

Weitere Untersuchungen über den Benzpyrenkrebs

Autor(en): **Miescher, G. / Zehender, F. / Almasy, F.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie Suisse des Sciences Medicales = Bollettino dell' Accademia Svizzera delle Scienze Mediche**

Band (Jahr): **2 (1946-1947)**

Heft 3

PDF erstellt am: **16.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-306833>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Wissenschaftliche Sitzung vom 18. Mai 1946
in St. Gallen (Fortsetzung)

D. K. 616.5.006. 46.

Aus der dermatologischen Universitätsklinik Zürich. Direktor: Prof. Dr. G. Miescher

Weitere Untersuchungen über den Benzpyrenkrebs¹⁾

Von G. Miescher, F. Zehender, A. Schönberg und F. Almasy

§ 1. Einleitung

In früheren Arbeiten haben wir uns mit der Frage nach dem Zusammenhang zwischen der karzinogenen Wirkung und dem Benzpyrengehalt des Gasteeres beschäftigt. Als erstes ist hierbei eine spektrophotometrische Nachweismethode ausgearbeitet worden (I. und II. Mitteilung [1]), welche den Gehalt des Teeres an 1,2-Benzpyren mit einer Genauigkeit von etwa 15% zu erfassen gestattet. In der nachfolgenden Arbeit (III. Mitteilung [2]) wurde in 11 aus verschiedenen Gasanstalten stammenden Teeren ein Benzpyrengehalt von 0,1 bis 4,7 Promille festgestellt und mit der im Mäusepinselungsversuch ermittelten karzinogenen Wirkung der Teere verglichen. Um eine Vergleichsbasis zu gewinnen, haben wir die Auswertung der Pinselungsversuche auf Grund einfacher statistischer Überlegungen vervollkommen (vgl. § 2, d). Die Versuchsergebnisse können danach in einem Diagramm dargestellt werden, dessen Abszissenachse die Zeit t , und dessen Ordinatenachse den Prozentsatz $W\%$ der bis zum fraglichen Tag aufgetretenen Karzinomfälle unter Berücksichtigung der Absterbensrate der karzinomfreien Mäuse angibt.

Die detoxifizierten Gasteere – der prozentuale Benzpyrengehalt nahm bei der Entgiftung proportional zum Gewichtsverlust der Teerproben zu – sind in 3- bis 4-tägigen Intervallen innert 10 Wochen im ganzen 20mal gepinselt worden, nach welcher Zeit die ersten Karzinome in Erscheinung traten. Im Laufe der nachfolgenden 30 Wochen wuchs der Prozentsatz der Plusfälle in der Regel entsprechend einer S-förmigen Kurve. Der mittlere, annähernd geradlinige Kurventeil zeigte bis auf 2 Ausnahmen einen um so steileren Verlauf, je größer der Benzpyrengehalt des gepinselten Teeres war. Da sich die Richtungstangente dieses Kurventeils dem Benzpyrengehalt des Teeres ungefähr proportional

¹⁾ Mit Unterstützung der Schweizerischen Nationalliga für Krebsbekämpfung und der Professor-Bruno-Bloch-Stiftung.

erwies, faßten wir eine Dosisproportionalität der karzinogenen Benzpyrenwirkung ins Auge. Hinsichtlich des Zusammenhanges der krebs-erregenden Wirkung des Teeres mit dessen Benzpyrengehalt ergab sich hieraus der Schluß, daß in den untersuchten Gasteeren praktisch keine anderen aktiven Komponenten wirksam sind.

Abgesehen von ihrer unbefriedigenden Genauigkeit, ließen die erwähnten Pinselungsversuche verschiedene Fragen offen (s. S. 119–120 der III. Mitt.). So blieben die geschlechtsbedingten Unterschiede der Krebsempfänglichkeit unberücksichtigt. Ferner konnte nicht beurteilt werden, wie weit die erhaltenen $W_{\%}$ -Kurven durch individuelle Variabilität der Krebsbereitschaft bedingt sind, und wie weit sie «Trefferereignisse» als Ursache des Benzpyrenkrebses anzeigen. Die Kurven erreichten in keinem der Versuche den Grenzwert $W_{\%} = 100$, sondern näherten sich tieferen Grenzwerten, z. B. $W_{\%} = 70$. Wir deuteten dieses Verhalten als wahrscheinliche Folge der beschränkten Pinselungsdauer (10 Wochen). Endlich stellte sich die Frage nach der Dauer der Latenzzeit, welche zwischen dem karzinogenen Primärprozeß und dem Sichtbarwerden der ersten Krebs Symptome verstreicht. Eine Prüfung der genannten sowie anderer Fragen wurde in Aussicht gestellt.

In vorliegender Arbeit berichten wir nun über eine in den Jahren 1941–1945 durchgeführte Reihe von Versuchen, in denen wir Mäuse einheitlicher Zucht mit Lösungen von 0,25–10,0 Promille Benzpyren in Benzol-Lanolin (9 : 1) pinselten. Die Pinselung ist in derselben Weise wöchentlich zweimal vorgenommen worden und erstreckte sich diesmal über die gesamte Versuchsdauer. Die Versuche wurden mit Männchen durchgeführt. Kriegsbedingte Schwierigkeiten der Futterbeschaffung zwangen uns zu einschneidender Reduktion des Tierbestandes, so daß die einzelnen Gruppen viel weniger Mäuse aufwiesen, als ursprünglich geplant war. Das Verhalten weiblicher Mäuse konnte nur in orientierenden Versuchen geprüft werden, worüber wir am Schluß kurz berichten. Wenn infolge dieser Umstände die Versuche auch kein abschließendes Ergebnis zu erbringen vermochten, glauben wir doch, einen wesentlichen Beitrag zur Aufklärung des Benzpyrenkrebses geliefert zu haben.

§ 2. Versuchstechnik

a) *Das Lösungsmittel für Benzpyren.* In unserer ersten Versuchsreihe [2] stellte Teer das Lösungsmittel für Benzpyren dar. Er hat die Eigenschaft, etwa 1–2 Tage auf der Haut zu haften, um sich dann abzulösen. Auch wirkt er epilierend und je nach Provenienz mehr oder weniger toxisch. Die vorliegenden Untersuchungen wurden mit reinem 1,2-Benzpyren («Roche») durchgeführt; als Lösungsmittel diente Benzol-Lanolin

(9 Gewichtsteile Benzol + 1 Gewichtsteil Adeps lanae Ph.H.V.). Bei dieser Zusammensetzung wird einerseits vom guten Lösungsvermögen des Benzols für Benzpyren Gebrauch gemacht, andererseits werden (durch Zusatz von 10% Lanolin) günstige Bedingungen hinsichtlich Resorption und Toxizität geschaffen. Indem Lanolin nach dem Verdunsten des Benzols als dünne Schicht an der behandelten Stelle zurückbleibt und nach und nach Benzpyren an die Haut abgibt, bestehen ähnliche Verhältnisse wie bei Teer. Vorversuche haben gezeigt, daß dieses Lösungsmittel die Haut weniger schädigt als Benzol allein. Sofort nach der Behandlung sind die Benzoldämpfe mit einer Absaugvorrichtung entfernt worden, um eine Schädigung des Atemsystems der Tiere auszuschalten.

Von verschiedenen Autoren wurde ein das Krebswachstum hemmender Einfluß von Lanolin festgestellt. In Versuchen von C. C. Twort und J. M. Twort [4, 6] setzte die Zugabe von 10% Lanolin zu einem Schieferöl die Tumorraten eindeutig herab, bei 1, 2, 5, 6-Dibenzanthracen wurde indessen eine entgegengesetzte Wirkung beobachtet. Die Autoren vermuten einen grundsätzlichen Unterschied zwischen schwach und stark wirksamen kanzerogenen Stoffen. J. Rosicky und R. Hatscheck [5] verwendeten eine 4‰-ige Lösung von 1,2-Benzpyren in reinem Lanolin und stellten bei einer Gruppe mit anfänglich 20 Tieren nach 127 Versuchstagen 5% Papillome und keine Karzinome fest. Sie sprechen dem Lanolin eine spezifische Schutz-Wirkung zu. Wenn wir trotz diesen Befunden ein Lösungsmittel mit 10% Lanolin gewählt haben, so geschah dies aus den oben angeführten Erwägungen heraus. Da im ganzen Versuch das gleiche Lösungsmittel verwendet worden ist, erscheint ein Vergleich der erhaltenen Ergebnisse durchaus zulässig.

Die gepinselten Lösungen wirken gemäß ihrem Gehalt an Benzpyren (0,25–10,0‰) schwächer oder stärker toxisch. Die Wirkung besteht in einer Herabsetzung des Allgemeinzustandes der Tiere (mehr kranke Mäuse, größere Sterblichkeit) sowie in einer direkten Reizung der Haut (Epilation, Abschuppung und kleine Läsionen). In diesem Zusammenhang sei auf Untersuchungen von H. Hamperl u. Mitarb. [3] verwiesen, welche die Wirkung von Benzpyren auf die Mäusehaut nach einmaliger Behandlung geprüft haben (siehe weiter unten). In unserer Versuchsanordnung wird durch den periodisch wiederholten Reiz der schädigende Einfluß verstärkt. Die genannten Veränderungen erscheinen erst im Laufe der Zeit, und zwar sehr deutlich bei Lösungen mit 10 und 4,5‰ Benzpyren, entsprechend schwächer bei niedrigeren Konzentrationen.

b) *Tiermaterial und Applikation der Lösungen.* Es wurden weiße Mäuse eines Stammes eigener Zucht verwendet, der sich schon in der ersten Versuchsreihe als geeignet erwiesen hatte. Bei der Zusammenstellung

Tabelle 1. [Benzpyren]_{0/100} = 10,0 g/kg

Versuchs- tage	p	n	P	P/Δ t	N	W%	N/n	W% + N/n	Dosis = (t - 46)√10,0
1	—	60	—	—	100,0	0,0	1,7	1,7	—
50	—	44	—	—	100,0	0,0	2,3	2,3	—
66	—	41	—	—	100,0	0,0	2,4	2,4	—
70	1	40	2,4	0,6	97,6	2,4	2,4	4,8	76
80	1	34	2,8	0,3	94,8	5,2	2,8	8,0	107
86	2	29	6,1	1,0	88,7	11,3	3,0	14,3	126
89	2	26	6,3	2,1	82,4	17,6	3,2	20,8	136
91	2	22	6,9	3,4	75,5	24,5	3,4	27,9	142
96	4	17	14,4	2,9	61,1	38,9	3,6	42,5	158
98	1	14	4,1	2,0	57,0	43,0	4,1	47,1	164
117	1	9	5,7	0,3	51,3	48,7	5,7	54,4	224
120	1	8	5,7	1,9	45,6	54,4	5,7	60,1	234
122	3	4	19,5	9,8	26,1	73,9	6,5	80,4	240
133	1	3	6,5	0,6	19,6	80,4	6,5	86,9	275
137	1	1	9,8	2,4	9,8	90,2	9,8	100	294
142	1	0	9,8	2,0	0,0	100,0	—	—	304

der Tiergruppen achteten wir vor allem auf ihre *Einheitlichkeit*. Wir benutzten in der Regel Gruppen von ca. 50 Mäusen gleichen Geschlechts (♂) und gleichen Alters (etwa 3 Monate alt), wobei die einzelnen Individuen nach Möglichkeit aus der gleichen Zuchtkiste stammten bzw. möglichst jung zusammengebracht wurden. Auf die gleichzeitige Durchführung aller Versuche wurde verzichtet, wozu uns namentlich kriegsbedingte Umstände zwangen. In einheitlichen Gruppen vertragen sich die einzelnen Individuen gut untereinander, was den Allgemeinzustand der Tiere günstig beeinflußt und die Sterblichkeit herabsetzt. Diese Faktoren sind für langdauernde Versuche von besonderer Wichtigkeit. Der anfängliche Tierbestand und seine zeitliche Abnahme sind in Kolonne 3 der nachfolgenden Tabellen angegeben.

Den Tieren wurden vor Versuchsbeginn die Rückenhaare geschoren. An

Tabelle 2. [Benzpyren]_{0/100} = 4,5 g/kg

Versuchs- tage	p	n	P	P/Δ t	N	W%	N/n	W% + N/n	Dosis = (t - 46)√4,5
1	—	60	—	—	100,0	0,0	1,7	1,7	—
50	—	42	—	—	100,0	0,0	2,4	2,4	—
77	—	29	—	—	100,0	0,0	3,4	3,4	—
80	2	27	6,9	2,3	93,1	6,9	3,4	10,3	72
86	1	23	3,9	0,6	89,2	10,8	3,9	14,7	85
106	1	17	5,0	0,2	84,2	15,8	5,0	20,8	127
117	1	14	5,6	0,5	78,6	21,4	5,6	27,0	150
126	1	11	6,5	0,7	72,1	27,9	6,5	34,4	170
133	2	9	13,1	1,9	59,0	41,0	6,5	47,5	184
145	2	5	16,9	1,4	42,1	57,9	8,4	66,3	210
157	1	3	10,5	0,9	31,6	68,4	10,5	78,9	236
166	1	2	10,5	1,2	21,1	78,9	10,5	89,4	254
171	2	0	21,1	4,2	0,0	100,0	—	—	265

dieser Stelle applizierten wir zweimal wöchentlich je einen Tropfen der Benzpyrenlösung. Für alle Lösungen wurden Tropfpipetten gleicher Größe und Form verwendet. Da, je nach der Benzpyrenkonzentration, die Haare mehr oder weniger rasch nachwachsen, war es besonders bei schwächeren Lösungen nötig, die Tiere öfters von neuem zu scheren.

c) *Kontrolle der Tiere.* Von entscheidender Wichtigkeit ist eine *möglichst objektive Ablesung* der Mäuse. Sie wurde regelmäßig alle 5–7 Tage, von immer den gleichen Beobachtern durchgeführt. Die Auswertung der Versuche hängt weitgehend davon ab, an welchem Versuchstage das einzelne Tier erstmalig als positiv bewertet wird. Für die Festlegung dieses Zeitpunktes war neben dem klinischen Bild und dem histologischen Befund vor allem auch der *Verlauf der Entwicklung* bis zum Karzinom maßgebend. Der Schwierigkeit einer einwandfreien Ablesung bewußt, haben wir uns streng an folgende, vor Beginn der Versuche aufgestellte *Richtlinien* gehalten:

1. Bei der Ablesung unterscheiden wir «negative», «fragliche» und «positive» Mäuse. Als *fraglich* gelten Tiere mit a) Warzen, b) infiltrierte

Tabelle 3. [Benzpyren]₁₀₀ = 4,5 g/kg

Versuchst- tage	p	n	P	P/Δ t	N	W%	N/n	W% + N/n	Dosis = (t - 46)√4,5
1	—	25	—	—	100,0	0,0	4,0	4,0	—
50	—	25	—	—	100,0	0,0	4,0	4,0	—
100	—	17	—	—	100,0	0,0	5,9	5,9	—
112	—	16	—	—	100,0	0,0	6,3	6,3	—
117	2	14	12,5	2,4	87,5	12,5	6,3	18,8	150
131	3	11	18,8	1,3	68,7	31,3	6,3	37,6	180
138	1	9	6,9	1,0	61,8	38,2	6,9	45,1	195
153	1	6	8,8	0,6	53,0	47,0	8,8	55,8	227
159	2	4	17,6	2,9	35,4	64,6	8,8	73,4	240
192	1	2	11,8	0,4	23,6	76,4	11,8	88,2	310
211	1	0	23,6	1,2	0,0	100,0	—	—	350

Hautstellen, c) Epitheldefekten und Ulcera mit angedeutetem verdicktem Rand. Als *positiv* bezeichnen wir Tiere mit a) breit aufsitzenden Warzen auf infiltrierter Basis, b) Epitheldefekten und Ulcera auf derb infiltriertem Grund oder mit deutlich verdicktem Rand, c) kugeligen Tumorbildungen, in der Tiefe sitzend.

2. Eine histologische Kontrolle wird dann durchgeführt, wenn eine Maus mit folgendem Befund stirbt: «positiv» im Anfangsstadium, «fraglich» oder «negativ» mit verdächtiger Hautstelle. Bei der histologischen Untersuchung bezeichnen wir als «positiv» ein deutliches Einwachsen von Zellsträngen in die Cutis, deren Zellen Zeichen ausgesprochener Metatypie aufweisen: Polymorphismus, Kernhyperchromasie, vermehrte Mitosen. Akanthopapilläres verruciformes Oberflächenwachstum wurde der Präkanzerose zugerechnet und nicht als positiv bewertet.

3. Ein Tier wird aus dem Versuch ausgeschaltet, wenn es bei vier aufeinanderfolgenden Ablesungen positiv war und sich das Karzinom in dieser Zeit deutlich vergrößerte.

4. Alle Karzinome von gestorbenen und ausgeschalteten Tieren werden exzidiert und einzeln aufbewahrt für eine eventuelle Nachkontrolle.

Tabelle 4. [Benzpyren]_{0/100} = 3,0 g/kg

Versuchs- tage	p	n	P	P/Δ t	N	W%	N/n	W% + N/n	Dosis = (t - 46)√3,0
1	—	40	—	—	100,0	0,0	2,5	2,5	—
50	—	35	—	—	100,0	0,0	2,9	2,9	—
100	—	29	—	—	100,0	0,0	3,4	3,4	—
104	1	28	3,4	0,8	96,9	3,4	3,4	6,8	100
109	1	27	3,4	0,7	93,2	6,8	3,4	10,2	109
114	1	26	3,4	0,7	89,8	10,2	3,4	13,6	118
118	1	24	3,6	0,9	86,2	13,8	3,6	17,4	125
129	3	21	10,8	1,0	75,4	24,6	3,6	28,2	142
135	2	19	7,2	1,2	68,2	31,8	3,6	35,4	154
141	2	17	7,2	1,2	61,0	39,0	3,6	42,6	164
146	3	14	10,8	2,2	50,2	49,8	3,6	53,4	173
151	1	13	3,6	0,7	46,6	53,4	3,6	57,0	182
156	2	11	7,2	1,4	39,4	60,6	3,6	64,2	190
162	4	7	14,4	2,4	25,0	75,0	3,6	78,6	201
167	1	6	3,6	0,7	21,4	78,6	3,6	82,2	209
172	2	3	8,6	1,7	12,8	87,2	4,3	91,5	218
177	1	2	4,3	0,8	8,5	91,5	4,3	95,8	226
209	2	0	8,5	0,3	0,0	100,0	—	—	282

5. Jedes Tier wird mit einem Zeichen der betreffenden Gruppe versehen und außerdem noch mit einem individuellen Zeichen, wenn es fraglich oder positiv geworden ist. Von jeder Gruppe werden laufend der Bestand an negativen, fraglichen und positiven Tieren sowie auch die Todesfälle notiert. Für jedes fragliche oder positive Tier wird ein eigener Zettel geführt, auf dem regelmäßig Ort, Größe und Form der Neubildungen eingetragen werden.

6. Bei der Auswertung wird schließlich nur noch zwischen *negativ* und *positiv* unterschieden.

d) *Die quantitative Auswertung der Versuche.* Die mit Hilfe von Tier-

Tabelle 5¹⁾. [Benzpyren]_{0/100} = 3,0 g/kg

Versuchst- tage	p	n	P	P/Δ t	N	W%	N/n	W% + N/n	Dosis = (t - 46)√3,0
0	—	50	—	—	100,0	0,0	2,0	2,0	—
50	—	48	—	—	100,0	0,0	2,1	2,1	—
91	—	47	—	—	100,0	0,0	2,1	2,1	—
96	2	45	4,2	0,8	95,8	4,2	2,1	6,3	87
103	1	44	2,1	0,3	93,7	6,3	2,1	8,4	99
124	2	42	4,2	0,2	89,5	10,5	2,1	12,6	135
132	5	35	11,2	1,4	78,3	21,7	2,2	23,9	149
135	1	33	2,3	0,8	76,0	24,0	2,3	26,3	154
138	4	29	9,2	3,0	66,8	33,2	2,3	35,5	159
145	4	24	9,5	1,4	57,3	42,7	2,4	45,1	171
152	3	21	7,2	1,0	50,1	49,9	2,4	52,3	183
159	4	17	9,6	1,4	40,5	59,5	2,4	61,9	196
166	1	15	2,5	0,4	38,0	62,0	2,5	64,5	208
173	2	12	5,4	0,8	32,6	67,4	2,7	70,1	220
180	2	8	6,5	0,9	26,1	73,9	3,3	77,2	232
187	1	7	3,3	0,5	22,8	77,2	3,3	80,5	244
194	2	4	7,6	1,1	15,2	84,8	3,8	88,6	256
208	1	3	3,8	0,2	11,4	88,6	3,8	92,4	280
243	1	3	5,7	0,2	5,7	94,3	5,7	100	341
250	1	0	5,7	0,8	0,0	100,0	—	—	354

¹⁾ Bei dieser Gruppe wurde ein anderer Mäusestamm verwendet. Da das Ergebnis aber nicht wesentlich verschieden von demjenigen in Tabelle 4 ist, und da sich die Gruppe zwanglos in den Gesamtversuch einordnen läßt, wurde sie bei der Auswertung gleichfalls berücksichtigt.

versuchen vorgenommene Wirkungsbestimmung kanzerogener Stoffe hängt in starkem Maße von der Auswertungsmethode ab, was den Vergleich der Untersuchungen verschiedener Institute schwierig gestaltet. So werden die folgenden Größen als Maß der Krebserzeugung ange-

Tabelle 6. [Benzpyren]₁₀₀ = 1,5 g/kg

Versuchs- tage	p	n	P	P/Δ t	N	W%	N/n	W% + N/n	Dosis = (t - 46)√1,5
1	—	55	—	—	100,0	0,0	1,8	1,8	—
50	—	54	—	—	100,0	0,0	1,8	1,8	—
100	—	52	—	—	100,0	0,0	1,9	1,9	—
113	—	50	—	—	100,0	0,0	2,0	2,0	—
120	2	46	4,2	0,2	95,8	4,2	2,1	6,3	91
135	2	41	4,5	0,3	91,3	8,7	2,2	10,9	109
141	1	37	2,4	0,4	88,9	11,1	2,4	13,5	116
148	2	33	5,1	0,7	83,8	16,2	2,5	18,7	125
155	4	28	10,4	1,5	73,4	26,6	2,6	29,2	134
162	2	23	5,9	0,8	67,5	32,5	2,9	35,4	142
169	4	16	13,5	1,9	54,0	46,0	3,4	49,4	151
176	1	15	3,4	0,5	50,6	49,4	3,4	52,8	159
183	4	10	14,4	2,0	36,2	63,8	3,6	67,4	168
190	1	9	3,6	0,5	32,6	67,4	3,6	71,0	176
197	4	5	14,4	2,0	18,2	81,8	3,6	85,4	185
204	1	4	3,6	0,5	14,6	85,4	3,6	89,0	194
225	1	3	3,6	0,2	11,0	89,0	3,6	92,6	220
253	1	1	5,5	0,2	5,5	94,5	5,5	100,0	254
260	1	0	5,5	0,8	0,0	100,0	—	—	262

geben: 1. die endgültige Anzahl der Tumortiere in Prozenten des ursprünglichen Tierbestandes, 2. die mittlere Latenzzeit bis zum Auftreten der Karzinome, 3. die Geschwindigkeit, mit der Tumoren auftreten, 4. nach besonderen Formeln berechnete Kennzahlen. Will man die Zahl der Tumortiere prozentual ausdrücken, so zeigt sich eine methodische Schwierigkeit. Infolge der langen Versuchsdauer oder wegen erhöhter Sterblichkeit (bei Gebrauch toxischer Substanzen) sterben manche Tiere in einem Zeitpunkt, in dem sich noch kein Tumor entwickelt hat. Es ist

Tabelle 7. [Benzpyren]_{0/100} = 1,5 g/kg

Versuchst- tage	p	n	P	P/Δ t	N	W%	N/n	W% + N/n	Dosis = (t - 46)√1,5
1	—	55	—	—	100,0	0,0	1,8	1,8	—
50	—	50	—	—	100,0	0,0	2,0	2,0	—
86	1	45	2,2	0,3	100,0	0,0	2,2	2,2	—
93	1	43	2,8	0,06	97,8	2,2	2,2	4,4	58
138	3	34	8,4	0,8	95,0	5,0	2,8	7,8	113
149	2	31	5,8	0,8	86,6	13,4	2,8	16,2	126
156	2	28	6,0	0,9	80,8	19,2	2,9	22,1	135
163	1	25	3,0	0,4	74,8	25,2	3,0	28,2	143
170	5	24	15,0	2,1	71,8	28,2	3,0	31,2	152
177	2	19	6,3	0,9	56,8	43,2	3,0	46,2	160
184	1	16	3,1	1,0	50,5	49,5	3,1	52,6	169
187	3	15	9,5	2,4	47,4	52,6	3,1	55,7	173
191	1	12	3,1	0,4	37,9	62,1	3,1	65,2	178
198	1	11	3,1	0,4	34,8	65,2	3,1	68,3	186
205	2	10	6,3	0,9	31,7	68,3	3,1	71,4	195
212	1	8	3,2	0,4	25,4	74,6	3,1	77,7	203
220	1	7	5,5	0,4	22,2	77,8	3,2	81,0	213
233	1	3	5,5	0,8	16,7	83,3	5,5	88,8	229
240	1	2	5,5	0,3	11,2	88,8	5,5	94,3	238
261	0	1	—	—	5,7	94,3	5,7	100,0	264
296	0	0	—	—	0,0	94,3	—	—	306

deshalb nicht sinngemäß, die Zahl der Plusfälle in Prozenten des anfänglichen Mäusebestandes anzugeben, sondern alle im Versuchsverlauf vorkommenden Todesfälle sind entsprechend zu berücksichtigen.

Auf die erwähnten Schwierigkeiten haben *C. C. Twort* und *J. M. Twort* [4, 6], später *J. Iball* [7] und schließlich *G. Miescher*, *F. Almsy* und

Tabelle 8. [Benzpyren]_{0/100} = 0,5 g/kg

Versuchs- tage	p	n	P	P/Δ t	N	W%	N/n	W% + N/n	Dosis = (t - 46)√0,5
1	—	50	—	—	100,0	0,0	2,0	2,0	—
50	—	46	—	—	100,0	0,0	2,2	2,2	—
100	—	38	—	—	100,0	0,0	2,6	2,6	—
150	—	36	—	—	100,0	0,0	2,8	2,8	—
162	—	35	—	—	100,0	0,0	2,9	2,9	—
169	1	32	3,0	0,4	97,0	3,0	3,0	6,0	87
184	2	29	6,3	0,4	90,7	9,3	3,1	12,4	98
190	2	27	6,3	1,0	84,4	15,6	3,1	18,7	102
225	1	22	3,7	0,1	80,7	19,3	3,7	23,0	127
246	1	20	3,8	0,2	76,9	23,1	3,8	26,9	141
253	1	18	4,0	0,6	72,9	27,1	4,0	31,1	146
267	1	17	4,0	0,3	68,9	31,1	4,0	35,1	156
270	1	16	4,0	1,3	64,9	35,1	4,0	39,1	158
281	1	13	4,6	0,4	60,3	39,7	4,6	44,3	166
284	1	11	5,0	1,7	55,3	44,7	5,0	49,7	168
288	1	10	5,0	1,2	50,3	49,7	5,0	54,7	171
302	2	7	11,2	0,8	39,1	60,9	5,6	66,5	181
309	1	5	6,5	0,9	32,6	67,4	6,5	73,9	186
330	1	4	6,5	0,3	26,1	73,9	6,5	80,4	201
347	1	2	8,7	0,5	17,4	82,6	8,7	91,3	213
358	1	1	8,7	0,8	8,7	91,3	8,7	100,0	220
365	1	0	8,7	1,2	0,0	100,0	—	—	226

F. Zehender [2] hingewiesen, wobei entsprechende Auswertungsmethoden vorgeschlagen wurden.

C. C. Twort und J. M. Twort beobachten die Tiere wöchentlich einmal und berechnen für jede Ablesung die Tumorrates. Daraus ergeben sich Wirkung-Zeit-Diagramme, in welche meist auch die Sterblichkeit der Tiergruppe graphisch eingetragen wird. Zur

Tabelle 9. [Benzpyren]_{0/100} = 0,5 g/kg

Versuchst- tage	p	n	P	P/Δ t	N	W%	N/n	W% + N/n	Dosis = (t - 46)√0,5
1	—	50	—	—	100,0	0,0	2,0	2,0	—
50	—	46	—	—	100,0	0,0	2,2	2,2	—
100	—	39	—	—	100,0	0,0	2,6	2,6	—
150	—	29	—	—	100,0	0,0	3,4	3,4	—
200	—	22	—	—	100,0	0,0	4,5	4,5	—
250	—	18	—	—	100,0	0,0	5,6	5,6	—
260	1	15	6,2	0,6	93,8	6,2	6,2	12,4	151
263	1	13	6,7	2,2	87,1	12,9	6,7	19,6	154
274	1	9	8,7	0,8	78,4	21,6	8,7	30,3	161
284	1	7	9,8	1,0	68,6	31,4	9,8	41,2	168
330	1	5	11,4	0,2	57,2	42,8	11,4	54,2	201
394	1	3	14,3	0,2	42,9	57,1	14,3	71,4	246
435	1	2	14,3	0,3	28,6	71,4	14,3	85,7	275
492	0	0	—	—	0,0	71,4	—	—	315

Berechnung der Tumorprozent werden drei Methoden verwendet. Gemäß Methode 1 ermittelt man für jede Woche die lebenden Tumormäuse in Prozenten der lebenden Tiere. Gemäß Methode 2 betrachtet man nur die in jeder Woche neu auftretenden Tumortiere und gibt sie in Prozenten der lebenden Mäuse an, wobei aber eine einmal als positiv bewertete Maus aus dem Versuch ausgeschaltet wird. Methode 3 gleicht grundsätzlich der letzteren, doch ordnet man den negativ gestorbenen Tieren noch eine hypothetische Krebsrate zu, entsprechend der bis zu diesem Zeitpunkt beobachteten Anzahl positiver Tiere. Für jede Woche wird die Summe der einmal als positiv ermittelten Tiere inkl. der zusätzlichen, hypothetischen Plusfälle angegeben. Da stets Gruppen von 100 Tieren verwendet werden, haben die beobachteten Plusfälle, vermehrt um die zusätzlichen hypothetischen, die Bedeutung von Prozenten des Anfangsbestandes. Ausgehend von der ersten bis zur dritten Methode wird auf die Todesfälle somit mehr und mehr konsequent Rücksicht genommen.

Eine Besonderheit der *Twortschen* Auswertung besteht darin, daß die nach einer der drei obigen Methoden berechneten Tumorprozentzahlen mit denjenigen einer Standardkurve, welche aus einer großen Zahl gleichartiger Versuche gewonnen worden ist, verglichen werden. Es wird ein Quotient («potency») gebildet, der als Maß für die Karzinogenität dienen soll. Nicht eine absolute Größe ist danach letzten Endes maßgebend, sondern eine Vergleichszahl, bezogen auf den Mittelwert einer großen Versuchsreihe.

In der Annahme, es seien mehrere Kennzahlen zugleich zu berücksichtigen, bildet *J. Iball* [7] einen Quotienten (Index) aus der mittleren Latenzzeit und den Tumor-

Tabelle 10. [Benzpyren]_{0,00} = 0,5 g/kg

Versuchst- tage	p	n	P	P/Δ t	N	W%	N/n	W% + N/n	Dosis = (t - 46)√0,5
1	—	50	—	—	100,0	0,0	2,0	2,0	—
50	—	45	—	—	100,0	0,0	2,2	2,2	—
100	—	36	—	—	100,0	0,0	2,8	2,8	—
150	—	25	—	—	100,0	0,0	4,0	4,0	—
200	—	18	—	—	100,0	0,0	5,6	5,6	—
220	—	18	—	—	100,0	0,0	5,6	5,6	—
225	2	16	11,1	2,2	88,9	11,1	5,6	16,7	127
232	2	14	11,1	1,6	77,8	22,2	5,6	27,8	131
239	1	13	5,6	0,8	72,2	27,8	5,6	33,4	136
267	1	11	6,0	0,2	66,2	33,8	6,0	39,8	156
274	2	9	12,0	1,7	54,2	45,8	6,0	51,8	161
288	3	6	18,0	1,3	36,2	63,8	6,0	69,8	171
309	2	6	14,5	0,7	36,2	63,8	6,0	69,8	171
309	2	3	14,5	0,7	21,7	78,3	7,2	85,5	186
322	1	3	10,9	0,8	21,7	78,3	7,2	85,5	186
322	1	1	10,9	0,8	10,8	89,2	10,9	100,0	196
330	1	1	10,8	1,5	10,8	89,2	10,9	100,0	196
330	—	0	—	—	0,0	100,0	—	—	201

prozenten, wobei letztere auf die Zahl der lebenden Tiere am Tage des Auftretens des ersten Tumors bezogen sind.

In der III. Mitteilung haben wir unabhängig von andern Autoren eine Auswertung vorgeschlagen und mathematisch formuliert, welche dem Sinne nach der Methode III von *C. C. Twort* und *J. M. Twort* [6] sehr nahe steht. Unsere damals entwickelte Ableitung läßt sich folgendermaßen zusammenfassen.

In einer Pinselungsgruppe, welche am ersten Versuchstag n_1 Mäuse aufweist, mögen am i -ten Versuchstag die ersten Plusfälle auftreten. Falls an diesem Tag die Zahl der beobachteten Plusfälle p_i beträgt, und die Zahl der karzinomfreien Mäuse n_i , dann berechnet man unter der einfachen Annahme, daß die $n_1 - (n_i + p_i)$ vom Versuchsbeginn bis zum i -ten Versuchstag gestorbenen karzinomfreien Mäuse bei ihrem Weiterleben mit gleicher Wahrscheinlichkeit wie die tatsächlich fort-

Tabelle 11. [Benzpyren]_{0/100} = 0,25 g/kg

Versuchst- tage	p	n	P	P/Δ t	N	W%	N/n	W% + N/n	Dosis = $(t - 46)\sqrt{0,25}$
1	—	55	—	—	100,0	0,0	1,8	1,8	—
50	—	49	—	—	100,0	0,0	2,0	2,0	—
100	—	46	—	—	100,0	0,0	2,2	2,2	—
150	—	37	—	—	100,0	0,0	2,7	2,7	—
200	—	29	—	—	100,0	0,0	3,4	3,4	—
250	—	20	—	—	100,0	0,0	5,0	5,0	—
260	1	18	5,3	0,5	94,7	5,3	5,3	10,6	107
289	1	11	7,9	0,3	86,8	13,2	7,9	21,1	122
386	1	4	17,4	0,2	69,4	30,6	17,4	48,0	170
428	1	2	23,1	0,5	46,3	53,7	23,1	76,8	191
446	0	0	—	—	0,0	53,7	—	—	200

lebenden Mäuse an Krebs erkrankt wären, folgende Ausdrücke für die prozentuale Zahl P_i der Plusfälle sowie die prozentuale Zahl N_i der karzinomfreien Tiere in einem idealen Bestand von 100 die Versuchsdauer vollzählig überlebenden Mäusen:

$$P_i = \frac{100 \cdot p_i}{p_i + n_i} \qquad N_i = 100 - P_i = \frac{100 \cdot n_i}{p_i + n_i}$$

Wird nun im Zeitraum vom i -ten bis zum k -ten Versuchstag das Auftreten von $p_{i,k}$ neuen Plusfällen festgestellt, und beträgt die Zahl der lebenden karzinomfreien Mäuse am k -ten Tag n_k , so ergibt sich die Anzahl $P_{i,k}$ der Plusfälle, welche entsprechenderweise im Idealbestand von 100 vollzählig fortlebenden Mäusen vom i -ten bis zum k -ten Versuchstag auftreten würde, zu:

$$P_{i,k} = (100 - P_i) \frac{p_{i,k}}{p_{i,k} + n_k} = N_i \frac{p_{i,k}}{p_{i,k} + n_k} = \frac{100 \cdot n_i}{p_i + n_i} \cdot \frac{p_{i,k}}{p_{i,k} + n_k}$$

Die prozentuale Zahl der karzinomfreien Mäuse im Idealbestand beträgt demzufolge am k -ten Versuchstag:

$$N_k = 100 - P_i - P_{i,k} = N_i - P_{i,k} = \frac{100 \cdot n_i \cdot n_k}{(p_i + n_i) (p_{i,k} + n_k)}$$

Die allgemeinen Ausdrücke für einen beliebigen Zeitraum, z. B. vom q -ten bis zum r -ten Versuchstag, ergeben sich auf analoge Art zu:

Tabelle 12. [Benzpyren]_{0/100} = 0,25 g/kg

Versuchst- tage	p	n	P	P/Δ t	N	W%	N/n	W% + N/n	Dosis = (t - 46)√0,25
1	—	55	—	—	100,0	0,0	1,8	1,8	—
50	—	53	—	—	100,0	0,0	1,9	1,9	—
100	—	47	—	—	100,0	0,0	2,1	2,1	—
150	—	44	—	—	100,0	0,0	2,3	2,3	—
155	1	42	2,3	0,4	97,7	2,3	2,3	4,6	55
200	—	35	—	—	97,7	2,3	2,8	5,1	77
250	—	24	—	—	97,7	2,3	4,1	6,4	102
288	1	15	6,1	0,05	91,6	8,4	6,1	14,5	121
302	1	14	6,1	0,4	85,5	14,5	6,1	20,6	128
442	1	4	17,1	0,1	68,4	31,6	17,1	48,7	198
449	1	2	22,8	3,3	45,6	54,4	22,8	77,2	202
465	0	0	—	—	0,0	54,4	—	—	210

$$P_{q,r} = \frac{100 \cdot n_i \cdot n_k \dots \dots \dots n_q \cdot P_{q,r}}{(p_i + n_i) (p_{i,k} + n_k) \dots \dots \dots (p_{q,r} + n_r)}$$

$$N_r = \frac{100 \cdot n_i \cdot n_k \dots \dots \dots n_q \cdot n_r}{(p_i + n_i) (p_{i,k} + n_k) \dots \dots \dots (p_{q,r} + n_r)}$$

Die prozentuale Krebswahrscheinlichkeit, m. a. W., die Anzahl W% von Mäusen, welche im Idealbestand am r-ten Versuchstag Karzinome zeigen würden, berechnet sich auf die vorstehende Weise aus den Versuchsdaten gemäß:

$$W\%(r) = P_i + P_{i,k} + \dots \dots P_{q,r} = 100 - N_r$$

Die Zuverlässigkeit der Pinselungsversuche läßt sich namentlich anhand von Ergebnissen mit mehreren Gruppen gleicher Benzpyrenkonzentration beurteilen. Im allgemeinen konnte auf diesem Wege eine brauchbare Reproduzierbarkeit unserer Meßreihen festgestellt werden.

§ 3. Ergebnisse

Die Tabellen 1–13 enthalten die Versuchsergebnisse in zahlenmäßiger Darstellung. Außer den im vorgehenden Paragraphen erläuterten Größen p, n, P, N und W% enthalten die Tabellen noch die Größen P/Δ t, N/n, W% + N/n sowie die nachfolgend erörterte «Dosis» (t - 46)√[Benzpyren]_{0/100}.

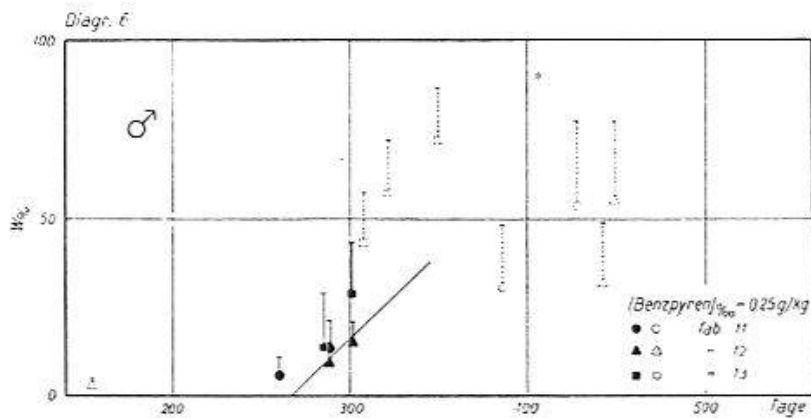
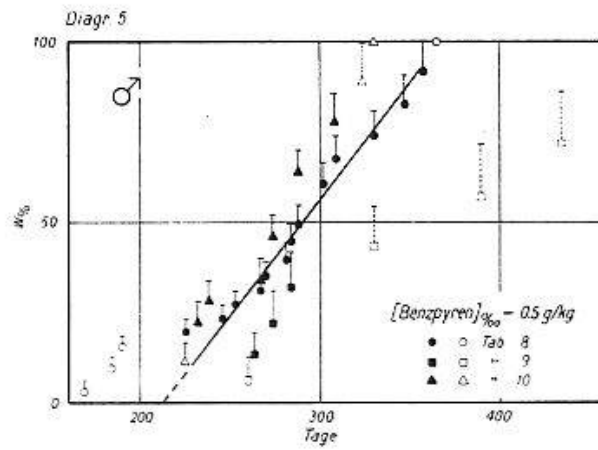
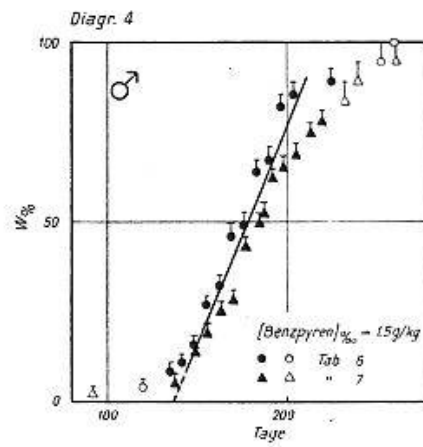
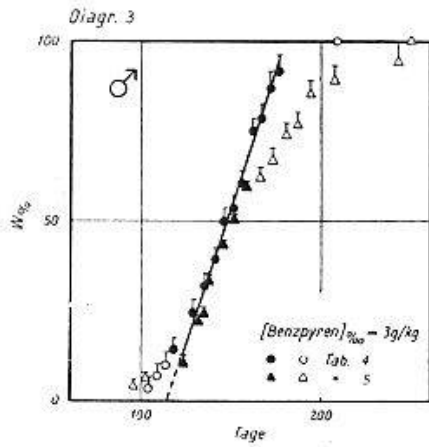
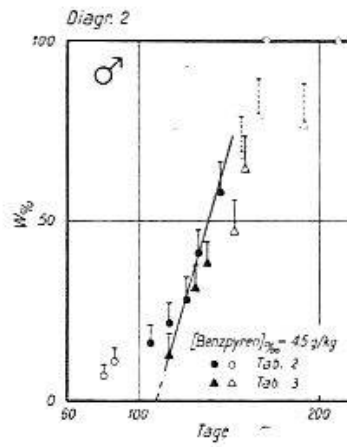
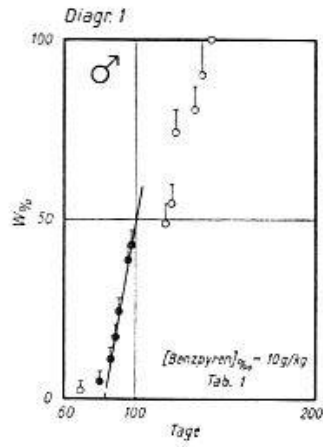
Tabelle 13. [Benzpyren]_{0/100} = 0,25 g/kg

Versuchs- tage	p	n	P	P/Δ t	N	W%	N/n	W% + N/n	Dosis = (t - 46)√0,25
1	—	50	—	—	100,0	0,0	0,0	2,0	—
50	—	45	—	—	100,0	0,0	2,2	2,2	—
100	—	35	—	—	100,0	0,0	2,9	2,9	—
150	—	27	—	—	100,0	0,0	3,7	3,7	—
200	—	19	—	—	100,0	0,0	5,3	5,3	—
250	—	9	—	—	100,0	0,0	11,1	11,1	—
280	—	7	—	—	100,0	0,0	14,3	14,3	—
287	1	6	14,3	2,0	85,7	14,3	14,3	28,6	121
301	1	5	14,3	1,0	71,4	28,6	14,3	42,9	128
308	1	4	14,3	2,0	57,1	42,9	14,3	57,2	131
322	1	3	14,3	1,0	42,8	57,2	14,3	71,5	138
350	1	2	14,3	0,5	28,5	71,5	14,3	85,8	152
371	0	0	—	—	0,0	71,5	—	—	162

N/n gibt den einer Zunahme von p um 1 entsprechenden Zuwachs von P an und mißt so die durch die Ganzzahligkeit der p bedingte Unsicherheit von P (vgl. [2]). Die entsprechende Unsicherheit von W% wird durch W% + N/n ausgedrückt. P/Δ t stellt die durchschnittliche tägliche Zunahme von P im Zeitraum vom r-ten bis zum (r+Δt)-ten Versuchstag dar.

In einzelnen unserer Tiergruppen war der Bestand infolge langer Versuchsdauer beim Auftreten der ersten Karzinome bereits stark herabgesetzt und N/n somit schon ziemlich groß. Solchen Versuchen ist in der Gesamtbeurteilung weniger Gewicht beizulegen. Demgemäß haben wir in den nachstehenden Diagrammen alle Meßpunkte, deren N/n größer als 10 ist, zum Zeichen ihrer erheblichen Unsicherheit punktiert eingetragen.

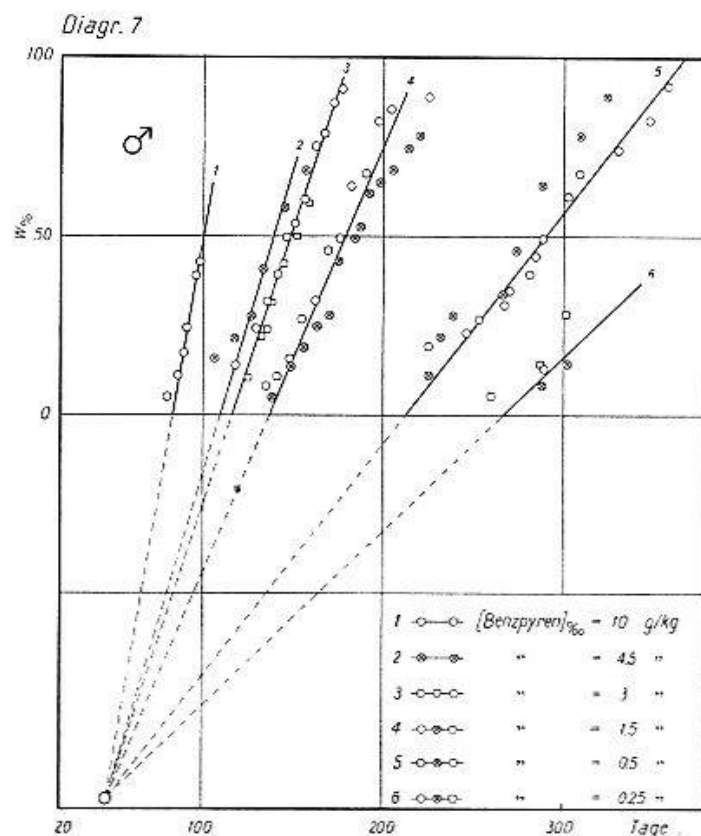
Die Diagramme 1-6 bringen eine graphische Darstellung der in den Tabellen enthaltenen Resultate. Die Diagrammpunkte sind durch Zeichen in der Art von $\bar{\bullet}$ markiert, deren Länge (=N/n) die durch die Ganzzahligkeit der p bedingten Unsicherheit von W% (t) angibt. In Dia-



grammen, welche zwei oder mehrere Pinselungsversuche mit derselben Benzpyrenkonzentration darstellen, werden verschiedene Markierungen benutzt, meistens \bullet und \blacktriangle . Zur Darstellung des einzelnen Pinselungsversuches dienen teils ausgefüllte und teils leere Zeichen der gleichen Form, zum Beispiel \bullet und \circ , wovon die ersteren den fettgedruckten Daten der Tabellen entsprechen.

Die Tabellen und Diagramme lassen sogleich erkennen, daß bei fortgesetzter Pinselung allmählich alle Versuchstiere an Krebs erkranken. Die weitere Prüfung zeigte, daß der mittlere Teil der $W\%$ -t-Kurven durch Gerade approximiert werden kann, deren Richtung und Lage einen Zusammenhang zwischen dem Benzpyrengehalt der gepinselten Lösungen und dem zeitlichen Tempo des Auftretens von Karzinomfällen zu ermitteln gestattet. Diese Geraden sind in die Diagramme 1–6 eingetragen; sie erscheinen (mit mehr oder minder großer Streuung) durch die ausgefüllten Diagrammpunkte festgelegt. Am oberen und unteren Ende weichen die $W\%$ -t-Kurven vom gradlinigen Verlauf selbstverständlich am stärksten ab.

Die ausgefüllten Meßpunkte (die jeweils drei fettgedruckten Meßpunkte der Tab. 3 und 9 ließen wir der Übersicht halber weg) sowie die durch sie durchgelegten Geraden sind im Sammeldiagramm 7 gemeinsam dargestellt. Dieses zeigt, daß die verlängerten Geraden innerhalb ihres Streubereiches einen gemeinsamen Schnittpunkt aufweisen.



Zur Untersuchung des Zusammenhanges zwischen dem Benzpyrengehalt der gepinselten Lösungen und der Neigung des angenähert geradlinigen Teils der $W_{\%}$ - t -Kurven tragen wir im nebenstehenden Diagramm 8 den Logarithmus der Richtungstangenten der Geraden 1–6 des Diagrammes 7 als Ordinate gegen den Logarithmus der Benzpyrenkonzentrationen als Abszisse auf. Die hierzu benutzten Daten sind in der folgenden Tabelle 14 zusammengestellt.

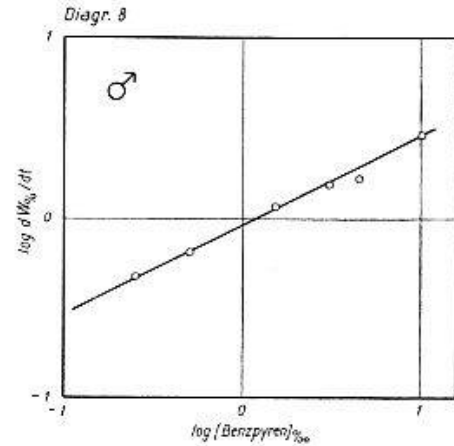


Tabelle 14

Gerade Nr.	[Benzpyren] $_{0/100}$	log [Benzpyren] $_{0/100}$	d $W_{\%}$ /dt	log d $W_{\%}$ /dt
1	10,0	1,00	2,90	0,46
2	4,5	0,65	1,67	0,22
3	3,0	0,48	1,53	0,19
4	1,5	0,18	1,18	0,07
5	0,5	-0,30	0,65	-0,19
6	0,25	-0,60	0,48	-0,32

Die Punkte dieses Diagrammes legen mit ziemlich geringer Streuung (bis auf den Versuch mit 4,5 $_{0/100}$ Benzpyren) eine Gerade fest. Die Gleichung derselben lautet:

$$\log dW_{\%}/dt = -0,04 + 0,50 \log [Benzpyren]_{0/100} \quad (1)$$

wobei in der bekannten Art -0,04 die Ordinate des Schnittpunktes der Geraden mit der log (d $W_{\%}$ /dt)-Achse und 0,50 den Tangens des Neigungswinkels der Geraden zur log [Benzpyren] $_{0/100}$ -Achse darstellen. Der zeitliche Anstieg des angenähert geradlinigen Teils der Krebswahrscheinlichkeitskurven (Diagramm 7) hängt darnach nicht linear, sondern gemäß der Beziehung:

$$dW_{\%}/dt = 0,91 [Benzpyren]_{0/100}^{0,50} = 0,91 \sqrt{[Benzpyren]_{0/100}} \quad (2)$$

mit der Benzpyrenkonzentration der gepinselten Lösungen zusammen.

In Anbetracht des gemeinsamen Schnittpunktes bei: $t = 46$ Tage und $W_{\%} = -107$ der 6 Geraden des Diagrammes 7 können wir diese mit Hilfe der Gl. (2) zu einer *einzig*en Krebswahrscheinlichkeitskurve (-Geraden) zusammenfassen:

$$W_{\%} = -107 + 0,91 (t - 46) \sqrt{[Benzpyren]_{0/100}} \quad (3)$$

An Stelle der mit der Benzpyrenkonzentration variablen *Zeitabhängigkeit* von $W_{\%}$ stellt Gl. (3) die Krebswahrscheinlichkeit als lineare *Funk-*

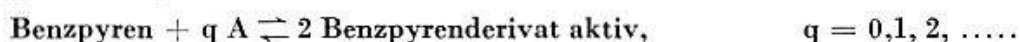
tion einer Dosisgröße dar, nämlich des Produktes $(t-46)\sqrt{[\text{Benzpyren}]_{0/100}}$. Das Zeitintervall von 46 Tagen erscheint darin, zumindest formal, als Latenzzeit. Das Eingehen der zweiten Wurzel der Benzpyrenkonzentration in die Dosis kann bis zur Erbringung weiterer experimenteller Daten (mit männlichen Mäusen anderer Stämme) gleichfalls nur als formales Ergebnis gelten.

Es liegt indessen nahe, dieses Verhalten als Hinweis aufzufassen, daß eine kanzerogene Aktivität des Benzpyrens nur unter der Voraussetzung der Adsorption am Wirkungsort zustande kommt. Im Sinne der *Freundlich*schen Adsorptionsisotherme würde dann gelten:

$$[\text{Benzpyren aktiv}] = k [\text{Benzpyren adsorbiert}] = k' [\text{Benzpyren}]_{0/100}^{1/n}$$

wobei k und k' Proportionalitätskonstanten sind, und der Exponent $1/n$ den nicht ungewöhnlichen Wert 0,5 aufweist.

Andererseits wäre an eine Gleichgewichtsreaktion des Benzpyrens mit einem Zellsubstrat A zu denken – eventuell auch nur an eine Spaltung des Benzpyrens – gemäß etwa dem Reaktionsschema:



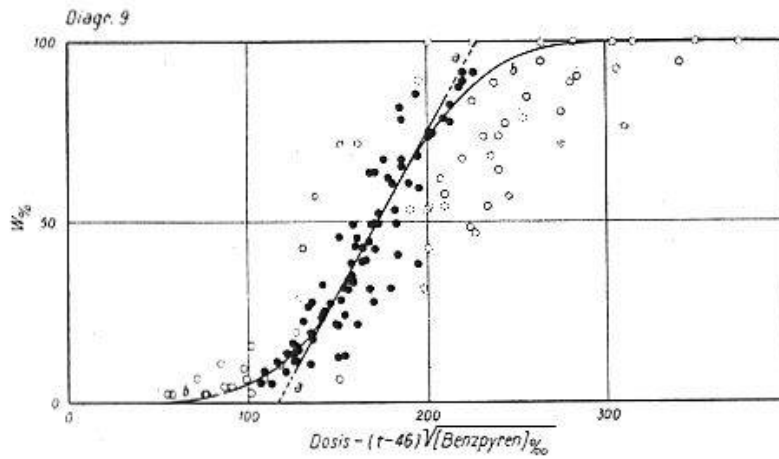
wonach gemäß dem Massenwirkungsgesetz bei konstant bleibendem $[A]$ gelten müßte:

$$[\text{Benzpyrenderivat aktiv}] = \text{konst.} [\text{Benzpyren}]_{0/100}^{0,50}$$

Nicht in Frage kommen Verteilungsgleichgewichte mit einfach, bzw. in Form von Doppelmolekülen gelöstem Benzpyren.

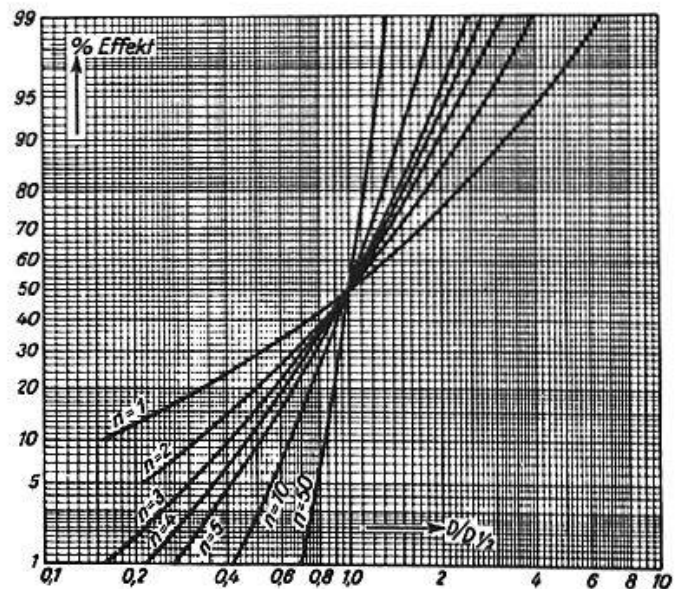
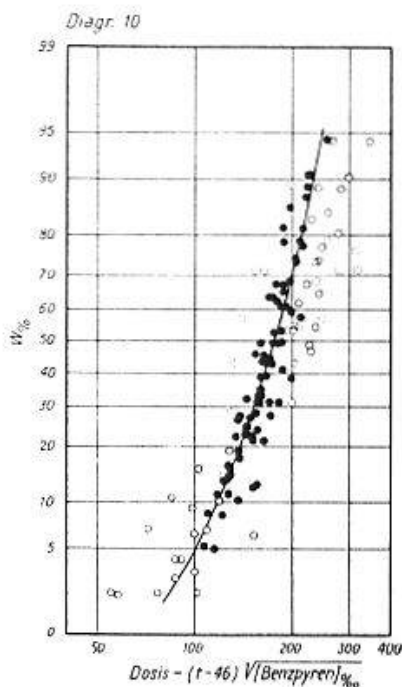
Mit einer gewissen Willkür ließen sich die $W_{\%}$ - t -Kurven auch so durch die Meßpunkte legen, daß eine lineare Abhängigkeit zwischen Krebswahrscheinlichkeit und Benzpyrenkonzentration erhalten würde. Die Latenzzeit wäre dann etwa 108 Tage. Da aber mehrere Karzinome schon vor dieser Zeit auftreten, kann eine solche Einordnung nicht befriedigen. Zudem wird sie wesentlich weniger Meßpunkten gerecht als die oben entwickelte. Wir bemerken an dieser Stelle, daß die in der III. Mitteilung festgestellte ungefähre Proportionalität der Richtungstangenten der $W_{\%}$ - t -Kurven mit $[\text{Benzpyren}]_{0/100}$ keine genügend großen Abweichungen von der Proportionalität mit $[\text{Benzpyren}]_{0/100}^{0,5}$ ergibt, als daß sie in den damaligen, recht ungenauen Versuchen hätten bemerkt werden können.

Im nebenstehenden Diagramm 9 stellt die Gerade aa die Krebswahrscheinlichkeit $W_{\%}$ laut Gl. (3) als lineare Funktion der Dosis $(t-46)\sqrt{[\text{Benzpyren}]_{0/100}}$ dar. In diesem Diagramm sind *alle* $W_{\%}$ -Werte der Tabelle 1–13 (auch die nicht fettgedruckten) gegen die zugehörigen Dosen (letzte Kolonne der Tabellen) eingetragen. Fettgedruckte Ta-



bellendaten werden hierbei durch ausgefüllte, die übrigen Daten durch nichtausgefüllte kreisförmige Zeichen markiert. Punktiert eingetragene Markierungen bezeichnen Meßpunkte mit $N/n > 10$. Dieselben Zeichen werden auch im Diagramm 10 benutzt.

Um entscheiden zu können, ob die durch die Diagrammpunkte mit gewisser Streuung festgelegte S-Kurve, statistisch betrachtet, eine *Normalverteilung der Krebsempfänglichkeit* unserer Mäuse zum Ausdruck bringt, oder ob ihr Verlauf eine *Teilnahme von Trefferereignissen* bei der Verursachung des Benzpyrenkrebses anzeigt, tragen wir die Punkte in ein Koordinatennetz ein (Diagramm 10), dessen Abszissenachse logarithmisch und dessen Ordinatenachse gemäß dem *Gaußschen Fehlerintegral* geteilt ist. Wie *Zimmer* [8] gezeigt hat, ergeben Trefferverteilungen mit nicht zu hoher Trefferzahl in einem solchen Netz Kurven, die gegen die Abszissenachse mehr oder minder konvex sind (vgl. Diagramm 11), während Normalverteilungen Gerade ergeben.



Diagr. 11 (nach Zimmer [8])

Die Verteilung der Diagrammpunkte in Diagramm 10 stellt das Vorliegen einer gegen die Abszissenachse schwach konvexen Kurve außer Zweifel. Wir haben deren Verlauf schätzungsweise in das Diagramm eingetragen. Bei der Rückübertragung der Kurve in das Diagramm 9 resultiert der S-förmige Kurvenzug *bb*, der im experimentell am besten erfaßten Gebiet: $W_{\%} < 50$ die Meßdaten recht befriedigend darstellt. Betreffs der oben aufgeworfenen Frage geht aus Diagramm 10 hervor, daß die von uns erhaltene $W_{\%}$ -Dosis-Kurve keine Normalverteilung zum Ausdruck bringt, sondern auf eine Mitbeteiligung von Trefferereignissen bei der Benzpyrenkrebserkrankung schließen läßt. Eine eindeutige Interpretation solcher Kurven (Ermittlung der Trefferzahl und des Trefferbereiches) erscheint beim derzeitigen Stand der Forschung aussichtslos (vgl. Zimmer [8]).

Schließlich weisen wir darauf hin, daß uns orientierende Versuche mit weiblichen Mäusen zu Ergebnissen geführt haben, die von den vorstehenden, mit Männchen erhaltenen, in wesentlichen Punkten abweichen. Wir stellten eine kürzere Latenzzeit fest und das Eingehen der Benzpyrenkonzentration in die Dosis mit einem Exponenten, der erheblich kleiner als $\frac{1}{2}$ ist. Im Wahrscheinlichkeitsnetz erscheint dagegen $W_{\%}$ (Dosis) wieder als eine gegen die Abszissenachse schwach konvexe Kurve.

§ 4. Schlußwort

Die über einen Zeitraum von mehreren Jahren sich erstreckende Untersuchungsreihe hatte die Frage nach der Beziehung zwischen der Konzentration einer karzinogenen Substanz und ihrem karzinogenen Effekt zum Gegenstand. Von Anfang an mußte mit der Wahrscheinlichkeit gerechnet werden, daß mehrere Störungsfaktoren das Resultat beeinflussen und seine Präzision verschleiern werden.

Zunächst ist zu berücksichtigen, daß unsere Benzpyrenapplikation wohl hinsichtlich Konzentration, applizierter Menge und bis zu einem gewissen Grade auch Größe des Kontaktfeldes eine quantitativ exakte Abstufung der Dosierung gewährleistet. Allein, da die Mäuse sich nach der Pinselung wieder frei im gemeinsamen Käfig bewegen konnten, waren unberechenbare Verluste nicht zu vermeiden. Ferner gelangt das Benzpyren nicht unmittelbar am eigentlichen Erfolgsort (Epidermiszellen) zur Wirkung, sondern es hat zuerst die Hornschichtschranke zu passieren, deren Durchlässigkeit nicht nur individuelle Schwankungen aufweisen kann (Abhängigkeit von der Dicke und der Kompaktheit der Horndecke, welche, wie die Versuche am Menschen lehren, nicht vollkommen übereinstimmen), sondern auch unter dem Einfluß von äußeren

Zufallsfaktoren (Traumatisation) steht. Außerdem ist die Geschwindigkeit, mit welcher Benzpyren in den Geweben absorbiert wird, möglicherweise individuell verschieden. Die endgültige Menge des schließlich zur Wirkung gelangenden Benzpyrens ist darum nicht mit Sicherheit zu erfassen, und man ist auf die Annahme angewiesen, daß nur die durchschnittlichen Bedingungen einheitlich sind.

Eine weitere Störungsmöglichkeit beruht auf der toxischen Wirkung des Benzpyrens, welche mit der Konzentration zunimmt, selbst aber wieder von der Dicke der abschirmenden Hornschicht abhängig ist. Nach *Hampert* [3] kommt es dabei zur Schädigung der Epidermis, welche sich in Mitosenstörungen, Kernblähung, Chromatolyse, Verfettung und evtl. Zelltod manifestiert, worauf schon wenige Tage später eine intensive Regeneration folgt. Es ist denkbar und wahrscheinlich, daß bei unseren Versuchen Zellen, welche bereits zu Krebszellen umgewandelt waren, bei einer nachfolgenden Applikation infolge toxischer Schädigung wieder absterben und somit für den Erfolg ausfallen, und es ist zu erwarten, daß bei hohen Konzentrationen dieser Einfluß stärker hervortritt.

Wir wissen nun aber andererseits, daß Zellreize, welche Regenerationsvorgänge zur Folge haben, bei vorhandener Geschwulstkeimanlage auf das Geschwulstwachstum eine auslösende oder beschleunigende Wirkung ausüben (Realisationsfaktoren). In besonders eindrucksvoller Weise ist das durch die schönen Versuche von *Rous* und *Kidd* [9] sowie *Fritzsche* [10] illustriert worden.

Es liegen hier somit zwei Störungsmöglichkeiten vor, die in entgegengesetzter Richtung wirken und welche beide bei höheren Konzentrationen stärker zur Geltung kommen werden als bei niedrigen.

Wenn man die Vielheit der erwähnten Störungsmöglichkeiten berücksichtigt und weiter bedenkt, daß in den Vorgang der Krebswerdung noch andere, wenig erforschte Mechanismen, vor allem die Krebsresistenz des Gewebes eingeschaltet sind, so mag der Versuch einer Analyse nach mathematischen Gesichtspunkten auf den ersten Blick aussichtslos erscheinen. Die Kurvenbilder lassen überraschenderweise doch eine Gesetzmäßigkeit der quantitativen Beziehungen erkennen, welche über die Bedeutung grober Zusammenhänge hinausgeht und darum verdient, zur Kenntnis genommen zu werden (wobei die Notwendigkeit der Überprüfung durch parallele, auf noch breiterer Basis durchgeführter Versuche betont werden soll). Sie sagen aus, daß im statistisch erfaßten Wirkungsbild Dosenproportionalität besteht. Die kurvenmäßige Darstellung spricht dafür, daß ein Trefferereignis mit im Spiele ist. Daß es sich nicht ausschließlich um ein solches handeln kann, sondern daß eine

Interferenz mit anderen Faktoren besteht, welche nach den Gesetzen der Wahrscheinlichkeit variieren, muß nach dem eingangs Gesagten erwartet werden. Es ist aber doch naheliegend, anzunehmen, daß der Treffervorgang die eigentliche Karzinogenese betrifft, und daß die modifizierenden Einflüsse die Gesamtheit der Zufalls- und Realisationsfaktoren umfassen.

Zusammenfassung

In Fortsetzung der früheren Arbeiten wird die Frage der Dosenproportionalität der karzinogenen Benzpyrenwirkung im Mäuseversuch geprüft. Es kommen dabei steigende Konzentrationen von $\frac{1}{4}$ bis $10^0/_{00}$ zur Anwendung.

Aus der kurvenmäßigen Aufzeichnung der Resultate geht hervor, daß zwischen Krebswahrscheinlichkeit einerseits und der durch Benzpyrenkonzentration und Wirkungsdauer definierten Dosis andererseits eine enge Beziehung besteht, welche sich formal durch eine Gleichung ausdrücken läßt.

Die Analyse des mit Hilfe dieser Gleichung aus sämtlichen Versuchsreihen erhaltenen Sammeldiagrammes läßt nach einem von *Zimmer* angegebenen Vorgehen den Schluß zu, daß bei der Entstehung des Benzpyrenkrebses Trefferereignisse mit im Spiele stehen.

Résumé

Pour faire suite à leurs travaux précédents, les auteurs ont étudié sur la souris la question du rapport entre l'action carcinogène du benzopyrène et la dose administrée. Il s'agit de concentrations croissantes allant de $\frac{1}{4}$ à $10^0/_{00}$.

Les courbes obtenues montrent qu'il existe une relation étroite entre la probabilité de cancérisation et la dose administrée, fonction de la concentration et de la durée d'action du benzopyrène. Cette relation peut être représentée par une formule.

L'examen du diagramme général obtenu par application de cette formule à toutes les séries d'expériences permet selon le procédé de *Zimmer* de conclure que des phénomènes quantiques élémentaires jouent un rôle dans l'éclosion du cancer benzopyrénique (Trefferereignis).

Riassunto

Facendo seguito ai nostri lavori, è stato esaminato nel topo il problema della proporzionalità tra dosi ed azione carcinogena benzopirene. Si adoperano concentrazioni crescenti da $\frac{1}{4}$ fino a $10^0/_{00}$.

Dall'esame dei risultati riportati in grafici, si vede che una relazione

esiste tra la possibilità di sviluppo del cancro da una parte e la concentrazione di benzopirene ed il tempo di contatto dall'altra, la quale si può esprimere sotto forma di un rapporto.

L'analisi del diagramma generale ottenuto per mezzo dell'applicazione di questo rapporto a tutte le serie esaminate fa concludere, secondo l'esempio indicato da *Zimmer*, che nella formazione del cancro da benzopirene ci sono altri elementi tipo «Trefferereignis» da considerare.

Summary

In following up their previous work the authors made a study upon mice on the question of relationship between the carcinogenic action of benzpyrene and the dose administered. They employed increasingly higher concentrations from $\frac{1}{4}$ -10⁰/₁₀₀.

The curves obtained show that there exists an intimate relationship between the probability of cancer and the dose as defined by the concentration and the duration of action of benzpyrene. One can represent these by formulas.

Examination of the general diagram obtained by application of these formulas to all series of experiments permits, according to the procedure of *Zimmer* the conclusion that "impact processes" (Trefferereignisse) play a role in the appearance of benzpyrene carcinoma.

1. *Miescher, G., Almasy, F., und Kläui, K.*: Biochem. Z, **287**, 189 (1936). *Almasy, F.*: Biochem. Z. **291**, 421 (1937). - 2. *Miescher, G., Almasy, F., und Zehender, F.*: Schweiz. med. Wschr. **71**, 1002 (1941). - 3. *Hamperl, H., Graffi, A., und Langer, E.*: Z. f. Krebsforsch. **53**, 133 (1942). - 4. *Twort, C. C., und Twort, J. M.*: Z. f. Krebsforsch. **32**, 491 (1930); Amer. J. of Cancer **35**, 80 (1939). - 5. *J. Rosicky, und Hatscheck, R.*: Z. f. Krebsforsch. **54**, 26 (1943). - 6. *Twort, C. C., und Twort, J. M.*: J. of Hygiene **29**, 373 (1930); Am. J. of Cancer **17**, 293 (1933). - 7. *Iball, J.*: Amer. J. of Cancer **35**, 188 (1939). - 8. *Zimmer, K. G.*: Naturwiss. **30**, 452 (1942); Biol. Zbl. **63**, 72 (1943). - 9. *Rous, P., und Kidd, J. G.*: J. of experim. Med. **73**, 365 (1941). - 10. *Fritzsche, H.*: Z. f. Krebsforsch. **54**, 77 (1943).