

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen  
(Direktor: Prof. Dr. E. LETTERER).

**Die Fibrinogen-Konzentration im Blutplasma  
während einer experimentell erzeugten Entzündung  
mit und ohne Amyloidose.**

Von

**HELMUT FENDEL und WOLFGANG GEROK.**

Mit 4 Textabbildungen.

(*Ein gegangen am 20. März 1955.*)

Die quantitativen Veränderungen der Serumproteinfraktionen im Verlaufe einer Entzündung sind in den letzten Jahren klinisch (Reaktionskonstellation vom Typ der akuten Entzündung nach WUHERMANN und WUNDERLY) und im Tierexperiment (LETTERER und SCHNEIDER) eingehend dargestellt worden. Das Verhalten des Fibrinogens (Fbg) fand jedoch wegen methodischer Schwierigkeiten nur wenig Aufmerksamkeit. SCHULZ hat neuerdings eine klinische Zusammenfassung über das Fbg gegeben, die — wie auch die übrige bisherige Literatur — vorwiegend Einzelbefunde bei verschiedenen Erkrankungen bringt. Die Dynamik der Fbg-Veränderungen während eines entzündlichen Prozesses ist noch weitgehend unbekannt. Deshalb erschien die Prüfung des quantitativen Verhaltens der Fbg-Fraktion im Tierversuch während einer experimentell erzeugten Entzündung besonders aufschlußreich. Es können dabei die Versuchsbedingungen relativ konstant gehalten werden, und zudem ergab sich die Möglichkeit, an frühere Befunde über das Verhalten der Serumproteine (OTT und SCHNEIDER, GEROK, SCHEURLEN) und morphologische Veränderungen an Leber und Milz (GÖSSNER, SCHNEIDER, SIESS und STEGMANN) unter den gleichen Versuchsbedingungen Anschluß zu finden. Die Fbg-Messungen sollten diese Befunde ergänzen und mit ihnen in nähere Beziehung gebracht werden. Von besonderem Vorteil war, daß mit Hilfe einer nephelometrischen Mikromethode (GEROK) die Fbg-Konzentration beim gleichen Tier in wöchentlichem Abstand kontrollierbar war.

Folgende Fragen waren auf diese Weise zu klären:

1. Die Veränderung der Fbg-Konzentration beim Einzeltier während eines entzündlichen Geschehens sollte gemessen werden. Der Vergleich der Fbg-Verlaufskurven zahlreicher Tiere sollte ergeben, ob alle Tiere quantitativ und zeitlich einheitlich reagieren oder ob bei nicht

einheitlichem Verlauf mehrere Typen des Reaktionsablaufes festgestellt werden können. Die Veränderungen der Fbg-Konzentration sollten mit gleichlaufenden Veränderungen der Serumproteine in Verbindung gebracht werden. (Akute und subakut-chronische Phase der entzündlichen Reaktionskonstellation der Serumproteine.)

2. Unter den gewählten Versuchsbedingungen war zu erwarten, daß bei einem Teil der Tiere eine Amyloidose eintrat. Es sollte geprüft werden, ob Tiere mit Amyloid andere Fbg-Werte als die amyloidfreien Tiere aufweisen und ob zwischen bestimmten Fbg-Veränderungen und der Amyloidose enge Zusammenhänge bestehen.

3. Die Fbg-Konzentration im Plasma sollte morphologischen Veränderungen an Leber und Milz zur Seite gestellt werden und eine Gegenüberstellung mögliche quantitative Beziehungen herausstellen.

#### *Methodik und Tiermaterial.*

Als *Versuchstiere* dienten weiße Mäuse. Etwa  $\frac{2}{3}$  der Tiere entstammten einer eigenen, der Rest einer fremden Aufzucht. Bei den letzteren war eine größere Streuung der Ausgangsgewichte und der Normalfibrinogenwerte festzustellen, außerdem zeigten sie im Verlauf der Entzündung gleichartige, aber quantitativ etwas stärkere Änderungen der Fbg-Werte. In der folgenden Darstellung sind die beiden Tiergruppen verschiedener Herkunft zusammengefaßt. Anfangsgewicht der Tiere zwischen 20 und 25 g. Fütterung 2 Wochen vor und während der Behandlung mit Hafer und Wasser. Männliche und weibliche Tiere wurden in etwa gleicher Anzahl untersucht; Unterschiede im Verhalten waren nicht festzustellen.

*Entzündung* und *Amyloidose* wurden nach LETTERER (1926) durch subcutane Injektionen erzeugt. 0,3 g NaOH und 3,5 g Casein wurden unter leichtem Aufkochen in 100 ml Aqua dest. gelöst und 0,6 ml dieser Lösung an fünf aufeinander folgenden Tagen subcutan am Rücken des Tieres injiziert; dann 2 Tage keine Injektionen und am 2. Tag dieser Pause Blutentnahmen. Die Injektionsbehandlung dauerte im allgemeinen 5 Wochen (= 25 Injektionen), ein Teil der Tiere starb allerdings schon vorzeitig, meist infolge Verblutung. Kontrolltiere ohne Injektionsbehandlung wurden gleichzeitig untersucht. Bei sämtlichen Tieren Bestimmung des Körper-, Leber-, Milz- und Nierengewichtes sowie histologische Untersuchung der Organe.

Die *Fbg-Konzentration* wurde mit einer nephelometrischen Mikromethode (GEROK) bestimmt, da nur mit diesem Verfahren eine fortlaufende genaue Messung beim gleichen Tier möglich war. Bei der Anwendung auf Mäuseplasma mußte die Methode aus 2 Gründen gegenüber der Originalanweisung geringfügig modifiziert werden: 1. Wegen der starken Gerinnungsneigung des Mäuseblutes war kristallisiertes Oxalat zur Gerinnungshemmung ungeeignet. Das Blut war geronnen, ehe sich das Oxalat gelöst hatte. Bei Verwendung von Oxalatlösung führte das Pipettieren der kleinen Blut- und Flüssigkeitsmengen zu einer ziemlich großen methodischen Fehlerstreuung. Vorversuche ergaben, daß nach intraperitonealer Injektion von 0,25 ml einer sterilen wäßrigen Heparinlösung („Vetren“ der Fa. Promonta) das Blut mit Sicherheit 2 Std ungerinnbar bleibt. Entzündungsablauf und Amyloidentstehung wurden durch die sterilen Heparininjektionen nicht beeinflußt. Kontrollversuche an menschlichem Plasma zeigten, daß die nephelometrische Mikromethode auch bei Heparinzusatz zum Plasma genaue Werte der Fbg-Konzentration

ergibt. 2. Wegen der geringeren Fbg-Konzentration in normalem Mäuseplasma (s. unten) waren andere Verdünnungsverhältnisse zu wählen, um den günstigsten Ablesungsbereich im Nephelometer auszunutzen.

Durchführung: 1 Std vor der Blutentnahme wurde den Tieren je 0,25 ml Vetren intraperitoneal injiziert. Etwa 0,2 ml Blut wurde nach dem von SCHNEIDER angegebenen V erfahren aus der Schwanzvene entnommen und in einem Uhlenhuthgläschen, das einige Körnchen Vetren und etwa 0,4 ml Paraffin liquid, enthielt, aufgefangen. Vetren und Blut wurden mit einem Glassstab gut gemischt. Nach dem Zentrifugieren (3000 U/min.; 30 min Dauer) bildeten sich 3 Schichten (Paraffin, Plasma, Erythrocyten). Das vollkommen klare Plasma (mittlere Schicht) wurde mit einer Kapillare abgesaugt, in eine Mikropipette eingeblasen und daraus eine genau abgemessene Menge (0,05—0,1 ml) in ein zweites Uhlenhuthgläschen, das 0,4 ml isotonische NaCl-Lösung enthielt, übergeführt. Durch zweimaliges Aufsaugen von verdünntem Plasma wurde die Pipette nachgespült und der Fehler beim Pipettieren klein gehalten. 0,2 ml des verdünnten Plasmas wurden dann zur Fällung des Fbg in 5,0 ml 4-m-NaCl-Lösung einpipettiert. Die Menge des verdünnten Plasmas reichte zu Doppelbestimmungen. Alle weiteren Einzelheiten der nephelometrischen Fbg-Bestimmung entsprachen den Angaben von GEROK.

Die *Serumproteine* wurden papierelektrophoretisch bestimmt. Hierfür mußte die Heparinwirkung abgeklungen sein, da die Papierelektrophorese nur mit Serum zuverlässige Resultate ergibt. Die Tiere wurden 24 Std nach der letzten Fbg-Bestimmung getötet; das entnommene Blut war nach kurzer Zeit vollständig geronnen und nach einigen Stunden hatte sich das Serum über dem retrahierten Blutkuchen abgeschieden. Es wurde mit einer Kapillare abgesaugt und auf den Papierstreifen aufgetragen. Die Elektrophorese wurde nach den Angaben von SCHEURLEN durchgeführt und ausgewertet.

Die *statistische Prüfung* der Messungen erfolgte mit folgenden Verfahren:

1. Die methodische Fehlerstreuung der Fbg-Bestimmungen wurde aus 90 Doppelbestimmungen an normalen Mäuseplasmen mit Hilfe der  $\chi^2$ -Funktion ermittelt.

2. Aus den Fbg-Werten vor der Injektionsbehandlung wurde der arithmetische Mittelwert ( $\alpha$ ), die Streuung ( $\sigma$ ) und der mittlere Fehler des Mittelwertes ( $m$ ) berechnet. In gleicher Weise wurden die Fbg-Bestimmungen im Verlauf der Entzündung für jedes Behandlungsstadium zusammengefaßt, wobei die statistischen Maßzahlen ( $\alpha$ ,  $\sigma$ ,  $m$ ) für die Tiergruppen mit und ohne Amyloid gesondert berechnet wurden. Durch kombinatorische Schlußweise (Transponierungsschluß) und Berechnung des Urteilsquotienten ( $Q$ ) wurde für jedes Behandlungsstadium geprüft, ob zwischen den empirisch festgestellten mittleren Fbg-Werten in den einzelnen Entzündungsstadien und dem zu erwartenden Normalwert eine zufällige ( $Q < 2$ ), auffallende ( $Q \approx 2,5$ ) oder signifikante ( $Q > 3$ ) Abweichung besteht. Mit dem gleichen Verfahren wurden die Unterschiede der mittleren Fbg-Konzentration von Tieren mit und ohne Amyloid geprüft.

3. Unterschiede im prozentualen Amyloidbefall bei verschiedenen Tiergruppen mit unterschiedlichem Fbg-Verlauf (s. unten) wurden mit Transponierungsschluß und mit dem Verfahren der Mutungsgrenzen auf Signifikanz untersucht.

4. Über den Zusammenhang zwischen relativem Organgewicht und Fbg-Konzentration sollte die Berechnung des Korrelationskoeffizienten  $r$  quantitativen Aufschluß geben. Je enger der Zusammenhang ist, um so mehr nähert sich  $r$  dem Wert 1. Bei der unten angegebenen Korrelation zwischen relativem Milzgewicht und Fbg-Konzentration wurde  $r$  mit einer Korrelationstabelle berechnet, deren Klasseneinteilung der Abb. 4 entsprach. Über die Einzelheiten dieser statistischen Methoden, ihre Durchführung und Anwendung siehe GEBELEIN und HEITE.

## Ergebnisse.

1. Normalwerte der Fbg-Konzentration bei der Maus (Mittelwert, methodische Fehlerstreuung, Variationsstreuung und Kontrollversuche). Fbg-Bestimmungen an den Plasmen von 149 gesunden Mäusen ergaben den in Abb. 1 als Anfangswert eingetragenen Mittelwert von 91,7 mg-%. Die Streuung der Einzelwerte war  $\pm 37,2$  mg-% und der mittlere Fehler des Mittelwertes  $\pm 3,0$  mg-%.

Die methodische Fehlerstreuung bei der Bestimmung der Normalwerte betrug  $\pm 8,5$  mg-%. Auf Grund von Prüfungen der nephelometrischen Methode an menschlichem Plasma (GEROK) darf angenommen werden, daß der relative methodische Fehler (in Prozent des Mittelwertes) auch beim Mäuseplasma in anderen Meßbereichen nicht wesentlich größer ist als im Bereich der Normalwerte. Die relativ große Streuung der Normalwerte ( $\sigma \pm 37,2$  mg-%) ist nicht methodisch bedingt, sondern zum überwiegenden Teil Ausdruck der Variationsstreuung ( $v \pm 36,2$  mg-%), d. h. einer individuell verschiedenen Größe der Fbg-Konzentration. Die Fehlerstreuung der Methode ist also so klein, daß die Gesamtstreuung dadurch kaum beeinflußt wird. Die später beobachteten Veränderungen der Fbg-Konzentration im Verlauf der Entzündung sind erheblich. Sie überschreiten eindeutig die Gesamtstreuung der Normalwerte, womit die Prüfung unserer Fragestellung mit der nephelometrischen Fbg-Bestimmungsmethode durchführbar erscheint.

An 16 Kontrolltieren wurde in wöchentlichem Abstand die Fbg-Konzentration im Blutplasma bestimmt. Diese Tiere erhielten keine Injektionen, wurden aber wie die übrigen Versuchstiere gehalten und gleichzeitig mit diesen untersucht. Die Mittelwertskurve der Kontrollen (Abb. 2) zeigt keine signifikanten Veränderungen der mittleren Fbg-Konzentration. Stärkere Zunahmen der Fbg-Konzentration, wie sie im Verlaufe der Injektionsbehandlung beobachtet werden, können somit

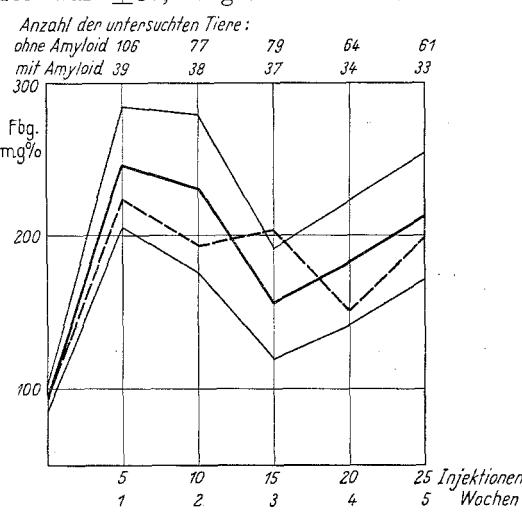


Abb. 1. Verhalten der Fbg-Konzentration im Verlauf der experimentellen Entzündung. Dick ausgezogene Linie = Mittelwertskurve der Tiere ohne Amyloidose. (Dünne Linien als Begrenzung des 3fachen mittleren Fehlers des Mittelwertes.) Gestrichelte Linie = Mittelwertskurve der Tiere mit Amyloidose.

nicht durch die wiederholte Blutentnahme verursacht sein, sondern sind unmittelbare Folge der Behandlung.

**2. Die Fbg-Konzentration bei Entzündung ohne Amyloidose.** Im Verlauf des nach subcutanen Injektionen sich entwickelnden entzündlichen Geschehens war bei 123 von 137 untersuchten Tieren eine deutliche Zunahme der Fbg-Konzentration festzustellen. Die Abb. 1 zeigt die Mittelwertskurve behandelter Tiere ohne Amyloidose. Die statistische Prüfung der Werte mit Transponierungsschluß ergibt, daß die mittlere Fbg-Konzentration während des ganzen Ablaufes der Entzündung signifikant erhöht ist. Jedoch ist die Fbg-Vermehrung nicht bei allen Tieren quantitativ und zeitlich gleichgeartet. Im ganzen läßt der Verlauf der Mittelwertskurve einen zweiphasigen Ablauf der Reaktion vermuten, wobei der Übergang

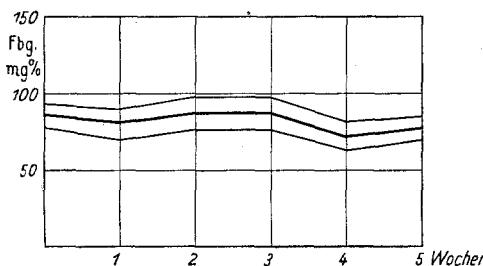


Abb. 2. Kontrollversuch: Bei Tieren ohne Injektionsbehandlung ändert sich die Fbg-Konzentration trotz wiederholter Blutentnahmen nicht signifikant. (Mittelwertskurve mit Streubereich des 3fachen mittleren Fehlers.)

von der ersten zur zweiten Phase einer Fbg-Vermehrung etwa nach 15 Injektionen erfolgt. Außerdem zeigt der relativ große mittlere Fehler

des Mittelwertes, daß quantitativ sehr verschiedene Individualkurven in der Mittelwertskurve zusammengefaßt sind.

Eine nähere Sichtung der Individualkurven ergab die Möglichkeit, auf Grund des unterschiedlichen Verhaltens während der ersten und zweiten Phase folgende 4 „Reaktionsgruppen“ herauszustellen:

Gruppe 1: Die Fbg-Konzentration bleibt während des ganzen Entzündungsablaufes im Bereich der Normalwerte (obere 2  $\sigma$ -Grenze von 166 mg-% nicht überschritten).

Gruppe 2. Die Fbg-Konzentration steigt initial schon nach 5 Injektionen stark an. Die obere 3  $\sigma$ -Grenze der Normalwerte (203 mg-%) wird überschritten, womit die Fbg-Vermehrung statistisch gesichert ist. Nach 15 Injektionen fällt die Fbg-Konzentration wieder in den Bereich der Normalwerte ab.

Während der weiteren Injektionsbehandlung verhalten sich die Tiere dieser Gruppe unterschiedlich:

- Die Fbg-Konzentration bleibt im 3  $\sigma$ -Bereich der Normalwerte.
- Die Fbg-Konzentration steigt erneut stark an (über 200 mg-%).

Gruppe 3: Die Fbg-Konzentration bleibt zunächst im Bereich der Normalwerte und steigt erst nach 15 Injektionen auf Werte über 203 mg-% (obere 3  $\sigma$ -Grenze der Normalwerte) an.

Dieser Einteilung entsprechende Verlaufskurven von Tieren ohne Amyloidose (Mittelwertskurven der einzelnen Reaktionsgruppen) sind in Abb. 3 dargestellt. Der Anteil der Tiere an diesen Gruppen sowie die Häufigkeit des Amyloidsbefalles ergibt sich aus Tabelle 1.

Tabelle 1. *Anteil der Tiere und des Amyloidbefalls an den einzelnen Reaktionsgruppen.*

|  | Anteil der Tiere |      | Amyloidbefall |      |
|--|------------------|------|---------------|------|
|  | absolut          | in % | absolut       | in % |
| Gruppe 1 (ohne Fbg-Reaktion) . . . . .   | 13               | 9,5  | 0             | 0    |
| Gruppe 2 (Fbg-Vermehrung in der ersten Phase)  |                  |      |               |      |
| a) mit Normalisierung in der zweiten Phase . . . . .                                       | 51               | 37,2 | 24            | 47   |
| b) mit Wiederanstieg in der zweiten Phase . . . . .  | 27               | 19,7 | 9             | 33   |
| Gruppe 3 (Fbg-Vermehrung erst in der zweiten Phase) . . . . .                              | 21               | 15,3 | 8             | 38   |
| Nicht einzuordnen . . . . .  | 2                | 1,5  | 0             | 0    |
| Wegen zu kurzer Beobachtungszeit und zu hohen Ausgangswerten nicht berücksichtigt. . . . . | 23               | 16,8 | 3             | 13   |
| Gesamtzahl der Tiere   | 137              |      | 44            |      |

Es geht daraus hervor, daß der Großteil sämtlicher Tiere (78 von 137 Tieren) im Verlauf der Entzündung mit einem starken initialen Anstieg des Fbg entsprechend der Gruppe 2 reagierte. Eine verzögerte Zunahme des Fbg-Gehaltes im Sinne der Gruppe 3, war viel seltener und nur bei sehr wenig Tieren trat überhaupt keine Fbg-Vermehrung auf.

Um eine Verbindung zu den bereits eingehend studierten Serumproteinveränderungen im Zuge der amyloiderzeugenden Behandlung herzustellen, wurde bei 28 Tieren zusätzlich 24 Std nach der letzten Fbg-Bestimmung eine Serumanalyse durchgeführt. Der zuletzt gemessene Fbg-Wert sollte dem Verhalten der einzelnen Serumproteinfraktionen (prozentualer Anteil am Serum-Gesamteiweiß) zur Seite gestellt werden. Wie aus Tabelle 2 rechts außen ersichtlich ist, wiesen 21 der 28 untersuchten Tiere eine geringe bis deutliche Vermehrung der Fbg-Fraktion auf. Wird nun das Verhalten der einzelnen Serumfraktionen aufgegliedert nach Zahl der Fälle mit normalem und mehr oder weniger deutlichem pathologischem Befund im Sinne einer Vermehrung oder Verminderung der Einzelfraktion (Beurteilung auf dem Boden der 1 und 2  $\sigma$ -Grenze der Serumnormalwerte nach SCHEURLEN), so ergibt sich, daß sämtliche Tiere eine wesentliche Vermehrung der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globuline aufwiesen und dementsprechend das Albumin in der Mehrzahl der Fälle (17 von 28 Analysen) vermindert war. Die statistisch

gesicherte Vermehrung der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globulinfraktion fiel bei 15 von 17 Tieren mit einer sicheren Fibrinogenvermehrung zusammen. Das  $\gamma$ -Globulin war meist normal oder mäßig vermindert und zeigte keine Relation zum Fbg-Spiegel. Da die Zahl der Vergleichsbestimmungen klein ist und vor allem Fälle eines normalen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globulingehaltes im Material nicht enthalten sind, soll dieser Vergleich nicht überwertet werden. Immerhin kann er auf eine zumindest lockere Beziehung zwischen Fbg-Ver- mehrung und Erhöhung des  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globulingehaltes des Serum hinweisen.

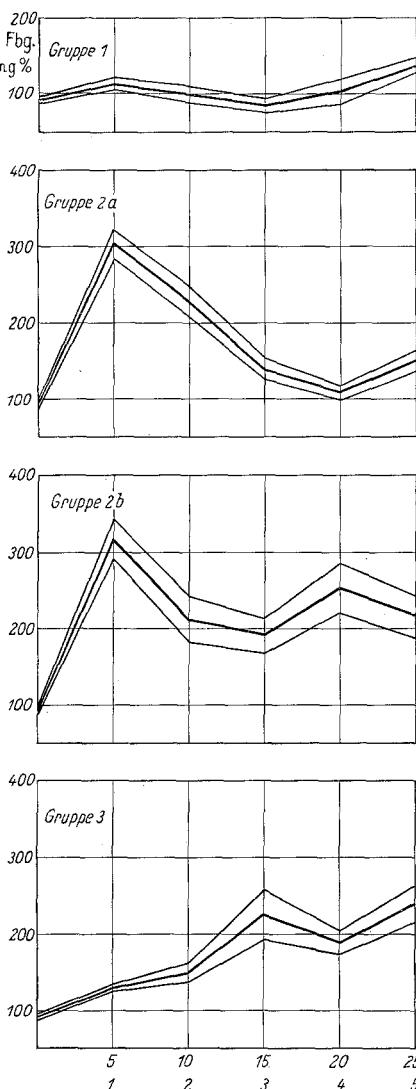


Abb. 3. Mittelwertskurven der einzelnen Reaktionsgruppen. Der 3fache mittlere Fehler des Mittelwertes liegt innerhalb der beiden äußeren Begrenzungslinien. Gruppe 1: Ohne sichere Reaktion. Gruppe 2: Sofortreaktion mit und ohne Spätreaktion (Kurve 2b bzw. 2a). Gruppe 3: Spätreaktion ohne wesentliche Fbg-Vermehrung in der ersten Phase.

Um zu prüfen, ob im Einzelfall engere quantitative Beziehungen zwischen dem Fbg und einer der Serumfraktionen bestehen, wurden Wertepaare gebildet und derart in ein Koordinatensystem eingetragen, daß in Richtung der Abszisse die relative Konzentration der betreffenden Serumproteinfraktion, in Richtung der Ordinate die absolute Fbg-Konzentration erschien. Es ergab sich dabei eine ziemlich regellose Anordnung der Meßpunkte ohne deutliche Beziehungslinien. Offenbar besteht also keine enge quantitative Korrelation zwischen der Konzentration einer der Serumproteinfraktionen und der Fbg-Konzentration oder es ist die Korrelation so gering, daß sie nur bei einer sehr viel größeren Anzahl von Bestimmungen deutlich werden würde.

3. Die Fbg-Konzentration bei Entzündung und Amyloidose. Bei Tieren mit histologisch nachgewiesener Amyloidose wurden Verlaufskurven der

Fbg-Konzentration festgestellt, die denen von amyloidfreien Tieren weitgehend ähnlich waren. Die Mittelwertskurve, die aus den Fbg-Werten der amyloidpositiven Tiere in den verschiedenen Behandlungsstadien berechnet wurde, ist in Abb. 1 als gestrichelte Linie dargestellt. Ihre Prüfung mit Transponierungsschluß ergab, daß die Abweichungen von den entsprechenden Mittelwerten amyloidfreier Tiere als zufällige Varianten gewertet werden müssen. Während des ganzen Entzündungsablaufes besteht also kein signifikanter Unterschied der Fbg-Konzentration zwischen Tieren mit und ohne Amyloid.

Bei der Verteilung der Tiere mit Amyloidose auf die verschiedenen Reaktionsgruppen (Tabelle 1) ist auffallend, daß von den 13 Tieren ohne Fbg-Vermehrung, also der Gruppe 1, keines Amyloid aufweist. Wie die statistische Prüfung unter Berücksichtigung des Amyloidbefalls der Gruppen 2 und 3 zeigt, kann das Fehlen von Amyloid in der ersten Gruppe zwar noch zufallsbedingt sein (Urteilsquotient nach Transponierungsschluß  $Q=2,5$ ), jedoch besteht für die Ausbildung einer Amyloidose bei Tieren ohne Fbg-Vermehrung nur eine sehr geringe Wahrscheinlichkeit (etwa 0,5—1 %).

*4. Vergleich der Fbg-Konzentration im Blutplasma mit Veränderungen an Leber und Milz.* Bei der Sektion der Tiere wurde das relative Organ gewicht von Leber und Milz (mg Organgewicht/g Körpergewicht) ermittelt. Die 24 Std zuvor gemessene Fbg-Konzentration wurde mit diesen Werten verglichen; berücksichtigt wurden hierbei nur die amyloidfreien Tiere. Am Ende der Injektionsbehandlung (nach 25 Injektionen) war zwischen der Fbg-Konzentration und dem relativen Leber- und Milzgewicht keine Korrelation festzustellen. Sicher wird in diesem späten Stadium der Entzündung das Verhalten der relativen Organgewichte und der Fbg-Konzentration von sehr viel mehr Faktoren beeinflußt als in der ersten Phase der Injektionsbehandlung. Damit ist eine Korrelation

Tabelle 2. Zusammenhang zwischen Serum-EW-Befund und Fbg-Gehalt des Blutplasmas bei 28 Endwertbestimmungen.

Aufgliederung der pathologischen Befunde nach Grad und Häufigkeit der Abweichung jeder Fraktion von der Norm. (1 $\sigma$ - bzw. 2 $\sigma$ -Grenze der Normalwerte).

|  | Albumin | $\alpha+\beta$ -Globulin | $\gamma$ -Globulin | Fibrinogen |
|--|---------|--------------------------|--------------------|------------|
| Deutliche Verminderung<br>(unterhalb 2 $\sigma$ -Grenze) . . . | 17      | 0                        | 9                  | 0          |
| Geringe Verminderung<br>(im 1—2 $\sigma$ -Bereich) . . . .     | 6       | 0                        | 7                  | 0          |
| Normaler Befund . . . . .                                      | 5       | 0                        | 10                 | 7          |
| Geringe Vermehrung<br>(im 1—2 $\sigma$ -Bereich) . . . .       | 0       | 11                       | 2                  | 6          |
| Deutliche Vermehrung<br>(oberhalb 2 $\sigma$ -Grenze) . . .    | 0       | 17                       | 0                  | 15         |

von vornherein weniger wahrscheinlich. Die gleiche Messung wurde deshalb an Tieren wiederholt, die nur 5 Injektionen erhalten hatten. Auch hierbei war zwischen dem Verhalten des Fbg und dem relativen Lebergewicht kein Zusammenhang festzustellen, hingegen ergab sich eine auffallend enge Korrelation von Fbg-Konzentration und relativem Milzgewicht. Die Abb. 4, in der die Wertepaare der untersuchten Tiere dargestellt sind, zeigt, daß niedrige Fbg-Konzentrationen im Plasma bei

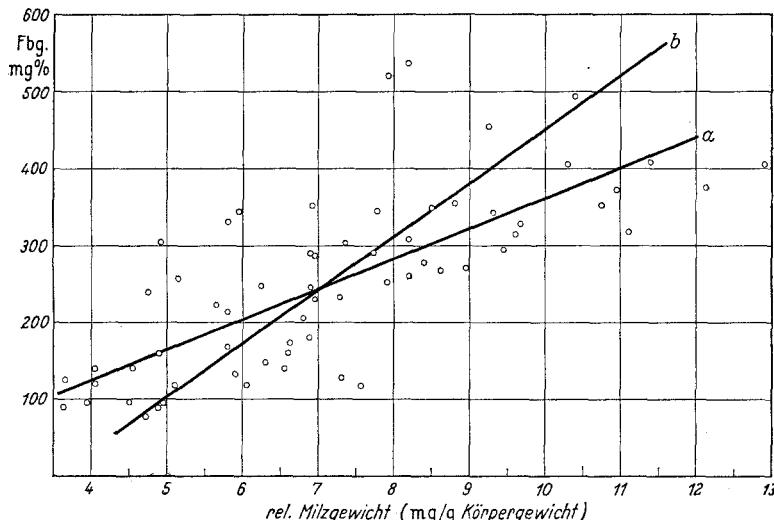


Abb. 4. Graphische Darstellung der Beziehung zwischen relativem Milzgewicht und Fbg-Konzentration in der akuten Phase. Lage der Wertepaare aus relativem Milzgewicht (Abszisse) und Fbg-Konzentration (Ordinate) für jedes Tier. Auf Grund der Korrelation  $r = 0,74$  konnten die beiden Beziehungslinien  $a$  (mittlere zu erwartende Fbg-Konzentration bei bestimmtem relativem Milzgewicht) und  $b$  (mittleres zu erwartendes relatives Milzgewicht bei bestimmter Fbg-Konzentration) ermittelt werden. Beachte die Streuung der Wertepaare um die Beziehungslinien.

niedrigem relativem Milzgewicht besonders häufig vorkommen und daß mit steigendem relativem Milzgewicht im allgemeinen auch die Fbg-Konzentration ansteigt. Die Berechnung ergab einen Korrelationskoeffizienten  $r=0,74$ . Mit diesem Wert wurden die beiden Beziehungslinien (Abb. 4) bestimmt, von denen die eine ( $a$ ) angibt, welche durchschnittliche Fbg-Konzentration bei einem bestimmten relativen Milzgewicht zu erwarten ist, während die andere ( $b$ ) das zu erwartende mittlere relative Milzgewicht bei bestimmter Fbg-Konzentration darstellt. Aus der Größe von  $r$  und dem kleinen Winkel zwischen den Beziehungslinien geht hervor, daß diejenigen Faktoren, die eine Zunahme des relativen Milzgewichtes bedingen, auch für die Zunahme der Fbg-Konzentration dominierend bestimmt sind und umgekehrt. Allerdings läßt sich auf Grund der Korrelation allein keine gesicherte Aussage zur Frage nach dem Ort der Fbg-Bildung machen.

*Diskussion.*

Der *Normalwert* der mittleren Fbg-Konzentration bei der Maus (92 mg-%) ist wesentlich geringer als beim Menschen (300—400 mg-%). Die prozentuale Streuung des Mittelwertes liegt etwa zwischen den Werten, die in den zusammenfassenden Darstellungen von WUHRMANN und WUNDERLY sowie von SCHULZ für die Fbg-Streuung beim Menschen angegeben werden.

OTT und SCHNEIDER haben im Mäuseplasma bei der Tiselius-Elektrophorese etwas höhere Fbg-Werte festgestellt (etwa 3% des Gesamtplasmaeiweißes). Da sich bei dieser Methode der Fbg- mit dem  $\beta_3$ -Gradienten überlagerte und da außerdem relativ große Mengen von Plasma bzw. Serum benötigt wurden, konnte die Fbg-Konzentration nur durch Vergleichsuntersuchungen von Sammelplasmen und -seren verschiedener Tiere bestimmt werden. Bei den Reihenbestimmungen im Verlauf des Amyloidexperiments wurde das Verhalten des Fbg in den Befund der  $\beta_3 + \psi$ -Fraktion eingeschlossen. Dabei stehen die Veränderungen dieser Fraktion mit den von uns am häufigsten beobachteten Fbg-Veränderungen (Gruppe 2a, Abb. 3) in guter Übereinstimmung.

Im *Verlaufe einer Entzündung* war die Fbg-Konzentration durchschnittlich stets signifikant erhöht, jedoch ergaben sich bei den einzelnen Tieren quantitativ und zeitlich große Unterschiede. Der Normalverlauf der Fbg-Konzentration bei einer Entzündung dürfte dem Ablauf bei der Gruppe 2 (Tabelle 1, Abb. 3) entsprechen, weil die meisten Tiere dieser Gruppe angehören und bei Stichproben mit gleichzeitiger Serumanalyse die Fbg-Vermehrung und Serumveränderungen vom Typ einer akuten Entzündung gehäuft aufgetreten sind. Auch bei entzündlichen Erkrankungen des Menschen soll nach SCHULZ ein starker initialer Anstieg der Fbg-Konzentration typisch sein. Warum ein Teil der Tiere bei gleicher Injektionsbehandlung mit einem viel späteren Anstieg der Fbg-Konzentration reagierte und weshalb einige Tiere überhaupt keine deutliche Änderung des Fbg-Spiegels aufwiesen, läßt sich auf Grund der Versuche nicht entscheiden. Möglicherweise bedingen quantitativ unterschiedliche und zeitlich verschieden einsetzende Gegenregulationen diese Unterschiede. Auch muß mit der Möglichkeit individuell verschiedenen großen Fbg-Depots gerechnet werden. So konnte SCHULZ bei mehreren Patienten, deren Fbg-Spiegel wenige Stunden nach dem Beginn einer lobären Pneumonie kontrolliert wurde, einen sehr starken Fbg-Anstieg beobachten. Das Ausmaß und die Geschwindigkeit des Anstieges machen es unwahrscheinlich, daß in der initialen Phase nur eine Neubildung von Fbg stattfindet. Vielmehr schließt SCHULZ auf eine lebhafte Mobilisierung bereits vorhandener Fbg-Depots und ordnet dieses Geschehen der „vegetativen Gesamtumschaltung des Organismus“ (HOFF) zu.

Die Darstellung der Serumproteinveränderungen mit verschiedenen Methoden (Nephelometrie von SCHNEIDER, Elektrophorese von OTT und

SCHNEIDER, WELTMANNsches Koagulationsband von GEROK sowie ALBRECHT) unter unserer Anordnung entsprechenden Versuchsbedingungen ergab während den ersten beiden Wochen der Behandlung die Reaktionskonstellation der akuten Entzündung und im weiteren Verlauf einen Übergang der akuten Phase in die typische Reaktionskonstellation der subakut-chronischen Entzündung. Auch die quantitativen Veränderungen der Fbg-Fraktion während der Injektionsbehandlung verliefen meist in 2 Phasen, wobei der Umschlag von der 1. zur 2. Phase wie bei den Serumproteinen etwa nach 15 Injektionen eintrat. Aus den Befunden ergibt sich, daß die Serumkonstellation der akuten Entzündung meist mit einer starken Fbg-Vermehrung verbunden ist, während der Serumkonstellation der subakut-chronischen Entzündung kein einheitliches Verhalten des Fbg entspricht. In dieser Phase zeigten etwa gleich viel Tiere deutliche Fbg-Vermehrungen wie normale Fbg-Werte. Diese Verschiedenheit der Fbg-Werte, für die die oben angeführten Ursachen (unterschiedliche Regulationen und Fbg-Vorräte) diskutiert werden können, entspricht vielleicht dem wenig einheitlichen histologischen Bild der Entzündung in dieser Phase insofern, als exsudative und proliferative Vorgänge, Nekrosen und Narbenbildungen an der Injektionsstelle nebeneinander herlaufen. Ob eine engere quantitative Korrelation zwischen dem Verhalten einer der Serumproteinfraktionen und dem Fbg besteht, läßt sich auf Grund der geringen Anzahl von Vergleichsuntersuchungen nicht entscheiden.

Die *Tiere mit Amyloid* zeigten gegenüber amyloidfreien Tieren keine signifikanten Unterschiede der Fbg-Konzentration; jedoch war bei Tieren mit fehlender Fbg-Vermehrung (Reaktionsgruppe 1, Tabelle 1) keine Amyloidose festzustellen. Letzteres ist zwar wegen der geringen Zahl der Tiere dieser Gruppe für das Fehlen von Amyloid bei fehlender Fbg-Vermehrung nicht beweisend, zeigt aber, daß die Amyloidose mit großer Wahrscheinlichkeit nur bei Tieren mit deutlicher Fbg-Vermehrung auftritt. Offenbar ist die Zunahme des Fbg im Plasma eine notwendige Begleiterscheinung, wenn nicht sogar eine sichere Voraussetzung für die Amyloidentstehung.

Die *Korrelation zwischen dem relativen Milzgewicht und der Fbg-Konzentration* ist auffallend eng. Das relative Milzgewicht und die Fbg-Konzentration nehmen zu Beginn der Entzündung ziemlich gleichmäßig und gleichsinnig zu. Die bereits nach 5 Injektionen vergrößerte Milz bietet histologisch einen wesentlichen Umbau. Die Follikel sind vergrößert und gegen die sehr zellreiche Pulpa unscharf abgegrenzt. In der roten Pulpa kommt es zu einer deutlichen Zunahme lympho-histiozytärer Zellen, die gelegentlich zu kleineren Proliferaten zusammengelagert sind, und gleichzeitig steigt der Gehalt an Riesenzellen an.

Obwohl die Möglichkeiten einer Ausdeutung dieser engen Korrelation zwischen dem Anstieg des relativen Milzgewichtes mit cellulärer Transformation und der Fbg-Vermehrung groß sind, so stehen doch 2 Gesichtspunkte im Vordergrund:

1. Das relative Milzgewicht und die Fbg-Konzentration werden bei der akuten Entzündung gleichartig beeinflußt, ohne daß die Zunahme der einen Größe mit der Zunahme der anderen in einem direkten Kausalzusammenhang steht. Zum Beispiel könnten im Entzündungsgebiet gebildete Stoffe die Fbg-Vermehrung auslösen, während andere Substanzen die entsprechende Zunahme des relativen Milzgewichtes bewirken.

2. Die Zunahme des relativen Milzgewichtes und die Fbg-Vermehrung sind als Ursache und Wirkung einander zugeordnet. Infolge weiterer nicht bestimmbarer Einflüsse tritt jedoch der Kausalzusammenhang nicht als vollständige (deterministische) Abhängigkeit der beiden Größen in Erscheinung. Die eine Größe hat zwar Einfluß auf die andere, bestimmt sie aber nicht ausschließlich.

In diesem Zusammenhang ist bemerkenswert, daß unter gleichen Versuchsbedingungen das relative Milzgewicht der Maus sich auffallend parallel zu einer Vermehrung der Endothelzellen je Flächenquadrat der Leber verhält (GÖSSNER, SCHNEIDER, SIESS und STEGMANN). Die Endothelzellenreaktion erreicht nach 5 und 10 Injektionen ihren Höhepunkt und bleibt nach 15 Injektionen etwa gleich hoch. Damit zeigt diese Reaktion gewisse Ähnlichkeit zu der am häufigsten beobachteten Mittelwertskurven des Fbg (Reaktionsgruppe 2 der Abb. 3). Da ferner Tiere mit starker Abscheidung besonders hohe Endothelzellzahlen und auch die höchsten Fbg-Werte aufwiesen, besteht möglicherweise ein Zusammenhang zwischen der Endothelzellenproliferation und der Fbg-Bildung. Dies wird vor allem von HEINLEIN sowie HELD und BEHR auf Grund experimenteller Beobachtungen vermutet. Der histochemisch nachgewiesene hohe Gehalt der Endothelzellen an Ribonucleinsäure während des Amyloidexperiments weist auf die Möglichkeit einer vermehrten Eiweißsynthese hin.

Eine sichere Deutung der Korrelation von relativem Milzgewicht und Fbg-Konzentration des Plasma ist indessen bislang noch nicht möglich.

#### *Zusammenfassung.*

1. Bei Mäusen wird im Verlaufe einer experimentell erzeugten Entzündung und Amyloidose die Fbg-Konzentration im Blutplasma gemessen. Während des ganzen Entzündungsablaufes ist die Fbg-Konzentration durchschnittlich signifikant erhöht. Die verschiedenen Fbg-Verläufe bei den einzelnen Tieren werden in 3 Reaktionsgruppen zusammengefaßt. Am häufigsten ist ein starker initialer Anstieg der Fbg-Konzentration mit Wiederabfall nach etwa 3 Wochen bis zur oberen Grenze des normalen Streubereiches. Es kann anschließend auch zu einem erneuten Anstieg des Fbg kommen. Seltener werden anfänglich

normale und erst später ansteigende Fbg-Werte beobachtet. Bei sehr wenigen Tieren bleibt die Fbg-Konzentration im Streubereich der Normalwerte.

2. Die initiale Fbg-Vermehrung fällt mit der Serumkonstellation der akuten Entzündung zusammen. Im späteren Stadium der subakut-chronischen Entzündung werden teils erhöhte, teils normale Fbg-Werte gemessen.

3. Tiere, bei denen im Verlaufe der Entzündung eine Amyloidose auftritt, zeigen gegenüber amyloidfreien Tieren keine signifikanten Unterschiede der Fbg-Konzentration.

4. Bei Tieren mit fehlender Fbg-Vermehrung ist die Wahrscheinlichkeit für einen Amyloidbefall sehr gering.

5. Zwischen dem relativen Milzgewicht und der Fbg-Konzentration besteht eine auffallend enge Korrelation, deren Deutung noch nicht möglich ist.

#### Literatur.

ALBRECHT, W.: Klin. Wschr. **1950**, 720. — GEBELEIN, H., u. H. J. HEITE: Statistische Urteilsbildung. Berlin: Springer 1951. — GEROK, W.: Z. physiol. Chem. **291**, 129 (1952). — Plasma **2**, 277 (1954). — GöSSNER, W., G. SCHNEIDER, M. SIESS u. H. STEGMANN: Virchows Arch. **320**, 326 (1951). — HEINLEIN, H.: Z. exper. Med. **112**, 535 (1943). — HELD, A., u. Ch. BEHR: Z. exper. Med. **95**, 104 (1935). — LETTERER, E.: Beitr. path. Anat. **75**, 549 (1926). — LETTERER, E., u. G. SCHNEIDER: Plasma **1**, 263 (1953). — OTT, H., u. G. SCHNEIDER: Z. exper. Med. **116**, 545 (1951). — SCHEURLEN, G.: Plasma **2**, 323 (1954). — SCHNEIDER, G.: Z. physiol. Chem. **283**, 112 (1948). — Virchows Arch. **317**, 26 (1949). — SCHULZ, F.: Das Fibrinogen. Leipzig: Georg Thieme 1953. — WUHRMANN, F., u. Ch. WUNDERLY: Die Bluteiweißkörper des Menschen, II. Aufl. Basel: Benno Schwabe 1952.

Dr. H. FENDEL, Städt. Krankenhaus, Eppstein (Taunus),  
Dr. W. GEROK, Medizinische Univ.-Klinik, Marburg (Lahn).

---