

Über die Wirkungsdauer eines Heparindepotpräparats im Tierversuch

Um eine möglichst rationelle Heparintherapie zu finden, prüften wir am Kaninchen die Wirkungsdauer zweier Heparinpräparate.

Geringe, gerinnungsphysiologisch eben noch spürbare Heparinmengen lassen sich am zuverlässigsten mit der Antithrombintitration erfassen. Die metachromatische Farbreaktion mit Tolidinblau wird durch andere Eiweißkörper gestört, bei der Protamintitration ändern sich die Neutralisierungsverhältnisse bei verschiedenen Protaminkonzentrationen. Protamin verkürzt zudem die Gerinnungszeit (Thrombinzeit) heparinfreier Plasmen, ist also nicht nur rein auf das Heparin spezifisch.

Kaninchen erhielten verschiedene Mengen der Heparinpräparate Liquemin «Roche» (2000 IE./cm³

Im Wasserbad von 30° C wurde zu 0,2 cm³ Kaninchenoxalatblut 0,1 cm³ Thrombinlösung, was je nach der Verdünnung 10 γ, 5 γ und 3,3 γ oder 1, 1/2 oder 1/3 ME. Thrombin entspricht, zugeblasen und die Gerinnungszeit gemessen.

Normalzeiten, gewonnen aus verschiedenen Leerversuchen:

0,2 cm³ Oxalatblut =
1 ME. 1/2 ME. 1/3 ME. Thrombin

Gerinnungszeit:
13,2 ± 0,35 17,3 ± 0,71 22,5 ± 0,88 sec

Die folgende Tabelle gibt die Dauer des antikoagulierenden Effektes einzelner Heparindosen an. Die erste Blutprobe, deren Thrombinzeit nicht signifikant über den Normalwerten der Leerversuche stand, gab den Endpunkt der Heparinwirkung an.

Präparatverabreichung	Heparin total IE.	Gewicht des Kaninchens	Heparin pro kg (IE.)	Wirkungsdauer (Stdn.)
Liquemin, wäßrig, i. v.	1100	3,6 kg	300	2
Liquemin, wäßrig, i. v.	1200	3 kg	400	2 3/4
Liquemin, wäßrig, i. v.	4200	3,5 kg	1200	6
Liquemin, wäßrig, i. v.	4800	3 kg	1600	8
Liquemin, Öl-Menstrum, i. m.	2000	4,25 kg	470	9 1/2
Liquemin, Öl-Menstrum, i. m.	4000	4,2 kg	950	20
Liquemin, Öl-Menstrum, i. m.	6000	3 kg	2000	21
Liquemin, Öl-Menstrum, i. m.	8400	3 kg	2800	mehr als 26

wäßriger Lösung) und Liquemin «Roche» (Präp. 12232/661 20 000 IE./cm³ in Öl-Menstrum) i. v. bzw. i. m. verabreicht¹. In verschiedenen Abständen wurden durch sorgfältige Punktions mit einer kurzgeschliffenen Nadel aus einer Ohrvene, die vorgängig durch lokale Xylolpinselung zur Dilatation gebracht wurde, in einer Spritze je 2,0 cm³ Blut gewonnen. Um die Gerinnung des hochkoagulablen Kaninchenblutes zu verhindern, wurde es in der Spritze mit 1/10 des Volumens (0,2 cm³) Na-Oxalat 1/5 mol vermischt. Läßt man das Blut frei in ein Oxalatröhrchen tropfen, so gerinnt es, weil sich thrombokinasehaltiger Gewebssaft dem Blute beigemischt und so die erste Phase der Gerinnung in Gang gebracht hat. Außerdem zerfallen bei der Berührung mit der Haut oder den Haaren die Plättchen, was wiederum thrombokinasebildende Stoffe freisetzt. Oxalat vermag aber den Gerinnungssablauf nicht mehr zu blockieren, ist einmal das Prothrombin in Thrombin umgewandelt, denn die vom Thrombin enzymatisch beeinflußte Fibrinogenendaturierung verläuft auch ohne Kalziumionen.

Thrombintitration

Das von uns verwendete hochaktive Thrombin (Hoffmann-La Roche) enthält ca. 100 Mellanby Einheiten (ME.) pro mg.

10 mg Thrombin werden in 5 cm³ Glyzerin 50% gelöst. Glyzerin stabilisiert das sonst recht labile Thrombin. Ausgehend von dieser Stammlösung gelangt man durch Verdünnung 1:20, 1:40 und 1:60 zu den wäßrigen Testlösungen. Diese werden erst unmittelbar vor der Antithrombintitration (Bestimmung der Thrombinzeit) hergestellt.

Der Heparineffekt beim Depotpräparat ist ungleich anhaltender als bei Verwendung wäßriger Lösung. Die gleiche Menge Heparin im Öl-Menstrum-Präparat wirkt ungefähr dreimal länger als beim Vergleichsmittel. 1000 IE./kg Depotheparin vermögen das Blut nahezu einen Tag ungerinnbar zu halten. Dies scheint uns die wirtschaftlichste Dosis zu sein, durch Steigerung darüber hinaus kann die Wirkungsdauer nicht entsprechend verlängert werden.

J. WANNER und W. ZINGG

Gerinnungsphysiologisches Laboratorium der medizinischen Klinik und Pathologisches Institut der Universität Zürich, den 4. April 1950.

Summary

The duration of the effect of a water-soluble and an oil-menstrum preparation of heparin was examined on rabbits. The oil-soluble preparation delayed, using equal dosage, the coagulation of the blood about three times longer. 1000 I.U./kg appeared to be the most economical dosage. In rabbits the effect of heparin lasted for approximately 20 hours.

Der Einfluß des adrenocorticotropen Hormons auf die Thrombozytenzahl¹

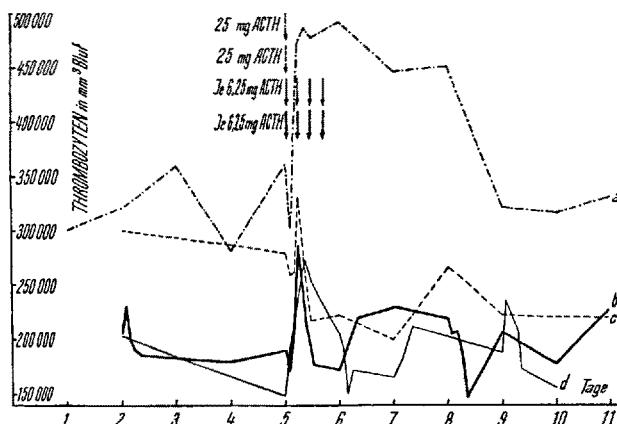
Die Wirkung des adrenocorticotropen Hormons (ACTH) auf das morphologische Blutbild ist ihrer Deutlichkeit und leichten Erfassbarkeit wegen beson-

¹ Das ACTH (Cortrophin) wurde uns in liebenswürdiger Weise von Herrn Dr. M. TAUSK, Direktor der N. V. Organon-Oss (Holland) zur Verfügung gestellt, wofür wir ihm zu bestem Dank verpflichtet sind.

¹ Das Präparat wurde uns von der Firma F. Hoffmann-La Roche, Basel, in verdankenswerter Weise überlassen.

ders studiert worden. Von der Trias der Blutzellveränderungen - Abfall der Eosinophilen und Lymphozyten, Anstieg der Gesamtleukozyten - hat namentlich der Sturz der Eosinophilen auch diagnostische Bedeutung erlangt¹. THORN² hat dieses Phänomen zu dem nach ihm benannten Nebennierenrinden-Insuffizienztest verwertet.

Auffallenderweise wurde die Wirkung des ACTH auf die Thrombozyten unseres Wissens bisher nicht untersucht³. Den Blutplättchen kommt in diesem Zusammenhang jedoch ein besonderes Interesse zu aus folgenden Gründen: Nach Operationen und Geburten wurde neben einem konstanten Abfall der Eosinophilen fast regelmäßig ein Anstieg der Thrombozyten beobachtet (KOLLER⁴, WANNER, WRIGHT). Angesichts der engen Beziehung der Plättchenzahl zur Thrombosehäufigkeit (WRIGHT) erscheint diese Tatsache besonders bedeutsam. Der regelmäßige Abfall der Eosinophilen nach Operationen und Geburten (THORN, ROCHE, HILLS⁵, WANNER) legt die Vermutung nahe, daß eine vermehrte Ausschüttung von ACTH hier im Spiele sein könnte. Wenn dies zutrifft, müßte künstlich zugeführtes ACTH ebenfalls eine Vermehrung der Thrombozyten hervorrufen. Diese Vermutung hat sich bestätigt.



Die Thrombozyten wurden im Venenblut nach der folgenden Methode ausgezählt:

Das Blut wird in einer Erythrozytenpipette bis zur Marke 0,5 aufgezogen und die Pipette bis zur Marke 101 mit Verdünnungslösung nach MULDER⁶ aufgefüllt. Um eine homogene Thrombozytenaufschwemmung zu erhalten, wird die Pipette einige Male leicht gedreht. Darauf wird eine Zählkammer mit der Aufschwemmung beschickt. Die gefüllte Zählkammer läßt man ca. 5 Minuten liegen, um ein Absinken der Thrombozyten zu ermöglichen. Hernach werden die Plättchen unter dem Phasenkontrastmikroskop ausgezählt.

Neben den bekannten Veränderungen der Eosinophilen-, Lymphozyten- und Gesamtleukozytenwerte fanden wir nach ACTH-Injektion in allen von uns bis-

her untersuchten Fällen einen deutlichen Anstieg der Thrombozytenzahl (s. Abbildung).

Nach einmaliger Injektion von 25 mg ACTH fiel der Höhepunkt des Thrombozytenanstiegs 6 Stunden *post injectionem* mit den Maximalwerten der Gesamtleukozytenzahlen zusammen. Die Eosinophilen sanken während dieser Zeit ab und erreichten ihren Minimalwert schon 4 Stunden nach der Injektion, zeigten also ihre stärkste Reaktion 2 Stunden früher als Leuko- und Thrombozyten.

Nach fraktionierter ACTH-Applikation (6 stündlich 6 mg i. m.) wurde das Maximum des Thrombozyten- und Leukozytenanstieges einmal 6 Stunden nach der ersten, in einem anderen Fall erst 6 Stunden nach der zweiten Injektion erreicht. In beiden Fällen hielt die Leukozytose 2 Tage lang an, während die Thrombozyten schon am Abend des Versuchstages wieder abzusinken begannen. Die Eosinophilen blieben annähernd 2 Tage lang auf niedrigen Werten.

Die Reaktion der Thrombozyten auf ACTH zeigt eine weitgehende Parallelität mit den Schwankungen der Gesamtleukozyten. Bei einem unserer Fälle (Abbildung. Kurve a) mit Myokardschaden und paroxysmaler Tachykardie bei chronischer Tonsillitis stiegen die Thrombozyten indessen nach einer einmaligen Dosis von 25 mg ACTH nicht nur sehr stark an, sondern blieben auch 4 Tage lang annähernd auf derselben Höhe, obwohl die übrigen Blutzellen bereits am Abend des Versuchstages wieder ihren Normalwerten zustrebten. Ob diese besonders nachhaltige Wirkung auf die Thrombozyten mit dem Infekt in Zusammenhang steht, müssen weitere Untersuchungen abklären.

Um dem Einwand zu begegnen, daß der beobachtete Anstieg der Thrombozytenzahl nach ACTH nur durch physiologische Tagesschwankungen der Plättchenzahl vorgetäuscht werde, haben wir vor und nach der ACTH-Injektion Thrombozytentageskurven hergestellt. Die Blutproben wurden zu denselben Zeiten wie am Versuchstage entnommen. Wenn wir an Hand dieser Kontrollen oft auch recht erhebliche und individuell durchaus verschiedene Tagesschwankungen der Plättchenzahl konstatieren konnten, so blieb dennoch der durch die ACTH-Injektion bedingte Höhepunkt der Thrombozytenwerte deutlich außerhalb des physiologischen Schwankungsbereiches.

Bei einem Patienten mit Morbus Addison wurde nach Injektion von 25 mg ACTH *kein* Anstieg der Thrombozyten beobachtet.

Die Empfindlichkeit des durch ACTH bedingten Thrombozytenanstieges läßt sich noch nicht endgültig beurteilen, doch scheint sie derjenigen des Leukozytenanstieges bzw. Eosinophilen- und Lymphozytenabfalls kaum nachzustehen.

F. KOLLER und H. ZOLLIKOFER

Medizinische Universitätsklinik Zürich, den 26. Juni 1950.

Summary

A single dose of ACTH of 25 mg or four divided doses of 6 mg each over a period of 24 hours causes an increase in thrombocytes, which give a curve showing a more marked peak than the daily fluctuations of the platelet level. The platelet increase is parallel with the one of total leucocytes, whereas the eosinophiles and lymphocytes decrease at the same time. These changes were not observed in a patient with Addison's disease, treated similarly.

¹ C. A. FINCH, P. H. FORSHAM und A. G. HILLS, Blood 3, 755 (1948).

² P. H. FORSHAM, A. G. HILLS, F. T. G. PRUNTY und G. W. THORN, J. Clin. Endocrin. 8, 15 (1948). - G. W. THORN, P. H. FORSHAM, F. T. G. PRUNTY und A. G. HILLS, J. Amer. Med. Ass. 137, 1005 (1948).

³ E. ADAMS, Blood 4, 8 (1949). - G. BERTELLI, W. FALTA und O. SCHWEIGER, Z. Inn. Med. 71, 23 (1910). - G. W. THORN, P. H. FORSHAM, T. F. FRAWLEY, S. R. HILL, M. ROCHE, D. STAHELIN und D. L. WILSON, N. Engl. J. Med. 242, 788 (1950).

⁴ F. KOLLER, Helv. med. acta 16, 184 (1949). - J. WANNER, Diss. (Zürich 1950). - H. P. WRIGHT, J. Path. Bact. 54, 461 (1942).

⁵ J. WANNER, Diss. (Zürich 1950). - G. W. THORN, M. ROCHE und A. G. HILLS, N. Engl. J. Med. 242, 9 (1950).

⁶ 5,25 cm³ Harnstofflösung 10%, 1,0 cm³ Na Cl 0,9%. Die Mischung ist täglich frisch herzustellen.