Weitere Untersuchungen über die Wirkung inkretorischer Drüsensubstanzen auf die Morphogenie.

II. Neotenie und gesteigertes Wachstum nach Thyreoidektomie bei Larven von *Rana fusca*. Wiederbeginn der Fortentwicklung durch Verfütterung von Rinderschilddrüse.

Von

Werner Schulze.

(Aus der Anatomischen Anstalt in Heidelberg.)

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. April 1922.)

Gegenüber einer Anzahl von Veröffentlichungen der letzten Zeit, die den Wert des Massenexperimentes in der Entwicklungsmechanik besonders betonen (ich erinnere z. B. an *Dürken*), scheinen mir die nachfolgenden Untersuchungen den großen Wert des individualisierenden Einzelexperimentes zur Entscheidung gewisser Fragestellungen in der Entwicklungsmechanik zu zeigen. Es handelt sich um Versuche der Exstirpation von Schilddrüsenanlagen bei *Rana fusca*-Larven, die ich im Sommer 1921 ausführte, um durch nachfolgende Fütterung mit Schilddrüsensubstanz das experimentum crucis für die Wirksamkeit von Schilddrüse auf heranwachsende Froschlarven zu liefern. Die Versuche waren schon 1920, allerdings ergebnislos, begonnen worden. Ich hatte damals gehofft, mit ganz jungen Larven arbeiten zu können und Tiere kurz nach Schluß des Medullarrohres operiert. Dabei zeigte sich aber, daß nie die isolierte Entfernung des Materials für die spätere Schilddrüse gelang, sondern daß stets das Material der Herzanlage teilweise oder vollständig mitentfernt wurde. Ich erhielt partiell oder vollständig herzlose Larven, deren Lebenszeit begrenzt war, da sie stets nach ca. 14 Tagen, nach vollständigem Aufbrauch ihres Dottermaterials, sobald Nahrungs- und Wasseraufnahme durch den Darm einsetzten, unter Ausbildung eines starken Ödems zugrunde gingen. Erst im vergangenen Jahre gelang mir die Operation an älteren Larven. Gleichzeitig mit mir haben Amerikaner (*Allen* 1920, *Hoskins* 1920 und *Fulton* 1921) die Frage zu lösen gesucht, wie ich aus kurzen Referaten ihrer Arbeiten in den *Springerschen* Berichten für Physiologie ersehe. Es erhöht den Wert ihrer und meiner Untersuchungen, daß unsere Ergebnisse im wesentlichen übereinstimmen. Leider ist es mir trotz meiner Bemühungen nicht gelungen, ihre Originalarbeiten in die Hand zu bekommen, so daß ich über ihre

Operations- und Untersuchungstechnik nichts aussagen kann. Von andern Gesichtspunkten ausgehend, hat sich bereits *Leo Adler* vor einigen Jahren mit der Exstirpation endokriner Drüsenanlagen bei Froschlarven beschäftigt. Durch Entfernung der Hypophyse wie Epiphyse, konnte er eine »bedingte Neotenie« hervorrufen, die er allerdings nicht länger wie sechs Monate beobachten konnte, da dann seine Versuchstiere eingingen. Die Entfernung der beiderseitigen Thymusanlage hatte keinen Einfluß auf Wachstum und Metamorphose der Versuchslarven. *Adler* hat auch schon versucht, die Schilddrüsenanlagen zu entfernen, doch scheiterten seine Bemühungen an der Unvollkommenheit seiner Technik. Bei allen seinen Arbeiten hat *Adler* das Massenexperiment bevorzugt und mit dem Galvanokauter gearbeitet. Dieser Methode haften eine ganze Reihe von Fehlerquellen an. Einerseits arbeitet man nicht unter direkter Leitung des Auges, was trotz genauen Schnittserienstudiums bei *Adlers* Versüchen zur Folge hatte, daß ihm stets nur ein ganz geringer Promillesatz seiner Versuchstiere den erwünschten Erfolg gab, während bei allen übrigen die Organanlagen nur partiell entfernt waren, andererseits gibt es durch den Glühstift eine ganze Reihe von Nebenschädigungen, die ihrerseits eine so starke Allgemeinschädigung der Versuchstiere zur Folge haben, daß ein Massensterben nach der Operation einsetzte. So hat *Adler* z. B. von 950 Versuchstieren, denen er die Thymusanlagen entfernte, nur bei drei Tieren ohne Nebenschädigungen beiderseits diese Organe vollständig beseitigt, und bei der Exstirpation der Hypophyse war das Verhältnis der gelungenen Operationen zur Gesamtzahl der operierten Tiere sogar noch ungünstiger.

Bei allen andern Tieren war entweder die Operation nicht vollständig gewesen, oder die Allgemeinschädigungen waren so schwerer Natur, daß die Tiere in kurzer Frist starben. Demgegenüber konnte es für mich von vornherein nicht zweifelhaft sein, daß an Stelle des Glühstiftes die mikrochirurgische Operation treten mußte. Mit feinsten Stahlnadeln und Uhrmacherpinzetten arbeitete ich unter der *Braus-Drünerschen* Lupe unter direkter Leitung des Auges. Meine Versuchsergebnisse sind so bessere gewesen. Von 25 operierten *Rana fusca*-Larven gelang mir die Operation bei sechs Tieren vollständig. Von den übrigen gingen 14 Tiere an den Allgemeinschädigungen durch die Operation vor Vollendung der Metamorphose zugrunde. Daß ich vier von den sechs vollständig operierten Tieren doch noch verloren habe, ist auf einen unglücklichen Zufall zurückzuführen. Die Tiere befanden sich in einer Tonschale, die schon den zweiten Sommer zur Aufzucht von Froschlarven diente. In einer Nacht bildete sich durch Auflösung einer Stelle in der Glasur ein Loch, so daß die Tiere am andern Morgen infolge Leerlaufens der Versuchsschale vertrocknet

waren. Bevor ich die topographisch-anatomischen Verhältnisse für die Ausführung der Operation beschreibe, will ich berichten, daß bei den beiden überlebenden Versuchstieren eine vollständige Hemmung der Weiterentwicklung auftrat, d. h. nach der Operation ist die Verwandlung der Tiere überhaupt nicht mehr vorangegangen. Unter starker Zunahme ihrer Größe blieben beide auf dem Entwicklungszustand vor der Operation stehen, während die Kontrolltiere, die aus demselben Laichballen stammten, normal metamorphosierten. Es war natürlich dafür gesorgt worden, daß nur möglichst kräftige, gleich große und gleich weit entwickelte Tiere als Versuchs- und Kontrolltiere genommen wurden. Bei einem Teil der Tiere war, wie die nachfolgende histologische Untersuchung zeigte, die Entfernung der Schilddrüsenanlagen keine vollständige gewesen. Diese Tiere metamorphosierten, wie die Kontrollen, nur bei einigen trat eine kleine Verzögerung von 8–10 Tagen bis zum Abschluß der Metamorphose auf. Die partiell thyreoidektomierten Tiere sind mir eine willkommene Kontrolle dafür gewesen, daß die Entwicklungshemmung der übrigen Versuchstiere nicht auf eine Allgemeinschädigung durch die Operation zurückzuführen ist, denn deren Ausführung ist naturgemäß bei allen Tieren möglichst gleichartig gewesen. Eines der beiden vollständig neotenischen Tiere erhielt 10 Wochen nach der Operation Rinderschilddrüse eine ganz kurze Zeit und in kleiner Menge zu fressen. Es begann darauf zu metamorphosieren, wobei die Metamorphose aber nur soweit auftrat, als es sich um Umwandlungs- und Aufbauprozesse handelte. Die Rückbildung des Schwanzes, die Abstoßung des larvalen Fraßapparates blieb aus. Im Dezember wollte ich durch weitere Fütterung von Schilddrüse diese partielle Metamorphose wieder neu anregen. Die Fütterung mit Schilddrüse schädigte das Tier aber so, daß es sehr matt wurde und starb. Gleich nach Aufhören von reflektorischen Abwehrbewegungen auf Reize hin, wurde das Tier fixiert, um es nicht für die histologische Untersuchung zu verlieren. Das zweite neotenische Tier, das sich zu einer Riesenquappe entwickelt hat, ist heute noch auf genau demselben Entwicklungsstadium, wie im Juni vorigen Jahres. Da der Laichballen, aus dem es stammt, Anfang April vorigen Jahres gesammelt wurde, ist das Tier ein ganzes Jahr alt.

Das Material zu meinen Versuchen waren *Rana fusca*-Larven aus den Dossenheimer Teichen. Anfang April 1921 wurden dort mehrere Laichballen der späteren Furchungsstadien, sämtlich vor der Gastrulation, gesammelt. Die Aufzucht erfolgte nach Trennung der Laichballen in flachen Tonschalen, die sich schon bei meinem Epithelkörperfütterungsversuchen sehr bewährt hatten. Bei der Beschreibung der Methodik jener Arbeit ist die Aufzucht der Larven genauer beschrieben. Erwähnen will ich hier nur noch einmal, daß die Tiere

in abgestandenem Büttenwasser gehalten wurden, das reichlich Kleinfafauna und faule Blätter enthielt. Als Futter wurde zu dieser Pflanzekost noch Rinder- und Froschfleisch gegeben.

Die ersten Exstirpationsversuche der Schilddrüsenanlagen waren 1920 bei ganz jungen Larven resultatlos verlaufen. Ich hatte damals mit ganz jungen Tieren, kurz nach Schluß des Medullarrohres gearbeitet und dabei stets außer dem Material für die Schilddrüsen noch Material anderer lebenswichtiger Organe entfernt, so daß die Tiere nicht vollständig aufgezogen werden konnten. Im Frühjahr 1921 unternahm ich nun zunächst Vorversuche an fixiertem Material. Dabei zeigte es sich, daß jüngere Froschlarven, kürzere Zeit nach Verlassen der Eihüllen, zu meinen Versuchen unbrauchbar waren. Diese Tiere sind im allgemeinen zwar widerstandsfähiger, doch sind die Anlagen der Schilddrüse so winzig, daß es selbst bei genauester Kenntnis der topographischen Verhältnisse schwer hält, sie unter der Lupe aufzufinden. Ich operierte deshalb alte Larven, die zwar etwas labiler sind, bei denen aber die Schilddrüsenanlagen weiter entwickelt und infolgedessen bei der Operation besser sichtbar sind. Die Maße der operierten Tiere sind folgende: größte Körperlänge 11 mm, größte Körperbreite 6 mm, Schwanzlänge 15 mm. Entsprechend ihrer Größe sind die hinteren Extremitäten dieser Tiere schon ziemlich groß. Ober-, Unterschenkel, Fuß und Zehen sind gestaltlich im Groben schon ausdifferenziert, die Beine werden in leichter Abduktionsstellung, mit leicht gebeugten Knien gehalten. Im übrigen zeigen die Tiere aber noch alle Merkmale von Froschlarven auf der Höhe ihrer larvalen Entwicklung. Die Körperform ist ovoid mit spitz kegelförmigem Kopfe, die Farbe, Pigmentverteilung, Augenstellung und Ausbildung der Seitenlinie sind larval, ebenso der Fraßapparat. Durch die dünnen Bauchdecken schimmert eine große, mehrtourige Darmspirale durch. Der lange Ruderschwanz hat einen breiten Flossensaum. Die Operationstiere und ihre Kontrollen waren gleichgroße, kräftige Exemplare eines einzigen Laichballens, auf dem eben gekennzeichneten Entwicklungsstadium.

Die Kleinheit der zu entfernenden Organe erfordert eine genaue Kenntnis der topographisch-anatomischen Verhältnisse. Die Lage der Schilddrüsenanlagen studierte ich an der Hand von Schnittserien normaler Froschlarven. Dazu kamen Voroperationen an fixiertem Material. In seiner Arbeit über Hypophysenexstirpation gibt *Leo Adler* (S. 25) eine Tabelle für die Lage der einzelnen endokrinen Drüsen, indem er ihren Abstand von der Schnauzenspitze in μ bestimmt. In einer zweiten Tabelle (S. 26) folgt eine Angabe der sagittalen Längenausdehnung der einzelnen Drüsen. Ich entnehme dieser die Maße für die Schilddrüse. Bei Tieren von 20—40 mm Länge

beträgt die Länge der Schilddrüsenanlage 0,07—0,24 mm. Eigene Messungen ergaben mir für meine Operationstiere etwas größere Maße, 0,26—0,3 mm Schilddrüsenlänge, was mit lokalen Rasseverschiedenheiten zusammenhängen kann. Bei seinen Exstirpationsversuchen arbeitete *Adler* rein schematisch nach Vorherbestimmung der Lage der endokrinen Drüsen in Schnittserien, ohne Leitung des Auges. Die dadurch bedingten Ungenauigkeiten glich er durch eine sehr große

Abb. 1. Lageskizze der beiden Schilddrüsenanlagen bei *Rana fusca*. Vergr. $13\frac{1}{2}:1$.

Zahl von Operationstieren aus. Ich habe im Gegensatz dazu wenige Tiere unter genauer Leitung des Auges und Zuhilfenahme der *Braus-Drünerschen* binokularen Lupe operiert. Über die Lage der beiden Schilddrüsenanlagen orientiert Abb. 1. Entfernt man die Haut und das Unterhautgewebe an der Ventralseite des Halses, so kommt man auf ein breites Querband, das durch den M. subhyoideus gebildet wird. Schiebt man diesen bauchwärts zurück und reseziert ihn, so gelangt man nach Entfernung des lockeren Bindegewebes in eine viereckige Tasche. Die Grenzen bilden maulwärts die Halbrundung des

M. submentalis, beiderseits lateral die Mm. geniohyoidei. An ihrem Rand verlaufen die großen Halsgefäße kopfwärts. Bauchwärts bildet die Grenze der kraniale Rand des Herzbeutels. Rechts und links wird dieses Gebiet mehr oder weniger weit von den Kiemenhöhlen überlagert, in denen man in unserer Abb. die vorderen Extremitäten durchscheinend liegen sieht. Der Boden der ganzen Grube wird durch das Hyoid und die darunter liegende vordere Pharynxwand gebildet. Ersteres ist beim lebenden Tier schlecht sichtbar. Von der Herzbasis aus ziehen beiderseits die beiden ersten Kiemenarterienbögen lateralwärts. Kranial und etwas dorsal von diesen beiden Gefäßen liegen die beiden Schilddrüsenanlagen, die dem Zungenbein und seiner medianen Copula ziemlich fest angeheftet sind. Abwärts reichen die beiden Thyreoideahälften mehr oder minder weit hinter den Herzbeutel und die Kiemengefäße hinunter, was ihre Entfernung beträchtlich erschwert. Aus dieser Lagebeschreibung geht hervor, daß einerseits das Aufsuchen der beiden Organe in ihrer versteckten, tiefen Lage nicht ganz einfach ist; andererseits ist die Möglichkeit vieler Nebenverletzungen gegeben. Individuelle Lagevariationen können das Operationsgebiet noch schwerer zugänglich machen. Wenn auch meine Resultate bei weitem bessere sind, als die *Adlers*, so ist doch zuzugeben, daß meine Operationstechnik sehr unter der Möglichkeit lebensgefährlicher Nebenverletzungen leidet.

Ich arbeitete bei etwa zwanzigfacher Vergrößerung. Die Tiere wurden in verdünntem Choroformwasser oder dünner Chloretonlösung (*Merck*) annarkotisiert. Sie kamen dann in eine flache Operationschale, wo ich sie in Rückenlage auf ein Wattepolster legte, wobei die Tiere aber unter dem Flüssigkeitsspiegel lagen. Die Operationschälchen waren mit sterilisierter, luftdurchschüttelter Ringerlösung gefüllt. In einem Standglas mit Bodenablauf in etwa $\frac{1}{2}$ m Höhe über dem Operationsfeld hatte ich ebenfalls sterile Ringerlösung. Durch einen Schlauchansatz mit anschließender Glaskapillare schuf ich mir einen Dauerspüler für mein Operationsgebiet, den ich gleichzeitig als stumpfen Haken gebrauchen konnte. Zu dem Eingriff benötigte ich außer einigen feingeschliffenen Starmesserchen, die ich unter der Lupe schärfte, eine Scherenpinzette, eine chirurgische Nadel in einem Halter sowie ein paar gut schließende, hohlgeschliffene Uhrmacherpinzetten und kleine stumpfe Glashaken.

Durch einen breiten Querschnitt über dem kranialen Rand des durch die Haut durchschimmernden M. subhyoideus schuf ich mir einen breiten Zugang. Den Muskel selbst schob ich herzwärts zurück. Verletzen darf man ihn und die anderen Zungenbeinmuskeln nicht, da die Larven sonst nicht fressen und bald eingehen. Unter Vermeidung von Verletzungen der Hals- und Kiemengefäße sowie des Herzbeutels

werden die beiden Schilddrüsenanlagen, die als glänzende opake Würstchen oder mehr kugelige Gebilde in der Tiefe sichtbar sind, mit Uhrmacherpinzetten angezogen und mit der chirurgischen Nadel oder dem Starmesser abgetrennt. Die konstante Spülung mit steriler Ringerlösung sorgt durch die Entfernung von Blut- und Gewebssaft für Übersichtlichkeit in der Tiefe der Wundhöhle. Sind die beiden Schilddrüsenanlagen gelöst, so werden sie schon durch den Strom der Ringerlösung hinausgespült. Als tödliche Nebenverletzungen erhielt ich bei meinen ersten Versuchen Verwundungen der Kiemenhöhlen, der Hals- und Kiemengefäße, sowie gröbere Beschädigungen der Kau-muskeln, die ich aber nach und nach sämtlich vermeiden konnte. Sind die Schilddrüsen entfernt, so schließt man Haut und oberflächliches Gewebe durch 1—2 Haarnähte zusammen. Die Tiere kommen nach der Operation in Klebsschalen mit Ringerlösung, die durch konstante Lüftung frisch gehalten wird. Hier pflegen sie bald aus der Narkose aufzuwachen und bleiben 24—36 Stunden in der Ringerlösung. Darauf werden sie wieder in Aquarien mit gewöhnlichem Wasser zurückgebracht.

In dieser Art operierte ich im Juni 1921 25 *Rana fusca*-Larven des oben beschriebenen Entwicklungsstadiums (F-Serie). Bei den ersten 13 Tieren erhielt ich soviel Nebenverletzungen, daß sie innerhalb der ersten 14 Tage nach der Operation sämtlich eingingen. Bei einigen hatte ich allerdings während der Operation keine Nebenverletzung bemerkt, und kann mir deshalb ihren Tod nicht recht erklären. Bei den letzten 12 Tieren erhielt ich ein bedeutend besseres Resultat. Ich verlor kein Tier durch direkte Operationsschädigungen. Wie es aber zu gehen pflegt, habe ich noch durch zwei Unglücksfälle fünf Tiere verloren. Bei vier von ihnen konnte man allerdings schon aussagen, daß die Operation gelungen war.

Aus den Protokollen entnehme ich folgendes:

17. VI. abends werden sechs *Rana fusca*-Larven des oben beschriebenen Entwicklungsstadiums (F 14—19) in Chloroformwassernarkose operiert. Soweit es die direkte Beobachtung bei der Operation entscheiden läßt, gelingt bei ihnen die doppelseitige Schilddrüsenentfernung ohne größere Nebenverletzungen. Nur bei einem Tiere wird eine Kiemenhöhle eröffnet, ohne Blutung. Bei einem zweiten gibt es eine kleine Verletzung der vorderen Pharynxwand.

18. VI. Sämtliche Tiere sind aus der Narkose erwacht und bis auf eins, das etwas matt ist, sehr munter. Sie werden in durchlüfteten Ringerschalen gehalten.

19. VI. Versuchstiere und Kontrollen kommen in Aquarien mit gewöhnlichem Wasser, sowie Pflanzen und Fleischnahrung zurück.

20. VI. Die sechs Tiere leben sämtlich, fressen gierig.

22. VI. F 14—19 wohl auf, werden aus der Durchlüftungsanlage herausgebracht. Neuoperation von sechs weiteren *Rana fusca*-Larven (F 20—25). Diese Tiere sind etwas größer als die der ersten Gruppe. Körperlänge 14 mm, Breite 8 mm, Schwanzlänge 17 mm. Die Entwicklung entspricht vollständig

derjenigen der Tiere der ersten Gruppe. Mittags erwachen die Tiere aus der Narkose und kommen ebenso wie die Kontrolltiere, in Klebsschalen mit steriler Ringerlösung.

23. VI. Sämtliche operierten Tiere leben, fressen gierig von angebotener Eigelb-Trockenmilchnahrung.

25. VI. Operationswunden sind, wie Lupenbetrachtung zeigt, sämtlich ausgeheilt.

27. VI. Auch die zweite Gruppe von Operationstieren wird aus der Durchlüftungsanlage entfernt. Die sechs Tiere der ersten Gruppe, wie die der zweiten, sind jedesmal in einer Schale vereinigt. Ebenso je sechs Kontrollen, so daß wir im ganzen vier Schalen zu notieren haben.

29. VI. Ein Tier der ersten Gruppe ist aus der Schale gesprungen und eingetrocknet. Es wird zusammen mit einer Kontrolle entfernt. Bei den übrigen Versuchs- und Kontrolltieren ist eine mäßige Zunahme von Körpergröße und Größe der hinteren Extremitäten zu bemerken. Differenzen zwischen operierten Tieren und Kontrollen sind nicht vorhanden.

1. VII. Beginn der Metamorphose mit Freiwerden der vorderen Extremitäten bei einem Kontrolltier der zweiten Gruppe. Drei weitere Kontrollen verweigern die Nahrungsaufnahme. Diese vier Tiere kommen in ein Ausschlupfaquarium. Die operierten Tiere der ersten Gruppe sind gewachsen, ihre hinteren Extremitäten haben sich gegenüber der Entwicklung zur Zeit des Operationstermins nicht weiter ausdifferenziert, wohingegen die der Kontrolltiere weiter gewachsen sind und in Farbe und Form Weiterdifferenzierung zeigen.

11. VII. Von den Kontrolltieren der ersten Gruppe beginnt eins die Metamorphose, desgleichen ein Versuchstier derselben Gruppe. Da ein Tier dieser Gruppe verunglückt war, bleiben außerdem noch vier weitere übrig, die absolut auf dem Entwicklungszustand des Operationstermins verharren, sowohl was Körper- wie Kopfform als auch Extremitätendifferenzierung anlangt. Dabei sind die Tiere munter und fressen viel.

Zweite Gruppe. Drei Kontrollen haben die Metamorphose abgeschlossen, eine vierte hat sich ebenfalls, bis auf einen kleinen Schwanzstummelrest, zu einem fertigen Fröschen entwickelt; der Metamorphosebeginn bei der fünften kündigt sich durch Fraßunlust an. Von den Versuchstieren hat eines ebenfalls die Metamorphose begonnen (linke vordere Extremität frei, Kopf-, Körperform, Zeichnung, Augenstellung wie beim fertigen Fröschen). Von den fünf übrigen Tieren hat bei einem die Ausbildung der hinteren Gliedmaßen Fortschritte gemacht, während die restlichen vier Tiere keine Veränderung gegen den Operationstermin zeigen.

14. VII. Von der ersten Gruppe hat je ein Kontroll- und ein Versuchstier Metamorphose vollendet, von der zweiten Gruppe ein Versuchs- und vier Kontrolltiere. Das fünfte Kontrolltier hat Metamorphose begonnen.

15. VII. Die gestern ausmetamorphosierten Tiere der beiden Gruppen werden fixiert, desgleichen ein weiteres Versuchstier der zweiten Gruppe, das gerade mit Metamorphose beginnt (später als Serie 12c geschnitten).

19. VII. Durch einen Unglücksfall sind mir gestern die vier letzten Versuchstiere der ersten Gruppe verloren gegangen. Die schon lange zur Aufzucht von Froschlarven dienende Tonschale wurde über Nacht leck und lief aus, so daß die Tiere vertrockneten. Von den vier Kontrolltieren dieser Gruppe ist eine ein fertiges Fröschen, die drei übrigen stehen vor Beginn der Metamorphose (vgl. Tab. I). Diese Tiere haben noch larvale Kopf- und Körperform und einen langen Ruderschwanz mit breitem Saum. Die hinteren Extremitäten sind groß und ausdifferenziert. Von der zweiten Gruppe hat die letzte Kon-

trolle Metamorphose beendet. Bei einem Versuchstier vordere Extremitäten frei, Beginn der Schwanzrückbildung, drei restliche Versuchstiere ohne Veränderung.

20. VII. Die übrig gebliebenen Kontrollen der Gruppe eins werden heute fixiert, desgleichen die letzte Kontrolle der Gruppe zwei, die Metamorphose vollendet hat, sowie ein ausmetamorphosiertes Versuchstier (das dritte dieser Gruppe). Bei dem vierten Versuchstier der zweiten Gruppe stehen die vorderen Extremitäten dicht vor dem Freiwerden und buckeln das Operculum stark vor.

24. VII. Auch das vierte Versuchstier der zweiten Gruppe hat beide Vorderbeine freibekommen. Am 27. VII. hat es Metamorphose vollständig vollendet und wird fixiert.

Von allen operierten Tieren leben also nur noch zwei Tiere der zweiten Gruppe. Diese beiden Tiere haben seit der Operation Mitte Juni an Größe zugenommen, während die Weiterentwicklung der Körperform und des Organbaues anscheinend keine Fortschritte gemacht hat. So resultieren schöne große Larven mit kleinen aber ziemlich weit entwickelten hinteren Extremitäten. Die Kontrolltiere beider Gruppen haben vor 8 Tagen Metamorphose vollendet, mit ihnen ein Teil der Versuchstiere, von denen einige eine Verspätung des Metamorphosetermins von einigen Tagen aufwiesen. Die Schnittserienuntersuchung solcher thyreoidektomierter, später aber doch metamorphosierter Tiere zeigt, daß die Operation bei diesen Tieren mißlungen war. In allen Fällen ist mehr oder weniger Schilddrüsensubstanz stehen geblieben. Von den Tieren der ersten Gruppe habe ich im Laufe der Versuchsperiode fünf durch Unfall eingebüßt, von denen vier schon sichere Kennzeichen der Entwicklungshemmung bei gesteigertem Wachstum aufwiesen, als sie zugrunde gingen. So verfügte ich am 27. VII. leider nur noch über zwei Versuchstiere, bei denen nach der beiderseitigen Schilddrüsenexstirpation sich ein ganz bestimmter Symptomenkomplex herausgebildet hatte. Während die Tiere zu schönen großen Larven herangewachsen waren, deren Maß weit über das gewöhnliche Maß der *Rana fusca*-Larven hinausging, hatten sie in ihrer Umwandlung überhaupt keine Fortschritte gemacht. Sie waren also auf dem Larvenstadium stehen geblieben, was um so auffälliger ist, als die Tiere zur Zeit der Operation schon relativ weit entwickelt waren. Dabei waren die Tiere munter, schwammen viel umher und fraßen gierig die angebotene Nahrung. Wie die verschiedenen Daten meiner Protokolle zeigen, haben sich beide Tiere (F 24 u. 25) trotz anhaltend warmer Witterung und sehr guten Futter- und Wasserverhältnissen in den nächsten Wochen nicht weiter entwickelt. Infolgedessen wird am 16. VIII. und am 22. VIII. F 24 einmal 22 und einmal 12 Stunden lang in eine Schale gebracht, in der es einzig Rinderschilddrüse als Nahrung angeboten bekommt, von der es gierig frißt.

28. VIII. Nach der Schilddrüsenfütterung sind beide Tiere in je ein durchlüftetes Glasaquarium mit viel Pflanzen- und Muskelfutter gesetzt worden. F 24 ist sehr ruhig geworden, frißt nicht ordentlich und zeigt Merkmale, die als Beginn der einsetzenden Metamorphose zu deuten sind (Abb. 2). Die Veränderungen gehen aber langsam vor sich. Es resultiert als Endeffekt am 1. XI. ein Tier, das im Gegensatz zu F 25, welches sich nicht verändert hat, einen kurzen breiten Kopf hat, sowie die Körperform eines Fröschchens. Mit dem Breiterwerden des Kopfes sind die beiden Augen nach vorn gerückt. Die Färbung und Pigmentierung des Rumpfes ist wie beim fertigen Frosch. Die linke vordere Extremität ist freigeworden und weit entwickelt, die rechte buckelt das Operculum stark vor. Während so eine ganze Reihe von Froschcharakteren vorhanden sind, hat das Tier in auffälligem Gegensatz dazu noch den ganzen

wohlerhaltenen Mundapparat einer Froschlarve mit schönen Hornleisten, Hornzähnen und Randpapillen, ferner einen langen, breitgesäumten Ruderschwanz. Die hinteren Extremitäten sind sehr viel größer geworden und in Form und Pigmentierung wesentlich weiter verwandelt. Lange Ober- und Unterschenkel, ein schmaler langer Fuß, sowie schmale lange Zehen, zwischen denen sich Schwimmhäute ausspannen, zeigen Verhältnisse wie beim fertigen Frosch an. Die Entwicklung von F 25 bildet einen starken Gegensatz dazu (Abb. 3). Sie ist immer noch die vom Juni dieses Jahres, nur daß das Tier sehr stark an Größe zugenommen hat. Kopf- und Körperform sind ovoid, es hat einen langen Ruderschwanz mit breitem Saum, schön entwickelte Seitenlinien, Pigmentierung und Farbe wie eine typische Froschlarve. Die hinteren Extremitäten

Abb. 2. F 24. Am 28. XI. gezeichnet. Entfernung der Schilddrüse 22. VI. 16. VIII. Schilddrüsenfütterung. Vergr. 2:1.

stehen auf dem Entwicklungsstadium des Operationstermines. Ein Bild von dem Aussehen der beiden Tiere geben die Abb. 2 und 3, die am 28. XI. gezeichnet wurden.

29. XI. F 24 wird heute erneut 12 Stunden mit Schilddrüse gefüttert. Es soll festgestellt werden, ob dieses Tier, das alle Kennzeichen einer in der Metamorphose stehen gebliebenen Larve hat, erneut zur Weiterführung der Metamorphose angeregt werden kann. Dies gelingt in der Tat. Der Schwanz des Tieres verkürzt sich und bekommt einen schmalen Saum, so daß makroskopisch von larvalen Charakteren überhaupt nur noch der Fraßapparat erhalten ist (Zustand am 5. XII.). Durch diese erneute Fütterung mit Schilddrüsensubstanz wird das Tier aber so stark angegriffen, daß es am Abend des 5. XII. stirbt. In den letzten Tagen ist es außerordentlich stark abgemagert, zeigte aber sonst keinerlei krankhafte Erscheinungen, wie Übererregbarkeit oder Ödembildung, wie ich sie sonst von mit Schilddrüsen gefütterten Froschlarven her kenne. Das

Tier wird sofort fixiert, nachdem es auf Berührungsreize nicht mehr reagierte, um es nicht für die histologische Nachuntersuchung zu verlieren.

3. II. 22. F 25 hat in der ganzen vergangenen Zeit keine Veränderungen in Größe, Form und Entwicklung durchgemacht. Es lebt in einem Glasaquarium, das durchlüftet wird und reichlich mit Pflanzen besetzt ist. Als Nahrung bekommt das Tier Rinderfleisch und zerquetschte Schnecken. Für gewöhnlich ist es ziemlich träge und liegt lange am Boden des Gefäßes, wo es im Schlamm Nahrung sucht. Es frißt sehr gut. Wird es beunruhigt, so schwimmt es lebhaft umher.

7. III. 22. In der letzten Zeit ist die Bauchwand von F 25 undurchsichtig geworden und weiß gefärbt. Im übrigen hat das Tier keine Weiterentwicklung

Abb. 3. F 25. Am 28. XI. gezeichnet. Schilddrüse war am 22. VI. operativ entfernt worden. Vergr. $1\frac{1}{2}:1$.

erfahren, die Larvenform des Körpers und Kopfes sind erhalten, die Augen liegen weit zurück ohne Lidfaltenbildung. Farbe und Pigmentverteilung, sowie Seitenlinie wie bei einer Froschlarve, langer Ruderschwanz mit breitem Saum, wie ihn schon die Seitenskizze in Abb. 2 zeigt. Dazu kommt ein rein larvaler Freßapparat und hintere Extremitäten, die zwar auf ihrer Rückenseite einige Querpigmentstreifen aufzeigen, sich aber sonst gegen den Stand vom Juni vorigen Jahres keineswegs verändert haben.

So ist es also gelungen durch Exstirpation der beiden Schilddrüsenanlagen die weitere Entwicklung von *Rana fusca*-Larven vollständig zu unterbinden, während die Tiere gleichzeitig zu Riesenlarven heran-

wachsen. Füttert man ein solches in seiner Weiterentwicklung noch kurz vor der Metamorphose völlig gehemmttes Tier (F 24) mit Schilddrüsensubstanz, so erfährt das Tier Veränderung seiner Form, die als Beginn der Metamorphose auszulegen ist. Mit der Rumpfvverkürzung parallel geht ein Breiterwerden des Kopfes und ein Vorrücken der beiden Augen, die Ovoidform des Körpers geht in eine Geigenform über, die Pigmentverteilung und der Durchbruch der vorderen Extremität zeigen ein Weiterfortschreiten der Metamorphose an. Es sind die Veränderungen, die auf die ersten Fütterungen hin erfolgten, alles solche, die man als Aufbau- und Umwandlungsprozesse bezeichnen kann. Im Gegensatz dazu bleiben diejenigen Prozesse aus, die mit einer Rückbildung von Organen und Körperteilen verlaufen, und die normalerweise mit den Beginn der Metamorphose bilden. So bleibt der larvale Freßapparat und der lange Ruderschwanz zunächst erhalten. Es resultiert ein Tier, das in seinem Bau eine merkwürdige Mischung von larvalen und imaginären Kennzeichen aufweist. Es tritt also eine disharmonische Entwicklung auf in bezug auf den Zeitpunkt des Eintritts der einzelnen Verwandlungssymptome. Im Gegensatz zu meinen Schilddrüsenfütterungs- und Implantationstieren ist aber die Ausbildung der Körperorgane, was die Proportionen anlangt, als harmonisch zu bezeichnen. Rumpf und Extremitäten weisen normale Größen und Formkorrelation auf. Auch der Ruderschwanz entspricht in seiner Größe der Rumpfgröße des Tieres. Nach der zweiten Fütterung im Dezember beginnt nun auch die Rückbildung noch vorhandener larvaler Organe mit dem Kürzer- und Schmälerwerden des Schwanzes. Einzig der Freßapparat erinnert noch makroskopisch an das Larvenstadium.

Am Schlusse des makroskopischen Teiles sei eine kleine Generalorientierung gestattet an Hand von 3 Tabellen, die die Größenverhältnisse der beiden operierten Tiere F 24 und F 25 den Größenverhältnissen von Kontrolltieren gegenüberstellen. In Tabelle I wird F 25 den drei Kontrollen der ersten F-Gruppe gegenübergesetzt, die infolge Verlustes der zugehörigen Versuchstiere am 20. VII. fixiert wurden. Diese Tiere sind nämlich dadurch ausgezeichnet, daß sie in ihrem Entwicklungszustand bei äußerer Betrachtung mit F 25 im wesentlichen übereinstimmen, wie ich es auf der Tabelle noch einmal zusammengestellt habe. Das Auffallende ist nun die starke Größendifferenz zwischen F 25 und den Kontrolltieren, die uns einen Maßstab für das Riesenwachstum von F 25 gibt. Die Kontrolltiere waren Larven, die dicht vor Beginn der Metamorphose standen und somit die Maximalgröße der *Rana fusca*-Larven des Laichballens erreicht hatten, aus dem auch F 25 stammt. Wenngleich diese Tiere im fixierten Zustand gemessen wurden, und man einwenden könnte,

Tabelle I (Maße in mm).

	Größte Körper- länge :	Schwanz- länge :	Größte Breite :	Besondere Kennzeichen :
1. Überlebendes thy- reoidektomiertes Tier F 25.	21,0	35,0	14,0	Larvale Körper- und Kopfform, larvaler Freßapparat. Larvale Farbe und Pigmentierung. Lan- ger Ruderschwanz mit breitem Flossensaum. Hintere Extremi- täten weit entwickelt, leicht ab- duziert. Ruderbewegungen beim schwimmen.
2 ¹⁾ . 3 Kontrollen der F1-Gruppe, am 20. VII. 21 fixiert.	12,5	19,0	7,0	Die Entwicklung entspricht bei äu- ßerer Betrachtung der von F 25. Auch bei diesen Tieren Körper- und Kopfform, Freßapparat, Farbe und Pigmentverteilung larval. Langer Ruderschwanz mit breitem Flossensaum. Hintere Extremitäten weit ausdifferen- ziert, in leichter Abduktions- stellung.
Entwicklungssta- dium makrosko- pisch gleich dem von F 25 jetzt.	12,0	23,0	8,0	
	13,0	24,0	8,0	

daß sie dabei durch Schrumpfung stark verkleinert wurden, (was im übrigen nicht der Fall ist), so erhellt doch aus dem Vergleich der Größenmaße von F 25 und den Kontrolltieren auf der Tabelle I, daß das Riesenwachstum von F 25 und nicht die Schrumpfung der 3 Kontrolltiere die Ursache der kolossalen Größendifferenz ist. Tatsächlich ist F 25 auch größer als sonst normale *Rana fusca*-Larven. Vergleicht man die Tabelle II mit der 1. Spalte der Tabelle I, so zeigt sich zunächst einwandfrei, daß F 24 nach den ersten Schilddrüsenfütterungen an Größe eingebüßt hat. Es ist dies eine normale Erscheinung bei Schilddrüsenfütterungen an Froschlerven, die ich, wie andere Autoren auch, oft beim Fütterungsexperiment gesehen habe. Aus dem Vergleich der 1. und 2. Rubrik der Tabelle II geht der weitere Rückgang der Schwanzlänge bei F 24 nach der späteren Schilddrüsenfütterung im Dezember hervor. Ein Vergleich der 2. mit den übrigen Querspalten der Tabelle II erläutert, daß F 24 trotz seiner Größenabnahme nach der Schilddrüsenfütterung immer noch größer ist als die normalen metamorphosierten Kontrolltiere und ausmetamorphosierten, partiell thyreoidektomierten Versuchs-

¹⁾ Tiere in »Petersenschem Gemisch« fixiert. Zeigen keine Schrumpfung. Aufbewahrung in 80%igem Alkohol.

Tabelle II (Maße in mm).

	Körper- länge:	Schwanz- länge:	Breite:	Besondere Kennzeichen:
F24 lebend gemessen nach erster Schilddrüsenfütterung. Maße am 28. XI.	17	25	12	Die Messung erfolgte am Tage der Skizzierung (s. Abb. 2), längere Zeit nach der ersten Schilddrüsenfütterung, am Tage vor der zweiten Fütterung. Über die Körperformen unterrichtet das Bild und der Text.
F24 fixiert nach zweiter Fütterung im Dezember.	15	18	8	Messung des fixierten Tieres nach der zweiten Fütterung im Dezember. Das Tier war stark abgemagert infolge Nahrungsverweigerung. Die Rückbildung des Schwanzes hatte eingesetzt.
1. Partiiell thyreoidektomiertes, voll ausmetamorphosiertes Tier der 2.F-Gruppe. Fixiert.	13	Stummel	6	Fertig metamorphosiertes Fröschchen.
2. Tier wie 1.	12,5	Stummel	6	Fertig metamorphosiertes Fröschchen.
3 ¹⁾ . Tier wie 1.	13	Stummel	6	Fertig metamorphosiertes Fröschchen.
Ausmetamorphosierte Kontrollen. Fixiert.				
1.	12	Stummel	6	Fertig metamorphosiertes Fröschchen.
2.	13	Stummel	6	Fertig metamorphosiertes Fröschchen.
3.	11	Stummel	5,5	Fertig metamorphosiertes Fröschchen.
4.	11	Stummel	5,5	Fertig metamorphosiertes Fröschchen.

larven. Der Schrumpfungsfaktor ist für diese Größendifferenz nicht verantwortlich zu machen, da alle Vergleichsobjekte gleich fixiert und weiterbehandelt wurden. Zufällig verfügte ich über mit Schilddrüsen gefütterte, nicht vorbehandelte Froschlarven aus demselben Laich, aus dem die Versuchstiere und deren Kontrollen stammen. Ich hatte

¹⁾ Zwei weitere partiell thyreoidektomierte Tiere in Serie 12c und 12b geschnitten. Das eine Tier bei Beginn, das zweite nach Vollendung der Metamorphose.

Tabelle III (Maße in mm).

	Körper- länge:	Schwanz- länge:	Breite:	Besondere Kennzeichen:
2 <i>Rana fusca</i> -Tiere aus dem- selben Laichballen wie F24, 25 und Kontrollen. Wurden einmal 24 ^h mit Schilddrüse gefüttert.	8 9	4 6	5 5	Schwanz: stummelartig mit schmalem Saumrest. Im übrigen beide Tiere fertig ausmetamorphosierte Zwergfrösche.
Tiere fixiert wie F24 und die übrigen in Petersenschem Gemisch.				

normale Froschlarven zu Demonstrationszwecken kurze Zeit mit Schilddrüse gefüttert und erhielt in bekannter Weise überstürzt entwickelte Zwergfröschen. Ihre Maße sind in Tabelle III aufgestellt. So sind wir in der Lage, beim Vergleich der 3 Tabellen eine Größenreihe aufzustellen. Am einen Ende der Reihe steht die neotenische Riesenslarve F 25, am andern Ende die schilddrüsengefütterten Zwergfröschen, während der Übergang von F 24 und den normalen Kontroll- und partiell thyreoidektomierten Tieren gebildet wird. Es läßt sich weiter der allgemeineren Schluß ableiten, daß die Menge der dem Larvenkörper zur Verfügung stehenden art eigenen Schilddrüsensubstanz eventuell zuzüglich verfütterter Schilddrüse direkt proportional dem Grad und der Schnelligkeit der Ausdifferenzierung, umgekehrt proportional der Größe des Larvenkörpers ist.

Nach seinem Tode wurde F 24 in einem Gemisch fixiert, das von *Petersen* für die Fixierung von Amphibienembryonen angegeben worden ist¹⁾. Nach der *Heidenhainschen* Methode wurde es später über Tetra- chlorkohlenstoff und Schwefelkohlenstoff in Paraffin eingebettet und dann in eine lückenlose Schnittserie zerlegt. Schnittdicke 7,5 μ . Gefärbt wurde die Serie mit *Delafieldschem* Hämatoxylin sowie mit Methyleneblau, das durch Ammoniummolybdat fixiert wurde. Nachfärbung mit Pikrofuchsin. Auf diese Weise werden fast alle Gewebe färberisch gegeneinander differenziert. Zum Vergleich mit dieser f-Serie wurden zwei weitere operierte Tiere in Serien geschnitten, das eine von ihnen (Serie 12c) war ebenfalls thyreoidektomiert worden, hatte dann aber die Metamorphose angefangen, worauf es fixiert wurde. Dem andern Tier (Serie 12b) war ebenfalls die Schilddrüsenanlage entfernt worden. Die Operation war aber mißlungen. Die Nachuntersuchung zeigte, daß beide Schilddrüsenanlagen noch vorhanden

¹⁾ Zusammensetzung: Gesättigte wässrige Pikrinsäurelösung und gesättigte Sublimatlösung in 3%ige Kochsalzlösung ää p. aequ. Formalin 15 auf 100. Eisessig 3—4 auf 100.

Tabelle IV.

Längenausdehnung der endokrinen Drüsenanlagen von F₂₄ (Schilddrüse exstirpiert, später Schilddrüse gefüttert, verglichen mit Länge der Anlagen bei einem partiell thyreoidektomierten Tier (im Beginn der Metamorphose fixiert). Serie 12 c. Maße in mm.

Organ	r.	l.	r.	l.			Bemerkungen.
	Schilddrüse	Schilddrüse	Thymus	Thymus	Epiphyse	Hypophyse	
F 24	./.	./.	0,26	0,26	0,29	0,31	Thyreoidektomie doppelseitig gelungen. Vergrößerung der Hypophyse. Thymusanlagen bei F 24 u. Serie 12 c gleich lang. Große Flächenausdehnung. In beiden Cystenbildung.
Tier der Serie 12 c.	0,14	./.	0,27	0,27	0,25	0,12	Thyreoidektomie nur links voll gelungen. Rechts nur Verkleinerung.

waren. Das Tier metamorphosierte zur normalen Zeit und wurde nach Vollendung der Metamorphose fixiert. Es dient uns gleichzeitig als Kontrolle dafür, daß nicht Allgemeinschädigungen die Veränderungen bei F 24 und 25 bewirkt haben können, denn die Operation war bei diesem Tier genau so schwer wie bei F 24 und 25. Dieses Tier bietet uns in seiner Serie die Verhältnisse eines eben ausmetamorphosierten normalen Fröschchens.

Naturgemäß interessiert am meisten zunächst der histologische Befund der endokrinen Drüsen (vgl. Tabelle IV). In der f-Serie von F 24 ist in keinem Schnitt Schilddrüsengewebe vorhanden. Beide Schilddrüsen sind restlos entfernt. Eine Regeneration hat nicht stattgefunden. An der Stelle, an der die Schilddrüse liegen müßte, findet sich ein engmaschiges Netz, das von kleinen Bindegewebszellen und zartblauen Bindegewebsfasern gebildet wird (Narbe). Bei dem Versuchstier der Serie 12 c ist links ebenfalls die ganze Schilddrüsenanlage entfernt und durch Narbengewebe ersetzt. Rechts dagegen ist ein Rest des Drüsengewebes erhalten. Um einen großen Follikel häufen sich einige kleine Nachbarfollikel. Die Kolloidsubstanz in allen ist hochrot gefärbt und homogen, die Wandung wird durch flachkubisches Epithel gebildet. Der rechts vorhandene Thyreoidea-rest reicht über 18 Schnitte, ist also 0,14 mm lang. Die normalen Schilddrüsenanlagen dieses Alters- und Entwicklungsstadiums sind mindestens doppelt so groß. Durch die Operation hat also eine starke Reduktion stattgefunden, die durch keine vikariierende Hyperplasie ausgeglichen worden ist, so daß für das ganze Tier eine starke

Verminderung seiner Schilddrüsensubstanz zu verzeichnen ist. Charakteristischerweise hat das Tier trotzdem zur normalen Zeit mit der Metamorphose begonnen. Der kleine Rest hat also genügt, die Metamorphose in Gang zu bringen. Bei dem Tier der 12 b-Serie ist die Schilddrüsenexstirpation vollständig mißlungen. Rechts ist die Anlage durch die Operation unter die Oberhaut verlagert worden, links liegt sie an Ort und Stelle. Beide zeigen schöne große Follikel mit hochrot tingiertem homogenem Kolloid und flachkubischem Epithel der Wand.

Adler hatte bei seinen Tieren, denen er die Thymusanlagen entfernt hatte, eine Hyperplasie der Schilddrüse gefunden (vgl. Tabelle V). Ich habe meine Serien durchuntersucht um festzustellen, ob durch die Entfernung oder Verminderung der Schilddrüse Veränderungen der andern endokrinen Drüsenanlagen hervorgerufen werden. Das ist in der Tat in geringem Grade bei den Epithelkörperchen in stärkerem Maße bei Thymus und Hypophyse der Fall. Was zunächst die Epiphyse anlangt, so bestehen zwischen f und 12 c-Serie keine wesentlichen Größendifferenzen (vgl. Tabelle IV). Das Längenmaß entspricht genau den *Adlerschen* Normalmaßen auf seiner Tabelle der Länge endokriner Drüsenanlagen in seiner Hypophysenarbeit. Auch morphologisch zeigen die Zellen beider Epiphysen keine Differenzen. Die Epithelkörperanlagen von F 24 sind beiderseits etwas länger (0,3 mm) als bei dem Tier der Serie 12 c. Auch die einzelnen Schnittflächen sind etwas größer. Die epitheloiden Zellen, die die Hauptmasse der Epithelkörper ausmachen, sind morphologisch bei beiden Serien sowie bei der Serie 12 b gleichartig. Es ist also nach der Schilddrüsenentfernung zu einer kleinen Hypertrophie der Epithelkörperchen gekommen. Wie ich in einem Referat gelesen habe, hat *Allen* diese vikariierende Epithelkörperhypertrophie nach Schilddrüsenentfernung ebenfalls beobachtet, und wie ich festgestellt, daß sie nicht ausreicht, die ausgefallene Schilddrüse funktionell zu ersetzen. Wesentlicher sind die Unterschiede in der Ausbildung der Hypophyse in den drei Serien. In der Serie 12 c (Tier dessen Schilddrüse partiell entfernt ist) zeigt die Hypophyse normale Länge. (Vgl. wiederum die *Adlersche* Tabelle). Im Gegensatz dazu übersteigt die Hypophysenlänge bei F 24 das Doppelte des normalen Ausmaßes. Dem entspricht auch eine Vergrößerung der Querschnittsfläche der Hypophyse, verglichen mit der jedesmaligen Gehirnquerschnittsfläche. Dazu kommen noch morphologische Differenzen; bei F 24 finden sich im Hinterlappenquerschnitt sehr viel mehr und kleinere Zellen anderen Baues als bei den anderen Serien. An der Stelle der ziemlich großen epitheloiden Zellen mit stark fuchsinophilem Plasma und relativ großem Kern finden sich zahlreiche kleine Zellen mit sehr schmalem, fast ungefärbtem Plasmassaum und tiefblauschwarz tingiertem Kern. Die Zellen der

Hypophyse der 12 c-Serie verhalten sich morphologisch gleich denen der 12 b- und der anderen Kontrollserien. Bei diesem Tier war der kleine Schilddrüsenrest ausreichend, um die normale Größe und Beschaffenheit der Hypophyse zu garantieren. Bei F 24 ist es dagegen zu einer Hypophysenhyperplasie und Zellvermehrung gekommen. Es bleibt der Einwand möglich, daß die Hypophysenveränderungen durch die Schilddrüsenfütterung und nicht durch die Entfernung der eigenen

Abb. 4. Mikrophotogr. I. Thymusquerschnitt von F24. Verg. 195:1. Cystenbildung und epitheloide Zellstrangnetze. »Kleine Thymuszellen« treten an Zahl zurück. Nur in den Randpartien zahlreicher.

Schilddrüsenanlage bewirkt wurden. Dagegen sprechen aber die vergleichenden Befunde bei den Thymusanlagen der 3 Serien. Während nämlich in der 12 c-Serie der regulierende Einfluß des Schilddrüsenrestes in bezug auf die Ausbildung der Hypophyse in Erscheinung tritt, fällt dieser in bezug auf die Entwicklung der Thymusanlagen vollständig fort. f-Serie wie 12 c-Serie zeigen gleichsinnige Veränderungen. Das Tier der 12 c-Serie war thyreoidektomiert, aber nicht mit Schilddrüse gefüttert worden. Es ist deshalb wahrscheinlich, daß wie die Thymusveränderungen beider Tiere auch die Hypophysenveränderung

bei F 24 ihre Ursache in der Thyreoidektomie hat. *A. P. Dustin* hat sich in einer neueren Arbeit mit der Histologie des normalen und experimentell beeinflussten Thymus beschäftigt. Da die Arbeit in einer französischen, mir nicht zugängigen, Zeitschrift erschienen ist, kenne ich sie leider nur nach ihrem Referat in den Springerschen Berichten. *Dustin* teilt die Thymusentwicklung in drei Stadien, »3) charakterisiert durch Auftreten der Metamorphose. Die kleineren epithelialen Zellen

Abb. 5. Mikrophotogr. II. Thymusquerschnitt von einer Froschlarve kurz vor Beginn der Metamorphose. Vergr. 195:1. Die »kleinen Thymuszellen« beherrschen das Bild. Oben und links auch vereinzelte epitheloide Zellen. Kennlich an ihrem größeren blassen Kern.

werden seltener, embryonale Blutversorgung atrophiert, es tritt cystische und epitheliale Degeneration auf. Die kleinen epithelialen Zellen, Blutgefäße und myoepithelialen Zellen regenerieren«. Diesen Befunden *Dustins* bei der normalen Thymusentwicklung während der Metamorphose gibt die Betrachtung meiner Serien nicht in allem recht. Eine Cystenbildung wurde von mir weder in der 12 b-Serie, noch sonst bei jung metamorphosierten Fröschen, oder in der Metamorphose befindlichen Froschlarven gesehen. In den Thymusanlagen dieser Tiere

beobachtete ich dagegen zahlreiche kleine *Hassalsche* Körperchen, charakterisiert durch ihren zwiebelschalenähnlichen Bau. Zahlreiche flache Epithelzellen mit stark fuchsinophilem Plasma und kleinen Kernen legen sich zu kugelartigen Bildungen umeinander. Manchmal finden sich auch Zellstränge größerer epitheloider Zellen mit stark rotem Plasma, doch sind diese für jüngere Entwicklungsstadien charakteristisch. Hier wie dort wird die Hauptmasse durch zahlreiche »kleine Thymuszellen« gebildet. Im Gegensatz zu den Befunden der

Abb. 6. Mikrophotogr. III. Querschnitt durch Thymusanlage einer mit Schilddrüse gefütterten und in der Metamorphose weit vorgeschrittenen Froschlarve. Vergr. 195:1. Die epitheloiden Zellen stehen hier im Vordergrund. Links Bildung eines *Hassalschen* Körperchens.

12b-Serie und zahlreicher anderer von mir durchgemusterter Kontrollserien vor, während und nach der Metamorphose finden sich in den Thymusanlagen von F 24 und dem Tier der 12c-Serie größere follikelartige Cysten, die durch mehrere Schnitte hindurchreichen und dadurch noch follikelähnlicher werden (Abb. 4—6). In noch höherem Grade ist das dadurch der Fall, daß die Wand der Zellen von schönen kubischen Epithelzellen mit fuchsinophilem Plasma und großen, blassen Kernen gebildet wird. Im Innern der Cysten findet sich

ein homogener, opaker, glasiger Inhalt, der manchmal auch mit Hämatoxylin schwach angefärbt ist. Die kleinen Thymuszellen sind vollständig auf die Randpartie der Thymusanlagen beschränkt. Diese Cystenbildungen mit dem merkwürdigen homogenen Inhalt sind nach meinen Untersuchungen in dieser schönen Ausbildung einzig bei der f- und 12c-Serie vorhanden. Da bei beiden Serien gleichzeitig auch die Schnittfläche der Thymusanlagen im Serienbild relativ groß ist, schließe ich daraus auf eine Hyperfunktion der Thymusanlagen bei den Tieren, deren Schilddrüse vollständig oder partiell entfernt wurde. Nach *Dustin* gehen die kleinen Thymuszellen durch Schilddrüsenbeeinflussung des Versuchstieres zugrunde. Dem entgegen fand ich bei den beiden Serien f und 12c diese Verminderung der kleinen Thymuszellen. Es ist interessant, wie bei Entfernung oder Herabminderung der Schilddrüse andere branchiogene Organe (Epithelkörper, Hypophyse und Thymus) eine Vergrößerung und einen Umbau ihrer histologischen Struktur aufweisen, den man als vikariierendes Eintreten dieser Drüsen für das ausfallende Organ deuten kann (vgl. Abb. 4—6).

Schon makroskopisch war F 24 ein Tier, bei dem Merkmale, die einerseits der Froschlarve, andererseits dem ausgebildeten Frosch zukommen, merkwürdig gemischt waren. Die mikroskopische Untersuchung der übrigen Organe und Gewebe bestätigt diesen Befund, der vor allen Dingen die zeitliche Inkongruenz der Entwicklung der einzelnen Organe dieses Tieres aufdeckt. Vor allem sind diejenigen Organe im Rückstand, die wie der Fraßapparat, die Kiemen, der Schwanz und in gewissem Sinne auch der Darm normalerweise bei der Metamorphose eine Rückbildung zu erfahren pflegen. Diejenigen Organe, deren prospektive Bedeutung höher ist, d. h. die bei der Metamorphose nicht zugrunde gehen, sondern sich zu Geweben und Organen entwickeln, die für das ausmetamorphosierte Tier sehr wichtig sind, weisen einen tüchtigen Fortschritt in ihrem Verwandlungsprozesse auf.

Das Integument des ganzen Rumpfes und der Extremitäten ist weit entwickelt. Das Epithel ist mehrschichtig, es finden sich große, seröse und muköse Hautdrüsen, die je nachdem mit körnigrotem oder homogenem blauen Sekret prall gefüllt sind. Außerdem finden sich noch viele kleinere, in der Entwicklung begriffene Hautdrüsen. An der Dorsalseite sowohl der Extremitäten wie des Rumpfes sind sie zahlreicher als an der Ventralseite. Der Bewegungsapparat ist wie die Haut sehr weit entwickelt. Der Nasenknorpel in seinen vorderen Teilen befindet sich in Reduktion. Das Knorpelgrundgewebe gibt die Muzinreaktion schlecht oder überhaupt nicht, das Plasma der Knorpelzellen ist zum Teil körnig. Die Kerne sind schlecht färbbar, zum Teil pyknotisch, zum Teil sehr groß und blaß. Bei der 12b-Serie hat die Reduktion des Nasenknorpels schon weitere Fortschritte ge-

macht, während bei der 12c-Serie die Veränderungen gerade beginnen. Während also in dieser Hinsicht die f-Serie zwischen 12b- und 12c-Serie steht, ist sie, was die Verknöcherung des Skelettsystems anlangt, beiden bei weitem voraus. Sowohl die Teile der Schädelbasis wie die der Wirbelkörper, -bögen und -querfortsätze, der Schulter- und Beckengürtel, Oberarm, Vorderarm und Zehen zeigen schöne Bilder weit vorgeschrittener peri- und enchondraler Verknöcherung. Am Schultergürtel und Oberarm ist es schon zur Bildung ansehnlicher Knochenlamellen und -manschetten gekommen. In Analogie damit sind auch die übrigen Teile des Bewegungsapparates weit entwickelt. Zwischen allen Teilen des Skelettsystems, wo sie später vorhanden sein sollen, finden sich freie Gelenkspalten, die Muskeln, Nerven und Gefäße sind bis in die Peripherie hinein ausgebildet. Demgegenüber sind die Tiere der 12b- und 12c-Serie weniger und stärker in ihrer Ausbildung im Rückstand. Seiner äußeren Form nach (nur noch kurzer Schwanzstummel, Fortfall des larvalen Fraßapparates) ist das Tier der 12b-Serie weiter entwickelt als F 24. Trotzdem ist der Bewegungsapparat weniger weit ausgebildet. Die Verknöcherung in den einzelnen Abschnitten des Stützsystems ist noch nicht so weit wie bei jenem Tier. Sehr viel weiter zurück ist das Tier der 12c-Serie, bei dem die Rückbildung des Nasenknorpels und die Verknöcherung der größten und am weitesten entwickelten Teile des Skelettsystems gerade beginnen. In Betreff der Entwicklung des Zentralnervensystems und der Entwicklung der Sinnesorgane sind die Bilder aller drei Serien in vielem übereinstimmend. Einzig bei der 12c-Serie sind beim Auge noch manche larvale Merkmale vorhanden. So sind z. B. noch keine Lidfalten gebildet und die Cornea besteht aus zwei Zellschichten. Größere Differenzen in der Entwicklung des Herzens und der Gefäße fehlen, nur ist bei der f- und 12b-Serie die Ausbildung der Hautgefäße schon weit vorgeschritten. Sie zeigen ein großes Lumen und sind voll mit Blut gefüllt.

Beim ausmetamorphosierten Fröschchen ist der Darm fertig umgewandelt. Bei F 24 ist der Mittel- und Enddarmabschnitt noch in voller Umwandlung begriffen, während Magen, Schlund, Zunge und Mundhöhle fertig gebildet sind. Ebenso sind die Gaumendrüsen weit entwickelt. Bei der 12c-Serie beginnen gerade die für die Metamorphose charakteristischen Darmumwandlungen. Merkwürdigerweise ist der larvale Mundapparat bei F 24 noch erhalten. Es finden sich noch die Hornkiefer und -zähne, auch die Papillen sind noch da. Ihr Epithel ist mehrschichtig und erscheint zusammengesintert. Im Gegensatz dazu hat das 12b-Tier ein fertiges Froschmaul, während das Tier der 12c-Serie noch einen vollständigen larvalen Mundapparat hat.

Die Lungenentwicklung bei der f- und 12c-Serie ist noch im Rückstand. Die Säckchen sind klein, dickwandig, von flachkubischem Epi-

thel ausgekleidet. Bei der 12b-Serie finden sich dagegen große Lungen-säckchen mit dünner Wand, von ganz flachem Epithel überzogen. Entsprechend sind die inneren Kiemen bei diesem Tier vollständig zurückgebildet. Bei der 12c-Serie zeigt sich die beginnende Rückbildung durch Schichtung des Epithels an. Dies ist bei der f-Serie noch stärker, auch ist die Knorpelgrundsubstanz der Kiemenbögen schlecht auffärbbar. Die Kiemenzöttchen sind aber noch deutlich und die Gefäße noch nicht zurückgebildet. Im Verhältnis zum Bewegungsapparat ist bei diesem Tier also die Kiemenrückbildung zurückgeblieben, womit die wenig weite Entwicklung der Lungenanlagen im Einklang steht, während die weit vorgeschrittene Entwicklung der Haut und ihrer Gefäße einen Gegensatz dazu bildet, und ein Zeichen der zeitlich inkongruenten Entwicklung der Organe dieses Tieres ist. Die Befunde der branchiogenen Organe habe ich schon im voraus besprochen. Die Form der großen Anhangsdrüsen des Darms wird bei der f-Serie durch die kolossale Größe der prallen, dünnwandigen Gallenblase weitgehend beeinflusst. Diese starke Auftreibung der Gallenblase ist schon oft bei Schilddrüsenfütterungstieren beobachtet worden. Mehr oder minder stark drängt bei F 24 dieses Organ das rechte Lungen-säckchen, die Leber, Urniere, Fettkörper und Keimdrüse nach der anderen Seite hinüber. Besonders stark zusammengedrückt ist das Pankreas, das infolgedessen nur aus einem schmalen, 4—5 Zellen breiten Strang besteht, dessen Zellen sich aber in charakteristischer Weise färben. Die Leber der f-Serie ist im ganzen klein und zellreich, es finden sich viele »junge Kerne« und Mitosen. Die Blutgefäße sind weit und prall mit Blutkörperchen gefüllt. Starke intra- und extrazelluläre Pigmentanhäufungen. Die Leber bei der 12b-Serie ist ebenfalls klein und zellreich, die des 12c-Tieres groß und weitmaschig. Das Plasma ihrer Zellen blaßrot im Gegensatz zu der tiefroten Färbung des Leberzellplasmas bei der f- und 12b-Serie. Die Vornieren bei diesen beiden letzten Tieren sind vollständig rückgebildet, die Gefäße verödet, die Kanälchenepithelien im Zustand der Auflösung und des Zugrundegehens. Die 12c-Serie hat eine in voller Funktion begriffene Vorniere, die auf der Höhe ihrer Entwicklung steht. Die Urnieren sind bei allen drei Tieren schön entwickelt, nur die rechte Urniere bei F 24 zeigt in ihrer Randpartie Druckschädigungen durch die große Gallenblase des Tieres. Die Fettkörper dieses Tieres sind klein, fettarm und zellreich. Die Keimdrüsen sind sehr groß und weit entwickelt. Es handelt sich um Ovarien; in der Peripherie wie im Zentrum finden sich zahlreiche große, dotterreiche Keimzellen, die nur noch in der Peripherie zum Teil nesterweise zusammenliegen. Die einzelnen Keimzellen oder mehrere von ihnen sind von einer außerordentlich dünnen Lage von Bindegewebe umgeben. Einzelne Keimzellen be-

finden sich in Degeneration. Das Zellplasma färbt sich schlecht, Zell- und Kernmembran sind teilweise aufgelöst. Die mikroskopischen Befunde der Keimdrüsen werden später durch die Untersuchung des F 25-Tieres zu ergänzen sein. Von seiner histologischen Untersuchung sah ich zur Zeit ab, da ich das Tier möglichst lange am Leben erhalten will.

Meine Versuchsergebnisse geben einen Beitrag zum Neotenieproblem. Die Untersuchung im Freien vorgefundener, überwinteter neotenischer Froschlarven (*Hahn, Jensen* u. a.) sowie experimentell durch Kälte-Hitze und Hitze-Kälte und andere derartige Milieuveränderungen an der Metamorphose verhinderter Froschlarven (*Richard Hertwig*, seine Schüler und *Leo Adler*) zeigt übereinstimmend bei diesen Tieren Veränderung der endokrinen Drüsenanlagen. Dasselbe konnte *Eidmann* bei neotenischen Tieren feststellen, deren Zurückbleiben in der Entwicklung er auf endogene Minderwertigkeit des Laichs zurückführt. Von den endokrinen Drüsen sind es nach diesen Autoren neben der Hypophyse vor allem die Schilddrüsenanlagen, deren histologische Bilder für eine Aplasie oder Hypoplasie, verbunden mit einer Hypo- oder Dysfunktion der Organe sprechen. Bei diesen Untersuchungen war es jedesmal zweifelhaft, ob die anzunehmenden Schädigungen primär die endokrinen Drüsen veränderten und so sekundär die Neotenie hervorriefen, oder ob die Neotenie die direkte Folge der Schädigung aller Gewebe war. *Doms* stellte den wohl für jede Reizbeeinflussung des tierischen Körpers gültigen Satz auf: »Einzelne Gewebe reagieren nicht gleich, sondern nach ihrer geweblichen Spezifität verschieden auf abnorme Temperaturen.« In Ergänzung dazu stellt *Adler* in seiner Neoteniearbeit fest, daß die Schilddrüsenanlagen durch Temperatureinflüsse eher als andere Organe, z. B. die Keimdrüsen, beeinflußt werden. Wenn wir nun den Einfluß der Hyper- und Hypothyreoidisation auf die Entwicklung und Metamorphose der Froschlarven kennen, so läßt sich folgern, daß durch die Veränderung des Milieus die Schilddrüsen geschädigt werden und sekundär durch ihre Funktionsminderung die Entwicklungsstörung bewirkt wird. Diesen Schluß hat schon *Adler* gezogen. Durch meine Versuche kommt jetzt weiterhin die Feststellung dazu, daß durch direkte Minderung der Schilddrüsenmenge die Metamorphose und Weiterentwicklung der Froschlarven verzögert und durch die völlige Exstirpation beider Schilddrüsenanlagen die Metamorphose vollständig gehemmt wird. Dabei ist die Schilddrüse auf solch frühen Entwicklungsstadien offensichtlich kein lebenswichtiges Organ, denn eines meiner Versuchstiere lebt nach ihrer Entfernung noch jetzt nach einem Jahr. Wohl aber ist die Thyreoidea unentbehrlich, für das Zustandekommen der Metamorphose. Die Schilddrüse reiht sich damit der Hypophyse und Epiphyse an, deren unbedingte Notwendigkeit für die Meta-

morphose *Adler* nachgewiesen hat. Entfernt man neugeborenen Warmblütern die Schilddrüse, so gehen sie unter Zurückbleiben der Entwicklung bei Hemmung des Größenwachstums und der Skelettentwicklung zugrunde (Literatur bei *Biedl*). Bei diesen Tieren ist die Schilddrüse also lebensnotwendig. Das ist ein scheinbarer Gegensatz zu meinem Befund bei Froschlarven. Es handelt sich dabei nämlich um ganz verschiedene Entwicklungsstadien der Ontogenese, die bei den Versuchen experimentell beeinflußt werden. Die Rolle der einzelnen endokrinen Drüsen zu verschiedenen Zeiten des Individuallebens ist ganz verschieden (*Bab*). Zu Implantationszwecken entfernte ich erwachsenen Bombinatoren die beiden Schilddrüsenhälften vollständig. Sterile Operation, Vermeidung größerer Nebenverletzungen, Naht und Nachbehandlung der Tiere nach *Nussbaum* bewirkten baldige Heilung. Sie waren in der ersten Zeit nach der Operation ganz munter. Nach einiger Zeit trat ein Umschwung ein. Unter Hautveränderungen, die an Myxödem erinnern, gingen die Tiere zugrunde. Ein weiterer Beweis, daß die Entfernung derselben endokrinen Drüse bei demselben Versuchstier zu verschiedenen Zeiten seiner Entwicklung einen ganz verschiedenen Effekt hat. Während beim erwachsenen Tier die Schilddrüse lebenswichtig ist und ihre Entfernung den Tod des Versuchstieres unter ganz bestimmten Erscheinungen bewirkt, verhindert ihre Entfernung auf frühem Larvenstadium nur die Weiter- und Fertigbildung der Form, ohne zum Tode des betreffenden Organismus zu führen.

Schwieriger ist die Erklärung des Riesenwachstums bei meinen thyreidektomierten Tieren. Drei Möglichkeiten kommen da hauptsächlich in Betracht. Während sonst bei bestimmter Größe der Froschlarve durch die Funktion der bestimmt weit entwickelten Schilddrüse und endokriner Drüsenanlagen die Metamorphose in Gang gebracht wird, und daher weiteres Wachstum aufhört, kann es bei meinen Versuchen durch das Ausbleiben der Metamorphose nach der Schilddrüsenentfernung einfach zu weiterer Assimilation von Körpersubstanz kommen, wie sie für gewöhnlich nicht beobachtet wird. Es kann aber zweitens auch die nach der Thyreidektomie auftretende Vergrößerung und histologisch gesicherte Hyperfunktion der Thymusanlagen für das Riesenwachstum verantwortlich gemacht werden. Dies stände mit den Versuchsergebnissen von *Gudernatsch*, *Romeis*, *Abderhalden* u. a. in Einklang, die durch Verfütterung von Thymussubstanz an Froschlarven Riesenwachstum hervorriefen. Eine dritte Möglichkeit wäre die, daß die sekundäre Vergrößerung und Veränderung der Hypophyse, besonders ihres Hinterlappens, der nach *Adler* dem menschlichen Hypophysenvorderlappen homolog ist, das Riesenwachstum bewirkt. Alle drei Möglichkeiten möchte ich offen lassen. Eventuell handelt es sich um eine Kombination mehrerer Faktoren.

Tabelle V.

Autor	Schilddrüse	Hypophyse	Epi- physe	Thymus	Keim- drüsen	Bemerkungen.
<i>Schulze</i>	entfernt	Flächen- und Längenver- größerung in der Schnitt- serie. Zell- reichtum	unver- ändert	Ver- größert. Cystenbil- dung durch epithelo- ide Zellen	Großes, weit ent- wickeltes Ovarium	Bedingte Neotenie. Metamorphose- hemmung. Rie- senwachstum.
<i>Adler</i>	Atrophie. Kolloid- armut	entfernt	unver- ändert	unver- ändert	Hypo- plasie	»Bedingt neote- nisch«. Metamor- phosehemmung. Riesenwachstum.
<i>Adler</i>	unver- ändert	unverändert	ent- fernt	unver- ändert	unver- ändert	Tod vor Abschluß der Metamorphose unter Ausbildung starken Ödems.
<i>Adler</i>	Ver- größerung. Kolloid- verschlech- terung	unverändert	unver- ändert	entfernt	Vergröße- rung	keine Hemmung der Metamorphose. Keine Beeinflus- sung des Wachs- tums.

Es gilt, meine Versuchsergebnisse mit den Ergebnissen anderer Autoren in Einklang zu bringen (vgl. Tab. V). Dies gelingt gut. Durch Entfernung der Hypophysenanlage erhielt *Adler* bei Froschlarven ein Zurückbleiben und funktionelle Untüchtigkeit der Schilddrüsen der Versuchstiere. Sekundär kam es dann dadurch zur Hemmung der Metamorphose. Hier hat also die nach Entfernung der Hypophyse in Erscheinung tretende Thyreoideschädigung die Metamorphose nicht zustande kommen lassen. Mit den Resultaten amerikanischer Autoren decken sich meine Versuchsergebnisse in den Hauptpunkten. *Allen*, *Fulton* und *Hoskins* haben nach Referaten ihrer Versuche in den *Springerschen* Berichten ebenfalls die Schilddrüsenanlagen bei Froschlarven entfernt und dadurch Hemmung der Metamorphose und abnormes Wachstum der Tiere erhalten. Die beiden *Hoskins* fanden dabei ebenfalls Hyperplasie der Hypophyse der Versuchstiere, *Allen* Hypertrophie der Epithelkörperchen. Beides habe auch ich feststellen können. Den amerikanischen Untersuchern gelang es gleich mir durch Verfütterung von Schilddrüsensubstanz an die thyreopriven Tiere deren Metamorphose wieder in Gang zu bringen. Auch sie stellen fest, daß die Metamorphose daraufhin langsamer verläuft als nach Verfütterung von Schilddrüsensubstanz an normale Tiere. *Fulton* gibt an, daß bei

seinen Tieren, denen er die Schilddrüse entfernte, die Thymusanlagen larval blieben. Demgegenüber muß ich feststellen, daß bei F 24 eine Hyperplasie und Hyperfunktion der Thymus anzunehmen ist bzw. eine Weiterentwicklung auf ein späteres Stadium, wenn man *Dustins* Untersuchungen anerkennen will. *Fulltons* Befund der Weiterentwicklung der Keimdrüsen stimmt ebenfalls mit den Bildern bei F 24 überein. Was Länge und Querschnittsfläche anlangt, sind die Keimdrüsen dort sehr groß, der histologischen Untersuchung nach handelt es sich um weitentwickelte Ovarien. Es bleibt abzuwarten, ob F 25, das jetzt noch lebende unverwandelte Versuchstier, bis zur Geschlechtsreife gebracht werden kann. Damit wäre dann der Beweis einer einwandfreien Neotenie durch Exstirpation der Schilddrüse auf dem Larvenstadium erbracht. *Günther Hertwig* hat bei seinen Radiumversuchen festgestellt, daß eine Zelle um so stärker auf Radiumbeeinflussung reagiert, je stärker ihre Wachstums- und Vermehrungsenergie ist. Bei der Wirkung der Schilddrüsenfütterung an F 24 fällt es auf, daß ein Teil der Organe eher ansprach als eine Gruppe anderer Organe. Die nähere Untersuchung hat ergeben, daß es sich bei den Organen und Geweben der ersten Art um solche handelt, die wie der larvale Bewegungsapparat (Extremitäten), die larvale Haut und der larvale Darmkanal eine große prospektive Bedeutung besitzen. Diese Organe reagieren eher als diejenigen, die bei der normalen Weiterentwicklung und Metamorphose der Rückbildung anheimfallen und so gar keine oder nur geringe prospektive Bedeutung besitzen. Beeinflußbar sind diese Organe aber auch, wie ihr Verhalten nach der zweiten Schilddrüsenfütterung im Dezember zeigt (Schwanzrückbildung). Die Reaktionsfähigkeit der Froschlarvengewebe und -organe ist somit von der Ansprechbarkeit auf das beeinflussende Agens überhaupt, dann aber auch von der eigenen prospektiven Bedeutung abhängig. Schilddrüsenfütterungs- und eigene Implantationsversuche bei normalen Frosch- und Unkenlarven zeigen, daß bei Beeinflussung durch geringe Schilddrüsenmengen die Reihenfolge der Veränderungen eine ähnliche ist wie bei F 24. Wie dort kommt es erst zur Weiterentwicklung der Extremitäten, der Haut und Umwandlung des Darmes, ehe die Rückbildungserscheinungen auftreten. Wendet man aber größere Mengen an, so ist der Reiz für die Gewebe der ersten Gruppe anscheinend überschwellig geworden. Zunächst setzen diese Organe die überstürzte Entwicklung an, die aber bald zum Stillstand kommt, während die durch den starken Reiz ebenfalls vorzeitig in Gang gesetzten Rückbildungserscheinungen zu einem disharmonischen Endzustand führen, so daß der Tod des Tieres eintritt. *Jarisch* hat aus seinen Schilddrüsenfütterungsversuchen den Schluß gezogen, daß die beschleunigte Entwicklung im wesentlichen auf einer rascheren Rückbildung der

Larventeile, nicht einer rascheren Bildung der Organe des fertigen Tieres beruhe. Das ist nicht stets richtig, sondern nur bei Anwendung größerer Dosen. F 24 erhielt nur kurze Zeit eine kleine Menge Schilddrüsensubstanz. Daraufhin erfolgte gerade die Weiterentwicklung derjenigen Teile, die zu wichtigen Organen des fertigen Fröschchens werden, während die Rückbildungserscheinungen zunächst ausblieben. Man könnte versucht sein einzuwenden, daß der Wirkungsmodus bei primär thyreoidektomierten Tieren ein anderer sei als bei unvorbehandelten. Dies sei einmal zunächst zugegeben. Es könnte so sein, daß die Schilddrüsenfütterung an thyreoprive Larven nur die Fortbildungsprozesse auslöst, während der Beginn der Rückbildungserscheinungen an das Vorhandensein der eigenen Schilddrüsenanlagen geknüpft wäre. (Eine interessante Analogie dazu wäre, daß *Romeis* die Schilddrüsensubstanz selbst in zwei verschiedene Stoffe zerlegen konnte, deren einer nur die Rückbildungserscheinungen hervorruft, während der andere zur Weiterentwicklung anregt.) Das ist aber nicht der Fall, denn bei F 24 treten bei erneuter Beeinflussung die Rückbildungsvorgänge auch auf (vgl. Tabelle II). Die Verfütterung von Schilddrüsensubstanz an thyreoprive Tiere bietet insofern ein reineres Bild wie die Fütterung an normale Larven, als dadurch die Wirkung der zugeführten Schilddrüse auf das Versuchstier beobachtet wird, ohne daß eine Modifikation der Wirkung durch die noch vorhandene arteigene Schilddrüsenanlage erfolgen kann. Wir kommen damit zur Klärung einer letzten Frage, der Frage nach dem Angriffspunkt verfütterter Schilddrüse im Froschlärvenkörper. Noch in letzter Zeit hat *Rogers* die Behauptung aufgestellt, daß Schilddrüsenmedikation beim Menschen nur Erfolg habe, wenn dieser noch eigene Schilddrüse besitze. Die Wirkung der zugeführten Schilddrüsen-substanz soll ihren Angriffspunkt in der Schilddrüse des Patienten haben. Ähnlich nimmt *Romeis* in seiner fünften Arbeit an, daß die Wirksamkeit der verfütterten Schilddrüse bei seinen Versuchen auf dem Umweg über die Schilddrüse der Versuchslarven in Erscheinung trete. Diese Annahme ist durch mein Versuchsergebnis bei F 24 überflüssig geworden. Es steht jedenfalls fest, daß man durch Verfütterung von Schilddrüsensubstanz auch beim vollständig thyreopriven Versuchstier die Metamorphose in Gang bringen, d. h. typische Schilddrüsenwirkung erhalten, kann. Besonders die Befunde an den endokrinen Drüsen und Implantationsversuche, deren Resultat ich demnächst veröffentlichen werde, sprechen sehr dafür, daß die durch den Darm oder durch Implantation direkt in den tierischen Körper gelangten Schilddrüsenstoffe die Organe und Gewebe direkt beeinflussen. Die Entscheidung dieser Fragen will ich hier noch aus dem Grunde offen lassen, weil man nicht sicher ausschließen kann, ob die Wirksamkeit der zugeführten Schilddrüsensubstanz nicht an das Vorhandensein der

anderen endokrinen Drüsenanlagen oder sonst bestimmter Gewebe gebunden ist.

Heidelberg, den 6. April 1922.

Literatur.

1. *Adler, Leo*, Metamorphosestudien an Batrachierlarven. I. Exstirpation der Hypophyse. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 39, 1914. — 2. Ders., Metamorphosestudien an Batrachierlarven. A. Exstirpation endokriner Drüsen. B. Exstirpation der Thymus. C. Exstirpation der Epiphyse. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 40, 1914. — 3. Ders., Untersuchungen über die Entstehung der Amphibien-neotenic. Inaug.-Diss. Frankf. 1916. — 4. *Allen, B. M.*, The parathyroid glands of thyroidless bufo larvae. Journ. of exp. Zool., Bd. 30, Nr. 2, 1920. — 5. *Biedl*, Innere Sekretion, Urban und Schwarzenberg. Berlin-Wien 1913. — 6. *Doms*, Über den Einfluß der Temperatur auf Wachstum und Differenzierung der Organe während der Entwicklung von *Rana esculenta*. Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. 87, H. I. — 7. *Dustin, A. P.*, Histologische Untersuchungen über den normalen und experimentell beeinflussten Thymus der anuren Amphibien. Arch. de biologie, Bd. 30, 1920. — 8. *Eidmann, Hermann*, Über Wachstumsstörungen bei Amphibienlarven. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 49, 1921 (dort auch weitere Literatur). — 9. *Fulton, John jr.*, The controlling factors in amphibian metamorphosis. A review. 1921. Endocrinology. — 10. *Hahn, Amadeus*, Beobachtungen an Riesenlarven von *Rana esculenta*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 80, 1912. — 11. *Hertwig, Günther*, Das Radiumexperiment in der Biologie. Strahlentherapie. Bd. 11, 1920. — 12. *Hoskins, E. R.*, und *M. M. Hoskins*, The interrelation of the thyroid and hypophysis in the growth and development of frog larvae. Endocrinology. Bd. 4, 1920. — 13. *Jarisch, Adolf*, Über die Wirkung der Schilddrüse auf Kaulquappen. Pflügers Arch., Bd. 179, Heft 4. — 14. *Jensen, C. O.*, La glande thyroïde et les anomalies de métamorphose chez les anoures. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol., Bd. 83, 1921. — 15. *Rogers, John*, Organ therapy in thyroid and allied disorders. Med. rec., Bd. 98, 1920. — 16. *Witschi, Emil*, Der Hermaphroditismus der Frösche und seine Bedeutung für das Geschlechtsproblem und die Lehre von der inneren Sekretion der Keimdrüsen. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 43, S. 3/4, 1921. — (Die ausländische Literatur konnte infolge der Nachkriegsverhältnisse nur nach den Referaten in den *Springerschen* Berichten für die gesamte Physiologie und experimentelle Pharmakologie berücksichtigt werden. Die Literatur über Fütterungsversuche mit Schilddrüsensubstanz ist nicht noch einmal aufgeführt, da sie sich bereits in dem Literaturverzeichnis meiner Arbeit über Epithelkörperfütterungsversuche in eben diesem Archiv, Bd. 48, 1921 findet.)