

Die Blutgerinnung – eine Enzymkaskade

UNTERRICHTSMODELL FÜR DIE SEKUNDARSTUFE I (8.–10. SCHÜLERJAHRGANG)
VON CHRISTIANE BROX UND WOLFGANG RUPPERT

Sachinformation

Wenn man sich schneidet, die Haut abschürft oder sich quetscht, werden dabei Blutgefäße verletzt. Nach einer gewissen Zeit kommt die Blutung zum Stillstand, und die Wunde wird von innen abgedichtet. Der Wundverschluss erfolgt in zwei Teilschritten: 1. durch die Blutstillung und 2. durch die Blutgerinnung.

Blutstillung

Wird ein Blutgefäß verletzt, heften sich Blutplättchen (Thrombozyten) an die Bindegewebsfasern der Wundränder und verkleben mit ihnen. Es entsteht ein Thrombozytenpfropf, der bei kleineren Wunden innerhalb von 1 bis 3 Minuten zu einer vorläufigen Blutstillung führt (Abb. 1). Die Anlagerung (Adhäsion) der Blutplättchen wird durch verschiedene Faktoren begünstigt. Neben dem Kollagen des Bindegewebes spielt der von-Willebrand-

Faktor eine entscheidende Rolle. Es handelt sich um ein Glykoprotein, das im Blutplasma durch enzymatische Spaltung aus dem Vorläuferprotein von Faktor VIII freigesetzt wird. Bei der Anlagerung bilden die Blutplättchen Pseudopodien aus, über die sie sich vernetzen. Aus den im Cytoplasma der Plättchen reichlich vorhandenen Granula werden verschiedene Substanzen freigesetzt: ADP (Adenosindiphosphat) wirkt als «Lockstoff» auf weitere Blutplättchen, die sich an der Verletzungsstelle ansammeln (Aggregation). Thromboxan A_2 , das aus einem Bestandteil der Plättchenmembran (Arachidonsäure) hergestellt wird, wirkt nicht nur aggregationsfördernd, sondern bewirkt – wie das ebenfalls freigesetzte Serotonin – eine Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur. Durch die Gefäßverengung wird die Durchblutung im Wundbereich verringert.

Blutgerinnung

Der aus Blutplättchen gebildete Pfropf kann die verletzte Gefäßstelle nicht dauerhaft verschließen. Durch die Blutgerinnung entstehen in der Blutflüssigkeit lange Fasern aus Fibrin. Dieses Protein spinnt die Blutplättchen so in ein Maschennetz ein, dass innerhalb von 5 bis 7 Minuten eine gallertartige Masse entsteht: ein Blutgerinnsel oder «Blutkuchen».

Im strömenden Blut liegt naturgemäß kein fertiges Fibrin vor, sondern nur eine lösliche Vorstufe, das Fibrinogen. Bei der Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin spielt ein Enzym die entscheidende Rolle: das Thrombin. Thrombin gehört – wie die Verdauungsenzyme Pepsin und Trypsin – zu den proteolytischen (proteinspaltenden) Enzymen. Wegen ihrer potentiell schädigenden Wirkungen liegen sie im Organismus meist zunächst in einer inaktiven Vorstufe vor und werden erst am Ort und zum Zeitpunkt ihres «Einsatzes» in die aktive Form umgewandelt. Bei der Blutgerinnung wird die inaktive Vorstufe des Thrombins durch ein weiteres proteolytisches Enzym in zwei oder mehrere Bruchstücke zerlegt; eines dieser Bruchstücke ist das aktive Enzym.

Beim Blutgerinnungssystem handelt es sich um eine Enzymkaskade (Abb. 3): Das erste, durch den Wundflächenkontakt aktivierte Enzym katalysiert die Umwandlung der nächsten Enzymvorstufe in die aktive Form, die ihrerseits das nächste Enzym aktiviert usw., bis es schließlich durch aktiviertes Thrombin zur Fibrinbildung kommt. Auch diese Gerinnungskaskade wird

durch Gefäß- und Gewebeerkrankungen ausgelöst. Dabei lassen sich zwei Aktivierungswegen unterscheiden:

1. Bei größeren äußeren Gewebsverletzungen (Schnittwunden, Gewebequetschungen, Operationen), die zu einem Blutaustritt in das umliegende Gewebe führen, wird das exogene System aktiviert (extravaskulärer Weg, Abb. 3 links). Dabei werden aus den Zellmembranen der zerstörten Gewebszellen Phospholipide freigesetzt, die als Gerinnungsfaktor III den im Plasma vorhandenen Faktor VII aktivieren. Faktor VII ist ein Enzym, das Faktor X in seine aktive Form verwandelt. Der aktivierte Faktor X bildet zusammen mit aktiviertem Faktor V einen Enzymkomplex (Prothrombin-Komplex, früher auch: Thrombokinase), der schließlich die Umwandlung von Prothrombin in Thrombin bewirkt.

2. Bei Beschädigung oder Veränderung der Gefäßinnenhaut (Endothel) wird das endogene System (intravaskulärer Weg, Abb. 3, rechts) aktiviert. Durch Kontakt mit der rauhen Oberfläche wird Faktor XII in die aktive Form umgewandelt. Damit startet eine Enzymkaskade, die über die Umwandlung der Faktoren XI und IX schließlich ebenfalls den Faktor X aktiviert.

Vergleicht man das Gefäßsystem mit einem Wasserleitungsnetz, dann ist das exogene System für Rohrbrüche und das endogene System für undichte Stellen zuständig. Die Gerinnungskaskade des exogenen Systems kommt innerhalb von Sekunden in Gang, benötigt aber einen kräftigen Reiz (Blutung). Das endogene System benötigt dagegen mehrere Minuten, arbeitet aber schon bei kleinsten Endothelveränderungen (Schäffler/Schmidt 1995). In der Regel sind beide Systeme am Gerinnungsablauf beteiligt.

Durch die Fibrinfasern wird der Thrombozytenpfropf stärker vernetzt; allerdings ist das frisch gebildete Fibrin-Netz noch instabil. Erst durch den aktivierten Faktor XIII erfolgt eine Quervernetzung der Fibrinfasern, die sich schließlich noch zusammenziehen und dadurch das Gerinnsel weiter verfestigen.

Würde das Gerinnungssystem nur aus den beiden Enzymkaskaden bestehen, käme es wahrscheinlich sehr viel häufiger zu unerwünschten Thrombosen. Die gezielte lokale «Dosierung» der Blutgerinnung wird durch Zusammenspiel der Enzymkaskaden mit gerinnungsfördernden und gerinnungshemmenden Cofaktoren erreicht. Zu den die Gerinnung fördernden

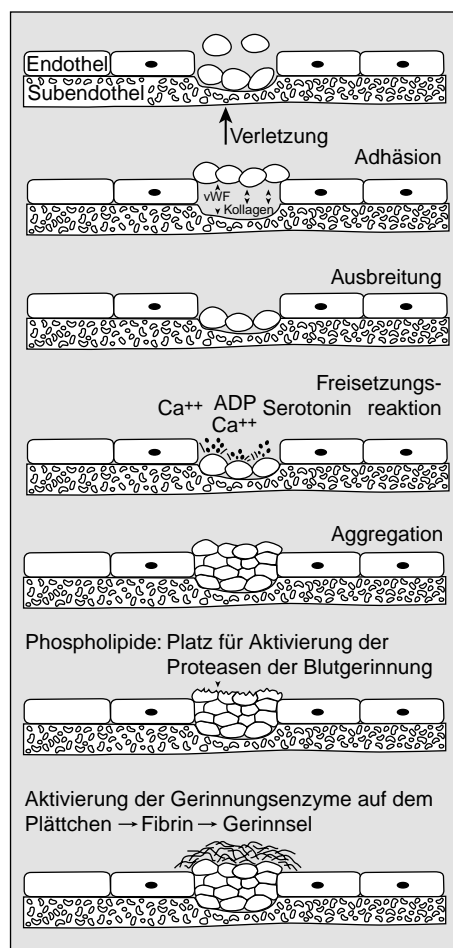


Abb. 1: Vorgänge bei der Blutstillung

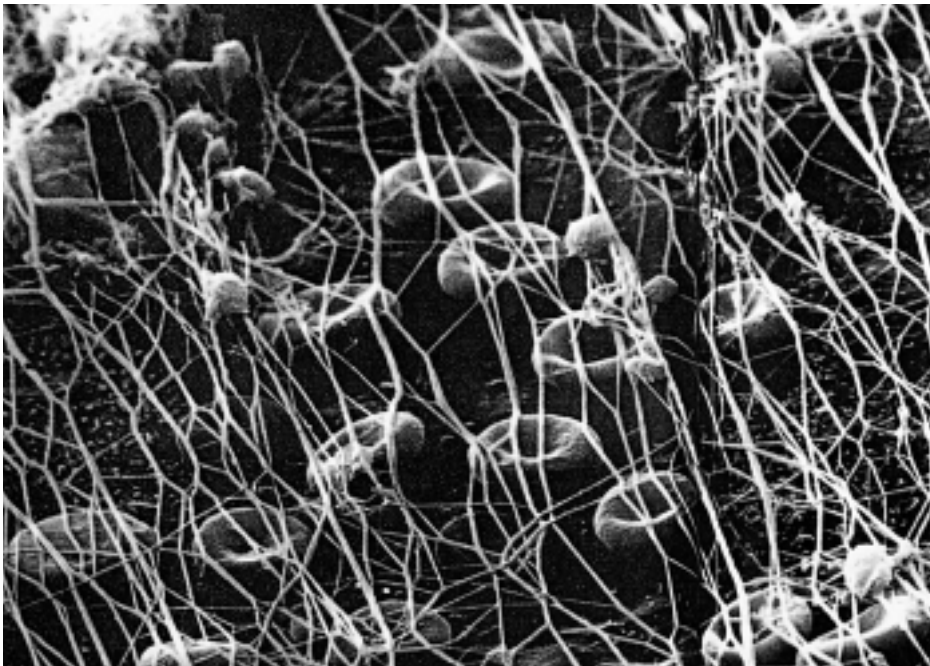


Abb. 2: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von Fibrinfasern mit vernetzten roten Blutzellen und Blutplättchen

Substanzen gehören der von den Thrombozyten freigesetzte Plättchenfaktor 3 (TF 3), der Faktor V, der die Prothrombin-Aktivierung begünstigt, und der Faktor VIII, dessen Fehlen zur häufigsten Form der Bluterkrankheit führt: der Hämophilie A. Die Umwandlung von Faktor V in seine aktive Form erfolgt durch Thrombin, so dass es an dieser Stelle zu einer positiven Rückkopplung kommt. Zu den gerinnungshemmenden Substanzen gehört das Protein C, das ebenfalls

zunächst als inaktive Vorstufe vorliegt und durch Thrombin in seine aktive Form umgewandelt wird. Aktives Protein C inaktiviert die beiden Cofaktoren V und VIII; dadurch sorgt aktiviertes Thrombin über eine negative Rückkopplungsschleife für ein Abbremsen der Gerinnungskaskade. Die meisten der 13 Gerinnungsfaktoren sind Proteine, die im wesentlichen in der Leber hergestellt werden; sie wurden in der Reihenfolge ihrer Entdeckung mit römischen Zahlen gekennzeichnet. Sie lie-

gen in so geringen Konzentrationen im Blut vor, dass ihr zufälliges Zusammentreffen sehr unwahrscheinlich ist. Zu einer Anreicherung der Gerinnungsproteine kommt es durch den Kontakt mit negativ geladenen Oberflächen (z.B. der Kollagenfasern des Bindegewebes) oder mit Phospholipiden, die in allen Zellmembranen vorhanden sind.

Die meisten Reaktionen der Gerinnungskaskade setzen die Anwesenheit von Calcium-Ionen (Faktor IV) voraus. Das ist der Grund, weshalb mit sog. Chelatbildnern wie Natriumcitrat die Blutgerinnung unterbunden werden kann (vgl. Material zu Station 2). Mit ungerinnbarem «Citratblut» kann die Funktionsfähigkeit des Gerinnungssystems überprüft werden. Beim «Quick-Test» wird dem Citratblut Gewebsthrombokinase und Calcium zugesetzt, wodurch die Blutgerinnung in Gang kommt. Die Dauer bis zum Einsetzen der Gerinnung wird auf eine Standardzeit bezogen und in Prozent angegeben. 70 bis 120% gelten als Normalwerte.

Fibrinolyse

Nach erfolgreicher Wundheilung wird der gebildete Thrombozytenpfropf durch enzymatische Auflösung der Fibrinfasern (Fibrinolyse) wieder entfernt. Das Fibrin auflösende Enzym, das Plasmin, kursiert im Blut als inaktive Vorstufe (Plasminogen) und kann bei Bedarf auf zwei verschiedenen Wegen aktiviert werden: durch Gewebs- oder durch Blutaktivatoren. Zu den Gewebsaktivatoren gehören das Enzym Urokinase und der Gewebsplasminogen-Aktivator (tPA von engl. tissue plasminogen activator), der inzwischen – gentechnisch hergestellt – zur Behandlung von Thrombosen eingesetzt wird.

Thrombose und Embolie

Ein Blutgerinnsel im unverletzten Blutgefäß entsteht vor allem, wenn die Gefäßwände durch Ablagerungen verändert sind (vgl. Material 4). Löst sich ein solcher Thrombus, kann er mit dem Blutstrom wandern und eine Embolie verursachen: Er bleibt in einem engeren Gefäß stecken und verhindert die weitere Blutzufuhr. Arterielle Embolien können zum Herzinfarkt oder Schlaganfall führen, venöse Embolien wie z. B. die Lungenembolie sind als Komplikation nach Operationen und Entbindungen gefürchtet.

Zur Verhinderung von Thrombosen stehen verschiedene Medikamente zur Verfügung, die

- die Thrombozytenaggregation blockieren (wie z.B. Acetylsalicylsäure),
- einige Gerinnungsfaktoren ausschalten (wie z.B. Heparin) oder
- die Herstellung von Gerinnungsfaktoren hemmen.

Die Medikamente der letzten Gruppe enthalten Cumarin-Derivate, die als Vitamin-K-Antagonisten wirken. Sie blockieren die Herstellung der Gerinnungsfaktoren II, VII, IX und X in der Leber, die von Vitamin K abhängig ist. Zu den häufig verordneten

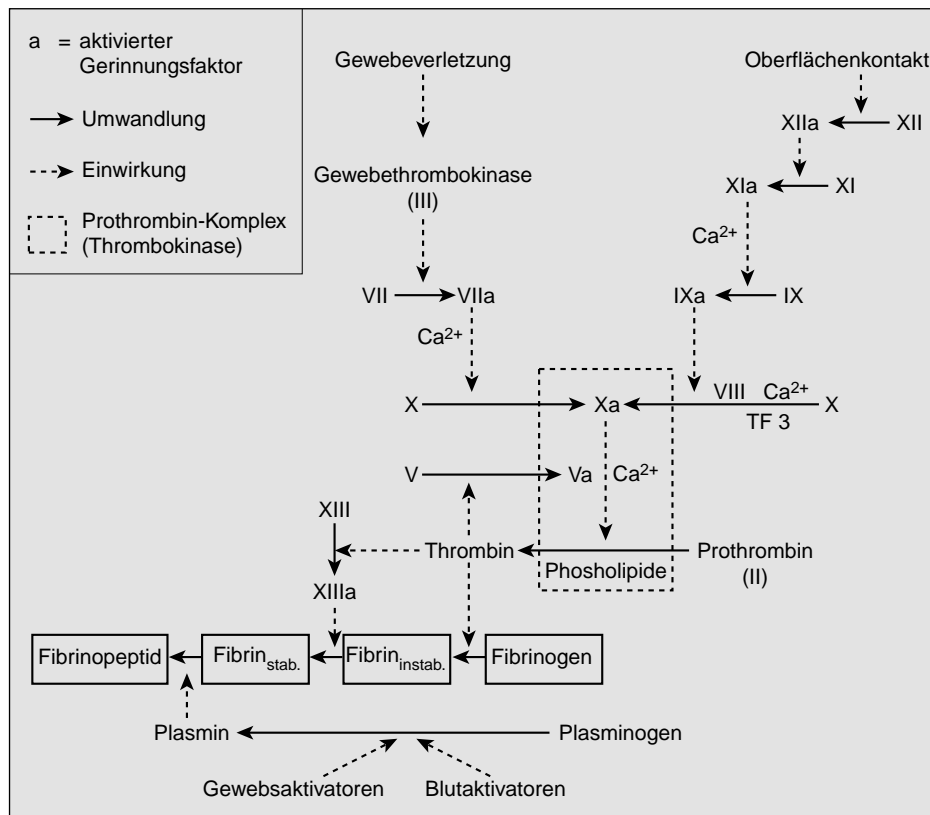


Abb. 3: Schematische Darstellung des Blutgerinnungs- und Fibrinolyse-Systems

Demonstrationsversuch zur Blutungszeit

Materialien: sterile Hämostilette, Tupfer, 70 %iger Alkohol, Pflaster; Stoppuhr

Die Lehrperson sticht sich mit einem sterilen Hämostilet in die zuvor desinfizierte Fingerbeere. In diesem Augenblick ist die die Stoppuhr zu drücken!

Indem man etwa alle 20 Sekunden den hervorquellenden Blutropfen mit einem Tupfer vorsichtig abwischt, lässt sich die Zeit bestimmen, bis die Blutung zum Stillstand kommt, d.h. kein Blut mehr aus der Wunde austritt.

Medikamenten dieser Gruppe gehört Marcumar® (Wirkstoff: Phenprocoumon), das wegen seines langsam Abbaus sehr lange wirkt und das deshalb sehr genau dosiert werden muss.

Die Bluterkrankheit

Die Bluterkrankheit (Hämophilie A) ist eine der häufigsten genetisch bedingten Krankheiten (1 : 10000). Sie beruht auf einem Mangel an Faktor VIII. Das Gen für Faktor VIII befindet sich auf dem unteren langen Arm des X-Chromosoms. Da die Krankheit rezessiv vererbt wird, sind fast ausschließlich Männer betroffen: Bei ihnen kann der Defekt nicht – wie bei Frauen – durch ein zweites X-Chromosom ausgeglichen werden.

Das Krankheitsbild der Hämophilie A ist nicht einheitlich: Vor allem innere Blutungen kommen entweder nur stark verzögert – nach mehr als 15 Minuten – oder gar nicht zum Stillstand. Die Unterschiede resultieren aus Art und Umfang der Mutationen im Gen für Faktor VIII. Die Betroffenen können bei größeren Verletzungen innerlich oder äußerlich verbluten, wenn ihnen nicht der fehlende Gerinnungsfaktor gespritzt wird. Man gewinnt den nötigen Faktor VIII aus dem Blutplasma von Spendern. Wegen der extrem niedrigen Konzentration müssen gewaltige Mengen an Plasma aufbereitet werden. Als Kosten für den Jahresbedarf eines mittelschwer kranken Bluters werden z. Z. bis zu 40.000 DM angegeben.

Bemerkungen zum Unterricht

Der vorliegende Unterrichtsvorschlag setzt voraus, dass die SchülerInnen die Blutbestandteile kennen. Die lebenswichtige Funktion der Blutgerinnung ist ein Vorgang, der unbewusst abläuft und als selbstverständlich angesehen wird. Welche komplexen Vorgänge im Körper ablaufen müssen, damit eine kleine Wunde, z. B. ein Stecknadelstich, wieder aufhört zu bluten, ist meist nicht bekannt. Phä-

nomene und Grundlagen der Blutgerinnung sollen in Form eines Lernzirkels erarbeitet werden. Dabei wird Wert auf die Eigentätigkeit der SchülerInnen gelegt. Vor dem Unterricht sollte die Lehrperson auf Gefahren und Verhaltensregeln im Umgang mit Blut aufmerksam machen. Wegen der Gefahr einer Ansteckung mit Krankheitserregern ist das Experimentieren mit Humanblut im Unterricht nur eingeschränkt möglich. In Baden-Württemberg ist die Blutentnahme erlaubt, sofern folgende Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden:

1. Eine Blutentnahme bei SchülerInnen oder Lehrpersonen darf nur auf freiwilliger Basis und unter weitgehend sterilen Bedingungen (s. Punkt 2) erfolgen.
2. Vor der Blutentnahme aus der Fingerbeere muss die Haut mit 70%igem Alkohol (Ethanol oder Isopropanol) abgerieben werden. Nach dem Trocknen ist die Haut sofort mit einem sterilen Hämostilet anzu- stechen. Das Hämostilet darf auch bei derselben Person nur einmal verwendet werden. Das benutzte Hämostilet ist sofort in einen mit 70%igem Alkohol gefüllten, dichten Behälter zu geben (nicht in den Papierkorb werfen!). Die angestochene Stelle ist nach der Blutentnahme mit Pflaster zu überkleben.
3. Beim Hantieren mit Blut sind dünnwandige und flüssigkeitsdichte Handschuhe zu verwenden.

In Bundesländern, in denen eine Blutentnahme bei SchülerInnen verboten ist, sollte nach Möglichkeit schlachtfrisches Schweine- oder Rinderblut verwendet werden (vom Metzger bzw. Schlachthof). Mit dem im Lehrmittelhandel käuflichen Kunstblut ist es leider noch nicht möglich, Gerinnungsuntersuchungen durchzuführen; es eignet sich lediglich dazu, Blutgruppenbestimmungen zu simulieren.

Alles dicht?

1. Unterrichtsabschnitt

Als Einstieg wird kommentarlos eine rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von vernetzten roten Blutzellen und -plättchen (vgl. Abb. 2) präsentiert. Die SchülerInnen sollen Vermutungen anstellen, um was es sich dabei handelt. Dabei kann die Zusammensetzung des Blutes rekapituliert werden. Alternativ kann man auch mit dem Bild einer Operation oder eines blutenden Fingers als stummen Impuls einsteigen. Die SchülerInnen wissen aus eigener Erfahrung, dass eine Blutung nach einiger Zeit aufhört zu bluten. Im Unterrichtsgespräch tragen sie zusammen, was sie bereits über die Blutgerinnung und deren Bedeutung wissen.

Anschließend werden Arbeitsgruppen gebildet, die nacheinander an drei Stationen Versuche zur Blutgerinnung durchführen und dabei den tatsächlichen Ablauf der Blutgerinnung erarbeiten. Für jede Station wird eine bestimmte Zeit vorgegeben. Je nach Klassenstärke ist es sinnvoll, die ein-

zelnen Stationen in mehrfacher Ausführung vorzubereiten.

Steht kein schlachtfrisches Rinderblut zur Verfügung, sollten alle SchülerInnen- gruppen gleichzeitig mit der Station 1 beginnen, damit die Lehrperson nur einmal Blut «spenden» muss.

Station 1

An dieser Station untersuchen die SchülerInnen, den Ablauf der Blutgerinnung sowie mögliche Störfaktoren (vgl. Material 1). Steht kein freiwilligen Blutspender zur Verfügung, kann auf frisches Schweine- oder Rinderblut zurückgegriffen werden, das aber direkt nach der Schlachtung auf 2 °C heruntergekühlt und bei dieser Temperatur bis kurz vor Versuchsbeginn aufbewahrt werden muss. Die Gerinnungskaskade kann nämlich nur durch sofortiges Herunterkühlen des Blutes unterbrochen werden.

In Versuchsansatz A wird das Blut gerinnen, der Blutkuchen setzt sich vom gelblichen Blutserum ab. Bei einem Quetschpräparat sieht man unter dem Binokular das Fibrinnetz, in dem sich die Blutkörperchen verfangen haben.

Beim Versuchsansatz C wickeln sich beim Rühren Fibrinfasern um den Zahnstocher. Wäscht man überzählige rote Blutzellen vorsichtig mit Wasser ab, kann man die Fibrinfasern anschließend unter dem Binokular näher betrachten und zeichnen. Im zweiten Blutropfen wird keine Gerinnung zu beobachten sein, da das Natriumcitrat die notwendigen Ca^{2+} -Ionen bindet. Durch Zusatz von einem Tropfen 5 %iger Calciumchloridlösung könnte die Gerinnung theoretisch wieder in Gang gesetzt werden. Dies klappt im Versuch jedoch nur bedingt, da es viele Störfaktoren gibt:

- Die Enzymwirkung ist temperaturabhängig, und nach der Entnahme kühlt das Blut rasch ab.
- Das Blut ist durch Zusatz der Natriumcitrat- und Calciumchloridlösung schon stark verdünnt.
- Aufgrund der geringen Mengen kommt es durch Verdunstung schnell zu Konzentrationsverschiebungen, die den Ablauf der Gerinnung be- bzw. verhindern.

Station 2

Hier vergleichen die SchülerInnen geronnenes Schweine- oder Rinderblut mit ungerinnbar gemachtem Blut (vgl. Material 2). Außerdem werden Eigenschaften und Bestandteile des Blutkuchens untersucht. Für die Untersuchungen muss man am Vortag schlachtfrisches Schweine- oder Rinderblut besorgen. Je die Hälfte wird

- in ein 500 ml Becherglas gefüllt und über Nacht im Kühlschrank stehen gelassen, so dass es gerinnt;
- sofort mit 3,8 %iger Natriumcitrat- oder 4- bis 10%iger Ammoniumoxalatlösung versetzt, um eine Gerinnung zu verhindern; anschließend füllt man das mit Antikoagulantien versetzte Blut in ein 500 ml Becherglas und lässt es ebenfalls 24 Stunden im Kühlschrank stehen.