdünnt werden (Abb. 4b). AT1 war in allen Seren am schwächsten vorhanden. In keinem der untersuchten Seren wurden alle drei AT zusammen vorgefunden.

Antielastasen. In unverdünntem Serum präsentierten sich die Antielastasen als breiter Flecken, der nicht eindeutig in distinkte Banden unterteilt war (Abb. 6). Auch durch die elektrophoretische Trennung verdünnter Proben gelang es nicht, eine klare Differenzierung vorzunehmen. Aus dem Muster von Serum Nr. 11 in Abb. 6 ist jedoch ersichtlich, dass sicher zwei Antielastasen vorhanden sind. Dies war das einzige der untersuchten Seren mit einer nur schwach ausgeprägten, langsamer wandernden, zweiten Antielastase.

Zu Abb. 3 Schematische Darstellung der Chymotrypsin-Inhibitorenmuster der 18 untersuchten Pferde. α_2M : α_2 Makroglobulin. AC: Antichymotrypsine. + : Anode. Alb.: Position des Serumalbumins. Auf der rechten Seite der Abb. sind die den Banden entsprechenden Bezeichnungen der Antichymotrypsine als Buchstabennummern wiedergegeben. Eingeklammerte Buchstabennummern deuten darauf hin, dass das entsprechende Antichymotrypsin nur in Spuren vorhanden war.

Abbildung 3



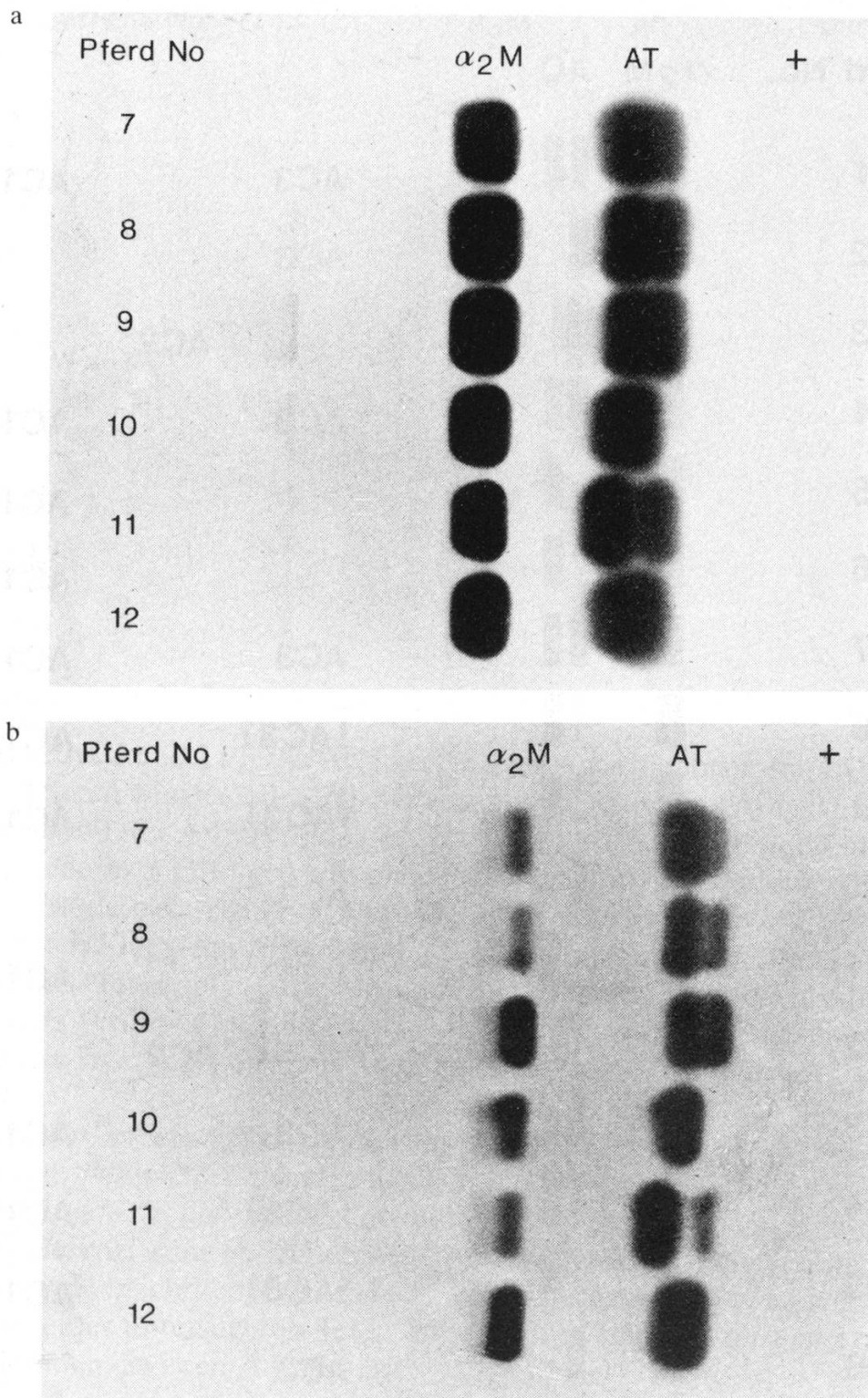
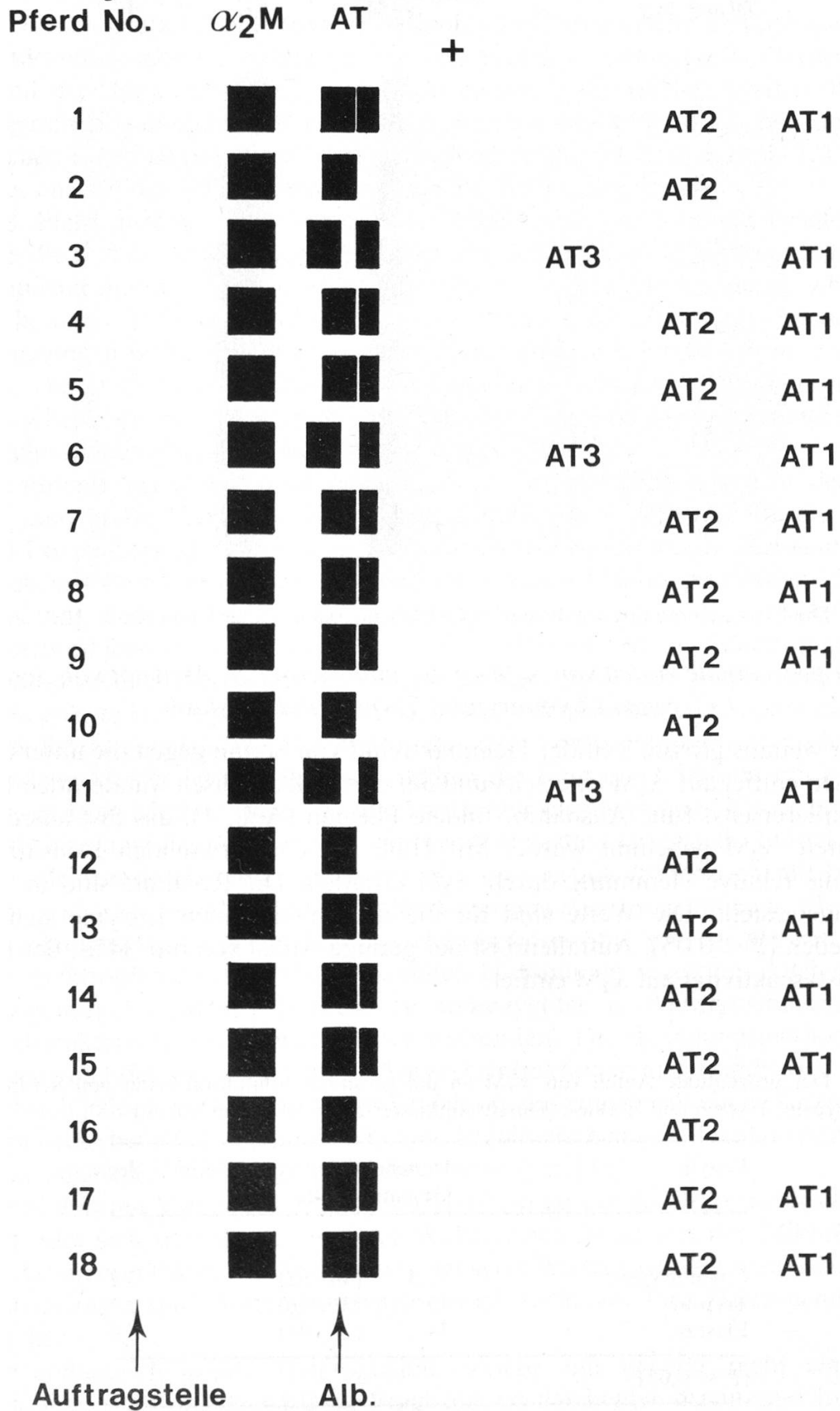


Abb. 4 Die Trypsininhibitoren. a: Fibrinogenplattenelektrophorese der unverdünnten Seren Nr. 7–12. b: Gleiche Seren 1:4 verdünnt.

Zu Abb. 5 Schematische Darstellung der Trypsin-Inhibitorenmuster der 18 untersuchten Pferde. α_2 M: α_2 Makroglobulin. AT: Antitrypsine. + : Anode. Alb.: Position des Serumalbumins. Auf der rechten Seite der Abb. sind die den Banden entsprechenden Bezeichnungen der Antitrypsine als Buchstabennummern wiedergegeben.

Abbildung 5



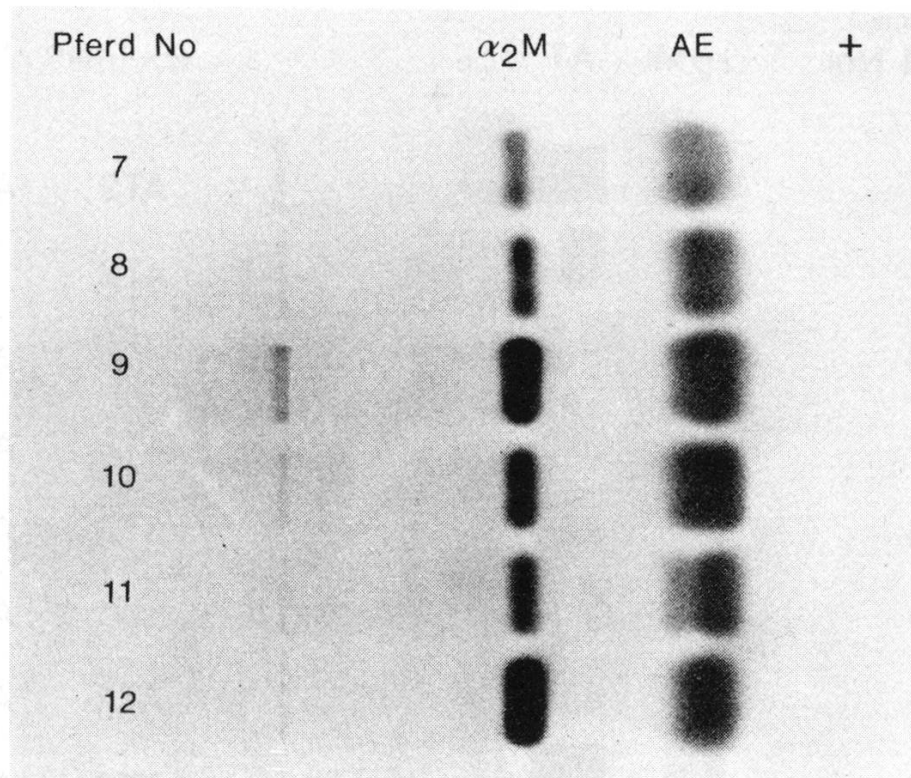


Abb. 6 Die Elastaseinhibitoren. Fibrinogenplattenelektrophorese der Seren Nr. 7–12.

Der prozentuale Anteil von α_2M an der inhibitorischen Aktivität von Serum gegen Chymotrypsin, Trypsin und Elastase

Der weitaus grösste Teil der Hemmaktivität von Serum gegen die untersuchten Proteasen entfiel auf α_2M einerseits und auf die stark anodisch wandernden Inhibitoren andererseits. Eine Ausnahme bildete Plasmin (Abb. 1), das fast ausschliesslich durch α_2M gehemmt wurde. Mit Hilfe eines integrierenden Densitometers wurde die relative Hemmung durch α_2M ermittelt. Die Resultate sind in Tab. 2 zusammengestellt. Die Werte sind für die drei untersuchten Enzyme signifikant verschieden ($P < 0,05$). Auffallend ist der geringe Anteil von nur 34%, der bei der Antielastaseaktivität auf α_2M entfiel.

Tab. 2 Der prozentuale Anteil von α_2M an der gesamten Inhibitoraktivität von Serum gegen Chymotrypsin, Trypsin und Elastase (Durchschnittswerte von 18 Serumproben)

Enzym	Hemmaktivität von α_2M in % der Gesamtaktivität		
	\bar{x}		s
Chymotrypsin	53,3	(44–62)	5,2
Trypsin	45	(36–48)	2,7
Elastase	34	(25–46)	5,6

($P < 0,05$)

Diskussion

Die Fibrinogenplattenelektrophorese ermöglichte eine rasche und mit geringem Aufwand verbundene Charakterisierung von Proteaseinhibitoren in Pferdeserum. Aufgrund der Hemmspezifität konnte α_2M eindeutig identifiziert werden. Weil es schon gereinigt und charakterisiert wurde und in seinen physiologischen und biochemischen Eigenschaften dem α_2M vieler anderer Spezies ähnlich ist [12, 13, 15], diente es uns auf den Elektrophoreseplatten als Referenzinhibitor.

Das Pferd besitzt eine Gruppe von Inhibitoren im Albumin-Präalbumin-Bereich, die sich durch eine grosse Heterogenität auszeichnet. In bezug auf die Inhibitorenmuster bestehen individuelle Unterschiede, und die von uns untersuchten 18 Pferde konnten in Gruppen mit gleichen Mustern unterteilt werden. Genetische Untersuchungen werden nötig sein, um nachzuweisen, in welcher Art diese vererbt werden. Die grosse Heterogenität der Trypsin- und Chymotrypsininhibitoren des Pferdes scheint speziesspezifisch zu sein, denn bei Rind und Mensch konnte sie mit der gleichen Methode nicht nachgewiesen werden [17].

Mit unserer Versuchsanordnung konnten wir nicht feststellen, welche der Inhibitoren eine breite Enzymspezifität besitzen und welche anderen für die untersuchten Enzyme streng monospezifisch sind. Erst die biochemische Reinigung und immunchemische Charakterisierung wird diese Frage klären. Beim Menschen ist z.B. bekannt, dass α_1 -Antitrypsin eine breite Spezifität hat [5], α_1 -Antichymotrypsin hemmt jedoch nur Chymotrypsin [6]. Vergleicht man die Inhibitorenmuster der 18 untersuchten Pferde miteinander, so fällt auf, dass die Chymotrypsininhibitoren die grösste Heterogenität aufwiesen, indem vier verschiedene Muster differenziert werden konnten (siehe Resultate). Bei den Trypsininhibitoren wurden drei verschiedene Muster festgestellt, währenddem die Elastaseinhibitoren mit der von uns verwendeten Methode keine qualitativen Unterschiede zeigten. Einzig bei Pferd 11 wurde eine partielle Defizienz der zweiten Antielastase festgestellt. Indirekt weist diese vergleichende Betrachtung darauf hin, dass neben Inhibitoren mit breitem Wirkungsspektrum auch spezifische Inhibitoren anwesend sein müssen. Menschliches α_1 -Antitrypsin ist in der Stärkegelelektrophorese bei saurem pH heterogen, und die elektrophoretischen Muster konnten kodominant vererbten Allelen eines Gens zugeordnet werden [2]. Dabei ist homozygoter α_1 -Antitrypsinmangel mit einem charakteristischen Bandenmuster verbunden. Die Trennungsmethode, die zur Typisierung der menschlichen α_1 -Antitrypsinfraktionen angewandt wird, unterscheidet sich jedoch stark von unserem Verfahren, das eine gewöhnliche Agarosegelelektrophorese bei alkalischem pH darstellt. Im alkalischen pH-Bereich verhält sich das menschliche α_1 -Antitrypsin weitgehend homogen [11].

Die in unseren Versuchen entdeckte Heterogenität der Antitrypsine des Pferdes unterscheidet sich deshalb mit grösster Wahrscheinlichkeit von der Mikroheterogenität des menschlichen α_1 -Antitrypsins. Unseres Wissens wurden beim Menschen die Antielastasen und Antichymotrypsine noch nicht auf ihre Heterogenität hin untersucht.

Die erstaunlich grosse Heterogenität, welche mit unserer recht einfachen Methode festgestellt wurde, wirft die Frage auf, ob das Fehlen bestimmter Inhibito-

renbanden mit der Pathogenese von chronisch-obstruktiven Lungenerkrankungen in Zusammenhang gebracht werden könnte. Diese Frage erhält besonderes Gewicht, wenn angenommen wird, dass Kathepsin G und die Elastasen der neutrophilen Granulozyten die emphysematösen Veränderungen hervorrufen [1, 8, 9, 14]. Die intrazelluläre Konzentration an neutralen und basischen Proteasen (zu denen die beiden eben erwähnten Enzyme gehören) weist tierartige Unterschiede auf. Mensch und Pferd haben hohe Spiegel, währenddem das Kaninchen nur $\frac{1}{10}$ bis $\frac{1}{30}$ der Aktivität des Menschen besitzt [8, 14]. Im Rahmen dieses Fragenkomplexes ist es deshalb naheliegend, die Chymotrypsin- und Elastaseinhibitoren beim Pferd näher zu untersuchen. Besonderes Gewicht wird auf die Chymotrypsinhemmung gelegt, da Kathepsin G dem Chymotrypsin sehr ähnlich ist, sowohl in bezug auf Substratspezifität als auf die Hemmung durch synthetische Inhibitoren [14]. Sehr erleichtert werden diese Arbeiten dadurch, dass die Speziesbarriere zwischen Enzymen und Serum-inhibitoren gering ist. So wird Elastase aus Granulozyten des Pferdes durch menschliches α_1 -Antitrypsin und α_2 M gehemmt, und neutrale Leukozytenproteasen von Mensch und Pferd werden auch durch Serum-inhibitoren von Rind und Ratte inhibiert [10].

Zuletzt sei noch erwähnt, dass Mangel an bestimmten Serumproteaseinhibitoren möglicherweise nur teilweise an der Pathogenese der chronisch-obstruktiven Lungenerkrankungen beteiligt ist. Auch das Fehlen von Gewebsinhibitoren in der Lunge könnte einen prädisponierenden Faktor darstellen. Dieser könnte sich hauptsächlich auf die unterschiedliche Anfälligkeit verschiedener Spezies beziehen. So sind Mensch und Pferd anfällig, das Rind und der Hund jedoch nicht. In einer ersten, vergleichenden Studie konnten wir zeigen, dass das Pferd keine Trypsininhibitoren in der Lunge besitzt. Beim Rind jedoch war der Gewebsinhibitor Trasylol vorhanden [16]. In weiteren Arbeiten werden wir die Pferde- und Rinderlunge auch auf inhibitorische Aktivität gegenüber Chymotrypsin und Elastase analysieren. Obschon der Hund in einer sehr ähnlichen Umgebung wie der Mensch lebt und ausserdem seine Lunge mechanisch stark beansprucht, also äussere Bedingungen für das Auftreten chronisch-obstruktiver Lungenerkrankungen gegeben wären, erkrankt er nicht. Deshalb werden wir in Zukunft auch diese Spezies in unsere vergleichenden Arbeiten einbeziehen.

Für technische Assistenz von Herrn F. Badertscher wird bestens gedankt.

Zusammenfassung

Die Serum-inhibitoren für Chymotrypsin, Trypsin, Elastase und Plasmin wurden bei 18 Pferden mit Hilfe der Fibrinogenplattenelektrophorese analysiert und charakterisiert. Plasmin wurde zum grössten Teil durch α_2 M inhibiert. Die anderen Enzyme wurden durch α_2 M und durch eine Gruppe von Inhibitoren gehemmt, die im Albumin-Präalbumin-Bereich lokalisiert waren. Diese Inhibitoren waren heterogen. Es wurden drei Inhibitoren für Chymotrypsin, drei für Trypsin und mindestens zwei für Elastase identifiziert. In einem Individuum waren jedoch nicht mehr als 2 der Inhibitoren für ein Enzym nachweisbar. Die Inhibitorenmuster zeigten individuelle Unterschiede. Vier Inhibitorenmuster für Chymotrypsin und drei für Trypsin wurden in den 18 untersuchten Pferdeseren identifiziert. Die Elastaseinhibitoren zeigten weniger individuelle Schwankungen. Teilweise war dies auch auf das nicht befriedigende Auflösungsvermögen der von uns verwendeten Methode zurückzuführen. Die

mögliche pathogenetische Bedeutung unterschiedlicher Inhibitorenmuster – vor allem das Fehlen bestimmter Banden – wird in Zusammenhang mit den chronisch-obstruktiven Lungenerkrankungen diskutiert.

Résumé

Les inhibiteurs du sérum pour la chymotrypsine, la trypsine, l'élastase et la plasmine ont été analysés et définis chez 18 chevaux à l'aide de l'électrophorèse sur plaques du fibrinogène. La plasmine a été inhibée en grande partie par α_2 M. Les autres ferments ont été inhibés par α_2 M et par un groupe d'inhibiteurs qui étaient localisés au niveau des albumines-préalbumines. Les inhibiteurs étaient hétérogènes. On a identifié trois inhibiteurs pour la chymotrypsine, trois pour la trypsine et au moins deux pour l'élastase. Chez un individu il n'a pas été possible d'identifier plus de deux inhibiteurs pour un ferment. Les groupes d'inhibiteurs ont présenté des différences individuelles. Dans les 18 sérums analysés chez ces chevaux on a identifié quatre groupes d'inhibiteurs pour la chymotrypsine et trois pour la trypsine. Les inhibiteurs de l'élastase ont présenté moins de variations individuelles. Il faut relever que cet état doit être attribué, partiellement au moins, au pouvoir de dissolution non satisfaisant découlant de la méthode utilisée. L'importance pathogénétique relative des différents groupes d'inhibiteurs, en particulier l'absence de certaines bandes, est mise en discussion dans la relation pouvant exister avec les affections pulmonaires chroniques et obstructives.

Riassunto

In 18 cavalli sono stati analizzati e caratterizzati, per mezzo dell'elettroforesi su placca di fibrinogeno, gli inibitori sierici per la chimotripsina, la tripsina, l'elastasi e la plasmina. La plasmina è stata per la maggior parte inibita da α_2 M. Gli altri enzimi sono stati inibiti con α_2 M e con un gruppo di inibitori che erano localizzati nella zona della albumina/prealbumina. Tali inibitori erano eterogenei. Sono stati identificati tre inibitori per la chimotripsina, tre per la tripsina e per lo meno due per la elastasi. In un soggetto tuttavia erano dimostrabili non più di due inibitori per un enzima. Il gruppo degli inibitori mostrava variazioni individuali. Nel siero dei cavalli esaminati sono stati identificati quattro gruppi di inibitori per la chimotripsina e tre per la tripsina. Gli inibitori della elastasi mostravano minori variazioni individuali. In parte ciò era da attribuire alla non soddisfacente capacità di risoluzione dei metodi usati. Il possibile significato funzionale della differenza dei gruppi di inibitori – soprattutto la mancanza di determinate bande – viene discusso in rapporto al problema delle affezioni polmonari croniche e ostruttive.

Summary

Inhibitors for Chymotrypsin, Trypsin, Elastase and Plasmin have been studied in 18 horses with the fibrinogenplate electrophoresis. Plasmin was mainly inhibited by α_2 M. Besides α_2 M an anodically migrating group of inhibitors in the albumen-prealbumen region was responsible for inhibition of chymotrypsin, trypsin and elastase. These inhibitors were heterogeneous. Three inhibitors for chymotrypsin, three for trypsin and at least two for elastase were identified. Not more than two inhibitors for one enzyme were present in a serum. The banding patterns showed individual differences. Four patterns for chymotrypsin and three for trypsin could be distinguished in the 18 investigated horses. Elastase inhibitors showed less individual differences. This may partly be due to the low resolving power of the method used. The possible implications of the heterogeneity of the inhibitors on the pathogenesis of chronic-obstructive lung emphysema are discussed.

Literatur

[1] Dubin A., Koj A. and Chudzik J.: Isolation and some Molecular Parameters of Elastase-like Neutral Proteinases from Horse Blood Leucocytes. *Biochem. J.* 153, 389–396 (1976). – [2] Fagerhol M. K.: Acid Starch Gel Electrophoresis for Detection of Alpha-Antitrypsin Variants (Pi Types): Outline of Techniques Employed Currently. In *Pulmonary Emphysema and Proteolysis*, ed. Mittman Ch., Academic Press, 145–149 (1972). – [3] Fritz H., Trautshold I. und Werle E.: Proteaseinhibitoren. In *Methoden der enzymatischen Analyse*. Hrsg. Bergmeyer U., Verlag Chemie, Bd. 1,

- 1105–1122, 3. Aufl. (1974). – [4] *Gerber H.*: Klinik und Therapie chronischer Lungenleiden des Pferdes. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 76, 234–239 (1969). – [5] *Grob P.J.*: Alpha-1-Antitrypsin. Erg. Innere Med. u. Khlk. 38, 95–199 (1976). – [6] *Heimburger N., Haupt H.*: Charakterisierung von α_1 X-Glykoprotein als Chymotrypsin-Inhibitor des Humanplasmas. Clin. Chim. Acta, 12, 116–118 (1965). – [7] *Heimburger N., Haupt H.*: Zur Spezifität der Antiproteasen des Humanplasmas für Elastase. Klin. Wschr. 44, 1196–1199 (1966). – [8] *Kimbel P., Mass B., Ikeda T. and Weinbaum G.*: Emphysema in Dogs Induced by Leukocyte Contents. In Pulmonary Emphysema and Proteolysis, ed. Mittman Ch., Academic Press, 411–417 (1972). – [9] *Koj A., Chudzik J. and Dubin A.*: Substrate Specificity and Modification of the Active Centre of Elastase-like Neutral Proteinases from Horse Blood Leucocytes. Biochem. J. 153, 397–402 (1976). – [10] *Koj A., Chudzik J., Pajdak W. and Dubin A.*: The Occurrence of Common Inhibitors of Trypsin and of Leucocyte Neutral Proteinase in Human Serum. Biochim. Biophys. Acta 268, 199–206 (1972). – [11] *Laurell C.B., Persson U.*: Analysis of plasma α_1 -antitrypsin variants and their microheterogeneity. Biochim. Biophys. Acta 310, 500–507 (1973). – [12] *Lavergne M., Raynaud M.*: Préparation et propriétés de l'alpha₂-Macroglobuline de cheval. Ann. Inst. Pasteur 119, 27–49 (1970). – [13] *Pepper D.S.*: The Isolation and Properties of γ Inhibitor: An Equine α_2 Macroglobulin Sub-Fraction. Biochim. Biophys. Acta 156, 327–339 (1968). – [14] *Starkey P.P.*: Elastase and Cathepsin G.: The Serine Proteinases of Human Neutrophil Leucocytes and Spleen. In Proteinases in Mammalian Cells and Tissues, Ed. Barrett A.J., North-Holland, 57–89 (1977). – [15] *Starkey P.M., Barret A.J.*: α_2 Macroglobulin, a Physiological Regulator of Proteinase Activity. In Proteinases in Mammalian Cells and Tissues, Ed. Barret A.J., North-Holland, 663–696 (1977). – [16] *Von Fellenberg R.*: Vergleichende Studie über die Trypsininhibitoren aus der Lunge und dem Serum von Pferd und Rind. Schw. Arch. Thlk. 120, 343–355 (1978). – [17] *Von Fellenberg R.*: Manuskript in Vorbereitung.

VERSCHIEDENES

Cinquantenaire de l'Académie vétérinaire de France

En 1762 a été ouverte à Lyon la première école de médecine vétérinaire du monde. Elle a été suivie en 1766 déjà par celle d'Alfort.

La première association de médecine vétérinaire en France, à savoir la Société vétérinaire du Département de la Seine, a été fondée le 20 juin 1844. Elle est devenue en novembre 1846 la Société centrale de médecine vétérinaire et s'est transformée le 12 janvier 1928 en Académie vétérinaire de France. Son premier président a été le professeur Emmanuel Leclainche. C'est lui qui a fondé l'Office international des épizooties qui a commencé ses activités en 1924 et dont il a été jusqu'en 1949 le premier directeur.

Pour marquer son 50e anniversaire, l'Académie vétérinaire de France a décidé de faire frapper une médaille de bronze de 59 mm de diamètre, qui portera l'effigie du professeur Leclainche. Outre l'intérêt que cette médaille commémorative, d'un tirage limité et unique, présente pour les collectionneurs, elle peut aussi constituer un cadeau original de qualité. On peut se la procurer au prix de 100 francs français la pièce, montant à verser au compte No 040147 S de l'Académie vétérinaire auprès du Crédit Lyonnais, Agence MX-741, 73, avenue du Général-de-Gaulle, 94700 Maisons-Alfort. Les personnes qui désireraient faire graver leur nom au revers de la médaille sont priées, à cet effet, de s'adresser directement à l'Hôtel des Monnaies, 11, Quai Conti, 75270 Paris Cédex 06.

La souscription à la médaille commémorative est vivement recommandée.

G. Flückiger, Berne