

Zur Struktur und Herkunft des Pigmentes bei der Melanosis coli*

A. VOGEL, W. FABRICIUS, H.-J. DULCE und H.-J. STOLPMANN

Pathologisches Institut (Direktor: Prof. Dr. W. MASSHOFF)
und Institut für Klinische Chemie und Klinische Biochemie
(Direktor: Prof. Dr. H.-J. DULCE) der Freien Universität Berlin

Eingegangen am 26. Juli 1968

Structure and Origin of Intestinal Pigment in Cases of Melanosis coli

Summary. 1. Histochemical examinations demonstrate that the pigment in the mucous membrane in melanosis of the colon is different from lipofuscin in the cardiac muscle and from the melanin of the retina.

2. Histological, histochemical, chemical and infrared-spectrographical investigations of the isolated and purified pigment show structural similarities to melanin. The central areas of the pigmentary particles resemble lipofuscin. Both the pigment in melanosis and the melanin contain nearly the same quantity of copper, which is 5—6 times greater than that of lipofuscin.

3. It is suggested that the pigment in melanosis is derived from copper-containing proteins or amino-acids either found in the mucous membrane, or absorbed from the ingesta. The development of the pigment out of haemoglobin is unlikely.

Zusammenfassung. 1. Das Pigment der melanotischen Dickdarmschleimhaut zeigt histochemisch gegenüber dem Lipofuscin des Herzmuskels und gegenüber dem Melanin der Retina Besonderheiten.

2. Nach histologischen und histochemischen Eigenschaften sowie auf Grund chemischer und infrarotspektrographischer Untersuchungen des isolierten und gereinigten Pigmentes muß eine Strukturähnlichkeit zwischen Melanosepigment und Melanin, in bezug auf den Pigmentkern auch zwischen Melanosepigment und Lipofuscin, angenommen werden. Der für Melanosepigment und Melanin nahezu gleiche Kupfergehalt ist 5—6mal höher als der des Lipofuscins.

3. Eine hämatogene Herkunft des Melanosepigmentes ist unwahrscheinlich; vielmehr wird seine Entstehung aus im Darmlumen oder in der Darmschleimhaut vorkommenden Kupferproteinen oder Aminosäuren angenommen.

CRUVEILHIER (1829—1835) hat als erster eine dunkle Pigmentierung der Dickdarmschleimhaut beschrieben, für die PICK später den Namen Melanosis coli prägte. Über Herkunft, Struktur und Bedeutung des eingelagerten Farbstoffes ist bis jetzt trotz zahlreicher Untersuchungen nichts Sicheres bekannt. Die histochemischen Beobachtungen widersprechen sich zum Teil. Der Versuch, das Pigment zu isolieren, stieß auf erhebliche Schwierigkeiten, weshalb auch eine vollständige chemische Analyse desselben bisher nicht vorliegt.

Immer wieder werden verwandtschaftliche Beziehungen des Pigmentes der Melanosis coli zum Lipofuscin und Melanin diskutiert. Wir haben deshalb histochemische Untersuchungen des Farbstoffes einer infrarotspektrophotometrischen

* Herrn Prof. Dr. W. MASSHOFF zum 60. Geburtstag in Dankbarkeit gewidmet.

und chemischen Analyse des aus der Schleimhaut isolierten Pigmentes gegenübergestellt und mit Messungen an reinem Lipofuscin und Melanin verglichen.

Formalgenetisch wird das Pigment der melanotischen Darmschleimhaut insbesondere als proteinogenes (DALLDORF, 1927; McFARLAND, 1917; PICK, 1906, 1911; PICK und BRAHN, 1929) oder hämoglobinogenes (HIERONYMI, 1954; LIGNAC, 1926; LILLIE, 1931; LUBARSCH, 1922; NEUMANN, 1888; SIMON, 1909; SOLGER, 1898; VIRCHOW, 1847) Pigment aufgefaßt. Auf Grund histochemischer Untersuchungen vertreten einige Autoren die Ansicht, daß es eine Sonderstellung zwischen Lipofuscin und Melanin einnimmt (CABANNE und COUDERC, 1963; McFARLAND, 1917; HENSCHEN und BERGSTRAND, 1913), während es andere entweder der Lipofuscin- (GHADIALLY und PARRY, 1966; GRAEV, 1954; HUECK, 1912, 1921) oder der Melaningruppe (DALLDORF, 1927; HEINLEIN, 1942; LUBARSCH und BORCHARDT, 1929; PICK, 1906, 1911) zuordnen.

Bezüglich der kausalen Genese wird von denjenigen Autoren, die das Pigment nicht als hämoglobinogen auffassen, vielfach angenommen, daß der Farbstoff aus Eiweißabbauprodukten im Dickdarm gebildet wird. Diese Abbauprodukte sollen bei verzögerter Darmentleerung besonders ausgiebig resorbiert werden können, weshalb der Obstipation vielfach eine fördernde Rolle bei der Melanoseentstehung zugeschrieben wird (LIGNAC, 1926; PICK, 1906, 1911; STEWART und HICKMAN, 1931). HEINLEIN (1942) faßt die Melanosis coli als eine Konstitutionsanomalie auf und erörtert die Möglichkeit einer Pigmentsynthese aus exogenem Nahrungsseiweiß oder endogenem Körpereiweiß.

Die Autoren, die den hämoglobinogenen Charakter des Melanosepigmentes für wahrscheinlicher halten, stützen sich außer auf eine von ihnen beobachtete gelegentlich positive Eisenreaktion (BATTLE, 1913; LUBARSCH und BORCHARDT, 1929) auf einen manchmal hohen Eisengehalt der melanotischen Darmschleimhaut bei quantitativer Analyse (HIERONYMI, 1954).

Verschiedentlich wurde das Melanosepigment sogar als Quecksilberablagerung aufgefaßt (PITT, 1891; ROLLESTON, 1882; WILLIAMS, 1867).

Zahlreiche Autoren nehmen einen Zusammenhang zwischen der Entstehung der Melanosis coli und der Einnahme anthracen- oder hydrochinonhaltiger Laxantien an (BOCKUS et al., 1933; CABANNE und COUDERC, 1963; CORWIN, 1939; CRUVEILHIER, 1829—1835; GHADIALLY und PARRY, 1966; PIRINGER-KUCHINKA, 1952; RODEN, 1940; SPEARSE, 1951; STEWART und HICKMAN, 1931).

GHADIALLY et al. (1966) haben elektronenoptisch in Epithelzellen melanotischer Dickdarmschleimhaut außer umschriebenen cytoplasmatischen Degenerationen Granula gefunden, die denjenigen in pigmentbeladenen Bindegewebszellen gleichen. Sie schließen daraus, daß farblose Vorstufen des Melanosepigmentes im Bereich fokaler Cytoplasmanekrosen in den Epithelzellen aus Lipoproteinmembranen sequestrierter Mitochondrien und Bestandteilen des Endoplasmatischen Reticulum gebildet und sekundär an die Stromazellen abgegeben werden. Eine ähnliche Auffassung haben BARKA und ANDERSON (1963) bezüglich der Lipofuscinentstehung vertreten, als sie von einer „Digestion intracellulären Materials mit anschließender Lipofuscinbildung“ sprachen. Nach Ansicht von GHADIALLY sollen durch Abfuhrmittel solche Epithelschädigungen hervorgerufen werden.

Der Versuch einer Pigmentisolierung scheiterte meist an der Unlöslichkeit des Farbstoffes in den üblichen Lösungsmitteln. PICK und BRAHN (1929) gelang es in einem Fall, aus der Darmschleimhaut einer 24 Jahre alten Frau mit Natronlauge reichlich Pigment herauszulösen. Die in den übrigen Fällen nahezu vollständige Unlöslichkeit des Pigmentes selbst in kochender Natronlauge führten die Verf. auf eine Polymerisation des Pigmentes im Zuge einer Überalterung zurück. ABDERHALDEN (zit. nach HUECK, 1921) konnte durch Hydrolyse in kochender Salzsäure einen Teil des Pigmentes in Lösung bringen; HEINLEIN (1942) gelang durch Behandlung zerkleinerter Darmschleimhaut mit konzentrierter Natronlauge sowie nachfolgende Verdauung mit Pepsinsalzsäure die Darstellung eines Pigmentes, dessen chemische Analyse 56,47% C; 5,5% H; 29,52% O; 5,34% N und 3,17% S ergab. Dabei ist allerdings ungewiß, ob nicht durch die Behandlung mit konzentriertem Alkali am Pigmentmolekül Veränderungen erzeugt worden sind.

SALKOWSKI (1920) hat durch wiederholte alternierende Verdauung mit Pepsinsalzsäure und Entfettung mit Äther und Alkohol aus der Darmschleimhaut ein Pigment gewonnen, das eine positive NH_3 - und Pyrrolreaktion gab und für das er einen Schwefelgehalt von 1,38% ermittelte.

Eigene Untersuchungen

Methodik

Ausgangsmaterial unserer Untersuchungen war melanotische Dickdarmschleimhaut von 12 obduzierten Erwachsenen (Tabelle 1). Die Ausdehnung der Pigmentierung reichte jeweils bis zur Valvula Bauhini. Pigmentanomalien der Haut oder der sonstigen Schleimhäute lagen nicht vor. Es wurden nur solche Fälle ausgewählt, bei denen eine Blutung im Magen-Darm-Trakt auch nach der Anamnese nicht vorausgegangen war. Eine Ausnahme bildeten lediglich Fall Nr. 12 mit anamnestisch angegebenen Blutungen aus Oesophagusvaricen sowie Fall Nr. 5, bei dem nach dem Obduktionsbefund einer Ulcusnarbe im Duodenum intestinale Blutungen nicht sicher ausgeschlossen werden konnten. Diese Fälle wurden zur präparativen Pigmentdarstellung nicht mit verwertet.

Histochemische Untersuchungen

Fixierung der Schleimhaut in 10% mit CaCO_3 neutralisierter Formalinlösung sowie in Formol-Alkohollösung. Neben Paraffinschnitten Kryostatsschnitte von frischem und formolfixiertem Material. Vergleich mit Retina- und Herzmuskelschnitten. Geprüft wurden Fluoreszenz, Eisenreaktion, Dopareaktion, PAS-Reaktion, Bleichung mit H_2O_2 , Silberaffinität, Säurefestigkeit, Verhalten bei verschiedenen Succedanfärbungen (Kongorot, Azan, van Gieson, Goldner, Methylgrün-Pyronin, Volkmann, Schmorl), Verhalten gegenüber basischen Farbstoffen (Nilblausulfat, Kresylviolett, Toluidinblau, Methylenblau) sowie gegenüber Fettfarbstoffen (Sudan III, Scharlach R, Osmium, Fettsäure nach FISCHLER, Safranin, Cholesterin nach WINDAUS, Markscheiden nach WEIGERT). Bei den Reaktionen mit Silbernitrat, Wasserstoffperoxyd und Dioxyphenylalaninlösungen wurden Vergleichsserien mit Aqua dest. angesetzt.

Präparative Darstellung

Zur chemischen Untersuchung wurde die Darmschleimhaut möglichst sauber von der Submucosa abpräpariert und mit der Schere in kleine Stücke geschnitten. Die in destilliertem Wasser aufgeschwemmte Schleimhaut wurde bei 50000 U/min homogenisiert, das Homogenat zentrifugiert, der Bodensatz mit Aqua dest. ausgewaschen und nochmals homogenisiert. An der Oberfläche des Sedimentes sich absetzendes farbloses Material wurde jeweils durch Absaugen entfernt. Der Vorgang wurde so lange wiederholt, bis der Überstand nahezu klar blieb. Die erhaltene zähe schwarzbraune Masse wurde nach Zusatz einer doppelten Menge Aqua dest. nochmals homogenisiert.

Bei positivem Ausfall der Hellerschen Ringprobe oder Xanthoproteinreaktion wurde das Homogenat anschließend einer 5—36stündigen Trypsinverdauung bei pH 8,6 unterworfen. Das gewonnene, nach mehrfachem Waschen getrocknete Pigment stellte ein schwarzbraunes bis schwarz gefärbtes Pulver dar, dessen Stickstoffgehalt 7,98—8,35% gegenüber 9,9% bei dem unverdauten Material betrug.

Da elektronenoptisch zwischen dicht gelagerten Pigmentkörnchen noch Reste kollagener Fasern nachweisbar waren (Abb. 1), wurde das Material anschließend einer Inkubation mit Kollagenase bei 38° C für 4—24 Std ausgesetzt (Methode nach BURG und ORLOFF, 1962). Das nach mehrfachem Waschen nunmehr gewonnene Pigment stellte nach dem Trocknen ein staubartiges sehr feinkörniges Pulver dar, das bei den einzelnen Fällen farblich zwischen schwarzbraun und tiefschwarz variierte. Der Stickstoffgehalt dieses Pulvers betrug 8,4%. Die elektronenoptische Untersuchung ergab eine einheitliche Zusammensetzung (Abb. 2).

Nach dem gleichen Verfahren wurden Melanin aus Lebermetastasen eines Melanoblastom sowie nach dem Verfahren von HEIDENREICH und SIEBERT (1955) Lipofuscin aus der Leber gewonnen.

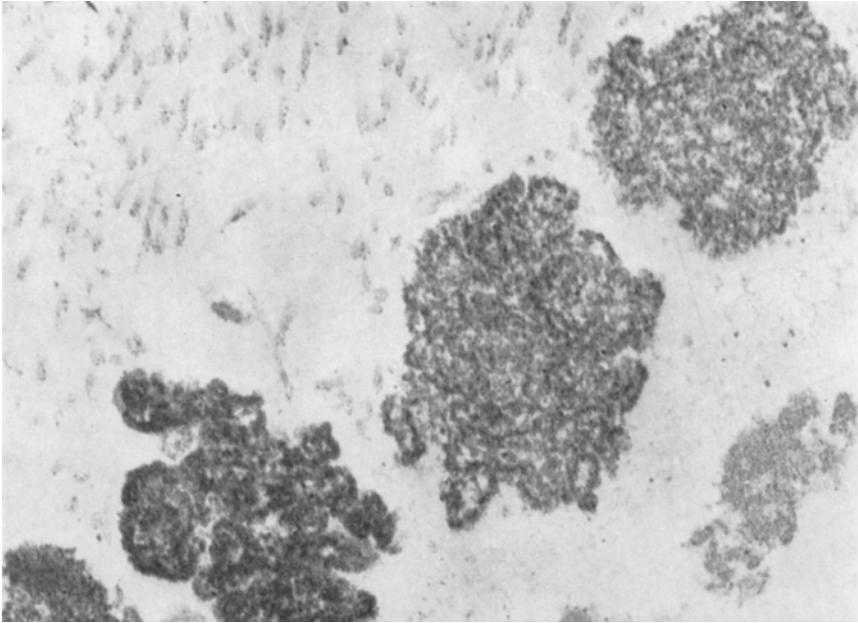


Abb. 1. Gewaschenes Pigment nach 8stündiger Trypsinverdauung. Zwischen den verschieden großen, zum Teil von einer Membran umgebenen Pigmentgranula reichlich kollagene Faserreste. Elektronenoptisch 67 500fach

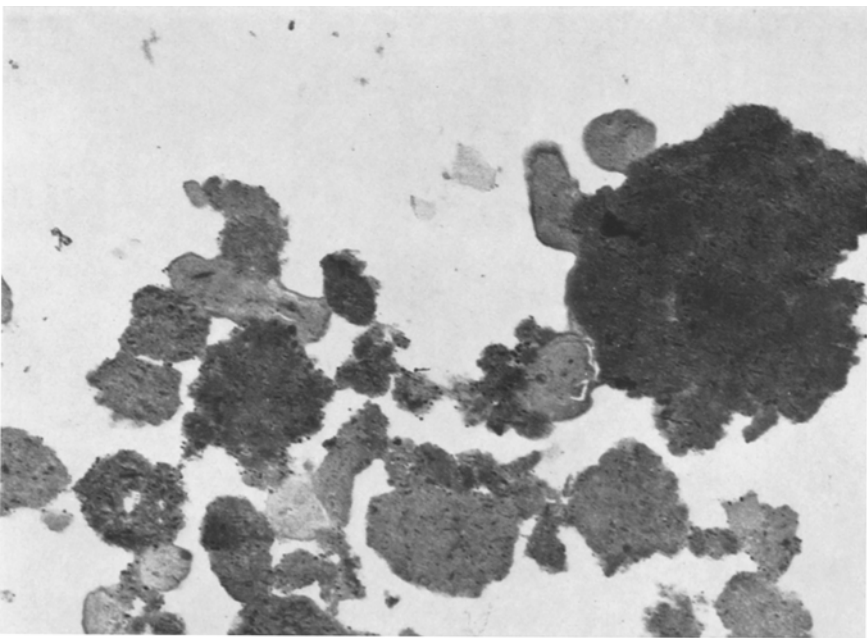


Abb. 2. Getrocknetes Pigment nach 4stündiger Kollagenaseverdauung. Elektronenoptisch 20 500fach

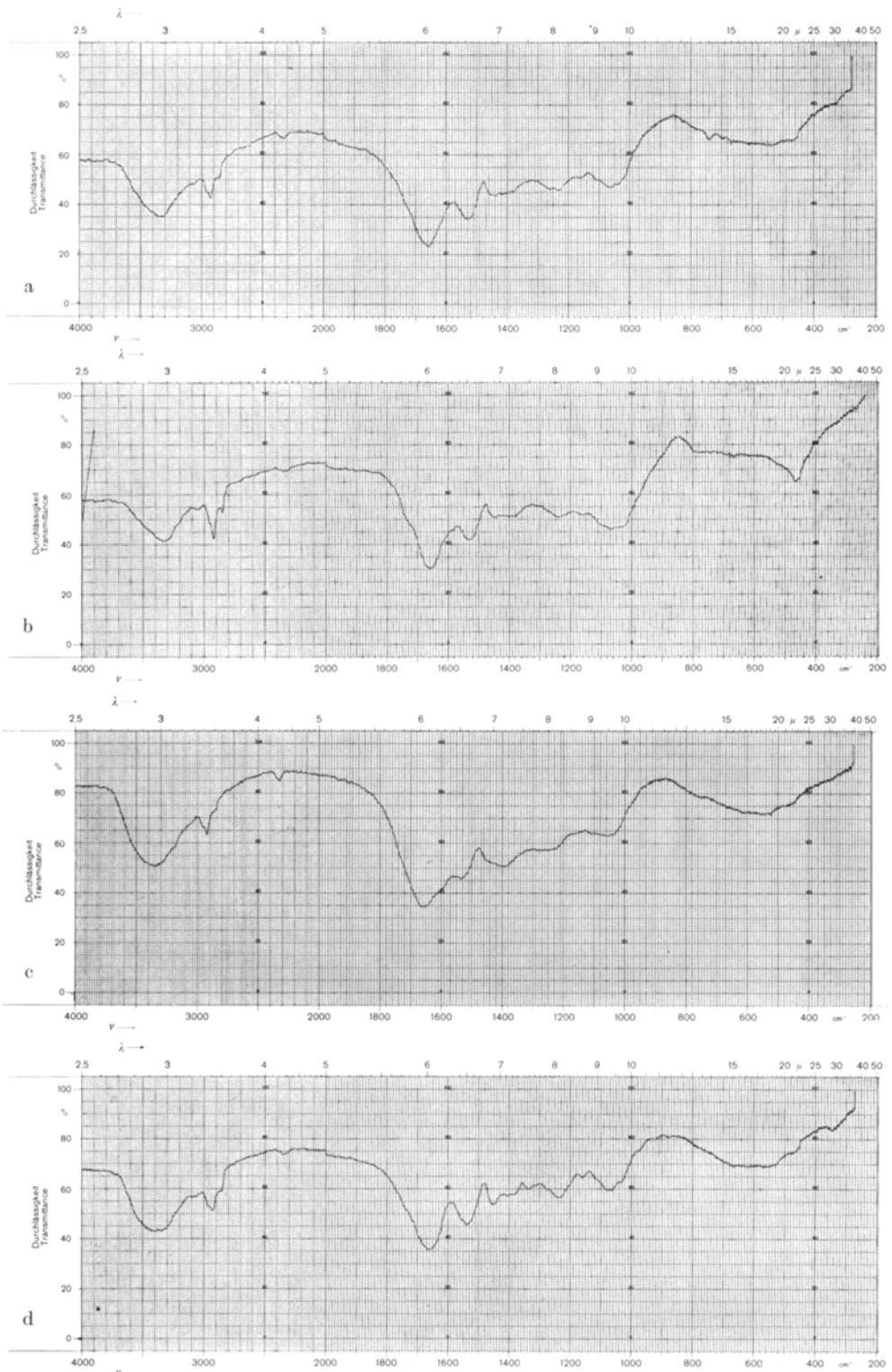


Abb. 3a—d. Ergebnisse der infrarotspektrophotometrischen Analyse. a Melanosepigment, dunkel; b Melanosepigment, hell; c Melanin aus einem Melanosarkom; d Lipofuscin aus Leber

Tabelle 1. *Untersuchungsgut*

| Nr. | Ge- schlecht | Alter (Jahre) | Grundleiden | Todesursache | Besonder- heiten des Magen-Darm- Traktes | Ana- mnestisch intestinale Blutung |
|-----|-----------------|------------------|--|---|--|---|
| 1 | ♀ | 89 | Mesaortitis syphi- litica | rechtsventri- kuläre Herz- insuffizienz | Divertikulose Sigma | nein |
| 2 | ♂ | 98 | chronische produk- tive Tbc in der re. Lunge mit broncho- gener Streuung | frische Bron- chopneumonien bei käsigen Pneumonien | — | nein |
| 3 | ♀ | 76 | allgemeine Arterio- sklerose, steno- sierende Coronar- gefäßsklerose, Herz- muskelschwelen | biventrikuläre Herzinsuffi- zienz | Divertikulose Sigma | nein |
| 4 | ♂ | 84 | Halswirbelfraktur, epidurale Blutung | kardiale Insuffizienz | gestieltes submuköses Myom (Duodenum) | nein |
| 5 | ♀ | 81 | Lungenemphysem, chronische Bron- chitis | Broncho- pneumonien | postpylorische Ulcusnarbe | nein |
| 6 | ♀ | 69 | Zustand nach Pal- lidotomie wegen Parkinsonismus | Broncho- pneumonien | — | nein |
| 7 | ♀ | 56 | stenosierende Coronargefäß- sklerose | akute links- ventrikuläre Herzinsuffi- zienz | starke Fett- resorption in duodenalen Lymphgefäßen | nein |
| 8 | ♂ | 61 | stenosierende Coronargefäß- sklerose | akute Coro- narinsuffizienz | — | nein |
| 9 | ♀ | 76 | coronarsklerotisches Schwielenherz, Lungenemphysem | fulminante Lungenarterien- embolie | — | nein |
| 10 | ♀ | 64 | Metastasen nach vor 4 Jahren radi- kal operiertem Mammacarcinom | biventrikuläre Herzinsuffi- zienz | — | nein |
| 11 | ♀ | 70 | stenosierende Coro- nargefäßsklerose, frischer Herzinfarkt mit Herzruptur und zweizeitiger Blutung | Herzbeutel- tamponade | alte ab- gelaufene Appendicitis und Peri- appendicitis | nein |
| 12 | ♂ | 62 | Lebercirrhose, pri- märes Lebercarci- nom, Oesophagus- varicenblutung, Leberinsuffizienz | linksventri- kuläres Herz- versagen, Lungenödem | Oesophagus- varicen | ja |

Chemische Untersuchungen

Löslichkeit. Geprüft wurde die Löslichkeit in konz. HCl und H₂SO₄, konz. NaOH und NH₄OH sowie einer Reihe organischer Lösungsmittel wie Alkohol, Äther, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Benzol, Toluol, Xylol, Terpeneol, Butanol, Methanol, Methylbenzoat, Isopropylalkohol, Glyzerinäther, Petroläther, Dioxan, Pyridin, Tetrahydrofuran, Essigsäure-äthylester und Paraffinum liquidum, jeweils über mehrere Tage.

Eisen- und Kupferbestimmung. Die Proben wurden 4 Std bei 600° geglüht, in wenig konz. HCl/HNO₃ gelöst und zur Messung im Perkin-Elmer-Atom-Absorptionsspektrophotometer mit Wasser verdünnt.

Infrarotanalyse. Die Pigmente wurden in einer Konzentration von 1—1,46 mg/300 mg in KJ gepreßt. Die Messung erfolgte über ca. 20 min im Bereich von 2,540 μ mit dem Gerät der Fa. Beckman¹.

Ergebnisse der histochemischen Untersuchung

In allen Fällen findet sich ein auf die Tunica propria der Schleimhaut beschränktes meist ziemlich grobscholliges Pigment, das sich im ungefärbten Präparat und im HE-Schnitt je nach der Dichte der Lagerung in allen Übergängen zwischen Goldgelb und Dunkelbraun darstellt.

Tabelle 2. *Histologisches und histochemisches Verhalten des Melanosepigmentes (Darmschleimhaut) im Vergleich zu Lipofuscin (Herzmuskel) und Melanin (Retina)*

| | Melanosepigment | Melanin | Lipofuscin |
|--|-------------------|--------------------|---------------------------------|
| Fluoreszenz | Ø | Ø | + |
| Basische Farbstoffe | | | |
| Nilblausulfat | grünblau | grasgrün | blau |
| Kresylviolett | braun | braungrün | grün |
| Toluidinblau | grünblau-blaugrün | braungrün-graublau | grün |
| Methylenblau | braun | | bräunlich |
| Fettfarbstoffe | | | |
| Sudan III | Ø | Ø | Ø bis (+) |
| Scharlach R | | | |
| Argentaffinität | | | |
| AgNO ₃ Staemmler | Ø | ((+)) | |
| AgNO ₃ Masson-Hamperl | (+) bis + | + | (+) |
| AgNO ₃ nach Entfettung | (+) bis + | + | (+) |
| Levaditi-Versilberung | (+) | (+) | (0) |
| Bleichung | | | |
| 3% H ₂ O ₂ , 48 Std | (+) | | |
| 3% H ₂ O ₂ , 5 Tage | + | + | |
| PAS-Reaktion | rotbraun-braunrot | Eigenfarbe (braun) | bräunliches bis leuchtendes Rot |
| Schmorlreaktion mit Acetonbehandlung nach LILLIE | blaugrün grün | blau grün | blau |

¹ Wir danken Herrn Dipl.-Chem. Dr. KASANG, Max-Planck-Institut für Biochemie München, für die bereitwillige Durchführung der infrarotspektrophotometrischen Analysen.

Über das Ergebnis der verschiedenen histochemischen Reaktionen gibt die Tabelle 2 Auskunft.

Die für Melanin als charakteristisch geltende Argentaaffinität ist für das Melanosepigment in geringerem Maße und inkonstant nachweisbar. Nach der Methode von MASSON-HAMPERL wird das Melanosepigment meist schwarzbraun gefärbt, Melanin nimmt dagegen eine tiefschwarze Farbe an.

Gegenüber basischen Farbstoffen ist die Reaktion des Darmpigmentes nicht immer eindeutig. Dagegen wird ebenso wie beim Lipofuscin in allen Fällen eine mehr oder weniger kräftig positive PAS-Reaktion beobachtet.

Die angewendeten Succedanfärbungen lassen keine zu ihrer Differenzierung brauchbare Reaktion der Pigmente erkennen. Die für das Lipofuscin manchmal schwach nachweisbare Anfärbbarkeit mit Fettfarbstoffen wird für Melanosepigment ebenso wie für Melanin nicht erzielt.

Eisenreaktion, Reaktion auf Säurefestigkeit nach ZIEHL-NEESEN und Dopa-Reaktion sind in allen Fällen negativ.

Während Lipofuscin gelbbraune Eigenfluoreszenz aufweist, fluoresciert Melanosepigment ebenso wie Melanin nicht.

Ergebnis der chemischen Untersuchung

Das gereinigte und getrocknete Pigment war nach 2 Tagen in 37% HCl und 98% H_2SO_4 gelöst. Schwächere Löslichkeit beobachteten wir in 33% NaOH und 25% NH_4OH . Keine Löslichkeit fanden wir in 20% NaOH, absolutem und 50—96% Alkohol, Äther, Äther-Alkohol 1:1, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Benzol, Toluol, Xylol, Terpeneol, Butanol, Methanol, Methylbenzoat, Isopropylalkohol, Glycerinäther, Petroläther, Essigsäureäthylester, Dioxan, Pyridin, Tetrahydrofuran und Paraffinum liquidum.

Wenn man von der wahrscheinlich mit Strukturänderung einhergehenden Löslichkeit in konzentrierten Säuren und Basen absieht, erweist sich das Pigment als unlöslich in allen üblichen Lösungsmitteln. Dem entspricht auch seine histologisch nachweisbare weitgehende Resistenz gegenüber autolytischen Veränderungen und sein sehr träges Verhalten bei den meisten histochemischen Reaktionen.

Das vergleichsweise untersuchte Melanin aus einem Melanoblastom scheint sich aus zwei verschiedenen Komponenten zusammenzusetzen, von denen die eine in Wasser eine feine Suspension ergibt (Tyndall-Phänomen), aus der das Pigment durch konz. Salzsäure ausgefällt werden kann; die andere verhält sich ebenso wie das Melanosepigment. Lichtoptisch besteht zwischen beiden Arten von Pigmentgranula kein erkennbarer Unterschied.

Das Melanosepigment wurde auf Grund seines makroskopischen Aussehens als helles und dunkles Pigment getrennt auf Cu und Fe sowie infrarotspektrophotometrisch untersucht. Beide Melanosepigmente stehen hinsichtlich ihres Kupfer- und Eisengehaltes dem Melanin sehr nahe (Tabelle 3). Die Transmissionskurven zeigen Transmissionsmaxima bei 840 und 2000 cm^{-1} und Minima bei 1060, 1530, 1660, 2920, 3340 cm^{-1} . Charakteristisch für beide Kurven ist das Plateau zwischen 1800—2800 cm^{-1} . Lediglich beim hellen Pigment tritt ein zusätzliches Transmissionsminimum bei 460 cm^{-1} auf. Die Transmissionskurven für

Tabelle 3. Kupfer- und Eisengehalt der isolierten Pigmente

| | mg/Fe/g | mg Cu/g |
|--|---------|---------|
| <i>Melanosepigment</i> , hell (Darm) | 2,40 | 13,60 |
| <i>Melanosepigment</i> , dunkel (Darm) | 1,60 | 18,50 |
| <i>Lipofuscin</i> (Leber) | 0,97 | 2,60 |
| <i>Melanin</i> (Melanoblastom) | 2,35 | 16,00 |

Lipofuscin und Melanin stimmen mit den Kurven der Melanosepigmente nahezu überein, Lipofuscin etwas besser als Melanin.

Diskussion

Das Resultat der histochemischen Untersuchung entspricht weitgehend demjenigen von HUECK (1921), HENSCHEN und BERGSTRAND (1913) sowie HAMPERL (1934). Es scheint dafür zu sprechen, daß das Pigment bei der Melanosis coli eine Sonderstellung einnimmt, denn es bestehen sowohl gegenüber dem Lipofuscin des Herzmuskels als auch gegenüber dem Melanin der Retina Unterschiede.

Nicht bestätigt werden können die Ergebnisse von HIERONYMI (1954), der eine negative Reaktion des Melanosepigmentes gegenüber Wasserstoffperoxyd, basischen Farbstoffen und PAS-Reagens angibt. Die Bleichung durch H_2O_2 erfolgt bei uns zwar äußerst langsam, ist aber in allen Fällen nach 48—96 Std eindeutig nachweisbar. Ein Unterschied gegenüber der Bleichbarkeit des Melanins kann dabei nicht festgestellt werden.

Die positive PAS-Reaktion soll nach BARKA und ANDERSON (1963), die sich auf die Ergebnisse elektronenoptischer Untersuchungen stützen, im Falle des Lipofuscins auf die Membran der Lysosomen, in denen das Pigment abgelagert ist, zurückzuführen sein. Die Frage, ob das Melanosepigment, das nach unseren Beobachtungen eine schwach positive PAS-Reaktion gibt, in ähnlichen Zellorganellen abgelagert ist, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

Die von BATTLE (1913) und LUBARSCH (1929) in einem Teil ihrer Untersuchungen nachgewiesene positive Eisenreaktion konnten wir in keinem Fall beobachten.

Die Kupfer- und Eisenanalysen ergeben für das isolierte Melanosepigment gegenüber dem Lipofuscin eindeutige Unterschiede. Der hohe Kupfergehalt des Melanosepigmentes deutet auf seine Herkunft aus kupferbindenden Proteinen hin. Mit dieser Vorstellung läßt sich der Befund gut übereinstimmender Transmissionskurven für isoliertes Lipofuscin, Melanin und Melanosepigment durchaus vereinbaren, wenn man einen ähnlichen Pigmentkern dieser Farbstoffe annimmt.

Zu ähnlichen Übereinstimmungen der Transmissionskurven kam PARKENBERG (1966) für das in situ untersuchte Pigment aus menschlicher Retina, Haut, Darmschleimhaut und Herzmuskulatur. HARDMEIER ermittelte 1965 an Kalilaugenextrakten von Melanosepigment bei der UV-Spektrophotometrie die gleichen Absorptionskurven wie 1954 MEYER-ARENDT und BAYER für das Melanin.

Die Melanine sollen dreidimensional angeordnete aus verschiedenen Monomeren aufgebaute hochpolymere Stoffe sein (FOX und KUHNOW, 1965 u.a.). Über deren Aufbau und funktionelle Bedeutung sind gerade in den letzten Jahren einige neue Erkenntnisse gewonnen worden.

Als allgemein anerkannt kann die Vorstellung gelten, daß das eigentliche Melaninpigment einer Proteinmatrix angelagert ist (BAKER et al., 1960; BRAUNSTEINER, 1958 u.a.). Elektronen-

optisch wurden verschiedene cytoplasmatische Bestandteile in den Pigmentkörnern nachgewiesen. So fanden LINDNER (1957), POCHE (1958), HAMMERBECK (1959/60) in „Fusinkörnern“ aus menschlichem Herzmuskel Mitochondrien und Cytosomen neben den eigentlichen Pigmentkörnern, Granula und elektronendichten Körpern. WOODS et al. (1948/49) glaubten an eine Pigmententstehung in den Mitochondrien; DEBUY et al. (1948) hielten die Granula aus Mäusemelanomen, in denen sie Cytochromoxydase, Succinodehydrogenase und Cytochrom C nachwiesen, für modifizierte Mitochondrien. Gegen diese Annahme sprechen Untersuchungen von STEIN (1955) und BAKER et al. (1960), die bei chemischer Analyse von Mitochondrien und Melaningranula zwischen beiden signifikante Unterschiede gefunden haben, sowie elektronenoptische Beobachtungen (MISHIMA, 1964).

Nach Untersuchungen von GÜTTES und BRANDT (1961) bestehen enge Beziehungen des Pigmentes zum Golgi-Apparat. Neuere Arbeiten lassen vermuten, daß Melanin in Form „unreifer“ Vorstufen im Ergastoplasma gebildet und von dort langsam an den Golgi-Apparat abgegeben wird, wo weitere Polymerisation erfolgen soll (WELLINGS und SIEGEL, 1963; HIRSCH et al., 1965).

Nach Electron spin resonance-Untersuchungen besitzt Melanin einen hohen Gehalt an freien Radikalen, der der Intensität der Schwarzfärbung parallel zu gehen scheint (MASON et al., 1960; SWAN, 1963). Diese freien Radikale sind in der Hauptsache chinoiden Gruppen im Melanin zuzuordnen, die nach neueren Untersuchungen (MASON, 1960; HIGGINS, 1960 u. a.) in einer stabilisierten semichinoiden Form vorliegen sollen. Sowohl sein ausgesprochenes Strahlenabsorptionsvermögen als auch die seinem besonderen Aufbau nach anzunehmende Fähigkeit, als Elektronenaustauscher zu wirken, lassen die biologische Bedeutung der Melanine als Schutzmechanismen gegen Strahlen sowie gegen Oxydations- und Reduktionsvorgänge im Gewebe, die mit der Freisetzung von freien Radikalen einhergehen, vermuten (MASON et al., 1960; DAIN et al., 1964, u. a.).

Betrachtet man unter den so gewonnenen Gesichtspunkten noch einmal die Ergebnisse der histochemischen Untersuchung, so lassen sich einige der zunächst als widersprüchlich erscheinenden Besonderheiten nunmehr erklären.

Die Argentaffinität ist nach LILLIE (1957) auf die Gegenwart von Hydrochinongruppen zurückzuführen, welche reversibel zu Chinongruppen oxydiert werden können unter gleichzeitiger Reduktion von AgNO_3 zu Ag. Die nach unseren Untersuchungen lediglich quantitativen Unterschiede des Verhaltens der verschiedenen Pigmente gegenüber Silbernitrat könnten ebenso wie die unterschiedliche Farbtiefe mit einer variierenden Anzahl freier Radikale in Zusammenhang gebracht werden. Nach dem Verhalten gegenüber Fettfarbstoffen erscheint es darüber hinaus wahrscheinlich, daß die Art der Ablagerung in Zellorganellen bei den einzelnen untersuchten Pigmenten verschieden ist.

Die unterschiedliche Fluoreszenz spricht nicht gegen eine nahe chemische Verwandtschaft der Pigmente, zumal Isomere ein und desselben Stoffes ein hinsichtlich der Fluoreszenz unterschiedliches Verhalten aufweisen können (HAMPERL, 1934).

Von allen übrigen noch angeführten histologischen und histochemischen Reaktionen kann vermutet werden, daß sie weniger von dem Pigment selbst als von den verschiedenen Umgebungsfaktoren abhängig sind, womit der unterschiedliche Reaktionsausfall in den einzelnen Fällen unserer Untersuchungen ebenso zu erklären wären wie die teilweise widersprechenden Angaben in der einschlägigen Literatur.

Wahrscheinlich handelt es sich sowohl bei Melanosepigment als auch bei Melanin um proteinogene Pigmente, die aus Kupferproteinen stammen oder Kupfer stark binden.

Literatur

- ABDERHALDEN, E.: Notizen. I. Über ein bei der Melanose der Dickdarmschleimhaut beteiligtes Pigment. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **85**, 92—95 (1913).
- BACHMANN, K.-D.: Über das Lipofuscin der Leber. *Virchows Arch. path. Anat.* **323**, 133—142 (1953).
- BAKER, R. V., M. S. BIRBECK, H. BLASCHKO, T. B. FITZPATRICK, and M. SELJI: Melanin granules and mitochondria. *Nature (Lond.)* **187**, 392—394 (1960).
- BARKA, T., and P. J. ANDERSON: *Histochemistry. Theory, practice, and bibliography.* New York-Evanston-London: Hoeber Med. Divis. 1963.
- BARNICOT, N. A., and M. S. C. BIRBECK: The electron microscopy of human melanocytes and melanin granules. In: *Montagna's and Elli's biology of hair growth*, p. 239—253. New York: Academic Press 1958.
- BARRENSCHEN, H. K., u. H. PRINZ: Über Melanogen und Melanin. *Biochem. Z.* **285**, 130—149 (1936).
- BATTLE, H. W.: The black (pigmented) appendix. *Lancet* **1913 II**, 135—137.
- BIRBECK, M. S. C., and N. A. BARNICOT: Electron microscope studies on pigment formation in human hair follicles. In: *Pigment cell biology*, ed. M. GORDON, p. 549—561. New York: Academic Press 1959.
- BLASCHKE, A.: Mitteilung über eine Erkrankung der sympathischen Geflechte der Darmwand. *Virchows Arch. path. Anat.* **94**, 136—147 (1883).
- BLOCK, L. H., and B. L. GREENE: Melanosis coli. *Rev. Gastroent.* **8**, 393—399 (1941).
- BLOIS, M. S.: On the spectroscopic properties of some natural melanins. *J. invest. Derm.* **47**, 162—166 (1966).
- BOCKUS, H. L., J. H. WILLARD, and J. BANK: Melanosis coli, the etiologic significance of the anthracene laxatives; a report of 41 cases. *J. Amer. med. Ass.* **101**, 1—6 (1933).
- BONNER, T. G., and A. DUNCAN: Infrared spectra of some melanins. *Nature (Lond.)* **194**, 1078—1079 (1962).
- BRAHN, B.: Das melanotische Pigment. *Virchows Arch. path. Anat.* **253**, 661—664 (1924).
- , u. M. SCHMIDTMANN: Pigmentstudien. Zur Kenntnis des Melanins und des braunen Abnutzungspigmentes. *Virchows Arch. path. Anat.* **227**, 137—152 (1920).
- — Zur Pigmentfrage. *Virchows Arch. path. Anat.* **239**, 488—490 (1922).
- BRAUNSTEINER, H., F. MLCZOCZ u. F. PAKESCH: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Struktur von intracellulärem Melanin beim Melanoblastom. *Klin. Wschr.* **36**, 262—263 (1958).
- BURG, M. B., and J. ORLOFF: Oxygen consumption and active transport in separated renal tubules. *Amer. J. Physiol.* **203**, 327—330 (1962).
- BUY, H. G. DE, M. W. WOODS, D. BURK, and M. D. LACKEY: Enzymatic activities of isolated amelanotic and melanotic granules of mouse melanomas and a suggested relationship to mitochondria. *J. nat. Cancer Inst.* **9**, 325—335 (1948).
- CABANNE, F., et P. COUDERC: Melanose colique généralisée idiopathique. *Ann. Anat. path.* **8**, 609—626 (1963).
- CIACCIO, C.: Contributo all'istochimica dei lipoidi. II. Ulteriori ricerche tendenti ad indagarne la struttura dei chromolipoidi. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **27**, 874—876 (1951).
- CORWIN, W. C.: Melanosis coli. An attempt at its experimental production by repeated administration of cascara sagrada. *Ann. Surg.* **110**, 461—464 (1939).
- Melanosis coli, an attempt at its experimental production and elimination in 23 cases. *Surgery* **29**, 631—637 (1951).
- CRUYELHIER, J.: *Anatomie pathologique du corps humain*, vol. 19. Paris, t.i. livraison 1829—1835.
- DAIN, A., G. A. KERKUT, R. C. SMITH, K. A. MUNDAY, and T. H. WILMSHURST: The interaction of free radicals in protein and melanin. *Experientia (Basel)* **20**, 76—78 (1964).
- DALLDORF, G. J. G.: Melanosis coli. *Beitr. path. Anat.* **78**, 225—230 (1927).
- DALTON, A. J., and M. D. FELIX: Phase contrast and electron micrography of the Cloudman S 91 mouse melanoma. In: *Pigment cell growth*, ed. M. GORDON. New York: Academic Press Inc. 1953.
- DEDULLEN, G.: Melanosis of the colon. *T. Gastro-ent.* **5**, 460—467 (1962).

- EICHNER, D.: Zur Histologie und Topochemie der Netzhaut des Menschen. *Z. Zellforsch.* **48**, 137—186 (1958).
- ETIENNE-MARTIN, P., C. KLEPPING, P. BEGIN, and J. GUERBIN: Colic melanosis, apropos of an observation. *Appar. Dig.* **50**, 946—953 (1961).
- FORDTRAN, J. S., W. B. SCROGGIE, and D. E. POLTER: Colonic absorption of tryptophan metabolites in man. *J. Lab. clin. Med.* **64**, 125—132 (1964).
- FOX, B.: Lipofuscino of the gastrointestinal tract in man. *J. clin. Path.* **20**, 806—813 (1967).
- FOX, D. L., and K. P. KUCHNOW: Reversible, light-screening pigment of elastobranche eyes: Chemical identity with melanin. *Science* **150**, 612—614 (1965).
- FRANCOIS, J., M. RABAËY, and A. LAGASSE: Electron microscopic observations on choroid, pigment epithelium and pecten of the developing chick in relation to melanin synthesis. *Ophthalmologica (Basel)* **146**, 415—431 (1963).
- FÜRTH, O. v.: Physiologische und chemische Untersuchungen über melanotische Pigmente. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **15**, 617—646 (1904).
- GEDIGK, P., u. R. FISCHER: Über die Entstehung von Lipopigmenten in Muskelfasern. Untersuchungen beim experimentellen Vitamin E-Mangel der Ratte und an Organen des Menschen. *Virchows Arch. path. Anat.* **332**, 431—468 (1959).
- GHADIALLY, F. N., and E. W. PARRY: An electron-microscope and histochemical study of melanosis coli. *J. Path. Bact.* **92**, 313—317 (1966).
- GRAEV, M.: La lipofuscinosi dell'intestino e i suoi rapporti con la melanosì (classificazione delle pigmentazioni anomale del canale alimentare). *Arch. De Vecchi Anat. pat.* **22**, 233—253 (1954).
- GÜTTES, E.: Über die Beeinflussung der Pigmentgenese im Auge des Hühnerembryos durch Röntgenstrahlen und über die Herkunft der Pigmentgranula. *Z. Zellforsch., Abt. Histochem.* **39**, 260—275 (1953).
- , and S. M. BRANDT: Dopa reaction and Golgi material in the retinal pigment epithelium of chick embryos. *J. Histochem. Cytochem.* **9**, 457—458 (1961).
- HAMMERBECK, W.: Die Fuscinkörner (Abbauskörner) des menschlichen Herzmuskels. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **100**, 305—326 (1959/1960).
- HAMPERL, H.: Die Fluoreszenzmikroskopie menschlicher Gewebe. *Virchows Arch. path. Anat.* **292**, 1—51 (1934).
- HARDMEIER, TH.: Zur Differentialdiagnose der Pigmentierungen des Verdauungstrakts. *Path. Microbiol.* **28**, 437—442 (1965).
- HEIDENREICH, O., u. G. SIEBERT: Untersuchungen an isoliertem, unverändertem Lipofuscin aus Herzmuskulatur. *Virchows Arch. path. Anat.* **327**, 112—126 (1955).
- HEINLEIN, H.: Über das Pigment der Melanosis coli. *Beitr. path. Anat.* **107**, 187—198 (1942).
- HENSCHEN, F., u. H. BERGSTRAND: Studien über die Melanose der Darmschleimhaut. *Beitr. path. Anat.* **56**, 103—174 (1913).
- HERXHEIMER, G., u. G. JORNS: Über Pigmentbildung und Regeneration in Lebertransplantaten. *Beitr. path. Anat.* **75**, 157—180 (1926).
- HIERONYMI, G.: Ein Beitrag zur Kenntnis der Melanosis coli. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **91**, 428—433 (1954).
- HIGGINS, H. C.: On the origin of the free radical property of melanins. *Arch. Biochem.* **86**, 231—232 (1960).
- HIRSCH, H. M., A. S. ZELICKSON, and J. F. HARTMANN: Localization of melanin synthesis within the pigment cell: Determination by a combination of electron microscopic autoradiography and topographic planimetry. *Z. Zellforsch., Abt. Histochem.* **65**, 409—419 (1965).
- HUECK, W.: Pigmentstudien. *Beitr. path. Anat.* **54**, 68—232 (1912).
- Die pathologische Pigmentierung. In: KREHL-MARCHANDS Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. III/2, S. 453—455. Leipzig: Hirzel 1921.
- IPFEN, H.: Zur Problematik der Pigmentforschung. *Dtsch. med. Wschr.* **89**, 798—800 (1964).
- KÄMMERER, H.: Über das durch Darmbakterien gebildete Porphyrin und die Bedeutung der Porphyrinprobe für die Beurteilung der Darmfäulnis. *Dtsch. Arch. klin. Med.* **145**, 257—284 (1924).
- KISCH, B.: Der ultramikroskopische Bau von Herz und Kapillaren. Darmstadt: D. Steinkopff 1957.

- KÖNIG, P.: Untersuchungen am Abnutzungspigment des Herzens und der Leber. *Beitr. path. Anat.* **75**, 181—215 (1926).
- KUTSCHERA-AICHBERGEN, H.: Über Melanin und über das braune Abnutzungspigment. *Frankfurt. Z. Path.* **27**, 21—55 (1922).
- LEARNER, A. B., and T. B. FITZPATRICK: Biochemistry of melanin formation. *Physiol. Rev.* **30**, 91—126 (1950).
- LIGNAC, G. O. E.: Über sogenannte „melanosis“ coli. *Krankheitsforschung* **2**, 162—174 (1926).
- LILLIE, R. D.: Melanosis mucosae appendicis vermiformis. *Amer. J. Path.* **7**, 701—712 (1931).
- The basophilia of melanins. *J. Histochem. Cytochem.* **3**, 453—454 (1955).
- Metal reduction reactions of the melanins. *Histochemical studies. J. Histochem. Cytochem.* **5**, 325—333 (1957).
- The xanthohydrol reaction for pyrroles and indoles in histochemistry. *Zymogen granules, lens, enterochromaffin and melanins. J. Histochem. Cytochem.* **5**, 188—195 (1957).
- Investigations on the structure of the enterochromaffin substance. *J. Histochem. Cytochem.* **9**, 184—189 (1961).
- , and J. C. GEER: On the relation of enterosiderosis pigments of man and guinea pig. Melanosis and pseudomelanosis of colon and villi and the intestinal iron uptake and storage mechanism. *Amer. J. Path.* **47**, 965—1009 (1965).
- , and H. YAMADA: Histochemical studies on the neuromelanins. *Okajimas Folia anat. jap.* **36**, 155—163 (1960).
- LINDNER, E.: Die submikroskopische Morphologie des Herzmuskels. *Z. Zellforsch.* **45**, 702—746 (1957).
- LISSITZKY, S., and M. ROLLAND: New intermediate of melanogenesis in vitro. *Nature (Lond.)* **193**, 881—882 (1962).
- LUBARSCH, O.: Über fetthaltige Pigmente. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **13**, 881—883 (1902).
- Über das sogenannte Lipofuscin. *Virchows Arch. path. Anat.* **239**, 491—503 (1922).
- , u. H. BORCHARDT: Die Melanosis (ochronosis) coli. In: *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie*, Bd. IV/3, S. 75—83, 1929.
- MAASS, F.: Zur Kenntnis des körnigen Pigmentes im menschlichen Körper. *Arch. mikr. Anat.* **34**, 452—510 (1889).
- MARAIS, O. A. S.: Melanosis coli. *S. Afr. med. J.* **31**, 519—520 (1957).
- MASON, H. S.: Structure of melanins. In: *Pigment cell biology*, p. 563—582. New York: Academic Press 1959.
- D. J. E. INGRAM, and B. ALLEN: The free radical, property of melanins. *Arch. Biochem.* **86**, 225—230 (1960).
- McFARLAND, W. L.: Pigmentation of the hind gut. *J. Amer. med. Ass.* **62**, 1946—1952 (1917).
- MEYER-ARENDET, J., u. M. BAYER: Absorptionsspektrum von Melaninpigment. *Experientia (Basel)* **10**, 371 (1954).
- MINALE, L., E. FATTORUSSO, G. CIMINO, S. DE STEFANO e R. A. NICOLAUS: Struttura e biogenesi delle feomelanine. Nota III. Prodotti di degradazione. *Estr. Gazz. Chim. Ital.* **97**, 1636—1663 (1967).
- MISHIMA, Y.: Electron microscopic cytochemistry of melanosomes and mitochondria. *J. Histochem. Cytochem.* **12**, 784—790 (1964).
- MITSDA, DR.: Untersuchungen über Transplantation und Explantation von Lebergewebe unter besonderer Berücksichtigung der Pigmentfrage. *Virchows Arch. path. Anat.* **248**, 91—100 (1924).
- NEUMANN, E.: Beiträge zur Kenntnis der pathologischen Pigmente. *Virchows Arch. path. Anat.* **111**, 25—59 (1888).
- NICOLAUS, R. A.: The biogenesis of melanins. *Rass. Med. sper.* **9**, Suppl. 1, IX (1962).
- NIKLAS, F.: Über den Nachweis einer Oxydase im melanotischen Dickdarm. *Münch. med. Wschr.* **61**, 1332—1333 (1914).
- OBERNDORFER, S.: Pigment und Pigmentbildung. *Ergebn. allg. Path. path. Anat.* **12**, 460—498 (1908).
- Die pathologischen Pigmente. *Ergebn. allg. Path. path. Anat.* **19**, 47—146 (1921).
- PAPPENHEIMER, A. M., and J. VIKTOR: „Ceroid“ pigment in human tissues. *Amer. J. Path.* **22**, 395—413 (1946).

- PARKENBERG, H.: The pigment in the substantia nigra in Parkinsonism. Microspectrophotometric comparison with other sources of human pigments. *Brain Res.* **2**, 173—180 (1966).
- PERLS, M.: Nachweis von Eisenoxyd in gewissen Pigmenten. *Virchows Arch. path. Anat.* **39**, 42—48 (1867).
- PICK, L.: Über die Ochronose. *Berl. klin. Wschr.* **43**, 478—482 (1906).
- Über die Melanose der Dickdarmschleimhaut. *Berl. klin. Wschr.* **48**, 840—844 (1911).
- , u. B. BRAHN: Das Pigment der Melanosis coli und seine chemische Darstellung aus dem Organ. *Virchows Arch. path. Anat.* **275**, 37—49 (1929).
- PIRINGER-KUCHINKA, A.: Zur Kenntnis der Melanosis coli. *Virchows Arch. path. Anat.* **322**, 433—441 (1952).
- PITT, G. N.: Colon pigmented black throughout with lead. *Trans. path. Soc. Lond.* **42**, 109 (1891).
- POCHE, R.: Submikroskopische Beiträge zur Pathologie der Herzmuskelzelle bei Phosphorvergiftung, Hypertrophie, Atrophie und Kaliummangel. *Virchows Arch. path. Anat.* **331**, 165—248 (1958).
- PORTER, M. F.: Coincident cancer and melanosis of the bowel. *Surg. Gynec. Obstet.* **43**, 744—745 (1926).
- PROTA, G., e R. A. NICOLAUS: Struttura e biogenesi delle feomelanine. Nota I. Isolamento e proprietà dei pigmenti delle piume. *Estr. Gazz. Chim. Ital.* **97**, 665—684 (1967).
- G. SCHERILLO, E. NAPOLANO e R. A. NICOLAUS: Struttura e biogenesi delle feomelanine. Nota II. Sulla reazione tra o. chinoni e cisteina. *Estr. Gazz. Chim. Ital.* **97**, 1451—1478 (1967).
- QUAST, P.: Beiträge zur Histologie und Cytologie der normalen Zirbeldrüse des Menschen. I. Das Parenchypigment der Zirbeldrüse. Zugleich ein Beitrag zur Morphologie und Mikrochemie der Abnutzungspigmente. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **23**, 335—434 (1930).
- RODEN, D.: Melanosis coli, a pharmacological study. Its experimental production in monkeys. *Irish J. med. Sci.* **9**, 654—674 (1940).
- ROLLESTON, H. D.: Colon pigmented from mercury. *Trans. Path. Soc. Lond.* **43**, 69—79 (1882).
- ROPSHAW, H. J.: Melanogenesis with special reference to sulphydrils and protamines. *Amer. J. Physiol.* **103**, 535—552 (1933).
- SALKOWSKI, E.: Über die Darstellung und einige Eigenschaften des pathologischen Melanins. *Virchows Arch. path. Anat.* **227**, 121—137 (1920).
- SAMENIUS, B.: The clinical importance of melanosis coli. *Proc. roy. Soc. Med.* **52** (Suppl.), 105—106 (1959).
- SCHEEL, K.: Untersuchungen über das braune Pigment (Lipofuscin) in der Leber. *Frankfurt. Z. Path.* **52**, 265—275 (1938).
- SCHMIDT, M. B.: Über die Verwandtschaft der hämatogenen und autochthonen Pigmente und deren Stellung zum sogenannten Hämosiderin. *Virchows Arch. path. Anat.* **115**, 397—459 (1889).
- Über Pigmentbildung in den Tonsillen und im Processus vermiformis. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **11**, 24—29 (1907).
- SCHRODT, G. R.: Melanosis coli. A study with the electron microscope. *Dis. Colon Rect.* **6**, 277—283 (1963).
- SEHRT, E.: Zur Kenntnis der fetthaltigen Pigmente. *Virchows Arch. path. Anat.* **147**, 248—268 (1904).
- SIMON, W. V.: Über Pigmentierungen im Darm, mit besonderer Berücksichtigung des Wurmfortsatzes. *Frankfurt. Z. Path.* **3**, 180—219 (1909).
- SOLGER, F. B.: Dickdarmmelanose. *Inaug.-Diss. Greifswald* (1898).
- SPEARSE, G. S.: Melanosis coli. Experimental observations on its production and elimination in 23 cases. *Surgery* **82**, 631—637 (1951).
- STAEMMLER, M.: Untersuchungen über autogene Pigmente. *Virchows Arch. path. Anat.* **253**, 459—471 (1924).
- STEIN, W. D.: Chemical composition of the melanin granule and its relation to the mitochondrion. *Nature (Lond.)* **175**, 256—257 (1955).
- STEWART, M. J., and E. M. HICKMAN: Observations on melanosis coli. *J. Path. Bact.* **34**, 61—72 (1931).

- SÜLLMANN, H.: Auge und Tränen. In: Physiologische Chemie (FLASCHENTRÄGER-LEHNARTZ), Bd. II/2a. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.
- SWAN, G. A.: Chemical structure of melanins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **100**, 1005—1019 (1963).
- VIRCHOW, R.: Die pathologischen Pigmente. *Virchows Arch. path. Anat.* **1**, 379, 407 (1847).
- WELLINGS, S. R., and B. V. SIEGEL: Electron microscopic studies on the subcellular origin and ultrastructure of melanin granules in mammalian melanomas. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **100**, 548—568 (1963).
- WHALEY, T. R.: Melanosis coli. *Canad. med. Ass. J.* **39**, 378 (1938).
- WHITE, L. P.: Melanin. A naturally occurring cation exchange material. *Nature (Lond.)* **182**, 1427—1428 (1958).
- WILLARD, J. H., and T. J. SHUTT: Melanosis coli in a boy aged two and one-half years. *Amer. J. dig. Dis.* **5**, 693—695 (1938).
- WILLIAMS, CH. T.: Black deposit in the large intestine from the presence of mercury. *Trans. Path. Soc. Lond.* **18**, 111—114 (1867).
- WOODS, M. W., DU H. G. BUY, D. BURK, and M. L. HESSELBACH: Cytological studies on the nature of the cytoplasmatic particulates in the Cloudman S 91 Mouse melanoma, the derivated algire S. 91 A partially amelanotic melanoma, and the Harding-Passey mouse melanoma. *J. nat. Cancer Inst.* **9**, 311—323 (1948/49).
- ZOBEL, A. J., and D. A. SUSNOW: Melanosis coli, its clinical significance. *Arch. Surg.* **30**, 974—979 (1935).

Dr. ANNEMARIE VOGEL
Universitäts-Kinderklinik
8700 Würzburg, Josef-Schneider-Str. 2