

## WIRKUNG VON RESACTOR AUF DAS THROMBININAKTIVIERUNGSVERMÖGEN DES BLUTES.

Von

M. GERENDÁS, I. CSEFKÓ u. M. UDVARDY.

(Aus dem Ungarischen Biologischen Forschungsinstitut Tihany a. Balaton und dem Institut für Allgemeine Pathologie der Peter-Pázmány-Universität Budapest.)

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Mai 1948.)

In früheren Versuchen haben wir festgestellt, dass im Blute entstehendes oder ihm zugefügtes Thrombin binnen kurzem sein Gerinnungsvermögen einbüsst. Nach unseren Untersuchungen setzt sich die Erscheinung des Thrombinschwundes aus einer plötzlich eintretenden Adsorption und einer zeitlich progressiv verlaufenden, einen monomolekulären Reaktionstyp befolgenden Inaktivierung zusammen (GERENDÁS 1946, 1948 a). Auch stellten wir fest, dass die Reaktionsgeschwindigkeit der Thrombininaktivierung durch Heparin gesteigert (GERENDÁS, UDVARDY, PÁLOS u. CSEFKÓ 1948), von Histamin und Kinase aber zufolge Bindung des Heparins gehemmt werde (CSEFKÓ, GERENDÁS u. UDVARDY 1948 a., 1948 b). Diese Wirkungen vollziehen sich sowohl *in vitro* wie *in vivo* und spielen nicht allein vom Gesichtspunkte der Blutgerinnung, sondern auch von dem des Speicherungsvermögens des reticuloendothelialen Systems (RES) aus eine wesentliche Rolle (GERENDÁS, CSEFKÓ u. UDVARDY 1948 a).

JANCÓS (1931) wies auf den wichtigen Zusammenhang hin, der zwischen RES-Funktion und der intravasalen Fällung des Fibrinogens besteht. Nach ihm ist Vorbedingung und Einleitung der RES-Speicherung, dass um die zu speichernden Fremdstoffe herum ein feines Fibrinnetz zustande komme, worauf das so entstehende Kolloid-Fibrin gespeichert wird. JANCÓS (1947) wies späterhin auch nach, dass diese Er-

scheinung auf Histaminwirkung hin erfolge, derzufolge sogar das Gefässwandendothel sich zu RES umgestaltet. Diese Beobachtungen wurden auch von TÖRÖ (1942) bestätigt. Aus den Untersuchungen folgt, dass im Blute auf Histaminwirkung hin Fibrin erscheinen müsse, im Prozesse fehlten jedoch die zwischen Histamin und Fibrin fallenden Kettenglieder.

Unsere vorstehenden Versuche ersetzen die fehlenden Daten der Grunderscheinung der Speicherung. Im kreisenden Blute hält das Gleichgewicht von Histamin und Heparin ein Thrombininaktivierungsniveau aufrecht (Wert des Reaktionsgeschwindigkeitsfaktors  $k = ca\ 0,5$ ), dass das Geraten grösserer Thrombinmengen in aktiven Zustand unter normalen Umständen verhindert. Intravenös gegebenes Histamin indessen bindet das freie Heparin des Blutes und verschiebt das Gleichgewicht in Richtung der verminderten Inaktivierung (CSEFKÓ, GERENDÁS u. UDWARDY 1948 a., loc. cit.). Dies ermöglicht ein Steigen des Thrombinspiegels im Blute, was das Zustandekommen der intravasalen Fibrinfällung erklärt. Das gefällte Fibrin bildet sodann mit den zu speichernden Kolloiden einen Komplex, klebt sie an die Endothelwand an, wo ihre Phagocytose beginnt. Darauf kompensiert der Organismus die herabgeminderte Thrombininaktivierung durch auf Heparinmobilisation zurückführbare Inaktivierungssteigerung.

*Auf Grund des Gesagten hat man die Abnahme des Thrombininaktivierungsvermögens des Blutes als Zeichen der Steigerung des Speicherungsvermögens zu betrachten.* Diese Feststellung wird kräftig unterstützt von unseren augenblicklich laufenden Untersuchungen, bei denen wir nach Operationen und Traumen — wie auch in Tierversuchen und im Laufe klinischer Untersuchungen — auf die Wirkung von freiwerdendem Histamin oder histaminähnlichen Stoffen hin eine starke Abnahme des Thrombininaktivierungsvermögens des Blutes wahrnahmen.

So werden denn die Beobachtungen JANCÓS hinsichtlich Speicherung durch die von uns durchgeführten Versuche wohl vervollständigt.

Nachdem wir den Zusammenhang zwischen Speicherungsvermögen und Thrombininaktivierung erkannt hatten, setzten wir uns die weitere Bestätigung der Wechselwirkung zum Ziele. Wir gingen davon aus, dass Stoffe, deren Wirkung sich in Steigerung der RES-Speicherung äussert, die Inaktivierung herabmindern müssten. Deshalb untersuchten wir das Thrombininaktivierungsvermögen des Blutes von mit Resactor behandelten Tieren. Unsere Untersuchungsmethode und Ergebnisse teilen wir nachstehend mit.

## EXPERIMENTELLER TEIL.

Zu unseren Untersuchungen wandten wir Kaninchen unterschiedlichen Gewichts und beiderlei Geschlechts an. Den Resactor (Magyar Gyógyszer A.—G. Budapest) spritzten wir in die linke Ohrvene der Tiere ein; die injizierte Menge betrug 1 ccm pro Körpergewichtskilogramm. Sodann brachten wir an der rechten Ohrvene einen Einschnitt an und entnahmen vor der Eingabe und derselben folgend halbstundenweise je 20 Tropfen Blut, warteten die Gerinnung ab, pressten das Serum aus und untersuchten es nach Zentrifugieren. Zur Untersuchung des Thrombinaktivierungsvermögens benutzten wir folgende Zusammenstellungen:

0,4 ccm Serum  
 0,4 „ Thrombinlösung, 40 E/ccm ..... 1.

Dem Gemisch entnahmen wir nach Hinzufügen von Thrombin nach 1, 3, 5, 7 und 10 Minuten Proben und untersuchten deren Aktivität auf Oxalatplasma:

0,1 ccm Oxalatplasma  
 0,1 „ dest. Wasser  
 0,1 „ Probesaft ..... 2.

An Hand der erhaltenen Gerinnungszeiten bestimmten wir auf der Grundlage eines empirischen Zusammenhanges die jeweilige Thrombinmenge, wobei wir als Thrombineinheit diejenige Thrombinmenge annahmen, die 1 ccm Blut bei Zimmertemperatur (20°C) binnen 1 Minute zum Gerinnen bringt. Auf Grund der so erzielten Daten berechneten wir den Reaktionsgeschwindigkeitsfaktor der Inaktivierung nach der Gleichung  $k = \frac{1}{t} \cdot \log. \text{ nat. } \frac{c_0}{c}$ , worin  $k$  = Reaktionsgeschwindigkeitsfaktor der Thrombinaktivierung,  $t$  = Zeitintervall der Inaktivierung,  $c_0$  = die zu Beginn,  $c$  = die am Ende des Zeitintervalls gemessene Thrombinkonzentration ist. Hinsichtlich der Einzelheiten der Methode und der von GERENDÁS ausgearbeiteten einfachen Bestimmung der Konstante mittels eines graphischen Verfahrens verweisen wir auf unsere methodische Arbeit (GERENDÁS 1948 b).

Unsere an 8 Versuchstieren erzielten Ergebnisse sind auf Abb. 1 veranschaulicht. An jeder Kurve ist deutlich zu beobachten, dass das Inaktivierungsvermögen des Serums nach Resactoreingabe nach etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde zu sinken beginnt und zwischen 1 und 2 Stunden sein Minimum erreicht. Die Kurven fangen dann wieder an zu steigen, und

die Inaktivierung wird nach 3—4 Stunden wieder normal. *Es ist also feststellbar, dass das Thrombininaktivierungsvermögen des Blutes der Tiere nach Resactoreingabe übergangsweise abnimmt.*

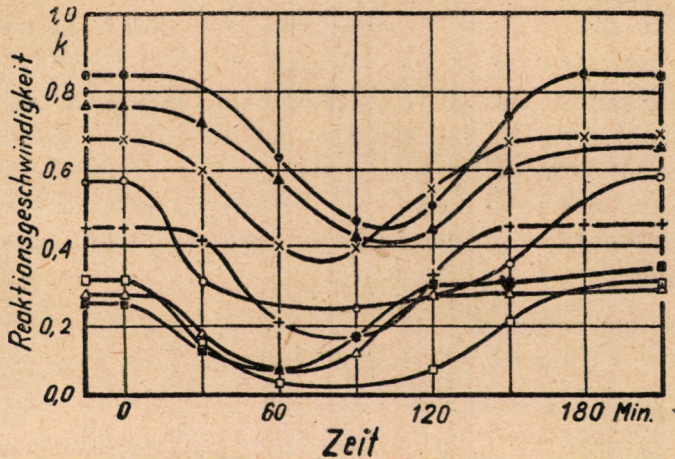


Abb. 1. Thrombininaktivierungsveränderungen von Kaninchenblut auf Wirkung i. v. Resactors hin.

Nach all dem war es eine Frage, ob Resactor im Blute den gleichen Effekt wie Histamin ausübe. Deswegen verglichen wir vor allem die eine in Abb. 1 bereits dargestellte, auf die Wirkung i. v. Resactors hin erhaltene Kurve mit einer solchen (Abb. 2), die wir aus einer unserer über die Rolle des Histamins lautenden Arbeit (CSEFKÓ, GERENDÁS u. UDVARDY 1948 a) übernahmen und sich auf die Wirkung i. v. Histamins bezieht. Aus der Abb. geht hervor, dass die auf Resactoreffekt hin zustande kommende Inaktivierungsveränderung in einer Phase, die auf Histaminwirkung hin entstehende Erscheinung aber in 2 Phasen verläuft. Mit anderen Worten: auf Resactorwirkung hin sieht man lediglich einen Inaktivierungsschwund, der sich nach 3—4 Stunden normalisiert, und danach zeigt sich in der Inaktivierung keine weitere Veränderung. Wie in unserer oben angeführten Arbeit eingehend erörtert, folgt der als primäres Ergebnis des Histamineffektes eintretenden Inaktivierungsreduktion eine sekundäre Kompensationsphase, die die Thrombininaktivierung über den normalen Wert treibt, und die Inaktivierung erreicht erst nach mehreren periodischen Wellen den normalen Spiegel. Dieser Vergleich erlaubt die Feststellung, dass die Wirkung von i. v. Resactor sich grundlegend unterscheidet von der i. v. Histamins.

In unseren weiteren Versuchen untersuchten wir, ob Resactor im Blute einen unmittelbaren chemischen Effekt ausübe, oder ob dazu auch die Mitwirkung des zellulären Systems erforderlich sei.

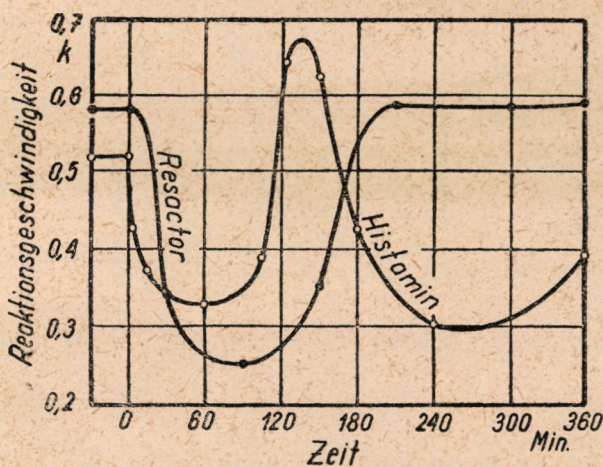


Abb. 2. Vergleich der Wirkungskurven von i. v. Resactor bzw. Histamin.

Dazu stellten wir nachstehende in-vitro-Versuche auf Grund folgenden Fragestellungen an:

1. Ändert Resactor etwas am Wirkungsvermögen von Thrombin? Zu diesem Versuche verwandten wir nachstehende Zusammenstellungen:

- |                                  |    |
|----------------------------------|----|
| 0,5 ccm Thrombinlösung, 40 E/ccm |    |
| 0,3 „ dest. Wasser .....         | 3. |
| 0,3 ccm Thrombinlösung, 40 E/ccm |    |
| 0,3 „ Resactor .....             | 4. |

Die Gerinnungswirkung der den Gemischen entnommenen Proben untersuchten wir an folgenden Testen:

### I.

- |                                  |    |
|----------------------------------|----|
| 0,1 ccm Oxalatplasma (Kaninchen) |    |
| 0,1 „ dest. Wasser               |    |
| 0,1 „ Probesaft Nr. 3 .....      | 5. |
| 13, 13, 13 Sek.                  |    |

## II.

0,1 ccm Oxalatplasma (Kaninchen)	
0,1 „ dest. Wasser	
0,1 „ Probensaft Nr. 4 .....	6.
13, 13, 13 Sek.	

Da wir in beiderlei Zusammenstellungen gleicherweise Gerinnungszeiten von je 13 Sek. erhielten, ergibt sich die Feststellung, dass *Resactor im in-vitro-Versuch keinen Einfluss auf dem Gerinnungseffekt von Thrombin hat.*

2. Beeinflusst Resactor das Thrombinaktivierungsvermögen des Bluteserums?

Die experimentelle Zusammenstellung war folgende:

## I.

0,3 ccm Serum (Kaninchen)	
0,1 „ dest. Wasser	
0,3 „ Thrombinlösung .....	7.

## II.

0,3 ccm Serum (Kaninchen)	
0,1 „ Resactor	
0,3 „ Thrombinlösung .....	8.

Wir untersuchten das Gerinnungsvermögen der den Mischungen entnommenen Proben nach 1, 2, 3 und 5 Minuten Inkubationszeit und erhielten diese Ergebnisse:

Inkubationszeit	1	2	3	5	Minuten
Inaktivierungszeit	21	24	25	31	Sekunden
Inkubationszeit	1	2	3	5	Minuten
Inaktivierungszeit	21	24	27	31	Sekunden

Aus der Identität der für beide Systeme erhaltenen Inaktivierungszeiten lässt sich schliessen, dass Resactor im in-vitro-Versuche die Inaktivierung nicht beeinflusst. Demnach *besitzt Resactor einen unmittelbaren Einfluss weder auf das Wirkungsvermögen des Thrombins noch auf das Inaktivierungssystem.*

## DISKUSSION.

In unseren früheren Mitteilungen (GERENDÁS, CSEFKÓ u. UDVARDY 1948 a und 1948 b, CSEFKÓ, GERENDÁS u. UDVARDY 1948 a) drückten wir auf Grund unserer Versuche die Ansicht aus, dass der Organismus das Erscheinen der für die RES-Verrichtung grundlegend erforderlichen intravasalen Fibrinspuren durch Herabminderung der Thrombininaktivierung gewährleistet. Dadurch vermehrt sich nämlich Thrombin im Blute, was die Fibrinausscheidung herbeiführt. Zugleich stellten wir fest, dass die Untersuchung der Thrombininaktivierung einen guten Einblick gewährte in den Mechanismus dieser im Blute vor sich gehenden Prozesse.

Da Resactor in Tierversuchen (KOLONITS u. ORBÁN 1943, GORECZKY u. CSEFKÓ 1948) und laut klinischen Feststellungen (MARKOVITS u. BOZÓKY 1946, SIMKOVITS 1947, ÉDERVÁRY 1947) seine Wirkung durch Steigerung des Abwehrvermögens des Organismus ausübt, so war zu erwarten, dass auf Resactorwirkung hin Inaktivierungsverminderung eintreten müsse. Unsere Versuche führten in der Tat zu dem Ergebnis, dass auf den Effekt von i. v. Resactor hin im Blute Thrombininaktivierungsabnahme zustande kommt; sie stehen demnach in völligem Einklang mit den bisherigen Feststellungen und weisen auch auf den Mechanismus der Resactorwirkung hin.

Da Resactor im Gegensatz zu Histamin nur in in-vivo-Versuchen wirksam ist, schliessen wir auch darauf, dass zur Ausübung des Effektes das Mitwirken des zellulären Systems erforderlich sei. In diesem Sinne unterstützen unsere Versuche sehr wohl TÖRÖS Auffassung (1944), nach der dieser Stoff für das Leber-RES spezifisch ist und seine Wirkung durch die Kupfferzellen bzw. das Sinusendothel hindurch ausübt.

## ZUSAMMENFASSUNG.

Wir untersuchten in in-vitro- und in-vivo-Versuchen die Wirkung von Resactor auf das Thrombininaktivierungsvermögen des Blutes. Resactor erwies sich in in-vitro-Versuchen als wirkungslos, in an Kaninchen durchgeführten Versuchen aber zog seine i. v. Gabe Herabminderung der Thrombininaktivierung nach sich.

In der Diskussion wird darauf hingewiesen, dass die Steigerung des Speicherungsvermögens des RES auch im Falle von Resactor auf Reduktion des Thrombininaktivierungsvermögens des Blutes beruht, andererseits schliessen wir darauf, dass Resactor seine die Inaktivierung herabmindernde Wirkung durch das zelluläre System hindurch ausübt.

## SCHRIFTTUM.

- CSEFKÓ, I., GERENDÁS, M. und UDWARDY, M. (1948 a): (Unter Druck).  
CSEFKÓ, I., GERENDÁS, M. und UDWARDY, M. (1948 b): *Arch. Biol. Hung.* **18**, 193.  
ÉDERVÁRY, I. (1947): *Praxis Schweiz. Rundsch. f. Med.* **36**, Nr. 30.  
GERENDÁS, M. (1946): *Nature* **157**, 837.  
GERENDÁS, M. (1948 a): *Hung. Acta Physiol.* **1**, 97.  
GERENDÁS, M. (1948 b): *Schweiz. med. Wschr.* (Unter Druck).  
GERENDÁS, M., CSEFKÓ, I. und UDWARDY, M. (1948 a): *Nature* **162**, 257.  
GERENDÁS, M., CSEFKÓ, I. und UDWARDY, M. (1948 b): (Unter Druck).  
GERENDÁS, M., UDAVRDY, M., PÁLOS, Á. L. und CSEFKÓ, I. (1948): (Unter Druck).  
GORECZKY, L. und CSEFKÓ, I. (1948): *Acta Med. Helv.* (Unter Druck).  
JANCSÓ, M. (1931): *Klin. Wschr.* **10**, 537.  
JANCSÓ, M. (1947): *Nature* **158**, 227.  
KOLONITS, B. und ORBÁN, S. (1943): *Orvostud. Közl.* (Ung.) No. 21.  
MARKOVITS, F. und BOZÓKY, L. *Orvosok Lapja* (Ung.) No. 18.  
SIMKOVITS, G. (1947): *Bőrgyógy. és Venerol. Szemle* (Ung.) **1**.  
TÖRŐ, I. (1942): *Zeitschr. f. micr. anat. Forsch.* **52**, 552.  
TÖRŐ, I. (1944): *Jankovich Emlékkönyv* (Ung.) Debrecen.