

616.13—005.6—092.4

POKUSNÝ MODEL INTRAVASKULÁRNÍ KOAGULACE

Piukovník doc. MUDr. Jaroslav MAZÁK, CSC., plukovník MUDr. Richard URBAN, CSC.
Vojenský lékařský výzkumný a doškolovací ústav JEP v Hradci Králové

Úvod

Hemokoagulační změny v průběhu šoku jsou často vykládány jako konzumptivní koagulopatie, vyvolaná diseminovanou intravaskulární koagulací krve [28, 29, 30]. Příímý průkaz vzniku drobných trombů v arteriolách, kapilárách a venulách je však obtížný [38] a kvantitativní posouzení jejich patogenetického významu je nesnadné [26, 27, 38, 39]. Někteří pokládají mikrotromby v periferním cévním řečišti za patogenetickou příčinu nezvratnosti šoku [12, 30]. Může však jít o nevýznamný následek nebo dokonce o terminální artefakt. S ohledem na nepochybné laboratorní nálezy koagulačních změn za živa je logická myšlenka na použití heparinu jako účinného antikoagulans k prevenci nitrocévního srážení při šoku. Heparin však nemůže nahradit jiné protišokové léčebné prostředky a v našich předchozích pokusech sám o sobě nijak neovlivnil letalitu u šokovaných psů [29].

Standardizace podmínek experimentálního šoku není snadná. V případě konzumptivních hemokoagulačních změn je možno použít jako modelovou náhradu šoku nitrocévní podání koagulačně aktivních látek, např. tromboplastinu nebo trombinu, a v těchto zjednodušených podmínkách sledovat dynamiku intravaskulárního srážení i jeho léčebné ovlivnění.

Metodika

K pokusu jsme použili 12 psů o váze 15 až 26,5 kg. Dávku trombinu a rychlost jeho podání jsme stanovili v přípravných pokusech na jiné skupině pěti zvířat. Vyzkoušeli jsme dávky 30, 300, 500, 1500 a 3000 jednotek Topostasinu Roche. Pro vlastní pokus jsme zvolili dávku 3000 j., která byla koagulačně účinná a jejíž podání v nitrožilní infúzi 100 ml fyziologického roztoku během 30 minut všechna zvířata dobře snášela.

Pokus byl uspořádán takto: Psi byli rozděleni do dvou skupin po 6 a pokus byl prováděn vždy současně na páru zvířat po jednom z každé skupiny. V první skupině byl podáván pouze trombin nitrožilně. Ve druhé byl podán těsně před infúzí trombinu heparin Novo v dávce 10 000 j. (psi č. 2, 4, 6), respektive 5000 j. (psi č. 8, 10, 12). Heparin byl ředěn ve 20 ml fyziologického roztoku, nitrožilní injekce trvala 10 minut.

Na tab. 1 jsou dávky trombinu a heparinu přepočtené na 1 kg tělesné váhy psů:

Psi byli od počátku pokusu v thiopentalové narkóze. U žádného z nich nedošlo během sledování ke spontánním krvácivým projevům.

Cestou stehenní tepny byla zavedena polyetylenová cévka do břišní aorty, sloužící k průběžnému měření krevního tlaku pomocí rtuťového manometru a k odběrům krevních vzorků. Krev na vyšetření se odebírala v tomto sledu:

1. na začátku pokusu (po zavedení narkózy a umístění cévky),
2. za 15 minut po 1. odběru (u skupiny heparinovaných ihned po nitrožilní injekci heparinu),
3. po dalších 30 minutách (ihned po skončení infúze trombinu),
4. za 30 minut po skončení infúze,
5. za dalších 150 minut po předchozím odběru.

Doba od 1. do 5. odběru činila 3 hod. 45 minut. Přehled prováděných vyšetření:

- trombinový čas (TČ), ředění standardizováno na koagulační čas 15 vteřin,
- protrombinový čas podle Quicka (PČ),
- trombelastogram rekalcifikované krve,
- fibrinogen podle Guillaumina,
- trombocyty podle Feisslyho,
- hematokrit,
- erytrocyty.

Ihned po posledním odběru byla zvířata utracena nitrožilní injekcí thiopentalu a odebrány orgánové vzorky na histochemické vyšetření (mozek, plíce, játra, střevo, nadledvinka, kůže). Výsledky histochemických vyšetření budou zpracovány odděleně.

Statistické zpracování výsledků bylo provedeno párovým a nepárovým t-testem.

Pes č.	Váha	Trombin	Heparin
1	18	166,6 j.	
2	21,5	139,5 j.	465,1 j.
3	17	176,4 j.	
4	18	166,6 j.	555,5 j.
5	26,5	113,2 j.	
6	17	176,4 j.	588,2 j.
7	19	157,8 j.	
8	18,5	162,1 j.	270,2 j.
9	16	187,5 j.	
10	15,5	193,5 j.	322,5 j.
11	15,5	193,5 j.	
12	15	200,0 j.	333,3 j.

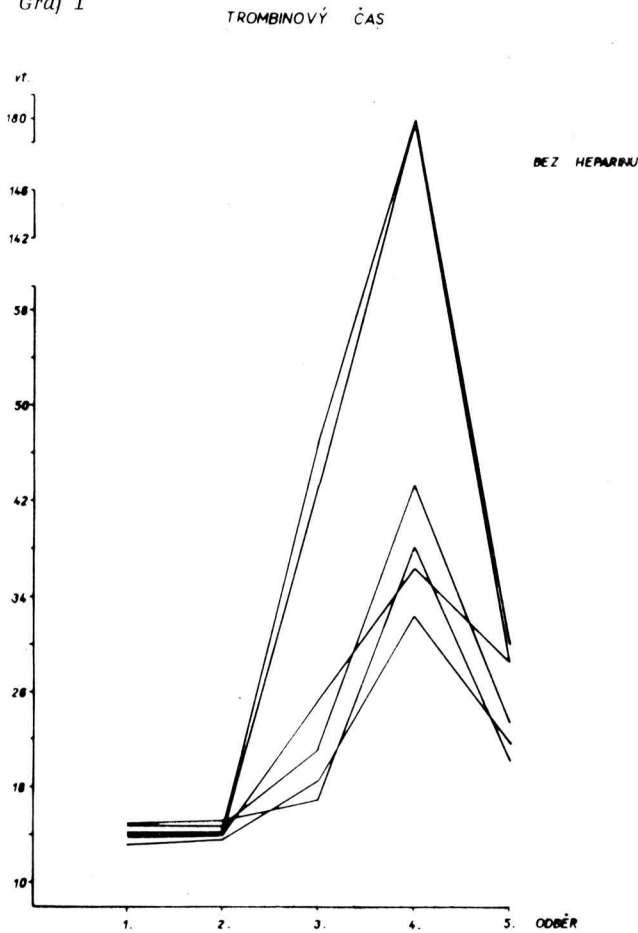
Výsledky

Arteriální tlak psů se během pokusu v žádné skupině významně neměnil. U psů bez heparinu nepravidelně kolísal mezi 120—170 mm Hg, ve skupině heparinizovaných v rozmezí 100 až 180 mm Hg.

Ani počet erytrocytů v 1 mm^3 a hematokrit se v žádné skupině významně neměnily.

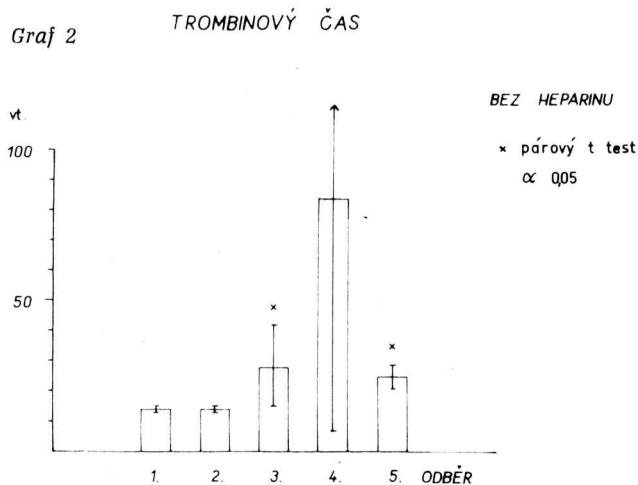
Změny v trombinovém čase byly výrazné. Po podání trombinu docházelo k významnému prodloužení Tč proti výchozím hodnotám u všech zvířat s maximem ve 4. odběru (za 30 min. po skončení infúze trombinu). V posledním, 5. odběru, došlo k opětovnému poklesu Tč, nikoli však ještě na výchozí hodnoty (graf 1, 2).

Graf 1



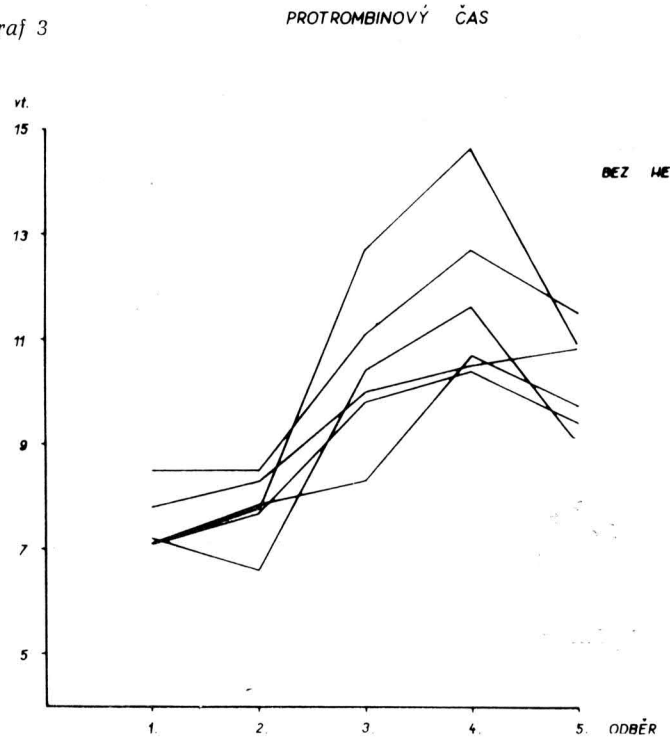
Výrazné prodloužení Tč po podání trombinu

Graf 2



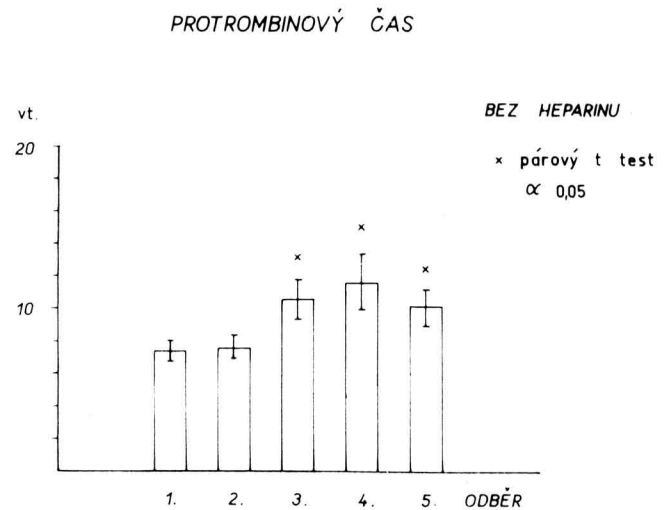
Prodloužení Tč bylo statisticky významné od 3. odběru

Graf 3



Prodloužení Pč po podání trombinu

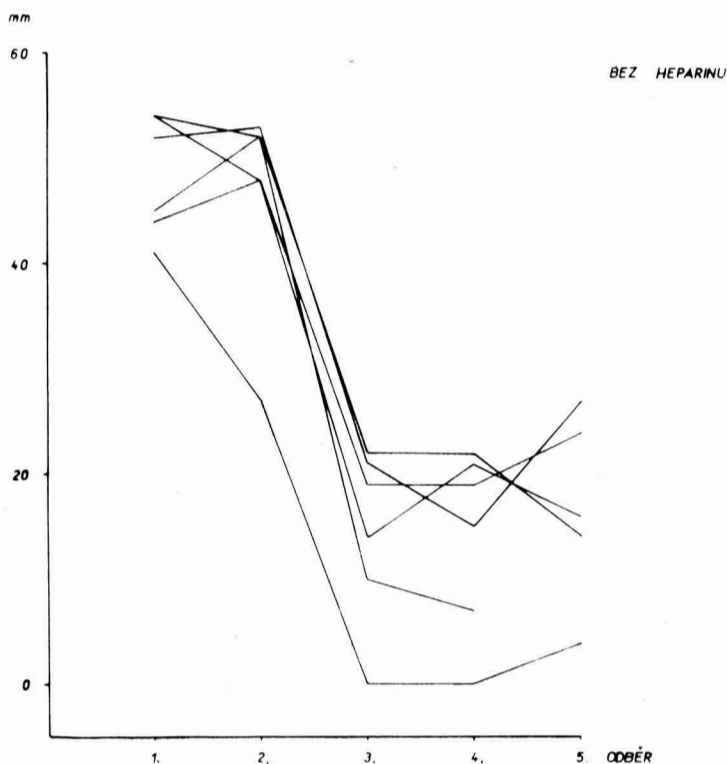
Graf 4



Prodloužení Pč bylo statisticky významné od 3. odběru

Obdobný byl průběh výsledků protrombinového času (Pč). K maximálnímu prodloužení u psů bez heparinu docházelo opět při 4. odběru (graf 3, 4). Ve skupině heparinizovaných dosahoval Pč stejně jako Tč maxima ve 2. odběru. Na konci pokusu byl zřetelnější pokles Pč blíže k výcho-

Graf 5

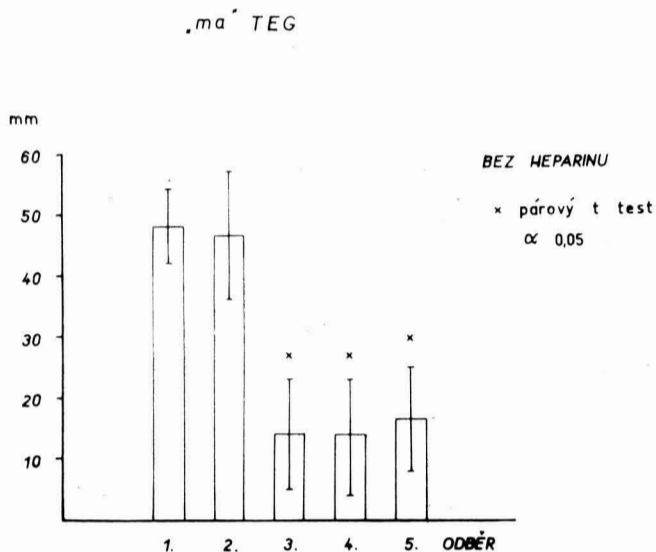


Zmenšení „ma“ TEG po podání trombinu

zím hodnotám, než tomu bylo u Tč (slabší anti-protrombinový než antitrombinový účinek heparinu).

Zajímavé byly změny maximální amplitudy („ma“) TEG. Ke zřetelnému zmenšení u všech psů bez heparinu došlo již ve 3. odběru (ihned po infúzi trombinu) (graf 5, 6). U všech heparinovaných byla „ma“ ihned po injekci (2. odběr) nulová a zůstala tak do 4. odběru. Teprve

Graf 6



Zmenšení „ma“ TEG bylo statisticky významné od 3. odběru

v posledních vzorcích (5. odběr) se křivka TEG opět rozdělila.

Fibrinogen se měnil po infúzi trombinu shodně jako Tč a Pč (maximální pokles při 4. odběru) (graf 7, 8).

Počet trombocytů jevil u obou pokusných skupin postupný pokles, který byl již od 3. odběru statisticky významný (graf 9).

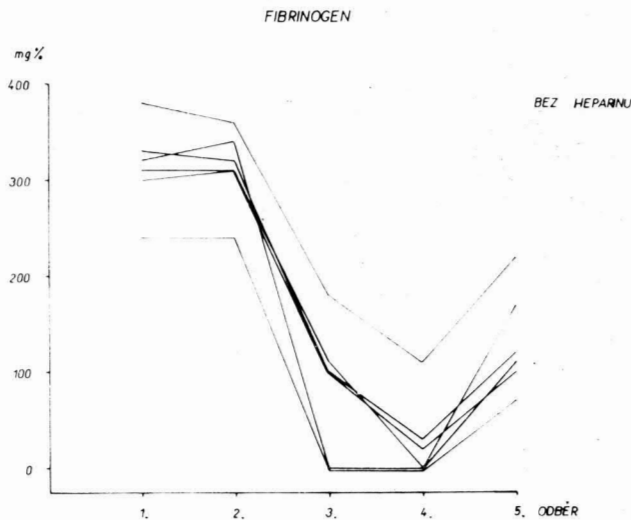
Rozprava

K modelování stavu diseminované intravaskulární koagulace použili různí autoři rozmanitých metod. Nejčastěji byly použity tkáňový tromboplastin (3, 44, 46, 48) nebo trombin (3, 5, 7, 8, 11, 12, 17, 19, 22, 26, 27, 30, 33, 35, 38, 44, 47, 51), ale i výtažky nádorové tkáně (30), placenty (30), hemolýzát krevní (12, 30), poporodní sérum (48), injekce hadího jedu (30, 36) a experimentální vyvolání Schwartzmannovy reakce (45). Ve svých pokusech jsme použili trombinu. Tento vysoce specifický proteolytický enzym není přítomen v normální cirkulující krvi v aktivním stavu. Účinek jeho podání do krve je závislý na dávce, na rychlosti i místě parenterální aplikace (8, 11, 12, 19, 22, 35, 46, 51). V krvi je trombin inaktivován antitrombinu a vychytáním v retikuloendoteliálním systému. Opakované podání trombinu nevyvolá obvykle anafylaktickou reakci. Podle Jürgense a Studera (17) je poměr prokoagulační aktivity trombinu firmy Roche k antikoagulačnímu účinku heparinu 1,29 j. ku 1,0 j. Použili jsme tedy heparin v dávkách vysoko převyšujících množství nutné pro blokování trombinu. Cílem bylo zajistit spolehlivou rozdílnost obou pokusných skupin především s ohledem na posmrtné histochemické pátrání po mikrotrombech.

Rychle podaná velmi vysoká dávka trombinu vyvolá akutní hypotenzi a smrt pokusného zvířete. Nilssonová (48) a Olsson a spol. (33) podrobněji studovali vztah hypotenzního a vazodilatačního účinku trombinu k intravaskulární koagulaci. Podmínkou vazodilatačního účinku trombinu byla přítomnost krevních buněk (uvolnění ADP a ATP). Nejistili žádný vztah mezi vazoaktivitou trombinu a plazmatickými kininy. Velké dávky intraarteriálně podaného trombinu vedly k počátečnímu vzestupu místně sledovaného průtoku krve (vazodilatace), který byl následován jeho prudkým poklesem (koagulace?). Vazodilatační účinek trombinu byl stejný u normálních jako u defibrinogenovaných psů (předchozí velkou dávkou trombinu i. v.).

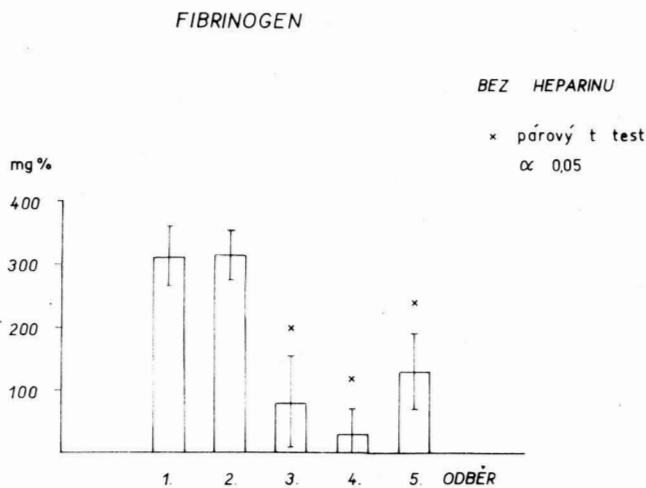
Pokud jde o celkový hypotenzní účinek trombinu, nebyl Nilssonovou prokázán po intraarteriální aplikaci ani při místní koncentraci látky 1 j./ml arteriální krve. Stejná dávka trombinu podaná v nitrožilní infúzi vyvolala však pokles krevního tlaku dokonce i u psů zbavených fibrinogenu. Hardaway (12) zaznamenal pokles tlaku u psů, u nichž kombinoval rychlou intraarteriální infúzi poměrně malé dávky trombinu s laparotomií a preparací ledviny nebo s 20minuto-

Graf 7



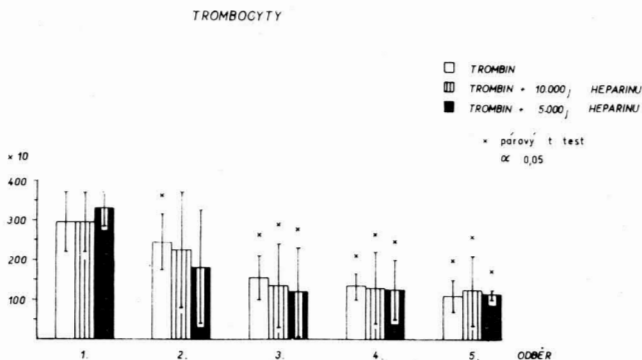
Pokles fibrinogenu byl v souladu s prodloužením Tč a Pč

Graf 8



Statistické zhodnocení poklesu fibrinogenu po podání trombinu

Graf 9



Postupný pokles trombocytů ve všech pokusných skupinách, nezávisle na podání heparinu

vým stlačením mezenterické tepny. V našich pokusech, v nichž jsme podávali trombin nitrožilně, k významným změnám krevního tlaku nedošlo. Je tedy možno dělat závěr, že hypotenzní účinnost trombinu v dávkách koagulačně již prokazatelně aktivních je nevýznamná. Jestliže velmi vysoké a rychle podané dávky vedou přece k hypotenzii, není tento účinek závislý na koagulaci a lze jej vyvolat i u zvířat, jejichž krev se předem stala nesrážlivou. Naše nálezy významných koagulačních změn po infúzi trombinu a pouze necharakteristického kolísání krevního tlaku, stejného v obou pokusných skupinách, jsou v souladu s tímto závěrem.

Modelové parenterální použití trombinu poskytuje celou řadu informací o dynamice fluidokoagulační rovnováhy krve.

Warner (cit. 5) zaznamenal již v r. 1939 mírnou hemolýzu po infúzi trombinu. Bennett a spol. (5) pozorovali vzestup hemoglobinémie u psů po podání trombinu. Stupeň hemolýzy nebyl závislý na intravaskulární koagulaci ani na histologickém průkazu mikrotrombů. Stejně změny u psů, králíků, krys a myši popsal Schneider (44). Regoeczi a spol. (36) použili k vyvolání nitrocévního srážení injekce hadího jedu. Zjistili korelaci mezi stupněm hemolýzy, poklesem hladiny fibrinogenu a výskytem mikrotrombů. Zajímavá je jejich interpretace výsledků. Intravaskulární poškození erytrocytů má dvojí příčinu:

1. dočasné vychytání erytrocytů v mikrotrombech,
2. poškození erytrocytů při jejich průchodu částečně trombózanými cévami.

Hadí jed in vitro hemolýzu nevyvolal a k hemolýze nedošlo ani u králíků s afibrinogémií vyvolanou předchozím podáním plazminu. V našich pokusech jsme zaznamenali hemolýzu u 14 odběrů z celkového počtu 60. Pouze třikrát šlo o psy heparinizované.

Mezi uváděnými hemokoagulačními nálezy po podání trombinu převládají u různých autorů tyto: pokles fibrinogenu a trombocytů, prodloužení Tč a Pč, pokles faktoru V a VIII (11, 12, 22, 34, 35). Girolami a spol. (11) prokázali také pokles konzumce protrombinu a poruchu generace tromboplastinu. Brayton a Zuckerová (8) přikládali hlavní význam poklesu f. VIII. Sníženou konzupci protrombinu našli i Vandembroucke a Verwilghen (50).

Trombin vyvolává agregaci trombocytů uvolňováním ADP a ATP (4, 32, 43). Včasné podání heparinu zabrání srážení krve, agregaci trombocytů vyvolané trombinem však nezabrání (43). Také v našem pokusu klesaly trombocyty v obou skupinách, tedy nezávisle na heparinu. V trombinové poruše fluidokoagulační rovnováhy hrají důležitou úlohu také degradační produkty fibrinogenu (1, 13, 16, 19, 20, 23, 31, 34, 49). Prodlužují trombinový čas a zmenšují „ma“ TEG svými antitrombinovým působením a inhibicí polymerizace fibrinu. Inhibují také agregaci a viskózní metamorfózu trombocytů.

Výsledky našich hemokoagulačních vyšetření jsou v souladu s uvedenými literárními údaji. Počáteční hyperkoagulační fázi jsme v našich pokusech nezaznamenali. Ze srovnání výsledků našich dřívějších pokusů na psech (28, 29), u nichž byl vyvolán turniketový šok, s účinky trombinu vyplývají tyto závěry:

1. Hemokoagulační změny při tomto experimentálním šoku a po parenterálním podání trombinu jsou kvalitativně shodné. Použitá dávka trombinu vyvolá však změny daleko výraznější (Tč, Pč, fibrinogen).
2. Pokles trombocytů po podání trombinu nelze, stejně jako u turniketového šoku, ovlivnit heparinem. Jde pravděpodobně o agregaci trombocytů a jejich distribuční přesuny v cévním řečišti.
3. Přes výrazné změny koagulace po infúzi trombinu nevzniká hypotenze a hnutí psů, jako tomu bylo u turniketového šoku. Tento náález pokládáme za důkaz, že nelze přeceňovat význam intravaskulární koagulace v patogenezi šoku a že vznik ireverzibilní hypotenze a hnutí zvířat není možno zjednodušeně vykládat nitrocévním srážením krve.
4. Tento závěr je také v souladu s naším dřívějším zjištěním, že heparin sice mění dynamiku koagulačních změn při šoku, avšak není s to léčebně ovlivnit oběhovou poruchu a hnutí pokusných zvířat.

Souhrn

Bylo použito pomalého nitrožilního podání vysoké dávky trombinu pokusným psům s cílem vytvořit model diseminované intravaskulární koagulace, srovnatelné s hemokoagulačními nálezy při turniketovém šoku.

Přesto, že hemokoagulační změny vyvolané trombinem byly kvalitativně stejné jako při šoku a svým rozsahem přechodně dokonce daleko výraznější, nevznikla hypotenze ani nedocházelo k hnutí zvířat během pokusu. Nelze proto přeceňovat význam intravaskulární koagulace v patogenezi šoku.

Heparin může sice ovlivnit nitrocévní srážení a účinně inhibovat vznik konzumptivní koagulopatie při šoku, není však s to léčebně působit na hemodynamické poruchy a na celkovou prognózu šoku.

Literatura

1. Alkjaersig, N., Fletcher, A. P., Sherry, S.: Pathogenesis of the Coagulation Defect Developing During Pathological Plasma Proteolytic („Fibrinolytic“) States. II. The Significance, Mechanism and Consequences of the Defective Fibrin Polymerization. *J. clin. Invest.* 41, 1962, 4 : 917—934.
2. Arakawa, T., Spaet, T. H.: Hypercoagulability and Thrombosis: Effect of Injected Thrombokinase and Adenosine Diphosphate on Established Microthrombi in Rabbits. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 116, 1964, 1034 až 1037.
3. Baluda, V. P., Muchamedžanov, I. A.: O vnutrisosudistom tromboobrazovanii pri vnutrivennom vvedenii tromboplastina i trombina. *Pat. Fyziol. eksp. Ter.* 1962, 6 : 45—49.
4. Belamarich, F. A., Shepro, D., Kien, M.: ADP is not Involved in Thrombin-induced Aggregation of Thrombocytes of a Non-mammalian Vertebrate. *Nature*, 220, 1968, 509—510.
5. Bennett, J. M., Yu, D., Suyemoto, J., Pechet, L.: The Effects of Infusing Thrombin and Its Acetylated Derivative (II.). *Thromb. Diathes. haemorrh. (Stutt.)* 20, 1968, 3—4, 469—476.
6. Blum, S. F., Gardner, F. H.: Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. Mechanism of the Enhancement of Hemolysis by Bovine Thrombin. *Blood* 3, 1967, 3 : 352—358.
7. Brakman, P., Klug, P., Astrup, T.: Fibrinolytic Activity of Thrombin Preparations. *Thromb. Diathes. haemorrh. (Stutt.)* 11, 1964 : 234—242.
8. Brayton, R. G., Zucker, M. B.: Bleeding Syndrome in Thrombin-Injected Rats Deficient in Fibrinogen and Antihemophilic Factor. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 96, 1957 : 418—421.
9. Brodsky, I., Meyer, A. N., Kohn, S. B., Ross, E. M.: Laboratory Diagnosis of Disseminated Intravascular Coagulation. *Am. J. clin. Path.* 50, 1968, 2 : 211—220.
10. Corrigan, J. J., Abildgaard, C. F., Seeler, R. A., Schulman, I.: Quantitative Aspects of Blood Coagulation in the Generalized Shwartzman Reaction. *Pediat. Res.* 1967, 1 : 99—103.
11. Girolami, A., Clifton, E. E., Agostino, D.: Hemorrhagic Syndrome in Dogs Induced by Intravenous Thrombin. *Thromb. Diathes. haemorrh. (Stutt.)* 16, 1966, 1—2 : 243—256.
12. Hardaway, R. M., Watson, H. E., Weiss, F. H.: Alterations in Blood Coagulation Mechanism After Intra-Aortic Injection of Thrombin. *Arch. Surg.* 1960, 81 : 155—163.
13. Hirsh, J., Fletcher, A. P., Sherry, S.: Effect of fibrin and fibrinogen proteolysis products on clot physical properties. *Amer. J. Physiol.* 209, 1965, 1 : 415—424.
14. Inkley, S. R., Gillespie, L., Koletsky, S.: Pulmonary Vascular Changes after Intravenous Injection of Thromboplastin in Rabbits. *J. Lab. Clin. Med.* 1961, 57 : 114—125.
15. Izak, G., Galewsky, K.: Studies on Experimentally Induced Hypercoagulable State in Rabbits. *Thromb. Diathes. haemorrh. (Stutt.)* 16, 1966, 1—2 : 228—242.
16. Jarushalmy, Z., Zucker, M. B.: Some Effects of Fibrinogen Degradation Products (FDP) on Blood Platelets. *Thromb. Diathes. haemorrh. (Stutt.)* 15, 1966 : 413—419.
17. Jürgens, R., Studer, A.: Zur Wirkung des Thrombins. *Helv. physiol. pharmacol. acta* 1948, 6 : 130—149.
18. Kipfer, R., Seegers, W. H.: Transformation of Auto-prothrombin III of Autoprothrombin C in Sodium Citrate Solution. *Thromb. Diathes. haemorrh. (Stutt.)* 19, 1968, 1—2 : 204—212.
19. Kowalski, E., Budzynski, A. Z., Kopec, M., Latallo, Z. S., Lipinski, B., Wegrzynowicz, Z.: Circulating Fibrinogen Degradation Products (FDP) in Dog Blood after Intravenous Thrombin Infusion. *Thromb. Diathes. haemorrh. (Stutt.)* 13, 1965, 1—2 : 12—24.
20. Kowalski, E., Kopec, M., Wegrzynowicz, Z.: Influence of Fibrinogen Degradation Products (FDP) on Platelet Aggregation, Adhesiveness and Viscosity Metamorphosis. *Thromb. Diathes. haemorrh. (Stutt.)* 10, 1963 : 406—423.
21. Kudrjašov, B. A., Ušakova, M. D., Bazazjan, G. G., Sytina, N. P.: Isledovanije vozmožnosti preduprežděnija s pomoščju dikumarina tromboobrazovanija, vyzvajemovo vnutrivennym vvědženijem massivnych doz tromboplastina. *Bjull. eksp. Biol. Med.* 1964, 3 : 26 až 27.
22. Landaburu, R. H., Giavedoni, E., Santillán, R.: Thrombin and acetylated thrombin in the activation of fibrinolysis. *Canad. J. Physiol. Pharmacol.* 46, 1968 : 809 až 813.
23. Latallo, Z. S., Fletcher, A. P., Alkjaersig, N., Sherry, S.: Inhibition of fibrin polymerization by fibrinogen proteolysis products. *Amer. J. Physiol.* 202, 1962 : 681 až 686.
24. Lewis, J. H., Szeto, I. L. F.: Effects of intravenous tissue thromboplastin in dogs: Development of an anti-coagulant.
25. Maki, M., Kikuchi, I., Watanabe, S., Kikuchi, E.: A Coagulation Anomaly: Plasma Being Made Non-clottable by Adding Thrombin and Clottable by Thromboplastin-calcium or Toluidine Blue-thrombin. *Tohoku J. exp. Med.* 1964, 84 : 274—281.

26. Margaretten, W., Csavossy, I., Mc Kay, D. G.: An Electron Microscopic Study of Thrombin — Induced Disseminated Intravascular Coagulation. *Blood* 29, 1967, 2 : 169—181.
27. Margaretten, W., Zunker, H. O., Mc Kay, D. G.: Production of the Generalized Schwartzman Reaction in Pregnant Rats by Intravenous Infusion of Thrombin. *Labor. Invest.* 13, 1964 : 552—559.
28. Mazák, J., Reček, Č., Langr, F.: Význam intravaskulární hemokoagulace v patogenezi šoku. I. Turniketový šok u neozářených a ozářených psů. *Voj. zdrav. Listy* 37, 1968, 1 : 9—15.
29. Mazák, J., Reček, Č., Vaňásek, J.: Význam intravaskulární hemokoagulace v patogenezi šoku. II. Pokus o léčebné ovlivnění hemokoagulačních změn v průběhu experimentálního šoku. *Voj. zdrav. Listy* 38, 1969, 1 : 10—13.
30. Mc Kay, D. G.: Disseminated Intravascular Coagulation. An Intermediary Mechanism of Disease. Harper-Row, New York 1965.
31. Monkhouse, F. C., Milojevic, S.: Changes in fibrinogen level after infusion of thrombin and thromboplastin. *Amer. J. Physiol.* 199, 1960 : 1165—1168.
32. Morse, E. E., Jackson, D. P., Conley, C. L.: Role of Platelet Fibrinogen in the Reactions of Platelets to Thrombin. *J. clin. Invest.* 44, 1965, 5 : 809—816.
33. Olsson, P., Swedenborg, J., Teger-Nilsson, A. C.: Thrombin Induced Vasodilatation and Hypotension in Dogs: Role of Fibrinogen, Plasma Kinins and Blood Cells. *Cardiovasc. Res.* 3, 1969, 1 : 56—63.
34. Pechet, L., Engel, A. M., Goldstein, C., Glaser, B.: The Effects of Infusing Thrombin and Its Acetylated Derivative (I.). *Thromb. Diathes. haemorrh. (Stutt.)* 20, 1968, 1—2 : 190—201.
35. Quick, A. J., Hussey, C. V., Harris, J., Peters, K.: Occult intravascular clotting by means of intravenous injection of thrombin. *Amer. J. Physiol.* 197, 1959 : 791—794.
36. Regoeczi, E., Rubenberg, M. L., Brain, M. C.: Intravascular Hemolysis and Disseminated Intravascular Coagulation. *Lancet* I, 1967, 7490 : 601—602.
37. Rusakova, G. P.: Izměnění svěrtyvajemosti krevi u sobak pri vnútrivěnnom vveděni trómboplastina. *Pat. Fiziol. eksp. Ter.* 1965, 9 : 82—84.
38. Saldeen, T.: Quantitative Determination of Intravascular Coagulation in the Lungs of Experimental Animals. *Scand. J. Haemat.* 6, 1969 : 205—215.
39. Seaman, A. J., Lutcher, C. L., Moffat, Ch. A., Hueber, B. E.: Induced Intravascular Thromboembolic Phenomena. *Arch. intern. Med.* 1967, 119 : 600—604.
40. Seegers, W. H.: Antithrombin as Proteinase Inhibitor. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1968, 146 : 593—600.
41. Seegers, W. H., Mc Coy, L., Kipfer, R. K., Murano, G.: Preparation and Properties of Thrombin. *Arch. Biochem.* 128, 1968 : 194—201.
42. Schimpf, Kl., Cibalius, A., Mardini, R.: Die physiologischen Inhibitoren der Blutgerinnung bei pathologisch gesteigerter Gerinnbarkeit in vivo. *Klin. Wschr.* 42, 1964, 13 : 637—640.
43. Schmid, H. J., Jackson, D. P., Conley, C. L.: Mechanism of Action of Thrombin on Platelets. *J. clin. Invest.* 41, 1962, 3 : 543—553.
44. Schneider, Ch. L.: Erythrocyte Hemolysis and Fibrinogen-Fibrinolysis During Retained Abruptio Placentae with Hypovolemia and Transient Anuria. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp.* 31, 1968, 4 : 491—504.
45. Simmons, J., Rapaport, S. I., Hjort, P. F.: Failure to Provoke the Local Schwartzman Reaction with Thrombin. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 124, 1967, 3 : 742—744.
46. Spaet, T. H., Horowitz, H. I., Zucker-Franklin, D., Cintron, J., Biezenski, J. J.: Reticuloendothelial Clearance of Blood Thromboplastin by Rats. *Blood* 1961, 17 : 196—205.
47. Studer, A., Lorez, H. P.: Einfluss von Epsilon-Aminocapronsäure auf die nach intravenösen Thrombininfusionen am Kaninchen entstehenden Veränderungen der Lungengefäße. *Path. et Microbiol. (Basel)* 1965, 28 : 425—436.
48. Teger-Nilsson, A. C.: Studies on Tissue Thromboplastin, Thrombin and Fibrinopeptides in Intravascular Coagulation. *Acta physiol. scand., Suppl.* 319, 1968 : 7—40.
49. Triantaphyllopoulos, D. C., Chen, C., Triantaphyllopoulos, E.: Nature of the Inhibition of Prothrombin Consumption by Lysed Fibrinogen. *Brit. J. Haemat.* 16, 1969 : 589—598.
50. Vandenbroucke, J., Verwilghen, R.: Consommation de la prothrombine après injections de thrombine. *Sang* 1955, 26 : 699—705.
51. Warner, E. D., Brinkhous, K. M., Seegers, W. H., Smith, H. P.: Further Experience With the Use of Thrombin as a Hemostatic Agent. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 1939, 41 : 655—657.