

**KERNFORSCHUNGSZENTRUM  
KARLSRUHE**

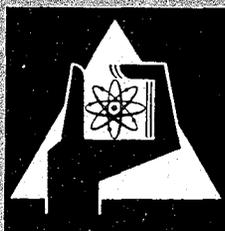
Juni 1966

KFK 436

Institut für Strahlenbiologie

Tierexperimentelle Untersuchungen  
zur Therapie der akuten Eisenvergiftung

Georg Pfister



GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.  
KARLSRUHE



KERNFORSCHUNGSZENTRUM KARLSRUHE

Juni 1966

KFK 436

Institut für Strahlenbiologie

Tierexperimentelle Untersuchungen  
zur Therapie der akuten Eisenvergiftung

Georg Pfister

Gesellschaft für Kernforschung m.b.H. Karlsruhe

## Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Material und Methodik	6
3. Ergebnisse	7
4. Diskussion	12
5. Zusammenfassung	22
6. Schrifttum	24
7. Tabellen und Abbildungen	29

## 1. Einleitung

Die akute Eisenvergiftung bei Erwachsenen ist extrem selten, und bisher sind in der Literatur nur vereinzelte Fälle beschrieben worden (23, 24, 40, 52). Im Vergleich hierzu ist die Häufigkeit der Eisenvergiftung bei Kleinkindern (zumindest in bestimmten Ländern wie in den USA und Großbritannien) wesentlich größer. Dies ist darauf zurückzuführen, daß therapeutische Eisenpräparate, bei denen es sich in der Regel um Ferrosulfat in Form von Dragees handelt, in zunehmendem Maße Verwendung finden und (dies ist der entscheidende Punkt) unverschlossen und für Kinder erreichbar aufbewahrt werden. Obwohl bereits 1947 von Forbes (38) und danach auch von anderen Autoren (1, 12, 26) auf diesen Sachverhalt hingewiesen wurde, ist die Zahl der allein in der Literatur beschriebenen und meistens letalen Vergiftungsfälle erschreckend hoch geblieben (2, 6, 7, 11, 14-19, 22, 27-30, 33, 34, 39, 43, 46, 48-50, 53, 55, 61, 67, 71-75, 77-81, 83, 87, 89, 93-95).

Aus begreiflichen Gründen lassen sich keine genauen Angaben über die Höhe der letal wirksamen Eisendosen machen. Hoppe et al. (47) geben auf Grund eines kritischen Literaturstudiums als mittlere letale Dosis für Kleinkinder einen Wert von etwa  $6,5 \text{ mMol Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$  an. Der klinische Verlauf und die Symptomatologie der akuten Eisenintoxikation weist einen ausgesprochen biphasischen Charakter auf. Bei der ersten Phase, die sich in der Regel etwa eine Stunde nach Einnahme des Eisenpräparates entwickelt, handelt es sich um ein im wesentlichen gastrointestinales Syndrom, das durch abdominale Schmerzen, Erbrechen blutiger Massen und blutige Durchfälle gekennzeichnet ist. Bei etwa 25 % der Fälle tritt der Tod bereits in der ersten Phase auf. Die Symptome der zweiten Phase stellen sich nach etwa 20 - 24 Stunden ein; charakteristisch sind Blutdruckabfall, Kollaps, Krämpfe und unter Umständen Symptome einer toxischen Hepatitis.

Der klinische Verlauf und die Symptome der Intoxikation legen die Annahme nahe, daß das Eisen zweifach angreift: Während den Symptomen der ersten Phase die lokale Schädigung des Magen-Darm-Trakts zugeordnet werden kann, ist die zweite Phase im wesentlichen auf die toxischen Wirkungen des resorbierten Eisens zurückzuführen. Diese Annahme konnte in vollem Umfang sowohl durch eingehendere klinische Untersuchungen als auch durch die Autopsiebefunde bestätigt werden.

Was die Behandlung der akuten Eisenvergiftung betrifft, so soll hier auf die rein symptomatischen und palliativen Maßnahmen nicht eingegangen werden. Die kausale Therapie der Vergiftung steht nach dem oben Gesagten im wesentlichen vor zwei Aufgaben: Erstens muß versucht werden, das noch im Magen-Darm-Trakt befindliche Eisen möglichst vollständig zu entfernen, zumindest aber in eine nicht resorbierbare bzw. untoxische Form zu überführen. Ist bereits Eisen in größeren Mengen resorbiert worden, so verfolgen die therapeutischen Maßnahmen das Ziel, die Ausscheidung des Eisens aus dem Körper zu intensivieren. Bezüglich der Ausscheidungsintensivierung wurden im einzelnen Austauschtransfusionen und/oder Hämodialyse vorgeschlagen (2, 19, 28, 49); die klinischen Erfolge blieben jedoch unbefriedigend. Eine entscheidende Änderung trat erst ein, als die therapeutische Wirksamkeit bestimmter Chelatbildner geprüft wurde. Während die mit 2,3-Dimercaptopropanol (BAL) erzielten Resultate noch nicht voll überzeugen konnten (11,78), gaben andere Substanzen, und zwar die zur Gruppe der synthetischen Polyaminopolycarbonsäuren gehörenden Chelatbildner - die Äthylendiamintetraessigsäure (ÄDTA) und insbesondere die Diäthylentriaminpentaessigsäure (DTPA) - eindeutig bessere Resultate (7, 12, 18, 22, 43, 49, 73, 75, 79). Ein weiterer Fortschritt konnte in den letzten Jahren erzielt werden (6, 17, 46, 60, 74, 95), indem aus Aktinomyceten ein Sideramin isoliert werden konnte (10), dessen eisenfreie Form, das Desferrioxamin B (Desferal, DF), mit einer Stabilitätskonstante von  $10^{30,6}$  eine exzeptionell hohe und praktisch selektive Affinität zu Fe(III) aufweist (3).

Die oben angeführten Pharmaka wurden sowohl parenteral als auch oral verabfolgt; im letzteren Fall mit dem Ziel, das noch im Darm-Trakt befindliche Eisen zu binden. Es sei noch erwähnt, daß als orales Antidot auch Bicarbonat und Phosphate vorgeschlagen wurden (80).

Da es sich um ein relativ kleines und vor allem kasuistisches Beobachtungsgut handelt, sind exakte Aussagen über den Vorteil dieses oder jenes Chelatbildners natürlich kaum möglich. Daß aber grundsätzlich die kausale Behandlung, d.h. die Verwendung von Chelatbildnern, der mehr symptomatisch ausgerichteten Therapie eindeutig überlegen ist, kann einer kürzlich von Whitten et al. (95) mitgeteilten Statistik entnommen werden: Von insgesamt 50 schweren Eisenvergiftungsfällen wurden 14 mit Chelatbildnern (ÄDTA, DTPA oder DF) behandelt; es überlebten 12. Hingegen starben 12 von 26 rein symptomatisch behandelten Vergiftungsfällen, und bei 10 überhaupt nicht behandelten Fällen betrug die Mortalität 100 %.

Obwohl sich eingehende tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der Eisenvergiftung bereits in der älteren Literatur (vgl. hierzu Starkenstein et al. (85)) finden, ist es nicht überraschend, daß die erhebliche Zunahme der Eisenvergiftung bei Kleinkindern in den letzten Jahrzehnten Anlaß war, sich erneut in tierexperimentellen Studien mit speziellen Fragen der Eisenvergiftung und insbesondere den therapeutischen Möglichkeiten zu befassen.

Was zunächst die Höhe der letal wirksamen Fe(II)-Dosen bei der Maus und peroraler Verabreichung von Ferrosulfat betrifft, so wird übereinstimmend von mehreren Autoren (8, 13, 16, 31, 41, 47, 51, 64, 68-70, 92, 95) für die LD 50 % ein Wert von 4 - 6 mMol Fe·kg<sup>-1</sup> angegeben. Bei parenteraler Verabreichung liegt die LD 50 % um etwa eine Zehnerpotenz niedriger. Abweichend von dem oben angeführten Wert sind einerseits die Angaben von Somers (82), der für oral verabfolgtes Ferrosulfat die LD 50 % zu 15 mMol·kg<sup>-1</sup> bestimmte; auffallend niedrig auf der anderen Seite ist der von Eickholt

und White (32) zu  $0,75 \text{ mMol} \cdot \text{kg}^{-1}$  ermittelte LD 50 %-Wert. Was diesen stark divergierenden Werten ursächlich zugrunde liegt, kann nicht ohne weiteres entschieden werden. Möglicherweise spielen hierbei das Volumen (vgl. S. 8) sowie das Alter der applizierten Lösungen und andere Faktoren (z.B. Futterentzug vor Applikation des Eisens) eine gewisse Rolle.

Mit den experimentellen Grundlagen der Therapie der Eisenvergiftung befaßten sich bis jetzt nur wenige tierexperimentelle Arbeiten. Moeschlin und Schnider (60) verabreichten Meerschweinchen oral 1,2 g Ferrosulfat pro kg und anschließend zu verschiedenen Zeitpunkten, ebenfalls oral, DF. Während die Letalität bei nicht behandelten Tieren 70 % betrug, war die Überlebensrate nach Verabreichung von DF eindeutig erhöht, und zwar am stärksten (mit einer Überlebensrate von 100 %), wenn DF unmittelbar im Anschluß an die Applikation von Ferrosulfat oder nach 30 Minuten verabreicht wurde. Erfolgte dagegen die Verabreichung zu späteren Zeitpunkten, war die Wirksamkeit eindeutig schwächer und statistisch nicht mehr gesichert. Die Schutzwirksamkeit des DF bestätigte sich auch bei der höheren und 100 %ig letalen Ferrosulfat-Dosis von  $1,8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  in vollem Umfang.

Tripod (90) verglich in einer ähnlichen Versuchsanordnung die Schutzwirksamkeit von DF und ÄDTA bei Mäusen. ÄDTA erwies sich als absolut unwirksam. Im Falle der DF waren die Resultate prinzipiell die gleichen wie in den Versuchen von Moeschlin und Schnider, indem sich DF am wirksamsten erwies, wenn es unmittelbar im Anschluß an Ferrosulfat appliziert wurde; die Gabe zu späteren Zeitpunkten zeigte eine geringere und statistisch nicht mehr gesicherte Wirksamkeit. Wurden Ferrosulfat und DF in äquimolaren Mengen bei  $37^{\circ} \text{ C}$  für die Dauer von 2 Stunden inkubiert und anschließend oral verabreicht, so unterschied sich die Letalitätsrate merkwürdigerweise nicht von der Kontrollgruppe. Eine Erklärung für diesen an sich unerwarteten Effekt wird von Tripod nicht gegeben. Auch bei subcutaner Verabreichung von DF wurde ein ausgesprochener Schutzeffekt beobachtet, jedoch

nur dann, wenn es innerhalb von 30 - 120 Minuten nach Verabfolgung von Ferrosulfat injiziert wurde; bei sofortiger Verabfolgung von DF war es unwirksam.

Nigrović und Catsch (63) dehnten die Untersuchungen an Mäusen auf eine größere Zahl von Chelatbildnern aus und bestätigten dabei zunächst die Ergebnisse von Moeschlin und Schnider sowie Tripod bezüglich der Wirksamkeit des DF und der Unwirksamkeit von ÄDTA. Darüber hinaus konnten die Autoren jedoch auch zeigen, daß die Wirksamkeit des DF von der DTPA sowie anderer verwandten synthetischen Polyaminopolycarbonsäuren erreicht wird. Im Gegensatz zu Moeschlin und Schnider sowie Tripod erwiesen sich alle Chelatbildner bei oraler Verabreichung nach 30 Minuten als praktisch unwirksam, dagegen konnte eine eindeutige Schutzwirkung bei nachträglicher (30 und 60 Minuten) subcutaner Verabreichung der Chelatbildner nachgewiesen werden. Die Schutzwirksamkeit aller oral verabfolgter Chelatbildner wurde eindeutig übertroffen durch die von Hexacyanoferrat(II); es ist bekannt, daß das Ferricyanoferrat(II) ein extrem niedriges Löslichkeitsprodukt von  $10^{-40}$  (88) aufweist.

Figuroa und McCator (35) untersuchten an einer relativ kleinen Zahl von Hunden ÄDTA und DTPA bei parenteraler Verabreichung und fanden einen eindeutigen Schutzeffekt. Whitten et al. (95) konnten bei Hunden, denen oral die 100 %ig letale Dosis von  $3,8 \text{ mMol} \cdot \text{kg}^{-1}$  verabfolgt wurde, durch kombinierte, d.h. orale und parenterale Verabreichung von DF einen (statistisch allerdings nicht gesicherten) Effekt erzielen, indem 3 von insgesamt 9 untersuchten Hunden überlebten.

Die vorliegende Untersuchung führte die orientierenden Arbeiten von Nigrović und Catsch (63) fort. Sie stellte sich die Aufgabe, die Wirksamkeit von DTPA, DF und Hexacyanoferrat exakt zu bestimmen sowie sich mit der Abhängigkeit ihrer Effektivität von Dosis und dem Zeitpunkt ihrer Verabreichung zu befassen.

## 2. Material und Methodik

Bei den Toxizitätsversuchen dienten als Versuchstiere NMRI/Han-Mäuse-Männchen mit einem mittleren Körpergewicht von 29,6 g. In den Versuchen, in denen wir den Einfluß von Hexacyanoferrat (CF) auf die enterale Resorption von Radioeisen untersuchten, verwendeten wir 6 Monate alte Ratten-Männchen des Heiligenberg-Inzucht-Stammes.

Mäuse und Ratten erhielten Standard-Pressfutter der Fa. Altromin, Lippe, und Wasser ad libitum. 16 Stunden vor Beginn der Versuche wurde den Tieren das Futter entzogen.

In den Toxizitätsversuchen wurden alle Substanzen nach Körpergewicht dosiert verabreicht, und zwar in der Regel je 1 ml der betreffenden Lösung pro 100 g Körpergewicht; in einzelnen Fällen mußte jedoch aus Löslichkeitsgründen ein etwas größeres Volumen appliziert werden. Die orale Verabfolgung erfolgte mit Hilfe einer Magensonde, die parenterale Injektion intraperitoneal.

$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  wurde ausnahmslos peroral als wässrige Lösung verabfolgt. Um die Oxydation des Fe(II) zu Fe(III) möglichst gering zu halten, stellten wir die Lösung für je 5 Tiere jeweils unmittelbar vor Verabfolgung her. Anstelle des üblicheren Kaliumcyanoferrat(II) verwendeten wir  $\text{Na}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$  (CF), da nach Nigrović und Catsch größere Dosen des ersteren toxisch sind, was auf eine Hyperkaliaemie zurückzuführen ist. Das Desferal (DF) (Ciba AG, Basel) lag als Methansulfonat vor. Im Falle der DTPA verwendeten wir das Calciumchelat  $\text{Na}_3[\text{Ca-DTPA}] \cdot 4 \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$  (J.R. Geigy AG, Basel).

Bei den Untersuchungen über die enterale Resorption von Radioeisen verwendeten wir trägerfreies  $^{59}\text{FeCl}_3$  (The Radiochemical Center, Amsterdam). Für die Bestimmung des  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalts im gesamten Körper der Ratte bzw. Maus verwendeten wir einen ausreichend abgeschirmten Plastik-Szintillator

mit einem Durchmesser von 17,8 cm und einer Tiefe von 12,7 cm.

Die Dosis-Effekt-Kurven wurden mit Hilfe der Probit-Analyse (36) analysiert. Beim Vergleich von Letalitätsraten in verschiedenen Versuchsgruppen prüften wir die statistische Signifikanz der Unterschiede, falls die Zahl der Tiere in einer Gruppe  $\leq 5$  war, mit Hilfe der sog. exakten Auswertung nach Fisher (37), andernfalls mit Hilfe der  $\chi^2$ -Analyse (mit Korrektur auf Kontinuität nach Yates).

### 3. Ergebnisse

In der ersten Versuchsreihe wurden verschiedene Dosen von  $\text{FeSO}_4$  Mäusen peroral und sofort anschließend, ebenfalls peroral, DTPA, DF bzw. CF in jeweils äquimolaren Mengen verabfolgt. Zahl der getesteten Mäuse und die Letalitätsraten sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Es lagen zwei verschiedene Kontrollgruppen vor: Tiere, denen nur  $\text{FeSO}_4$  verabfolgt wurde, während die Tiere der zweiten Kontrollgruppe anstelle der Antidote eine 0,9 %ige NaCl-Lösung erhielten.

Der Exitus tritt bei der Mehrzahl der Tiere - in Übereinstimmung mit den in der Einleitung zitierten tierexperimentellen Befunden - innerhalb der ersten 24 Stunden ein. Da eine genaue Registrierung der individuellen Überlebenszeiten aus technischen Gründen nicht möglich war, begnügten wir uns mit einer relativ groben Einteilung (Tabelle 2). In beiden Kontrollgruppen nimmt die mittlere Überlebenszeit mit wachsender Letalität offensichtlich ab. Der Unterschied, d.h. die bei den mit 0,9 % NaCl behandelten Tieren im Letalitätsbereich von 40 - 80 % kürzere Überlebenszeit, ist mit  $\chi^2_{(2)}=9,80$  ( $P = 0,01$ ) gesichert. Gesichert ist ebenfalls ( $\chi^2_{(2)}= 18,65$ ;  $P < 0,001$ ) die bei den mit DF bzw. DTPA behandelten Tieren (Letalität  $\geq 90$  %) im Vergleich zu den beiden Kontrollen größere Überlebenszeit.

Die Probit-Analyse der Dosis-Effekt-Kurven zeigte zunächst, wie den in Tabelle 3 zusammengestellten Ergebnissen der  $\chi^2$ -Analyse zu entnehmen ist, daß systematische Abweichungen von der Linearität nicht vorliegen und daß die Abhängigkeit der Letalitätsraten von der Dosis für alle 5 Versuchsreihen befriedigend durch parallele Kurven wiedergegeben werden kann. Die entsprechende Darstellung findet sich in Abb. 1, und Tabelle 4 gibt die Zusammenstellung der berechneten LD 50 %-Werte mit Mutungsgrenzen für  $P = 0,05$ . Zur Abschätzung der sog. relativen Wirksamkeit der einzelnen Antidote berechneten wir Dosis-Reduktions-Faktoren, die als das Verhältnis gleichwirksamer Fe-Dosen definiert sind. Da entsprechend den in Abb. 1, Tabelle 1 und 4 wiedergegebenen Ergebnissen ein deutlicher Unterschied zwischen beiden Kontrollgruppen besteht, indem die LD 50 % bei nachträglicher Verabfolgung von physiologischer NaCl-Lösung eindeutig größer ist, können die Dosis-Reduktions-Faktoren sowohl auf die eine als auch auf die andere Kontrollgruppe bezogen werden; dies ist in Tabelle 5 geschehen. Unabhängig davon, auf welche der Kontrollgruppen die Wirksamkeit der Antidote bezogen wird, ist eindeutig zu erkennen, daß alle drei Verbindungen wirksam sind. Allerdings ist die Effektivität der DTPA der des DF eindeutig und statistisch gesichert überlegen. Die weitaus stärkste Wirksamkeit jedoch kommt zweifelsohne dem CF zu.

Auffallend ist, daß die Letalität bei den Tieren, die im Anschluß an die Applikation von Ferrosulfat physiologische NaCl-Lösung erhielten, eindeutig und statistisch gesichert höher ist als in der eigentlichen Kontrollgruppe. Es ist äußerst unwahrscheinlich, daß die physiologische NaCl-Lösung als solche für die Potenzierung der Fe-Toxizität verantwortlich ist, es wäre jedoch durchaus denkbar, daß das größere Volumen der Lösung eine ursächliche Rolle spielt. Zur Klärung dieser Frage wurde ein spezieller Versuch durchgeführt, in dem  $6 \text{ mM Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$ , in 1 bzw. 2 ml  $\text{H}_2\text{O}$  gelöst, appliziert wurden; zwei weitere Gruppen erhielten noch zusätzlich physiologische NaCl-Lösung. Wie Tabelle 6 zeigt, ist in

allen Versuchsgruppen, in denen das insgesamt applizierte Volumen 2 ml beträgt, gesichert höher ( $\chi^2_{(1)} = 4,68$ ;  $P = 0,035$ ).

In einer weiteren Versuchsserie prüften wir die Effektivität der Antidote in Abhängigkeit vom Zeitpunkt ihrer oralen Applikation. Die Substanzen wurden unmittelbar im Anschluß an die Verabfolgung von Ferrosulfat ( $6 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), nach 30 bzw. 60 Minuten appliziert. In einer anderen Versuchsgruppe wurden Ferrosulfat und die einzelnen Antidote vor der Verabreichung gemischt und dann appliziert. Tabelle 7 zeigt, daß bei später Verabfolgung nur in einem Fall (DTPA nach 30 Minuten) ein statistisch gesicherter Schutzeffekt auftritt, während in allen übrigen Gruppen eine eindeutige Senkung der Letalitätsraten nicht festzustellen war. Die Zusammenstellung der Überlebenszeiten in Tabelle 8 zeigt jedoch insofern eine gewisse Wirksamkeit der Antidote, als bei der überwiegenden Mehrzahl der Exitus später als in der Kontrolle auftritt ( $\chi^2_{(4)} = 22,98$ ;  $P < 0,001$ ). Im Hinblick auf die in der Einleitung erwähnten Befunde von Tripod (90) ist hervorzuheben, daß die Applikation von DTPA bzw. DF und Ferrosulfat die gleichen Letalitätsraten zeigt wie bei getrennter Verabreichung der Antidote.

Tabelle 9 und 10 geben die Ergebnisse zweier Versuchsreihen wieder, in denen zwei verschiedene Ferrosulfat-Dosen ( $5$  bzw.  $9 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) oral, die Chelatbildner jedoch intraperitoneal appliziert wurden, und zwar unmittelbar im Anschluß an die Applikation von Ferrosulfat, nach 30 bzw. 60 Minuten. Die Dosierung der Chelatbildner wurde variiert: im Falle der DTPA von  $0,0125$  bis maximal  $6,40 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$  und im Falle des DF von  $0,0125$  bis  $2 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Die Kontrollgruppen erhielten unmittelbar nach Ferrosulfat intraperitoneal  $0,9 \text{ NaCl}$ -Lösung.

Bei frühzeitiger Applikation von DTPA (Tabelle 9) wird eine gesicherte Schutzwirkung erst ab einer Dosierung von  $0,8 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$  beobachtet. Auffallend ist, daß bei  $9 \text{ mM} \text{ Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$  und höheren Dosen von DTPA ( $\geq 3,2 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) die Letalität der Kontrollgruppe wieder erreicht wird. Bei der niedrigeren

Fe-Dosis von  $5 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$  zeigte DTPA im Dosisbereich von 0,2 bis  $3,2 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$  eine eindeutige Wirkung, und der Anstieg der Letalität tritt erst bei  $6,4 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$  auf. Wird DTPA nach 30 Minuten appliziert, so erreicht zwar der Unterschied zwischen den Letalitätsraten in der Kontrolle auf der einen Seite und den DTPA-Gruppen ( $0,8$  bis  $2 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) auf der anderen Seite keine volle statistische Signifikanz, doch kann wohl - im Hinblick auf die gleichsinnigen Verhältnisse bei frühzeitiger Applikation - eine Schutzwirkung als tatsächlich vorhanden angenommen werden. Die Injektion von DTPA im wirksamen Dosisbereich nach 60 Minuten ist jedoch offensichtlich wirkungslos.

Auch DF (Tabelle 10) ist nur in einem beschränkten Dosisbereich von  $0,2 - 0,8 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$  und nur bei frühzeitiger Verabreichung effektiv. Auffallend ist wiederum, daß bei der höchsten DF-Dosis von  $2 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$  und bei Verabreichung von  $9 \text{ mM Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$  die Letalitätsrate der Kontrolle wieder erreicht und bei  $5 \text{ mM Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$  sogar eindeutig und statistisch hoch gesichert überschritten wird.

Während die Verteilung der Überlebenszeiten im Falle der DTPA keine wesentlichen Unterschiede gegenüber der Kontrolle zeigt, kommt bei der höchsten DF-Dosis ( $2 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) die überwiegende Mehrzahl der Tiere bereits innerhalb der ersten 2 Stunden nach Applikation ad exitum.

Während in den bisher besprochenen Versuchen die Chelatbildner nur einmalig appliziert wurden, injizierten wir DTPA in dem in Tabelle 11 wiedergegebenen Versuch in zwei, zeitlich durch 30 Minuten getrennten Fraktionen. Es ist unverkennbar, daß die zweifache Applikation von DTPA eine größere Schutzwirkung ausübt als eine einmalige Gabe, und zwar auch bei Berücksichtigung der Gesamtdosis.

Da ein zweifacher Wirkungsmechanismus von Ferrosulfat anzunehmen ist (vgl. Einleitung), d.h. einmal die lokale Schädigung der Darmukosa und zum zweiten die Toxizität des

resorbierten Eisens, ließ eine kombinierte Behandlung, d.h. die orale Verabreichung von CF und die parenterale Verabfolgung eines Chelatbildners, eine höhere Schutzwirksamkeit erwarten. Die entsprechende Versuchsanordnung sowie die Ergebnisse sind der Tabelle 12 zu entnehmen. Die statistische Auswertung der Resultate (vgl. Tabelle 13) nach der von Armitage (5) entwickelten Methode zeigt, daß sowohl die Wirksamkeit von CF als auch von DTPA volle statistische Signifikanz erreicht; auf der anderen Seite liegt keine statistisch gesicherte Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren (im Sinne einer synergistischen bzw. antagonistischen Wirkung) vor. Dies bedeutet, daß die Wirksamkeit der beiden Antidote in Übereinstimmung mit der Erwartung sich voll additiv verhält.

Während im Falle der DTPA und des DF bereits experimentelle Daten über ihren Einfluß auf die enterale Resorption von Eisen vorliegen (Spreng, Nigrović und Bohne (84)), fehlen entsprechende Daten für CF. Wir führten deshalb folgenden Versuch an Ratten mit einem mittleren Körpergewicht von 319 g durch: 1,10 bzw. 100  $\mu\text{M}$  Ferrosulfat, das mit trägerfreiem  $^{59}\text{Fe}$  markiert wurde, applizierten wir oral und unmittelbar im Anschluß daran ebenfalls oral die jeweils äquimolare Menge von CF. Die Kontrollgruppe erhielt anstatt des CF physiologische NaCl-Lösung. Die Radioaktivität im Gesamtkörper wurde unmittelbar nach Applikation und dann nach 7 Tagen bestimmt. Tabelle 14 zeigt, daß CF bei allen 3 Dosen die enterale Resorption von Eisen stark herabsetzt. Sowohl die Resorptionshemmung als auch die Dosisabhängigkeit der Resorptionsrate erreichen, wie der Varianzanalyse in Tabelle 15 zu entnehmen ist, volle statistische Signifikanz erreichen. Statistisch signifikant ist auch die Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren; dies ist dadurch bedingt, daß CF im Falle der 10  $\mu\text{M}$ -Dosis die enterale Resorption um 83 % senkt, während die Resorptionshemmung bei den anderen Dosen mit nur 66 - 72 % schwächer ausgeprägt ist.

Wurden dagegen je 100  $\mu\text{M}$   $^{59}\text{FeSO}_4$  und CF vor der oralen Applikation gemischt, so lag die Aktivität des Körpers unterhalb der Nachweiseffektivität der Meßanordnung (Versuch an 6 Ratten).

In einem weiteren, wiederum an Mäusen durchgeführten Versuch bestimmten wir die Resorption von mit  $^{59}\text{Fe}$  markiertem  $\text{FeSO}_4$  nach oraler Verabfolgung von  $9 \text{ mM Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$ . 14 von insgesamt 15 Tieren kamen innerhalb von 6 Std. ad exitum. Die Aktivität wurde einerseits im exenterierten Tier und im Urin, andererseits im Magen-Darm-Trakt und in den Faeces bestimmt. Abb. 2 gibt die Abhängigkeit der Fe-Resorption (d.h. % der Aktivität im exenterierten Tier und im Urin) von der Überlebenszeit wieder. Sie betrug im Mittel 7,3 %; eine gesicherte Korelation zwischen Überlebenszeit und Resorptionshöhe liegt nicht vor.

Abschließend schien es zweckmäßig, sich einen Eindruck über die Toxizität der von uns untersuchten Verbindungen bei intraperitonealer Verabreichung zu verschaffen. Diese Versuche wurden an Mäusen durchgeführt und die LD 50 % mit Hilfe der Probit-Analyse berechnet (Tabelle 16). Abb. 3 zeigt die entsprechenden Dosis-Effekt-Kurven. Der Exitus erfolgte ausnahmslos innerhalb der ersten 2 Tage und bei der überwiegenden Zahl der Tiere bereits während der ersten Stunden nach Injektion.

#### 4. Diskussion

Die Schutzwirksamkeit oral verabreichter Chelatbildner sollte, wie in der Einleitung bereits ausgeführt wurde, im wesentlichen darauf zurückzuführen sein, daß sie das Eisen im Magen-Darm-Trakt chelieren und es dadurch in eine nicht-toxische Form überführen bzw. die Resorptionsrate herabsetzen. Unsere Versuche zeigten nun eindeutig, daß bei oraler Applikation DTPA eindeutig wirksamer als DF ist. Um diesen Unterschied in der Wirksamkeit der beiden Chelatbildner zu erklären, ist es notwendig, kurz auf die für die biologische

Wirksamkeit von Chelatbildnern grundsätzlich relevanten Faktoren einzugehen.

Die "effektive" Stabilitätskonstante (E) eines Chelatbildners bei der Bindung von Metallionen im physiologischen Milieu ist nach Catsch (21), Heller und Catsch (45) als das Verhältnis von chelierten zu freien Metallionen definiert und hängt neben anderen von der Dosis des Chelatbildners sowie von der Konkurrenz endogener Kationen (Calcium und Hydroxoniumionen in erster Linie) ab. Entscheidend ist vor allem die Stabilitätskonstante für das jeweils zur Diskussion stehende Metallion. Die Stabilitätskonstanten für Fe(II) und Fe(III) sind sowohl für DTPA (4, 91) als auch für DF (3) bestimmt.

Wir berechneten die effektiven Konstanten im Hinblick auf den unterschiedlichen pH im Magen- und Darmsaft für zwei verschiedene pH-Werte von 2 und 7 und gingen außerdem von einigen vereinfachenden Annahmen aus: Einmal, daß der Chelatbildner in starkem Überschuß zu Fe vorliegt, und zweitens, daß die Konzentration freier Ca-Ionen 0 ist. Die tatsächliche Ca-Konzentration des Magen- und Darmsafts ist zwar etwa  $10^{-3}$  molar, doch dürfte im Hinblick auf die Verdünnung durch die  $\text{FeSO}_4$ - und Chelatlösungen sowie wegen des Fehlens einer homeostatisch regulierten Ca-Konzentration im Magen- und Darmsaft die Annahme eines von 0 nicht wesentlich verschiedenen Wertes durchaus realistisch sein. Schließlich wurde die Bildung von Fe(III)-Hydroxyden bei pH 7 unberücksichtigt gelassen (vgl. hierzu Schubert (76)). Trotzdem dürften die in der Tabelle 17 angeführten Werte einen gewissen Eindruck über das Chelierungsvermögen von DTPA und DF in Abhängigkeit vom pH und der Oxydationsstufe des Eisens verschaffen. Sie zeigen zunächst, daß eine Chelierung von Fe(II) bei niedrigem pH, d.h. im Magen, in nennenswerterem Maße kaum stattfinden dürfte; dies trifft vor allem für DF zu. Was die Chelierung von Fe(III) bei pH 2 betrifft, so sollten DTPA und DF etwa gleich wirksam sein. Stärkere Unterschiede dagegen wären beim höheren pH-Wert von 7 zu erwarten, indem DTPA bei

der Chelierung von Fe(II) erheblich wirksamer als DF sein sollte, während im Falle von Fe(III) wiederum eine etwa gleich starke Wirksamkeit beider Chelatbildner zu erwarten wäre. Da jedoch nun DTPA im Experiment eindeutig wirksamer als DF war, muß gefolgert werden, daß ein nennenswerter Bruchteil des zugeführten Eisens im Magen-Darm-Trakt als Fe(II) vorliegt, d.h. nicht zu Fe(III) oxydiert wird.

Die im Vergleich zu DTPA und DF gesicherte höhere Wirksamkeit des CF ist insofern nicht unerwartet, als die Fe(II)- und Fe(III)-Cyanoferrate(II) auch bei extrem niedrigem pH praktisch unlöslich sind. Es sei hier nur erwähnt, daß das Löslichkeitsprodukt von Ferricyanoferrat(II) einen äußerst niedrigen Wert von  $10^{-40}$  aufweist (88). Da das molare Verhältnis von Ferri- bzw. Ferro Eisen zu Cyanoferrat in den entsprechenden Präzipitaten annähernd 1 beträgt, sollte an sich eine praktisch vollständige Präzipitation des Eisens, damit aber auch eine vollständige Unterdrückung der enteralen Fe-Resorption erwartet werden. Dieses ist jedoch nur dann der Fall, wenn  $\text{FeSO}_4$  und CF als Präzipitataufschwemmung appliziert wird; wird dagegen CF nachträglich gegeben, so ist die Hemmung der Resorption keineswegs vollständig. Offenbar ist bei getrennter Verabfolgung der  $\text{FeSO}_4$ - und CF-Lösungen ihre Durchmischung im Magen nicht vollständig, so daß ein nur beschränkter Bruchteil des Eisens durch CF präzipitiert wird. Es ist nicht klar, warum bei dem in Tabelle 14 und 15 wiedergegebenem Versuch eine Abhängigkeit der Resorptionshemmung von der Dosis vorliegt, indem die Hemmung bei der mittleren Dosis von  $10 \mu\text{M}$  stärker ausgeprägt ist. Trotz der statistischen Signifikanz dieses Befunds neigen wir dazu, ihn für zufällig bedingt zu halten.

Das Ausmaß der Resorptionshemmung, d.h. der Präzipitation, durch CF steht in befriedigender Übereinstimmung mit dem experimentell zu 2,8 - 4,1 ermittelten Dosis-Reduktions-Faktor.

Das Moment der unvollständigen Durchmischung sollte im Falle der Chelatbildner, deren Fe-Chelate wasserlöslich sind, keine, zumindest aber eine nur untergeordnete Rolle spielen. Es ist deshalb überraschend, daß die Dosis-Reduktions-Faktoren nach oraler Verabreichung von DF und DTPA mit Werten von 1,7 bzw. 2,7 relativ niedrig sind. Offenbar wird nur ein beschränkter Bruchteil des Eisens im Magen-Darm-Trakt cheliiert; die ursächlich hierfür in Betracht zu ziehenden Möglichkeiten wurden bereits im Zusammenhang mit der Berechnung der effektiven Stabilitätskonstanten diskutiert. Was die Beeinflussung der enteralen Fe-Resorption durch DTPA und DF betrifft, so fanden Spreng, Nigrović und Bohne (84), daß die Resorption, zumindest im höheren Dosisbereich, sich nur unwesentlich von der bei Kontrolltieren unterscheidet. Dies ist im wesentlichen dadurch bedingt, daß die Eisenchelate selbst zu einem gewissen Teil resorbiert werden.

Wir konnten in unseren Versuchen eine Schutzwirksamkeit der Antidote bei oraler Verabreichung nur dann beobachten, wenn sie gleichzeitig oder kurzfristig nach Ferrosulfat appliziert wurden. Demgegenüber beobachteten sowohl Tripod (90) als auch Moeschlin und Schnider (60) eine Senkung der Letalität auch bei Verabreichung von DF zu späteren Zeitpunkten. Was dieser Diskrepanz ursächlich zugrunde liegt, läßt sich nicht ohne weiteres entscheiden. Zunächst sollte nicht unerwähnt bleiben, daß die entsprechenden Daten von Tripod statistisch nicht signifikant sind. Während weiterhin in unserer Versuchsanordnung die Tiere 18 Stunden vor der Verabreichung von Ferrosulfat fasteten, ist in den Arbeiten von Tripod sowie Moeschlin und Schnider dies nicht explizit erwähnt. Wäre dies nicht der Fall, so könnte dies ohne weiteres zur Erklärung der bestehenden Diskrepanz herangezogen werden, da es durchaus plausibel ist, daß Ferrosulfat bei weitgehend leerem Magen-Darm-Trakt eine schnellere Passage aufweist und daß damit auch die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von irreversiblen Schädigungen der Mukosa sowie für eine schnelle Resorption des Eisens wesentlich größer sein müßte, als bei Verabreichung von Ferrosulfat an nicht gefastete Tiere. Daß

Fe(II) bereits im Magen resorbiert werden kann, zeigen die Untersuchungen von Hahn et al.(44).

Es wird allgemein angenommen und auch experimentell gut begründet, daß die Toxizität von oral verabreichtem Ferrosulfat sowohl durch die lokale Schädigung der Darmmukosa als auch durch die Toxizität des resorbierten Eisens bedingt ist. Demzufolge müßte die Dosis-Effekt-Kurve der Kontrollgruppe No. 1 in Abb. 1 als eine aus zwei voneinander unabhängigen Komponenten zusammengesetzte Kurve aufgefaßt werden, von denen die eine der lokalen Schädigung, die andere dagegen der Wirksamkeit des resorbierten Eisens entspricht. Es müßte auch weiterhin grundsätzlich möglich sein, die Dosis-Effekt-Kurve in diese beiden Komponenten zu zerlegen; dies setzt die Kenntnis von zwei Faktoren voraus: 1) die Toxizität des parenteral verabreichten Ferrosulfats und 2) der enteralen Resorptionsgröße.

Die LD 50 % für intraperitoneal verabreichtes Ferrosulfat wurde von uns zu 0,88 mM pro kg bestimmt. Die entsprechende Dosis-Effekt-Kurve ist, zusammen mit der aus Abb. 1 übernommenen Dosis-Effekt-Kurve für oral verabreichtes Ferrosulfat (Gruppe No. 1) in Abb. 3 wiedergegeben.

Was die enterale Resorption von Eisen betrifft, so zeigen die Untersuchungen von Spreng, Nigrović und Bohne (84) in Übereinstimmung mit früheren Autoren, daß die relative Resorption mit steigender Dosis des oral applizierten Eisens stark abnimmt; dies gilt allerdings nur für Dosen, die noch nicht toxisch sind. Bei Verabreichung toxischer Dosen hingegen, scheint die Resorption bei einem Wert von etwa 4 % konstant zu bleiben, wie die Untersuchungen von Spreng, Nigrović und Bohne (84) zeigen. Dies steht in Übereinstimmung mit den Daten von Beutler et al.(9), denen zufolge bei Mäusen nach Verabreichung toxisch wirksamer Dosen von Ferrosulfat etwa 5 % der applizierten Dosis resorbiert werden. Dieser Wert bezieht sich allerdings nur auf diejenigen Tiere, welche die Applikation der toxischen Eisenmenge überlebten. Wir

selbst konnten dagegen zeigen, daß bei den nicht überlebenden Tieren die Resorption im Mittel mit 7 % höher liegt. Die LD 50 % für intraperitoneal injiziertes Ferrosulfat ist jedoch mit  $0,88 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$  eindeutig höher als 7 % der oralen LD 50 %, d.h.  $0,46 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Anders ausgedrückt, würde diese Diskrepanz bedeuten, daß die Letalität nach oraler Verabreichung von Ferrosulfat in dem von uns untersuchten Dosisbereich ausschließlich auf die lokale Schädigung der Darmmukosa zurückzuführen ist und die Toxizität des resorbierten Eisens noch keine Rolle spielt. Im Widerspruch zu dieser Folgerung steht jedoch die Tatsache, daß parenteral verabfolgte Chelatbildner, deren Schutzwirkung sich nur auf das bereits resorbierte Eisen erstrecken sollte, durchaus in der Lage sind, die Letalitätsraten zu senken. Verschiedene Erklärungen können für diese Diskrepanz vorgeschlagen werden: 1) die Fe-Resorption aus dem Intraperitonealraum verläuft langsamer als die aus dem Darmtrakt, so daß in letzterem Fall die Wahrscheinlichkeit für das Erreichen einer toxischen Fe-Konzentration im Blut erhöht wäre. Nach Spreng et al. (84) ist die enterale Fe-Resorption bei fastenden Tieren nach 15 Min. praktisch abgeschlossen. Ob dies auch bei parenteraler Applikation der Fall ist, wurde bisher noch nicht untersucht. 2) Die Resorption aus dem Intraperitonealraum ist nicht vollständig. 3) Es besteht eine Potenzierung der Toxizität des resorbierten Eisens durch die gleichzeitige lokale Schädigung des Intestinaltrakts. Jede dieser Annahmen ist zwar experimentell nicht verifiziert, erscheint jedoch nicht unplausibel.

Sowohl bei oraler als auch parenteraler Verabreichung der Chelatbildner wird ein maximaler Schutzeffekt nur dann beobachtet, wenn sie kurzfristig nach Applikation von Ferrosulfat erfolgt. Dies unterstreicht erneut die bereits erwähnte schnelle Resorption des Eisens und ist außerdem die Folge davon, daß die lokale Schädigung der Mukosa irreversibler Art ist. Wenn auch somit die Chelatbildner bei frühzeitiger Injektion wirksamer sind, so darf daraus nicht ge-

geschlossen werden, daß die dabei beobachtete Senkung der Letalitätsrate dem maximal erreichbaren Schutzeffekt entspricht. Dies geht eindeutig daraus hervor, daß eine fraktionierte Verabreichung des Chelatbildners gesichert wirksamer als eine einmalige Dosis ist. Dies muß offensichtlich dadurch bedingt sein, daß die Ausscheidung der Chelatbildner aus dem Organismus relativ schnell erfolgt, so daß eine einmalige Gabe weniger Eisen zu chelieren vermag als fraktionierte Dosen.

Die in den Tabellen 9 und 10 wiedergegebenen Daten zeigten, daß in der Wirksamkeit zwischen intraperitoneal injiziertem DF und DTPA insofern kein Unterschied vorliegt, als der maximale Schutzeffekt, d.h. Senkung der Letalitätsrate, bei beiden Liganden praktisch identisch ist. Zu der gleichen Schlußfolgerung gelangten bereits auch früher Nigrović und Catsch (63). Berücksichtigt man jedoch die Abhängigkeit der Schutzwirksamkeit von der Dosis des Chelatbildners, so zeigt sich - insbesondere wenn man die Ergebnisse der besseren Übersichtlichkeit halber graphisch darstellt (Abb. 4) - ein deutlicher Unterschied in der Wirksamkeit beider Chelatbildner. Dieser kommt darin zum Ausdruck, daß der maximale Schutzeffekt bei beiden Fe-Dosen im Falle des DF bei einer niedrigeren Dosierung als im Falle der DTPA erreicht wird.

Die relative Potenz des DF, definiert als das Verhältnis gleichwirksamer Dosen DTPA/DF, beträgt somit  $\sim 5$ . Eine größere Wirksamkeit des DF war auch von vornherein zu erwarten, da die Stabilität des Fe(III)-Chelats - Eisen liegt im Blut bekanntlich als Fe(III) vor - um 3 Größenordnungen die der Fe(III)-DTPA übertrifft (3, 4).

Hervorzuheben ist die eigenartige Abhängigkeit der Schutzwirksamkeit von der Chelat-Dosierung, indem ein statistisch gesicherter Effekt bei beiden Liganden auf einen relativ kleinen Dosisbereich beschränkt bleibt. Daß eine niedrige Dosierung im Bereich von  $\leq 0,1 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$  keine Wirkung zeigt,

ist nicht unerwartet, da in diesem Fall ein stärkerer Unterschluß an Liganden im Vergleich zu der resorbierten Eisenmenge im Körper vorliegen sollte. Wie von Heller und Catsch (45) eingehend begründet wird, sollte grundsätzlich die Effektivität von Chelatbildnern bei der Dekorporation von Metallionen mit zunehmender Dosierung des Chelatbildners ebenfalls ansteigen. Dies ist jedoch paradoxerweise in unseren Versuchen nicht der Fall: die Letalitätsraten nehmen bei beiden Eisendosen sowie bei beiden Liganden mit zunehmender Dosierung zu und liegen sogar bei der höchsten DF-Dosis und bei Applikation von  $5 \text{ mM Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$  höher als bei unbehandelten Kontrolltieren. Dieser Befund muß aller Wahrscheinlichkeit nach darauf zurückgeführt werden, daß die verwendete DF-Dosis bereits als solche toxisch ist. Der in Tabelle 16 angegebene LD 50 %-Wert ist tatsächlich mit  $2,4 \text{ mM DF} \cdot \text{kg}^{-1}$  relativ niedrig und fällt in den Bereich der höchsten verwendeten Dosen. Ca-DTPA zeigt demgegenüber eine wesentlich geringere Toxizität, und ihre LD 50 % ist rund 5 mal höher als die des DF und höher als die im fraglichen Versuch (Tabelle 9) verwendeten Ca-DTPA-Dosen. Da außerdem die Dosis-Effekt-Kurve im Falle des Ca-DTPA sehr steil ist (vgl. Abb. 3), kann die fehlende Wirksamkeit der höchsten DTPA-Dosen in dem fraglichen Versuch nicht, wie im Falle des DF, auf die Eigentoxizität des Ca-Chelats zurückgeführt werden. Während nun die Toxizität des DF sich von der seines Fe-Chelats (d.h. Ferrioxamin) nicht wesentlich zu unterscheiden scheint - die LD 50 % bei subcutaner Injektion beträgt  $5,1 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$  (pers. Mitteilung der CIBA AG.) - ist dies interessanterweise bei der DTPA nicht der Fall: Die Toxizität des Fe(III)-DTPA ist statistisch gesichert 3,5 mal höher als die des Ca-Chelats. Dies steht in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen von Catsch (20) sowie Chiadot und Lafuma (25), die ebenfalls eine höhere Toxizität des Eisenchelats feststellten. Ähnliche Verhältnisse wurden von Nofre et al. (65) für Fe-ÄDTA beschrieben. Es sei hier erwähnt, daß die exzeptionell hohe Toxizität der Eisen-DTPA-Chelate nicht nur Fe(III) sondern auch Fe(II) betrifft (20).

Die Gründe für dieses auffallende Verhalten der Eisenchelate sind bisher noch nicht bekannt.

Macht man somit die naheliegende Annahme, daß die fehlende Wirksamkeit der höheren DTPA-Dosen ( $\geq 3,2 \text{ mM}\cdot\text{kg}$  bei  $9 \text{ mM Fe}\cdot\text{kg}^{-1}$  bzw.  $6,4 \text{ mM}\cdot\text{kg}^{-1}$  bei  $5 \text{ mM Fe}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) durch die Toxizität des sich im Blut bildenden Eisenchelats vorge-täuscht wird, so ergibt sich jedoch folgende Schwierigkeit: Wie die Darstellung in Abb. 3 zeigt, sind Fe(III)-DTPA-Dosen  $< 1 \text{ mM}\cdot\text{kg}^{-1}$  praktisch nicht toxisch. Da aber die enterale Eisenresorption nur 7 % ausmacht, sollte bei Verabreichung der höheren DTPA-Dosen im Blut die erforderliche toxische Konzentration von Fe-DTPA nicht erreicht werden. Allerdings ist zu berücksichtigen, daß parenteral verabfolgte DTPA und andere Liganden die Resorption von Fe(II) aus dem Magen-Darm-Trakt erhöhen; Spreng et al. (84) fanden beispielsweise, daß  $0,5 \text{ mM Ca-DTPA}\cdot\text{kg}^{-1}$  die enterale Resorption auf fast das Doppelte erhöht. Möglicherweise ist dieser Effekt bei höheren DTPA-Dosen noch ausgeprägter, so daß der Schwellenwert für die toxisch wirksame Fe(III)-DTPA-Konzentration im Blut überschritten würde.

Gehen wir nun zur Besprechung der Folgerungen über, die sich aus unseren experimentellen Ergebnissen für die Frage der praktischen Durchführung der Therapie in Fällen von akuter Eisenvergiftung beim Menschen ergeben. Unsere Versuche zeigten zunächst, daß ein optimaler Schutzeffekt durch eine kombinierte Therapie erreicht wird, d.h. durch orale Verabreichung eines Antidots und parenterale Verabreichung eines Chelatbildners.

Im Tierversuch erwies sich CF den Chelatbildnern als orales Antidot eindeutig überlegen, und es erhebt sich damit die Frage, ob Bedenken gegen die orale Verabreichung von CF beim Menschen vorgebracht werden könnten. Eine Zersetzung des Cyanoferrats selbst oder des Ferrocyanoferrats unter Freisetzung von HCN tritt nur unter Einwirkung sehr starker Säuren auf, d.h. unter Bedingungen, wie sie im Magen-Darm-Trakt sicherlich nicht gegeben sind. Das Cyanoferrat-

Anion wird aus dem Magen-Darm-Trakt in nur geringen Mengen resorbiert; Lipschitz (54) stellte bei Kaninchen eine Resorption von etwa 4 - 8 % der applizierten Dosis fest. Bei intravenöser Injektion wurden relativ hohe Dosen von Natriumcyanoferrat sowohl von Hunden (42) als auch von Mäusen (57) sehr gut vertragen. Weiterhin ist zu erwähnen, daß Natriumcyanoferrat auch beim Menschen ohne toxische Nebenwirkungen für Clearance-Untersuchungen wiederholt verwendet wurde (58, 86). Bezüglich toxischer Symptome nach oraler Einnahme von Ferrocyanid finden sich in der Literatur nur 2 Mitteilungen: Popper (66) berichtet über einen Fall, bei dem nach Einnahme von 30 g des technischen Salzes eine Verätzung des Rachenraums und eine gewisse Beeinträchtigung der Nierenfunktion beobachtet wurden. Miller und Winkler (58) beobachteten bei einem Patienten nach Injektion von 2,8 g Natriumcyanoferrat Albuminurie sowie granuliertem Zylinder im Urin. Was die Toxizität des Ferricyanoferrats betrifft, so kann a priori, und zwar im Hinblick auf die extreme Unlöslichkeit dieser Verbindung, mit toxischen Nebenwirkungen nicht gerechnet werden; die ausgezeichnete Verträglichkeit bestätigte sich auch in Untersuchungen an Ratten (62), Hunden und Menschen (56). Nach dem Gesagten sehen wir somit keine Bedenken, die orale Verabreichung von Natriumcyanoferrat als orales Antidot beim Menschen zu verwenden. Auf die orale Applikation von Chelatbildnern dagegen kann verzichtet werden, da ihre Wirksamkeit eindeutig niedriger als die des CF ist.

Was die Wahl des parenteral zu verabreichenden Chelatbildners betrifft, so erhebt sich die Frage nach dem therapeutischen Index. Die LD 50 % des DF bei Ratten wurde von uns zu  $2,39 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$  festgestellt. Die für den Menschen empfohlene DF-Dosierung beträgt nach Moeschlin (59) etwa  $20 \mu\text{M} \cdot \text{kg}^{-1}$ ; es ergibt sich somit ein Verhältnis von rund 120. Während nun das Eisenchelate des DF praktisch sich bezüglich seiner Toxizität von der des eisenfreien Liganden nicht unterscheidet, ist dies bei der DTPA nicht der Fall, indem die Fe(III)-DTPA eine gesichert höhere Toxizität als Ca-DTPA

aufweist. Es muß somit bei der Berechnung des therapeutischen Index nicht vom Ca-DTPA, sondern von der Fe(III)-DTPA ausgegangen werden. Die LD 50 % der Fe(III)-DTPA beträgt nach unseren Untersuchungen  $3,55 \text{ mM} \cdot \text{kg}^{-1}$ , und als therapeutische Dosis für Ca-DTPA wird beim Menschen von  $60 \mu\text{M} \cdot \text{kg}^{-1}$  empfohlen (21). Es ergibt sich somit ein Verhältnis von nur 60, d.h. ein 2 mal niedrigerer therapeutischer Index. Es wäre somit bei der Therapie der oralen Eisenvergiftung der DF vor der DTPA der Vorzug zu geben. Dies gilt umsomehr, als nach unseren Untersuchungen der optimale Schutzeffekt mit einer im Vergleich zu DTPA niedrigeren DF-Dosierung erreicht werden kann.

Was den Zeitpunkt der therapeutischen Gegenmaßnahmen sowie das Behandlungsschema betrifft, zeigten unsere Versuche eindeutig, daß ein umso größerer Schutzeffekt zu erwarten ist - dies gilt sowohl für die oral als auch die parenteral verabreichten Antidote - je früher mit der Behandlung begonnen wird und daß eine fraktionierte Verabfolgung der Chelatbildner wirksamer als eine einmalige Gabe ist. Es wäre somit eine langsame intravenöse Dauerinfusion von DF als Maßnahme der Wahl zu empfehlen.

### 5. Zusammenfassung

Es wurde der Einfluß verschiedener oraler Antidote (DF(Desferrioxamin), DTPA(Diäthylentriaminpentaessigsäure) und CF(Natriumcyanoferrat(II))) auf die Letalität bei Mäusen mit einer akuten oralen Eisenintoxikation ( $\text{FeSO}_4$ ) untersucht.

Die Schutzwirksamkeit nimmt in der Reihenfolge: DF < DTPA << CF zu; sie hängt im starken Maße vom Zeitpunkt der Antidotverabfolgung ab, indem sie am stärksten bei sehr früher Applikation ausgeprägt ist.

Eine Senkung der Letalitätsraten konnte auch durch parenterale Verabreichung von DF und DTPA erzielt werden, wobei ein maximaler Schutzeffekt bei früher und fraktionierter Verabreichung auftritt.

Die Wirksamkeit der parenteral injizierten Chelatbildner hängt von der Dosis ab, indem keine Schutzwirkung bei niedrigen, aber auch bei hohen Dosen auftritt. Das Versagen hoher Chelatdosen ist durch die Eigentoxizität des DF bzw. Fe(III)-DTPA bedingt. Auf molarer Basis ist DF ca. 5 mal wirksamer als DTPA und weist in dem speziellen Fall der Eisenvergiftung einen 2 mal höheren therapeutischen Index auf.

Es konnte eine volle Additivität der Schutzwirkungen von oral verabfolgtem CF und parenteral injiziertem Chelatbildner festgestellt werden.

Die sich aus den Untersuchungen ergebenden Konsequenzen für die Behandlung der Eisenintoxikation beim Menschen werden diskutiert und konkrete Vorschläge gemacht.

6. Schrifttum

- 1) Aldrich, R.A.: In: Iron in Clinical Medicine (Ed.: Wallerstein, R.O., and Mettler, S.R.), Berkeley, University of California Press (1958), p. 93
- 2) Amerman, E.E., Brescia, M.A. and Aftahi, F.: J. Pediatrics 53, 476 (1958)
- 3) Anderegg, G., L'Eplattenier, F. und Schwarzenbach, G.: Helv. chim. Acta 46, 1409 (1963)
- 4) Anderegg, G., Nägeli, P., Müller, F. und Schwarzenbach, G.: Helv. chim. Acta 42, 827 (1959)
- 5) Armitage, P.: Biometrics 11, 375 (1955)
- 6) Bannerman, R.M., Callender, S.T. and Williams, D.L.: Brit. Med. J. 2, 1573 (1962)
- 7) Barrie, H. and Wilson, B.D.R.: J.A.M.A. 180, 138 (1962)
- 8) Berenbaum, M.C., Child, K.J., Davis, B., Sharpe, H.M. and Tomich, E.G.: Blood 15, 540 (1960)
- 9) Beutler, E., Kelly, B.M. and Beutler, F.: Am. J. Clin. Nutrition 11, 559 (1962)
- 10) Bickel, H., Gäumann, E., Keller-Schierlein, W., Prelog, V., Vischer, E., Wettstein, A. und Zähler, H.: Experientia 16, 129 (1960)
- 11) Birk, R.E. and Stallard, S.K.: J. Pediat. 45, 164 (1954)
- 12) Bothwell, T.H. and Finch, C.A.: Iron Metabolism, Boston Little, Brown and Co., pp. 351-352 (1962)
- 13) Boyd, M. and Shanas, M.N.: Canad. Med. Ass. J. 89, 171 (1963)
- 14) Branch, L.K.: Pediatrics 10, 677 (1952)
- 15) Bronson, W.R. and Sisson, T.R.C.: J. Dis. Child. 99, 18 (1960)
- 16) Brown, R.J.K. and Gray, D.: Canad. Med. Ass. J. 73, 192 (1955)

- 17) Burley, D.M. and Fielding, J.: Brit. Med. J. 1, 994 (1965)
- 18) Burrows, N.F.E.: Proc. Roy. Soc. Med. 44, 297 (1951)
- 19) Cann, H.M. and Verhulst, H.L.: J. Dis. Child. 99, 688  
(1960)
- 20) Catsch, A.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. u.  
Pharmak. 246, 316 (1964)
- 21) Catsch, A.: Radioactive Metal Mobilization in Medicine,  
Springfield, Ill.: Ch. T. Thomas 1964
- 22) Charney, E.: J.A.M.A. 178, 326 (1961)
- 23) Chevallier, A.: Ann. d'hyg. 43, 180 (1850)
- 24) Chevallier, A.: J. Chim. méd. 4, 24 (1858)
- 25) Chiadot, P. et Lafuma, J.: Rev. Hygiène Med. Sociale 10,  
391 (1962)
- 26) Craig, J.O. and Fraser, M.S.: Arch. Dis. Childhood 28,  
259 (1953)
- 27) Crosskey, P.H.: Brit. Med. J. 2, 285 (1952)
- 28) Curtiss, C.D. and Kosinski, A.A.: J.A.M.A. 156, 1326  
(1954)
- 29) Davis, D.W. and Gibbs, G.E.: Amer. Pract. 7, 1092 (1956)
- 30) Duffy, T.L. and Diehl, A.: J. Pediat. 40, 1 (1952)
- 31) Edge, N.D. and Somers, G.F.: Quart. J. Yearbook Pharm.  
21, 364 (1948)
- 32) Eickholt, T.H. and White, W.F.: J. Pharm. Sci. 54, 1211  
(1965)
- 33) Elliot-Smith, A. and Davies, P.: Brit. Med. J. 1, 156 (1954)
- 34) Emmanoulides, G.C.: Clin. Proc. Child. Hosp. (Wash.) 15,  
291 (1959)
- 35) Figueroa, W.G. and McCartor, H.R.: Clin. Research 10,  
198 (1962)
- 36) Finney, D.J.: Probit Analysis, Cambridge, University  
Press 1952

- 37) Fisher, R.A.: Statistical Methods for Research Workers.  
Edinburgh: Oliver & Boyd 1950
- 38) Forbes, G.: Brit. med. J. 1, 367 (1947)
- 39) Forshall, J. and Rickham, P.P.: Brit. J. Surg. 41, 379  
(1954)
- 40) Foucar, F.H., Hordon, B.S. and Kayes, S.: Am. J. Clin.  
Path. 18, 971 (1948)
- 41) Franz, R.D.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path.  
Pharmak. 244, 17 (1962)
- 42) Gaedertz, A. und Wittgenstein, A.: Graefes Arch. f.  
Ophthalmologie 119, 395 (1928)
- 43) Gokulanathan, K.S., Baird, R.L. Reichelderfer, R.E. and  
Rubin, M.: Georgetown Med. Bull. 16, 238 (1963)
- 44) Hahn, P.F., Bale, W.F. Ross. J.F., Balfour, W.M. and  
Whipple, G.H.: J. exp. Med. 78, 169 (1943)
- 45) Heller, H.-J. und Catsch, A.: Strahlentherapie 109,  
464 (1959)
- 46) Henderson, F., Viette, T.T. and Brown, E.B.: J.A.M.A.  
186, 1139 (1963)
- 47) Hoppe, J.O., Marcelli, M.A. and Tainter, M.L.: Am. J.  
Med. Sci. 230, 491 (1955)
- 48) Hoyt, A.W.: J. Oklah. Med. Ass. 45, 389 (1952)
- 49) Jacobziner, H. and Raybin, H.W.: N.Y. J. Med. 62, 85  
(1962)
- 50) Kaplan, B.B. and Schliefer, D.M.: Amer. J. Dis. Child.  
88, 348 (1954)
- 51) Keith, J.H.: Am. J. Clin. Nutrition 5, 35 (1957)
- 52) Limouzin-Lamothe, P.: J. Chim. méd. 6, 380 (1850)
- 53) Lindquist, N.: Acta Paediat. 38, 447 (1949)
- 54) Lipschitz, W.: Klin. Wschr. 1929, I, 116
- 55) Luongo, M.A. and Bjornson, S.S.: New Engl. J. Med. 251,  
995 (1954)

- 56) Madshus, K., Strömme, A., Bohne, F. und Nigrović, V.:  
Int. J. Rad. Biol. 1966, im Druck
- 57) Mendel, B.: Amer. J. Canc. 30, 549 (1937)
- 58) Miller, B.F. und Winkler, A.: J. Clin. Inv. 15, 489  
(1936)
- 59) Moeschlin, S.: Schweiz. Med. Wschr. 92, 1295 (1962)
- 60) Moeschlin, S. and Schnider, U.: In: Iron Metabolism,  
Berlin - Göttingen - Heidelberg, Springer Verlag,  
p. 536 (1964)
- 61) Murphy, J.W., Neustein, C., Hoffmann, A.C., Winters, H.V.  
and Gaskins, A.L.: Arch. Pediat. 68, 303 (1951)
- 62) Nigrović, V., Bohne, F. und Madshus, K.: Strahlenthera-  
pie 1966, im Druck
- 63) Nigrović, V. und Catsch, A.: Naunyn-Schmiedeberg's  
Arch. exp. Path. u. Pharmak. 251, 225 (1965)
- 64) Nissim, J.A.: Brit. J. Pharm. Chemother. 8, 197 (1953)
- 65) Nofre, C., Cier, A. et Paquelier, A.: Path. et Biol.  
10, 1203 (1962)
- 66) Popper, L.: Samml. v. Vergiftungsfällen 6, A 27 (1931)
- 67) Prain, J.H.: Brit. Med. J. 2, 1019 (1949)
- 68) Reissmann, K.R.: In: Eisenstoffwechsel, Stuttgart:  
Thieme Verlag 1959, p. 281
- 69) Reissmann, K.R. and Coleman, T.J.: Blood 10, 46 (1955)
- 70) Reissmann, K.R., Coleman, T.J., Budai, B.S. and  
Moriarty, L.R.: Blood 10, 35 (1955)
- 71) Ross, F.G.: Brit. Med. J. 2, 1200 (1953)
- 72) Roxburgh, R.C.: Proc. Roy. Soc. Med. 42, 85 (1949)
- 73) Rubin, M.: In: Chelation Therapy, Springfield, Ill.,  
C. Thomas (1964)
- 74) Santos, A.S. and Pisciotta, A.V.: Amer. J. Dis. Child.  
107, 424 (1964)

- 75) Schafir, M.: Pediatrics 27, 83 (1961)
- 76) Schubert, J.: In: Iron Metabolism, Berlin - Göttingen-Heidelberg, Springer Verlag 1964, p. 466
- 77) Shepherd, J.: Brit. Med. J. 2, 418 (1955)
- 78) Shoss, J.: J. Pediat. 44, 77 (1954)
- 79) Simpson, K. and Blunt, A.: Lancet 1960, II, 1120
- 80) Smith, J.P.: J. Path. Bact. 64, 467 (1952)
- 81) Smith, R.P., Jones, C.W. and Cochran, W.E.: New Engl. J. Med. 243, 641 (1950)
- 82) Somers, G.F.: Brit. Med. J. 2, 201 (1947)
- 83) Spencer, J.O.B.: Brit. Med. J. 2, 1112 (1951)
- 84) Spreng, P., Nigrović, V. und Bohne, F.: in Vorbereitung
- 85) Starkenstein, E.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Phyrnak. 118, 131 (1926)
- 86) Stieglitz, E.J. and Knight, A.: J. A. M. A. 103, 1760 (1934)
- 87) Swift, S.C., Cefalu, V. and Rubell, E.B.: J. Pediat. 40, 6 (1952)
- 88) Tananayer, J.V., Glushkova, M.A. i Seifer, G.B.: Zhurn. neorg. Khim. 1, 66 (1956)
- 89) Thomson, J.: Brit. Med. J. 1, 645 (1950)
- 90) Tripod, J.: In: Iron Metabolism, Berlin - Göttingen - Heidelberg, Springer Verlag 1964, p. 503
- 91) Vandegaer, J., Chaberek, S. and Fröst, A.E.: J. Inorg. Nucl. Chem. 11, 210 (1959)
- 92) Weaver, L.C., Gardier, R.W., Robinson, V.B. and Bunde, C.A.: Am. J. Med. Sci. 241, 296 (1961)
- 93) Wilmers, M.J. and Heriot, A.J.: Lancet 2, 68 (1954)
- 94) Whitten, C.F.: J. Nat. Med. Ass. 55, 503 (1963)
- 95) Whitten, C.F., Gibson, G.W., Good, M.H., Goodwin, J.F. and Brough, A.J.: Pediatrics 36, 322 (1965)

Tabellen und Abbildungen

Tabelle 1 Letalität von Mäusen nach oraler Verabfolgung von  $\text{FeSO}_4$ . Die Antidote wurden oral unmittelbar anschliessend in einer dem  $\text{FeSO}_4$  äquimolaren Dosis verabreicht.

mM Fe · kg <sup>-1</sup>	DF		DTPA		CF		0,9 % NaCl		Kontrolle	
		%		%		%		%		%
2,12	-	-	-	-	-	-	0/5	0	0/10	0
2,52	-	-	-	-	-	-	-	-	0/10	0
3,00	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/15	0	1/10	10
3,33	-	-	-	-	-	-	4/10	40	0/13	0
3,56	-	-	-	-	-	-	-	-	2/10	20
4,25	0/10	0	0/10	0	0/10	0	12/20	60	7/20	35
4,75	-	-	-	-	-	-	3/5	60	-	-
5,04	-	-	-	-	-	-	-	-	4/10	40
6,00	2/10	20	0/10	0	0/10	0	26/35	74	4/10	40
6,67	-	-	-	-	-	-	8/10	80	5/13	38,5
7,35	-	-	-	-	-	-	-	-	6/10	60
8,50	6/10	60	1/10	10	0/10	0	14/15	93	-	-
9,00	-	-	-	-	-	-	-	-	10/20	50
10,40	-	-	-	-	-	-	-	-	9/10	90
12,00	10/10	100	4/10	40	1/10	10	10/10	100	10/10	100
15,00	-	-	9/10	90	6/10	60	-	-	-	-
20,00	-	-	-	-	9/10	90	-	-	-	-

Tabelle 2 Verteilung der Überlebenszeiten (% der gestorbenen Tiere) in Abhängigkeit von der Letalitätssrate und der Art der Antidote.

Gruppe	Letalität (%)	Überlebenszeit (Std.)		
		< 6	6 - 24	> 24
Kontrolle	< 40	20	70	10
	40-80	24	69	7
	> 80	95	5	0
0,9 % NaCl	40-80	60	36	4
	> 80	87	13	0
DF	<u>≥</u> 60	0	100	0
DTPA	<u>≥</u> 40	38	54	8
CF	<u>≥</u> 60	88	12	0

Tabelle 3 Ergebnisse der  $\chi^2$ -Analyse für die in Tabelle 1 wiedergegebenen Versuchsergebnisse. n = Zahl der Freiheitsgrade. P = Signifikanzwahrscheinlichkeit.

	n	$\chi^2$	P
Gesamt	29	-	-
Parallelität	4	7,96	0,09
Heterogenität	25	25,47	0,89

Tabelle 4 Zusammenstellung der LD 50 % ( $\text{mM} \cdot \text{kg}^{-1}$ ).  $m = \log$  der LD 50 % und einfacher Standardfehler. Die bei der LD 50 % in Klammern angeführten Werte geben den Mutungsbereich für  $P = 0,05$  wieder.

	m	LD 50 %
Kontrolle	$0,820 \pm 0,021$	6,60 ( 6,30 - 6,92)
0,9 % NaCl	$0,655 \pm 0,022$	4,52 ( 4,29 - 4,75)
DF	$0,888 \pm 0,037$	7,72 ( 7,10 - 8,42)
DTPA	$1,090 \pm 0,039$	12,30 (11,20 - 13,40)
CF	$1,187 \pm 0,036$	15,40 (14,10 - 16,70)

Tabelle 5 Dosis-Reduktions-Faktoren (DRF) mit Mutungsbereich für  $P = 0,05$ .  $M = \log$  des DRF und einfacher Standardfehler. Die DRF-Werte beziehen sich bei a) auf die Kontrolle, bei b) auf die mit 0,9 % NaCl behandelten Tiere.

		M	DRF
a)	NaCl	0,835-1 ± 0,030	0,68 (0,60 - 0,79)
	DF	0,068 ± 0,042	1,17 (0,97 - 1,42)
	DTPA	0,270 ± 0,042	1,86 (1,54 - 2,25)
	CF	0,347 ± 0,041	2,22 (1,85 - 2,67)
b)	DF	0,233 ± 0,043	1,71 (1,41 - 2,06)
	DTPA	0,435 ± 0,043	2,73 (2,25 - 3,31)
	CF	0,532 ± 0,042	3,40 (2,82 - 4,12)

Tabelle 6 Letalität von Mäusen nach oraler Verabreichung von 6 mM Fe·kg<sup>-1</sup> in Abhängigkeit vom Volumen der FeSO<sub>4</sub>-Lösung bzw. bei zusätzlicher Verabfolgung von 0,9 % NaCl.

Volumen (ml)			%
FeSO <sub>4</sub>	NaCl		
1	-	4/10	40
2	-	16/20	80
1	1 (vorher)	15/20	75
1	1 (nachher)	26/35	74

Tabelle 7 Letalität von Mäusen nach oraler Verabreichung von 6 mM Fe·kg<sup>-1</sup> und von zu verschiedenen Zeitpunkten oral verabfolgten Antidoten. Die Letalität bei nachträglicher Verabfolgung von 0,9 % NaCl (Kontrolle) betrug 26/35 = 74 %.

	gleichzeitig		nach 1 Min.		nach 30 Min.		nach 60 Min.	
		%		%		%		%
DTPA	0/20	0	0/10	0	9/20	45 <sup>1)</sup>	15/20	75
DF	2/20	10	2/10	20	15/20	75	11/19	58 <sup>2)</sup>
CF	-	-	0/10	0	15/20	75	15/19	79

1)<sub>P</sub> = 0,04    2)<sub>P</sub> = 0,26

Tabelle 8 Verteilung der Überlebenszeiten ( % der gestorbenen Tiere) in dem in Tabelle 7 wiedergegebenen Versuch.

Gruppe	Überlebenszeit (Std.)		
	< 6	6 - 24	> 24
0,9 % NaCl	66	31	3
Antidote nach 30 Min.	13	82	5
" " 60 "	21	76	4

Tabelle 9 Letalität von Mäusen nach oraler Verabfolgung von  $\text{FeSO}_4$  und intraperitonealer Injektion von DTPA zu verschiedenen Zeitpunkten. Die Letalität bei i.p. Injektion von 0,9 % NaCl betrug  $16/35 = 46\%$  ( $5 \text{ mM Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) bzw.  $34/40 = 85\%$  ( $9 \text{ mM Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$ ).

mM DTPA · kg <sup>-1</sup>	9 mM Fe · kg <sup>-1</sup>						5 mM Fe · kg <sup>-1</sup>			
	1 Min.		30 Min.		60 Min.		1 Min.		30 Min.	
	%		%		%		%		%	
0,0125	16/20	80	20/20	100	-	-	9/20	45	6/20	30
0,05	18/20	90	20/20	100	-	-	9/20	45	5/20	25
0,20	16/20	80	20/20	100	-	-	5/20	25 <sup>5)</sup>	15/20	75
0,80	10/20	50 <sup>1)</sup>	14/20	70	-	-	2/20	10 <sup>6)</sup>	11/20	55
1,00	12/20	60 <sup>2)</sup>	13/20	65	15/19	79	1/15	7 <sup>7)</sup>	-	-
1,26	15/20	75	-	-	-	-	-	-	-	-
2,00	25/43	58 <sup>3)</sup>	17/23	74	16/19	84	3/15	20 <sup>8)</sup>	-	-
3,20	20/20	100 <sup>4)</sup>	18/20	90	-	-	2/20	10 <sup>6)</sup>	9/20	45
6,40	18/20	90	19/20	95	-	-	8/20	40	13/20	65

1) P = 0,02    2) P = 0,07    3) P = 0,015    4) P = 0,15    5) P = 0,22    6) P = 0,014    7) P = 0,013    8) P = 0,16

Tabelle 10 Einfluß von zu verschiedenen Zeitpunkten intra-  
peritoneal verabreichtem Desferrioxamin (DF) auf  
die Letalität nach peroraler Verabreichung von  
 $\text{FeSO}_4$ .

Letalität von Mäusen nach oraler Verabfolgung von  
 $\text{FeSO}_4$  und intraperitonealer Injektion von DF zu  
verschiedenen Zeitpunkten. Die Letalität bei i.p.  
Injektion von 0,9 % NaCl betrug 16/35 = 46 %  
(5 mM  $\text{Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) bzw. 34/40 = 85 % (9 mM  $\text{Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$ ).

mM DF $\cdot \text{kg}^{-1}$	9 mM $\text{Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$		5 mM $\text{Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$	
	1 Min.	30 Min.	1 Min.	30 Min.
	%	%	%	%
0,0125	18/20 90	19/20 95	11/20 55	12/20 60
0,05	16/20 80	19/20 95	11/20 55	6/20 30
0,2	12/20 60 <sup>1)</sup>	19/20 95	1/20 5 <sup>3)</sup>	8/20 40
0,8	20/20 100 <sup>2)</sup>	19/20 95	5/20 25 <sup>4)</sup>	8/20 40
2,0	18/20 90	20/20 100 <sup>2)</sup>	18/20 90 <sup>5)</sup>	- -

<sup>1)</sup>P = 0,07    <sup>2)</sup>P = 0,15    <sup>3)</sup>P = 0,0026    <sup>4)</sup>P = 0,14    <sup>5)</sup>P = 0,0010

Tabelle 11 Letalität nach oraler Verabreichung von 9 mM  $\text{Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$  und intraperitonealer Injektion verschiedener DTPA-Dosen zu verschiedenen Zeitpunkten.

Nr.	mM DTPA $\cdot$ $\text{kg}^{-1}$			%
	1 Min.	30 Min.	60 Min.	
1	-	-	-	34/40 = 85
2	1	-	-	12/20 = 60
3	-	1	-	13/20 = 65
4	-	-	1	15/19 = 79
5	1	1	-	5/20 = 25
6	-	1	1	8/20 = 40
7	2	-	-	25/43 = 58
8	-	2	-	17/23 = 74
9	-	-	2	16/19 = 84

No. 5 vs. No. 2 + 3:  $P = 0,013$

No. 5 vs. No. 7:  $P = 0,028$

No. 6 vs. No. 3 + 4:  $P = 0,03$

No. 6 vs. No. 8:  $P = 0,05$

Tabelle 12 Einfluß von oral verabfolgten  $9 \text{ mM CF} \cdot \text{kg}^{-1}$  und/oder intraperitoneal injiziertem  $1 \text{ mM DTPA} \cdot \text{kg}^{-1}$  auf die Letalität nach oraler Verabreichung von  $9 \text{ mM Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$ .  $0,9 \%$  NaCl wurde intraperitoneal injiziert.

10 Min.	15 Min.	45 Min.		
				%
CF	NaCl	NaCl	27/40	67,5
NaCl	DTPA	DTPA	34/40	85
CF	DTPA	DTPA	18/40	45
NaCl	NaCl	NaCl	40/40	100

Tabelle 13 Ergebnisse der Varianzanalyse des in Tabelle 12  
wiedergegebenen Versuchsmaterials.  $s^2$  = Varianz;  
t = Prüffunktion; P = Signifikanzwahrscheinlichkeit.

Art d. Varianz	n	$s^2$	t	P
Gesamt	159	-	-	-
CF	1	5,25	5,92	$< 10^{-4}$
DTPA	1	1,40	3,06	0,003
Wechselwirkung	1	0,07	0,68	0,50
Fehler	156	0,15	-	-

Tabelle 14 Einfluß von oral verabreichtem CF auf die Retention von oral verabreichtem  $^{59}\text{Fe}$  im Körper der Ratte am 7. Tag. Der  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt ist in % der sofort nach Verabfolgung gemessenen Aktivität ausgedrückt. Mittelwerte von je 4 Tieren.

$\mu\text{M Fe}$	CF	0,9 % NaCl
1	11,62	34,28
10	0,90	5,32
100	0,59	2,12

Tabelle 15 Ergebnisse der Varianzanalyse für das in Tabelle 14 wiedergegebene Versuchsmaterial. F = Varianzverhältnis, weitere Abkürzungen vgl. Tabelle 13.

	n	s <sup>2</sup>	t bzw. F	P
Gesamt	23	-	-	-
CF	1	34,1055	5,5	< 0,001
Fe-Dosis	2	71,0000	62,2	< 0,001
Wechselwirkung	2	16,4068	14,4	< 0,001
Fehler	18	1,1400	-	-

Tabelle 16 LD 50 % (und Mutungsbereiche für P = 0,05) nach intraperitonealer Injektion. N = Zahl der untersuchten Mäuse.

	N	mM · kg <sup>-1</sup>
FeSO <sub>4</sub>	70	0,88 (0,76 - 1,00)
DF	20	2,39 (1,97 - 2,88)
Ca-DTPA	110	12,5 (12,2 - 12,8 )
Fe(III)-DTPA	70	3,55 (2,86 - 4,40)

Tabelle 17 Effektivitätskonstanten (log E) für die Fe-Chelierung bei einer  $10^{-1}$  molaren Chelatbildnerkonzentration. Erklärung s. Text.

Chelatbildner	Fe(II)		Fe(III)	
	pH 2	pH 7	pH 2	pH 7
DTPA	- 2,8	10,3	9,3	22,4
DF	-10,2	2,9	8,5	23,5

Abb. 1: Dosis-Letalitätskurven bei oraler Verabreichung von  $\text{FeSO}_4$  und verschiedener Antidote, berechnet mit Hilfe der Probit-Analyse. In den Versuchsgruppen, in denen die Letalität 0 bzw. 100 % betrug, sind die sog. Arbeits-Probits angeführt, und die Punkte sind durch vertikale Striche gekennzeichnet.

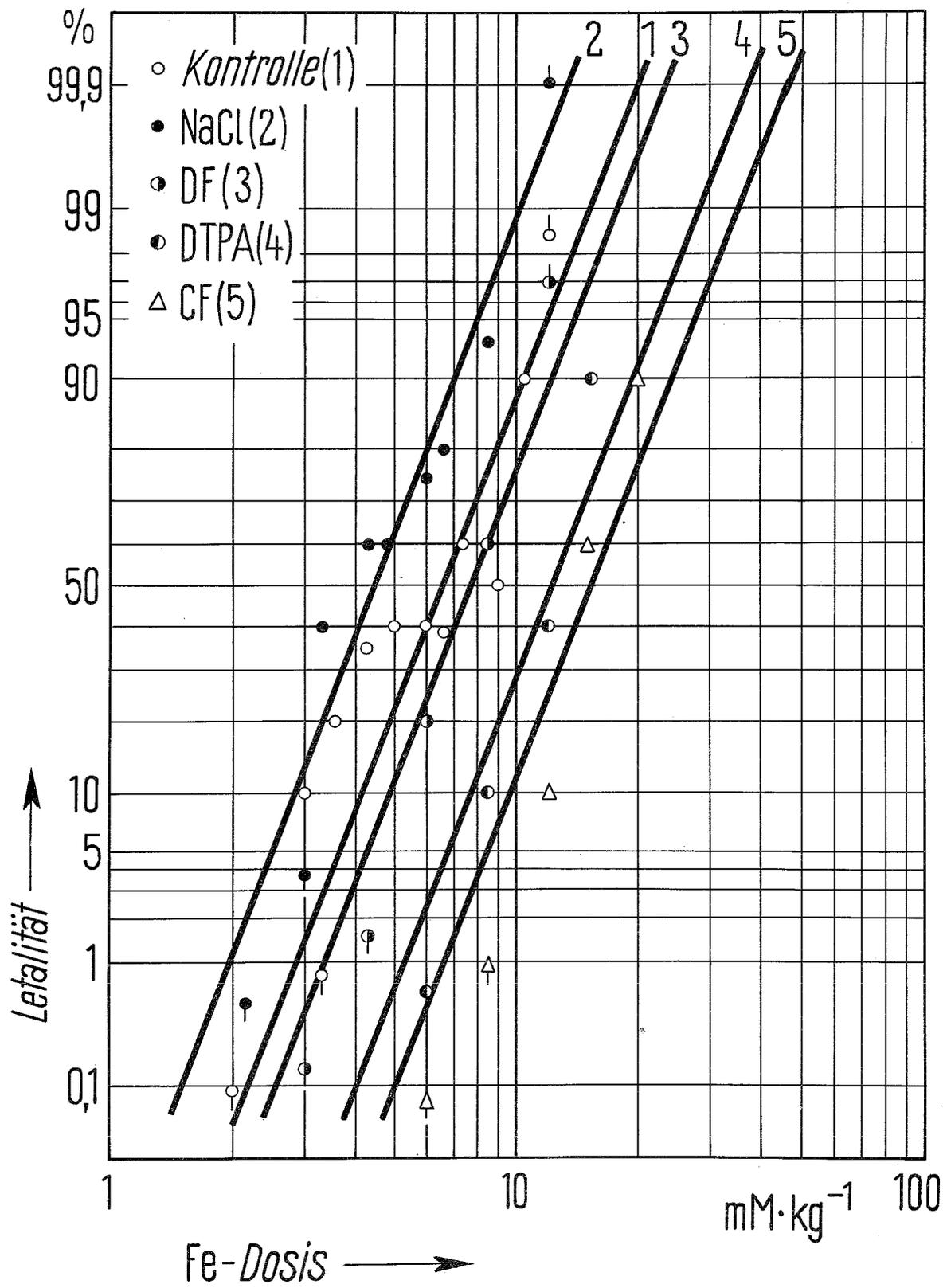


Abb. 2:  $^{59}\text{Fe}$ -Resorption und Überlebenszeit nach oraler  
Verabreichung von  $9 \text{ mM FeSO}_4 \cdot \text{kg}^{-1}$ .

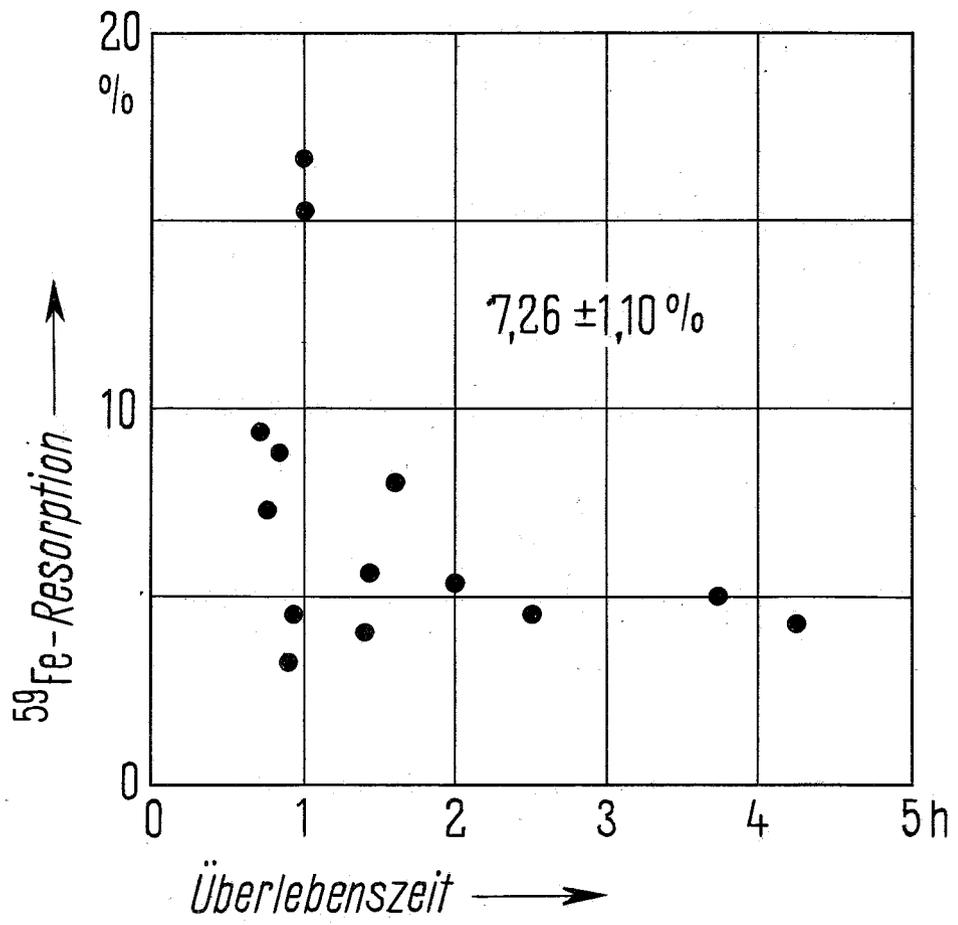


Abb. 3: Dosis-Letalitätskurven nach Verabreichung der in der Abb. angeführten Verbindungen.

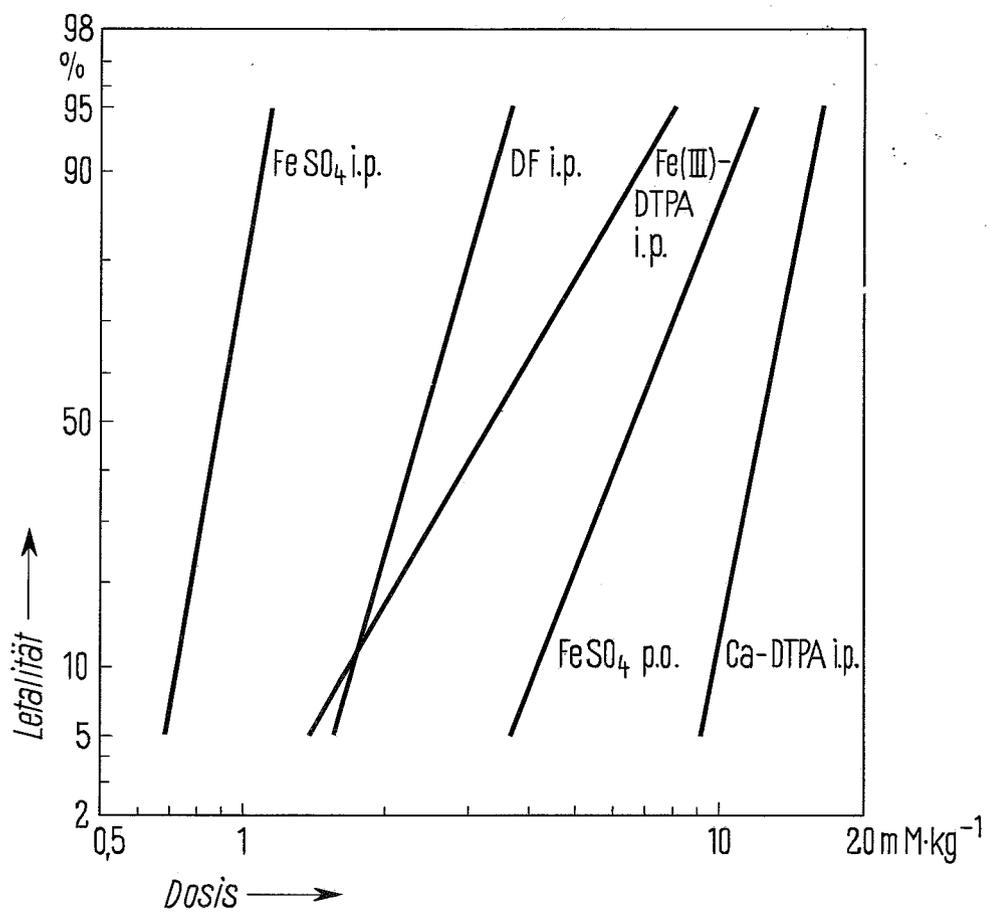


Abb. 4: Letalität nach oraler Verabfolgung von  $\text{FeSO}_4$  und intraperitonealer Injektion von Chelatbildnern in verschiedener Dosierung. Bei den mit x gekennzeichneten Punkten ist die Signifikanzwahrscheinlichkeit  $P \leq 0,15$ .

