

Die Bedeutung der „CaR“ für das Krebsproblem und andere Forschungsgebiete.

Von

Hans J. Fuchs,

z. Zt. London Hospital Medical College, Depart. of Physiology, London.

(Eingegangen am 30. Juni 1936.)

Die Einführung der chemischen Analyse in ein Arbeitsgebiet, welches bisher allein biologischen Untersuchungsmethoden vorbehalten war, ist ein schwieriger und entscheidender Schritt. Schwierig, da die Mengen der bei biologischen Reaktionen umgesetzten Substanzen trotz großartiger Wirkung außerordentlich klein sein können. Entscheidend, da die chemische Analyse an Genauigkeit und vor allem an Objektivität der biologischen Kontrolle weit überlegen ist.

Daher war die nächstliegende Aufgabe, die mikrochemische Arbeitsweise in einer Richtung weiter zu entwickeln, die ihre Empfindlichkeit und damit Genauigkeit soweit brachte, daß die in Betracht kommenden biologischen, geringen Umsätze *sicher* erfaßt werden konnten. Nach jahrelangen Untersuchungen, die von stetigen, technischen Verbesserungen begleitet waren, ist heute diese Methode durch Konstruktion geeigneter Spezialapparate und entsprechender, genauer Vorschriften unschwer geworden¹. Natürlich ist ihre Durchführung auch ohne diese speziellen Apparate möglich, wie von mehreren Seiten gezeigt worden ist². Diese sollen nur eine gewisse Vereinfachung und Sicherung der Untersuchung bezwecken!

In jedem Falle verlangt die mikrochemische Analyse die dem Chemiker selbstverständliche, dem Mediziner oft unbekannte Genauigkeit der Durchführung. Die Auswertung des Analysenergebnisses wiederum erfordert Überlegungen, die dem Mediziner näher liegen als dem Chemiker.

Diese Methode („CaR“) erlaubt heute verschiedenste Forschungsmöglichkeiten! Sie ist praktisch zu krebsdiagnostischen Zwecken verwendbar³. Sie erlaubt fernerhin die Feststellung verschiedenster Infektionskrankheiten in streng spezifischer Weise. Mithilfe der *spezifischen, unschwer herzustellenden, jahrelang haltbaren Trocken-substrate* genau bekannter Eigenschaften ermöglicht sie es, über Jahre hinaus Untersuchungen mit dem gleichen, immer wieder erprobten Testmaterial durchzuführen. Sie hat bereits zahlreiche Bestätigungen ihrer vielseitigen Brauchbarkeit erhalten^{2, 3}.

Die an der Spitze aller weiteren Experimente stehenden Untersuchungen über maligne Tumoren zeigten, daß der für die menschliche maligne Zelle spezifische Stoff bei *allen menschlichen malignen Tumoren der gleiche* ist, ohne Unterschied, wo der Sitz des Tumors ist und

aus welchem Keimblatt er entstand. Weiterhin wurde dabei nachgewiesen, daß *unausdifferenzierte Zellen* des Organismus diesem selbst gegenüber analog malignen Zellen teilweise heterolog und damit antigenfähig sind. Daß unausdifferenzierte Zellen um so heterologer sind, je größer ihr Differenzierungsabstand von der endlichen Differenzierung des Gesamtorganismus ist, und daß diese Heterologie mit weiterer Ausdifferenzierung sich immer mehr der Homologie mit dem Gesamtorganismus annähert.

Hiermit wurde erstmalig bewiesen, daß der bisher allgemein gehaltene Begriff der Embryonalzelle in eine große Zahl von stofflich unterschiedenen Stadien einzuteilen ist. *In diesem sich kontinuierlich verändernden, stofflichen „Spektrum“ der ontogenetischen Zellentwicklung („Zellrassen“) befindet sich — unfern der endlichen Differenzierung — ein schmaler Bereich, der besonderes Interesse verdient.* Er wurde von uns⁴ als „maligne Zone“ bezeichnet, da er stofflich die maligne Zelle charakterisiert. *Die gerade auf ihrem physiologischen Ausdifferenzierungswege in diesem Bereich befindlichen Embryonalzellen (und auch Regenerationszellen!) sind stofflich homolog mit der malignen Zelle!* Sie unterscheiden sich aber dann noch immer in ihren Eigenschaften dadurch von denen der malignen Zelle, daß *sie diese „maligne Zone“ durchschreiten, sich weiter ausdifferenzieren können, während die maligne Zelle diese Eigenschaft nicht besitzt! Sie verharrt stets in dieser „malignen Zone“ des Ausdifferenzierungsspektrums.*

Hiermit war gleichzeitig verständlich geworden, daß bei vielen Krebsreaktionen sowohl in bestimmten Schwangerschaftsmonaten (gegen Ende der Gravidität) als auch bei vielen chronischen Regenerationsprozessen positive Untersuchungsergebnisse erhalten werden konnten, ohne daß wirklich ein maligner Tumor im Organismus vorhanden war.

Das Gesamtergebnis dieser vielfältigen, mit den verschiedensten Seren und Substraten bekannter Herkunft vermittels der CaR durchgeführten Kreuz- und Querversuche führte schließlich zu folgender Charakteristik der malignen Zelle:

Die maligne Zelle ist eine Embryonalzelle, deren Ausdifferenzierungsfähigkeit in einer bestimmten Ausdifferenzierungszone blockiert wurde. Die maligne Zelle unterscheidet sich also von anderen Embryonalzellen der gleichen Ausdifferenzierungszone — und damit gleicher stofflicher Beschaffenheit! — durch das Fehlen weiterer Differenzierungsfähigkeit, welche erstere besitzen. Diese Unfähigkeit, die stofflichen Anlagen zur Weiterdifferenzierung zu bringen, ist das besondere Kennzeichen der malignen Zelle und unterscheidet sie scharf von der Embryonalzellrasse, die ihr stofflich homolog ist⁴.

Dieser „Spektralbezirk“ liegt, wie entsprechende Vergleichsuntersuchungen mittels der CaR ergaben, sozusagen im letzten Viertel des

hierbei zahlenmäßig erfaßbaren Gesamtdifferenzierungsspektrums! Diese Nähe zur Endausdifferenzierung gibt eine zufriedenstellende Erklärung für die verhältnismäßig recht hochentwickelten, speziellen Eigenschaften maligner Zellen einerseits. Andererseits erklärt sie auch oben erwähntes Verhalten mancher diagnostischer Methode in der *Spätschwangerschaft*.

Nachdem wir nun so zu einer derartig scharf umrissenen Definition der malignen Zelle gelangt waren, erhob sich die Frage nach der Entstehungsmöglichkeit der malignen Zelle selbst. Von einer „Rückdifferenzierung“ der vollaussdifferenzierten Zelle zur Embryonalzelle in der malignen Zone kann hinsichtlich der sonstigen biologischen Erkenntnisse keine Rede sein. Der Ursprung der malignen Zelle kann also nur bei Embryonalzellen zu suchen sein, die sich *von unten herauf* auf dem Wege zur vollaussdifferenzierten Zelle befinden. Die unterwegs in der malignen Zone irgendwelchen Einflüssen unterlagen, die ihre Weiterdifferenzierung unter Bedingungen versperrte, daß ihr Leben erhalten blieb. Hiermit wurden sie zu malignen Zellen.

Zur Aufklärung dieser Frage stehen uns drei Forschungsgebiete zur Verfügung, deren hier in Betracht kommende Ergebnisse wir im folgenden kurz überprüfen wollen: 1. das Tierexperiment der Tumorerzeugung. 2. Die Bakterienforschung. 3. Die Gewebszüchtung *in vitro*.

Das **Tierexperiment** bietet drei Möglichkeiten der willkürlichen Tumorerzeugung:

a) Einpflanzung virulenter Tumorzellen der gleichen Spezies in den gesunden Organismus.

b) Schaffung eines Regenerationsprozesses, um neue, junge, womöglich in Teilung begriffene, unausdifferenzierte Zellen durch das eingespritzte, zellfreie Extrakt hochvirulenter Tumorzellen der gleichen Spezies derartig beeinflussen zu können, daß sie selbst zu malignen Zellen werden. Diese neuerworbene Eigenschaft vermag dann auf weitere Tochterzellen überzugehen insofern, als diese „Varianten“ (*E. Bauer*⁵) nunmehr den gleichen Stoff selbst produzieren, der ihre Variation erzwungen hat.

c) Schaffung eines ebensolchen Regenerationsprozesses für längere Dauer und „Vergiftung“, Schädigung der dabei vorhandenen, unausdifferenzierten, womöglich in Teilung („sensible Periode“) befindlichen Zellen in einer Weise, *die noch nicht zu ihrem Tode führt*, sondern diese Zellen zu einer gewissen Variation zu zwingen vermag, zu der sie als unausdifferenzierte Zellen ja fähig sind. Die Eigenschaften so entstandener maligner Zellen stimmen dann mit denen der unter a und b genannten überein.

Alle diese drei Arten der Tumorzellenerzeugung unterstehen dabei dem gleichen Gesetz: die „Virulenz“ der Tumorzelle ist ihre „Immunität“ gegenüber dem Organismus; die „Immunität“ des Organismus ist seine „Virulenz“ gegenüber der Tumorzelle. Dieses Gesetz steht auf einer Linie mit dem von *Bordet* für Bakterien und Organismus ausgesprochenen. Denn letzten Endes verhält sich die

maligene Zelle dem Organismus gegenüber genau so wie ein von außen in diesen eingedrungener Schmarotzer: losgetrennt von der gesetzmäßigen Zellordnung führt die maligne Zelle ihr Eigenleben und ähnelt damit in vielen Richtungen Bakterien.

Wird dazu noch die allgemeine Abwehrkraft des Organismus (mit deren Wesen wir uns hier vorläufig nicht näher befassen wollen; sie dürfte sich gegen maligne Zellen wie gegen Bakterien im gleichen Sinne verhalten) durch passende experimentelle Maßnahmen *vor* einer der drei genannten Arten der Tumorerzeugung *genügend stark herabgesetzt*, so ist mit einer viel größeren Tumorausbeute zu rechnen. Allerdings wird damit die „Tumorigenität“ nicht direkt, sondern zunächst nur indirekt erhöht!

Die oben aufgezählten drei Möglichkeiten der Erzeugung maligner Tumoren kommen bisher nur für Hühnergeschwülste in Betracht. *Rous* und Mitarbeiter fassen die Gründe, warum Hühnergeschwülste als echte maligne anzusehen sind, folgendermaßen zusammen: Sie wachsen in normale Gewebe infiltrierend hinein. Ihr vom Wirt unabhängiges Wachstum endigt in Nekrose. Sie senden auf dem Blutwege Zellen des Primärtumors aus, welche typische Metastasen erzeugen. In resistenten Hühnern ist die gleiche Art der Tumorzurückbildung zu beobachten wie bei Säugetieren. Hühnertumoren sind — wie solche von Säugetieren — mittels Zellüberimpfung übertragbar und zeigen ebenfalls eine Virulenzsteigerung nach einer Anzahl geeigneter Passagen.

Hühnersarkome, die erfolgreich als Zellsuspension transplantiert werden, setzen *rasch* Tumoren und dann Metastasen in Organe und Gewebe, die zum Tode des Versuchstieres in 2—5 Wochen führen können.

Die Impfung mit getrocknetem Tumorpulver gleicher Herkunft oder dessen zellfreiem Extrakt ist von einer *längeren Latenzperiode* gefolgt; aber nach dieser entwickelt sich die bösartige Geschwulst mit einer Stärke und Geschwindigkeit, die der von direkt transplantierten Zellen erbrachten gleichkommt⁶. Die Injektion zellfreier Tumorextrakte in den Brustmuskel erwachsener Hühner induziert die Entstehung von Tumoren nur längs des Weges der durch die Injektionsnadel hervorgerufenen Verletzungen, ohne Rücksicht auf die Menge des eingespritzten Filtrates, solange diese nicht ein Minimum unterschreitet. Intravenöse Zell-extraktinjektionen bringen Tumoren nur an Stellen des Organismus hervor, wo Zellveränderungen, Zellteilungen statthaben, z. B. vor allem sich im aktiv betätigenden Eierstock⁷. Diese Beobachtungen hatten zuerst den Gedanken nahegelegt, daß eine Schädigung der Zelle diese für den Einfluß des Extraktes empfänglicher machte. Später aber erkannte man an umfassenden anderen Versuchen, daß junge, unausdifferenzierte, womöglich sich gerade in Teilung befindliche Zellen besonders empfänglich sind⁸. *Pentimalli*⁹ injizierte zellfreie Filtrate oder Extrakte von getrocknetem Tumorpulver des *Rous*-Sarkoms intravenös; bei gesunden Tieren entstanden keine Tumoren, während bei thermokauterisierten an der Verletzungsstelle das gleiche Sarkom entstand. Ebenso wie die Verbrennungsverletzung wirkte bei intravenöser Injektion lokale Schädigung durch Scharlachrot R, Teer, Embryonalextrakt, Kieselgur u. a.¹⁰.

Aus diesen kurzen Darlegungen ist bereits zu ersehen, daß bei Zelltransplantation diese Zellen haften und sich dann rasch vermehren können. Bei Verimpfung genügend virulenten zellfreien Tumorextraktes oder Tumortrockenpulvers erfolgt die entsprechende Beeinflussung, Umwandlung unausdifferenzierter und

daher variationsfähiger, durch Impfprozesse mobilisierter Regenerationszellen — während der gesamten Latenzperiode! — zu malignen Zellen, deren Weiterentwicklung dann die übliche ist.

Die dritte Möglichkeit ist, beim Huhn mit Arsen, Indol, Teerderivaten u. a. geeigneten Stoffen maligne Tumoren zu erzeugen. Hier ist gleichfalls der Regenerationsprozeß zur Entstehung des Tumors unerlässlich! Die *Latenzperiode* ist *noch viel, viel länger*, bis dann schließlich doch noch ein maligner Tumor zum Vorschein kommen kann. Denn die Beeinflussung der variationsfähigen Regenerationszellen ist — verglichen mit der durch Tumorzellextrakt — „unspezifischer“: dieser Weg der Variation in bestimmter Richtung ist ein unsicherer und daher viel langdauernder, auch seltener zum Erfolg führender. Der schließlich aber entstandene Tumor entspricht in allen seinen Eigenschaften denen eines Spontan- oder Impftumors. Er setzt gleichfalls Metastasen und führt schließlich zum Tode des Tieres. Die Zellen eines derartig erzeugten Tumors sind direkt übertragbar; die Injektion ihres zellfreien Extraktes vermag gleichfalls neue Tumoren gleicher Art bei gesunden Hühnern in vorher beschriebener Weise zu erzeugen⁴⁰.

Bei diesen Tierexperimenten entstehen also maligne Geschwülste gleicher Art auf drei verschiedenen Wegen! Da auch die erste maligne Zelle des Spontantumors nicht von außen in den Organismus eingedrungen sein muß, sondern von Zellen des Organismus ihren Ausgang nahm, lassen sich alle drei hier genannten Möglichkeiten der Tumorentstehung in einem Punkte vereinigen: *die erste Tumorstelle entsteht aus einer undifferenzierten und damit variationsfähigen Regenerationszelle, welche durch besonders geeignete Beeinflussung, am besten während der sensiblen Periode ihrer Teilung, in ihrer Weiterdifferenzierung gestört worden ist.*

So führt uns also die experimentelle, biologische Übersicht über die Tumorerzeugung beim Tierexperiment schließlich zur gleichen Erkenntnis, die die serochemische CaR *an menschlichem Untersuchungsmaterial auf ganz anderem Weg* gefunden hat.

Nunmehr erhebt sich die nächste Frage, *in welcher Weise* die Beeinflussung der unausdifferenzierten Zelle, besonders während ihrer Teilung, stattfinden kann, so daß sie zur malignen Zelle zu werden vermag.

Der Gesamtorganismus ist als Lebensgemeinschaft einer großen Zahl verschiedener und dabei doch in gewissen Hauptpunkten (wie stoffliche Prägung bezüglich Artspezifität) übereinstimmender Zellrassen anzusehen. Ihre kontinuierliche Verbindung untereinander und davon abhängige Korrelation wird durch den Säftekreislauf dauernd aufrecht erhalten. Die Flüssigkeit desselben kommt mit allen Zellen in engste Berührung. Sie bringt also hochausdifferenzierte Zellen mit solchen aller möglichen, geringeren Ausdifferenzierungsstufen in dauernden Ausgleich koordinierter Art.

Vergleichen wir diese „Arbeits- und Lebensgemeinschaft“ mit einer der **Bakteriologie** wohlbekannteren „Bakterienreinkultur“ in flüssigem Medium (z. B. einer Bouillonkultur), in der sämtliche Zellen gleichfalls miteinander in dauernder, enger Berührung sich befinden! Der Ausdruck „Reinkultur“ besagt, daß keine anderen Bakterienarten im Medium enthalten sind als nur die eine, bekannte. Die vielen darin

befindlichen Mikroben leben in bestem Ausgleich miteinander; sie alle besitzen eine reichliche Variationsfähigkeit. Verteilen wir nämlich einzelne Bakterienausaaten aus dieser Kultur auf verschiedene, feste oder flüssige Nährboden, so passen sich diese unter geeigneten Verhältnissen jedesmal weitgehendst den neuen, verschiedenen Lebensbedingungen an. Sie ändern damit teilweise ihre Eigenschaften, auch wenn sich ihr Äußeres dabei noch nicht sichtbar geändert haben sollte. Sie können schließlich dabei auch ein anderes Aussehen bekommen. Aber nicht nur diese Variationsfähigkeit unterscheidet die Bakterien einer gemeinsamen Kultur voneinander, sondern auch ihre in dieser schon vorhandenen, latenten Eigenschaften. „C'est un fait général que la virulence microbienne s'accroît par les passages. La sélection intervient à titre prédominant dans ce phénomène. Les individus microbiens qui peuplent une culture inoculée ne sont pas complètement identiques. Ceux qui résistent le moins aux forces défensives de l'organisme étant éliminés, une épuration de la culture injectée s'effectue, ne laissant substituer que les germes les moins vulnérables, c'est-à-dire les plus dangereux“¹¹.

Eine solche Veränderung kann auch durch passende Maßnahmen des Experimentators soweit getrieben werden, daß eine Tochterkultur einer Bakterienart für eine andere der gleichen Art lebensgefährdende Eigenschaften entwickelt. Diese werden dann — „erblich“ — auf weitere Subkulturen übertragen. Ein Beispiel hierfür sei aus den hervorragenden Bakteriophagenarbeiten von *Bordet*¹² wiedergegeben.

Aus einer sorgfältigst auf Bakteriophagenfreiheit geprüften Bouillonkultur farbloser Staphylokokken lassen sich auf verschiedenen Nährböden fester Konsistenz zwei bereits mikroskopisch wie makroskopisch unterscheidbare Kolonien herauszüchten, die als „A“ (colonie aggressive) und „R“ (colonie réceptive) bezeichnet werden. Während das Filtrat von „R“ keinen Einfluß auf Stamm „A“ ausübt, ruft Filtrat von „A“ bei Stamm „R“ eine teilweise Lyse der Mikroben hervor. Diese Fähigkeit von Stamm „A“ kann durch weitere, passende Nährbodenpassagen noch verstärkt werden.

Wird zu einer Bouillonkultur von „R“ so viel lytisch wirksames Filtrat von „A“ zugesetzt, daß zunächst bei weiterer Bebrütung des Gemisches eine fast vollkommene Klärung der Flüssigkeit erfolgt, diese dann aber bei weiterer Bebrütung wieder durch neues Bakterienwachstum trübe wird, so erweist sich, daß die neuentstandenen Bakterien nunmehr „phagenresistente“ Staphylokokken geworden sind. Man kann sie auf festen Nährböden weiterzüchten; sie sind, was uns hier besonders interessiert, nicht nur phagenresistent, sondern *sie produzieren nunmehr die gleiche Phagensubstanz, die sie zu dieser Variation gezwungen hat.*

Daraus ist zu ersehen, daß „reingezüchtete“, sogar von einer einzigen Mikrobe abstammende Kolonien im flüssigen Medium eine außerordentlich kompliziert erscheinende Partialheterologie aufweisen können. Diese kommt aber erst für uns zum Vorschein, wenn durch passende experimentelle Maßnahmen dafür gesorgt wird, daß die einzelnen, mit

verschiedenen Eigenschaften und Fähigkeiten ausgestatteten Mikroben auf festen Nährböden zu Kolonien heranwachsen, also voneinander räumlich getrennt, unkoordiniert leben. „En résumé, il apparaît clairement que les cultures pures, originellement obtenues, selon la technique bactériologique habituelle, aux dépens d'une colonie isolée, c'est-à-dire d'un ancêtre unique, sont variables et qu'elles peuvent engendrer des principes capables d'orienter la culture dans un sens déterminé“¹².

Wir sehen also hier die Variation von Einzelzellen durch stoffliche Orientierung in eine bestimmte Entwicklungsrichtung. Die frühere Auffassung, daß die hier orientierenden Bakteriophagen „Virusse“ seien, hat heute die meisten Anhänger verloren. Bordet selbst sieht — auf Grund vielfältiger Experimente — die Bakteriophagenlysine als Produkte der „krankhaft veränderten Mikroben“ an!

Es gibt weitere Beweise dafür, daß Bakterienvariationen nicht durch „Virusse“ veranlaßt sein müssen, trotzdem sich auch hierbei die die Variation hervorrufoende Substanz unendlich vermehrt. Der *Micrococcus melitensis*, in Bouillon mit Filtrat einer Paramelitensiskultur gezüchtet, nimmt die für letztere Mikrobenart spezifische Eigenschaften an (*E. Burnet*¹³). Er produziert damit gleichfalls den seine Variation veranlaßt habenden Stoff. Alloway setzte zum Nährmedium avirulenter, kapsel freier Pneumokokken zellfreie Extrakte von Kulturen kapselhaltiger, virulenter Pneumokokkenstämme bekannter Typen. Die avirulenten Mikroben nahmen in derartigen Kulturen nicht nur die serologisch wie mikroskopisch genau kontrollierbaren Eigenschaften des virulenten Stammes an, von dem das zugesetzte Extrakt stammte, sondern sie produzierten nunmehr selbst gleichfalls den Stoff, der ihre Variation hervorrief. Mit ihm können daher dann neue, avirulente Stämme „orientiert“ werden. Alle diese neu erworbenen Eigenschaften und Fähigkeiten gehen auf weitere Subkulturen über¹⁴.

Die Hypothese eines unsichtbaren, filtrierbaren Erregers („Virus“) wurde von *Beijerinck*^{14a} 1898 aufgestellt. Er fand in der Tabakmosaikkrankheit eine „übertragbare Infektionskrankheit“, deren Erreger nicht nur mikroskopisch nicht zu sehen war, sondern auch scheinbar bakteriendichte Filter passierte. Außerdem vermehrte sich dieses „Virus“ in der erkrankten Pflanze. Entsprechend den wohlbekannten Bedingungen einer durch sichtbare Bakterien erzeugten Infektionskrankheit lag daher der Gedanke sehr nahe, hier einfach einen unsichtbaren Erreger anzunehmen. Trotzdem später erwiesen wurde, daß alle diese „Virusse“ — im strikten Gegensatz zu sichtbaren Bakterien — sich nicht auf toten Nährböden vermehren, sondern nur in Gegenwart lebender, geeigneter, d. h. von ihnen beeinflussbarer Zellen bestehen können, wird oft genug noch heute diese niemals bewiesene, sondern nur hypothetisch zwecks Erklärung unbekannter Ereignisse vom damaligen Forschungsstandpunkt aus geschaffene Determination aufrecht erhalten!

Bevor auf weitere Beweise gegen diese Definition, die sich sogar bis in die Erklärung der Krebsgenese erstreckt, eingegangen wird, sei hier zunächst die Ansicht *Zimssers* über die „Grenze zwischen toter und lebender Materie“ wiedergegeben¹⁵: „It is not easy to define life. An enzyme that could expend energy and

build up new energy for that which it expends, in automatically regulated cycles, would be alive — though soluble and not organized in cellular form. There are invisible agents, parasitic upon plants and animals, which we know only by their activities. The ultramicroscopic virus agents, the mosaic disease, rabies, yellow fever, infantile paralysis, smallpox and many other destructive maladies, thrive in living cells of higher beings and reproduce themselves in indefinite generations, remaining true to type in habits of specific parasitism . . . It is assumed that they are living things, cellularly organized, but we are not sure of this; and the thought is at best reasonable that some of them are transitional things between true enzymes and formed cell-individuals. The evolutionary transition from the dead organic complex to the cell may well have been a gradual one of infinitely small steps which may yet be unrecovered. Modern observations of the bacteriophage phenomenon have at least given us material for hopeful inquiry.“

Im folgenden soll kurz gezeigt werden, daß gerade das „Virus“ der Tabakmosaikkrankheit, die den Virusbegriff gebar, vielmals aus einer Lösung nach Fraktionierung umkrystallisiert werden und lange so aufbewahrt werden konnte, ohne seine Eigenschaften einzubüßen. Im Gegenteil war sogar durch dieses Reinigungsverfahren eine stark erhöhte Wirksamkeit zu erzielen gewesen! Es kann danach hier von einem Lebewesen nicht mehr die Rede sein! Der letztmögliche Einwand, daß das „Virus“ bei der oftmaligen Lösung und Wiederkristallisierung an den Krystallen hängen geblieben sein könnte, ist derart unwahrscheinlich nach eben genannten Feststellungen, daß er nicht ernst zu nehmen ist.

*Stanley*¹⁶ fraktionierte den Preßsaft mosaikkranker Tabakblätter in geeigneter Weise und krystallisierte die so erhaltene Globulinlösung zehnmal und mehr um. Die Verimpfung geringer Mengen der krystallisierten Substanz erzeugte in gesunden Tabakblättern die gleiche Krankheit wie der rohe Preßsaft; in der so erkrankten Pflanze vermehrte sich die krankheitserzeugende Substanz in üblicher Weise.

Hiermit konnte die Annahme eines unsichtbaren Erregers (Virus) als abgetan angesehen werden: „Although it is difficult, if not impossible, to obtain conclusive positive proof of the purity of a protein, there is a strong evidence that the crystalline protein herein described is either pure or is a solid solution of proteins. As yet no evidence for the existence of a mixture of active and inactive material in the crystals has been obtained. Tobacco-mosaic virus is regarded as an autocatalytic protein, which, for the present, may be assumed to require the presence of living cells for multiplication“.

Die durch diese Substanz zur Variation gezwungene, „erkrankte“ Zelle produziert also gleichfalls die Substanz, die sie selbst zur Variation brachte. Hier haben wir gleichzeitig den erstmaligen Beweis dafür, daß der für einzelne Bakterienzellen erwiesene, vorhin besprochene Variationsvorgang auch *bei einzelnen Gewebszellen des Blattes mitten im Zellverband* möglich ist!

Weiterhin gelang es diesem Autor, für die gleiche Krankheit bei der Tomate aus dieser den typischen Stoff auf ähnliche Weise zu reinigen und auszukristallisieren. Der Vergleich dieser Krystalle mit solchen aus der mosaikkranken Tabakpflanze ergab bezüglich Krystallform, optischer Eigenschaften, Schmelzpunkt, Wärmeempfindlichkeit u. a. ihre Identität. Außerdem erwiesen sich beide als Antigene homolog. Und schließlich gelang es, mit den Krystallen aus der Tabakpflanze bei der Tomate, mit denen aus der Tomate bei der Tabakpflanze die typische Mosaikkrankheit zu erzeugen¹⁷. Schließlich veröffentlichte *Stanley* kürzlich^{17a} Versuche, bei denen eine schonende Behandlung des aktiven, krystallisierten Proteins mit Formaldehyd und anderen Chemikalien, die zu freien Aminogruppen Affinität besitzen, die Substanz inaktiviert. Es läßt sich der Verlust freier NH₂-Gruppen dabei nachweisen. Die so chemisch veränderte Substanz hat ihre krankheits-erzeugende, spezifische Fähigkeit verloren, besitzt aber noch immer die gleichen Antigeneigenschaften, welche sie vorher aufwies. Wir sehen hier also — an einem krystallisierten Antigen mit spezifischer Aktivität! — die gleichen Verhältnisse, wie sie für Anatoxine (*Loewenstein*, *Ramon*) und Anavénins (*Arthus*) bekannt sind: auch hier verlieren Substanzen mit spezifischer Aktivität durch Formalinbehandlung diese und behalten ihre spezifischen Antigeneigenschaften bei.

Kehren wir nunmehr zu der Tatsache zurück, daß maligne Hühnertumoren durch zellfreie Tumorextrakte übertragbar sind. Auch hier wird von „Virussen“ gesprochen, da diese Substanz sich in den neuen Tumoren unendlich vermehrt! Es ist bekannt, daß das Extrakt verschiedener Hühnertumoren, die sich histologisch klar voneinander unterscheiden lassen (z. B. Osteochondrom, Myxosarkom usw.) stets die gleiche Tumorart bei der Injektion erzeugt, aus der es selbst stammt¹⁸. Selbst die Annahme, daß diese Spezifität durch ein „ubiquitäres Virus“ kombiniert mit dem spezifischen Zellstoff entstände, während jeder dieser beiden einzelnen Faktoren allein keine Tumorentstehung veranlassen könne, ist nur als letzte Bemühung anzusehen, die „Idee des Virus“ aufrechtzuerhalten. *Murphy*¹⁹ spricht das zellfreie und doch hochwirksame Extrakt des *Rous*-Sarkoms I und anderer spezifischer Tumoren (Typ VII, XVIII, XXXVI u. a.) gleichfalls nicht als Virus, sondern als nichtlebendige, organische Substanz an. Sie wird von den malignen Zellen selbst produziert. Sie kann von ihnen getrennt werden und bei unausdifferenzierten, besonders gerade in Teilung begriffenen Zellen eine Variation hervorrufen, die sie zu typischen Zellen des gleichen malignen Tumors werden und den spezifischen Stoff derselben, das „transmissible mutagens“, selbst produzieren läßt.

Diese außerordentlich wichtigen Feststellungen geben auch in anderer Beziehung zu denken. Wir kennen eine Anzahl von „Infektionskrankheiten“, deren

„Erreger“ bisher infolge ihrer mikroskopischen Unsichtbarkeit gleichfalls den „Virusen“ zugerechnet werden. Wir wissen aber, daß sie sich — analog den Bakteriophagen und eben erwähnten, anderen induzierenden Stoffen — *nur in den krankgemachten Zellen vermehren* (*Rabies, Heine-Medin* usw.). In der Gewebezüchtung *in vitro* wurde beispielsweise genau festgestellt, daß sich derartige Virusse nur zusammen mit den geeigneten, d. h. durch sie beeinflufßbaren Zellen zusammen züchten lassen und nur, solange diese Zellen selbst aktiv leben! Mit ihnen kann sich das Virus eine Zeitlang vermehren²⁰. Gewebe von Tieren, die für die betreffende Virusart unempfindlich sind, gestatten nicht nur keine Virusvermehrung mit dieser Methode, sondern sie wirken nicht einmal konservierend auf sie²¹. Auch in dieser Forschungsrichtung werden wahrscheinlich an Hand dieser Erkenntnisse umfangreiche Begriffsrevisionen notwendig sein.

Auch die **Gewebezüchtung** hat zum Krebsproblem wertvolle Beiträge geliefert. *Rh. Erdmann*²² hatte bereits früher die Vermutung geäußert, daß es sich bei der Tumorentstehung um die Wirkung eines „Zellenzyms“ handeln könnte, welches — einmal von der Tumorzelle erzeugt — immer wieder andere Zellen zu gleicher Umbildung anregen würde. *Carrel*²³ gelang es, Hühnermakrophagen in der *in vitro*-Kultur durch Zusatz zellfreien *Rous*-Sarkomextraktes in Sarkomzellen umzuwandeln, deren Implantation bei Hühnern höchst maligne Tumoren gleicher Art erzeugte. Er nimmt dabei an, daß *die aus dem Sarkom stammende, die Wirkung hervorrufende Substanz* („*principle*“) *sich im Verlaufe der Zellerkrankung (Variation) in diesen unendlich vermehre*. (Das gleiche gelang *Carrel* auch mit zellfreien Extrakten von Spontan- wie Impftumoren von Säugetieren; ein weiterer Hinweis, daß der Hühnertumor nicht die besondere Stellung einnimmt, die manche ihm zuschreiben.) Ferner wies *Carrel* nach, daß das gleichartige „*principle*“ sich im zellfreien Filtrat des Teertumors beim Huhn befinden kann. Da er für das Teercarcinom mit Recht eine parasitäre Entstehung ablehnen zu können glaubt, meint er, mit diesem Ergebnis diese Auffassung überhaupt endgültig widerlegt zu haben. Ein Spindelzellensarkom, das er durch Verimpfung aus einer Monocytenreinkultur erzeugte²⁴, bei welcher durch Zusatz geringer, passender Mengen von Teer eine Umwandlung in bösartige Zellen stattgefunden hatte, erwies sich als noch maligner als *Rous*-Tumoren; es war ferner gleichfalls durch den zellfreien Extrakt („*principle*“) übertragbar. Weiterhin hat er²⁵ Sarkome erzeugt, indem er zu Hühnerembryonalbrei arsenige Säure in bestimmten, optimalen Mengen zusetzte und diese Mischung auf Hühner verimpfte. Er erhielt damit maligne Sarkome, deren zellfreies Extrakt weitere Übertragung ermöglichte. Zusatz von das Optimum über- oder unterschreitenden Mengen der Säure zum Hühnerembryonalbrei ergab ebensowenig Sarkombildung wie der Zellbrei allein. In anderen Versuchen ersetzte er das anorganische Gift erfolgreich durch Indol²⁶.

Bei diesen Versuchen kann auch nicht mehr an ein „Virus“ gedacht werden, sofern man nicht die Rettungsversuche macht, es zum *ubiquitären* Faktor umzustempeln!

Tierexperimentelle Tumorerzeugung und -übertragung, Bakteriophagenverhalten und Bakterienvariation, Virusinfektionskrankheiten stehen also in enger Beziehung zueinander. Sie alle zeigen Veränderungen *variationsfähiger, potenzbegabter Zellen in einer durch stoffliche Orientierung bestimmten Richtung*, die von uns teilweise als „Krankwerden“ der Zellen angesehen werden. Die von derartigen „krankmachenden Stoffen“ in dieser Weise beeinflussten Zellen produzieren diese Stoffe schließlich selbst.

Damit wird verständlich, daß — wenn durch diesen Umwandlungsprozeß nur einzelne Zellen einer größeren, gemeinsam lebenden Zahl betroffen werden — diese in der Minderzahl befindlichen sich insofern aus den allgemeinem Verband heraustrennen, als sie nunmehr Eigenschaften besitzen, die den anderen Zellen fehlen.

Einige beachtenswerte Punkte seien noch hervorgehoben. Erstens kommt für eine Variation nur eine Zelle in Betracht, die potenzhaltig und damit variationsfähig ist. Je höher sie ausdifferenziert ist, desto beschränkter ist ihre Variationsfähigkeit! Zweitens muß der Stoff, der die Variation veranlaßt; den entsprechenden in der Zelle *chemisch sehr nahe* stehen! Für letzteres geben serologische Erfahrungen und experimentelle Feststellungen mittels der CaR bemerkenswert gute Beispiele. Erstere lehren uns, daß die Bildung von Antikörpern die Folge der Einverleibung von antigenfähigen, also auch heterologen Stoffen ist. Dabei liegen besondere Regeln bezüglich der phylogenetisch bedingten und damit die stoffliche Heterologie bestimmenden Gesetzmäßigkeit zwischen Antigenspender und Antikörperproduzent vor: Antigenstoffe des Tieres A, das phylogenetisch und stofflich dem Tier A₁ sehr nahe steht, erzeugen bei Tier A viel schlechter Antikörper als bei Tier B, von dem Tier A phylogenetisch viel weiter entfernt ist.

Sind also — *schematisch dargestellt* — die Substanzen, welche auf die Zelle einwirken, den Bestandteilen der Zelle *homolog*, so tritt *keine Reaktion* zwischen beiden ein. Sind sie den Stoffen der Zelle *heterolog*, aber *hinreichend ähnlich*, so können sie eine *Variation der Zelle veranlassen, wenn diese variationsfähig ist*. Diese kann dann zu einer derartigen Anpassung der Zelle führen, daß sie schließlich dieses „Mutagens“ selbst produziert. Sind aber die Antigene den Zellstoffen *sehr fernstehend heterolog*, so führen sie zur *Antikörperbildung* in der Zelle.

Da im Organismus zwar, wie vorher gesagt, sämtliche Zellen in vielen Punkten, z. B. bezüglich Artspezifität, stofflich homolog, aber — entsprechend ihren Ausdifferenzierungsstadium, wie die CaR beweisen konnte — in anderen Beziehungen stofflich heterolog sind (verschiedene

Zellrassen der gleichen Spezies!), was besonders bei gestörten Regenerationsprozessen zutage tritt, können wir nunmehr auch verstehen, daß

1. variationsfähige Regenerationszellen, die dem tumorspezifischen Antigen *stofflich sehr nahe* stehen, durch dieses zur gleichsinnigen Variation veranlaßt und damit zu malignen Zellen werden können.

2. andere Zellen des Organismus, die stofflich dem tumorspezifischen Antigen *genügend heterolog* gegenüberstehen, durch dieses nicht zur Variation in gleicher Richtung, sondern zur Antikörperproduktion gegen das tumorspezifische Antigen veranlaßt werden müssen.

Beide Prozesse können nebeneinander im Organismus einhergehen!

Auf der gleichen Grundlage wird nun auch verständlich, warum beim Durchlaufen des gesamten Ausdifferenzierungsspektrums⁴ im sich ordnungsmäßig ontogenetisch entwickelnden Embryo niemals Antikörper gegen frühere Differenzierungsstadien entstehen können! Die koordinierte, *kontinuierlich* im Gesamtorganismus vorwärtsschreitende stoffliche Zellveränderung bringt keine Antikörperbildung mit sich. Andererseits hat die CaR gezeigt, daß zwischen zwei genügend heterolog zueinanderstehenden Ausdifferenzierungsstadien (z. B. von zwei verschieden weit entwickelten Embryonen der gleichen Spezies) unterschiedliche Antigeneigenschaften vorhanden sind, die bei der Einspritzung des einen Embryonalstoffes im anderen Organismus Antikörper entstehen lassen können. Ebenso ist damit auch begreiflich geworden, daß — wenn in einem Organismus auf einer bestimmten Gesamtausdifferenzierungsstufe *plötzlich* Embryonalzellen einer *bedeutend* niedriger liegenden Ausdifferenzierungsstufe in *nicht ordnungsmäßiger Weise* auftreten — der Organismus gegen diese Antikörper zu produzieren vermag. Das hat die CaR bei chronischen, also gestörten Regenerationsprozessen klar erwiesen.

Sie hat ferner in früheren Untersuchungen²⁷ damals noch nicht erklärliche, heute wohlverständliche Ergebnisse gebracht, die hiermit gleichfalls in engem Zusammenhange stehen. Die einzelnen Metamorphosestadien der Anuren erwiesen sich voneinander ontogenetisch derartig entfernt und damit stofflich verschieden, daß jedes Stadium gegen das andere stark heterolog und damit antigenfähig sein konnte. Außerdem war nachgewiesen worden, daß *jedes Metamorphosestadium gegen das vorhergehende* — besonders gerade nach Vollendung der Metamorphose! — *spezifische Antikörper vorwies*. Das zeigt, daß die metamorphotische Umwandlung bei den Anuren *keine* kontinuierliche, koordinierte Veränderung des Gesamtorganismus ist, sondern daß einzelne Zellkomplexe sich gesondert verhalten, wahrscheinlich in der Differenzierung zurückbleiben. Dabei entsteht zwischen dem Gesamtorganismus und ihnen allmählich eine derartige, ontogenetische und damit stoffliche Heterologie, daß der Organismus schließlich fähig

wird, gegen sie Antikörper zu produzieren, ihre Einschmelzung und Resorption durchzuführen. Man könnte vielleicht auch vermuten, daß der Zeitpunkt der plötzlich einsetzenden Metamorphose bei den Anuren durch das Erreichen einer bestimmten Heterologie zwischen den auf dem Ausdifferenzierungswege zurückgebliebenen Zellen und dem Gesamtorganismus bestimmt wird.

Auch hier zeigt sich wieder, daß die vielseitige Anwendungsmöglichkeit der gleichen Methode ein Forschungsfeld eröffnet hat, dessen weitere Erschließung einen besseren Einblick in den stofflichen Verlauf ontogenetischer Prozesse gestatten wird.

Spemanns „Organisatoren“²⁸, auch aus bestimmten Zellbezirken des früheren Embryos hergestellte Extrakte, regen Wachstum und spezifische Ausdifferenzierung (Orientierung) der variationsfähigen Embryonalzellen in bestimmter Richtung an: „die Umwandlung von nicht-induzierendem Keimmaterial in induzierendes, die unter Einwirkung von organischen Lösungsmitteln vor sich geht, kann sich im lebenden Keim durch die Einwirkung des Induktors selbst vollziehen. So determiniert er z. B. die über ihm gelegene Epidermis zur Medullarplatte und verleiht ihr zugleich Induktionsfähigkeit“²⁹.

A. Fischer gelang es, Herzfibroblasten *in vitro* bei Gegenwart hyalinen Gewebeknorpels (der nicht wuchs, da er von jeder Spur von Perichondrium befreit war!) zur Produktion von genuiner hyaliner Knorpelsubstanz zu veranlassen³⁰. In vieler Beziehung ähneln diese Beobachtungen denen am „autokatalytischen Protein“ *Stanleys*, an den „Bakteriophagen“ *Bordets*, am „transmissible mutagens“ *Murphys*, am „principle“ *Carrels*, wenn sie auch keine malignen Tumoren erzeugen, da sie ja „normale Organisatoren“ sind.

Der oft betonte Unterschied zwischen den erfolgreichen Experimenten der Tumorerzeugung mit zellfreien Tumorextrakten beim Huhn und den bisher fast stets erfolglosen Versuchen in gleicher Richtung beim Säugetier scheint nur ein quantitativer bezüglich Stabilität und Virulenz zu sein. Die Hühnertumorextrakte im flüssigen Zustand sind gleichfalls sehr empfindlich gegen höhere Temperaturen oder längere Aufbewahrungszeit, selbst im Eisschrank. Es sind eine große Anzahl von Hühnertumoren bekannt, deren Übertragbarkeit mittels zellfreien Extraktes anfangs nicht gelang; erst nach mehreren Passagen durch Zellüberpflanzung wurden auch Versuche mit zellfreiem Extrakt erfolgreich. Und es sind Hühnertumoren beobachtet worden, deren Übertragungsmöglichkeit durch zellfreie Extrakte auch nach langen Zellpassagen nicht zu erreichen war.

Die wenigen, unvollkommenen Mitteilungen von *Klein*³¹ über erfolgreiche Tumorerzeugung mit zellfreien Geschwulstextrakten beim Säuger — allerdings nach vorheriger willkürlicher Herabsetzung der „Abwehrmöglichkeit“ des Organismus,

zusammen mit Anreicherung des tumor erzeugenden Stoffes im Extrakt — machen die Übertragbarkeit bei Säugetieren wahrscheinlich. Die Tragweite dieser Versuche kann aber erst beurteilt werden, wenn sie der Allgemeinheit in prüfbarer Form zugänglich gemacht worden sind. Es ist bedauerlich, daß diesen Ankündigungen so wichtiger Forschungsergebnisse die seit Jahren in Aussicht gestellten Veröffentlichungen der Versuchsprotokolle noch nicht gefolgt sind. Deshalb müssen wir uns hier zunächst auf die vielfach bestätigten experimentellen Erfahrungen mit Hühnertumoren beschränken.

Die Gewebezüchtung hat auch auf andere Weise unseren Einblick in die Charakteristik der malignen Zelle vermehrt. *Zakrzewski*³² hat in vitro die Proliferation von Tumorzellen durch Zusatz sorgfältig abgestufter Heparinmengen zum Kulturmedium zurückhalten können. Er hat dabei keinerlei Ausdifferenzierung der so beeinflussten Zellen feststellen können, während normale Embryonalzellen, im Wachstum auf gleiche Weise gehemmt, ihre Potenzen der Ausdifferenzierung zuwandten. In diesem Unvermögen der malignen Zellen, sich weiter zu differenzieren, sieht *Zakrzewski* den einzigen, in vitro wahrnehmbaren, wesentlichen Unterschied zwischen Normal- und Tumorzellen.

*Carrel*³³ gibt seinen umfangreichen Erfahrungen über das Verhalten maligner Zellen in der Gewebekultur folgendermaßen Ausdruck: „An important fact is thus brought to light: the mutability of certain cell types. Malignant cells are variants of the normal type. They differ slightly from it in some of their properties. These differences are not qualitative, but only quantitative. They are persistent. The cells do not revert to the original type even after years of cultivation in vitro. They are fixed variants, possibly analogous to those arising in microbial dissociation under the influence of several chemical substances and of the lytic principle of Twort.“ Hierin finden wir nicht nur eine Bestätigung der mittels der CaR ermittelten Definition der malignen Zelle, sondern auch die Ansicht wieder, die *Parker*³⁴ vertritt: die Potenzen lebender Zellen sind viel variabler als man allgemein annimmt, und die Eigenschaften, die sie in jedem besonderen Augenblick vorweisen, stammen nicht nur allein aus den in ihnen vorhandenen Fähigkeiten, sondern sie hängen auch von der Zusammensetzung der Umgebung ab, in der sie leben, und die sie außerdem selbst beeinflussen.

Der Begriff des „präcancerösen Stadiums“ — eines Schlagwortes, das oft mißbraucht wird — umfaßt eine große Zahl lokal begrenzter, pathologischer Zustände, auf deren Grund sorgfältige klinische Beobachtungen in auffallender Häufigkeit spätere maligne Tumoren entstehen sahen (Narben; chronische Fisteln; chronische gutartige Magengeschwüre; chronische Entzündungen der Gallen- oder Harnblase, der Portio; Hyperkeratosen; Xeroderma pigmentosum; Polypen des Mastdarms, Dickdarms, der Stimmbänder; Drüsenhypertrophien usw.). Die Zahl dieser Möglichkeiten zeigt bereits, daß damit an eine gut umgrenzte Definition „des präcancerösen Stadiums“ nicht zu denken ist: in der überwiegenden Zahl derartiger Fälle pflegen nicht im Verlaufe von vielen Jahren maligne Tumoren zu entstehen!

Auch hier hat das Tierexperiment einen Einblick ermöglicht! *Shope*^{34a} hatte 1933 gezeigt, daß spontan entstandene Hautpapillome einer wilden cottontail-Kaninchenrasse durch zellfreie Filtrate auf die gleiche Tierrasse übertragbar sind. Analoge Impfung zahmer Hauskaninchen mit dem gleichen zellfreien Extrakt erzeugte bei diesen gleichfalls Papillome, die hier aber manchmal einen auffallend aggressiven Charakter aufwiesen und vereinzelt innerhalb einiger Monate zu Carcinomen werden konnten. Diese dann höchstmalignen, metastasierenden Tumoren werden als eine Veränderung des durch das Extrakt beeinflussten Epithels angesehen, die durch zahlreiche Umstände begünstigt werden kann: „the precancerous period of papillomatosis can be much shortened by stimulation procedures“.

Rous und *Kidd*^{34b} haben bei zahmen Kaninchen durch Teerung der Ohren Hyperplasien an diesen erzielt, ohne daß dadurch zunächst maligne Tumoren entstanden. Diese Teerbehandlung wurde nach Papillombildung aufgegeben und dann eine Injektion des zellfreien *Shope*-Papillomextraktes in die Beinvene gemacht. Diese führte nach sehr kurzer Zeit zur Entstehung sehr bösartiger Carcinome an den teerbeeinflussten Ohren: während der nächsten 2 Wochen nach der Injektion — entsprechend der Inkubationszeit des *Shope*-Papillomextraktes — waren keine besonderen lokalen Veränderungen zu beobachten; dann aber traten solche außerordentlich heftig auf. Typische maligne Carcinome entwickelten sich innerhalb eines Monats nach der Injektion und nur an Stellen, wo die Haut geteert worden war! Alle möglichen Übergänge zwischen Papillomen und anaplastischen Carcinomen waren festzustellen: benigne Papillome, cystische Entartungen derselben, infiltrierende und zerstörende Epithelwucherungen und Tumoren aller Malignitätsgrade.

Bei den Kontrollkaninchen, die ohne Injektion des Berkefeldfiltrats immer weiter geteert wurden, traten in dieser Zeit keine malignen Tumoren auf.

Jede dieser beiden Behandlungsarten kann also beim Kaninchen chronische Entzündungs- und Zellwucherungsprozesse an der Behandlungsstelle erzeugen, die zunächst zu Hyperplasien des Epithels und gutartigen Papillomen, in einzelnen Fällen nach längerer Zeit zu lokalen malignen Tumoren führen können. Jede erzeugt also das, was wir hier mit Recht „präcanceröses Stadium“ nennen können. Ihre Kombination läßt im Tierversuch auf dem prinzipiell gleichen Wege, aber in *viel kürzerer Zeit und mit viel größerer Treffsicherheit*, bösartige Carcinome entstehen. Wir ersehen daraus, daß die Zusammenwirkung zweier pathologischer Prozesse, die — erfahrungsgemäß — in mehr oder weniger großem Maße als Grundlage für die *Entstehungsmöglichkeit* eines malignen Tumors anzunehmen sind, zur häufigen Carcinomentstehung führt. Damit wird uns — experimentell! — erstmalig ein Verständnis für die Tatsache gegeben, daß zur Umwandlung eines chronischen Regenerationsprozesses zum malignen Tumor eine große Zahl dafür begünstigender Einzelprozesse notwendig sind, die im Tierexperiment näher zu untersuchen sein werden.

Nach Erörterung der Charakteristik der malignen Zelle auf der hier wiedergegebenen, breiten Basis verschiedener Forschungsgebiete sei noch kurz auf die „erblichen Faktoren“ hingewiesen, die sowohl die spontane Krebsentstehung als auch die experimentelle Krebsüberpflanzung begünstigen können. Nach *Kröning*^{34c} sind vom Standpunkt der genetischen Forschung „maligne Tumoren als somatische Mutationen von Normalzellen zu definieren, die auf Grund bestimmter genetischer Konstitution des Tumorträgers spontan entstehen oder aber durch Reize induziert werden können. Ob bei der ‚Spontanentstehung‘ Reize keine Rolle spielen, oder ob bei den ‚Reiztumoren‘ die genetische

Konstitution des Tumorträgers keine Rolle zu spielen braucht, müssen weitere Versuche entscheiden“. Wir wissen, daß es beispielsweise bestimmte Mäusestämme gibt, die eine derartige Anlage in größerem oder kleinerem Maßstabe besitzen^{34d}. Durch selektive Zucht sind einerseits Tierstämme mit hoher Zahl von Spontanumoren und hoher Krebsempfänglichkeit bei experimenteller Tumortransplantation aus dem gleichen Stamm erzielt worden. Andererseits durch selektive Zucht auch solche, die sich in beiden Richtungen als äußerst widerstandsfähig erwiesen. Kreuzungsversuche mit zwei derartig entgegengesetzt sich verhaltenden Mäusestämmen brachten weitere, klare Beweise dafür, daß die Empfänglichkeit für maligne Tumoren auch durch erbliche Anlage weitgehend beeinflussbar ist. Für den Menschen sind bisher 27 eineiige Zwillingfälle bekannt, wo beide Individuen jeden Paares annähernd zu gleicher Zeit und im gleichen Organ an malignen Tumoren erkrankten. Diese Feststellungen zeigen gleichfalls, daß die Annahme eines krebsspezifischen Virus oder Bakteriums unhaltbar ist.

Die CaR hat sich auch mit der Prüfung erblich belasteter Fälle beschäftigt, bei denen noch kein maligner Tumor vorhanden war. Bei einer Anzahl von Patienten, deren Vorfahren in auffällender Häufigkeit maligne Tumoren gehabt hatten, ergab die serochemische Analyse keinen normalen Befund, aber auch keinen derartigen, wie er bei Anwesenheit eines malignen Tumors auftritt. Dieses bisher regelmäßige Untersuchungsergebnis soll hier nur andeutungsweise Erwähnung finden, da die Experimente (14 Fälle) noch nicht als abgeschlossen anzusehen sind. Ebenso auch die Untersuchungen von Frauenserern während oder kurz nach der Menstruation, die gleichfalls ein charakteristisches Ergebnis haben, das einem vorhandenen bzw. abgelaufenen Regenerationsprozeß entspricht. Alle diese Besonderheiten bedürfen systematischer Weiteruntersuchung, bevor endgültige Schlüsse aus ihnen gezogen werden können.

Wir sahen nunmehr den Weg der Entstehung der malignen Zelle, „einer neuen Zellrasse, die sich im Körper selbst bildet, die sich von den zahlreichen anderen Zellrassen des Körpers dadurch unterscheidet, daß sie den Gesetzen und Regulationen des Gesamtkörpers nicht untersteht, also sich wie ein Schmarotzer verhält“ (*Fischer-Wasels*³⁵). Die im folgenden dargelegten Untersuchungen mittels der CaR beweisen weiterhin, daß sichtbare „Krebserreger“ (z. B. *Schmidt*, *v. Brehmer*, *Aman*, *Besredka-Gross* u. a.) nicht in Frage kommen. Die folgenden Tabellen zeigen — in extenso — das Ergebnis von Serumuntersuchungen mittels der CaR, bei denen gleichzeitig spezifische Substrate aus den Reinkulturen des *Schmidtschen* Krebserregers (Serum und Vaccine, München) sowie des *Brehmerschen* Krebserregers (von dem Autor selbst — im passenden Evolutionsstadium! — zur Verfügung gestellt) mit-

untersucht wurden, wobei sie gleichzeitig auf ihre Brauchbarkeit nach der Zubereitung geprüft wurden¹.

Tabelle 1.

Substrat	Protokollnummer							
	5326	5324	5314	5301	4281	4289	4286	4285
O
NS ₃₀	+ 0,9	+ 0,1	+ 1,5	0,0	+ 2,1	0,0	+ 2,0	0,0
CaS _{58A} . . .	0,0	+ 1,2	+ 0,1	0,0	+ 0,1	+ 1,2	+ 0,1	- 0,1
CaIS ₂₆ . . .	- 0,3	+ 0,9	- 0,9	- 0,1	.	+ 0,9	- 0,9	0,0
Sp	+ 1,0	+ 1,3	.	+ 0,1	.	+ 1,7	+ 1,9	0,0
B _{Schm}	+ 0,8	+ 1,2	- 0,1	- 0,1
B _{Bre}	+ 2,0	+ 1,5	+ 0,1	+ 0,1

Zeichenerklärung: O = Serum ohne Substrat; NS = Serum mit Normalsubstrat, CaS = Serum mit Carcinom-Antigen-Substrat, CaIS = Serum mit Carcinom-Antikörper-Substrat, Sp = Serum mit Spermasubstrat, B_{Schm} = Serum mit *Schmidt*-Substrat, B_{Bre} = Serum mit *Brehmer*-Substrat bebrütet.

Die Zahlen sind Millimeter der Colorimeterablesung. + bedeutet Reststickstoffvermehrung gegenüber dem Serum ohne Substrat (Heterologie und daher Abbau). — bedeutet Reststickstoffschwund gegenüber dem Serum ohne Substrat (Antigen-Antikörper-Reaktion). 0 bedeutet Reaktionslosigkeit (entweder Homologität zwischen Serum und Substrat; oder vollkommene Inaktivität).

Prot.-Nr. 5326. Positives Ergebnis auf malignen Tumor; negatives auf *Bacillus Schmidt*. Lungencarcinom ohne Gegenwart des *Schmidtschen* Erregers.

Prot.-Nr. 5324. Negatives Ergebnis auf malignen Tumor; negatives auf *Bacillus Schmidt*. Gesunder Mensch.

Prot.-Nr. 5314. Positives Ergebnis auf malignen Tumor; positives auf *Bacillus Schmidt*. Nierensarkom und Gegenwart des *Schmidtschen* Erregers.

Prot.-Nr. 5301. Keine Reaktion mit einem der Substrate; inaktives Serum. Beweis für die Reinheit der Substrate.

Prot.-Nr. 4281. Positives Ergebnis auf malignen Tumor; negatives auf *Bacillus Brehmer*. Portiocarcinom ohne Gegenwart des *Brehmerschen* Erregers.

Prot.-Nr. 4289. Negatives Ergebnis auf malignen Tumor; negatives auf *Bacillus Brehmer*. Gesunder Mensch.

Prot.-Nr. 4286. Positives Ergebnis auf malignen Tumor; positives auf *Bacillus Brehmer*. Lungencarcinom und Gegenwart des *Brehmerschen* Erregers.

Prot.-Nr. 4285. Keine Reaktion mit einem der Substrate; inaktives Serum. Beweis für die Reinheit der Substrate.

Tabelle 2.

Untersuchungsergebnis	Zahl	Klinischer Befund
CaR positiv; <i>Schmidt</i> positiv	2	Ca., Sa.
CaR negativ; <i>Schmidt</i> negativ	14	Normal, Tbc., Lu.
CaR positiv; <i>Schmidt</i> negativ	16	Ca., Sa., 1 Lymphosarkom
CaR negativ; <i>Schmidt</i> positiv	21	Normal, Di., Tbc., Lu.
Gesamtzahl	53	

Tabelle 3.

Untersuchungsergebnis	Zahl	Klinischer Befund
CaR positiv; <i>Brehmer</i> positiv	4	Ca.
CaR negativ; <i>Brehmer</i> negativ	17	Normal, Di., Tbc.
CaR positiv; <i>Brehmer</i> negativ	23	Ca., Sa.
CaR negativ; <i>Brehmer</i> positiv	18	Normal, Tbc., Ab. <i>Bang</i> usw.
Gesamtzahl	62	

Gleichartige Untersuchungen waren auch mit einem Substrat aus der Reinkultur des *Micrococcus neoformans*-Doyen durchgeführt worden. Sie ergaben ebenfalls unspezifische Resultate. Versuche, Reinkulturen der „Krebserreger“ von *Schmidt*-Danzig-Langfuhr oder *Glover*-New York zu gleichen Nachprüfungen zu erhalten, konnten nicht ausgeführt werden, da diese Herren kein Material zur Verfügung stellen wollten.

Wie vorher dargelegt, hat schon die Tatsache, daß es eine ganze Gruppe unter sich histologisch verschiedener, bösartiger Hühnertumoren gibt, die sich durch zellfreie Extrakte *spezifisch* übertragen lassen, die Annahme eines ubiquitären Virus schwer erschüttert; das gleiche gilt damit auch für ein ubiquitäres sichtbares Bacterium.

Die Forschung über den Charakter der Leukämien gibt gleichfalls einen Einblick in den Wert der CaR. In zahlreichen Fällen myeloischer Leukämie³⁶ und von Lymphosarkomen³⁷ gab die Untersuchung der Seren einen positiven Befund.

Claude und *Murphy*³⁸ ziehen aus ihren Experimenten den Schluß, daß die Hühnerleukämie zu den übertragbaren malignen Tumoren zu rechnen sei. Sie ist bei Hühnern sowohl durch Verimpfung der Zellen als auch durch Injektion zellfreien Extraktes zu erzielen. *Thomsen* und *Engelbreth-Holm*³⁹ berichten über Leukämieentstehung beim Huhn nach Injektionen von carcinogenem Teer ins Knochenmark. *McIntosh*⁴⁰ beobachtete Leukämie und maligne Tumoren nach intramuskulärer Teerinjektion beim Huhn. Beim Säugetier gelingt zwar die Übertragung der Leukämie mittels zellfreier Filtrate nicht; aber durch Zellverimpfung ist sie möglich bei Übertragung auf die gleiche Spezies des Zellspenders. Auch in dieser Beziehung stimmen als Leukämie und maligne Tumoren vollkommen überein! Nach mehreren Passagen von Zellen einer spontanen Leukämie ist auch Virulenzsteigerung zu beobachten.

Wir sehen also neben den Tatsachen, die Hühner- und Säugerleukämie auf die gleiche Stufe stellen (wie es vorher auch für maligne Tumoren beider Tierklassen hervorgehoben worden ist), eine derartige Übereinstimmung zwischen diesen beiden Krankheitsursachen, daß heute wenig Zweifel darüber bestehen; sie unterscheiden sich im wesentlichen durch die Beeinflussung verschiedener Gewebe und die daraus hervorgehenden Symptome⁴¹. Es soll aber damit nicht behauptet werden, daß *alle* myeloischen Leukämien durch *maligne* Entartung des Knochenmarks entstehen müssen.

Neben derartigen kenntnisfördernden Beiträgen für die Krebsgenese und nahestehende Probleme bietet die CaR noch andere Forschungs-

möglichkeiten. Die gleiche Methode erlaubt unter Verwendung spezifischer, zum Teil aus Bakterienreinkulturen hergestellter Substrate *die Diagnostik vieler Infektionskrankheiten*. Sie gibt u. a. eine sehr empfindliche, streng spezifische Nachweismöglichkeit der Tuberkulose, wobei zwischen Antigen- und Antikörperüberschuß im Serum genau unterschieden werden kann. Auch die Gegenwart verschiedener Tuberkelbacillenstämmen ist möglich. Bei mehreren tuberkulösen Patienten ist der bovine Typ als Krankheitserreger festzustellen gewesen. Die Luesreaktion ist empfindlicher und trotzdem spezifischer als alle vorhandenen serologischen Methoden. Auch eine latente, kongenitale Lues läßt sich nachweisen. Alle diese ebenfalls praktisch wichtigen Einzelheiten sind bisher von uns ziemlich nebensächlich behandelt worden, da wir unser Hauptaugenmerk der Krebsforschung zuwandten und diese anderen Untersuchungsergebnisse vor allem zur Vertiefung unserer Kenntnisse über das Verhalten des Organismus gegenüber malignen Tumoren verwendeten. So fanden wir *erstmalig klare Beweise dafür, daß die maligne Zelle dem Organismus gegenüber antigenfähig ist* wie eine von außen in ihn eingedrungene Mikrobe, und daß *der Organismus* in weiterer Analogie daraufhin *fähig ist, spezifische Antikörper gegen die maligne Zelle zu produzieren*. Bei jeder Untersuchung mittels der CaR lassen sich — bei malignen Tumoren wie bei Infektionskrankheiten — die Dominanz des Antigens oder die des Antikörpers im Serum genau voneinander unterscheiden!

Schließlich sei noch erwähnt, daß im Anschluß daran auch die Möglichkeit in greifbare Nähe gerückt ist, einen Einblick in die Reaktion zwischen Antigen und spezifischen Antikörper zu erhalten. *Kowarzyk*⁴² hat bereits die ersten grundlegenden Untersuchungen dazu ausgeführt. Bei dem ungeheuren Arbeitsmaterial, welches uns die Verwendung dieser mikrochemischen, derart vielseitigen Methode zuwies, ist bisher dieser Forschungszweig trotz seiner Wichtigkeit noch nicht weiter bearbeitet worden. Aber nach Schaffung dazu notwendiger, spezieller Mikromethoden und dazu gehöriger Apparate wird auch hier unschwer zu zeigen sein, daß die Chemie den einzigen Ausweg bietet, die in vielen Punkten festgefahrene Serologie wieder flott zu machen und dabei unsere Kenntnisse, die wir ihr verdanken, derartig zu erweitern, daß wichtige Fortschritte auf beiden Arbeitsgebieten zu erwarten sein werden.

Nur *engste* Zusammenarbeit *aller* uns zur Verfügung stehenden Erfahrungen auf den verschiedensten Forschungsgebieten kann — wie diese Veröffentlichung hier klar zu machen versucht — uns auf dem schwierigen Gebiete der Krebsforschung vorwärts helfen! Und in diesem Sinne möchte ich meinen zahlreichen Mitarbeitern, besonders den Herren *v. Falkenhausen*-Breslau, *Kowarzyk*-Krakow, *Weichherz*-Prag und *Zakrzewski*-Warschau, an dieser Stelle meinen freundschaftlichen Dank zum Ausdruck bringen.

Zusammenfassung.

Die maligne Zelle hat die stoffliche Beschaffenheit einer Embryonalzelle, deren Ausdifferenzierungsfähigkeit in einer bestimmten Ausdifferenzierungszone („maligne Zone“) blockiert wurde. Diese liegt im letzten Abschnitt des gesamten „Ausdifferenzierungsspektrums“.

Die maligne Zelle unterscheidet sich von anderen Embryonalzellen der gleichen Ausdifferenzierungszone durch ihre Unfähigkeit, ihre stofflichen Anlagen zur Weiterdifferenzierung zu bringen. Diese Eigenschaft macht sie zu einer besonderen Zellrasse, wie die CaR nachwies; für diese Methode erscheinen Carcinom- und Sarkomzelle als stofflich gleichartig hinsichtlich der zellrassenspezifischen Substanz.

Die Entstehung dieser besonderen Zellrasse mit besonderen Eigenschaften ist die Folge einer spezifischen, fixen Variation von unausdifferenzierten und daher variationsfähigen Zellen embryonaler Potenz, erzeugt durch Einwirkung eines spezifischen organischen Stoffes auf diese während ihrer Evolution und Teilung in der Nähe der malignen Zone. Dieser Stoff kann entweder spontan im Organismus entstehen oder experimentell in den Organismus hineingebracht werden.

Die Annahme eines spezifischen Virus („unsichtbares Lebewesen“) für die Tumorgenese ist auf Grund verschiedener experimenteller Feststellungen bei Hühnertumoren und Vergleich dieser mit anderen, nahestehenden Forschungsgebieten abzulehnen. Die Entstehung der ersten malignen Zelle eines Spontantumors auf der Grundlage chronischer Regenerationsprozesse oder einer passenden Vergiftungsart mit geeigneten Chemikalien oder eines alten Infektionsherdes oder einer Verbrennung, Verätzung usw. hat die Gegenwart aktiver unausdifferenzierter Zellen mit embryonalen Potenzen zur Voraussetzung. Auch Erbfaktoren können für die Entstehung eines Tumors begünstigende Voraussetzungen schaffen.

Die Annahme eines spezifischen, sichtbaren, auf zusammengesetzten Nährböden züchtbaren Krebserregers ist gleichfalls auf Grund der CaR abzulehnen.

Literaturverzeichnis.

- ¹ *Fuchs, H. J.*, Z. exper. Med. **98**, 70 (1936). — ² *Montemartini, G.*, Boll. Ist. sieroter. milan. **9**, 489 (1930). — *Wright, M.*, a. *C. C. L. Wolf*, Amer. J. Canc. **14**, 370 (1930). — *Cadness, B. H. E.*, u. *C. G. Wolf*, Biochem. Z. **238**, 287 (1930). — *Yokota, K.*, Biochem. Z. **232**, 58 (1931). — *Fuchs, H. J.*, u. *M. v. Falkenhausen*, Ebenda **237**, 81 (1931). — *Chrometzka, Fr.*, u. *P. Gottlebe*, Dtsch. med. Wschr. **1932**, 1386 — Z. exper. Med. **86**, 436 (1933). — *Kowarzyk, H.*, Bull. internat. Acad. pol., Sci. Cl. Méd. **1933**, 67. — *Bing, M.*, Schweiz. med. Wschr. **1933**, 794. — *Jedlicka, V.*, u. *E. Weichherz*, Cas. lék. cesk. **1934**, Nr 27 — Z. Krebsforsch. **41**, 148 (1934). — *Bing, M.*, Bull. Schweiz. Ver. Krebsbekämpfung **1934**, Nr 3. — *Bing, M.*, u. *G. Maranagos*, Beitr. klin. Chir. **160**, 417 (1934). — *Kafka jr., V.*, Cas lék. cesk.

- 1934, Nr 27. — *Caspary, H.*, Klin. Wschr. **1934**, 668. — *Yasumasu, T.*, Fukuoka **7**, H. 6 (1934). — *Caspary, H.*, Z. Immun.forsch. **82**, 506 (1934). — *Kafka jr., V.*, Z. Krebsforsch. **42**, 241 (1935). — *Cizek, J.*, Cas. lék. cesk. **1935**, Nr 26. — *Weichherz, E.*, Münch. med. Wschr. **1935**, 1712. — *Cizek, J.*, Z. Krebsforsch. **42**, 311 (1935). — *Minibeck, H.*, Z. exper. Med. **96**, 362 (1935). — *Falkenhausem, M. v.*, Dtsch. med. Wschr. **58**, 329 (1932). — *Friedl, F.*, u. *E. Kulka*, Zbl. Gynäk. **58**, 2896 (1934). — *Hikiji, K.*, Trans. jap. path. Soc. **24**, 509 (1934). — *Rosenthal, O.*, Z. ärztl. Fortbildg **30**, 110 (1930). — *Salomon, H.*, Münch. med. Wschr. **80**, 469 (1933). — *Scheer, T. van der*, J. Immunol **18**, 17 (1930). — *Davidsohn, I.*, Amer. J. clin. Path. **6**, 172 (1936). — ³ l. c. 2. — *Kraus, Fr.*, Z. ärztl. Fortbildg **1931**, Nr 19. — *Devrient, W. K.*, Physiatri. **1932**. — *v. Falkenhausem, M.*, Monatsschr. Krebsbekämpfung **1933**, H. 10. — *Brandt, E.*, Klin. Wschr. **1935**, 1473 — Z. Krebsforsch. **43**, 370 (1936). — ⁴ *Fuchs, H. J.*, u. *H. Kowarzyk*, Klin. Wschr. **1936**, Nr 9/10. — ⁵ *Baur, E.*, Einführung in die experimentelle Vererbungslehre. Berlin 1911. — ⁶ *Claude, A.*, a. *J. B. Murphy*, Physiologic. Rev. **13**, 247 (1933). — ⁷ *Rous, P.*, *J. B. Murphy* a. *W. H. Tytler*, J. amer. med. Assoc. **58**, 1840 (1912). — ⁸ *Claude, A.*, a. *J. B. Murphy*, Physiologic. Rev. **13**, 251 (1933). — ⁹ *Pentimalli, F.*, Z. Krebsforsch. **32**, 74 (1924). — ¹⁰ *Mackenzie, R. D.*, a. *E. Sturm*, J. of exper. Med. **47**, 345 (1928). — *Doerr, R.*, *L. Bleyler* u. *G. W. Schmidt*, Z. Krebsforsch. **36**, 256 (1932). — ¹¹ *Bordet, J.*, et *E. Renaux*, Ann. Inst. Pasteur **49**, 539 (1932). — ¹² *Bordet, J.*, et *E. Renaux*, Ebenda **42**, 1283 (1928). — ¹³ *Burnet, E.*, Arch. Inst. Pasteur Tunis **14**, 384 (1925). — ¹⁴ *Alloway, J. L.*, J. of exper. Med. **55**, 91 (1932). — ^{14a} *Beijerinck, M. W.*, Verls. Akad. Wentensch. Amsterd. wis. en natuukd. Afd. 1898. VI., Nr 5. — ¹⁵ *Zinsser, H.*, Rats, Lice and History. London 1935. S. 38/39. — ¹⁶ *Stanley, W. M.*, Science (N. Y.) **81**, 644 (1935). — ¹⁷ *Stanley, W. M.*, a. *H. S. Loring*, Ebenda **83**, 85 (1936). — ^{17a} *Stanley, W. M.*, Science (N. Y.) **83**, 626 (1936). — ¹⁸ *Rous, P.*, a. *J. B. Murphy*, J. of exper. Med. **19**, 52 (1914). — ¹⁹ *Murphy, J. B.*, Bull. Hopkins Hosp. **56**, 1 (1935). — ²⁰ *Kimura, R.*, Mikrobiologische und immunologische Forschungen unter Anwendung der Gewebezüchtung. Kyoto 1932. — ²¹ *Hecke, F.*, Naturwiss. **20**, 150 (1935). — ²² *Erdmann, Rh.*, Z. Krebsforsch. **20**, 320 (1923). — ²³ *Carrel, A.*, C. r. Soc. Biol. Paris **93**, 491 (1926) — J. of exper. Med. **43**, 85 (1926). — *Carrel, A.*, a. *A. H. Ebeling*, Ebenda **43**, 461 (1926). — ²⁴ *Carrel, A.*, C. r. Soc. Biol. Paris **93**, 491 (1925). — ²⁵ *Carrel, A.*, Ebenda **93**, 85 (1925). — ²⁶ *Carrel, A.*, Ebenda **93**, 1278 (1925). — ²⁷ *v. Falkenhausem, M.*, *H. J. Fuchs* u. *M. Schubert*, Biochem. Z. **193**, 269 (1928). — ²⁸ *Spemann, H.*, Naturwiss. **1924**, H. 8. — ²⁹ *Spemann, H.*, *F. G. Fischer* u. *E. Wehmeier*, Ebenda **1933**, 506. — ³⁰ *Fischer, A.*, u. *E. Mayer*, Ebenda **1931**, 583. — ³¹ *Klein, G.*, Wiss. Wch. Frankf. a. M. **2**, 39. Leipzig 1935 — Ber. 59. Tag. dtsh. Ges. Chirurgie Berlin 1935 — Arch. klin. Chir. **183**, 194 (1935). — ³² *Zakrzewski, Z.*, Z. Krebsforsch. **36**, 513 (1932). — *Zakrzewski, Z.*, u. *W. Kraszewski*, Ebenda **39**, 471 (1933). — ³³ *Carrel, A.*, Science (N. Y.) **73**, 302 (1931). — ³⁴ *Parker, R. C.*, J. of exper. Med. **55**, 713 (1932). — ^{34a} *Shope, R. E.*, J. of exper. Med. **58**, 607 (1933). — ^{34b} *Rous, P.*, a. *J. G. Kidd*, Science (N. Y.) **83**, 468 (1936). — ^{34c} *Kröning, Fr.*, Wiss. Wch. Frankf. a. M., **1**, 161. Leipzig 1935. — ^{34d} *Loeb, L.*, Amer. J. Canc. **8**, 274 (1924). — ³⁵ *Fischer-Wasels, B.*, Wege zur Verhütung der Entstehung der Krebskrankheiten. Berlin 1934. — ³⁶ *Wolkouna, Z.*, Warszaw. Czas. lek. **1935**, Nr 40. — ³⁷ *Fuchs, H. J.*, unveröffentlicht. — ³⁸ *Claude, A.*, a. *J. B. Murphy*, Physiologic. Rev. **13**, 246 (1933). — ³⁹ *Thomsen, O.*, u. *J. Engelbreth-Holm*, Acta path. scand. (Köbenh.) **8**, 121 (1933). — ⁴⁰ *McIntosh, J.*, Brit. J. exper. Path. **14**, 422 (1933). — ⁴¹ *Richter, M. N.*, a. *E. C. MacDowell*, Physiologic. Rev. **15**, 509 (1935). — ⁴² *Kowarzyk, H.*, Bull. Acad. pol. Cl. Méd. **1933**, 67.