

THYROXINEINFLUSS AUF DIE DURCH THROMBIN AUSGELÖSTE FIBRINOGENERINNUNG*)

von

Nikša Allegretti, Stojanka Buta und Stevan Milković

Es wurde schon mehrmals angedeutet, dass beim Hyperthyreotiker die Blutgerinnung verzögert ist. Diese regelmässige Erscheinung schrieb man den verschiedenen Ursachen, wie einem verminderten Fibrinogengehalt des Blutes, einer Störung der quantitativen Verhältnisse der Bluteiweisskörper. u. s. w. zu.

K o t t m a n n¹⁾ hat bei Menschen, denen die Schilddrüse entfernt wurde, im Blute einen vermehrten Thrombiningehalt festgestellt.

Y a m a d a²⁾ bemerkte dieselbe Erscheinung bei Tieren nach der Entfernung der Schilddrüse, die durch einen steigenden Thrombiningehalt des Knochenmarkes begleitet wurde. Tiere mit Schilddrüse gefüttert, zeigten, wie I s c h i k a w a and S a s a k i³⁾ behaupten, ebenso eine verlängerte Blutgerinnungszeit.

F o n i o und S c h e u e r e r⁴⁾ berichten über klinische und experimentelle Ergebnisse. Nach klinischen Erfahrungen stellten sie wieder eine Verzögerung der Blutgerinnung beim Hyperthyreotiker fest. Diese Erscheinung ist so konstant, dass sie vorschlagen dies als einen ebenso regelmässigen Symptom als einen erhöhten Umsatz zu betrachten.

In vivo und in vitro angewandt, erhöht Thyroxin die Gewebsoxydationen und den Umsatz⁵⁾. Nach diesen Erfahrungen hat A h l g r e n⁶⁾ seine Mikromethode für quantitative Thyroxinbestimmung ausgearbeitet. Am Froschmuskel erhöht sich der Sauerstoffverbrauch nach den Zuführ von Thyroxin in einer Konzentration von 10^{-18} m.

Viele andere^{7, 8, 9)} haben die erwähnten Ergebnisse bestätigt. E u l e r¹⁰⁾ hat gesehen, dass der Sauerstoffverbrauch grösser in einer sauerstoffärmeren Atmosphäre ist, woraus er die Schlussfolgerung zog, dass Thyroxin wahrscheinlich seine Wirkung auf die anaerobe Phase des Umsatzes ausübe.

Sukcinodehydrase wird durch Thyroxin in seiner Wirkung verstärkt^{11, 12)}. Nach den Angaben von A l o i s i und C a v a l l i n i¹²⁾ ist die genannte Wirkung stärker bei gealterten als bei ganz frischen Fermentpräparaten.

*) Vortrag gehalten in der Gesellschaft für Exper. Medizin in Zagreb am 5. Dezember 1949.

Was die Thyroxinähnlichen Verbindungen betrifft, besitzen nach *Niemann* und *Redemann*¹³⁾ nur diejenigen Analoge von Thyroxin eine hormonähnliche Wirkung, die sich chinoidartig umsetzen können.

Frieden und *Winzler*¹⁴⁾ stellten auf die Thyroxinanaloge die Forderung, dass sie eine Orthodihalogenophenoldi-phenylether-konfiguration besitzen.

Zunz und *Sanchez de la Cuesta*¹⁵⁾ betrachten den Thyroxineinfluss auf die Blutgerinnung als eine Hemmung der Umwandlung von Proserozym in Serozym, betonen aber dabei die Abwesenheit von irgendeinem Einfluss auf die durch Thrombin ausgelöste Fibrinogengerinnung.

In der letzten Zeit hat sich *Palos*^{16, 17)} mit der Wirkung der Schilddrüse auf die Blutgerinnung beschäftigt. Nach seinen Feststellungen ergibt sich, dass bei einer erhöhten Schilddrüsentätigkeit die Wirkung des thrombininaktivierenden Fermentes grösser sei. *Gerenda*¹⁸⁾, der dieses Ferment zuerst beschrieb, behauptet, dass Thrombin durch dieses Ferment in etwa dreissig Minuten zerstört wird.

Gerber und *Blanchard*¹⁹⁾ glauben dass Thrombin eine oxydierte Substanz ist, die nur durch den Gehalt von Disulfidbrücken wirksam ist.

Wir unternahmen deshalb Untersuchungen mit dem isolierten Fibrinogen und Thrombin um zu prüfen, ob sich die Thyroxinwirkung auf die zweite Phase der Blutgerinnung erstreckt. Dabei richteten wir unsere Aufmerksamkeit auf die Möglichkeit Thrombin durch Thyroxin zu reduzieren und es damit zu inaktivieren.

Versuchsordnung

Das Fibrinogen wurde aus Rinderblut nach der Methode von *Keckwick* und *Mackay*²⁰⁾ dargestellt. Die Präparate wurden im Luftstrom bei Zimmertemperatur getrocknet. Eine 0.1%ige wässrige Lösung des Präparates enthielt 0.082% Fibrinogen nach *Mylon* und *Winternitz*²¹⁾ bestimmt.

Thrombin wurde auch aus Rinderblut nach *Astrup* und *Darling*²²⁾ dargestellt.

Wenn wir zu 1 ccm der obenerwähnten Fibrinogenlösung 1 ccm Wasser und 1 ccm einer 0.1%igen wässrigen Thrombinlösung zugaben, trat die Gerinnung nach etwa dreissig Sekunden auf. Als Gerinnungszeit betrachteten wir die Zeitspanne von dem Augenblick der Mischung der obenerwähnten Lösungen bis zum Auftreten der ersten Fibrinflöckchen in einem Glasöhrchen.

Bei den Versuchen haben wir statt Wasser wässrige Lösungen von Jod, Jodkali, dl-Thyroxin, 3,5-Dijodtyrosin, Adrenalin und endlich Gewebsextrakt in angegebener Menge zugegeben.

Thyroxin (dl-Thyroxin »Roche«) wurde bei pH 8 gelöst.

Der wässrige Muskel- und Leberextrakt wurde so dargestellt, dass dem fein zerkleinerten Gewebe das gleiche Volumen destillierten Wasser unter Mischung zugesetzt wurde. Nach einem Stehen von einer halben Stunde bei Zimmertemperatur, wurde das zerkleinerte Gewebe zuerst durch Gaze und dann durch Filterpapier filtriert.

Die Reduktion des Thrombins bestimmten wir jodometrisch.

Ergebnisse und Besprechungen

Eine verlängerte Fibrinogengerinnungszeit wurde beobachtet, wenn wir der Fibrinogenlösung Thyroxin zusetzten. Diese Verlängerung hängt von der Thyroxinkonzentration ab. Ein solcher Versuch ist in der Tabelle I. dargestellt.

Tabelle I

Zu 1 ccm Fibrinogenlösung wurde die bezeichnete Menge von Thyroxin in 1 ccm Wasser und gleichzeitig 1 ccm Thrombinlösung zugesetzt.

Thyroxinzusatz	Gerinnungszeit
mg	Min.
4	0.40
8	2.00
16	6.30
20	16.02

Bei einer Extrapolierung der Werte aus der Tabelle I. erwarten wir dass nach noch grösseren Thyroxinkonzentrationen keine Gerinnung auftreten würde. Die gegebenen Mengen von Thyroxin sind natürlich zu gross, um einen solchen Prozess auch in vivo vermuten zu lassen. Ebenso müssten wir dabei in Rechnung ziehen, dass Thrombin physiologisch im Organismus nicht vorkommt. Abgesehen davon bietet uns dieses Phänomen einen neuen Weg, um den Mechanismus der chemischen Umwandlungen bei der zweiten Phase der Blutgerinnung zu erklären.

Selbstverständlich ist von besonderem Interesse, auf welche Weise Thyroxin in diesem Prozesse seine Wirkung ausübt und auf welche von den zwei Komponenten diese Gerinnungsphase seine Wirkung ausgelöst wird.

Um auf diese Frage eine mögliche Antwort zu bekommen vorausgesetzt dass das Thyroxin mit einer von diesen Komponenten reagieren sollte, und dass diese Reaktion nicht zu schnell vor sich gehe, haben wir einem Test benutzt, den wir bei Untersuchungen der Cystein bzw. Cystinwirkung auf dieselbe Gerinnungsphase gebraucht haben²³).

Diese Untersuchungen haben wir auf diese Weise durchgeführt, dass wir zuerst Fibrinogen in verschiedenen langen Zeitspannen mit Thyroxin stehen liessen und nach dem Thrombinzusatz die Fibrinogengerinnungszeit bestimmten. Denselben Versuch wiederholten wir mit Thrombin statt mit Fibrinogen, bestimmten die Fibrinogengerinnungszeit diesmal aber erst, nachdem Thrombin eine gewisse Zeit mit Thyroxin stehen geblieben war. Die Ergebnisse sind auf den Tabellen II. und III. dargestellt.

Tabelle II

1 ccm Fibrinogenlösung und 1 ccm einer Lösung die 8 mg Thyroxin enthält, sind auf eine verschiedene Zeitdauer in Berührung gebracht. Nach diesem Stehen wurde 1 ccm Thrombinlösung zugesetzt und die Fibrinogengerinnungszeit bestimmt.

Zeitdauer der Berührung von Fibrinogen mit Thyroxin in Minuten	Gerinnung auftritt nach Minuten
0	1.15
5	0.55
10	1.00
15	1.23
20	0.50
25	1.42
30	1.55
40	2.05
50	1.40
60	1.05

Wie aus Tabelle II. ersichtlich ist, war die Zeitdauer in welcher Fibrinogen mit Thyroxin in Berührung stand ohne irgendeinen Einfluss auf die Fibrinogengerinnungszeit. Im Gegenteil, aus Tabelle III. und Abb. 1. folgt ganz klar, dass die Fibrinogengerinnungszeit mit der wachsenden Zeitdauer der Berührung von Thrombin und Thyroxin wächst. Daraus kann man schliessen dass Thyroxin in der zweiten Phase der Blutgerinnung auf eine unbekannte Weise mit Thrombin reagiert.

An dieser Stelle muss man nach der Gruppe im Thyroxinmolekül fragen, welche für die oben vorausgesetzte Reaktion

verantwortlich ist. Wir führten deshalb die Versuche analog denjenigen in der Tabelle I. und II. durch, indem wir statt Thyroxin Dijodtyrosin, Jod und Jodkali angewendet haben. Alle diese Substanzen, ausser Dijodtyrosin, waren ohne irgendeinen Einfluss auf die Fibrinogengerinnungszeit. Dijodthyrosin wirkte in einem geringerem Ausmasse verkürzend und übte dabei seine Wirkung auf Fibrinogen aus.

Tabelle III

Die Bedingungen wie in Tabelle II. ausser dass in dieser Versuchsreihe eine Berührung von Thrombin mit Thyroxin stattfindet.

Zeitdauer der Berührung von Thrombin mit Thyroxin in Minuten	Gerinnung auftritt nach Minuten
0	1.04
5	1.36
10	2.00
15	2.38
20	2.55
25	3.43
30	6.40
40	6.45
50	15.00
60	18.40
70	26.30
80	48.35
100	82.26
120	keine Gerinnung
150	keine Gerinnung

Wir können dementsprechend vermuten, dass der übriggebliebene Teil des Thyroxinmoleküls d. h. der diiodphenolische Teil für die obenbeschriebenen Ergebnisse verantwortlich sei.

Die folgenden Versuche sollten dienen um uns der Lösung des Problems näher zu bringen. Versuchsanordnung und Ergebnisse sind in der Tabelle IV. dargestellt.

Wie schon gesagt, sind Jod, Jodkali, oder Adrenalin allein nicht imstande die Fibrinogengerinnungszeit zu verlängern. Wenn man aber Jod mit Adrenalin mischt oder mit Muskel- oder Leberextrakt, so entsteht eine Verbindung, die die Fähigkeit besitzt die Fibrinogengerinnungszeit bis ins Unendliche, wie die Tabelle IV. zeigt, zu verlängern. Es scheint uns möglich, dass Adrenalin, der die Hydrochinonstruktur in Ortho-stellung in seinem Molekül besitzt, in Anwesenheit von Jod fähig wird, die Verzögerung der Fibrinogengerinnung zu verursachen.

Tabelle IV

Versuchsprobe enthielt 1 ccm Fibrinogenlösung und 1 ccm destilliertes Wasser unter Zusatz von 1 ccm Thrombinlösung. Statt Wasser wie angegeben, setzten wir Adrenalinlösung (1 mg Adrenalin), Jodlösung (6 mg J) mit oder ohne Gewebsextrakt in solchen Mengen zu, dass das Endvolumen der Probe immer 3 ccm betrug.

Versuchsprobe mit	Gerinnung auftritt nach Minuten
Wasser	0.30
Jod (in KJ gelöst)	0.32
Adrenalin	0.38
Adrenalin und J (in KJ gelöst)	keine Gerinnung*)
Adrenalin und Muskelextrakt	0.31
Jod (in KJ gelöst) und Muskelextrakt	keine Gerinnung*)
Adrenalin und Leberextrakt	0.28
Jod (in KJ gelöst) und Leberextrakt	keine Gerinnung*)
Muskelextrakt	0.26
Leberextrakt	0.31

Wie vorher gesagt wurde, verursacht Thyroxin eine Erhöhung der Succinodehydrasewirkung bei der Bernsteinsäureoxydation aus. Succinodehydrase ist ein Ferment, das nur durch den Gehalt an freien Thiolgruppen in seinem Molekül wirksam ist. Vielleicht handelt es sich dabei um einen Schutz dieser Gruppen vor einer Oxydation oder Bindung mit Metallionen.

Beim Thrombin scheint die Sache ganz im Gegenteil zu sein. Nach Gerber und Blanchard besteht der Mechanismus der Thrombiniwirkung darin, dass disulfidbrückenenthaltendes Thrombin Fibrinogen, das Sulphydrylgruppen enthält, oxydiert und damit Fibrin bildet.

Die Frage der Möglichkeit einer stöchiometrischen Reaktion zwischen Fibrinogen und Thrombin haben wir in einer früheren Arbeit behandelt. Nach unserer Auffassung ist Fibrinbildung nur möglich, wenn bei den zwischeneinander abfliessenden Reaktionen als Endprodukte oxydiertes Fibrinogen und reduziertes Thrombin anwesend sind. Daraus möchten wir auch schliessen, dass Thyroxin auf Thrombin derart wirkt dass Disulfidbrücken von Thrombin reduziert werden und damit Thrombin selbst inaktiviert wird.

Der folgende Versuch hat bewiesen, dass Thyroxin selbst eine reduzierende Wirkung auf Thrombin ausübt. Wir mischten in sieben Versuchsröhrchen je 2 ccm Thrombinlösung mit 2 ccm

*) An dem Boden des Versuchsröhrchens bildete sich ein Niederschlag ohne irgendeiner Ähnlichkeit mit der gallertartigen Konsistenz von Fibrin.

einer $0,5 \times 10^{-3}$ molare Thyroxinlösung. Nach Ansäuerung zentrifugierten wir das ausgefallene Thyroxin ab und titrierten die Mischung mit Jod und Thiosulfat. Nach dem Vermischen titrierten wir sofort die erste Probe, die zweite nach 15 Minuten stehen bei Zimmertemperatur, die dritte nach 30 Minuten, dann nach 45, 60, 75 und 90 Minuten. Die Resultate sind in Tabelle V. dargestellt.

Tabelle V

Probe mit	ccm von verbrauchten n/100 J nach Minuten:						
	0	15	30	45	60	75	90
Thrombin	0	0	0	0	0	0	0
Thyroxin	0	0	0	0	0	0	0
Thyroxin und Thrombin	0	0.106	0.116	0.112	0.112	0.128	0.127

Wie aus der Tabelle V. ersichtlich wird, verbrauchen Trombin und Thyroxin allein, auch nach langem Verweilen bei Zimmertemperatur bei der Titration kein Jod, aber eine Mischung dieser zwei Substanzen zeigt reduktive Eigenschaften, die um so grösser werden, je länger die Substanzen in Berührung standen. Obwohl das Experiment bei alkalischer Reaktion ($\text{pH} = 8$) ausgeführt wurde, zeigen die Kontrollen, dass dieser Effekt unabhängig von dem Einfluss der alkalischen Reaktion ist.

Wahrscheinlich, besitzt Thyroxin wie schon angedeutet, reduktive Eigenschaften. Die Disulfidbrücken im Thrombin sind bis jetzt nicht nachgewiesen worden, aber bei einem solchen Versuchserfolg können wir diese Brücken vermuten. Analoge Untersuchungen mit gleichsinnigen Ergebnissen führten wir mit Insulin durch²⁴). Für Insulin ist bereits festgestellt worden, dass es Disulfidbrücken besitzt und nur in diesem oxydierten Zustande wirksam ist. Wir schlossen aus den beschriebenen Versuchsergebnissen und aus den analogen Versuchen mit Insulin, dass Thyroxin mit Thrombin auf diese Weise reagiert dass die Disulfidbrücken im Thrombin reduziert werden.

Aus der Abb. 1 wird ersichtlich, dass die Reduktion von Thrombin beinahe parallel mit seiner Inaktivierung gehe. Der Zeitpunkt, bei dem Thyroxin ein Maximum in der Thrombinreduktion zeigt, ist fast derselbe als derjenige, bei dem die Fähigkeit des Thrombins Fibrinogen zu umwandeln erlischt.

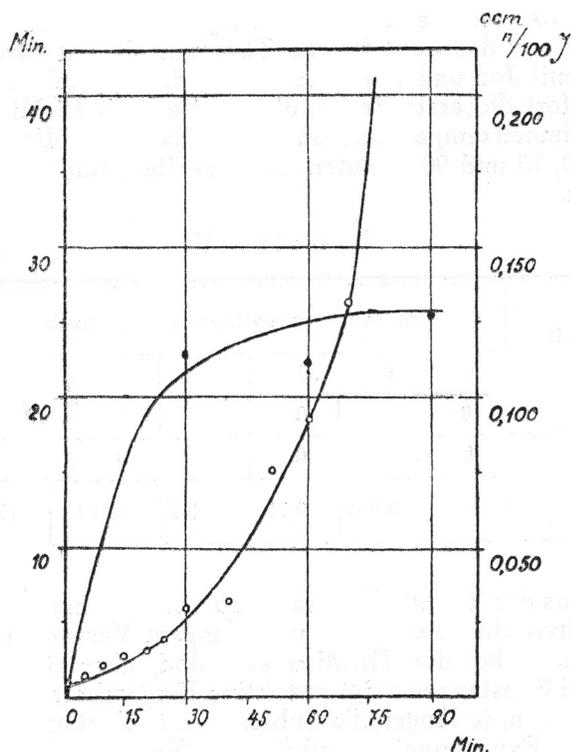


Abb. 1.

○ Gerinnungszeit

● Jodverbrauch

Die Ordinate bezeichnet die Gerinnungszeit in Minuten bzw. den Verbrauch der centinormalen Jodlösung in Kubikcentimeter.

Die Abszisse bezeichnet das Berührungsdauer von Thrombin mit Thyroxin (siehe Text).

Unsere Ergebnisse sind, wie ersichtlich, in keiner Übereinstimmung mit den Bemerkungen, die Palos zu den Behauptungen Gerendas gemacht hat. Nach Gerendas sollte das thrombininaktivierende Ferment durch Schilddrüsenstoffe wirksamer werden. Nach dem letzten Autor wird Thrombin in Serum auf zwei verschiedenen Weisen inaktiviert: durch Adsorption, und auf fermentativen Wege. Diese fermentative Thrombinaktivierung entwickelt sich, wie Gerendas fortsetzt, sehr rasch. Bei einer Überfunktion der Schilddrüse geht die fermentative Thrombinaktivierung schneller von sich, woraus folgt, dass die Blutgerinnungszeit verzögert wird. Nach Palos sollte sich die fermentative Thrombinaktivierung im Se-

rum des gesunden Menschen so schnell entwickeln, dass nach zwölf Minuten eine viermal längere Blutgerinnungszeit eintritt.

Wir führten unsere Untersuchungen nicht mit Vollblut, Plasma oder Serum, sondern wie angedeutet mit Präparaten von Fibrinogen und Thrombin. Obwohl mit unseren Präparaten nach Thyroxinzusatz ebenfalls eine Verzögerung der Gerinnungszeit erfolgte, können wir diese Ergebnisse keinem thrombinaktivierenden Fermente zuschreiben. Unsere wässrige Lösung von Thrombinpräparaten zeigte, im Eisschrank bewahrt, nach mehreren Tagen keine Einbusse ihrer Wirksamkeit bzw. Reagierbarkeit. Bei Zimmertemperatur gehalten zeigten sie, der Fibrinogenlösung zugesetzt, während der ganzen Dauer der Versuche, dieselbe Reagierbarkeit, d. h. Fibrinogen zeigte dieselbe Gerinnungsgeschwindigkeit wie am Beginne des Versuches. Von einer Verunreinigung, die das thrombininaktivierende Ferment vorstellen sollte, kann bei unseren Thrombinpräparaten also keine Rede sein. Wie schon gesagt, tritt nach dem Thyroxinzusatz doch eine Verzögerung der Fibrinogengerinnungszeit ein und wir setzen voraus, dass das Thrombin mit Thyroxin unmittelbar chemisch reagieren könnte.

Thyroxin tritt in diese Reaktion reduzierend auf. Es ist imstande die vermuteten Disulfidbrücken von Thrombin (auch Insulin) zu reduzieren. Dijodtyrosin besitzt keine solche thyroxinartige Eigenschaften.

Nie mann und Redemann haben vorausgesetzt, dass nur solche Thyroxinabkömmlinge thyroxinartige Wirksamkeit haben, die sich chinoid umwandeln können. Wie bekannt sind Thyroxin und Adrenalin für eine solche Umwandlung geeignet, und wie die beschriebenen Versuche zeigen, verzögert Adrenalin in Anwesenheit von Jod die Fibrinogengerinnung in sehr hohem Ausmasse. Dies steht auch mit den von Frieden und Winzler festgestellten Tatsachen zusammen.

Was die chinoide Umwandlung von Thyroxin betrifft, die von Nie mann und Redemann festgestellt wurde, stehen unsere Beobachtungen damit nicht in vollem Einklang. Wie Gerber und Blanchard feststellten, katalysieren bzw. beschleunigen Hydrochinone die durch Thrombin ausgelöste Fibrinogengerinnung und spielen dabei die Rolle eines Wasserstoffüberträgers. Dazu sind solche Hydrochinone geeignet, die die Fähigkeit besitzen sich reversibel zu oxydieren. Adrenalin besitzt wegen seiner irreversiblen Oxydierbarkeit diese beschleunigende Wirksamkeit nicht. Manchmal auch konnte man mit Adrenalin eine gegensätzliche Wirkung bemerken. Demnach, wenn Thyroxin imstande wäre wie es Nie mann und Redemann angeben, sich reversibel zu oxydieren, dann würde es

eine beschleunigende, nicht aber eine verzögernde Wirkung auf die Fibrinogengerinnung ausüben.

Wir sind deshalb der Meinung, dass sich das Thyroxinmolekül einer Oxydation unterworfen in zwei Moleküle spaltet. Die dabei entstehenden Dijodchinon und Dijodphenylalanin sind unserer Ansicht nach nicht fähig sich wieder zu Thyroxin zu verbinden. Ob das in der Tat in einem solchen, wie in unseren Versuchen angewandten relativ einfachen System geschieht, und ob es auch im lebenden Organismus vorkommt, ist das Thema unserer weiteren Untersuchungen.

Schlussfolgerung

1. Die durch Thrombin ausgelöste Fibrinogengerinnung wird durch Thyroxinzugabe verzögert. Diese Verzögerung nimmt verhältnismässig mit der Thyroxinmenge zu.

2. Die Verzögerung der Fibrinogengerinnungszeit nimmt auch verhältnismässig mit der Dauer der vorherigen Berührung von Thrombin mit Thyroxin zu. Die Zeitdauer der Berührung von Fibrinogen mit Thyroxin ist ohne irgendeinen Einfluss auf die Verlängerung der Fibrinogengerinnungszeit. Es folgert daraus dass Thyroxin mit Thrombin reagieren könnte.

3. Dijodtyrosin, Jod und Jodkali in Wasser gelöst, haben keinen Einfluss auf die durch Thrombin ausgelöste Fibrinogengerinnung.

4. Adrenalinlösung sowie wässrige Muskel- oder Leberextrakte haben in der Anwesenheit von Jod auf die Fibrinogengerinnung eine Thyroxinähnliche Wirkung.

5. Unter der Voraussetzung, dass Thrombin durch Thyroxin reduziert wird, wurde das reduzierte Thrombin mit Jod titriert. Es konnte gezeigt werden, dass mit der zunehmenden Zeitlänge der Berührung von Thrombin mit Thyroxin eine steigende Menge von Jod verbraucht wird. Der Jodverbrauch erreicht sein Maximum ungefähr in dem Moment als dieses Thrombin für die Fibrinogengerinnung ungeeignet wird.

6. Nach den Literaturangaben sowie nach unseren Ergebnissen wird die Möglichkeit der Spaltung des Thyroxinmoleküls ins Dijodchinon und Dijodphenylalanin besprochen.

LITERATUR

- ¹⁾ Kottmann, K. Ztschr. klin. Med., 71, 362 (1910).
- ²⁾ Yamada, M., Biochem. Z., 87, 273 (1918).
- ³⁾ Ishikawa, K. und Sasaki, T., Fol. endocrin. jap., 3, 825 (1927); (Ber. Physiol., 44, 85 (1928)).
- ⁴⁾ Fonio, A. und Scheurer, G., Mitt. Grenzgeb. Med. Chir., 42, 467 (1931).

- ⁵⁾ Boothby, W. M. und Sandiford, I., *Physiol. Reviews*, **4**, 69 (1924).
- ⁶⁾ Ahlgren, G., *Skand. Arch. Physiol. Suppl.*, **47**, 1 (1925).
- ⁷⁾ Dresel, K., *Klin. Wschr.*, **1928**, 504.
- ⁸⁾ Reinwein, H. und Singer, W., *Biochem. Z.*, **197**, 152 (1928).
- ⁹⁾ Euler, U. S. v., *Arch. internat. Pharmacodynamie*, **42**, 287 (1932).
- ¹⁰⁾ Euler, U. S. v., *Klin. Wschr.*, **12**, 671 (1933).
- ¹¹⁾ Dye, L. A. und Manghan, G. H., *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **26**, 441 (1929).
- ¹²⁾ Aloisi, M. und Cavallini, D., *Boll. soc. ital. biol. sper.*, **15**, 663 (1940).
- ¹³⁾ Niemann, C. und Redemann, C. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **63**, 1549 (1941).
- ¹⁴⁾ Frieden, E. und Winzler, R. J., *J. Biol. Chem.*, **176**, 155 (1948).
- ¹⁵⁾ Zunz, E. und Sanchez de la Cuesta, G., *Arch. internat. Physiol.*, **37**, 241 (1933).
- ¹⁶⁾ Palos, L. A. und Bozoky, S., *Orvosk. Lapja*, **2**, 467 (1946); (*Brit. Abstr.*, A. III, **1948**, 106).
- ¹⁷⁾ Palos, L. A., *Schweiz. Med. Wschr.*, **78**, 491 (1948).
- ¹⁸⁾ Gerendas, M., *Nature*, **157**, 837 (1946).
- ¹⁹⁾ Gerber, C. F. und Blanchard, E. W., *Am. J. Physiol.*, **144**, 447 (1945).
- ²⁰⁾ Kekwick, R. A. und Mackay, M. E., *Nature*, **157**, 629 (1946).
- ²¹⁾ Mylon, E. und Winternitz, M. C., Sütö Nagy, G. J., *J. Biol. Chem.*, **143**, 211 (1942).
- ²²⁾ Astrup, T. und Darling, S., *J. Biol. Chem.*, **133**, 761 (1940).
- ²³⁾ Allegretti, N. und Buta, S., *Arh. kem.*, **21**, 189 (1949).
- ²⁴⁾ Allegretti, N. und Milković, S., *Arh. kem.* (im Druck).

PHYSIOLOGISCHES INSTITUT
 MEDIZINISCHE FAKULTÄT
 ZAGREB, KROATIEN

Eingegangen am 9. Juni 1950.

IZVOD

Utjecaj tiroksina na zgrušavanje fibrinogena s pomoću trombina

Nikša Allegretti, Stojanka Buta i Stevan Milković

Dodatak tiroksina sistemu fibrinogen-trombin dovodi do produljenja vremena zgrušavanja fibrinogena. Ovo produljenje proporcionalno je koncentraciji tiroksina.

U istraživanju, da li tiroksin djeluje na fibrinogen ili trombin kod produljivanja vremena zgrušavanja fibrinogena, poslužili smo se metodom opisanom u prethodnoj radnji. Pustili smo, da tiroksin prethodno stoji neko vrijeme sa trombinom i zatim dodavali fibrinogen ili smo pustili fibrinogen stajati sa tiroksinom i dodavali trombin. U prvom slučaju očitovala se ovisnost duljine vremena zgrušavanja fibrinogena o duljini prethodnog stajanja trombina sa tiroksinom, dok u drugom slučaju produljenje ostaje uvijek jednako. Iz toga smo zaključili da tiroksin kod svog djelovanja na vrijeme zgrušavanja fibrinogena s pomoću trombina djeluje na trombin.

Jod, kalijev jodid i 2,5-dijodtirozin nemaju u ovom pokusu tiroksinsku aktivnost.

Pokuse ponovili smo sa jodom, jodom + adrenalin, adrenalinom, adrenalinom + vodeni ekstrakt jetre ili mišića i sa samim ekstraktima. Samo oni sistemi, koji su sadržavali jod sa adrenalinom ili tkivnim ekstraktom, imali su na zgrušavanje fibrinogena učinak sličan tiroksinu.

Pretpostavivši da tiroksin reducira disulfidne skupine (još nedokazane) u molekuli trombina, titrirali smo jodom trombin, koji je stajao u dodiru sa tiroksinom. Pokazalo se, da ovakav trombin troši kod titracije to više joda, što je dulje stajao u dodiru sa tiroksinom.

Teoretski je razmotrena mogućnost reagiranja trombina i tiroksina, kod čega se postavlja mogućnost cijepanja molekule tiroksina na dijodkinon i dijodfenilalanin.

ZAVOD ZA FIZIOLOGIJU
MEDICINSKI FAKULTET
ZAGREB

Primljeno 9. lipnja 1950.