

Ein neuer Weg zur Erkennung der Malignität von Tumoren.

Von
H. Maier.

Aus der Sonderabteilung für Strahlentherapie des Krankenhauses der
Stadt Wien-Lainz.

Mit 5 Abbildungen.

(Eingelangt am 29. Nov. 1945. Vorgelegt in der Sitzung am 29. Nov. 1945.)

- I. Einleitung.
- II. Methode der Untersuchungen.
- III. Prüfung der durch die γ -Strahlen des Radiums erregten ultravioletten Fluoreszenzstrahlung an malignen Tumoren und nicht maligne degenerierten Geweben.
- IV. Diskussion der Fluoreszenzmethode zur Erkennung der Malignität von Tumoren.
- V. Über die Natur des die Fluoreszenzstrahlung aussendenden Stoffes im Krebsgewebe.
- VI. Zusammenfassung.

I. Einleitung.

In einer früheren Arbeit¹ wurde gezeigt, daß physiologisch wichtige Stoffe, wie das Hämatoporphyrin und menschliches Blut bei Bestrahlung mit γ -Strahlen des Radiums eine ultraviolette Fluoreszenzstrahlung ausstrahlen, welche nachweisbare chemische Veränderungen an Stoffen hervorrufen kann, die bei Stoffwechselfvorgängen des Krebses eine Rolle spielen. Dieser Nachweis erschien für die Erkenntnis des Wirkungsmechanismus der γ -Strahlen in der Strahlentherapie von Bedeutung, da hiermit gezeigt wurde, daß die, besondere chemische und biologische Wirksamkeit aufweisenden, ultravioletten Strahlen auch bei Bestrahlung des Körpers mit γ -Strahlen im Organismus wirksam sein können. In einer späteren Arbeit² wurde gefunden, daß auch Krebsgewebe bei Bestrahlung mit

¹ H. Smereker, Strahlentherap. 68, 405 (1940).

² H. Maier-Smereker, Strahlentherap. 72, 41 (1942).

γ -Strahlen eine ultraviolette Fluoreszenzstrahlung aussendet, welche ebenfalls nachweisbare chemische Veränderungen hervorrufen kann. Der Wellenlängenbereich dieser Fluoreszenzstrahlung, ebenso wie derjenige des Hämatoporphyrins und des menschlichen Blutes erstreckt sich vorwiegend von 260 bis 300 $m\mu$, umfaßt also das bekannt biologisch wichtige Gebiet der ultravioletten Strahlung.

Im Gegensatz zum Krebsgewebe zeigten Gewebe von nicht an Krebs Erkrankten oder von metastasenfremden Organen Krebskranker in dem erwähnten Wellenlängenbereich keine Fluoreszenzstrahlung. Der Umstand, daß auch das an das Krebsgewebe angrenzende normale Gewebe keinen Fluoreszenzeffekt aufwies, legte den Gedanken nahe, daß die ultraviolette Fluoreszenzfähigkeit im bestimmten Wellenlängenbereich an die Krebszellen selbst gebunden sein könnte. Die ultraviolette Fluoreszenzstrahlung von Krebsgewebe wurde jedoch nicht ausnahmslos festgestellt, in 20% der untersuchten Fälle trat kein Effekt auf.

In der erwähnten Arbeit² wurde die Möglichkeit besprochen, die Fluoreszenzfähigkeit von Krebsgewebe zum Ausbau einer diagnostischen Methode zu verwerten. Es wurde darauf hingewiesen, daß durch Verbesserungen der Untersuchungsmethode die Möglichkeit bestünde, auch jenen geringeren Prozentsatz (20%) von Krebsgewebe, der bisher keinen Fluoreszenzeffekt zeigte, von nicht krebskrankem Gewebe zu unterscheiden. Es wurde insbesondere hervorgehoben, daß auch durch die Herkunft des untersuchten Krebsmaterials ein gewisser Unterschied bedingt sein könnte.

Zu den Untersuchungen der erwähnten Arbeit wurden vor allem Krebsgewebe von Leichen und seltener nach Probeexzisionen oder Operationen an lebenden Patienten verwendet. Da die Prosektur des hiesigen Krankenhauses damals auch Sektionen für das angeschlossene Alters- und Versorgungsheim durchzuführen hatte, so handelte es sich bei dem von der Prosektur gelieferten Material vielfach um Karzinome, die oft erst im späteren Alter aufgetreten sind oder jahrelang bestanden haben. Die Gewebstücke nach Probeexzisionen hingegen stammen von Patienten, die einer Behandlung unterzogen werden und im Mittel einer niedrigeren Altersstufe angehören. Schon bei den damaligen Untersuchungen zeigte sich, daß Fluoreszenzprüfungen einer Reihe von Probeexzisionen in selteneren Fällen ein negatives Resultat ergaben, als die von der Prosektur stammenden Gewebstücke.

In den vorliegenden Untersuchungen wurden histologisch geprüfte Probeexzisionen von krebskranken Patienten der hiesigen Abteilung für Strahlentherapie und auch Probestückchen von anderen Abteilungen des Krankenhauses für die Fluoreszenzprüfung verwendet. Die Prüfung von nicht krebskrankem Gewebe wurde an Probestückchen nach Operationen von den verschiedenen Abteilungen und auch von der Prosektur durch-

geführt. Da bei der Fluoreszenzprüfung auch die Untersuchungsmethode verbessert werden konnte, bestand die Aussicht, den Prozentsatz der untersuchten Krebsgewebe mit negativem Fluoreszenzeffekt auf ein Minimum herabzudrücken und auf Grund der Fluoreszenzstrahlung von Krebsgewebe die Erkennung der Malignität von Tumoren zu ermöglichen.

II. Methode der Untersuchungen.

Die Grundlagen der Untersuchungsmethode sind in einer längeren Abhandlung von *E. Maier* und *A. v. Christiani*³ beschrieben, die Prüfung der Fluoreszenzstrahlung in den früher erwähnten Arbeiten^{1,2}. Hier soll nur in Kürze darauf eingegangen werden. Grundlage der Methode bildet die bekannte Fähigkeit des Normalserums (Pferdeserums), Krebszellen *in vitro* bis zu einem hohen Prozentsatz zu lösen, und die Eigenschaft gewisser Sterine, diese Lösungsfähigkeit zu beeinflussen. So wird die Lösungsfähigkeit des Normalserums durch Cholesterin-n-buttersäureester entsprechender Konzentration wesentlich verhindert, während durch geringste Spuren ($10^{-4} \gamma$) eines, von *A. v. Christiani* entdeckten neuen Stoffes, den Entaktivator — der als Oxydationsprodukt des Ergosterins in kristallisierter Form⁴ dargestellt wurde —, die biologische Wirkung des erwähnten Esters wieder aufgehoben wird. Im letzteren Fall bleibt die Lösungsfähigkeit des Normalserums im ursprünglichen Ausmaß erhalten. Die Feststellung der Lösung von Krebszellen erfolgt durch Zählung derselben im Mikroskop mittels einer *Thoma-Zeiß-Zählkammer* und durch Rückzählung nach 20stündiger Bebrütung. Diese Zählungen, die besondere Übung und Erfahrung erfordern, wurden von *H. Morth*, der Assistentin von *Dr. A. v. Christiani* in dankenswerter Weise durchgeführt.⁵ Auf Grund der von *A. v. Christiani* untersuchten Konstitution des Entaktivators kann derselbe in zwei durch die cis-trans-Isomerie bedingten Modifikationen bestehen. Die cis-Form ist biologisch wirksam und entaktiviert das Cholesterinbutyrat, die trans-Form ist biologisch praktisch unwirksam. Die zahlenmäßigen Ergebnisse und die Durchführung der Reaktionen sollen in Kürze angegeben werden.

Wird Normalserum durch 20 Stunden im Brutschrank auf Krebszellen einwirken gelassen, so werden rund 40% der Zellen gelöst, es verbleiben demnach 60% ungelöste Zellen. Die Prüfung wird in der folgenden Weise durchgeführt.

In ein Proberöhrchen werden der Reihe nach die folgenden Flüssigkeitsmengen eingebracht:

1. 0,5 ccm Normalserum.
2. 0,5 ccm physiologische Kochsalzlösung.

³ *E. Maier* und *A. v. Christiani*, *Z. Krebsforsch.* 49, 679 (1940).

⁴ *A. v. Christiani*, *Z. Krebsforsch.* 54, 379 (1944).

⁵ Die diesen Untersuchungen zugrunde liegenden chemischen und biologischen Versuche wurden mit Hilfe von *Dr. A. v. Christiani* durchgeführt.

- Z
3. 2 Tropfen einer 3%igen Trikresollösung, zur Verhinderung der Zellauflösung durch Bakterien.
 4. 1 Tropfen einer 1%igen Phenolphthaleinlösung, zur Bestimmung der Alkalität.
 5. 1 bis 2 Tropfen der Zellaufschwemmung.
 6. 2 Tropfen einer 3%igen Sodalösung, um die Reaktion in schwach alkalischer Lösung durchzuführen. (Die Lösung soll eine ganz schwache Rotfärbung zeigen.)

Z bedeutet Zusätze, die zur Reaktion notwendig sind. Nach gutem Durchschütteln der Flüssigkeit wird ein Tropfen derselben auf die Thoma-Zeiß-Zählkammer gebracht und im Mikroskop die Anzahl der gut erhaltenen Zellen gezählt. Hierauf wird die Flüssigkeit durch 20 Stunden im Brutschrank gehalten und nachher wieder ein Tropfen davon auf die Zählkammer gebracht und die Zahl der gut erhaltenen Zellen ermittelt. Es zeigt sich nun, daß nach der Bebrütung nur rund 60% der Zellen in gutem Zustand erhalten sind, demnach rund 40% in Lösung gingen. Wird hingegen zu der eben angegebenen Flüssigkeitsmischung Cholesterin-n-buttersäureester bestimmter Konzentration (50 γ /cem) hinzugegeben, so wird der Prozentsatz der gelösten Krebszellen verringert. Die Reaktion wird in der folgenden Weise durchgeführt.

In ein Proberöhrchen werden die folgenden Flüssigkeitsmengen eingebracht:

- B
1. 50 γ Cholesterinbutyrat in wenig Äther gelöst.
 2. 0,5 cem Normalserum.
 3. 0,5 cem physiologische Kochsalzlösung.
 4. Die früher angegebenen Zusätze Z.

Ergebnis der Reaktion: Nach 20stündiger Bebrütung sind rund 80% ungelöste Krebszellen vorhanden.

Wird der erwähnten Flüssigkeitsmenge B die unwirksame Form des Entaktivators (trans-Form) hinzugefügt, so wird die Wirkung des Cholesterinbutyrats auf Normalserum nur wenig geändert.

Die Reaktion ist die folgende:

1. 10^{-4} γ trans-Form des Entaktivators in wenig Äther gelöst.
2. Die oben angegebene Flüssigkeitsmenge B.

Ergebnis der Reaktion: Nach 20stündiger Bebrütung sind rund 74 bis 79% ungelöste Krebszellen vorhanden.

Wird hingegen der Flüssigkeitsmenge B die wirksame Form des Entaktivators (cis-Form) hinzugefügt, so wird die Wirkung des Cholesterinbutyrats auf Normalserum praktisch aufgehoben.

Die Reaktion ist die folgende:

1. 10^{-4} γ cis-Form des Entaktivators in wenig Äther gelöst.
2. Die oben angegebene Flüssigkeitsmenge B.

Ergebnis der Reaktion: Nach 20stündiger Bebrütung sind rund 60 bis 63% ungelöste Krebszellen vorhanden.

Es soll hier noch auf einige Momente hingewiesen werden, die bei der angewandten Methode von Wichtigkeit sind. Die zu den Prüfungen notwendigen Zellaufschwemmungen werden aus Krebslebermetastasen gewonnen. Es zeigte sich, daß nicht alle Zellen zur cytologischen Reaktion verwertbar sind, sondern nur jene, welche den in der Arbeit von *E. Maier* und *A. v. Christiani*³ eingehend beschriebenen Bedingungen genügen. Die Zellen müssen also auf ihre Verwertbarkeit für die Zählreaktion eingehend geprüft werden. Die Herstellung der Zellaufschwemmungen ist in der er-

wähnten Arbeit³ genau beschrieben. Die Zellkonzentration muß derart gewählt werden, daß pro ein großes Quadrat der Thoma-Zeiß-Zählkammer vor der Bebrütung ungefähr 15 Zellen zur Zählung gelangen. Zur Durchführung eines Versuches werden vier große Quadrate der Zählkammer ausgezählt, so daß insgesamt 60 Zellen vor der Bebrütung zur Beobachtung gelangen. Wie schon früher erwähnt, erfordert die Durchführung der Zählreaktion, vor allem das Zählen der Zellen große Übung und Erfahrung. Werden alle zur Zählreaktion notwendigen Bedingungen, vor allem die Prüfung der Verwertbarkeit der Zellen genau eingehalten, dann läßt sich der Fehler bei der Reaktion in bestimmten Grenzen halten. Auf Grund der immer wiederholten Prüfung der Wirkung des Normalserums auf Krebszellen zeigte sich, daß der Wert 60% ungelöste Krebszellen Schwankungen zwischen 59 und 61% aufweisen kann. Dasselbe gilt für die Wirkung des Cholesterinbutyrats. Die immer wiederholten Zählungen zeigen um den Wert 80% ungelöste Zellen Schwankungen zwischen 79 und 81%. Die Fehlergrenze der Zählreaktion kann demnach mit $\pm 1,5\%$ des gezählten Wertes angenommen werden.

In früheren Arbeiten^{1,2} konnte gezeigt werden, daß die beiden isomeren Formen des Entaktivators durch die von den γ -Strahlen des Radiums im Hämatorporphyrin, im menschlichen Blut und im Krebsgewebe erregte ultraviolette Fluoreszenzstrahlung ineinander verwandelt werden können. Der Wellenlängenbereich dieser Strahlung liegt zwischen 260 und 300 $m\mu$, möglicherweise sind auch unterhalb 260 $m\mu$ wirksame ultraviolette Komponenten vorhanden.

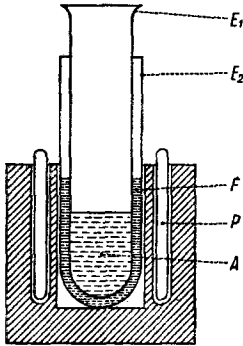


Abb. 1. Apparatur zur Bestrahlung mit γ -Strahlen und Fluoreszenzstrahlung.

E_1 = Eprouvette aus Quarzglas; E_2 = Eprouvette aus gewöhnlichem Glas; F = fluoreszierende Substanz; P = Radiumpräparate; A = die zu bestrahlende Substanz in Lösung.

Die zu den Untersuchungen verwendete Apparatur ist schematisch in Abb. 1 dargestellt. Die γ -Strahlung trifft auf die im Röhrchen E_2 aus gewöhnlichem Glas befindliche fluoreszierende Substanz auf, die erregten ultravioletten Fluoreszenzstrahlen treten durch das Quarzröhrchen E_1 hindurch und gelangen in der untersuchten Substanz A , die sich in Lösung befindet, zur Wirkung. Die γ -Strahlenintensität und Dosis wurden so gewählt, daß ohne fluoreszierende Substanz, also durch die γ -Strahlen allein praktisch keine Änderung in der Substanz A eintritt, so daß bei Verwendung fluoreszierender Stoffe eine Änderung der Substanz A dem Einfluß der Fluoreszenzstrahlung zugeschrieben werden konnte. Zu den Bestrahlungsversuchen wurden vier Tuben von 1 cm Länge mit je 2 mg RaEl, also insgesamt 8 mg RaEl, Filter 1 mm Platin, verwendet. Je zwei Tuben waren übereinander angeordnet (Abb. 1) und befanden sich den anderen ebenso gelagerten beiden Tuben gegenüber. Die Strahlungsintensität im Mittelpunkt der Flüssigkeit A betrug 0,96 r/min.

Zur Bestrahlung der trans-Form des Entaktivators wurden 10^{-4} γ desselben mit 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung in das Quarz-

röhrchen E_1 eingebracht. Nach beendiger Bestrahlung wurden die zum Zählversuch notwendigen restlichen Substanzen (Flüssigkeitsmenge B mit Ausschluß der physiologischen Kochsalzlösung) hinzugefügt und die erste Zählung durchgeführt. Nach 20stündiger Bebrütung erfolgte die zweite Zählung. Die Ergebnisse der Bestrahlung der trans-Form des Entaktivators mit γ -Strahlen und zusätzlicher Fluoreszenzstrahlung des Hämatorporphyrins sind in Abb. 2 dargestellt.

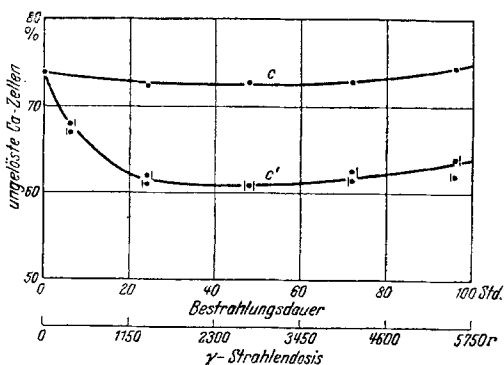


Abb. 2. Bestrahlung der trans-Form des Entaktivators mit γ -Strahlen und Fluoreszenzstrahlung. γ -Strahlenintensität = 0,96 r/min (8 mg RaEl).
 Kurve c (.) = γ -Strahlung,
 Kurve c' (/.) = γ -Strahlung + Fluoreszenzstrahlung des Hämatorporphyrins.
 Kurve c' (./) = γ -Strahlung + Fluoreszenzstrahlung des Blutes.

gestellt. Kurve c entspricht der Wirkung der γ -Strahlen allein, Kurve c' dem Einfluß der durch die γ -Strahlen erregten ultravioletten Fluoreszenzstrahlung. Die trans-Form ist ursprünglich auf dem Wert 74% ungelöste Krebszellen und ändert sich bei weiterer Bestrahlung mit γ -Strahlen bis zu 4 Tagen praktisch nicht. Bei zusätzlicher Einwirkung der ultravioletten Fluoreszenzstrahlung sinkt die Kurve schon nach einem Tag auf 61% ungelöste Krebszellen und behält diesen Wert bei weiterer Bestrahlung praktisch bei. Es hat sich also unter dem Einfluß der ultravioletten Strahlung die trans-Form des Entaktivators in die cis-Form verwandelt. Wird hingegen die cis-Form des Entaktivators mit γ -Strahlen und Fluoreszenzstrahlung des Hämatorporphyrins bestrahlt, so ändert sich die entsprechende Kurve d (Abb. 3) praktisch nicht. Der ursprüngliche Wert von 61% ungelöste Ca-Zellen, welcher der cis-Form entspricht, hat sich nach viertägiger Bestrahlung nicht merklich geändert. Wird jedoch der cis-Form 1 γ elementares Brom hinzugefügt (10^{-4} γ cis-Form + 1 γ Brom + 0,5 ccm physiologische Kochsalzlösung) und hierauf mit γ -Strahlen und Fluoreszenzstrahlung bestrahlt, so erreicht die entsprechende Kurve d' schon nach 3 Stunden den Wert 74% ungelöste Ca-Zellen, es

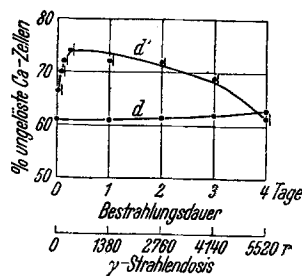


Abb. 3. Bestrahlung der cis-Form des Entaktivators mit γ -Strahlen und Fluoreszenzstrahlung und Sensibilisierung mit Brom. γ -Strahlenintensität = 0,96 r/min (8 mg RaEl). Kurve d (.) = γ -Strahlung + Fluoreszenzstrahlung des Hämatorporphyrins, Kurve d' (/.) = γ -Strahlung + Fluoreszenzstrahlung des Hämatorporphyrins und Sensibilisierung mit 1 γ Brom.

ist also eine Umwandlung der cis-Form in die trans-Form durch photochemische Sensibilisierung mit Brom erfolgt.

Wie schon eingangs erwähnt, hat auch Krebsgewebe die Eigenschaft, unter Einwirkung der γ -Strahlen eine ultraviolette Fluoreszenzstrahlung auszusenden. Wird in das Röhrchen E_2 statt Hämatoporphyrin eine Aufschwemmung von Krebszellen eingebracht und in das Röhrchen E_1 wie früher $10^{-4}\gamma$ trans-Form des Entaktivators + 0,5 ccm physiologische Kochsalzlösung, so ergeben sich nach zweitägiger, wie früher angegebenen Bestrahlung rund 62 bis 65% ungelöste Krebszellen, die trans-Form des Entaktivators wurde unter der Einwirkung der von den γ -Strahlen in der Zellaufschwemmung ausgelösten ultravioletten Fluoreszenzstrahlung in die cis-Form verwandelt. Die Zellaufschwemmungen wurden, wie in der Arbeit von *E. Maier* und *A. v. Christiani*³ beschrieben, hergestellt. Da aber für die Zellaufschwemmungen relativ viel Gewebe aus dem Ausgangsmaterial notwendig ist, wurde ein zweiter Weg beschritten. Das Krebsgewebe wurde in Kalilauge gelöst und mit verdünnter Salzsäure auf ein p_H von 7,2 bis 7,5 gebracht.

In der früher erwähnten Arbeit² zur Prüfung der Fluoreszenzstrahlung von Krebsgewebe wurden hauptsächlich Zellaufschwemmungen und seltener Krebsgewebe, in Kalilauge gelöst, als Fluoreszenzstrahler verwendet. Da aber bei den damaligen Versuchen 20% der untersuchten Krebsgewebe keinen Fluoreszenzeffekt zeigten, war das Bestreben vorhanden, den die Fluoreszenz hervorrufenden Stoff im Krebsgewebe in möglichst konzentrierter Form zu erhalten. Die zu diesem Zweck angestellten Versuche ergaben, daß der Fluoreszenzstoff in Äther und Alkohol löslich ist. Es wurde demnach in der vorliegenden Arbeit das Krebsgewebe mit einem Gemisch von Alkohol-Äther extrahiert. Da die Bestrahlungsversuche durchschnittlich 2 Tage dauern, konnte wegen des raschen Verdampfens nicht der Alkohol-Äther-Auszug selbst als Fluoreszenzstrahler verwendet werden. Es wurde das Alkohol-Äther-Gemisch verdampft, hierauf der Rückstand in wenigen Tropfen Aceton aufgenommen und mit Wasser emulgiert. Für die Untersuchungen genügten meistens 1 bis 2 ccm dieser Emulsion. Der Zusatz von Aceton beeinflußt den Fluoreszenzeffekt nicht. Wie die späteren Untersuchungsergebnisse zeigen, war es auf diese Weise möglich, den früher vorhandenen Prozentsatz der Gewebe mit negativem Fluoreszenzeffekt (20%) praktisch aufzuheben. Mit dieser Methode konnten relativ kleine Gewebsstücke von minimal 0,25 ccm noch der Fluoreszenzprüfung unterzogen werden. Dieser Umstand ist von besonderer Wichtigkeit, da ja bei Probeexzisionen von Karzinomen häufig nur kleine Gewebsstücke zur Verfügung stehen. Kleinere Proben als 0,25 ccm ergaben kein brauchbares Resultat mehr.

In der früheren Arbeit² wurde die Fluoreszenzstrahlung von Krebsgewebe durch die Umwandlung der trans-Form in die cis-Form des Ent-

aktivators bei zweitägiger Bestrahlung festgestellt. In den vorliegenden Untersuchungen wurde noch eine zweite Prüfung angeschlossen und zwar wurde analog der Kurve *d'* in Abb. 3 durch photochemische Sensibilisierung mit Brom die *cis*-Form des Entaktivators in die *trans*-Form verwandelt. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Abb. 4 dargestellt. Als Fluoreszenzstrahler wurde ein Alkohol-Äther-Auszug (in Azeton und Wasser emulgiert) je einer Probeexzision von Krebsgewebe und nicht krebskrankem Gewebe verwendet und die Bestrahlung im Intervall von 1 bis 4 Tagen durchgeführt. Wird die *trans*-Form des

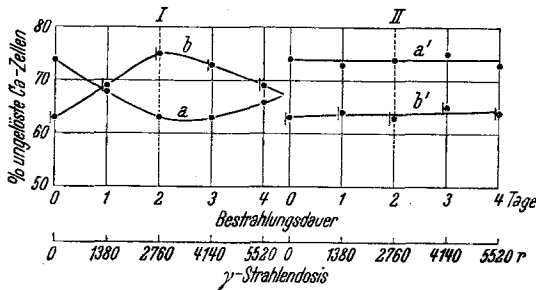


Abb. 4. Die durch γ -Strahlen erregte ultraviolette Fluoreszenzstrahlung von Krebsgewebe und Fehlen derselben bei nicht krebskrankem Gewebe.

- γ -Strahlenintensität = 0,96 r/min,
- I. Krebsgewebe
 - Kurve a (.) = Bestrahlung der *trans*-Form des Entaktivators,
 - Kurve b (./) = Bestrahlung der *cis*-Form des Entaktivators und Sensibilisierung mit 5 γ Brom.
 - II. Nicht krebskrankes Gewebe
 - Kurve a' (.) = Bestrahlung der *trans*-Form des Entaktivators,
 - Kurve b' (./) = Bestrahlung der *cis*-Form des Entaktivators und Sensibilisierung mit 5 γ Brom.

Entaktivators mit Fluoreszenzstrahlung von Krebsgewebe bestrahlt, so sinkt die entsprechende Kurve *a* von ursprünglich 74% ungelöste Krebszellen nach zweitägiger Bestrahlung auf 63% und steigt nach 4 Tagen auf den Wert 66%. Wird hingegen als Ausgangspunkt die *cis*-Form verwendet und derselben 5 γ elementares Brom hinzugefügt, so steigt die Kurve *b* von anfangs 63% ungelösten Krebszellen nach zweitägiger Bestrahlung auf 75% an und sinkt bei weiterer Bestrahlung wieder ab. Die Kurven *a*, *b* verlaufen analog den mit Hämatorporphyrin aufgenommenen Kurven *c'* (Abb. 2) und *d'* (Abb. 3), nur die zur Umwandlung der beiden isomeren Formen des Entaktivators notwendigen Bestrahlungszeiten sind verschieden, ebenso die im Sensibilisierungsversuch verwendete Menge Brom. Während bei Anwendung der Fluoreszenzstrahlung des Hämatorporphyrins und Sensibilisierung durch 1 γ Brom die Kurve *d'* (Abb. 3) von ursprünglich 61% ungelöste Krebszellen schon nach 3 Stunden das Maximum von 74% erreicht, wird bei Anwendung von Krebsgewebe als Fluoreszenzstrahler und Sensibilisierung durch 5 γ Brom erst nach 2 Tagen der maximale Wert von 75% erreicht. Wird hingegen in das

Röhrchen E_2 (Abb. 1) der Alkohol-Äther-Extrakt (in der üblichen Weise in Aceton aufgenommen und mit Wasser emulgiert) von nicht krebskrankem Gewebe eingebracht, so zeigt sich nach viertägiger Bestrahlung kein Effekt einer ultravioletten Fluoreszenzstrahlung. Die trans-Form des Entaktivators verbleibt praktisch auf dem Wert 74% ungelöste Krebszellen (Kurve a') und auch die cis-Form zeigt bei Sensibilisierung mit Brom keine Änderung, wie aus Kurve b' zu ersehen ist. Ein Vergleich der Kurven a, a' und b, b' zeigt, daß nach zweitägiger Bestrahlung der

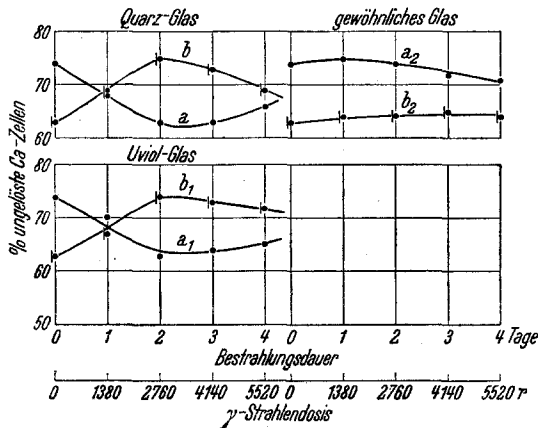


Abb. 5. Durchgang der durch die γ -Strahlen im Krebsgewebe erregten ultravioletten Strahlung durch Quarz-Uviol- und gewöhnliches Glas.

γ -Strahlenintensität = 0,96 r/min,

Kurven a, a_1, a_2 (.) = Bestrahlung der trans-Form des Entaktivators,

Kurven b, b_1, b_2 (.) = Bestrahlung der cis-Form des Entaktivators und Sensibilisierung mit 5 γ Brom.

größte Unterschied in den Kurvenwerten zwischen Krebsgewebe und nicht krebskrankem Gewebe besteht. Die später angegebenen Prüfungen an einem großen Material wurden demnach bei zweitägiger Bestrahlung durchgeführt.

Die Kurven a, b bzw. a', b' in Abb. 4 entsprechen nur jeweils einer Gewebeprobe. Die später angeführte Statistik an einer großen Anzahl von Geweben zeigt natürlich gewisse Schwankungen, wie aus den später angegebenen Zahlenwerten zu ersehen ist. Im allgemeinen ist aus der Statistik zu entnehmen, daß bei zweitägiger Bestrahlung der trans-Form des Entaktivators Werte von 63 bis 66% ungelöste Krebszellen und bei gleichzeitiger Bestrahlung der cis-Form Werte von 70 bis 75% auf Krebsgewebe bzw. maligne degeneriertes Gewebe schließen lassen. Ergeben sich umgekehrt bei Bestrahlung der trans-Form 70 bis 75% ungelöste Krebszellen und bei Anwendung der cis-Form 63 bis 66%, dann kann auf nicht krebskrankes bzw. nicht maligne degeneriertes Gewebe ge-

geschlossen werden. Eine genauere Diskussion der Werte erfolgt später nach Anführung der Statistik.

Um den Wellenlängenbereich der im Krebsgewebe erregten ultravioletten Fluoreszenzstrahlung festzustellen, wurden in einer früheren Arbeit² die Versuche nicht nur im Quarzglas (Röhrchen E_1 , Abb. 1) durchgeführt, sondern auch im Uviol- und gewöhnlichem Glas. Aus diesen Versuchen konnte gezeigt werden, daß der wirksame Wellenlängenbereich der im Krebsgewebe erregten ultravioletten Fluoreszenzstrahlung zwischen 260 und 300 $m\mu$ liegt und möglicherweise auch Komponenten unterhalb 260 $m\mu$ aufweist. Um den Kurvenverlauf im Bestrahlungsintervall von 1 bis 4 Tagen zu zeigen, wurde die Fluoreszenzstrahlung einer Probe von Krebsgewebe im Quarz-, Uviol- und gewöhnlichem Glas geprüft. Das Ergebnis ist in Abb. 5 dargestellt. Die Kurven *a* entsprechen wieder der Bestrahlung der trans-Form des Entaktivators, die Kurven *b* der Bestrahlung der cis-Form und Sensibilisierung mit 5 γ Brom. Da bei Quarz- und Uviolglas der Fluoreszenzeffekt auftritt, bei gewöhnlichem Glas nicht, sind die früher angegebenen Resultate bestätigt. Quarzglas läßt das gesamte ultraviolette Gebiet hindurch, Uviolglas nur Wellenlängen oberhalb 260 $m\mu$ und gewöhnliches Glas nur Wellenlängen oberhalb 300 $m\mu$.

III. Prüfung der durch γ -Strahlen erregten ultravioletten Fluoreszenzstrahlung an maligne und nicht maligne degenerierten Geweben.

Die Prüfung der Fluoreszenzstrahlung von maligne und nicht maligne degenerierten Geweben wurde an einem sehr reichhaltigen Material durchgeführt. Es wurden prinzipiell nur Gewebe untersucht, die histologisch an der pathologischen Abteilung des hiesigen Krankenhauses geprüft wurden. Während zu den Untersuchungen einer früheren Arbeit² vorwiegend Tumorgewebe von Leichen und seltener nach Probeexzisionen oder Operationen verwendet wurden, gelangten zu den Prüfungen dieser Arbeit hauptsächlich Gewebstücke nach Probeexzisionen, in selteneren Fällen nach Operationen oder von Leichen. Die Probeexzisionen stammten von der hiesigen Abteilung für Strahlentherapie, die Proben nach Operationen von den übrigen Abteilungen des Krankenhauses oder von der pathologischen Abteilung, die Gewebe von Leichen von der letzteren Abteilung. Die Resultate der Fluoreszenzprüfungen an malignen Tumoren sind in der Tabelle 1, an nicht malignen Geweben in Tabelle 2 zusammengefaßt. In Spalte 2 der Tabelle 1 ist das Datum der Probeexzision bzw. Operation oder der Sektion angegeben, in Spalte 3 das Alter der Patienten. In den Spalten 5 und 6 befinden sich unter *T* und *C* die Ergebnisse der Fluoreszenzprüfungen. Unter *T* sind jene Werte verstanden,

Tabelle 1. Prüfung der durch die γ -Strahlen des Radiums erregten ultravioletten Fluoreszenzstrahlung von Geweben maligner Tumoren.

T = Wert nach 2tägiger Bestrahlung der trans-Form des Entaktivators;
 C = Wert nach 2tägiger Bestrahlung der cis-Form des Entaktivators und Sensibilisierung durch 5- γ -Brom.
 Ausgangswerte: $T_0 = 74\%$ trans-Form unbestrahlt;
 $C_0 = 63\%$ cis-Form unbestrahlt.

V. H. Pl. E. Ca. = Verhornendes Plattenepithelkarzinom;
 V. H. Pfl. E. Ca. = Verhornendes Pflasterepithelkarzinom.

Die Gewebe stammen von Probeexzisionen der hiesigen Abteilung für Strahlentherapie, die mit * bezeichneten von der Prosektur des Krankenhauses.

Nr.	Datum	Alter Jahre	Probe	%		Diagnose		Histologischer Befund
				T	C	Klinisch	Histologie	
1	8. VII. 1943	56		64	73	+	+	V. H. Pl. E. Ca
2	5. X. 1943	61		66	75	+	+	Pfl. E. Ca
3	14. V. 1943	59		63	73	+	+	V. H. Pl. E. Ca
4	27. V. 1943	74		64	73	+	+	Polymorphzelliges V. H. Pl. E. Ca
5	27. V. 1943	66		62	72	+	+	V. H. Pl. E. Ca
6	20. VII. 1943	60		65	75	+	+	V. H. Pl. E. Ca
7	30. IX. 1943	73		64	73	+	+	V. H. Pfl. E. Ca
8	29. IV. 1943	65		63	73	+	+	Neoplasma epithelialen Charakters
9	30. VII. 1943	47		61	72	+	+	Beginnendes Pfl. E. Ca
10	22. V. 1943	70		66	73	+	+	Solides Ca, Pl. E. Ca
11	29. VII. 1943	76		65	73	+	+	V. H. Pl. E. Ca
12	6. I. 1944	52		62	72	+	+	Polymorphzelliges, stark entzündetes Pl. E. Ca
13	3. III. 1943	39		63	70	+	+	Pl. E. Ca
14	9. III. 1943	40		64	72	+	+	Pl. E. Ca

Plattenepithelkarzinome.

Ca labii inf.

Ca linguae

Ca parotidis

Ca ani

Ca penis

Ca cervicis uteri

15	15. III.	1943	37		66	75	+	+	+	Pl. E. Ca
16	18. III.	1943	57		61	73	+	+	+	Pl. E. Ca
17	24. III.	1943	41		65	73	+	+	+	Pl. E. Ca
18	8. IV.	1943	53		69	72	+	+	+	Polymorphzelliges Pl. E. Ca
19	14. IV.	1943	55		62	72	+	+	+	Pl. E. Ca
20	14. IV.	1943	64		66	70	+	+	+	Pl. E. Ca
21	15. IV.	1943	52		65	73	+	+	+	Pl. E. Ca
22	17. IV.	1943	49		62	73	+	+	+	Pl. E. Ca
23	17. IV.	1943	45		62	73	+	+	+	Pl. E. Ca
24	18. IV.	1943	38		63	72	+	+	+	Pl. E. Ca
25	21. IV.	1943	38		65	73	+	+	+	Pl. E. Ca
26	23. IV.	1943	58		62	71	+	+	+	Pl. E. Ca
27	28. IV.	1943	52		63	72	+	+	+	Pl. E. Ca
28	18. V.	1943	70	Ca cervicis uteri	63	73	+	+	+	Pl. E. Ca
29	20. V.	1943	69		65	73	+	+	+	Mächtig proliferierendes Pl. E. Ca
30	20. V.	1943	45		63	74	+	+	+	Polymorphzelliges Pl. E. Ca
31	2. VI.	1943	74		65	74	+	+	+	Entzündliches u. nekrotisierendes Pl. E. Ca
32	4. VI.	1943	55		65	70	+	+	+	Entzündlich infiltriertes Pl. E. Ca
33	9. VI.	1943	40		65	75	+	+	+	Pl. E. Ca
34	11. VI.	1943	83		63	73	+	+	+	Papilläres Ca, an Adenocarcinoid erinnernd
35	18. VI.	1943	56		65	71	+	+	+	Pl. E. Ca
36	3. VII.	1943	44		64	73	+	+	+	V. H. Pl. E. Ca
37	6. VII.	1943	59		61	71	+	+	+	Pl. E. Ca
38	7. VII.	1943	57		63	72	+	+	+	Entzündliches Pl. E. Ca
39	29. VII.	1943	67		64	76	+	+	+	Pl. E. Ca
40	30. VII.	1943	58	Ca cervicis uteri, Rezi-div Knoten						
41	25. IX.	1943	41		70	70	+	+	+	Pl. E. Ca
42	28. IX.	1943	59		65	72	+	+	+	Pfl. E. Ca
43	5. X.	1943	34	Ca cervicis uteri	65	74	+	+	+	Pl. E. Ca
					65	71	+	+	+	Pfl. E. Ca

Nr.	Datum	Alter Jahre	Probe	%		Diagnose			Histologischer Befund	
				T	G	Kil-misch	Histologie	Fluoreszenz		
101	30. V. 1944	76	*Ca recti	67	72		+	+	Adeno Ca	
102	11. III. 1944	64	*Ca pancreatis	66	75		+	+	Adeno Ca, wahrscheinlich des Ductus choledochus	
103	6. III. 1943	71	}	62	73	+	+	+	Papilläres Adeno Ca	
104	23. III. 1943	65			64	73	+	—	+	Proliferierende Schleimhauttypen d. Cervix-Corpus-Grenze
105	20. IV. 1943	75	} Ca corporis uteri	64	73	+	+	+	Papilläres Adeno Ca	
106	29. IV. 1943	66			64	72	+	+	+	Adeno Ca
107	7. V. 1943	70			64	73	+	+	+	Papilläres Adeno Ca
108	25. VI. 1943	71			62	72	+	+	+	Papilläres Adeno Ca
109	10. VII. 1943	62			64	72	+	+	+	Papilläres Adeno Ca
110	22. II. 1944	58			62	75	+	+	+	Papilläres Adeno Ca
Solide Karzinome.										
111	27. VII. 1943	77	Ca mammae	63	75		+	+	Ca simplex mammae	
112	3. VI. 1944	62	*Ca mammae	64	73		+	+	Scirrheses Ca mammae	
113	17. VI. 1944	43	*Ca mammae	65	74		+	+	Scirrheses Ca mammae	
114	13. VI. 1944	60	*Ca ovarii	61	75		+	+	Papilläres, teilweise scirrheses Ca ovarii	
Karzinometastasen bei bekanntem und unbekanntem Primärtumor.										
115	5. VII. 1943	54	Ca d. Halslymphknoten	65	73	+	+	+	Anscheinend Pl. E. Ca, Primärtumor unbekannt	
116	4. I. 1944	79	Ca der axillären Lymphknoten	68	75	+	+	+	V. H. Pl. E. Ca, Primärtumor unbekannt	
117	25. I. 1944	73	Ca der Darmbeingsäule	65	75	+	+	+	Pfl. E. Ca	

118	6. VII. 1943	80	Metastase in der Vagina bei Ca ovarii	63	72	+	+	+	Papilläres Adeno Ca
119	25. IX. 1943	72	Metastase der Clitoris nach Ca portionis	64	76	+	+	+	Pl. E. Ca
120	13. I. 1944	57	*Hautmetastasen bei Ca vaginae	64	74	+	+	+	Pl. E. Ca
			*Lungenmetastasen bei Ca vaginae	67	77	+	+	+	Pl. E. Ca
Sarkome und andere maligne Tumoren.									
121	1. VII. 1943	73	Sarkom d. li. Brustseite	63	75	+	+	+	Fibrosarkom
122	20. V. 1944	75	*Lymphosarkom des Magens	65	72	+	+	+	Retikuliertes Lymphosarkom des Magens
123	7. II. 1944	64	Tumor in der Vulva	66	74	+	+	+	Spindelzellensarkom (Leiomyosarkom?)
124	10. VII. 1944	72	Spindelzellensarkom d. linken Oberschenkels	66	72	+	+	+	Spindelzellensarkom
125	25. V. 1943	58	Tumor ani	64	72	+	+	+	Melanotisches Blastom nach Art eines zylindrischen Basalzellenkrebses
126	11. XII. 1943	66	Tumor der rechten Schläfengegend	63	71	+	+	+	Melanosarkom
127	28. XII. 1943	57	Metastase der rechten Hüftengegend	64	73	+	+	+	Melanoblastom
128	26. VI. 1944	25	Melanosarkom des re. Thorax	74	65	+	+	-	Melanosarkom, sehr oberflächlich und scharf umschrieben
129	4. V. 1944	61	*Hypernephrom	68	70	+	+	+	Metastase eines stark glykogenhaltigen, hellzelligen Hypernephroms
130	20. VII. 1943	67	Tumor im Zungenrund	70	70	+	+	+	Retothelsarkom? Lymphoepithelium?

die sich ergeben, wenn die trans-Form des Entaktivators durch 2 Tage mit γ -Strahlung + Fluoreszenzstrahlung der zu untersuchenden Probe (Abb. 4, Kurve *a* bzw. *a'*) bestrahlt wird. Unter *C* sind jene Werte angeführt, die sich nach zweitägiger Bestrahlung der cis-Form des Entaktivators und Sensibilisierung durch 5 γ Brom ergeben (Abb. 4, Kurve *b* bzw. *b'*). In den Spalten 7, 8, 9 sind die klinische, die histologische und die Diagnose nach der Fluoreszenzmethode durch ein + - oder —-Zeichen angeführt. Das + -Zeichen entspricht jeweils der Feststellung der Malignität, das —-Zeichen dem nicht malignen Zustand. In Spalte 10 befindet sich der von der hiesigen pathologischen Abteilung jeweils bei den Proben abgegebene histologische Befund. Die Karzinome und die übrigen malignen Tumoren wurden ihrem histologischen Charakter entsprechend in verschiedenen Gruppen zusammengefaßt. Zuerst wurde die Gruppe der Plattenepithelkarzinome angeführt, hierauf die der Adenokarzinome und der soliden Karzinome. Weiterhin wurden die Karzinommetastasen bei bekanntem und unbekanntem Primärtumor in einer Gruppe angegeben. In einer weiteren Gruppe folgen Sarkome und andere maligne Tumoren.

Ein Vorteil der hier angegebenen Fluoreszenzmethode gegenüber den Untersuchungen an Krebsgewebe der früheren erwähnten Arbeit besteht darin, daß die Prüfung eines Gewebes durch zwei gesonderte Untersuchungen erfolgt, deren Ergebnisse durch die Werte *T* und *C* festgelegt sind. Würde etwa bei zweitägiger Bestrahlung der trans-Form des Entaktivators mit γ -Strahlen und zusätzlicher Fluoreszenzstrahlung die Kurve *a* (Abb. 4) von ursprünglich $T_0 = 74\%$ nur auf etwa $T = 70\%$ absinken, so ist die Abnahme so gering, daß auf Grund dieses Wertes allein keine Aussage gemacht werden kann. Wenn hingegen bei zweitägiger Bestrahlung der cis-Form und Sensibilisierung durch Brom die Kurve von ursprünglich $C_0 = 63\%$ ungelöste Krebszellen auf $C = 70\%$ (Kurve *b*, Abb. 4) ansteigt, so kann auf Grund dieser Änderung im Zusammenhang mit der geringen Änderung des Wertes *T* auf Malignität geschlossen werden. Denn ein Überblick über die Statistik an nicht maligne degenerierten Geweben (Tabelle 2) zeigt, daß eine derartige gleichzeitige Änderung beider Größen *T* und *C* bei nicht malignem Gewebe nicht vorkommt. Ändern sich also die beiden ursprünglichen Werte T_0 und C_0 bei zweitägiger Bestrahlung, dann kann auf Malignität geschlossen werden, ändert sich hingegen nur ein Wert (T_0 oder C_0), dann liegt keine Malignität vor.

Unter den Plattenepithelkarzinomen ist das Ca cervicis uteri mit 49 Fällen am häufigsten vertreten. In 47 dieser Fälle ergaben klinischer, histologischer Befund und Fluoreszenzprüfung dieselben Resultate, in zwei Fällen (Nr. 58, 59) war der histologische Befund negativ. Bei einem Fall von Ca vaginæ (Nr. 64) hingegen waren klinischer und histologischer Befund positiv, die Fluoreszenzprüfung negativ. Denn es änderte sich nur die trans-Form von

$T_0 = 74\%$ auf $T = 69\%$, während die cis-Form mit $C = 64\%$ praktisch konstant blieb. In den insgesamt 96 Fällen von Plattenepithelkarzinomen stimmen bis auf die drei genannten Fälle klinischer, histologischer und Fluoreszenzbefund überein. In der zweiten Gruppe der Adenokarzinome (13 Fälle) stimmen die erwähnten Befunde bis auf einen Fall überein. Fall 104 ein *Ca corporis uteri* ergab klinisch und nach der Fluoreszenzmethode ein positives Resultat, histologisch ein negatives. In den 4 Fällen von soliden Karzinomen, ebenso in den 6 Fällen von Karzinometastasen bei bekanntem und unbekanntem Primärtumor stimmen die Befunde nach den drei verschiedenen Methoden überein.

Von großem Interesse war die Prüfung der Sarkome und übrigen malignen Tumoren nach der Fluoreszenzmethode. Untersucht wurden 10 Fälle, davon 1 Fibrosarkom, 1 Lymphosarkom, 2 Spindelzellensarkome, 1 Retothel-sarkom, 4 Melanosarkome und 1 Hypernephrom. In 9 der 10 Fälle ergab die Fluoreszenzprüfung ein positives Resultat, in einem Fall, es handelte sich um ein Melanosarkom (Nr. 128), war die Fluoreszenzprüfung negativ.

Die Fluoreszenzprüfung von nicht maligne degeneriertem Gewebe erfolgte ebenfalls an einem reichhaltigen Material. Es wurden sowohl normale, wie entzündliche, als auch Gewebe von benignen Geschwülsten untersucht. Die Gewebe stammten vorwiegend von der Prosektur des Krankenhauses, entweder von Leichen oder nach Operationen, einige auch von der laryngologischen und der urologischen Abteilung. Wie die Tabelle 2 zeigt, wurden Proben von normaler Magen-, Dünndarm- und Dickdarmschleimhaut, von Leber, Milz, Niere, Nebenniere, Gehirn, Schilddrüse und Hoden mehrmals untersucht. In allen diesen Fällen zeigte die Fluoreszenzprüfung ein negatives Resultat. Die trans-Form des Entaktivators, welche ursprünglich ohne Bestrahlung den Wert $T_0 = 74\%$ aufweist, hat sich während der Bestrahlung bei der Fluoreszenzprüfung praktisch nicht geändert, wie die Werte T der Tabelle zeigen. Auch die cis-Form des Entaktivators, welche ohne Bestrahlung dem Wert $C_0 = 63\%$ entspricht, hat sich, wie aus der Tabelle zu ersehen, praktisch nicht geändert. Eine Ausnahme hiervon bilden die Untersuchungen der Magenschleimhaut, die Werte C zwischen 67 bis 70% liefern. Da aber die zugehörigen Werte T nur von 73 bis 75% variieren, demnach innerhalb der Fehlergrenze des Ausgangswertes $T_0 = 74\%$ liegen, sind die Ergebnisse der Prüfungen als nicht maligne anzusprechen. Denn nur eine gleichzeitige Änderung in den beiden zugehörigen Werten T_0 und C_0 läßt auf Malignität schließen.

Von entzündlichen Geweben wurden Fälle von chronischer Tonsillitis untersucht, ferner die Magenschleimhaut bei *Ulcus ventriculi* und *duodeni*, eine Phlegmone der Magenwand, Pneumonieherde der Lunge und Tuberkulose der Lunge. Die Fluoreszenzprüfungen ergaben ein negatives Resultat mit Ausnahme eines Falles. Es handelt sich um ein *progredientes, peptisches Magengeschwür* (Nr. 39), welches bei der Prüfung einen positiven Fluoreszenzeffekt zeigte.

Von benignen Geschwülsten wurden 5 Myome, 6 Fälle von Prostatahypertrophie, ein *Cervix-Polyp* und ein *Hepatom* untersucht. Die Prüfungen ergaben durchwegs einen negativen Fluoreszenzeffekt. In 5 Fällen (Nr. 51 bis 55) wurden die Proben von Prostatahypertrophie nach einer früheren Methode (Lösung der Gewebe in Kalilauge) untersucht. Damals war auch die Sensibilisierungsmethode mit Brom noch nicht ausgearbeitet, daher ist jede Prüfung nur durch einen Wert (T) festgelegt. Da aber die Werte T vom Ausgangswert $T_0 = 74\%$ praktisch nicht abweichen, kann die Angabe eines Wertes als verlässlich angesehen werden.

Tabelle 2. Prüfung der durch die γ -Strahlen des Radiums erregten ultravioletten Fluoreszenzstrahlung von nicht maligne degeneriertem Gewebe.

T = Wert nach 2tägiger Bestrahlung der trans-Form des Entaktivators;
 C = Wert nach 2tägiger Bestrahlung der cis-Form des Entaktivators und Sensibilisierung durch 5- γ -Brom.
 Ausgangswerte: $T_0 = 74\%$ trans-Form unbestrahlt;
 $C_0 = 63\%$ cis-Form unbestrahlt.

Die Gewebe stammen teilweise von der Prosektur, teilweise von verschiedenen Abteilungen des Krankenhauses.

Nr.	Datum	Alter Jahre	Probe	%		Diagnose		Befund
				C	T	Histologie	Fluoreszenz	
Normale Gewebe.								
1	22. XII. 1943	20	Magenschleimhaut (mittlerer Teil)	75	68	—	—	Prosektur: Querschnittläsion
2	24. I. 1944	—		74	67	—	—	Prosektur: Querschnittläsion
3	27. I. 1944	34		74	68	—	—	Prosektur: Coma diabeticum
4	7. II. 1944	71		74	70	—	—	Prosektur: Myodegeneratis cordis, Emphysem
5	21. II. 1944	69	Pyloruschleimhaut	73	69	—	—	Prosektur: Lungenödem, Anämie
6	22. XII. 1943	20		73	69	—	—	Prosektur: siehe Nr. 1
7	24. I. 1944	—	Dünndarm	75	62	—	—	Prosektur: siehe Nr. 2
8	27. I. 1944	34		75	66	—	—	Prosektur: siehe Nr. 3
9	7. II. 1944	71		75	64	—	—	Prosektur: siehe Nr. 4
10	21. II. 1944	69		73	63	—	—	Prosektur: siehe Nr. 5
11	24. I. 1944	—	Dickdarm	74	62	—	—	Prosektur: siehe Nr. 2
12	27. I. 1944	34		75	63	—	—	Prosektur: siehe Nr. 3
13	7. II. 1944	71	Leber	75	65	—	—	Prosektur: siehe Nr. 4
14	21. II. 1944	69		75	61	—	—	Prosektur: siehe Nr. 5
15	23. IV. 1943	—		74	64	—	—	Prosektur: Pneumonie nach Magenresektion wegen Ulcus ventriculi
16	25. IV. 1944	54		75	62	—	—	
17	24. IV. 1943	—	Milz	75	64	—	—	

Nr.	Datum	Alter Jahre	Probe	%		Diagnose		Befund
				T	C	Histologie	Fluoreszenz	
40	25. XI. 1943	36	Magenschleimhaut bei Ulcus ventriculi et duodeni	75	65	—	—	Prosektur: Randleile eines callösen, peptischen Geschwürs
41	17. III. 1944	54	Phlegmone der Magen- wand	72	67	—	—	Prosektur: siehe Nr. 29
42	13. IV. 1944	78	Pneumonieherde der Lunge	72	64	—	—	Prosektur: siehe Nr. 18
43	25. IV. 1944	54		73	61	—	—	Prosektur: siehe Nr. 16
44	7. III. 1944	45	Tbc. der Lunge	74	64	—	—	Prosektur: Chronische Tbc. mit mili- arer Aussaat
45	11. III. 1944	52	Tbc. der Lunge (aus der Cavernenwand)	75	64	—	—	Prosektur: Cavernöse Pithiase
Benigne Geschwülste.								
46	28. V. 1943	34	Myom	72	65	—	—	Prosektur: Myoma uteri (operativ gewonnen)
47	5. VI. 1943	—		74	62	—	—	
48	16. VI. 1943	43		73	63	—	—	
49	21. VI. 1943	39		74	63	—	—	
50	23. III. 1944	—	Prostatahypertrophie	75	62	—	—	Urologische Abteilung: Prostata- hypertrophie (Probe operativ ge- wonnen)
51	20. IV. 1942	72		73	—	—	—	
52	25. IV. 1942	56		73	—	—	—	
53	16. V. 1942	77		73	—	—	—	
54	18. V. 1942	70		72	—	—	—	
55	19. VI. 1942	72		74	—	—	—	
56	31. III. 1944	77	Cervixpolyp Hepatom	75	60	—	—	Prosektur: Gutartiger Cervixpolyp Prosektur: Hepatom von polymorph- zelligem Bau
57	19. V. 1944	46		72	62	—	—	
58	13. VI. 1944	61		75	61	—	—	

Die mit Nr. 51 bis 55 bezeichneten Proben wurden nicht in Alkohol-Äther extrahiert, sondern in Kalilauge gelöst. Die Sensibilisierungsmethode war damals noch nicht ausgearbeitet, daher fehlen die Werte C.

Von besonderem Interesse war die Prüfung der Fluoreszenzstrahlung bei bestimmten Formen von Erkrankungen, die als Praecancerosen anzusprechen sind. Hierzu gehört vor allem die Craurosis vulvae mit Leukoplakien. Insgesamt gelangten 7 Fälle von Praecancerose zur Untersuchung, und zwar ein Morbus Bowen, 5 Fälle von Craurosis vulvae und 1 Fall von Craurosis ani, jeweils mit Leukoplakien (Tabelle 3). In allen diesen Fällen zeigte die Fluoreszenzprüfung einen positiven Effekt, während klinisch und histologisch der Befund negativ war. In einem Fall von Craurosis vulvae (Nr. 4) wurde auch im histologischen Befund der Zustand als Praecancerose bezeichnet.

Die Ergebnisse der Fluoreszenzprüfungen bei den Praecancerosen sind deshalb von besonderem Interesse, weil bei Erkrankungen, die klinisch und histologisch nicht als Karzinome anzusprechen sind, die aber erfahrungsgemäß zur Bildung von Karzinomen führen, Veränderungen auftreten, die für das Karzinom charakteristisch sind. Es ist anzunehmen, daß der die Fluoreszenzstrahlung aussendende Stoff im Karzinomgewebe, der im nicht krebserkrankten Gewebe entweder nicht vorhanden oder in seiner Fluoreszenzfähigkeit gestört ist, auch im Gewebe gewisser Praecancerosen vorkommt. Es würden demnach im Stoffwechsel derselben Veränderungen lange vor dem klinischen und histologischen Nachweis des Karzinoms festgestellt werden können. Dieses Verhalten der erwähnten Praecancerosen würde auch einen Hinweis für die Beantwortung der wichtigen Frage liefern, ob Stoffwechseländerungen nach dem klinisch und histologisch festgestellten Karzinom auftreten oder demselben vorangehen.

Unter den hier angeführten Fällen von Ca vulvae befindet sich ein Fall (Nr. 80, Tabelle 1), der im Jahre 1936 wegen Craurosis vulvae operiert und am 16. März 1943 wegen Ca vulvae der Behandlung unterzogen wurde.

Als Ergebnisse der Fluoreszenzprüfungen an maligne und nicht maligne degenerierten Geweben läßt sich zusammenfassend folgendes sagen: In 120 untersuchten Karzinomfällen ergab die Fluoreszenzprüfung einmal ein negatives Resultat (Nr. 64, Tabelle 1), während klinischer und histologischer Befund übereinstimmten. In drei weiteren Fällen (Nr. 58, 59, 104, Tabelle 1) war der histologische Befund negativ, klinischer Befund und Fluoreszenzprüfung ergaben übereinstimmend ein positives Resultat. In den erwähnten Fällen bestätigte der weitere Verlauf der Erkrankungen die klinischen Befunde. In der Gruppe der Sarkome und sonstigen malignen Tumoren ergab die Fluoreszenzprüfung in einem Fall, einem Melanosarkom (Nr. 128), ein negatives Resultat.

In den untersuchten 58 Fällen von normalem, entzündlichem Gewebe und benignen Geschwülsten wurde auf Grund der Fluoreszenzprüfung in einem Fall (Nr. 39, Tabelle 2), es handelte sich um ein progredientes,

peptisches Magengeschwür, ein positiver Befund im Gegensatz zur Histologie festgestellt.

In 7 Fällen von Praecancerose zeigte die Fluoreszenzprüfung ein positives Resultat, während klinischer und histologischer Befund keine Anzeichen von Malignität ergaben. Nur in Fall 4 (Tabelle 3) wurde auch histologisch die Erkrankung als Praecancerose bezeichnet.

IV. Diskussion der Fluoreszenzmethode zur Erkennung der Malignität von Tumoren.

Die bisherigen Untersuchungen zeigten, daß die Prüfung der Malignität von Tumoren mit Hilfe der Fluoreszenzmethode in einem hohen Prozentsatz richtige Ergebnisse liefert. Wenn von der Praecancerose als gesonderte Gruppe abgesehen wird, dann ergab die Fluoreszenzprüfung von 130 malignen und 58 nicht malignen Geweben, also insgesamt 188 Fällen, in 3 Fällen ein negatives Resultat. Die Fehlbefunde betragen demnach 1,6% der untersuchten Fälle.

Aus diesen Ergebnissen ist zu ersehen, daß es durch die Verbesserung der Untersuchungsmethode gelungen ist, den in einer früheren Arbeit² gefundenen Prozentsatz von Karzinomen mit negativem Fluoreszenzeffekt von 20% auf 1,6% zu reduzieren. Die Verbesserung bestand erstens in der stärkeren Konzentrierung des die Fluoreszenzstrahlung aussendenden Stoffes durch Extrahieren des Gewebes mit einem Alkohol-Äther-Gemisch, zweitens durch Verwendung der Sensibilisierungsmethode mit Brom. Ferner ist der Prozentsatz der Karzinome mit negativem Fluoreszenzeffekt vermutlich auch deshalb vermindert, da nicht, wie früher häufig, Karzinomproben, die von dem dem Krankenhaus angeschlossenen Alters- und Versorgungsheim stammten, untersucht wurden, sondern Probeexzisionen von Patienten, die zur Behandlung eintreffen und im allgemeinen einer niedrigeren Alterstufe angehören.

Im folgenden sollen die Besonderheiten der Fluoreszenzmethode im Hinblick auf die Diagnose maligner Geschwülste im Vergleich mit den beiden wichtigsten Diagnosemethoden, der histologischen und der klinischen Methode, kurz besprochen werden.

Die älteste ist die klinische Diagnose. Sie liefert bei der ersten Beurteilung nicht immer die sichere Entscheidung, doch kann aus dem klinischen Ablauf der Erkrankung über viele Monate mit fast völliger Sicherheit die Diagnose gestellt werden. Die histologische Diagnose liefert bereits bei der ersten Prüfung sichere Resultate, jedoch sind zur richtigen Beurteilung in den meisten Fällen genauere Angaben des Klinikers über dessen Beobachtungen notwendig. Bei der histologischen Prüfung wird das morphologische Verhalten der Zellen bzw. Zellverbände untersucht und insbesondere aus dem Verhalten derselben an den Grenzen

Tabelle 3. Prüfung der durch γ -Strahlen des Radiums erregten ultravioletten Fluoreszenzstrahlung bei Praecancerosen.

T = Wert nach 2tägiger Bestrahlung der trans-Form des Entaktivators;
 C = Wert nach 2tägiger Bestrahlung der cis-Form des Entaktivators und Sensibilisierung durch 5- γ -Brom.
 Ausgangswerte: $T_0 = 74\%$ trans-Form unbestrahlt;
 $C_0 = 63\%$ cis-Form unbestrahlt.

Die Gewebe stammen von Probeexzisionen der hiesigen Abteilung für Strahlentherapie.

Nr.	Datum	Alter Jahre	Probe	%		Diagnose			Histologischer Befund
				T	C	Kli- nisch	Histo- logie	Fluo- reszenz	
1	1. III. 1943	57	Tumor der Vulva Grauosis ani mit Leukoplakien	66	71	—	—	+	Morbus Bowen
2	3. III. 1944	37		65	71	—	—	+	Nicht maligne degeneriert Entzündliches Infiltrat, un-
3	21. VI. 1943	79	Grauosis vulvae mit Leukoplakien	65	72	—	—	+	spezifisches Geschwür Stark entzündete Haut Praecancerose
4	27. VII. 1943	62		65	74	—	—	+	Entzündliches Gewebe, kein Neoplasma
5	8. I. 1944	65		63	72	—	—	+	Leukoplakie, kein Neoplasma
6	13. I. 1944	66		63	74	—	—	+	
7	15. II. 1944	45		64	75	—	—	+	

zwischen Tumor- und normalem Gewebe Schlüsse auf die Malignität gezogen. Die Art des Einwachsens des Krebsgewebes in das umgebende normale Gewebe, das schrankenlose Wachstum, die überstürzten Zellteilungen, Zelltypen usw. sind hier insbesondere maßgebend.

Im Gegensatz hierzu wird bei der Fluoreszenzmethode aus dem physikalischen Verhalten von Molekülen eines Stoffes, der, wie die Erfahrung zeigt, im Tumorgewebe anwesend ist, im nicht malignen Gewebe hingegen entweder fehlt oder durch irgendeine Veränderung an der Fluoreszenzfähigkeit gestört ist, der Schluß auf Malignität gezogen. Die physikalischen Änderungen an den Molekülen werden nach einer biologischen Methode geprüft. Die Methode ist, wie schon eingangs auseinandergesetzt, schwierig und erfordert viel Übung und Erfahrung.

Zur Fluoreszenzprüfung müssen Gewebsstücke verwendet werden, die minimal 0,25 ccm betragen. Sind dieselben kleiner, dann liefert die Prüfung keine verlässlichen Ergebnisse. Die Verwendung relativ geringer Mengen ist von Wichtigkeit, da ja bei Probeexzisionen häufig nur kleine Gewebsstücke zur Verfügung stehen. Zur histologischen Untersuchung genügen kleinere als die hier angegebenen Gewebssproben. Während die Probeexzisionen für die Histologie am Rand des Tumors entnommen werden, so daß auch noch angrenzendes normales Gewebe mitinbegriffen ist, werden zur Fluoreszenzprüfung die Gewebsstücke möglichst aus der Mitte des Tumors entnommen. Denn die Fluoreszenzfähigkeit ist ja an das Tumorgewebe selbst und nicht an das angrenzende normale Gewebe gebunden. Es soll hier auf die Ergebnisse einer früheren Arbeit² hingewiesen werden, in welcher im speziellen Krebslebermetastasen untersucht wurden. Die Metastasen wiesen Fluoreszenzfähigkeit auf, das umgebende normale Gewebe hingegen nicht.

Wie schon hingewiesen, müssen für die histologische Prüfung zur richtigen Beurteilung häufig genauere Angaben des Klinikers über dessen Beobachtungen beigelegt werden. Bei der Fluoreszenzmethode sind derartige Angaben mit Ausnahme der Praecancerosen nicht notwendig. Die Gewebsstücke nach Probeexzisionen wurden mit Namen, Alter des Patienten und Datum versehen und ohne weitere Hinweise zur Fluoreszenzprüfung übergeben.

Ein weiterer Unterschied zwischen Fluoreszenzmethode und histologischer Methode ist durch die größere Differenziertheit der letzteren gegeben. Nach der histologischen Prüfung können Karzinome, Sarkome und sonstige maligne Tumoren als solche erkannt und deren spezielle Arten unterschieden werden. Nach der Fluoreszenzmethode kann nur die Malignität der Tumoren erkannt, aber keine Angabe über die spezielle Art des Tumors gemacht werden.

Hingegen können nach der Fluoreszenzmethode bei den Praecancerosen Veränderungen festgestellt werden, die für den Zustand der Malignität

charakteristisch sind, während klinisch und histologisch möglicherweise noch keine Anzeichen für Malignität vorliegen. In diesen Fällen wären die Ergebnisse der Fluoreszenzprüfung für den Kliniker von Wert, da er dem weiteren Verlauf der Erkrankung sein besonderes Augenmerk zuwenden würde und durch häufige Kontrollen eventuell auftretende Rezidiven in der richtigen Weise beurteilen und behandeln könnte.

Aus den bisherigen Untersuchungen mit der Fluoreszenzmethode ergibt sich, daß dieselbe bei weiterem Ausbau eine wertvolle Ergänzung der bisherigen Methoden zur Erkennung der Malignität von Tumoren darstellen und insbesondere in jenen Fällen, in welchen eine sichere histologische Entscheidung nicht möglich ist, weitere Aussagen über die Malignität liefern könnte.

V. Über die Natur des die Fluoreszenzstrahlung aussendenden Stoffes im Krebsgewebe.

Die Statistik über eine große Anzahl maligner Tumoren und nicht maligne degenerierter Gewebe zeigte, daß im malignen Tumor ein Stoff existieren muß, welcher bei Bestrahlung mit γ -Strahlen eine ultraviolette Fluoreszenzstrahlung im Wellenlängengebiet unterhalb $300\text{ m}\mu$ aussendet. Da nicht maligne degeneriertes Gewebe, im besonderen auch metastasenfremde Organe Krebskranker, sowie das an das Krebsgewebe angrenzende normale Gewebe keinen Fluoreszenzeffekt aufweisen, konnte angenommen werden, daß dieser Stoff an die Krebszellen selbst gebunden ist. Was die Natur dieses Stoffes anbelangt, so ergeben sich aus Versuchen, die gemeinsam mit *A. v. Christiani* durchgeführt wurden, einige Anhaltspunkte. Da der Alkohol-Äther-Auszug aus dem Gewebe maligner Tumoren den Fluoreszenzeffekt aufweist, das nicht maligne degenerierte Gewebe hingegen nicht, muß angenommen werden, daß der die Fluoreszenzstrahlung aussendende Stoff sich in der Lipoidfraktion befindet. Um zu untersuchen, ob derselbe etwa der Gruppe der Sterine angehört, wurden Sterinfraktionen, die von *A. v. Christiani* durch Fällung von Alkoholauszügen karzinomatösen Gewebes mit Digitonin gereinigt wurden, auf Fluoreszenzstrahlung geprüft. Die Methode der Herstellung der Sterinfraktionen ist von *A. v. Christiani*³ in einer früheren Arbeit genau angegeben (S. 695). Zur Fluoreszenzprüfung wurden die gereinigten Sterine nicht in Äther aufgenommen, sondern, wie bei den sonstigen Versuchen, mit wenigen Tropfen Aceton und mit Wasser emulgiert.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in der Tabelle 4 dargestellt. Es wurden die in der Sterinfraktion enthaltenen, gesamten Sterine in 7 Fällen bei Krebsgewebe, in 5 Fällen bei nicht krebskrankem Gewebe untersucht. In 3 Fällen wurden auch Sterinfraktionen von Krebsgewebe geprüft, welche die zur Zählreaktion verwertbaren Zellen liefern.

In der zweiten Spalte der Tabelle ist das Datum der Gewebsprobe

Tabelle 4. Prüfung der durch die γ -Strahlen des Radiums erregten ultravioletten Fluoreszenzstrahlen der aus dem Krebsgewebe und nicht krebskrankem Gewebe extrahierten und gereinigten Sterinfraktionen.

T = Wert nach 2tägiger Bestrahlung der trans-Form des Entaktivators;
 C = Wert nach 2tägiger Bestrahlung der cis-Form des Entaktivators und Sensibilisierung durch 5- γ -Brom.

Ausgangswerte: $T_0 = 74\%$ trans-Form unbestrahlt;
 $C_0 = 63\%$ cis-Form unbestrahlt.

Nr.	Datum	Probe	Aus der Probe extrahierte und gereinigte Sterine in γ	%	
				T	C
A. Krebsgewebe.					
1	23. XII. 1940	Lebermetastasen von Gallenblasen-Ca	100	65	74
2	2. I. 1941	Lebermetastasen von Darm-Ca	100	62	74
3	7. II. 1941	Lebermetastasen von Ca ventriculi	100	64	74
4	21. III. 1941	Lebermetastasen	100	65	72
5	10. V. 1941	Lebermetastasen von Ca ventriculi	100	62	72
6	24. VIII. 1942	Probeexzision von Ca vulvae	100	65	73
7	6. VI. 1941	Lebermetastasen von Mastdarm-Ca	100 500	65 61	73 72
B. Nicht krebskrankes Gewebe.					
1	24. I. 1941	Normale Leber	100 500	75 75	65 63
2	17. II. 1942	Myom	100 500	75 74	65 63
3	20. V. 1942	Prostatahypertrophie	100 500	75 72	63 64
4	22. VIII. 1944	Normale Leber	100 500	75 75	64 66
5	23. VIII. 1944	Normale Leber	100 500	75 75	64 64
C. Gewebe mit zur Zählreaktion verwertbaren Krebszellen.					
1	24. X. 1941	Lebermetastasen von Magen-Ca	100 500	74 64	69 74
2	29. I. 1944	Lebermetastasen	100 500	75 64	67 73
3	13. VI. 1944	Lebermetastasen	100 500	73 67	68 73

angegeben, in der vierten Spalte die aus der Probe extrahierten und gereinigten Sterine in γ . In den Spalten 5 und 6 sind die Ergebnisse der Fluoreszenzprüfungen angeführt. Die untersuchten Proben von Krebsgewebe bestanden meistens aus Lebermetastasen, in einem Fall handelte es sich um eine Probeexzision bei einem Ca vulvae. Die Menge der untersuchten Sterine betrug meistens 100 γ , in Fall 7 wurde auch eine Prüfung mit 500 γ durchgeführt. Da die trans-Form des Entaktivators vom Wert $T_0 = 74\%$ nach zweitägiger Bestrahlung auf Werte T zwischen 61 und 65% abgesunken ist, die cis-Form von $C_0 = 63\%$ bei Sensibilisierung mit 5 γ Brom auf Werte C zwischen 72 bis 74 zugenommen hat, ergibt sich, daß der die Fluoreszenzstrahlung aussendende Stoff in der Sterinfraktion enthalten ist. Die Prüfung von nicht krebskrankem Gewebe ergab in 5 Fällen — es handelte sich um normales Lebergewebe, ein Myom und in einem Fall um eine Prostatahypertrophie — bei zweitägiger Bestrahlung keinen Fluoreszenzeffekt. Es wurden, wie früher, 100 γ der Sterinfraktion verwendet, die Werte T und C zeigen praktisch keine Abweichung von den Ausgangswerten T_0 und C_0 . Da die Möglichkeit bestand, daß der die Fluoreszenzstrahlung aussendende Stoff auch im nicht krebskranken Gewebe aber in geringerer Konzentration vorkommt, wurden auch Versuche mit 500 γ Sterinfraktion als Fluoreszenzstrahler unternommen. Auch in diesem Fall zeigte sich kein Fluoreszenzeffekt, so daß angenommen werden muß, daß der fluoreszierende Stoff im nicht krebskranken Gewebe entweder nicht oder nur in geringsten Spuren vorkommt. Es wäre auch denkbar, daß dieser Stoff zwar vorhanden, aber durch irgendeine Änderung in der Sterinfraktion des nicht krebskranken Gewebes in der Fluoreszenz gestört ist.

Unter C der Tabelle wurden die Sterinfraktionen von Krebslebermetastasen in 3 Fällen, die von besonderem Interesse sind, auf Fluoreszenzstrahlung geprüft. Es handelt sich um Krebsgewebe, welche Zellen liefern, die zu der hier verwendeten zytologischen Reaktion verwertbar sind. Wie schon früher auseinandergesetzt, sind nicht alle Zellen von Lebermetastasen verwertbar, sondern nur solche, welche den in der Arbeit von *E. Maier* und *A. v. Christiani*³ eingehend beschriebenen Bedingungen genügen. Die „unwertbaren Zellen“ sind dadurch charakterisiert, daß sie entweder von vornherein stark zerfallen, oder, falls sie erhalten sind, unter Zusatz von Entaktivator unter geeigneten Bedingungen einen starken Zellzerfall aufweisen. Bei Radiumbestrahlung und Elektrokoagulation dieser Zellen konnte eine Entaktivatorbildung nachgewiesen werden. Die zur Reaktion „wertbaren“ Zellen hingegen sind gut erhalten und werden durch Zusatz von Entaktivator nicht verändert. Nach Radiumbestrahlung und Elektrokoagulation derselben konnte keine Entaktivatorbildung nachgewiesen werden. Dieselben kommen viel seltener zur Beobachtung als die „unwertbaren Zellen“.

Die Fluoreszenzprüfung der Krebsgewebe mit zur zytologischen Reaktion verwertbaren Zellen ergab die folgenden Resultate: Fall Nr. 1 unter C liefert bei Sterinmengen von 100γ Werte $T = 74\%$, $C = 69\%$, es ist also praktisch keine Fluoreszenzstrahlung nachweisbar. Bei 500γ jedoch zeigen die Werte $T = 64\%$ und $C = 74\%$ merkliche Abweichungen von den Ausgangswerten $T_0 = 74\%$ und $C_0 = 63\%$, es ist ein Fluoreszenzeffekt vorhanden. Praktisch dieselben Ergebnisse zeigten die Fälle 2 und 3. Es ist demnach anzunehmen, daß in den oben geschilderten Typen von Krebszellen ebenfalls der die Fluoreszenz aussendende Stoff, nur in geringerer Konzentration vorhanden ist.

Es war nun weiterhin von Interesse zu untersuchen, ob gewisse physiologische in Frage kommende Sterine diese Fluoreszenzstrahlung aufweisen oder nicht. Zu diesem Zweck wurden in derselben Weise wie früher Cholesterin, Ergosterin, Koprosterin und Cholestanol bezüglich ihrer Fluoreszenzfähigkeit untersucht. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 5 zusammengestellt. Zu Fluoreszenzprüfung wurden die Sterine, wie früher, in einigen Tropfen Aceton aufgenommen und mit Wasser emulgiert. Die Prüfungen wurden jeweils mit Mengen von 100 und 10γ durchgeführt. Die Werte T und C der Tabelle zeigen, daß nach zweitägiger Bestrahlung mit γ -Strahlen weder Cholesterin, Ergosterin noch Cholestanol einen Fluoreszenzeffekt im bestimmten Wellenlängenbereich aufweisen. Koprosterin hingegen zeigt bei einer Menge von 10γ einen deutlichen Fluoreszenzeffekt, der bei 100γ praktisch verschwunden ist. Im letzteren Fall hat die Fluoreszenz des Koprosterins mit zunehmender Konzentration des Stoffes abgenommen. Es ist bekannt, daß mit wachsender Konzentration von Stoffen Störungen in der Fluoreszenzfähigkeit derselben auftreten können.

Als Ergebnisse dieser Untersuchungen läßt sich folgendes sagen: Die durch die γ -Strahlen im Krebsgewebe erregte ultraviolette Fluoreszenzstrahlung im Wellenlängengebiet unterhalb $300 m\mu$ wird von einem Stoff ausgesandt, der in der gereinigten Sterinfraktion des Krebsgewebes vorkommt. In der Sterinfraktion nicht krebserkrankten Gewebes ist dieser Stoff entweder nicht vorhanden oder durch irgendeine Veränderung in der Fluoreszenzfähigkeit gestört. Die zur Zählreaktion verwertbaren Zellen⁵ von Krebsgewebe enthalten in der Sterinfraktion ebenfalls den die Fluoreszenz aussendenden Stoff, nur in geringerer Konzentration. Von gewissen Sterinen, die teilweise im Organismus nachgewiesen wurden, weisen weder Cholesterin, Ergosterin noch Cholestanol bei Mengen von 10 und 100γ einen Fluoreszenzeffekt auf, Koprosterin hingegen zeigt bei 10γ eine Fluoreszenzstrahlung, die bei 100γ praktisch verschwunden ist. Die Fluoreszenzstrahlung des Krebsgewebes wurde durchschnittlich bei Sterinfraktionen von 100γ festgestellt. Da aber der die Fluoreszenz aussendende Stoff im Krebsgewebe nur einen Bruchteil der in der Sterin-

Tabelle 5. Prüfung der durch die γ -Strahlen des Radiums erregten ultravioletten Fluoreszenzstrahlung gewisser Sterine.

T = Wert nach 2tägiger Bestrahlung der trans-Form des Entaktivators;
 C = Wert nach 2tägiger Bestrahlung der cis-Form des Entaktivators und Sensibilisierung durch 5- γ -Brom.

Ausgangswerte: $T_0 = 74\%$ trans-Form unbestrahlt;
 $C_0 = 63\%$ cis-Form unbestrahlt.

Sterine	Menge in γ	%	
		T	C
Cholesterin	10	74	62
	100	73	62
Ergosterin	10	75	62
	100	75	62
Cholestanol	10	73	64
	100	73	63
Koprosterin	10	62	75
	100	71	67

fraktion enthaltenen gesamten Sterine darstellt, so dürften die den Mengen von 10 γ entsprechenden Werte T und C der Fluoreszenzstrahlung bei den Prüfungen von Cholesterin, Ergosterin usw. den tatsächlichen Verhältnissen im Krebsgewebe am nächsten kommen. Bezüglich der Natur des im Krebsgewebe vorhandenen, die ultraviolette Fluoreszenzstrahlung aussendenden Stoffes läßt sich demnach sagen, daß derselbe der Gruppe der Sterine angehören dürfte. Gewisse Sterine, wie Cholesterin, Ergosterin und Cholestanol, sind hiervon auszuschließen. Koprosterin weist einen Fluoreszenzeffekt auf, es könnte sich demnach im Krebsgewebe um Koprosterin oder ein neues Sterin handeln.

Zusammenfassung.

1. In der vorliegenden Arbeit wurde eine Methode ausgearbeitet, welche es gestattet, die Malignität von Tumoren zu erkennen. Diese Methode beruht auf der Eigenschaft von Krebsgewebe bzw. maligne degeneriertem Gewebe, bei Bestrahlung mit γ -Strahlen des Radiums eine ultraviolette Fluoreszenzstrahlung im bestimmten Wellenlängengebiet auszusenden und auf dem Fehlen dieser Fluoreszenzstrahlung im nicht maligne degenerierten Gewebe. Der Wellenlängenbereich dieser Strahlung liegt zwischen 260 und 300 $m\mu$, möglicherweise sind auch Komponenten unterhalb 260 $m\mu$ vorhanden.

2. Die Prüfung der Fluoreszenzstrahlung erfolgte auf Grund der chemischen Änderungen eines von *A. v. Christiani* entdeckten, in kristallisierte Form dargestellten neuen Stoffes, den Entaktivator, der in zwei durch die cis-trans-Isomerie bedingten Modifikationen bestehen kann.

Die Wirkung der ultravioletten Fluoreszenzstrahlung besteht in der wechselseitigen Umwandlung der beiden isomeren Formen ineinander. Die chemischen Änderungen wurden mittels einer biologischen Methode untersucht.

3. Die Untersuchung der ultravioletten Fluoreszenzstrahlung von malignen Tumoren erfolgte an einem sehr reichhaltigen Material. Es wurden prinzipiell nur Gewebe geprüft, welche von der hiesigen pathologischen Abteilung histologisch untersucht wurden. Die Prüfung von 120 Karzinomen und 10 Sarkomen bzw. anderen malignen Tumoren zeigte bis auf zwei Fälle jeweils den ultravioletten Fluoreszenzeffekt. Bei Untersuchung von 58 nicht maligne degenerierten Geweben trat mit einer Ausnahme kein Fluoreszenzeffekt auf. Die Fluoreszenzprüfung von insgesamt 188 Fällen lieferte demnach in drei Fällen negative Resultate. Die Fehlbefunde betragen daher 1,6% der untersuchten Fälle.

4. Die Prüfung der Fluoreszenzstrahlung bei gewissen Praecancerosen, wie z. B. der Craurosis vulvae, ergab in 7 Fällen jeweils einen positiven Fluoreszenzeffekt. Dieses Ergebnis ist von großem Interesse, weil bei Erkrankungen, die erfahrungsgemäß zur Bildung von Karzinomen führen, lange vor dem klinischen und histologischen Nachweis desselben, im Stoffwechsel Veränderungen auftreten, die für das Karzinom charakteristisch sind. Dieses Verhalten der erwähnten Praecancerosen würde auch einen Hinweis für die Beantwortung der wichtigen Frage liefern, ob Stoffwechselveränderungen nach dem klinisch und histologisch festgestellten Karzinom auftreten oder demselben vorangehen.

5. Die Fluoreszenzmethode wird im Hinblick auf die Erkennung maligner Tumoren im Vergleich mit den beiden wichtigsten Diagnosemethoden, der histologischen und der klinischen Methode diskutiert. Während bei der histologischen Prüfung das morphologische Verhalten von Zellen und Zellverbänden Gegenstand der Untersuchungen ist, wird bei der Fluoreszenzmethode aus dem physikalischen Verhalten von Molekülen eines Stoffes, der, wie die Erfahrung zeigt, im Gewebe maligner Tumoren anwesend ist, im nicht maligne degenerierten Gewebe hingegen fehlt oder durch irgendeine Veränderung in der Fluoreszenzfähigkeit gestört ist, der Schluß auf Malignität gezogen.

6. Untersuchungen über die Natur des die Fluoreszenzstrahlung aussendenden Stoffes im Krebsgewebe zeigten, daß derselbe der Gruppe der Sterine angehören dürfte. Da physiologisch in Frage kommende Sterine, wie Cholesterin, Ergosterin, Cholestanol keine Fluoreszenzstrahlung im bestimmten Wellenlängengebiet aussenden, Koprosterin hingegen den Fluoreszenzeffekt aufweist, dürfte der die Fluoreszenz aussendende Stoff im Krebsgewebe möglicherweise Koprosterin oder ein neues Sterin sein.