

Aus dem Institut für Gerichtliche Medizin der Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. WOLFGANG LAVES).

Das postmortale Verhalten der Gallenfarbstoffe in der Blasengalle.

Von

KARL THOMA.

(Eingegangen am 25. September 1947.)

I. Einleitung.

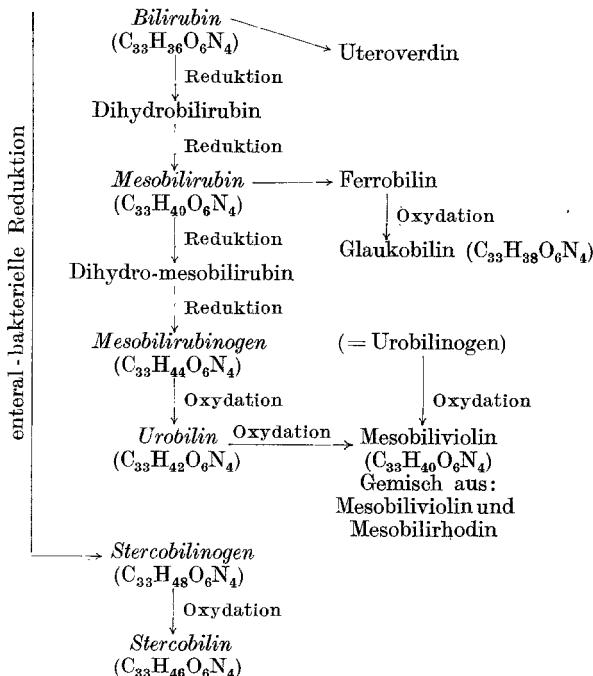
Dem Studium der Gallenfarbstoffe als biologischen Abbauprodukten des Blutfarbstoffes, dessen Konstitution von HANS FISCHER und Mitarbeitern¹ aufgeklärt wurde, hat man stets von medizinischer wie von chemischer Seite besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Ihr wichtigster Vertreter ist das Bilirubin. Es findet sich normalerweise in der Galle, in geringer Menge im Darmtractus und im Serum des Menschen. Das Bilirubin verdankt seine Entstehung dem oxydativen Abbau des Blutfarbstoffes, der vor allem in der Leber, daneben aber auch im retikuloendothelialen System erfolgt². Auch sonst kann Bilirubin überall dort entstehen, wo Blutfarbstoff verarbeitet wird, wie H. FISCHER und F. REINDEL³ exakt beweisen konnten, indem sie zeigten, daß die Hämatoidinkristalle VIRCHOWS⁴ mit Bilirubin identisch sind. Die Leberzellen scheiden schließlich das Bilirubin zusammen mit den anderen Bestandteilen der Galle (Gallensäuren, Cholesterin, anorganischen Salzen und anderes mehr) in die Gallenkapillaren ab. In der Gallenblase erfolgt durch Wasserresorption Eindickung der Galle, Bilirubin wird teilweise zu Biliverdin oxydiert, teils zu Mesobilirubin reduziert. Außerdem läßt sich als nächste Reduktionsstufe bereits Urobilinogen nachweisen⁵. Die Farbstoffe — von ihnen soll im folgenden ausschließlich die Rede sein — werden dann im Darm durch die reduzierende Wirkung von Bakterien in die Leukoverbindungen Urobilinogen und Stercobilinogen überführt⁶. Durch sekundäre Dehydrierung entstehen daraus die Farbstoffe Urobilin und Stercobilin. Ein Teil dieser Pigmente gelangt in den intermediären Stoffwechsel und wird teils wieder der Leber zugeführt, teils gelangt er in den großen Kreislauf. Bisher konnte sowohl in Sondengallen, wie in Obduktionsgallen lediglich Urobilinogen nachgewiesen werden, nicht aber Stercobilinogen⁷. Nach BAUMGÄRTEL gilt für den physiologischen Blutfarbstoffabbau in der Leber folgendes Reduktionsschema: Biliverdin — Bilirubin — Mesobilirubin — Mesobilirubinogen (= Urobilinogen)⁷.

Der ganze Fragenkomplex der Gallenfarbstoffreduktion und somit der Urobilinölkörperentstehung sei in der Einleitung nur kurz behandelt, da sich nähere Angaben über die einzelnen Theorien im Schlußteil der Arbeit finden.

Um den auf Reduktion (Dehydrierung) beruhenden Reaktionsmechanismus der Gallenfarbstoffe anschaulich vor Augen zu führen, sei kurz auf ihre chemische Konstitution eingegangen. Ich bediene mich eines Schemas aus „FISCHER-ORTH, Die Chemie des Pyrrols“, das besser als Worte es können, die Beziehungen und die nahe Verwandtschaft der einzelnen Pigmente zueinander erklärt. Um den bei der Reduktion ablaufenden chemischen Prozeß zu erläutern, sind die Summenformeln der für die vorliegende Arbeit wichtigsten Farbstoffe angeführt. Lediglich die gesperrt gedruckten Vertreter der Gallenfarbstoffreihe wurden bisher als biologische Abbauprodukte im menschlichen Organismus erfaßt, während die übrigen chemische Derivate sind, wie sie bei der Analyse von Reinsubstanzen erhalten werden.

Die oxydativen und reduktiven Umwandlungsprodukte des Bilirubins.

[Schema nach FISCHER-ORTH: Die Chemie des Pyrrols (abgeändert)].



Die genannten Gallenfarbstoffe sind durch eine Reihe charakteristischer Reaktionen nachzuweisen. Ich wandte bei vorliegender Arbeit folgende Methoden an:

1. Nachweis von Bilirubin durch die GMELINSche Probe.

Es wurde eine wäßrige Lösung von Galle mit rauchender Salpetersäure unter — oder eine Chloroformlösung mit dem Reagens vorsichtig überschichtet. An der Berührungsstelle treten dann charakteristische Farbringe auf. (Grün — blau — violett — rot — orange — gelb.)

2. Nachweis von Urobilinogen durch die EHRLICHsche Aldehydprobe.

Eine wäßrige Lösung von Galle wurde mit einigen Tropfen EHRLICHs Reagens versetzt. (Paradimethylamidobenzaldehyd in 20%iger Salzsäure.) Bei reichlichem Vorhandensein von Urobilinogen tritt Rotfärbung in der Kälte ein, bei spärlichem erst beim Erwärmen.

3. Nachweis von Urobilin durch die SCHLESINGERsche Zinkacetatprobe.

Zur wäßrigen Lösung oder dem Chloroformextrakt aus Galle würde die gleiche Menge SCHLESINGERs Reagens gegeben. (10,0 g Zinkacetat + 100 ccm 96%iger Alkohol.) Bei positivem Ausfall zeigt die Lösung grüne Fluorescenz, die besonders gut beim Betrachten gegen einen dunklen Hintergrund zu sehen ist.

Die Reaktion mit EHRLICHs und SCHLESINGERs Reagens wird außer von Urobilinogen bzw. Urobilin auch von Sterkobilinogen und Sterkobilin erfüllt, so daß die genannten Pigmente mit dieser Methode nicht unterschieden werden können.

4. Nachweis von Mesobilirubin, Urobilinogen und Urobilin durch die Mesobiliviolinreaktion⁸.

Durch kräftiges Ausschütteln von Galle mit Chloroform, etwa im Verhältnis 1 : 5, gehen die Gallenfarbstoffe in letzteres über. Je nach dem Farbstoffreichtum der Galle zeigt das Chloroform eine blaßgelbe bis dunkelbraune Färbung. Als äußerst hinderlich erwies sich die beim Ausschütteln fast immer auftretende Emulsionsbildung, bedingt durch Schleim und andere Beimengungen der Galle. Diese Substanzen vermischen sich so innig mit dem Chloroform, daß des öfteren selbst nach 24 Stunden noch keine Scheidung erfolgt, oder das Chloroform sich nur in sehr geringer Menge absetzt. Von einer vorherigen Filtrierung und Aufkochung der Galle wurde Abstand genommen, da dadurch zu viele Farbstoffe verloren gehen, bzw. Kochen allein die Emulsionsbildung nicht verhindert. Auch wollte ich das Untersuchungsmaterial in möglichst unverfälschtem Zustand belassen. Ein die Reaktionen störender Einfluß der Gallensäuren, die nach BAUMGÄRTL durch Kochen vernichtet werden, ließ sich nicht feststellen. Ich brachte die Emulsionsbildung durch ziemlich starkes Ansäuern mit Eisessig zum Verschwinden. Die festen Substanzen der Galle werden dadurch koaguliert und setzen sich oben im Reagensglas ab, während darunter der farbstofffreie Chloroformauszug resultiert. Es zeigte sich auch, daß durch das Ansäuern eine viel intensivere Färbung des Chloroforms erreicht wurde, was wohl darauf beruht, daß die Farbstoffe aus ihren Alkaliverbindungen freigemacht werden. Daß das Bilirubin durch die Säure großenteils ausgefällt⁹ wird, ist bei der Mesobiliviolinreaktion ohne Bedeutung. Nach Absetzen des Chloroforms wurde dieses im Scheidetrichter von der Galle getrennt und filtriert. Ungefähr 2 ccm des Filtrats wurden im Wasserbad erhitzt bis das Chloroform abgeraucht war, der Rückstand in 96%igem Alkohol gelöst und dazu eisenchloridhaltige Salzsäure gegeben (25%ige unreine HCl + 1—2 Tropfen FeCl³) auf etwa 50 ccm. Als beweisend für das Vorhandensein von Urobilinogen und Urobilin gilt der eingetretende Farbumschlag der Lösung in das rotviolette Mesobilivolin; d. h. die

Urobilinkörper werden zu Mesobiliviolin dehydriert. Die Reaktion wird deutlicher beim Erhitzen. Verdampft man den Chloroformauszug im Wasserbad und gibt sofort 2 ccm eisenchloridhaltige HCl hinzu und kocht über der Flamme, so tritt ebenfalls Farbstoffbildung ein. Das Ergebnis wird durch diese vereinfachte Methode nicht verändert. Beide Male wurde der Farbstoff wiederum in Chloroform aufgenommen und auf Farbe und Spektrum untersucht.

Mittels der gleichen Reaktion wird auch das Mesobilirubin nachgewiesen. Bei Vorhandensein dieses Farbstofes entsteht jedoch anstelle des rotvioletten Mesobiliviolins das kornblumenblaue Glaukobilin — ebenfalls ein Dehydrierungsprodukt.

Von Wichtigkeit ist, daß Stercobilinogen und Stercobilin mit der Mesobiliviolinreaktion ein braunes Eisenkomplexsalz liefern⁸, so daß auf diese Weise Urobilin und Stercobilin unterschieden werden können.

5. Pentdyopentreaktion¹⁰.

In der Pentdyopentreaktion liegt eine weitere einfache Methode vor, um die Urobiline von den Sterkobilinen zu differenzieren. Ein positives Ergebnis zeigt sich nämlich nur bei Anwesenheit von Urobilin; es wurde — wie für die Mesobiliviolinreaktion beschrieben — ein alkalischer Extrakt aus Galle hergestellt und dieser mit einigen Tropfen 3%igen Wasserstoffsuperoxyd versetzt. Dadurch wird etwa vorhandenes Urobilin zu Propentdyopent abgebaut. Macht man jetzt die Lösung durch etwa 2 ccm 10%iger KOH alkalisch und reduziert mit Natriumhyposulfit, so zeigt sich beim Erwärmen ein Farbumschlag in Rot und eine spektrale Absorption mit einem Maximum bei 525 m μ . Da auch Bilirubin einen positiven Ausfall der Reaktion liefert, wurde von ihr nur in besonders geeigneten Fällen Gebrauch gemacht.

6. Spektroskopischer Nachweis von Uribilinogen und Stercobilinogen mittels der Kupferreaktion¹¹.

Die Kupferreaktion, erstmals von H. FISCHER angegeben, beruht darauf, daß Urobilinogen oder richtiger seine Zersetzungspprodukte mit Kupfersulfat ein Kupfersalz bilden, das durch einen typischen spektroskopischen Befund ausgezeichnet ist. Von H. FISCHER ist die Reaktion lediglich zum Nachweis von Urobilinogen beschrieben worden, wobei eine Bande im Rot, Gelb und Blau auftreten soll¹². Nach vielen Probeversuchen, wobei die von MEYER⁹ am Duodenalsaft, Stuhl und Urin angewandte Technik der Kupferreaktion besonders berücksichtigt wurde, ohne daß ich damit befriedigende Ergebnisse erzielte, ging ich folgendermaßen vor: Es wurde ein Chloroformextrakt aus Galle — wie angegeben — hergestellt und das Chloroform im Wasserbad verdampft. Nach Auflösen des Rückstandes in 96%igem Alkohol wurden einige Tropfen einer 10%igen Lösung von Kupfersulfat in 12,5%iger Salzsäure zugesetzt und durchmischt (10 ccm Kupfersulfat 10%ig + 5 ccm HCl 12,5%ig). Schließlich erfolgte eine gründliche Ausschüttelung mit Chloroform, in das die Kupfersalze übergehen und typische Absorptionsbanden liefern. MEYER⁹ gibt die Absorptionsbanden für Urobilin von 500 m μ bis 545 (grün-blau), um 600 (gelb) und um 665 m μ an. Die Bande für Stercobilin liegt bei 500—535 m μ (grün-blau). Daß MEYER das dreibandige Spektrum dem Urobilin und nicht wie H. FISCHER dem Urobilinogen zuschreibt ist weiter nicht von Bedeutung, da die Kupferreaktion ja nur zur Unterscheidung von Urobilinen und Stercobilinen dient, wobei es natürlich gleichgültig ist, ob der Farbstoff selbst oder die Leukoverbindung (= farblose Vorstufe von Farbstoffen, entstanden durch reduzierende Substanzen) namentlich

bezeichnet ist. Nach demselben Autor ist eine Scheidung der Farbstoffe und ihrer Gene (= Leukoverbindungen) durch Ausschüttelung der Kupfersalze im Petroläther möglich¹³. Dieses Lösungsmittel nimmt nur die Gene auf und zeigt dann eine Absorption um $585 \text{ m}\mu$, die dem Urobilinogen zukommen dürfte. Wird das gleiche Material mit Chloroform ausgeschüttelt, kommt das dreibandige Urobilinspektrum zum Vorschein. Demnach dürfte sowohl Urobilinogen wie Urobilin in Chloroform die 3 Absorptionsstreifen liefern. Außerdem wurde von MEYER ein Stoff beschrieben, dessen Bande zwischen 495 und $510 \text{ m}\mu$ liegt⁹. Bei meinen Untersuchungen ergab sich, daß die einzelnen Absorptionsbanden am deutlichsten bereits in der alkoholischen Lösung vorhanden waren. In der Chloroformausschüttung waren die Urobilinbanden nur bei stark positiver EHRЛИCHScher Reaktion gut sichtbar. Bei schwächerer Farbstoffkonzentration verschwand zuerst die Bande um $600 \text{ m}\mu$, dann die um $665 \text{ m}\mu$, während die Absorption zwischen grün-blau regelmäßig bestehen blieb. Diese Bande war bei der Reaktion schon von vorneherein am stärksten ausgeprägt. Ich möchte hier anfügen, daß der spektroskopische Befund im allgemeinen mit einem Taschenspektroskop erhoben wurde, wobei jeweils nur die Absorptionsstreifen in den einzelnen Spektralfarben festzustellen waren. Da bei den Versuchen immer die gleichen Ergebnisse resultierten, genügte eine vergleichsweise durchgeführte Messung der Banden mit dem Spektrophotometer nach KÖNIG-MARTENS zur Differenzierung des Spektralbildes der einzelnen Farbstoffe. Zeigte sich z. B. bei der Kupferreaktion im Taschenspektroskop ein Streifen im Rot, Gelb und Grün-Blau, so wurden mittels des Spektrophotometers die Banden genau ausgemessen und die bestimmten Werte auf alle Versuche übertragen, die im Taschenspektroskop die gleichen Absorptionen aufwiesen. Daß die Absorptionsstreifen je nach der Konzentration der Pigmente in der Breite schwankten, blieb dabei unberücksichtigt. Der Vollständigkeit halber wurde auch bei der Reaktion nach EHRLICH und SCHLESINGER (in wäßriger Lösung) spektroskopisch untersucht, wobei Urobilinogen und Stercobilinogen eine Bande zwischen Gelb und Grün ($575-538 \text{ m}\mu$), Urobilin und Stereobilin, eine solche zwischen grün-blau ($510-520 \text{ m}\mu$) erkennen lassen.

7. Nachweis der Farbstoffe durch die Chromatographische Adsorptionsanalyse nach TSWETT¹⁴.

Diese Methode ermöglicht eine genaue Trennung aller in einem Chloroformauszug in Lösung befindlichen Gallenfarbstoffe. Die Ausführung gestaltet sich folgendermaßen: Ein Glasrohr wurde unten mit einem Wattepropf abgedichtet und darüber eine einige Kubikzentimeter hohe Schicht Talcum nachgefüllt. Der zu untersuchende Chloroformauszug wurde dann mit der gleichen Menge Äther versetzt und mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe durch das Talcum gesaugt. Die einzelnen Farbstoffe wurden nun in verschiedener Höhe vom Talcum absorbiert, so daß schließlich verschiedene aufeinanderfolgende Farbringe resultierten, deren Zahl von den in der Chloroform-Ätherlösung vorhandenen Farbstoffkomponenten abhing. Nach erfolgter Absorption wurde das Chromatogramm mit einem Gemisch, bestehend aus 2 Teilen Chloroform und einem Teil Äther entwickelt.

Ich habe die Nachweisreaktionen mit Absicht ausführlich beschrieben, um im folgenden Teil nicht wieder auf sie zurückkommen zu müssen und um dem Umstand zu begegnen, der mir bei den meisten der in letzter Zeit veröffentlichten Arbeiten auffiel, in denen wohl die Reaktionen nicht aber die Methoden zu ihrer Ausführung angeführt wurden.

II. Eigene Untersuchungen.

Es war mir die Aufgabe gestellt, zu untersuchen, welche Gallenfarbstoffe bei verschiedenen Todesfällen in der Gallenblase vorhanden sind und ob *postmortal eine Gallenfarbstoffreduktion* stattfindet. Ich führte zu diesem Zweck Untersuchungen an Blasengallen und Autolyseversuche mit Galle bei 37° mit und ohne Gewebszusatz unter Toluol durch. Um die postmortale Reduktion verfolgen zu können, mußte die Galle wochenlang aufgehoben werden. Da die Gallenfarbstoffe die typischen Reaktionen bereits in äußerst geringer Konzentration liefern, konnte ich jeweils stark mit Wasser verdünnen, so daß stets genügend Material vorhanden war. Um die Galle zu gewinnen ging ich so vor, daß ich — nach Herausnahme der Gallenblase — teils dieselbe vorsichtig eröffnete und die abtropfende Galle in einem Gefäß auffing, teils ließ ich sie durch die Blase diffundieren und verdünnte dann. Ein Unterschied hinsichtlich der Reaktionen ergab sich dadurch nicht. Als Gewebszusatz für die Autolyseversuche fand die Gallenblase selbst Verwendung. Das Material stammte aus dem gerichtlich-medizinischem Institut der Universität München.

Ich war mir von vorne herein klar, daß ich bei den Untersuchungen auf erhebliche Schwierigkeiten stoßen würde, da es sich ja nicht um reine Substanzen handelte, sondern jeweils um ein Gemisch der Farbstoffe, das lange Zeit bakterieller Einwirkung ausgesetzt blieb. Die folgenden Versuche werden aufweisen, daß oftmals bei den Reaktionen Ergebnisse auftraten, die nicht mit den früher als typisch beschriebenen übereinstimmten.

Zur Identifizierung der Farbstoffe wurde die GMELINSche, EHRLICHsche und SCHLESINGERSche Reaktion an mit Wasser verdünnter Galle, die Mesobilin-violin- und Kupferreaktion mit einem Chloroformauszug von Galle — wie im vorhergehendem beschrieben — vorgenommen. In den Tabellen habe ich auf Angabe der spektroskopischen Befunde, die nach jeder Reaktion nachgewiesen wurden, verzichtet. Sie werden lediglich bei der Kupferreaktion angeführt und finden im übrigen am Schluß in zusammengefaßter Form Erwähnung. Jeder Fall ist für sich beschrieben, auf Besonderheiten wird hingewiesen. Ein Überblick über das Gesamtbild findet sich dann in der Zusammenfassung. Von den Versuchstagen sind nur diejenigen angeführt, bei denen sich eine Änderung ergab. Der erste Versuch wurde jeweils einen bis zwei Tage nach dem Exitus vorgenommen.

Es bedeuten: + positiver Ausfall der Reaktion; ++ stark positiv; schwach + schwach positiv; + w bzw. k bei der Aldehydprobe nach EHRLICH heißt, daß die Rotfärbung erst beim Erwärmen (w) oder bereits in der Kälte (k) eintrat; k. S. keine Absorptionsbande im Spektrum; 3 bei der Kupferreaktion ist gleichbedeutend mit dem dreibandigen Urobilinspektrum.

Die im nachfolgenden oft angeführte chromatographische Absorptionsanalyse wurde nur nach der Mesobilinviolinreaktion angewandt.

Versuche.

A. Material von frischen Leichen.

Fall Nr. 178. Todesursache: zentrale Atemlähmung.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobilivolinreaktion	Cu-R.
1. Tag	+	+ w	—	schw. blau	3
5. Tag	+	++ k	+	rotviolett	3
10. Tag	+	+ k	+	Glaukobilin	3
15. Tag	+	+ k	++	rotviolett	3
22. Tag	schw. +	+ k	++	rotviolett	3
30. Tag	—	+ w	schw. +	grün	3
50. Tag	—	+ w	schw. +	grün	k. S.
60. Tag	—	schw. + w	Spur +	schw. blau	k. S.

Eine am 5. Tag durchgeführte chromatographische Adsorptionsanalyse ergab einen breiten von dunkel- zu hellblau übergehenden Ring und einen schmalen roten Saum. Ich nehme an, daß die dunkelblaue Farbtönung auf Glaukobilin zurückzuführen ist, die hellblaue auf Mesobilivolin, die rote auf Mesobilirhodin. Nach 24 Stunden war die rotviolette Chloroformlösung zu Glaukobilin dehydriert. Das Chromatogramm am 10. Tag ergab reines Glaukobilin, am 30. Tag resultierte ein grüner Ring (Gmelin negativ s. Zusammenfassung) und die beiden Komponenten des Mesobilivolins.

Fall Nr. 176. Todesursache: Schädelbruch.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobilivolinreaktion	Cu-R.
1. Tag	+	schw. + w	schw. +	Glaukobilin	3
8. Tag	+	++ k	+	rotviolett	3
13. Tag	+	+ k	+	Glaukobilin	3
20. Tag	+	+ k	++	rotviolett	3
30. Tag	schw. +	+ k	+	rotviolett	3
40. Tag	schw. +	schw. + w	schw. +	blau	k. S.
55. Tag	—	+ k	Spur +	schw. blau	k. S.

Fall Nr. 177. Todesursache: Erstickung.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobilivolinreaktion	Cu-R.
1. Tag	+	—	schw. +	—	—
5. Tag	+	+ w	+	schw. rotviolett	3
10. Tag	schw. +	+ w	++	schw. rotviolett	3
20. Tag	schw. +	—	+	schw. oliv	k. S.
30. Tag	—	—	schw. +	schw. blau	k. S.
40. Tag	—	schw. + w	Spur +	schw. blau	k. S.

Die Galle zeigte sich dem Aussehen nach (hellgrau) als sehr farbstoffarm. Dementsprechend konnte aus der von vornherein schwachen

Bilirubinkonzentration auf reduktivem Weg nur wenig Mesobilirubin entstehen, wiederum worauf die ungenügende Urobilinusbildung beruht. Das stark hervortretende Urobilin wird — wie aus dieser und der folgenden Tabelle ersichtlich ist — offenbar nicht wieder zu Urobilinogen reduziert, so daß die schwache Blaufärbung auf dem Gehalt an Glaukobilin beruhen dürfte. So wird auch die zum Schluß wieder positiv werdende EHRLICHsche Reaktion verständlich, die durch die Reduktion des schwach vorhandenen Mesobilirubins bewirkt wird. Das Chromatogramm am 20. Tag ergab Mesobilivolin, Mesobilirhodin und Biliverdin.

Fall 174. Todesursache: Zentrale Atem- und Herzlähmung.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobilivolinreaktion	Cu-R.
1. Tag	+	Spur + w	+	farblos	3 angedeutet
5. Tag	schw. +	schw. + w	+	Spur blau	3 angedeutet
15. Tag	schw. +	—	schw. +	Spur blau	k. S.
20. Tag	—	—	schw. +	farblos	k. S.

Auch diese Galle war äußerst farbstoffarm. Es ist besonders deutlich zu sehen, daß eine Rückreduktion von Urobilin zu Urobilinogen nicht stattfindet. Wird die Farbstoffkonzentration zu gering, so läßt sich auch mittels der Kupferreaktion kein Spektrum mehr nachweisen. Im übrigen gilt das bei Nr. 177 Gesagte.

Fall Nr. 180. Todesursache: Schlafmittelvergiftung.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobilivolinreaktion	Cu-R.
1. Tag	+	+ w	++	rotviolett	3
10. Tag	+	+ k	+	rotviolett	3
30. Tag	+	schw. + k	+	rosa	3
40. Tag	—	schw. + w	schw. +	gelb	grün-blau
50. Tag	—	schw. + w	schw. +	gelb	grün-blau

Die vom 40. Tag ab bei der Mesobilivolinreaktion eintretende Gelbfärbung konnte nicht erklärt werden. Die Pentdyopentreaktion fiel positiv aus.

Fall Nr. 184. Todesursache: Unfall, Schädelbruch.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobilivolinreaktion	Cu-R.
1. Tag	+	+ k	schw. +	rotviolett	3
10. Tag	schw. +	schw. + k	+	grün	3
15. Tag	—	schw. + k	schw. +	grün	3
30. Tag	—	schw. + k	+	grün	3
50. Tag	—	+ k	Spur +	blau	grün-blau

Das Chromatogramm lieferte am 10. und 30. Tag einen breiten blassen und schmäleren roten und braunen Ring.

Fall Nr. 185. Todesursache: Encephalitis.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobiliviolinreaktion	Cu-R.
1. Tag	+	—	—	—	k. S.
5. Tag	+	+ w	—	schw. rotviolett	k. S.
15. Tag	schw. +	schw. + w	schw. +	schw. rotviolett	k. S.
25. Tag	—	schw. + w	—	schw. rotviolett	k. S.
40. Tag	—	+ w	—	Spur bläulich	k. S.

Es ist beachtenswert, daß Urobilin nur vorübergehend auftrat, d. h. daß die sekundäre Oxydation gegenüber der Reduktion vollkommen in den Hintergrund trat.

Fall Nr. 188. Todesursache: Selbstmord durch Erhängen.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobiliviolinreaktion	Cu-R.
1. Tag	+	—	++	rotviolett	3
5. Tag	+	schw. + w	++	rotviolett	3
15. Tag	schw. +	+ k	++	oliv	3
25. Tag	—	+ k	+	oliv	grün-blau
40. Tag	—	+ w	schw. +	schw. blau	grün-blau
50. Tag	—	schw. + w	—	farblos	k. S.

Das Chromatogramm am 15. Tag lieferte die beiden Komponenten des Mesobiliviolins und Biliverdin.

Fall Nr. 190. Todesursache: Herzinsuffizienz.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobiliviolinreaktion	Cu-R.
1. Tag	+	schw. + w	—	Glaukobilin	3
5. Tag	+	schw. + w	+	rotviolett	3
15. Tag	+	+ k	+	rotviolett	3
25. Tag	+	+ k	schw. +	grün	3
40. Tag	+	+ w	schw. +	grün	3 angedeutet
50. Tag	schw. +	+ w	schw. +	grün	3 angedeutet
60. Tag	Spur +	+ w	Spur +	grün	k. S.

Chromatogramm am 25. Tag: Glaukobilin, Mesobilirodin, Biliverdin.

Fall Nr. 191. Todesursache: Herzlähmung bei doppelseitiger Lungenentzündung und Sepsis.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobiliviolinreaktion	Cu-R.
1. Tag	+	—	+	rotviolett	3
10. Tag	+	+ w	+	rotviolett	3
20. Tag	+	+ w	+	grün	3
40. Tag	+	+ w	schw. +	grün	3
60. Tag	schw. +	+ w	Spur +	grün	grün-blau

Chromatogramm am 20. Tag: Mesobiliviolin, Mesobilirhodin und grüner Ring, Gmelin jedoch negativ.

Fall Nr. 204. Todesursache: Lungen- und Hirnödem.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobiliviolinreaktion	Cu-R.
1. Tag	+	schw. + w	++	rotviolett	3
5. Tag	+	++ w	++	rotviolett	3
25. Tag	+	+ w	+	grün	3
40. Tag	schw. +	schw. + w	schw. +	grün	grün-blau
50. Tag	schw. +	+ w	Spur +	grün	grün-blau

Chromatogramm am 25. Tag: Mesobiliviolin, Mesobilirhodin, Biliverdin.

Fall Nr. 203. Todesursache: Schußverletzung.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobiliviolinreaktion	Cu-R.
1. Tag	+	schw. + w	+	rotviolett	3
10. Tag	+	+ w	+	grün	3
25. Tag	schw. +	+ k	schw. +	grün	grün-blau
40. Tag	—	+ w	schw. +	grün	grün-blau
50. Tag	—	+ w	—	schw. blau	k. S.

Chromatogramm am 10. Tag: Glaukobilin, Mesobiliviolin, Mesobilirhodin und brauner Ring.

Fall Nr. 208. Todesursache: Lungentuberkulose.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobiliviolinreaktion	Cu-R.
1. Tag	+	+ w	+	grün	3
15. Tag	+	++ w	+	grün	3
25. Tag	schw. +	+ w	+	grün	3
40. Tag	—	+ w	schw. +	oliv	k. S.
50. Tag	—	+ w	Spur +	schw. blau	k. S.

Chromatogramm am 1. Tag: Glaukobilin, Mesobiliviolin und -rhodin, Biliverdin.

Chromatogramm am 40. Tag: Mesobiliviolin und -rhodin, Biliverdin.

B. Material von faulen Leichen.

Fall Nr. 160. Todesursache: Ertrinken.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobiliviolinreaktion	Cu-R.
1. Tag	+	—	—	schw. gelb	k. S.
2. Tag	+	—	schw. +	schw. rötlich	k. S.
4. Tag	schw. +	+ w	schw. +	schw. rötlich	3 angedeutet
7. Tag	—	+ w	+	schw. violett	3 angedeutet
10. Tag	—	schw. + w	schw. +	farblos	k. S.
15. Tag	—	—	schw. +	farblos	k. S.

Fall Nr. 242. Todesursache: Schädelbruch.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobiliviolinreaktion	Cu-R.
1. Tag	+	—	schw. +	gelb	3 angedeutet
5. Tag	schw. +	schw. + w	+	violett	3 angedeutet
12. Tag	—	schw. + w	+	gelblich	k. S.
15. Tag	—	—	schw. +	farblos	k. S.

C. Autolyseversuche mit und ohne Gewebszusatz unter Toluol.

a) Ohne Gewebszusatz.

Fall Nr. 204.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobiliviolinreaktion	Cu-R.
4. Tag	+	schw. + w	+	rotviolett	3
13. Tag	schw. +	schw. + w	schw. +	grün	3
17. Tag	—	Spur + w	Spur +	grün	k. S.
21. Tag	—	Spur + w	—	farblos	k. S.

Chromatogramm am 13. Tag: Mesobiliviolin, Mesobilirhodin, grüner Ring (Gmelin negativ).

Fall Nr. 203.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobiliviolinreaktion	Cu-R.
3. Tag	+	schw. + w	+	grün	3
7. Tag	schw. +	schw. + w	schw. +	grün	3
12. Tag	schw. +	schw. + w	schw. +	Glaukobilin	k. S.
22. Tag	—	schw. + w	Spur +	blau	k. S.
32. Tag	—	schw. + w	—	schw. blau	k. S.

Chromatogramm am 3. Tag: Glaukobilin, Mesobiliviolin, Biliverdin.

Fall Nr. 194.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobiliviolinreaktion	Cu-R.
10. Tag	—	schw. + w	schw. +	oliv	3
15. Tag	—	schw. + w	schw. +	grün	3
20. Tag	—	schw. + w	Spur +	grün	3
30. Tag	—	schw. + w	—	Spur blau	k. S.

Chromatogramm am 20. Tag: Glaukobilin, Mesobiliviolin, brauner Ring.

Fall Nr. 208.

	Bilirubin	Urobilinogen	Urobilin	Mesobiliviolinreaktion	Cu-R.
3. Tag	+	schw. + w	+	grün	3
16. Tag	+	schw. + w	+	grün	3
22. Tag	—	schw. + w	schw. +	grün	k. S.
30. Tag	—	schw. + w	—	schw. blaugrün	k. S.

Chromatogramm am 3. Tag: Glaukobilin, Mesobiliviolin, brauner Ring.

b) Mit Gewebszusatz.

Da sich bei dieser Versuchsreihe im Vergleich zu der ohne Gewebszusatz kein Unterschied ergab, erübrigt sich eine tabellarische Zusammenstellung.

Zu den Reaktionen möchte ich ganz allgemein bemerken, daß ich oft im Zweifel war, ob ich die GMELINSche Probe noch für positiv halten sollte oder nicht. Es ist also wohl möglich, daß Bilirubin — allerdings dann in sehr geringer Konzentration — über den, bei den Versuchen angegebenen Termin hinaus, sich noch in der Galle vorfand. Urobilinogen (ausschließlich) wurde mitunter noch nach 90 Tagen als stark positiv nachgewiesen.

Es seien nun die *spektroskopischen Befunde* in zusammengefaßter Form behandelt. Die positive EHRLICHsche Reaktion (in wäßriger Lösung) zeigte eine Absorption zwischen gelb und grün. Die Bande schwankte zwischen 575 und 535 m μ mit einem Maximum bei 556 m μ . Gleichzeitig war regelmäßig ein starker Absorptionsstreifen zwischen grün und blau vorhanden, der dem Urobilin zukommt, bei schwächerer Farbstoffkonzentration zwischen 510 und 520 m μ , bei starker von 520 bis Endabsorption. Dieses Urobilinspektrum trat natürlich auch beim positiven Ausfall der SCHLESINGERschen Reaktion auf. Das Mesobiliviolinspektrum in Chloroform war nur nach einer eindeutig verlaufenen Reaktion gut festzustellen und zeigte einen Streifen im Organe (um 600 m μ), im Gelbgrün (um 560 m μ) und im Grün-blau (um 500 m μ).

Bei der Kupferreaktion konnte weder die Absorptionsbande des Stercobilins noch die des Stoffes bei 495—510 m μ beobachtet werden. Daß bei den Versuchen die einzelnen Banden um einige m μ differierten, wurde bereits erwähnt und ist für vorliegende Arbeit ohne Bedeutung. Wurde im Laufe der Tage die Farbstoffreaktion zu schwach, so ließ sich schließlich ein spektroskopischer Nachweis nicht mehr führen

Zusammenfassung.

Die Auswertung der Versuchsergebnisse ergibt folgendes: In der Hauptsache erfolgte bei den untersuchten Fällen der Exitus entweder durch äußere Gewalteinwirkung oder durch Herz- und Atemlähmung bei hochgradiger Stauung im großen und kleinen Kreislauf. Bei allen Fällen, welche Zeichen allgemeiner Stauung — und damit erhöhten Blutzerfalls — darboten, wurde eine farbstoffreiche Galle gefunden (Nr. 190, 191 und 204). Konnte kein derartiger Befund erhoben werden, so war die Farbstoffkonzentration im allgemeinen geringer. Das ging sowohl aus der Farbe der Galle, die einmal von dunkelbraunem oder goldgelbem, dann von hellgrauem wäßrigem Aussehen war, hervor, als auch aus dem sich verschieden lange Zeit hinziehenden positiven Ablauf der GMELINSchen Reaktion. Diese Beobachtung steht im

Einklang mit den Untersuchungen von TOKUYE KIMURA¹⁵, der bei Herzkrankheiten mit Stauungserscheinungen einen hohen postmortalen Farbstoffgehalt der Blasengalle feststellte, bei Tuberkulose dagegen einen niedrigen. Der einzige Fall von Tuberkulose den ich prüfen konnte, läßt natürlich keinen Schluß zu. *Es war also wohl der Farbstoffreichtum der Blasengalle bei den verschiedenen von mir untersuchten Todesfällen unterschiedlich, nicht aber das Vorkommen der einzelnen Gallenfarbstoffe selbst.* Der Ablauf der Reduktion hängt lediglich von der Konzentration der Pigmente ab, die Todesart hat auf ihn keinen Einfluß.

Daß sich nun in der aufbewahrten postmortalen Galle tatsächlich eine Reduktion der Gallenfarbstoffe vom Bilirubin bis zum Urobilinogen abspielt, war erst zu beweisen. Es wäre ja ohne weiteres denkbar gewesen, daß — infolge des Zutrittes von Luftsauerstoff ein Abbau der einzelnen Stoffe in *oxydative Weise* vonstatten gehen konnte. Diese Annahme wird jedoch eindeutig durch die Versuche widerlegt. Bilirubin zeigte sich anfangs stets in hoher Konzentration. Im Durchschnitt wurde die GMELINSche Reaktion am 30.—40. Tag negativ. Hätten oxydative Vorgänge im Vordergrund gestanden, so wäre das Urobilinogen bis zum gleichen Zeitpunkt nicht mehr nachweisbar geblieben. Zum mindesten hätte das Urobilin, das ja aus dem Urobilinogen durch sekundäre Oxydation entsteht, den zuletzt genannten Farbstoff überdauern müssen. Es resultierte aber bis auf wenige Ausnahmefälle, auf die später noch zurückzukommen sein wird, als Endprodukt Urobilinogen. Die Aldehydprobe zeigte in den ersten Versuchstagen oft einen negativen oder schwach positiven Ausfall. Erst wenn dann Bilirubin nur mehr in schwacher Konzentration nachgewiesen werden konnte, trat Urobilinogen stark hervor. Diese Tatsache ist leicht zu verstehen, wenn man bedenkt, daß der Weg vom Bilirubin zum Urobilinogen über Mesobilirubin führt. Wie BAUMGÄRTEL berichtet, stellten RUHLAND und ALMENDINGER⁷ ebenfalls an Obduktionsgallen mittels der Mesobilivolinreaktion mitunter das kornblumenblaue Glaukobilin, das Dehydrierungsprodukt des Mesobilirubins, fest. In den meisten Fällen ergab die Reaktion allerdings, nach den Angaben BAUMGÄRTELS, das rotviolette Mesobilivolin, das mit Glaukobilin isomer ist. Auf Grund meiner Versuche komme ich zu folgendem Schluß: *Bildet sich bei der Mesobilivolinreaktion das blaue Glaukobilin, so ist trotzdem mit EHRLICHs, bzw. SCHLESINGERs Reagens stets auch Urobilinogen und Urobilin nachzuweisen, jedoch in schwächerer Konzentration. Bildet sich dagegen Mesobilivolin, dann treten die Urobiline in starker Konzentration auf.* Dabei kann an einzelnen Tagen Mesobilirubin, an anderen wieder die Urobiline überwiegen, was im Falle Nr. 176 besonders deutlich wurde. *In der postmortal veränderten Galle ist sowohl Bilirubin, Mesobilirubin als auch Uro-*

bilinogen und Urobilin gleichzeitig vorhanden, aber in verschiedener Konzentration. Grob schematisch kann man die Überlegung folgendermaßen führen: *Wird viel Bilirubin reduziert, erhält man bei der Mesobiliviolinreaktion Glaukobilin, wird nunmehr Mesobilirubin überwiegend reduziert, erhält man Mesobiliviolin.*

Wie ersichtlich tritt Mesobilirubin bisweilen während der ganzen Dauer eines Versuches nicht in Erscheinung (Fall Nr. 180, 185, 160 und 242), verhältnismäßig selten auch reines Glaukobilin. Das legt den Schluß nahe, daß die Reduktion von Mesobilirubin zu Urobilinogen sehr rasch verläuft, oder aber daß Bilirubin direkt zu Urobilinogen reduziert werden kann. Es ergibt sich weiter die Frage, ob die in den letzten Versuchstagen oft auftretende schwache Blaufärbung bei der Mesobiliviolinreaktion als Glaukobilin oder als die blaue Komponente des Mesobiliviolins anzusprechen sei. Ich entschied mich für das erstere, da sich zeigte, daß dieser blaue Farbstoff schließlich verschwand, obwohl Urobilinogen noch vorhanden war. Es war demnach alles Mesobilirubin zu Urobilinogen reduziert, während andererseits die äußerst schwache Konzentration dieses Derivates nicht mehr genügte, um eine positive Mesobiliviolinreaktion hervorzurufen. Einer besonderen Erwähnung bedarf noch die bei der Mesobiliviolinreaktion oftmals sich ergebende *Grünfärbung des Chloroformauszuges*. Ich ging von der Annahme aus, daß es sich bei diesem grünen Farbstoff wohl nicht um ein einheitliches Abbauprodukt handeln dürfte, sondern eine *Mischfarbe*. Um zu einer Analyse zu gelangen, bediente ich mich des chromatographischen Adsorptionsverfahrens. Dadurch wurden 3 Wege aufgezeigt, die zu dieser Grünfärbung Anlaß geben können. Nach erfolgter Adsorption des Chloroform-Äthergemisches an Talcum traten auf: 1. ein grüner und ein blauer Ring, 2. ein grüner, blauer und roter Ring, 3. ein blauer, roter und brauner Ring. Der blaue Ring war außerdem öfters in dunkel- und hellblau differenziert. Wie nun MEYER¹⁶ berichtet, kann das nach Ansäuern mit Eisessig ausgefällte Bilirubin, wenn es nicht durch Zentrifugieren oder Filtrieren beseitigt wird, zum Teil in Chloroform übergehen und dieses grün färben. Ich löste also den an Talcum adsorbierten grünen Ring wieder in Chloroform auf und überschichtete mit rauchender Salpetersäure. In einigen Fällen traten die für Bilirubin charakteristischen Farbringe auf, obwohl vorher filtriert worden war. Es ist ja auch verständlich, daß das Bilirubin sich nicht durch Filtrieren ausmerzen läßt, wenn es sich im Chloroform in Lösung befindet. Da aber, wie gesagt, die GMELINSche Reaktion nur in einigen Fällen positiv ausfiel und die Grünfärbung überdies auch auftrat, wenn bereits kein Bilirubin mehr in der Galle nachweisbar war, so mußte noch ein anderer Farbstoff dafür verantwortlich gemacht werden. Ich nehme an, daß es

sich in diesen Fällen um *Mesobiliverdin* handelte. Dieses entsteht wie H. FISCHER¹⁷ angibt, durch oxydative Umwandlung des Mesobilirubins durch Luftsauerstoff. Es ist dem Glaukobilin sehr ähnlich. Der Farbstoff, der den braunen Ring lieferte, konnte nicht identifiziert werden. Es lag natürlich im Bereich der Möglichkeit, daß es sich um *Stercobilin* handelte. Zur Bildung des Stercobilins ist Cystein und der Bacillus verrucosus notwendig. Sicherlich gelangt die Bakterienflora des Darms ziemlich bald nach dem Exitus auch in die Gallenblase, so daß eine bakterielle Reduktion des Bilirubins zu Stercobilin wohl denkbar wäre. Dagegen sprach allerdings der positive Ausfall der Pentdyopentreaktion. Auch wurde bei der Mesobilivolinreaktion niemals das für Stercobilin zutreffende Ausfallen eines braunen Eisenkomplexsalzes beobachtet. Nur trat bisweilen trotz vorherigen Filtrierens, neben der für die Urobiline typischen rotvioletten Färbung ein leichter Niederschlag im Alkoholextrakt beim Erhitzen mit eisenchloridhaltiger HCl auf. Die Frage, ob es sich bei dem braunen Farbstoff nun tatsächlich um Stercobilin handelte, bleibt offen, da die Konzentration sich auf jeden Fall für eine typische Identifizierungsreaktion als zu schwach erwies. Der blaue Ring wurde durch Glaukobilin hervorgerufen, war darunter noch ein schmaler roter Ring zu sehen, so lag Mesobilivolin vor. Daß neben Mesobilivolin sich auch Glaukobilin in Chloroformauszug befinden kann, ging aus dem Chromatogramm ohne weiteres hervor. Folgte doch auf einen dunkelblauen ein hellblauer Ring, unter dem dann noch ein roter Saum lag. In jedem Falle konnte ich beim Auftreten der Grünfärbung des Chloroformextraktes durch Zugabe einiger Tropfen rauchender Salpetersäure das wunderschön leuchtende rotviolette Mesobilivolin mit typischem Spektrum erhalten. Der Farbumschlag verlief über Blau bis zum Rotviolett, wobei das Blau noch nicht das Mesobilivolinspektrum lieferte. Das Chromatogramm ergab, daß durch die Salpetersäure der grüne Farbstoff zerstört worden war. Es trat lediglich ein breiter von Dunkel in Hellblau übergehender Ring mit rotem Saum auf. Eine Erklärung für dieses Verhalten steht noch aus, wahrscheinlich spielen Dehydrierungsprozesse eine Rolle.

Das Urobilin, als sekundäres Oxydationsprodukt des Urobilinoogens interessiert in diesem Zusammenhang weniger. Durch Zusatz von Zinkacetat wurde zwar Grünfluoreszenz bis zum letzten Untersuchungstag erreicht, so daß neben Urobilinogen oft auch noch Urobilin als Endprodukt resultierte. Dies steht natürlich in keinem Widerspruch zu der Behauptung, daß die Gallenfarbstoffe reduktiv abgebaut werden. Es hätte ja sonst die Grünfluoreszenz zunehmen müssen, was aber nicht der Fall war. Einige Bemerkungen über Urobilin finden sich bei den einzelnen Versuchstabellen.

Für reduktive Prozesse spricht auch, daß eine zur Galle zugesetzte Methylenblaulösung binnen kurzer Zeit entfärbt, d. h. in ihre Leuko-stufe überführt wurde.

Es seien an dieser Stelle noch kurz einige Worte zu Fall Nr. 160 und 242 gesagt. In beiden Fällen handelt es sich um faule Leichen, die 4—6 Wochen gelegen hatten bis sie zur Obduktion gelangten. Leider kamen zu der Zeit, in der ich meine Versuche ausführte, nur diese beiden Fälle zur Untersuchung, so daß es mir nicht gerechtfertigt erscheint, weitgehende Schlüsse zu ziehen. Jedenfalls war beide Male die Reduktion schon weit fortgeschritten und Bilirubin dementsprechend nur mehr in schwacher Konzentration nachzuweisen. Sein gänzlicher Abbau erfolgte bei Zimmertemperatur sehr rasch. EHRLICHs Aldehydprobe fiel zunächst negativ aus, wurde aber dann durch die am Bilirubin verstärkt einsetzende Reduktion positiv. Mesobilirubin konnte als Zwischenprodukt nicht festgestellt werden, da entweder diese Phase sehr schnell durchlaufen wurde, oder aber die Konzentration zum Nachweis nicht genügte. Mit der letzteren Auffassung läßt sich die Tatsache vereinbaren, daß als Endprodukt Urobilin übrig blieb; d. h., daß das vorhandene Urobilinogen zur Urobilin oxydiert wurde, während eine Reduktion von Mesobilirubin zu Urobilinogen nicht mehr stattfinden konnte. *Jedenfalls liefern diese Fälle den Beweis dafür, daß die Gallenfarbstoffreduktion post-mortam, in der Gallenblase in situ mit Sicherheit genau so vor sich geht, wie es am isolierten Organ der Fall ist.*

Ich habe bereits erwähnt, daß der Farbstoffreichtum der Galle die Dauer des reduktiven Abbaues der einzelnen Pigmente beeinflußt. In diesem Zusammenhang war die Feststellung von Interesse, daß die Reduktion der im Brutschrank aufbewahrten Galle (Fall Nr. 190, 191, 207 und 208) langsamer als die der bei Zimmertemperatur aufbewahrten vonstatten ging. — Ob dieses Verhalten durch die den physiologischen Verhältnissen angepaßte Temperatur bedingt war, oder ob eventuell im Brutschrank Möglichkeiten für eine teilweise Rückoxydation von Urobilinogen über Mesobilirubin zu Bilirubin bestanden, so daß in geringem Maße ein Wechselspiel zwischen den einzelnen Farbstoffen vor sich ging, konnte nicht ermittelt werden. Daß eine derartige Dehydrierung möglich ist, geht aus den Versuchen MEYERS¹⁸ ebenfalls hervor, der bei der Reduktion von Duodenalsaft binnen 24 Stunden aus Stereobilin Urobilin erhielt. Auch die im Fall Nr. 178 nach 24 Stunden erfolgte Umwandlung von Mesobilivolin zu Glaukobilin spricht dafür.

Als letztes sind noch die Versuchsergebnisse an der unter Toluol aufbewahrten Galle zu besprechen. Die Reaktionen ergaben keine

Besonderheiten. Auffallend war, daß die GMELINSche Probe durchschnittlich bereits am 15.—20. Tag negativ ausfiel, während sich im übrigen (ohne Toluol) der Durchschnitt um den 30.—40. Tag bewegte.

Es ist bis jetzt die Frage noch unbeantwortet geblieben, welche Kräfte die Reduktion der Farbstoffe bewerkstelligen. In Frage kommen einmal die reduzierenden Eigenschaften der Gewebsfermente, die nach DIETRICH¹⁹ sehr energisch reduzierend wirken und Bakterien. Toluol hemmt die Bakterienwirkung weitgehend, während die Gewebsfermente dadurch nicht beschädigt werden. BAUMGÄRTEL⁷ konnte durch Beimengung von keimfreien Hirnbrei zu einer Biliverdinlösung alle Reduktionsstufen bis zum Urobilinogen verfolgen. Außerdem ist nach KÄMMERER und MILLER sowie auch nach BAUMGÄRTEL ein bakterielles Weiterschreiten²⁰ der Reduktion möglich, sobald diese einmal eingeleitet ist. Bei meinen Versuchen kann also sowohl eine auf Gewebsfermenten als auch auf bakterieller Tätigkeit beruhende Reduktion angenommen werden. Außerdem schließt Toluol die Einwirkung des Luftsauerstoffes aus, worauf wahrscheinlich der schnellere Ablauf der Reduktionsfolge beruht. Daß Urobilin bei diesen Versuchen früher verschwinden würde als Urobilinogen, war von vornherein anzunehmen, da zur Bildung des Urobilins die Anwesenheit von Sauerstoff erforderlich ist.

Abschließend möchte ich noch einmal die wichtigsten Befunde wiedergeben:

Es steht ohne Zweifel fest, daß eine postmortale Gallenfarbstoffreduktion stattfindet. Die Dauer ihres Ablaufs richtet sich nach der Konzentration der Gallenfarbstoffe. Diese hinwieder hängt mit dem Grundleiden zusammen, das zum Exitus führte. Im Brutschrank bei 37° wird die Reduktion verzögert, unter Luftausschluß durch Toluol beschleunigt.

An Farbstoffen waren mittels der typischen Reaktionen nachzuweisen: Bilirubin, Mesobilirubin (Glaukobilin), Urobilinogen, Urobilin (Mesobiliviolin). Stercobilinogen und Stercobilin waren durch eine spezifische Reaktion nicht feststellbar. Doch konnte ein bei der Chromatographie an Talcum adsorbiert brauner Farbstoff den Stercobilinen in sehr geringer Konzentration entsprechen. Ein von MEYER beschriebener Stoff mit der Absorption von 495—510 mμ trat nicht auf. Dieses war auch nicht anders zu erwarten, da die Grünfluoreszenz nach Zinkacetatzusatz, bei Sichtbarwerden dieser Bande bei der Kupferreaktion, ausbleiben soll, was bei meinen Versuchen nicht der Fall war.

Schlussfolgerung.

Vergleicht man die Literaturangaben über das besonders in letzter Zeit wieder aufgegriffene Problem der Gallenfarbstoffreduktion, so

findet man, daß die Ansichten der einzelnen Autoren nicht übereinstimmen. Der klassische Versuch FR. VON MÜLLERS brachte den Beweis der enteralen Entstehung von Urobilinkörpern, die beim vollständigen Gallenverschluß in Harn und Stuhl fehlten und nach peroraler Zufuhr von Galle wieder nachweisbar wurden. Das Gleiche kann aus einer bakteriologischen Studie von KÄMMERER und MILLER²¹ gefolgert werden, die nach der Beimpfung von Galle mit Bakterien aus der Darmflora Urobilinkörper nachweisen konnten. Eine Unterscheidung zwischen Urobilin und Stercobilin wurde zu dieser Zeit (1923) noch nicht getroffen. BAUMGÄRTEL führte diese Versuche weiter²² und kam zu dem Ergebnis, daß durch Hydrierung des aus dem Nahrungseiweiß stammenden Cystins zu Cystein durch den *Bacillus verrucosus* der Wasserstoff für die Reduktion von Bilirubin im Dickdarm geliefert wird. Dabei überträgt die Dehydrogenase des *Bakteriums coli* den Wasserstoff des Cysteins auf das Bilirubin. Nach Differenzierung der Endprodukte konnte BAUMGÄRTEL nur Stercobilin nicht aber Urobilin feststellen. Auf Grund dessen lehnt er die rein enterale Entstehung der Urobilinkörper ab und folgert, daß lediglich Stercobiline durch enteral-bakterielle Reduktion, Urobiline dagegen in der Leber entstehen. Damit steht der positive Ausfall der EHRLICHSEN und SCHLESINGERSchen sowie der Mesobilivolinreaktion an Sondengallen im Einklang. Daß übrigens die rein enterale Entstehungstheorie von Urobilin bzw. Urobilinogen nicht zu Recht besteht geht auch daraus hervor, daß H. FISCHER und REINDEL²³ bei Hirnhämatomen neben dem als Bilirubin identifizierten Hämatoidin auch eine deutlich positive SCHLESINGER-Reaktion der Hämatomextrakte festgestellt haben, die offenbar durch Urobilin bedingt war, das aus dem zu Urobilinogen cellulär reduziertem Bilirubin hervorgegangen war. W. C. MEYER²⁴ tritt demgegenüber, gestützt auf Beobachtungen bei einer Reihe vor kurzem durchgeführter Versuche, für die alleinige enterale Entstehungstheorie ein. Er fand bei einem Fall mit Dünndarmfistel, bei dem die Reduktion von Bilirubin also ausgeschaltet war, urobilinkörperfreien Duodenalsaft; d. h. mit anderen Worten: würde Urobilinogen in der Leber gebildet werden, so müßte es bei vorliegendem Fall auch im Duodenalsaft nachgewiesen werden können. MEYER zieht aus seinen Versuchen folgenden Schluß: Urobilinogen und Stercobilinogen werden größtenteils durch Rückresorption aus dem Darm von der Pfortader der Leber zugeführt und hier entweder fixiert, um dann irgend eine Aufgabe im Organismus zu erfüllen (Blutfarbstoffregeneration) oder über die Galle wieder aus der Leber ausgeschieden. Auf diesem Weg müßte dann allerdings — was von MEYER nicht erwähnt wird — das Stercobilinogen in Urobilinogen überführt worden sein, da Stercobilinogen bisher in der Galle noch

nicht nachweisbar war. Wahrscheinlicher ist deshalb, daß nur das leichter diffusible Urobilinogen rückresorbiert wird, das Stercobilinogen dagegen mit den Faeces zur Ausscheidung gelangt, was auch BAUMGÄRTEL⁵ annimmt. In diesem Sinne würde die kürzlich von S. NIEDERMEIER vertretene Auffassung über die Darmresorption der Gallenfarbstoffe sprechen²⁵. Dieser Autor mißt den Aciditätsverhältnissen im Magen besondere Bedeutung zu. Physiologischerweise wird durch die aus dem Magen in den Darm gelangende Salzsäure ein Teil des Bilirubins in Biliverdin umgewandelt. Nur das Biliverdin, von dem wiederum ein Teil als solches durch die Darmwand rückresorbiert wird, wird zu Urobilinogen abgebaut. Aus dem Bilirubin, das nicht in Biliverdin überführt wurde, physiologischerweise aber weitaus den größten Teil bildet, entsteht durch die Darmbakterien — nur der obere Dünndarm ist frei von solchen — falls keine Achylie oder stärkere Subacidität besteht — Stercobilinogen bzw. Stercobilin. Stercobilinogen gelangt mit dem Wasser aus dem Dickdarm in die Blutbahn und wird, da von der Leber nicht angenommen, ausgeschieden, wobei das Verhältnis des Darmstercobilins zum Urinstercobilin sich wie 10:1 verhält (HEILMEYER), vorausgesetzt, daß im Dickdarm keine zu starke Eindickung mit der daraus resultierenden Stercobilinvermehrung im Urin stattfindet.

Dieser kurze Hinweis auf die verschiedenen Theorien des Gallenfarbstoffkreislaufes und des Abbaues der Gallenfarbstoffe möge genügen, um zu zeigen, daß sich der ganze Fragenkomplex noch in Fluß befindet.

Auf Grund meiner Versuche — soweit man aus dem postmortalen Verhalten der Gallenfarbstoffe Schlüsse ziehen kann — möchte ich zu diesem Problem folgendes erwähnen: Die Reduktion von Bilirubin ist nicht an bestimmte Bakterien im Darmtractus gebunden. Lediglich Stercobilinogen kann nur unter gewissen Voraussetzungen — wie im vorhergehenden angeführt — gebildet werden.

Die Reduktion kann in der Gallenblase über das Mesobilirubin bis zum Urobilinogen vor sich gehen. Es genügt dazu die reduzierende Eigenschaft der Gewebsfermente, bakterielle Einwirkung wird nicht ausgeschlossen. Die Theorie der extraenteralen Urobilinkörperentstehung wird befürwortet, wobei jedoch immer Bilirubin das Ausgangsmaterial sein dürfte. Denn bei den Fällen, die stärkere Stauungserscheinungen darboten, was gleichbedeutend mit einem starken Blutzufluß im Organismus ist, befand sich wohl eine pleiochrome bilirubinreiche Galle in der Gallenblase, Urobilin bzw. Urobilinogen waren aber lediglich in der auch bei anderen Todesfällen vorhandenen Konzentration anzutreffen.

Es ist mir ein aufrichtiges Bedürfnis, Herrn Prof. Dr. LAVES für die Hilfe bei der Durchführung der Arbeit zu danken.

Literatur.

- ¹ FISCHER-ORTH: Die Chemie des Pyrrols, Bd. II, S. 621. 1937. — ² ASCHOFF: Münch. med. Wschr. **1922**, 1352. — ³ FISCHER, H. u. REINDL: Z. physiol. Chem. **127**, 291 (1923). — ⁴ VIRCHOW: Virchows Arch. **87**, 353 (1851). — ⁵ BAUMGÄRTEL, TR.: Med. Klin. **1947**, Nr 6, 231. — ⁶ KÄMMERER, H.: Dtsch. Arch. klin. Med. **1923**, 141, 318. — ⁷ BAUMGÄRTEL, TR.: Klin. Wschr. **1947**, H. 11/12. — ⁸ FISCHER, H. u. NIEMANN: Hoppe-Seylers Z. **146**, 196 (1925). — ⁹ MEYER, W. C.: Ärztl. Forsch. **1947**, H. 2/3, 63. — ¹⁰ BINGOLD: Med. Klin. **1946**, Nr. 20, 475. — ¹¹ FISCHER, H.: Münch. med. Wschr. **1912**, 2555. — ¹² FISCHER-ORTH: Die Chemie des Pyrrols, Bd. II, S. 691. 1937. — ¹³ MEYER, W. C.: Ärztl. Forsch. **1947**, H. 4/5, 96. — ¹⁴ FISCHER-ORTH: Die Chemie des Pyrrols, Bd. II, S. 655. 1937. — ¹⁵ TOKUYE KIMURO: Dtsch. Arch. klin. Med. **1904**, H. 3/4, 274. — ¹⁶ MEYER, W. C.: Ärztl. Forsch. **1947**, H. 4/5, 90. — ¹⁷ FISCHER-ORTH: Die Chemie des Pyrrols, Bd. II, S. 698. 1937. — ¹⁸ MEYER, W. C.: Ärztl. Forsch. **1947**, H. 4/5, 94. — ¹⁹ DIETRICH: Allg. Path. u. path. Anat. **1**, 65 (1941). — ²⁰ MEYER, W. C.: Ärztl. Forsch. **1947**, H. 4/5, 92. — ²¹ KÄMMERER u. MILLER: Dtsch. Arch. klin. Med. **141**, 318 (1923). — ²² BAUMGÄRTEL, TR.: Klin. Wschr. **1943**, Nr. 5, 92; **1943**, Nr 28/29, 457. — ²³ FISCHER, H. u. REINDL: Z. physiol. Chem. **127**, 299 (1923). — ²⁴ MEYER, W. C.: Ärztl. Forsch. **1947**, H. 4/5, 97. — ²⁵ NIEDERMEIER, S.: Klin. Wschr. **1947**, 567.