

# **Pilze** **in Medizin und Umwelt**

**GIT-Supplement 5/83 · G-I-T VERLAG ERNST GIEBELER**

## **Inhalt:**

Medizinische Mykologie – eine aufstrebende Fachrichtung • Im Wettlauf mit der Entwicklung • IMIDAZOL-Präparate • Bifonazol • Fortschritt in der Therapie • Ketoconazol • Onychomykosen • Nystatin • Pilzsporen als Allergene • Vergleichende Difusionsteste • Amphotericin B • Griseofulvin • Differenzierende Therapie • Karies-Candidose • „mykorapid“ • Igelpilze • Strahlenpilzforschung in Deutschland  
Der Rudolf-Lieske-Förderpreis • WHO-Empfehlungen • Produkt-Informationen



# Wirkungen von Griseofulvin in vitro und in vivo

## Action of griseofulvin in vitro and in vivo

M. FLORACK, Th. FRONZEK, H. RIETH, Düsseldorf \*) Hamburg \*\*)

### Zusammenfassung

Die Wirkung von Griseofulvin bei Dermatophyten-Infektionen des Menschen hängt einerseits von individuellen Faktoren des Patienten ab, z. B. von der Resorptionsgeschwindigkeit, vom Transport in Lymph- und Blutbahn sowie von der Ablagerung im keratinisierten Gewebe, andererseits von Wirkungen des Griseofulvins auf die Pilzzelle, die in vitro feststellbar sind.

Mikromorphologisch am auffälligsten sind der Curling-Effekt und Zellwandrupturen. Vegetatives und fruktifizierendes Myzel sind unterschiedlich griseofulvinempfindlich.

Die Dosierung bei den verschiedenen Dermatophyten-Infektionen wird diskutiert.

### Summary

The action of griseofulvin in human dermatophyte infections depends both on the individual parameters of the patient (e.g. rate of absorption, transport in the lymph and blood vessels as well as storage in keratinized tissue) and on the effects exerted by griseofulvin on the fungal cells which can be demonstrated in vitro.

The Curling effect and rupture of the cell walls are the most striking micromorphological features. Vegetative and fruiting mycelia display different sensitivities towards griseofulvin.

The dosages used for various dermatophyte infections are discussed.

### Aktueller Anlaß

In jüngster Zeit ist wieder die Frage aufgetaucht, ob durch prinzipielle Erhöhung der Tagesdosis in jedem Einzelfalle eine Verbesserung der Heilungsaussichten erreicht werden kann.

Zur Beurteilung und Beantwortung dieser Frage sind die Erfahrungen von großem Wert, die bei der Behandlung der verschiedenen Dermatophyten-Infektionen gemacht wurden. Griseofulvin wird

seit nunmehr 25 Jahren weltweit eingesetzt. Die Erfahrungen sind in zahlreichen Publikationen niedergelegt, beginnend mit der ersten Mitteilung durch Gustav RIEHL in der historischen Sitzung der Österreichischen Dermatologischen Gesellschaft am 27. November 1958 in Wien. Zur Erinnerung an dieses Ereignis, das die Griseofulvin-Ära einleitete, wurde der „Gustav-Riehl-Preis“ gestiftet und inzwischen sechsmal verliehen:

1975 Prof. W. MEINHOF, Aachen

1976 Dr. A. A. BOTTER, Haarlem

1977 Prof. O. MALE, Wien

1978 OMR Dr. H. WEITGASSER, Graz

1981 Priv.-Doz. Dr. Helge HAUCK, Erlangen

1983 Prof. M. A. ABDALLAH, Cairo

\*) Dr. M. Florack, Univ.-Hautklinik Düsseldorf, Moorenstr. 5, D-4000 Düsseldorf

\*\*) Dd. Th. Fronzek und Prof. Dr. Dr. h. c. H. Rieth, Univ.-Hautklinik Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, D-2000 Hamburg 20

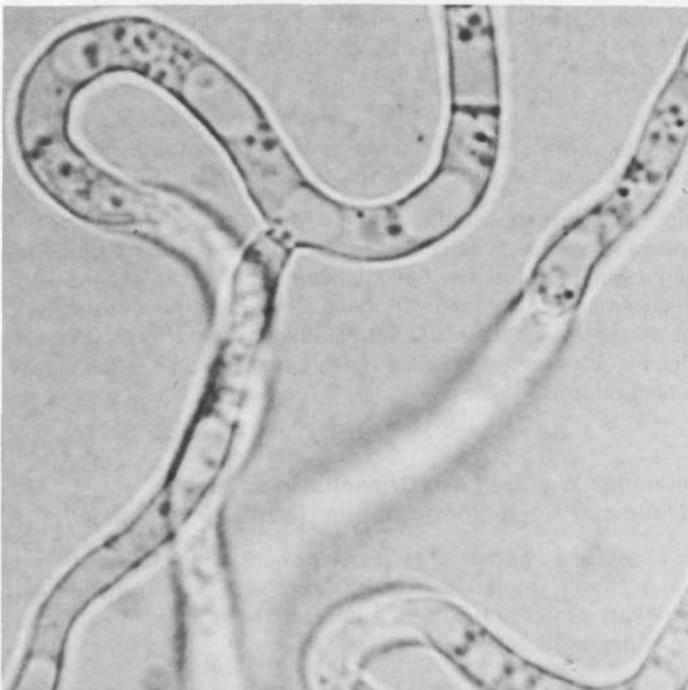


Abb. 1: Wellung der Hyphen („curling effect“) von *Microsporum gypseum* durch 1 mcg/ml Griseofulvin im Nährboden

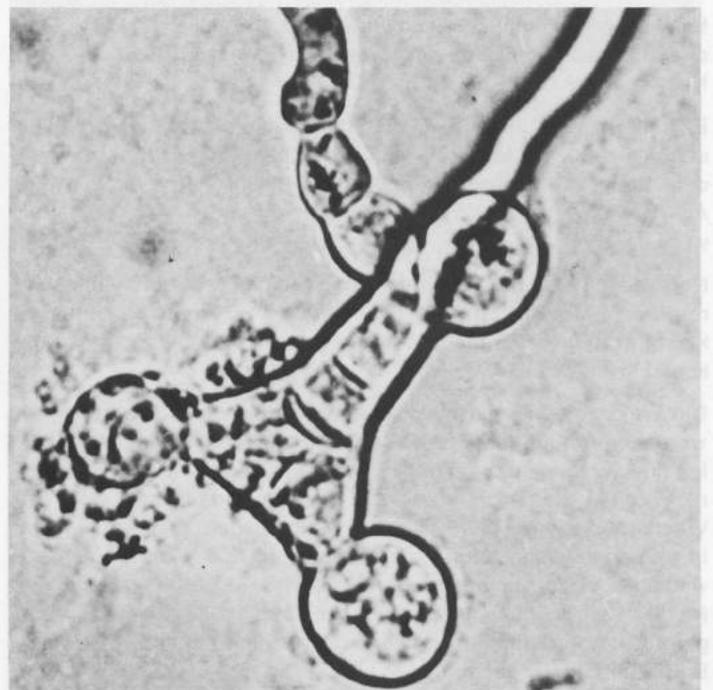


Abb. 2: Zerplatzende Keimkugel einer dreieckigen Makrokonidie von *Keratinomyces ajerjoi* durch 50 mcg/ml Griseofulvin im Nährboden

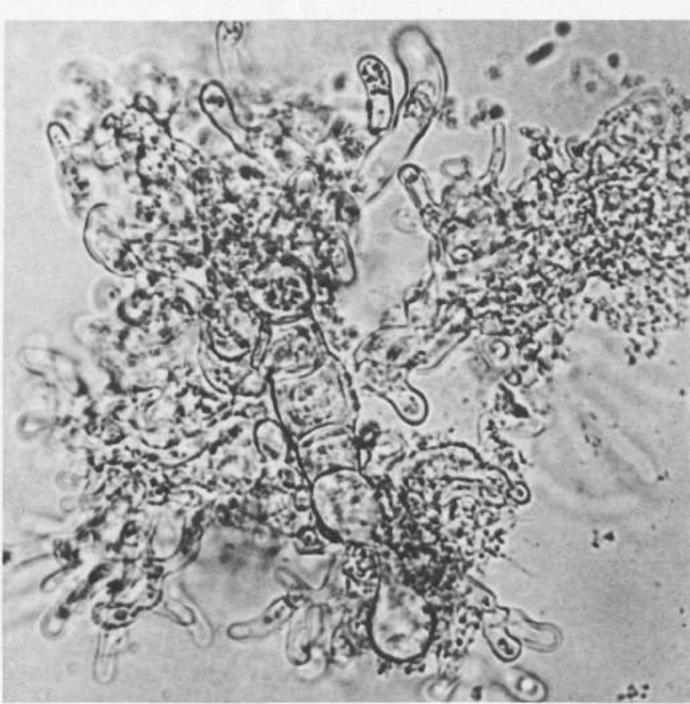


Abb. 3: Zellwandrupturen der Keimhyphen von *Microsporum gypseum* durch Griseofulvin in einer Konzentration von 20 mcg/ml im Nährboden



Abb. 4: Bizarre Verformung der aus Makorkonidien herauswachsenden Keimhyphen von *Microsporum gypseum* durch 10 mcg/ml Griseofulvin im Nährboden

### Der Curling-Effekt

Ausgangspunkt für die gesamte Griseofulvinforschung war die Beobachtung, daß ein von *Penicillium janczewskii* gebildetes Stoffwechselprodukt imstande war, bei dem Grauschimmel der Zwiebeln (*Botrytis allii*) eine Wellung der Hyphen hervorzurufen, den sogenannten Curling-Effekt (Abb. 1). Dies war 1946.

Bei höheren Konzentrationen verursacht dieser Stoff deutliche Schäden an der Zellwand mit Platzen von Keimkugeln (Abb. 2).

Bei weiteren Untersuchungen ergab sich, daß schon 1939 der gleiche Stoff aus *Penicillium griseofulvum* isoliert worden war und den Namen Griseofulvin erhielt.

Es dauerte aber bis 1958, ehe die therapeutische Wirkung des Griseofulvins bei der Meerschweinchen-Trichophytie in Lissabon auf dem Kongreß der Internationalen Gesellschaft für Humane und Animale Mykologie von GENTLES der Öffentlichkeit vorgestellt wurde.

Nun setzten allenthalben intensive Forschungen ein, um aufzuklären, wieso ein Stoff, der die Pilze in den im Gewebe erreichbaren Konzentrationen gar nicht tötet, dennoch die Abheilung einer Mykose bewirkt.

Die Wirkungsweise ist einzigartig unter allen bisher bekannt gewordenen Antibiotika: Unter der Einwirkung des Griseofulvins wellen und schlängeln und kräuseln und locken sich die Pilzfäden, einige Zellen platzen, immer neue Seitenzweige bilden sich. Die Wachstumsenergie des Pilzes wird fehlgesteuert. Während der Pilz in Schlangenlinien langsamer vorankommt als beim Geradeauswachsen, dringt er langsamer in die Tiefe des Nagels oder des Haares vor, als diese herauswachsen. Der Pilz, der noch nicht abgetötet ist, wird allmählich herausgeschoben. Ähnlich verläuft die Entpilzung bei Hauptschuppen.

Schließlich blieben nur die Mykosen der Haut, Haare und Nägel durch Dermatophyten als Indikation übrig. Dies war aber gerade

bei den oft chronisch verlaufenden Pilzkrankungen des behaarten Kopfes und der Nägel ein anfangs nur sehr ungläubig aufgenommener Fortschritt, dann aber bald schon eine wahre Sensation: Zum ersten Mal konnten Trichophytie und Mikrosporie von innen heraus behandelt werden. Die „Therapia magna sterilisans“ schien Wirklichkeit zu werden.

### Dosisabhängige In-vitro-Wirkungen

Zahlreiche Dermatophyten zeigen bei einer Konzentration von 1 mcg/ml Griseofulvin im Nährboden den Curling-Effekt. Ein solcher Pilz ist demzufolge als griseofulvinempfindlich zu bezeichnen.

Erhöht man die Konzentration um das Zehn- bis Hundertfache, dann treten andere Erscheinungen auf: Es kommt zu Zellwandrupturen (Abb. 3). Das Zellplasma tritt aus, die Zelle „läuft aus“.

Nicht geplatze Zellen erleiden eine Stimulierung im Hinblick auf üppige Ausbildung von seitlichen Verzweigungen und bizarre Verformungen mit grotesker Ballonbildung (Abb. 4). Die Seitenzweige wachsen und drehen und verformen sich, wirre Knäuel entstehen, die teilweise zerplatzen. Bei Betrachtung im Zeitrafferfilm sieht es aus, als wenn einzelne Zellen durch Explosion oder Granateneinschlag zerstört würden.

### Dilemma: Was ist beim Griseofulvin unter „Minimaler Hemmkonzentration“ (MHK) zu verstehen?

Im allgemeinen wird darunter diejenige minimale Konzentration einer Substanz verstanden, die imstande ist, das Wachstum des Testkeimes total zu hemmen. Auf festem Nährboden in Petrischalen lautet der Befund dann „kein Wachstum“.

So getestet wären zahlreiche Dermatophytenstämme griseofulvinresistent; denn bei diesen Stämmen gelingt es nicht, das Wachstum durch Griseofulvin total zu hemmen, nicht einmal mit hohen

Griseofulvinkonzentrationen im Nährboden. Da Griseofulvin nur in geringem Maße wasserlöslich ist, fallen die Griseofulvinkristalle als Trübung des Nährbodens auf, der hohe Wasseranteile besitzt.

Um die Löslichkeit zu verbessern und Griseofulvin auch im wäßrigen Nährboden in Lösung zu halten, wurde und wird Dimethylformamid (DMF) verwendet. Nun schien das Problem gelöst, bis sich herausstellte, daß dieses Lösungsmittel für sich schon ähnliche Schäden an den Dermatophyten verursachte wie Griseofulvin. 5–10% DMF im Nährboden führt zu totaler Hemmung der Pilze, auch ohne Griseofulvin.

Nur DMF-Zusätze unter 1% bleiben ohne deutliche Hemmwirkung auf die Dermatophyten; damit wird aber nicht erreicht, daß soviel Griseofulvin in Lösung bleibt, wie erforderlich ist, um eine totale Wachstumshemmung zu bewirken.

Dies ist von erheblicher praktischer Bedeutung; denn alle diese Stämme, die bei hoher Griseofulvinkonzentration noch wachsen, müßten als griseofulvinresistent bezeichnet werden. Tatsache ist jedoch, daß Mykosen, die durch hochempfindliche Stämme verursacht waren, selbst bei erhöhter Griseofulvindosierung nicht abheilten, während andere Mykosen gut abheilten, obwohl die Erreger als nur schwach griseofulvinempfindlich bewertet wurden. Der Empfindlichkeitsgrad ist also kein Anhaltspunkt für die Griseofulvindosis, die erforderlich ist, um eine Mykose zur Abheilung zu bringen.

Prüft man nun den Curling-Effekt, dann stellt sich heraus, daß alle Dermatophyten ihn schon bei sehr geringen Griseofulvindosen aufweisen. Bei weiterer Reduzierung der Griseofulvinkonzentration kommt natürlich der Augenblick, an dem unklar ist, ob es sich um eine natürlich Krümmung der Hyphen handelt oder schon um den Curling-Effekt. Für die Praxis ist eine solche Prüfung nicht geeignet.

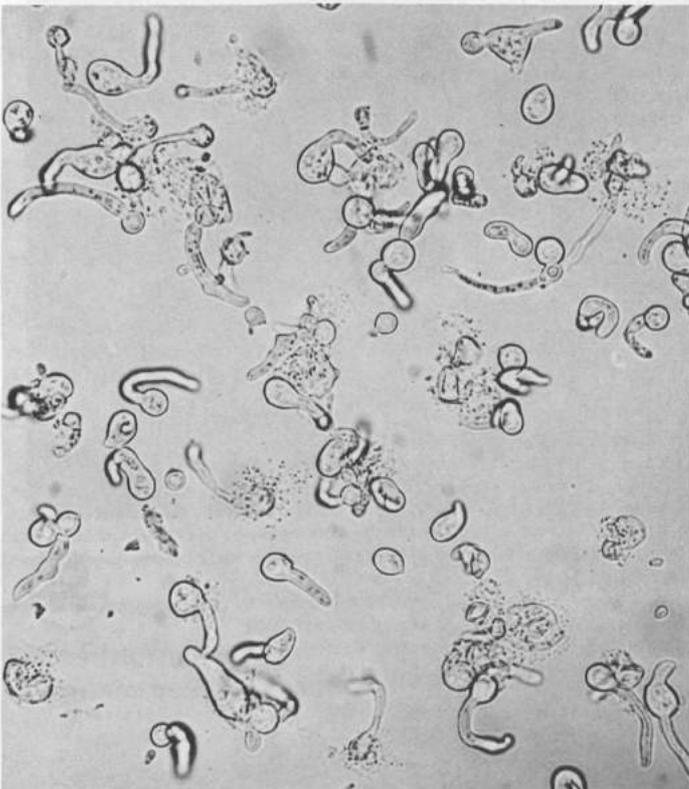


Abb. 5: Auskeimende Mikrokonidien von *Trichophyton rubrum*, zum Teil geplatzt durch 20 mcg/ml Griseofulvin im Nährboden

### Wirkung auf die Sporekeimung

Unter 20 mcg/ml Griseofulvin im Nährboden keimen die Mikrokonidien von *Trichophyton rubrum* gut aus (Abb. 5), aber ein Teil der Keimhyphen platzt, das Zellplasma tritt aus, diese Zellen gehen zugrunde. Über den Wirkungsmechanismus ist soviel bekannt, daß das Griseofulvin in den Mitosezyklus eingreift. Der Spindelapparat wird geschädigt. Griseofulvin wird an ein Protein der Mikrotubuli in der Zelle gebunden. Die antimitotische Wirkung entspricht jedoch nicht der des Colchicins. Von Bedeutung ist, daß im Verlauf der Schädigung mehrkernige Zellen entstehen, die ihren Teil zum abnormen Wachstumsverhalten beitragen.

### Unterschiedlich empfindlich: Vegetatives und fruktifizierendes Myzel

Eine Erklärung für einige Therapieversager kann in folgendem begründet sein: Nur das vegetative Myzel, das dem Pilz zur Ernährung dient, zeigt den Curling-Effekt. Das fruktifizierende Luftmyzel wächst nicht gewellt, sondern gerade, auch wenn es sich noch im Nährboden befindet (Abb. 6). Man hat den Eindruck, daß es zielstrebig aus dem Nährboden herauswächst, während das vegetative Myzel sich krümmt und in Kurven wächst.

Die unterschiedliche Determinierung einer Zelle – ob vegetativ oder fruktifizierend – entscheidet darüber, ob die Zelle auf Griseofulvin anspricht oder nicht. Es ist durchaus möglich, daß auch in vivo eine unterschiedliche Determinierung der Zellen stattfindet. Zellen dieser Art sind dann temporär griseofulvinunempfindlich. Sie nehmen aber Griseofulvin in sich auf, wie experimentell nachgewiesen wurde. Verzweigen sie sich und entsteht daraus wieder vegetatives Myzel, dann weist dieses wiederum den Curling-Effekt auf.



Abb. 6: Unterschiedliche Wirkung von Griseofulvin (6 mcg/ml) auf vegetatives und fruktifizierendes Myzel von *Trichophyton mentagrophytes*

### Schlußfolgerungen für die Praxis

Man muß davon ausgehen, daß alle Dermatophyten griseofulvinempfindlich sind. Wichtig ist also nur der Nachweis, daß ein Dermatophyt der Erreger der sichtbaren Krankheitserscheinungen ist. Eine Resistenzbestimmung dieser als Dermatophyten sicher erkannten Pilze ist ohne Bedeutung für die Therapie.

Griseofulvinagar kann aber in einer Konzentration von 1:2000 eingesetzt werden, um zwischen Dermatophyten und Schimmelpilzen zu unterscheiden. Da in einigen Fällen die Differenzierung zwischen Dermatophyten und Schimmelpilzen außerordentliche Schwierigkeiten bereitet, ist dieses Hilfsmittel manchmal diagnostisch wegweisend.

### Therapeutische Hinweise

Maßgebend für Dosierung und Behandlungsdauer bei den verschiedenen Dermatophyten-Infektionen ist der Erfahrungsschatz, der sich in 25 Jahren ergeben hat.

Zu Anfang der Griseofulvinära hatte man systematisch getestet, wie hoch die Tagesdosis sein durfte, ohne daß nennenswerte Nebenwirkungen auftraten; man ging bis 5,0 g des damals zur Verfügung stehenden Griseofulvins, verringerte aber die Dosis wieder allmählich, bis sie sich, bei einem Körpergewicht von 70 kg, bei 1,0 g täglich einpendelte.

Dieser Tagesdosis entsprechen 500 mg des später eingeführten und noch heute erhältlichen mikrofeinen Griseofulvins. Kinder erhalten, vom Körpergewicht abhängig, 10 – 12 mg/kg.

Die Tagesdosis von 500 mg wird als Standarddosis bezeichnet und im allgemeinen in Form einer einzigen Tablette\*) eingenommen. In vielen Fällen von Trichophytie, Mikrosporie und Epidermophytie reicht diese Tagesdosis zur Abheilung. Die Behandlungsdauer hängt vom Heilungsverlauf ab. Dieser wiederum ist unterschiedlich, je nachdem es sich um eine Mykose des behaarten Kopfes, des Bartbereiches, der lanugobehaarten oder der glatten Haut oder der Nägel handelt.

Bei höherem Körpergewicht als 70 kg kann die Dosis auf das Anderthalbfache bis Zweifache erhöht werden. Eine Erhöhung der Tagesdosis kann auch versucht werden, wenn die Abheilung nicht recht in Gang kommt, wenn also z. B. bei Nagelmykosen nach etwa 4 – 6 Wochen die Nägel nicht deutlich sichtbar gesund nachwachsen oder wenn bei Mikrosporie die nachwachsenden Teile des Haares noch fluoreszieren. Die Entscheidung muß von Fall zu Fall getroffen werden.

Aus Erfahrungen an größerem Krankengut läßt sich ersehen, daß in 50 – 90% der Fälle tatsächlicher Dermatophyten-Infektionen mit der Standarddosis von 500 mg täglich die Heilung erzielt werden kann. Selbst bei Nagelmykosen liegt die Heilungsquote mit dieser Dosis bei 50% oder höher.

In Fällen, die schwer auf die Behandlung ansprechen, läßt sich mit der anderthalbfachen bis zweifachen Dosis in einem Teil, der vorher nicht abzuschätzen ist, doch noch Heilung erzielen. Der dann noch verbleibende Rest, der auch bei höherer Dosis nicht abheilt, bedarf einer sorgfältigen Analyse, um abzuklären, welche Faktoren das Therapieversagen begründen.

\*) Fulcin® S 500  
Hersteller: ICI Pharma, Plankstadt

### Therapieresistenz ist nicht gleichbedeutend mit Erregerresistenz

Im Praxisalltag wird allzuleicht – in Anlehnung an die in der Bakteriologie bekannt gewordenen resistenten Keime – oder resistent gewordenen Keime – vermutet, daß bei Therapieversagen vielleicht die Dermatophyten resistent geworden seien. Von mykologischen Laboratorien wird dann „Pilzkultur mit Resistenzbestimmung“ erwartet oder verlangt. Sehr häufig sind es dann gar keine Dermatophyten, sondern Hefen oder Schimmelpilze oder gar Bakterien; bei all diesen Keimen erübrigt sich eine Resistenzbestimmung, sie sind ohnehin nicht griseofulvinempfindlich.

### Diät

Um die Griseofulvinwirkung in vivo zu erhöhen, kann versucht werden, die Resorption zu verbessern. Zu wenig Fett in der Nahrung kann für eine zu geringe Resorption mitverantwortlich sein. Auch Faserstoffe, die darmreinigend wirken, können die Resorption verbessern. Bei einem mikrosporiekranken Affen heilte die Mykose erst ab, als er besonders reichlich mit Gemüse gefüttert wurde.

### Schonend behandeln

Abschließend sei betont: Um Belastungen des Organismus, insbesondere der Leber, zu vermeiden, sollte nicht eine maximale Dosierung gewählt werden und auch keine Unterdosierung, sondern *soviel wie nötig – und sowenig wie möglich*.

### Literatur

- GRISHAM, Linda M., Leslie WILSON, K. G. BENSCH: Antimitotic action of griseofulvin does not involve disruption of microtubules. *Nature* **244** (5414), 294 – 296 (1973)
- GULL, K., A. P. J. TRINCI: The effect of griseofulvin on the mitotic cycle of the fungus *Basidiobolus ranarum*. *J. gen. Microbiol.* **71** (3), XI (1972)
- GULL, K., A. P. J. TRINCI: Griseofulvin inhibits fungal mitosis. *Nature* **244** (5414), 292 – 294 (1973)
- RIETH, G.: Griseofulvin als peroral wirksames Antimykotikum. *Kongr. Ber. Wiss. Sitzg.* 27. November 1958; *Wien. klin. Wschr.* **71**, 28 (1959)
- RIETH, H.: In vitro-Beobachtungen zur Wirkungsweise des Griseofulvins. In: Götz, H. und Rieth, H.: Die Griseofulvinbehandlung der Dermatomykosen. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1962
- RIETH, H.: Die Antimykotika. In: Jadassohn, J.: *Hb. Haut- u. Geschl. krkh. Erg. werk* V/1. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1962
- RIETH, H.: Dermatophyten. Pathologische Wuchsformen durch Griseofulvin bei *Mikrosporum canis* (Zeitrafferfilm). *Encyclopaedia cinematographica*. Göttingen 1962
- RIETH, H.: Unterschiedliches Auftreten und Ausbleiben des griseofulvinbedingten Curling-Effektes bei vegetativem und fruktifizierendem Myzel von *Trichophyton mentagrophytes*. *Mykosen* **12**(6), 385 – 386 (1969)
- RIETH, H., K. ITO: Griseofulvin, ein oral wirksames antimykotisches Antibiotikum. *Bull. Res. Inst. Osaka (Japan)* **22**, 21 – 26 (1959)
- RIETH, H., M. REFAI: Curling-Effekt und Griseofulvinempfindlichkeit. In: *Pilzdiagnostik-Mykosen-Therapie* Bd. II, Folge 30, 4. Aufl. Notabene medici, Melsungen: Notamed-Verlag 1983
- RIETH, H., M. REFAI, H. BEGEMANN: Zur Wirkungsweise des Griseofulvins. In: *Pilzdiagnostik-Mykosen-Therapie* Bd. III, Folge 73. Notabene medici, Melsungen: Notamed-Verlag 1982
- ROOBOL, Anne, K. GULL, Ch. I. POGSON: Inhibition by griseofulvin of microtubule assembly in vitro. *FEBS Letters* **67** (67), 248 – 251 (1976)
- ROOBOL, Anne, K. GULL, Ch. I. POGSON: Evidence that griseofulvin binds to a microtubule associated protein. *FEBS Letters* **75** (1), 149 – 153 (1977)