

Förderung der gastrointestinalen Resorption von Heparin durch Calciumbindungsmittel

Die normalerweise ausserordentlich geringe gastrointestinale Resorption von Heparin kann durch gleichzeitige Verabreichung von Äthylendiamin-tetraacetat (EDTA) um ein Vielfaches intensiviert werden¹. Auch andere, normalerweise schlecht resorbierbare Substanzen können durch gleichzeitige perorale Verabreichung von EDTA in erheblichen Mengen zur Resorption gebracht werden². Die Vermutung, dass das Calciumbindungsvermögen von EDTA eine Rolle spielt, liegt nahe und wird in beiden zitierten Arbeiten diskutiert. Wir stellten uns die Frage, ob ein analoger, resorptionsfördernder Effekt auch durch andere calciumbindende Substanzen hervorgerufen werden könne. Unsere Untersuchungen erstreckten sich auf Natriumcitrat, Ionenaustauscher, sekundäres Natriumphosphat, Natriummetaphosphat und Natriumsalze von Fettsäuren in Form von Kernseife. Heparin selber besitzt ionenaustauschende Eigenschaften, und es war deshalb daran zu denken, dass auch Heparin allein in entsprechender Dosierung denselben Calciumbindungseffekt und damit dieselbe resorptionsfördernde Wirkung haben könnte. Als Kriterium für die erfolgte Heparinresorption wurde die Aktivierung der Lipoproteinlipase bei der Ratte verwendet.

Versuchsanordnung. Ratten bis 250 g Gewicht beiderlei Geschlechts wurden zur Entleerung des Darmes während 24 h mit Milchdiät vorbehandelt und erhielten dann gleichzeitig mit einer Dosis von 500 mg/kg Heparin die erwähnten Hilfsstoffe in unterschiedlicher Dosierung mit der Schlundsonde. (Die verwendete Heparindosis allein *per os* verabreicht führt nie zu einer Lipoproteinlipase-Aktivierung.) 30 min später wurde eine Blutentnahme ausgeführt und die Aktivität der Lipoproteinlipase im Citratplasma nach einer andernorts beschriebenen³ nephelometrischen Methode bestimmt. Das Resultat wird hierbei als Zunahme der Lichtdurchlässigkeit einer technisch hergestellten Fettemulsion nach 30minütiger Inkubation bei 37°C zusammen mit dem Testplasma angegeben und beträgt bei maximaler Aktivierung, wofür parenterale Heparindosen von 1–2 mg/kg notwendig sind, 40–60%, bei unbehandelten Kontrolltieren 0–5%. Pro Dosis wurden mindestens 4 Versuchstiere eingesetzt.

Resultate. Wir geben die Mittelwerte und die Standardabweichung des Mittelwertes der erzielten Klärfaktoraktivitäten für die einzelnen Dosisgruppen tabellarisch wieder. Erfahrungsgemäss ist die individuelle Ansprechbarkeit der Versuchstiere bei schlechter Aktivierung sehr unterschiedlich und damit die Streuung der Resultate

gross. Trotz der verhältnismässig geringen Zahl von Versuchstieren, welche pro Dosis eingesetzt wurde, geben die Zahlen bei Berücksichtigung der ganzen Dosisreihe ein Bild von der resorptionsfördernden Wirkung der einzelnen Stoffe, das sich etwa wie folgt umschreiben lässt:

EDTA, das zu Vergleichszwecken mituntersucht wurde, ermöglicht schon mit Dosen von 50 mg/kg eine erhebliche, mit Dosen von 100 mg/kg eine vollständige Aktivierung des Klärfaktors und ist damit die wirksamste der geprüften Substanzen.

Natriumcitrat ergibt in Dosen von 500–1000 mg/kg eine maximale Aktivierung. Dosen von 100 mg/kg und weniger sind wirkungslos.

Mit Amberlit®⁴ ist im Dosenbereich von 100–250 mg/kg eine deutliche Resorptionsförderung nachzuweisen, die mit höheren Dosen eher wieder abnimmt. Die erreichbare Aktivität beträgt nur ca. 1/3 der maximalen Aktivierbarkeit.

Permutit®⁵ hat im Dosenbereich von 100–250 mg/kg eine nachweisbare, jedoch sehr geringe resorptionsfördernde Wirkung.

Sekundäres Natriumphosphat bewirkt bereits mit 125 mg/kg eine deutliche Resorptionsförderung. Mit 1000 mg/kg wird eine beachtliche, wenn auch nicht vollständige Aktivierung des Klärfaktors erzielt.

Die Wirkung von Natrium-metaphosphat ist im Dosenbereich von 100–250 mg/kg eher besser, im übrigen ähnlich wie diejenige von sekundärem Natriumphosphat.

Kernseife (Wassergehalt ca. 33%) ergibt schon in Dosen von 50–100 mg/kg deutlich fassbare Wirkungen und führt mit 500 mg/kg zu einer maximalen Aktivierung.

Mit Heparin allein ist in Dosen bis zu 500 mg/kg keine Wirkung zu erzielen. Von 1000 mg/kg an aufwärts erfolgt ein rascher Anstieg der Lipoproteinlipase-Aktivität, und mit 2000 mg/kg wird praktisch eine maximale Aktivierung erreicht. Wird das Heparin mit einer 1%igen Calciumchloridlösung verabreicht, so bleibt die Aktivierung völlig aus.

Diskussion. Die in unseren Versuchen eingesetzten Substanzen waren nach dem Gesichtspunkt der calcium-

¹ E. WINDSOR und G. E. CRONHEIM, *Nature* 190, 283 (1961).
² L. S. SCHANKER und J. M. JOHNSON, *Biochem. Pharmacol.* 8, 421 (1961).
³ K. REBER und A. STUDER, *Arch. exp. Pathol. Pharmacol.* 233, 384 (1958).
⁴ Hersteller: Rohm und Haas, Philadelphia. Ionenaustauscher auf Kunstharz-Basis.
⁵ Hersteller: Permutit AG, Berlin-Duisburg. Es handelt sich um ein synthetisches Aluminiumsilikat (Zeolit).

Lipoproteinlipase-Aktivität (Bestimmungsmethodik vgl. oben) im Plasma von Ratten nach Applikation von 500 mg/kg Heparin *per os* zusammen mit calciumbindenden Stoffen in unterschiedlicher Dosierung bzw. von Heparin allein (letzte Zeile). Es werden die Mittelwerte und die Standardabweichung des Mittelwertes ($\bar{x} \pm \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{(n - 1) \cdot n}}$) für die einzelnen Dosisgruppen angegeben. Bei unbehandelten Kontrolltieren finden sich Werte von ca. 0–5%, nach optimaler Aktivierung von 40–60%

Präparat	Dosis mg/kg 2000	1500	1000	500	200–250	100–125	50–62,5
EDTA Tetra-Na Salz					49 ± 1,5	46 ± 7,6	26 ± 10
Natriumcitrat			58 ± 1,0	39 ± 9,9	15 ± 14,5	1 ± 0,6	3 ± 1,5
Amberlit® IRC 50 (H-Form)			6	8	9	19	14
Amberlit® IRC 50 (Na-Form)			12 ± 2,4	9 ± 2,9	17 ± 12,7	16 ± 10,6	11 ± 4,9
Permutit® RS			4 ± 1,4	2 ± 0,5	11 ± 3,7	9 ± 5,6	
Sek. Natriumphosphat			32 ± 8,4	13 ± 3,7	15 ± 8,0	11 ± 5,7	
Natriummetaphosphat			32 ± 12,8		29 ± 11,3	16 ± 9,7	
Kernseife			48 ± 7,6	47 ± 3,6	37 ± 11,9	9 ± 4,5	9 ± 5,4
Heparin	43 ± 2,0	11 ± 3,1	6 ± 3,1	3 ± 0,4			

bindenden Wirksamkeit ausgelesen worden. Die Tatsache, dass sich alle diese Substanzen als mehr oder weniger aktiv erwiesen, bildet eine Stütze für die eingangs erwähnte Hypothese, wonach eine Bindung des Calciums für die Resorptionsbegünstigung von Heparin massgebend ist.

Die Beobachtung, dass erhebliche quantitative Unterschiede zwischen den geprüften Stoffklassen bestehen, spricht dafür, dass noch andere Faktoren beim Zustandekommen der resorptionsfördernden Wirkung beteiligt sind. Auffallend ist vor allem die Wirkungsabnahme, welche bei einer Dosissteigerung über ein gewisses Optimum hinaus bei den Ionenaustauschern beobachtet wird. Bei der Vielfalt der Vorgänge, die sich an einem Ionenaustauscher abspielen können, kommen mehrere Erklärungsmöglichkeiten für diese Erscheinung in Frage.

Summary. The gastroenteral absorption of heparin in rats as measured by clearing-factor activation is considerably enhanced by simultaneous administration of a number of calcium-binding substances as ethylenediamine-tetraacetate, sodium citrate, ion-exchangers, soaps and phosphates.

Single oral administrations of heparin at the very high dose of 2 g/kg also lead to a maximum activity of the clearing factor.

A binding of calcium ions seems to enable the intestinal absorption of heparin in all these cases.

K. REBER und A. STUDER

Abteilung für experimentelle Medizin der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel (Schweiz), 2. Januar 1963.

Über die Beeinflussung des Serumkomplementes durch Vitamin-K-Mangel beim Küken

In Fortführung früherer Untersuchungen über die Beeinflussung des an der unspezifischen Infektabwehr beteiligten Properdin- und Komplementsystems durch Pantothenäure- und Vitamin A-Mangel bei Ratten^{1,2} prüften wir auch die Wirkung von Vitamin-K-Mangel auf das Serumkomplement beim Küken. In der vorliegenden Arbeit wurden das Gesamtkomplement (C') und seine vier Komponenten (C'1 bis C'4) bestimmt³. Auf eine Bestimmung des Properdins musste verzichtet werden, weil diese aus methodischen Gründen im Küken Serum nicht möglich ist. Diese Beobachtung steht im Einklang mit Befunden aus anderen Instituten³. Sie ist darauf zurückzuführen, dass ein Inhibitor (α_2 -Globulin) im Küken Serum vorliegt, der die direkte Bestimmung des Properdintiters nach den üblichen Methoden verhindert. Das Serumkomplementsystem steht in enger Beziehung zum Properdin, dessen Wirksamkeit gegenüber Bakterien von der Anwesenheit ausreichender Mengen der vier Komponenten des Komplements abhängt. Es verhält sich in mancher Beziehung gleich wie die frühzeitig nach Immunisierung auftretenden hitzlabilen $19S\beta_2$ -Globuline. Im weitesten Sinn kann Properdin als Antikörper aufgefasst werden, der gegen eine vielen bakteriellen Polysacchariden gemeinsame Konfiguration gerichtet ist. Wahrscheinlich markiert es das infektiöse Agens in der Weise, dass das Komplementsystem über die Bildung von Lysolecithin die Cytolyse der Infektionskeime durch-

führen kann⁴. Neueste experimentelle Resultate unterstützen diese Hypothese⁵.

Unsere Versuchsergebnisse (Tabelle I) zeigen, dass Vitamin-K-Mangel beim Küken eine signifikante Erniedrigung des Gesamtkomplementes zur Folge hat ($P < 0,01$). Wie aus den Titerwerten für die vier Komponenten des Komplementes hervorgeht, ist die Abnahme des Gesamtkomplementes in der Hauptsache auf eine Erniedrigung der Komponente C'1 zurückzuführen ($P < 0,01$). Die übrigen Komponenten sind praktisch unbeeinflusst. Perorale Verabreichung von je 50 μ g Vitamin K₁ an drei aufeinanderfolgenden Tagen an die Mangeltiere hatte innerhalb dieses Zeitraumes keinen signifikanten Einfluss auf die Nachsynthese von C'1, während die verlängerte Blutgerinnungszeit der Vitamin-K-Mangelküken wieder vollständig normalisiert wurde (Tabelle II).

Daraus geht hervor, dass die Nachsynthese der Komplementkomponente C'1 beträchtlich langsamer erfolgt, als dies für die Synthese von Blutgerinnungsfaktoren der

¹ O. WISS, F. WEBER und H. ISLIKER, Schweiz. med. Wschr. 87, 1430 (1957).

² H. ISLIKER, F. WEBER und O. WISS, Hoppe-Seylers Z. 320, 126 (1960).

³ E. A. KABAT in *Experimental Immunochemistry* (Ch. C. Thomas, Springfield, Ill. 1961).

⁴ H. ISLIKER, Schweiz. med. Wschr. 88, 127 (1958).

⁵ H. FISCHER und I. HAUPT, Z. Naturforsch. 16b, 321 (1961).

⁶ O. WISS, F. WEBER, R. RÜEGG und O. ISLER, Hoppe-Seylers Z. 314, 245 (1959).

Tabelle I. Komplement-Titer des Serums von normalen und Vitamin-K-Mangelküken

Tiergruppe	Anzahl Küken	Titer* von Gesamtkomplement C'	Komplementkomponenten			
			C'1	C'2	C'3	C'4
Kontrollküken	11	9,24 \pm 1,81	7,57 \pm 2,34	4,23 \pm 0,74	4,94 \pm 2,03 ^b	5,69 \pm 2,18 ^b
Vitamin-K-Mangelküken ^c	9	5,57 \pm 1,48	3,77 \pm 1,44	3,61 \pm 1,19	4,72 \pm 2,76 ^d	6,75 \pm 3,11 ^d
Gleiche Mangeltiere nach Vitamin K ₁ -Verabreichung ^e	8	6,89 \pm 1,91	3,80 \pm 1,40	2,43 \pm 0,54	3,68 \pm 1,05 ^d	5,02 \pm 1,38 ^d

* Mittelwert \pm mittlerer Fehler (2 σ -Grenze). ^b Wegen ungenügender Serummen gen konnte nur von 8 Seren der Titer bestimmt werden.

^c Drei Wochen alte Küken (weisse Leghorn-Rasse), die 5 Wochen lang mit einem Vitamin-K-freien Futter⁶ ernährt wurden. Die Kontrolltiere erhielten Normalfutter⁶. ^d Wegen ungenügender Serummen gen konnte nur von 6 Seren der Titer bestimmt werden. ^e Den Küken wurde an drei aufeinanderfolgenden Tagen je 50 μ g Vitamin K₁ in 0,2 ml Arachisöl mit der Schlundsonde verabreicht.