

## Über die chemischen Krebsreaktionen beim Menschen und ihre biochemischen Zusammenhänge<sup>\*)</sup>

Von Prof. Dr. K. HINSBERG, Pathologisches Institut der Universität Berlin

Der Versuch, zu einer Carcinomfrühd Diagnose durch Analyse von Blut und Harn zu kommen, entspringt einem praktischen Bedürfnis, nämlich dann helfend einzugreifen, wenn die ärztliche Kunst versagt. Das ist oft dann der Fall, wenn der Tumor noch klein ist und keine Beschwerden macht und dem Arzt keine Handhabe für den Verdacht auf einen bestehenden oder sich entwickelnden Krebs gegeben ist. Mit einem Wort, dies ist immer im Frühstadium der Krankheit der Fall.

Auf das in Rede stehende Problem ist schon viel Zeit und Mühe verwendet worden, ohne daß es bis heute zu einem durchschlagenden Erfolg gekommen wäre; dies hat zwei Gründe. Einmal haben die Autoren, die sich mit der Möglichkeit einer analytischen Krebsdiagnose befaßt haben, immer nur ihre eigene Methode geprüft und sind dabei auch vielfach noch so vorgegangen, daß sie einerseits Personen mit sicheren Krebsleiden zur Untersuchung genommen haben und andererseits völlig gesunde Menschen. Auf diese Weise ließ sich ein prozentual günstiges Ergebnis verhältnismäßig leicht erreichen; es gab aber viele Fehldiagnosen, wenn ein gemischtes Krankenmaterial untersucht wurde, weil sich nun herausstellte, daß die gefundene Reaktion nicht spezifisch für Krebs war. Besonders haben sich hier Entzündungen, Infektionen und Graviditäten als störend erwiesen. Auch Alter und Geschlecht, bei der Frau auch der Genitaleyclus, muß berücksichtigt werden. Es kommt hinzu, daß bei der Auswahl des Testes nicht mit der nötigen Sorgfalt und Sachkenntnis vorgegangen wurde, denn es ist z. B. unmöglich, mit Hilfe der Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen oder dem Albumin-Globulin-Verhältnis im Serum eine brauchbare und jeder Kritik standhaltende Methode ausarbeiten zu können.

Der zweite Fehler, der gemacht wurde, ist der, daß man sich auf eine einzige Reaktion verließ. Wir sind beim Carcinom nicht in der glücklichen Lage wie etwa beim Diabetes oder einer Nierenerkrankung, wo die Zucker- oder Eiweißausscheidung im Harn ein untrügliches Zeichen für die betr. Krankheit ist. Der Krebs tritt in fast allen Organen des Körpers auf, und wenn er auch, histologisch gesehen, immer dieselbe Erkrankung ist, so ist sicher, daß sich die Verhältnisse in chemischer Hinsicht ändern werden, je nachdem, wo die Geschwulst entstanden ist. Man wird also aller Voraussicht nach mehrere Reaktionen zu Rate ziehen müssen, um eine gesicherte Diagnose stellen zu können, und je nach der Lokalisation auf den Ausfall der einen oder anderen größeres Gewicht legen. Hierüber besitzen wir aber noch keine Erfahrung. Es hat sich nur bestätigt, was z. B. Fuchs schon vor Jahren gefunden hatte, daß sich Carcinome bestimmter Lokalisation auf analytischen Wege nur schwer feststellen lassen. Mit einer einzigen Reaktion käme man nur dann aus, wenn es gelänge, die den Krebs auslösende Ursache zu erfassen.

Nach den Erfahrungen, die wir in den letzten 3 Jahren gesammelt haben, hat keine Reaktion einer Nachprüfung standgehalten, deren Grundlage nicht im krankhaften Ablauf der Umsetzungen im Körper gewissermaßen pathologisch-biologisch begründet ist. Ich bin auch in der glücklichen Lage, feststellen zu können, daß ich keine eigene Reaktion erfunden habe, deshalb nicht pro domo zu reden brauche, und ich werde mich bemühen, möglichst objektiv diejenigen Verfahren herauszusuchen, die einer Weiterbearbeitung wert erscheinen und gewisse Erfolgsaussichten versprechen. Wenn man eine grobe Einteilung der in Betracht kommenden Verfahren vornehmen will, so kann man trennen zwischen solchen, die sich auf fermentative, und solchen, die sich auf hormonale Verschiebungen im Organismus beziehen. Es ist dies nicht weiter verwunderlich, denn jede Zell-tätigkeit hängt von den Fermenten ab, weil ohne Fermente eine Zelle überhaupt nicht leben kann. Eine ähnliche Rolle spielen die Hormone, die wahrscheinlich über die Fermente in den Zellstoffwechsel

eingreifen. Wir müssen also nach Stoffwechselveränderungen und ihren Ursachen suchen, die sich außerhalb des Tumors selbst bemerkbar machen.

### Fermentative Änderungen bei Carcinomen.

In dieser Richtung wurde zuerst von Warburg<sup>1)</sup> die Glykolyse studiert. Eine charakteristische Eigenschaft des Tumors ist, daß er aus Kohlenhydraten Milchsäure auch in Gegenwart von Sauerstoff (aerob) bildet, während normales Gewebe die intermediär gebildete Milchsäure sofort weiter verwertet oder es gar nicht bis zur Bildung der Milchsäure kommen läßt. Es ist nun besonders bemerkenswert, daß sich diese Eigenschaft der **verstärkten Glykolyse** auch schon in Organen des tumortragenden Organismus nachweisen läßt, auch wenn diese Organe selbst völlig carcinomfrei sind.

Ob die vermehrte Glykolyse und insbes. die aerobe Glykolyse zur Bildung eines Tumors notwendig ist, ist bislang noch nicht entschieden; soviel ist aber sicher, daß dem glykolytischen Kohlenhydratstoffwechsel beim Carcinom nicht die fundamentale Bedeutung zukommt, die ihr zuerst nach den grundlegenden Befunden Warburgs zugeschrieben wurde.

Ein Substrat, welches sehr leicht zugänglich ist und beim Carcinom eine verstärkte Glykolyse zeigt, sind die Erythrocyten. Daß diese aerob glykolyisieren, hat Warburg selbst beschrieben, aber zum Zwecke der Carcinomdiagnose ist diese Tatsache zuerst von Ascoli<sup>2)</sup> u. Mitarb. herangezogen worden. Die Nachuntersucher kamen z. T. zu widersprechenden Ergebnissen, und bei uns hat Meyer-Heck<sup>3)</sup> die Frage erneut aufgegriffen und im ganzen 71 Fälle untersucht. Darunter waren 34 Carcinouffälle, von denen 8 = 23,5% falsch reagierten, wenigstens wenn man die Grenze so setzt wie Meyer-Heck, nämlich eine Milchsäurebildung bis 0,062 mg pro cm<sup>3</sup> als normal, bis 0,068 mg als fraglich und über 0,068 mg als übernormal bezeichnet. Die höchsten Werte wurden mit Blut erhalten, welches von Kranken mit Lebermetastasen stammte, wie sich überhaupt eine deutliche Abhängigkeit der Höhe der Glykolyse von dem Zustand des Kranken, d. h. von der Schwere seines Leidens zeigte.

Von Nicht-Carcinom-Fällen reagierten Leukämien und Urämien falsch, d. h. sie zeigten ebenfalls eine erhöhte Glykolyse, aber wenn man selbst diese Fehler nicht als schwerwiegend betrachtet, weil sie diagnostisch vom Arzt abgetrennt werden können, so bleibt aus der Glykolyse allein doch nur der Schluß übrig, daß es sich bei einer erhöhten Glykolyse wahrscheinlich um ein malignes Neoplasma handelt.

Nun ist bezgl. der Glykolyse der Erythrocyten noch ein zweites Phänomen beschrieben worden, nämlich die Aktivierung durch Carotin. (Der Reaktionsmechanismus ist unbekannt.) Beim Carcinom mit seiner an sich schon gesteigerten Glykolyse soll nämlich die Glykolyse durch Carotin nicht mehr gesteigert werden, während es in allen anderen Fällen der Fall sein sollte<sup>4)</sup>. Diese Angaben konnte Meyer-Heck bestätigen. Beim Carcinom konnte durch Carotin niemals mehr als eine 15%ige Aktivierung erzielt werden, während bei allen anderen Fällen mit Ausnahme der Leukämie und Osteomalacie stets eine deutliche Aktivierung zu sehen war, die bis über 100% betragen konnte. Die Tabellen zeigen je 10 willkürlich herausgegriffene Fälle, an denen das Ergebnis deutlich erkannt werden kann. Allein diese Reaktion hat natürlich wieder ihre Haken: 1. kommt man nicht mit einer Carotinkonzentration aus, weil das Optimum der Wirkung verschieden ist, und 2. ist die Carotinklösung sehr empfindlich und mitunter trotz sorgfältigster Herstellung ungeeignet. Jedenfalls darf sie selbst in zugeschmolzenen Röhrchen nicht älter als 3—4 Wochen werden. Weiter ist die ganze Reaktion sehr empfindlich, braucht viel Zeit und besonders viel Blut, alles Momente, die einer praktischen Verwertung entgegenstehen.

<sup>1)</sup> Warburg, Lit. über den Stoffwechsel der Tumoren (Springer 1926).

<sup>2)</sup> Ascoli u. Indovina, Klin. Wschr. 13, 956 [1934].

<sup>3)</sup> Meyer-Heck, Z. Krebsforsch. 49, 142 [1939].

<sup>4)</sup> Wetzler, Ligetti u. Willstein, Wien. klin. Wschr. 42, 1253 [1933].

<sup>\*)</sup> Vorgesprochen als Vortrag auf der 52. Hauptversammlung des VDOh in Salzburg, gehalten in der Vortragsveranstaltung des VDOh in Berlin am 28. Januar 1940.

Tabelle 1.

Milchsäure in mg ohne Zusatz	Diagnose	Aktivierung in % bei Carotinzusatz in γ	
		45	75

**Aktivierung der Blutglykolyse durch Carotin bei Nicht-Carcinom**  
nach Meyer-Heck.

0,035	Hypertonie	+240	+209
0,041	Herzinsuffizienz	+30	+40
0,054	Asthma	+85	—
0,058	Mitralinsuffizienz	+38	+3,5
0,041	Ulcus Duodeni	—	+89
0,045	Ulcus ventriculi	—	+31
0,105	Myeloische Leukämie	—	—12
0,060	Chron. Pneumonie	—	—7
0,027	Diabetes	+35	—8

**Aktivierung der Glykolyse durch Carotin beim Carcinom**  
nach Meyer-Heck.

0,072	Magencazinom	—	± 0
0,108	Magencazinom	—	—11
0,065	Magencazinom	—17	—
0,029	Oesophaguscarcinom	—9	—3
0,065	Oesophaguscarcinom	—	+3,5
0,075	Mammacarcinom	—20	—69
0,096	Gallenblasencarcinom	—	+5
0,054	Metastasen	—5	+7
0,140	Rectumcarcinom	—	+12
0,085	Rectumcarcinom	+15	—19

Es fragt sich nun, ob diese anomale Glykolyse erklärbar ist bzw. ob Veränderungen im Tumor oder im Tumorganismus bekannt sind, die eine vermehrte Milchsäurebildung erwarten lassen. Es sei hier auf die Arbeiten von v. Euler<sup>5)</sup> hingewiesen, da es sich auch hier um eine chemisch faßbare Anomalie handelt, die der an sich theoretisch brauchbaren Reaktion zugrunde liegt. Es läßt sich nämlich zeigen, daß das am Kohlenhydratstoffwechsel beteiligte Enzymsystem bei Carcinom gestört ist. Soweit ein direkter Vergleich zwischen Herzmuskel und Sarkom gestattet ist, finden sich im Sarkom nur  $\frac{1}{10}$  der Diaphorase und  $\frac{1}{20}$  der Cytochromoxydase, die im Herzmuskel gefunden werden. Deshalb ist auch das Verhältnis Dihydrocodehydrase:Codehydrase (normalerweise 0,8 bis 1,0) auf 5 bis 10 angewachsen, ein Zeichen, daß der Wasserstoff nicht weitergereicht werden kann. Es ist daher verständlich, wenn der normale Abbau der Kohlenhydrate nicht mehr glatt funktioniert und Milchsäure als Stabilisierungsprodukt oder als unphysiologisches Reduktionsprodukt der Brenztraubensäure in vermehrter Menge auftritt.

Das Blut enthält ebenfalls eine kleine Menge Cytochrom, über die anderen Fermente ist m. W. nichts bekannt, doch sollte man annehmen, daß sie im Organismus des Tumorträgers vermindert sind, sei es, weil sie sehr stark verbraucht werden, sei es, weil sie nur in ungenügender Menge gebildet werden können. Jedenfalls scheint zwischen der gesteigerten Glykolyse beim Carcinom und den enzymatischen Verhältnissen eine befriedigende Übereinstimmung zu bestehen, daher wäre für eine Untersuchung der Glykolyse mit Carotinzusatz eine Erfolgsaussicht vorhanden, wenn sich nicht die praktischen Schwierigkeiten z. Z. entgegenstellten.

Außer diesen eben angeführten Beispielen sind weitere mannigfaltige Störungen im Enzymhaushalt beim Krebs bekannt. Ein Beispiel dafür ist die **Phosphatase**<sup>6)</sup>, eng verknüpft mit dem Kohlenhydratstoffwechsel. Beim Carcinom ist der Phosphatasegehalt des Muskels erniedrigt und der des Blutes und der Nieren erhöht. Man könnte glauben, daß die Messung des Phosphatasespiegels im Blut eine diagnostische Bedeutung hat; eingehende Studien über dieses Gebiet haben aber gezeigt, daß hier mit sehr viel Störungen durch andere Krankheiten zu rechnen ist. Es ist jedoch hervorzuheben, daß die Phosphatase des Krebsserums im wesentlich stärkeren Maße durch Mg-Ionen, den natürlichen Aktivator, zu aktivieren ist, als dies unter anderen Bedingungen der Fall ist. Man kann auch dann auf ein Carcinom schließen, wenn man einen absolut niedrigen Phosphatasewert im Serum findet, der aber durch Mg, gewöhnlich verwendet man  $\frac{m}{200}$  Lösung, sehr stark, d. h. über 60%, zu aktivieren ist. Es ergeben sich etwa folgende Zahlen:

## Durchschnittsphosphatasewerte.

	Einheiten pro 100 cm <sup>3</sup> Serum
Kontrollen	12,0
Carcinom ohne Metastase	15,4
Carcinom mit fragl. Metastase	22,3
Carcinom mit sicheren Metastasen	32,9

Alle Fälle mit Ikterus sind fortgelassen.  
(Nach Albers.)

Aktivierung der Phosphatase durch MgCl<sub>2</sub>. Mittel in %.

Diagnose	Anzahl	Aktivierung %
Kontrollen	37	+44,8
Carcinom ohne Metastase	30	+63,4
Carcinom mit fragl. Metastase	24	+64,5
Carcinom mit sicheren Metastasen	33	+68,7
Tumoralähnliche Erkrankungen	13	+38,7

(Nach Albers.)

Albers<sup>7)</sup>, der der Phosphatase beim Carcinom eine eingehende Studie gewidmet hat, stellt unter seinen Versuchsbedingungen folgende Richtlinien auf, die u. U. zu einer diagnostischen Verwertung brauchbar wären.

Als Carcinom positiv sind anzusprechen:

Werte über 17 Einheiten in 100 cm<sup>3</sup> Serum.

Werte unter 17 Einheiten, die aber durch  $\frac{m}{200}$  Mg um mehr als 60 % gegenüber dem Anfangswert aktiviert werden.

Carcinom negativ sind Phosphatasewerte unter 16 Einheiten in 100 cm<sup>3</sup> Serum, falls auch die Aktivierung unter 60 % liegt.

Fraglich bleiben die Fälle mit 16—17 Einheiten und einer Aktivierung zwischen 50 und 60 %.

Diese Arbeiten über die Phosphatase des Serums werden deshalb hier angeführt, weil sie ein Beispiel für eine Reaktion geben, deren Zusammenhang mit den eigentlichen Störungen beim Carcinom bekannt ist. Allein die Fehler sind noch zu groß, um in der Praxis brauchbare Ergebnisse erzielen zu können. Bei der verhältnismäßig kleinen Reihe von Albers ergeben sich

Carcinome: 85% richtig positiv, 15% falsch negativ.

Nicht-Carcinome: 69% richtig negativ, 31% falsch positiv.

Nun ist das Beispiel der Phosphatase für ein Ferment nicht das Letzte, welches beim Carcinom verändert gefunden wurde. Die Untersuchungen von Waldschmidt-Leitz u. Mitarb.<sup>8)</sup> fingen mit der Beeinflussung der Blutgerinnung an.

Die Geschwindigkeit der Blutgerinnung ist zwar zwischen Carcinomblut und Nicht-Carcinom-Blut nicht wesentlich verschieden, aber es zeigte sich, daß die Gerinnungszeit durch Cystein oder Glutathion in verschiedener Weise beeinflusst werden kann. Durch genügenden Zusatz einer Sulfhydrylverbindung kann Blut praktisch ungerinnbar gemacht werden; bei Carcinomblut ist stets eine viel größere Cysteinmenge nötig, um einen bestimmten Effekt zu erzielen, als bei Normalblut. Die Autoren haben aus dieser Erscheinung den Schluß gezogen, daß entweder im pathologischen Serum Stoffe vorhanden sein müssen, die die Sulfhydrylwirkung abpuffern, oder daß an sich schon das Normalserum mehr —SH-Gruppen enthalte. Es kann sich natürlich auch nur um eine relative Verminderung, d. h. Herabsetzung der Aktivität handeln, was sich in den Versuchen von Purrr u. Russel bei Waldschmidt-Leitz bestätigt hat<sup>9)</sup>. Denn Papain und Methylglyoxalase lassen sich durch Sulfhydrylverbindungen aktivieren. Papain-derivate, die durch Oxydationsmittel inaktiviert worden waren, können durch Serum oder Blut auf Grund der darin enthaltenen SH-Verbindungen reaktiviert werden, u. zw. aktiviert Carcinomblut entsprechend den obigen Befunden schwächer. Dasselbe gilt für die Aktivierung von unvollständig aktivierter Methylglyoxalase. Während sich die Aktivierungsleistung von Seren i. allg. zwischen 0,07 und 0,19 mg Glutathion bewegt, beträgt sie bei derselben Serummenge von Carcinomträgern nur 0,02 bis 0,04 mg. Obwohl nach den Angaben von Waldschmidt-Leitz diese Reaktion an sich sehr spezifisch ist und diagnostisch brauchbar wäre, konnte sie doch nicht zur Diagnose ausgebaut werden, weil sich zu große technische Schwierigkeiten entgegenstellten.

<sup>5)</sup> Euler, Adler, Günther u. Das, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **254**, 31 [1938]; vgl. auch Euler, Dtsch. med. Wschr. **1938**, 1712, und Euler u. Mitarb., Z. Krebsforschung **49**, 46 [1939].

<sup>6)</sup> Phosphatase, diese Ztschr. **51**, 324 [1938].

<sup>7)</sup> Albers, Z. ges. exp. Med. **104**, 146 [1938].

<sup>8)</sup> Purrr u. Russel, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **228**, 198 [1934].

Nun beschreibt in neuester Zeit *Petrovicki*<sup>9)</sup>, daß ihm eine bessere Methylglyoxalase-Herstellung gelungen sei. In Glycerin sind die wesentlich aktiveren Auszüge bis 3 Wochen haltbar, und damit wäre für die Reaktion eine neue Erfolgsaussicht gegeben, vorausgesetzt, daß sich das Ausgangsmaterial, Kalbsleber, auftreiben läßt.

Weiter konnte *Waldschmidt-Leitz* zusammen mit *Purr*<sup>10)</sup> im Serum ein peptidspaltendes Enzym besonderer Art nachweisen, welches sich nur im Krebsserum findet oder nachweisen läßt und welches bei pH 7 das oxydierte Glutathion zu spalten in der Lage ist. Dies führt nun, da das Glutathion ein Aktivator der Methylglyoxalase ist, zu einer verminderten Aktivität dieses Fermentes, und somit konnte die Wirkung der Peptidase über die Methylglyoxalanaktivität nachgewiesen werden. Auch diese Untersuchungen blieben für die Praxis erfolglos.

Im ganzen hatten diese Untersuchungen, die sich alle auf die Menge oder Aktivität der Sulfhydrylgruppen im Serum stützen, doch einen Erfolg; denn angeregt durch diese Arbeiten unternahm es *Brdička* mit Hilfe der **Polarographie**<sup>11,12)</sup> den SH-Gehalt der verschiedenen Seren zu untersuchen. Diese Versuche seien hier kurz besprochen, obschon sie nichts mit fermentativen Prozessen zu tun haben.

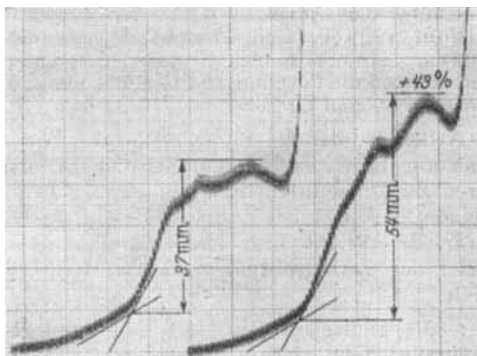


Abb. 1. Carcinomreaktion nach Waldschmidt-Leitz.  
(Nach Bernhard, Arch. klin. Chiruz., 193, 544 [1938]).

1933 hat *Brdička*<sup>13)</sup> ein Verfahren angegeben, um mit dem Polarographen auch Eiweißbestimmungen zu können (Abb. 1). Die sog. Doppelwelle steigt nicht unbegrenzt, sondern nur bis zu einem Maximum, daher besteht nicht im ganzen Umfang eine lineare Abhängigkeit von der Stufenhöhe. Bei der Bestimmung der Eiweißkonzentration wird angeblich nur der im Eiweiß enthaltene Sulfid Schwefel bestimmt, der allein für das Auftreten der charakteristischen Welle verantwortlich ist. Die polarographische Reaktion von Sulfhydrylgruppen tritt nur in gepufferten Kobalt- oder Nickellösungen ein, u. zw. beruht die Wirkung der Kobaltsalze auf einer katalysierten Wasserstoffreduktion, die normalerweise auf Hg eine große Überspannung erfordert. Der zwischen Kobalt und den Sulfhydrylverbindungen entstehende Komplex erleichtert die Abscheidung des Wasserstoffs aus der Sulfhydrylgruppe, offenbar weil er durch die koordinative Bindung so gelockert wird, daß er im elektrischen Felde der Kathode schon bei einer geringeren Spannung losgerissen wird.

Da es sich, wie weiter oben ausgeführt wurde, bei den enzymatischen Studien über das Carcinomserum immer wieder um den Effekt von Sulfhydrylgruppen handelte, war der Versuch, mit Hilfe der polarographischen Methode die oben erwähnten Veränderungen genau eindeutig und leicht fassen zu können, sehr verlockend. Tatsächlich hat sich nun auch gezeigt, daß bei Carcinomseren, nachdem das Eiweiß in gelinder Weise denaturiert worden ist, was aber für das Gesamtergebnis nicht ausschlaggebend ist, in Cobaltamin-Puffern eine geringere Menge Sulfhydrylgruppen gefunden wird als in Normalseren und daß man aus der niedrigsten Doppelwelle auf ein Carcinom schließen kann.

Werden aber die kolloidalen hochmolekularen Eiweißkörper durch Fällung mit Sulfosalicylsäure entfernt, so bleiben im Filtrat bei Carcinomseren verhältnismäßig mehr sulfhydrylhaltige Verbindungen, und die polarographisch gemessene Welle ist nun gegenüber einem Normalserum erhöht. Besonders die Polarographie im Filtrat der Sulfosalicylsäurefällung brachte gegenüber der ursprünglich verwendeten Methode schon einen Fortschritt in bezug auf den Ausschluß von Fehldiagnosen, aber immer noch reagieren alle entzündlichen Fälle, gewisse Gallenerkrankungen, die Cholecystitis und Cholelithiasis, positiv im Sinne einer Carcinomreaktion, also falsch.

Von *Tropp*<sup>14)</sup> stammt die dankenswerte Untersuchung über den Zusammenhang der polarographischen Reaktion und der Senkungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen und dem absoluten Eiweißgehalt, wie auch von dem relativen Gehalt an Globulin. Danach geht die polarographische Reaktion vollkommen parallel der Senkungsbeschleunigung, wobei ganz allgemein bei einer Erhöhung der Senkung über 20–25 mm fast alle Seren positiv reagieren. Setzt man die Proteindoppelwelle in Beziehung zu dem absoluten Eiweißgehalt, so sollen nach *Tropp* in keinem Falle Seren von gesunden Personen positiv reagieren.

Zu denselben Ergebnissen kommen auch *Wedemeyer* und *Daur*<sup>15)</sup>. Sie betonen aber, daß auch eine Anzahl Carcinomseren, deren Senkungsgeschwindigkeit nicht erhöht war, positiv reagierte, und sie glauben aus ihren Befunden ableiten zu können, daß die Polarographie in bestimmten Fällen als diagnostisches Hilfsmittel zu verwenden ist.

Bis jetzt wurde das Problem so dargestellt, als ob es sich nur um schwefelhaltige Stoffe handelte, die bei der Polarographie ansprächen. Die Untersuchungen von *Waldschmidt-Leitz* gingen natürlich weiter und versuchten vor allem den für die polarographische Reaktion verantwortlichen Stoff zu fassen. Er konnte aus den Sulfosalicylsäurefiltraten durch Alkohol einen Stoff ausfällen, der allein für den gesamten Zuwachs an polarographisch wirksamer Substanz im Carcinomserum verantwortlich ist, der frei von Schwefel ist und sehr wohl von gleichzeitig vorhandenen schwefelhaltigen Eiweißabbauprodukten abgetrennt werden kann. Diese Substanz zeigt die Zusammensetzung und die Eigenschaften eines Mucoids, wie aus dem N- und Glucosamingehalt geschlossen werden kann. Ob die im Carcinomserum vorhandene Substanz nun wirklich zu den Mucoiden gehört, ist noch nicht endgültig entschieden. Es wird aber von *Waldschmidt-Leitz* betont, daß ihr Auftreten eher als eine Folge des Carcinoms gedeutet werden und nicht die Ursache der malignen Geschwulst sein kann.

Diese Untersuchungen über die Isolierung der verantwortlichen Substanz im Carcinomserum haben nun weiter zu Versuchen geführt, die eine Erhöhung der Spezifität gewährleisten sollen. Die Alkoholfällung gestattet nämlich in gewissen Grenzen eine Unterscheidung der auf echten carcinomatösen und der auf entzündlichen Vorgängen im Organismus beruhenden, die Diagnose noch störenden Vermehrung der aktiven Substanz. In Fällen, in denen eine Erhöhung der polarographischen Stufe im Serum durch größere entzündliche Prozesse hervorgerufen wird, findet man nach der Fraktionierung mit Alkohol den Zuwachs an Aktivität in Fällungen bei höherer Alkoholkonzentration, zwischen 66 und 80%, welche durch ihren Schwefelgehalt ausgezeichnet sind. Die Erhöhung der polarographischen Stufe mag also in solchen Fällen auf einer Erhöhung von schwefelhaltigen Eiweißabbauprodukten beruhen. Bei Carcinom findet man hingegen nach *Waldschmidt-Leitz* den Zuwachs an polarographisch wirksamer Substanz in der schwefelfreien und kohlenhydratreichen, in 66% igem Alkohol schwer löslichen Fraktion. So ist zu hoffen, daß die fernere Reinigung und Kennzeichnung der aktiven Substanz dazu beitragen wird, auch die Treffsicherheit der Diagnose weiter zu verbessern.

Über die Polarographie läßt sich zusammenfassend sagen, daß die Reaktion in der bisher entwickelten Form noch zu unspezifisch ist, daß es aber große Aussicht hat, mit dieser Methode experimentell weiter zu arbeiten, zumal wir damit rechnen können, daß es gelingen wird, den als Folge des Carcinoms

<sup>9)</sup> *Petrovicki*, Biol. Zbl. 303, 186 [1939].

<sup>10)</sup> Diese Ztschr. 50, 325 [1933].

<sup>11)</sup> *Heyrovsky*, Mikrochemie N. F. 6, 25 [1932].

<sup>12)</sup> Vgl. *Winkel u. Proské*, diese Ztschr. 50, 18 [1937].

<sup>13)</sup> *Brdička*, Acta int. Vereinigung für Krebsbekämpfung 3, 13 [1938]; Acta radiologica et cancerologica 2, 7 [1939].

<sup>14)</sup> *Tropp*, Klin. Wschr. 17, 1141 [1938].

<sup>15)</sup> *Wedemeyer u. Daur*, Z. Krebsforsch. 49, 10 [1939].

typischen Stoff zu finden und damit einer spezifischen Analyse zugänglich zu machen. Bestechend ist die Einfachheit der Ausführung und die absolut eindeutige Registrierung. Unter den heutigen bekannten Bedingungen muß aber betont werden, daß mit Hilfe der Polarographie allein keine zuverlässige Carcinomdiagnostik getrieben werden kann, derartige Versuche sind einstweilen für die Praxis abzulehnen. Um so mehr sollten experimentelle Arbeiten zur Förderung der Grundlagen der Reaktion unterstützt werden.

Zu den enzymatischen Prozessen, die beim Carcinom eine Störung erfahren, gehört auch die von *Freund*<sup>16)</sup> und von *Neuberg*<sup>17)</sup> entdeckte **Hemmung der Cytolyse** von Krebszellen durch Carcinomserum. Das Phänomen ist folgendes: Werden Krebszellen, die man aus den Krebsmetastasen von Lebern gewinnt, normalem Serum zugesetzt, so tritt eine teilweise Auflösung der Zellen ein, die am einfachsten durch mikroskopische Betrachtung bzw. Zählung kontrolliert werden kann. Nimmt man aber statt des Normalserums Carcinomserum, so bleibt die Auflösung der Krebszellen aus oder ist stark abgeschwächt. Es ist heute wohl außer jedem Zweifel, daß die Erscheinung der Cytolysehemmung zu Recht besteht, aber es ergeben sich auch hier viele praktische Hindernisse. Einmal läßt sich nicht so scharf, wie man es wünschen müßte, zwischen Cytolyse und Cytolysehemmung trennen. Man muß schon einen Kompromiß schließen und z. B. sagen, wenn mehr als 78% der Zellen ungelöst bleiben, handelt es sich um Carcinom. Diese Grenze ist natürlich nicht so scharf zu ziehen, und in der Gegend dieser als Grenze angenommenen Größe läßt sich nicht genau zwischen Carcinom- und Nicht-Carcinom-Serum entscheiden.

Der zweite Fehler betrifft die Herstellung der zum Test verwendeten Carcinomzellen. Ein großer Teil der Präparate ist aus unbekannten Gründen unbrauchbar, weil er, mit bekannten Seren getestet, nicht die typischen Erscheinungen zeigt. Weiter sind einmal gewonnene Zellen nicht sehr lange brauchbar, und man vertut viel Arbeit allein mit der Herstellung brauchbarer Carcinomzellen und muß dauernd mit bekannten Seren kontrollieren, ob die Präparate noch brauchbar sind.

Ob man die Zellen direkt auszählt oder ob man sich dazu mechanischer Vorrichtungen bedient, die eben aufgezählten Schwierigkeiten bleiben bestehen, und daher werden auch sehr viele falsche Ergebnisse stammen, die das an sich richtige Prinzip in Mißkredit gebracht haben. Die Schwierigkeiten sind zurzeit so groß, daß eine praktische Auswertung der cytolytischen Reaktion nicht in Frage kommt. Zellen aus tierischen Carcinomen sind unbrauchbar.

Ähnlich wie die *Freundsche* Cytolyse arbeitet die **Fuchs-Reaktion**<sup>18)</sup>. *Fuchs* stellt sich aus dem Serum von Normalpersonen bzw. Nicht-Carcinom-Trägern einerseits und Carcinomträgern andererseits Substrate her, d. h. getrocknetes reines Eiweiß, welche zu den zu untersuchenden Seren zugesetzt werden. Als Substrat verwendete er zuerst nur Fibrin, später das gesamte im Serum vorhandene Eiweiß. Die Substrate werden nun den zu untersuchenden Seren angeboten, und es sollen sich in ihnen entsprechende Fermente finden, die in der Lage sind, das Eiweiß zu niedermolekularen Produkten abzubauen. Und zwar soll Substrat, das von einem Carcinomträger stammt, nicht von Carcinomseren abgebaut werden. Diese Reaktion hat bei uns zu keinen günstigen Ergebnissen geführt. Auch die letzten, von *Panton* in London veröffentlichten Versuche, die er zusammen mit *Fuchs* selbst unternommen hat und bei denen *Fuchs* Blindreaktionen ausführen wollte, verliefen vollkommen negativ. Es kommt natürlich vor, daß man in einer Serie Glück hat und richtige Ergebnisse erzielt, aber bei großen Versuchsreihen schwanken die Ergebnisse um 50%, was auch ohne Analyse zu erwarten ist.

Es ist an und für sich sehr schwierig, die kleinen gebildeten Stickstoffmengen richtig zu erfassen, aber selbst wenn man die Gewähr hat, daß die Stickstoffanalyse als solche richtig ist, so ergeben sich mitunter gegenüber den Kontrollwerten so kleine Differenzen, daß eine Deutung sehr schwierig wird. Die Methodik ist von *Fuchs* mit großer Sorgfalt durchgearbeitet worden, aber das von ihm angegebene Colörimeter ist unbrauchbar.

Zudem bestehen gegen die Theorie der Methode erhebliche Bedenken. Erstmal erscheint es sonderbar, daß gewissermaßen arteigenes Substrat nicht abgebaut werden soll. Des weiteren ist es sehr unwahrscheinlich, daß z. B. ein Substrat, das von einem Bronchial-Carcinomträger stammt, ebenfalls auf ein Rectum-Carcinom ansprechen soll, weil aus den *Abderhaldenschen* Versuchen bekannt ist, mit wie großer Spezifität die sog. Abwehrfermente, die auch im Serum vorkommen, eingestellt sind. Dies wird später noch zu besprechen sein. Der Versuch von *Fuchs* muß also als unbrauchbar abgelehnt werden, und auch die von *Minibek*<sup>19)</sup> an die *Fuchssche* Reaktion geknüpfte Modifikation der unmittelbaren Aminosäuretitration kann die Ergebnisse nicht verbessern. Wenn wir die Literatur über Ergebnisse mit der *Fuchsschen* Reaktion betrachten, so findet man fast ebensoviel zustimmende wie widersprechende Angaben; es ist doch sehr schwerwiegend, daß es *Fuchs* selber bei schwarzer Kontrolle nicht gelungen ist, mit seiner eigenen Methode richtige Diagnosen zu stellen<sup>20)</sup>.

Diese Reaktion, obschon sie bereits abgetan ist, mußte besprochen werden, weil sie zeitweise viel von sich reden machte und auch zur praktischen Carcinomdiagnose verwendet wurde.

Auf einem ähnlichen Gebiet, der **fermentativen Eiweißhydrolyse**, aber mit ganz anderer Methodik arbeitet das Verfahren von *Abderhalden*<sup>21)</sup>. Er hat zuerst festgestellt, daß im Serum und im Harn von Tieren, denen parenteral, d. h. nicht durch Mund oder Darm, kleine Mengen körperfremdes Eiweiß zugeführt werden, Fermente auftreten, welche spezifisch gegen das zugeführte Eiweiß gerichtet sind. Es hat sich dann weiter herausgestellt, daß auch bei Tumoren im Organismus Fermente gebildet werden, die sowohl im Serum als auch im Harn nachweisbar sind, die gegen das bestimmte tumoreigene Eiweiß gerichtet sind. Die Spezifität dieser Fermente soll so weit gehen, daß es mit ihrer Hilfe gelingt, Tumoren mit verschiedenem Sitz zu unterscheiden. So wird z. B. von einem Magencarcinomträger nur ein Ferment gebildet und ausgeschieden, welches in der Lage ist, Eiweiß aus Magencarcinom abzubauen, nicht dagegen Eiweiß z. B. von Genitaltumoren oder einem Carcinom der Schilddrüse. Die neuerdings von *Kögl* u. Mitarbeitern<sup>22)</sup> erhobenen Befunde über einen pathologischen Eiweißaufbau aus racemischen Aminosäuren sprechen für diese Theorie. Die Schwierigkeiten, die sich dieser Methodik entgegenstellen, liegen z. T. in der Gewinnung der Substrate. Es ist notwendig, bei der Aufarbeitung der Tumoren alles anhaftende Nicht-Carcinom-Gewebe zu entfernen und auch das im Carcinom vorhandene Bindegewebe abzutrennen. Die Herstellung der Substrate, die natürlich für jeden einzelnen Tumor getrennt vor sich gehen muß, ist etwas mühsam, aber die Substrate sind für viele Versuche ausreichend und jahrelang unverändert haltbar.

Die zweite Schwierigkeit ist die Auswertung der Reaktion selber. Das ursprünglich angewendete Verfahren mit Dialysierhülsen war sehr empfindlich und barg zuviel Fehlerquellen, daher konnte es sich nicht durchsetzen. Es scheint aber, daß in der letzthin von *Abderhalden* angegebenen Modifikation ein praktisch bereits brauchbarer Weg gegeben ist. Einmal ist es wesentlich, daß man zur Reaktion Harn verwenden kann, weil dadurch die Patienten nicht belästigt werden, beliebig viele Reaktionen angestellt werden können, und weil es vorteilhaft erscheint, neben den Reaktionen, die mit Blut ausgeführt werden, auch solche zu haben, die im Harn ausgeführt werden. Auch darin besteht Übereinstimmung mit *Abderhalden*, daß man sich nicht auf eine beliebige Reaktion, die an einem Tag angestellt wurde, verlassen kann, sondern es ist wünschenswert, ja sogar notwendig, mit einem Intervall von mehreren Tagen mindestens zwei bis drei Proben auszuführen.

Meine Erfahrungen mit der *Abderhaldenschen* Reaktion sind noch sehr gering. Ich glaube aber, sagen zu können, daß das von *Abderhalden* beschriebene Phänomen tatsächlich existiert, und daß die Reaktion unter fachmännischer Leitung in einem gut eingerichteten Laboratorium richtige Ergebnisse liefert. Das von *Abderhalden* beschriebene Phänomen unterscheidet sich von dem *Fuchsschen*

<sup>16)</sup> Z. ges. exp. Med. 96, 362 [1935].

<sup>17)</sup> Vgl. a. *Rosenthal*, Amer. J. Cancer 37, 566 [1939].

<sup>18)</sup> *Abderhalden*: Die *Abderhaldensche* Reaktion, Berlin 1922, und Handbuch d. biol. Arbeitsmethoden Abt. IV, Teil 1, Heft 8 (Urban-Schwarzenberg 1933).

<sup>19)</sup> Diese Ztschr. 52, 212, 464 [1939]; Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 258, 57 [1939].

wesentlich durch seine viel größere Spezifität. Das Substrat ist im Gegensatz zu *Fuchs* aus dem Tumor selbst hergestellt, und dadurch könnte auch der Unterschied in dem beschriebenen Abbau begründet liegen, denn während nach *Abderhalden* gerade das spezifisch gebildete Tumoreiweiß durch Fermente des Tumorträgers abgebaut wird, soll dies nach *Fuchs* nicht der Fall sein. Auch nach *Freund*, der sich ebenfalls der Tumorzellen, also Substraten aus Tumoren bedient, bleiben die Zellen durch das Serum von Tumorträgern ungelöst. Nun ist eine intakte, wenn auch nicht lebende, Tumorzelle etwas anderes als aus Tumorzellen isoliertes Eiweiß und das gegenteilige Verhalten vielleicht damit zu erklären. Sichere Anhaltspunkte über den Mechanismus der *Freund*schen Reaktion, d. h. besonders wie weit Lipide oder Zellfermente daran mitbeteiligt sind, haben wir nicht. Wir wissen nur, daß es sich bei der *Abderhalden*schen Reaktion um eine reine Fermentwirkung handelt, die mit reinen Substraten erzielt wird.

Wie schon oben erwähnt, verdanken wir *Kögl* u. *Erxleben* die grundsätzliche Feststellung, daß die Eiweißkörper der Tumorzellen auch von racemischen Aminosäuren aufgebaut werden können; das bedeutet, daß die Fermente, die normalerweise den Eiweißaufbau vollziehen, ihre sterische Auslesefähigkeit verloren haben und infolgedessen auch die unnatürlichen Aminosäuren der d-Reihe in das Eiweiß eingebaut werden. Diese Beobachtung haben *Waldschmidt-Leitz*, *Mayer* u. *Hatschek*<sup>23)</sup> zum Anlaß zu einer Versuchsreihe genommen, indem sie versuchten, ob sich im Serum von Carcinomatösen Peptidasen fänden, die Dipeptide aus d,l-Aminosäuren stärker als Normalserum zu spalten vermögen. Dies ist tatsächlich der Fall, und die jetzt schon beschriebene Spezifität wird sich wahrscheinlich durch Verwendung von Dipeptiden, die nur aus d-Aminosäuren aufgebaut sind, erhöhen lassen. Dieser Beobachtung, die eben erst veröffentlicht worden ist, und worüber noch keine größeren Erfahrungen vorliegen, ist besondere Beachtung zu schenken.

*Freund* hat in Zusammenarbeit mit *Kaminer* weiter beschrieben, daß er aus dem Darminhalt von Carcinomträgern eine spezifische Säure isoliert haben wollte, die für die Hemmung der Cytolyse verantwortlich sein sollte. Es sollte sich um eine ungesättigte Dicarbonsäure handeln, die bei Normalpersonen nicht vorkommt bzw. als gesättigte Dicarbonsäure keine antilytischen Eigenschaften entfaltet. *v. Christiani*<sup>24)</sup> in Wien hat diese Angaben von *Freund* u. *Kaminer* nachkontrolliert. Danach besitzen Darm lipide von Carcinomträgern zwar tatsächlich die charakteristischen antilytischen Eigenschaften; diese Eigenschaft ist aber nicht auf eine spezifische Fettsäure zurückzuführen, sondern die von *Freund* isolierte Säure ist, wenn sie rein dargestellt wird, sowohl bei Normalpersonen als auch bei Carcinomträgern ganz gewöhnliche und unwirksame Palmitinsäure. *Christiani* konnte weiter zeigen, daß die hemmende Substanz ein Cholesterinester ist, und durch synthetische Versuche hat er es sehr wahrscheinlich gemacht, daß es sich um **Cholesterinbutyrat** handelt. Es ist ihm zwar nicht gelungen, das Cholesterinbutyrat aus Serum direkt zu isolieren, wohl aber konnte er mit künstlich

hergestelltem Cholesterinbutyrat in minimalen Mengen eine vollkommene Cytolysehemmung in normalem Serum erzielen. Es gelang ihm ferner, nachzuweisen, daß die Aktivität des Cholesterinbutyrats durch 2 Faktoren enorm gesteigert werden kann, durch Ergosterin und durch Vitamin D<sub>2</sub>. Besonders die Ergosterinwirkung ist von ihm einer sehr eingehenden Untersuchung unterzogen worden; in vielen Versuchen konnte er zeigen, daß durch gewisse Oxydationsprodukte des Ergosterins nicht nur die aktivierende Wirkung des Ergosterins auf Cholesterinbutyrat selber aufgehoben wird, sondern nun auch durch diese Oxydationsprodukte des Ergosterins die hemmende Wirkung des Cholesterinbutyrats zunichte gemacht wird. Es ergibt sich also folgendes Bild:

Normalserum .....	löst	Carcinomzellen
Normalserum + Cholesterinbutyrat.	löst nicht	Carcinomzellen
Normalserum + Cholesterinbutyrat + Ergosterin .....	hemmt in extrem kleinen Dosen die Cytolyse	
Normalserum + Cholesterinbutyrat + oxyd. Ergosterin .....	löst Carcinomzellen wie Nor- malserum	

Diese Annahme von *Christiani* bleibt einstweilen noch eine Theorie; auch die Wirkung des Ergosterins bzw. seines Oxydationsproduktes ist noch nicht bewiesen, obschon es durch seine sehr eingehenden Versuche sehr wahrscheinlich gemacht ist, daß sich seine Theorie zum Schluß bestätigen wird. Experimentelle Nachprüfung erst nach Veröffentlichung der ganzen Methodik, die angekündigt ist.

Für die Versuche von *Christiani* ist noch bemerkenswert, daß weder Buttersäure allein noch Cholesterin allein den typischen Effekt auslösen kann. Wohl aber soll sich im Serum ein Ferment finden, welches aus Cholesterin und Buttersäure die aktive Substanz synthetisieren kann. Daß es sich um ein Ferment handelt, wurde daraus geschlossen, daß die synthetische Wirkung bei 56—58° verlorenggeht. Vielleicht steht die Bildung dieser Substanz auch in Beziehung zu dem veränderten Lipasegehalt, der von *Bernhard* u. *Köhler*<sup>25)</sup> in Carcinomserum beschrieben worden ist.

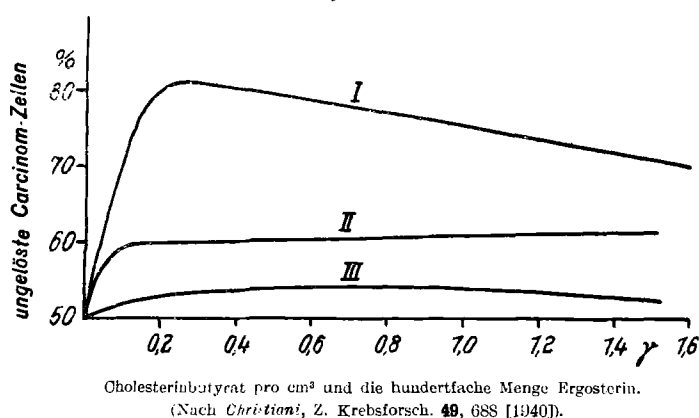
Während nun *Christiani* früher annahm, daß das Cholesterinbutyrat für Carcinomserum spezifisch sei und daß sowohl den Normalseren als auch den Carcinomseren das Ferment fehle, um den Ester zu synthetisieren, nimmt er jetzt an, daß das Cholesterinbutyrat in allen Seren vorkomme. Demnach kann es sich also nur um den Aktivator und den Endaktivator handeln, der verschieden ist, und da Ergosterin auch in jedem Serum zu finden ist, muß der Unterschied in der Bildung des Endaktivators liegen.

Da nun der Endaktivator aus Ergosterin durch eine Oxydase, wie *Christiani* ebenfalls gezeigt hat, gebildet wird, kann es sich nur darum handeln, daß diese Oxydase im Carcinomserum fehlt oder gehemmt ist. Hierdurch werden wir an die Arbeiten von *Schriber*<sup>26)</sup> erinnert, der allerdings auf eine etwas kompliziertere Weise für das Carcinomserum durch eine Oxydase vermehrte Farbstoffbildung, Indophenolblau, nachweisen will. Es ergibt sich ein interessanter Zusammenhang zwischen den beiden Reaktionen. Da weiter bekannt ist, daß die Oxydasen Fermente sind, die sich vom Hämoglobin ableiten, und die Indophenoloxydase sehr ähnlich, wenn nicht identisch mit der Cytochromoxydase ist, so ergibt sich hier die überraschende Tatsache, daß auch die Befunde von *v. Euler* mit den Befunden von *v. Christiani* übereinstimmen.

Ich schließe das Kapitel über die fermentativen Änderungen beim Carcinom, indem ich nochmals auf die eben erwähnten Zusammenhänge hinweise, ich möchte aber im Hinblick auf die vielen zahlreichen Versuche noch betonen, daß es den Anschein hat, daß im carcinomatösen Organismus eine ziemliche Unordnung in den einzelnen Fermentsystemen eingedrungen ist, die sicher nicht ohne Einfluß auf den Verlauf der Krankheit ist. Man wird ohne weiteres die Schwierigkeiten erkennen, die dem vielseitigen Problem anhaften, und vor allem sei noch betont, daß nur ein kleiner Teil der Literatur berücksichtigt werden konnte, und daß, um die vorgetragenen Ergebnisse zu sichern, eine Unzahl von Einzelversuchen not-

Abb. 2.

- I. Cholesterinbutyrat + Ergosterin 1 : 100  
II. Ergosterin  
III. Cholesterinbutyrat



<sup>23)</sup> Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 263, I [1940].

<sup>24)</sup> *Christiani*, Z. Krebsforsch. 43, 369 [1939], frühere Lit. dorts. Zusammenfassung Wien. klin. Wschr. 8, 1 [1937], und Z. Krebsforsch. 49, 221 [1939].

<sup>25)</sup> Zbl. Chirurg. 248, H. 1/2 [1937].

<sup>26)</sup> Z. Chirurg. 62, 613 [1935]; Münch. med. Wschr. 1935, 615, 624.



wendig war, die z. T. mit schwer zu beschaffendem Material ausgeführt werden mußten.

Da nun die Fermente das A und O des zellulären Lebens sind, ist diese Feststellung nicht weiter verwunderlich. Zur Bildung von Fermenten müssen wieder Fermente vorhanden sein, und diese Fermente, welche Fermente bilden, sind die eigentlichen Regulatoren des Stoffwechsels. Es liegt nahe, anzunehmen, daß die Fermentbildung und die Fermentwirkung im Organismus durch die Hormone oder wenigstens durch einen Teil der Hormone reguliert wird, und damit kommen wir zu dem anderen Abschnitt dieser Arbeit, den

### hormonalen Veränderungen im carcinomatösen Organismus.

Dieses Gebiet ist erst in den letzten Jahren aufgegriffen worden. Wenn es hier ausführlich behandelt wird, so wird zwar der Rahmen des Themas überschritten, da es sich hier ausschließlich um biologische Testmethoden handelt; diese Untersuchungen können aber nicht übergangen werden, weil sie wichtig erscheinen und sowohl biologisch begründet sind als auch für die Diagnose brauchbar zu werden versprechen.

Es ist an und für sich nicht neu, daß zwischen der hormonalen Tätigkeit, vor allem bei der Korrelation der Hormone unter sich, und dem Carcinom ein Zusammenhang besteht, auf den im Jahre 1937 *Sauerbruch* u. *Knake*<sup>27)</sup> hingewiesen haben, welcher wohl aber zu allererst von *Beatson*<sup>28)</sup> im Jahre 1896 erwähnt wird. Er schreibt dabei ungefähr folgendes:

„Wir müssen bei den Frauen die Ovarien als den Sitz der erregenden Ursachen des Carcinoms betrachten, gewiß für das der Mamma, wahrscheinlich aber auch für die weiblichen Geschlechtsorgane im allgemeinen und vielleicht für den ganzen übrigen Körper. Mir kommt es seit einiger Zeit so vor, als ob die parasitäre Theorie des Carcinoms in vieler Weise unbefriedigend ist und daß wir mit der Bearbeitung dieses Gebietes viel Zeit verlieren werden, indem wir nach etwas suchen, was wir niemals finden, weil es nicht existiert. Ich glaube, es ist gleichfalls ein Irrtum anzunehmen, daß das Nervensystem die Stoffwechselveränderungen in den Geweben allein reguliert. Ich bin überzeugt, daß in den Ovarien der Frau und in den Testes des Mannes Organe gefunden sind, die feinere Einflüsse aussenden, und wahrscheinlich geheimnisvollere als das Nervensystem, aber auch viel wirksamere als das letztere bei Kranken und Gesunden. Was Krebs auch sein mag, man muß schon annehmen, daß es eine Stoffwechselerkrankung des betroffenen Körperteils ist. Davon ausgehend, daß in den gesunden Körperzellen die Vermehrungskraft nicht verlorengegangen ist, daß sie aber unter Kontrolle der gesunden Ovarien steht, die einfach Massen von Germinal epithelien sind, halte ich es für durchaus möglich, daß eine geänderte Sekretion dieser Organe oder eine Degeneration in ihnen so die anderen Körperzellen beeinflußt, daß ihre latente Vermehrungskraft wirksam wird und so auf diese Zellen die Vermehrungskraft des Germinal epithels übertragen wird.“

Wenn wir bedenken, daß diese Zeilen im Jahre 1896 geschrieben sind, so muß man staunen, daß sie bis vor wenigen Jahren unbeachtet geblieben sind. Nach den Worten von *Beatson* sind es also vor allen Dingen die Keimdrüsen, welche für die Entwicklung des Carcinoms eine große Rolle spielen, und diese Theorie ist in den letzten Jahren u. a. von *Lacassagne*, aber auch von einer großen Zahl englischer, amerikanischer und deutscher Forscher bestätigt worden.

Nach den Versuchen von *Lacassagne*<sup>29)</sup> kommt es ganz besonders bei kastrierten Männchen sehr oft zur Bildung von Mamma-Carcinomen, die sonst bei den Männchen der verwendeten Stämme gänzlich unbekannt sind, wo nur die Weibchen, allerdings zu 70%, nach 12 Monaten, spontan ein Mamma-Carcinom bekommen. Auch die fortgesetzte Follikulininjektion von den ersten Lebenswochen an führt bei den Männchen dieses — also krebsbelasteten — Stammes in 100% der Fälle zum Carcinom<sup>29a)</sup>. Die konsequente histologische Untersuchung des Mammagewebes dieser Tiere zeigt, wie sich die Carcinombildung langsam durch Vergrößerung der Drüsengänge und der Acini vorbereitet und schließlich in eine maligne Geschwulst entartet. Die meisten Versuche von *Lacassagne* sind zwar bezgl. der Entstehung des Mamma-Carcinoms ausgeführt worden, aber es konnten in gleicher Weise auch Harnblasensarkome, Unterhautsarkome und uterine Epitheliome erzeugt werden. Ganz besonders interessant und für die Carcinom-

diagnose wichtig ist es, daß sowohl von *Lacassagne* u. Mitarb. als auch u. a. von *Kramer* u. *Horninc*<sup>30)</sup> Tumoren des Hypophysenvorderlappens beobachtet worden sind, die z. T. den Tod der Versuchstiere hervorgerufen haben. Von den Sexualhormonen ist es fast ausschließlich das Follikelhormon, welches unter geeigneten Bedingungen die Bildung eines Carcinoms hervorruft. Der Versuch, auf Grund veränderter innersekretorischer Zustände bei Carcinomträgern ein diagnostisches Verfahren aufzubauen, ist 1935 von *Rodewald*<sup>31)</sup> wieder aufgenommen worden. Sie hatte beobachtet, daß es beim Carcinom zur Bildung sog. **Antihormone** kommt, die gegen das Melanophorenhormon der Hypophyse gerichtet sind.

Das Melanophorenhormon der Hypophyse hat seinen Namen daher bekommen, daß es an der Ausbreitung der Melanophoren am Frosch (*Rana temporaria*) ausgetestet wird. Injiziert man nämlich Fröschen Melanophorenhormon der Hypophyse, so werden vorher hell angepaßte Frösche vollkommen schwarz, da sich die in den Pigmentzellen vorhandenen Farbkörperchen ausbreiten. Auf diese Weise läßt sich das Hormon leicht und einfach nachweisen. Es ist aber sicher nicht so, daß das Melanophorenhormon beim Warmblüter etwa etwas mit der Pigmentierung der Haut, Augen oder anderer Organe zu tun hätte, sondern es ist eher anzunehmen, daß es physiologisch eine wesentlich wichtigere Rolle spielt. Denn *Collip*<sup>32)</sup> hat in allerletzter Zeit nachgewiesen, daß es eine Grundumsatzsteigerung mit gleichzeitiger Verminderung der CO<sub>2</sub>-Ausscheidung und Verminderung des N-Umsatzes bewirkt. Es wäre demnach in die Reihe der Stoffwechselhormone einzugliedern. Das Studium des Melanophorenhormons beim Carcinom kann also für die Entwicklung des Carcinoms von grundlegender Bedeutung sein, wie weiter unten noch gezeigt wird.

Mischt man eine bekannte Menge Melanophorenhormon mit Normalserum und injiziert es nach einiger Zeit Fröschen, so werden die Frösche so dunkel, als ob das Melanophorenhormon mit Ringerlösung verdünnt worden wäre. Nimmt man aber Carcinomserum, so ist die Wirkung des Melanophorenhormons zum größten Teil aufgehoben, zum mindesten stark abgeschwächt. Man kann also an der Farbänderung der Frösche als Versuchstiere erkennen, ob man das Serum eines Carcinomträgers verwendet hat oder nicht. Für die Begründung der Reaktion war es sehr wichtig, daß in der Folgezeit von *Rodewald* festgestellt wurde, daß bereits in der Hypophyse von Carcinomkranken ein deutlich verminderter Melanophorenhormon-Gehalt vorhanden ist. Dies war entweder auf eine Erschöpfung der Hypophyse zurückzuführen oder darauf, daß sie infolge der pathologischen Bildung des Antihormons an ihrer normalen Funktion der Melanophorenhormon-Bildung gehindert wurde. Für die letztere Annahme spricht folgender Umstand: Bei einer genauen Analyse der Hypophyse zeigt sich, daß das Melanophorenhormon in 2 verschiedenen Formen vorkommt. Einmal als sog. aktives Hormon, welches aus der Hypophyse, z. B. durch Ringerlösung, extrahiert werden kann, und eine zweite Form, die sog. inaktive Form, die nur durch heiße Natronlauge ausziehbar ist. Diese zweite Form ist nun beim Carcinom außerordentlich vermehrt, und es hat so den Anschein, die diesbezüglichen Versuche sind noch nicht abgeschlossen, als ob es beim Carcinomträger der Hypophyse unmöglich gemacht würde, dieses inaktive Hormon in das physiologisch wirksame, aktive Hormon umzuwandeln. Immerhin war durch diese Versuche gezeigt, daß es sich bezüglich

Abb. 3.

Melanophorenhormongehalt der Hypophyse nach *Rodewald*.

A ohne Carcinom      B mit Carcinom  
I mit Essigsäure extrahiert  
II mit Ringerlösung extrahiert  
III mit NaOH extrahiert



<sup>27)</sup> Arch. klin. Chir. 189, 185 [1937].

<sup>28)</sup> Lancet 1896, 104, 162.

<sup>29)</sup> *Lacassagne*, Ergebnisse der Vitamin- u. Hormonforschung Bd. 2, S. 250–296, 1933.

<sup>29a)</sup> a) Über die genauen prozentualen Verhältnisse vgl. den Aufsatz von *Butenandt* in diesem Heft.

<sup>30)</sup> Lancet 231, 1056 [1936].

<sup>31)</sup> W. Rodewald, Dtsch. med. Wschr. 1936, 726; 1937, 1271.

<sup>32)</sup> Collip, Ann. internal Med. 8, 10 [1934].

des Melanophorenhormons beim Carcinom um einen Stoff handelt, der eine typische Veränderung auch bezüglich seiner Menge in der bildenden Drüse erfährt.

Es ist nun weiter sehr interessant, daß sich die eben beschriebenen Veränderungen nicht bei gesunden und bei Tieren mit Impftumoren, wohl aber bei weibl. Mäusen eines disp. Stammes mit Spontanumoren finden und daß sie bei diesen Tieren schon lange vor Ausbildung des eigentlichen Tumors zu finden sind, wenn auch nicht im selben Ausmaß wie bei Tieren mit ausgebildeten Tumoren. Dies weist darauf hin, daß es sich wahrscheinlich um eine primäre Veränderung handelt, die für die Entstehung des Carcinoms notwendig ist, ein Umstand, der für die Verwendung als frühdiagnostisches Mittel außerordentlich wichtig ist. Es hat demnach den Anschein, als ob der veränderte Melanophorenhormon-Gehalt der Hypophyse einen Faktor darstellt, der eng mit Carcinomdisposition verknüpft ist. Es muß aber in diesem Zusammenhang auch gesagt werden, daß bei den Männchen desselben krebsempfindlichen Stammes keine Veränderungen im Melanophorenhormon-Gehalt der Hypophyse beobachtet wurden. Dies stimmt damit überein, daß die Männchen spontan keine Tumoren bekommen, wohl aber nach *Lacassagne*, wenn sie langdauernd mit Follikelhormon behandelt werden. Da die Männchen physiologischerweise nicht unter der Einwirkung von östrogenen Hormonen stehen, ist es erklärlich, daß keine Spontanumoren entstehen und daß auch keine Verschiebung im Melanophorenhormon-Gehalt zu beobachten ist. Es bleibt zu untersuchen, wie sich bei diesen Männchen das Melanophorenhormon verhält, wenn durch Follikulin künstlich ein Tumor erzeugt wird.

Vielleicht verdankt das betr. Antihormon seine Entstehung der übermäßigen Einwirkung von Follikelhormon. Auffallend ist nun noch nach Versuchen von *Rodewald*<sup>33, 34, 35</sup>), daß das gleiche Antihormon bei gesunden Frauen z. Z. des Follikelsprungs, also ungefähr am 14. Tage nach Beginn der letzten Menstruation, auftritt, aber nach 2 bis 3 Tagen wieder verschwunden ist. Bei Ratten konnte ebenfalls z. Z. des Östrus diese inaktivierende Substanz im Blut nachgewiesen werden, aber gleichzeitig waren in der Hypophyse keine Hormonveränderungen zu finden. Dies bestärkt uns in der Annahme, daß es sich bei den eben beschriebenen Hormonverschiebungen um etwas handelt, was für das Carcinom charakteristisch und wesentlich ist. Zwar treten mitunter in normalen Organismen für kurze Zeit ähnliche Antihormone auf, der Organismus ist aber in der Lage, das normale Gleichgewicht sofort wieder herzustellen.

Es lag nun nahe, außer dem Melanophorenhormon, ganz besonders im Hinblick auf die vorhin erwähnten Arbeiten von *Lacassagne*, auch andere Hormone und besonders das gonadotrope Hormon zu untersuchen. Während diese Arbeiten im Gange waren, erschien eine Arbeit von *Eitel*<sup>36</sup>), der beschreibt, daß u. a. auch beim Carcinom ein antithyretroper Stoff gefunden wird. Diese Erscheinung ist aber zu unspezifisch, als daß sie zur Carcinomdiagnose verwendet werden könnte. Die weiteren Untersuchungen von *Rodewald*<sup>37, 38</sup>) haben nun gezeigt, daß mit sehr großer Genauigkeit und Treffsicherheit beim Carcinom auch ein **antigonadotroper Stoff** im Serum vorkommt. Die Technik der Bestimmung lehnt sich sehr stark an die *Aschheim-Zondeksche* Schwangerschaftsdiagnose an.

Es ist bekannt, daß man mit einer ganz bestimmten Menge von gonadotropem Hormon, die als Mäuse-Einheit bezeichnet wird, bei der infantilen weiblichen Maus durch subcutane Injektion noch eine vorzeitige Entwicklung der Ovarien, d. h. Follikelbildung und Eireifung, u. U. auch Luteinisierung der geplatzten Follikel, erreichen kann. Nimmt man nun noch eine eben wirksame Menge von gonadotropem Hormon (1 M. E.), die man zuvor an Mäusen ausgetestet hat, und spritzt sie Tieren, die vorher mit Serum von Patienten behandelt worden waren, ein, so findet man allemal eine ungehinderte oder sogar gesteigerte gonadotrope Wirkung, wenn es sich um gesunde Individuen oder um Nicht-Carcinomträger

handelt. Stammt das Serum aber von Carcinomträgern, so bleibt die gonadotrope Wirkung aus, d. h. die Ovarien der Mäuse sind mikroskopisch und makroskopisch infantil.

Diese Reaktion hat sich in großen Versuchsreihen als recht aussichtsreich erwiesen. Soweit Differenzen mit der klinischen Diagnose bestanden, haben sie sich durchweg zugunsten des Reaktionsausfalls verschoben.

Es scheint auch so, daß ebenso wie beim Melanophorenhormon die Menge des in einer Hypophyse enthaltenen gonadotropen Hormons bei Carcinomträgern vermindert ist. Diese Versuche sind aber noch nicht abgeschlossen. Man würde jedoch in diesem Falle in vollkommener Parallelität zu den Befunden beim Melanophorenhormon und beim thyreotropen Hormon und in Übereinstimmung mit den Befunden von *Lacassagne* und vielen anderen Autoren feststellen können, daß gerade die Insuffizienz bzw. die gestörte Korrelation bei den Sexualhormonen oder den gonadotropen Hormonen Bedingungen schaffen, welche ohne Berücksichtigung eines genetischen Faktors im Organismus erst die Bildung eines Carcinoms ermöglichen.

In Ergänzung zu den eben erwähnten Versuchen über das antigonadotrope Hormon seien noch einige Versuche von *Flaks* u. *Ber*<sup>39</sup>) erwähnt, die gefunden haben, daß Mäuse mit *Ehrlich*-Carcinom nicht auf gonadotropes Hormon ansprechen, selbst wenn 500 Einheiten Prolan injiziert werden; allerdings muß der Tumor mindestens  $\frac{1}{5}$  des Körpergewichtes ausmachen, also schon sehr groß und entsprechend alt sein. Dieser Befund ist auf eine Schädigung der Ovarien zurückzuführen, die nicht mehr in der Lage sind, Follikulin zu produzieren, denn die Tiere reagieren auf direkte Follikulininjektionen normal mit Östrus. Dafür spricht auch die Beobachtung, daß in einem gewissen Prozentsatz von Carcinomträgern Prolan im Harn nachweisbar ist. Nach *Flaks* ist es wahrscheinlich, daß man bei fortschreitender Tumorentwicklung immer Prolan im Harn finden wird, auch wo zuerst noch kein Prolan nachweisbar war. Weiter wurde die Anwesenheit eines Antistoffes angenommen, der speziell gegen das Prolan B gerichtet sein sollte, aber die diesbezügliche Prüfung von Carcinomharnen bzw. Harnextrakten zeigte, daß in keinem Falle auch nur in untergeordneter Weise die Luteinisierung der infantilen weiblichen Maus gehemmt wird. Dagegen konnte in der großen Mehrzahl der Fälle eine Hemmung des Östrus gefunden werden, obschon eine starke Luteinisierung der Ovarien vorhanden war. Gegenüber den Mäusen mit Impfcarcinom zeigt sich ein wesentlicher Unterschied. Geimpfte Mäuse reagieren weder auf Prolan A noch auf Prolan B. Harnextrakte von Carcinompatienten hemmen nur die Prolan-A-Wirkung. Dieser Umstand kann heute noch nicht hinreichend erklärt werden.

Betrachten wir das kleine von *Flaks* u. *Ber* veröffentlichte Zahlenmaterial, so ergibt sich, daß von 63 Carcinomfällen 81% positiv, von 9 Normalen 0% positiv, von 16 Tbc. 31% positiv reagierten. Aus diesen Zahlen ist immerhin schon so viel zu sehen, daß tatsächlich beim Carcinom in der überwiegenden Zahl der untersuchten Fälle eine richtige Diagnose hätte gestellt werden können, doch sind die Verhältnisse im Harn sehr unübersichtlich, da neben dem Antihormon auch das Hormon vorkommen soll.

Es ist dies also eine Ergänzung der von *Rodewald* durchgeführten Versuche, aus denen hervorgeht, daß das antigonadotrope Hormon nicht nur im Serum bzw. Blut von Tumorträgern gefunden wird, sondern daß es auch in den Harn übergeht. Wir haben die Versuche von *Flaks* und *Ber* noch nicht überprüft. Wenn sie sich an einem größeren Material bestätigen sollten, wären sie eine willkommene und wertvolle Ergänzung zu dem Nachweis des antigonadotropen Hormons im Serum.

Es ergibt sich somit, daß noch keine brauchbare Reaktion vorliegt. Immerhin befinden wir uns bei manchen Untersuchungen zweifellos auf dem richtigen Weg. Wenn wir nicht nach einer epochemachenden Reaktion suchen, sondern in erster Linie die biologischen Verhältnisse im Auge behalten, so werden wir weiterkommen und finden, was wir suchen.

Eingeg. 11. März 1940. [A. 34.]

<sup>33</sup>) *Rodewald*, Z. Krebsforsch. 48, 162 [1938].

<sup>34</sup>) *Rodewald*, ebenda 48, 165 [1938].

<sup>35</sup>) *Rodewald*, Dtsch. med. Wschr. 1940, 238.

<sup>36</sup>) *Klin. Wschr.* 1938, 1465.

<sup>37</sup>) *Rodewald*, *Klin. Wschr.* 17, 1465 [1938].

<sup>38</sup>) *Rodewald*, ebenda 18, 26 [1939].

<sup>39</sup>) *Flaks* u. *Ber*, Bull. Assoc. franc. Étude Cancer 27 (H. 2 u. 3), [1938].