

(Aus der Universitätsklinik für Geschwulstkranke Berlin.)

Untersuchungen über die Rolle der Porphyrine bei geschwulstkranken Menschen und Tieren.

Von

Hans Auler und Georg Banzer.

(Eingegangen am 11. Juli 1942.)

Die Porphyrine haben nach Klärung ihrer chemischen Konstitution, besonders durch die Arbeiten von *Fischer*, nach den Untersuchungen von *Borst* und *Königsdörffer* und nach den zusammenfassenden Berichten von *Carrié* und *Vanotti* erhöhtes Interesse beansprucht. Die Einführung des Hämatoporphyrin-Nencki als Therapeutikum gegen Melancholien und endogene Depressionen durch *Hühnerfeld* gaben der Forschung neuen Anstoß. Auch in unserem Institut wurden Versuche über die physiologische Bedeutung der Porphyrine und Möglichkeiten der Therapie bei Geschwulstkranken und Versuchstieren begonnen.

Von den natürlich vorkommenden Porphyrinen wurde von uns durch Aufarbeiten größerer Harnportionen Koproporphyrin gewonnen, dem bei unserem Arbeitsgang kleinere Mengen abgebautes, karboxyliertes Koproporphyrin, das Uroporphyrin beigemischt war. Aus Eierschalen wurde Ooporphyrin, das mit Protoporphyrin identisch ist, dargestellt. Das Protoporphyrin III steht dem Hämin nahe, es enthält neben zwei Carboxyl- zwei Vinylgruppen und unterscheidet sich dadurch chemisch von den übrigen Porphyrinen. Die Karboxylierung und damit Bildung des Koproporphyrins geht in der Leber vor sich.

Bei der experimentellen Arbeit mit Porphyrinen sind folgende Faktoren in Rechnung zu stellen: die exogene neben der endogenen Porphyrinbildung, die Entstehung von Porphyrinen aus Darmbakterien und Hefezellen, die erhöhte Ausscheidung bei Fieberzuständen. Gerade bei der Arbeit mit Geschwulstkranken kommt ihnen erhöhte Bedeutung zu, sei es durch eine angeblich veränderte Bakterienflora im Darm, durch Ansiedlung von Mikroorganismen in offenen Geschwülsten, durch erhöhten Blutzerfall und besonders auch durch Leberschädigung und Lebermetastasen. Schließlich kennen wir verschiedenartige endogene Porphyrinbildung, Isomeren, die entwicklungsgeschichtliche und pathophysiologische Bedeutung haben. Nach Bleivergiftung wird Koproporphyrin III, nach Sulfonalvergiftung Uroporphyrin I, nach Quecksilbervergiftung besonders Koproporphyrin I ausgeschieden. Über entsprechende Versuche wird weiter unten berichtet.

Als künstliches Porphyrin stand uns das Hämatoporphyrin-Nencki in Form des Photodyn der Nordmarkwerke Hamburg zur Verfügung, das durch Einwirkung von Eisessigbromwasserstoff auf Hämin gewon-

nen wird, natürlich aber nicht nachgewiesen ist; auch eine Umwandlung im Organismus ist nicht nachgewiesen. Bei peroraler Photodyngabe wird kein Hämatoporphyrin im Urin nachgewiesen, die Ausscheidung erfolgt ausschließlich durch die Faeces. Erst bei größeren intramuskulären Gaben wird Hämatoporphyrin auch durch den Urin ausgeschieden. Wir sahen bei unseren Versuchen zumeist von peroralen Gaben ab.

Zur Gewinnung und Nachweis des auch physiologisch ausgeschiedenen Koproporphyrins gingen wir nach der Methode von *Hans Fischer* vor. Ausschütteln des mit Essigsäure angesäuerten Harns mit Äther, Nachwaschen mit Wasser, dann Ausschütteln mit 25proz. Salzsäure; Reinigen durch Natriumacetat, Natronlauge und Übersichten mit Äther; Nachweis durch Rotfluoreszenz und Identifizierung durch Spektroskopie. Besonders Uroporphyrin wurde durch Adsorption an Kaolin und Eluieren mit Essigsäure gewonnen.

Die Befunde beim Porphyrinnachweis im Urin von Carcinomkranken wechselten. Die Ausscheidung war bei den meisten Patienten gegenüber der Norm deutlich erhöht, wobei zu bedenken ist, daß wir es an unserer Klinik zumeist mit Schwerkranken zu tun haben. Interessant ist, daß 2 Patienten mit Oberkieferca. und 1 Patient mit Oesophagusca., sowie 1 Patient mit Rectumca. besonders starke Porphyrinausscheidungen im Urin zeigten. Diese Ausscheidung ging nicht mit einer pathologischen Urobilin- und Urobilinogenausscheidung parallel. Die Sektion ergab in einem Fall Leberstauung und im anderen Induration der Leber. In anderen Fällen wurde kein Befund an der Leber erhoben. Wohl aber hatten wir andere Patienten, die, obwohl sie bei der Sektion schwere Leberschädigungen aufwiesen, doch nicht diese erhöhten Porphyrinwerte im Urin zeigten. Es wurde dann versucht, um das künstliche Hämatoporphyrin zu umgehen, Porphyrinurie durch Bleigaben (in Form des Plumbum aceticum 0,05) und Sulfonal zu erzeugen. Sulfonal erwies sich als ungeeignet, da es auch bei unseren Krebskranken nur bei besonderer Konstitution Porphyrinurie erzeugt. Mit Pb. wurden zuverlässigere Resultate erzielt. Es besteht durchaus der Eindruck, daß die Porphyrinausscheidung hierbei bei unseren Krebskranken gegenüber Gesunden quantitativ gesteigert ist. Erste Versuche von Bleigaben und damit verstärkter Porphyrinurie und gleichzeitiger Ultraviolettbestrahlung wurden ebenfalls gemacht, sie eröffneten interessante Perspektiven. Es sei hier auch auf die Versuche von *Büngeler* hingewiesen, der durch lange Einwirkung von Hämatoporphyrin und Licht auf weiße Mäuse schließlich bösartige Geschwülste erzeugen konnte. Es handelt sich hier aber um so große Reize und langdauernde Wirkung, wie sie bei unseren Versuchen bei weitem nicht erreicht werden.

Bei der Betrachtung offener Geschwülste mit der Ultraviolett-Analysenlampe (Hanau) fluorescierten die offenen Tumoren besonders an den nekrotischen Stellen und in der Nähe der Wundränder. Blutende

Stellen ließen die Photoluminescenz vermissen. Das genannte *Nekrosephänomen* ließ sich besonders bei einer Patientin mit ausgedehntem, nur langsam fortschreitenden Hautcarcinom beobachten. Hier konnte eine fortschreitende Nekrose an Hand der Photoluminescenz verfolgt werden. Nach Photodyn-Injektion wurde eine verstärkte Fluorescenz festgestellt, besonders in den Randzonen und einiger Inseln. Die Patientin bekam 10 Tage je eine intramuskuläre Injektion von einer Ampulle Photodyn, anschließend 25 Tage Photodyntropfen.

Bemerkenswert für unsere Versuche ist die von *Wohlgemuth* und *Szörényi* festgestellte Abnahme der anaeroben Glykolyse in Gewebeskulturen bei Zusatz von Sensibilatoren und Ultraviolettbestrahlung. Durch Blausäure tritt keine Hemmung ein, es muß also ein von der eigentlichen Zellatmung verschiedener Vorgang zugrunde liegen. Es geben sich hier interessante Parallelen zur anaeroben Glykolyse der Carcinomzelle. Es sei hier an die Möglichkeit gedacht, das Porphyrin als Redoxsystem aufzufassen. Es kann durch Reduktion in eine Leukoform umgewandelt werden (die wir auch im Urin antreffen können). Auf die enge Beziehung zum Atmungsferment Cytochrom sei hier ebenfalls hingewiesen.

In einer Reihe von Tierversuchen sollte versucht werden, Einblick in das pathophysiologische Geschehen, Möglichkeiten der Beeinflussung und Entstehung von Tumoren zu erhalten. Es wurde mit dem *Flechner-Jobling*-Carcinom und *Jensen*-Sarkom der Ratte gearbeitet. Als Porphyrin wurde das Photodyn in Hauptsache verwandt, daneben Proto- und Koproporphyrin. Als Injektionsform wurde die subcutane, intramuskuläre, intraperitoneale und intratumorale gewählt. Die Einspritzungen wurden zumeist an drei aufeinanderfolgenden Tagen gemacht, je 1 ccm (bis 2 ccm). Wir haben uns den Weg so vorzustellen: Das Hämatoporphyrin wird vom Blut der Leber zugeführt, dann durch die Galle in den Darm überführt. Nur ein kleiner Teil wird im Urin ausgeschieden. Bei Koproporphyrin ist die Urinportion größer.

Zunächst wurden 28 Tiere in den Versuch einbezogen. Von 9 offenen Tumoren fluorescierten vor den Injektionen 6 gut, 2 wenig, 1 nicht. Dieser unbehandelte Tumor zeigte bei der Sektion ebenfalls im nekrotischen Gewebe Porphyrinfluorescenz. Von den beiden weniger lumineszierenden Tumoren wird noch weiter unten berichtet.

Tiere, die eine Hämatoporphyrininjektion i.m. oder s.c. erhalten haben und kurz bis einen Tag nach der Injektion getötet wurden, zeigten die Porphyrinfluorescenz ausgehend von der Injektionsstelle besonders schön entlang den Lymphdrüsen in den regionären Lymphdrüsen. Axilläre und inguinale Leistendrüsen, auch die Metastasen auf dem Wege zum Tumor fluorescierten rot. Die Umgebung des Tumors zeigte erhöhten Porphyringehalt, in etwas späteren Stadien zeigte die Kapsel besonders schöne Fluorescenz, die die des Tumors selbst bei weitem übertraf. Bei später getöteten Tieren fluorescierten die nekrotischen

Innenbezirke des Tumors besonders stark. Es besteht der Eindruck, daß das Hämatoporphyrin von der Injektionsstelle aus im Tumor besonders in den nekrotischen Partien gespeichert wird. Trotzdem bei unserem Tumorstamm eine gewisse Neigung zur Nekrose besteht, scheint doch durch die Porphyrinmedikation verstärkte Nekrose erzielt zu werden. Bei intratumoralen Injektionen war der nekrotische Zerfall und Verflüssigung des Inhaltes sehr stark. Hier war noch nach langer Zeit die sehr schöne Fluoreszenz nachzuweisen, oft bestand eine Verflüssigung des Inhaltes in gekammerten Hohlräumen. Fluoreszenz war auch bei unbehandelten geschlossenen Tumoren beim Sa. und Ca. nachzuweisen. Bei einigen wenigen Tumoren war kein Porphyrin nachzuweisen, es waren das feste, kleine Geschwülste; ein solcher derber, erbsengroßer Tumor zeigte selbst nach 3 cem Photodyninjektion keine Fluoreszenz. Es handelte sich hierbei um Granulome.

Zusammenfassend können wir sagen, daß offene Tumoren auch ohne Porphyrininjektion in den nekrotischen Partien fluorescieren; durch spektroskopische Analyse wurde bei der Extraktion Porphyrinvorkommen bestätigt. Geschlossene Tumoren zeigen ebenfalls in den nekrotischen Partien Fluoreszenz mit Ausnahme einiger fester, kleiner Geschwülste (Granulome). Die Rotfluoreszenz wird durch Hämatoporphyrininjektion erheblich verstärkt, dabei wandert das Porphyrin in die nekrotischen Bezirke. Es besteht verstärkte Neigung zur Nekrose. Bei intratumoraler Injektion tritt leicht Verflüssigung des Inhaltes ein.

Es wurde ferner eine kleine Serie Tumortiere mit Photodyninjektionen behandelt und gleichzeitig mit einer starken Quarzlampe bestrahlt. Neben gewissen Reizerscheinungen (Lichtscheu, Gesichtsoedeme, Unruhe) der Tiere zeigte der Tumor verstärkt die Nekrose, die fluorescierte, und die cystische Erweichung. Bei einem Tier war nach 4 Bestrahlungen nur wenig verschorftes Tumorgewebe, das starke Rotfluoreszenz zeigte, übrig geblieben. Spektroskopisch wurde wieder Porphyrin identifiziert. Mit entsprechenden Versuchen am Menschen wurde begonnen.

Die Versuche mußten insgesamt bedingt durch den Krieg abgebrochen werden. So konnten nur an einem sehr kleinen Versuchsmaterial einige Beiträge zu dem Problem der Bedeutung der Porphyrine für die Geschwülste gebracht werden. Sie zeigen aber, daß hier interessante Beziehungen bestehen.

Literaturverzeichnis.

Borst, M., u. H. Königsdörffer, Untersuchungen über Porphyrie. Leipzig: Hirzel 1929. — Büngeler, W., Z. Krebsforsch. **46**. — Carriè, Curt, Die Porphyrine. Leipzig: Thieme 1936. — Hühnerfeld, J., Die biologisch-klinische Bedeutung des Hämatoporphyrin-Nencki. Leipzig: Barth 1941. — Vannotti, A., Porphyrine und Porphyrinkrankheiten. Berlin: Springer 1937.