

Acta Medica Okayama

Volume 2, Issue 4

1930

Article 9

DEZEMBER 1931

Serologische Studie über die Beziehung zwischen Plasma, Fibrinogen und Serum. (I. Mitteilung). Prazipitin- und Komplementbindungsversuch.

Sumikazu Saeki*

*Okayama University,

Copyright ©1999 OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL. All rights reserved.

Serologische Studie über die Beziehung zwischen Plasma, Fibrinogen und Serum. (I. Mitteilung). Prazipitin- und Komplementbindungsversuch.*

Sumikazu Saeki

Abstract

Ich untersuchte in diesem Kapitel die Spezifität des Fibrinogens mittels Komplementbindungsreaktion, wobei für jedes Immunsérum, wie bei Prazipitation, eine für die Bindungszone geeignete Antigenmenge gebraucht wurde. Die Ergebnisse meiner obigen Versuche dürften sich folgendermassen zusammenfassen lassen : Es lässt sich mit Sicherheit nachweisen, dass das mit dem Fibrinogen einer Tierart gewonnene Antiserum die Fähigkeit besitzt, Komplemente zu binden, wenn es nicht nur mit dem ihm entsprechenden Antigen, sondern auch mit dem Fibrinogen anderer Tierarten zusammengebracht wird. Wie zu erwarten, erweist sich jedoch das Immun-sérum dem entsprechenden Fibrinogen gegenüber als viel stärker wie gegenüber einem Fibrinogen anderer Tierarten. Der Titer nach der Komplementbindungsmethode ist indes stets viel niedriger als der nach der Prazipitinmethode. Wenn man aber die Titer der hoch immunisierten Antisera gegen Fibrinogen verschiedener Tierarten bei Komplementbindung miteinander vergleicht, so bemerkt man, dass sie mit den Resultaten bei Prazipitation fast parallel gehen, d. h. das Fibrinogen weist auch mittels der Komplementbindungsreaktion gleichzeitig beider Spezifitäten, Art- und Organspezifität, auf, z. B. Z.F.A. S. 3 und H. F.A. S. 3. Von den bei niedrigem Prazipitintiter gezeigten Immunséra verbinden dagegen die einen das Komplement mit Fibrinogen oder

*Copyright (C) OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL

Aus dem Hygienischen Institut der Universität Okayama
(Vorstand: Prof. Dr. M. Ogata).

**Serologische Studie über die Beziehung zwischen
Plasma, Fibrinogen und Serum.
(I. Mitteilung).
Präzipitin- und Komplementbindungsversuch.**

Von

Sumikazu Saeki.

Eingegangen am 31. Juli 1931.

Einleitung.

Untersuchungen über die serologische Spezifität der Organe und Gewebe sind zuerst von *Bordet*¹⁾ (1899) und *Tchistovitsch*²⁾ (1899) ausgeführt worden; darnach sind sie so zahlreich geworden, dass man sie im einzelnen kaum alle aufzählen, geschweige denn über sie berichten kann. Fassen wir die Resultate dieser Versuche zusammen, so können wir die serologische Spezifität bezüglich der Organe und Gewebe in drei Arten einteilen: 1) Das absolut artspezifische Organ, das sich auf die Tierspezies stützend nur eine Artspezifität zeigt, z. B. das Serum; 2) das absolut organspezifische Organ, das sich auf das Organ stützend nur eine Organspezifität zeigt, z. B. die Krystalllinse des Auges; 3) die Übergangsform, d. h. die Organe, die zwar über eine gewisse Artspezifität verfügen, gleichzeitig aber auch Organspezifität aufweisen; z. B. der Samen, der Glaskörper des Auges und das Fibrinogen.

Man muss aber bedenken, dass auch die vorerwähnten Organe oft nicht nur eine sog. Gruppenreaktion zwischen den Tierarten, sondern auch eine Reaktion in den verschiedenen Eiweisskörpern derselben Tierart zu geben vermögen. Es lässt sich somit wohl behaupten, dass die Präzipitine für einzelne Eiweisskörper keine absolute Spezifität im strengen Sinne des Wortes besitzen (*Uhlenhuth*³⁾, *Nuttal*⁴⁾, *Manteufel* und *Beger*⁵⁾, *Neumark*, *Strube*⁶⁾, *Kister* und *Wolf*⁷⁾, *Kratter*⁸⁾ u. a.). Neuerdings behaupteten mehrere Forscher (*Sunouchi*⁹⁾, *Makino*¹⁰⁾, *Sato*¹¹⁾, *Yamazaki*¹²⁾ u. a.), dass auch die Organe, die bisher als organspezifische oder absolut artspezifische Organe mit Ausnahme der Gruppenreaktion bestimmt

S. Saeki: Serologische Studie über die Beziehung zwischen Plasma usw. 611

worden sind, jetzt gleichzeitig Organ- und Artspezifität aufweisen, auf keinen Fall serologisch absolut spezifisch sind.

Immunologische Untersuchungen über das Fibrinogen wurden bis jetzt leider noch nicht in grösserem Umfange ausgeführt, und eine genauere Beweisführung für die Spezifität des Fibrinogens sowie für den Verwandtschaftsgrad zwischen den verschiedenen Tierarten ist noch nicht erbracht. In diesen Mitteilungen will ich über die immunologische Stellung von Fibrinogen und Serum zum Plasma sowie über die Spezifität des Fibrinogens berichten. Ehe ich auf meine eigenen Untersuchungen eingehe, möchte ich aus der Literatur Folgendes hervorheben.

Bordet und *Gengou*¹³⁾ (1901) haben zum erstenmale serologische Untersuchungen über die fibrinogenhaltige Lösung ausgeführt und dabei die Erscheinung beobachtet, dass das Immunkaninchenserum mit Meerschweinchenplasma bei der Vermischung mit dem betreffenden Plasma einen Niederschlag bildete. Im folgenden Jahre hat *Gengou*¹⁴⁾, dem es gelang, das Fibrinogen aus dem Pferdeplasma rein herzustellen, den Nachweis erbracht, dass das Kaninchenantiserum, das bei mehrmaligen Behandlungen mit Pferdefibrinogen hergestellt wurde, nicht nur mit dem zugehörigen Antigen, sondern auch mit Fibrinogen von Rindern und Hunden positiv reagiert. Nach *Bauer* und *Engel*¹⁵⁾ ist der Tatbestand ein anderer. Das Serum von Kaninchen, die mit Rinder- oder Schweinefibrinogen vorbehandelt waren, reagiert mit Hilfe der Präzipitin- und Komplementbindungsmethode ausschliesslich mit entsprechendem Fibrinogen und Plasma stark positiv, aber nicht oder ganz schwach mit Plasma und Fibrinogen von anderen Tierarten. Nach den Untersuchungsergebnissen haben *Bordet* und *Gengou* behauptet, dass das Fibrinogen somit eine Form der Spezifität aufweist, die man als Organspezifität bezeichnet, während nach *Bauer* und *Engel* das Fibrinogen die Artspezifität aufweist. In neuerer Zeit hat *Kato*¹⁶⁾ von Sera der mit den Fibrinogenen mehrerer Tierarten behandelten Kaninchen (mittels der Präzipitinmethode, Komplementbindungsmethode und auch des Anaphylaxieversuchs) behauptet, dass das Fibrinogen eine gewisse Artspezifität besitze, gleichzeitig aber auch Organspezifität aufweise. Später hat auch *Ohzawa*¹⁷⁾, nachdem er genauere Untersuchungen über das Fibrinogen angestellt hatte, behauptet, dass das Fibrinogen die Artspezifität aufweise.

Wenn auch mancherlei Ergebnisse von Untersuchungen über das Fibrinogen von mehreren Autoren veröffentlicht wurden, so stiess man doch oft auf unklare, unverständliche Befunde; zudem liess sich der Verwandtschaftsgrad zwischen den verschiedenen Spezies nicht genau erklären. Mittels der bisher angestellten Untersuchungsmethoden habe auch ich die gleichen Tatsachen festzustellen vermocht wie viele andere

Autoren. Sowohl die Untersuchung von *Ohzawa*¹⁷⁾ auf Grund der Ausmessung der Niederschlagsmenge wie auch die Arbeit von *Yamazaki*¹²⁾ über die Spezifität des Fibrinogens nach Massgabe einer Vergleichung der Form des Präzipitatkörnchens sind sehr interessant. An Hand der nämlichen Methode hat *Yamazaki* auch die Spezifität des Serums und der Krystallinse des Auges ausser dem Fibrinogen untersucht und den Nachweis dafür erbracht, dass Fibrinogen, Serum und auch Krystallinse die Organ- und Artspezifität aufweisen.

Mit Hilfe einer Vergleichung der Form des Präzipitatkörnchens kann man verhältnismässig deutlich in einem Immunserum einen Unterschied zwischen beiden Antikörpern (spezifisch und unspezifisch) machen, manchmal stösst man aber dabei auf unklare Fälle, und ebenso wenig lässt sich der Verwandtschaftsgrad zwischen den verschiedenen Tierarten mit konstanter Zahlgrösse aufzeigen.

Viele Forscher, die mittels der Präzipitinmethode arbeiteten, wandten die *Uhlenhuthsche* Ringprobe an, die durch Aufschichtung der mit physiologischer Kochsalzlösung stufenweise verdünnten Antigene auf das Immunserum ausgeführt wird. Unter solchen Umständen erscheint es nur natürlich, dass die an Hand der bisherigen Präzipitinmethode erzielten Resultate, wie z. B. die Unterschiede zwischen den Spezies, je nach den verschiedenen Forschern auseinandergehen und dass selbst ein und derselbe Forscher von einander abweichende Ergebnisse meldet.

Diese Meinungsverschiedenheit beruht zum Teile auf der Bestimmungsmethode des Präzipitintiters, da nach der *Uhlenhuthschen* Methode nur das Antigen verdünnt wird, während man bei allen anderen serologischen Reaktionen, wie z. B. Agglutination, Hämolyse, Bakteriolyse usw., den Titerwert eines Serums dadurch bestimmt, dass man fallende Mengen des Antiserums mit bestimmten Mengen des Antigens in Reaktion treten lässt. Auf diesen Gesichtspunkt hat *Sunouchi* in unserem Institute Rücksicht genommen und mit seinem Serumversuche die Differenzierung der Gruppenreaktion zwischen den nahverwandten Spezies mittels einer anderen Methode festzustellen, und zwar durch *Ogatasche* Immunkörper- statt Antigenverdünnung, Erfolg gehabt.

Bei dieser Sachlage schien es nun geboten, durch Messung der Antikörpermenge mit Hilfe der *Ogataschen* Verdünnungsmethode einmal näher zu prüfen, in welcher Beziehung Fibrinogen, Plasma und Serum zu einander stehen, ob nicht doch gewisse Differenzen zwischen dem Fibrinogen und dem Eiweiss der verschiedenen Organe bei ein und demselben Tiere vorhanden sind, oder ob es nicht gelinge, das Fibrinogen einer Tierspezies von dem der anderen zu unterscheiden.

Vorbereitung und Untersuchungsmethode.

1) Darstellung des Fibrinogens.

Zur Isolierung des Fibrinogens aus Plasma bediente ich mich der von *Nolf* modifizierten Methode von *Hammarsten*¹⁸⁾. Das Blut wird in einem Gefässe, das 1/10 Volumen 2%iger Natriumoxalatlösung enthält, aufgefangen, dann stark geschüttelt und dieses Oxalatblut scharf zentrifugiert. Dem klaren Abgusse, d. h. dem vollständig zellfreien Oxalatplasma, wird im gleichen Volumen gesättigte Kochsalzlösung hinzugefügt. Der flockige oder ballenförmige Niederschlag von Fibrinogen wird mit Hilfe der Zentrifuge gesammelt und in schwach alkalischem Wasser wieder gelöst. In derselben Weise wird das Fibrinogen durch mehrfache Wiederholung von Fällen und Auflösen gereinigt. Diese nach *Hammarsten* hergestellte Fibrinogenlösung wurde in einem Eisschranke aufbewahrt. Die Lösung blieb mehrere Tage unverändert flüssig und klar und war für unsere Versuche geeignet.

2) Die Prüfungsmethode des Fibrinogengehaltes in der Lösung.

Bevor wir die Fibrinogenlösung für den Versuch verwenden, ist es nötig, zunächst die Konzentration der Fibrinogenlösung zu bestimmen. Nach Herstellung der Fibrinogenlösung haben wir sie mit physiologischer Kochsalzlösung fortgesetzt verdünnt, also: 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 usw., andererseits wurde das Normalserum im Verhältnis von 1/1000 verdünnt. 1 cc dieser beiden Lösungen wurde in ein Reagenzglaschen verteilt und ein Tröpfchen 5%iger Ferrozyankaliumlösung und Essigsäure hinzugefügt. War beispielsweise solchermassen festgestellt worden, dass bei der Stammfibrinogenlösung in der Verdünnung von 1/16 eine leichte opaleszierende Trübung auftrat, die beim Serum bei Verdünnung von 1/1,000 entsteht, so liess sich durch Vergleich mit Serum ermitteln, dass die Stammfibrinogenlösung bezüglich des Eiweissgehaltes einer Verdünnung von ca. 16/1,000 des Serums entsprach.

3) Immunisierungsmethode.

Als Immunserum benützte ich die Immunkaninchensera von Ziegen-, Pferde-, Rinder-, Schweine-, Hunde- und Hühnerfibrinogen, und als Antigene Fibrinogen, Serum und Plasma der Säugetiere (Rind, Pferd, Ziege, Schaf, Schwein, Hund, Katze, Meerschweinchen und Mensch) sowie des Vogels (Huhn). Das Kaninchen wurde mit dem Fibrinogen (1 cc) einer dem Eiweissgehalt von ca. 1/10–3/10 des Serums entsprechenden Fibrinogenlösung in 3–4 täglichen Pausen intravenös 3mal oder mehr als 5mal injiziert. Bei der Immunisierung mit Plasma oder Serum injizierte ich 5 cc 10%iger beliebiger Flüssigkeit. Das Blut des Versuchstieres wurde am 7. Tage nach der letzten Injektion entnommen und das Serum ausgeschieden; nach Inaktivierung des Serums wurde es unter Zusatz von 1/10 Volumen 5%iger Karbolsäurelösung in einem

Eisschranke aufbewahrt.

4) Präzipitinreaktion.

Als Präzipitinogen wurde Fibrinogenlösung, Plasma und Serum benützt. Als Stammfibrinogenlösung wurde jedesmal Fibrinogenlösung mit einem Eiweissgehalte, der einer Verdünnung von ca. 16/1,000 des Serums entspricht, hergestellt. Zur Präzipitinbestimmung benützte ich die folgenden zwei Methoden (Ringprobe), wobei die Reaktion bei Zimmertemperatur nach je 1/4 St., 1/2 St., 1 St. und 2 Stunden abgelesen wurde:

a) *Uhlenhuthsche* Methode (die originale Methode).

Das Präzipitinogen wurde in absteigender Weise mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und auf das Originalserum überschichtet.

b) *Ogatasche* Immunkörperverdünnungsmethode.

Wenn die in absteigender Richtung verdünnten Präzipitinogene auf das Immunserum, das mit 1%iger Gummilösung oder 1%iger Stärkelösung oder 10%igem Meerschweinchenserum in gleicher Weise verdünnt ist, überschichtet werden, so kann das bis zu einem gewissen Grade verdünnte Antigen mit Immunserum im höchsten Verdünnungsgrade reagieren. Dieser Grad der Antigenverdünnung heisst die Bindungszone des Immunserums, und den höchsten Verdünnungsgrad des Immunserums nennen wir den Präzipitintiter nach der Immunkörperverdünnungstiter oder Präzipitintiter.

5) Komplementbindung.

Als Hämolysin benutzte ich ein inaktiviertes Kaninchenimmunserum für Ziegenblut (in 2 fach gelöster Dosis), als Komplement das frische Meerschweinchenserum (in minimaler Komplementdosis). Das Blut war gewaschenes 5%iges defibriniertes Ziegenblut. Die eigentliche Versuchsanordnung gestaltete sich folgendermassen: Eine Reihe von verdünnten Antigenen (je 0.5 cc) wurde mit 0.5 cc Komplement und absteigend verdünntem Immunserum gemischt, dann wurde die Mischung 1 Stunde im Brutschranke bei 37°C gelassen. Nach Zusatz eines hämolytischen Systemes wurden die Versuchsreagenzgläser wieder 2 Stunden lang im Brutschranke gehalten. Bei jedem Versuche stellte ich immer die nötigen Kontrollen an. Auch bei dieser Probe verwandte ich, wie bei der Präzipitation, die Bindungszone, in der das Antigen sich mit dem höchst verdünnten Immunserum verbinden kann.

6) Absättigungsversuch.

Bei der Absättigung mit Plasma und Serum benutzte ich 0.05 g Plasma- und Serumpulver für je 1 cc des Immunserums, und bei der mit Fibrinogen die gleiche Menge 10%iger Stammfibrinogenlösung. Zuerst hielt ich das Gemisch beider Substanzen 2 Stunden lang im Brutschranke, ferner über Nacht im Eisschranke, alsdann wurde dieses Gemisch stark abzentrifugiert.

Experimente.

A) Die serologische Beziehung zwischen Fibrinogen, Serum und Plasma in denselben Tieren.

Bauer und *Engel*¹⁵⁾ berichteten wie folgt: Die drei Eiweisskörper des Blutplasmas verhalten sich biochemisch ganz ähnlich wie die der Milch, die aus Milchkasein, -globulin und -albumin besteht. Einer von ihnen, das Fibrinogen, ist koagulierbar. Gerinnt er, so verbleiben in der restierenden Flüssigkeit das Serumalbumin und -globulin. Im Jahre 1901 gelang es *Bordet* und *Gengou*¹³⁾, durch Injektion des normalen Meerschweinchenplasmas in Kaninchen ein Antiserum zu gewinnen, das bei Vermischung mit zugehörigem Plasma zu einer Niederschlagsbildung führte. Später haben *J. Bauer* und *St. Engel* beobachtet, dass das Fibrinogenantiserum mit der von ihnen hergestellten reinen Fibrinogenlösung reagiert, mit dem Serumeiweisskörper jedoch in kaum irgendeine Beziehung tritt.

Vorliegende Arbeit habe ich mit den Antisera gegen Ziegenplasma, -serum und -fibrinogen durchgeführt, um die Beziehungen zwischen Serum, Plasma und Fibrinogen immunologisch näher zu prüfen.

a) Die Versuche mit Antiziegenplasmaimmunserum.

Zuerst untersuchte ich mit Antiplasmaserum die Reagierbarkeit auf Ziegenplasma, -serum und -fibrinogen, alsdann die Reaktion des mit Plasma oder Serum oder Fibrinogen abgesättigten Immunserums auf diese drei Arten von Antigenen. Die auf solche Weise erzielten Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, ist der Präzipitintiter des Plasmaantiserums 1 (P. A. S. 1) gegen Plasma 1 : 1,000 und gegen Serum ebenso 1 : 1,000, und der des Plasmaantiserums 2 (P. A. S. 2) gegen Plasma und Serum beide 1 : 500; der Präzipitintiter des P. A. S. 1 gegen Fibrinogen ist 1 : 250, und der des (P. A. S. 2) 1 : 100. Der Präzipitintiter des Plasmaantiserums gegen Fibrinogen ist niedriger als der gegen Plasma oder Serum, und zwar in den Verhältnissen wie 1 : 4 oder 1 : 5.

Die Komplementbindung ergab beinahe die gleichen Resultate wie beim Präzipitinversuche, der Titer war dabei aber niedriger als beim Präzipitinversuche.

Die Resultate nach Absättigung sind wie folgt: Die Reaktion des Plasmaantiserums gegen Plasma, Serum und Fibrinogen wurde durch die Absättigung mit Plasmapulver ganz vernichtet. Bei der Absättigung mit Serum dagegen blieb das Präzipitin gegen Plasma und Fibrinogen zurück und die Titer gegen beide Antigene waren gleich: bei P. A. S. 1. 1 : 250 und bei P. A. S. 2. 1 : 100. Ferner ergab nach der Absättigung mit Fibrinogen dieses Antiserum mit Plasma und Serum eine positive Reaktion, und die Titer gegen Plasma und Serum waren

Tabelle 1. Ziegenplasmaantiserum

Antiserum Untersuchungs- methode Antigen	P. A. S. 1						P. A. S. 2				
	Präzipitation			Komplement- bindung			Präzipitation			Komplement- bindung	
	, U ' sche M.	, O ' sche M.					, U ' sche M.	, O ' sche M.			
		B. z.	V. t.	B. z.	V. t.	B. z.		V. t.	B. z.	V. t.	
Fibrinogen	32,000	4,000	250	8,000	50	16,000	1,000	100	2,000	25	
Serum	25,000	1,000	1,000	2,500	500	10,000	500	500	1,000	250	
Plasma	25.000	1,000	1,000	2,500	500	10,000	500	500	1,000	250	

Absättigungsversuch

Antigen Ab- gesät- tigt mit	Plasma	Serum	Fibrinogen	Plasma	Serum	Fibrinogen
Plasma	—	—	—	—	—	—
Serum	U. M. 5,000 B. z. 500 V. t. 250		U. M. 32,000 B. z. 4,000 V. t. 250	U. M. 5,000 B. z. 250 V. t. 100		U. M. 16,000 B. z. 1,000 V. t. 100
Fibrinogen	U. M. 25,000 B. z. 1,000 V. t. 1,000	U. M. 25,000 B. z. 1,000 V. t. 1,000		U. M. 10,000 B. z. 500 V. t. 500	U. M. 10,000 B. z. 500 V. t. 500	—

U. M. = Uhlenhuthsche Methode, , O ' sche M. = Ogatasche Antikörperverdünnungsmethode, B. z. = Bindungszone, V. t. = Antikörperverdünnungstiter.

gleich: bei P. A. S. 1. 1:1,000 und bei P. A. S. 2. 1:500. D. h. in allen diesen Versuchsreihen wird die folgende Tatsache beobachtet: Bei Immunisierung des Kaninchens mit Plasmaantigenen werden zweierlei Antikörper für Serum und Fibrinogen gebildet, und beim Präzipitationsversuche mit Plasmaantigenen reagiert das Immuneserum nur mit Serumantigenen, weil der Titer nach der Verdünnungsmethode bei Plasma und bei Serum vor oder nach Absättigung mit Fibrinogen sich als gleich herausstellt. Doch kann man den Antikörper gegen Fibrinogen auch durch Fibrinogenantigen oder nach Absättigung mit Serum durch Reaktion für Plasma und Fibrinogen nachweisen. In letzterem Falle ist der Titer für beide Präzipitogene gleich.

b) Die Versuche mit Immuneserum für Ziegenplasmaantigenen.

Die Untersuchung wurde an Hand der nämlichen Methode mit a) ausgeführt, wobei als Antigen für Immunisierung das Ziegenplasma benutzt wurde. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 enthalten.

Tabelle 2. Ziegenserumantiserum

Antiserum	S. A. S. 1					S. A. S. 2				
Untersuchungs- methode	Präzipitation			Komplement- bindung		Präzipitation			Komplement- bindung	
	, U ' sche M.	, O ' sche M.				, U ' sche M.	, O ' sche M.			
		B. z.	V. t.	B. z.	V. t.		B. z.	V. t.	B. z.	V. t.
Antigen										
Fibrinogen	4,000	500	50	500	10	2,000	500	25	—	—
Serum	25,000	500	1,000	1,000	500	10,000	250	500	500	250
Plasma	25,000	500	1,000	1,000	500	1,0000	250	500	500	250

Absättigungsversuch

Antigen Ab- gesät- tigt mit	S. A. S. 1			S. A. S. 2		
	Plasma	Serum	Fibrinogen	Plasma	Serum	Fibrinogen
Plasma	—	—	—	—	—	—
Serum	—	—	—	—	—	—
Fibrinogen	U.M. 25,000 B. z. 500 V. t. 1,000	U.M. 25,000 B. z. 500 V. t. 1,000	—	U.M. 10,000 B. z. 250 V. t. 500	U.M. 10,000 B. z. 250 V. t. 500	—

Die Beziehung zwischen Fibrinogen und Plasma oder Serum zeigt sich in diesem Falle noch klarer als beim Plasmaantiserum, weil der Titer für Plasma oder Serum viel höher ist als für Fibrinogen (für Serum oder Plasma z. B. 1:1,000, für Fibrinogen 1:50). Bei der Komplementbindung stand er noch niedriger als beim Präzipitinversuche.

Die Resultate mittels der Absättigung sind wie folgt: Durch Absättigung mit Plasma- oder Serumpulver war die Reaktion des Antiserums gegen drei Antigene ganz verschwunden. Aber bei Absättigung mit Fibrinogen reagierte das Immunserum stark positiv sowohl auf Plasma als auch auf Serum, ganz wie vor der Absättigung. D. h. die Präzipitintiter eines Antiserums gegen beide Antigene, Plasma und Serum, sind ganz gleichwertig und immer wesentlich höher als der gegen Fibrinogen, nämlich im Verhältnis 20:1. Man kann bei der Reaktion des Antiserums gegen Plasmaantigen die Reaktion für Fibrinogen somit ausser Acht lassen.

c) Die Versuche mit Antiziegenfibrinogenimmunserum.

Ferner untersuchte ich die Reaktion des Immunserums von Fibri-

nogen auf Ziegenplasma, -serum und -fibrinogen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3. Ziegenfibrinogenantiserum

Antiserum Untersuchungs- methode	F. A. S. 1						F. A. S. 2			
	Präzipitation			Komplement- bindung			Präzipitation		Komplement- bindung	
	, U ' sche M.	, O ' sche M.					, U ' sche M.	, O ' sche M.		
		B. z.	V. t.	B. z.	V. t.	B. z.		V. t.	B. z.	V. t.
Antigen										
Fibrinogen	32,000	2,000	500	4,000	100	8,000	2,000	50	8,000	10
Serum	5,000	250	50	—	—	5,000	100	5	—	—
Plasma	10,000	500	500	500	100	5,000	500	50	1,000	10

Absättigungsversuch

Antigen Ab- gesät- tigt mit	F. A. S. 1			F. A. S. 2		
	Plasma	Serum	Fibrinogen	Plasma	Serum	Fibrinogen
Plasma	—	—	—	—	—	—
Serum	U. M. 10,000 B. z. 500 V. t. 500	—	U. M. 32,000 B. z. 2,000 V. t. 500	U. M. 5,000 B. z. 500 V. t. 50	—	U. M. 8,000 B. z. 2,000 V. t. 50
Fibrinogen	—	—	—	—	—	—

Bei obigen Versuchen haben wir gesehen, dass der Titer des Ziegenfibrinogenantiseraums gegen Fibrinogen dem gegen Plasma gleich ist: Bei Fibrinogenantiserum (F. A. S. 1.) 1:500 und bei Fibrinogenantiserum 2 (F. A. S. 2.) 1:50, und der Titer gegen Serum ist bei F. A. S. 1. 1:50 und bei F. A. S. 2. 1:5, d. h. der Titer gegen Plasma oder Fibrinogen ist immer weit höher als der gegen Serum, nämlich im Verhältnis 10:1.

Das Fibrinogen besitzt die Fähigkeit, komplementbindend zu wirken, wenn es mit Fibrinogen oder Plasma zusammengebracht wird, und die Titer gegen beide Antigene, Plasma und Fibrinogen, sind immer gleich: Bei F. A. S. 1. 1:100 und bei F. A. S. 2. 1:10, nicht aber, wenn es mit Serum zusammengebracht wird.

Die Resultate nach Absättigung sind wie folgt: Durch Absättigung mit Plasma oder Fibrinogen wurde die Reaktion des Antiserums gegen alle Antigene vernichtet, bei Absättigung mit Serum jedoch reagierte das Immunserum auf Plasma und Fibrinogen positiv, und die Titer

gegen beide Antigene blieben völlig unverändert, d. h. bei F. A. S. 1 1 : 500 und bei F. A. S. 2. 1 : 50.

Wir können in allen diesen Versuchsreihen feststellen, dass der Titer des Antifibrinogenserums gegen Fibrinogen und gegen Plasma gleich war, weil das im Plasma enthaltene Fibrinogen dabei als Antigen reagierte, und dass der Titer gegen Serum immer viel niedriger als der gegen Fibrinogen war, nämlich im Verhältnis von ca. 1 : 10.

d) Kurze Zusammenfassung.

Aus obigen Versuchen lässt sich die Tatsache entnehmen, dass bei Immunisierung mit Plasmainjektion zweierlei Antikörper gebildet werden, die für Serum und Fibrinogen reagierbar sind, und zwar im Verhältnis von ca. 5 : 1 ; doch wird bei Anwendung des Plasmaantigens die Reaktion für Fibrinogen durch die starke Reaktion für Serum verdeckt. Bei Immunserum von Serumantigen wird diese Beziehung noch klarer, weil man dabei die Reaktion gegen Fibrinogen ausser Acht lassen kann. Dagegen liegt diese Beziehung anders bei Immunserum von Fibrinogen, weil dabei die Reaktion mit Plasma gleichen Wert hat wie mit Fibrinogen und weil der Wert für Serum viel niedriger ist. Das Fibrinogen wird serologisch aus Serumantigen bei Mischung mit Serum (Plasmaantigen) oder auch bei Fibrinogen allein differenziert. Diese Tatsache ist nach Präzipitinreaktion oder nach Komplementbindung vor oder nach Absättigung immer nachweisbar.

B) Über die Organspezifität des Fibrinogens.

Schon *Border*¹⁾ und *Tchistovitsch*²⁾ haben gewisse Bedenken bezüglich der absoluten Spezifität der Sera gehabt, weil das Antiserum nur mit dem zugehörigen Serum und Organeiweiss eine Reaktion zu geben vermag. Nachher aber haben *Nuttall*⁴⁾, *Manteufel* und *Beger*⁵⁾, *Neumark*, *Strube*⁶⁾, *Kister* und *Wolf*⁷⁾, *Kratter*⁸⁾ u. a. bewiesen, dass die Artspezifität des Serums nicht absolut ist, sondern dass oft positive Reaktionen zwischen naheverwandten Spezies vorkommen. Ferner haben *Friedberger* und *Collier*²¹⁾, *Friedberger* und *Jarre*²²⁾, *Reeser*, *Friedberger* und *Meissner*²³⁾ u. a. gar nicht selten mit vollkommen heterologem Eiweiss eine gleich intensive und gleich schnelle, manchmal sogar auch noch stärkere Reaktion wie mit dem homologen gefunden. So reagierte z. B. das Antimenschenserum (Titer 1 : 1,000) bei Hund, Katze, Pferd und Hammel bis 1 : 20,000, bei Rind und Ziege genau so stark wie beim Menschen.

Aber eine ganze Reihe von Autoren, die Versuche nach dieser Richtung hin angestellt hatten, benutzten die originale Ringprobe nach *Uhlenhuth*, d. h. sie beobachteten nur die Reaktion mit Antigenwert, weshalb so viele verschiedene Resultate nach der Immunkörpermenge erzielt wurden.

Für alle Untersuchungen über das Fibrinogen haben sämtliche Forscher bisher ebenfalls diese *Uhleuhuths*che Methode verwandt, und deshalb konnte kein übereinstimmendes Ergebnis erzielt werden. Der eine behauptete z. B., dass das Fibrinogen die Organspezifität aufweise, weil das Fibrinogenantiserum nicht nur mit dem zugehörigen Antigen, sondern auch mit dem Fibrinogen anderer Tierarten eine Reaktion zu geben vermöge. So führte *Gengou* den Nachweis, dass das Serum von mit Pferdefibrinogen vorbehandelten Kaninchen nicht nur mit dem zugehörigen Antigen, sondern auch mit dem Fibrinogen von Rindern und Hunden eine Reaktion zu geben vermag. Ein anderer Forscher behauptete, dass das Fibrinogen die Artspezifität aufweise, weil das Fibrinogenantiserum mit dem ihm zugehörigen Serum eine Reaktion gab, oder weil das Fibrinogenantiserum dem zugehörigen Antigen gegenüber sich viel wirksamer als gegenüber den Fibrinogenen anderer Tierarten erwies (*Bauer* und *Engel*^{15),} *Ohzawa*¹⁷⁾). *Kato*¹⁶⁾ beobachtete, dass das Antipferdefibrinogenserum von Kaninchen einen Niederschlag nicht nur in dem Pferdefibrinogen, sondern auch in dem Fibrinogeneiweiss aller Säugetiere hervorrief, und dass dieses Antiserum auch in Pferdeserumeiweiss eine Reaktion gab, während es bei Zusatz des Serums anderer Tiere vollkommen klar blieb. Weiter untersuchte er auch Hunde-, Schweine-, Rinder- und Ziegenfibrinogen und kam zu dem Schlusse, dass das Fibrinogen der Säugetiere zwar über eine gewisse Artspezifität verfügt, gleichzeitig aber auch Organspezifität aufweist.

In diesen Untersuchungen finden wir jedoch, wie im Falle der oben erwähnten Experimente mit Serum, manchmal mehrere einander widersprechende, unbegreifliche Tatsachen. Bei dem Versuche von *Ohzawa* und *Kato* fällt uns z. B. Folgendes auf: Obgleich das Rinderfibrinogenantiserum mit Fibrinogen der verschiedensten Säugetiere mässig stark reagierte, gab es mit Serum keine Reaktion. Auch das Rinderfibrinogenantiserum reagierte auf Ziegen- und Hundefibrinogen, das Hundefibrinogenantiserum auf Katzenfibrinogen und das Pferdefibrinogenantiserum auf Ziegenfibrinogen ebenso stark wie auf das entsprechende Antigen.

Wie schon erwähnt, hat in neuester Zeit *Yamazaki* Untersuchungen über die Spezifität des Fibrinogens mittels der Vergleichen der Form des Präzipitatkörnchens angestellt und berichtet, dass das Fibrinogen der Säugetiere die Organ- und Artspezifität zu gleicher Zeit aufweist, leider waren jedoch an Hand der nämlichen Methode quantitative Unterschiede zwischen den Spezies schwer aufzuweisen.

Ich machte mich daher an eine Untersuchung der Spezifität des Fibrinogens mittels der Präzipitin- und Komplementbindungsmethode mit Hilfe der Antikörperverdünnungsmethode, um die spezifische Eigen-

schaft des Immunkörpers für Antigen nach Bindungszone und die Menge des gebildeten Antikörpers nach Titerwert zu beurteilen.

a) Präzipitinversuch.

Als Präzipitinogen für Immunisierung wurde das Kaninchen durch Säugetier- und Vogelfibrinogen, wie Ziegen-, Rinder-, Hunde-, Pferde-, Schweine- und Hühnerfibrinogen, immunisiert und alle Antisera in verschiedenen Kombinationen mit Fibrinogen-, Plasma- und Serumantigenen untersucht. Als Präzipitinmethode benutzte ich die *Uhlenhuth'sche* Ringprobe sowie die *Ogatasche* Präzipitinverdünnungsmethode unseres Institutes. Da die Stammfibrinogenlösung als Antigen bezüglich des Eiweissgehaltes einer Verdünnung von ca. 16/1,000 des Serums entspricht, habe ich die Ergebnisse, umgerechnet auf Serumverdünnung, in der Tabelle angegeben.

1) Die Versuche mit Ziegenfibrinogenantisera (Z. F. A. S.).

Präzipitinwert für Fibrinogen, Plasma und Serum von verschiedenen Tierarten.

Tabelle 4. Ziegenfibrinogenantiserum

Antiserum Untersuchungs- methode		Z. F. A. S. 1				Z. F. A. S. 2				Z. F. A. S. 3				
		, U 'sche M.		, O 'sche M.		, U 'sche M.		, O 'sche M.		, U 'sche M.		, O 'sche M.		
Antigen		%	V. t.	%	%	V. t.	%	V. t.	%	%	B. z.	V. t.	%	
Fibrinogen	Ziege	8,000	100	50	100	16,000	100	250	100	32,000	100	2,000	500	100
	Schaf	8,000	100	25	50	16,000	100	100	40	32,000	100	2,000	250	50
	Rind	2,000	25	25	50	8,000	50	100	40	16,000	50	2,000	100	20
	Schwein	2,000	25	10	20	8,000	50	25	10	8,000	25	1,000	50	10
	Pferd	4,000	50	5	10	1,000	6	10	4	4,000	12	1,000	50	10
	Hund	4,000	50	5	10	2,000	12	10	4	8,000	25	1,000	25	5
	Katze	2,000	25	5	10	2,000	12	10	4	8,000	25	1,000	25	5
	Mensch	500	6	5	10	1,000	6	10	4	8,000	25	1,000	25	5
	Meerschw.	250	3	1	2	500	3	1	0.4	4,000	12	500	10	2
Huhn	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0	
Plasma	Ziege	5,000	100	50	100	5,000	100	250	100	10,000	100	500	500	100
	Schaf	5,000	100	25	50	5,000	100	100	40	5,000	50	250	250	50
	Rind	2,500	50	25	50	5,000	100	100	40	5,000	50	250	100	20
	Schwein	1,000	20	10	20	1,000	20	50	20	1,000	10	100	50	10
	Pferd	1,000	20	5	10	2,500	50	10	4	1,000	10	100	50	10
	Hund	250	5	5	10	500	10	10	4	1,000	10	100	50	10
	Katze	250	5	5	10	500	10	10	4	1,000	10	100	50	10
	Mensch	100	2	5	10	250	5	10	4	250	2	25	25	5
	Meerschw.	100	2	1	2	100	2	1	0.4	250	2	25	10	2
Huhn	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0	
Serum	Ziege	500	100	5	100	2,500	100	25	100	10,000	100	100	50	100
	Schaf	250	50	1	20	500	20	10	40	10,000	100	100	25	50
	Rind	100	20	1	20	500	20	5	20	2,500	25	50	10	20
	Schwein	—	0	—	0	—	0	—	0	1,000	10	10	5	10
	Pferd	—	0	—	0	—	0	—	0	500	5	—	1	2
	Hund	—	0	—	0	—	0	—	0	250	2	—	1	2
	Katze	—	0	—	0	—	0	—	0	100	1	—	1	2
	Mensch	—	0	—	0	—	0	—	0	250	2	—	1	2
	Meerschw.	—	0	—	0	—	0	—	0	250	2	—	1	2
Huhn	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0	

Bei diesem Versuche verwandte ich dreierlei Immunsera des Fibrinogens, deren Präzipitintiter schwach, mittel, stark verschieden voneinander sind. Das Antifibrinogen serum reagierte, wie schon oben gesagt, sowohl mit Fibrinogen als auch Plasma und Serum desselben Tieres. Diese Reagierbarkeit gegen Fibrinogen dehnt sich noch weiter auf andere Tierspezies aus, wie Schaf, Rind, Schwein, ja bis auf den Menschen. Bei Plasmaantigen sind auch diese positiven Reaktionen beinahe gleich stark. Bei Serumantigen tritt diese positive Reaktion nur bei starkem Immunserum auf, wie Tabelle Z. F. A. S. 3. anzeigt, ist beim mittel oder schwach immunisierten Serum aber kaum nachweisbar, ausgenommen beim Ziegen- und Rinderserum. Besonders wichtig und interessant ist die von uns festgestellte Tatsache, dass die Reaktion des Immunserums mit Fibrinogen, Plasma und Serum vom Mengeverhältnis der Präzipitine abhängt.

Der Titer des Immunserums gegen Ziegenfibrinogen ist immer höher als der gegen Schaf-, Rinder-, Schweine-, Hunde-, Katzen-, Menschen- und Meerschweinchenfibrinogen. Nach der *Uhlenhuth'schen* Methode liessen sich keine Unterschiede zwischen den nahe verwandten Ziegen- und Schaffibrinogenen aufweisen. Aber nach unserer Präzipitinverdünnungsmethode konnte man zwischen diesen naheverwandten Spezies scharf unterscheiden, und zwar steht Ziege zu Schaf im Verhältnis von 100 zu 50. Die Präzipitintiter gegen Plasma aller Tierarten sind fast immer gleich dem Titer gegen Fibrinogen. Nach der *Uhlenhuth'schen* Methode ist es sehr schwer, den Unterschied zwischen Ziege, Schaf oder Rind nach dem Präzipitintiter zu bestimmen, wie die Tabelle zeigt. Nach der Immunserumverdünnungsmethode konnte man zwischen Plasmaantigenen von Ziege und Schaf in jedem Immunserum 100:50 unterscheiden und bei starkem Immunserum auch zwischen Schaf und Rind mit Antiziegen serum.

Die ersten Versuche an Sera von Kaninchen, bei denen Ziegenfibrinogen als Antigen zur Verwendung kam, führten zu Ergebnissen, die mit der Anschauung wohl vereinbar sind, dass das Fibrinogen zwar über Organspezifität verfügt, gleichzeitig aber auch Artspezifität aufweist.

2) Die Versuche mit Rinderfibrinogenantisera (R. F. A. S.).

Ich habe weiter die Kaninchen mit Rinderfibrinogen behandelt und die Präzipitine für das Fibrinogen, Plasma und Serum verschiedener Säugetiere untersucht.

Die Präzipitintiter des Immunserums sind bei allen Tierarten gegen Fibrinogen immer höher als gegen Serum. Beim Rinde ist das Verhältnis z. B. 10:1. Der Präzipitintiter gegen Fibrinogen ist beim Rinde am grössten (1:100), bei anderen Tieren unter 1:10. Die Präzipitintiter gegen Plasma sowie Fibrinogen sind fast gleich.

Tabelle 5. Rinderfibrinogenantiserum

Antiserum		R. F. A. S. 1				R. F. A. S. 2				R. F. A. S. 3			
Antigen	Untersuchungs- methode	, U ' sche		, O ' sche		, U ' sche		, O ' sche		, U ' sche		, O ' sche	
		M.	%	M.	%	M.	%	M.	%	M.	%	M.	%
Fibrinogen	Rind	16,000	100	100	100	16,000	100	100	100	16,000	100	2,000	500
	Ziege	16,000	100	50	50	16,000	100	50	50	16,000	100	1,000	250
	Schaf	16,000	100	50	50	16,000	100	50	50	16,000	100	1,000	250
	Schwein	8,000	50	25	25	16,000	100	10	10	16,000	100	1,000	100
	Pferd	4,000	25	10	10	8,000	50	5	5	8,000	50	1,000	50
	Hund	16,000	100	10	10	4,000	25	10	10	4,000	25	500	25
	Katze	8,000	50	10	10	4,000	25	10	10	8,000	50	1,000	10
	Mensch	4,000	25	5	5	4,000	25	5	5	1,000	6	250	10
	Meerschw.	1,000	6	1	1	1,000	6	1	1	4,000	25	500	5
	Huhn	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0
Plasma	Rind	5,000	100	100	100	5,000	100	100	100	10,000	100	1,000	500
	Ziege	2,500	50	50	50	5,000	100	50	50	1,000	10	100	250
	Schaf	2,500	50	50	50	5,000	100	50	50	1,000	10	100	250
	Schwein	2,500	50	25	25	1,000	20	10	10	500	5	100	50
	Pferd	1,000	20	10	10	500	10	10	10	500	5	100	50
	Hund	500	10	10	10	500	10	10	10	500	5	50	25
	Katze	500	10	10	10	500	10	10	10	500	5	50	10
	Mensch	100	2	5	5	250	5	5	5	500	5	50	10
	Meerschw.	100	2	1	1	100	2	1	1	250	2	50	5
	Huhn	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0
Serum	Rind	2,500	100	10	100	2,500	100	10	100	5,000	100	250	50
	Ziege	1,000	40	4	40	2,500	100	4	40	2,500	50	100	10
	Schaf	1,000	40	4	40	2,500	100	4	40	2,500	50	100	10
	Schwein	250	10	1	10	100	4	2	20	500	10	50	5
	Pferd	100	4	1	10	—	0	—	0	250	5	10	2
	Hund	—	0	—	0	—	0	—	0	250	5	25	5
	Katze	—	0	—	0	—	0	—	0	250	5	—	1
	Mensch	—	0	—	0	—	0	—	0	250	5	—	1
	Meerschw.	—	0	—	0	—	0	—	0	100	2	—	1
	Huhn	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0

Nach der *Uhlenhuth'schen* Methode lässt sich aber kein Unterschied zwischen Rind und Ziege, Rind und Schaf sowie Rind und Schwein beobachten, weil die Titer miteinander gleich stehen, und zwar 1 : 16,000. Bei R. F. A. S. 1. und 2. laufen die Ergebnisse beinahe parallel mit denen von R. F. A. S. 3.; bei den ersteren aber da sie schwach immunisiert wurden, geben die Immunsera eine Reaktion ausser auf Rinderserum nur auf das Serum der mit dem Rinde nahe verwandten Tiere.

Aus diesen Versuchsergebnissen lässt sich deutlich entnehmen, dass dem Fibrinogen nicht nur Organspezifität, sondern auch Artspezifität zukommt.

3) Die Versuche mit Schweinefibrinogenantisera.

Trotz der mehrmaligen Immunisierung mit Schweinefibrinogen ist es mir nicht gelungen, hochgradige Immunsera wie beim vorerwähnten Falle zu gewinnen. Die Ergebnisse sind folgenden :

Tabelle 6. Schweinefibrinogenantiserum

Antiserum		S. F. A. S. 1				S. F. A. S. 2				S. F. A. S. 3				
Antigen	Untersuchungs- methode	, U ' sche		, O ' sche		, U ' sche		, O ' sche		, U ' sche		, O ' sche		
		M.	%	V. t.	%	M.	%	V. t.	%	M.	%	B. z.	V. t. %	
Fibrinogen	Schwein	16,000	100	25	100	16,000	100	50	100	16,000	100	2,000	50	100
	Rind	8,000	50	5	20	16,000	100	25	50	16,000	100	1,000	10	20
	Ziege	8,000	50	5	20	16,000	100	25	50	8,000	50	1,000	10	20
	Schaf	8,000	50	5	20	16,000	100	25	50	16,000	100	1,000	10	20
	Pferd	500	3	1	4	2,000	12	5	10	4,000	25	500	5	10
	Hund	1,000	6	1	4	4,000	25	2	4	4,000	25	—	1	2
	Katze	1,000	6	1	4	2,000	12	2	4	4,000	25	—	1	2
	Meerschw.	1,000	6	1	4	2,000	12	1	2	500	3	—	1	2
	Mensch	250	1	1	4	1,000	6	1	2	1,000	6	—	1	2
	Huhn	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0
Plasma	Schwein	5,000	100	25	100	2,500	100	50	100	1,000	100	250	50	100
	Rind	2,500	50	5	20	1,000	40	10	20	250	25	50	10	20
	Ziege	1,000	20	5	20	1,000	40	10	20	500	50	50	10	20
	Schaf	1,000	50	5	20	1,000	40	10	20	500	50	50	10	20
	Pferd	250	5	1	4	1,000	40	5	10	500	50	50	5	10
	Hund	250	5	1	4	500	20	2	4	250	25	—	1	2
	Katze	250	5	1	4	500	20	2	4	250	25	—	1	2
	Meerschw.	500	10	1	4	250	10	1	2	100	12	—	1	2
	Mensch	500	10	1	4	250	10	1	2	250	25	—	1	2
	Huhn	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0
Serum	Schwein	100	100	1	100	100	100	1	100	100	100	—	1	100
	Rind	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0
	Ziege	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0
	Schaf	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0
	Pferd	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0
	Hund	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0
	Katze	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0
	Meerschw.	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0
	Mensch	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0
	Huhn	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0

Der Titer gegen Schweinefibrinogen ist immer weit höher als der gegen Fibrinogen anderer Tierarten. Die sonstigen Ergebnisse sind dabei analog denen der anderen Fibrinogenfälle.

4) Die Versuche mit Pferdefibrinogenantisera (P. F. A. S.).

Die Untersuchungen, die wir auf Pferdefibrinogenantisera gegen Rinder-, Ziegen-, Schaf-, Schweine-, Hunde-, Katzen-, Meerschweinchen-, Menschen- und Hühnerfibrinogen und auch gegen Plasma sowie Serum aller Tierarten ausdehnten, führten zu einem Ergebnis, das im grossen und ganzen denselben Charakter aufweist, und es bliebe somit nichts anderes übrig, als das bereits Gesagte für Pferdefibrinogenantiserum in entsprechender Weise zu wiederholen. Dadurch würde unsere Darstellung indes in den Fehler der Eintönigkeit verfallen, und wir wollen daher lieber sofort darangehen, hier eine Anzahl von Tabellen folgen zu lassen, in denen die zum Verständnis erforderlichen Daten selbst gegeben werden.

Tabelle 7. Pferde fibrinogenantiserum

Antiserum		P. F. A. S. 1				P. F. A. S. 2				P. F. A. S. 3			
Antigen	Untersuchungs- methode	, U 'sche		, O 'sche		, U 'sche		, O 'sche		, U 'sche		, O 'sche	
		M.	%	M.	%	M.	%	M.	%	M.	%	M.	%
Fibrinogen	Pferd	16,000	100	50	100	16,000	100	100	100	16,000	100	2,000	100
	Rind	4,000	25	10	20	16,000	100	25	25	16,000	100	1,000	10
	Ziege	2,000	12	5	10	16,000	100	25	25	16,000	100	1,000	10
	Schaf	2,000	12	5	10	2,000	12	25	25	16,000	100	1,000	10
	Schwein	2,000	12	5	10	2,000	12	10	10	4,000	25	500	10
	Hund	4,000	25	5	10	4,000	25	5	5	4,000	25	500	5
	Katze	2,000	12	1	2	2,000	12	5	5	4,000	25	500	5
	Mensch	1,000	6	1	2	1,000	6	1	1	2,000	12	500	5
	Meerschw.	500	3	1	2	500	3	1	1	4,000	25	1,000	5
	Huhn	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0
Plasma	Pferd	10,000	100	50	100	25,000	100	100	100	10,000	100	500	100
	Rind	1,000	10	5	10	1,000	4	10	10	2,500	25	250	10
	Ziege	1,000	10	5	10	1,000	4	10	10	2,500	25	250	10
	Schaf	1,000	10	5	10	1,000	4	25	25	2,500	25	250	10
	Schwein	1,000	10	1	2	1,000	4	10	10	1,000	10	100	5
	Hund	500	5	1	2	500	2	5	5	500	5	50	10
	Katze	500	5	1	2	500	2	1	1	500	5	50	5
	Mensch	500	5	1	2	250	1	1	1	100	1	25	5
	Meerschw.	100	1	1	2	500	2	1	1	500	5	50	5
	Huhn	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0
Serum	Pferd	1,000	100	5	100	5,000	100	10	100	1,000	100	50	10
	Rind	—	0	—	0	100	2	1	10	250	25	—	1
	Ziege	—	0	—	0	100	2	1	10	250	25	—	1
	Schaf	—	0	—	0	100	2	1	10	250	25	—	1
	Schwein	—	0	—	0	1,000	20	1	10	100	10	—	1
	Hund	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0
	Katze	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0
	Mensch	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0
	Meerschw.	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0
	Huhn	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0

Durch obige Experimente mit Pferde fibrinogenantisera ist der Beweis erbracht, dass das Pferde fibrinogen beide Spezifitäten gleichzeitig aufweist.

5) Die Versuche mit Hundefibrinogenantisera (H. F. A. S.).

Auch bei Hundefibrinogenantiserum haben wir ähnliche Resultate wie beim vorerwähnten Falle bekommen. Doch bezüglich der Reaktion des Hundefibrinogenantisera gegen Fibrinogen, Plasma und Serum verschiedener Tierarten findet man die interessante Tatsache, dass das Hundefibrinogenantiserum nicht auf Hühnerserum und -plasma, sondern erst auf das Fibrinogen von dem zoologisch vom Hunde weit entfernt stehenden Huhne positiv reagiert. Obgleich dieses Immunserum auch im Hühnerfibrinogen eine Reaktion gab, war diese Reaktion doch sehr schwach, d. h. sie war nach der Uhlenhuthschen Methode bei einer Verdünnung von 1/4 der Stammfibrinogenlösung kaum nachweisbar nach der Immunserumverdünnungsmethode aber überhaupt nicht. Wie

Tabelle 8. Hundefibrinogenantiserum

Antiserum Untersuchungs- methode		H. F. A. S. 1				H. F. A. S. 2				H. F. A. S. 3				
		, U 'sche M.		, O 'sche M.		, U 'sche M.		, O 'sche M.		, U 'sche M.		, O 'sche M.		
Antigen		%		V. t. %		%		V. t. %		%		B. z. V. t. %		
Fibrinogen	Hund	16,000	100	50	100	16,000	100	250	100	32,000	100	4,000	250	100
	Katze	8,000	50	25	50	16,000	100	100	40	32,000	100	2,000	100	40
	Schaf	8,000	50	10	20	8,000	50	50	20	16,000	50	1,000	50	20
	Ziege	8,000	50	10	20	8,000	50	50	20	16,000	50	1,000	25	10
	Rind	4,000	25	10	20	8,000	50	50	20	16,000	50	1,000	25	10
	Pferd	2,000	12	1	2	4,000	25	25	10	8,000	25	1,000	25	10
	Schwein	2,000	12	1	2	4,000	25	10	4	8,000	25	1,000	25	10
	Meerschw.	500	3	1	2	2,000	12	5	2	8,000	25	1,000	10	4
	Mensch	1,000	6	1	2	4,000	25	5	2	8,000	25	1,000	10	4
Huhn	—	0	—	0	250	1.5	1	0.4	250	0.8	—	1	0.4	
Plasma	Hund	1,000	100	50	100	5,000	100	250	100	10,000	100	1,000	250	100
	Katze	1,000	100	25	50	1,000	20	100	40	10,000	100	500	100	40
	Schaf	1,000	100	10	20	1,000	20	50	20	2,500	25	100	50	20
	Ziege	1,000	100	10	20	1,000	20	50	20	2,500	25	100	50	20
	Rind	250	25	10	20	1,000	20	50	20	2,500	25	100	50	20
	Pferd	250	25	1	2	1,000	20	10	4	2,500	25	250	25	10
	Schwein	500	50	1	2	1,000	20	10	4	2,500	25	250	25	10
	Meerschw.	100	10	1	2	500	10	1	0.4	1,000	10	100	10	4
	Mensch	100	10	1	2	500	10	1	0.4	500	5	50	10	4
Huhn	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0	
Serum	Hund	250	100	5	100	5,000	100	25	100	5,000	100	250	25	100
	Katze	—	0	—	0	2,000	40	5	20	5,000	100	250	5	20
	Schaf	—	0	—	0	500	10	1	4	500	10	—	1	4
	Ziege	—	0	—	0	500	10	1	4	500	10	—	1	4
	Rind	—	0	—	0	500	10	1	4	500	10	—	1	4
	Pferd	—	0	—	0	100	2	1	4	250	5	—	1	4
	Schwein	—	0	—	0	1,000	20	1	4	250	5	—	1	4
	Meerschw.	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0
	Mensch	—	0	—	0	—	0	—	0	100	2	—	1	4
Huhn	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	—	0	

man aus Tabelle 4 ersieht, ist der Titer des Immunserums nach der *Uhlenhuth'schen* Methode gegen Hundefibrinogen 1:32,000 und gegen Katzenfibrinogen ebenso 1:32,000; daher kann man in bezug auf die Gruppenreaktion der Hunde- und Katzenfibrinogene nach derselben Methode die Artspezifität beider Fibrinogenarten nicht differenzieren. Dagegen kann man die Artspezifität der Hunde- und Katzenfibrinogene nach der *Ogataschen* Präzipitinverdünnungsmethode ganz deutlich unterscheiden und feststellen, dass der Titer gegen Hundefibrinogen 1:250 und gegen Katzenfibrinogen 1:100 ist.

Bei H. F. A. S. 1 und 2 ist die Reaktion des Immunserums auf alle Antigene beinahe parallel wie bei H. F. A. S. 3, aber bei H. F. A. S. 1 bleibt das Serum, das vom schwach immunisierten Kaninchen her stammt, auch bei Zusatz des Fibrinogens der Hühner und des Serums anderer Tiere ausser dem des Hundes vollkommen klar.

Auf Grund dieser Tatsache kann man noch stärker als vorher vermuten, dass das Hundefibrinogen die Organspezifität nicht nur innerhalb von Säugetieren, sondern auch unter Vögeln (Huhn) aufweist und gleichzeitig über die Artspezifität verfügt.

6) Die Versuche mit Hühnerfibrinogenantisera.

Bereits im vorhergehenden Paragraphen habe ich die Reaktionen der Sera von Kaninchen, die mit Fibrinogen mehrerer Säugetiere vorbehandelt waren, auf Fibrinogen, Plasma und Serum von verschiedenen Säugetieren und Vogelarten (Huhn) untersucht. War also durch obige Experimente die sehr interessante Tatsache festgestellt worden, dass fast alle Sera von den mit Fibrinogen mehrerer Säugetiere immunisierten Kaninchen im Fibrinogen sowie auch im Plasma verschiedener Säugetiere, nicht aber im Hühnerfibrinogen eine Reaktion geben, während nur die Hundefibrinogenantisera (H. F. A. S. 2 und 3) auch im

Tabelle 9. Hühnerfibrinogenantiserum

Antiserum		Hühnerfibrinogenantiserum				
Antigen	Untersuchungs- methode	, U ' sche M.		, O ' sche M. V. t.		
			%	B. z.		%
Fibrinogen	Huhn	32,000	100	2,000	128	100
	Hund	125	0.4	—	1	0.8
	Katze	—	0	—	—	0
	Ziege	—	0	—	—	0
	Schaf	—	0	—	—	0
	Rind	—	0	—	—	0
	Schwein	—	0	—	—	0
	Pferd	—	0	—	—	0
	Mensch	—	0	—	—	0
	Meerschw.	—	0	—	—	0
Plasma	Huhn	2,500	100	25	128	100
	Hund	—	0	—	—	0
	Katze	—	0	—	—	0
	Ziege	—	0	—	—	0
	Schaf	—	0	—	—	0
	Rind	—	0	—	—	0
	Schwein	—	0	—	—	0
	Pferd	—	0	—	—	0
	Mensch	—	0	—	—	0
	Meerschw.	—	0	—	—	0
Serum	Huhn	1,000	100	50	64	100
	Hund	—	0	—	—	0
	Katze	—	0	—	—	0
	Ziege	—	0	—	—	0
	Schaf	—	0	—	—	0
	Rind	—	0	—	—	0
	Schwein	—	0	—	—	0
	Pferd	—	0	—	—	0
	Mensch	—	0	—	—	0
	Meerschw.	—	0	—	—	0

Hühnerfibrinogen reagieren, so fragt es sich doch andererseits, wie sich denn Hühnerfibrinogenantisera dem Fibrinogen, Plasma und Serum von Säugetieren gegenüber verhalten. Um dieser Frage näher zu treten, haben wir ein Kaninchen mit Hühnerfibrinogen vorbehandelt. Mit dem gewonnenen Antiserum wurde die Präzipitinreaktion angestellt.

Wie man aus obiger Tabelle ersieht, gibt das Hühnerfibrinogenantiserum eine Reaktion gegen Hühnerfibrinogen, -plasma und -serum, aber keine gegen die Antigene von Säugetieren ausser dem Hunde. Das Immunserum reagiert ganz schwach auf das Hundefibrinogen, sodass das Immunserum nur nach der *Uhlenhuth'schen* Methode einen Niederschlag bei Verdünnung von 1/2 der Stammfibrinogenlösung hervorrufen konnte, während nach der Verdünnungsmethode die Reaktion überhaupt versagte. Obwohl das Hühnerfibrinogenantiserum auf das Hundefibrinogen ganz schwach und dazu noch nur selten reagierte, vermochte diese Reaktion dem sicheren Nachweise der Organspezifität des Fibrinogens gute Dienste zu leisten.

7) Zusammenfassung.

Die obigen Befunde über Spezifität des Fibrinogens durch Präzipitinreaktion, besonders durch Ringprobe, lassen sich folgendermassen zusammenfassen: Das Fibrinogen der Säugetiere verfügt zwar über eine Artspezifität, aber gleichzeitig weist es auch Organspezifität auf. Eine Bestätigung der Artspezifität sowie ein schlagender Beweis für die Verwandtschaftsgrade im Tierreihe, die bis jetzt infolge der angewandten Methoden unmöglich waren, lassen sich aus meinen Experimenten sehr leicht dartun, und zwar mit fast immer konstanten Zahlen, auch lässt sich die Spezifität des Fibrinogens noch ausführlicher erklären. D. h. bei einem Vergleiche des Durchschnittes vom Präzipitintiter, den alle Immunsere von 3 mit gleichartigem Fibrinogen vorbehandelten Kaninchen gegen Fibrinogen zeigten, findet man folgendes:

- 1) Ziegenfibrinogenantiserum gegen Fibrinogen von
 Ziege (100%), Schaf (47%), Rind (37%), Schwein (13%),
 Pferd (8%), Hund (6%), Katze (6%), Mensch (6%),
 Meerschweinchen (1%), Huhn (0%).
- 2) Rinderfibrinogenantiserum gegen Fibrinogen von
 Rind (100%), Ziege (50%), Schaf (50%), Schwein (17%),
 Pferd (8%), Hund (7%), Katze (8%), Meerschweinchen (1%),
 Mensch (4%), Huhn (0%).
- 3) Schweinefibrinogenantiserum gegen Fibrinogen von
 Schwein (100%), Rind (30%), Ziege (30%), Schaf (30%),
 Pferd (8%), Hund (3%), Katze (3%), Meerschweinchen (3%),
 Mensch (3%), Huhn (0%).
- 4) Pferdefibrinogenantiserum gegen Fibrinogen von
 Pferd (100%), Rind (18%), Ziege (15%), Schaf (15%),

Schwein (10%), Hund (7%), Katze (4%), Meerschweinchen (3%),
Mensch (3%), Huhn (0%).

5) Hundefibrinogenantiserum gegen Fibrinogen von
Hund (100%), Katze (43%), Schaf (20%), Ziege (17%),
Rind (17%), Pferd (7%), Schwein (5%), Meerschweinchen (3%),
Mensch (3%), Huhn (0.2%).

6) Hühnerfibrinogenantiserum gegen Fibrinogen von
Huhn (100%), Hund (0.8%), Katze (0%), Ziege (0%),
Schaf (0%), Rind (0%), Pferd (0%), Schwein (0%),
Mensch (0%), Meerschweinchen (0%).

Aus obigen Resultaten ersieht man, dass der Verwandtschaftsgrad sich meist mit abnehmender Stärke zeigt, je weiter das betreffende Eiweiss im zoologischen System entfernt ist.

Die Reaktion des Fibrinogenantisera gegen Serum verschiedener Tierarten wird im grossen und ganzen in folgende drei Arten eingeteilt:

a) Ein Immunserum reagiert nicht nur auf das zugehörige Serum, sondern auch auf Sera von anderen, nächst verwandten Tierarten, z. B. H. F. A. S. 2 und S. F. A. S. 1, d. i. das Immunserum, das im allgemeinen einen etwas höheren Präzipitintiter besitzt.

b) Ein Immunserum reagiert nur auf das zugehörige Serum, z. B. H. F. A. S. 1, P. F. A. S. 1, S. F. S. 3, S. F. A. S. 1 und 2, d. i. das Immunserum, das im allgemeinen einen niedrigen Präzipitintiter besitzt.

c) Ein Immunserum reagiert natürlich auf das zugehörige Serum sowie auf das Serum von nahe verwandten Tierarten, ausserdem auch auf das Serum von den immunologisch nicht nahe verwandten Tierarten, z. B. Z. F. A. S. 3, R. F. A. S. 3 und H. F. A. S. 3 etc., d. i. das Immunserum, das im allgemeinen einen ziemlich hohen Präzipitintiter besitzt.

Aber der Titer des Fibrinogenantisera gegen Serum einer Tierart ist immer viel niedriger als der Titer gegen Fibrinogen derselben Tierart. Vergleicht man die Durchschnitte von Präzipitintiter der Fibrinogenantisera gegen Serum miteinander, so sind sie wie folgt:

- 1) Ziegenfibrinogenantiserum gegen Serum von
Ziege (100%), Schaf (37%), Rind (20%), Schwein (3%),
Pferd (0.7%), Hund (0.7%), Katze (0.6%), Mensch (0.6%),
Meerschweinchen (0.6%), Huhn (0%).
- 2) Rinderfibrinogenantiserum gegen Serum von
Rind (100%), Ziege (33%), Schaf (33%), Schwein (11%),
Pferd (3%), Hund (3%), Katze (0.6%), Meerschweinchen (0.6%),
Mensch (0.6%), Huhn (0%).
- 3) Schweinefibrinogenantiserum gegen Serum von
Schwein (100%), alle anderen Tierarten (0%).
- 4) Pferdefibrinogenantiserum gegen Serum von
Pferd (100%), alle anderen Tierarten (0%).

- 5) Hundefibrinogenantiserum gegen Serum von
Hund (100%), Katze (13%), Schaf (3%), Ziege (3%),
Rind (3%), Pferd (3%), Schwein (3%), Meerschweinchen (0%),
Mensch (1%), Huhn (0%).
- 6) Hühnerfibrinogenantiserum gegen Serum von
Huhn (100%), alle anderen Tierarten (0%).

Obige Tatsachen beweisen, dass, wenn man das Verhältnis zwischen dem Titer gegen homologes Serum und dem gegen heterologes Serum mit dem Verhältnis zwischen dem Titer gegen homologes Fibrinogen und dem gegen heterologes Fibrinogen vergleicht, letzteres immer grösser als ersteres ist.

Die Präzipitintiter eines Fibrinogenantisera gegen beide Antigene, Fibrinogen und Plasma, sind fast immer gleichwertig. Es zeigt sich somit, dass das im Plasma enthaltene Fibrinogen als Antigen reagiert.

Weiter will ich die Ergebnisse nach der *Uhlenhuth*schen Methode mit denen nach der *Ogata*schen Verdünnungsmethode vergleichen. Bezüglich der Reaktion des Fibrinogenantisera gegen Fibrinogen nächst verwandter Tierspezies, z. B. Ziege und Schaf, oder Ziege und Rind, sieht man, dass man den Unterschied zwischen beiden Fibrinogenen nach der *Uhlenhuth*schen Methode in den meisten Fällen nicht erkennen kann, weil die Präzipitintiter einander gleich sind. Auch die Titer gegen Fibrinogene der nicht nahe verwandten Tierarten sind immer unbestimmt und dazu noch unregelmässig. Deshalb ist hinsichtlich der Reaktion des Fibrinogenantisera gegen Fibrinogen der Unterschied zwischen den Fibrinogenen verschiedener Tierarten nach der *Uhlenhuth*schen Methode kaum nachweisbar. Selbst die Methode mittels der Niederschlagsmenge (*Ohzawa*) sowie an Hand einer Vergleichung der Form des Präzipitatkörnchens konnte den Verwandtschaftsgrad zwischen den Fibrinogenen verschiedener Tierarten nicht dartun. Dagegen ersieht man jetzt aus meinem Versuche, dass auch oben erwähnte Widersprüche nach der Präzipitinverdünnungsmethode leicht beseitigt werden können und dass der Verwandtschaftsgrad mit konstanten Zahlwerten gezeigt werden kann.

b) Komplementbindungsversuch.

*Gengou*¹⁴⁾, *Bauer* und *Engel*¹⁵⁾, *Kato*¹⁶⁾ und *Ohzawa*¹⁷⁾ haben Untersuchungen über die serologische Spezifität des Fibrinogens mittels der Komplementbindungsreaktion angestellt. Nach *Gengou* gehen bei Fibrinogenantisera Präzipitation und Komplementbindung in der Regel parallel. Nach *Kato* kommt also die Artspezifität des Fibrinogens in ihrem qualitativen Ausfalle nicht zum Ausdruck. Sie behaupteten somit, dass das Fibrinogen die Artspezifität in geringerem Masse besitzt.

Bauer und *Engel* hielten es jedoch für erwiesen, dass das Fibrinogen eine ganz exzeptionelle Stellung im Organismus einnimmt, indem es inbezug auf sein Verhalten der Komplementbindungsreaktion gegenüber zwar Artspezifität zeigt, sich gleichzeitig aber auch von dem Serumeiweiss des Stammorganismus wesentlich different verhält. Nach *Ohzawa* ist der Titer des Fibrinogenantiseraums mittels Komplementbindungsreaktion niedriger als der mittels Präzipitinreaktion und hat eine Neigung zum Schwanken. Seiner Meinung nach beruht dies auf der Verwandlung des Fibrinogens während der Reaktion, ohne dass es zu vermeiden wäre, und er behauptete, dass eine Benutzung der Komplementbindungsreaktion zum serologischen Studium des Fibrinogens sehr schwierig sei und viele unverständliche Resultate verursache. Wir geben in folgenden Tabellen die Protokolle von derartigen Versuchen, woraus die Ergebnisse sehr deutlich zu entnehmen sind, sodass eine nähere Erläuterung sich wohl erübrigt.

1) Die Versuche mit Ziegenfibrinogenantisera.

Tabelle 10. Ziegenfibrinogenantiserum

Antiserum		Z. F. A. S. 1			Z. F. A. S. 2			Z. F. A. S. 3		
Antigen		B. z.	V. t.	%	B. z.	V. t.	%	B. z.	V. t.	%
Fibrinogen	Ziege	8,000	25	100	8,000	100	100	4,000	250	100
	Schaf	4,000	10	40	4,000	50	50	4,000	100	40
	Rind	1,000	10	40	2,000	50	50	4,000	25	10
	Schwein	—	—	0	500	10	10	2,000	10	4
	Pferd	—	—	0	—	—	0	2,000	10	4
	Hund	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Katze	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Mensch	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Huhn	—	—	0	—	—	0	—	—	0
Plasma	Ziege	1,000	25	100	1,000	100	100	500	250	100
	Schaf	1,000	10	40	500	50	50	500	100	40
	Rind	—	—	0	500	25	25	250	25	10
	Schwein	—	—	0	250	10	10	—	—	0
	Pferd	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Hund	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Katze	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Mensch	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Huhn	—	—	0	—	—	0	—	—	0
Serum	Ziege	—	—	0	1,000	10	100	100	50	100
	Schaf	—	—	0	—	—	0	100	10	20
	Rind	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Schwein	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Pferd	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Hund	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Katze	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Mensch	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Huhn	—	—	0	—	—	0	—	—	0

Wie ersichtlich, reagierten die Ziegenfibrinogenantisera nur mit Fibrinogen sowie Plasma der mit der Ziege relativ nahverwandten Tierarten und mit dem ihm zugehörigen Serum, und der Titer nach Komplementbindung ist stets viel niedriger als nach der Präzipitation. Aber durch diese Experimente werden die mittels der Präzipitatinmethode gewonnenen Ergebnisse im grossen und ganzen bestätigt.

2) Die Versuche mit Rinderfibrinogenantisera.

Tabelle 11. Rinderfibrinogenantiserum

Antiserum		R. F. A. S. 1			R. F. A. S. 2			R. F. A. S. 3		
Antigen		B. z.	V. t.	%	B. z.	V. t.	%	B. z.	V. t.	%
Fibrinogen	Rind	8,000	50	100	8,000	25	100	8,000	100	100
	Ziege	8,000	25	50	4,000	10	40	4,000	50	50
	Schaf	8,000	25	50	4,000	10	40	4,000	50	50
	Schwein	500	10	20	—	—	0	4,000	10	10
	Pferd	—	—	0	—	—	0	2,000	10	10
	Hund	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Katze	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Mensch	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Huhn	—	—	0	—	—	0	—	—	0
Plasma	Rind	2,500	50	100	1,000	25	100	2,500	100	100
	Ziege	500	25	50	500	10	40	500	50	50
	Schaf	500	25	50	500	10	40	500	50	50
	Schwein	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Pferd	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Hund	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Katze	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Mensch	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Huhn	—	—	0	—	—	0	—	—	0
Serum	Rind	100	10	100	100	10	100	500	25	100
	Ziege	—	—	0	—	—	0	250	10	40
	Schaf	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Schwein	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Pferd	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Hund	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Katze	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Mensch	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Huhn	—	—	0	—	—	0	—	—	0

Auch bei dem Versuche mit den Rinderfibrinogenantisera war eine positive Komplementbindung zu erzielen, wenn das Serum nur mit Fibrinogen oder Plasma der mit dem Rinde relativ nahverwandten Tiere und mit dem ihm entsprechendem Serum zusammengebracht wurde.

3) Die Versuche mit Schweinefibrinogenantisera.

Die Schweinefibrinogenantisera ergaben eine Reaktion nur mit dem ihnen zugehörigen Fibrinogen und Plasma, während S.F.A.S. 1 keinem Antigene gegenüber reagierte. Die Komplementbindung war also hier

Tabelle 12. Schweinefibrinogenantiserum

Antiserum		S. F. A. S. 1			S. F. A. S. 2			S. F. A. S. 3		
Antigen		B. z.	V. t.	%	B. z.	V. t.	%	B. z.	V. t.	%
Fibrinogen	Schwein	—	—	0	4,000	25	100	4,000	25	100
	Rind	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Ziege	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Schaf	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Pferd	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Hund	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Katze	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Mensch	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Huhn	—	—	0	—	—	0	—	—	0
Plasma	Schwein	—	—	0	500	25	100	500	25	100
	Rind	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Ziege	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Schaf	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Pferd	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Hund	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Katze	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Mensch	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Huhn	—	—	0	—	—	0	—	—	0
Serum	Schwein	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Rind	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Ziege	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Schaf	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Pferd	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Hund	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Katze	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Mensch	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Huhn	—	—	0	—	—	0	—	—	0

im Gegensatz zur Präzipitation streng spezifisch.

4) Die Versuche mit Pferdefibrinogenantisera.

Wie aus obiger Tabelle erhellt, war in diesem Falle nur mit dem isogenetischen Antigen (Pferd) eine Komplementbindung zu verzeichnen, nicht im geringsten aber mit dem heterogenetischen.

5) Die Versuche mit Hundefibrinogenantisera.

H. F. A. S. 2 und 3 gaben eine Reaktion mit Fibrinogen aller anderen Tierarten mit Ausnahme der vom Hunde weit entfernt stehenden Tiere, dem Menschen, dem Schweine und Huhne, bei der Reaktion mit Serum waren sie aber nur den ihnen zugehörigen Sera gegenüber wirksam. H. F. A. S. 1 reagierte mit Fibrinogen und Plasma nur von Hund sowie Katze.

6) Zusammenfassung.

Ich untersuchte in diesem Kapitel die Spezifität des Fibrinogens mittels Komplementbindungsreaktion, wobei für jedes Immunserum, wie bei Präzipitation, eine für die Bindungszone geeignete Antigenmenge gebraucht wurde. Die Ergebnisse meiner obigen Versuche

Tabelle 13. Pferdefibrinogenantiserum

Antiserum		P. F. A. S. 1			P. F. A. S. 2			P. F. A. S. 3		
Antigen		B. z.	V. t.	%	B. z.	V. t.	%	B. z.	V. t.	%
Fibrinogen	Pferd	4,000	25	100	8,000	50	100	4,000	50	100
	Rind	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Ziege	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Schaf	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Schwein	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Hund	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Katze	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Mensch	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Huhn	—	—	0	—	—	0	—	—	0
Plasma	Pferd	5,000	25	100	2,500	50	100	1,000	50	100
	Rind	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Ziege	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Schaf	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Schwein	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Hund	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Katze	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Mensch	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Huhn	—	—	0	—	—	0	—	—	0
Serum	Pferd	—	—	0	500	10	100	500	10	100
	Rind	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Ziege	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Schaf	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Schwein	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Hund	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Katze	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Mensch	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Huhn	—	—	0	—	—	0	—	—	0

dürften sich folgendermassen zusammenfassen lassen :

Es lässt sich mit Sicherheit nachweisen, dass das mit dem Fibrinogen einer Tierart gewonnene Antiserum die Fähigkeit besitzt, Komplemente zu binden, wenn es nicht nur mit dem ihm entsprechenden Antigen, sondern auch mit dem Fibrinogen anderer Tierarten zusammengebracht wird. Wie zu erwarten, erweist sich jedoch das Immuns serum dem entsprechenden Fibrinogen gegenüber als viel stärker wie gegenüber einem Fibrinogen anderer Tierarten. Der Titer nach der Komplementbindungsmethode ist indes stets viel niedriger als der nach der Präzipitinmethode. Wenn man aber die Titer der hoch immunisierten Antisera gegen Fibrinogen verschiedener Tierarten bei Komplementbindung miteinander vergleicht, so bemerkt man, dass sie mit den Resultaten bei Präzipitation fast parallel gehen, d. h. das Fibrinogen weist auch mittels der Komplementbindungsreaktion gleichzeitig beide Spezifitäten, Art- und Organspezifität, auf, z. B. Z. F. A. S. 3 und H. F. A. S. 3. Von den bei niedrigem Präzipitintiter gezeigten Immuns sera verbinden dagegen die einen das Komplement mit Fibrinogen oder

Tabelle 14. Hundefibrinogenantiserum

Antiserum		H. F. A. S. 1			H. F. A. S. 2			H. F. A. S. 3		
Antigen		B. z.	V. t.	%	B. z.	V. t.	%	B. z.	V. t.	%
Fibrinogen	Hund	4,000	25	100	16,000	100	100	4,000	100	100
	Katze	2,000	10	40	4,000	50	50	4,000	50	50
	Schaf	—	—	0	4,000	10	10	4,000	20	25
	Ziege	—	—	0	2,000	10	10	2,000	10	10
	Rind	—	—	0	2,000	10	10	2,000	10	10
	Pferd	—	—	0	—	—	0	4,000	10	10
	Schwein	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Mensch	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Huhn	—	—	0	—	—	0	—	—	0
Plasma	Hund	500	25	100	1,000	100	100	1,000	100	100
	Katze	100	10	40	250	50	50	1,000	50	50
	Schaf	—	—	0	100	10	25	500	25	25
	Ziege	—	—	0	—	—	0	500	10	10
	Rind	—	—	0	—	—	0	—	—	—
	Pferd	—	—	0	—	—	0	—	—	—
	Schwein	—	—	0	—	—	0	—	—	—
	Mensch	—	—	0	—	—	0	—	—	—
	Huhn	—	—	0	—	—	0	—	—	—
Serum	Hund	—	—	0	1,000	10	100	1,000	25	100
	Katze	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Schaf	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Ziege	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Rind	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Pferd	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Schwein	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Mensch	—	—	0	—	—	0	—	—	0
	Huhn	—	—	0	—	—	0	—	—	0

Serum von demselben Tiere sowie von nächst verwandten Tierarten, z. B. S. F. A. S. 1, H. F. A. S. 1 und R. F. A. S. 2, die andern nur mit Antigen von demselben Tiere, z. B. P. F. A. S. 1 und 3, S. F. A. S. 2 und 3. Im äussersten Falle, z. B. S. F. A. S. 1, das den niedrigsten Präzipitintiter (1:25) zeigt, verbindet das Immunserum ein Komplement mit keinem einzigen Antigene. Deswegen will es uns bedünken, als ob das Fibrinogen nur Artspezifität habe. Wie aus den Tabellen erhellt, beschränken sich die Reaktionen, bei denen die Komplementbindung versagte, auf den Fall, wo der Präzipitintiter unter 1:25 bleibt. Daraus lässt sich meiner Meinung nach auf die Tatsache schliessen, dass so hoch immunisierte Fibrinogenantisera, die gegen alle Antigene den Präzipitintiter über 1:25 zeigen, auch bei Komplementbindungsreaktion Resultate geben können, die den Präzipitationsergebnissen fast ähnlich sind. Von *Muir*, *Martin*, *Moresch*, *Sobernheim*, *Friedberger*, *Meissner* und *Lausnitzki* ist bereits hervorgehoben worden, dass nicht alle Präzipitinsera die Fähigkeit, Komplemente zu binden, gemeinschaftlich besitzen, und weiter haben *Friedberger* und *Meissner* festgestellt, dass Präzipitation

eine weit unspezifischere Reaktion gibt, während Komplementbindung zu einer mehr spezifischen Reaktion führt. Inbezug auf die Komplementbindungsreaktion mit Fibrinogen betonten einige Forscher bereits, dass der Titer bei Komplementbindung niedriger ist als bei Präzipitation. Um diese Frage zu lösen, untersuchte ich zuerst die hämolytische Kraft des Fibrinogenantisera.

Tabelle 15.

Immunserum	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64
Hämolyse von Ziegenblut durch Komplement und Ziegenfibrinogen- antiserum.				
akt. inakt.	+	+	-	-
	+	±	-	-
Hämolyse von Ziegenblut durch Komplement und Normalkaninchen- serum.				
akt. inakt.	+	+	-	-
	+	+	-	-

Wie aus obiger Tabelle erhellt, wurde sowohl bei aktivem wie inaktiviertem Serum kein bemerkenswerter Unterschied zwischen der hämolytischen Kraft des Normalserums und der des Immunserums beobachtet. Überdies konnte bei der Komplementbindungsreaktion zwischen Fibrinogenantiserum und Serumeiweiss das Immunserum trotz seines niedrigen Präzipitintiters Komplemente binden, z. B. P. F. A. S. 2 und 3. Aus diesem Grunde ist es wahrscheinlich, dass das Immunserum wenig damit zu tun hat. Nach *Ohzawa* wurde bei schwacher Komplementbindung beobachtet, dass das Fibrinogen sich während der Reaktion in Fibrin verwandelt. Auch im Laufe meiner Untersuchungen mittels Komplementbindung konnte ich in einem Fibrinogen allein enthaltenden Reagenzgläsern nur eine sehr schwache Trübung erkennen. Die Ursache dieses Phänomens lässt sich wohl darin erblicken, dass durch diesen labilen Zustand des Fibrinogens die Fähigkeit, Komplemente zu binden, abnimmt, und dass deswegen der Titer nach der Komplementbindung viel niedriger ist als bei den Präzipitinreaktionen.

Schluss.

Die obigen Befunde auf Grund der Präzipitinreaktion durch Verdünnung des Immunkörpers sowie mittels der Komplementbindungsmethode lassen sich folgendermassen kurz zusammenfassen :

1. Das Blutplasma wird immunologisch in zwei Antigenitäten, Serum und Fibrinogen, eingeteilt.

2. Das Immunserum gegen Plasma enthält gleichzeitig sowohl den Antikörper für Serum als auch den für Fibrinogen, und die Antikörpermenge in dem Immunserum ist immer viel grösser für Serum als für Fibrinogen.

3. Ein Immunserum, das durch Fibrinogen eines Säugetieres gebildet wird, vermag nicht nur auf das Fibrinogen derselben Tierespezies, sondern auch auf die Fibrinogenlösung der anderen verschiedensten Säugetiere einzuwirken.

4. Immunsera von Tieren, die mit Säugetierfibrinogen behandelt worden waren, geben mit Hühnerfibrinogen meist eine negative, bei Hundefibrinogen aber eine schwach positive Reaktion. Diesen letzten Fall kann man durch Hühnerfibrinogen umgekehrt nachweisen.

5. Zwischen dem Titer gegen homologes Antigen und dem Titer gegen heterologes Antigen kann man in den meisten Fällen einen deutlichen Unterschied beobachten.

6. Die Resultate der Komplementbindungsmethode stehen beinahe parallel zu denen der Präzipitinmethode, aber der Titer bei der ersteren ist immer viel niedriger als bei der letzteren.

7. Das Fibrinogen verfügt zwar über Organspezifität, gleichzeitig aber weist es auch die Artspezifität auf. Der Verwandtschaftsgrad zeigt sich meist noch stärker als bei den Serumantigenen.

Zum Schlusse möchte ich Herrn Prof. Dr. *M. Ogata* für seine freundliche Hilfeleistung während der Durchführung meiner Untersuchungen meinen besten Dank aussprechen.

Literatur.

- ¹ *Bordet*, Annal. de L'Institut Pasteur Tome 13, S. 240, 1899. — ² *Tchistovitsch*, Annal. de L'Institut Pasteur Tome 13, S. 406, 1899. — ³ *Uhlenhuth*, Deut. med. Woch. Nr. 42, S. 1673, 1905. — ⁴ *Nuttal*, British med. J. No. 5, 1902. — ⁵ *Manteufel* u. *Beger*, Zeits. f. Imm. Bd. 34, S. 357, 1922. — ⁶ *Strube*, Deut. med. Woch. Nr. 24, 1902. — ⁷ *Kister* u. *Wolf*, Münch. med. Woch. Nr. 12, S. 473, 1902. — ⁸ *Kratter*, Wien. med. Woch. Bd. 53, S. 24, 1903. — ⁹ *Sunouchi*, Okayama Igakkai Zasshi Nr. 1, S. 1, 1929. — ¹⁰ *Makino*, ebenda Nr. 4, S. 858, 1930. — ¹¹ *Sato*, Shakai Igaku Zasshi Nr. 517, S. 91, 1930 (Japanisch). — ¹² *Yamazaki*, ebenda Nr. 500, S. 867, 1928 (Japanisch). — ¹³ *Bordet* et *Gengou*, Annal. de L'Institut Pasteur Tome 15, S. 237, 1901. — ¹⁴ *Gengou*, Annal. de L'Institut Pasteur Tome 16, S. 734, 1902. — ¹⁵ *Bauer* u. *Engel*, Biochem. Zeits. Bd. 42, S. 399, 1912. — ¹⁶ *Kato*, Tokyo Igakkai Zasshi Bd. 36, Nr. 10, 1921. — ¹⁷ *Ohzawa*, Nippon Biseibutsu Gakkai Zasshi Bd. 20, S. 2235, 2701 u. 3333, 1925 (Japanisch). — ¹⁸ *Hammarsten*, Abderhalden; Handbuch d. biol. Arbeitsmethode, Abt. 4, S. 266,

638 S. Saeki: Serologische Studie über die Beziehung zwischen Plasma usw.

1924. — ¹⁹ Akamatsu, Nippon Biseibutsu Gakkai Zasshi Bd. 19, Heft 5, 1924 (Japanisch). — ²⁰ Forssner, Münch. med. Woch. Nr. 19, S. 892, 1905. — ²¹ Friedberger u. Collier, Zeits. f. Imm. Bd. 28, S. 237, 1919. — ²² Friedberger u. Jarre, Zeits. f. Imm. Bd. 30, S. 351, 1920. — ²³ Friedberger u. Meissner, Zeits. f. Imm. Bd. 36, S. 233, 1923. — ²⁴ Hamburger, Deut. med. Woch. Nr. 6, S. 212, 1901. — ²⁵ Hekma, Biochem. Zeits. Bd. 209, S. 90 u. 103, 1929. — ²⁶ Mutsui, Nippon Biseibutsu Gakkai Zasshi Bd. 18, S. 463, 1923 (Japanisch). — ²⁷ Meissner, Zeits. f. Imm. Bd. 36, S. 272, 1923. — ²⁸ Mitterbach, Zeits. f. phys. Chemie Nr. 19, S. 289, 1894. — ²⁹ Miyoshi, Nippon Biseibutsu Gakkai Zasshi Bd. 24, S. 445, 1930 (Japanisch). — ³⁰ Pearce, Journ. of med. Res. Vol. 7, P. 13, 1914. — ³¹ Reeser, Zeits. f. Imm. Bd. 34, S. 355, 1922. — ³² Saito, Ikaijiho Nr. 1478 (Japanisch). — ³³ Stern, Deut. med. Woch. Nr. 9, S. 135, 1901. — ³⁴ Uhlenhuth, Deut. med. Woch. Nr. 17 u. 30, 1901. — ³⁵ Uhlenhuth, Zeits. f. Imm. Nr. 6, S. 761, 1910.
