

Allgemeine Literaturhinweise:

Holtz F. und Flaschenträger B.: Mineralstoffe; in « Physiologische Chemie », die Stoffe; Springer-Verlag, 1951, Berlin, Bd. 1, S. 184–254.

Schütte E.: Mineralstoffwechsel; in « Physiologische Chemie », der Stoffwechsel; Springer-Verlag, 1954, Berlin, Bd. 2, S. 608–700.

Monier-Williams G. W.: Trace elements in food; Chapman and Hall, 1949, London.

Scharrer K.: Biochemie der Spurenelemente; Parey, 3. Auflage, 1955, Berlin.

Underwood E. J.: Trace elements; in « Biochemistry and Physiology of nutrition »; Bd. 2, S. 426, Academic Press, 1953, New York.

Stiles W.: Trace elements in plants and animals. Cambridge University Press, 1948.

Leuthardt F.: Mineralstoffwechsel (die Spurenelemente); in Erg. Physiol. 44, 588 (1941).

Chilean Nitrate Educational Bureau Inc.: Bibliography of the literature on the minor elements . . . Bd. 1–3 1948, New York.

Fortschritte bei der Herstellung klinisch verwendbarer, humaner Plasmafraktionen

Von Dr. P. Kistler, Zentrallaboratorium des Blutspendedienstes des Schweiz. Roten Kreuzes, Bern, und Theodor-Kocher-Institut, Bern

Es ist heute bekannt, daß das menschliche Plasma wahrscheinlich über 100 verschiedene Eiweißkörper enthält. Sie sind Träger unterschiedlichster physiologischer Funktionen. Bisher wurden ihrer ungefähr 50 sicher nachgewiesen und zum Teil auch isoliert [1].

Nur verhältnismäßig wenige dieser Proteine und Proteide sind bis heute näher erforscht. Immerhin sind von einigen ihre Funktionen ziemlich gut bekannt. So ist beispielsweise das Albumin, das allein gut die Hälfte der gesamten Plasmaeiweiße ausmacht, verantwortlich für die Konstanthaltung des Blutvolumens. Ist dieses zu klein im Verhältnis zum Volumen des Blutgefäßsystems, so ist ein gefährlicher Schockzustand die Folge. Die Gruppe der sogenannten Gammaglobuline ist Träger der Abwehrreaktionen des Körpers gegen Infektionskrankheiten (Immunität); andere Stoffe wie das Fibrinogen nehmen am Blutgerinnungsmechanismus teil, und wieder andere tragen Blutgruppeneigenschaften.

Von diesen Erkenntnissen ausgehend, stellte nun Prof. E. J. Cohn in Boston ¹⁾ die Überlegung an, daß es eigentlich sinnlos sei, einem Patienten, der zur Behandlung eines Leidens nur der einen oder anderen Plasmakomponente bedürfe, gleich alle zu geben. Gelänge es, aus Plasma verschiedene Komponenten zu isolieren, so wäre damit die Möglichkeit einer viel rationelleren Auswertung des kostbaren Stoffes gegeben, indem sich aus dem gleichen Quantum Plasma verschiedene Produkte zu verschiedenen Zwecken und womöglich noch in wirk-

¹⁾ Prof. E. J. Cohn, Harvard Medical School, Boston, Mass., USA († 1953) war einer der Begründer der modernen Eiweißchemie. Er hat vor allem der biochemischen und medizinischen Erforschung der Blutproteine auf der ganzen Welt einen ungeheuren Auftrieb gegeben.

sameren Konzentrationen gewinnen ließen. Prof. Cohn wußte aus seinen Überlegungen die Konsequenzen zu ziehen. Mit einem Stab ausgezeichneter Mitarbeiter und mit fast unbeschränkter Finanzhilfe des Staates ging er während des Zweiten Weltkrieges mit Energie an die Verwirklichung seiner Ideen. Die Resultate dieser Bemühungen sind die heute klassisch gewordenen Cohnschen Fraktionierungsmethoden zur Isolierung einer Reihe wichtiger Eiweißkörper aus dem menschlichen Plasma [2, 3, 4]. Die Methoden bauen auf der Tatsache auf, daß Proteine nicht unter allen Umständen gleich gut löslich sind. Die Löslichkeiten hängen vor allem vom Salzgehalt des Lösungsmittels (Ionenstärke) und von seinem Gehalt an Wasserstoffionen (pH) ab. Es ist bekannt, daß alle Eiweißkörper Träger mehr oder weniger starker elektrischer Ladungen sind. Unterschiede im Ladungszustand haben nun zur Folge, daß sich für jedes Protein individuelle Bedingungen finden lassen, unter denen seine Löslichkeit minimal ist. Zusätze von organischen Lösungsmitteln, wie Alkohol, Äther, Azeton, wirken fast allgemein löslichkeitsvermindernd, solche gewisser Schwermetallionen wie Zn^{++} , Hg^{++} oftmals direkt fällend (schwerlösliche Salze). All diese Kriterien wurden von der Cohnschen Schule zum Aufbau ihrer Fraktionierungsmethoden verwendet.

Der Blutspendedienst des Schweizerischen Roten Kreuzes hat von Anbeginn an zu seinen Pflichten auch die Herstellung klinisch verwendbarer Plasmafraktionen gerechnet und diese Aufgabe einer speziellen Abteilung, der Fraktionierungsabteilung, übertragen. Diese Abteilung hat daneben noch andere Aufgaben. Wenn der Blutspendedienst es sich auch nicht leisten kann und darf, eigentliche Grundlagenforschung zu betreiben, so muß er doch, wie jeder andere technische Betrieb, wissenschaftlich auf der Höhe bleiben. Die Fortschritte der Forschung müssen ständig verfolgt werden, und es muß die Möglichkeit bestehen, die Forschungsergebnisse anderer auf ihre praktische Anwendbarkeit zu prüfen und eventuell für die eigenen Bedürfnisse anzupassen.

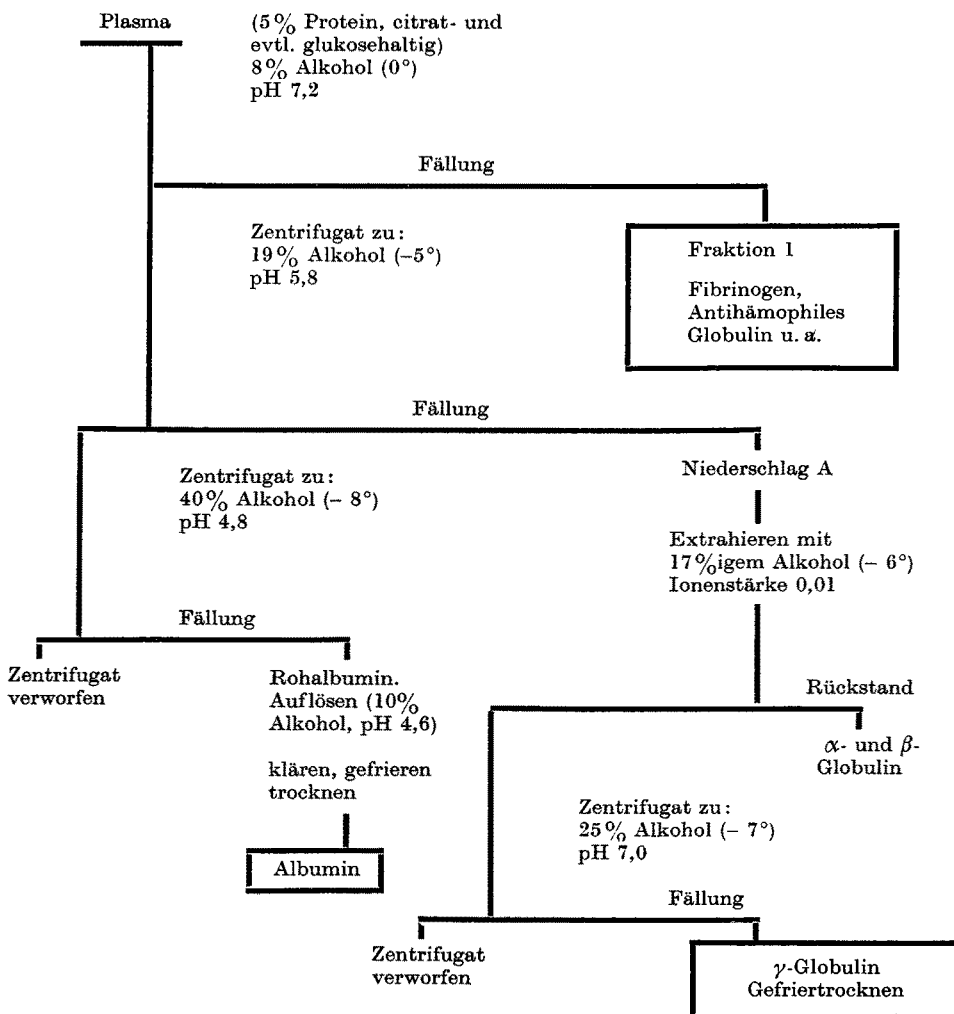
Wenn auch die Cohnschen Ideen wohl kaum je bis in die letzten Konsequenzen praktisch verwirklicht werden können, so haben sich doch bis heute verschiedene Plasmafraktionen ihre festen Anwendungsgebiete in der Medizin erobert. Albumin kann in manchen Fällen Plasma mit Vorteil ersetzen, besonders überall dort, wo es gilt, dem Körper arteigenes Protein in konzentrierter Form möglichst ohne Begleitstoffe, vor allem ohne Salz, zuzuführen. Gammaglobuline werden zur Prophylaxe oder zur Milderung verschiedener Infektionskrankheiten verwendet und haben sich vor allem bei Masern und bei der epidemischen Gelbsucht bewährt. Bis zum Erscheinen der Salk-Vakzine war Gammaglobulin das einzige Mittel, für das eine deutliche, wenn auch nur beschränkte prophylaktische Wirkung bei Kinderlähmung nachgewiesen worden war. In neuester Zeit wurde oft eine verblüffende Wirksamkeit hoher Gammaglobulindosen bei gewissen bakteriellen Infektionen festgestellt [5]. Dem Fibrinogen kommt bei akuten Afibrinogenämien oft lebensrettende Bedeutung zu.

Neben Albumin, Gammaglobulin und Fibrinogen werden ab und zu noch andere Präparate für spezielle Zwecke hergestellt. Es seien hier nur das anti-hämophile Globulin genannt, das von Zeit zu Zeit für die Behandlung von Blutern dringend verlangt wird, oder mit radioaktiven Elementen markierte Eiweißpräparate, die in den Kliniken für alle möglichen Prüfungen eine immer wichtigere Stellung einzunehmen beginnen.

Es ist ein besonders günstiger Umstand, daß für die Fraktionierung nicht wertvolles Plasma der Trockenplasmafabrikation entzogen werden muß. Die Fraktionierung kann nämlich sehr gut mit Plasma durchgeführt werden, das sich aus irgendeinem Grunde nicht zur Herstellung von Trockenkonserven

Tabelle 1:

Schema der vereinfachten Plasmafraktionierung nach Nitschmann, Kistler und Lergier



eignet. Dahin gehören vor allem die 20%, die seit der Einführung der Einzelzentrifugierung regelmäßig abfallen, sowie alles Plasma von Spendern, die einmal eine Gelbsucht durchgemacht haben. Die Fraktionierungsabteilung hat somit nebenbei eine besonders dankbare Aufgabe zu erfüllen, indem sie es erst ermöglicht, wirklich alles gespendete Blut in medizinisch wertvolle Produkte überzuführen.

Die Cohnschen Fraktioniermethoden ergeben Albumin- und Gamma-Globulinpräparate von sehr großer Reinheit (nur 1 bis 2% Begleitproteine). Der Arbeitsaufwand ist aber sehr erheblich, und die hohe Reinheit muß mit relativ schlechten Ausbeuten erkaufte werden. Bei einem so knappen und kostbaren

Tabelle 2:

Albumin und Gamma-Globulin nach Cohnschen Methoden 6 und 9 und nach der Berner Methode, aus dem gleichen Plasma hergestellt

	Boston	Bern
Reinheit (elektrophoretisch) in %		
Albumin	ca. 98	ca. 96
γ -Globulin	ca. 96	ca. 96
Ausbeute in % Reinsubstanz bezogen auf Gesamtmenge in Plasma		
Albumin	ca. 60	ca. 90
γ -Globulin	ca. 55	ca. 75
Alkoholverbrauch in l für 50 l Plasma	52 48	36,5 27,5

Material wie dem menschlichen Plasma sind größere Ausbeuteverluste auf die Länge nicht tragbar, dies um so mehr, als es bei Fraktionen, die klinisch verwendet werden sollen, überflüssig scheint, die anderen Plasmaproteine so vollständig zu eliminieren. Unser Ziel war deshalb eine möglichst einfache Methode, um Albumin und Gammaglobulin in maximaler Ausbeute aus Mischplasma zu isolieren. Unter Verwendung von Erfahrungen der Cohnschen Gruppe [4] und von H. F. Deutsch [6] gelang es uns, eine Fraktioniermethode zu entwickeln, die den gestellten Forderungen voll entspricht. Da sie in extenso publiziert worden ist [7], seien hier nur die wichtigsten Schritte in einem Schema wiedergegeben (Tabelle 1).¹⁾

Vor bald zwei Jahren ist die neue Methode in die Fabrikation eingeführt worden. Seither ist es möglich, in kürzerer Zeit viel mehr Plasma auf Albumin und Gammaglobulin zu verarbeiten, wobei erst noch die Ausbeuten wesentlich höher sind. Mit Genugtuung darf vermerkt werden, daß auch ausländische Blut-

¹⁾ Diese Arbeiten wurden in enger Zusammenarbeit zwischen dem Zentrallaboratorium des Blutspendedienstes und einer Forschungsgruppe an der Universität Bern unter der Leitung von Prof. Dr. H. Nitschmann durchgeführt. Dem Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung sei für seine großzügige finanzielle Unterstützung auch an dieser Stelle gedankt.

spendezentren sich lebhaft für unsere Methode interessieren und sie zum Teil auch schon praktisch anwenden. Die günstigen Ergebnisse wurden dabei bestätigt. Im Neubau des Zentrallabors des Blutspendedienstes ist nun auch die Fraktionierungsabteilung gut untergebracht. Großzügige, moderne Kühleinrichtungen und Laboratorien gestatten es, wenn nötig bis zu 50 Liter Plasma wöchentlich zu fraktionieren.

Der Blutspendedienst ist heute in der Lage, die folgenden Präparate zur Verfügung zu stellen:

Albumin in 100-ml-Flaschen als 15proz., sterile, pyrogenfreie Lösung. Nach Zusatz von 3% Glukose (Isotonie) und gewisser Stabilisatoren wird eine Wärmebehandlung während 10 h bei 60° vorgenommen. Dies gewährleistet Inaktivierung allfällig noch vorhandener, pathogener Viren, insbesondere von Hepatitisvirus [8]. Jeder Ansatz wird vor Freigabe bezüglich Sterilität, Pyrogenfreiheit, Toxizität und Hitzestabilität geprüft. 100 ml dieser salzarmen Lösung entsprechen kolloidosmotisch ungefähr 350 ml Plasma und vermögen etwa 250 ml Wasser ins Kreislaufsystem zu ziehen. Der Natriumgehalt ist etwa sechsmal geringer als bei der kolloidosmotisch gleichwertigen Plasmamenge.

Gammaglobulin wird in Ampullen zu 2 und 5 ml 16proz. Lösung abgegeben. Auch dieses Präparat wird selbstverständlich allen notwendigen Sicherheitsprüfungen unterzogen. Das γ -Globulin des Schweizerischen Roten Kreuzes ist erwiesenermaßen praktisch hepatitissicher [9].

Fibrinogen und Antihämophilieglobulin werden als Cohnsche Fraktion I gelöst, ultraviolett bestrahlt und in dem Abgabebehälter zu 250 bzw. 25 ml der Gefriertrocknung unterworfen. Vor Gebrauch müssen diese Präparate in pyrogenfreiem Wasser gelöst werden. Es ist vielleicht hier noch erwähnenswert, daß Fibrinogen und Antihämophilieglobulin zwar in der gleichen Fraktion erhalten werden; während für die Fibrinogenherstellung jedoch das Alter des Ausgangsplasmas keine entscheidende Rolle spielt, muß zur Erhaltung der Antihämophilieaktivität das Plasma im Zeitraume von wenigen Stunden nach der Blutentnahme verarbeitet werden.

Zusammenfassung:

Es wird kurz auf die Umstände hingewiesen, die zur Plasmafraktionierung führten. Von den vielen bekannten Fraktionen haben gegenwärtig nur Fibrinogen, γ -Globulin und Albumin praktische Bedeutung. Diese Gegebenheit ermöglichte es, die klassischen Cohn-Methoden zu vereinfachen und bessere Ausbeuten zu erzielen. Eine vereinfachte Methode zur Gewinnung von Fibrinogen, γ -Globulin und Albumin ist kurz beschrieben. Schließlich wird auf die Eigenschaften und klinischen Verwendungsmöglichkeiten der Präparate hingewiesen.

Summary:

The reasons for plasma-fractionation are mentioned. Today from the great number of known fractions only fibrinogen, γ -globulin and albumin are important for the clinician. This made it possible to modify Cohn's classical fractionation methods in order to obtain

better yields. A simple method for the production of fibrinogen, gamma-globulin and albumin is mentioned. Finally the properties of these fractions and the possibilities of their use in medicine are recalled.

Literaturverzeichnis

- [1] *Cohn E. J.*: *Experientia* 3, 125 (1947).
- [2] *Cohn E. J.*: et al.: *J. Am. Chem. Soc.* 68, 459 (1946).
- [3] *Oncley J. L.* et al.: *J. Am. Chem. Soc.* 71, 541 (1949).
- [4] *Cohn E. J.* et al.: *J. Am. Chem. Soc.* 72, 465 (1950).
- [5] *Barandun S.* und *Hässig A.*: Publikation in Vorbereitung.
- [6] *Deutsch H. F.* et al.: *J. Biol. Chem.* 164, 109 (1946).
- [7] *Nitschmann H.*, *Kistler P.* und *Lergier W.*: *Helv. Chim. Acta* 37, 866 (1954).
- [8] *Gellis* et al.: *J. clin. Invest.* 27, 239 (1948).
- [9] *Berger M.*, *Hässig A.* und *Zumstein P.*: *Helv. Chim. Acta* 37, 1554 (1954).

Ueber die Herstellung und Prüfung der SALK-Vakzine

von Dr. G. Weisflog, Sektionschef am Eidg. Gesundheitsamt, Bern

Der Surgeon-General der Vereinigten Staaten hat die Salk-Vakzine im Mai 1955 wie folgt umschrieben: «Die Vakzine wird derart hergestellt, daß der in ihr verbleibende Rest an infektiösem Virus unterhalb einer Konzentration bleibt, welche vermittels Gewebekultur oder am Affen gefunden werden kann oder die für den Menschen schädlich ist.»

Der Impfstoff besteht aus einer vermittels Formalin inaktivierten Suspension von Poliomyelitisvirus, die aber die Bildung von Antikörpern noch auslösen kann. Er ist das Resultat einer rapiden Entwicklung und intensiven Forschung, welche dank der großzügigen finanziellen Unterstützung durch das amerikanische Publikum ermöglicht worden ist.

Dr. Jonas Salk, nach dem der Impfstoff benannt wird, konnte sich auf folgende grundlegende Erkenntnisse stützen.

1. Enders, Weller und Robbin haben 1949 Poliovirus erstmals auf extra-neuralem Gewebe in vitro gezüchtet.
2. 1951 wurde es klar, daß mindestens drei immunologisch verschiedene Virusarten bestehen, deren Prototypen folgende Namen tragen: Brunhilde (Name eines Schimpansen), Lansing (Stadt in Michigan) und Leon (Knabename aus Los Angeles). Die drei Typen waren somit im Impfstoff zu berücksichtigen.
3. Neben die frühere Hypothese eines streng neurotrophen Infektionsweges trat die Erkenntnis einer möglichen Virämie als transitorischer Zustand zwischen primärer, indifferenter Infektion des Magen-Darm-Traktes und irreversibler Infektion des Nervensystems. Die Anwesenheit von Poliovirus im Blut wurde durch direkte Isolierung, die Unterbrechung des Zyklus durch Verabreichung von Gammaglobulin im Tierversuch sowie in den Feldversuchen der Jahre 1952 bis 1953 bewiesen. Der statistisch ermittelte