

Weitere Beiträge zur Kenntniss der Fibrinbildung.

Von

Olof Hammarsten.

(Der Redaction zugegangen am 30. Juni 1899.)

In einer früheren Arbeit¹⁾ habe ich die Beziehung der löslichen Kalksalze zu der Fibrinbildung einer experimentellen Prüfung unterworfen, und ich konnte dabei zeigen, dass die durch Oxalat fällbaren Kalksalze für die Umwandlung des Fibrinogens in Fibrin durch das Fibrinferment ohne Bedeutung sind. Ich konnte ferner auch zeigen, dass für die Annahme einer Kalkaufnahme des Fibrinogens bei der Fibrinbildung keine genügenden Gründe vorgebracht worden sind. Bei Bestimmung des Kalkgehaltes in dem Fibrinogen und dem Fibrin fand ich auch in beiden Fällen etwa die nämliche Menge, oder rund etwa 0,050%.

Wenn schon diese Bestimmungen gegen die Theorie einer Kalkaufnahme entschieden sprachen, so schien es mir jedoch nothwendig zu sein, noch weitere Untersuchungen über denselben Gegenstand auszuführen, um, wenn möglich, ein noch kalkärmeres oder sogar ein kalkfreies Fibrinogen, bezw. Fibrin, zu gewinnen. Ursprünglich hatte ich hierbei die Absicht, Fibrinogen und Fibrin aus derselben Lösung mit einander bezüglich des Kalkgehaltes zu vergleichen; da es aber im Laufe meiner Untersuchungen sich zeigte, dass man den Kalkgehalt des Fibrins auf ein solches Minimum herabbringen kann, dass derartige, mühsame und grosse Mengen von Fibrinogenlösung erfordernde vergleichende Bestimmungen überflüssig sind, stand ich von diesem Plane ab. Ich begnügte mich also damit, den

1) Olof Hammarsten. Ueber die Bedeutung der löslichen Kalksalze für die Faserstoffgerinnung. Diese Zeitschrift. Bd. XXII. S. 333.

Kalkgehalt des aus möglichst kalkarmen Fibrinogen- und Fibrin-fermentlösungen dargestellten Fibrins zu bestimmen.

Wenn ich eben von möglichst kalkarmen Fibrinogen- und Fibrin-fermentlösungen gesprochen habe, so liegt schon hierin eine Andeutung davon, dass ich noch nie absolut kalkfreie Lösungen, sei es von Fibrinogen oder Fibrin-ferment, habe darstellen können. Der Grund hierzu dürfte wohl auch darin gelegen sein, dass die löslichen Eiweissstoffe überhaupt, das Fibrinogen mit eingerechnet, die Fähigkeit haben, sehr kleine Mengen von in Wasser unlöslichen Kalksalzen in Lösung zu halten. Wenn man nun bei der Darstellung des Fibrinogens diesen Stoff mit Chlornatrium oder einer Säure aus seiner Lösung fällt, so wird wenigstens ein Theil des von ihm gelösten Kalksalzes (des Calciumoxalates) mitniedergerissen, und beim Wiederauflösen des Fibrinogens wird es wieder gelöst. Diese Spuren von Kalksalzen dürften also wahrscheinlich erst durch ein mehrmals wiederholtes Ausfällen zu entfernen sein: da aber ein zu oft gefälltes Fibrinogen leicht ein nicht ganz typisches Fibrin liefert, und da ich aus dem Grunde das Fibrinogen nur 3 bis höchstens 4 Mal gefällt habe, konnte ich auch nie ein absolut kalkfreies Fibrinogen gewinnen. Sowohl für das Fibrinogen wie für das Fibrin habe ich aber, wie oben angedeutet, den Kalkgehalt auf ein solches Minimum erniedrigen können, dass er mit Rücksicht auf die Fibrinbildung ganz ohne Belang ist.

Die zu der Fibrindarstellung benutzten Ferment- und Fibrinogenlösungen stellte ich in folgender Weise dar:

Zur Darstellung der Fermentlösungen benutzte ich immer Rinderblutserum, welches mit 0,3% Kaliumoxalat versetzt worden war. Nach 24 Stunden wurde anhaltend und kräftig, wenn nöthig mehrmals, centrifugirt, bis ein ganz klares, von festen, aufgeschlemmten Partikelchen vollständig freies Serum erhalten wurde. Dieses Serum, welches überschüssiges Alkali-oxalat enthielt, wurde mit gegen 15 Volumina Alkohol gefällt und 8 Monate stehen gelassen. Nach dieser Zeit wurde durch Leinwand abfiltrirt; der Niederschlag wurde stark gepresst, fein zerrieben und im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet.

Das trockene Pulver enthielt immer etwas Alkalioxalat, welches von dem Alkohol ausgefällt worden war und welches bei gewissen Versuchsanordnungen (wie bei Zusatz von Kalksalzen) störend wirken kann. Aus dem Grunde zerrieb ich bei der Darstellung meiner Fermentlösungen das Pulver rasch mit Wasser und wusch es mit wenig Wasser, durch Decantation mit Hilfe von einer kleinen Handcentrifuge, möglichst rasch aus, bis das Waschwasser keine Reaction auf Oxalat mit Kalksalz mehr gab. Dann liess ich das ausgewaschene Pulver mit Wasser (100 ccm. auf je 1 g) 24—48 Stunden unter mehrmaligem Umschütteln in der Kälte stehen und filtrirte zuletzt durch ein aschefreies Filtrum.

Die so gewonnenen Fermentlösungen waren kräftig wirksam, trotzdem sie nur wenig Substanz enthielten. Die Menge der festen Stoffe war 0,3—0,4⁰/₁₀₀. Den Gehalt an Kalk bestimmte ich durch Eintrocknen (von 500 ccm.), Einäschern, Ausfällung als Oxalat und Titration mit N/100 Kaliumpermanganatlösung, von der also je 1 ccm. 0,28 mg CaO entsprach. Der Gehalt an Kalk im Liter der Fermentlösung war 0,4 bis 0,7 mg, d. h. 0,0004—0,0007⁰/₁₀₀.

Bei der Darstellung der Fibrinogenlösungen verfuhr ich hauptsächlich, wie in dem oben citirten Aufsätze angegeben worden ist. Das Oxalatplasma (0,3% Oxalat) wurde erst möglichst vollständig centrifugirt und darauf, erst nachdem es über eine Nacht in der Winterkälte gestanden hatte, filtrirt. Es scheidet sich nämlich hierbei regelmässig eine Fällung aus (vergl. S. 344 und 345 der citirten Abhandlung), die ich stets abfiltrirte. Das hiervon getrennte Filtrat wurde mit einer unzureichenden Menge NaCl-Lösung gefällt, um etwa noch vorhandene aufgeschlemmte, feste Partikelchen mit dem hierbei sich ausscheidenden Fibrinogen entfernen zu können. Das hiervon erhaltene, neue, vollständig klare Filtrat wurde dann mit gesättigter NaCl-Lösung gefällt.

In einigen Fällen dialysirte ich das 3 Mal gefällte Fibrinogen gegen Wasser, welches 0,003% NaOH enthielt, schlug das Fibrinogen aus der dialysirten Lösung mit Essigsäure nieder und löste es wieder in Wasser mit Hilfe von möglichst wenig

Alkali. Da aber das Fibrinogen hierdurch zuweilen derart verändert wird, dass es keinen ganz typischen Faserstoff liefert, stand ich bald von dieser, übrigens mit recht grossen Verlusten an Substanz verknüpften Methode ab und blieb bei einem 4maligen Ausfällen mit NaCl stehen.

Um hierbei brauchbare Resultate zu bekommen, muss man immer mit kalkfreiem Filtrirpapier und kalkfreiem NaCl arbeiten. Mit Rücksicht auf das Filtrirpapier bemerke ich, dass ich bei der 3. und 4. Ausfällung, wie auch bei der Filtration der fertigen Fibrinogenlösungen, immer aschefreie Filtra von Schleicher und Schüll benutzt habe. Bei der Filtration des Oxalatplasmas, zu welcher viel grössere Filtra erforderlich waren, wie auch bei den zwei ersten Ausfällungen mit NaCl, habe ich ein Filtrirpapier benutzt, das ich selbst durch anhaltendes Auswaschen von löslichem Kalksalz vollständig befreit hatte. Auch bei dem Auspressen der Filter mit den Fibrinogenfällungen zwischen Fliesspapier musste ich entkalkten Papieres mich bedienen. Die zu den zwei ersten Ausfällungen benutzte gesättigte NaCl-Lösung war durch Zusatz von überschüssigem Kaliumoxalat so weit möglich, von Kalk befreit worden. Zu der 3. und 4. Ausfällung benutzte ich stets chemisch reines NaCl, das ich theils selbst bereitet, theils aber von Merck bezogen hatte, und dessen Reinheit ich stets besonders prüfte. In Folge aller dieser Vorsichtsmassregeln und vorbereitenden Arbeiten sind diese meine Untersuchungen sehr mühsam und zeitraubend und auch recht kostspielig geworden, um so mehr, als in einigen Fällen das Fibrinogen in Folge der chemischen Proceduren etwas verändert worden war, so dass es keinen ganz typischen Faserstoff lieferte und die ganze Arbeit also umsonst war. Ich bemerke nämlich, dass ich nur solche Versuche als brauchbar angesehen habe, in welchen die Fibrinbildung ganz typisch von Statten ging und das Fibrin eine ganz typische Beschaffenheit hatte.

Zu der Fibrinogenlösung wurde das gleiche Volumen der Fermentlösung gesetzt, und das Fibrin wurde, besonders in den ersten Stunden, in dem Masse, als es gebildet wurde, um den Glasstab herumgedreht, zusammengepresst und heraus-

genommen, weil sonst die ganze Flüssigkeit binnen Kurzem zu einem sehr festen Gerinnsel geseht. Das Fibrin wurde mit einer Scheere fein zerschnitten, erst mit NaCl-Lösung von 10% , darauf mit Wasser ausgewaschen und endlich mit Alkohol behandelt. Die Asche wurde in Salzsäure gelöst, der Kalk nach bekannten Regeln als Oxalat gefällt und durch Titration mit einer $\frac{N}{100}$ Kaliumpermanganatlösung bestimmt.

Wie oben bemerkt, habe ich das Fibrinogen nie ganz frei von Kalk erhalten. Als Minimum habe ich in demselben 0,006% CaO gefunden. In dem Fibrin fand ich als Minimum 0,00705% CaO.

Als Belege führe ich die zwei Bestimmungen an, welche für das Fibrin den niedrigsten Kalkgehalt ergeben haben. Diese zwei Fibrine, die beide ganz typisch waren, stammten von durch 4maliges Ausfällen gereinigtem Fibrinogen her.

a) 6,335 g Fibrin. Die Oxalatfällung erforderte 1,6 ccm. $\frac{N}{100}$ Kaliumpermanganatlösung = 0,448 mg CaO = 0,00707%.

b) 5,008 g Fibrin. Die Oxalatfällung erforderte 1,7 ccm. $\frac{N}{100}$ Kaliumpermanganatlösung = 0,476 mg CaO = 0,009505%.

Als Mittel aus diesen beiden Bestimmungen ergibt sich also der Werth 0,008278% CaO.

Da man früher in dem Fibrin mehr als 0,1% CaO gefunden hat und da der Kalkgehalt nunmehr bis auf 0,007% herabgesetzt worden ist, liegt hierin ein weiterer Beweis für die allgemein bekannte Neigung des Fibrins, bei seiner Entstehung in einer Lösung Kalkverbindungen mit niederzureissen. Wenn man in 5—6 g Fibrin nur gegen 0,5 mg CaO findet, kann dies auch nach meiner Ansicht nur als eine kaum zu vermeidende Verunreinigung betrachtet werden, und diese Befunde dürften also zeigen, dass das Fibrin keine Kalkverbindung des Fibrinogens ist. Wenn man annehmen wollte, dass die obigen 0,007% CaO = 0,005% Ca keine Verunreinigung repräsentiren, sondern dem Fibrinmoleküle selbst angehören, würde nämlich das Molekulargewicht des Fibrins etwas mehr als 800000 betragen und also reichlich 50mal so gross wie das des Oxyhämoglobins sein. Diejenigen Theorien, nach welchen das Fibrin eine Kalkverbindung des Fibrinogens sei, bzw. bei der Fibrinbildung eine Kalkauf-

nahme stattfinden soll, muss ich also nach diesen Untersuchungen als widerlegt betrachten.

Mit dieser Behauptung befindet sich die von Arthus zuerst gemachte und dann von Anderen bestätigte Beobachtung, dass die löslichen Kalksalze ein nothwendiges Bedingniss für die Gerinnung des Blutes oder Plasmas sind, in keinem Widerspruch. Es ist nämlich sehr wohl möglich, dass die Kalksalze, in Uebereinstimmung mit der Ansicht Pekettharing's, gerade für die Entstehung des Fibrinfermentes von Bedeutung sind. Die löslichen Kalksalze wirken übrigens, wie ich zuerst für die Transsudate nachgewiesen habe, auf die Gerinnung der Transsudate und des Plasmas derart ein, dass sie theils die Gerinnung beschleunigen und theils die Menge des ausgeschiedenen Faserstoffes vermehren. Da man aber bei Gerinnungsversuchen mit Plasma oder Transsudaten mit Gemengen von complicirter, zum Theil unbekannter Zusammensetzung arbeitet, schien es mir nicht ohne Interesse zu sein, die Wirkung der Kalksalze auf die Geschwindigkeit der Gerinnung wie auf die Menge des Faserstoffes in Gemengen von möglichst reinen Fibrinogen- und Fibrinfermentlösungen zu untersuchen.

Zu dem Ende habe ich die folgenden tabellarisch zusammengestellten Versuche ausgeführt. Die Ferment- und die Fibrinogenlösungen waren, wie oben angegeben, bereitet und das Fibrinogen war durch mindestens zweimaliges Ausfällen mit chemisch reinem NaCl frei von Kaliumoxalat erhalten. Die Menge des Fibrinogens in der Lösung wurde durch Eintrocknen einer abgemessenen Menge derselben, Trocknen bei etwa 105° C. bis zum constanten Gewicht, Einäschern, Bestimmung des NaCl durch Titration mit AgNO_3 , $\text{N}/10$, und Berechnung des Fibrinogens als Differenz bestimmt. Das ausgeschiedene Fibrin wurde erst mit verdünnter NaCl-Lösung und darauf mit Wasser gewaschen, in kleinen Kästchen aus Platinblech bis zu constantem Gewicht getrocknet, gewogen und eingeäschert. Die Asche war jedoch meistens nicht genau wägbare. In jedem Versuche wurden 15—20 ccm. Fibrinogenlösung verwendet, wodurch eine für genaue Wägungen völlig hinreichende Menge Fibrin — als Minimum 140, meistens

aber 200 mg und darüber — erhalten wurde. In jedem Versuche wurden drei verschiedene Proben angeordnet, von denen die eine frei von CaCl_2 war, die zwei anderen dagegen wechselnde Mengen davon enthielten. Es wurden hierbei durch entsprechenden Wasserzusatz alle drei Proben auf dasselbe Volumen gebracht, so dass sie, nach Zusatz von derselben Menge Fermentlösung, mit Ausnahme von dem verschiedenen CaCl_2 -Gehalte, alle ganz gleich waren. Das Volumen der fertigen Versuchslösung schwankte in den verschiedenen Versuchen zwischen etwa 40—50 ccm.

Das Fibrin musste, vor Allem in den ersten Stunden, in dem Masse, wie es sich neu bildete, wiederholt herausgenommen werden, weil sonst die ganze Flüssigkeit zu einer sehr festen, nicht weiter zu verarbeitenden Masse erstarrte. Durch Herumwinden um den Glasstab und Auspressen gegen die Wand des Becherglases gelang es, wenn auch nicht ohne Schwierigkeit, das Fibrin ohne nennenswerthe Verluste an Versuchslösung herauszunehmen. Innerhalb der ersten 8—12 Stunden war regelmässig die Fibrinbildung fast vollständig abgeschlossen und es kamen dann in den nächsten 12—24 Stunden nur sehr spärliche Fibrinausscheidungen vor. Wenn im Laufe von 12 Stunden kein Faserstoff mehr sich ausschied, wurde die Fibrinbildung als beendet angesehen und der Versuch unterbrochen.

Bezüglich der Gerinnungsgeschwindigkeit zeigten sämtliche Versuche, dass das CaCl_2 in Mengen von 0,05—0,200" dieselbe beschleunigt, während durch eine Menge von 0,625" das Auftreten der Gerinnung dagegen um mehr als drei Stunden verzögert wurde. Die beschleunigende Wirkung der obigen kleinen CaCl_2 -Mengen war indessen keine bedeutende. Die Gerinnung trat in den CaCl_2 -freien Proben regelmässig nur um 10—15 Minuten später als in den CaCl_2 -haltigen auf, und zwischen den Proben (b und c) mit der kleinen und der doppelten CaCl_2 -Menge war kein nennenswerther Unterschied zu sehen. Die beschleunigende Einwirkung des CaCl_2 gab sich aber besonders dadurch kund, dass die Fibrinbildung bei Gegenwart von dem Kalksalze auf eine kürzere Zeit zusammengedrängt wurde, so dass die Hauptmasse des Faserstoffes

hierbei z. B. in 6–8 Stunden sich ausgeschieden hatte, während dies bei Abwesenheit von CaCl_2 erst nach etwa 10–12 Stunden geschehen war. Auch in dieser Hinsicht war aber der Unterschied zwischen den ungleichen CaCl_2 -Mengen nur gering.

Wie in den Transsudaten, so übt also das CaCl_2 auch in Lösungen von reinem Fibrinogen und Ferment eine gerinnungsbeschleunigende Wirkung aus. Dagegen ist seine Einwirkung auf die Menge des gebildeten Faserstoffes, wie die folgende tabellarische Zusammenstellung zeigt, eine kaum merkbare oder jedenfalls nur eine sehr geringfügige. In dieser Zusammenstellung sind sämtliche Werthe mit Ausnahme von denjenigen in der Colonne 5, auf 100 Volumtheile der Versuchsflüssigkeit d. h. also des Gemenges von Fibrinogen- und Fermentlösung sammt CaCl_2 -Lösung, bezw. Wasser) berechnet. In der Colonne 5 findet man die Menge des Fibrins in Procenten von dem Fibrinogen berechnet.

	Fibrinogen in Proc.	NaCl in Proc.	CaCl_2 in Proc.	Fibrin in Proc.	Fibrin in Proc. von dem Fibrinogen
Versuch 1	a) 0,500	0,87	0,000	0,394	78,80
	b) 0,500	0,87	0,091	0,391	78,20
	c) 0,500	0,87	0,182	0,395	79,00
Versuch 2	a) 0,7209	0,836	0,000	0,459	63,67
	b) 0,7209	0,836	0,091	0,466	64,50
	c) 0,7209	0,836	0,182	0,461	63,95
Versuch 3	a) 0,513	0,788	0,000	0,4193	81,73
	b) 0,513	0,788	0,070	0,4227	82,39
	c) 0,513	0,788	0,140	0,424	82,64
Versuch 4	a) 0,691	0,986	0,000	0,513	72,24
	b) 0,691	0,986	0,091	0,525	75,98
	c) 0,691	0,986	0,182	0,526	76,12
Versuch 5	a) 0,623	0,600	0,000	0,4855	77,93
	b) 0,623	0,600	0,200	0,4850	77,85
	c) 0,623	0,600	0,625	0,443	71,11
Versuch 6	a) 0,500	1,05	0,000	0,374	74,80
	b) 0,500	1,05	0,054	0,389	77,80
	c) 0,500	1,05	0,108	0,390	78,00

Wie man aus dieser Zusammenstellung ersieht, findet sich in einigen Versuchen kein sicherer Unterschied der Fibrinmengen in den CaCl_2 -freien und den CaCl_2 -haltigen Proben: und selbst in dem Versuche 6, wo das Optimum der Kochsalzmenge überschritten und die schädliche Wirkung des NaCl zu überwinden war, ist er nur gering. Ebenso wenig findet man einen regelmässigen Unterschied zu Gunsten des etwas höheren CaCl_2 -gehaltes, und im Grossen und Ganzen ist die Fibrinmenge in beiden Fällen (bei niedrigerem oder höherem Kalkgehalt) dieselbe. Eine Ausnahme bildet nur der Versuch 5, wo der hohe Gehalt an CaCl_2 nicht nur, wie oben bemerkt, stark gerinnungshemmend wirkte, sondern auch die Menge des Faserstoffes bedeutend herabsetzte. Es zeigt dies, dass das CaCl_2 ebenso wie das NaCl und andere Neutralsalze in etwas grösserer Menge störend auf die Fibrinbildung einwirkt.

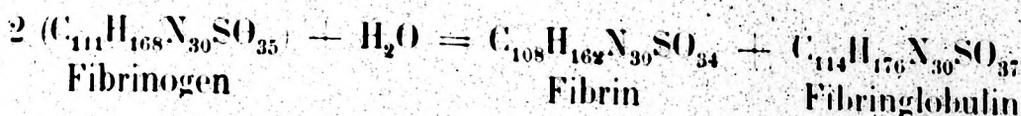
Zu den oben mitgetheilten Versuchen habe ich sonst nur die Bemerkung zu machen, dass in dem Versuche 2, wo die (procentisch berechnet) kleinste Menge Faserstoff erhalten wurde, der Faserstoff nicht ganz typisch war. Er war nämlich in verdünnter Chlorwasserstoffsäure bei Zimmertemperatur nicht so schwerlöslich, wie gewöhnlicher Faserstoff und er löste sich auch nach ein paar Tagen in Kochsalzlösung bei Zimmertemperatur auf.

In reinen Lösungen von Fibrinogen und kräftig wirkendem Fibrinferment übt also das CaCl_2 keine constante und überhaupt keine wesentlich vermehrende Einwirkung auf die Menge des Fibrins aus, und hierin besteht also ein weiterer, seiner Ursache nach noch unbekannter Unterschied in der Einwirkung der löslichen Kalksalze auf die reinen Fibrinogenlösungen einerseits und das Plasma, bezw. die Transsudate andererseits.

In seinem Aufsätze «Ueber die Elementarformeln einiger Eiweisskörper» etc. hat Schmiedeberg¹⁾ die Grundformeln der bei der Fibrinbildung in Betracht kommenden Eiweisskörper anzugeben versucht, und er glaubt den chemischen

1) Archiv für experiment. Pathol. u. Pharmac. Bd. XXXIX.

Vorgang bei der Fibrinogengerinnung durch die folgende Gleichung ausdrücken zu können:



Nach dieser Formelgleichung würden aus dem Fibrinogen nur 48—49 % Fibrin entstehen können, während ich in früheren Arbeiten bei der direkten Bestimmung 61—94 % des angewendeten Fibrinogens wiederfand. Um über diesen Widerspruch hinauskommen zu können, erinnert Schmiedeberg daran, dass ich den Gehalt meiner Lösungen an Fibrinogen durch Fällung mit Magnesiumsulfat nach der bei Globulinbestimmungen üblichen Methode bestimmt habe, und er setzt in Frage, ob nicht bei diesen Bestimmungen vielleicht ein Theil des Fibrinogens dem Nachweis sich entzogen habe, so dass die Lösungen weit mehr Fibrinogen enthielten, als die Bestimmungen ergaben.

Eine solche Vermuthung muss etwas befremdend erscheinen, da es allgemein bekannt sein dürfte, dass das Fibrinogen viel leichter als die meisten anderen Globuline durch Salze, auch Magnesiumsulfat, vollständig gefällt wird. Da ferner diese Methode der quantitativen Globulinbestimmung von mir herrührt, da ich sie ausgearbeitet und nach verschiedenen Richtungen geprüft habe, dürfte wohl hierin auch eine gewisse Garantie dafür liegen können, dass ich des von Schmiedeberg vermutheten groben Bestimmungsfehlers mich nicht schuldig gemacht habe.

Der einzig sichere Weg, um solche Vermuthungen zu beweisen, bzw. zu widerlegen, liegt indessen nur in neuen, möglichst sorgfältigen Untersuchungen: und von diesem Gesichtspunkte aus dürften die oben tabellarisch zusammengestellten Versuche mit reinen Fibrinogenlösungen nicht ohne Interesse sein. In diesen Versuchen ist eine solche Vermuthung völlig ausgeschlossen. Das Fibrinogen wurde nämlich durch Eintrocknen einer abgemessenen Menge der Lösung, Wägung des Rückstandes, Einäschern desselben und Bestimmung des NaCl durch Titration mit $\frac{N}{10}$ AgNO₃ bestimmt. Das Fibrinogen wurde also in diesen Fällen als Differenz zwischen dem NaCl

und den übrigen festen Stoffen berechnet. Alles, was in einer solchen Lösung von festen Stoffen (mit Ausnahme des NaCl) vorhanden war, also alle etwa als Verunreinigungen anwesenden Stoffe, sind hier als Fibrinogen berechnet worden: und wenn man annehmen will, dass ich durch ungeschickte Arbeit bei dem Einäschern oder dem Auslaugen der Kohle etwas NaCl verloren habe, so muss die berechnete Fibrinogenmenge hierdurch entsprechend vermehrt werden. Die Zahlen für das Fibrinogen sind also Maximalzahlen und sie können unter keinen Umständen als zu niedrig betrachtet werden. Die für das Fibrin gefundenen Werthe, in Procenten von dem Fibrinogen berechnet, können also zwar zu niedrig, aber unter keinen Umständen zu hoch sein.

Kehren wir nun zu der tabellarischen Zusammenstellung zurück, so finden wir, wenn wir vorläufig von dem Versuche 2, in welchem das Fibrin nicht ganz typisch war, absehen, dass die Menge des Fibrins, in Procenten von dem Fibrinogen, bei Abwesenheit von CaCl_2 72,24—81,73 und bei Gegenwart von solchem 75,98—82,6 betrug. Diese Zahlen weichen, wie die nach anderer Methode von mir früher erhaltenen, so weit von den von Schmiedeberg berechneten 48—49 % Fibrin ab, dass für mich kein Zweifel darüber bestehen kann, dass die Fibrinbildung nicht nach dem von Schmiedeberg berechneten Schema verläuft. Wenn Schmiedeberg zuletzt sagt: „Jedenfalls kann jener Befund (d. h. meine früheren Zahlen) die Resultate der Berechnungen nicht widerlegen“, so kann ich ihm hierin leider nicht beistimmen. Dass bei der Fibrinbildung statt nur 48—49 % sogar über 80 % Fibrin aus dem Fibrinogen entstehen können, betrachte ich nämlich als eine sichergestellte Thatsache, und ich muss den Thatsachen eine grössere Beweiskraft als den für Umsetzungen der Eiweissstoffe berechneten Formelgleichungen zumessen.

In meinen früheren Arbeiten über die Fibrinbildung¹⁾ habe ich bewiesen, dass bei der Gerinnung zwei neue Stoffe,

1) Vergl. insbesondere: Ueber den Faserstoff und seine Entstehung aus dem Fibrinogen. Pflüger's Archiv, Bd. XXX.

das Fibrin und ein lösliches Globulin, das Fibringlobulin, aus dem Fibrinogen entstehen: aber ich habe auch wiederholt hervorgehoben, dass hierdurch eine hydrolytische Spaltung des Fibrinogens noch nicht bewiesen ist.

Es ist nämlich sehr wohl möglich, dass das Fibringlobulin kein bei der Gerinnung entstandenes Spaltungsprodukt des Fibrinogens, sondern vielmehr nur ein in Lösung gebliebener, allmählich umgewandelter Rest des bei der Gerinnung entstandenen Fibrins sei. Diese Möglichkeit glaubt Schmiedeberg auf Grund der verschiedenen Zusammensetzung der drei fraglichen Eiweissstoffe und der aus ihr berechneten Formeln zurückweisen zu können: aber trotzdem muss ich, aus den unten anzuführenden Gründen, fortwährend an meiner Meinung festhalten.

Bevor ich zu diesen Gründen übergehe, muss ich jedoch erst dem Fibringlobulin einige Worte widmen.

In einer im vorigen Jahre erschienenen Inauguraldissertation hat Reye¹⁾ eine Methode zur Ausfällung des Fibrinogens durch fractionirte Fällung des Plasmas mit Ammoniumsulfat angegeben. Mit derselben Methode hat er auch das Blutserum geprüft, und er konnte darin auch einen geringen Niederschlag erzeugen. Diesen Niederschlag hat er nicht näher untersucht, glaubt ihn aber, bis fortgesetzte Untersuchungen etwas anderes erwiesen haben, als Fibrinogen bezeichnen zu können, und er findet hierin eine genügende Veranlassung, die Richtigkeit meiner Untersuchungen über das Fibringlobulin in Zweifel zu ziehen. Ein solches Vorgehen scheint mir etwas eigenthümlich zu sein. Ich hatte gezeigt, dass im Serum ein Eiweisskörper vorkommt, welcher zum Unterschied von dem Fibrinogen bei $+ 64 - 66^{\circ}\text{C}$. gerinnt, mit Fibrinferment keinen Faserstoff liefert, bezüglich der Fällbarkeit durch Neutralsalz (NaCl) aber fast wie das Fibrinogen sich verhält. Wenn man dies alles erwägt, und wenn man also zu erwarten hat, dass das Fibringlobulin wahrscheinlich auch zu Ammoniumsulfat ungefähr wie das Fibrinogen sich

1) W. Reye, Ueber Nachweis und Bestimmung des Fibrinogens. Strassburg 1898.

verhalten soll, so wäre es nach meiner Ansicht in allen Hinsichten richtiger gewesen, statt die Arbeiten eines andern Forschers verdächtig zu machen, die Natur des mit Ammoniumsulfat im Serum erzeugten Niederschlages etwas näher zu untersuchen. Eine solche Untersuchung des genau nach Reye gewonnenen Niederschlags habe ich gemacht und ich habe dabei gefunden, dass dieser Niederschlag (aus dem Pferdeblutserum) allerdings ein Gemenge von verschiedenem Eiweissstoffen (wie von der löslichen Zwischenstufe zwischen Fibrinogen und Fibrin, bisweilen auch von fast unveränderten Fibrinogen) sein kann, dass er aber regelmässig Fibringlobulin enthält. Ich habe diesen Stoff noch in keinem Falle in dem Niederschlage vermisst, wenn auch hier, wie immer, seine Reindarstellung nicht ganz ohne Schwierigkeit ist. Ich habe auch seine Gerinnungstemperatur geprüft und dieselbe regelmässig etwa bei 66—68°C., wie bei der Darstellung dieses Stoffes nach der früher von mir beschriebenen Kochsalzmethode gefunden. Dieser Stoff kann also kein Fibrinogen sein, und diese Versuche liefern also einen neuen Beweis dafür, dass in dem Pferdeblutserum thatsächlich Fibringlobulin enthalten ist.

Ich kann also nunmehr zu den Thatsachen übergehen, welche der Möglichkeit einer Entstehung des Fibringlobulins aus in Lösung gebliebenem Fibrin das Wort reden. Diese Thatsachen sind folgende:

1. Wenn das Fibringlobulin und das Fibrin durch eine Spaltung des Fibrinogens entstanden, und wenn hierbei kein je nach der verschiedenen Beschaffenheit der Versuchsflüssigkeit wechselnder Theil des Fibrins in Lösung bliebe, könnte man erwarten, dass das relative Mengenverhältniss der beiden Spaltungsprodukte wenigstens ein annähernd constantes sein sollte. Dem ist aber nicht so, denn die Menge des Fibrins beträgt zwischen 60 und 94% des Fibrinogens. Diese wechselnde Relation erklärt sich am einfachsten durch die unter 2 begründete Annahme, dass ein wechselnder Theil des Fibrins in Lösung bleiben kann.

2. Durch Aenderung der Relation von Fibrinogen, NaCl, Alkali und Fermentlösung zu einander kann man nämlich die

Menge des ausgeschiedenen Fibrins in Procenten von dem Fibrinogen derart ändern, dass, wie ich beispielsweise in einem früher veröffentlichten Versuche¹⁾ gezeigt habe, ich aus einer und derselben Fibrinogenlösung das eine Mal 81 und das andere Mal 63,6% des Fibrinogens als Fibrin erhielt. In einem fibrinogenarmen Transsudate kann man bisweilen durch Neutralisation des Alkalis die Faserstoffmenge mehr als verdoppeln und in einzelnen Fällen kommt eine Gerinnung überhaupt erst nach der Neutralisation zu Stande, weil sonst alles Fibrin in Lösung bleibt. Das Fibrinogen ist ferner, wie ich wiederholt gezeigt habe, eine ziemlich leicht veränderliche Substanz, und dementsprechend erhält man bisweilen, sei es in Folge einer ursprünglich abweichenden Beschaffenheit des Fibrinogens oder in Folge der Darstellungsmethode, ein nicht ganz typisches Fibrinogen, welches ein in Neutralsalz weniger schwerlösliches Fibrin als sonst gibt. Nun ist es aber insbesondere in solchen Fällen — wie in dem obigen Versuche 2 der Tabelle S. 113 — wo man die kleinsten Zahlen für das Fibrin erhält,

3. Eine wechselnde Menge des Fibrins kann also bei der Fibrinbildung in Lösung bleiben, und es fragt sich also, ob irgend ein Grund für die Annahme vorliegt, dass hierbei aus dem in Lösung gebliebenen Fibrin das Fibringlobulin entstehen könne. In dieser Hinsicht will ich daran erinnern, dass Denis²⁾ unter Beobachtung von besonderen Cautelen aus dem venösen Blute vom Menschen einen Faserstoff (*fibrine concrète pure*) erhielt, welcher in Kochsalzlösung viel leichter als gewöhnliches Fibrin löslich war und welcher dabei in ein, wie das Fibringlobulin bei $+ 65^{\circ}\text{C}$. (die Gerinnung fängt schon bei $+ 60^{\circ}\text{C}$. an sichtbar zu werden) gerinnendes Globulin übergeht. Diese Angaben von Denis gelten nun allerdings für Fibrin aus venösem Menschenblut: ich kann aber daran erinnern, dass ich aus Pferdeblutfibrinogen durch passende Abänderung des Alkaligehaltes bei der Gerinnung ein Fibrin von der Leichtlöslichkeit des *fibrine concrète pure* habe darstellen können.³⁾

1) Vergl. Pflüger's Archiv, Bd. XXX, S. 479.

2) Nouvelles études chimiques, physiologiques et médicales sur les substances albuminoïdes. Paris 1856.

3) Vergl. Pflüger's Arch., Bd. XXX.

Wenn ich dies alles in Erwägung ziehe, muss ich bei meiner früheren Anschauung, dass eine Spaltung des Fibrinogens bei der Fibrinbildung nicht sicher bewiesen ist und dass das Fibringlobulin vielleicht nur ein umgewandelter Rest des in Lösung gebliebenen Fibrins sei, stehen bleiben.

Der Umstand, dass man unter günstigen Bedingungen mehr als 80 oder 90% des Fibrinogens als Fibrin wiedergewinnen kann, spricht nach meiner Ansicht sehr dafür, dass die Fibrinbildung eher ein der Hitzeerinnung der Eiweissstoffe analoger Vorgang als eine hydrolytische Spaltung ist. Wenn man eine Eiweisslösung durch Erhitzen coaguliert, kann man durch Abstumpfen des Alkalis und durch eine richtige Wahl des Salzgehaltes das Eiweiss so vollständig ausfällen, dass viel weniger als 1% desselben in Lösung bleibt, d. h. dass also gegen 100% des Eiweisses in die geronnene Modification übergehen. Hier ist wohl nicht eine hydrolytische Spaltung anzunehmen, und man kann vielmehr an eine Umlagerung innerhalb des Moleküles denken. Wenn man bei der Coagulation einer Eiweisslösung nicht mit hinreichender Geschicktheit arbeitet, können so grosse Mengen eines in Folge des Erhitzens veränderten Eiweisses in Lösung bleiben, dass der mit den Bedingungen für eine möglichst vollständige Gerinnung nicht hinreichend Vertraute, leicht zu der Annahme eines Spaltungsvorganges verleitet werden könnte. In analoger Weise ist es sehr wohl denkbar, dass die unvollständige Ausfällung des Fibrinogens als geronnenes Fibrin bei der Fibrinbildung nur darin ihren Grund hat, dass wir die für eine möglichst vollständige Gerinnung erforderlichen äusseren Bedingungen noch nicht herstellen können.

Die bisherigen Elementaranalysen des Fibrinogens und des Fibrins scheinen übrigens mindestens ebenso gut einer intramolekularen Umlagerung wie einer hydrolytischen Spaltung das Wort zu reden. In Anbetracht dessen, dass das Fibrinogen und das Fibrin amorphe Stoffe sind, deren völlige Reinheit nicht genau kontrollirt werden kann, will ich den Elementaranalysen derselben kein sehr grosses Gewicht zumessen; wenn man aber die für beide Stoffe aus-

Pferdeblutplasma) gefundenen Zahlen mit einander vergleicht, so findet man:

	Fibrin	Fibrinogen	Differenz
C	52,68	52,90	0,22
H	6,82	6,89	0,07
N	16,91	16,68	0,23
S	1,10	1,25	0,15

Die Differenzen liegen also innerhalb der Fehlergrenzen und sind überhaupt so klein, dass die beiden Stoffe sehr wohl dieselbe Zusammensetzung haben könnten. Vergleicht man ferner die von Schmiedeberg für das Fibrin berechnete Formel $C_{108}H_{162}N_{30}SO_{34}$ mit den für diese Substanz thatsächlich gefundenen Zahlen, so findet man Differenzen, die ebenso gross wie die zwischen Fibrinogen und Fibrin gefundenen sind.

Fibrin	Berechnet	Gefunden	Differenz
C_{108}	52,81	52,68	0,13
H_{162}	6,60	6,82	0,22
N_{30}	17,11	16,91	0,20
S	1,20	1,10	0,20

Es ist selbstverständlich auch leicht, eine Grundformel zu construiren, die zu der gefundenen Zusammensetzung sowohl des Fibrins wie des Fibrinogens besser als die Schmiedeberg'sche Grundformel des Fibrins zu der gefundenen Zusammensetzung dieses Stoffes passt.

Wenn man sich an die Elementaranalysen hält, so würde man also eigentlich nur die abweichende Zusammensetzung des Fibringlobulins als Stütze für die Annahme einer hydrolytischen Spaltung bei der Fibrinbildung ins Feld führen können. Da aber das Fibringlobulin nur durch einen niedrigeren Stickstoffgehalt von dem Fibrinogen und Fibrin sich unterscheidet, da ein Theil des Stickstoffes leicht aus einem Eiweisskörper ohne hydrolytische Spaltung austreten kann, und da vor Allem durch die bei der Gerinnung entstehenden grossen Faserstoffmengen eine nach der obigen Formelgleichung stattfindende Spaltung ausgeschlossen ist, kann ich der etwas abweichenden Zusammensetzung des Fibringlobulins als Beweis für eine hydrolytische Spaltung des Fibrinogens keine Bedeutung zuerkennen.

Als einen weiteren Grund für die Annahme einer hydro-

lytischen Spaltung bei der Fibrinbildung könnte man jedoch vielleicht auch den Umstand anführen wollen, das die Caseingerinnung mit Lab, die ein verwandter Vorgang zu sein scheint, der allgemeinen Ansicht nach eine hydrolytische Spaltung ist. Aber auch diese Ansicht ist nicht hinreichend begründet. Es sprechen allerdings mehrere Beobachtungen für dieselbe: bewiesen ist sie aber nicht, und auch hier kann man daran denken, dass das sogenannte Molkeneiweiss nur ein Rest von in Lösung gebliebenem und verändertem Casein, bezw. Paracasein ist. Nach den Bestimmungen von Hillmann¹⁾ können bei der Gerinnung der Milch mit Lab von dem Casein mehr als 90%, sogar 96—97% als Paracasein sich ausscheiden, und auch hier kann die Menge des Paracaseins in Procenten von dem Casein je nach den Versuchsbedingungen recht bedeutend wechseln. Es ist also recht wohl denkbar, dass es bei der Caseingerinnung nicht um eine hydrolytische Spaltung, sondern um eine intramolekulare Umlagerung oder um irgend welche andere, noch unbekanntere Umwandlung des Caseins sich handelt. Es ist auch nicht ausgeschlossen, dass die gegenwärtig ganz unbekanntere Wirkungsweise der, eine Eiweissgerinnung erzeugenden sogenannten Enzyme ganz anderer Art als die der hydrolytisch wirkenden Enzyme ist.

Mit dem nun Gesagten will ich nicht die Möglichkeit in Abrede gestellt haben, dass die Fibrinbildung ein Spaltungsvorgang sein kann. Weil aber eine solche Annahme eine sehr zusagende ist und darum auch allmählich leicht als etwas Bewiesenes angesehen werden dürfte, muss ich entschieden hervorheben, dass die bisher bekannten Thatsachen zu einem solchen Schlusse nicht berechtigen. Die Lehre von der Faserstoffgerinnung hat leider schon gar zu viele unrichtige oder unbewiesene Theorien aufzuweisen, und der Grund hierzu liegt zum grossen Theil darin, dass man aus richtigen Beobachtungen seine Schlussfolgerungen oft zu rasch und ohne genügende Vorsicht gezogen hat.

¹⁾ Paul Hillmann, Beiträge zur Kenntniss der Wirkung des Labferments auf die Eiweissstoffe der Milch. Sonderabdruck aus Mittheilungen des landw. Instituts der Universität Leipzig 1897.