

# Über die Retraktion des Blutgerinnsels

*Aus der Med. Poliklinik d. Univ. Bonn (Direktor: Prof. Dr. F. Tiemann)*

J. B e n t h a u s

## Vorbemerkung

Normales Blut sondert nach seiner Gerinnung *in vitro* fast die Hälfte seines Volumens an Serum ab, wobei sich das Coagulum von der Glaswand ablöst und entsprechend kleiner wird. — Diesen Vorgang nennen wir *R e t r a k t i o n*. Er wird auch als die dritte Phase der Blutgerinnung bezeichnet, obwohl sich die Retraktion erst an die eigentliche Gerinnung — den Übergang des Blutes aus dem flüssigen in den gelförmigen Zustand — anschließt und ihrem Wesen nach etwas anderes darstellt, nämlich einen mit dem bloßen Auge wahrnehmbaren Bewegungsvorgang, die Aufteilung des Gerinnsels in die beiden zuvor makroskopisch nicht trennbaren Komponenten Serum und Blutkuchen.

Die Retraktion wurde in neuerer Zeit im Rahmen des Studiums der hämorrhagischen Diathesen mehr am Rande betrachtet und nur von wenigen Forschern um ihrer selbst willen genauer studiert. Daß über die Retraktion an sich, über ihre Abhängigkeit von der Gerinnung, von einzelnen Gerinnungsfaktoren und von äußeren physikalischen Einflüssen, über die Bedeutung der Thrombozyten und über das Wesen des Vorganges selbst die Meinungen noch sehr weit auseinandergehen, dürfte zum großen Teil auf die Verschiedenheit und Unzweckmäßigkeit der zur Bestimmung der Retraktion benutzten Methode zurückzuführen sein. — Es läßt sich daher nicht umgehen, die verschiedenen Arbeitsweisen einmal einer kritischen Betrachtung zu unterziehen und dann herauszustellen, welche Anforderungen an eine exakte Methode gestellt werden müssen. Unter Verwendung einer eigenen Methode soll dann versucht werden, den Retraktionsvorgang genauer zu verfolgen und abzugrenzen.

### Methodik

Betrachtet man ein mit Blut gefülltes Reagenzglas einige Stunden nach der Gerinnung, so kann man das Ausmaß der Retraktion bereits ganz grob abschätzen. Mit dieser einfachsten Methode kamen schon *Hayem*, *Glanzmann*, *Le Sourd* und *Pagniez* (1, 2) zu der wesentlichen Erkenntnis, daß den Blutplättchen bei der Retraktion eine hervorragende Bedeutung zukommt. Sowohl eine ausreichende Zahl wie auch eine unbeeinträchtigte Funktion der Plättchen ist unbedingte Voraussetzung für das Zustandekommen der Retraktion. Nach *Opitz* und *Schober* steigt die Festigkeit des Gerinnsels proportional mit der Plättchenzahl. — Für exaktere quantitative Untersuchungen ist die Reagenzglasmethode, die auch heute noch im klinischen Gebrauch ist, nicht ausreichend.

Wenn man das durch Retraktion freigewordene Serum abgießt und sein Volumen bestimmt, so kommt man zu sehr unterschiedlichen Werten, je nachdem ob sich das Coagulum gut oder schlecht von der Glaswand abgelöst hat. Die Haftfestigkeit ihrerseits ist abhängig von der Wandbeschaffenheit des benutzten Behälters (*Lampert* [1, 2]). — *Budtz-Olsen* fand bei Teströhrchen aus verschiedenem Material, die auf unterschiedliche Art gereinigt waren, bis zu 50% abweichende Serumvolumina. — Bei Wandhaftung ist die Retraktion behindert und die gemessene Serummenge kleiner als es dem reellen Retraktionsvermögen des untersuchten Blutes entspricht. Wenn man die bestehenden Adhäsionen mit einer der Glaswand entlanggeführten Nadel löst (*Still*, *Benkö* und *Lichtneckert*, *Zahn*, *Gleiss*), so läuft man Gefahr, durch mechanischen Druck Serum auszupressen und dadurch das Ergebnis zu beeinträchtigen. Dazu genügen bereits sehr geringe Kräfte. Solche und ähnliche mechanische Einflüsse, die schon von sich aus eine Serumabgabe bewirken, müssen unbedingt ausgeschaltet werden, wenn man eine genaue quantitative Bestimmung der Retraktion vornehmen will, die ja einen spontanen Vorgang darstellt. Aus diesem Grunde sind auch diejenigen Methoden ungeeignet, bei denen das Gerinnsel im Verlaufe der Retraktion mehrfach aus dem Teströhrchen herausgenommen wird, um die zurückbleibende Serummenge zu bestimmen (*Macfarlane* [1]). Auch mehrfaches Abgießen des Serums während der Retraktion muß zu fehlerhaften Werten führen, weil bei horizontaler Lage des Reagenzglases durch die Schwerkraft zusätzlich Serum abgegeben wird. Aus dem gleichen Grunde ist auch eine kürzlich von *Giacomazzi* angegebene Methode abzulehnen, bei der das Serum von dem frei aufgehängten Gerinnsel abtropft. Auch hier wird die Schwerkraft wirksam.

Um diesen Schwierigkeiten aus dem Wege zu gehen, entwickelte *Hirschboeck* eine Methode, bei der das Blutgerinnsel nicht mehr mit einer festen Wand in Berührung kommt: Man läßt einen der Fingerbeere entnommenen Blutstropfen in ein mit Rizinusöl gefülltes Glasschälchen fallen. Das Blut bleibt als Kügelchen dicht unter der Oberfläche des Öls hängen. Nach einiger Zeit (normalerweise nach 40 bis 60 Min.) kann man erkennen, daß sich an irgendeiner Stelle des inzwischen geronnenen Blutstropfens ein kleineres Serummärgelchen abschnürt. Der Zeitpunkt, zu dem dies eben erkennbar ist, wird markiert. — Mit dieser Methode wird die sogenannte Retraktionszeit bestimmt, das ist also die Zeit, die vom Augenblick der Blutentnahme bis zum Beginn der Retraktion vergeht. — Neuerdings wurde diese Methode von *Matis* nachgeprüft und dadurch verfeinert, daß die Temperatur durch ein Wasserbad konstant gehalten wird. Ein Vergleich der *Hirschboeck*schen Methoden mit quantitativen Messungen ergab, daß bei spät beginnender Retraktion ihr Ausmaß geringer war, bei früh beginnender größer. Wegen dieser Relation ist es im allgemeinen möglich, die Retraktion allein nach ihrem zeitlichen Beginn zu beurteilen. — Abgesehen davon, daß die Methode 30—60 Min. lang die Aufmerksamkeit des Untersuchers in Anspruch nimmt, sind noch Einwände prinzipieller Art zu erheben. In der Zeitspanne zwischen der Blutentnahme und dem Retraktionsbeginn laufen alle Reaktionen der ersten und zweiten Phase der Blutgerinnung ab. Jede Hemmung im Ablauf des Gerinnungsmechanismus muß sich notwendigerweise verlängern auf die Retraktionszeit auswirken. Es ist daher nicht ohne weiteres möglich, aus einer Verlängerung der „Retraktionszeit“ auf eine Störung der Retraktion selbst zu schließen. Das wird am Beispiel der Hämophilie

besonders deutlich. Der hier vorliegende Mangel an Faktor VIII oder IX bewirkt eine Verlängerung der Gerinnungszeit u. U. auf mehrere Stunden. Die Serumabsonderung beginnt erst nach der mit großer Verspätung einsetzenden Fibrinbildung. Die Retraktionszeit wird daher je nach der Schwere der Gerinnungsverzögerung mehr oder weniger verlängert gefunden (Wolf). Man darf daraus aber nicht schließen, daß bei der Hämophilie die Retraktion gestört sei. Wenn man nämlich den Gerinnungsdefekt durch Zusatz einer geringen Menge von thrombokinasehaltigem Gewebesaft ausgleicht, so wird damit auch der Retraktionsablauf vollkommen normalisiert, was z. B. bei Plättchenmangel nicht gelingt. Die Retraktionszeit ist also ein mehrdeutiger Begriff, der im Falle einer pathologischen Veränderung weitere diagnostische Maßnahmen erfordert. Der Terminus ist an sich schon irreführend. Mit der gemessenen Zeit wird eigentlich die Dauer der beiden ersten Gerinnungsphasen festgelegt. Was aber für die Beurteilung der Retraktion selbst wissenschaftlich ist, nämlich ihre Geschwindigkeit und ihr Ausmaß, kann mit der Hirschboeckschen Methode nur ganz grob abgeschätzt werden. Auch De Nicola ist der Meinung, daß man sie nur bei normaler Gerinnungszeit anwenden sollte, die also zuvor untersucht werden muß. — Dennoch hat sich die Methode in der Klinik als recht zuverlässig erwiesen. Bei Doppelbestimmungen lag die Abweichung meist unter 10%. Die Normalwerte lagen zwischen 23 und 30 Min. und die Fehlerbreite ist nicht größer als die der Plättchenzählung nach Fonio (Matis und Gross [1]). Es war sogar möglich, die physiologischen Tagesschwankungen der Plättchenzahl (150 000 bis 250 000/mm<sup>3</sup>) an der Veränderung der Retraktionszeit (34—24 Min.) zu erkennen (Matis und Gross [2]).

Die Vorteile des ohne Berührung mit festen Wandungen in einer Flüssigkeit schwimmenden Blutstropfen werden bei der „suspended clot method“ nach Budtz-Olsen ausgenutzt: Ein Gemisch von flüssigem Paraffin und Trichloräthylen, dessen spezifisches Gewicht von oben nach unten kontinuierlich größer wird, dient als „Schwebeflüssigkeit“. Bringt man in dieses Gemisch einen Blutstropfen, so wird er nach unten sinken, bis sein spezifisches Gewicht dem der Flüssigkeit entspricht. Es werden 5 ccm Blut benötigt, die man mit einer Pipette vorsichtig in die Flüssigkeit einlaufen läßt. Das Blut, das dann in Form einer Kugel von etwa 2,5 cm Durchmesser in einer bestimmten Höhe schwebt, wird durch die Flüssigkeit weder an der Gerinnung noch an der Retraktion gehindert. Hämolyse tritt nicht ein. Wenn nach der Gerinnung das Serum aus der Blutkugel austritt, so steigt es infolge seines geringeren spez. Gewichtes an die Oberfläche, von wo es abpipettiert werden und mengenmäßig gemessen werden kann. Durch die Abgabe des spez. leichteren Serums wird die sich ständig verkleinernde Blutkugel spez. schwerer und sinkt infolgedessen in tiefere Schichten der Flüssigkeit bis die Retraktion beendet ist. — Die Methode erlaubt eine quantitative Retraktionsbestimmung ohne den Vorgang durch äußere mechanische Einflüsse zu beeinträchtigen. Bezüglich der Bedeutung eines verspäteten Retraktionsbeginns gilt das oben über die Hirschboecksche Methode Gesagte. Für den klinischen Routinebetrieb ist sie zu umständlich und zeitraubend.

Ein ganz anderes Prinzip wurde von Bayerle, Marx und Hell zur Bestimmung der Blutrektraktilität angewandt. Es gelang ihnen die Kraft zu messen, mit der sich das Gerinnsel zusammenzieht. — Ein Schälchen aus Glas oder Kunststoff wird mit Blut gefüllt und ein kleines, feinmaschiges Drahtsieb, das an einer Federwaage hängt, mit der Oberfläche des Blutes in Berührung gebracht. Das Sieb haftet zunächst durch Adhäsion, nach der Gerinnung durch Einbeziehung in das Fibrinnetz. Nach durchschnittlich 35 Min. erkennt man an dem Zeiger der Federwaage, daß das Drahtsieb nach unten gezogen wird, d. h. daß die Retraktion begonnen hat. Nach etwa 2 Stunden hat die Zugwirkung ihren Höhepunkt erreicht. Die Kraft beträgt bei einem Sieb von 70 qmm etwa 1.000 Dyn im Maximum.

Wieder auf einem anderen Prinzip beruht die von Hartert (1) angegebene Thrombelastographie, eine Methode, die als bekannt vorausgesetzt werden darf. Die im Thrombelastogramm erkennbare größte Gerinnselhaftigkeit geht mit der Plättchenzahl und der Retraktilität des Blutes parallel. Das Gerinnsel bleibt aber an der Wand des Behälters fixiert, so daß keine Retraktion eintritt. Es handelt sich um eine indirekte Bestimmung des Retraktionsvermögens durch die Gerinnselhaftigkeit. Da beide Phänomene ein Ausdruck der Plättchenfunktion sind, gibt die Thrombelastographie im allgemeinen auch ein Urteil über die Retraktion ab.

Bei der Blutgerinnung bildet sich ein Netz von Fibrinfasern, in das nur die Thrombozyten fest eingebaut sind. Die Zwischenräume sind mit Serum, roten und weißen Blutzellen angefüllt. Bei der Retraktion kann das Serum leicht aus dem Gerinnsel austreten, während die Zellen zum weitaus größten Teil in den Maschen des Netzwerkes zurückbleiben. Damit ist der Retraktion eine Grenze gezogen. Das Coagulum kann sich nur so lange verkleinern, bis das Serum abgegeben ist. Die Retraktion würde noch weiter gehen, wenn auch die Blutkörperchen austreten könnten. Das Verhältnis von Serum und Blutkuchen wird daher unterschiedlich sein, je nachdem ob das Blut viele oder wenige Zellen enthält. Durch einen zu hohen Zellgehalt kann eine mangelhafte Retraktion vorgetäuscht werden. Aggeler und Mitarbeiter, Tocantins (2), Macfarlane (1), Ackroyd u. a. haben daher bei ihren Retraktionsstudien drei Werte in Beziehung zu einander gesetzt, um zu einer besseren quantitativen Beurteilung der Retraktion zu kommen: Das Volumen des abgesonderten Serums, das Volumen der Zellen und das Volumen des Fibrins, das sich durch Subtraktion des Zellvolumens vom Volumen des retrahierten Gerinnsels ergibt. Beim Vergleich von normalem und thrombopenischem Blut zeigte sich die Retraktionsstörung des letzteren nach Abzug des Blutzellenvolumens deutlicher. Für die rechnerische Berücksichtigung der Blutzellen wurden verschiedene Formeln aufgestellt, die den besonders zu bestimmenden Hämatokrit enthalten. — Diese Verfahren sind umständlich und im klinischen Betrieb zu zeitraubend, da sie mehrere Messungen voraussetzen.

Die Schwierigkeiten, die sich aus der notwendigen Berücksichtigung der Blutzellen ergeben, lassen sich leicht umgehen, wenn man statt Vollblut Zitratplasma verwendet. Entsprechende Methoden sind von Lundsteen, Fonio (8), Czoniczer und Weber ausgearbeitet worden. Das Mengenverhältnis von Serum und Restgerinnsel läßt das Ausmaß der Retraktion erkennen. Man verwendet Zitratblut, das man durch kurzes Zentrifugieren oder besser noch durch spontane Sedimentation von den zelligen Elementen befreit bis auf die Blutplättchen, die infolge ihres geringen spez. Gewichtes (Löhrner) außerordentlich langsam sedimentieren und nur durch Zentrifugieren mit hoher Tourenzahl aus dem Plasma entfernt werden können. Das plättchenhaltige Plasma wird dann durch Zusatz von Kalzium wieder gerinnungsfähig gemacht. Die Verwendung von Plasma hat den weiteren Vorteil, daß die Untersuchung nicht unmittelbar im Anschluß an die Blutentnahme durchgeführt werden muß, da die Retraktivität des Plasma bei kühler Aufbewahrung länger als 24 Stunden erhalten bleibt (Hartmann, Couley, Sanbar, Gross und Staufenberg). Auch Fonio benutzt ausschließlich Blutplasma bei seinen Untersuchungen über die Retraktion. Er empfiehlt die Teströhrchen vor Gebrauch sorgfältig zu reinigen und auszuglühen, damit eine Haftung des Gerinnsels vermieden wird. 1 ccm Plasma wird mit 2 gtt einer 2% CaCl<sub>2</sub>-Lösung versetzt. Nach erfolgter Gerinnung sammelt sich das Serum unten im Teströhrchen an, während das Restgerinnsel an seinem oberen Rand haften bleibt und schließlich ein zapfenförmiges Gebilde darstellt, dessen Spitze einen meßbaren Abstand vom Boden des Röhrchens hat. Er beträgt im Durchschnitt 6 bis 8 mm bei Verwendung eines Reagenzglases von 8 mm Durchmesser. Bei geringerer Distanz nimmt Fonio eine Hemmung der Retraktion an. — Eine genauere quantitative Serumbestimmung ist bei der kleinen Plasmamenge nicht gut möglich. Durch Belastung des Gerinnsels mit Stahlkügelchen hat Fonio (9, 10) auch die Retraktionskraft messen können. Bei obiger Versuchsanordnung kann ein normales Plasmagerinnsel 224 bis 588 mg heben.

Die geschilderten Methoden haben alle ihre Vor- und Nachteile. Z. T. sind sie einfach aber wenig exakt, z. T. mit Fehlern behaftet, z. T. kompliziert und zeitraubend. Wir haben nun versucht, eine Methode zu entwickeln, die Fehler vermeidet und einfach aber doch genau ist (Benthaus [1]). Von den bekannten Methoden wurde einiges übernommen, vor allem behielten wir die Vorteile der Arbeitsweise von Fonio bei.

Die Besonderheiten der *eigenen Methode* sind die folgenden:

1. Um die Retraktion als selbständigen Vorgang — unabhängig von der Blutgerinnung im engeren Sinne — untersuchen zu können und Beeinträchtigungen durch Störungen der ersten und zweiten Phase zu vermeiden, werden dem Gerinnungsansatz 2 Tropfen Thrombokinaselösung zugefügt (bei den seltenen Fällen von Hypoprothrombinämie besser Thrombinlösung). Die Gerinnung läuft dann in kurzer und fast konstanter Zeit ab. Die Ausgangsbedingungen für die Retraktion werden in zeitlicher Hinsicht gleichmäßig. Sie beginnt in normalen Fällen nach 12 bis 14 Min. bei Zimmertemperatur (gegenüber 40 bis 60 Min. nach Hirschboeck).

2. Zur Verringerung des Meßfehlers ist es wünschenswert, bei der Retraktion eine größere Menge Serum zu erhalten, ohne dazu auch größere Mengen Blut zu benötigen. Dies wird durch Verdünnung des Plasmas mit physiologischer Kochsalzlösung erreicht. Der Ansatz von 10 ccm enthält nur 1 ccm Plasma und liefert mehr als 9 ccm verdünntes Serum.

3. Die Wandhaftung des Gerinnsels wird auf einfachste und schonendste Weise unter Ausnützung des Trägheitsmomentes gelöst. Es erübrigt sich eine sorgfältigere Vorbereitung der Reagenzgläser durch Ausglühen, Siliconieren und dgl.

4. Die Retraktion lassen wir in Reagenzgläsern ablaufen, die mit einer Graduierung versehen sind. An diesem Maßstab kann man die Länge des Gerinnsels messen und daraus die Menge des Serums errechnen bzw. an einer Kurve ablesen ohne es abzugießen und dadurch das Gerinnsel mechanisch zu beeinträchtigen.

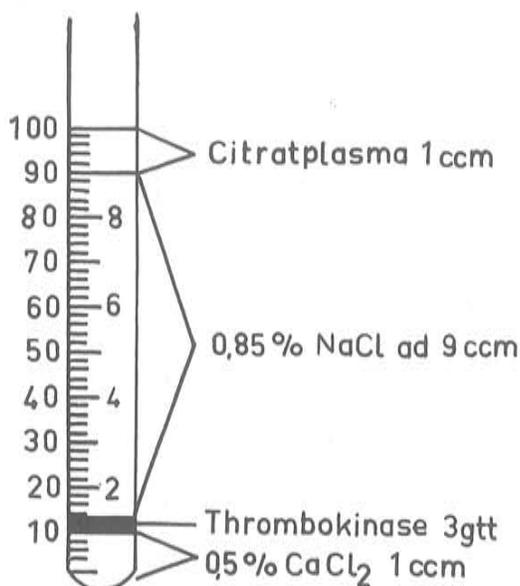


Abb. 1: Geeichtes Reagenzglas zur quantitativen Bestimmung der Retraktion

Wir gehen folgendermaßen vor:

Die benutzten starkwandigen Teströhrchen haben die Größe gewöhnlicher Reagenzgläser. Sie sind von unten nach oben in 100 Einheiten zu je 0,1 ccm graduiert (Abb. 1). Bis zum oberen Ende der Graduierung fassen die Gläser also 10 ccm (zu beziehen bei J. Wolff, Bonn, Kölnstraße 249). In eine 5 ccm fassende Spritze wird 1 ccm 3,8%ige Natriumzitratlösung aufgezogen und dann mit 4 ccm aus der Armvene entnommen Blutes aufgefüllt. Das Zitratblut läßt man bis zur spontanen Sedimentierung stehen, oder man zentrifugiert 5 Min. bei nicht

mehr als 1000 Umdrehungen. Das überstehende Plasma wird abgehoben. Es reicht für 2 Retraktionsbestimmungen. Wenn es durch Beimengungen von Erythrozyten noch etwas rötlich gefärbt sein sollte, so stört das den Versuch nicht merklich.

Als Thrombokinasen benutzen wir jetzt die fertige Thromboplastinlösung (Hoffmann-La Roche). Es kann auch jedes andere Präparat gebraucht werden, das sich zur Prothrombinbestimmung eignet. Davon gibt man 2 oder 3 Tropfen in das Teströhrchen.

Dazu fügen wir 0,5 ccm einer 1%igen Lösung von  $\text{CaCl}_2$ . Sodann wird das Glas bis zur Marke 90 (auf 9 cm) mit physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt.

Zuletzt wird 1 ccm Zitratplasma zugesetzt. Dieser Zeitpunkt wird markiert, da nunmehr die Gerinnung beginnt. Das Gemisch muß noch durch mehrfaches Kippen homogenisiert werden.

Der Eintritt der Gerinnung erfolgt in der 2. Minute. Man erkennt ihn leicht an der im durchfallenden Licht gut sichtbaren Eintrübung des Plasmagemisches. Nach 3 Minuten kann man die Gerinnung als vollständig betrachten. Nun gilt es das Coagulum von der Glaswand abzulösen, ohne daß es zu einer Deformierung kommt. Dazu wird das Glas in ein Tuch eingeschlagen und mit einer Hand locker umgriffen. Mit Daumen und Mittelfinger der anderen Hand umfaßt man von oben her den oberen Rand des Glases und dreht es mit einer schnellenden Bewegung um seine Längsachse (wie man z. B. einen Kreisel in Bewegung setzt). Das Gerinnsel macht infolge seines Beharrungsvermögens die plötzliche Bewegung nicht mit und reißt von der Glaswand, an der es ohnehin nur locker fixiert ist, ab. Durch diese Prozedur erfährt das Gerinnsel keine erkennbare Deformierung. Es liegt nach wie vor der Glaswand dicht an mit dem einen Unterschied, daß nun das Glas um seine Längsachse gedreht werden kann, ohne daß das Gerinnsel die Drehbewegung ganz mitmacht. Daran kann man erkennen, daß die Ablösung gelungen ist und jetzt die Voraussetzung für eine unbehinderte Retraktion gegeben ist. Das Glas wird senkrecht aufgestellt und braucht nun nicht mehr berührt zu werden.

Normalerweise kann man 12 bis 14 Min. nach der Zeitmarkierung den Beginn der Retraktion feststellen. Es bildet sich in der Kuppe des Testglases ein sichelförmiger Spalt zwischen dem Gerinnsel und der Glaswand. Das Coagulum zieht sich von unten nach oben zusammen, weil an seinem oberen Ende, an der Berührungsstelle von Luft, Glas und Plasma Oberflächenkräfte wirksam werden, die ein Untersinken des Gerinnsels verhindern. (Wenn man nach der Gerinnung das Coagulum mit Wasser überschichtet, so sinkt es bei der Retraktion wegen seines größeren spezifischen Gewichtes nach unten). Die weitere Verkürzung des Gerinnsels geht kontinuierlich vor sich. Zugleich kann man eine Verdichtung des Gerinnsels bemerken. Da die Verkleinerung in allen Dimensionen im gleichen Maßstab vor sich geht, bleibt das Verhältnis

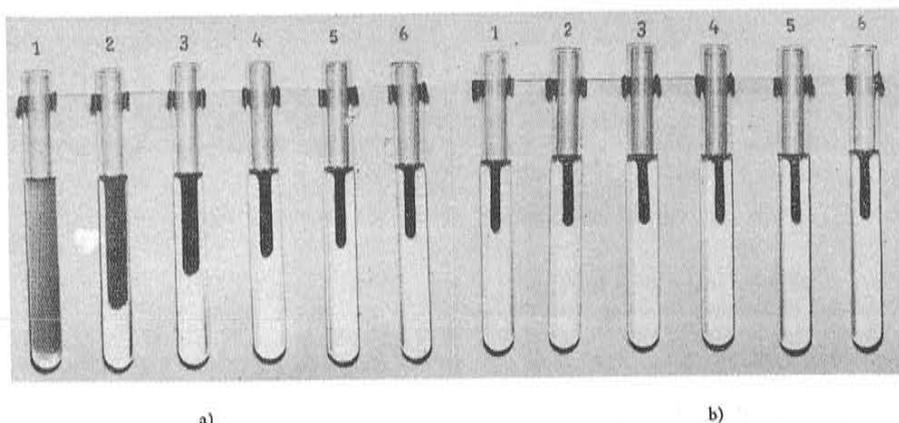


Abb. 2: a) Die Retraktion in verschiedenen Stadien. b) Gleiche Gerinnsellänge nach Ablauf der Retraktion.

von Länge und Breite in jedem Stadium der Retraktion gleich. Das retrahierte Gerinnsel ist dem Ausgangscoagulum in geometrischem Sinne ähnlich (Abb. 2). — Man kann nun in jedem Augenblick die Gerinnsellänge an der Graduierung des Testglases ablesen und in Skaleneinheiten angeben. Aus den gemessenen Längenwerten läßt sich dann das zugehörige Volumen des Gerinnsels berechnen, weil ja das Verhältnis von Länge zu Breite — wie gesagt — konstant ist. Die für die Umrechnung gültige Formel lautet:  $V = a^3 \cdot 10^{-5}$ ). Dabei ist V das Volumen des Gerinnsels in ccm und a seine Länge, angegeben in Skala-Einheiten.

In einer Reihe von Fällen haben wir den errechneten Wert mit dem realen Gerinnselvolumen verglichen, indem wir das Coagulum rasch aus dem Glas entfernten. Die Menge der restierenden Flüssigkeit entsprach genau der Rechnung.

Die Formel läßt sich graphisch darstellen und bietet dann die Möglichkeit, das zu jeder Gerinnsellänge gehörende Gerinnselvolumen abzulesen. Es ist aber praktischer mit dem abgelesenen Wert (dem Teilstrich, in dessen Höhe der untere Pol des Gerinnsels steht) direkt und dem Serumvolumen (10 ccm — Gerinnselvolumen) zu operieren, damit sich der gleich zu erklärende Begriff der prozentualen Retraktion ergibt (Abb. 3).

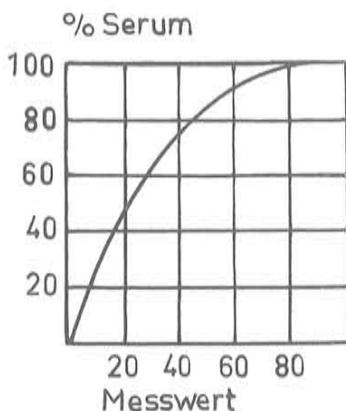


Abb. 3: Kurve zur Umdeutung des Meßwertes in prozentuale Serumabsonderung

Unter optimalen Bedingungen kann die Retraktion so ausgiebig sein, daß das Endgerinnsel weniger als 20 Einheiten lang ist (Abb. 8). Bei einer Länge von 20 errechnet sich Gerinnselvolumen auf  $20^3 \cdot 10^{-5} = 8.000 \cdot 10^{-5} = 0,08$  ccm. Die Serummenge beträgt dann 9,92 ccm oder 99,2% des gesamten Ansatzes. Der Wert kann noch etwas höher liegen (99,5%): 100% sind natürlich nicht erreichbar. — Nun nehmen wir den prozentualen Anteil des Serums am ursprünglichen Ansatz von 10 ccm zum Maßstab der Retraktion. Wenn z. B. die gemessene Serummenge 7,5 ccm beträgt, so bezeichnen wir die Retraktion als 75%ig. Ist die Retraktion kleiner als 90% (das ist der Fall, wenn die Marke 55 nicht erreicht wird), so liegt nach

<sup>\*)</sup> Das primäre Gerinnsel hat ein Volumen von 10 ccm, den Radius R und die Länge 100:  $10 = R^2 \pi \cdot 100$ . Das retrahierte Gerinnsel hat zum Zeitpunkt t den Radius r und die Länge a:  $V_t = r^2 \pi \cdot a$ .

$$\text{Wenn das Verhältnis } \frac{r}{R} = \frac{a}{100} \text{ besteht, so ist } r = \frac{a \cdot R}{100}$$

$$\text{Dann gilt: } V_t = \left(\frac{a \cdot R}{100}\right)^2 \cdot \pi \cdot a = \frac{a^3 \cdot R^2 \pi}{10^4}$$

$$\text{Ferner gilt: } \frac{V_t}{10} = \frac{a^3 \cdot R^2 \pi}{10^4 \cdot R^2 \pi \cdot 10^2} = \frac{a^3}{10^6} \quad ; \quad V_t = a^3 \cdot 10^{-6}$$

bisherigen Erfahrungen eine Hemmung vor, die das Maß der individuellen Streuung überschreitet und auf eine Insuffizienz der Thrombozyten verdächtig ist.

Schneider hat mit dieser Methode eine Reihenuntersuchung an 152 klinisch gesunden Personen vorgenommen, deren Ergebnis in Abb. 4 veranschaulicht ist. Die Retraktion betrug im Durchschnitt 98% (Skalawert 73,5). Der niedrigste Skalawert von 56 entspricht einer Retraktion von 91%.

Die Fehlerbreite der Methode ist gering. Parallelversuche, bei denen das gleiche Plasma benutzt wurde, zeigten praktisch keine Abweichungen voneinander. Ein Beispiel ist in Tab. 1 wiedergegeben. Vom normalen Plasma wurden gleichzeitig 3 Retraktionsgemische in der beschriebenen Weise angesetzt. Die im Verlaufe von 2½ Stunden abgelesenen Werte stimmen gut überein. Kleinere Ablesefehler können entstehen, wenn zu den Ableseterminen nicht volle Zahlenwerte erreicht sind. Dazu kommt noch die Möglichkeit eines parallaktischen Fehlers. Besondere Beachtung verdient die geringe Abweichung der Endwerte, die nach 12 Stunden abgelesen wurden. Die Länge der Gerinnel differiert hier nur um einen Skalenstrich. Umgerechnet auf Serumvolumen beträgt die Abweichung nur 0,02 ccm, das sind 0,2% (vgl. auch Abb. 2b).

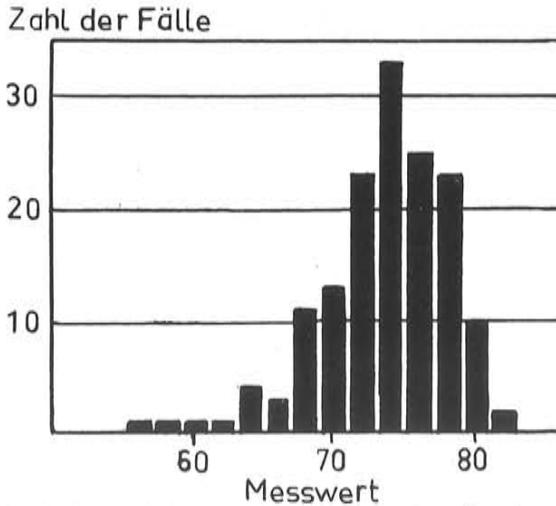


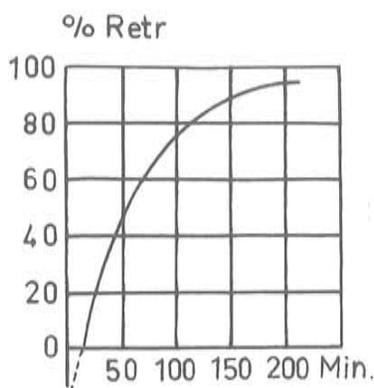
Abb. 4: Retraktionsbestimmung bei 152 gesunden Personen zur Feststellung der physiologischen Streubreite (nach Schneider)

### Der Verlauf der Retraktion

Abb. 5 gibt den Verlauf der Retraktion wieder. Zu bestimmten Zeiten wurde der Skalawert am Testglas abgelesen und mit Hilfe der in Abb. 3 dargestellten Kurve in Prozent der Retraktion umgewertet. Die Retraktionskurve erhebt sich steil von der Abszisse und flacht sich im Laufe von 3 Stunden fast bis zum horizontalen Verlauf ab. Der Widerstand, gegen den sich das Gerinnel zusammenzieht, ist sehr gering. Das Coagulum retrahiert sich entgegen der eigenen Schwere bzw. entgegen der Gewichts-differenz zwischen dem Fibrin und der Flüssigkeit nach oben. Da dieser Widerstand minimal ist, wird die Retraktion durch ihn nicht in ihrem vollständigen Ablauf gehindert. Das einmal retrahierte Gerinnel dehnt sich nach Beendigung der Retraktion nicht wieder aus.

T a b . 1 : Gleichmäßiger Verlauf der Retraktion im dreifachen Versuch bei Verwendung des gleichen Plasmas.

Probe Nr.	1	2	3	
Gerinnungszeit	2—3	2—3	2—3	Min.
Retraktionsbeginn nach	11,5	11,5	11,5	Min.
	Skalawert			
Meßwert nach 15 Min.	4	4	4	
30 Min.	20	19	19	
45 Min.	32	32	32	
60 Min.	42	42	41	
75 Min.	49	49	49	
90 Min.	55	55	54	
150 Min.	67	67	67	
12 Std.	72	73	72	



A b b . 5 : Verlauf der Retraktion bei Zimmertemperatur

Wie ersichtlich, beginnt die Retraktion 15 Minuten nach Ansatz des Plasماغemisches, das sind etwa 12 bis 13 Min. nach Beendigung der Gerinnung. Dieses Intervall wurde zunächst so gedeutet, daß nach vollständiger Umwandlung des Fibrinogens eine bestimmte Zeit vergehen müsse, in der für den Beginn der Retraktion notwendige Reaktionen vor sich gingen, daß es also bei der Retraktion ähnlich wie bei der Gerinnung eine Latenzzeit gäbe. Wir glaubten, daß diese Zeit eine charakteristische Vorphase der Retraktion darstellt. Sie erwies sich in jedem Blut als konstant, individuell verschieden und bei verminderter Plättchenzahl verlängert. Beim Vergleich zwischen der Vorphase und dem Endwert der Retraktion ergab sich eine Gesetzmäßigkeit: Je länger die Vorphase dauerte, desto weniger ausgiebig war die Retraktion. Sie läßt bereits erkennen, ob die Retraktion einen normalen oder abwegigen Verlauf nimmt. Über die Vorgänge

in diesem Zeitabschnitt konnten wir uns zunächst keine Vorstellung machen. — Eine zweite seltsam erscheinende Eigentümlichkeit der Retraktionskurve ist der steile Anstieg im Anfangsteil. Der Tangentenwinkel mit der Abszisse ist unmittelbar im Beginn der Kurve am größten. Man sollte demnach meinen, daß die Retraktion mit maximaler Geschwindigkeit beginnt, eine Vorstellung, die jeglicher Erfahrung bei der Beobachtung biologischer und chemischer Reaktionen, ja sogar rein physikalischer Bewegungsvorgänge widerspricht. Ein Übergang von Ruhe in Bewegung ohne Beschleunigung ist nicht vorstellbar. Auch die Vorgänge bei der Blutgerinnung, die Thrombinbildung sowohl wie die Fibrinbildung laufen langsam an, erreichen eine Höchstgeschwindigkeit und klingen wieder aus. Bei ihrer Registrierung ergibt sich eine S-förmige Kurve. Die Retraktion hingegen ließ auch bei sorgfältigster Beobachtung des Anfangsteiles keine Beschleunigung erkennen, sie begann augenscheinlich mit maximaler Geschwindigkeit (vgl. auch Bayerle, Marx und Hell sowie Budtz-Olsen).

Einer Erklärung dieser beiden Eigenarten, der Latenzzeit und der fehlenden Beschleunigung zu Beginn der Retraktion kamen wir durch folgende Beobachtung näher: Wenn man ein frisch geronnenes Coagulum im Reagenzglas hält und leicht gegen den oberen Rand klopft, sieht man eine schwache wellenartige Bewegung, die vom oberen Rand des Gerinnsels ausgeht, sich nach unten fortsetzt und nach 1 bis 2 cm ausschwingt. Da dieses Phänomen am ungeronnenen Plasma nicht zu erkennen ist, darf man annehmen, daß es die Fibrinfasern sind, die in dem Gerinnsel flottieren und die Wellenerscheinung hervorrufen. Die Flottation erlischt vor dem Beginn der Retraktion. Die ursprünglich schlaffen Fibrinfasern werden — nehmen wir an durch Verkürzung — langsam angespannt. Wenn diese Spannung einen bestimmten Grad erreicht hat, verkleinert sich das Gerinnsel unter Absonderung von Serum. Bezeichnen wir den ersten Akt als „Anspannung“ und den zweiten als „Austreibung“, so kommen wir zu der Vorstellung, daß beide Vorgänge auf das gleiche Prinzip zurückgehen, auf die Retraktionskraft nämlich, die bereits wirksam ist, ehe sich das Gerinnsel verkleinert.

Eine experimentelle Stütze für diese Vermutung ist folgender Versuch: Kurz nach erfolgter Gerinnung löst man das Coagulum von der Glaswand und läßt 1 ccm Kochsalzlösung langsam an der inneren Glaswand entlanglaufen. Die Flüssigkeit sammelt sich nicht etwa oberhalb oder unterhalb des Gerinnsels an, sondern sie dringt augenscheinlich in das Gerinnsel ein. Weder am Boden noch an den Seitenwänden ist eine Flüssigkeitsschicht zu erkennen. Das Gerinnsel liegt der Glaswand allseitig dicht an. Nur ist die Oberfläche beim Einfüllen der Kochsalzlösung etwas angehoben worden. Das Gerinnsel ist jetzt länger und hat an Volumen um 1 ccm zugenommen. Dabei mußte notwendigerweise das Fibrinmaschenwerk etwas gedehnt werden, um diese Flüssigkeitsmenge zusätzlich aufzunehmen. Die vorher lockeren Fibrinfasern haben dadurch eine gewisse Spannung erhalten. Sie flottieren nun auch nicht mehr bei Erschütterung des Glases. Ein weiterer Effekt dieser Maßnahme ist eine erhebliche Verkürzung der „Latenzzeit“ der Retraktion von 10 bis 12 auf 4 bis 5 Minuten, die sich zwangslos dadurch erklärt, daß die Fibrinfasern durch die künstliche Dehnung bereits eine gewisse Spannung erhalten

haben, die sonst durch den ersten Teil der Retraktion selbst zustande kommt. Man darf wohl annehmen, daß die Retraktion unter gewöhnlichen Bedingungen früher beginnt als man sie direkt erkennen kann (nach H a r t e r t [3] schon während der Fibrinbildung). Damit erübrigt sich auch die Frage nach den Vorgängen, die sich in der latenten Phase abspielen könnten. Letztere bedeutet wohl nichts weiter als eine noch nicht erkennbare Retraktion, wie in Abb. 5 angedeutet.

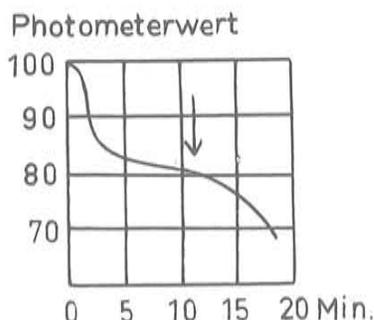


Abb. 6: Trübungszunahme des Plasmas während der Gerinnung und im Anfangsteil der Retraktion. Bei dem Pfeil beginnt die Retraktion.

Der Retraktionsbeginn läßt sich auch elektrophotometrisch darstellen (Abb. 6). Zu dem Zweck stellt man das Gerinnungsgemisch in einer Küvette in den Lichtstrahl. Die Gerinnung bewirkt eine Plasmatrübung, die sich im Absinken des Galvanometeraussschlages äußert. Dieser Abfall geht rasch vor sich, weil dem Plasma Thrombokinase zugesetzt wurde. Nach dem ersten sturzartigen Abfall sinkt die Kurve weiterhin langsam ab. Wie üblich beginnt die sichtbare Retraktion nach etwa 10 bis 12 Minuten. Mit der Volumenverkleinerung des Gerinnsels geht eine Dichtezunahme einher; die Lichtdurchlässigkeit nimmt weiter ab. Dementsprechend geht die Kurve allmählich in eine erneute, weniger steile Abwärtskrümmung über. Man erkennt an der Trübungskurve, die aus den minütlich abgelesenen Galvanometerwerten konstruiert ist, daß die Retraktion nicht plötzlich, sondern allmählich und mit deutlicher Beschleunigung beginnt. Der weitere Verlauf läßt sich photometrisch nicht erfassen, weil sich das Gerinnsel später aus dem Lichtstrahl herausretrahiert.

Soweit läßt sich der Bewegungsvorgang der Retraktion makroskopisch analysieren.

### Der Einfluß der Blutgerinnungsfaktoren auf die Retraktion

*Thrombokinase:* Es wurde bereits dargelegt, welche Vorteile der Zusatz von Thrombokinase bei der Retraktionsbestimmung bietet und erwähnt, daß die Retraktion selbst dadurch nicht beeinflusst wird. Wir haben die Probe an mehreren Fällen von Thrombopenie gemacht. Auch nach Zusatz von Thrombokinase fand keine Retraktion statt. Dasselbe gilt für künstlich plättchenfrei gemachtes Plasma.

In einer Reihe von Versuchen wurden gleichzeitige Retraktionsbestimmungen mit und ohne Thrombokinase durchgeführt (Tab. 2). Die durch Thrombokinase hervorgerufene Verkürzung der Gerinnungszeit bewirkt selbstverständlich einen früheren Beginn der Retraktion. Abgesehen von dieser zeitlichen Verschiebung im Retraktionsablauf ist aber weder die Geschwindigkeit noch das Ausmaß wesentlich verändert. Letzteres war oft in beiden Fällen vollkommen gleich; meist machte sich jedoch ein geringer Vorsprung bei dem mit Thrombokinase versetzten Plasma bemerkbar. Er betrug im Endeffekt selten mehr als 2 bis 3%. Wir möchten diese Differenz

nicht als echte Förderung der Retraktion durch die Thrombokinasen auffassen, sondern als Folge einer Änderung der Struktur des Fibringerüsts, von der noch die Rede sein wird.

Die Ansicht, daß Thrombokinasen ohne direkte Wirkung auf die Retraktion ist, wurde übrigens schon früher von *Lundsteen* und *Werner* vertreten und in überzeugender Weise experimentell belegt. Eine kurze Nachprüfung ihrer Befunde erschien jedoch angebracht, da auch gegenteilige Meinungen im Schrifttum zu finden sind (*Mills, McKahn*).

Tab. 2: Nach Zusatz von Thrombokinasen (2) beginnt die Retraktion 15 Min. früher als nach einfacher Rekalzifikation (1). Der Endwert ist nur unwesentlich höher.

Probe Nr.	1	2
Gerinnungszeit	10	2 Min.
Retraktionsbeginn nach	30	12
Meßwert nach 15 Min.	—	1
30 Min.	0	14
45 Min.	12	23
60 Min.	21	32
75 Min.	30	39
90 Min.	36	44
105 Min.	42	48
120 Min.	46	52
135 Min.	48	54
12 Std.	62	67
% Retr. 60 Min.	51	69
12 Std.	95	96,5

Wie sich eine ungenügende Thrombokinasenbildung bei der spontanen Gerinnung des Blutes auf die nachfolgende Retraktion auswirken kann, zeigt eine Beobachtung, die *Fonio* bei der Bearbeitung von hämophilem Plasma machte: Das in seinem Kern gut retrahierte Plasma-gerinnsel war nicht wie sonst üblich glattrandig, sondern an seiner Oberfläche stark aufgefasert und mit dünnen Fibrinschleiern überzogen. Dieser Befund ist für die Hämophilie charakteristisch und reproduzierbar. Eine ähnliche Erscheinung fand er bei Blut von Patienten, die mit Heparin oder Dicumarol (*Fonio* [2]) behandelt worden waren und nannte sie „Hämophilierung“ der Retraktion. *Fonio* (8) nimmt nun an, daß diese Abnormität der Retraktion „durch ein qualitativ pathologisches Verhalten der Thrombozyten“ verursacht wird. Diese Formulierung kann leicht mißverstanden werden. Bei der Hämophilie ist der Mangel an Faktor VIII oder IX, vielleicht auch eine Funktionsstörung der Plättchen (*Seegers*) die Ursache der Gerinnungshemmung. Die Retraktion aber wird davon nur mittelbar betroffen, da hämophiles Plasma nach Zusatz von Gewebsthrombokinasen bekanntlich normal schnell gerinnt und dann auch eine vollkommen normale Retraktion zeigt (*Quick*), wovon wir uns mehrfach überzeugen konnten.

Wenn man annimmt, daß auch die Plättchen des Hämophilen eine normale Retraktion bewirken, läßt sich das Phänomen der „Hämophilierung“ leicht erklären: Bei der Hämophilie ist die Bildung von Thrombokinasen, Thrombin und Fibrin stark verzögert. Die Retraktion setzt bereits ein, wenn ein Teil Fibrin gebildet, aber noch Fibrinogen vorhanden ist. Mit der Absonderung von Serum wird daher auch Fibrinogen ausgepreßt, was normalerweise nicht der Fall ist. Anders gesagt, es wird bei hämophilem Blut während der Retraktion zunächst kein Serum, sondern fibrinogenarmes Plasma abgegeben. Letzteres ist noch gerinnungsfähig und bildet, während das erste Coagulum sich weiter retrahiert, ein zweites, weniger dichtes Gerinnsel, das

dem ersten aufgelagert ist und sich nur deshalb von der Wand absetzt, weil das primäre Gerinnsel sich weiter verkleinert. Das sekundäre Gerinnsel ist nicht oder kaum retraktile, weil alle oder fast alle Blutplättchen bereits in das primäre Gerinnsel eingebaut sind. Das Phänomen der Hämophilierung kommt demnach durch eine Überschneidung der zweiten und dritten Phase der Blutgerinnung zustande. Nur die erste und zweite Phase ist verzögert; die dritte, die Retraktion ist an sich normal. Diese Auffassung wird auch von Deutsch vertreten.

**Kalzium:** Für die Retraktion des Vollblutes *in vitro* ist der normale Kalziumgehalt immer ausreichend. Anders liegen die Verhältnisse, bei der Verwendung von Zitratplasma. Es ist nicht gleichgültig für die Retraktion, in welcher Menge Kalzium zugegeben wird. Man muß sogar die Frage stellen, ob Kalzium überhaupt für die Retraktion selbst erforderlich ist, oder ob es nur für die Blutgerinnung benötigt wird, die ihrerseits Voraussetzung für die Retraktion ist.

T e z n e r untersuchte den Einfluß verschiedener Salze ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{SrCl}_2$ ,  $\text{BaCl}_2$ ) auf die Retraktion des Blutgerinnsels. Seine Befunde lassen sich dahingehend zusammenfassen, daß sowohl bei zu hoher als auch bei zu niedriger Konzentration zugleich Gerinnungsverzögerung und Herabsetzung bzw. vollständige Hemmung der Retraktion eintritt. Wie weit dabei die Salzkonzentration die Retraktion direkt oder auf dem Umweg über die Gerinnung beeinflusst, konnte bei seiner Versuchsanordnung nicht entschieden werden. — Später hat Macfarlane (2) angegeben, daß Kalziumvariationen zwischen 0,09 und 0,48% für die Retraktion gleichgültig ist. Nach diesen Befunden würde also ein Vielfaches der normalen Kalziumkonzentration von 0,01% die Retraktion nicht weiter beeinträchtigen. — Im Gegensatz dazu beobachtete Budtz-Olsen schon bei einem auf 0,028% erhöhten Kalziumgehalt eine erhebliche Retraktionshemmung (wahrscheinlich infolge der größeren Genauigkeit seiner Methode). Er hält die Anwesenheit von Kalzium bei der Retraktion für unbedingt notwendig. Bucher fand, daß Kalzium die Retraktion hemmt.

Wir haben die für unsere Methode optimale Kalziumkonzentration festgestellt. In einer Reihe wurden sieben Teströhrchen *ceteris paribus* mit verschiedenen Mengen (0,2 bis 1,4 ccm) einer 1%igen Kalziumchloridlösung versetzt. Die Gerinnungszeit war bei Zusatz von nur 0,2 ccm auf 30 Min. verlängert, zwischen 0,4 und 1,0 war sie normal (2 Min.) und bei 1,2 und 1,4 trotz Thrombokinasezusatz geringfügig verlängert (2,5 und 3 Min.). Die Retraktion war in dem untersuchten Bereich nur gering beeinflusst, aber es ließ sich erkennen, daß unter der Voraussetzung einer normalen Gerinnung mit steigendem Kalziumgehalt eine Verminderung der Retraktion parallel geht. Das Optimum an Kalzium liegt bei 0,5 ccm der 1%-Lösung. — Die Retraktionshemmung bei 0,2 ccm Kalziumzusatz war durch die Gerinnungsverzögerung vorgetäuscht (es bildete sich ein Sekundärgerinnsel).

T a b . 3 : Gerinnung durch Thrombin hervorgerufen. Zusätzliches Kalzium hemmt die Retraktion.

Zusatz von $\text{CaCl}_2$ — 1%	maximale Retraktion
0,0 ccm	99,5%
0,2 ccm	99%
0,4 ccm	98%
0,8 ccm	92,5%
1,6 ccm	83%
3,2 ccm	76%

Diese Befunde zeigen, daß Kalzium einen hemmenden Effekt auf die Retraktion hat. Die Bestätigung fand sich in einer Abwandlung des Versuches: Anstatt Thrombokinase wurde dem Ansatz Thrombin zugefügt. Zugleich wurde das Gemisch mit Kalzium in steigender Menge

versetzt. Das Ergebnis ist in Tab. 3 veranschaulicht. Mit zunehmendem Kalziumgehalt vermindert sich die Retraktion. Sicherheits halber wurde noch folgender Versuch angestellt: Erst nach Ablauf der Gerinnung und Ablösung des Gerinnsels wurde Kalzium in einer Menge zugesetzt (2 ccm einer 1%igen Lösung), die eine Retraktionshemmung hervorruft, wenn sie bereits während der Gerinnung vorhanden ist. Auch unter diesen Bedingungen war der hemmende Effekt deutlich.

Demnach hat anscheinend das Kalzium einen direkten hemmenden Einfluß auf die Retraktion. Ob es sich dabei um eine Beeinflussung der Plättchen oder des Fibrins handelt, ist noch nicht zu entscheiden.

*Fibrinogen:* Die Frage der Abhängigkeit der Retraktion von dem Fibrinengehalt des Plasmas ist häufig diskutiert und u. a. von Opitz und Schöber dahingehend beantwortet worden, daß die Retraktion um so ausgiebiger ist, je geringer der Fibrinengehalt ist. Trotz gelegentlich geäußerter gegenteiliger Meinungen (Jepsen, Lampert [1]) hat sich diese Auffassung mit Recht durchgesetzt. Das retrahierte Gerinnsel eines fibrinogenarmen Plasmas ist kleiner und weniger fest (Hartert [2]), als das eines fibrinogenreichen, vorausgesetzt, daß die Plättchenzahl und die übrigen Bedingungen gleich sind.

Wir haben die Beziehungen zwischen dem Fibrinengehalt und der Retraktion auf folgende Weise nachgeprüft (Abb. 7): Gerinnungsansätze mit je 1 ccm Plasma und 0,5 ccm Kalziumchlorid wurden bei sonst gleichen Bedingungen mit steigender Menge Kochsalzlösung verdünnt. Die Gesamtvolumina betragen 2 bis 10 ccm; die Gerinnsel hatten bei gleichem Durchmesser verschiedene Länge und verschiedene Fibrinogenkonzentration. Während der Retraktion verkürzten sie sich daher auch verschieden stark. Auch in ihrem Durchmesser waren sie nach Ablauf der Retraktion verschieden. Ihr Volumen wurde durch Herausnahme der Gerinnsel aus dem Serum bestimmt. Es betrug in allen Fällen etwa 0,4 ccm.

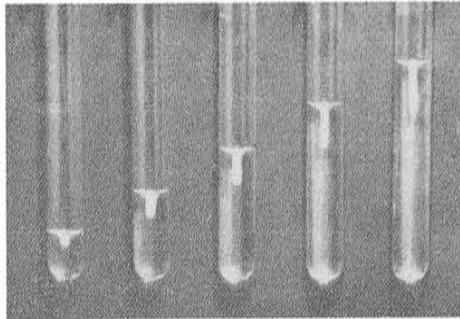


Abb. 7: Trotz verschiedener Plasmaverdünnung haben die retrahierten Gerinnsel gleiche Volumina

Es läßt sich sagen, daß die dem Plasma zugesetzte Flüssigkeit nahezu vollständig ausgepreßt wird. Man darf also dem Plasma — wie bei unserer Methode — 8 ccm Kochsalzlösung zusetzen, um den Retraktionsverlauf besser verfolgen zu können. Eine Beeinträchtigung der Retraktion ist dabei nicht zu befürchten. Es ist ein Vorteil der Verdünnung, daß sich Abweichungen im Fibrinengehalt (z. B. bei Krankheiten mit erhöhter Blutsenkungsgeschwindigkeit) nicht mehr störend auf die Retraktion auswirken. Selbst wenn der Fibrinengehalt zweimal oder dreimal größer ist als der Norm entspricht, wird die Retraktion nur um wenige Prozent kleiner gemessen. Bei Benutzung von unverdünntem Plasma kann ein abweichender Fibrinengehalt eine zehnmal größere Abweichung der Retraktion bewirken.

In dem eben beschriebenen Versuch wurden verschiedene Grade der Fibrinogenverdünnung benutzt. Selbst bei einem Mischungsverhältnis von 1:10 wickelt sich die Retraktion so vollständig ab, wie bei den anderen Verdünnungsgraden. Offenbar spielt die Entfernung der Fibrinfasern voneinander bei der Retraktion keine Rolle. Ob das Fibringerüst eng oder weit-

maschig ist, ob es viel oder wenig interstielle Flüssigkeit enthält, ist gleichgültig. Die Retraktion kommt erst dann zum Stillstand, wenn nahezu die gesamte Flüssigkeit abgesondert ist.

*Prothrombin — Thrombin:* Im vergangenen Jahrzehnt, als man durch die Einführung der Quickschen Methode die Möglichkeit hatte, auf einfache Weise den Prothrombingehalt des Blutes zu bestimmen, wurde auch dieser Gerinnungsfaktor in seiner Wirkung auf die Retraktion untersucht. Koller und Pedrazzini fanden bei Hypoprothrombinämie eine verminderte Retraktion. Auch Jürgens und Studer fanden bei Kaninchen, die mit Dicumarol oder Heparin vorbehandelt waren, eine Retraktionshemmung, die durch Thrombinzugabe ausgeglichen werden konnte. Fonio (2) sah bei Dicumarin- bzw. Tromexan- und Heparinbehandlung die charakteristische Retraktionsstörung der „Hämophilierung“. — Ob diese Retraktionshemmung die bei hochgradiger Hypoprothrombinämie bestehende Blutungsgefahr vergrößert, wurde diskutiert, soll aber hier nicht erörtert werden. Auch gehen wir nicht weiter auf die genannten Befunde selbst ein, obwohl auch gegenteilige Beobachtungen gemacht wurden (z. B. fand Quick bei Fällen von kongenitaler Hypoprothrombinämie eine normale Retraktion). Uns interessierte mehr die Frage, ob das Prothrombin eine direkte Wirkung auf die Retraktion ausübt oder sich nur indirekt über eine Beeinflussung der Gerinnung auf die Retraktion auswirkt.

Schon Jürgens und Studer erwähnen, daß sich die durch Dicumarol gehemmte Retraktion mit Thrombin fast normalisieren läßt, was als Hinweis dafür gelten kann, daß die Störung in der Thrombinbildung liegt und die Retraktionsfähigkeit durch Dicumarol nicht beeinträchtigt wird. Sie untersuchten auch die Thrombinwirkung auf normales Blut und fanden eine Retraktion beschleunigende Wirkung des Thrombins mit steigender Konzentration. Diese Beschleunigung war aber nur in der ersten Stunde erkennbar (Retraktionsbestimmung durch Abgießen des Serums nach Zahn); nach 6 Stunden (Endwert der Retraktion) ergab sich kein signifikanter Unterschied mehr zu den Kontrollen. Die endgültige Menge des ausgepreßten Serums wurde also durch Thrombin nicht vergrößert. Immerhin könnte man an eine direkte Beeinflussung der Retraktion denken, wenn diese nach Thrombinzusatz im ganzen schneller ablaufen würde als normal. Daß sie früher beginnt, und daher einen Vorsprung vor der Kontrolle hat, ist ohne weiteres verständlich. Von einer Beschleunigung der Retraktion kann aber nur dann gesprochen werden, wenn der Kurvenverlauf steiler ist. Für diese Feststellung ist die von den genannten Autoren benutzte Methode nicht geeignet, weil sie in quantitativer Hinsicht ungenau ist und weil eine häufige Bestimmung der Serummenge durch Abgießen im Laufe eines Retraktionsversuches zu so großen Fehlern führt, daß feinere Differenzen nicht mehr erkannt werden können. Wir sind der Frage noch einmal mit unserer Methode nachgegangen:

In einem Reihenversuch wurden 5 Teströhrchen mit je 1 ccm Zitratplasma, das von derselben Person gewonnen wurde, beschickt und mit Kochsalzlösung so verdünnt, daß nach Zusatz von 2, 4, 8, 16 und 32 Tropfen Thrombinlösung (6, 12, 24, 48, 96 Einheiten entsprechend) das Gesamtvolumen je 10 ccm betrug. Die Gerinnungszeiten lagen ungefähr bei 150, 120, 90, 60 und 30 Sekunden entsprechend der steigenden Thrombinmenge. Ein Unterschied im Retraktionsbeginn war nicht sicher feststellbar. Auch in der Retraktionsgeschwindigkeit bestand keine meßbare Differenz. Am Ende der Retraktion hatten alle Gerinnsel die Marke 82 erreicht, was einem Retraktionswert von 99,5% entspricht. — In einem weiteren Versuch wurde ein fertiges Coagulum, dessen Gerinnung durch Thrombokinase herbeigeführt worden war, nach der Lösung von der Glaswand zusätzlich mit Thrombin durchtränkt. Nach der Retraktion war das Gerinnsel genau so lang wie die Kontrolle.

Daraus darf man schließen, daß Thrombin zwar die Gerinnungszeit verkürzt, aber weder auf das Ausmaß noch auf die Geschwindigkeit der Retraktion einen wesentlichen Einfluß ausübt. Thrombin ist ein Gerinnungsferment, das u. E. während der Retraktion keine Rolle mehr spielt.

Eine Beobachtung muß in diesem Zusammenhang noch besprochen werden, die zunächst den Anschein einer fördernden Wirkung des Thrombins auf die Retraktion erweckt: Die durch Thrombin erzeugten Gerinnsel sind nach Ablauf der Retraktion durchweg kleiner als die

unter Thrombokinase-Kalzium-Wirkung geronnenen Kontrollen (Abb. 8). Der Unterschied ist besonders auffallend in der Gerinnsellänge. Die einen verkürzen sich im allgemeinen bis zum Skalenwert 65—70, während die Thrombingerinnsel den Wert 80 meist überschreiten. Daß es sich hierbei nicht um einen wesentlichen Vorsprung der Thrombingerinnsel handelt, wird bei der Umrechnung in Serumvolumen klar, das im ersten Fall 96 bis 97%, im zweiten Fall 99,5% beträgt. — Die Ursache dieser geringen aber sehr konstanten Differenz glauben wir im Gerinnungsvorgang suchen zu müssen. Bei mikroskopischer Untersuchung von Plasmagerinnseln im Deckglaspräparat fiel auf, daß die Stärke und Länge der Fibrinfasern unterschiedlich ist, je nachdem wie schnell die Gerinnung vor sich geht. Langsam zur Gerinnung gebrachte Plasmen bilden lange und dicke Fibrinstränge, eine Beobachtung auf die schon Ebbcke aufmerksam gemacht hat. Unter Thrombinzusatz plötzlich geronnene Plasmen haben ein sehr viel zarteres Gerüst mit kurzen und sehr dünnen, nadelartigen Fasern. Stellt man sich die Retraktion als einen fermentgebundenen Prozeß vor, so ist das feinfaserige Coagulum mit der größeren Fibrin Oberfläche leichter zugänglich als die gröberen Fasern.

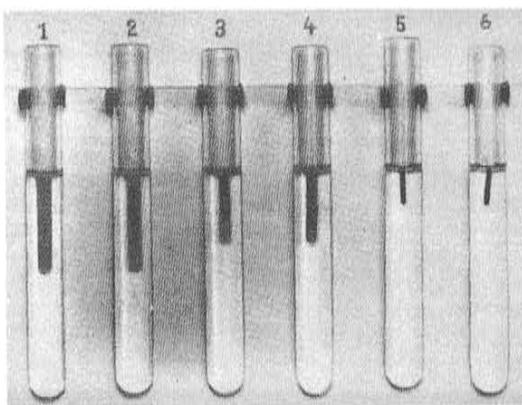


Abb. 8: Nach einfacher Rekalzifikation (1, 2), Thrombokinase- (3, 4) und Thrombinzusatz (5, 6) ist die Retraktion gering, aber deutlich verschieden (92, 96, 99,5%).

Unsere Befunde stehen im Widerspruch zu einer Mitteilung von Still. Danach soll Thrombin allein unter bestimmten Bedingungen (bei geringer Zahl der sog. „adhäsiven“ Plättchen) zu einem nicht retraktilen Gerinnsel führen, während nach vorherigem Kalziumzusatz eine normale Retraktion erfolgt. Kalzium soll die nicht adhäsiven Plättchen in adhäsive überführen. Die Befunde von Still würden eine Bestätigung bei Budtz-Olsen finden. Bei Anwendung einer sorgfältigen Silicon-Technik und sofortiger Entkalkung des frischen Blutes trat nach Thrombinzusatz Gerinnung, aber keine Retraktion ein. Bucher machte eine ähnliche Beobachtung mit Komplexonplasma. Eine Stellungnahme zu diesen Befunden ist noch nicht möglich.

Es erscheint nicht erforderlich, die übrigen Faktoren der ersten Gerinnungsphase (Faktor V, VII, VIII, IX) in ihrer Auswirkung auf die Retraktion im einzelnen zu prüfen, da sie alle im Endeffekt der Thrombinbildung dienen und letzteres offenbar für die Retraktion belanglos ist. Es interessiert lediglich noch das Heparin, der Antagonist des Thrombins.

*Heparin:* Es wurde der Versuch gemacht, das nach stattgefundener Gerinnung im Coagulum enthaltene Thrombin durch Heparin zu inaktivieren (vgl. Studer und Winterstein). Es war zu erwarten, daß Heparin das in der ersten Gerinnungsphase gebildete Thrombin abfängt und auf die Retraktion selbst keinen Einfluß ausübt. — Bei Verwendung unserer Methode ist es möglich, flüssige Substanzen in das Gerinnsel einzubringen ohne diese mechanisch zu belasten.

Wie schon gesagt, kann man nach der Lösung des Gerinnsels etwa 1 ccm Kochsalzlösung zufließen lassen, ohne daß es zu sichtbaren Flüssigkeitsansammlungen am Boden oder zwischen der Seitenwand und dem Gerinnsel kommt. Die Flüssigkeit dringt vielmehr unter Ausdehnung des Fibrinnetzes in die Zwischenräume ein. Das Gerinnsel wird gewissermaßen von der zugesetzten Flüssigkeit durchtränkt. Die Probe kann mit einem Farbstoff, z. B. Methylblau, gemacht werden. Das aus verdünntem Plasma entstandene Gerinnsel hat so weite Maschen, daß der Farbstoff von der Peripherie aus bis in das Innerste des Gerinnsels eindringen kann. Wenn auch die äußeren Schichten stärker tingiert sind, so wird doch die innerste ebenfalls gefärbt. — Setzt man dem Retraktionsansatz nach vollständiger Gerinnung und Lösung Salzsäure zu, so wird die Retraktion wegen des nunmehr unzuträglichen pH-Wertes gehemmt, ein weiteres Zeichen dafür, daß die Flüssigkeit in das Gerinnsel eingedrungen ist. Es wird daher auch Heparin eindringen.

In dem Versuch (Tab. 4) wurde die Konzentration hoch gewählt (500 IE), um mit Sicherheit das natürliche Thrombin im Gerinnsel zu inaktivieren. Eine Kontrolle zeigte die Wirksamkeit des Heparin an der absoluten Gerinnungshemmung. Das nach erfolgter Gerinnung zugefügte Heparin hatte keinen Einfluß auf die nachfolgende Retraktion.

Tab. 4: Heparinzusatz nach der Gerinnung hat keinen Einfluß auf die Retraktion.

Zusatz nach Lösung des Gerinnsels	Retraktion nach:				
	10 Min.	15. Min.	30 Min.	60 Min.	Ende
1. 1 ccm phys. NaCl-Lösung	15%	27%	47%	71%	98,5%
2. 1 ccm Heparinlösung (500 IE)	20%	32%	51%	73%	98%
3. 1 ccm n/10 HCl Plasma-pH: 5,0	20%	27%	41%	—	66%
4. (Heparinzusatz vor der Gerinnung)	(Gerinnung bleibt aus)				

Dieser Befund wurde noch mit einer anderen Versuchsanordnung nachgeprüft, weil Bedenken auftauchten, ob die großen Heparinmoleküle schnell genug in die inneren Schichten des Gerinnsels eindringen. Es wurden Gerinnsel von nur 2 mm Durchmesser und 5 cm Länge (Gerinnung in einer Pipette) hergestellt und (durch Ausblasen) in eine Heparinlösung eingebracht (eine Kontrolle in physiologischer Kochsalzlösung). Auch in Heparinlösung verkürzte und verschmälerte sich das Gerinnsel (im gleichen Maße wie das Kontrollgerinnsel).

Diese Versuche liefern zugleich einen weiteren Beweis dafür, daß Thrombin für die Retraktion nicht erforderlich ist.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß zwischen den physiologischen Gerinnungsfaktoren und der Retraktion nur ein indirektes Abhängigkeitsverhältnis besteht. Nach normaler Gerinnung — die eine selbstverständliche Voraussetzung für die Retraktion ist — sind die Gerinnungsfaktoren für die Retraktion ohne Bedeutung. Eine scheinbare Förderung oder Hemmung der Retraktion durch Gerinnungsfaktoren kommt wahrscheinlich auf dem Umweg über eine besonders günstige oder eine mangelhafte Gerinnung zustande. Die Retraktion ist ein in sich geschlossener selbständiger Vorgang, der sich von der Gerinnung des Blutes scharf abgrenzen läßt (Benthaus [2]).

## Die Abhängigkeit der Retraktion von physikalischen Einflüssen

*Temperatur:* Durch Einfrieren und Wiederauftauen verliert das Plasma seine Retraktivität (Werner). Vorübergehende Abkühlung auf 0 Grad C bewirkt eine reversible Retraktivhemmung (Le Sourd und Pagniez [3]). Nach kurzer Erwärmung auf 46° kommt keine Retraktion mehr zustande. Als optimal wird allgemein die Temperatur des Körperinneren angesehen. Meinungsverschiedenheiten bestehen lediglich darüber, ob die Temperatur nur die Geschwindigkeit oder auch das Ausmaß der Retraktion beeinflusst.

Budtz-Olsen bestätigte mit der suspended clot method (s. o.) die Befunde von Macfarlane; demnach wird die Geschwindigkeit und das Ausmaß der Retraktion mit zunehmender Temperatur größer. Van Allen und Lampert und Ott sind dagegen der Meinung, daß durch die Retraktion bei jeder Temperatur die gleiche Serummenge abgesondert wird und nur die Geschwindigkeit temperaturabhängig ist.

Eine Nachprüfung der Befunde wurde mit unserer Methode von G. Schneider ausgeführt. Es fanden sich im Bereich zwischen 5 und 40° nur kleine Unterschiede im Retraktivitätsausmaß (95 bis 99%), die praktisch bedeutungslos sein dürften und möglicherweise mit der Struktur des Fibringerüsts zusammenhängen. Übereinstimmend mit den Angaben des Schrifttums fand Schneider von 5 bis 40° eine zunehmende Beschleunigung der Retraktion (Abb. 9). Bei Zimmertemperatur (um 20°) kann die Retraktion nach 3 Stunden, im Wasserbad von 40° nach 1 Stunde als abgeschlossen gelten. Bei 5° lief die Retraktion über 2½ Tage.

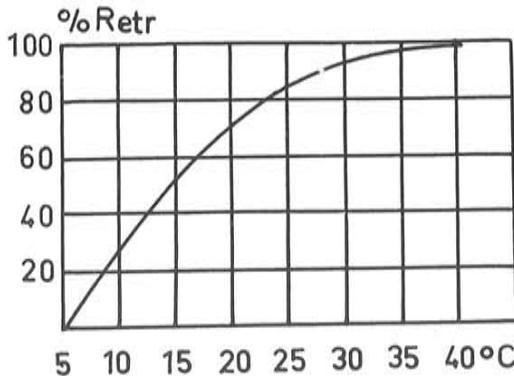


Abb. 9: Die Geschwindigkeit der Retraktion ist von der Temperatur abhängig. Dargestellt ist der jeweils nach 90 Minuten abgelesene Wert. (nach Schneider)

*Osmotischer Druck:* Wenn man die Konzentration der zugesetzten Kochsalzlösung variiert, so läßt sich die osmotische Resistenz der Thrombozyten indirekt durch die Retraktion bestimmen. Die Abb. 10 läßt erkennen, daß bei einer NaCl-Konzentration unter 0,25% keine Retraktion stattfindet. Bei Zusatz einer 2,5%igen NaCl-Lösung kommt ebenfalls keine Retraktion mehr zustande. Das Optimum für die Retraktion liegt bei einer Konzentration von 0,85%. Zwischen 0,6 und 1,0% ist die Retraktion ausgiebig und sicher nicht nennenswert eingeschränkt.

Es ist noch zu beachten, daß die Plättchen in 1 ccm Plasma von physiologischer Konzentration (entsprechend einer 0,85%igen CaCl<sub>2</sub>-Lösung) zugesetzt werden. Nach rechnerischer Berücksichtigung dieser Abweichung ergibt sich eine Breite von 0,35 bis 2,2%. Dies sind die Grenzwerte der für die Retraktion erforderlichen Milieukonzentration. In den extremen Bereichen ist nicht nur die Retraktion gehemmt, sondern auch die Gerinnungszeit trotz Verwendung von Thrombokinase erheblich verlängert. — Diese Befunde wurden an normalem Plasma erhoben.

Horányi und Zadóry haben die osmotische Resistenz der Thrombozyten mittels der Retraktion geprüft. Auch sie fanden die untere Normgrenze bei einer Konzentration von 0,35% NaCl, bei der die Auflösung der Plättchen offenbar so weit geht, daß keine Retraktion mehr eintritt.

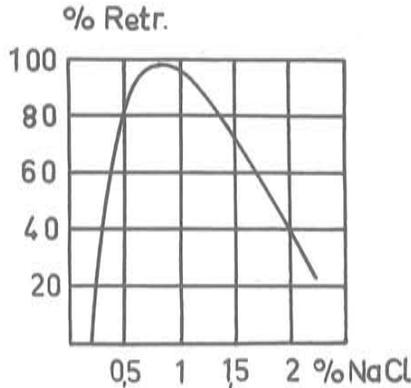


Abb. 10: 0,85% ist die für die Retraktion optimale NaCl-Konzentration.

*Wasserstoff-Ionenkonzentration:* Die Abhängigkeit der Retraktion von der H-Ionenkonzentration läßt sich mit der von uns benutzten Methode leicht prüfen. Die Verwendung von größeren Mengen Kochsalzlösung erlaubt durch Zusatz von Salzsäure oder Natriumbikarbonat jeden beliebigen pH-Wert des Lösungsmittels herzustellen. In unserer Klinik ist Bennewitz dieser Frage mit einfachen Mitteln nachgegangen. Der pH wurde mit Indikatorpapier geprüft. — Nun läßt sich eine gewünschte H-Ionenkonzentration nach der Gerinnung nicht mehr exakt herstellen. Variiert man aber den pH vorher, so muß damit gerechnet werden, daß auch die Gerinnung selbst beeinflußt wird. Die gefundene Abhängigkeit der Retraktion vom pH-Wert schließt also die Beeinflussung der Gerinnung mit ein. Möglicherweise ist die Reaktionsbreite der Retraktion in Wirklichkeit größer als in Abb. 11 angegeben ist.

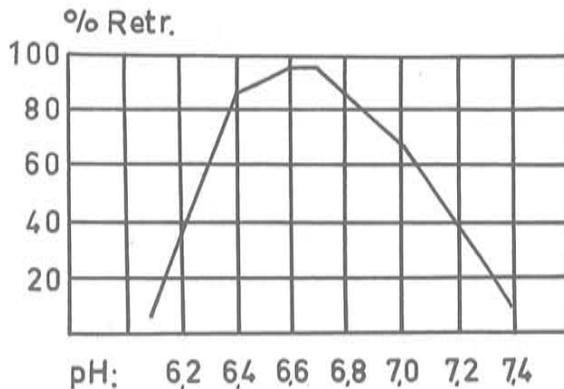


Abb. 11: Das Optimum der H-Ionenkonzentration liegt bei pH 6,6 (nach Bennewitz)

Die pH-Messungen von *Bennowitz* hatten den mehr methodischen Grund festzustellen, ob sich die Retraktion durch Anpassung der Plasmaverdünnung an den normalen Blut-pH verbessern läßt. Die als Verdünnungsmittel benutzte 0,85%ige Kochsalzlösung nimmt nämlich beim Stehen an der Luft eine schwach saure Reaktion von pH 5,6 bis 5,8 an. Durch Zusatz von 1 ccm Plasma zu 8 ccm Kochsalzlösung erhöht sich der pH zwar bis auf 6,5 bis 6,7, erreicht aber nicht den physiologischen Wert des Blutes. Dies könnte ein methodischer Fehler sein, der durch Verwendung von Puffersubstanzen ausgeglichen werden müßte. Wie die Untersuchungen zeigten, liegt aber das Retraktionsoptimum im schwach sauren Medium, so daß sich eine derartige Korrektur der Methodik erübrigt. Beim pH von 7,33 (Blut-pH) ist schon eine geringe Hemmung der Retraktion feststellbar. Das Optimum der Retraktion liegt also bei einer nicht ganz physiologischen H-Ionenkonzentration. Wir beobachteten hier etwas ähnliches wie bei verschiedenen Gerinnungsfaktoren, deren optimale Wirkung bei pH 6,7 gefunden wurde (*Schultze* und *Schwick*).

Die literarischen Mitteilungen über den pH in Zusammenhang mit der Retraktion sind spärlich. *Howells* Untersuchungen waren mit plättchenfreiem Plasma angestellt und liefern deshalb keinen verwertbaren Beitrag zu der Fragestellung. Die Behauptung von *Lampert* (2), daß 10%ige Salzsäure die Synhärese nicht beeinträchtigt, ist nur dann verständlich, wenn man einen Unterschied macht zwischen Retraktion und Synhärese, von dem noch die Rede sein wird. *Macfarlane* (2) und *Budtz-Olsen* fanden mit verschiedenen Methoden, daß die Retraktion im Bereich vom pH 7 bis pH 8 unbeeinflusst bleibt. *Ellicott* gibt an, daß zwischen pH 5,12 und 8,15 keine Beeinträchtigung der Retraktion bemerkbar ist.

### Die Bedeutung der Thrombozyten für die Retraktion

Bereits *Hayem*, *Glanzmann* und *Aynaud* war bekannt, daß die Retraktion intakte Thrombozyten in genügender Anzahl zur Voraussetzung hat. Wenn man aus normalem Blutplasma durch starkes Zentrifugieren die Plättchen entfernt, so ist die Retraktion aufgehoben. Fügt man die Plättchen wieder hinzu, so findet eine Retraktion statt. Dabei ergibt sich eine eindeutige quantitative Relation insofern als die Retraktion um so ergiebiger wird, je mehr Plättchen man dem plättchenfreien Plasma zusetzt. *Le Sourd* und *Pagniez* (1) machten dieses Experiment mit einer sorgfältig gewaschenen Plättchenaufschwemmung. Man kann den Versuch vereinfachen, indem man statt einer Plättchenemulsion normales, plättchenhaltiges Plasma (Plasma A) in steigender Menge einem durch Zentrifugieren plättchenfrei gemachten Plasma (Plasma B) zusetzt, weil der einzige Unterschied zwischen den beiden Plasmen der Plättchengehalt ist. Die Herstellung einer Plättchensuspension ist umständlich und schwierig, da viele Plättchen während des Zentrifugierens zur Agglutination gebracht oder auf andere Weise inaktiviert werden. Die Abb. 12 zeigt Retraktionskurven, die wir durch Mischung von Plasma A und Plasma B in verschiedenen Mengenverhältnissen registrieren konnten. Es ergibt sich auch hierbei eine quantitative Abhängigkeit der Retraktion von der Thrombozytenzahl. Das Nachlassen der Retraktion mit sinkender Plättchenzahl geht kontinuierlich vor sich. Der Zeitraum zwischen dem Ende der Gerinnung und dem erkennbaren Retraktionsbeginn wird zunehmend länger. Die Retraktion läuft mit wachsender Verzögerung ab, wie aus der Steilheit des Kurvenanstiegs erkennbar wird. Auch der endgültige prozentuale Retraktionswert nimmt ständig ab. Unter der Voraussetzung gleichbleibender Temperatur besteht eine Parallelität zwischen der Retraktionsgeschwindigkeit und dem Retraktionsausmaß. Beide Werte stehen in überzeugender Abhängigkeit von der Plättchenzahl.

Trotz dieser eindeutigen und leicht nachzuprüfenden Befunde hat es nicht an Stimmen gefehlt, welche den Plättchen, wenn nicht jegliche, so doch eine wesentliche Bedeutung für die Retraktion absprechen wollten oder zumindestens auch ohne Plättchen eine schwache Retraktion für möglich hielten. *Budtz-Olsen* hat den größten Teil dieser Meinungen zusammengestellt.

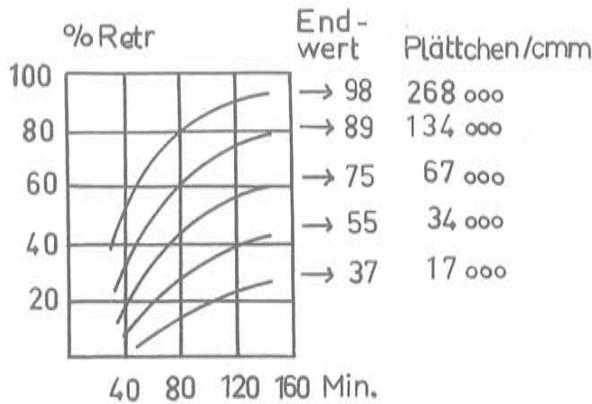


Abb. 12: Der Ablauf der Retraktion bei verschiedener Plättchenzahl

Ein Teil der Autoren arbeitete mit unzulänglichen Methoden. Insbesondere war darin eine mechanische Beeinträchtigung der Gerinnsel enthalten, die eine Retraktion von Plasma B vortäuschte. Die künstliche Lösung der Gerinnsel von der Glaswand geschah nicht vorsichtig genug; das Serum wurde passiv und nicht durch Retraktion abgesondert. In anderen Fällen, in denen angeblich eine Retraktion ohne Plättchen beobachtet wurde, bestehen berechtigte Zweifel, ob das Plasma wirklich plättchenfrei war. In wieder anderen Fällen wurde eine scheinbare Retraktion nach 2 bis 3 Tagen beobachtet, zugleich aber gravimetrisch ein Fibrinverlust festgestellt, so daß man wohl mit Recht die Fibrinolyse für die Verkleinerung des Gerinnsels verantwortlich machen darf. Auf alle diese mit größter Wahrscheinlichkeit fehlgedeuteten Beobachtungen soll hier nicht eingegangen werden. Mit der von uns angegebenen Methode blieb unter verschiedensten Bedingungen bei wirklich plättchenfreiem Plasma die Retraktion immer aus. Auch waren die Plättchen nicht durch andere Blutzellen, Gewebspartikel oder gerinnungsfördernde Lösung zu ersetzen. Die retraktionsfördernde Wirkung von zusätzlich zu den Plättchen im Plasma vorhandenen Leukozyten, die von Mackuth beschrieben wurde, konnten wir nicht bestätigen. Es ist daher nicht nur unsere eigene, auf Grund ausgedehnter Untersuchungen gewonnene Überzeugung, sondern auch die der meisten anderen Autoren, daß ohne intakte Blutplättchen eine Retraktion nicht stattfinden kann. Es sollen in diesem Zusammenhang die Versuchsergebnisse von Werner nicht unerwähnt bleiben. Er hat in sehr überzeugender Weise dargestellt, daß die Plättchen durch Erwärmung auf 65°, durch Einfrieren und Auftauen\*), Behandlung mit Kurzwellen, Ultraviolettbestrahlung, Röntgenstrahlen, Vorbehandlung mit galvanischem Strom, ja schon allein durch Zentrifugieren des Plasmas in ihrer Struktur verändert oder mindestens in ihrer Funktionsfähigkeit beeinträchtigt werden. Durch all diese Manipulationen kam eine mehr oder weniger vollständige Hemmung der Retraktion zustande. Zugesetzte Fremdpartikel verschiedener Art (Glassplitter, Talkum, Tierkohle, Infusorienerde) waren nicht imstande, die Rolle der Plättchen bei der Retraktion zu übernehmen. Er ist zu dem Ergebnis gekommen, daß die Retraktion an die Zahl und die morphologische bzw. funktionelle Unversehrtheit der Plättchen gebunden ist. Auch durch Kompression werden die Plättchen funktionsuntüchtig (Ebbecke und Zipf, Haubrich).

Eine dem widersprechende Auffassung wird neuerdings von Fonio (4, 5, 6, 7) vertreten. Er glaubt, daß die Thrombozyten nicht unbedingt als ganze Zellen an der Retraktion beteiligt

\*) Es besteht m. E. kein Zweifel daran, daß durch die Kälte die Plättchen zerstört werden und nicht das Fibrinogen. Eine gegenteilige Auffassung wurde mir von Deutsch und Martiny irrtümlich unterstellt.

sind, sondern nur das Hyalomer. Granulomer dagegen soll ausschließlich einen gerinnungsfördernden Effekt haben. Das dieser Ansicht zu Grunde liegende Experiment ist folgendes:

Aus 800 ccm Zitratblut werden die Plättchen durch Zentrifugieren isoliert und gewaschen. Anschließend werden sie durch Ultraschall (1,5 Min. bei 800 kHz und 5 Watt) zerstört. Bei erneutem Zentrifugieren setzt sich das Hyalomer am Boden ab, während sich das Granulomer in der überstehenden Schicht befindet. Nur der Bodensatz erweist sich bei Prüfung an plättchenfreiem Plasma als retraktionsaktiv. Die Schlußfolgerung lautet: „Das Hyalomer ist Träger des retraktionsauslösenden Faktors. — Die Retraktionswirkung ist nicht an die Intaktheit der Thrombozyten gebunden.“

Wir haben daraufhin folgenden Versuch zur Prüfung der Plättchenresistenz gegen Ultraschall unternommen: 2 ccm frisches, plättchenhaltiges Plasma wurde in einem Zentrifugenröhrchen der Ultrabeschallung ausgesetzt (1,5 Min. bei 1000 kHz und 5 Watt, mit einer etwas höheren Frequenz als in der Versuchsanordnung von F o n i o). Das Gläschen wurde dem Schallkopf direkt aufgesetzt und war von einem Wasserbad umgeben, welches den Wärmeeffekt ausschaltete. Die Temperatur blieb unter 20° C. Etwa 1/2 Stunde später wurde aus dieser Probe und einer Kontrolle von unbeschalltem Plasma je ein Retraktionsversuch in der üblichen Weise angestellt. Die beschallte Plasmaprobe hatte ihre Retraktionsfähigkeit vollständig eingebüßt. — Die mikroskopische Untersuchung ergab folgendes: Im Kontrollplasma befand sich eine große Zahl von intakten Plättchen, z. T. mit einzelnen oder mehreren langen dünnen Fortsätzen. Nach kürzerer Zeit setzten sich einige von ihnen am Objektträger und am Deckglas fest und breiteten sich zu einer dünnen Scheibe aus (sog. Ruheformen nach F o n i o [3] oder adhäsive Plättchen). Makroskopisch erschien das Plasma durch den Tyndall-Effekt getrübt. — Auch das beschallte Plasma war makroskopisch trüb, es enthielt also noch gröbere Teilchen. Bei starker Vergrößerung im Phasenkontrastmikroskop erkannte man eine große Zahl von Plättchen. Aber nur ein kleiner Teil von ihnen hatte noch normales Aussehen. Die große Mehrzahl ließ Strukturveränderungen erkennen. Der ganze Zelleib zeigte eine feine Punktierung, so als ob sich das Granulomer aus dem Zentrum heraus gleichmäßig über die ganze Zelle hin verteilt hätte. Die meisten Zellen waren noch als Individuen erhalten. Trümmer von Plättchen waren nicht sicher erkennbar. Wohl sah man vereinzelt punktförmige Körperchen frei im Plasma schwimmen, die isolierten Granula entsprochen haben könnten. Vereinzelt fanden sich auch die charakteristischen kugeligen Gebilde, die meist dann entstehen, wenn Plättchen nach der Gerinnung oder nach längerem Haften an glatten Flächen zerfallen (sog. Sekretkugeln nach F o n i o). Auch adhäsive Plättchen waren erkennbar.

Aus diesem Versuch geht hervor, daß die oben genannte Ultraschalldosis — auf normales Plasma angewandt — die Retraktivität aufhebt, obwohl ein großer Teil der Plättchen noch nicht zertrümmert wird und ein kleiner Teil überhaupt keine morphologischen Veränderungen erkennen läßt.

Kürzlich hat Still auf frühere Untersuchungen von T o c a n t i n s hingewiesen und seine Befunde experimentell erweitert. Es wird konstatiert, daß dem funktionellen Verhalten nach zwei Sorten von Plättchen zu unterscheiden sind, die adhäsiven und die nicht adhäsiven Plättchen. Erstere haben die Tendenz, sich an eine Glaswand anzulegen oder auch miteinander zu agglutinieren, während die letzteren für sich isoliert bleiben. Nur die adhäsiven Plättchen sollen die Retraktion herbeiführen.

Die Agglutinationsfähigkeit der Plättchen ist angeblich nicht a priori vorhanden. A p i t z glaubte, daß die Voraussetzung dafür die Ausbildung eines Films von Profibrin an der Oberfläche der Plättchen sei, der sich beim Austritt geringer Thrombokinasemengen aus dem Zellinnern bildet. Diese dünne Schicht von Profibrin soll eine erhöhte Klebrigkeit der Plättchen hervorrufen. — In Zusammenarbeit mit B r a u n s t e i n e r konnte J ü r g e n s dem entgegenhalten, daß selbst bei einer starken Vergrößerung, die sogar Fibrinogenmoleküle sichtbar macht, kein Profibrin an der Oberfläche der Plättchen zu erkennen war. Auch konnte er an Hand der elektronenmikroskopischen Bilder zeigen, daß die Agglutination sogar in Gegenwart von stark gerinnungshemmenden Substanzen wie zum Beispiel Heparin eintritt. Auch B e r g s a g e l spricht sich gegen die Ansicht von A p i t z aus. Die Agglutination wäre demnach ein von der Fibrin-

bildung unabhängiger Vorgang, der auf einer Änderung der elektrischen Ladung (Cremer, Wright) oder einer Art von Opsonisation (Roskam) der Plättchen beruhen könnte.

Ob die nephelometrisch faßbare (Jürgens [1]) und temporär aufhebbare (Kotilainen und Wilska) Plättchenagglutination für die Retraktion große Bedeutung hat, ist eine andere Frage. Nach Savitzky und Werman hat sie Einfluß auf die Retraktionszeit, aber nicht auf das Serumquantum. Bei der von uns benutzten Methode tritt die Gerinnung ein, bevor eine nennenswerte Agglutination stattfinden kann und dabei ist die Retraktion optimal.

Es erhebt sich noch die Frage, ob die Plättchen im gesamten Verlauf der Retraktion ihre Tätigkeit entfalten, oder ob etwa ein Plasma, das während der Gerinnung Plättchen enthält und diese einmal in das Fibrinnetz eingebaut hat, sich nun unabhängig von dem weiteren Schicksal der Plättchen retrahiert. Es wurde daher versucht, eine in Gang befindliche Retraktion zu unterbrechen, und zwar durch eine Maßnahme, die vorwiegend die Plättchenfunktion ausschaltet. Als solche schien die Zerstörung der Plättchen durch Hypotonie des Milieus geeignet (vgl. oben). Ein kleines Coagulum wurde gleich nach Beginn der Retraktion in ein Gefäß mit aqua bidest. eingebracht. Es enthielt eine kleine Menge Erythrozyten und war deshalb schwach rötlich gefärbt. Zum Vergleich befand sich ein gleiches Gerinnsel in einem Gefäß mit physiol. Kochsalzlösung. Letzteres zeigte die bekannte normale Retraktion. Das andere entfärbte sich bald (Hämolyse der Erythrozyten) und behielt dann seine Größe bei. Da aqua bidest. in ungeronnenem Plasma die Plättchen zur Auflösung bringt, darf man annehmen, daß auch die im Gerinnsel befindlichen Plättchen (wie auch die Erythrozyten) zerstört werden. Die Retraktion dürfte also in ihrem gesamten Ablauf an die Anwesenheit der Thrombozyten gebunden sein.

Fassen wir die Ergebnisse dieses Abschnittes zusammen: Wie alle biologischen Vorgänge kann auch die Retraktion innerhalb bestimmter Grenzen durch Veränderung der Temperatur beschleunigt und verlangsamt werden. — Der Einfluß der H-Ionenkonzentration läßt daran denken, daß wir es mit einem biochemischen Prozeß zu tun haben, der die Vermutung an die Beteiligung eines Fermentes nahelegt. — Eine physiologische Salzkonzentration ist das optimale Milieu für die Retraktion. Das zeigt an, daß sie an die Funktion von Zellen gebunden ist, die ihre eigene osmotische Resistenz haben. — Es spricht also alles dafür, daß die Plättchen in der Retraktion die wichtigste Rolle spielen, da jede Beeinflussung dieser empfindlichen Zellen eine Veränderung der Retraktion nach sich zieht. Es besteht ja auch ein klares Abhängigkeitsverhältnis zwischen der Plättchenzahl und der Retraktion.

### Der Mechanismus der Retraktion

Wir können nach den makroskopisch zu erhebenden Befunden sagen, daß die Retraktion eine Schrumpfung des Fibringerüstes im Blutgerinnsel ist, die unter dem Einfluß der Thrombozyten vor sich geht. Es erhebt sich nun die Frage nach dem feineren Mechanismus der Retraktion. Welche Veränderungen gehen am Fibrin vor? Wie verhalten sich die Thrombozyten? Was ist die Ursache der Gerinnselschrumpfung? Woher stammt die Retraktionskraft?

Lampert (1, 2, 3) hat in ausgedehnten experimentellen Studien die Wirkung fester Körper auf die Blutgerinnung und die Retraktion untersucht. Er berücksichtigte dabei vorwiegend die Benetzbarkeit und die Oberflächenaktivität der Gefäße, in denen er die Blutgerinnung und die Retraktion ablaufen ließ. Er konnte feststellen, daß „stark benetzbare Körper die Blutgerinnung und die Serumabscheidung beschleunigen bzw. wesentlich vermehren, wenig benetzbare Körper die Gerinnung verzögern, die Serumabscheidung fast ganz aufheben und die Retraktion des Blutgerinnsels verhindern.“ In Bechern aus Bernstein, Kunstharz und Edelstahl

war die Menge sehr gering, in Glas und Quarz am größten. Weiter stellt L a m p e r t fest, daß in Gefäßen aus verschiedenen Substanzen die gleiche Serummenge gewonnen werden kann, wenn das Gerinnsel künstlich von der Wand gelöst wird. Die primäre Kraft für die Serumabsonderung ist demnach die Retraktion. Die Bedeutung der Wandbenetzbarkeit sieht L a m p e r t darin, daß z. B. Glas als „hydrophile Substanz“ aus den randständigen Maschen des Gerinnsels die Serumtröpfchen an sich zieht. „An der Glaswand werden sich mit der Zeit in den Randmaschen immer mehr Serumtropfen ansammeln, die schließlich unter Aufhebung der Klebkraft des Fibrins die Maschen sprengen und im Bunde mit der Retraktionskraft den Blutkuchen von der Wandung abtrennen.“

Nach L a m p e r t kommt also die Serumausscheidung durch zwei Kräfte zustande, die Retraktion des Fibringerinnsels als auspressende Kraft und die Oberflächenaktivität der Gefäßwand als die das Serum anziehende Kraft.

Die Hydrophilie von Glas und Quarz und anderen Stoffen mag eine Rolle spielen bei dem Phänomen der Synhärese organischer und anorganischer Gele, über das sich L a m p e r t an anderer Stelle äußert. In manchen Punkten besteht zweifellos eine gewisse Ähnlichkeit zwischen der Synhärese und der Retraktion. Daraus aber die Identität der beiden Vorgänge abzuleiten (L a m p e r t, H o w e l l), ist nicht ohne weiteres zulässig. Wesentliche Unterschiede zwischen den beiden Erscheinungen, auf die schon B u d t z - O l s e n hingewiesen hat, sind folgende: Die Retraktion läuft in drei Stunden ab, die Synhärese nimmt mehrere Tage in Anspruch. Bei der Retraktion wird fast die gesamte Flüssigkeitsmenge abgesondert, bei der Synhärese nur die Hälfte. Die Retraktion ist stark von der Temperatur abhängig, die Synhärese kaum. Die Retraktion nimmt rasch ab bei Abweichung vom pH-Optimum, die Synhärese bleibt sogar in 10%iger Salzsäure unverändert. Die Retraktion ist an die Anwesenheit intakter Zellen gebunden, also wahrscheinlich ein biologischer Vorgang, die Synhärese dagegen ist ein rein physikalisch-chemisches Phänomen. — Die Benetzbarkeit kann zur Erklärung der verschieden starken Wandhaftung der Gerinnsel dienen. Es erscheint aber nicht nötig, der Retraktion eine zweite „serumanziehende“ Kraft an die Seite zu stellen und damit die Serumabsonderung zu komplizieren. Bei Aufhebung der Wandhaftung war in L a m p e r t s eigenen Untersuchungen die Serummenge in allen Gefäßen gleich.

Einen anderen Erklärungsversuch für den Retraktionsmechanismus hat H o r a n y i unternommen: In Gegenwart von Plättchen werden die elastischen Fibrinfasern in gedehntem und verlängertem Zustand fixiert. Nachdem ihre Haftung an der starren Oberfläche beseitigt ist, kann die Retraktion stattfinden. Über die Entstehung des Dehnungs- und Spannungszustandes in den Fibrinfasern wird die Vorstellung geäußert, daß die Plättchen mitsamt den Fibrinfasern auf Grund ihrer Agglutinationstendenz und der Brownschen Bewegung in die äußeren glaswandnahen Bezirke wandern.

Gegen diese Hypothese sind verschiedene Einwände zu erheben. Wie bereits angeführt, ist das Fibrinnetz im frischen Gerinnsel noch relativ schlaff. Die Anspannung der Faser ist bereits das erste Stadium der Retraktion. Wie B a y e r l e, M a r x und H e l l zeigten, steigt die direkt gemessene Retraktionskraft im Verlauf der Retraktion an, wogegen eine a priori vorhandene elastische Spannung nach Beseitigung der Fixation kontinuierlich abnehmen würde. — Bei unserer Versuchsanordnung verkürzt sich das Gerinnsel auf weniger als  $\frac{1}{5}$  seiner ursprünglichen Länge. Unter Zugrundelegung der Vorstellung von H o r a n y i müßte man annehmen, daß die Fasern während der Gerinnung auf das Fünffache ihrer ursprünglichen Länge elastisch gedehnt werden. Damit dürfte aber die Dehnungsfähigkeit der Fibrinfaser wohl überschritten sein. — Wenn die Retraktion nichts weiter wäre als der Rückgang einer elastischen Spannung nach Aufhebung der entgegengesetzt wirkenden Fixationskräfte, so müßte man einen wesentlich rascheren Verlauf der Retraktion erwarten. Schwer verständlich wäre auch die Abhängigkeit der Retraktion von der Temperatur. — Die Hypothese H o r a n y i s über den Retraktionsmechanismus wird also einer Reihe von Tatsachen nicht gerecht. Insbesondere können wir uns ihm in der Annahme nicht anschließen, daß mit Ablauf der Gerinnung das retrahierende Agens seine Funktion bereits endgültig ausgeübt hat.

Die Retraktion wird von Ebb e c k e und Kn ü c h e l (1, 2) als Nachgerinnung bezeichnet. Der Ausdruck hat seinen Ursprung in fotometrischen Untersuchungen der Blutgerinnung. Die Plasmatrübung nimmt während der Gerinnung (nach Ablauf der Reaktionszeit) rasch zu. Es folgt ein Stadium von 12 bis 24 Stunden, in dem es zu einer sehr langsamen und geringen Nachdunklung des Gerinnsels kommt. Parallel dazu angestellte ultramikroskopische Untersuchungen ließen gleichzeitig eine geringe Verdichtung des Fibrinmaschenwerkes erkennen. Es wird daraufhin die Meinung vertreten, daß während der Hauptgerinnung nicht alles im Plasma vorhandene Fibrinogen in Fibrin umgewandelt wird, sondern Reste zurückbleiben, die erst in der sogenannten Nachgerinnungsphase denaturiert werden und die zusätzliche Trübung bewirken. Gestützt wird diese Vorstellung durch die Beobachtung, daß die Nachgerinnung umso geringer ist, je zeitiger und rascher die Hauptgerinnung abläuft. Die langsame Gerinnung ist weniger vollständig, hinterläßt mehr Fibrinogen und eine entsprechend deutlichere Nachtrübung des Gerinnsels. Da die Retraktion zeitlich in die Phase der „Nachgerinnung“ fällt, glaubte Ebb e c k e, „daß die Retraktion selbst noch ein, wenn auch stark verlangsamter, restlicher Gerinnungsvorgang, eine Nachgerinnung ist.“ — Die Thrombozyten wurden bei diesen Untersuchungen nicht berücksichtigt.

Diese Ansicht weicht insofern von der üblichen ab, als durch die Annahme der Nachgerinnung die vollständige Fibrinbildung als ein sehr lange Zeit beanspruchender Vorgang angesehen wird. Neuere Forschungen haben aber ergeben, daß die Thrombinbildung erst nach der Gerinnung ihren Höhepunkt erreicht und daß im Serum ein Überschuß von Thrombin enthalten ist. Damit wird das stundenlange Restieren eines Fibrinogenrückstandes sehr unwahrscheinlich. Für das Nachdunkeln des Plasmagerinnsels müßte eine andere Erklärung gefunden werden. Vielleicht ist sie bedingt durch „eine weitere Verdichtung der Fibrinmoleküle unter der Wirkung von Thrombin“ (J ü r g e n s [2]) oder durch Änderung der Querstreifung, die während der Retraktion auftreten soll (H a s c h é und S e e l i g e r).

Wohl die umfangreichste der neueren Studien über die Retraktion wurde 1951 von B u d t z - O l s e n publiziert und hier schon mehrfach zitiert. Er stellt sich die Retraktion folgendermaßen vor: Die Retraktion ist eine spezielle Funktion der Blutplättchen. In den frühen Stadien der Gerinnung erhalten die Plättchen den Anstoß zur viskösen Metamorphose. Dabei bilden sie lange Zytoplasmafäden oder Pseudopodien, vermittels deren sich die Plättchen oder die Plättchenagglutinate miteinander in Verbindung setzen. Diese Fäden kontrahieren sich später, wobei die Thrombozyten sich einander nähern. Das ihnen anhaftende Fibrinnetz wird passiv zusammengegrafft. — Diese Auffassung wird gestützt durch Beobachtungen aus der vergleichenden Gerinnungsphysiologie. Bei bestimmten niederen Lebewesen (*Limulus polyphämus*) geht die Gerinnung und die Retraktion in Abwesenheit von Fibrin vor sich und ist ausschließlich eine Funktion gewisser Blutzellen, die wahrscheinlich die Vorläufer unserer Thrombozyten sind (L o e b und H a r t m a n n).

Auf die Hypothese von der passiven Raffung des Fibrins durch die Thrombozyten unter Vermittlung von Pseudopodien werden wir noch zu sprechen kommen. Unsere eigenen Befunde lassen sich mit dieser Vorstellung schwer in Einklang bringen.

Mit einer neuartigen Methode hat H a r t e r t (3, 4, 5, 6, 7) das Phänomen der Retraktion untersucht. Die von ihm entwickelte Thrombelastographie (TEG) kann als bekannt vorausgesetzt werden, so daß einige besondere Hinweise genügen. Zunächst ist festzuhalten, daß im TEG bei der üblichen Arbeitsweise keine Verkleinerung des Gerinnsels, keine Serumabsonderung und damit auch keine Retraktion eintritt. Der Ausschlag des Instrumentes ist ein Maß für die elastische Festigkeit des Gerinnsels, die in gesicherter Anhängigkeit von der Zahl und Integrität der Plättchen steht. Da auch für die Retraktion die Plättchenfunktion ausschlaggebend ist, besteht eine weitgehende Parallelität zwischen der im TEG gemessenen Festigkeit und dem mit unserer Methode feststellbaren Retraktionsausmaß. Das gilt auch für die Geschwindigkeit des Ablaufs beider Reaktionen. Die Gerinnselverfestigung ist aber mit der Retraktion nicht identisch, sondern nur eine ihrer Begleiterscheinungen. Man erkennt im TEG die Retraktionskraft; die Serumabsonderung wird durch die Wandhaftung des Gerinnsels verhindert. — Ein praktischer Unterschied besteht z. B. darin, daß im TEG eines plättchenfreien Gerinnsels noch eine gewisse

Festigkeit gemessen wird (etwa  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{5}$  der Norm), während die Retraktion ohne Plättchen ganz ausbleibt. Weiter fiel uns auf, daß Thrombinzusatz zum Plasma im TEG zu einer ganz erheblichen Verminderung der Festigkeit, weit unter den bei plättchenfreien Gerinnseln gemessenen Wert führt, daß die Retraktion dagegen durch Thrombinzusatz keineswegs beeinträchtigt wird.

Nun hat Hartert einige Beobachtungen gemacht, mit denen er den Mechanismus der Retraktion erklärt:

1. Nach Überschreiten eines Maximum an Festigkeit tritt eine langsame, sich über viele Stunden hinziehende Erschlaffung des Gerinnsels auf.

2. Dieser Festigkeitsrückgang fehlt, wenn keine Plättchen vorhanden sind.

3. Zusatz von frischem Serum aus plättchenhaltigem Plasma (Serum A aus Plasma A) zu Plasma B (plättchenfreies Plasma) erniedrigt die an sich schon geringe Festigkeit des Gerinnsels. Dieser Effekt tritt bei Zusatz von frischem Serum aus plättchenfreiem Plasma (Serum B aus Plasma B) nicht ein. Wenn das Serum A eine Stunde alt ist, hat es seine Wirkung auf die Festigkeit des plättchenfreien Gerinnsels verloren.

Hartert zieht daraus den Schluß, daß von den Plättchen ein Stoff in das Serum abgegeben wird, der imstande ist Fibrin aufzuweichen, wenn er — wie in diesem Versuch — das Coagulum gleichmäßig durchsetzt. Dieser Stoff — Thromboglutin genannt — ist im Serum nicht lange haltbar. — Damit würden sich die unter 3. genannten Befunde erklären. Auch das Ausbleiben der „postmaximalen Erschlaffung“ im plättchenfreien Gerinnsel wäre verständlich. Eine Unstimmigkeit ergibt sich aber bei der erstgenannten Beobachtung: die Gerinnelser schlaffung zieht sich über viele Stunden hin, obwohl das „Thromboglutin“ schon in einer Stunde unwirksam wird. — Die normale Retraktion erklärt Hartert folgendermaßen: Das plättchenhaltige Gerinnsel, erweichte Fibrin wird an das Granulomer „attachiert“, woraus eine Verkürzung der Faser und damit eine Anspannung resultiert. Weiter entfernt von den Plättchenagglutinatinen liegende Fasern werden erst später von dem langsam diffundierenden Thromboglutin erreicht. Sie lagern sich aber nicht dem Granulomer an, da sie außerhalb seines „Attraktionsbereiches“ liegen. Sie erweichen nur und verlieren ihre Spannung. — Dieser Deutungsversuch befriedigt nicht ganz. Er enthält als neue Hypothese die Annahme eines Konzentrationsgefälles, das sich erst im Laufe vieler Stunden ausgleicht. Ein solches ist deshalb unwahrscheinlich, weil die kurzen Entfernungen zwischen den Plättchen durch Diffusion rasch überwunden werden können und im TEG zur Diffusion noch die Konvektion hinzukommt (rhythmische Rotationsbewegungen zwischen Küvette und Kolben), die ein Konzentrationsgefälle rasch beseitigen dürften.

Wir haben die oben angeführten Versuche und Beobachtungen nachgeprüft: Die „postmaximale Erschlaffung“ der plättchenhaltigen Gerinnsel ist nicht zu bezweifeln; ebensowenig das Ausbleiben der Erschlaffung bei plättchenfreien Gerinnseln. Man muß aber berücksichtigen, daß die Gerinnsel im TEG einer periodischen Belastung ausgesetzt werden, die umso größer ist, je stärker das Instrument ausschlägt. Die häufige künstliche Anspannung und Entlastung der Faser könnte auf die Dauer zu einem Dehnungsrückstand führen. — Bei Zusatz von frischem Serum A zu Plasma B fanden wir — wie Hartert — eine deutliche Erniedrigung der Gerinnselfestigkeit im TEG. Altes Serum A ließ diesen Effekt vermissen. Im Gegensatz zu Hartert fanden wir bei Zusatz von frischem Serum B ebenfalls eine Senkung der Festigkeit (Abb. 13), die nach Lagerung des Serums nicht mehr eintrat. Wir möchten daraufhin bezweifeln, daß die Festigkeitserniedrigung durch Serumzusatz auf einen spezifischen Stoff, der aus den Plättchen stammt, zurückgeführt werden muß. Da durch Zusatz von Serum nicht nur die Festigkeit in plättchenfreien Gerinnseln sinkt, sondern zugleich die Gerinnungszeit verkürzt wird, und beides nur so lange das Serum frisch ist, liegt die Vermutung nahe, daß es sich um einen Thrombineffekt handelt. Die gleiche Wirkung läßt sich durch Zusatz einer gereinigten Thrombinlösung erzielen. Bei stark beschleunigter Gerinnung entstehen sehr dünne und kurze Fibrinnadeln, die wahrscheinlich untereinander einen weniger festen Zusammenhang haben. — Endlich bleibt die Frage offen, was unter dem Attraktionsbestreben des Granulomers verstanden werden soll. Mit diesem neuen Begriff wird das Phänomen der von den Plättchen ausgehenden Retraktionskraft dem Verständnis nicht näher gebracht. Trotz dieser Bedenken, die wir

gegen die H a r t e r t s c h e Beweisführung vorbringen müssen, hat seine Vorstellung vom Wesen der Retraktion einen sehr wesentlichen Punkt mit unserer, auf anderem Wege gewonnenen Auffassung gemein (s. u.).

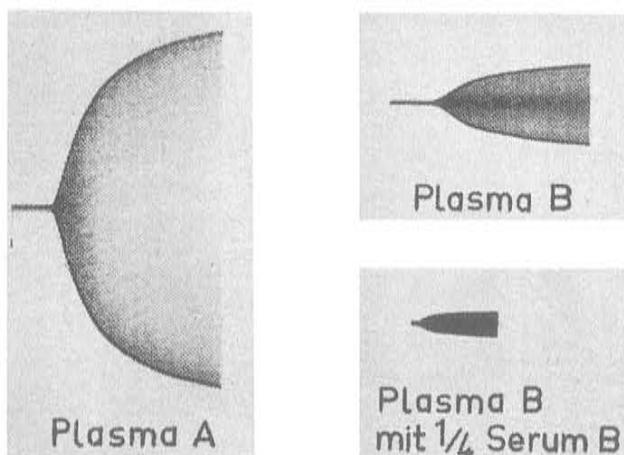


Abb. 13: Thromboelastogramm (nach H a r t e r t) von normalem (A) und plättchenfreiem (B) Plasma. Zusatz von Serum aus plättchenfreiem Plasma verkürzt die 1. Gerinnungsphase und setzt die „Gerinnungsfestigkeit“ herab.

Auf die zahlreichen anderen Hypothesen über den Mechanismus der Retraktion kann nicht in extenso eingegangen werden. Sie werden gelegentlich gestreift. An den genauer ausgeführten Beispielen läßt sich die Problemstellung ausreichend demonstrieren.

Wie T o c a n t i n s (1) zeigen konnte, ist die retraktionsauslösende Fähigkeit der Plättchen nicht artspezifisch. Plättchen vom Hund brachten plättchenfreies Kaninchenplasma zur Retraktion.

In vereinfachten Gerinnungssystemen (Fibrinogen, Plättchen und Thrombin) tritt nach H a r t e r t (8) — im Gegensatz zu Q u i c k und H u s s e y erst dann die Retraktion ein, wenn noch  $\frac{1}{10}$  Volumen Normalserum hinzugefügt wird. Ähnliche Befunde teilten F e i s s l y, S a v i t z k y und E l l i c o t t und C o n l e y mit. Letztere fanden den gleichen Effekt nach Zusatz von Rinderalbumin, Hühnereiweiß und Gummi arabicum, was H a r t e r t nicht bestätigen konnte. R e i n h a r d und R e i n h a r d und R i e s s fanden eine Hemmung der Retraktion durch Zusatz von Albumin und Globulinen, bei hoher Dosierung sogar eine Aufhebung der Retraktion. L ü s c h e r (1) glaubt an die Beteiligung plasmatischer Faktoren an der Retraktion. Nach M a g a l i n i und S t e f a n i n i soll ein durch Aceton und durch Äthyläther aus den Plättchen extrahierbarer Stoff (Retraktin) sogar ein plättchenfreies Gerinnsel aus gereinigtem Fibrinogen und Thrombin zur Retraktion bringen. Auch das in den Plättchen vorkommende Oxytryptamin (Serotonin) wird neuerdings im Zusammenhang mit der Retraktion diskutiert (Übersicht bei S i e g e n t h a l e r und H a r d i s t y).

Nach unseren oben geschilderten Beobachtungen, die sich auf makroskopisch erkennbare Vorgänge im zeitlichen Ablauf der Retraktion unter Variation äußerer Bedingungen und Abänderung der Gerinnselzusammensetzung erstreckten, kamen wir zu der Überzeugung, daß sowohl das Fibrin als auch die Plättchen an der Retraktion beteiligt sein müssen.

Sofern an Fibrin allein retraktionsähnliche Erscheinungen beobachtet worden sind (L a m p e r t), nehmen wir an, daß es sich um Entquellungs Vorgänge handelt, die bei der Retraktion

eine Rolle von untergeordneter Bedeutung spielen. Auch die Nachgerinnung im Sinne Ebbekes, die Nachtrübung des Plasmas nach der Gerinnung wäre hier einzuordnen. Beide Phänomene erstrecken sich über einen Zeitraum, der den der Retraktion um ein mehrfaches übertrifft und können nicht mit der Retraktion identifiziert werden, sondern nur als Teilsache oder als Begleiterscheinung aufgefaßt werden. Sie geben aber einen Hinweis darauf, daß nach der Gerinnung am Fibrin noch Veränderungen vor sich gehen und daß Fibrin für die Plättchen nicht ein in seiner Feinstruktur unwandelbares Gerüst darstellt. — Das Fibrin muß ein spezifisches, den Thrombozyten in besonderer Weise adäquates Substrat sein, welches auf die Einwirkung der Plättchen in bestimmter Weise reagiert. Über die Art dieser Reaktion läßt sich aussagen, daß Spannungen in den Fasern auftreten, die im Endeffekt zur Verkleinerung des Gerinnsels führen. Ob sich die Fasern dabei durch ein immanentes Kontraktionsvermögen (Querstreifung) verkürzen (Duke, Roskam), oder ob sie miteinander durch seitliche Anlagerung agglutinieren (Hawn und Porter), oder einem Erweichungsprozeß verfallen und sich unter Auflösung ihrer Feinstruktur in eine plastische Masse verwandeln (Hartert), oder ob eine Änderung der Ionenkonzentration eine Entquellung und Schrumpfung der Fibrinfasern bewirkt (Leschke), darüber gehen die Meinungen noch auseinander.

In den elektronenmikroskopischen Bildern von Wolpers und Ruska, Braunsteiner, Hawn und Porter u. a. lassen sich retraktionsbedingte Veränderungen am Fibrin nicht erkennen. Die Autoren haben sich mit der Retraktion auch nicht speziell befaßt. Neuerdings konnten Kuhke und Holze nachweisen, daß in retrahierten Gerinnseln noch Fasern mit der charakteristischen Querstreifung vorhanden sind.

Auf der anderen Seite schien es nicht angängig, in den Plättchen die alleinige Ursache der Retraktion zu sehen in der Art, daß sie das Fibrin lediglich zusammenraffen. Dazu müßte man voraussetzen, daß die Plättchen im Gerinnsel durch Aussendung von Pseudopodien untereinander Kontakt aufnehmen, gewissermaßen ein eigenes Netz im Fibringerüst bilden und dann aus einem schwer ersichtlichen Grund die Pseudopodien gegen den Widerstand des festeren Fibringerüsts wieder einziehen. Schon die Kontaktaufnahme verliert an Wahrscheinlichkeit, wenn man sich erinnert, daß eine zehnfache (auch zwanzigfache) Plasmaverdünnung, d. h. eine Vervielfachung des Plättchenabstandes nicht zu einer Beeinträchtigung der Retraktion führt. — Auch die Agglutinationstendenz der Plättchen kann nicht die alleinige Ursache der Retraktion sein. Sie besteht in einer besonderen Neigung zum Aneinanderhaften, einer vermehrten Klebrigkeit, wobei aber eine direkte Berührung vorauszusetzen ist. Zu diesem Kontakt kommt es zufällig, wenn die Plättchen durch die Molekularbewegung der sie suspendierenden Flüssigkeit zusammenstoßen. Im Coagulum aber haften die Plättchen am Fibrin; die Molekularbewegungen sistieren mit der Gerinnung und die Plättchen können nur dann agglutinieren, wenn sie aus anderen Gründen in gegenseitigen Kontakt gebracht werden.

*Mikroskopische Befunde:* Einen weiteren Einblick in das Wesen der Retraktion erhofften wir uns von mikroskopischen Untersuchungen. Wir beobachteten zunächst im Dunkelfeld und mit der Phasenkontrastoptik das Verhalten der Plättchen im Zitratplasma und fanden die bekannten, von Fonio u. a. ausführlich beschriebenen Veränderungen, die auftreten, wenn sich die Plättchen an einer Glasfläche festsetzen (visköse Metamorphose). Unter den mannigfaltigsten Gestalten breiten sie sich unter der Wirkung von Oberflächenkräften (Ferguson) zu dünnen Scheibchen aus, wobei man hauptsächlich zwei Typen, einen rundlichen und einen sternförmigen unterscheiden kann. Vielfach liegen sie in Gruppen zusammen, wobei es scheint, als ob die Plättchen durch Fortsätze oder direkten Kontakt der Ränder eine Verbindung miteinander eingehen (Abb. 14). Es kann sich aber auch um zufällige Überlagerungen handeln, ohne daß es dabei zu einer wirklichen Verschmelzung kommt. Das weitere Schicksal dieser an der Glaswand ausgebreiteten Zellen ist aus einer Serie von Aufnahmen ersichtlich, die in Abständen von je 15 Minuten die gleiche Zellgruppe zeigt (Abb. 15). Im Gegensatz zu den frei im Plasma schwimmenden Zellen, die nach vielen Stunden keine sichtbaren Veränderungen aufweisen, machen sich bei diesen adhäsiven Zellen typische Zerfallserscheinungen bemerkbar. Der größte Teil der Zelleiber löst sich in kleinere kugelige Gebilde auf. Dabei ist ersichtlich, daß die einzelnen

Zellen des Agglutinates ihre Individualität bewahrt haben und nicht zu einem einheitlichen Gebilde verschmolzen sind. Die Auflösung geht nämlich stufenweise vor sich, indem die einzelnen Zellen nacheinander zerfallen. — Die Ursache der viskösen Metamorphose ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen geworden, auf die hier nicht eingegangen werden soll. Es kann auf die Publikationen von L ü s c h e r (2, 3) und von B e r g s a g e l verwiesen werden.

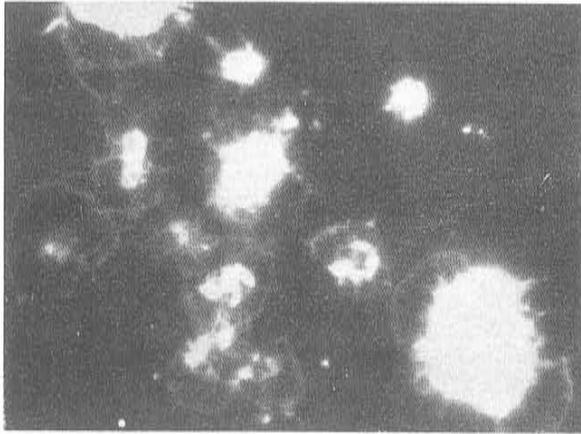


Abb. 14: Am Deckglas ausgebreitete Plättchen. Dunkelfeld, 1600fach

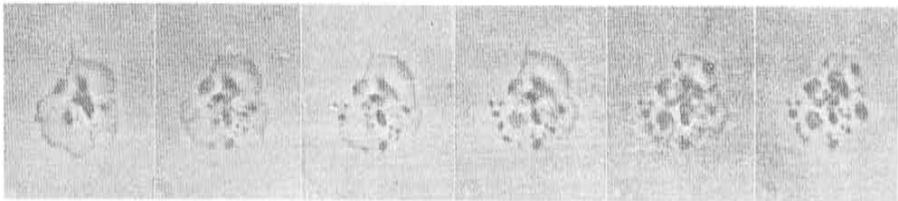


Abb. 15: Plättchengruppe (Agglutinat?), deren Einzelzellen nacheinander zerfallen. Phasenkontrast, 1000fach

Mit dem Elektronenmikroskop ließ sich die Plättchenauflösung nicht darstellen. Die kugeligen Zellrümpfer haften nicht mehr am Objektträger fest und werden daher bei der Präparation fortgespült. Die Darstellung der ausgebreiteten Plättchen dagegen ist besonders eindrucksvoll (Wolpers und Ruska, Sauthoff, Braunsteiner), obwohl eine weitere Differenzierung der Plättchenstruktur auch hier kaum möglich ist. Es läßt sich das zentrale Granulomer von dem peripheren Hyalomer unterscheiden, welches zur Aussendung einer Art von Pseudopodien neigt. Das Einziehen dieser Fortsätze ist noch nicht überzeugend dargestellt worden.

Die Fibrinfasern erscheinen im Lichtmikroskop als mehr oder weniger lange und dünne, nadelartige Gebilde, die in Form eines dreidimensionalen Netzwerkes angeordnet sind. Besondere Struktureigentümlichkeiten sind an den einzelnen Fasern nicht erkennbar. Nur die Dimensionen sind erheblich verschieden. Auf die Abhängigkeit der Faserdicke von der Gerinnungsgeschwindigkeit haben bereits Stübel, Fuchs und Ebbecke und Knüchel (1) aufmerksam gemacht. —

Die Feinstruktur des Fibrins wurde elektronenmikroskopisch u. a. von H a w n und P o r t e r untersucht. Beachtlich ist, daß eine verschiedene Faserstärke auch durch Änderung des pH der Fibrinogenlösung erreicht werden kann. Auch eine Querstreifung der Fasern wurde elektronenmikroskopisch nachgewiesen, die vermutlich durch eine besondere Anordnung der Moleküle entsteht. Die Autoren schreiben den Fasern eine besondere Neigung zur Bündelbildung zu und sehen darin eine Teilursache der Retraktion. Sie fanden solche Faserbündel aber in Gerinnseln aus gereinigtem Rinderfibrinogen und Thrombin, die keine Plättchen enthielten und daher nicht retraktile waren. Dennoch kann die Agglutinationsneigung bzw. die Klebrigkeit des Fibrins die Retraktion unterstützen und die Irreversibilität der Gerinnselschrumpfung erklären.

Die Entstehung eines Gerinnsels läßt sich im Dunkelfeld gut beobachten. In plättchenfreiem Plasma treten plötzlich nadelförmige Gebilde auf, die sich bald zu einem Netz verdichten. Das Netz breitet sich allmählich über das ganze Präparat hin aus und hat wegen der ungleichmäßigen Dichte im ganzen eine wolkige Struktur. Vereinzelt im Plasma verbliebene Plättchen sind oft von besonders zahlreichen Fasern umgeben, die vorwiegend radiär verlaufen (Gerinnungszentren). Andere Plättchen bilden keine solchen Knotenpunkte im Fibrin, sondern liegen an gradlinig verlaufenden Fasern und sind offenbar an diese sekundär angelagert. Wie seit S c h i m m e l b u s c h bekannt ist, besteht nämlich eine große Affinität der Plättchen zum Fibrin, die sich durch eine besondere Versuchsanordnung demonstrieren läßt:

Aus rekalkifiziertem plättchenfreiem Plasma haben wir ein dünnschichtiges Deckglaspräparat angefertigt. Nach Ausbildung des Fibrinnetzes wird ein Tropfen einer Plättchensuspension (nach H i t z i g) an den Rand des Deckglases gebracht. Das Einfließen der Plättchen in das Fibringerüst kann gut verfolgt werden. Wenn Plättchen mit Fibrinfasern zusammentreffen, so haften sie meist beim ersten oder zweiten Mal schon fest. Die Folge ist, daß nach kurzer Zeit die am Deckglasrand gelegenen Fasern dicht mit Plättchen bedeckt sind (Abb. 16). Oft finden sich sehr große Zellanhäufungen. Das weitere Verhalten dieser sekundär angelagerten Plättchen entspricht denen im Gerinnungszentrum. Sie zerfallen in kugelförmige hyaline Gebilde, die isoliert in der Nähe ihres Entstehungsortes liegen bleiben.

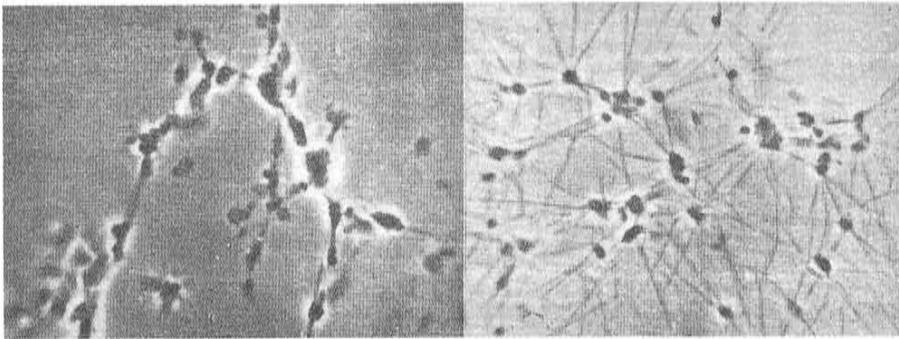


Abb. 16

Abb. 17

Abb. 16: An präformierte Fibrinfasern angelagerte Plättchen (z. T. bereits zerfallen)  
Abb. 17: Zwischen Plättchen ausgespannte Fibrinfasern (im Nativpräparat seltener Befund). Phasenkontrast, 1000fach

Plättchenhaltige Gerinnsel haben wir viele Stunden lang im Deckglaspräparat beobachtet in der Erwartung, Veränderungen der Fasern im Sinne einer Ausrichtung auf die Plättchen oder eine gegenseitige Annäherung der Plättchen und Plättchenagglutinate, Verkürzung oder Verdickung von Fasern oder Schrumpfung von Plättchen zu Gesicht zu bekommen. Wir konnten

an den Gerinnseln keinerlei Veränderungen beobachten, die einen Hinweis auf die Ursache der Retraktion gegeben hätten. Das ausgebildete Fibrinnetz verändert sich im Deckglaspräparat nicht mehr. Die Schicht ist wohl zu dünn und die Haftfläche im Vergleich zu dem geringen Quantum zu groß, als daß in solchen Präparaten eine Retraktion zustande kommen könnte. Jedenfalls sind bisher alle unsere Versuche fehlgeschlagen, die darauf ausgingen, den Vorgang direkt mikroskopisch zu beobachten. Wenn man nach der Gerinnung das Deckglas ein wenig gegen den Objektträger verschiebt und dadurch stellenweise das Gerinnsel künstlich von der Glasfläche löst, kann man anschließend gröbere Einrisse im Fibrinnetz finden und auch einzelne, offensichtlich nicht mehr fixierte Fasern. Aber irgendwelche Bewegungsvorgänge, die der Retraktion entsprechen könnten sind dabei nicht festzustellen. Ausgeschnittene Gerinnselstücke, die sich unter dem Mikroskop noch sichtlich verkleinerten, waren schon zu dick, um an ihnen einzelne Fasern zu erkennen und daher für den Retraktionsmechanismus nicht weiter aufschlußreich. — Von ähnlichen Mißerfolgen berichtet Budtz-Olsen. — Und doch sahen wir Bilder (Abb. 17), die nicht anders zu deuten sind als durch Annahme von Spannungen, die in den Fibrinfasern zwischen benachbarten Plättchengruppen auftreten.

Es war nun naheliegend zu versuchen, durch Anfertigung fixierter, geschnittener und gefärbter Präparate von Gerinnseln in verschiedenen Stadien der Retraktion, also gewissermaßen durch Momentbilder weiteren Aufschluß zu bekommen (Benthaus und Grünberg). Derartige Untersuchungen haben auch Budtz-Olsen und Horanyi unternommen, ohne durch ihre Abbildungen die Richtigkeit ihrer Vorstellung vom Mechanismus der Retraktion überzeugend belegen zu können.

Unserer Retraktionsmethode entsprechend haben wir Gerinnsel untersucht, die stark verdünnt waren und sich während der Retraktion auf einen kleinen Bruchteil ihres Volumens zusammenzogen. Unter diesen Umständen mußten auch die histologischen Veränderungen besonders deutlich werden. Sodann haben wir dem Gerinnungsansatz Thrombokinasen zugesetzt, um die Gerinnung zu beschleunigen. Dadurch wurde das Fibrin feinfasrig gestaltet und eine nennenswerte Agglutination der Plättchen vor der Gerinnung vermieden. Die Plättchen können daher nicht wie Gerinnungszentren im Fibrinnetz liegen. Eine Ausrichtung der Fasern war also von vornherein nicht vorhanden und hätte nur als Ausdruck der Retraktion auftreten können. Ein Nachteil der Verdünnung ist zweifellos die größere Empfindlichkeit der zarten Gerinnsel gegen mechanische Insulte bei der Aufbereitung (vertikaler Druck in spezifisch leichteren und schwereren Lösungen, Zusammenschiebung der Fasern beim Schneiden). Auch sonst mußte mit dem Auftreten von Kunstprodukten gerechnet werden. Während der Fixation schrumpfen die Coagula, und zwar um so stärker je lockerer sie sind. Das Fibrin wird denaturiert und das Netzwerk, das wir in Nativpräparaten als recht homogen in seinem Aufbau zu sehen gewohnt sind, verliert seine Ordnung. Die Plättchenabwandlung ist in fixierten Präparaten nicht erkennbar. Freie kugelige Abschnürungen sahen wir in fixierten Schnittpräparaten nicht. — Bei Anwendung verschiedener histologischer Methoden kann man aber Kunstprodukte ausschließen und Veränderungen erkennen, die mit größter Wahrscheinlichkeit durch Retraktion hervorgerufen werden.

#### Herstellung der abgebildeten Präparate:

Zur Verbesserung der Aufbereitungsmöglichkeit mit der histologischen Technik wurden kleinere Gerinnsel in Gläsern von 8 mm Durchmesser hergestellt, wobei das Mischungsverhältnis vom Plasma (0,5 ccm), Kalziumchlorid (0,25 ccm) und Kochsalzlösung (ad 5,0 ccm) das gleiche war wie bei der von uns angegebenen Methode zur Messung der Retraktion. Auch der Zusatz von Thromboplastin wurde beibehalten. Von 4 gleichzeitig angesetzten Proben wurde die erste sofort nach der Gerinnung in Formalin fixiert, die zweite im Augenblick der eben erkennbaren Retraktion, die dritte im Stadium der fortgeschrittenen und die vierte der beendeten Retraktion. Nach Wässerung wurden die Objekte über 75% und 96% Alkohol, Methylbenzozol und Benzol in Paraffin eingebettet, geschnitten (5  $\mu$ ) und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Gute Übersicht erhielten wir auch durch Azanfärbung, während die Silberimprägnation keine neuen Befunde ergaben.

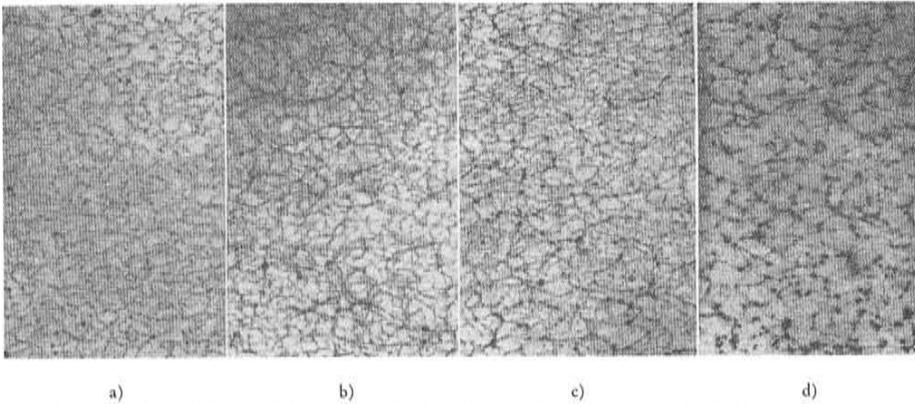


Abb. 18: Mit histologischer Technik aufgearbeitete Plasmagerinnsel. a) vor der Retraktion; b) kurz nach Beginn der Retraktion; c) bei fortgeschrittener und d) nach beendeter Retraktion. Aufnahmevergrößerung 100fach (Leica, kopiert auf  $9 \times 12$ )

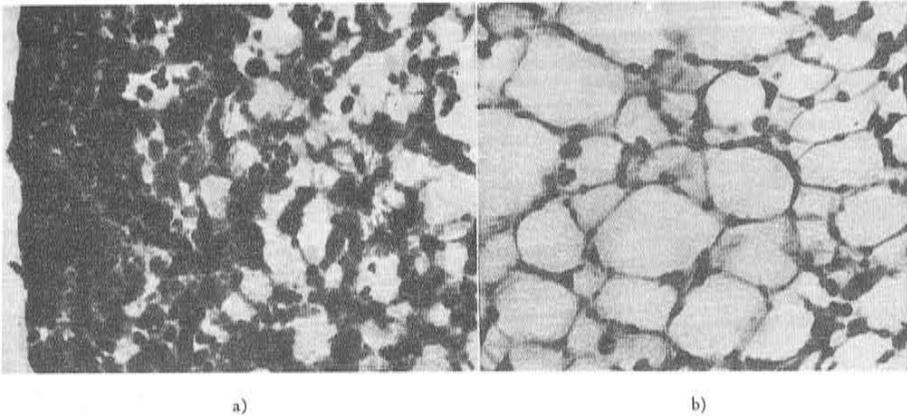


Abb. 19: Dichte der Plättchen und Plättchengruppen im Randgebiet (a) und in der Mitte (b) des retrahierten Gerinnsels. 400fach; Paraffinschnitt  $5\mu$ , H.-E.-Färbung

Die Präparate lassen bereits makroskopisch die bekannte Gerinnselschrumpfung erkennen. — Bei schwacher Vergrößerung (Abb. 18) sieht man eine Wandlung der Gerinnselstruktur. In dem zunächst fast homogenen Bild bemerkt man mit zunehmender Deutlichkeit ein größeres Netz, das aus Strängen und Knoten gebildet ist. — Stärker vergrößert (Abb. 19) erweisen sich die Knoten als Anhäufung von Thrombozyten zu kleinen und größeren Gruppen, die durch Brücken untereinander verbunden sind. In den Zwischenräumen findet sich noch Fibrin in der ursprünglichen Faserdicke. An den Rändern des Präparates ist die Massierung der Thrombozyten besonders stark. Im Innern des Coagulums finden wir eine weitmaschige, wabige Struktur. Hier sind die Plättchen zum Teil kettenförmig aneinander gereiht. — Bei Anwendung der Öl-immersion (Abb. 20) erscheinen die Thrombozyten als rundliche, intensiv gefärbte Gebilde, die häufig einen größeren Durchmesser als die Erythrozyten haben, die noch vereinzelt im Plasma zurückgeblieben sind. Nur wenige Plättchen sind so klein wie vor der Retraktion. An den

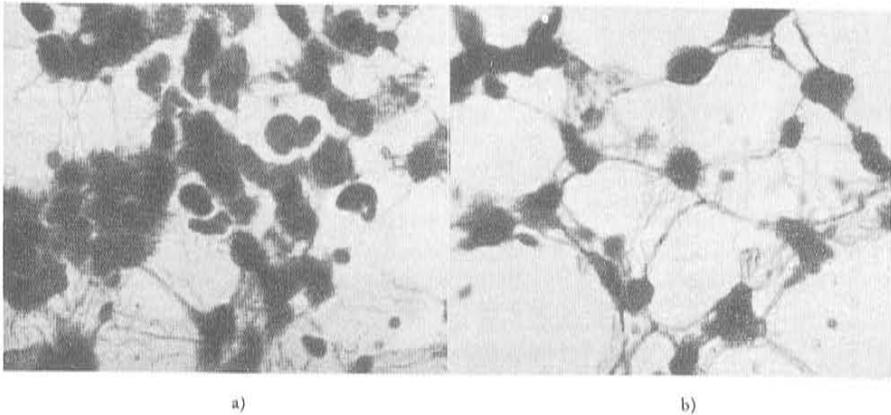


Abb. 20: Ausschnitt aus dem Randgebiet (a) und aus der Mitte (b) des retrahierten Gerinnsels. 1000fach, Azanfärbung. Die scharfrandigen Gebilde sind Erythrozyten.

größeren Gebilden unterscheidet man einen rötlich tingierten inneren Anteil von einer bläulichen Außenschicht (bei Azanfärbung). Den blauen Farbton haben auch die Verbindungsstränge zwischen den Plättchengruppen. Sie scheinen mit einem breiteren Anfangsteil aus den Plättchen hervorzugehen, um dann gradlinig zu einer benachbarten Gruppe hinzuziehen. Diese Stränge sind in ihrem mittleren Anteil offenbar verschieden dick und dürften Fibrinfasern oder Faserbündeln entsprechen. Es fiel immer wieder auf, daß trotz der hochgradigen Zusammendrängung der Plättchen in retrahierten Gerinnseln die Dichte der Fibrinfasern nicht entsprechend zugenommen hat. — Die zunächst ungeordneten Fasern lassen nach der Retraktion eine radiäre Ausrichtung auf die Plättchen und die Plättchengruppen deutlich erkennen. Man gewinnt den Eindruck, daß die Retraktionskraft von vielen kleinen Zentren ausgeht, die man in Parallele zu den Gerinnungszentren als „Retraktionszentren“ bezeichnen könnte.

Es sind vor allem zwei Befunde, die wir heranziehen wollen, um eine Vorstellung vom Mechanismus der Retraktion zu gewinnen.

1. Der Plättchendurchmesser wird im Verlauf der Retraktion größer.
2. Die Masse des faserförmigen Fibrins nimmt ab.

Diese beiden Erscheinungen lassen sich nicht als Kunstprodukte erklären. Sie entwickeln sich kontinuierlich, wie sich aus den verschiedenen fixierten Stufen der Retraktion ergibt.

Ad 1. Wir haben in den verschiedenen Präparaten den mittleren Plättchendurchmesser mit dem Okularmikrometer bestimmt und eine kontinuierliche Vergrößerung von 3,4 auf 6,3  $\mu$  feststellen können. Wir glauben nicht, daß die Vergrößerung durch Wasseraufnahme bedingt ist, weil die Färbung zugleich intensiver wird. Es dürfte sich vielmehr um einen wirklichen Zuwachs an färbaren Substanzen handeln. In den größeren Gruppen lassen sich die einzelnen Plättchen noch von einander abgrenzen, weil sie einen dichteren zentralen Teil haben. Die Zwischenräume sind von einer weniger dichten Masse angefüllt, die eine z. T. körnige, z. T. streifige Struktur hat. Diese Substanz scheint in der Hauptsache die Größenzunahme der einzelnen Thrombozyten auszumachen. Wir glauben, daß es sich hierbei um eine Auflagerung handelt, die nicht den Plättchen entstammt.

Ad 2. Die Verminderung des faserförmigen Fibrins könnte durch Bündelung der einzelnen Fasern vorgetäuscht werden. Sicherlich werden die klebrigen Fasern bei Berührung zusammenhaften und Stränge bilden, deren einzelne Elemente optisch nicht mehr zu trennen sind. Aber

wenn man bedenkt, daß sich während der Retraktion das Gerinnsel auf wenige Prozent seines ursprünglichen Volumens verkleinert — man beachte, wie dicht die Plättchen zusammengerückt sind —, so müßte das Fibrin auf diesem engen Raum trotz Bündelung viel dichter liegen als es in unseren Präparaten der Fall ist. Und gerade an den Stellen stärkster Plättchenmassierung ist am wenigsten von Fibrinfasern zu erkennen. — Der gradlinige Verlauf der Fibrinbrücken zwischen den Retraktionszentren ist obligat. In technisch einwandfreien Präparaten sahen wir nie aufgerollte oder verknäulte Fasern, die man bei passiver Raffung des Fibrins (Tocantins, Lüscher [2]) erwarten sollte.

*Deutung der Befunde:* Um die Größenzunahme der Plättchen und die Verminderung des strukturierten Fibrins miteinander in Einklang zu bringen, wollen wir die Hypothese aufstellen, daß die Schicht, die sich den Plättchen während der Retraktion auflagert, aus Fibrin besteht, das seine Faserstruktur verloren hat. Die Ursache für die Fibrinumwandlung ist in den Plättchen zu suchen, da die beschriebenen Veränderungen im plättchenfreien Plasma nicht auftreten. — Welcher Art diese Umwandlung ist und durch welche Plättchenfunktion sie hervorgerufen wird, läßt sich nicht genauer sagen. Die Annahme einer Umwandlung des Fibrins in eine weniger feste und verformbare Masse (Hartert) ist auch nach unseren Befunden naheliegend. Die Mitwirkung eines Plättchenfermentes ist nicht unwahrscheinlich. Man muß aber zugeben, daß ein solches Ferment bisher weder in Plättchenextrakten noch im Serum nachgewiesen worden ist. Es scheint vielmehr — seine Existenz vorausgesetzt — an die „Vitalität“ bzw. „Integrität“ der Plättchen gebunden zu sein und nur bei direktem Kontakt zwischen Plättchen und Fibrin wirksam zu werden. Vielleicht ist der Vorgang auch viel komplizierter als die bekannten fermentativen Prozesse. Den Begriff der fibrinerweichenden Plättchenfunktion wollen wir aber als begründete Hypothese festhalten, um zu einem Verständnis der Retraktion zu kommen. Mit der Fibrinerweichung erklärt sich noch nicht die Verkleinerung des Gerinnsels und die Serumabsonderung. Dazu bedarf es einer Kraft, die das veränderte Fibrin so an die Plättchen fixiert, daß eine Spannung im Gerinnsel auftritt. Auch dieser Retraktionskraft kann ein komplizierter „vitaler“ Vorgang zu Grunde liegen. Hier scheint uns jedoch eine einfachere, auf dem bekannten physikalischen Phänomen der Oberflächenspannung fußende Erklärung möglich zu sein: Nehmen wir als Modellbeispiel 2 Öltropfen, die auf einer Wasseroberfläche schwimmen. Die an der Grenze Öl-Wasser entstehende, zentripetal gerichtete Kraft bewirkt die runde Form der Tropfen. Wenn die Tropfen sich berühren, konfluieren sie und der neu entstehende Tropfen nimmt wieder Kreisform an, um so schneller je größer die Oberflächenspannung ist. — Im Gerinnsel würde dem Wasser das Serum entsprechen, den beiden Öltropfen die Fibrinfaser und der Thrombozyt. Die beiden letzteren sind zunächst verschieden fest. Die Faser ist entgegen der Oberflächenkraft lang gestreckt infolge ihres festeren Feinbaues; der Thrombozyt ist mehr kugelig, wie alle in Wasser schwimmenden Protoplasten. Verliert nun die Fibrinfaser ihre Festigkeit — wie wir annehmen

—, so könnte ein aus ihr entstehendes Gel eine ähnliche Viskosität und Oberflächenspannung haben wie der Thrombozyt und beide könnten dann ähnlich den Öltropfen im Modell konfluieren, da die Voraussetzung der Berührung gegeben ist.

Wir könnten uns dann den Retraktionsvorgang folgendermaßen vorstellen: Die Umwandlung einer Fibrinfaser erfolgt zunächst an der Kontaktstelle mit einem Thrombozyten. Hier wird ein bestimmtes Quantum Fibrin eingeschmolzen, das nun mit dem Thrombozyten zu konfluieren bestrebt ist. Dabei gerät die Faser unter eine Spannung, die durch die Oberflächenkräfte an der Grenze Serum-Retraktionszentrum hervorgerufen wird. Wenn dieser Spannung nachgegeben werden kann, kommt der Zusammenfluß zustande, die Faser verkürzt sich um den eingeschmolzenen Teil und ein etwa benachbartes Zentrum, das mit dem ersten durch die Fibrinfaser in Verbindung steht, wird diesem näherrücken, um so mehr als sich der gleiche Vorgang an beiden Zentren abspielt. Der Thrombozyt nimmt entsprechend an Masse zu. Nach dem Konflux geraten andere Teile der Faser in Kontakt mit den Zentren und der Prozeß schreitet kontinuierlich fort bis zum vollständigen Verschwinden der Faser und zur Aneinanderlagerung der Zentren. Voraussetzung ist dabei, daß eines der Zentren frei beweglich ist. Ist das nicht der Fall, so bleibt die Verkürzung der Faser minimal und es entsteht eine Zugkraft, die so groß ist wie die Oberflächenspannung an den Zentren. Die Tendenz zum Konfluieren erkennt man dann an den ausgezogenen Spitzen am Rande der Zentren, da wo die Fasern ansetzen. — So klein die Oberflächenkraft an einem Retraktionszentrum auch sein mag, sie wird hunderttausendfach in jedem Kubikmillimeter des Gerinnsels wirksam und die Summe könnte durchaus die von Bayerle, Marx und Hell direkt gemessene Retraktionskraft ausmachen.

In kurzer Formulierung gesagt, sehen wir das Wesen der Retraktion in einer Umwandlung des Fibrins durch die Thrombozyten, welche ein Konfluieren von Fibrin und Plättchen auf Grund von Oberflächenkräften ermöglicht.

Wir glauben weder, daß dem Fibrin eine eigene Kontraktilität zukommt (Duke, Roskam), noch daß es rein passiv durch ein Thrombozytennetz gerafft wird (Budtz-Olsen). Auch die Annahme einer Kontraktion des bei der viskösen Metamorphose freiwerdenden Plättchenmaterials (Lüscher [4]) erscheint uns nicht ausreichend zur Erklärung der beschriebenen mikroskopischen Befunde. Vielmehr können wir im Prinzip der Ansicht Harterts (8) zustimmen, die ebenfalls eine Abwandlung des Fibrins durch die Thrombozyten zur Grundlage hat. Das von ihm kürzlich angegebene Schema der Retraktion läßt sich mit unseren histologischen Befunden gut in Einklang bringen. Bedenken gegen den Nachweis des Thromboglutins und seinen Übertritt in das Serum haben wir bereits geltend gemacht. Daß die Fibrinumwandlung letzten

Endes auf einem Plättchenferment beruht, halten auch wir für wahrscheinlich. Ob man es aber Retraktozym (Glanzm ann), Zytozym (Taszkam), Retraktin (Magalini) oder Thromboglutin (Hartert) nennt, ändert nichts daran, daß es sich vorläufig noch um eine hypothetische Substanz handelt.

### Zusammenfassung

Nach kritischer Betrachtung der bekannten Methoden zur Bestimmung der Retraktion des Blutgerinnsels wird die für die vorliegenden Untersuchungen angewandte Arbeitsweise geschildert. Sie eignet sich zur quantitativen Messung des bei der Retraktion abgesonderten Serums. — Der Ablauf der Retraktion als Bewegungsvorgang läßt sich mit dieser Methode genauer darstellen. — Die Gerinnungsfaktoren (Thrombokinase, Kalzium, Thrombin, Heparin) haben nach beendigter Fibrinbildung keinen Einfluß mehr auf die Retraktion. — Der Einfluß von Temperatur, osmotischem Druck und Wasserstoffionenkonzentration wird nachgeprüft. — Ausreichende Zahl und Funktionstüchtigkeit der Plättchen sind die unbedingte Voraussetzung für eine normale Retraktion. — Einige ausgewählte Theorien über das Wesen der Retraktion werden besprochen. — Untersuchungen mit histologischer Technik führen zu einer Vorstellung vom Mechanismus der Retraktion: Konsistenzveränderung des Fibrins durch die Einwirkung der Plättchen ermöglicht das Konfluieren des Fibrins mit der Plättchen-substanz.

### Summary

The known methods for determination of clot retraction are compared to the technics presented in this study. This method measures the quantity of serum liberated during the process of retraction and will follow the retraction as a progressive phenomenon. The clotting factors (thromboplastin, calcium, thrombin and heparin) do no longer influence the retraction once the fibrin formation is completed. The influence of temperature, osmotic pressure and Hydrogen concentration is investigated. An adequate number and functional value of platelets are prerequisites for a normal retraction. Several hypotheses of the mechanism of clot retraction are discussed. Investigations with histological technics lead to a concept of the retraction mechanism a change in consistency of the fibrin under influence of platelets allow the fibrin-fibrils to confluence with platelet material.

### Résumé

Les méthodes décrites pour la détermination de la rétraction du caillot sont comparées à la technique utilisée dans cette étude. Cette technique mesure la quantité de sérum libérée lors de la rétraction et permet de suivre la rétraction comme un phénomène progressif. Les facteurs de la coagulation (thrombokinasé, calcium, thrombine et héparine) n'ont plus d'influence sur la rétraction après la fin de la fibrinofornation. L'influence de la température, de la pression osmotique et de la concentration en ions hydrogènes est étudiée. Un nombre normal et la valeur fonctionnelle des plaquettes sont les prémisses pour une rétraction normale. Quelques hypothèses concernant le mécanisme de la rétraction sont discutées. Des expériences avec des techniques histologiques mènent à un schéma du mécanisme de la rétraction: un changement de consistance de la fibrine sous l'influence des plaquettes permet aux fibres de fibrine de confluer avec la substance plaquettaire.

### Literatur

- Ackroyd, F. J.: A simple method of estimating clot retraction with a survey of normal values and the changes that occur with menstruation. *Clin. Sci.* 7: 231 (1949).
- Aggeler, P. M., Lucia, S. P. and Hamlin, L. M.: Blood clot retraction I. Measurement of the extracorporeal volume of the clot. *J. Lab. clin. Med.* 28: 89 (1942).
- van Allen, C. H.: Studies in blood coagulation. *J. exp. Med.* 45: 69, 87 (1927).
- Apitz, K.: Pathologische Physiologie der Blutgerinnung. *Kolloidzshr.* 85: 196 (1938).
- Astbury, W. T.: X-rays and the stoichiometry of the proteins. *Advanc. Enzymol.* 3: 63 (1943).
- Aynaud, M.: Sur la rôle des cels dans la rétraction du caillot. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* 75: 385 (1913).
- Bayerle, H., Marx, R. und Hell, H.: Über eine neue Methode zur Messung der Retraktion geronnenen Blutes. *Klin. Wschr.* 237 (1949).
- Benkö, A. und Lichtneckert, I.: Messung der Retraktion des Blutcoagulums. *Wien. klin. Wschr.* 61: 428 (1949).
- Bennewitz, A.: Über den Einfluß der H-Ionenkonzentration auf die Retraktion. *Diss. Bonn* (1955).
- Benthaus, J. (1): Eine Methode zur Bestimmung der Retraktion des Blutgerinnsels. *Ärztl. Wschr.* 8: 619 (1953).
- Benthaus, J. (2): Über den Einfluß der Gerinnungsfaktoren auf die Retraktion. *Verh. dtsh. Ges. inn. Med.* 63: 695 (1957).
- Benthaus, J. und Grünberg, H.: Histologische Untersuchungen über die Retraktion. *Thromb. Diath. haem.* 2: 140 (1958).
- Bergsagel, D. E.: Viscous metamorphosis of platelets: morphological platelet changes induced by an intermediate product of blood thromboplastin formation. *Brit. J. Haematol.* 2: 120 (1956).
- Bizzozero, J.: Über einen neuen Formbestandteil des Blutes und dessen Rolle bei der Thrombose und der Blutgerinnung. *Virchows Arch. path. Anat.* 90: 261 (1882).

- Braunsteiner, H., Fellingner, K. und Pakesch, F.: Elektronenmikroskopische Beobachtung der Blutplättchen bei Thrombasthenie. *Klin. Wschr.* 21 (1953).
- Braunsteiner, H.: Thrombopathie und Thrombasthenie. Urban & Schwarzenberg. Wien (1955).
- Bucher, U.: Messung und Bewertung der Retraktion des Blutgerinnsels. *Praxis* 45: 405 (1956).
- Budtz-Olsen, O. E.: Clot retraction. Blackwell scientific publications. Oxford (1951).
- Bürker, K.: Blutplättchen und Blutgerinnung. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 102: 36 (1904).
- Cremer, H. D.: Über das elektrische Potential der Thrombozyten. *Biochem. Z.* 281: 345 (1935).
- Czonitzer, G. und Weber, St.: Eine neue Methode zur Bestimmung der Retraktibilität des Blutkuchens. *Z. klin. Med.* 115: 604 (1931).
- Deutsch, E.: Die Blutgerinnungsfaktoren. Deuticke, Wien (1955).
- Deutsch, E. und Martiny, K.: The Influence of Serotonin on Clot Retraction and the Thrombelastogram. *Thromb. Diath. haem.* 2: 111 (1958).
- Duke, W. W.: The Pathogenesis of purpura hemorrhagica with especial reference to the part played by platelets. *Arch. intern. Med.* 10: 445 (1912).
- Ebbecke, U.: Über die Gerinnung eines Kieselsäuregels im Vergleich zur Plasmagerinnung. *Biochem. Z.* 304: 165 (1939).
- Ebbecke, U. und Knüchel, F. (1): Photometrische Untersuchung der Blutgerinnung. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 243: 59 (1939).
- Ebbecke, U. und Knüchel, F. (2): Über die Struktur des Fibringerüsts bei der Gerinnung. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 243: 54 (1939).
- Ebbecke, U. und Zipf, H.: Über Blutgerinnung unter dem Einfluß der Kompression. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 242: 255 (1939).
- Ellicott, E. Ch. and Conley, C. L.: Retraction of clots formed from purified fibrinogen. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* 88: 321 (1951).
- Feissly, R.: La coagulation du sang. *Rev. méd. Suisse rom.* 75: 370 (1955).
- Ferguson, J. H.: Observations on the alterations of blood platelets as a factor in coagulation of the blood. *Amer. J. Physiol.* 108: 670 (1934).
- Fonio, A. (1): Über die Einwirkung quantitativer und qualitativer Schädigung auf die Funktion der Thrombozyten in bezug auf die Retraktion des Blutgerinnsels bzw. des Thrombus. *Bull. schweiz. Akad. med. Wiss.* 6: 115 (1950).
- Fonio, A. (2): Eine neue Methode zur Kontrolle der Wirkung von Antikoagulantien in vivo und in vitro. *Schweiz. med. Wschr.* 80: 1095 (1950).
- Fonio, A. (3): Neuere Untersuchungen über die Physiologie der Thrombozyten. *Proc. 3rd Congr. Intern. Soc. of Hemat.* 1950, p. 523.
- Fonio, A. (4): Weitere Ergebnisse über das funktionelle Verhalten der isolierten Strukturelemente der Thrombozyten, des Granulomers und des Hyalomers. *C. R. du 3. Congrès Soc. intern. Eur. d'Hémat.* 803 (1951).
- Fonio, A. (5): Über das funktionelle Verhalten der isolierten Strukturelemente der Thrombozyten, des Hyalomers und des Granulomers. *Acta haemat. (Basel)* 6: 207 (1951).
- Fonio, A. (6): Über das funktionelle Verhalten der Thrombozyten beim Gerinnungsvorgang. *Die Medizinische* 1 (1952).
- Fonio, A. (7): Über die Wirkung des Hyalomers der Thrombozyten auf den Retraktionsvorgang. *Acta haemat. (Basel)* 8: 363 (1952).
- Fonio, A. (8): Über die dritte Phase der Blutgerinnung und über die Funktion der Strukturelemente der Thrombozyten. *Ergeb. inn. Med. u. Kinderheilk. N.F.* 4: 1 (1953).
- Fonio, A. (9): Über die Messung der Retraktionsvalenz des Fibringerinnsels. *Schweiz. med. Wschr.* 84: 372 (1954).
- Fonio, A. (10): Über die Retraktionsvalenz des Fibringerinnsels und über eine neue Methode zu ihrer Bestimmung. *Acta haemat. (Basel)* 11: 251 (1954).

- Frank, E.: Die essentielle Thrombopenie. Berl. klin. Wschr. 52: 454 (1915).
- Fuchs, H. J.: Über die Ursache der Zusammenziehung des Blutkuchens. Z. ges. exp. Med. 79: 76 (1931).
- Giacomazzi, G.: La retrazione del coagulo e un nuovo metodo di misurazione. Haematologica 39: 387 (1955).
- Glanzmann, E.: Die hereditäre hämorrhagische Thrombasthenie. Jb. Kinderheilk. 88: 1, 113 (1918).
- Gleiss, J.: Die Messung der Retraktion des Blutkuchens bei der Blutgerinnung. Ärztl. Wschr. 2: 868 (1947).
- Gross, R. und Matis, P.: Die Retraktion des Blutkuchens und ihre Störungen. Z. klin. Med. 150: 13 (1952).
- Gross, R. und Staufenberg, E.: Die Erhaltung der Thrombozyten mit ihren Funktionen in Blutkonserven und deren Eignung für Thrombozytenersatz. Klin. Wschr. 34: 142 (1956).
- Hardisty, R. M. and Stacey, R. S.: 5-Hydroxytryptamine in normal human platelets. J. Physiol. (Lond.) 130: 711 (1955).
- Hartert, H. (1): Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. Klin. Wschr. 26: 577 (1948).
- Hartert, H. (2): Über einen strukturbildenden Faktor in den Thrombozyten. Klin. Wschr. 27: 789 (1949).
- Hartert, H. (3): Thrombelastographische Untersuchungen zur Retraktion. Klin. Wschr. 28: 78 (1950).
- Hartert, H. (4): Klinische Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie. I. Physiologische und methodische Grundlagen der TEG. Dtsch. Arch. klin. Med. 199: 284 (1952).
- Hartert, H. (5): Klinische Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie. II. Die Thrombozytopathien. Dtsch. Arch. klin. Med. 199: 293 (1952).
- Hartert, H. (6): Klinische Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie. III. Plasmatische Gerinnungsdefekte. IV. Vaskuläre hämorrhagische Diathesen. Dtsch. Arch. klin. Med. 199: 402, 414 (1952).
- Hartert, H. (7): Ein Retraktions-Co-Faktor im Serum. Klin. Wschr. 32: 139 (1954).
- Hartert, H. (8): Intern. Symposion über „Hämorrhagische Diathesen“. Springer, Wien (1955).
- Hartmann, R. C. and Conley, C. L.: Clot retraction as a measure of platelet function. I. Effects of certain experimental conditions on platelets in vitro. Bull. Johns Hopk. Hosp. 93: 355 (1953).
- Hasché, E. und Seeliger, R.: Elektronenmikroskopische Befunde bei der Blutgerinnung. Ärztl. Forsch. 10: I/267; 11: I/127 (1956).
- Haubrich, R. (1): Über die Retraktion bei der Blutgerinnung unter Druck. Pflügers Arch. ges. Physiol. 243: 39 (1940).
- Haubrich, R. (2): Über die Retraktion des Blutkuchens im Paraffin- und Glasgefäß. Pflügers Arch. ges. Physiol. 244: 439 (1941).
- Hawn, C., v. Zandt and Porter, K. R.: The fine structure of clot formed from purified bovine fibrinogen and thrombin. A study with the electron microscope. J. exp. Med. 86: 284 (1947).
- Hayem, G.: Du caillot non rétractile. C. R. Acad. Sci. (Paris) 123: 894 (1896).
- Hirschboeck, J. S.: The effect of operation and illness on clot retraction. Description of a new method. J. Labor. clin. Med. 33: 347 (1948).
- Hitzig, W. H.: Neue Methode zur Thrombozytenisolierung. Schweiz. med. Wschr. 84: 1126 (1954).
- Horányi, M.: Studies on the retraction of the blood clot. Acta med. scand. 140: 140 (1951).
- Horányi, M. and Zadóry, E.: Studies on resistance of thrombocytes. Act. med. Hung. 3: 221 (1952).
- Howell, W. H.: Structure of the fibrin gel and theories of gel formation. Amer. J. Physiol. 40: 526 (1916).
- Jepsen, A.: Klinische Untersuchungen über Thrombozyten. Z. klin. Med. 122: 680 (1932).

- Jürgens, R. (1): Experimentelles und klinisches zur Pathogenese der hämorrhagischen Diathesen. Dtsch. med. Wschr. 75: 1727 (1950).
- Jürgens, R. (2): Die Blutplättchen und ihre Bedeutung für Blutungsneigung und Thrombusbildung. Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 58: 492 (1952).
- Jürgens, R. und Braunsteiner, H.: Zur Pathogenese der Thrombose. Schweiz. med. Wschr. 80: 1388 (1950).
- Jürgens, R. und Studer, A.: Zur Wirkung des Thrombins. Helv. physiol. pharmacol. Acta 6: 130 (1948).
- Koller, F. und Pedrazzini, A.: Über die Gefahr unkontrollierter Dicumaroltherapie. Schweiz. med. Wschr. 77: 911 (1947).
- Kotilainen, M. and Wilska, A.: Observations on living thrombocytes under the anoptral contrast microscope. Ann. Med. Biol. Fenn. 33: 76 (1955).
- Kuhnke, E. und Holze, J.: Die elektronenoptische Querstreifung des retrahierten Fibrins. Klin. Wschr. 35: 983 (1957).
- Lampert, H. (1): Die physikalische Seite des Gerinnungsproblems. Leipzig (1931).
- Lampert, H. (2): Die Physik der Blutgerinnung. Kolloidzshr. 60: 3 (1932).
- Lampert, H. (3): Blutserumausscheidung und Synhärese (Modellversuche). Z. ges. exper. Med. 82: 172 (1932).
- Lampert, H. und Ott, A.: Blutserumausscheidung und Synhärese. Z. ges. exp. Med. 94: 309 (1934).
- Leschke, E. und Wittkower, E.: Die Werlhofsche Blutfleckenkrankheit. Z. klin. Med. 102: 649 (1926).
- Le Sourd, L. et Pagniez, Ph. (1): La rétraction du caillot sanguin et les haematoblastes. J. Physiol. Path. gén. 9: 579 (1907).
- Le Sourd, L. et Pagniez, Ph. (2): Nouvelles recherches sur la rôle des plaquettes dans la rétraction du caillot sanguin. C. R. Soc. Biol. (Paris) 65: 400 (1908).
- Le Sourd, L. et Pagniez, Ph. (3): La rétraction du caillot sanguin et les plaquettes. J. Physiol. Path. gén. 15: 812 (1913).
- Loeb, L.: Über die Blutgerinnung bei Wirbellosen. Biochem. Z. 24: 478 (1910).
- Löhner, L.: Über das spezifische Gewicht der Leukozyten und Thrombozyten. Pflügers Arch. ges. Physiol. 242: 509 (1939).
- Lundsteen, E.: On clot retraction of blood. Acta med. scand. 112: 302 (1942).
- Lüscher, E. F. (1): Intern. Symposion über Hämorrhagische Diathesen. Springer, Wien (1955).
- Lüscher, E. F. (2): Die physiologische Bedeutung der Thrombozyten. Schweiz. med. Wschr. 86: 345 (1956).
- Lüscher, E. F. (3): Viscous Metamorphosis of Blood Platelets and Clot Retraction. Vox Sanguinis 1: 133 (1956).
- Lüscher, E. F. (4): Glukose als Cofaktor bei der Retraktion des Blutgerinnsels. Experientia (Basel) 8: 294 (1956).
- Macfarlane, R. G. (1): A simple method for measuring clot retraction. Lancet I: 199 (1939).
- Macfarlane, R. G. (2): The normal haemostatic mechanism and its failure in the hemorrhagic states. Diss. London 1938, zit. bei Budtz-Olsen.
- Mackuth, E.: Über die Nachphase der Blutgerinnung. Dtsch. Z. Chir. 241: 619 (1933).
- Magalini, S. J. und Stefanini, M.: Clot-Retraction Promoting Factor (Retractin) in Platelets and Tissues. Science 123: 796 (1956).
- Marber, R. und Winterstein, A.: Neuere Auffassung über den Mechanismus der Blutgerinnung. Experientia (Basel) 10: 273 (1954).
- Matis, P.: Eine Methode zur Bestimmung der Retraktionszeit. Dtsch. med. Wschr. 74: 618 (1949).
- Matis, P. und Gross, R. (1): Methodisches und Statistisches über die Retraktionszeit beim Gesunden und ihre Beziehung zur Thrombozytenzahl und Gerinnungszeit. Med. Welt 20: 492 (1951).

- Matis, P. und Gross, R. (2): Über die tagesperiodischen Schwankungen der Thrombozyten und ihren Einfluß auf die Retraktivität des Blutkuchens. Schweiz. med. Wschr. 81: 1043 (1951).
- McKhan, C. F. and Edsall, J. T.: Characteristics of blood clot formation; significance in pediatric practice. Penn. med. J. 42: 731 (1939).
- Mills, C. A.: The role of the platelets in blood clotting. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 24: 707 (1927).
- De Nicola, P.: Die Differentialdiagnose der Gerinnungsstörungen. Ergebn. inn. Med. Kinderheilk. N. F. 6: 1 (1955).
- Opitz, H. und Schober, W.: Klinische und experimentelle Studien über die Bedeutung der Blutplättchen für die Retraktivität des Blutkuchens. Jb. Kinderheilk. 103: 189 (1923).
- Opitz, H. und Matzdorf, M.: Eine Fehlerquelle bei der Bestimmung der Retraktivität des Blutkuchens. Dtsch. med. Wschr. 47: 504 (1921).
- Pedrazzini, A. und Salvidio, E.: Die Fermente der menschlichen Thrombozyten und ihre wahrscheinliche Bedeutung im Mechanismus der Blutstillung (Hämostase). Schweiz. med. Wschr. 88: 1097 (1956).
- Quick, A. J.: Congenital hypoprothrombinemia. Lancet II: 379 (1947).
- Quick, A. J., Shanberge, I. N. and Stefanini, M.: The role of platelets in the coagulation of blood. Amer. J. med. Sci. 217: 198 (1949).
- Quick, A. J. and Hussey, C. V.: The mechanism of clot retraction. Science 112: 558 (1950).
- Reinhardt, F.: Über die Beeinflussung der Retraktivität des Blutkuchens durch Eiweißstoffe. Wien. klin. Wschr. 66: 685 (1954).
- Reinhardt, F. und Riess, H.: Über die Beeinflussung der Thrombuselastizität durch Proteine. Wien. klin. Wschr. 67: 977 (1955).
- Roskam, J.: La synérèse des caillots fibrineux ne résulte pas d'une "fonction retractante" des globulins. C. R. Soc. Biol. (Paris) 95: 1122 (1926).
- Roskam, H. und Hugues, J.: Notwendigkeit einer synergistischen Behandlung bei Thromboembolie und verschiedenen Blutungen. Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 58: 547 (1952).
- Sanbar, S. H.: Die Überlebensdauer der Thrombozyten. Diss. Bonn 1957.
- Sauthoff, R.: Zur Frage der Thrombopathien. Med. Mschr. 557 (1952).
- Savitzky, J. Ph. and Werman, R.: Platelet adhesiveness and clot retraction time. Amer. J. clin. Path. 22: 1175 (1952).
- Savitzky, J. Ph.: A plasma factor for platelet adhesiveness and clot retraction acceleration. Blood 8: 1091 (1953).
- Seegers, W. H.: A theoretical consideration of the blood clotting mechanism in haemophilia. Schweiz. med. Wschr. 84: 781 (1954).
- Siegenthaler, W.: Zur Behandlung der thrombozytopenischen hämorrhagischen Diathesen mit 5-Oxytryptamin (Serotonin). Schweiz. med. Wschr. 86: 1443 (1956).
- Schimmelbusch, C.: Die Blutplättchen und die Blutgerinnung. Virchows Arch. path. Anat. 101: 201 (1885); 103: 39 (1886).
- Schneider, G.: Untersuchungen über die Abhängigkeit der 3. Phase der Blutgerinnung. Diss. Bonn (1955).
- Schultze, H. E. und Schwick, S.: Über biologisch und chemisch gebildetes Thrombin. Z. ges. exp. Med. 118: 453 (1952).
- Still, B.: Experiments on plasma clot contraction. Blood 7: 808 (1952).
- Studer, A. und Winterstein, A.: Bestimmung des Heparins auf gerinnungsphysiologischem Wege. Helv. physiol. pharmacol. Acta 9: 6 (1951).
- Strübel, H.: Ultramikroskopische Studien über Blutgerinnung und Thrombozyten. Pflügers Arch. ges. Physiol. 156: 361 (1914).
- Taszkan, R.: Über den Blutgerinnungsmechanismus in neuer Untersuchungsmethode. Z. ges. exp. Med. 101: 659 (1937).

- Tezner, O.: Der Einfluß verschiedener Salze auf die Retraktion des Blutgerinnsels. Z. ges. exp. Med. 64: 462 (1929).
- Tocantins, L. M. (1): Platelets and the spontaneous syneresis of blood clots. Amer. J. Physiol. 110: 278 (1934).
- Tocantins, L. M. (2): Med. Clin. North. Amer. 130: 1361 (1946).
- Werner, H.: Die Spontanretraktion des Blutkuchens. Dtsch. Arch. klin. Med. 190: 391 (1942).
- Wolf, W.: Zur Frage der Blutungsneigung bei der Hämophilie. Münch. med. Wschr. 1281 (1950).
- Wolpers, C. und Ruska, H.: Strukturuntersuchungen zur Blutgerinnung. Klin. Wschr. 18: 1077, 1111 (1939).
- Wright, J. H.: Zit. bei Jürgens: Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 58: 492 ff (1952).
- Zahn, F. W.: Die Messung der Retraktion bei der Blutgerinnung. Ann. paediat. (Basel) 163: 328 (1944).

(Anschrift des Verf.: Chefarzt d. Inn. Abt. d. Vinzent Pallotti-Hospitals, Bensberg bei Köln.)