

# Das histologische Bild der experimentellen Meerschweinchentuberkulose unter Behandlung mit Isonicotinsäurehydrazid (Rimifon)

Autor(en): **Uehlinger, E. / Siebenmann, R. / Frei, H.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie Suisse des Sciences Medicales = Bollettino dell' Accademia Svizzera delle Scienze Mediche**

Band (Jahr): **8 (1952)**

Heft 5-6

PDF erstellt am: **11.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-307106>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Aus dem pathologischen Institut des Kantonsspitals St. Gallen  
Chefarzt: E. Uehlinger

## **Das histologische Bild der experimentellen Meerschweinchentuberkulose unter Behandlung mit Isonicotinsäurehydrazid (Rimifon)**

Von **E. Uehlinger**, **R. Siebenmann** und **H. Frei**

Die hohe antituberkulöse Wirksamkeit des Isonicotinsäurehydrazids *in vitro* und bei der Maus wurde durch die Mitteilung von *Grunberg* und *Schnitzer* bekannt, und wir haben über unsere ersten Ergebnisse bei der experimentellen Tuberkulose des Meerschweinchens bereits an anderer Stelle berichtet. Das Mittel ist in der Zwischenzeit der klinischen Prüfung auf breiter Basis und unter anderem als *Rimifon* «Roche» dem Handel übergeben worden. An tierexperimentellen Untersuchungen liegen im übrigen Arbeiten von *Steenken* und *Wolinski*, *Bernstein*, *Lott* und *Steinberg*, *Domagk*, *Offe* und *Siefken* und schließlich von *Fust*, *Studer* und *Böhni* vor. Die pharmakologischen und toxikologischen Eigenschaften prüften besonders *Benson*, *Stefko* und *Roe*. Von diesem schon recht umfangreichen Untersuchungsgut - es sei auch auf die Orientierung von *Fust* verwiesen - sei zusammenfassend folgendes festgehalten:

Das Isonicotinsäurehydrazid zeichnet sich bei Mäusen, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden durch eine verhältnismäßig geringe *Toxizität* aus. So beträgt die DLM 50 für die Maus 150 mg/kg, für das Kaninchen 250 mg/kg, für die Ratte 1500 mg/kg. *In vitro* kann das Wachstum humaner Tuberkelbazillen je nach dem verwendeten Nährboden noch bei Verdünnungen von 1 : 20 Mill. bis 1 : 60 Mill. gehemmt werden, während die Wirkung gegen Bazillen vom Typus *bovinus* wesentlich geringer ist. *In vivo* erwies sich das Isonicotinsäurehydrazid gegen die Tuberkulose der Maus, des Meerschweinchens, des Kaninchens und des Affen wirksam. Bei vergleichenden Untersuchungen an der Maus war es allen bisher bekannten Tuberkulostaticis überlegen. Dabei fanden *Grunberg* und *Schnitzer* einen außerordentlich günstigen *chemotherapeutischen Index*, besonders bei intranasaler Infektion. Die gleichen Autoren gelangen auf Grund kultureller Untersuchung der Lungen behandelter tuberkulöser Mäuse zur Ansicht, daß das Isonicotinsäurehydrazid nicht nur tuberkulostatisch, wie die bisher bekannten Antitubercenotica, sondern auch *tuberculocid* wirke.

Bevor wir auf das recht eindeutige Resultat unserer Untersuchungen am tuberkulösen Meerschweinchen eingehen, sei auf einige Besonderheiten der Meerschweinchentuberkulose bei unserer Versuchsanordnung hingewiesen.

Inokuliert man einem Meerschweinchen, wie wir es nun seit mehreren Jahren bei der Prüfung chemotherapeutischer und antibiotischer Substanzen zu tun pflegen, eine schwache Dosis, d. h. etwa 50 virulente Keime vom Typus *humanus subcutan* oder intramuskulär in den Oberschenkel, so lassen sich – in Analogie zum Ablauf der menschlichen Tuberkulose – folgende Stadien recht gut auseinanderhalten: 1. die Periode des unkomplizierten Primärkomplexes mit einem Injektionsabszeß und Verkäsung der regionären, meist inguinalen Lymphknoten, 2. die Periode der ascendierenden, lymphoglandulären Proliferation in der prävertebralen Lymphknotenkette, 3. die Periode der hämatogenen Generalisation, wobei der Einbruch in die Blutbahn wahrscheinlich über den Venenwinkel erfolgt. Dabei geht die bakteriologische Durchsuchung den morphologisch faßbaren Veränderungen voraus, so daß gleichzeitig mit der Erkrankung der tracheobronchialen Lymphknoten die ersten Milzherde auftreten. Bei unserer relativ geringen Infektionsdosis erfolgt das entscheidende Ereignis der hämatogenen Streuung ungefähr in der 6.–8. Erkrankungswoche, während durch massivere Infektion der ganze zeitliche Ablauf wohl wesentlich gerafft werden kann. Charakteristisch für das Meerschweinchen ist die schwere Erkrankung von Milz und Leber. Diese Organe sind nach 10–15 Wochen beträchtlich vergrößert und von ausgedehnten spezifischen und unspezifischen Nekrosen durchsetzt. *Rich* diskutiert die Möglichkeit, daß dies eine Folge der verhältnismäßig geringen Erkrankung der Lungen sei. Es würde dabei die Sauerstoffversorgung der Organe nicht wesentlich beeinträchtigt und das Weiterwuchern des aeroben Tuberkelbacillus nicht gehindert. Die umgekehrten Verhältnisse würden beim Kaninchen mit schwerem Befall der Lungen und relativ geringfügiger Erkrankung von Leber und Milz vorliegen. Bei unseren stets mit Typus *humanus* infizierten Meerschweinchen haben wir nie Tuberkel in den Nieren beobachtet.

*Histologisch* ist festzuhalten, daß mit zunehmendem Alter der tuberkulösen Herde beim Meerschweinchen mit beträchtlichen regressiven Veränderungen zu rechnen ist. Die anfänglich vorherrschende Verkäsung macht immer mehr der produktiven Entzündungsform Platz. Dann wird das spezifische Granulationsgewebe immer stärker von Fibrocyten durchsetzt und von kollagenen Fibrillen durchwoben. Die Herde werden zunehmend von kollagenen Fibrillenkapseln umschlossen. Fast immer konnten wir dabei auch die von *Domagk* bei mit Tb I/698 behandelten Tieren beschriebene wabige Auflockerung der Tuberkel beobachten. Sie wird wohl mit Recht von ihm auf eine Atrophie der Epitheloidzellen zurückgeführt. Wir fanden im alternden spezifischen Granulations-

gewebe auch eine Zunahme von Riesenzellen, die beim Meerschweinchen ja häufig vermißt werden. Alle diese Veränderungen lassen sich natürlich um so eher bei kleinen Infektionsdosen, die einen chronischen Lauf bedingen und denen die Tiere nicht vorzeitig erliegen, beobachten.

Unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse haben wir bei der Prüfung einer antituberkulös wirksamen Substanz stets zwischen Infektion und Behandlungsbeginn ein *Intervall* von mindestens 6 Wochen verstreichen lassen. Wir kommen damit erstens den natürlichen epidemiologischen Bedingungen der menschlichen Tuberkulose näher und können zweitens die verschiedenen Wirkungsmechanismen besser differenzieren: 1. Wirkung auf schon bestehende tuberkulöse Herde verschiedenen Alters, 2. Hemmung der lymphogenen und hämatogenen Entwicklung von Metastasen. Durch sukzessive Opferung von behandelten und Kontrolltieren in regelmäßigen Intervallen ergibt sich noch ein deutlicheres Bild der Wirkung. Wir stehen damit im Gegensatz zu dem rascheren, aber kursorischeren Verfahren von *Domagk* und seinen Mitarbeitern, bei dem Infektion und Behandlung zumeist simultan erfolgen. Auch der in der Industrie viel verwendete Mäuse-Test läßt die Behandlung am gleichen oder folgenden Tage der Infektion einsetzen. Mit einer großen Tierzahl arbeitend, hat er selbstverständlich einen großen Wert für die vorläufige Orientierung. *Feldmann* hat bei der von ihm als Standardversuch vorgeschlagenen Anordnung ebenfalls ein Intervall von 42 Tagen zwischen Infektion und Behandlungsbeginn vorgesehen, opfert dann aber sämtliche Tiere nach 160 Behandlungstagen oder beim Absterben der letzten Kontrolltiere.

Unsere ersten Versuchsreihen umfassen 20 junge Meerschweinchen, bei denen das Isonicotinsäurehydrazid in folgender *Versuchsanordnung* eingesetzt wird:

Je 10 Tiere werden zu verschiedenen Zeitpunkten mit 0,2 cm<sup>3</sup> einer von Dubos-Kulturen gewonnenen Aufschwemmung *humaner* Tuberkelbazillen in die Adduktoren-muskulatur *infiziert*, nach Keimzahl-Bestimmung je etwa 250 Keime/cm<sup>3</sup> (Stamm 303, bakteriologisches Institut St. Gallen)<sup>1</sup>. Die *Behandlung* setzte in beiden Gruppen bei je 6 Tieren am 42. Tage ein. Je 4 Tiere dienen als unbehandelte Kontrollen. Isonicotinsäurehydrazid wird als Präparat Ro 2-3973<sup>2</sup> in 0,7% steriler Lösung subcutan an 6 Wochentagen injiziert. Tagesdosis 20 mg/kg. Die *Beurteilung* erfolgt zunächst durch Kontrolle von Allgemeinzustand und Gewicht. Behandelte und Kontrolltiere werden in regelmäßigen Abständen geopfert und autoptisch untersucht. Sämtliche verdächtigen Lymphknoten sowie Milz, Lungen, Leber und Nieren werden *histologisch* verarbeitet. Fixation Formalin 8% - Paraffineinbettung - Färbung Hämatoxylin-Eosin, van Gieson, Ziehl-Neelsen.

<sup>1</sup> Herrn P.D. Dr. *E. Wiesmann*, Leiter des bakteriologischen Institutes St. Gallen, sei auch hier für die Herstellung der Aufschwemmungen bestens gedankt.

<sup>2</sup> Der Firma Hoffmann-La Roche danken wir für die Überlassung der erforderlichen Versuchsmengen Isonicotinsäurehydrazid und für die Unterstützung der Versuche.

## Ergebnisse und Diskussion

*Allgemeinzustand* und Lebhaftigkeit der Tiere wurden in der zweiten Versuchsgruppe durch die Behandlung günstig beeinflusst. Es äußerte sich dies insbesondere in einer regelmäßigen Gewichtszunahme unter Rimifon. In der ersten Gruppe, in der die Tiere sichtlich weniger von der Infektion getroffen wurden, ergab die Gewichtskontrolle hingegen keinen signifikanten Unterschied zwischen behandelten und unbehandelten Tieren. Keines der Versuchstiere starb vorzeitig.

Die Ergebnisse der *makroskopischen und histologischen Untersuchung* sind schematisch in Abb. 1 dargestellt. Tabelle 1 gibt ein Bild von der *Ausbreitung der Tuberkulose* im Organismus, ohne Berücksichtigung von Größe und Charakter der Herde.

Bei beiden Versuchsgruppen ist schon damit eine wahrscheinlich vollständige *Hemmung der hämatogenen Generalisation* in Milz, Lungen und Leber zu erkennen. In der ersten Gruppe setzt die hämatogene Streuung

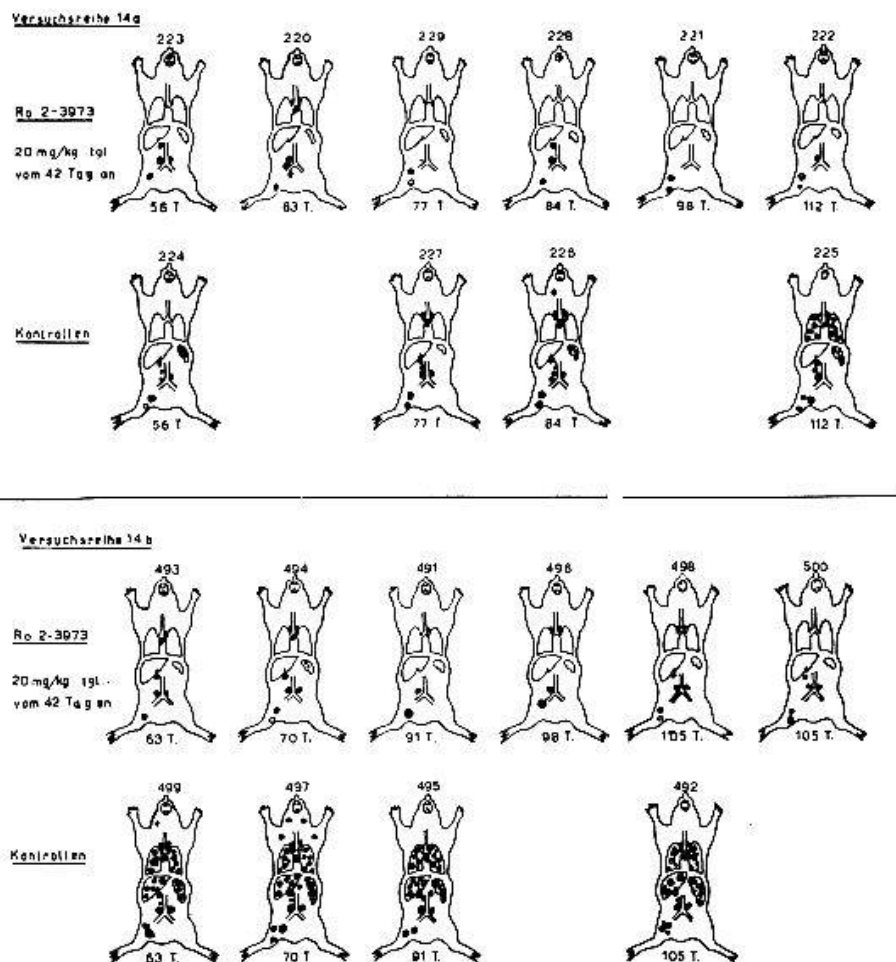


Abb. 1. Rimifon-Versuch (Versuchsreihe 14a und b). Infektion inguinal mit etwa 50 Keimen Typus humanus. Behandlung ab 42. Versuchstag mit tgl. 20 mg/kg s.c. an den Wochentagen. Tötung der Tiere in regelmäßigen Intervallen ab 2. bzw. 3. Behandlungswoche. Schwarze Punkte = tuberkulöse Herde.

Tabelle 1

Tier Nr.	Versuchsdauer	Intervall	Behandlungsdauer	Gesamtdosis bei 20 mg/kg K. G. s. c.	Primärkomplex		Lymphoglanduläre Proliferation				Hämato gene Generalisation		
					Primärherd	Inguinale Lymphknoten	Para-aortal	Portal	Tracheo-bronchial	Cervikal Axillär	Milz	Lungen	Leber
<i>Versuch 14a:</i>													
223	56	42	14	240	+	+	+	+	0	0	0	0	0
220	63	42	21	360	+	+	+	+	+	0	0	0	0
229	77	42	35	600	(+)	+	+	0	0	0	0	0	0
228	84	42	42	720	0	+	+	+	0	0	0	0	0
221	98	42	56	960	0	+	0	0	0	0	0	0	0
222	112	42	70	1200	(--)	+	—	0	0	0	0	0	0
<i>Kontrollen:</i>													
224	56				+	—	+	+	0	0	+	0	0
227	77				+	+	+	+	+	0	(+)	0	0
226	84				—	+	+	+	+	+	+	0	0
225	112				—	—	+	+	+	+	+	+	0
<i>Versuch 14b:</i>													
493	63	42	21	360	+	+	+	+	0	0	0	0	0
494	70	42	28	480	+	+	+	+	+	0	+	0	0
491	91	42	49	840	0	+	—	0	0	0	0	0	0
496	98	42	56	960	0	+	—	+	+	0	0	0	0
498	105	42	63	1080	+	+	—	0	0	0	0	0	0
500	105	42	63	1080	(+)	+	+	0	0	0	0	0	0
<i>Kontrollen:</i>													
499	63				+	—	—	—	+	+	+	+	+
497	70				+	—	—	—	+	+	+	+	+
495	91				—	—	—	—	+	+	+	+	+
492	105				—	—	—	—	+	+	+	+	+

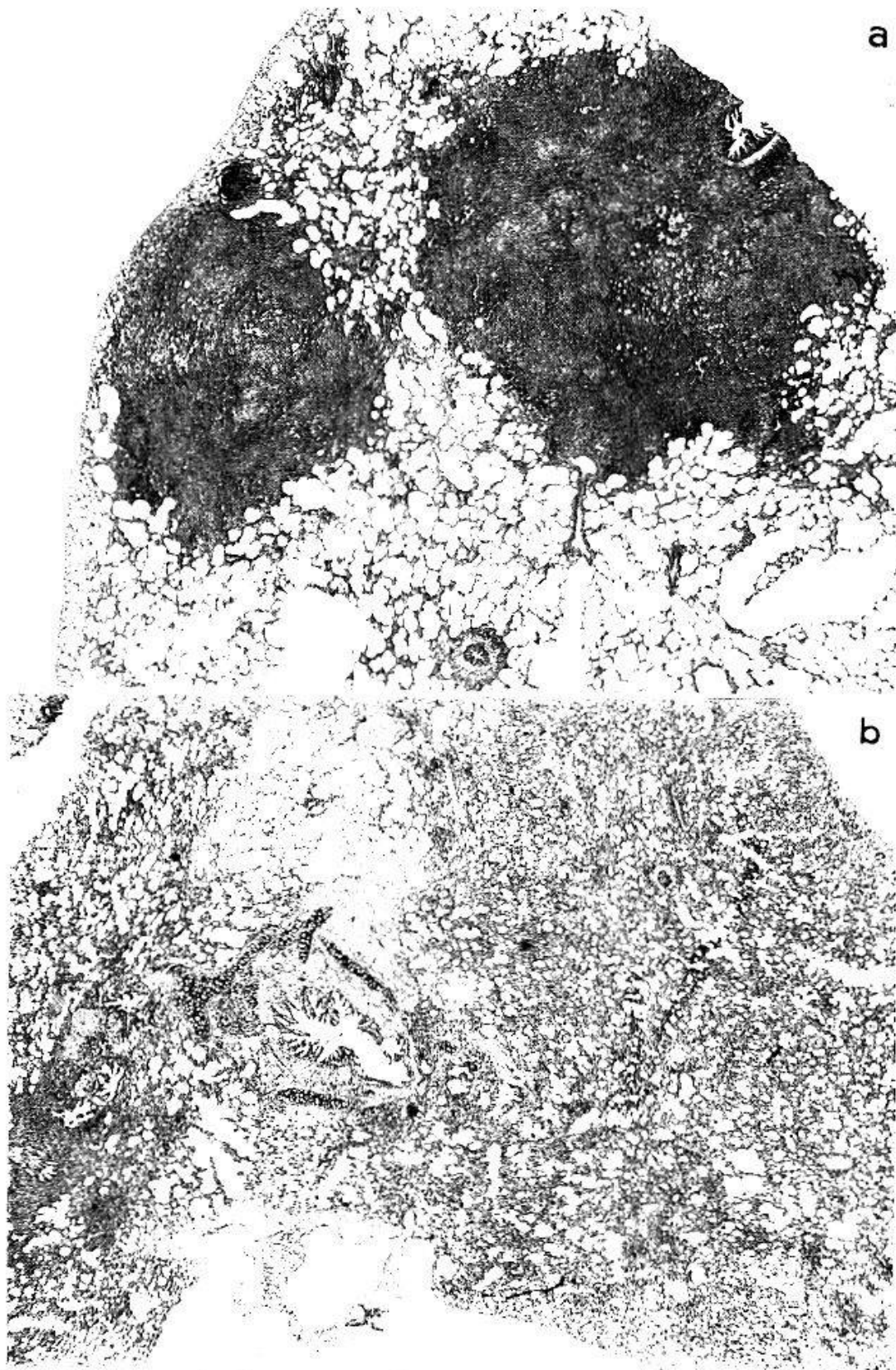


Abb. 2. Hemmung der hämatogenen Streuung in die Lunge durch Rimifon: Lungen Meerschweinchen, H.-E. Maßstab 23 : 1.

a) MS 492, unbehandeltes Kontrolltier 105 Tage nach Infektion. Lunge von konfluierenden, teils fibrös durchwachsenen käsigen Pneumonien durchsetzt. Vikariierendes Emphysem.

b) MS 498, 105 Tage nach Infektion. *Rimifon* ab 42. Versuchstag mit tgl. 20 mg/kg s.c. an den Wochentagen (Total 1080 mg/kg während 9 Wochen). Keine tuberkulösen Herde.

bei den Kontrolltieren, infolge einer offensichtlich schwächeren Infektion, erst protrahiert ein, in der zweiten erfolgt sie wohl zwischen 6. und 9. Versuchswoche. Jedenfalls sind hier schon beim zuerst getöteten unbehandelten Tier Milz, Leber und Lungen von teils konfluierenden Knötchen durchsetzt. Unter Rimifon bleiben in der ersten Gruppe die Organe völlig tuberkelfrei, während in der zweiten lediglich bei dem am 70. Tage geopfertem Tiere ein solitärer Milztuberkel zu finden ist. Dieser könnte nach dem histologischen Bild aber schon vor dem Einsetzen der Therapie entstanden sein. Abb. 2 und 3 veranschaulichen die eindruckliche Hemmung der hämatogenen Streuung.

Weitgehend gedrosselt wird auch die *lymphogene Ausbreitung* in der prävertebralen Lymphknotenkette. Während bei den Kontrolltieren der ersten Versuchsgruppe die ganze Reihe zunehmend erkrankt, wobei

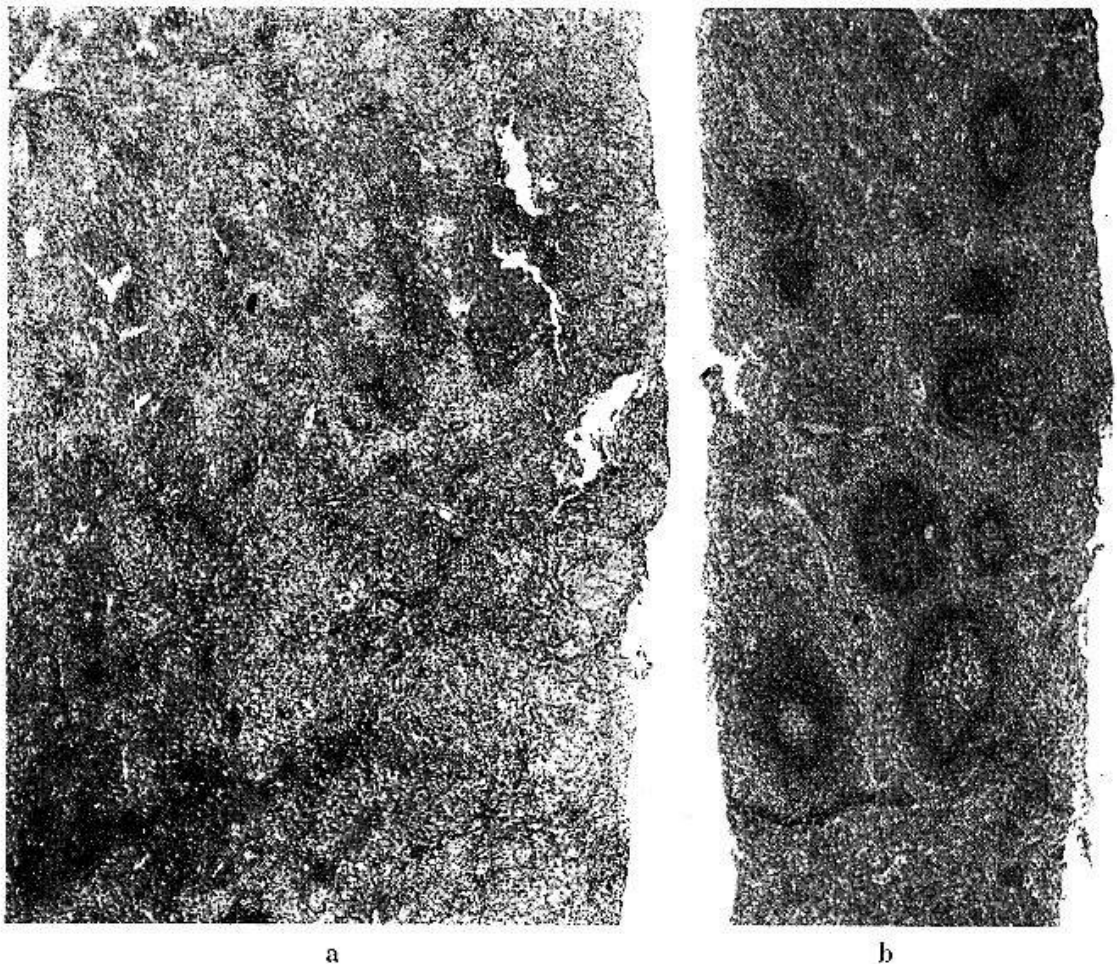


Abb. 3. Hemmung der hämatogenen Streuung in die Milz durch Rimifon. Milz, Meerschweinchen, H.-E. Maßstab 31 : 1.

a) MS 492, unbehandeltes Kontrolltier, 105 Tage nach Infektion. Milz hochgradig vergrößert und von spezifischen und unspezifischen Nekrosen mit tuberkulösem Granulationsgewebe durchsetzt. Sehr spärlich freies Milzparenchym.

b) MS 498, 105 Tage nach Infektion. Rimifon-Behandlung ab 42. Versuchstag mit 20 mg/kg tgl. s.c. an den Wochentagen (Total 1080 mg/kg während 9 Wochen). Keine tuberkulösen Herde.



die tuberkulösen Herde mit zunehmendem Abstand vom Primärkomplex in typischer Weise zunehmen und diejenigen der inguinalen Lymphknoten an Dichte und Massigkeit oft übertreffen, sind nur bei einem einzigen behandelten Tier diskrete Knötchen in den thorakalen Lymphknoten auffindbar. Darüber hinaus nimmt aber der Befall mit zunehmender Behandlungsdauer sehr deutlich ab. Bei den längst-behandelten Tieren ist die Infektion praktisch auf den nur noch histologisch faßbaren Primärkomplex zurückgedrängt. Auch in der zweiten Gruppe wird nicht nur die lymphoglanduläre Proliferation eingedämmt; mit zunehmender Behandlungsdauer nimmt die Ausbreitung der tuberkulösen Herde derart ab, daß schon daraus auf eine *Rückbildung* von spezifischem Granulationsgewebe geschlossen werden darf. Abb. 4 zeigt, wie unter Rimifon die Lymphknoten, soweit sie nicht intakt sind, nur noch in einem Sektor erkrankt sind. Die topographisch entsprechenden Lymphknoten der Kontrolltiere sind dabei vollständig vom tuberkulösen Granulationsgewebe durchsetzt.

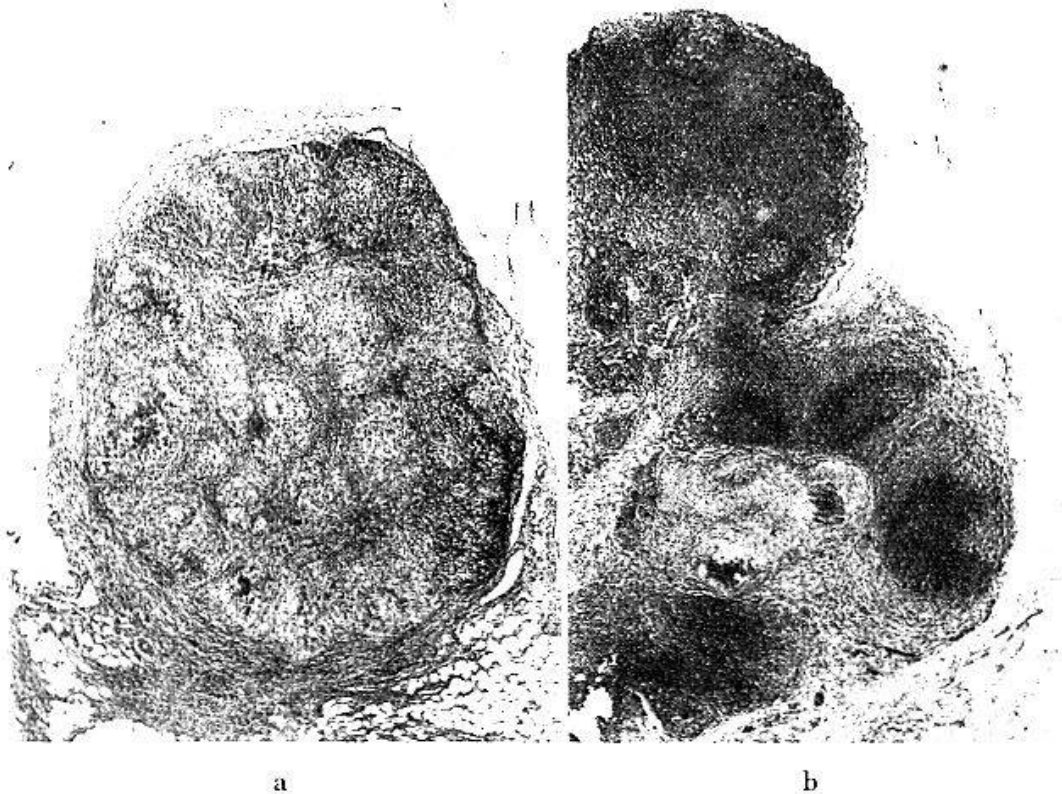


Abb. 4. Inguinale Lymphknoten, H. E. Maßstab 23,5 : 1.

- a) MS 492, unbehandeltes Kontrolltier, 105 Tage nach Infektion. Der ganze Knoten ist von wabig aufgelockerten, sklerosierten, fibrös abgekapselten, zentral jedoch nekrotisch zerfallenden Tuberkeln durchsetzt.
- b) MS 498, 105 Tage nach Infektion. Rimifon-Behandlung ab 42. Tag mit 20 mg/kg tgl. s.c. an den Wochentagen (Total 1080 mg/kg während 9 Wochen). Lymphknoten von breiten fibrillären Bindegewebszügen unterteilt und teils eingeschnürt. Diese umschließen sklerosierte, hyalinisierte und zentral verkalkte Tuberkel.

Tabelle 2

Tier-Nr.	Versuchsdauer	Intervall	Behandlungsdauer	Gesamtdosis bet 20 mg/kgf k. G. s. c.	Histologisches Bild der tuberkulösen Herde										Endarteriitis proliferans
					Exsudativ-proliferative Entzündung				Regressive Prozesse				Verkalkung		
					Verkäsung	Exsudative Entzündung	Spezifisches Granulationsgewebe	Wabige Auflockerung	Sklerose Kollagen Fibrocyten	Verödung					
Epitheloidzellen	Riesenzellen														
<b>Versuch 14a:</b>															
223	56	42	14	240	++	+	++	++	-	+	+	+	+	-	-
220	63	42	21	360	+	-	+	++	-	++	++	+	+	-	-
229	77	42	35	600	(+)	(+)	+	(+)	-	+	+	+	+	+	-
228	84	42	42	720	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
221	98	42	56	960	-	-	(+)	-	-	+	+	+	+	+	-
222	112	42	70	1200	-	-	-	-	-	++	++	+	+	-	-
<b>Kontrollen:</b>															
224	56				++	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+
227	77				+	+	++	+	+	+	+	+	+	-	-
226	84				++	+	++	+	+	+	+	+	+	-	-
225	112				+	+	++	+	+	+	+	+	+	-	-
<b>Versuch 14b:</b>															
493	63	42	21	360	(+)	+	+	++	++	+	+	+	+	-	-
494	70	42	28	480	+	-	+	++	++	+	+	+	+	+	-
491	91	42	49	840	-	(+)	+	+	+	+	+	+	+	-	-
496	98	42	56	960	-	+	+	+	(+)	+	+	+	+	-	-
498	105	42	63	1080	-	-	(+)	+	+	+	+	+	+	-	-
500	105	42	63	1080	-	-	(+)	+	+	+	+	+	+	-	-
<b>Kontrollen:</b>															
499	63				++	+	++	+	+	+	+	+	+	+	-
497	70				++	+	++	+	+	+	+	+	+	+	-
495	91				+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+
492	105				+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+

Legende: - : nicht vorhanden. (+) : angedeutet. + : vorhanden. ++ : mäßig ausgeprägt. +++ : sehr stark ausgeprägt.

Da die tuberkulösen Primär- und Lymphknotenherde sich sicherlich schon vor der Behandlung entwickelt hatten, muß nun auf das *histologische Bild des Einzelherdes* eingegangen werden. Wir haben versucht, dieses Bild ebenfalls tabellarisch darzustellen (Tabelle 2). Wir gliedern die Befunde in die Zeichen der *exsudativ-proliferativen Entzündung* mit und ohne nekrotischer Einschmelzung (Verkäsung), andererseits in *regressive Vorgänge am Tuberkel* mit wabiger Auflockerung, Sklerosierung und Hyalinisierung des Granulationsgewebes und Verkalkung nekrotischen Materials.

Die *unbehandelten Kontrolltiere* zeigen nun, in Übereinstimmung mit unseren früheren, bereits besprochenen Befunden mit längerer Erkrankungsdauer, eine zunehmende wabige oder *reticuläre Auflockerung* des spezifischen Granulationsgewebes. Kleine Tuberkel werden bis auf eine zentrale, stets nachweisbare Kerntrümmerzone zu einem Netzwerk schlanker, unregelmäßig geformter Zellen aufgelockert. Nur einzelne randständige Zellen lassen sich noch als Epitheloidzellen identifizieren. Die gleiche wabige Umwandlung zeigen auch die Granulationswälle um restliche Käsemassen. Überdies nimmt auch, je länger der Versuch dauert, die Abkapselung und Durchflechtung der Tuberkel mit feinen kollagenen Fibrillen auffallend zu. Zwischen die intakten und degenerierenden Epitheloidzellen schieben sich spindelige, chromatinreiche Fibrocyten ein.

Neben diesen regressiven, als spontane Heilungsprozesse zu wertenden Veränderungen, finden sich *aber stets noch Zeichen aktiver Entzündung*. Die konfluierenden Epitheloidzellknoten sind zunächst ausgedehnt verkäst, später überwiegt das proliferierende Granulationsgewebe, und es findet sich eine Zunahme mehrkerniger Riesenzellen.

Bei noch so starker Sklerosierung findet sich aber stets eine Verkäsung der Tuberkelzentren oder eine zentrale Kernsplitterzone. Das tuberkulöse Granulationsgewebe, das Narbengewebe und das lymphatische Restgewebe sind von Plasmazellen, Lymphocyten und auch von gelapptkernigen Leukocyten infiltriert. Schließlich sind außerhalb der stark sklerosierten Granulationsgewebefelder immer wieder frische, teils einzellige, teils bereits nekrotisch einschmelzende Tuberkel zu finden. In Zusammenhang mit den sklerosierenden Prozessen sei noch die in zwei Fällen beobachtete Intimaproliferation im Bereiche der Narbenfelder erwähnt, die teils zu hochgradiger Einengung des Gefäßlumens führte.

Unter der Wirkung von *Isonicotinsäurehydrazid* fällt zunächst die Drosselung sowohl spezifischer wie unspezifischer *aktiver Entzündungsprozesse* auf. Bei den nach 3 und 4 Wochen Behandlung geopfertem

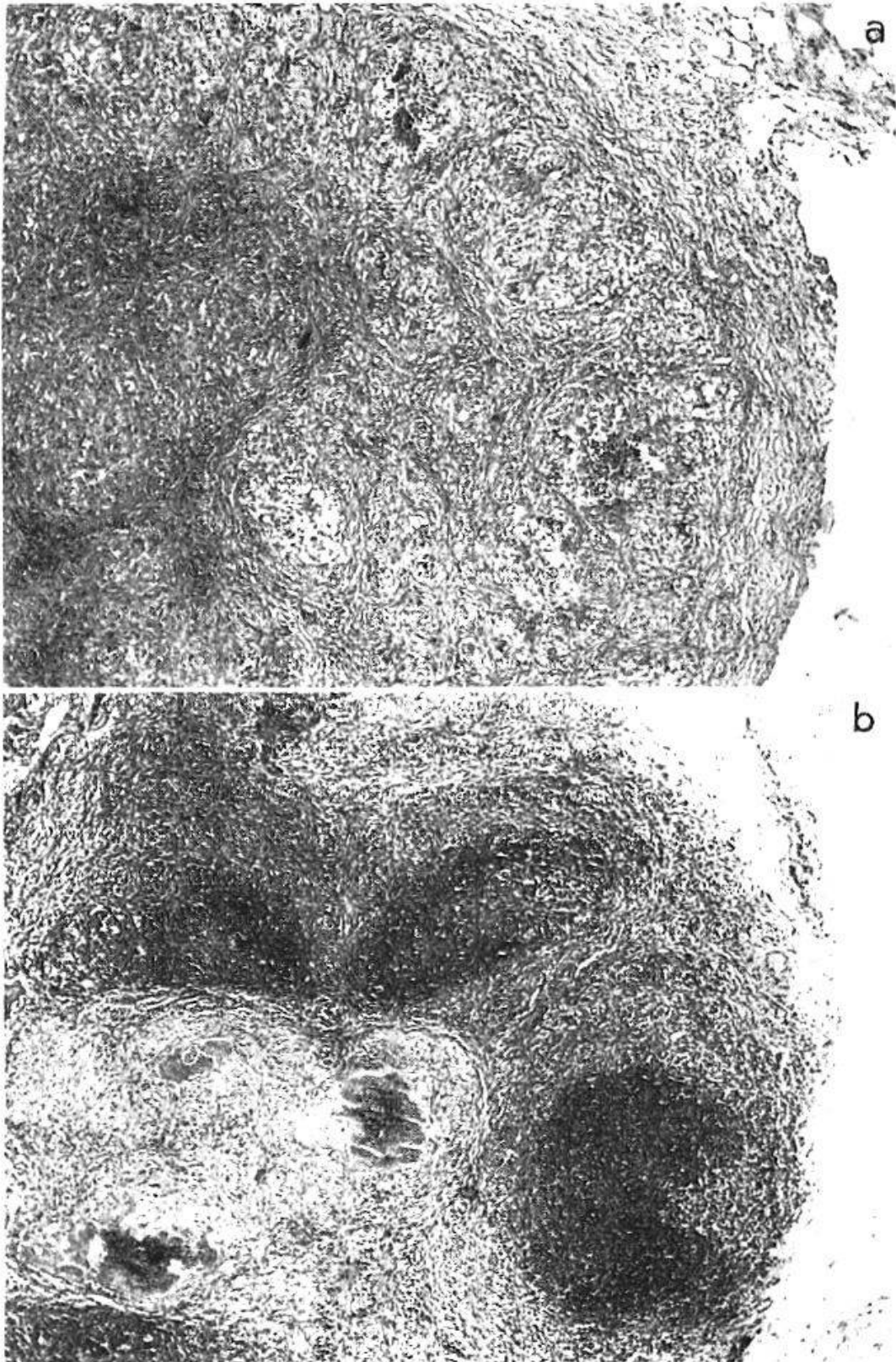


Abb. 5. Stärkere Vergrößerung von Abb. 4. Maßstab 62 : 1.

Tieren lassen sich noch Nekrosen feststellen. Dabei finden sich nur in den inguinalen Lymphknoten noch eigentliche Käseherde, im übrigen lediglich kleine zentrale Kerntrümmerfelder. Die nach der 5. Behandlungswoche untersuchten Tiere zeigen *keine frischen Nekrosen mehr*. Parallel dazu vermißt man auch innerhalb und in der Umgebung des Granulationsgewebes die anfänglich noch vorhandene *Infiltration* mit unspezifischen Entzündungszellen.

Im Gegensatz zu den gleichzeitig getöteten Kontrolltieren weisen die behandelten Tiere eine beträchtliche Verminderung des *spezifischen Granulationsgewebes* auf. Der Unterschied wird schon nach 2 und 3 Wochen Behandlung manifest. Zwar lassen sich dann noch reichlich intakte Epitheloidzellen und vor allem – gegenüber den Kontrolltieren – vermehrt Riesenzellen nachweisen. Gegen Versuchsabschluß aber – die Tabelle 2 zeigt dies eindrucklich – sind nur noch spärliche regelrechte Epitheloidzellen aufzufinden.

Damit kämen wir auf die *regressiven Veränderungen am Tuberkel* zu sprechen und auf die Frage, ob sich dabei von den spontanen Prozessen

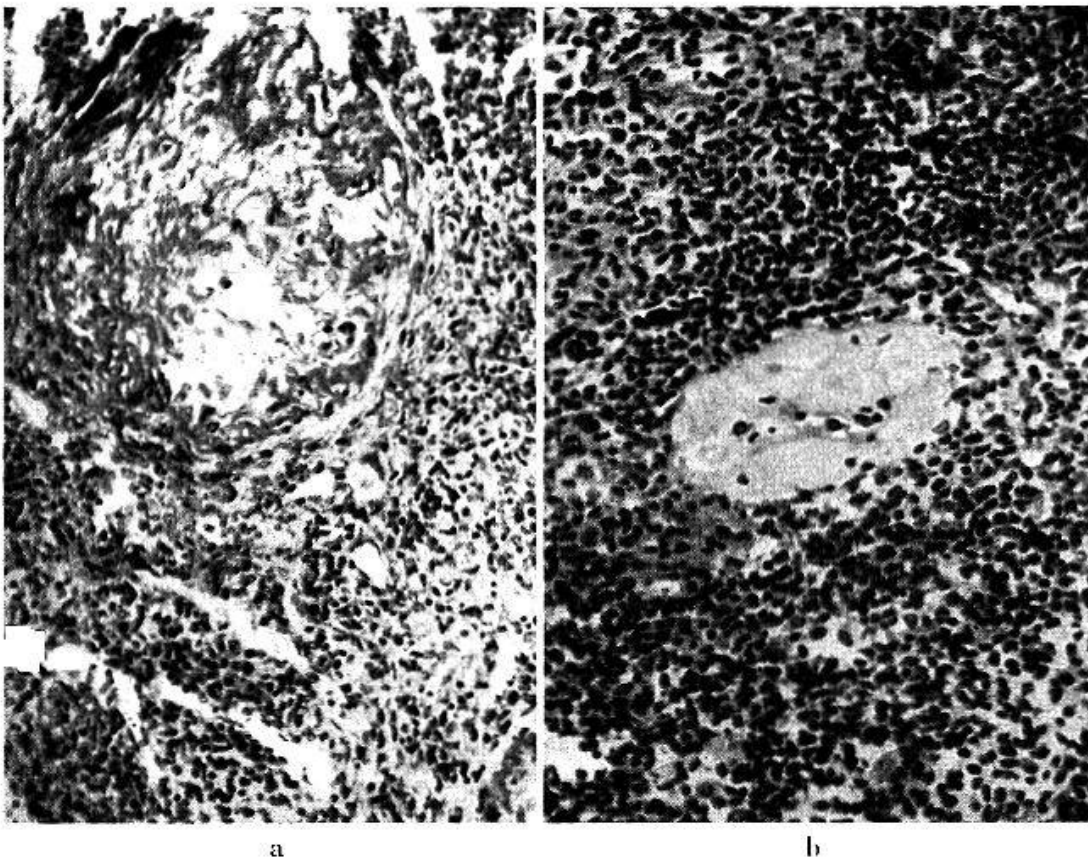


Abb. 6. Portaler Lymphknoten, Meerschweinchen 496, 98 Tage nach Infektion. Rimifon-Behandlung ab 42. Tag 20 mg/kg tgl. s.c. an den Wochentagen (Total 980 mg/kg während 8 Wochen). van Gieson. Maßstab 120 : 1.

- a) Beginnende hyaline Verödung. In den wabig aufgelockerten Tuberkel schieben sich hyalin verquellende Fibrillen ein.
- b) Vollständige hyaline Verödung eines Tuberkels.

abweichende Besonderheiten entwickeln. Schon die zuerst untersuchten Tiere weisen eine Auflockerung und Sklerosierung der Tuberkel auf, wie sie bei den Kontrolltieren erst viele Wochen später, bei Versuchsabschluß, beobachtet werden. Damit erscheinen diese Rückbildungsvorgänge unter der Behandlung einfach vorverlegt und zeitlich gerafft. Auffallenderweise bleibt aber dieser qualitative Befund nun *stationär*. Eine Zunahme der fibrösen Durchwachsung und Abkapselung wie bei den Kontrolltieren ist nicht festzustellen, und es sind immer spärlicher wabig aufgelockerte Tuberkel zu sehen. Dafür finden sich – was bei unseren Kontrollen nie beobachtet werden konnte – alle Stadien *von der beginnenden bis zur totalen hyalinen Verödung* von Tuberkeln und das *Auftreten von Kalkherden* (Abb. 5 und 6). Die in den reticulär aufgelockerten Tuberkeln eingelagerten Fibrillen werden zusehends plumper, erscheinen zunehmend hyalin, und schließlich findet sich an Stelle des Tuberkels ein kleiner Rundherd aus teils konzentrisch, teils kreuz und quer gelagerten hyalinen Schollen, zwischen denen nur spärliche schlanke Fibrocytenkerne eingestreut sind. Die Herde liegen, wie übrigens auch die wabigen und fibrosierten Tuberkel, scharf begrenzt im reaktionslosen lymphatischen Gewebe oder in einem der unspezifischen Narbenfelder, die die Lymphknoten häufig durchziehen und oberflächlich einkerben. Besonders in der zweiten Versuchgruppe treten schon

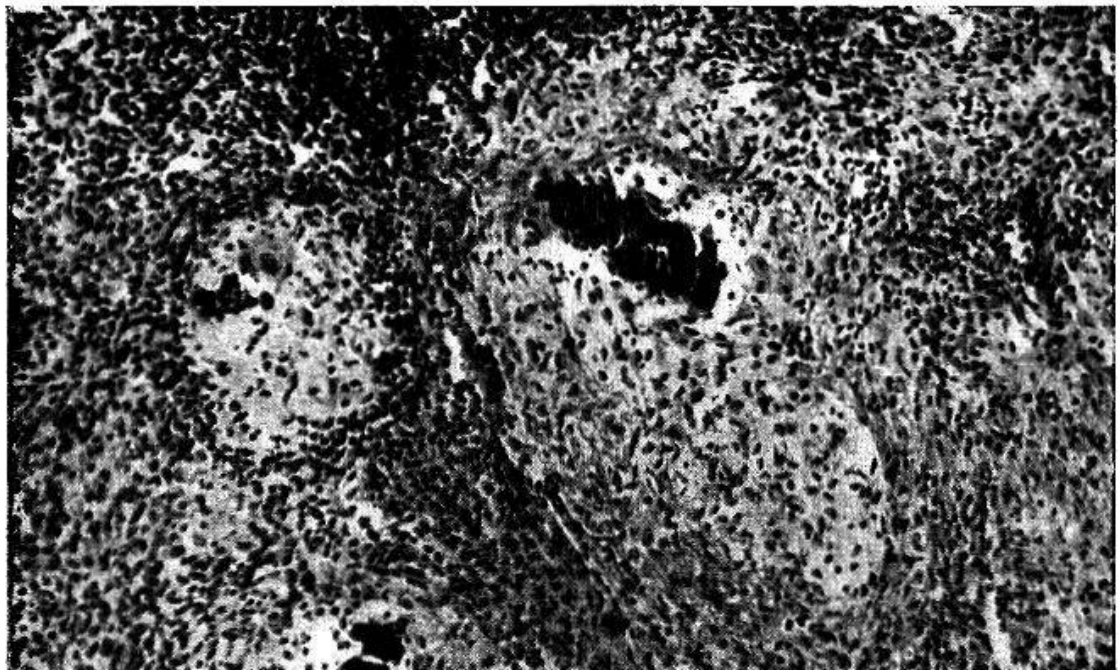


Abb. 7. Paraaortaler Lymphknoten, Meerschweinchen 496, 98 Tage nach Infektion. Rimifon-Behandlung ab 42. Tag 20 mg/kg tgl. an 6 Wochentagen (Total 980 mg/kg während 8 Wochen). Hyalin verödende Tuberkel, die teilweise noch reticulär aufgelockertes Granulationsgewebe, teils nur noch Kalkbröckel umschließen.

H.-E. Maßstab 120 : 1.

nach 4wöchiger Behandlung die ersten Kalkherde innerhalb der daneben noch vorhandenen Käsemassen auf. Später finden sie sich teils noch von reticulär degeneriertem Granulationsgewebe, oft aber nur noch von schmalen fibrillären oder hyalinen Bändern umschlossen (Abb. 7). Eine proliferierende Endarteriitis konnten wir bei den behandelten Tieren nicht feststellen.

Wir wollen mit der *Deutung dieser Befunde* noch vorsichtig sein. Bis jetzt sahen wir als Ausdruck der Wirksamkeit eines Antituberkulotiums die mehr oder weniger vollständige Hemmung der lymphogenen und vor allem hämatogenen Streuung. Histologisch war an den Alt-herden eine Förderung der Sklerosierung und besonders ein früheres Einsetzen derselben festzustellen. Neuartig scheint uns bei der Rimifon-Einwirkung, daß weniger die abschirmenden Bindegewebsreaktionen gefördert werden, als vielmehr das spezifische Granulationsgewebe *eigentlich dahinschwindet*. Epitheloid- und Riesenzellen werden durch hyalines Bindegewebe ersetzt. Wir gehen wohl nicht fehl, wenn wir

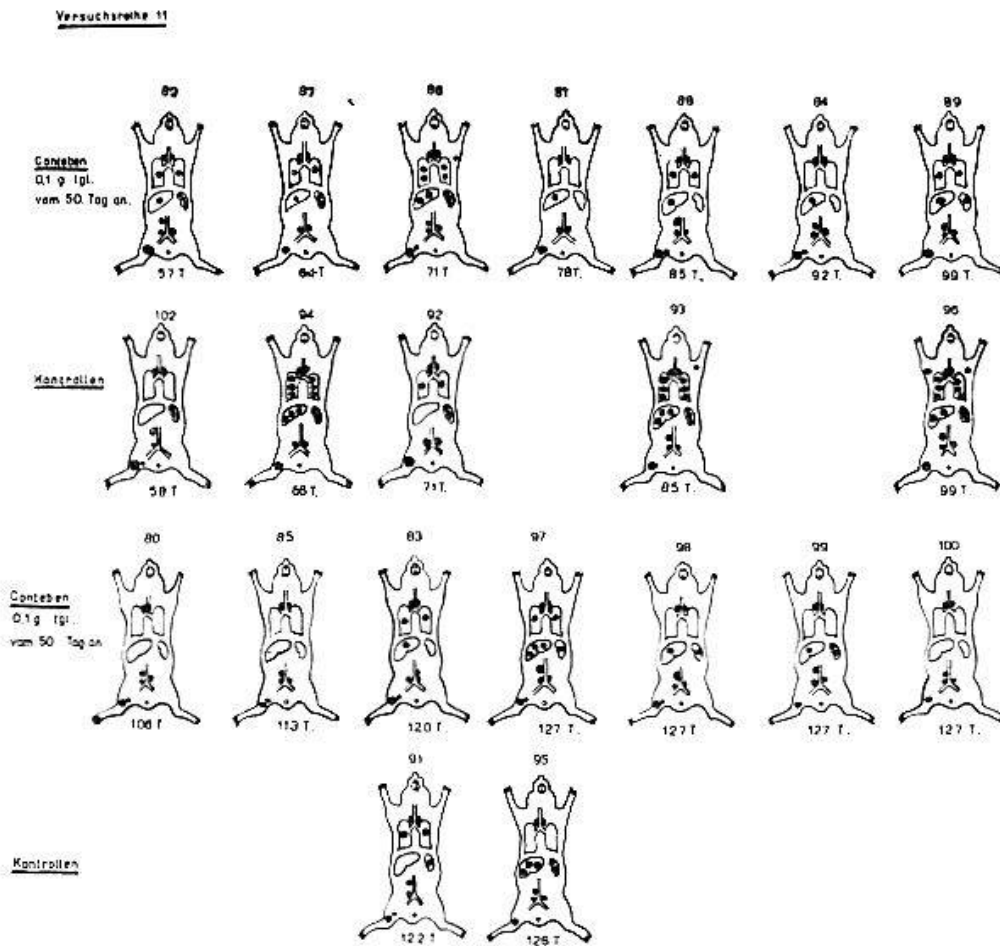


Abb. 8. Conteben-Wirkung auf die Meerschweinchentuberkulose. Infektion mit Typus humanus inguinal. 14 Tiere mit 0,1 g Conteben tgl. per os ab 50. Versuchstag behandelt. 7 Tiere unbehandelt. Tötung der Tiere in regelmäßigen Intervallen. Schwarze Punkte = tuberkulöse Herde; ungleichmäßige Beeinflussung der hämatogenen Streuung.

ferner annehmen, daß es überall dort zu *Verkalkungen* kommt, wo die Käsemassen nicht weggeschafft werden konnten. Neu ist auch das Fehlen sekundärer Nekrosen oder auch nur Kernzertrümmerung und das Fehlen entzündlicher Begleitinfiltrate. Es ist nicht ausgeschlossen, daß dies das histologische Korrelat dafür darstellt, daß Isonicotinsäurehydrazid auch *in vivo* nicht nur tuberkulostatisch, sondern auch tuberkulocid wirkt. Hyaline Verödung und Verkalkung sind Heilungsprozesse, die uns aus der Humanpathologie geläufig sind. Beim Meerschweinchen sind sie uns wohl deshalb neu, weil das hochempfindliche Tier gewöhnlich dem Infekt erliegt, bevor es zu diesen Rückbildungen kommen könnte.

Ob eine *vollständige* Heilung des Infektes durch das Isonicotinylhydrazin überhaupt möglich ist, muß dahingestellt bleiben. Latente Herde brauchen morphologisch nicht faßbar zu sein und können nach dem Absetzen des Mittels aufflackern und zur erneuten Streuquelle werden. Daß eine solche Wendung sogar unter der Behandlung eintreten könnte, scheint um so eher möglich, als nicht nur *in vitro* (*Fust, Studer und Böhni*), sondern auch *in vivo* (*Tanner, Wanner, Wehrlin und Ramer*) bei einer Patientin mit cavernöser Lungentuberkulose die mögliche Entwicklung einer *Rimifon-Resistenz* sichergestellt ist.

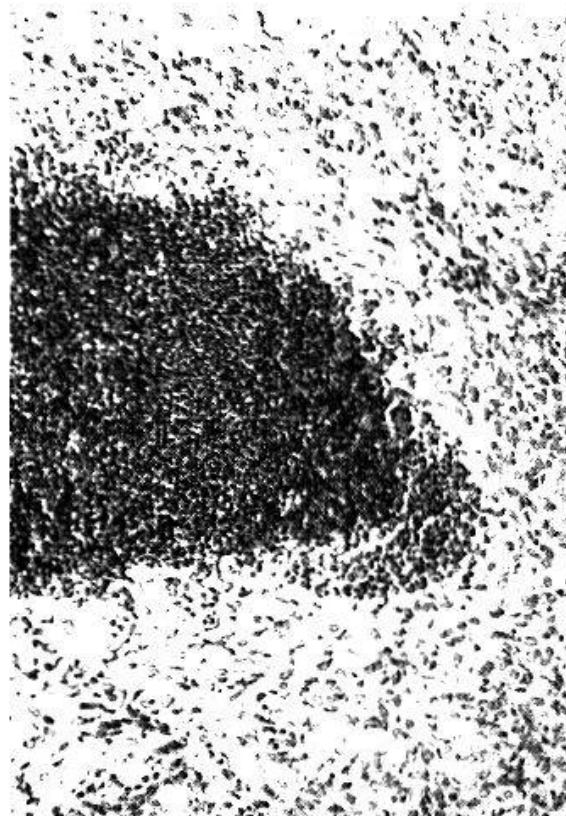


Abb. 9. Meerschweinchen 83, tracheobronchialer Lymphknoten. H.-E. Vergrößerung 80 : 1. – 120 Tage nach Infektion, *Conteben*-behandlung ab 50. Tag mit 0,1 g per os tgl. (Gesamtdosis 7,0 g während 10 Wochen). Das nur geringgradig sklerosierte, stark wuchernde Granulationsgewebe ist ausgedehnt nekrotisch eingeschmolzen.



Der Nachweis von Tuberkelbazillen im Schnitt ist uns auch bei Kontrolltieren so oft nicht gelungen, daß wir diese Befunde nicht verwerten können. In weiteren Versuchen wird mit Kultur und Reinokulation nach lebensfähigen Keimen gesucht und ihre Empfindlichkeit auf Isonicotinsäurehydrazid geprüft werden müssen.

Abschließend sei kurz auf die Befunde an den übrigen Organen eingegangen. Auffallend ist die unter der Rimifon-Behandlung recht konstante *Hyperämie* der Milz und des ganzen lymphatischen Gewebes. Oft sind nicht nur die Gefäße stark gefüllt, sondern in den Sinus der Lymphknoten liegen reichlich homogene, eiweißreiche Massen und Haufen roter Blutkörperchen. Die Sinus sind dabei auffallend weit, das lymphatische Gewebe eher verschmälert. Die Nieren lassen keinen pathologischen Befund erheben. Die *Milz*, die bei den Kontrollen, soweit nicht tuberkulös verändert, stets chronisch-entzündliche Infiltrate aufweist, erscheint intakt. In der *Leber* gelangen vacuoläre Entmischung

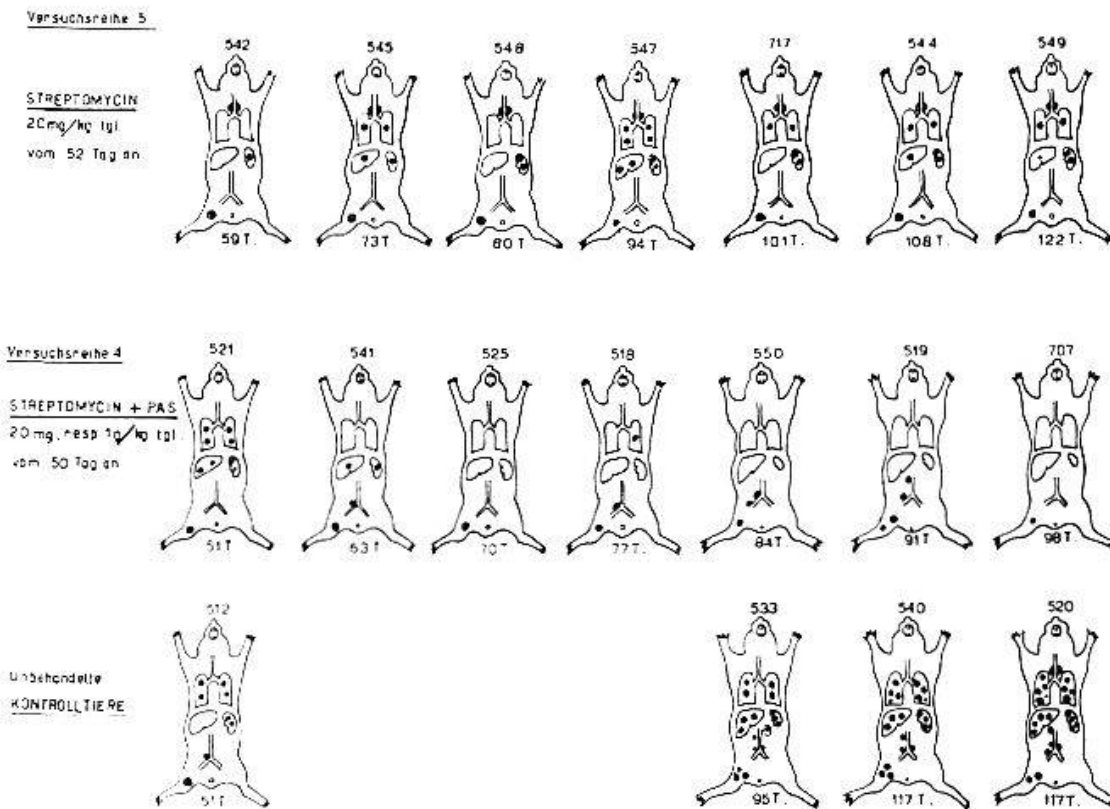


Abb. 10. Streptomycin- und Streptomycin + PAS-Versuch. (Versuchsreihen 5 und 4.) Schwarze Punkte = tuberkulöse Herde. *Streptomycin*: tgl. 20 mg/kg vom 52. Versuchstag an bei 7 Tieren, die in regelmäßigen Intervallen getötet werden. Hemmung der hämatogenen Streuung nicht vollständig. Auftreten von Neuherden während der Behandlung. *Streptomycin + PAS*: tgl. 20 mg/kg bzw. 1 g/kg vom 50. Versuchstag an bei 7 Tieren. Vollständige Hemmung der hämatogenen Streuung. Keine Neuherde. Bei den 4 Kontrollen bis zum Versuchsabschluß massive Generalisation in Milz, Leber und Lungen. Lymphoglanduläre Proliferation *nicht* durchuntersucht.

und Verfettung bei behandelten und unbehandelten Tieren in gleichem Ausmaß zur Beobachtung.

Durch den Vergleich mit früher durchgeführten Versuchsreihen ist es uns natürlich nur bedingt möglich, die *Rangordnung* des Isonicotinsäurehydrazids in der Reihe der schon erwähnten antituberkulösen Mittel abzuschätzen. Schlüssige Parallelversuche sind im Gange. Abb. 8 zeigt das Resultat einer *Conteben*-Reihe. Bei der hohen Dosierung wird zwar die hämatogene Durchseuchung etwas gehemmt. Histologisch aber – darin gehen wir mit *Salfelder* einig – lassen sich keine Unterschiede im Ausmaß sklerosierender Prozesse zwischen behandelten und unbehandelten Tieren finden, und stets sind auch in den Tuberkeln noch Nekrosezentren vorhanden (Abb. 9).

Auch Streptomycin allein (Abb. 10) ist nicht imstande, das Auftreten hämatogener Streuherde voll zu unterdrücken. Das histologische Bild wird nach genügend langer Einwirkung durch die hochgradige Sklerosierung beherrscht, welche diejenige der Kontrolltiere übertrifft (Abb. 11). Erst die kombinierte Verabreichung von Streptomycin und PAS, aller-

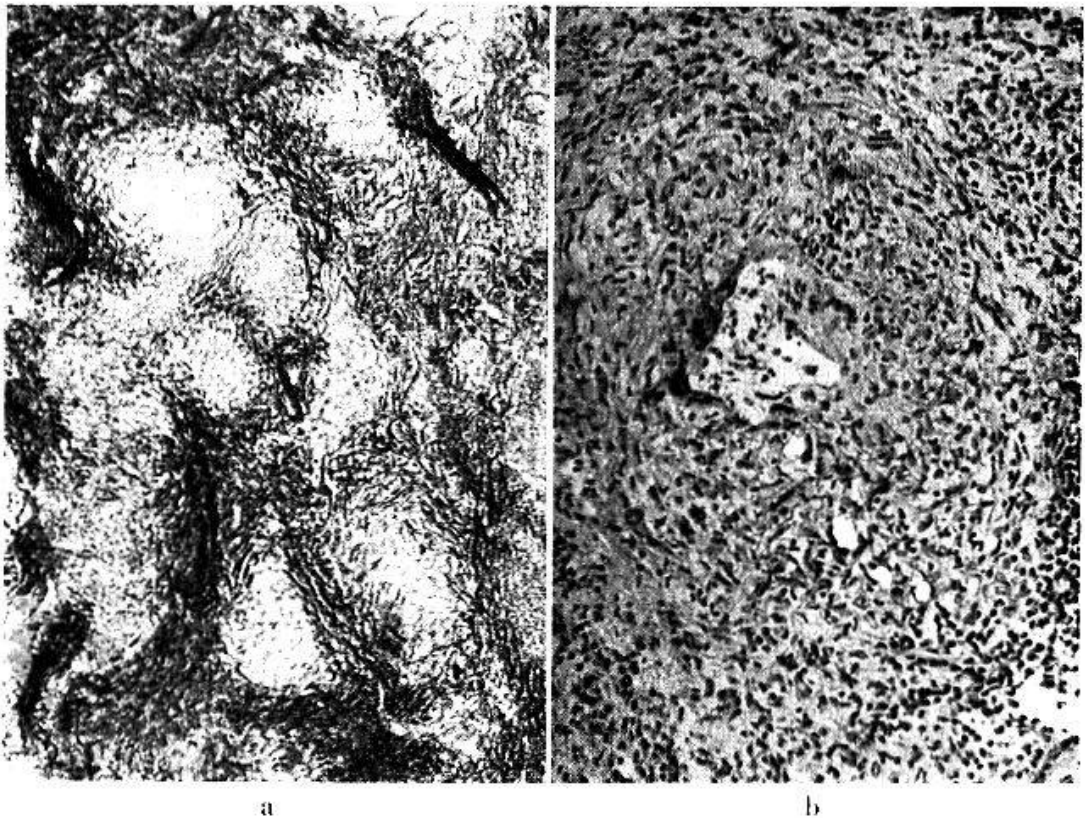


Abb. 11. *Streptomycinwirkung*, Meerschweinchen 717, tracheobronchialer Lymphknoten 101 Tage nach Infektion mit *Typus humanus inguinal*. Streptomycin ab 52. Versuchstag tgl. 20 mg/kg während 7 Wochen.

a) Hochgradige fibröse Durchwachsung und Abkapselung des tuberkulösen Granulationsgewebes, van Gieson. Maßstab 45 : 1.

b) Stark sklerosierter und reticulär aufgelockerter Tuberkel mit persistierender zentraler Kernsplitterzone, H.-E. Maßstab 150 : 1.

dings in bereits toxischen Dosen, hat in unseren Tierexperimenten den gleichen Wirkungsgrad wie das Rimifon. Das histologische Bild entspricht aber demjenigen nach alleiniger Streptomycinbehandlung. Diese Vergleiche seien nur im Sinne einer vorläufigen Orientierung wiedergegeben. Sie zeigen aber, daß bei unserer Versuchsanordnung von mit Typus humanus infizierten Meerschweinchen dem Isonicotinsäurehydrazid eine *Sonderstellung* in der Reihe der bisher klinisch erprobten Antituberkulotica zukommt.

### *Zusammenfassung*

1. Bei der chronischen Verlaufsform der Meerschweinchentuberkulose erfolgt spontan eine weitgehende wabige Auflockerung, Sklerosierung und fibröse Abkapselung der tuberkulösen Herde.

2. Isonicotinsäurehydrazid (Rimifon) vermag diese Bindegewebsreaktion zu beschleunigen, aber nicht zu intensivieren. Hingegen ist unter Schwund der Epitheloidzellen mit wabiger Auflockerung und schließlich totaler Hyalinisierung eine weitgehende Schrumpfung des Tuberkels festzustellen. Spezifische Nekrosen und unspezifische Entzündung treten allmählich vollständig zurück. Vorbestehende Käsemassen verkalken.

3. Vergleiche mit früheren Versuchsreihen ergeben, daß auch Conteben die abschirmende Bindegewebsreaktion nicht besonders intensiviert. Streptomycin fördert in ausgesprochenem Maße die Sklerosierung. Seine Kombination mit PAS ergibt kein anderes histologisches Bild. Bei all diesen Tuberkulostatika sind aber – im Gegensatz zum Isonicotinsäurehydrazid – auch nach zehnwöchiger Behandlungsdauer noch Verkäsungen und aktiv-proliferative Entzündungsherde aufzufinden.

### *Résumé*

1. Dans les formes de tuberculose du cobaye à évolution chronique, le granulome à cellules épithéloïdes se transforme spontanément en un réseau cellulaire à mailles lâches; il subit ensuite une sclérose et s'entoure d'une capsule fibreuse.

2. L'hydrazide de l'acide isonicotinique (Rimifon) est capable d'accélérer cette réaction du tissu conjonctif, mais pas de l'intensifier. On peut, par contre, constater une atrophie nette du tubercule après que les cellules épithéloïdes ont disparu, faisant place à des réseaux cellulaires à mailles lâches, puis à une transformation hyaline de la lésion. Les nécroses spécifiques et les phénomènes inflammatoires non spécifiques régressent peu à peu complètement. Les masses caséuses préexistantes se calcifient.

3. En comparant ces résultats avec ceux des expériences précédentes, on constate que le Contébène n'a pas non plus d'action intensifiante particulière sur cette réaction du tissu conjonctif. La streptomycine provoque surtout une réaction sclérosante: l'aspect histologique reste le même, si l'on applique un traitement combiné streptomycine + PAS. Toutefois, avec tous ces agents tuberculostatiques – contrairement à ce qui se passe avec l'hydrazide de l'acide isonicotinique – des lésions caséuses et des foyers de prolifération inflammatoire actifs sont encore présents, même après 10 semaines de traitement.

#### *Riassunto*

1. La tubercolosi cronica della cavia mostra spontaneamente un importante reticularizzazione, sclerotizzazione e incapsulazione fibrotica dei focolai tubercolotici.

2. L'idracide dell'acido isonicotinic (Rimifon) accelera ma non intensifica queste reazioni tissulari, mentre si constata una quasi totale involuzione del singolo tubercolo dopo la scomparsa delle cellule epiteloidee e formazione di masse ialine. La necrosi specifica e l'infiammazione non specifica regrediscono lentamente fino alla scomparsa, le masse caseose si calcificano.

3. Da confronti con esperimenti precedenti risulta che anche il Conteben non intensifica in modo particolare la reazione tissulare protettiva. La streptomycina favorisce invece molto spiccatamente i processi di sclerosi, anche se combinata con PAS il quadro istologico non cambia. Ad eccezione dell'idracide dell'acido isonicotinic, negli esperimenti con questi tuberculostatici anche dopo 10 settimane di trattamento, si trovano sempre ancora processi infiammatori attivi proliferanti e caseosi.

#### *Summary*

1. In the chronic form of tuberculosis in the guinea-pig the tuberculous lesions show a spontaneous honey-combing, sclerosis and fibrous encapsulation.

2. Isonicotinic acid hydrazid (Rimifon) accelerates these connective tissue reactions, but does not intensify them. On the other hand it produces an extensive shrinking of the tubercle with disappearance of epitheloid cells, with honey-comb-formation and finally total hyalinization. Caseation and non-specific inflammatory reaction gradually disappear completely. The caseous masses become calcified.

3. Comparison with former series of experiments shows that Conteben (TB I) likewise fails to intensify the protective connective tissue reac-

tion. Streptomycin markedly increases sclerosis of the tubercle. Its combined administration with PAS does not produce any additional change in the histological picture. In contrast to isonicotinic acid hydrazid, even after ten weeks of treatment with these tuberculostatic drugs caseation and active proliferation are still observed.

*Benson, W. M., Stefko, P. L., and Roe, M. D.:* Amer. Rev. Tbc. **65**, 376 (1952). – *Bernstein, J., Lott, W. A., Steinberg, B. A., and Yale, H. L.:* Amer. Rev. Tbc. **65**, 357 (1952). – *Domagk, G., Offe, H. A., Siefken, W.:* Dtsch. med. Wschr. **1952**, Nr. 18, 573. – *Feldman, W. H., Hinshaw, H. C.:* Amer. Rev. Tbc. **51**, 582 (1945). – *Fust, B.:* Schweiz. med. Wschr. **82**, 333 (1952). – *Fust, B., Studer, A., Böhni, E.:* Schweiz. Z. Tbk. **9**, 226 (1952). – *Grunberg, E., Schnitzer, R. J.:* Quart. Bull. Sea View Hosp., N. Y. **13**, 3 (1952). – *Rich, A. R.:* The Pathogenesis of Tuberculosis, Blackwell, Oxford 1951. – *Salfelder, K.:* Frankf. Z. Path. **63**, 143 (1952). – *Steenken, W., Woliński, E.:* Amer. Rev. Tbc. **65**, 365 (1952). – *Tanner, E., Wanner, J., Wehrli, H., und Ramer, Z.:* Schweiz. Z. Tbk. **9**, 255 (1952). – *Uehlinger, E., Siebenmann, R., Frei, H.:* Schweiz. med. Wschr. **82**, 335 (1952).