

ORIGINALIEN.

BLUTGERINNUNGSSTUDIEN MIT DER THROMBELASTOGRAPHIE, EINEM NEUEN UNTERSUCHUNGSVERFAHREN*.

Von

HELLMUT HARTERT.

Medizinische Universitätsklinik Heidelberg (Direktor: Prof. Dr. R. SIEBECK).

Die Blutgerinnung ist einer der kompliziertesten Vorgänge der Biologie. Die ersten Versuche ihrer systematischen Aufklärung liegen etwa 60 Jahre zurück. Bis heute ist es noch zu keiner vollständigen Lösung ihrer Probleme gekommen. Der Grund hierfür liegt fast allein in methodischen Schwierigkeiten. Unter allen Verfahren, die der Erforschung biologischer Vorgänge dienen, ist ganz allgemein denjenigen der Vorzug zu geben, welche den kleinsten Eingriff in den natürlichen Ablauf des Geschehens darstellen. Diese Forderung ist gerade bei der Blutgerinnung sehr schwer erfüllbar. Sie ist bei ihr aber besonders dringlich, da man mit einer größeren Anzahl von Unbekannten gleichzeitig zu rechnen hat. Der experimentellen Gerinnungsforschung ist kein Verfahren bekannt, welches ein eindeutiges Kriterium für den ganzen, ungestörten Gerinnungsablauf liefert. Und die genauesten Verfahren sind gerade am wenigsten in der Lage, in wirklich physiologischen Gerinnungssystemen zu arbeiten.

1. Die biologischen Methoden, z. B. die Prothrombinzeitbestimmung (QUICK), versuchen, die Gerinnungswert an einem für die Gerinnung wesentlichen Faktor zu erkennen. Sie befreien sich von unbekanntem Einflüssen, indem sie diese nach Möglichkeit in Abtrennungsprozessen eliminieren. Diese verändern aber den Kolloidzustand der Eiweißkörper ganz unkontrollierbar, und damit verlieren die biologischen Methoden den Anspruch, eigentlich biologisch zu sein, denn im Vollblut verläuft die Gerinnung in bisher nicht definierbarer Weise anders als in gereinigten Gerinnungssystemen (s. unten). *Das Kriterium der biologischen Gerinnungsmethoden ist die Reaktionsgeschwindigkeit unphysiologischer Gerinnungssysteme.*

2. Die optischen Methoden, d. h. die Messung der direkten Lichtdurchlässigkeit und die Messung des TYNDALL-Streulichts während der Gerinnung von Plasma, erfassen zwar einen Ausdruck des Gesamtvorganges, sie haben aber ebenfalls die Schwäche, daß sie Vollblut nicht verarbeiten können.

3. Die elektrischen Methoden, d. h. Messungen der Leitfähigkeit bzw. der Dielektrizitätskonstante gerinnenden Blutes, sind nach allem, was über sie bekannt geworden ist, in ihren Ergebnissen bisher nicht verwertbar. Der elektrische Strom hat, wie nachher gezeigt werden wird, selbst einen starken Einfluß auf die Gerinnung.

4. Die mechanischen Verfahren sind zum größten Teil Viscositätsmessungen. Sie erfassen die Reaktionsgeschwindigkeit im weiteren Sinne und bestimmen dabei kritische Punkte im Verlauf der Viscositätszunahme, deren früheres oder späteres Auftreten bei häufig starkem Mangel an methodischer Objektivität das einzig verwertbare Ergebnis ist. Die Gerinnung, das Aufhören der Fließbarkeit des Blutes, ist lange vor Ende der Fibrinproduktion vollständig; sie hat keine unmittelbare Beziehung zur endlichen Qualität und Menge des Fibrins.

Alle Untersuchungsmethoden sagen also wenig oder nichts aus über das wirkliche Endprodukt der Gerinnung, das Blutgerinnsel. Ich betrachte dies von dem Standpunkt aus, daß die Festigkeit des

Gerinnsels und unter gewissen Bedingungen seine Retraktivität die wirklichen Merkmale seiner Funktionstüchtigkeit sind. Die mechanischen Qualitäten des Fibringerinnsels sind es, welche den Gesunden vom Gerinnungsinsuffizienten unterscheiden. Die strukturelle Beschaffenheit des Gerinnsels, seine Elastizität, ist daher der funktionelle Gesamtausdruck der produktiven Blutgerinnung. Als unmittelbare Fehlleistung des Gerinnungsvorganges sind sinngemäß solche Reaktionen zu bezeichnen, die zu einer quantitativ oder qualitativ veränderten Gerinnselbildung führen. Und das gilt, wie unten gezeigt werden wird, für alle klinischen Gerinnungsstörungen.

Unter diesen prinzipiellen Voraussetzungen entwickelte ich die Thrombelastographie, eine neue Methode zur Untersuchung an gerinnendem Vollblut, die folgende Messungen in ein und demselben Vorgang leistet:

1. Fortlaufende Bestimmung der Gerinnsel-elastizität, 2. fortlaufende elektive Bestimmung der Fibrinviscosität, 3. fortlaufende quantitative Aufzeichnung der Retraktionsvorgänge, 4. fortlaufende Messung der Fibrinolyse, 5. eindeutige und genaue Erkennbarkeit kritischer Zeitpunkte des Gerinnselbildungsvorganges aus dem Kurvenverlauf.

Zum Verständnis der nachfolgenden Ergebnisse sei erwähnt¹, daß es sich um eine zylindrische Mikrocuvette aus besonderem Material handelt, die 0,15 cm³ Blut faßt. In sie hinein taucht frei ein zylindrischer Stift, der torsionselastisch aufgehängt ist. Das Blut wird nach Einbringen in die konstant auf 37° geheizte Cuvette mit Paraffin überschichtet. Eine durch einen Synchronmotor angetriebene Drehpendelbewegung teilt sich der Cuvette im Sinne einer Hin- und Herbewegung um ihre Hochachse mit. Die Pendeleinrichtung bewegt sich und ruht über bestimmte gleichmäßige Zeitabschnitte. Ihr Drehwinkel beträgt $\frac{1}{12}$ des Radius, d. h. auf die Stiftoberfläche bezogen, um den die Cuvette mit Inhalt hin- und hergedreht wird, beträgt die jeweilige Verschiebung n tangentialer Richtung 0,1 mm. Viscositätsänderungen des Cuvetteninhalts haben in den in Betracht kommenden Grenzen keinen Einfluß auf die Ruhelage des torsionselastisch aufgehängten und aperiodisch gedämpften Stiftes. Erst die durchgehende Verbindung des Stiftes mit der Cuvettenwand durch kohärente Fibrinmoleküle bringt in den Endstellungen der Cuvettenbewegung eine Torsion des Stiftes zustande, deren Größe der Ausdruck eines Gleichgewichts zwischen der elastischen Kraft der Stiffaufhängung und des bis dahin gebildeten Fibringerinnsels ist. Diese Kräfte überschreiten im Beginn der Gerinnselbildung gerade die Empfindlichkeitsschwelle der Apparatur (Reaktionszeit). Sie bewirken bei entsprechender Dimensionierung der Meßeinrichtung und bei normalem Vollblut im Verlauf der Gerinnung eine wachsende Verdrehung des Stiftes, die nach fertiger Ausbildung des Gerinnsels etwa $\frac{1}{24} r$ ausmacht. (Die Stiffbewegung überträgt sich durch eine Spiegeleinrichtung auf ein Photokymographion.) Das Fibrinfasergerüst erfährt dabei eine molekulare Ausrichtung, welche die bei der Gerinnung anwachsende Elastizität des Fibringerinnsels zur Messung eindeutig macht

* Herrn Prof. Dr. R. SIEBECK zum 65. Geburtstag.

¹ Methodische Einzelheiten folgen in einer späteren Veröffentlichung.

(vgl. die röntgenspektrographischen Untersuchungen von KATZ und DE ROOY, 1933). Es wird also die elastische Kraft des intakten Gerinnsels gemessen, wobei die Amplitude der Stiftdrehung gleichsinnig mit der Zunahme der Gerinnsel-festigkeit anwächst¹.

Abb. 1 stellt eine photokymographisch aufgenommene Normalkurve dar, aus der durch Vermessung die in diesem Verfahren erstmalig fortlaufend aufgezeichnete Fibrin-elastizität (ϵ), die Reaktionszeit (r), die anschließend folgende Gerinnselbildungszeit (g) und schließlich die Retraktionszeit (s) entnommen wird. Die größten aufgezeichneten Ausschläge stellen das Elastizitätsmaximum dar; dieser Zeitpunkt bedeutet das Ende der produktiven Gerinnungsphase. Nach einer mehr oder minder scharf begrenzten Pause setzt dann der Retraktionsvorgang des Gerinnsels ein. Er äußert sich durch ein gleichmäßiges, über viele Stunden und Tage verlaufendes asymptotisches Absinken der Elastizitätswerte, dem sich schließlich die Fibrinolyse in meist wiederholt schubartigen

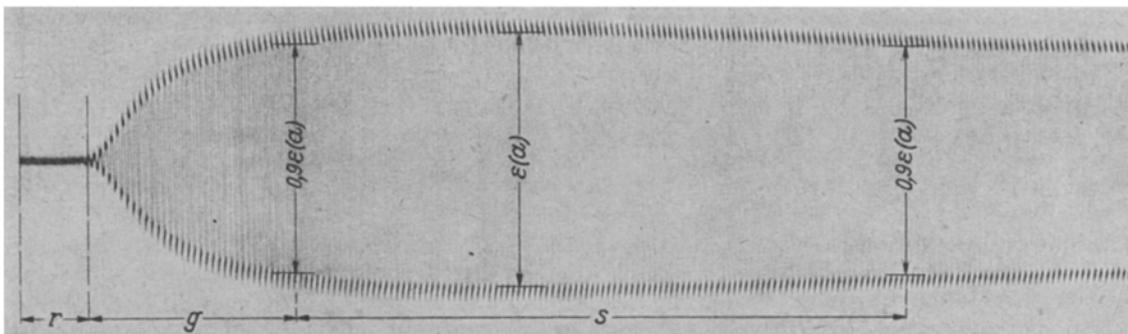


Abb. 1. Thrombelastographische Normalkurve. r Reaktionszeit, g Gerinnselbildungszeit, s Retraktionszeit, ϵ lineare Gesamtelastizität.

Senkungen der Elastizität anschließt. Aus den Rücklaufstrecken am Ende jeder Zacke kann nach bestimmten Regeln die elektive Fibrinviscosität entnommen werden.

Die Auswertung der neuen Methode ging zunächst von folgenden Gesichtspunkten aus. Es war festzustellen: 1. die Fehlerbreite, 2. die Beteiligung der bekannten Gerinnungskomponenten an der Form der Kurven und 3. die Beziehung pathologischer Gerinnungsstörungen zu abnormen Kurvenverläufen. Da die Zahl der Probleme im Verlauf der Untersuchungen stetig gewachsen ist, werden nachfolgend die bisherigen Ergebnisse in einer orientierenden Übersicht zusammengefaßt.

1. In 200 Kontrollversuchen (Diss. MALDVE) ergaben sich als „durchschnittlicher Fehler“ folgende Werte:

Lineare Gesamtelastizität (ϵ)	$\pm 0,9\%$
Reaktionszeit (r)	$\pm 1,8\%$
Gerinnselbildungszeit (g)	$\pm 1,9\%$
Retraktionszeit (s)	$\pm 3,5\%$

Bei einer Gegenüberstellung der mit dem Thrombelastographen gewonnenen kritischen Zeitwerte mit Untersuchungsergebnissen der BÜRKERSCHEN Methode fanden wir in 200 Versuchen (Diss. MALDVE) eine zwanzigfach größere Genauigkeit der Thrombelastographie hinsichtlich ihrer Zeitwerte gegenüber den Werten der BÜRKERSCHEN Methode und eine ziffern-

mäßig nicht festzulegende, sehr viel größere Empfindlichkeit gegenüber physiologischen Schwankungen.

Den kleinsten durchschnittlichen Fehler hatte also der von der Zeitmessung und von Inkonstanzen bei der Blutentnahme unabhängige lineare Elastizitätswert (ϵ), dessen Verhalten für die folgenden Untersuchungen grundlegend war.

2. Das Verhalten der Zeitwerte, d. h. der Reaktionszeit (r) und der Gerinnselbildungszeit (g), entsprach den bekannten Bedingungen einer Gruppenreaktion. Die Strecke g stellt dabei eine S-förmige Kurve dar. Die sehr genaue Bestimmbarkeit dieser Zeitabschnitte brachte bisher keine neuen Gesichtspunkte. Die als Zeitmaß ausgedrückte Retraktionsgeschwindigkeit (d. h. die Zeit, in der ϵ um $1/10$ absinkt) erscheint ebenfalls als S-förmige Kurve, nur umgekehrt und viel flacher als die Strecke g . Die Retraktion fehlt von einer gewissen Erniedrigung der Thrombocytenzahl ab (s. unten). Über die mathe-

matische Ableitung der Fibrinviscosität aus den sog. Rücklaufstrecken und über die thrombelastographischen Untersuchungen zur Fibrinolyse wird an anderen Orten berichtet werden.

Wenn man Oxalatplasma mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, so ergibt die Aufzeichnung der maximalen Elastizitätswerte (ϵ) bei der Gerinnung verschiedener Plasmaverdünnungsgrade graphisch eine gerade absteigende Linie (Abb. 2, a), es herrscht also eine einfache lineare Beziehung. Der gleiche Verdünnungsmodus bringt bei Vollblut eine Kurve zweiter Ordnung (Abb. 2, b). Aus dieser Differenz ist ersichtlich, daß die Verhältnisse gerade am Vollblut viel komplizierter sind als am Oxalatplasma, das bisher fast ausschließlich zu quantitativen Untersuchungen benutzt wurde. (Der zeitlich rasche Ablauf der natürlichen Gerinnung ließ an Vollblut analysierende Untersuchungen kaum zu.) Andere Verdünnungsreihen an Vollblut, Oxalatblut und Oxalatplasma zeigen Abb. 2, c–f. Die unterschiedlichen Kurvenverläufe sind zum Teil der Ausdruck verschiedener Neutralsalzkonzentrationen und der von ihnen abhängigen verschiedenen Fibrinlöslichkeit (APITZ 1937, WÖHLISCH 1940). Das durch Absetzenlassen der Erythrocyten gewonnene Plasma, das zu diesen Versuchen benutzt wurde, enthält fast noch alle Thrombocyten (Plasma I), da diese infolge ihrer Kleinheit sehr suspensionsstabil sind. Nach FONIO (1928) soll man die Thrombocyten bei 2000 U/min. in 90 Min. abzentrifugieren können. Wir tun dies und finden dann nach dem Recalcifizieren eine Kurve der folgenden Gestalt (Tabelle 1): ϵ ist gegenüber der Kontrollkurve a mit Vollplasma

¹ Um unnötige methodische Varianten und damit unvergleichbare Resultate von vornherein auszuschließen, wird den am Bau der Apparatur Interessierten empfohlen, sich direkt an Verfasser oder an die Fa. Hellige, Morat & Co. in Freiburg zu wenden, die sich voraussichtlich mit der serienmäßigen Herstellung befassen wird.

Tabelle 1.

	ϵ (% der Norm)	r Min.	g Min.	s Min.
a	102	6,3	12,2	24,7
b	24	8	46,8	—
c	15	10,2	181	—
d	13	129	—	—

a Normalplasma, b Citratplasma von a, 90 Min. mit 2000 U/min. zentrifugiert (Plasma II), c Citratplasma von b, 15 Min. 15000 U/min. zentrifugiert (Plasma III), d Citratplasma III sofort nach der Blutentnahme in Röhrchen mit Cellonüberzug zentrifugiert.

kleiner geworden (b), und die Retraktion fehlt (Plasma II, FONIO 1928). Zentrifugiert man dieses thrombocytenfreie Plasma II danach mit 15000 U je Min., d. h. mit der etwa 50fachen Zentrifugalbeschleunigung eine Viertelstunde lang, so findet sich ein Bodensatz mit Thrombocytenrümmern, der durch weiteres Zentrifugieren dann nicht mehr zunimmt. Die Elastizität des übriggebliebenen Plasmas (III) ist bei der Gerinnung sehr klein (Tabelle 1, c) und, wenn alle Manipulationen bis zur Schnellzentrifuge sehr rasch und thrombocytenchonend vorgenommen wurden, so kann man erleben, daß erst nach Stunden eine minimale Gerinnung eintritt (d) (vgl. OWREN 1947). Der Elastizitätswert beträgt dabei etwa $\frac{1}{20}$ der Norm, während im Reagensglas das Gerinnsel nur ein wenig schlaffer aussieht als in den vorausgegangenen Proben. Abb. 3 zeigt eine Thrombocytenverdünnungsreihe, d. h. verschiedene Mischungsverhältnisse eines ganz thrombocytenfreien Plasmas III mit einem voll thrombocytenhaltigen Plasma I. Auch hier findet sich keine Proportionalität zwischen Thrombocytenzahl und ϵ , wie man es nach den bisherigen Erklärungsversuchen von WOLPERS und RUSKA (1939), welche die Thrombocytengranulomere als Gerinnselhauptzentren betrachten, bis zu einem gewissen Grade annehmen müßte. Auch der von WOLPERS und RUSKA vorgeschlagene Zusatz einer Kaolinsuspension ersetzt diese Wirkung der

Tabelle 2.

	ϵ (% der Norm)	r Min.	g Min.	s Min.
a	102	6,3	12,2	24,7
b	14	6	22	—
c	21	0,8	12	—
d	19	0,3	17	—
e	22	2,1	16	—
f	72	4,2	16	35

a Thrombocytenhaltiges Plasma I, b Plasma III mit Kaolinsuspension, c Plasma III mit Kaolinsuspension und Thrombokinase, d Plasma III mit Thrombin, e Plasma III mit Thrombocytenauflösung in Aqua dest., f Plasma III mit Thrombocytenaufschwemmung.

Thrombocyten nicht (Tabelle 2, b). Fügt man gleichzeitig mit der Kaolinsuspension dem thrombocytenfreien Plasma III QUICKSche Thrombokinase bei der Recalcifizierung hinzu, so gerinnt das Plasma sehr rasch, es ändert sich aber nichts an den niedrigen Elastizitätswerten (Tabelle 2, c). Selbst die Zugabe von fertigem Thrombin (hergestellt nach der Methode von LENGGENHAGER 1941) verursacht keine Erhöhung der Elastizität (Tabelle 2, d). Bringt man einen mit Aqua dest. angefertigten Extrakt des ungewaschenen

Thrombocytensedimentes oder eine Thrombocytenverreibung in das zellfreie Ausgangsplasma zurück, dann findet sich die gleiche Beschleunigung der Fibrinbildung wie durch QUICKSche Thrombokinase (Tabelle 2, e), die Gesamtelastizität bleibt jedoch auch hier sehr klein. Wenn man statt des Thrombocytenextraktes die sedimentierten, ganzen Thrombocyten

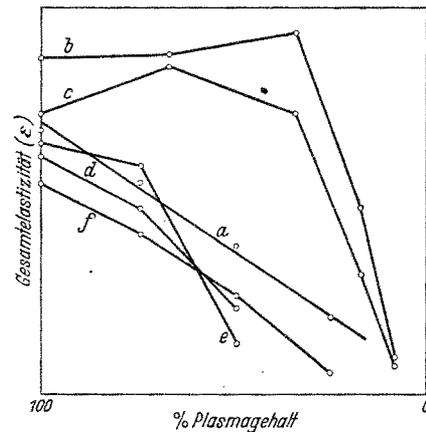


Abb. 2. Verdünnungsreihen. a Oxalatplasma mit NaCl (0,9%); b Vollblut mit NaCl (0,9%); c Aqua dest. mit Vollblut; d Oxalatblut mit NaCl (0,5%); e Oxalatplasma mit Aqua dest.; f Oxalatplasma mit NaCl (0,5%). Der Zusatz an 1% CaCl₂-Lösung zum Oxalatplasma bzw. -blut (1 Teil Natr. oxalic. $\frac{1}{10}$ Mol auf 9 Teile Blut) betrug die Hälfte der Blut- bzw. Plasmamenge.

durch Aufschütteln wieder suspendiert, so findet sich außer der Thrombokinasewirkung eine erhebliche Steigerung der Gesamtelastizität (Tabelle 2, f) — die

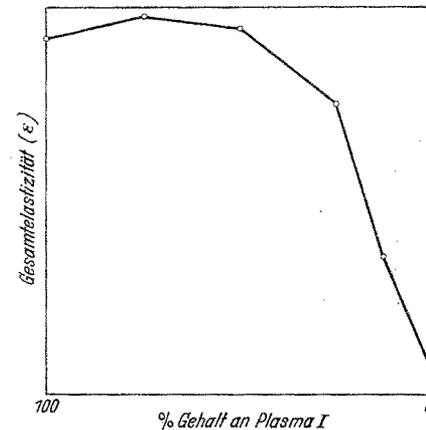


Abb. 3. Plasma I und Plasma III in verschiedenen Mischungsverhältnissen unter konstantem Thrombokinasezusatz.

Tabelle 3.

	Thrombocyten × 1000	ϵ (% der Norm)	r Min.	g Min.	s Min.	Fibrin g-%	Prothr.- Zeit Sek.
a	136	262	6,8	12,7	21	0,35	16
b	150	104	9,1	14,3	37	0,45	17
c	147	99	8,2	13,8	34	0,26	14

a blutendes Ulcus ventr., b nicht blutendes Ulcus ventr., c gesunde Versuchsperson.

übrigens bei exzessiver Anreicherung der Thrombocyten wieder abzunehmen scheint. In Tabelle 3 sind drei Patienten aufgeführt, die etwa die gleiche Thrombocytenzahl hatten (Zählmethode nach LENGGENHAGER 1936); a ist ein blutendes Ulcus, b ein nicht blutendes Ulcus, c eine normale Versuchsperson. Aus den großen Unterschieden von ϵ bei gleicher

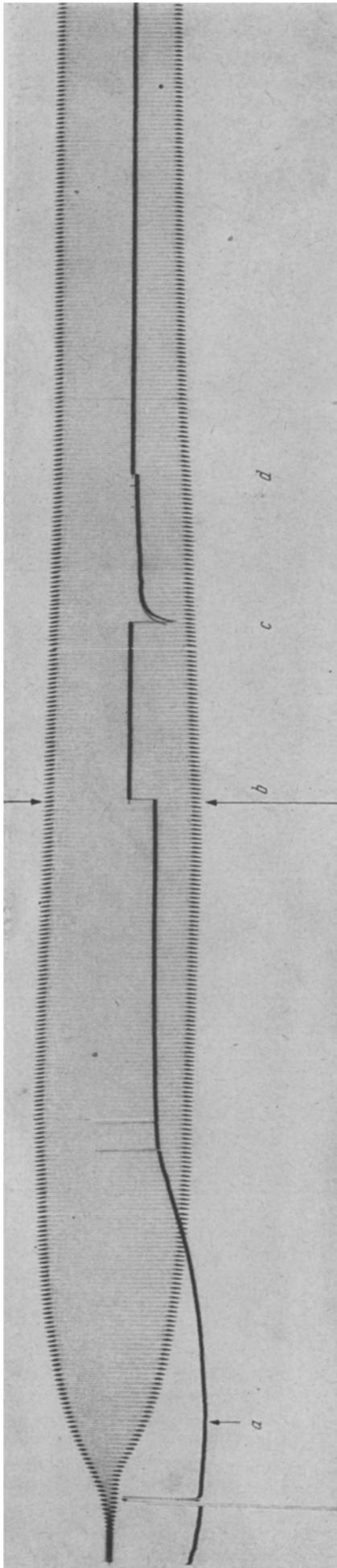


Abb. 4. Thrombelastogramm mit gleichzeitiger Schreibung des Blutwiderstandes. Bei *a* geringster Widerstand, bei *b* Ausschalten des Kammerstromes, bei *c* Umkehr des Kammerstromes, bei *d* Wiederausschalten. Pendelschreibung 2 Perioden je Min.

Thrombocytenzahl (und bei annähernder Übereinstimmung der ϵ -Werte in den entsprechenden Plasmata III) ist zu schließen, daß, abgesehen von dem möglichen Vorhandensein eines Hemmkörpers im Plasma, die Thrombocyten eine graduell verschiedene Fähigkeit entwickeln können, die Fibrinmoleküle zu einem elastischen Gerinnsel zu vereinigen. Diese Fähigkeit kommt offenbar den Thrombocyten-Granulomeren zu, wie es nach den ultramikroskopischen Untersuchungen von STÜBEL (1920) und den elektronen-mikroskopischen Bildern von WOLPERS und RUSKA (1939) den Anschein hat, da die ersten Fibrinfäden meist an den Granulomeren aufschießen. Es ist aber bei den klinisch beigeleichten Thrombocytenzahl zu beobachtenden Unterschieden von ϵ , die nach Abstrahierung exogener Einflüsse bis zu 400% betragen, unwahrscheinlich, daß es sich dabei lediglich um formelle Unterschiede der Granulomere mit dadurch bedingter unterschiedlicher Haftfähigkeit handelt. Naheliegender ist es, daß die Ursache in physikalisch-chemischen Eigenschaften der Granulomere oder vielmehr in der Wirkung eines Stoffes beruht, der über die lokale Haftwirkung hinaus die Fibrinmoleküle auch untereinander zur Verklebung bringt. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen von WOLPERS und RUSKA können für diese Tatsache keinen genügenden Anhalt bieten, da sie mit stark verdünnten und in der Gerinnung künstlich verzögerten Plasmata vorgenommen wurden.

Die gleichzeitige Messung des Blutwiderstandes bei den thrombelastographischen Untersuchungen an thrombocytenhaltigem Blut mit einem maximalen Stromdurchgang der Größenordnung $3 \cdot 10^{-8}$ A/mm² Querschnitt des durchströmten Blutes zeigen (Abb. 4), daß gleichzeitig mit der größten Geschwindigkeit der Gerinnselbildung (steilster Anstieg der Kurve) der Blutwiderstand zu einem Zeitpunkt am kleinsten ist, wo makroskopisch das Blut lange geronnen ist. Die anfängliche Erhöhung der Leitfähigkeit des gerinnenden Blutes läuft also nicht synchron mit dem ersten Anstoß der zur Gerinnung führenden Fibrinbildung, sondern mit der eigentlichen Gerinnselbildung, d. h. der festen Verbindung der Fibrinmoleküle. Es liegt daher nahe, die Erniedrigung des Blutwiderstandes auf die Wirksamkeit des

Tabelle 4.

	ϵ (% der Norm)	r Min.	g Min.	s Min.
a	26	2,5	16	—
b	22	2	11,1	—
c	15	12,3	26	—

a Plasma III mit wäßrigem Thrombocytenextrakt, b Plasma III mit defibriniertem Plasma I, c Plasma III mit „Kongofiltrat“ nach ZIPF und WAGENFELD (1930).

fibrinverklebenden Prinzips zurückzuführen. Der Versuch, dieses Prinzip von der Anwesenheit der Thrombocyten selbst zu trennen (Tabelle 4), gelang bisher nicht mit Sicherheit, weder durch die verschiedenartigsten Extraktionsversuche an Thrombocyten, noch in defibrinierten, thrombocytenhaltigen Plasmata. Auch das nach ZIPF und WAGENFELD (1930) isolierbare Frühgift (FREUND 1920) war ohne Effekt. Es handelt sich nach den bisherigen Ergebnissen um ein stark fibrinagglutinierendes Prinzip, das an die Vitalität der Thrombocyten gebunden ist, da jede Zerstörung ihrer Struktur zur völligen Einbuße der spezifischen Wirksamkeit führt. Der wesentlichste Effekt des Prinzips ist eine ganz außerordentliche quantitative Steigerung der Gerinnsel-elastizität (etwa bis auf das 100fache des thrombocytenfreien Ausgangswertes). Auf quantitativen Mangel an agglutinierender Wirkung reagiert die Gerinnsel-elastizität empfindlich mit starkem Absinken von ϵ . Eine zahlenmäßig extreme Verminderung der Thrombocyten bedingt daher ceteris paribus immer auch eine starke Erniedrigung von ϵ , während die Thrombokinasewirkung der Thrombocyten erst bei sehr aus-

gesprochenen Thrombopenien abfällt (Verlängerung der Gerinnungszeitwerte).

Bei vorläufigen Untersuchungen über den Retraktionsvorgang des Blutkuchens *in vitro* ging ich von der Beobachtung im Thrombelastogramm aus, daß der Retraktion keine unmittelbare Spannungsvermehrung im Gerinnsel vorausgeht. Es handelt sich also nicht um eine aktive Kontraktion und dadurch Loslösung des Gerinnsels, sondern um einen Demarkationsvorgang zwischen der Wand des Untersuchungsgefäßes und dem gespannten Gerinnsel. Da dieser Vorgang *in vivo* das ganze Gegenteil einer Wundligatur bedeuten würde, so lag die Vermutung nahe, daß der sog. Verletzungsstrom, welcher aus der negativen Ladung des Wundgebietes gegenüber seiner gesunden Umgebung resultiert, hierbei eine Rolle spielt. Zugleich lagen Beobachtungen von LAMPERT (1931) vor, der einen in der Vene haftenden Thrombus durch Gleichstrom auf der Kathodenseite zur Loslösung, auf der Anodenseite zu festerer Haftung bringen konnte. Ich leitete einen schwachen Strom von der Größenordnung $5 \cdot 10^{-8}$ A/mm² von einer indifferenten Elektrode als Kathode zu den Elastizitätsmeßorganen als Anode und ahmte so die natürlichen Verhältnisse mit ihrem Verletzungsstrom nach (Abb. 4). Gegenüber der Kontrollmessung ohne Strom kam es dabei zu etwas verlängerter Gerinnselbildungszeit und bemerkenswerterweise zum Fehlen jeglicher Retraktion. Ausschaltung oder Umkehrung des Stromes hatten beide den Effekt der normalen Retraktion. Das Maß der Retraktion hängt allgemein 1. von der erreichten Gesamtspannung des Gerinnsels, 2. von der gegenüber den verschiedenen Materialoberflächen verschiedenen spezifischen Haftfähigkeit

Tabelle 5. Gleiche Elastizität bei verschiedener Fibrinkonzentration im Vollblut.

Thrombocyten × 1000	ϵ (% der Norm)	r Min.	g Min.	s Min.	g-% Fibrin
140	112	8	14	32	0,4
127	114	9,3	14,2	7	1,4

des Gerinnsels ab. Eine gesteigerte Fibrinkonzentration im Blut zeigt dabei eine beschleunigte Retraktion (stärkere Inanspruchnahme des agglutinierenden Prinzips?), ohne daß die Gesamtspannung (ϵ) des Gerinnsels dabei erhöht zu sein braucht (Tabelle 5). *In vivo* wird die Retraktion wahrscheinlich durch den Verletzungsstrom verhindert (Abb. 4). Vielleicht kommt es unter seiner Einwirkung am Ort der Haftung auch zu dauerhafterer Bindung, etwa durch die Neigung des Fibrins zur Kationenbildung; vgl. HÖBER und MOND (1922). Die andauernde elastische Spannung des Gerinnsels *in vivo* führt dort in günstigen Fällen zu einer mechanisch belastbaren Verbindung der Wundränder.

Die angeführten Befunde lassen in ihrer Gesamtheit die klassische Gerinnungslehre, bzw. ihre von P. A. OWREN (1944) durch den V. und VI. Gerinnungsfaktor erweiterte Form unberührt. Sie sind jedoch mit der klassischen Lehre in einer Hypothese zu vereinigen, welche einige bedeutende Unklarheiten beseitigt und vor allem eine Begründung der Blutstillungsstörungen hämatogener hämorrhagischer Dia-

thesen darstellt, für welche die klassische Lehre keine hinreichende Erklärung gefunden hat.

I. (Sog. klassische Gerinnungslehre, WÖHLISCH 1940; OWREN 1947.) Das Thrombin, dessen bekannte Entstehungsweise aus seiner Vorstufe unter Einwirkung der Thrombokinase, des Faktors V bzw. VI (OWREN 1944), der Calciumionen und der fremden Oberfläche hier nicht im einzelnen behandelt werden soll, sorgt für die Umwandlung des Fibrinogenmoleküls in das Fibrinmolekül, das nach röntgenspektrographischen Untersuchungen (BAILEY, zit. nach LEIN, 1947) dabei nur seine Größe, nicht aber seine Form ändert.

II. Die Vergrößerung der Fibrinogenmoleküle erzeugt nicht ohne weiteres ein zusammenhängendes Gerinnsel. Es muß zu einer besonderen Verklebung der Fibrinmoleküle kommen, für die in diesem Maße ihre natürliche Klebrigkeit nicht allein verantwortlich gemacht werden kann. Diese Verklebung wird durch die obligate Mitwirkung eines Prinzips, wahrscheinlich im Thrombocytengranulomer, erzeugt, und zwar nur dann, wenn letzteres strukturell intakt ist (vgl. Tabelle 2). Fehlt dieser verklebende Vorgang, so liegen die Fibrinmoleküle wie ein Haufen Spreu durcheinander, sie bilden kein festes Netzwerk. Schwankungen des Fibrinogen- und Prothrombingehaltes im Blutplasma haben dabei in auffallend weiten Grenzen keinen wesentlichen Einfluß auf diese Wirkung (Tabelle 3), und auch die Thrombocytenzahl gibt nicht ohne weiteres einen Begriff von den Verhältnissen, da die Wirksamkeit des experimentell nachgewiesenen Prinzips offenbar verschieden stark sein kann. Es wäre zu prüfen, ob vielleicht eine Abhängigkeit von der Zahl, Größe oder Form der Granula besteht, welche nach den elektronenoptischen Bildern von WOLPERS und RUSKA das Granulomer bilden. [Nach großen Blutverlusten, z. B. Magenblutungen (s. unten) ist bei unveränderter Thrombocytenzahl und oft sogar erniedrigtem Fibrinogenspiegel der ϵ -Wert fast regelmäßig mächtig erhöht.]

Dieses Prinzip in den Thrombocyten wird also im Verlauf ihrer morphologischen und funktionellen Wandlung wirksam — mehr oder weniger gleichzeitig mit der wahrscheinlich aus dem Hyalomer stammenden (WOLPERS und RUSKA 1939) Thrombokinase. Es verbindet die Fibrinmoleküle zu einem stark belastbaren Netzwerk untereinander. *In vitro* führt das Verschwinden der überschüssigen Klebwirkung unter bestimmten Voraussetzungen (s. oben) zur Retraktion, *in vivo* sorgt der Verletzungsstrom für eine dauerhafte Verbindung von Gerinnsel und Wundrand.

Wenn wir das Wesentliche kurz zusammenfassen, so entfalten also die Thrombocyten — wahrscheinlich ihr Granulomer — eine spezifische, an ihre Vitalität gebundene Wirkung, die zu einer festen, netzartigen Verbindung der Fibrinmoleküle führt. Und diese ist für die normale Blutstillung unentbehrlich.

3. Die klinische Erprobung der Thrombelastographie brachte eine solche Fülle von Befunden, daß hier nur das Typische in großen Zügen besprochen werden kann. Zunächst sei gesagt, daß sich die vorher wieder-gegebene Normalkurve aus Venenblut bei allen Gesunden mit nur geringen Abweichungen findet (Diss. MALDVE). Blut aus der Fingerbeere ist wegen der unkontrollierbaren Beimischung gerinnungsaktiver Zellsubstanzen nicht zu verwenden. Einige Menschen

zeigen dauernd eine um wenige Prozent geringere oder höhere Gesamtelastizität, die sie, abgesehen von physiologischen Tagesschwankungen, über Monate hin unverändert beibehalten (Diss. BORCHERS). Mahlzeiten verursachen kleine Schwankungen der Gesamtelastizität. Ähnlich verhalten sich psychische Emotionen und kleinere Infekte (Diss. MALDVE). Zur Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit besteht keine eindeutige Beziehung (Diss. BORCHERS). Akute schwere Infektionskrankheiten sind meist von einer Erhöhung der Gesamtelastizität begleitet, die dann öfter der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit parallel geht (Diss. BORCHERS). Bei großen Magenblutungen fanden sich, wie schon erwähnt, trotz erheblicher Anämie immer enorm hohe ϵ -Werte, ganz unabhängig von Fibrinogenspiegel, Prothrombinzeit und Thrombocytenzahl im Blut. Das gleiche gilt für Zustände nach großen Operationen und Verbrennungen. Medikation von Hämostyptics hatte einen bemerkenswert geringen Einfluß auf diese Vorgänge, die schon von Natur aus optimal zu sein scheinen. Bei den verschiedenen Ikterusformen fanden sich auffallend selten stärkere Veränderungen (vgl. SCHWIEGK 1938). Vitamin K brachte in Fällen von langdauerndem Stauungsikterus mit verlängerter Gerinnelbildungszeit Verkürzungen, aber keine Veränderung von ϵ . Kontrollversuche an Gesunden waren ohne Effekt. Fälle von akuter gelber Leberatrophie zeigten bei normaler Gerinnelbildungszeit erhöhte Elastizitätswerte, wahrscheinlich als indirekte Folge des erhöhten Aminosäurespiegels im Blut bei Leberzerfall. Applikation von Heparin (Vetren) war von graduellen Senkungen der Gesamtelastizität gefolgt; abgesehen von der Änderung der Zeitwerte, die bei kleinsten Dosen verkürzt, bei großen Dosen stark verlängert waren. Dicumarol verursachte selbst bei Verlängerung der Prothrombinzeit auf das Vierfache der Norm nur verlängerte Zeitwerte, aber

Gesamtelastizität (ϵ) zustande zu bringen. Diese beträgt aber nur $\frac{1}{5}$ der Norm und gleichzeitig fehlt die Retraktion. Mit der vorhin gegebenen Erklärung läßt sich der Befund so deuten, daß die Thrombocyten zwar genügend Thrombokinasen liefern konnten, daß aber aus Mangel an intakten Thrombocytengranulomen die physiologische Ligatur der Fibrinmoleküle ausgeblieben ist. Daraus folgt auch die verlängerte Blutungszeit bei normaler Gerinnungszeit. Die mit normaler Geschwindigkeit gebildeten Fibrinmoleküle sind so wenig kohärent, daß sie dem nachdrängenden Blut keinen Widerstand leisten. Tabelle 6 b zeigt eine symptomatische thrombopenische Purpura bei carcinomatöser Durchwachsung des Knochenmarks. Wir sehen die gleichen Symptome wie bei M. Werlhof, jedoch ist hier mit nur 6000 Thrombocyten im Kubikmillimeter zusätzlich auch die Reaktions- und Gerinnelbildungszeit verlängert. Die Entnahme von Blut aus der Fingerbeere bei demselben Fall unter starkem Pressen stellt die fehlende Thrombokinasen zur Verfügung (c). Die Zeitwerte werden daher normal, während das von der Wirkung der Thrombocyten abhängige normale ϵ und die Retraktion weiterhin fehlen. (Einige Fälle von Purpura rheumatica hatten vergleichsweise normale Kurven.)

Das gemeinsame aller Thrombocytopathien ist, abgesehen von möglichen Verminderungen der Thrombocytenzahl, eine nachweisbare Veränderung ihrer Granula in Gestalt oder Färbbarkeit, wie aus den Untersuchungen HEILMEYERS (1943) über die Thrombopoese bei den einzelnen Erkrankungen ersichtlich ist. Das Plasma der Thrombocyten ist dagegen kaum verändert. Die Wahrscheinlichkeit ist also sehr groß, daß die morphologisch minderwertigen und oft überhaupt fehlenden Thrombocytengranula die Ursache für das Fehlen der Gerinnelbildung sind, bzw. daß umgekehrt das Prinzip der Gerinnelbildung seinen normalen Ursprung in den Granula hat. (Letztere treten beim Zerfall der Blutplättchen zum Granulomer zusammen; STÜBEL 1920.) Die Thrombocytopathien haben daher zwar eine mehr oder minder normale „Gerinnungszeit“, da die aus dem Thrombocytenplasma erfolgende Thrombokinaselieferung ausreicht. Die Blutungszeit ist jedoch in allen Fällen verlängert, weil die reguläre Thrombusbildung ausbleibt.

In Tabelle 6 zeigt d eine zur Zeit blutungsfreie Hämophilie, bei welcher der ganze Verlauf lediglich etwas in die Länge gezogen ist. Die Gesamtelastizität (ϵ) ist schließlich normal, und auch eine Retraktion zeigt sich. Einige Monate nach dieser Kurvenaufnahme kam der Patient im Zustand einer akuten Blutung ins Handgelenk wieder. Die jetzt angefertigte Kurve zeigt fast die gleiche Gesamtelastizität und Retraktion, aber stark verlängerte Zeitwerte gegenüber der vorigen Kurve. Nach der vorher gegebenen Deutung liegt bei der ersten Kurve im Stadium des Intervalls eine gering verzögerte Gerinnung vor, die wahrscheinlich die Folge einer verzögerten Thrombokinasenabgabe ist. Die Gerinnel-elastizität erscheint, jedenfalls im Endeffekt bei beiden Kurven normal. Im akuten Blutungsstadium zeigen die Zeitwerte eine erhebliche Verlängerung. Bekanntlich zerfallen und agglutinieren die hämophilen Plättchen sehr schwer und langsam bei sonst morphologisch normalem Befund. Eine erste Blutstillung kommt in geeigneten

Tabelle 6.

	ϵ (% der Norm)	r Min.	g Min.	s Min.	Thrombo- cyten
a	18	7,4	11	—	36 000
b	29	27,1	88	—	6 000
c	27	5,8	16	—	6 000
d	1(3)	18	21,3	47	182 000
e	112	89,2	47,8	166	210 000
f	86	2,1	9	29	—

a M. Werlhof, b symptomatische Thrombopenie, c wie b, aber ausgepreßtes Fingerblut, d Hämophilie im Intervall, e blutende Hämophilie, f hämophiles Oxalatplasma mit Thrombokinasenzusatz.

keine Minderung von ϵ . Stärkere Senkungen von ϵ unter die Norm wurden ohne Vorliegen einer hämorrhagischen Diathese niemals beobachtet.

Ganz charakteristische Kurven lieferten die verschiedenen hämorrhagischen Diathesen. Ihre Thrombelastogramme erlaubten äußerst feine und sichere Differenzierungen. Die vorstehende Tabelle 6 zeigt einige prinzipielle Kurvenwerte; a ist ein M. Werlhof mit 36 000 Thrombocyten. Man sieht die normale Reaktions- und Gerinnelbildungszeit. Eindeutige Zeichen gibt die Kurve dagegen hinsichtlich einer Funktionsstörung der Thrombocyten. Ihre Zahl wäre normalerweise noch ausreichend, um eine annähernd normale

Gewebe durch Zutritt thrombokinasehaltigen Gewebssaftes zustande. Thrombokinase (aus Menschenhirn; getrocknet, 5 Monate alt) bringt nämlich hämophiles Blut nicht nur rasch zur Gerinnung, sondern läßt, wie erstmalig die Thrombelastographie zeigt, auch die gerinnselfestigenden Granulomere der Plättchen rasch zur Wirkung kommen, so daß ein belastbares Gerinnsel entsteht (Tabelle 6, f). Thrombin scheint übrigens diese thrombo-,lytische Wirkung nicht zu haben. Bei Nachblutungen fehlt der Zutritt frischen Gewebssaftes, so daß nun erst der unheilvolle Defekt zur Wirkung kommt.

Tabelle 7.

Blutgerinnungsstörung	Thrombocyten			s	Gerinnselbildungszeit	Blutungszeit
	Granul.	Kinase	Zahl			
Thrombocytopathien . . .	—	+	(+)	klein	norm.	verl.
Extreme sympt. Thrombopenien	—	—	—	klein	verl.	verl.
Hämophilie . . .	+	(+)	+	norm.	verl.	(norm.)

Die besprochenen Gerinnungsstörungen lassen sich also wesentlich auf ein pathologisches Verhalten der Blutplättchen zurückführen (Tabelle 7). Sie alle zeichnen sich durch eine Störung in der Gerinnselbildung aus. Die bekannten klinischen Auswirkungen dieser Erkrankungen lassen sich aus den obigen Befunden ohne weiteres ableiten. Der auffällige Wechsel in der Blutungsbereitschaft der hämatogenen hämorrhagischen Diathesen ist als die Folge paroxysmaler Senkungen der Gerinnselbildungsaktivität anzusehen, die schon unter physiologischen Bedingungen ein Indicator periodisch vegetativer Vorgänge ist.

Zusammenfassung. 1. Es wird eine neue Methode zur adäquaten Untersuchung der Blutgerinnungsvorgänge an unverändertem Vollblut beschrieben, welche erstmalig die fortlaufende Bestimmung der Fibrinelastizität zur Grundlage hat. Sie erfaßt damit bei sehr kleiner Fehlerbreite quantitativ die direkte biologische Funktion der Gerinnung. Gleichzeitig mit der Fibrinelastizität wird fortlaufend und quantitativ die Fibrinviscosität, die Retraktion und die Fibrinolyse aufgezeichnet, wobei sich die kritischen Zeitpunkte eindeutig darstellen.

2. Die Gerinnselbildung ist unabhängig von der eigentlichen Fibrinproduktion ein an die Vitalität der Thrombocyten-Granulomere gebundener spezifischer Vorgang. Er spielt eine lebenswichtige Rolle bei der normalen Blutstillung.

3. Die Retraktion des Blutkuchens in vitro ist, abgesehen von Oberflächeneinflüssen, primär eine Folge der Gerinnselspannung. In vivo fehlt die Retraktion in geeigneten Fällen; das Gerinnsel haftet dort, wahrscheinlich durch den Verletzungsstrom, als Ligatur fest an den Wundrändern.

4. Die hämatogenen hämorrhagischen Diathesen lassen sich im wesentlichen auf eine Funktionsuntüchtigkeit der Thrombocytengranulomere zurückführen. Ihnen allen sind daher mehr oder minder starke Störungen der eigentlichen Gerinnselbildung eigen. Sie äußern sich thrombelastographisch in abnorm niedrigen Elastizitätswerten.

5. Die Thrombelastographie ermöglicht neben ihrer besonderen Brauchbarkeit für gerinnungsphysiologische Untersuchungen eine sehr genaue klinische Differenzierung der hämorrhagischen Diathesen und ihrer Blutungsbereitschaft. Die Methode ist leicht erlernbar. Die Deutung der Kurvenbilder ist nach einem einfachen Schema möglich.

Literatur APITZ, K.: Z. exper. Med. 101, 552 (1937). — BORCHERS, A.: Diss. Heidelberg (erscheint demnächst). — FONIO, A.: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. VI/1, S. 307. Berlin 1928. — FREUND, H.: Arch. exper. Path. (D.) 86, 260 (1920); 88, 39 (1920). — HELMEYER, L.: Handbuch der inneren Medizin, 3. Aufl., Bd. II. Berlin 1943. — HÖBER, R. u. MOND: Klin. Wschr. 1922, 2412. — KATZ, I. R. u. A. DE ROOY: Naturw. 21, 559 (1933). — LAMPERT, H.: Die physikalische Bedeutung des Gerinnungsproblems und seine praktische Bedeutung. Leipzig 1931. — LEIN, J.: J. cellul. a. comp. Physiol. (Am.) 30, 43 (1947). — LENGGENHAGER, K.: Schweiz. med. Wschr. 1936 II, 1289. — Über die Entstehung, Erkennung und Vermeidung der postoperativen Fernthrombose. Leipzig 1941. — MALDVE, L.: Diss. Heidelberg 1947. — MORAWITZ, P.: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. VI/1, S. 412. Berlin 1928. — OWREN, P. A.: Proc. Norweg. Acad. Sci. 1944; Acta med. scand. (Schwd.), Suppl. 194 (1947). — SCHWIEGK, H.: Handbuch der inneren Medizin Bd. III/2, S. 1176. Berlin 1938. — STÜBEL, H.: Pflügers Arch. 181, 285 (1920). — WÖHLISCH, E.: Erg. Physiol. 43, 172 (1940). — WOLPERS, C. u. H. RUSKA: Klin. Wschr. 1939 I, 1077, 1111. — ZIFF, K. u. E. WAGENFELD: Arch. exper. Path. (D.) 150, 70, 91 (1930).

SYMPTOME DER PERNIZIÖSEN ANÄMIE BEI EINEM FALL VON HÄMOLYTISCHEM IKTERUS.

Von

GERHARD KÖRNER.

Aus der Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses Offenburg (Leiter: Prof. Dr. v. PEIN).

Das Auftreten einer symptomatischen perniziösen Anämie verursacht durch den Bothriocephalus latus oder bei primären Magen-Darm- und Leber-Pankreas-Erkrankungen, in manchen Fällen von Schwangerschaft, sogar bei einem Fall leukämisch-lymphatischer Infiltrate in der Magenwand (TOUW und GRAAFLAND) ist uns geläufig.

Perniciosa-ähnliche Anämien kommen vor bei Sprue, Pellagra, Cöliacie und B-Avitaminosen.

Über die Vergesellschaftung der perniziösen Anämie (p. A.) mit dem hämolytischen Ikterus (h. I.) ist in dem mir zur Zeit zugänglichen Schrifttum nichts

zu finden, so daß es wohl gerechtfertigt ist, die Beobachtung eines solchen Krankheitsbildes mitzuteilen und die Deutung der Befunde zu diskutieren.

A. Sch., 40jähriger Mann, der immer gesund gewesen war. Im Februar 1945 Verschüttung und Prellung der li. Körperseite. Seit Anfang 1946 allgemeine Körperschwäche, Atemnot, Müdigkeit, Schwellung der Beine, Schmerzen im li. Oberbauch und auf der li. Brustseite. Urin immer auffallend rötlich gefärbt.

Es fand sich bei der Aufnahme in das Krankenhaus am 1. 7. 46 eine hochgradige Anämie: Hb 36%, 1,5 Millionen Rote, Farbeindex also 1,2. Ausgesprochene Mikrosphärocytose, aber auch einzelne Poikilocyten, einzelne Megalocyten und zahlreiche Normoblasten, 8000 Leukocyten, davon 20%