

## VII.

## Vergleichende Untersuchungen über die Thrombose.

(Aus dem Pathologischen Laboratorium der University of Pennsylvania, Philadelphia.)

Von

Leo Loeb.

Über die primären Vorgänge bei der Thrombose, insbesondere nach Blutgefäßverletzung oder nach Einführung von Fremdkörpern in ein Blutgefäß, besteht noch keineswegs Einstimmigkeit. Wir können drei verschiedene Auffassungen unterscheiden: 1. Der ersten zufolge muß die Thrombose als ein einheitlicher Vorgang, als eine Gerinnung angesehen werden, sei diese cellulärer oder extracellulärer Natur. 2. Andere Autoren nehmen an, daß zwei verschiedene Prozesse kombiniert vorkommen, a) eine Agglutination zelliger Elemente, b) eine (gewöhnlich nachfolgende) Coagulation flüssiger Bestandteile des Blutes. 3. Klemensiewicz und Gutschy<sup>1)</sup> vertreten die Anschauung, daß die Ablagerung einer Fibrinmembran der primäre Vorgang ist, dem ein passives Festkleben zelliger Elemente an dem Fibrin folgt.

Die erste Vorstellung findet hauptsächlich in den Schriften Weigerts Ausdruck. Weigert bildete die Anschauungen Alexander Schmidts über Blutgerinnung weiter aus, allerdings größtenteils in rein hypothetischer Weise. Das Fibrin soll durch direkte Umwandlung der Leukocyten entstehen oder zum Teil auch aus den vorher verflüssigten Leukocyten. Aber auch andere zellige Elemente sollen ähnliche Transformationen erleiden können, wobei Fibrin oder chemisch dem Fibrin sehr ähnliche Stoffe gebildet werden sollen. Dies ist

<sup>1)</sup> Gutschy, L., Z. Morphologie d. Blutgerinnung u. d. Thrombose. Zieglers Beiträge Bd. 34, 1903. — Ausführliche Literaturangaben über Thrombose finden sich in der zusammenfassenden Darstellung der Thrombose in Lubarschs Handbuch d. allgemeinen Pathologie, I. Bd., 1905, und in der Abhandlung von W. H. Welch in Allbutts System of Medicine, vol. VI, 1899.

die Grundlage von Weigerts<sup>1)</sup> Vorstellungen über die Coagulationsnekrose. Demnach ist der Grundprozeß der Thrombose ein Gerinnungsvorgang. Diese Anschauungen wurden später etwas modifiziert, aber ähnliche Vorstellungen finden wir auch noch in neueren Abhandlungen über Thrombose vertreten. Die zweite Erklärungsweise verdanken wir hauptsächlich den Untersuchungen von Bizzozero<sup>2)</sup> und Hayem. Eberth und Schimmelbusch<sup>3)</sup> bestätigten im wesentlichen die Ergebnisse Bizzozeros. Sie legten besonderen Nachdruck auf die Tatsache, daß die primäre Agglutination der Blutplättchen nur bei Verlangsamung des Blutstromes stattfindet; sie bestreiten ferner die Annahme Bizzozeros, derzufolge die Blutplättchen das Fibrinferment oder Proferment enthalten und deshalb der Agglutination die Coagulation folgt. Auch weiterhin fanden die Anschauungen Bizzozeros weitere Anhänger.

Wenn nun heute noch keine dieser Anschauungen allgemeine Anerkennung hat finden können, so liegt das wohl daran, daß durchaus zwingende Beweise für die Richtigkeit einer derselben nicht vorliegen. Denn die mikroskopische Untersuchung experimenteller oder anderer Thromben kann diese Frage allein nicht entscheiden. Wir können nämlich einmal nicht sicher sein, daß Fibrinfärbungen imstande sind, Fibrin nachzuweisen, das als eine sehr feine homogene Lage zellige Elemente wie ein Kitt verbindet. Es könnte sein, daß die Agglutination der Blutplättchen dadurch bedingt ist, daß eine außerordentlich dünne Lage von Fibrin sich auf den einzelnen Blutplättchen niederschlägt und sie verklebt. Andererseits

1) Weigert, C., Über d. pathol. Gerinnungsvorgänge. Dieses Archiv Bd. 79, 1880.

2) Bizzozero, C., Sur les plaquettes du sang des mammifères. Arch. ital. de Biologie tome XVI, 1891. — Derselbe, D'un normal élément morphologique du sang et de son importance dans la Thrombose et dans la coagulation du sang. Arch. ital. de Biologie tome II, 1882 et tome III, 1883.

3) Eberth, J. C., u. Schimmelbusch, C., Experimentelle Untersuchungen über Thrombose. Fortschritte d. Medizin Bd. 3, 1885, u. Bd. 4, 1886. — Dieselben, Dyskrasie und Thrombose. Fortschritte d. Medizin Bd. 6, 1888. — Dieselben, Über d. Verhältnis v. Thrombose u. Blutgerinnung. Fortschritte d. Medizin Bd. 4, 1886.

können zuweilen andere Dinge wie Fibrin, sogar zellige Elemente, die Fibrinfärbung annehmen. Aus solchen zelligen Elementen können aber durch mechanische Einflüsse Fäden entstehen, deren zelligen Ursprung man nicht immer sicher nachweisen kann.

Experimentelle Untersuchungen müssen daher die mikroskopischen ergänzen. Es muß die Thrombose unter Bedingungen erzeugt werden, unter denen Coagulationen ausgeschlossen sind. Sollte dies gelingen, so wäre es bewiesen, daß primär eine Agglutination vorliegt. Einige derartige Versuche liegen auch schon vor. Schon Hanau<sup>1)</sup> untersuchte Thrombosen nach vorhergehender Peptoninjektion. Er kam zu keiner sicheren Entscheidung; doch glaubt er, daß nach Peptoninjektion die Thrombose wahrscheinlich nicht zustande kam. Weiterhin versuchte Sahli<sup>2)</sup> durch Injektion von Blutegelextrakt Ungerinnbarkeit des Blutes beim Kaninchen herbeizuführen. Er fand danach, daß in jedem Falle Bildung eines Thrombus um einen in ein Gefäß eingeführten Fremdkörper ausblieb. Sahli schließt mit Recht, daß diese Versuche für die Anschauung von Hanau, derzufolge die Thrombose auf Coagulation beruht, sprechen. Nun stehen aber die Ergebnisse von Sahli im Gegensatz zu einer Tatsache, auf die ich wiederholt hingewiesen habe, daß nämlich im Blute außerhalb des Körpers eine Agglutination zelliger Elemente unter Bedingungen stattfinden kann, unter denen jede Gerinnung von Fibrin mit Sicherheit ausgeschlossen ist, wie z. B. im Blute nach Phosphorvergiftung, nach Hirudininjektion und auch in dem nach Delezenes Methode aufgefangenen Vogelblute.<sup>3)</sup> Auch Ducceschi<sup>4)</sup> wies auf diese sogar makroskopisch sichtbare Agglutination von Blutplättchen

1) Hanau, A., Z. Entstehung u. Zusammensetzung d. Thromben. Vorl. Mitteilung. Fortschritte d. Medizin Bd. 4, 1886.

2) Sahli, Über d. Einfluß d. intravenös injizierten Blutegelextraktes auf d. Thrombenbildung. Centralbl. f. innere Med. Bd. 15, 1894.

3) Loeb, L., Über die Coagulation des Blutes einiger Arthropoden. Hofmeisters Beiträge Bd. V, 1904. — Weitere Untersuchungen über Blutgerinnung, ebenda Bd. V, 1904. — Versuche über einige Bedingungen d. Blutgerinnung. Dieses Archiv Bd. 176, 1904.

4) Ducceschi, V., Sur une modification macroscopique du sang qui précède la coagulation. Arch. ital. de Biologie tome 39, 1903.

hin. Um diesen Widerspruch aufzuklären, waren neue Versuche nötig.

Nun liegen aber ganz ähnliche Verhältnisse bei Wirbellosen vor. Bei der Thrombose nach Einführung eines Fremdkörpers in die Gefäßräume von *Limulus*,<sup>1)</sup> eines großen Arthropoden, finden wir um den Fremdkörper eine starke Ansammlung von Blutzellen, die allmählich degenerieren und einen homogenen Thrombus bilden. Aber auch hier läßt sich mikroskopisch nicht sicher die Beteiligung von Fibrinbildung ausschließen; in meinen früheren Mitteilungen schloß ich daher coagulative Prozesse bei dieser Thrombenbildung nicht aus. Dieser Thrombenbildung entspricht nun außerhalb des Körpers ein ganz ähnlicher Vorgang, nämlich die sogen. erste Blutgerinnung der Arthropoden. Auch hier finden wir dieselbe Unsicherheit in der Deutung dieses Prozesses. Handelt es sich hierbei um eine Plasmodienbildung, wie Geddes<sup>2)</sup> diesen Vorgang bezeichnete, d. h. um eine Agglutinationserscheinung oder um eine Fibrinbildung, wobei das möglicherweise nur in dünner Lage die Zellen umgebende Fibrin dieselben in die sich contrahierenden Fibrinnetze einschließen könnte, und so eine bloße Agglutinationserscheinung vortäuschen könnte? Auch diese Frage läßt sich mikroskopisch allein nicht mit Sicherheit entscheiden. Nach längeren Versuchen erkannte ich, daß der Umstand, daß Zellen gleichsam beim Auffallen auf den Objektträger zerspringen und daß solch ungeformtes Protoplasma leicht unter dem Einflusse mechanischer Einwirkungen Fadenform annimmt, es unmöglich macht, die Mitwirkung von Fibrin bei dieser scheinbaren Agglutination von Zellen durch mikroskopische Untersuchung allein auszuschließen. Bei *Limulus* ist nun diese sogenannte erste Gerinnung die einzige gerinnungsartige extravasculäre Veränderung. Daß es sich bei der sogenannten ersten Gerinnung der Arthropoden um eine echte Gerinnung

1) Loeb, L., Über d. Bedeutung d. Blutkörperchen für d. Blutgerinnung u. d. Entzündung einiger Arthropoden usw. Dieses Archiv Bd. 173, 1903.

2) Geddes, P., On the coalescence of the ameboid cells into Plasmodia and on the so called coagulation of invertebrate fluids. Proc. Royal Soc. Vol. XXX.

handeln sollte, wurde noch in einer vor wenigen Jahren erschienenen Arbeit Bottazzis<sup>1)</sup> allerdings ohne genügende Begründung behauptet.

Es soll nun im folgenden bei Arthropoden, Vögeln und Säugetieren untersucht werden, ob die Thrombenbildung an eine Fibrinausscheidung gebunden ist oder nicht.

### I. Versuche bei Arthropoden.

Zu diesen Versuchen wurde *Limulus* verwandt. Sollte es hier möglich sein, eine Fibrinbildung bei der sogen. Gerinnung des *Limulus*blutes in vitro auszuschließen, so wäre damit zugleich der Beweis geliefert, daß auch bei der innerhalb des Körpers um Fremdkörper stattfindenden Thrombenbildung eine Gerinnung nicht stattfindet. Denn beide Vorgänge sind im wesentlichen gleich. Nun läßt sich der Nachweis bringen, daß extravasculär keine fermentative Fibrinbildung im *Limulus*blut stattfindet. Hier sollen noch einmal schon einige früher hierfür angegebenen Gründe zusammengestellt werden, wozu dann noch ein weiterer entscheidender Versuch gefügt werden soll.

1. Es gelang nicht, aus *Limulus*blut Fibrinogen herzustellen, während dies beim Hummer, der eine zweite (echte) Blutcoagulation hat, gelang. Diese Tatsache dürfte aber allein noch nicht als entscheidend anzusehen sein, da es sich möglicherweise nur um sehr geringe Mengen von Fibrinogen handeln könnte, die sich etwa dem Nachweis bei der Aussalzung entziehen. Nun ist aber die sogen. Gerinnung bei *Limulus* sehr voluminös, und wenn sich trotzdem kein Fibrinogen nachweisen läßt, so spricht dieser Umstand sicherlich dafür, daß es sich bei der scheinbaren Gerinnung nicht um eine Fibrinausscheidung handelt.

2. Setzt man zu 3 ccm Hummerplasma 0,1 ccm einer  $\frac{m}{2}$  Kaliumoxalat-Lösung, so verhindert dieser geringe Oxalatzusatz frisches, mit frischen Schnittflächen versehenes Hummerzellfibrin, in dem Plasma Gerinnung herbeizuführen. Eine solche findet auch nicht in der nächsten Umgebung des Zellfibrins statt. Bei diesem Gehalt des Plasmas an Oxalat ist also die in den Blutzellen enthaltene gerinnungsbeschleunigende Substanz nicht imstande, eine Fibrinbildung im Hummerblute zu bewirken. Um aber die sogen. erste Gerinnung des Hummerblutes oder die *Limulus*blutgerinnung zu verhindern, hierzu ist ein außerordentlich viel stärkerer Gehalt des

<sup>1)</sup> Bottazzi, Ph., Contribution à la connaissance de la coagulation du sang de quelques animaux marins et des moyens pour l'empêcher. Arch. ital. de Biol. tome 37.

Blutes an Oxalat nötig. Dies weist darauf hin, daß hier andere Umstände wie Fibrinbildung von Bedeutung sind.

3. In ähnlicher Weise braucht man zur Verhinderung der ersten Coagulation des Arthropodenblutes und der Coagulation des Limulusblutes außerordentlich viel stärkere Lösungen von Neutralsalzen wie zur Aufhebung der zweiten, echten Gerinnung. Diese starken Salzlösungen wirken dadurch, daß sie die Zellen präservieren, das Ausfließen von Protoplasma verhindern und die Agglutination der Zellen aufheben oder stark vermindern.

4. In dem Blute der Tiere, in dem eine zweite (echte) Coagulation stattfindet, können wir durch Filtrieren des Blutes, Erwärmen auf 52° und Verdünnen mit destilliertem Wasser eine spontan nicht gerinnende Blutplasmalösung erhalten, die aber auf Zusatz von Thrombin oder Gewebsextrakt gerinnt. Es ist auf keine Weise möglich, ein solches unter dem Einfluß von Thrombin oder Gewebsextrakt gerinnendes Plasma aus Limulusblut darzustellen.

5. Wenn wir Limulusblut in einem Überschuß von Gelatinelösung auffangen, so kann die Gerinnung zu einem großen Teil vermieden werden. Bei vorsichtiger Untersuchung einer solchen Blutgelatinelösung unter dem Mikroskop finden wir die Zellen gequollen, teilweise frei in der Flüssigkeit liegend, teilweise kleine epithelartige Haufen bildend. Verwenden wir dünne Gelatinelösungen, so verursacht stärkere Bewegung noch nachträglich eine Agglutination der Blutzellen, welche makroskopisch in einer Bildung von Fäden zum Ausdruck kommt. Auch wenn wir Limulusblut in destilliertem Wasser auffangen, quellen die Zellen ähnlich und bleiben zum Teil frei, zu einem großen Teil aber kleben sie in Reihen oder Fäden epithelartig aneinander.

Beim Fehlen einer stärkeren Bewegung kann ein Ausziehen der Mehrzahl der Zellen zu Fäden ausbleiben. Makroskopisch erscheint unter diesen Bedingungen die Blutgelatine oder die Blutwassermischung der Hauptsache nach ungeronnen. Untersuchen wir die nach einiger Zeit am Boden des Gefäßes festklebenden Zellen, so können wir hier, wohl infolge der mechanischen Wirkung des Auffallens der Zellen auf den Boden des Gefäßes oder infolge der zur Untersuchung nötigen Manipulationen an Stelle der Zellen Fasern sehen; aber man kann deutlich erkennen, daß die Zellen selbst durch die Bewegungen ausgezogen werden und selbst die Fasern bilden.

6. Unter dem Mikroskop können wir sehen, daß in destilliertem Wasser die Blutzellen aufquellen, hyalin werden, aber nicht Pseudopodien aussenden, welche die verschiedenen Zellen verbinden. Ferner unterbleibt hier die amöboide Bewegung der Zellen, die zu einer Haufenbildung von Zellen führt. Diese Haufen (Plasmodien) sind dann durch lange Pseudopodien oder Zellprotoplasmafäden untereinander verbunden. In mit dem Blute isotonischen NaCl-Lösungen finden hingegen diese Veränderungen, die makroskopisch den Anschein einer echten Gerinnung hervorrufen, statt.

7. Daß die sogenannte Gerinnung des Limulusblutes nicht auf einer Gerinnung von in Lösung befindlichem Fibrinogen beruht, kann auch auf folgende Weise bewiesen werden: Limulusblut wird in gesättigter  $MgSO_4$ -Lösung aufgefangen. Hierdurch wird die Gerinnung verhindert. Ein Teil dieser Lösung wird filtriert, ein anderer Teil wird 4 Stunden lang unfiltriert aufbewahrt. Letzterer Teil zeigt noch nach Ablauf dieser Zeit nach Verdünnung mit destilliertem Wasser eine Gerinnung; das Filtrat hingegen gerann zu keiner Zeit spontan. Auch Zusatz von Muskelextrakt oder von Fibrin fermentlösungen bewirkten darin keine Gerinnung.

8. Entnehmen wir Limulusblut, statt wie gewöhnlich durch einen Einschnitt in das Tier, durch Einstoßen eines ganz reinen Troikarts in das Herz des Tieres, so fallen die Blutkörperchen in der großen Mehrzahl fast unversehrt auf den Objektträger. Unter diesen Umständen wird kein Zellfibrinnetz gebildet, da die Konsistenz des Zellprotoplasmas sich nicht ändert; das Protoplasma der meisten Zellen fließt nicht aus, und die in der Flüssigkeit suspendierten Zellen senden keine Fortsätze aus. Die Zellen sinken bald zu Boden, und erst die in Berührung mit dem Glase oder vielleicht schon die in der Nähe des Glases befindlichen Zellen senden Fortsätze aus. War der Troikart nicht ganz sauber, oder fangen wir die Blutropfen durch einen Troikart in auf dem Objektträger befindlicher  $\frac{n}{2}$  NaCl-Lösung auf, so verändern sich die Blutzellen und bilden ein die Flüssigkeit einschließendes Fadennetz, welches makroskopisch als eine gelatinöse Masse erscheint. Dieser Versuch kann nun zweckmäßig in folgender Weise modifiziert werden: wir fangen Limulusblut durch einen geöhlten Troikart in einem mit Vaseline bestrichenen Glasgefäß auf. Allmählich sinken die Blutzellen zu Boden und die oberste Schicht wird frei von Zellen. Wir entnehmen vorsichtig ein wenig dieser Flüssigkeit mit einer Pipette. Durch Schütteln wird keine Gerinnung hervorgerufen, ebenso wenig durch Zusatz von Thrombinlösungen oder von Gewebecoagulinen.<sup>1)</sup> Fügen wir aber zu dieser Flüssigkeit andere feste Substanzen, wie Spermatozoen oder Eiweißflockchen, so agglutinieren diese zu größeren Aggregaten unter dem Einfluß des Limulusplasmas.

Entnehmen wir statt der obersten zellfreien die mittlere, noch einige Zellen enthaltende Flüssigkeit, so bewirkt Hin- und Herbewegen des Objektträgers, auf den die Flüssigkeit übertragen wurde, die Agglutination dieser Zellen, und Fäden werden sichtbar. Entnehmen wir die unterste, viele Zellen enthaltende Flüssigkeit, so findet infolge von Bewegung eine starke Agglutination dieser Zellen statt, so daß das Bild einer gelatinösen Gerinnung entsteht. Lassen wir aber die Zellen ungestört zu Boden fallen, so bleibt die oberste Flüssigkeit dauernd ungeronnen.

<sup>1)</sup> Zuweilen wird durch Zusatz der etwas sauer reagierenden Muskel-extraktlösung ein Eiweißkörper aus dem Plasma ausgefällt. Hierbei handelt es sich aber nicht um eine fermentative Ausfällung, da in solchen Fällen erhitzter und daher inaktivierter Muskelextrakt ganz gleich wirkt.

Was wir also bei *Limulus* Gerinnung nennen, ist nicht ein fermentativer Gerinnungsprozeß des Fibrinogens, sondern eine durch mechanische und chemische Einflüsse hervorgerufene Veränderung von Zellen. Dieser Veränderung der Zellen geht die scheinbare Gerinnung vollständig parallel.

Die angeführten Versuche dürften genügen, um dieses zu beweisen. Falls nun eine Fibrinogengerinnung bei der extravasculären sog. Blutgerinnung ausgeschlossen werden kann, kann dies mit noch viel größerer Sicherheit in bezug auf die innerhalb des Körpers stattfindenden Thrombenbildungen geschehen, da hier die die Gerinnung herbeiführenden Reize viel schwächer sind, als bei den mit Fermentlösungen ausgeführten Versuchen *in vitro*. Ferner sind außerhalb des Körpers die mechanischen Einwirkungen viel stärker wie nach Einführung eines Fremdkörpers in einen Blutraum des Tieres, wobei nur ein Teil des Blutes an einer Seite mit dem Fremdkörper in Berührung kommt.

Worauf beruht nun diese zur Thrombenbildung und zur sog. extravasculären Gerinnung führende Agglutination der Blutzellen von *Limulus*?

In erster Linie auf mechanischer Beeinflussung der Zellen und zweitens unter Umständen auf chemischen Reizen. Der mechanische Shock oder die Berührung mit rauen Gegenständen veranlaßt weitgehende Veränderungen in der Zelle.<sup>1)</sup> Dieselben äußern sich nicht nur in beginnender amöboider Bewegung, sondern auch in Konsistenz und Strukturveränderungen des Protoplasmas, besonders in der Auflösung aller oder sehr vieler Zellgranula. Von chemischen Einflüssen kämen in Betracht Berührung mit Gewebssaft oder mit Flüssigkeiten wie Seewasser. Diese chemischen Einflüsse allein können ähnliche Wirkungen hervorbringen wie der mechanische Shock.

Unter diesen Bedingungen vereinigen sich also die Zellen. Ein Teil des Protoplasmas fließt aus und bildet lange Fäden. Ich habe schon früher<sup>2)</sup> darauf hingewiesen, daß die physi-

<sup>1)</sup> Vgl. Loeb, L., Studies on cell granula and amoeboid movements etc. Univ. of Pennsylvania Medical Bulletin, May 1905.

<sup>2)</sup> Über d. Bedeutung der Blutkörperchen für d. Blutgerinnung u. d. Entzündung einiger Arthropoden und über mechanische Einwirkungen auf d. Protoplasma dieser Zellen. Dieses Archiv Bd. 173, 1903.

kalischen Eigenschaften dieser Zellmassen und insbesondere der aus ihnen gebildeten Fäden sehr ähnlich denen des Fibrins sind. Aber daß der Hauptbestandteil dieser Zellmassen chemisch Fibrin ist, das ist nicht bewiesen und nicht wahrscheinlich. Zudem deutet kein Umstand darauf hin, daß es sich bei diesen Zellveränderungen und bei dieser Agglutination um einen durch Thrombin veranlaßten fermentativen Prozeß handelt. Vorläufig müssen wir also zwischen der fermentativen Fibrinogengerinnung und diesen Zellveränderungen scharf scheiden. Von Interesse ist jedoch die Tatsache, daß erstens dieselben Umstände, welche die Fibrinogengerinnung hindern, wenn sie in quantitativ stärkerer Weise wirken, auch die zu Thrombose oder extravasculärer Agglutination führenden Zellveränderungen hemmen,<sup>1)</sup> und zweitens, daß gewisse Umstände, welche die echte fermentative Gerinnung beschleunigen, wie starke Bewegung des Blutes an rauhen Flächen, auch die Zellveränderungen, die zu Agglutination führen, sehr verstärken. Aber es handelt sich hierbei wahrscheinlicherweise nicht um zwei in direkter kausaler Beziehung stehende Tatsachenreihen, sondern vermutlich um koordinierte Tatsachen; die Zellveränderungen und die fermentativen Gerinnungsvorgänge werden durch ähnliche Faktoren beeinflusst, aber die Zellveränderungen sind in diesem Falle nicht die Folge der fermentativen Vorgänge, und umgekehrt sind hierbei die fermentativen Prozesse nicht die Folge der Zellveränderungen.

#### Versuche bei Wirbeltieren.

Es wurden Versuche an Vögeln und an Hunden angestellt. Ehe jedoch über die Ergebnisse dieser Versuche berichtet wird, ist es nötig, die theoretische Grundlage solcher Versuche darzulegen und über Experimente zu berichten, die gemacht wurden, um gewisse Widersprüche, die in der Literatur vorhanden sind, aufzuklären. Falls die Gefäßwand verletzt wird, wären drei Veränderungen zu berücksichtigen, die hierdurch veranlaßt werden und die für die Thrombenbildung von

<sup>1)</sup> Vgl. Über die Bedeutung d. Blutkörperchen für die Blutgerinnung usw. Dieses Archiv Bd. 173, 1903. — Über die Coagulation des Blutes einiger Arthropoden. Hofmeisters Beiträge Bd. 5, 1904.

Bedeutung sein könnten. 1. In dem Gefäßendothel könnten die Blutgerinnung hemmende Substanzen vorhanden sein, deren Beseitigung die Bildung eines Gerinnsels an der Verletzungsstelle begünstigen würde. 2. Die Verletzung könnte eine mechanische Wirkung ausüben. An Stelle des glatten Endothelrohrs fließt das Plasma an einem rauhen, unebenen Wandteil vorüber. Es werden dadurch gewisse Störungen in der Flüssigkeitsbewegung hervorgerufen. Vor allem aber werden die körperlichen Elemente des Blutes möglicherweise durch die Berührung mit einer rauhen Fläche oder vielleicht sogar schon durch die Nähe einer solchen in ihren Eigenschaften verändert. Außerdem findet eine Verlangsamung des Blutstromes insbesondere dann statt, wenn neben der Verletzung zugleich eine Einschnürung des Gefäßes vorliegt oder wenn teilweise losgelöste Teile der Gefäßwand in das Innere der Gefäßwand hineinragen. 3. Nach Entfernung des Gefäßendothels könnten in dem Gewebe der Gefäßwände enthaltene Substanzen, Gewebecoaguline, einen gerinnungsbeschleunigenden Einfluß ausüben. Diese drei Möglichkeiten sollen nun erörtert werden.

1. Die insbesondere von Brücke vertretene Anschauung, daß in dem Gefäßendothel die Gerinnung hemmende Stoffe vorhanden sind, wurde in jüngster Zeit von Gutschy<sup>1)</sup> durch Versuche zu stützen gesucht. Er glaubte beobachten zu können, daß ausgeschnittene Stücke von Gefäßen die Blutgerinnung hemmen. Dies war schon deswegen unwahrscheinlich, weil bei dieser Versuchsanordnung das Blut mit anderen die Gerinnung beschleunigenden Geweben in Kontakt kommt. Ich wiederholte daher die Versuche in der Weise, daß ich die Außenseite der Gefäßwand, so weit es möglich war, mit Paraffin überzog, um die Wirkung anderer Gewebe auszuschließen. Nichtsdestoweniger ließ sich keine gerinnungshemmende Wirkung des Gefäßendothels nachweisen. Schon früher hatte ich gezeigt,<sup>2)</sup> daß, wenn man zu spontan nicht oder nur sehr langsam gerinnendem Gänseplasma ein kleines Stück Gefäßwand

<sup>1)</sup> Gutschy, L., Zur Morphologie der Blutgerinnung u. d. Thrombose. Zieglers Beiträge Bd. 34, 1903.

<sup>2)</sup> Vgl. Loeb, L., Versuche über einige Bedingungen der Blutgerinnung usw. Dieses Archiv Bd. 176, 1904.

hinzufügt, bald lokal um das Gewebe Gerinnung eintritt, die dann nach außen weiterschreitet, ferner daß diese Wirkung eine spezifische ist. Also ein hemmender Einfluß des Endothels auf die Blutgerinnung läßt sich nicht nachweisen, könnte also, wenn überhaupt vorhanden, nur äußerst schwach sein. Er käme aber auch schon deswegen für die vorliegende Frage gar nicht in Betracht, weil ja nach Entfernung eines kleinen Stückes Endothel die unbeschädigte Fläche des übriggebliebenen Endothels die hemmende Substanz noch weiter secernieren müßte. Also durch Fehlen der von dem Endothel secernierten gerinnungshemmenden Substanz könnte eine primäre Fibrinausscheidung an der Stelle der Verletzung nicht erklärt werden.

2. Daß mechanische Faktoren, insbesondere Berührung mit rauhen Flächen, einen tiefgreifenden Einfluß auf Blutzellen ausüben, zum Nachweis dieser Tatsache habe ich in den Blutzellen der Wirbellosen ein günstiges Versuchsobjekt<sup>2)</sup> gefunden. Ich kann in bezug hierauf auf das oben Mitgeteilte hinweisen. Daß auch bei Wirbeltieren mechanische Umstände von Bedeutung sind, darauf weist die Beobachtung von Haycraft hin, derzufolge Blutplättchen in einem unter Öl aufgefangenen Blutstropfen keine Fortsätze ausstrecken. Also mechanische Umstände üben einen tiefgehenden Einfluß auf gewisse zellige Bestandteile des Blutes aus (Auflösung von Zellgranula, Veränderung der Konsistenz der Zellen, Pseudopodienbildung). Solche Veränderungen wären wohl imstande, die Agglutination der Zellen oder Blutplättchen zu erklären, insbesondere wenn berücksichtigt wird, daß die Verlangsamung des Blutstroms nahe der Verletzungsstelle und die Entstehung einer plasmatischen Randzone diese zelligen Bestandteile des Blutes unter den Einfluß einer solchen rauhen Fläche bringen kann.

Aber noch ein weiterer Umstand ist in Betracht zu ziehen. Bordet und Gengou<sup>3)</sup> glauben nachgewiesen zu haben, daß unter dem Einfluß einer rauhen Fläche oder von Bewegung Thrombin in dem Blutplasma erzeugt werden kann. Es wäre

1) Loeb, L., Studies on cell granules etc. Loc. cit.

2) Bordet, J., et Gengou, O., Recherches sur la coagulation du sang. Ann. Inst. Pasteur Vol. 17, 1903.

also demnach möglich, daß das Blut nahe einer Verletzungsstelle Thrombin oder event. mehr Thrombin wie unter gewöhnlichen Bedingungen enthält. Falls also etwas Blut an einer solchen Stelle stagniert, könnte vielleicht doch eine geringfügige Fibrinbildung stattfinden. Um diese Möglichkeit auszuschalten, wird es nötig sein, das Blut ungerinnbar zu machen.

3. Gewebsextrakte üben bekanntlich einen stark beschleunigenden Einfluß auf die Blutgerinnung aus, oder sie mögen dieselbe hervorrufen. Dieser Einfluß ist in gewissen Grenzen ein spezifischer.<sup>1)</sup> Daß diese Wirkung nicht etwa auf Hämolyse und auf dieser beruhendem Freiwerden von in den Blutzellen enthaltenen gerinnungsbeschleunigenden Stoffen beruht, geht daraus hervor; daß diese Substanzen auf Blutplasma ebenso wirken. Aber nicht nur Extrakte der Gewebe haben diese Wirkung, sondern wie ich<sup>2)</sup> früher zeigte, wirken Gewebsstücke ganz ähnlich. Die wirksamen Substanzen diffundieren in die Umgebung und rufen Gerinnung hervor. Auch die verletzte Gefäßwand selbst hat eine solche Wirkung. Nun erhebt sich die Frage, ob diese Wirkung nicht nur in vitro, sondern auch in den Blutgefäßen sich geltend machen kann. Falls das Blut sehr schnell die Stelle der Verletzung passiert, ist es ja unwahrscheinlich, daß die Zeit genügend ist, um eine Fibrinausscheidung herbeizuführen. Aber anders wäre es doch, wenn auch nur ein sehr kleiner Teil des Blutes hinter einer verletzten Lamelle der Gefäßwand stagnierte. Eine solche Zurückhaltung von Blut würde besonders durch die Bildung eines Agglutinationsthrombus an der Verletzungsstelle begünstigt. Also unter solchen Umständen können wir nicht die Möglichkeit einer gerinnungserregenden Wirkung der Gewebsoaguline ausschließen. Und es ist deshalb für unsere Fragestellung nötig, die Blutgerinnung hemmende Mittel einwirken zu lassen. Aber noch eine weitere Tatsache wäre zu berücksichtigen. Mac William, Mackie und C. Murray<sup>3)</sup> geben an, daß, wenn

1) Loeb, Leo, Versuche über einige Bedingungen d. Blutgerinnung usw. Dieses Archiv Bd. 176, 1904. — Derselbe, Über die Coagulation des Blutes einiger Arthropoden. Hofmeisters Beiträge Bd. V, 1904.

2) Über einige Bedingungen der Blutgerinnung. Loc. cit.

3) Intravascular Injection of salts and of Nucleoproteids. J. A. Mac

eine Vene oder eine Arterie an zwei Stellen unterbunden wird und sodann Nucleoproteid in das unterbundene Gefäß injiziert wird, das Nucleoproteid nicht imstande ist, Gerinnung hervorzurufen. Das gleiche gelte für das unterbundene Herz. Der Meinung dieser Forscher zufolge soll die Kapillarcirculation nötig sein, um intravasculäre Gerinnung durch Nucleoproteide zu erzielen. Nun wird insbesondere von Pekelharing und Huiskamp die Ansicht vertreten, daß die Gewebsextrakte ihre gerinnungsbeschleunigende Wirkung Nucleoproteiden verdanken. Falls nun diese Unwirksamkeit der Nucleoproteide auch für die Gewebsextrakte Geltung haben sollte, dann würde das Blut innerhalb der Gefäße sich anders verhalten, wie *in vitro*, und die gerinnungsbeschleunigende Wirkung der Gewebsoaguline käme für die Thrombose nicht in Betracht. Es war deshalb nötig, die Versuche der genannten drei Forscher zu wiederholen, wobei jedoch Gewebsextrakte anstatt künstlich bereiteter Nucleoproteide zu verwenden waren. Venen und Arterien von Hunden wurden auf eine Strecke von mehreren Zentimetern unterbunden und sodann  $\frac{1}{2}$ —1 ccm Gewebsextrakt oder Blutserum mit einer feinen Nadel injiziert. Nach 2—3 Minuten wurde der Inhalt des Gefäßes fast in allen Fällen geronnen gefunden; in Kontrollgefäßen blieb das Blut flüssig. Also der Befund von Mac William hat keine Gültigkeit für Gewebsextrakte, die für die Thrombenbildung allein in Betracht kommen; diese können daher möglicherweise für eine lokale Blutgerinnung von Bedeutung sein.

Um die intravasculäre Blutgerinnung zu verhindern oder zu hemmen, stehen uns Pepton- und Hirudininjektionen zur Verfügung. Die durch Kalkentziehung die Gerinnung aufhebenden Substanzen sind wegen ihrer toxischen Wirkungen für unsere Zwecke nicht geeignet. Durch Hirudin<sup>1)</sup> oder Peptoninjektion uncoagulierbar oder schwer coagulierbar gemachtes Blut hat die Eigenschaft, auf Zusatz von Gewebsextrakten mehr oder weniger leicht zu coagulieren. Blutserum

William, A. H. Mackie, C. Murray. *Jour. of Physiol.* Vol. 30, 1903—1904.

<sup>1)</sup> Das nach den Angaben von Franz hergestellte Präparat wurde für diese Versuche benutzt. *Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak.* Bd. 49.

hingegen, das Oxalat oder Fluoridblut leicht zur Gerinnung bringt, wirkt auf Hirudin- oder Peptonblut relativ viel schwächer ein. Wie stark nun insbesondere Pepton, aber auch Hirudin bei intravasculärer Injektion wirkt, läßt sich nicht immer mit Bestimmtheit voraussagen; insbesondere ist zu berücksichtigen, daß die Peptonwirkung individuellen Schwankungen unterliegt. Aber auch die Hirudinwirkung wird im Laufe der Zeit schwächer; so daß nach Beendigung des Versuches die Wirkung nicht mehr so stark ist wie im Beginn. Ferner findet eine Abnahme in der Stärke der Hirudinpräparate bei längerem Aufbewahren allmählich statt. Aus alledem folgt, daß es nicht nur notwendig ist, das am Ende des Versuches aufgefangene Blut, daraufhin zu beobachten wie lange die spontane Gerinnung aufgehoben ist, sondern es muß auch der Einfluß der Gewebe auf solches Blut untersucht werden, da ja in den Gefäßen solche Einflüsse in Betracht kommen können. Nur so können wir sicher eine Gerinnung herbeiführende Wirkung der Gewebe an der Verletzungsstelle der Gefäßwand ausschließen.

Außer den Geweben kommen als gerinnungsbeschleunigende Faktoren Blutzellen und womöglich agglutinierte Blutplättchen in Betracht. Diese letzteren würden aber ihre Wirkung erst ausüben, wenn sie verändert sind unter dem Einfluß der verletzten Gefäßwand. Da diese Veränderung aber schon zur Agglutination führt, so käme für unsere Fragestellung diese Wirkung nicht in Betracht, insofern es sich hier nur darum handelt, festzustellen, ob die Agglutination, die auf der Veränderung der Blutzellen (resp. Plättchen) beruht, der primäre Vorgang ist oder nicht. Zudem läßt sich feststellen, daß in vitro in durch Hirudin ganz uncoagulierbar gemachtem Blute dennoch eine Agglutination von Plättchen stattfindet, ohne daß diese Agglutination direkt von einer Blutcoagulation gefolgt wäre. Eine Kombination von Serum und Gewebsextrakt wirkt auf Hirudinblut schwächer, wie die in dem Gemenge verwandte Menge Gewebsextrakt allein wirken würde. Dasselbe gilt für Peptonblut, falls die Peptonwirkung kräftig war.<sup>1)</sup> Serum

<sup>1)</sup> Loeb, Leo, Weitere Untersuchungen über Blutgerinnung. Hofmeisters Beiträge Band V, 1904.

allein wirkt sowohl auf Pepton- wie auf Hirudinblut relativ viel schwächer wie Gewebsextrakt.

## II. Versuche bei Vögeln.

Zu diesen Versuchen wurden Gänse benutzt. Die Jugularvene und in einem Falle auch die Flügelvene wurden durch mehrmaliges Zerreißen von Ligaturen verletzt und darauf, nachdem das Blut durch die verletzten Gefäße während 18 bis 30 Minuten circulierte hatte, nach Unterbindung auf beiden Seiten von der Verletzungsstelle excidiert und nach Einbettung in Celloidin mikroskopisch untersucht. In der Mehrzahl der Fälle wurde Hirudin in eine Geflügelvene vor Verletzung der Gefäße injiziert, in einigen anderen Fällen, die als Kontrolle dienten, unterblieb diese Injektion.

### a) Versuche mit Hirudininjektion.

Gans 1. 3200 g. 0,09 g Hirudin in Flügelvene injiziert. 18 Min. Blutcirculation nach Verletzung der Gefäßwand. Nach Beendigung des Versuches entnommenes Blut trotz zeitweiser Berührung mit Geweben noch nach 2 Stunden flüssig. Großer Thrombus haftet fest an verletzten Teilen der Gefäßwand. Der Thrombus besteht aus agglutinierten Spindelzellen. Keine Faserbildung im Thrombus, kein Zeichen von Zellzerfall.

Gans 2. 0,1 g Hirudin injiziert. 25 Min. Blutcirculation. Das am Ende des Versuch in Berührung mit Geweben entnommene Blut ist noch am nächsten Tag flüssig. Durch die Ruptur der Ligatur war hier die Vene nebst einem einmündenden Zweig verletzt worden. In beiden Gefäßen hatten sich Thromben gebildet. Obwohl das Blut am Ende des Versuches ausgeflossen war, waren Thrombenteile noch fest mit der verletzten Gefäßwand verbunden, sie hatten besonders an den abgelösten Lamellen der Gefäßwand.

Gans 3. 0,1 g Hirudin. 25 Min. Blutcirculation. Thrombus von agglutinierten Spindelzellen haftet an der verletzten Gefäßwand auf beiden Seiten der Lamellen. Ein abgerissenes Stück des Thrombus ist in der Mitte des Blutes in der Gefäßwand sichtbar.

Gans 4. 0,1 g Hirudin. 25 Minuten Blutcirculation. Das am Ende des Versuches im Kontakt mit den Geweben aufgefangene Blut ist noch am nächsten Tage flüssig. Thromben sitzen an der lacerierten Gefäßwand; insbesondere an den teilweise abgerissenen Lamellen der Wand. In den Buchten zwischen den Lamellen befinden sich keine Thromben. Große Teile der Thromben abgerissen und in dem Blutstrom sichtbar. Unter der Wucht des Blutstroms wird der Thrombus umgebogen.

Gans 5. 3300 g. 0,1 g Hirudin injiziert. 25 Min. Blutcirculation. Blut am Ende des Versuchs in Contact mit Geweben entnommen. Zu 3 ccm Blut füge in einem Reagenzröhrchen ein Stück Gansmuskel. Die Coagulation beginnt 19 Min. nach Beendigung des Versuchs und ist 8 Min. später vollständig. Ohne Zusatz von Muskel beginnt die spontane Gerinnung nach 23 Min. und schreitet langsam fort. Also hier liegt eine relativ schwache Hirudininwirkung vor. Mikroskopisch findet sich die Gefäßwand verletzt, kleine Lamellen der Gefäßwand ragen in das Lumen vor. An ihnen setzen sich agglutinierte Massen von Spindelzellen an. Die Haufen sind nicht sehr groß, da größere Teile abgerissen waren. Wir sehen Thromben in der Mitte des Blutstroms liegen. Nur wo die Gefäßwand verletzt ist, sitzen diese Thromben fest. Nur geringfügige Verengung des Gefäßlumens an der Stelle der Verletzung.

Gans 6. 3200 g. 0,3 g Hirudin in 42 ccm 0,85 % NaCl gelöst, in die Flügelvene injiziert. Nach 26 Min. und 24 Min. Blutcirculation werden die beiden Venen (Jugularis und Flügelvene) zur mikroskopischen Untersuchung entfernt. Mikroskopisch fanden sich in beiden die Gefäßwände laceriert. Die Flügelvene zeigte einen großen Thrombus an der Verletzungsstelle; derselbe bestand aus agglutinierten Spindelzellen. Keine Fasern in dem Thrombus sichtbar. In der Jugularis fanden sich an der Verletzungsstelle verzweigte Thromben an den abgerissenen Gefäßlamellen und in den dazwischenliegenden Recessus der Gefäßwand. Dieselben waren klein. Das Gefäßlumen war an der Unterbindungsstelle sehr weit. Eine kleine thrombotische Masse befand sich an der Unterbindungsstelle (an der Stelle, an welcher das Gefäß bei der Excision unterbunden wurde). Am Ende des Versuchs wurde Blut in Berührung mit Geweben aufgefangen und die folgenden Versuche gemacht:

1. 2 ccm Blut ohne Zusatz gerinnt noch nicht nach 2 Tagen.
2. 4 ccm Blut + 1 ccm durch Gaze filtriertes Gansmuskelextrakt, Coagulation noch nicht nach  $\frac{3}{4}$  Stunden begonnen, das Blut war am nächsten Morgen coaguliert.
3. 2 ccm Blut + 2 ccm desselben Gansmuskelextraktes coaguliert erst am zweiten Tage (eine größere Menge Gewebsextrakt kann in Hirudinblut weniger günstig wirken, als eine kleine Menge).
4. 4 ccm Gansblut + 1 ccm durch Filtrierpapier filtriertes Muskel-extrakt. Coaguliert am zweiten Tage.
5. 4 ccm Blut + 1 Stück Gansmuskel, ist nach 2 Tagen noch flüssig.

In diesem Falle war also jede intravasculäre Blutgerinnung ausgeschlossen, und doch fanden sich Thromben.

#### b) Versuche ohne Hirudininjektion (Kontrollversuche).

Gans 7. 20 Minuten Blutcirculation; große Thromben durchsetzen einen großen Teil des Gefäßlumens. Die agglutinierten Zellen zerfallen nicht. Kein Fibrin sichtbar.

Gans 8. An der Verletzungsstelle der Gefäßwand setzen sich Thromben an, und zwar an den frei im Gefäßlumen flottierenden Lamellen. An einer

Seite größere Thromben wie an der andern. Abgerissene Stücke des Thrombus im Gefäßlumen sichtbar. Auch da, wo bei der Herausnahme des Gefäßstückes die Gefäßwand verletzt war, findet sich ein Stück Thrombus festklebend; entweder handelt es sich hierbei um ein abgelöstes Stück des zentralen Thrombus, oder das Gefäß war hier schon im Anfang des Versuches verletzt worden, als der Faden, der zur Unterbindung am Ende des Versuchs dienen sollte, unter dem Gefäß durchgezogen wurde. Kein Fibrin in dem Thrombus sichtbar. Einige sich mit Eosin stark färbende, multinucleäre, granulいた Leukocyten finden sich um den aus agglutinierten Spindeln bestehenden Thrombus.

Gans 8. In der anderen Vene desselben Tieres hatte sich an der Verletzungsstelle ein größerer Thrombus gebildet.

### Schlußfolgerungen.

Nach Verletzung der Gefäßwand bilden sich in den Blutgefäßen der Gans Thromben, welche aus agglutinierten Spindelzellen bestehen. Irgendwelche fädige Gebilde ließen sich in diesen Thromben nicht nachweisen; ihre Struktur ist sehr einfach; sie bestehen aus der einen Zellart. Sie können verzweigt sein, indem das Blut an verschiedenen Stellen eindringt. Leukocyten spielen bei ihrer Entstehung keine Rolle; dieselben können sich zuweilen in der Peripherie des Thrombus ansammeln. Diese thrombotischen Massen können durch den Blutstrom größtenteils abgerissen werden; sie sitzen aber den im fließenden Blute flottierenden, teilweise abgerissenen Lamellen der Gefäßwand fest an, so daß ein Teil der thrombotischen Massen immer an der Verletzungsstelle sichtbar ist. Diese thrombotischen Massen können sich auch in den Recessus zwischen den abgerissenen Lamellen ablagern. Sie bilden sich auch bei sehr weitem Gefäßlumen. In 2 Fällen fanden sich kleine thrombotische Massen an der Unterbindungsstelle des Gefäßes (nahe der Stelle, an welcher das Gefäß excidiert wurde). Es handelt sich hierbei entweder um ein Haftenbleiben der abgerissenen Thromben, oder es war im Beginn des Versuchs an dieser Stelle das Gefäß verletzt worden. In dem Falle, wo Hirudin injiziert worden war, war die Hirudininjektion vor der Durchziehung des Fadens, also vor der eventuellen Verletzung der Gefäßwand, erfolgt.

Diese Thromben bildeten sich da, wo die Gefäßwand laceriert war, in jedem Falle, wenn Hirudin in solcher Menge

injiziert worden war, daß die Blutgerinnung gehemmt oder aufgehoben war. Es sei hierbei besonders auf den Versuch mit Gans 6 hingewiesen. Also die Bildung dieser thrombotischen Massen hängt nicht von vorangegangener Fibrinbildung ab. Nach Hirudininjektion können sogar die Thromben ebenso groß sein, wie ohne Hirudininjektion.

Jedoch sind derartige Vergleiche unsicher, da thrombotische Massen abreißen und vom Blutstrom fortgetragen werden können. Es war also in jedem Falle nach Hirudininjektion Thrombenbildung erfolgt. Irgend ein wesentlicher Unterschied zwischen der Thrombenbildung in gerinnbarem und in ungerinnbarem Blut besteht daher nicht. Es folgt ferner aus diesen Versuchen, daß Thromben mit großer Sicherheit bei der Gans erzeugt werden können; wie wir später sehen werden, mit größerer Sicherheit wie beim Hunde. Das rührt vielleicht zum Teil davon her, daß es sehr leicht ist, die Venenwand der Gans zu verletzen. Aber wahrscheinlich liegt noch ein anderer Grund vor, nämlich die bedeutendere Größe der agglutinierenden Elemente im Gefäße der Gans; ob noch andere, die Agglutination der Spindelzellen befördernde Umstände (etwa größere Klebrigkeit der Zellen) vorliegen, darüber ist nichts bekannt.

### III. Versuche bei Säugetieren.

Hunde wurden zu diesen Versuchen benutzt. Die Versuchstechnik war dieselbe, wie die oben bei Vögeln beschriebene.

Das Blut wurde durch Hirudin oder Peptoninjektion incoagulierbar gemacht; diese Substanzen wurden in eine Femoralvene injiziert. Sodann wurden eine oder beide Jugularvenen, zuweilen auch eine Femoralvene, in einem Falle auch eine Femoralarterie, entweder durch Zerreißen von Ligaturen oder durch Einführung einer Nadel verletzt; darauf circulierte das Blut in den meisten Versuchen 18—28 Min. lang in dem verletzten Gefäße. Nach vorheriger doppelter Ligatur wurde sodann das Gefäß an der Verletzungsstelle ausgeschnitten, in Zenker fixiert oder ganz oder fast ganz in Serienschnitte zerlegt (mit Ausnahme einiger Fälle, wo die Stücke in viele Schnitte, aber ohne serienweise Anordnung zerlegt wurden). In einer Anzahl von Tieren wurde Thrombenbildung in einer

Jugularvene auf diese Weise zuerst ohne Injektion einer gerinnungshemmenden Substanz versucht. Das betreffende Venenstück wurde sodann excidiert; jetzt erst wurde Hirudin oder Pepton injiziert und nun die Jugularvene der anderen Seite verletzt. Auf diese Weise wurden auf eventuell vorhandenen individuellen Verschiedenheiten der Versuchstiere beruhende Fehlerquellen ausgeschlossen.

Nichtsdestoweniger können Ungleichmäßigkeiten in den Ergebnissen darauf beruhen, daß die Verletzung der Gefäßwände in verschiedenen Versuchen ungleich stark ist, oder daß die Verengung der Gefäße an der Verletzungsstelle nach Zerreißen des Fadens in verschiedenen Fällen verschieden stark ist. Die Verengung scheint aber der Thrombenbildung günstig zu sein. Die Versuche wurden deshalb in 2 Serien eingeteilt. Die eine Serie A enthält die Versuche, in denen die Versuchsbedingungen möglichst gleichmäßig waren; in der Serie B, welche die früheren Versuche enthält, bestehen etwas größere Variationen in den Bedingungen. Im folgenden sollen nur die wesentlichen Tatsachen aus den Versuchsprotokollen wiedergegeben werden. Die Huude, die erst zur Thrombenbildung ohne Hirudin- oder Peptoninjektion und sodann zur Thrombenbildung in der andern Jugularvene nach stattgehabter Injektion der gerinnungshemmenden Substanz benutzt wurden, werden doppelt mit derselben Nummer versehen angeführt.

Serie A. Nach Hirudininjektion (das Gewicht der Hunde variierte in den einzelnen Fällen zwischen 5 und 7 kg):

Hund 1. 0,2 g Hirudin in Femoralvene injiziert. Nach Lösung der Ligatur circulierte Blut 35 Min. Blut im Kontakt mit Geweben am Ende des Versuchs aufgefangen, gerinnt erst eine Stunde später. 2 Venen untersucht. Interna in beiden Fällen zerrissen. Eine Vena jugularis mit großem obturierendem Thrombus; derselbe besteht aus verklebten Plättchen. Sie können wahrscheinlich als Folge des Blutdruckes einen faserigen Charakter annehmen. Der Blutdruck buchtet den Thrombus stark aus. In diesem Falle war das Blutgefäß stark verengt hinter der Verletzungsstelle des Gefäßes. An dem großen Thrombus fast keine Leukocyten zu sehen. Hinter diesem obturierendem Thrombus eine zweite Stelle, wo das Endothel fehlt. Hier lagert sich ebenfalls ein Plättchenthrombus mit einzelnen multinucleären Leukocyten an. Die zweite Vena jugularis zeigt einen viel kleineren Plättchenthrombus; derselbe lagert sich an einen Teil der Gefäßwand an, der als ein Lappen frei in das Lumen ragt. Ein Teil

des Thrombus abgerissen frei im Lumen des Gefäßes. Da, wo das Gefäß am stärksten verengt ist, befindet sich kein Thrombus. Diese Vene war weniger verengt wie die erste Vene.

Hund 2. 0,15 g Hirudin in Femoralvene injiziert. Blut strömt 20 Min. durch das verletzte Gefäß. Das am Ende des Versuches im Kontakt mit Muskel aufgefangene Blut zeigt ein wenig Gerinnung; Coagulation war also nicht völlig aufgehoben. An Einschnürungsstelle des Gefäßes ein kleiner, nicht obturierender Plättchenthrombus mit einigen Leukocyten. An einer Seite ist an der Einschnürungsstelle die Gefäßwand zersplittert. mit Blut infiltriert. Zwischen den Lamellen keine thrombotischen Plättchenmassen, wohl aber nach innen davon, nach dem Gefäßlumen zu.

Hund 3. 0,15 g Hirudin injiziert. 22 Min. Blutcirculation in den verletzten Gefäßen. Das am Ende des Versuches aufgefangene Blut bleibt während ungefähr 20 stündiger Beobachtungszeit ungeronnen, obwohl ein Stück Muskel dem im Reagenzröhrchen befindlichen Blute beigemischt war. In dem ungeronnenen Blute sind die Plättchen agglutiniert. Die Jugularvene ohne Thrombus, obwohl die Gefäßwand an Einschnürungsstelle verletzt und mit Blut infiltriert war. Das Gefäß war an der Verletzungsstelle ziemlich weit. Multinucleäre Leukocyten sind dort vorhanden. Die Femoralvene hingegen zeigt auch in diesem ganz ungerinnbaren Blut einen Blutplättchenthrombus an der Verletzungsstelle, nebst einer größeren Zahl von Leukocyten.

Hund 4. 0,15 g Hirudin. 22 Min. Blutcirculation nach Verletzung. Das im Anfang des Versuchs aufgefangene Blut bleibt während des Versuchs im Kontakt mit Muskel flüssig; auch das am Ende der Operation im Kontakt mit den Geweben aufgefangene Blut bleibt flüssig. 3 Gefäße werden untersucht, in 2 Gefäßen bildet sich kein Thrombus, obwohl in beiden die Gefäßwand stark verletzt war. Leukocyten wurden an der Verletzungsstelle zurückgehalten. Aber ein Blutplättchenthrombus bildete sich nicht. In dem dritten Gefäße finden wir jedoch das erste Stadium eines Blutplättchenthrombus. Zum Teil sind die Plättchen schon agglutiniert, zum andern Teil sammeln sie sich aber eben erst an und sind nur lose zusammengefügt. Sie können zu Fasern ausgezogen werden. Hinter und auch vor der Einschnürungsstelle befindet sich eine plasmatische Zone, die durch einen Leukocytenwall von dem zentralen Blutstrom abgegrenzt ist.

Hund 5. 0,15 g Hirudin. 20 Min. Blutcirculation. 2 Jugularvenen, 1 Femoralvene untersucht. Während der Operation keine Gerinnung des Blutes. Nach der Operation Blut in 2 Reagenzröhrchen aufgefangen; mit Muskel beginnt die Coagulation in 5—10 Min. um das Muskelstück; im Röhrchen, welches nur Blut enthielt, nach 1—1½ Stunden etwas Coagulation am Rande des Röhrchens. Am nächsten Morgen ohne Muskel Blut nur wenig geronnen, mit Muskel ganz geronnen. Also Hirudinwirkung nicht so stark wie bei Hund 3. 3 Venen wurden untersucht.

1. Vene: Hier hat sich kein Thrombus an der Stelle der Verletzung gebildet.

2. Vene: Hier ein großer Thrombus, aus Plättchen bestehend. Er ist nahe dem Abseß. An einzelnen Stellen haften viele multinucleäre Leukocyten daran. Die thrombotischen Massen legen sich besonders um teilweise abgerissene Lamellen der Gefäßwand an. Wo der Blutstrom durch entgegenstehende Widerstände verlangsamt ist, bildet sich eine plasmatische Zone mit Leukocyten aus.

3. Vene: Hier hat sich ein kleiner Blutplättchenthrombus an der Verletzungsstelle gebildet. In der Peripherie des Thrombus befinden sich viele Leukocyten. Der Thrombus erstreckt sich in die lacerierte Gefäßwand hinein. Ein Teil der thrombotischen Massen wurde wohl abgerissen.

Hund 6. 0,15 g Hirudin injiziert. 22 Min. lang Circulation nach Verletzung des Gefäßes. Noch am nächsten Tag war das am Ende des Versuches entnommene Blut flüssig, auch in den Proben, denen Muskelstücke zugesetzt waren. 3 Blutgefäße wurden untersucht. Obwohl die Einschnürungsstellen stark verletzt waren, hatten sich nirgends Thromben gebildet.

Hund 7. 0,1 g Hirudin injiziert. 30 Min. Blutcirculation. 2 Venen untersucht. Keine Thromben hatten sich gebildet. An der Einschnürungsstelle fanden sich entweder viele Leukocyten oder eine Plasmazone und eine Leukocytenzone.

## II. Kontrollversuche (ohne Hirudininjektion):

Hund 8. 3 Venen.

a) rechte vena jugularis, in der gewöhnlichen Weise verletzt. 20 Min. Blutcirculation. Weites Gefäßlumen an der Verletzungsstelle. Wo Gefäßwand verletzt ist, finden sich große thrombotische Blutplättchenmassen am Gefäß. Dieselben schließen an einzelnen Stellen kleine Leukocytenhaufen mit roten Blutkörperchen ein. Der Thrombus sehr fest gefügt, ist jedoch nicht sehr fest an der Wand fixiert. Wo die Gefäßwand nicht verletzt ist, fehlen Thromben.

b) Femoralvene. Sehr großer, fast obturierender Thrombus. Sehr fest gefügt, aus Plättchen bestehend. Blut und Leukocyten schichten liegen zwischen den Plättchenschichten. Diese Anordnung zeigt die schichtweise Entstehung des Thrombus an. Die Schichten scheinen zuerst eine zum Blutstrom senkrechte Stellung gehabt zu haben; dann aber unter dem Einfluß des Blutstroms in die Richtung des Blutstroms umbogen worden zu sein. Gefäßwand wurde in der gewöhnlichen Weise verletzt. 20 Min. Blutcirculation.

c) linke Jugularvene, war mit Nadel, die in die Vene eingestochen worden, in der ganzen Circumferenz verletzt worden. 25 Min. Blutcirculation nach Zerreißen des Umschnürungsfadens. Sehr große thrombotische Massen, fast ganz aus Blutplättchen bestehend. Die letzteren sind fest zusammengefügt. Doch finden sich auch einige Leukocytenreihen dazwischen; aber nicht viele; auch etwas Blut (Plasma mit roten Blutkörperchen) darin.

Hund 9. 3 Gefäße.

a) linke Jugularvene, war durch Einstechen einer Nadel und durch Zerreißen eines Fadens verletzt worden. 25 Min. Blutcirculation; fest zusammengefügte, fast ganz aus Blutplättchen bestehende, nicht sehr große Thromben an Einschnürungsstelle.

b) rechte Jugularvene. Keine Nadelverletzung. Nur Faden zerrissen. 20 Min. Blutcirculation. Starke Verengung des Gefäßes an Verletzungsstelle. Mittelgroßer Thrombus. Im Thrombus können hellere und dunklere Zonen unterschieden werden. Hauptsächlich in den letzteren, doch auch in den helleren Zonen sind faserige Strukturen sichtbar, doch bestehen beide im wesentlichen aus Blutplättchen. Etwas Blut (ohne Leukocytenhaufen) ist in dem Thrombus eingeschlossen. Eine Plasmazone umgibt einen Teil des Thrombus.

c) Femoralvene. 15 Min. Blutcirculation, keine Verletzung durch Nadel. Große, dichtgefügte Thromben an Einschnürungsstelle, etwas Blut und auch einige Leukocytenhaufen eingeschlossen. Der Thrombus besteht aus helleren und dunkleren Schichten. Faserige Struktur ist angedeutet. Auf beiden Seiten des Thrombus befindet sich eine Plasmazone.

Hund 10. 3 Gefäße untersucht.

a) rechte Jugularis. Nur Faden zerrissen, keine Verletzung durch Nadel. 20 Min. Blutcirculation; sehr großer Thrombus. Baumartige Verzweigung mit dunkleren und helleren Schichten. In dem Thrombus sind etwas Blut und an einzelnen Stellen kleine Haufen von multinucleären Leukocyten eingeschlossen. Dieselben lagerten sich wahrscheinlich in der Plasmazone bei Verlangsamung des Blutstroms dem Thrombus an und wurden eingeschlossen. Dunkle und helle Partien bestehen aus Plättchen, doch ist besonders in den dunkleren Partien eine faserige Struktur teilweise vorhanden.

b) linke Jugularvene. 20 Min. Blutcirculation, Wand wurde durch Zerreißen eines Fadens und durch Einstechen einer Nadel verletzt. Das Gefäßlumen ist hier sehr groß und die Einschnürung nur gering. Die Verletzung der Gefäßwand ist sehr bedeutend, die Gefäßwand ist teilweise hämorrhagisch infiltriert. Die Thromben sind hier nur klein, aber sehr festgefügt, homogen, sitzen an Verletzungsstelle, vielleicht ist ein Teil des Thrombus abgerissen.

c) Femoralvene, ohne Nadelverletzung, Faden um Vene zerrissen. Großer, dichter Thrombus. Ähnliche Struktur wie in der rechten Jugularis. Faserige Gebilde hier weniger deutlich sichtbar; die Fasern stellen vielleicht ausgezogene Blutplättchen dar.

Die Versuche der Serie B können nun in kürzerer Form wiedergegeben werden.

### 1. Nach Hirudininjektion:

Hund 11. 0,1 g Hirudin injiziert; mit Leberextrakt gemischt, gerinnt in 2 Stunden nur  $\frac{1}{3}$  des Blutes. 2 Venen untersucht, keine Thromben. 25 Min. Blutcirculation.

Hund 12. 0,15 g Hirudin. Blutgerinnung im Kontakt mit Muskel sehr verzögert. 2 Venen, keine Thromben.

Hund 13. 0,15 g Hirudin. Mit Muskelextrakt Gerinnung für die Zwecke dieser Versuche lange genug verzögert. 2 Venen, keine Thromben. 25 Min. Circulation.

Hund 14. 0,1 g Hirudin. Blut gerinnt nicht im Kontakt mit Muskel. 1 Vene. 30 Min. Blutcirculation. Kleiner, aber festgefügtter Thrombus an Verletzungsstelle. Starke Verletzung und Einschnürung des Gefäßes.

Hund 15. 0,1 g Hirudin. Blutcoagulation während und nach der Operation längere Zeit aufgehoben. Kein Thrombus. 1 Vene.

Hund 16. Ein Extrakt der Köpfe von 40 Blutegeln intravenös injiziert. Die Gerinnung des entnommenen Blutes ist nur wenig verzögert. 15 Min. Blutcirculation. Kein Thrombus. 1 Vene.

Hund 17. 0,1 g Hirudin. 1 Vene. 20 Min. Blutcirculation. Vene nicht verengt. Kein Thrombus.

Hund 18. 0,1 g Hirudin. 2 Venen. 25 Min. Circulation. Blutcoagulation während des Versuchs und einige Zeit später aufgehoben. Gefäßwand deutlich verletzt und verengt. Keine Thromben.

Hund 19. 20 Min. Blutcirculation. 0,1 g Hirudin. 2 Venen, 1 Femoralarterie. Trotz Venenverletzung und Verengung des Gefäßlumens keine Thrombe. Muscularis und Intima der Arteria stark verletzt und in das Gefäßlumen ragend. Kein Thrombus.

Hund 20. 0,1 g Hirudin. Keine Coagulation in dem am Anfang des Versuchs entnommenen Blut, dem Muskel zugesetzt wurde; eine Spur Coagulation in dem am Ende entnommenen Blut. Kein Thrombus.

Hund 21. 0,1 g Hirudin. Etwa 18 Min. Blutcirculation. Vor und nach der Operation keine Coagulation des Blutes im Kontakt mit Gewebe (während Beobachtungszeit). Blutgefäß eingeschnürt und an einzelnen Stellen zerrissen. Kein Thrombus.

Hund 22. 0,1 g Hirudin. Keine Blutcoagulation vor und nach der Operation. 30 Min. Bluteirculation. Blutgefäßwand verletzt und ein wenig eingeschnürt. Blutplättchenthrombus ohne Leukocyten. Thrombus nicht sehr fest gefügt. Ein Teil ist am Abreißen.

Hund 23. 0,1 g Hirudin. Gefäßwand verletzt. Kein Thrombus. Aber Plasmazone mit blutplättchenähnlichen Gebilden nahe der Stelle der Verletzung.

Hund 24. 0,1 g Hirudin. 20 Min. Blutcirculation. Blutcoagulation während des Versuchs gänzlich aufgehoben. Hellere und dunklere Teile im Thrombus. Blut bohrt sich an verschiedenen Stellen in den Thrombus ein. Derselbe ist an einzelnen Stellen am Abreißen. Feinfaseriges Aussehen thrombotischer Massen.

Hund 25. Femoralvene benutzt. 25 Min. Blutcirculation nach Hirudin-injektion. Blut coaguliert nicht. Kein Thrombus.

2. Kontrollversuche (ohne vorangegangene Hirudin-injektion).

Hund 15. Linke Jugularis verletzt, darauf Blutcirculation vor Hirudin-injektion. Weites Strombett, geringe Einschnürung. 20 Min. Blutcirculation. Kein Thrombus.

Hund 16. Vor Hirudininjektion 15 Min. Circulation. Kein Thrombus.

Hund 17. Vor Hirudininjektion 20 Min. Blutcirculation. Kleiner Blutplättchenthrombus an Einschnürungsstelle mit einigen Leukocyten darin.

Hund 20. Vor Hirudininjektion kein Thrombus. Sehr große plasmatische Zone.

Hund 21. Vor Hirudininjektion etwa 18 Min. Blutcirculation. Großer Thrombus sitzt mit breiter Basis auf. Dunkle und helle Schichten in dem Thrombus zu unterscheiden. In der hellen Zone finden sich feine Fäserchen. In der plasmatischen Zone um den Thrombus finden sich viele Leukocyten, auch rote Blutkörperchen, die teilweise in den Thrombus hineinreichen.

Hund 22. Vor Hirudininjektion. 20 Min. Circulation. Gefäßwand stark verletzt und etwas eingeschnürt. Großer, meist dichter Thrombus, hauptsächlich aus Plättchen bestehend; vereinzelte Leukocyten sind den Plättchen beigemischt. Die Struktur des Plättchenthrombus ist homogen, doch ragen Lücken hinein, die mit Blut und Leukocyten erfüllt sind. An einzelnen Stellen ist der Thrombus fast abgerissen.

Hund 23. Vor Hirudininjektion fast obturierender Blutplättchenthrombus; sitzt nur da fest, wo Gefäßwand verletzt ist. Das Gefäß ist hier etwas eingeschnürt. In dem Thrombus befinden sich hellere Zonen.

Hund 24. Vor Hirudininjektion 20 Min. Blutcirculation. Großer Thrombus; am Rande einige Leukocytenhaufen. Helle und dunkle Zonen in dem Thrombus zu unterscheiden. Die dunklen Zonen bestehen aus Blutplättchenhaufen. Diese letzteren sind zum Teil in horizontaler, zum Teil in vertikaler Richtung von plasmatischen Zonen mit Leukocyten und Erythrocyten durchzogen. Die Spalten sind horizontal oder vertikal, je nach der Richtung, in der das Blut resp. die plasmatische Zone in den Thrombus eindringt. In den helleren Zonen befinden sich oft Leukocyten in der Mitte, Plasma am Rande. An andern Stellen dringen rote Blutkörperchen ein. Die hellen Schichten haben vielfach einen feinfaserigen Charakter.

### C. Versuche mit Peptoninjektionen.

In diesen Versuchen wurden gewöhnlich 0,8 g Witte-Pepton pro Kilo Hund injiziert. Es wurde eine Lösung benutzt, welche in 8 ccm einer 0,85% NaCl-Lösung 0,7 g Pepton enthielt. Etwa 5 Minuten nach der Injektion wurde die Gefäßwand in der üblichen Weise verletzt und weiterhin wie in den oben beschriebenen Versuchen verfahren. In einer Anzahl von Versuchen wurde vor der Peptoninjektion eine Vene verletzt und nach freier Blutcirculation zur Untersuchung ausgeschnitten,

darauf Pepton injiziert und nun die andere Vene verletzt und nach Beendigung des Versuches ausgeschnitten.

### I. Versuche mit Peptoninjektionen.

Hund 26. 24 Min. Blutcirculation. Gefäßwand durch Nadel verletzt und verengt. Kein Thrombus. 1 Vene, 2 andere Venen. Volle Peptonwirkung. 20 bzw. 19 Min. Blutcirculation. Nur mit Faden verletzt. Dichte, fast obturierende Thromben in beiden Venen. Gefäßwände stark verletzt. Beide Thromben halb abgerissen. Ein Thrombus enthält innerhalb der Blutplättchenmassen Blut. Eine hellere Zone trennt die dunklere Plättchenzone von dem Blut. In dem anderen Thrombus sind keine Leukocyten vorhanden. In beiden Thromben teilweise feinfaserige Struktur. Solche Fasern können vielleicht durch Blutplättchen verursacht werden.

Hund 27. Blut gerinnt nur langsam nach Kontakt mit Gewebe, jedoch ist Coagulation nicht ganz aufgehoben. Gefäß mit Nadel und Faden verletzt. 25 Min. Blutcirculation. Kein Thrombus sichtbar.

Hund 28. Nach der Operation entnommenes Blut gerinnt nur sehr wenig. 25 Min. Blutcirculation. Kein Thrombus. Hier wurde eine Peptonlösung in 4% NaCl-Lösung injiziert.

Hund 29. Pepton in 4% NaCl-Lösung injiziert. 12 Min. Circulation. Weites Lumen. Kein Thrombus. Ohne Kanüle entnommenes Blut coaguliert noch nicht nach 15 Min.

Hund 30. Pepton in 2% NaCl-Lösung injiziert (0,7 g Pepton pro Kilo Hund). Kein Thrombus. Blut coaguliert nicht nach Entnahme ohne Kanüle.

Hund 31. Pepton in 4% NaCl-Lösung injiziert. 30 Min. Blutcirculation. Starke Verengerung des Gefäßes. Kein Thrombus. Blut, im Kontakt mit Geweben entnommen, ist noch nach 15 Min. ungeronnen.

Hund 32. 20 Min. Blutcirculation. Blutcoagulation nicht ganz aufgehoben. Kein Thrombus.

Hund 33. 35 Min. Blutcirculation. Kein Thrombus.

Hund 34. Pepton in 4% NaCl-Lösung injiziert. 15 Min. Circulation. Blutcoagulation nicht spontan. Kein Thrombus.

Hund 35. Blutcirculation 25 Min. Blutgerinnung verzögert, aber nicht ganz aufgehoben. (Blut, wie gewöhnlich, ohne Kanüle aufgefangen, so daß Kontakt mit Geweben nicht vermieden wurde.) Kein Thrombus.

Hund 36. 2 Jugularvenen. 24 Min. Blutcirculation. Blut gerinnt bald spontan; es fand nur eine Verzögerung der Gerinnung statt. In einer Vene: verzweigter Blutplättchenthrombus, der teilweise Blut und Plasma, teilweise Leukocytenhaufen einschließt. In der 2. Vene: kein Thrombus. 1 Femoralvene, durch Nadel verletzt: großer, baumförmiger Thrombus, kaum Leukocyten darin.

Hund 37. 1 Jugular- und 1 Femoralvene. 22 Min. Blutcirculation. An Verletzungsstelle große Thromben. Faseriges Gefüge in beiden Thromben mit eingeschlossenen Leukocytenhaufen.

Hund 38. 0,7 g Pepton pro Kilo injiziert. 30 Min. Blutcirculation nach Injektion und nach Verletzung der Blutgefäße. An Einschnürungsstelle nicht sehr großer Thrombus, der aus 3 Schichten besteht: a) aus einer Masse von agglutinierten Blutplättchen, b) darin eingeschlossen eine plasmatische Schicht, die Fasern enthält, c) im Innern des Thrombus befindet sich im Zentrum der plasmatischen Schicht eine Schicht von Leukocyten und roten Blutkörperchen. In dem anderen Gefäß findet sich ebenfalls ein Thrombus, der durch den Blutdruck ausgebuchtet ist. In der plasmatischen Zone hinter dem Thrombus findet sich ein Fibrinfasernetz ohne Zellen. In dem Thrombus einige Haufen von Leukocyten.

Hund 39. 0,7 g Pepton pro Kilo. 27 Min. Blutcirculation nach Verletzung beider Venae jugulares. 1. Vene: kein Thrombus, 2. Vene: kleiner Thrombus an Verletzungsstelle mit einigen Leukocyten, welche in den Blutplättchenmassen eingeschlossen sind.

Hund 40. Beide Jugulares verletzt, nach Injektion von 0,7 g Pepton pro Kilo Hund. 30 Min. Blutcirculation. Blut noch nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden ohne Coagulation. Trotz Einschnürung und Verletzung der Gefäßwand keine Thromben.

## II. Kontrollversuche.

Hund 28. Vor Peptoninjektion 20 Min. Blutcirculation. Kleiner Thrombus an der Stelle, wo das Blutgefäß eingeschnürt und verletzt ist.

Hund 29. Vor Peptoninjektion 12 Min. Circulation. Keine Verengerung des Gefäßlumens, kein Thrombus.

Hund 30. Vor Peptoninjektion 15 Min. Blutcirculation. Kein Thrombus.

Hund 31. Vor Peptoninjektion 30 Min. Blutcirculation. Kein Thrombus.

Hund 32. Vor Peptoninjektion 20 Min. Blutcirculation. Blutplättchenthrombus, hellere und dunklere Zonen. An der Grenze der beiden Zonen faserige Struktur vorhanden. Die hellere Zone enthält wahrscheinlich viel Plasma. An einigen Stellen auch etwas Blut in den Zwischenräumen. Kaum Leukocyten in dem Thrombus vorhanden.

Hund 33. Vor Peptoninjektion 30 Min. Blutcirculation. Großer, obturierender, meist homogener Thrombus. An verschiedenen Stellen und auf beiden Seiten des Thrombus bohrt sich das Blut in den Thrombus ein; auch Plasma mit Leukocyten dringt ein. An einer Seite sind die Blutplättchen nur locker aneinandergefügt. Teilweise feinfaserige Struktur des Thrombus. Die Fasern sind in der Richtung des Blutstroms angeordnet.

Hund 34. Vor Peptoninjektion 15 Min. Blutcirculation. Kleiner, verzweigter Thrombus. Das Blut bohrt sich ein und spaltet einen Teil des Thrombus ab, so daß baumförmige Verzweigung resultiert.

Hund 35. Vor Peptoninjektion: 25 Min. Blutcirculation. Großer, fast obturierender Thrombus. Der Blutstrom durchbricht den Thrombus in der Mitte. Hinter dem Thrombus befindet sich eine Plasmazone mit Leukocyten, eine solche findet sich auch auf der vorderen Seite. An verschiedenen Stellen dringt die plasmatische Schicht mit Leukocyten in den Thrombus ein; so entstehen die hellen Schichten. An anderen Stellen

sind die Leukocyten diffus im Thrombus verteilt. Die helle und dunkle Zone werden oft durch faserartige Gebilde getrennt.

### Schlußfolgerungen.

Diese Versuche beweisen, daß die Thrombenbildung bei Hunden nach Verletzung eines Blutgefäßes nicht von einer Blutgerinnung begleitet zu sein braucht, sondern ein hiervon unabhängiger Prozeß ist, nämlich eine Agglutinationserscheinung darstellt. Es konnte Thrombenbildung erzielt werden unter Bedingungen, unter denen nicht nur jede intravasculäre Gerinnung ausgeschlossen war, sondern sogar das am Ende des Versuches aufgefangene Blut, auch wenn ein Stück Muskel zu dem Blut gefügt wurde, in vitro für lange Zeit auch nicht den Beginn der Blutgerinnung zeigte. Es sei besonders auf Hund 4 verwiesen. Aber auch in anderen Fällen war die Blutgerinnung auch in Berührung mit Geweben genügend lange aufgehoben, um einen Einfluß der Blutgerinnung auf die Thrombenbildung ausschließen zu können.

Stellen wir nun die Versuche zusammen, so ergibt sich noch eine weitere Schlußfolgerung.

In Serie A zeigten 9 Blutgefäße in 4 Hunden, die vorher keine Hirudininjektion erhalten hatten, sehr feste und in einer gewissen Anzahl von Fällen sehr ausgedehnte Thromben. Demgegenüber waren unter 16 Blutgefäßen von 7 Hunden, die vorher mit Hirudin injiziert worden waren, 9 ganz frei von Thromben, und nur in 7 Blutgefäßen hatten sich Thromben gebildet. Noch deutlicher wird der Hirudineffekt, wenn wir berücksichtigen, daß nur in einem Blutgefäß ein Thrombus sich gebildet hatte, wenn die Hirudinwirkung sehr stark gewesen war und in 6 Blutgefäßen unter diesen Umständen keine Thrombenbildung erfolgte. In Fällen, in denen die Hirudinwirkung, wenn auch ausgesprochen, doch weniger stark war, fanden sich 5 Blutgefäße mit Thromben, 3 waren frei von Thromben.

Serie B. Unter 8 Blutgefäßen von 8 Hunden, die zur Zeit der Exstirpation der Venen noch nicht mit Hirudin injiziert worden waren, fanden sich Thromben in 5 Gefäßen; 3 Venen waren frei von Thromben. Dieselben Hunde wurden sodann mit Hirudin injiziert; darauf wurden 8 weitere Venen

in ähnlicher Weise verletzt: nun aber fanden sich nur in 2 Gefäßen Thromben, 6 Blutgefäße waren frei von Thromben. Die 2 Thromben, die sich gebildet hatten, waren kleiner, und die Blutplättchen waren nicht so fest gefügt wie in den Kontrollblutgefäßen. In 7 anderen Hunden, welche mit Hirudin injiziert worden waren, fand sich nur in einem einzigen Gefäß ein Thrombus, in 12 Blutgefäßen wurden keine Thromben gebildet.

Versuche mit Peptoninjektionen. Vor Peptoninjektion zeigten 5 Blutgefäße von 8 Hunden Thromben, in 3 Blutgefäßen hatten sich keine Thromben gebildet. Nach der Peptoninjektion waren die korrespondierenden 8 Venen vollständig frei von Thromben. In 7 andere Hunde wurde Pepton injiziert. In 9 Blutgefäßen fanden sich Thromben, 6 waren frei von Thromben.

Die Versuche mit Peptoninjektionen sind weniger wertvoll als die Versuche, in denen Hirudin benutzt wurde, erstens, weil die Versuche zu den ersten gehörten, die gemacht wurden, und zweitens, weil Peptoninjektionen viel stärkere Allgemeinwirkungen auf den Hund ausüben wie Hirudininjektionen, und so komplizierende Faktoren nicht ausgeschlossen werden können.

Wir können mit Sicherheit behaupten, daß Thrombenbildung ohne coagulative Vorgänge stattfinden kann. Eine Feststellung negativer Natur ist jedoch nicht so sicher begründet, da zufällige Umstände, wie geringerer Umfang der Blutgefäßverletzung, fehlende Verengerung des Blutgefäßlumens das Fehlen einer Thrombusbildung erklären können. So sahen wir ja auch, daß in demselben Versuch in demselben Tier ein Gefäß thrombiert sein kann, während ein anderes ähnlich behandeltes Gefäß frei von Thromben gefunden wird. Nichtsdestoweniger ist der Unterschied zwischen den Kontrollgefäßen und den Gefäßen nach Hirudininjektionen so groß, daß wir mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen können, daß Hirudininjektion, ohne die Thrombenbildung aufzuheben, beim Hunde einen merklich hemmenden Einfluß auf die Thrombenbildung hat, und zwar um so mehr, je stärker die Hirudinwirkung ist.

Wie wir sahen, ist es anders bei der Gans. Hier hat Injektion von Hirudin keinen merklich hemmenden Einfluß auf die Thrombenbildung.

Eine Erklärung für diese Tatsache können wir mit Sicherheit jetzt noch nicht geben. Doch müssen wir daran denken, daß auch *in vitro*, wie insbesondere Ducceschi<sup>1)</sup> betont, im Hirudinblut das Zusammenballen der Blutplättchen verlangsamt ist. Ob dies auf einer Veränderung der Plättchen oder der physikalischen Eigenschaften (z. B. der Viscosität) des Blutes beruht, muß in Zukunft festgestellt werden. Jedenfalls ist der Zusammenhang dieser Tatsache mit der Aufhebung der Blutgerinnung nur ein indirekter. Bei der Gans sind die agglutinierenden Gebilde viel größer wie beim Hunde, und dies mag wenigstens teilweise den geringeren Einfluß der Hirudininjektionen auf die Agglutination erklären.

Die hier dargelegten Verhältnisse mögen auch wohl erklären, warum Sahli,<sup>2)</sup> der beim Kaninchen Versuche machte, in einer allerdings geringeren Anzahl von Experimenten durchweg negative Resultate erhielt.

#### Die Struktur der nach Verletzung der Gefäßwand entstehenden Thromben.

In Fällen, wo sich keine Thromben an der Verletzungsstelle bildeten, fanden sich zuweilen beträchtliche Anhäufungen von Leukocyten in der dort befindlichen plasmatischen Randzone. Die einfachsten Thromben bestanden lediglich aus Blutplättchen. Vielleicht konnte hier und da ein vereinzelter Leukocyt beigemischt sein. Jedenfalls waren die Leukocyten ganz unwesentlich für diese Thromben. Die Blutplättchen sind nicht immer gleich dicht zusammengefügt. In einzelnen Thromben, besonders nach Injektion von kräftig wirkendem Hirudin, können sie sehr lose aneinanderliegen. Auch in verschiedenen Teilen desselben Thrombus braucht das Gefüge nicht gleich dicht zu sein. Vermutlich stellen diese zusammengeklebten Blutplättchen das Anfangsstadium der Thrombenbildung dar. Nun zeigen aber nicht alle Thromben diese einfache Struktur. Die Thromben können im wesentlichen eine homogene Beschaffenheit zeigen,

<sup>1)</sup> Ducceschi, V., Sur une modification macroscopique du sang qui précède la coagulation. Arch. ital. de Biol. 39, 1903.

<sup>2)</sup> Sahli, Über d. Einfluß d. intravenös injizierten Blutegelextraktes auf d. Thrombenbildung. Centralbl. f. innere Med. Bd. 15, 1894, S. 497.

aber dabei baumförmig verästelt sein. Diese baumförmige Verzweigung kommt wahrscheinlich dadurch zustande, daß das Blut sich an verschiedenen Stellen in den Thrombus einbohrt und auf diese Weise Höhlen in dem Thrombus bildet. Aber auch die Struktur des Thrombus selbst braucht nicht homogen zu sein. Es können helle und dunkle Zonen abwechseln. Beide bestehen noch im wesentlichen aus Blutplättchen, aber die helle Zone enthält wahrscheinlich Blutplasma mit den Plättchen gemischt. In anderen Fällen können sich aber in dem Blutplättchentrombus deutliche Schichten finden, die fast nur Blutplasma enthalten; oder auch in der Mitte dieser plasmatischen Zone können sich Haufen von Leukocyten oder auch einige Erythrocyten finden. An anderen Stellen können Haufen von Leukocyten oder von Erythrocyten auch direkt von den Blutplättchenmassen eingeschlossen werden. Eine weitere Komplikation kann dadurch eintreten, daß an der Grenze zwischen dieser plasmatischen Schicht und den Blutplättchenmassen ganz distinkte Fasern auftreten, die sich anscheinend in dem Blutplasma gebildet haben. Solche Fasern wurden nie in mit Hirudin injizierten Tieren gesehen, wohl aber konnten in einigen nach Peptoninjektion entstandenen Thromben solche Fasern erkannt werden. In anderen Thromben, und zwar zuweilen auch in Thromben, die sich in mit Hirudin injizierten Tieren gebildet hatten, konnte man zuweilen eine Andeutung feiner Fäserchen in den Blutplättchenmassen selbst wahrnehmen. Es sah manchmal aus, als ob solche Fäserchen durch Ausziehen von Blutplättchen entstanden wären. Es wurden nun in den verschiedensten Fällen Schnitte nach Weigerts Fibrinmethode behandelt, aber ohne jeden Erfolg. Es ließen sich auf diese Weise niemals Fibrinfasern nachweisen.<sup>1)</sup>

Wie kommt nun die Bildung dieser hellen Schicht zustande? Es handelt sich vermutlich um den Einschluß der an einem Stromhindernis entstehenden plasmatischen Randzone mit oder ohne Leukocyten in den Thrombus. Zuweilen kann man dunkle

<sup>1)</sup> Alle Präparate waren in Zenker fixiert. Auch nach vorangegangener Oxalsäurebehandlung war das Ergebnis der Fibrinfärbung ein negatives.

und helle Schichten in regelmäßiger Reihenfolge auftreten sehen. Diese Schichten haben zum Teil eine dem Gefäßverlauf parallele Richtung, sie können aber in der Mitte umbiegen und einen senkrechten Verlauf zeigen. Dies entspricht wohl dem mechanischen Einfluß des Blutstromes, der allmählich durch den Widerstand der festen Plättchenmassen gezwungen wird, in die senkrechte Richtung umzubiegen. Auch die in der plasmatischen Schicht vorhandenen Fasern können deutlich in der Richtung des Blutstromes angeordnet sein. Worauf die regelmäßige Abwechslung zwischen plasmatischen und Blutplättchenmassen beruht, darüber geben die Präparate keinen Aufschluß.

In Fällen, in denen die Gefäßwand stark laceriert und mit Blut infiltriert war, konnten thrombotische Massen zwischen den auseinandergerissenen Lamellen der Gefäßwand vollständig fehlen, obwohl ein Thrombus sich an der innersten Lamelle ansetzte. In einem Falle fanden sich jedoch auch thrombotische Blutplättchenmassen zwischen den Lamellen.

Daß Verengung des Gefäßlumens die Thrombenbildung befördert, darauf wurde schon hingewiesen, ebenso, daß nicht selten thrombotische Massen durch den Blutstrom abgerissen werden.

Es möge im Anschluß an diese Beobachtungen kurz über einen vor längerer Zeit ausgeführten Versuch berichtet werden.<sup>1)</sup>

Die Jugularis externa eines Hundes wurde doppelt unterbunden. In der Mitte wurde die unterbundene Stelle durch Zerreißen von Fäden verletzt. In der Mitte wurde die unterbundene Stelle durch Zerreißen von Fäden verletzt. Nach 3 Tagen wurde der ligierte Teil der Vene ausgeschnitten und es wurden Schnitte angefertigt. In der Mitte, da, wo die Wand verletzt worden war, fand sich ein der Gefäßwand adhärentes hyalines Coagulum, das eine balkenartige Struktur zeigte. In den Spalten dieser hyalinen Masse fanden sich Leukocyten mit lang ausgezogenen Kernen. Multinucleäre Leukocyten durchsetzten auch die Gefäßwand. Daß diese hyalinen Massen aus agglutinierten Blutplättchen bestanden, dafür fand sich keine Andeutung. Auch die Weigertsche Fibrinfärbung gab ein negatives Resultat.

<sup>1)</sup> E. Schwalbe (Die Morphologie des Thrombus und die Blutplättchen) berichtete kürzlich über mehrere ähnliche Versuche. Diese Untersuchungen von Schwalbe wurden mir erst nach Abschluß meiner Arbeit zugänglich.

## Zusammenfassung.

Aus den hier mitgeteilten Versuchen ergibt sich, daß die primäre Veränderung, welche nach Verletzung der Blutgefäßwände oder nach Einführung von Fremdkörpern in die Bluträume zur Bildung von Thromben führen, in einer Agglutination gewisser zelliger Elemente des Blutes besteht, oder jedenfalls, daß eine solche Agglutination als Folge der veränderten Umgebung, in der sich die Blutzellen befinden, stattfinden kann, ganz unabhängig von Fibrinausscheidungen. Es ergibt sich ferner, daß dieser Prozeß in gleichmäßiger Weise über das ganze Tierreich verbreitet ist und daß diese Agglutinationserscheinung von Zellen ein viel weiter verbreiteter Vorgang ist als die bei höher entwickelten Tieren sich damit associierenden Coagulationsprozesse. Dieser Agglutinationsprozeß scheint daher den ursprünglichen Mechanismus darzustellen, durch den einer Verblutung nach Verwundung entgegengewirkt wurde. Eine weitere Bedeutung dieses Agglutinationsthrombus liegt darin, daß er einen Schorf darstellt, unter dem die Wundheilung in dem verletzten Gefäß stattfinden kann, ohne daß die Bewegung des Blutes eine Störung verursacht. In verschiedenen Tierklassen sind nun verschiedene zellige Elemente an diesem Agglutinationsvorgang beteiligt. Bei Arthropoden die gewöhnlichen Amöbocyten, granulierten, der amöboiden Bewegung fähige, uninucleäre Zellen; bei Vögeln handelt es sich um kleine, uninucleäre Zellen und bei Säugetieren um die Blutplättchen. Diese verschiedenen Elemente sind nun auch schon von verschiedenen Autoren, insbesondere von Dekhuyzen<sup>1)</sup> homologisiert worden. Die Ähnlichkeit des Verhaltens dieser Gebilde legt diese Annahme ja nahe. Aber die hier mitgeteilten Tatsachen machen diese Annahme keineswegs notwendig. Dieselbe Funktion könnte in verschiedenen Tierklassen von verschiedenen zelligen Elementen übernommen werden. Insbesondere ist das Wesen der Blutplättchen noch nicht sichergestellt. Marino<sup>2)</sup> gibt sogar an, daß, wenn Kaninchenblut so aufgefangen wird, daß der Einfluß der Wunde oder Berührung des Blutes mit

<sup>1)</sup> Dekhuyzen, M. C., Über die Thrombocyten. Anat. Anz. XIX, Nr. 21.

<sup>2)</sup> Marino, F., Recherches sur les plaquettes du sang. C. r. Soc. Biol. 28. Janvier 1905.

Fremdkörpern wegfällt, Blutplättchen in vitro nicht nachgewiesen werden können.

Wir sahen ferner, daß bei Vögeln ein Unterschied in der Thrombenbildung zwischen Tieren, bei denen durch Hirudin die Blutgerinnung ganz aufgehoben war, und zwischen Kontrolltieren, nicht besteht. Jedenfalls trat in allen Tieren Thrombenbildung ein, und auch in der Größe der Thromben bestand kein wesentlicher Unterschied. Daß sich vielleicht geringfügige quantitative Unterschiede in der Größe oder Festigkeit der Thromben finden mögen, falls eine noch größere Anzahl von Versuchen angestellt würde, ist nicht mit Sicherheit auszuschließen. Anders hingegen verhält es sich beim Hunde. Hier weisen unsere Versuche darauf hin, daß solche Unterschiede bestehen. Und diese Tatsachen dürften die Divergenz in den Schlüssen erklären, zu denen Sahli und kürzlich (nachdem meine Versuche im wesentlichen abgeschlossen waren) Schwalbe<sup>1)</sup> gelangte. Dieser Autor fand in allen 4 Gefäßen von 3 Hunden, die zu diesen Versuchen benutzt wurden, nach vorheriger Hirudininjektion und Ätzung der Gefäßwand, kleine Thromben, während Sahli bei Kaninchen nach Injektion von Blutegelextrakt um in das Gefäß eingeführte Fremdkörper niemals Thrombenbildung fand. Angaben über die Wirkung von Gewebeextrakten oder von Gewebsstücken auf das Hirudinblut finden sich bei diesen Autoren nicht. Der Unterschied in den Ergebnissen dürfte vermutlich auf der verschieden starken Gerinnungshemmung in den Versuchen von Sahli und von Schwalbe und vielleicht auf gewisse Differenzen, die zwischen Kaninchen und Hunden bestehen mögen, beruhen.

Wodurch die hemmende Wirkung der Hirudininjektionen auf die Thrombenbildung beim Hunde herbeigeführt wird, ist nicht sicher. Es wäre daran zu denken, daß Hirudin die innere Reibung des Blutes herabsetzt.<sup>2)</sup> Dadurch mag das Haften-

1) Schwalbe, Ernst, Die Morphologie des Thrombus und die Blutplättchen. Zieglers Beiträge, 7. Suppl., 1905.

2) Carbone hat gefunden, daß Blutegelextrakt die Viscosität des Blutes herabsetzt. (Carbone, T., Influenza del grado di coagulabilità del sangue sulle emorragie. Primo congresso dei Patologi italiani. Torino 1902. Cit. nach Biochem, Centralbl. Bd. I, S. 265.)

bleiben von Blutplättchen erschwert werden. Die Möglichkeit läge auch vor, daß Hirudin wohl die Ausscheidung von festem Fibrin verhindert, die Bildung von einer flüssigen Vorstufe nur vermindert, aber nicht aufhebt und daß die Agglutination der Plättchen auf dem Vorhandensein von gelöstem Fibrin beruht. Das ist aber sehr unwahrscheinlich. Die durch Hirudin in einzelnen Versuchen herbeigeführte Gerinnungshemmung war viel zu stark, als daß in Lösung gehaltenes Fibrin mit Wahrscheinlichkeit als die Ursache der Agglutinationserscheinung angesehen werden könnte. Hingegen fanden Neißer und Friedemann<sup>1)</sup> bei ihren Untersuchungen über Ausflockung von Mastix, daß Blutegelextrakt einen hemmenden Einfluß auf diesen Vorgang ausübt. Möglicherweise handelt es sich hier um einen ähnlichen hemmenden Einfluß wie im Falle der Blutplättchen. Es ist aber auch zu erwägen, daß starke Hirudinlösungen vielleicht die Konsistenz der Plättchen verändern und so ihre Agglutination erschweren. Diese Frage ist also durch die vorliegenden Untersuchungen noch nicht beantwortet.

Wir können jedoch mit sehr großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß es die mechanischen Einwirkungen sind, welche die Zellen nach Verletzung der Blutgefäßwand treffen, die ihre Agglutination bewirken. Insbesondere bei Wirbellosen lassen sich tiefgreifende Veränderungen der Zellen unter solchen Umständen nachweisen, wie Verlust der Granula und Vacuolenbildung, Veränderungen der Konsistenz des Protoplasmas. In den verschiedensten Tierklassen entspricht daher die zur Thrombose führende Agglutination zelliger Elemente, der spontanen, in vitro zu beobachtenden Agglutination derselben Zellen oder Zellbestandteile. In bezug auf die Zusammensetzung der Thrombi fanden sich sehr einfache Verhältnisse bei Wirbellosen und Vögeln; beim Hunde hingegen war nicht selten eine Schichtung der Thromben vorhanden.

<sup>1)</sup> Münchener Med. Wochenschr. 1904, Nr. 11 u. 19.