

Thromboseprophylaxe mit Aspirin?

Der Einfluß von Acetylsalicylsäure auf die Thrombocytenaggregation in vitro und in vivo

I. SCHARRE, M. SCHEPPING und K. BREDDIN

Sektion Angiologie des Zentrums der Inneren Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt a.M.
(Direktoren: Prof. Dr. J. Frey, Prof. Dr. K. Schöffling, Prof. Dr. W. Siede)

Eine Thrombose beginnt in der Regel mit der Haftung und Aggregation von Thrombocyten an einer veränderten Gefäßwand. Erst die Bildung des primären Plättchenthrombus führt zur Freisetzung von gerinnungsaktiven Thrombocyteninhaltsstoffen und damit zur Thrombinaktivierung und Fibrinbildung.

nach Einnahme von 3 g Aspirin pro Tag. 1966 beobachtete Quick eine starke Verlängerung der Blutungszeit bei Patienten mit von Willebrand-Syndrom, die Aspirin eingenommen hatten. Morris (1966) sah eine deutliche Hemmung der Plättchenretention in Glasperlenfiltern im Plasma von Per-

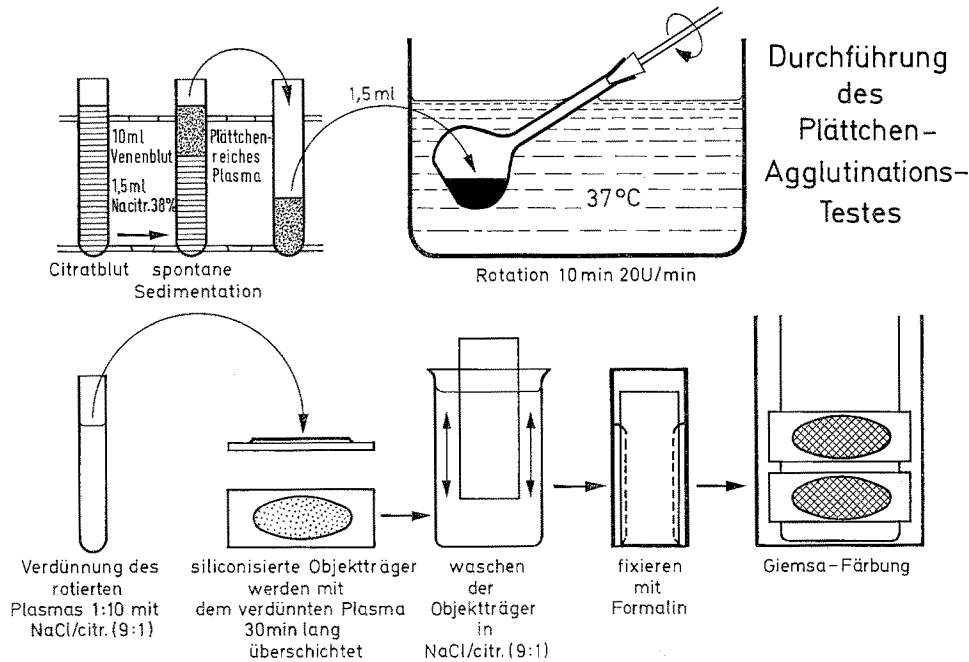


Abb. 1. Schema des Plättchenaggregationstestes (PAT)

Wir fanden bei Patienten mit chronischen Gefäßprozessen oder mit Krankheiten, bei denen erfahrungsgemäß eine erhöhte Thromboseneigung besteht (fortschreitende Atherosklerose, Diabetes mellitus, Infektionskrankheiten, Carcinome), eine meist über lange Zeit gesteigerte Aggregationstendenz der Thrombocyten (Breddin, 1965, 1968).

Bisher versuchte man, Thrombosen in erster Linie mit Anticoagulantien zu behandeln oder zu verhüten. Aufgrund der heutigen Kenntnisse über die Thrombosentstehung ist theoretisch eine neue Form der Thromboseprophylaxe mit Medikamenten möglich, die Haftneigung und Aggregation der Thrombocyten hemmen. Vorläufig sind aber noch wenige aggregationshemmende Stoffe bekannt und klinisch konnte bis jetzt noch kein derartiges Medikament geprüft werden. Die fehlende Kenntnis über den Ablauf der Reaktionen, die zur Plättchenaggregation führen, erschwert die Suche nach wirksamen Hemmsubstanzen.

Bounameaux und van Cauwenberge berichteten 1954 über die Hemmung der Plättchenadhäsivität unter dem Einfluß von Salicylaten. Gast beschrieb 1964 eine Verminderung der Plättchenadhäsivität

sonen, die 0,5–1,0 g Aspirin eingenommen hatten. Wir berichteten 1967 über unsere ersten Versuche zur Hemmung der Plättchenaggregation mit Acetylsalicylsäure in vitro und in vivo. Weitere experimentelle und klinische Befunde über die Wirkung der Acetylsalicylsäure sollen hier mitgeteilt werden.

Methodik

a) In vitro-Versuche

1. *Plättchenaggregationstest (PAT)* (Breddin u. Bauke, 1965). Prinzip s. Abb. 1 und 2. *Modifikation zur Testung von Aggregationshemmern:* Von der Testsubstanz wird eine Lösung in zehnfach höherer Konzentration als für die Prüfung notwendig hergestellt. Um die gewünschte Konzentration im thrombocytenhaltigen, spontansedimentierten Citratplasma zu erzielen, werden 1,8 ml des Plasmas mit 0,2 ml der Substanzlösung vermischt. Nach einer Inkubationszeit von 5 min werden 1,2 ml des substanzhaltigen Plasmas entsprechend der PAT-Methode weiterbehandelt; von dem restlichen Plasma werden Ausbreitungspräparate hergestellt. Als 0-Wert oder Vergleichswert werden 1,8 ml Plasma mit 0,2 ml physiologischer Kochsalzlösung getestet.

2. *Beurteilung der Thrombocytenausbreitung* (Breddin u. Bürk, 1963).

3. *Thrombocytenadhäsivitätsindex* (Breddin, 1965). Bei der Testung von aggregationshemmenden Substanzen wird das Plasma in gleicher Weise wie zur Bestimmung des PAT mit

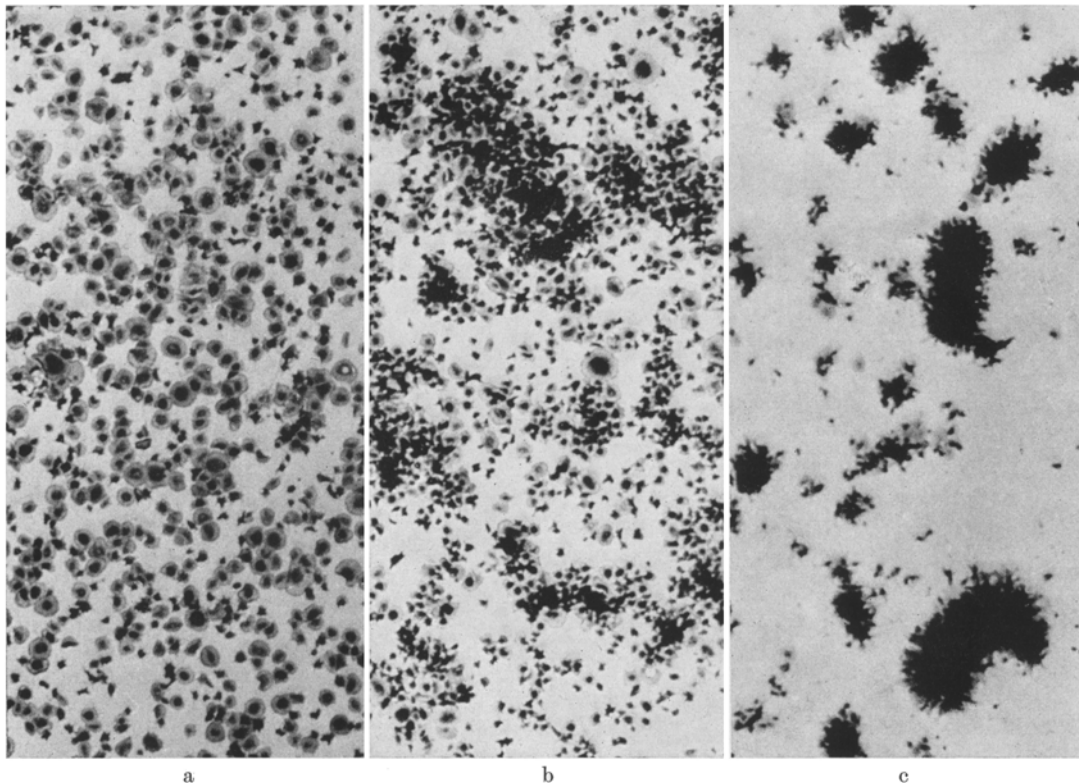


Abb. 2. a Stufe 2 des PAT. Nach Rotation des thrombocytenhaltigen Plasmas finden sich einzelne Aggregate; die Mehrzahl der Plättchen liegt isoliert. b Stufe 3 des PAT. Nach der Rotation finden sich zahlreiche Aggregate, z.T. mit zentraler irreversibler Aggregation, die einzeln liegenden Plättchen sind vermindert. c Stufe 5 des PAT. Vollständige irreversible Aggregation. Vergr. 160fach

der zu prüfenden Substanz versetzt. Anschließend Ermittlung des Adhäsivitätsindex entsprechend der Originalmethode. Als Vergleichswert dient der Adhäsivitätsindex desselben Plasmas, das statt mit einer Testsubstanz mit der adäquaten Menge physiologischer Kochsalzlösung versetzt wurde.

4. *ADP-induzierte Aggregation.* 1,6 ml plättchenhaltiges Normalplasma werden mit 0,2 ml der zu testenden Substanz und anschließend mit 0,2 ml einer ADP-Lösung (10 µg/ml) versetzt; Vergleichsansatz mit ADP und 0,2 ml einer physiologischen Kochsalzlösung. Anschließend wird mit dem PAT geprüft, ob die zugesetzte Substanz die im Vergleichsansatz mit ADP hervorgerufene Plättchenaggregation zu hemmen vermag.

5. *Prokollagen-induzierte Aggregation.* Herstellung von löslichem Prokollagen aus Rattenschwänzen nach Heimrich und Roka (1969); Endkonzentration des Prokollagens bei der Testung 8,5 mg-% Protein. 0,9 ml thrombocytenhaltiges Citratplasma werden mit 0,1 ml der zu testenden Substanz versetzt; anschließend Zugabe von 0,11 ml 85 mg-%iger Prokollagenlösung. 0,5 ml des Gemisches werden entsprechend der PAT-Methode weiterbehandelt. Beurteilung entsprechend den 5 Stufen des PAT.

6. *Liquoid-induzierte Aggregation.* 1,7 ml eines plättchenhaltigen Citratplasmas werden mit 0,2 ml der zu testenden aggregationshemmenden Substanz versetzt. Bei jeder Prüfung werden zur Kontrolle 1,7 ml des gleichen Plasmas mit 0,2 ml eines NaCl/Citratgemisches versetzt. Dann pipettiert man zu jedem Testansatz 0,1 ml einer 1/1000igen Liquoid®-Lösung (polyäthanol-sulfonsaures Natrium). Das Plasma wird sofort anschließend entsprechend der PAT-Methode rotiert. Beurteilung der Präparate entsprechend den 5 Stufen des PAT. Der Kontrollwert ohne Hemmstoff ergibt immer die Stufe 5.

7. *Aggregationshemmende Substanzen und ihre Herkunft.* Acetylsalicylsäure (ASS), die Lösungen wurden stets frisch angesetzt. Apyron® (Wülfling) Tabletten mit 0,26 g ASS und 0,027 g magnesia usta. Butazolidin® = Phenylbutazon als Substanz (Thomae-Geigy); 100 mg werden mit 5 Tropfen 96% Äthanol + 4 ml 0,1 M NaOH gelöst, Aqua dest. ad 100 ml. Gentamidon® = Aminophenazongentisat (Krugmann-Hamburg). Papaverin-HCl, Lösungen wurden stets frisch

angesetzt. Paraaminosalicylsäure = Na PAS-Cilag®. Persantin® (Thomae) Ampulle 10 mg/2 ml. RA 233 = 2,6-Bis-(diäthanolamino)-4-piperidino-pyrimido-(5,4-d)-pyrimidin als 10⁻³ molare Lösung (Thomae). RA 433 = 2,4,6-Trimorpholino-pyrimido-(5,4-d)pyrimidin als 10⁻³ molare Lösung (Thomae). Salicylamid = Salizell® (Byk-Gulden). Tantum® = 1-Benzyl-3-(3-dimethylaminopropoxy)-1H-indazol als Reinsubstanz (Tropon und Kalichemie).

b) In vivo-Untersuchungen

1. PAT vor und nach oraler Aspiringabe.
2. Adhäsivitätsindex vor und nach Aspiringabe.
3. Blutungszeit (Duke) vor und nach Aspiringabe.

Ergebnisse

a) In vitro-Befunde

Wirkung von Acetylsalicylsäure auf:

1. *die spontan gesteigerte Aggregationsneigung der Thrombocyten in menschlichem Plasma.* 50 µg/ml bzw. ca. $2,7 \times 10^{-4}$ M Acetylsalicylsäure hemmen die Plättchenaggregation (PAT) im Plasma von Patienten mit spontan gesteigerter Aggregationsneigung der Thrombocyten. In 9 von 10 Versuchen vermochte Acetylsalicylsäure in dieser Konzentration die irreversible Aggregation deutlich zu hemmen, während nach wie vor reversible Aggregate entstanden. Der Effekt bis zu zehnfach höherer ASS-Konzentration war nicht stärker; geringere Konzentrationen waren nicht mehr zuverlässig wirksam.

2. *die Thrombocytenausbreitung.* Im Konzentrationsbereich zwischen 10 und 500 µg/ml beeinflusste Acetylsalicylsäure die Thrombocytenausbreitung nicht.

3. *die ADP-induzierte Aggregation.* Acetylsalicylsäure vermag in 10⁻⁵ bis 10⁻³ molarer Konzentration

Tabelle. Wirkung verschiedener Aggregationshemmer auf Aggregation, Haftneigung und Ausbreitung der Thrombocyten

Aggregationshemmer	Konzentration in Mol	PAT in vitro	ADP induzierte Aggregation	Prokollagen induzierte Aggregation	Ausbreitung	Adhäsivität
Papaverin-HCl	2×10^{-4} 10^{-4}	+++ ^a +	++ +	0 0	gehemmt gering gehemmt	++ ++
Persantin	5×10^{-4} 2×10^{-4} 10^{-4}	+ 0 0	+ 0 0	+ 0 0	unbeeinflusst unbeeinflusst unbeeinflusst	++ + 0
RA 433	2×10^{-4} 10^{-4}	++ +	++ +	(+) 0	unbeeinflusst unbeeinflusst	++ ++
RA 233	2×10^{-4} 10^{-4}	++ +	++ +	(+) 0	unbeeinflusst unbeeinflusst	+ +
Acetylsalicylsäure	5×10^{-4} 2×10^{-4} 10^{-4}	++ + 0	0 0 0	+ 0 0	unbeeinflusst unbeeinflusst unbeeinflusst	(+) 0 0
Salicylsäure	5×10^{-4} 2×10^{-4}	0 0	0 0	0 0	unbeeinflusst unbeeinflusst	0 0
Butazolidin	2×10^{-4} 10^{-4}	0 0	+ (+)	0 0	unbeeinflusst unbeeinflusst	0 0

^a Aggregationshemmung und Adhäsivitätsindex: ++ = starke Hemmung (PAT 5→2); + = geringe Hemmung (PAT 5→3); (+) = sehr geringe Hemmung (PAT 5→3—4); 0 = keine Hemmung.

in unserem Testsystem die ADP-induzierte reversible und irreversible Aggregation nicht zu hemmen.

4. *die Prokollagen-induzierte Aggregation.* In 2×10^{-4} bis 5×10^{-4} molarer Konzentration hemmt Acetylsalicylsäure die Prokollagen-induzierte Aggregation nur gering; eine vollständige Hemmung der irreversiblen Aggregation ist nicht möglich. Allerdings vermag auch Papaverin in 2×10^{-4} molarer Konzentration die Prokollagen-induzierte Aggregation nicht stärker zu hemmen (s. Tabelle).

5. *die Liquoid-induzierte Aggregation.* Im Bereich zwischen 10^{-4} und 10^{-3} M hat Acetylsalicylsäure keinen Hemmeffekt auf die Liquoid-induzierte Aggregation. Demgegenüber hemmt Papaverin in 10^{-4} molarer Konzentration mäßig und in 2×10^{-4} molarer Konzentration vollständig.

6. *die Plättchenadhäsivität.* In einer Konzentration von 2×10^{-4} Mol beeinflusst ASS die Adhäsivität in plättchenhaltigem Citratplasma nur gering. Die Haftneigung gewaschener Thrombocyten wird nicht gehemmt. Bei 7 Versuchen fand sich eine mittlere Verminderung des Adhäsivitätsindex um nur 0,214 entsprechend einer Adhäsivitätsverminderung um 10%. Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant.

7. *die Fibrinolyseaktivität in vitro* (Thrombelastographie, Spontanlyse). Unter dem Einfluß von Acetylsalicylsäure in Konzentrationen zwischen 5×10^{-5} bis 10^{-3} M fand sich keine Fibrinolyseaktivierung.

8. *In vitro-Vergleich der ASS-Wirkung mit dem Effekt anderer Aggregationshemmer* (s. Tabelle). Im Vergleich zu Papaverin und den beiden Pyrimidinabkömmlingen RA 233 und RA 433 ist ASS ein verhältnismäßig wenig wirksamer Aggregationshemmer. Persantin hemmt die Aggregation nur gering, Salicylsäure ist unwirksam. ASS wirkt stärker als Phenylbutazon.

9. *Untersuchungen mit anderen Salicylaten.* Salicylsäure und einige ihrer Derivate, wie das Salicylamid und das Natriumsalz der Paraaminosalicylsäure (PAS) hemmen in Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-3} M die

spontan gesteigerte Plättchenaggregation nicht (siehe Tabelle).

b) In vivo-Befunde

1. *Einfluß von ASS auf die gesteigerte Plättchenaggregation bei Gefäßkranken.* Im Jahre 1967 erhielten 116 Patienten mit abnormen PAT (Stufe 4 oder 5) pro Tag 1—3 g Acetylsalicylsäure oral. Bei 105 dieser Patienten (91%) nahm die gesteigerte Aggregations-tendenz der Thrombocyten ab. 54mal (46%) wurde sowohl die reversible als auch die irreversible Aggregation gehemmt; der PAT wurde normalisiert. Bei 51 Patienten (43,7%) traten nach ASS-Gabe keine irreversiblen Aggregate mehr auf; im PAT fand sich eine Besserung von Stufe 4 oder 5 auf Stufe 3 (s. Abb. 3 und 4). Die aggregationshemmende Wirkung war schon 2 Std nach der ersten Dosis nachweisbar. Nach Absetzen der ASS wurden die abnormen PAT-Ausgangswerte unabhängig von Behandlungsdauer und ASS-Dosis erst nach Tagen wieder erreicht. Die Abklingdauer der ASS-Wirkung schwankt zwischen 2 und 7 Tagen; nach unseren bisherigen Ergebnissen ist sie für den einzelnen Patienten weitgehend konstant (s. Abb. 5).

2. *Blutungszeit unter dem Einfluß von ASS.* 20 Personen erhielten 500 mg Acetylsalicylsäure oral. Vorher und 2 Std später wurde die Blutungszeit bestimmt. Bei 19 Personen war die Blutungszeit nach Acetylsalicylsäure gering verlängert; die mittlere Verlängerung betrug 66 sec.

3. *Klinische Anwendung von Acetylsalicylsäure bei Patienten mit arteriellen und venösen Thrombosen.* 130 Patienten mit peripheren venösen Thrombosen (47), rezidivierenden Thrombophlebitiden (17), postthrombotischem Syndrom (14), peripheren arteriellen Thrombosen und Durchblutungsstörungen (32), varicösem Symptomenkomplex (15) und Ulcera cruris (5) wurden 2—6 Wochen lang oral mit 1—2 g Acetylsalicylsäure pro Tag behandelt. Der klinische Effekt dieser Behandlung war für uns zunächst überraschend.

Bei 40 von 47 Patienten bildeten sich die Thrombosen schnell innerhalb von 1—5 Tagen, bei 7 Kranken nur langsam zurück; von den 17 Patienten mit rezidivierenden Thrombophlebitiden wurden 15 schnell, einer langsam und ein Patient nicht gebessert. Der Therapieerfolg übertraf die Besserung, die erfahrungsgemäß mit Butazolidin oder — bei tiefen Thrombosen — mit Antikoagulantien erzielt werden kann. Wir haben in keinem Fall unter der Gabe von PSS die Entwicklung eines Thromboserezidivs oder eine Lungenembolie beobachtet. Allerdings ist bei einem 76 Jahre alten Patienten unter ASS-Gabe eine Phlebothrombose aufgetreten.

Klinisches Beispiel. Eine 58 Jahre alte Frau wird mit einer seit 3 Wochen bestehenden Phlebothrombose im linken Bein eingewiesen. Es besteht eine pralle Schwellung des Ober- und Unterschenkels (Umfangsdifferenzen: Oberschenkel 10 cm, Unterschenkel 6 cm). Phlebographie: Ausgedehnte Verschlüsse des tiefen Venensystems im Ober- und Unterschenkel. Abfluß des Kontrastmittels über insuffiziente Vv. perforantes. Behandlung mit 3mal 2 Apyron/Tag (1,5 g ASS). Völlige Rückbildung der Schwellung in 4 Tagen. Kontrollphlebographie: Wiedereröffnung der tiefen Venen im Unterschenkel. Es besteht noch ein Verschluß handbreit unterhalb des Kniegelenks mit Abfluß durch insuffiziente Vv. perforantes.

Epikrise. Schnelle klinische Besserung einer 3 Wochen bestehenden Phlebothrombose unter Behandlung mit ASS mit teilweiser Wiedereröffnung tiefer Venen.

4. ASS als Thromboseprophylaktikum. 64 Patienten mit Zustand nach arteriellen und venösen Thrombosen erhielten 6 Wochen bis 1½ Jahre, im Mittel 4 Monate lang, 1—1,5 g ASS pro Tag. Während der Behandlungszeit ist bei keinem dieser Patienten ein Thromboserezidiv aufgetreten, auch nicht bei Patienten, die vorher in kurzen Abständen rezidivierende Thrombosen und Thrombophlebitiden gehabt hatten.

Diskussion

1. Thrombocytenaggregation und -adhäsivität unter dem Einfluß von ASS in vitro. Acetylsalicylsäure (ASS) ist in vitro ein verhältnismäßig schwacher Aggregationshemmer. Haftneigung und Thrombocytenausbreitung werden nicht wesentlich gestört. In Konzentrationen zwischen 10^{-4} und 10^{-3} M wirkt ASS weder gerinnungshemmend noch fibrinolyseaktivierend. In unserem Testsystem (PAT) vermochte ASS auch in hohen Konzentrationen weder die ADP-induzierte noch die Prokollagen- und Liquoid-induzierte Thrombocytenaggregation zu hemmen. O'Brien (1968), Davies u. Mitarb. (1968), und Zucker u. Peterson (1968) fanden unter dem Einfluß hoher Konzentrationen von ASS (5×10^{-4} M) eine Hemmung der ADP-induzierten Aggregation in vitro, allerdings mit verhältnismäßig unzuverlässigen photometrischen Methoden (optical density). Demgegenüber sahen Weiss und Aledort (1967) keine Hemmung der ADP-induzierten Plättchenaggregation, wohl aber eine verminderte Freisetzung von ADP aus den Thrombocyten.

2. Vergleich mit anderen Aggregationshemmern. Papaverin, 2,6-Bis-(diäthanolamino)-4-piperidino-pyrimido-(5,4-d)-pyrimidin und 2,4,6-Trimorpholino-pyrimido-(5,4-d)-pyrimidin (RA 433 und RA 233) hemmen in 10^{-4} M, also geringeren Konzentrationen als ASS, die Aggregation. In vivo wirkt ASS wesentlich stärker als nach den in vitro-Befunden zu erwarten wäre. Papaverin und Pyrimidin reduzieren die Haftneigung der Thrombocyten und lassen die

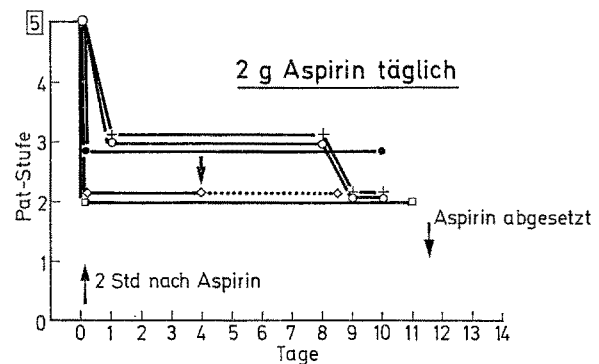


Abb. 3. Besserung des PAT bei 5 Patienten nach Einnahme von 2 g ASS pro Tag

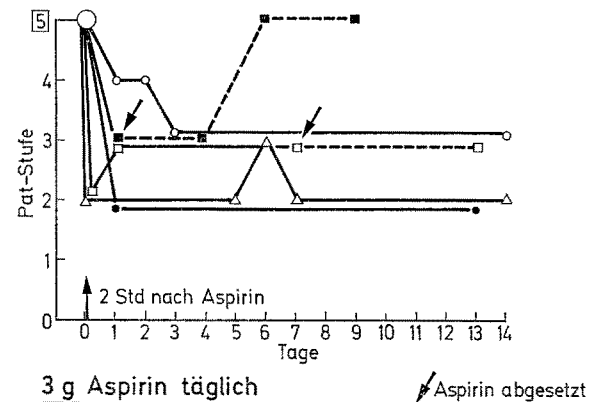


Abb. 4. Beeinflussung des PAT bei 5 Patienten nach oraler Gabe von 3 g Aspirin pro Tag. Eintritt der Wirkung nach 2 Std. Dauer des Effekts nach Absetzen des ASS 4—6 Tage

Thrombocytenausbreitung unbeeinflusst. Im Gegensatz zur ASS hemmen sie in verhältnismäßig niedrigen Konzentrationen die ADP-induzierte Aggregation. Der Effekt auf die Kollagen-induzierte Aggregation ist nur gering.

3. Vergleich mit anderen Entzündungshemmern. Phenylbutazon, Tantum, Tanderil, Salicylsäure, Paraaminosalicylsäure und Salicylamid waren in vitro in vergleichbaren Konzentrationen wirkungslos.

4. Wirkungsmechanismus der ASS in vitro. Bisher ist nicht bekannt, ob die ASS in vitro direkt an den Thrombocyten angreift oder durch Einwirkung auf Plasmafaktoren aggregationshemmend wirkt. Tauschversuche und Untersuchungen an gewaschenen Thrombocyten haben diese Frage nicht eindeutig klären können.

5. Wirkung der ASS auf die gesteigerte Thrombocytenaggregation in vivo. Bounameaux u. V. Kauwenberg (1954) und Evans u. Mustard (1967) fanden, daß ASS die Kollagen-induzierte Aggregation beim Kaninchen deutlich hemmt, während die ADP-induzierte Aggregation kaum beeinflusst wird. Kleszynski u. Bastian (1968) sahen eine Hemmung der Kollagen-induzierten Aggregation im Rattenplasma nach Injektion von 25—200 mg ASS pro kg Körpergewicht.

Mit der Rotationsmethode nach Whright fand Gast (1964) eine Herabsetzung der Plättchenklebrigkeit bei Patienten nach ASS-Behandlung. Morris (1967) beobachtete in seinem Glasperlenfiltertest eine hochgradige Hemmung der Plättchenadhäsivität bei Personen, die ASS eingenommen hatten.

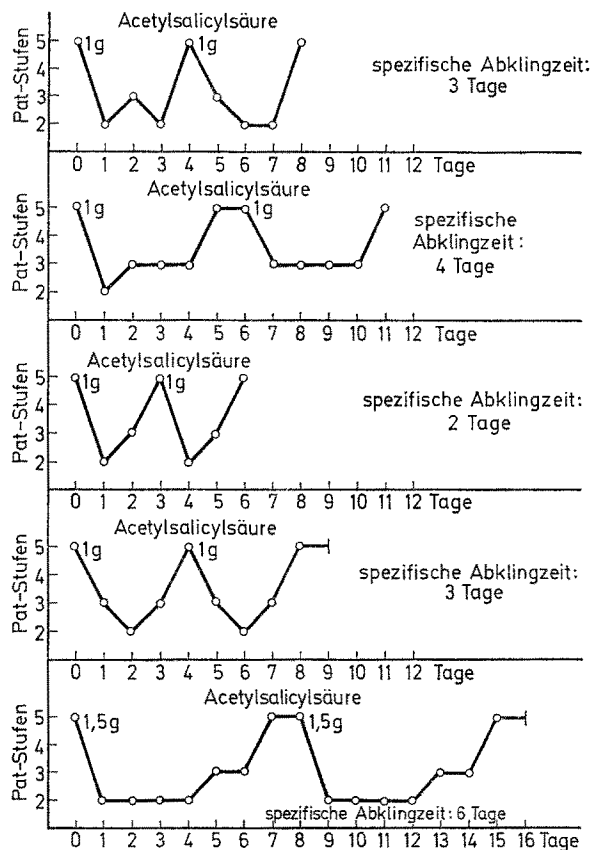


Abb. 5. Wirkung einer einmaligen Gabe von 1—1,5 g ASS. Die Zeit bis zum Erreichen des PAT-Ausgangswertes ist bei den einzelnen Personen weitgehend konstant

Bei 91% der mit ASS in einer Dosis von 1—3 g pro Tag behandelten Patienten wurde die irreversible Aggregation in der Regel schon nach 2 Std gehemmt, bei 46% von ihnen wurde darüber hinaus auch die reversible Aggregation verhindert. Bei Personen, die bis zu 1½ Jahre lang mit ASS behandelt wurden, blieb die Aggregationshemmung während dieser Zeit nachweisbar. Etwa 9% der Behandelten reagierten weder auf Erhöhung der ASS-Dosis noch auf länger dauernde Therapie. ASS ist nach unseren Erfahrungen z.Z. der wirksamste klinisch anwendbare Aggregationshemmer.

Phenylbutazon, Salicylamid und Tantum normalisierten auch hochdosiert nicht die gesteigerte Plättchenaggregation. Phenylbutazon hemmt jedoch bei längerer Anwendung sowohl die Haftneigung als auch die Ausbreitung der Thrombocyten. Es kann daher eine „erworbene Thrombopathie“ hervorrufen. Das in vitro nahezu unwirksame Aminophenazongentisat (Gentamidon®) vermindert in vivo die Aggregationsneigung mäßig stark. Aufgrund unserer bisherigen Untersuchungen wirkt Gentamidon® langsamer als ASS (6—48 Std nach oraler Gabe). ASS hemmt in vitro in einer Konzentration von 2×10^{-4} M die Plättchenaggregation. In vivo wird nach Einnahme von 0,6 g ASS ein wirksamer Blutspiegel von ca. 2×10^{-4} M erreicht (Davison u. Mandel, 1965).

Der Salicylsäureanteil der ASS wird z.T. in wenigen Stunden als Glucuronsäureester, der überwiegende Rest als Salicylsäure in etwa 24 Std und mehr ausgeschieden. Die aggregationshemmende Wirkung der ASS hält wesentlich länger an als 24 Std. Andere

Salicylsäurederivate, wie Salicylamid und Paraaminosalicylsäure sind in vivo wirkungslos. Es ist daher wenig wahrscheinlich, daß der Salicylsäureanteil der ASS für die Wirkung auf die Thrombocytenaggregation entscheidend ist.

Nach Grisolia u. Mitarb. (1968) hemmen Salicylate die Triosephosphatdehydrogenase, die Glutaminsäuredehydrogenase und die Alkoholdehydrogenase. Weitere Anhaltspunkte für eine derartige Fermentblockade als Ursache der Aggregationshemmung existieren aber bisher nicht.

Hawkins, Pinchart u. Farr (1968) und Crawford u. Hooi (1968) fanden, daß ASS Eiweißkörper, insbesondere Albumine, acetyliert. Die 2—7 Tage anhaltende Wirkung der ASS in vivo könnte durch die Acetylierung von Plasmaproteinen, deren Umsatzrate auch etwa 2—7 Tage beträgt, erklärt werden.

Weiterhin ist ein direktes Angreifen der ASS an den Thrombocyten zu diskutieren. Die unterschiedlich lange Wirkungsabklingquote nach dem Absetzen der ASS läßt sich vom Thrombocytenumsatz her schwerer erklären als vom Umsatz bestimmter Plasmaproteine. Die Thrombocytenüberlebenszeit bei Gefäßkranken und Carcinompatienten ist nur gering verkürzt (Abrahamsen, 1968), womit sich eine Mindestabklingquote der ASS-Wirkung von 2 Tagen nicht vereinbaren läßt.

6. Nebenwirkungen der Behandlung mit ASS. Im Vordergrund der ASS-Nebenwirkungen stehen Magenbeschwerden (Übelkeit, Brechreiz, Erbrechen, Magendruck) und Blutungen in den Magen-Darm-Kanal (Pierson u. Mitarb., 1961; Weiss u. Mitarb., 1961; Brodie u. Chase, 1967). Ein Asthma bronchiale kann ausgelöst und verstärkt werden (Noelpp, 1957; Hansen, 1957; Gronemeyer, 1957; Samter u. Beers, 1967). Knochenmarkschäden sind sehr selten (Wijna u. Mitarb., 1966). Von vielen Untersuchern wird die lokale Wirkung der ASS auf die Magenschleimhaut für die Beschwerden und für Blutungen aus dem Magen-Darm-Kanal verantwortlich gemacht. Nach unseren Erfahrungen spielt die Darreichungsform der ASS eine große Rolle. Während zunächst ein Teil unserer Patienten Magenbeschwerden angab, ging die Zahl dieser Klagen zurück, als wir Apyron (Wülfig) verordneten, ein Präparat, das zusätzlich Magnesia usta enthält.

7. Blutungszeit nach ASS-Gabe. Die Blutungszeit wird nach Einnahme von 500 mg Acetylsalicylsäure gering verlängert. Ähnliche Beobachtungen wurden von Beaumont, Willie u. Lenègre (1955), von Gast (1964), von Bloom u. Beamish (1966), von Quick (1968) und Weiss u. Mitarb. (1968) beschrieben. Quick verwendet die ASS-Provokation als Methode zur Erkennung latenter Formen des v. Willebrand-Syndroms, nachdem er deutliche Blutungszeitverlängerungen nach Gabe von ASS bei diesen Patienten beobachtete.

Goodman u. Gilman (1955), Lewis u. Glaser (1960) und Watson u. Pierson (1961) beschrieben eine Verstärkung der Kuminwirkung unter dem Einfluß von ASS. Wir fanden bei kuminbehandelten Patienten, die wenige Tage lang zusätzlich ASS erhielten, keine Beeinflussung der Thromboplastinzeit. Nur bei Patienten mit Lebererkrankungen stellten wir nach Gabe von 1—1½ g ASS pro Tag eine deutliche Verlängerung der Thromboplastinzeit fest.

Die gleichzeitige Behandlung mit ASS und Kumarinen ist nicht möglich, da sie zu einem ähnlichen Summationseffekt wie die Kombination von Butazolidin und Marcumar führt. Nach wenigen Tagen haben wir dabei Verlängerungen der Blutungszeit auf 20 und mehr Minuten beobachtet, hin und wieder auch das Auftreten von Spontanblutungen.

Auch Hämostasedefekte, die mit normaler Blutungszeit einhergehen, werden nach ASS-Gabe durch die Aggregationshemmung verstärkt, die Blutungszeit wird verlängert, Spontanblutungen können auftreten. Der von Quick beschriebene Effekt ist offenbar nicht spezifisch für das v. Willebrand-Syndrom.

8. *Thromboseetherapie mit Aggregationshemmern.* Klinische Erfahrungen mit einer aggregationshemmenden Behandlung manifester Thrombosen lagen bisher nicht vor. Unsere Ergebnisse zweijähriger Behandlungsversuche haben gezeigt, daß ASS bei akuten venösen Thrombosen, oft auch bei arteriellen Thrombosen wirksam ist. Der klinische Effekt wurde nur vereinzelt phlebographisch gesichert. Die antithrombotische Wirkung beruht aber nicht allein auf der Aggregationshemmung. Die Entzündungshemmung, die antiödematöse Wirkung sowie die analgetische Komponente sind an dem Behandlungserfolg entscheidend beteiligt, erschweren jedoch die Beurteilung der ASS als Aggregationshemmer.

Heparin und Kumarine, die keine fibrinolytische Wirkung haben, sind dennoch wirksame Antithrombotika, d.h. sie ermöglichen den Abbau vorhandener Thromben, ohne diese direkt anzugreifen. Wahrscheinlich wirkt ASS ähnlich wie die Antikoagulantien, wobei an Stelle der Gerinnungshemmung die Aggregationshemmung tritt.

9. *Ist eine Thromboseprophylaxe mit Acetylsalicylsäure möglich?* Die Arbeiten von Murphy u. Mustard (1958, 1961, 1962) haben die Bedeutung thrombocytärer Ablagerungen, insbesondere an der veränderten Gefäßwand, für die Thromboseentstehung gezeigt. Die Thrombocytenaggregation, die vor Einsetzen der Gerinnung die Thrombogenese entscheidend beeinflusst, wird durch Antikoagulantien nicht gehemmt. Aggregationshemmer könnten jedoch in die erste Phase der Thromboseentstehung eingreifen. Eine Prophylaxe mit derartigen Substanzen ist wahrscheinlich ohne Laboratoriumskontrollen möglich, soweit sie keine wesentliche Blutungsneigung bedingt. Aggregationshemmende Medikamente sollten die Thrombocytenfunktion (Haftneigung und Ausbreitung) nicht beeinflussen. Mit der ASS steht uns der erste klinisch anwendbare Aggregationshemmer zur Verfügung. Unsere bisherigen Erfahrungen (an einem verhältnismäßig kleinen Krankengut) sprechen für eine thromboseprophylaktische Wirkung der ASS. In einer größeren Studie sollte geprüft werden, ob sich diese Befunde bestätigen lassen. So könnte z.B. in chirurgischen Kliniken eine Thromboembolieprophylaxe mit ASS versucht werden. Dabei ist an eine Behandlung 1—3 Tage vor Operationen und Fortsetzung der Therapie während der Liegezeit der Patienten gedacht. Besonders wünschenswert wären Doppelblindstudien oder alternierende Versuchsreihen. Eine vergleichende Untersuchung zwischen Antikoagulantien und ASS wäre von besonderem Interesse.

Da ASS kein reiner Aggregationshemmer und nicht nebenwirkungsfrei ist, sollte die Suche nach wirk-

sameren aggregationshemmenden Medikamenten fortgesetzt werden.

Zusammenfassung. Acetylsalicylsäure (ASS) wirkt in vitro in 2×10^{-4} M Konzentration hemmend auf die Thrombocytenaggregation. Stärker wirksam sind Papaverin und einige Pyrimidinderivate.

Die einmalige Gabe von 1—2 g ASS führt beim Menschen zu einer nach 2 Std einsetzenden und 2—7 Tage anhaltenden Plättchenaggregationshemmung. Unter einer Dauerbehandlung mit 1—2 g pro Tag hielt diese ASS-Wirkung wochen- bis monatelang an. Bei 91 von 116 Patienten mit abnorm gesteigerter Aggregationsneigung der Thrombocyten wurde die reversible Aggregation gehemmt, darüber hinaus wurde bei 46% dieser Kranken auch die irreversible Aggregation im Plättchenaggregationstest (PAT) verhindert.

Über die Behandlung von 130 Patienten mit thromboembolischen Erkrankungen wird berichtet. ASS führte in der Regel zu einer raschen Rückbildung der klinischen Erscheinungen auch bei nicht mehr ganz frischen (2—6 Wochen alten) Thrombosen. 64 Patienten mit Zustand nach thrombotischen Erkrankungen erhielten 6 Wochen bis 1½ Jahre lang 1—2 g ASS pro Tag. Bei keinem dieser Patienten sind Thromboserezidive aufgetreten. Eine breitere Prüfung der thromboseprophylaktischen Wirkung von ASS wird angeregt.

Summary. 2×10^{-4} M acetylsalicylic acid (ASA) inhibit platelet aggregation in platelet rich plasma in vitro. Papaverin and several pyrimidine derivatives are more effective. 1—2 g ASA given orally inhibit platelet aggregation already after 2 hours. This in vivo effect of a single ASA dose lasts for 2—7 days. With a daily treatment of 1—2 g the effect of ASA can be shown as long as the medication is continued. In 91 of 116 patients with abnormal enhanced platelet aggregation reversible aggregation was inhibited. Irreversible aggregation was inhibited in only 46% of these patients. The platelet aggregation was measured in vivo and in vitro using the platelet aggregation test according to Breddin. For clinical investigations Borns method is not suitable.

130 patients with thromboembolic diseases received ASA (1—2 g daily). Under this treatment an unusually quick clinical improvement was seen, even in elder thromboses (2—6 weeks old). 64 patients with postthrombotic diseases received ASA daily for a period of 6 weeks to 1½ years without new thrombotic episodes. A more detailed examination of the thromboprophylactic effect of ASA is suggested.

Literatur

- Abrahamsen, A. F.: Platelet survival studies in man with special reference to thrombosis and atherosclerosis. *Scand. J. Haemat., Suppl. Nr 3* (1968).
- Beaumont, I. L., Willie, A., Lenègre, J.: Influence de l'acide acetyl-salicylique sur l'hémostase. *Bull. Soc. méd. Hôp. Paris* 71, 1077 (1955).
- Bloom, A. L., Beamish, M. R.: Acetylsalicylic acid and bleeding time. *Lancet* 1966 II, 1319.
- Bounameaux, Y., Cauwenberge, H. van: Action de la cortison, de l'ACTH et du salicylate de soude sur les thrombocytes et la coagulation sanguine. *Sang* 25, 889 (1954).

- Breddin, K.: Zur Messung der Thrombocytenadhäsivität. *Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.)* **12**, 269 (1964).
- Bauke, J.: Thrombozytenagglutination und Gefäßkrankheiten, *Blut* **11**, 144 (1965).
- Bürck, K. H.: Zur Klinik der Thrombozytenfunktionsstörungen unter besonderer Berücksichtigung der Ausbreitungsfähigkeit der Thrombozyten an silikonisierten Glasflächen. *Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.)* **9**, 525 (1963).
- Brodie, D., Chase, B.: Role of gastric acid in aspirin induced gastric irritation in the rat. *Gastroenterology* **53**, 604 (1967).
- Crawford, J. S., Hooi, H. W. Y.: Binding of salicylic acid and sulphanylamide in serum from pregnant patients, cord blood and subjects taken oral contraceptives. *Brit. J. Anaesth.* **40**, 825 (1968).
- Davies, D. T. P., Hughes, A., Tonks, R. S.: Salicylates, platelets and adenine nucleotides. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **259**, 163 (1968).
- Davison, C., Mandel, G. H.: Nonnarcotic analgesis and antipyretics. I. Salicylates. In: *Drill's Pharmacology in Medicine*, 3. Aufl., hrsg. von J. R. DiPalma, p. 297. New York: McGraw-Hill Book Co. 1965.
- Dubach, U. C., Jösch, W.: Urinenzyme nach medikamentöser Nierenreizung durch Salicylate. *Schweiz. med. Wschr.* **97**, 1314 (1967).
- Evans, G., Nishizawa, E. E., Packham, M. A., Mustard, J. F.: Third conference on blood platelets symposium. *Blood* **30**, 550 (1967).
- Gast, C. F.: Influence of aspirin on hemostasis. *Rheum. Dis.* **23**, 500 (1964).
- Goodman, L. S., Gilman, A.: *Pharmacological basis of therapeutics*, 2. Ed. New York: The Macmillan Company 1955.
- Grisolia, S., Santos, I., Mendelson, J.: Inactivation of enzymes by aspirin and salicylates. *Nature (Lond.)* **219**, 1952 (1968).
- Gronemeyer, W.: Arzneimittelallergie. In: *Allergie*, 3. Aufl., hrsg. von K. Hansen. Stuttgart: Thieme 1957.
- Heinrich, D.: Untersuchungen über die Wechselwirkungen zwischen Prokollagen und Thrombozyten. *Inaug.-Diss. Gießen* (1969).
- Hansen, K.: Bronchialasthma (Bronchiolenasthma) und verwandte Störungen. In: *Allergie*, 3. Aufl., hrsg. von K. Hansen, Stuttgart: Thieme 1957.
- Hawkins, D., Pinchard, R. N., Farr, R. S.: Acetylation of human serum albumin by acetylsalicylic acid. *Science* **160**, 780 (1968).
- Kleszynski, R. R., Bastian, J. W.: Effects in rats of aspirin, phenylbutazone and clofibrate on collagen induced platelet aggregation. *Fed. Proc.* **27**, 2 (1968).
- Lewis, A. P. R., Glaser, L. H.: Aspirin and anticoagulants. *Lancet* **1960 II**, 1426.
- Morris, C. D. W.: Acetylsalicylic acid and platelet stickiness. *Lancet* **1967 I**, 279.
- Murphy, E. A., Rowsell, H. C., Downie, H. G., Robinson, G. A., Mustard, J. F.: Encrustation and atherosclerosis. The analogy between early in vivo lesions and deposits which occur in extracorporeal circulations. *Canad. med. Ass. J.* **87**, 259 (1962).
- Mustard, J. F.: Blood coagulation in subjects with and without clinical evidence of atherosclerotic vessel disease. *Canad. med. Ass. J.* **79**, 554 (1958).
- Platelets, thrombosis and vascular disease. *Canad. med. Ass. J.* **85**, 621 (1961).
- Noelpp, E., Noelpp-Eschenhagen: *Asthma bronchiale*. In: *Allergie*, 3. Aufl., hrsg. von K. Hansen, Stuttgart: Thieme 1957.
- O'Brien, J. R.: Aspirin and platelet aggregation. *Lancet* **1968 I**, 204.
- Effects of salicylates on human platelets. *Lancet* **1968 I**, 1431.
- Pierson, R. N., Holt, P. R., Watson, R. M., Keating, R. P.: Aspirin and gastrointestinal bleeding. *Amer. J. Med.* **31**, 259 (1961).
- Quick, A. J.: Salicylates and bleeding. The aspirin tolerance test. *Amer. J. med. Sci.* **252**, 265 (1966).
- Acetylsalicylic acid and haemorrhage. *Lancet* **1966 II**, 1134.
- Aspirin and platelet stickiness. *Lancet* **1967 I**, 386.
- Samter, M., Beers, R. F.: Concerning the nature of intolerance to aspirin. *J. Allergy* **40**, 281 (1967).
- Verhandlungen der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Blutgerinnungsforschung (DAB) anlässlich der 11. Tagg in Wien vom 14.—15. 4. 1967, S. 90. — Breddin, K.: Diskussionsbemerkung.
- Watson, R. M., Pierson, R. N.: Effect of anticoagulant therapy upon aspirin-induced gastrointestinal bleeding. *Circulation* **24**, 613 (1961).
- Weiss, A., Pitman, E. R., Graham, E. C.: Aspirin and gastric bleeding. *Amer. J. Med.* **31**, 266 (1961).
- Weiss, H. J., Aledort, L. M.: Impaired platelet-connective-tissue reaction in man after aspirin ingestion. *Lancet* **1967 II**, 495.
- Kochwa, S.: The effect of salicylates on the hemostatic properties of platelets in man. *J. clin. Invest.* **47**, 2169 (1968).
- Wijna, L., Snijder, J. A., Nieweg, H. O.: Acetylsalicylic acid as a cause of pancytopenia from bone marrow damage. *Lancet* **1968 II**, 768.
- Zucker, M. B., Peterson, J.: Inhibition of adenosine diphosphate induced secondary aggregation and other platelet functions by acetylsalicylic acid ingestion. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **127**, 547 (1968).

Priv.-Doz. Dr. K. Breddin
Zentrum d. Inneren Medizin
6000 Frankfurt 70
Ludwig Rehn-Str. 14

Blutspiegelverlauf beim Menschen nach Gabe von zwei verschiedenen L-Asparaginasen

J. PÜTTER und G. GEHRMANN

Institut für exp. Pathologie (Vorstand: Prof. Dr. med. E. Grundmann) der Farbenfabriken Bayer AG, Wuppertal-Elberfeld, Medizinische Klinik der Städt. Krankenanstalten Wuppertal-Barmen (Direktor: Prof. Dr. med. G. Gehrmann)

Aus *Escherichia coli* gewonnene L-Asparaginasen sind wirksam gegen einige lymphatische Leukämien bei der Maus [1] und gegen akute lymphatische Leukämien des Menschen [2]. Die Ursache dieser Wirkung liegt offenbar darin, daß „Asparaginase-empfindliche“ maligne Zellen auf die Zufuhr von L-Asparagin (ASN) angewiesen sind, und daß L-Asparaginase (ASNase) diese Zufuhr unterbindet [2, 4]. Die Wirkungsweise der ASNase ist dabei so zu verstehen, daß sie das von anderen Geweben synthetisierte oder mit der Nahrung zugeführte ASN laufend zu Asparaginsäure und

Ammoniak abbaut. Das wird aber nur geschehen, solange auch ein genügender ASNase-Spiegel vorliegt. Die Verweildauer der ASNase im Organismus ist daher von Interesse [3, 4].

Vorversuche hatten ergeben, daß der Blutspiegelverlauf nach i.v. ASNase-Gabe bei verschiedenen Tierarten sehr unterschiedlich ist [5]. Nur Blutspiegelbestimmungen beim Menschen können daher über die klinisch interessierenden Verhältnisse Auskunft geben. Von Interesse ist dabei nicht nur die Geschwindigkeit der Elimination aus dem Blut nach einmaliger