

**Einfluß homöopathisch und
nicht homöopathisch hergestellter
Thyroxinlösungen auf die
Metamorphosegeschwindigkeit
bei Rana temporaria**

Diplomarbeit

der Fakultät für Zoologie

Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von

Conrad Heckmann

Tübingen, April 1997

Hiermit erkläre ich, daß ich diese Arbeit selbst verfaßt habe und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Tübingen, den 14. April 1997

Danksagungen

Diese Arbeit konnte ich nur dank der tatkräftigen Unterstützung und regen Anteilnahme einer Vielzahl von Helfern, Förderern und Beratern durchführen. Ihnen allen möchte ich an dieser Stelle ein kollektives Dankeschön aussprechen.

Mein größter Dank gilt Herrn und Frau Hamm, Inhaber der Gärtnerei Hamm in der Friedrich-Dannenmann-Straße in Tübingen, die mir mit dem Gewächshaus samt Einrichtung und vielfältiger logistischer Unterstützung gleich ein ganzes Forschungslabor zur Verfügung gestellt haben. Herrn Hamm gebührt auch der Status eines fachlichen Betreuers, da er bei technischen Problemen erster Ansprechpartner war, den Fortgang der Arbeit stets im Auge hatte und mit seinen wertvollen Ratschlägen und kritischen Fragen ganz wesentlich zum reibungslosen Ablauf beitrug. Auch Herr Fleck von der Gärtnerei war für mich stets ansprechbar und konnte immer ein paar Minuten seines vollen Arbeitstages für das Kaulquappenprojekt sparen, wenn Not am Mann war. Bei der Auswahl und Beschaffung des Aquaristik-Zubehörs stand mir Herr Haidt von der Tierphysiologie mehrfach zur Seite. Frau Budziat war mir mit ihren fotografischen Fachkenntnissen bei der Herstellung des Bildmaterials eine große Hilfe. Frau Dr. Angerer von der Mikrobiologie unterstützte mich logistisch bei der Herstellung der Lösungen. Herr Ebert vom Forstamt Bebenhausen erlaubte mir den Zugang zu den Froschbiotopen des Schönbuch und wies mich auf die geeignetsten Teiche hin. Bei Dr. Elmlinger und Mitarbeiterinnen in der Kinderklinik durfte ich die Hormonmessungen durchführen. Die MitarbeiterInnen des Instituts für Medizinische Informationsverarbeitung, namentlich Frau Bock und Herr Arend, wußten für jedes EDV-Problem die richtige Tastenkombination. Herr Dr. Strüh von der Wala GmbH trug mit seiner Unterstützung zum Erfolg der Studie bei. Auf die Mithilfe von Herrn Köhler und Frau Herberth bei der Durchführung der Routinearbeiten konnte ich mich vollkommen verlassen. Schließlich bin ich meinen offiziellen Beratern und Betreuern zu Dank verpflichtet: Herrn Lüdtko vom Institut für Medizinische Informationsverarbeitung für seine fortdauernde statistische Beratung; Herrn Univ.-Prof. Moeller, der das Amt des offiziellen Tübinger Betreuers und die damit verbundene Arbeit auf sich nahm und Herrn Ass.-Prof. Endler aus Graz/Urbino, bei dem das ganze Projekt seinen Ausgang nahm.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Themenstellung	1
1.2	Die Ähnlichkeitsregel	1
1.3	Bezug der Arbeit zur Homöopathie	2
1.4	Beschreibung des Versuchsmodells	3
1.5	Verfolgte Ziele	4
1.6	Verwandte Arbeiten in der homöopathischen Grundlagenforschung	4
2	Zur Metamorphose der Froschlurche	6
2.1	Benennung der Entwicklungsstadien	6
2.2	Die Schilddrüsenhormone T ₃ und T ₄	8
2.3	Zur Thyroxinkinetik	9
2.4	Umwelteinflüsse auf die Entwicklungsgeschwindigkeit	11
2.4.1	Temperatur	11
2.4.2	Licht	15
3	Material und Methoden	16
3.1	Versuchsplan	16
3.2	Vorbereitungen	17
3.2.1	Lösungen	17
3.2.2	Tiere	19
3.3	Bedingungen am Versuchsort	19
3.3.1	Allgemein herrschende Bedingungen	19
3.3.2	Aufzuchtbedingungen	20
3.3.3	Versuchsbedingungen	20
3.3.4	Vorbeugende Maßnahmen gegen die Verschleppung von Thyroxin	22
3.4	Versuchsdurchführung	23
3.5	Konzentrationsbestimmung	26
4	Ergebnisse	27
4.1	Schließende Statistik	27

4.1.1	Isolierte Effekte	27
4.1.2	Globale Effekte	28
4.2	Beschreibende Statistik	30
4.2.1	Isolierte Effekte	31
4.2.2	Globale Effekte	60
4.3	Konzentrationsbestimmung	67
5	Diskussion	69
5.1	Konzentrationsstufe 4	69
5.2	Konzentrationsstufen 5,6,7,8	70
5.2.1	Isolierte Effekte	70
5.2.2	Globale Effekte	71
5.3	Konzentrationsstufe 30	73
5.4	Mögliche methodische Verbesserungen für künftige Versuche	73
5.4.1	Versuchsdauer	73
5.4.2	Kurzfristige Temperaturschwankungen als möglicher Störfaktor	74
5.4.3	Der saisonale Faktor	74
6	Zusammenfassung	75
7	Schluß	76
8	Abkürzungsverzeichnis	77
9	Literatur	78

1 Einleitung

1.1 Themenstellung

Schon seit ihrer Begründung durch den Arzt Samuel Hahnemann (1755 - 1843) hat es in der Homöopathie stets Bestrebungen gegeben, für ihre offenkundigen medizinischen Erfolge eine naturwissenschaftliche Erklärung zu finden. In der außerklinischen Forschung werden hierbei typischerweise bestimmte Erfahrungstatsachen aus der klinischen Praxis herausgegriffen und auf ihre Übertragbarkeit auf andere biologische oder auf nichtbiologische Versuchsmodelle hin untersucht. Dieser Weg wurde auch in der vorliegenden Diplomarbeit besprochen. Anhand eines Tierversuchs sollte hier exemplarisch erkundet werden, ob sich bei stark verdünnter Verabreichung eines Wirkstoffes an einen Organismus eine Umkehr seiner Wirkung bei höherer Konzentration beobachten läßt. Darüber hinaus sollte dabei der Einfluß der Herstellungsweise des Wirkstoffes auf das Ergebnis untersucht werden. In dem hier verwendeten Versuchsmodell wurde die Wirkung niedrig konzentrierter, nach homöopathischer Vorschrift verschüttelter und nicht verschüttelter Thyroxingaben auf die Metamorphosegeschwindigkeit beim Grasfrosch (*Rana temporaria*) untersucht.

1.2 Die Ähnlichkeitsregel

Die obenerwähnte Übertragung klinischer Erfahrungstatsachen auf außerklinische Forschungsgebiete besteht in diesem Fall in einer exemplarischen Untersuchung der sogenannten Ähnlichkeitsregel, einem Grundpfeiler der klassischen Homöopathie, in einem entwicklungsbiologischen Tierversuch. Die Ähnlichkeitsregel beinhaltet, daß ein Agens, das bei Verabreichung in chemisch wirksamer Dosis an einen gesunden Probanden ein bestimmtes Symptombild hervorruft, dies auch bei sehr niedriger Dosierung bewirken kann. Diese Erfahrungstatsache macht man sich bei homöopathischen Arzneimittelprüfungen zunutze. Ferner ist das Agens unter gewissen Umständen in der Lage, bis hinunter zu sehr niedrigen Dosierungen einen Kranken mit eben diesem Symptombild zu kurieren. Jedem Arzneimittel wird in der homöopathischen Praxis ein Arzneimittelbild zugeordnet. Damit wird impliziert, daß das Arzneimittel je nach Befinden des Patienten bzw. Probanden und der Wahl der Dosierung in der Lage ist, gewisse Symptome oder Symptomkomplexe, die zu seinem Arzneimittelbild gehören, hervorzurufen, zu verschlimmern oder zu kurieren. Dem Arzneimittel wird also eine ambivalente Natur zugesprochen. Ob es im symptomverstärkenden oder -abschwächenden Sinn wirkt, kann von sehr unscheinbaren Faktoren abhängen. Die richtige Handhabung der Arzneimittelbilder und die homöopathische Anwendung von Arzneien sind eine anspruchsvolle Kunst, was jedoch nicht Gegenstand der vorliegenden Diplomarbeit ist.

Auf den Tierversuch übertragen ließe die Ähnlichkeitsregel erwarten, daß die Verabreichung von Thyroxin an Kaulquappen auch noch bei Konzentrationen, die nach der vorherrschenden Lehrmeinung keine Wirkung mehr zeigen dürften, das "Symptombild", das Thyroxin natürlicherweise in Kaulquappen hervorruft, in irgendeiner Weise beeinflussen sollte. Wenn man die Metamorphose des Grasfroschs im homöopathischen Sinn als "Arzneimittelbild" von Thyroxin für die Kaulquappen auffaßt, so weicht man damit in zwei Punkten vom ursprünglichen Verständnis der Ähnlichkeitsregel ab. Erstens handelt es sich bei der Metamorphose um ein "Symptombild", das nicht einem einzelnen Lebewesen, sondern einer ganzen Tierklasse eigen ist. Zweitens handelt es sich nicht um einen krankhaften, sondern um einen gesunden, genetisch vorprogrammierten Prozeß. Ob eine derartige Erweiterung des Verständnisses der Ähnlichkeitsregel wissenschaftlich von Nutzen ist, läßt sich anhand der klinischen Lehre kaum entscheiden, weil es dort diesbezüglich keine Erfahrungen gibt. Wenn eine Behandlung von Kaulquappen mit äußerst niedrig konzentriertem Thyroxin in irgendeiner Weise deren Metamorphose beeinflußt, sollte es jedenfalls legitim sein, dies gedanklich in Verbindung mit der Ähnlichkeitsregel zu bringen.

1.3 Bezug der Arbeit zur Homöopathie

Unter "homöopathischen" Wirkungen sind im folgenden Wirkungen zu verstehen, die entweder angesichts der niedrigen Konzentration des eingesetzten Wirkstoffs oder der Wirkungsart oder -richtung nicht mit herkömmlichen naturwissenschaftlichen Theorien zu erklären sind. Dabei wird nicht übersehen, daß die klassische Homöopathie nur eine von mehreren medizinischen Methoden ist, die sich solche Wirkungen zunutze macht. Es wird auch nicht verkannt, daß eine solche Definition nur einige wenige, für den praktizierenden Homöopathen möglicherweise völlig unbedeutende Aspekte der Wirkungen homöopathischer Arzneimittel beinhaltet. Die Verwendung dieses Begriffs in der homöopathischen Grundlagenforschung sollte dennoch erlaubt sein. Er soll nämlich darauf hinweisen, daß es dabei um Wirkungen geht, deren naturwissenschaftliche Aufklärung der Anerkennung der Homöopathie in unserer Gesellschaft förderlich wäre.

Hier sei noch angemerkt, daß es in der homöopathischen Grundlagenforschung nie darum gehen kann, die Wirksamkeit der Homöopathie zu beweisen oder zu widerlegen. Dies ist Sache der klinischen Homöopathie. Aufgabe einer klassisch naturwissenschaftlich ausgerichteten homöopathischen Grundlagenforschung ist es vielmehr, mit den ihr verfügbaren Methoden nach homöopathischen Wirkungen ausgewählter Agenzien zu suchen und diese Wirkungen nach Möglichkeit zu ergründen (Righetti, 1988).

1.4 Beschreibung des Versuchsmodells

Seit der erstmaligen Anwendung des Versuchsmodells 1989 durch die Arbeitsgruppe um Dr. Endler am Institut für Strukturelle Medizinische Forschung (später am Ludwig Boltzmann Institut für Homöopathie) in Graz hat man wiederholt und auch in unabhängigen Labors nachweisen können, daß sehr niedrige Dosen von Thyroxin, das nach homöopathischer Vorschrift zubereitet wurde, die Metamorphose des Grasfroschs tatsächlich beeinflussen (Endler et al., 1994, 1996). Je nach den gewählten Versuchsbedingungen hat dabei die Behandlung eine Beschleunigung oder eine Verlangsamung der Metamorphose zur Folge. Im folgenden sollen nun einige dieser Ergebnisse im Zusammenhang mit der angewandten Methodik kurz erläutert werden.

Jeder Versuch beginnt mit Grasfroschkaulquappen eines definierten Zweibeinstadiums. Als Meßgröße dient die kumulierte Anzahl von Tieren pro Becken, die zu vorgegebenen Zeitpunkten das Vierbeinstadium erreicht haben. Die Thyroxin- bzw. die Kontrollösungen werden dem Beckenwasser in regelmäßigen Zeitabständen zugetropft. Unter anderem wurden bislang folgende Versuchsparameter untersucht: 1) Entwicklungsabschnitt oder -zeitpunkt, zu dem die Tiere behandelt werden; 2) Herkunft der Tiere; 3) Häufigkeit der Verabreichung; 4) Konzentration der eingesetzten Thyroxinlösungen; 5) Art der Herstellung der Thyroxinlösungen.

Versuche mit einer homöopathisch zubereiteten Thyroxinlösung der nominellen Konzentration 10^{-30} g T_4 / ml Wasser (Hochpotenz im homöopathischen Sprachgebrauch; mit der Zugabe ins Beckenwasser erfolgt eine weitere Verdünnung um den Faktor 10^5 , als molare Konzentration ausgedrückt also nominell von $1,32 \cdot 10^{-30}$ M auf $1,32 \cdot 10^{-35}$ M) haben bei achtstündlicher Verabreichung an Hochlandtiere im Herbst eine Beschleunigung der Metamorphose ergeben. Dagegen zeigten 1995 meine eigenen Vorversuche in Graz zur Untersuchung des Konzentrationsbereichs 10^{-5} - 10^{-8} g T_4 / ml an Hochlandtieren bei achtstündlicher Verabreichung tendenziell eine Hemmwirkung auf die Metamorphose (Lauppert, Endler, 1996). Bei Thyroxinlösungen, die nach homöopathischer Vorschrift nach jedem Verdünnungsschritt verschüttelt worden waren, fiel diese Hemmwirkung stärker aus als bei nur schrittweise verdünnten Lösungen gleicher Konzentration (ebenda).

Ziel dieser Diplomarbeit war es, zunächst die genannten Ergebnisse zum Konzentrationsbereich 10^{-5} - 10^{-8} g T_4 / ml anhand größerer Tierzahlen zu überprüfen. Darüber hinaus sollten die Untersuchungen im Bereich relativ hoher Konzentrationen in zweifacher Hinsicht ausgedehnt werden: Zum einen sollte durch Erweiterung des Konzentrationsbereichs auf 10^{-4} bis 10^{-8} g T_4 / ml ein Vergleich mit der bekanntlich metamorphoseinduzierenden Wirkung noch höher konzentrierter Thyroxinlösungen ermöglicht werden. Zum anderen sollte

eine dritte Testreihe mit nicht verschüttelten und nicht schrittweise verdünnten, also mit sogenannten Einschnittverdünnungen zum Einsatz kommen.

1.5 Verfolgte Ziele

Um zum Blickwinkel der Homöopathie zurückzukehren, ging es in dieser Arbeit darum, festzustellen, ob in diesem speziellen Anwendungsfall neben dem Hochpotenzbereich auch der Niederpotenzbereich auf die Gültigkeit der Ähnlichkeitsregel im genannten weiten Sinn hinweist. Da eine beschleunigende Wirkung in diesem Konzentrationsbereich auch auf gewöhnlichem biochemischem Weg zustande kommen könnte, wäre dies nur dann der Fall, wenn sich dabei eine Hemmung der Metamorphose feststellen ließe. Weiterhin sollte exemplarisch untersucht werden, ob dem in der Homöopathie heute generell vorgeschriebenen sukzessiven Verdünnen und Verschütteln flüssiger Arzneien in diesem Anwendungsfall eine Bedeutung zukommt (Homöopathisches Arzneibuch, 1991). Diese Frage ist für Hersteller homöopathischer Arzneien prinzipiell von Interesse, da die Meinungen darüber, welche Kriterien für die Herstellung homöopathischer Arzneien zu gelten haben, weit auseinander gehen (Strüh, Wala GmbH, unveröffentlichte Mitteilung). Darüber hinaus könnten die Ergebnisse für die homöopathisch hergestellten Thyroxinlösungen im Vergleich zu ihren Wasserkontrollen für sich allein von Interesse sein. Ließe sich nämlich ein Versuchsmodell etablieren, mit dem man reproduzierbar spezifisch homöopathische Wirkungen entsprechend hergestellter Lösungen nachweisen könnte, hätte man damit ein Instrument, um zumindest exemplarisch feststellen zu können, welchen äußeren Einflüssen man homöopathisch hergestellte Lösungen aussetzen darf, ohne daß sie ihre Wirkung verlieren. An einem solchen Instrument besteht seitens homöopathischer Arzneimittelhersteller Interesse, da über die Einflüsse z.B. von Sterilisationsverfahren, elektromagnetischen Feldern oder Lagerzeit auf homöopathische Arzneien wenig bekannt ist (Strüh, unveröffentlichte Mitteilung). Ob das vorliegende Versuchsmodell diesem Zweck dienen könnte, bleibt allerdings abzuwarten.

Mit diesem Versuchsmodell wird ein rein phänomenologischer Zugang zur Erforschung homöopathischer Effekte gesucht. Fragen nach dem genauen Ort oder der Natur möglicher Wechselwirkungen zwischen dem Homöopathikum und dem Organismus müssen hier außer Acht bleiben.

1.6 Verwandte Arbeiten in der homöopathischen Grundlagenforschung

In der homöopathischen Grundlagenforschung sind schon zahlreiche Versuche an den unterschiedlichsten Organismen durchgeführt worden. Positive Ergebnisse im Sinne der Homöopathie lieferten dabei unter anderem Versuche am menschlichen Immunsystem (Bastide

et al., 1985, 1987; Poitevin et al., 1988; Davenas et al., 1987), an Enzymen verschiedener Organe sowie an physiologischen Parametern wie der Herz- und Darmfunktion (Hadji et al., 1986; Sukul et al., 1990). Wegen ihrer thematischen Verwandtschaft mit der vorliegenden Arbeit sollen hier zwei Studien kurz angesprochen werden.

König untersuchte 1927 die Wirkung konzentrierter bis extrem verdünnter Blei- und Silbernitratlösungen auf die Entwicklung und das Wachstum von Grasfroschkaulquappen. In beiden Versuchsreihen wurden je 20 Kaulquappen jeder Potenzstufe von D1 bis D30, also Salzlösungen der Konzentrationsstufen 10^{-1} g / ml, 10^{-2} g / ml,.... 10^{-30} g / ml (0,31 M, 0,031 M usw. bei $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ bzw. 0,59 M, 0,059 M bei $\text{Ag}(\text{NO}_3)$) ausgesetzt. Beobachtet wurde die Zahl der überlebenden Kaulquappen als Funktion der Zeit. Es zeigte sich, daß auch unterhalb des für gewöhnlich als toxisch geltenden Konzentrationsbereichs einzelne Potenzen eine auffällig hohe Todesrate bedingten. Interessanterweise traten solche Potenzen bei beiden Salzen in unmittelbarer Nachbarschaft zueinander innerhalb der Dezimalreihe auf. König interpretierte seine Ergebnisse im Bereich niedrigerer Konzentration als Ausdruck der Überlagerung einer bakteriziden Wirkung und einer die Kaulquappen schädigenden Wirkung der homöopathischen Potenzen. Auch wenn es dieser Arbeit mangels Wiederholung an Beweiskraft fehlt, liefert sie doch einen Hinweis dafür, daß Kaulquappen sich zum Nachweis "homöopathischer" Wirkungen gut eignen könnten. Hierfür spricht auch die Erfahrungstatsache, daß Organismen, die unter hohem (physiologischem oder unphysiologischem) Streß stehen, auf schwache äußere Einflüsse, wie sie z.B. von homöopathischen Präparaten ausgehen, stärker reagieren als sonst. Metamorphosierende Kaulquappen dürfen dabei sicherlich als Musterbeispiel eines unter hohem physiologischem Streß stehenden Organismus gelten.

Eine der wenigen Arbeiten, die sich mit Wirkungsunterschieden zwischen homöopathisch und nicht homöopathisch hergestellten Präparaten gleicher Konzentration beschäftigt, ist die Dissertation von Fuhrmann über die Beeinflussung ausgewählter Parameter der Rattenleber durch Sulfur (Schwefel) D6 und D12 ($3,1 \cdot 10^{-8}$ M bzw. $3,1 \cdot 10^{-14}$ M) und gewöhnlichen Schwefelverdünnungen gleicher Konzentration. Gemessen wurde die Gluthationkonzentration (GSH) im Leberhomogenat, in Mitochondrien und im Cytosol sowie die Konzentration dreier Enzyme. Es wurde nach der Tageszeit der Behandlung differenziert. Hier sei nur festgehalten, daß in 17 von insgesamt 28 Fällen ein signifikanter Wirkungsunterschied zwischen den homöopathischen Potenzen und den entsprechenden Einschnittverdünnungen zu beobachten war. Auch wenn sich dieses Versuchsmodell in vielerlei Hinsicht von unserem unterscheidet, läßt dieser gut dokumentierte positive Befund den von uns gewählten Versuchsansatz doch lohnend erscheinen.

2 Zur Metamorphose der Froschlurche

Da die Biologie der Metamorphose noch für keine einzelne Art erschöpfend behandelt wurde, sind in den folgenden Ausführungen Ergebnisse aus Studien an verschiedenen Froschlurcharten zusammengetragen.

2.1 Benennung der Entwicklungsstadien

Im folgenden wird eine stark vereinfachte Übersicht über den Gang der Entwicklung bei *Rana temporaria* innerhalb des hier interessierenden Abschnitts gegeben (Abb. 1) Damit soll zum einen das verwendete Start- und Zielkriterium veranschaulicht werden. Zum anderen dient dies dem besseren Verständnis der nachfolgend besprochenen Thyroxinkinetik metamorphosierender Kaulquappen. In der Literatur haben sich verschiedene Systematiken zur Beschreibung der Entwicklung von der larvalen zur adulten Form etabliert, die sich strenggenommen jeweils nur auf eine ganz bestimmte Art beziehen. Da es keine eigene Systematik für *Rana temporaria* gibt, soll hier die von Taylor und Kollros (1946, zitiert nach Dodd und Dodd, 1976) für *Rana pipiens* erarbeitete Systematik zugrundegelegt werden. Sie wird von einigen in der nachfolgenden Besprechung zitierten Autoren verwendet und dabei auch auf andere Froscharten übertragen. Die geringfügigen Abweichungen vom Entwicklungsgang bei *Rana temporaria* sind für die hier gebotene grobe Übersicht ohne Bedeutung.

- a) späte Prämetamorphose ca. VI - VIII
- b) frühe Prometamorphose ca. XI - XII
(Startkriterium: das von Schwanz und Unter- und Oberschenkel gebildete Dreieck gibt den Blick auf den Untergrund (Boden des Aquariums) gerade eben frei.)
- c) mittlere Prometamorphose ca. XIV - XVI
- d) späte Prometamorphose ca. XVII - XIX
- e) früher Höhepunkt XX
(Zielkriterium: Zweites Vorderbein samt Hand frei)
- f) später Höhepunkt ca. XXII - XXIV

Abb. 1 a-f: Überblick über die postembryonale Entwicklung bei *Rana temporaria*
Benennung der Stadien nach Taylor, Kollros, 1946.

2.2 Die Schilddrüsenhormone Trijodthyronin (T_3) und Tetrajodthyronin (Thyroxin, T_4)

Trijodthyronin und Tetrajodthyronin spielen bekanntlich bei der Amphibienmetamorphose eine zentrale Rolle. T_4 entsteht in der Schilddrüse durch Jodierung von Thyronin und seiner Vorläufermoleküle. Das hierzu benötigte Jod wird über Mund, Haut und Kiemen aus dem umgebenden Wasser aufgenommen (Dodd, Dodd, 1976). T_3 entsteht dagegen vor allem durch die Dejodierung von T_4 in der Blutbahn, wie unten beschrieben wird. Im Blut liegen T_4 und T_3 größtenteils an das Transporteiweiß Thyreoglobulin gebunden vor. Die Jodaufnahme und Thyroxinsynthese und -ausschüttung während der Metamorphose werden durch das Adenohypophysenhormon TSH induziert, dessen Produktion wiederum durch Hormone des Hypothalamus gesteuert wird (Kikuyama, 1993). Auf nähere Einzelheiten der beteiligten Regelkreise soll hier nicht eingegangen werden.

Nach übereinstimmender Meinung zeigt dabei T_3 eine höhere Aktivität im peripheren Gewebe als T_4 . Ob dies auf die höhere Dichte T_3 -spezifischer Rezeptoren im Kern oder auf deren höherer Affinität zu diesem Hormon zurückzuführen ist, wird unterschiedlich beurteilt (Kikuyama, 1993, Duellman, Trueb, 1986). Darüber hinaus scheint die Aktivität von T_3 und T_4 vom Gewebetyp und dem betrachteten Entwicklungsstadium abzuhängen (Duellman, Trueb, 1985). Für alle untersuchten Amphibien gilt, daß weitaus mehr T_4 als T_3 ausgeschüttet wird. Nach einer Studie von Regard et al. (1978) liegt bei *Rana catesbeiana* die T_4 -Konzentration im Plasma im gesamten Verlauf der Metamorphose um grob das Zehnfache über der von T_3 (Diagramm 1). Dieses Größenverhältnis wird allerdings durch den höheren prozentualen Anteil an freiem T_3 etwas nivelliert. Bei anderen Arten wurde eine Veränderung des Verhältnisses zugunsten von T_3 zum Höhepunkt der Metamorphose hin gefunden, worauf im folgenden Abschnitt eingegangen wird.

Die Dejodierung von T_4 zu T_3 spielt insbesondere während des Höhepunkts der Metamorphose eine wichtige Rolle. Hierauf deutet unter anderem der Befund von Galton und Hiebert (1988) hin, wonach die Aktivität des erforderlichen Enzyms Trijodthyronin-5'-dejodinase zum Höhepunkt der Metamorphose hin in den meisten Geweben ansteigt. Zweifelsfrei bewiesen wurde es durch eine Studie von Buscaglia et al., in der *Xenopus*-Kaulquappen zunächst in ihrer T_3 - und T_4 -Produktion sowie in ihrer Dejodinase-Aktivität gehemmt und anschließend mit T_3 bzw. T_4 behandelt wurden. Dabei gelangten die mit T_3 behandelten Kaulquappen zur Metamorphose, während dies bei den mit T_4 behandelten nicht der Fall war. Nach dieser Studie stammt natürlicherweise nur ein sehr geringer Anteil des Plasma- T_3 direkt von der Schilddrüse.

Was das vorliegende Versuchsmodell betrifft, darf man hieraus schließen, daß das dem Beckenwasser zugegebene T_4 seine Wirkung im Gewebe sowohl in Form von T_3 als auch von

T₄ entfalten kann. Über den Aufnahmeweg zugetropften Thyroxins sind in der Literatur allerdings keine Angaben zu finden.

2.3 Zur Thyroxinkinetik

Die Erforschung der vielfältigen Wirkungen von T₃ und T₄ auf Amphibienlarven gehen auf Gundersnatsch zurück, der 1912 feststellte, daß die Verfütterung von Pferdeschilddrüsengewebe an Grasfroschkaulquappen deren Metamorphose in dramatischer Weise beschleunigt (Gundersnatsch, 1912, zitiert nach Dodd, Dodd, 1976). In der Folge hat man durch Versuche zur Ausschaltung der Schilddrüsen- bzw. der Hypophysenfunktion und ihrer Substitution durch Verabreichung von T₄ die thyroxinabhängigen Regelmechanismen der Amphibienmetamorphose immer weiter aufklären können.

Als Grundlage für alle weitere Forschungen auf diesem Gebiet dient der Befund, daß die Amphibienmetamorphose bei frühzeitiger Unterbindung der körpereigenen Thyroxinproduktion, z.B. durch Hemmung der Schilddrüse mit KClO₄, ganz ausbleibt. *Xenopus laevis* - Larven, etwa, behalten ihre larvale Körperform und wachsen zu Riesenskaulquappen heran (Dodd, Matty, 1964). Im Jahr 1935 gelang es Etkin zu zeigen, daß der normale Fortgang der Metamorphose bei *Rana pipiens* mit einem ständig steigenden Bedarf an Thyroxin einhergeht. Dazu entfernte er jungen Kaulquappen die Schilddrüse und beobachtete ihre Entwicklung in Abhängigkeit von der Menge an T₄, das er ihrem Beckenwasser zugab. Es zeigte sich, daß bereits 10⁻⁹ Gewichtsanteile T₄ ausreichen, um das Wachstum der Hinterbeine während der Prämetamorphose bis (X, T.K.) zu beschleunigen. Um Körper - Hinterbein - Längenverhältnisse zu erreichen, wie sie für die Prometamorphose (XI - XIX, T.K.) charakteristisch sind, benötigten die Tiere T₄-Konzentrationen von mindestens 3 x 10⁻⁹ Gewichtsanteilen. Danach stieg der Bedarf an T₄ für die weitere Entwicklung kontinuierlich an, bis schließlich eine Behandlung mit 243 x 10⁻⁹ Gewichtsanteilen den Tieren zur Vollendung ihrer Metamorphose verhalf. Behandelte man dagegen Kaulquappen bereits im frühen Stadium mit dieser Höchstkonzentration, so kam es zu schweren Fehlbildungen.

Etkin schloß aus diesen Ergebnissen, daß der T₄-Blutspiegel und daher auch die Ausschüttung von T₄ im Laufe der Metamorphose erst allmählich und gegen den Höhepunkt der Metamorphose hin dann immer schneller ansteigen müsse. In bezug auf den zeitlichen Verlauf des T₄-Blutspiegels wurde seine Hypothese durch eine von Regard et al. 1978 durchgeführte Studie über Radioimmunassays an *Rana catesbeiana* im wesentlichen untermauert. Diese Autoren stellten vom Durchbrechen der Vorderbeine (XX, T.K.) bis zur Vollendung der Schwanzreduktion (XXII, T.K.), also innerhalb weniger Tage, eine etwa zehnfache Steigerung sowohl der T₃- als auch der T₄-Konzentration im Plasma fest. Dabei betrug die Maxima 550

ng / 100 ml ($5,5 \cdot 10^{-9}$ g / ml) für T_4 und 75 ng / 100 ml ($0,75 \cdot 10^{-9}$ g / ml) für T_3 . Im weiteren Verlauf fielen die Werte für beide Hormone ebenso steil auf das Niveau während der Prometamorphose wieder ab (s. Diagramm 1).

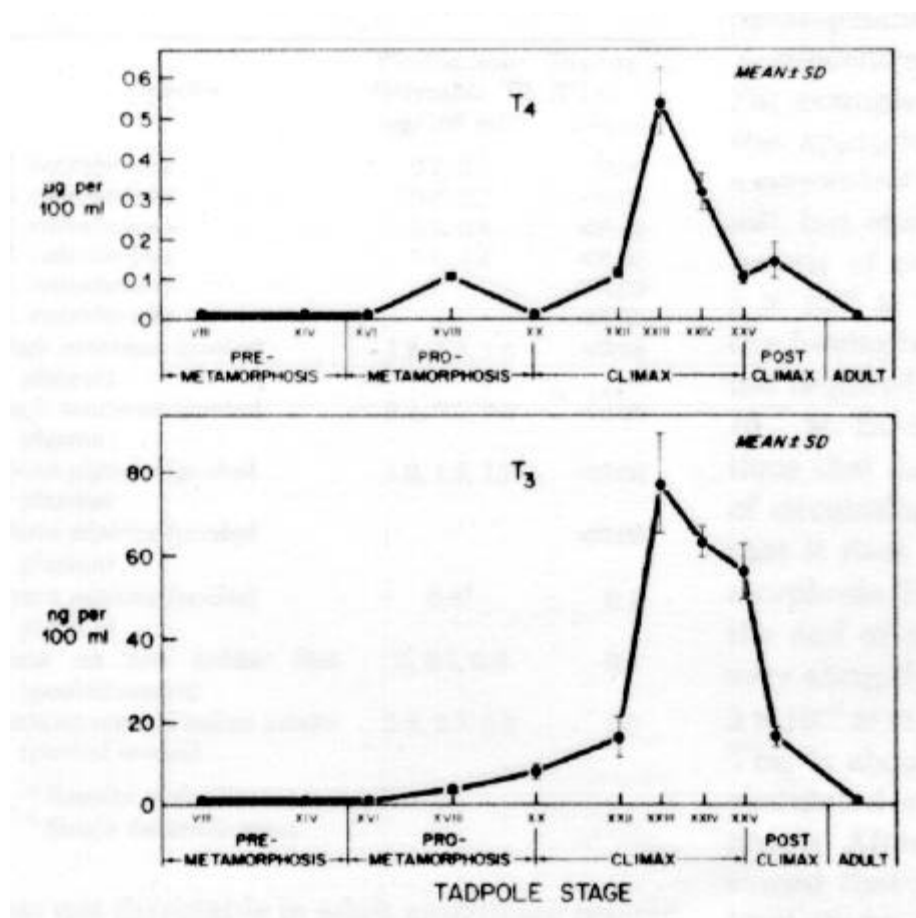


Diagramm 1: Gesamt- T_4 - und Gesamt- T_3 -Konzentration im Plasma von Kaulquappen von *Rana catesbeiana* während verschiedener Entwicklungsstadien.

Quelle: (Regard et al. 1978)

Etkins Schlußfolgerung in bezug auf die T_4 -Ausschüttung gilt inzwischen insofern als revidiert, als sie die T_3 - und T_4 -Aufnahme durch die Gewebe nicht berücksichtigt. Nach Dodd (1976) steigt die T_4 -Synthese und, wie er vermutet, auch die -Ausschüttung bei *Xenopus laevis* von der frühen Prometamorphose (XI - XII, T.K., eigene Stadienangabe) bis zum Beginn der Schwanzreduktion (XXI, T.K.) gleichmäßig bis mindestens zum 40-fachen an und fällt danach steil ab. Ashley und Frieden stellten 1972 bei *Rana pipiens* nach Injektion von radioaktiv markiertem T_3 und T_4 während der Prometamorphose einen rapiden Wiederabfall der zugegebenen Hormone im Blut fest (zitiert nach Dodd, Dodd, 1976). Dies erklärt Dodd mit der hohen T_3 - und T_4 -Aufnahme durch die Gewebe während dieser Entwicklungsphase. Er führt dies mit seinem eigenen Befund zusammen und interpretiert den langsamen Anstieg der T_3 - und T_4 -Konzentrationen im Plasma während der Prometamorphose (XI - XIX, T.K.) als eine Überlagerung eines stärkeren Anstiegs der T_4 -Ausschüttung und einer fortdauernden

Entnahme von T_3 und T_4 aus der Blutbahn durch die Gewebe. Der plötzliche Anstieg der T_3 - und T_4 -Konzentration im Blut während des Höhepunkts der Metamorphose ist danach weniger das Ergebnis einer nochmaligen plötzlichen Steigerung der Hormonausschüttung als vielmehr einer Sättigung der Gewebe mit T_3 und T_4 .

Nach Dodd besteht kein Grund zur Annahme einer Unterbrechung der negativen Rückkopplung des T_3 - und T_4 -Spiegels auf die Produktion von TSH durch die Adenohypophyse, wie dies bei Etkin der Fall war. Da bis zum Höhepunkt der Metamorphose die allmähliche TRH-vermittelte Steigerung der TSH-Produktion durch die Adenohypophyse und damit der T_3 - und T_4 -Produktion durch die Schilddrüse wegen der Aufnahme dieser Hormone durch die Gewebe zu keiner allzu starken Erhöhung ihrer Konzentration im Blut führen, macht sich während dieser Phase ihre TSH-hemmende Wirkung nicht bemerkbar. Diese wird erst wirksam, wenn die Gewebe zum Höhepunkt der Metamorphose (XX, T.K.) gesättigt werden und die T_3 - und T_4 -Konzentration im Blut dadurch steil ansteigt. Daraufhin fällt die Produktion von T_3 und T_4 steil ab. Die Abnahme ihrer Konzentration im Blut infolge von Ausscheidungs- und Abbauprozessen erfolgt dagegen allmählich (Dodd, Dodd, 1976; Duellman, Trueb, 1985).

Die Beeinflussung dieser Regelmechanismen durch andere Hormone, wie z.B. Prolactin und Wachstumshormone, ist in diesem vereinfachten Modell Dodds nicht berücksichtigt und soll in dieser Arbeit auch nicht näher behandelt werden. Da es die Verhältnisse bei Anuren ganz allgemein wiedergeben soll, stellt es notwendigerweise eine Vergrößerung der im Einzelfall tatsächlich ablaufenden Prozesse dar, wie abweichende Befunde anderer Autoren im übrigen belegen (White, Nicoll, 1981).

2.4 Umwelteinflüsse auf die Entwicklungsgeschwindigkeit

2.4.1 Temperatur

Die Entwicklungsgeschwindigkeit von Anurenlarven ist in hohem Maß von der Wassertemperatur abhängig. In Tabelle 1 sind hierzu einige Ergebnisse aus Untersuchungen an *Rana temporaria* wiedergegeben (Witschi, 1936). Hier fällt vor allem die mit abnehmender Temperatur immer länger werdende Dauer von der Befruchtung bis zum Durchbruch des ersten Vorderbeins auf. Interessant ist auch, daß der Variationskoeffizient bei den beiden Extremtemperaturen deutlich höher liegt als bei den beiden mittleren Temperaturen (Diagramm 2). Wie aus einem weiteren Versuch von Witschi hervorgeht, wird die Variabilität der Metamorphosegeschwindigkeit bei *Rana temporaria* auch durch rasche Temperaturwechsel erhöht. Aus seinen Erläuterungen zu Tabelle 2 geht hervor, daß sich die Größen "Larvenzeit"

und "Metamorphosenperiode" auf ganze Larvenkollektive beziehen, also auf den Zeitraum, während dem sich der betreffende Entwicklungsabschnitt im gesamten Larvenkollektiv vollzog.

Grad Celsius	t (Zeit in Tagen)	Variations- koeffizient (%)	Entwicklungs- geschwindig- keit $v = 100/t$	Temperatur- koeffizient Q_{10}	Berechnete Entwicklungs- geschwindig- keit (bei $Q_{10} = 2,65$)
27 *	24,0	5,6	4,2	}1,4 }2,65 }6,1	6,25
21	28,7	3,2	3,5		3,5
15	51,8	3,5	1,9		1,9
10	128,1	4,4	0,78		1,18

Tabelle 1: Wirkung verschiedener Temperaturen auf die Entwicklungsgeschwindigkeit von *Rana temporaria*

Gemessen ist das Intervall zwischen Befruchtung und Metamorphose (Durchbruch des ersten Vorderbeins). Der Temperaturkoeffizient Q_{10} extrapoliert den Faktor, um den sich die Entwicklungsgeschwindigkeit von einer Temperaturstufe zur nächsten unterscheidet, auf eine Temperaturdifferenz von 10 °K. Über die Größe der Versuchskollektive werden keine Angaben gemacht.

- * Eier würden bei dieser Temperatur sterben. Die 27°C-Kultur mußte deshalb bei 22° C angefangen werden und konnte nur im Verlauf der ersten Woche auf 27 ° C gebracht werden. Bei den Berechnungen dieser Tabelle ist dieser Sachverhalt unberücksichtigt geblieben.

Nach Witschi (1936).

Metamorphosenperiode bedeutet hier also die Zeit vom Eintritt der ersten Kaulquappe des Kollektivs in die Metamorphose, d.h., dem Hervortreten ihres ersten Vorderbeins, bis zu dem der letzten. Unter Larvenzeit ist dann die Zeit von der Befruchtung des Laichballens bis zum Ende der Metamorphosenperiode zu verstehen. Der Umfang der Kollektive wird, wie schon in Tabelle 1, nicht angegeben. Der erste Temperaturwechsel erfolgte vor dem Schlüpfen, der zweite im vierten Kollektiv zur Zeit der Hinterbeinknospen. Witschi folgerte hieraus, daß "die Gruppen sich um so unregelmäßiger entwickelten, je größer der Temperaturwechsel war, dem

sie ausgesetzt wurden, und daß ein doppelter Wechsel (mit genügend Zeit für Adaptation auf jeder Stufe) die Variabilität zum Maximum steigert" (Witschi, 1936. S.634).

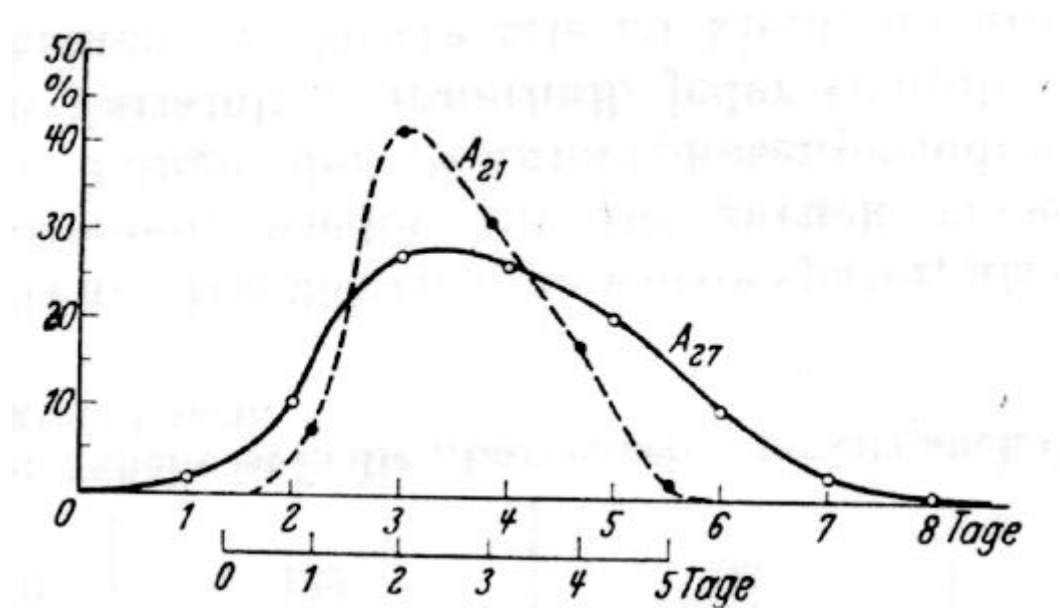


Diagramm 2: Verteilung der Metamorphose in zwei Geschwisterkulturen von *Rana temporaria*. Die Kurven illustrieren die allgemeine Regel, daß unter extremen Lebensbedingungen (Hitze in A₂₇) die Variabilität sich erhöht.
Nach Witschi (1936)

Temperatur in °C (ein- bzw. zweimaliger Temperaturwechsel im Verlauf des Versuchs)	Larvenzeit in Tagen	Metamorphosenperiode in Tagen	Verhältnis von Larvenzeit zu Metamorphosenperiode.
9 / 27	41	25	1:0,61
9 / 20	41	15	1:0,37
9 / 10	143	31	1:0,22
9 / 25 / 10	122	83	1:0,68

Tabelle 2: Wirkung wechselnder Temperaturen auf die relative Länge der Metamorphosenperiode (*R. temporaria*)

Metamorphosenperiode: Zeit vom Eintritt der ersten Kaulquappe des Kollektivs in die Metamorphose, d.h. dem Hervortreten ihres ersten Vorderbeins, bis zu dem der letzten.

Larvenzeit: Zeit von der Befruchtung des Laichballens bis zum Ende der Metamorphosenperiode.

Nach Witschi (1936).

An welcher Stelle des Regelsystems extreme Temperaturen oder abrupte Temperaturwechsel ihren Einfluß ausüben, wird unterschiedlich beurteilt. Neuenschwandner und Weber (1970, zitiert nach Dodd, Dodd, 1976) vermuten, daß sie bei *Xenopus laevis* während der frühen Prometamorphose primär auf die hypothalamische TRH-Ausschüttung wirken, da diese Kaulquappen bei 10 °C sowohl auf TSH- als auch auf T₄-Injektionen mit einer beschleunigten Entwicklung reagierten. Andererseits stellten Norris und Platt (1974, zitiert nach Dodd, Dodd, 1976) fest, daß neptäne *Ambystoma tigrinum* - Larven bei 16 °C auf tägliche Injektionen von 10⁻³ µg T₄ ansprachen, bei 5 °C auf tägliche Injektionen von 10⁻¹ µg hingegen nicht. Was die Variabilität der Entwicklungsgeschwindigkeit bei starken Temperaturschwankungen betrifft, dürfte in jedem Fall Witschis Feststellung zutreffen, daß "der Entwicklungsprozeß einer Froschlarve eine heterogen zusammengesetzte chemische Reaktion [darstellt]. Nur innerhalb relativ enger Grenzen kann dieser Komplex durch Temperaturerhöhung beschleunigt werden, ohne daß die richtige Zusammenarbeit der Teilreaktionen gestört wird" (Witschi, 1927, S.632).

Hieraus folgt, daß für jede Untersuchung äußerer Einflüsse auf die Metamorphosegeschwindigkeit eine genaue Kontrolle der Temperaturbedingungen von großer Bedeutung ist. Aufgrund der deutlichen Ergebnisse, die man in der Vergangenheit mit unserem

Versuchsmodell auch bei schwankenden Temperaturen erzielt hat, wurde diese Überlegung bislang wenig beachtet (Endler et al., 1991). Wie noch zu erläutern sein wird, geben die in Tübingen erhaltenen Ergebnisse Anlaß dazu, bei künftigen Arbeiten mit diesem Versuchsmodell die Temperatur sorgfältig zu kontrollieren.

2.4.2 Licht

Bei Grasfroschkaulquappen, die im Dunkeln gehalten werden, unterbleibt die Metamorphose (Milne, 1950, nach Dodd, Dodd, 1976). Dagegen wird sie durch dauernde Lichteinwirkung beschleunigt (Guyotant, 1964, nach Dodd 1978). Verschiedene Arbeiten deuten darauf hin, daß der Lichteinfluß über den Hypothalamus wirkt. Nach Florentin und Stutinsky wird bei Grasfroschlarven die Aktivität der Adenohypophyse durch Dunkelheit gehemmt. Jüngere Arbeiten von Frawley und Walker (1974, zitiert nach Dodd, Dodd, 1976) machen wahrscheinlich, daß derartige Wirkungen dem Hypothalamus zuzuschreiben sind, da Lichteinflüsse nach der Entwicklung des hypothalämisch - hypophysealen Portalsystems am deutlichsten hervortreten. Inwiefern die Zirbeldrüse die Metamorphosegeschwindigkeit bei Amphibien beeinflußt, wird unterschiedlich beurteilt. Über Arbeiten, die einen derartigen Einfluß in Abhängigkeit von den Lichtverhältnissen untersucht hätten, ist nichts bekannt.

Ohne auf weitere Einzelheiten einzugehen, kann man in bezug auf das Versuchsmodell hieraus folgern, daß alle Becken eines Versuchsblocks nach Möglichkeit den gleichen Lichtverhältnissen ausgesetzt sein sollten, um unerwünschte Fremdeinflüsse zu minimieren.

3 Material und Methoden

3.1 Versuchsplan

Wie bereits in der Einleitung skizziert, sollten jeweils nach drei verschiedenen Methoden hergestellte Lösungen der Konzentrationsstufen 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} und 10^{-8} T₄ g/ml zum Einsatz kommen (10^{-4} g T₄ / ml = $1,32 \cdot 10^{-4}$ M T₄):

- Nach homöopathischer Vorschrift sukzessive verdünnte und jeweils anschließend verschüttelte Lösungen (TDH4 bis TDH8, H wie Hahnemann);
- Lösungen, die durch Umpipettieren sukzessive verdünnt, aber nicht verschüttelt worden waren (TDP4 bis TDP8, P wie pipettiert);
- Lösungen, die in einem Schritt auf die gewünschte Konzentration gebracht worden waren (TDE5 bis TDE8, E wie Einschnittverdünnung).

Zu jeder Thyroxinlösung sollte eine bis auf das Fehlen von Thyroxin identisch hergestellte Wasserkontrolle eingesetzt werden (WDH4 bis WDH8, WDP4 bis WDP8, WDE5 bis WDE8).

Auf Anregung der Wala GmbH sollte zusätzlich die Thyroxin-Hochpotenz TDH30 mit ihrer Wasserkontrolle WDH30 untersucht werden. Wie bei der noch folgenden Beschreibung der Herstellung erläutert, ist TDE4 mit TDP4 und WDE4 mit WDP4 identisch. Somit ergaben sich 30 Lösungen, die jeweils an 12 Becken zu je 10 Tieren untersucht werden sollten (Tabelle 3). Im Abkürzungsverzeichnis auf S. 74 sind die Bezeichnungen der Lösungen nochmals ausführlich erklärt.

Der Einfachheit halber werden ab Tabelle 3 die nominellen Konzentrationen der eingesetzten Thyroxinlösungen auch mit dem negativen dekadischen Logarithmus des in g / ml gemessenen Thyroxingehalts angegeben. Je nach Kontext können damit auch die entsprechenden Wasserkontrollen gemeint sein. Zu beachten ist ferner, daß mit dem ersten Zutropfen eine weitere Verdünnung der eingesetzten Lösungen um den Faktor 10^5 erfolgen sollte. So würde z.B. die T₄-Konzentration im Becken nach der ersten Zugabe von TDH4 theoretisch bei 10^{-9} g T₄ / ml und nach der zehnten Zugabe theoretisch bei 10^{-8} g T₄ / ml liegen. Dies geht im übrigen aus den noch folgenden Angaben zu Beckeninhalt und Pipettiervolumen hervor (Abschnitte 3.3 und 3.4). Soweit nicht anders vermerkt, beziehen sich im folgenden alle Angaben zur T₄-Konzentration auf die Konzentration im betreffenden Fläschchen, nicht auf die im Becken.

Art der Lösung	Konzentrationsstufe: $-\lg (g T_4 / ml)$					
	4	5	6	7	8	30
TDH	120	120	120	120	120	120
WDH	120	120	120	120	120	120
TDP	120	120	120	120	120	
WDP	120	120	120	120	120	
TDE		120	120	120	120	
WDE		120	120	120	120	

Tabelle 3: Versuchsplan: Anzahl der eingesetzten Versuchstiere pro Lösung

3.2 Vorbereitungen

3.2.1 Lösungen

Mit Ausnahme der Lösungen TDE5 bis TDE8 und WDE5 bis WDE8 wurde mit sterilisierten 20 ml-Braunglas-Laborfläschchen gearbeitet. Zunächst wurde eine Stammlösung der Konzentration $10^{-4} g T_4 / ml$ wie folgt hergestellt. Für die drei Versuchsreihen wurde viermal je 1 mg Thyroxin (Tetraiodthyronin-Natriumpentahydrat) in ein 20 ml - Fläschchen abgewogen. (In Wirklichkeit müßten daher alle nominellen Konzentrationsangaben für Thyroxin in diesem Versuch mit dem Faktor $M(T_4) / M(T_4 \cdot Na(H_2O)_5) = 0,87$ multipliziert werden. Da dieser Unterschied für das vorliegende Versuchsprogramm ohne Bedeutung sein dürfte, wird der Einfachheit halber auf die genaue Angabe verzichtet). Um die Auflösung des festen Thyroxins zu erleichtern, wurde zunächst nur der vorgegebene 40%-Anteil, also 4 ml reinen Ethanol, das in einem Wasserbad auf 35 °C erwärmt worden war, zugegeben. Anschließend wurden für die TDH- und TDP-Reihe zwei dieser 20 ml-Fläschchen mit bidestilliertem Wasser auf 10 ml aufgefüllt. Damit war die Lösung TDP4 bereits hergestellt. Um eine gleichmäßige Durchmischung dieser und aller folgenden Lösungen der TDP-Reihe zu gewährleisten, wurde hier und nach jedem folgenden Verdünnungsschritt mit Einweg-Holzstäbchen kurz umgerührt. Zur Herstellung von TDP5 wurde 1 ml TDP4 mit Einwegmaterial in ein 9 ml bidestilliertes Wasser enthaltendes 20 ml - Fläschchen gegeben. Hieraus wurde in analoger Weise TDP6 hergestellt, usw. Um TDH4 herzustellen, wurde das zweite, fest zugeschraubte Fläschchen zur Erzeugung mechanischer Schockwirkungen 30 Mal in kurzen, regelmäßigen Zeitintervallen mit seinem Boden gegen eine feste Holzunterlage geschlagen und anschließend 1 Minute stehengelassen. Zur Herstellung von TDH5 wurde wie oben beschrieben 1:10 verdünnt und nach dem obigen Verfahren verschüttelt. Dieses Vorgehen entspricht den Vorschriften des

Deutschen Homöopathischen Arzneimittelbuchs (1978). Bei der Herstellung der Einschnittverdünnungen mußte jegliches Umpipettieren soweit möglich vermieden werden. Der einzige Pipettierschritt bestand hier in der Zugabe des gesamten Inhalts des dritten 20 ml - Fläschchens mit Ethanol-Stammlösung in ein 96 ml bidestilliertes Wasser enthaltendes, sterilisiertes 100 ml - Fläschchen (TDE5) bzw. von 2 ml (TDE6), 0,8 ml (TDE7), bzw. 0,4 ml (TDE8) Ethanol-Stammlösung aus dem vierten 20 ml - Fläschchen in 498, 1992,2 bzw. 9999,6 ml bidestilliertes Wasser enthaltende sterilisierte Gefäße entsprechender Größe. Um dennoch eine gute Diffusion in den Einschnittverdünnungen zu ermöglichen, wurde jedes Gefäß mehrmals sachte kopfüber gedreht und wieder auf seinen Boden gestellt. Im übrigen wurden nach Beendigung des gesamten Versuchs aus allen 30 Gefäßen Proben zur Bestimmung der Thyroxinkonzentration entnommen. Auf diese Bestimmung wird bei den Ergebnissen (Abschnitt 4.3) eingegangen.

Abb. 2: Die eingesetzten Lösungen

Die zu den einzelnen Thyroxinlösungen gehörigen Wasserkontrollen wurden jeweils nach genau dem gleichen Verfahren, jedoch in Abwesenheit von Thyroxin hergestellt. Um mögliche Fernwechselwirkungen zwischen den Lösungen zu minimieren, wurden alle Flaschen in Alufolie eingewickelt (Abb. 2). Die Berechtigung dieser Vorsichtsmaßnahme, die aufgrund eines (unveröffentlichten) Hinweises von C. Smith von der Universität Salford in Großbritannien erfolgte, soll hier nicht diskutiert werden.

Im Anschluß an die Herstellung wurden die Flaschen durch den Betreuer mit den Zahlen 1 bis 30 kodiert. Dieser Kode wurde bis zur Beendigung der Versuchsarbeiten im Safe der Tübinger Kinderklinik aufbewahrt und mir erst danach mitgeteilt. Da die Lösungen der TDH-, WDH-, TDP- und WDP-Reihen etwa nach Ablauf der Hälfte des Gesamtversuchs ausgingen, mußte die Herstellungsprozedur für diese Lösungen einmal wiederholt werden.

3.2.2 Tiere

Die Kaulquappen wurden in mehreren Fangaktionen innerhalb eines Zeitraums von etwa 4 Wochen aus dem Weiher am sogenannten Schwefelbrunnen bei Bebenhausen im Schönbuch gesammelt. Diese zeitliche Staffelung des Einfangens war erforderlich, weil aus logistischen und personellen Gründen nicht alle zwölf Versuchsblöcke zur gleichen Zeit durchgeführt werden konnten. Ermöglicht wurde dieses Vorgehen neben der natürlichen zeitlichen Streuung der Entwicklung durch den Umstand, daß die zuletzt gehaltenen Kaulquappen sich im kühlen Teichwasser wesentlich langsamer entwickelten als die im vergleichsweise warmen Wasser am Versuchsort gehaltenen. Auf diese Weise konnte der zwölfte Versuchsblock auch noch zwölf Tage nach Beendigung des ersten begonnen werden. Zum Zeitpunkt des Einfangens befanden sich die Tiere in ihrer Entwicklung wenige Tage vor dem Erscheinen der Hinterbeinanlagen (I nach Taylor, Kollross, 1946, zitiert nach Dodd, Dodd, 1976). Bevor auf die Haltung während der Aufzucht eingegangen wird, sollen zunächst die allgemeinen, für Haltungs- und Versuchsphase geltenden Bedingungen am Versuchsort beschrieben werden.

3.3 Bedingungen am Versuchsort

3.3.1 Allgemein herrschende Bedingungen

Ort des Versuchs war ein Gewächshaus der Gärtnerei Hamm in der Friedrich-Dannenmann-Straße in Tübingen. Es bestand Lichtdurchtritt von nahezu allen Seiten, so daß die Tiere weitgehend dem Tagesgang des natürlichen Lichts ausgesetzt waren. Zusätzlich bestand während der 2-3 stündigen Arbeitsschicht ab 22 Uhr künstliche Beleuchtung. Sowohl für die

Aufzuchtbecken als auch für die Versuchsbecken wurde Tübinger Leitungswasser verwendet. Die aufgrund früherer Versuche vorgegebene Mindesttemperatur von 18 °C für die Versuchsbecken wurde durch nächtliches Heizen eingehalten. Hierauf wird bei der Beschreibung der speziellen Aufzucht- und Versuchsbedingungen eingegangen.

3.3.2 Aufzuchtbedingungen

Bei der Aufzucht wurden die Tiere in zu etwa mit 2/3 mit Leitungswasser gefüllten weißen Kunststoffbehältern von 60 cm Länge x 40 cm Breite x 25 cm Höhe bzw. von 40 cm Länge x 40 cm Breite x 40 cm Höhe gehalten. Die Besatzdichte betrug bis zu ca. 10 Tiere / Liter. Um die Lebensbedingungen im übrigen zumindest andeutungsweise denen im natürlichen Habitat anzugleichen, wurden in jedes Becken einige Blattrosetten der Krebschere und andere Wasserpflanzen aus dem Ursprungsteich gegeben. Zur Verbesserung insbesondere der nächtlichen Sauerstoffversorgung wurde jedes Becken mit Blasluft aus einem Aquarienbelüfter beschickt. Als Futter dienten angekochte Salat- und Spinatblätter (Abb. 3). Aufgrund des relativ großen Volumens der Aufzuchtbecken lag die Wassertemperatur hier stets im Bereich zwischen 20 und 25 °C. Das Wasser der Aufzuchtbecken wurde etwa alle 3-4 Tage etwa zur Hälfte ersetzt.

Zur Erleichterung der täglichen Sichtungen wurden die Kaulquappen nach Entwicklungsstadium sortiert (Abb. 4). Das Entwicklungsstadium für den Versuchsbeginn war durch den Grad der Spreizung der Hinterbeine in der Weise definiert, daß das von Schwanz und Unter- und Oberschenkel gebildete Dreieck den Blick auf den Hintergrund gerade eben freigeben mußte. Da der zeitliche Strom an Kaulquappen, die in ihrer Entwicklung gleichauf lagen, oft dünner war als die für einen neuen Versuchsansatz erforderlichen 300, mußte ein kühlbares Aquarienbecken eingesetzt werden, um zu weit fortgeschrittene Tiere in ihrer Entwicklung bremsen zu können. Hierzu wurde ein auf 10 °C abkühlbarer Campingcooler verwendet. Inwieweit dies die Ergebnisse beeinträchtigt haben könnte, wird in der Diskussion behandelt.

3.3.3 Versuchsbedingungen

Als Versuchsbecken wurden einheitlich weiße Kunststoffbecken der Firma Miraplast, Typ H54, mit den Bodenabmessungen 17 x 29 cm und der Höhe 14 cm verwendet. Die Becken wurden einige Stunden vor Versuchsbeginn mit je 3 l Leitungswasser gefüllt, so daß die Wassertemperatur sich vor dem Start der Umgebungstemperatur angleichen konnte. Ab diesem Zeitpunkt wurde kein Wasser mehr gewechselt. Die Wassertemperatur betrug nachts

Abb. 3: Fütterung in einem
Aufzuchtbecken

Abb. 4: Sortieren der Kaulquappen
nach Entwicklungsstadium

mindestens 18 °C und erreichte an den heißesten Tagen einen für die Tiere noch gut verträglichen Höchstwert von 28 °C. Innerhalb dieses Bereichs wurde nichts unternommen, um die Temperatur zu kontrollieren. Da bei früheren Arbeiten Versuche mit starken täglichen Temperaturschwankungen sich von solchen bei weitgehend konstanter Temperatur in ihren qualitativen Ergebnissen nicht wesentlich unterschieden hatten, hatten wir bereits bei der Wahl des Versuchsorts entschieden, daß man hierauf verzichten könne (Endler et al., 1991). Um eine Unterschreitung des Tiefstwerts zu verhindern, wurde nachts geheizt, während zur Begrenzung der Höchsttemperatur Strohmatte auf das Dach gelegt und Netze darunter gespannt wurden.

Helligkeitsmessungen ergaben, daß die Lichtverhältnisse am Tag über die gesamte Fläche der Versuchstische relativ konstant waren, d.h., zu festen Zeitpunkten um nicht mehr als einen Faktor von 1,5 (gemessen in W/m^2) variierten. Um einen möglichen Einfluß dieses Unterschieds zu minimieren, wurde beim Ansatz jedes der 12 Versuchsblöcke die Stellung der 30 Becken relativ zueinander ausgelost. Damit dürften mögliche Einflüsse des Lichts auf das Gesamtergebnis zumindest stark verringert sein. Während des Versuchs wurden als Futter angekochte Salatblätter ad libitum gegeben.

Wurden zu den Beobachtungszeitpunkten vierbeinige Tiere vorgefunden, so wurden sie mit dem zum jeweiligen Becken gehörigen Teesieb herausgefischt. Bis zur anschließenden Wiederaussetzung wurden sie in einem Eimer gesammelt, der reichlich mit Grünzeug gefüllt war, so daß sie sich je nach Belieben mit dem Kopf im Wasser oder in der Luft aufhalten konnten. Diese Maßnahme war erforderlich, weil die Tiere etwa 2 Tage nach dem Erscheinen der Vorderbeine in Ertrinkungsgefahr geraten, wenn sie nicht an Land gehen können. Die Jungfrösche wurden nicht an ihren Ursprungsteich gebracht, da dieser für spätere Versuche von behandelten Fröschen freigehalten werden sollte, sondern zum Weiher am Ammerhof, der von diesem etwa 5 km Luftlinie entfernt liegt und von ihm durch Straßen und Siedlungsgebiet getrennt wird.

3.3.4 Vorbeugende Maßnahmen gegen die Verschleppung von Thyroxin

Da selbst bei den Tiefpotenzen die nominelle Thyroxinkonzentration im Beckenwasser, etwa im Fall der achten Dezimalstufe, in einer Größenordnung von einigen ng pro Liter lag, mußte davon ausgegangen werden, daß auch bei Verschleppung kleinster Mengen von Beckenwasser der betreffende Versuch hinfällig würde. Zur Vorbeugung wurden deswegen folgende Maßnahmen ergriffen:

- Zum Herausfischen der vierbeinigen Tiere wurde jedes Versuchsbecken mit einem eigenen Teesieb versehen, das mit einem Draht am Beckenrand eingehängt werden

konnte, so daß der Griff stets trocken blieb. Wurde der Griff eines Siebs benetzt, wurde es durch ein neues ersetzt.

- Entweder wurde mit Gummihandschuhen gearbeitet, oder die Hände wurden bei Benetzung an der entsprechenden Stelle mit absolutem Alkohol abgetupft und dann gründlich mit Leitungswasser gespült.
- Mehrfach verwendete Becken wurden stets nur für die gleiche Lösung eingesetzt. Vor dem erneuten Einsatz wurden die Becken sachte mit Leitungswasser ausgeschwenkt. Das Schwenkwasser wurde über eine gekennzeichnete Ecke abgossen und diese anschließend mit absolutem Ethanol gereinigt.

3.4 Versuchsdurchführung

Vor Versuchsbeginn wurden die Becken, sofern sie nicht bereits verwendet worden waren, entsprechend dem Verblindungskode von 1 bis 30 durchnummeriert. Dann wurde die Stellung jedes Beckens innerhalb des Karrees von 5 x 6 Becken ausgelost. In jedes der 30 Becken, die pro Versuchsblock zum Einsatz kamen, wurden 10 Kaulquappen des in Abschnitt 3.3.2 beschriebenen Entwicklungsstadiums gegeben. Um zu vermeiden, daß die Reihenfolge der Verteilung auf die Versuchsbecken das Ergebnis beeinflussen könnte, wurden dabei zunächst 2 Tiere in jedes Versuchsbecken gegeben, dann weitere 2 usw. Neu hinzukommende Versuchsblöcke wurden unmittelbar vor der nächsten Beobachtungs- und Pipettierrunde angesetzt, so daß der Zeitverzug zwischen der Feststellung der Versuchsreife und dem Beginn der Behandlung nur minimal war. Die Beobachtungs- und Pipettierrunden erfolgten im Zeitabstand von 8 Stunden, mit Beginn um 6.00, 14.00 und 22.00 Uhr. Dabei wurden zunächst innerhalb des jeweiligen Blocks von Becken zu Becken die Anzahl der Tiere festgestellt, die seit der letzten Beobachtung vierbeinig geworden waren, und die betreffenden Tiere mit dem zum Becken zugehörigen Teesieb herausgefischt (Abb. 5). Diese Maßnahme war erforderlich, weil die Tiere ab der ca. 1-2 Tage darauf einsetzenden Schwanzreduktion in Ertrinkungsgefahr geraten. Notiert wurde die kumulierte Anzahl der Vierbeinigen, d.h., 10 minus die nach dem Herausfischen noch verbleibenden Tiere. Erst nachdem der neue Stand in einem Versuchsblock vollständig erfaßt war, wurde zum nächsten Block übergegangen. Nachdem alle laufenden Blöcke gezählt waren, wurde pipettiert. Zuerst wurde mit Einwegmaterial aus Fläschchen Nr. 1 je 30 µl Lösung in die mit 1 gekennzeichneten Becken aller laufenden Versuchsblöcke pipettiert. Dann wurde aus Fläschchen Nr. 2 pipettiert usw. (Abb. 6). Sobald der Anteil der Vierbeinigen innerhalb eines Versuchsblocks die 75%-Marke überschritten hatte, galt der betreffende Block als beendet.

Der erste Versuchsblock wurde am 16. Mai angesetzt, und der zwölfte war am 14. Juni abgeschlossen. Nach Beginn des ersten Versuchsblocks nahm die Anzahl der laufenden Versuchsblöcke entsprechend der Entwicklung der Kaulquappen in den Aufzuchtbecken ständig zu, bis um die Mitte des Versuchszeitraums herum das Maximum von 5 erreicht war, und nahm danach allmählich wieder ab (Abb. 7).

Abb. 5: Herausfischen von vierbeinigen
Kaulquappen

Abb. 6: Beim Zupipettieren

Abb.7: Fünf Versuchsblöcke im Einsatz

Abb. 8: Kurz vor dem Wiederaussetzen

3.5 Konzentrationsbestimmung

Nach Beendigung der Versuchsarbeiten wurden sämtliche 30 Restlösungen in den Fläschchen an einem Immulite-Chemolumineszenz-Meßgerät auf ihren Thyroxingehalt hin untersucht. Hierzu liefert der Hersteller Diagnostic Products Corporation einen Assay für Gesamt-T₄ mit einem Meßbereich von $4 \cdot 10^{-9}$ - $2,4 \cdot 10^{-7}$ g T₄ / ml. Das Meßgerät ist auf menschliches Blutserum als Matrix geeicht. Um das Meßverhalten bei wässriger Matrix zu untersuchen, wurde zunächst eine Meßreihe mit wässrigen Testlösungen durchgeführt. Die Testlösungen wurden von 10^{-4} g T₄ / ml ausgehend in Schritten von 1:10 verdünnt. Die Ergebnisse der Konzentrationsbestimmung bei den Probelösungen und den im Versuch eingesetzten Lösungen sind im Anschluß an die Ergebnisse der Hauptversuche wiedergegeben (Tabelle 5 und Diagramm 4, Abschnitt 4.3).

4 Ergebnisse

Die Rohdaten lagen zunächst in Form von 12 Matrices von 30 x t vor, wobei t die Versuchsdauer in Zeiteinheiten von 8 Stunden angibt. Um die Gesamtergebnisse für die einzelnen Lösungen miteinander vergleichen zu können, mußte berücksichtigt werden, daß die 12 Versuchsblöcke von unterschiedlicher Dauer gewesen waren. Als Zeitmaß wurde daher nicht die absolute Zeit, sondern der durchschnittliche Entwicklungsfortschritt unter den Wasserkontrollen jedes Versuchsblocks verwendet. Dazu wurde für jeden Meßzeitpunkt der prozentuale Anteil der Vierbeinigen aus allen 150 Kontrolltieren jedes Versuchsblocks berechnet. Für jeden Versuch wurden die fünf Meßzeitpunkte als Bezugszeitpunkte gewählt, bei denen dieser prozentuale Anteil der 30, 40, 50, 60 bzw. 70%-Marke am nächsten kam. Lagen nach dieser Zuordnungsmethode zwei Meßzeitpunkte von einer der fünf Marken gleich weit entfernt, so wurde der spätere herangezogen. War ein Meßzeitpunkt für zwei der Prozentmarken der Nächstgelegene, was nur einmal vorkam, so wurde er beide Male verwendet. Auf diese Weise wurde jeder Lösung für jeden Versuchsblock ein "30%-Wert", ein "40%-Wert" usw. und für alle Versuchsblöcke zusammen ein entsprechender "durchschnittlicher 30%-Wert", ein "durchschnittlicher 40%-Wert" usw. zugeordnet. Der durchschnittliche Wert für jede Lösung wurde als Prozentanteil an der maximalen Anzahl von 120 Tieren ausgedrückt.

4.1 Schließende Statistik

4.1.1 Isolierte Effekte

Der Versuch wurde als randomisiertes Block-Design mit 12 Blöcken und einem Faktor auf 30 Faktorniveaus aufgefaßt. Das gesamte Datenmaterial wurde unter Verwendung des Ryan-Einot-Gabriel-Welsch Multiple Range Test auf signifikante Unterschiede zwischen beliebigen einzelnen Lösungen hin untersucht. Zunächst wurde jeweils das Gesamtergebnis, d.h., die durchschnittlichen Prozentwerte der einzelnen Lösungen betrachtet. Als Signifikanzniveau wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$ festgelegt. Es wurden also insgesamt $5 \times 29 \times 30 / 2 = 2175$ Paarungen betrachtet. Der Multiple Range Test kontrolliert das multiple Niveau aller statistischen Vergleiche, so daß die Gesamtaussage mit einer maximalen Fehleraussage von 5% behaftet ist.

In allen Paarungen, bei denen auf diesem Niveau ein signifikanter Unterschied bestand, war TDH4 vertreten. Diese Lösung zeigte mit Abstand die stärkste, und zwar eine beschleunigende Wirkung. In Tabelle 3 sind die Ergebnisse des REGW-Tests für den Bezugszeitpunkt "50%" wiedergegeben.

Rang- folge	Lösung	arith. Mittel	Gruppe	Rang- folge	Lösung	arith. Mittel	Gruppe.
1	TDH4	7,83	A	14-17	TDH8	5,17	B
2-4	TDP4	6,00	A B	14-17	WDH5	5,17	B
2-4	TDH30	6,00	A B	18-19	TDE6	5,08	B
2-4	WDE7	6,00	A B	18-19	WDH8	5,08	B
5	TDP7	5,92	A B	20-22	TDE7	5,00	B
6	WDH6	5,83	A B	20-22	WDH7	5,00	B
7	TDP5	5,67	A B	20-22	WDP8	5,00	B
8	WDP6	5,42	B	23	TDE5	4,83	B
9-10	TDP6	5,33	B	24-25	WDP4	4,75	B
9-10	TDH5	5,33	B	24-25	TDH7	4,75	B
11-13	WDH30	5,25	B	26-27	TDP8	4,67	B
11-13	WDE5	5,25	B	26-27	TDH6	4,67	B
11-13	TDE8	5,25	B	28-29	WDE6	4,33	B
14-17	WDE8	5,17	B	28-29	WDP5	4,33	B
14-17	WDP7	5,17	B	30	WDH4	4,17	B

Tabelle 3: Werte für die einzelnen Lösungen zum Bezugszeitpunkt "50%": Ergebnisse für Lösungen innerhalb einer Gruppe sind nicht signifikant verschieden.

4.1.2 Globale Effekte

Entsprechend den Ausgangshypothesen bezüglich globaler Effekte wurde das gesamte Datenmaterial in drei Kollektive aufgeteilt:

- a) Konzentrationsstufe 4: Hier wurde generell eine Stimulierung durch Thyroxin vermutet.
- b) Konzentrationsstufen 5, 6, 7 und 8: Hier wurde generell eine Hemmung durch Thyroxin vermutet.
- c) Konzentrationsstufe 30: Hier wurde eine Stimulierung durch Thyroxin vermutet.

Jedes dieser Kollektive wurde, soweit anwendbar, mit dem Ryan-Einot-Gabriel-Welsch Multiple Range Test hinsichtlich dreier Faktoren untersucht:

- | | | |
|----|--------------------------------|---|
| 1) | Verum/Placebo: | alle Kollektive: Thyroxin /Wasser |
| 2) | nominelle Konzentrationsstufe: | Kollektiv b): 5,6,7,8 |
| 3) | Herstellungsart: | Kollektiv a) verschüttelt (H)
pipettiert (P) |
| | | Kollektiv b): verschüttelt (H),
pipettiert (P)
Einschritt (E) |

Der Versuch zu Kollektiv b wurde also als randomisiertes Block-Design mit 12 Blöcken und 3 Faktoren aufgefaßt: Substanz (mit den Faktorniveaus Verum und Placebo), nominelle Konzentrationsstufe (mit den Niveaus 5,6,7,8) und Herstellungsart (mit den Niveaus H, P und E). Sofern mehrere Faktoren auf ein Kollektiv anwendbar waren, wurden auch alle möglichen Wechselwirkungen zwischen den beteiligten Faktoren untersucht. Tabelle 4 gibt an, welche der untersuchten Faktoren statistische Schlüsse auf den Signifikanzniveau $p < 0,05$ (*) bzw. $p < 0,01$ (**) erlauben. Die Art des gefundenen Effekts ist dann jeweils dem Abschnitt 4.2 "Beschreibende Statistik" zu entnehmen. Wo keine Angabe gemacht wird, gab es weder im positiven noch im negativen Sinn einen statistisch signifikanten Effekt. Ist ein Faktor bzw. eine Faktorkombination für ein bestimmtes Kollektiv nicht anwendbar, so wird dies durch einen Schrägstrich (/) angezeigt. Da sich die Ergebnisse je Kollektiv und Faktor bzw. Faktorkombination für die verschiedenen Bezugszeitpunkte in ihrer Signifikanz kaum unterscheiden, ist stets nur das Ergebnis für den Bezugszeitpunkt "50%" angegeben. Für jedes Kollektiv sind außerdem die zugehörigen ANOVA-Werte dargestellt. Alle Angaben beziehen sich auf die Ergebnisse aller 12 Versuchsblöcke zusammen.

	Kollektiv		
	a) Konzst. 4	b) Konzst. 5,6,7,8	c) Konzst. 30
ANOVA-Werte			
Freiheitsgrade			
Modell	3	17	1
Fehler	44	270	22
Gesamt (korr.)	47	287	23
Quadratsummen			
Variab. durch Modell	94,73	25,83	2,67
Restvariabilität	141,58	681,830	31,17
Gesamtvariabilität	236,31	707,65	33,83
mittl.Qu.-summen			
Variab.durch Modell	31,58	1,52	2,67
Varianz	3,22	2,53	1,42
F-Wert	9,81	0,60	1,89
p-Wert	0,0001	0,89	0,18
Kriterien			
Verum /Placebo	**		
Herstellung			/
Konzentrationsstufe	/		/
Ver./Plac. x Konzst.	/		/
Ver./Plac. x Herst.	*		/
Herst. x Konzst.	*		/

Tabelle 4: Statistische Analyse der drei Kollektive a) Konzentrationsstufe 4, b) Konzentrationsstufen 5,6,7,8 und c) Konzentrationsstufe 30 unter Verwendung des REGW -Tests

*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; /: nicht anwendbar

4.2 Beschreibende Statistik

Aus dem vorangehenden Abschnitt geht hervor, daß die Ergebnisse insgesamt keine statistischen Schlüsse zulassen, die auf homöopathische Effekte hindeuten würden. Die weitere Auswertung beschränkt sich daher ganz auf die beschreibende Statistik. Damit soll einerseits nichtsignifikanten Wirkungsunterschieden nachgegangen werden, die sich in künftigen Versuchen möglicherweise durch größere Tierzahlen statistisch absichern lassen. Zum anderen soll nach Einflußfaktoren gesucht werden, die vielleicht tatsächlich vorhandene

homöopathische Effekte verdeckt haben. Dies betrifft insbesondere die Versuchsdauer. Wenn diese in künftigen Versuchen bei der Formulierung der Ausgangshypothesen mitberücksichtigt würde, könnte dies zu deutlicheren Ergebnissen führen.

4.2.1 Isolierte Effekte

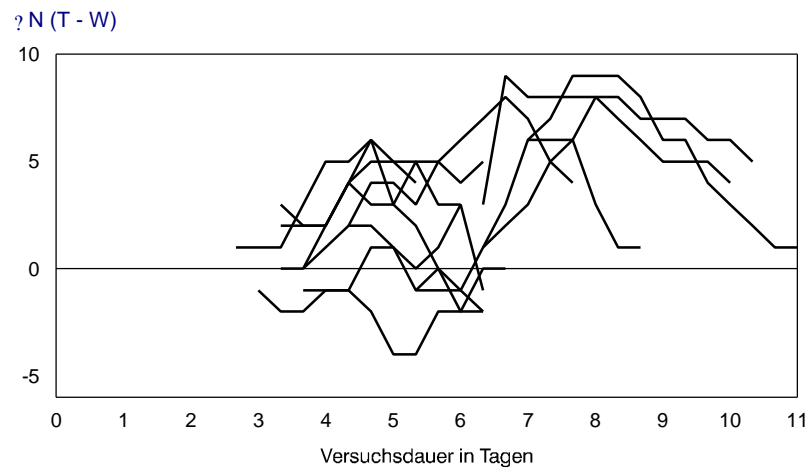
Legende und Erläuterungen zu Diagrammserie I:

Differenz zwischen Thyroxin- und zugehörigen Wasserkontroll-Werten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer

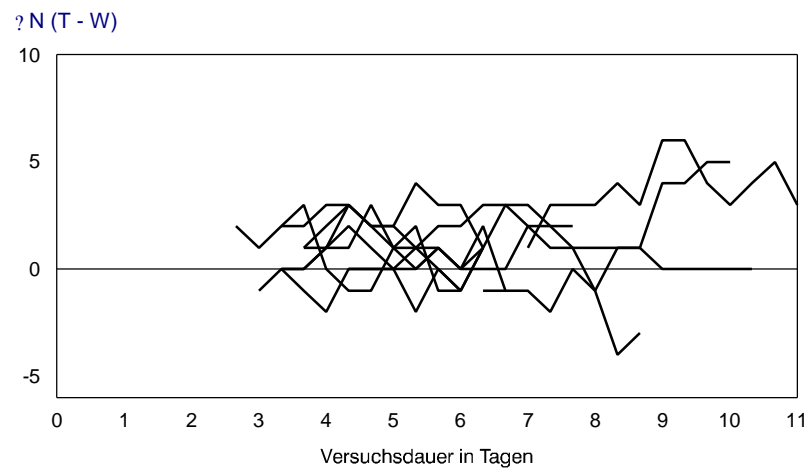
In dieser Diagrammserie ist die Differenz zwischen der Anzahl der Vierbeinigen je Thyroxinbecken und der zugehörigen Wasserkontrollen als Funktion der Versuchsdauer dargestellt. Auf der Abszisse ist die Versuchsdauer in Tagen aufgetragen. Die Ordinate gibt dann die Differenz zwischen der Anzahl der Vierbeinigen bei der interessierenden Thyroxinlösung und der bei ihrer zugehörigen Wasserkontrolle zum entsprechenden Zeitpunkt an ($?N(T?W)$). Jedes Diagramm enthält 12 Kurven, die die jeweiligen Ergebnisse aus den 12 Versuchen wiedergeben. Jede Kurve beginnt mit dem letzten Meßpunkt, zu dem der Anteil der Vierbeinigen an der Gesamtheit aller 300 Tiere des betreffenden Versuchs noch nicht die 10%-Marke erreicht hatte, und verbindet die Werte aller nachfolgenden Meßzeitpunkte bis zu dem, bei dem dieser Anteil die 75%-Marke überschritten hatte. In dieser Darstellung ist der Verlauf der einzelnen Kurven nicht nachvollziehbar, was jedoch unerheblich ist, da etwaige Korrelationen zwischen Versuchsdauer und thyroxinspezifischen Wirkungen bereits durch die räumliche Verteilung der Kurven erkennbar werden. Allerdings ist zu beachten, daß die einzelnen Kurven schon allein aus statistischen Gründen an ihrem Anfang und Ende gegen null tendieren. Die Ergebnisse werden in der Diskussion (Abschnitt 5) in Zusammenhang mit den übrigen Diagrammen beschrieben.

Diagrammserie I

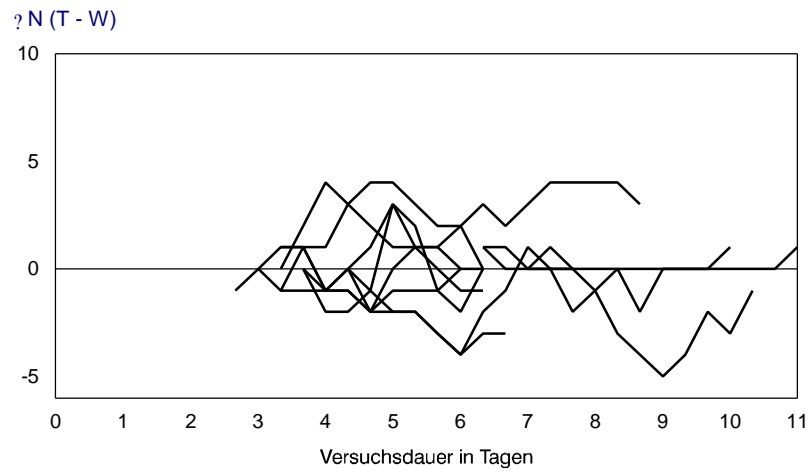
TDH4 - WDH4



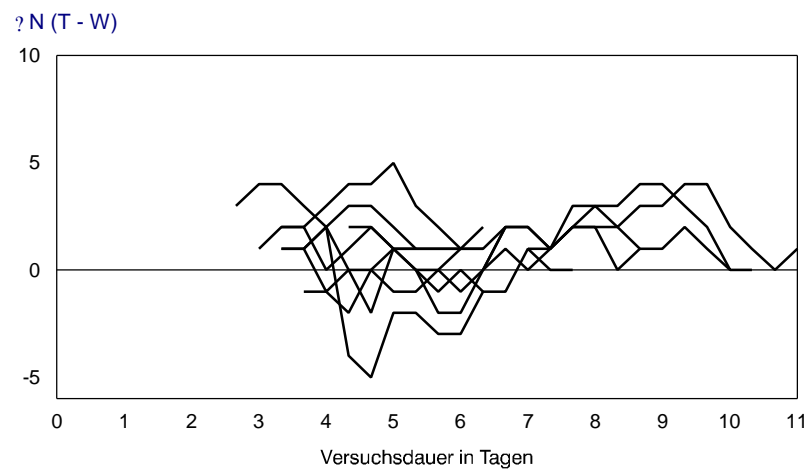
TDP4 - WDP4



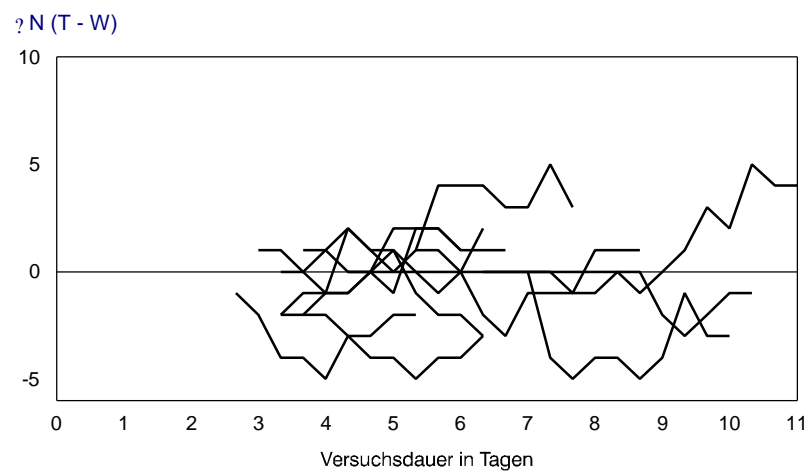
TDH5 - WDH5



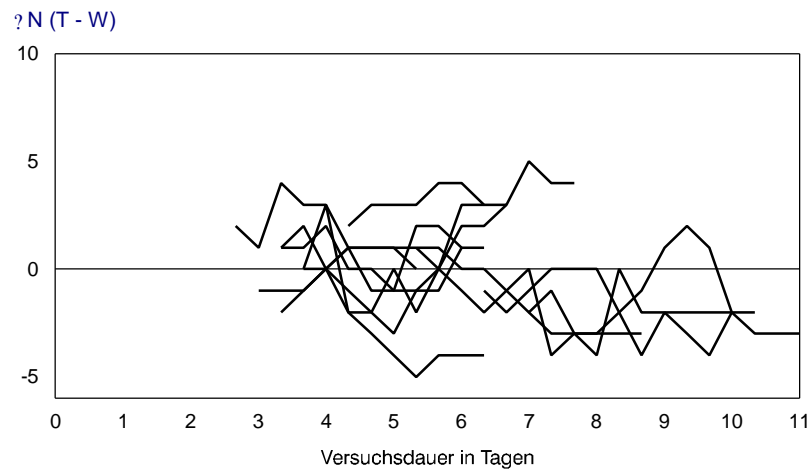
TDP5 - WDP5



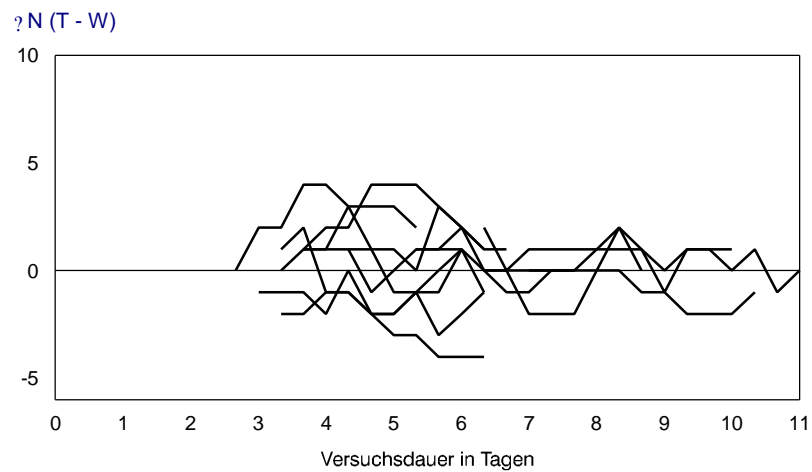
TDE5 - WDE5



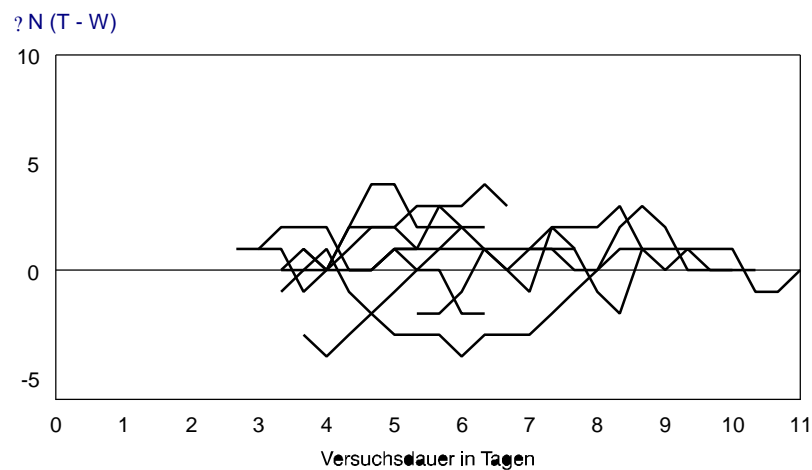
TDH6 - WDH6



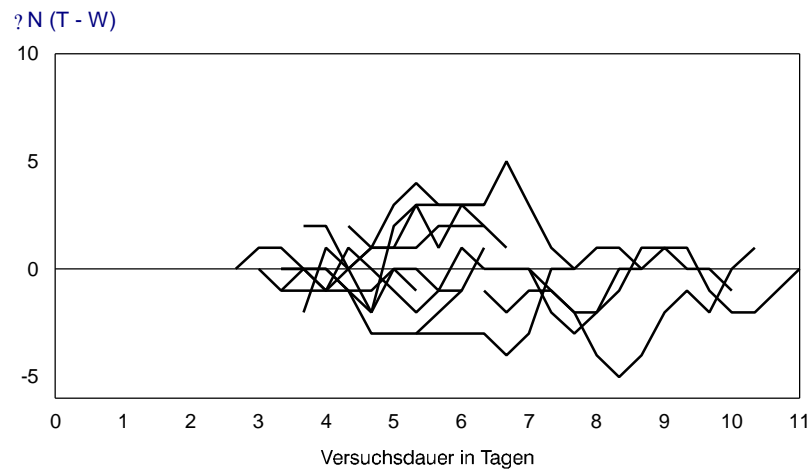
TDP6 - WDP6



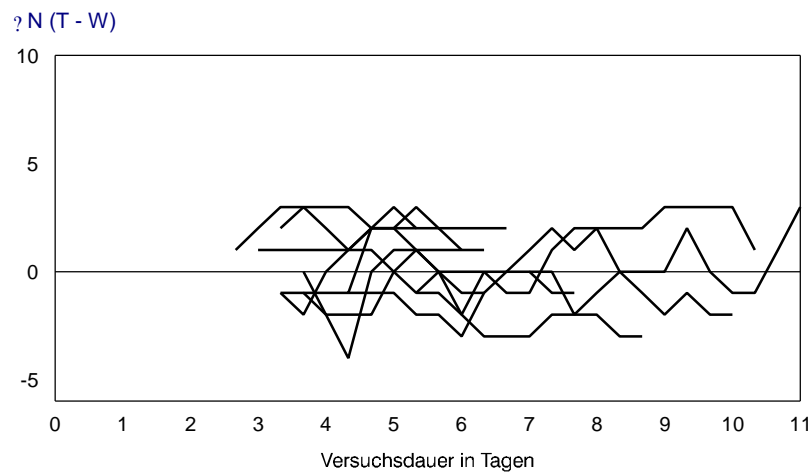
TDE6 - WDE6



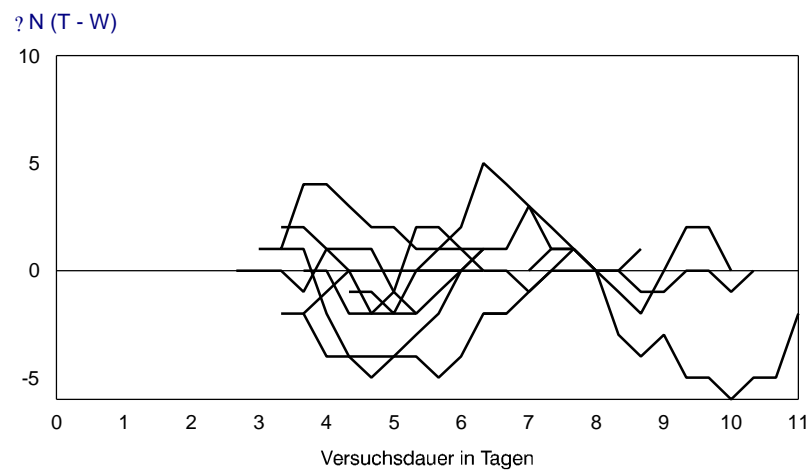
TDH7 - WDH7



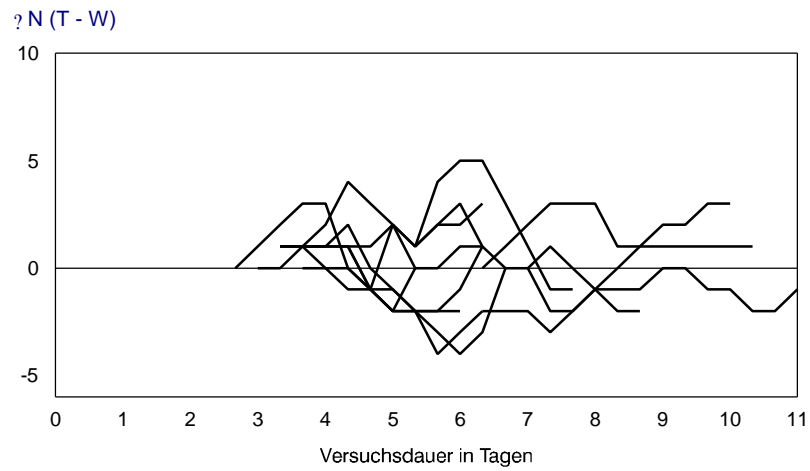
TDP7 - WDP7



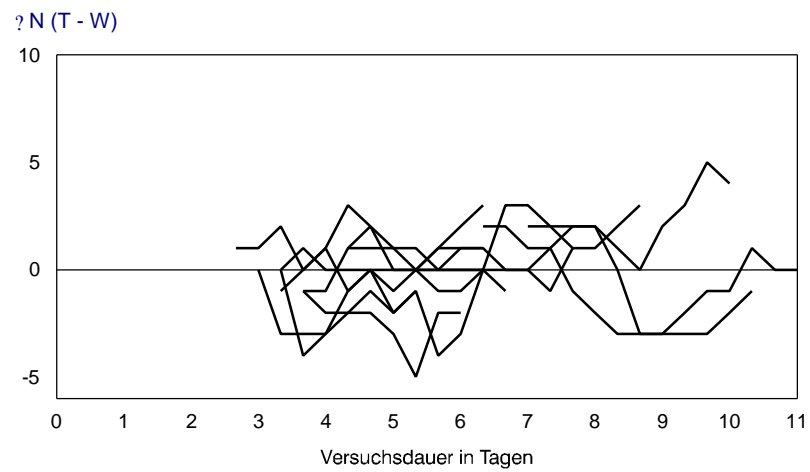
TDE7 - WDE7



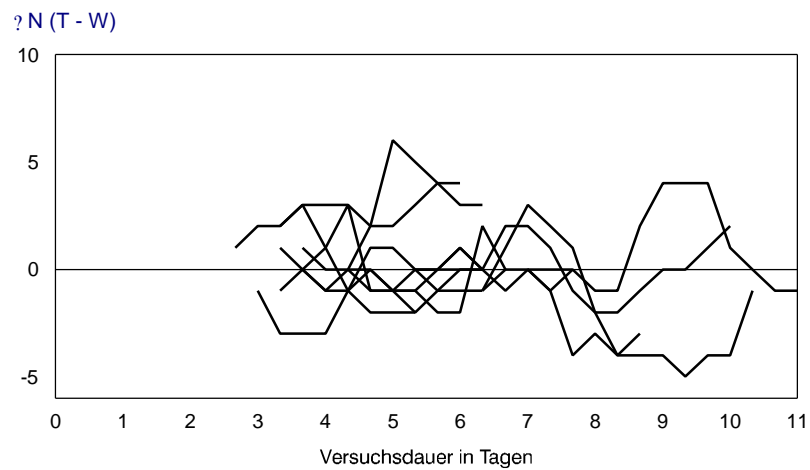
TDH8 - WDH8



TDP8 - WDP8

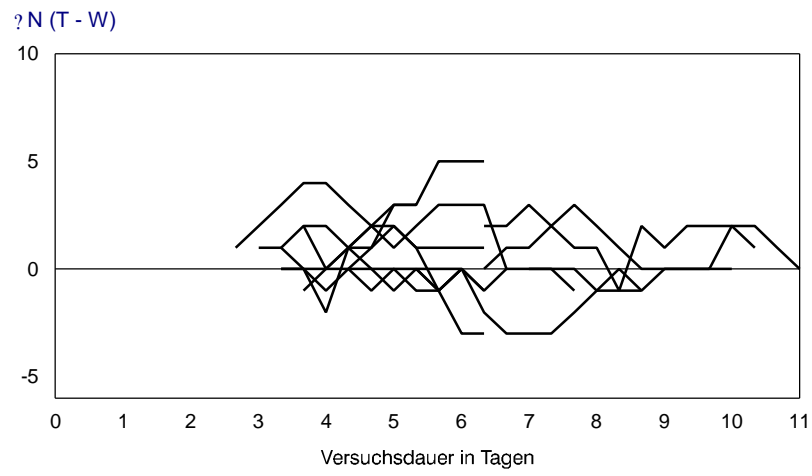


TDE8 - WDE8



Diagrammserie I (Forts.)

TDH30 - WDH30



Legende und Erläuterungen zu Diagrammserie II:

Zeitlich normalisiertes Verlaufsdiagramm für die einzelnen Thyroxinlösungen im Vergleich mit ihren jeweiligen Wasserkontrollen

Hier wird der Verlauf der Wirkung der einzelnen Thyroxinlösungen verglichen mit ihren jeweiligen Wasserkontrollen zeitlich normalisiert dargestellt. In Teilserie a) faßt jedes Diagramm die entsprechenden Ergebnisse aus allen 12 Versuchen zusammen. Auf der Abszisse sind die 5 Bezugszeitpunkte aufgetragen. Die je Lösung aus allen 12 Versuchen aufaddierten Werte sind auf der Ordinate in Prozent des theoretischen Höchstwerts von $12 \times 10 = 120$ Versuchstieren abzulesen. Die Fehlerbalken geben jeweils die Standardabweichung an. Die Abhängigkeit der Ergebnisse von der Versuchsdauer läßt sich am besten durch eine Aufteilung in 4 schneller (Vbl. 1-4) und 8 langsamer verlaufene Versuchsblöcke (Vbl. 5-12) darstellen: Halbiert man nämlich den Wertebereich für die Versuchsdauer, so liegen für alle 5 Bezugszeitpunkte die Werte der ersten 4 Versuchsblöcke stets über und die der übrigen 8 Versuchsblöcke stets unter dem Modus. Dies wird in Diagramm 3 veranschaulicht. In Teilserien b) und c) sind die Ergebnisse für diese beiden Gruppen getrennt dargestellt. Die Fehlerbalken geben jeweils die Standardabweichung an. Die Ergebnisse werden in der Diskussion (Abschnitt 5) in Zusammenhang mit den übrigen Diagrammen beschrieben.

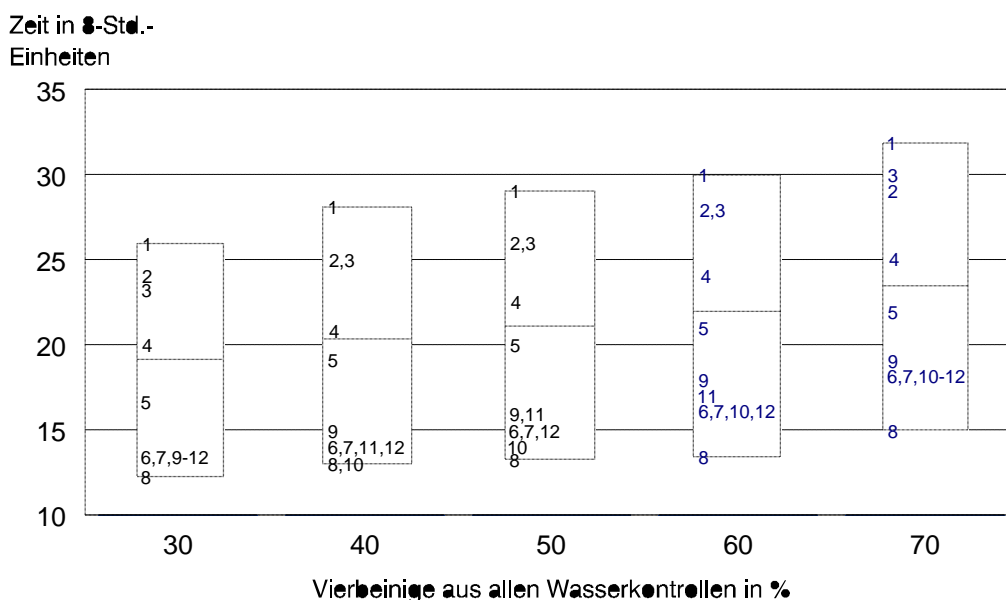
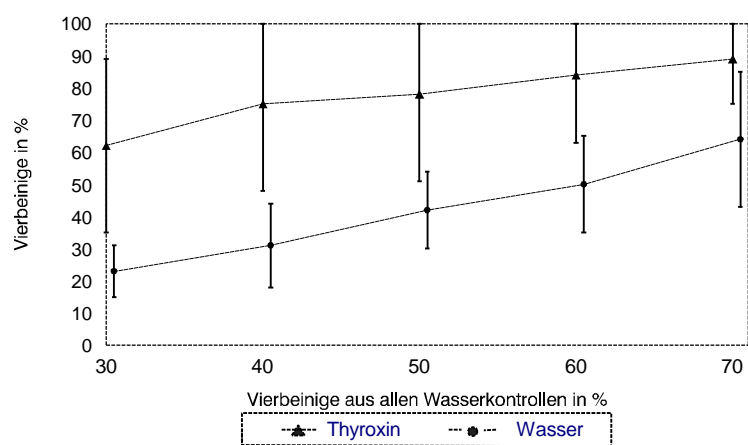


Diagramm 3: Verteilung der Versuchsdauer bei den 12 Versuchsblöcken.

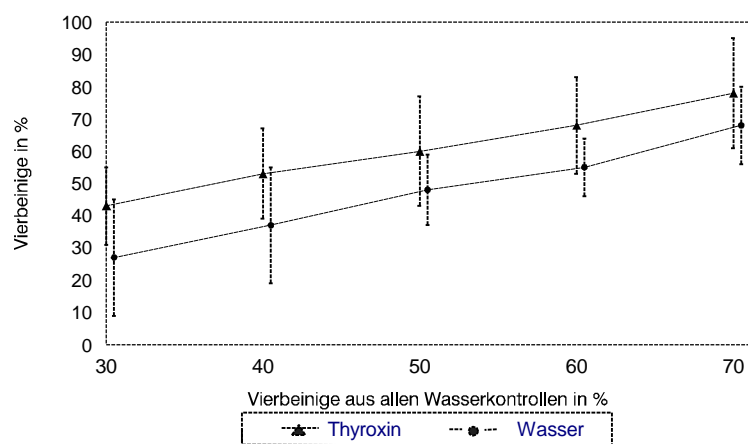
Die Zahlen im Diagramm geben die Nummern der Versuchsblöcke in ihrer zeitlichen Reihenfolge an.

Diagrammserie IIa

TDH4 / WDH4

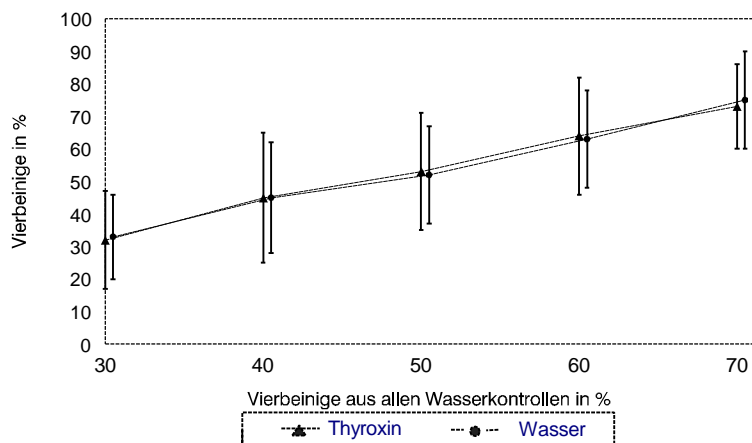


TDP4 / WDP4

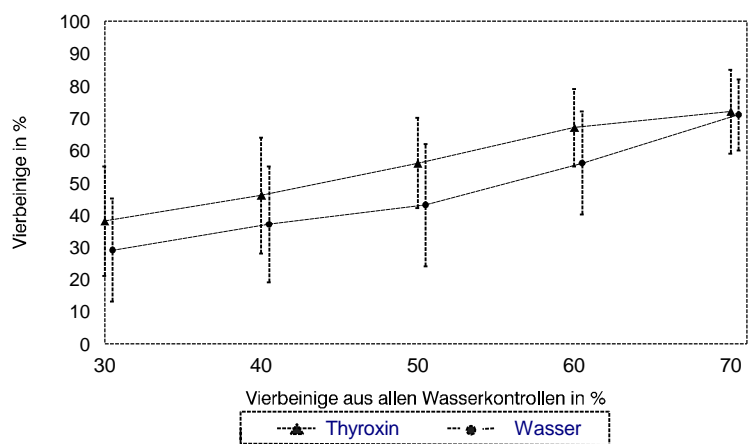


Diagrammserie IIa (Forts.)

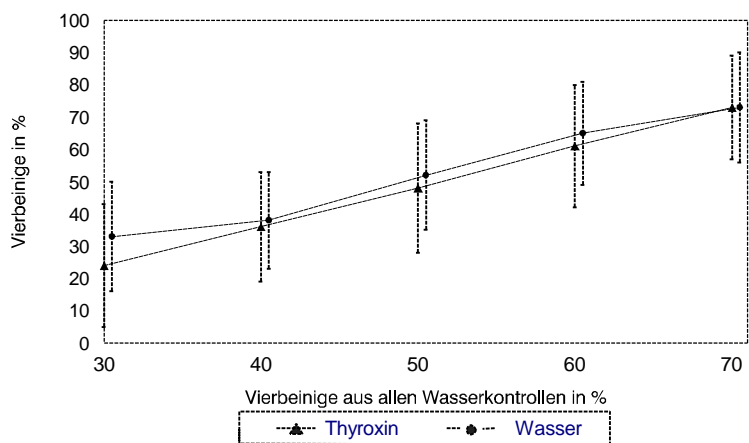
TDH5 / WDH5



TDP5 / WDP5

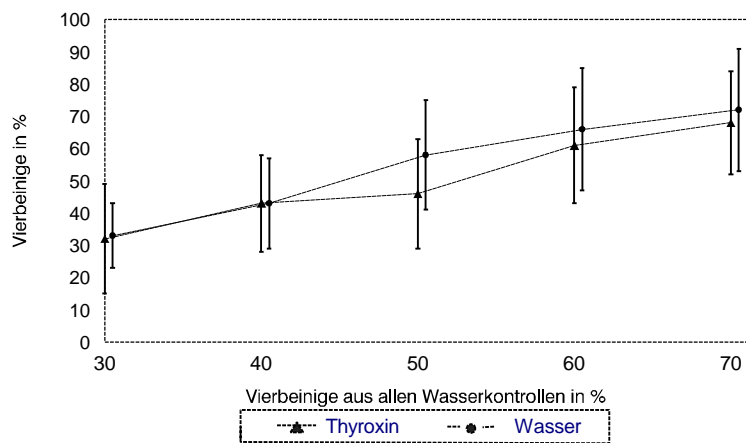


TDE5 / WDE5

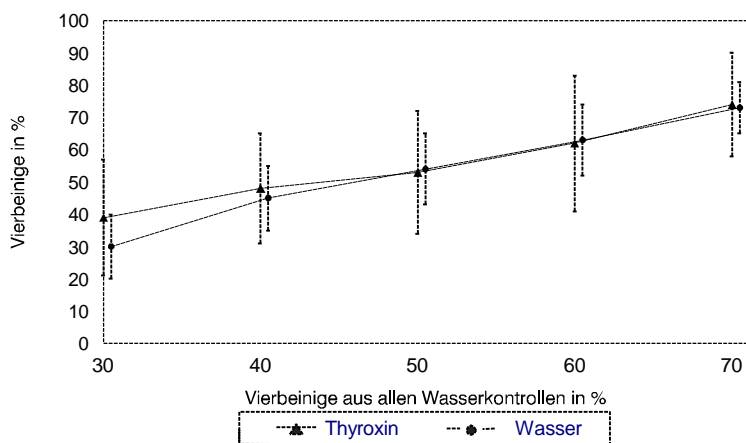


Diagrammserie IIa (Forts.)

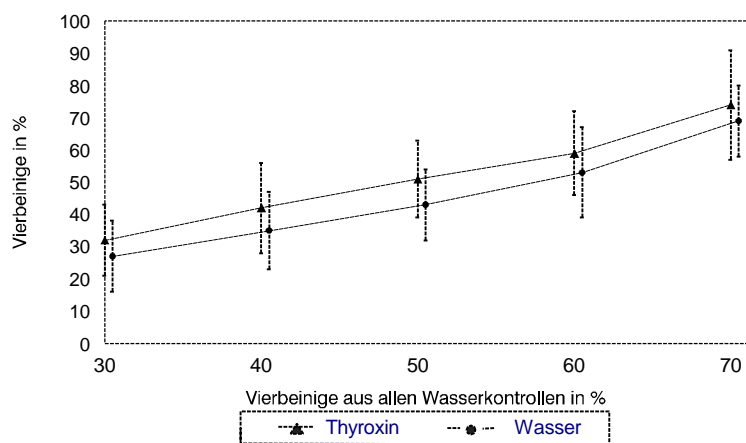
TDH6 / WDH6



TDP6 / WDP6

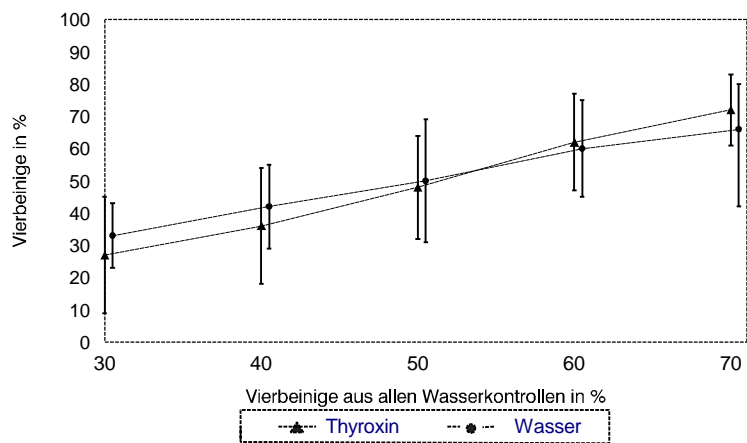


TDE6 / WDE6

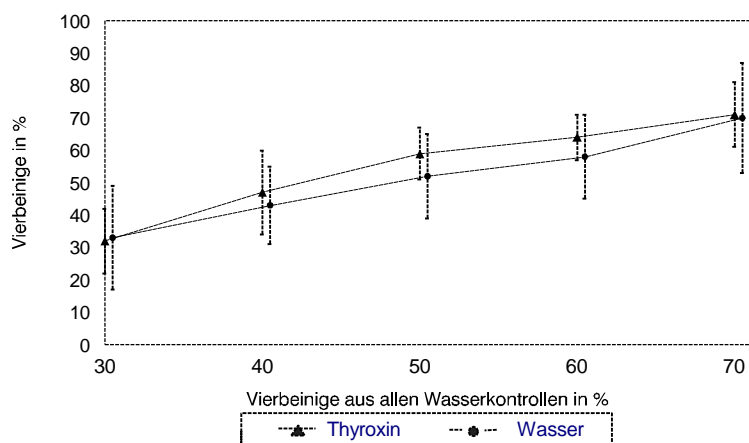


Diagrammserie IIa (Forts.)

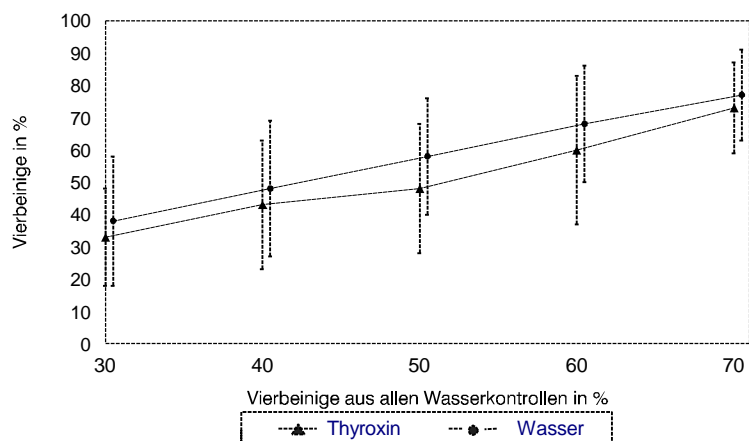
TDH7 / WDH7



TDP7 / WDP7

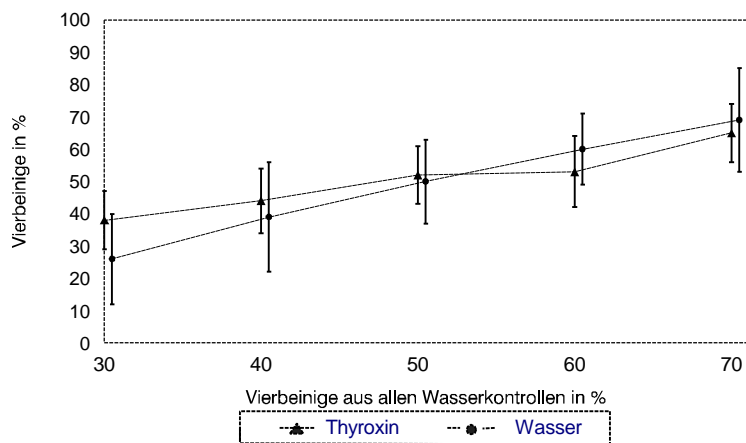


TDE7 / WDE7

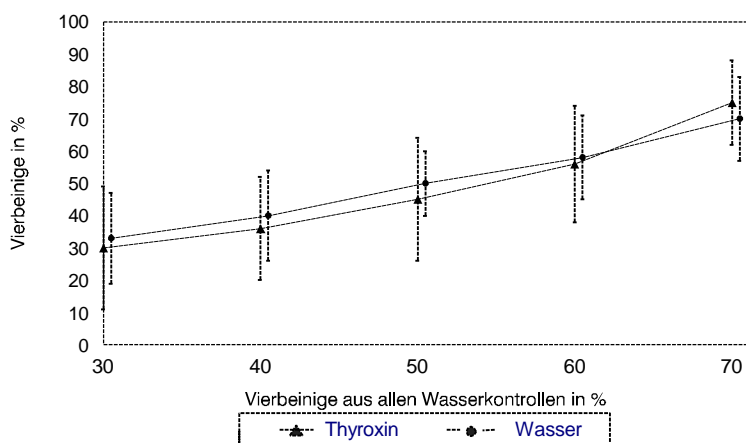


Diagrammserie IIa (Forts.)

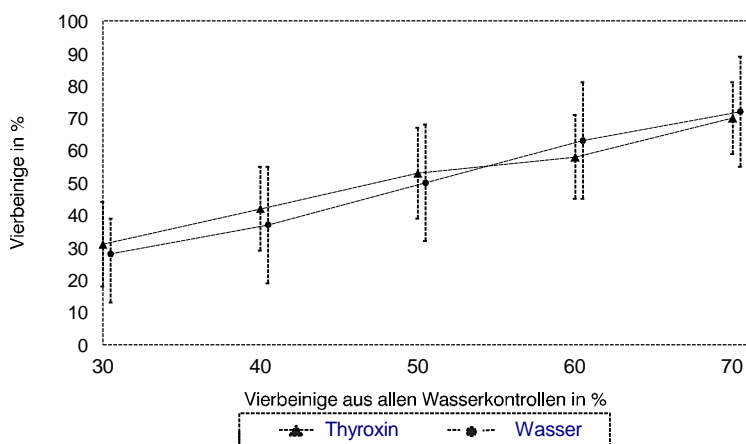
TDH8 / WDH8



TDP8 / WDP8

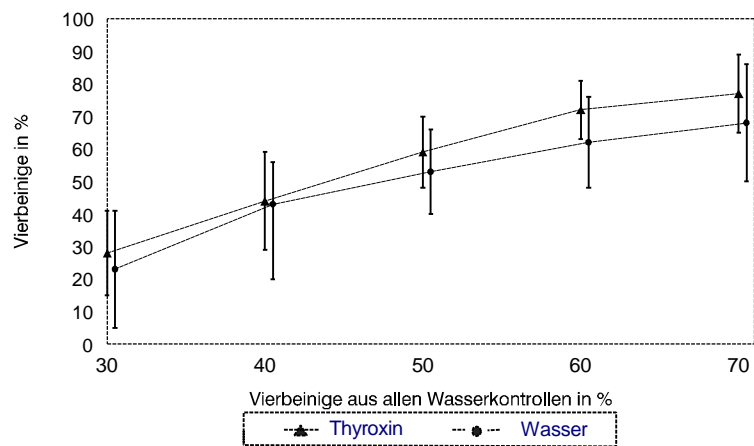


TDE8 / WDE8



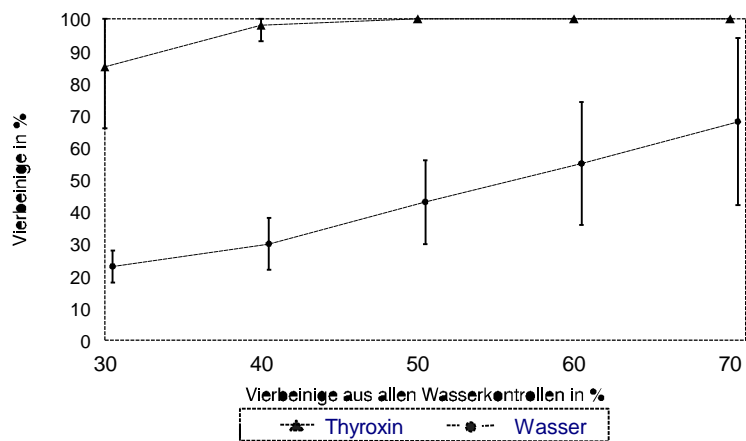
Diagrammserie IIa (Forts.)

TDH30 / WDH30

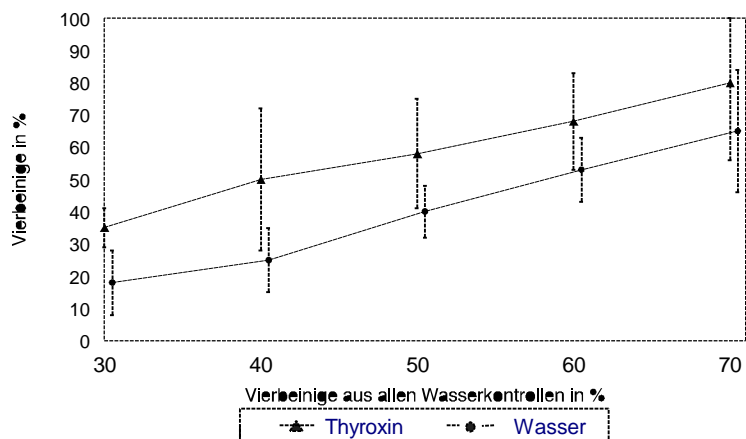


Diagrammserie IIb

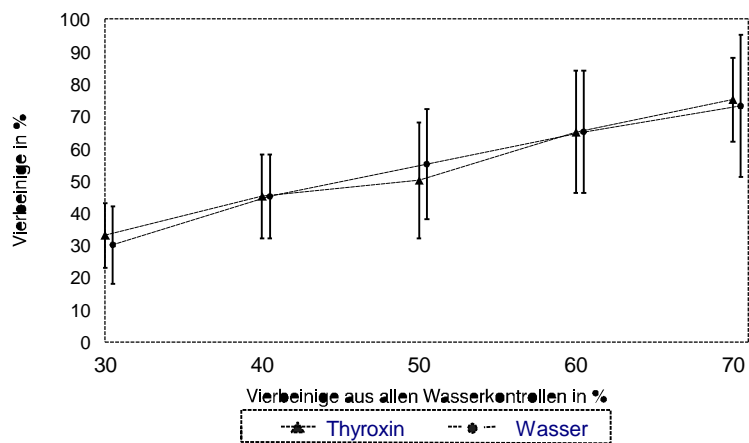
TDH4 / WDH4 (langsam (Vbl. 1-4))



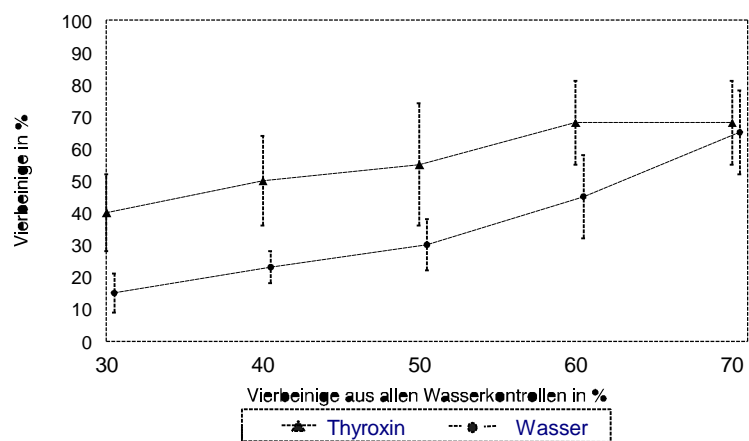
TDP4 / WDP4 (langsam (Vbl. 1-4))



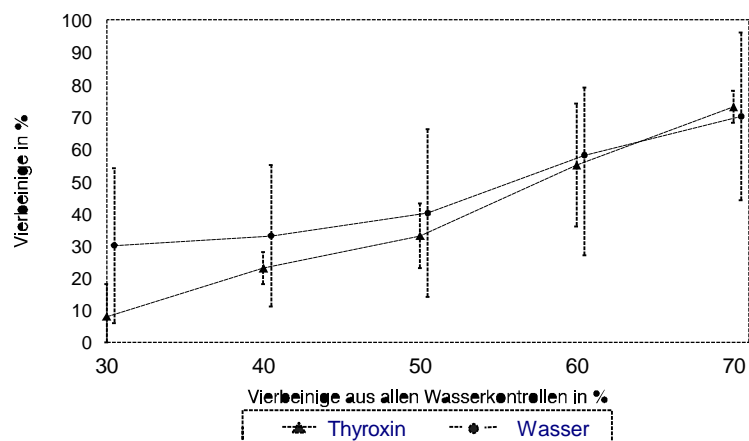
TDH5 / WDH5 (langsam (Vbl. 1-4))



TDP5 / WDP5 (langsam (Vbl. 1-4))

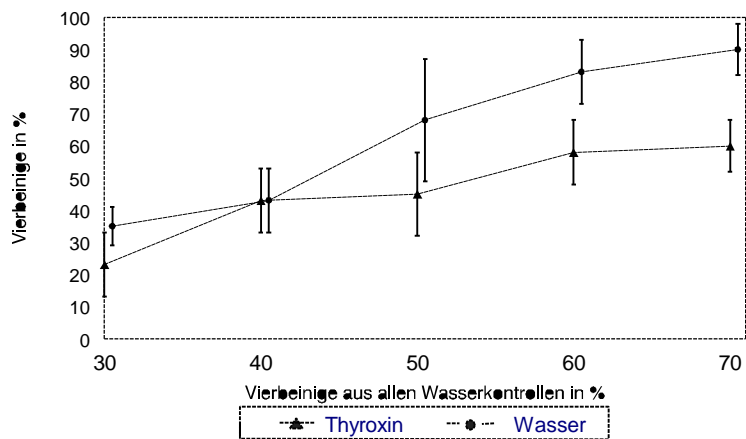


TDE5 / WDE5 (langsam (Vbl. 1-4))

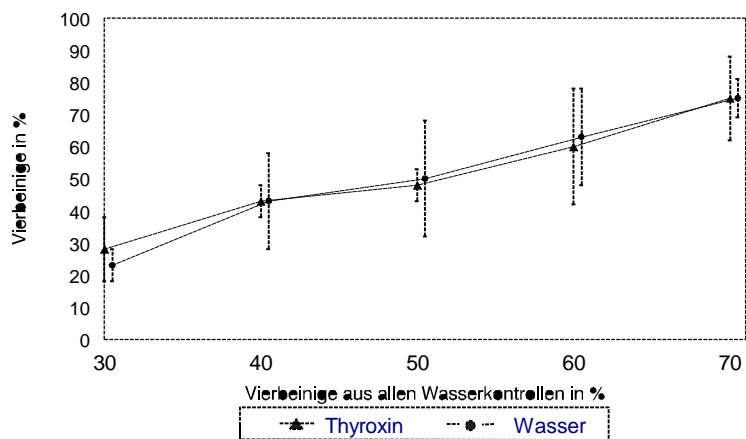


Diagrammserie IIb (Forts.)

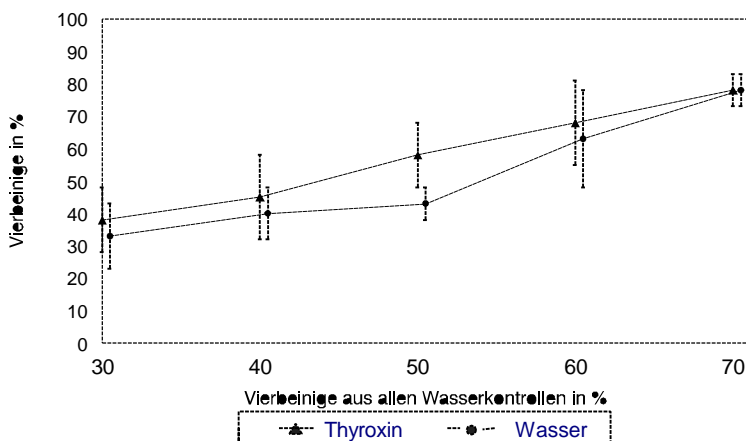
TDH6 / WDH6 (langsam (Vbl. 1-4))



TDP6 / WDP6 (langsam (Vbl. 1-4))

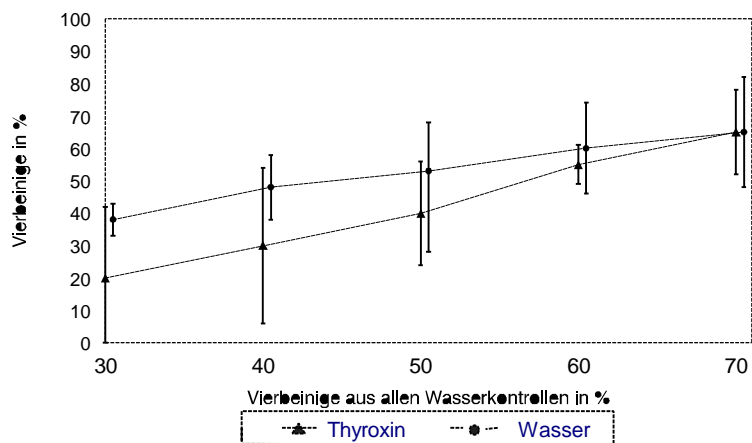


TDE6 / WDE6 (langsam (Vbl. 1-4))

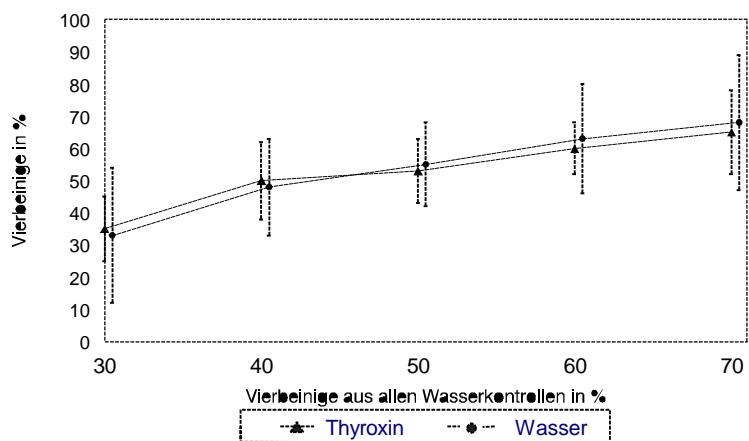


Diagrammserie IIb (Forts.)

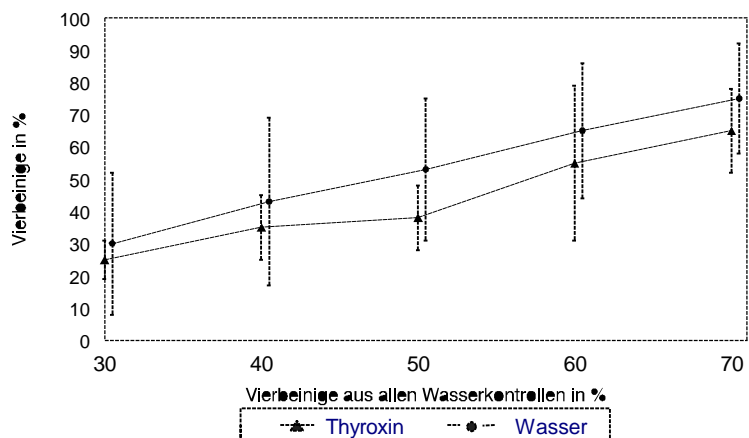
TDH7 / WDH7 (langsam (Vbl. 1-4))



TDP7 / WDP7 (langsam (Vbl. 1-4))

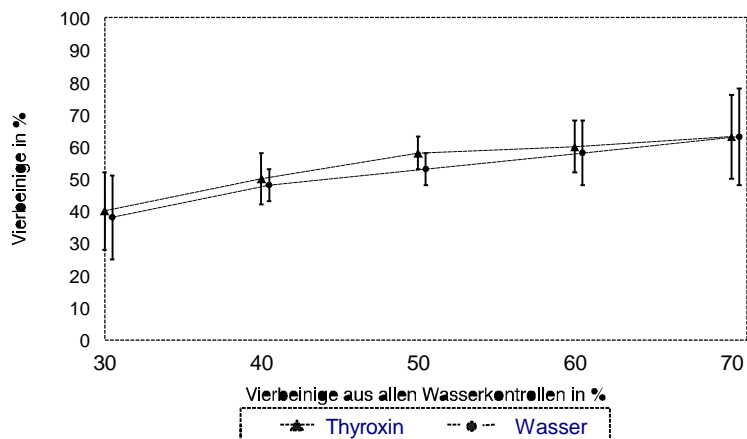


TDE7 / WDE7 (langsam (Vbl. 1-4))

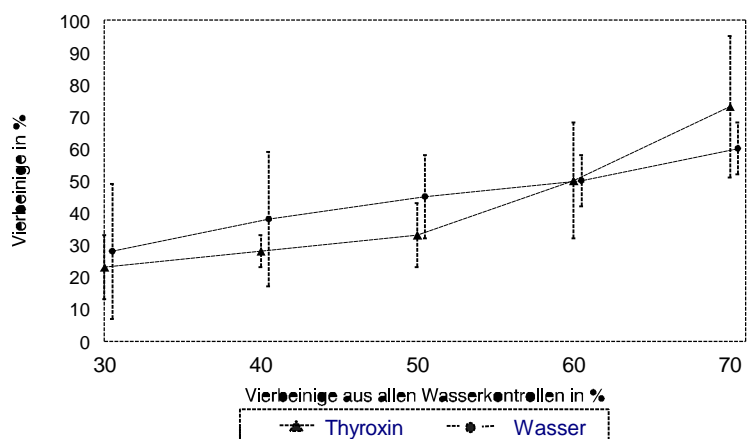


Diagrammserie IIb (Forts.)

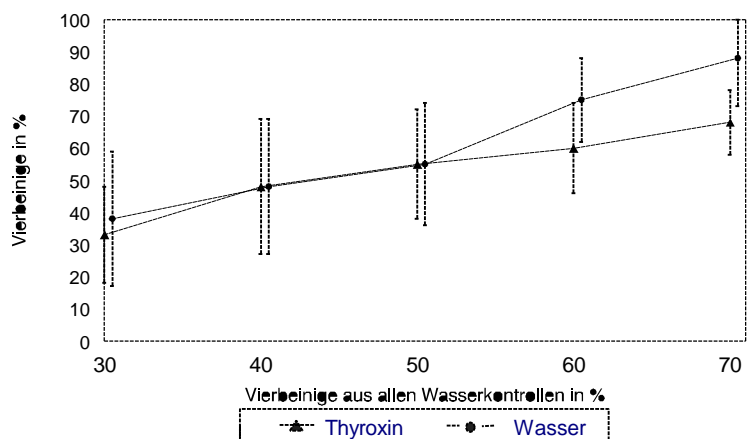
TDH8 / WDH8 (langsam (Vbl. 1-4))



TDP8 / WDP8 (langsam (Vbl. 1-4))

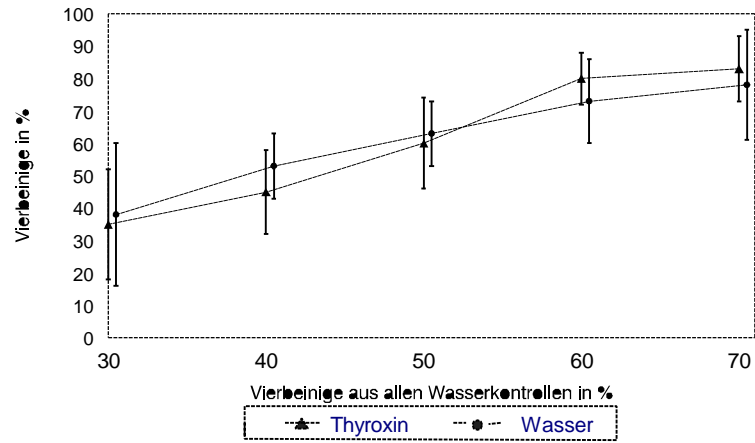


TDE8 / WDE8 (langsam (Vbl. 1-4))

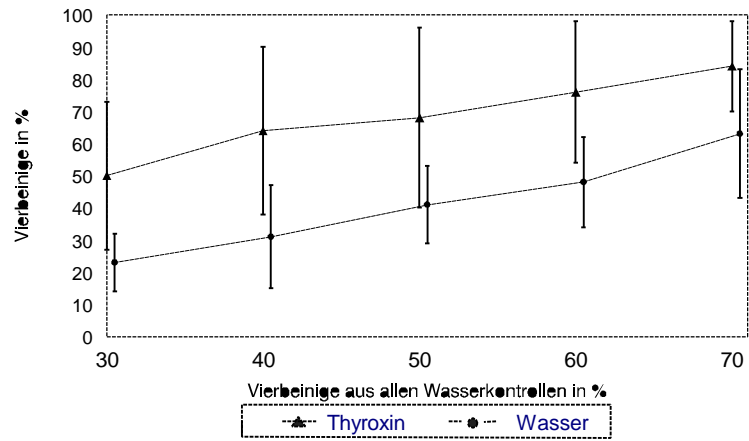


Diagrammserie IIb (Forts.)

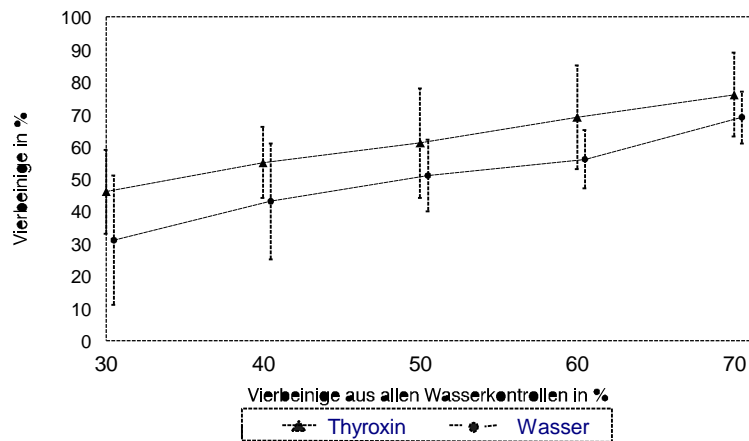
TDH30 / WDH30 (langsam (Vbl. 1-4))



TDH4 / WDH4 (schnell (Vbl. 5-12))

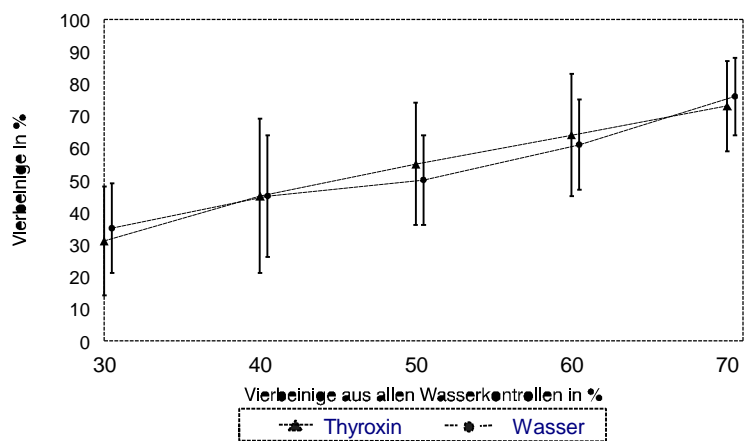


TDP4 / WDP4 (schnell (Vbl. 5 - 12))

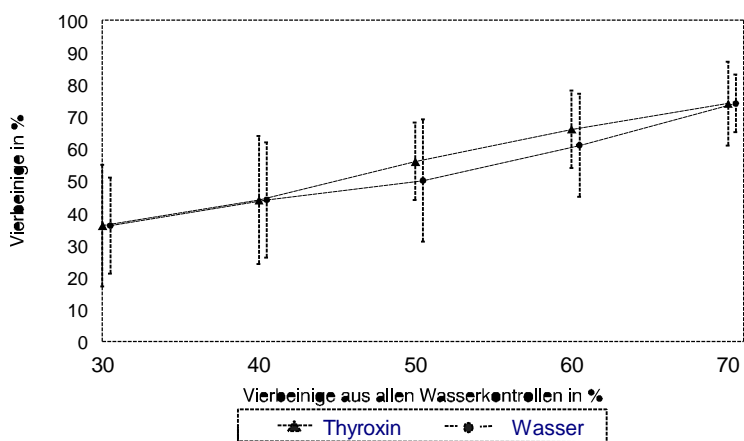


Diagrammserie IIc (Forts.)

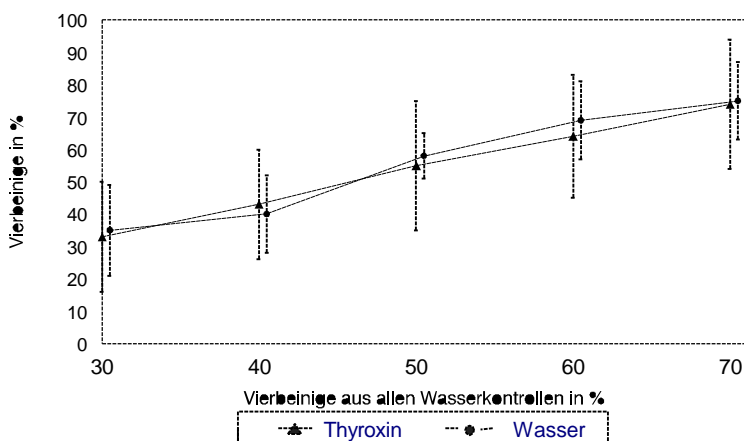
TDH5 / WDH5 (schnell (Vbl. 5 - 12))



TDP5 / WDP5 (schnell (Vbl. 5 - 12))

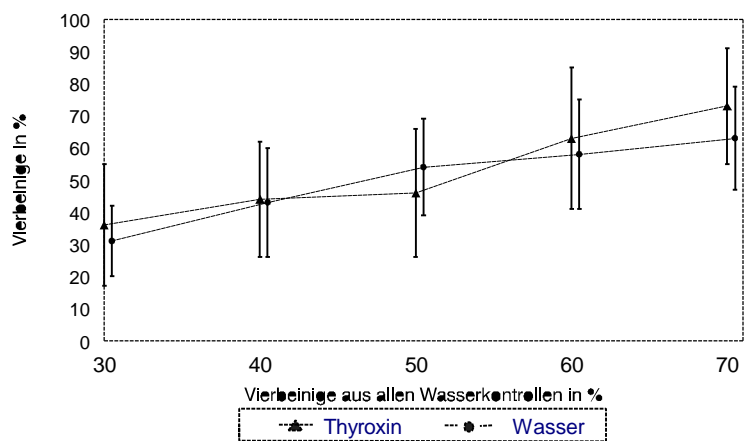


TDE5 / WDE5 (schnell (Vbl. 5 - 12))

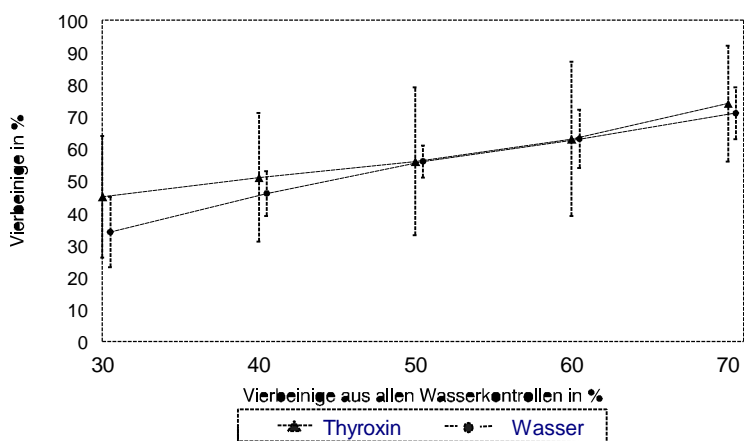


Diagrammserie IIc (Forts.)

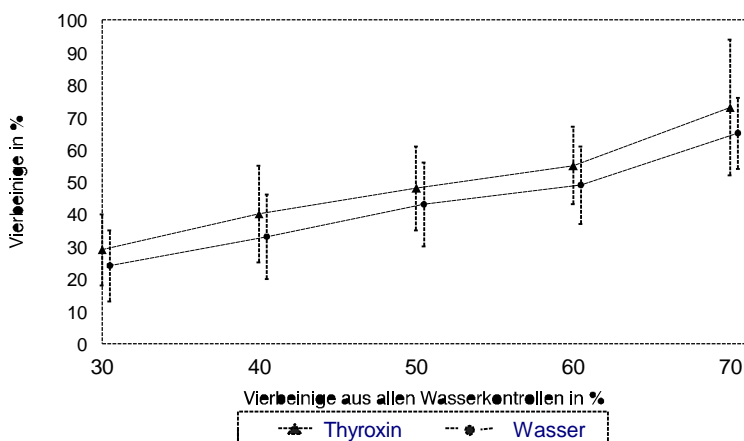
TDH6 / WDH6 (schnell (Vbl. 5 - 12))



TDP6 / WDP6 (schnell (Vbl. 5 - 12))

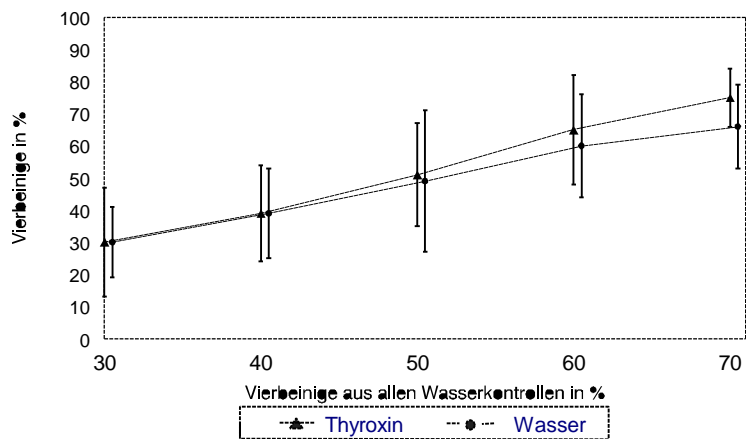


TDE6 / WDE6 (schnell (Vbl. 5 - 12))

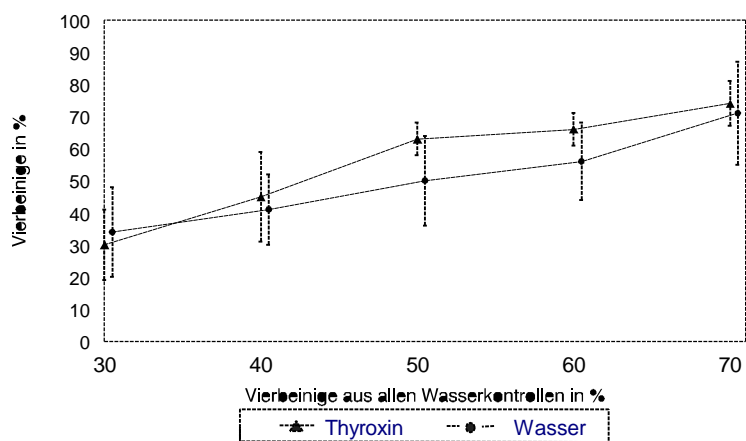


Diagrammserie IIc (Forts.)

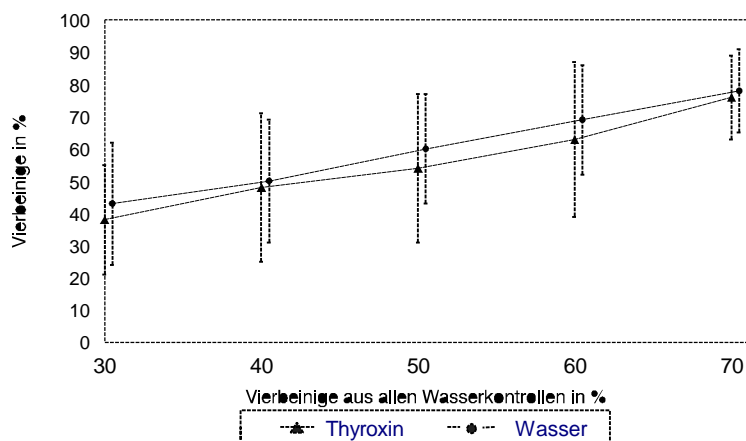
TDH7 / WDH7 (schnell (Vbl. 5 - 12))



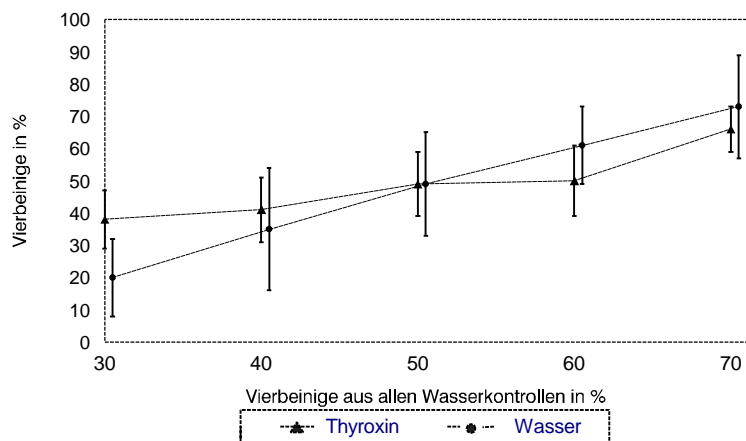
TDP7 / WDP7 (schnell (Vbl. 5 - 12))



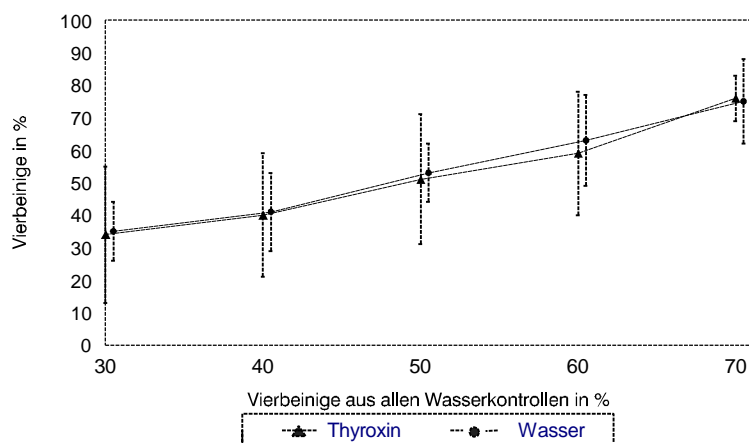
TDE7 / WDE7 (schnell (Vbl. 5 - 12))



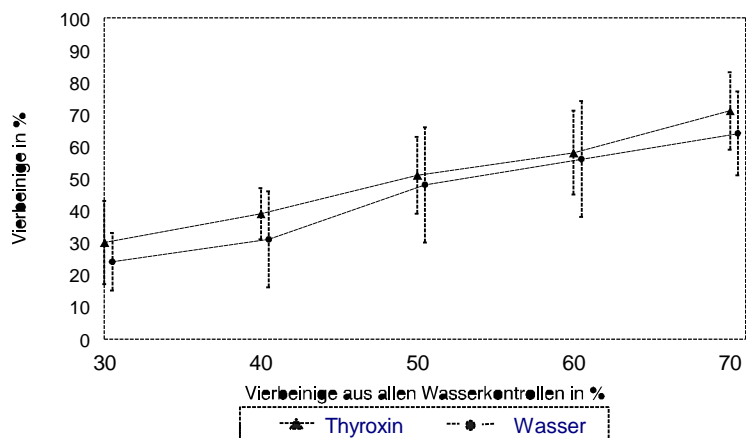
TDH8 / WDH8 (schnell (Exp. 5 - 12))



TDP8 / WDP8 (schnell (Exp. 5 - 12))



TDE8 / WDE8 (schnell (Vbl. 5 - 12))



Diagrammserie IIc (Forts.)

TDH30 / WDH30 (schnell (Vbl. 5 - 12))

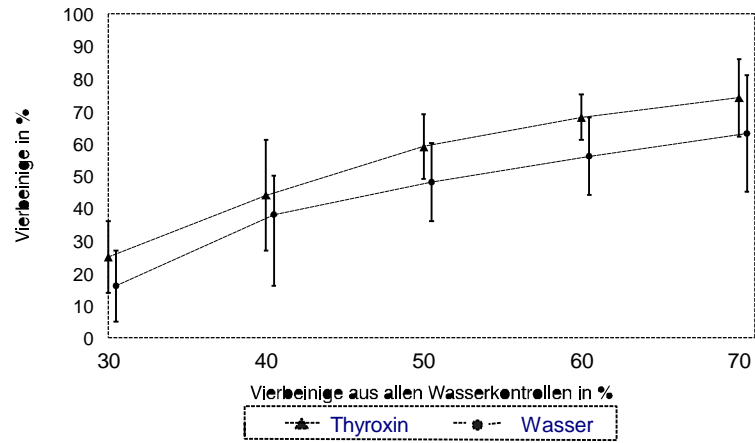


Tabelle Ib: langsame Gruppe (Versuchsböcke 1-4)

		4		5			6			7			8			30
		H	P	H	P	E	H	P	E	H	P	E	H	P	E	H
30%	T	85 ± 19	35 ± 6	33 ± 10	40 ± 12	8 ± 10	23 ± 10	28 ± 10	38 ± 10	20 ± 22	35 ± 10	25 ± 6	40 ± 12	23 ± 10	33 ± 15	35 ± 17
30%	W	23 ± 5	18 ± 10	30 ± 12	15 ± 6	30 ± 24	35 ± 6	23 ± 5	33 ± 10	38 ± 5	33 ± 21	30 ± 22	38 ± 13	28 ± 21	38 ± 21	38 ± 22
40%	T	98 ± 5	50 ± 22	45 ± 13	50 ± 14	23 ± 5	43 ± 10	43 ± 5	45 ± 13	30 ± 24	50 ± 12	35 ± 10	50 ± 8	28 ± 5	48 ± 21	45 ± 13
40%	W	30 ± 8	25 ± 10	45 ± 13	23 ± 5	33 ± 22	43 ± 10	43 ± 15	40 ± 8	48 ± 10	48 ± 15	43 ± 26	48 ± 5	38 ± 21	48 ± 21	53 ± 10
50%	T	100 ± 0	58 ± 17	50 ± 18	55 ± 19	33 ± 10	45 ± 13	48 ± 5	58 ± 10	40 ± 16	53 ± 10	38 ± 10	58 ± 5	33 ± 10	55 ± 17	60 ± 14
50%	W	43 ± 13	40 ± 8	55 ± 17	30 ± 8	40 ± 26	68 ± 19	50 ± 18	43 ± 55	53 ± 15	55 ± 13	53 ± 22	53 ± 5	45 ± 13	55 ± 19	63 ± 10
60%	T	100 ± 0	68 ± 15	65 ± 19	68 ± 13	55 ± 19	58 ± 10	60 ± 18	68 ± 13	55 ± 6	60 ± 8	55 ± 24	60 ± 8	50 ± 18	60 ± 14	80 ± 8
60%	W	55 ± 19	53 ± 10	65 ± 19	45 ± 13	58 ± 21	83 ± 10	63 ± 15	63 ± 15	60 ± 14	63 ± 17	65 ± 21	58 ± 10	50 ± 8	75 ± 13	73 ± 13
70%	T	100 ± 0	80 ± 24	75 ± 13	68 ± 13	73 ± 5	60 ± 8	75 ± 13	78 ± 5	65 ± 13	65 ± 13	65 ± 13	63 ± 13	73 ± 22	68 ± 10	83 ± 10
70%	W	68 ± 26	65 ± 19	73 ± 22	65 ± 13	70 ± 26	90 ± 8	75 ± 6	78 ± 5	65 ± 17	68 ± 21	75 ± 17	63 ± 15	60 ± 8	88 ± 15	78 ± 17

Tabelle Ic: schnelle Gruppe (Versuchsblöcke 5-12)

		4		5			6			7			8			30
		H	P	H	P	E	H	P	E	H	P	E	H	P	E	H
30%	T	50 ± 23	46 ± 13	31 ± 17	36 ± 19	33 ± 17	36 ± 19	45 ± 19	29 ± 11	30 ± 17	30 ± 11	38 ± 17	38 ± 9	34 ± 21	30 ± 13	25 ± 11
30%	W	23 ± 9	31 ± 20	35 ± 14	36 ± 15	35 ± 14	31 ± 11	34 ± 11	24 ± 11	30 ± 11	34 ± 14	43 ± 19	20 ± 12	35 ± 9	24 ± 9	16 ± 11
40%	T	64 ± 26	55 ± 11	45 ± 24	44 ± 20	43 ± 17	44 ± 18	51 ± 20	40 ± 15	39 ± 15	45 ± 14	48 ± 23	41 ± 10	40 ± 19	39 ± 8	44 ± 17
40%	W	31 ± 16	43 ± 18	45 ± 19	44 ± 18	40 ± 12	43 ± 17	46 ± 7	33 ± 13	39 ± 14	41 ± 11	50 ± 19	35 ± 19	41 ± 12	31 ± 15	38 ± 12
50%	T	68 ± 28	61 ± 17	55 ± 19	56 ± 12	55 ± 20	46 ± 20	56 ± 23	48 ± 13	51 ± 16	63 ± 5	54 ± 23	49 ± 10	51 ± 20	51 ± 12	59 ± 10
50%	W	41 ± 12	51 ± 11	50 ± 14	50 ± 19	58 ± 7	54 ± 15	56 ± 5	43 ± 13	49 ± 22	50 ± 14	60 ± 17	49 ± 16	53 ± 9	48 ± 18	48 ± 12
60%	T	76 ± 22	69 ± 16	64 ± 19	66 ± 12	64 ± 19	63 ± 22	63 ± 24	55 ± 12	65 ± 17	66 ± 5	63 ± 24	50 ± 11	59 ± 19	58 ± 13	68 ± 7
60%	W	48 ± 14	56 ± 9	61 ± 14	61 ± 16	69 ± 12	58 ± 17	65 ± 9	49 ± 12	60 ± 16	56 ± 12	69 ± 17	61 ± 12	63 ± 14	58 ± 18	56 ± 12
70%	T	84 ± 14	76 ± 13	73 ± 14	74 ± 13	74 ± 20	73 ± 18	74 ± 18	73 ± 21	75 ± 9	74 ± 7	76 ± 13	66 ± 7	76 ± 7	71 ± 12	74 ± 12
70%	W	63 ± 20	69 ± 8	76 ± 12	74 ± 9	75 ± 12	63 ± 16	71 ± 8	65 ± 11	66 ± 13	71 ± 16	78 ± 13	73 ± 16	75 ± 13	64 ± 13	63 ± 18

4.2.2 Globale Effekte

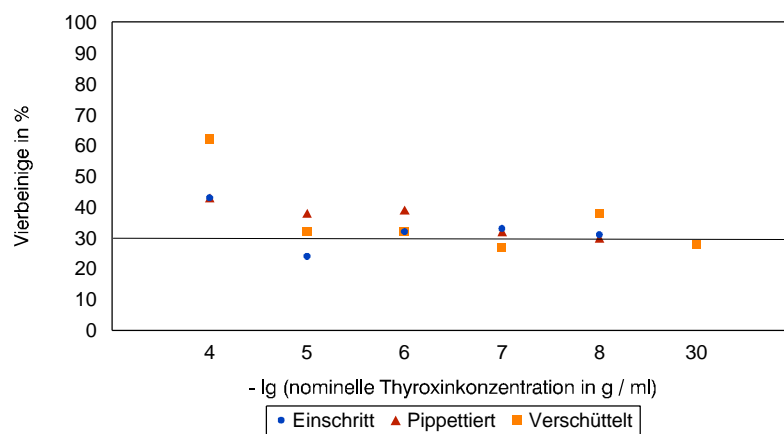
Legende und Erläuterungen zu Diagrammserie III:

Übersicht über den Fortschritt bei allen 15 Thyroxinlösungen zu den 5 Bezugszeitpunkten verglichen mit der Gesamtheit der Wasserkontrollen

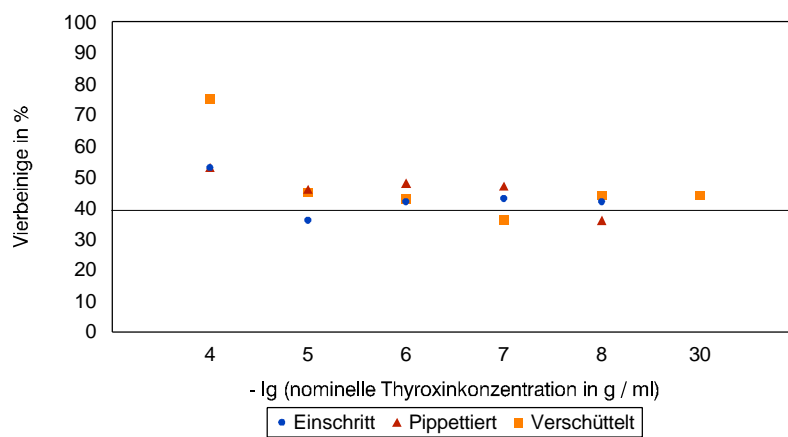
In dieser Diagrammserie ist der Anteil der Vierbeiner bei jeder der 15 Thyroxinlösungen im Vergleich zueinander und zum durchschnittlichen Fortschritt der Wasserkontrollen in den 12 Versuchsblöcken (Vbl.) zu den 5 Bezugszeitpunkten dargestellt. Die Abszisse gibt die nominelle Thyroxinkonzentration, die Ordinate den Anteil der Vierbeiner (an der Gesamtzahl von 120 Versuchstieren je Thyroxinlösung) in Prozent an. Der Entwicklungsfortschritt unter den Wasserkontrollen aller 12 Versuchsblöcke insgesamt ist jeweils als durchgezogene Waagerechte angedeutet. Zur Differenzierung nach der Versuchsdauer sind die Ergebnisse entsprechend Diagrammserie II in 3 Teilsereien dargestellt. Die Ergebnisse werden in der Diskussion (Abschnitt 5) in Zusammenhang mit den übrigen Diagrammen beschrieben.

Diagrammserie IIIa

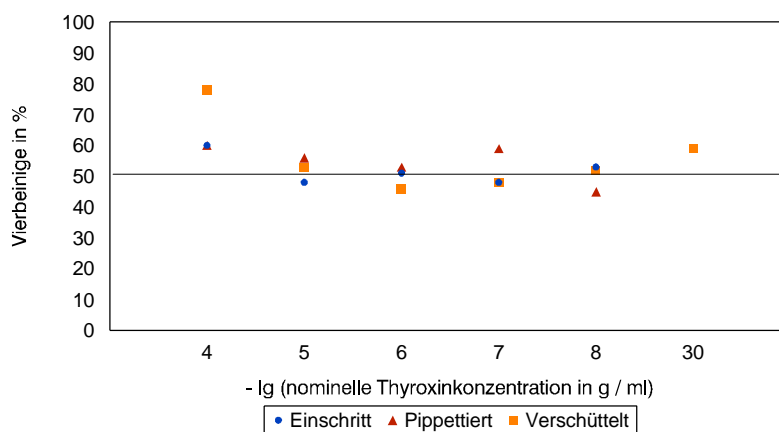
Gesamtheit aller Wasserkontrollen bei 30 %



Gesamtheit aller Wasserkontrollen bei 40%

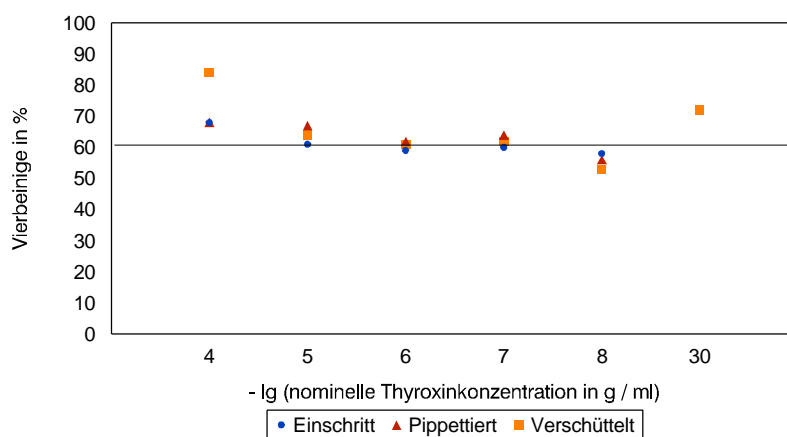


Gesamtheit aller Wasserkontrollen bei 50%

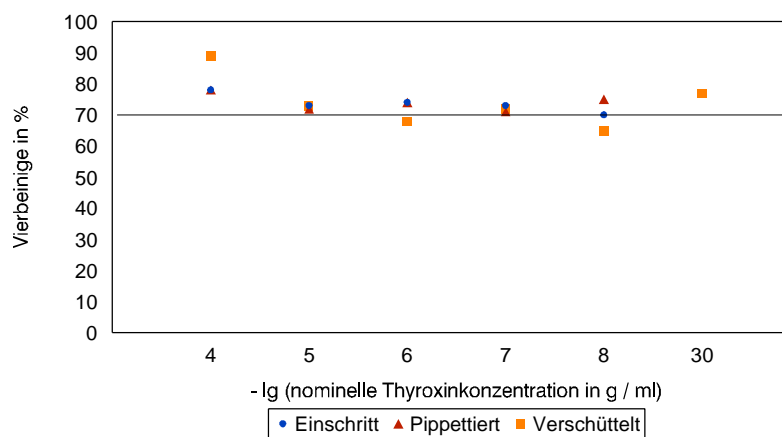


Diagrammserie IIIa (Forts.)

Gesamtheit aller Wasserkontrollen bei 60 %

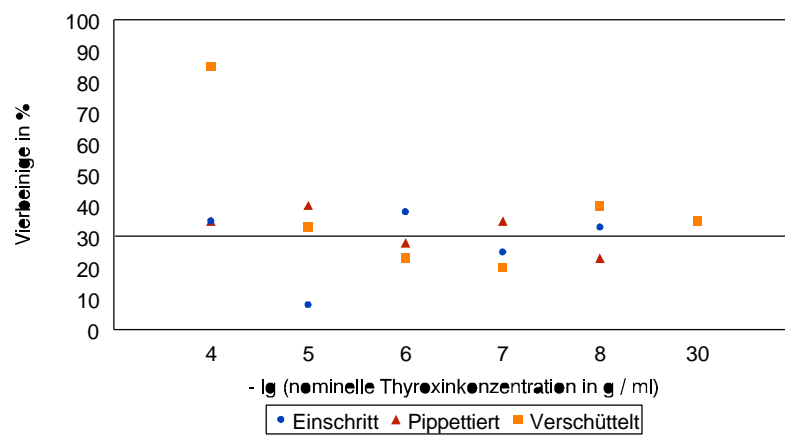


Gesamtheit aller Wasserkontrollen bei 70 %

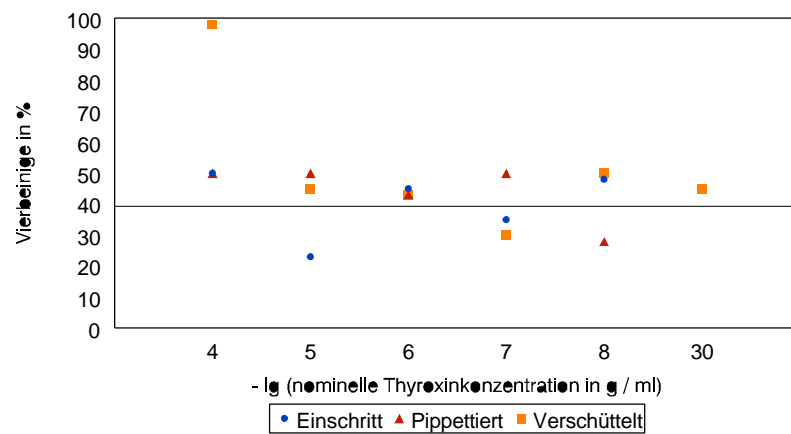


Diagrammserie IIIb

Gesamtheit aller Wasserkontrollen bei 30 % langsam (Vbl. 1-4)

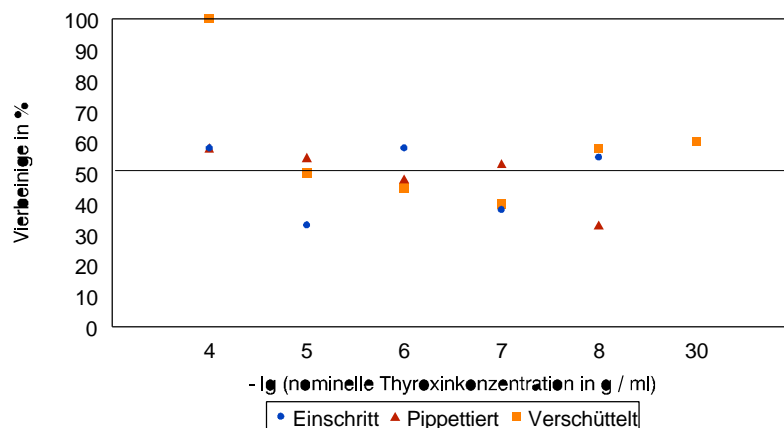


Gesamtheit aller Wasserkontrollen bei 40% langsam (Vbl. 1-4)



Gesamtheit aller Wasserkontrollen bei 50%

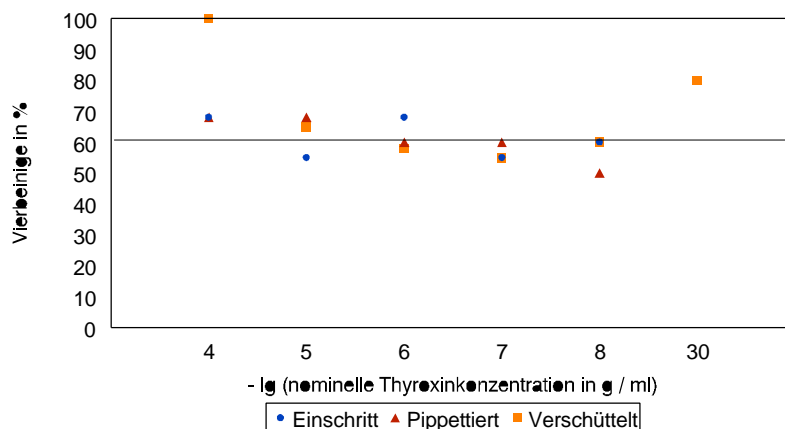
langsam (Vbl. 1-4)



Diagrammserie IIIb (Forts.)

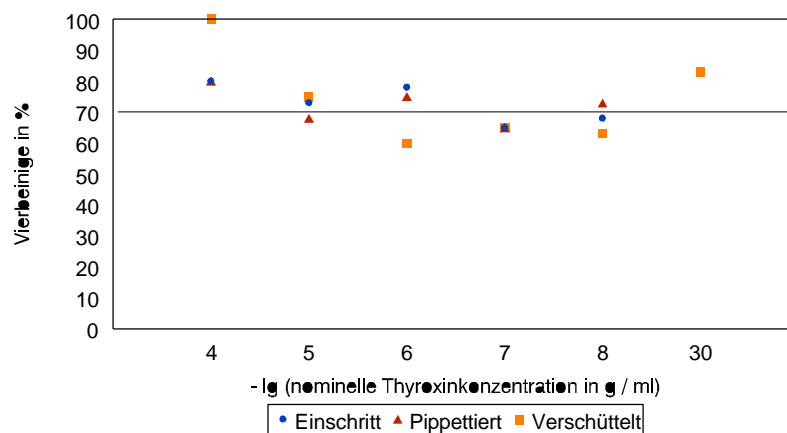
Gesamtheit aller Wasserkontrollen bei 60 %

langsam (Vbl. 1-4)



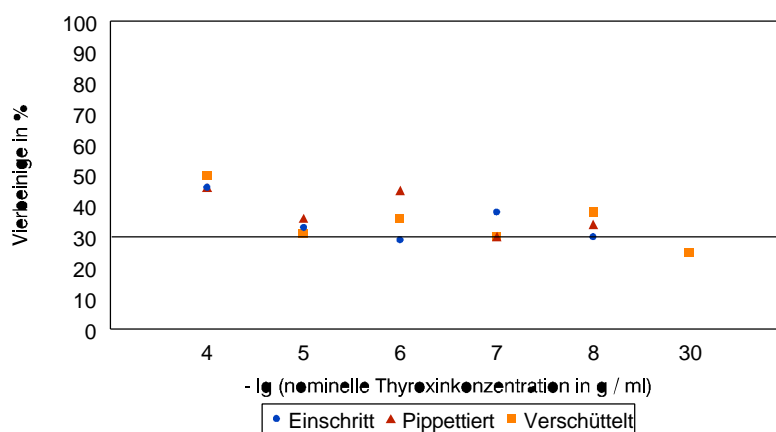
Gesamtheit aller Wasserkontrollen bei 70 %

langsam (Vbl. 1-4)

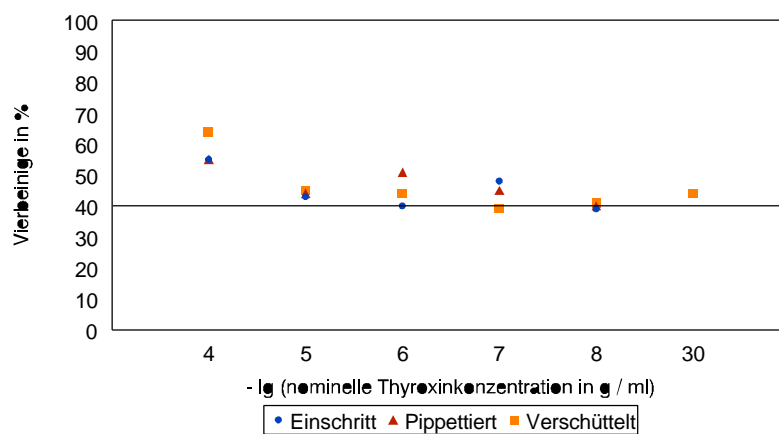


Diagrammserie IIIc

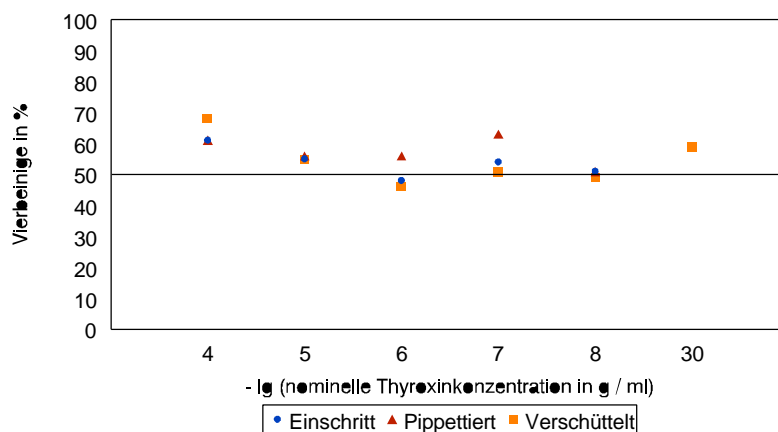
Gesamtheit aller Wasserkontrollen bei 30 % schnell (Vbl. 5 - 12)



Gesamtheit aller Wasserkontrollen bei 40 % schnell (Vbl. 5 - 12)

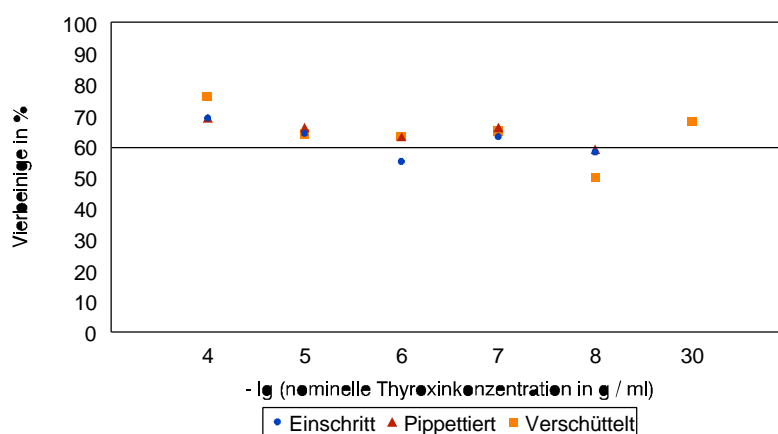


Gesamtheit aller Wasserkontrollen bei 50 % schnell (Vbl. 5 - 12)

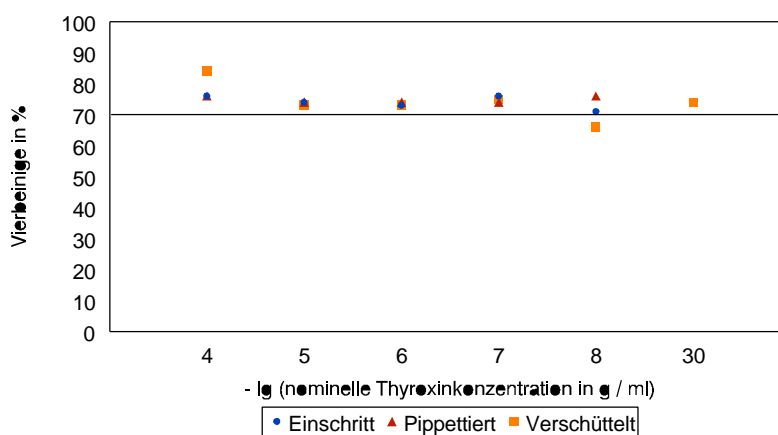


Diagrammserie IIIc (Forts.)

Gesamtheit aller Wasserkontrollen bei 60 % schnell (Vbl. 5 - 12)



Gesamtheit aller Wasserkontrollen bei 70 % schnell (Vbl. 5 - 12)



4.3 Konzentrationsbestimmung

Tabelle 5 zeigt die Ergebnisse der Probeuntersuchungen am Gesamt-T₄-Assay (Meßbereich: $4 \cdot 10^{-9}$ und $2,4 \cdot 10^{-7}$ g T₄/ ml) mit wässrigen T₄-Lösungen, die unmittelbar vor der Messung hergestellt wurden. Abgesehen von der Restanzeige bei der Wasserkontrolle und einem überhöhten Meßwert für 10^{-9} g T₄ / ml, weichen die gemessenen Werte um nicht mehr als den Faktor 2,1 (bei 10^{-7} g T₄/ ml, Meßreihe 1) von den theoretischen ab.

Konzentration in g T ₄ / ml			
nomineller Wert	gemessene Werte		
	Meßreihe 1	Meßreihe 2	Mittelwert
10^{-6}	$> 2,4 \cdot 10^{-7}$	$> 2,4 \cdot 10^{-7}$	$> 2,4 \cdot 10^{-7}$
10^{-7}	$4,9 \cdot 10^{-8}$	$9,3 \cdot 10^{-8}$	$7,1 \cdot 10^{-8}$
10^{-8}	$6,4 \cdot 10^{-9}$	$9,8 \cdot 10^{-9}$	$8,1 \cdot 10^{-9}$
10^{-9}	$< 4,0 \cdot 10^{-9}$	$7,0 \cdot 10^{-9}$	$5,5 \cdot 10^{-9}$
0 (Wasser)	$5,7 \cdot 10^{-9}$	$8,2 \cdot 10^{-9}$	$7,0 \cdot 10^{-9}$

Tabelle 5: Konzentrationsbestimmungen an Probelösungen zur Untersuchung der Meßgenauigkeit

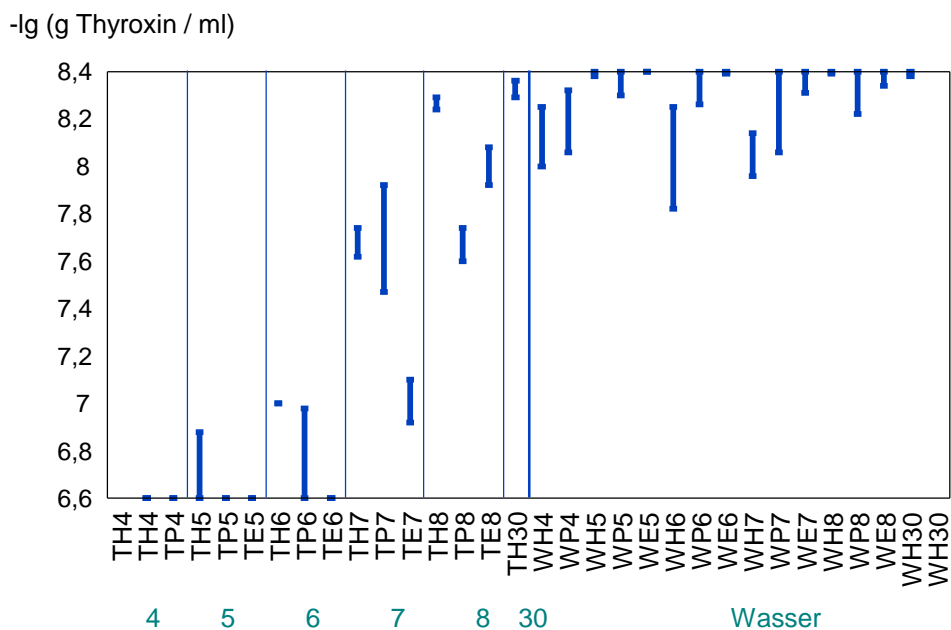


Diagramm 4: T₄-Konzentrationsbestimmung per Chemilumineszenz. Von jeder der 30 Lösungen wurden 2 Proben gemessen. Die Meßpunkte sind jeweils durch die beiden Endpunkte der Balken wiedergegeben.

Aus Diagramm 4 geht hervor, daß die Meßwerte für die T₄-Lösungen stets weniger als eine Zehnerpotenz von der theoretischen Konzentration entfernt lagen. Bei den Wasser-Kontrollösungen gab es in guter Übereinstimmung mit den Probemessungen in 10 von 15 Fällen eine Restanzeige von T₄. Es ist zu vermuten, daß die Abweichungen von den theoretischen Konzentrationen zumindest teilweise auf die Verwendung einer wässrigen Matrix an einem auf Blutserum geeichten Hormonmeßgerät zurückzuführen sind. Sofern sich keine geeignetere Meßmethode finden läßt, empfiehlt es sich bei künftigen Studien an diesem Versuchsmodell daher, umfangreichere Probemessungen durchzuführen. Dies würde eine Unterscheidung zwischen systematischen und zufälligen Abweichungen der Probemeßwerte von den theoretischen Werten erlauben und damit eine bessere Beurteilung der an den eingesetzten Lösungen erhobenen Meßwerten ermöglichen.

5 Diskussion

Anders als bei der Darstellung der Ergebnisse, bietet es sich in der Diskussion an, primär die drei Kollektive (Konzentrationsstufen 4, 5-8 und 30) zu besprechen und nur wo erforderlich zwischen isolierten und globalen Effekten zu unterscheiden.

5.1 Konzentrationsstufe 4

Aus den angewandten Auswertungsmethoden geht hervor, daß die stärksten beobachteten Wirkungen in einer Beschleunigung der Metamorphose durch TDP4 und, in noch weit stärkerem Maße, durch TDH4 bestanden. Der Befund, daß Thyroxinlösungen ab einer Konzentration von 10^{-9} g T₄ / ml die Amphibienmetamorphose stimulieren, ist bereits gesichertes Schulwissen. Im Rahmen dieser Diplomarbeit dient er nur als Bestätigung dafür, daß das verwendete Thyroxin biologisch aktiv war. Zu erwarten war auch, daß diese Lösungen bei langsam verlaufenden Versuchen stärker wirken würden, denn mit jedem Zutropfen stieg die Thyroxinkonzentration nominell um weitere 10^{-9} g T₄ / ml an. Daß TDH4 so viel stärker stimulierte als TDP4 mag auf die bessere Auflösung und die daraus resultierende höhere Verfügbarkeit der verschüttelten Thyroxinlösung zurückzuführen sein. Über diese Frage konnten die Konzentrationsmessungen keinen weiteren Aufschluß geben, da vom Meßgerät gefundene Konzentrationsunterschiede nicht ohne weiteres auf Unterschiede in der Verfügbarkeit des Thyroxins für die Kaulquappen hätten schließen lassen. Denkbar wäre auch, daß ein spezifisch homöopathischer Einfluß an der stärker beschleunigenden Wirkung der verschüttelten Lösung beteiligt war. Da es mit diesem Versuchsmodell nicht möglich ist, zwischen diesen beiden Erklärungsmöglichkeiten zu differenzieren, muß die Frage nach der Ursache für die unterschiedlich stark beschleunigenden Wirkungen von TDP4 und TDH4 offen bleiben.

Auffällig ist auch, z.B. in Tabellenserie I, daß WDH4 und WDP4 durchweg niedrige Werte lieferten. Dies könnte mit dem relativ hohen Ethanolgehalt auf der Konzentrationsstufe 4 zusammenhängen. Je nach Verdunstungsverlusten könnten sich nach zehnmalem Zutropfen immerhin 4×10^{-5} Volumenanteile Ethanol in diesen Versuchsbecken befunden haben.

5.2 Konzentrationsstufen 5,6,7,8

In bezug auf Homöopathie verdienen im Konzentrationsbereich 10^{-5} - 10^{-8} g T₄/ ml mögliche hemmende Effekte die größte Aufmerksamkeit, da sie am wenigsten mit herkömmlichen naturwissenschaftlichen Theorien zu erklären wären. Dies ist auch der Konzentrationsbereich, für den aufgrund der Vorversuche in Graz generell hemmende Wirkungen vorausgesagt worden waren (Lauppert, Endler, 1996). Wie schon in Abschnitt 4.2 dargelegt, ergaben sich keine statistisch signifikanten Wirkungen. Möglicherweise hätten einige Ergebnisse bei Berücksichtigung der Versuchsdauer das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ erreicht, doch wäre das Vorgehen einer statistischen Analyse nicht korrekt, da dieser Parameter nachträglich eingeführt wurde. Im folgenden werden daher nur die in den Grafiken erkennbaren Tendenzen diskutiert.

5.2.1 Isolierte Effekte

Sucht man in Diagrammserie I nach einer Korrelation hemmender Effekte mit der Versuchsdauer, so fällt, auf, daß TDH5, TDH7 und insbesondere TDH6 bei langsam verlaufenen Versuchen verglichen mit ihren jeweiligen Wasserkontrollen eine hemmende Wirkung zeigen.

In Diagrammserie IIa zeigt sich bei TDE5, TDH6 und TDE7 jeweils eine schwache Hemmwirkung. Teilt man die Versuche, wie in der Erläuterung zu Diagrammserie II beschrieben, bezogen auf den Wertebereich der Versuchsdauer in eine schnelle (8 Versuchsblöcke) und eine langsame Hälfte (4 Versuchsblöcke), so bestätigt sich in der "langsamen" Gruppe (Serie IIb) für TDH6 und TDH7 die bereits in Diagrammserie I festgestellte hemmende Tendenz bei langsam verlaufenden Versuchen. In der "schnellen" Gruppe (Serie IIc) ist bei TDP7 eine beschleunigende Tendenz zu erkennen. Bei der Betrachtung von Diagrammserien IIb und IIc ist natürlich zu bedenken, daß Unterschiede zwischen Thyroxin- und Kontrollwerten umso weniger aussagekräftig sind, je kleiner das Kollektiv, an dem sie erhoben wurden. So kommen z.B. die großen Unterschiede bei TDP5/WDP5 und TDH6/WDH6 in Serie IIb nicht zuletzt durch das extreme Verhalten der jeweiligen Wasserkontrolle zustande.

Bezieht man, wie in Diagrammserie III geschehen, die Wirkungen der einzelnen Thyroxinlösungen nicht auf ihre zugeordnete Wasserkontrolle (120 Versuchstiere), sondern auf die Gesamtheit der Wasserkontrollen (12 x 15 = 1800 Versuchstiere, bzw. 4 x 15 = 600 Versuchstiere in Diagrammserie IIIb und 8 x 15 = 1200 in IIIc), so ergibt sich ein etwas anderes Bild. In Serie IIIa (sämtliche 12 Versuchsblöcke) liegen die Werte sämtlicher

Thyroxinlösungen der Konzentrationsstufen 5-8 relativ dicht bei der Linie der Wasserkontrollen. In Serie IIIb (langsame Gruppe) fällt an hemmenden Wirkungen die von TDE5 am stärksten auf, gefolgt von TDP8, TDH7 und TDH6. Allerdings sind die Abweichungen nach oben bei anderen Lösungen, z.B. TDE6, von einer ähnlichen Größenordnung wie bei den drei letztgenannten Lösungen. In Serie IIIc (schnelle Gruppe) zeigt sich eine beschleunigende Wirkung vor allem bei TDP6 und, weniger durchgängig, bei TDP7.

Insgesamt läßt sich aufgrund von Diagrammserien I bis III in bezug auf isolierte homöopathische Effekte folgendes feststellen: Bezogen auf die einzelne Wasserkontrolle ist im Fall langsam verlaufender Versuche eine deutliche Hemmung bei TDH6 und TDH7 erkennbar. Bezogen auf den Durchschnitt der Wasserkontrollen heben sich die hemmenden Wirkungen dieser beiden Lösungen bei langsam verlaufenden Versuchen nicht wesentlich von den Abweichungen bei anderen Lösungen ab. Dafür zeigt sich hier eine deutliche Hemmung durch TDE5. Bei schnell verlaufenden Versuchen ergibt sich für TDP7 sowohl im Vergleich zu WDP7 als auch zum Durchschnitt der Wasserkontrollen eine leicht beschleunigende Wirkung, während dies bei TDP6 nur für die zweite Betrachtungsweise zutrifft. Wie bereits zu Anfang des Abschnitts 5.2 dargelegt, sollen beschleunigende Tendenzen bei der Suche nach homöopathischen Effekten auf den Konzentrationsstufen 5-8 außer Betracht bleiben.

Für sich allein genommen liefern die vorliegenden Ergebnisse daher allenfalls einen schwachen Hinweis auf homöopathische Hemmeffekte durch TDE5, TDH7 und TDH6 bei langsam verlaufenden Versuchen. Die hemmende Tendenz bei TDH6 bestätigt allerdings gleichlautende Ergebnisse aus Versuchen in Graz (Endler, Lauppert, 1996). Bei allen drei Lösungen bezieht sich die festgestellte Tendenz auf ein Kollektiv von 40 + 40 Versuchstieren. Da die Aufteilung der Versuchsblöcke in eine langsame und eine schnelle Gruppe nachträglich erfolgte, ist es nicht möglich, diese Tendenzen mit den Methoden der schließenden Statistik zu bewerten. Für künftige Versuche lassen sich hieraus zwei Empfehlungen ableiten: Zum einen sollte die Versuchsdauer nach Möglichkeit in der Arbeitshypothese berücksichtigt werden. Zum anderen sollten die Versuchsbedingungen so gewählt werden, daß die Versuche mit größtmöglicher Wahrscheinlichkeit langsam verlaufen. Hierauf wird in Abschnitt 5.4 näher eingegangen.

5.2.2 Globale Effekte

Aus Diagrammserien II und III ist zu ersehen, daß sich die Werte aus der schnellen und der langsamen Gruppe für die meisten T₄-Lösungen beträchtlich unterscheiden. In vielen Fällen zeigen die beiden Gruppen in bezug zur jeweils betrachteten Wasserkontrolle sogar gegensätzliche Wirkungen, also im einen Fall eine Hemmung und im anderen Fall eine

Beschleunigung (z.B. TDH6 und TDH7 in Diagrammserie III). Wie schon unter 5.1.2 dargelegt, fallen aber derartige Unterschiede bei den betreffenden Lösungen meist so klein aus, daß ihre Aussagekraft fraglich erscheint. Betrachtet man aber das globale Verhalten aller 12 T₄-Lösungen im Vergleich zu den gepoolten Wasserkontrollen bei langsam und bei schnell verlaufenden Versuchen, so zeigt sich ein unübersehbarer Effekt: in allen 5 Diagrammen der Serie IIIb (langsame Gruppe) liegen die 12 Thyroxin-Werte im Durchschnitt leicht unterhalb der Wasserkontrolllinie, während die 12 Thyroxin-Werte in den jeweiligen Diagrammen der Serie IIIc (schnelle Gruppe) im Durchschnitt deutlich darüber liegen. Dieser Sachverhalt soll hier in einer Tabelle veranschaulicht werden:

Durchschnitt aller Wasser- kontrollen	Summe aller 12 T ₄ -Lösungen der Konzentrationsstufen 5-8 in % / 12	
	langsame Gruppe	schnelle Gruppe
30%	28,8	34,2
40%	40,8	43,3
50%	47,2	53,8
60%	59,5	61,3
70%	69,0	73,3

Tabelle 6: Globale Gegenüberstellung langsam und schnell verlaufender Versuchsblöcke für die Konzentrationsstufen 5-8. Werte sind direkt aus Tabellen I b und c errechnet.

Wie bereits erklärt, ist es nicht möglich, die Methoden der schließenden Statistik auf Unterschiede zwischen schnell und langsam verlaufenden Versuchen anzuwenden, weil diese Unterteilung nachträglich vorgenommen wurde. Es läßt sich also nur die sehr auffällige Tendenz feststellen, daß die Kaulquappen sich in den hier betrachteten Thyroxinlösungen unabhängig von deren Herstellungsweise bei schnell verlaufenden Versuchen bezogen auf den durchschnittlichen Fortschritt unter den Wasserkontrollen schneller entwickelt haben als bei langsam verlaufenden. Dabei weichen die Werte für die schnelle Gruppe stärker nach oben von der Wasserkontrolllinie ab als die der langsamen Gruppe nach unten. Ob die T₄-Lösungen bei langsam verlaufenden Versuchen auch im Vergleich zu den gepoolten Wasserkontrollen global hemmend wirken, erscheint daher weniger gewiß. Diese Hypothese läßt sich nur durch weitere, kontrolliert langsam geführte Versuche überprüfen.

5.3 Konzentrationsstufe 30

Die Lösung TDH30 zeigte über alle 12 Versuchsblöcke gerechnet eine stimulierende Tendenz, die bezogen auf WDH30 das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ nur knapp verfehlte. Gegenüber WDH30 war diese Tendenz bei schnell verlaufenden Versuchen, im Vergleich zu den gepoolten Wasserkontrollen dagegen in der langsamen Gruppe ausgeprägter. Eine stimulierende Wirkung durch TDH30 bei achtstündlichem Zutropfen ist bislang nur aus Versuchen in Graz an Hochlandtieren im Herbst bekannt. Angesichts der auffälligen Tendenz, die in Tübingen gefunden wurde, erscheint eine Wiederholung des Vergleichs TDH30/WDH30 mit einer etwas größeren Tierzahl durchaus lohnend.

5.4 Mögliche methodische Verbesserungen für künftige Versuche

5.4.1 Versuchsdauer

Wie bereits dargelegt, hängen die Ergebnisse aus diesem Versuchsmodell bei zeitlich aufeinander folgenden Versuchsblöcken offenbar stark von der Versuchsdauer ab. Dieses Problem könnte man in künftigen Versuchen einfach umgehen, indem man alle zu vergleichenden Versuchsblöcke gleichzeitig starten läßt. In diesem Fall könnte man aber nicht die natürliche Streuung der Entwicklung in den Aufzuchtbecken nutzen und müßte mit kleineren Kollektiven auskommen, es sei denn man machte massiven Gebrauch von künstlicher Kühlung. Eine solche ungleiche Vorbehandlung kann sich allerdings auch als Störfaktor erweisen, wie noch unter Abschnitt 5.4.2 besprochen wird. Möchte man also an der Möglichkeit zeitlich aufeinander folgender Versuchsblöcke festhalten, muß man auf andere Weise versuchen, die Versuchsdauer zu kontrollieren. Diese korreliert, wie sich auch in dieser Arbeit bestätigt hat, stark mit der Temperatur. Über die gesamte Dauer der Versuchsarbeiten bewegte sich die Temperatur zwischen den Extremwerten von 18 und 28 °C. Die durchschnittliche Tagestemperatur des Beckenwassers variierte dabei zwischen ca. 19 °C im Verlauf der ersten beiden Wochen und etwa 24 °C in der vierten Woche. Die Versuchsblöcke der langsamen Gruppe fielen dabei noch ganz in die kühle Zeit, während die nachfolgenden schnellen Versuchsblöcke alle mindestens einmal Wassertemperaturen von über 26 °C ausgesetzt waren. Um in künftigen Versuchen die Schwankungsbreite der Versuchsdauer zu reduzieren, sollte man daher für die Durchführung einen Ort mit möglichst trägem Temperaturgang wählen. Da positive Ergebnisse im Sinne der Homöopathie offenbar am ehesten bei langer Versuchsdauer zu erwarten sind, sollte die Temperatur außerdem möglichst niedrig liegen. Dabei wäre durch praktische Erfahrung zu prüfen, ob die Vorgabe einer Mindesttemperatur von 18 °C, die aus früheren Arbeiten abgeleitet wurde (Endler xy), tatsächlich zweckmäßig ist.

5.4.2 Kurzfristige Temperaturschwankungen als möglicher Störfaktor

Die Arbeiten von Witschi (1936) haben gezeigt, daß kurzfristige Temperaturschwankungen die Variabilität der Entwicklungsgeschwindigkeit von Froschlurchlarven steigert (siehe Abschnitt 2.4.1). Dennoch haben frühere Versuche an unserem Versuchsmodell unter Mißachtung dieses Faktors positive Ergebnisse im Sinne der Homöopathie geliefert. Darunter gab es auch Studien, die in Gewächshäusern bei Wassertemperaturschwankungen zwischen 21 und 27 °C durchgeführt wurden (Endler et al., 1991). Positive Ergebnisse hat man in der Vergangenheit auch erhalten, wenn, wie auch hier geschehen, ein Teil der Kaulquappen zur Vereinheitlichung der Entwicklungsstadien vor Versuchsbeginn vorübergehend bei ca. 10 °C gehalten wurden (Endler et al., 1996). In Anbetracht der mäßigen Aussagekraft der vorliegenden Ergebnisse liegt es nun nahe, diesem Aspekt bei künftigen Versuchen größere Aufmerksamkeit zu schenken. Will man auf künstliche Kühlung ganz verzichten, bedeutet dies allerdings zwangsläufig eine Verkleinerung der Versuchsblöcke.

5.4.3 Der saisonale Faktor

Außer mit der Temperatur korreliert die Verteilung der Versuchsdauer auch recht gut mit der Saison. Wie Diagramm 3 zeigt, waren die langsamsten vier Versuchsblöcke auch die ersten vier und nahmen in der Reihenfolge ihrer Durchführung an Länge ab. Innerhalb der schnellen Gruppe ist dagegen kein Zusammenhang zwischen der Versuchsdauer und der Reihenfolge der Blöcke erkennbar. In jedem Fall läßt sich hieraus für künftige Arbeiten an diesem Versuchsmodell die Empfehlung ableiten, daß man Versuche, deren Ergebnisse in der Statistik miteinander verglichen werden sollen, auf möglichst kurze Zeiträume verteilt und nicht miteinander zu vergleichende Gruppen nacheinander untersucht. Dadurch ließe sich gleichzeitig das Risiko starker Temperaturschwankungen während der Durchführung miteinander zu vergleichender Versuche reduzieren. Außerdem wird der Einfluß der Tageslänge, die sich ja im Verlauf der Versuchsarbeiten ändern, minimiert.

6 Zusammenfassung

In dieser Diplomarbeit wurden verschiedene Aspekte der Wirkung nach homöopathischer Vorschrift hergestellter Präparate exemplarisch im Tierversuch erkundet. Als Versuchsmodell diente hierzu die Untersuchung der Wirkung von Thyroxingaben auf die Metamorphosegeschwindigkeit beim Grasfrosch (*Rana temporaria*). In diesem Modell beginnt jeder Versuch mit Kaulquappen eines definierten Zweibeinstadiums. Gemessen wird die kumulierte Anzahl von Tieren, die zu den achtstündlichen Meßzeitpunkten das Vierbeinstadium erreicht haben. Die Ausgangshypothese war, daß achtstündliches Zutropfen von Thyroxinlösungen im Konzentrationsbereich 10^{-8} g / ml - 10^{-5} g / ml (Endkonzentration im Becken nach der ersten Gabe um den Faktor 10^{-5} niedriger) die Metamorphose der Kaulquappen im Vergleich zu entsprechenden Wasserkontrollen hemme und daß diese Wirkung bei Thyroxinlösungen, die nach homöopathischer Vorschrift schrittweise verdünnt und verschüttelt worden sind, ausgeprägter sei als bei nur schrittweise verdünnten Thyroxinlösungen gleicher Konzentration. Neben diesen beiden Herstellungsweisen wurde auch die Herstellung von Lösungen in einem Verdünnungsschritt untersucht. Ferner wurden eine homöopathisch hergestellte und eine nicht verschüttelte Thyroxinlösung der Konzentration 10^{-4} g / ml sowie eine homöopathisch hergestellte Thyroxinlösung der nominellen Konzentration 10^{-30} g / ml untersucht. Alle Versuche wurden 12 Mal durchgeführt.

Bei einer nachträglichen Aufteilung der 12 Versuchsblöcke in schnell und langsam verlaufende Versuche ließen sich gewisse Tendenzen im Sinne der Ausgangshypothesen feststellen. Langsam verlaufende Versuche zeigten beim Vergleich mit den entsprechenden Wasserkontrollen für verschüttelte Thyroxinlösungen der Konzentrationen 10^{-6} und 10^{-7} g / ml und beim Vergleich mit den gepoolten Wasserkontrollen vor allem bei der Einschnittverdünnung der Konzentration 10^{-5} g / ml eine hemmende Wirkung. Bei diesen Versuchen zeigte sich außerdem global eine schwach hemmende Wirkung durch die 12 untersuchten Thyroxinlösungen des Konzentrationsbereichs 10^{-5} - 10^{-8} g / ml. Bezüglich der Herstellungsweise gab es bei diesen Lösungen keine globalen Effekte. Die Thyroxinlösungen der Konzentration 10^{-4} g / ml bewirkten wie erwartet eine Stimulierung, die bei der verschüttelten Lösung allerdings deutlich stärker war als bei der unverschüttelten. Auch die Thyroxinlösung der Konzentration 10^{-30} g / ml zeigte eine auffällige stimulierende Tendenz.

In künftigen Arbeiten an diesem Versuchsmodell sollte die Versuchsdauer in den Ausgangshypothesen berücksichtigt und die sie bestimmenden Faktoren, namentlich die Temperatur, nach Möglichkeit sorgfältig kontrolliert werden.

7 Schluß

Hier soll kritisch beurteilt werden, inwiefern das durchgeführte Versuchsprogramm zu einer Klärung der Ausgangshypothesen beigetragen hat. Zunächst ist festzustellen, daß keine der Hypothesen bezüglich homöopathischer Wirkungen mit den Methoden der schließenden Statistik bestätigt werden konnte. Die Hypothese, daß sich verschieden hergestellte Lösungen gleicher Wirkstoffkonzentration in diesem Versuchsmodell in ihrer Wirkung unterscheiden, ließ sich mit dieser Studie nicht bestätigen. Dagegen darf die Hypothese einer generellen Hemmung der Metamorphose durch Thyroxinlösungen im niedrigen Verdünnungsbereich in Anbetracht der gefundenen Tendenzen meiner Meinung nach weiterhin als offen gelten. Wenn man für künftige Versuche aufgrund der vorliegenden Ergebnisse einige wenige T₄-Lösungen auswählt und diese dafür an wesentlich höheren Tierzahlen untersucht, könnten sich die gefundenen schwachen Effekte möglicherweise statistisch absichern lassen. Dabei sollte man die gewonnenen Erfahrungen bezüglich der Versuchsdauer nutzen, indem man für eine möglichst konstante, nicht zu hohe Temperatur sorgt und Versuche, deren Ergebnisse miteinander verglichen werden sollen, jeweils innerhalb möglichst kurzer Zeiträume durchführt. In der Tat sind die Vorbereitungen zu einer solchen Nachfolgestudie bereits in vollem Gange. Wenn also die Ergebnisse der hier vorgelegten Diplomarbeit aus heutiger Sicht nicht voll befriedigen können, so bleibt abzuwarten, ob sie sich nicht doch bei der Weiterentwicklung des Versuchsmodells im Rückblick als aufschlußreich erweisen.

8 Abkürzungsverzeichnis

8.1 Bezeichnung der Lösungen

Jede Lösung wird mit einer Zeichenfolge von 3 Buchstaben und einer Zahl gekennzeichnet.

- | | |
|---------------------|---|
| 1. Buchstabe: T/W | Hierdurch wird zwischen Thyroxinlösungen (Verum) und Wasserkontrollen (Placebo) unterschieden. |
| 2. Buchstabe: D | Es wurde durchweg in dezimalen Konzentrationsstufen bezogen auf die Einheit g/ml gearbeitet. |
| 3. Buchstabe: H/P/E | <p>E: Die Lösungen wurden in einem Schritt auf ihre endgültige Konzentration gebracht (<u>E</u>inschrittverdünungen).</p> <p>P: Die Lösungen wurden, beginnend mit 10^{-4} g Thyroxin / ml, in Verdünnungsschritten von 1:10 auf ihre endgültige Konzentration gebracht (nur <u>P</u>ippettiert).</p> <p>H: Die Lösungen wurden, beginnend mit 10^{-4} g Thyroxin / ml, in Verdünnungsschritten von 1:10 mit jeweils anschließendem Verschütteln auf ihre endgültige Konzentration gebracht (Potenziert nach <u>H</u>ahnemann).</p> |
| Zahl: 4/5/6/7/8/30 | Die Zahl gibt den negativen dekadischen Logarithmus der in g / ml ausgedrückten nominellen Thyroxinkonzentration an. Mit der ersten Zugabe ins Beckenwasser erfolgte jeweils eine weitere Verdünnung um den Faktor 10^5 . |

8.2 Chemische Abkürzungen

T₃: Trijodthyronin

T₄: Tetrajodthyronin (= Thyroxin; das im Versuch verwendete Tetrajodthyronin-Natriumpentahydrat wird in dieser Arbeit ebenfalls mit T₄ bezeichnet)

TSH: thyreoideastimulierendes Hormon (= Thyreotropin)

TRH: Thyreotropin-Releasing-Hormon

9 Literatur

- Ashley H., Frieden E.: Metabolism and distribution of triiodothyronine and thyroxine in the Bullfrog tadpole. *Gen Comp Endocrinol* 1972; 18: 22-31.
- Bastide M., Doucet-Jaboeuf M., Daurat V.: Activity and chronopharmacology of very low doses of physiological immune inducers. *Immunol Today* 1985; 6: 234-235.
- Bastide M., Daurat V., Doucet-Jaboeuf M., Pèlegri A., Dorfman P.: Immunomodulator activity of very low doses of thymulin in mice. *Int J Immunotherapy* 1987; III: 191-200.
- Buscaglia M., Leloup J., deLuze A.: The role and regulation of monodeiodination of thyroxine to 3,5,3'-triiodothyronine during amphibian metamorphosis. In: Balls M., Bownes M. (Hrsg.): *Metamorphosis*. Clarendon Press, Oxford 1985.
- Davenas E., Poitevin B., Benveniste J.: Effect on mouse peritoneal macrophages of orally administered very high dilutions of silica. *Eur J Pharmacol* 1987; 135: 313.
- Dodd M. H. I., Dodd J. M.: The biology of metamorphosis. In: Lofts B. (Hrsg.): *Physiology of the amphibia*, Band III. Academic Press, New York San Francisco London 1976.
- Dodd J.M., Matty A. J.: Comparative aspects of thyroid function. In: Pitt-Rivers R., Trotter W.R. (Hrsg.): *The Thyroid Gland*. Butterworth, London 1964.
- Duellman W. E., Trueb L.: *Biology of amphibians*. McGraw-Hill Book Company, New York St.Louis San Francisco 1985.
- Endler P.C., Pongratz W., Van Wijk R., Kastberger G., Haidvogel M.: Effects of highly diluted succussed thyroxine on metamorphosis of highland frogs. *The Berlin Journal on Research in Homoeopathy* 1991; 1: 151-160.
- Endler P. C., Pongratz W., van Wijk R., Wiegant F. A. C., Walzl K., Gehrler M., Hilgers H.: A zoological example on ultra high dilution research. Energetic coupling between the dilution and the organism in a model of amphibia. In: Endler P.C., Schulte J. (Hrsg.): *Ultra High Dilution. Physiology and Physics*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 1994.
- Endler P. C., Heckmann C., Lauppert E., Pongratz W., Smith C., Senekowitsch F., Citro M.: Amphibienmetamorphose und Information von Thyroxin. Speicherung durch bipolare Flüssigkeit Wasser und auf technischem Datenträger; Übertragung durch elektronischen Verstärker. In: Endler, P. C., Schulte, J. (Hrsg.): *Homöopathie - Bioresonanztherapie. Physiologische und physikalische Voraussetzungen - Grundlagenforschung*. Wilhem Maudrich Verlag, Wien 1996.
- Etkin W.: Metamorphosis. In: Moore J. A. (Hrsg.): *Physiology of the amphibia*. Academic Press, New York 1964.
- Florentin P., Stutinsky F.: Modifications cytologiques de la glande pituitaire des grenouilles maintenues à l'obscurité. *C R Soc Biol* 1936; 122: 674.

Frawley L. S., Walker R. F.: The influence of light on thyroid function in Bullfrog tadpoles. *Gen Comp Endocrinol* 1974; 24: 83-86.

Fuhrmann D.: Die Beeinflussung ausgewählter Parameter der Rattenleber durch die Homöopathika Sulfur D6 und Sulfur D12. Vergleich mit nicht-homöopathischen Sulfur-Verdünnungen gleicher Konzentration. Dissertation der Veterinärmedizinischen Hochschule Hannover, 1987.

Galton V. A., Hiebert A.: *Endocrinology* (Baltimore) 1988; 122: 640-645.

Gundernatsch J. F.: Feeding experiments on tadpoles. The influence of specific organs given as food on growth and differentiation. A contribution to the knowledge of organs of internal secretion. *Wilhelm Roux Arch. Entwicklungsmech. Organismen* 1912; 35: 457-483.

Guyétant R.: Actions comparées de la lumière et de l'obscurité sur la croissance et la métamorphose de têtards de *Rana temporaria* L. *Ann Sci Univ Besançon-Zool Physiol* 1964; 19: 77-98.

Hadji L., Arnoux B., Benveniste J.: Effect of dilute histamine on coronary flow of guinea-pig isolated heart. *FASEB J* 1991; 5: A1583.

Hahnemann, S.: *Organon der Heilkunst*. Textkritische Ausgabe der 6. Auflage. Karl F. Haug Verlag, Heidelberg 1992.

Homöopathisches Arzneibuch. Deutscher Apothekerverlag, Frankfurt/M. und Govi-Verlag, Frankfurt/M.. 1991

Kikuyama S., Kawamura K., Tanaka S., Yamamoto K.: Aspects of amphibian metamorphosis: hormonal control. *International Review of Cytology* 1993; 145: 105-148.

König K.: Über die Wirkung extrem verdünnter ("homöopathisierter") Metallsalzlösungen auf Entwicklung und Wachstum von Kaulquappen. *Zschft ges exp Med* 1927; 56: 881-593.

Lauppert E., Endler P.C.: Enhanced inversion effect of thyroxine log 10-13 by agitation. Curative effect following hyperstimulation in frogs. In Taddei-Ferretti C. (Hrsg.): *High dilution effects on cells and integrated systems*. World Scientific, Singapore 1996.

von Lindeiner-Wildau, A.: Die Amphibienlaichgewässer des Naturparks Schönbuch. Diplomarbeit der Fakultät für Biologie der Universität Tübingen, 1989.

Neuenschwandner P., Weber R.: Spontane und induzierte Metamorphose bei Larven des Krallenfrosches (*Xenopus laevis* Daud.) im Kälteversuch. *Wilhelm Roux Arch Entwicklungsmech Organismen* 1970; 130: 553-574.

Neuenschwandner P.: Ultrastruktur und Jodaufnahme der Schilddrüse bei Larven des Krallenfrosches (*Xenopus laevis* Daud.). *Z Zellforsch* 1972; 130: 553-574.

Miline R.: Influence de la lumière et de l'obscurité sur la morphogénèse. *Med Arh* 1950; 25: 34.

Mössinger P.: Homöopathie und naturwissenschaftliche Medizin. Zur Überwindung der Gegensätze. Hippokrates Verlag, Stuttgart, 1984.

Niinuma, K., Tagawa M., Hirano T., Kikuyama S.: Changes in tissue concentrations of thyroid hormones in metamorphosing toad larvae. *Zoological Science* 1991; 8: 345-350.

Norris D. O., Platt J. E.: T₃ and T₄ induced rates of metamorphosis in immature and sexually mature larvae of *Ambistoma tigrinum* (Amphibia: Caudata). *J Exp Zool* 1974; 189: 303-310.

Poitevin B., Davenas E., Benveniste J.: In vitro immunological degranulation of human basophils is modulated by lung histamine and *Apis mellifica*. *Br J Clin Pharmacology* 1988; 25: 439-444.

Regard E., Taurog A., Nakashima T.: Plasma thyroxine and triiodothyronine levels in spontaneously metamorphosing *Rana catesbeiana* tadpoles and in adult anuran amphibia. *Endocrinology* 1978; 102:674-684.

Righetti M.: *Forschung in der Homöopathie*. Burgdorf Verlag, Göttingen 1988.

Sukul N. C., Zaghlool H. A.: Effect of two homoeopathic drugs, *Agaricus muscarius* and *Nux vomica*, on the isolated ileum of rats. *Sci Cult* 1990; 56: 254-258.

Taylor A. C., Kollros J. J., Stages in the normal development of *Rana pipiens* larvae. *Anat Rec* 1946; 94: 7-23.

White B. A., Nicoll C. S.: Hormonal control of amphibian metamorphosis. In: Gilbert L. I., Frieden E. (Hrsg.): *Metamorphosis. A Problem in developmental biology*. Plenum Press; New York 1981.

Witschi E.: Aufzucht und Haltung der gebräuchlichen Laboratoriumstiere. Amphibien und Reptilien. In: Abderhalden E.: *Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*, Abt. IX, Teil 7, Heft 4. Urban & Schwarzenberg, Berlin Wien 1936.