

(Aus der Biochemischen Abteilung [Vorstand: Prof. Dr. S. Salaskin] und der Pathologisch-anatomischen [Vorstand: Prof. Dr. N. Anitschkow] des Staats-instituts für experimentelle Medizin in Leningrad.)

Zur Frage nach dem Kalkgehalt der Arterienwandungen.

Von

Dr. Margarete Hesse.

(Eingegangen am 28. März 1928.)

Kalkablagerungen in der Arterienwand werden bekanntlich in der Intima sowie in der Media beobachtet. Im ersten Falle handelt es sich um eine sekundäre Ablagerung von Kalksalzen in einer atherosklerotisch veränderten Intima, wobei dieser Vorgang in denjenigen Arterien besonders stark ausgeprägt ist, die am meisten von der Atherosklerose befallen werden.

Im zweiten Falle haben wir es mit einer primären Ablagerung von Kalksalzen in der Arterienmedia zu tun, wobei es meistens nicht gelingt, irgend welche morphologische Veränderungen in dieser Schicht festzustellen, die der Kalkablagerung vorangegangen wären. Diese Mediaverkalkung wird, bekanntlich, vorzugsweise in den Arterien vom muskulären Typus, besonders an den unteren Gliedmaßen, beobachtet. Jedoch finden sich im Schrifttum vereinzelte Angaben über derartige Ablagerungen auch in der Aorta.

In der vorliegenden Arbeit beschäftigt mich nur die Mediaverkalkung der Arterienwand.

Ribbert und *Faber* weisen im Schrifttum auf die Häufigkeit der Ablagerung von Kalksalzen in der Aortenmedia hin, und *Faber* betont es besonders, daß vom 20. Lebensjahr an die Aortenwand — mit Ausnahme der Beckenarterien — am häufigsten verkalkt.

Diese Angaben entsprechen jedoch nicht dem Eindruck, den ich von der Durchsicht einer großen Anzahl von Präparaten, die nach den üblichen Methoden gefärbt waren, davongetragen habe.

Angesichts der Wichtigkeit dieser Frage für das genauere Verständnis der Mediaverkalkung war es wünschenswert, parallele Untersuchungen über die Menge der sowohl in der Aorta als auch in den peripheren Arterien abgelagerten Kalksalze vorzunehmen.

Die angeführten Hinweise von *Ribbert* und *Faber* stützen sich auf morphologische Untersuchungen von Aorten mit Anwendung der ge-

wöhnlich üblichen Methoden zum Nachweis von Kalk in Schnitten (Färbung mit Hämatoxylin, Reaktion nach *v. Kossá*).

Leider muß festgestellt werden, daß wir bisher noch keine völlig exakte Methode sogar der qualitativen Bestimmung von Kalk in Schnitten haben. Auch die von *Ravault* vorgeschlagene Methode gibt uns nur eine annähernde Vorstellung von der Verteilung des Calciums in der Arterienwand, ist aber zur genaueren Mengenbestimmung der Kalksalze nicht geeignet.

Die blau-violette Färbung durch Hämatoxylin ist, bekanntlich, nicht spezifisch für Kalk; dieselbe Färbung nehmen die betreffenden Bezirke auch nach der Entkalkung an. Andererseits färben sich gröbere kristallinische Kalkablagerungen bekanntlich nicht durch Hämatoxylin (*Aschoff*). Hieraus geht hervor, daß das Hämatoxylin die Substanz färbt, an die der Kalk gebunden ist, nicht aber dieser selbst. Bei der Untersuchung von Schnitten mit einem sehr geringen Kalkgehalt ist diese Färbung gleichfalls unbequem, da die feinsten Kalkkörnchen der Aufmerksamkeit entgehen können; auch die Verkalkung der ganz feinen elastischen Fasern läßt sich nach *Huebschmann* nicht durch Hämatoxylin nachweisen.

Als zuverlässigste Methode des Kalknachweises in Geweben gilt die von *v. Kossá* vorgeschlagene mikrochemische Reaktion mit Argentum nitricum. Jedoch auch diese Methode des Kalknachweises kann nicht als völlig genau bezeichnet werden. Vor allem handelt es sich hier, wie auch *v. Kossá* selbst sagt, nicht um eine Reaktion auf das Calcium sondern auf Phosphorsäure, an die der Kalk meist gebunden ist. Einerseits treffen wir nun aber der Kalk in den Geweben auch in Form von Carbonaten an, und andererseits können, außer dem Kalk, wohl auch andere Stoffe Phosphorverbindungen geben. Hierdurch erklärt es sich, daß die für die Lapis-Licht-Reaktion charakteristische schwarze Körnelung nicht dem tatsächlichen Kalkgehalt entspricht. *v. Kossá* selbst sagt, daß die besonders starke Schwarzfärbung einiger Kalkzylinder in den Nieren aller Wahrscheinlichkeit nach von ihrem größeren Eiweißgehalt abhängt. Fernerhin fällt die Lapis-Licht-Reaktion mit kristallinem Kalk gleichfalls negativ aus. Außerdem ist bei der Anwendung der *v. Kossáschen* Reaktion eine genaue Lokalisation der Kalkablagerungen nicht möglich. Aus allem eben Angeführten geht hervor, daß das Anwendungsgebiet der *v. Kossáschen* Reaktion ein beschränktes ist. Eine genaue Mengenbestimmung des Kalkgehaltes in den Geweben ist also nur auf chemischem Wege möglich.

Der chemischen Untersuchungsmethode haben sich in der Tat einige Autoren bei der Bestimmung des Kalkgehaltes in der Aorta bedient. Jedoch wurde hierbei meist der Zweck verfolgt, die chemische Zu-

sammensetzung der Kalkablagerungen in der Arterienwand festzustellen, die Frage aber gar nicht berührt, ob es sich im gegebenen Falle um Atherosklerose oder aber um eine Mediaverkalkung handelte. Außerdem untersuchten diese Forscher (*Selig, Ameseter, Gazert*) nur Aorten; die peripheren Arterien vom muskulären Typus sind, soviel ich weiß, bisher nicht auf die Menge ihres Kalkgehaltes hin untersucht worden.

Dank den eben erwähnten Untersuchungen hat es sich herausgestellt, daß die chemische Zusammensetzung der pathologischen Kalkablagerungen und des Knochenkalkes dieselbe ist, d. h., daß wir es in beiden Fällen mit 85—90% Phosphaten und mit 10—15% Carbonaten zu tun haben (besonders *Wells* und seine Schüler, *Selig* und auch *Faber* u. a.). Die Fettsäureverbindungen des Calciums stellen nur ein Übergangsstadium dar (*Wells, Klotz*); sie gehen bald gleichfalls in phosphorsaure und kohlensaure Verbindungen über.

Auf Grund alles eben Gesagten erschien es notwendig, einige Fragen genauer zu klären, die mit dem Kalkgehalt in den Arterienwandungen zusammenhängen, besonders in den Fällen mit Kalkablagerungen. Hierher gehört vor allem die Frage, ob in der Aortawand überhaupt unabhängig von der Atherosklerose Kalkablagerungen vorkommen, wie bedeutend diese gegebenenfalls sein können, wie sie sich zu diesem oder jenem Grad der Mediaverkalkung der peripheren Arterien verhalten, und endlich die Frage nach der Einwirkung des Alters auf den Gehalt an Calciumsalzen in der Media.

Zwecks Klärung all dieser Fragen habe ich chemische Analysen der Arterien von Personen im Alter von 1 Jahr 7 Monaten bis zu 56 Jahren vorgenommen.

Bei meinen Untersuchungen bediente ich mich der Aorta als einer Arterie vom elastischen Typus und der Arteria femoralis als einer Arterie vom muskulären Typus. Hierbei wählte ich nur Arterien ohne sichtbare atherosklerotische Veränderungen oder nur mit einem sehr geringen Grad derselben. Wenn sich vereinzelte atherosklerotische Platten fanden, wurden sie sorgfältig ausgeschnitten, ebenso wie auch stets alle Abgangsstellen der größeren Seitenäste und die Narbe des Ductus Botalli.

Die bei der Sektion frisch entnommenen Arterien wurden möglichst sorgfältig von dem Bindegewebe und Blut gereinigt, in kleine Stückchen zerschnitten und getrocknet. Darauf wurden sie im Mörser zu Pulver zerrieben, bei einer Temperatur von 105—110° bis zum konstanten Gewicht getrocknet, wonach sie im Tiegel auf trockenem Wege verascht wurden. Darauf wurde die Asche in Salzsäure gelöst und das Calcium als oxalsäures Salz gefällt. Dieses ging beim nachfolgenden Durchglühen in CaO über. Das letztere wurde gewogen und so das prozentuale Verhältnis des CaO zur Trockensubstanz der betreffenden Arterie festgestellt. In allen Fällen wurden mindestens 2 Untersuchungen jeder Arterie vorgenommen. Bei der Analyse der Arterien kleiner Kinder wurden gleichzeitig mehrere gleichnamige Arterien untersucht, da hier sowohl die Menge der Trockensubstanz als auch die des Calciums sehr gering war und folglich die Fehlergrenzen und -möglichkeiten zu groß waren.

In den meisten Fällen wurden mehrere Abschnitte aus verschiedenen Stellen der Arterien parallel auch noch mikroskopisch untersucht, um die genaue Lokalisation der Kalkablagerungen in den Wandungen festzustellen.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen sind auf der Tabelle angeführt.

Vergleicht man das Verhältnis der Kalkmenge zu der Trockensubstanz der Aorten auf den verschiedenen Altersstufen, so fällt vor allem eine ständige und recht bedeutende Zunahme des CaO auf. So kann sich, wie aus meinem Material zu ersehen ist, der Calciumgehalt zum 15.—26. Lebensjahr verdoppeln, zum 34. Jahre verdreifachen, während die weitere Zunahme anscheinend sehr bedeutenden individuellen Schwankungen unterworfen ist. Der größte Kalkgehalt entsprach an meinem Material 0,93 % der Trockensubstanz. Die von *Selig* angegebenen wesentlich höheren Ziffern beziehen sich schon auf Aorten mit einer sekundären Verkalkung atherosklerotischer Platten, bei der ja, bekanntlich, manchmal besonders die Bauchaorta gleichsam in ein Kalkrohr verwandelt werden kann.

Die Zunahme des Kalkgehaltes in der Art. femoralis mit zunehmendem Alter ist noch deutlicher ausgesprochen als in der Aorta, und hier treten die individuellen pathologischen Abweichungen, besonders im höheren Alter, noch klarer zu Tage. Dieses trifft besonders in den Fällen zu, wo schon eine makroskopisch sichtbare Verkalkung vorhanden ist.

Im allgemeinen ist also auf Grund meines Materials in der Trockensubstanz der Aorta eines erwachsenen Menschen 4—6 mal mehr CaO enthalten, als in der Aorta eines 2jähr. Kindes, in der Art. femoralis des Erwachsenen aber bis zu fast 20 mal soviel als beim Kinde.

Ob nun die letzte, zum Tode führende Krankheit irgend eine Wirkung auf diese individuellen Schwankungen ausübt, ist natürlich schwer, an meinem Material zu entscheiden. Jedoch gewinnt man den Eindruck, daß den akuten Infektionen wohl kaum eine so bedeutende Rolle zuzuschreiben ist, wie *Faber* anzunehmen geneigt ist.

Wenn wir nun die mittleren Prozentzahlen für den CaO-Gehalt der Aorta mit denen der Art. femoralis desselben Falles vergleichen, so können wir feststellen, daß diese Zahlen bei kleinen Kindern einander sehr nahe stehen, mit einem geringen Übergewicht zugunsten der Art. femoralis. Jedoch schon vom 5.—6. Lebensjahr an läßt sich an meinem Material ein bedeutendes Übergewicht des Kalkgehaltes in der Art. femoralis im Vergleich mit der Aorta beobachten. Dieses Übergewicht tritt mit dem zunehmenden Alter noch deutlicher hervor, und in einzelnen Fällen kann die Kalkmenge in der Art. femoralis diejenige in der Aorta um das etwa dreifache übersteigen. Das Übergewicht des Kalkgehaltes in der Art. femoralis nimmt jedoch nicht gleichmäßig zu, und hier lassen sich ebenfalls recht bedeutende Schwankungen

CaO-Gehalt in der

Alter	Ge- schlecht	Diagnose	Aorta			
			Menge der Trocken- substanz	CaO-Menge	Gehalt des CaO in der Trockensub- stanz in %	Durch- schnitt in %
1 J. 7 Mon.	m.	Meningitis tuberkulosa				
2 J. 10 Mon.	m.	Meningitis tuberkulosa	1,5994	0,0024	0,150	
2 J.	w.	Empyema	1,1696	0,0018	0,154	0,152
4 J.	w.	Scarlatina	0,3890	0,0006	0,154	
3 J. 6 Mon.	m.	Bronchopneumonia	0,6396	0,0010	0,156	
3 J. 8 Mon.	m.	Scarlatina	0,3986	0,00065	0,163	0,158
5 J.	m.	Meningitis tuberkulosa				
5 J.	w.	Scarlatina	1,0786	0,0018	0,167	
6 J.	m.	Dysenteria	0,7250	0,0012	0,165	0,166
15 J.	m.	Vitium cord. et Broncho- pneumonia	2,3296	0,0052	0,222	
			2,1798	0,0046	0,211	0,2165
15 J.	w.	Tuberkulosis generalis.	0,7696	0,0026	0,337	
			1,4924	0,0052	0,348	0,3425
26 J.	m.	Typhus abdom. Periton. perfor.	3,4894	0,0103	0,295	
			3,0270	0,0094	0,310	0,3025
34 J.	m.	Tuberkulosis pulmon.	1,8838	0,0088	0,466	
			1,5068	0,0076	0,504	0,485
42 J.	m.	Tuberkulosis pulmon. et empyema	1,0544	0,0053	0,503	
			1,3176	0,0072	0,546	0,5245
47 J.	m.	Pneumonia croup.	1,6100	0,0146	0,906	
			1,5634	0,0150	0,959	0,9325
52 J.	w.	Parkinsonismus p. enceph. letar.	0,7688	0,00625	0,813	
			0,4814	0,0040	0,831	0,822
56 J.	w.	Carcinoma ovarii	3,2490	0,195	0,600	
			2,6560	0,0156	0,587	0,5935

Arterienwandung.

Mikroskopischer Befund	Art. femoralis				Mikroskopischer Befund
	Menge der Trocken- substanz	CaO-Menge	Gehalt des CaO in der Trocken- substanz in %	Durch- schnitt in %	
—	0,1228 0,2538	0,0002 0,0004	0,162 0,157	0,1595	—
—	0,2648 0,3080	0,0005 0,0006	0,188 0,194	0,191	—
—	0,4168 0,3734	0,0009 0,0008	0,215 0,214	0,2145	—
Hämat.: } Kein Kalk Kossá: }	0,4604	0,0032	0,673	0,673	Hämat.: Ganz gering. Kalkmeng. Kossá: Geringe Kalkmengen
Hämat.: Kein Kalk	0,4208	0,0026	0,617	0,609	Hämat.: Vereinz. Kalkkristalle an der l. elast. int. Kossá: Etwas mehr Kalk an der l. elast. int.
Kossá: Vereinzelte Körn- chen an der l. elast. int.	0,1997	0,0012	0,601	0,378	Hämat.: Ganz geringe Kalkmen- gen an der l. elast. int. Kossá: Etwas mehr Kalk
Hämat.: } ganz geringe Be- stäubung der ela- stischen Fasern Kossá: }	1,0918 0,6144	0,0040 0,0024	0,366 0,390	0,700	Hämat.: Geringe Kalkmengen Kossá: Etwas mehr schwarze Körnchen
Hämat.: } Ganz geringe Kossá: } Mengen Kalk	0,4802 0,1962	0,0032 0,0014	0,687 0,713	0,700	Hämat.: Sehr geringe Kalk- mengen Kossá: Wenig Kalk an der l. elast. int.
Hämat.: Hier und da ge- ringe Mengen Kossá: Geringe Mengen	0,2162 0,2721	0,0015 0,0020	0,693 0,716	0,7045	Hämat.: Zahlreiche kristallische Kalkherde Kossá: Sehr bedeutende Kalk- mengen
Hämat.: Diffuse Färbung und körnige Ablagerung Kossá: Zahlreiche schwarze Körnchen	0,8508 0,6821	0,0246 0,0194	2,891 2,844	2,8675	—
Hämat.: Stellenweise dif- fuse Färbung Kossá: Geringe Verkalkung	0,5658 0,5270	0,0112 0,0098	1,979 1,859	1,969	Hämat.: Kalk vorzugsweise an der l. elast. int. Kossá: Große Kalkherde

beobachteten. Die stärkeren Schwankungen hängen von einer pathologischen Mediaverkalkung in der Art. femoralis ab.

Zwecks Vergleiches der Ergebnisse meiner chemischen Analysen mit denen der gewöhnlich in der Histologie zum Kalknachweis verwandten Methoden führte ich in den meisten Fällen die Färbung der Schnitte mit *Böhmerschem Hämatoxylin* und die Reaktion nach *v. Kossá* aus.

Diese beiden Methoden ergaben an meinem Material einen nicht sehr bedeutenden Unterschied in dem Sinne, daß die nach *v. Kossá* bestimmte Kalkmenge etwas die übertraf, die durch das Hämatoxylin sichtbar wurde. In manchen Fällen ergab das Hämatoxylin nur eine diffuse bläuliche Färbung, ohne körnige Kalkablagerungen, während nach der Einwirkung des Argentum nitricum an den entsprechenden Stellen ziemlich viele charakteristische schwarze Körnchen zu sehen waren. Im allgemeinen erhält man bei einem Gehalt von etwa 0,3 bis 0,6% CaO in der Trockensubstanz der Arterienwand sowohl bei der Reaktion nach *v. Kossá* als auch bei der Hämatoxylinfärbung das Bild einer unbedeutenden Verkalkung, die vorzugsweise an der lam. elastica int. lokalisiert ist. Wenn dagegen durch die Hämatoxylinfärbung oder nach *v. Kossá* eine bedeutende Kalkablagerung festgestellt wird, so entspricht diese schon einem wesentlich höheren prozentualen Kalkgehalt der Arterienwandung.

Nach dem makroskopischen Aussehen einer Arterie kann man nicht immer auf das Fehlen von Kalkablagerungen in ihr schließen (s. auch *Faber*). So war, z. B., an meinem Material die Art. femoralis einer 56jähr. Frau sehr derb, knirschte beim Zerschneiden, aber makroskopisch waren keine Kalkherde zu sehen. Die chemische Analyse ergab jedoch in diesem Gefäß einen überaus hohen Kalkgehalt und zwar 2% des Trockengewichtes. In einem anderen Falle, wo die Art. femoralis makroskopisch das Aussehen einer Gänsegurgel hatte, betrug der Kalkgehalt 2,89%.

Die von mir festgestellten Ziffern haben anscheinend nicht nur eine bedingte Bedeutung, sondern entsprechen dem tatsächlichen Kalkgehalt, da auch andere Untersucher (*Gazert, Selig, Ameseter*), die gleichfalls auf chemischem Wege Mengenbestimmungen des Kalkgehaltes der Aortenwand vornahmen, ähnliche Ziffern erhielten. So beträgt nach *Gazert* der mittlere Kalkgehalt der „normalen“ Aorta bei Personen von 17—38 Jahren 0,43% (von 0,25—0,67%) des Trockengewichtes, in „schwer veränderten“ Aorten (sekundäre Verkalkung atherosklerotischer Platten?) bei zwei Personen von 74 und 70 Jahren 6,51 und 8,79%. *Ameseter* stellt bei Personen von 47—84 Jahren einen mittleren Kalkgehalt von etwa 0,5% in der Aorta fest. Bei *Selig* finden wir folgende Zahlen:

56jähriger Mann . . .	0,595 % CaO	Aorta ohne besondere Veränderungen
55 " . . .	0,476 % "	
41 " Frau . . .	0,926 % "	

Makroskopisch schwere Verkalkung (Atherosklerose mit sekundärer Verkalkung ?)

Aus meinem Material ist zu ersehen, daß die Kalkmenge in normalen, nicht veränderten Arterien noch vor dem Auftreten von körnigen Kalkablagerungen, wenn morphologisch noch keine Ablagerungen vorhanden sind, mit dem zunehmenden Alter gleichfalls zunimmt, sowohl in der Aorta, als auch ganz besonders in der Art. femoralis.

Dieser Umstand weist darauf hin, daß besonders in den Arterien vom muskulären Typus, jedoch auch in denen vom elastischen Typus, Stoffe vorhanden sind, welche als „Kalkfänger“ wirken. Hier in der Gefäßwand sammelt sich mit der Zeit immer mehr Kalk an, ebenso wie im Knorpel.

Dieser Vorgang weist jedoch individuelle Unterschiede auf und kann in einzelnen Fällen so stark ausgeprägt sein, daß es zu einer Ablagerung körniger Kalkteilchen kommt. Dieses äußert sich bei der chemischen Untersuchung in einer bedeutenden Erhöhung des Kalkgehaltes und bei der morphologischen Untersuchung im Auftreten von körnigen Kalkablagerungen.

Die Kalkablagerung in der Arterienmedia beginnt meist ohne gleichzeitige Anzeichen einer morphologischen Veränderung der Zellen dieser Wandschicht (Huebschmann, Hesse). Hierdurch unterscheidet sich dieser Vorgang grundsätzlich von der sekundären Verkalkung atherosklerotischer Platten, sowie auch von der Verkalkung der verschiedensten nekrotischen Herde und stellt somit eine besondere Gruppe dar, die der Verkalkung der Knorpelgrundsubstanz näher steht.

Es fragt sich nun, welches die Stoffe sind, die in der Gefäßwand ebenso wie im Knorpel als „Kalkfänger“ auftreten ? Aller Wahrscheinlichkeit nach ist anzunehmen, daß die Hauptrolle hierbei der Zwischensubstanz zufällt, in welcher stets — wie die morphologischen Untersuchungen lehren — die Kalkablagerung erfolgt (Hesse, auch Pfaundler).

Für das Zustandekommen der pathologischen Arterienverkalkung ist nicht die Menge der Zwischensubstanz wichtig — diese ist in der Aorta stets reichlicher vorhanden —, sondern, neben den von anderen Forschern hervorgehobenen Einflüssen, wahrscheinlich auch gewisse physiko-chemische Eigenschaften bzw. Veränderungen dieser Substanz, dank denen ihre kalkbindende Fähigkeit erhöht wird.

Das Ergebnis meiner Untersuchungen ist somit die Feststellung der Tatsache, daß die Kalkmenge sowohl in der Aorta als auch in der Art. femoralis — auch bei morphologisch unveränderter Arterienwand — mit dem fortschreitenden Alter ständig zunimmt. Hierbei ist in der Art. femoralis stets mehr Kalk vorhanden als in der Aorta, und die Mengenzunahme ist in der Art. femoralis eine bedeutendere. In den einzelnen

Fällen lassen sich jedoch starke individuelle Schwankungen in Form von bedeutend erhöhtem Kalkgehalt beobachten, wobei morphologisch Kalkablagerungen in der Media festzustellen sind. Diese Zunahme der Kalkablagerung findet sowohl in der Art. femoralis als auch in der Aorta statt, in dieser jedoch stets in wesentlich geringerem Grade.

Literaturverzeichnis.

- Ameseter*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **70**, 6. 1910/11. — *Aschoff*, Ergebnisse **8**. 1904. — *Faber*, Die Arteriosklerose. Jena: Fischer 1912. — *Gazert*, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **62**. 1899. — *Hesse*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **249**. 1924. — *Huebschmann*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **39**. 1906. — *Klotz*, Journ. of exp. med. 1906. — *Kossá, v.*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **29**. 1901. — *Pfaundler*, Jahrb. f. Kinderheilk. **10**. 1904. — *Ravault*, Bulletin d'histologie appliquée a la physiologie et a la pathologie et de technique microscopique. Lyon. T. V. Nr. I. 1928. — *Ribbert*, Sitzungsber. d. Niederrhein. Ges. f. Natur- u. Heilkunde zu Bonn, 1911 (zit. nach Faber). — *Selig*, Kongr. f. inn. Med. 1908, S. 1019. — *Solowjew*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **241**. 1923. — *Wells*, Calcification und Ossification. Chicago 1911.
-