Diese Gefahr läßt sich an der Farbe des venösen Coronarblutes erkennen, das nach dem Sympathicusreiz sehr dunkel und sauerstoffarm abfließt.

Tabelle 3. Sympathicusreizung (Cangl. stell.)

	O_2-Verbrauch Änderung %	Gesamtvol. Änderung %
A. Am innervierten Herzlungenpräparat.		
Mittel (aus Tabelle 2)	+107	+125
B. Am ganzen Tier.		
1. Hund, 12 kg, Herzgewicht 110 g	+60	+74
2. Hund, 9,7 kg, Herzgewicht 92 g	+75	+60
3. Hund, 9 kg, Herzgewicht 76 g	+90	+109
Mittel	+75	+79

Dasselbe gilt für die sehr viel länger bekannte Wirkung des Sympathicusstoffes *Adrenalin*. Auch das Adrenalin verschlechtert am innervierten Herz-Lungen-Präparat das Verhältnis von Kranzgefäßdurchblutung und Sauerstoffverbrauch. Erheblichen Steigerungen der Verbrennungen im Herzmuskel (bis +220 %[28]) steht eine ungenügende Zunahme der Kranzgefäßdurchblutung gegenüber[16, 28]. Die durchschnittlichen Veränderungen von Gaswechsel und Blutangebot am innervierten Herzen gehen aus Tabelle 4 hervor. Auch hier zwingt

Tabelle 4. Adrenalininjektion

	O_2-Verbrauch Änderung %	Gesamtvol. Änderung %
A. Am innervierten Herzlungenpräparat.		
1. Hund, 9,5 kg, Herzgewicht 98 g, 10 γ Adrenalin	+81	+11
2. Hund, 8,2 kg, Herzgewicht 85 g, 10 γ Adrenalin	+71	+15
3. Hund, 13 kg, Herzgewicht 100 g, 10 γ Adrenalin	+70	+48
4. Hund, 12,1 kg, Herzgewicht 120 g, 10 γ Adrenalin	+105	+35
5. Hund, 10,3 kg, Herzgewicht 90 g, 10 γ Adrenalin	+120	+30
Mittel	+90	+28
B. Am ganzen Tier.		
1. Hund, 13 kg, Herzgewicht 118 g, 30 γ Adrenalin	+73	+110
2. Hund, 12,5 kg, Herzgewicht 115 g, a) 100 γ Adrenalin	a) +130	+186
	b) +120	+117
3. Hund, 11,2 kg, Herzgewicht 102 g, 50 γ Adrenalin	+95	+80
4. Hund, 14,4 kg, Herzgewicht 130 g, 30 γ Adrenalin	+91	+135
Mittel	+101	+125

die zu geringe sympathicotrope Kranzgefäßerweiterung zu einer starken capillaren Sauerstoffutilisation. Die venöse Sauerstoffsättigung sinkt, wie nach Sympathicusreizung, auf so tiefe Werte, daß das isolierte innervierte Herz in die Gefahr eines Sauerstoffmangels gerät. Da der Sinn dieser Antreibung der Verbrennungen durch das physiologische Hormon am isolierten Herzen völlig unverständlich blieb, haben einige Forscher Adrenalindosen, die am Herzen Gaswechselsteigerungen auslösen, als unphysiologisch angesehen. Physiologisch sollen nur Dosen sein, die den Gaswechsel überhaupt nicht steigern oder sogar senken (REIN[43]). *Das Adrenalin hat eine solche Ehrenrettung nicht nötig, wie aus der einfachen Tatsache hervorgeht, daß die elektrische Reizung und reflektorische Erregung des Sympathicus genau dieselben Wirkungen auslöst.* Das Mißverhältnis von Durchblutung und Stoffwechsel kommt in beiden Fällen nur dann zustande, wenn die sympathische bzw. sympathicotrope Umstellung des innervierten Herzens ohne die gleichartige Umstellung der Kreislaufperipherie verläuft.

Wenn wir die Leistungen der Vasomotorik des Kranzgefäße überblicken, so kommen wir zu folgenden *Feststellungen:*

Die Kranzgefäßdurchblutung und der oxydative Stoffwechsel des Herzens nehmen bei Vaguserregung gemeinsam ab, bei Sympathicuserregung gemeinsam zu: die Gleichheit besteht sich am isolierten innervierten Herzen aber nur auf die Richtung, nicht auf die Größe der Ausschläge.

Die Kranzgefäßdurchblutung kann durch nervöse Konstriktion allein und nervöse Dilatation allein nicht genügend variiert werden. Die nervös zu vermittelnden Ausschläge der Kranzgefäßdurchblutung sind auf den engen Bereich von −41 % und +75 % der mittleren Ausgangslage begrenzt (Abb. 1). Diese Werte sind gewonnen für Änderungen des

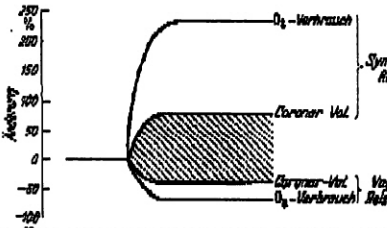

Abb. 1. Hund. Innerviertes Herzlungenpräparat (konstanter Aortendruck). Elektrische Sympathicus- und Vagusreizung beeinflussen Herzgaswechsel und Kranzgefäßdurchblutung jeweils in gleichem Richtung. Die nervöse Steuerung der Kranzgefäßdurchblutung reicht allein bei weitem nicht aus, um die Kranzgefäßdurchbildung an den veränderten Gaswechsel anzupassen. Der schraffierte Bezirk gibt die Grenzen der Vasomotorenwirkung auf die Kranzgefäßdurchblutung an.

Herzgaswechsels, die bis +220 % und bis −73 % des mittleren Ausgangswertes betragen. Wenn auch solche Gaswechselschwankungen keine Grenzwerte darstellen, so umfassen sie doch einen Bereich, der unter physiologischen Umständen am innervierten Herzen wohl nur unbeträchtlich überschritten wird. Wir dürfen daher den angegebenen Bereich der vasomotorischen Reaktion (schraffierter Bezirk in Abb. 1), den wir beim Hund ermittelt haben, als annähernd richtige Begrenzung der physiologischen Breite der vasomotorischen Reaktion der Kranzgefäße ansehen.

Die maximalerweise Reaktion der Kranzgefäße ist, von der physiologischen Mittellage der Durchblutung ausgehend, *bei der Erweiterungsreaktion weniger begrenzt als bei der Verengerungsreaktion.*

Die vasomotorische Erweiterung der Kranzgefäße vermag bei Steigerung des oxydativen Herzstoffwechsels dem Herzmuskel nur rund ein Fünftel bis ein Halb jener Mehrdurchblutung zuzuführen, die nötig wäre, um den erhöhten Sauerstoffverbrauch ohne höhere capillare Sauerstoffutilisation zu decken.

Die vasomotorische Verengerung der Kranzgefäße vermag bei Abnahme des oxydativen Herzstoffwechsels die Durchblutung nur halb soweit oder wenig mehr zu senken wie es nötig wäre, um den verminderten Sauerstoffverbrauch mit konstanter capillarer Sauerstoffutilisation zu decken. (Schluß folgt.)

ÜBER DIE BILDUNG VON FORMALDEHYD BEIM ABBAU DES METHYLALKOHOLS.

Von

E. KEYSER und E. VINCKE.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Hansischen Universität Hamburg (Direktor: Prof. Dr. K. KREKELER).

Das Problem der Giftigkeit des Methylalkohols ist in gewerbehygienischer Hinsicht von großer Bedeutung wegen der vielfältigen Verwendung dieses Alkohols in der chemischen Industrie. So zahlreich die Literatur über diesen Gegenstand ist, so sehr weichen die Ansichten über die Ursache seiner toxischen Wirkung voneinander ab.

Einige Autoren[1-4] glauben, die Toxizität des Methylalkohols allein aus den in ihm bei nicht weitgehender Reinigung enthaltenen Beimengungen (Allylalkohol, Acetessigester, Aceton, Methylamin, Methylsulfid usw.) erklären zu können. Wenn auch dieser Gesichtspunkt bei der Beurteilung

von Vergiftungsfällen nicht vernachlässigt werden darf, unterliegt es doch keinem Zweifel, daß der Methylalkohol selbst auch in reinster Form — also z. B. synthetisch hergestellt — ebenfalls eine ausgesprochen toxische Wirkung besitzt[9, 10].

Von manchen Forschern wird dabei seine Giftigkeit aus seinem langen Verweilen im Organismus[9] und aus seiner schweren Verbrennbarkeit[8] erklärt.

Die Vermutung, daß bei der Vergiftung durch Methylalkohol das Stoffwechselendprodukt Ameisensäure die toxischen Erscheinungen verursacht, wurde u. a. von LEO (l. c.) ausgesprochen; LOEWY und MÜNZER[11], SAMMARTINO[12] und SIMON (l. c.) lehnen diese Theorie ab. Nach BRÜCKNER[13] sowie KLURY und WIRTH[14] ist der Formaldehyd, der als intermediäres Stoffwechselprodukt bei der Verbrennung des Methylalkohols entsteht, für die Giftigkeit verantwortlich zu machen. Nach diesen Autoren werden die schweren, bei der Vergiftung durch Methylalkohol (und gewisse Methylverbindungen) beobachteten nervösen Erscheinungen, die Sehstörungen, das Koma, durch die Annahme besonders intensiver Schädigungen einzelner Organe infolge der intermediären Bildung von Formaldehyd verständlich. Der Entstehung von Ameisensäure im Organismus soll nur eine untergeordnete Bedeutung zukommen.

Auf die Berechtigung dieser Ansicht deutet die weitgehende Übereinstimmung der durch Methylalkohol oder Formaldehyd bewirkten pathologisch-anatomischen Veränderungen hin. (Vgl. hierzu [15].)

KEESER[16] gelang es nachzuweisen, daß Methylalkohol im Glaskörper frischgeschlachteter Kälber zu Formaldehyd oxydiert wird. Er fand außerdem dieses intermediäre Stoffwechselprodukt im Liquor, im Glaskörper und in der Bauchhöhlenflüssigkeit von Kaninchen, die mit Methylalkohol vergiftet waren. Allerdings konnte Formaldehyd nicht in allen Fällen nachgewiesen werden; die Ursache hierfür ist wohl darin zu suchen, daß der Nachweis wahrscheinlich nur in bestimmten Stadien der Vergiftung möglich ist.

Im folgenden sollen nun Untersuchungen geschildert werden, die ebenfalls zum Ziel hatten, die Bildung von Formaldehyd beim Abbau des Methylalkohols an biologischen Modellversuchen nachzuweisen[17].

Von STERN und BATTELLI[18] wurde seinerzeit mitgeteilt, daß es gelingt, Äthylalkohol durch eine in Säugetierleber vorkommende Alkoholoxydase zu Acetaldehyd und weiter zu Essigsäure abzubauen. Nach diesen Autoren besitzt unter den tierischen Geweben die Pferdeleber den höchsten Gehalt an Alkoholoxydase.

Es lag nun der Gedanke nahe zu untersuchen, ob der Methylalkohol ebenfalls durch Leberbrei — zu Formaldehyd und weiter zu Ameisensäure — abgebaut wird.

In den ersten Versuchen gingen wir in analoger Weise vor wie STERN und BATTELLI (l. c.) bei ihren Untersuchungen über den Abbau von Äthylalkohol:

In einen Erlenmeyer-Kolben von 300 ccm Inhalt wurden 40 g eines Leberbreies gebracht, der durch Zermahlen von schlachtfrischer Pferdeleber in einer Fleischmühle hergestellt worden war. Nach Zusatz von 120 ccm destillierten Wassers und Umschütteln gab man soviel Ammoniak hinzu, daß die Gesamtkonzentration im Gemisch 1:1500 betrug und fügte zu diesem Gemisch 0,25 ccm Methylalkohol. Nach einstündigem Verweilen des Ansatzes im Brutschrank bei 37° wurde geprüft, ob sich Formaldehyd gebildet hatte. Zu diesem Zweck gab man in den Kolben 10 ccm 25proz. Phosphorsäure und destillierte nach Eintritten von Wasserdampf 50 ccm im Wasserdampfstrom ab[19]. Zum Nachweis des Formaldehyds im Destillat verwandten wir wie in allen folgenden Versuchen die Rotfärbung, welche diese Verbindung mit alkalischer Phloroglucinlösung (1% Phloroglucin in 10proz. Natronlauge; Zusatz von 1 ccm Reagens zu 50 ccm Destillat) gibt. Es war jedoch kein Formaldehyd nachweisbar.

Danach schien es also, als ob die von STERN und BATTELLI für den Abbau des Äthylalkohols benutzte Methode nicht ohne weiteres für den Abbau des Methylalkohols verwendet werden konnte. Es konnte dies in verschiedenen Ursachen begründet liegen: Es erschien denkbar, daß durch den von STERN und BATTELLI vorgenommenen Ammoniakzusatz der optimale p_H-Wert, der nach ihnen für die Alkoholdehydrase der Pferdeleber 8,2 bei 38—40° sein soll, nicht erreicht wurde. Wir setzten daher in verschiedenen Versuchen statt des Ammoniaks Phosphatpufferlösung hinzu. Die Pufferlösung hatte folgende Zusammensetzung: 90 ccm einer $^m/_{15}$-Lösung von sekundärem Natriumphosphat (11,876 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ pro l) und 10 ccm einer $^m/_{10}$-Lösung von primärem Kaliumphosphat (9,078 g KH_2PO_4 pro l). Die potentiometrische Messung des p_H-Wertes dieses Puffers mit der Chinhydronelektrode ergab einen Wert von 7,66 bei 18°.

Die in Tabelle 1 wiedergegebenen Versuche zeigen jedoch, daß man bei Variierung sowohl der Menge des zugesetzten Phosphatpuffers als auch der Bebrütungszeit keinen Formaldehyd nachweisen konnte[a].

Tabelle 1.

Nr	Leber g	Wasser ccm	Phosphatpuffer ccm	Methylalkohol ccm	Bebrütungsdauer in Stunden	Formaldehyd
1	40	120	—	0,25	1	0
2	40	90	30	0,25	1	0
3	40	80	40	0,25	2	0
4	40	80	40	0,25	4	0
5	40	60	60	0,25	1	0
6	40	60	60	0,25	18	0
7	40	60	60	0,25	24	0

Es war nun zu bedenken, daß außer der vorstehend erörterten Möglichkeit auch noch diejenige bestand, daß der gebildete Formaldehyd sofort an das Eiweiß des in großer Menge vorhandenen Lebergewebes gebunden wurde und so dem Nachweis entging. In den in Tabelle 1 wiedergegebenen Versuchen verwandten wir je 40 g Leber pro Ansatz; in den folgenden Versuchen wurde die Lebermenge auf 5 bzw. 2 g pro Ansatz reduziert. Unsere Befunde sind in Tabelle 2 wiedergegeben.

Tabelle 2.

Nr	Leber g	Wasser ccm	Phosphatpuffer ccm	Methylalkohol ccm	Bebrütungsdauer in Stunden	Formaldehyd
1	2	90	90	0,5	1	+
2	2	60	60	0,5	22	+
3	5	60	60	0,5	1	+
4	5	60	60	0,5	2	+
5	5	60	60	0,5	3	+
6	5	60	60	0,5	4	+
7	5	60	60	0,5	20	+
8	5	60	60	1,0	2	+
9	5	60	60	2,0	2	+
10	5	60	60	3,0	2	+
11	5	60	60	4,0	2	(+)
12	5	60	60	5,0	2	0

Wie sich aus Tabelle 2 ergibt, gelang es (Versuch 1—7), bei Zusatz von 0,5 ccm Methylalkohol bei den verschiedensten Bebrütungszeiten stets Formaldehyd nachzuweisen. Ein wesentlicher Unterschied in der Stärke der Färbung war nicht festzustellen. Bei den Ansätzen mit einem Zusatz von 2 g Leberbrei fiel die Reaktion gleich stark aus wie bei denjenigen mit einem Zusatz von 5 g Leberbrei[a].

Wir prüften nun weiter die Frage, ob durch *Vermehrung des Methylalkohols* eine Zunahme des gebildeten Formaldehyds erzielt werden konnte (Tabelle 2, Versuch 8—12). Es zeigte sich jedoch, daß bei 2stündiger Bebrütungszeit bei einem Zusatz von 4 ccm Methylalkohol (Versuch 11) Formaldehyd

[a] Da Methylalkohol häufig durch Formaldehyd verunreinigt ist, prüften wir, ob der von uns verwendete Methylalkohol (D A R VI; Merck) Formaldehyd enthielt: 50 ccm eines Gemisches von 100 ccm destillierten Wassers mit 0,5 ccm dieses Methylalkohols ergaben auf Zusatz von 1 ccm 1proz. Phloroglucinlösung keine Färbung. In einem zweiten Versuch wurde ein Gemisch von 10 ccm destillierten Wassers, 10 ccm des oben genannten Phosphatpuffers und 0,5 ccm Methylalkohol nach einstündiger Bebrütung bei 37° mit 10 ccm einer 25proz. Phosphorsäure versetzt und in der geschilderten Weise einer Wasserdampfdestillation unterworfen. 50 ccm des Destillats färbten nach Zusatz von 1 ccm der 1proz. Phloroglucinlösung völlig farblos.

[a] Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit den von STERN und BATTELLI bei der Oxydation des Äthylalkohols erhobenen Befunden; diese Autoren konnten Acetaldehyd auch nur in geringen Mengen nachweisen. Die Ursache hierfür kann nach ihnen u. a. darin liegen, daß der entstandene Aldehyd weiter zu Essigsäure oxydiert oder auch zu synthetischen Prozessen verbraucht wird.

nur noch in Spuren nachgewiesen werden konnte und daß beim Zusatz von 5 ccm Methylalkohol (Versuch 12) die Prüfung auf Formaldehyd negativ ausfiel. Offenbar entfaltet also die Alkoholdehydrase der Leber, welche den Abbau des Methylalkohols bewirkt, ihre optimale Wirksamkeit nur in schwach alkoholischen Lösungen. Wie sich aus Versuch 12 der Tabelle 2 ergibt, tritt in einer 4proz. methylalkoholischen Lösung bereits eine völlige Hemmung ihrer Wirkung ein.

Zusammenfassung: 1. Die Möglichkeiten der toxischen Wirkung des Methylalkohols wurden erörtert.

2. Es konnte nachgewiesen werden, daß Methylalkohol unter geeigneten Versuchsbedingungen durch Leberbrei zu Formaldehyd oxydiert wird.

Literatur: [1] EULER, Chem. Zbl. 1921 II. 453. — [2] THUNLER, Z. angew. Chem. 36, 148 (1923). — [3] H. V. ATKINSON, J. of Pharmacol. 25, 144 (1925). — [4] PEKUS, Chem. Zbl. 1926, 603 (1923). — [5] G. REIP, Dtsch. med. Wschr. 1925, 183. Z. Unters. Lebensm. 52, 280 (1926). — [6] H. LEO, Dtsch. med. Wschr. 51, 1062 (1924). — [7] E. DIENSTAG u. O. WINDHAUSEN, Z. Unters. Lebensm. 58, 127 (1926). — [8] C. EGG, Schweiz. med. Wschr. 57, 5 (1927). — [9] I. SIMON, Boll. Soc. ital. Biol. sper. 8, 1326 (1933). — [10] F. ADLER, W. HOSCHKE u. T. GORDONOFF, Arch. internat. Pharmacodynamie 59, 416 (1938). — [11] A. LOEWY u. E. MÜNZER, Biochem. Z. 134, 442 (1923). — [12] U. SAMBARINO, Arch. Farmacol. sper. 56, 321, 360, 351, 364 (1933). — [13] H. HALBKNER, Zbl. Gewerbehyg. 2, 17 (1924). — [14] F. FLURY u. W. WIRTH, Arch. Gewerbepath. 7, 221 (1936). — [15] F. PETRI, in HENKE-LUBARSCH, Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie 2a, 229, 293. Berlin: Julius Springer 1930. — [16] E. KRESKE, Dtsch. med. Wschr. 57, 398 (1931). — Arch. exper. Path. 169, 687 (1933). — [17] Vgl. hierzu auch H. HELLWIG, Dissertation. Hamburg 1940. — [18] L. STERN u. F. BATTELLI, in C. OPPENHEIMER, Die Fermente und ihre Wirkungen 3, 1345. Leipzig: Georg Thieme 1929. — [19] W. AUTENRIETH, Die Auffindung der Gifte 5. Aufl., S. 308. Dresden: Th. Steinkopff 1923.

ÜBERLEBEN VON BÖSARTIGEN UND NORMALEN GEWEBEN NACH EINFRIERUNG BIS ZU —253°C*.

Von

J. KLINKE.

Aus dem Biologischen Laboratorium der I.G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft Ludwigshafen a. Rh., Werk Oppau.

Über die Transplantierbarkeit von bösartigen Gewächsen, welche vorher extrem tiefen Temperaturen ausgesetzt wurden waren[1], wurden in unserem Laboratorium eingehende Untersuchungen durchgeführt. Es war dabei versucht worden, über die Ätiologie der malignen Gewächse durch das Gefrierexperiment in der von W. CRAMER[2] mitgeteilten Richtung weitere Anhaltspunkte zu gewinnen, d. h. also zu prüfen, inwieweit es sich bei der Entstehung von Säugertransplantatgeschwülsten nach der Impfung mit vorher eingefrorenem Geschwulstmaterial möglicherweise um eine Tumorentstehung ohne Mitwirkung lebender Blastomzellen handeln könne, wie sie am Rous-Sarkom des Huhns bekannt ist. Es liegen nun zwar in großem Umfang auch von unserer Seite[3] Untersuchungen vor, aus denen hervorgeht, daß sich im Punkte der zellfreien Verimpfung Säugertumor und Rous-Tumor grundsätzlich unterscheiden. Doch schien gerade zur Klärung dieses Unterschiedes zwischen dem durch ein *extrahierbares Agens* erzeugbaren Rous-Sarkomen einerseits, und den zwar *nicht extrahierbaren, möglicherweise aber durch vollgebundene Agensformen* übertragbaren Säugertiertumoren andererseits, das Kälteexperiment, welches nur geringe chemische Veränderungen an den später verimpften Tumorzellen verursacht, besonders geeignet. Voraussetzung für die Schlüssigkeit solcher Versuche war nur, daß die Geschwulstzellen, welche der Kälte unterworfen wurden, auch wirklich abgetötet wurden. Für diesen Fall würde dann die Geschwulstentstehung nach der Verimpfung eines vorher eingefrorenen Materials in der Tat eine gewisse Parallele zur Rous-Sarkomerzeugung durch die Injektion eines zellfreien Extraktes darstellen, denn in beiden Fällen ginge die Geschwulstbildung *ohne lebende Tumorzellen* vor sich. Es ist nun verständlich, daß für die Beantwortung der Frage des Überlebens von extrem tief abgekühlten Tumorzellen denjenigen Untersuchungen eine besondere Bedeutung zuerkannt werden darf, in welchen mittels des direkten Verfahrens der *Zellkultur* die Prüfung auf etwa noch vorhandene lebende Zellen vorgenommen wurde, wie dies in diesem Zusammenhang erstmals KOCH-LEMMEL[4] und W. CRAMER[5] taten. Man kann das Ergebnis dieser Prüfungen zusammenfassen in der Feststellung, daß Tumorgewebe, welche nach entsprechender Einfrierung am Tier noch Geschwulstbildung bewirkten, in vitro keinerlei Lebensäußerungen mehr zeigten.

Unsere Versuche der Verimpfung kältevorbehandelter Geschwulstgewebe waren mit flüssigem Stickstoff (—196°) und neuerdings auch mit flüssigem Wasserstoff (—253°) durchgeführt worden. Es ließ sich dabei zeigen, daß nicht nur die sog. Transplantattumoren, sondern auch Spontancarcinome der Maus, sowie Benzpyrensarkome von Maus und Ratte, nach direkter Einfrierung in flüssigem Stickstoff und, soweit geprüft, auch nach einer solchen in flüssigem Wasserstoff ihre Verimpfbarkeit noch grundsätzlich bewahren. Aber es bestanden charakteristische Unterschiede in der Fähigkeit der Geschwulstgewebe, extrem tiefe Temperaturen ohne Abtötung auszuhalten. Diejenigen Gewächse, für welche wir eine besonders große Kälteresistenz festgestellt haben, sind die *Sarkome von Maus und Ratte*, d. h. also die bösartigen mesenchymalen Gewächse. Hier besteht Übereinstimmung mit den Erfahrungen, welche W. CRAMER bei der Prüfung dieser Frage sammelte. Auch andere Mäusesarkome, wie z. B. das Chondrosarkom oder das Melanosarkom, zeigten in unseren Impfversuchen eine erhebliche Kälteresistenz, wenn man nur das frische Ausgangsmaterial bereits mit gutem Erfolg und entsprechender Wachstumsgeschwindigkeit auf das Tier hatte verimpfen können; mit anderen Worten, die Widerstandsfähigkeit der geprüften Tumoren gegenüber der Einfrierung war um so größer, *je virulenter* das benutzte Geschwulstmaterial war, d. h. je kleinere Mengen zur Erzeugung eines schnell wachsenden neuen Tumors ausreichten. Als Gefriermethode wurde von uns stets das *direkte* Verfahren benutzt, d. h. es wurden die entsprechenden Gewebe direkt in das flüssige Gas eingebracht und dort einige Zeit, teilweise Tage und Wochen, konserviert. Diese Methode einer schnellen Gefrierung hat bei einigen Autoren auch in jüngster Zeit (HREEDIS and FURTH[6]) versagt, es wurde daher von diesen Autoren eine langsame Gefrierung der Gewebe, weil sie weniger schädigend ist, bevorzugt. Es konnte jedoch in unseren in vitro- und in vivo-Versuchen häufig festgestellt werden, daß das Verfahren der schnellen Einfrierung, welches zu einer „Verglasung" der Zellen führen dürfte, wie sie später von GOTZ[7] bei tiefer Gefrierung von Hefezellen beobachtet wurde, ebenfalls günstige Resultate ergab. In der Tat verläuft der Prozeß der Einfrierung bei direkter Einbringung in das Gefriermittel, wie die erste Abbildung zeigt, auch bei Benutzung von großen soliden Gewebsstücken mit erheblicher Geschwindigkeit. Die Abb. 1 zeigt Thermoelementmessungen, die bei der Einfrierung und Auftauung solider Gewebswürfel verschiedener Größe erhalten wurden. Es geht daraus hervor, daß z. B. Gewebswürfel von etwa 3 × 3 × 3 cm Kantenlänge bereits nach etwa 120 Sekunden (x absteigende Kurve (·——·) der Abbildung) auf die Temperatur des Gefriermittels abgekühlt waren. Da wir nun für alle entsprechenden Versuche mindestens 180 Sekunden lang eingefroren hatten, folgt daraus, daß in allen unseren Untersuchungen mit einem Material, welches sicher auf die Temperatur des flüssigen Gases abgekühlt war, gearbeitet wurde. Die *Geschwindigkeit*, mit der die Auftauung erfolgte und über welche die Abbildung ebenfalls Aufschluß gibt, zeigte nun teilweise einen ganz bemerkenswerten Einfluß auf den Effekt der Kältewendung. Dies war besonders deutlich an Suspensionen des bekannten Brown-Pearceschen Kaninchencarcinoms, welche gleich schnell eingefroren, aber auf verschiedene Weise aufgetaut worden waren, ersichtlich. Während nämlich das bei Zimmertemperatur langsam aufgetaute und nachträglich verimpfte Material

* Ein kurzer Auszug wurde bereits in dem Kongreß-Programm des 5. internationalen Krebskongresses in Atlantic city (September 1939) veröffentlicht.