

Sonderdruck
aus „Der Urologe“, 2. Jahrgang, Heft 4, Juli 1963, S. 236–243

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg

Aus dem Max Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung, Hamburg-Volksdorf
(Dir. Prof. Dr. rer. nat. R. v. SENGBUSCH)

Pharmakologische Untersuchungen der Nierensteinlösungsmittel im Tierversuch*

Von **G. KALLISTRATOS**

Mit 8 Textabbildungen

* Herrn Prof. Dr. rer. nat. R. v. SENGBUSCH zum 65. Geburtstag gewidmet.

Für die Anwendung neuer pharmakologisch wirksamer Substanzen beim Menschen ist die eingehende Prüfung im Tierversuch eine unerläßliche Voraussetzung. Erst nach Klärung und Festsetzung der Verträglichkeitsgrenzen (bzw. LD₅₀) ist eine klinische Weiterprüfung oder eine therapeutische Verwendung statthaft.

Seit 1958 wurden im Max Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung Untersuchungen über die Verwendung von Verbindungen der ADTE als Auflösungsmittel für menschliche Nierensteine durch-

geführt. Da geeignete pharmakologische Testmöglichkeiten fehlten, wurde das erste Spülmittel auf seine Verträglichkeit im Selbstversuch (TIMMERMANN) (BROZINSKI, v. SENGBUSCH u. TIMMERMANN⁴) geprüft. Eine höhere Toxizität war nach den vorliegenden Literaturangaben (DYKERHOFF⁶; RAYMOND u. GHERES²⁶; ABESHUSE u. WEINBERG¹; SPENCER³⁰) im Hinblick auf den Verwendungszweck der Mittel auszuschließen. Für eine Weiterentwicklung der Nierensteinlösungsmittel waren geeignete pharmakologische Tests erforderlich.

Durch den Tierversuch kann die allgemein toxische Wirkung eines Steinlösungsmittels und der spezielle Reizeffekt auf die Harnwege ermittelt werden.

Für die pharmakologische Beurteilung eines Nierensteinlösungsmittels wäre die intrarenale Dauerspülung am Labortier in Parallele zur menschlichen Behandlung die entsprechende Methode. Die praktische

Die Prüfung der Spülflüssigkeiten erfolgt nach folgendem Schema:

Kurzzeitspülung der Tierblase

Der Blaseninhalt wird durch eine Spritze entfernt. Anschließend wird die Blase mit ca. 20 ml Kochsalzlösung (bei 38°C) gespült. Die Spülung wird so oft

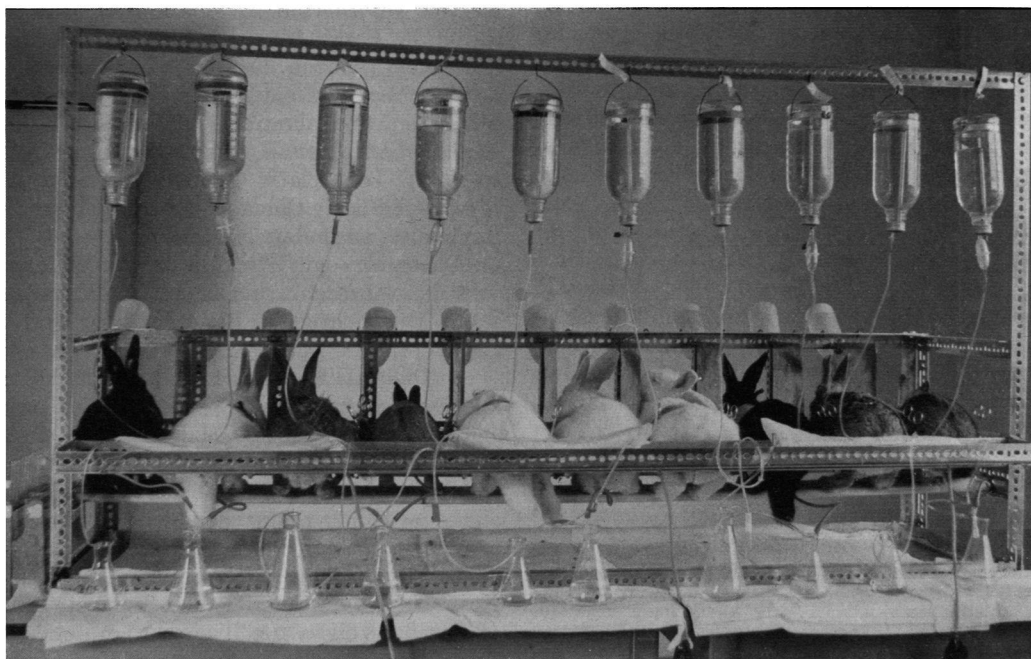


Abb. 1. Prüfanlage für die pharmakologische Untersuchung der Nierensteinspülmittel in Kaninchenblasen

Durchführung dieser Form der Nierenbeckenspülung ist jedoch bei den meisten Versuchstieren aus anatomischen Gründen nicht möglich. Deshalb wurde zur Prüfung der Nierensteinlösungsmittel die Dauerspülung von Kaninchenblasen ausgewählt (KALLISTRATOS¹⁷). Die Testspülungen am Versuchskaninchen müssen auf Grund der vorliegenden Erfahrungen als Mindestmaß das Fünffache der Durchschnittsspülzeit eines Patienten in der Klinik betragen. Der Wirkungseffekt der Spülungen wird an histologischen Veränderungen der extirpierten Blase und eventuell auch an den übrigen Harnorganen festgestellt.

Methodik

Die Kaninchenblasenspülungen mit Nierensteinlösungsmitteln wurden weitgehend der klinischen Methode der Chemolyse angepaßt. Männliche Kaninchen erwiesen sich für eine Katheterbehandlung auf Grund der anatomischen Verhältnisse der Harnorgane als die zweckmäßigsten Testobjekte (Körpergewicht 3–4 kg). Die Tiere werden durch ein Leinenkorsett an der freien Bewegung weitgehend gehindert. Danach wird ein einfacher Katheter von 12 Charr. bzw. ein doppelläufiger von 16 Charr., je nach Versuchsart, durch die Harnröhre in die Blase eingeführt. Der Katheter wird durch Leukoplaststreifen am Tierkörper befestigt. Anschließend werden die Tiere in ein aus Dexionsschienen konstruiertes Prüfgerüst gelegt und festgeschnallt. Das Gerüst ist für zehn mittelgroße Tiere bis zu 5 kg Körpergewicht konstruiert (siehe Abb. 1 und 2). Diese Vorrichtung erlaubt eine leichte Bewegungsfreiheit, so daß die Tiere während des Versuches unbehindert ad libitum Nahrung zu sich nehmen können.

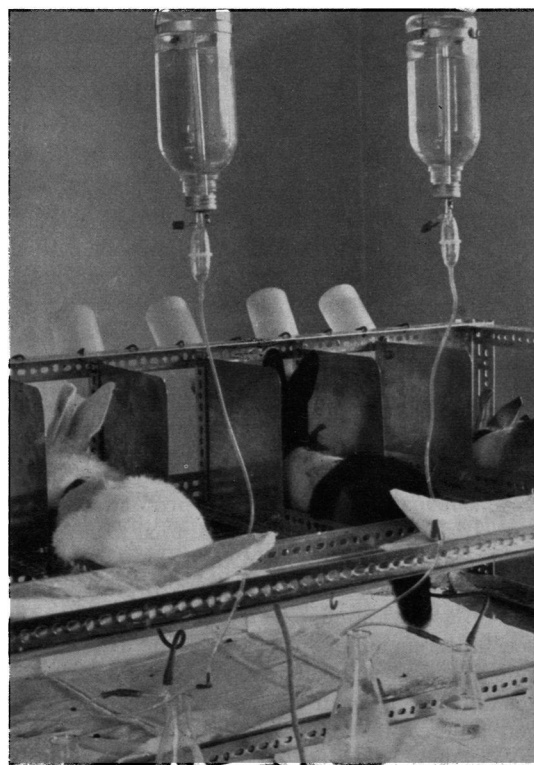


Abb. 2. Ausschnitt von Abb. 1

wiederholt, bis eine eventuell durch Katheterverletzung der Blasenwand entstandene Blutung beseitigt ist. Erst dann erfolgt die Eingabe des zu prüfenden Mittels. Das zu untersuchende Nierensteinlösungsmittel verbleibt 1 Std in der Harnblase und wird

danach mittels Rekordspritze entnommen und zur Beobachtung in ein Reagensglas gefüllt. Das Verfahren wiederholt sich über 8 Std. Die gesammelten Proben werden nach einem Gradienten bonitiert, dem sechs Stufen einer unterschiedlichen Blutfarbtintensität zugrunde liegt. Die Farbwerte werden aus der Erfahrung abgeschätzt. Eine genaue quantitative Auswertung der Reizstärke der verschiedenen Lösungsmittel ist durch die Absorptionmessungen des Blutfarbstoffes der Rückläufe aus der Blase mit Hilfe der Spektralphotometrie im sichtbaren Bereich möglich. Die Messungen zeigen drei Maxima bei 410, 540 und 580 $m\mu$, deren Absorptionsintensität proportional der Blutfarbstoffkonzentration ist (Abb. 3). Durch diese einfache

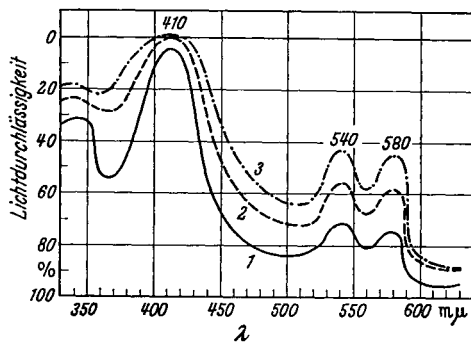


Abb. 3. Absorptionsspektren von Rückläufen aus drei Kaninchenblasen. Die unterschiedliche Reizwirkung auf die Blaseschleimhäute bzw. die steigende Blutungsintensität ist in den Spektren 1—3 bei Absorptionsmaxima 410, 540 und 580 $m\mu$ zu erkennen. (Blindwert: Kaninchenurin + Spülmittel, bezogen auf 100% Durchlässigkeit)

Methode ist es möglich, stark reizende Spülmittel von weiteren Versuchen auszuschließen. Diejenigen Spülmittel, die eine ausreichende Verträglichkeit zeigen, werden durch eine Dauerspülung weitergetestet.

Dauerspülungen als Verträglichkeitstest

1 l-Infusionsflaschen mit physiologischer Kochsalzlösung werden in ca. 1 m Höhe über den Tieren aufgehängt. Mit Hilfe des üblichen klinischen Infusionsbesteckes wird die Lösung in den Zulaufkanal des Katheters geleitet. Die Lösungsmittel werden durch ein Thermophor (Heizkissen) auf 37°C erwärmt. Vor Beginn der eigentlichen Spülmitteltestung wird die Kaninchenblase solange mit Kochsalz gespült, bis, wie oben beschrieben, die durch den mechanischen Reiz des Katheters oder eventuelle Verletzungen entstandenen Blutungen abgeklungen sind. Im Anschluß wird die Kochsalzlösung durch das zu prüfende Spülmittel ersetzt. Die Versuchsdauer beträgt ca. 100 Std ohne Unterbrechung der Spülung. Nach dem Versuch werden die Tiere getötet und die Veränderungen der gesamten Blasenwand speziell der Schleimhaut histologisch untersucht. Von besonderem Interesse sind pathologische Veränderungen wie: Ödeme, Nekrosen, Auflösung des Gesamturethels und Schleimhautblutungen. Die restlichen Organe des Harnsystems (Niere, Harnleiter usw.) werden nach der jeweiligen Notwendigkeit untersucht (SELBERG).

Die pharmakologischen Eigenschaften der Nierensteinlösungsmittel

Die Steinauflösung in der menschlichen Niere erfordert von den Lösungsmitteln bestimmte Eigenschaften:

a) Ein hohes Auflösungsvermögen der Mineralsubstanz im physiologischen Verträglichkeitsbereich des Nierengewebes.

b) Eine geringe Toxicität für den Gesamtorganismus.

c) Keine bzw. geringe lokale Reizwirkung auf die Nierenbeckenschleimhaut.

Die geforderten Eigenschaften sind weitgehend durch die Verbindung der ADTE in bestimmter Konzentration gegeben. Die ADTE wurde aus einer Reihe organischer Säuren auf Grund ihrer günstigen komplexbildenden und damit steinlösenden Fähigkeit ausgewählt (ABESHOUSE u. WEINBERG¹; GEHRES u. RAYMOND¹³). Die relativ geringe Toxicität dieser Säure macht sie für die Chemolyse von calciumhaltigen Konkrementen besonders geeignet.

Pharmakologisch wurde die ADTE unter anderen von den Autoren ABESHOUSE u. WEINBERG¹ untersucht. Die wichtigsten Befunde dieser Untersuchungen sind:

a) Die ADTE unterscheidet sich nicht von anderen alkalischen Lösungen in bezug auf die Toxicität.

b) Eine 0,5%ige ADTE-Lösung mit einem pH-Wert zwischen 7 und 8,5 zeigt keine Reizwirkung.

c) Hautinjektionen einer 2%igen Lösung mit einem pH von 7 verursachen keine entzündlichen Reaktionen.

d) Parenterale Injektionen von 80 mg/kg beim Kaninchen sind ungiftig. Nach einer Injektion von 125 mg/kg zeigen die Tiere Krämpfe bzw. Tetanie-Symptome. Diese Erscheinung wird durch Verabreichung einer Calciumchloridlösung aufgehoben (DYKERHOFF⁶).

e) Die orale Zufuhr von ADTE durch die Nahrung oder durch das Trinkwasser, in einer 2—5%igen Konzentration, bewirkt auch nach 1 Jahr keine toxischen Erscheinungen.

f) Beim Personal einer ADTE-Fabrik wurde nach sechsjähriger Beobachtung keine pathologische Veränderung bemerkt, die auf diese Substanz zurückzuführen wäre.

ADTE wurde in Mengen von 75 mg/kg therapeutisch verwendet. Die LD₅₀ lag zwischen 500 und 7000 mg/kg (FRAMINGHAM¹¹). FOREMAN¹⁰ benutzte therapeutisch 2,5 g des Natriumsalzes der ADTE. Er gab diese Menge gelöst in 250 ml physiologischer Kochsalzlösung zweimal täglich i.v. während 4 Tagen mit 2 Tagen Unterbrechung. Die effektive Dosis für Nierenschäden ist berechnet auf 203 mg/kg \times 16 Tage. Bei einer täglichen Verabreichung von 14 g ADTE pro erwachsener Person ist nach 16 Tagen mit Nierenschäden zu rechnen. Die optimale therapeutische Dosis ist 50 mg/kg/Tag (3,5 g/Tag/Person) über einen Zeitraum von 5 Tagen mit 2 Tagen Pause.

In der Dermatologie wurde ADTE für die Behandlung der Sklerodermie verwendet (KLEIN u. HARRIS²¹). RUKAVINA u. Mitarb.²⁷ verabreichten 3 g täglich des Dinatriumsalzes der ADTE-Lösung bei langsamer i.v. Injektion während 5 Tagen (15 g pro Woche) mit zweitägigen Pausen. Die Behandlung dauerte 3 Wochen mit einer Gesamtgabe von 45 g ADTE ohne toxische Erscheinungen.

KIMMIG²⁰ verwendete 2,5 g ADTE-Lösung in isotonischer Glucose-Lösung (5,25%) in i.v. Dauerinfusion. Die Patienten bekamen insgesamt ca. 50 g ADTE. Außer leichten migräneartigen Kopfschmerzen

konnten keine wesentlichen Nebenerscheinungen beobachtet werden.

Die Dosis letalis von ADTE (LD_{50}) nach i.v. Verabreichung bei verschiedenen Tierarten ist:

Maus	0,2 g/kg
Kaninchen	0,1 g/kg
Katze	0,075 g/kg
Hund	0,1 g/kg

Hieraus ist zu entnehmen, daß die ADTE eine mittlere Toxicität besitzt. Durch eine langsame i.v. Infusion kann die Dosis letalis bis zu 2 g/kg erhöht werden, d. h. daß die ADTE-Konzentration und die Injektionsgeschwindigkeit die Hauptfaktoren ihrer Toxicität sind.

Untersuchungen mit ^{14}C -markierten ADTE-Lösungen ergaben, daß ADTE nicht metabolisierbar ist und rasch und vollständig aus der Niere ausgeschieden wird. Darauf ist die niedrige Toxicität zurückzuführen (FOREMAN⁹).

Histologische Untersuchungen an verschiedenen Organen nach einer therapeutischen Dosis von ADTE ergaben keine pathologischen Veränderungen (FOREMAN u. FINNEGAN⁹). Gewebeuntersuchungen nach dem Exitus eines hypercalciämischen Patienten nach ADTE-Behandlung ergaben erhebliche Schäden an den Nierentubuli, starke innere Blutungen und Schwellungen der R.E.S. (DUDLEY⁶). Bei leichten Vergiftungen sind Hirnstörungen, Erbrechen, Schmerzen, Nykturie und Polyurie sowie schmerzhaftes Urinausscheidung, hydropische Degeneration der Tubuluszellen usw. festzustellen.

Untersuchungen über die Reizwirkung der ADTE (GEHRES u. RAYMOND¹³) haben keine Reaktion der Nierenschleimhaut ergeben. Es wurde eine Bspülung von 5–6 Std mit einer 3%igen ADTE-Lösung bei einer Geschwindigkeit von 40–45 Tropfen/min (2 bis 2,5 ml) durchgeführt. Die gleichen Autoren stellten ebenfalls fest, daß eine 6%ige Lösung nur eine geringe entzündliche Reizung verursacht. Dagegen berichten ELLIOT, ADAMSON u. LEWIS⁷, daß bei Verwendung einer Konzentration von 0,1 Mol/l (3,60% ADTE — pH 7,5) zur Blasenspülung bei sieben Kranken nach 10–30 min Spülung starke Schmerzen aufgetreten waren.

Eigene Untersuchungen an Kaninchenblasen mit den genannten Methoden und bei steigender ADTE-Konzentration von 1–10% haben gezeigt, daß schwache ADTE-Konzentrationen bis zu 3% bei einem pH von 8 bei Blaseninstillationen während 4 Std mit einer Tropfgeschwindigkeit zwischen 50 und 60 Tropfen/min (3,5 ml/min) keinerlei lokalen Reiz hervorrufen. Höhere ADTE-Konzentrationen verursachen eine lokale Blasenschleimhautentzündung mit ausgedehnten Blutungen in allen Wandschichten (pharmakologisch erzeugte hämorrhagische Cystitis), die eine starke Hämaturie zur Folge hat. Konzentrationen zwischen 7 und 10% können zur Harnblasenapoplexie und zum Exitus führen.

Die Wirkung der Puffersubstanzen der Lösungsmittel

Zur Stabilisierung der ADTE-Lösung in einem gewünschten alkalischen pH -Bereich ist außer der Verwendung ihres Trinatriumsalzes der Zusatz von Puffersubstanzen erforderlich. Solche Substanzen müssen eine große Pufferkapazität besitzen, um eine eventuelle pH -Verschiebung des Spülmittels durch

einen sauren Urin zu vermeiden. Im anderen Falle wäre eine Verringerung des Auflösungsvermögens der ADTE-Verbindung gegeben. Auf Grund ihrer günstigen pharmakologischen Eigenschaften wurden im wesentlichen zwei Puffersubstanzen verwendet, das Triäthanolamin und der Trispuffer.

a) Triäthanolamin

Triäthanolamin ist eine organische Puffersubstanz und hat in der pharmazeutischen Industrie auf Grund seiner günstigen pharmakologischen Eigenschaften eine vielseitige Verwendung gefunden. Es wird im allgemeinen als ein physiologisch indifferenten Stoff betrachtet. Industriell wird es als Lösungsmittel, Puffer usw. benutzt, außerdem vielen medizinischen Spezialitäten zugesetzt. Die Dosis letalis (LD_{50}) beträgt bei Ratten nach oraler Verabreichung 9 g/kg und bei Meerschweinchen 0,8 g/kg.

Triäthanolamin wurde bei den Lösungsmitteln P 8 bis P 48 als Puffersubstanz in Konzentrationen zwischen 1 und 3% verwendet. Eigene Untersuchungen an Kaninchenblasen haben gezeigt, daß die Instillation von 1%iger Triäthanolaminlösung mit einem pH von 8 nach zwei Spülstunden eine leichte lokale Schleimhautentzündung der Blase verursacht, die von einer schwachen Hämaturie begleitet ist. Die Reizbarkeit ist proportional der Konzentration. Es ist wünschenswert, die Reizwirkung der zusätzlichen Lösungsmittelbestandteile möglichst niedrig zu halten, um die Voraussetzung für eine optimale ADTE-Konzentration zu schaffen. Deshalb wurde eine systematische Untersuchung vorgenommen, um andere physiologisch verträgliche Puffer zu finden. Unter Umständen kann eine Kombination von zwei oder mehreren Puffersubstanzen in geringerer Konzentration die Verträglichkeit erhöhen, ohne die Pufferkapazität zu verringern.

b) Trisoxymethylaminomethan (Trispuffer)

Die Verbindung Trispuffer schien auf Grund ihrer günstigen pharmakologischen Eigenschaften als Pufferzusatz der Spülmittel geeignet zu sein. Die Dosis letalis beträgt nach i.v. Injektion bei Hunden (LD_{50}) 500 bis 800 mg/kg. Trispuffer wird auf Grund seiner guten Verträglichkeit in größeren Mengen bei Vergiftungen mit Salicylsäure verwendet (NAHAS²⁴; PEIRCE²⁵; BRINKMAN³; KAPLAN¹⁹; GUTMAN¹⁵; SCHACHTER²⁸; STRAUSS³¹). Bei Barbitursäurevergiftung wurden 72 g Trispuffer innerhalb 12 Std als Infusion verabreicht (BALAGOT²). Er alkalisiert den Harn und begünstigt die Ausscheidung von schwachen Säuren. Er wurde ferner für die Behandlung der Acidose beim Menschen benutzt. 20 g Trispuffer, gelöst in 300 ml Wasser und 3,3% Glucose, erhöht bei langsamer i.v. Injektion (40 min) den pH -Wert des Blutes. Der Puffer ist auch für urämische Patienten gut verträglich. Nach i.v. Gabe von 27–76 g ist die Wirkung der Substanz innerhalb von 50–65 min abgeklungen. Hohe Dosen von Trispuffer können eine leichte Diarrhoe verursachen. Die wichtigsten toxischen Symptome bei Trispuffervergiftung sind Erbrechen, erschwerte Atmung, Blutdrucksenkung und Blutzuckersenkung (NAHAS²⁴).

Eigene Untersuchungen an der Kaninchenblase ergaben, daß eine 1%ige Trispufferlösung bei pH 8 keinerlei Reiz der Blasenschleimhaut verursacht. Aus diesem Grunde wurde diese Substanz als Pufferzusatz (1%) dem Spülmittel „P 50“ zugegeben.

Vergleichende Untersuchungen zwischen Trispuffer und Triäthanolamin an verschiedenartig chemisch zusammengesetzten Nierenkonkrementen ergaben, daß die letztgenannte Substanz ein besseres Auflösungsvermögen für Harnsäure besitzt. Die neu entwickelten Lösungsmittel (z. B. P 60) enthalten als Puffersubstanz sowohl Triäthanolamin als auch Trispuffer in geringer Konzentration. Es werden jeweils 0,5% der einzelnen Substanzen zugesetzt. Diese Kombination erlaubt ohne wesentliche Änderung der Pufferkapazität eine erhöhte Verträglichkeit der Lösungsmittel.

Patho-physiologische Wirkung der Steinlösungsmittel auf die Harnorgane

Die Entwicklung der klinischen Nierensteinchemolyse beim Menschen erforderte eine eingehende Kenntnis der patho-physiologischen Vorgänge im Harnsystem bei einer Nierenbeckendauerspülung. Eine Vernach-



Abb. 4 Kaninchenblase in situ nach Dauerspülung mit Kochsalz. Spülmenge 2000 ml, Spüldauer 5 1/2 Std



Abb. 5. Kaninchenblase in situ nach Dauerspülung mit ADTE-Lösungen unter Zusatz von Antiphlogistica. ADTE-Konzentration 5,5%, Spülmenge 8000 ml, Spüldauer 75 Std

lässigung dieser einzelnen Faktoren muß zwangsläufig klinische Komplikationen auslösen, die unter Umständen eine praktische Durchführung der Steinauflösung verbieten. Die wichtigsten Faktoren, die hierbei in Betracht gezogen werden müssen, sind:

1. Die Bedeutung des p_H der Spülmittel für die Steinauflösung.
2. Der Fremdkörperreiz des Spülkatheters, eine Fehlerquelle für den Kaninchenblasentest.
3. Der hydraulische Druck der Spülflüssigkeiten in der Niere.
4. Der osmotische Druck der Lösungsmittel auf das Nierengewebe.
5. Die bakterielle Infektion der Harnorgane.
6. Reaktionsvorgänge an der tierischen Blasen-schleimhaut nach ADTE-Spülung.
7. Die Bedeutung der Schleimbildung in den Nierenhöhlräumen für die Chemolyse.

Die Bedeutung des p_H der Spülmittel für die Steinauflösung

Die Auflösung von calciumhaltigen Nierensteinen mit Hilfe von ADTE-Verbindungen erfolgt auf Grund des Reaktionsmechanismus im alkalischen Milieu. Vom pharmakologischen Standpunkt aus muß die Alkalinität der Spülmittel in einem physiologisch verträglichen Bereich für das Nierengewebe liegen. Deshalb wurde für die neuesten Spülmittel auf Grund der Tierversuche ein p_H von 8–8,3 festgelegt.

Es ist bekannt, daß die menschliche Niere unter Umständen einen Harn mit einem p_H über 9 ausscheiden kann. Gleiche p_H -Werte konnten in Abhängigkeit von der Futterzusammensetzung beim Kaninchen festgestellt werden. Spülteste in der Kaninchenblase ergaben, daß mit steigendem p_H bis 9,5 eine isotonische NaOH-Lösung verträglich ist. Im Gegensatz hierzu zeigen ADTE-Lösungen mit höherer Alkalinität bis 9,5 einen starken Reizeffekt. Vergleichende Beobachtungen beim Menschen und beim Tier lassen vermuten, daß im Unterschied zur Kaninchenblase die menschliche Nierenschleimhaut geringere Empfindlichkeit besitzt.

Der Fremdkörperreiz des Spülkatheters, eine Fehlerquelle für den Kaninchenblasentest

Eine mechanische Läsion der Schleimhaut beim Einlegen der Spülsonde kann nicht immer vermieden werden. Außerdem reagieren die Harnorgane auf die Anwesenheit eines Fremdkörpers mit entzündlichen Veränderungen der Schleimhäute.

Diese Tatsachen müssen bei der Beurteilung von pharmakologischen Spülungen an Kaninchenblasen berücksichtigt werden. Es ist aus der klinischen Katheterbehandlung des Menschen bekannt, daß die genannten Fremdkörperreizerscheinungen nach kurzer Zeit schwächer werden. Entsprechend sind die Beobachtungen nach Blasendauerspülungen mit physiologischer Kochsalzlösung beim Kaninchen (Abb. 4 und 7).

Der hydraulische Druck der Spülflüssigkeiten in der Niere

Die peristaltische Bewegung der Nierenhöhlräume beim Menschen wird durch Einlegen einer Dauerspülsonde weitgehend aufgehoben. Es ist bei pyeloskopischen Untersuchungen der Niere des Menschen festzustellen, daß durch Stauungsdruck mittels Röntgen-Kontraststoffen eine erneute peristaltische Kontraktion der Hohlräume ausgelöst werden kann. Die Entleerungskraft der peristaltischen Welle kann bewirken, daß die Aufnahmekapazität des Sondenrücklaufes nicht ausreicht, um auf diesem Wege die Flüssigkeit abzuleiten. Es erfolgt eine Entleerung neben der Spülsonde in die Blase durch den Harnleiter. Im Falle einer Spülung mit konzentrierten ADTE-Lösungen wird hierdurch eine heftige Schmerzempfindung in der Blase aufgelöst. Außerdem entstehen intensive entzündliche Schleimhautreaktionen.

Die Beobachtung veranlaßt, daß bei einer therapeutischen Nierenbeckenspülung das Fassungsvermögen der Nierenhöhlräume vor dem Behandlungsbeginn durch Pyeloskopie an Hand der Tropfgeschwindigkeit des Flüssigkeitsumlaufes bestimmt werden muß.

Dieses Prinzip wurde den Testspülungen an der Kaninchenblase zugrunde gelegt, unter gleichzeitiger Berücksichtigung einer Spülmitteltemperatur von 38°C.

Der osmotische Druck der Lösungsmittel auf das Nierengewebe

Die Gesamtkonzentration der einzelnen Spülmittelkomponenten muß einen osmotischen Druck ausüben, der im osmotischen Bereich der Harnflüssigkeit liegt (isotonisch). Eine hypotonische Spülmittellösung verursacht in der Kaninchenblase ein leichtes Schleimhautödem. Das Urothel bleibt jedoch unverändert. Hypertonische Lösungen bedingen eine Entzündung der Schleimhaut, begleitet von einer leichten Blutung (Einzelheiten über osmotischen Druck bzw. Gefrierpunktserniedrigung der Spülmittel siehe SÜCKER).

Die bakterielle Infektion der Harnorgane

Bakteriologische Harnuntersuchungen während der Chemolyse-Behandlung ergaben einen positiven Bakterienbefund, unabhängig davon, ob eine Infektion

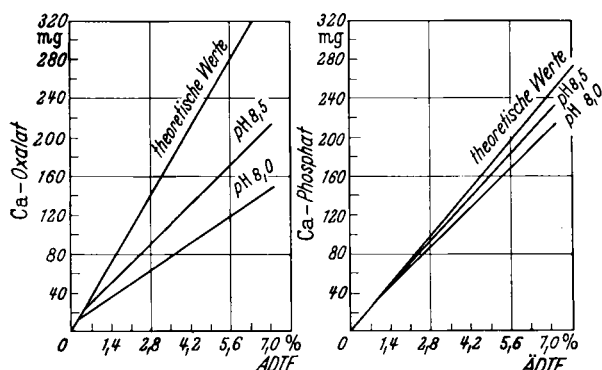


Abb. 6. Die Auflösung von Calciumoxalat- und Calciumphosphat-Tabletten in Abhängigkeit von der ADTE-Konzentration (H_2ADTE) (jeweils 300 mg Calciumoxalat bzw. Calciumphosphat 1 Std. mit 100 ml ADTE-Lösung geschüttelt)

bereits vor Behandlungsbeginn bestand oder per continuitatem durch die Dauersonde ascendierte.

Untersuchungen von FENNER, KALLISTRATOS u. TIMMERMANN⁸ haben ergeben, daß die verwendeten Spülmittel P 48 und P 60 eine bakteriostatische Wirkung besitzen. Diese Wirkung der Spülmittel kann erhöht werden durch Zusätze von Antibiotica, z. B. Chloramphenicol (0,2 g/l). Unabhängig von diesen bakteriostatischen Faktoren bewirkt die mechanische Flüssigkeitszirkulation bei einer Dauerspülung eine Hemmung der bakteriellen Entwicklung in der Schleimhaut der Nierenhölräume.

Reaktionsvorgänge an der tierischen Blasenschleimhaut nach ADTE-Spülung

Laboratoriumsuntersuchungen an natürlichen, operativ gewonnenen Nierensteinen und an chemisch reinen Testtabletten haben ergeben, daß mit steigender ADTE-Konzentration eine Beschleunigung der Steinauflösung bzw. Testtabletten erzielt wird (Abb. 6). Es entspricht einer Forderung der klinischen Steinchemolyse, die Auflösungszeiten der Konkreme auf ein möglichst geringes Maß zu verkürzen. Es muß Aufgabe der pharmakologischen Prüfung sein, das Maximum der Verträglichkeit der Salzlösung in diesem Zusammenhang zu ermitteln. Vorbehaltlich der Entwicklung

anderer Testverfahren kann dieser Verträglichkeitsgrad durch die Dauerblasenspülung beim Kaninchen bestimmt werden (Abb. 5 und 8).

Bei der Anwendung von ADTE-Konzentrationen über 3% wird ein pharmakologisch registrierbarer Reiz in Form von Blutungen und Schmerzreaktionen der Versuchstiere ausgelöst. Diese Reaktionen können durch antiphlogistisch wirkende Substanzen beseitigt werden. Ausgehend von Untersuchungen über die durch chemischen Reiz erzeugte Entzündung (SELYE²⁹; HAAS¹⁶, LÉGER²²; WILHELM³⁶; GROSS¹⁴) und speziell über das experimentelle Formalinödem der Ratte und seiner Beeinflussung durch Antiphlogistica (THEOBALD³⁵) wurde eine Anzahl dieser Stoffe im Kaninchenversuch zusammen mit höheren ADTE-Lösungen getestet. Es konnte festgestellt werden, daß durch eine Zugabe von 5 mg-% Chinin-Hydrochlorid und 0,375 mg-% Chlorhydrat der 1-methyl-4-(m-oxyphenyl)-4-piperidin-4-äthylketon (Cliradon) die Unverträglichkeitsreaktion der Blase weitgehend aufgehoben wurde.

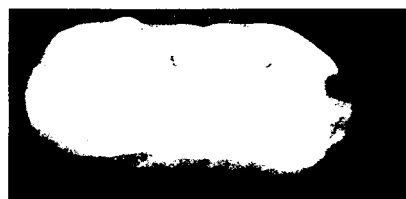


Abb. 7



Abb. 8

Abb. 7 und 8. Kaninchenblasen (Abb. 4 und 5) geöffnet (Innenansicht). Leichte Entzündung in dem Bereich des Schließmuskels durch Fremdkörperreiz des Katheters

Neben der reizdämpfenden Wirkung des Cliradon konnte ein eindeutiger analgetischer Effekt des Mittels auf den Gesamtorganismus der Tiere beobachtet werden. Es zeigte sich, daß eine kombinierte Verwendung von Cliradon und Chinin eine additive antiphlogistische Wirkung hervorruft.

Da der Gebrauch von Cliradon den Beschränkungen der Rauschmittelgesetzgebung unterliegt, wird angestrebt, den Stoff durch andere Antiphlogistica gleicher Wirkung zu ersetzen. Einschlägige systematische Untersuchungen werden bereits durchgeführt. Detaillierte Mitteilungen über den gesamten Verwendungsbereich der Antiphlogistica im Zusammenhang mit der Steinchemolyse erfolgen gesondert.

Die Bedeutung der Schleimbildung in den Nierenhölräumen für die Chemolyse

Es ist aus der operativen Urologie bekannt, daß die Anwesenheit von Konkrementen im Nierenbeckenkelchsystem eine vermehrte Schleimstoffproduktion verursacht. Frische, operativ gewonnenen Steine haben stets einen deutlich erkennbaren oberflächlichen Schleimbelag. Diese Veränderungen können unter Mitwirkung von Bakterien zu einer dichten mantelartigen Umhüllung führen. Veränderungen dieser Art sind besonders bei pyonephrotischen Zuständen in den

Nierenhohlräumen anzutreffen. Für den Vorgang der Steinchemolyse sind diese Beobachtungen von wesentlicher Bedeutung. Die ADTE-Spülmittel sind nur in einem geringen Maß befähigt, dieses Hemmnis zu beseitigen. Die schleimstofflösenden Eigenschaften des Triäthanolamins reichen nicht aus, die Oberfläche des Steins zu reinigen und dadurch die Reaktion mit der ADTE-Lösung zu ermöglichen. Hierdurch ist eine signifikante Herabsetzung der Auflösungsgeschwindigkeit bedingt. Diese klinische Beobachtung konnte durch röntgenologische Kontrastmitteluntersuchungen bestätigt werden (TIMMERMANN³⁴).

Für die Auflösung eiweißhaltiger Körpersekrete kann die enzymatische Eigenschaft verschiedener Fermente, insbesondere des Trypsins, der Urease und der Streptokinase, erfolgreich verwendet werden (GACA¹²). Die optimale Wirkung dieser Stoffe ist an ein spezielles biologisches Milieu gebunden, das unter Umständen nur begrenzt im Nierenbecken vorliegt.

Laboruntersuchungen unter Verwendung von ausgetrockneten Schleimstoffen der menschlichen Niere als Testsubstanzen haben die begrenzte Leistungsfähigkeit gereinigter Enzympräparate erwiesen. Die Prüfung einer 1%igen Lösung von Trypure novo ergab ebenfalls keine klinisch befriedigenden Resultate.

Für den gleichen klinischen Zweck wurde die Anwendungsmöglichkeit unspezifisch wirkender oberflächenaktiver Stoffe geprüft. Als Grundbedingung für diese Stoffgruppe wurden folgende Voraussetzungen gefordert:

1. Starke schleimlösende Fähigkeit.
2. Geringe Schaumbildung.
3. Kein lokaler Reiz.
4. Keine Resorption aus den Nierenhohlräumen.
5. Geringe allgemeine Toxizität.

Diese Bedingungen werden durch das Netzmittel Pluronic F 68 der Wyandott Chem. Inc. weitgehend erfüllt. Das Mittel wurde von H. Sauer und W. Grieb (Sunlicht AG) unter anderem in Vorschlag gebracht. Laboruntersuchungen konnten die erwartete Wirkung vollauf bestätigen. Der Stoff Pluronic F 68 erwies sich in parallelen Untersuchungen mit ähnlichen Verbindungen als der wirkungsintensivste. Für den klinischen Gebrauch wurde 0,5% Pluronic F 68 in physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von Antibiotica (Chloramphenicol) verwendet (KALLISTRATOS, v. SENGBUSCH, u. TIMMERMANN¹⁸).

Diskussion

Die ADTE wurde nach ihrer Synthese im Jahre 1937 im wesentlichen für industrielle Aufgaben verwendet. Durch die Veröffentlichung der Autoren GEHRES u. RAYMOND¹³ wurde eine neue pharmazeutische Anwendung beschrieben. Die gleichen Autoren haben im Zusammenhang mit ihren Arbeiten zur Nierensteinauflösung genaue pharmakologische Untersuchungen veröffentlicht. Unabhängig von diesem Verwendungszweck wurde die Säure in verschiedenartiger Weise therapeutisch benutzt. Auf Grund dieser Arbeiten bestehen ausreichende Unterlagen über die allgemeine Toxizität dieses Stoffes beim Menschen.

Für die Nierensteinchemolyse mit Verbindungen der ADTE sind, ausgehend von den obengenannten Arbeiten, zusätzliche spezielle pharmakologische Prüfungen erforderlich gewesen. Diese bezogen sich auf

Fragen der lokalen Reizung und der Resorption der Säure durch die Schleimhäute der ableitenden Harnwege sowie der Nierenhohlräume. Hierfür wurden die Testmethoden der Blasendauerspülung beim Kaninchen weiterentwickelt. Durch die Absorptionsmessungen der Blutfarbstoffkonzentration in den Spülflüssigkeiten konnten quantitativ reproduzierbare Aussagen über graduelle Unterschiede der verschiedenen Reizintensitäten erhoben werden. Hierdurch war es möglich, die verschiedenen Lösungsmittelkonzentrationen für ihre Verwendungsmöglichkeiten im menschlichen Organismus zu prüfen. Die klinischen Beobachtungen ergaben eine Bestätigung der Richtigkeit dieser Lösungsmitteltestungen.

Für die klinische Durchführung der Nierenbeckendauerspülung mit ADTE-Lösungen waren die Schleimhautinfektionen der Harnwege und der Nierenhohlräume ein wichtiger Faktor. Antibakterielle Maßnahmen waren für einen komplikationslosen Behandlungsablauf erforderlich.

Sie sind gegeben durch:

1. Eine laufende Flüssigkeitszirkulation in den Nierenhohlräumen mit einer entsprechenden mechanischen Behinderung der Bakterienansiedlung in den Eiweißzerfallsprodukten.
2. Die bakteriostatische Wirkung der hochprozentigen ADTE-Lösungen.
3. Den Zusatz geeigneter antibiotischer Wirkstoffe für sämtliche Spülmittel.
4. Einen direkten antibiotischen Schutz des Gesamtorganismus durch enterale und parenterale Zuführung.

Bakteriologische Untersuchungen haben ergeben, daß die unter Position 1—3 angeführten Maßnahmen einen ausreichenden antibakteriellen Schutz der Harnorgane und des Gesamtorganismus bieten, so daß eine laufende antibiotische Schutz-Behandlung nicht mehr erforderlich ist. Eine kontinuierliche Medikation mit Antibiotica, wie es am Anfang der Entwicklung des Chemolyseverfahrens erforderlich schien, ist nunmehr allein auf akute pyelonephritische Komplikationen beschränkt.

Die klinische Notwendigkeit einer Abkürzung der Steinauflösungszeiten erforderte eine Steigerung der ADTE-Konzentration in den Lösungsmitteln.

Hierfür war eine Erhöhung der Gewebeverträglichkeit in der Niere die unerläßliche Voraussetzung. Dieser Zustand konnte nur durch den Zusatz antiphlogistischer Stoffe erreicht werden. Aus der Zahl der in dieser Weise wirkenden Substanzen wurden die geeigneten Stoffe durch Testuntersuchungen ausgewählt. Die Bearbeitung dieser Fragenkomplexe ist noch nicht abgeschlossen und wird fortgesetzt.

Die klinische Anwendung der Chemolyse ergab, daß unabhängig von der Auflösung der Mineralanteile der Konkreme, organische Schleimsubstanzen in den Nierenhohlräumen und auf der Steinoberfläche den Auflösungsvorgang beeinträchtigen können. Hierdurch ergab sich die Notwendigkeit, schleimstofflösende Substanzen mitzuverwenden. Da enzymatisch wirkende Stoffe keine hierfür ausreichende Leistung aufwiesen, wurden oberflächenaktive Verbindungen für den genannten Zweck geprüft. Hierbei ergab sich, daß die nicht ionogene, oberflächenaktive, polymere Verbindung Pluronic F 68 die gewünschten Eigenschaften besitzt.

Die grundlegenden pharmakologischen Untersuchungen bezüglich der allgemeinen Toxizität lagen hierüber vor. Die Prüfungen für den speziellen Verwendungszweck erfolgten durch die obengenannten Testmethoden an Kaninchenblasen. Die biologischen Untersuchungen der Verträglichkeit wurden durch systematische histologische Kontrollen ergänzt.

Die klinische Anwendung der Stoffe ergab die Bestätigung, daß das schleimlösende Spülmittel die erwartete Wirkung besitzt.

Die pharmakologischen Untersuchungen und Betrachtungen der verschiedenen Komponenten der Nierensteinchemolyse haben ergeben, daß das Problem der Nierensteinauflösung beim Menschen durch die vier Grundfaktoren:

1. Auflösung der Mineralanteile von über 90% aller menschlichen Nierensteine durch einen generell anwendbaren Lösungsmittel,
2. Auflösung sämtlicher organischer Schleimstoffe und Sekrete in den Konkrementen und in den Nierenhohlräumen,
3. Herabsetzung der Harninfektion auf ein Minimum durch antibakteriell wirkende Zusätze in den Spülmitteln,
4. die klinische Technik der Nierenbeckendauerspülung, als weitgehend gelöst anzusehen ist.

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit speziellen pharmakologischen Untersuchungen über die Wirkung der Nierensteinlösungsmittel. Die Untersuchungen sind mit Hilfe der Methode der Kaninchenblasen-Dauerspülung durchgeführt worden. Es wurde für die Steinchemolyse damit eine Testung über die Verwendung in der menschlichen Niere erzielt.

Es konnte ferner festgestellt werden, daß der Zusatz von Antibiotica und Antiphlogistica zu den Lösungsmitteln eine bakterio-statische Wirkung und eine Erhöhung der Verträglichkeit ausübt.

Die Anwendung der oberflächenaktiven Verbindung Pluronic F 68 bewirkt die Auflösung von Schleimstoffen in den Nierenhohlräumen und ergibt eine ent-

scheidende Verbesserung im Auflösungsgeschehen der Nierensteine.

Literatur. ¹ ABESHOUSE, B., and T. WENBERG: J. Urol. (Baltimore) **65**, 316 (1951). — ² BALAGOT, R., H. TSUJI and N. SADOVE: J. Amer. med. Ass. **178**, 1000 (1961). — ³ BRINKMAN, G., D. REMP, E. COATES and E. PRIEST: Amer. J. Med. Sci. **239**, 341 (1960). — ⁴ BROZINSKI, M., R. v. SENGBUSCH u. A. TIMMERMANN: Urol. int. (Basel) **10**, 307 (1960). — ⁵ DUDLEY, H., A. RITCHIE, A. SCHILLING and W. BAKER: New Engl. J. Med. **252**, 381 (1955). — ⁶ DYKERHOFF, H., R. MARX und B. LUDWIG: Z. ges. exp. Med. **110**, 412 (1942). — ⁷ ELLIOT, J., P. ADAMSON and L. LEWIS: J. Urol. (Baltimore) **81**, 56 (1955). — ⁸ FENNER, O., G. KALLISTRATOS u. A. TIMMERMANN: in Vorbereitung. — ⁹ FOREMAN, H., M. VIEZ and M. MAGEE: J. biol. chem. **203**, 1045 (1953). — J. Lab. clin. Med. **43**, 566 (1954). — ¹⁰ FOREMAN, H., C. FINNEGAN and C. LUSHBAUGH: J. Amer. med. Ass. **160**, 1042 (1956). — ¹¹ FRAMINGHAM: Pharmacology, physiology, biochemistry and toxicity of versens. Mass. Bersworth Chemical Co. **25** (1952). — ¹² GACA, A.: Handbuch f. Urologie, Medizinische, S. 1739—1740 (1958). — ¹³ GEHRES, R. F., and S. RAYMOND: J. Urol. (Baltimore) **65**, 474 (1951). — ¹⁴ GROSS, F.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. **211**, 421 (1950). — ¹⁵ GUTMAN, A., T. YÜ and J. SIROTA: J. clin. Invest. **34**, 711 (1955). — ¹⁶ HAAS, N.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. **161**, 197 (1941); **170**, 205 (1948); **187**, 208 (1949). — ¹⁷ KALLISTRATOS, G.: Freier Vortrag auf dem „Congrès de la Lithiase Urinaire“ in Vittel/Frankreich vom 29. 6.—1. 7. 1962. — ¹⁸ KALLISTRATOS, G., R. v. SENGBUSCH u. A. TIMMERMANN: Münch. med. Wschr. **105**, 672 (1963). — ¹⁹ KAPLAN, S., and F. DEL CARMEN: Pediatrics **21**, 762 (1958). — ²⁰ KIMMIG, J.: 25. Tg. d. Dtsch. Dermatol. Ges., Mai 1960. — ²¹ KLEIN, R., and S. HARRIS: Amer. J. Med. **19**, 798 (1955). — ²² LÉGER, J., G. MASSON and J. PRADO: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **64**, 366 (1947). — ²³ NAHAS, G.: Science **129**, 782 (1959). — ²⁴ NAHAS, G.: Pharmacol. Rev. **14**, 447 (1962). — ²⁵ PEIRCE, E.: Arch. Surg. **80**, 693 (1960). — ²⁶ RAYMOND, S., and R. F. GEHRES: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **74**, 415 (1950). — Science News Letter **17**, 6 (1950). — ²⁷ RUKAVINA, J., C. MENDELSON, J. PRICE, R. BROWN and S. JOHNSON: J. invest. Derm. **29**, 273 (1957). — ²⁸ SCHACHTER, D., and J. MANIS: J. clin. Invest. **37**, 800 (1958). — ²⁹ SELEY, H.: Endocrinology **21**, 169 (1937). — ³⁰ SPENCER, H.: J. clin. Invest. **31**, 1023 (1952). — ³¹ STRAUSS, J., and G. NAHAS: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **105**, 438 (1960). — ³² SUBY, H.: J. Urol. (Baltimore) **68**, 96 (1952). — ³³ SÜCKER, I.: Urologe **2**, 229 (1963). — ³⁴ TIMMERMANN, A.: in Vorbereitung. — ³⁵ THEOBALD, W.: Arch. int. Pharmacodyn. **17**, 103 (1955). — ³⁶ WILHELM, G.: Schweiz. med. Wschr. **79**, 577 (1949).

Anschrift: Dr. G. KALLISTRATOS,
Max Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung
2 Hamburg-Volksdorf