

Das «Aktivieren» von Blutserum.

Von

C. A. Pekelharing.

(Der Redaktion zugegangen am 6. Mai 1913.)

Vor fünf Jahren habe ich einige Beobachtungen veröffentlicht,¹⁾ aus welchen mir hervorzugehen schien, daß man keinen Grund hat, mit Morawitz im Blutserum, neben dem Fibrinferment, einen von ihm β -Proferment oder Metathrombin genannten Stoff anzunehmen. Wenn das Vermögen des Serums, Gerinnung von Fibrinogen hervorzurufen, durch Stehen an der Luft, zumal bei Körpertemperatur, geschwächt, oder sogar verloren gegangen ist, so kann es, wie A. Schmidt fand, durch Behandlung des Serums mit Alkali und nachfolgender Neutralisation wieder hergestellt werden. Ich glaubte aus meinen Versuchen folgern zu dürfen, daß im Serum beim Aufbewahren, am schnellsten bei Körperwärme, Stoffe entstehen, welche der Gerinnung entgegenwirken, ohne das Enzym selbst anzugreifen. Durch Zusatz von Alkali, oder auch von Säure, werden diese Stoffe, meiner Ansicht nach, unwirksam gemacht, sodaß jetzt, nach dem Neutralisieren der Lösung, das Enzym sich wieder geltend machen kann. Das Enzym wird aber auch von Alkali geschädigt, sodaß das «Aktivieren» nicht, so oft man das wünscht, mit gutem Erfolg wiederholt werden kann. Die Auffassung von Morawitz, nach welcher das Thrombin beim Aufbewahren des Serums verschwindet und in ein unwirksames β -Proferment oder Metathrombin übergeht, welches durch Alkali, nicht aber durch Kalk aktiviert werden kann, schien mir von meinen Versuchsergebnissen widerlegt zu werden.

¹⁾ Festschrift, H. J. Hamburger gewidmet, Biochem. Zeitschrift, Bd. 11, S. 1.

Eine neuerdings veröffentlichte Arbeit von Landsberg¹⁾ veranlaßt mich, auf meine oben erwähnte, vom Autor unberücksichtigt gelassene Mitteilung hinzuweisen.

Landsberg hat eine Reihe von Bestimmungen der Gerinnungsgeschwindigkeit von Fibrinogen in verschiedenen Lösungen und bei verschiedenen Temperaturen gemacht und kommt zu dem Schluß, daß Erhöhung der Temperatur einerseits die Wirkung des Thrombins auf Fibrinogen begünstigt, andererseits aber die Gerinnung mehr und mehr hemmt. Diese Hemmung beruht, nach Landsberg, darauf, daß das im Anfang frei in der Lösung vorhandene Thrombin von Eiweißkörpern des Serums adsorbiert wird, daß also das Morawitzsche Metathrombin eine Adsorptionsverbindung ist von Thrombin und Eiweiß.

Die für diese Meinung angeführten Gründe sind, meiner Ansicht nach, außerordentlich schwach. Ich brauche darauf aber nicht einzugehen, da schon Beobachtungen vorliegen, welche beweisen, daß die Hemmung der Gerinnung, in den hier in Betracht kommenden Fällen, einer Bindung von Thrombin an Eiweiß nicht zugeschrieben werden kann.

Wie schon lange bekannt ist — Landsberg selbst führt einen eigenen Versuch zur Bestätigung an — ist altes, geschwächtes Serum imstande, die Wirkung von dazugefügtem Thrombin zu unterdrücken. In meiner oben erwähnten Arbeit habe ich ein Paar Versuche mitgeteilt, welche das (ein wenig mehr detailliert) zeigen.

Frisches Serum wurde mit 18 Stunden lang auf 38° C. erwärmtem und dadurch stark geschwächtem, jedoch nicht ganz unwirksam gemachtem Serum vermischt. Die Wirksamkeit des frischen Serums wurde dadurch auf nahezu die Hälfte verringert. Wenn nun die Schwächung des erwärmten Serums von einer Bindung des größten Teils des Thrombins an Eiweiß verursacht wäre, so würde dieses Serum, das noch immer, wenn auch sehr langsam, Gerinnung hervorrief, nicht imstande gewesen sein, die Wirkung des Thrombins des frischen Serums

¹⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. 50, S. 245.

zu hemmen. Das Eiweiß hatte ja nicht einmal alles Thrombin des eigenen Serums binden können.

In einem anderen, ebenfalls dort erwähnten Versuch wurde durch Erwärmung auf 38 C. geschwächtes Serum, welches mit Schmidtschem Ferment und Fibrinogen vermischt, die Gerinnung völlig aufhob, mit Alkali behandelt und dann neutralisiert. Es zeigte sich nicht aktiviert; war aber für das Schmidtsche Ferment ebenso unschädlich geworden als eine entsprechende Menge $\frac{n}{8}$ -NaCl. Allerdings löste sich, wie ich das öfters beobachtete, auch in diesem Fall das erst als feste Gallerte ausgeschiedene Fibrin nach mehrstündiger Digestion wieder auf.

Solche Beobachtungen sind mit der Auffassung, daß Alkali eine Adsorptionsverbindung von Thrombin und Eiweiß sprengt, nicht in Einklang zu bringen, sehr gut verständlich aber, wenn man annimmt, daß unter dem Einfluß der Erwärmung Stoffe gebildet werden, welche die Gerinnung des Fibrinogens hindern, und dabei in Betracht zieht, daß die Erwärmung auf das Thrombin einen schädlichen Einfluß hat. War diese Schädigung beträchtlich, dann gewinnt das Serum nach Zusatz von Alkali — wodurch der Rest des Enzyms zerstört wird — das fibrinoplastische Vermögen nicht wieder, wohl aber werden die gerinnungswidrigen Stoffe, zwar, wie aus der Fibrinolyse hervorgeht, nicht vollständig, aber doch zum größten Teil unschädlich gemacht.

Ich könnte mehrere derartige Versuche, welche übereinstimmende Ergebnisse lieferten, anführen, sehe aber davon ab, da sie keine neuen Gesichtspunkte liefern.

Ich will aber jetzt noch ein paar andere Beobachtungen mitteilen, welche ich in meinen früheren «Bemerkungen» noch nicht erwähnt habe.

Wie ich damals sagte, habe ich auf verschiedene Weisen versucht, die gerinnungshemmenden Stoffe aus auf Körpertemperatur erwärmtem Serum zu isolieren, ohne dabei aber meinen Zweck zu erreichen. Ich hoffte diese Untersuchungen fortsetzen zu können, bin aber durch anderweitige Arbeit davon abgehalten worden.

10. Mai 1907.

Von 3 Stunden lang auf 38° C. erwärmtem Pferdeserum wird

- A. 5 ccm vermischt mit 2 ccm $\frac{n}{4}$ -NaHO, nach 35 Minuten neutralisiert mit 2 ccm $\frac{n}{4}$ -HCl,
 B. 5 ccm mit 2 ccm $\frac{n}{4}$ -HCl, nach 35 Min. neutralisiert mit 2 ccm $\frac{n}{4}$ -NaHO,
 C. 5 » » 4 » $\frac{n}{8}$ -NaCl.

2 ccm von A mit 3 ccm Fibrinogen gerinnt in 9 Min.

2 » » B » 3 » » » 9 »

2 » » C » 3 » » » 30 »

Ein Teil des erwärmten, nicht aktivierten Serums wird 22 Stunden gegen strömendes Wasser dialysiert.

2 ccm des dialysierten Serums mit 3 ccm Fibrinogen gerinnt in 15 Min.

Vom dialysierten Serum vermischt:

- A. 5 ccm mit 2 ccm $\frac{n}{4}$ -NaHO, nach 30 Min. mit 2 ccm $\frac{n}{4}$ -HCl,
 B. 5 » » 2 » $\frac{n}{4}$ -HCl, » 30 » » 2 » $\frac{n}{4}$ -NaHO,
 C. 5 » » 4 » $\frac{n}{8}$ -NaCl.

2 ccm von A mit 3 ccm Fibrinogen gerinnt in 8 Min.

2 » » B » 3 » » » 12 »

2 » » C » 3 » » » 15 »

Die, wie ich früher mitteilte, öfters, wenn auch nicht ohne Ausnahme von mir gemachte Beobachtung einer «Aktivierung» von geschwächtem Serum mittels Dialyse, wäre in dem Gedankengang von Morawitz und Landsberg durch die Hypothese zu erklären, daß auch durch Dialyse die Thrombin-Eiweißverbindung gesprengt würde, während diese Verbindung eben beim Stehen der ein wenig salzreicheren Lösung gebildet werden soll. Viel plausibeler scheint mir die Annahme, daß durch die Dialyse gerinnungswidrige Stoffe entfernt werden, von welchen man keinen Grund hat zu glauben, daß sie durch das Festlegen von Thrombin der Gerinnung entgegenwirken.

Diese Annahme wird auch gestützt durch den Befund, daß Alkohol aus geschwächtem Serum Stoffe aufnehmen kann, welche die Gerinnung von Fibrinogen hindern und wohl ebensowenig als die dialysierbaren Stoffe als von eiweißartiger Natur zu betrachten sind. Auch das habe ich mehrmals beobachtet. Als Beispiel führe ich nur einen einzelnen Versuch, vom 17. Mai 1907, an.

100 ccm geschwächtes, noch gut aktivierbares Pferdeserum wird vermischt mit 400 ccm 95%igem Alkohol und filtriert. Das Filtrat wird bei etwa 45° C. bis zu 60 ccm ein-

geengt, zur Entfernung von lipoiden Stoffen mit Äther ausgeschüttelt, dann bis zu 10 ccm eingedampft, mit 90 ccm 98%igem Alkohol vermischt, vom ausgeschiedenen Salz abfiltriert und durch vorsichtige Erwärmung, unter Zusatz von Wasser, vom Alkohol befreit.

2,5 ccm dieser Lösung mit 2 ccm Serum und 3 ccm Fibrinogen gerinnt nach 5 Stunden unvollständig.

2,5 ccm Wasser mit 2 ccm desselben Serums und 3 ccm Fibrinogen gerinnt in 4 Minuten.

Schließlich erlaube ich mir noch auf die, mit keinem Wort motivierte, Behauptung von Landsberg hinzuweisen, daß «die mit Lauge und Säure vorbehandelten Eiweißkörper nicht imstande sind, das Thrombin zu binden.»¹⁾ Ich habe mitgeteilt und durch einen Versuch belegt, welcher, wie ich glaube, an Deutlichkeit nichts zu wünschen überläßt, daß «aktiviertes» Serum beim Stehen noch schneller seine Wirksamkeit verliert als nicht mit Alkali vorbehandeltes Serum.

¹⁾ l. c., S. 270.