

(Aus der Pathologisch-anatomischen und der chemischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses im Friedrichshain Berlin.)

Das Pigment der Melanosis coli und seine chemische Darstellung aus dem Organ.

Von

L. Pick und B. Brahn.

(Eingegangen am 6. August 1929.)

Die 1911 von *L. Pick* als Melanose der Dickdarmschleimhaut eingehend geschilderte eigentümliche Erkrankung ist in der Folge des näheren von *Hueck* (1912), *Henschen-Bergstrand* (1913), *Bland-Sutton* (1914), *Mc. Falland* (1917), *G. O. E. Lignac* (1925) und zuletzt von *Gilbert J. G. Dalldorf* in *Aschoffs* Institut (1927) untersucht worden. In dem jüngst erschienenen Band IV (Teil 3) des Henke-Lubarsch'schen Handbuches hat *O. Lubarsch* der Melanosis (Ochronosis, *Orth*) coli, gestützt auf sein eigenes Material, eine eingehende Darstellung gewidmet.

Man stellt unschwer fest, daß die rein morphologischen Befunde der späteren Untersucher zu der Schilderung, die *L. Pick* für die von ihm ausschließlich untersuchten Vollstadien des Prozesses gegeben hat, in nur wenigen Punkten Neues hinzugefügt haben. Die in den ausgeprägten Fällen gesetzmäßige Beschränkung der gelblichbraunen, teerfarbigen oder tintenschwarzen Schleimhautpigmentierung auf den Dickdarm, ihr messerscharfes Abschneiden mit dem Kamm der Ileocöcalklappe, die Bevorzugung von Coecum und Anfang des Colon ascendens, die häufig auffallende Felderung der Schleimhautoberfläche nach Art von hellerem oder dunklerem Krokodilleder und die regelmäßige Pigmentfreiheit der Lymphknötchen — alle diese Befunde *L. Picks* (vgl. dort Abb. 1) haben die späteren Untersucher bestätigt. Ebenso die Beschränkung der Pigmentablagerung auf die Tunica propria der Schleimhaut, die unbedingte Pigmentfreiheit der Epithelien, die Aufstauung des von großen einkernigen Zellen eingeschlossenen Pigments an der Muscularis mucosae; nur sehr selten wird sie von einigen Pigmentzellen, die in Gewebsspalten oder Lymphgefäßchen bis in die innerste Grenzlage der Submucosa gelangen, durchbrochen (vgl. *L. Pick*, Abb. 2 und 3, *Lubarsch*, Abb. 31 und 32). Das gelbe oder graubraune bis braune Pigment, das, wie bereits *L. Pick* hervorhebt, die verschiedenen makroskopischen Farbabstufungen lediglich durch seine verschiedene Dichtig-

keit bedingt, ist stets amorph, feiner- oder grobkörnig bis grobschollig oder klumpig; Schollen und Klumpen sind Zusammenballungen der feinen Körnchen.

Die vorher angedeuteten morphologischen Ergänzungen zu diesen Feststellungen *L. Picks* brachten die außerordentlich eingehenden Untersuchungen *Henschen-Bergstrands*. Zunächst dahin, daß eine Verschleppung des Pigments in die mesokolischen Lymphknoten stattfinden kann, die in Fällen sehr intensiver Schleimhautmelanose an diesen schon für das bloße Auge sich ausprägt. Des weiteren ist neben den relativ seltenen makroskopischen Vollformen der Dickdarmschleimhautmelanose die Pigmentablagerung mikroskopisch in etwa einem Drittel aller zu reifem Alter gelangten Individuen zu treffen. So konnten *Henschen-Bergstrand* unter ihren 225 systematisch untersuchten Fällen neben 4 grobmakroskopischen nicht weniger als 65 positive der mikroskopischen Art zählen. Werden, wie *L. Pick* fand, die für das bloße Auge ausgesprochenen Fälle tatsächlich der Regel nach nicht vor dem 40. Lebensjahre beobachtet, so reicht die mikroskopisch nachweisbare Pigmentablagerung selbst bis in die Zeit vor der Pubertät hinab. Sodann kann bei nur mikroskopischer, spärlicherer Pigmentbildung im Dickdarm der Farbstoff sich auch in der Schleimhaut des untersten Ileums, hier fast allein in den Zotten, ablagern. Er fehlt in diesem Dünndarmbereich gerade bei der makroskopisch ausgeprägten Form der Dickdarmschleimhautpigmentierung, dürfte also im Dünndarm späterem Abbau unterliegen. Schließlich scheint zuweilen eine isolierte Melanose der Appendixschleimhaut bei sonst freier Dickdarmschleimhaut vorzukommen.

Besteht soweit Übereinstimmung unter den Autoren über den morphologischen Typus der Affektion, so ist das nicht der Fall hinsichtlich der Natur des Farbstoffes und seiner Genese, die naturgemäß die merkwürdige Beschränkung der Pigmentierung auf den Dickdarm sowohl wie auf dessen Schleimhaut erklären muß.

L. Pick hatte auf Grund der von *H. Boruttau* ausgeführten chemischen Analyse der abpräparierten Darmschleimhaut die Metallnatur der Pigmentierung, etwa durch Silber, Mercurisulfid oder Schwefelwismuth usw., ausgeschlossen, die hämoglobinogene Entstehung in ausführlicher Begründung abgelehnt und den Farbstoff nach seinem chemisch-mikroskopischen und chemischen Verhalten der Klasse der echten Melanine zugezählt. Melanin entsteht, worauf *L. Pick* hinweist, unter dem Einfluß oxydativer Fermente (Tyrosinase) aus den aromatischen Komplexen des Zelleiweißes, dem Tyrosin, dem Phenylalanin sowie den verwandten hydroxylierten Benzolderivaten, Pyrrol, Skatol, Pyridin usw. Diese Produkte aber liefert die Dickdarmfäulnis durch den Abbau des Eiweißmoleküls in größten Mengen. Sie werden physio-

logisch in die Schleimhaut resorbiert und nun hier durch ein tyrosinase-ähnliches Ferment seitens der mesenchymalen Elemente des Stromas in Melanin übergeführt. So würde das Rätsel der Beschränkung auf den Dickdarm einerseits, auf die Mucosa andererseits gelöst. Die Bedeutung der chronischen Obstipation für diese Vorgänge, die *Henschen-Bergstrand* mit Recht als einen wichtigen Faktor für die Entstehung der Pigmentierung überhaupt kennzeichnen, hat *L. Pick* bereits erkannt und ausdrücklich hervorgehoben. Sie erhellt am besten aus den Fällen von pigmentfreier der an der Mündung stenosierte Appendix bei pigmentierter Dickdarmschleimhaut (vgl. *Henschen-Bergstrand*, S. 154/155) und aus der von *L. Pick* wiederholt beobachteten Lokalisation der Schleimhautmelanose oberhalb von strikturierendem Carcinom des Dickdarms bei Freisein der unterhalb gelegenen Schleimhaut. *Lubarsch* gibt (S. 82) die farbige Abbildung eines derartigen Präparates aus der *L. Pickschen* Sammlung. Jede Obstipation, mag sie nun eine rein „habituelle“ oder anatomisch durch Dickdarmstenose irgendwelcher Form (Neoplasmen u. dgl.) bedingt sein, steigert notwendig die Eiweißfäulnis und verstärkt damit eine der Bedingungen für die Ausbildung der Melanose.

Entsteht die Melanose nur in bestimmten Fällen solcher Art, so käme, wie *L. Pick* ausgeführt hat, entweder eine rein individuelle, an bestimmte Personen gebundene Fähigkeit der Schleimhautstromaelemente zur Fermentbildung in Frage oder ein besonders gesteigertes Übermaß in der Produktion der Eiweißabbauprodukte, oder aber, woran vielleicht vorwiegend zu denken wäre, das Überwiegen einer besonderen Art der Abbauprodukte bei bestimmten Formen der Dickdarmfäulnis.

Unter den folgenden Autoren erklärt sich *Hueck* mit *L. Pick* gegen die hämochrome Herkunft des Pigments, kann sich aber „auch nicht entschließen, es für ein echtes Melanin zu halten“. Er stellt das Pigment „näher zu den Lipofuscinen als zu den Melaninen“, wenn er auch die sehr nahen Beziehungen voll anerkennt, die diese beiden Pigmente zueinander haben. *Henschen-Bergstrand* möchten dem Darmpigment ebenfalls einen Sonderplatz neben oder zwischen den Abnutzungsfermenten und den Melaninen zuweisen. *Dalldorf* schließt sich der *L. Pickschen* Auffassung des Farbstoffes als Melanin an, das aus gewissen, bei der Dickdarmfäulnis freiwerdenden Gruppen des Proteinmoleküls wie Phenylalanin und Tryptophan entsteht.

G. O. E. Lignac dagegen nimmt die schon früher von *Virchow* und *Grawitz* (*Solger*) vertretene Anschauung eines hämoglobinogenen Ursprungs des Pigmentes wieder auf. Das Darmpigment der Melanose verhält sich verschieden vom Melanin und Abnutzungspigment und „es besteht kein Grund, es dem letzteren zuzurechnen“. *Lignac* ver-

weist auf die Feststellung *H. Kämmerers*, daß, wenn 0,3 ccm Stuhlaufschwemmung in 5%iger Blutbouillon gleichmäßig verteilt in den Brutschrank gebracht werden, die rote Blutfarbe am zweiten Tage in eine braunrote umschlagen kann. Diese Braunfärbung, die nicht identisch mit Porphyrinbildung zu sein braucht, kann abhängig sein von einem noch nicht näher bekannten braunen Farbstoff, der einen Niederschlag bildet und der, wie seine Unlöslichkeit in Essigäther beweist, auch mit aller Wahrscheinlichkeit kein Hämatin ist. Nach *Lignac* kommt dieser Farbstoff für die Pigmentierung des Dickdarms bei der „Melanose“ in Frage. Irgendeine weitere Unterlage für seine Anschauung gibt *Lignac* nicht, auch erörtert er nicht, warum sich diese hämoglobinogene Pigmentierung lediglich auf die Schleimhaut beschränkt und das Pigment an der Muscularis mucosae eine so gut wie gesetzmäßige Barriere findet. Das Hämoglobin, das die Quelle für das Schleimhautpigment liefert, entstammt nach *Lignac* Blutungen, die in den Intestinaltraktus aus Neoplasmen, Geschwüren, bei blutiger Entzündung des Magen-Darms, der Gallenblase usw. erfolgen; wenn solche fehlen, wäre an feine Blutungen aus der Nasenschleimhaut oder dem Zahnfleisch usw. bei Leber- und Nierenleiden oder an das Hämoglobin oder Myoglobin der Nahrung zu denken. Daß der Farbstoff sicher kein Porphyrin ist, stellte *H. Fischer* in vier der *Lignacschen* Fälle fest.

Prüft man diese auseinandergehenden Deutungen der Natur des Pigments an den mikroskopisch-chemischen Eigenschaften, so ergibt sich das Folgende:

Das Pigment ist gegen kadaveröse Zersetzung sehr widerstandsfähig, ist eisenfrei und färbt sich nicht mit Fettfarbstoffen (*L. Pick*); die Gallenfarbstoffreaktionen sind negativ (*Solger*). Es ist unlöslich in konzentrierten Mineralsäuren und Alkali, sowohl am frischen zerzupften Gewebe wie im Gewebsschnitt (*L. Pick*). Rauchende Salpetersäure bleicht es schnell wie Hautpigment (*Lignac*). Gegenüber der oxydativen Bleichung durch H_2O_2 und Silbernitratlösung reagiert es sehr träge. *Lignac* und *Lubarsch* sahen durch H_2O_2 langsamere Bleichung des Pigments als des Hautmelanins. Durch Antiformin (*P. König*) wurde das Pigment in *Dalldorfs* Fällen stets gebleicht, aber weit langsamer als das Melanin der Haut und des Melanoms oder das Abnutzungspigment von Leber und Herz. Bemerkenswerterweise reagierten bei *Dalldorf* „von den 5 Fällen nicht zwei gleich“, alle „quantitativ verschieden“. In Silbernitratlösung bräunt es sich nach *Hueck* und *Lignac* nur leicht, auch wenn man die Schnitte in der Lösung im Sonnenlicht hält oder sie wochenlang im Dunklen läßt. Abweichend fand *Lubarsch* bei Behandlung mit Silbernitrat die Reaktion positiv, die Färbung nur etwas heller als beim Haut- oder Gewächsmelanin. Basische Anilinfarbstoff-

flüssigkeiten (Boraxmethylenblau, Karbolwasserdiamantfuchsin, Kresylviolett) färben die Körner und Kugeln des Pigments grünlich, braunrot, braunviolett (*Lubarsch*).

Bestehen nun in diesem Gesamtverhalten des Dickdarmschleimhautpigments, wie einige der Autoren (*Hueck*, *Henschen-Bergstrand*, *Lignac*) besonders hervorheben, bestimmte Unterschiede gegenüber den Abnutzungspigmenten und Melaninen, insbesondere hinsichtlich der Bleichbarkeit und der Reduktion der Silbernitratlösung, so ist dazu zunächst zu sagen, daß nach den Untersuchungen von *Brahn-Schmidt-mann* im *Lubarschschen* Institut und von *Lubarsch* selbst über das „sog. Lipofuscin“ ein grundsätzlicher Unterschied zwischen diesem und dem Melanin im Sinne *Huecks* nicht vorhanden ist und daß auch die folgenden Arbeiten von *Kutschera-Aichbergen*, *Stämmeler* und *P. König* gleichermaßen eine Trennung der braunen Abnutzungspigmente und der Melanine ablehnen. Beide besitzen den nämlichen „Pigmentkern“, zu dem bei dem fetthaltigen Abnutzungspigment (d. i. dem sog. Lipofuscin) die Lipoidhülle als Akzidens hinzutritt; beide bilden unter den endogenen Pigmenten neben dem hämoglobinogenen Pigment als proteinogene (autogene) eine einheitliche chemische Gruppe. Eine Mittel- oder Zwischenstellung des Darmpigmentes zwischen dem Lipofuscin und dem Melanin im Sinne *Huecks* oder eine Sonderstellung zu diesen beiden nach *Henschen-Bergstrand* würde also schlechthin nur bedeuten, daß keine genügende chemisch-histologische Übereinstimmung, insbesondere in Bleichbarkeit und Reduktion der Silbernitratlösung, mit der Melanin- oder der sog. Lipofuscingruppe besteht.

Aber diese Übereinstimmung fehlt — das haben die Untersuchungen von *Kutschera-Aichbergen*, *Stämmeler* und *P. König* zur Genüge gelehrt — genau so auch den einzelnen Pigmentarten der Melanin- oder sog. Lipofuscingruppe selbst. Immer wieder treten ausgesprochene Gradunterschiede in Bleichbarkeit und im Reduktionsvermögen der einzelnen Melanine oder Abnutzungspigmente hervor; es gibt hier z. B. gegenüber der Silberreduktionsmethode förmliche Stufenreihen, ja, *Stämmeler* fand bei der Silbermethode, der Anwendung von *Unnas* Eisen-Cyanürmethode und der Kombination beider Verfahren das Verhalten des Samenblasenabnutzungspigments völlig ablehnend. Danach wird mit Recht, z. B. von *Lubarsch* oder von *P. König*, immer wieder der Gruppencharakter der proteinogenen Pigmente betont, und wenn *Lubarsch* aus seinen eigenen mikroskopisch-chemischen Befunden für das Dickdarmschleimhautpigment schließt, daß „die Unterschiede gegenüber dem Melanin nur gradmäßige sind“, so stünde schon damit seiner Angliederung an die Melanine u. E. kaum etwas Stichhaltiges im Wege.

Auf der anderen Seite vertritt freilich *Lignac*, wie schon erwähnt,

mit Entschiedenheit die Deutung des Pigmentes als eines hämoglobino-genen braunen Farbstoffes.

Weitere mikroskopisch-chemische Methoden für eine bestimmte Entscheidung als die vorhergenannten sind nicht zu Gebote, und so steht zur Zeit die Frage auf einem toten Punkt.

Wir haben darum versucht, die chemische Darstellung der Pigmente der abpräparierten pigmentierten Dickdarmschleimhaut wiederaufzunehmen, wie sie von *Boruttan* am Material *L. Picks* begonnen wurde und wenigstens in negativer Richtung zu dem sicheren Ergebnis führte, daß das Pigment keiner Metallverbindung entsprach.

Nun ist auf diesem Gebiet der Pigmentforschung wiederholt gerade die Überlegenheit der mikroskopisch-chemischen Methode gegenüber der „grobchemischen“ Analyse betont worden (vgl. bei *Lubarsch*, *Kutschera-Aichbergen*, *P. König*). Im besonderen hat *Lignac* bei seinen Untersuchungen über das Hautpigment der Methode der chemischen Isolierung und Analyse des möglichst rein dargestellten Melanins, anscheinend im allgemeinen Sinne, sich stark ablehnend gegenübergestellt. Durch das Kochen der Gewebe, z. B. mit Säuren, kann, wie er ausführt, das Melanin wesentliche Veränderungen erleiden; ferner können chemische Reaktionen zur Identifizierung des Melanins, bei denen seine Abbauprodukte (Tryptophan, Indol) die für die Reaktion maßgebende Rolle spielen, nur dann Wert besitzen, wenn Verunreinigungen (durch Eiweißstoffe, die die nämlichen Spaltprodukte liefern) ausgeschlossen werden können. Diese Einwände sind nicht ohne Berechtigung und selbstverständlich auch von den Chemikern selbst (z. B. *Salkowski*) keineswegs übersehen worden. Andererseits ist die Überlegenheit der mikroskopisch-chemischen Methode vor der chemischen keineswegs unbedingtes Gesetz. Die Arbeiten der letzten Jahre über den mikroskopisch-chemischen Fettnachweis im Gewebe haben gerade das Umgekehrte erwiesen, und auch für den Melanin- und Lipofuscinnachweis arbeiten namentlich die mikroskopischen Bleichungs- und Silberreduktionsverfahren keineswegs mit absolut durchsichtigen Verhältnissen. Niemand vermag zu sagen, ob das verschiedene Verhalten der Melanine und Abnutzungspigmente wirklich auf einer Verschiedenheit der Pigmente (des „Pigmentkernes“) selbst beruht oder auf örtlichen Verschiedenheiten der schwankenden Sauerstoffspannung oder der chemischen Reaktion der Pigmente oder der p_H -Zahl bei beiden Pigmentarten (vgl. z. B. *P. König*) oder „auf Unterschieden in dem Stoffwechsel der verschiedenen Organe und Gewebe und auf der Verschiedenheit äußerer und innerer Beeinflussungen, die noch weiterer Klärung bedürfen“ (*Lubarsch*). Wenn z. B. die Abnutzungspigmente die Silberschwärzung erst bei weit stärkerer und längerer Behandlung ergeben als das Melanin der Haut, aber nach Entfettung die Silber-

reaktion ebenso schnell und leicht als dieses, so weist diese Tatsache nicht nur auf die Existenz des von *Kutschera-Aichbergen* angenommenen Lipoidmantels um den Pigmentkern der „Lipofuscine“ (Abnutzungspigmente) und die nahe chemische Verwandtschaft des Pigmentkernes der Lipofuscine und Melanine, sondern vor allem auch darauf, daß für den Ablauf und Auslauf der mikroskopisch-chemischen Reaktion hier auch das physikalisch-chemische Verhältnis der das Pigment umlagernden Zellkomponenten eine bedeutende, unter Umständen ausschlaggebende Rolle spielt (vgl. auch bei *Brahn-Schmidtman*, 1922).

Ein anderes, beim verschiedenen Ausfall der mikroskopisch-chemischen Reaktionen überhaupt kaum berücksichtigtes Moment wäre in den Altersveränderungen des melanotischen Pigmentes zu suchen. Wir kommen gerade für das Dickdarmschleimhautpigment noch darauf zurück.

Jedenfalls mahnt alles das bei der Abwägung des grundsätzlichen Wertes der mikroskopisch-chemischen Verfahren gegenüber der chemischen Gewebsanalyse sicherlich zur Vorsicht.

Für uns selbst vereinfachten sich die Erwägungen in dieser Richtung durch den Umstand, daß inzwischen *B. Brahn* in seiner Darstellung des Melanins aus dem Tintenharn bei melanotischen Tumoren des Menschen ein Verfahren gefunden und erprobt hatte, das die geringste Schädigung des Melanins bei der Gewinnung und seine relativ größte Reinheit gewährleistet.

Zunächst wurde in diesen Harnen das reichlich vorhandene farblose Prämelanin mit Kaliumpersulfat oxydiert. Dann wurde mit Salzsäure angesäuert, der gewaschene schwarze Niederschlag in dünner Lauge aufgelöst, filtriert und wieder mit Säure gefällt; der Niederschlag wurde mit Wasser, dann mit Alkohol und Äther ausgewaschen.

Das so dargestellte Melanin von der relativ einfachen Formel $C_7H_7NO_4$ wich von dem früher aus dem Gewebe dargestellten in seiner Zusammensetzung bedeutungsvoll ab. Es enthielt in nur einem der 5 untersuchten Fälle Schwefel in geringer Menge, die übrigen 4 Fälle ließen ihn ganz vermissen. Der Stickstoffgehalt war 8,72% gegenüber 11,03% im Melanin, das früher aus melanotischen Gewachsen dargestellt war.

Aber es war noch ein anderer Beweis für seine relative Reinheit gegeben. Hatte *Brahn* für das früher von ihm aus Melanoblastomen gewonnene Melanin gezeigt, daß ihm bei einer dem Adrenalin ähnlichen chemischen Konstitution auch wie diesem im *Trendelenburg*-schen Froschversuch eine deutliche gefäßverengernde, wenn auch unvergleichlich viel schwächere Wirkung eigen ist, so ergab das neue Melanin in einer Lösung von 1:100000 einen Ausschlag, der gerade so groß war wie der einer 1proz. Lösung des alten Melanins. Die Wirkung war danach eine 1000fach stärkere.

Waren also Löslichkeit in Alkali, Fällbarkeit durch Säure aus der alkalischen Lösung und positive Wirkung im *Trendelenburgs*chen Versuch Eigenschaften eines auf einfache Art aus dem Harn gewonnenen, sicherlich relativ reinen und durch die Methodik der Gewinnung ungeschädigten Melanins, so war in dessen chemischem und experimentell-physiologischem Verhalten ein brauchbarer Maßstab gegeben, um, unbeschadet etwaiger feinerer chemischer Unterschiede, das aus der Dickdarmschleimhaut zu gewinnende Melanin an diesen Eigenschaften zu messen und seine Zugehörigkeit zur Melaningruppe zu erweisen.

Wir gingen also daran, in allen makroskopisch ausgesprochenen Fällen von Dickdarmschleimhautmelanose aus der abpräparierten Schleimhaut das Präparat durch chemische Analyse zu gewinnen und in den genannten Richtungen zu prüfen.

Die Schleimhaut wurde mit Messer und Schere möglichst zerkleinert und dann zunächst mit kalter, mit erwärmter und schließlich, wo es nötig schien, mit heißer Natronlauge extrahiert, der evtl. in Lösung übergegangene Farbstoff durch dünne Schwefelsäure ausgefällt, gewaschen, ausgiebig mit Alkohol-Äther entfettet und darauf nach *Salkowskis* Vorgang ebenso ausgiebig mehrmals (meist 2—3mal) mit Pepsin-Salzsäure der Verdauung unterworfen, bis die Biuretreaktion völlig negativ ausfiel. Der Rückstand wurde gewaschen, in Lauge gelöst, durch Säure wieder ausgefällt. Er ergab ein schwärzliches Pulver. Mit einer dünnen Lösung in 1proz. Sodalösung konnte dann der *Trendelenburgs*che Versuch angestellt werden.

Wir haben im Laufe der letzten Jahre etwa ein Dutzend Fälle nach diesem Verfahren verarbeitet. Zunächst mit wenig befriedigendem Erfolg insofern, als die Ausbeute des, sei es in kaltem, erwärmtem oder konzentriertem kochenden Alkali sich lösenden Farbstoffs eine minimale war, bis uns der Fall einer 23jährigen Frau ein außergewöhnliches Ergebnis lieferte. Die Frau war an einer Lungentuberkulose, ulceröser Tuberkulose des Dün- und Dickdarms und Tuberkulose des Bauchfells zugrunde gegangen. Besonders auffallend war die in so jungem Alter schon für das bloße Auge ausgesprochene gelbbraune Färbung der Dickdarmschleimhaut, die in einigermaßen gleicher Intensität den ganzen Dickdarm betraf. Hier erfolgte schon in kalter Natronlauge die Lösung des Farbstoffes schnell und ungewöhnlich ergiebig. Die Gesamtausbeutung an schwarzem Pigment an einem etwa 30 cm langem Schleimhautstück war reichlich.

Der von Herrn Privatdozent Dr. *van Eweyk* ausgeführte *Trendelenburgs*che Versuch ergab:

Injektion 1proz. Sodalösung	30 Tropfen in 56 Sekunden.
Injektion 0,2 ccm des in 1proz. Soda-	
lösung gelösten Pigmentes	2 Tropfen in 70 Sekunden (= 30 Tropfen in 1050 Sekunden).

- 10 Minuten nach der Injektion des Pigmentes Kontraktionswirkung noch deutlich (fi-brilläre Zuckungen der Beine und Flimmern der Muskeln der vorderen Bauchwand).
- 19 Minuten nach der Injektion des Pigmentes 30 Tropfen in 39 Sekunden.
- Nochmalige Injektion der Pigmentlösung 6 Tropfen in 73 Sekunden; zugleich Krämpfe der Extremitäten.

Tropfen kommen immer langsamer, Abbruch des Versuches.

Wir haben dann in der Folge bei 3 weiteren Fällen von makroskopisch sehr ausgesprochener Dickdarmschleimhautmelanose genügende Mengen des schwärzlichen Pigmentes mit der genannten Methodik erhalten, wenn auch nicht so reichliche wie in der vorgenannten Beobachtung.

1. 74jährige Frau; Sektion 1382/1928. Strikturierendes Carcinom an der Teilungsstelle des Ductus hepaticus mit Metastasen in Leber, an der Leberpforte, im Uterusfundus, im Peritoneum.

2. 78jähriger Mann; Sektion 400/1929. Arteriosklerose, parenchymatöse Degeneration des Herzmuskels, doppelseitige hypostatische Pneumonie.

3. 64jähriger Mann; Sektion 719/1929. Hypernephroide Neubildung der linken Niere mit Lungenmetastasen.

Für den ersten Fall wurde von Herrn *van Eweyk* wieder der Froschversuch ausgeführt (8 mg Melanin gelöst in 2,2 ccm 1proz. Soda-lösung).

Injektion von	10 Tropfen werden gezählt in Sekunden				
NaCl	11,2	11,4	11,3	—	—
1 ccm 1proz. Sodalösung	14,0	33,1	24,0	15,0	—
1 ccm Melaninlösung in Soda	12,2	67,0	64,0	54,0	45

Nach $\frac{1}{4}$ stündiger Pause Wiederholung des Versuches. Injektion von 1 ccm Sodalösung; alsbald nach Beginn des Austropfens der klaren Sodalösung Injektion von 1 ccm Melaninlösung.

Es tropften 10 Tropfen in 68 Sekunden,
5 Tropfen in 248 Sekunden.

Danach ist in beiden Fällen der Ausfall des *Trendelenburg*schen Versuchs überzeugend positiv, ferner in allen 4 Fällen für einen größeren oder geringeren Teil des Pigmentes die Alkalilöslichkeit und die Fällbarkeit durch Mineralsäuren genau so ausgesprochen wie bei dem aus dem Harn bei Melanoblastomen dargestellten Melanin.

Immerhin könnte vielleicht der Einwand erhoben werden, daß der positive Ausfall des Froschversuchs bei dem aus dem Gewebe der Dickdarmschleimhaut dargestellten Melanin nicht, wie bei dem aus dem Urin gewonnenen, durch dieses, sondern durch die noch anhaftenden Produkte des unvollkommenen Eiweißabbaues (Aminosäuren) bedingt wäre.

Wir haben darum mit Herrn *van Eweyk* auch die Wirkung der Aminosäuren im *Trendelenburg*versuch geprüft.

Zur Untersuchung wurde ein Gemisch von 7 der beim Eiweißabbau entstehenden reinen Aminosäuren (Tyrosin, Cystin, Arginin, Alanin, Histidin, Oxyprolin, Glykokoll) verwendet, gelöst 1:1000 in Sodalösung.

Zwei ganz gleichartig behandelte Frösche ergaben ein völlig übereinstimmendes Resultat:

Die Tropfenzahl beim *Trendelenburg*-Versuch verringerte sich durch Zugabe einer 0,1proz. Sodalösung gegenüber vorher eingegossener Ringerlösung etwa um 40%.

Wurde jetzt die Aminosäurenlösung nachgespritzt, so erfolgte keineswegs eine weitere Verringerung der Tropfenzahl, sondern im Gegenteil eine, wenn auch geringe Vermehrung (gleichmäßig bei *beiden* Fröschen).

Zur Kontrolle wurde zuletzt Suprareninlösung 1:500000 eingespritzt mit dem üblichen prompten Erfolg.

Also ausgesprochene Wirkung unserer Melaninlösungen (vgl. Versuche 1 und 2; in Versuch 2 bei Lösung 2:1000), keine oder sogar geringe gegenteilige Wirkung der *reinen* Aminosäuren bei Lösung 1:1000.

Somit ist die gefäßverengernde Wirkung im *Trendelenburg*'schen Versuch unzweifelhafte Wirkung des aus der Schleimhaut dargestellten Melanins und nicht etwaiger Eiweißabbauprodukte, die ja überdies auch nur in ganz geringen Spuren vorhanden sein könnten.

Schließlich war in den beiden letzten Fällen von Dickdarmschleimhautmelanose auch die in der Literatur angegebene Pyrrolreaktion positiv.

Diese Reaktion (Erhitzen von Melanin und Zinkstaub auf 300–400° nach Zusatz von absolutem Alkohol. Rotfärbung mit *Ehrlich's* Reagens [Dimethylamidobenzaldehyd]) ist nicht spezifisch, sondern lediglich charakteristisch für Pyrrol; ebenso charakteristisch für alle anderen Eiweißabbauprodukte, in denen der Pyrrolkern enthalten ist. Man könnte darum auch hier einwenden, daß hier bei der Isolierung des Melanins die Verunreinigung durch Eiweißabbaustoffe, die den Pyrrol- und Indolring enthalten, nicht vermieden werden konnte. Das schwärzliche Pigment, mit dem wir die Reaktion angestellt haben, ergab keine Biuretreaktion mehr. Immerhin ist es nicht einmal notwendig, auf das positive Ergebnis der Reaktion für den vorliegenden Fall allzuviel Wert zu legen; Alkalilöslichkeit, Fällbarkeit durch Säuren und der positive Ausfall des *Trendelenburg*'schen Versuches sichern in Verbindung mit dem vorher besprochenen mikroskopisch-chemischen Verhalten ganz gewiß die Zugehörigkeit des Pigmentes der Dickdarmschleimhaut zur Melaningruppe.

Nun war freilich eine Tatsache besonders auffallend. Warum war die Alkalilöslichkeit des Melanins in den makro- und mikroskopisch zweifellos vollkommen einheitlichen Fällen so überaus verschieden? Warum bestanden in dieser Richtung Unterschiede, die keineswegs etwa dem Stärkegrad der Pigmentierung entsprachen? Lagen verschiedenartige Melanine vor? Man erinnere sich hier auch der auffallenden quantitativen Unterschiede bei der Antiforminbleichung der mikroskopischen Schnitte in den 5 Fällen *Dalldorfs*, die sämtlich auf Antiformin positiv reagierten, aber alle in zeitlich verschiedener Art.

Dalldorf ist in der Tat der Meinung, daß in der Differenz der Bleichungszeit sich eine Verschiedenheit der Pigmente ausspricht. Vielleicht schaffen, so meint er, bei der ungewöhnlichen Reichhaltigkeit der Dickdarmflora verschiedene Bakterien verschiedene Bausteine der Melanine und damit ein verschiedenes Melanin.

Wir glauben, daß die genannten offenkundigen individuellen quantitativen Abweichungen bei der chemischen Analyse sowohl wie im mikroskopisch-chemischen Verhalten der einzelnen Fälle sich in anderer Richtung erklären lassen.

Brahn hat die Beobachtung gemacht, daß das von ihm aus dem Harn bei generalisierter melanotischer Blastomatose dargestellte Melanin nach 2—3jährigem Aufbewahren seine Alkalilöslichkeit und Fällbarkeit durch Säuren völlig einbüßte. Das Melaninpulver war in eine pechähnliche schwarze Masse übergegangen, die selbst in kochender konzentrierter Natronlauge auch in Spuren unlöslich blieb. Andererseits betraf unser Fall leichtester und ausgiebigster Löslichkeit des Pigmentes der Dickdarmschleimhautmelanose eine 23jährige Frau, also ein für die makroskopische Ausbildung der Veränderung außergewöhnlich jugendliches Individuum. So drängt sich die naheliegende Annahme auf, daß wie in vitro auch das im Körper in den Pigmentzellen der Schleimhaut abgelagerte Melanin mit dem Alter die Reaktionsfähigkeit, d. h. Alkalilöslichkeit und Fällbarkeit durch Säuren, wahrscheinlich infolge Polymerisation, verliert und daß darum gerade bei den in langen Jahrzehnten entstandenen schweren Graden der Melanose das Melanin im Sinne der chemischen Reaktionsfähigkeit überaltert. Wir wissen nicht, in welchem Tempo sich die Anschichtung des Melanins in der Dickdarmschleimhaut vollzieht, ob neben dem Anbau des Farbstoffes auch oxydative Abbauvorgänge eine Rolle spielen, worauf gewisse Befunde in der Dünndarmschleimhaut deuten (vgl. oben). Jedenfalls ist es natürlich durchaus denkbar und wahrscheinlich, daß auch bei älteren Individuen in neuen frischen Schüben sich ein Melanin ablagern kann, das der Lösung in Alkali zugänglich ist. Und es mögen neben den physikalisch-chemischen Bindungen des Melanins an andere komplizierte Zellbestandteile gerade hierbei der Melanose der Dickdarmschleimhaut Überalterungsvorgänge des Pigmentes auch für ein verschiedenes mikroskopisch-chemisches Verhalten eine Rolle spielen, insbesondere also z. B. in den einzelnen Fällen hinsichtlich der wechselnden Antiforminbleichungszeit, die für andere Organmelanine, etwa das Melanin der Haut oder das Abnutzungspigment von Leber und Herz oder das Melanin der Melanoblastome sich jeweils als konstant erweist. Es mag sein, daß Überalterungsvorgänge der in den Geweben abgelagerten Melanine auch in anderen Organen für einen verschiedenen Ausfall der chemischen oder mikroskopisch-chemischen Melaninproben eine Bedeutung besitzen, die bisher wohl kaum gewürdigt ist.

Ob schließlich die besondere Genese des Dickdarmschleimhautpigmentes, das aus dem Eiweiß der Nahrung, also aus körperfremdem Eiweiß entsteht, eine Bedeutung für die individuelle chemische Differenz besitzt, sei dahingestellt. Jedenfalls fügt diese Tatsache zu den mehrfachen Besonderheiten des Pigmentes der Dickdarmschleimhautmelanose eine neue. Besonderheiten sind gegeben in seiner unbedingten Beschränkung auf den Dickdarm, bei der in den ausgeprägten Formen nicht nur der ganze übrige Darm, sondern regelmäßig auch der übrige Organismus von gleichartiger Pigmentierung freibleibt (*L. Pick*); ferner in seiner gesetzmäßigen Beschränkung auf die Schleimhaut und in seiner morphologischen Erscheinungsform; bei keinem anderen Pigment trifft man so häufig so große kugelige Pigmentklumpen und bei keinem so große Zellen als Pigmentträger (*Lubarsch*). Dazu kommt nun, daß das Pigment seiner allgemeinen Genese nach weder zu den endogenen (hämoglobinogenen und proteinogenen, d. h. aus dem menschlichen Körpereiweiß entstehenden), noch zu den exogenen (als solche fertig eingeführten) Pigmenten zählt. Es ist exogen insofern, als seine Bausteine aus dem Eiweiß der Nahrung im Darmlumen gebildet werden, endogen, insofern die Verarbeitung der Bausteine zu Melanin in den Zellen der Darmschleimhaut erfolgt, hat also als ein exogen-endogenes Pigment eine Art Mittelstellung.

Wir sehen nach dem mikroskopisch-chemischen Verhalten und nach den Ergebnissen der Gewebsanalyse die Melannatur des Pigmentes der Dickdarmschleimhaut als erwiesen an. Auch *Lubarsch*, dem unsere Ergebnisse bei seiner Darstellung der Melanosis (Ochronosis) coli bereits vorlagen (vgl. *L. Pick* und *B. Brahn*, 1928) kommt zu dem Schluß, daß auf Grund unserer Beweisführung an der grundsätzlichen Übereinstimmung des Darmpigmentes mit dem Melanin nicht mehr gut gezweifelt werden kann.

Darum ist es sicherlich auch zweckmäßig, die Benennung der Veränderung als Ochronose zu streichen, zumal der Name der Ochronose von *Virchow* für die bei Alkaptonurie oder für die gleichartige bei chronischer Carbolsäureeinführung (*L. Pick*) entstehende Verfärbung der Knorpel und knorpelähnlichen Teile vergeben ist. Das Pigment in der Dickdarmschleimhaut ist ein Melanin, und die Affektion ist eine echte Melanose der Dickdarmschleimhaut.

Unsere Ergebnisse sind:

1. Das Pigment der von *L. Pick* 1911 eingehend beschriebenen eigenartigen Pigmentierung der Dickdarmschleimhaut zeigt seinem mikroskopisch-chemischen Verhalten nach gegenüber dem Melanin nur Gradunterschiede. Die chemische Analyse der Dickdarmschleimhaut liefert in bestimmten Fällen ein Pigment, das alle Eigenschaften (Alkalilöslichkeit, Fällbarkeit durch Mineralsäuren, positiver *Trendelenburg*-

scher Versuch) des von *Brahn* in dem Harn bei generalisiertem Melanoblastom dargestellten, chemisch relativ reinsten menschlichen Melanins besitzt. Es gehört zur Gruppe der Melanine. Die Affektion der Dickdarmschleimhaut ist eine echte Melanose.

2. Für die individuellen Unterschiede des Melanins der Dickdarmschleimhaut in chemischer und mikroskopisch-chemischer Richtung spielt wahrscheinlich die Überalterung des Pigmentes in den Geweben eine Rolle.

3. Das aus den Eiweißstoffen der Nahrung stammende, von den mesenchymalen Zellen der Mucosa gebildete Pigment der Dickdarmschleimhaut hat seiner Bildung nach eine Mittelstellung zwischen den endogenen und den exogenen Pigmenten.

Schrifttum.

- Virchow, R.*, Die pathologischen Pigmente. *Virchows Arch.* **1** (1847). — *Solger, Fr. B.*, Über Melanose der Dickdarmschleimhaut. Inaug.-Diss. Greifswald 1898. — *Pick, L.*, Über die Melanose der Dickdarmschleimhaut. *Berl. klin. Wschr.* **1911**, Nr 19/20. — *Hueck, W.*, Pigmentstudien. *Beitr. path. Anat.* **54** (1912). — *Henschen, F.*, und *H. Bergstrand*, Studien über die Melanose der Dickdarmschleimhaut. *Beitr. path. Anat.* **56** (1913). — *Bland-Sutton*, *Brit. med. J.* **11** (1914). — *McFalland, J.* *amer. med. Assoc.* **6** (1917). — *Brahn, B.*, und *E. Schmidtman*, Pigmentstudien, Zur Kenntnis des Melanins und des braunen Abnutzungspigmentes. *Virchows Arch.* **227** (1920). — *Lubarsch, O.*, Über das sog. Lipofuscin. *Virchows Arch.* **239** (1922). — *Kutschera-Aichbergen H.*, Über Melanin und das braune Abnutzungspigment. *Frankf. Z. Path.* **27** (1922). — *Brahn, B.*, und *E. Schmidtman*, Zur Pigmentfrage. *Virchows Arch.* **239** (1922). — *Lignac, G. O. E.*, Über den Chemismus und die Biologie des menschlichen Hautpigmentes. *Virchows Arch.* **240** (1923). — *Brahn, B.*, Das melanotische Pigment. *Virchows Arch.* **253** (1924). — *Stämmeler, M.*, Untersuchungen über autogene Pigmente. *Virchows Arch.* **253** (1924). — *Lignac, G. O. E.*, Über sog. „Melanosis“ coli. *Krk.forschg* **2** (1925). — *König, P.*, Untersuchungen am Abnutzungspigment des Herzens und der Leber. *Beitr. path. Anat.* **75** (1926). — *Dalldorf, Gilbert J. G.*, Melanosis coli. *Beitr. path. Anat.* **78** (1927). — *Lignac, G. O. E.*, Altes und Neues zur Hautpigmentfrage. *Arch. ital. Sci. med.* **60** (1927). — *Lubarsch, O.*, und *H. Borchardt*, Atrophie und sog. Degenerationen des Magens und Darmes. In Henke-Lubarsch, Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie **4**, Tl. 3. Berlin: Jul. Springer 1929. — *Pick, L.*, und *B. Brahn*, Über chemische Organanalyse bei der Melanosis coli. *Berl. Ges. f. path. Anat. u. vergl. Pathol.*, Sitzg v. 20. XII. 1928. *Ref. Klin. Wschr.* **166** (1929).