

Das fibrinolytische Fermentsystem*

Von EGON E. RICKLI

Theodor-Kocher-Institut und Organisch-Chemisches Institut der Universität Bern

Das fibrinolytische System ist ein Mechanismus, ein Ineinandergreifen enzymatischer Vorgänge, mit dem Endziel der Fibrinolyse, mit andern Worten Auflösen und Liquefaktion von Fibringerinnseln. Dieser Vorgang ist somit demjenigen der Gerinnung entgegengesetzt. Wenn man von Fibrinolyse sprach, so sah man darin meistens nicht bloß das Gegenstück zur Gerinnung, sondern meinte auch etwas Gegensätzliches und etwas von der Gerinnung grundlegend Verschiedenes. Diese Ansicht ist in neuerer Zeit geändert worden, da man mit zunehmenden Erkenntnissen zwischen den beiden Systemen Parallelen und Berührungspunkte gefunden hat, die nun Fibrinolyse und Gerinnung eng miteinander verbunden zeigen. Und wenn der englische Wissenschaftler FEARNLEY sagt, daß sich die beiden Systeme so verwandt seien wie die Prozesse des Ein- und Ausatmens, dann scheint dieser Vergleich ins Schwarze zu treffen. Es wäre deshalb angezeigt, Fibrinolyse und Gerinnung als zwei Gesichtspunkte eines einzigen Systems zu betrachten.

Diese Auffassung hat sich erst in letzter Zeit durchzusetzen begonnen. Daß die Entwicklung der beiden Gebiete nicht Hand in Hand erfolgte, davon zeugt der Stand der heutigen Erkenntnisse. Während man bei der Gerinnung bereits über ein ansehnliches Wissen verfügt, so ist dagegen die Erforschung der Fibrinolyse kaum über das Anfangsstadium hinausgekommen. Dieser entwicklungsmäßige Unterschied mag einen Grund auch in der Natur der Sache selber haben. Das Gerinnungssystem verfügt ja z. B. im Phänomen des Wundverschlusses über eine sehr augenfällige Dokumentierung seiner Existenz. Man wird deshalb mit der Annahme kaum fehlgehen, daß gerade das Gerinnen von Blut einer der ersten physiologischen Vorgänge war, der vom Menschen beobachtet wurde. Anders verhält es sich mit der Fibrinolyse. Sie ist ein Vorgang, den man, mit Ausnahme pathologischer Fälle, erst erkennt, wenn man mit geeigneten Methoden danach sucht.

Um kurz den historischen Hintergrund zu streifen, sei erwähnt, daß im 18. Jahrhundert, 1769 und 1794 zuerst MORCAGNI¹ und dann JOHN HUNTER², die Feststellung machten, daß nach plötzlichem Todesfall das Leichenblut flüssig bleibt. Das 19. Jahrhundert brachte

dann die eigentliche Entdeckung der Fibrinolyse, mit den Beobachtungen³, daß sich Fibringerinnsel unter bestimmten Bedingungen spontan wieder auflösen. 1906 erklärte MORAWITZ⁴ die Fluidität des Leichenblutes mit der Tatsache, daß solches Blut kein Fibrinogen mehr enthält, und postulierte, daß dieser Umstand auf die lytische Wirkung eines Enzyms zurückzuführen sei. Die Entdeckung von TILLET und GARNER⁵ im Jahr 1933, daß Streptokokkenfiltrate die Lyse von humanen Fibringerinnseln stark beschleunigten, gab der Erforschung der Fibrinolyse Aufschwung. Ungefähr ein Jahrzehnt später wurde dann das Plasminogen-Plasmin-System durch eine ganze Reihe von Forschern erkannt. Dabei war die Feststellung von Wichtigkeit, daß dieses proteolytische System mit dem Trypsinogen-Trypsin-System nicht identisch ist.

Sehr stark vereinfacht läßt sich das fibrinolytische Enzymsystem wie folgt wiedergeben:

Aktivierungssystem + Plasminogen → Plasmin

Plasmin + Fibrin → lösliche Abbauprodukte

In den vergangenen Jahren wurde dieses Schema beträchtlich erweitert und ergänzt. Nach einem Vorschlag nach von KAULLA⁶ hat man sich das humane fibrinolytische System wie folgt vorzustellen (Abb. 1).

Das eigentliche Kernstück ist die Aktivierung von Plasminogen zu Plasmin. Das Plasmin kommt ja im Blut nicht als aktives Enzym vor, sondern vielmehr in der Form seines inaktiven Vorläufers, dem Plasminogen, und muß deshalb bei Bedarf in einem Aktivierungsvorgang gebildet werden. Unter Aktivatoren versteht man Substanzen von endogenem oder exogenem Ursprung, die befähigt sind, Plasminogen zu Plasmin zu aktivieren. Einige dieser Substanzen wirken direkt auf das Plasminogen ein, in einem sogenannten direkten Aktivierungsvorgang, während andere indirekt aktivierend sind, indem zuerst als Zwischenstufe ein Proaktivator-Aktivator-System in Gang gesetzt werden muß, welches dann seinerseits das Plasminogen aktiviert. Die indirekten Aktivatoren werden auch mit dem Begriff Lysokinasen bezeichnet. Ein exogener und somit nicht physiologischer Aktivator ist die Streptokinase, ein biologisch aktives Stoffwechselprodukt von *Streptococcus Haemolyticus*. Die endogenen, physiologischen Aktivatoren sind im Organismus weit verbreitet und wurden u. a. im Blut, in Gewebezellen und in verschie-

* Vortrag, gehalten am 14. Dezember 1965 im biochemischen Seminar der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Bern.

denen Körperflüssigkeiten nachgewiesen. Der Aktivator, der im Blut vorkommt und der für die spontane fibrinolytische Aktivität verantwortlich ist, wird Blutaktivator genannt. Unter den sogenannten zellgebundenen Aktivatoren gibt es solche, die direkt auf das Plasminogen wirken, das sind die eigentlichen Gewebeaktivatoren (Fibrinokinasen), während Gewebekinasen, ähnlich wie Streptokinase ein Proaktivator-Aktivator-System benötigt. Von den Aktivatoren, die in den Körperflüssigkeiten vorkommen, ist die Urokinase, die aus Urin isoliert wird, am besten bekannt. Daneben hat man u.a. auch in Milch, Tränen und Speichel Aktivatoraktivität festgestellt. Am eingehendsten wurden bis jetzt Urokinase und Streptokinase untersucht, während die Wirkungsweise der restlichen Aktivatoren noch recht unklar ist. Eine Schuld an dieser Unklarheit mag zum Teil dem Proaktivator-Konzept selber zufallen, das ja weitgehend hypothetisch ist. Eine eindeutige Klassierung der aktivierenden Substanzen in Aktivatoren (aktivieren Plasminogen), Kinasen (aktivieren Proaktivator) und Proteasen (greifen Fibrin direkt an) ist erst möglich, wenn Natur und Existenz des Proaktivators aufgeklärt bzw. bewiesen sind. Erschwerend wirkt sich zudem eine inkonsequent gehandhabte Terminologie aus. So war es bisher üblich, den Begriff Kinasen auch für Aktivatoren (Urokinase, Fibrinokinasen) zu verwenden, die sich grundsätzlich von der Wirkungsweise einer Kinase (Streptokinase) unterscheiden, indem sie Aktivatoren des Plasminogens und nicht des Proaktivators sind.

Es ist nicht möglich, hier bis in die letzten Einzelheiten vorzudringen. In den folgenden Ausführungen werden wir uns bei den Aktivatoren auf einige markante Beispiele beschränken, nämlich auf Urokinase, Gewebeaktivator, Blutaktivator und Streptokinase.

Bei der Hemmung unterscheidet man ebenfalls zwischen einem indirekten und einem direkten Vorgang. Eine indirekte Hemmung betrifft das Aktivierungssystem des Plasminogens, während die direkte Hemmung an der aktiven Enzymkomponente, dem Plasmin selber, angreift. Inhibitoren der indirekten Hemmung

sind z.B. Ca^{++} , ϵ -Aminocapronsäure (bereits in hoher Verdünnung) und eventuell auch ein Antiaktivator, der im Blut vorkommt. Direkte Hemmung erfolgt ebenfalls durch ϵ -Aminocapronsäure (die Minimalkonzentration liegt bei 0,06-M), dann auch durch Antiplasmin und durch eine Anzahl niedermolekulare Stoffe.

Bevor wir uns mit den Aktivierungsmechanismen befassen, ist es notwendig, daß wir uns hier einmal die Eigenschaften des Plasminogens und des Plasmins vor Augen führen.

Plasminogen

Plasminogen ist ein Glyco-euglobulin, dessen Carbohydratgehalt nach neuesten Angaben 1,45%⁷ beträgt. Gemäß der elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit gehört Plasminogen zur Gruppe der β -Globuline. Die Sedimentationskonstante $S_{20,w}$ wird mit Werten zwischen 4,13⁷ und 4,30 S^{8,9} angegeben. Die Werte für die Diffusionskonstante $D_{20,w}$ variieren sehr beträchtlich, nämlich zwischen 2,92⁸ und $4,31 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ sec}^{-1}$ ⁹ (Mittel 3,96⁷); das partielle spezifische Volumen v ist 0,72 $\text{ml} \cdot \text{g}^{-1}$ ⁷ und der isoelektrische Punkt 5,6⁸. Die Werte des Molekulargewichtes gehen stark auseinander. In der älteren Literatur, d.h. um 1958, wird ein Wert von 143 000⁸ angegeben, während neuere Bestimmungen Werte zwischen 84 000⁹ und 90 000⁷ ergaben. Diesen letzteren Werten ist wohl eher Vertrauen zu schenken, da in der Zwischenzeit die Darstellungsmethoden verbessert wurden und heute reinere Präparate zur Verfügung stehen als noch vor ein paar Jahren. Plasminogen ist am stabilsten im sauren pH-Gebiet und kann bei pH 4 und 60° sogar pasteurisiert werden. Die Löslichkeit ist zwischen pH 5 und 9 sehr beschränkt. Löslichkeitserhöhend und zugleich stabilisierend wirken z.B. ϵ -Aminocapronsäure, Lysin und Glycerin. Bei neutralem pH erfolgt eine langsame autokatalytische Aktivierung (Spurenverunreinigungen von Plasmin).

Als Ausgangsmaterial für die Isolierung von Plasminogen dient meistens Cohns Fraktion III. Die Methoden, die bei der Reinigung Anwendung finden, sind u.a. Fällen unter verschiedenen Bedingungen, Säulenchromatographie und Gelfiltration. Eine Methode hat sich besonders eingebürgert, nämlich die Präparation nach KLINE¹⁰, die neben andern Schritten auch die Behandlung bei stark saurem pH zur Denaturierung von Be-

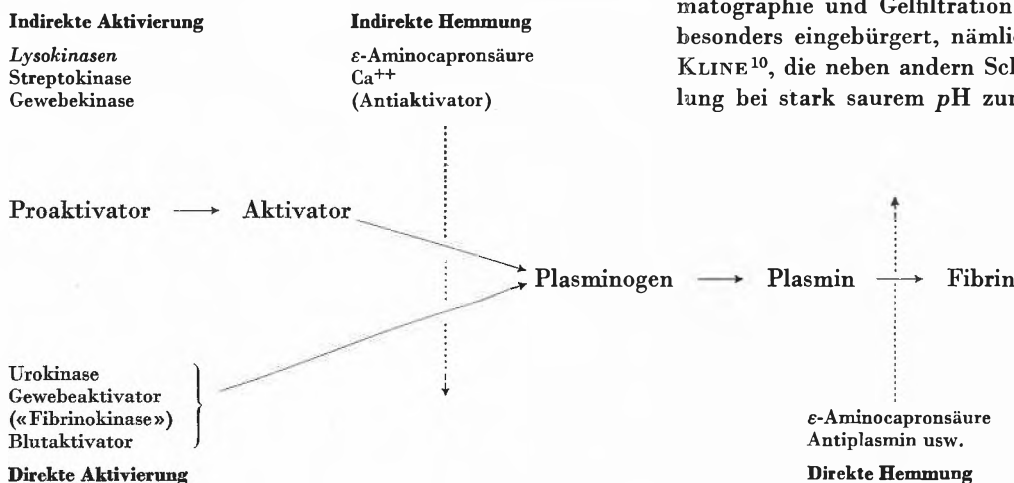


Abb. 1. Aktivierung und Hemmung des fibrinolytischen Systems (nach G. R. FEARNEY, *Fibrinolysis*, E. Arnold, London 1965)

gleitproteinen einschließt. Die Literatur weist eine beträchtliche Zahl von Präparationsvorschlägen und methodischen Verbesserungen auf. Der Grund für diese Anstrengungen sind die außerordentlichen Schwierigkeiten, die sich bis heute der Reindarstellung dieses Proteins in den Weg gestellt haben. Die erhebliche Streuung bei einigen der physikalisch-chemischen Parameter ist vermutlich auf unterschiedliche Reinheitsgrade der untersuchten Präparate zurückzuführen.

Eine Tatsache soll hier noch erwähnt werden, auf die SLOTTA und GONZALES¹¹ hinwiesen. Diese Forscher fanden nämlich, daß sich das Euglobulin-Plasminogen durch kurzfristiges Ansäuern auf pH 2 vollständig in Pseudoglobulin-Plasminogen umwandelt. Die Pseudoglobulinform unterscheidet sich vom Euglobulin durch verringerte Löslichkeit und Aggregatbildung bei höherer Proteinkonzentration. Aktiviert man ferner die beiden Formen zu Plasmin, so ist die fibrinolytische Aktivität wohl identisch, hingegen ist die caseinolytische Aktivität der Pseudoglobulinform bloß 60% des Euglobulins. Physikalisch-chemische Untersuchungen zeigten, daß das native Plasminogen eine labile Form darstellt, die sich leicht in das stabilere Pseudoglobulin umwandelt. Beide Formen haben dasselbe Molekulargewicht, unterscheiden sich aber in ihrer Molekülform. Diese Transformation, bei der übrigens sämtliche Peptidbindungen intakt bleiben, muß man sich offenbar als ein teilweises Öffnen oder Aufklappen der Struktur vorstellen, wobei sich Gestalt und Größe des Moleküls ändern. Übrigens haben RYBAK und PETAKOVA¹² auch zwei verschiedene Plasminogene, A und B, immunoelektrophoretisch nachgewiesen. Ob diese Plasminogene A und B mit den beiden Globulinformen identisch sind, ist noch nicht abgeklärt. Nach diesen Feststellungen ist zu befürchten, daß sich die Umwandlung Euglobulin-Pseudoglobulin auch während der Präparation des Proteins, besonders bei der KLINEschen Methode, bis zu einem gewissen Grad vollzieht. Es wäre wohl einer Untersuchung wert, ob diesen beiden Formen funktionell besondere Bedeutung zukommt.

Plasmin

Wie bereits erwähnt, stellt Plasmin die aus Plasminogen gebildete aktive Enzymform dar, wobei die Aktivierung durch eine ganze Reihe von Substanzen bewerkstelligt werden kann. In Ergänzung zur Liste der Aktivatoren sei nachgeholt, daß ebenfalls Trypsin direkt aktivierend wirkt und gelegentlich für *In-vitro*-Versuche verwendet wird.

Daten über Plasmin sind nur in beschränktem Umfang erhältlich. Allgemein ist ersichtlich, daß die Werte variieren, und zwar je nachdem, was für ein Aktivator für die Aktivierung verwendet wurde. Die neuesten Angaben für die Sedimentationskonstante von mit Streptokinase aktiviertem Plasmin sind 4,81 S⁷ und für mit Urokinase aktiviertes Material 5,06 S⁷; die entsprechenden Diffusionskonstanten betragen 4,77 und 4,91⁷.

1958 wurde die Sedimentationskonstante von SHERRYS Gruppe⁸ mit 3,56 S angegeben, also auch hier wieder ein beträchtlicher Unterschied. Das Molekulargewicht beträgt nach letzten Messungen 87 000 bis 89 000⁷. Die älteren Werte sind, ähnlich wie beim Plasminogen, entsprechend höher und liegen, je nach Aktivator, zwischen 108 000 und 127 000⁸. Auch hier ist die Diskrepanz wahrscheinlich durch unterschiedliche Reinheitsgrade der Präparate zu erklären. Der isoelektrische Punkt wird mit 6,2 angegeben⁸.

Plasmin wird präparativ meistens durch Aktivieren von Plasminogen hergestellt. Es ist wesentlich labiler als Plasminogen. Bei neutralem pH findet Eigenhydrolyse statt.

Bis zur Stunde weiß man noch nicht sicher, was während des Aktivierungsvorganges genau passiert. Die Veränderung des Reibungskoeffizienten, f/f_0 , der von 1,82 für Plasminogen auf 1,5 für Plasmin abnimmt⁷, besagt bloß, daß das enzymatisch aktive Molekül eine kompaktere Struktur aufweist. Über analoge Feststellungen verfügt man z.B. auch im Falle der Chymotrypsinaktivierung. Derartige strukturelle Veränderungen setzen zumindest das Aufbrechen von Wasserstoffbrücken, wenn nicht sogar eine selektive Spaltung der Polypeptidkette voraus. Anzeichen für letzteres sind vorhanden. 1958 meldete SHERRYS Gruppe⁸, daß während der Aktivierung die Abnahme des Molekulargewichtes genau der Menge von in Trichloressigsäure löslichen Spaltprodukten entspreche. Man fand damals Molekulargewichtsabnahmen von 16 000 bis 35 000, also im Maximum eine 25prozentige Verringerung. Auf Grund neuester Untersuchungen hingegen kommt man zum Schluß, daß die Menge der Spaltprodukte weit geringer sein muß. Da ja die Molekulargewichte von Plasminogen und Plasmin als sehr ähnlich angegeben werden, kann es sich bloß um niedermolekulares Peptidmaterial handeln, das herausgespaltet wird. Die Aminosäureanalyse⁷ zeigt ferner, daß zwischen Plasminogen und Plasmin keine drastischen Unterschiede bestehen. Sie beziehen sich bloß auf den Gehalt einiger weniger Aminosäuren, wie Valin, Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Serin und Threonin, mit Abweichungen zwischen 8 und 15%.

Wertvolle Hinweise über den Aktivierungsvorgang würde beispielsweise die N-terminale Aminosäureanalyse liefern, doch wurde sie, wenigstens an humanem Plasmin, noch nicht ausgeführt. Man besitzt einzig einige Anhaltspunkte für bovines Plasmin¹³. Während das bovine Plasminogen bloß eine N-terminale Aminosäure, nämlich Asparaginsäure, besitzt, so treten im Plasmin deren vier auf: Methionin, Valin, Leucin (oder Isoleucin) und Arginin. Die Polypeptidkette des Plasminogens wird somit in vier Ketten aufgespalten, die das Plasminmolekül ausmachen, unter gleichzeitiger Abspaltung eines N-terminalen Peptids (oder Aminosäure), da ja Asparaginsäure als N-Terminus im Plasmin fehlt.

Die Tatsache, daß sich ein Molekül bei seiner Entstehung in zwei oder mehr Ketten aufspaltet, birgt in

sich die prinzipielle Möglichkeit der Hybridbildung bei der Rekombination dieser Ketten. Bisher wurde aber Plasmin in dieser Richtung praktisch nicht untersucht. Man hat einzig Kenntnis von einer Arbeit von MARKUS und AMBRUS¹⁴, die nach Aktivierung mit Streptokinase drei verschiedene Plasmintypen, α -, β - und γ -Plasmin, beobachtet haben, die sich vor allem in bezug auf ihre enzymatische Aktivität unterscheiden. Es ist aber auch hier nicht abgeklärt, welches Phänomen dieser Beobachtung zugrunde liegt.

Die Substratspezifität des Plasmins ist nicht bloß auf Fibrin beschränkt. Man kennt ein ganzes Spektrum von Proteinen, die von Plasmin proteolytisch abgebaut werden, so z. B. Casein, Gelatine, β -Lactoglobulin, dann auch Fibrinogen, gewisse Komponenten des Gerinnungssystems und andere mehr. Neben proteolytischer Aktivität besitzt Plasmin auch Esteraseaktivität, die sich auf die Spaltung basischer Aminosäureester, wie z. B. Tosylargininmethylester (TAME), Benzoylargininmethylester (BAME) und Lysinmethylester (LMe) beschränkt.

Plasmin ist in manchen Belangen dem Trypsin verwandt, besonders was pH-Optima, Substratspezifität und Inhibitoren anbetrifft. Kinetische Studien haben denn auch zum Schluß geführt, daß das aktive Zentrum des Plasmins funktionsmäßig mit demjenigen des Trypsins identisch, oder doch zumindest sehr ähnlich sei¹⁵. Man nimmt ebenfalls einen aktiven Serin-Rest an, umgeben von der bekannten Sequenz: -Gly-Asp-Ser-Gly-, die man ja bereits von andern Enzymen her kennt. Die Tatsache, daß Plasmin durch Organophosphate, wie Diisopropylfluorophosphat (DFP), gehemmt wird¹⁶, allerdings nicht so stark wie Trypsin, ist ein weiterer Hinweis auf einen aktiven Serin-Rest im Wirkungszentrum.

Plasmininhibitoren

Man kennt eine Anzahl von endogenen und exogenen Stoffen, synthetischer Natur oder aus dem Pflanzen- und Tierreich, die Inhibitorwirkung besitzen; dabei gibt es solche, die ebenfalls Trypsin hemmen. Neben dem schon erwähnten DFP zeigen auch einige Schwermetalle Hemmwirkung. Ein wichtiger und sogar in der Klinik verwendeter Inhibitor ist die ϵ -Aminocaproinsäure. In Konzentrationen von 0,06-M an aufwärts hemmt sie die proteolytische Aktivität des Plasmins nicht kompetitiv¹⁷. Gegenüber der Esteraseaktivität besitzt sie aber bloß eine schwache, kompetitive Hemmwirkung¹⁸. Im Pflanzenreich sind Inhibitoren in verschiedenen Bohnenarten gefunden worden (Limabohne, Sojabohnen-Trypsin-inhibitor), und im Tierreich ist es beispielsweise der Pankreas-Trypsin-inhibitor. Von Interesse sind natürlich die physiologischen Inhibitoren, von denen wohl die sogenannten Antiplasmin¹⁹ des Plasmas die bekanntesten sind. Besonders zwei sind recht gut beschrieben, das eine ist ein α_1 -Globulin vom Molekulargewicht 54000 und das andere ein α_2 -Globulin vom Molekulargewicht 800000²⁰. Beide kommen in Cohns Fraktion IV vor, sind wärmelabil und werden durch Alkohol selbst in der

Kälte teilweise denaturiert²¹. Der eine Inhibitor, das α_1 -Globulin, ist unter dem Namen Antitrypsin besser bekannt, da es bevorzugt mit Trypsin reagiert, dann aber auch mit Plasmin. Der α_1 -Inhibitor ist ein langsam wirkender, sogenannter Progressivinhibitor, der mit Trypsin und Plasmin irreversible, nicht mehr dissoziierbare Komplexe bildet. Der α_2 -Inhibitor, das eigentliche Antiplasmin, ist ein sehr rasch wirkender Hemmer. Seine augenblickliche Hemmwirkung hat ihm denn auch den Namen «immediate inhibitor» eingetragen. Er ist insofern noch eine bemerkenswerte Substanz, indem er auch Thrombin binden soll²². Damit ergibt sich die interessante Tatsache, daß zwei Enzyme aus verschiedenen Systemen um ein und denselben Hemmstoff konkurrieren. So wird dieser Inhibitor zu einem Angelpunkt, einer Drehscheibe für die Steuerung von Gerinnung und Fibrinolyse. Auch Thrombozyten besitzen Antiplasminaktivität^{23, 24}. Es scheint aber noch nicht eindeutig entschieden, ob dieser Inhibitor tatsächlich eine plättcheneigene Substanz darstellt, oder ob es sich um adsorbiertes Antiplasmin des Plasmas handelt²⁵. Wie dem auch sei, so wird es kaum überraschen, wenn den Plättchen neben ihrer wichtigen Rolle in der Gerinnung ebenfalls Funktionen zur Steuerung der Fibrinolyse zukommen.

Neuerdings hat man auch β -Lipoprotein mit Inhibitorwirkung gefunden^{26, 27}. Die Hemmwirkung soll dabei von der Art der resorbierten und gebundenen Fette abhängig sein. Damit ist zwischen der Thrombogenese und der Pathogenese der Atherosklerose eine direkte Beziehung hergestellt.

Der Vollständigkeit halber sei noch erwähnt, daß man von einem Inhibitor Kenntnis hat mit der elektrophoretischen Beweglichkeit des Albumins, und ferner, daß ebenfalls Erythrozyten Plasminhemmstoff enthalten²⁸.

Um nun zu den Aktivierungsvorgängen überzugehen, so sei hier einstweilen die «direkte» Aktivierung vorweggenommen. Dabei ist am eingehendsten untersucht die Wirkung der

Urokinase

1947 berichteten MACFARLANE und PILLING²⁹, daß menschlicher Urin fibrinolytische Aktivität induziere. Es gelang dann später, eine Substanz zu isolieren, eben Urokinase, die Träger dieser Eigenschaft ist. Dieses Enzym wird aus Urin mittels Adsorption an einem geeigneten Träger angereichert und dann meistens säulenchromatographisch gereinigt. Erst kürzlich wurde Urokinase in hochgereinigter und homogener Form kristallin erhalten³⁰. Das Molekulargewicht beträgt 54000 ± 900 . Urokinase ist ein sehr stabiles und widerstandsfähiges Ferment, erträgt sie doch Temperaturen von 50° im pH-Bereich von 1 bis 10 und zehnstündiges Pasteurisieren bei 60° praktisch ohne Aktivitätsverlust^{31, 32}. Urokinase ist ein ausgezeichneter Aktivator für Plasminogen, welches in einer Reaktion erster Ordnung direkt aktiviert wird. Neben dieser Eigenschaft besitzt Urokinase auch Esteraseaktivität und ist be-

fähigt, nicht nur Arginin-, sondern auch Lysinester zu spalten. Diese Ester sind zugleich kompetitive Inhibitoren der Plasminogenaktivierung durch Urokinase^{33, 34}. Anhand der Spezifität für basische Aminosäureester nimmt man deshalb an, daß Urokinase das Plasminogen unter Spaltung ebenfalls von Lysin- und/oder Argininbindungen aktiviert³⁴. Ein anderer Inhibitor, dessen Wirkungsweise ebenfalls als kompetitiv angegeben wird, ist die ε -Aminocapronsäure³⁵.

Die Funktion der Urokinase im Organismus besteht offensichtlich in der Eliminierung von allfälligen Fibringerinnseln in den Harnwegen. Es drängt sich die Frage auf, ob Urokinase wirklich eine dem Harnsystem eigene Komponente ist, oder ob sie die Ausscheidungsform eines Aktivators anderer Herkunft, sei es eines Gewebeaktivators oder sei es eines Blutaktivators, darstellt. Gerade der Blutaktivator wurde in diesem Zusammenhang oft erwähnt. Die Tatsachen, daß Blutaktivator, im Gegensatz zu Urokinase, bei saurem pH labil ist und nur Lysin-, nicht aber Argininester spaltet, sind nicht notwendigerweise entscheidende Kriterien³³. Eine Beziehung zwischen Urokinase und Blutaktivator scheint neuerdings recht unwahrscheinlich. PAINTER³⁶ konnte nämlich in Gewebekulturexperimenten mit Nierenepithelzellen vom Affen und vom Hund zeigen, daß diese Zellen tatsächlich befähigt sind, Urokinase zu bilden.

Urokinase ist im Handel erhältlich und wird dank ihrem hohen Reinheitsgrad in der Klinik verwendet, wo sie sich durch gute Verträglichkeit auszeichnet. Leider sind aber der klinischen Verwendbarkeit noch immer Grenzen gesetzt, da die Beschaffung genügender Mengen Urokinase nicht leicht ist. Aus 23 hl Urin haben LESUK und Mitarbeiter³⁰ schließlich 29 mg hochgereinigte, kristalline Urokinase erhalten.

Gewebeaktivator

ASTRUP und PERMIN³⁷ berichteten 1947, daß Gewebefragmente Plasminogen zu aktivieren vermögen. Diese Feststellung wurde wenig später durch TAGNON und PALADE³⁸ bestätigt und dahin ergänzt, daß die Aktivität hauptsächlich in der mikrosomalen Fraktion enthalten sei. Gewebeaktivator gehört zu den sogenannten strukturgebundenen Proteinen. Der Gehalt an Aktivator schwankt von Organ zu Organ zum Teil sehr beträchtlich. Die reichste Quelle ist Uterusgewebe, gefolgt von Lymphknoten, Prostata, Lunge und Herz. Dagegen enthalten Leberzellen keinen Aktivator. Über die Wirkungsweise und Eigenschaften von Gewebeaktivator weiß man heute noch sehr wenig. Anhand der bisherigen Kenntnisse dürfte die Aktivierung des Plasminogens, ähnlich wie mit Urokinase, in einem direkten Vorgang erfolgen. Obschon sich der Gewebeaktivator eines regen Interesses erfreut, so waren bis heute nur bescheidene Erfolge zu verzeichnen. Schwierigkeiten bei der Gewebeextraktion, bedingt durch die Unlöslichkeit dieses strukturgebundenen Proteins in den üblichen wässrigen Extraktionsmitteln bei neutralem pH, sind verantwort-

lich, daß man meistens mit Gewebefragmenten und -suspensionen arbeitete, da die Isolierung von auch nur einigermaßen gereinigtem Aktivatormaterial einstweilen nicht gelingen wollte. Erst vor kurzem wurde von BACHMANN und Mitarbeitern³⁹ über die Isolierung und teilweise Reinigung und Charakterisierung eines Plasminogenaktivators aus Schweineherz berichtet. Aus Schweineherz-Acetonpulver wurde der Aktivator mit 0,3-M Acetat bei pH 4,2 in Lösung gebracht und durch verschiedene Reinigungsschritte beträchtlich angereichert. Obschon diese Präparation bei weitem noch nicht rein war, konnte festgestellt werden, daß es sich eindeutig um ein Protein handelt, mit einem Carbohydratgehalt von ungefähr 1%. Der Sedimentationskoeffizient hat größenordnungsmäßig einen Wert von 3 S. Löslichkeit und Stabilität sind optimal zwischen pH 2 und 4, unter physiologischen Bedingungen aber sehr begrenzt. Plasminogen wird von diesem Aktivator ähnlich wie von Urokinase aktiviert, und es wurde anhand von kinetischen Daten eine enzymatische Aktivierung in einer Reaktion erster Ordnung vorgeschlagen. Diese Beobachtungen wurden inzwischen von MCCALL und KLINE⁴⁰ bestätigt. Aktivatoren aus andern Organen und Geweben brauchen nicht unbedingt mit dem aus Herz isolierten Aktivator identisch zu sein. Es besteht somit die Möglichkeit, daß es Gewebeaktivatoren gibt, deren Wirkungsweise einer Kinase gleichkommt. Trotz der Spärlichkeit der Resultate zeichnet sich zwischen diesem Gewebeaktivator und Urokinase eine gewisse Ähnlichkeit ab. Beide sind bei saurem pH stabil, und molekulargewichtsmäßig dürften sie auch nicht sehr verschieden sein.

Blutaktivator

Es war schon seit einiger Zeit bekannt, daß nach intensiver körperlicher Betätigung, nach Operationen, bei Schock- und Streßzuständen und auch z. B. nach Injektion von Adrenalin das Blut eine erhöhte fibrinolytische Aktivität aufweist, die man in normalem Blut einstweilen nicht nachweisen konnte. Diese Aktivität erwies sich als sehr labil und beeinflussbar durch pH- und Temperaturschwankungen⁴¹. Erst später gelang der Nachweis fibrinolytischer Aktivität ebenfalls in normalem Blut, vorausgesetzt daß die Proben verdünnt wurden⁴². Man schloß daraus, daß Blut einen fibrinolytischen Faktor enthält, dessen Aktivität sich nach Verdünnen manifestiert, wobei wahrscheinlich ein Aktivator-Inhibitor-komplex zum Dissoziieren gebracht wird. Demnach stellt die Stimulierung fibrinolytischer Aktivität durch Adrenalin eine Potenzierung des Normalzustandes dar. 1960 soll FLUTE⁴³ der papierelektrophoretische Nachweis dieses Aktivators gelungen sein; er ist offensichtlich mit Plasmin nicht identisch. Das rasche Auftreten des Aktivators nach Injektion von Adrenalin gab zur Vermutung Anlaß, daß er aus den Gefäßen selber stamme. Man fand tatsächlich, daß nach Abbinden von Venen im unterbundenen Abschnitt erhöhte fibrinolytische Ak-

tivität auftrat^{44, 45}. Im sogenannten Fibrinplattentest konnte mit Venenstücken eindeutig gezeigt werden, daß der Aktivator aus der Venenwandung stammt⁴⁶. Histologisch wurde er in der Intima lokalisiert. Auch Arterien wurden im gleichen Sinn untersucht; sie enthalten aber gegenüber Venen einen verschwindend kleinen Anteil Aktivator⁴⁷.

Der Blutaktivator übt wahrscheinlich die Rolle eines Schutzsystems gegen endovasale Gerinnung aus. Diese Annahme wird durch die Tatsache unterstützt, daß er gerade im venösen Teil des Gefäßsystems besonders reichlich vorkommt, da ja das venöse System infolge der verringerten Strömungsgeschwindigkeit des Blutes für Thrombusbildung anfälliger ist als das arterielle System.

Aktivierung von Plasminogen mit Streptokinase

Streptokinase ist ein Stoffwechselprodukt von Streptokokken, besitzt einen Sedimentationskoeffizienten von 3,2S und ein Molekulargewicht von 47000⁴⁸. Sie kann heute in sehr reiner Form isoliert werden und findet in der Klinik Anwendung. Nebenreaktionen, besonders immunologischer Art, werden trotz ihres exogenen Ursprungs als sehr gering bezeichnet.

Der Einfluß der Streptokinase auf die Fibrinolyse wurde, wie eingangs erwähnt, 1933 von TILLET und GARNER⁵ erstmals erwähnt. Damals glaubte man, daß Streptokinase Fibrin direkt abbaue. Erst später zeigte sich, daß Fibrin aus hochgereinigtem Fibrinogen gegen Streptokinase resistent war und daß Lyse erst in Gegenwart von Serumglobulin eintrat⁴⁹. Serum enthält somit eine Komponente, einen lytischen Faktor, der für die Lyse mitverantwortlich ist. Zuerst machte es den Anschein, als ob dieser Faktor mit Plasmin identisch sei, bis CHRISTENSEN und MACLEOD⁵⁰ ihr Aktivierungskonzept vorlegten, wonach Streptokinase auf Plasminogen einwirkt unter Aktivierung zu Plasmin. Etliche Jahre später mußte man aber einsehen, daß die Wirkungsweise der Streptokinase weit komplizierter ist. MULLERTZ und LASSEN⁵¹ behaupteten nämlich, daß die Aktivierung von Plasminogen indirekt verlaufe und einen zusätzlichen Faktor, sogenannten Proaktivator, benötige. Der Proaktivator, der mit Plasminogen nicht identisch sei, bildet mit Streptokinase zusammen den Aktivatorkomplex. Die These der Nichtidentität zwischen Proaktivator und Plasminogen hat allerdings einige Skepsis hervorgerufen, da es allen Anstrengungen zum Trotz nicht gelangt, diesen Proaktivator von Plasminogen zu trennen. Man ist heute mehr denn je der Ansicht, daß der Proaktivator mit Plasminogen identisch sei.

Im Gegensatz zum humanen besitzt das bovine System diesen Proaktivator scheinbar nicht, denn es ist mit Streptokinase allein nicht aktivierbar. Aktivierung findet erst in Gegenwart von Humanplasminogen statt, das offenbar den dem bovinen System fehlenden Proaktivator beisteuert. Man hat angenommen, daß dieser

Proaktivator im humanen wie auch im bovinen System gleichermaßen wirkt und daß ein und dieselbe Substanz für diese Wirkung verantwortlich sei. KLINE und FISHMAN⁵² haben 1961 anhand von Esterasemessungen und Hemmversuchen mit Sojabohnen-Trypsininhibitor gezeigt, daß Plasmin befähigt ist, mit Streptokinase Komplexe zu bilden. Sie nahmen deshalb an, daß der Proaktivator mit Plasmin identisch sei. Für das bovine System trifft das wirklich zu; bovines Plasminogen wird vom Komplex Humanplasmin-Streptokinase aktiviert, mit Plasmin in der Rolle des Proaktivators. 1964 demonstrierten dann WERKHEISER und MARKUS⁵³, daß im humanen System hingegen die Proaktivatorfunktion nicht von Plasmin übernommen werden könne, sondern daß eine andere Substanz dafür verantwortlich sei.

Um wieder auf das humane System überzugehen, so wirkt nun der aus Streptokinase und Proaktivator gebildete Aktivatorkomplex auf das Plasminogen ein und aktiviert es zu Plasmin. Im Zuge dieser Aktivierung treten verschiedene Aktivitäten auf; sie sind eine Funktion der Streptokinasekonzentration bzw. des Verhältnisses von Streptokinase zu Plasminogen.

Mit katalytischen Mengen Streptokinase tritt hohe Protease- und Esteraseaktivität auf, aber keine oder nur geringe Fähigkeit, bovines Plasminogen zu aktivieren. Nimmt die Streptokinasekonzentration weiter zu, so fällt die Proteaseaktivität linear mit der Streptokinasekonzentration auf ungefähr 25% der maximalen Aktivität ab. Die Esteraseaktivität nimmt nur noch langsam zu. Zudem hat man einen beträchtlichen, linearen Anstieg der Aktivatoraktivität, die, wie auch die Esteraseaktivität, schließlich ein Plateau erreicht. Es ist somit ersichtlich, daß hohe Streptokinasekonzentration hohe Aktivator- und Esteraseaktivität, aber nur geringe Proteaseaktivität bewirkt. Dagegen begünstigen kleine

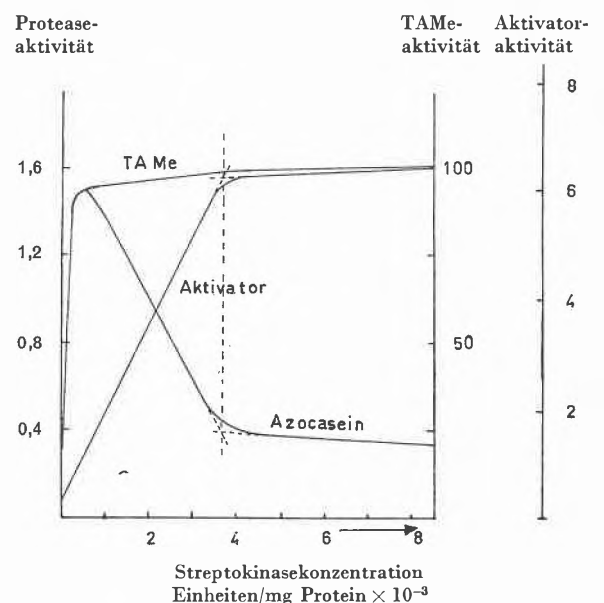


Abb. 2. Aktivierung von Plasminogen mit Streptokinase (nach G. MARKUS und W. C. WERKHEISER, *J. Biol. Chem.* 239 [1964] 2637)

Mengen Streptokinase die Protease- und Esteraseaktivität.

Der Einfluß der Streptokinasekonzentration auf die Esterase- und Proteaseaktivität, insbesondere die Inhibitorwirkung auf die Protease, wird so gedeutet⁵⁴, daß erstens das Plasminogen mit Streptokinase einen Komplex bildet und daß dieser Komplex für den Aktivator ein wesentlich schlechteres Substrat darstellt als Plasminogen allein, und daß zweitens das gebildete Plasmin mit Streptokinase ebenfalls Komplexbildung eingeht. Dieser Komplex beeinflusst die Enzymaktivität auf der Basis von sterischer Behinderung. Diese sterische Hemmung ist für das kleine TAME-Molekül gering, fällt aber bei hochmolekularen Substraten, wie Casein, wesentlich ins Gewicht. Die Ausbildung der Aktivatoraktivität ist schon schwieriger zu erklären. Die Tatsache, daß bloß der Komplex, nicht aber dessen einzelne Komponenten Aktivatoreigenschaft besitzt, bedingt eine Ergänzung oder eine Modifikation des Wirkungszentrums der einen Komponente durch den Komplexpartner. Es muß hier noch darauf hingewiesen werden, daß auf Grund einer Arbeit von GUTMAN und RIMON⁵⁵ sowohl Plasminogen wie auch Plasmin Proaktivatorpotential besitzen. Man muß sich deshalb fragen, ob es richtig ist, das Wirkungszentrum für Aktivatoraktivität auf dem Plasmin- bzw. Plasminogenmolekül anzunehmen. Im Lichte der obigen Feststellungen ist es mindestens ebenso berechtigt, dieses Wirkungszentrum auf dem Streptokinasmolekül zu suchen.

Das Phänomen der Komplexbildung ließ sich vorerst nur anhand enzymatischer und kinetischer Messungen beweisen. Kürzlich gelang DE RENZO Gruppe der Nachweis mittels Ultrazentrifugierung⁴⁸ und Elektrophorese⁵⁶. Bei einem äquimolaren Verhältnis von Streptokinase zu Plasminogen beobachtet man in der Ultrazentrifuge eine einzige Komponente mit einem Sedimentationskoeffizienten von 5,2 S und einem Molekulargewicht von 130 000, also ziemlich genau der Summe der beiden Partner. Ist einer der beiden Partner im Überschuß, so findet man im Sedimentationsdiagramm einen zusätzlichen Peak, der auf Grund seiner Sedimentationskonstante identisch ist mit dem überschüssigen Partner, also mit freiem Plasminogen oder freier Streptokinase. Ein ähnliches Bild ergab die Elektrophorese. Im Stärkegel wandert der 1:1-Komplex als eine einzige, einheitliche Komponente mit einer Wanderungsgeschwindigkeit, die zwischen derjenigen der freien, nichtkomplexierten Partner liegt. Überschuß des einen oder andern Partners bewirkt eine zusätzliche Bande, identisch mit dem nichtkomplexierten Partner. Dies sind klare Beweise, daß Komplexbildung stattfindet, und zwar auf einer 1:1-Basis. Hingegen war es noch nicht möglich, die Natur und Zusammensetzung dieses Komplexes zu identifizieren. Die angewendeten Methoden gestatten nämlich nicht zu differenzieren, ob der Partner der Streptokinase nun Plasminogen oder Plasmin oder sogar ein Gemisch der beiden darstellt.

Das Problem der Aktivierung von Plasminogen durch Streptokinase ist somit bei weitem noch nicht gelöst. Man neigt heute in weiten Kreisen zur Ansicht, daß es sich um ein Einkomponentensystem handelt. Danach würde Plasminogen einen Molekülbezirk aufweisen, der die Bindung mit der Streptokinase bewerkstelligt unter Aktivierung zu Plasmin. Daß bovines Plasminogen durch Streptokinase nicht aktiviert wird, ließe sich damit erklären, daß sich das Rinderplasminogen strukturell von Humanplasminogen unterscheidet. Physikalisch-chemische Untersuchungen haben jedenfalls ergeben, daß Unterschiede bestehen.

Die Aktivierung von Plasminogen durch Streptokinase wird bereits durch geringe Mengen ϵ -Aminocaprinsäure gehemmt. Ebenfalls Lysin hat Inhibitorwirkung. Neuerdings hat man weitere Hemmstoffe gefunden, wie *p*-Aminomethylbenzoesäure⁵⁷ und 4-Aminomethylcyclohexancarbonsäure⁵⁸.

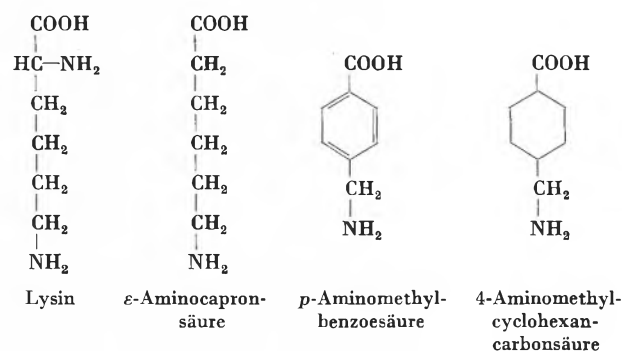


Abb. 3

Die Bedingung für Inhibitorwirkung ist das Vorhandensein von Amino- und Carboxylgruppen, die offenbar in einem ganz bestimmten Abstand zueinander stehen müssen. Der Wirkungsmechanismus der Hemmung beruht auf der großen Affinität des Plasminogens für ϵ -Aminocaprinsäure, was zu einer Verdrängung der Streptokinase aus dem Aktivator-Komplex führt. Man hat dies sehr schön immunoelektrophoretisch nachgewiesen⁵⁹.

Als Abschluß zu den Ausführungen über Aktivierung sei der Vollständigkeit halber erwähnt, daß es noch eine ansehnliche Zahl von Substanzen gibt, die fibrinolytische Aktivität hervorrufen. So z. B. Chloroform⁶⁰, dessen aktivierende Wirkung auf Plasminogen schon längere Zeit bekannt ist. Seine Wirkungsweise wird mit der Denaturierung eines Inhibitors des Aktivierungsprozesses in Zusammenhang gebracht. Dann hat VON KAULLA⁶¹ einige organische Substanzen, mehrheitlich aromatischen Charakters, gefunden, die *in vitro* aktivierend wirken. Hier nimmt man ebenfalls Eliminierung eines Inhibitors der Aktivierung an. Auch Pepton und saure Polysaccharide wirken aktivierend⁶².

Daneben kennt man eine Reihe von Komponenten, die *in vivo* die fibrinolytische Aktivität erhöhen, wie z. B. das schon erwähnte Adrenalin⁶³, dann Nicotinsäure^{64, 65},

Pyrogene⁶⁶, Adrenocorticotropin⁶⁷, Sulfanylharnstoff⁶⁸ u. a. m. Diese Substanzen sind wohl nicht Aktivatoren im Sinne der Urokinase oder der Streptokinase. Ihre Wirkungsweise ist zum Teil wahrscheinlich so zu verstehen, daß sie auf dem Umweg über andere Enzymsysteme die Ausschüttung von Aktivator bewirken.

Neben der Streptokinase gibt es noch andere Aktivatoren oder fibrinolytisch aktive Substanzen bakteriellen Ursprungs. *Bacillus subtilis*⁶⁹ enthält z. B. einen Plasminogenaktivator. Hingegen besitzt das *Aspergillus*, ein Stoffwechselprodukt von *Aspergillus*, eine andere Wirkungsweise^{70, 71}. Es ist befähigt, Fibrin, wie die Enzyme Plasmin und Trypsin, direkt abzubauen.

Abbau des Fibrins durch Plasmin

Nach der Datstellung von SHERRY⁷² wird bei der Bildung eines Gerinnsels oder Thrombus eine beträchtliche Menge Plasminogen am Fibrin adsorbiert. Es sei in diesem Zusammenhang erwähnt, daß Plasminogen und auch Plasmin von Fibrin und Fibrinogenniederschlägen außerordentlich stark adsorbiert werden, eine Tatsache, die es sehr erschwert, präparativ plasminogenfreies Fibrinogen herzustellen. Das im Thrombus eingeschlossene oder adsorbierte Plasminogen wird intrinsisches Plasminogen genannt. Im weiteren hat man sich nun vorzustellen, daß Aktivator, der in der Zirkulation vorhanden ist, ebenfalls am Thrombus adsorbiert wird, hindiffundiert und das Plasminogen aktiviert. Diese Aktivierung wird als heterogene Reaktion angenommen⁷³. Sie wird beschleunigt durch die Adsorption beider Reaktionspartner an ein Trägermaterial, in diesem Fall an das Fibrin. Da sich auf diese Weise das entstehende Plasmin bereits in engstem Kontakt mit dem Fibrinsubstrat befindet, tritt keine Hemmung durch Antiplasmin ein. Im Zusammenhang mit dieser Annahme wurde von anderer Seite darauf verwiesen, daß die Menge an intrinsischem Plasminogen eher gering sei und man deshalb das Potential von extrinsischem Plasminogen in der Zirkulation nicht außer acht lassen dürfe⁷³. Man wird deshalb annehmen, daß die Lyse eines Thrombus nicht bloß auf einer Front geführt wird, sondern daß der Angriff sowohl aus dem Innern wie auch von der Oberfläche her erfolgt.

Diesem Konzept steht eine andere Hypothese gegenüber, nämlich die von AMBRUS und MARKUS⁷⁴, welche besagt, daß Fibrin die Fähigkeit besitze, in der Zirkulation vorhandenen Plasmin-Antiplasmin-Komplex zum Dissoziieren zu bringen und auf diese Weise Plasmin freizusetzen. Diese Annahme hat aber nur wenige Anhänger gefunden, und heute gibt man allgemein dem Vorschlag von SHERRY den Vorzug.

Sobald freies Plasmin auftritt, erfolgt der Angriff auf das Fibrin. Vorerst glaubte man, daß sich die Lyse auf das Aufbrechen einiger weniger, spezifischer Bindungen beschränke⁷⁵ und sich der Abbau nach der Art einer Depolymerisation unter Bildung von Fibrin Monomeren

vollziehe. Es zeigte sich aber dann, daß der Abbau zu wesentlich kleineren Bruchstücken fortschreitet. NIEWIAROWSKI und Mitarbeiter⁷⁶ haben gefunden, daß bei der Proteolyse von Fibrin und Fibrinogen Polypeptide auftreten, die biologische Aktivität besitzen, welche weder in Fibrin noch in Fibrinogen nachweisbar ist. Sie hemmen die Reaktion zwischen Thrombin und Fibrinogen (Schutz vor Rethrombosierung?) und sind unter dem Namen Antithrombin IV bekannt. Die biologische Aktivität beschränkt sich auf bestimmte, hochmolekulare Polypeptide, während die niedermolekularen Abbauprodukte inaktiv sind. In einem 7stündigen Abbauversuch an Fibrinogen mit Plasmin wurden Bruchstücke von 13400 bis 83000 Molekulargewicht erhalten, wobei die schwerste Komponente mengenmäßig stark überwog⁷⁷.

Die Aufgabe, oder vielleicht besser gesagt die primäre Aufgabe des fibrinolytischen Systems, ist die Beseitigung von Fibrinablagerungen und somit die Erhaltung der Funktionstüchtigkeit des Gefäßsystems. Aus Sicherheitsgründen existiert die Komponente, die Fibrin abzubauen imstande ist, im Blut nicht in der enzymatisch aktiven Form, sondern wird erst an Ort und Stelle aus dem inaktiven Vorläufer gebildet. Für diesen Vorgang zeichnen die Aktivatoren verantwortlich, die im Organismus weit verbreitet sind. Bei massiven Gewebe- oder Organschädigungen wird Aktivator aus den zerstörten Zellen freigesetzt. Neben diesem Extremfall wird ständig eine gewisse Menge Aktivator benötigt, um den Gleichgewichtszustand zwischen Gerinnung und Fibrinolyse aufrechtzuerhalten. Gerinnung und Fibrinolyse sind Vorgänge, die beide in einer Sequenz von enzymatischen Prozessen erfolgen. Die Erhaltung des Gleichgewichtes besteht kaum in einem Entgegenwirken beider Vorgänge aus zwei verschiedenen Richtungen, sondern muß eher in einem parallelen Einhergehen gesehen werden, wobei auf verschiedenen Stufen die Möglichkeit der Absicherung oder der Beeinflussung des andern Systems eingebaut ist. α_2 -Antiplasmin wurde als eine Schlüssel- oder Schaltstelle erwähnt, die wohl ein Regulieren der beiden Vorgänge erlaubt. Es gibt noch weitere Faktoren, die beide Systeme zu beeinflussen vermögen. So weiß man, daß von Ca^{++} eine Hemmwirkung auf die Fibrinolyse ausgeübt wird, indem es wahrscheinlich bei der Bildung eines fibrinolytischen Antiaktivators mitbeteiligt ist⁴². Was die Thrombozyten anbelangt, so ist ihre Rolle aus der fibrinolytischen Perspektive gesehen noch nicht geklärt, doch darf man wohl auch für sie in diesem Schema einen Platz reservieren. Andere Gerinnungsfaktoren sind ebenfalls nicht zu vergessen. In letzter Zeit erhielt man vermehrt Hinweise, daß auch dem Hagemann-Faktor in der Fibrinolyse eine Rolle zukommen könnte^{78, 79}. Der Faktor XII ist eine Protease, deren Wirkungsspezifität der des Trypsins ähnlich ist, und es wäre durchaus denkbar, daß er auf Grund dieser Eigenschaft die Funktion eines fibrinolytischen Aktivators übernehmen könnte. Damit wäre zwischen Ge-

rinnung und Fibrinolyse die direkte Verbindung hergestellt. Das fibrinolytische System scheint darüber hinaus von noch weiter tragender Bedeutung zu sein. Plasmin ist beispielsweise befähigt, Komplement zu inaktivieren; dann bestehen Hinweise auf die Teilnahme des fibrinolytischen Systems in Anaphylaxe und Allergie. Ferner werden biologisch aktive Polypeptide, Plasminine aus α_2 -Globulin unter dem lytischen Einfluß trypsinähnlicher Enzyme, zu denen auch Plasmin gehört, gebildet⁸⁰. Diese Beispiele mögen die Wichtigkeit des fibrinolytischen Systems im Organismus darlegen und einmal mehr das ausgewogene Zusammenspiel und Ineinandergreifen physiologischer Vorgänge vor Augen führen. Mit der fortschreitenden Erforschung der Fibrinolyse ist anzunehmen, daß noch manche wichtigen Erkenntnisse und Zusammenhänge aufgedeckt werden können.

Literatur

- Das Literaturverzeichnis wurde nachträglich verfaßt und erhebt nicht den Anspruch auf Vollständigkeit. Es soll einzig das Auffinden der wichtigsten Originalarbeiten erleichtern.
1. J. B. MORGAGNI, *The Seats and Causes of Diseases*, Vol. 3, Buch 4, S. 185, London 1769.
 2. J. HUNTER, *A Treatise on Blood, Inflammation and Gunshot Wounds*, S. 26, London 1794.
 3. A. DASTRE, *Arch. Physiol. Norm. Path.* 5 (1893) 661.
 4. P. MORAWITZ, *Beitr. chem. Physiol. Path.* 8 (1906) 1.
 5. W. S. TILLET und R. L. GARNER, *J. Exper. Med.* 58 (1933) 485.
 6. K. N. VON KAULLA, *Chemistry of Thrombolysis; Human Fibrinolytic Enzymes*, Charles C. Thomas, Springfield (Ill.) 1963.
 7. K. C. ROBBINS, L. SUMMARI, D. ELWYN und G. H. BARLOW, *J. Biol. Chem.* 240 (1965) 541.
 8. S. SHULMAN, N. ALKJAERSIG und S. SHERRY, *J. Biol. Chem.* 233 (1958) 91.
 9. M. C. DAVIES und M. E. ENGLERT, *J. Biol. Chem.* 235 (1960) 1011.
 10. D. KLINE, *J. Biol. Chem.* 204 (1953) 949.
 11. K. H. SLOTTA und J. D. GONZALES, *Biochemistry* 4 (1964) 285.
 12. M. RYBAK und M. PETAKOVA, *Clin. Chim. Acta* 8 (1963) 133.
 13. K. BERGSTRÖM, *Ark. Kemi* 21 (1964) 547.
 14. G. MARKUS und C. M. AMBRUS, *J. Biol. Chem.* 235 (1960) 1673.
 15. E. RONWIN, *Biochim. Biophys. Acta* 38 (1960) 258.
 16. L. A. MOUNTER und B. A. SHIPLEY, *J. Biol. Chem.* 231 (1958) 855.
 17. N. ALKJAERSIG, A. P. FLETCHER und S. SHERRY, *Thromb. Diath. Haemorrhag.* 3 (1959) 360.
 18. F. B. ABLONDI, J. J. HAGAN, M. PHILIPS und E. C. DE RENZO, *Arch. Biochem. Biophys.* 82 (1959) 153.
 19. P. S. NORMAN und B. M. HILL, *J. Exper. Med.* 108 (1958) 639.
 20. K. STÖRIKO und G. SCHWICK, XI. Colloquium «Protides of the Biology of Fluids», Brügge 1963, Elsevier, Amsterdam 1964, S. 411.
 21. Y. SHAMASH und A. RIMON, *Vox Sanguinis* 10 (1965) 599.
 22. H. E. SCHULTZE, N. HEIMBURGER, K. HEIDE, H. HAUPT, K. STÖRIKO und H. G. SCHWICK, IX. Kongreß der Europäischen Gesellschaft für Hämatologie, Lissabon 1963, Karger, Basel 1964, S. 1315.
 23. S. A. JOHNSON und C. L. SCHNEIDER, *Science* 117 (1953) 229.
 24. M. STEFANINI und I. S. MURPHY, *J. Clin. Invest.* 35 (1956) 355.
 25. M.-J. LARRIEU, *Nouv. Rev. Franç. Hémat.* 5 (1965) 261.
 26. H. B. W. GREIG und I. A. RUNDE, *Lancet* 2 (1957) 461.
 27. I. M. RIDING und D. ELLIS, *J. Atherosclerosis Res.* 4 (1964) 189.
 28. H. BAYERLE und K. KAMMENHUBER, *Blut* 4 (1958) 78.
 29. R. G. MACFARLANE und J. PILLING, *Nature* 159 (1947) 779.
 30. A. LESUK, L. TERMINIELLO und J. H. TRAVER, *Science* 147 (1965) 880.
 31. J. PLOUG und N. O. KJELDGAARD, *Biochim. Biophys. Acta* 24 (1957) 278.
 32. J. T. SGOURIS, R. W. STOREY, K. B. MCCALL und H. D. ANDERSON, *Vox Sanguinis* 7 (1962) 739.
 33. J. PLOUG und N. O. KJELDGAARD, *Biochim. Biophys. Acta* 24 (1957) 283.
 34. N. ALKJAERSIG, A. P. FLETCHER und S. SHERRY, *J. Biol. Chem.* 233 (1958) 86.
 35. N. ALKJAERSIG, A. P. FLETCHER und S. SHERRY, *J. Biol. Chem.* 234 (1959) 832.
 36. R. H. PAINTER, *Anticoagulants and Fibrinolysins*, Lea & Febiger, Philadelphia 1961, S. 351.
 37. T. ASTRUP und P. M. PERMIN, *Nature* 159 (1947) 681.
 38. H. J. TAGNON und G. E. PALADE, *J. Clin. Invest.* 29 (1950) 317.
 39. F. BACHMANN, A. P. FLETCHER, N. ALKJAERSIG und S. SHERRY, *Biochemistry* 3 (1964) 1578.
 40. D. C. MCCALL und D. L. KLINE, *Thromb. Diath. Haemorrhag.* 14 (1965) 116.
 41. G. R. FEARNLEY, R. REVILL und J. M. TWEED, *Clin. Sci.* 11 (1952) 309.
 42. G. R. FEARNLEY und J. M. TWEED, *Clin. Sci.* 12 (1953) 81.
 43. P. T. FLUTE, *Proceedings of the 7th Congress of the European Society of Haematology, London 1959, part II*, S. 894 (1960).
 44. R. L. CLARKE, A. ORLANDI und E. E. CLIFFTON, *Angiology* 11 (1960) 367.
 45. J. R. TICHE und H. T. SWAN, *Clin. Sci.* 25 (1963) 219.
 46. A. KAPPERT, *Experimentelle und klinische Untersuchungen über arterielle Thrombogenese und Fibrinolyse*, Schwabe, Basel/Stuttgart 1962.
 47. A. S. TODD, *Brit. Med. Bull.* 20 (1964) 210.
 48. M. C. DAVIES, M. E. ENGLERT und E. C. DE RENZO, *J. Biol. Chem.* 239 (1964) 2651.
 49. H. MILSTONE, *J. Immunol.* 42 (1941) 109.
 50. L. R. CHRISTENSEN und C. M. MACLEOD, *J. Gen. Physiol.* 28 (1945) 559.
 51. S. MULLERTZ und M. LASSEN, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 82 (1953) 264.
 52. D. L. KLINE und J. B. FISHMAN, *J. Biol. Chem.* 236 (1961) 2807.
 53. W. C. WERKHEISER und G. MARKUS, *J. Biol. Chem.* 239 (1964) 2644.
 54. G. MARKUS und W. C. WERKHEISER, *J. Biol. Chem.* 239 (1964) 2637.
 55. M. GUTMAN und A. RIMON, *Canad. J. Biochem.* 42 (1964) 1339.
 56. W. F. BARG, E. BOGGIANO und E. C. DE RENZO, *J. Biol. Chem.* 240 (1965) 2944.
 57. K. LOHMANN, F. MARKWARDT und H. LANDMANN, *Thromb. Diath. Haemorrhag.* 10 (1964) 424.
 58. S. OKAMOTO und U. OKAMOTO, *Keio J. Med.* 11 (1962) 105.
 59. G. SCHWICK, *Behringwerk Mitt.* 44 (1964) 103.
 60. W. BAUMGARTEN, R. COLE, M. N. RICHARD und F. B. SMITH, *Science* 125 (1957) 604.
 61. K. N. VON KAULLA, *Thromb. Diath. Haemorrhag.* 7 (1962) 404.
 62. S. OLESEN, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 13 (1961) 410.
 63. R. BIGGS, R. G. MACFARLANE und J. PILLING, *Lancet* 1 (1947) 402.
 64. P. MENEGHINI und F. PICCININI, *Arch. Maragliano Pat. Clin. Med.* 14 (1958) 69.
 65. M. WEINER, W. REDISCH und M. J. STEELE, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 98 (1958) 755.
 66. P. MENEGHINI, *Arch. Maragliano Pat. Clin. Med.* 4 (1949) 771.
 67. R. CHAKRABARTI, G. R. FEARNLEY und E. D. HOCKING, *Brit. Med. J.* 1 (1964) 534.
 68. G. R. FEARNLEY, R. CHAKRABARTI und C. T. VINCENT, *Lancet* 2 (1960) 622.
 69. I. R. SHIMI und M. W. KELADA, *Arch. Mikrobiol.* 50 (1965) 326.
 70. M. KARACA, M. STEFANINI und R. MELE, *J. Lab. Clin. Med.* 59 (1962) 799.
 71. H. M. MARIN, M. STEFANINI, F. SOARDI und L. MILLER, *J. Lab. Clin. Med.* 58 (1961) 47.
 72. S. SHERRY, A. P. FLETCHER und N. ALKJAERSIG, *J. Clin. Invest.* 38 (1959) 1086.
 73. C. D. DE WIT, *Vox Sanguinis* 7 (1962) 526.
 74. C. M. AMBRUS und G. MARKUS, *Amer. J. Physiol.* 199 (1960) 491.
 75. N. K. SARKAR, *Nature* 185 (1960) 624.
 76. S. NIEWIAROWSKI, Z. LATALLO und J. STACHURSKA, *Rev. Hemat.* 13 (1958) 320.
 77. V. NUSSENZWEIG, M. SELIGMANN, J. PELMONT und P. GRABAR, *Ann. Inst. Pasteur* 100 (1961) 377.
 78. J. P. SOULIER und O. PROU-WARTELLE, *Rev. Franç. Etud. Clin. Biol.* 4 (1959) 932.
 79. S. G. IATRIDIS und J. H. FERGUSON, *Thromb. Diath. Haemorrhag.* 6 (1961) 411.
 80. V. EISEN, *Brit. Med. Bull.* 20 (1964) 205.