

Sitzungsberichte

der

mathematisch-physikalischen Klasse

der

K. B. Akademie der Wissenschaften

zu München

1913. Heft I

Januar- bis Märzszung

München 1913

Verlag der Königlich Bayerischen Akademie der Wissenschaften

in Kommission des G. Franz'schen Verlags (J. Roth)

Verkalkungsvorgänge im gesunden und rachitischen Knorpel.

Von Dr. **Adele Hartmann,**

Assistentin am hist.-embryol. Institut der Universität.

Vorgelegt von S. Mollier in der Sitzung am 1. März 1913.

Noch immer ist das Problem der Verkalkung ungelöst, wenigstens soweit es sich nicht bloß um eine Niederschlagung von Kalksalzen in toten oder nekrobiotischen Geweben handelt, sondern um normales Geschehen, nämlich um die Ablagerung von Calciumphosphat in das eben gebildete weiche Knochengewebe. Umgekehrt ist es daher auch noch nicht möglich gewesen, eine gut begründete Ursache zu finden dafür, daß bei der Rachitis die normale Verkalkung ausbleibt oder doch wenigstens sehr reduziert ist; denn alle bisher aufgestellten Theorien, vermehrte Kalkausscheidung oder mangelhafte Kalkzufuhr, entzündliche Reize, Übersäuerung des Blutes, wurden durch darauf hinzielende Experimente direkt widerlegt oder doch sehr in Frage gestellt (Pfaundler, Oehme, Stöltzner, Schabad).

Nun hat H. G. Wells in einer Reihe von Versuchen (1906 bis 1910) über pathologische Verkalkung gefunden, daß dem Knorpelgewebe als solchem eine besondere Fähigkeit innewohnt, Kalksalze aufzunehmen. Als er nämlich Stückchen sterilen Gewebes frei in die Bauchhöhle von Kaninchen verbrachte, stellte sich heraus, daß Thymus, Milz, Muskeln und Fettgewebe kaum verändert waren, vor allem kaum eine Einlagerung von Kalksalzen zeigten, trotzdem doch gerade in Thymus und Milz

reichlich Phosphorsäure vorhanden ist und dadurch die Bedingungen für eine Attraktion von Kalksalzen gegeben erscheinen. Dagegen zeigten Stückchen von fetalem Epiphysenknorpel (Kalbsfeteten) schon nach relativ kurzer Zeit Zeichen von Erweichung neben reichlicher Einlagerung von Kalksalzen, die sich zu ca. 90% als Phosphate erwiesen, demnach der Zusammensetzung der normalen Knochenasche sehr nahe kamen; dennoch enthält der jugendliche Knorpel kaum Spuren von Phosphorsäure. Aus der Tatsache, daß die Affinität zu Calcium sich im toten Gewebe in gleicher Weise manifestiert wie im lebenden, schließt Wells „that the tendency of living epiphyseal cartilage to take up calcium in ossifying, depends upon some non living constituent and is not solely a manifestation of the functional activity of the living cells“. Welcher Art diese tote, in so eigenartiger Weise chemotaktisch wirksame Substanz sein könnte, darüber weiß er keinen näheren Aufschluß zu geben. Es wird auch sehr schwer sein, hierüber ins klare zu kommen, solange wir noch nicht wissen, welche Formbestandteile des jungen Knochengewebes eigentlich verkalken, die kollagenen Fibrillen oder das zwischen ihnen liegende Bindemittel.

Wells hat seine Untersuchungen auf normalen Knorpel beschränkt und sich begnügt mit dem Hinweis, daß eine nach ihm vorhandene, als „Kalksalzfänger“ (Pfaundler) wirksame bestimmte Substanz nicht mit Phosphorsäure zu identifizieren sei, wie man bisher vielfach annahm; daß ferner, wo pathologischerweise eine Verkalkung auftritt, diese mit einer gewissen vorausgehenden Degeneration des verkalkenden Gewebes in engem Zusammenhange stehe und endlich, daß, so oft er auch die Verkalkungsbedingungen variierte, die Zusammensetzung der Kalksalze immer annähernd die gleiche war.

Mir lag vor allem daran, diese Versuche von Wells für die Pathogenese der Rachitis auszubeuten, d. h. nachzusehen, ob sich rachitischer Knorpel in Bezug auf die Einlagerung von Kalksalzen ebenso oder anders verhält als nicht rachitisches Material. Wenn nämlich die Ursache für die aus-

bleibende Verkalkung der osteoiden Substanz darin zu suchen ist, daß eine „spezifische Affinität“ für die Kalksalze des Blutes und der Gewebsflüssigkeit nicht vorhanden ist, also die Umbildung gewisser Gewebsbestandteile zu einer als „Kalksalzfänger“ funktionierenden Substanz ausbleibt, so steht zu erwarten, daß auch bei Einheilungsversuchen, wie sie Wells vornahm, die Verkalkung ausbleibt oder zum mindesten sehr herabgesetzt ist, sobald man statt normalem rachitischen Knorpel verwendet. Trifft das zu, so darf man mit einigem Recht die Ursache in einer Veränderung des Knorpels suchen.

Natürlich konnte ich die Versuchsbedingungen denen von Wells nicht absolut gleich gestalten. Denn ich konnte keinen fetalen Knorpel verwenden, sondern nur entsprechende Skeletteile kindlicher Leichen, die das Alter aufwiesen, in dem die Rachitis zumeist in Erscheinung tritt. Dies hat zur Folge, daß ich niemals ganz reinen Knorpel untersuchen konnte, sondern immer eine gewisse nicht genau zu bestimmende Menge bereits verkalkten Gewebes mit in Kauf nehmen mußte. Die Resultate der Versuche waren zum Teil sehr überraschend.

Ich beginne zunächst mit einer Beschreibung der einzelnen Versuche und ihrer Resultate, indem ich die für alle Untersuchungen in gleicher Weise geltenden Bemerkungen zusammenfassend voranstelle.

Die der Leiche bei der Obduktion entnommenen Skeletteile wurden mit Skalpell und Schere möglichst von allen Weichteilen befreit und in den zur Verbrennung bestimmten Tiegeln gewogen. Dabei trachtete ich, das Perichondrium nicht zu verletzen, um die Knorpeloberfläche glatt zu erhalten und die Reizwirkung auf das Peritoneum tunlichst herabzusetzen. Deshalb wog ich auch die Stückchen in frischem Zustand wie sie eingeheilt wurden, denn ein Vorversuch ergab, daß sie beim Trocknen leicht spröde und brüchig werden und zerfallen oder scharfe Ecken und Kanten aufweisen. Die zur Einheilung und zur Kontrolluntersuchung bestimmten Stücke entnahm ich symmetrischen Leichenteilen und versuchte sie auch in der äußeren Form möglichst entsprechend zu gestalten zur Schaffung glei-

cher Bedingungen für die Resorption. Die Epiphysen wurden gerade unterhalb der Epiphysenlinie abgeschnitten; es war von vornherein unmöglich alles Knochengewebe auszuschalten, da ja selbst beim Säugling innerhalb der Epiphysen zum Teil schon Knochenkerne vorhanden sind. Von den Rippen schnitt ich aus der 6. oder 7. meist ein 2—3 cm langes Stück aus, so daß die Knorpel-Knochengrenze gerade noch mit zur Untersuchung kam.

Die zur Einheilung bestimmten Stücke wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je $\frac{1}{2}$ Stunde in strömendem Dampf sterilisiert, wobei der Knorpel ein durchsichtiges, glasiges Aussehen gewann. Darnach wurden sie sofort zur Einheilung gebracht in folgender Weise: In der linea alba wurde dem Kaninchen durch einen 2—3 cm langen Schnitt unterhalb des Nabels die Bauchhöhle eröffnet, das Knorpelstück einfach zwischen die Darmschlingen eingeschoben und Peritoneum, Fascie und Haut in getrennten Nähten vereinigt. Nur eines der zehn operierten Kaninchen ging an septischer Peritonitis zu Grunde, wahrscheinlich infolge einer kleinen Stichverletzung des Darmes.

Die Kontrollstücke wurden sofort verarbeitet: bei langsam steigender Hitze bis zu 300 Grad getrocknet, zerkleinert, langsam verascht und die Asche geglüht, bis sie möglichst rein weiß war. Die Asche ward wiederum gewogen und, wo es möglich ist, in zwei Teile geteilt zur getrennten Untersuchung auf CaO und P_2O_5 . Beide Aschenbestandteile werden gravimetrisch bestimmt; das Calcium als Oxalat gefällt nach der Methode von T. W. Richards, um eine Verunreinigung des Niederschlages mit Magnesium und dadurch eine Erhöhung des Calciumresultates zu verhüten, geglüht und als CaO gewogen. Die Phosphorsäure wurde aus der salpetersauren Lösung 2mal mit Ammoniummolybdat gefällt (nach Wooy), der Niederschlag auf dem Filter sorgfältig gewaschen, bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, gewogen und nach Finkener aus dem Phosphorammoniummolybdat die Phosphorsäure als P_2O_5 berechnet.

Für die Bestimmung der Phosphorsäure ist es sehr wichtig,

ob dem Knorpel schon größere Mengen von Knochensubstanz beigemischt sind oder nicht. Untersucht man ganz reinen Knorpel ohne makroskopische Spur von Verkalkung, so erhält man nach der Fällung mit dem Molybdat kaum einen Niederschlag, während Ca in nicht unbeträchtlicher Menge immer noch nachzuweisen ist.

Versuch I.

Dient dazu einen allgemeinen Überblick zu geben; vier Stückchen (a, b, c, d) aus der Leiche eines neun Monate alten an alimentärer Intoxikation verstorbenen, hochgradig abgemagerten Kindes, dessen Skelett makroskopisch keinerlei Zeichen von Rachitis zeigte, werden in oben beschriebener Weise untersucht und liefern folgende Resultate:

Tabelle I.

I.	Skeletteil	Gewicht frisch	Aschengewicht	% Asche	Ca O	% Ca O	P ₂ O ₅	% P ₂ O ₅
a	distale Femur-epiphyse	8.9695	0.4186	4.667	0.2116	50,55	Vorhanden	—
b	distale Femur-epiphyse	8.4194	0.4234	5.029	—	—	—	—
c	Rippe (mehr Knochen)	2.7448	0.1384	5.042	0.1120	80.93	0.0502	36.27
d	Rippe (mehr Knorpel)	3.2336	0.1272	3.934	0.0494	38.83	Spur	—

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß das Gewicht der Asche vorwiegend bestimmt wird durch die Beimengung an bereits verkalkter osteoider Substanz. Dies gilt in gleicher Weise für das Calcium; denn wo der Prozeß der Ossifikation sich im Fortschreiten befindet, sind die umgebenden Knorpel-partien ebenfalls schon verkalkt. Nur wenn das Verhältnis von Knorpel zu Knochen sich ganz vorwiegend zu Gunsten des ersteren verschiebt (wie in d), werden die Werte für den

Aschengehalt und CaO-Gehalt geringer. Der immer noch relativ hohe Calciumgehalt bei d entstammt vermutlich dem der Knorpel-Knochengrenze entsprechenden Teile. Ich habe nirgends in der vorhandenen Literatur über die Mineralbestandteile des Knorpels (Abderhalden, Hammarsten, Schmiedeberg) gefunden, daß das Calcium einen bedeutsamen Anteil der anorganischen Knorpelverbindungen ausmachte; hier stehen vor allem Sulfate und Chloride und als basischer Bestandteil Natrium im Vordergrund. Im übrigen ist über die Zusammensetzung reiner Knorpelasche fast nichts bekannt.

Liegt dagegen schon vorwiegend Knochensubstanz vor, so treten alle übrigen Mineralbestandteile vollständig gegen das Calciumphosphat zurück; die 0,0502 g P_2O_5 entsprechen 0,11057 g tertiärem Calciumphosphat; zieht man von der Menge des gefundenen CaO (0,1120 g) die zur Neutralisation der Phosphorsäure nötige Menge ab, welche 0,06031 g entspricht, so bleibt immer noch ein Überschuß von 0,05169 g, der an Kohlensäure, Chlor und Fluor gebunden ist, und zu einem Bruchteil wenigstens dem Knorpel angehört.

Um das Verhältnis von P_2O_5 zu CaO sicher zu stellen, machte ich nochmals Analysen von einem Stückchen Rippe (a), das fast nur aus Knorpel, und einem, das zu gleichen Teilen aus Knorpel und Knochen bestand (b). Beide stammten aus einer etwas älteren Leiche ($2\frac{1}{4}$ Jahre); da das Alter, wie spätere Untersuchungen zeigten, nicht ganz gleichgültig ist, können sie nicht absolut zum Vergleich mit der vorhergehenden Analyse dienen. Tabelle 2 gibt das Resultat wieder, das im wesentlichen mit dem vorher genannten übereinstimmt.

Tabelle 2.

	Gewicht frisch	Aschen- gewicht	% Asche	Ca O	% Ca O	P_2O_5	% P_2O_5
a	2.4696	0.1084	4.389	0.0395	36.44	Spur	—
b	1.9410	0.1791	9.23	0.1385	77.33	0.0513	28.66

Versuch II.

Die vier zur Untersuchung gelangenden Stückchen werden der Leiche eines 2 $\frac{1}{2}$ jährigen, an Nephritis verstorbenen Kindes entnommen: je ein ca. 2 cm³ großes Stück aus den beiden distalen Femurepiphysen (a und b) und zwei ca. 2 $\frac{1}{2}$ cm lange Stückchen symmetrischer Rippen (c und d). B und d dienen zur Kontrolluntersuchung; a und c werden am 1. August 1912 zwei Kaninchen in die Bauchhöhle eingeheilt. Die Tiere überstehen die Operation gut und befinden sich nach kurzer Zeit wieder ganz wohl.

Am 16. August geht Kaninchen c plötzlich ein; bei der Eröffnung der Bauchhöhle sind die Gedärme in der Umgebung der Wundstelle mit Fibrin verklebt, dazwischen reichlich Eiterflocken. Das Rippenstück c liegt etwas von der Wunde entfernt, ebenfalls in Fibrinmassen eingebettet, aus denen es sich jedoch leicht herauschälen läßt. Der Knorpel sieht gelblichweiß, undurchsichtig aus, läßt sich aber leicht schneiden. An einer ganz zirkumskripten Stelle, gerade der Knorpel-Knochengrenze entsprechend, finden sich Zeichen von Autolyse und Resorption. Neben dem sonst unveränderten Knochenstück ist eine durch Fibrinmassen abgekapselte, ca. nußgroße Eiterhöhle. Das Knorpelstückchen wird sofort in gleicher Weise wie das Kontrollstück verarbeitet; dabei ergibt sich:

Tabelle 3.

II.	Gewicht frisch	Aschengewicht	o/o Asche	Ca O	o/o Ca O
c	2.0202	0.2018	9.989	0.1012	50.15
d	3.3194	0.2288	6.893	0.1386	60.58

Trotzdem die Menge der Asche prozentual höher geworden ist, hat ein nicht unbeträchtlicher Verlust an Calcium stattgefunden. Es ist natürlich nicht auszuschließen, daß die hier vorhandenen pathologischen Bindungen Einfluß gewonnen haben

auf die Resorption von Calcium. Ich möchte aber gleich jetzt betonen, daß auch Wells bei Rippenknorpeln keine wesentliche Verkalkung beobachten konnte; er bemerkt ausdrücklich, daß von allen Skeletteilen Rippen am raschesten resorbiert werden, so daß oft nach 10 Wochen schon keine Spur mehr davon vorhanden ist.

Das Kaninchen a wird am 18. Dezember getötet, so daß das Epiphysenstück 7 Wochen (48 Tage) eingehilt war. Die Bauchhöhle zeigt keine Spur von Entzündung. Am Übergang ins kleine Becken liegt etwas nach links verschoben das Knorpelstück. Hier ist dem Peritoneum eine vaskularisierte Fibrinmasse aufgelagert, welche sich aber leicht ablösen läßt und von welcher aus ein kurzer, schnurartiger Strang zur Schnittfläche der Epiphyse geht. Die Oberfläche derselben ist zum Teil mit einer ebenfalls stark vaskularisierten Fibrinkapsel überzogen, nur der obere knorpelige Teil erscheint frei und ist mit einer gelblichweißen, weichen, undurchsichtigen, ca. 1,5 mm dicken Schicht belegt, unter welcher der mehr bläulichweiße Knorpel zum Vorschein kommt. Diese Schicht erweist sich mikroskopisch als aus größtenteils zerfallenen Leucocyten bestehend und wird mit verbrannt. Die Veraschung dauert sehr lange. Vergleicht man die bei der Analyse erhaltenen Resultate mit denen des Kontrollstückes, so ergibt sich:

Tabelle 4.

II.	Gewicht frisch	Aschengewicht	0/0 Asche	Ca O	0/0 Ca O	P ₂ O ₅	0/0 P ₂ O ₅
a	13.5388	1.1010	8.132	0.6362	57.79	0.2838	25.78
b	17.2794	1.3494	7.811	1.0020	74.23	0.4090	30.30

Es hat also auch hier ein Verlust an fester Substanz stattgefunden, der aber weniger das Calcium als die Phosphorsäure betrifft, doch hat sich das Verhältnis kaum verschoben.

Da bei beiden Experimenten dieses Versuches versäumt wurde, die Knorpelstücke auch vor der Einheilung zu wägen,

kann leider nicht berechnet werden, ob wirklich eine Verminderung des Calciumgehaltes stattgefunden hat, oder ob sich nicht am Ende der Gewichtsverlust auf resorbierbare, organische oder anorganische Substanzen bezieht und also trotzdem eine Anreicherung an Calcium vorliegt. Der höhere Aschengehalt legt diesen Gedanken nahe. Beträchtlich kann jedoch die Zunahme an Calcium, wenn überhaupt vorhanden, nicht gewesen sein; dagegen spricht schon die Verminderung der Phosphorsäure.

Versuch III muß wegen des Verlustes der Kontrollanalyse ausscheiden, doch hat das Skelettstück während der Dauer seiner Einheilung um ein Viertel seines Gewichtes verloren und der Calciumgehalt erscheint ebenfalls kaum vermehrt.

Versuch IV.

Vier ca. 3 cm lange Stücke von Rippenknorpeln werden der Leiche eines schwächlichen, an tuberkulöser Meningitis verstorbenen 2¹/₂ jährigen Kindes entnommen, das geringe Anzeichen einer abgeheilten Rachitis bot. Auf die Epiphysen wurde verzichtet, da sie schon fast vollständig aus Knochen-spongiosa bestanden. Zwei Stückchen (a) werden einem Kaninchen eingeheilt am 8. August 1912, die beiden anderen (b) sofort analysiert.

Nach 42 Tagen, am 18. September 1912 wird das Kaninchen getötet. Die Bauchhöhle desselben ist frei von Entzündungserscheinungen, nur wo die beiden Rippenstückchen dem Peritoneum anliegen, finden sich reichlich vaskularisierte Fibrin-niederschläge, die zum Teil auch die Knorpel überziehen und sich ablösen lassen. Das Gewicht beträgt 5,5502 g gegen 4,5096 g vor der Einheilung. Nur in diesem einzigen Falle konnte ich eine Gewichtszunahme konstatieren; vielleicht sind die Fibrinmassen daran beteiligt; außerdem fällt während des Veraschens auf, daß vor der Verkohlung eine eigentümlich schmierige, sehr feuchte Masse entsteht, die nur langsam verbrennt.

Die chemische Untersuchung ergibt:

Tabelle 5.

IV.	Gewicht frisch	Aschen- gewicht	o/o Asche	Ca O	o/o Ca O
a	4.5096 + 1.0406	0.2567	4.625	0.0665	25.106
b	2.4102	0.1196	4.962	0.0396	33.11

Die Phosphorsäurebestimmung mußte wegen Mangel an Material unterbleiben. Vergleicht man den tatsächlich erhaltenen Wert des eingehheilten Stückes an CaO (= 0,0665) mit dem, der sich für dasselbe aus den Daten des Kontrollstückes berechnen läßt (= 0,07409), so ergibt sich, daß hier trotz der langen Einheilungsdauer ein Verlust an Calcium stattgefunden hat (= 0,00759 g), wenn auch ein sehr geringer.

Da die Resultate von Versuch II nicht ganz sicher sind in Bezug auf die absolute Zu- oder Abnahme des Calciumgehaltes, werden noch zwei weitere Versuche in dieser Richtung unternommen.

Versuch IX.

Der Leiche eines akut verstorbenen 13 Monate alten Kindes (alimentäre Intoxikation), dessen sehr kräftiges Skelett keine sichtbaren Zeichen von Rachitis bot, werden zwei symmetrische Rippenknorpelstücke entnommen, aus der 6. und 7. Rippe beiderseits. Stück a wird wie gewöhnlich einem Kaninchen eingehieilt; Stück b sofort der Analyse unterzogen.

Nach 54 Tagen wird das Tier getötet; die Sektion ergibt eine gute Vernarbung der Wunde, keinerlei Spur von Entzündung. Das Knorpelstück liegt in der Bauchhöhle an der Grenze des rechten vorderen Leberlappens in das freie Ende des großen Netzes eingerollt, aber leicht herauslösbar, also nicht verwachsen. Es ist nirgends mit Fibrin bedeckt, sieht gelblichweiß, sehr feucht, undurchsichtig aus, ist weich und biegsam. An Gewicht hat es um 0,2820 g abgenommen. Die chemische Analyse ergibt:

Tabelle 6.

IX.	Gewicht frisch	Aschen- gewicht	% Asche	Ca O	% Ca O	P ₂ O ₅
a	4.5908 — 0.2820	0.0476	1.105	0.0184	38.66	Spur
b	4.0812	0.0576	1.412	0.0192	33.33	kaum Spur

Aus den für das Kontrollstück gefundenen Werten berechnet sich der zu erwartende Gehalt an CaO zu 0,021606 g; tatsächlich wurden nur 0,0184 g gefunden, was einer Differenz von 0,003206 g entspricht. Trotzdem der Gehalt der Asche an CaO prozentual höher ist als vor der Einheilung, hat ein Verlust an Calcium stattgefunden; die Zunahme an CaO bedeutet demnach hier nur, daß ein Teil der löslichen Substanzen aus dem Skelettstück resorbiert worden ist, was auch der Gewichtsverlust anzeigt.

Versuch X.

Hierzu dienten die beiden distalen Femurepiphysen derselben Leiche wie im vorhergehenden Versuch, die nach Möglichkeit gleich groß geschnitten und in gewohnter Weise verarbeitet werden.

Das operierte Tier wird 54 Tage nach der Operation getötet; die Wunde ist gut vernarbt; nirgends finden sich Niederschläge oder Entzündungserscheinungen. Das Skelettstück liegt locker in das freie Ende des Omentum maius eingerollt, ziemlich weit kranial in der Bauchhöhle. Es zeigt sich in der Form fast unverändert, nur die beiden Kondylen erscheinen etwas eingedrückt; die Farbe ist gelblichweiß, undurchsichtig, die Knorpeloberfläche läßt sich mit der Pinzette nicht allzu schwer eindrücken; die Schnittfläche (Epiphysenlinie) ist rauh. Das Gewicht beträgt um 1,8012 g weniger als vor der Einheilung.

Die chemische Untersuchung ergibt:

Tabelle 7.

X.	Gewicht frisch	Äschen- gewicht	% Asche	Ca O	% Ca O	P ₂ O ₅	% P ₂ O ₅
a	16.1604 — 1.8012	0.4318	3.006	0.2323	53.80	0.1508	34.93
b	16.1708	0.3990	2.468	0.1921	48.14	0.1196	29.98

Vergleicht man diese Tabelle mit der vorhergehenden Tabelle 6, so scheinen auf den ersten Blick die gleichen Verhältnisse vorzuliegen wie dort. Trotzdem aber handelt es sich nicht nur um eine Konzentrierung fester Substanz in dem eingehielten Skelettstück, sondern es hat hier tatsächlich noch eine Neuanlagerung von Kalksalzen stattgefunden, denn wenn man wie bei den vorhergehenden Versuchen den zu erwartenden Betrag an CaO aus dem Kontrollstück b berechnet, so ergibt sich nur 0,1920 g; es ist also hier ein Überschuß von 0,0403 g vorhanden. Dies wird noch auffälliger, wenn man den Gehalt an P₂O₅ in gleicher Weise berechnet. Gefunden wurden 0,1508 g P₂O₅, während der Rechnung nach nur 0,1196 g vorhanden sein müßten; das Plus beträgt hier 0,0312 g. Zur Umbildung der 0,0403 g CaO in tertiäres Phosphat sind aber 0,03353 g P₂O₅ notwendig; die neu eingelagerte Substanz besteht also aus nahezu reinem tertiären Calciumphosphat, was mit den Ergebnissen von Wells sehr gut übereinstimmt.

Um festzustellen, ob der Knorpel florid-rachitischer Individuen sich anders verhält in Bezug auf Resorption und Einlagerung von Kalksalzen als anscheinend gesunder Knorpel, werden die folgenden vier Versuche mit hochgradig rachitischem Material ausgeführt. Sämtliche daraufhin untersuchten Skeletteile entstammen der Leiche desselben Kindes, da nur dieser eine Fall florider Rachitis während der mir zur Verfügung stehenden Zeit ad exitum kam. Es handelt sich um die Leiche eines 8monatlichen, an Cerebrospinalmeningitis verstorbenen, sehr abgemagerten Kindes, das deutlichen Rosenkranz, multiple Infraktionen beider oberen Extremitäten und Auftreibungen fast sämtlicher Epiphysen zeigte.

Versuch V.

Zwei Rippenstücke von ca. 3 cm Länge mit der Knorpel-Knochengrenze werden der Leiche entnommen, das eine davon (a) nach vorangegangener Sterilisation am 16. August 1912 einem Kaninchen in die Bauchhöhle eingeheilt und das Tier am 12. September 1912 27 Tage nach der Operation getötet.

Bei der Eröffnung der Bauchhöhle zeigt sich das Peritoneum ganz frei von Entzündungserscheinungen. Rechts von der Operationsnarbe findet sich eine vollständig durch fibröse derbe Massen abgekapselte Geschwulst, etwa von der Größe einer Walnuß; sie ist einerseits mit der Bauchwand, andererseits mit den anliegenden Darmschlingen verwachsen. Den Inhalt derselben bildet ein weißer, breiiger Detritus, der keine Bakterien enthält (steriler Abszeß). Das Ausstrichpräparat zeigt noch die Form und Umrisse der Leucocyten, aber Kerne und sonstige Struktur sind größtenteils verschwunden.

Inmitten dieser Masse liegen die zwei Knorpelstückchen, die entschieden kleiner aussehen als vor der Einheilung und sich als sehr brüchig erweisen; alle Stückchen werden in einem Tiegel gesammelt, gewogen und verascht. Es ergibt sich ein Gewichtsverlust von 1,8320 g.

Resultat der chemischen Untersuchung:

Tabelle 8.

V.	Gewicht frisch	Aschengewicht	o/o Asche	Ca O	o/o Ca O	P ₂ O ₅	o/o P ₂ O ₅
a	4.5146 — 1.8320	0.0786	2.93	0.0304	38.68	—	—
b	3.6092	0.1016	2.81	0.0370	36.42	Spur	—

Die Eitermasse wurde bei 100 Grad 24 Stunden lang getrocknet und ein Teil davon verascht, um auf eventuell darin vorhandenes Calcium zu prüfen. Während des Veraschens zeigt sich, daß die Masse nicht zu einem gleichmäßig feinen Pulver

verbrennt, sondern einzelne härtere Bröckelchen enthält. Deshalb wird eine gewisse Menge der ausgeglühten Asche abgewogen und ihr Gehalt an Calcium quantitativ bestimmt.

Aus 0,1324 g Asche erhält man 0,0188 g CaO, das sind 14,20%. Da diese Zahl auf die Eiterzellen allein bezogen viel zu hoch wäre, wird man zu der Annahme gezwungen, daß verkalkte Knorpel- oder Knochenbröckelchen sich in der Detritusmasse befanden und man wird daher in Tabelle 8 den Aschen- und Calciumgehalt etwas höher annehmen dürfen als er tatsächlich gefunden wurde; denn trotz des prozentual höheren Calciumgehaltes hat ein geringer Verlust an Calcium stattgefunden, da sich theoretisch ein Wert von 0,04620 CaO hätte erwarten lassen.

Bemerkenswert ist ferner die große Verminderung des Aschengehaltes, welche zu der bei der Rachitis längst bekannten Vermehrung des Wassergehaltes im Knorpel in ursächlicher Beziehung steht, somit nichts Befremdliches bietet. Viel eher mag es merkwürdig und zunächst unerklärlich erscheinen, daß der Verlust an Calcium so gering ausfiel. Weitere Versuche müssen zeigen, ob es sich hier nur um einen zufälligen Befund handelt, vielleicht im Zusammenhange mit dem Abszeß, oder ob diesem Ergebnis etwas Spezifisches zu Grunde liegt.

Versuch VI.

Von den beiden distalen Femurepiphyphen (a und b) wird die eine (a) in gewohnter Weise am 16. August 1912 einem Kaninchen eingeheilt und das Tier am 2. Oktober 1912, also 49 Tage nach der Operation getötet.

Das Knorpelstück liegt mitten zwischen den Gedärmen in das freie Ende des Omentum maius verwickelt, jedoch nicht mit demselben verwachsen. Der Knorpel sieht gelblichweiß, undurchsichtig aus und läßt sich an der Oberfläche mit der Pinzette ziemlich leicht eindrücken. Zwischen den beiden Kondylen sind einzelne Stellen vorhanden, an denen unverkennbar Resorption stattgefunden hat. An den Gedärmen sowie am

Peritoneum sind nirgends Zeichen von Entzündung, nicht einmal von stärkerer Gefäßinjektion zu sehen.

Während der Zeit der Einheilung hat das Knorpelstück 0,1346 g an Gewicht verloren.

Resultate der chemischen Untersuchung:

Tabelle 9.

VI.	Gewicht frisch	Aschengewicht	% Asche	CaO	% CaO	P ₂ O ₅	% P ₂ O ₅
a	12.1070 — 0.1346	0.3596	3.004	0.1378	38.32	0.0817	22.72
b	11.9976	0.3306	2.75	0.1149	34.76	0.0638	19.30

Berechnet man aus b den Calciumoxyd- und Phosphorsäuregehalt für a, so ergibt sich, daß hier wiederum ein Ansatz von Calcium und Phosphorsäure stattgefunden hat, wenn auch kein sehr beträchtlicher (CaO berechnet: 0,11537 g, gefunden: 0,1378 g = + 0,0221 g; P₂O₅ berechnet: 0,06425 g, gefunden: 0,0817 g = + 0,01745 g). Die geringe Zunahme des Aschengewichtes spricht allerdings auch für eine Konzentrierung im allgemeinen.

Versuch VII.

Zur Verwendung kommen die proximalen Femurepiphysen (in zwei Stückchen Kopf und Trochanter maior), an denen die Knochensubstanz möglichst entfernt worden ist. Die eine (a) wird am 16. August 1912 einem Kaninchen eingeheilt, die andere gibt die Kontrollanalysen. Nach 49 Tagen, am 3. Oktober 1912 wird das Tier getötet. Die beiden Knorpelstückchen liegen reaktionslos vom großen Netz umhüllt auf den Gedärmen; sie sind nirgends verwachsen, sehen undurchsichtig, fleckig gelblichweiß aus und zeigen an manchen Stellen ganz besonders aber auf den Schnittflächen Resorptionserscheinungen. Gewichtsverlust 2,1466 g. Am Peritoneum keinerlei Zeichen eines Reizzustandes.

Die Analyse ergibt:

Tabelle 10.

VII.	Gewicht frisch	Aschen- gewicht	% Asche	CaO	% CaO	P ₂ O ₅	% P ₂ O ₅
a	7.1264 — 2.1466	0.2386	4.79	0.1532	64.22	0.0843	35.34
b	8.5976	0.2102	2.45	0.0872	41.48	0.0485	23.07

Die Zunahme an CaO und P₂O₅ ist hier eine ganz beträchtliche. Sie beträgt in beiden Fällen ungefähr das Doppelte des Kontrollstückes. (CaO berechnet: 0,0724 g, gefunden: 0,1532 g, Gewinn: 0,0808 g; P₂O₅ berechnet: 0,04034 g, gefunden: 0,0845 g, Gewinn: 0,04396 g.) Vielleicht ist die Zunahme hier so besonders auffällig, weil fast reiner Knorpel zur Untersuchung und Einheilung kam, während in der distalen Epiphyse (Versuch VI) immerhin schon eine beträchtliche Menge fertiger spongiöser Knochensubstanz vorhanden ist. Schon die nicht unbedeutende Zunahme des Aschengewichtes von b gegenüber a deutet auf eine wirkliche Anlagerung neuer Substanz (Calciumphosphat), nicht nur auf eine Verdichtung des schon Vorhandenen durch Resorption löslicher Verbindungen; es wären dann nur 0,1746 g Asche zu erwarten gewesen, während tatsächlich 0,2386 g gefunden wurden.

Versuch VIII.

Es werden nochmals zwei Rippenstücke von ca. 3 cm Länge aus der Leiche entnommen und eines davon (a) einem Kaninchen eingeheilt am 16. August 1912. Auch dieses Tier wird nach 49 Tagen am 3. Oktober 1912 getötet. In der Bauchhöhle keine Entzündung, keine Hyperämie. Das Rippenstück liegt dicht bei der Operationsnarbe, schon durch die Bauchdecken durchschimmernd; es ist nirgends verwachsen; der knorpelige Teil sieht wie sonst gelblichweiß, fleckig und undurchsichtig aus; der kleine knöcherner Anteil hat schon

begonnen abzubröckeln und zeigt sich deutlich arrodiert; einzelne kleine Stückchen liegen auf den Darmschlingen verstreut, sie werden möglichst alle gesammelt und mitgewogen. Gewichtsverlust: 2,5964 g. Die Tabelle veranschaulicht die Resultate der Analyse:

Tabelle II.

VIII.	Gewicht frisch	Aschengewicht	% Asche	Ca O	% Ca O	P ₂ O ₅	% P ₂ O ₅
a	4.2674 — 2.5964	0.0910	5.446	0.0572	62.86	0.0271	29.78
b	6.9818	0.1798	2.575	0.0692	38.49	Spur	—

und ergibt auch für diesen Versuch eine ganz beträchtliche Zunahme von Calciumphosphat. Damit darf wohl auch ein Zufall als ausgeschlossen betrachtet werden. Allerdings könnte eingewendet werden, daß sämtliche Skeletteile von derselben Leiche stammen. Es wäre ja sicherlich besser gewesen, die Kalkeinlagerung an verschiedenem rachitischen Material zu erproben; doch sind die Ausschläge zu Gunsten einer Kalkeinlagerung hier so groß, daß ich nicht glaube, daß sie bei einem Versuch mit Knorpel aus einer anderen rachitischen Leiche plötzlich ins Gegenteil umschlagen würden, selbst wenn dabei individuelle Verschiedenheiten zutage treten, mit denen man natürlich rechnen muß.

Um nach der Besprechung der Versuche im einzelnen die Übersicht über die Resultate für das Nachfolgende zu erleichtern, habe ich den Gewinn und Verlust an Calciumsalzen nochmals in zwei Tabellen zusammengestellt (Tabelle 12 und 13) und die Zunahme bzw. Abnahme in Milligramm CaO pro Gramm-substanz graphisch zu Darstellung gebracht (Tabelle 14).

Ganz im allgemeinen betrachtet fällt zunächst ein gewisser Unterschied auf in der Menge der erhaltenen Asche, der einmal zum Alter der Leiche in ursächlicher Beziehung steht, andererseits auch zu der Menge der bereits vor-

Tabelle 12.

Nicht rachitisches Material.

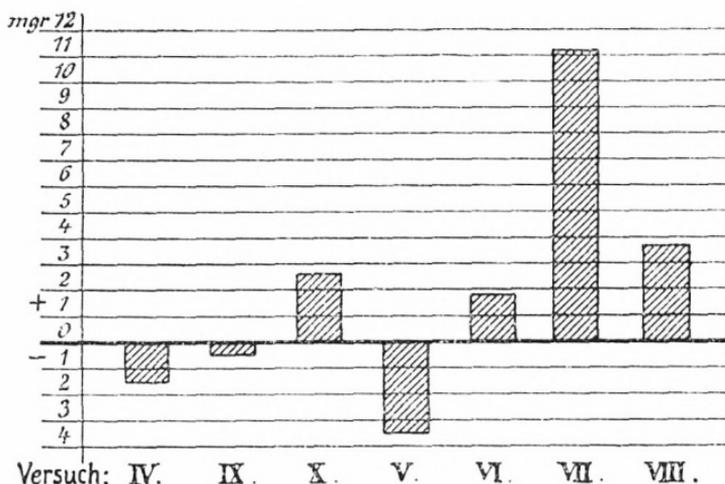
Vers.	Alter der Leiche	Skeletteil	Dauer der Einheilung	Gewicht frisch	% Asche	CaO gefunden	CaO berechnet	CaO Differenz	P ₂ O ₅ gefunden	P ₂ O ₅ berechnet	P ₂ O ₅ Differenz	
II.	a	30 Mon.	distale Femur-epiphyse	48 Tage	13.5388	8.13	0.6362	?	?	0.2838	?	?
	b	"	"	—	17.2794	7.81	1.0020	—	—	0.4090	—	—
	c	"	Rippe	15	2.0202	9.99	0.1012	?	?	—	?	?
	d	"	"	—	3.3194	6.89	0.1386	—	—	—	—	—
IV.	a	27	Rippe	42	4.5096 + 1.0406	4.63	0.0665	0.07409	— 0.0076	—	—	—
	b	"	"	—	2.4102	4.96	0.0396	—	—	—	—	—
IX.	a	12	Rippe	54	4.5908 — 0.2820	1.11	0.0184	0.0216	— 0.0032	Spur	—	—
	b	"	"	—	4.0812	1.41	0.0192	—	—	"	—	—
X.	a	12	distale Femur-epiphyse	54	16.1604 — 1.8012	3.006	0.2323	0.1920	+ 0.0403	0.1503	0.1196	+ 0.0312
	b	"	"	—	16.1708	2.47	0.1921	—	—	0.1196	—	—

Tabelle 13.

Rachitisches Material

Vers.	Alter der Leiche	Skeletteil	Dauer der Einheilung	Gewicht frisch	% Asche	Ca O gefunden	Ca O berechnet	Ca O Differenz	P ₂ O ₅ gefunden	P ₂ O ₅ berechnet	P ₂ O ₅ Differenz	
V.	a	9 Mon.	Rippe	27 Tage	4.5146 — 1.8320	2.93	0.0304	0.04620	— 0.0158	Spur	—	—
	b	"	"		3.6092	2.81	0.0374	—	—	"	—	—
	c	"	Abszess-eiter				0.0188	—	—	—	—	—
VI.	a	"	distale Femur-epiphyse	49	12.1070 — 0.1346	3.304	0.1378	0.11573	+ 0.0221	0.0817	0.06425	0.01745
	b	"	"		11.9976	2.75	0.1149	—	—	0.0638	—	—
VII.	a	"	proximale Femur-epiphyse	49	7.1264 — 2.1466	4.79	0.1532	0.07242	+ 0.0806	0.0843	0.0403	+ 0.044
	b	"	"		8.5976	2.45	0.0872	—	—	0.0485	—	—
VIII.	a	"	Rippe	49	4.2674 — 2.5964	5.45	0.0572	0.04238	+ 0.0149	0.0271	—	—
	b	"	"		6.9818	2.58	0.0692	—	—	Spur	—	—

Tabelle 14.



Zu- bzw. Abnahme in Milligramm CaO pro Gramm frischer Substanz.

handenen Osteoidensubstanz, deren Ausdehnung nicht genau zu bestimmen war, ohne Zerstörung des geweblichen Zusammenhanges. Aus dem oben bereits angeführten Grunde war es nicht möglich, den Wassergehalt der Knorpelstückchen vor den Versuchen zu bestimmen; es erscheinen die für die Asche gefundenen Zahlen so niedrig, weil sie auf die Gewichtseinheit des frischen wasserhaltigen Gewebes bezogen werden mußten. Nimmt man den Wassergehalt des Knorpels um die Wende des ersten Lebensjahres zu ca. 80% an (Friedleben), so ergeben sich auf die Trockensubstanz allein berechnet aus obigen Zahlen etwa 4—6 mal höhere Werte. Dies stimmt gut überein mit den Analysen anderer Autoren (Hoppe-Seyler, Hammarsten, Abderhalden). Entsprechend dem höheren Wassergehalt des rachitischen Knorpels ist der Aschenwert hier viel geringer gefunden worden, übereinstimmend mit den bereits vorliegenden Untersuchungen von Friedleben, Schabad u. a. Die für das Calciumoxyd gefundenen Werte sind ganz im allgemeinen genommen etwas zu hoch, doch hängt dies eben damit zusammen, daß die bereits gebildete und verkalkte Knochensubstanz vom Knorpel nicht vollständig

abgetrennt werden konnte. Ein gewisses Maß hierfür kann die Phosphorsäure abgeben; wo schon Knochensubstanz in sichtbarer Menge vorhanden ist, läßt sie sich leicht bestimmen. Hat man dagegen nur Knorpel verascht mit eben beginnender Kalkeinlagerung, so erhält man kaum einen Niederschlag, der bei der Berechnung nur Bruchteile von Milligrammen ergibt. Es werden dann auch die Fehlergrenzen entsprechend weiter, so daß ich diese unzuverlässigen Berechnungen unterlassen habe. Steigt der Gehalt an Ca O, so schnell immer auch die Phosphorsäure in die Höhe und zwar bleiben beide Substanzen zueinander in annähernd gleichem Verhältnis, d. h. es werden immer ca. 75–80% des Calciums durch die Phosphorsäure abgesättigt. Dieser Wert ist etwas niedriger als der von Wells gefundene, welcher zwischen 80 und 90% schwankt und etwas höher als die von Schabad angegebenen Zahlen = 70–75%.

Wichtiger als diese ganz allgemein chemischen Fragen erscheint uns aber das Verhalten der besonderen Bedingungen ausgesetzten Knorpelstücke im Gegensatz zu ihren Kontrollstücken. Wells hat gefunden, daß dem Knorpel, der längere Zeit in der Bauchhöhle lebender Kaninchen verweilt, eine besondere Fähigkeit innewohnt, aus den Gewebsflüssigkeiten Calcium oder seine Salze zu absorbieren. Ein Blick auf die Tabellen lehrt, daß auch bei meinen Versuchen die Zunahme an Calciumoxyd über die Abnahme überwiegend ist, wenn auch in viel geringerem Maße als es von Wells beschrieben wurde. Dies hängt einerseits sicherlich damit zusammen, daß ich niemals ganz reinen Knorpel zur Einheilung bringen konnte, wie dies Wells tat, der fetale Knorpel benützte. Die Aufnahmefähigkeit des Knorpels für Calcium ist scheinbar keine unbeschränkte; wo bereits eine bestimmte Menge von Kalksalzen vorhanden ist, gleichgültig ob in organisierter Form oder nicht, kann daher auch die Zunahme, d. h. die Neueinlagerung von unlöslichem Kalksalz nicht mehr so groß sein als da, wo noch keine vorhanden waren. Ich werde darauf später noch zurückkommen müssen.

Andererseits aber hat Wells es unterlassen, über die Ge-

wichtsverhältnisse der implantierten Stückchen vor und nach der Operation Aufschluß zu geben, er konstatiert einfach in einer Tabelle (S. 518, 1906), um wieviel CaO jedes Gramm Gewebe zugenommen hat. Die Zunahme geht bis zu einem gewissen Grade ungefähr der Dauer der Einheilung parallel. Zwar hat Wells die Knorpelstückchen vor der Operation getrocknet, also wasserfrei gemacht. Während ihres Verweilens in der Bauchhöhle sind sie aber wieder mit Flüssigkeit durchtränkt worden und es ist wohl anzunehmen, daß ein Teil der leichtlöslichen organischen und anorganischen Substanzen resorbiert worden ist, wie dies bei meinen Versuchen auch der Fall war. Mit einer einzigen Ausnahme haben alle eingehielten Skelettstückchen an Gewicht verloren. Man könnte nun einwenden, daß der Gewichtsverlust lediglich als Wasserverlust in Betracht käme. Ich glaube jedoch nicht, daß man eine Resorption auch von fester Substanz so ohne weiteres ausschließen darf, denn einmal war das Aussehen der Knorpelstückchen nach der Entnahme aus dem Tier eher wasserreicher als vorher, sie waren eher noch weicher, biegsamer geworden; und zweitens waren die meisten an manchen Stellen deutlich arrodirt, sie sahen wie angefressen aus. Wells gibt selbst zu, daß „a relatively great loss by absorption of the organic substance“ stattgefunden habe. Es dürften also wohl seine Zahlen, wenn man sie auf das Anfangsgewicht der eingehielten Stücke bezieht, eher etwas zu hoch gegriffen sein; trotzdem bleibt die Tatsache einer beträchtlichen Kalkeinlagerung bestehen.

Interessant ist ferner auch die mikroskopische Veränderung, die während der Einheilung an den Skelettstückchen vor sich ging. Wells fand den Knorpel fast vollständig zu einer breiigen, formlosen Masse erweicht, von einer zarten Bindegewebskapsel umhüllt. Den Grund für die rasche Erweichung weiß er ebensowenig anzugeben wie für die rapide Kalkeinlagerung. Vielleicht ist er in der leichten Löslichkeit der chondrinogenen Intercellularsubstanz in der alkalischen Peritonealflüssigkeit zu suchen. Knorpel, welche normalerweise

nicht ossifizieren (Rippen- und Trachealknorpel) besitzen die Tendenz zur Kalkeinlagerung in viel geringerem Maße, werden dagegen so rasch resorbiert daß zum Teil schon nach wenigen Wochen überhaupt nichts mehr von ihnen vorhanden war. Damit stimmen die Resultate, die ich erhielt, nicht ganz überein, wozu ich allerdings bemerken muß, daß die Dauer meiner Versuche acht Wochen nicht überschritt, gegen 10—14 Wochen bei Wells. Zumeist lagen die Skelettstücke ganz reaktionslos in der Bauchhöhle und waren in der Form fast unverändert, indem sie nur in dem bereits ossifizierenden Teil anfangen arrodirt zu werden und in einigen Fällen zu zerbröckeln begannen (vgl. die Versuche von Tanaka über die Löslichkeit von Knochenplatten in mit Kohlensäure gesättigten Flüssigkeiten). Der Knorpel dagegen war weicher geworden, gelb und undurchsichtig und zeigte sich an seiner ganzen Oberfläche von einer ca. 1 mm dicken, aus Leukocyten bestehenden Schicht überzogen. Allerdings waren die Leukocyten schon sehr verändert. Damit ist wohl erwiesen, daß bei der Resorption toter Gewebstücke in der Bauchhöhle nicht nur deren Löslichkeit in der alkalischen Peritonealflüssigkeit maßgebend ist, sondern daß hier aktive phagocytäre Kräfte wahrscheinlich verbunden mit Fermentwirkung in erster Linie in Betracht kommen. Lösliche Salze werden weggespült und unlösliche, organisierte Materie wird langsam verdaut und der Resorption zugänglich gemacht. Nur in zwei Fällen (Versuch II a und IV) fand ich das Skelettstück teilweise von einer vaskularisierten Hülle umgeben, die aber wieder den größten Teil der knorpeligen Oberfläche frei ließ. Diese Membran war so fest mit dem Skelettstück verwachsen, daß sie nicht abgelöst werden konnte. Merkwürdig ist, daß hier, wo durch die reichliche Gefäßeinwucherung die Bedingungen für den Stoffwechsel erleichtert und eine rasche Zu- und Abfuhr gewährleistet wurde, die Kalkeinlagerung ausblieb, in dem einen Falle sogar sicher eine Verminderung an CaO zu konstatieren war. Ohne hieraus irgend einen Schluß ziehen zu wollen für die Ablagerung von Calciumphosphat im Gewebe, wird einem doch der Gedanke

nahegelegt, ob nicht eine große Verlangsamung der Strömungsgeschwindigkeit des Blutes, wie sie in den weiten sinusösen Gefäßräumen des Knochenmarkes zustande kommt, auf die Verkalkung des osteoiden Gewebes einen nicht unwesentlichen Einfluß hat. Es ist auch schon wiederholt der Versuch gemacht worden, die Ursache der mangelhaften Kalkablagerung bei der Rachitis in einer primären Veränderung des Knochenmarkes (lymphoide Entartung, mit Markerythroblastose, fibröse Umwandlung) zu suchen (vgl. Schmorl, Oehme, Aschenheim-Benjamin, Marfan; ferner die Versuche von Hofmeister und Tanaka). Andererseits sind gerade im Blutplasma Einrichtungen getroffen, welche unter gewöhnlichen Verhältnissen ein Ausfallen des unlöslichen Calciumphosphates verhindern (W. Pauli).

Warum aber unter sonst gleichen Bedingungen das eine Mal um das eingeheilte Knorpelstück eine vaskularisierte Membran sich bildet, während sie das andere Mal vollständig ausbleibt, darüber vermag ich mir keine Vorstellung zu machen; es sei denn, daß infolge minimaler Verletzungen des Peritoneums durch den Fremdkörper ein formativer Reiz zustande kam, welcher eine Wucherung des subserösen Bindegewebes auslöste. Von dem eingehheilten Stück selbst ist die Gefäßneubildung sicher nicht ausgegangen; es wurde der Leiche meist erst viele Stunden nach dem Tode entnommen und außerdem durch das lange Sterilisieren im strömenden Dampf jeder Rest vitaler Qualitäten vernichtet.

Hat man einmal die Einlagerung von Kalksalzen in das abgestorbene Gewebe festgestellt, so ergibt sich als nächste Frage, woher diese Salze stammen und warum sie daselbst abgelagert werden. Wie auch Wells betont, müssen sie aus dem Blute kommen, wo sie auf eine noch nicht völlig geklärte Weise durch Eiweißstoffe in Lösung gehalten werden. Sie werden nach Wells dann zur Ausfällung gebracht, wenn das Blut stärker alkalisch wird, oder durch Veränderungen in den Proteiden des Plasmas oder in der Quantität oder Zusammensetzung der Kalksalze. Doch gibt die Verbringung eines Knorpel-

stückes in die Bauchhöhle eines Kaninchens keine Veranlassung zu irgend einer der obengenannten Veränderungen im Blute des Tieres. Es müßte dann nicht nur der Knorpel, sondern jedes andere eingehheilte Gewebstück ebenfalls verkalken, was jedoch, wie aus den Versuchen von Wells hervorgeht, nicht der Fall ist. Dagegen liegen die Knorpelstückchen frei von der Peritonealflüssigkeit umspült. Die Lymphe enthält weniger Eiweiß als das Blutplasma, vermag demnach nur weniger Kalksalze in Lösung zu halten. So kommt möglicherweise hier schon durch geringere Schwankungen der Alkaleszenz (Kohlensäureproduktion beim Abbau des Knorpels durch Leukocyten) eine Ausfällung von Calciumphosphat zustande. Höber hat gezeigt, daß die Bestimmung der Reaktion des Blutplasmas (und somit auch der Gewebsflüssigkeit) durch Titration nicht in befriedigender Weise gelöst werden kann, sondern daß es vor allem darauf ankommt, den wirklichen Gehalt an $H(+)$ - oder $OH(-)$ -Ionen (Pfaundler: = die aktuelle Reaktion) zu bestimmen, und daß eben diese aktuelle Reaktion durch die Kohlensäurespannung des Blutes nicht unbeträchtlich beeinflusst wird und die Ionenkonzentration von weittragender Bedeutung für viele biologische Vorgänge ist (vgl. auch Askanazy der den Grund für die häufigen Kalkablagerungen in Lunge, Magen und Niere darin sucht, daß in ihnen die Produktion saurer Sekrete eine Alkaleszenzzunahme der umspülenden Gewebsflüssigkeit bedingt). Außerdem kommt auch hier wieder die sehr verlangsamte Zirkulation in Betracht.

Damit ist jedoch die Frage noch keineswegs entschieden, warum gerade der Knorpel eine besondere Tendenz zur Aufnahme von Kalksalzen zeigt. Pfaundler hat schon vor Wells gezeigt, daß eine solche vorhanden ist, und daß die Aufnahme des Metalls (im toten Gewebe) wahrscheinlich nicht im Sinne einer chemischen Bindung aufzufassen ist, da sie nicht quantitativ erfolgt, sondern daß es sich mehr um einen physikalischen Prozeß, um eine „Ionenadsorption“ handelt. Er kommt dabei zu der Schlußfolgerung, daß in einem bestimmten Entwicklungsstadium im Knorpel eine Substanz gebildet wird,

mit einer spezifischen Affinität zu den Kalksalzen des Blutes bzw. der Gewebsflüssigkeit ausgestattet; „diese derart zum „Kalksalzfänger“ umgewandelte Masse wird zunächst von gelösten Kalksalzmassen durchdrungen, die mit der organischen Grundlage in Verbindung treten und bei deren Abbau präzipitieren.“ Wells ist in seinen Versuchen davon ausgegangen, die als Kalksalzfänger wirksame Substanz zu finden und hat sie gesucht zunächst in Kalkseifen, die sich aus Fett oder fettähnlichen, degenerativen Abbauprodukten bei nekrotischen Vorgängen bilden sollten, und dann in der in den Nucleinen der Gewebe vorhandenen Phosphorsäure; beidemal mit negativem Erfolg. Auch andere in dieser Richtung gehende Versuche haben kein beweisendes Resultat zutage gefördert. Es würde zu weit gehen, sie hier alle zu besprechen; ich verweise diesbezüglich auf die ausführlichen Referate von Hofmeister und W. H. Schultze. Aus meinen eigenen Versuchen läßt sich nur der Schluß ziehen, daß, wenn eine als Kalksalzfänger wirksame greifbare Substanz im Knorpel und osteoiden Gewebe vorhanden ist, sie auch im pathologisch veränderten rachitischen Material zur Wirkung kommt, wenigstens post mortem und daß für das Zustandekommen der Rachitis das Fehlen einer derartigen Substanz allein nicht maßgebend sein kann, sondern daß hier noch andere Vorgänge in Betracht gezogen werden müssen, wovon später noch die Rede sein wird.

Wells hat seine Versuche auch auf Rippen- und Trachealknorpel ausgedehnt, von dem Gedanken ausgehend, ob den normalerweise nicht ossifizierenden Knorpeln (Rippe, Trachea) die gleiche Tendenz zur Einlagerung von Kalksalzen innewohne, wie den zu Knochengewebe sich umbildenden Epiphysenknorpeln. Dabei stellte sich die interessante Tatsache heraus, daß Rippen- und Trachealknorpel diese Fähigkeit in viel geringerem Maße besitzen, jedoch nehmen sie mehr Calcium auf als Muskeln, Thymus, Milz und Fettgewebe.

Daß Rippenknorpel weniger leicht und rasch verkalken als Epiphysenknorpel, hat sich auch aus meinen Versuchen

ergeben. In zwei Fällen kam sogar ein geringer Calciumverlust zustande, wenn er auch in Versuch V sich in Wirklichkeit weniger hoch beläuft als sich aus der Berechnung ergibt, da der Calciumgehalt der weichen breiigen Masse, welche den Knorpel umgab, ziemlich hoch war (14,2%) und dies in der Tabelle 14 nicht mitberücksichtigt wurde.

So selbstverständlich die geringere Verkalkungstendenz der Rippenknorpel auf den ersten Blick zu sein scheint, wird uns dadurch das Wesen der für den Verkalkungsprozeß in Betracht kommenden Vorgänge doch nicht näher erklärt. Es ist jedermann bekannt, daß mit zunehmendem Alter auch diese Knorpel der Kalkeinlagerung anheimfallen. Dieser Umstand, sowie die Tatsache, daß auch dem toten Knorpel noch die Fähigkeit bleibt, Calciumsalze aufzunehmen und niederzuschlagen, sprechen sehr gegen eine aktive Beteiligung der Knorpelzellen an dem Verkalkungsvorgang. Man könnte viel eher zu der Annahme gebracht werden, daß die jugendlichen lebensfrischen Zellen, diejenigen des wachsenden Gewebes, mit ihrem intensiven Stoffwechsel der Imprägnation mit Kalksalzen bis zu einem gewissen Grade entgegenarbeiten. Auch die Versuche Pfaunders legen dar, daß für die Calciumbindung (Calcium-Ionenadsorption) nicht eine Funktion des überlebenden Gewebes als solchem entscheidend sein kann. Allein es geht doch nicht an, jedes aktive mit der Zelle in Zusammenhang stehende Prinzip von vornherein ausschließen zu wollen; denn ohne ein solches, mag man es nun mit bestimmten im Gewebe vor sich gehenden Abbauprozessen degenerativer oder autolytischer Art in Beziehung setzen oder als eine in bestimmter Richtung vor sich gehende physiologische Gewebemetaplasie¹⁾ auffassen, läßt sich nicht verstehen, warum einmal zwischen Epiphysem- und Rippenknorpel eine Differenz besteht, und andererseits, warum bei unter gleich günstigen oder gleich ungünstigen äußeren Bedingungen stehenden Kindern das eine Mal eine Rachitis zustande kommt, das andere Mal nicht.

¹⁾ Allerdings nicht in dem Sinne Pacchionis, der das unmittelbare Zentrum der Verkalkung in die Knorpelzelle selbst verlegt.

Ehe ich auf die für die Theorie der Rachitis in Frage kommenden Konsequenzen aus obigen Versuchen näher eingehe, mögen noch ein paar Worte gesagt sein über das Verhalten der Phosphorsäure. Aus den Tabellen 12 und 13 geht hervor, daß jedesmal, wenn eine Zunahme an Calciumoxyd zu konstatieren war, sich auch eine Zunahme bzw. ein Vorhandensein von Phosphorsäure zeigte und zwar schwankt das Verhältnis von CaO zu P_2O_5 um einen Mittelwert von 1,86, ist also etwas höher als demjenigen in tertiärem Calciumphosphat entspricht; d. h. ein geringer Teil des Calciums liegt nicht als Phosphat, sondern wahrscheinlich als Karbonat und Chlorid vor. Diese der Zusammensetzung normaler Knochenasche sehr nahe kommenden Befunde stimmen mit den Resultaten von Hofmeister und Wells überein; beide Autoren glauben sie nicht durch die Bildung einer neuen Substanz bedingt, sondern führen sie zurück auf den annähernd konstanten Karbonat- und Phosphatgehalt des Blutes und der Gewebsflüssigkeiten. Wells hat durch seine Versuche gezeigt, daß selbst dann, wenn das Calcium in Form einer anderen unlöslichen Verbindung in der Bauchhöhle von Kaninchen deponiert wird, trotzdem nach kürzerer oder längerer Zeit die fremde Säure durch Phosphat und Karbonat ersetzt und das Verhältnis zwischen beiden letzteren Säuren zu einem ganz konstanten gemacht wird. Es wäre nun sehr interessant festzustellen, ob in diesen Fällen das Calcium eine Anlockung auf die Phosphorsäure ausübt, etwa nach Art eines chemotaktischen Reizes; ob das unlösliche Calciumsalz als Ganzes auf irgendeine Weise in Lösung gebracht und resorbiert und dann erst sekundär das Calciumphosphat niedergeschlagen wird, oder ob die ursprüngliche Verbindung gespalten und die Phosphorsäure als Ion zu dem zugehörigen Metall herangebracht wird. Die Möglichkeit der elektiven Ionenadsorption durch Knorpel aus einer Salzlösung hat Pfaundler für das Calcium bewiesen; dagegen haben die Versuche von Wells gezeigt, daß die Phosphorsäure nicht als attraktiver Faktor für die Einlagerung von Kalksalzen in Betracht kommt. Wir stehen hier noch vor einem ungelösten Rätsel.

In welcher Art lassen sich nun die Resultate obiger Versuche für das Rachitisproblem verwenden? Sie wurden unternommen in der Absicht nachzusehen, ob die bei der normalen Ossifikation als Kalksalzfänger wirksame Gewebsmasse sich im rachitischen Knorpel anders verhält als im gesunden, sobald man den Knorpel in die Bauchhöhle von Kaninchen verpflanzt. Das Wesen der Rachitis, das uns ebenso gut bekannt ist, als uns ihre Pathogenese noch unklar erscheint, tritt am auffälligsten gerade dadurch in Erscheinung, daß die Ablagerung unlöslicher Kalksalze ausbleibt, die das Festwerden der Knochen bedingt. Ich erwartete daher auch, daß der Knorpel aus einer florid-rachitischen Leiche sich gegen eine Einlagerung von Kalksalzen ablehnend verhalten würde. Um so mehr war ich überrascht, als sich bei der chemischen Analyse die für CaO und P_2O_5 gefundenen Werte sogar höher erwiesen als bei den nicht rachitischen Knorpeln (die Resultate von Versuch V müssen hier wegen der besonderen Verhältnisse ausscheiden).

Es ist bekannt, daß der rachitische Knorpel viel wasserreicher ist als der nicht rachitische. Daher denkt man zunächst natürlich an einen größeren Wasserverlust des rachitischen Knorpels gegenüber dem nicht rachitischen und damit zugleich an eine Eindickung (Konzentrierung) der organischen Substanz mit den schon vorhandenen eingelagerten Salzen. Bis zu einem gewissen Grade ist dies auch sicherlich der Fall, denn die Aschenvermehrung ist in allen vier Fällen sehr deutlich ausgesprochen; in Versuch VII und VIII beträgt sie nahezu das Doppelte gegenüber dem Kontrollversuch. Dennoch glaube ich, darf man die Zunahme des Calciumoxyds nicht allein auf Konto des Wasserverlustes setzen; vergleicht man in den diesbezüglichen Tabellen (8, 9, 10 und 11) die erhaltenen Mengen CaO , die sich auf die Asche beziehen, nicht auf die frische Substanz, so findet man auch hier eine nicht unbeträchtliche Vermehrung; wäre die Calciumoxydzunahme allein bedingt durch den Wasserverlust, so müßte der Prozentgehalt der Asche an CaO für das Experiment und den Kontrollversuch wenigstens annähernd gleich sein; dies ist aber nicht der Fall. Überlegt

man nun weiter, wieso gerade am rachitischen Knorpel die Kalksalzeinlagerung auffälliger zutage tritt als am nicht rachitischen, so erscheint auch dieses nicht mehr befremdlich. Ich habe schon darauf hingewiesen, daß die Fähigkeit des Knorpels, Kalksalze aufzunehmen, offenbar keine unbeschränkte ist. Auch in den Versuchen von Wells enthält der Knorpel nach 14 Wochen eher weniger CaO als nach 12 Wochen (vgl. Tabelle auf S. 518). Der rachitische Knorpel bzw. die Knochen-Knorpelgrenze (Ossifikationszone), auf die es hier doch vor allem ankommt, enthält eben von vornherein viel weniger Kalksalze als der normale eines gleichaltrigen Kindes; daher er auch absolut genommen mehr in sich niederzuschlagen vermochte unter den genannten Versuchsbedingungen. Damit ist natürlich das Ausbleiben der Verkalkung *intra vitam* bei der Rachitis nicht erklärt und der einzige Schluß, der sich hieraus ziehen läßt, ist der, daß, *post mortem* wenigstens, wenn man wirklich eine als Kalksalzfänger wirksame Substanz annimmt, dieselbe im rachitischen Knorpel in gleicher Weise vorhanden und wirksam sein muß wie im gesunden Knorpel. Es liegt nun gar kein Grund vor, deswegen das Vorhandensein einer solchen Substanz überhaupt in Abrede zu stellen, sondern es heißt dies lediglich, daß sie als solche zur Pathogenese der Rachitis nicht in ursächlicher Beziehung steht. Daß sie in der Leiche vorhanden ist und unter geeigneten Umständen wirksam werden kann, lehrt das Resultat meiner Versuche; sie muß also auch im lebenden Knorpel schon vorhanden gewesen sein; denn ihre Bildung hier als einen postmortalen Vorgang aufzufassen, fehlt doch jede Berechtigung.

Dagegen wird man direkt zu der Annahme gedrängt, daß die Zellen des osteoiden Gewebes einen nicht unwesentlichen Einfluß auf den Verkalkungsprozeß ausüben. Pfaundler hat diesen Gedanken schon früher ausgesprochen, indem er den Mangel der spezifischen Affinität für die Kalksalzmassen in einer rückständigen Gewebismetaplasie sucht. Diese denkt er sich als zustande gekommen „durch eine funktionelle Störung im Leben jener Zellen, von denen aus ein aktives Prinzip (etwa

im Sinne eines autoLytischen Fermentes tätig) auf die umliegenden Gewebsmassen umgestaltend einwirken soll*. Zu einer ähnlichen Ansicht gelangt auch Stöltzner, der die gleiche chemische Zusammensetzung der pathologischen osteoiden Substanz bei der Rachitis und der physiologischen auf Grund ihrer Übereinstimmung in allen färberischen Reaktionen nachgewiesen hat; nur sucht er das die Veränderungen verursachende Prinzip nicht in den Zellen des osteoiden Gewebes selbst, sondern in denjenigen der Nebennierenrinde, in ähnlicher Weise, wie die Thyreoidea für das Myxödem verantwortlich gemacht wird. (Eine neuere französische Arbeit [M. Parhon] berichtet über Herabsetzung des Kalkgehaltes im Knochen nach Verabreichung großer Thyreoidindosen).

Da nun aber der Mangel der Kalksalzeinlagerung bei der Rachitis nicht auf das Ausbleiben einer vorbereitenden Gewebsmetaplasie bezogen werden darf, so bleibt nichts anderes übrig, als die Ursache dafür in den Zellen selbst zu suchen. Allerdings stehen wir hier vor einem neuen Rätsel; denn für eine Veränderung der Zellen fehlt jede anatomische Grundlage. Vielleicht darf man jedoch die Vermutung aussprechen, daß eine Kalkeinlagerung nicht deshalb nicht zustande kommt, weil die Bildung eines besonderen Stoffes, etwa eines Fermentes, ausbleibt; sondern daß die Zellen durch besondere uns vorerst noch unbekannte Umstände eine derartige Beeinflussung ihrer Lebenstätigkeit erfahren, daß sie aktiv hemmend auf die Einlagerung und Präzipitation der Kalksalze einwirken; vielleicht sogar in der Weise, daß die Kalksalze zwar die Gewebe durchdringen, aber in Lösung gehalten werden und nicht zum Ausfallen gelangen.

Die nächste Aufgabe wird nun sein, jenen in besonderer Weise wirksamen Umständen nachzuforschen. Man hat bereits früher versucht (Pommer, Wachsmuth), in einem vermehrten Säuregehalt des Blutes, wobei in erster Linie Milchsäure und Kohlensäure in Betracht kommen, den die Kalksalze in Lösung haltenden Faktor zu suchen; doch hat seither Stöltzner bewiesen, daß die Reaktion des Blutes bei der Rachitis keine

Alkaleszenzabnahme erfährt; auch Experimente, die in der gleichen Richtung arbeiteten, ergaben negative Resultate. Außerdem sind beim Menschen Säurevergiftungen bekannt, die keinen Einfluß auf das Knochensystem haben.

Andere, vor allem Kassowitz, und neuerdings Marfan, haben den Grund in einem irritativen Reiz gesucht, der die Knorpelzellen trifft und sie zu abnormer Wucherung anregt. Sie werden dadurch unfähig, ihre normale Größe zu erreichen und die Kalkalbuminate des Blutes zu spalten und niederzuschlagen. Dem widersprechen jedoch schon die histologischen Bilder, die jedes Zeichen von Entzündung vermissen lassen. Auch die „Wucherung“ darf nur sehr bedingt aufgefaßt werden. Sie ist nur scheinbar vorhanden, da der sonst neben der Kalk-einlagerung auch immer rasch vor sich gehende Abbau ausbleibt (Schmorl). Viel eher ließe sich denken, daß ein die Zellen des Knorpels und osteoiden Gewebes normalerweise treffender Reiz bei der Rachitis nicht in genügendem Maße zustande kommt; dadurch kommt es zwar noch zu einem gewissen Wachstum der Knochen, aber in einer bestimmten Entwicklungsphase tritt ein Stillstand ein. Heubner geht sogar so weit, in der Rachitis nur eine „vorübergehende Entwicklungshemmung“ zu sehen, deren Ursache im Knochengewebe selbst begründet liegt.

Krasnogorski führt die Verdickung der Verknöcherungszonen bei der Rachitis auf eine Quellung, nicht Wucherung der hyalinen Knorpelgrundsubstanz zurück bedingt durch eine Verminderung der Calciumionen, welche sonst hemmend auf den Quellungsprozeß wirken. Doch läßt sich demgegenüber sagen, daß wir nicht wissen, ob es sich überhaupt um einen Mangel an Calciumionen bei der Rachitis handelt oder ob dem Gewebe nur die Fähigkeit verloren gegangen ist, dieselben als Phosphat niederzuschlagen. Letzteres scheint mir wahrscheinlicher zu sein, da der Kalkgehalt der übrigen Gewebe nicht vermindert ist; sobald aber das Calciumsalz niedergeschlagen ist, kommt seine Wirkung als Ion nicht mehr in Betracht. Den

Annahmen Krasnogorskis wurde übrigens von Pfaundler, sowie auf Grund der Nachprüfung von Salge widersprochen.

Es lag natürlich sehr nahe, einen primären Kalkmangel für das Ausbleiben der Verknöcherung verantwortlich zu machen, sei es als von vornherein ungenügende Kalkzufuhr, sei es durch eine Schädigung des Kalkresorptionsvermögens im Darm oder durch vermehrte Kalkausfuhr. Jedoch alle in dieser Richtung unternommenen Stoffwechselversuche haben nichts Positives zutage gefördert (Cronheim und F. Müller); außerdem fand sich, daß, trotzdem der Kalkgehalt der Knochen bei der Rachitis vermindert ist, derjenige der Weichteile nicht abnimmt. (Vgl. hiezu auch die Kontroverse Aschenheim-Wolff im 5. Band der Zeitschrift für Kinderheilkunde.) Man wird immer wieder darauf hingewiesen, die primäre Ursache der ausbleibenden Verkalkung im osteoiden Gewebe selbst zu suchen und zwar in den Zellen desselben, nicht in der jungen weichen Knochengrundsubstanz.

Neuere sorgfältige Versuche von Schabad, Aron und Dibbelt haben allerdings ergeben, daß die Kalkzufuhr mit der Nahrung nicht so beträchtlich ist, wie man bisher annahm, so daß es unter Umständen wirklich zu einer Kalkunterbilanz kommen kann. Dadurch wird die Kalkmangelhypothese in ein neues Licht gerückt. Trotzdem darf man in ihr allein die Ursache der Rachitis nicht suchen. Es ist bisher nicht gelungen, durch kalkarme Nahrung künstlich Rachitis hervorzurufen. Man hat zwar dadurch Veränderungen am Skelettsystem erzielt, die makroskopisch und klinisch der Rachitis sehr ähnlich sahen, allein das mikroskopische Bild zeigt vorwiegend eine Resorption bereits verkalkten Gewebes neben normaler Verknöcherung des frisch gebildeten osteoiden Gewebes, dagegen kein Ausbleiben der Verkalkung in jungen neugebildeten Knochenbälkchen (Heubner, Stöltzner, Schmorl). Auch die Resultate der Versuche Pfaunders weisen auf einen Unterschied zwischen echter Rachitis und durch kalkarmes Futter erzeugter Rachitis. Er fand bei der Pseudorachitis eine deutlich gesteigerte Calciumionenadsorption, während rachitische

Knorpel sich in dieser Hinsicht ähnlich den normalen verhielten. Zweifellos wäre es interessant, Knorpelstücke pseudorachitisch gemachter Tiere in die Bauchhöhle von Kaninchen zu verpflanzen und das Verkalkungsergebnis zu beobachten. Ist die Kalkablagerung im rachitischen Knorpel gegenüber dem gesunden schon gesteigert, so darf man beim pseudorachitischen wohl eine sehr große Zunahme erwarten, die direkt proportional sein muß der durch die Nahrung erzeugten Kalkarmut.

Es würde den Rahmen dieser Arbeit weit überschreiten, auch nur einigermaßen genau auf alles, was in dieser Richtung bis jetzt gearbeitet worden ist, einzugehen. So habe ich mich begnügt, nur die wichtigsten und interessantesten der vielen hier in Betracht kommenden Fragen gerade zu berühren, soweit sie zu den oben beschriebenen Experimenten in einiger Beziehung stehen. Leider hat die ganze ungeheure, auf dem Gebiet der Rachitis geleistete Arbeit bis jetzt nur sehr wenig Positives zutage gefördert und es muß noch immer der Zukunft vorbehalten bleiben, den Schleier des Rätsels zu lüften. Auch meine Versuche haben, trotzdem das Resultat ganz anders ausfiel als ich erwartete, die Sache kaum um einen kleinen Schritt vorwärts gebracht.

Fasse ich das Ergebnis derselben noch einmal kurz zusammen, so lautet es folgendermaßen:

1. Es muß eine uns ihrem Wesen nach bis jetzt noch vollständig unbekannt dem Knorpelgewebe eigentümliche Substanz in ihm vorhanden sein, welche es vermag, die Kalksalze der Gewebsflüssigkeiten aufzunehmen und niederzuschlagen.
2. Das niedergeschlagene Calcium ist zum größten Teil an Phosphorsäure gebunden.
3. Es ist diese als „Kalksalzfänger“ wirksame Substanz auch im rachitischen Knorpel vorhanden und vermag post mortem unter geeigneten Bedingungen Kalksalze niederzuschlagen.
4. Daraus folgt, daß jene Substanz im lebenden rachitischen Knorpel irgendwie beeinflußt wird, wodurch ihr die Fähigkeit, Kalksalze niederzuschlagen, verloren geht.

5. Es ist zu vermuten, daß dieser Einfluß mit der Lebens-
tätigkeit bestimmter Zellen in Zusammenhang steht, wobei
allerdings dahingestellt bleiben muß, ob er von Knorpel-
zellen, Osteoblasten oder Knochenmarkszellen ausgeht oder
— durch Hormone vermittelt — von entfernt liegenden
Organen.

Herrn Professor Dr. von Pfaundler, der mir die Unter-
suchungen übertrug, möchte ich für die Überlassung derselben
sowie für das ihnen jederzeit entgegengebrachte Interesse meinen
aufrichtigen Dank aussprechen.

Literatur-Verzeichnis.

- Aberhalden, Lehrbuch der physiologischen Chemie, 2. Aufl., 1909.
Aron, Biochemische Zeitschrift, Bd. XII, 1910.
Askanazy, Beiträge zur Knochenpathologie. Festschrift für Jaffé.
Braunschweig 1901. Zitiert nach Hofmeister, Ergebnisse der
Physiologie 10, 1910.
Aschenheim-Benjamin, Über Beziehungen der Rachitis zu den
hämatopoetischen Organen. Deutsches Archiv für klinische Medizin,
Bd. 97, 1909.
Cronheim W. und Müller E., Stoffwechselversuche an gesunden und
rachitischen Kindern mit besonderer Berücksichtigung des Mineral-
stoffwechsels. Biochemische Zeitschrift, Bd. 9, 1908.
Dibbelt, Die Pathogenese der Rachitis. Arbeiten aus dem pathologischen
Institut Tübingen, Bd. 6, 1907—1908.
— Die Pathogenese der Rachitis II. Ebenda, Bd. 7, 1909—1911.
Friedleben, Beiträge zur Kenntnis der physikalischen und chemischen
Konstitution wachsender und rachitischer Knochen der ersten
Kindheit. Jahrbuch für Kinderheilkunde, 1. F., Bd. 3, 1860.
Fürth v., Probleme der physiologischen und pathologischen Chemie,
I. Bd. Leipzig 1912.
Hammarsten, Lehrbuch der physiologischen Chemie. 6. Aufl. Wies-
baden 1907.
Heubner, Lehrbuch der Kinderheilkunde, I. Bd. 3. Aufl. Leipzig 1911.
Hoerber, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 3. Aufl.
Leipzig 1911.
Hofmeister, Zur Lehre von der Wirkung der Salze. Archiv für ex-
perimentelle Pathologie, Bd. 24, 25, 27, 1888—1890.
Sitzungsb. d. math.-phys. Kl. Jahrg. 1913.

- Hofmeister, Experimentelles über Gewebeverkalkung. Münchener Medizinische Wochenschrift 1909.
- Über Ablagerung und Resorption von Kalksalzen in den Geweben. Ergebnisse der Physiologie, Bd. 10, 1910.
- Kassowitz, Normale Ossifikation und die Erkrankungen des Knochen-systems bei Rachitis und hereditärer Syphilis. Wien 1881.
- Krasnogorski, Über die Wirkung der Calciumionen auf das Wasser-adsorptionsvermögen des Knorpelgewebes und ihre Bedeutung in der Pathogenese des rachitischen Prozesses. Jahrbuch für Kinderheilkunde, Bd. 70 (3 F. 20), 1909.
- Marfan, zitiert nach Feer. Lehrbuch der Kinderheilkunde. Jena 1911.
- Mohr, Erkrankungen der Knochen und Gelenke in Noordens Pathologie des Stoffwechsels, 2. Aufl., Bd. 2. Berlin 1907.
- Oehme, Über die Beziehung des Knochenmarkes zum neugebildeten kalklosen Knochengewebe bei Rachitis. Zieglers Beiträge, Bd. 44, 1908.
- Pacchioni, zitiert nach Pfaundler. Jahrbuch für Kinderheilkunde, Bd. 60, 1904.
- Parhon, L'Influence de la Thyreoïde sur le metabolisme du calcium. Compt. rend. Soc. Biol. Paris, t. 72, 1912.
- Pauli, Wiener Medizinische Wochenschrift Nr. 39, 1910.
- Pfaundler v., Über die Elemente der Gewebsverkalkung und ihre Beziehung zur Rachitisfrage. Jahrbuch für Kinderheilkunde, Bd. 60 (3 F. 10), 1904.
- Rachitis in Feer. Lehrbuch der Kinderkrankheiten. Jena 1911.
- Über die aktuelle Reaktion des kindlichen Blutes. Archiv für Kinderheilkunde, Bd. 41, 1905.
- Salge, Zeitschrift für Kinderheilkunde, IV. Bd., 1912.
- Schabad, Zur Bedeutung des Kalkes in der Pathologie der Rachitis I und II. Archiv für Kinderheilkunde, Bd. 52, 1910.
- Zur Bedeutung des Kalkes in der Pathologie der Rachitis. Archiv für Kinderheilkunde, Bd. 53, 1910.
- Schmiedeberg, Über die chemische Zusammensetzung des Knorpels. Archiv für experimentelle Pathologie, Bd. 28, 1891.
- Schmorl, Die pathologische Anatomie der rachitischen Knochenerkrankung mit besonderer Berücksichtigung ihrer Histologie und Pathogenese. Ergebnisse der inneren Medizin und Kinderheilkunde, Bd. 4, 1909.
- Schultze W. H., Verkalkung. Ergebnisse Lubarsch-Ostertag, Bd. 14, I. Teil, 1910.
- Stöltzner, Rachitis in Pfaundler und Schlossmann. Lehrbuch der Kinderheilkunde, Bd. I, 2. Hälfte.

- Stölzner und Salge, Beiträge zur Pathologie des Knochenwachstums.
Berlin 1901.
- Treadwell, Lehrbuch der analytischen Chemie.
- Tanaka, zitiert nach Hofmeister, Ergebnisse der Physiologie, Bd. 10,
1910.
- Volkmann, Verletzungen und Krankheiten der Bewegungsorgane.
Handbuch der Chirurgie. Pitha-Billroth, Bd. 2, 1865.
- Wachsmuth, Zur Theorie der Rachitis. Lehrbuch für Kinderheilkunde,
Bd. 39, 1895.
- Wells, Pathological Calcification. Journ. of Med. Research, Vol. XIV,
1906.
- Wells and Benson, Studies on Calcification and Ossification II. Journ.
of Med. Research, Vol. XVII, 1907.
- Wells and Mitchell, Studies on Calcification and Ossification III.
Journ. of Med. Research, Vol. XXII, 1910.
-