

A szegedi Egyetem Belgyógyászati Klinikájának (Igazgató: Hetényi Géza dr. egyet. ny. r. tanár) közleménye.

A daganatos melanin-vizelés

(Felismerés, melanogének elkülönítése, C-vitamin hatás.)

Irta: Hámori Artúr dr.

(Közlésre érkezett 1950. jan. 1-én)

A rendes, de különösen a kóros pigmentképződés kémiai folyamatairól még ma is aránylag keveset tudunk. Ennek magyarázatát részben abban kereshetjük, hogy a tumoros melanuria, amely ilyen kérdések tanulmányozására nagyon alkalmas, a ritkaságok közé tartozik. Eppinger (1) szerint csak akkor találkozunk ezzel a különös jelenséggel, ha már májmetastasisok fejlődtek ki. Ezt az összefüggést a mi eseteink is igazolni látszanak.

Két melanuriás beteget volt alkalmunk tanulmányozni. Eseteinket csak röviden ismertetjük. A klinikai megfigyeléseink közül csupán a diagnosztikus szempontokat emeljük ki és különösen a sternalis punctio értékét hangsúlyozzuk a festéktermelő daganatok gyanújának igazolása terén. Kísérleteink főleg két kérdés körül csoportosultak:

1. A melanogén izolálása.
2. A C-vitamin hatása a daganatos pigment anyagcserezavarra.

Klinikai megfigyelések.

1. eset. T. K. 45 éves férfi. Felvétel 1941. XII. 22-én. *Körelőzmény*: négy héttel ezelőtt a jobb bordaív alá sugárzó tompa fájdalmak jelentkeztek, vizelete feltűnően megsötétedett, majd étvágyát elvesztette és 15 kg-ot fogyott.

Status: a bőre testszerte, talán leginkább az arcán kissé barnább, furcsa szürke árnyalattal. A pigmentzavar alig észrevehető. A máj tenyérnyivel haladja meg a bordaívet, tömött tapintatú, kissé egyenetlen felszínű, nyomásra nem érzékeny. A lép szintén meghaladja a bordaívet két harántujjnyira. A vizelet sötétbarna színű, vegyhatása savi, ubg. erősen felszaporodott, epefesték \ominus , haemoglobin \ominus , ferrichlorid hozzáadására barnásfekete színű. *Thormählen* r. viszont negatív. Serumbilirubin 2-4 mg%, elhúzódó direkt. Takata r.: ++++. Galaktose-próba per os negatív.

A melanosarcomatosis gyanúja miatt sternum punctiót végeztünk és meglepődve láttuk, hogy koromfekete csontvelő ürül. A tűszúrásnyi, színes gombostűfejnyi fekete szövetrészletekben görcső alatt legnagyobb számban nagy maggal és viszonylag kevés protoplasmával bíró sejteket találtunk, amelyekben és körülöttük is barnásfekete, finom, porszerű szemcsék, illetve durva fekete rögök helyezkedtek el. A különös készítményt kiküldtük Rohr-nak Zürichbe, aki azt írta, hogy a készítmény valóban rendkívüli a tömeges metastasis és az óriási mennyiségű festék miatt, amely részben a daganat-sejtekben és nagyrészen a csontvelő reticulumban rakódott le.

Kórlefolyás: hőemelkedések, később 39° C-ig emelkedő szabálytalan lázak kíséretében 1942. I. 3-án exitus.

A kórbonctani leletekből (a boncolást Baló prof. végezte) azt emelném ki, hogy a vörös csontvelő mindenütt (a femurban, a bordákban, a koponyacsontokban stb.) koromfekete, valamint a máj és a lép is majdnem egészen fekete volt. A máj sima felszínűnek látszott, azonban felvágás után diónyi, kis almányi tumor-áttétek tüntek elő. Az áttétek különösen akkor rajzolódtak ki élesen, amikor a májból szeleteket készítettünk és formalinba helyeztük. A formalin a festék színét elhalványította, úgyhogy csak az igen sok festéket tartalmazó tumoros szövet maradt feketén.

A kórfolyamat kiinduló pontját a boncolás derítette ki. Amikor a koponya megnyitása céljából a fejbőrt lehúztuk,

az áteső fényben feltűnt a hajas fejbőrben rejtőzködő kb. 20 filléresnyi, lapos, elsődleges daganat.

2. eset. K. Z. 59 éves férfi. Felvétel 1947. I. 16-án.

Körelőzmény: két hét óta a jobb bordaív alatt tompa, állandó fájdalmakat érez, bágyadt, fáradékony, étvágytalan. Újabban lázas, vizelete sörszínű, de székletének színe rendes.

Status: a bőre szürkésbarna, fakó. A jobb vállán, a bőr színjében kétfilléresnyi pigmentált folt. A máj öt-ujjnyival haladja meg a jobb bordaívet, a lép nem tapintható. A vizelet barna, vegyhatása savi, epefesték \ominus ferrichloridra megfeketedik, *Thormählen* r. pozitív.

Sternum punctiót végzünk, továbbá kis exploratív laparotomia útján a májból kis darabot kimetszünk, majd a csepleszen lévő pigmentált foltot és a leírt naevust kórsövettani vizsgálat céljából eltávolítjuk. (A műtétet Prochnow prof. végezte.)

Kórsövettani lelet: (Korpássy prof.) a máj állományában alveolaris típusú daganatszövet észlelhető, amely nagymennyiségű barnás pigmentet tartalmazó, gömbölyű vagy megnyúlt daganatsejtekből áll. Hasonló szerkezetű daganatszövet található a cseplesz zsírszövetében és a sternum csontvelőjében is, míg a bőrből kimetszett darab egyszerű festékes anyajegynek felel meg.

A beteget moribund állapotban családja 1947. II. 10-én hazavitte. Boncolás nem történt.

Eseteink alapján a diagnosztikus szempontokat a következőkben foglalhatom össze:

A melanotikus daganatok felismerése egyedül a vizeletvizsgálat alapján nem lehetséges. Általában a ferrichlorid reakcióra szokás támaszkodni, ami azonban nem specifikus: ferrichloridra a legtöbb vizelet erősen megbarnul. Ha a pozitív a *Thormählen* reakció, akkor kisebb a kétségünk, azonban aetiologiai szempontból a pigment cirrhosisnak melanuriával szövődött ritka alakjára is kell gondolnunk. Ilyen esetet közölt Uhlenbruck (2). A ferrichlorid reakció helyett a *lugos autooxydatio vizsgálatát ajánlom*, ami a hydrochinonok sajátos reakciója. Ez a reakció sokkal specifikusabb tumoros melanuriára, mint a ferrichlorid próba bár a lugos vizelet akkor is megbarnul állás közben, ha alkaptan ürül.

A reakció kivitele nagyon egyszerű: a vizelet-hez $\frac{1}{5}$ arányban 20%-os KOH-oldatot öntünk és levegővel összerázzuk. Pozitív esetben azonnal mély barna szín keletkezik. Olykor a rendes vizelet is egy árnyalattal megsötétedhetik, de a minimális színváltozás összetévesztésre nem ad alkalmat.

Az elsődleges daganat kimutatása vagy a májmetastasisok kitapintása eldönti a kérdést, azonban, mint eseteink bizonyították, nem mindig sikerül és olykor a kórfolyamat kiindulása véglegesen rejtve marad. Ezért a diagnosis biztosítására egyéb utakat kell keresnünk.

Legegyszerűbb gondolat a májpunctio elvégzése, azonban ez eléggé veszélyes, mert például Kofler (3) 100 esete közül ketten meghaltak. Ezért már első esetünkben májcsapolás helyett a sternum csapolását választottuk, mert mindinkább szapo-

rodtak olyan irodalmi adatok, amelyek szerint a rosszindulatú daganatok korán okoznak csontvelő-áttéteket. Megengedem, hogy a mai vékonytűs technika és a thrombinoldat helyi alkalmazása a mai biopsias vizsgálatának veszélyét csökkentette, azonban mindkét esetünk azt bizonyítja, hogy a *festéktermelő daganatok gyanújának igazolása érdekében mindenekelőtt a kockázat nélküli sternalis punctiót érdemes elvégeznünk.*

A melanogének izolálása.

Mai tudásunk szerint a bőr festéktartalma a Bloch-féle dopaferment révén dioxyphenylalaninból keletkezik, tehát végeredményben tyrosin származék. Ezzel szemben Eppinger (1) tumoros melanint tartalmazó vizelethől olyan precursort különített el, amely a pyrrol reakciókat adta éppen úgy, mint a tryptophan. Ebből a lelethől Eppinger azt a következtetést vont le, hogy a daganatsejtek tryptophanból termelik a festéket.

Eppinger figyelemreméltó közleménye arra indított, hogy mi is megkíséréljük a melanogen izolálását, hogy a daganatos festék eredetét közelebbről megismerjük.

Első esetünkben lényegében Eppinger módszerét alkalmaztuk. Hopkins reagenssel a melanogént kicsaptuk és a csapadékot tisztítottuk. Végeredményben fehér kristályos pépet kaptunk és barna olajosan folyó anyagot. Az egész vízben feloldottuk, mi is elvégeztük a glyoxylsav-próbát, azonban csak múló kék színt nyertünk Eppinger maradandó kék színével szemben, továbbá a Thormählen r. negatív maradt, míg Eppinger pozitívnak találta. Az eltérő leletekből azt a következtetést vontuk le, hogy a két daganatos beteg festékanyagcseréje különböző. Ettől kezdve az a kérdés érdekelt bennünket, mi az eltérés oka.

Elvileg két eset lehetséges: vagy egy és ugyanaz a melanogen képződik minden esetben, de a melanogen mellett olykor még egy olyan anyag is keletkezik, amely a Thormählen r-t adja vagy a melanogének különböznek.

A kérdést a második betegünk vizsgálatával sikerült eldöntenünk, aki éppen abban különbözött az elsőtől, hogy vizelete a Thormählen r-t is adta a ferrichlorid-próbán kívül. Ezzel a vizelettel először különböző minőségi próbákat végeztünk. Ezek lényegében véve oxydatios próbák voltak és olyan színreakciók, amelyek együttesen — úgy véljük — indolváz anyag jelenlétére utalhatnak.

Oxydatios próbák: a vizelet ferrichloridra, kalilúgra, híg kaliumbichromat és tömény kénsavra azonnal barnásfekete színű lett. Az ammoniakos ezüst-oldatot hidegen két percen belül redukálta (polyphenolok tulajdonsága). A Fehling-oldat mohazöld lett, de még melegítésre sem vált ki rézoxyd. Sósavas közegben redukálta a 2:6-dichlorophenol-indophenolt (ezért a C-vitamin deficit ezzel nem vizsgálható). Végül kaliumperricyanid és ferrichlorid hozzáadására adta a berlinikék reakciót, mert K_3FeCy_6 -t K_4FeCy_6 -dá redukálta.

Színreakciók: a Thormählen-reakció pozitív volt. Az Ehrlich-féle aldehyd reagensre hidegen megpirosodott. Ugyancsak megpirosodott natriumnitrit és sósav, továbbá diazo I. és diazo II. reagens hozzáadására. Meg kell jegyeznünk, hogy az Ehrlich-féle aldehyd reakciót nem az urobilinogen adta. Ezt úgy bizonyítottuk be, hogy az urobilinogent

aetherrel quantitativ módon kiráztuk és a vizes frakcióhoz adtuk a reagent: a vizes frakció változatlanul megpirosodott. Így az Ehrlich-féle aldehyd reakció pozitív volta szintén az indolváz jelenlétére mutathat.

Ebben az esetünkben a melanogen izolálására azt a már ismert tényt használtuk ki, hogy az anyag alkoholban oldódik és aetherben kicsapódik. Ezen alapul Fürth és Kaunitz módszere (4), amelyet lényegében véve követtünk. Technikai részleteket elhagyom. Végül methylalkoholban oldva kapjuk a melanogent. Ekkor következik az aetheres kicsapás. A metodikai felismerés, amelynek alapján a felmerült kérdést megoldottuk és a Thormählen-anyagot bizonyos fokig izoláltuk, tulajdonképpen a háború utáni anyagihiánynak köszönhető, mert kevés peroxydmentes aetherünk lévén, kerestük azt a legkisebb vol. %-ot, amely a melanogent teljes egészében kicsapja. Így végeredményben frakcionált aetheres kicsapást végeztünk, aminek révén kétségtelenül bebizonyíthatuk a különböző Thormählen r-t adó anyag létezését. Az izolált anyag melynek kapcsolata a festék anyagcserével alig vitatható, stabilitása alapján praemelanogének tekinthető, mert savi és lúgos közegben egyaránt csaknem állandónak bizonyult. Ezek szerint az első betegünk melanint és melanogent, míg a második melanint, melanogent és praemelanogent ürített.

A szakaszos aetheres kicsapás közben a következő jelenségeket figyelhattuk meg:

Amikor a vizelet alkoholos kivonathoz kevés aethert adtunk (4:1), hófehér pelyhes csapadék vált ki, ami rendkívül oxydabilisnak bizonyult, mert elegendő volt a bedugott kémcsövet egyszer megfordítanunk és abban a pillanatban megbarapult. Ezt az anyagot elneveztük A-melanogének. További frakcionálás közben, amikor fele mennyiségű aethert adtunk az előbb nyert alkohol-aether keverékhez, ismét fehér csapadék keletkezett, amely azonban aether alatt vagy dest. vizes oldatban már kevésbé barnult meg, ellenben lúg hozzáadására azonnal erősen megsötétedett. Ezt az anyagot elneveztük B-melanogének. Végül olyan frakciót nyertünk, amely még lúgos közegben is alig barnult meg, ellenben erősen adta a Thormählen reakciót. Ezt a frakciót C-melanogének nevezzük.

A quantitativ viszonyokat az 1. ábra mutatja. A melanogének mérésére új quantitativ módszert dolgoztunk ki. Módszerünk lényegét röviden a következőkben foglalhatom össze:

A melanogének mennyiségére a belőlük keletkezett melanin mennyiségéből következtettünk. A melanin mennyiségét Pulfrich-féle photometerrel határoztuk meg. Az eredményt az extinkciós koeficiens fejezi ki számszerűen. A dest. vizes oldat barna színét az A-melanogének tulajdonítottuk. Azt a barna színt, amely kálilúg hozzáadására keletkezett, a B-melanogénből származtattuk. A C-melanogen mértékéül a Thormählen reakció kék színének intenzitását vettük.

Technikai részletek. I. frakció: alkoholos kivonat és aether aránya 4:1; II. ill. többi frakció: fele annyi aether, mint az előző alkohol-aether keveréknek centrifugálás után maradt összmennyisége, Centrifugálás. Végül a csapadéko-

kat azonos mennyiségű, még pedig a kiinduláskor felhasznált alkoholos kivonat felének megfelelő dest. vízben oldjuk.

A-melanogen mérése: dest. vizes oldat szemben dest. vízzel. 1 cm átmérőjű kűvetta S 47 szűrő.

B-melanogen mérése: 5 ccm dest. vizes oldathoz 1 ccm 20%-os KOH-oldatot adunk. Kompenzációs folyadék 5 ccm dest. vizes oldat + 1 ccm dest. víz. 1 cm átmérőjű kűvetta. S 47 szűrő.

C-melanogen mérése: hidegen telített nitroprussid-natrium oldatot tízszeresére hígítunk, azután 5 ccm dest. vizes oldathoz $\frac{1}{4}$ ccm nitroprussidnatrium-oldatot, majd $\frac{1}{4}$ ccm 20%-os KOH-t, végül $\frac{1}{4}$ ccm jégecetot adunk. Azonnali photometrizálás, mert a szín idővel lassan halványodik. Kompenzációs folyadék 5 ccm dest. vizes oldat + $\frac{1}{4}$ ccm dest. víz. 1 cm-es kűvetta. Szűrő: S 61.

Megjegyzem, hogy csak D% 90—15 közti értékeket fogadtuk el. Tülsötét szín esetén a vizsgálendő folyadékot hígítottuk és az extinkciós koefficiensét megszoroztuk a hígítás fokával.

1. táblázat.

A különböző melanogenek elkülönítése a vizelet alkoholos kivonatából.

Mela- nogen	Extinkciós koefficiens a növekvő vol. % aether révén nyert frakciókban						
	20	39	49	57	67	71	76
A	0.840	0.484	0.280	0.187	0.102	0.086	0.071
B	1.300	0.870	0.461	0.284	0.201	0.149	0.174
C (Thormählen anyag)	∅	nyom	0.337	0.474	0.520	0.387	0.229

Látjuk (1. táblázat), hogy a *Thormählen* anyag főleg a IV. és V. frakcióban csapódik ki (aether 57 és 67 vol. %), viszont A- és B-melanogen az elsőben (aether 20 vol. %).

Ha új ismereteink birtokában meg akarjuk magyarázni azt a régóta tudott tény, hogy egyes betegek vizelete adja a *Thormählen* reakciót, másoké pedig nem, akkor azt mondhatjuk, hogy a *Thormählen* reakció különálló anyag ürítéséhez van kötve. Ha a különböző melanogeneknek egymásba való átalakulása gyors, akkor csak a végtermékek ürülnek, tehát a reakció negatív és viszont. Ezt a felfogásunkat támogatni látszik az a megfigyelésünk, hogy első betegünk vizelete, amely a *Thormählen* reakciót nem adta, szemléto-mást sötétedett a levegőn, míg a második betegünk *Thormählen* pozitív vizeletének barnulása csak napok múlva fokozódott és a változást inkább csak photometerrel mutathattuk ki.

A VII. frakció után fele mennyiségű aether hozzáadására kicsapódás nem történt. Ekkor az aether mennyiségét fokozatosan növeltük, míg végül hétszeres mennyiség hozzáadására különböző kristályok csapódtak ki. A kristályos pép eleinte nem volt egynemű, de további aetheres frakciók között majdnem teljesen tisztán sikerült túalakú kristályokat nyernünk. Ezek a kristályok a legkevésbé voltak oxydabilisak, azonban mégis hozzáfartoztak a melanin anyagcseréhez, mert az idők folyamán levegőn megbarnultak. Végül olyan túalakú kristályokat nyertünk, amelyek már nem barnultak meg. Ezekben látjuk a daganatos pigment alapanyagát, illetve őanyagát. Sajnos,

a kristályokat nem sikerült elegendő mennyiségben és egész tisztán előállítanunk, mert a beteg időközben meghalt. A jövő kutatásának feladatát éppen e kristályok tömeges előállításában jelölhetjük meg. Kétségtelen ugyanis, hogy a daganatos melanin eredetének tisztázása (tyrosin vagy tryptophan) elsősorban e kristályok szerkezetének felderítésétől várható.

Hogyan áll ez a kérdés? Láttuk, hogy a daganatos melanogenek között indolváz anyag is előfordul, éppen ennek keletkezése vitatható. *Eppinger* (1) szerint az indolváz egyszerűen tryptophanból ered. Ezzel ellentétben *Raper* és *munkatársai* (5) oly kísérleteket végeztek, amelyek alapján feltételezhető, hogy tyrosinból származik az alanin oldallánc gyűrűzáródása, tehát intramolekularis átrendeződés révén. *Raper* és *munkatársai* ugyanis azt találták, hogy akkor, amikor tyrosinase enzim hatására tyrosinból melanin képződik, a közbülső termékek között indolszármazékok is szerepelnek. Tehát a jövő kutatásának célja annak megállapítása, vajjon az említett kristályok szerkezetében fellelhető-e az indolgyűrű vagy nem. Ha nem, akkor *Raper* elmélete igazolást nyer. Ha ez az anyag nem tartalmaz indolgyűrűt, de eloxydálása révén keletkezik, akkor ez a tény egyrészt bizonyítaná a genetikai összefüggést, másrészt *Raper* elméletét támasztaná alá. A gyűrűzáródás újabb példáját is ismerjük. *Butenandt* (6) vizsgálatai szerint a kynurensav tryptophanból úgy képződik, hogy a tryptophan pyrrol gyűrűje felszakad és az így keletkezett kynurenin oldallánca rendes desaminálás után chinolin gyűrűvé záródik. Kynurenin a drosophila szemfestékének előanyaga.

Az aetherben oldódó melanogen frakció. *Thannhauser* és *Weiss* (7) olyan brencatechin származékot írtak le melanuriával kapcsolatban, amely aetherben oldódik. Ezért az említett szerzők eljárása szerint második betegünk vizeletéből megkíséreltük az aetherben oldódó melanogen frakció elkülönítését is. Technikai részleteket elhagyom, csak annyit említek meg, hogy a feldolgozott vizelet tizedrészének megfelelő dest. vízben oldottuk a nyert száraz anyagot. Végül lazacszínű oldatot nyertünk, amellyel különböző minőségi próbákat végeztünk.

Oldatunk a következő reakciókat adta: ferrichloridra megbarnult; *Thannhauser* és *Weiss* adataival szemben figyelemreméltó, hogy nem zöldült meg és natriumcarbonat hozzáadására nem lett piros. Lúgos közegben levegőn erősen autooxydabilisnek bizonyult, mert kalilúgra azonnal megbarnult és a reakció photometriás méréseink szerint pár percen belül teljessé vált. Az ammoniakos ezüstoldatot hidegen azonnal redukálta, de a *Fehling*-oldatot még melegítésre sem. A berlinikék reakciót kaliumferricyaniddal és ferrichloriddal erősen adta. 2:6-dichlorophenolindophenolt sósavas közegben szintén redukálta.

A *Thormählen*-reakciót nem adta. Az *Ehrlich*-féle aldehid reagensre melegítéskor megvörösödött. Natriumnitrit és sósav hozzáadására nem változtatta színét. Diazo reagens hatására nem keletkezett piros szín, azonban ammonia hozzáadásakor megpirosodott. *Hopkins* reagens kicsapta.

A felsorolt adatokból kitűnik, hogy esetünkben a *Thannhauser* és *Weiss* által leírt brencatechin származékot nem sikerült izolálnunk,

ellenben lúgos közegben nagyon autooxydabilis precursort találtunk, aminek tulajdonságai inkább hydrochinonra emlékeztettek. Ügylátszik, hogy a különböző festéktermelő daganatok anyagcseréje nem egészen azonos. Egyébként az *Ehrlich*-féle aldehid reakció pozitív voltát az urobilinogen-nek tulajdonítjuk és a pozitív diazo reakciót sem hozzuk összefüggésbe a pigment anyagcserével.

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy anyagunk a 2:6-dichlorophenol-indophenolt sósavas közegben azonnal redukálja, viszont a C-vitamin nem oldódik aetherben és a barna szín sem zavar, ezért a 2:6-dichlorophenol-indophenol alkalmas az aetherben oldódó melanogen titrálására.

Végül az aetheres frakció lúgos autooxydatiójának erősségét összehasonlítottuk a vizelet lúgos autooxydatiójának mértékével. Photometriás méréseinkből kiderült, hogy az összes melanogen-nek csupán huszadrésze oldódik aetherben.

A C-vitamin hatása a melanuriára.

Szent-Györgyi (8) elsőként mutatott rá a C-vitamin és a festék anyagcserezavarának összefüggésére. Ez volt tudvalevően az a gondolat, amely a C-vitamin felfedezésére vezetett. *Szent-Györgyi* abból indult ki, hogy az *Addison*-koros betegek éppen úgy megbarnulnak, mint bizonyos gyümölcsök, ha légzőrendszerük meg van zavarva, mint pl. az alma, a banán és a burgonya. Ezután a növényi légzés tanulmányozásába kezdett, miközben egy erősen redukáló anyagot talált, amely a mellékvese kérgében is nagy mennyiségben előfordult. Ez az anyag bizonyult később C-vitaminnak. Minthogy arra gondolt, hogy az *Addison*-betegek azért barnulnak meg, mert pusztuló mellékveséjük miatt C-vitamin hiányban szenvednek, ezért az ilyen betegeknek C-vitamint adott, akik kifehéredtek ugyan, azonban éppen úgy meghaltak, mint azelőtt.

A kifehéredés szempontjából kedvező eredményekről számolnak be *Szüle* (9), *Morawitz* (10), *Hoff* (11), *Schroeder* és *Einhauser* (12), *Pajer* (13) stb. *Addison*-betegeknek, valamint különböző eredetű hyperpigmentációkon. A négerek nem fehéredtek ki (*Szent-Györgyi*) és az arzénmérgezett betegek barnulását sem befolyásolja a C-vitamin lényegesen (*Hátori* 14).

Ezekután felmerül az a kérdés, vajon megszüntethető-e C-vitaminnal a melanuria?

In vitro kísérletek. Dest. vízzel tiszteresére hígított vizelethez különböző mennyiségű kristályos C-vitamint adtunk és két kérdést vizsgáltunk:

1. Redukálja-e a kész tumoros melanint?
2. Gátolja-e a tumoros melanogen-ek autooxydatióját levegőn?

A vizelet vegyhatása savi volt. A barnulás mértékét időnként photometerrel ellenőriztük. A szín intenzitását az extinkciós koeficiens fejezi ki számszerűen. Az esetleg zavaros vizeletet mérés előtt közvetlenül *Schleicher* és *Schüll* 589^a kékszalagos szűrőpapíron át megszűrjük. 1 cm átmérőjű küvétát és S 47-s szűrőt használtunk. Kompenzációs folyadék gyanánt dest. viz szolgált. Egyik ilyen kísérletünk eredményét a 2. táblázat tünteti föl. A táblázatból jól látszik, hogy a C-vitamin nagy töménységben (100 mg%) azonnal, kisebb töménységben (25 mg%) pedig órák mulva redukálja a praeformált melanint. Továbbá kitűnik, hogy a tumoros melanogenek savi közegben jelentkező autooxydatióját aránylag kis koncentrációban is (25%) tökéletesen felfüggeszti. Igaz ugyan, hogy háromszor 24 óra mulva a 25 mg%-os oldat

sötétetni kezd, azonban nyilvánvaló, hogy közben a C-vitamin részben vagy egészben elbomlott. Végül a teljesség kedvéért megjegyezzük, hogy előző kísérletünkben azt találtuk, hogy a 10 mg %-nyi ascorbinsav teljesen hatástalan.

2. táblázat.

C-vitamin hatása a melanuriára *in vitro*. vegyh. savi.

Óra	Extinkciós koeficiens különböző C-vitamin conc. (mg%) mellett.					
	25	50	100	200	1000	Ø
Ø	0.208	0.208	0.181	0.168	0.168	0.208
7	0.168	0.155	0.137	0.143	0.119	0.201
30	0.161	0.155	0.125	0.119	0.108	0.244
2×24	0.168	0.174	0.131	0.119	0.125	0.244
3×24	0.208	0.187	0.149	0.143	0.125	0.292
4×24	0.244	0.194	0.137	0.119	0.119	0.292

Ezekután azt vizsgáltuk, hogy a C-vitaminnak a tumoros melaninra, illetve melanogenra gyakorolt hatása savi vagy különleges tulajdonságának köszönhető-e. Ezért előző kísérletünkben pH 7.17 mellett megismételtük. A vizelet dest. víz helyett n/5-s pH 7.17-s phosphatpufferrel hígítottuk a tiszteresére. Eredményeinket a 3. táblázat tünteti fel. Mindenekelőtt meg kell jegyeznünk, hogy az 1000 mg%-os oldat kissé savi maradt lakmussal szemben, ezért az idetartozó adatok nem értékelhetők.

3. táblázat.

C-vitamin hatása a melanuriára *in vitro*. pH. 7.17.

Óra	Extinkciós koeficiens különböző C-vitamin conc. (mg%) mellett.					
	25	50	100	200	1000	Ø
Ø	0.229	0.215	0.229	0.208	0.181	0.222
7	0.237	0.252	0.229	0.201	0.174	0.229
30	0.252	0.229	0.252	0.222	0.168	0.260
48	0.260	0.229	0.260	0.229	0.181	0.292
3×24	0.284	0.268	0.252	0.276	0.244	0.301

A táblázat első sorából kitűnik, hogy a C-vitamin nem képes a melanin koncentrációját pH 7.17 mellett csökkenteni, viszont a melanogen autooxydatióját 48 óra, illetve 3-szor 24 óra mulva határozottan gátolja. Tehát a kész melanin elszintelenítése savhatáson alapul, viszont a melanogen-melanin átalakulás gátlása az ascorbinsav különleges hatásának tulajdonítható.

In vivo kísérlet. Minthogy a kémcsőben azt találtuk, hogy jelentős hatások csak nagy koncentrációval érhetők el, ezért betegünknek naponta átlag 3 g C-vitamint fecskendeztünk érbe. A kezelés 9 napig tartott. A vizeletet 3 részben gyűjtöttük és azonnal feldolgoztuk. A pigment anyagcserében mutatkozó változásokról úgy győződünk meg, hogy meghatároztuk a kivizelt melanin, melanogen és praemelanogen mennyiségét. A vizelet színét a kész melaninnak tulajdonítottuk. A melanogen mérésére a lúgos autooxydatió erősségét használtuk fel. A praemelanogen mennyiségére a *Thormählen* reakció kék színének intenzitásából következtettünk.

4. táblázat.

C-vitamin hatása a melanuriara in vivo.

C-vitamin g	—	—	—	3-5	3-5	3-1	3-1	3	3	3	3	2-5	—
Melanin e.	202	191	195	171	—	174	154	209	133	196	184	208	169
Melanogen e.	557	325	348	395	—	409	321	383	278	338	320	393	303
Praemelanogen e.	1445	932	1058	1033	—	1309	1244	1825	1243	1930	1563	1995	1345
Vizelet	ccm	995	680	920	920	—	925	765	935	685	935	815	1015
fajsúly	1020	1021	1023	1023	—	1024	1024	1024	1024	1024	1023	1024	1023
Napok	1947	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	I. 27.	28.	29.	30.	31.	II. 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.

Technikai részletek. Kész melanin mérése: dest. vízzel tiszteresére hígított vizelet szemben dest. vízzel. 1 cm átmérőjű küvetta. S 47 szűrő.

Melanogen mérése: dest. vízzel tiszteresére hígított vizelet 10 ccm-éhez 2 ccm 20%-os KOH-t adunk. Kompenzációs folyadék 10 ccm tiszteresére hígított vizelet + 2 ccm dest. víz. 1 cm-es küvetta. Szűrő S 47.

Praemelanogen mérése: dest. vízzel húszszoros, illetve negyvenszeresre hígított vizeletből 10 ccm + 0.5 ccm tiszteresére hígított hidegen telített nitroprussidnatrium-oldat + 0.5 ccm 20%-os KOH-t + 0.5 ccm jégecet. Kompenzációs folyadék azonos mértékben hígított vizeletből 10 ccm + 1.5 ccm dest. víz. 1 cm átmérőjű küvetta. Szűrő S 61.

Az esetleg zavaros oldatokat photometrizálás előtt Schleicher és Schüll 589 kékszalagos szűrőpapíron át szűrjük.

A kiürítést az általunk választott egységben fejeztük ki. Melanin, illetve melanogen egységnek vettük azt a mennyiséget, ami 100 ccm vizeletben oldva 0.1 extinkciós koefficiens eredményez. Tehát a kiürítést úgy számítottuk ki, hogy a talált extinkciós koefficiens megszoroztuk tizzel, majd a hígítás fokával és a napi vizelet ccm-ének századrészeivel. A C-vitamin deficitet nem határozhattuk meg, mert amint korábban kimutattuk, a melanogen is redukálja a 2 : 6-dichlorophenolindophenolt. Eredményeinket a 4. táblázat tünteti fel. Látjuk, hogy photometriás módszerünkkel kvantitatív módon követhető a pigment anyagcsere termékeinek kiválasztása.

E táblázatból kiszámítottuk a melanin, melanogen és praemelanogen ürítés napi átlagát a kezelés előtt és a kezelés folyamán. Eredményeinket az 5. táblázatban foglaltuk össze. Látjuk, hogy a melanin és melanogen csökkenése kereken 10 ill. 15 %-ot, míg a *Thormählen* anyag növekedése kereken 30%-ot tett ki. A számoknak nem tulajdonítunk túlzott jelentőséget, inkább azt emeljük ki, hogy C-vitamin hatására a melanin és melanogen ürítése csökken, viszont ugyanakkor a *Thormählen* anyag ürítése megnő. Ezek az adatok azt látszanak bizonyítani, hogy a C-vitamin akkor blokkolja bizonyos mértékben a daganatos festék anyagcseréjét, amikor a viszonylag stabil *Thormählen* anyag oxydabilisabb precursorrá alakul át.

5. táblázat.

C-vitamin hatása a melanuriara in vivo.

A kiürített anyag	A napi átlag egységekben kifejezve a kezelés	
	előtt	folyamán
Melanin	196	177
Melanogen	410	349
Praemelanogen	1145	1498

kimeretes, hogy a *Thormählen* reakciót C-vitamin is adja, ezért felmerül az a jogos gyanú hogy a C-vitamin kezelés folytán erősödő *Thormählen* reakciót nem a praemelanogen felszaporodása, hanem az esetleg kiválasztott magymennyiségű ascorbinsav okozta. E nézet tarthatatlanságát Reinbold A-val (15) végzett további vizsgálataink néhány adata és az alábbi egyszerű számítás világítja meg.

Tételezzük fel, hogy az összes bevitt C-vitamin kiürült a vizelettel és napi egy liter vizeletet vegyünk számításunk alapjául. Ekkor vizeletünk C-vitamin koncentrációja 300 mg%-os lenne. Minthogy a *Thormählen* reakciót a színintenzitás növekedésekor a vizelet negyvenszeres, korábban húszszoros hígításában vizsgáltuk, ezért a C-vitamin végconcentrációja 7.5, ill. 15 mg%-nak felel meg. Reinbold A-val megállapítottuk, hogy a C-vitamin csak 10 mg% felett adja a *Thormählen* reakciót, 15 mg%-nál pedig olyan halvány és múló a szín, hogy nem photometrizálható. Mindezek alapján a C-vitamin feltételezett maximális végconcentrációja sem zavar és így fenti tételünket változatlanul bizonyítottunk tekintjük.

Végül felhívjuk a figyelmet arra a különös ellentétre, hogy a C-vitamin még óriási adagokban sem szüntette meg a tumoros melanuriát, holott a bronzkóros betegek bőre és egyéb avitaminosis eredetű barnulások olykor lényegesen kisebb adagokra kifehérednek.

ÖSSZEFOGLALÁS

A vizelet lúgos autooxydatiójának vizsgálata hozzájárul a melanuria felismeréséhez.

A sternum punctiónak jelentőséget kell tulajdonítanunk a festéktermelő daganat gyanújának igazolása terén (koromfekete csontvelő, tumorsejtek).

A festéktermelő daganatok anyagcseréje során mindinkább autooxydabilisabb anyagok keletkeznek, amelyek a vizelet alkoholos kivonatából aetherrel genetikai sorrendben csaphatók ki. Különböző frakciókat A-, B-, C- és D-melanogen-nek neveztük el. A legősibb anyag: a D-melanogen még kristályos alakban is előállítható. A C-melanogen már nem kristályos, de még mindig viszonylag stabil (praemelanogen); ez az anyag adja az ismert *Thormählen* reakciót. A B-melanogen lúgos közegben, az A-melanogen pedig az aetheres kicsapás után pillanatokon belül melaninná oxydalódik.

A C-vitamin gátolja a tumoros melanin képződését in vitro és in vivo egyaránt. Kémcsőben és savi közegben még a kész melanint is redukálja. Élőben a *Thormählen* anyag további eloxydálását késlelteti; ezzel elősegíti a vizelet útján való elváltozását, ami végeredményben a szervezet további pigmentációját mérsékelheti (idő és adag kérdése).

Adataink mellett szólnak, hogy a daganatos precursorok között indolvasas vegyület is előfordul. A különböző frakciók előállítására révén lehetőség nyílik annak az elvi kérdésnek eldöntésére, hogy ez az indolgyűrű tryptophan-származék-e.

zék-e vagy tyrosinból ered az alanin oldallánc gyűrűzáródása révén.

Az aetherben oldódó precursornak indolváza nincs, tulajdonságai hydrochinonra emlékeztetnek, mennyisége csekély.

Irodalom :

1. *Eppinger, H.* : Bioch. Z. 28. 181. (1910). — 2. *Uhlenbruck, P.* : Dtsch. Arch. klin. Med. 167. 80. (1930). — 3. *Kofler, W.* : Z. klin. Med. 138. 746. (1940). — 4. *Fürth, O. és H. Kaunitz* : Bioch. Z. 253. 231. (1932). — 5. *Raper, H. S. és munkatársai* : Bioch. J. 21. 89. 1370. (1927)., *Raper* : Ergebnisse Enzymforsch. 1. 270. (1932). — 6. *Butenandt, A.* : Tisza István Tudományos Társaság II. oszt. Munkái. 8. 3. (1943). — 7. *Thannhauser és Weiss* : Kongr. f. innere Med. 34. 156. (1922). — 8. *Szent-Györgyi, A.* : Verh. Ges. f. Verdaung- u. Stoffwechsellkrankheiten. 12. 49. (1934) és személyes közlés. — 9. *Szülle, D.* : Dtsch. med. Wschr. 1933. I. 651. — 10. *Morawitz, P.* : Klin. Wschr. 1934. I. 324. — 11. *Hoff, F.* : Dtsch. med. Wschr. 1936. I. 129. — 12. *Schroeder, H. és M. Einhauser* : Münch. med. Wschr. 1936. I. 923. — 13. *Pojer, J.* : Schweiz. med. Wschr. 1939. I. 872. — 14. *Hámori, A.* : Orvostudományi Közl. 2. 193. (1941)., Dtsch. med. Wschr. 1941. II. 728. — 15. *Hámori, A. és Reinbold* : A. Megjelenés előtt.

Др. А. Гамори : МЕЛАНУРИЯ ОПУХОЛЕВЫХ БОЛЬНЫХ.

Исследование щелочной аутооксидации мочи способствует установлению меланурии. Придется приписывать известное значение стеральной пункции при проверке подозрения на присутствие меланогенной опухоли (костный мозг цвета копти, опухолевые клетки). В процессе обмена веществ меланогенных опухолей-возникают вещества все легче поддающиеся аутооксидации, которые можно выделять эфиром алкоголической вытяжкой мочи по генетическому порядку. Различные фракции были нами наименованы меланогенами А, В, С и D. Самое первоначальное вещество меланоген D можно произвести даже и в кристаллическом виде. Меланоген С уже не кристаллический, но он еще сравнительно устойчив (премеланоген). Это вещество даст известную нам реакцию Thormählen'a. Меланоген В, в щелочной среде, меланоген А даже под эфиром окисляется в несколько секунд в меланин.

Витамин С препятствует образованию опухолевого меланина in vitro как и in vivo. В пробирке и в кислой среде он редуцирует даже и готовый меланин. in vivo он замедляет дальнейшее окисление Thormählen'ого вещества; тем самым он способствует выделению последнего через мочу, что в конечном итоге может уменьшить дальнейшую пигментацию организма (вопрос времени и материала). Кварцовый луч не повышает аутооксидация меланогенов.

Наши данные указывают на то, что среди опухолевых предвестников находятся и соединения индольной структуры. Путем приготовления различных фракций открывается возможность к разрешению следующего теоретического вопроса: является-ли это индольное кольцо триптофаным дериватом, или-же оно происходит из тирозина вследствие закрытия кольца боковой цепи аланина. Растворяющийся в эфире предвестник не имеет индольной структуры.

Его свойства напоминают гидрохинон, количество его ничтожное.

By *A. Hámori M. D.* : *Melanuria as caused by neoplasms. (Diagnosis, isolation of melanin — precursors, effect of vitamin C.)*

Author's extract.

The testing of urine for alkaline auto-oxidation represents an important contribution to the detection of melanuria.

In establishing the diagnosis of malignant melanomas the importance of such findings in the sternal puncture as carbon black marrow and or tumor cells cannot be appreciated highly enough. The metabolism of malignant melanomas produces closely related substances which are more and more liable to spontaneous oxidation and can be precipitated by ether in the same order as produced. The different fractions are named melanogens A, B, C, and D respectively. Melanogen D, the primary product, can be prepared even in crystalline form whereas melanogen C or premelanogen is not crystalline. Nevertheless it is relatively stable and can be demonstrated by the known Thormählen's reaction. Melanogen B is instantly oxidised in alkaline solutions while oxidation of melanogen A — after having been precipitated by ethertakes place immediately.

Vitamin C inhibits the formation of tumorous melanin both in vitro and in vivo. Provided acid medium, however, it reduces melanin in vitro. In the living vitamin C prevents the further oxidation of Thormählen's substance and thus facilitates its elimination by urine. Therefore in final analysis vitamin C diminishes or stops further pigment formation.

The present results suggest among the precursors of tumorous melanin a compound possessing an indol nucleus. Hence the preparation of the different fractions may answer the question whether the indol ring comes from tryptophan or is synthesised from tyrosin through a ring closure of the alanine chain.

The ether soluble product has no indol radical, its properties resemble those of hydrochinon and occurs but in minute amounts.