

Einsatz osmotischer Pumpen zur streßarmen Verabreichung von Chemotherapeutika bei experimenteller Echinokokkose

T. Pfister, V. Schad, W. Frank

Einleitung

Die Chemotherapie der alveolären Echinokokkose ist nach wie vor eines der großen ungelösten Probleme der medizinischen Parasitologie. Seit man im Jahre 1974 die Wirksamkeit von Benzimidazolverbindungen gegen larvale Cestoden entdeckt hat (2, 3, 5), konnten zwar mit dem Wirkstoff Mebendazol teilweise gute Erfolge erzielt werden, doch wirkt dieses Medikament in den meisten Fällen nur cystistatisch. So fehlt bis heute noch immer ein Therapeutikum, das das Finnenwachstum des *Echinococcus multilocularis* nicht nur stoppt, sondern eine sichere Abtötung des Parasiten bewirkt (10).

Seit Mitte der sechziger Jahre wurden eine Vielzahl von Substanzen experimentell auf ihre Wirksamkeit gegen *Echinococcus multilocularis* am Modell der sekundären Echinokokkose im Tierversuch getestet. Je nach Art der Verbindung wurden die Substanzen entweder peroral über das Futter verabreicht oder aber subkutan oder intraperitoneal injiziert. Während unserer Arbeit mit Lymphokinen an Feldmäusen — einer Tierart, die äußerst streßempfindlich ist — fiel uns auf, daß Tiere, die über einen längeren Zeitraum hinweg i. p.-Injektionen erhielten, durchschnittlich eine höhere larvale Zystenmasse (LCM) aufwiesen als entsprechende Kontrolltiere. Das Ziel dieser Untersuchung war es deshalb, abzuklären, inwieweit das Finnenwachstum des *Echinococcus multilocularis* durch wiederholten Handhabungsstreß ("handlingstress") beeinflusst wird. Außerdem wurde experimentell überprüft, ob der Einsatz osmotischer Pumpen eine praktikable Möglichkeit darstellt, Therapeutika auf streßärmere Weise zu verabreichen.

Material und Methoden

Im Versuch 1 wurden je 30 Feldmäuse (*Microtus arvalis*) und Wüstenrennmäuse (*Meriones unguiculatus*) intraperitoneal mit Protoscoleces aus einem vegetativ vermehrten Stamm von *Echinococcus multilocularis* nach der Methode von HINZ (4) infiziert. Der Parasitenstamm wurde ursprünglich aus einem Fuchs der Schwäbischen Alb isoliert. Die Versuchstiere stammten aus der institutseigenen Zucht.

Ab dem 8. d. p. i. wurde jeweils zehn der Versuchstiere jeden zweiten Tag einmal täglich und zehn weiteren Tieren jeden zweiten Tag zweimal täglich intraperitoneal 0,1 ml physiologische NaCl-Lösung gespritzt. Zehn Kontrolltiere aus jeder Gruppe blieben unbehandelt. Am 29. d. p. i. wurden die Tiere, nachdem sie 10 bzw. 20 Injektionen erhalten hatten, getötet und die larvale Zystenmasse (LCM) durch Wiegen des Finnengewichtes bestimmt.

In Versuch 2 wurden je 30 Feldmäuse und weiße Mäuse (NMRI-Stamm) in derselben Weise infiziert. Ab dem 8. d. p. i. erhielten je zehn Tiere über einen Zeitraum von zwei Wochen täglich eine i. p.-Injektion von 0,1 ml physiologischer NaCl-Lösung. Die Kontrollgruppe umfaßte jeweils zehn Tiere. Den übrigen Versuchstieren wurde am 8. d. p. i. eine osmotische Pumpe (ALZET, Mod. 2002; Füllvolumen 200 µl, Durchfluß 1 µl/h), gefüllt mit physiologischer NaCl-Lösung, subkutan im Nackenbereich implantiert. Die Narkose der Tiere erfolgte mit Ketavet (Parke-Davis). Die osmotischen Pumpen wurden vor der Implantation mit einer Penizillin (16 U/ml)-Streptomycin (0,4 mg/ml) Lösung benetzt und mit einem Unterlegstich in der richtigen Lage fixiert. Die postoperative Wundbehandlung erfolgte einmalig mit Orospray (Fa. Selectavet). Alle Tiere wurden am 22. d. p. i. getötet und die LCM bestimmt.

Ergebnisse

Abbildung 1 zeigt eine Darstellung der larvalen Zystenmassen (LCM) von i. p. infizierten Feldmäusen und Wüstenmäusen nach unterschiedlichem Handhabungsstreß (Versuch 1). Bei beiden Versuchstierarten ergaben sich deutlich erhöhte larvale Zystenmassen nach Streßeinwirkung. Auch wenn die Unterschiede nicht in jedem Falle signifikant waren, erwies sich die Feldmaus doch als wesentlich streßempfindlicher als die Wüstenrennmaus.

Die Ergebnisse des Versuches 2 sind in Abbildung 2 dargestellt. Weder bei NMRI-Mäusen noch bei Feldmäusen waren erhöhte larvale Zystenmassen nach subkutaner Implantation von osmotischen Pumpen festzustellen. Dagegen führte eine tägliche i. p.-Injektion von 0,1 ml physiologischer NaCl-Lösung über einen Zeitraum von 14 Tagen bei beiden Versuchstierarten wiederum zu einem verstärkten Parasitenwachstum.

Diskussion

Versuche zur Chemotherapie der experimentellen alveolären Echinokokkose sind von vornherein mit dem Nachteil belastet, daß bis heute ein geeignetes Parasit-Versuchstier-System fehlt, das mit den Verhältnissen der humanen alveolären Echinokokkose vergleichbar ist.

Neben den zahlreichen Versuchen, ein wirksames Chemotherapeutikum gegen diesen Parasiten zu finden, sind in den letzten Jahren auch einige Arbeiten über die immunologischen Abwehrmechanismen von Versuchstieren gegen eine larvale Echinokokkeninfektion publiziert worden. Es konnte gezeigt werden, daß eine unspezifische Stimulation des Immunsystems mittels BCG oder PHA nicht nur das Wachstum und die Metastasenbildung der sekundären Echinokokkose hemmt, sondern bei Prämedikation auch einen Infektionsschutz bewirken kann (6, 7, 8). Dieser Infektionsschutz ist zellgebunden und durch Peritonealzellen übertragbar (7). 1977 erkannten BARON & TANNER (1) Peritonealmakrophagen als Effektorzellen der unspezifischen Immunstimulation.

Alle diese Befunde deuten darauf hin, daß bei der körpereigenen Abwehr gegen eine Echinokokkeninfektion besonders solche Mechanismen wirksam sind, die auch in der Tumorummunologie eine Rolle spielen. Aus der experimentellen Onkologie ist schon seit längerer Zeit bekannt, daß durch Haltungs- und Handhabungsstreß das Tumorstadium in Labortieren erheblich beeinflußt werden kann (9). Vor diesem Hintergrund ist es deshalb nicht überraschend, daß auch in der experimentellen Echinokokkose durch wiederholten "handlingstress" das Finnenwachstum gefördert wird. Als Ursache kann ein streßbedingt erhöhter Glukokortikoidspiegel im Blut angenommen werden (9).

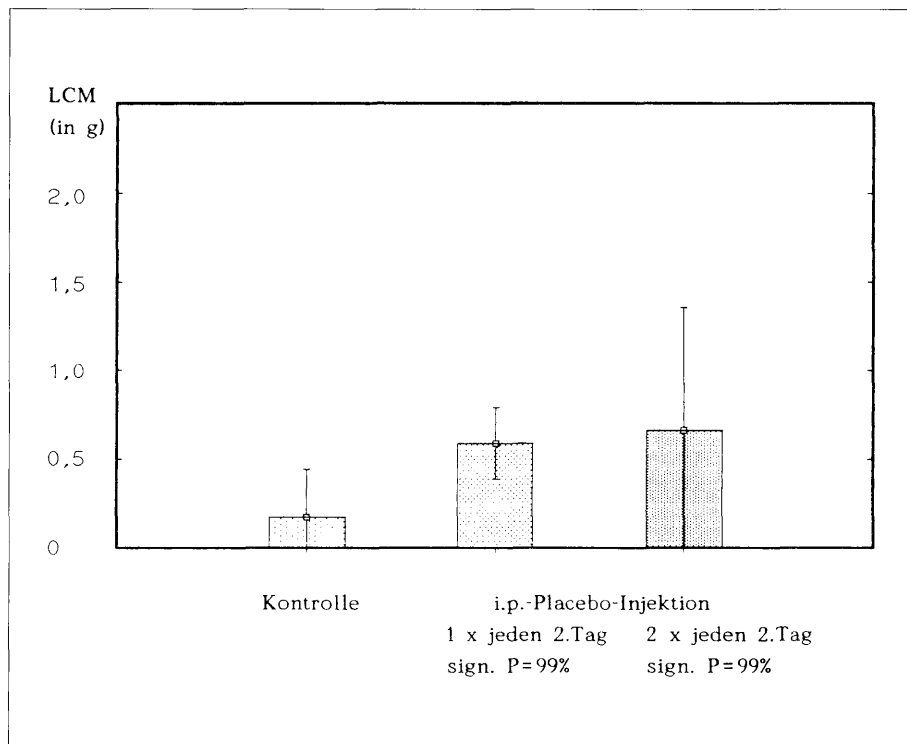


Abb. 1:

Abhängigkeit des Zystengewichtes (LCM) einer i. p.-*Echinococcus multilocularis*-Infektion vom Streßfaktor bei Feldmäusen/*Microtus arvalis*.

Unsere Versuche haben gezeigt, daß ein einmaliger Streß durch die Implantation von osmotischen Pumpen keinen fördernden Einfluß auf das Finnenwachstum des *Echinococcus multilocularis* hat. Man kann davon ausgehen, daß es bei sachgerechter Anwendung zu keinem dauerhaft erhöhten Glukokortikoidspiegel im Blut kommt und damit eine Immunsuppression nicht induziert wird.

Damit ist der Einsatz von osmotischen Pumpen sicher ein geeignetes Mittel, Verbindungen, die nicht oral verabreicht werden können, streßarm auf ihre Wirksamkeit im Tierversuch zu testen. Die osmotischen Pumpen sind unter dem Namen "ALZET osmotic pumps" (Hersteller: ALZA Corporation, Attn: Customer Service 950 Page Mill Road, P. O. Box 10950, Palo Alto, California 94303, USA; Vertreiber in der Bundesrepublik Deutschland: SAVO-Ivanovas, med. Versuchstierzuchten GmbH, Postfach 7, 7964 Kisslegg im Allgäu) auf dem Markt und in verschiedenen Größen und mit unterschiedlichen Durchflußraten erhältlich. Die Vor- und Nachteile der Anwendung von osmotischen Pumpen sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Nach unserer Meinung sollte die Vermeidung von Streß in der experimentellen Echinokokkose in Zukunft stärker berücksichtigt werden. Der Einsatz osmotischer Pumpen könnte ein wichtiger Beitrag dazu sein, um vor allem eine Standardisierung der Methode zu erreichen.

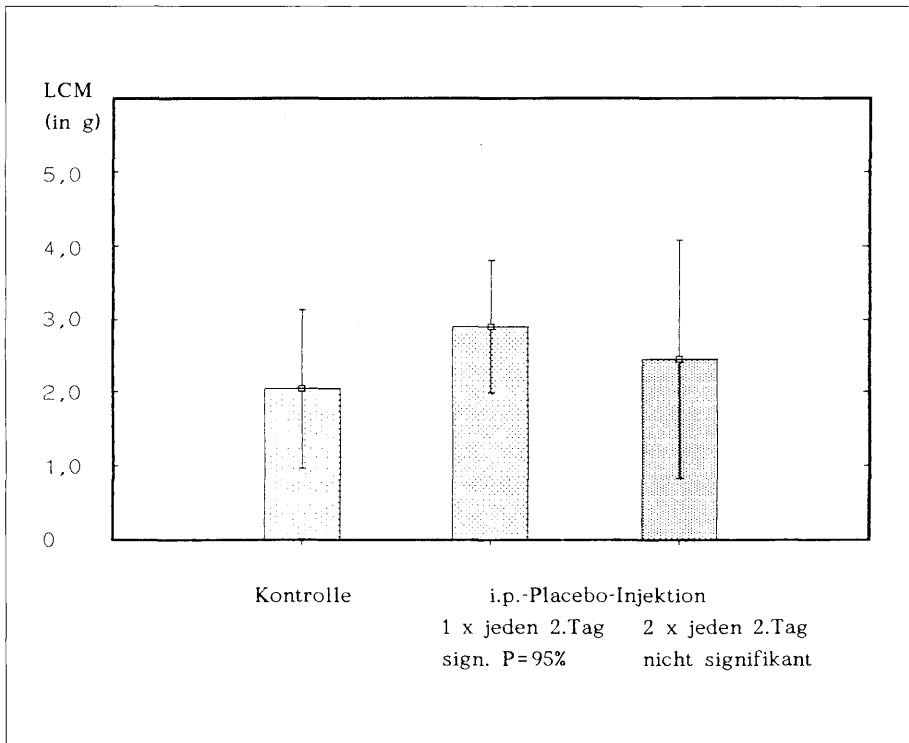


Abb. 1 a:

Abhängigkeit des Zystengewichtes (LCM) einer i. p.-*Echinococcus multilocularis*-Infektion vom Streßfaktor bei Rennmäusen/*Meriones unguiculatus*.

Zusammenfassung

Durch wiederholte Zwangsmaßnahmen bei der Handhabung von Versuchstieren entsteht für diese oft ein erheblicher Streß, der eine Immunsuppression zur Folge haben kann.

Um zu testen, ob ein solcher Einfluß auch bei der experimentellen alveolären Echinokokkose wirksam ist, behandelten wir i. p. infizierte Feldmäuse (*Microtus arvalis*) und Wüstenrennmäuse (*Meriones unguiculatus*) über einen Zeitraum von drei Wochen mit i. p.-Injektionen physiologischer Kochsalzlösung. Bei beiden Versuchstierarten konnte eine erhöhte larvale Zystenmasse (LCM) nach Streßeinwirkung festgestellt werden.

In einem weiteren Versuch mit i. p. infizierten Feldmäusen und weißen Mäusen (NMRI-Stamm) konnten wir zeigen, daß die subkutane Implantation osmotischer Pumpen (ALZET, Mod. 2002) ein geeignetes Verfahren ist, eine streßinduzierte Immunsuppression zu vermeiden. Die Vor- und Nachteile der Anwendung von osmotischen Pumpen werden diskutiert.

Schlüsselwörter

Echinococcus multilocularis, experimentelle Infektion, Handhabungsstreß, Immunsuppression, osmotische Pumpen.

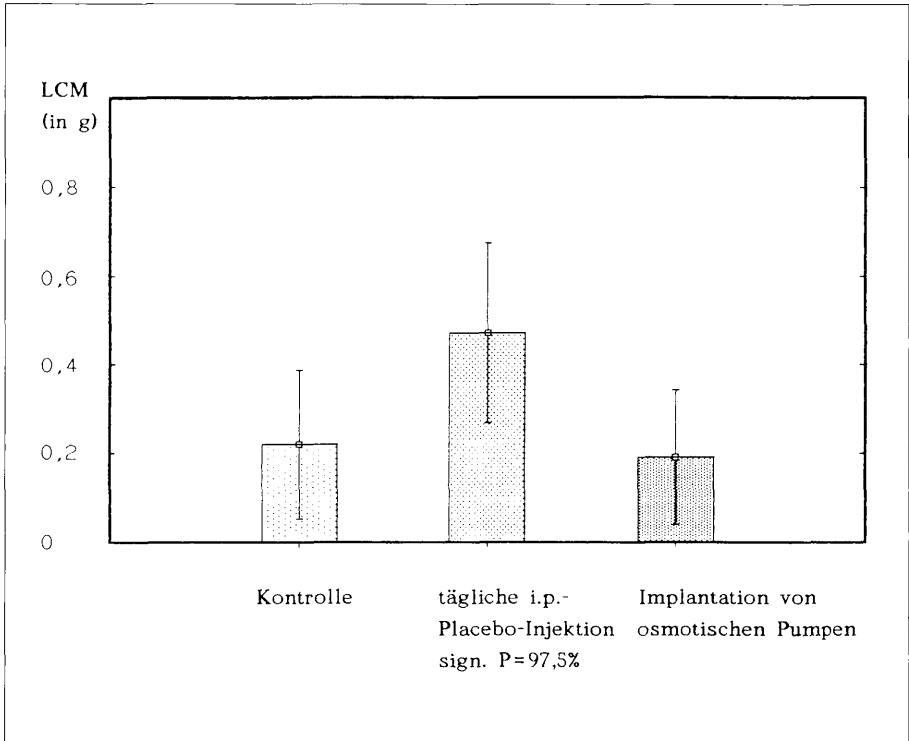


Abb. 2:

Abhängigkeit des Zystengewichtes (LCM) einer i. p.-*Echinococcus-multilocularis*-Infektion vom Streßfaktor bei Feldmäusen/*Microtus arvalis*.

Summary

Use of osmotic pumps for low-stress administration of chemotherapeutica in experimental echinococcosis

In order to examine the influence of handling-induced anxiety-stress of the growth of larval alveolar echinococcosis we treated common field voles (*Microtus arvalis*) and jirds (*Meriones unguiculatus*), i. p. injections of physiological saline solution every other day. At both species we found increased larval cystmass (LCM) after these injections due to immunosuppression.

In a second experiment using field voles and white mice (NMRI-strain) we could show that subcutaneous implantation of osmotic pumps (ALZET, Mod. 2002) is a method to avoid stress-induced immunosuppression. The advantage and disadvantage of the application of osmotic pumps are discussed.

Key words

Echinococcus multilocularis, experimental infection, handling-stress, immunosuppression, osmotic pump.

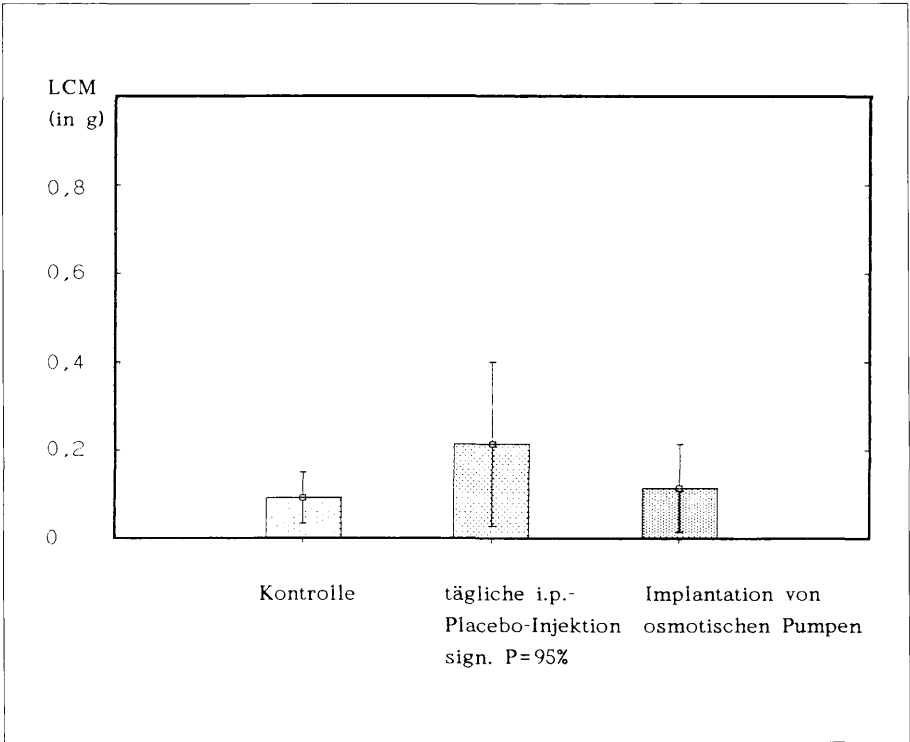


Abb. 2a:

Abhängigkeit des Zystengewichtes (LCM) einer i. p.-*Echinococcus multilocularis*-Infektion vom Streßfaktor bei NMRI-Mäusen.

TABELLE 1

Vorteile	Nachteile
streßarme Verabreichung	begrenzte Therapiedauer
kontinuierliche Substanzabgabe	höhere Kosten

Literatur

1. BARON, R. W., TANNER, C. E. (1977):
Echinococcus multilocularis in the mouse: the in vitro protoscolicidal activity of peritoneal macrophages.
Int. J. Parasitol. 7, 489-495.

2. CAMPBELL, W. C., BLAIR, L. S. (1974):
Treatment of the cystic stage of Taenia crassiceps and Echinococcus multilocularis in laboratory animals.
J. Parasitol. 60, 1053-1054.

3. HEATH, D. D., CHEVIS, R. A. (1974):
Mebendazole and hydatid cysts.
Lancet 2, 218-219.

4. HINZ, E. (1972):
Die Aufbereitung des Infektionsmaterials für die intraperitoneale Infektion der Maus mit *Echinococcus multilocularis*.
Tropenmed. Parasitol. 23, 387-390.
5. KROTOV, A. I., CHERNYAEVA, A. I., KOVALENKO, F. P., BAYANDINA, D. G., BUDANOVA, I. S., KUZNETSOVA, O. E., VOSKOBOINIK, L. V. (1974):
Experimental therapy of alveococcosis II. Effectiveness of some antinematode agents against alveococcosis of laboratory animals.
Med. Parazitol. 43, 314-321.
6. RAU, M. E., TANNER, C. E. (1975):
BCG suppresses growth and metastasis of hydatid infections.
Nature. 256, 318-319.
7. REUBEN, J. M., TANNER, C. E. (1983):
Protection against experimental echinococcosis by non-specifically stimulated peritoneal cells.
Parasite Immunol. 5, 61-66.
8. REUBEN, J. M., TANNER, C. E., PORTELANCE, V. (1979):
Protection of cotton rats against experimental *Echinococcus multilocularis* infections with BCG cell walls.
Infect. Immun. 23, 582-586.
9. RILEY, V. (1981):
Psychoneuroendocrine influences on immunocompetence and neoplasia.
Science 212, 1100-1109.
10. SCHANTZ, P. M., VAN DEN BOSSCHE, H., ECKERT, J. (1982):
Chemotherapy of larval echinococcosis in animals and humans: Report of a workshop.
Z. Parasitenkd. 67, 5-26.

KORRESPONDENZADRESSE:

Dipl. Biol. Thomas Pfister
Universität Hohenheim, Abt. Parasitologie

Emil-Wolff-Straße 34
D-7000 Stuttgart 70 · Bundesrepublik Deutschland

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen der Österreichischen Gesellschaft für Tropenmedizin und Parasitologie](#)

Jahr/Year: 1990

Band/Volume: [12](#)

Autor(en)/Author(s): Pfister Thomas, Schad V., Frank Werner

Artikel/Article: [Einsatz osmotischer Pumpen zur streßarmen Verabreichung von Chemotherapeutika bei experimenteller Echinokokkose. 193-200](#)