

# Experimentelle Untersuchungen an Amphibienlarven über die Beziehungen zwischen Schilddrüse und Leber mit Hilfe von Biliselectanfüllung der Gallenblase\*.

Von

HEINZ DOETSCH, Stieldorf (Siegkreis).

(Eingegangen am 19. Juni 1947.)

## Einleitung.

In meinen Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Schilddrüse und Leber wurde erstmalig im Jahre 1943 in einer größeren Versuchsreihe an Kalt- und Warmblütern den morphologischen Veränderungen der Gallenblase größere Aufmerksamkeit geschenkt, nachdem bereits in den ersten Versuchen aus dem Jahre 1933, die zur Aufdeckung der schilddrüsenhemmenden Eigenschaften der Leber geführt haben, aufgefallen war, daß die mit Schilddrüsenpräparaten vorbehandelten Versuchstiere gegenüber den Kontrolltieren größere und gefülltere Gallenblasen aufwiesen, die bei der Präparation der Versuchstiere bereits nach dem Laparotomieschnitt regelrecht herausprangen. In den bereits angeführten Versuchen aus dem Jahre 1943 konnte dann im Reihenversuch die stärkere Füllung der Gallenblase der mit Schilddrüse vorbehandelten Versuchstiere bestätigt werden. Mikroskopisch erwies sich die Gallenblasenwand der Versuchstiere als hochgradig verdünnt, das Gallenblasenepithel als ungewöhnlich flach, nur etwa  $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{7}$  des normalen Epithels ausmachend. Die Kerne standen nicht mehr palisadenartig aneinandergereiht, sondern lagen der Gallenblasenwand epithelförmig an. Die Muscularis der Gallenblasenwand war hochgradig verdünnt. Diese Veränderungen an der Gallenblase wurden in korrelativem Zusammenhang mit gleichzeitigen Veränderungen der Leberzellen — auffällige Vergrößerung der gesamten Zellelemente — als Ausdruck einer gesteigerten sekretorischen Funktion der Leber angesehen, die unter Schilddrüsenwirkung eine hochgradige Gallenblasenfüllung bewirkt.

---

\* Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit sind eine Fortsetzung der in den Jahren 1933—1936 im Anthropologischen Institut und 1942—1943 in Verbindung mit dem Physiologischen Institut der Universität Köln angestellten Versuche. Nach Zerstörung dieser wissenschaftlichen Forschungsstätten wurde 1946 der Versuch unternommen neben praktisch ärztlicher Tätigkeit auf dem Lande diese langjährige Forschungsarbeit unter bescheideneren Verhältnissen zu weiteren neuen Ergebnissen zu führen. Diese Arbeit sei meinem Lehrer WALTER BRANDT in Birmingham in Dankbarkeit und Verehrung gewidmet.

Ausgehend von den schilddrüsenhemmenden Eigenschaften der Leber wurden nun folgende Überlegungen angestellt. Wenn die Leber unter Schilddrüsenwirkung ihre schilddrüsenhemmenden Eigenschaften mit gesteigerter Gallensekretion und vermehrter Gallenblasenfüllung entfaltet, dann ist zu erwarten, daß sich durch Einschaltung eines Gallenblasenkontrastmittels, das ja von der Leber in die Gallenblase ausgeschieden wird, diese Wechselbeziehungen an der Gallenblase ganz besonders sinnfällig manifestieren müssen. Aus diesen Gedanken heraus sind die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit entstanden.

#### *Material und Methodik<sup>1</sup>.*

Zur Untersuchung kamen insgesamt 80 *Rana esculenta*-Larven des gleichen Laichballen. Bis zum Versuchsbeginn wurden die Tiere unter gleichen Lebensbedingungen gehalten. Die Ergebnisse früherer Untersuchungen über die Wirkungsweise veränderter Umweltbedingungen, insbesondere Vitaminmangel auf Entwicklung und Wachstum von Amphibienlarven — Beschleunigung der Metamorphose — wurden in der Weise berücksichtigt, daß neben der Verfütterung von Griebß von Zeit zu Zeit frische Algen und Wasserpflanzen den Aquarien zugesetzt wurden. In der Auswahl der Versuchstiere wurde sehr sorgsam verfahren. BRANDT hat darauf hingewiesen, daß die Beobachtung der allmählich fortschreitenden Entwicklung von ganz normalem Froschlaich in der freien Natur zeige, daß ganz bestimmte Eier in der Entwicklung vorausseilen, besonders die randständigen, welche reichlicher Sauerstoff aus dem umgebenden Wasser erhalten; seien die Larven dann größer, so würden sich manche langsamer, manche schneller entwickeln, selbst wenn sie in den Tümpeln oder Aquarien unter gleichen Lebensbedingungen heranwüchsen. In eigenen Versuchen an einem großen Material ein und desselben Laichballen, dessen Entwicklung unter gleichen Umweltbedingungen vor sich ging, fanden sich neben einer durchschnittlichen Gesamtlänge von 3,21 cm, Rumpflänge von 1,04 cm, größte Breite von 0,69 cm Larven von beispielsweise 1,80 cm Gesamtlänge, 0,63 cm Rumpflänge sowie 0,36 cm größte Breite. Abgesehen davon zeigt der Vergleich der in Aquarien großgewordenen Kaulquappen mit denen, die in der freien Natur heranwuchsen, daß die in Gefangenschaft gehaltenen Tiere wesentlich größer werden und früher metamorphosieren. Diese Beobachtungen sind außerordentlich wichtig, wenn es sich um Versuche an wachsenden Tieren handelt, deren Wachstums- und Entwicklungsbesonderheiten zur Auswertung der Versuche wesentlich herangezogen werden. Viele widersprechenden experimentellen Ergebnisse dürften hierin ihre Erklärung finden. BRANDT sieht in diesen abweichenden Wachstumsverschiebungen endogene konstitutionelle Ent-

<sup>1</sup> An dieser Stelle sei Herrn VALENTIN BOQUOI für seine freundliche Unterstützung bei der Beschaffung der technischen Hilfsmittel herzlich gedankt.

wicklungsbesonderheiten, welche bestimmten Individuen eigen sind und die sich durchsetzen unabhängig von der Umgebung und der Ernährung. Soll daher an wachsenden Versuchstieren experimentell gearbeitet werden, so könne die Methodik nur die sein, gruppenmäßige Analyse an einem sehr großen Material vorzunehmen. Es komme dabei nicht auf die Durchschnittsmasse an, sondern auf den Ausfall der Reaktion gleichwertiger Gruppen. Es wurden daher immer diejenigen Versuchstiere in einer Versuchsreihe zusammengestellt, die sich somatometrisch nach den Kriterien der Formbildung, des Wachstums und der Differenzierung am nächsten standen.

Biliselectan wurde mittels Stampfer zerkleinert und zusammen mit Schilddrüse und Grieß je nach den Versuchen nach drei vorausgegangenen Hungertagen zur Verfütterung gebracht. Als Schilddrüsenpräparat wurde Elityran in Tabletten zu 10 ME verwandt. Die Messung der Tiere mußte in Ermangelung von Aceton-Chloroform ohne Narkose vorgenommen werden. In einer Petrischale, die so weit mit Wasser angefüllt war, daß der Körper der Tiere gerade bedeckt war, ließ sie sich relativ gut durchführen. Die Messung der Gallenblase wurde mit einem arretierbaren kleinen Zirkel nach Präparation vorgenommen. Die Tötung der Tiere geschah durch Dekapitation.

### *Ergebnisse.*

*I. Versuchsreihe:* Es wurden 2 Versuche mit je 10 Versuchs- und Kontrolltieren angesetzt.

*1. Versuch.* Die Versuchstiere erhielten auf 500 ccm Wasser 30 Einheiten Biliselectan, die Kontrolltiere lediglich Grieß. Nach 3 Tagen waren 7 Versuchstiere tot, sämtliche Kontrolltiere lebten. Die Gallenblase der Biliselectantiere war fast doppelt so groß wie die der Kontrolltiere; bereits bei der Präparation fiel sie als vergrößertes Organ mit grüner Galle gefüllt nach dem Laparotomieschnitt vor. Die Gallenblase der Kontrolltiere dagegen war schlaff und nicht so grün, in vielen Fällen farblos.

Tabelle 1. *Durchschnittliche Maßzahlen der Versuchs- und Kontrolltiere zu Beginn des Versuches. Gallenblasenmessung am Ende des Versuches.*

|                            | Versuchstiere | Kontrolltiere |
|----------------------------|---------------|---------------|
|                            | 4. 5. 46      |               |
| Gesamtlänge . . . . .      | 3,27 cm       | 3,23 cm       |
| Rumpflänge . . . . .       | 1,17 „        | 1,14 „        |
| größte Breite . . . . .    | 0,75 „        | 0,73 „        |
|                            | 6. 5. 46      |               |
| Gallenblasenlänge . . . .  | 3,23 mm       | 1,86 mm       |
| Gallenblasenbreite . . . . | 2,71 „        | 1,46 „        |

*2. Versuch.* Die Versuchstiere erhielten auf 500 ccm Wasser 30 Einheiten Biliselectan, 2 Tabletten Elityran mit Grieß vermischt. Die

Kontrolltiere erhielten 2 Tabletten Elityran mit Grieß. Nach 3 Tagen waren sämtliche Versuchs- und Kontrolltiere noch lebend. Die Versuchstiere zeigten somatisch Zeichen einer einsetzenden Schilddrüsenwirkung, während die Kontrolltiere keinerlei diesbezügliche Zeichen aufwiesen. Die größten Gallenblasen hatten die Versuchstiere, sie waren aber nicht so groß wie bei alleiniger Biliselectanverabreichung. Bei der Präparation waren die Gallenblasen der Versuchstiere dieses 2. Versuches gegenüber den Versuchstieren des 1. Versuches, wenn auch sie sehr stark gefüllt waren, mehr verborgen und zeigten eine nicht so intensive grüne Farbe. Die Gallenblasen der Kontrolltiere waren schlaffer und mehr farblos.

Tabelle 2. *Durchschnittliche Maßzahlen der Versuchs- und Kontrolltiere zu Beginn des Versuches. Gallenblasenmessung am Ende des Versuches.*

|                              | Versuchstiere | Kontrolltiere |
|------------------------------|---------------|---------------|
|                              | 4. 5. 46      |               |
| Gesamtlänge . . . . .        | 3,14 cm       | 3,23 cm       |
| Rumpflänge . . . . .         | 1,13 „        | 1,14 „        |
| größte Breite . . . . .      | 0,76 „        | 0,77 „        |
|                              | 6. 5. 46      |               |
| Gallenblasenlänge . . . . .  | 2,74 mm       | 1,86 mm       |
| Gallenblasenbreite . . . . . | 2,16 „        | 1,53 „        |

II. *Versuchsreihe*: Es wurden 2 Versuche mit je 10 Versuchs- und Kontrolltieren angesetzt.

3. *Versuch*. Die Versuchstiere erhielten auf 500 ccm Wasser 60 Einheiten Biliselectan mit 2 Tabletten Elityran und Grieß vermischt. Die Kontrolltiere erhielten auf 500 ccm Wasser 60 Einheiten Biliselectan mit 4 Tabletten Elityran und Grieß vermischt. Nach 4 Tagen waren sämtliche Versuchstiere tot, während sämtliche Kontrolltiere lebten. Die Kontrolltiere zeigten bereits ohne Messung stärkere Metamorphosezeichen als die Versuchstiere. Die Gallenblasen der toten Versuchstiere waren stark gefüllt, aber mehr schlaffwandig und mit weniger gefärbter Galle gefüllt. Die Gallenblasen der Kontrolltiere, die nach Tötung der

Tabelle 3. *Durchschnittliche Maßzahlen der Versuchs- und Kontrolltiere zu Beginn und am Ende des Versuches einschließlich der Gallenblasenmessung.*

|                              | Versuchstiere |          | Kontrolltiere |          |
|------------------------------|---------------|----------|---------------|----------|
|                              | 6. 5. 46      | 9. 5. 46 | 6. 5. 46      | 9. 5. 46 |
| Gesamtlänge . . . . .        | 3,21 cm       | 3,04 cm  | 3,20 cm       | 3,11 cm  |
| Rumpflänge . . . . .         | 1,12 „        | 1,11 „   | 1,13 „        | 1,03 „   |
| größte Breite . . . . .      | 0,78 „        | 0,75 „   | 0,74 „        | 0,68 „   |
| hintere Extremitäten . . .   | —             | 2,80 mm  | —             | 3,20 mm  |
| Gallenblasenlänge . . . . .  | —             | 3,06 „   | —             | 2,63 „   |
| Gallenblasenbreite . . . . . | —             | 2,72 „   | —             | 2,18 „   |

Tiere zur Untersuchung gelangten, waren weniger gefüllt wie die der Versuchstiere, aber mehr prall und mit grünlicher, zum Teil dunkelgrüner Galle gefüllt.

III. *Versuchsreihe*: Es wurden 2 Versuche mit je 10 Versuchs- und Kontrolltieren angesetzt.

4. *Versuch.* Die Versuchstiere erhielten auf 1000 ccm Wasser 15 Einheiten Biliselectan mit 1 Tablette Elityran und Grieß vermischt. Die Kontrolltiere erhielten 15 Einheiten Biliselectan mit 2 Tabletten Elityran und Grieß vermischt. Nach 9 Tagen war bereits ohne Messung eine stärkere Schilddrüsenwirkung bei den Kontrolltieren erkennbar; sie hatten auch die größten Gallenblasen. Die Gallenfarbe der Versuchstiere war giftgrün und deckfarben, die der Kontrolltiere mehr olivgrün und durchscheinender.

Tabelle 4. Durchschnittliche Maßzahlen der Versuchs- und Kontrolltiere zu Beginn und am Ende des Versuches einschließlich der Gallenblasenmessung.

|                                | Versuchstiere |           | Kontrolltiere |           |
|--------------------------------|---------------|-----------|---------------|-----------|
|                                | 11. 5. 46     | 19. 5. 46 | 11. 5. 46     | 19. 5. 46 |
| Gesamtlänge . . . . .          | 3,31 cm       | 2,78 cm   | 3,19 cm       | 2,13 cm   |
| Rumpflänge . . . . .           | 1,18 „        | 0,99 „    | 1,16 „        | 0,92 „    |
| größte Breite . . . . .        | 0,78 „        | 0,60 „    | 0,77 „        | 0,57 „    |
| hintere Extremitäten . . . . . | —             | 5,10 mm   | —             | 4,80 mm   |
| Gallenblasenlänge . . . . .    | —             | 1,51 „    | —             | 1,61 „    |
| Gallenblasenbreite . . . . .   | —             | 1,32 „    | —             | 1,55 „    |

### Besprechung der Versuche.

Der Übersicht halber seien die Ergebnisse zunächst einmal tabellarisch zusammengestellt.

*Übersichtstabelle.*

[illegible]

Die Verabreichung von 30 Einheiten Biliselectan zeitigt die größten Gallenblasen, bringt die Versuchstiere aber bereits am 3. Tage ad exitum. Die gleiche Menge Biliselectan in Verbindung mit 2 Tabletten Elityran zeitigt weniger große Gallenblasen als bei alleiniger Biliselectanverabreichung; sie sind aber immer noch bedeutend größer als die der Normaltiere. Elityran in der angegebenen Dosierung und Einwirkungszeit allein zeitigt eine nur wenig breitere Gallenblase als die der Normaltiere. Die Kombination von 30 Einheiten Biliselectan mit 2 Tabletten Elityran hat die Versuchstiere am Leben erhalten. Bei der zweifach letalen Biliselectandosis von 60 Einheiten in Verbindung mit 2 Tabletten Elityran bleiben die Tiere einen Tag länger lebend, ihre Gallenblase ist hochgradig erweitert und gefüllt. Mit 4 Tabletten Elityran gelang es, die Tiere bei 60 Einheiten Biliselectan lebend zu erhalten. Ihre Gallenblasen sind immer noch als hochgradig gefüllt zu bezeichnen.

Die größten Gallenblasen hatten die Biliselectantiere, an zweiter Stelle kamen die Versuchstiere Biliselectan plus Elityran, an dritter Stelle die Elityran- und zuletzt die Normaltiere.

Die Befunde der vorliegenden Versuche fügen sich sehr schön in das Bild der bisher gewonnenen experimentellen Ergebnisse über die schilddrüsenhemmenden Eigenschaften der Leber ein und werden wie folgt erklärt. Nach Schilddrüsenapplikation tritt eine Hyperplasie der Leberzellen sowie eine hochgradig gefüllte Gallenblase als Ausdruck gesteigerter Lebertätigkeit auf, die darauf abzielt, die Schilddrüsenwirkung zu hemmen. Durch Kombination von Biliselectan mit Elityran, einem Schilddrüsenpräparat, gerät die Leber in dem Bemühen, die zugeführte Schilddrüse zu hemmen in einen gesteigerten Funktionszustand, als deren Folge gleichzeitig eine schnellere und intensivere Ausscheidung des Biliselectans resultiert, so daß es zu keiner toxischen Biliselectanschädigung mit letalem Ausgang kommt. Wenn diese Erklärung zu Recht besteht, dann mußte sich auch eine geeignete Kombination von Biliselectan mit Schilddrüse finden lassen, bei der diese Zusammenhänge im Experiment deutlich werden. In der III. Versuchsreihe konnte gezeigt werden, daß bei 15 Einheiten Biliselectan mit 1 Tablette Elityran die Versuchstiere über lange Zeit lebend erhalten werden konnten und durch Erhöhung der Elityrangabe eine größere Ausscheidung in die Gallenblase erfolgte.

*In ihrem Bemühen die zugeführte Schilddrüse zu entgiften, zeitigt die Leber gleichzeitig eine intensivere Ausscheidung zugeführten Biliselectans und vermag selbst letale Dosen von Biliselectan bei entsprechender Erhöhung der Schilddrüsenangaben zu paralysieren und vermindert auf diese Weise seine in höheren Dosen auftretende toxische Wirkung.*

Neben der Bedeutung für die Wechselbeziehungen zwischen Schilddrüse und Leber, die mit diesen Versuchsergebnissen eine weitere experi-

mentelle Stützung und Vervollständigung erfahren haben, dürften die gezeitigten Ergebnisse nicht ohne Bedeutung für die *Klinik der Gallenblasenerkrankungen* sein, die mit zu den häufigsten Affektionen der intraabdominalen Organe zählen, insbesondere für die Kontrastmitteldarstellung bei *Schilddrüsenerkrankungen*.

#### *Zusammenfassung.*

An 80 konstitutionell gleichwertigen Amphibienlarven wurde in Fortführung früherer experimenteller Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Schilddrüse und Leber mit Hilfe der Gallenblasenfüllung mittels Biliselectan ein weiterer Beitrag für die Wechselbeziehungen zwischen diesen beiden Organen erbracht. Biliselectan in großer Dosierung führt zu hochgradiger Gallenblasenfüllung mit tödlichem Ende der Versuchstiere. Diese toxische Biliselectanwirkung läßt sich durch gleichzeitig verabreichte entsprechend dosierte Schilddrüsensubstanz aufheben. Es wurde eine Kombination von Biliselectan mit Schilddrüse ermittelt, bei der die Versuchstiere die größten Gallenblasen aufwiesen und lebend blieben. Die Ergebnisse wurden unter Berücksichtigung früherer experimenteller Schilddrüsenuntersuchungen mit Veränderungen der Leberzellen und der Gallenblasenwand als Ausdruck einer durch Schilddrüse funktionell gesteigerten Leber angesehen, die, in ihrem Bemühen die zugeführte Schilddrüse abzuschwächen, gleichzeitig eine intensivere Ausscheidung von Biliselectan herbeiführt und damit in der Lage ist, bei gesteigerter Kombination mit Schilddrüse eine toxische oder letale Biliselectanwirkung aufzuheben.

#### **Literatur.**

BRANDT, W.: Biol. gen. (b.; Ö.) 9 (1933). — DOETSCH, H.: Biochem. Z. 279, H. 3/4 (1935). — Z. exper. Med. 103, H. 1 (1938); 112, H. 3 (1943).

---