

Zur Fibringlobulinfrage.

Von

W. Huiskamp.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Utrecht.)
(Der Redaktion zugegangen am 5. März 1905.)

Nachdem von Hammarsten das Vorkommen eines bei etwa 64° koagulierenden, später Fibringlobulin genannten Eiweißkörpers in bis 55° erhitzten oder durch Fermentwirkung geronnenen Fibrinogenlösungen dargetan war, ergaben sich anlässlich der Entstehung dieses Körpers verschiedene Möglichkeiten. Erstens könnte die ursprüngliche Fibrinogenlösung das Fibringlobulin schon als Beimischung enthalten haben; zweitens war es möglich, daß bei der Hitze- oder Fermentgerinnung das Fibrinogenmolekel gespalten wurde, derart, daß eine unlösliche Substanz, das Fibrin, neben einer löslichen, dem Fibringlobulin, entstand, drittens könnte das Fibringlobulin ein modifiziertes, in Lösung gebliebenes Fibrinogen sein, vielleicht eine Art lösliches Fibrin.

Gegen die erste dieser Möglichkeiten hat Hammarsten¹⁾ wichtige Gründe beigebracht und es neigt dieser Forscher in seinen späteren Arbeiten entschieden zu der Annahme, daß das Fibringlobulin ein modifiziertes lösliches Fibrin sei.

Die Veranlassung zu den hier mitzuteilenden Versuchen über diese Frage ergab eine Arbeit Calugareanus,²⁾ worin der Autor u. a. darlegt, daß das Fluornatrium in starker Konzentration einen mächtig fördernden Einfluß auf die Wirkung geringer Mengen von Fibrinferment hat. Calugareanu bereitete

¹⁾ Pflügers Archiv, Bd. XXII, S. 431.

²⁾ L'Archiva veterinara, Nr. 4, Sept. 1904: Sur le pouvoir anti-coagulant du fluorure de sodium. Auch in: Arch. internat. de Physiol., vol. II, p. 12.

sich Pferdeoxalatplasma, welches eine geringe Menge von Fibrin-ferment enthielt, jedoch so wenig, daß das Plasma längere Zeit flüssig blieb. Führte man in dieses Plasma Fluornatrium bis zu einem Gehalt von etwa 3% ein, sei es durch Zusatz einer konzentrierten Lösung von NaFl, sei es durch Zusatz von Fluornatrium in Substanz, so entstand eine fast momentane Gerinnung. Daß der gebildete Niederschlag wirklich Fibrin sei, leitet Calugareanu daraus ab, daß derselbe sich wie Fibrin in verdünnter Salzlösung nicht löst. Andererseits fand Calugareanu, daß Pferdeoxalatplasma, welches vollkommen frei von Ferment war, wie es unter Inachtnahme verschiedener Kautelen erhalten werden konnte, auch durch Zusatz mehrerer Volumina 3% iger Fluornatriumlösung nicht gerann. Falls also kein Ferment vorhanden ist, übt das Fluornatrium keine Wirkung aus; woraus nach Calugareanu hervorgeht, daß das Fluornatrium auf das Fibrinferment, nicht aber auf das Fibrinogen seine Wirkung ausübt.

Bei der Nachprüfung dieser Versuche Calugareanus kam ich zu teilweise abweichenden Ergebnissen.

Es zeigte sich nämlich, daß auch solche fibrinogenhaltige Lösungen, welche vollkommen frei von Ferment waren, mit Fluornatrium in stärkerer Konzentration ganz ebenso einen Niederschlag bildeten, als wenn die Lösungen ein wenig Ferment enthielten; die Niederschläge zeigen, falls man pferdefibrinogenhaltige Lösungen benutzt, eine gallertige Beschaffenheit, welche mehr oder weniger an eine typische Gerinnung erinnert; wählt man aber Rinderfibrinogen oder Rinderblutplasma, so ist der Niederschlag flockig und besitzt also wenigstens äußerlich keine Ähnlichkeit mit der gewöhnlichen Fibrinbildung bei der Fermentgerinnung.

Zweitens zeigte sich, daß der durch NaFl gebildete Niederschlag bei geeignetem Verfahren doch sehr leicht gelöst werden konnte und daß diese Lösungen, mit Fibrinferment versetzt, in ganz typischer Weise gerannen. Letzteres läßt die Ähnlichkeit dieser Lösungen mit gewöhnlichen Fibrinogenlösungen sehr groß erscheinen.

Ich werde hier einige Versuche ausführlicher beschreiben.

Es wurden einem Kaninchen 65 ccm Blutegelextrakt in die Jugularvene eingespritzt, sodann das Blut aus der Carotis in einem paraffinierten Zentrifugenröhrchen aufgefangen und die Blutkörperchen abzentrifugiert. Auf diese Weise bereitetes Plasma enthält, wie Pekelharing zeigte,¹⁾ kein Ferment; das hier in Rede stehende Plasma blieb tagelang, solange als die Beobachtung überhaupt fortgesetzt wurde, flüssig: es entstand dennoch beim Zusatz des dreifachen Volumens gesättigter Fluornatriumlösung langsam ein flockiger Niederschlag: eine aus dem Plasma bereitete Fibrinogenlösung konnte ebenfalls durch Zusatz von gesättigter Fluornatriumlösung gefällt werden: Sättigung mit NaFl in Substanz rief unmittelbar einen Niederschlag hervor.

Andere Versuche wurden mit Pferdefibrinogen ausgeführt. Die benutzten Fibrinogenlösungen, welche durch dreimalige Fällung mit Kochsalz aus Oxalatplasma hergestellt waren, zeigten auch nach längerem Aufbewahren keine Spur einer Gerinnung: durch Zusatz von CaCl_2 wurde weder bei 37° noch bei Zimmertemperatur Gerinnung verursacht. In einer derartigen Lösung entsteht nach Zusatz des doppelten Volumens gesättigter Fluornatriumlösung sofort ein großer Niederschlag:²⁾ dieser gallertige Niederschlag ließ sich bequem um einen Glasstab winden und so zur weiteren Untersuchung aus der Flüssigkeit herausnehmen: der mit Wasser abgespülte Niederschlag zeigte folgende Löslichkeitsverhältnisse. In 3—5%iger Kochsalzlösung war derselbe bei Zimmertemperatur wenigstens in kurzer Zeit nicht merkbar löslich: leichter gelang auf diese Weise die Lösung bei Körpertemperatur oder besser noch bei $40—45^\circ$. Beim Abkühlen kehrt der Niederschlag nicht zurück. Am raschesten erreicht man aber eine vollständige Lösung, wenn man dieselbe in $\frac{1}{20}$ %iges Ammoniak vornimmt: durch Zerschlagen des Niederschlags lassen sich auf diese Weise leicht konzentriertere Lösungen herstellen: eine derartige Lösung kann nach Zusatz von Kochsalz bis zu einem Gehalt von etwa 3—5% neutralisiert werden, ohne daß eine neue Fällung entsteht; nur wenn die Konzentration der Lösung sehr groß war, beobachtete ich bisweilen nach einiger

¹⁾ Untersuchungen über das Fibrinferment, Amsterdam 1892.

²⁾ Das Gemisch enthält dann nur wenig mehr als 3% NaFl.

Zeit eine teilweise Fällung, welche sich jedoch bei 37° wieder löste. Auf dieselbe Weise kann eine solche Lösung nochmals mit dem doppelten Volumen gesättigter Fluornatriumlösung gefällt und in 1/20% igem Ammoniak gelöst werden. Solche, durch ein- oder zweimalige Fällung mit NaFl hergestellte, neutrale, 3—5% Kochsalzhaltige Lösungen verhielten sich gänzlich wie Fibrinogenlösungen: durch ein gleiches Volumen gesättigter Kochsalzlösung wurden dieselben ausgesalzen: Essigsäure verursachte einen im Überschuß löslichen Niederschlag: die Koagulationstemperatur lag bei 54°: die Lösungen gerannen mit Fibrinferment rasch und in typischer Weise, wofür ich folgende Versuche als Beispiele anführe.

5 ccm einer 0,342% igen Lösung + 1 ccm einer Lösung von Schmidts Ferment: Beginn der Gerinnung (bei 37°) nach einer halben Stunde. Weiterhin vollkommene Gerinnung.

5 ccm derselben Lösung + 5 Tropfen Rinderblutserum: Beginn der Gerinnung (bei 37°) nach zehn Minuten; nach einer Stunde feste Gerinnung.

Ein Röhrchen mit 5 ccm derselben Lösung zur Kontrolle ohne Ferment bei 37° gestellt blieb vollkommen flüssig.

Die Versuche mit fermentfreiem Fibrinogen wurden mit Pferdeoxalatplasma, welches nicht vollkommen fermentfrei war (wie das teilweise Gerinnen des aufgefangenen Blutes erwies), wiederholt. Das Ergebnis war im allgemeinen dasselbe; nur kam die Lösung des mit NaFl erhaltenen Niederschlags in 3—5% iger Kochsalzlösung bei 37° oder in 1/20% igem Ammoniak etwas schwieriger zustande als beim fermentfreien Fibrinogen. Die erhaltenen Lösungen zeigten die Eigenschaften des Fibrinogens, namentlich auch die Fähigkeit der Gerinnung mit Fibrinferment.

An Stelle von Pferdefibrinogen wurden weiterhin Versuche mit fermentfreiem, nach Hammarsten dargestelltem Rinderfibrinogen angestellt. Es zeigte sich, daß für die Fällung dieses Fibrinogens etwas mehr Fluornatriumlösung nötig war als für Pferdefibrinogen; der durch NaFl verursachte flockige Niederschlag löste sich bei 37° leichter in verdünnter Kochsalzlösung als mit NaFl gefälltes Pferdefibrinogen, dagegen weniger leicht

in $\frac{1}{20}$ ige Ammoniak. Schon bei Zimmertemperatur lösten sich bedeutende Mengen in 3—5 ige NaCl. Die Koagulationstemperatur der neutralen etwa 3 ige Kochsalzhaltigen Lösung lag bei $53-54^{\circ}$: Zusatz von Essigsäure verursachte einen im Überschuß löslichen Niederschlag: mittels gesättigter Kochsalzlösung konnte das Fibrinogen ausgesalzen werden. Was die Gerinnung mit Fibrinferment anbelangt, führe ich folgenden Versuch an.

5 ccm der Lösung in 3 ige NaCl + 5 Tropfen Rinderblutserum. Vollständige Gerinnung nach zwei Stunden.

Wenn es nach dem Vorhergehenden auch den Anschein hatte, daß bei der Fällung des Fibrinogens mit NaFl das Fibrinogen ganz oder doch nahezu unverändert bleibt, so stellte sich dennoch bei der weiteren Untersuchung ein bemerkenswerter Unterschied gegen die mittels Kochsalz bereiteten Fibrinogenlösungen heraus. Erwärmt man nämlich die Lösung des mit NaFl gefällten Fibrinogens einige Zeit auf $55-58^{\circ}$, so findet man, nachdem das Koagulum abfiltriert ist, im Filtrate eine auffallend geringe Menge Fibringlobulin; falls das Fibrinogen zweimal mit NaFl gefällt worden ist, erhält man darauf eine Lösung, woraus sich kein Fibringlobulin oder nur geringe Spuren dieses Körpers darstellen lassen, wie aus folgenden Versuchen hervorgeht.

I. Eine durch dreimalige Fällung mit Kochsalz dargestellte Pferdefibrinogenlösung wurde zum Teil mit dem doppelten Volumen gesättigter Fluornatriumlösung gefällt, der Niederschlag mit Wasser abgespült, in $\frac{1}{20}$ ige Ammoniak gelöst und die Lösung nach Zusatz von Kochsalz neutralisiert; diese Lösung wurde nochmals auf dieselbe Weise mit NaFl gefällt und gelöst: 8 ccm der vollkommen neutralen Lösung, welche 0,445 ige Fibrinogen und 3,973 ige Salz enthielt, wurden 5 Minuten auf $55-58^{\circ}$ erhitzt, sodann filtriert, das klare Filtrat wurde bis auf 72° erhitzt; es entstand eine geringe Opaleszenz; die Flüssigkeit wurde darauf schwach angesäuert und gekocht, wodurch die Opaleszenz nicht merkbar stärker wurde. Zum Vergleich wurde aus 8 ccm des nicht mit NaFl gefällten Anteils der Fibrinogenlösung auf dieselbe Weise das Fibringlobulin bereitet; diese Lösung enthielt 0,565 ige Fibrinogen und 3,255 ige Salz;

nachdem das bei 55—58° entstandene Koagulum abfiltriert war, entstand beim weiteren Erhitzen auf 65—70° ein reichlicher flockiger Niederschlag, also weitaus mehr, als aus der mit NaFl behandelten Lösung erhalten wurde. Aus dem relativ geringen Konzentrationsunterschied der beiden Lösungen konnte dieses verschiedene Verhalten gar nicht erklärt werden.

In einem andern Versuche waren die Resultate folgende:

II. Die Lösung des nicht mit NaFl gefällten Fibrinogens enthielt 0,634% Fibrinogen, diejenige des zweimal mit NaFl gefällten 0,452%. Nachdem aus beiden Lösungen das Fibrinogen durch Erhitzen auf 55—58° und Abfiltrieren des Koagulums entfernt war, wurden je 5 ccm der Filtrate mit 1½ ccm gesättigter Pikrinsäurelösung versetzt. Im Falle des mit NaFl behandelten Fibrinogens entstand eine Opaleszenz, welche nach einiger Zeit in einen sehr spärlichen Niederschlag übergegangen war: im Röhrchen des nicht mit NaFl behandelten Fibrinogens entstand dagegen sofort ein großer Niederschlag, wodurch das Röhrchen ganz undurchsichtig wurde.

III. Eine Rinderfibrinogenlösung wurde mit dem vierfachen Volumen gesättigter Fluornatriumlösung gefällt, sodann der Niederschlag abzentrifugiert, mit Wasser ausgewaschen und in 4%igem Kochsalz gelöst. Die Lösung enthielt 0,232% Fibrinogen: nachdem dieses durch Erhitzen auf 55—58° und Abfiltrieren des Koagulums entfernt war, blieb das Filtrat beim Kochen vollkommen klar, lieferte also kein Fibringlobulin, obwohl die ursprüngliche Fibrinogenlösung nur einmal mit NaFl gefällt war; allerdings war die Lösung, mit welcher der Versuch ausgeführt wurde, eine ziemlich verdünnte.

Aus den obenstehenden Versuchen geht hervor, daß mittels Fluornatrium Fibrinogenlösungen erhalten werden können, welche bei der Erhitzung kein Fibringlobulin oder nur Spuren davon liefern. Diese Tatsache spricht sehr dafür, daß das Fibringlobulin schon in der ursprünglichen Fibrinogenlösung vorhanden war¹⁾ und nicht etwa durch Umwandlung bei der Erhitzung aus Fibrinogen entsteht, denn im letzteren Falle wäre es kaum

¹⁾ Ob am Fibrinogen gebunden oder als einfache Beimischung, lasse ich zunächst unentschieden.

begreiflich, warum das durch Fällung mit NaFl dargestellte Fibrinogen bei der Erhitzung nicht auch in demselben Maße in Fibringlobulin umgewandelt werden sollte. Wenn dagegen das Fibringlobulin schon in der ursprünglichen Fibrinogenlösung vorhanden war, lassen sich die Befunde so deuten, daß bei der Fällung mit NaFl das Fibringlobulin wenigstens zum größten Teil in das Filtrat übergeht, während das eigentliche Fibrinogen ausfällt. Die Möglichkeit, daß das Fibringlobulin nicht mitgefällt wird, erhellt aus folgendem Versuch. Aus einer nach Hammarsten aus Pferdeblutplasma dargestellten Fibrinogenlösung wurde das Fibrinogen durch Erhitzen bis auf 60° entfernt: das Filtrat wurde mit dem doppelten Volumen gesättigter Fluornatriumlösung versetzt: die Flüssigkeit blieb vollkommen klar.

Die Frage, ob bei der Fällung einer Fibrinogenlösung mit NaFl das Fibringlobulin in das Filtrat übergeht, läßt sich nicht unmittelbar durch Untersuchung des Filtrates entscheiden, weil die Fällung des Fibrinogens mit NaFl unvollständig ist: im Filtrate findet sich somit mehr weniger Fibrinogen vor und wenn man daneben nach Erhitzen auch Fibringlobulin findet, so könnte vielleicht alles dies Fibringlobulin von der genannten Menge von im Filtrate befindlichem Fibrinogen herkömlich sein; es können hier also nur quantitative Versuche Aufschluß geben: falls bei der Fällung mit NaFl das Fibringlobulin in das Filtrat übergeht, muß aus diesem Filtrate annähernd gleichviel Fibringlobulin dargestellt werden können als aus der ursprünglichen Fibrinogenlösung. Weil das durch NaFl gefällte Fibrinogen nicht ganz frei von Fibringlobulin ist, darf man allerdings eine genaue Übereinstimmung nicht erwarten. Es folgen hier zunächst die Resultate eines der betreffenden Versuche.

a) 100 ccm einer reinen nach Hammarsten dargestellten Pferdefibrinogenlösung wurden mit 200 ccm gesättigter Fluornatriumlösung gefällt. Der Niederschlag wurde mittels eines Glasstabes aus der Flüssigkeit herausgenommen, gut ausgepreßt, bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen: die Substanz wurde sodann vorsichtig verascht: das Gewicht der aschefreien Substanz betrug 0,2435 g. Nachdem der mit NaFl erhaltene Niederschlag entfernt war, restierte eine klare Flüssigkeit, welche,

weil die benutzte Fluornatriumlösung, wie es meistens der Fall ist, ein wenig alkalisch reagierte, mit einigen Tropfen verdünnter Essigsäure neutralisiert wurde. Die Flüssigkeit (285 ccm) wurde darauf im Wasserbade eine Viertelstunde auf $55-60^{\circ}$ erhitzt; das koagulierte Fibrinogen wurde auf ein gewogenes, aschefreies Filter abfiltriert, mit verdünnter Kochsalzlösung, sodann mit Wasser ausgewaschen, bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und samt dem Filter gewogen; das Filter und die Substanz wurden darauf vorsichtig verascht: es zeigte sich, daß 0,2262 g aschefreies Fibrinogen auf das Filter vorhanden gewesen waren; die Menge wurde aus 285 ccm Flüssigkeit erhalten: in den ursprünglichen 300 ccm würden also 0,2381 g gefunden worden sein.

Zur Bestimmung des Fibringlobulingehaltes wurden 250 ccm der vom koagulierten Fibrinogen abfiltrierten Flüssigkeit im Wasserbade eine Viertelstunde auf $67-69^{\circ}$ erhitzt. Die Flüssigkeit blieb bis auf 64° vollkommen klar: um eine möglichst vollständige Koagulation herbeizuführen, wurden, sobald die Flüssigkeit sich zu trüben anfang, 5 ccm einer 1%igen Kupfersulfatlösung zugesetzt; das Koagulum wurde dadurch grobflockig und konnte leicht abfiltriert werden. Die Menge des abfiltrierten Fibringlobulins wurde weiter auf dieselbe Weise, als dies beim koagulierten Fibrinogen geschah, bestimmt. Das Gewicht des aschefreien Fibringlobulins betrug 0,1141 g; aus 300 ccm Filtrat würden also 0,1369 g erhalten worden sein. In der vom Fibringlobulin abfiltrierten Flüssigkeit konnte kein Eiweiß mehr nachgewiesen werden.

b) Zum Vergleich wurde bestimmt, wieviel Fibringlobulin die benutzte Fibrinogenlösung ohne Behandlung mit NaFl lieferte. Zu diesem Zwecke wurden weitere 100 ccm dieser Lösung mit 200 ccm $4\frac{3}{4}\%$ iger Kochsalzlösung gemischt, wodurch Volumen und Salzgehalt der Lösung mit denjenigen des Versuches a) gleichgemacht wurden. Durch viertelstündiges Erhitzen auf $55-60^{\circ}$ wurde das Fibrinogen koaguliert und weiter wie oben behandelt; das Gewicht des Fibrinogens betrug 0,4548 g aschefreie Substanz. Von der vom koagulierten Fibrinogen abfiltrierten Flüssigkeit wurden 250 ccm eine Viertelstunde auf $67-69^{\circ}$ erhitzt:

bis auf 64° blieb, wie im Versuch a), die Flüssigkeit vollkommen klar: auch hier wurden, sobald sich die erste Trübung zeigte, 5 ccm 1%ige Kupfersulfatlösung zugesetzt. Das koagulierte Fibringlobulin wurde abfiltriert und wie oben weiter behandelt: das Gewicht des Fibringlobulins betrug 0,1354 g aschefreie Substanz, also auf 300 ccm Filtrat berechnet: 0,1625 g; in der vom koagulierten Fibringlobulin abfiltrierten Flüssigkeit konnte kein Eiweiß mehr nachgewiesen werden.

Wenn wir die Ergebnisse dieser Versuche zusammenfassen, so sehen wir, daß im Versuche a), nach der Entfernung des mit NaFl erhaltenen Niederschlags, 0,2381 g Fibrinogen und 0,1369 g Fibringlobulin gefunden wurden und im Versuche b) 0,4548 g Fibrinogen und 0,1625 g Fibringlobulin. Die Fibrinogenmenge war also im Versuche a) durch die Fällung mit NaFl bis auf $\frac{52}{100}$ herabgesetzt, während die Fibringlobulinmenge nur eine Verminderung bis auf $\frac{85}{100}$ zeigte. Es muß also bei der Fällung mit NaFl eine bedeutende Menge von Fibringlobulin in das Filtrat übergegangen sein. Der Unterschied von 0,0256 g zwischen den in den beiden Versuchen gefundenen Fibringlobulinmengen muß, abgesehen von Versuchsfehlern, wohl dem zugeschrieben werden, daß das mit NaFl gefällte Fibrinogen nicht vollkommen frei von Fibringlobulin ist; das Gewicht dieses Niederschlages betrug 0,2435 g: wenn wir davon 0,0256 g als Fibringlobulin in Abzug bringen, so enthielt der Niederschlag auf 100 mg bei 55° koagulierbares Fibrinogen 11,7 mg Fibringlobulin: im Versuche b) wurde auf 100 mg bei 55° koagulierte Fibrinogen 35,7 mg Fibringlobulin gefunden und im Versuche a), nach der Entfernung des mit NaFl erhaltenen Niederschlags, auf 100 mg bei 55° koagulierte Fibrinogen 57,5 mg Fibringlobulin. Durch die Fällung mit NaFl wurde also die Fibrinogenlösung getrennt einerseits in einen Niederschlag, welcher relativ wenig, und andererseits in ein Filtrat, welches relativ viel Fibringlobulin enthielt. Für die richtige Ausführung der obigen Bestimmungen spricht der Umstand, daß das Gewicht vom Fibrinogen sammt dem des Fibringlobulins, also der totale Eiweißgehalt, in den beiden Versuchen nahezu übereinstimmend gefunden

wurde, nämlich im Versuche a) 0,6185 g und im Versuche b) 0,6173 g.

Im Versuche a) wurde durch das NaFl etwa die Hälfte des Fibrinogens gefällt: die von diesem Niederschlage getrennte Flüssigkeit zeigte keine Trübung; läßt man aber eine derartige Flüssigkeit einige Zeit stehen, so trübt sie sich und nach 24 Stunden ist wieder ein Niederschlag entstanden; im Filtrate dieses Niederschlages entsteht wieder eine neue Fällung usw., bis schließlich nach mehreren Tagen alles Fibrinogen bis auf äußerst geringe Spuren gefällt ist. Nach den vorhergehenden Versuchen ist zu erwarten, daß bei steigender Ausfällung des Fibrinogens eine relative Anreicherung von Fibringlobulin im Filtrate stattfinden wird. Es wurde diese Meinung durch die zwei folgenden Versuche bestätigt:

1. 100 ccm einer 0,642%igen Pferdefibrinogenlösung wurden mittels 200 ccm gesättigter Fluornatriumlösung gefällt; der Niederschlag wurde mit einem Glasstabe entfernt und die Flüssigkeit blieb sodann zweimal 24 Stunden stehen; nachdem auch der dadurch entstandene Niederschlag abfiltriert war, wurde in 250 ccm des Filtrates der Gehalt an Fibrinogen und an Fibringlobulin genau so bestimmt, wie es im oben angeführten Versuche a) geschah. Es zeigte sich, daß in diesen 250 ccm 0,0742 g Fibrinogen und 0,1113 g Fibringlobulin vorhanden waren.

2. 100 ccm derselben Fibrinogenlösung wurden mit 200 ccm gesättigter Fluornatriumlösung gefällt; nach Entfernung des Niederschlages blieb die Flüssigkeit 8 Tage stehen;¹⁾ der neu entstandene Niederschlag wurde sodann abfiltriert; das Filtrat trübte sich nach kurzer Zeit, und nach 24 Stunden hatte sich noch ein geringer Niederschlag gebildet, welcher abfiltriert wurde. Das Filtrat wurde mit ein paar Tropfen verdünnter Essigsäure neutralisiert: beim Erhitzen der neutralen Flüssigkeit auf 55 bis 60° entstand nur eine äußerst geringe Opaleszenz; es war

¹⁾ Es trat dabei keine Fäulnis auf wegen des Gehalts an NaFl. Ich bemerke noch, daß die Flüssigkeit bei ziemlich niedriger Temperatur (8—10°) stehen blieb, weil mir das für die vollständige Ausfällung des Fibrinogens günstig schien.

also nahezu alles Fibrinogen entfernt. Nachdem die opalisierende Flüssigkeit filtriert war, entstand beim Erhitzen des Filtrates auf 67—69° ein reichlicher flockiger Niederschlag.

Während im obigen Versuche a) nach Entfernung des mit NaFl erhaltenen Niederschlags das Verhältnis zwischen der noch gelöst vorhandenen Menge von Fibrinogen und von Fibringlobulin wie 1,74 : 1 war, war dieses Verhältnis im Versuche 1 0,67 : 1, während im Versuche 2 gegenüber einer reichlichen Menge von Fibringlobulin gar keine genau bestimmbare Menge von Fibrinogen mehr vorhanden war.

Die angeführten Versuche scheinen mir zu dem Schluß zu berechtigen, daß bei der Hitzezerinnung des Fibrinogens das Fibringlobulin nicht durch Umwandlung aus Fibrinogen entsteht, sondern daß das Fibringlobulin schon von vornherein in der Fibrinogenlösung anwesend ist, denn es wäre sonst nicht begreiflich, daß einerseits das mit NaFl gefällte Fibrinogen kein oder nur wenig Fibringlobulin liefert, und daß andererseits die von diesem Niederschlage abfiltrierte Flüssigkeit Fibringlobulin in desto reichlicher Menge enthält.

Es sollen hier noch einige Einwände besprochen werden, welche gegen diesen Schluß erhoben werden könnten.

Erstens könnte man — in Anbetracht dessen, daß das mit NaFl gefällte Fibrinogen sich in verdünnter Kochsalzlösung schwieriger löst als gewöhnliches Fibrinogen und daß die Lösung beim Erhitzen kein Fibringlobulin liefert — fragen, ob die durch NaFl gefällte Substanz nicht doch eine Art lösliches Fibrin wie das von Denis beschriebene «*fibrine concrète pure*» darstelle: letzteres löste sich namentlich bei 40° in verdünnter Kochsalzlösung in ein paar Stunden, während bei Zimmertemperatur die Lösung viel längere Zeit in Anspruch nahm. Gegen die Auffassung der mit NaFl gefällten Substanz als lösliches Fibrin spricht erstens die Koagulationstemperatur, welche von Denis für das gelöste «*fibrine concrète pure*» bei 60—65° gefunden wurde, für die Lösung der mit NaFl gefällten Substanz aber jedenfalls nicht über 55° liegt: den kräftigsten Beweis gegen die Fibrinnatur, die Fähigkeit nämlich der Lösung des mit NaFl erhaltenen Niederschlags, beim Zusatz von Fibrin-

ferment zu gerinnen, habe ich schon mehrfach erwähnt; zieht man weiterhin noch in Betracht, daß das mit NaFl dargestellte Fibrinogen sich auch gegenüber Essigsäure, Halbsättigung mit Kochsalz usw. gänzlich wie gewöhnliches Fibrinogen verhält, so glaube ich, daß damit die Auffassung dieser Substanz als Fibrin als widerlegt betrachtet werden kann.

Was die Schwerlöslichkeit des mit NaFl gefällten Fibrinogens in verdünnter Kochsalzlösung anbelangt, so ist dieses Verhalten vielleicht dadurch zu erklären, daß bei der Behandlung mit Fluornatriumlösung eine wenig lösliche Fluorverbindung des Fibrinogens gebildet wird, welche sich in Kochsalzlösung nur allmählich löst: wegen des alsdann vorhandenen großen Überschusses von Chlorionen dürfte diese Lösung mit einem Ersatze des Fluors durch Chlor Hand in Hand gehen: die Bildung einer Fluorverbindung muß um so wahrscheinlicher erscheinen, als wegen des geringen Salzgehaltes der Fluornatriumlösung an eine eigentliche Aussalzung wohl nicht zu denken ist.

Man könnte sich nun weiterhin vorstellen, daß durch NaFl das Fibrinogen zwar als solches gefällt werde, daß jedoch dabei (zumal weil die Fluornatriumlösungen gewöhnlich schwach alkalisch reagieren) ein Teil des Fibrinogens in Fibringlobulin umgewandelt werde, wodurch dann das Vorkommen von Fibringlobulin im Filtrate erklärt wäre. Abgesehen davon, daß dann noch nicht erklärt wäre, warum das mit NaFl gefällte Fibrinogen bei der Erhitzung kein Fibringlobulin liefert, müßte man nach dieser Vorstellung erwarten, daß bei einer zweiten oder dritten Fällung des Fibrinogens mit NaFl ganz ebenso ein Teil desselben in Fibringlobulin umgewandelt werden würde, welches also im Filtrate aufzufinden sei; dem ist aber nicht so: man findet in diesen Fällen im Filtrate gerade nur äußerst wenig oder kein Fibringlobulin.

Wenn wir also annehmen müssen, daß das Fibringlobulin in den Fibrinogenlösungen schon von vornherein existiert, so ist damit die Frage noch nicht erledigt, ob dasselbe am Fibrinogen gebunden oder als einfache Beimischung vorkommt.

Für eine Verbindung sprechen Versuche Hammarstens,¹⁾

¹⁾ loc. cit.

wodurch gezeigt wurde, daß aus konzentrierten Fibrinogenlösungen nach Erhitzen auf 56—60° und Abfiltrieren relativ weniger Fibringlobulin erhalten wird als aus denselben Lösungen, nachdem dieselben verdünnt sind; falls das Fibringlobulin als einfache Beimischung vorhanden war, müßte man erwarten, daß die Relation Fibrinogen : Fibringlobulin immer dieselbe sein würde. Ist dagegen das Fibringlobulin an Fibrinogen gebunden, so kann der Befund so gedeutet werden, daß in verdünnten Fibrinogenlösungen die Abspaltung des Fibringlobulins leichter erfolgt. Auf eine Verbindung weist auch die Tatsache hin, daß bei der ersten Fällung einer Fibrinogenlösung mit NaFl eine nicht unbedeutende Menge von Fibringlobulin mit ausgefällt wird.

Gegen die Annahme einer Verbindung spricht der Befund, daß bei der Fällung mit NaFl das Fibringlobulin wenigstens größtenteils in das Filtrat übergeht, denn es läßt sich doch nur schwierig annehmen, daß der Zusatz eines Alkalisalzes wie NaFl bis zu einem Gehalt von etwa 3% eine Abspaltung von Fibringlobulin bewirken sollte. Die folgende Beobachtung kann indessen hierüber vielleicht einige Aufklärung geben.

Es wurden 100 ccm einer Pferdefibrinogenlösung zweimal durch das doppelte Volumen gesättigter Fluornatriumlösung gefällt: die benutzte Fluornatriumlösung reagierte ausnahmsweise fast neutral: mit Lackmuspapier war kaum eben die alkalische Reaktion bemerkbar. Ein Teil der Fluornatriumlösung wurde jetzt durch Zusatz von 0,8 ccm normaler Natronlauge auf 200 ccm der Fluornatriumlösung schwach alkalisch gemacht; hiermit wurden 100 ccm derselben Fibrinogenlösung auf dieselbe Weise zweimal gefällt: aus den mit neutralem und mit alkalischem NaFl erhaltenen Niederschlägen wurden zwei gleich konzentrierte Fibrinogenlösungen bereitet. Das Fibrinogen wurde in beiden Fällen durch Erhitzen auf 55—60° koaguliert und abfiltriert: das Filtrat des mit schwach alkalischer Fluornatriumlösung bereiteten Fibrinogens gab durch Erhitzen auf 70° oder durch Zusatz von Pikrinsäure nur einen ganz geringen Niederschlag, während der Fibringlobulinniederschlag des anderen Filtrates entschieden größer, vielleicht zwei- bis dreimal so groß war.

Es würde hieraus folgen, daß die vermutete Abspaltung von Fibringlobulin nicht durch das NaFl, sondern durch den Alkaligehalt der Fluornatriumlösung bewirkt wird; für die Abspaltung genügen dann allerdings äußerst geringe Mengen von Alkali, denn auch diejenige Fibrinogenlösung, welche mittels nahezu neutralem NaFl bereitet worden war, lieferte noch sehr viel weniger Fibringlobulin als eine gleichkonzentrierte, nicht mit NaFl behandelte Fibrinogenlösung. Der Gedanke wird dadurch nahegelegt, ob vielleicht nicht auch das Wasser, zumal bei erhöhter Temperatur, die Abspaltung von Fibringlobulin bewirken könnte. Es würde also, wenn dies der Fall ist, in einer mit Kochsalz bereiteten Fibrinogenlösung eine Verbindung von Fibrinogen mit Fibringlobulin vorhanden sein, welche mehr weniger stark hydrolytisch gespalten wäre, und diese Auffassung entspricht meines Erachtens am besten den Tatsachen. Die Abspaltung wird in diesem Falle bei erhöhter Temperatur, z. B. bei 55°, eine ziemlich vollständige sein können; aus verdünnten Lösungen kann dann aber relativ mehr Fibringlobulin erhalten werden als aus konzentrierten, weil dort die Abspaltung vollständiger sein wird wegen des größeren Wasserüberschusses. Daß bei der Ausfällung mit NaFl nicht alles Fibringlobulin in das Filtrat übergeht, wird bei der Annahme einer nur teilweisen hydrolytischen Spaltung (welche in diesem Falle durch den Alkaligehalt der Fluornatriumlösung unterstützt wird) ebenfalls begreiflich.

Wenn das Fibringlobulin, sei es auch nur teilweise, dem Fibrinogen wegen der hydrolytischen Abspaltung einfach beigemischt ist, so kann — in Anbetracht dessen, daß durch Halb-sättigung mit Kochsalz, wie es bei der Bereitung von Fibrinogenlösungen üblich ist, keine vollständige Ausfällung des Fibringlobulins erfolgt — nicht erwartet werden, daß in jeder Fibrinogenlösung das Verhältnis zwischen den Mengen von Fibrinogen und Fibringlobulin dasselbe sei; es kann dies vielleicht zur Erklärung derjenigen Befunde Hammarstens¹⁾ beitragen, woraus hervorging, daß aus verschiedenen Blutportionen bereitete Fibrinogenlösungen

¹⁾ loc. cit. S. 456.

zwar relativ verschiedene Mengen von Fibringlobulin liefern, daß dabei aber eine verdünnte Fibrinogenlösung nicht immer relativ mehr Fibringlobulin liefert als eine konzentrierte: allerdings kann hier, wie Hammarsten hervorhebt, vielleicht auch der Salzgehalt einen Einfluß ausüben.

Es seien hier schließlich noch einige Tatsachen, die Fermentgerinnung des Fibrinogens betreffend, besprochen.

An der Identität des bei der Ferment- und der Hitze- gerinnung auftretenden Fibringlobulins kann wegen der Übereinstimmung in der Zusammensetzung, Koagulationstemperatur und im ganzen sonstigen Verhalten wohl nicht gezweifelt werden. Wenn aber einmal angenommen werden muß, daß das Fibringlobulin in den Fibrinogenlösungen schon von vornherein existiert, so ist bis auf weiteres kein Grund mehr vorhanden, für das Vorkommen von Fibringlobulin im Serum geronnener Fibrinogenlösungen noch andere Ursachen (z. B. Umwandlung des Fibrins in Fibringlobulin) verantwortlich zu machen, zumal weil die Menge des bei der Fermentgerinnung erhaltenen Fibringlobulins diejenige des nach der Hitze- gerinnung vorhandenen Fibringlobulins durchschnittlich jedenfalls nicht übertrifft. Hammarsten¹⁾ fand zwar, daß in schwach alkalischen Lösungen durch Ferment relativ wenig Fibrin gebildet wurde, somit relativ viel Eiweiß in Lösung blieb; dies kann aber einerseits dadurch verursacht sein, daß bei der alkalischen Reaktion das Fibringlobulin sehr vollständig abgespalten wurde, andererseits aber namentlich auch dadurch, wie Hammarsten selbst hervorhebt, daß unter diesen Umständen ein Teil des Fibrins als «lösliches Fibrin» in Lösung geblieben war.

Aus dem Befund, daß eine Fibrinogenlösung, welche mittels NaF von Fibringlobulin befreit worden ist, mit Fibrinferment gerinnt, muß abgeleitet werden, daß durch die Entfernung des Fibringlobulins das eigentliche Fibrinogen nicht, wie man nach der von Schmiedeberg²⁾ gegebenen, neuerdings von Heubner³⁾ befürworteten Formel vermuten würde, in Fibrin umgewandelt

¹⁾ Pflügers Archiv, Bd. XXX, S. 479.

²⁾ Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XXXIX.

³⁾ Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XLIX.

wird und daß überhaupt das Fibringlobulin bei der Gerinnung keine wesentliche Rolle spielt: der Vorgang der Gerinnung muß also in einer Änderung des Fibrinogenmoleküls selbst bestehen. Das Vorkommen von Fibringlobulin im Serum der geronnenen Fibrinogenlösung kann ungezwungen daraus erklärt werden, daß in der Lösung freies Fibringlobulin vorhanden war: die Annahme, daß das Ferment eine Abspaltung des Fibringlobulins bewirke, erscheint hiernach als überflüssig.