

(Aus der Chemischen Abteilung der Deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie
[Kaiser Wilhelm-Institut] München.)

Der Eisengehalt normaler und verkalkter Aorten.

Von

Irvine H. Page und Wilh. Menschick.

(Eingegangen am 10. November 1931.)

Die chemische Zusammensetzung der verkalkten Aorta ist im Anschluß an die grundlegenden Arbeiten von *Aschoff*¹ durch *Schönheimer*² weitgehend aufgeklärt worden. Danach besteht das Vorstadium und zu einem wesentlichen Teil die Atherosklerose der Aorta selbst in einer Einschwemmung eines stets gleich zusammengesetzten Lipoidgemisches aus Cholesterin, Cholesterinestern, Phosphatiden und anderen unverseifbaren Stoffen. Weiterhin findet man in dem älteren Schrifttum einige histologische Untersuchungen, deren Ergebnis ein Zusammenhang zwischen dem normalen Verkalkungsprozeß der Knochen und dem Eisengehalt (Schwefelammoniumreaktion) ist (*v. Gierke, Schneider*^{3,4}). Der physiologischen Verkalkung soll an den betreffenden Stellen eine vorübergehende Erhöhung des Eisengehaltes vorausgehen. Bei pathologischen Verkalkungen wurde eine derartige Erhöhung des Eisengehaltes *nicht* gefunden.

Es lag nun nahe nachzuprüfen, ob auf Grund *chemischer Analysen* ein Zusammenhang zwischen dem Eisengehalt und der Verkalkung der Aorta gefunden werden kann. Würde es sich um größere Eisenablagerungen (wie z. B. beim Blutabbau) handeln, so müßten sich die Unterschiede zwischen normalen und verkalkten Aorten bereits im Gesamteisengehalt auswirken. Es wurde daher zunächst eine Reihe verschiedener Aorten auf Gesamteisen mengenmäßig (colorimetrisch) untersucht. Gleichzeitig, gewissermaßen als Maß für den Verkalkungsgrad bzw. als Vergleich zur Diagnose wurde der Gehalt an organisch gebundenem Phosphor (mikrogravimetrisch) bestimmt, da ja die Phosphatide einen ganz bestimmten Bruchteil des bei der Atherosklerose fortschreitend eingeschwemmten Lipoidgemisches ausmachen.

Daß wir als Parallelbestimmung den organischen Phosphor und nicht die nach den *Schönheimerschen* Arbeiten (a. a. O.) an sich charakteristischeren Cholesterinwerte benützten, hatte neben der rascheren Ausführungsmöglichkeit noch einen spekulativen Hintergrund: Das Eisen als Sauerstoffüberträger könnte die so leicht oxydablen Phosphatide des Blutes durch oxydative Veränderung

zur Ablagerung veranlaßt haben und dabei mit niedergeschlagen worden sein, was aber nach dem Ergebnis der vorliegenden Untersuchung in erkennbarem Ausmaß nicht der Fall ist.

Bestimmung des organischen Phosphors. Die Aorten wurden möglichst von anhaftendem Gewebe befreit, fein zerkleinert und gut durchgemischt. 1—1,5 g feuchte Substanz wurde mit Sand verrieben, über Nacht bei 100° getrocknet und nochmals gut verrieben. Die Extraktion erfolgte zunächst mit kaltem Äther (mit 20 ccm über Nacht stehen lassen), dann 3—4 mal mit heißem Alkohol (je 10 ccm). Die abgegossenen Auszüge wurden auf 10 ccm eingengt, filtriert und der geringe Niederschlag sowie auch das extrahierte Sandgemisch mit Chloroform gewaschen (im ganzen 15 ccm). Der Rückstand der Alkohol-Chloroformlösung wurde mit konzentrierter Schwefelsäure (1 ccm) und Wasserstoffsuperoxyd naß verascht und nach *H. Lieb*⁵ mikroanalytisch als Phosphormolybdat bestimmt.

Bestimmung des Gesamteisens. 1,5 g feuchte Substanz wurden nach *Neumann*⁶ mit 20 ccm Säuregemisch verascht und nach *Willstätter*⁷ mit Rhodanammonium colorimetriert.

Die Analysenwerte der ersten Versuchsreihe sind in Tabelle 1, geordnet nach fortschreitendem Verkalkungsprozeß, zusammengestellt.

Tabelle 1. *Organischer Phosphor und Gesamteisen in verschiedenen Aorten.*

Nr.	Alter (Jahre)	Diagnose	Org. Phosphor mg in 100 g frischer Organmasse	Gesamteisen mg in 100 g frischer Organmasse
1	19	normal	13	9,42
2	23	„	15	9,03
3	36	„	16	11,0
4	25	verfettet	11	8,65
5	43	„	20	11,0
6	43	„	13	8,90
7	50	„	17	4,29
8	50	„	14	7,87
9	51	„	23	13,1
10	53	verkalkt	22	6,75
11	58	„	24	15,2
12	62	„	36	6,90
13	68	„	21	7,93
14	68	„	34	10,0
15	70	„	39	7,65
16	70	„	29	4,85
17	71	„	29	7,65
18	71	„	40	13,6
19	72	„	21	8,74
20	73	„	35	4,29
21	75	„	24	6,81
22	76	„	26	7,88
23	81	„	27	12,3
24	82	„	34	8,82

Ergebnis der ersten Versuchsreihe. Die Tabelle zeigt, daß zwar erwartungsgemäß der Gehalt an organischem Phosphor mit fortschreitender Verkalkung anwächst; dagegen ist von irgendeiner Gesetzmäßigkeit bei den Eisenwerten keine Rede. Da aber diese außerdem ziemlich niedrig liegen (im Vergleich zum durchschnittlichen Eisengehalt der verschiedenen Organe: Milz 72 mg⁰/₀, Lunge 67, Leber 60, Blut 55, Muskel 25, Niere 15, Gehirn 8,3, Herz 6,7 usw.^{8 9}, so war anzunehmen, daß der unregelmäßige Blutgehalt der einzelnen Aorten eine etwaige Regelmäßigkeit im restlichen Eisengehalt überdecken könnte. Außerdem kamen die Aorten beim Zerkleinern mit eisernen Geräten in Berührung, was ebenfalls bei so kleinem Eisengehalt eine ernstliche Fehlerquelle darstellt. Eine zweite Versuchsreihe sollte daher diese beiden Faktoren eliminieren, zur Orientierung zunächst ohne Parallelbestimmung des organischen Phosphors. Dies ist möglich mit Hilfe einer einfachen Methode von *Starkenstein* und *Weden*¹⁰ zur Bestimmung des „anorganischen“ Eisens, die auf der Behandlung mit 5 n-Salzsäure und Ausfällen der Eiweißstoffe mit Trichloressigsäure beruht, wobei das Hämoglobineisen nicht abgespalten wird.

Bestimmung des locker gebundenen Eisens *. 5—10 g frisches Organ, in wenige Streifen zerschnitten, wurde mit der fünffachen Menge 5-normaler Salzsäure versetzt und 5 Minuten aufgekocht, mit etwa dem gleichen Volumen 20% iger Trichloressigsäure bis zur vollständigen Ausfällung der Eiweißstoffe versetzt, abgemessen und filtriert. Vom Filtrat** wurden 50 ccm nach *Neumann*⁶ naß verascht (Salpeter-Schwefelsäure), nach dem Verdünnen mit Wasser vom ausgeschiedenen Calciumsulfat abfiltriert und der Niederschlag mit heißem Wasser bis zum Verschwinden der Eisenreaktion ausgewaschen. Filtrat und Waschwasser wurden auf 25 ccm aufgefüllt und davon je nach Eisengehalt 2—5 ccm zum Colorimetrieren nach *Willstätter*⁷ verwendet.

Da hierbei erhebliche Mengen von Reagentien zur Anwendung kamen und der Gehalt an locker gebundenem Eisen noch wesentlich geringer als der Gesamtgehalt war, mußte die in den verwendeten Reagenzien vorhandene Eisenmenge (durch Leerbestimmung bestimmt) berücksichtigt werden.

Ergebnis der zweiten Versuchsreihe. Auch zwischen dem locker gebundenen Eisen und dem Grad der Verkalkung (Tab. 2) ist keinerlei Zusammenhang zu erkennen, sondern es zeigt sich eine bemerkenswerte Konstanz in diesen Eisenwerten, die außerdem recht niedrig liegen. (Nach *Starkenstein* und *Weden*¹⁰ ist der Gehalt an „anorganischem“ Eisen in einigen Fällen in der Kaninchenleber 5,2 bzw. 8,2 mg⁰/₀, in der Milz 31 bzw.

* Ausgeführt von Dr. K. Bossert.

** Versuche, das bräunlich gefärbte Filtrat ohne Veraschung unter Eliminierung der Eigenfarbe nach dem Prinzip von *Dubosq* direkt zu colorimetrieren schlugen fehl, da mit Rhodanid sehr rasch Trübung und Verfärbung eintrat.

66 mg⁰/₀.) Der eine Wert (Nr. 8) für eine sehr alte, stark geschädigte Aorta, der herausfällt, besagt natürlich gar nichts bei unserer Fragestellung und wird wohl durch andere Umstände als die Verkalkung veranlaßt sein.

Tabelle 2. *Locker gebundenes Eisen in verschiedenen Aorten.*

Vorbemerkung: Zum Veraschen je 50 ccm des Filtrates + 2 ccm konzentrierter Schwefelsäure + 10 ccm konzentrierter Salpetersäure verwendet; Leerbestimmung dafür ergab 0,021 mg Fe.

Nr.	Alter (Jahre)	Diagnose	Einwaage g	Gesamt- volumen ccm	mg pro 50 ccm	Korrigiert	mg %
1	9 ¹ / ₂	normal	4,7	65	0,100	0,079	2,2
2	24	normal	4,2	65	0,119	0,098	3,0
3	68	fast normal	9,0	88	0,140	0,119	2,3
4	46	verfettet +	9,5	87	0,110	0,089	1,6
5	60	verfettet +	6,0	65	0,148	0,117	2,5
6	75	verkalkt ++	8,9	85	0,150	0,129	2,5
7	52	verkalkt ++	5,5	65	0,131	0,110	2,6
8	72	verkalkt ++	8,0	65	0,625	0,604	9,8
9	64	verkalkt +++	7,7	86	0,110	0,089	2,0
10	64	verkalkt +++	8,4	88	0,140	0,119	2,5

Dieser durchwegs sehr niedrige Gehalt an locker gebundenem Eisen scheint uns nicht in Widerspruch mit einer Bemerkung *Schönheimers* (loc. cit. S. 20) zu stehen, wonach der nach der *Gabrielschen* Methode ¹¹ isolierte Kalk aus atherosklerotischen Aorten im Gegensatz zur Knochenasche stark gefärbt ist infolge eines beträchtlichen Eisengehaltes, da bei dieser Isolierungsmethode (mehrstündiges Erhitzen mit Glycerinkalilauge auf 200°) vorhandenes Hämoglobin wohl zersetzt wird und da andererseits nach *Gabriel* selbst auch bei Knochenasche ab und zu eine Gelbfärbung auftritt. (Eine Mengenbestimmung des Eisens im Aortenalk wurde von *Schönheimer* unseres Wissens nicht ausgeführt.)

Durch dieses eindeutig negative Ergebnis kam eine Parallelbestimmung des organischen Phosphors sowie die gesonderte Analyse der Aortenintima nach *Schönheimer* in Fortfall.

Zusammenfassung.

1. Für normale und atherosklerotische Aorten wurde in einer Versuchsreihe gleichzeitig der Gehalt an Gesamteisen und an organisch gebundenem Phosphor, in einer zweiten Reihe der Gehalt an locker gebundenem Eisen bestimmt.

2. Der Gehalt an organisch gebundenem Phosphor steigt übereinstimmend mit bisherigen Untersuchungen mit der Verkalkung.

3. Eine Parallelität zwischen Eisengehalt (sowohl gesamt- als auch locker gebundenem) und Grad der Verkalkung besteht nicht, was mit älteren histologischen Untersuchungen in Einklang steht.

Wir möchten an dieser Stelle Herrn Professor *Oberndorfer* und Herrn Privatdozenten Dr. *Singer* (pathologisches Institut des Krankenhauses

Schwabing) für freundliche Überlassung des Organmaterials, der *Eli Lilly & Co.*, Indianapolis für die dem einen von uns (*Menschick*) gewährte Fellowship, Herrn Dr. *Bossert* für wertvolle Mitarbeit, sowie der *Ella Sachs Plotz Foundation* für finanzielle Unterstützung der Arbeit, vor allem aber der *Rockefeller Foundation* für die Ermöglichung der Untersuchungen bestens danken.

Schrifttum.

¹ *Aschoff, L.*: Beitr. path. Anat. **47**, 1 (1910). — ² *Schönheimer, R.*: Habilitationsschrift Freiburg (Br.) 1928. Z. physiol. Chem. **160**, 60 (1926); **177**, 143 (1928); **177**, 150 (1928). — ³ *Gierke, E. v.*: Virchows Arch. **167**, 318 (1902). — ⁴ *Schneider, R.*: Abh. k. Akad. Wiss. zu Berlin 1888. Vgl. auch *Krehl-Marchand*: Handbuch der allgemeinen Pathologie, **3 II**, 250 (1921), Leipzig. — ⁵ *Lieb, H.*: in *F. Pregl*: Die quant. org. Mikroanal. Berlin 1923, S. 151. — ⁶ Siehe *Hoppe-Seylers* Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. Berlin 1924, S. 652. — ⁷ *Willstätter, R.*: Ber. dtsh. chem. Ges. **53**, 1152 (1920); siehe auch *Hoppe-Seylers* Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. Berlin 1924, S. 663. — ⁸ *Oppenheimer*: Handbuch der Biochemie 1924, I, S. 21. — ⁹ *Sackett, G. E.*: J. Labor. a. clin. Med. **10**, 1018 (1925). — ¹⁰ *Sturkenstein, E. u. H. Weden*: Arch. f. exper. Path. **134**, 274 (1928). — ¹¹ *Gabriel*: Z. physiol. Chem. **18**, 275 (1894).
