

## Wirkung von Antiaminosäuren auf *Trichomonas vaginalis*

von

Chr. P. Christow\*

(eingegangen am 1. März, 1973)

**ABSTRACT:**  $\beta$  indolilacrylic acid in concentrations above 0.15 mg/ml and styrylacetic acid above 0.20 mg/ml inhibit reproduction of *Trichomonas vaginalis*. The inconsistent appearance of the round forms of trichomonads may indicate that they are primitive forms that have lost their biological significance in phylogenetic development.

In der Metabolitenforschung ist auf die Bedeutung der Aminosäuren als Bestandteile von Wuchsstoffen oder als deren Antagonisten hingewiesen worden. Diesen Ausführungen konnte bereits entnommen werden, dass verschiedene Eiweissbausteine zu den lebensnotwendigen Elementen der Mikroorganismen gehören.

Eingeleitet wurde dieses Teilgebiet der Metabolitenforschung durch die Beobachtung von ORLA-JENSEN und KUHN (5), dass Mikroorganismen zum optimalen Wachstum keine hochmolekularen Eiweisskörper fordern, sondern dass sie sich bei Anwesenheit eines Aminosäuregemisches eben so gut entwickeln, sofern geeignete Katalysatoren in Gestalt von Wuchsstoffen vitaminartiger Natur zugegeben sind. ORLA-JENSEN und KUHN (5), die ihre Versuche mit den anspruchsvollen Milchsäurebakterien durchführten, konnten ferner zeigen, dass das Bedürfnis nach Aminosäuren bei den einzelnen Arten recht grosse Schwankungen unterworfen ist und dass es Mikroorganismen gibt, die in dieser Beziehung sehr anspruchsvoll sind. Andererseits konnten FILDES und KNIGHT (4) schon recht früh den Beweis erbringen, dass sich gewisse aerobiotische Kulturen von Staphylokokken züchten lassen, die ihren ursprünglichen Aminosäurebedarf nach und nach einschränken, sich zur Synthese der Eiweissbausteine "erziehen" lassen und schliesslich mit Ammoniak als alleiniger Stickstoffquelle wachsen.

\* Bezirksklinik Plevn, Bulgarien. Gegenwärtige Adresse: Fachhochschule Hildesheim, 32 Hildesheim-Ochtersum, Konrad Adenauer Str. 9, Berlin.

Von besonderem Interesse ist der Antagonismus, der sich zwischen natürlichen Aminosäuren zeigt, und die als strukturähnliche Metaboliten, bzw. Antimetaboliten angesehen werden können. So ist z.B. eine konkurrierende Wirkung zwischen Glyzin und Alanin, Lysin und Arginin, Serin und Threonin bekannt. In weiteren hat FILDES (3) eine solche konkurrierende Wirkung zwischen Tryptophan und  $\beta$ -Indolilacrylsäure (strukturähnliche Verbindung) gefunden. Als typische Antagonisten des Tryptophans sind ausserdem die isotere  $\beta$ -Naphthylacrylsäure und die Styrylessigsäure anzusehen.

In der vorliegenden Arbeit haben wir versucht die Beziehungen zwischen Tryptophan-Antagonisten  $\beta$ -Indolilacrylsäure, Styrylessigsäure und *Trichomonas vaginalis* nachzuweisen.

Zur Analysierung der Beziehungen zwischen den Tryptophan-Antagonisten und Trichomonaden haben wir eine Methode angewendet, die nach unserer Erfahrung eine ausreichende Aussagekraft besitzt (CHRISTOW, 1 dort auch ausführliche Beschreibung der Methodik). Verwendet wurde ein flüssiger Nährmedium nach Feinberg und Whittington. Vom gesamten vorbereiteten Nährmedium wurden 100 ml für Kontrollröhrchen abgenommen und für jede Antimetaboliten-Konzentration 100 ml Medium mit der entsprechenden Substanzquantität (von 0,01 bis 6,0 mg/ml) versehen. Nach gründlicher Durchmischung verteilten wir die Lösung auf Röhrchen, die wir dann in den Brutschrank (37 C) stellten (etwa 30 min). Danach wurden ein Kontroll- sowie Versuchsröhrchen zur gleichen Zeit mit einer gut vermehrten Trichomonaskultur jedes Stammes beimpft und wieder bei 37 C bebrütet (24 Std). Von allen Röhrchen wurde schon nach 24 Std 1 Tropfen (0,01 ml) des Bodensatzes nach gründlicher Durchmischung entnommen und mikroskopisch (Deckglas, leichte Fixierung falls nötig, bei starker Vermehrung Zählkammer nach Metz) im Hellfeld bei stark abgeblendeten Kondensor untersucht. Die Protozoen wurden bei 250 facher Vergrößerung ausgezählt, Zellenzahl pro  $\text{cm}^3 =$

$$\frac{18.18}{a}$$

(100—); die durchschnittliche (von 20 Gesichtsfeldern) Zellzahl "a" wurde mit einem Umrechnungsfaktor multipliziert, der vom Durchmesser des Gesichtsfeldes "d" abhängig ist. Zur Kontrolle des mikroskopischen Ablesergebnisses wurden bei Hemmwirkung vom letzten positiven und ersten negativen Befund eine Subkultur angelegt. Die Ablesungen erfolgten einmal täglich bis zum Absterben der Versuchskultur.

## ERGEBNISSE

Die mit  $\beta$ -Indolilacrylsäure durchgeführten Experimente ergaben eine hemmende Wirkung als Funktion der Konzentrationsreihe. In Konzentrationen von 0,01 bis 0,10 mg/ml bewegt sich die Vermehrung noch im Rahmen der Kontrollkulturen. Im Bereich von 0,15 bis 6,0 mg/ml reduziert sich die Trichomonas-

Population stark. Schon bei Konzentrationen von 4,0 und 5,0 mg/ml wurden besondere morphologische Abrundungen bemerkbar (Abb. 1), die sich von den absterbenden Zellen wesentlich unterscheiden (Abb. 2). Die mit einer Membran umhüllten Gebilde erschienen unregelmässig. Die Kontrollkulturen waren gut gewachsen (Abb. 3). Die Bewertung der Zählwerte sind an der Tabelle 1 angebracht.

Die Ergebnisse mit Styrylessigsäure sind in der Tabelle 2 und Abb. 5 dargestellt. Ab Konzentration 0,20 mg/ml wurde eine Abschwächung der Trichomonadenvermehrung eindeutig.

In den Trichomonadenkulturen unter 5,0 mg/ml Zusatz von Styrylessigsäure wurden einzelnen Rundgebilden beobachtet, die sich ebenfalls von den absterbenden Trichomonaszellen unterscheiden (Abb. 4).

TABELLE 1

*Wachstum von Trichomonas vaginalis (Stamm Tolksdorf\*)  
unter Zusatz von  $\beta$ -Indolilacrylsäure*

Konzentration mg/ml	Tage																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
$\pm$	0,01	5	13	62	48	41	27	17	15	12	11	9	6	5	5	3	1	1
1-3	0,10	4	12	61	47	40	25	15	14	10	9	7	5	3	2	1	1	1
	0,15	3	10	54	47	41	20	12	10	9	7	5	4	3	1	1	1	—
	0,30	2	8	46	39	30	16	10	7	4	3	2	2	1	1	—	—	—
	0,80	2	6	12	8	6	3	2	2	1	1	1	1	—	—	—	—	—
	2,00	1	3	8	4	3	2	1	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—
	4,00	1	2	4	2	1	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	6,00	1	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontrolle	—	5	13	63	50	42	27	17	16	13	10	8	6	6	4	3	2	1

\* Die Zahlen geben die Durchschnittswerte der in den mikroskopischen Gesichtsfeldern ausgezählten Trichomonaden in einer Mengeneinheit an. Die Zahlen der Versuchsserien bringen einen quantitativen Vergleich zu der zahlenmässig ausgewerteten Kontrolle. Die anderen Stämmen verhielten sich sehr ähnlich wie Stamm Tolksdorf, deswegen haben wir die Angaben nur für den Stamm Tolksdorf gebracht.

$\pm$  1-3 variations-statistische Streubreite aus 20 Feldern (1. und 2. Tag  $\pm$  1, 3. Tag  $\pm$  3, 4. und 5. Tag  $\pm$  2, 6-10 Tag  $\pm$  1).

## TABELLE 2

*Einfluss von Styrylessigsäure auf Trichomonas vaginalis*  
(Stamm Bergit \*)

Konzentration mg/ml	Tage																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17		
±	0,01	5	12	62	45	39	26	16	15	12	9	8	6	4	4	3	1	1	
1-3	0,20	4	10	55	39	37	24	14	13	10	9	5	3	2	1	1	1	—	
	0,60	4	9	50	36	21	17	12	10	7	6	3	2	1	1	1	—	—	
	0,80	4	7	46	32	17	14	10	8	5	4	2	2	1	1	—	—	—	
	1,00	3	7	39	28	12	11	8	8	5	4	2	1	1	1	—	—	—	
	3,00	3	6	30	20	8	6	4	4	2	2	1	1	1	—	—	—	—	
	4,00	1	3	9	6	4	3	2	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	6,00	1	1	2	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontrolle	—	5	12	64	47	41	30	19	16	13	10	8	7	5	4	3	2	1	

\* Die Zahlen bedeuten die Anzahl von Trichomonaszellen in einer Mengeneinheit. Die Stämme Nussbaum, Alexander Tolksdorf, Schuster, Wenzel und Regina verhielten sich sehr ähnlich wie Stamm Bergit, deswegen haben wir die Angaben nur für den Stamm Bergit gebracht.

## DISKUSSION

In unseren früheren Untersuchungen mit Tryptophan wuchsen die Trichomonaden im Bereich der Kontrollkulturen; erst bei hohen Konzentrationen war eine schwachhemmende Beeinflussung bemerkbar (1); eine weitgehend günstigere Wirkung auf die Population von *Trichomonas vaginalis* zeigte die Glutaminsäure.

In unseren Untersuchungen hat sich der biologische Antagonismus in einer bestimmten Form manifestiert. Die Tryptophan-Antagonisten erschienen als ungünstige Faktoren für die Trichomonadenentwicklung; eine Hemmwirkung auf die Trichomonaden war eindeutig nachgewiesen. Die Möglichkeit, dass bestimmte Aminosäure-Antagonisten für manche Mikroorganismen bzw. Protozoen als Hemmfaktor wirken, wäre von besonderem Interesse. Die Dialektik von Metaboliten und Antimetaboliten konnte in den widersprüchlichen Beziehungen von Makro- und Mikroorganismus eine entscheidende Rolle erhalten.

Unsere bisherigen Ergebnisse mit Trichomonaden spornen den Fortgang dieser Untersuchungen auch mit anderen uns bekannten Aminosäuren und ihre Antagonisten an.

## ZUSAMMENFASSUNG

$\beta$ -Indolilacrylsäure hat in unseren Experimenten einen hemmenden Einfluss (ab 0,15 mg/ml) auf die Vermehrung von *Trichomonas vaginalis*.

Styrylessigsäure hemmte ab 0,20 mg/ml das Trichomonadenwachstum. Da die Trichomonasrindformen in unseren Experimenten unregelmässig erschienen, handelt es sich vielleicht um Rudimente früherer biologischen Stadien, die in der phylogenetischen Entwicklung ihren biologischen Sinn verloren haben.

## RESUMEN

El ácido  $\beta$  indolilacrilico en concentraciones superiores a 0.15 mg/ml ejerce una acción inhibitoria sobre la reproducción de *Trichomonas vaginalis*; el estirilacético a partir de una concentración de 0.20 mg/ml.

Dado que en nuestras experiencias las formas redondas de tricomonas aparecen inconstantemente, es posible que se trate de formas primitivas que han perdido su sentido biológico en el desarrollo filogenético.

## LITERATUR

1. CHRISTOW, P. C.  
1972. Experimente über den Einfluss von Metaboliten und Antimetaboliten am Modell *Trichomonas vaginalis*. I. Mitteilung. *Zbl. Bakt., 1 Abt. Orig.* 217: 381-402.
2. CHRISTOW, P. C.  
1972. X. Mitteilung. Versuch mit Aminosäuren. *Zbl. Bakt., 1 Abt., Orig.*, 219: 390-393.
3. FILDES, P.  
1941. Tryptophan antagonists. *Brit. J. Exp. Pathol.*, 22: 293-301.
4. FILDES, P., & J. KNIGHT  
1936. National approach to research in chemotherapy. *Brit. J. Exp. Pathol.*, 17: 481-490.
5. ORLA-JENSEN, J., & H. KUHN  
1936. Milchsäurebakterien. *Kongel. Danske Vidensk. Selsk. Naturvidensk. Math. Afb.*, 6: 9-19.

- Abb. 1. Trichomonasrundgebilde in Kultur von  $\beta$ -Indolilacrylsäure, Stamm Regina, native Mikroskopie, Vergr. 600 fach.
- Abb. 2. Absterbende Trichomonaszelle, Stamm Regina, native Mikroskopie, Vergr. 500 fach.
- Abb. 3. Kontrollkultur von *Trichomonas vaginalis*, Stamm Regina, native Mikroskopie, Verg. 350 fach.
- abb. 4. Besondere Rundformen in Kultur mit Styrylessigsäure, Stamm Wenzel, Verg. 600 fach, native Mikroskopie.

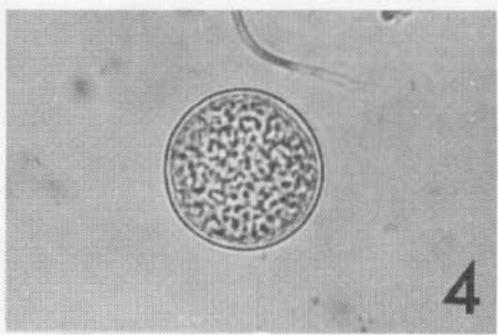
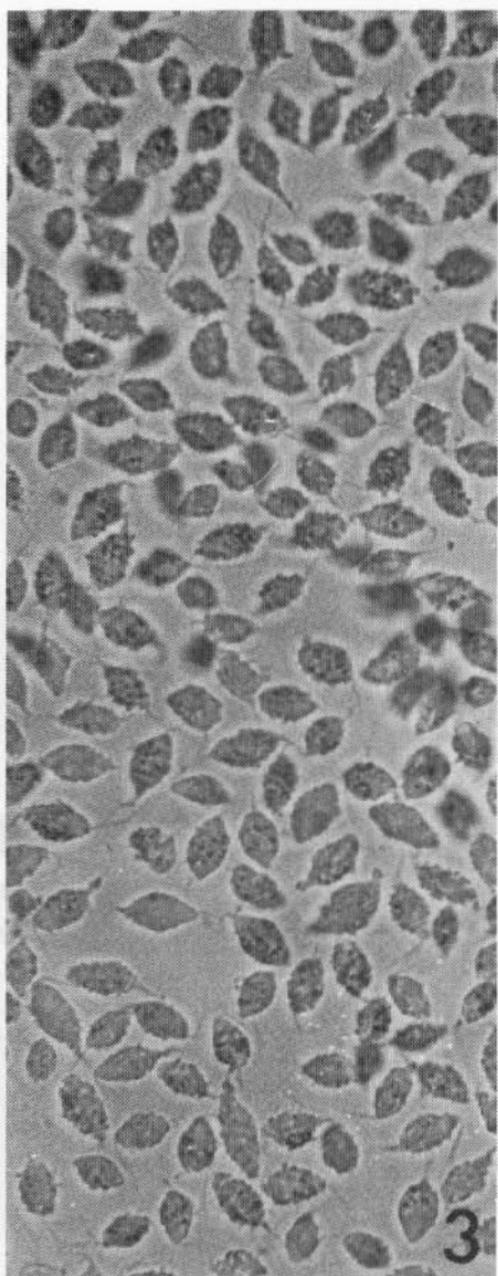
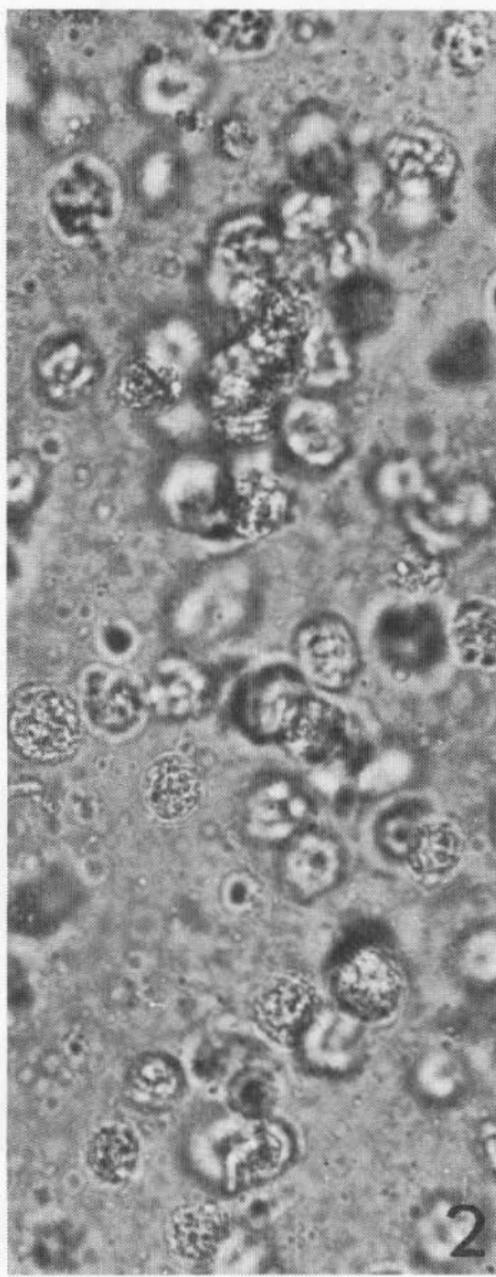
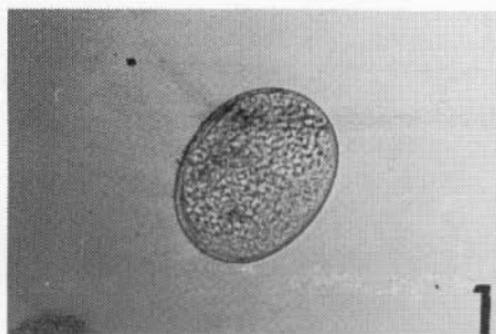


Abb. 5. Wirkung von Styrylessigsäure auf *Trichomonas vaginalis*.

