

## XXI.

**Zur chemischen Kenntnis der Melanome<sup>1)</sup>.**

(Aus der Chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität zu Berlin.)

Von

Carl Neuberg.

Seit einiger Zeit ist bekannt, daß die von Geschwülsten ausgehenden Metastasen öfters anomale, fermentative Wirkungen äußern, die unter Umständen wohl imstande sind, an den Orten ihres Wachstums das chemische Milieu in erheblicher Weise zu beeinflussen.

Meine Beobachtungen<sup>2)</sup> ergaben, daß bei Krebs sich sogenannte heterolytische Beziehungen (M. Jacoby) zwischen Organen einstellen können, die in der Norm nicht obwalten, d. h. daß im erkrankten Organ Fermente auftreten können, die auf die Protein- stoffe anderer Organe einwirken. Ähnliche Befunde haben dann F. Blumenthal und H. Wolff<sup>3)</sup> erhoben, und jüngst haben E. v. Leyden und P. Bergell<sup>4)</sup> eine Beeinflussung von Krebsgewebe durch normale Leberfermente festgestellt, welche gleichfalls zu den abnormen enzymatischen Fermentprozessen in Beziehung steht, wie vielleicht auch die von Bier<sup>5)</sup> beobachtete Wirkung von fremdartigem Blut auf Karzinome in vivo.

<sup>1)</sup> Vorgetragen in der Sitzung des Komitees für Krebsforschung am 31. Mai 1906; vgl. auch die Dissertation von Schweikart, Berlin 1908.

<sup>2)</sup> C. Neuberg, Über anomale, fermentative Vorgänge beim Krebs. Berl. Klin. Wochenschr. 1905, Nr. 5; ferner Arbeiten aus dem Path. Inst. zu Berlin, 1906, S. 593. Diese Untersuchungen sind an Leichenmaterial vorgenommen und ihre Übertragung auf den lebenden Organismus ist keineswegs ohne weiteres statthaft. Von manchen Seiten ist das „heterolytische Ferment“ geradezu als Charakteristikum der Karzinomerkrankung angesprochen; ich selbst glaube nicht, den Wert einiger chemischer Beobachtungen für ein so bedeutungsvolles biologisches Problem falsch eingeschätzt zu haben.

<sup>3)</sup> F. Blumenthal und H. Wolff, Über Fermentwirkungen bei Krebsgeschwülsten. Med. Klin. 1, 166.

<sup>4)</sup> E. v. Leyden und P. Bergell, Deutsche med. Wochenschr., 1907, Nr. 23.

<sup>5)</sup> A. Bier, Deutsche med. Wochenschr., 1907, Nr. 29.

Schließlich ist noch eine weitere Erscheinung bekannt, bei der wohl eine Änderung des chemischen Milieus anzunehmen ist, die Atrepsie, die Paul Ehrlich<sup>1)</sup> bei seinen bekannten Versuchen über Mäusetumoren entdeckt hat; sie ist eine Folge der immensen Virulenzsteigerung seines Impfmateri als und äußert sich in der schrankenlosen Wucherung der transplantierten Tumoren auf Kosten des Gesamtorganismus.

Die Frage, ob ein besonderes Krebseiweiß existiert, ob die funktionelle Abartung mit einer chemischen Anaplasie der Zellproteine einhergeht, ist unentschieden; ich selbst<sup>2)</sup> konnte bei der Untersuchung eines sehr großen, im hiesigen Institut gesammelten Karzinommateri als keine deutlichen Unterschiede zwischen Krebseiweiß und den gewöhnlichen Proteinstoffen der Gewebe bemerken. H. Wolff<sup>3)</sup> nimmt gleichfalls eine Identität der Proteinstoffe normaler und karzinomatöser Organe an, wenn auch das relative Verhältnis von Albumin zu Globulin atypisch sein soll.

P. Bergell und Th. Dörp inghaus<sup>4)</sup> haben sich dagegen für eine Abweichung des Krebseiweißes von den gewöhnlichen tierischen Proteinen ausgesprochen. Es ist wohl möglich, daß sich die einzelnen Karzinome ungleich, vielleicht auch in verschiedenen Stadien abweichend verhalten.

Da die Metastasen histologisch den Primärtumoren gleichen, von denen sie ausgegangen sind, kann man engere Beziehungen im chemischen Milieu zwischen diesen beiden Gebilden erwarten.

Tatsächlich fand E. Gierke<sup>5)</sup>, daß die von einem primären Schilddrüsenkrebs verursachten Metastasen erhebliche Mengen organisch gebundenen Jods enthielten, d. h. die für die Mutterzelle spezifische Fähigkeit bewahrt hatten, weiter Jod zu entionisieren und Jodthyreoglobulin zu bilden.

Im Hinblick auf diese Beispiele chemischer Milieuänderung veranlaßte mich mein Chef, Herr Geheimrat Prof. Orth, einen

<sup>1)</sup> P. Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr., 1906, Nr. 12.

<sup>2)</sup> C. Neuberg, Arbeiten aus dem Path. Inst. Berlin, a. a. O.

<sup>3)</sup> H. Wolff, Zeitschr. f. Krebsforschung, 3, Heft 1.

<sup>4)</sup> P. Bergell und Th. Dörp inghaus, Deutsche med. Wochenschr. 1905, Nr. 36.

<sup>5)</sup> Edgar Gierke, Beitr. z. chem. Phys. u. Path. Bd. 3, S. 286, 1903, und dieses Archiv Bd. 170, S. 464, 1903.

zur Sektion gekommenen Fall von Melanom näher zu untersuchen. Es handelt sich um zahlreiche braunschwarze, metastatische Tumoren in Leber und Gallenblase, die von einer Primär-  
geschwulst der Nebenniere ausgegangen waren. Da einige dieser Gebilde erhebliche Größe besaßen, sollte versucht werden, aus ihnen Adrenalin zu isolieren. Denn es war denkbar, daß den Metastasen die Funktion der Adrenalinbildung, die für die Nebenniere, speziell wahrscheinlich für die Zellen der Marksubstanz charakteristisch ist, erhalten geblieben wäre, analog der Fähigkeit der Schilddrüsenmetastasen zur Produktion von Jodothyrin.

#### A. Versuche zur Darstellung von Adrenalin aus dem Melanom.

##### 1.

5 g auspräpariertes Melanomgewebe wurden nach der von John A. Abel<sup>1)</sup> für die Darstellung von kristallisiertem Adrenalin angegebenen Vorschrift zunächst fein gehackt und dann mit 10 ccm einer 3,5 prozentigen Lösung von Trichloressigsäure in absolutem Alkohol versetzt. Nach heftigem Schütteln und zehnstündigem Stehenlassen wurde das Gemisch auf dem Saugfilter abgesaugt und mit 5 ccm Alkohol nachgewaschen. Das Filtrat wurde noch einmal durch Papier filtriert und auf diese Weise vollständig klar erhalten, da der durch die alkoholische Trichloressigsäure bewirkte Niederschlag das Pigment mit niedergerissen hatte. Die alkoholische Lösung wurde dann im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit 1 ccm absolutem Alkohol aufgenommen; auf Zusatz eines Tropfens Ammoniak bis zur deutlich alkalischen Reaktion trat nur eine nicht filtrierbare Trübung ein. Deshalb wurde die Lösung verdunstet und der Rückstand geprüft. Er gab keine Adrenalinreaktion.

##### 2.

5 g auspräparierter Tumor wurden — im wesentlichen nach den Angaben von O. v. Fürth<sup>2)</sup> — mit 1 g Zinkstaub versetzt und mit der zehnfachen Menge 0,5 prozentiger Essigsäure aufgeköcht, filtriert und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde mit

<sup>1)</sup> J. A. Abel, Ber. d. deutschen Chem. Ges., 36, 1841, 1903.

<sup>2)</sup> O. v. Fürth, Zeitschr. f. Physiolog. Chem., Bd. 29, S. 112, 1900.

Methylalkohol durchgerührt und nochmals filtriert. Diese nunmehr schwach gelb gefärbte Lösung wurde mit normalem Bleiacetat ausgefällt und das Filtrat mit ammoniakalischem Bleiessig versetzt. Es entstand nur ein unbedeutender Niederschlag, der nach der Zerlegung durch  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ebenfalls keine Adrenalinreaktion zeigte.

## 3.

Da möglicherweise sehr kleine Mengen Adrenalin von den Eiweißniederschlägen mitgerissen werden und sich so dem Nachweise entziehen könnten, wurde Versuch 1 unter Zusatz von 1 cem einer Adrenalinlösung von 1:10 000 wiederholt; die schließlich resultierende Flüssigkeit zeigte die Adrenalinreaktionen sehr deutlich.

## 4.

Obgleich demnach keine chemisch nachweisbaren Adrenalinmengen in dem Melanom zugegen waren, ist doch mit den Endextrakten des Versuches 1 und 2, die eventuell vorhandenes Adrenalin enthalten mußten, eine biologische Prüfung vorgenommen. Herr Prof. A. Bickel hat die Blutdruckmessung freundlichst ausgeführt, aber keine Steigerung unter der Wirkung der Flüssigkeiten beobachtet.

## B. Versuche mit Melanomferment.

War also Adrenalin an sich nicht in den melanotischen Metastasen nachweisbar, so lag der Gedanke nicht fern, daß Adrenalin vielleicht an der Bildung des massenhaft in den Tumoren vorhandenen Pigments beteiligt sei. Denn Adrenalin (= Methylaminacetobrenzcatechin) gehört zu den wenigen im Organismus normalerweise vorkommenden aromatischen Hydroxylverbindungen, deren oxydative Umwandelbarkeit in schwarze Farbstoffe, in „Pigmente“, durch Enzyme seit den grundlegenden Untersuchungen von G. Bertrand und Bourquelot bekannt ist. O. von Fürth hat zuerst die Aufmerksamkeit auf eine mögliche Beteiligung dieser Fermente an der Bildung melanotischer Pigmente gelenkt. Am besten ist die Wirkung dieser namentlich im Pflanzenreiche weit verbreiteten Enzyme auf das Tyrosin untersucht, das ihnen den Sammelnamen „Tyrosinasen“ eingetragen hat.

In der Tat hat C. Gessard <sup>1)</sup> aus melanotischen Geschwülsten einen Extrakt gewonnen, der zugesetztes Tyrosin in eine schwarze, flockige Masse verwandelte.

Im vorliegenden Falle stieß die Darstellung eines klaren, auf fermentative Eigenschaften prüfbaren Auszuges wegen des enormen Farbstoffgehaltes der Melanommetastasen auf besondere Schwierigkeiten. Nach mehreren vergeblichen Versuchen führte folgendes Verfahren zum Ziele:

Eine größere Menge des Melanoms wurde fein zerhackt und mit Quarzsand unter Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung in einer großen Reibschale andauernd gründlich zerrieben. Die Masse wurde dann durch feines Filtrierpapier gegossen; da bei dem geringsten Druck erhebliche Mengen des Farbstoffes durch das Filter liefen, konnte sie nicht ausgepreßt werden, sondern wurde mit 0,85 prozentiger Kochsalzlösung nachgewaschen. Das Filtrat war zwar durchsichtig, aber noch dunkel gefärbt. In einen brauchbaren Zustand wurde es dadurch übergeführt, daß es unter Zusatz von Quarzsand und ganz wenig Kieselguhr einige Stunden zentrifugiert wurde; die abgehobene Lösung besaß dann einen schwach grauen Farbenton und setzte beim Stehen keinen Niederschlag mehr ab.

Die Flüssigkeit — ihre Gesamtmenge betrug 30 ccm — gab deutliche Eiweißreaktionen, sie färbte sich beim Aufbewahren von selbst nicht dunkel. Sie zeigte folgendes Verhalten:

1. Auf Zusatz einer gesättigten Tyrosinlösung erfolgte keine Färbung, auch nach 24 stündiger Aufbewahrung bei 38° trat eine solche nicht ein.

Die Proben waren angestellt mit:

- |            |   |
|------------|---|
| a) 0,5 ccm | } Fermentflüssigkeit plus 5 ccm gesättigter Tyrosin-Lösung  |
| β) 1,0 ccm |   |
| γ) 3,0 ccm |   |
| δ) 3,0 ccm | Fermentflüssigkeit plus 5 ccm gesättigter Tyrosin-Lösung (unter Zusatz von 0,1 ccm n/20-Natriumcarbonat-Lösung) |
| ε) 3,0 ccm | Fermentflüssigkeit plus 5 ccm gesättigter Tyrosin-Lösung (unter Zusatz von 0,1 ccm n/20-Salzsäure).             |

2. Ganz anders reagierte die Fermentflüssigkeit auf Adrenalin. Mit der in der Therapie verwendeten Lösung des Chlor-

<sup>1)</sup> C. Gessard - Compt. rend. de la société de biol., 54, 1305, 1902.

hydrates zusammengebracht, bewirkte sie alsbald Braunfärbung; noch schöner trat die Farbstoffbildung ein, wenn an Stelle des salzsauren Salzes die freie Base benutzt wurde. Letztere stand mir in ausgezeichneter Reinheit in dem schön kristallisierten Produkt der Chemischen Werke vorm. Dr. Byk zur Verfügung, das unter dem Namen „Epirenan“ im Handel ist.

$\alpha)$  0,5 ccm } Fermentflüssigkeit mit 1,0 ccm 1 prozentiger Adrenalin-  
 $\beta)$  1,0 ccm }  
 $\gamma)$  2,0 ccm } Lösung nach wenigen Minuten Braunfärbung,

die sich im letzten Falle beim Stehen im Brutschrank innerhalb 12 Stunden zu einem schwarzbraunen, ausgesprochen flockigen Niederschlag verdichtete, während die darüber stehende Flüssigkeit nahezu farblos war.

Kleine Mengen Alkali sind scheinbar ohne Einfluß auf die Reaktion, während Säuren selbst in geringer Konzentration hemmen.

3. Eine dem Tyrosin wie dem Adrenalin nahestehende Verbindung ist das p-Oxyphenyläthylamin, das L. Langstein<sup>1)</sup> bei der peptischen Verdauung und R. L. Emerson<sup>2)</sup> bei der Autolyse von Pankreas gefunden hat. Gleich der Nebennierensubstanz haben es schon O. von Fürth und H. Schneider<sup>3)</sup> auf sein Verhalten zu Deiliphiliasaft, G. Bertrand<sup>4)</sup> zu dem Glycerinextrakt von *Russula Queletii* untersucht.

Eine 1 prozentige wässrige p-Oxyphenyläthylamin-Lösung reagierte fast ebenso schnell wie Adrenalin mit dem Melanomextrakt. Es tritt Schwärzung ein; eine eigentliche Niederschlagsbildung konnte jedoch auch nach längerem Stehen nicht beobachtet werden.

Dies Verhalten ist um so bemerkenswerter, als nach späteren Untersuchungen von W. L. Halle<sup>5)</sup> möglicherweise Adrenalin im tierischen Organismus über die Stufe des p-Oxyphenyläthylamins aus Tyrosin entsteht.

Die Beziehungen zwischen den drei Verbindungen gehen aus folgenden Konstitutionsformeln hervor:

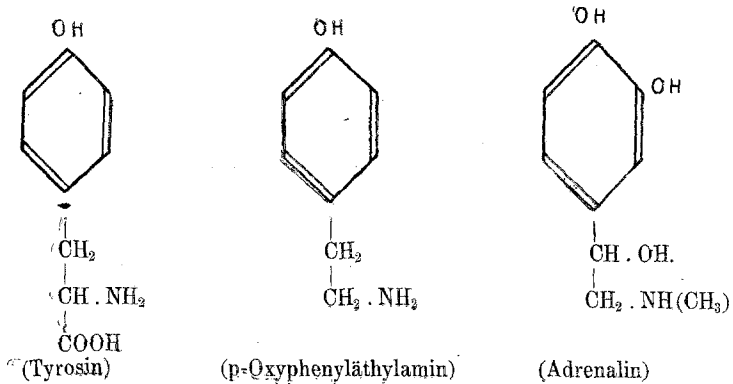
<sup>1)</sup> L. Langstein, Beitr. z. chem. Phys. u. Path. 1, 514, 1902.

<sup>2)</sup> R. L. Emerson, ebendas. 1, 501, 1902.

<sup>3)</sup> O. von Fürth u. H. Schneider, Beitr. z. chem. Phys. und Path. 1, 229, 1901.

<sup>4)</sup> G. Bertrand. Compt. rend. de l'Académ. des sciences. 145, 1352.

<sup>5)</sup> W. L. Halle, Beitr. z. chem. Phys. und Path. 8, 276, 1906.



Es braucht kaum hervorgehoben zu werden, daß durch die Kontrollen mit gekochtem Melanomauszug die Fermentnatur der Farbstoffbildung festgestellt worden ist. Kurzes Erwärmen des Melanomextraktes auf 100° hob seine Wirksamkeit vollständig auf.

Bezüglich der Haltbarkeit des Enzyms sei noch bemerkt, daß es bei Aufbewahrung im Eisschrank immerhin so beständig war, daß drei Tage nach seiner Darstellung und fünf Tage nach der Autopsie die Reaktion mit Adrenalin noch im Demonstrationskurse vor einem großen Hörerkreise ausgeführt werden konnte. Trotz der Aufbewahrung bei einer 0° nur wenig überschreitenden Temperatur war die Wirksamkeit des Fermentes nach zehn Tagen fast und nach vierzehn Tagen völlig erloschen.

---

Es erhebt sich nun die Frage: Steht das Oxydationsferment der Melanommetastasen zu der Pigmentbildung in vivo in Zusammenhang?

Es liegt nahe, anzunehmen, daß von den Metastasen weiter produziertes Adrenalin durch das in ihnen anomal wirksame Enzym in Pigment umgewandelt sei. Trotz der großen Ähnlichkeit des natürlichen und künstlichen Farbstoffes ist jede Schlußfolgerung in dieser Richtung verfrüht, so lange die chemische Struktur der Melanine nicht aufgeklärt und ein hierauf gegründeter Vergleich der verschiedenen Pigmente nicht möglich ist. Hier hat vorläufig die rein chemische Forschung einzusetzen.

Weiter wird festzustellen sein, ob in den morphologisch ungleichen Fällen von Melanom überhaupt eine Oxydase und ob eventuell auf verschiedene aromatische Substanzen eingestellte Fermente vorkommen.

In den melanotischen Metastasen eines wahrscheinlich vom Auge ausgegangenen Tumors konnte ich kein wirksames Enzym nachweisen, in einem Falle von Melanosarkom eines Schimmels höchstens Andeutungen einer Reaktion mit Tyrosin erhalten. Kürzlich hat aber Carl L. Alsberg<sup>1)</sup> einen Fall von Melanom der Leber beobachtet, der so stark war, daß der Patient im Leben einen durch Melanin geschwärzten Harn entleert hatte; hier war ein zwar undeutlich auf Tyrosin, aber ausgesprochen auf Brenzcatechin wirkendes Ferment post mortem nachweisbar.

## XXII.

### Über die Entstehung der Herzklappenhämatome bei Neugeborenen.

(Aus dem Pathologischen Institut zu Berlin.)

Von

H. Meinhardt,

Unterarzt im Magdeburgischen Pionier-Bataillon Nr. 4.

Die Geschichte der sogenannten Klappenhämatome der Herzen neugeborener Kinder reicht nicht wesentlich über die Mitte des vorigen Jahrhunderts hinaus.

Die erste Nachricht über besondere, an den Herzklappen Neugeborener, besonders an den Zipfelklappen vorkommende Blutansammlungen stammt von Elsässer aus dem Jahre 1844. Obwohl er sie noch „Blutextravasate“ nennt und berichtet, daß er mit ihnen zusammen häufig subperikardiale und anderweitige Ekchymosen gefunden habe, so ist ihm doch das häufige Vorkommen und die besondere Form der Blutextravasate an den sonst völlig unveränderten Herzklappen auffallend.

Nachdem später Luschka (1852) den Beweis erbracht zu haben glaubte, daß die Herzklappen des Menschen stets mit Gefäßen versehen seien, war es ganz natürlich, daß er auch auf die Blutergüsse im Gewebe der Herzklappen aufmerksam wurde, konnten doch diese geradezu als Beweis für das Vorhandensein der sonst ziemlich schwer nachweisbaren Gefäße dienen. Er machte deshalb auch keinen Unterschied zwischen den „Blutergüssen“ an den Herzklappen Neu-