

Der Nachweis der frühen lokalen Vitalreaktion durch Kombination morphologischer Untersuchungsmethoden*

Ekkehardt Böhm

Abteilung Rechtsmedizin der Medizinischen Fakultät, Lochnerstr. 4–20, D-5100 Aachen, Bundesrepublik Deutschland

Demonstration of Early Local Vital Reactions by Combination of Morphological Investigation Methods

Summary. In extension of earlier Scanning Electron Microscopical findings on local vital reaction, we initially tried conventional microscopic histology. By standard staining methods – generally used in demonstrating fibrins (Ladew IG, PTAH, PAS etc.) fresh fibrinous mashing was hardly demonstrable. Tryptophan reaction as per Adams brought positive results. By modifying Scanning Electron Microscopic preparation techniques, the surface transverse striation could be shown.

For dissolution of the complex morphological structural patterns on the wound surface, Transmission Electron Microscopy was used.

Identification of fibrinous filaments was done by their interior transverse striation. Mashing of shaped structure components of the blood in vital and post mortal injuries should be more closely analyzed. Advantages and disadvantages of Scanning and Transmission Electron Microscopic techniques are discussed in view of forensic problems and a tentative judgement passed.

Key words: Vital reactions, demonstration of fibrin – Fibrin filaments, identification – Scanning electron microscopy, demonstration of fibrin.

Zusammenfassung. In Erweiterung früherer rasterelektronenmikroskopischer Untersuchungsbefunde zur Frage der lokalen Vitalreaktion wurde zunächst versucht, die konventionelle Histologie heranzuziehen. Mit den bekannten, zur Fibrindarstellung benutzten Färbungen (z. B. Ladewig, PTAH, PAS u. a.) waren die frischen Fibrinnetze meist nicht darstellbar. Die Tryptophanreaktion nach Adams lieferte

* Herrn Prof. Dr. med. G. Dotzauer zum 65. Geburtstag gewidmet. Herrn Prof. Dr. med. W. Kühnel, Vorstand der Abt. Anatomie der RWTH Aachen sei an dieser Stelle für seine Unterstützung bei der Durchführung der elektronenmikroskopischen Untersuchungen herzlichst gedankt. Die Ergebnisse der vorliegenden Publikation wurden auszugsweise auf der Tagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin in Graz 1977 vorgetragen

positive Befunde. Durch Modifikation der rasterelektronenmikroskopischen Präparationstechnik konnte die Oberflächenquerstreifung der Fibrinfasern sichtbar gemacht werden. Zur Auflösung der komplexen morphologischen Strukturmuster auf der Wundfläche wurde die Durchstrahlungselektronenmikroskopie angewendet.

Eine Identifizierung der Fibrinfasern konnte durch ihre Innenquerstreifung erfolgen und die Vermaschung der geformten Strukturkomponenten des Blutes an vitalen und postmortalen Verletzungen einer genaueren Analyse unterzogen werden. Die Vor- und Nachteile raster- und durchstrahlungselektronenmikroskopischer Untersuchungstechnik werden unter Berücksichtigung der forensischen Problematik diskutiert. Es erfolgt eine vorläufige Wertung der forensischen Bedeutung.

Schlüsselwörter: Vitale Reaktionen, Fibrindarstellung — Fibrinfasern, Identifizierung — Rasterelektronenmikroskopie, Fibrindarstellung.

In mehreren Publikationen hatten wir (Böhm und Tschomakov, 1972/73) die rasterelektronenmikroskopische Strukturanalyse der Wundoberfläche zur Bestimmung der frühen lokalen Vitalreaktion angegeben.

Durch spätere Untersuchungen (Thilo und Böhm, 1973; Böhm, 1974/75) konnten die primären Befunde erweitert und ergänzt werden. Vor allem die Fibrinstrukturen vitaler Gerinnsel erschienen uns von wesentlicher differentialdiagnostischer Bedeutung. Die Wertung histologischer Fibrinbefunde (Mueller, 1964; Laiho, 1967) wird durch die mit anderer Untersuchungstechnik gewonnenen Informationen zunächst nicht berührt.

Durch Untersuchungen haemostatisch abgeschiedenen thrombozytären Materials in Wundrandgefäßen lieferte Laiho (1975) einen weiteren Beitrag zu der forensisch außerordentlich bedeutsamen Problematik der frühen lokalen Vitalreaktion. Die durch lichtmikroskopische Technik gewonnenen Ergebnisse regten uns zu weiteren eigenen Versuchen an. Die Intention ging dahin, durch Modifikation der Präparationstechnik und Kombination mit licht- und durchstrahlungselektronenmikroskopischer Technik neue Befunde, eine bessere Interpretation und zusätzliche forensische Absicherung bisheriger Ergebnisse zu erzielen.

Unabhängig von den eigenen bisher erhobenen morphologischen Befunden konnten wir aus der einschlägigen Literatur zum Haemostaseproblem folgende uns wesentlich erscheinende Gesichtspunkte herausarbeiten, die für eine prinzipielle Differenzierbarkeit vitaler und postmortalen Gerinnsel sprechen:

1. Hoher Energieumsatz der Thrombozyten, Abhängigkeit der Fibrinretraktion von der Energielieferung, Einleitung des Retraktionsvorganges synchron zum Gerinnungsablauf (Frühphase der viskösen Metamorphose der Thrombozyten). Hohe ATP-Konzentration „vitaler“ Thrombozyten ($8-12\mu\text{mol}/10^{11}$ Thrombozyten), fast vollständiger „ATP-Verbrauch“ während Aggregation und Retraktion.

2. Funktionelle „Minderwertigkeit“ und „Spontanaggregation“ bei struktureller Normabweichung der Thrombozyten post mortem (Lasch, 1963/64; Harms, 1971).

3. Autokatalytische Beschleunigung der Thrombozytenaggregation durch ADP-Freisetzung bei der Aggregation, kompetitive Hemmung der ADP-induzierten Thrombozytenaggregation durch ATP, AMP und Adenosin (Born, 1966).

4. Variabilität der Grobstruktur der Fibrinnetze bei unterschiedlicher Wasserstoff-

ionenkonzentration des Mediums (Ferri und Morrisson, 1947; zitiert nach Sandritter und Beneke, Beneke, 1963).

5. Variabilität der Fibrinquerstreifung in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration (Willy, 1964) und der Thrombinkonzentration des Mediums (Hall, 1949).

6. Abhängigkeit der bei der Haemostase gebildeten Gerinnselstrukturen von der Haemodynamik (Haemorrheologie) der Gefäße der Wundrandzone (Apitz, 1942, Zucker, 1946), Nachweis vitaler Thrombozytenthromben durch Laiho (1975).

7. Einbeziehung von Thrombozytenthromben nach intravitaler (initialer) Verschleppung (Haemodynamische Momente), Einbau verschleppter Teilgerinnsel in das Gesamtgerinnsel.

8. Postmortale Änderung der Zelloberflächenpotentiale und der Suspensionsstabilität geformter und ungeformter Blutbestandteile.

9. Wundflächenadhärenz vital entstandener Gerinnsel.

10. Unterschiedliche Lysierbarkeit vitaler und postmortaler Gerinnsel (Laiho, 1967).

Die bisherigen eigenen rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen haben folgende Befunde zur Differenzierung vitaler und postmortaler Gerinnselstrukturen erbracht:

A. Extravaskulär. Enges, feines, d. h. dichtes geflechtartig vermaschtes Netzwerk mit gebündelten, zu dichten Strängen und übergeordneten kabelartig strukturierten, stellenweise flächenhaft erscheinenden (filmartigen) Fibrintapeten. In den zuletzt aufgeführten, teilweise plattenförmigen bzw. flächenhaften Strukturen Einschluß thrombozytärer Strukturelemente. Ausgeprägt bogige bis arkadenartige Netzbildung, besonderes Hervortreten der Lateralassoziation (Seite-zu-Seite-Verbindung), ausgeprägte Quervernetzung der Einzelfasern (zu unterscheiden von der durch einfache Überlagerung in verschiedener Richtung orientierter Fasern – besonders bei ungeeigneter Präparationstechnik beobachtet – im Sinne einer „Pseudovernetzung“), scheinbare Doppelschichtstruktur im Verlauf des Wundflächenabschlusses, d. h. lockere Oberflächenstruktur (uncharakteristisch) der zuletzt gebildeten „Deckschichten“. „Tiefe“ Lage der spezifischen Wundflächenstrukturen gegen Ende der haemostatischen Reaktion im Gegensatz zum sogenannten „Sekundenphänomen“. Geringe Störanfälligkeit gegenüber der Applikation von Thrombozytenaggregationshemmern (z. B. Acetylsalizylsäure) im Gegensatz zu erheblichen Hemmungen durch Antikoagulantien vom Dikumaroltyp, Störanfälligkeit auch gegenüber extremer Hypoxie, Asphyxie und Acidose. Ausgeprägte Adhärenz der Strukturen an der Wundfläche.

B. Intravaskulär. Deutliches Hervortreten von Thrombozytenaggregaten auf der Endotheloberfläche, Verankerung der Fibrinnetze auf der Endotheloberfläche in der Nachbarschaft mechanischer Gefäßläsionen, Verlauf bogenförmiger Netzstrukturen von Wundrand zu Wundrand in brückenartiger Formation, Ausbuchtung der Netze in Blutstromrichtung, Auftreten kabelartiger Fibrinfaserbündel vielfach parallel zueinander und in Blutstromrichtung ausgerichtet (Längsachse der Gefäße), zentripetale Ausbreitung der Thrombozyten- und Fibrinbesetzung der Endotheloberfläche vom Ort der primären Traumatisierung aus unter Ausbildung von Thrombozytenrasen, waben-, napf- und muldenförmigen Randstrukturen, Ausbildung eines typischen „weißen Abscheidungsthrombus“ mit entsprechend ausgeprägter Wandadhärenz. Übrige Kriterien wie oben beschrieben.

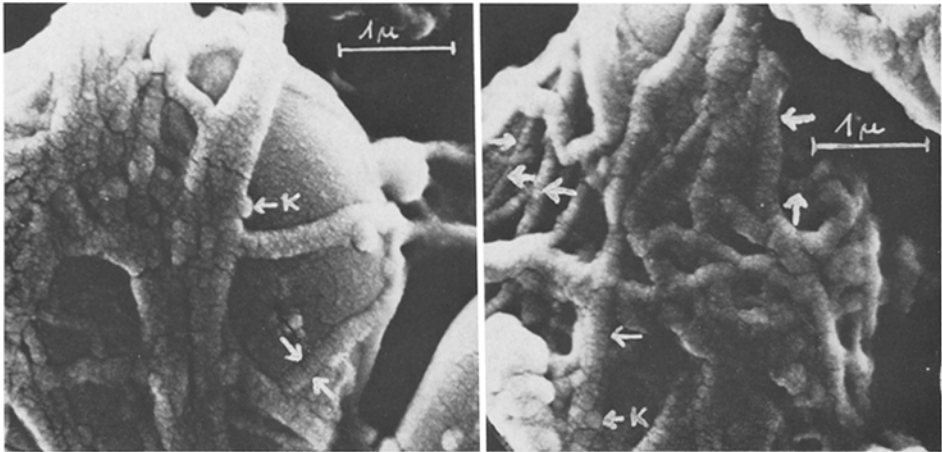


Abb. 1. *Frühe lokale Vitalreaktion:* 5-Minuten-Präparat (Flachschnitte an Rattenleber) Fibrinfaserbündel in enger, netzartiger Vermaschung über gefesselten Erythrozyten, Querstreifung der Einzelfasern durch Pfeile markiert. Neben einem sehr feinen körnigen Material und den faserartigen Strukturen knotenförmige Auftreibungen (K)

Neue rasterelektronenmikroskopische Befunde zur Gerinnselstruktur¹

Erste Ansatzpunkte für eine Darstellung der Reliefquerstreifung (Substanznachweis des Fibrins) der Fibrinfasern lieferten frühere Untersuchungen, bei denen eine Ausspülung der Fasersysteme mit Ringerlösung durchgeführt wurde. In neuen Experimenten gelang die Darstellung der Faseroberfläche durch Spülung mit saurer Pufferlösung (Phosphatpuffer pH = 5,8) vor der ebenfalls in gleicher Pufferlösung erfolgten Fixierung. Neben der Querstreifung der Fasern war auch eine sehr feinkörnige Unterteilung entsprechend der Periodizität im Sinne körnchenartiger Teilstrukturen in unseren Präparaten zu erkennen. Außerdem fanden sich knötchenförmige bis granuläre, ein Mehrfaches der 230-Ångström-Periode große, Faseroberflächen bildende Strukturen (Abb. 1).

Nach längerer (mehrere Minuten) Exposition der Wundfläche zur Haemostase bildet sich bekanntlich eine dichte Fibrintapete. Hierbei können letzte Blutreste an der Oberfläche des Wundschorfs gerinnen, es finden sich teilweise rasterelektronenmikroskopisch nur noch weit verzweigte, uncharakteristische fädige Fibrinformationen mit geringer Verknüpfung. (Abb. 2) Die eigentliche, die vitale Entstehung der Gerinnsel beweisende Fibrintapete kann hier tiefer liegen, durch die lockeren Strukturen verdeckt (Böhm und Tschomakov, 1973), teilweise in homogener Strukturvermaschung mit thrombozytären und erythrozytären Elementen. Durch Ausspülung des Gerinnseis lassen sich die oberflächlichen Anteile abschwemmen, so daß die beweisenden Strukturelemente demaskiert werden. Auch durch einen mechanischen Aufbruch nach der Fixierung und Entwässerung der Probe konnten Einzelheiten der den Wundschorf bildenden Strukturelemente freigelegt werden. Hierbei fanden wir die Erythrozyten in einer Art Wabensystem, in dem zusätzlich feingranuläres Material vorlag. (Abb. 2)

¹ Allgemeine Präparationstechnik (Material und Methode) wie früher mitgeteilt

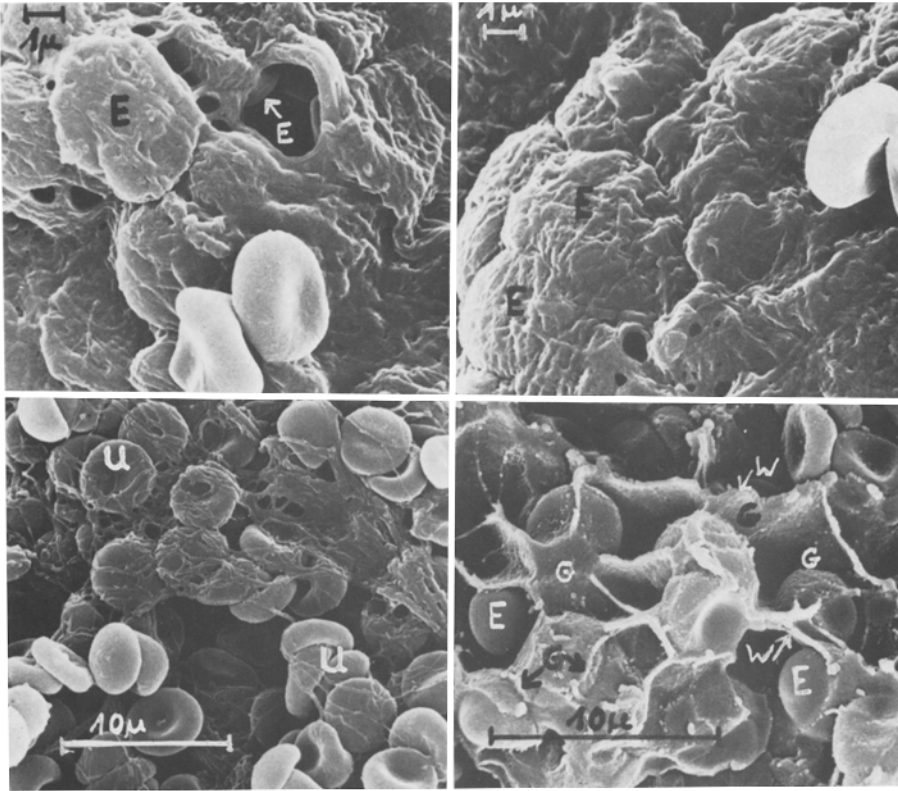


Abb. 2. Frühe lokale Vitalreaktion: 5-Minuten-Präparat, Leberflachschnitte: Linke und rechte obere Abbildung: Extrem eng verknüpfte Netzstrukturen über gefesselten Erythrozyten nach Ausspülung des Gerinnsels. Linke untere Abbildung: Teilweise uncharakteristisch (U) netzförmig strukturierte Fibrinformationen oberflächennaher Gerinnselareale, ähnliche Struktur wie bei postmortalen Gerinnseln. Abb. unten rechts: Gleiche Präparatart nach mechanischem Aufbruch des Gerinnsels: Erythrozyten (E) in logenartigen Nischen, die Nischenwände (W) teilweise mit fein granulärer Substruktur. (G)

Die neuen Untersuchungen wurden vergleichend auch an Lebergewebe (Flachschnitte oberflächlicher Organbezirke) durchgeführt. Wesentliche Unterschiede in der Netzstruktur des Fibrins gegenüber den an Hautverletzungen festgestellten Strukturierungen (s. oben) konnten nicht festgestellt werden. Da an der flach angeschnittenen Rattenleber Kollagen nur in minimalen Anteilen oberflächenbildend ist, ergibt sich die Frage, ob dem Kollagen bei der lokalen Haemostase tatsächlich die Rolle zukommt, die ihm in der Haemostaseologie beigemessen wird.

Versuche, Fibrinfibrillen in 5-M-Harnstoff-Lösung zu lysieren, führten zu einer so weitgehenden Zerstörung der Präparatoberfläche, daß wir keine verwertbaren Befunde mehr erheben konnten.

In der extremen Frühphase (Sekundenphänomen) war die Kollagenoberfläche nicht von unveränderten Thrombozyten, vielmehr von einem teilweise herdförmig umschrieben, teilweise flächenhaften, die Kollagenstrukturen überdeckenden Belag

besetzt. Dieses Material halten wir für Thrombozytenreste, an ihm sind (wie bereits früher demonstriert) Fibrinnetzstrukturen adhärent. Es verhält sich färberisch am Paraffinschnitt wie Thrombozyten (Lichtmikroskopie).

Histologische Untersuchungen

Wir versuchten zunächst, die rasterelektronenmikroskopisch eindeutig nachweisbaren Fibrinnetze nach Schnittverletzungen an Rattenhaut mittels konventioneller Fibrinfärbetechniken im histologischen Schnitt darzustellen. Über mangelhafte, bzw. schlechte Ergebnisse von Fibrinfärbeversuchen berichtete bereits Krauland (1938), für die neueren Färbeverfahren (PTAH, etc.), traf Laiho (1967) ähnliche Feststellungen. Auch die Vielzahl der angewendeten Verfahren (nach Weigert, 1887, zit. nach Beneke, 1971, insgesamt 11 Methoden ohne Berücksichtigung histochemischer, immunologischer und anderer Techniken) spricht für die Problematik der Fibrindarstellung. Wir wandten neben der HE-Färbung die PAS-Reaktion, die PTAH-Reaktion und die Fibrinfärbung nach Ladewig an. Die im HE-Schnitt undeutlich dargestellten Netz- und Faserstrukturen waren mittels der angegebenen Färbung meist nicht „positiv“ nachzuweisen, sie zeigten vielfach nicht die fibrincharakteristische Tingierung. (Siehe auch Ludwig, 1971). Die Tryptophanreaktion nach Adams – empfohlen von Beneke – lieferte positive Resultate, jedoch oft schwache Reaktionen und undeutliche Strukturierung.

Mit histologischer Untersuchungstechnik liegen aus der Literatur folgende Beurteilungskriterien für (intravaskuläre) Gerinnsel vor (Sachs, 1960, zit. nach Janssen, 1977; Boyd, 1975; Bleyl, 1968; Remmele und Harms, 1968):

1. Lange Fibrinfasern, dichte Faserbündelung, Längs- und Parallelorientierung im Blutstrom, Reiten auf Gefäßgabelungen, kompakte Gerinnsel in Schichtung oder Girlandenstruktur der Plättchenhaufen, fester Kontakt des abgeschiedenen Materials mit der Gefäßwand.

2. Charakteristischer Thrombozytenthrombus (Haemostatic Plug: Apitz, 1942; Zucker, 1947/49; Laiho 1975) mit dichter Packung der agglutinierten-aggregierten Thrombozyten.

Von Ludwig, Brück und Metzger wurden 1972 kombinierte lichtmikroskopische Untersuchungen unter Anwendung der Immunofluoreszenz als Vorbereitung zur Rasterelektronenmikroskopie angegeben. Zusätzliche Informationen über die Feinstruktur fluoreszierender Strukturen lassen sich mit diesen lichtmikroskopischen Methoden für die hier vorliegenden Erfordernisse nicht erzielen, sie erscheinen nicht geeignet, rasterelektronenmikroskopische Befunde hinsichtlich der Spezifität früher Stadien der lokalen Vitalreaktion zu ergänzen. Auf die umfangreichen immunhistochemischen Studien über Fibrin in vital und postmortal entstandenen subkutanen Blutungen von Laiho (1976) sei in diesem Zusammenhang nochmals verwiesen.

Speziell für unsere Fragestellung – die Ergänzung rasterelektronenmikroskopischer Oberflächenbefunde – erschien uns eine Anwendung fluoreszenzmarkierter Antikörper vor allem aus folgenden Gründen wenig sinnvoll:

1. Die Immunofluoreszenzmethode zur Darstellung des Fibrins (Beneke, 1971) färbt Fibrinpolymere, Fibrinmonomere, Fibrinbruchstücke und Fibrinogen.

² Präparation wie für die Rasterelektronenmikroskopie, jedoch Fixierung in Formalinlösung bzw. Helly'scher Lösung, Exposition für die lokale Haemostase vital 1 Minute

Schema 1. Elektronenmikroskopische Methoden**Rasterelektronenmikroskopie****1. Darstellung der Fibrinstrukturen**

- a) Form und Kaliber der Einzelfasern
- b) Orientierung und Vernetzungsmodus der Fasern
- c) Dichte der Fasernetze
- d) Homogenität der Netzstrukturen
- e) Nachweis der Reliefquerstreifung des Fibrins

2. Darstellung der Thrombozyten durch Größe und Form, Nachweis des Gestaltwandels soweit Oberflächen bildend, Nachweis von Thrombozytenaggregaten**3. Analyse der Gerinnselkomposition: Vermaschung von Fibrin und Thrombozyten auf der Wundoberfläche : a) direkt**

- b) nach Aufschluß

Vorteile: Analyse der gesamten Wundoberflächenstruktur und großflächig aufgeschlossener Tiefenbezirke, geringer präparatorischer Aufwand.

Nachteile: Innenstruktur des Fibrins und der Thrombozyten, thrombotische Veränderungen der Wundrandgefäße nicht darstellbar.

Durchstrahlungselektronenmikroskopie**1. Spezifischer Fibrinnachweis**

- a) morphologisch: 230 Å Querstreifungsperiode (Innenquerstreifung)
- b) immunologisch: Anlagerung Ferritin-konjugierter Antikörper

2. Dichte der Fasernetze, Kaliber der Fibrinfasern**3. Thrombozytennachweis: Typische Außenmembranen, Granula, Filamente, Gestaltwandel bis zur Auflösung unter Fibrineinbau****4. Gerinnselkomposition: Strukturvermaschung von Fibrin und Thrombozyten**

- a) im Wundflächenkoagel
- b) intravaskulär (Wundrandzone)

5. Reaktive Wundrandveränderungen: Ultrastruktur, Ultrahistochemie

Vorteile: Spezifität des Fibrinnachweises
Struktureller Nachweis der Thrombozyten
Nachweis wundrandnaher Gefäß- und Gewebsveränderungen

Nachteile: Extrem kleiner Wundflächenausschnitt
geringe Repräsentanz für fernere Gerinnselareale
großer präparatorischer Aufwand

2. Die Thrombozyten zeigen ebenfalls – wenn auch schwächer – positive Fluoreszenz (Thrombozytenfibrinogen-Fibrin: Immunhistochemical Cross-Reaction between Platelets and Fibrin nach Carstairs et al., 1964)

3. Postmortal zeigt sich ein Verlust der Antigenität innerhalb weniger Tage (Laiho, 1967). Die eigentliche Netzstruktur der Fibrinfasern überdauert diesen Antigenitätsverlust.

4. Mit einer Fibrinogen-Fibrin-Insudation wundrandnahen Gewebes ist in den frühen Stadien der lokalen Vitalreaktionen zu rechnen. Zur Hintergrundfluoreszenz käme somit eine weitere Zunahme fluoreszierenden Materials in der Wundrandzone mit der Konsequenz einer Erschwerung der Differenzierung.

5. Das optische Ortsauflösungsvermögen fluoreszenzmikroskopischer Methodik ist gering.

Eine Differenzierung der Strukturen untereinander und gegen die Wundrandzone erscheint unter diesen Aspekten für unsere Fragestellung (frühes Stadium der lokalen Vitalreaktion) nicht bedeutungsvoll.

Unter Berücksichtigung der umfangreichen Untersuchungen von Laiho (1967) kamen wir zu der Überzeugung, daß der Einsatz lichtmikroskopischer Methoden für unsere Problematik geringe Erfolgsaussichten bietet.

Als weitere zusätzliche Untersuchungsmethode erschien uns dagegen die Anwendung der Durchstrahlungselektronenmikroskopie zweckmäßig.

Durchstrahlungselektronenmikroskopische Methode

(Literatur, eigene orientierende Untersuchungen).

Morphologische Untersuchungen zum Haemostaseproblem mit durchstrahlungselektronenmikroskopischen Methoden liegen von zahlreichen Autoren vor (Schnittverletzungen an kleinkalibrigen Gefäßen). Eigene Versuche mit dieser Technik erschienen uns vor allem in Hinblick auf eine praktische Anwendung bedeutungsvoll. Nach Angaben von Doerr (1972) läßt sich thrombotisches Material auch nach Formalinfixierung durchaus sinnvoll nachpräparieren, elektronenmikroskopisch untersuchen und beurteilen. Die Mitteilung erfolgte unter Hinweis auf die von Rossner (1971) entwickelte KMU-Technik (kontinuierliche morphologische Untersuchungstechnik). Methoden zur Aufbereitung formalinfixierten Materials finden sich auch bei Hübner (1970), Mitomo et al. (1972). Nach Doerr sind die Dichte der Fibrinnetze, die Typik der Querstreifung und die Erhaltung der Blutzellen zur Altersbestimmung thrombotischen Materials mit durchstrahlungselektronenmikroskopischer Technik heranzuziehen (siehe auch Hall, 1949).

Im deutschen Sprachraum ist vor allem auf die umfangreichen Untersuchungen von Köppel (1962) an Fibrinogen (neuere Untersuchungen zur Struktur des Fibrinogenmoleküls siehe Bachmann et al., 1974, zit. nach Witt) und Fibrin sowie von Schulz (1968) zur Thrombozyten-Thromben-Struktur hinzuweisen. Eine zusammenfassende Darstellung geben Sandritter und Beneke (1969), ferner Horowitz und Spielvogel (1971). Die Thrombozytenveränderungen wurden vor allem von Rodmann, Painter und McDevitt (1962/63) systematisch untersucht. Es erfolgt eine Einteilung der Thrombozytenveränderungen in 4 Stadien: Präagglutination, Agglutination, Thrombozytorrhesis und Thrombozytolysis. Eine begriffsmäßige Verknüpfung von Gerinnung, Thrombose und Blutstillung läßt auch an eine Übertragung der aus der Haemostaseologie bekannten Befunde auf thrombotische Gefäßveränderungen und umgekehrt denken. Neuere Untersuchungen zum Thromboseproblem, durchgeführt mittels physikalischer Gefäßschädigung (durchstrahlungselektronenmikroskopische Befunde) finden sich in Übersichten bei Schulz (1968), ferner bei Studer (1966). Morphologisch ist beiden Prozessen Abscheidung und Gestaltwandel der Thrombozyten und Fibrinbildung gemeinsam. Schulz unterscheidet bei der kapillären Plättchenthrombose vier Stadien: 1. Akkumulation, 2. Agglutination und 3. Degranulation der Thrombozyten mit 4. nachfolgender Fibrinbildung.

Während in der elektronenmikroskopischen Literatur in Detailfragen unterschiedliche Meinungen vertreten werden, sich auch eine verwirrend unterschiedliche Nomen-

klatur hinsichtlich der thrombozytären Reaktion findet, besteht doch Einigkeit, daß beide Vorgänge ähnlich ablaufen. Sowohl aus der Literatur als auch aus eigenen Versuchen ergeben sich jedoch Unterschiede in der Geschwindigkeit der Teilprozesse. Dies gilt auch für vitale und postmortale bzw. extracorporale Gerinnselformung. Die Unterschiede in der Interpretation der durchstrahlungselektronenmikroskopischen Einzelbefunde dürften z. T. auf die unterschiedliche Präparationstechnik der Autoren zurückzuführen sein. So ist z. B. in den Abbildungen von Schulz (1968) die Fibrinquerstreifung kaum zu erkennen. Bei Johnson (1965) jedoch deutlich dargestellt. Von manchen Autoren wurde – möglicherweise wegen der mangelhaften Darstellung der Querstreifung – auch das frühe Auftreten von Fibrin bestritten. Andererseits lassen sich die Faserstrukturen des Kollagens im allgemeinen bei üblicher Präparationstechnik so gut darstellen, daß eine Differenzierung – durch ihre Querstreifungsperiode – möglich erscheint (Abb. 7.).

Material und Methode (eigene orientierende Versuche)

180 g schwere, weibliche Vistar-Ratten wurden vor den Versuchen mit Diäthyläther narkotisiert, danach mit einer frischen Rasierklinge die Bauchhaut in einem 5 cm langen Bereich gerade oder leicht schräg durchgeschnitten, so daß die Bauchmuskulatur erreicht wurde. Die Expositionszeit für die lokale Haemostase betrug 1 Minute. Danach wurden die entsprechenden Hautstellen rasch exzidiert und in reichlich 1,5%iger Glutaraldehydlösung (Phosphatpuffer pH – 7,2) 3 Stunden vorfixiert. Die Nachfixierung erfolgte nach Zwischenspülung mit Phosphatpuffer über 10 Stunden bei +4°C in 1%iger Osmiumtetroxid-Fixierungslösung (frischer Phosphatpuffer). Nach der Ausspülung der Osmiumtetroxidlösung Entwässerung der Proben über die Acetonreihe bis zum 70%igen Aceton, in letzterem gelöst wurden 1% Uranylacetat und 0,1% Phosphorwolframsäure (10 Stunden Einwirkungsdauer). Die Einbettung erfolgte über Propylenoxid mit Durcupan ACM (Firma/Buchs-Schweiz), die Nachkontrastierung der Schnitte mit Uranylacetat/Bleizitrat.

Für die Untersuchungen an *postmortal* gesetzten Schnittverletzungen wurden die oben beschriebenen Tiere durch Veräthern getötet, der Thorax eröffnet und das Herz exzidiert. Danach erfolgte ein Einschnitten der Bauchhaut in gleicher Weise wie bei den vitalen Verletzungen. Anschließend wurden die Tiere in vertikale Positionen gebracht, so daß aus den Gefäßen ausfließendes Blut die Hautschnittwunden überlaufen konnte. Die Expositionszeit für die Haemostase betrug 5 Minuten.

Neben Schnittverletzungen der Haut wurden nach Eröffnung der Bauchhöhle oberflächliche Flachschnitte an der Leber gesetzt und nach entsprechender Expositionszeit nach der oben angegebenen Methodik weiter aufgearbeitet.

Das für die Untersuchungen entnommene Material wurde ohne Berücksichtigung des Gefäßverlaufes von der Wundoberfläche ausgeschnitten und untersucht (entsprechend dem Vorgehen bei rasterelektronenmikroskopischer Untersuchungstechnik).

Ergebnisse und Diskussion

Mit der oben angegebenen Präparationstechnik war die Fibrinquerstreifung auf dem Bildschirm des Durchstrahlungselektronenmikroskopes bei den vitalen Gerinnselformungen gut zu erkennen. In den Aufnahmen konnten die Strukturen nur schwer wieder identifiziert werden, möglicherweise ist dies auf die hohe Elektronendichte der Fibrinfasern zurückzuführen. Selbst dann, wenn eine direkte Identifizierung der Fasern aufgrund ihrer Querstreifung nicht möglich war, konnte eine Differenzierung von den angeschnittenen Kollagenfasern in jedem Fall leicht durchgeführt werden. In Übereinstimmung mit den Angaben in der Literatur ließen sich auch Beziehungen zwischen den Pseudopodien der Thrombozyten und dem Auftreten rhythmisch strukturierten, aus granulären Bestandteilen zusammengesetztem faserartigen Material erkennen.

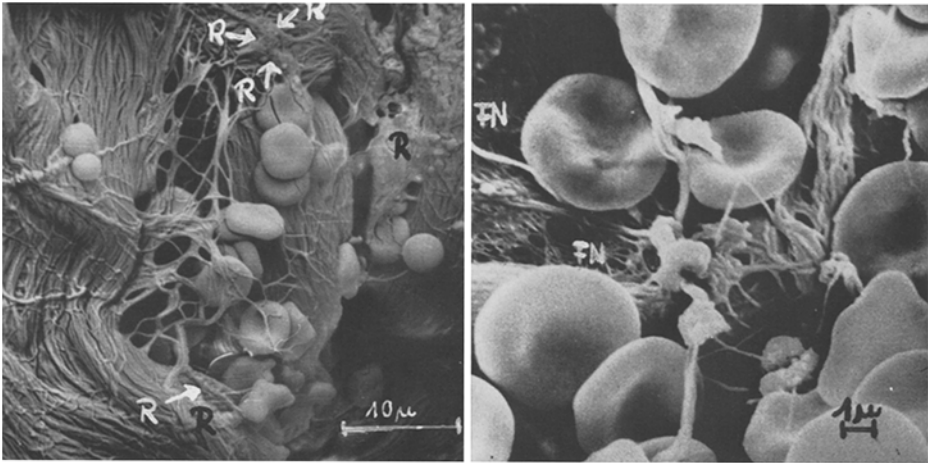


Abb. 3. Linke Abbildung 5-Sekunden-Probe, rechte Abbildung 3,5-Sekunden-Probe, sogenanntes *Sekundenphänomen der vitalen Reaktion*: Thrombozytenrestmaterial (R) auf der Kollagen-Oberfläche mit anhängendem netzförmig strukturiertem Material, links weitmaschige Fibrinfaserstruktur, rechts extrem feingemaschtes Netzwerk auf der Kollagen-Oberfläche (FN)

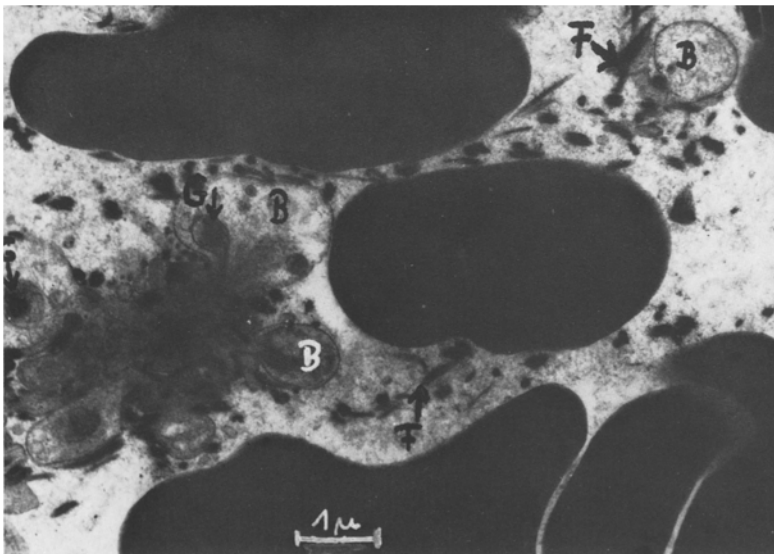


Abb. 4. *Postmortales Gerinnsel* im durchstrahlungselektronenmikroskopischen Bild, im Vordergrund: Deformierte Erythrozyten, lockere zarte Fibrinstrukturen, linker Bildteil: Ballonierte Thrombozyten (B) mit intrazellulär noch erkennbaren Granula

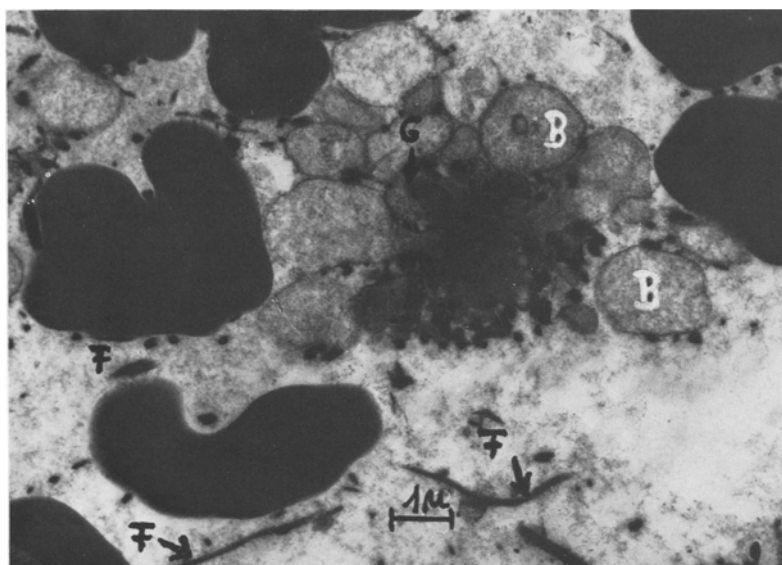


Abb. 5. Ballonierte Thrombozyten mit weitgehendem Granulaverlust (B), vereinzelte Granula (G) in zentralen Anteilen, rosettenartige Gesamtstruktur, ebenfalls zarte Fibrinfasern (F), *postmortales Gerinnsel* wie Abb. 4

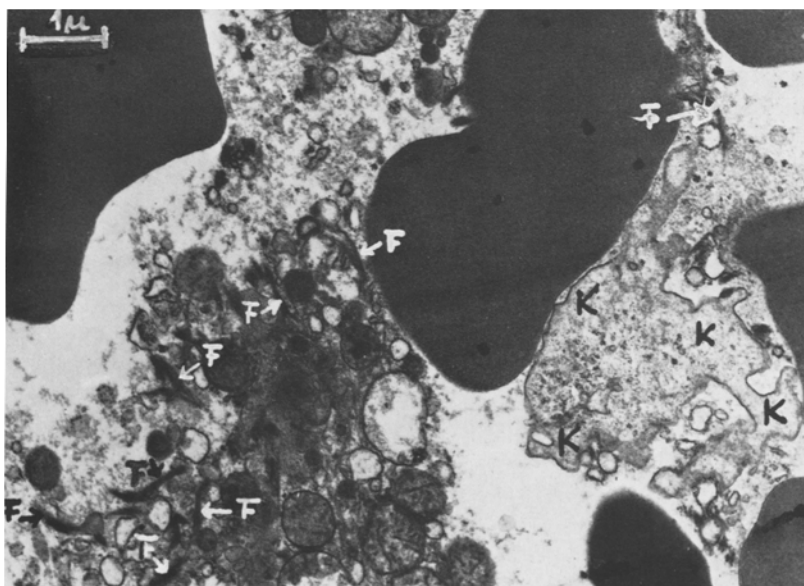


Abb. 6. *Viales Gerinnsel* (1-Minuten-Präparat Rattenleber) reichlich Fibrinfaserformationen (F) in enger Strukturvermaschung, Thrombozytenrestmaterial (K) in der rechten Bildhälfte mit feingranulärer Substruktur, zu vergleichen mit Material von Abb. 3 (Rasterelektronenmikroskopischer Befund)

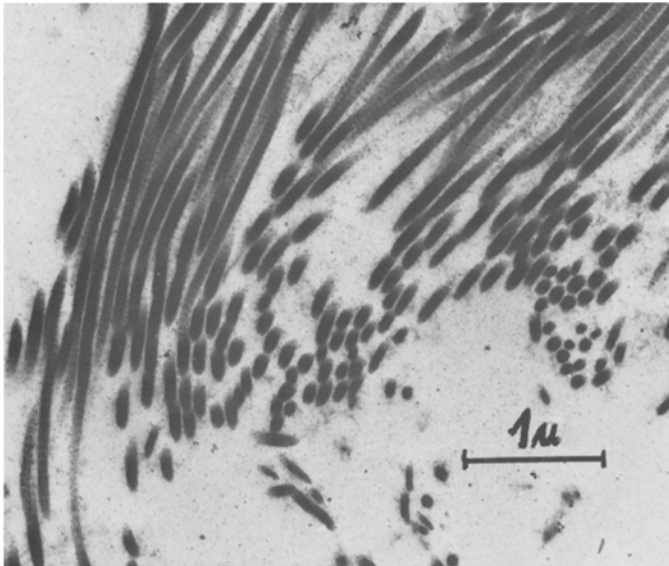


Abb. 7. Kollagenfaserstrukturen mit der spezifischen Querstreifung, Kollagen der Rattenhaut

Thrombozytorrhesis und Thrombozytolyse lieferten in ihren Endstadien kaum differenzierbares, feingranuläres Material, das von den Fibrinfasern durchzogen war, wie in der Literatur beschrieben. Eine weitere Verbesserung und Standardisierung der Präparationstechnik, auch Versuche mit einer periodischen Ferritinanlagerung (Elektronenmikroskopisch-immunologischer Fibrinnachweis nach Willy 1964) halten wir für zweckmäßig.

Besser als die Spätstadien waren die Frühstadien thrombozytärer Veränderungen bis zur Degranulation nachzuweisen (Abb. 4/5). Ein Vergleich zwischen den vitalen und postmortalen Verletzungen erbrachte den Eindruck, daß die Packung des Gesamtgerinnsels, die mosaikartige Verzahnung thrombozytärer und fibrinöser Strukturen bei der vitalen Serie (Abb. 6) wesentlich dichter, gleichförmiger und feiner war, als bei der postmortalen. Bei intravitalen Verletzungen schien der Zerfall thrombozytärer Elemente im Durchschnitt weiter fortgeschritten, über weite Strecken waren nur noch Thrombozytenfragmente nachzuweisen.

Auch in Kalibrierung und Substruktur der Fibrinfasern glauben wir Unterschiede zwischen vitalen und postmortalen Gerinnseln festgestellt zu haben, die gesamten Befunde sind jedoch durch systematische Untersuchung zu ergänzen.

Die enge Strukturvermaschung von Fibrin und Thrombozyten in den vitalen durchstrahlungselektronenmikroskopischen Abbildungen hat uns eine Erklärung für die gelegentlich schwierige isolierte Darstellung der Fibrinnetze für die Rasterelektronenmikroskopie gegeben. Durch die erhebliche Verbesserung des Auflösungsvermögens moderner Rasterelektronenmikroskope erscheint der durchstrahlungselektronenmikroskopische Nachweis der Innenquerstreifung der Fibrinfasern weniger bedeutungsvoll. Während wir zunächst (Böhm und Tschomakov, 1972/73) die raster-

elektronenmikroskopisch besonders gut erfaßbaren Fibrinstrukturen ganz in den Vordergrund gestellt haben, erschien uns später (Böhm, 1975) auch die thrombozytäre Reaktion besonders für die frühen Stadien bedeutsam. Die Lyseresistenz der Thrombozyten erwies sich nämlich als wesentlich größer, als ursprünglich angenommen. Eine Bestätigung unserer Feststellungen, daß sich bereits in den frühen Stadien der Blutgerinnung (Sekundenphänomen der vitalen Reaktion) Fibrin auf der Wundfläche bildet, fanden wir in durchstrahlungselektronenmikroskopischen Untersuchungen von Johnson (1965) bestätigt. Er beobachtete erste Fibrinfasern 30 Sekunden nach Gefäßdurchschneidung. Welche Bedeutung hierbei „thrombozytärem“ Fibrin zukommt, erscheint mehr von theoretischem Interesse. Für forensische Zwecke wichtig erscheint dagegen die Frage der postmortalen Autolyse dieses „frühen Fibrins“ im Wundbett. Diese Frage ist bisher durch Untersuchungen anderer Autoren nicht geklärt, die Lysierbarkeit wundoberflächenfernen (auch vitalen) Gerinnselmaterials braucht keinesfalls mit der unmittelbaren Abdeckung der Wundfläche identisch zu sein.

Wahrscheinlich ist das Lyseverhalten des Fibrins im Inneren eines größeren Blutextravasates erheblich different von dem in den unmittelbar traumatisierten Randzonen. Hier ergibt sich auch einer der wesentlichsten Gesichtspunkte für die strukturelle Differenzierbarkeit vitaler und postmortaler Gerinnselanteile. Schwierigkeiten können hier bei der Präparation für durchstrahlungselektronenmikroskopische Untersuchungen auftreten, da bei dickem Wundschorf jeweils nur ein Teil und nicht die ganze Schicht geschnitten und untersucht werden kann.

Für praktische Bedürfnisse wird man dabei auf eine Zielpräparation nicht verzichten können. Die allgemein übliche Technik ist die Semidünnschnittuntersuchung großflächiger Blockanschnitte des in Kunstharz eingebetteten Materials mit anschließender Anfärbung und lichtmikroskopischer Voruntersuchung. Eine morphologische Analyse der vertikalen Wundflächenstruktur erscheint besonders im Bereich der Grenzfläche (Abb. 6) Kollagen- bzw. Organschnittfläche und Gerinnsel von Bedeutung. Vital erfolgt hier ein explosionsartiger Zerfall der Thrombozyten z. B. auf der Kollagenoberfläche. Nach unseren rasterelektronenmikroskopischen Befunden (Abb. 3) liegen hier die fibrinfaserhaltigen „Haftstellen“ der haemostatischen Tapete vor, gebildet von einer (durch Thrombozytenzerfall entstandenen) komplex zusammengesetzten „Kittsubstanz“ (Thrombozytolys stadium). Zusätzlich zu den rasterelektronenmikroskopischen Befunden und den durch lichtmikroskopische Untersuchungen nachweisbaren Thrombozytenthromben glauben wir hier durchstrahlungselektronenmikroskopische Befunde erhoben zu haben, die geeignet sind, einen weiteren Beitrag zum Nachweis der frühen lokalen Vitalreaktion zu liefern. Systematische Untersuchungen werden jedoch vor einer abschließenden Beurteilung für erforderlich gehalten. Versucht man eine vorläufige zusammenfassende Wertung der kombinierten elektronenmikroskopischen Untersuchungstechniken im Hinblick auf ihre forensische Bedeutung zu geben, so kann man stichpunktartig zusammenfassen:

1. Nachweis der Strukturkomponenten des Gerinnsels.
2. Kontrolle auf Artefakte.
3. Interpretation der erzielten Ergebnisse.
4. Zusätzliche Absicherung der Aussage.

Vor- und Nachteile der verschiedenen Verfahren sind in Schema 1 zusammengestellt. Die Literaturangaben und eigene Untersuchungen lassen erkennen, daß die geordnete

lokale Haemostase als biologische Leistung des verletzten Gewebes in Abhängigkeit von einer intakten Perfusion anzusehen ist. Alle bisher erhobenen eigenen Befunde sprechen dafür, daß intravitale und postmortale Gerinnungsprozesse an körpereigenen neu-eröffneten Gewebsoberflächen morphologisch differente Befundmuster hinterlassen.

Zahlreiche Teilfragen sind derzeit noch unbeantwortet, z. B. die Überlagerung vitaler Gerinnsel durch postmortale Prozesse einerseits, die Frage des Einflusses von Autolyse bzw. Fäulnis andererseits. Hervorzuheben bleibt, daß nie ein Einzelbefund (z. B. Dicke einer Fibrinfaser) Grundlage einer differenzierenden forensisch wesentlichen Aussage sein kann. Neben adäquater Präparationstechnik sind auch entsprechende Forderungen an Gerätequalität (z. B. Auflösungsvermögen des benutzten Rasterelektronenmikroskopes für die Reliefquerstreifung des Fibrins – nur bei Geräten mit Hochauflösung gegeben) sowie Qualifikation und Übung des Untersuchers zu stellen.

Literatur

- Apitz, K.: Die Bedeutung der Gerinnung und Thrombose für die Blutstillung. *Virch. Arch.* 308, 540 (1942)
- Apitz, K.: Die Dukesche Probe. *Z. Ges. exp. Med.* 111, 554 (1942)
- Beneke, G., Hey, D.: Modelluntersuchungen zur formentativen Löslichkeit von Fibrin im histologischen Schnitt. *Histochemie* 5, 366 (1965)
- Beneke, G.: Demonstration of Plasma-Proteins in Microscopic Sections with Emphasis on the identification of Fibrin. In: *Thrombosis und Bleeding Disorders*. Stuttgart: Thieme 1971
- Begent, N. G., Born, V. R.: Growth rate in vivo of platelet thrombi. *Nature* 227, 926 (1970)
- Bleyl, U., Sebening, H., Kuhn, W.: Morphologischer Nachweis von Fibrinmonomeren im histologischen Schnitt. *Thromb. diathes. haemorrh.* 22, 68, 86 (1969)
- Bleyl, U.: Pathologisch-anatomische Demonstration zur intravasalen Gerinnung und Fibrinolyse. S. 56. In: J. Zander (Hrsg.): *Septischer Abort und bakterieller Schock*. Berlin: Springer 1968
- Böhm, E., Tschomakov, M.: Ein Sekundenphänomen der vitalen Reaktion demonstriert an Stichverletzungen. *Z. Rechtsmed.* 71, 235 (1972)
- Böhm, E., Tschomakov, M.: Frühe Merkmale einer vitalen Reaktion. Untersuchungen an Schnittverletzungen der Rattenhaut. *Z. Rechtsmed.* 72, 111 (1973)
- Böhm, E., Tschomakov, M.: Ein Sekundenphänomen der vitalen Reaktion. *Beitr. Ger. Med.* 31, 221 (1973)
- Böhm, E.: Zur Ultrastruktur von Blutungen nach wiederholter Traumatisierung. *Z. Rechtsmed.* 74, 197 (1974)
- Böhm, E.: Zur Faser- und Netzstruktur des Fibrins bei intravasculärer Gerinnung. *Z. Rechtsmed.* 74, 217 (1974)
- Böhm, E.: Three-dimensional Structure of Wound surfaces – a contribution to the study of Local Vital Reaction and the determination of the age of wounds. *Scann. Electr. Microsc.*, Chicago 1975, S. 571
- Born, G. V. R.: Inhibition of platelet aggregation. In: *Pathogenesis and treatment of thrombo-embolic diseases*. *Thrombos. Diathes. haemorrh. Suppl.* 21, 159 (1966)
- Boyd, J. F.: Disseminated fibrin thrombo-embolism among stillbirths and neonatal deaths. *J. Path. Bact.* 90, 53 (1965)
- Carstairs, K. C., Woolf, N., Crawford, T.: Immunohistochemical crossreaction between platelets and fibrin. *J. Path. Bact.* 88, 537 (1964)
- Carstairs, K. C.: The Identification of Platelets and Platelet Antigens in histological sections. *J. Path. Bact.* 90, 225 (1965)
- Doerr, W.: Plötzlicher Herztod – Morphologische Aspekte, S. 944. *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* München: Bergmann-Verlag 1972

- French, J. E., Poole, J. C. F.: Electron microscopy of platelets in artificial thrombi. *Proc. roy. soc. Brit.* 157, 170 (1963)
- Frost, U., Hess, H., Richter, I.: Zur Pathogenese der arteriellen Verschlusskrankheiten. *Dtsch. Klin. Wschr.* 20, 1099 (1968)
- Frost, H., Hess, H.: Zur Pathogenese der arteriellen Verschlusskrankheiten. *Dtsch. Klin. Wschr.* 47, 245 (1969)
- Frost, H.: Untersuchungen der arteriellen Gefäßinnenfläche mit dem Rasterelektronenmikroskop. Generalisierte Intravasculäre Gerinnung. S. 105. Stuttgart: Schattauer-Verlag 1971
- Geiler, G.: Untersuchungen über die immunhistochemische Fibrindarstellung an: Biopsie- und Obduktionsmaterial. *Histochemie* 5, 361 (1965)
- Hall, C. E.: Electron Microscopy of Fibrinogen and Fibrin. *J. Biol. Chem.* 179, 857 (1949)
- Hall, C. E., Slayter, H. S.: The Fibrinogen Molecule: Its Size, shape and mode of polymerisation. *J. biophys. biochem. Cytol.* 5, 11 (1959)
- Harms, D.: Postmortale Fibrinolyse beim Menschen. Stuttgart: G. Fischer 1971
- Harms, D.: Über Thrombozytenzahl und Thrombozytenfunktion im Leichenblut. *Med. Welt* 23, 975 (1972)
- Horowitz, H. I., Spielvogel, A. R.: Haemostasis in: Thrombosis and Bleeding Disorders. S. 412. Stuttgart: Thieme
- Hübner, G.: Zur Feinstruktur von formalinfixierten Biopsie- und Autopsiematerial nach Paraffineinbettung. *Virch. Arch. Abt. A Path. Anat.* 351, 155 (1970)
- Irniger, W.: Histologische Altersbestimmung von Thrombosen und Embolien. *Virch. Arch. path. Anat.* 336, 220 (1963)
- Janssen, W.: Forensische Histologie. Lübeck: Schmidt-Römhild-Verlag 1977
- Janssen, W., Schäfer, V.: Altersbestimmung von Thrombosen und Embolien. *Votr. Jahrestagg. Dtsch. Ges. Rechtsmed.* 1973
- Jørgensen, L., Borchgrevink, C. F.: The platelet plug in normal persons. 1. The histological appearance of the plug 15 to 20 minutes and 24 hrs after the bleeding and its role in the capillary haemostasis. *Acta Path. Microbiol. Scand.* 57, 40 (1963)
- Jørgensen, L., Borchgrevink, C. F.: The histological appearance of the plug in the secondary bleeding time test. *Acta Path. Microbiol. Scand.* 57, 427 (1963)
- Jørgensen, L., Borchgrevink, C. F.: The haemostatic mechanism in patients with haemorrhagic diseases. A histological study of wounds made for primary and secondary bleeding time tests. *Acta Path. Microbiol. Scand.* 60, 55 (1964)
- Johnson, S. A., Balboa, R. S., Pederson, H. J., Buckley, M.: The ultrastructure of platelet participation in hemostases. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 13, 65 (1965)
- Kjaerheim, A., Hovig, T.: The Ultrastructure of Haemostatic Blood Platelet Plugs in Rabbit Mesenterium Thromb. Diathes. Haemorrh. 1, 7 (1962)
- Köppel, G.: Die Umwandlung des Fibrinogens in Fibrin. Stuttgart: Schattauer 1962
- Krauß, W.: Über das Vorkommen von Fibrin in Blutaustritten. Eine neue Färbung (Neuviktoria-blau). *Dtsch. Z. ges. ger. Med.* 30, 267 (1938)
- Kuhnke, E.: Elektronenoptische Untersuchungen über die Veränderungen der Thrombozyten und des Fibringerinnsels im Verlauf der Gerinnung unter besonderer Berücksichtigung der Retraktion. *Pflüger's Arch. Physiol.* 268, 87 (1958)
- Laiho, K.: Immunhistochemical studies on Fibrin in vital and postmortem subcutaneous haemorrhages. *Keskuskirjapaino Helsinki* 1967 (*Annales academiae scientiarum Fennicae*)
- Laiho, K.: Haemostatic Plugs as a Histological Vital Reaction in the Skin Wounds of Guinea Pigs. *Z. Rechtsmed.* 76, 41 (1975)
- Ludwig, H., Metzger, H.: Das uterine Placentarbett post partum im Rasterelektronenmikroskop, zugleich ein Beitrag zur extravasalen Fibrinbildung. *Arch. Gynäk.* 210, 251 (1971)
- Ludwig, H.: Ultrastruktur des muralen Thrombus in Uterusvenen, Phlebologie und Proktologie 1, 1 (1972)
- Ludwig, H., Brück, H. J., Metzger, H.: Kobinierte lichtmikroskopische Untersuchungen als Vorbereitung zur Rasterelektronenmikroskopie unter besonderer Berücksichtigung der Morphologie des Fibrins. *Leitz-Mitteilungen V/7*, 207 (1972)
- Marr, J., Barboriak, J. J., Johnson, S. A.: Relationship of appearance of adenosine diphosphate, fibrin formation and platelet aggregation in the haemostatic plug in vivo. *Nature*, 205, 259 (1965)

- Meng, K.: Tierexperimentelle Untersuchungen zu antithrombotischer Wirkung von Acetylsalicylsäure. *Therap. Berichte (Bayer)* 69, 47 (1975)
- Mitomo, Y., Mori, W.: Electron Microscopic observation on the Paraffin or Celloidin-Paraffin embedded sections from Surgical and Autopsy Materials *Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.* 19, 179 (1972)
- Mueller, B.: Zur Frage der Unterscheidung von vitalen bzw. agonalen und postmortalen Blutungen. *Acta Med. Leg. Soc.* 17, 43 (1964)
- Nelson, E., Kawamura, J., Sunaga, T., Rennels, M. L., Gertz, S. D.: Scanning and Transmission Electron Microscopic Study of Endothel Lesions following Ischemia with special attention to Ischemic and „Normal“ Branch Points. In: *Pathology of Cerebral Microcirculation*. Berlin–Heidelberg–New-York: de Gruyter-Verlag 1974
- Obersteg, J.: Tod und Blutgerinnung. I. Teil. *Dtsch. Z. ges. Ger. Med.* 43, 177 (1954). II. Teil Privatdruck Basel (1956)
- Remmele, W., Harms, D.: Zur pathologischen Anatomie des Kreislaufschocks beim Menschen. I. Mikrothrombose der peripheren Blutgefäße. *Klin. Wschr.* 46, 352 (1968)
- Rodman, N. F., Painter, J. C., McDevitt, N. B.: Platelet Disintegration during clotting. *J. Cell. Biol.* 16, 225 (1963)
- Rodman, N. F., Mason, R. G., Brinkhous, K. M.: Some pathogenetic mechanisms of white thrombus formation: Agglutination and self-destruction of the platelet. *Fed. Proc.* 22, 1356 (1963)
- Rosner, J. A.: Morphologische Untersuchungen im Licht- und Elektronenmikroskop mit der kontinuierlichen morphologischen Untersuchungstechnik (KMU-Technik). *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 55, 824 (1971)
- Sandritter, W., Beneke, G.: Thrombose. In: Kaufmann, E., Staemmler, M. *Lehrb. d. spez. path. Anat.* S. 465. Berlin: W. de Gruyter 1968
- Schulz, H.: Thrombozyten und Thrombose im elektronenmikroskopischen Bild. Berlin–Heidelberg–New York: Springer 1968
- Sixma, J. J.: Electron Microscopic Techniques for Blood Platelets, Fibrinogen and Fibrin. In: *Thrombosis and Bleeding Disorders*. Stuttgart: Thieme 1971
- Spaet, T. H., Zucker, M. B.: Mechanism of platelet plug formation and role of adenosine diphosphate. *Am. J. Physiol.* 206, 1267 (1964)
- Sprague, Ch. C.: Use of the fluorescent antibody technique in the detection of platelet antibodies. In: *Blood platelets. Intern. Symp.* S. 699. Boston, Mass.: Little, Brown & Co. 1961
- Studer, A.: Experimental platelet thrombus. *Thrombos. Diathes. haemorrh. Suppl.* 21, 109 (1966)
- Thilo, D., Böhm, E.: Phenomenon in Haemostasis – A Scanning Electron Microscopic Study. *Thromb. Diathes. Haemorrh.* 30, 363 (1973)
- White, J. G., Krivit, W., Vernier, R.: An ultrastructural investigation of the fibrin clot utilizing ferritin-labelled anti-human fibrinogen antibody. *Blood* 24, 443 (1964)
- White, J. G., Krivit, W., Vernier, R.: The platelet-fibrin relationship in human blood clots: An ultrastructural, study utilizing ferritin-conjugated anti-human fibrinogen antibody. *Blood* 25, 241 (1965)
- Witt, J.: *Biochemie der Blutgerinnung und Fibrinolyse*. Weinheim: Verlag Chemie 1975
- Wyllie, J. C.: Identification of fibrin with ferritin-conjugated antifibrinogen. *Exp. molec. Path.* 3, 468 (1964)
- Zucker, M. B.: Platelet agglutination and vasoconstriction as factors in spontaneous haemostasis in normal, thrombocytopenic, heparinized and hypothyroidemic rats. *Am. J. Physiol.* 148, 275 (1947)
- Zucker, H. D.: Platelet Thrombosis in Human Haemostasis *Blood* 4, 631 (1949)

Eingegangen am 23. Februar 1978