

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Berlin. — Direktor: Geh.-Rat
Prof. Dr. Lubarsch.)

Untersuchungen über die Bedingungen der Kalkablagerung in tierischen Geweben.

Von

Hans Kleinmann.

Mit 13 Textabbildungen und 14 Tabellen.

(Eingegangen am 29. Februar 1928.)

Die vorliegende Arbeit stellt einen Ausschnitt aus einer Reihe von Untersuchungen über die Bedingungen der Kalkablagerung in tierischen Geweben dar.

Es sind vor allem hier die Ergebnisse der mit morphologischen Methoden durchgeföhrten Arbeiten eingehend dargestellt worden. Die Untersuchungen, die mit chemischen Arbeitsformen durchgeföhr wurden, sind nur gekürzt wiedergegeben. Ihre ausführliche Beschreibung ist an anderem Orte gegeben. Auf sie muß als notwendige Ergänzung verwiesen werden¹.

In ihrer Gesamtheit föhren die Arbeiten zu einer neuen Vorstellung über die Art der Kalkablagerung in Geweben, die sowohl die „Verkalkung auf Grund von Stoffwechselstörungen“ als auch die „dystrophische Verkalkung“ einheitlich umfaßt. Die Untersuchungen zeigen, daß das Ausfallen von Kalksalzen auf Grund von Löslichkeitsverhältnissen erfolgt und daß es durch einfache chemische Umsetzungen bedingt ist.

Es wird wahrscheinlich gemacht, daß im dystrophischen Organ eine Abnahme der Acidität erfolgt, die mit anderen Vorgängen zur Bildung von Keimkristallen von tertiärem Calciumphosphat föhren kann. Derartige Keimkristalle bewirken, wie in Modellversuchen gezeigt wird, ein Ausfallen des Kalkes aus den Gewebssäften als Calciumphosphat. Dieses setzt sich dann infolge Austauschabsorption zum Teil mit den CO_3 -Ionen der Gewebsflüssigkeit zu Calciumcarbonat um. Durch die experimentelle Darstellung dieses Vorganges wird das bisher nicht verständliche Nebeneinanderauftreten dieser beiden Verbindungen in allen Körperablagerungen erklärt.

Ebenso wie die Bildung von Keimkristallen im absterbenden Ge-

¹ Vgl. Biochem. Zeitschr. 196, 98—176. 1928.

webe, kann die starke Erhöhung von Ca- und PO_4 -Ionen — besonders an Stellen niedriger Acidität — zu Kalkablagerungen führen. Diese Versuche, die eine experimentelle Nachahmung der Verkalkungsvorgänge auf Grund von Stoffwechselstörungen geben, sind hier eingehend dargestellt. Es wird gezeigt, wie Tiere durch verschiedene Futterarten und Elektrolyteinspritzungen zu Kalkablagerungen gebracht werden können, und es wird dargestellt, wie die Anreicherung der Ionen im Gewebe durch Hemmung oder Förderung ihrer Ausscheidung durch „Alkalose“ und „Acidose“ beeinflußt wird.

A. Die Erscheinungsformen der Kalkablagerung.

I. Die physiologische Verkalkung.

Als physiologischer Vorgang ist die Verkalkung des Knochengerüstes während des Wachstums sowie in geringem Umfange auch nach Abschluß desselben die Verkalkung von Knorpelgewebe zu betrachten.

Eine der Erklärung große Schwierigkeiten bereitende Erscheinung — das gleiche gilt für die pathologische Verkalkung — ist hierbei die gleichbleibende Zusammensetzung der Knochenasche, die von früheren Untersuchern auf ungefähr 85—90% Calciumphosphat und 15—10% Calciumkarbonat angegeben wurde, wozu noch geringe Mengen von Magnesiumphosphat (1—1,8%) kommen. Neue Untersuchungen über die Zusammensetzung von Kaninchenknochen von *Goto* zeigen allerdings im Gegensatz zu diesen Angaben, daß das Verhältnis von $\text{CaCO}_3 : \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ mit etwa 31:69 anstatt mit 15:85 anzunehmen ist. Doch bleibt die Erklärung der Verkalkungsvorgänge bisher stark erschwerende Tatsache bestehen, daß im Knochen, wie bei fast jeder Form der Kalkablagerung in tierischen Geweben, sich der Kalk stets als Phosphat und Karbonat gemeinsam ablagert.

Auf die Erscheinungen der Verkalkung beim Wachstum sei im einzelnen nicht eingegangen.

Es sei nur betont, daß bei der Knochenbildung

1. die Zusammensetzung der Knochenaschen die gleiche oder eine sehr ähnliche ist wie bei allen Kalkablagerungen im Organismus;
2. die Ablagerung in ein Gewebe (Knorpel, Osteoid) erfolgt, das eine besondere Bindungsfähigkeit für Calciumionen besitzen soll;
3. das Gewebe, in das die Ablagerung erfolgt, sehr zellarm ist und
4. das Gewebe infolge seines Umbildungsprozesses wenigstens hinsichtlich des umgeformten Knorpelbestandteiles den Charakter eines untergehenden Gewebes besitzt.

Die mit zunehmendem Alter fortschreitende Verkalkung von Knorpelgewebe sowie die häufig gefundenen Altersverkalkungen der Dura mater spinalis leiten von dem Gebiet der normalen physiologischen Kalkablagerung zu der pathologischen Verkalkung über.

II. Die pathologische Verkalkung.

a) Die Verkalkung auf Grund von Stoffwechselstörungen.

Die pathologischen Verkalkungen lassen sich in 2 Gruppen teilen, die grundsätzlich verschieden sind, jedoch Übergänge zeigen und sich daher nicht in jedem Falle völlig scharf trennen lassen.

Die eine Gruppe von Kalkablagerungen wird bedingt durch Störungen des Kalkstoffwechsels, sei es, daß diese auf einer Überschüttung des Organismus mit Kalksalzen, sei es, daß sie auf einer Behinderung der normalen Ausscheidung beruhen. Bei dieser Gruppe erfolgt die Ablagerung im allgemeinen in gesundes Gewebe.

Die 2. Gruppe der Verkalkung findet ihren Grund in Störungen der Gewebsernährung und wird im Abschnitt der „dystrophischen Verkalkung“ besprochen werden.

Der klassische Vertreter der ersten Gruppe ist die von *Virchow* beschriebene „Kalkmetastase“. Als solche bezeichnete *Virchow* eine Erkrankungsform, bei der eine Verkalkung bestimmter innerer Organe bei gleichzeitiger Zerstörung oder Erkrankung des Knochensystems sowie eine Erkrankung der Niere gefunden wurden. Das gleichzeitige Auftreten der Knochenzerstörung und der Nieren-erkrankung — meist in Form einer parenchymatösen oder amyloiden Degeneration — führte zu der Erklärung, daß die kranke Niere den infolge der Knochen-zerstörung im Überschuß angebotenen Kalk nicht ausscheiden könne, wodurch sich derselbe im Gewebe ablagere. Am meisten zur Ablagerung neigen Nieren, Lunge, Magenschleimhaut und Blutgefäße, doch brauchen diese Organe durchaus nicht stets gemeinsam befallen zu werden.

Dabei brauchen die verkalkten Organe keine pathologischen Veränderungen aufzuweisen, so daß trotz mancher Einschränkung im einzelnen gesagt werden kann, daß die Ablagerung in ein normales Gewebe erfolgt.

Es ist von *Askanazy* darauf hingewiesen worden, daß den Orten der Kalkablagerung gemeinsam sei, daß sie säureabgebende Gewebe darstellen. Die hier-durch bedingte Alkalescenzzunahme in den die Drüsen umspielenden Gewebs-säften führe zur Kalkablagerung, was auch mit der Bevorzugung der kohlensäure-armes Blut führenden Gefäße übereinstimmt. Diese Vorstellung wird bei den Versuchen des Abschnittes D. besprochen werden.

Außer der Kalkmetastase *Virchows* sind noch eine Reihe verschiedener Erkrankungsformen bekannt, bei denen es zu einer Kalkablagerung in die Gewebe kommt.

Wenngleich es nicht möglich ist, alle beobachteten Erkrankungsformen restlos in ein Schema einzurichten, und wenngleich es wahrscheinlich ist, daß bei den verschiedenen Verkalkungsformen auch dystrophische Vorgänge unterlaufen und somit scharfe Trennungen verwischen, so läßt sich insgesamt doch sagen:

Das Wesentliche der genannten Krankheitsform ist die durch Stoffwechsel-störungen bedingte Kalkablagerung in normales Gewebe.

b) Die dystrophische Verkalkung.

Der oben dargestellten Gruppe der Verkalkungen stehen diejenigen gegenüber, die ihre Ursache in einer geschwächten Lebenstätigkeit oder im Tode des Gewebes finden. Doch müssen auch hier besondere Bedingungen zusammenkommen, da nicht jedem Gewebe eine Verkalkung folgt.

Dies sehen wir beim Gewebstod der Niere, der, durch Unterbindung, durch Sublimat oder andere bestimmte Gifte hervorgerufen, zu einer Verkalkung des Gewebes führt. Nierennekrose durch Amygdalin aber führt ebensowenig wie die bei parenchymatöser Degeneration bei Typhus und Sepsis hervorgerufene Epithelnekrose zur Verkalkung.

Auch die Tierart ist von Einfluß, verkalken doch Milz- und Niereninfarkte fast nie beim Menschen, dagegen leicht beim Kaninchen. Und ist doch die beim Kaninchen leicht erreichbare Verkalkung der Niere nach Sublimatvergiftung nach *Prévost* bei Katzen nur unregelmäßig und nach *von Kóssa* bei Geflügel nie erzielbar. Anscheinend hängt der Verkalkungsvorgang mit dem Blutkalkgehalt zusammen.

In diese Gruppe gehören — oder schließen sich ihr an — die Verkalkungen, die in verändertes altes oder entzündliches, neu gebildetes Bindegewebe erfolgen, wie die Verkalkung der sog. Herz- und Brustfellpanzer, die Verkalkung der verdickten und verwachsenen Herzklappe, die Verkalkung der Gallenblasenwand, der Milzkapsel, der Schleimbeutel und Hydrocelen nach chronischen Entzündungen.

Nach *M. B. Schmidt* ist das einzig Gemeinsame der angeführten Gewebszustände „das Vorhandensein geronnenen, kernlosen Protoplasmas oder derber Zwischensubstanz, also eines mehr oder weniger homogenen, oft vollkommen hyalinen Substrates“.

Ein solches liegt jeder dystrophischen Verkalkung zugrunde.

III. Erklärungsversuche der Kalkablagerung.

Die verschiedenartigen Beobachtungen über die Entstehung von Kalkablagerungen haben zu einer großen Reihe mehr oder weniger begründeter Theorien geführt. Diese Theorien sind nicht nur hinsichtlich ihrer Begründung ungleichwertig, sondern auch nicht ohne weiteres vergleichbar, da sich manche von ihnen nur auf die dystrophische Verkalkung, manche von ihnen auf künstliche Verkalkungsvorgänge, wie sie den Kalkstoffwechselstörungen nachgebildet wurden, und manche sich nur auf das Knochenwachstum beziehen. Trotzdem lassen sich bei ihrer Sichtung deutlich 3 Gruppen erkennen, die sich unabhängig von dem Verkalkungsvorgang nach der Erklärungsgrundlage einteilen lassen.

Die eine Gruppe sieht die Ursache der Verkalkung in dem Auftreten bestimmter chemischer Körper oder Verbindungen, die eine besondere Verwandtschaft zum Calcium besitzen und es gewissermaßen abfangen. Diese Theorie kann daher auch als Theorie der „Kalksalzfänger“ bezeichnet werden.

Die 2. Gruppe sieht die erklärende Ursache für die Kalkablagerung in der Änderung der Löslichkeitsverhältnisse für die anorganischen Ionen, sei es durch Änderung der Gewebsacidität, sei es durch Änderung des Kohlensäurestoffwechsels usw.

Diese Gruppe der Theorien sei als die „Theorie der Löslichkeitsverhältnisse“ bezeichnet.

Die 3. Gruppe der Theorien beschränkt sich auf die Erklärung der Knochenverkalkung, die sie im Gegensatz zu den übrigen Verkalkungsvorgängen als gesondert durch die Lebenstätigkeit von Zellen bedingten Vorgang ansieht.

1. Die Theorie der Kalksalzfänger.

Den Ausgangspunkt für die Vorstellung der Kalksalzfänger bildete die im Verlauf einer Fettgewebsnekrose auftretende Verkalkung. Hieran schlossen sich Theorien von *Langerhans*, *Klotz* und *Tanaka*, die die Bildung von Kalkseifen nachwiesen. An die Tatsache, daß freie Fettsäuren Kalk zu binden imstande sind, knüpften *Klotz*, *Grandis* und *Mainini* und dann besonders *Pfaundler* die Vorstellung, daß auch bei der Bildung von Calciumphosphat und -karbonat eine Bindung des Calciums an besondere chemische Körper vorliegen muß. Ebenso erklärte *v. Kóssa* seine Versuche mit dem Vorhandensein von Kalksalzfängern.

Diese schon ziemlich weit zurückliegenden Versuche und Erklärungen wurden in neuerer Zeit weitergeführt und mit physikalisch-chemischen Methoden gestützt durch Untersuchungen von *Freudenberg* und *György*.

Diese Forscher untersuchten in ausgezeichneten und ausgedehnten Arbeiten das Verhalten von Knorpel bei verschiedenem Säuregrad sowie bei Zufügung verschiedener Anionen und Stoffwechselprodukte wie Aminosäuren, Harnstoff u. a. auf seine Fähigkeit, Calciumionen zu binden. Sie konnten zeigen, daß Knorpel im Vergleich mit anderen Geweben mehr Calcium bindet, und daß die Calciumionenbindung mit steigender H-Ionenkonzentration — bis zu etwa $p_{\text{H}} 4$ untersucht — abnimmt mit fallender H-Ionenkonzentration aber zunimmt. Sie schlossen hieraus auf eine besondere Bindungsfähigkeit des Knorpels für Calcium.

Ihr Hauptversuch, auf den sich ihre Theorie vornehmlich aufbaut, war der, daß ein Knorpel, der bei einem Säuregrad zwischen etwa $p_{\text{H}} 4-6$ in eine Calciumchloridlösung gelegt und dann sehr sorgfältig gewaschen wurde, beim Einlegen in eine Phosphatlösung sich stark mit Calciumphosphat anreichert. Diese Ablagerung von $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ im Knorpel bleibt aber aus, wenn man mit der Reihenfolge der Behandlung mit Calciumchlorid und Phosphat wechselt. Hieraus leiteten sie die Vorstellung ab, daß Calciumphosphat sich an den Knorpel bindet, wobei eine Komplexverbindung von Calcium-Phosphat-Protein erfolgt. Eine Anreicherung von Phosphat fanden sie auch bei anderen Eiweißkörpern wie Casein, Gelatine und Albumin, wenn diese in Lösung bei Zusatz von Calciumchlorid gegen Calciumphosphat dialysierten. Hierbei machten sie die Beobachtung, daß bei Gegenwart von Bicarbonat die Konzentration an CO_2 stark abnahm. Sie erklärten die Erscheinung damit, daß die Eiweißkörper als schwache Säuren Kohlensäure aus dem Bicarbonat freimachten und daß daher bei der Entstehung von Calciumphosphat- und Calciumcarbonatniederschlägen auf dem Wege über eine Eiweißverbindung nur wenig Karbonat im Verhältnis zum Phosphat entstehen könne. Auf diesem Wege wollten sie also das Verhältnis des Calciumkarbonats zum Calciumphosphat, das bisher schwer erklärbar war, deuten.

Da nun alle Eiweißkörper bei ihren Versuchen diese Kalkbindung und bei entsprechender Aufeinanderfolge von Calciumchlorid und Calciumphosphat Kalksalzablagerungen zeigten, mußten *Freudenberg* und *György* weiter zu erklären suchen, warum die Erscheinung nicht stets im Gewebe sondern nur bei verknöcherndem und absterbendem Gewebe eintritt.

Diese Erklärung wollten sie dadurch geben, daß sie im Reagensglasversuch

zeigten, daß eine große Reihe von Stoffwechselprodukten wie Aminosäuren, Peptide, Imidazol, Amine, Betain, Guanidin, Methylguanidin und Kreatin und endlich Ammoniaksalze, Harnstoff und Formaldehyd und in gewissem Maße auch Traubenzucker die Bindung des Calciums an den Knorpel hemmten oder völlig verhinderten.

Da die angeführten Stoffe z. T. normale Stoffwechselprodukte darstellen, nahmen sie an, daß beim Auftreten dieser Substanzen im Stoffwechsel eine Kalkfällung unmöglich sei, daß aber bei einer Verminderung des Stoffwechsels die Verkalkung vor sich gehe. Das Gewebe schützt sich also durch seine Stoffwechselprodukte vor der Verkalkung.

Fast alle Veröffentlichungen von *Freudenberg* und *György* bis auf ihre 3 letzten Arbeiten sprechen von einer Verkalkung, obgleich sie nichts anderes untersuchten als eine analytisch gemessene Bindung von Calcium an Eiweiß.

Von *Rabl* wurde darum mit Recht darauf hingewiesen, daß Calciumbindung an Eiweiß und Verkalkung zwei völlig verschiedene Dinge seien.

Freudenberg und *György* versuchten nun ihre Versuche über Kalkbindung auf das Problem der Verkalkung zu übertragen. Da das Bestehen von komplexen Eiweiß-Calcium-Phosphat- und Eiweiß-Calcium-Karbonatverbindungen in den Ablagerungen wegen ihres geringen Eiweiß- und hohen Kalkgehaltes nicht möglich war, nahmen sie an, daß sich diese nur vorübergehend bilden, worauf sich Calciumphosphat und Calciumkarbonat abspalten und das freiwerdende Eiweiß wieder von neuem Calciumphosphat und Calciumkarbonat bindet. Als Modell für diese gewissermaßen katalytisch wirkende Eiweißsubstanz führten sie das Bestehen der von *Siegfried* angegebenen Karbaminoverbindungen sowie der Amphisalze von *Pfeiffer* und *Modelska* an.

Nach *Freudenberg* und *György* geht also der Verkalkungsvorgang in 3 Phasen vor sich, derart, daß sich in dem infolge seiner geringeren Stoffwechseltätigkeit nicht mehr genügend Hemmungskörper herstellenden Gewebe z. B. Knorpel

1. aus Calcium + Knorpelweiß: Calciumknorpelweiß,
2. aus Calciumeiweiß + Phosphat: Calciumeiweißphosphat, aus Calciumeiweiß + Karbonat: Calciumeiweißkarbonat und
3. aus Calciumeiweißphosphat: Eiweiß + Calciumphosphat, aus Calciumeiweißkarbonat: Eiweiß + Calciumkarbonat, bilden.

An der Vorstellung der Kalksalzfänger ändert es nichts Grundsätzliches, wenn von *Rabl* angenommen wird, daß nicht das Knorpelweiß, sondern die auftretenden Aminoverbindungen die Kalksalzfänger darstellen. Doch erklärt diese Annahme sehr gut, warum im Reagensglasversuch die Aminoverbindungen die Calciumbindung an Eiweiß hemmen.

Die ausgedehnten Versuche von *Freudenberg* und *György* stellen zweifellos die neueste Auffassung über die Verkalkungsvorgänge dar und sind auch schon in Lehrbücher übergegangen. Es muß daher schon hier darauf hingewiesen werden, daß die Folgerungen, die von *Freudenberg* und *György* aus ihren ausgezeichneten Versuchen zogen, vom Verf. bestritten werden müssen. Alle Versuche von *Freudenberg* und *György* über Calciumbindung an Eiweiß variieren nur die bekannten Tatsachen, daß Eiweißkörper auf der alkalischen Seite des isoelektrischen Punktes Kationen binden und daß sie mit Erdalkalien wenig dissozierte Verbindungen bilden. Aus diesen Verbindungen wird Calcium abgespalten, wenn ein noch wenig dissozierte Verbindungen bildendes Ion wie Phosphat, Oxalat usw. hinzugefügt wird. Hierauf beruht schließlich jede direkte Calciumfällung im Serum.

Alle weiteren Vorstellungen aber über Komplexsalzbildung, Abspaltung und wieder Neubildung müssen als unbewiesen angesehen werden.

Die hemmende Wirkung der Aminokörper im Reagensglasversuch auf die Kalksalzbildung ist ohne weiteres durch Bildung der wenig dissoziierten Aminosäure-Calciumverbindung erklärt.

Es soll vorweggenommen werden, daß sich der Vorgang der Verkalkung, wie im Modellversuch gezeigt werden kann, auf einfache anorganische Umsetzung zurückführen ließ. Die Vorstellung von Kalksalzfängern muß abgelehnt werden.

2. Theorien der Löslichkeitsverhältnisse.

Nach dem Vorangehen von *Pauli* und *Samec* hat vor allem *Hofmeister* die Kalkablagerung auf Änderung von Löslichkeitsverhältnissen zurückzuführen versucht.

„Das Substrat sättigt sich zu einem Zeitpunkt, wo die Kohlensäure überwiegt, mit gelöstem Calciumphosphat und -karbonat und gibt in einem späteren Zeitpunkt, wenn die Lymphe kohlensäurearm geworden ist, an diese Kohlensäure ab, worauf die aufgenommenen Kalksalze ausfallen. Dadurch gewinnt das Substrat die Fähigkeit zurück, neuerdings gelöste Kalksalze bis zur Sättigung zu absorbieren; diese fallen bei einer neuerlichen Abnahme des Kohlensäureüberschusses wieder aus und so fort. Bei einem bestimmten Grade der Imprägnation mit ausgefällttem Kalksalze müßte wegen der veränderten physikalischen Bedingungen die Aufnahme ein Ende finden. Daß in den Perioden des Kohlensäureüberschusses das vordem ausgefallene Kalksalz nicht sofort wieder in Lösung geht, erklärte sich aus der bekannten Erscheinung, daß ein durch Neutralisation erzeugter Niederschlag nur sehr langsam in der äquivalenten Säuremenge wieder in Lösung geht, wie denn überhaupt feste Körper und Suspensionen — wegen der relativ kleineren Oberfläche — weniger reaktionsfähig sind als Lösungen.“

Den Einfluß des Eiweißes haben neuerdings *Howland* und *Kramer* zur Grundlage einer Verkaltungstheorie gemacht. Sie nehmen an, daß das Blutserum mit Calcium übersättigt sei und glauben, daß die Serum eiweißkörper das Calcium in Lösung halten. Aus der Lymphe, die weniger Eiweißkörper enthält, kann es daher leicht zu einem Ausfallen von Kalksalzen kommen, besonders wenn die CO_2 -Spannung sinkt. Derartig günstige Bedingungen sollen sich gerade im Knorpel in den der Markhöhle nahen Teilen finden. Die nicht verkalkenden Gewebe schützen sich durch ihre CO_2 -Bildung vor der Verkalkung.

Hofmeister, dem zu seiner Zeit noch nicht die Begriffe und Methoden zur Bestimmung der wahren Aciditätsverhältnisse zur Verfügung standen, ist mit seinen Erklärungen den Verhältnissen so nahe gekommen, wie es überhaupt möglich war. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, die die inzwischen geschaffenen physikalisch-chemischen Methoden und Theorien sowie die inzwischen erfolgte Bestimmung der notwendigen Dissoziationskonstanten und Löslichkeitsprodukte benutzt, werden zeigen, wie dicht sie sich den *Hofmeisterschen* Vorstellungen anschließen.

3. Die Theorie der Verkalkung auf Grund einer besonderen Zelltätigkeit.

Im Gegensatz zu der Verkalkung als Kalkablagerung wird von einer Reihe von Verfassern die Verkalkung des Knochengerüstes als die Folge einer besonderen Lebenstätigkeit bestimmter Zellen betrachtet.

Nach dem Vorangehen von *Klotz* faßt *Röhrmann* die Bildung der Knochensalze als Absonderungserzeugnis der Endothelzellen der Blutcapillaren oder mittelbar der Knochenbildungszellen auf. Im Anschluß an die Darstellung der Knochenverkalkung von *Stump*, *Maximow* und *Weidenreich* ist diese Auffassung neuerdings besonders von *James C. Watt* betont worden.

Watt stelltte die Knochenbildung in Gegensatz zu der sog. „provisorischen“ Verkalkung des Knorpels sowie zu allen dystrophischen Vorgängen, die er als einfache Ablagerung betrachtet, während er die Kalksalzablagerung in die Knochengrundsubstanz als einen Absonderungsvorgang der Knochenbildungszellen auffaßt. Er stützt diese Ansicht nicht nur auf eine Verschiedenheit der Krystallbilder, die bei der reinen Ablagerung stets neben dem Phosphat auch das Karbonat zu erkennen erlauben, in der Knochengrundsubstanz aber eine einheitliche nicht mehr trennbare Masse darstellen als auch auf folgende Überlegung.

Die Tätigkeit der Knochenbildungszellen baut den Knochen nicht nur auf, sondern löst ihn auch auf oder formt ihn um. Wäre die Kalkablagerung beim Aufbau ohne die Knochenbildungszellentätigkeit erfolgt, so wäre nicht einzusehen, warum entsprechend dieser beim Abbau der osteoiden Substanz die Kalkablagerungen verschwänden.

Des weiteren sei es sicher, daß Kalksalze bei Alkalibedarf als Alkaliersatz in den Säftstrom abgegeben würden oder daß sie umgekehrt auch zur Anlagerung gelangten. Ein solcher Vorgang wäre aber nur als Tätigkeit eines lebenden Gewebes vorstellbar. In dem gleichen Sinne spräche die Ablagerung fördernde Wirkung des ultravioletten Lichtes, die nur als eine Wirkung auf die Knochenzellen aufgefaßt werden könne sowie der Einfluß der Hormone auf den Kalksalzspiegel, der seine Quelle ja im Knochengerüst findet.

Watt glaubt daher, daß die Knochensalze zu den Knochenzellen im selben Verhältnis stehen wie das Glykogen zu den Leberzellen und daß Speicherung und Abgabe der Lebenstätigkeit dieser Zellen zuzuschreiben seien. Die gleichmäßige Zusammensetzung als Phosphat und Karbonat erklärt *Watt* — wohl fälschlich, wie weiter unten ausgeführt werden wird — mit dem Vorhandensein der *Barilléschen* Calcium-Phosphat-Karbonat-Komplexsalze. Da aber in Abschnitt B dieser Arbeit gezeigt werden wird, warum sich abgelagerte Phosphate immer auch z. T. in Karbonate umsetzen, ist diese Zusammensetzung unabhängig von der Absonderungstheorie, die als nicht unberechtigt angesehen werden muß, wenngleich eine Entscheidung zur Zeit noch unmöglich sein dürfte.

B. Untersuchungen über die Zustandsform des Calciums in Geweben und Gewebssäften.

I.

Zur Wahrung des Gedankenganges der Arbeit und der Zusammengehörigkeit der verschiedenen Ergebnisse seien hier gekürzt die an a. O.¹ mitgeteilten wesentlichsten Versuche und deren Ergebnisse dargestellt.

Das Calcium liegt nach den Ergebnissen einer großen Anzahl entsprechender Untersuchungen zahlreicher Forscher in Geweben und Gewebssäften in folgenden Formen vor.

1. Das adialysable Calcium.

Während alle anderen Ionen im Serum, das als Beispiel für alle Gewebsflüssigkeiten dienen soll, nach den Untersuchungen von *Rona* und seinen Mitarbeitern, dialysabel sind, sind das Calcium und in geringerem Grade auch das Magnesium nicht völlig dialysabel. Die Höhe des dialysablen Calciumanteils ist zuerst von *Rona* und *Takahashi*, dann von *Rona* und *Melli* an Serum von Hunden und Menschen, von *v. Meyenburg* und seinen Mitarbeitern und ebenso von *Cruicks-*

¹ Vgl. Biochem. Zeitschr. loc. cit. S. 686.

hank an Serum von normalen Hunden auf 60—70% des Gesamtcalciums bestimmt worden.

Bei Anwendung von Ultrafiltrationsmethoden wurde die Höhe des dialysablen Calciums mit 45—50% angegeben. Über die Zustandsart des nicht dialysablen Calciums bestehen in der Literatur verschiedenartige Ansichten, die in der Biochem. Zeitschr. (l. c.) genauer gegenübergestellt worden sind. Es genügt mitzuteilen, daß Verfasser sich der Ansicht derjenigen Forscher anschließt, die annehmen, daß das adialysable Calcium ganz, oder wenigstens zum größten Teil, an Eiweißkörper gebunden ist, wobei die Calcium-Eiweißverbindung als undissoziert aufgefaßt wird.

2. Das ionisierte Calcium.

Wird der Gehalt menschlichen Serums an Calcium zu rund 10 mg % angenommen und werden — mit den Höchstangaben — 50% als adialysabel betrachtet, so bleiben 5 mg % als dialysables Calcium vorhanden. Diese 5 mg % sollen z. T. in ionisierter Form vorliegen.

Rona und *Takahashi* haben in ihrer bekannten Arbeit die Menge der freien Calciumionen in Beziehung zur Bicarbonat- und H-Ionenkonzentration gebracht.

Setzten sie die Beziehung

$$\frac{(H^+) \cdot (CO_3'')}{(HCO_3')} = K_2,$$

in der K_2 die zweite Dissoziationskonstante der Kohlensäure bedeutet, in das Löslichkeitsprodukt

$$(Ca^{++}) \cdot (CO_3'') = K_1,$$

so folgt

$$\frac{(Ca^{++}) \cdot (HCO_3')}{(H^+)} = \frac{K_2}{K_1} = 350,$$

welche Konstante in wässriger Lösung bei Bodenkörpern von 18° ermittelt wurde. Nach dieser Gleichung konnten im Blutserum bei stabilem Gleichgewicht 2,2 mg % Calcium als Ion vorliegen.

An die Arbeit von *Rona* und *Takahashi* haben sich eine große Zahl von Untersuchungen angeschlossen, die die Konstanten, die zur Berechnung eingesetzt wurden, verbesserten.

Aus einer Zusammenstellung von *Erik J. Warburg* ergibt sich, daß, wenn man den Durchschnitt der zuverlässigsten Beobachtungen anwandte, der Ionenanteil des Calcium im Plasma nach den Löslichkeitsberechnungen etwa 1,8 mg % befragt kann.

Besonders sorgfältige Messungen des Löslichkeitsproduktes des $CaCO_3$ unter Berücksichtigung der Aktivitätstheorie wurden neuerdings von *Hastings*, *Murray* und *Sendroy* durchgeführt. Diese Berechnungen des Löslichkeitsproduktes stützen sich auf Calciumanalysen und Messung der CO_3 -Ionenmenge, die durch Analyse des Gesamt- CO_3 -Gehaltes und Bestimmung der H-Ionenkonzentration mittels der beiden Dissoziationskonstanten der Kohlensäure — die auf Grund der Aktivitätstheorie entsprechend dem Ionengehalt des Serums berichtigt worden waren — ermittelt werden kann.

Berechnet man nun aus den Analysen von *Hastings*, *Murray* und *Sendroy* den Calciumionengehalt im Serum, der entsprechend der Acidität und dem CO_3 -Ionengehalt möglich sein könnte, wenn man das

Löslichkeitsprodukt des Calciumcarbonates in einer Serumsalzlösung zugrunde legt, so ergibt sich beim Calciumionengehalt von 1,56 mg % Calcium, welche Zahl mit der oben erwähnten von 1,8 mg % in guter Übereinstimmung steht.

Betrachtet man aber die Menge der freien Calciumionen von dem Gesichtspunkt, daß sie nicht durch die CO_3 -Ionenkonzentration, sondern durch die vorhandene Konzentration an PO_4 -Ionen bestimmt wird (immer vorausgesetzt, daß ein Gleichgewichtsverhältnis einer gesättigten Lösung in Berührung mit dem Bodenkörper vorliegt), so ergibt sich, wenn man die besten Analysen von *Hastings, Murray* und *Sendroy* und *Holt, La Mer* und *Chown* zugrunde legt, daß nur etwa 0,45 mg % Calciumionen im Serum vorhanden sein können.

Diese Voraussetzungen treffen aber bei der von *Holt, La Mer* und *Chown* gezeigten Neigung des Calciumions, im übersättigten Zustande zu verharren, nicht zu.

Es konnte in den vorliegenden Arbeiten gezeigt werden, daß wenigstens für das Calciumphosphat ein Übersättigungszustand anzunehmen ist.

Ob dann die Calciumionenmenge durch das $\text{CO}_3^{''}$ begrenzt wird oder ob CaCO_3 übersättigt vorliegt, ist, wie in 3. gezeigt, noch nicht sicher feststellbar.

3. Der Übersättigungszustand und das Calcium unbekannter Bindungsform.

Nehmen wir an, daß in einem Serum von einem Gehalt von beispielsweise 10 mg % Gesamtcalcium 5 mg % Calcium an Eiweiß gebunden betrachtet werden können, so bleiben, wenn der Calciumionengehalt durch das Carbonation bedingt würde — also rund 1,8 mg % betrüge —, 3,2 mg % Calcium in einer Zustandsform, über die nichts ausgesagt werden kann, und die, wenn man den Calciumionengehalt durch die Phosphatmenge als begrenzt betrachtet — also etwa 0,5 mg % Calcium als Ion vorhanden wäre —, sich sogar auf 4,5 mg % Calcium erhöhen würden.

Außer der Möglichkeit, daß dieses Calcium in einer unbekannten, aber dialysablen Bindungsform vorliegt, besteht die Möglichkeit, daß das Calcium entweder zum Teil als übersättigtes Calciumphosphat und nur in der noch bleibenden Differenz in unbekannter Bindung oder in seiner Gesamtheit als übersättigtes Calciumphosphat und Calciumcarbonat vorliegt.

Hinsichtlich der Übersättigung an Calciumphosphat liegen die äußerst bemerkenswerten Arbeiten von *Holt, La Mer* und *Chown* vor. Diese Verfasser zeigten, daß beim Schütteln von steriles Serum mit festem tertiären Calciumphosphat, das sie mehrere Wochen fortsetzten, der Calciumgehalt des Serums abnahm. Auch der Phosphatgehalt nahm

ab. Sie schlossen hieraus, daß das Serum eine an Calciumphosphat gesättigte Lösung darstellt, die beim Animpfen mit Bodenkörper und bei genügend langer Schüttelzeit zu einem Ausfallen von Calciumphosphat bis zum wahren Löslichkeitsprodukt, d. h. bis zum Gleichgewicht mit Bodenkörper gebracht werden kann.

In außerordentlich ausführlichen Untersuchungen wurden diese Versuche von *Hastings*, *Murray* und *Sendroy* nachgeprüft. Diese Forscher zeigten, daß tatsächlich beim Schütteln von Serum mit Calciumphosphat der Calciumgehalt des Serums abnimmt, daß aber merkwürdigerweise das Calcium nicht als Calciumphosphat sondern als Calciumcarbonat ausgefallen sein muß. Das Schütteln von Serum mit festem Calciumcarbonat hatte andererseits aber keinerlei Einfluß auf den Calciumgehalt des Serums.

Es ist nicht möglich, hier die Einzelheiten dieser Versuche darzustellen, sowie kritisch zu ihnen Stellung zu nehmen. Es muß wiederum auf die Ausführungen in der Biochem. Zeitschr. verwiesen werden. Ihr wesentliches Ergebnis ist, daß die Verfasser im Gegensatz zu *Holt*, *La Mer* und *Chown* einen Übersättigungszustand des Serums an $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ablehnen.

Die Untersuchungen der amerikanischen Verfasser beschäftigten sich hauptsächlich mit der Frage der Übersättigung an Calciumphosphat. Es ist nun durchaus möglich, daß das Serum an Calciumphosphat übersättigt wäre, nicht aber an Calciumcarbonat, da ja bei einem CO_3^{2-} - und PO_4^{3-} -Gehalt wie im Serum eine Calcium-Ionenkonzentration schon beim Überschreiten von etwa 0,5 mg % einen Übersättigung an Calciumphosphat bedingen würde, an Calciumcarbonat aber erst bei Überschreiten der Grenze von etwa 1,8 mg % an. Ob das Serum evtl. an Calciumcarbonat übersättigt ist, ist strittig. Es ist dies von einer Reihe von Verfassern behauptet worden, andere aber nehmen eine besondere Bedingungsform des Calciums für die unbekannte Zustandsform des Calciums in Anspruch. *Barillé* hat eine komplexe Carbonat-Phosphatverbindung des Calciums dargestellt und ihr Vorhandensein im Organismus behauptet. Eine ähnliche Ansicht über das Bestehen einer Carbonat-Phosphat-Komplexverbindung hat *Gassmann* ausgesprochen. Noch unlängst ist von *Klinke* das Bestehen einer unbekannten Komplexverbindung behauptet worden.

Vorliegende Untersuchungen machen eine Übersättigung des Serums an Calciumphosphat äußerst wahrscheinlich. Für das restliche Calcium ist ein Vorhandensein in einer noch unbekannten dialysablen Bindungsform nicht auszuschließen; es bleibt aber keinerlei Grund bis zur Erbringung des Beweises ihres Vorhandenseins das Calcium nicht als übersättigtes Calciumcarbonat zu betrachten.

II.

Die Frage der Zustandsform des Calciums in den Geweben und in den Gewebssäften wurde dahin bearbeitet, daß

1. festgestellt wurde, ob das Calcium in seiner unbekannten Bindungsform vielleicht als kolloidales Calciumcarbonat oder Calciumphosphat vorliegt;

2. wurde die Angabe von *Gassmann*, die für die Theorie einer Calciumphosphat-Carbonat-Komplexverbindung die besten experimentellen Unterlagen bot, nachgeprüft und

3. wurde die Frage bearbeitet, welche Umsetzungen das Serumcalcium erfährt, wenn es mit festem tertiären Calciumphosphat als Bodenkörper geschüttelt wird, um die Frage der Übersättigung des Serums mit Calciumphosphat zu entscheiden.

Diese Untersuchungen führten dann im besonderen zu einer neuen Vorstellung über den Verlauf der Kalkablagerung.

1. Kompensationsdialysen von Serum gegen Phosphat- und Bicarbonatlösungen.

Um zu entscheiden, ob Calciumphosphat oder Calciumcarbonat in kolloidaler Form im Serum vorhanden sind, wurden Kompensationsdialysen von Serum gegen verschiedene konzentrierte Bicarbonatlösungen einerseits und Phosphatlösungen andererseits angestellt, wobei die Salzlösungen gleichzeitig durch einen Gehalt von 0,85% Kochsalz dem Serum isotonisch gemacht wurden.

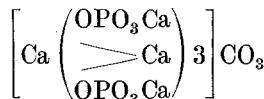
Die Versuche ergaben, daß sowohl das Bicarbonat- beziehungsweise Carbonation als auch das Phosphation vollkommen frei dialysabel sind, da nach erfolgter Gleichgewichtseinstellung von Serum und Salzlösungen die reine Salzlösung stets etwas höher konzentriert war als der entsprechende Serumionengehalt.

Dieser Überschuß, der etwa 8—9% betrug, läßt sich durch den durch den Eiweißgehalt bedingten sogenannten nicht löslichen Raum des Serums erklären.

Da durch die Versuche gezeigt ist, daß weder Phosphat- noch Carbonationen kolloidal vorhanden sind, so kann auch im Serum kein kolloidaler Calciumphosphat- oder Calciumcarbonatanteil vorliegen.

2. Die Komplex-Calciumphosphat-carbonat-Verbindung von Gassmann.

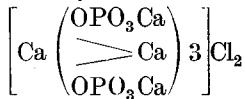
Die Annahme von Gassmann, daß das Calcium in einer Komplexverbindung vorliegt, der er die Formel



zuschrieb, hat etwas bestechendes, da sie das gleichmäßige Vorhandensein von Carbonat und Phosphat in den Calciumniederschlägen in den Geweben erklären würde.

Der Beweis, den Gassmann für eine Formel gegeben hat, gründete sich darauf, daß sich das CO_3 in obiger Formel gegen Cl austauschen lassen soll.

Gassmann glühte hierzu Asche von Zähnen mit CaCl_2 und kam dann zu einer Substanz, deren Analyse der Formel



genau entsprach.

Zur Prüfung der *Gassmannschen* Angaben wurde nun so vorgegangen, daß sowohl natürliche Knochenasche mit CaCl_2 gegläüht wurde wie auch eine sogenannte künstliche Asche, die durch Mischen von Calciumcarbonat, Calciumphosphat und Magnesiumphosphat erhalten wurde. Beide Aschen, die natürliche wie die künstliche, zeigten nach dem Glühen mit CaCl_2 , nachdem sie genau nach den *Gassmannschen* Angaben frei von überflüssigem CaCl_2 gewaschen wurden, einen nahezu gleichen Cl-Gehalt. Da der gemischten, künstlichen Asche keinesfalls eine Struktur entsprechend des *Gassmannschen* Formel zugestanden werden kann, so kann der auf dem Cl-Gehalt beruhende Beweis für die Konstitution der Knochenasche nicht als gültig angesehen werden.

3. Der Übersättigungszustand des Serums an Calciumphosphat.

Nachdem *Hastings*, *Murray* und *Sendroy* gezeigt hatten, daß beim Schütteln von Serum mit tertiärem Calciumphosphat das Calcium als Calciumcarbonat ausgefallen sein mußte, lehnten sie die Auffassung von *Holt*, *La Mer* und *Chown*, daß das Serum an Calciumphosphat übersättigt sei, ab, ohne für die von ihnen gefundene Erscheinung eine Erklärung bieten zu können.

Dieser Ansicht schloß sich neuerdings *Klinke* an, der ebenfalls beim Schütteln von Serum mit tertiärem Calciumphosphat eine Abnahme an Calcium fand. Er hielt diesen Vorgang des Calciumverlustes für die Absorption einer unbekannten, kolloidalen, negativ geladenen Calciumverbindung im Serum an den positiven Bodenkörper, da er die Calciumabnahme auch beim Schütteln des Serums mit $\text{Al}(\text{OH})_3$, BaSO_4 und $\text{Mg}(\text{NH}_4)\text{PO}_4$, nicht aber beim Schütteln mit Kaolin und Calciumcarbonat beobachtete.

Da die Erscheinung des Calciumverlustes beim Schütteln des Serums mit Bodenkörpern als wesentlich zur Erklärung der Zustandsform des Calciums im Serum anzusehen war, wurde sie eingehend untersucht.

Hierzu wurde Pferdeserum keimfrei bei 37° mit festem tertiären Calciumphosphat verschiedene Zeiten lang und mit verschiedenen Konzentrationen an Bodenkörper geschüttelt. Desgleichen wurden entsprechende Schüttelversuche mit Calciumcarbonat als Bodenkörper ebenso wie auch mit Glaspulver angestellt.

Diese Versuche wurden dann mit Ringerlösung an Stelle von Serum wiederholt, und schließlich wurde der Einfluß von Zusätzen von Calcium- und Phosphationen, von Aciditätsänderungen usw. bei Anwendung verschiedener Bodenkörper geprüft.

Es wurde bei diesen Versuchen nach Abzentrifugieren der festen Phasen der Gesamtcalciumgehalt sowie, je nach der Fragestellung, außerdem der Gesamt-P- und Gesamt- CO_2 -Gehalt analytisch ermittelt. Außerdem wurde der p_{H} der Flüssigkeit bestimmt. Aus der gemessenen

Acidität sowie dem Gesamt-P- und Gesamt-CO₂-Gehalt der Flüssigkeit ergab sich der Gehalt an CO₃⁻ und PO₄³⁻-Ionen auf Grund der Beziehungen

$$\text{CO}_3' = \frac{(\text{CO}_2) \cdot K_1 \cdot K_2}{H^2 + H \cdot K_1 + K_1 \cdot K_2},$$

worin CO₂ den Gesamtcarbonatgehalt, K₁ und K₂ die nach der Aktivitätstheorie korrigierte, 1 und 2 Dissoziationskonstante der Kohlensäure

$$(K_1 = 7 \cdot 41 \cdot 10^{-7}, K_2 = 1,62 \cdot 10^{-10})$$

darstellen, und

$$\text{PO}_4'' = \frac{P \cdot K_1 \cdot K_2 \cdot K_3}{H^3 + H^2 \cdot K_1 + H \cdot K_1 \cdot K_2 + K_1 \cdot K_2 \cdot K_3},$$

worin P den Gesamt-P-Gehalt und K₁, K₂, K₃ die erste bis dritte Dissoziationskonstante der Phosphorsäure

$$(K_1 = 1,22 \cdot 10^{-2}, K_2 = 2,19 \cdot 10^{-7}, K_3 = 1,66 \cdot 10^{-12})$$

bedeuten. Diese Zahlen ermöglichen sowohl den Gang der Änderung der Ionenkonzentrationen bei den einzelnen Versuchsreihen zu betrachten als auch die entsprechenden Löslichkeitsprodukte zu berechnen.

Es wurde bestätigt, daß Ca₃(PO₄)₂ als Bodenkörper einen Calciumverlust des Serums bewirkt. Diese Wirkung haben weder Calciumcarbonat noch an sich feste Körper, wie z. B. Versuche mit Glaspulver zeigten.

Gleichzeitig mit dem Calciumgehalt nimmt beim Schütteln mit Ca₃(PO₄)₂ der Gesamt-CO₂-Gehalt der Lösung ab.

Als Schüttelzeit genügt vollkommen eine Zeit von 24 Stunden für die Umsetzung. Während dieses Vorganges nimmt der Säuregehalt des Serums zu.

Bei Anwendung von wenigen Milligramm von tertiärem Calciumphosphat als Bodenkörper nimmt außer dem Gesamt-CO₂-Gehalt auch der Gesamt-P-Gehalt des Serums ab.

Bei Änderung der Bodenkörpermenge zeigte es sich nun, daß die ganze Erscheinung in Beziehung zur angewandten Bodenkörpermenge steht. Je mehr Bodenkörper bei einem bestimmten festgehaltenen Serumvolumen angewandt wird, desto größer ist der Calciumverlust des Serums, der bald ein völliger bei genügender Bodenkörpermenge wird. Ebenso wächst mit steigender Bodenkörpermenge auch die Abnahme des Gesamt-CO₂-Gehaltes.

Auch steigt der Phosphatgehalt im Serum bei großen Bodenkörpermengen stark an. Es kann sich bei diesem Vorgang keinesfalls um das einfache Animpfen einer übersättigten Lösung handeln, da für diese ja die Menge der Impfkristalle gleichgültig ist. Es könnte sich andererseits aber auch nicht, wie *Klinke* annimmt, um die Absorption einer un-

bekannten, kolloidalen Calciumverbindung im Serum mit dem Bodenkörper handeln, da es gelang, alle die eben dargestellten, sich auf Serumversuche beziehenden Erscheinungen auch an Ringerlösungen auszuführen.

Ja, die Versuche mit Ringerlösungen, in denen doch mit Sicherheit keine unbekannten, kolloidalen Calciumverbindungen vorhanden sind, lassen sich noch leichter und deutlicher darstellen als mit Serum, dessen Eiweißgehalt Technik und Deutung der Versuche erschwert.

Sowohl bei den Versuchen mit Serum als auch mit Ringerlösung geht beim Schütteln mit festem tertiären Calciumphosphat eine Umsetzung vor sich derart, daß $\text{CO}_3^{''}$ aus der Lösung heraus, $\text{PO}_4^{''''}$ dagegen hineingeht.

Dieses Ansteigen von $\text{PO}_4^{''''}$ erklärt ohne weiteres das Fallen des Calciumgehaltes, da in einer gesättigten Lösung mit gleichbleibendem Löslichkeitsprodukt das Ansteigen des einen Faktors die Abnahme des anderen Faktors bedingt.

Es müssen sich also die Flüssigkeiten mit dem Bodenkörper derart umsetzen, daß $\text{PO}_4^{''''}$ aus dem Bodenkörper frei wird und das Calcium als Calciumphosphat ausfällt.

Solche Umsetzungen könnten nach den Gleichungen erfolgen

- 1) $3 \text{NaHCO}_3 + \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 = 3 \text{CaCO}_3 + \text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{NaH}_2\text{PO}_4$
- 2) $\text{NaHCO}_3 + \text{NaHPO}_4 = \text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$
- 3) $4 \text{NaHCO}_3 + \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 = 3 \text{CaCO}_3 + 2 \text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$

Dieser Vorgang würde unter Freiwerden von CO_2 und somit unter Anwachsen der H-Ionenkonzentration verlaufen, was tatsächlich in den gesamten Versuchen zu beobachten ist.

Diese Umsetzung ist aber nur derart möglich, daß ein Austausch der Ionen, der Flüssigkeit mit dem festen Bodenkörper nach dem Bilde des bekannten Vorgangs der Austauschabsorption erfolgt, da festes $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ in einer gesättigten oder übersättigten Lösung nicht mehr in Lösung gehen würde.

Als Erklärung für die beobachteten Umsetzungen ist allein die Annahme zu machen, daß der feste Bodenkörper Calciumphosphat auf dem Wege der Austauschabsorption Carbonationen aufnimmt und Phosphationen abgibt.

Dem Vorgang folgen dann sekundär H-Ionenzunahme, beziehungsweise ein CO_2 -Verlust, sowie Ausfällung des Calciums als Calciumphosphat. Daß das gebildete Calciumcarbonat sich nicht wieder löst, könnte mit einem Übersättigungszustand der Flüssigkeit an Calciumcarbonat zusammenhängen.

Dieser Vorgang müßte nun einem stetigen Anwachsen des $\text{PO}_4^{''''}$ -Gehaltes in der Flüssigkeit entsprechen, und es müßte nur ein Verlust an Calciumcarbonat eintreten, während $\text{PO}_4^{''''}$, wie gesagt, anwachsen muß.

Übereinstimmend mit *Holt*, *La Mer* und *Chown* konnte aber Verfasser zeigen, daß beim Animpfen der Flüssigkeiten mit geringen Bodenkörpermengen, bei denen die in Lösung gehende Phosphatmenge nicht so groß ist, daß sie das Ergebnis verdeckt, *es stets zu einem Abnehmen des PO_4 -Gehaltes* — aber nicht nur des PO_4 -Ions, sondern auch des Gesamt-P-Gehaltes — kommt.

Bei Ringerlösung genügen hierzu winzige Mengen (1 mg $Ca_3(PO_4)_2$ auf 20 ccm Ringerlösung), während bei Serum schon etwas größere Calciumphosphatmengen als diese (etwa 5 mg) für die Wirkung notwendig sind. Aus dieser Abnahme des Phosphates folgt, daß zuerst beim Zusatz geringer Bodenkörpermengen entsprechend dem Animpfen einer übersättigten Lösung eine Ausfällung von Calciumphosphat erfolgt, worauf dann die geschilderten Umsetzungen zwischen Lösung und Bodenkörper erfolgen.

Dies wird wohl auch dadurch bestätigt, daß das Löslichkeitsprodukt von $Ca_3(PO_4)_2$ zunächst beim Animpfen mit Bodenkörper heruntergeht, um dann trotz zunehmender Calciumabnahme beständig zu bleiben.

Die Erscheinung, daß im Serum etwas größere Krystallmengen zum Animpfen notwendig sind als in Ringerlösung, kann durch den Eiweißgehalt des Serums bedingt sein. Es ist jedoch sehr wohl möglich, daß im Serum eine besondere Krystallstruktur, die sich von dem angewandten, festen, tertiären Calciumphosphat unterscheidet, zum Animpfen notwendig ist. Der Vorgang ist dann so zu verstehen, daß zunächst aus dem Bodenkörper durch die geschilderte Austauschabsorption das PO_4 -Ion in Lösung geht, das dann eine Ausfällung an $Ca_3(PO_4)_2$ bewirkt und daß diese ausfallenden Krystalle, die also ein Calciumphosphat darstellen, das sich im Serum erst gebildet hat, die Impfkristalle sind, die die Abnahme des PO_4'' bewirken.

Daß eine Erhöhung der Calcium- oder PO_4 -Ionenkonzentration ein Ausfallen von festem Calciumphosphat bewirkt, zeigten zahlreiche Versuche mit $CaCl_2$ - und Natriumphosphatzzusätzen zum Serum und Ringerlösung.

Aus allen diesen Versuchen wird geschlossen, daß nicht nur der Bodenkörper $Ca_3(PO_4)_2$ sich zum Teil in Carbonat umsetzt und daß das in Lösung gehende PO_4'' das Calcium der Lösung ausfällt, sondern es wird die anfängliche Abnahme des PO_4 -Ions (und das Gesamt-P) als Beweis angesehen, daß gleichzeitig ein Ausfallen von Calciumphosphat entsprechend dem Animpfen einer übersättigten Lösung einhergeht. Gegen die Deutung der Versuche, daß das Serum eine an Calciumphosphat übersättigte Lösung darstellt, spricht allein ein Versuch von *Klinke*, der Serum in einer Äther-Kohlensäureschneemischung ausfroste und den Calcium- und PO_4 -Gehalt vor und nach dem Aus-

frieren bestimmte. Während aus einer übersättigten Lösung beim Ausfrieren sich alle Salze abscheiden und nach dem Auftauen nur nach Maßgabe der normalen Löslichkeitsverhältnisse sich wieder lösen müßten, konnte *Klinke* zeigen, daß der Phosphat- und Calciumgehalt durch das Gefrieren unverändert bleibt, was er für einen Beweis ansah, daß das Serum nicht an Calciumphosphat übersättigt ist.

Der Gefrierversuch von *Klinke* wurde mit Serum wiederholt und in seinem Ergebnis vollauf bestätigt. In seinen Folgerungen kann er aber als Gegenbeweis gegen den in den vorangehenden Versuchen wahrscheinlich gemachten Übersättigungszustand an Calciumphosphat nicht anerkannt werden, da nicht zu durchschauen ist, in welcher Art und Zustandsform das Calciumphosphat in dem eiweißhaltigen Serum ausfriert. Es ist durchaus möglich, daß es durch die Wirkung des Eiweiß nicht zur Bildung von krystallinischem Calciumphosphat kommt.

Zusammenfassend sei gesagt:

Ob auch die Deutung, die Verfasser für die Ergebnisse seiner Versuche gibt, bestritten werden kann oder nicht, die Erscheinung an sich bleibt bestehen, daß das Einbringen von tertiärem Calciumphosphat in Serum oder Ringerlösung ein Ausfallen des gelösten Calciums bis zum völligen Verschwinden desselben als Phosphat und Carbonat bewirkt.

Diese Erscheinung macht es außerordentlich wahrscheinlich, daß alle Kalkablagerungen im Gewebe ursprünglich aus Krystallkeimen hervorgegangen sind. Ergänzt sich die Lösung, aus der das Calcium ausgefallen ist, beziehungsweise gibt sie ihren überschüssigen Phosphatgehalt wieder ab, nimmt sie also ihre ursprüngliche Zusammensetzung wieder an — wie das bei der Gewebsflüssigkeit nekrotischer Gewebe der Fall sein muß, da sie mit dem Gesamtserum im osmotischen Austausch steht —, so muß der Vorgang der Kalksalzfällung stetig forschreiten. Hiermit ist ein Modell gegeben, das das Wachstum einer Kalkablagerung ohne Rücksicht auf die Menge der das Gerüst bildenden Gewebssubstanz erklärt, und durch den Versuch zeigt, daß die Ablagerung als Phosphat und Carbonat gemeinsam auftreten muß.

4. Untersuchungen über die Bindung von Calcium durch das Eiweiß verschiedener Gewebsarten.

Während in den vorangehenden Versuchen gezeigt wurde, daß Krystallkeime von Calciumphosphat bei vorhandener Diffusion der Mutterlauge zu einem stetig wachsenden Niederschlag von Calciumcarbonat und Calciumphosphat führen, ist es noch unklar, warum es gerade in bestimmten Geweben, wie in Knorpel oder Bindegewebe und nicht in anderen Gewebsarten zu einem Auftreten dieser Niederschläge kommt.

Durch die Versuche von *Pfaundler* und *Wells* sowie durch die ausgedehnten und sehr verdienstvollen Untersuchungen von *Freudenberg*

und *György* war gezeigt worden, daß Knorpeleiweiß anscheinend eine besondere Verwandtschaft zum Calciumion besitzt. Dieses besondere chemische Verhalten des Knorpels im Gegensatz zu anderen Geweben ist ja von den Autoren zur Grundlage ihrer Calciumbindungstheorie gemacht worden.

Die Versuche von *Freudenberg* und *György* zeigen aber, wie oben dargestellt, keineswegs, daß die Kalbkindung durch Knorpel auf einer dem Knorpel besonders eigenen Bindungsfähigkeit beruht. Das von ihnen gefundene Verhalten des Knorpels entspricht im Wesen völlig dem bekannten Verhalten von Eiweißkörpern, auf der alkalischen Seite ihres isoelektrischen Punktes Kationen zu binden. Daß Erdalkalien weniger dissozierte Verbindungen mit Eiweiß bilden als einwertige Kationen, ist schon bei der Besprechung der Zustandsform des Calciums im Serum dargestellt worden. Es konnte also die Calciumbindung durch Gewebsknorpel an sich nichts Auffälliges haben und wäre für die Erklärung des Ablagerungsprozesses von Kalksalzen nicht dienlich, wenn nicht die Beobachtung vorläge, daß Knorpelgewebe dem Grade nach mehr als irgendein anderes Gewebe die Eigenschaft der Bindung von Calciumionen besitzt. Es wäre gezwungen, diese Eigenschaft mit der Tatsache, daß gerade Knorpelgewebe im Körper das vornehmliche Substrat der Kalkablagerung bildet, nicht in Beziehung zu bringen. Das gleiche gilt, wenn auch in quantitativ geringerem Maße, für das Bindegewebe.

Da nun *Freudenberg* und *György* gezeigt haben, daß gemäß der bekannten Kationenbindung durch Eiweiß auch die Calciumbindung an Knorpel von dem p_H abhängig ist, derart, daß sie nur bei einem $p_H > 4$ erfolgt, ist es wahrscheinlich, daß die Neigung des Knorpels zur Calciumbindung nicht durch ein besonderes chemisches Verhalten, sondern durch die saure Natur des Knorpeleiweiß bedingt wird.

Die Stärke des Kationenbindungsvermögens einer Eiweißart ist abhängig von der Lage ihres isoelektrischen Punktes. Je weiter derselbe nach der sauren Seite gelegen ist, um so stärker müssen die sauren Eigenschaften des Eiweiß hervortreten, und um so stärker muß sein Vermögen sein, mit Kationen Verbindungen einzugehen. Dies wird bestätigt durch die Arbeiten von *Rona*, *Petow* und *Wittkower*, die zeigten, daß sich Calcium bei der Dialyse verschiedener Eiweißkörper gegeneinander (Serumeiweiß und Hämoglobin) mehr mit dem Serumeiweiß — isoelektrischer Punkt p_H etwa 5 — als mit Hämoglobin — isoelektrischer Punkt p_H etwa 7 — verbindet, während es sich bei der Dialyse von Serum gegen Eiereiweiß, das fast den gleichen isoelektrischen Punkt hat wie Serum, gleichmäßig auf beide Eiweißarten verteilt.

Es erschien daher notwendig, Knorpel- und Bindegewebseiweiß einerseits mit Muskel- und Organeiweiß andererseits hinsichtlich der Lage ihrer isoelektrischen Punkte zu vergleichen.

Zu diesem Zwecke wurde das Vermögen, Anionen und Kationen bei wechselndem p_H zu binden, an Trockenpulvern von Knorpel, Bindegewebe, Muskel und Leber geprüft, und zwar wurden wegen ihrer leichten Nachweisbarkeit nach dem Vorgange von *J. Loeb* an Gelatine als Kation Ag^+ und als Anion $Fe(CN)_6^{4-}$ angewandt.

Dieses Ionenbindungsvermögen zeigt nicht den isoelektrischen Punkt des Eiweißes, sondern es bezeichnet, entsprechend etwa der H - und OH' -Dissoziationskurve der Eiweißart (wobei auch zu berücksichtigen ist, daß in dem Gewebe wahrscheinlich eine Mischung verschiedener Eiweißarten vorliegt), nur die Grenze, bis zu der Kationen und Anionen gebunden werden können. Der zwischen diesen beiden Grenzen liegende p_H -Bereich, den ich mit dem Worte „iselektrische Zone“ bezeichnen möchte, gibt jedoch in seiner Lage einen Ausdruck für die saure bzw. basische Gesamtnatur eines Gewebes und läßt sich in vorliegendem Falle zu vergleichenden Messungen anwenden.

Die Versuche wurden so angestellt, daß möglichst feine Trockenpulver der verschiedenen Gewebe durch Trocknen im Faustschen Apparat bei möglichst niedriger Temperatur hergestellt wurden. Diese Pulver wurden dann 24 Stunden lang in Säure- oder Pufferlösung verschiedener p_H eingelegt, der Überschuß dieser Lösungen nach erfolgter Einwirkung durch Waschen mit Aqua dest. entfernt und die Pulver dann einerseits in Silbernitrat andererseits in Ferrocyanalium eingelegt.

Diese Lösungen wurden nach einigen Stunden abgenutscht, die Pulver gut ausgewaschen, worauf bei den Versuchen mit Silbernitrat die Gewebspulver mit Salpetersäure ausgewaschen wurden und das aus den Geweben durch die Säure gelöste Silber mittels Chlorionen nachgewiesen wurde; der Nachweis des $Fe(CN)_6^{4-}$ -Ions erfolgte durch die Blaufärbung des Pulvers beim Stehen an der Luft in 1—2 Tagen.

Diese Versuche gaben keine scharfe Grenze, von der ab das Kation bzw. das Anion gebunden wird oder nicht, sondern es zeigt sich von dem Punkte maximaler Bindung bis zu einer Bindung in Spuren ein ziemlich breites Übergangsbereich.

Dieses Übergangsgebiet wurde sowohl für Kationen als auch Anionenbindung ermittelt.

Es sei bemerkt, daß der p_H im Eiweißpulver selbst nicht zu messen ist und daß mit einem geringen Fehler dafür diejenige Acidität gesetzt wurde, die die Puffer- oder Säurelösung hatten, mit denen die Pulver zur Erzielung eines bestimmten Säuregehaltes behandelt wurden.

Außerdem wurden Versuche über mikroskopische Kataphorese der Organpulver bei variiertem p_H angestellt. Die Ergebnisse der Versuche waren folgende:

1. Das Übergangsbereich zwischen stärkster und geringster Kationen- bzw. Anionenbindung liegt für

- a) Knorpelweiß zwischen rund p_H 3,0—5,5 Kation, 4,5—5,5 Anion
 b) Sehneneiweiß „ „ „ 3,9—6,0 „ „ 4,5—5,8 „ „
 c) Muskeleiweiß „ „ „ 3,9—5,5 „ „ 4,9—6,1 „ „
 d) Lebereiweiß „ „ „ 4,2—5,8 „ „ 4,9—6,0 „ „

d. h. dieser Bereich verschiebt sich teils beim Kation, teils beim Anion von a) bis d) im Sinne einer p_H -Zunahme, also nach der alkalischen Seite. Hierbei ist zu beachten, daß die Grenzen durch die Zahl der Versuchspunkte bedingt sind und sich noch schärfer einengen lassen.

2. Die Betrachtung der Kataphorese zeigt bei

a) Knorpel	anodische	Wanderung	bei einem	$p_H > 2,9$	
	kathodische	„	„	„	—
b) Sehnen	anodische	„	„	„	6,1—4,4
	kathodische	„	„	„	3,3—4,0
c) Muskel	anodische	„	„	„	$> 6,0$
	kathodische	„	„	„	$< 4,2$

Auch diese Versuche zeigen die Verschiebung des isoelektrischen Bereiches von a) bis c) zunehmend nach der alkalischen Seite.

Es kann also, ohne zu entscheiden, wo genau zahlenmäßig die einzelnen isoelektrischen Punkte der Eiweißarten der verschiedenen Gewebe liegen, doch gesagt werden, daß der Charakter von Knorpel deutlich saurer ist als der von Muskel und Organeiweiß.

Hieraus ergibt sich ein Grund, warum Knorpel (vielleicht auch Bindegewebe) in stärkerem Maße Calcium binden könnte als andere Gewebeeiweißarten.

Calciumbindung ist aber keine Kalkablagerung. Die Möglichkeit der Calciumbindung durch Knorpel und Bindegewebe erklärt daher noch nicht die Kalkablagerung.

Sie macht es aber wahrscheinlich, daß beim Abbau (Autolyse) dieser Gewebe es zum Freiwerden von Calciumionen kommen kann. Ein solches Freiwerden von Calciumionen kann gemeinsam mit der Phosphatbildung bei der Autolyse und mit den im folgenden Abschnitt dargelegten Vorgängen in absterbendem Gewebe mitbedingend sein für das Auftreten der ersten Calciumphosphatkristalle, die dann als Keimkristalle die Umsetzungen, die unter 3 dargestellt wurden, einleiten können.

5. Untersuchungen über die Acidität des Gewebes bei der dystrophischen Verkalkung¹.

Außer den im vorangehenden Abschnitt dargestellten Möglichkeiten über die Bildung von Keimkristallen war festzustellen, welche Beziehung zwischen der H-Ionenkonzentration und der Konzentration freier Calcium- und PO_4 -Ionen in den Geweben besteht, da es möglich war, daß bei der Erscheinung der dystrophischen Verkalkung es die Änderung der Acidität des Gewebes ist, die die bedingende Ursache für das

¹ Diese Untersuchung wurde gemeinsam mit I. Remesow durchgeführt.

Auftreten von Kalkniederschlägen darstellt. Es wurde daher versucht, die Acidität im absterbenden und verkalkenden Gewebe im Vergleich zu gesundem Gewebe zu messen.

Hierzu wurde die Kaninchenniere gewählt, da sich an ihr am sichersten dystrophische Verkalkung erzielen läßt.

Verfasser ist sich bewußt, daß es keine einheitliche Acidität des Gewebes gibt, sondern nur eine verschiedene Acidität in den verschiedenen Gewebsstücken. Trotzdem wurde der Versuch gemacht, festzustellen, ob größere Unterschiede in dem Gesamtcharakter eines Gewebes hinsichtlich seiner Acidität bei der Nekrose sich feststellen lassen.

Es wurde für diese Versuche, nachdem die vorhandenen Methoden für die Aciditätsbestimmung in Geweben erprobt und als nicht geeignet befunden worden waren, auf die alte *Michaelissche* Methode zurückgegriffen, Zerreibungen von Organen bzw. Aufschlemmungen mittels der Gaskette elektrometrisch zu messen. Diese Methode wurde dadurch ergänzt, daß mittels einer neu konstruierten Mikropresse¹ Preßsäfte, die auch die intracellulären Flüssigkeiten enthielten, aus den untersuchten Organen gewonnen wurden.

Bei einer Reihe von Kaninchen wurde eine der Nieren, und zwar die linke, entweder mittels Gesamthilusunterbindung oder durch Unterbindung der Nierenvene allein zum Absterben gebracht.

Zu verschiedenen Zeiten nach gelungener aseptischer Operation, (14—60 Tagen) wurde das Tier getötet. Beide Nieren, die unterbundene und die normale, wurden herausgenommen, gewogen und in symmetrische Stücke zerteilt, die einsteils zur histologischen Untersuchung und zur analytischen Calciumbestimmung, zum anderen Teil zur Aciditätsmessung benutzt wurden.

Die Aciditätsmessung erfolgte in 2 verschiedenen Formen. Einmal wurden Zerreibungen des Organs mit NaCl-Lösung in der U-Elektrode gemessen, andererseits wurden die Organe mit Kieselgur zerrieben, in der Mikropresse ausgepreßt und die wenigen Tropfen Flüssigkeit, die erhalten wurden, in einer Mikro-U-Elektrode von 0,2 ccm Fassungsvermögen gemessen.

Selbstverständlich stellen die Ergebnisse keine absoluten p_H -Werte dar. Abgesehen von der Schwierigkeit, den p_H -Begriff überhaupt auf das Gewebe anzuwenden, hat die angewandte Methode zahlreiche Fehlermöglichkeiten, die in der genannten ausführlichen Darstellung eingehend besprochen worden sind.

Die Methode erlaubt allein vergleichende Messungen, wobei die Ergebnisse mit Gewebsbrei sich mit den Ergebnissen der Messung der Preßsäfte nicht zu decken brauchen.

¹ Die Mikropresse wird von den Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf, Berlin N 39, Scharnhorstr. 22, gebaut.

Zur Entscheidung der Frage aber, ob der Gesamtcharakter eines Gewebes, als Durchschnittswert betrachtet, sich durch den Prozeß des Absterbens verändert, ist die angewandte Methode durchaus brauchbar.

Im ganzen gelangten 8 Kaninchen mit Unterbindung des Gesamthilus und 5 Kaninchen mit Unterbindung der Nierenvene zur vergleichenden Messung der unterbundenen und der normalen Niere. Der p_H der Preßsätze der unterbundenen Niere schwankte um einen Mittelwert von 6,68, im Durchschnitt nicht mehr als 0,15, die Preßsätze aus den nicht unterbundenen Nieren schwankten um einen Mittelwert von 6,18, im Durchschnitt um 0,08.

Der p_H des Organbreies der unterbundenen Niere lag bei 7,18, der der gesunden Vergleichsniere bei 6,59. Die Werte von Preßsaft und Zerreißungen der dystrophischen Niere waren also stets deutlich alkalischer als die entsprechend behandelten Extrakte aus normalen Organen.

Diese Auszüge aus normalen Organen zeigten zweifellos eine postmortale Säuerung.

Wesentlich schien nun, daß die dystrophischen Organe (die doch im Organismus autolytische Veränderungen erfahren) diese Säuerung durchaus vermissen ließen.

Sie verhielten sich also abweichend von autolytischen Organen *in vitro*.

Dieses Verhalten war unabhängig von der Art der Unterbindung und von der Zeitdauer des dystrophischen Vorganges. Alle unterbundenen untersuchten Nieren zeigten, einmal zum Absterben gebracht, das gleiche Ergebnis.

Das Verschwinden der postmortalen Säuerung im Verein mit dem Aufhören der CO_2 -Bildung im abgestorbenen Gewebe lassen den Schluß als durchaus wahrscheinlich zu, daß das dystrophische Gewebe tatsächlich — als Durchschnittswert — alkalischere Reaktion zeigt als lebendes Gewebe. Das abgestorbene, keimfrei im Körper verbleibende Gewebe scheint sich der Reaktion der umspülenden Flüssigkeit (Serum) anzugeleichen. Diese Vorgänge sind geeignet, die Erklärung für das Einleiten der Verkalkungsvorgänge zu geben. Doch braucht nicht unmittelbar die durch die geringere Acidität verringerte Löslichkeit des $Ca_3(PO_4)_2$ die Bedingung für das Niederschlagen der Kalksalze darzustellen. Bei den autolytischen Vorgängen, die sich in einem abgestorbenen Gewebe abspielen, wird es sowohl durch Bildung von Calciumionen aus Calciumeiweißverbindungen als auch durch Bildung von Phosphationen zu einer Vermehrung des Produktes $Ca^3 \cdot (PO_4)^2$ kommen. Wenn außerdem nun noch die H -Ionenkonzentration abnimmt, so ist es vorstellbar, daß in geringem Maße ein Ausfallen von $Ca_3(PO_4)_2$ erfolgt und sich so Krystalle bilden, die dann entsprechend den in dem vorangehenden Abschnitt 3 gezeigten Modellversuchen, die Keimkrystalle darstellen, die die fortschreitende

Verkalkung des Gewebes einleiten. Es wird dieser Mechanismus als der die Verkalkung im dystrophischen Gewebe bedingende Vorgang angesehen.

C. Untersuchungen über künstliche Verkalkung durch Zuführung von Kalksalzen¹.

I. Bisherige Versuche und ihre Deutung.

Die Aufgabe, zu untersuchen, welches die bedingenden Ursachen für die Ablagerung von Kalksalzen in den Geweben sind, machte es notwendig, künstliche Verkalkungen an Tieren durch Zuführung von Kalksalzen zu erzeugen, um festzustellen, welche Beziehung zwischen Art und Form der Kalkzuführung einerseits und der Ablagerung im Gewebe andererseits besteht.

Des weiteren machen die Untersuchungen über künstliche Verkalkung durch Kalkzufuhr es möglich, auf die Beziehungen zwischen „Acidose“ und „Alkalose“ des Organismus und der auftretenden Kalkablagerung einzugehen.

Es sind bereits eine Reihe von Versuchen bekannt, die durch Zuführung von Calciumsalzen Verkalkungen der Gewebe an Tieren, besonders an Kaninchen, erzielten.

So versuchte von Kóssa durch Einspritzung von Calciumsalzen beim Kaninchen Kalkablagerung zu erreichen. Dies gelang ihm mit Hilfe von Calciumsalzen allein nicht, dagegen erhielt er starke Verkalkung der Niere und auch anderer parenchymatöser Organe, wenn er bestimmte Gifte zu den Kalkdosen hinzufügte.

Tanaka gelang es, zu zeigen, daß Zufuhr von Calciumsalzen allein beim gesunden Tier (Kaninchen) sehr wohl zur Abscheidung von Kalksalzen in Geweben führen kann.

Einen neuen Gedanken trugen in diese Arbeitsrichtung die Versuche von Rabl.

Rabl ging ebenfalls von dem Standpunkt aus, daß die Erscheinung der Kalkablagerung durch die Frage der Kalkkonzentration bestimmt wird, brachte aber diese Kalkkonzentration in unmittelbare Abhängigkeit von der im Organismus herrschenden Acidität, deren Schwankungen er für die bedingende Ursache der Kalkablagerung in den Geweben ansah.

Rabl bestritt die Berechtigung der Virchowschen Vorstellung, daß eine Nierschädigung dadurch eine Verkalkung der parenchymatösen Organe verursachte, daß die Kalkausscheidung behindert würde.

Da der Kalk hauptsächlich durch den Darm ausgeschieden wird, bewertete er die Behinderung der Kalkausscheidung durch eine Nierenerkrankung gering, dagegen vermutete er, daß bei einer Erkrankung der Niere starke Schwankungen der Acidität in den Gewebssäften auftreten und daß diese Schwankungen für die Kalkablagerung in den parenchymatösen Organen verantwortlich seien.

Indem Rabl an die bekannte Rona-Takahashi-Formel anknüpfte, führte er aus, daß bei einem erhöhten Säuregehalt mehr Calciumionen in den Gewebssäften als bei normaler Acidität vorhanden sein müßten. Diese Calciumionen müßten dann bei Zurückgehen der H-Ionenkonzentration auf die ursprüngliche Kon-

¹ Bei der Beurteilung der mikroskopischen Präparate bin ich sehr wesentlich durch Herrn Dr. K. Plenge, Prosektor am Hindenburg-Krankenhaus Berlin-Zehlendorf, seinerzeit Assistent am Institut, unterstützt worden, dem ich hiermit meinen herzlichsten Dank ausspreche.

zentration, besonders aber bei Schwankung nach der alkalischen Seite, ausfallen. Dafür, daß solche Schwankungen der H-Ionenkonzentration im nierenkranken Organismus möglich seien, führte *Rabl* die Arbeiten von *Straub* und *Meier* an, die Schwankungen der Acidität beobachteten, auf Grund welcher dann *Rabl* nach der *Rona-Takahashi*-Formel Änderungen der Kalkcarbonat(!)-Löslichkeit auf das 3—4fache berechnete bzw. schätzte.

Rabl versuchte diese Vorstellung dadurch zu stützen, daß er die Schwankungen der Acidität, die infolge einer Nierenerkrankung entstehen sollten, künstlich, bei gleichzeitiger Kalkzufuhr, nachzuahmen suchte. Er fütterte Mäuse mit Calciumphosphat, dem er abwechselnd saure Bestandteile, wie Phosphorsäure, oder alkalisierende Bestandteile, wie Natriumacetat, zufügte¹.

Die im Organismus säure- oder alkalibildenden Zusätze in der Nahrung wurden alle 2 Tage abgewechselt, während die Kalkzufuhr gleichmäßig bestehen blieb.

Bei dieser Ernährung beobachtete *Rabl* bei einer Versuchsgruppe von 17 Mäusen und einer Versuchsdauer von 3—45 Tagen eine starke Kalkablagerung in Herz, Aorta, Lunge, Nieren und Magen der Versuchstiere. Die Stärke der Verkalkung in den einzelnen Organen schwankte individuell, das Gesamtbild aber war eindeutig und stand in bester Übereinstimmung mit den Befunden der *Virchowschen* Kalkmetastasen sowie mit der Erklärung *Askanazys*, nach der diejenigen Organe, die dem Organismus Säure entziehen, hinsichtlich der Verkalkung bevorzugt würden.

Rabl betonte diese Übereinstimmung mit seiner Vorstellung, die ebenfalls die H-Ionenkonzentration des Gewebes als bestimmend für die Kalkablagerung ansah.

Bei einer Ernährung, die den Versuchstieren außer dem Kalk nur saure Bestandteile (Phosphorsäure) zuführte, beobachtete *Rabl* bei einer Versuchsreihe von 7 Mäusen eine starke Verkalkung im Herzen und in der Niere, nie aber im Magen, Lunge und Gefäßen. Er fügte nun die Hilfsvorstellung ein, daß außer der Acidität die Menge der Phosphorsäure für die Verkalkung bestimmend sei. Eine hohe Phosphorsäurekonzentration sei aber in einem stark arbeitenden Muskel wie dem Herzen ebenso anzunehmen wie in der Niere bei saurer Ernährung, da nach Arbeiten von *Zucker*, *Tereg* und *Arnold*, *Schabad* und *Schloß* bekannt sei, daß die Phosphatausscheidung bei saurer Ernährung vom Darm nach den Nieren verlegt würde.

Obgleich es von vornherein als unwahrscheinlich angesehen werden mußte, daß allgemein bei Nierenerkrankung und Nierengiften so starke Schwankungen der H-Ionenkonzentration im Organismus auftreten, da ja der Körper durch zahlreiche Puffersysteme und Regelungsvorrichtungen das Gleichbleiben der H-Ionenkonzentration aufrechtzuerhalten sucht und wirklich starke Schwankungen, soweit bekannt, nur bei schwerster Erkrankungsform zu beobachten sind, verdienten die Befunde von *Rabl* wegen ihrer überraschenden Übereinstimmung mit der Theorie größte Beachtung.

Es ergab sich daher die Aufgabe, diese Versuche nicht nur zu prüfen, sondern durch Änderung der verwandten Anionenarten, sowie durch verschiedene Form der Zufuhr festzustellen, welche Rolle die einzelnen Ionen spielen und wieweit die Ergebnisse durch die Unterschiede in der Aufnehmbarkeit oder auch in der Ausscheidung der Salze bedingt würden.

¹ Es wird im folgenden unter saurer oder alkalischer Nahrung nicht eine Nahrung von saurer oder alkalischer Reaktion verstanden, sondern eine Nahrung, die im Organismus bei der Verbrennung Säuren oder Alkalien bildet, wie z. B. NH_4Cl oder Natriumacetat.

Es erscheint selbstverständlich, daß die Tiere das leichter lösliche sekundäre Calciumphosphat in größerer Menge aufnahmen als das nur durch die geringe Menge der Magensäure in Lösung zu bringende tertiäre Phosphat. Bei den sog. alkalischen Abschnitten der Ernährung *Rabls* mußten die Versuchstiere weit geringere Mengen Calcium aufnehmen als in den sauren Abschnitten. Vor allem aber mußte die Ausscheidung in den sauren und alkalischen Ernährungsabschnitten sowohl für Phosphorsäure als für Calcium eine verschiedene sein, da es bekannt ist, daß die Ausscheidung beider Ionenarten durch Säuren oder Alkalien beeinflußt wird.

Diese Einwände, die von vornherein gegen die *Rabls*chen Deutungen zu machen sind, sind auch *Dreyfuss* entgangen, von dem während des Verlaufs vorliegender Untersuchungen eine Nachprüfung der *Rabls*chen Versuche erschien. *Dreyfuss* ernährte verschiedene Mäusegruppen je mit einer sauren Calciumphosphatnahrung, mit der alkalisierende Bestandteile enthaltenden *Rabls*chen Nahrung und — nach dem *Rabls*chen Vorgehen — mit wechselnder Nahrung.

Dreyfuss fand in Bestätigung von *Rabl* starke Verkalkung in Nieren, Herz, Magen, Darm und Lunge bei wechselnder Ernährung, im Gegensatz zu *Rabl* aber auch bei einer rein sauren Ernährung. Bei der Ernährung mit Calciumphosphat und Natriumacetat allein blieb die Verkalkung aus.

Anstatt nun aber aus dem von *Rabl* abweichenden Ergebnis den naheliegenden Schluß zu ziehen, daß die „alkalische“ Nahrung nicht aufgenommen wird und daß der Wechsel von sauren und alkalischen Bestandteilen nicht von Einfluß sein kann, da saure und abwechselnde Ernährung das gleiche Ergebnis zeitigen, schließt *Dreyfuss* sich doch der Erklärung *Rabls* an, daß die schwankende H-Ionenkonzentration im Organismus die bedingende Ursache für die Verkalkung ist. Die Ergebnisse bei rein saurer Ernährung erklärt die Annahme, daß der Körper die sauren Zusätze abzupuffern sucht und dadurch selbst die Schwankungen im Säuregrad herbeiführt.

II. Versuche über künstliche Verkalkung durch Kalksalzzufuhr.

1. Die Versuchsanordnung.

a) Die Behandlung der Tiere.

Es wurde eine Versuchsreihe von 14 Gruppen mit 58 Versuchstieren angelegt.

Die Tiere wurden zum Teil mit saurer, alkalischer und abwechselnd gegebener saurer und alkalischer Calciumphosphatfütterung ernährt. Des weiteren wurden Gruppen von Tieren mit saurer, alkalischer und abwechselnd gegebener Calciumchloridfütterung ernährt. Schließlich wurde eine Gruppe von Tieren mit Einspritzungen von Calciumchlorid und saurem, neutralem, alkalischem und abwechselnd sauer und alkalisch gegebenem Natriumphosphat behandelt. Außerdem wurden einzelnen Tiergruppen sowohl Calciumchlorid als auch Natriumphosphat allein zum Futter gegeben oder eingespritzt und schließlich wurden Vergleichsuntersuchungen an unbehandelten Tieren durchgeführt.

Zu allen Versuchen dienten möglichst gleichartige, ausgewachsene weiße Mäuse. Bei einer großen Zahl von Tieren aus einer Laboratoriumszucht war das Alter von einem Jahr bekannt, bei den käuflich er-

worbenen Tieren wurde der Reifezustand durch Gewichtskontrolle bestätigt.

Die Tiere wurden in Glasgefäßen einzeln gehalten, da bei dem Versuche, Gruppen gemeinsam zu halten, die Mäuse gestorbene Tiere auffraßen. Als Streu dienten Sägespäne, die je nach Art der Ernährung mit Alkali oder Säure ausgekocht und dann mit Wasser säure- bzw. alkalifrei gewaschen wurden.

Das Futter entsprach dem von *Rabl* angegebenen, doch mußte seine Zusammensetzung — da *Rabl* keine gewichtsmäßig genauen Angaben gemacht hatte — ausgeprobt werden, um einerseits möglichst große Säure- bzw. Salzmengen dem Futter zuzufügen, andererseits dasselbe aber so zusammenzusetzen, daß die Tiere das salzig schmeckende Futter fraßen.

Die als zweckmäßig ermittelten Futterzusammensetzungen waren folgende.

α) Calciumphosphatfutter mit sauren Bestandteilen (saures Phosphatfutter).

100 Teile eines Nährpulvers, bestehend aus 250 Teilen Trockenmilch, 250 Teilen Rohrzucker und 25 Teilen Calciumphosphat, werden mit 10 Teilen 3 · n Phosphorsäure versetzt, worauf soviel Wasser zugefügt wird, daß ein dickflüssiger Brei entsteht.

β) Calciumphosphatfutter mit alkalischen Bestandteilen.

60 Teile gekochte Kartoffel werden mit 20 Teilen Nährpulver (wie *α*) und 4 Teilen Natriumacetat (D. A. B. 5) versetzt und mit Wasser zu einem dicken Brei verrührt.

γ) Calciumchloridfutter mit sauren Bestandteilen (saures Chloridfutter).

Zur Zuführung saurer Bestandteile dient Ammoniumchlorid. 30 Teile Trockenmilch werden mit 30 Teilen gekochte Kartoffel, 50 Teilen Zucker, 3 Teilen Calciumchlorid (wasserfrei, gekörnt) und 4 Teilen Ammoniumchlorid vermischt und mit Wasser zu einem dicken Brei verrührt.

δ) Calciumchloridfutter mit alkalischen Bestandteilen (alkalisches Chloridfutter).

30 Teile Trockenmilch werden mit 30 Teilen gekochte Kartoffel, 50 Teilen Zucker, 3 Teilen Calciumchlorid und 5 Teilen Natriumacetat vermischt und mit Wasser zu einem Brei angerührt.

ε) Calciumlactatfutter mit alkalischen Bestandteilen (alkalisches Milchzuckerfutter).

Da es nicht sicher war, ob das alkalische Calciumchloridfutter überwiegend alkalisierende Bestandteile in den Stoffwechsel bringt, da CaCl_2 und Natriumacetat entgegengesetzt wirken, wurde außerdem noch ein Calciumlacetat-Acetatfutter (alkalisches Milchzuckerfutter) wie *δ* hergestellt.

Diese Futterarten wurden den Tieren täglich frisch gegeben; bei abwechselnd saurer und alkalischer Ernährung wurde das Futter und die Streu alle 48 Stunden gewechselt.

Die Tiere nahmen das saure Phosphatfutter zögernd, die anderen Futterarten besser. Im ganzen wurde das Futter gut gefressen.

Da die Tiere großen Durst zeigten, wurde einem Teil der Tiere noch Wasser gereicht. Von *Rabl* ist hinsichtlich der Wasserdurchfuhr nichts bemerkt worden.

Es schien nicht unwichtig, festzustellen, ob Wasserzufuhr, die ja eine schnellere Ausscheidung des zugefügten Ca ermöglichte, das Ergebnis der Verkalkung beeinflußte.

In Übereinstimmung mit den Befunden von *Dreyfuss* gediehen am besten die Vergleichstiere mit gewöhnlicher Ernährung (Nährpulver ohne Calciumphosphat und Wasserzugabe). Die sauren Phosphatfuttertiere zeigten ebenfalls gutes Aussehen und Gedeihen, dagegen starben die sauren Chloridfuttertiere schnell, was auf die Wirkung des Ammoniumchlorids zurückgeführt werden mußte. Die mit alkalischem Chlorid gefütterten Tiere magerten stark ab und verloren die Haare. Ein ähnliches Bild boten die abwechselnd sauer und alkalisch ernährten Phosphat- und Chloridfuttertiere. Auffallend schlecht vertrugen die Nahrung die mit Milchzuckeracetatfutter gefütterten Tiere. Sie starben stets nach wenigen Tagen. Die Tiere, denen die geprüften Salze durch Einspritzung unter die Haut zugeführt wurden, zeigten Verwachsungen zwischen Haut und Unterhautbindegewebe und einen allgemein schlechten Fellzustand, blieben aber wochenlang am Leben.

b) Die morphologische Untersuchung.

Die in den Tabellen als getötet aufgeführten Mäuse wurden mittels einer Klemme erwürgt.

Sofort nach dem Tode wurde stets eine Sektion vorgenommen, doch konnten im allgemeinen keine Veränderungen der Organe und des Knochengerüstes wahrgenommen werden.

Nach Einlegen der Organe in 98 proz. Alkohol Einbettung in Paraffin.

Zur Darstellung des Kalkes wurde die Silberniederschlagsmethode nach von *Kóssa* angewandt und zwar wurden stets eine Reihe von Schnitten von jedem Organ in verschiedener Höhe des Organes untersucht. Als zweckmäßig erwies sich die Färbung mit einer 5 proz. Lösung von *Argentum nitr.* 2—6 Stunden lang am Licht. Wässerung 2—4 Stunden.

Die Schnitte wurden nicht gegengefärbt, um die Kalkfärbung möglichst klar hervortreten zu lassen. Das ungefärbte Gewebe nimmt mit der Zeit eine gelblich-bräunliche Silbertönung an.

Die Methode von *von Kóssa* wurde stets dadurch geprüft, daß kalkfreie Organe von Vergleichstieren auf gleiche Weise behandelt wurden. Außerdem wurden in zahlreichen Fällen, in denen sich Kalkablagerungen ergaben, die *Kóssasche* Methode nach Entkalkung der Schnitte mit verdünnter Salpetersäure angewandt. Niemals ergaben sich bei den Vergleichstieren sowie bei den entkalkten Schnitten Silberniederschläge, wie in kalkhaltigem Gewebe. Gelegentlich geringe feinstaubige Niederschläge von Silber waren stets mit Sicherheit von Kalkablagerung zu unterscheiden.

Außer nach der *Kóssaschen* Methode wurde jedes untersuchte Organ mit Hämalaun gefärbt. Beim Vergleich der beiden Färbungen war die eigenartige Erscheinung festzustellen, daß die Hämatoxylinfärbung nicht stets mit der *Kóssaschen* Methode parallel ging. Dieser Unterschied beruhte nicht allein auf der geringeren Empfindlichkeit der Hämatoxylinfärbung (daß schwache Ablagerungen von Kalk keine Hämatoxylinfärbung ergaben wäre nicht auffallend, da die *Kóssasche* Methode die weitaus empfindlichere ist), sondern die Unter-

Tabelle 1. 1. Gruppe. Wechselnd sauer und alkalisch ernährte Phosphattiere.

Nr.	Versuchsart	Niere	Lunge	Herz	Magen	Dickdarm	Dünndarm	Leber	Milz
Geschlecht									
Getötet oder gestorben									
Versuchsdauer in Tg.									
7	Gemischtes Phosphatfutter mit H_2O	12 gest.	♂ 33 K. + + + Grobschollige Verkalkung in Form von Cylin dern in den Harnkanälchen. Epithel frei	*38 K. + + + Kalk in d. Wandungen	44 K. + + + Kalk in der Gefäßwan dung der großen Ge fäße	35 K. + + + Kalk im Epithel d. ober. Schichten	46 K. —	48 K. —	42 K. —
19	desgl.	19 getöt.	♂ 57 K. + + + + Wie bei Nr. 7	*63 K. + + + + Kalk in d. Wandungen	60 K. + + + + Große Kalk ablag. in d. Fasern	52 K. + + + + Kalk in den Epithel. der ob. Schicht	64 K. + + + + Kalk in den Epithel. der ob. Schicht	66 K. —	55 K. —
20	desgl.	19 getöt.	♀ 70 K. + + + + Wie bei Nr. 7	*76 K. + + + + Kalk in d. Wandungen	66 K. + + + + Dicke Meng. Kalk herdförmig in d. Gefäßwan dungen	72 K. —	80 K. —	81 K. —	74 K. —
39	Gemischtes Phosphatfutter ohne H_2O	11 getöt.	♂ 486 K. + + + + Grobschollige Verkalkung in Form von Cylin dern in den Harnkanälchen liegend. Epithel ist frei	*483 K. + + + + Kalk in d. Alveolarwandg. z. T. feinkörnig, z. T. größer, besonders in d. Fasern	481 K. + + + + Kalk in den Gefäßwan dungen	490 K. —	494 K. —	—	491 K. —

Tabelle 2. 2. Gruppe. Mit sarem Phosphatfutter ernährte Tiere.

Nr.	Versuchs- art	Geschlecht		Niere	Lunge	Herz	Magen	Dickdarm	Dünndarm	Leber	Milz	
		Getötet	oder gestorben									
15	Saures Phosphat- futter mit H ₂ O	19	getöt.	♀	877 K. + + + Kalk in Form von Cylindern	*885 K. + + Kalk in den Wandungen	880 K. + + Große Kalkklum- pen in u. zwi- schen d. Fasern	887 K. —	875 K. + Kalkfeinkör- nig in den Epithelien d. obersten Schicht	873 K. —	879 K. —	883 K. —
16	desgl.	19	"	♂	867 K. + + + + Gröbere Kalkzy- linder in großer Anzahl, vor- wiegend in der Grenzschicht, teilweise in d. Marksubstanz	863 K. + Kalk in den Wandungen	864 K. + + + + Große Schollen Kalk mit teil- weiser Aus- einanderdrän- gung u. Zerstö- rung d. Fasern. An einer Stelle Rundzellenum- ter d. Epikard	861 K. —	K. —	869 K. —	871 K. —	—
14	desgl.	16	"	♀	891 K. + + + + Wie Nr. 16	895 K. + Kalk in d. Al- veolenwan- dungen	897 K. + Kalk in d. Mus- kulatur	901 K. —	903 K. —	905 K. —	893 K. —	899 K. —
46	Saures Phosphat- futter ohne H ₂ O	23	"	♂	463 K. + + Kalk in Cylin- dern in der Grenzschicht	459 K. —	461 K. + Kalk in d. Al- veolenwan- dungen	451 K. + Kalk in den Fa- sern	454 K. —	453 K. —	457 K. —	455 K. —

schiede von der *Kóssa*- und der Hämatoxylinfärbung zeigten sich auch bei starken Verkalkungen. Da dieser Unterschied besonders deutlich bei sehr feinkörniger Verkalkung und vor allem bei den Tieren, die durch Einspritzung zur Verkalkung kamen, beobachtet wurde, muß die Art des Kalkniederschlags, wahrscheinlich ein sehr feinkörniges Auftreten desselben, als Ursache angesehen werden, warum diese Präparate eine starke *Kóssa*-Färbung und nur eine sehr geringe Hämatoxylinfärbung ergaben.

Daß es sich bei der *Kóssa*-Färbung um keine Kunstprodukte handelte, wurde in diesen Fällen immer durch Entkalkung nachgeprüft. Die Beobachtung steht in Übereinstimmung mit Beobachtungen aus dem *Herxheimerschen* Institut, wie mir dies Herr Prof. *Herxheimer* freundlichst mitteilte.

Für die Beurteilung der Ergebnisse wurden stets die mit der *Kóssa*-Färbung hergestellten Präparate zugrunde gelegt. Die Fälle, bei denen die Hämatoxylinfärbung von der *Kóssaschen* Färbung abweicht, sind in den Tabellen durch Zeichen „*“ angemerkt worden.

2. Die Versuchsergebnisse.

a) Verkalkung mittels Fütterung von Calciumphosphaten.

α) 1. Gruppe. Wechselnd sauer und alkalisch ernährte Phosphattiere.

Die Gruppe besteht aus 4 Tieren, Versuchsdauer 11—19 Tage. Tier 7, 19 und 20 erhielten Wasser zum Futterbrei, Tier 39 erhielt kein Wasser.

Tabelle 1 zeigt durchweg bei allen Tieren starke Kalkablagerung in den Nieren und zwar in Form grober Schollen, die sich manchmal auch zu Zylindern zusammenlegen und im Lumen der Kanälchen liegen. In den Harnkanälchen und Epithelien kein Kalk.

Lunge: In der Regel geringfügige Ablagerung; bei einem Tier (39) stärkere Ablagerungen, feinkörnig in den Wandungen und zwar in der Hauptsache in den elastischen Fasern, geringfügig auch in den Epithelien.

Herz: Alle Tiere zeigen Verkalkung, 2 in Spuren und 2 etwas reichlicher. Dabei ist bemerkenswert, daß bei den beiden

Tabelle 3. 3. Gruppe. Mit alkalischem Phosphatfutter ernährte Tiere.

Nr.	Versuchsort	Geschlecht	Niere	Lunge	Herz	Magen	Dickdarm	Dünndarm	Leber	Milz
17	Alkalisches Phosphatfutter m. H_2O	19 getöt. ♂	8 K. —	4 K. —	2 K. —	10 K. —	22 K. —	16 K. —	24 K. —	13 K. + Kalk in d. ob. Schichten
18	desgl.	19 "	♂	18 K. —	466 K. + + +	474 K. + +	477 K. —	465 K. —	472 K. —	28 K. — 31 K. — 471 K. —
41	Alkalisches Phosphatfutter ohne H_2O	13 gest.	♂	Kalk in Form von Zylindern						20 K. — 478 K. — 470 K. — 26 K. —

Tabelle 4. 4. Gruppe. Mit Calciumchlorid und saurem

Nr.	Versuchsart	Versuchsdauer in Tg.	Getötet oder gestorben	Geschlecht	Niere	Lunge	Herz
91	Täglich 1 ccm $\frac{n}{2}$ CaCl ₂ und tägl. 1 ccm $\frac{n}{2}$ prim. Phosphat oder sekundäres Phosphat abwechselnd	12	gest.	♀	712 K. +++++ Feinkörnig. Kalk größtenteils in den Epithelien z. T. auch im Zwischengewebe (Membrana propria) von Rinde u. Grenzschicht, geringfüg. in der Marksubstanz	709 K. +++++ Kalk feinkörnig in d. Alveolarwandungen	716 K. ++++ Kalk feinkörnig im Zwischengewebe u. in den Fasern
88	desgl.	5	gest.	♂	*723 K. +++++ Feinkörnig. Kalk größtenteils in den Epithelien z. T. auch reichlich im Zwischengewebe (Membrana propria) in Rinde und Grenzschicht	*733 K. +++++ Kalk sehr feinkörnig in d. Wandungen	728 K. ++ Feinkörniger Kalk in den Fasern

ersten sich der Kalk nur in den Gefäßwandungen befindet, bei den beiden anderen in den Herzmuselfasern.

Magen: In 2 Fällen Spuren von Kalk in den Epithelien.

Dickdarm: Nur in einem Falle (19) deutliche Kalkablagerung und zwar in den Epithelien der oberen Schichten.

Dünndarm: Nur in einem Fall Spuren von Verkalkung.

Leber und Milz: Durchweg negativ.

β) 2. Gruppe. Mit saurem Phosphatfutter ernährte Tiere.

Die Gruppe umfaßt 4 Tiere. Versuchsdauer 16—23 Tage. Tier 14, 15, 16 erhielten Wasserzugabe, Tier 46 erhielt kein Wasser.

Tabelle 2 zeigt:

Niere: Durchweg stark verkalkt, wiederum in Form von grobscholligen Zylindern.

Lunge: Durchweg Spuren von Kalk an den Wandungen.

Herz: Durchweg Verkalkung; in 2 Fällen nur in Spuren, in 1 Falle in mäßigen Mengen, in 1 Falle sehr reichlich und zwar in allen Fällen in den Muskelfasern, die in dem einen Falle (Tier 16) mechanisch auseinander gedrängt werden.

Magen: Nur in 1 Falle Spuren in den Epithelien der oberen Schichten, wobei es sich nicht mit Sicherheit entscheiden läßt, ob es sich nicht um ein mechanisches Hineinpressen handelt.

Dickdarm: In 1 Falle Spuren in den Epithelien der oberen Schichten.

Dünndarm: Durchweg negativ.

Leber: Durchweg negativ.

Milz: Durchweg negativ.

γ) 3. Gruppe. Mit alkalischem Phosphatfutter ernährte Tiere.

Die Gruppe umfaßt 3 Tiere, von denen 2 Tiere Wasserzugabe, 1 Tier (41) kein Wasser erhielten. Versuchsdauer 13—19 Tage.

und alkalischem Phosphat abwechselnd gespritzte Tiere.

Magen	Dickdarm	Dünndarm	Leber	Milz
714 K. ++ Kalk in den Epithelien der Magendrüsen, stellenweise in der Membrana propria	*718 K. ++ Kalk feinkörnig in den Drüsen der obersten Schicht und auch teilweise in den tieferen Schichten	720 K. —	*707 K. ++ Kalk in d. Kupferschen Sternzellen, schwarze Körnchen in d. Kernen der Leberzellen	*705 K. ++++ Kalk feinkörnig in den Retikulumzellen z. T. auch im Endothel größerer Gefäße
732 K. —	736 K. —	738 K. —	730 K. —	725 K. —

Tabelle 3 zeigt: Mit Ausnahme 1 Falles (Tier 41), bei dem sich mäßige Mengen Kalkablagerung in den Nieren und Lungen zeigten, waren die Organe aller Tiere dieser Gruppe völlig frei von Ablagerung.

b) Verkalkung durch Einspritzung von Calciumchlorid und Natriumphosphat.

α) 4. Gruppe. Mit Calciumchlorid und saurem und alkalischem Phosphat abwechselnd gespritzte Tiere.

Die Gruppe besteht aus 2 Tieren. Versuchsdauer 5—12 Tage.

Tabelle 4 zeigt:

Nieren: In allen Fällen sehr starke Kalkablagerung in der Hauptsache in Form von Zylindern, die sich aus feinen Körnern zusammensetzen, z. T. liegt der Kalk auch in feinen Körnchen im Zwischengewebe, im besonderen in der Membrana propria der Harnkanälchen.

Lunge: Gleichfalls in allen Fällen starke Kalkablagerungen in den Alveolarwandungen.

Herz: Durchweg reichlich feinkörniger Kalk in den Fasern und im Zwischengewebe.

Magen: In 1 Falle mäßige Mengen in den Epithelien und in der Membrana propria. Der andere Fall frei von Kalk.

Dickdarm: In 1 Falle mäßige Mengen in den Epithelien der Drüsen, der andere Fall frei.

Dünndarm: Negativ.

Leber: In 1 Fall mäßige Mengen in den Kupferschen Sternzellen, der andere Fall negativ.

Milz: In 1 Falle reichliche Mengen feinkörnigen Kalkes in den Reticulumzellen, der andere Fall negativ.

Tabelle 5. 5. Gruppe. Mit Calciumchlorid und neutralem Phosphat gespritzte Tiere.

Nr.	Versuchs- art	Versuchs- dauer in Tg.	Geschlecht Getötet oder gestorben	Niere	Lunge	Herz	Magen	Dickdarm	Dünn- darm	Leber	Milz
8	CaCl ₂ und neutral. Phosphat- puffer n/2 täglich je 1 ccm ge- spritzt	12	♂ gest.	223 K. + + In Rinde und Grenz- schicht unregel- mäßiges Vorkom- men von Kalk als Zylinder	216 K. —	220 K. —	227 K. —	229 K. —	230 K. —	218 K. —	225 K. —
9	desgl.	12	„	236 K. —	238 K. —	231 K. —	241 K. —	K. —	—	K. —	234 K. —
32	desgl.	13	„	*254 K. + + + + Kalk in Zylindern vorwiegend in der Rinde	250 K. +	*256 K. + + + + Kalk in d. Kalk in den Wandung Fasern	246 K. + + + + Kalk im Epithel der unteren Schichten	258 K. +	259 K. 248 K.	—	252 K. —
34	desgl.	14	„	*263 K. + + + + Starke Verkalkung d. Membrana propria vorwiegend in der Rinde, weniger in Grenzschicht und Marksubstanz	*270 K. + + + + Kalk in d. Epithel d. unteren Schichten und im Zwischen- gewebe	*261 K. + + + + Kalk in der Muskulatur und in den Gefäßwan- dungen	265 K. —	*272 K. + + + + Kalk in d. Epithel d. unteren Schichten und im Zwischen- gewebe	273 K. 268 K.	—	260 K. —

β) 5. Gruppe. Mit Calciumchlorid und neutralem Phosphat gespritzte Tiere.

Die Gruppe umfaßt 4 Fälle. Versuchsdauer 12 bis 14 Tage.

Tabelle 5 zeigt:

Nieren: Reichliche Mengen an Kalk mit Ausnahme eines Falles in Form von Zylindern durchweg in der Rinde und Grenzschicht, geringfügiger in der Marksubstanz.

Lungen: In der Hälfte der Fälle mäßige Mengen in den Alveolarwandungen, einmal auch in den Gefäßwandungen, in der anderen Hälfte kein Kalk.

Herz: In der Hälfte der Fälle mäßige Mengen in den Fasern und in den Wandungen der großen Gefäße, in der anderen Hälfte negativ.

Magen: Mit Ausnahme eines Falles, bei dem mäßige Mengen in den unteren Epithelschichten vorhanden sind, negativ.

Dickdarm: In der Hälfte der Fälle geringfügige Mengen in den Epithelen der unteren Schichten, teils auch im Zwischengewebe.

Dünndarm: Durchweg negativ.

Leber: Durchweg negativ.

Milz: Durchweg negativ.

γ) 6. Gruppe. Mit Calciumchlorid und alkalischem Phosphat gespritzte Tiere.

Die Gruppe umfaßt 3 Tiere. Versuchsdauer 13 bis 21 Tage.

Tabelle 6. 6. Gruppe. Mit Calciumchlorid und alkalischem Phosphat gespritzte Tiere.

Nr.	Versuchsort		Niere	Lunge	Herz	Magen	Dickdarm	Dünndarm	Leber	Milz
	Geschlecht									
	Getötet oder gestorben									
	Versuchsdauer in Tg.									
29	7 Tage täglich je 1 lccm $n/10$ CaCl_2 -u. $n/10$ sek. Phosphatlösung, dann $n/2$ Lösungen desgl.	13	gest. ♂	*280 K. + +	276 K. —	278 K. —	—	—	—	—
30		13	” ♂	Sehr feinkörniger Kalk als Zylinder in der Grenzschicht						
				*300 K. + +	293 K. +	*291 K. +	292 K. 303 K.	301 K. 295 K.	290 K.	—
				Zylinder, feinkörnig in der Rinde und Grenzschicht	Kalk in der Wandung und im Interstitium	Kalk in d. Fasern	—	—	—	—
43	desgl.	21	” ♀	*312 K. +	310 K. + +	314 K. +	316 K. 318 K.	320 K. 308 K.	306 K.	306 K.
				Winzige Spuren im Lumen der Kanälchen, vereinzelte Zylinder	Kalk in den Wandungen	Kalk in den Fasern und im Interstitium	—	—	—	—

Tabelle 7. 7. Gruppe. Mit Calciumchlorid und sarem Phosphat gespritzte Tiere.

Nr.	Versuchsart	Geschlecht		Niere	Lunge	Herz	Magen	Dickdarm	Dünndarm	Leber	Milz
		Getötet oder gestorben	Versuchsdauer in Tg.								
31	8 Tage täglich je 1 ccm $\frac{n}{10}$ CaCl ₂ u. $\frac{n}{10}$ prim. Phosphat 5 Tage $\frac{n}{2}$ CaCl ₂ und $\frac{n}{2}$ prim. Phosphat desgl.	13	gest. ♂	334 K. —	—	322 K. —	331 K. —	—	—	336 K. —	324 K. —
33		13	„ ♀	*342 K. + Kalk als Zylinder in Rinde und Grenzschicht	340 K. —	344 K. + Kalk ind. Wandg. d. groß. Gef.	347 K. —	352 K. —	350 K. —	348 K. —	346 K. —
35	8 Tage je 1 ccm $\frac{n}{10}$ his g 7 „ „ $\frac{n}{2}$ „ „	15	„	370 K. ++ Feinkörniger Kalk als Zy- linder in Rinde und Grenzschicht	355 K. —	366 K. —	368 K. —	360 K. —	358 K. —	362 K. —	364 K. —

Tabelle 8. 8. Gruppe. Wechselnd sauer und alkalisch ernährte Chloridfutter-Tiere.

Nr.	Versuchsart	Geschlecht		Niere	Lunge	Herz	Magen	Dickdarm	Dünndarm	Leber	Milz
		Getötet oder gestorben	Versuchsdauer in Tg.								
6	Gemischtes Chloridfutter mit H ₂ O	9	gest. ♀	173 K. + + + Feinkörniger Kalk in Zy- lindern vorwiegend in Rinde und Grenzschicht	*181 K. —	179 K. —	144 K. —	*187 K. + + Kalk im Epithel d. ober. Schicht	—	184 K. —	183 K. —
12	desgl.	15	„ ♀	189 K. + Kalk in Spalten in d. Grenz- schicht	196 K. —	—	—	—	—	—	179 K. —
23	desgl.	18	„ ♀	202 K. —	200 K. —	212 K. —	214 K. —	216 K. —	204 K. —	206 K. —	206 K. —
37	Gemisch. Chloridfutter, ohn. H ₂ O	10	„ ♀	419 K. —	423 K. —	412 K. —	428 K. —	430 K. —	431 K. —	421 K. —	426 K. —
38	desgl.	10	„ ♂	439 K. + + + + Verkalkung in d. Membrana propria der Kanächen und Zylinder	434 K. —	437 K. —	445 K. —	449 K. —	437 K. —	441 K. —	443 K. —

Tabelle 6 zeigt:

Nieren: In allen Fällen geringe Mengen in Form feinkörniger Zylinder, vorwiegend in der Grenzschicht.

Lungen: In der Mehrzahl der Fälle Spuren in den Alveolarwandungen.

Herz: In der Mehrzahl der Fälle geringe Spuren teils in den Muskelfasern, teils im Zwischengewebe.

Magen, Dickdarm, Dünndarm, Leber und Milz ohne Kalkablagerung.

δ) 7. Gruppe. Mit Calciumchlorid und saurem Phosphat gespritzte Tiere.

Die Gruppe umfaßt 3 Tiere. Versuchsdauer 13—15 Tage.

Tabelle 7 zeigt:

Nieren: In 2 von 3 Fällen geringe Mengen feinkörniger Zylinder, teils auch feinkörnig im Zwischengewebe. Im 3. Falle negativ.

Lungen: Durchweg negativ.

Herz: Nur in 1 von 3 Fällen geringe Spuren in der Wandung der großen Gefäße.

Magen, Dickdarm, Dünndarm, Leber, Milz: Durchweg negativ.

c) Verkalkung mittels Fütterung von Calciumchlorid und Chloriden.

α) 8. Gruppe. Wechselnd sauer und alkalisch ernährte Chloridfuttertiere.

Die Gruppe umfaßt 5 Tiere, von denen 3 Tiere Wasserzusage erhielten, 2 Tiere nicht. Versuchsdauer 9—18 Tage.

Tabelle 8 zeigt:

Nieren: Bei 2 von 5 Tieren reichlichere Mengen feinkörniger Zylinder vorwiegend in Rinde und Grenzschicht. In einem der Fälle auch feine

Tabelle 9. 9. Gruppe. Sauer ernährte Chloridfutter-Tiere.

Nr.	Versuchsort	Geschlecht	Getötet od. gestorben	Versuchsdauer i. Tg.	Niere	Lunge	Herz	Magen	Dickdarm	Dünndarm	Leber	Milz
					4 gest.	104 K. —	102 K. —	112 K. —	114 K. —	—	—	116 K. —
1	Saures Chlorid futter mit H_2O	4	♀		86 K. —	92 K. —	88 K. —	94 K. —	100 K. —	98 K. —	90 K. —	96 K. —
2	desgl.	5	♂		117 K. —	120 K. —	122 K. —	124 K. —	131 K. —	—	127 K. —	129 K. —
3	desgl.	6	♂ ♀ ♀ ♀		372 K. +	379 K. +	376 K. —	377 K. —	384 K. —	—	373 K. —	382 K. —
27	Saures Chlorid futter o. H_2O	5	♂		Spuren als Zyl. i. d. Rinde		388 K. +		391 K. —	390 K. —	395 K. —	386 K. —
28	desgl.	5	♀		Feinkörnig in der Grenzschicht.		396 K. +		409 K. —		415 K. —	400 K. —
36	desgl.	9	♂		413 K. +		411 K. —		402 K. —		404 K. —	407 K. —
					Geringe Mengen K. als Zylinder spez. in d. geraden Harnkanälchen.							

Tabelle 10. 10. Gruppe. Alkalisch ernährte Chloridfutter-Tiere.

Körnchen in der Membrana propria der Harnkanälchen, in 1 Falle Spuren, in 2 Fällen negativ.

Lungen: Ebenfalls in 2 Fällen reichlichere Mengen in den Alveolarwandungen, in 3 Fällen negativ.

Herz: Negativ bis auf 1 Fall, bei dem mäßige Mengen in den Muskelfasern sind.

Magen: Durchweg negativ.

Dickdarm: Nur in 1 Falle mäßige Mengen Kalk.

Dünndarm, Leber, Milz: Durchweg negativ.

β) 9. Gruppe. Sauer ernährte Chloridfuttertiere.

Die Gruppe umfaßt 6 Tiere. 3 Tiere erhielten Wasserzugabe, 3 Tiere nicht. Versuchsdauer 4—9 Tage.

Tabelle 9 zeigt:

Nieren: Durchweg Verkalkungen mäßigen Grades, in 2 Fällen nur Spuren in Form feinkörniger Zylinder.

Lungen, Herz, Magen, Dickdarm, Dünndarm, Leber, Milz: Durchweg negativ.

γ) 10. Gruppe. Alkalisch ernährte Chloridfuttertiere.

Die Gruppe umfaßt 5 Tiere, von denen 4 Tiere Wasserzugabe erhielten und 1 nicht. Versuchsdauer 12—22 Tage.

Tabelle 10 zeigt:

Nieren: In der größeren Anzahl der Fälle Kalk vorhanden; teils in mäßigen Mengen, teils in Spuren und zwar in Form feinkörniger Zylinder. In 1 Falle negativ.

Lungen: Nur in 1 Falle Spuren in der Alveolarwandung.

Herz: Nur in 1 Falle ziemlich reichliche Mengen in den Muskelfasern.

Magen: Nur in 1 Falle Spuren in den Epithelien.

Dickdarm, Dünndarm, Leber, Milz: Durchweg negativ.

δ) 11. Gruppe. Mit alkalischem Milchzuckerfutter ernährte Tiere.

Die Gruppe umfaßt 3 Tiere. Versuchsdauer 3—21 Tage.

Tabelle 11 zeigt:

Nieren: Nur in 1 Falle reichlichere Mengen in Form von Zylindern.

Lungen: Nur in 1 Falle Spuren in den Alveolarwandungen.

Alle übrigen Organe: Negativ.

e) Zuführung von Chloriden und Phosphaten allein.

α) Zuführung von Calciumchlorid.

12. Gruppe. Tiere mit Calciumchloridzufuhr.

Die Gruppe umfaßt 5 Tiere mit einer Versuchsdauer von 4—8 Tagen; die Tiere starben schnell. In dem Falle (Tier 51) wurde Calciumchlorid gefüttert, in 2 Fällen (Tier 78 und 79) subcutan eingespritzt und in 2 Fällen (Tier 80 und 93) wurde Calcium- und Natriumchlorid eingespritzt.

Tabelle 12 zeigt:

Nieren: Nur in 1 Falle (51) mäßige Mengen in Form feinkörniger Zylinder, in allen anderen Fällen negativer Befund.

In den übrigen Organen: Durchweg kein Kalk.

β) Zuführung von Natriumphosphat.

13. Gruppe. Tiere mit Natriumphosphatzufuhr.

Die Gruppe umfaßt 6 Tiere, denen Natriumphosphat verschiedener Acidität zugeführt wurden. 2 Tiere (68 und 72) erhielten primäres bzw. secundäres

Tabelle 11. *II. Gruppe. Mit alkalischem Milchzuckerfutter ernährte Tiere.*

Nr.	Versuchsart	Geschlecht		Niere	Lunge	Herz	Magen	Dickdarm	Dünndarm	Leber	Milz
		Getötet oder gestorben	Versuchsdauer in Tg.								
56	Alkalisch. Milchzuckerfutter ohne H_2O	♂	gest.	556 K. + + + Kalk in Zylindern in der Rinde der Grenzschicht und geringfügig in d. Marksustanz	552 K. —	544 K. —	560 K. —	556 K. —	554 K. —	550 K. —	558 K. —
74	desgl.	21	getöt. ♂	566 K. —	562 K. + Kalk in d. Wandungen	564 K. —	568 K. —	574 K. —	576 K. —	570 K. —	572 K. —
75	desgl.	21	„ ♀	582 K. —	578 K. —	588 K. —	592 K. —	592 K. —	586 K. —	590 K. —	—

Tabelle 12. *12. Gruppe. Tiere mit Calciumchloridzufuhr.*

Nr.	Versuchsart	Geschlecht		Niere	Lunge	Herz	Magen	Dickdarm	Dünndarm	Leber	Milz
		Getötet od. gestorben	Versuchsdauer i. Tg.								
51	CaCl ₂ -Futter	4	gest. ♂	*595 K. + + Feinkörniger Kalk als Zylinder	599 K. —	593 K. —	603 K. —	605 K. —	607 K. —	597 K. —	601 K. —
78	5 Tage tgl. 1 ccm Neutr. CaCl ₂ $\frac{1}{2}$ gespr.	5	„ ♀	691 K. —	695 K. —	703 K. —	697 K. —	701 K. —	699 K. —	693 K. —	689 K. —
79	8 Tg. 1 ccm tgl. $\frac{1}{2}$ CaCl ₂ gespr.	8	„ ♂	855 K. —	853 K. —	846 K. —	858 K. —	848 K. —	850 K. —	844 K. —	842 K. —
80	Neutr. CaCl ₂ $\frac{1}{2}$ und 5 proz. NaCl-Lösung je 1 ccm täglich desgl.	6	„ ♀	755 K. —	781 K. —	772 K. —	770 K. —	785 K. —	787 K. —	777 K. —	779 K. —
93		8	„ ♂	677 K. —	673 K. —	678 K. —	682 K. —	686 K. —	684 K. —	675 K. —	680 K. —

Tabelle 13. 13. Gruppe. Tiere mit Natriumphosphatfutter.

Nr.	Versuchsart	Geschlecht		Niere	Lunge	Herz	Magen	Dick-darm	Dünndarm	Leber	Milz
		Getötet	oder gestorben								
68	Primäres Na-Phosphatfutter	21	♂	630 K. ++ Kalk in Drusen im Lumen der Harnkanälchen	628 K. —	626 K. —	*634 K. ++ Kalk in den Epithelien	640 K. —	638 K. —	632 K. —	636 K. —
72	Sekundäres Na-Phosphatfutter	21	♀	642 K. —	644 K. —	646 K. —	648 K. —	656 K. —	654 K. —	652 K. —	650 K. —
82	Neutral. Phosphat gespritzt $\frac{n}{2}$ tgl. 1 ccm	15	♂	797 K. —	793 K. —	805 K. —	803 K. —	801 K. —	799 K. —	791 K. —	795 K. —
83	desgl.	9	gest.	810 K. + Kalkspuren in Drusen im Lumen der Harnkanälchen	815 K. —	813 K. —	807 K. —	822 K. —	820 K. —	809 K. —	816 K. —
84	Gespritzt mit $n/2$ neutral. Phosphat und 5 proz. NaCl-Lösung täglich je 1 ccm	15	♂	827 K. ++ + Kalk in Drusen im Lumen d. Harnkanälchen und auch im Zwischengewebe	*823 K. + Kalk in Epithelien und auch im Zwischengewebe	826 K. —	*833 K. + Kalk in Epithelien und auch im Zwischengewebe	836 K. —	838 K. —	829 K. —	832 K. —
47*	89	desgl.	9	gest. ♂	746 K. —	743 K. —	739 K. —	750 K. —	754 K. —	741 K. —	748 K. —

Tabelle 14. 14. Gruppe. Normale und mit Kochsalz gespritzte Tiere.

Nr.	Versuchsort	Geschlecht	Getötet oder gestorben	Versuchsdauer i. Tg.	Niere	Lunge	Herz	Magen	Dickdarm	Dünndarm	Leber	Milz
					♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
86	5% NaCl-Lösung, tgl. 1 ccm desgl.	15	getöt.	—	659 K. —	665 K. —	661 K. —	667 K. —	673 K. —	671 K. —	663 K. —	669 K. —
87	—	14	getöt.	—	763 K. —	757 K. —	761 K. —	—	769 K. —	767 K. —	759 K. —	765 K. —
95	normales Tier	—	getöt.	—	911 K. —	913 K. —	916 K. —	—	921 K. —	—	915 K. —	922 K. —
94	desgl.	—	getöt.	—	926 K. —	928 K. —	930 K. —	—	936 K. —	938 K. —	940 K. —	934 K. —

Natriumphosphatfutter (Nährpulver). 2 Tiere (82 und 83) wurden mit neutralem Phosphat gespritzt und 2 Tiere (84 und 89) mit 5 proz. Kochsalzlösung und neutralem Phosphat.

Tabelle 13 zeigt:

Nieren: In der Hälfte der Fälle Kalk vorhanden, teils in Spuren, teils in mäßig reichlichen Mengen und zwar immer in Form feinkörniger Zylinder. In der anderen Hälfte der Fälle negativer Befund.

Lungen: Fast durchweg negativ, nur in 1 Falle Spuren in den Alveolarwandungen.

Magen: In der Mehrzahl der Fälle negativ, in 2 Fällen geringe Mengen teils in den Epithelien, teils im Zwischengewebe.

Dickdarm, Dünndarm, Herz, Leber, Milz: Durchweg negativ.

f) Vergleiche.

14. Gruppe. Normale und mit Kochsalz gespritzte Tiere.

Von den Vergleichstieren wurden 2 Fälle wiedergegeben, die 3 Wochen mit demselben Nährpulver ohne Kalk- oder Phosphatzusatz gefüttert worden waren. 2 Tiere wurden mit einer 5 proz. Kochsalzlösung gespritzt, um zu zeigen, daß die Einspritzung nicht der Verkalkung dienender Ionen keine Schädigungen herbeiführen.

Tabelle 14 zeigt:

In allen Organen: Durchweg negativer Befund.

Als Beispiele für die einzelnen Gruppen sind folgende Abbildungen gegeben:

3. Besprechung der Ergebnisse.

a) Die Bedeutung der zugeführten Ionen und der sauren und basischen Zusätze.

Betrachten wir die Ergebnisse der Versuche gruppenweise, so sehen wir bei den mit Calciumphosphat ernährten Tieren folgendes:

Bei den nach *Rabl* abwechselnd sauer und alkalisch ernährten Tieren finden wir in Übereinstimmung mit *Rabl* starke Verkalkung in Niere, Lunge, Herz und geringere Verkalkung in Magen und Dickdarm; Dünndarm, Leber und Milz sind frei.

Im Gegensatz zu *Rabl* und in Übereinstimmung mit *Dreyfuss* finden wir bei den mit saurem Phosphat ernährten Tieren starke

Verkalkung in Nieren, Lungen und Herz und vereinzelte Spuren in Magen und Dickdarm, während Dünndarm, Leber und Milz ebenfalls frei sind.

Die mit alkalischem Phosphat ernährten Tiere zeigen trotz einzelner Ausnahmen im allgemeinen keine Verkalkung.

Wir sehen also bei alleiniger Betrachtung der nach *Rablschem* Vorgehen ausgeführten Versuche, daß anscheinend nicht, wie *Rabl* ausführte, der Wechsel von sauren und alkalischen Zusätzen die be-

Gruppe 1. Wechselnd sauer und alkalisch ernährte Phosphatfuttertiere.

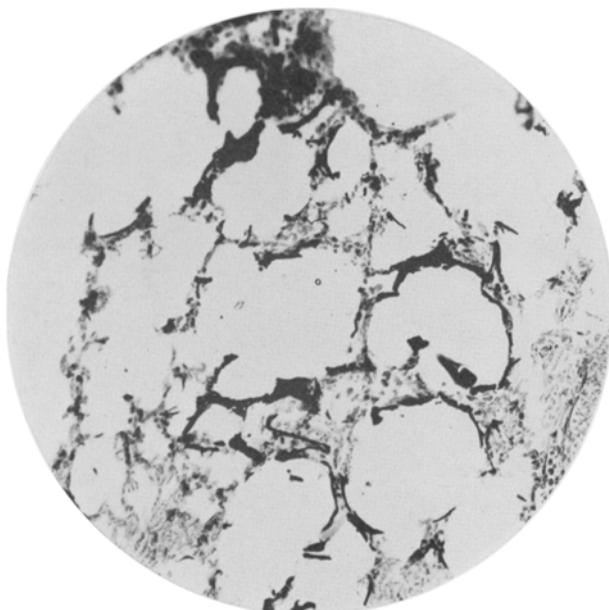


Abb. 1. Lunge. Präp. 483 K, Tab. 1. Leitz Obj. 3, Okul. 4. Vergrößerung 98fach.

dingende Ursache der Kalkablagerung bildet, sondern die Zuführung genügend großer Konzentrationen von Calcium- und PO_4 -Ionen.

Bei dem sog. sauren Phosphatfutter, bei dem Phosphorsäure zu dem Calciumphosphat zugefügt wurde, hat sich das leichter lösliche und daher auch leichter vom Magen-Darmschlauch aufnehmbare primäre bzw. secundäre Calciumphosphat gebildet. Bei dieser Futterart erhielt der Organismus ein großes Angebot von Calcium und Phosphorsäure.

Bei den mit alkalischem Phosphat ernährten Tieren ist nur tertiäres Calciumphosphat vorhanden, das nur soweit löslich ist, als Magensäure zur Verfüzung steht.

Bei der Gruppe mit abwechselnd saurer und alkalischer Ernährung haben die Tiere an den Versuchstagen mit saurer Ernährung genügend

Gruppe 2. *Mit saurem Phosphatfutter ernährte Tiere.*

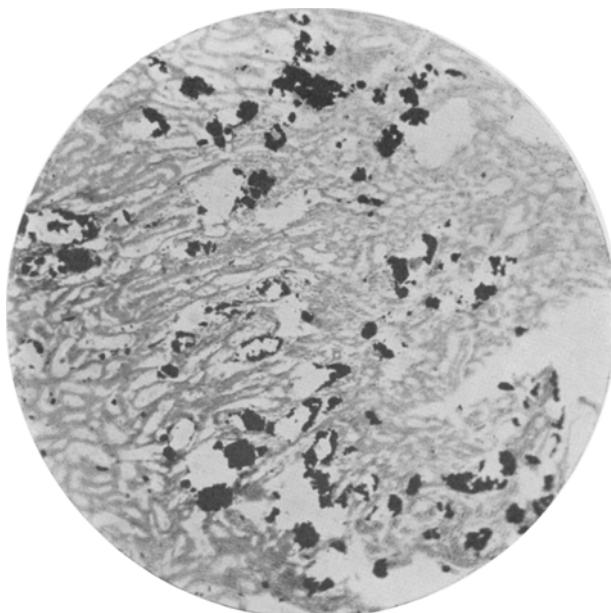


Abb. 2. Niere. Präp. 867 K, Tab. 2. Leitz Obj. 3, Okul. 1. Vergrößerung 57fach.

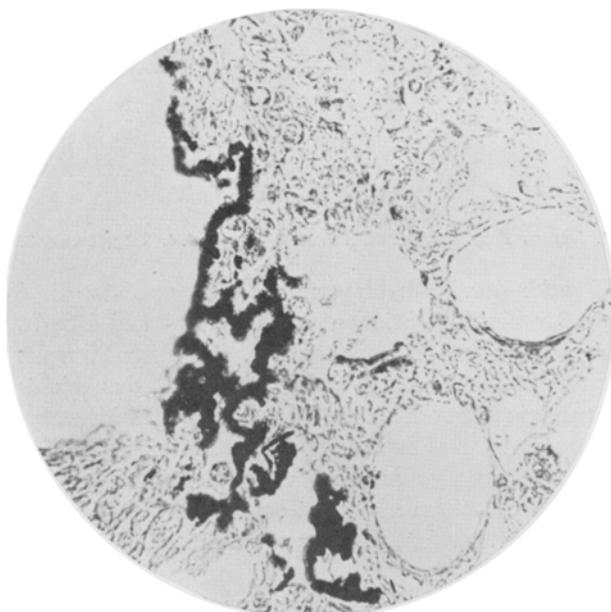


Abb. 3. Lunge. Präp. 895 K, Tab. 2. Leitz Obj. 6, Okul. 3. Vergrößerung 415fach.

Gruppe 4. Mit Calciumchlorid und saurem und alkalischem Phosphat abwechselnd gespritzte Tiere.

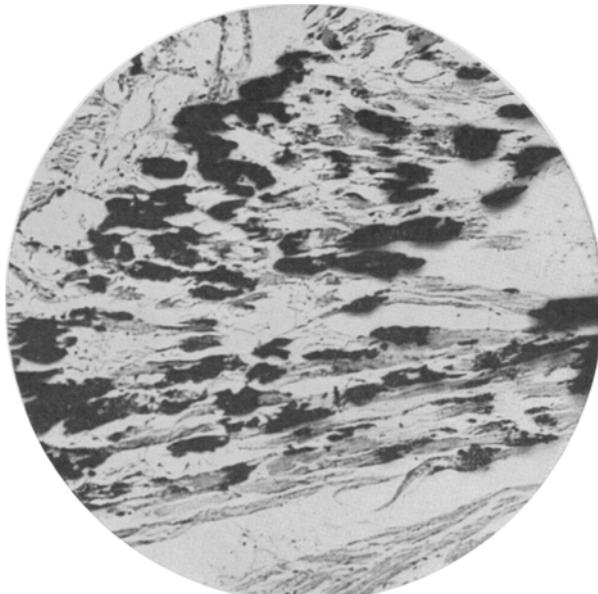


Abb. 4. Herz. Präp. 728 K, Tab. 4. Leitz Obj. 3, Okul. 4. Vergrößerung 98fach.

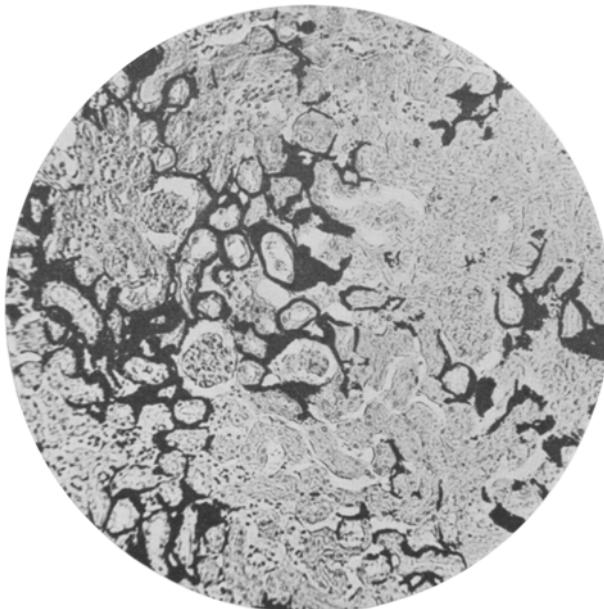


Abb. 5. Niere. Präp. 723 K, Tab. 4. Leitz Obj. 3, Zeiss Homal IV. Vergrößerung 152fach.

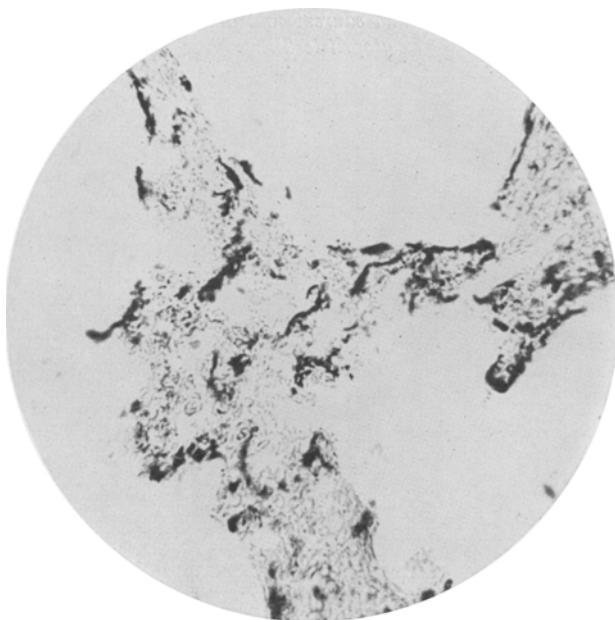


Abb. 6. Lunge. Präp. 709 K, Tab. 4. Leitz Obj. 6, Okul. 3. Vergrößerung 426fach.
Gruppe 5. *Mit Calciumchlorid und neutralem Phosphat gespritzte Tiere.*

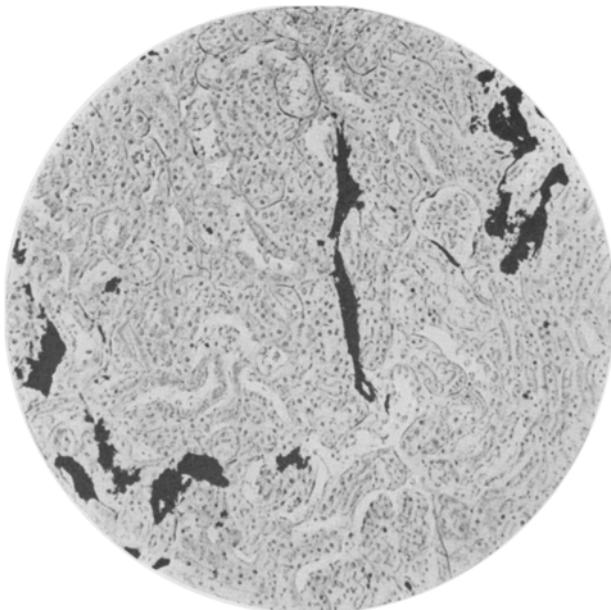


Abb. 7. Niere. Präp. 254 K, Tab. 5. Leitz Obj. 3, Zeiss Homal I. Vergrößerung 154fach.

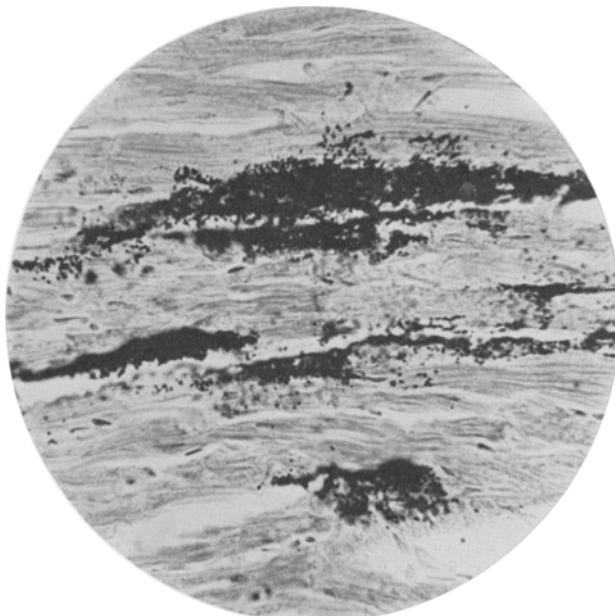


Abb. 8. Herz. Präp. 256 K, Tab. 5. Leitz Obj. 6, Okul. 3. Vergrößerung 410fach.

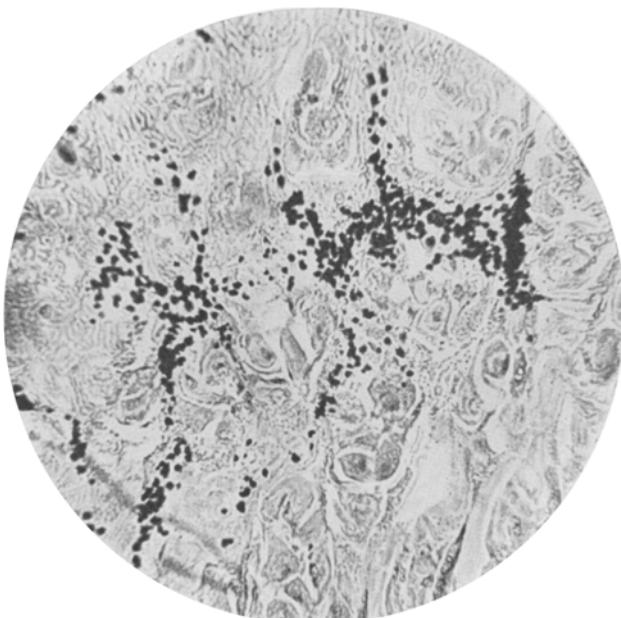


Abb. 9. Magen. Präp. 246 K, Tab. 5. Leitz Obj. 6, Okul. 3. Vergrößerung 426fach.

Gruppe 8. Wechselnd sauer und alkalisch ernährte Chloridfuttertiere.

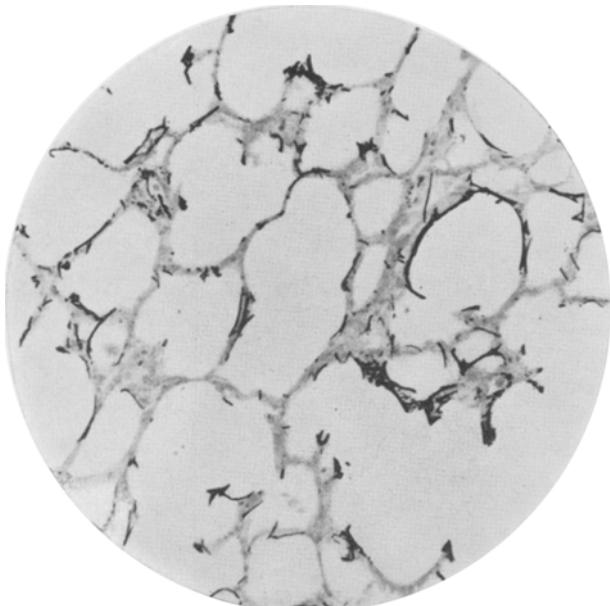


Abb. 10. Lunge. Präp. 434 K, Tab. 8. Leitz Obj. 3, Okul. 1. Vergrößerung 48fach.

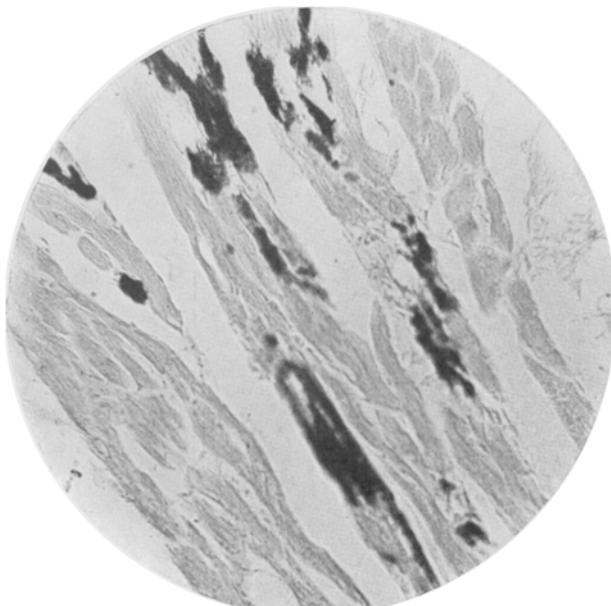


Abb. 11. Herz. Präp. 437 K, Tab. 8. Leitz Obj. 6, Okul. 1. Vergrößerung 243fach.

Gruppe 10. Alkalisch ernährte Chloridfuttertiere.

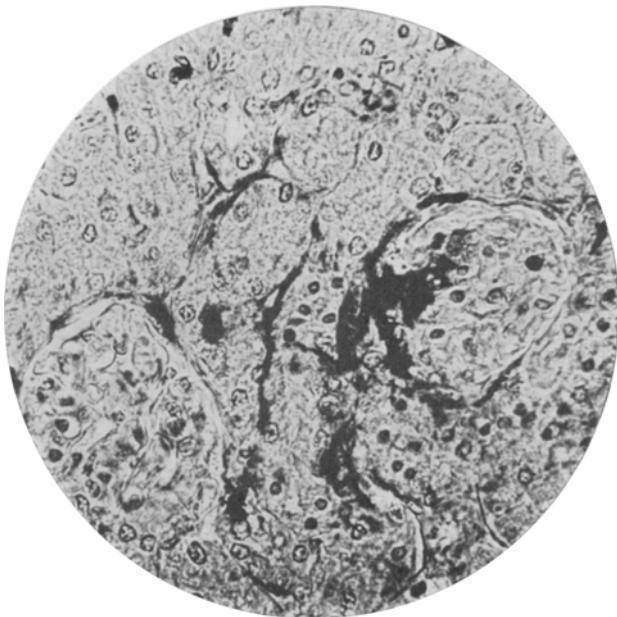


Abb. 12. Niere. Präp. 616 K, Tab. 10. Leitz Obj. 6, Okul. 4. Vergrößerung 455 fach.

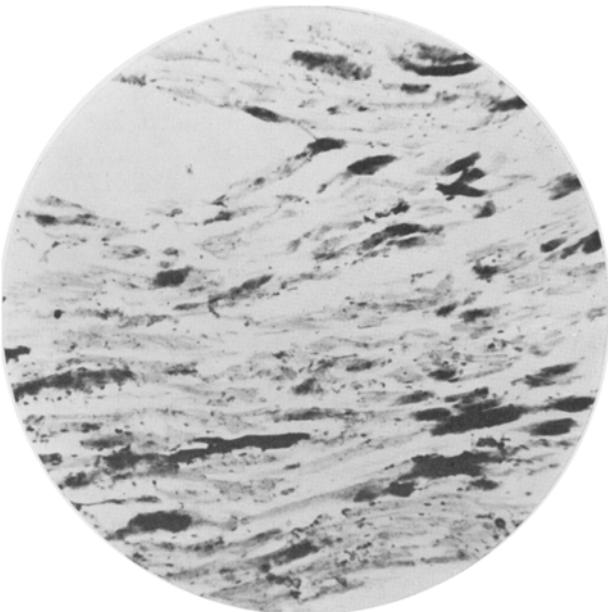


Abb. 13. Herz. Präp. 609 K, Tab. 10. Leitz Obj. 3, Okul. 4. Vergrößerung 102 fach.

große Mengen von Phosphat zur Verkalkung aufgenommen. Die Tatsache der fast völligen Unaufnehmbarkeit des tertiären Calciumphosphates ist sowohl von *Rabl* als auch von *Dreyfuss* übersehen worden. Sie erklärt die *Dreyfuß* rätselhaft erscheinende Unwirksamkeit des alkalischen Phosphatfutters.

Da abwechselnd saures und alkalisches Futter ebenso zu starker Verkalkung führen wie saures Futter allein, kann es nicht der Wechsel in der H-Ionenacidität in den Gewebssäften, sondern es muß die zugeführte Calcium- und Phosphatsäurekonzentration an sich sein, die die bedingende Ursache für die Verkalkung bildet.

Diese Vorstellung, die die Grundlage der Erklärung der beobachteten Verhältnisse bildet, ist aber nicht völlig richtig und bedarf einer Einschränkung, da Zuführung von sauren und alkalischen Zusätzen tatsächlich doch einen gewissen Einfluß, wie weiter gezeigt werden wird, auf den Verkalkungsvorgang ausübt.

Hier sei nur darauf aufmerksam gemacht, daß die Verkalkung der abwechselnd sauer und alkalisch ernährten Tiere doch etwas stärker und reichhaltiger als bei den rein sauer ernährten Phosphatfuttertieren erschien.

Deutlich wird der Unterschied, den saure und basische Futterzusätze ausüben, wenn wir uns die Gruppe von Tieren zusammenfassend betrachten, die durch Einspritzung von Calciumchlorid und Natriumphosphat zur Verkalkung gebracht wurden. Hier zeigen die Tiere, die mit saurem und alkalischem Phosphat gespritzt waren, die stärkste Verkalkung. Wir finden nicht nur Verkalkung in Niere, Lunge, Herz, Magen und Dickdarm, sondern auch, was sonst in keiner anderen Gruppe zu beobachten ist, in Leber und Milz. Auch die Art der Nierenverkalkung ist bei dieser Gruppe anders als bei den durch Ernährung zur Verkalkung gebrachten Tieren und den anderen durch Einspritzung verkalkten Tieren. Wir finden in der Niere den Kalk in den Epithelien, während wir ihn sonst nur in Form von Zylindern im Lumen der Harnkanälchen beobachteten.

Es folgt an Stärke der Verkalkung die Gruppe der mit Calciumchlorid und neutralem Phosphat gespritzten Tiere.

Dann folgt die Gruppe der mit Calciumchlorid und alkalischem Phosphat gespritzten Tiere. Hier finden wir keine Verkalkung des Magens, Dickdarms, Dünndarms, der Leber und Milz, während Niere, Lungen und Herz nur geringe Spuren zeigen.

Am schwächsten verkalken die mit saurem Phosphat gespritzten Tiere, die nur bei 2 von 3 Fällen geringe Spuren in der Niere und bei einem Fall im Herzen zeigen. Lunge und alle anderen Organe sind sonst frei von Kalkablagerung.

Wie dieser Unterschied zwischen den Futtertieren und den gespritzten Tieren zu erklären ist, wird weiter unten dargestellt werden.

Zunächst seien die mittels Calciumchloridernährung behandelten Tiere betrachtet, da bei den Futterarten dieser Gruppe die den Phosphatfuttergruppen eigenen Verschiedenheiten der Löslichkeit nicht vorhanden sind.

Die ganzen Chloridgruppen zeigen zunächst eine weit geringere Verkalkung als die Phosphatfuttertiere. Fast stets handelt es sich bei vorhandener Verkalkung um Zylinder in den Nieren, nur in geringem Maße sind auch andere Organe befallen.

Es ergibt sich beim Vergleich der Calciumchloridversuche mit den Calciumphosphatversuchen die entscheidende Bedeutung des Phosphations.

Bei den mit saurem Chloridfutter behandelten Tieren finden sich nur spurenweise Ablagerungen in den Nieren, in den anderen Organen sind niemals Ablagerungen feststellbar.

Etwas stärker sind die mit alkalischem Chloridfutter behandelten Tiere und am deutlichsten die abwechselnd mit saurem und alkalischem Chloridfutter ernährten Tiere verkalkt.

Die mit alkalischem Milchzuckerfutter ernährten Tiere zeigen praktisch keine Verkalkung.

Die Gruppe der Chloridfuttertiere zeigt, wenn auch in abgeschwächter Form, die gleiche Erscheinung wie die Gruppe der durch Einspritzung zur Verkalkung gebrachten Calciumphosphattiere. Bei beiden finden wir die geringste Verkalkung bei den sauren Tieren, die stärkste Verkalkung bei den mit abwechselnd saurer und alkalischer Zufuhr behandelten Tieren. Diese beiden Gruppen würden also den *Rablschen* Angaben, die er nach Phosphatfutterversuchen machte, entsprechen, während gerade die Beobachtungen, die *Rabl* zu seinen Vorstellungen führten, nicht bestätigt werden können.

Schließlich seien die Versuche mit Calciumchlorid und Natriumphosphat allein sowie die Vergleichsversuche betrachtet.

Wir sehen an ihnen, daß in einzelnen Fällen bei starker Zufuhr Calciumsalze und Phosphate allein Kalkablagerungen (wenigstens in Form von Zylindern in der Niere) hervorrufen. Sonst war durchweg keine Ablagerung bei den Kontrollen zu beobachten.

Es ist hierbei von Interesse, daß es bei Zuführung von Calciumchlorid allein zum Futter nur ein einziges Mal gelang, eine Ablagerung in der Niere in Form von Zylindern zu erreichen. Bei Zuführung von Natriumphosphat als Futter gelang es aber einmal — ebenso wie bei Einspritzung von Natriumphosphat — auch Spuren von Ablagerungen in den Magenepithelien und in der Lunge — abgesehen von der Erzielung von Kalkzylindern in der Niere — zu erreichen.

Auch dieses Ergebnis beweist die schon oben betonte Wichtigkeit des Phosphations für die Entstehung von Kalkablagerungen. Bei den

Vergleichstieren waren — abgesehen von Verkalkung des Bronchialknorpel, die ja physiologisch sind — niemals irgendwelche Kalkablagerungen in Organen zu finden.

Kalkzylinder in der Niere oder Verkalkungen der Lungenvenen, wie *Dreyfuss* sie an seinen Vergleichstieren beobachtete, fanden wir bei einer größeren Reihe von kalkzusatzfrei ernährten Kontrolltieren — es werden hier als Beispiel nur 2 Tiere wiedergegeben — niemals. Alle beobachteten Kalkablagerungen müssen also als künstlich erzielt angesehen werden.

b) Beziehung zwischen Ablagerung und Ablagerungsort.

Betrachten wir nun die Orte der Kalkablagerungen, so sehen wir an erster Stelle die Niere befallen.

Fast stets findet sich der Kalk in Form von Zylindern im Lumen der Harnkanälchen. Es handelt sich also um ein Ausfallen des Kalkes in dem ausgeschiedenen Harn.

Wir sehen hier mit Sicherheit den Grund für das Ausfallen von Kalksalzen in der für die bestehenden Löslichkeitsverhältnisse zu hohen Konzentrationen an Calcium- und Phosphationen. Nur bei den mit Calciumchlorid und saurem und alkalischem Phosphat abwechselnd gespritzten Tieren sowie den mit neutralem Phosphat gespritzten Tieren finden wir (in einem Falle) eine Verkalkung der Epithelien.

Nächst der Niere ist das Herz am häufigsten betroffen; wir finden hier Ablagerungen in den anscheinend ungeschädigten Muskelfasern.

Dann folgt die Lunge, in der wir Kalk in den Wandungen der Alveolen an den elastischen Fasern beobachten.

In weit geringerem Maße, aber bei starker Verkalkung doch meist vorhanden, finden wir den Kalk in den Epithelien der Magen- und Dickdarmdrüsen. Hierbei ist nicht stets mit Sicherheit zu entscheiden, ob es sich — soweit es sich um Kalkfuttertiere handelt — nicht um künstlich in die oberen Schichten eingedrungene Kalkmengen aus dem Futter handelt. Da aber in manchen Fällen auch sichere Kalkablagerungen in den unteren Schichten der Epithelien zu beobachten waren, so ist ebenfalls hier, entsprechend der Niere, eine Kalkausscheidung durch Konzentrierung der betreffenden Ionen im Ausscheidungsorgan anzunehmen.

Die Orte der Ablagerungen entsprechen also völlig dem Bilde der *Virchowschen* Kalkmetastase und die Verkalkung von Lunge und Magen wäre mit der *Askanazyschen* und dann von *Rabl* weiter fortgeführten Vorstellung im Einklang, nach der die säureausscheidenden Organe durch Alkalisierung des die Drüsen umgebenden Gewebssafes (mit *Rabl* der Wechsel der H-Ionenkonzentration) die bedingende Ursache für die Kalkablagerung darstellen.

Wenngleich ein Einfluß des Gewebssäuregrades, deren Abnahme bei säureabscheidenden Organen ja durchaus denkbar wäre, nicht geleugnet werden soll, glaube ich nach vorliegenden Versuchen als vorwiegende Ursache für die Kalkablagerung, die Konzentrationsanhäufung von Calcium- und Phosphationen ansprechen zu müssen. Für diese Auffassung spricht folgendes:

Wir sehen vor allem eine Verkalkung in den Nieren (Harnkanälchen), in denen eine Konzentrierung der Ionen erfolgt. Hierbei ist der Harn des Pflanzenfressers alkalisch, die Niere muß also als ein alkalische Flüssigkeit absonderndes Organ betrachtet werden.

Es könnte eingewandt werden, daß die Ablagerung im Harn und nicht in den Drüsenepithelien erfolgt, wie bei den säureabsondernden Organen. Demgegenüber stehen die Versuche von Gruppe 4, bei denen es gelang, auch Verkalkung in den Nierenepithelien zu erzielen. Des weiteren finden wir Verkalkung in den Epithelien des Dickdarms, der ja ebenfalls ein alkalisches und kein saures Produkt absondert. Darm und Niere sind also als Ausscheidungs- und daher als Konzentrationsorgane zu betrachten und fallen aus der Vorstellung des säureabsondernden Organs als bevorzugter Sitz der Verkalkung aus.

Des weiteren sprechen für die „Konzentrationsvorstellung“ die Verkalkungen im Herzen. Hier kann von einer Säureausscheidung und von einer Alkalisierung des Gewebssafes ebenfalls keine Rede sein, eher wäre bei einem stark arbeitenden Muskel an eine Säuerung der Gewebssäfte zu denken. Dagegen ist es bekannt, daß beim stark arbeitenden Muskel Phosphationen entstehen¹.

Es ergibt sich hier die Verkalkung also ebenfalls aus einer Erhöhung der Phosphationenkonzentration.

Diese Vorstellung ist ja als Hilfsvorstellung von *Rabl* in seine Theorie eingeführt worden. Hierzu paßt es gut, daß bei den sauer ernährten Phosphattieren (Gruppe 2) eine besonders starke Verkalkung der Herzmuskulatur beobachtet wurde. Bedingt doch Säurevergiftung eine besonders starke Tätigkeit der Herzmuskulatur.

Bei der Anführung aber von Lunge und Magen als Hauptstützen für die Theorie der Säureausscheidung muß nicht übersehen werden, daß diese Organe auch große Flüssigkeitsmengen absondern, also hinsichtlich des rückbleibenden Gewebssafes Konzentrationsorgane darstellen. Auch hat *Katase* die Bronchialschleimhaut als Absonderungsorgan für Ca angesehen.

¹ *Dreyfuss* schreibt, daß im Gegensatz zu den Arbeiten *Embdens* nach *Meyerhof-Lohmann* keine Phosphationenzunahme im arbeitenden Muskel erfolgt, doch ist anscheinend die betreffende Arbeit von ihm mißverstanden worden. — Nach *Meyerhof-Lohmann* beruht die Säuerung nicht auf Phosphorsäure, sondern auf Milchsäurewirkung. Dagegen bestätigen auch *Meyerhof-Lohmann* die Phosphationenzunahme bei der Muskelarbeit.

Die Betrachtung der Ablagerungsstätten vom Standpunkte der „Ionenkonzentration“ erscheint daher umfassender als nur vom Standpunkt der Aciditätsverhältnisse.

c) *Darstellung des Zustandekommens der einzelnen Versuchsergebnisse.*

Tatsächlich ist aber bei den Chloridfuttertieren und bei den gespritzten Tieren die Rolle der zugefügten basen- und säurebildenden Substanzen unverkennbar.

Ihre Wirkung spricht aber in dem Augenblicke für das Auftreten von „Konzentrierungsvorgängen“ als bedingenden Verkalkungsgrund, wenn wir ihren Einfluß auf die Ausscheidung von Kalk und Phosphorsäure verfolgen.

In dem folgenden Abschnitt wird die schon teilweise bekannte Tatsache belegt werden, daß Zuführung von Säure einen Kalk- und Phosphatverlust des Organismus (bis zur negativen Bilanz) zufolge hat, während Alkaligaben eher umgekehrt wirken. Es wird also bei Säurezuführung eine Ausschwemmung von Calcium und Phosphorsäure aus dem Organismus erfolgen, die der durch Überschüttung des Organismus mit diesen Salzen bedingten Ablagerungsneigung entgegenwirkt.

Bei den sauren Phosphatfuttertieren, bei denen die durch die Ernährung herbeigeführte „Acidose“ nicht so stark ist wie bei der durch Einspritzung erzielten, und bei der Calcium und Phosphat überreich vorhanden sind, ist die Wirkung der Säurezufuhr verdeckt und nur angedeutet. Auch fehlt der Vergleich durch reine Alkalifutterernährung, da dieses ja, wie gezeigt, nicht aufgenommen wird.

Wir finden also sowohl bei saurer als auch bei gemischter Ernährung starke Verkalkung aller Organe.

Bei den Einspritzungstieren mit ihrer starken Acidose sowie bei den Chloridfuttertieren, denen der zur Verkalkung notwendige Phosphationenüberschuß fehlt, sehen wir deutlich die Wirkung der Säurezufuhr. Wir finden nur geringe oder spurenweise Verkalkung, da nach dieser Auffassung die beiden Ionen ausgeschwemmt werden und in den sauren Ausscheidungen in Lösung bleiben.

Bei Zufuhr von Alkali allein kommt es — und dies wird im folgenden Abschnitt bewiesen werden — zu einer Verminderung der Calcium- und Phosphatausscheidung. Wir finden daher ebenfalls keine starke Konzentrationsanhäufung in den Ausscheidungsorganen und daher auch keine starke Verkalkungsneigung, wenngleich sie deutlich größer ist als bei ausgesprochener Acidose. Wechseln wir aber saure und basische Zusätze ab, so finden wir in den sauren Zeitabschnitten eine starke Anhäufung der Ionen in den Ausscheidungsorganen, die dann bei Zuführung von Alkali unterbrochen wird und zur Ausfällung des Calciums in den Gewebssäften führt.

Hierbei muß zur Vermeidung von Mißverständnissen gesagt werden, daß es für durchaus wahrscheinlich angesehen wird, daß starke Alkali- oder Säurezuführung die Reaktion der Gewebssäfte der Ausscheidungsorgane beeinflußt. Hierfür sprechen auch deutlich die Versuche von *Petow* und Mitarbeitern.

Wir nähern uns also scheinbar wieder der Auffassung von *Rabl* von der Wirkung der Reaktion der Gewebssäfte. Und doch handelt es sich um etwas anderes.

Es ist nicht der hypothetische und mit der Fortdauer des Lebens schlecht vereinbare Wechsel der H-Ionenkonzentration des Gesamtorganismus der die Ursache der Kalkablagerung darstellt, sondern die bei wechselnder Alkali- und Säuregabe beste Vereinigung zwischen Anreicherung und Niederschlagsbedingung der Ionenarten in den Ausscheidungsorganen.

Es sei betont, daß bei dieser Betrachtung nicht nur Niere und Darm, sondern auch Magen und Lunge als Ausscheidungsorgane für Ca betrachtet werden. Auf die Tatsache, daß die Bronchialschleimhaut ein Ausscheidungsorgan für Calcium darstellt, ist bereits hingewiesen.

Diese Erklärung befriedigt auch die Frage nach der Bedeutung der Nierenerkrankung für die Kalkablagerung. Die Niere ist mit der *Virchowschen* Betrachtungsweise nicht allein als Kalkausscheidungsorgan, noch mit *Rabl* als Regelungsorgan des Gewebssaftsäuregehaltes, anzusehen, sondern vorzüglich als Organ der Phosphatausscheidung zu betrachten.

Die Nierenerkrankung bedingt nicht nur Behinderung der Kalk-, sondern auch der Phosphatausscheidung. Hierbei ist es nicht notwendig, daß eine Erhebung der betreffenden Ionenspiegel im Blute erfolgt.

Die Vorgänge der Konzentrationsanreicherung der Ionen müssen sich — und das gilt für die ganze Betrachtung — weniger im Blutsystem als in den Geweben selbst abspielen. Konnten doch *Rona* und *Heubner* zeigen, daß große, künstlich zugeführte Kalkmengen schon kurze Zeit nach der Einspritzung aus der Blutbahn verschwunden waren. Ob diese Salze nun im Knochengerüst abgelagert werden, wie die genannten Forscher annehmen, oder, allgemeiner, in die Gewebe abwandern, läßt sich nicht entscheiden.

Jedenfalls muß bei Zuführung von Kalksalzen auch eine Anhäufung in den verschiedensten Geweben stattfinden, sonst wären die pharmakologischen Calciumwirkungen nicht möglich. Es wird bei vermehrter Zufuhr oder verminderter Ausscheidung von Calcium- und Phosphationen eine Anhäufung dieser in den Geweben erfolgen können, ohne daß sich hierbei stets Erhöhungen des Kalk- und Phosphatserumspiegels ergeben müssen.

Die *Virchowsche* Kalkmetastase stellt eine Überschwemmung des Organismus mit Knochensalzen bei Behinderung der Ausfuhr dar.

Bei Nierenschädigung allein kann nach den *Kóssaschen* Versuchen eine Verkalkung erfolgen, sicherer aber noch bei gleichzeitiger Kalkzufuhr.

Vorliegende Untersuchung zeigt in Übereinstimmung mit den im Schrifttum beschriebenen Versuchen, daß Verkalkung bei genügend großer Überschüttung des Organismus mit Knochensalzen auch ohne Nierenschädigung erfolgen kann. Die Orte der Ablagerung sind, wie gezeigt, die Orte der Kalk- und Phosphatausscheidung, der Phosphationenbildung und der starken Wasserabgabe.

Die Einflüsse, die die Ionenausscheidungen beeinflussen (Acidose und Alkalose) beeinflussen auch die Ablagerung.

Es ergibt sich daher — auch wenn nicht alle Einzelheiten der Versuche bis ins kleinste erklärt werden können — der allgemeine Schluß, daß die Form der Verkalkung, die nicht auf dystrophischer Grundlage beruht, auf eine die Löslichkeitsverhältnisse überschreitende Anreicherung von Calcium- und Phosphationen in den verkalkenden Geweben zurückzuführen ist. Dieses Ergebnis schließt sich den Befunden bei der dystrophischen Verkalkung an, die, wie in den vorhergehenden Abschnitten gezeigt wurde, auf einfache anorganische Umsetzungen bzw. Löslichkeitsverhältnisse zurückgeführt werden konnten.

4. Untersuchungen über den Einfluß von Säure- und Basezuführung auf die Ausscheidung von Kalk und Phosphorsäure.

I. Bisherige Versuche.

Die im vorangehenden Abschnitt dargestellte Auffassung, daß die Wirkung der von *Rabl* angewandten Säure- und Basezufuhr zum Futter zum Teil auf die Wirkung dieser Zugaben auf die Ausscheidung von Calcium und Phosphorsäure zurückzuführen sei, macht es notwendig, diese Wirkung durch den Versuch zu prüfen.

Über die Wirkung der „Acidose“ oder „Alkalose“ auf die Calcium- oder Phosphatausscheidung besteht eine ausgedehnte klinische Literatur. Ist doch diese Beziehung besonders für die Kinderklinik wichtig, da sie die Fragen der Rachitis und der Tetanie betrifft.

Trotz widersprechender Angaben geht aus diesem Schrifttum hervor, daß Säurezuführung Hand in Hand mit einer vermehrten Calciumausscheidung geht. Das Ca der Knochensalze stellt gewissermaßen eine Alkalireserve dar, die bei starker Säurebildung mit zur Neutralisation herangezogen wird. Es ist bekannt, daß starke Säurezufuhr oder Säurebildung das Knochengerüst anzugreifen vermag.

Auch soll bei Säurezufuhr die Ausscheidung des Calciums vom Darm mehr zur Niere verlegt werden.

Da Versuche über die Wirkung von Säure- und Basezufuhr auf den Phosphat- und Ca-Stoffwechsel beim gleichen Tier fehlen, durch welche Versuchsanordnung das individuell stark wechselvolle Verhalten der Versuchstiere ausgeglichen wird und Versuche am Kaninchen, das zur Untersuchung von Kalkablagerungsvorgängen bevorzugt wird, sehr spärlich sind, werden im vorliegenden Abschnitt Untersuchungen an 2 Kaninchen über Calcium- und Phosphorsäureausscheidung bei Säure- und Basezufuhr angestellt.

Diesen Versuchen werden dann, nach Abschluß der Abschnitte der Säure- und Basezufuhr, einige Sublimatvergiftungen angeschlossen, um die behauptete, aber noch nicht sicher bewiesene Verminderung der Calcium- und Phosphatausscheidung bei der Sublimatvergiftung zu beweisen. Es sei daran erinnert, daß die Sublimatvergiftung von *von Kóssa* als ein die Kalkausscheidung behindernder und hierdurch zur Verkalkung der Niere führender Vorgang angesehen wurde.

Die Versuche erstrecken sich über eine Zeit von mehr als 2 Monaten. Bei Kaninchen I vom 20. III. bis 27. V. und bei Kaninchen II vom 12. III. bis 17. V. 27.

Die Zufuhr von Calcium und Phosphat geschah durch Fütterung von Brot und Rüben, deren Calcium- und Phosphorsäuregehalt analysiert waren. Die gefressene Menge wurde durch Rückwägung der Nahrungsmittel nach je 48 Stunden bestimmt. Aus der gefressenen Menge der Nahrungsmittel wurde abschnittsweise die aufgenommene Menge an Calcium und Phosphorsäure errechnet. Die analytische Bestimmung des Calciums und der Phosphorsäure erfolgte nach den üblichen Methoden in dem je 48 Stunden gesammelten Harn und Kot.

Die Versuchsanordnung war folgende:

Nach Einstellung auf Calcium- und Phosphorsäuregleichgewicht erhielt Tier I 4 Tage täglich je 50 ccm $n/_{50}$ HCl, die folgenden 6 Tage je 50 ccm $n/_{25}$ HCl mittels Schlundsonde (Abschnitt 2). Dann folgte ein Abschnitt ohne Behandlung, innerhalb dessen wieder Stoffwechselgleichgewicht erzielt werden sollte (Abschnitt 3). Dann wurde je 10 Tage lang $n/_{50}$ NaHCO₃ gegeben (Abschnitt 4). Hierauf folgte wieder eine Einstellzeit ohne Behandlung (Abschnitt 5), worauf im 6. Abschnitt des Versuches 12 Tage lang täglich Sublimat unter die Haut gespritzt wurde und zwar bei Tier I im ganzen 105 mg.

Bei Tier II war die Versuchsanordnung völlig die gleiche, nur wurde mit der Alkaliperiode begonnen und erst im 4. Abschnitt HCl gegeben. Die Sublimatvergiftung (Abschnitt 6) dauerte bei Tier II 14 Tage, in denen es 190 mg Sublimat erhielt.

Einen Schluß über Änderung der Ausscheidungsverhältnisse gestatten nur deutliche Bilanzunterschiede.

Da auch die vorliegenden Versuche trotz der ziemlich langen Versuchs-

perioden nur Durchschnittswerte von Abschnitten darstellen, die sich in ihrer Auswirkung überschneiden, wird von der Bewertung von Verhältniszahlen der Ausscheidung in Harn und Kot sowie von geringen Schwankungen der Bilanz abgesehen.

Als Gesamtergebnis zeigte sich, daß starke Säurezuführung eine Calcium- und Phosphorsäureausscheidung bis zur negativen Bilanz bewirkte, während starke Alkalizuführung, wenn auch nicht so deutlich, im gegenteiligen Sinne zu wirken schien.

Bei der Sublimatvergiftung erfolgte eine unzweifelhafte Zurückhaltung von Calcium und Phosphorsäure. Diese hing nicht allein mit der Verminderung der Harnmenge zusammen, da die Tiere erst in den letzten beiden Versuchstagen deutlich anurisch wurden.

Diese Ergebnisse entsprechen durchaus den Vorstellungen, die sich aus den vorhergehenden Abschnitten ergeben haben.

Säure- und Alkalizufuhr wirken auf die Calciumphosphatausscheidung wie dies in der Erklärung der Verkalkungsversuche angenommen wurde.

Die Ergebnisse bei der Sublimatvergiftung bestätigen die Annahme von *von Kóssa*, daß die Zurückhaltung von Calcium und Phosphat mitbedingend für die Nierenverkalkung ist, ein Befund, der sich durchaus in die Vorstellung über die Bedeutung der Ca- und PO_4 -Ionenkonzentrationen in den Gewebssäften für die Verkalkung einordnet.

D. Zusammenfassende Besprechung der Versuchsergebnisse über das Entstehen von Kalkablagerungen.

Es wurde gezeigt, daß die Erscheinung der Gewebsverkalkung sich auf drei Grundformen zurückführen läßt:

1. auf die Verkalkungen durch Störungen des Kalkstoffwechsels und die durch die bedingten Änderungen der Calcium- und Phosphat-Ionenkonzentration in den Gewebssäften;

2. auf die durch Herabsetzung der Lebenstätigkeit der Zellen oder durch völligen Gewebstod bedingte „dystrophische“ Form der Verkalkung.

3. auf die ausschließlich auf das Knochenwachstum beschränkte Verkalkung durch eine hypothetische besondere Zelltätigkeit.

Es wurde des weiteren dargestellt, mit welchen Vorstellungen das Zustandekommen der Kalkablagerung zu erklären versucht wurde.

Die erste Gruppe von Erklärungen beruht auf der Vorstellung, daß das Auftreten besonderer Substanzen im verkalkenden Gewebe, von sog. „Kalksalzfängern“, die Ablagerung des Kalkes bedinge, oder daß das Verschwinden besonderer die Verkalkung während des Lebens hemmender Stoffwechselbestandteile die Ablagerung von Kalksalzen in nicht mehr voll lebenstätigem Gewebe ermögliche.

Die zweite Gruppe von Erklärungen sieht in der Änderung der Löslichkeitsverhältnisse der Kalksalze den Grund für das Entstehen von Ablagerungen. Während des Lebens soll sich das Gewebe durch starke Kohlensäurebildung gegen die Verkalkung schützen. Beim Nachlassen oder Aufhören der Kohlensäurebildung soll die Verkalkung infolge der bei abnehmender Acidität sich verringernden Löslichkeit der Kalksalze einsetzen.

Die dritte Gruppe von Erklärungen steht den ersten beiden insofern gegenüber, als sie sich allein auf die Verkalkung des Knochengerüstes während des Wachstums beschränkt. Sie führt die Verkalkung des Knochengerüstes auf die unmittelbare Lebenstätigkeit der Knochenbildungszellen zurück.

Keine der Vorstellungen macht es verständlich, warum die Ablagerung in allen tierischen Geweben fast stets zum größeren Teil aus Calciumphosphat und zum geringeren Teil aus Calciumcarbonat gemeinsam bestehen.

Es wurde daher in vorliegender Arbeit eine Reihe von Untersuchungen angestellt, die zu einer neuen Vorstellung über den Verkalkungsvorgang führten.

Im Abschnitt B wird die Frage bearbeitet, in welcher Zustandsform das Calcium im Gewebe und in den Gewebssäften vorliegt. Versuche, die die Arbeiten *Gassmanns* nachprüften, zeigten, daß sein Beweis für das Vorhandensein eines Calciumphosphatcarbonat-Komplexsalzes nach Art der *Wernerschen Hexosalze*, als nicht stichhaltig angesehen werden muß.

Kompensationsdialysen mit Serum gegen Bicarbonat und Phosphat zeigten die volle Dialysibilität des Bicarbonat- und Phosphations und machten es unwahrscheinlich, daß das Calcium in irgendwie nennenswerter Menge als kolloidales Calciumcarbonat oder Calciumphosphat vorliegt.

Die Kenntnisse über die Zustandsform des dialysablen Calciums ließen sich erweitern durch Versuche, Serum mit verschiedenen festen Phasen eine zeitlang zu schütteln.

Es wurde die von *Holt*, *La Mer* und *Chown* gefundene Tatsache bestätigt, daß das Animpfen von Serum mit tertiärem Calciumphosphat zu einer starken Abnahme des Serumcalciums führt, und es wurden die von *Hastings*, *Murray* und *Sendroy* angestellten Beobachtungen als richtig erkannt, daß neben dem Ca^{++} -Gehalt vor allem der CO_3^{2-} -Gehalt des Serums bei Berührung mit tertiärem Calciumphosphat abnimmt. Der Einfluß anderer fester Basen wie Glas, Calciumcarbonat und anderer wurde untersucht und völlig wirkungslos befunden. Die Erscheinung der Calciumabnahme bei Gegenwart von $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ als Bodenkörper wurde unter verschiedenen Bedingungen bei Zugabe von Ca^{++} ,

$\text{PO}_4^{''}$, Alkali, p_{H} -Änderung usw. sowohl an Serum als auch an Ringerlösung durch Analyse der $\text{Ca}^{''}$ -, $\text{CO}_3^{''}$ - und $\text{PO}_4^{''''}$ -Änderung der Lösung geprüft.

Die Abnahme des $\text{Ca}^{''}$ in Serum und in Ringerlösung beruht nicht oder wenigstens nicht allein auf dem Vorgang des Animpfens einer übersättigten Lösung. Es findet eine chemische Umsetzung der Lösung mit dem Bodenkörper statt, derart, daß nach Art einer Austauschabsorption $\text{CO}_3^{''}$ in den Bodenkörper hinein dafür aber aus ihm $\text{PO}_4^{''}$ in die Lösung hinausgeht. Das Steigen der Phosphationenmenge in der flüssigen Phase bewirkt ein Überschreiten des Löslichkeitsproduktes des Calciumphosphates und demzufolge ein Ausfallen des Calciums.

Es konnte gezeigt werden, daß es sich nicht, wie von *Klinke* angegeben, um die Absorption einer unbekannten Ca-Verbindung im Serum durch den Bodenkörper, sondern um einfache chemische Umsetzungen handelt, die sich auch in Ringerlösung darstellen lassen.

Neben diesem Vorgang geht aber ein echtes Animpfen einer an Calciumphosphat übersättigten Lösung durch Impfkristalle einher. Als Beweis der echten Übersättigung des Serums an Calciumphosphat wurde die Tatsache angesehen, daß die Gesamt- P_2O_5 -Menge, die in der flüssigen Phase beim Umsetzen mit verschiedenen großen Bodenkörpermengen stetig ansteigen müßte, bei Anwendung geringer Bodenkörpermengen zuerst unter ihren Ausgangswert hinabging, um dann erst bei größeren Bodenkörpermengen wieder anzusteigen.

Ob auch eine Übersättigung an Carbonat vorliegt oder ob das Calcium eine zum Teil noch unbekannte Komplexverbindung bildet, konnte noch nicht entschieden werden.

Unabhängig von der gegebenen Auffassung des Vorganges wird es für die Erscheinung der Kalkablagerung als wesentlich angesehen, daß das Vorhandensein von Calciumphosphatkristallen zu einer Abnahme bis zum völligen Verlust des Calciumgehaltes der den Krystall umspülenden Flüssigkeit führt.

Hierbei entsteht — durch den Vorgang der Austauschabsorption — ein Bodenkörper, der stets neben Calciumphosphat auch Calciumcarbonat enthält. Es bildet sich also ein Salzgemisch als Bodenkörper, wie es bei allen Verkalkungsvorgängen im Organismus beobachtet worden ist.

Ergänzt die Flüssigkeit, die den Krystall umspült, ihren Calciumgehalt und führt sie ihren hohen Gehalt an Phosphat wieder ab, nimmt sie also mit anderen Worten ihre ursprüngliche Zusammensetzung wieder an, so muß die Kalkabscheidung in Form von Phosphat und Carbonat weitergehen und, solange die Ergänzung der Mutterlauge andauert, einen ständig fortschreitenden Vorgang darstellen.

Diese Bedingungen sind nun aber in jedem absterbenden oder abgestorbenen Gewebe, das im osmotischen Austausch mit dem Gesamtserum steht, gegeben.

Es wird daher das Auftreten von Krystallkeimen von $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ im absterbenden Gewebe sowie der Umsatz dieser Krystallkeime mit der sie umspülenden Gewebsflüssigkeit nach Art der in den Versuchen dargestellten Umsetzungen als derjenige Vorgang angesehen, nach dem die „dystrophische“ Verkalkung im Organismus erfolgt. Daher werden Erklärungsversuche, die sich auf das Auftreten besonderer Kalksalzfänger oder auf das Verschwinden die Verkalkung hemmender Stoffwechselbestandteile stützen, abgelehnt.

Es bedarf zur Ergänzung dieser Vorstellung über das Entstehen der Kalkablagerung der Erklärung, wie es zum Auftreten der ersten Krystallkeime, die die Verkalkung einleiten, kommt. Hierzu wurde zu zeigen versucht, warum es bei autolytischem Zerfall der Gewebe, die besonders leicht verkalken, wie Knorpel und Bindegewebe vorzüglich zu einem Freiwerden von Ca-Ionen kommen muß.

Durch Versuche mittels Kataphorese und Prüfung des Bindungsvermögens für Anionen und Kationen bei variiertem p_{H} wurde gezeigt, daß Knorpel und Bindegewebe aus Eiweißkörpern bestehen, die eine stärker sauere Natur haben als Eiweißkörper aus Muskulatur und Organen. Knorpel und Bindegewebe binden daher größere Mengen Ca als andere Gewebsarten und dürften daher bei autolytischem Zerfall am ehesten Ca-Ionen frei machen.

Des weiteren sei darauf hingewiesen, daß bei jeder Autolyse auch Phosphationen frei werden. Vermehrung der Phosphat- oder Calciumionen in einem Gewebssaft würde aber genügen, um das Auftreten der ersten Krystallkeime von Calciumphosphat zu ermöglichen. Auch sei daran gedacht, daß jeder Vorgang einer Eiweißgerinnung Calciumphosphat mitreißen und somit zur Bildung der Krystallkeime führen kann.

Im besonderen ist aber auf den Einfluß der Säuregehaltsverhältnisse im absterbenden oder abgestorbenen Gewebe eingegangen worden. So wurde versucht, durchschnittliche Werte über die Aciditätsverhältnisse abgestorbener Gewebe im Vergleich zu normalen zu ermitteln.

Hierzu dienten Nieren von Kaninchen, die durch Unterbindung zum Absterben und zur Verkalkung gebracht worden waren. Die abgestorbenen Gewebe wurden im Vergleich zu normalem Gewebe mittels der Methode der direkten Messung von Gewebssäften an der Gasvette auf ihren durchschnittlichen Säuregehalt untersucht. Hierzu wurden besondere Mikroapparaturen (Presse für hohen Druck, Mikro-U-Elektroden) ausgearbeitet.

Es zeigte sich stets, gleichgültig, ob die Nieren durch Venen- oder Gesamtunterbindung des Nierenhilus zum Absterben gebracht worden waren und gleichgültig, ob 14 Tage oder 2 Monate nach der Unterbindung das Gewebe untersucht wurde, daß das dystrophische Gewebe keine

postmortale Säuerung zeigte und alkalischer reagierte als das normale Gewebe. Das dystrophische, keimfrei im Organismus verbleibende Gewebe scheint also die Neigung zu haben, sich dem Säuregrad des umspülenden Serums anzugeleichen.

Dieser Vorgang erscheint durch das Aufhören der Atmung — und somit der CO_2 -Bildung — verständlich und kann mitbedingend für die Bildung der Krystallkeime und das Fortschreiten der Kalkablagerungen sein.

Kann der Vorgang der dystrophischen Verkalkung durch rein anorganische Umsetzungen, die die Löslichkeitsverhältnisse des Calciumphosphates betreffen, erklärt werden, so gilt das gleiche für diejenigen Kalkablagerungen, die auf einer künstlich nachgeahmten Störung des Kalk- oder Phosphatstoffwechsels beruhen.

Durch Fütterung von Versuchstieren (Mäusen) mit einem Futter dem Calciumphosphat sowie säure- oder alkalibildende Bestandteile zugesetzt wurden, konnten die Tiere zur Verkalkung gebracht werden und zwar in einer Form, die der *Virchowschen* Kalkmetastase äußerst ähnlich war. Es zeigten sich Kalkablagerungen im Lumen der Nierenkanälchen, in der Muskulatur des Herzens, in den Epithelien und im Zwischengewebe der Magen- und Darmwand, sowie in den Wandungen der Lungenbläschen.

Es gelang, diese Verkalkung sowohl mit abwechselnd sauer und alkalisch gereichtem als auch mit rein saurem Phosphatfutter zu erzielen, nicht aber mit alkalischem Phosphatfutter. Diese Unterschiede wurden durch die Verschiedenheit in der Löslichkeit und der Aufnahmefähigkeit der Nahrung erklärt.

Versuche, anstatt durch Fütterung durch Einspritzung von CaCl_2 und saurem, neutralem, alkalischem und abwechselnd saurem und alkalischem Natriumphosphat die Tiere zur Verkalkung zu bringen, zeigten andererseits aber deutlich die Wirkung der zugeführten Alkali- oder Säremengen auf die Kalkablagerung.

Das gleiche gilt für Fütterungsversuche mit CaCl_2 -Zusätzen zur Nahrung, der außerdem Säure- und alkalibildende Bestandteile beigemischt wurden. Wenngleich die Versuche mit CaCl_2 -Futter auch zu Ablagerungen führten, waren diese doch ungleich schwächer als die Ablagerungen mit Phosphatfutter und zeigten die Bedeutung des im Überschuß zugeführten Phosphations.

Aus den Versuchen ergibt sich die Vorstellung, daß als bedingende Ursache für die Kalkablagerung die Anhäufung an Ca - und PO_4 -Ionen anzusehen ist. Daher zeigte sich stets die stärkste Ablagerung in den Harnkanälchen. Die Kalkablagerung in Darm, Herz, Magen und Lungen wird ebenfalls als eine Verkalkung durch „Konzentrierung“ aufgefaßt, derart, daß in den Organen der Ablagerung entweder Ca und Phos-

phorsäure selbst zur Ausscheidung gelangen, oder daß diese Organe als Stätten der Wasserabgabe anzusehen sind, wodurch ebenfalls eine Konzentrierung der zur Ablagerung kommenden Ionen in den Gewebsäften erfolgen muß.

Daß eine gewisse „Alkalisierung“ der Gewebssäfte von Organen, die Säure ausscheiden, mitwirken kann, soll nicht bestritten werden. Die Wirkung von Säure- und Alkalizuführung wurde jedoch vorzüglich als eine Wirkung auf die Ausscheidung und Anhäufung von $\text{Ca}^{''}$ und $\text{PO}_4^{''}$ in den Ausscheidungsorganen angesehen und die besonders starke Verkalkung bei abwechselnd saurer und alkalischer Ernährung als Wechselwirkung zwischen Konzentrationsanhäufung in den Ausscheidungsorganen und „Alkalisierung“ betrachtet.

Um diese Wirkung von Säure und Alkali auf die Ausscheidung von $\text{Ca}^{''}$ und Phosphorsäure zu prüfen, wurden Calcium- und Phosphatstoffwechselversuche an Kaninchen bei Säure- und Alkalizufuhr ausgeführt. Die Versuche zeigten, daß $\text{Ca}^{''}$ - und Phosphorsäureausscheidung durch Säurezufuhr ansteigen und über die Einnahme hinausgehen können, während umgekehrt Alkalizuführung die Ausscheidung von $\text{Ca}^{''}$ und $\text{PO}_4^{''}$ zu vermindern scheint.

Diese Versuche stützen die Vorstellungen über die Bedeutung der Säure- oder Alkalizugabe als Wirkung auf die Ausscheidung von $\text{Ca}^{''}$ und $\text{PO}_4^{''}$ -Ionen bei der Verkalkung durch Stoffwechselstörungen.

Die Stoffwechselversuche an mit Sublimat vergifteten Tieren zeigten, daß die Verkalkung bei der Sublimatvergiftung ebenfalls mit einer Behinderung der $\text{Ca}^{''}$ - und Phosphatausscheidung in Beziehung zu bringen ist.

Als Summe dieser Versuche ergab sich, daß das Wesentliche bei der Verkalkung durch Stoffwechselstörungen oder ihrer künstlichen Nachahmung die Anreicherung von $\text{Ca}^{''}$ und $\text{PO}_4^{''}$ in den verkalkenden Geweben ist, in denen es dann bei einer zu starken Überschreitung des Löslichkeitsproduktes zu einem Ausfallen an Calciumphosphat kommt. Abnahme des Säuregehaltes in den Gewebssäften säureausscheidender Organe kann diesen Vorgang unterstützen.

Das ausgefallene Phosphat muß sich zum Teil entsprechend den Versuchen des Abschnittes B II 3 mit dem $\text{CO}_3^{''}$ -Ion der Gewebssäfte zu Calciumcarbonat umsetzen. Hierdurch ergibt sich das Nebeneinanderbestehen beider Verbindungen in den Ablagerungen.

Ob die Anreicherung an $\text{Ca}^{''}$ - und $\text{PO}_4^{''}$ -Ionen durch Überschüttung bei der Zufuhr, durch Behinderung der Ausscheidung oder durch Säure-Alkalieinflüsse erfolgt, ist gleichgültig.

Die Vorstellung über das Entstehen der Kalkablagerungen bei Stoffwechselstörungen steht also in naher Beziehung zu den dargestellten Anschauungen über das Entstehen der „dystrophischen“ Verkalkung.

Literaturverzeichnis.

- Aleschin, R. W.*, Biochem. Zeitschr. **171**. 1926. — *Aron*, Biochem. Zeitschr. **4**, 268. 1907. — *Askanazy, M.*, Festschrift f. Jaffé. Braunschweig: Vieweg 1901. Atti del. I. Congresso internat. dei Pathologi, Torino 1911, S. 252; Verhandl. d. Dtsch. pathol. Ges. 1914, S. 101. — *Barillé, A.*, Journ. de pharmacie et de chim. **19**, 6, S. 14, 71, 196, 245, 295; ebenda **1**, 7, S. 342. 1910. — *Behrendt, H.*, Biochem. Zeitschr. **144**, 1/2, S. 72—80. 1924; **146**, 3/4, S. 318—322. 1924. — *Bertram, J.*, Zeitschr. f. Biol. **14**, 354. 1878. — *Bjerrum, N.*, Zeitschr. f. Elektrochem. **24**, 321. 1918; Med. from Nobelinst. **5**. 1919. — *Blessig*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **16**. 1859. — *Brinckman und van Dam*, Konink. Akademie van Wetenschap te Amsterdam **22**, 762. 1919. — *Cameron, A. T.*, und *V. H. K. Moorhouse*, Journ. of biol. chem. **63**, 3, S. 687—720. 1925; Transact. of the roy. soc. of Canada **19**, 3, S. 39—43. 1925. — *Cameron, F. K.*, und *A. Seidell*, Journ. of physical. chem. **6**, 50. 1902. — *Caspari*, Berl. klin. Wochenschr. **24**, 126. 1897. — *McCoy, H. N.*, und *H. J. Smith*, Journ. of the Americ. chem. soc. **33**, 468. 1911. — *Cruickshank, E. H. W.*, Biochem. Journ. **27**, 1, S. 18—29. 1923. — *Csapó, J.*, und *J. Faubl*, Biochem. Zeitschr. **150**, 5/6, S. 509—514. 1924. — *Cullen, G. E.*, und *E. Billmann*, Journ. of biol. chem. **64**, 727. 1925. — *Dreyfuss, W.*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **76**, 254. 1927. — *Dubois, M.*, und *Stolte*, Jahrb. f. Kinderheilk. **77**, 21. 1913. — *v. Ebener*, Sitzungsber. d. k. k. Akademie d. Wiss. Wien, III. Abt. **72**. — *Fairhall, L. P.*, Journ. of biol. chem. **70**, 495. 1926. — *Fiske, C. H.*, und *J. Subbarow*, Journ. of biol. chem. **66**, 375. 1925. — *Freudenberg und György*, Biochem. Zeitschr. **110**, 299. 1920; **115**, 96. 1921; **118**, 50. 1921; **121**, 131. 1921; **121**, 142. 1921; **124**, 299. 1921; Jahrb. f. Kinderheilk. **96**, N. F. **46**, 5. 1921. — *Freudenberg, E.*, Klin. Wochenschr. **5**, 2, S. 64—66. 1926. — *Gaethgens, C.*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**, 36. 1880. — *Gassmann*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **83**, VI, S. 403. 1903; **70**, 161. 1910. — *Gerhardt, D.*, und *W. Schlesinger*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **13**, 83. 1899. — *Givens, M. H.*, und *L. B. Mende*, Journ. of biol. chem. **31**, 421. 1917. — *Goto, Kiko*, Journ. of Biochem. **1**, 2, S. 321—332. 1922. — *Gottschalk*, Inaug.-Diss. Diss. Leipzig 1882. — *Gräff, S.*, Klin. Wochenschr. **11**, 451. 1924; **25**, 1189. 1927. — *Grandis und Mainini*, Arch. ital. de biol. 1900. — *Granström, E.*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **57**, 195. 1908—1909. — *Greenberg, D. M.*, und *C. L. A. Schmidt*, Journ. of gen. physiol. **8**, 271. 1925—1926. — *Greenwald, I.*, und *Gross*, Journ. of biol. chem. **66**, 1, S. 185—199. 1925. — *Greenwald, I.*, Journ. of biol. chem. **67**, 1. 1926. — *György, P.*, Jahrb. f. Kinderheilk. **99**, 3. Folge **49**, 2/3, S. 104. 1922; Biochem. Zeitschr. **152**, 3/4, S. 284. 1924. — *Halverson, J. O.*, und *O. Bergeim*, Journ. of biol. chem. **29**, 337. 1917. — *Hammett, Frederick S.*, Journ. of biol. chem. **64**, 3, S. 693. 1925. — *Hastings, A. B.*, *Murray, C. D.*, und *I. Sendroy*, Journ. of biol. chem. **71**, 3, S. 723—781, 783—796, 797—846. 1927. — *v. d. Heide*, Biochem. Zeitschr. **58**, 470. 1914. — *Heubner, W.*, Klin. Wochenschr. **2**, 34, S. 1603—1604. 1923; Biochem. Zeitschr. **156**, 1/4, S. 171—181. 1923. — *Heubner, W.*, und *P. Rona*, Biochem. Zeitschr. **135**, 248. 1923. — *Hofmeister, F.*, Ascher-Spiro, Ergebnn. d. Physiol. **10**. 1910. — *Holt, L. E. jr.*, *V. K. La Mer*, und *B. H. Chown*, Journ. of biol. chem. **64**, 509. 1925; **64**, 567. 1926; Proc. of the soc. f. exp. biol. a. med. **22**, Febr.-H., S. 283—287. 1925. — *Holt, L. E. jr.*, Journ. of biol. chem. **66**, 1, S. 23—28. 1925. — *Holt, L. E.*, *Coutney* und *Fales*, Americ. journ. of dis. of childr. **19**, 2, S. 97—113. 1920; **19**, 3, S. 201—222. 1920. — *Holló, J.*, Biochem. Zeitschr. **150**, 5/6, S. 496—500. 1924. — *Hoppe-Seyler-Thierfelder*, Handbuch der physiologischen und pathologisch-chemischen Analysen. Julius Springer, Aufl. 1924. — *Howland und Kramer*, Americ. journ. of dis. of childr. **22**. 1921; Monatssechr. f. Kinderheilk. **25**, 1/6, S. 279—293. 1923. — *Inokuti-Teidi*, Verhandl.

- d. japan. pathol. Ges. **15**, 216. 1923. — *Katase*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **57**, 516. 1914. — *Kendall*, J., Philosoph. mag., Journ. of science **23**, 958. 1912. — *Kischensky*, Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **12**, 674. 1901. — *Kleinmann*, H., Biochem. Zeitschr. **174**, 1/3, S. 43. 1926. — *Kleinmann*, H., und *F. Pangritz*, Biochem. Zeitschr. **185**, 1/3, S. 44. 1927. — *Klinke*, Klin. Wochenschr. **6**, 17, S. 791. 1927. — *Klotz*, O., Journ. of exp. med. **7**, 613. 1905. — *Kohlschütter*, V., und *C. Egg*, Helvetica chim. acta **8**, 6, S. 697—703. 1925. — *v. Kölle*, Sitzungsber. d. physik.-med. Ges. zu Würzburg 1886, S. 33. — *v. Kóssa*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **29**, 163. 1901. — *Krause*, P., Verhandl. d. Dtsch. Röntgenges. **5**, 159. 1909. — *Kugelmass*, J. Newton und *A.T. Shohl*, Proc. of the soc. f. exp. biol. a. med. **21**, 1, S. 6—8. 1923. — *Kugelmass*, J. Newton, Ebenda **21**, 8, S. 438—440. 1924. — *Kugelmass*, J. Newton und *A.T. Shohl*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **91**, 21, S. 130—131. 1924; Journ. of biol. chem. **58**, 3, S. 649 bis 666 und **60**, 2, S. 237—256. 1924. — *Langhans*, Dtsch. Zeitschr. f. Chir. **22**, 1885. — *Liesegang*, R. E., Beiträge zur Kolloidchemie des Lebens. Biochem. Zeitschr. **145**, 1/2, S. 96—97 und **149**, 5/6, S. 605. 1924. — *Litten*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **83**, 1881; **88**, 1882. — *Loeb*, J., Die Eiweißkörper und die Theorie der kolloiden Erscheinungen. Julius Springer 1924. — *Loeb*, Robert F., und *Emily G. Nichols*, Proc. of the soc. f. exp. biol. a. med. **22**, Febr.-H., S. 275. 1925. — *Lohmann*, K., und *L. Jendrassik*, Biochem. Zeitschr. **178**, 4/6, S. 419. 1926. — *Magnus-Levy*, A., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **42**, 163. 1899. — *Maximow*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **41**, 1907. — *Mays*, K., Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. Suppl. zu **7**, 79. 1905. — *Meier*, Kl., Klin. Wochenschr. **1**, 1922. 1908. — *Meyerhof-Lohmann*, Biochem. Zeitschr. **168**, 128. 1926. — *Meysenbug*, L. v., Journ. of biol. chem. **47**, 529. 1921. — *Michaelis*, L., Die Wasserstoffionenkonzentration. 1914. — *Michaelis* und *Kramsztyk* R. Mond und H. Netter, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **212**, 3/4, S. 565. 1926. — *Mond*, R., Ebenda **200**, 3/4, S. 422—428. 1923. — *Moritz*, Alan R., Journ. of biol. chem. **64**, 1, S. 81—89. 1925. — *Neuburger*, S., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **27**, 39. 1890. — *Neuhausen*, B. S., und *J. B. Pincus*, Journ. of biol. chem. **57**, 99. 1923. — *Nietschke*, A., Biochem. Zeitschr. **165**, 1/3, S. 229—237. 1925. — *Pauli*, J. W., und *M. Samec*, Biochem. Zeitschr. **17**, 235. 1909. Australia. — *Petow*, Wittkower und *Pietrkowski*, Klin. Wochenschr. **13**, 598. 1925. — *Pfaundler*, M., Jahrb. f. Kinderheilk. Erg.-Bd. **40**, 123. 1903. — *Pfaundler*, *Pfeiffer* und *Modelska*, Wien. med. Wochenschr. **54**, 1405. 1904. Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **81**. 1912. — *Pincus*, J. B., und *B. Kramer*, Journ. of biol. chem. **57**, 463. 1923. — *Porcher*, Ch., Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences **180**, 20, S. 1534—1536 und **180**, 23, S. 1788—1790. 1925. — *Poscharissky*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **38**. 1902. — *Prévost*, Rev. de la Suisse romande 1882, S. 553 u. 605. — *Prévost* und *Binet*, Rev. méd. de la Suisse romande **11**. — *Rabl*, C., Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **245**, 542. 1923; Klin. Wochenschr. **2**, 35, S. 1644—1646. und **2**, 5, S. 202. 1923. — *Remesow*, I., Biochem. Zeitschr. **168**, 239. 1926. — *Rohde*, C., Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. **40**, 85. 1926—1927. — *Röhmann*, Über künstliche Ernährung und Vitamine. Berlin 1916. — *Rona*, P., und *Takahashi*, Biochem. Zeitschr. **31**, 336. 1911. — *Rona*, P., und *P. György*, Ebenda **48**, 278. 1913. — *Rona*, P., und *Takahashi*, Ebenda **49**, 371. 1913. — *Rona*, P., und *P. György*, **56**, 416. 1913. — *Rona*, P., und *H. Petow*, Ebenda **137**, 356. 1923. — *Rona*, P., *F. Haurowitz* und *H. Petow*, Ebenda **149**, 392. 1924. — *Rona*, P., *H. Petow* und *E. Wittkower*, Ebenda **150**, 468. 1924. — *Rosin*, A., Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **76**, 133. 1926. — *Ruedel*, G., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **33**, 79. 1894. — *Rumjantzev*, A., Biochem. Zeitschr. **171**, 1926. — *Sacerdotti-Frattin*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **168**. 1902.

— *Saikowsky*, Ebenda **36**, 346. 1866. — *Salvesen, H. A.*, und *G. C. Linder*, Journ. of biol. chem. **58**, 6/7. 1923—1924. — *Secchi, R.*, Biochem. Zeitschr. **67**, 143. 1914. — *Siegfried*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **44**, **45**, **46**. 1905; Ergebni. d. Physiol. **9**, 334. 1910. — *Schabad*, Zeitschr. f. Kinderheilk. **11**. 1914. — *Schade, H.*, *P. Neukirch* und *A. Halpert*, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **24**, 11. 1921. — *Schloß*, Jahrb. f. Kinderheilk. **78**, 6. 1903. — *Schloesing, Th.*, Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences **74**, 1552. 1872. — *Schmidt, M. B.*, Krehl-Marchand, Handbuch der allgemeinen Pathologie **3**, Abt. 2, S. 215; Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **170**, 729; Dtsch. med. Wochenschr. **2**. 1913; Zeitschr. f. angew. Anat. u. Konstitutionslehre **3**, 146. 1918; Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **30**, 497. 1920. — *Schmidt, H.*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **215**, 142. 1914. — *Schmidtmann, M.*, Biochem. Zeitschr. **150**, 253. 1924. — *Schulten, H.*, Ebenda **164**, 1/3, S. 47—52. 1925. — *Schultze, W.*, Verhandl. d. Dtsch. pathol. Ges. 1926, S. 161. — *Stade, F.*, Über Lungenverkalkung. Inaug.-Diss. Kiel 1900. — *Stransky, E.*, Biochem. Zeitschr. **121**, 122. 1921. — *Straub, H.*, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **117**, 397. 1922. — *Straub, H.*, und *Kl. Meier*, Biochem. Zeitschr. **124**, 259. 1921; Dtsch. Arch. f. klin. Med. **138**, 208. 1922. — *Stump, C. W.*, Amerie. journ. of anat. **59**, II, S. 136. 1925. — *Tanaka*, Biochem. Zeitschr. **35**, 113. 1911; **38**, 285. 1912. — *Tereg* und *Arnold*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **32**, 122. 1883. — *Updegraff, H.*, *D. M. Greenberg* und *Clark*, Journ. of biol. chem. **71**, 1, S. 87—107. 1926. — *Versé*, Verhandl. d. Dtsch. pathol. Ges. **14**, 291. 1910. — *Virchow*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **8**, 103. 1855. — *Vört*, Zeitschr. f. Biol. **16**, 55. 1880. — *Warburg, Erik J.*, Biochem. Zeitschr. **178**, 208. 1926. — *Watt, J. C.*, Biol. bull. of the marine biol. laborat. **44**, 6, S. 280—316. 1923; Arch. of surg. **10**, 3, S. 983—990. 1925; Med. journ. of Australia **2**, 3, S. 85—88. 1925. — *Weidenreich, U.*, Verhandl. d. anat. Ges. Anat. Anz. **57**. 1923. — *Wells, H. G.* Journ. of med. research. **14** (new series **9**), 491. 1905—1906. — *Wells* und *Benson*, Ebenda **17**, 15. 1907. — *Wells* und *Mitchell*, Ebenda **22**, 501. 1910. — *Wells*, Harvey Lectures 1910—1911; Arch. of internat. med. **7**, 721. 1911. — *Wells*, *Holmes* und *Henry*, Journ. of med. research **25**, 373. 1911. — *Wells*, Chemic. Pathol. II. Aufl. Philadelphia 1914; Journ. of the Washington Acad. of Sc. **5**, 617. 1915; Chemic. Pathol. III. Aufl. 1918. — *v. Werra*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **88**. 1882. — *Würtz, W.*, Biochem. Zeitschr. **46**, 103. 1912. — *Zucker*, Proc. of the soc. f. exp. biol. a. med. **18**, 272. 1921.

(Die Durchführung der Arbeit erfolgte mit Mitteln der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft.)