

**Das Carcinomproblem.**

Von OTTO WARBURG, Berlin-Dahlem.

Vorgetragen auf der Hauptversammlung des Vereins deutscher Chemiker in Kiel.

(Eingeg. 27. Mai 1926.)

Pinselft man die Haut von Kaninchen monatelang mit Teer, so entstehen, wie die Japaner Yamagiva und Ichikawa fanden, an den behandelten Hautstellen — und nur an diesen — Carcinome. Eine andere Methode zur künstlichen Erzeugung von Carcinomen besteht darin, daß man die Haut mit Röntgenstrahlen bestrahlt. Auch hier ist die Wirkung eine streng lokale, an der bestrahlten Stelle, und nur an dieser, entstehen Carcinome.

Die Versuche mit Teer und mit Röntgenstrahlen zeigen, daß normales Gewebe Zellen enthält, aus denen Carcinome entstehen können, ohne daß eine körperfremde Zelle mitwirkt. Es gibt keinen spezifischen Krebsbazillus, so wenig es einen Diabetes- oder Arteriosklerosebazillus gibt. Krebs ist eine Infektion mit körpereignen Zellen, das Krebsproblem ein Problem der Zellphysiologie im engeren Sinn, beschränkt auf die Körpereignen Zellen.

Da Krebsgewebe anders als normales Gewebe wächst — nämlich ungeordnet und unbeschränkt — so muß sich der Carcinomstoffwechsel von dem normalen Stoffwechsel unterscheiden. Da anderseits die Carcinomzelle, als körpereigene Zelle von normalen Zellen abstammt, so muß es möglich sein, den Carcinomstoffwechsel mit dem normalen Stoffwechsel zu verknüpfen. Hiermit sind unsere Hauptfragen formuliert: Was ist das besondere des Carcinomstoffwechsels, und wie entsteht er aus dem normalen Stoffwechsel?

**I.**

Wir untersuchen den Carcinomstoffwechsel, indem wir das Blut, das in einen Tumor einströmt und aus ihm ausströmt, analysieren. Der Unterschied in der Zusammensetzung des ein- und ausströmenden Blutes ergibt den Stoffverbrauch und die Stoffbildung des Tumors.

Wie die normalen Organe verbraucht der Tumor Sauerstoff und scheidet Kohlensäure aus, die Tumorenvenen enthalten weniger Sauerstoff und mehr Kohlensäure als die Arterien. Wie die normalen Organe verbraucht der Tumor Glucose, die Tumorenvenen enthalten weniger Glucose als die Arterien.

Abweichend von den normalen Organen gibt der Tumor Milchsäure an das Blut ab. Blut, das aus einem Jensen-Sarkom ausströmt, enthält drei- bis viermal soviel Milchsäure als das einströmende Blut. Dagegen enthält Blut, das unter normalen Lebensbedingungen aus normalen Organen ausströmt, ebensoviel oder weniger Milchsäure als das einströmende Blut.

Die Milchsäure, die der Tumor an das Blut abgibt, stammt aus dem Blutzucker, den der Tumor zum Teil wie die normalen Organe oxydiert, zum größeren Teil aber zu Milchsäure spaltet. Da man die Blutmenge, die in der Zeiteinheit durch den Tumor strömt, schätzen kann, so ist es auch möglich, die in dem Tumor vor sich gehende Milchsäuregärung ungefähr zu berechnen. Die Rechnung ergibt für das Jensen-Sarkom der Ratte, daß — bei normalem Zuckergehalt der Arterien — pro Stunde im Mittel 4% des Tumorgewichts an Glucose zu Milchsäure gespalten werden. Die Gärung ist also sehr beträchtlich. Sie ist verschieden intensiv in den verschiedenen Teilen

des Tumors, weil die Glucosekonzentration im Blut bei der Strömung durch den Tumor abnimmt. Die Gärung ist am größten dort, wo die Capillaren in die Tumorsubstanz eintreten und sinkt dann in der Richtung des capillaren Blutstroms mit sinkender Glucosekonzentration.

Nimmt man den Tumor aus dem Körper heraus und bringt dünne Schnitte des Tumors in Serum, so geht die Gärung unter geeigneten Bedingungen tagelang weiter. So kann man die Tumorgärung *in vitro* unter zwar weniger physiologischen, dafür aber einfacheren Bedingungen untersuchen. Berücksichtigt man dabei das, was über die Abnahme der Glucosekonzentration im Körper gesagt ist, so erhält man *in vitro* Gärungswerte, die mit den im Körper gefundenen übereinstimmen.

Bei 0,2% Glucose ist die Gärung maximal, und nur von der maximalen Gärung ist im folgenden die Rede, wenn Zahlenangaben gemacht werden. Ist das Serum mit Sauerstoff gesättigt, so bildet der Tumor *in vitro* pro Stunde 8—10% seines Gewichts an Milchsäure. Ein Vergleich der gebildeten Milchsäure mit der in der Gärung verbrauchten Glucose lehrt, daß eine reine milchsaure Gärung der Glucose vorliegt; pro Molekül gespalterner Glucose entstehen genau 2 Moleküle Milchsäure. Die Milchsäure ist optisch aktiv, und zwar d-Milchsäure.

Wir haben eine große Zahl verschiedenartiger maligner Tumoren untersucht, von denen ich nenne: transplantierte Rattencarcinome, transplantierte Rattensarkome, das Rousche Hühnersarkom, ein Teercarcinom des Kaninchens, endlich alle Arten menschlicher Krebse, und haben qualitativ und nahezu quantitativ immer dasselbe Resultat erhalten. Es handelt sich also um eine allgemeine Eigenschaft der Carcinome und Sarkome, die gänzlich unabhängig davon ist, durch welchen Reiz oder aus welchem normalen Gewebe die Tumoren entstanden sind.

**II.**

Fragen wir uns, auf welche Weise der Tumorstoffwechsel aus dem normalen Stoffwechsel entsteht, so haben wir nach Bedingungen zu suchen, unter denen normale Zellen Glucose zu Milchsäure spalten. Seit Araki sind diese Bedingungen wohlbekannt. Normale Körperezellen scheiden Milchsäure aus, wenn man sie verhindert, zu atmen, sei es, daß man ihnen den Sauerstoff entzieht, sei es, daß man ihre Atmung durch Gifte hemmt. Die Fähigkeit, Glucose zu Milchsäure zu spalten, ist also keine Eigenschaft, die bei der Entstehung der Tumoren neu erworben wird, sondern eine Eigenschaft aller Körperezellen, wie es auch sein muß, da die Tumoren von normalen Körperezellen abstammen. Während aber in normalen Zellen die Milchsäuregärung erst bei der Erstickung in Erscheinung tritt, scheidet die Tumorzelle immer Milchsäure aus, auch dann, wenn sie mit Sauerstoff gesättigt ist. Sie geht, während sie Milchsäure ausscheidet, nicht nur nicht zugrunde, sondern wächst sogar. Unser Ergebnis, in wenige Worte zusammengefaßt, ist also, daß sich der Tumor hinsichtlich seines Stoffwechsels wie eine erstickte normale Zelle verhält.

**III.**

Der zuletzt ausgesprochene Satz ist richtig, solange wir nur die qualitative Seite der Erscheinungen betrachten. Berücksichtigen wir aber die Quantität der Gärungen, so tritt eine Schwierigkeit auf. Erstickte Darmschleimhaut bildet pro Stunde etwa 1% ihres Gewichts

an Milchsäure, ein Darmcarinom, das aus der Darmschleimhaut entstanden ist, etwa 10 %. In ähnlichem Maß übertrifft die Gärung eines Hautcarcinoms die Gärung erstickter normaler Haut.

Es gibt zwei Möglichkeiten, um diesen quantitativen Unterschied der Gärungen zu erklären. Die erste Annahme wäre, daß bei der Umbildung der normalen Zelle in die Carcinomzelle die Fähigkeit zu gären ansteigt. Bei näherer Überlegung ist dies unwahrscheinlich. Denn wie sollte man durch Teer und durch Röntgenstrahlen und durch alle die anderen carcinomerzeugenden Schädigungen einen Zellvorgang beschleunigen können, den man in vitro durch kein Gift und keinen Reiz beschleunigen, sondern immer nur hemmen kann?

Die zweite und wahrscheinlichere Annahme ist, daß bei der Entstehung der Carcinomzelle die Gärung nicht beschleunigt wird. Dann müßte das normale Gewebe, aus dem das Carcinom hervorgeht, einzelne Zellen enthalten, die bei der Erstickung ebenso stark gären wie die Carcinomzellen, und nur aus solchen Zellen würden sich Carcinomzellen entwickeln.

Diese Betrachtungsweise wird nahegelegt, wenn man eine Darmschleimhaut unter dem Mikroskop betrachtet. Man sieht dann, daß die Zellen nicht gleichartig sind, sondern kann zwischen wachsenden Zellen — die in der Minderheit sind — und nicht wachsenden Zellen unterscheiden. Vergärt nun die ganze Darmschleimhaut bei der Erstickung 1% Glucose pro Stunde, so ist es wohl denkbar, daß die wachsenden Elemente der Darmschleimhaut die zehnfache Menge vergären.

Um diese Auffassung auf ihre Richtigkeit zu prüfen, war es notwendig, den Stoffwechsel wachsender normaler Zellen näher zu untersuchen. Als Versuchsmaterial benutzten wir embryonales Gewebe, weil hier die wachsenden Zellen in größter Konzentration vorhanden sind. In der Tat ergab sich, daß junge wachsende Gewebe, wenn man sie erstickt, sehr viel stärker gären als ältere Gewebe, und daß man, wenn man nur hinreichend frühe Entwicklungsstadien untersucht, Gärungen mißt, die an Intensität der Tumorgärung gleichkommen. So fand E. Negelein, daß ein Rattenembryo von 0,5 mg Trockengewicht in der Erstickung pro Stunde etwa 13% seines Gewichts an Milchsäure bildet, die Hülle des Embryo, Amnion und Chorion, sogar bis zu 19 %. Wenn wir also sagten: der Tumor verhält sich hinsichtlich seines Stoffwechsels wie eine erstickte normale Zelle, so müssen wir jetzt, unter Berücksichtigung der Gärungsgrößen, sagen: der Tumor verhält sich wie eine erstickte wachsende Zelle.

#### IV.

Obwohl junge wachsende Körpergewebe, wenn wir sie erstickten, ebenso stark gären wie Carcinomgewebe, so besteht doch ein wesentlicher Unterschied in bezug auf die Gärung des normalen und des Tumorgewebes.

Bringt man Tumorschnitte in glucosehaltiges, aber sauerstofffreies Serum, so können sie tagelang am Leben bleiben. Impft man so vorbehandelte Schnitte des Jense - Sarkoms Ratten unter die Haut, so wachsen Sarkome mit derselben Impfausbeute heran, wie bei der Verimpfung von frischem nicht vorbehandeltem Gewebe. Dieser Versuch erklärt den Sinn des Gärungsstoffwechsels der Tumoren. Die Gärung spielt hier die Rolle einer energieliefernden chemischen Reaktion und vertritt bei Abwesenheit von Sauerstoff die Atmung. Tumorzellen können, wenn ihnen gärfähiger Zucker zur Verfügung steht, eine Zeitlang ohne Sauerstoff existieren.

Anders wachsende normale Gewebe. Bringt man Embryonen in glucosehaltiges, aber sauerstofffreies Serum,

so stirbt die Hauptmenge der Zellen, obwohl sie zunächst gärt, in wenigen Stunden ab. In der Mehrzahl der wachsenden normalen Zellen kann die Gärung die Atmung nicht oder nur eine kurze Zeitlang vertreten. Die mittlere Resistenz der normalen Zellen gegen Sauerstoffmangel ist weitaus kleiner, als die mittlere Resistenz der Tumorzellen.

Indem wir hier von mittlerer Resistenz sprechen, deuten wir an, daß es sich nicht um absolute, sondern um Unterschiede statistischer Art handelt. Einzelne Zellen des Embryo überleben den Sauerstoffmangel längere Zeit, wie man zeigen kann, wenn man Ratten erstickte Embryonen unter die Haut impft. Es wachsen dann, nach Versuchen von E. Negelein, sogenannte Teratome heran, ein Beweis, daß durch den Sauerstoffmangel nicht alle Zellen getötet waren.

So werden unsere Aussagen über den Ursprung des Carcinomstoffwechsels bestimmter. Wir gingen davon aus, daß die Carcinomzellen von normalen Körperzellen stammen, weil sie in jedem normalen Gewebe, ohne daß körperfremde Zellen hinzukommen, entstehen. In Übereinstimmung damit sahen wir, daß der Carcinomstoffwechsel potentiell überall im Körper vorhanden ist, bei Berücksichtigung des quantitativen jedoch nur in den jungen wachsenden Körperzellen. Damit schied die Hauptmenge der normalen Zellen als Ursprungszellen für das Carcinom aus, und es blieben nur die jungen Zellen, die als die wachsenden Elemente in jedem normalen Gewebe vorkommen. Wir sahen weiter, daß die Hauptmenge der wachsenden Zellen als Ursprungszellen für das Carcinom ausscheidet, weil ihre Resistenz gegen Sauerstoffmangel zu klein ist. Es blieben nur die jungen wachsenden Zellen, die wie die Carcinomzellen längere Zeit ohne Sauerstoff existieren können. Der leitende Gedanke war hier, daß bei der Entstehung des Carcinoms wieder eine neue Stoffwechsel-eigenschaft hinzukommt noch eine vorhandene Stoffwechsel-eigenschaft gesteigert wird. Er führte dazu, in dem normalen Gewebe nach den Stoffwechsel-eigenschaften der Carcinomzelle zu suchen. In der Tat fand man sie, nur verdeckt durch die Sauerstoffatmung, nach Art, nach Größe und nach Wirkung, und es kann wohl nicht anders sein, als daß dort, wo man sie findet, das Carcinom entsteht.

Erstickten wir normale wachsende Zellen, so entsteht der Stoffwechsel der Carcinomzelle. Weil durch die Erstickung die Atmung geschädigt wird, reicht sie nicht mehr aus, um die Gärung zu verdecken, und die erstickte Zelle gärt auch dann, wenn wir sie in Sauerstoff zurückbringen. Die Mehrzahl der so behandelten Zellen stirbt, weil sie auf Kosten der Gärungsenergie nicht leben kann. Nur ein kleiner Teil bleibt am Leben, und diese Zellen sind nach Art, Größe und Wirkung ihres Stoffwechsels ununterscheidbar von Carcinomzellen.

#### V.

Die Frage ist hier: Genügt die Erstickung normaler, wachsender Zellen, um Carcinom zu erzeugen, oder sind noch andere unbekannte Faktoren im Spiel? Entsteht das Teercarcinom dadurch, daß der Teer die Atmung der Hautzellen schädigt, damit alles, was ohne Atmung nicht leben kann, vernichtet und so die stark gärenden und ohne Atmung lebensfähigen Zellen herauszüchtet? Dann müßte es gelingen, mit ersticktem, wachsendem Gewebe Krebs zu erzeugen.

Hält man Embryonen von Ratten solange in sauerstofffreiem Serum, bis ihre Atmung erheblich geschädigt ist, und injiziert sie Ratten unter die Haut, so wachsen, wie schon erwähnt, Teratome, das sind gutartige Tumoren,

in denen die Ordnung des Wachstums noch nicht in dem Maß verschwunden ist, wie in den Carcinomen und Sarkomen. Dieser Versuch also ist nicht entscheidend.

Wichtiger ist ein Versuch, den Carrel vor kurzem mitgeteilt hat. Carrel arbeitete mit Hühnerembryonen, die er durch Behandlung mit arseniger Säure schädigte. Nach Versuchen von Dr. Dresel, Dahlem, ist arsenige Säure ein Gift, das in kleinen Konzentrationen die Atmung von Körperzellen stärker als ihre Gärung hemmt, so daß man mit arseniger Säure den Stoffwechseltypus der Krebszelle erzeugen kann. Injizierte nun Carrel Hühnerembryonen, die durch arsenige Säure geschädigt waren, Hühnern in den Brustmuskel, so entstanden bösartige Tumoren, Sarkome, an denen die Hühner im Lauf von vier Wochen starben, und die, wie die spontanen Hühnersarkome, transplantiert werden konnten.

#### VI.

Spield der besondere Stoffwechsel des Carcinoms diejenige Rolle, die wir ihm zuschreiben, so muß man verlangen, daß aus ihm heraus nicht nur die Entstehung des Carcinoms erklärt wird, sondern auch das besondere Verhalten des einmal im Körper vorhandenen Carcinoms, sein ungeordnetes und unbeschränktes Wachstum. Auf dieses Problem möchte ich zum Schluß mit einigen Worten eingehen.

Wenn die Carcinomzelle eine Zeitlang ohne zu atmen, allein auf Kosten der Gärung, existieren kann, so ist damit noch nicht gesagt, daß sie auch ohne zu atmen wachsen kann. Es ist dies eine wichtige, vom experimentellen Standpunkt aus sehr schwierige Frage, mit der sich Dr. F. Wind in der letzten Zeit in Dahlem beschäftigt hat.

Dr. Wind arbeitete mit der von Harrison und Carrel eingeführten Methode der Zellkultur. Sein Versuchsmaterial waren Hühnersarkome, die sich *in vitro* nach einem von dem Dänen A. Fischer angegebenen Verfahren kultivieren lassen. Die Versuchsgefäße wurden mit Gemischen von Stickstoff und Kohlensäure gefüllt, aus denen der Sauerstoff durch Überleiten über glühendes Kupfer weitgehend entfernt worden war. Der Sauerstoffgehalt in diesen Gasgemischen war  $10^{-4}\%$ , also so niedrig, daß eine Atmung der Sarkomzellen ausgeschlossen war. Es zeigte sich, daß die Sarkomzellen bei dem genannten niedrigen Sauerstoffdruck, falls das Kulturmödium gärfähigen Zucker enthält, etwa 40 Stunden lang wachsen. Die bei der Gärung frei werdende Energie kann also von der Tumorzelle nicht nur zur Erhaltung ihrer Existenz, sondern — was viel mehr bedeutet — temporär auch zum Wachstum benutzt werden. Die große Analogie zwischen Tumoren und einem niedrigen Organismus, der Kulturhefe, wird durch diese Versuche besonders deutlich. Beide Organismen besitzen zwei energieliefernde Reaktionen, die Atmung und die Gärung, beide Organismen gären auch dann, wenn sie mit Sauerstoff gesättigt sind. Beide Organismen können auf die Dauer ohne Sauerstoff nicht leben, aber beide sind sie imstande, temporär ohne Sauerstoff, auf Kosten der Gärung, zu wachsen.

Die Fähigkeit der Tumorzelle, temporär ohne Sauerstoff zu wachsen, erklärt nun, wie mir scheint, das ungeordnete und unbeschränkte Wachstum der Tumoren im Körper. Zur Erläuterung denken wir uns eine Reihe von Gefäßen beliebiger Form, die in zylindrische Hälse münden. Die Gefäße sollen bis in die Hälse mit Nährlösung gefüllt sein. Zunächst säen wir Zellen ein, die nur bei Gegenwart von Sauerstoff wachsen. Dann werden sich nur die Oberflächen der Nährlösung mit Zellen bedecken. Das Wachstum ist beendet, wenn dünne, kreis-

runde Zelldecken entstanden sind, deren Form durch den Querschnitt der Gefäßhälse bestimmt ist. In einem andern Versuch säen wir in die Gefäße Zellen ein, die ohne Sauerstoff wachsen können. Dann wird der ganze Inhalt der Kolben mit Zellen durchwachsen werden. Das Wachstum ist nicht mehr beschränkt durch die Diffusion des Sauerstoffs und nicht mehr in seiner Form bestimmt durch die Form der Gefäßhälse, sondern unbeschränkter und formloser.

Der Grenze zwischen Luft und Nährlösung entspricht im Körper die Grenze zwischen Blutcapillaren und Gebezeellen. Entfernen wir uns von den Capillaren, so sinkt die Sauerstoffkonzentration, bis wir schließlich an eine zweite Grenze gelangen, über die hinaus normales Wachstum, wegen der niedrigen Sauerstoffkonzentration, nicht mehr möglich ist. In diesen Gebieten, die arm an Sauerstoff, aber relativ reich an Glucose sind, findet die Carcinomzelle noch Bedingungen, unter denen sie temporär wachsen kann. So ist sie imstande, Grenzen, die dem normalen Wachstum gesetzt sind, zu durchbrechen, das heißt, ungeordneter und unbeschränkter als die normalen Zellen zu wachsen.

[A. 125.]

## Neuer Beitrag zur Chemie der Gärung.

Von S. N. CAGAN, New York.

(Eingeg. 7. Mai 1926.)

In den hundert Jahren, die nach den Untersuchungen von Gay Lussac vergangen sind, hat die Chemie der Gärung und des physiologischen Zuckerverbrauchs die größte Vervollkommnung durch die Entdeckungen von Neuberg und Ehrlich gefunden. Ehrlich entdeckte, daß die Gärung von Zucker die Plasmabildung der Organismen möglich macht, wobei die Zuckergärung die Energie für die Stickstoffassimilation herbeischafft. Neuberg entdeckte die Carboxylase, die Brenztraubensäure vergärt, und dies hat dazu geführt, diese Säure und ihr Spaltprodukt, Acetaldehyd, in den Mittelpunkt des Kohlenhydratstoffwechsels zu stellen. Mit Hilfe ihrer Abfangmethoden und anderer Änderungen im Mechanismus der gewöhnlichen Zuckerspaltungen haben Neuberg und seine zahlreichen Mitarbeiter nicht nur ganz neue Formen der Vergärung erkannt, wie die weit bekannt gewordene Spaltung von Dextrose in Glycerin und Acetaldehyd, sondern dieselben Autoren haben auch die theoretischen Grundlagen für die Richtigkeit ihres Systems geliefert.

Die überlegene Bedeutung des Methylglyoxals konnte durch Isolation eines darauf einwirkenden Ferments von Neuberg und Dakin gezeigt werden. Die innigen Zusammenhänge mit dem allgemeinen Proteinmetabolismus haben von einer Seite Ehrlich und von der anderen Neuberg und seine Arbeitsgenossen Kerp, Nord, Peterson und Steinbock nachgewiesen, da alle Homologen der Brenztraubensäure, soweit sie aus Aminosäuren ableitbar sind, ebenfalls die zuckerfreie Gärung eingehen. Daß die Brenztraubensäure auch in Gegenwart von Sulfit leicht von der Hefe vergoren wird, haben Neuberg und Rheinfurt siegreich gegen Zerners anderslautende Behauptung mehrmals nachgewiesen.

Sonach ist die Brenztraubensäure als das wahrscheinlichste Zwischenprodukt erkannt. Die direkte Isolation bei Zuckergärung ist aber nur in kleiner Ausbeute gelungen. Grab<sup>1)</sup> hat sie nach folgendem Prinzip in 4% Ausbeute ans Licht gebracht. Nach einer bekannten Methode von Döbner vereinigen sich Aldehyde mit Brenztraubensäure und aromatischen Aminen zu sub-

<sup>1)</sup> Bioch. Ztschr. 1921.