

(Aus der Abteilung für Erforschung der endokrinen Entwicklungsfaktoren
[Leiter: *W. Th. Larionov*] des Institutes für experimentelle Morphogenese
[Direktor: *R. J. Belkin*] in Moskau.)

Über den Nachweis des Vorhandenseins des Thyroxins in den Geweben hyperthyreoidisierter Tauben mit Hilfe der Kaulquappenmethode.

Von

A. A. Woitkewitsch.

(Eingegangen am 11. Mai 1935.)

Im Jahre 1926 haben *B. Zawadowsky* und *Perelmutter*⁷ vorgeschlagen, Axolotln bei der Bestimmung des Thyroxins im Blute und in den Geweben der hyperthyreoidisierten Tiere zu verwenden. Die Untersucher verabreichten den Hühnern ein Schilddrüsenpräparat und nachher implantierten sie einige Gewebe dieser Tiere den Axolotln, bei denen eine experimentelle Metamorphose beobachtet wurde. Die Untersuchungen zeigten, daß in den implantierten Geweben sich metamorphogene Stoffe ansammeln, am wahrscheinlichsten Thyroxin. Dabei wurde festgestellt, daß nicht alle Gewebe des Organismus im gleichen Grade die Fähigkeit besitzen, Thyroxin zu absorbieren. Die größte Ansammlung von wirksamen Stoffen findet im Blut, Leber und Nieren statt. In den weiteren Versuchen wurde festgestellt (*B. Zawadowsky* und *Bessmertnaja*⁸), daß sogar bei Fütterung der Hühner mit geringen Dosen getrockneter Schilddrüsen (1—2 g) die Ansammlung der aktiven Stoffe in oben genannten Organen stattfindet. Diese Daten wurden später auch an Säugetieren bestätigt von *B. Zawadowsky* und *Asimoff*⁹. *Thomas Max*³ (1934), der die „Axolotlmethode“ verwendete, erforschte eine Reihe von Fragen über die Dauer der Erhaltung des Thyroxins in den Geweben der Mäuse (in Abhängigkeit vom Charakter der Thyreoidisierung) und der Veränderungen der Eigenschaften der in den Körper der Axolotin implantierten Organteile. In den angeführten Arbeiten wurde einwandfrei bewiesen, daß es mit Hilfe der „Axolotlmethode“ möglich ist, das Vorhandensein des Thyroxins in den Geweben der hyperthyreoidisierten Tiere festzustellen.

Einer der Gründe zur Arbeit *B. Zawadowsky* und *Perelmutter*⁷, war der Umstand, daß die Versuche einiger Forscher, für die biologische Reaktion die Larven des Frosches zu verwenden, mit Mißerfolg endeten. *Romeis*⁴, der Kaulquappen mit Blut von Kaninchen und Ratten fütterte, die eine Injektion von Thyroxin bekommen hatten, beobachtete eine gewisse Beschleunigung der Metamorphose, aber nur in den wenigen Fällen, wo das Blut fast unmittelbar nach der Injektion verwendet wurde. *Abelin*¹ versuchte auch eine Beschleunigung der Entwicklung

der Kaulquappen festzustellen unter dem Einfluß von weißen Ratten eingeführten Thyroxins, erhielt aber keine positiven Resultate. Auf Grund dieser Versuche behaupteten *B. Zawadowsky* und *Pereelmutter*⁷, daß die von ihnen vorgeschlagene Methode „für die qualitative Reaktion auf Schilddrüsenhormon“ großen Vorzug vor der bis jetzt angewandten Arbeitsmethode mit den Kaulquappen des Frosches hat. Weiter führen sie noch die „Empfindsamkeit und Feinheit“ ihrer Methoden an, im Vergleich zu der Kaulquappenmethode. Sie sind der Ansicht, daß es kaum möglich ist, an Kaulquappen die Implantation der Gewebe in größerem Maßstabe auszuführen, da sie dazu zu klein sind. Die Beschleunigung der Metamorphose bei den Kaulquappen kann außerdem auch durch Einwirkungen von anorganischen Verbindungen des Jods hervorgerufen werden, während die Axolotln nach der Meinung von *B. Zawadowsky* und *Pereelmutter*⁷ nur auf komplizierte organische Präparate des Jods reagieren, die ihrer Struktur nach dem Thyroxins sehr nahe stehen. Es muß aber bemerkt werden, daß *Blacher* und *Belkin*² später bewiesen haben, daß mit krystallischem Jod bei Axolotln die Metamorphose hervorgerufen werden kann.

Wir können uns nicht damit einverstanden erklären, daß an Kaulquappen die Implantationsmethodik nicht angewandt werden kann. Die Praxis der letzten Jahre zeigte uns, daß solche Implantationen sogar an kleinen Arten von Kaulquappen möglich sind. Wir führten in dieser Zeit mehr als 6000 Operationen aus mit guten Resultaten; der Prozentsatz der mißlungenen Operationen war äußerst gering. Wir implantierten in den meisten Fällen Gewebe der Schilddrüse verschiedener Tiere von verschiedenem histologischen Bau. Durch die „Kaulquappenmethode“ konnten wir den gesetzmäßigen Zusammenhang zwischen Struktur und Funktion der Drüsen (*Woitkewitsch*⁵) feststellen, wie auch den Unterschied zwischen den Drüsen der einzelnen Tiere, sowohl in bezug auf die Menge der in ihnen enthaltenen Hormone, als auch in bezug auf ihre qualitativen Besonderheiten (*Woitkewitsch*⁶).

Zur Vervollständigung genannter Arbeiten entschlossen wir uns nachzuprüfen, ob es möglich ist, mit Kaulquappen das Vorhandensein wirkssamer Schilddrüsenstoffe in den Geweben der hyperthyreoidisierten Tiere (speziell der Vögel) festzustellen. Als Versuchstiere wurden Tauben gebraucht, denen per os im Verlauf von 5 Tagen je 0,3 g täglich und am 6. Tag eine einmalige Dosis von 1 g Thyreoidin verabreicht wurde. Nach 24 Stunden wurden die Tiere, gleichzeitig mit normalen Tauben, die als Kontrolle dienten, getötet *. Die Leber wurde herausgenommen und in Stückchen im Gewichte von 1,5 mg zerschnitten. Die Stückchen wurden sofort in die Leibeshöhle der Kaulquappen von *Rana temporaria* implantiert. Die Tiere wurden in zwei Serien zu je 45 Stück eingeteilt.

* Das Blut beider Gruppen wurde sofort gesammelt und einige Zeit bei einer Temperatur von 0° aufbewahrt.

Für den Vergleich diente noch eine dritte Serie nicht operierter Kaulquappen. Nach 12 Tagen wurden alle Kaulquappen getötet. Es wurde die Länge von Körper und Darmkanal jeder Kaulquappe wie gewöhnlich gemessen und dann nach Serien die mittlere Größe berechnet. Die erhaltenen Angaben sind in Tabelle 1 in absoluten Ziffern angeführt, in Prozenten der Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollserien.

Tabelle 1. Der Einfluß der Leber der hyperthyreoidisierten und normalen Tauben auf die Metamorphose der Kaulquappen.

Serien	Länge des Körpers der Kaulquappen		Länge des Darmkanals der Kaulquappen	
	in mm	Unterschied in % zur Kontrolle	in mm	Unterschied in % zur Kontrolle
Leber der hyperthyreoidisierten Tauben	35,5	6,0	48,4	61,4
Leber der normalen Tauben	37,6	0,5	123,6	1,2
Kontrolle der Kaulquappen	37,8	—	125,1	—

Die Versuche zeigen, daß sich in der Leber der hyperthyreoidisierten Tauben eine bedeutende Menge Stoffe befinden, die fähig sind, bei den Kaulquappen beschleunigte Metamorphose hervorzurufen. Währenddem die Kaulquappen, denen Leberstückchen von normalen Tauben implantiert wurden, die Größe ihres Körpers und Darmkanals fast nicht verändern (0,5% und 1,2%), beobachteten wir im Falle der Transplantation der Leber von Versuchstieren aktive Metamorphose (6,0% und 61,4%). Diese Daten, wie auch die gleichen Ergebnisse eines Wiederholungsversuches beweisen, daß die Kaulquappen ein guter Indicator für den Nachweis des Thyroxins in den Geweben der hyperthyreoidisierten Tiere sind.

Tabelle 2. Der Einfluß des Blutes der hyperthyreoidisierten und normalen Tauben auf die Metamorphose der Kaulquappen.

Serie	Länge des Körpers der Kaulquappen		Länge des Darmkanals der Kaulquappen	
	in mm	Unterschied in % zur Kontrolle	in mm	Unterschied in % zur Kontrolle
Blut von hyperthyreoidisierten Tauben	37,7	6,2	47,0	32,4
Blut von normalen Tauben	39,1	2,7	64,0	3,6
Kontrollaulquappen	40,2	—	66,4	—

Wir untersuchten außerdem noch das Blut der Versuchs- und Kontrolltauben. Bei der Injektion oder Implantation des geronnenen Blutes ist es technisch sehr schwierig, stets genau die gleiche Menge Blutes in

die Leibhöhle der Kaulquappen einzuführen. Deswegen wurde in diesem Fall das Blut dem Wasser zugesetzt, in welchem sich die Kaulquappen befanden; dieses wurde alle 24 Stunden gewechselt, um einer Verwesung vorzubeugen. Die Lösung war 3 g Blut auf 1 Liter Wasser; in jeder Serie waren 30 Kaulquappen, die Dauer der Beobachtung war im ersten Fall 12 Tage. Ergebnisse sind in Tabelle 2 dargestellt.

Danach ist das Blut der hyperthyreoidisierten Tiere — bei periodischer Erneuerung der Lösung — fähig, Veränderungen bei Kaulquappen hervorzurufen (6,2% und 32,4%); Blut normaler Tiere besitzt diese Eigenschaft nicht (2,7% und 3,6%).

Die Hauptaufgabe dieser Untersuchung — können die Larven des Frosches verwendet werden als Indicator für den Nachweis von Schilddrüsenstoffen in Blut und Geweben hyperthyreoidisierter Tiere — wird somit in positivem Sinne entschieden. Ohne auf weitere Einzelheiten einzugehen, können wir schon auf Grund dieser Angaben uns nicht einverstanden erklären mit *B. Zawadowsky* und *Perelmuter*⁷ bezüglich der bevorzugten Verwendung von Axolotln für diese Zwecke. Es ist bekannt, daß die Reaktion der Letzteren auf Schilddrüsenhormon starken individuellen Variationen unterworfen ist. Die Schwierigkeit der Ausnützung objektiver Metamorphoseindikatoren, die Unmöglichkeit der Verwendung von Massenmaterial und der Bedarf einer großen Menge Gewebe für die Implantation sprechen nicht für einen Vorzug der Axolotlmethode. Der einzige Nachteil der Kaulquappenmethode ist die Beschränkung der Versuche auf eine bestimmte Jahreszeit, aber dieser Nachteil wird durch eine ganze Reihe augenscheinlicher Vorteile ausgeglichen und der Termin dieser oder jener Experimente kann in den meisten Fällen der Entwicklungssaison der Kaulquappen angepaßt werden.

Schrifttum.

- ¹ *Abelin, J.*: Biochem. Z. **138** (1923). — ² *Blacher, L. u. R. Belkin*: Abh. Labor. exper. Biol. Zoopark Moskau **4** (1928). — ³ *Thomas, Max*: Roux' Arch. **131** (1934). — ⁴ *Romeis, B.*: Biochem. Z. **141** (1925). — ⁵ *Woitkevitsch, A.*: Abh. Inst. exper. Morphogen. Moskau **3** (1935). — ⁶ *Woitkevitsch, A.*: Die Analyse der gegenseitigen Beziehung der transplantierten Thyreoideagewebe und der Larven der Amphibien bei verschiedenen äußeren Verhältnissen. Zool. Jb. (1935). — ⁷ *Zawadowsky, B. u. C. Perelmuter*: Roux' Arch. **109** (1927). — ⁸ *Zawadowsky, B. u. S. Bessmertnaja*: Roux' Arch. **109** (1927). — ⁹ *Zawadowsky, B. u. G. Asimoff*: Pflügers Arch. **216** (1927).