

## II.

## Die Entstehung des Melaninfarbstoffs.

Von

Dr. Alfred Jaeger, Tierarzt,

Frankfurt a. M.

In meiner Arbeit: „Die Melanosarkomatose der Schimmel-pferde“<sup>1)</sup>) hatte ich den Nachweis führen können, daß sich hier an die Melanosarkomatose bei ihrer Verallgemeinerung im Organismus eine Melanokarzinomatose anschließt, die von der Nebennieren-rinde, speziell von deren Faszikulatazellen, ihren Ausgang nimmt. Die biologische Prämisse für die Affektion ist in der völligen Depigmentierung gegeben, der bei einem großen Teil der Schimmel im Alter fast das gesamte, sonst immer noch reichlich dunkel gefärbte Haut- und Haarkleid unterliegt. Im offensichtlich kausalen Zusammenhang mit diesem Pigmentdefekt findet die Entwicklung der Melanosarkomatose an ganz bestimmten prädestinierten Stellen der Körperdecke statt, die charakteristischerweise eine tiefschwarze Pigmentierung der Oberhaut beibehalten haben. Der Werdegang des Prozesses wird mit einer Melanose, d. h. einfachen, aktiven Pigmentierungsvorgängen in den normalen Fibroplasten des Koriums eröffnet, die sich speziell regionär an die hier zahlreich vorhandenen Schweißdrüsen anschließen, in denen gleichfalls eine intensive Melaninproduktion einsetzt. Der in den Bindegewebelementen zellartfremde Pigmentstoffwechsel bildet dann, wie ich in der genannten Arbeit des näheren begründete, für die Fibroplasten einen spezifischen Proliferationsreiz, unter dessen Wirkung sie schließlich in der Reihe der Zellfolgen einer malignen Entartung zu Pigmentsarkomzellen anheimfallen.

Auf diese Weise entsteht auf dem Wege vielörtlicher Entwicklung eine diffuse Melanosarkomatose der Schweiffrübe, des Anus und der äußeren Sexualorgane. In seinem Gefolge zeitigt der Prozeß die gleichen melanotischen Wucherungen im Becken- wie im gesamten retroperitonealen und retropleuralen Bindegewebe, desgleichen in der von hier in die benachbarte Muskulatur sich erstreckenden

<sup>1)</sup> Dieses Archiv, vorliegender Band.

Stützsubstanz. Auch die Rückenwirbelsäule und die Rückenmarkshäute werden z. B. in solchen vorgeschrittenen Fällen stets in den Prozeß in großem Umfang mit einbezogen. Hat demzufolge die chemische Noxe der Melanosarkomatose im Organismus eine Verallgemeinerung gefunden, so treten auch die Faszikulatazellen der Nebennierenrinde, und entscheidenderweise nur diese, in die Melaninproduktion ein. Auch sie nehmen, wie die Fibroplasten, unter dem Einfluß des z e l l a r t f r e m d e n Pigmentstoffwechsels den biologischen Charakter von bösartigen Tumorzellen an. Dabei gelangen die gewucherten melanotischen Epithelien in das reich entwickelte zartwandige Blutkapillarnetz der Kortikalis und werden massenhaft in die anderen Organe, in die „großen Körperparenchyme“ ausgeschwemmt, wo sie zu metastatischer Knotenbildung übergehen. Der Endeffekt des Prozesses ist also eine von den Nebennieren ausgehende Melanokarzinomatose.

Auf der Basis dieses so überaus eigenartigen histologischen Befundes gewann ich meine Fragestellung zur Melanogenese. Es war evident, daß die in den beobachteten 3 Fällen so gesetzmäßige Beschränkung der Farbstoffspeicherung auf die Faszikulatazellen der Nebennierenrinde ihren Ursachenkomplex in der biologischen Sphäre dieser Epithelien haben mußte. Auf anderem Wege war zu diesem Phänomen gar keine Stellung zu nehmen. So ließ mich die Überlegung, daß die breite innere Rindenschicht, das Äquivalent der Intermediärzone beim Menschen, — die Nebennierenrinde der Pferde ist funktionell nur in die Zona glomerulosa und fasciculata zu scheiden — die Sekretionsstätte für das Suprarenin darstellt<sup>1)</sup>, der Vermutung Raum geben, daß speziell dieser wirksame Substanz der Nebennieren eine beherrschende Rolle bei dem Vorgang der Melaninproduktion zukommen müßte.

Aber noch eine zweite Direktive gab mir die kritische Betrachtung der Nebennierenaffektion an die Hand. Diese stellte sich immer erst dann ein, wenn die Melanosarkomatose eine allgemeine Verbreitung im Organismus gewonnen hatte. Es trat also ganz

<sup>1)</sup> Den Beweis hierfür habe ich in meiner Melanosarkomatosearbeit, S. 47, geführt. Das chromaffine System hat für die Suprareninproduktion keine Bedeutung.

offensichtlich in den Chemismus der Faszikulataepithelien eine Komponente ein, die ihren Ursprung aus dem Wirkungsbereich der Melanosarkomatose, also offenbar in deren Stoffwechsel nahm. Andernfalls war ja gar nicht zu erklären, warum die melanotischen Vorgänge in den Nebennieren immer erst bei hochgradiger Erkrankung des Organismus ihren Ausdruck fanden. Es konnte also gar kein Zweifel darüber bestehen, daß neben der supra-renalen Mitwirkung ein zweites gestaltendes Moment für die Melaninherzeugung in Betracht kam, das nicht originär in den genannten Nebennierenepithelien seine Auslösung erfuhr, sondern das ihnen von außen zugeführt wurde.

Daß ich mit diesen Gedankengängen in der Tat den richtigen Weg zur Erkenntnis der Melanogenese betreten hatte, zeigte die vorgenommene experimentelle Prüfung des Problems.

Der Weg war vorgezeichnet. Da es sich um chemische Kräfte der Melanosarkomatose-Biologie handeln sollte, so war die Möglichkeit vorhanden, sie durch Darstellung eines Melanomextraktes zu fassen. Als Ausgangsmaterial dienten mir in den 3 Fällen, die ich chemisch prüfte, Pigmenttumormassen der Schweiffrübe, des Anus, wie des Präputiums. Ich verarbeitete sie in ziemlich beträchtlicher Menge, etwa in dem Volumen eines Straußeneis. Das außerordentlich derbe Tumorgewebe wurde zunächst in kleinste Partikelchen zerkleinert — eine Arbeit, auf die besondere Mühe verwandt werden muß — und dann in einem Mörser unter Beigabe von Quarzsand und ein wenig physiologischer Kochsalzlösung sorgfältig verrieben. So gelingt es schließlich einen dicken Brei zu bekommen, dem ich nunmehr unter ständigem Reiben 50 ccm physiologische Kochsalzlösung nach und nach beisetzte. Die Masse ließ ich dann eine Stunde im Eisschrank stehen, wonach sie wieder sorgfältig verrieben wurde. Nach einmaliger Wiederholung dieses Verfahrens brachte ich das Material auf einen gehärteten Papierfilter, wo die Flüssigkeit zu ihrem Durchsickern etwa 3 Stunden brauchte. Es geschah dies in der Kälte. Das Filtrat stellte eine tief-schwarze, selbst in Kapillaren völlig undurchsichtige Flüssigkeit dar, die unter dem Mikroskop eine Unmenge kleinsten, schwarzer Kugelchen enthielt. Ich ließ nunmehr eine halbe Stunde lang scharf zentrifugieren, mit dem Erfolg, daß über einem außerordentlich festen Bodensatz von „Melanin“ eine sepiabraune, vollkommen klare Flüssigkeit lagerte. Um einwandsfreie Resultate zu erzielen, war natürlich mit diesem Produkt noch nichts anzufangen. Das Testobjekt mußte nach Möglichkeit farblos zur Anwendung kommen. Zu dem Ende ließ ich die Flüssigkeit durch Filterkerzen gehen, ohne dadurch einen Vorteil zu gewinnen. Auch schärfstes und langes Zentrifugieren (2 Stunden) half nicht weiter. Sie wurde schließlich im Schüttelapparat innig mit dem 4. Teil ihres Volumens mit Kieselgur vermischt und nunmehr wieder auf eine Stunde der elektrischen Zentrifuge

übergeben. Auf diese Weise erhielt ich eine wasserklare Flüssigkeit, die noch deutliche Eiweißreaktion gab: Beim Schütteln im Reagenzglase entwickelte sich ein feinblasiger Schaum, der längere Zeit stehen blieb. Beim Kochen von 2 ccm Flüssigkeit nach Zusatz von 2 Tropfen Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,153 trat eine opalisierende Eiweißtrübung auf, die sich nach 5 Minuten langem Stehen als eben noch erkennbarer flockiger Niederschlag zu Boden senkte. Ich bemerke hierzu, daß man über den angegebenen Zusatz von Kieselgur nicht hinausgehen darf, da sonst das Material erhebliche Einbuße an Fermenten, dem wirksamen Körper, erleidet, wie meine orientierenden Vergleichsversuche zeigten. In diesem Zusammenhang will ich auch gleich erwähnen, daß die so bereitete Flüssigkeit sich bei Aufbewahrung im Eisschrank 4 Tage lang wirksam erwies. Um aber jede Fehlerquelle aus dieser Richtung her zu vermeiden, ließ ich den Melanomauszug nach Klärung alsbald einfrieren. So behielt ich einen gleichbleibenden Fermentwert. Enzyme werden ja in ihren spezifischen Eigenschaften postmortal ziemlich schnell alteriert.

Die zweite wirksame Komponente bei der Melaninentstehung sollte das Suprarenin sein. Die im Handel befindliche Suprareninlösung glaubte ich wegen ihres Gehalts an Konservierungsmitteln und ihrer sehr starken Verdünnung — 1 : 1000 — von vornherein nicht anwenden zu dürfen. Ich besorgte mir daher Suprareninum boricum in Substanz von den Höchster Farbwerken, die es mir bereitwilligst zur Verfügung stellten. Ich möchte nicht verfehlten, hier Herrn Dr. A m m e l b u r g in Höchst für sein Interesse meinen Dank auszudrücken. Das Suprarenin wird in Höchst aus Rindernebennieren gewonnen. Ich hatte zunächst Bedenken in seiner Anwendung zu biologischen Prüfungen, deren Substrat an Pferdeeiweiß gebunden war. Schließlich verzichtete ich aber auf solchen Einwand, da es den Höchster Farbwerken neuerdings gelungen ist, die bisher bekannte wirksame Substanz der Nebennieren synthetisch darzustellen, ihr funktioneller Wert also offenbar ein gleichbleibender ist, unabhängig von der Herkunft des Rohmaterials.

Zur experimentellen Prüfung der Melanogenese brachte ich in kleine Reagenzröhrchen, wie sie zur biologischen Eiweißidentifizierung verwandt werden,  $\frac{1}{2}$  ccm des wasserklaren Melanomauszuges plus  $\frac{1}{2}$  ccm einer  $\frac{1}{100}$  % Suprareninlösung, in physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Der Effekt war zunächst ein negativer. Ich stellte dann das Röhrchen in den Brutofen, wo sich nach einer Stunde eine intensive Braunfärbung der Flüssigkeit, bei vollkommener Klarheit vollzogen hatte. Nach weiterem 2 stündigen Aufenthalt bei 37° war die braune Farbe in eine tiefschwarze übergegangen, wobei nunmehr die Flüssigkeit vollkommene Undurchsichtigkeit bot. In Kapillarröhren konnte man aber noch konstatieren, daß sie durch keine Niederschlagsbildung getrübt war. Dem entsprach auch der Befund im Mikroskop, der keinerlei korpuskuläre Elemente erbrachte. Auch durch scharfes Zentrifugieren unter Zusatz von Kieselgur konnte eine Aufhellung nicht bewirkt werden. Kontrollröhren, die mit  $\frac{1}{2}$  ccm Melanomauszug, bzw. Suprareninlösung plus  $\frac{1}{2}$  ccm physiologischer Kochsalzlösung beschickt wurden, boten selbst bei 12 stündigem Aufbewahren im Brutofen keine Verfärbung der Flüssigkeit. Die weiteren Prüfungen

lehrten mich, daß die Vollzugsdauer der Farbreaktion abhängig ist von dem Gehalt des Tumorextraktes an wirksamer Substanz. Doppelte Verdünnungen verursachten schon eine erhebliche Verzögerung, eine Aufschwemmung auf das Vierfache ließ die Schwarzfärbung erst nach 10 stündigem Einwirken zustandekommen. Der gleiche hindernde Effekt stellte sich bei der Aufbewahrung des Testobjekts bei Zimmertemperatur ein. Interessanterweise hielt eine Verdünnung des Suprarenins auf 1 : 1000 den Ablauf der Reaktion nicht auf, erst bei einer Lösung von 1 : 10000 wurde die Farbwirkung eine erheblich schwächere.

Mit diesen Ergebnissen war nun aber noch nichts über die besondere Art des wirksamen Körpers im Melanomauszug gesagt. Das Nächstliegende war, die Flüssigkeit von ihrer Angliederung an das Suprarenin auf 100° zu erhitzen, um so eventuell den Nachweis der fermentativen Natur der Vorgänge zu erbringen. In der Tat versagte bei solcher Einstellung die Reaktion vollkommen. Damit kann es also keinem Zweifel unterliegen, daß ein Ferment das Suprarenin zu jener Bindung kompletiert, die den schwarzen Farbstoff leistet. Die Melanogenese ist also enzymatischer Natur.

Eine andere Versuchsreihe galt der Frage der Spezifität des Ferments, da enzymatische Komponenten auch sonst in dem Stoffwechsel maligner Tumoren, nicht nur bei Pigmentsarkomen eine große Rolle spielen und nach den Angaben in der Literatur speziell Tyrosin, die Muttersubstanz des Suprarenins, zu einem schwarzen Farbstoff oxydieren. Ich griff daher auf den als Melanose der Kälber bezeichneten Prozeß zurück. Bei diesem kommt es zu umfangreicher echter Melaninpigmentierung in der Unterhaut, Lunge und Leber, ohne daß dabei eine geschwulstmäßige Leistung der Pigmentzellen gezeigt wird. Ich werde demnächst über diese biologisch sehr bedeutsame Affektion berichten. Solches melanotisches, keine Zellwucherung zeigendes Gewebe (Lunge) wurde sorgsam präpariert und in derselben Weise extrahiert und im Auszug nach Klärung mit Suprareninlösung geprüft wie die Pigmenttumoren. Wie dort stellte sich auch hier unter den gleichen Bedingungen eine intensive Schwärzung der Probeflüssigkeiten ein. Zur Kontrolle der suprarenalen Einwirkung ausgesetzte Extrakte von normalem Lungengewebe ergaben keine Reaktion. Demnach müssen wir mit einem spezifisch melanogenen Ferment rechnen, das in den Pigmentzellen die Melaninbereitung bewirkt.

Damit fand sich meine Vermutung bestätigt, daß, wie schon das terminale Phänomen der Nebennierenmelanose darauf hinwies, in der biologischen Sphäre der Melanosarkomatose ein chemischer Körper, und zwar ein spezifisch eingestelltes Ferment tätig ist, aus dessen Bindung mit dem uns bisher bekannten Nebennierensekret ein schwarzer Farbstoff resultiert. Es erhebt

sich die Frage: Haben wir tatsächlich in diesen experimentellen Vorgängen die funktionelle Basis für die Pigmentproduktion der melanotischen Zellen, d. h.: ergeben sich Gesichtspunkte, die die ursächlichen Beziehungen zwischen den chemischen Phasen dieses Prozesses und den morphologischen Erscheinungsformen des Pigments begründen?

Fürs erste werden uns hier gewisse Bedenken entstehen, denn das Melaninpigment tritt, wie der Melanomauszug so deutlich zeigte, als korpuskuläre Elemente auf, während der durch die Ferment-Suprareninbindung experimentell erzeugte Farbstoff diese völlig vermissen ließ. Die Flüssigkeit an sich war intensiv schwarz gefärbt. Der Gegensatz wird uns aber sofort verständlich, wenn wir das Bild der Pigmentzellen selbst der kritischen Betrachtung unterziehen. Ich habe in der oben zitierten Arbeit über die Melanosarkomatose der Schimmel gezeigt, wie das Melaninpigment ausnahmslos in Kugelform erscheint, nie in eckiger, kantiger Beschaffenheit. Ich bitte dort das Genauere über Morphologie der Pigmentzellen wie des Pigments nachlesen zu wollen. Ich kann hier nur in extenso berichten: Die im Beginn des Prozesses sich bildenden kleinsten, braun gefärbten Granula treten weiterhin vielfach zu größeren Kugeln zusammen, aber nicht, indem sich die Körnchen in solchen Fällen in dichter Lagerung zusammenhäufen, sondern sie konfluieren im wahren Sinne des Begriffs und bilden nunmehr wiederum homogene, jetzt nur infolge der Farbstoffverdichtung wie ihrer größeren Tiefe wegen schwarz gefärbte, völlig abgerundete Körper. Ihre Kugelgestalt kommt besonders in der helleren Randzone gegenüber dem tiefschwarzen Zentrum zum Ausdruck. Im gleichen Sinne geht mit der Zunahme des Pigmentgehalts eine Abrundung des Zelleibs selbst einher, und schließlich konfluieren ganze Zellen. Das entpigmentierte Präparat, in dem solche maximal melanotischen Zellen durch Chlor nicht mehr völlig vom Pigment zu befreien sind, — es bleibt eine homogene, fast könnte man sagen hyaline Beschaffenheit des Zelleibs zurück — lässt in diesem farblosen Restkörper offensichtlich ein Substrat erkennen, an das der Farbstoff gebunden ist.

Der analogen Erscheinung begegneten wir bei der Bereitung des Melanomauszuges. Infolge der intensiven, andauernden Verreibung mit Quarzsand wurden natürlich diese großen, aus dem

Zusammenfließen mehrerer Zellen hervorgegangenen Pigmentballen zerrissen, aber niemals sah ich bei der mikroskopischen Prüfung des Filtrats knotige Bruchstücke von Melanin, sondern ausnahmslos erschien es in mathematischer Kugelgestalt. Die Fragmente mußten sich offenbar immer wieder abgerundet haben.

Eine Modifikation im morphologischen Ausdruck der Farbstoffspeicherung macht sich bisweilen da geltend, wo die melanotischen Vorgänge eine große Intensität an den Tag legen. Hier ist das gesamte Zytosplasma einheitlich braun-gelb gefärbt, ohne daß sich einzelne Granula in seinem Verbande differenzieren. In anderen solchen Zellen haben sich kleine Kugeln gebildet, die lediglich durch ihre etwas dunklere Tinktion in der sonst gleichgearteten Umgebung zum Ausdruck kommen. Auch sie konfluieren in der Folge, unter tiefschwarzer Verfärbung. Gegenüber den ersten Zellbildern macht sich also bei diesen gesteigerten melanotischen Vorgängen von vornherein eine gleichmäßige Erfüllung des Protoplasmas mit chromatischer Substanz bemerkbar. Granula treten hier überhaupt nicht auf, sondern nur bräunlich verfärbte Kugeln von der Lichtbrechung des Protoplasmas.

Es ist evident, daß der Charakter dieser zellulären Vorgänge keinen Vergleich mit einer Niederschlagsbildung oder dergleichen im Zytosplasma duldet. Es muß sich um ein organisches Substrat handeln, um Eiweißsubstanzen, die infolge der Bindung mit dem Farbkörper als nicht mehr mit dem Zytosplasma mischbares Material aus dem funktionellen Verband des Zelleibs ausgeschaltet werden. Da sie *in vivo* die Zelle als zähflüssige Masse erfüllen, erscheinen sie nunmehr in Kugelform, wie es allen flüssigen Körpern unter solchen Bedingungen eigen ist. Aus ihrem Zusammenhang gelöst, runden sie sich ab nach dem Gesetz der Oberflächenspannung.

Diese rein morphologische Betrachtungsweise erbrachte uns also das bedeutsame Resultat, daß die Pigmentzellbilder sich nur erklären lassen auf der Basis eines Eiweißsubstrates, in dessen Komplex die Farbstoffproduktion abläuft. Unter diesem Gesichtspunkt erklärt sich uns aber auch sofort der obige Gegensatz zwischen

experimentell erzeugter Farbflüssigkeit und dem Melanomauszug. In der erstenen konnten gar keine Kugelchen auftreten, da solche der Ausdruck eines zähflüssigen Eiweißkörpers sind, der in den Testobjekten fehlte. Es entstand lediglich ein „pigmentum“, d. h. eine Farbe, ohne daß diese an körperliche Elemente gebunden war.

Diese Tatsache ist von weittragendster Bedeutung, da sie sofort darüber orientiert, wie die Melaninproduktion sich in den vitalen Zellen gestalten muß. Um in medias res zu kommen: Die Ferment-Suprareninbindung vollzieht sich unter Mitbeteiligung von Eiweißkomplexen des lebenden Protoplasmas, die infolge ihrer Verankerung an die beiden Melaninkomponenten dem Zelleib nun mehr als funktionslose, gleichsam fremde Gebilde einlagern und auf Grund ihrer zähflüssigen Beschaffenheit sich zur Pigmentkugel abrunden, gleichwie jeder Sekrettropfen, der als solcher aus dem Stoffwechsel der Zelle eliminiert wird. Nur auf diesem Wege sind all die dargelegten morphologischen wie chemischen Daten einer einheitlichen Erklärung zugänglich.

Das Melanin der tierischen Zelle ist also ein Eiweißfarbstoff. Eine Bestätigung findet diese Anschaugung von anderer Seite her durch die chemische Elementaranalyse des Melanins. Berdez und Nencki<sup>3</sup> fanden die Konstitutionsformel  $C_{42} H_{36} N_7 SO_{17}$  und sahen sich dadurch zu der Anschaugung gedrängt, daß der Farbstoff enge Beziehungen zu dem Zelleiweiß halten müsse.

Unsere weitere Aufgabe ist es, zur Herkunft der beiden Melaninkomponenten Stellung zu nehmen. Über die Bedingungen und das Wesen der Fermententstehung habe ich des näheren in der zitierten Melanosarkomatosearbeit bei dem Kapitel „Deutung des Prozesses“ berichtet. Da der enzymatische Körper ganz speziell eine melanotische Wirksamkeit entfaltet, bezeichnete ich ihn als melanogenes Ferment. Immerhin gewinnen wir hier im Rahmen der Pigmentbildungsfrage noch ein intimeres Verständnis für seine Bildungsstätte. Experimentell hatte ich oben gezeigt, daß der Bindungseffekt Ferment-Suprarenin auch ohne Anteilnahme des komplexen Eiweiß in der Farberzeugung s. str.

vor sich geht. Es wäre daher ein theoretisches Erfordernis, daß überall da, wo im Körper das melanogene Ferment vorkäme, also auch außerhalb der Zellen in der Zwischensubstanz, unter der suprarenalen Mitwirkung die Melaninproduktion erfolgte. Daß dies nicht der Fall ist, beweist uns, daß die Fermente an das Zytoplasma der Pigmentzellen selbst gebunden sind, daß sie hier aus der durch die oben erörterte Stoffwechselanomalie<sup>1)</sup> bewirkten chemischen Anaplasie der Zellproteine hervorgehen. Ersichtlich verfügen die Fermente außerdem über eine spezifische Affinität zum Suprarenin.

Die Beteiligung des Suprarenins an der Farbstoffbildung resultiert offenbar aus der allgemeinen Verbreitung, die wir ihm a priori im Organismus geben müssen: Die Nebennieren sind Blutdrüsen, d. h. sie geben ihr spezifisches Sekret direkt an den Blutstrom ab. Damit muß eine allgemeine, wenn auch noch so geringe Durchtränkung des Gewebes mit Suprarenin auf dem Wege der Blutbahn erfolgen. In gleichem Sinne ist auch seine funktionelle Leistung zu verwerten, deren Effekt: die Erhaltung des Gefäßtonus — dem gesamten Blutgefäßsystem zugute kommen muß. Die Übermittlung des Suprarenins an die Pigmentzellen erklärt sich leicht aus der von E m b d e n und F ü r t h<sup>8</sup> ermittelten Tatsache, daß das Suprarenin die Gefäßwand unzersetzt passieren kann.

Die umfangreiche suprarenale Mitwirkung in vorgeschrittenen Fällen von Melanosarkomatose ließ mich der Vermutung Raum geben, ob nicht mit der gesteigerten Inanspruchnahme des Suprarenins ein vermehrter Suprareningehalt des Blutes und eine Hypertrophie der Nebennierenrinde einherginge. Beides traf nicht zu. Über eine mögliche kompensatorische Vergrößerung des Organs ließen die bei den Pferden in weiten Grenzen sich bewegenden Volumendifferenzen der Nebennieren, auch die individuell verschiedene Mächtigkeit speziell ihrer Kortikalis, kein Urteil gewinnen. Um über die Blutbeschaffenheit Klarheit zu erhalten, wurde in 2 Fällen, die generalisierte Melanosarkomatose betrafen, Kaninchen das defibrinierte Blut durch den Körper geschickt und

<sup>1)</sup> Das ist der kompensatorisch auftretende pathologische Melaninstoffwechsel in den Schweißdrüsen und Fibroblasten gewisser prädestinierter Hautflächen.

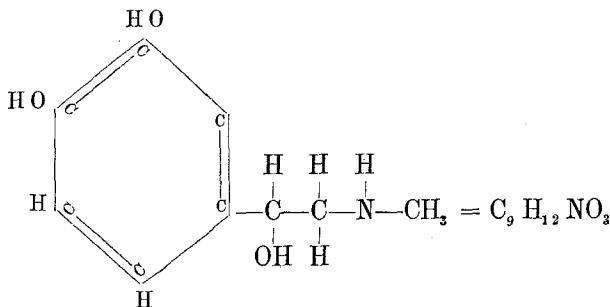
ihr Blutdruck am Kymographion gemessen. Eine Reaktion kam nicht zustande, abgesehen von einer anfänglichen Senkung, eine Erscheinung, die immer die Einführung eines artfremden Blutes begleitet. Minimalste Suprareninmengen, die zur Kontrolle nachgefüllt wurden, zeigten momentan einen starken Anstieg der Pulswelle<sup>1)</sup>. Als Ergänzung dieser Ergebnisse erwähne ich, daß ich niemals bei solchen Pferden irgendwelche arterielle Gefäßveränderungen, wie Medianarben, Herzschwielen, anämische Narben vorfand, die auf eine gesteigerte Suprareninzirkulation zurückgeführt werden konnten. Eine Beeinträchtigung der gegebenen Klärung des Melaninproblems kann natürlich durch diese Resultate nicht erfolgen, da, ganz abgesehen von dem gefundenen Tatsachenmaterial, eine umfangreiche suprarenale Mitwirkung nach unseren physiologischen Begriffen sich auch ohne Hypertrophie des Organs und ohne die Suprareninquote im Blute zu mehren, vollziehen kann.

Schwierigkeiten hätte die Art der komplexen Vorgänge unserem Verständnis bereiten können, die aus der Ferment-Suprareninbindung den schwarzen Farbstoff hervorgehen lassen. Einen sicheren Einblick in die Phasen dieses Prozesses haben uns aber die Untersuchungen Bertrands<sup>4</sup> und Bourquelots<sup>5</sup> erbracht, die den experimentellen Nachweis führten, daß das Suprarenin zu jenen aromatischen Hydroxylverbindungen zählt, die durch Enzyme auf oxydativem Wege in schwarze Farbstoffe umgewandelt werden. Diese Befunde geben also eine willkommene Ergänzung zu dem Wesen der Nebennierenmelanose der Schimmel und zu jenen Ergebnissen, die uns das biologische Studium der Melanosarkomatose erbrachte. Wir fanden dort ein spezifisch melanogenes Ferment und erhielten die suprarenale Mitwirkung bei der Melanogenese gleichsam experimentell durch die allein auf die Nebennieren beschränkte terminale Melanokarzinomatose bestätigt. Der Melanin-

<sup>1)</sup> Diese Kymographionversuche wurden unter Leitung von Dr. Bингель, Oberarzt am städtischen Krankenhaus zu Frankfurt a. M., ausgeführt, Ich möchte ihm auch hier nochmals meinen Dank für seine freundliche Unterstützung ausdrücken.

farbstoff ist demnach ein aus spezifischer, enzymatischer Wirkung hervorgegangenes Oxydationsprodukt des Suprarenins. Das melanogene Ferment gewinnt den Charakter eines Oxydationsferments, einer Oxydase.

Aber noch eine andere bedeutsame Eigenschaft bietet meines Erachtens das melanogene Ferment. Die überreiche Menge von Enzymen, die man in der organischen Natur hat nachweisen können, wirken durch hydrolytische Spaltung, also unter Wasseraufnahme. Die auf enzymatischem Wege erfolgende Melaninproduktion stelle ich mir in der Weise vor, daß der Sauerstoff, der dem mit größerer Sauerstoffaffinität begabten Körper, also dem Suprarenin, von dem myelogenen Ferment geliefert wurde, zur Synthese des stabilen Melanin verwandt wird. Dabei muß offenbar das Enzym eine komplexe Atomgruppe aus dem Molekülverband des Suprarenins trennen und mit dieser den Aufbau des Melanins durchführen, denn die schwarzen Farbstoffe gehören zu den höchstmolekularen Körpern. Wenn ich die Konstitutionsformel des Suprarenins vom Benzolring aus entwickle, so lautet sie:



Der molekulare Aufbau des Melanins ist bisher nicht bestimmt worden. Doch konnten B e r d e z und N e n e k<sup>3</sup> seine Analysenformel feststellen mit  $\text{C}_{42} \text{H}_{36} \text{N}_7 \text{S O}_{17}$ .

Damit bietet uns das melanogene Ferment den Vorgang einer enzymatischen Synthese.

In der deutschen Literatur ist es Neuberg<sup>27</sup> gewesen, der im Anschluß an die Mitteilungen von Bertrand und Bourquelot der Kenntnis über den chromophoren Charakter des Suprarenins weiteren Ausdruck gab. Er operierte mit einem von

einer Nebenniere ausgegangenen Melanom. Er erhielt bei Zusatz von Suprarenin zu dem Tumorauszug eine eigentliche Niederschlagsbildung eines schwarzen Farbstoffs, durch Beifügung von Oxyphenyläthylamin, der Übergangsstufe von Tyrosin zu Suprarenin, nur eine Schwärzung der Flüssigkeit. Er prüfte dann weiter eine von einem Uvealmelanom ausgegangene Metastase, ohne hier aber einem Oxydationsferment, wie in dem Nebennierentumor zu begegnen. Es trat keinerlei Farbreaktion ein. Eine Andeutung einer solchen erhielt er dagegen bei der Verwendung eines Melanosarkoms vom Schimmel. Augenscheinlich war sie aber zu wenig ausgeprägt, als daß Neuberg ihr irgendwelchen beweisenden Wert zulegen wollte. Doch veranlassen ihn seine Befunde am Nebennierenmelanom, die Frage aufzustellen, ob wohl das Oxydationsferment dieses Tumors zur Pigmentbildung in vivo im Zusammenhang stände. Auf eine bindende Antwort mußte er verzichten, da ihn sein Material die allgemeine Gültigkeit eines solchen Vorgangs nicht erkennen ließ. Daß in der Tat ein spezifisches Oxydationsferment generell an der Melaninproduktion beteiligt ist, habe ich oben, wie in meiner Melanosarkomatose-Arbeit des näheren dargelegt, wo ich zugleich zeigte, in welcher Beziehung der Neubergsche Fall im Rahmen des gesamten Melanoseproblems erscheint.

Einer Kritik bedarf nur das Phänomen der Niederschlagsbildung, das Neuberg bei der Ferment-Suprareninmischung erzielte. Er bekam eine flockige, sich gut absetzende Fällung, während ich bei meinen zahlreichen Untersuchungen immer nur eine tiefe Schwärzung der Reaktionsflüssigkeit erhielt, aus der in keiner Weise ein Niederschlag in festem Zustand abzutrennen war. Auch starke Vergrößerungen ergaben in ihr niemals einen Gehalt an korpuskulären Elementen. Diese reine, mit Ausschluß einer Fällung vor sich gehende Farbbildung eröffnete sich sofort dem Verständnis, als wir an der Hand der morphologischen Erscheinungsformen des Pigments erkannten, daß der Prozeß der Pigmentgenese in vivo an ein Eiweißsubstrat gebunden ist, das mit der Ferment-Suprareninbindung aus dem funktionellen Verband des Zytosplasma ausgeschaltet wird. Dieser eliminierte Eiweißkomplex bildet also das korpuskuläre Pigment, das zugleich durch seine in Melaninfarbstoff umgewandelte Suprareninkomponente die

braunschwarze Tönung erhält. Die körperliche Basis des Pigments fehlt aber in den Testflüssigkeiten, so daß bei der künstlichen Farbstofferzeugung die Oxydation des Suprarenins immer nur eine Schwärzung der Flüssigkeit zeitigen kann, nie eine Niederschlagsbildung. Ich habe a. a. O. schon ausdrücklich darauf hingewiesen, daß die Pigmentzellbilder niemals durch eine Ausfällung von Farbstoff zu erklären sind. Dem würde auch das Wesen der Melaningenese, die sich als oxydativer Umwandlungsprozeß charakterisiert, diametral gegenüberstehen.

Die von Neuberg erzielte Ausfällung in seinen experimentellen Melaninuntersuchungen ist also auf Grund des biologischen Vorgangs nicht zu erklären. Die Melaningenese ist gar keine Ausfällungsscheinung, und die Komponente, die *in vivo* dem Farbstoff die körperliche Basis gibt, das funktionierende Eiweiß, steht bei der künstlichen Farbstoffbereitung nicht zur Verfügung. Im übrigen hat Neuberg bei Anwendung von Oxyphenyläthylamin auch nur eine Schwärzung erhalten, keine Fällung. Die in den biologischen Rahmen der Melaninpigmentgenese gar nicht passende flockige Niederschlagsbildung wird Neuberg einer anderen Deutung zugänglich machen müssen.

Ich habe oben den Nachweis erbracht, daß das melanogene Oxydationsferment generell den melanotischen Prozeß auslöst, daß die Melanokarzinomatose der Nebennieren beim Schimmel in gesetzmäßigem Verlauf sogar erst die Folgeerscheinung der Melanosarkomatose gewisser Hautbezirke ist. Warum nun Neuberg nur in seinem Nebennierenmelanom den enzymatischen Körper vorfand, sonst nicht, entzieht sich meiner Beurteilung. Ich kann mir nur vorstellen, daß hier irgendwelche Fehlerquellen untergelaufen sind. Vielleicht, daß die Bereitung des Tumorauszugs sich verzögerte, so daß die labilen Fermente zugrunde gegangen waren; vielleicht, daß die Suprarenin- bzw. Tyrosinlösung, die gleichfalls sehr leicht zerstört werden — Licht, Wärme —, ihre Wirksamkeit eingebüßt hatten. Auch ergibt sich hier eventuell eine Differenz aus der Anwendung des Tyrosins, wie es Neuberg bei dem Melanom des Schimms zur Reaktion eingestellt hatte, während ich meine Prüfungen nur mit Suprarenin vornehmen konnte. Sicherlich wird ferner der Brutofentemperatur eine

wesentliche Rolle zufallen, bei der ich die Reaktionen sich vollziehen ließ. Neuberg macht hierüber keine Angaben. Ich kann nur wiederholen, daß bei mir in allen Fällen die Melanom-extrakte gleichmäßig positiv reagierten.

Mit dieser Stellungnahme zur Neubergschen Arbeit bin ich bereits in die Kritik der Melaninliteratur eingetreten. Auf eine genaue historische Wiedergabe derselben kann ich verzichten, da sie wiederholt schon eingehende Darstellung erfahren hat. Es genügt, wenn ich hier die Phasen im Wechsel der Anschauungen kurz skizziere. Die erste Periode ist durch das Bestreben gekennzeichnet, das Melanin unter die hämoglobinogenen Pigmente einzureihen. Diese Möglichkeit wurde viel diskutiert. Für Hermann<sup>7</sup>, Recklinghausen<sup>44</sup> war die offenkundige Beziehung der stark pigmentierten Sarkomzellen zu den Gefäßen leitend für ihre Auffassung. Langhans<sup>42</sup> führte den Farbstoff auf ausgetretene Erythrozyten zurück, die von den Tumorelementen aufgenommen würden. Gussenbauer<sup>16</sup> stellte sich vor, daß das Hämoglobin infolge Gefäßthrombose in das Geschwulstgewebe diffundierte und hier in den Tumorzellen zu Melanin kondensiert werde. Entscheidend war für diese Autoren der positive Ausfall der Eisenreaktion in den melanotischen Massen. Diesem Kriterium wurde aber bald jede Bedeutung genommen, als Schmid<sup>33</sup> und Neumann<sup>29</sup> den Nachweis erbrachten, daß auch sichere Blutpigmente des Eisens entbehren könnten. Lubarsch<sup>25</sup> legte schließlich in kritischer Betrachtung dar, daß man auf die Herleitung des Melanins vom Hämoglobin a priori verzichten müsse.

Einen anderen Weg in der Deutung des Farbstoffs meinte Jarisch<sup>20</sup> gehen zu müssen. Er hält das Pigment für ein Produkt des Kerns, weil er häufig in dessen Nähe homogene, tropfenartige, glänzende Gebilde vom braunen Farbenton des Pigments findet, die zuweilen in einer Höhlung des Kerns liegen. Demgegenüber hält Post<sup>30</sup> die Argumentation von Jarisch für den Ursprung des Pigments aus dem Kern für nicht zutreffend. Die Lage von Pigment am Kern sei kein Beweis dafür. Im übrigen enthalte der Kern selbst nie Pigment. Es fehle an jedem Anhaltspunkt für die Annahme, daß jene tropfenartigen Gebilde in der Nähe des Kerns den Anfang der Pigmentbildung bedeuten. Er habe im Gegenteil bei der fortschreitenden Entwicklung der Pigmentzellen beobachtet, daß das Pigment im Protoplasma in Form kleinster diskreter Elemente auftritt.

Während sich nun all' diese Autoren hinsichtlich der Melanogenese auf vage Vermutungen beschränkt sehen, hat neuerdings die Arbeit von Rössle<sup>31</sup> einen bestimmteren Standpunkt eingenommen, in der der Autor zu Anschauungen gelangt, die meiner Deutung des Melaninproblems diametral gegenüberstehen. Ich sehe mich daher veranlaßt, die Rössleschen Untersuchungen einer eingehenden Kritik zu unterziehen, um so mehr, als es sich hier um Probleme von grundsätzlicher Bedeutung handelt, und im Anschluß an Rössle auch andere Autoren sein Prinzip übernommen haben. Hierbei werde ich Gelegenheit nehmen, eine Reihe morphologischer wie biologischer Gesichtspunkte zu erörtern, die ich in

meiner Melanosarkomatose-Arbeit des näheren besprochen habe, die aber hier der gegebenen Klärung des Melaninproblems eine Ergänzung geben.

Als Ausgangspunkt dienten Rössle die Hertwigschen<sup>19</sup> Beobachtungen an Aktinosphären. Diese Protozoen gehen bei übermäßiger Fütterung wie bei Hunger eine Kernhypertrophie ein. In der Folge kommt aber wieder eine bestimmte, normale Korrelation zwischen Zellkern- und Zelleibesgröße, „Kernplasmarelation“ durch Kernreduktion zuwege, indem Chromatin ins Protoplasma ausgestoßen und hier in eine bräunliche Masse verwandelt wird. Diese Vorgänge steigern sich sogar zu offensichtlicher Degeneration, wenn eine Anzahl von Kernen sich überhaupt auflöst und so das Material für die nachfolgende Pigmentbildung liefert. Ich bemerke hierzu, daß das im Jugendzustand einkernige Aktinosphärium späterhin, wie viele Protozoen, eine mehr oder weniger große Anzahl von Kernen entwickelt.

Diese Hertwigschen Ergebnisse experimenteller Protozoenforschung suchte Rössle für den Pigmentierungsvorgang in der Melanosarkomzelle in Anwendung zu bringen. Der Schwerpunkt seiner Beweisführung liegt in der Aufstellung einer Entwicklungsreihe der Pigmentzelle. Er schließt sich bedingungslos Rieber's<sup>43</sup> Anschauung an, nach der die Melanomelemente ihren Ausgang von abgesprengten Chromatophoren embryonalen Charakters, d. h. von farbstofffreien Zellen nehmen. Diese geraten in Wucherung, und erst wenn sie ihre Wachstumsqualitäten erschöpft haben, unterliegen sie einer nachträglichen Reifung zu vollwertigen Elementen: Es stelle sich eine starke Kernhyperchromasie mit Überwiegen der Nukleolarsubstanz ein, dem dann die Pigmentierung unter Auslangung des Zellkerns sich anschließe. „Je stärker farbstoffhaltig die Zelle ist, um so kleinere Masse zeigt ihr Kern.“

Rössle geht dementsprechend von dem Gedanken aus, daß die Melaninproduktion von vornherein einen degenerativen Vorgang bedeutet, der noch besonders dadurch zum Ausdruck komme, daß die Teilungsvorgänge der Pigmentzellen, besonders aber das bösartige Wachstum im Melanosarkom an *pigmentlose* Elemente geknüpft seien. In der Humanpathologie könnte hier vielleicht eine gewisse bildliche Grundlage gegeben sein, da oft beträchtliche Gebiete der Tumoren tatsächlich den Farbstoff vermissen lassen. Aber Rössle selbst bildet ja eine in Teilung befindliche pigmentierte Zelle ab, so daß in dieser stark vitalen Äußerung nichts weniger als ein Degenerationsphänomen zu erkennen ist. In der Literatur finde ich auch bei Fлеминг<sup>9</sup> den Teilungsvorgang bei den großen Pigmentzellen des Salamanders beschrieben, indem die pigmenthaltigen Ausläufer erhalten bleiben, aber knotige Form annehmen. Ebenso hat Trambusti<sup>44</sup> auf der seiner Arbeit beigegebenen Tafel sehr stark pigmentierte Sarkomelemente in Mitose wie Amitose im Bilde festhalten können.

Die Melanosarkomatose der Schimmel ließ uns über diese angeblich degenerative Pigmentierung ein ganz klares Urteil gewinnen. Das erste Entwicklungsstadium ist hier die Farbstoffproduktion, die in vollentwickelten Bindegewebzellen von physiologischem Typus einsetzt, also weit davon entfernt ist, eine Ausreifungserscheinung embryональer, pigmentloser Zellen darzustellen, wie

Ribbert und Rössle meinen. Erst im Gefolge der Pigmentierung, und zwar ursächlich, kommt es zu einer Wucherung. Durch die Lebhaftigkeit derselben bekunden die Zellen eine außerordentliche Aktivität — trotz der intensiven Melaninproduktion —, während bei den Aktinosphärien die Teilung bis zum Ablauf der Kernreduktion, d. i. während der Pigmentbildung sistiert.

Also nicht ein pigmentfreies, sondern ein proliferationsfreies Vorstadium kommt den Melanosarkomzellen zu. Dieser objektive Befund bietet gerade das Umgekehrte der Rössleschen Vorstellung. Sie wird des weiteren widerlegt durch die Tatsache, daß beim Schimmel fast nie farbstofffreie Melanomelemente auftreten, daß die Zellen trotz intensiver Wucherung — doch der Ausdruck einer großen Stoffwechselenergie — die stärkste Melaninproduktion leisten. Die Rösslesche Auffassung der pigmentären Degeneration“ der Zelle entbehrt damit der tatsächlichen Basis. Und mit der offensichtlichen Negation des von ihm konstruierten Entwicklungszyklus der Melanomzelle fällt die wichtigste Grundlage seiner ganzen Hypothese.

Nur ganz vereinzelt erscheinen auch beim Schimmel, wie ich in meiner Melanosarkomatose-Arbeit zeigen konnte, die Tumorelemente pigmentlos, aber dies ganz gesetzmäßig nur unter dem Einfluß enorm gesteigerter Zellproliferation. Ich wies schon dort darauf hin, daß dieser Vorgang nach Lage der obwaltenden Bedingungen nie auf eine abnehmende Vitalität, wie sie Rössle für seine Theorie in Anspruch nimmt, zurückgeführt werden kann, sondern daß er offenbar zustande kommt, weil die eine Komponente des pigmentfähigen Materials — das Suprarenin — der Überzahl von Zellen nicht gleich zur Verfügung steht. Sonst wäre die strenge Lokalisation an Orte stärkster Zellwucherung gar nicht zu erklären. Wir haben hier zugleich auch die Ursachen, warum bei dem Melanosarkom des Menschen so häufig umfangreiche Tumorparten der Pigmentierung völlig entbehren. Hier ist der Prozeß gegenüber der Affektion beim Schimmel gerade durch seine Bösartigkeit, d. h. durch seine außerordentlich gesteigerten Wucherungsvorgänge charakterisiert. An der Hand der Klärung des Melaninproblems erkennen wir, daß hier der Massen der jungen Zellen offenbar nicht sofort das erforderliche Suprarenin zur oxydativen Farbstoffbereitung zugeführt wird. Beim Schimmel sahen wir sie eindeutig den Pigmentierungsprozeß nachholen. Sicherlich wird diese Differenz zwischen Mensch und Pferd eine gewisse Begründung auch in der relativ ungewöhnlichen Größe der Nebennieren haben, wie sie den Equiden allein zukommt.

In derselben Weise wie Hertwig glaubt nun auch Rössle an den Melanosarkomzellen eine bestimmte Kernplasmarelation festgestellt zu haben, in deren funktioneller Abhängigkeit die Farbstoffproduktion vor sich gehe. Ihr zeitlich vorauf mache sich der Zustand eines Kernübergewichts, ein Anwachsen des Kerns bemerkbar, bei dem dieser an Chromatin verarme, an Nukleolarsubstanz sich aber auf Kosten des Nuklein bereichere. Unter ganz spezifischen Erscheinungen würden dann die Kernkörperchen in den Zelleib ausgestoßen,

wo sie sich in Pigment verwandelten. Er betrachtet also die Melaninproduktion als den Effekt einer Chromatolyse.

Nun habe ich die Chromatinumlagerungen in meinen Präparaten im Sarkomgewebe gleichfalls gesehen, wie ich in meiner Melanosarkomatose-Arbeit nachzulesen bitte. Ich konnte aber dort immer wieder konstatieren, daß eine Beziehung zwischen dem Volumensverhältnis von Kern und Protoplasma zur Intensität der Pigmentierung ebensowenig vorhanden ist, wie ein reziprokes Verhältnis zwischen dem Pigmentgehalt des Zytoplasmas und dem Reichtum des Kerns an Nukleolarsubstanz, wie Rössle meint. Die sicherste Gewähr für eine zutreffende Beurteilung der Zellbilder liefern entpigmentierte Vergleichungspräparate, wie ich sie a. g. O. demonstrierten konnte. Rössle hatte auf dieses Verfahren verzichtet. Wie würde er sich dann z. B. zur Deutung jener Befunde gestellt haben, wo in vom Farbstoff befreiten Zellen ausgetretene Nukleoli nicht gebleicht worden sind? Nach seiner Auffassung verkörpern sie doch hier schon das Pigment.

Als besonders bedeutsam möchte ich hier nur noch einmal die Zellen beschreiben, deren Kern infolge starken Pigmentgehalts des Zelleibs verdeckt ist. Diese Elemente sind auch durch Chlor von ihrem Farbstoff nicht völlig zu befreien, und man erkennt sie daher im entpigmentierten Schnitt sofort an ihrer homogenen, fast möchte ich sagen hyalinen Beschaffenheit und ihrer ausgesprochen gelblichen Tönung. Und trotz dieser stärksten Pigmentproduktion, die in den Zellen abgelaufen ist, weisen diese nach Chlorung im farbstofffreien Zustand lebensvolle, scharf tingeierte, chromatinreiche Sarkomerne ohne jede Desorganisation auf. Nach Rössle müßten sie völlig ausgelaugt sein.

In diesem Zusammenhang will ich gleich einen Widerspruch konstatieren, der Rössle unterlaufen ist. Auf der einen Seite läßt er die Kerne bei der Pigmentproduktion durch Abgabe ihrer Nukleolarsubstanz sich erschöpfen, also durch Chromatolyse, durch Auslaugung, wie er selbst sagt. Demgegenüber beschreibt er wieder, wie in den untergehenden Pigmentzellen stets spezifisch pyknotische Kerne auftreten. Wenn Rössle dann an eine Reorganisation solcher „pigmentär degenerierten“ Zellen denkt, „indem sich die geschrumpften und frei gewordenen Kerne wieder mit einem Protoplasmamantel umgeben“, womit er also die alte Virchowsche Maxime: „omnis cellula e cellula“ umstößt, so ist er wohl zu weit gegangen.

Es bedarf keines besonderen Kommentars, daß Rössles Vorstellungen von den genetischen Beziehungen der Kernplasmarelation zur Melaninpigmentbildung, von der Wechselwirkung zwischen chromatischer und nukleolarer Substanz — in den variierenden Erscheinungsformen der Sarkomelemente ihre tatsächliche Basis finden. Er hat sich zunächst selbst davon überzeugt, wie die verschiedene Gestaltung der Sarkomzellen eine Erklärung ihrer Pigmentleistung auf Grund einer Kernreduktion, wie sie Hertwig bei Aktinosphärium demonstriert hatte, nicht erlaubt (S. 301 seiner Arbeit): „Die Anwendung der Hertwigschen Kernplasmarelation stößt hier auf zahlreiche Widersprüche“.

Im unmittelbaren Gegensatz hierzu glaubt er auf der Basis der Beziehungen von Zell- und Kerngröße zum Pigment — die Hertwigsche Maxime trifft doch grade dieses Verhältnis speziell bei seinen Aktinosphären — doch wieder einen Entwicklungskreis der Melanosarkomzelle aufstellen zu können, dessen morphologische Daten maßgeblich sein sollen für das Auftreten des Pigments.

Als anderes Begründungsmoment für sein Vorhaben führt er die von ihm gefundenen Beziehungen bestimmter Kernsubstanzen zum Pigment an. In diesem Versuch widerlegt er sich selbst, wenn er an anderer Stelle angibt, daß die Überproduktion von Nukleolarsubstanz ein Symptom des raschen Wachstums, also ein Sarkomkriterium, sei (S. 307). Er selbst zitiert zustimmend Trambsti<sup>26</sup> und Pianese<sup>45</sup>, die des näheren das Kompensationsverhältnis zwischen chromatischer und nukleolarer Substanz in Sarkomkernen erörtern und zeigen, wie die Vermehrung der Nukleoli immer Hand in Hand geht mit einer Vergrößerung des Kerns, also gerade jene Momente, die Rössle für seine Pigmentbildung in Anspruch nimmt. Und wie häufig begegnet man bei eingehenderem Studium von Sarkomzellen, überhaupt von bösartigen Tumorelementen, einer Überproduktion von Nukleolarsubstanz unter fast völliger Entblößung von Nuklein, einer Vakuolenbildung oder Ausstoßung von Kernkörperchen in das Zytoplasma, einer Abschnürung von Chromatintröpfchen: Alles Erscheinungen, die die lebhaften Chromatinumlagerungen in den sich intensiv teilenden Zellen zum Ausdruck bringen. Rössle selbst bildet ja eine Zelle ab, bei deren Teilung Nukleoli in den Zelleib ausgestoßen werden. Wollte man das alles ebenso wie die Verschiebungen der „Kernplasmarelation“ mit Rössle als Vorstadien einer Melaninproduktion betrachten, so müßten alle bösartigen Tumoren Pigment produzieren.

Eine ganz eigenartige Auffassung vertritt Rössle hinsichtlich der Wiederbildung von verloren gegangener Nukleolarsubstanz. Als Beweise für solchen Vorgang sieht er jene Erscheinungsformen an, wo die Nukleoli zu Fäden oder Kolben ausgezogen oder in perlchnurartig gereihte Tröpfchen zerkleinert oder mit Vakuolen durchsetzt sind. — Man hatte früher solche Bilder nur vermutungsweise als Degenerationsprodukte betrachtet. Daß sie es in der Tat sind, hat Eugen Albrecht<sup>1</sup> in seinen experimentellen Untersuchungen über die Kernmembran gezeigt, wo er jene Kernkörperchenformen experimentell durch Einwirkung von gewissen Reagentien, wie schon bei postmortaler Aufbewahrung des Materials erzielte. Er führte sogar den bedeutungsvollen Nachweis, daß es sich hier um ein Ausströmen neutralrot-färbbarer, also myelinogener Substanz handelt, die dann den Myelinfiguren des Zelleibs Ursprung gibt. Damit ist auch zugleich bekundet, welche Bedeutung, welches Schicksal den im Zytoplasma erscheinenden Kernkörperchen, auf die Rössle sich in seiner Theorie so sehr stützt, zukommt. Sie bilden Myelin, aber kein Melanin.

In Summa: Das Substrat der von Rössle beobachteten Kernveränderungen ist lediglich das Kriterium bösartiger, maximal wuchernder Tumorzellen, speziell solcher Sarkomelemente.

Ich muß aber Rössle noch weiter entgegenhalten, daß beim Schimmel in dem benignen Vorstadium der Melanosarkomzelle, ebenso in den Schweißdrüsen die Kerne keinerlei Erscheinungen bieten, die im Sinne einer Chromatinanreicherung, bzw. -verarmung als Korrelat zur Pigmentgenese, zum jeweiligen Pigmentgehalt der Zelle gedeutet werden könnten. Entpigmentierte Schnitte veranschaulichen aufs deutlichste die uniforme Beschaffenheit der Zellkerne. Nicht unerwähnt will ich lassen, daß Rössle mit seiner Theorie jener homogenen gelblichen Färbung, jener Durchtränkung des Zelleibs mit chromatischer Substanz und jenen großen, braungelben, durchscheinenden Tropfenkugeln, wie sie sich im Zytoplasma an Orten intensiver Melanose vorfinden, keinerlei Deutung zu geben vermag. Auch dieser Funktionszustand des Zelleibs gewinnt im Lichte der Eiweißnatur des Melanins sofort seine Erklärung.

Neben dieser Kritik des tatsächlichen Befundmaterials sind es aber noch Zweckmäßigkeitsgründe, mit denen die Rössleschen Vorstellungen unvereinbar sind. Rössle spricht von einer Kernsekretion, die das Melaninpigment zeitige. Nun sind die funktionellen Leistungen des Kerns bei den sich hier so schnell folgenden Zellteilungsvorgängen schon so außerordentliche, daß wir unmöglich damit rechnen können, daß die stark belasteten Teilungskörper auch noch das Pigment liefern. Wo sollte der Kern das Material für die Chromosomen hernehmen! Und Rössle selbst führt doch an, daß die Substanz der Kernkörperchen bei der Bildung der Mitosen mit einbezogen wird. Bei der Menge des in den stark wuchernden Zellen vorhandenen Melanins müßte ja der Kern mit einem kolossalen Ersatz arbeiten, um quantitativ dem Austritt der „pigmentären Nukleolarsubstanz“ zu genügen! Rössle übersieht, daß die Aktinosphären doch nur so viel „Pigment“ produzierer, als der Kernreduktion entspricht. Im übrigen muß ich es verneinen, daß es sich hier bei den Chromidien der Protozoen um ein Pigment im gebräuchlichen Sinne, speziell Melaninpigment, handelt. Das postmortale aus dem Kernzerfall hervorgegangene Myelin der Säugetierzellen wandelt sich nach Eugen Albrecht schließlich auch in eine braune Masse um, aber es stellt kein „Pigment“ vor. Um dann das Mißverhältnis der Größe der ausgetretenen Kernkörperchen zu dem feinsten Melaninpigmentstaub zu erklären, greift Rössle zu der Hypothese, daß die Abgabe von Kernsubstanz in so feinen Partikelchen erfolge, daß sie der Beobachtung nicht zugänglich sei.

Wie weitgehende Folgerungen Rössle wagt, zeigt die Identifizierung, die er dem Pigment der Aktinosphären, der Melanose, der braunen Atrophie und ähnlichem angeidehen läßt. Das Kriterium, daß all' diese Pigmente eisenfrei sind und morphologisch angeblich eine gewisse Übereinstimmung aufweisen, bestimmt ihn, ihre Wesensgleichheit anzunehmen. Entscheidend für solche Beurteilung sind doch vor allem die biologischen Umstände, unter denen das Pigment auftritt. Bei der Deutung der braunen Atrophie — auch eine Degenerationerscheinung — könnte man an eine Verwandtschaft der Vorgänge mit

denen bei Aktinosphärium denken. Der Melaninentstehung liegt aber ein aktiver, man kann sagen ein Sekretionsprozeß im Zytoplasma zugrunde, der sich in ungewöhnlich lebenskräftigen Zellen abspielt. Aber auch morphologisch ist das Pigment der Altersatrophie ganz anders charakterisiert als das Melanin. Es tritt nur in feinsten Körnchen auf, die nie konfluieren, wie dieses, womit ersichtlich hier schon die native Eiweißkomponente ausschaltet. Und seine Lagerung ist stets an die Kernpole, an die Kernperipherie geknüpft, auch ein bedeutsames differentialdiagnostisches Moment gegenüber dem Melanin. Weitere wesentliche Faktoren sind, daß das atrophische Pigment durch Chlor nicht zu bleichen, wie ich zur Kontrolle prüfte, und nicht spezifisch für bestimmte Gewebsarten ist, wie es das Melanin charakterisiert. Es kann gar keinem Zweifel unterliegen, daß die verschiedenen Pigmente verschiedene Entstehungsbedingungen haben.

In der Folge sind die Rössleschen Mitteilungen auch für Staffel und später für Meirowsky das Richtunggebende gewesen.

Staffel<sup>35</sup> hat den Pigmentierungsvorgang bei Xeroderma pigmentosum und bei einem Hautkarzinom geprüft und gefunden, daß Plasmazellen, bzw. Mastzellen als Pigmentbildner auftreten, die zunächst zu mäßig pigmentierten, verzweigten Chromatophoren und dann zu pigmentüberladenen, lang gestreckten Spindelzellen sich verwandeln sollen. Auf dieser Basis bauet sich hier die Pigmentierung der Kutis auf, wie er ausdrücklich angibt. Den Prozeß der Pigmentproduktion selbst sieht er in derselben Weise wie Rössle von den Kernen aus vor sich gehen. Ob Staffel sich die Frage vorgelegt hat, warum denn nur in seinen Fällen die Plasmazellen und die Mastzellen Pigment produzieren, sonst aber trotz ihrer weiten Verbreitung diese Erscheinung immer vermissen lassen! Ich habe noch später Gelegenheit, auf diese Granulozytenfrage des genaueren zurückzukommen.

Den gleichen Standpunkt in der Pigmentbildungsfrage wie Rössle nimmt auch Meirowsky<sup>36</sup> ein. Er hat seiner Monographie speziell den Ursprung des melanotischen Pigments der Haut und des Auges zugrunde gelegt. Wie Rössle, glaubt auch er gezeigt zu haben, daß die Melaninbildung durch Austritt einer Kernsubstanz vor sich gehe, die sich dann im Zytoplasma in das schwarze Pigment verwandle. Er bezeichnet sie als pyrenoide — wohl richtiger pyronoide — Substanz, weil sie eine große Affinität zu dem rotfärbbenden Pyronin besitzt. Auf die Einzelheiten dieses Kernphänomens brauche ich hier nicht mehr einzugehen, da ich sie schon bei Rössle des eingehenden diskutiert habe. Ein Unterschied ist nur in der Art des Untersuchungsmaterials gegeben. Rössle prüfte bösartige Tumorzellen, bei denen, wie ich darlegte, der Austritt von nukleolarer Kernsubstanz eine weitgehende Erscheinung ist. Meirowsky stellte seine Untersuchungen im wesentlichen an Hautstückchen an, die mit Finsenstrahlen belichtet waren. Welch' entscheidende Bedeutung diesem experimentellen Moment für die Beurteilung des erhobenen Befundes zukommt, wird sich in der Folge offenbaren. Genug, er erzielte gegenüber Rössle eine wesentliche Steigerung der vermeintlich spezifischen Zellvorgänge. Es bedarf daher nur einer Stellungnahme zu seinen Schlußfolgerungen.

Man ist nach der Lektüre der morphologischen Beschreibung seines Materials, wo er wiederholt die Bedeutung der Abgabe einer pyronoiden Kernsubstanz an das Zytoplasma für das Auftreten des Melanins in den Zellen hervorhebt, außerordentlich überrascht im 9. Kapitel zu lesen, daß die Frage, ob der Austritt des genannten Kernstoffs ein für die Pigmentbildung spezifischer Prozeß ist, mit einem entschiedenen Nein beantwortet werden müsse. Der Autor zitiert Goldschmidt<sup>1,3</sup>, der gezeigt hatte, wie sich ganz allgemein in lebhaft funktionierenden Gewebszellen die Bildung von „Chromidien“ in den Zelleibern einstellt. Diese braunen Massen sind ein Kernprodukt und unterliegen dann im Protoplasma einer, wie ich bemerke, damals Goldschmidt noch unbekannten Veränderung, ohne daß es selbst bei ihrer starken Anhäufung zur Pigmentbildung kommt. Meirowsky erwähnt hierzu anschließend, daß man in der Epidermis über Karzinomen und bei Ekzemen sehr häufig die von ihm als Ausgangsstoff für die Melaninproduktion in Anspruch genommenen pyroninroten Gebilde finde, die offenbar den Chromidien Goldschmidts entsprechen. Es erfolge aber aus ihnen keine Melaninproduktion.

Um nun aus diesem Dilemma herauszukommen, um das generelle Phänomen des Austritts pyronoider Substanz aus dem Kern speziell für die Melaninpigmentgenese verwerten zu können, greift Meirowsky zu der Hypothese, daß gleiche Substanzen unter anderen Bedingungen auch zu anderen Endprodukten führen. Er nennt vergleichsweise das Lezithin, das unter physiologischen Verhältnissen ein unschädlicher Stoff ist, aber zum Zellgift wird, wenn es der Wirkung der Röntgenstrahlen oder des Radiums ausgesetzt wird. In einem analogen Verhältnis erblickt er seine pyronide Substanz, die nur unter bestimmten Bedingungen die Vorstufe des Melaninpigments sei. Abgesehen davon, daß diese Deduktion schon von vornherein ein hohes Maß von Unwahrscheinlichkeit mit sich bringt, will ich gleich darlegen, wie seine vergleichsweise Betrachtung bei scharfer Begriffseinstellung schief ausgeht. Das Lezithin ist der Primärkörper in beiden Phasen seiner Wirkung. Dagegen ist die pyronide Substanz schon ein Umwandlungsprodukt auf Grund ganz spezifischer äußerer Einwirkungen. Dem Lezithin würden hier die normalen Kernbestandteile, die keinen pyronoiden Stoff aufweisen, entsprechen. Daß aber ein bereits aus einem scharf charakterisierten Zellstoffwechsel hervorgegangenes Material, das pyronide, nun noch unter speziellen Bedingungen sich zu einem so hochmolekularen Körper, wie ihn das Melanin als schwarzer Farbstoff darstellt, weiterentwickeln soll, würde unserer physiologisch-chemischen Denkweise zuwiderlaufen. Und Meirowsky sagt doch ausdrücklich, daß erst die pyronide Substanz in Melanin übergehe, daß etwa das letztere nicht primär im Kern gebildet werde.

Aber wir brauchen uns gar nicht auf solche Erörterungen zu stützen. Es steht uns objektives Tatsachenmaterial zur Verfügung. Eugen Albrecht<sup>1,2</sup> hat die bindenden Beweise erbracht, daß es sich bei den pyronoiden Substanzen Meirowskys um ein Ausströmen neutralrotfärbarer, also myelinogener Stoffe aus dem Kern handelt, ja daß die Neutralrotfärbung der Myelintropfen im Zytoplasma direkt abhängig ist von der Abgabe färbarer Substanzen aus dem Kern. Die Bestätigung der myelinogenen, also fettartigen Natur dieses

Vorgangs ergab sich auf Grund der von einer anderen Fragestellung her gewonnenen Maxime, daß die Oberfläche des Kerns und der Nukleolus — der Lieferant für die pyronoide Substanz — von einer fettartigen Substanz gebildet werden. Der chemischen Kenntnis von der myelinogenen Kernsubstanz entsprach genau ihr morphologisches Bild, das die typischen Kriterien des Fettes aufwies: Me i r o w s k y selbst betont, wie s. Z. J a r i s c h , ausdrücklich, daß die angestößenen pyronoiden Körper sich wie die Nukleoli durch ein intensives Lichtbrechungsvermögen und durch hohen Glanz trotz ihres braunen Farbenton in dem übrigen Inhalt der Zelle differenzieren, und daß pyroninrote Kernsubstanz in die Kernmembran überfließt.

Hiermit kann kein Zweifel darüber bestehen, daß es sich bei der pyronoiden Substanz Me i r o w s k y s um eine aliphatische Verbindung, um einen fettverwandten Stoff handelt, der sich weiterhin zu Myelin umbildet. Bedeutsamerweise konnte E u g e n Al b r e c h t zeigen, daß dieses sich schließlich in eine braune Masse verwandelt, aber nie zu einem Pigment. Wir haben hier zugleich die Erklärung, warum Me i r o w s k y gelegentlich in seinen pyroninroten Körperchen eine teilweise Bräunung vorfand.

Ich verstehe nicht, wie der Autor in seiner Melaninstudie sich so nachhaltig auf E u g e n Al b r e c h t berufen konnte. Ich habe unter Al b r e c h t die ganze Zeit während seiner Frankfurter Tätigkeit arbeiten können und habe da wiederholt von ihm gehört und demonstriert erhalten, wie jene aus den Kernen ausströmende Substanz nur zum Myelin eine kausale Beziehung habe. Eine ursächliche Bedeutung derselben zur Melaninproduktion lehnte er nachdrücklich ab, wobei er grade die damals erschienene R ö s s l e sche Arbeit: „Über den Pigmentierungsvorgang im Melanosarkom“ im Auge hatte. Ich berufe mich da auf das Zeugnis seines langjährigen ersten Assistenten, Oberarzt Dr. B o i t. Al b r e c h t kann also Me i r o w s k y gegenüber nur von einer gewissen Bedeutung der pyronoiden Substanzen im Zelleben gesprochen haben, aber nichts weiter. Im übrigen verweise ich auf die eingehende Diskussionsbemerkung, mit der er auf der Tagung der pathologischen Gesellschaft in Dresden den Inhalt des S t a f f e l s c h e n Vortrags über die Melaningenese und damit zugleich R ö s s l e ablehnte.

Mit der Fett natur der pyronoiden Substanz schalltet diese für die Melaningenese aus. Ich habe oben dargelegt, wie dieses Pigment sich scharf charakterisiert als Eiweißfarbstoff, und damit ist eine Überbrückung der Kluft nicht mehr möglich. Im übrigen gelten für Me i r o w s k y s Ausführungen all' die gleichen Betrachtungen, die ich oben R ö s s l e entgegenhielt, vor allem, daß bei der so starken Inanspruchnahme des Chromatins bei den exzessiv gesteigerten Teilungsvorgängen der Melanosarkomzellen niemals diese selben Kernstoffe nach den uns bekannten biologischen Zellpotenzen auch noch als Quelle bei der gleichzeitig so intensiv ablaufenden Melaninproduktion dienen könnten. Und es bedarf keines besonderen Hinweises, daß überall da, wo Melamin auftritt, seine Entstehung nach den gleichen Prinzipien erfolgen muß.

Wenn wir die Umstände des näheren berücksichtigen, unter denen M e i - r o w s k y zu seinen Untersuchungsergebnissen kam, so werden wir sofort ein Verständnis für die fettartige Natur seiner pyronoiden Körper gewinnen. Ich betonte oben schon, daß er seine Befunde im wesentlichen an Hautstückchen erhob, die zum Zwecke der Pigmenterzeugung mit F i n s e n strahlen belichtet waren. Nun ist es eine ganz bekannte Erfahrung, daß derartige Wirkungen nicht nur eine Farbstoffspeicherung in den Zellen zeitigen, sondern auch Hyperämie, Exsudation, und schließlich Nekrose des Gewebes hervorrufen. Voilà tout! Wir haben hier im Sinne G o l d s c h m i d t s lebhaft funktionierende Gewebszellen, die auf der Basis des entzündlichen Vorgangs im Vorstadium, um nicht zu sagen im Beginn der Degeneration stehen. Daß es sich tatsächlich darum handelt — wogegen die erhaltene Kernstruktur durchaus nicht spricht, wie M e i r o w s k y meint —, beweist bei Steigerung des Prozesses der frühzeitige Ausgang in Zellnekrose. Der Autor hat selbst a. a. O. diese Vorgänge beschrieben. Im vorliegenden Fall wird nur die Degeneration gleich im Anfang infolge Aussetzens der F i n s e n - Bestrahlung unterbrochen, das gebildete Myelin wird offenbar resorbiert, wie die von M e i r o w s k y gegebene Figur 269 an der auffallend blassen Färbung der reichen pyronoiden Massen veranschaulicht. Es ist hier eine Partie neben einem Ekzembläschen gezeichnet. Und gerade die fettartige Natur des entzündlichen Kernprodukts weist nachdrücklich darauf hin, daß wir es hier mit einer Degenerationserscheinung zu tun haben.

Neben der Bildung der pyronoiden Substanzen bewirkt das F i n s e n - Licht auch noch die Entstehung von Melaninpigment im Zytoplasma. Von der Basis der oben geschilderten, fermentativ synthetischen Pigmentgenese aus werden wir uns zwanglos vorstellen können, daß die F i n s e n - Bestrahlung mit den von ihr ausgelösten entzündlichen Vorgängen jene spezifische Alteration des Zellchemismus in die Wege leitet, von der das melanogene Ferment seinen Ausgang nimmt.

In gleichem Sinne äußert sich die Wirkung des F i n s e n - Lichts auf die normale Haut durch die außerordentliche Anhäufung von Mastzellen. M e i r o w s k y sieht sich hier zu der These veranlaßt, daß dieselbe pyronoide Kernsubstanz, die das eine Mal zur Bildung von Melaninpigment führt, das andere Mal Mastzellengranulationen erzeugt. Es ist ein ganz merkwürdiges Bestreben, daß sich in allen 3 Arbeiten über die angeblich nukleolare Melaningenese geltend macht, diesen Vorgang für die Pigmentpathogenese zu verallgemeinern. Die Anschauungen von R ö s s l e und von S t a f f e l hatte ich oben kritisiert. M e i - r o w s k y sieht für seine Auffassung den Beweis lediglich in der Tatsache, daß beide Granulaarten in derselben Zelle auftreten. Er vertritt schließlich die Meinung, daß die Mastzellengranulationen sich in Melaningranula umwandeln könnten.

Es genügt ein Hinweis auf meine frühere Berichtigung des M e i r o w s k y - schen Vergleichs mit dem Lezithin, um sofort die physiologische Unmöglichkeit einer verschiedenen Entwicklungsrichtung derselben Muttersubstanz darzulegen. Und dann ist dem Autor ein Widerspruch unterlaufen. Er kann sich doch unmöglich vorstellen, daß eine Substanz in eine andere noch übergehen kann, wenn sie von vornherein schon verschiedene Entwicklungsrichtungen vorstellen.

Aber wiederum hat schon Eugen Albrecht<sup>6</sup> nachgewiesen, daß die Mastzellen nicht allein Pigmentgranula neben ihrer spezifischen Körnelung führen können, sondern auch Fett, ohne natürlich auch nur die Vermutung eines kausalen Zusammenhangs dieser ganz heterogenen Gebilde auszusprechen. Damit handelt es sich auch hier, wie bei dem Erscheinen von pyronoider Substanz und Melanin in derselben Zelle, um ein Nebeneinander, aber nicht ein Nacheinander. Mit der von mir oben erörterten Spezifität der Melanogenese fallen auch Meirowsky's Vorstellungen von den Beziehungen der Mastzellengranula zum Melaninpigment. Wenn er sagt, daß überall da, wo ein Reiz zur Pigmentbildung führt, auch Mastzellen in großer Zahl gebildet werden, so mache ich darauf aufmerksam, daß diese Elemente bei der Melanosarkomatose noch nie von einem Autor beschrieben wurden. Nur Plasmazellen treten auf.

Im übrigen zeigen einige der von Meirowsky mitgegebenen Bilder ganz eindrucksvoll, daß das Erscheinen der pyronoiden Substanz und des Melanins räumlich und damit auch kausal ganz unabhängig voneinander erfolgt. In Figur 50 veranschaulicht er die Pigmentbildung in der Nasenhaut eines Katzenfötus. Man sieht hier in den tiefsten Lagen der Epidermis das Pigment, ohne daß pyronoide Substanz — mit Ausnahme der Nukleoli — vorhanden wäre. In den oberen Schichten ist sie aber außerordentlich reichlich, da wo die Zellen niemals Melaninfarbstoff führen. Der Autor gibt a. a. O. selbst an, daß in den höheren Epidermislagen Pigment normaliter nicht vorkommt: In der Veterinärhistologie eine sehr bekannte Erscheinung. Wo bleibt hier, frage ich, die Umwandlung der reichen pyronoiden Massen zu Melaninpigment!

Ein analoges Verhältnis bietet seine Figur 269, wo schon eine wesentliche Ablassung der pyroninroten Körper eingetreten ist und trotzdem nirgends Pigmentkörnchen sich bemerkbar machen. Das ist doch zum mindesten sehr auffällig. Das Melanin findet sich nur wieder in der Tiefe, wo jene angeblich chromogene Muttersubstanz fehlt. Umgekehrt, wie gesagt, bildet sich de facto in den oberen Zelllagen überhaupt kein Pigment! Und weiter möchte ich dem Autor entgegenhalten, warum denn bei der Melanosarkomatose der Schimmel in den Schweißdrüsen und den Faszikulatzellen der Nebennieren und in der Fülle der noch nicht maligne entarteten Pigmentfibroblasten trotz intensivster Farbstoffspeicherung der Zellen der pyronoide Stoff gänzlich ausblieb. Nur in den Sarkomzellen trat er auf, wie ich Rössle bestätigen konnte. Die Gründe habe ich s. Z. angegeben.

Wo wir also auch im Laufe dieser Betrachtungen hinschauen, überall ergab sich die Unmöglichkeit einer Beteiligung des Kerns an der Melaninproduktion.

Ich zeigte oben, daß das Problem der Melanogenese unter ganz anderen Gesichtspunkten zu betrachten ist. Morphologische Daten können in der Pigmentbildungsfrage nichts entscheiden, sondern biologische Momente und chemische Untersuchungen ließen zu

einem bestimmten Urteil gelangen. Wenn ich das Resultat kurz präzisiere:

Die Melaninproduktion bei der Melanosarkomatose ist chemisch charakterisiert als ein oxydativer Umwandlungsprozeß des Suprarenins, der im Zytoplasma unter der Wirkung spezifischer Zell-fermente abläuft. Die chemische Auslösung des Farbstoffs erfolgt also auf enzymatischem Wege, wobei ihn dann die Zelle selbst synthetisch durch ihre spezifische Tätigkeit erzeugt: eine autochthone, metabolische Pigmentbildung. Die Kontrollen mit den Gewebsextrakten der Kälbermelanoze ergaben die Spezifität des melanogenen Ferments, die terminale Nebennierenmelanoze bezeugte den unzweideutig sichergestellten kausalen Zusammenhang des Melaninfarbstoffs mit dem Suprarenin. Als pathologische Pigmentbildner treten speziell bei der Melanosarkomatose der Schimmel in erster Linie ausgereifte Fibroplasten vom physiologischen Typus auf, die also die Qualitäten einer Pigmentzelle als atypische Zellfunktion erst entwickeln. Dasselbe gilt für die gleichfalls in den melanotischen Prozeß eintretenden Faszikulataepithelien der Nebennierenrinde. Die Schweißdrüsen endlich leisten unter dem Einfluß der die Melanosarkomatose charakterisierenden Stoffwechselanomalie die Pigmentproduktion, weil sie infolge ihrer ektodermalen Abstammung entwicklungsgeschichtlich zur Melaninbereitung eingestellt sind. Als Ausdruck dieser Differenz zeitigt der *zellartfremde* Melaninstoffwechsel der Fibroplasten und der genannten Nebennierenzellen in diesen eine Entartung zu bösartigen Tumorzellen, während die Schweißdrüsenepithelien unter den pathologischen Pigmentierungsvorgängen entscheidenderweise keiner Proliferation anheimfallen<sup>1)</sup>.

Mit diesen an der Hand der Pathologie gefundenen Ergebnissen erhebt sich die Frage, wie wir uns die physiologische Pigmentierung der Haut und des Augenhintergrunds vorzustellen haben. Daß sie im Prinzip identisch sein muß mit dem pathologischen Prozeß, beweist uns die Tatsache, daß beim Schimmel die Melanoze der Prädilektionsstellen vikariierend für den Pigmentdefekt der übrigen Körperteile

<sup>1)</sup> Das Nähere über das letztere Moment siehe in meiner Melanosarkomatose-Arbeit, S. 52.

decke eintritt. Dieses Kompensationsverhältnis könnte sich bei prinzipiell ungleich gearteten Vorgängen nicht einstellen. Es muß auch in der Epidermis die suprarenale wie die enzymatische Komponente der Melaninproduktion in Wirksamkeit treten. Die Herkunft des Suprarenins findet die gleiche Erklärung wie bei der Melanomarkomatose. Anders die Fermentkörper. Eine Stoffwechselanomalie als Auslösungsmoment schaltet hier natürlich aus. Aber der Umstand, daß diese Zellen embryonal zur Pigmentbildung eingestellt sind, zeigt, daß die enzymatische Wirkung dem physiologischen, ontogenetisch festgelegten Stoffwechsel angehören muß. Es ist dies eine sehr bedeutsame Bestätigung für die oft in der Biologie geäußerte Vermutung, daß wir schließlich das ganze Zelleben auf einen fermentativen Prozeß werden zurückführen können (Verworn<sup>38</sup>).

Das Problem der Hautpigmentierung ist damit zur Entscheidung gekommen, daß der Melaninproduktion eine spezifische, enzymatische Komponente des Zellstoffwechsels zugrunde liegt, die im Zytosplasma Suprarenin in einen schwarzen Farbstoff oxydativ umwandelt. Generell betrachtet, treten im Organismus die Epidermizellen, ihr Äquivalent: das Pigmentepithel der Retina, ihre Abkömmlinge: die Schweißdrüsenepithelien, ferner die Fibroplasten und die Faszikulataepithelien der Nebennierenrinde als Melaninproduzenten auf. Diese Resultate lassen die in neuester Zeit von Wieting und Hamdi<sup>46</sup> aufgestellte These, daß nur ektodermale Elemente zur Melaninpigmentproduktion befähigt wären, als eine irrite erkennen. Für die ontogenetische Entwicklung der Zellen ist dies wohl zutreffend, wie ich oben darlegen konnte. Aber Fibroplasten wie Faszikulataepithelien der Nebennierenrinde können unter gewissen Umständen die Qualitäten einer Pigmentzelle postembryonal als atypische Funktion entwickeln, die freilich für diese Elemente einen schweren Eingriff in ihre Zellorganisation bedeutet, wie es in ihrer proliferativen Entartung zum Ausdruck kommt.

Mit der Kenntnis der Beteiligung des Nebennierensekrets an der Melanogenese werden jene Vorstellungen hinfällig, wie sie

Fürth<sup>10</sup> in das Melaninproblem eingeführt hat. Fürth meint, daß die Entstehung des melanotischen Pigments aus dem Zusammenwirken zweier Enzyme herzuleiten sei, einer Tyrosinase und eines autolytischen Ferments, durch dessen vitale eiweißspaltende Tätigkeit Tyrosin entstände, das dann durch die Oxydase zu Melanin oxydiert werde. Die terminale Nebennierenmelanose beim Schimmel und die experimentellen Prüfungen erbrachten die bindenden Belege dafür, daß das Suprarenin jene aromatische Hydroxylverbindung vorstellt, die durch das Oxydationsferment in Melanin umgewandelt wird. Nur ein enzymatischer Faktor macht sich bei dem Prozeß geltend, und dieser ist lediglich an das melanogene Ferment gebunden, ein Ferment mit oxydativen Eigenschaften.

Einen sehr interessanten, ergänzenden Beitrag zu dem erörterten Chemismus der Epidermispigmentierung liefert wieder die Pathologie und zwar bei der Dourine der Pferde, einer Infektionskrankheit, die in der Art ihres Zustandekommens und ihres ursächlichen Agens und in ihren klinischen Symptomen der Lues der Menschen ganz parallel läuft. Nach der Mitteilung von Schütz bilden sich bei diesem Prozeß an der Vulva, bezw. an dem Präputium der betroffenen Tiere in der Haut kleine Entzündungsherde, in deren Bereich eine Depigmentierung der sonst tiefschwarz gefärbten Epidermis abläuft, so daß in der stark pigmentierten Hautfläche hier und da helle, leicht geschwollene Stellen auftreten. Der Vorgang läßt erkennen, daß hier offenbar unter der Wirkung der durch den infektiösen Prozeß im Gewebe bedingten spezifischen Stoffwechselanomalie die regionären Epidermsepithelien der fermentativen, melanogenen Komponente verlustig gingen. Da die Oberhaut einer ständigen Abschilferung der oberflächlichen Hornlamellen unterliegt, und demzufolge vom Stratum cylindricum her sich immer neue Zellen in dem Stratum germinativum nach oben schieben, so bildet natürlich auch die Melaninproduktion einen dauernden Faktor im Stoffwechsel der Epidermsepithelien. Durch die Dourineerkrankung erfährt dieser eine Störung, unter der, wie wir uns leicht vorstellen können, jenes Enzymmolekül des physiologischen Zellchemismus, das die Synthese des Melaninpigments bewirkt, verloren geht. Das vorhandene Pigment schwindet mit der Verhornung der Epithelien, die nachrückenden Zellen sind in ihrem gestörten biologischen Milieu zur Melaninbereitung nicht mehr eingestellt: Es resultieren bei dem chronischen Verlauf des entzündlichen Prozesses farblose Flecke in der Oberhaut.

Ich möchte nicht schließen ohne einige Ausblicke auf jene anderen Prozesse, deren Pathogenese gleichfalls mit einer Farbstoffspeicherung im Organismus einhergeht. Einmal ist es die Ochronose, bei der ein schwarzbrauner Farbkörper in diffuser

wie in körniger Form — beachte das Analoge in dem Gegensatz zwischen künstlich erzeugtem Melanin und seiner natürlichen Erscheinungsform — spezifischerweise nur den Knorpel imprägniert. Zugrunde liegt eine Stoffwechselstörung, deren Analyse durch Gross und Allard<sup>14</sup> ergeben hat, daß hier die aus dem Tyrosin und Phenylalamin gebildete Homogentisinsäure und die Uroleneinsäure, die normaliter einer weiteren Spaltung unterliegen, nicht mehr abgebaut werden, analog wie beim Diabetiker der Zucker nicht mehr umgesetzt wird. Es tritt also Hemmung bei der Oxydation der genannten Substanzen ein. Gross und Allard haben dann den Farbstoff experimentell zur Kenntnis gebracht, indem sie Knorpel, den sie in farblose Homogentisinsäure einlegten, schwarz gefärbt erhielten. Bedeutsamerweise erscheint bei der als Alkaptonurie charakterisierten Stoffwechselstörung der Ochronose die Intermediärzone der Nebennieren r i n d e dunkler und breiter.

Ein gelber bis braunschwarzer Farbstoff kennzeichnet ferner den unter dem Namen Morbus Addisoni gehenden Symptomenkomplex. Die neueren Untersuchungen haben ergeben, daß das anatomische Bild hier stets einen — häufig durch Tuberkulose bedingten — Untergang beider Nebennieren r i n d e n aufweist. Karakasch eff<sup>47</sup> konnte in seinen unter Marchands Leitung angefertigten „Beiträgen zur pathologischen Anatomie der Nebennieren“ den Nachweis führen, daß die Rindensubstanz wesentlich von Bedeutung beim Morbus Addisonii ist, und daß gerade die Erkrankung der Kortikalis den ganzen Symptomenkomplex nach sich ziehen müsse.

Im Lichte der bei der Melanosarkomatose der Schimmel gewonnenen Erkenntnis von der suprarenalen Komponente der Melaninproduktion tritt die Bedeutung der Nebennieren r i n d e für die Farbstoffspeicherung bei der Ochronose und bei dem M. Addisonii noch mehr in den Vordergrund: es sind in allen drei Fällen Derivate des Tyrosins, die den chromatischen Stoff liefern. Hinsichtlich der Melanose hatte ich a. a. O. schon einmal darauf hingewiesen, daß nach Halle<sup>17</sup> das Suprarenin aus dem Tyrosin über die Stufe des p-Oxyphenyläthylamins gebildet wird. Bei der Ochronose trägt die Homogentisinsäure, auch ein

Abbauprodukt des Tyrosins, den chromophoren Charakter. Freilich ergibt sich hier ein Unterschied in der Art des Reaktionsmechanismus: bei der Melanose handelt es sich um einen oxydativen Vorgang, bei der Ochronose um einen Ausfall der Oxydation, der aber zunächst nicht den Farbkörper zeitigt. Dieser findet erst seine Auflösung bei der Bindung der Homogentisinsäure an albuminoide Substanzen des Knorpelgewebes. Mir deucht, daß auch hier, analog dem melanogenen Ferment, enzymatische Wirkungen vorliegen, um so mehr, als die Quelle der Farbstoffbildung in beiden Fällen Derivate des Tyrosins sind. Es wäre interessant Extrakte von Knorpelgewebe auf ihre Reaktion mit Homogentisinsäure zu prüfen.

Wir können uns nun auf Grund dieser Einblicke in die Pathogenese der Pigmentierungsvorgänge nur vorstellen, daß auch beim M. Addisonii die Farbstoffproduktion nach denselben Prinzipien vor sich geht. Als Basis ist der Untergang der Nebennierenrinde gegeben. Diese Tatsache läßt mich der Vermutung Raum geben, daß hier die chromophoren Ausgangsstoffe sich aus dem mangelnden Abbau des Tyrosins zu Suprarenin herleiten: die Sekretionsstätte ist mit dem Untergang der Faszikulatazellen in der Nebennierenrinde vernichtet. Wir haben wieder pathologische Tyrosin-derivate, wie bei der Ochronose, im Organismus kreisen, deren oxydative Umwandlung in einen dunklen Farbstoff durch besondere Fermente bei dem anatomischen Symptomenkomplex des M. Addisonii unserem Verständnis keine Schwierigkeiten bereiten würde. Auch hier ergeben sich mit diesen Gedankengängen gewisse experimentelle Aufgaben.

Gegenüber der Ochronose und dem M. Addisonii liegt bei der Melanose das auslösende Moment in einem spezifischen Enzym: das fertige Suprarenin wird angegriffen. Bei den beiden Parallelprozessen wird der erste Schritt mit der Störung der Tyrosinspaltung, des Abbaus der chromophoren Muttersubstanz, getan.

Wenn wir einen Überblick über die erhaltenen Resultate anstellen, so ist die Wahrscheinlichkeit eine sehr große, daß es

sich bei allen melanotischen Vorgängen im weiteren Sinne, d. h. da, wo ein schwärzlicher Farbstoff produziert wird, um ein einheitliches, in der Biologie weit verbreitetes Prinzip handelt. Es machten sich wenigstens in den angeführten Fällen die Äußerungen der gleichen chromophoren Muttersubstanz: des Tyrosins, bzw. seiner Derivate geltend. Bei der Melanokarzinomatose der Schimmel bewies die Tatsache, daß lediglich die Faszikulatazellen der Nebenniere, die „Intermediärzone“, die Träger des Pigmentierungsvorgangs sind, daß an der Melanogenese, also auch beim physiologischen Hautpigment, das Suprarenin direkt beteiligt ist. Ochro-nose und Addison wiesen die suprarenale Komponente in anderen Derivaten des Tyrosins auf. Die oxydative Umwandlung dieser Körper auf enzymatischem Wege ist nach den Entdeckungen Bertrands und Bourquelots sichergestellt. Bei der Melanosarkomatose der Schimmel und der Melanose der Kälber gelang es das spezifisch wirksame Ferment nachzuweisen. Damit ergibt sich auch für die anderen Fälle das theoretische Erfordernis der enzymatischen Mitwirkung bei der Farbstoffproduktion. Da es sich hier aber um andere Derivate des Tyrosins, in letzter Linie um einen jeweilig anderen Stoffwechsel handelt, so werden wir natürlich auch für die jeweiligen Fermente eine spezifische Natur annehmen müssen. Speziell bei der Erkenntnis der Melanogenese ergab sich das Resultat, daß nicht das chromaffine System die Pigmententstehung beherrscht, wie es neuerdings Schur und Wiesel<sup>32</sup> ausgesprochen haben, sondern daß sein Erscheinen das Sekret der Nebennieren rinde, speziell der Faszikulatazone, zum Ausgang nimmt.

---

#### Literaturverzeichnis.

1. Albrecht, Eugen, Exper. Untersuch. üb. d. Kernmembran. Beitr. z. pathol. Anat., Herrn Prof. Bollinger zum 60. Geburtstag gewidmet. Bergmann, Wiesbaden, 1903. — 2. Derselbe, Üb. d. Bedeut. myelinogener Subst. im Zelleben. D. pathol. Gesellsch. 1903. — 3. Berdezu Nencki, Üb. d. Farbstoffe d. melanotischen Sarkome. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak., Bd. 20. — 4. Bertrand, Sur la présence simultanée de la caccase et de la

tyrosinase dans le suc de quelques champignons. Comptes rendus d. l. Soc. Biol. Bd. 123, 1896. — 5. Bourquelot, Les ferments oxydants dans les champignons. Comptes rendus d. l. Soc. biol. 1896. — 6. Cone, Claiibell, Z. Kenntn. d. Zellveränderungen in d. normalen u. patholog. Epidermis d. Menschen. Frankf. Ztschr. f. Pathol., Bd. 1. — 7. Ehrmann, Unters. üb. d. Phys. u. Pathol. d. Hautpigments. Vierteljahrsschrift f. Dermat. u. Syph. 1885/86. — 8. Ebden u. Fürth, Üb. d. Zerstörung d. Suprarenins im Organismus. Hofmeisters Beitr., Bd. 4. — 9. Fleimling, Üb. d. Einfluß d. Lichts auf d. Pigmentierung d. Salamanderlarve. Arch. f. mikroskop. Anat., Bd. 48. — 10. Fürth, Physiolog. u. chem. Unters. üb. melanotische Pigmente. Sammelreferat. Ztbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat., Bd. 15, 1904. — 11. Fürth u. Schneider, Üb. tierische Tyrosinases u. ihre Bezieh. z. Pigmentbildung. Hofmeisters Beitr., Bd. 1, 1901. — 12. Fürth u. Jerusalem, Z. Kenntn. d. melanotischen Pigmente u. d. fermentativen Pigmentbildung. Hofmeisters Beitr. Bd. 10, 1907. — 13. Goldschmidt, Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Biol. Ztbl. Bd. 24. — 14. Gross u. Allard, Unters. üb. Alkaptonurie u. Ochronose. D. med. Wschr. 1908. — 15. Gründ, Exper. Beitr. z. Genese d. Epidermispigments. Zieglers Beitr., 7. Suppl. — 16. Gussenbauer, Üb. d. Pigmentbildung in melanotischen Sarkomen u. einfachen Sarkomen d. Haut. Virch. Arch., Bd. 63. — 17. Halle, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 1906. — 18. Hammarskjöld, Lehrb. d. physiol. Chemie. 6. Aufl. — 19. Hertwig, Physiol. Degeneration b. Actinosphaerium Eichhorni. Festschr. f. Haeckel 1904. Jena. — 20. Järisch, Z. Anat. u. Herkunft d. Oberhaut- u. Haarpigments. Arch. f. Dermat. u. Syph. 1891. — 21. Derselbe, Üb. d. Bildung d. Pigments in den Oberhautzellen. Arch. f. Dermat. u. Syph. 1892. — 22. Kaufmann, Lehrb. d. speziellen pathol. Anat. 1907. — 23. Cromay, Einige epitheliale Gebilde in neuer Auffassung. Beitr. z. Pigmentfrage. Dermat. Ztschr. 1897, Bd. 4. — 24. Landois, Z. Kenntn. d. Ochronose. Virch. Arch. Bd. 193. — 25. Lubarsch, Z. Frage d. Pigmentbildung. Anat. Anz., Bd. 13, 1896. — 26. Mierowsky, Üb. d. Ursprung d. melanotischen Pigments d. Haut u. d. Auges. Leipzig, Klinkhardt. 1908. — 27. Neuberg, Z. chem. Kenntn. d. Melanome. Virch. Arch. Bd. 192. — 28. Derselbe Enzymatische Umwandlung von Adrenalin. Biochemische Ztschr., Bd. 8. — 29. Neumann, D. melanämische Pigment. Virch. Arch., Bd. 116. — 30. Post, Üb. normale u. pathol. Pigmentierung d. Oberhautgebilde. Virch. Arch., Bd. 135. — 31. Rössle, D. Pigmentierungsvorgang im Melanosarkom. Ztschr. f. Krebsforschung, Bd. 2. — 32. Schur u. Wiesel, Beitr. z. Physiol. u. Pathol. d. chromaffinen Systems. Pathol. Gesellsch., 11. Tagung. — 33. Schmidt, Üb. d. Hämosiderin u. Melanin. Virch. Arch., Bd. 163. — 34. Schwalbe, Üb. d. Farbenwechsel winterweißer Tiere. Ein Beitr. z. Haarwechsel u. z. Frage nach d. Herkunft d. Hautpigmente. Morphol. Arbeiten, herausgeg. v. G. Schwalbe, Bd. 2. — 35. Staffel, Z. Genese d. Hautpigments. D. pathol. Gesellsch. 190. — 36. Trambusti, Üb. d. Bau u. d. Teilung d. Sarkomzellen. Zieglers Beitr., Bd. 22. — 37. Unna, D. Pigment d. Haut. Monatsh. f. prakt. Dermat., Bd. 8. 1889. — 38. Verworn, Allg. Physiol., 4. Aufl. — 39. Zimmerman, Üb. d. Teilung d. Pigmentzellen. Arch. f. mikroskop. Anat., Bd. 36. — 40. Derselbe, Studien üb. Pigmentzellen. Arch. f. mikroskop. Anat., Bd. 41. — 41. Jaeger, D. Melanosarkomatose d. Schimmelpferde. Virch. Arch., Bd. 198. — 42. Langhans, Ein Fall von Melanosarkom. Virch. Arch., Bd. 41. — 43. Ribbert, Üb. d. Melanosarkom. Zieglers Beitr., Bd. 21. — 44. Wieting u. Hamdi, Üb. d. physiol. u. pathol. Melaninpigmentierung. Zieglers Beitr., Bd. 42. — 45. Karakascheff, Beitr. z. pathol. Anat. d. Nebennieren. Zieglers Beitr., Bd. 36.