

echtem Geschwulstwachstum erkennen lassen. Findet man in den schleimigen, rein nekrotischen Schwellungen des Kaninchenmyxoms racemisierte Aminosäuren als Eiweißbestandteil im gleichen Maße wie bei bösartigen Tumoren, so muß man in diesem Befund einen Hinweis darauf erblicken, daß es sich hier offenbar nicht um ein für Geschwulstwachstum streng spezifisches Phänomen handelt, sondern um eine Erscheinung von möglicherweise allgemeinerer Bedeutung²⁴); Kögl selbst hat darauf hingewiesen, daß seine neue Geschwulsttheorie die Möglichkeit in sich tragen könne, die verschiedenartigsten Formen des entarteten Wachstums zu umfassen²⁵).

Durch die Befunde am Myxom wird zugleich die Frage aufgeworfen, ob die racemisierten Aminosäuren mit Sicherheit dem Eiweiß der lebenden Krebszellen, nicht aber dem nekrotischen Gewebe entstammen, das in mehr oder minder starkem Maße in jeder Geschwulst vorhanden ist. Kögl hält letztere Möglichkeit aus biologischen und chemischen Gründen für sehr unwahrscheinlich und konnte kürzlich an Jensen-Sarkomen und Benzpyren-Tumoren experimentell zeigen, daß der Racemisierungsgrad der Glutaminsäure bei den Proteinen aus nekrosearmen und nekrosereichen Gewebsanteilen praktisch völlig übereinstimmt²⁶). Diese Befunde stehen im Gegensatz zu Angaben von C. Dittmar²⁷), der aus frischem Jensen-Sarkom reine l-Form, aus Nekrosen dagegen partiell racemische Glutaminsäure erhielt. Obwohl sich die Analysen von Dittmar bisher nur auf wenige Fälle erstrecken, scheint eine endgültige Entscheidung in dieser Frage noch nicht getroffen zu sein²⁸).

Der Auffassung, daß in dem anormalen Bau der Tumorphosphate die Voraussetzung für das infiltrierende und destruierende Wachstum liegen könnte, weil den normalen Zellen die notwendigen proteolytischen Enzyme zum Abbau des Fremdeiweiß fehlen, könnte man entgegen, daß man auf Grund der von E. Abderhalden begründeten Lehre von den Abwehrfermenten dem gesunden Organismus die Fähigkeit zubilligen müßte, gegen jedes Fremdeiweiß ein auf dieses eingestelltes Enzym zu synthetisieren. Kürzlich zeigte tat-

sächlich Waldschmidt-Leitz²⁹) im Anschluß an die Arbeiten Kögls, daß sich im Serum Geschwulstkranker im Gegensatz zum normalen Serum „d-Peptidasen“ befinden, Enzyme, die Peptide und Peptidester mit der d-Reihe angehörenden Aminosäuren als Bausteine zu spalten vermögen, und es gelang ihm weiter³⁰), an der Ratte durch intravenöse Injektion racemischer Peptide das Auftreten beachtlicher Mengen von d-Peptidase im Serum künstlich hervorzurufen. „Der Organismus beantwortet also in diesem Fall das Eindringen von Eiweißabbauprodukten unnatürlicher Konfiguration mit der Auslösung von Enzymen mit neuartiger Wirkung zu deren Abbau.“ An diesen Befund, dessen allgemeine Bedeutung und dessen Verwendbarkeit für die Carcinomdiagnose erst nach dem Vorliegen eines großen Materials beurteilt werden kann, hat sich ein Experiment von Waldschmidt-Leitz³⁰) angeschlossen, das einen ersten Versuch darstellt, die Befunde von Kögl experimentell mit der Frage nach der Entstehung der Tumoren zu verknüpfen: 4 Mäuse wurden täglich auf der Rückenhaut mit einer 1%igen ätherischen Lösung von Benzpyren gepinselt. Durch diese hohe Dosierung wird eine Allgemeinschädigung der Tiere gesetzt, die sich in einem starken Gewichtsverlust innerhalb von 30 Tagen äußert und nach 50 Tagen zu einer allgemeinen Kachexie und zu Anzeichen einer Carcinomentwicklung führte. 4 gleichartig behandelte Mäuse erhielten gleichzeitig jeden 2. Tag eine Injektion von 0,2 cm³ einer 1%igen Lösung von dl-Glutaminyglycin in Kochsalzlösung in die Schwanzvene. Durch diese Injektionen wird nach Waldschmidt-Leitz eine frühzeitige Bildung von Abwehrfermenten gegen d-Peptide hervorgerufen; sie hatten zur Folge, daß bei den behandelten Tieren die Abmagerung ausblieb und die Hautreaktionen hintangehalten wurden. Die Tragweite dieser erst vor wenigen Tagen veröffentlichten Ergebnisse kann noch nicht abgeschätzt werden; es gilt zunächst zu prüfen, ob auch die Entstehung eines gut ausgebildeten Papilloms und echten Carcinoms an der Nackenhaut der Mäuse durch einen entsprechenden Eingriff zu verhüten ist, und ob die Behandlung mit d-Peptiden für den Erfolg wirklich spezifisch war³¹). Wie auch immer sich die weitere Entwicklung gestalten wird, die Erwartungen, die man in die durch Kögls geniale Idee eingeleitete Forschungsrichtung setzen kann, sind groß!

Eingeg. 15. Juni 1940. [A. 68.]

²⁴) J. Klink, a. a. O.

²⁵) Zusatz bei der Drucklegung des Vortrags: Inzwischen ist das Sanarelli-Myxom gerade unter diesem Gesichtspunkt erneut in einer Arbeit aus dem Utrechter Institut behandelt worden: H. Erxleben u. H. Herken, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **264**, 244 [1940].

²⁶) F. Kögl, H. Erxleben u. H. Herken, ebenda **263**, 107 [1940].

²⁷) Z. Krebsforsch. **40**, 441 [1939].

²⁸) Zusatz bei der Drucklegung des Vortrags: Bemerkenswerterweise konnte inzwischen aus nicht infizierter, völlig nekrotisierter Kaninchenniere nur reine l-Glutaminsäure isoliert werden. Damit wurde erstmalig degeneriertes nicht carcinomatöses Gewebe analysiert und praktisch frei von d-Glutaminsäure gefunden: H. Erxleben u. H. Herken, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **264**, 240 [1940].

²⁹) E. Waldschmidt-Leitz u. K. Mayer, ebenda Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **262**, IV [1939].

³⁰) E. Waldschmidt-Leitz, K. Mayer u. R. Hatschek, ebenda **263**, I [1940].

³¹) Zusatz bei der Drucklegung des Vortrags: Zu diesen Fragen vgl. die inzwischen erschienene Diskussion H. Bayerle u. F. H. Podlucky mit E. Waldschmidt-Leitz u. R. Hatschek, ebenda **264**, 189, 196 [1940].

Enzymchemische Ergebnisse und Aufgaben in der Krebsforschung

Von Prof. Dr. H. von EULER, Biochemisches Institut der Universität Stockholm

Die Forschung, welche uns dem Ziel, der erfolgreichen rationellen Krebsbekämpfung, durch Einsicht in das Wesen der malignen Tumoren näher bringen soll, umfaßt eine Reihe von Problemen verschiedener Art:

Für die Krebsentstehung kommen zunächst die Erb-anlagen in Betracht; von größter Bedeutung sind die Mutationsvorgänge an den einzelnen Zellen, und eine lebhaft Forschung behandelt den Einfluß von carcinogenen Substanzen und von Strahlenvorgängen. Wichtige Aufgaben betreffen die histologische Kennzeichnung der Krebsgewebe, ferner die Besonderheiten des Stoffwechsels einerseits der Tumoren selbst und andererseits des ganzen krebserkrankten Organismus. Von unmittelbar medizinischem Interesse sind die Methoden der Frühdiagnose¹) des Krebses und die Methoden zur Vernichtung und Rückbildung der Geschwülste.

Aus der Vielheit dieser Aufgaben geht schon hervor, welche Einschränkungen gemacht werden müssen, wenn man von der Lösung des Krebsproblems sprechen will.

Chemische Forschung ist in den letzten Jahren auch auf diesem Gebiet der inneren Medizin in den Vordergrund getreten, und so folge ich gern der Anregung der Redaktion, über einige neuere Ergebnisse der chemischen Krebsforschung zu berichten. Es kann nicht die Rede davon sein, hier eine

auch nur einigermaßen vollständige Darstellung zu geben. Davon kann um so eher abgesehen werden, als einzelne Teile dieser Forschung in dieser Zeitschrift bereits eine sachkundige Darstellung gefunden haben^{1,2}).

Entstehung der malignen Tumoren.

Maßgebende Forscher sind gegenwärtig darüber einig, daß die individuelle Prädisposition für maligne Tumoren eine vererbare Eigenschaft ist. Einer künftigen serologischen Forschung bleibt es aber vorbehalten, die am Mechanismus der Krebsabwehr beteiligten Stoffe chemisch zu charakterisieren.

Chemische Reize. Der augenfälligste chemische Erfolg auf diesem Gebiet ist zweifellos die Auffindung und Konstitutionsaufklärung bestimmter carcinogener Substanzen von hoher Wirksamkeit, deren Kenntnis sich aus dem Studium des Teerkrebses (Yamigawa u. Ichikawa, 1915) entwickelt hat. Carcinogene Substanzen sind in der letzten Zeit wiederholt auch in der deutschen chemischen Literatur zusammenfassend dargestellt worden³), so daß ich mich auf einen Hinweis auf diese Übersichten beschränken kann.

¹) Vgl. F. Kögl, diese Ztschr. **52**, 212 [1939].

²) J. W. Cook, Ber. dtsch. chem. Ges. **69**, A 38 [1936]; Butenandt, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Pathol. Pharmacol. **100**, 74 [1938]; Butenandt in Adam-Auler: Neuere Ergebn. auf dem Gebiete d. Krebskrankheiten. 1937, S. 75. Siehe ferner Stubbe, diese Ztschr. **50**, 241 [1937].

¹) Vgl. dazu den Aufsatz Hinsberg in diesem Heft.

Will man die Wirkungsweise der genannten Typen von carcinogenen Substanzen ermitteln, so richtet sich die Fragestellung sofort auf deren Angriffspunkt, und das gleiche gilt hinsichtlich der hochmolekularen, krebserzeugenden Stoffe besonderer Art, der Krebsviren, welche man den obigen Stoffen anreihen kann.

Über die Mutationsvorgänge an sich, zunächst über strahleninduzierte Mutationsprozesse, liegt ein reichliches botanisches und zoologisches Material vor.

Die Kenntnis der Viren ist in letzter Zeit wesentlich gefördert, besonders durch die Arbeiten von Stanley, Wyckoff, Svedberg, Bawden und Pirie. Unter den Übersichten über die moderne Virusforschung seien diejenige von Lynen⁴⁾ und Wyckoff⁵⁾ erwähnt, und im Anschluß an diese eine Zusammenfassung von P. Rondoni.

Viren sind Stoffe von Proteincharakter und wechselndem, oft sehr hohem Molekular- bzw. Partikelgewicht. Man wird annehmen, daß sie zum Angriff der Substrate katheptische, teils fest gebundene, teils abdissozierbare Wirkungsgruppen besitzen. Bis jetzt ist aber über solche Wirkungsgruppen von Co-Enzym-Charakter weder bei einem Virus noch bei damit vergleichbaren Makromolekülen normaler Gewebe etwas Näheres bekanntgeworden.

Zu beachten bleibt, daß bisher ein Krebsvirus an Säugetieren nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden konnte.

Bis jetzt weiß man auch noch nicht, ob die verschiedenen tumorerzeugenden Stoffe und die carcinogenen Strahlen (Röntgen-, Radium- und Ultraviolettstrahlen) bei der Hervorbringung der Tumoren auf die normalen Zellen bzw. Zellbestandteile Wirkungen gleicher Art ausüben, Wirkungen, welche auch bei der „spontanen“ Entstehung der Krebszellen eintreten. Geht man von einer solchen Annahme aus, so ist in erster Linie die Hypothese in Betracht zu ziehen, daß ein Krebsgewebe durch Mutation einzelner normaler Zellen, also Umlagerung von Zellbestandteilen, entsteht⁶⁾.

Genmutation.

Über die Spontanmutation, die Mutationsrate, auch in ihrer Abhängigkeit von Zeit und Temperatur, liegt ein reichliches Material vor. Strahleninduzierte Mutationsprozesse sind seit Muller eingehend an *Drosophila* studiert worden, in neuerer Zeit besonders erfolgreich von Timoféeff-Ressovsky, der auch, wie Stadler und Muller, die kombinierte Wirkung der Bestrahlung mit anderen Reizen (Temperatur, Schwermetallsalze) in Betracht zieht.

Zum großen Teil nach eigenem reichen Tatsachenmaterial hat dann Timoféeff-Ressovsky⁷⁾ eine Theorie der Genstruktur und Genmutation entwickelt, die als Arbeitshypothese für weitere Forschungen dienen soll.

Vorstellungen über Gene haben sich aus dem Studium der mutierenden Erbmerkmale entwickelt. Sie gehen aus von der Annahme der linearen Anordnung der Gene in den Chromosomen. Zu weiteren entscheidenden Fortschritten wird es unerlässlich sein, die Träger der Erbinheiten chemisch zu charakterisieren, um eine Brücke herzustellen zu den diesen Stoffen am nächsten stehenden, biochemisch besser bekannten Einheiten, den **Enzymen**. Es liegt nahe, diesen Zusammenhang experimentell zu verfolgen, denn man kann sich kaum vorstellen, daß die Gene, die immerhin mehr oder weniger bekannte Atomkombinationen in ihren Molekülen enthalten müssen, im Zellkern als Substrate fungieren; vielmehr wird man annehmen müssen, daß sie als Biokatalysatoren⁸⁾ wirksam sind, die nach unseren gegenwärtigen Kenntnissen vermutlich aus spezifischen Eiweißkörpern (Apo-Enzyme) und den zugehörigen Co-Enzymen, also Derivaten niedrigmolekularer Wirkstoffe (Ergone, Vitamine oder Hormone) bestehen.

Mikrochemische und optische Methoden haben an einem verhältnismäßig günstigen Versuchsmaterial, nämlich den Riesenchromosomen der Speicheldrüsen der Larven von *Drosophila*, zu gewissen, wenn auch noch recht unvollständigen Anhaltspunkten über die einzelnen Bestandteile der Chromo-

somen geführt. Unter den Substanzen, die man in den Chromosomen erwarten kann, sind vor allem die Nucleinsäuren zu erwähnen. Diese enthalten u. a. Purin- und Pyrimidinkerne, welche Absorption im Ultraviolett zeigen⁹⁾. So geben Inosin und Adenosin eine Bande mit Maximum bei 260 m μ , während Guanosin eine breitere Bande mit beträchtlicher Absorption zwischen 240 und 290 m μ besitzt.

Sowohl die Ultraviolettabsorption als auch die Beobachtung im Dunkelfeld mit Kardiodkondensor¹⁰⁾ hat gezeigt, daß der zwischen den Chromomeren gelagerten Materie im wesentlichen Eiweißnatur zukommt und daß die Chromomeren der Riesenchromosome Nucleinsäurereste (Nucleoproteide) enthalten. Die Anwesenheit von Nucleoproteiden im Zellkern war ja bereits bekannt. Bemerkenswert ist aber, daß sich nach den Erfahrungen der letzten Zeit gerade Nucleotide und Nucleoside und analog gebaute Stoffe vom Typus Nicotinsäureamid—Ribose—Phosphorsäure als Wirkungsgruppen von Enzymen erwiesen haben.

Man kann, hiervon ausgehend, annehmen, daß die Chromomeren hochmolekulare Substanzen sind, zusammengesetzter als die Enzyme und demgemäß mit mehreren Wirkungsgruppen versehen. Unter diesen Wirkungsgruppen wird man solche vom Wuchsstoffcharakter vermuten, welche die Träger der wichtigsten Eigenschaft der Chromomeren, nämlich ihrer Vermehrung durch identische Verdoppelung vor den Zellteilungen, sind.

Bevor über die Zusammensetzung des Gens nichts Definitives bekannt ist, fällt es natürlich schwer, über die Atomgruppen, welche der Mutation unterliegen, Vermutungen zu äußern. Besonders ist es noch unbekannt, wie die chemische Natur und die Anordnung der Gene die Eigenschaften der Chromosomen bestimmen. Man könnte wohl annehmen, daß die Gene die Wirkungsgruppen der großen Enzymkomplexe sind und daß — was in diesem Zusammenhang wesentlich ist — diese Wirkungsgruppen die Änderungen erfahren, welche den Genmutationen zugrunde liegen. Es scheint sich nämlich bei der Genmutation oft um eine verhältnismäßig einfache chemische Reaktion, etwa eine Umlagerung einzelner Atomgruppen, zu handeln.

Mutationen und sterische Besonderheiten in der Krebszelle.

Gerade hier kann ein Anknüpfungspunkt zu der speziellen Mutation, welche die Krebsentstehung induziert, gefunden werden. Es ist eine der wichtigsten in diesem Zusammenhang sich ergebenden Fragen, ob durch diese einfache, die Mutation veranlassende Reaktion ein Stoff gebildet wird, welcher an dem für die Tumoren charakteristischen, abnorm raschen Wachstum mitwirkt.

Zwei Tatsachengebiete sind hier in Betracht zu ziehen.

Erstens der von Kögl u. Erxleben¹⁰⁾ kürzlich erbrachte Befund, daß die Eiweißkörper der malignen Tumoren neben den natürlichen sterischen l-Formen der Aminosäuren auch noch die „unnatürlichen“ d-Formen, insbes. d-Glutaminsäure, in ihrem Eiweiß eingebaut enthalten. Kögl hat, ausgehend von seinen eingehenden Experimentalarbeiten, eine Theorie aufgestellt, daß die verschiedenen carcinogenen Reize eine gemeinsame innere Ursache haben. Er glaubt, diese bei der allem Wachstum zugrunde liegenden enzymatischen Eiweißsynthese gefunden zu haben, u. zw. handelt es sich darum, daß die Krebszelle die Fähigkeit verloren hat, in ihr Struktur-eiweiß wie die normale Zelle ausschließlich die „natürlichen“ Aminosäuren einzubauen.

Bei der Diskussion über Kögls wichtige und befruchtende Beiträge zur Krebsforschung ist zu unterscheiden zwischen

1. dem experimentellen Nachweis der „unnatürlichen“ d-Formen der Aminosäuren der Tumoren,
2. den Schlußfolgerungen, die daraus gezogen werden können.

Was den ersten Punkt, den Nachweis der d-Formen, betrifft, so sei zunächst auf eine Mitteilung von Kögl u. Erxleben¹¹⁾ hingewiesen, in welcher die Einwände Chibnalls und S. Graffs besprochen werden. Aus neuester Zeit liegen zwei Arbeiten

⁴⁾ Lynen, diese Ztschr. **51**, 181 [1938].

⁵⁾ Wyckoff, Ergebn. Enzymforsch. **8**, 1 [1939]. — P. Rondoni, Ergebn. d. Hyg. **23**, 1—63 [1940].

⁶⁾ Hinsichtlich der Einführung der Mutationslehre in die Krebsforschung sei hingewiesen auf: Baur, Fischer u. Lenz: Menschliche Erblehre, 4. Aufl. 1936, ferner K. H. Bauer: Mutationstheorie der Geschwulstentstehung, Berlin 1928, sowie Timoféeff-Ressovsky: Exp. Mutationforsch., Dresden 1937.

⁷⁾ Timoféeff-Ressovsky, Göttinger Nachr. Math.-Phys. Klasse. Biologie. Bd. 1, Nr. 3 [1935].

⁸⁾ Euler u. Pettersson, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **114**, 6 [1921].

⁹⁾ Heilström, Burström u. Euler, Svensk. Chem. Tidskr. **47**, 207, 248 [1935]; Heilström u. Euler, Mikrochemie, Molisch-Festschrift 209 [1935]; Casperson, Skand. Arch. Physiol. **73** Suppl. [1935].

¹⁰⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **258**, 57 [1939].

¹¹⁾ Naturwiss. **27**, 486 [1939].

von C. Dittmar¹²⁾ vor, welcher in frischen Jensen- und Rous-Sarkomen überhaupt keine d-Formen der Aminosäuren findet, sondern nur in nekrosehaltigen Geschwülsten, und schließlich eine Notiz von Lipmann¹³⁾ u. Mitarb.; nach den experimentellen Angaben dieser Forscher könnte den d-Aminosäuren keine Bedeutung für das Wachstum maligner Gewebe zukommen.

Diese Arbeiten sind von Kögl u. Erxleben eingehend diskutiert worden, deren Befund nunmehr sichergestellt zu sein scheint¹⁴⁾.

Man hat nun recht allgemein angenommen, daß der Aufbau und der Abbau der Proteine durch die gleichen proteolytischen Enzyme erfolgt. Über eine besondere Stereospezifität der Tumorseptasen, mit welcher das starke Wachstum der Tumoren in Beziehung gesetzt werden kann, ist bis jetzt noch nichts Näheres bekannt. An Jensen-Sarkomen hat in diesem Institut B. Skarzynski¹⁵⁾ keine Spaltung von d-Alanylglycin finden können. Andererseits enthält nach Waldschmidt-Leitz¹⁶⁾ Blutserum krebserkrankter Personen auch Peptidasen mit abgewandelter sterischer Spezifität. Es blieb hiernach zu untersuchen, ob sich Serum und malignes Gewebe von Sarkomratten verschieden verhalten. Dies ist nach neuen Versuchen von Euler u. Skarzynski¹⁷⁾ nicht der Fall: auch durch Serum von Jensen-Sarkom-Ratten wird z. B. d-Leucyl-glycin nicht gespalten. Dagegen wurde dieses d-Dipeptid in einer Reihe von Fällen durch Serum von Kaninchen mit implantiertem Brown-Pearce-Carcinom angegriffen.

In Übereinstimmung mit Waldschmidt-Leitz und K. Mayer finden wir Spaltung von d-Dipeptiden durch menschliches Krebsserum; wir können also die von Bayerle u. Poloucky¹⁸⁾ geäußerten Zweifel bezgl. der d-Dipeptidspaltung im menschlichen Krebsserum nicht teilen.

Waldschmidt-Leitz führte neuerdings¹⁹⁾ die in Krebsserum auftretende d-Dipeptidspaltung auf die Bildung eines Abwehrfermentes im Sinne von Aderhalden zurück. Gerade in Rücksicht auf das Problem der Abwehr-Enzyme haben wir die Befunde von Euler u. Skarzynski, daß d-Dipeptidspaltung im menschlichen Serum auch auftreten kann, ohne daß Anzeichen für Tumor- oder Metastasen-Bildung vorhanden sind, weiter verfolgt.

Wie sich die einbauenden bzw. hydrolysierenden Enzyme, die eigentlichen Proteasen, in Krebsgeweben verhalten, bedarf noch eingehender Untersuchungen. Ein prinzipiell wichtiges Problem scheint mir in der Feststellung zu liegen, ob die Krebsmutation oder wenigstens eine Form derselben, etwa die strahleninduzierte Mutation, auf der Bildung der unnatürlichen Aminosäuren bzw. deren Enzyme beruht²⁰⁾. Bei der Bildung der unnatürlichen Aminosäuren spielt die l-Glutaminsäure bzw. die Keto-Glutarsäure eine besonders hervortretende Rolle.

Das Gleichgewicht der Reaktion

Glutaminsäure + Co $\xrightleftharpoons{\text{Apodehydrase}}$ α -Iminoglutarinsäure + CoH₂ ist weit nach der linken Seite verschoben, und so kann man, ausgehend von Keto-Glutarsäuren, NH₃ und CoH₂, entsprechend dem Gleichgewicht

α -Iminoglutarinsäure + H₂O \rightleftharpoons α -Ketoglutarinsäure + NH₃ (Glutaminsäure synthetisieren²¹⁾). Von der primär gebildeten Glutaminsäure aus können durch Umaminierung mit anderen α -Ketonsäuren die verschiedensten Aminosäuren aufgebaut werden²¹⁾.

Die Glutaminsäure-Apodehydrase ist spezifisch auf l(+)-Glutaminsäure eingestellt. Ob bei der umgekehrten, wahrscheinlich physiologisch wichtigeren Reaktion, der hydrierenden Aminierung von Ketoglutarinsäure, ebenfalls ausschließlich das l(+)-Isomere gebildet wird, ist zwar experimentell nicht bewiesen, wird aber aus Analogiegründen in Betracht gezogen.

Bei der Betrachtung der enzymatischen Reaktionen, welche zur Bildung der racemischen Glutaminsäure Anlaß geben können, kommt als eine der nächstliegenden Möglichkeiten die reduktive Aminierung der Ketoglutarinsäure in Frage. Jedoch war eine Verschiedenheit der Glutaminsäure-Apodehydrase aus normalem und Tumorgewebe hinsichtlich der Stereospezifität nicht festgestellt worden²²⁾.

Im Anschluß an Überlegungen über die Wirkung von Strahlen bei der Erzeugung von Mutationen einerseits und von Tumoren andererseits²³⁾ wurde die Frage geprüft, ob die Strahlenwirkung auf eine Veränderung der optischen Spezifität von Enzymen, z. B. der Glutaminsäuredehydrase, zurückgeführt werden kann. Die Versuche mit Leberenzym haben folgendes ergeben:

Durch unbestrahltes Enzym wurde d(—)-Glutaminsäure, in Übereinstimmung mit dem früheren Ergebnis²⁴⁾, in allen Versuchen viel langsamer dehydriert als die „natürliche“ l(+)-Glutaminsäure. Es muß sogar als ungewiß betrachtet werden, ob die beobachtete geringe Aktivität gegenüber d(—)-Glutaminat überhaupt von der Glutaminsäure-Apodehydrase herrührt; sie könnte wenigstens teilweise auf die Wirkung der krebschen d-Aminosäure-dehydrase, die in Leber ebenfalls vorkommt, zurückzuführen sein.

Die Bestrahlung der Enzymlösung bewirkte stets eine Herabsetzung der Aktivität gegenüber l(+)-Glutaminsäure, während die Dehydrierung der Eigendonatoren bei verschiedenen Versuchen, in denen verschiedene Apodehydrase-Präparate verwendet wurden, bisweilen gehemmt, bisweilen aktiviert wurde.

Eine Erhöhung der Aktivität gegenüber d(—)-Glutaminsäure in größerem Ausmaße wurde durch die Bestrahlung zwar nicht erzielt, immerhin zeigte aber das Verhältnis der Aktivitäten gegenüber l(+)- und d(—)-Glutaminsäure bei den bestrahlten Lösungen stets einen kleineren Wert als bei den unbestrahlten. Das gleiche ergab sich in den Versuchen, in denen Substrat und Apodehydrase im Gemisch bestrahlt wurden.

Wenn carcinogene Mutationen eintreten, für deren Erzeugung nur ein „Treffer“ erforderlich ist, so muß dieser Prozeß im biologischen System an einem Enzym vor sich gehen (vgl. S. 353). Die weitere Frage betrifft die Wirkungsgruppe. Wie ihre chemische Struktur beschaffen sein muß, damit an ihr eine carcinogene Umlagerung (Mutation) eintreten kann, muß erst aufgeklärt werden.

Abbau von Nucleotiden und Nucleinsäuren in Tumoren.

Was den Nucleinstoffwechsel betrifft, so ist es von erheblichem Interesse, zu untersuchen, ob die Tumorenzyme funktionell mit denen normaler Gewebe identisch sind, oder ob sich bei ihnen etwa Anomalien in bezug auf ihre Substratspezifität²⁵⁾ vorfinden. Vor einiger Zeit wurde hier die Beobachtung gemacht, daß ein von größeren Gewebepartikeln befreiter dialysierter Extrakt aus Jensen-Sarkom durch Zusatz von Adenylsäure befähigt wird, Methylenblau rasch zu entfärben. Zwei Erklärungsmöglichkeiten kommen hierfür in Betracht.

1. Die Adenylsäure wirkt als Katalysator bei der Dehydrierung eines im Enzympräparat enthaltenen hochmolekularen (nicht dialysierbaren) Substrates;
2. die Adenylsäure oder ein Abbauprodukt derselben fungiert selbst als Wasserstoffdonator.

Die Untersuchung zeigte, daß die zweite Möglichkeit zutrifft oder wenigstens in der Hauptsache den Effekt bedingt.

Als das eigentliche Dehydrierungssubstrat fungiert, wie unsere Versuche gezeigt haben, das Hypoxanthin, und als Dehydrase ist die Xanthinoxidase wirksam. Dies ging aus folgenden Ergebnissen hervor:

Nicht nur Adenylsäure, sondern noch viele weitere Substanzen, deren hydrolytisch enzymatischer Abbau zu Hypoxanthin führen kann, verursachten in unserm Testsystem eine Entfärbung des Methylenblaus, nämlich

Adenosintriphosphorsäure	Desaminocozymase
Adenosin	Hefenadenylsäure
Inosinsäure	Guanosin
Cozymase	Guanin
Hefennucleinsäure	Pankreasnucleinsäure

Durch keine der genannten Substanzen wurde das Methylenblau rascher entfärbt als durch Hypoxanthin.

Xanthin hydriert das Methylenblau etwa halb so rasch wie Hypoxanthin, ein Befund, der ebenfalls für Xanthindehydrase charakteristisch ist.

¹²⁾ Z. Krebsforsch. 49, 397, 441 [1939]. ¹³⁾ Science, New York 91, 21 [1940].

¹⁴⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 264, 198 [1940].

¹⁵⁾ Sv. Vet. Akad. Arkiv Kemi 13B, Nr. 13 [1939].

¹⁶⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 262, IV [1939].

¹⁷⁾ Sv. Vet. Akad. Arkiv Kemi 14B, Nr. 2 u. 8 [1940].

¹⁸⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 264, 189 [1940].

¹⁹⁾ Euler u. Adler, Enzymologia 7, 21 [1939].

²⁰⁾ Braunslein u. Fritzmann, ebenda 2, 129 [1937].

²¹⁾ Euler u. Günther, Naturwiss. 27, 214 [1939].

²²⁾ Ebenda 263, I [1940].

²³⁾ Euler, Dtsch. med. Wschr. 1938, 1712.

²⁴⁾ Euler, Adler, Günther, Das. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 254, 61 [1938].

²⁵⁾ Siehe Adler u. Euler, Svensk. Vet. Akad. Arkiv f. Kemi 13 A, Nr. 26 [1939].

Adenylsäure, Adenosin, Cozymase und Desaminocozymase nehmen in Gegenwart von Enzym und Methylenblau ebensoviel (1 Mol) Sauerstoff auf wie Hypoxanthin selbst, entsprechend dem Übergang von Hypoxanthin in Harnsäure.

Bemerkenswert erscheint nun, daß in unserm Testsystem nur Hefenucleinsäure und Pankreasnucleinsäure eine Methylenblaufärbung verursachen, während Thymusnucleinsäure unwirksam war. Nach *Eldbacher* werden beide Typen von Nucleinsäuren dephosphoryliert: Der Befund, daß nur mit den Nucleinsäuren vom Ribosetypus, nicht aber mit denen vom Desoxyribosetypus eine Methylenblaufärbung eintritt, ist ein Hinweis darauf, daß die Desoxyriboside des Adenins und des Guanins im Tumor nicht weiter abgebaut werden können. Über die Natur der Nucleinsäuren im Tumor ist wenig bekannt.

Obwohl experimentell bisher nur die abbauende Funktion der Nucleinsäure spaltenden Enzyme studiert worden ist, kann es als wahrscheinlich gelten, daß dieselben Enzyme auch synthetisierende Funktionen besitzen. Von der Xanthindehydrase ist bekannt, daß sie nicht nur dehydrierend, sondern auch reversibel dehydrierend wirkt. Die Annahme liegt nahe, daß der offenbar hochaktive Gesamtapparat der nucleinsäureabbauenden Enzyme einschließlich der Xanthindehydrase des Tumors nicht nur einen Ausdruck des gesteigerten Zerfalls, sondern auch der gesteigerten Neubildung der Tumorzellen darstellt²⁶.

Dehydrasen.

Dehydrasen sind die wichtigen Vermittler des oxydo-reduktiven Kohlenhydratabbaues. Sie leiten — wie *Wieland* zuerst erkannt hat — sowohl den aeroben als den anaeroben Kohlenhydratabbau ein und führen zu Zwischenprodukten, welche im sauerstoffhaltigen System, also bei der Atmung, durch Vermittlung der Diaphorase und des Cytochromsystems aufoxydiert werden, während der weitere anaerobe Zerfall (Glykolyse, Gärung) zu Milchsäure bzw. Alkohol und Kohlensäure führt.

Dehydrasen sind in der Regel erst in Verbindung mit einem abdissoziierbaren Co-Enzym, Co, wirksam (eine Ausnahme macht Bernsteinsäuredehydrase). Diese Co-Enzyme vermitteln die Wasserstoffübertragung²⁷, u. zw. ist die Wasserstoff übertragende Atomgruppe im Nicotinsäureamid enthalten, welches in Verbindung mit 5wertigem Stickstoff nach den Modellversuchen von *Karrer*²⁸) als Nicotinsäureamid-ribosid wirkt.

Die mit den Codehydrasen verbundenen Proteine, die Apodehydrasen, sind die Träger der Substratspezifität.

Tumoren, besonders *Jensen*-Sarkome, sind reich an verschiedenen Dehydrasen, welche durch Codehydrase I oder Codehydrase II ergänzt werden.

Substrat	Codehydrase	Substrat	Codehydrase
Milchsäure ²⁹)	I	Hexosediphosphorsäure	I
Äpfelsäure ³⁰)	I	Isocitronensäure ³¹)	II
Glycerophosphorsäure	I	l-(+)-Glutaminsäure	II u. I
Robinsonester	II	d-(—)-Glutaminsäure	?

Die beiden Codehydrasen überführen den Wasserstoff, indem Co selbst in CoH₂, Dihydrocozymase, übergeht und dann den Wasserstoff wieder abgibt. Als Acceptor für den Wasserstoff fungiert hierbei nicht, wie früher angenommen, das Flavinenzym, sondern die Diaphorase³²). Man findet in fast allen Geweben Co und CoH₂; während in normalen Geweben das Verhältnis CoH₂:Co kleiner ist als 1, werden in *Jensen*-Sarkomen Werte zwischen 4 und 10 gefunden.

²⁶) In Milch wurde ein ähnliches nucleotidabbauendes Enzymssystem von *Dixon* u. *Lemberg* nachgewiesen (Biochemical J. **28**, 2065 [1934]). Im Muskel wie in der Leber wird jedoch nach Versuchen von *Skarzynski* (Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **263**, 259 [1940]) Guanin nicht abgebaut.

²⁷) *Euler*, *Adler* u. *Hellström*, Svensk. Chem. Tidskr. **47**, 290 [1935].

²⁸) *Karrer*, *Schwarzenbach*, *Benz* u. *Soimssen*, Helv. chim. Acta **19**, 811 [1936].

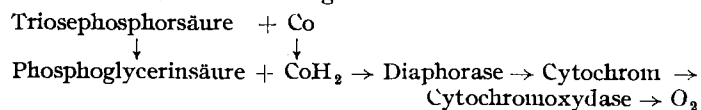
²⁹) *Schlenk*, Svensk. Vet. Akad. Arkiv f. Kemi Naturwiss. **28**, 46 [1940].

³⁰) *Euler*, *Adler* u. *Günther*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **247**, 65 [1937]; *Euler* u. *Mitarb.*, Ark. f. Kemi **13** B, Nr. 8 [1939]; *Euler* u. *Hellström*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **260**, 163 [1939].

³¹) *Euler*, *Schlenk*, *Günther*, *Forsman* u. *Höberg*, Svensk. Vet. Akad. Arkiv f. Kemi **13** B, Nr. 6 [1939].

³²) *Adler*, *Euler* u. *Hellström*, ebenda **12** B, Nr. 38 [1938]; *Euler* u. *Hellström*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **252**, 31 [1938]; *Adler*, *Euler* u. *Günther*, Svensk. Vet. Akad. Arkiv f. Kemi **12** B, Nr. 54 [1938].

Auch die Diaphorase findet sich in Tumoren, wenn auch in verhältnismäßig geringer Menge. Ihre Rolle gegenüber CoH₂, die aus dem Schema hervorgeht:



ist im Tumor untergeordnet, da in ihm das Cytochromsystem nicht entwickelt ist. Die Diaphorase kann aber auch noch in ein späteres Stadium des Stoffwechsels eingreifen.

Besonders bemerkenswert ist, daß *Jensen*-Sarkome i. allg. sehr viel ärmer an den Komponenten des Cytochromsystems sind als normales Gewebe. So enthält *Jensen*-Sarkom nach unserer Schätzung etwa 1 γ Cytochrom in 1 g Sarkom, was mit früheren Versuchen von *Holmes* sowie *Elliot*, *Benoy* u. *Baker*³³) übereinstimmt.

Die in Krebszellen gestörte Atmungstätigkeit bzw. das anomale Verhältnis von Atmung und Glykolyse läßt sich darauf zurückführen, daß das Enzymssystem, welches zur schließlichen Oxydation führt und zur Veratmung der Zwischenprodukte notwendig ist, nämlich die Diaphorase und das Cytochromsystem, im Tumorgewebe mehr oder weniger vernichtet sind. Man kann also die Krebszelle als eine cytochromdefekte Zelle³⁴) beschreiben und muß dabei das ganze Cytochromsystem in Betracht ziehen.

Carboxylase-System in Tumoren.

Unter den weiteren Aktivatoren des Kohlenhydratabbaues in Tumoren ist das Carboxylasesystem noch besonders zu nennen.

Nach dem Befund von *Auhagen* muß die Carboxylase durch ein Co-Enzym, die Cocarboxylase ergänzt werden, welche von *Lohmann* als das Pyrophosphat des Aneurins (Vitamin B₁) erkannt worden ist.

Nach mehreren Versuchsserien in unserm Institut beträgt die Konzentration des Aneurins im *Jensen*-Sarkom etwa 0,6 γ pro g *Jensen*-Sarkom (*Willstaedt*, *Heiwinkel*).

Nach *Lipmann* wirkt Aneurin als Wasserstoffüberträger, und in dieser Weise nimmt Cocarboxylase, nicht aber freies Aneurin am Stoffwechsel teil.

In zwei Versuchen fanden hier *B. Höberg* und *K. Elias* 2—3 γ Cocarboxylase in 1 g Sarkom.

Brenztraubensäuregehalt des Blutes von Ratten mit implantiertem *Jensen*-Sarkom. Während man im Blut normaler Ratten, die nicht an B₁-Avitaminose leiden, einen recht konstanten Gehalt an Brenztraubensäure (BTS) findet, nämlich im Mittel 12 γ BTS/cm³ Blut, zeigen Ratten gleichen Alters und gleicher Entwicklungsbedingungen schon wenige Tage nach Implantation von einigen mg Sarkomgewebe eine sehr erhebliche Steigerung des BTS-Gehaltes im Blut, wie der folgende Auszug aus Versuchen von *Euler* u. *Höberg* zeigt:

Nicht implantiert12 γ BTS/cm ³ Blut
2 Tage nach Implantation	...23 γ BTS/cm ³ Blut
3 Tage nach Implantation	...42 γ BTS/cm ³ Blut

Die höchste Konzentration an BTS, die wir an Sarkomratten beobachten konnten, betrug 50 γ/cm³ Blut, also mehr als das Vierfache des Normalwertes³⁵). Es wurde besonders festgestellt, daß diese Steigerung nicht mit einer Infektion zusammenhängt, die an sich ebenfalls eine BTS-Steigerung hervorrufen kann.

Brenztraubensäure ist ein primäres Abbauprodukt des Glykogens und nimmt im Stoffwechsel eine zentrale Stellung ein, da sie in der Leber den Ausgangspunkt von Synthesen bildet. Sie steht im oxydo-reduktiven Gleichgewicht einerseits mit Essigsäure + CO₂ (durch Vermittlung des Carboxylasesystems) und andererseits mit der Milchsäure durch Vermittlung der Milchsäuredehydrase und der Cozymase). Eine gleichzeitig im Blut auftretende Erhöhung der Milchsäurekonzentration kann die Folge der erhöhten Brenztraubensäuremenge sein, die nicht mehr der normalen Oxydation unterliegt, wenn das Carboxylasesystem gestört ist. Auch die Milchsäurekonzentration ist im Blut von Sarkomratten erhöht³⁶). An diesem Punkt müssen weitere Versuche einsetzen.

Eingeg. 15. Januar 1940. [A. 13.]

³³) *Elliot*, *Benoy* u. *Baker*, Biochemical J. **29**, 1937, 1940 [1935].

³⁴) *Euler*, *Hellström* u. *Günther*, Svensk. Vet. Akad. Arkiv f. Kemi **13** B, Nr. 8 [1939].

³⁵) Zur Methodik der Brenztraubensäure-Bestimmung vgl. *Lu*, siehe *Höberg* u. *Schlenk*, Svensk. Vet. Akad. Arkiv f. Kemi **14** B, Nr. 4 [1940].

³⁶) *Euler*, *Skarzynski*, *Höberg*, Z. Krebsforsch. **50**, 230 [1940].