

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Halle-Wittenberg
[Direktor: Prof. Dr. P. Schmidt].)

Untersuchungen über den Bleigehalt der menschlichen Knochen.

Von
Dr. E. Barth,
Privatdozent.

(Eingegangen am 27. Januar 1931.)

In den letzten Jahren hat die Erforschung der Bleivergiftung im Vordergrund der Beachtung gestanden. Zahlreiche Forscher haben in ihren Arbeiten das Wesen der Bleivergiftung und die Verteilung des Bleis im menschlichen und tierischen Körper bei experimenteller und natürlicher Vergiftung untersucht. Dies war natürlich erst möglich, nachdem es gelungen war, Mikromethoden auszuarbeiten, mit denen die in praxi in Betracht kommenden kleinen Bleimengen mit ausreichender Genauigkeit nachgewiesen werden können. Eine solche Methode ist bekanntlich von P. Schmidt und seinen Mitarbeitern (*Klostermann, Necke, Seiser, Müller*) angegeben worden ^{1, 2, 3, 4}. Mit ihr können Bleimengen zwischen 0,02 und 0,3 mg mit genügender Sicherheit nachgewiesen werden.

P. Schmidt und seine Schule haben in zahlreichen Untersuchungen die bei Bleikranken in Blut und Harn vorkommenden Bleimengen bestimmt und auch ausreichend genaue Grenzwerte für Gesunde und Bleikranke gefunden. Dagegen war es wegen der zu geringen Zahl der an ihrer Bleikrankheit verstorbenen Personen noch nicht möglich, die bei Bleikranken in den inneren Organen, vor allem in Leber, Milz, Nieren und Knochen gespeicherten Bleimengen zu bestimmen.

Selbstverständlich wird in unserem Institut alles erreichbare, geeignete Material gesammelt und untersucht und das Ergebnis zu gegebener Zeit veröffentlicht werden. Inzwischen schien es notwendig, einmal eine große Reihe von Organen von Personen, die bestimmt niemals bleikrank gewesen waren, und die auch mit allergrößter Wahrscheinlichkeit während ihres ganzen Lebens nicht Bleiarbeit ausgeführt hatten, auf ihren

Bleigehalt zu untersuchen, um so einen Anhalt dafür zu bekommen, ob gesunde Personen überhaupt nennenswerte Bleimengen in ihren Organen haben. Wir haben mit den Knochen begonnen. Der Veröffentlichung der dabei von uns gewonnenen Ergebnisse dient diese Studie. In jüngster Zeit hat *Weyrauch*⁵ in einer Arbeit über die Aufnahme des Bleis und seine Verteilung im Organismus bei experimenteller Vergiftung die Leistungsfähigkeit der Methode für Organe und Knochen vom jungen Kaninchen bestimmt. Nach seinen Befunden beträgt der Normalwert für Kaninchenorgane nur etwa 0,02 mg, beim Knochen setzt er den Nullwert höher, erst von 0,04 mg an seien hier die Werte genau genug zur Umrechnung auf größere Mengen Frisch- oder Trockensubstanz.

Die benötigten Menschenknochen wurden uns durch die Liebenswürdigkeit des pathologischen Institutes zur Verfügung gestellt.

Im ganzen sind die Knochen von 30 Erwachsenen und 10 Säuglingen im Alter von einem Tag bis 4 Monaten untersucht worden. Wir haben stets Röhrenknochen (Epiphyse und Diaphyse getrennt und nach Entfernung des Fettmarks) platte Knochen und Knochenmark verarbeitet. Als Röhrenknochen haben wir den Oberschenkel verwendet, als platte Knochen stets eine Reihe von in der Mitte durchgesägten Wirbelkörpern, aus denen wir das rote Mark so sorgfältig wie möglich herauskratzten und gesondert verarbeiteten. Nur bei den Säuglingsknochen haben wir platte Knochen und Mark nicht getrennt. Auch mußten hier, um genügend große Mengen Knochenasche zu erhalten, die Diaphysen-Epiphysen- oder platten Knochenstücke von 2 oder 3 Säuglingen gemeinsam verarbeitet werden. Selbstverständlich war es mit dieser etwas rohen Methode des Herauskratzens des Markes mit dem scharfen Löffel nicht möglich, die Wirbelkörper völlig vom roten Mark zu befreien, ebenso wie das rote Mark stets noch Reste von Knochenbälkchen enthielt. Außer den Säuglingen haben wir absichtlich Menschen aus zwei Altersgruppen untersucht, und zwar jüngere Leute zwischen 20 und 40 Jahren (12) und ältere Leute zwischen 50 und 80 Jahren (16). Nur zwei Personen waren 45 und 46 Jahre alt. Zehn von den Erwachsenen hatten auf dem Lande in Orten ohne zentrale Wasserversorgung gewohnt; die übrigen 20 waren Stadtbewohner.

Als Methode wurde die von *Necke*, *Müller* und *Weyrauch* für Knochenanalysen etwas abgeänderte Originalmethode angewendet, die hier noch einmal geschildert sei:

Die Knochen werden möglichst sauber vom Fleisch befreit, abgewaschen, in Duranglasschalen über Nacht bei mindestens 120° im Heißluftschränk getrocknet und anschließend im Muffelofen bei etwa 500° verascht (7—10 Stunden); 3 oder 6 g der Knochenasche, die fein verrieben ist, werden nun zunächst durch Aufkochen mit etwa 20 ccm konzentrierter Salpetersäure und gleicher Menge Aqu. dest. gelöst. Nach Wasserzusatz bis etwa 750 ccm wird Ammoniak hinzugegeben, bis die Lösung neutral oder ganz schwach alkalisch gegen Methylorangepapier reagiert. Nach Zugabe von etwa 3 ccm 50% Essigsäure und Prüfung auf schwache

Säuerung mit Methylorangeerpapier werden 25 ccm einer gesättigten Kaliumoxalatlösung unter Umrühren hinzugefügt. Zur vollständigen Fällung und Sedimentierung bleibt die Flüssigkeit dann über Nacht stehen. Am nächsten Tage wird dekantiert und der Bodensatz kurz aufgekocht. Dadurch wird er körnig und filtriert sich so besser durch einen mit Asbest beschickten *Gooch*-Tiegel. Es hat sich uns bewährt, während der Filtration die zu filtrierende Flüssigkeit immer erneut anzuwärmen, da dadurch die Filtrationszeit etwas verkürzt wird. Im Tiegel wird dann der Filterrückstand über Nacht bei 120° getrocknet. Danach wird der Tiegel im elektrischen Muffelofen etwa 4 Stunden lang einer Temperatur von 450—500° ausgesetzt und der gegliederte Niederschlag vorsichtig (Gefahr des Aufschäumens) mit warmer 20% Salpetersäure aus dem Tiegel gelöst, in die Absaugevorrichtung hineingesogen und gut mit Aqu. dest. nachgewaschen. Dann wird in einen Fällungskolben übergespült, 10—15 mg Kupfer als Sulfat (5 ccm unserer Lösung) zugesetzt, mit Ammoniak neutralisiert und Schwefelwasserstoff über Nacht unter Druck in die Flüssigkeit eingeleitet. Die weitere Methodik ist dann genau die gleiche wie beim Nachweis des Bleis im Blut, also: Der Kolbeninhalt wird durch ein mit Asbest gut gestopftes *Schott*sches Glasfilter hindurchgesogen, das vorher mit heißer, 20% Salpetersäure gereinigt ist und zweimal mit Aqu. dest. nachgewaschen. Um das Eisen und Mangan zu entfernen, läßt man schwefelsäuren, mit H₂S gesättigten Alkohol 1/2 Stunde auf den Filterrückstand einwirken und wäscht erneut zweimal mit Aqu. dest. nach. Etwa vorhandene Spuren von Kupfer werden nun durch mindestens 1/2 stündige Einwirkung von 3% Cyankali gelöst und zweimal nachgewaschen. Anschließend wird die Behandlung mit schwefelsaurem Alkohol wiederholt (15 Minuten), um eventuell von dem Kupfer eingeschlossene Eisenreste zu entfernen. Schließlich wird der Filterrückstand mit 20% heißer Salpetersäure behandelt, in Reagensglasstutzen abgesaugt und mit Aqu. dest. nachgespült. Dann wird in ein Becherglas übergespült, 5 ccm 1% Kupfersulfatlösung zugegeben und mit Ammoniak neutralisiert; darauf wird die Flüssigkeit ins Elektrolysergefäß gegeben, 1 ccm NO-freie HnO₃ konzentriert hinzugegeben, soviel Aqu. dest. zugefügt, daß die Platinalektroden vollständig bedeckt sind, und bei einer Stromstärke von 1,5—2 Ampère entsprechend einer Badspannung von 3—3,5 Volt elektrolysiert (Apparatur von der Firma Hugershoff in Leipzig). Die ursprüngliche Zeitdauer von 45 Minuten konnte von uns auf 20 Minuten herabgesetzt werden, da zahlreiche Vergleichsversuche ergaben, daß bei unseren neuen Apparaten bereits nach 20 Minuten das gesamte Blei auf der Anode abgeschieden war. Bei Stromdurchgang wird dann mit Aqu. dest. ausgewaschen, bis die Stromstärke auf wenige Milliampère, die der Leitfähigkeit des Wassers entsprechen, abgesunken ist. Die Anode wird nun aus dem Elektrolysergefäß herausgenommen, durch kräftige Schleuderbewegungen von anhaftendem Wasser befreit und in eine Lösung von Tetramethyldiamidodiphenylmethan in Eisessig eingetaucht. Das eventuell auf ihr niedergeschlagene Bleisuperoxyd erzeugt dann die bekannte Blaufärbung. Der Grad der Blaufärbung entspricht innerhalb gewisser Grenzen der abgeschiedenen PbO₂-Menge. Die genaue kolorimetrische Bestimmung erfolgt durch Vergleich der Farbintensität mit derjenigen elektrolysiert Bleilösungen mit bekanntem Bleigehalt, die aus reinster Bleinitratlösung dargestellt werden.

Unsere sämtlichen Knochenanalysen wurden mit einer Ausgangsmenge von 3 g Knochenasche und in vielen Fällen zur Nachprüfung doppelt ausgeführt. Bei einer Reihe von Fällen (8) wurden die Analysen außerdem mit 6 g Substanz wiederholt. Im ganzen wurden über 300 Analysen ausgeführt. Leider war es uns aus äußeren Gründen unmöglich, auch vom Knochenmark stets 3 g zu verarbeiten. Die zur Verfügung stehenden Mengen schwankten zwischen 0,8 und 3 g, in den meisten Fällen betragen

sie zwischen 1 und 2 g Substanz. Dadurch wurden die Ergebnisse ungenauer und wir erhielten vor allem häufig so kleine Befundzahlen, daß wir sie nicht verwenden konnten *.

Das Ergebnis unserer Untersuchungen ist kurz folgendes: Bei den Säuglingsknochen betragen die gefundenen Bleimengen 0,01, 0,02 oder 0,03 mg pro 3 g Knochenasche. Bei einer Serie Epiphysen wurden sogar 0,04 mg Blei pro 3 g Asche gefunden.

Da diese Säuglinge mit Sicherheit keine nennenswerten Bleimengen während ihrer kurzen Lebenszeit aufgenommen haben können, noch dazu, da die meisten von ihnen nur mit Muttermilch ernährt worden waren, müssen wir Werte bis 0,04 mg Pb als Nullwerte bezeichnen. Ob diese Werte wirkliche Nullwerte sind, d. h. durch die Fehlerquellen der Methode zu erklären, oder ob es sich bei ihnen, wenigstens zu einem Teil, um in den Säuglingsknochen vorhandenes Blei handelt, läßt sich schwer entscheiden.

Zu unserem Erstaunen fanden wir sehr große Unterschiede zwischen den Ergebnissen der Analysen von jüngeren und älteren Personen. Die Ergebnisse bei den jüngeren Leuten waren den bei den Säuglingen gefundenen Werten sehr ähnlich, nur im allgemeinen ein wenig größer. Die gefundenen Mengen lagen zwischen 0,02 und 0,065 mg pro 3 g Asche, weitaus die meisten zwischen 0,03 und 0,05 mg. Nur bei einer 37jährigen Frau fanden wir in der Epiphyse 0,1 mg Blei. Sichere Mengenunterschiede zwischen Epiphysen, Diaphysen und platten Knochen konnten nicht festgestellt werden. *Dagegen hatten wir im Knochenmark stets die kleinsten Bleibefunde.* Es scheint also, daß eine etwaige Speicherung von Blei nicht im Knochenmark, sondern in der *Substantia compacta des Knochens* erfolgt. Nicht vergessen werden darf jedoch, daß die Knochenmarkanalysen am wenigstens genau sind, da, wie schon erwähnt, nur in Ausnahmefällen 3 g Trockensubstanz zur Verfügung standen. So haben wir gerade bei diesen Analysen eine ganze Reihe von Nullwerten erhalten, die wahrscheinlich in der *Hauptsache auf die zu geringe Menge Untersuchungsmaterial zurückzuführen sind*.

Unterschiede zwischen städtischer und ländlicher Bevölkerung wurden nicht gefunden.

Wesentlich höhere Bleibefunde hatten wir bei der Untersuchung der Knochen der älteren Leute. Bei 14 von den 16 untersuchten Fällen fanden

* In einigen wenigen Fällen haben wir neben unserer Methode die von *Danckworrts* und *Jürgens*⁶ angegebene nephelometrische Methode ausgeführt und die Ergebnisse miteinander verglichen. Bei letzterer wird eine Trübung, wie sie durch Blei in einer essigsauren Lösung von Kaliumbichromat erzeugt wird, mit der Trübung durch eine Standardlösung verglichen. Benutzt wurde das Nephelometer der Firma Leitz. Unsere Versuche sind nicht zahlreich genug, um ein sicheres Werturteil über die Nephelometrie abgeben zu können. Immerhin scheint es uns, als ob mit unserer Mikromethode die Ergebnisse genauer und zuverlässiger wären. Vergleichende Untersuchungen in größerem Maßstabe sind im Institut im Gange.

wir in den Epiphysen, Diaphysen und platten Knochen 0,06—0,19 mg Blei auf 3 g Knochensubstanz, der allergrößte Teil der Analysen ergab Werte von 0,08—0,14 mg Blei auf 3 g Asche.

Nur bei zwei älteren Personen fanden wir erheblich niedrigere Werte, etwa in gleicher Höhe, wie wir sie bei den jüngeren Leuten gefunden hatten. Ein Unterschied zwischen Leuten aus der Stadt und solchen vom Lande wurde wiederum nicht gefunden. Bei den Fällen, in denen die Analysen außer mit 3 g auch mit 6 g Knochenasche ausgeführt wurden, fanden wir für 6 g ungefähr doppelt so hohe Werte als für 3 g, eher im Verhältnis ein klein wenig niedrigere als höhere.

Überblicken wir kurz die Ergebnisse unserer Analysen, so ist dazu folgendes zu sagen: Werte von 0,03—0,04 mg beim Säugling, und bis mindestens 0,06 mg Pb beim gesunden Erwachsenen müssen als völlig normal angesehen werden. Handelt es sich um alte Leute, so sind die Werte, wie wir gesehen haben, sogar noch erheblich höher. Ein gewisser, nicht genau bestimmbarer Teil der gefundenen Bleimengen ist durch Fehler der Methodik bedingt, ist also kein Blei. Er dürfte bei etwa 0,03—0,04 mg für 3 g Knochenasche liegen. Wie es bei den älteren Leuten zu der doch immerhin ziemlich erheblichen Bleispeicherung kommt, scheint schwierig zu erklären. Die Aufnahme bleihaltigen Wassers kann die Ursache nicht sein, da Leute, die ihr ganzes Leben auf dem Lande in Dörfern ohne zentrale Wasserversorgung zugebracht hatten, dieselben Bleimengen im Knochensystem haben wie die Stadtbewohner. Anscheinend nehmen wir doch mit den verschiedensten Nahrungsmitteln, z. B. Fruchtsäften, die aus Pressen kommen, deren Verzinnung fast stets bleihaltig ist, ferner mit Speisen aus emaillierten Gefäßen oder aus irdenen Gefäßen mit bleihaltiger Glasur usw. häufig kleinste Mengen Blei auf, die mindestens zu einem Teile in der festen Substanz des Knochens gespeichert werden. Auffallend ist auch, daß das Knochenmark gesunder Personen erheblich weniger Blei enthält als der feste Knochen. Möglicherweise schaltet der menschliche Organismus das aufgenommene Blei, soweit er es nicht sofort wieder ausscheidet, möglichst vollständig und für dauernd aus seinem Stoffwechsel aus, indem er es in der festen Substanz des Knochens niederschlägt. Es wird wertvoll sein, festzustellen, wie groß die Bleibefunde im Knochensystem von wirklich Bleikranken sind. Vielleicht ist hier die in der kompakten Substanz fest gespeicherte Bleimenge gar nicht erheblich größer, dagegen im Knochenmark wesentlich mehr Blei vorhanden, da hier eben mehr Blei aus dem Blut herausgenommen werden muß als im festen Knochenmark gespeichert und so dauernd ausgeschaltet werden kann. Aus dem Knochenmark wird dann wohl gelegentlich rückläufig wieder Blei in die Blutbahn abgegeben und durch die Ausscheidungsorgane ausgeschieden.

Zusammenfassung.

1. Es wurden die Knochen von 30 Erwachsenen, die nie bleikrank gewesen waren und nie in Bleibetrieben gearbeitet hatten, und von 10 Säuglingen im Alter von einem Tag bis 4 Monaten mit der von *P. Schmidt* und seinen Mitarbeitern angegebenen Mikromethode auf ihren Bleigehalt untersucht. Epiphyse, Diaphyse, platter Knochen und rotes Mark wurden nach Möglichkeit getrennt verarbeitet.

2. In den Säuglingsknochen wurden auf 3 g Knochenasche 0,01—0,03, in einem Falle sogar 0,04 mg Pb gefunden, in den Knochen der jüngeren Erwachsenen 0,02—0,065 mg, meistens 0,03—0,05 mg, in denen der älteren Leute 0,06—0,19 mg; im Durchschnitt 0,08—0,14 mg.

3. Im Knochenmark war stets weniger Blei vorhanden als in der festen Substanz des Knochens.

4. Menschen, die ihr ganzes Leben in Dörfern ohne zentrale Wasserversorgung verbrachten, hatten die gleichen Bleimengen im Knochen wie Stadtbewohner, die ihr Wasser aus den Bleirohren einer Wasserleitung entnahmen.

5. Anscheinend nehmen wir also während unseres Lebens dauernd kleinste Mengen Blei auf, die zu ihrem größten Teile in der festen Substanz des Knochens gespeichert und so wohl unschädlich gemacht werden. Da die Bleiaufnahme nicht durch bleihaltiges Wasser verursacht sein kann, ist sie wohl in der Hauptsache auf den Genuss von Speisen zurückzuführen, die Spuren von Blei enthalten.

Schrifttum.

- ¹ *Necke, P. Schmidt u. Klostermann:* Dtsch. med. Wschr. 1926, Nr 44. —
² *Schmidt, P.:* Zbl. Gewerbehyg. 1927, H. 5. — ³ *Schmidt, P.:* Dtsch. med. Wschr. 1928, Nr 13. — ⁴ *Seiser, Necke u. Müller:* Arch. f. Hyg. 1928, H. 3/4. — ⁵ *Weyrauch:* Z. f. Hyg. 111, H. 2 (1930). — ⁶ *Danckworrth u. Jürgens:* Arch. Pharmaz. 1928, H. 6.
-