

Aus der Abteilung für Gewebeforschung des Max-Planck-Instituts für vergleichende Erbbiologie und Erbpathologie, Berlin-Dahlem

## Über schwache geschwulsterzeugende Wirkung von Naphthalin und Benzol

Von  
ELSE KNAKE

Mit 19 Textabbildungen

(Eingegangen am 27. März 1956)

In der experimentellen Krebsforschung gelten die einfachsten aromatischen Kohlenwasserstoffe Benzol , Naphthalin , Anthracen  und Phenanthren  als nicht-krebs-erzeugend (DANNENBERG 1954, PULLMAN). Doch kürzlich haben DRUCKREY und SCHMÄHL für Anthracen eine schwach cancerogene Wirkung nachgewiesen. Naphthalin war auch in ihren Untersuchungen wirkungslos.

Wir selbst interessierten uns für Naphthalin, weil es einige biologisch interessante Wirkungen hat. So erzeugt es bei Pflanzen Mitosestörungen wie Pluripolarität und aberrierende Chromosomen (GAVAUDAN). An Amphibienkeimen induzierte es Nervengewebe (WADDINGTON). Bei erwachsenen Tieren erzeugt es Linsentrübungen; Kaninchen, denen täglich 1—2 g Naphthalin in den Magen gebracht wurde, bekamen binnen 4 Wochen einen reifen Katarakt (KLINGMANN).

Darum untersuchten wir zu einer Zeit, als das noch nicht systematisch geschehen war, ob Naphthalin etwa Krebs erzeugt. Da unsere damaligen, nicht veröffentlichten Ergebnisse einen interessanten Befund brachten, ergänzten wir sie mit anderer Versuchsanordnung und teilen sie jetzt zusammen mit. Bei dem ersten Versuch (1942) spritzten wir Naphthalin in Sesamöl Ratten subcutan; im zweiten Versuch (begonnen 1952) pinselten wir es in Benzol gelöst bei Mäusen auf die Nackenhaut.

Dazwischen liegt ein weiterer Versuch, den wir 1944 im KWI für Biochemie begannen. Doch gingen Versuchstiere und histologische Präparate in den Wirren der Kapitulation verloren. Auch von dem ersten Versuch, der noch an der Chirurgischen Universitätsklinik Berlin (Geh. Rat SAUERBRUCH) ausgeführt und am KWI für Biochemie vollendet wurde, blieben nur die gefärbten Präparate erhalten. Alles Paraffin- und Formolmaterial ging verloren, so daß einige Teilfragen, die wir gern weiter geklärt hätten, offen bleiben.

## I. Versuch: Naphthalin in Sesamöl subcutan bei Ratten

### a) Versuchsanordnung

Weisse Ratten, ursprünglich Händlerratten, die wir seit 3—4 Generationen in Bruder/Schwester-Inzucht selbst gezogen hatten, wurden innerhalb der Familien in Kontroll- und Versuchsgruppe unterteilt. Die Versuchsgruppe (Naphthalin in Sesamöl) und die Kontrollgruppe (Sesamöl allein) umfaßten je 38 Ratten. Aber nur 34 Ratten überlebten die Injektionen von Naphthalin in Sesamöl und nur 32 Ratten die Injektionen von Sesamöl allein.

Zur gleichen Zeit beobachteten wir 101 unbehandelte Ratten aus der gleichen Zucht (KNAKE 1943, Tabelle 1, Gruppe III und IV).

In beiden Injektionsgruppen wurden den Ratten 7 Injektionen der im Wasserbad sterilisierten Lösung subcutan in die linke Flanke an eine mit Carbolfuchsin gekennzeichnete Stelle gegeben. Die Injektionen der körperwarmen Flüssigkeit erfolgten in Abständen von etwa 14 Tagen und erstreckten sich also über etwa  $3\frac{1}{2}$  Monate. Die Versuchsgruppe erhielt pro dosi 50 mg Naphthalin je 100 g Körpergewicht als 15%ige Lösung in Sesamöl. Es erhielten also Ratten der Versuchsgruppe bei einem Körpergewicht von beispielsweise 200 g insgesamt 0,7 g Naphthalin in insgesamt 4,7 cm<sup>3</sup> Sesamöl. Die Kontrollgruppe erhielt ebenso viel Sesamöl ohne Naphthalin.

Das Naphthalin war von Dr. DANNENBERG bei Professor BUTENANDT freundlicherweise auf seinen Reinheitsgrad geprüft und folgendermaßen beurteilt worden: „Die Prüfung des Naphthalin puriss. (Schering-Kahlbaum) wurde mit Hilfe des Fluoreszenzchromatogramms durchgeführt. Ein fluoreszierender Kohlenwasserstoff konnte nicht nachgewiesen werden, dagegen wurde eine gelblich fluorescierende, nach ihrem Verhalten gegenüber Aluminiumoxyd phenolartige Substanz nachgewiesen, die zu etwa 0,1% im Naphthalin enthalten ist. Im Spektrum konnten vor und nach der chromatographischen Reinigung keine wesentlichen Unterschiede festgestellt werden, der Schmelzpunkt war von 74° auf 75° gestiegen (Mikroschmelzpunkt nach KOFLER). Das verwendete Naphthalin kann daher als weitgehend rein bezeichnet werden.“

### b) Befunde

Die Injektionen wurden ohne greifbare Beschwerden vertragen, Freßlust und Ernährungszustand blieben zunächst unverändert. Allerdings sahen die Tiere beider Gruppen schon ein Jahr nach Versuchsbeginn sehr alt und struppig aus. Mehrmals traten submandibuläre Speicheldrüsenabscesse auf. Der Ernährungszustand wurde dürftig. Doch muß man dabei auch die Kriegsumstände mit ihren schlechten Bedingungen berücksichtigen. Charakteristische Allgemeinveränderungen haben wir weder in der Sesamölgruppe noch in der Naphthalin-Sesamölgruppe gesehen. Insbesondere fehlten bei unserer Dosierung die als Naphthalinvergiftung beschriebenen Symptome wie rascher Blutzerfall (KLINGMANN) mit Hämosiderose in Leber und Niere (GHIZOV und Mitarbeiter),

Hornhaut- und Linsentrübungen (FÜHNER). Vielleicht waren in der Naphthalingruppe ungewöhnlich viel Todesfälle an Pneumonie mit serös-fibrinöser Pleuritis; doch könnten sie auch endemisch begründet gewesen sein. Ebenso schreiben wir die vielen Cystitiden, die manchmal mit Harnblasenpapillomen verbunden waren, nicht den Injektionen zu, sondern eher den unter Ratten weit verbreiteten, nur mikroskopisch sichtbaren Blasenparasiten, die wir oft gesehen haben.

Die Tabelle 1 bringt eine Übersicht über die Sterberate von Versuchs- und Kontrolltieren.

Tabelle 1. I. Versuch, Überlebensdauer und Tumorverteilung

| Zeit                    | Naphthalin in Sesamöl |                        |  | Sesamöl    |                        |                             |
|-------------------------|-----------------------|------------------------|--|------------|------------------------|-----------------------------|
|                         | überlebend            | inzwi-schen ge-storben | darunter Tumor   | überlebend | inzwi-schen ge-storben | darunter Tumor              |
| während der Injektionen | 34                    | 4                      |  | 32         | 6                      |                             |
| nach 1 Monat            | 30                    | 4                      | Fo 3487 mit intravasalem Geschwulstpfropf neben Oleom Fo 3493 mit Metastase in Oleom | 30         | 2                      |                             |
| nach 2 Monaten          | 29                    | 1                      | Fo 3495 mit Metastase in Oleom   | 28         | 2                      |                             |
| nach 3 Monaten          | 28                    | 1                      |  | 27         | 1                      |                             |
| nach 4 Monaten          | 25                    | 3                      | Fo 3515 ohne Metastasen  | 24         | 3                      |                             |
| nach 5 Monaten          | 22                    | 3                      | Fo 3516 ohne Metastasen  | 21         | 3                      |                             |
| nach 6 Monaten          | 21                    | 1                      |  | 17         | 4                      |                             |
| nach 7 Monaten          | 17                    | 4                      |  | 15         | 2                      |                             |
| nach 8 Monaten          | 12                    | 5                      |  | 15         | —                      |                             |
| nach 9 Monaten          | 10                    | 2                      |  | 14         | 1                      | Fibro-adenoma mammae        |
| nach 10 Monaten         | 8                     | 2                      |  | 14         | —                      |                             |
| nach 11 Monaten         | 6                     | 2                      |  | 12         | 2                      | Fo 3554 ohne Metastasen     |
| nach 12 Monaten         | 5                     | 1                      |  | 11         | 1                      |                             |
| nach 13 Monaten         | 3                     | 2                      |  | 9          | 2                      |                             |
| nach 14 Monaten         | 1                     | 2                      |  | 6          | 3                      |                             |
| nach 15 Monaten         | 1                     | —                      |  | 5          | 1                      |                             |
| nach 16 Monaten         | 1                     | —                      |  | 4          | 1                      |                             |
| nach 17 Monaten         | 0                     | 1                      | Fo 3623 Fibro-adenoma mammae   | 4          | 0                      |                             |
| nach 18 Monaten         |                       |                        |  |            |                        | 4 überlebende Tiere getötet |

Danach unterscheiden sich in den ersten 7 Monaten nach Abschluß der Injektionen die Todesraten von Versuchs- und Kontrolltieren nicht. Von da an werden die Todesfälle in der Versuchsgruppe häufiger. Ein Jahr nach Abschluß der Injektionen leben nur noch 5 Naphthalintiere, dagegen noch 12 Kontroll-Öltiere.

An den Einspritzstellen bildeten sich sog. Oleome; ob das Sesamöl Naphthalin enthielt oder nicht, spielte dabei keine Rolle. Sie waren zuerst bis haselnußgroß und teigig; erst von der 2. Hälfte der Injektionen an blieben die Oleome auch zwischen den Injektionen und darüber hinaus bestehen. Später waren sie etwa linsengroß, flach und knorpel-fest. Anderthalb Jahre nach Versuchsbeginn war nur noch bei etwa der Hälfte der überlebenden Tiere ein Oleom auffindbar.

In der Versuchsgruppe (Naphthalin in Sesamöl) traten 5 maligne und 1 benigne Geschwulst auf. In der Kontrollgruppe (Sesamöl) entstand 1 maligner und 1 benigner Tumor.

Wir fanden in der Versuchsgruppe die folgenden malignen Geschwülste: ein Uterussarkom mit Metastasen, zwei metastasierende und ein nicht-metastasierendes Lymphosarkom ausgehend von Mesenteriallymphknoten im Ileocolonwinkel und ein nicht-metastasierendes Lymphosarkom der Thymusdrüse. Die gutartige Geschwulst der Versuchsgruppe (Naphthalin in Sesamöl) war ein Fibroadenoma mammae auf der Körperseite, in die injiziert worden war. Als es erst haselnußgroß war, 11 Monate nach Abschluß der Injektionen und 6 Monate vor dem Tode der Ratte, fühlte man etwa 1,5 cm ventral und caudal von dem Tumor das Oleom. Später wurde es nicht mehr aufgefunden. Die Trägerin des Fibroadenoms starb erst 17 Monate nach Abschluß der Injektionen.

Die maligne Geschwulst in der Kontrollgruppe (Sesamöl ohne Naphthalin) war ein nicht-metastasierendes Lymphosarkom der Thymusdrüse. Die ♀ Ratte starb im 11. Monat nach der Injektion. Die Kontrollgruppe brachte außerdem einen gutartigen Tumor, ein Fibroadenoma mammae auf der rechten Körperseite, in die nicht injiziert worden war. Es ulcerierte und schmolz jauchend ein, was man bei diesen Geschwülsten nicht selten beobachten kann. Seine Trägerin starb im 9. Monat nach Abschluß der Injektionen an der Infektion.

### c) Protokolle

**Oleome.** Die lokalen Befunde an den Injektionsstellen, die sog. Oleome, zeigen mikroskopisch keinen Unterschied, ob nun Naphthalin/Sesamöl oder Sesamöl allein eingespritzt wurde. In den frühen Oleomen ist das lockere Bindegewebe zwischen Hautmuskel und Bauchwandmuskulatur auseinandergedrängt. Die entstandenen Spalträume sind optisch leer. Man findet auch keine Zellen, die die injizierte Substanz aufgenommen haben könnten. Später, wenn schon mehrere Injektionen erfolgt sind, umschließen aufgesplittete hyalinisierte kollagene Fasern ein vielkammriges System von Hohlräumen. Seine Wände und die nächste Um-

gebung sind dann leicht hyperämisch, die Lymphgefäß sind erweitert und ihre Endothelien geschwollen, die Fibrocyten haben vermehrten Turgor und erscheinen verjüngt. Jetzt umschließen die Kammerwände aus leicht gequollenen Fasern erstaunlich oft kleine Nervenästchen und enthalten öfter kleine Beete von epithelialartig aneinanderliegenden Histiocyten mit etwas geschwollenen Zelleibern. Einige

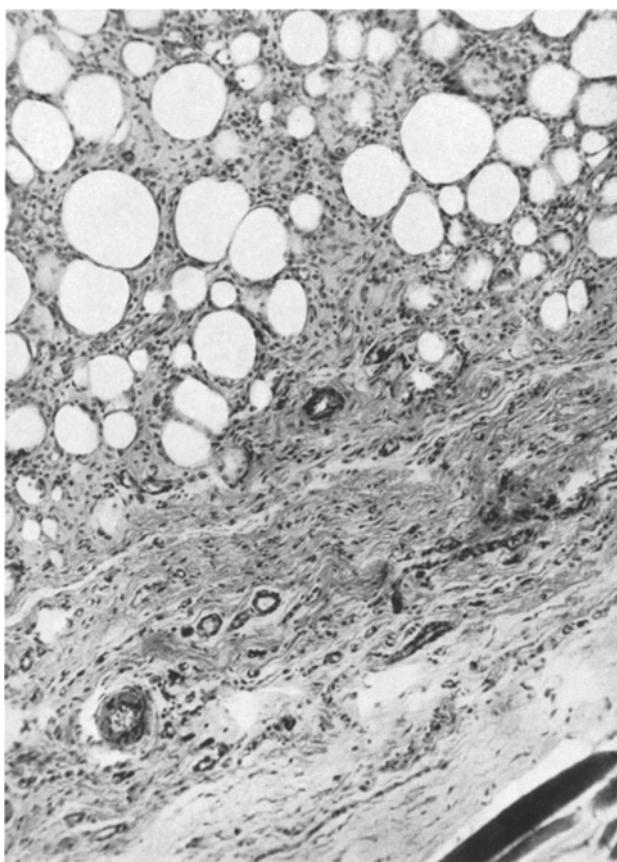


Abb. 1. Fo 3496, 186fache Vergr. Oleom (rechts unten Körpermuskulatur)

werden zu wabigen Schaumzellen mit kleinen runden zentralen Kernen. Andere chronische Entzündungszellen treten zahlenmäßig zurück; niemals besteht mehr als höchstens eine leichte Rundzellinfiltration. Mehrkernige Riesenzellen sind sehr selten und die wenigen Exemplare ganz und gar nicht üppig (Abb. 1). Später werden Schaumzellen selten, und die Entzündungszellen verschwinden fast restlos. Das Oleom wird anämisch und verödet hyalin.

*Geschwülste der mit Naphthalin-Sesamöl behandelten und der Kontrollratten*

**1. Weiße ♀ Ratte 114 (Fo 3487), tot 16 Tage nach der letzten (7.) Naphthalin-Sesamölinjektion.**

In Bauch- und Brusthöhle viel flüssiges Blut. Im Abdomen links unten bei nahe hühnereigroßer Knoten, in dem Uteruskörper und linkes Horn aufgegangen sind und der die linke Niere und Nebenniere nach außen gedrängt und die linke Nebenniere umwachsen hat, von weicher Konsistenz und hämorrhagischer Schnittfläche.

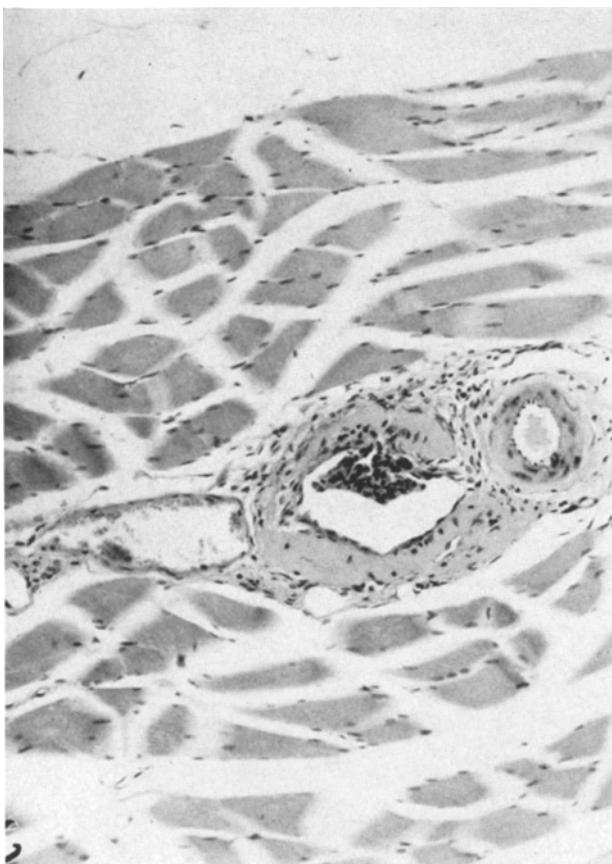


Abb. 2. Fo 3487, 172fache Vergr. Körpermuskulatur unter dem Naphthalin-Oleom. Geschwulstpfropf im Lymphgefäß zwischen Vene (Erythrocyten) und Arterie

Multiple hirsekorngroße weiße Knötchen in beiden Lungen und auf der Pleura; haselnußgroßer Knoten paravertebral rechts am oberen Nierenpol; flächige Infiltration des Zwerchfells, geringere Infiltration des Pankreas.

*Oleom:* enthält makroskopisch rahmigen weißen dünnflüssigen Inhalt. *Mikroskopisch:* großes vielkammriges Oleom zwischen Hautmuskel und Bauchwandmuskulatur. In einzelnen Kammern Beete von histiocytären Zellen. In den Scheidewänden des Oleoms viele ganz zartwandige, mit Erythrocyten gefüllte Gefäßchen. In der unmittelbar dem Oleom anliegenden Bauchwandmuskulatur stecken *Geschwulstpfropfe* in zwei Gefäßchen, von denen das eine mit dickerer bindegewebiger Wand ohne Elastica zwischen Arteriole und Vene verläuft (Abb. 2) und

das andere dünnwandig capillär ist. Beide Geschwulstpfropfe sind mit der Gefäßwand fest verwachsen und füllen ungefähr ein Drittel des im übrigen leeren Lumens aus. Auf der übrigen Peripherie ist das Endothel wohlerhalten *in situ*.

*Diagnose:* Sehr faserarmes, stellenweise myxomatös erscheinendes Spindelzell-sarkom des Uterus mit zahlreichen Blutungen, partiell eitrig eingeschmolzen (Abb. 3); mit Metastasen (Abb. 4). In 2 Gefäßen in der Körpermuskulatur unmittelbar unter dem Naphthalin-Oleom ein mit der Wand verwachsener Geschwulst-pfropf (Abb. 2).

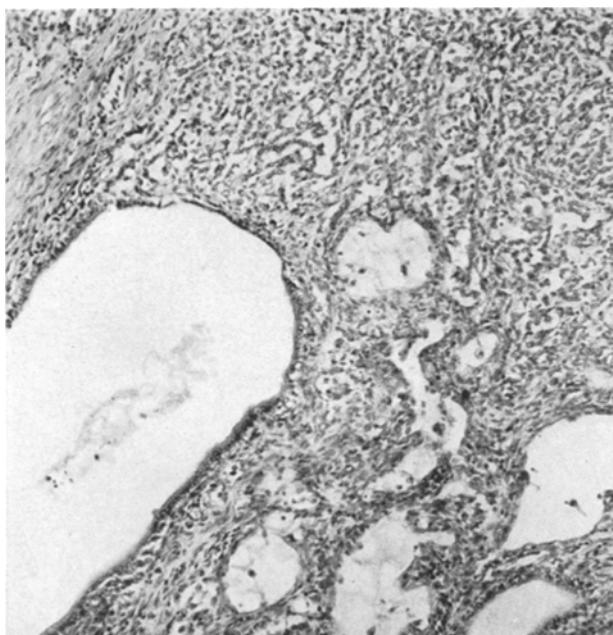


Abb. 3. Fo 3487, 120fache Vergr. Primärtumor zu dem in Abb. 2 dargestellten intravasalen Geschwulstpfropf

(*Anmerkung:* Da alle Blöcke dieses Versuches verlorengegangen (s. S. 141), können wir die Metastase selbst, von der diese Emboli oder Thromben ausgehen müssen, nicht mehr nachweisen. Wir haben nur 1 Objektträger mit 3 Schnitten behalten. Es fehlt uns dadurch auch die Möglichkeit, die feinere histologische Beschaffenheit dieses sehr weichen Sarkoms durch Spezialfärbungen zu klären.)

**2. Weiße ♂ Ratte 119 (Fo 3493), tot 4 Wochen nach der letzten (7.) Injektion von Naphthalin-Sesamöl.**

Im Bauch- und Brustraum viel flüssiges Blut. Im Mesenterium des Ileocolonwinkels ein mehr als fingerdicker Gewebsstrang mit grobhöckriger Oberfläche und blauschwarzer Ober- und Schnittfläche (Primärtumor). Zahlreiche klein-knotige Metastasen auf Serosa und Peritoneum. Linke Nebenniere aufgegangen in einem haselnußgroßen Knoten von ähnlicher Beschaffenheit wie der Primärtumor. Unterhalb beider Nieren erbsengroßer und kleinerer Geschwulstknoten, links im Zerfall. Thymus gut haselnußgroß, grobknotig, von normaler Farbe, von Herz und Lunge anscheinend gut abgegrenzt.

*Oleom.*: makroskopisch feingekammert. Mikroskopisch wie die schon beschriebenen Oleome gebaut. In dem feingekammerten Teil Metastase des Lymphosarkoms (Abb. 5 und 6).

*Diagnose:* großzelliges Lymphosarkom, primär in Mesenteriallymphknoten des Ileocolonwinkels, mit Metastasen, auch im Naphthalin-Oleom.

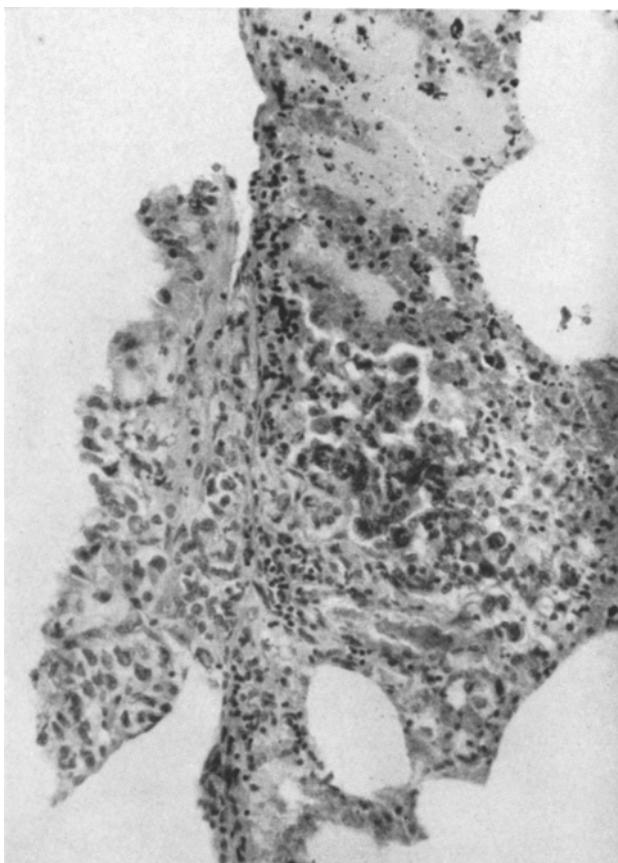


Abb. 4. Fo 3487, 228fache Vergr. Lungenmetastase, teilweise der Pleura aufsitzend, des in Abb. 2 und 3 dargestellten Uterussarkoms

### 3. Weiße ♀ Ratte 121 (Fo 3495), tot 6 Wochen nach letzter (7.) Injektion von Naphthalin-Sesamöl.

In Bauchhöhle und Brusthöhle viel flüssiges Blut. Im Mesenterium des Ileocolonwinkels walnußgroßer grobhöckeriger Tumor von weicher Konsistenz und blauroter Oberfläche und Schnittfläche. Thymus und oberer Teil der linken Lunge voneinander untrennbar aufgegangen in zerfallenem hämorrhagischen Gewebe. Im Pankreas zwei fragliche Nebenmilzen (histologisch Metastasen).

*Oleom.* Wie auf S. 144 f. beschrieben, mit eingeschlossenen Nervenästchen. Eine zwickelförmige 2—3 mm breite Scheidewand zwischen den Waben besteht aus Tumorgewebe (Abb. 7). Auch in anderen Waben sind Sarkomzellen angesiedelt, ebenso im feingekammerten Teil des Oleoms (Abb. 8).

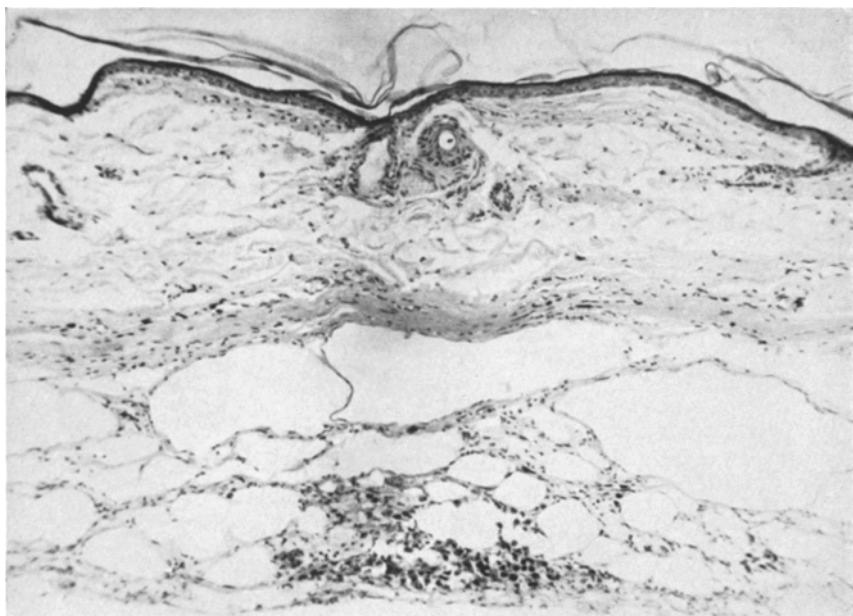


Abb. 5. Fo, 3493, 132fache Vergr. Naphthalin-Oleum mit Metastase bei Lymphosarkom primär in Mesenteriallymphknoten

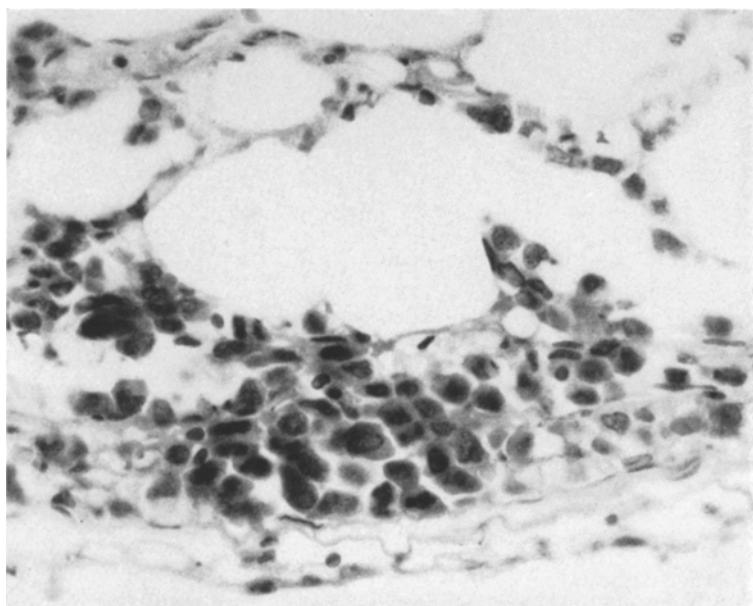


Abb. 6. Fo 3493, 504fache Vergr. Stärkere Vergrößerung aus Abb. 5

*Diagnose:* großzelliges Lymphosarkom ausgehend von Mesenteriallympatknoten des Ileocolonwinkels, mit Metastasen, auch im experimentellen Naphthalin-Oleom.

**4. Weiße ♂ Ratte 128 (Fo 3515), tot 3 $\frac{1}{2}$  Monate nach letzter (7.) Injektion von Naphthalin-Sesamöl.**

Ausgedehnte alte und frische serofibrinöse Pleuritis und Pneumonie, Exsudat leicht blutig. Im Bauchraum viel trübes Exsudat. Fast walnußgroßer, schmutzig



Abb. 7. Fo 3495, 30fache Vergr. Naphthalin-Oleom mit Metastase bei Lymphosarkom primär in Mesenteriallympatknoten

blaugrüner Knoten im Mesenterium des Ileocolonwinkels, der sich als fingerdicker Strang fortsetzt. Keine Metastasen.

*Spritzstelle:* kein Oleom mehr zu finden (infolgedessen Spritzstelle nicht genau zu lokalisieren und nicht histologisch untersucht).

*Diagnose:* großzelliges polymorphzelliges Lymphosarkom ausgehend von Mesenteriallympatknoten, ohne Metastasen.

**5. Weiße ♀ Ratte 132 (Fo 3516), tot 5 Monate nach der letzten (7.) Injektion von Naphthalin-Sesamöl.**

Oberer und vorderer Teil der Brusthöhle ausgefüllt von gut walnußgroßem Knoten von derber Konsistenz und weißlicher Farbe, der mit der Thoraxwand teilweise fest verlötet ist. — Keine Metastasen.

*Injektionsstelle:* nicht genau zu lokalisieren, da kein Oleom mehr vorhanden. Infolgedessen nicht histologisch untersucht.

*Diagnose:* Lymphosarkom der Thymusdrüse; keine Metastasen.

**6. Weiße ♀ Ratte 182 (Fo 3623), tot 17 Monate nach der letzten (7.) Naphthalin-Sesamöl-injektion.**

In der linken Flanke, medial und hinter der Vorderextremität hühnereigroßer subcutan gelegener, mit der Haut auf der Unterlage verschieblicher Tumor von sehr derber Konsistenz. Haut darüber intakt, kaum behaart, sehr dünn. Schnittfläche glänzend weiß bis rosa, mit knölligem Aufbau.

*Diagnose:* Fibroadenoma mammae.

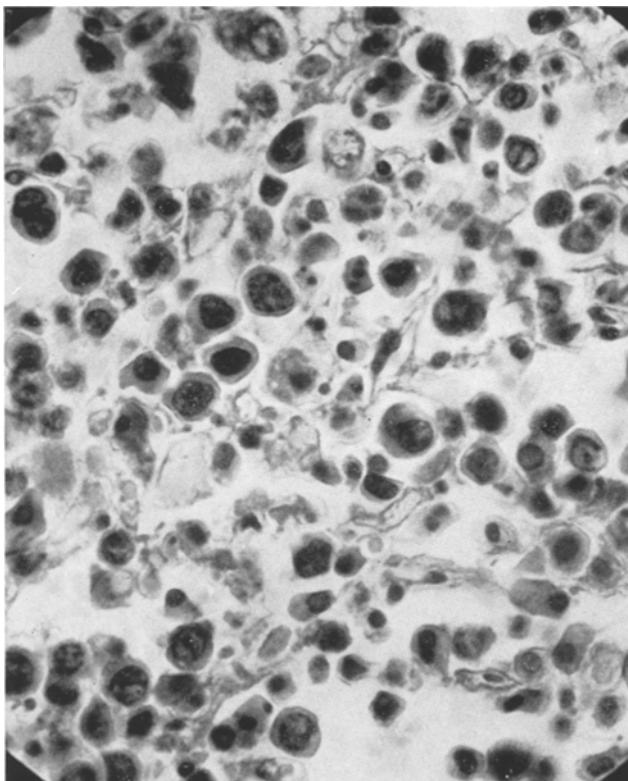


Abb. 8. Fo. 3495, 574fache Vergr. Stärkere Vergrößerung aus der in Abb. 7 dargestellten Metastase im Naphthalin-Oleom

**7. Weiße ♀ Ratte 187**, tot 9 Monate nach Abschluß der 7. Injektion von Sesamöl (kein Naphthalin!).

Kranial und medial vom rechten Hüftgelenk ursprünglich walnußgroße, sehr derbe, subcutane Geschwulst, die bis auf einen kleinen Rest jauchend eingeschmolzen ist. — Septische Milzerweichung.

*Diagnose:* Zustand nach Einschmelzung eines Fibroadenoma mammae.

**8. Weiße ♀ Ratte 166 (Fo 3554)**, tot 11 Monate nach letzter (7.) Sesamöl-injektion. (Kein Naphthalin!).

Thymus und oberer linker Lungenlappen sind untrennbar in einem von der Thoraxwand gut abgegrenzten markigen glasig-weißlichen Tumor aufgegangen. Keine Metastasen.

*Infektionsstelle* nicht genau zu lokalisieren, da kein Oleom mehr fühlbar. Infolgedessen nicht histologisch untersucht.

*Diagnose:* Lymphosarkom der Thymusdrüse, keine Metastasen.

Bei 101 *gänzlich unbehandelten Ratten* der gleichen Zucht beobachteten wir 2 maligne Geschwülste, nämlich bei ♂ 641 ein Lymphoblastensarkom im Mesenteriallymphknoten mit Metastasen; und bei ♂ 969 ein Adenocarcinom der Lunge, ohne Metastasen (KNAKE 1943, S. 242 und 249).

## II. Versuch: Naphthalin in Benzol auf die Nackenhaut von Mäusen aufgetragen

### *a) Versuchsanordnung*

Dasselbe Naphthalin, das im Institut von Professor BUTENANDT auf seinen Reinheitsgrad geprüft worden war, wurde in 0,5%iger Lösung in Benzol verwendet.

Es wurden 25 Inzuchtmäuse des von Dr. HACKMANN stammenden Inzuchtstammes SW (s. unten) damit behandelt, die nacheinander in 7 Gruppen in den Versuch genommen wurden. Als Lösungsmittelkontrolle zur Abgrenzung der Naphthalinwirkung wurden 21 Mäuse des gleichen Stammes nur mit Benzol gepinselt, die durch ihre Ergebnisse die Bedeutung eines selbständigen Versuchs bekamen (s. unten, Versuch III). Beiden Versuchsanordnungen stand eine sehr große Zahl von unbehandelten, spontan gestorbenen Mäusen des gleichen Inzuchttriebes SW zur Kontrolle gegenüber (s. unter IV, S. 167). Bei 20 solchen unbehandelten Mäusen untersuchten wir außerdem die Nackenhaut histologisch (s. unter III d, S. 159).

Es wurde jeweils einmal entgegen der Richtung des Haarwuchses mit einem in die Flüssigkeit getauchten Glasstab über die Nackenhaut gestrichen. In den Versuchsgruppen I und II (die den Tumor Fo 6295 enthalten) erfolgte die sog. Pinselung mit Naphthalin-Benzol in den ersten drei Wochen an allen Werktagen, von da an 2mal wöchentlich bis zum spontanen Tode der Tiere. Bei den übrigen Versuchsgruppen III bis VII, wurde von vornherein 2mal wöchentlich bis zum spontanen Tode gepinselt.

Die Behandlung mit Naphthalin-Benzol wurde gut vertragen. Freßlust, Munterkeit und Aussehen wurden nicht beeinträchtigt. Die Mäuse ließen sich gern mit dem Glasstab bestreichen; während sie bei den ersten Malen, solange ihnen der Versuch neu war, versuchten, fortzulaufen, hielten sie bald ganz still.

### *b) Befunde*

Wie die Tabelle 2 zeigt, überlebten 14 von 25 Naphthalin-Benzolmäusen die Behandlung mehr als 1 Jahr und 9 Mäuse länger als 1½ Jahre.

An der Pinselstelle fiel sogar bei den Mäusen der Versuchsgruppen I und II, die in den ersten 3 Wochen 6mal wöchentlich mit Naphthalin-Benzol bestrichen worden waren, das Haar erst 1—2 Monate nach Versuchsbeginn aus oder brach ab. Die Haut war dabei glatt, trocken und

Tabelle 2. Versuch II und III, Überlebensdauer und Tumorverteilung

| Monate nach Versuchsbeginn | Versuch II, Naphthalin in Benzol |                               |   | Versuch III, Benzol |                               |                  |
|----------------------------|----------------------------------|-------------------------------|---|---------------------|-------------------------------|------------------|
|                            | überlebend                       | inzwischen gestorben (Gruppe) | darunter Tumoren  | überlebend          | inzwischen gestorben (Gruppe) | darunter Tumoren |
| 2                          | 24                               | 1 (III)                       |   |                     |                               |                  |
| 3                          | 23                               | 1 (V)                         |   |                     |                               |                  |
| 5                          |                                  |                               |   |                     |                               |                  |
| 6                          | 22                               | 1 (VII)                       | Fo 6282, Sarkom in Thymusdrüse ohne Metastasen  |                     |                               |                  |
| 7                          | 20                               | 2 (II)                        |   |                     |                               |                  |
| 8                          | 18                               | 2 {1mal I<br>1mal VII}        |   |                     | 14                            | 1 (I)            |
| 9                          | 17                               | 1 (VII)                       |   |                     |                               |                  |
| 11                         | 16                               | 1 (VI)                        |   |                     |                               |                  |
| 12                         | 14                               | 2 (2mal I)                    |   |                     |                               |                  |
| 13                         |                                  |                               |   |                     |                               |                  |
| 14                         | 13                               | 1 (IV)                        | Fo 6371, generalisierte lymphatische Leukämie mit Hautmetastase   |                     |                               |                  |
| 15                         | 12                               | 1 (III)                       |   |                     |                               |                  |
| 16                         | 11                               | 1 (III)                       |   |                     |                               |                  |
| 17                         | 9                                | 2 {1mal VI<br>1mal VII}       | Fo 6786, generalisierte Leukämie, aber nicht in Haut  |                     |                               |                  |
| 19                         | 8                                | 1                             |   |                     |                               |                  |
| 20                         | 6                                | 2 (2mal VII)                  |   |                     |                               |                  |
| 21                         | 5                                | 1 (VII)                       | Fo 7255, generalisierte Leukämie, aber nicht in Haut.<br>3 Lungenadenome (präcanceröse Veränderung in Haut durch Benzol.) |                     |                               |                  |
| 22                         | 4                                | 1 (II)                        | Fo 6295, generalisierte Leukämie mit solider Hautmetastase.<br>Lungenadenom   |                     |                               |                  |
| 24                         | 3                                | 1 (III)                       |   |                     |                               |                  |
| 26                         | 2                                | 1 (V)                         | Fo 7261, Lungenadenom   |                     |                               |                  |
| 27                         | 1                                | 1 (III)                       | Fo 6953, gutartiges Hypernephrom  |                     |                               |                  |
| 29                         | 0                                | 1 (V)                         |   |                     |                               |                  |

rosa, ohne Schorfe. Kurze Haare wuchsen nach, fielen wieder aus, wuchsen nach und so fort. Erst nach etwa  $1\frac{1}{2}$  Jahre dauernder Behandlung wurde bei vielen Mäusen die Nackenhaut endgültig kahl, glänzend und papierdünn, dabei etwas schmutzig rosa. Manchmal schuppte sie ein wenig oder war etwas borkig. Gelegentlich war sie ganz leicht höckrig, aber nicht mehr als mit bloßem Auge eben sichtbar. Makroskopisch wahrnehmbare Geschwüre oder Geschwülste entstanden an der Pinselstelle nicht.

Zwischen der mit Benzol-Naphthalin und der mit Benzol allein bestrichenen Nackenhaut bestand kein Unterschied. Die Veränderungen, die man als Atrophie und Sklerose der Epidermis zusammenfassen kann, soweit sie nicht mikroskopische Zeichen malignen Wachstums tragen, werden bei den Protokollen des Benzolversuchs mitgeteilt (s. unter III d S. 161 ff.).

Einmal zeigte sich in der Nackenhaut eine präcanceröse Veränderung (Fo 7255), außerdem mehrmals im Wesen gleiche, aber dem Grade nach noch geringfügigere Veränderungen. Auch diese beschreiben wir zusammen mit den durch Benzol allein ausgelösten Veränderungen, da auch sie offensichtlich nicht auf das Naphthalin, sondern auf die Benzoleinwirkung zurückgehen (S. 164 ff.).

Bei den mit Naphthalin-Benzol bestrichenen Mäusen fanden sich keine charakteristischen Allgemeinveränderungen.

Wir beobachteten unter den 25 Versuchsmäusen (Naphthalin-Benzol) 4 mal lymphatische Leukämie und 1 nicht-metastasierendes Lymphosarkom der Thymusdrüse, ferner 4 benigne Tumoren, nämlich 3 mal Lungenadenome, wovon eins multipel auftrat, und ein Hypernephrom.

Alle Geschwülste entstanden sehr spät, viel später als bei den mit Naphthalin-Sesamöl behandelten Ratten. Das Tier mit dem nicht-metastasierenden Lymphosarkom starb 6 Monate nach Versuchsbeginn, die 4 Mäuse mit lymphatischer Leukämie erst nach 14—22 Monate dauerndem Versuch. Die gutartigen Geschwülste fanden wir bei Mäusen, die 21—27 Monate nach Versuchsbeginn starben.

### c) Protokolle

Auch histologisch fehlten charakteristische Allgemeinveränderungen des Organismus bei den mit Naphthalin-Benzol gepinselten Mäusen. Vielleicht sahen wir Nephrosen etwas häufiger als sonst, Hämaturen fanden wir nicht.

Wir beobachteten folgende Tumoren, geordnet nach dem Tod der betreffenden Mäuse mit fortschreitender Versuchsdauer:

**1. ♀ Maus, Versuchsgruppe VII/1 (Fo 6282), tot nach 6 Monate dauernder Behandlung mit Naphthalin-Benzol, 9 Monate alt.**

Obere Thoraxapertur von glockenförmigem, markigen, weißen Gebilde von etwa 0,7 cm Längsdurchmesser ausgefüllt, das die Thymusdrüse ersetzt hat und

von Thoraxwand, Herz und Lungen gut abgegrenzt zu sein scheint. Untere Mediastinalwand leicht verdickt, weißlich.

*Nackenhaut:* Atrophie und Sklerose mit mehreren kleinen Blutungen dicht unter der Epidermis. Abwanderung von ungefärbten Vorstufen von Pigmentzellen in die Subcutis, bevorzugt an Haarbälgen entlang. Im ganzen unbedeutende Veränderung.

*Diagnose:* Lymphosarkom der Thymusdrüse, ein großes Herzgefäß (Venenwand) infiltrierend. Infiltration des unteren Mediastinums. Keine Metastasen.

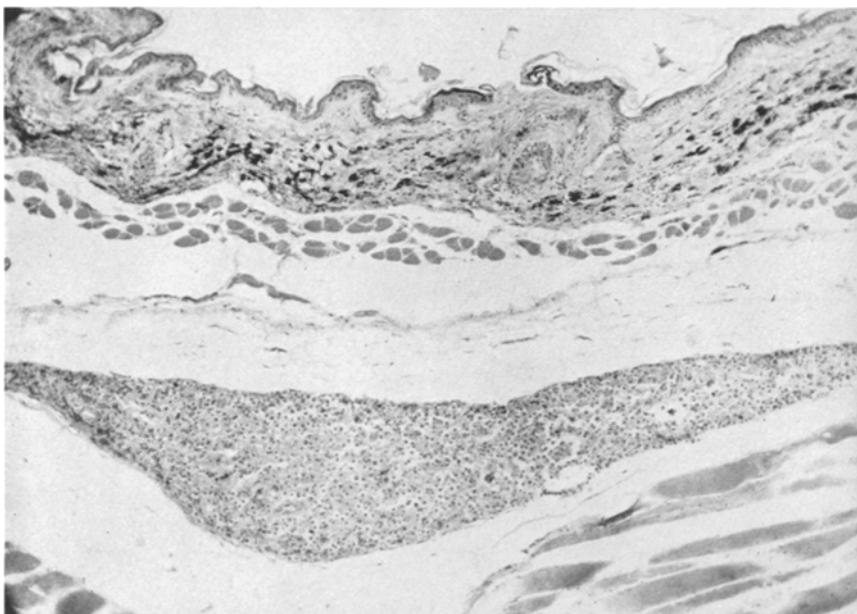


Abb. 9. Fo 6371 b. 111fache Vergr. Solide lymphosarkomatöse Metastase in der gepinselten Nackenhaut bei lymphatischer Leukämie

**2. ♂ Maus, Versuchsgruppe IV/1 (Fo 6371),** tot während des 14. Monats der Behandlung mit Naphthalin-Benzol. 15 Monate alt.

Etwas seröser Ascites. Milz auf etwa  $25 \times 8 \times 5$  mm vergrößert, sehr fest, ohne deutliche Zeichnung, schmutzig verfärbt. Leber makroskopisch unauffällig. In der Mesenterialwurzel gut erbsengroßer Knoten von weißgelber Farbe und markiger, eher weicher Beschaffenheit. Paravertebral in Nierenhöhe, diese oben und unten umfassend, ähnlicher Knoten von Haselnussgröße.

*Nackenhaut:* sehr starke Atrophie. Zustand nach abgeklungener Entzündung mit leichter Schuppung. In den noch weniger sklerotisch gewordenen tiefen Teilen des Coriums erhaltene und zerfallene Melanoblasten und ihre Vorstufen. Zwischen Hautmuskel und Nackenmuskulatur oval geformter Herd von lymphosarkomatösem Gewebe, im größten Durchmesser etwa 2 mm lang, mit glatter Begrenzung nach außen. Hier Geschwulstzellen von ähnlicher Beschaffenheit wie in den veränderten Lymphknoten und in der Milz. Viele Geschwulstzellen in Gefäßen (Abb. 9).

*Diagnose:* lymphatische Leukämie mit lymphosarkomatöser Metastase an der Pinselstelle in der im übrigen atrophen und sklerotischen Nackenhaut. (Siehe auch Protokoll S. 161.)

**3. ♀ Maus, Gruppe VII/5 (Fo 6786), tot im 17. Monat der Behandlung mit Naphthalin-Benzol, 20 Monate alt.**

Bauch stark vorgewölbt; ausgefüllt von der vergrößerten, tief getretenen, weißrot getüpfelten Milz (in den größten Durchmessern etwa  $40 \times 10 \times 5$  mm) und der die obere Hälfte der Bauchhöhle ausfüllenden Leber. Erbsengroßer Mesenteriallymphknoten. Nieren vielleicht etwas vergrößert, fleckig weiß gezeichnet.

*Nackenhaut:* Endstadium nach Atrophie.

*Diagnose:* Lymphatische Leukämie.

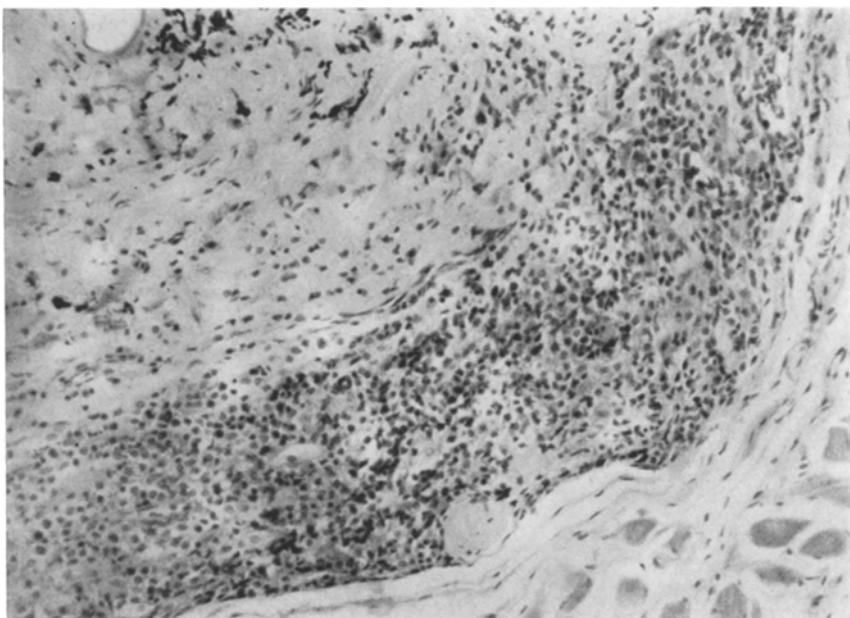


Abb. 10. Fo 6295. 234fache Vergr. Solide Metastase in der gepinselten Nackenhaut bei lymphatischer Leukämie. (Rechts unten Körpermuskulatur)

**4. ♀ Maus, Gruppe VII/8 (Fo 7255), tot im 21. Monat der Behandlung mit Naphthalin-Benzol, 24 Monate alt.**

Milz stark vergrößert (etwa  $23 \times 7 \times 4$  mm) mit nicht sehr reichlicher weißlicher Zeichnung. Leber von gewöhnlicher Größe und Beschaffenheit, ebenso Lymphknoten. Atrophie der Thymusdrüse dem Alter entsprechend. In der rechten Lunge 1, in der linken Lunge 2 dicht unter der Pleura gelegene Knötchen von knapp Hirsekorn- bis Hanfkorngröße, weißlich, rund, gut umschrieben.

*Nackenhaut:* Atrophie und Sklerose. Herdförmige Wucherung von Pigmentzellen einschließlich ihrer Vorstufen. Präcanceröse Veränderung? (s. die Beschreibung im Anschluß an die Protokolle des Benzolversuchs S. 164).

*Diagnose:* lymphatische Leukämie in Milz und Leber mit Nekrosen in beiden Organen. — 3 Lungenadenome. — Präcanceröse Veränderung der Nackenhaut?

**5. ♂ Maus, Gruppe II/3 (Fo 6295), tot nach 22 Monate dauernder Behandlung mit Naphthalin-Benzol,  $23\frac{1}{2}$  Monate alt.**

Nackenhaut kahl, atrophisch, nur am Rande des gepinselten Gebietes leicht höckig, darauf einige kurze Haare. — Im Bauchraum und weniger im Thoraxraum

seröse Flüssigkeit. Milz etwa  $50 \times 10 \times 8$  mm groß, fest, hellrot mit glatter Oberfläche und grauweiß gekörnter Schnittfläche. Leber sehr groß, an der Grenze der Norm, fest, von hirsekorngrößen, helleren Gebilden durchsetzt. Nieren sehr groß, blaß, mit roten Punkten. Mehrere vergrößerte Hämolympknoten paraaortal. Ein submandibularer Speicheldrüsenlappen kleinerbsengroß, markig, weißgelblich. In einem linken Lungenlappen ein zum Teil subpleural gelegenes, zum Teil über die Pleura prominierendes weißliches, gut begrenztes Knötchen von über Hanfkorngröße.

*Nackenhaut:* Atrophie und Sklerose mit kleinzelliger Infiltration. Mehrere Nester von braunen Pigmentzellen, durch narbiges Bindegewebe zusammengedrängt. Üppige, vielgestaltige Vorstufen von Pigmentzellen in chronisch entzündeter Cutis. — Im unteren Teil des Coriums ziemlich scharf begrenzte lymphosarkomatöse Metastase (Abb. 10).

*Diagnose:* lymphatische Leukämie mit solider Metastase in der gepinselten Nackenhaut. — Lungenadenom.

**6. ♀ Maus, Gruppe V/3 (Fo 7261), tot 26 Monate nach Beginn der Behandlung mit Naphthalin-Benzol, 31 Monate alt.**

Im rechten unteren Lungenlappen ein hirsekorngrößes weißliches, rundes, gut begrenztes Gebilde.

*Diagnose:* Lungenadenom.

**7. ♂ Maus, Gruppe III/3 (Fo 6953), tot 27 Monate nach Beginn der Behandlung mit Naphthalin-Benzol, 29 Monate alt.**

Über die Konvexität der linken Niere wölbt sich eine Geschwulst um etwa 2 mm vor, mit fein vascularisierter Kapsel. Auf der buttergelben Schnittfläche zeigt sich, daß sie etwa 4—5 mm im Durchmesser groß ist und scharf abgegrenzt in der Nierenrinde sitzt. Nebennieren beiderseits intakt. — Mikroskopisch: Hypernephrom mit reichlich eingelagerten blaßblauen (HE) Schollen von mehrfacher Zellgröße.

*Diagnose:* gutartiges Hypernephrom. Toxische Leberschädigung.

### III. Versuch: Benzolpinselung der Haut bei Mäusen

Dieser Versuch diente ursprünglich als Lösungsmittelkontrolle für den Naphthalin-Benzolversuch (s. S. 152). Darüber hinaus hat er aber selbständige Bedeutung gewonnen. Die Untersuchung des Benzols für die Krebsentstehung, besonders auch für die Leukämie, ist noch nicht abgeschlossen (s. unten). Unsere Befunde bringen dazu in zweifacher Hinsicht einen Beitrag.

#### a) Versuchsanordnung

Für den Benzolversuch wurden 21 Mäuse des gleichen Inzuchtstammes SW wie für den Naphthalin-Benzolversuch verwendet. Nacheinander wurden 7 Gruppen in den Versuch genommen, die hinsichtlich Zahl, Alter und Geschlecht fast genau so zusammengesetzt waren wie die Mäuse der 7 Gruppen des Naphthalin-Benzolversuches (s. S. 152). Die Pinselung der Nackenhaut mit Benzol allein wurde ebenso und immer zur gleichen Zeit ausgeführt wie die Pinselung mit Naphthalin-Benzol. Es wurden also auch die Mäuse der Gruppe I und II in den ersten 3 Wochen an allen Werktagen und von da an wie die Mäuse der Gruppen III—VII nur 2mal wöchentlich bis zum natürlichen Lebensende mit Benzol gepinselt.

Als Benzol wurde in der ersten Zeit ein nicht thiophenfreies Produkt verwendet.

Unser Mitarbeiter Dr. H.J. STRUCK untersuchte einen Rest der alten Benzol-Naphthalinlösung in bezug auf Reinheit des Benzols mit folgendem Ergebnis:

„Die Prüfung erfolgte mit Hilfe des Absorptionsspektrums. Dabei ergab der Vergleich mit einer Lösung Benzol-Naphthalin (Benzol p. A. Merck) keinen Unterschied. Auch das Destillat bei 80—81° aus der alten Benzol-Naphthalinlösung unterschied sich nicht von Benzol p. A. Merck, abgesehen von Spuren von übergegangenem Naphthalin. Die Probe auf Thiophen mit Isatin war positiv.“

Danach wurde Benzol p. A. Merck verwendet. Die Versuchsgruppen III—VI wurden nur 18mal mit thiophenhaltigem und von da an mit thiophenfreiem Benzol, die Versuchsgruppe VII ausschließlich mit thiophenfreiem Benzol behandelt.

### b) Befunde

Auch die Behandlung mit Benzol allein machte den Mäusen keine sichtbaren Beschwerden. Wie in dem Naphthalin-Benzolversuch ließen sie es sich gern gefallen, mit dem Glasstab bestrichen zu werden.

Aus der Tabelle II geht allerdings hervor, daß nur 6 von 21 Mäusen die Behandlung länger als 1 Jahr überlebten (dagegen 14 von 25 mit Naphthalin-Benzol behandelte Mäuse, s. S. 153) und nur 4 mit Benzol gepinselte Mäuse länger als 1½ Jahre (im Vergleich zu 9 mit Naphthalin-Benzol behandelten Mäusen). Über die makroskopischen Veränderungen des Fells und der Haut an den Pinselstellen haben wir schon bei den mit Naphthalin-Benzol gepinselten Mäusen berichtet, denen sie völlig glichen. Hier wie da wurde der Haarausfall lange Zeit ersetzt, wenn auch durch kürzere und nicht so dicht stehende Haare. Schließlich war die Haut an der Pinselstelle fast kahl und papierdünn, glänzend, dabei von ihrer natürlichen Farbe oder manchmal schuppend oder mit sehr feinen bräunlichen Borken besetzt (s. S. 152, 154).

Bei den nur mit Benzol gepinselten Mäusen hatten 2 Tiere 3 Geschwülste. Eine Maus starb mit einem Lymphosarkom der Thymusdrüse ohne Metastasen. Eine andere hatte ein (nur mikroskopisch feststellendes) Melanosarkom in der gepinselten Nackenhaut und außerdem ein Lungenadenom.

### c) Protokolle

Entfernt von der Pinselstelle beobachteten wir folgende Geschwülste:

**♂ Maus, Gruppe III/6 (Fo 6253), tot 11 Monate nach Beginn der Behandlung mit Benzol allein, 13½ Monate alt.**

Ein glockenförmiger, weißlichgelber markiger Tumor füllt die ganze obere Thoraxapertur aus und bedeckt den oberen Teil des Herzens mit dem Gefäßbündel und ist mit dem Sternum leicht verlötet. Keine Metastasen.

**Nackenhaut:** Atrophie und Sklerose mit Vermehrung von Pigmentzellen und ihren unreifen Vorstufen.

**Diagnose:** Lymphosarkom der Thymusdrüse mit beginnender Infiltration von großen Gefäßen, Trachea und Lunge.

**♂ Maus, Gruppe III/8 (Fo 6700), tot nach 22 Monate dauernder Behandlung mit Benzol allein, 24½ Monate alt.**

Im linken Oberlappen sitzt ein hanfkorngrößes, rundes, gut abgegrenztes, weißlichgelbes Gebilde von dichterer Konsistenz als das umgebende Lungengewebe (Abb. 11 und 12).

*Nackenhaut:* mikroskopisch Melanosarkom (s. S. 164 f.).

*Diagnose:* Lungenadenom.

#### d) *Nackenhaut*

Im folgenden beschreiben wir die Veränderungen der Nackenhaut, die mit Benzol-Naphthalin oder mit Benzol allein gepinselt worden war. Die Befunde waren in beiden Gruppen ganz gleich und auch gleich stark ausgeprägt.

Zunächst geben wir eine Beschreibung der *Nackenhaut unbehandelter Mäuse*. Ihr liegen Präparate der Nackenhaut in jeweils mehreren Stufenschnitten von 20 unbehandelten Mäusen des für diese Versuche gebrauchten Inzuchtstammes SW zugrunde, und zwar von

- 3 Mäusen im Alter von 23 Monaten,
- 5 Mäusen im Alter von 14 Monaten,
- 6 Mäusen im Alter von 8 Monaten,
- 4 Mäusen im Alter von 7 Monaten,
- 1 Maus im Alter von 6 Monaten,
- 1 Maus im Alter von 3 Monaten.

Die unbehandelte Nackenhaut dieses Mäusestammes ist makroskopisch im allgemeinen rosa und hat nur hier und da kleine blauschwarze Zonen. Erst durch die dichten schwarzen Haare sehen die Mäuse auf dem Rücken schwarz aus, während ihr Bauch weiße und im Alter gelbliche Haare zeigt.

Die Epidermis besteht aus 2—3 Zellreihen, von denen nur die unterste gleichmäßig dicht stehende Kerne hat, die bei alten Mäusen (23 Monate) oft in Cytoplasmahöhlen liegen. Die wenige Lamellen dicke Hornschicht kann im Alter etwas abschilfern. Unter ihr liegt eine streckenweise unterbrochene, meist nur einreihige Schicht von dunklen Pigmentkörnchen. Ganz selten einmal ist das Territorium einer oder einiger nebeneinanderliegenden Zellen von locker verteilten blauschwarzen Pigmentkörnchen besetzt.

Das Corium bildet Papillen, die bei alten Mäusen (23 Monate) sehr flach sein können. Dünne elastische Fasern sind besonders im oberen Teil reichlich vorhanden. In den ersten 6 Monaten etwa besiedeln viele freie Zellen, Histiocyten, Lympho- und Leukocyten, auch solche mit Ringkernen, das aus saftigen Fibrocyten und weichen Fasern aufgebaute Corium. Die Fibrocyten behalten lange Zeit jugendliche Kerne, aber die freien weißen Blutzellen zwischen ihnen verlieren sich.

Später findet man zwischen ihnen nur Promelanoblasten in geringer Zahl. In der ersten Lebenshälfte (etwa 15 Monate lang) haben diese Zellen einen ovalen oder polygonalen ziemlich kleinen basophilen Zelleib; später kann man in ihm bei starker Auflösung feine Körnchen erkennen, die nativ farblos sind, sich mit Hämatoxylin immer und mit Orcein oft blauschwarz färben, aber nicht regelmäßig mit Silber (BIELSCHOWSKY) schwärzen. Schon früh, etwa mit 6 Monaten liegen außerdem im Corium einzelne schmale, gewundene Zellen mit vielen braunen Körnchen, die den Kern kaum sichtbar werden lassen. Sie sind oft senkrecht zum Faserverlauf zwischen ihnen ausgestreckt. Im Alter vermehren sich die reifen Pigmentzellen und ihre Vorstufen etwas, liegen aber, wenn nicht einzeln, so höchstens in Grüppchen von 3—5 Zellen; naevuszellartige Nester haben wir nie gesehen. Oft liegen Pigmentkörnchen frei verstreut zwischen den Fibrillenbündeln.

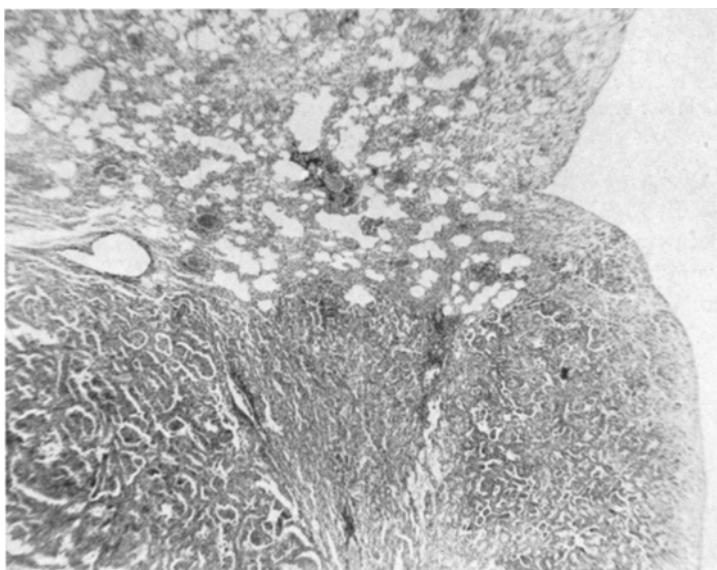


Abb. 11. Fo 6700, 32fache Vergr. Lunge mit Adenom (unten)

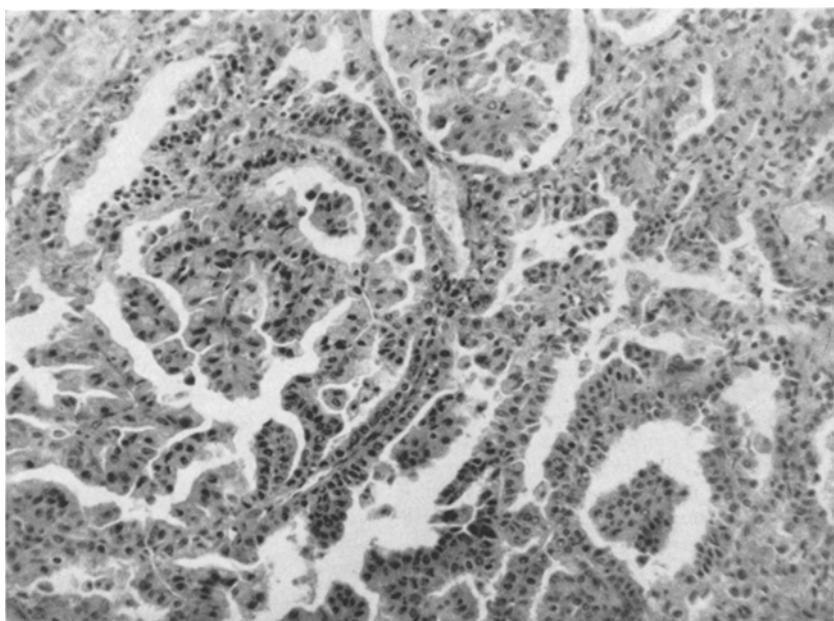


Abb. 12. Fo 6700, 187,5fache Vergr. Stärkere Vergrößerung aus dem linken Teil des in Abb. 11 dargestellten Lungenadenoms

Bei älteren Mäusen (23 Monate) sind die Fibrillen substanzarm geworden, und mit ihnen wurde das Corium dünn und schlaff.

Corium und öfter auch Subcutis enthalten bis in das hohe Alter Haarbälge, Talgdrüsen und kleine, wenig hervortretende Gefäße. Dicht unter dem Corium, durch wenig lockeres Binde- oder Fettgewebe mit ihm verbunden, liegt der quer-gestreifte Hautmuskel, unter diesem verschieden fettgewebsreiches subcutanes Gewebe, auf das die Körperwandmuskulatur folgt.

**Behandelte Nackenhaut.** Bei der Behandlung mit Benzol mit oder ohne Naphthalin verändert sich die Nackenhaut in sehr regelmäßiger Weise.

Schon nach kurzer Einwirkung, etwa 9 Wochen (Fo 6055, Benzol mit Naphthalin), sind die kollagenen Fasern des Corium in breite homogenisierte Bänder umgewandelt, die von Histio-, Leuko- und Lymphocyten entblößt sind. Die Haarbälge sind verkürzt und einige fehlen. Talgdrüsen sind aufgebläht und Teile von ihnen verdämmern. Papillen sind noch vorhanden. Die Gefäße besonders am Rande zur Subcutis sind erweitert und stark gefüllt. Die Epidermis ist durch Quellung und spongiöse Veränderung, nicht durch Vermehrung der Zellen oder Zellreihen, verdickt.

In Präparaten der Nackenhaut, die 3 Monate (z.B. Fo 6193) oder  $4\frac{1}{2}$  Monate (z.B. Fo 6090) lang mit Benzol bestrichen wurden, sind die Corumpapillen abgefacht; Hornlamellen können sich abheben. Die unterste Epidermislage geht verschwimmend in das Corium über. Schon jetzt kann die Elastica auf kurze, schwach färbbare Faserstückchen reduziert sein. Statt Haarbälgen findet man teilweise noch kleine mit Horn gefüllte Retentionscysten, die nach oben aufgerissen sein können.

Bei 6 (Fo 6282) bzw. 7 Monate lang (Fo 6254) mit Benzol und Naphthalin behandelten Hautstücken sind die Cutisfibrillen noch ziemlich zart und etwas kleinzellig infiltriert. Einmal bestehen kleine Blutungen bis dicht unter die Epidermis. Verkürzte Haarbälge sind noch vorhanden, ebenso elastische Fasern (Orcein).

Bei länger dauernder Behandlung (z.B. Fo 6253, 11 Monate Benzol; Fo 6279, 12 Monate Benzol) ist die Epidermis spongiös. Die Papillen sind verstrichen. Das Corium enthält substanzarm gewordene Fibrillenbündel und nur Reste von Anhangsgebilden; es ist dementsprechend dünner geworden. Besonders in seinen untersten Teilen sind jetzt die braunen Pigmentzellen vermehrt. Braune Körnchen sind frei verstreut. Es besteht eine geringe Rundzellinfiltration.

Mit fortschreitender Behandlung (z.B. Fo 6371; 14 Monate Benzol mit Naphthalin, s. auch Protokoll S. 155) werden Zellen mit Propigment häufiger. Sie sind locker einzeln und in kleinen Gruppen über das ganze sklerotisch und atrophisch gewordene Corium ausgebreitet. Blaue Pigmentkörnchen (HE) liegen in großer Zahl frei zwischen den Fibrillen.

Die Promelanoblasten werden immer zahlreicher (z.B. Fo 7263, 14 Monate Benzol; Fo 6527, 18 Monate Benzol; Fo 6524, 18 Monate Benzol mit Naphthalin; Fo 6602, 20 Monate Benzol mit Naphthalin), wobei wir aber niemals eine Mitose beobachteten. Hier liegen die mit Propigment angefüllten Zellen oft in Gruppen von 10 und mehr epithelialartig nebeneinander oder sind in noch größeren Scharen, sich nur gegenseitig eben locker berührend, über weite Flächen des Corium ausgebrettet

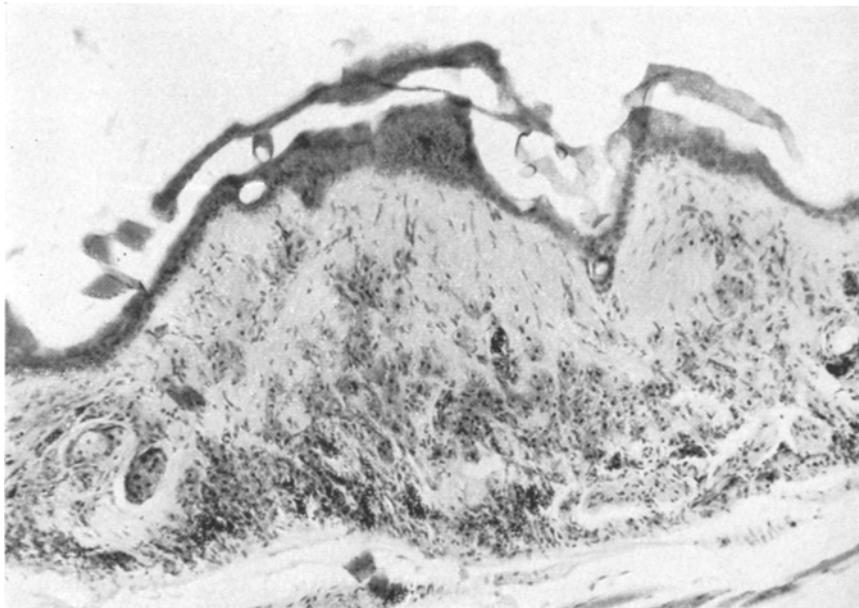


Abb. 13, Fo 7263, 140fache Vergr. Atrophie und Sklerose der gepinselten Nackenhaut. An der Grenze zur Subcutis nesterartige Wucherung von Promelanoblasten vermischt mit Melanoblasten

(Abb. 13). Ihr Leib ist voller blauer (HE) Körnchen, die Zellen sind üppig und vielgestaltig (Abb. 14). Es können einige braune Körnchen zwischen die nativ farblosen eingestreut sein. Am Rande der Promelanoblasten zur Subcutis hin, oder auch zwischen ihnen, liegen außerdem ungewöhnlich große, kugelige, mit tiefbraunen Granula vollgestopfte Zellen. Braunes und ungefärbtes Pigment liegt frei umher. Es besteht noch Hyperämie.

Diese Reizwucherungen von Melanoblasten und ihren Vorstufen haben wir oft beobachtet. In anderen Präparaten ist der Vorgang um diese Zeit abgeschlossen und zur Ruhe gekommen. Hier ist die Epidermis dünn und gewellt, das Corium atrophisch, zwischen den Fasern liegen schmale langgestreckte braune Pigmentzellen. Hyperämie und chronische Entzündung fehlen, oder es besteht noch leichte perivaskuläre kleinzelige Infiltration (Fo 6674, 22 Monate lang Benzol) (Abb. 15).

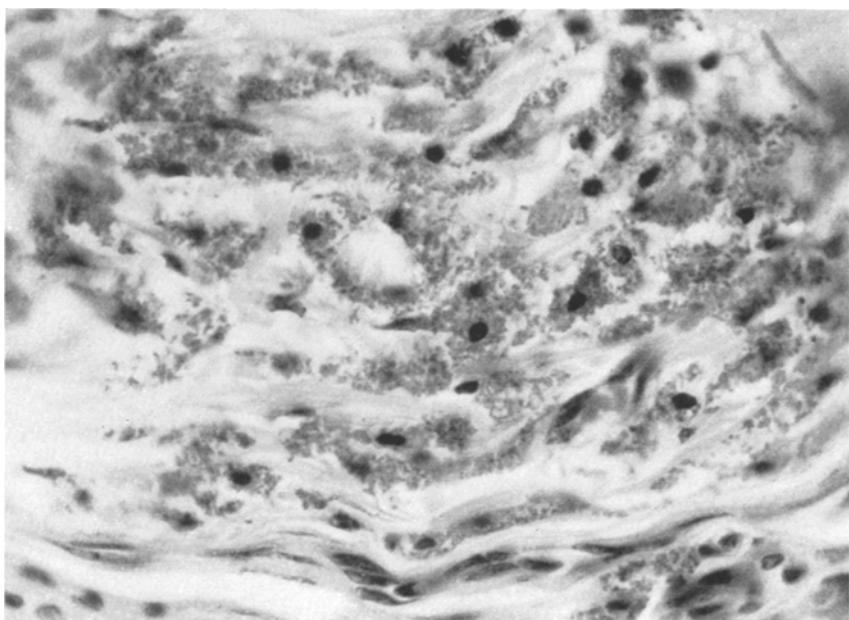


Abb. 14. Fo 7263, 760fache Vergr. Stärkere Vergrößerung aus Abb. 13. Gewucherte Promelanoblasten

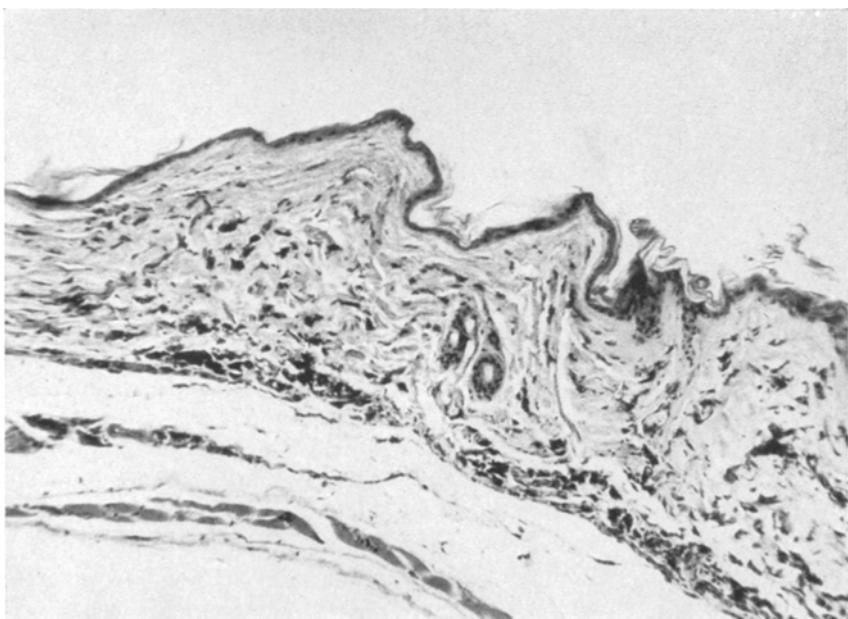


Abb. 15. Fo 7266, 148fache Vergr. Atrophie und Sklerose der gepinselten Nackenhaut

In zwei Präparaten sind die Veränderungen weiter fortgeschritten als bisher beschrieben.

Bei Fo 7255 nach 21 Monate dauernder Behandlung mit Benzol und Naphthalin bestehen noch Hyperämie und chronische Entzündung.

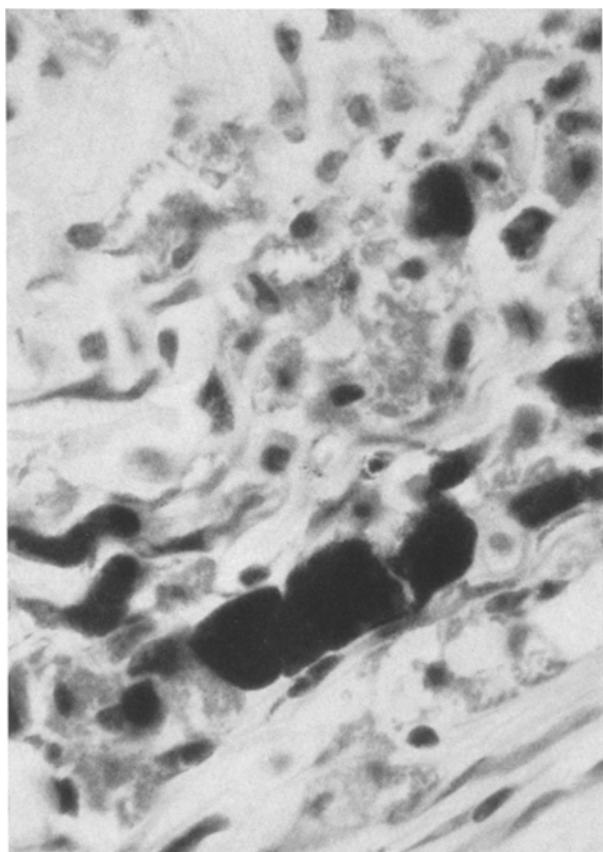


Abb. 16. Fo 7255, 972fache Vergr. Stärkere Vergrößerung aus Abb. 17. Melanoblasten und unreife Vorstufen

Promelanoblasten durchmischt mit ausgereiften Melanoblasten (Abb. 16) sind diffus und auch in zahlreichen Nestern über das ganze Hautstück verteilt (Abb. 17). Hier sind beide Zellformen sehr variabel an Größe, Form und Körnchenreichtum. Die starke Vermehrung in Nesterform und die Polymorphie deuten darauf hin, daß eine maligne Entartung im Gange sein könnte (präcanceröse Veränderung? Prof. RÖSSLE).

Schließlich zeigt ein weiteres Hautstück (Fo 6700, 22 Monate dauernde Behandlung mit Benzol) neben den bei Fo 7255 beschriebenen Ver-

änderungen einen eben mit bloßem Auge sichtbaren Herd von Promelano-  
blasten und Melanoblasten, der den größeren Teil des Corium durchsetzt  
und es ein wenig in die Tiefe vorwölbt (Abb. 18). In der Tiefe und nach  
beiden Seiten hin liegen vorwiegend üppige Zellen mit reifem Pigment,  
nach oben zur Epidermis hin Zellen mit nur mäßig reichlichem Gehalt  
an sich blaßblau (HE) färbenden Propigmentkörnchen. Die Mitte des

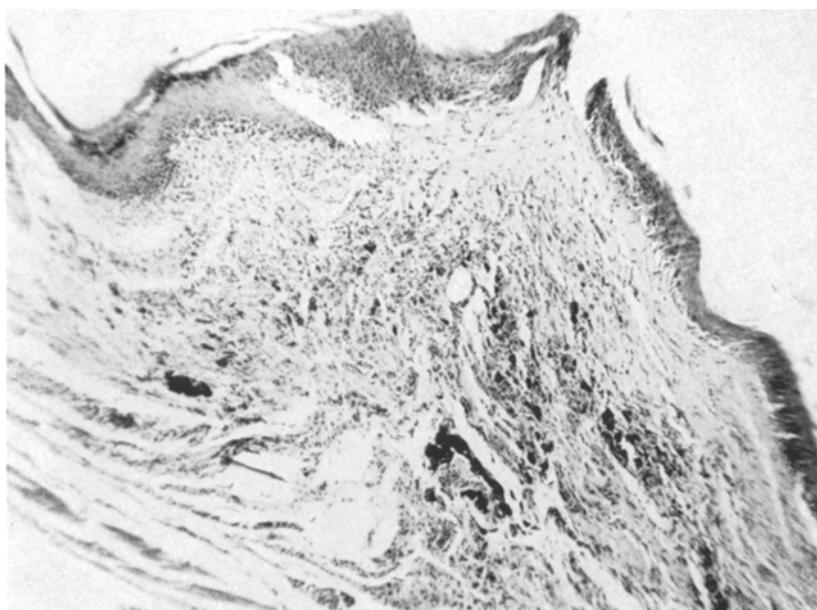


Abb. 17. Fo 7255, 80fache Vergr. In der gepinselften Nackenhaut Wucherung von Melano-  
blasten und ihren unreifen Vorstufen. Präcanceröse Veränderung?

Herdes nehmen die größten und vielgestaltigsten Zellen ein, zwischen denen auch reife und unreife Pigmentkörnchen ausgestreut sind. Die Zellen dieses Herdes sind außerordentlich variabel in Form und Ausdehnung; ihre lineare Größe wechselt zwischen dem einfachen bis zum fünffachen Durchmesser. Dabei enthalten sie ein oder zwei üppige und kräftig eosinophile Nucleolen (Abb. 19). Sie liegen nebeneinander durch Spalten getrennt; bis auf einige vereinzelte Fasern ist das Corium zwischen ihnen fortgeschmolzen. — Der beschriebene und abgebildete Herd ist in dem Hautstück Fo 6700 der auffälligste, aber nicht der einzige. Hier hat die Wucherung der Melanoblasten und ihrer Vorstufen einen solchen Grad und eine derartige Regellosigkeit erreicht, daß die Veränderung als Melanosarkom zu bezeichnen ist (von Prof. RÖSSLER bestätigt).

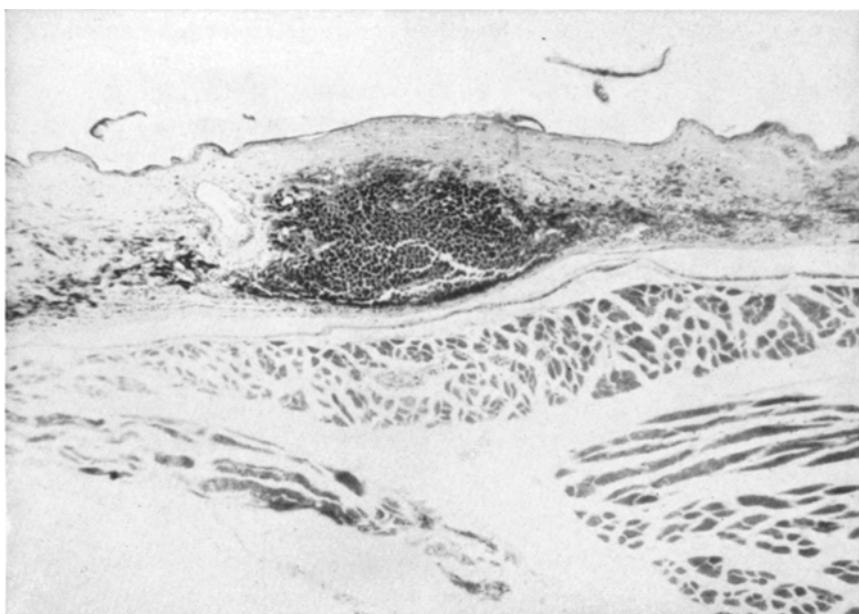


Abb. 18. Fo 6700, 76fache Vergr. In der gepinselten atrophischen Nackenhaut  
Melanosarkom

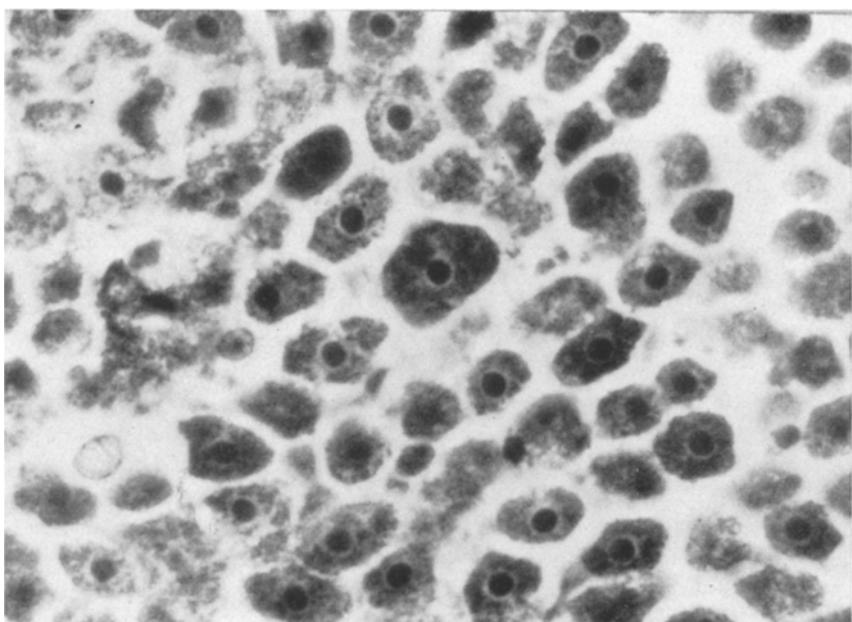


Abb. 19. Fo 6700, 1148fache Vergr. Stärkere Vergrößerung aus dem Herd in Abb. 18.  
Sehr variable Promelanoblasten

#### IV. Unbehandelte Kontrollmäuse des gleichen Inzuchtstammes SW

Den mit Benzol (s. unter III) oder Naphthalin-Benzol (s. unter II) behandelten Mäusen stehen 1227 unbehandelte, spontan gestorbene Mäuse desselben Inzuchtstammes SW gegenüber.

Wir verdanken diesen Stamm SW Herrn Dr. HACKMANN, Elberfeld, der ihn seit 1940 in Geschwister-Inzucht hält. Er überließ uns im Herbst 1951 einige Zuchtpärchen, die auch wir in Bruder-Schwester-Inzucht vermehrten.

Herr Dr. HACKMANN stellte uns für diese Veröffentlichung liebenswürdigerweise auch seine Sektionsprotokolle zur Verfügung. Sein Material umfaßt Sektionen von 1057 unbehandelten Mäusen, die bei ihrem spontanen Tode  $\frac{1}{2}$  Jahr oder älter waren. Es fanden sich darunter 46 Tiere (4,3%) mit neoplastischen Erkrankungen, darunter 5 Leukämien (4 lymphatische, 1 myeloische), 3 Lymphosarkome und 1 Rundzell-sarkom des Mediastinums.

Wir selbst sezieren 170 unbehandelte, spontan gestorbene Mäuse im Alter von  $\frac{1}{4}$  Jahr und mehr. Bei ihnen stellten wir 7 maligne Geschwülste (4,1%) fest, und zwar 4mal lymphatische Leukämie, 2 Lymphosarkome der Thymusdrüse ohne Metastasen und ein osteoblastisches und osteoclastisches Myosarkom des Uterus.

Es besteht also eine weitgehende Übereinstimmung zwischen den Sektionsbefunden von Dr. HACKMANN (4,3% maligne Neoplasmen) und uns (4,1% bösartige Neubildungen).

Zur Beurteilung der Veränderungen nach Benzol- bzw. Benzol-Naphthalineinwirkung untersuchten wir die Nackenhaut von 20 Mäusen dieses Stammes im Alter von 3—23 Monaten histologisch (s. S. 159).

#### V. Besprechung

Wir beschäftigten uns zunächst mit der Frage, ob das zwar einfach gebaute, aber vom Tier- und Pflanzenorganismus nicht als gleichgültig empfundene Naphthalin krebserzeugend wirkt. Dabei gebrauchten wir 2 verschiedene Applikationsweisen. Das eine Mal injizierten wir es in Sesamöl gelöst Ratten subcutan. Zur Kontrolle wurde reines Sesamöl allein gespritzt. In einem 2. Versuch pinselten wir Naphthalin in Benzol gelöst auf die Nackenhaut von Mäusen. Als Kontrolle dienten die gleichen Inzuchtmäuse, denen nur Benzol auf die Nackenhaut gepinselt wurde, und ferner die Sektionsbefunde von 1227 unbehandelten Mäusen des gleichen Inzuchtstammes SW.

Von den 34 Ratten, denen Sesamöl allein injiziert wurde, hatte nur eine eine Geschwulst, was unserer eigenen Erfahrung über den normalen Prozentsatz von Spontantumoren bei Ratten an dem gleichen Tiermaterial entspricht (s. S. 142 und 152). Sesamöl allein hatte also in Übereinstimmung mit der Literatur keine krebserzeugende Wirkung (BUTENANDT;

POLLIA; SAWNIK und PREMRU). Dagegen erzeugte Benzol Veränderungen besonderer Art, die für die Krebsforschung nicht ganz belanglos sind. Dadurch erhält dieser Versuch die Bedeutung eines selbständigen Experiments, dem 1227 unbehandelte Mäuse des gleichen Inzuchtstammes als Kontrolle gegenüberstehen.

Wir haben also zu 3 Versuchsgruppen Stellung zu nehmen. Sie behandeln 1. den Einfluß des in Sesamöl gelösten und Ratten subcutan injizierten Naphthalins; 2. den Einfluß des in Benzol gelösten, bei Mäusen auf die Nackenhaut gestrichenen Naphthalins; und 3. die Wirkung des bei Mäusen auf die Nackenhaut gestrichenen Benzols.

Die subcutane Injektion von Naphthalin in Sesamöl bei Ratten erzeugte 5 maligne und 1 benigne Geschwulst im Vergleich zu einer malignen und einer benignen Geschwulst nach Injektion von Sesamöl allein.

Die gutartige Geschwulst in der Naphthalingruppe, ein Fibroadenoma mammae, entstand erst 11 Monate nach Abschluß der Injektionen und zwar auf der Seite der Einspritzungen. Als die Geschwulst noch haselnußgroß war, fühlte man in geringer Entfernung davon das Oleom. Auch die Kontrollgruppe weist ein Fibroadenoma mammae auf und zwar auf der Seite, in die nicht injiziert wurde. Es ulcerierte und jauchte; seine Trägerin starb schon 7 Monate nach Abschluß der Injektionen an den Folgen der Infektion. — Diese Geschwulstart ist bei alten Ratten nicht selten. In einem gleichzeitig mit den hier beschriebenen Untersuchungen laufenden Versuch fanden wir etwa ebenso viele, nämlich 7 bei 157 Ratten (KNAKE 1943), so daß kein Anlaß besteht, ihr Auftreten mit den Injektionen von Naphthalin oder Sesamöl in Verbindung zu bringen.

Wir kommen zu den malignen Geschwülsten unserer Ratten, denen Naphthalin in Sesamöl gespritzt wurde. Bei ihnen entstanden 5 bösartige Tumoren und zwar so früh, daß man fast an einem Zusammenhang mit den Naphthalininjektionen zweifeln könnte. Diese Ratten starben schon  $\frac{1}{2}$ , 1,  $1\frac{1}{2}$ , 4 bzw. 5 Monate nach Abschluß der 7 Einspritzungen (Tabelle 1).

Man wird sich danach fragen, ob die in der Versuchsgruppe aufgetretenen Geschwülste überhaupt etwas mit den Naphthalininjektionen zu tun haben. Zwei Gründe sprechen dafür: Erstens ist ihre Zahl, nämlich 5 maligne Geschwülste bei 34 noch dazu jungen Ratten sehr hoch. Sie ist 5mal größer als bei unseren nur mit Sesamölinjektionen behandelten 32 Kontrollratten (1 maligner Tumor) und 7mal höher als bei den Kontrollen des damals gleichzeitig bei uns laufenden schon erwähnten anderen Versuches (bei 101 Ratten 2 maligne Tumoren; s. S. 152). — Der zweite Grund, der jeden Zweifel an einem Zusammenhang zwischen entstandenen Tumoren und Naphthalininjektionen ausschließt, besteht in einem ungewöhnlichen Befund: Bei 3 von unseren 5 Tumorträgern hatte sich nämlich am Ort der Injektion eine Geschwulstmetastase angesiedelt: Von dem Uterussarkom, das auch im übrigen

Körper auf dem Blut- und Lymphweg metastasierte, stecken in 2 abführenden Gefäßchen, einem Lymphgefäß und einer kleinen Vene, mit der Wand fest verwachsene Geschwulstpföröpfe<sup>1</sup>. Weiter hat bei 2 Tieren mit Lymphosarkomen in den Oleomen eine Metastase Fuß gefaßt. Danach ist es trotz der überraschend kurzen Zeit zwischen Injektionen und Tod der Tiere ganz sicher, daß die entstandenen Geschwülste etwas mit dem injizierten Naphthalin zu tun haben (s. unten).

In dem zweiten Versuch, in dem wir Naphthalin in Benzol gelöst auf die Nackenhaut von Mäusen gebracht haben, sind die Ergebnisse in mancher Hinsicht ähnlich. Zwar entstanden die Tumoren erst später, nämlich, soweit sie metastasierten, zwischen dem 14. und dem 22. Monat der Behandlung (Tabelle 2). Offenbar ist diese Applikationsweise viel weniger penetrant als die subcutane Injektion. Aber auch hier ist die Zahl der malignen Tumoren (4 bei 22 Versuchsmäusen, die mindestens 6 Monate behandelt wurden), ungleich höher als bei den unbehandelten Mäusen des gleichen Inzuchtstammes (nach HACKMANN bei 1057 Mäusen 4,3% und nach KNAKE bei 170 ebensolchen Mäusen 4,1%). Und bemerkenswerterweise sind 2 lymphatische Leukämien in Form einer geschlossenen Absiedlung (Lymphosarkom) in die Applikationsstelle metastasiert, ähnlich wie wir es für die mit Naphthalin-Sesamöl injizierten Ratten schon berichtet haben. Ein Zusammenhang zwischen den entstandenen Tumoren und der Naphthalin-Benzolpinselung ist also gleichfalls sicher. — Diese Wirkung kommt dem Naphthalin und nicht dem Lösungsmittel Benzol zu; denn bei den nur mit Benzol gepinselten Mäusen entspricht die Tumorrate (1 auf 21 Mäuse) den unbehandelten Kontrollmäusen (4,3% bzw. 4,1%). — Die auf das Benzol selbst zurückzuführenden Veränderungen in der gepinselten Haut sind dagegen ganz anderer Art (s. unten).

Wir stehen also vor folgendem Ergebnis: 59 Tiere, nämlich 34 Ratten und 25 Mäuse, die mit Naphthalin behandelt worden waren, wiesen 10 maligne und darunter 7 metastasierende Geschwülste auf. Von diesen 7 Geschwülsten metastasierten 5 auch in die Applikationsstelle. Die nur mit dem Lösungsmittel behandelten 53 Tiere (32 Ratten und 21 Mäuse) hatten (abgesehen von Hautveränderungen durch Benzol [s. unten]) 2 maligne Geschwülste, beide ohne Metastasen. Diese Zahl entspricht dem Prozentsatz der unbehandelten Kontrolltiere.

Es ist nun zu erwägen, wie der Zusammenhang zwischen dem applizierten Naphthalin und den entstandenen Geschwülsten sein mag. Alle Geschwülste sind fern vom Applikationsort entstanden; wir halten das auch für die 5 Geschwülste für sicher, die am Applikationsort eine Geschwulstkolonie oder intravasale Geschwulstpföröpfe hatten. Diese sind nach unserer Meinung sekundär und nicht primär; ihr nach außen

<sup>1</sup> Siehe Anmerkung auf S. 147.

gut geschlossener Aufbau und ihre meistens nur mikroskopische Größe sprechen dafür.

Gerade anhand dieser Tatsache, daß die Geschwülste zwar fern von der Applikationsstelle entstanden, aber in sie hineinmetastasiert sind, läßt sich unsere eigene Auffassung vom Wesen bestimmter Geschwulstzellen auseinandersetzen. Wir haben dabei alle solche Tumoren im Auge, die durch endogene oder exogene bekannte oder noch unbekannte Stoffe entstehen, nicht aber Teratome oder erbliche, angeborene oder im frühen Kindesalter auftretende maligne Geschwülste und andere Sonderfälle.

Vielleicht könnte man versuchen wollen, die Metastasierung in die Applikationsstelle etwa so zu erklären, wie man früher die Lokalisation von Primärtumoren in Brandnarben, Fisteln oder am Ort eines Traumas (FISCHER-WASELS) deuten wollte; diese Orte sollten vom Primärtumor bevorzugt werden, weil sie einen „locus minoris resistantiae“ darstellten. Aber eine solche Erklärung ist nichtssagend. Wir wissen ja nicht, welche Kräfte der Krebsentstehung „Widerstand leisten“, und also auch nichts darüber, wo etwa diese Kräfte herabgesetzt sind. Der Begriff des locus minoris resistantiae hat keinen konkreten Inhalt und führt uns auch hier nicht weiter.

Als Erklärung für die Lokalisation von Metastasen werden zwei verschiedene Auffassungen vertreten, beide mit so guten Argumenten, daß sie sich bis heute nebeneinander halten. Die einen glauben, daß die topographische Verteilung von Metastasen von dem Verlauf der aus dem Primärtumor abführenden Blut- und Lymphgefäß bestimmt wird (z. B. WALTHER). Nach anderen wird die auffällige Bevorzugung mancher Organe durch die Metastasen bestimmter Geschwülste mit der Anordnung der abführenden Gefäße nicht hinreichend verständlich. Sie erklärt nicht, warum beispielsweise Metastasen von Bronchialcarcinomen häufig im Gehirn oder Metastasen von Prostata- und Schilddrüsencarcinomen im Skelet zu finden sind. Viele sehen darin einen Hinweis dafür, daß die Geschwulstzellen bei der Metastasierung ihre Lokalisation nach der biochemischen Beschaffenheit der Organe auswählen (z. B. WILLIS).

In diesem Sinne deuten auch wir unseren Befund, daß bei 5 von 7 metastasierenden Geschwülsten sich eine Tumorzellkolonie in der Haut am Applikationsort des Naphthalins ansiedelte. Die Topographie der abführenden Gefäße aus den verschieden lokalisierten Primärtumoren kann das nicht erklären. Hier betätigten die Tumorzellen offenbar eine auswählende Affinität.

Das entspricht ganz unserer Auffassung vom Wesen einer großen Gruppe (s. oben) von Geschwülsten. Diese Tumorzellen halten wir für einen neuen Zelltyp mit stark gesteigerter Affinität zu allen möglichen nach Art oder Menge nicht-physiologischen Substanzen. Nach unserer Auffassung entstehen Tumorzellen in einem zwangsläufigen Prozeß überall dort, wo Abwegigkeiten des Gewebsstoffwechsels ununterbrochen ein

abnormes Produkt bilden, das vom Gewebe nicht unbeantwortet bleiben kann. Denken wir z. B. an die hormonalen Störungen bei der Prostatahypertrophie oder die Stoffwechselprodukte, die die Polyposis intestini hervorrufen dürften, oder die gewebsreizenden Stoffe im Lupusgewebe, an die biochemischen Veränderungen bei chronischen Gastritiden, an die Fremdstoffe, durch die chronische Fisteln unterhalten werden, an die Stoffwechselstörungen, die zunächst zur Lebercirrhose führen, an die stofflichen Abnormalitäten, die in der Gallenblase Konkremeante entstehen lassen usw. Alle diese biochemischen Abwegigkeiten werden mit pathologischen Organveränderungen beantwortet. Daß das Gewebe hier auf etwas Störendes reagiert, liegt auf der Hand. Entzündung, Zelldegeneration, Zelluntergang, Zellproliferation sind die erste Reaktion darauf. Oft bleibt es dabei; dann nämlich, wenn die abnorme Stoffwechselsituation in Grenzen bleibt oder durch die Gewebsreaktion in Grenzen gehalten werden kann. Schon diese ersten Veränderungen sind in unseren Augen der Ausdruck einer Auseinandersetzung zwischen Noxe und Gewebe. Bleibt diese aber auf die Dauer erfolglos, kommt es so nicht zur Ausheilung oder wenigstens zum Stillstand, dann entsteht zwangsläufig allein durch die ständige Gegenwart der unphysiologischen Substanz ein neuer Zelltyp. Der Vorgang könnte etwa so vor sich gehen wie bei Mikroorganismen neue Spielarten entstehen. Hier läßt sich eine neue, mit einem bestimmten Ferment begabte Rasse hervorrufen, indem man dem Nährboden der Kolonie eine Zeitlang das Substrat dieses Fermentes zusetzt (COHN und Mitarbeiter).

In einem ähnlichen Prozeß wird nach unserer Auffassung zwangsläufig der neue Zelltyp, die Tumorzelle, geschaffen, der speziell auf die im Gewebe unphysiologischerweise vorhandene und hier irritierende Substanz eingestellt ist. Denn das Hervorstechendste an Geschwulstzellen ist, wie die systematische Analyse ihrer Eigenschaften in der Gewebekultur bewiesen hat (KNAKE 1942), ihre Ähnlichkeit mit „Makrophagen“, also den speichernden Gewebshistiocytten. Zwar entstehen Carcinomzellen aus hochdifferenzierten Epithelzellen. Aber deren Spezialfähigkeiten verlieren sie bei der malignen Entartung; zumindest sind es ganz uncharakteristische Ausnahmen, wenn Carcinomzellen einmal Galle oder Schilddrüsenhormon usw. weiterproduzieren. Im allgemeinen sind sie ganz undifferenziert geworden und haben statt der hochspezialisierten Funktion ihrer Ausgangszellen die Eigenschaften von ganz banalen Aufräumzellen angenommen; dieses allerdings in stärkster Ausprägung.

Aus vielen Beobachtungen, nicht nur in der Gewebekultur, ist bekannt, daß Geschwulstzellen Farbstoffe und viele andere Fremdstoffe aufsammeln. Dabei lassen sie sich nach unserer Auffassung „chemotaktisch“ wie Entzündungszellen überall hinlocken, wo sich die störenden

Substanzen ausgebreitet haben. Wie Entzündungszellen sind auch sie amöboid beweglich und benutzen außerdem wie diese den Flüssigkeitsstrom in Blut- und Lymphgefäß, um sich weit vom ersten Herd forttransportieren zu lassen. Sie durchwandern dabei auch die Gefäßwand, aber nicht schonend, sondern indem sie gewalttätig einbrechen und durch sie hindurchwachsen, wie überhaupt ihr infiltrierendes Vordringen in Gewebsspalten und Gewebe zerstörerisch, „destruierend“ ist.

Es entspricht ihrer Aufgabe in der gegebenen patho-physiologischen Situation, daß sie sich schrankenlos vermehren; auch Entzündungszellen werden ja in unerschöpflicher Menge ausgeschwemmt<sup>1</sup>, solange die Gegenwart einer „entzündungserregenden“ Substanz diesen Vorgang unterhält.

Entzündungszellen einschließlich der den malignen Tumorzellen in vieler Hinsicht so ähnlichen Histiocyten unterscheiden sich von Geschwulstzellen gar nicht so sehr in der Art ihrer Funktion als vielmehr hinsichtlich der Situation, in der sie in Erscheinung treten. Tumorzellen sind, im Gegensatz zu jenen, fast niemals die erste, sondern immer die letzte Antwort des Körpers. Sie entstehen erst, wenn alle anderen Reaktionsmöglichkeiten des Gewebes versagt haben, wenn also die Noxe dadurch nicht neutralisiert oder lokalisiert wurde. Außerdem aber sind die reizenden und aus dem Gewebe zu eliminierenden Substanzen, mit denen Entzündungszellen und Tumorzellen befaßt sind, ganz verschieden. Bei Entzündungszellen sind es oft Bakterien, und deren guter optischer und klinischer Wahrnehmbarkeit verdanken wir vielleicht in erster Linie unser heutiges Verständnis für die Funktion der Entzündungszellen. Aber auch chemische Substanzen und physikalische Einwirkungen „erregen Entzündung“, d.h. verursachen die Art von Gewebsschädigungen, auf die Entzündungszellen antworten. Dagegen ist der patho-physiologische Funktionsbereich von Tumorzellen nicht die Eindämmung der durch Bakterien hervorgerufenen Noxen. Ihr Gebiet sind in erster Linie stoffliche, biochemische Abwegigkeiten und auch physikalische Effekte im Gewebe, was die Einsicht in ihre pathophysiologische Bedeutung nicht erleichtert.

Dieser Auffassung fehlt vorläufig der systematische Beweis, daß Zellen von Spontantumoren sich besonders mit der Aufnahme und Verarbeitung derjenigen Substanzen befassen, durch die sie entstanden sind. Nur das Plasmocytom und der dabei auftauchende abwegige Eiweißkörper lassen sich ohne weiteres unter unserem Gesichtspunkt betrachten. Für Benzpyrensarkome liegt der Nachweis schon vor, daß die präsumptiven Sarkomzellen das Benzpyren intracellulär aufnehmen (GRAFFI). —

<sup>1</sup> Man vergißt leicht, daß wir bis heute diesen Vorgang oder die Zellproliferation in der Embryonalentwicklung oder bei der Wundheilung nicht besser verstehen als die schrankenlose Vermehrung der malignen Geschwulstzellen.

Bei anderen krebserzeugenden Substanzen fällt uns immer wieder auf, daß sie das Wachstum der durch sie hervorgerufenen Tumoren nicht etwa fördern, sondern verlangsamen, d.h. die Zahl der Zellteilungen reduzieren, was uns in unserem Zusammenhange noch unverständlich erscheint. — Vielleicht lassen sich weitere Bestätigungen für unsere Auffassung in besonders darauf abgestellten Versuchsanordnungen erbringen, z.B. auch in der Gewebekultur. Einen Hinweis sehen wir jedenfalls in solchen Befunden wie der hier besprochenen Ansiedlung von Metastasen im Applikationsort von biologisch nicht indifferenten Stoffen (s. S. 141), der uns auch zu diesen Ausführungen veranlaßte.

Wir kommen nun zu den gutartigen Geschwülsten unserer mit Benzol oder mit Naphthalin-Benzol behandelten Mäuse. Eine mit Benzol und drei mit Naphthalin-Benzol gepinselte Mäuse hatten Lungenadenome. Bei einer Maus der letzten Gruppe waren gleichzeitig drei Lungenadenome entstanden; bei den anderen Mäusen waren sie solitär. Dagegen wurde bei den 1227 von HACKMANN und uns sezierten unbehandelten Mäusen des gleichen Inzuchtstammes SW kein einziges Lungenadenom beobachtet. Bei unseren Versuchsmäusen gehen sie also offenbar ursächlich auf die Versuchssubstanzen zurück, und zwar glauben wir, daß beide Substanzen, Naphthalin wie Benzol, für die Lungenadenome verantwortlich sind. Beide Stoffe sind flüchtig, und die Mäuse atmeten noch eine Weile nach dem jeweiligen Pinseln das von ihrer Haut abdunstende Benzol bzw. Naphthalin ein, zumal sie in hohen Gläsern gehalten wurden. Ob Naphthalin eine stärkere Fähigkeit als Benzol hat, Lungenadenome hervorzurufen, läßt sich aus unserer Versuchsanordnung nicht sicher ableiten, kann aber weiter untersucht werden. Es wäre möglich, daß bei der Naphthalin-Benzolgruppe beide Stoffe zusammen gewirkt haben. — Die klinisch gutartigen Adenome haben den Tod der Tiere nicht beschleunigt, sie starben erst zwischen dem 21. und 26. Monat der Behandlung. Berücksichtigen wir, daß nur wenige Mäuse ein so hohes Alter erreichten, so ist die Frequenz der Lungenadenome ziemlich hoch: 3 von 6 Mäusen, die die Naphthalin-Benzolbehandlung und 1 von 4 Mäusen, die die Benzolbehandlung mindestens 21 Monate lang überstanden, bekamen Lungenadenome, davon eine Maus der ersten Gruppe multipel.

An sich sind uns Lungenadenome bei Mäusen nicht unbekannt. Bei Mäusen anderer Herkunft haben wir sie gesehen und auch beschrieben (1943).

Wir halten es für möglich, daß bei intensiverer Einwirkung auf die Alveolarepithelien das begrenzte Wachstum der Lungenadenome zeitlich und räumlich schrankenlos, also maligne geworden wäre. Eine Fortsetzung dieser Versuche könnte also vielleicht einen Beitrag zu der jetzt viel diskutierten Frage bringen, ob der Bronchialkrebs ein Produkt inhalierter Carcinogene ist (K. H. BAUER).

Wir besprechen anschließend die sonstigen Wirkungen des Benzols. Bei der Pinselung der Nackenhaut schwarzer Mäuse mit Benzol oder auch mit Benzol-Naphthalin ergaben sich charakteristische übereinstimmende Hautveränderungen. Das Naphthalin hatte darauf überhaupt keinen Einfluß, weder veränderte es die durch Benzol hervorgerufenen Befunde qualitativ noch wirkte es verstärkend oder abschwächend. In fast allen den atrophisch und sklerotisch gewordenen Hautstücken entstanden Reizwucherungen von Promelanoblasten mit Propigment. Sie waren diffus über das ganze Hautstück verstreut oder lagen auch herdförmig zusammen. Meistens kam die Reizwucherung zum Stillstand, und das Pigment reifte zum Teil aus; einmal waren die Veränderungen präcancerös, und einmal mußte man sie als Melanosarkom ansprechen. In mehreren Fällen verhinderte nur die Geringfügigkeit der im Wesen gleichartigen Veränderungen, sie als maligne zu bezeichnen (Prof. RÖSSLER).

Die Reizwucherung von Promelanoblasten mit unreifem Pigment, die einmal in ein Melanosarkom überging, läßt sich mit sinngemäßer Abwandlung auch entsprechend unserer oben skizzierten Auffassung von Geschwulstzellen deuten. Haarausfall und Atrophie der mit Benzol gepinselten Haut ließen Licht in ein Gewebe eindringen, das normalerweise nicht darauf eingerichtet ist. Die fast pigmentfreie rosa Haut unserer Mäuse ist ja gewöhnlich durch ihren dichten schwarzen Pelz vor Lichteinfall geschützt. Mit diesem pathologischen Ereignis, das gewiß stoffliche Folgen hat, setzen sich Zellen auseinander, die in geringer Zahl präformiert, aber im Normalzustand mehr oder weniger funktionslos sind. Diese Promelanoblasten wuchern also, wie es den lokalen Bedürfnissen entspricht. Je nach der lokalen Situation kommt es zum Melanosarkom oder zu einem präcancerösen Vorstadium oder auch nur zu geringfügiger ausgebildeten, wenn auch im Grunde gleichartigen Veränderungen. — Wir glauben also nicht, daß die Wucherung von Promelanoblasten direkt durch Benzol angeregt wurde, sondern halten sie für eine Folge des Lichteinfalls in die durch Benzol haarlos und atrophisch gemachte Nackenhaut. — Hier allerdings haben wir einen jener seltenen Fälle, in denen von Anfang an Zellen des späteren Geschwulstgewebes mobil gemacht werden und nicht, wie es sonst der Fall ist, erst weniger spezifische Gewebsreaktionen vorhergehen. Das dürfte in der besonderen Natur des schädigenden Agens begründet sein.

BUTENANDT mit KAUFMANN und Mitarbeitern fand an einem Mäusestamm unter dem Einfluß von Benzolpinselung ein erhebliches Ansteigen der Tumorraten (von 46 % auf 83 %) von Brustdrüsengeschwulsten, mit dem der Stamm erblich belastet war. Nach seiner Definition hatte Benzol also eine „bedingt krebsauslösende Wirkung“, d.h. es steigerte den Prozentsatz solcher Tumoren, für die in diesem Stamm bereits eine

erbliche Anlage vorhanden war. — Wir haben nichts Entsprechendes für die Geschwulstart gesehen, die in unserem Inzuchtstamm am häufigsten auftritt, wenn sie auch absolut genommen noch sehr selten ist, nämlich Leukämie bzw. Lymphosarkom (bei HACKMANN 1%, bei uns 3,5%). Sie trat unter dem Einfluß der Benzolpinselungen nicht vermehrt in Erscheinung. —

Unser Benzolversuch bringt auch einen Beitrag zu der kürzlich von Leukämforschern aufgeworfenen Frage, ob Benzol Leukämie erzeugt, wobei auf frühere Experimente von LIGNAC Bezug genommen wurde. Dieses Problem sei um so wichtiger, als klinisch sicher wäre, daß Benzolarbeiter häufiger als andere an Leukämie erkrankten (FURTH, ISRAËLS, MÖSCHLIN, DUSTIN jr. u.a.). ENGELBRETH-HOLM schlug vor, Mäuse eines Stammes mit etwa 10% Spontanleukämie mit Benzol zu behandeln. Dieser Anregung entspricht unser Benzolversuch ungefähr; allerdings haben die von uns gebrauchten Mäuse des Stammes SW eine noch geringere Rate an spontaner Leukämie (s. oben). Aber immerhin ist unter den wenigen Spontangeschwülsten dieses Stammes die lymphatische Leukämie und das solitäre Lymphosarkom überhaupt vorhanden. Unser Versuchsergebnis beantwortet die oben zitierte Frage eindeutig negativ: Benzolpinselung förderte die Entstehung von Leukämie oder Lymphosarkomen nicht. — Nach unseren Versuchsergebnissen können wir also auch keineswegs der von DANNENBERG (1954) wiedergegebenen Tabelle von E. L. WYNDER in diesem Punkte zustimmen.

### Zusammenfassung

Naphthalin (0,35 g/100 g) wurde in Sesamöl gelöst Ratten subcutan injiziert. Fern vom Ort der Injektionen entstanden fünfmal mehr Geschwülste als bei den nur mit Sesamöl behandelten Ratten. Diese hatten die gleiche Rate von Spontantumoren wie unbehandelte, mit ihnen verwandte Ratten. Drei von fünf Geschwülsten nach Naphthalininjektionen metastasierten in das Naphthalin-Oleom.

Schwarzen Mäusen des hochgezüchteten Inzuchtstammes SW (Dr. HACKMANN) wurde Naphthalin in Benzol gelöst auf die Nackenhaut gepinselt. Es entstanden fünfmal soviel maligne Neubildungen wie in den nur mit Benzol gepinselten oder in unbehandelten Mäusen des gleichen Inzuchtstammes. Zwei Mäuse mit lymphatischer Leukämie nach Naphthalinpinselung hatten eine solide Metastase in der gepinselten Nackenhaut.

Sowohl bei den mit Naphthalin-Benzol wie bei den nur mit Benzol gepinselten Mäusen entstanden Lungenadenome, die in 1227 unbehandelten Mäusen des gleichen Inzuchtstammes bisher nicht zur Beobachtung kamen.

Die mit Benzol behandelte Nackenhaut wurde atrophisch und sklerotisch. Es entstanden Reizwucherungen von Promelanoblasten mit Propigment. Einmal führten dieses Veränderungen zu einem Melanomarkom, einmal zu präcancerösen Veränderungen und mehrmals zu im Wesen gleichartigen Befunden, die nur ihrer Geringfügigkeit wegen nicht als maligne anzusprechen sind.

Anhand der Metastasierung in die Applikationsstellen von Naphthalin wird eine Auffassung vom Wesen einer bestimmten Gruppe von Geschwulstzellen gebracht, die ihre Ähnlichkeit mit Makrophagen in den Mittelpunkt stellt und ihre Bildung als eine in der gegebenen Situation zweckvolle Gewebsreaktion — analog zu der Entzündung — ansieht. Hinsichtlich des Bildungsprozesses wird ein Vorgang in Betracht gezogen, der bei Mikroorganismen eine neue, besonders ausgestattete Rasse entstehen lässt.

#### Literatur

- BAUER, K. H.: Dtsch. med. Wschr. **1954**, 615. — BUTENANDT, A.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **55**, 354 (1949). — Verh. dtsch. Ges. Path. **35**, 70 (1951). — COHN, M., J. MONOD, M. R. POLLOCK, S. SPIEGELMAN and R. Y. STANIER: Nature (Lond.) **172**, 1096 (1953). — DANENBERG, H.: Neue med. Welt **1**, 1374 (1950). — Med. Klin. **49**, 1525 (1954). — DRUCKREY, H., u. D. SCHMÄHL: Naturwiss. **42**, 159 (1955). — FISCHER-WASELS, B.: Allgemeine Geschwulstlehre. In Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, herausgeg. von BETHE, BERGMANN, EMBDEN u. ELLINGER, Bd. XIV, S. 1554. Berlin: Springer 1927. — FÜHNER, H.: Medizinische Toxikologie, S. 160. Leipzig: Georg Thieme 1947. — FURTH, J., M. C. G. ISRAËLS, S. MÖSCHLIN, P. DUSTIN jr. and J. ENGELBRETH-HOLM: In: Leukemia Research, Ciba Foundation Symposium, S. 36. London: Churchill 1954. — GAVAUDAN, P., N. GAVAUDAN et F.-J. DURAND: C. r. Soc. Biol. Paris **130**, 53 (1939). — GHIZOV, G., R. VASSILEVA u. D. DOSPEVSKI: Ref. Ber. allg. u. spez. Path. **12**, 285 (1952). — GRAFFI, A.: Z. Krebsforsch. **49**, 477 (1939); **50**, 196 (1940); **52**, 165 (1941). — KAUFMANN, C., H. A. MÜLLER, A. BUTENANDT u. H. FRIEDRICH-FREKSA: Z. Krebsforsch. **56**, 482 (1949). — KLINGMANN, TH.: Virchows Arch. **149**, 12 (1898). — KNAKE, E.: Z. Krebsforsch. **52**, 269 (1942). — **54**, 242, 249 (1943). — POLLIA, J. A.: Amer. J. Canc. **32**, 461 (1938). — PULLMAN, A., u. B. PULLMAN: Cancer Res. **3**, 123 (1955). — SAWNIK, L., u. V. PREMRU: Z. Krebsforsch. **52**, 83 (1942). — WADDEINGTON, C. H.: Proc. Roy. Soc., Lond., Ser. B **125**, 365 (1938), zit. nach F. E. LEHMANN, Physiologische Embryologie, S. 322, Tabelle 17. Basel: Birkhäuser 1945. — WALTHEER, H. E.: Krebsmetastasen. Basel: Benno Schwabe & Co. 1948. — WILLIS, R. A.: Pathology of tumours. London: Butterworth & Co. 1948.