

Über die Zusammensetzung der Einlagerungen in verkalkten Aorten.

Von

M. Ph. F. Ameseder.

(Aus dem k. k. deutschen medizinisch-chemischen Universitätsinstitut zu Prag.)
(Der Redaktion zugegangen am 28. Dezember 1910.)

Die vorstehend beschriebenen Versuche des Herrn Dr. Selig haben ergeben, daß bei den Verkalkungen der Aorta die Hauptrolle dem Calciumphosphat zukommt, daß aber der Verkalkungsprozeß sich nicht auf die Deponierung von Calciumphosphat beschränkt, wie der gelegentliche Fund von Fettsäuren, anderseits von Carbonaten und von wechselnden Mengen von Magnesiumverbindungen erwies.

Ich habe die Fortsetzung dieser Versuche übernommen, und zwar mit besonderer Berücksichtigung der Fettsubstanzen. Für die Überlassung des Untersuchungsmaterials sind wir den Herren Professor R. Kretz und dem Assistenten des pathologisch-anatomischen Institutes, Dr. H. Rollett, zu besonderem Danke verpflichtet.

Die Präparation der Aorten erfolgte in gleicher Weise, wie sie Dr. Selig ausgeführt hatte: die Aorten wurden nach kurzer Einwirkung von 1^o wiger Sodalösung, bis eben das anhaftende Gewebe leicht abpräpariert werden konnte, von diesem befreit. Dann wurden aber die kalkreicheren Partien herausgeschnitten, mit Wasser gut gewaschen und zerkleinert.

I. Als erstes Untersuchungsobjekt diente eine zum Teil stark verkalkte Aorta eines 57-jährigen Mannes, die in Weingeist seit 1873 aufbewahrt worden war. Sie wurde mit Äther extrahiert, hierauf bei 60^o getrocknet. Der Äther hinterließ

einen zum geringen Teil fettigen, zum größten Teil in Blättchen, welche zu Drusen gruppiert waren, krystallisierenden Rückstand, die Cholestolprobe ausgezeichnet gab. Derselbe wurde durch wiederholtes Kochen mit heißem Weingeist von dem Fette befreit, der im Weingeist ungelöste Rückstand wog 0,472 g. Eine Probe davon erwies sich im polarisierten Lichte als doppelbrechend. Der Rückstand wurde mit alkoholischer Kalilauge verseift, vom Alkohol befreit, mit Petroläther extrahiert. Der in Petroläther unlösliche Teil wurde in Wasser gelöst, die Lösung wurde mit Salzsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Es blieb ein öliger Rückstand im Gewichte von 0,116 g, der in die Bleiverbindung übergeführt wurde. Die Bleiseife löste sich zum größten Teile in Äther.¹⁾

Das Gewicht der mit Äther behandelten trockenen Aorta betrug 40,15 g. Nun wurde sie mit 5%iger Salzsäure extrahiert, wobei ein geringfügiges Aufbrausen eintrat; das Extrakt, mit Äther ausgeschüttelt, hinterließ einen sehr geringen Rückstand vom Äther, der als eine Spur Fettsäure aufgefaßt wurde. Die Aorta wurde nach dieser Behandlung und nach dem reichlichen Auswaschen mit Wasser mitsamt dem Filter, durch welches die wässerigen Auszüge filtriert worden waren, mit Alkohol, dann mit Äther extrahiert. Nach dem Abdampfen dieser Lösungsmittel wurde der Rückstand davon in wasserfreiem Äther gelöst, die Lösung wurde verdunstet und der Rückstand getrocknet und gewogen. Sein Gewicht betrug 0,1125 g. Der Rückstand hatte eine bei Zimmertemperatur weiche Konsistenz, schmolz unscharf unter 40°, löste sich leicht in Weingeist. Zur Neutralisation verbrauchte die Lösung 3,62 ccm $\frac{1}{10}$ -Normallauge, was 0,1021 g Ölsäure entspräche.

Die wässerig-salzsäure Lösung wurde nach der Entfernung des gelösten Äthers und Eindampfen auf 100 ccm gestellt.

30 ccm gaben 0,7881 g CaO, nur Spuren von Mg. 10 ccm verbrauchten bei der Titration 38,6 ccm Uranlösung = 0,193 g

¹⁾ Über die Cholesterinsubstanzen der Aorten hat kürzlich Windaus (Diese Zeitschrift. Bd. LXVII. S. 175) ausführliche Resultate quantitativer Bestimmungen mitgeteilt.

P_2O_5 , 10 ccm gaben nach Woy gefällt und gewaschen, als Pyrophosphat gewogen, $0,3018 \text{ g } Mg_2P_2O_7 = 0,1924 \text{ g } P_2O_5$, auf die Gesamtmenge der Lösung bezogen $2,627 \text{ g } CaO$, $1,927 \text{ g } P_2O_5$.

Die Phosphorsäure wurde mit Uranylösung titriert, nachdem wir uns überzeugt hatten, daß diese Bestimmung keine beträchtliche Abweichung von den nach Woy-Finkener erhaltenen gewichtsanalytischen Werten gibt, also jedenfalls innerhalb der hier in Betracht kommenden Fehlergrenzen hinreichend genau ist. Nach Zusatz der entsprechenden Menge von essigsäurem Natrium und Essigsäure wurde Cochenilletinktur zugefügt, mit einer Urannitratlösung ($1 \text{ ccm} = 0,005 \text{ g } P_2O_5$) zuerst in der Kälte bis zum Farbenumschlag titriert, hierauf wurde erhitzt und die Titration nach dem Tüpfelverfahren mit Ferrocyankalium beendet. Zur Berechnung nach Woy-Finkener wurde der Faktor $0,03794$ benützt. Die Calcium- und Magnesiumbestimmung wurde in der üblichen Weise gewichtsanalytisch durchgeführt.

II. Aus der Aorta einer 66jährigen Frau (M. F., ulcus cruris, Erysipel, Arteriosklerose) wurden die verkalkten Partien ausgeschält; sie wurden zweimal mit Alkohol extrahiert, dieser wurde eingedampft, der Rückstand zur Alkoholfreiheit getrocknet und mit Petroläther extrahiert. Der Petroläther löste den Rückstand bis auf einen minimalen Rest auf.

Die isolierten Teile der Aorta wurden wiederholt mit Äther ausgekocht, dann bei 60° getrocknet. Ihr Trockengewicht betrug $16,756 \text{ g}$.

Diese Masse wurde fein zerkleinert (unter Äther), nach dem Verdunsten des Äthers mit 5%iger wässriger Salzsäure in einem Apparatchen zur Kohlensäurebestimmung behandelt (leider verunglückte die Kohlensäurebestimmung durch Zerbrechen der Chlorcalciumschlange; näherungsweise waren mehr als 4% CO_2 vorhanden), hierauf wurde mit 5%iger Salzsäure extrahiert. Der in Salzsäure ungelöste Teil und das Filter, durch welches die salzsauren Lösungen filtriert worden waren, wurden getrocknet, mit Äther aufgenommen, die Ätherextrakte wurden vereinigt. Sie hinterließen $0,1132 \text{ g}$ Rückstand von öligler Konsistenz, welcher zur Neutralisation $3,8 \text{ ccm } 1/10$ -Normallauge verbrauchte.

Die salzsaure wässrige Lösung wurde auf 500 ccm gestellt, davon dreimal je 20 ccm für Phosphorsäure genommen; verbraucht wurden im Mittel $35,8 \text{ ccm}$ Urannitrat ($1 \text{ ccm} = 0,005 \text{ g}$

P_2O_5), umgerechnet auf die Gesamtmenge: 4,475 g P_2O_5 (26,71% vom Trockengewicht).

Die gewichtsanalytische Bestimmung ergab in je 10 cm der von der Salzsäure befreiten salpetersauren Lösung nach Woy-Finkener a) 2,2137 g, b) 2,2189 g Ammoniumphosphormolybdat, was 0,08487 g P_2O_5 im Mittel, für die Gesamtmenge 4,2435 g P_2O_5 bedeutet (25,66% vom Trockengewicht).

20 cm gaben a) 0,2672 g, b) 0,2664 g CaO, für die Gesamtmenge 6,6700 g oder 39,881% CaO, 0,0090 g $Mg_2P_2O_7$ entspr. 0,00324 g MgO, für die Gesamtmenge 0,081 g oder 0,48% MgO.

III. Aorta einer 64-jährigen Frau (S. A.) nicht verkalkt, wurde nach dem Freipräparieren vom anhängenden Gewebe ohne Auswahl verwendet.

Das Trockenmaterial wog 5,98 g. An Fettsäuren wurden erhalten 0,1747 g (2,921%). Die Veraschung gab 0,2332 g (3,904%) Asche, die in Salzsäure sich vollkommen löste. Ein Drittel der Lösung verbrauchte 2,7 cm Uranlösung, ein Drittel gab 0,0153 g CaO und 0,0077 g $Mg_2P_2O_7$ entsprechen 0,00278 g MgO; in Prozenten des Aschengehaltes: 17,46% P_2O_5 , 19,68% CaO, 3,58% MgO.

Zum Nachweis der Seifen wurde in diesem und in den folgenden Fällen die zerkleinerte und getrocknete Aorta mit 85% Weingeist, der 1% Schwefelsäure enthielt, bei Zimmertemperatur extrahiert, das Extrakt wurde filtriert, der Rückstand mit 85%igem Weingeist nachgewaschen. Das neutralisierte Extrakt wurde mit viel Wasser vermischt, filtriert, das Filtrat wurde mit Salzsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Der Rückstand vom Äther wurde getrocknet, mit reinem Äther aufgenommen, bei 110° getrocknet und gewogen. Er reagierte auf Lackmus stark sauer und gab in allen Fällen nur minimale Cholestolreaktionen. Zur weiteren Untersuchung wurde das gewonnene Material vereinigt.

Der ungelöste Rückstand von den Weingeist-Schwefelsäureextraktionen wurde getrocknet, verkohlt, die Kohle wurde zuerst mit Wasser, dann mit verdünnter Salzsäure extrahiert, mit Wasser säurefrei gewaschen, hierauf vollständig verascht, die Asche wurde in Salzsäure gelöst und mit den erstgewonnenen Lösungen vereinigt. Die Lösungen wurden eingedampft und gestellt, ein Drittel davon zur Phosphorsäurebestimmung, ein Drittel für Calcium und Magnesium verwendet.

IV. Zur Ergänzung wurden einige Bestimmungen an den von Herrn Dr. Selig verarbeiteten Aorten durchgeführt (vgl.

die Tabelle in der vorhergehenden Mitteilung), die Phosphorsäure wurde nur titriert.

a) 50jährige Frau (P. K.) 2,75 g Trockengewicht der Aorta gab 0,0272 g Fettsäuren (0,99 %), 1,57 % Asche mit 48,26 % P_2O_5 , 46,78 % CaO, 0,53 % MgO.

b) 51jähriger Mann (N. F.) 10,30 g Trockengewicht gab 0,2668 g Fettsäuren (2,69 %), 6,366 % Asche, davon 18,06 % P_2O_5 , 18,39 % CaO, 5,12 % MgO.

c) 54jähriger Mann (S. W.) 1,84 g Trockengewicht gab 0,036 g Fettsäuren (1,96 %), 1,55 % Asche, davon 37,87 % CaO.

d) 47jährige Frau (D. A.), normale Aorta. 1,80 g Trockengewicht gab 0,018 g Fettsäuren (1,0 %), 3,965 % Asche mit 37,83 % P_2O_5 , 51,18 % CaO, 0,64 % MgO.

e) 72jährige Frau (K. J.) 3,90 g Trockengewicht gab 0,0632 g Fettsäuren (1,59 %), 5,492 % Asche, davon 24,51 % P_2O_5 , 29,85 % CaO, 4,44 % MgO.

Bei den unter III. und IV. angeführten Werten muß berücksichtigt werden, daß eventuell vorhandener, organisch gebundener Phosphor nach der Veraschung als P_2O_5 mitbestimmt wurde. Zu den daselbst als Fettsäuren angeführten Substanzen ist zu bemerken, daß sie kleine Mengen von Neutralfett und von Cholesterin enthielten. Da in allen Fällen gleichartig gearbeitet wurde, muß die Verunreinigung wohl überall annähernd dieselbe sein, so daß die Zahlen als Vergleichswerte verwendet werden können.

0,487 g vereinigte Rohfettsäuren wurden nach Kumagawa-Suto (S. 339 und 340)¹⁾ behandelt, es wurden an reinen Fettsäuren 0,437 g erhalten. Demnach dürfte die Verunreinigung der Fettsäuren auf 10—15 % des mitgeteilten Gesamtgewichtes zu schätzen sein. Die Fettsäuren waren bei Zimmertemperatur von halbflüssiger Konsistenz, durch Extraktion der Bleiseifen mit Äther wurden die festen Fettsäuren isoliert. Das Gewicht der festen Fettsäuren betrug 0,153 g (Schmelzp. ca. 52°).

Die von den Fällen Seligs: P. K. 50jährige Frau; S. W. 54jähriger Mann; K. A. 72jährige Frau, erhaltenen, als Gesamt-

¹⁾ Biochemische Zeitschrift, Bd. VIII.

fett nach Kumagawa-Sutos Methode isolierten Massen im Gewicht von 1,0846 g wurden nach der von diesen Autoren angegebenen Methode (S. 339) auf unverseifbare Bestandteile untersucht. Es wurden davon 0,3098 g (28,56%) erhalten, sie waren hellgelb, hart, auf dem Wasserbade nicht schmelzend, beim Umkrystallisieren wurden schöne Cholesterintafeln erhalten. Die festen Fettsäuren wurden als ätherunlösliche Bleiseifen isoliert; gewonnen wurden aus diesen Bleiseifen 0,1562 g (14,4%) feste Fettsäuren, die bei 51° schmolzen.

Andere Versuche, die auf Grund der gewonnenen Erfahrungen genauere Werte und eine möglichst vollständige Durchuntersuchung einiger typischer Aorten ergeben sollen, sind im Gange. Zur Orientierung dürfte das vorliegende Material jedoch schon hinreichen.