

Über den Einfluss von Thrombin und Heparin auf die Fibrinolyse

Seit der Einführung der Antikoagulantien in die Therapie wurde die Frage der Fibrinolyse sozusagen unter dem Druck der klinischen Ergebnisse von verschiedenen Autoren erneut experimentell bearbeitet¹. Die Resultate dieser Bemühungen sind aber zum Teil widersprechend, vor allem was das Verhalten des Gerinnungssystems gegenüber Heparin oder synthetischen Polysaccharidschwefelsäureestern betrifft, zum Teil lassen sich die Versuche nur unbefriedigend oder gar nicht reproduzieren. Die Lyse eines Plasmagerinnsels durch Serum oder Plasma ist offenbar ein sehr komplexer und noch unübersichtlicher Vorgang², der sich als Testmethode zur Prüfung fibrinolysefördernder oder -hemmender Stoffe nicht eignet. Wir haben daher in bewusster Vereinfachung der Verhältnisse unsere Versuche ausgeführt mit:

Fibrinogen (Armour bovine plasma fraction I) 1 mg gelöst in 0,5 ml M/10 Veronalpuffer pH 7,0.

Thrombin (Topostasin Roche) 0,001–8 mg gelöst in 0,5–1 ml physiologischer Kochsalzlösung.

Heparin (Liquemin Roche) 1–10 γ gelöst in 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung.

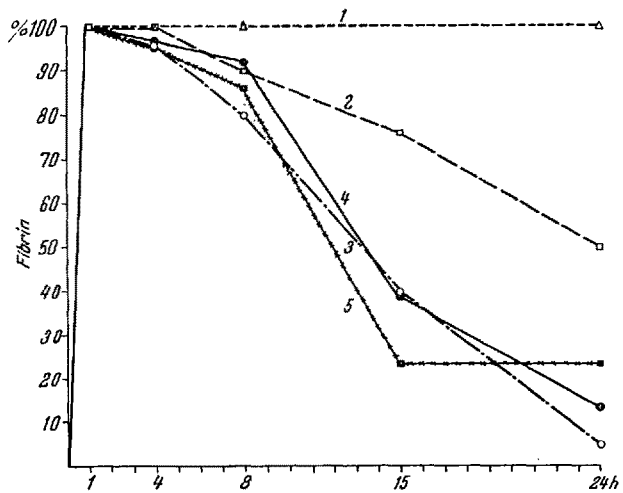


Abb. 1. Abhängigkeit der Fibrinolyse von der zur Gerinnung verwendeten Thrombinmenge.
1: 0,001 mg Thrombin auf 1 mg Fibrinogen;
2: 0,2 mg Thrombin auf 1 mg Fibrinogen;
3: 1,0 mg Thrombin auf 1 mg Fibrinogen;
4: 4,0 mg Thrombin auf 1 mg Fibrinogen;
5: 8,0 mg Thrombin auf 1 mg Fibrinogen.

Die Fibrinolyse wurde durch Bestimmung des Restfibrins nach der etwas modifizierten Methode von KAUTZSCH und RAUSCHER³ ermittelt.

¹ M. M. GUEST und A. G. WARE, *Science* 112, 21 (1950). – TH. HALSE, *Enzymologia* 12, 376 (1948); 13, 176 (1949); *Heparin und Heparinoide, Dicumarol* (Hirzel-Verlag, Zürich 1950); *Arch. int. Pharmacodyn.* 86, 168 (1951). – S. HUDEMANN, *Koll.-Z.* 92, 189 (1940). – R. MARX und H. SCHMIDT, *Ärztl. Forsch.* 5, I/192 (1951). – R. MARX und CH. HILLER, *Klin. Wschr.* 30, 71 (1952). – R. MARX, *Regensburger Jb. ärztl. Fortbildung* 2, 1 (1952). – H. E. SCHULTZE und G. SCHWICK, *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* 289, 26 (1951). – H. VINAZZER, *Wiener Z. innere Med.* 32, 167 (1951).
² H. BAYERLE und G. KIRSTEIN, *Klin. Wschr.* 30, 352 (1952). – R. MARX, *Fol. Haematol.* 71, 127 (1951).
³ E. KAUTZSCH und A. RAUSCHER, *Klin. Wschr.* 28, 694 (1950).

1. Die Fibrinolyse ist abhängig von der zur Gerinnung verwendeten Thrombinmenge. Stellt man ein Gerinnsel mit der zur Fibrinausfällung minimal notwendigen Menge Thrombin her und inkubiert bei 38°C, so verändert sich innerhalb 24 h der Fibringehalt des Gerinnsels nicht. Bei wachsendem Thrombinüberschuss tritt jedoch bis zu einem Maximum von 1 mg Thrombin auf 1 mg Fibrinogen zunehmende Fibrinolyse auf. Weitere Steigerung der Thrombinmenge bringt keine zusätzliche Änderung mehr (Abb. 1).

2. Die Fibrinolyse wird bei konstantem Thrombingehalt des Gerinnsels durch steigende Heparinkonzentration beschleunigt. Thrombin- und Heparinkonzentrationen wurden so gewählt, dass immer eine maximale Fibrinausfällung, auch bei Heparinzusatz vor der Gerinnung, erreicht wurde. Während vierstündiger Inkubation bei 38°C löst sich auch bei Thrombinüberschuss normalerweise nur ein ganz geringer Teil des Fibringerinnsels. Unter dem Einfluss von Heparin kommt es jedoch schon innerhalb dieser Zeit zu einer mit der Heparinkonzentration ansteigenden Fibrinolyse. Eine bestimmte Menge Heparin wirkt stärker, wenn sie vor der Gerinnung dem System zugefügt wird, als bei nachträglichem Zusatz zum fertig gebildeten Gerinnsel (Tabelle I).

Tabelle I
Einfluss von Heparin auf die Lyse von Gerinnseln aus 1 mg Fibrinogen und 4 mg Thrombin nach vierstündiger Inkubation bei 38°C

Heparinkonzentration in mg%	Fibrinolyse in Prozent	
	Heparin vor der Gerinnung zugefügt	Heparin nach der Gerinnung zugefügt
0	3	3
0,1	18	18
0,25	65	33
0,5	100	38

3. Die Heparinwirkung ist abhängig von der zur Gerinnung verwendeten Thrombinmenge. Wird Fibrinogen mit einer konstanten Menge Heparin und mit steigenden Thrombindosen versetzt und das Gerinnsel während vier Stunden bei 38°C inkubiert, so zeigt sich wiederum, dass die Lyse eine Funktion des Thrombinüberschusses ist (Tabelle II). Die Anwesenheit eines Thrombinüberschusses bei der Gerinnung ist eine Vorbedingung für die fibrinolytische Wirkung des Heparins.

Tabelle II
Einfluss von Heparin auf die Lyse von Gerinnseln aus 1 mg Fibrinogen und steigenden Thrombinmengen nach vierstündiger Inkubation bei 38°C

Thrombin mg	Fibrinolyse in Prozent	
	ohne Heparin	0,5 mg% Heparin vor der Gerinnung zugefügt
0,05	2	7
0,2	6	25
1,0	6	81
4,0	8	95

4. Die Zerfallsbereitschaft eines Gerinnsels wird durch die bei der Gerinnung anwesende Thrombinmenge bestimmt.

In der Absicht, zu zeigen, dass Heparin an sich nicht lytisch wirke, hingegen die lytischen Eigenschaften des Thrombins verstärke, inkubierten wir gewaschene und getrocknete Gerinnsel in Kochsalz-, Kochsalz-Heparin-, Thrombin- und Thrombin-Heparin-Lösungen. Wir erwarteten stärkste Lyse im Thrombin-Heparin-Gemisch, schwächere im Thrombin allein und gar keine in Kochsalz- und Kochsalz-Heparin-Lösungen. Dieser Erwartung entsprechend verhalten sich aber nur die ohne Thrombinüberschuss hergestellten Gerinnsel (Abb. 2, Kurvenschar A), während Gerinnsel, die in einem Überschuss von Thrombin entstanden sind, alle ungefähr gleich rasch zerfallen (Abb. 2, Kurvenschar B). Trotzdem die Gerinnsel vor der Inkubation wiederholt gewaschen und zwischen Filtrierpapier ausgepresst werden, ist die lytische Wirkung des Thrombinüberschusses, die durch die Inkubationsmedien kaum mehr modifiziert wird, immer noch vorhanden. Nach 15stündiger Inkubation ist das Fibrin in allen Ansätzen der Gruppe B bis auf einen Restbestand von 10–20% abgebaut.

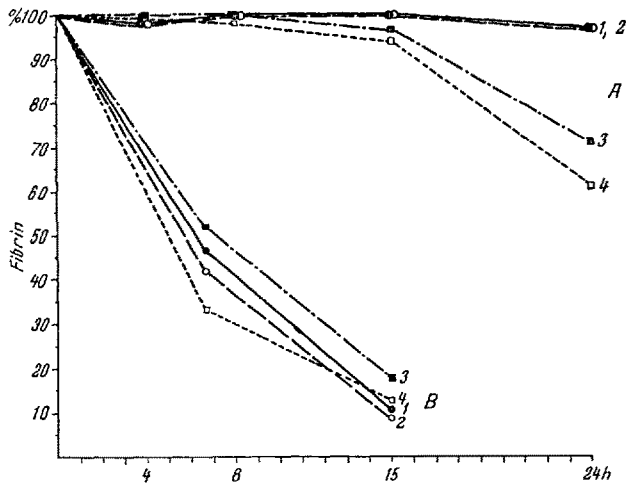


Abb. 2. Kurvenschar A: Gerinnsel ohne Thrombinüberschuss hergestellt. – Kurvenschar B: Gerinnsel mit Thrombinüberschuss hergestellt. – Lyse von gewaschenen und getrockneten Gerinnseln, bei 38°C inkubiert in je 1 ml folgender Lösungen:

- 1 physiologische Kochsalzlösung;
- 2 5–500 γ Heparin (= 0,5–50 mg%) in physiologischer Kochsalzlösung;
- 3 1 mg Thrombin in physiologischer Kochsalzlösung;
- 4 1 mg Thrombin + 5 γ Heparin in physiologischer Kochsalzlösung.

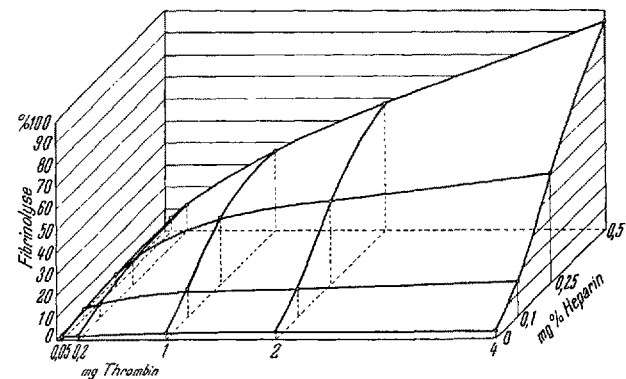


Abb. 3. Fibrinolyse nach vierstündiger Inkubation der Gerinnsel bei 38°C. Einfluss von Heparin und Thrombinüberschuss.

Unsere eigenen sowie andere Versuchsergebnisse¹ lassen uns vermuten, dass das verwendete Thrombin eine zur Fibrinolyse beitragende Komponente enthält, die bei der Gerinnung auf das Fibrin übergeht und diesem so fest anhaftet, dass sie durch einfaches Waschen nicht entfernt werden kann. Die fibrinolytische Kraft dieser Thrombinkomponente wird durch kleine Heparinmengen, die allein unwirksam sind, um ein Mehrfaches gesteigert. In Abbildung 3 ist die Abhängigkeit der Fibrinolyse von der bei der Gerinnung anwesenden Thrombin- und Heparinmenge nochmals zusammenfassend dargestellt.

M. SCHMIDHAUSER-KOPP und E. EICHENBERGER

Wissenschaftliche Forschungsabteilung der Dr.-A.-Wander-AG. Bern, den 2. Juli 1952.

Summary

- (1) The dissolution of a fibrin clot may be hastened to an end value by increasing the quantity of thrombin used for coagulation.
- (2) Increased concentrations of heparin strengthen the fibrinolysis where constant thrombin content is present. The lytic effect is more pronounced by the addition of heparin before than after the coagulation.
- (3) Fibrinolysis is dependent on the excess amount of thrombin used in cases of constant heparin concentration. Heparin acts only in the presence of thrombin or a component of thrombin to disperse fibrin.

¹ M. M. GUEST und A. G. WARE, Science 112, 21 (1950). – S. HUDEMANN, Koll.-Z. 92, 189 (1940). – H. E. SCHULTZE und G. SCHWICK, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 289, 26 (1951).

Über individuelle Bluteigenschaften

Die häufig angewandten Transfusionen und systematischen Untersuchungen bei Frauen, die erythroblastische Kinder gebären, ergaben eine weitgehende serologische Differenzierung des Menschenblutes. Die Mehrzahl dieser Bluteigenschaften charakterisiert grössere oder kleinere Gruppen von Menschen. So tritt RhD (Rh₀) in 85% der weissen Bevölkerung auf, die Eigenschaft Le in 20%, die Eigenschaft Kell in 10% usw. Manche Eigenschaften (oder ihr Mangel) sind aber so selten, dass sie einen fast individuellen Charakter tragen. LEVINE¹ schlägt für solche seltenen Merkmale die Bezeichnung «private» vor. Wir möchten eher die Bezeichnung «individuelle Bluteigenschaften» im Gegensatz zu den gruppenspezifischen Eigenschaften vorschlagen. Bis jetzt wurden folgende Eigenschaften beschrieben (zitiert teilweise nach PH. LEVINE). (Tabelle.)

Der Fall 6 wurde von uns beobachtet. Im Januar 1951 stellte sich zur Untersuchung Frau Z., die viermal abortierte. Die Untersuchung ergab:

Frau Z.: A Rh+ CcDee MN p Le(a-) Kell-,
Herr Z.: B Rh+ CcDee MN p Le(a-) Kell-.

Isoantikörper Anti-B waren in Norm. Das Serum der Patientin agglutinierte nach der Neutralisierung von Anti-B mit Speichel eines Individuums B die Blutkörperchen des Ehegatten. Weitere Untersuchungen ergaben, dass das Serum der Patientin die Blutkörperchen sämtlicher untersuchten Personen mit Ausnahme ihres eigenen Blutes agglutinierte. Wir haben das Blut der

¹ PH. LEVINE, Trans. N. Y. Acad. Sci. [2] 13, Nr. 6 (1951).