Aus dem Universitätsinstitut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern.

Weitere Mitteilungen über chemotherapeutische Experimentalstudien bei Trypanosomeninfektionen.

Von W. Kolle, O. Hartoch und W. Schürmann.

In einer früheren Mitteilung hatten wir zusammen mit M. Rothermundt in dieser Wochenschrift¹⁾ über die Anfangsergebnisse unserer chemotherapeutischen Studien bei Trypanosomeninfektionen berichtet. Wir haben seither die Versuche nach den dort dargelegten Gesichtspunkten weiter verfolgt und wollen im Folgenden über die Ergebnisse unserer Arbeiten kurz berichten, indem wir zugleich auf die ausführlichen, mit Belegen versehenen Mitteilungen in der Zeitschrift für Immunitätsforschung²⁾ verweisen.

Vorweg sei bemerkt, daß die von uns entwickelten Grundsätze über die Chemotherapie der Trypanosomeninfektionen sich auch bei den weiteren Versuchen erfolgreich erwiesen haben. Die systematische Untersuchung der verschiedenen bekannten Verbindungen des Antimons, ebenso wie einiger neuer, nach obigen Gesichtspunkten von Herrn E. Scheitlin synthetisch dargestellter Antimonkörper haben, wie bereits berichtet worden ist, über allen Zweifel die von uns gefundene Tatsache sichergestellt, daß auf Grund unserer Untersuchungen die fünfwertigen Antimonverbindungen chemotherapeutisch als fast unwirksam zu bezeichnen sind. Es ist daher ratsam, zur Behandlung von Trypanosomeninfektionen diejenigen Verbindungen zu benutzen und bei Erforschung neuer Antimonpräparate in erster Linie nach solchen zu fahnden, welche das Antimon in dreiwertiger Form enthalten. Von allen damals von uns untersuchten Verbindungen erwies sich bei weitem als das wirksamste das Antimontrioxyd („Trixidin“). Dieses Präparat leistet bezüglich Dauersterilisierung kleiner Tiere, namentlich der trypanosomeninfizierten Mäuse und Meerschweinchen, bei intramuskulärer Injektion bei weitem am meisten von allen bisher bekannten Antimonverbindungen und weist dabei einen außerordentlich günstigen chemotherapeutischen Koeffizienten auf. Bei der weiteren Verfolgung dieser Beobachtung konnte diese Tatsache immer wieder aufs neue erhärtet werden. Bei wiederholter Injektion verhältnismäßig kleiner Gaben von Antimontrioxyd ließen sich mit Schlafkrankheit und Dourine infizierte Mäuse und Meerschweinchen sterilisieren. Bei naganainfizierten Mäusen gelang es bereits mit einmaliger Injektion kleinster Gaben, eine Dauerheilung der infizierten Mäuse zu erzielen.

Es galt nun, die Heilkraft des Antimontrioxyds auch bei größeren Tieren zu prüfen.

Es wurden hierzu von uns Kaninchen, Hunde und Affen herangezogen, die mit verschiedenen Trypanosomenarten, namentlich Dourine, infiziert waren. An Rindern, die natürliche Trypanosomeninfektionen in Ost-Afrika zeigten, wurden von Geheimrat Prof. v. Ostertag und Veterinärbakteriologen Dr. Wölfel Heilversuche mit Trixidin angestellt. Ferner hat Regierungsrat Prof. Dr. Zwick die Wirksamkeit des Trixidins im Kais. Gesundheitsamt in Berlin geprüft.

Unsere Erwartungen bezüglich des chemotherapeutischen Wertes des intramuskulär eingeführten Trixidins bei der experimentellen Trypanosomeninfektion der größeren Tiere haben sich nun nicht in dem vollen Umfange bestätigt, wie wir es erwarteten. Die Ursache hiervon war in einer unangenehmen lokalen Nebenwirkung des intramuskulär einverleibten Trixidins zu suchen. Denn bei den meisten der genannten Tierarten, namentlich bei Kaninchen, Hunden und Affen, kommt es — ganz ebenso wie übrigens auch bei Pferden und beim Menschen (schriftliche Mitteilung von Prof. Kleine) — zu unangenehmen Infiltrationen, die nicht, wie bei kleineren Tieren, rasch resorbiert werden, sondern meistens zu Abszessen führen. Namentlich bei Kaninchen wurde diese Crux der Therapie sterilisans mittels Trixidins besonders unangenehm empfunden. Es kam oft zu sehr ausgedehnten Abszedierungen, wenigstens bei einem Teil der Tiere, obwohl

gelegentlich auch große Trixidindosen von Kaninchen vollständig reaktionslos vertragen wurden.

Vorderhand konnten wir noch nicht ermitteln, worauf dieses auffällig differente Verhalten der verschiedenen Tierarten und auch verschiedener Individuen derselben Spezies gegen die intramuskuläre Einverleibung des Präparates zurückzuführen ist. Zahlreiche Versuche durch Zusatz der verschiedensten Mittel, der abszedierenden Wirkung des Trixidins entgegenzuwirken, Versuche, bei denen das Kalziumchlorid sich noch am wirksamsten erwies, führten dennoch nicht zu einem einwandfreien Resultat. Eine vollständige Paralyse dieser Wirkung gelang uns weder auf chemischen Wege, noch durch Verteilung der zu injizierenden Trixidinnenge auf verschiedene Körperstellen.

Ganz anders gestalteten sich die Resultate, als wir nach orientierenden Vorversuchen das Antimontrioxyd, statt in öligem Emulsion intramuskulär zu injizieren, in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt intravenös verabreichten. Die theoretischen Bedenken, ein unlösliches, pulverförmiges, dazu spezifisch ziemlich schweres Metallpräparat intravenös zu injizieren, wurden durch das Experiment selbst widerlegt. Abgesehen von einigen Todesfällen, die uns in der ersten Zeit unterliefen, als wir mit der dazu erforderlichen Technik noch nicht völlig vertraut waren, gelang es uns später regelmäßig, die erforderliche Menge Antimontrioxyd intravenös einzuführen, ohne daß das Versuchstier auch nur die geringsten Symptome aufwies. Die beim Kaninchen in die Ohrenvene, beim Meerschweinchen in die freigelegte V. jugularis durchgeführten Injektionen ließen keinen Zweifel darüber, daß dieser Weg durchaus gangbar ist.

Die therapeutischen Erfolge einer solchen Behandlung mittels intravenöser Injektionen des Antimontrioxyds sind, wie wir in der Zeitschrift für Immunitätsforschung (20. 1914 H. 5) mit Protokollen belegt haben, so eklatant, daß wir auf Grund dieser Befunde unsere ursprüngliche Ansicht und die Behauptung von der hervorragenden therapeutischen Bedeutung des Antimontrioxyds für die Behandlung der Trypanosomeninfektion durchaus und im vollsten Maße aufrecht erhalten müssen.

Eine einmalige bzw. zweimalige intravenöse Injektion des Mittels genügte, um eine durch zahlreiche Mausimpfungen erwiesene Dauersterilisierung bei dourineinfizierten Kaninchen zu bedingen. Aus diesen Versuchen geht nun mit Deutlichkeit hervor, daß das Antimontrioxyd auch in diesen Fällen das Gleiche bei Kaninchen zu leisten vermag wie bei den Mäuseversuchen, wenn man nur durch Vermeidung der intramuskulären Injektion die Abszeßbildung ausschaltet.

Die Tatsache, daß wir vor die Notwendigkeit gestellt worden sind, ein unlösliches, relativ grobpulverisiertes Präparat, wie es das käufliche, von Kahlbaum hergestellte Antimontrioxyd darstellt, intravenös einzuführen, legte die Frage nahe, ob es nicht gelänge, durch ein chemisches Verfahren, das von dem üblichen in der Praxis angewandten sich unterscheidet, das Antimontrioxyd in einer feiner verteilten Form zu erhalten, in einer Form, die sich der kolloidalen Form nähert. Eine erhöhte therapeutische Wirksamkeit, bedingt durch die auf solche Weise gewonnene größere Oberfläche, und die Gewinnung einer für die intravenöse Injektion handlichen und durchaus ungefährlichen (Embolien) Form des Präparates waren die Erwartungen, die wir an ein modifiziertes Verfahren knüpften.

In Gemeinschaft mit den Herren Prof. Bürgi, Direktor, und v. Traczewski, Mitarbeiter des Medizinisch-chemischen Instituts der Berner Universität, in deren Händen die chemische Arbeit lag, gingen wir dazu über, das Antimontrioxyd aus Brechweinsteinlösungen durch ein besonderes Fällungsverfahren in feinsten Form zu erhalten.

Nach einigen Vorversuchen gelang es denn auch, ein Antimontrioxydpräparat zu gewinnen, das, mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, sich nicht wie das gewöhnliche käufliche Präparat unmittelbar als Bodensatz abschied, sondern längere Zeit gleichmäßig suspendiert in der Kochsalzlösung sich hielt und erst allmählich zu Boden setzte. Auch bei mikroskopischer Betrachtung des Kahlbaum'schen Trioxyds, verglichen mit dem von Prof. Bürgi und v. Traczewski hergestellten, ergaben sich ausgesprochene Unterschiede, sowohl in der

¹⁾ S. Nr. 18 (1913) S. 425.

²⁾ 19. 1913 H. 1; 20. 1914 H. 5.

Form als in der Größe der einzelnen Körner. Durch weitere Modifikation des angewandten Verfahrens ist es ferner gelungen, das Antimontrioxyd in so feiner Form zu erhalten, daß die einzelnen Partikel selbst unter starken Vergrößerungen des Mikroskops kaum die Größe von Kokken hatten. Das Antimontrioxyd, in derartig feinsten Form gewonnen, war in bezug auf das physiologisch-pharmakologische Verhalten den Kolloiden ähnlich.

Sowohl mit dem ersten als mit dem zweiten Präparat sind von uns Tierversuche (Toxizitätsbestimmungs- wie therapeutische Versuche) angestellt worden, über die wir an dieser Stelle noch nicht berichten können.

Auf jeden Fall haben uns diese Versuche die Ueberzeugung gegeben, daß die günstigen Resultate, die wir bereits mit dem einfachen, grobpulverigen käuflichen Antimontrioxyd bei intravenöser Injektion erzielt haben (s. Protokolle der ausführlichen Arbeit), durch das gleiche, nur in feinsten Form gefällte Präparat ganz wesentlich noch verbessert und erweitert werden können. Auch die gefahrlose Anwendung eines solchen Präparates für intravenöse Injektion beim schlafkranken Menschen, auf die es in der Praxis in erster Linie ankommen dürfte, kann zweifellos auf diesem Wege gelöst werden. Die mitgeteilten Versuche über die therapeutischen Versuche mit Antimontrioxyd, die mit dem käuflichen Antimontrioxyd ausgeführt wurden, müssen demnach auch von dem Gesichtspunkte aus betrachtet werden, daß wir vor der Hand nur die prinzipielle Seite der Frage über den Wert des intravenös eingeführten Antimontrioxyds für die Behandlung der experimentellen Trypanosomeninfektion bei größeren Tieren zu lösen trachteten. Ein endgültiges Urteil über die praktische Verwendbarkeit eines nach obigen Gesichtspunkten gewonnenen Antimonpräparates kann erst auf Grund größerer Reihen diesbezüglicher Versuche gefällt werden. Bei dourineinfizierten Pferden konnten durch Versuche die chemotherapeutischen Wirkungen des intramuskulär eingeführten Antimontrioxyds gleichfalls festgestellt werden. Es kam aber auch bei diesen Tieren leider zur Abszeßbildung. Vielleicht kann man diese vermeiden durch Verteilung des Injektionsmaterials in kleinen Dosen auf viele Körperstellen, oder aber durch intravenöse Injektionen des Mittels. Im Gegensatz zu diesen Resultaten sind aber sehr günstige Erfolge in der Behandlung der Trypanosomeninfektion der Rinder festgestellt worden.

Wie aus den brieflichen Mitteilungen von Herrn Geheimrat v. Ostertag, der die Versuche zusammen mit dem Veterinärbakteriologen Dr. Wölfel in Daressalam anstellte, hervorgeht, lassen sich die Trypanosomeninfektionen bei Rindern sehr günstig beeinflussen. Die Trypanosomen verschwanden nach Einverleibung des Trixidins sehr bald aus dem zirkulierenden Blute und aus den Drüsen. Die bisherige Beobachtungszeit ist jedoch noch zu kurz (etwa zwei Monate), um entscheiden zu können, ob eine Dauersterilisierung erzielt wurde, und die Versuche werden deshalb von den Herren Geheimrat v. Ostertag und Dr. Wölfel fortgesetzt.

Bei weiteren Versuchen haben wir die chemotherapeutische Sonderstellung der unlöslichen depotbildenden und langsam resorbierbaren Antimonverbindungen auch durch Prüfung der prophylaktischen Wirkungen, die das Präparat besitzt, sowie durch den hohen Prozentsatz von Dauerheilungen bei Mäusen, die mit Dourine und Trypanosoma gambiense infiziert waren, feststellen können. Im Gegensatz zu den für Trypanosomeninfektionen bisher bekannten wirksamen Mitteln verleiht das Antimontrioxyd bis auf mehrere Wochen Schutz gegen eine Infektion. Aus diesen Tatsachen allein ergeben sich ziemlich weitgehende Schlussfolgerungen für die Therapie, aber auch für die praktische Bekämpfung der Trypanosomeninfektionen in endemischen Gebieten. Durch mehrmalige, in Zwischenräumen von 3 bis 4 Wochen erfolgende Injektionen könnte man Rinder so eventuell für Monate gegen Infektion, z. B. während eines Transportes durch infizierte Gegenden, schützen.

In zweiter Linie haben wir das Prinzip der Salbenbehandlung in Form von Schmierkuren mit unlöslichen Antimonverbindungen weiter studiert. Wir konnten zeigen, daß bei Mäusen, Meerschweinchen, Kaninchen, Affen und Hunden, die mit verschiedenen Trypanosomen (Nagana, Dourine und Schlafkrankheit) infiziert waren, sich durch die Anwendung des metallischen Antimons in Salbenform oder der

neuen, von uns zuerst in die Therapie eingeführten organischen unlöslichen Antimonverbindungen, z. B. des Dimethylphenylpyrazolonantimontrichlorids, eine Heilung erzielen läßt. Da, wo diese Inunktionskuren schon nach relativ kurzer Dauer, z. B. nach 3—4, höchstens 5, in sechstägigen Zwischenräumen vorgenommenen Schmierungen zu Heilungen führen, läßt sich dies Resultat erzielen, ohne daß toxische Wirkungen des Antimons zutage treten. Auch das metallische Antimon, das bei intramuskulärer Einverleibung chronische Antimonvergiftung mit ausgesprochenen Veränderungen des Blutbildes herbeiführt, war bei Anwendung in Form der Inunktionskur therapeutisch wirksam, ohne toxisch zu sein. Erst bei lange fortgesetzten Schmierkuren treten bei größeren Tieren, namentlich auch bei Hunden, Zeichen einer chronischen Vergiftung auf. Es wird Sache weiterer Versuche sein, die toxischen Nebenwirkungen der im Körper abgelagerten Medikamente, sobald die Heilung herbeigeführt ist, durch Chemikalien zu neutralisieren. Vor allem aber werden sich die chronischen Giftwirkungen dadurch ausschalten lassen, daß man zur Unterstützung der schnellwirkenden Verbindungen aus einer anderen Gruppe, z. B. der Arsenikalien, Farbstoffe etc., die unlöslichen Antimonkörper als Salben nicht zu lange und nicht zu häufig, sondern nur als Adjuvans im Sinne einer Kombinationstherapie verwendet. Derartige Versuche sind auch beim schlafkranken Menschen geboten.

Sowohl die von uns empfohlene Dimethylphenylpyrazolonantimontrichloridsalbe, als auch das intramuskulär einverleibte Trixid in besitzen ausgesprochene Wirkungen auf Schlafkrankheitstrypanosomen beim Menschen. Die Trypanosomen verschwinden nach Trixid in aus dem zirkulierenden Blute und zum Teil auch aus den Drüsen, wie es aus bisher nicht veröffentlichten Versuchen der Herren Nocht, Kleine, Meyer hervorgeht. Leider steht der intramuskulären Anwendung des Antimontrioxyds beim Menschen auch die Abszeßbildung im Wege. Erfahrungen über intravenöse Injektion des Antimontrioxyds bei Schlafkranken liegen bisher nicht vor, entsprechende Versuche sollen aber in Kürze gemacht werden.

Daß es mit Hilfe der Salbenbehandlung gelingt, selbst bei Hunden, einer Tierspezies, die so schwer einer erfolgreichen Trypanosomentherapie zugänglich ist, die Dourineinfektion zur Heilung zu bringen, sei erwähnt. Auch bei Affen haben wir die therapeutische Wirksamkeit des Antimontrioxyds sowie der Antimonsalbe konstatieren können.

Wenn sonach auch die Antimonempfindlichkeit größerer Tiere und des Menschen bei weiteren Versuchen jedenfalls in Rechnung gezogen werden muß und zur vorsichtigen Anwendung der von uns empfohlenen Präparate mahnt, so sind doch die von uns aufgestellten Prinzipien der intermittierenden Behandlung der chronischen Trypanosomeninfektionen mittels wasserunlöslicher bzw. minimal löslicher, depotbildender, langsam wirkender Antimonpräparate durch wiederholte intramuskuläre Injektionen oder in Form der Salbenbehandlung durch unsere eigenen zahlreichen Versuche sowie die von anderer Seite inzwischen angestellten durchaus bestätigt worden. Es dürfte demnach angezeigt sein, auf dem von uns betretenen Wege systematisch weiter fortzuschreiten, und weitere Versuche werden zeigen, ob die intravenöse Anwendung des kolloidähnlichen Antimontrioxyds beim Menschen zur Heilung der Schlafkrankheit zu verwenden ist.

Zusammenfassung. 1. Die Therapie sterilisans mittels Trixid in läßt sich auch bei chronischer Trypanosomiasis größerer Tiere durchführen.

2. In denjenigen Fällen, in denen die im Anschluß an intramuskuläre Trixid ininjektionen auftretende Abszeßbildung einer erfolgreichen Durchführung der Trixid inbehandlung im Wege steht, gelingt es durch intravenöse Einführung des Antimontrioxyds in physiologischer Kochsalzlösung, die infizierten Tiere (Kaninchen, Meerschweinchen) zu sterilisieren.

3. Eine Dauersterilisierung chronisch dourinekranker Hunde kann durch Injektion mit Antimonverbindungen, vor allem mit Hilfe der Dimethylphenylpyrazolonantimontrichloridsalbe (Scheitlin), erzielt werden.

4. Die von uns empfohlenen Prinzipien (der Behandlung

mit wasserunlöslichen depotbildenden Antimonpräparaten bzw. der Schmierkuren) sind auch bei Uebertragung auf den Menschen anwendbar, jedoch stellte sich der praktischen Verwendbarkeit des Sb_2O_3 mittels subkutaner oder intramuskulärer Injektionen die abszeßerregende Wirkung des Mittels entgegen.

5. Das Sb_2O_3 läßt sich durch ein besonderes Verfahren in einer der kolloidalen nahestehenden Form gewinnen und ist in dieser Form bei kleineren Tieren intravenös anwendbar und stark therapeutisch wirksam.

6. Es wird Sache weiterer Versuche sein zu zeigen, ob die intravenöse Anwendung des kolloidähnlichen Sb_2O_3 beim Menschen zur Heilung der Schlafkrankheit bzw. als Adjuvans bei der Kombinationstherapie zu verwenden ist.