

KERNFORSCHUNGSZENTRUM

KARLSRUHE

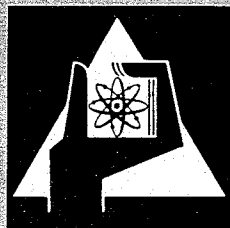
Januar 1967

KFK 520

Institut für Strahlenbiologie

Tierexperimentelle Untersuchungen über die Beeinflussung
der enteralen Eisenresorption durch Chelatbildner

P. Spreng



GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.

KARLSRUHE



Kernforschungszentrum Karlsruhe

Januar 1967

KFK 520

Institut für Strahlenbiologie

Tierexperimentelle Untersuchungen über die Beeinflussung
der enteralen Eisenresorption durch Chelatbildner

Peter Spreng

Gesellschaft für Kernforschung m.b.H., Karlsruhe

Einleitung

Die Behandlung der sog. Eisenspeicherkrankheiten mit wiederholten Aderlässen ist unbefriedigend. Abgesehen davon, daß bei bestimmten Erkrankungen, wie den Transfusionssiderosen, den hämolytischen und sideroachrestischen Anämien, eine Aderlaßtherapie von vornherein nicht indiziert ist, treten auch bei der Behandlung der primären Hämochromatosen unerwünschte und zwar durch den Verlust an Plasmaproteinen bedingte Nebenerscheinungen auf. Außerdem verstärken Aderlässe nicht unerheblich die Neubildung von Erythrocyten, was seinerseits zu einer erhöhten Eisenresorption aus dem Gastrointestinaltrakt führt, so daß gewissermaßen ein circulus vitiosus entsteht.

Eine grundsätzlich andere Möglichkeit des therapeutischen Eingreifens bieten die Austauschtransfusion bzw. in vivo-Dialyse, doch bleibt auch hierbei die dekorporierbare Eisenmenge unbefriedigend klein.

Neue Perspektiven für die Therapie der Eisenspeicherkrankheiten hat die Verwendung von Chelatbildnern eröffnet. Die ersten Versuche, die Ausscheidung von Eisen durch parenterale Verabfolgung von Chelatbildnern zu beeinflussen blieben zwar noch unbefriedigend, da die durch die anfänglich untersuchten Verbindungen, das Äthylendiamintetraacetat (ÄDTA) bzw. 2,3-Dimercaptopropanol (BAL) mobilisierbare Eisenmenge relativ klein und außerdem im speziellen Fall des BAL der therapeutische Index nicht ausreichend hoch ist. Die Einführung neuerer Chelatbildner, in erster Linie des Diäthylentriaminpentaacetats (DTPA) und des Desferrioxamins B (Desferal, DF) hat jedoch die klinischen Ergebnisse erheblich verbessert: Die Ausscheidung von Eisen mit dem Urin bei gesunden Versuchspersonen wird durch diese Substanzen nur geringfügig, um einen Faktor von etwa 4, bei Patienten mit Eisenspeicherung dagegen auf das 50fache und mehr erhöht.

Auch bei der Behandlung der akuten Eisenvergiftung, die bekanntlich bei Kleinkindern (durch orale Einnahme von Ferrosulfatpräparaten bedingt) relativ häufig ist, haben sich Chelatbildner gut bewährt. In diesem Falle werden die Antidote oral und/oder parenteral verabfolgt. Im ersteren Fall wird angenommen, daß die

Chelatbildner das Eisen in eine nicht toxische und/oder nicht resorbierbare Form überführen, während bei der parenteralen Verabfolgung eine intensivierete Ausscheidung der resorbierten Eisenfraktion aus dem Körper angestrebt wird.

Für beide, oben kurz umrissenen Fragestellungen sind Untersuchungen, die sich mit dem Einfluß der Chelatbildner auf die Resorption von Eisen aus dem Gastrointestinaltrakt befassen, naturgemäß von Interesse. Dies umsomehr, als bisher nur wenige und auch nicht widerspruchsfreie Ergebnisse zu dieser Frage vorliegen.

Was die Wirksamkeit von oral verabreichtem DF betrifft, so beobachtete Wöhler (1964) eine praktisch vollständige Blockierung der Resorption des in der Nahrung enthaltenen Eisen. Neuere Untersuchungen durch Hwang et al. (1965) zeigten jedoch, daß ein gewisser, wenn auch nur kleiner Bruchteil oral verabreichten Eisens auch bei Anwesenheit von DF resorbiert wird. Bei parenteraler Applikation stellte Vanotti (1964) teils eine Erhöhung, teils eine Erniedrigung der Eisenresorption unter dem Einfluß von DF fest; diese Unterschiede wurden vom Autor auf die unterschiedlichen Ätiologie der von ihm untersuchten Eisenspeicherkrankheiten zurückgeführt. Hwang et al. fanden bei 3 Patienten nach Verabreichung von DF keine eindeutige Beeinflussung der Eisenresorption, und zwar sowohl für organisch gebundenes als auch in anorganischer Form vorliegendes Eisen. Nur bei einem Patienten wurde eine erhöhte Eisenresorption festgestellt. Nach Hallberg und Hedenberg (1965) ist die unter dem Einfluß von DF beobachtete Intensivierung der Eisenausscheidung mit dem Urin unabhängig davon, ob dem Patienten eine eisenreiche oder -arme Nahrung verabfolgt wurde. Demgegenüber fand Wöhler (1964) bei Verabreichung von DF an gesunde Versuchspersonen eine erhöhte Eisenkonzentration im Urin und im Serum, wenn gleichzeitig Eisen oral verabreicht wurde.

Zu den im vorstehenden Abschnitt angeführten Befunden ist zu bemerken, daß sie größtenteils auf Untersuchungen basieren, die eine eindeutige, quantitative Abschätzung der Eisenresorption aus dem Magen-Darm-Trakt nicht zulassen, da die resorbierte Menge entweder aufgrund der Erhöhung des Eisenspiegels im Serum oder

der Ausscheidung mit dem Urin bzw. den Faeces abgeschätzt wurde. Die tatsächliche Eisenresorption kann natürlich exakt mit einer komplett durchgeführten Bilanz bestimmt werden. Versuche dieser Art lassen sich jedoch nur an Tieren durchführen, während klinische Untersuchungen zur Beantwortung dieser Frage von vornherein nicht geeignet sind bzw. spezielle Methoden (Doppelmarkierung) erfordern.

Die vorliegende Untersuchung stellt sich die Aufgabe, diese Lücke zu schließen und an Ratten den Einfluß verschiedener Chelatbildner - sowohl bei oraler als auch parenteraler Verabfolgung - auf die Resorption von Eisen aus dem Magen-Darm-Trakt und das weitere Verhalten der resorbierten Eisenfraktion im Organismus zu untersuchen. Da die Resorption von Eisen aus dem Magen-Darm-Trakt bekanntlich in starkem Maße von der verabfolgten Eisendosis abhängt, erschien es uns notwendig, bei unseren Untersuchungen diesem Umstand Rechnung zu tragen, d.h. einen größeren Dosisbereich zu berücksichtigen. Bei der Wahl der Chelatbildner konzentrierten wir uns in erster Linie auf DTPA und DF, da nach den bisherigen Erfahrungen diese Chelatbildner der Mehrzahl der anderen Verbindungen eindeutig überlegen sind und sich auch bereits in der Klinik bewährt haben.

Außerdem untersuchten wir aber noch zwei weitere Chelatbildner, und zwar 1,10-Phenanthrolin (phen) sowie 2,2'-Dipyridyl (dip); diese Liganden sind insofern von Interesse, als sie - im Gegensatz zu DTPA und DF - Fe (II) gleich stark wie Fe (III) binden.

Material und Methodik

Als Versuchstiere verwendeten wir männliche Albinoratten des Heiligenberg-Inzuchtstammes im Alter von 10 - 14 Wochen und mit einem mittleren Körpergewicht von 195 g. Die Ernährung der Tiere bestand aus Presslingen der Fa. Latz und Leitungswasser ad libitum. Das Futter enthält 262 mg Fe·kg⁻¹. Als Eisenpräparat verwendeten wir FeCl₃·6 H₂O (p.a.), das mit ⁵⁹Fe markiert wurde. Die spezifische Aktivität variierte in den einzelnen Chargen von 2 - 10 Ci·g⁻¹. Die pro Tier verabfolgte Aktivität betrug 2 bis 5 µCi. FeCl₃ wurde - unabhängig von der jeweils untersuchten Dosis - in 1 ml wässriger Lösung appliziert, wobei der pH mit 1/10 N HCl

auf ~2 eingestellt war, um eine Hydrolyse des Fe (III) zu vermeiden. Die orale Applikation erfolgte mit Hilfe einer Schlundsonde; die Tiere befanden sich dabei in einer leichten Äthernarkose. Im Hinblick auf den relativ hohen Eisengehalt des Futters hielten wir es für zweckmäßig, den Tieren 18 Stunden vor Applikation des FeCl_3 das Futter zu entziehen, um so eine gewisse Konstanz der sich im Magen-Darm-Trakt befindenden Eisenmenge zu erhalten.

Während des Versuchs, der (wenn nicht anders angegeben) 24 Stunden dauerte, befanden sich die Tiere in speziellen Stoffwechsellkäfigen (Nigrović u. Mohr 1966), die nicht nur eine sehr gute Trennung von Faeces und Urin, sondern auch eine hohe Aktivitätsbilanz gewährleisten.

Die Bestimmung der von ^{59}Fe emittierten γ -Strahlung erfolgte mit Hilfe eines ausreichend abgeschirmten Plastik-Szintillators, der einen Durchmesser von 17 cm und eine Tiefe von 12 cm aufweist. Der statistische Fehler der Messungen war $\leq 1\%$. Kurzfristig nach Applikation der radioaktiv markierten FeCl_3 -Lösung wurde der ^{59}Fe -Gehalt im ganzen Tier bestimmt und gleich 100% gesetzt. Das Tier befindet sich während der Messung in einer Plexiglasröhre, die einen Durchmesser von 7 cm und eine Wandstärke von 0,5 cm und deren Abstand von der Oberfläche des Plastik-Szintillators 19 cm aufweist, so daß die Inhomogenität der ^{59}Fe -Verteilung im Tier sich nur geringfügig bemerkbar machen kann.

Um das Ausmaß der Fe-Resorption aus dem Intestinaltrakt zu bestimmen, gingen wir folgendermaßen vor: Nach Abschluß des Versuchs wurden die Tiere getötet, sezziert und der gesamte Magen-Darm-Trakt mit Inhalt entfernt. Danach bestimmten wir die Aktivität im eviszerierten Tier, im gesamten Urin sowie im Magen-Darm-Trakt + Faeces. Die im eviszerierten Tier und im Urin gefundene Aktivität wurde in % der ursprünglichen, d.h. unmittelbar nach Applikation der Fe-Lösungen im Tier bestimmten Aktivität ausgedrückt und als Schätzwert für die Resorption angesehen. Wir sind uns allerdings dessen bewußt, daß dieses Vorgehen folgende Fehlermöglichkeiten aufweist:

1) Die Zählgeometrie und -effektivität bei der Messung des Körpers, der Faeces und des Magen-Darm-Trakts sowie des den Urin

enthaltenden Filterpapiers ist unterschiedlich. Es ist deswegen durchaus möglich, daß die tatsächliche Aktivitätsbilanz schlechter ist als die von uns festgestellte, die im Durchschnitt 98,8% der applizierten ⁵⁹Fe-Aktivität betrug. Daß dies tatsächlich der Fall ist, geht auch daraus hervor, daß bei einzelnen Tieren Bilanzen von >100% gefunden wurden. Dieser zugegebenermaßen systematische Fehler sollte allerdings bei allen Versuchen annähernd konstant sein, so daß die von uns für die Resorption erhaltenen Daten zwar zu niedrig, aber durchaus miteinander vergleichbar wären.

2) Die von uns für die Resorption berechneten Werte können insofern nur als Mindestwerte angesehen werden, als die Ausscheidung des resorbierten Eisens mit den Faeces unberücksichtigt blieb. Allerdings ist dieser Fehler geringfügig, da parenteral appliziertes Eisen vorwiegend mit dem Urin ausgeschieden wird, während die fäkale Ausscheidung, die nach Copp u. Greenberg (1946) und Dubach et al. (1955) weniger als 0,5 % ausmacht. Ob dies auch für die Fe-Chelate zutrifft, wird in einem späteren Zusammenhang diskutiert werden.

Was die von uns untersuchten Chelatbildner betrifft, so wurde DTPA als Calcium-Chelat ($\text{Na}_3[\text{Ca-DTPA}]$) verabfolgt; DF lag als Methansulfonat, phen und dip in einem p.a. Reinheitsgrad vor. Das Volumen der wässrigen Chelatlösungen betrug sowohl bei oraler als auch intraperitonealer Verabfolgung 1 ml.

Bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse verwendeten wir die Methode der Varianz- und Regressionsanalyse. Auf Einzelheiten der statistischen Auswertung wird im Zusammenhang mit der Diskussion der Versuchsergebnisse näher eingegangen; hier sei nur erwähnt, daß der Analyse, wenn nicht anders angegeben, die logarithmisch transformierten Meßwerte zugrunde liegen. In allen den Fällen, in denen eine gegebene Varianz kleiner als die sog. Fehlervarianz war, verzichteten wir auf die Berechnung der Prüffunktionen F und t sowie der Signifikanzwahrscheinlichkeit P.

Versuchsergebnisse

Bevor der Einfluß der Chelatbildner auf die enterale Fe-Resorption geprüft werden konnte, war es notwendig, sich in entsprechenden Kontrollversuchen einen Eindruck über die Abhängigkeit der Fe-Resorption aus dem Magen-Darm-Trakt von der verabfolgten Fe-Dosis sowie über die Geschwindigkeit der Resorption einen Eindruck

zu verschaffen. Die Ergebnisse des entsprechenden Versuchs, in dem die Fe-Dosis von 0,1 bis 100 μM pro Tier variiert und die Resorption 24 Std. nach der oralen Verabfolgung bestimmt wurde, sind in Tab. 1 zusammengestellt. Die prozentuale Resorption nimmt mit wachsender Fe-Dosis eindeutig ab, wobei die Dosisabhängigkeit der Resorption, wie den Ergebnissen der Varianzanalyse (Tab.2) zu entnehmen ist, befriedigend durch eine Gerade im doppelt-logarithmischen Koordinatensystem approximiert werden kann. Abb.1 gibt die entsprechende, durch die Regressionsanalyse berechnete Gerade mit den Mutungsgrenzen für $P = 0,05$ wieder.

Um den zeitlichen Verlauf der enteralen Fe-Resorption zu bestimmen, wurde die gleiche Methodik wie im vorangehenden Versuch gewählt, die Tiere jedoch zu früheren Zeitpunkten, und zwar nach 15 bis 240 Min. getötet und die Aktivität bestimmt. Tab. 3 gibt die Ergebnisse dieses Versuchs wieder, wobei zum Vergleich die in dem vorangehenden Versuch für 24 Stunden bestimmten Resorptionswerte (Tab. 1) noch einmal angeführt sind. Die Varianzanalyse (Tab. 4) zeigt, daß im Dosisbereich von 1 bis 100 μM Fe kein gesicherter Unterschied zwischen den Resorptionswerten nach verschiedenen Zeitpunkten vorliegt, d.h. daß die Resorption sehr schnell verläuft und praktisch bereits 15 Min. nach der oralen Verabfolgung abgeschlossen ist. Im Falle der niedrigsten Dosis von 0,1 μM Fe hat jedoch die Resorption nach 15 Min. den maximalen Wert noch nicht erreicht, vielmehr erst nach 30 Min.

Drückt man die ^{59}Fe -Ausscheidung mit dem Urin in Prozenten der resorbierten ^{59}Fe -Menge aus, so zeigen Tab. 1 und Abb.2, daß die Ausscheidung mit wachsender Fe-Dosis sehr stark zunimmt. Der statistischen Analyse in Tab. 2 ist zu entnehmen, daß die Dosisabhängigkeit der Ausscheidung nicht durch eine einfache Gerade wiederzugeben ist.

In der nächsten Versuchsreihe, deren Ergebnisse in Tab.5 zusammengestellt sind, wurde der Einfluß von oral verabreichtem DTPA und DF untersucht. Während die Fe-Dosis, wie auch in den vorangehenden Kontrollversuchen, von 0,1 bis 100 μM variiert wurde, blieb die Chelatdosis bei allen Fe-Dosen mit 100 μM pro Tier konstant. Werden die Chelatbildner unmittelbar im Anschluß an die Fe-Applikation verabfolgt, wird - im Gegensatz zu den Ergebnissen des Kontrollversuchs - eine Abhängigkeit der Resorption von der Fe-Dosis

vermißt, indem die Ergebnisse der Varianzanalyse (Tab. 6) zeigen, daß die Fe-Dosis keinen statistisch signifikanten Einfluß auf das Ausmaß der Resorption ausübt. Weiterhin liegt kein gesicherter Unterschied in der Effektivität von DTPA und DF vor. Es kann deshalb, wie es in Abb. 3 geschehen ist, für die Fe-Resorption unter diesen Versuchsbedingungen ein für beide Chelatbildner und alle Fe-Dosen konstanter Wert von 3,5% angegeben werden.

Werden die Chelatbildner dagegen erst nach 30 Min. verabfolgt, so resultiert eine im Vergleich zur Kontrolle höhere Resorption. Die Varianzanalyse (Tab. 6) zeigt, daß die Dosisabhängigkeit der Fe-Resorption für die Kontroll- und beide Chelatgruppen durch parallele Geraden wiedergegeben werden kann und daß der Abstand zwischen den Geraden statistische Signifikanz erreicht; der graphischen Wiedergabe in Abb. 3 ist jedoch zu entnehmen, daß dies im wesentlichen durch die niedrigeren Resorptionsraten in der Kontrollgruppe bedingt ist, während der Unterschied zwischen den DTPA- und DF-Geraden vernachlässigbar ist.

Während somit keine wesentlicheren Unterschiede bezüglich des Einflusses von DTPA und DF auf die Resorption vorzuliegen scheinen, ist ein gewisser Unterschied in der Fe-Ausscheidung mit dem Urin nicht zu verkennen (Tab. 5 u. Abb. 4). Die Ergebnisse der Varianzanalyse (Tab. 7) zeigen, daß im Falle der sofortigen Verabfolgung von DTPA es nicht möglich ist, die Dosisabhängigkeit der Ausscheidung durch eine einfache Gerade wiederzugeben. Dies ist offensichtlich durch die niedrigere Ausscheidungsrate bei der Dosis von 0,1 μM Fe bedingt, während die Ausscheidung im Dosisbereich von 1 bis 100 μM mit etwa 35 % der resorbierten Fe-Dosis praktisch konstant bleibt. Im Falle der sofortigen Verabfolgung von DF streuen die Ausscheidungsraten bei den einzelnen Fe-Dosen zwar beträchtlich, es ist jedoch kein gesicherter Einfluß der Fe-Dosis auf die Ausscheidungsrate festzustellen. Die Ausscheidung liegt in den DF-Gruppen durchgehend etwas höher als nach Verabfolgung von DTPA.

Was den Einfluß der erst nach 30 Min. verabfolgten Chelatbildner auf die Ausscheidung der resorbierten Fe-Fraktion mit dem Urin betrifft, so liegen wenig eindeutige Verhältnisse vor (Tab. 5, Abb. 4). Die Varianzanalyse (Tab. 7) zeigt, daß die Zunahme der Ausscheidungsrate mit wachsender Fe-Dosis sowohl bei DF als auch DTPA durch Gerade wiedergegeben werden kann, die jedoch eine unterschiedliche Steigung aufweisen. Vergleicht man die bei den einzelnen Fe-Dosen gefundenen Ausscheidungswerte mit den entsprechenden Kontrollwerten in Tab. 1, so ergeben sich folgende statistisch signifikante Unterschiede: Bei der niedrigsten Fe-Dosis von 0,1 μM erhöhen beide Chelatbildner die Ausscheidung auf etwas mehr als das Doppelte; bei der Dosis von 1 μM ist ein eindeutiger Effekt nicht festzustellen, während bei der höchsten von uns untersuchten Dosis von 100 μM nur DF die Ausscheidung des resorbierten Eisens intensiviert, während DTPA kaum wirksam wird.

Gehen wir nun zu der Besprechung der Versuche über, in denen dip und phen untersucht wurden. Zunächst ist darauf hinzuweisen, daß beide relativ toxischen Verbindungen niedriger als DTPA und DF dosiert werden mußten, und zwar verabfolgten wir 20 μM dip und 2,5 μM phen pro Tier. Aus diesem Grunde verzichteten wir auch darauf, die Wirkung von dip auf die 100 μM Fe-Dosis und von phen bei 10 μM Fe zu untersuchen, da hierbei der Chelatbildner im Vergleich zur Fe-Dosis im Unterschuß vorliegen würde.

Tab. 8 und Abb. 5 geben die Ergebnisse des Versuchs wieder, in dem beide Chelatbildner entweder unmittelbar oder erst nach 30 Minuten oral appliziert wurden. Wie auch im Falle von DTPA und DF ist der Einfluß auf die enterale Fe-Resorption bei sofortiger Verabfolgung wesentlich stärker ausgeprägt. Die Varianzanalyse in Tab. 9 zeigt, daß ein statistisch gesicherter Einfluß der Fe-Dosis auf die Resorptionshöhe nicht vorliegt, d.h., daß bei Applikation beider Chelatbildner unabhängig von der Dosis ein konstanter Bruchteil resorbiert wird, der nach Verabfolgung von dip etwas höher als im Falle von phen ist. Tab. 9 zeigt weiterhin, daß bei später Verabfolgung die Dosisabhängigkeit in beiden Chelat- und in der Kontrollgruppe nicht durch parallele Gerade wiedergegeben werden kann. Auch nach Ausschluß der phen-Gruppe liegt keine parallele Dosisabhängigkeit vor. Allgemein

ist darauf hinzuweisen, daß die bei den einzelnen Fe-Dosen ermittelten Resorptionsraten sich nur unwesentlich von denen der entsprechenden Kontrollgruppen unterscheiden; ein statistisch signifikanter Effekt dürfte wohl nur in der Gruppe vorliegen, in der phen 30 Minuten nach Applikation von $1 \mu\text{M}$ Fe verabfolgt wurde.

Was den Einfluß von dip und phen auf die Ausscheidung mit dem Urin betrifft, (Abb. 6 u. Tab. 8), so bewirken die sofort verabfolgten Chelatbildner eine im Vergleich zur Kontrolle eindeutig erhöhte Ausscheidung der resorbierten Fraktion. Die Varianzanalyse (Tab. 10) zeigt, daß ein statistisch gesicherter Einfluß der Fe-Dosis nicht vorzuliegen scheint. Die für phen berechnete mittlere Resorption liegt etwas höher als die für dip, jedoch sollte der Unterschied im Hinblick auf die starke Streuung der Versuchspunkte nicht überbewertet werden.

Werden die Chelatbildner erst nach 30 Minuten verabfolgt, so kann eine gesicherte Intensivierung der Ausscheidung nicht mehr beobachtet werden; im Gegenteil, im Dosisbereich von 1 bis $10 \mu\text{M}$ Fe liegt die Ausscheidung eindeutig unter der Kontrolle. Bei der niedrigsten Fe-Dosis wurden etwas höhere Werte als in der Kontrolle ermittelt, doch ist dieser Effekt relativ klein und erreicht auch nicht volle statistische Signifikanz.

In der nächsten Versuchsserie wurden die Chelatbildner intraperitoneal injiziert. Bezüglich der Dosierung des Fe und der Chelatbildner sowie des Zeitpunktes ihrer Applikation war die Versuchsanordnung die gleiche wie bei oraler Verabreichung der Chelatbildner. Die Versuchsergebnisse für DTPA und DF sind in Tab. 11 wiedergegeben. Man sieht auf den ersten Blick, daß die Versuchsgruppen, in der DF sofort nach oraler Applikation von Fe injiziert wurde, eine von den übrigen Versuchsgruppen unterschiedliche Dosisabhängigkeit der Fe-Resorption aufweist. Führt man für die restlichen Gruppen, d.h. Kontrolle, DF-Applikation nach 30 Minuten und DTPA, sofort und nach 30 Minuten appliziert, eine Varianzanalyse durch (Tab. 12), so zeigt sich, daß die Dosisabhängigkeit befriedigend durch parallele Gerade approximiert werden kann und außerdem ein statistisch signifikanter Abstand zwischen den einzelnen Geraden vorliegt. Der zuletzt erwähnte Umstand ist im wesentlichen dadurch bedingt, daß die Resorption in der Kontrolle niedriger als nach Applikation der

Chelatbildner ist. Schließt man deshalb bei einer weiteren Varianzanalyse die Kontrollgruppe aus den Berechnungen aus, so ergibt sich wiederum eine gesicherte Parallelität der Kurven, während der Abstand zwischen den Kurven nunmehr jedoch keine statistische Signifikanz erreicht. Dies bedeutet, daß die Dosisabhängigkeit der Fe-Resorption nach Applikation von DF (nach 30 Minuten) und von DTPA praktisch durch eine gemeinsame Gerade wiedergegeben werden kann, wie dies auch in Abb. 7 geschehen ist.

Den Einfluß intraperitoneal injizierter Chelatbildner auf die Ausscheidung der resorbierten Eisenfraktion mit dem Urin geben Tab. 11 und Abb. 8 wieder. Auch in diesem Fall zeigt sofort nach Fe appliziertes DF insofern ein von DTPA unterschiedliches Verhalten, als ein gesicherter Einfluß der Fe-Dosis auf die Ausscheidungsrate nicht vorliegt (vgl. Varianzanalyse in Tab. 13). In den übrigen Gruppen, auch bei Applikation der Chelatbildner nach erst 30 Minuten, liegen die Ausscheidungs-raten gesichert höher als in der Kontrolle, und die Dosisabhängigkeit kann - im Gegensatz zu der Kontrollgruppe - durch einfache Gerade befriedigend wiedergegeben werden. Hervorzuheben ist, daß die frühzeitige Verabfolgung beider Chelatbildner zu einer deutlich stärkeren Ausscheidungsintensivierung führt als ihre Verabreichung nach 30 Minuten.

Der Versuch, in dem der Einfluß von phen und dip in analoger Weise untersucht wurde und dessen Ergebnisse in Tab. 14 zusammengestellt sind, wurde - abweichend von der Versuchsreihe mit oraler Applikation der Chelatbildner - auf die höheren Fe-Dosen von 10 bzw. 100 μ M ausgedehnt. Dies dürfte insofern berechtigt sein, als bei dieser hohen Dosierung ein nur kleiner Bruchteil resorbiert wird und ein deutlicher Unterschuß an Chelatbildner somit kaum vorliegen dürfte.

Was den Einfluß von dip und phen auf die Resorption betrifft, so zeigt die Varianzanalyse (Tab. 15), daß je 2 Gruppen durch gemeinsame Gerade wiedergegeben werden können (Abb. 10): die Kontrollgruppe und die Gruppen, in denen dip und phen nach 30 Min. injiziert wurden, auf der einen Seite und die restlichen Gruppen, in denen dip und phen sofort injiziert wurden, auf der anderen Seite. Dies bedeutet, daß frühzeitig verabfolgte Chelatbildner

die enterale Resorption deutlich erniedrigen, während bei später Verabreichung ein gesicherter Einfluß nicht mehr nachweisbar ist.

Bei dem Einfluß auf die Ausscheidung des resorbierten Eisens mit dem Urin (Tab. 14, Abb. 11) liegen keine eindeutigen Verhältnisse vor. Es kann nur festgestellt werden, daß dip bei Verabreichung zu beiden Zeitpunkten und phen bei sofortiger Verabreichung die Ausscheidung im Falle der niedrigsten Fe-Dosis von $0,1 \mu\text{M}$ erhöhen, während im höheren Fe-Dosisbereich, wenn überhaupt, ein entgegengesetzter Effekt, d.h. eine im Vergleich zur Kontrolle niedrigere Ausscheidungsrate auftritt.

Nachdem die vorangehenden Versuche einen deutlichen Einfluß intraperitoneal injizierter Chelatbildner auf die Höhe der enteralen Fe-Resorption nachweisen konnten, erhob sich die Frage, ob auch ein Einfluß auf die Schnelligkeit der Resorption vorliegt. Es wurde deshalb ein Versuch durchgeführt, der in methodischer Beziehung mit dem in Tab. 3 wiedergegebenen Versuch identisch ist, d.h. die Resorption wurde nach 15 Min. - maximal 4 Std. nach Applikation von $0,1 \mu\text{M}$ Fe bestimmt. Die Chelatbildner wurden sofort nach Verabfolgung des Eisens intraperitoneal injiziert, und zwar $100 \mu\text{M}$ DTPA bzw. DF, $20 \mu\text{M}$ dip sowie $2,5 \mu\text{M}$ phen.

Tab. 16 zeigt, daß tatsächlich die Chelatbildner die Resorptionsgeschwindigkeit beeinflussen, und zwar liegen im Falle von DF, phen und dip selbst die nach 4 Std. festgestellten Resorptionswerte eindeutig niedriger als nach 24 Std. Diese Unterschiede sind, wie Tab. 17 zeigt, statistisch signifikant. Im Gegensatz hierzu ist ein Einfluß von DTPA nicht nachzuweisen, indem die nach 15 Min. bestimmten Resorptionswerte bereits mit denen nach 24 Std. praktisch identisch sind. Es ergibt sich somit, daß intraperitoneal injizierte Chelatbildner, welche die Resorption hemmen, sie auch verlangsamen, während Chelatbildner, die wie DTPA die Resorption erhöhen, ihre Geschwindigkeit unbeeinflusst lassen.

Wie Tab. 18 zeigt, wird eine Beeinflussung sowohl der Resorption als auch der Ausscheidung auch nach Verabfolgung von Fe(III)-DF beobachtet. Das Chelat war nicht mit ^{59}Fe markiert, sondern die orale Fe-Dosis. Es ist dabei ein sehr ausgeprägter Einfluß der Applikationsart festzustellen: Bei intraperitonealer Injektion

ist zwar die Fe-Resorption im Vergleich zur Kontrolle nur geringfügig erniedrigt, die Ausscheidung des resorbierten Fe mit dem Urin jedoch stark erhöht. Bei oraler Applikation von Fe(III)-DF dagegen ist die Wirksamkeit mit der gleichen DF-Dosis praktisch identisch (vgl. Tab. 5), sowohl was den Einfluß auf die Resorption (im Sinne der Hemmung) als auch auf die Ausscheidung mit dem Urin betrifft.

Eine letzte orientierende Versuchsreihe hatte die Aufgabe, die Ausscheidung von ^{59}Fe -markierten Fe(III)-Chelaten nach intraperitonealer Applikation zu bestimmen. Die Ergebnisse sind in Tab. 19 zusammengestellt. Alle Chelatbildner führen zu einer im Vergleich zur Kontrolle deutlich erhöhten Fe-Ausscheidung mit dem Urin. Auch die fäkale Ausscheidung ist, besonders im Falle von dip und phen, erhöht, jedoch in geringerem Maße. Bei der $1\ \mu\text{M}$ -Dosis ist die Effektivität von DTPA, phen und dip annähernd identisch und geringer als die von DF. Bei $100\ \mu\text{M}$ ist der Unterschied zwischen DTPA und DF praktisch aufgehoben. Es sei hier noch darauf hingewiesen, daß nach Applikation der höchsten Fe-DF-Dosis von $100\ \mu\text{M}$ ein Tier während der ersten 24 Stunden ad exitum kam und daß weiterhin bei allen Tieren und im Gegensatz zu den niedrigeren Fe-DF-Dosen keine Faeces gewonnen werden konnten. Beides kann als ein Hinweis auf eine gewisse Toxizität des Fe-DF aufgefaßt werden.

Diskussion

Es liegt eine ausgesprochene Abnahme der prozentualen Fe-Resorption mit steigender Fe-Dosis vor, die auch bereits von früheren Autoren (Bothwell et al. 1958, Smith und Pannacciulli 1958) festgestellt wurde. Es würde den Rahmen der vorliegenden Arbeit übersteigen, auf die für diese Dosisabhängigkeit verantwortlichen Mechanismen einzugehen. Es sei jedoch erwähnt, daß beim Übergang zu noch höheren und bereits toxischen Fe-Dosen die Resorption einen über einen relativ breiten Dosisbereich konstanten Wert aufweist und bei letal toxischen Dosen sogar wieder zunimmt (Beutler et al. 1962, Pfister et al. 1967). Was den Ort der Fe-Resorption betrifft, so kann nach Hahn et al. (1943) bereits im Magen Fe resorbiert werden, jedoch erfolgt die Resorption der überwiegenden Fe-Menge im Duodenum und im oberen Jejunum.

Da wir eine sehr schnell verlaufende Resorption nachweisen konnten, die praktisch bereits 15 bis 30 Min. nach Applikation des Fe abgeschlossen ist, muß eine dementsprechend schnelle Magen-Darm-Passage angenommen werden. Dies hängt aller Wahrscheinlichkeit nach mit unserer Versuchsordnung (die Verabreichung der Fe-Lösung an fastende Tiere) zusammen. Es ist durchaus möglich, daß bei gefülltem Magen-Darm-Trakt die Resorption langsamer verläuft.

Bevor wir auf die mit Chelatbildnern erzielten Ergebnisse eingehen, ist es notwendig, zu der bereits im früheren Zusammenhang (S. 5) berührten Frage Stellung zu nehmen, ob die von uns bestimmten Resorptionswerte, die auf der ^{59}Fe -Aktivität im eviszerierten Tier und im Urin basieren, durch Nichtbeachtung der fäkalen Ausscheidung zu niedrige Schätzwerte darstellen. In diesem Zusammenhang sind die in Tab. 19 zusammengestellten Ergebnisse anzuführen. Sie zeigen, daß die fäkale Ausscheidung des in chelierter Form parenteral verabfolgten Fe im Vergleich zu der renalen Ausscheidung vernachlässigbar ist. Es wäre grundsätzlich möglich, bei den von uns angegebenen Resorptionswerten aufgrund der Daten der Tab. 19 entsprechende Korrekturen anzubringen, die zu höheren Resorptionsraten und niedrigeren Werten für die Ausscheidung des resorbierten Fe mit dem Urin führen würden. Da diese Änderungen jedoch nur geringfügig sind, glauben wir, auf diese Korrekturen verzichten zu können.

Werden Chelatbildner oral und sofort im Anschluß an Fe verabfolgt, so verschwindet die Dosisabhängigkeit der prozentualen Fe-Resorption vollständig: Im Falle von DF und DTPA beträgt die Resorption unabhängig von der Fe-Dosis im Mittel 3,5%, nach Verabfolgung von dip 2,5% und von phen 2%. Dieser Befund könnte befriedigend und zwanglos mit der Annahme gedeutet werden, daß es im Magen-Darm-Trakt zur Bildung von Fe-Chelaten kommt, deren Resorption jedoch im Gegensatz zu den Verhältnissen nach Verabfolgung von FeCl_3 dosisunabhängig ist.

Was die Resorption von DTPA-Chelaten betrifft, so wird Ca-DTPA nach Forenan (1960) zu etwa 5 % aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert. Dieser Wert steht an sich in nicht schlechter Übereinstimmung mit der von uns gefundenen Resorption von 3,5 %, und es kann somit vermutet werden, daß die unterschiedliche Ladung

beider Chelate - das Ca-Chelat ist 3-fach negativ, das Fe(III)-Chelat dagegen 2-fach negativ geladen - ohne nennenswerten Einfluß auf die Höhe der Resorption ist. Bezüglich der Resorption von DF bzw. dessen Fe(III)-Chelats liegen bisher keine verwertbaren Angaben vor. Moeschlin (1964) gibt eine Resorption von annähernd 15 % an; die Arbeiten, auf die er hierbei explizit Bezug nimmt, geben jedoch keine Daten, die diesen Resorptionswert als gesichert erscheinen lassen. Bezüglich der Resorption von phen und dip liegen bisher unseres Wissens keine Untersuchungen vor.

Die Tatsache, daß die enterale Fe-Resorption bei allen untersuchten Liganden und im gesamten Fe-Dosis-Bereich konstant ist, kann als Hinweis dafür angesehen werden, daß das gesamte verabfolgte Fe quantitativ gebunden wird, da anderenfalls eine dosisunabhängige und konstante Resorptionsrate nicht auftreten sollte. Diese Folgerung ist, zumindest auf den ersten Blick, insofern etwas unerwartet, als die Affinität der vier Liganden zu Fe deutliche Unterschiede aufweist. Die Stabilitätskonstante des Fe(III)-DTPA beträgt $10^{28,6}$, die des Fe(II)-Chelats $10^{15,97}$ (Anderegg et al. 1959). Die effektive Bindungsaffinität liegt jedoch wesentlich niedriger, wenn man die Konkurrenz von Ca^{2+} -Ionen sowie von Hydroxoniumionen berücksichtigt. Die höhere Stabilität der Fe(III)-Chelate ist noch erheblich stärker ausgeprägt im Falle des DF, das als ein praktisch selektiver Chelatbildner für Fe(III) angesehen werden kann. Die Stabilität eines Fe(III)-Chelats beträgt nach Anderegg et al. (1963) 10^{32} ; die des Fe(II)-Chelats dagegen ist mit 10^{10} erheblich niedriger, und Fe(II) sollte bei Berücksichtigung der Basizitätskonstanten des DF bei alkalischem pH und erst recht bei saurem pH, d.h. im Magen, in nennenswertem Maße nicht gebunden werden. Eine Sonderstellung nehmen die beiden anderen Liganden, dip und phen, ein. Zunächst ist der pH-Einfluß erheblich schwächer ausgeprägt als bei den beiden zuerst genannten Liganden und kann im wesentlichen vernachlässigt werden. Desweiteren bedingt der Umstand, daß beide Liganden nur zwei Elektronendonatoratome (Stickstoff) aufweisen, daß nicht nur 1:1-Chelate, sondern 2:1- und 3:1-Chelate gebildet werden, d.h. die Bindung eines Fe-Ions durch 2 bzw. 3 Ligandenmolekel. Die Fe(II)-Chelate zeichnen sich durch eine beachtlich hohe Stabilität aus. Im Falle von dip beträgt β_3 für das 3:1 Fe(II)-Chelat $10^{17,58}$ (Krummholz 1950), β_3 für das Fe(III)-Chelat des phen ist $10^{23,5}$ und $10^{21,3}$ für das Fe(II)-Chelat (Anderegg 1962, 1963).

Diese Daten zeigen, daß (mit der eventuellen Ausnahme) von phen und dip eine nennenswertere Chelierung von Fe im saueren Milieu des Magensafts nicht stattfinden dürfte. Fe wird bekanntlich zwar als Fe^{2+} -Ion resorbiert (Brown und Justus 1958, Hahn et al. 1943), jedoch dürfte der überwiegende Fe-Bruchteil nach Applikation von $FeCl_3$ in dreiwertiger Form vorliegen, da anderenfalls die hohe Effektivität von DF, das wie oben erwähnt Fe^{2+} in nur sehr schwachem Maße cheliert, unverständlich bliebe.

Falls unsere Hypothese, daß es sich bei den beobachteten Resorptionsraten nicht um die Resorption von Fe, sondern der Fe-Chelate handelt, zutreffend ist, so müßte auch ein entsprechender Einfluß auf die Ausscheidung mit dem Urin, und zwar im Sinne einer Intensivierung, erwartet werden. Dies ist auch tatsächlich der Fall, und zwar nimmt die diesbezügliche Wirksamkeit der Chelatbildner in der Reihenfolge $DF > DTPA > phen$ und dip ab. Die vorliegenden Unterschiede in der Wirksamkeit entsprechen der unterschiedlichen Stabilität der Fe(III)-Chelate.

Werden die Chelatbildner nach bereits abgeschlossener Fe-Resorption, d.h. nach 30 Min., appliziert, so resultiert ein entgegengesetzter Effekt, indem die Resorptionsrate im gesamten Fe-Dosis-Bereich gegenüber unbehandelten Tieren statistisch gesichert erhöht ist, wobei ein signifikanter Unterschied in der Wirksamkeit von DTPA und DF offensichtlich nicht vorliegt. Um diesen Befund zu erklären, könnte zunächst daran gedacht werden, daß die Chelatbildner das im Darm noch befindliche, jedoch in einer nicht mehr resorbierbaren Form vorliegende Fe (z.B. als polynucleares Fe(III)) in einen gewissen Umfang solubilisieren und (in Analogie zu den Ergebnissen mit früh verabreichten Chelatbildner) damit zu der Resorption einer weiteren Fe-Menge führen. Diese Annahme erscheint jedoch insofern wenig überzeugend, als die nachträgliche Solubilisierung von unlöslichen bzw. schwer löslichen Metallpräzipitaten durch Chelatbildner einen überaus langsam verlaufenden Prozess darstellt (vgl. hierzu Schubert und Fried 1960). Ein weiteres Argument, das gegen diese Hypothese spricht, ist der Umstand, daß die Magen-Darm-Passage unter unseren Versuchsbedingungen offenbar sehr schnell abläuft, so daß allein auch aus diesem Grund die Bedingung für die Chelierung nicht gewährleistet wäre. Eine andere Erklärungsmöglichkeit könnte da-

von ausgehen, daß in der Mukosazelle durch die Untersuchungen von Manis und Schachter (1962, 1964) die Existenz eines sog. Fe(II)- und Fe(III)-Pools eindeutig nachgewiesen ist. Da andererseits beide Chelatbildner, zumindest zu einem bestimmten Bruchteil, in der Lage sind, die Mukosazelle zu passieren, könnte eine Mobilisation von Fe aus einem der beiden Pools vermutet werden. Im Falle des DF müßte im Hinblick auf seine praktisch selektive Affinität zu Fe(III) eine Mobilisierung aus dem Fe(III)-Pool in Betracht gezogen werden, während DTPA sowohl Fe(II) als auch Fe(III) zu binden in der Lage wäre.

In jedem Falle sollte jedoch eine Intensivierung der Fe-Ausscheidung mit dem Urin erwartet werden. Im Falle DF ist dies tatsächlich der Fall, wobei übrigens bei der höchsten Fe-Dosis (100 μ M) der Effekt sogar unerwartet groß ist. Die Effektivität des DTPA dagegen ist statistisch nur bei der niedrigsten Fe-Dosis (0,1 μ M) gesichert.

Bei später Verabreichung von dip und phen liegen keine eindeutigen Verhältnisse vor; dies betrifft sowohl den Einfluss auf die Fe-Resorption als auch auf die Fe-Ausscheidung mit dem Urin (Abb. 6). Da die Ergebnisse wenig eindeutig und im einzelnen auch nicht statistisch gesichert sind, nehmen wir von ihrer Diskussion Abstand und halten nur fest, daß ein Effekt, wenn überhaupt vorhanden, weniger stark ausgeprägt als im Falle des DF und des DTPA ist.

Was den Einfluß der Chelatbildner bei parenteraler Verabfolgung betrifft, so werden Liganden, die eine ausreichend hohe Affinität zu Fe(III) - in dieser Oxydationsstufe liegt Fe nach Resorption vor - aufweist, einen gewissen Bruchteil des endogenen bzw. resorbierten Fe chelieren und zur Ausscheidung bringen. Dies führt zu einer Störung des Gleichgewichts "serosale Seite der Mukosazelle, Mukosazelle - mukosale Seite (d.h. Darmlumen)", und es sollte durch Erhöhung des pFe-Werts auf der serosalen Seite der Fe-Transport von der mukosalen zur serosalen Seite begünstigt werden, d.h. eine erhöhte Resorption resultieren. Ein solcher Effekt wird tatsächlich bei intraperitonealer Injektion von DTPA beobachtet, und zwar unabhängig sowohl von der Fe-Dosis als auch vom Zeitpunkt der DTPA-Verabfolgung. Der zuletzt erwähnte Umstand weist darauf hin, daß das in vermehrtem Maße resorbierte Fe im wesentlichen

nicht aus dem Darmlumen, vielmehr aus den Fe-Pools der Mukosazelle stammt.

Der entgegengesetzte Effekt, die Herabsetzung und Verlangsamung der enteralen Fe-Resorption, könnte zwanglos mit der Annahme gedeutet werden, daß ein bestimmter Bruchteil des parenteral verabreichten Chelatbildners in die Mukosazelle permeiert und unter Umständen auch in den Darm sezerniert wird. Dabei wird der Chelatbildner mit den in der Mukosazelle ablaufenden Fe-Transportvorgängen interferieren, d.h. das obige Gleichgewicht in Richtung des Darmlumens verschieben. Die Tatsache, daß daneben auch eine erhöhte Fe-Ausscheidung mit dem Urin auftritt, steht zu der obigen Erklärung nicht in Widerspruch, da die Chelierung des endogenen Fe unabhängig von dem oben erwähnten Prozess abläuft und ein größerer Bruchteil des hierbei gebildeten Fe-Chelats in erhöhtem Maße mit dem Urin ausgeschieden wird. In diesem Sinne wäre auch die Hemmung und Verlangsamung der Fe-Resorption nach parenteraler Verabreichung von phen und dip zu erklären. Die in der Tabelle 19 zusammengestellten Daten hatten eindeutig gezeigt, daß ein bestimmter Bruchteil dieser Fe-Chelate tatsächlich mit den Faeces ausgeschieden wird. Da die Hemmung der enteralen Fe-Resorption durch phen und dip nur bei frühzeitiger Verabfolgung beobachtet wird, nicht jedoch bei später Verabreichung, muß angenommen werden, daß es sich im wesentlichen um eine Beeinflussung der Fe-Transportvorgänge in der Mukosazelle handelt.

Kompliziertere Verhältnisse liegen im Falle der parenteralen Verabfolgung von DF vor; bei später Verabfolgung verhält sich DF wie DTPA, indem es die Resorption über den gesamten Fe-Dosis-Bereich um einen konstanten Betrag erhöht. Bei frühzeitiger Verabfolgung macht sich jedoch eine deutliche Abhängigkeit der Effektivität von der Fe-Dosis bemerkbar, indem bei niedrigen Fe-Dosen die Resorption gehemmt, bei höheren hingegen gesteigert wird. Für die Versuchsbedingungen, bei denen eine erhöhte Resorption resultiert, kann die gleiche Deutung, wie wir sie für DTPA vorgeschlagen hatten, übernommen werden. Es erhebt sich jedoch die Frage, warum im Falle der niedrigen Fe-Dosis dieser Mechanismus, der ja grundsätzlich auch hierbei wirksam werden sollte, maskiert, d.h. durch einen anderen Prozess überdeckt wird, so daß im Endeffekt eine gehemmte Resorption resultiert. Für DF muß eine gewisse Ausscheidung durch die Mukosazelle angenommen werden, und es müßte

hierbei zu einer Beeinflussung der in ihr ablaufenden Transportvorgänge kommen, so wie wir es für dip und phen postulierten. Offenbar kann dieser Mechanismus jedoch nur dann manifest werden, wenn der Chelatbildner in stärkerem Überschuß zu Fe vorliegt, d.h. bei Verabreichung relativ kleiner Fe-Dosen. Ist dieser Überschuß nicht vorhanden, d.h. bei höheren Fe-Dosen, so würde dieser Mechanismus durch den anderen Mechanismus, wie er für DTPA postuliert wurde, weitgehend überdeckt werden.

Abschließend sei noch bemerkt, daß die quantitative Auswertung unserer Versuchsergebnisse noch durch einen letzten Umstand erschwert wird, und zwar durch die Tatsache, daß ein isotopischer Austausch zwischen chelierter^m und in anderer Form im Organismus vorliegenden Fe stattfinden kann. Dies geht aus der Wirksamkeit der Fe-(III)-Chelate des DF eindeutig hervor. (Tab. 18).

Zusammenfassung

Es wurde an Ratten gezeigt, daß die orale Verabfolgung von verschiedenen Chelatbildnern (Diäthylentriaminpentaacetat, Desferrioxamin B, Dipyridyl und Phenantrolin) zu einer deutlichen Hemmung der enteralen Resorption von Eisen führt. Die dabei beobachtete Unabhängigkeit der Resorption von der Eisendosis und die gleichzeitig erhöhte Eisenausscheidung mit dem Urin lassen den Schluß zu, daß es sich ursächlich um eine Chelierung von Eisen im Magen-Darm-Trakt handelt. Die Hemmung der Resorption wird nur dann beobachtet, wenn die Applikation der Chelatbildner frühzeitig nach Eisen erfolgt. Werden sie dagegen zu späteren Zeitpunkten verabreicht, d.h. nach abgeschlossener Eisenresorption, tritt eine erhöhte Eisenresorption auf; dies muß aller Wahrscheinlichkeit nach auf eine Mobilisierung von Eisen aus den Mukosa-Eisen-Pools durch die resorbierte Fraktion des Chelatbildners zurückgeführt werden.

Die Wirksamkeit der Chelatbildner bei parenteraler Verabfolgung ist unterschiedlich: DTPA erhöht unabhängig vom Zeitpunkt der Verabfolgung und unabhängig von der applizierten Fe-Dosis die Resorption. Dies wird auf eine Störung der im Körper herrschenden Gleichgewichtszustände zurückgeführt. Die Hemmung der Resorption durch parenteral verabfolgtes Phenantrolin und Dipyridyl wird so gedeutet, daß ein bestimmter Bruchteil des Chelatbildners durch die Mukosazelle in den Darm ausgeschieden wird. Im Falle von Desferrioxamin müssen beide Mechanismen angenommen werden.

Tabelle 1 Abhängigkeit der enteralen Fe-Resorption und der Ausscheidung der resorbierten Fe-Menge mit dem Urin von der FeCl_3 -Dosis. N = Zahl der Tiere. Die in Klammern angeführten Zahlen entsprechen den durch den logarithmischen Standardfehler gegebenen Bereich.

$\mu\text{M Fe}$	N	Resorption (% der Dosis)	Ausscheidung im Urin (% der resorb. Menge)
0,1	6	34,3 (30,2 - 40,8)	0,34 (0,24 - 0,49)
1	11	9,56 (8,31 - 10,9)	4,68 (4,08 - 5,36)
10	7	4,07 (3,47 - 4,79)	8,14 (5,84 - 11,4)
100	4	1,62 (1,55 - 1,70)	15,9 (12,0 - 21,0)

Tabelle 2 Varianzanalyse der in Tab. 1 zusammengestellten Versuchsergebnisse. n = Zahl der Freiheitsgrade, S^2 = Varianz, F,t = Prüffunktionen, P = Signifikanzwahrscheinlichkeit.

Art der Varianz	n	S^2	t bzw. F	P
Resorption				
Regression, linear	1	49/99	13,0	$<10^{-4}$
Regression, nichtlinear	2	230		
Fehler	24	290		
Ausscheidung				
Regression, linear	1	72505	8,9	$<10^{-4}$
Regression, nichtlinear	2	8623	9,5	$<10^{-3}$
Fehler	24	908		

Tabelle 3 Enterale Fe-Resorption (%) in Abhängigkeit von Dosis und Zeit.

Zeit (Min.)	μM Fe							
	0,1		1		10		100	
	N	%	N	%	N	%	N	%
15	6	16,3	6	10,3	4	3,8	6	1,2
30	6	39,0	6	14,2	5	3,1	6	1,3
60	6	31,2	-	-	-	-	6	1,0
240	6	34,8	-	-	-	-	-	-
1440	6	34,3	11	9,6	7	4,1	4	1,6

Tabelle 4 Varianzanalyse der in Tab. 3 zusammengestellten Versuchsergebnisse.

$\mu\text{M Fe}$	Art d. Varianz	n	s^2	F	P
100	Zeit	3	349	2,16	0,2 - 0,1
	Fehler	18	161		
10	Zeit	2	216		
	Fehler	13	291		
1	Zeit	2	619		
	Fehler	20	735		
0,1	Zeit	4	1358	3,68	0,05 - 0,001
	Fehler	25	369		
0,1 *	Zeit	3	94		
	Fehler	20	339		

*Nach Ausschluß der 15 Min.-Gruppe

Tabelle 5 Einfluß von 100 µM DTPA bzw. DF (oral sofort oder nach 30 Min. verabfolgt) auf Resorption (% der Fe-Dosis) und Ausscheidung mit dem Urin (% der resorbierten Fe-Menge) von verschiedenen Fe-Dosen. Je 6 Tiere pro Gruppe.

µM Fe	sofort		nach 30 Min.	
	Resorption	Ausscheidung	Resorption	Ausscheidung
	DTPA			
0,1	4,05 (3,53-4,66)	18,6 (16,5-21,0)	37,0 (31,0-43,5)	1,10 (0,83- 1,45)
1	2,96 (2,44-3,66)	40,3 (34,3-47,4)	19,7 (17,5-22,0)	4,17 (3,90- 4,37)
10	2,82 (2,57-3,10)	33,9 (29,4-39,2)	--	--
100	4,70 (4,10-5,40)	45,8 (41,8-50,0)	3,24(2,91-3,60)	19,1 (15,5-23,5)
	DF			
0,1	3,50 (2,93-4,16)	33,1 (25,4-43,4)	43,2 (36,7 -50,7)	0,99 (0,66- 1,32)
1	3,19 (2,67-3,84)	56,4 (52,1-61,0)	17,4 (14,1 -21,8)	6,50 (5,31- 7,86)
10	2,66 (2,35-3,02)	36,4 (32,2-41,0)	--	--
100	4,04 (3,78-4,33)	53,7 (50,5-57,2)	1,90(1,65- 2,17)	52,5 (39,1 -72,6)

Tabelle 6 Varianzanalyse der in Tab. 5 zusammengestellten Versuchsergebnisse (Resorption).

Zeit	Art d. Varianz	n	S ²	F bzw. t	P
sofort	Chelatbildner	1	138	2,72	0,1 - 0,05
	Fe-Dosis	3	937		
	Fehler	42	344		
nach 30 Min.*	Regression, linear	1	141716	22,7	<10 ⁻⁴
	Parallelität	2	790	2,87	0,1 - 0,05
	Abstand	2	3058	11,1	<10 ⁻³
	Fehler	58	275		

*Kontrollgruppe (Tab. 1) eingeschlossen

Tabelle 7 Varianzanalyse der in Tab. 5 zusammengestellten Versuchsergebnisse (Ausscheidung mit dem Urin).

Art d. Varianz	n	S ²	F bzw. t	P
DTPA sofort				
Regression, linear	1	4308	4,81	$<2,10^{-4}$
Regression, nichtlinear	2	1044	5,62	0,01 - 0,001
Fehler	20	186		
DTPA nach 30 Min.				
Regression, linear	1	45281	8,58	$<10^{-4}$
Regression, nichtlinear	1	1037	1,30	0,22
Fehler	15	619		
DF sofort				
Regression, linear	1	941	1,68	0,12
Regression, nichtlinear	2	964	2,89	0,1 - 0,05
Fehler	20	334		
DF nach 30 Min.				
Regression, linear	1	89044	10,4	$<10^{-4}$
Regression, nichtlinear	1	2526	1,71	0,14
Fehler	15	862		

Tabelle 8 Einfluß von 20 μM dip bzw. 2,5 μM phen (oral sofort oder nach 30 Min. verabfolgt) auf die Resorption (% der Fe-Dosis) und Ausscheidung mit dem Urin (% der resorbierten Fe-Menge) von verschiedenen Fe-Dosen. Je 6 Tiere pro Gruppe.

μM Fe	sofort		nach 30 Min.	
	Resorption	Ausscheidung	Resorption	Ausscheidung
	dip			
0,1	3,36 (2,99-3,79)	11,2 (8,70-14,5)	49,0 (45,4 -53,0)	0,69 (0,61-0,78)
1	2,33 (1,93-2,81)	13,0 (11,2- 15,2)	12,4 (9,50-16,7)	1,41 (1,05-1,90)
10	2,12 (1,84-2,43)	12,9 (10,7- 15,5)	2,78(2,19- 3,51)	3,72 (2,32-5,88)
	phen			
0,1	1,75 (1,44-2,12)	24,6 (20,6-30,2)	34,4 (29,6-40,1)	0,71 (0,58-0,87)
1	2,26 (1,84-2,79)	10,0 (7,12-14,1)	20,2 (18,4-22,3)	0,81 (0,56-1,15)

Tabelle 9 Varianzanalyse der in Tab. 8 zusammengestellten Versuchsergebnisse (Resorption).

Zeit		n	S ²	F bzw. t	P
sofort dip	Regression, linear	1	1220	2,19	0,06
	Fehler	16	256		
sofort phen	Regression, linear	1	386		
	Fehler	10	452		
nach 30 Min.*	Regression, linear	1	92554	16,9	<10 ⁻⁴
	Parallelität	2	4857	7,52	<10 ⁻³
	Fehler	52	323		
nach 30 Min.**	Regression, linear	1	92912	16,1	<10 ⁻⁴
	Parallelität	1	2912	2,86	0,009
	Fehler	43	358		

* Kontrolle, dip, phen

**Kontrolle, dip

Tabelle 10 Varianzanalyse für die in Tab. 8 zusammengestellten Versuchsergebnisse (Ausscheidung nach sofortiger Verabfolgung der Chelatbildner).

Chelat- bildner	Art d. Varianz	n	S ²	t	P
dip	Regression, linear	1	114		
	Fehler	16	431		
phen	Regression, linear	1	4409	1,93	0,07
	Fehler	10	1194		

Tabelle 11 Einfluß von 100 μM DTPA bzw. DF (intraperitoneal sofort oder nach 30 Min. injiziert) auf die Resorption (% der Fe-Dosis) und die Ausscheidung mit dem Urin (% der resorbierten Fe-Menge) von verschiedenen Fe-Dosen. N = Zahl der Tiere.

μM Fe	N	sofort		N	nach 30 Min.	
		Resorption	Ausscheidung		Resorption	Ausscheidung
		DTPA			DTPA	
0,1	6	39,2 (33,1 -46,3)	25,1(24,0-26,2)	6	41,5 (32,7-52,5)	7,42(6,90- 8,00)
1	17	11,2 (9,93-12,6)	25,1(23,4-27,0)	6	27,1 (21,7-33,9)	10,3 (9,10-11,2)
10	6	6,20(5,00- 7,68)	28,8(25,4-32,8)		--	--
100	7	2,57(2,12- 3,13)	41,6(34,4-48,4)	6	2,39(1,91-3,01)	20,9 (17,8 -24,6)
		DF			DF	
0,1	11	14,2 (12,3 -16,3)	50,2(46,7-53,8)	10	40,6 (35,1-47,1)	13,8 (12,8 -14,9)
1	6	7,11(5,92 - 8,55)	49,1(44,1-54,3)	12	16,1 (13,9-18,5)	21,4 (17,9 -25,8)
10	5	5,84(5,26 - 6,47)	50,2(46,7-53,8)		--	--
100	8	3,78(3,00 - 4,76)	61,9(55,5-68,8)		1,92(1,60-2,29)	33,9 (30,2 -38,1)

Tabelle 12 Varianzanalyse der in Tab. 11 zusammengestellten Versuchsergebnisse (Resorption).

a) Kontrolle, DTPA sofort und nach 30 Min., DF nach 30 Min., b) dto, aber Kontrolle ausgeschlossen.

Art d. Varianz	n	S ²	F bzw. t	P
a) Regression, linear	1	212188	21,8	<10 ⁻⁴
Parallelität	3	461	1,03	> 0,2
Abstand	3	4501	10,1	<10 ⁻³
Fehler	102	447		
b) Regression, linear	1	167372	17,9	<10 ⁻⁴
Parallelität	2	862	1,69	0,2
Abstand	2	4,6		
Fehler	76	511		

Tabelle 13 Varianzanalyse der in Tab. 11 zusammengestellten Versuchsergebnisse (Ausscheidung).

Gruppe	Art d. Varianz	n	S ²	F bzw. t	P
alle	Regression, linear	1	11403	7,80	<10 ⁻⁴
	Parallelität	3	1095	5,88	0,01 - 0,001
	Fehler	102	188		
DTPA sofort	Regression, linear	1	2641	4,16	5·10 ⁻⁴
	Fehler	35	153		
DTPA nach 30 Min.	Regression, linear	1	6451	5,56	<10 ⁻⁴
	Fehler	16	209		
DF sofort	Regression, linear	1	258	1,62	0,14
	Fehler	27	99		
DF nach 30 Min.	Regression, linear	1	5338	4,07	1,5·10 ⁻³
	Fehler	24	324		

Tabelle 14 Einfluß von 20 µM dip bzw. 2,5 µM phen (intraperitoneal sofort oder nach 30 Min. injiziert) auf die Resorption (% der Fe-Dosis) und die Ausscheidung mit dem Urin (% der resorbierten Fe-Menge) von verschiedenen Fe-Dosen. Je 6 Tiere pro Gruppe.

µM Fe	sofort		nach 30 Min.	
	Resorption	Ausscheidung	Resorption	Ausscheidung
	dip			
0,1	11,2 (9,58-13,2)	4,47 (3,52-5,69)	34,2 (28,6-41,0)	1,48 (1,21-1,80)
1	5,64(4,62- 6,84)	4,79 (4,18-5,84)	15,2 (11,6-19,9)	2,09 (1,46-3,00)
10	2,06(1,78- 2,37)	6,97 (5,76-7,95)	3,70(2,99-4,58)	8,90 (7,16-11,1)
100	1,03(0,83- 1,28)	16,7 (11,2-23,5)	1,33(1,12-1,58)	7,24 (5,25-10,0)
	phen			
0,1	11,6 (10,2-13,3)	1,38 (0,96-2,00)	29,2 (22,4 -37,9)	0,56 (0,39-0,81)
1	6,35(5,19-7,77)	2,78 (2,14-3,55)	16,7 (14,0- 19,9)	1,02 (0,74-1,41)
10	2,12(1,84-2,45)	4,17 (2,95-5,90)	4,05(3,43-4,79)	4,76 (3,24-5,62)

Tabelle 15 Varianzanalyse der in Tab. 14 zusammengestellten Versuchsergebnisse (Resorption).

a) phen und dip sofort, b) Kontrolle, phen und dip nach 30 Min.

Art d. Varianz	n	S ²	F bzw. t	P
a) Regression, linear	1	57457	13,3	<10 ⁻⁴
Parallelität	1	6		
Abstand	1	214		
Fehler	37	326		
b) Regression, linear	1	146942	18,7	<10 ⁻⁴
Parallelität	2	405	1,44	> 0,2
Abstand	2	605		
Fehler	64	421		

Tabelle 16 Einfluß intraperitoneal injizierter Chelat-
bildner auf den zeitlichen Verlauf der Re-
sorption (%) von 0,1 μ M Fe. N = Zahl d. Tiere.

Chelat- bildner	Zeit (Min.)									
	15		30		60		240		1440	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
DTPA	6	39,8	6	38,9	6	31,0	6	37,2	6	39,2
DF	5	8,0	6	5,4	5	7,8	8	5,3	11	14,5
dip	5	2,1	5	2,9	6	3,0	6	22	6	11,2
phen	5	1,3	5	1,5	5	4,1	5	2,8	6	11,6

Tabelle 17 Varianzanalyse der in Tab. 16 zusammengestellten Versuchsergebnisse. a) alle Zeitpunkte, b) Ausschluß der 24 Std.-Gruppe

Chelat-Bildner	Art d. Varianz	n	s ²	F	P
DTPA a)	Zeit	4	113		
	Fehler	25	555		
DF	a) Zeit	4	2772	8,48	<10 ⁻³
	Fehler	30	327		
	b) Zeit	3	981	2,21	
	Fehler	20	442		
dip	a) Zeit	4	5231	11,8	<10 ⁻³
	Fehler	23	443		
	b) Zeit	3	402		
	Fehler	18	487		
phen	a) Zeit	4	81821	5,21	0,01 - 0,001
	Fehler	21	1578		
	b) Zeit	3	2769	1,38	
	Fehler	16	2009		

Tabelle 18 Einfluss von 100 μM Fe(III)-DF (oral oder intraperitoneal sofort verabfolgt) auf Resorption (% der mit ^{59}Fe markierten Fe-Dosis von 0,1 μM) und Ausscheidung mit dem Urin (% der resorbierten Fe-Menge). Je 6 Tiere pro Gruppe.

	oral	intraperitoneal
Resorption	4,17(3,55- 4,90)	25,2(21,7-29,4)
Ausscheidung	35,8 (30,8 -41,6)	10,7(8,6-13,3)

Tabelle 19 ^{59}Fe -Chelat im Körper, Urin und Faeces 24 Std. nach intraperitonealer Injektion von ^{59}Fe -markiertem Fe(III)-Chelaten. Je 6 Tiere pro Gruppe.

μM Fe-Chelate	% der Bilanz		
	Körper	Urin	Faeces
1 DTPA	68,1	31,0	0,9
100 DTPA	7,3	90,5	2,2
1 DF	19,7	77,9	2,4
100 DF	15,5	84,5	- 1)
1 dip ²⁾	69,5	26,2	4,3
1 phen ²⁾	75,0	20,2	4,8
Kontrolle ³⁾	99,5	0,5	- 4)

- 1) Keine Faeces 2) 1 Fe : 3 Ligand 3) $1\mu\text{M}$ FeCl_3
 4) unterhalb der Nahrungsgrenze.

Abb. 1: Abhängigkeit der enteralen Fe-Resorption von der Fe-Dosis. Berechnete Gerade mit Mutungsbereich für $P = 0,05$.

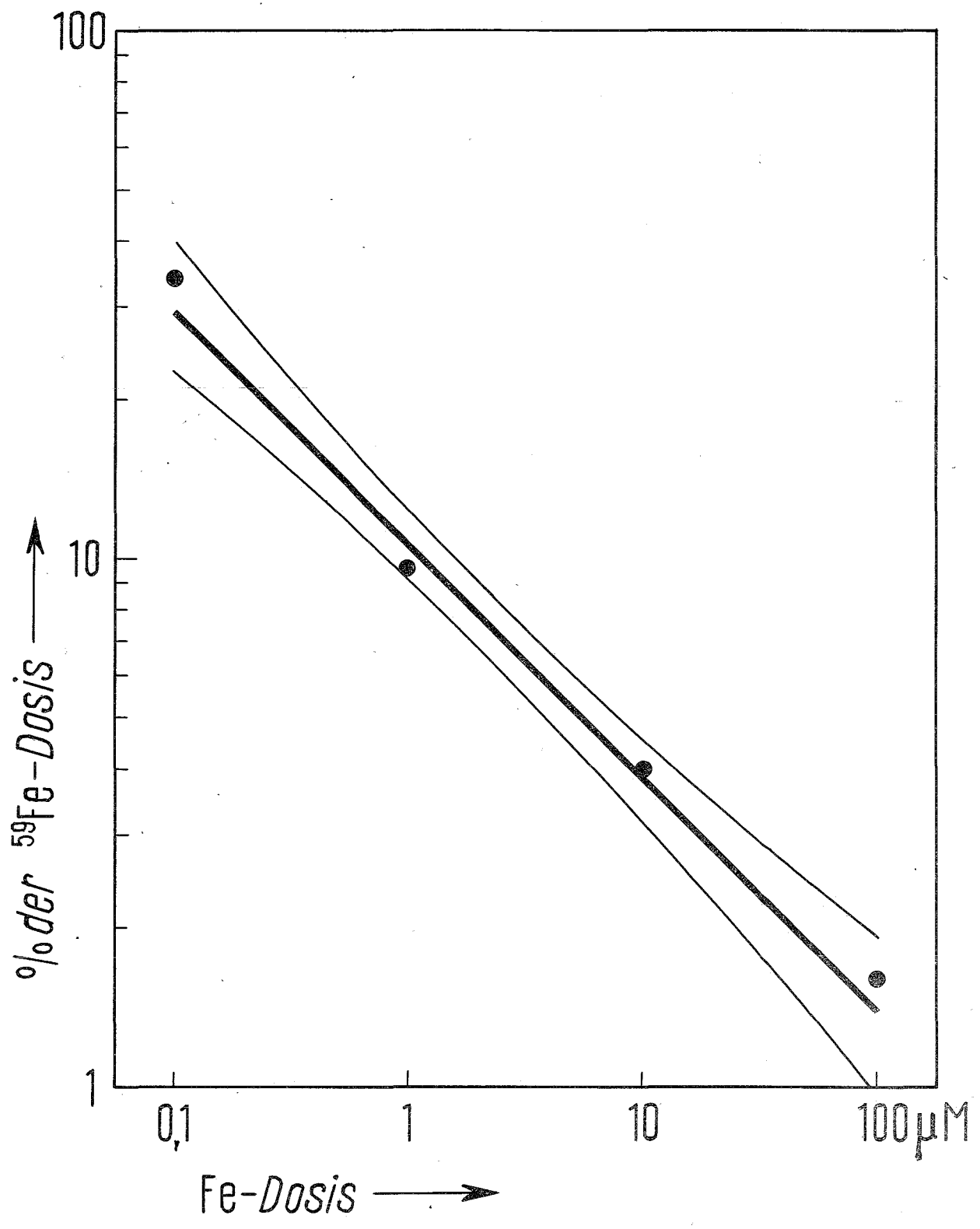


Abb. 2: Abhängigkeit der Fe-Ausscheidung mit dem Urin von der Fe-Dosis. Einfache Standardfehler.

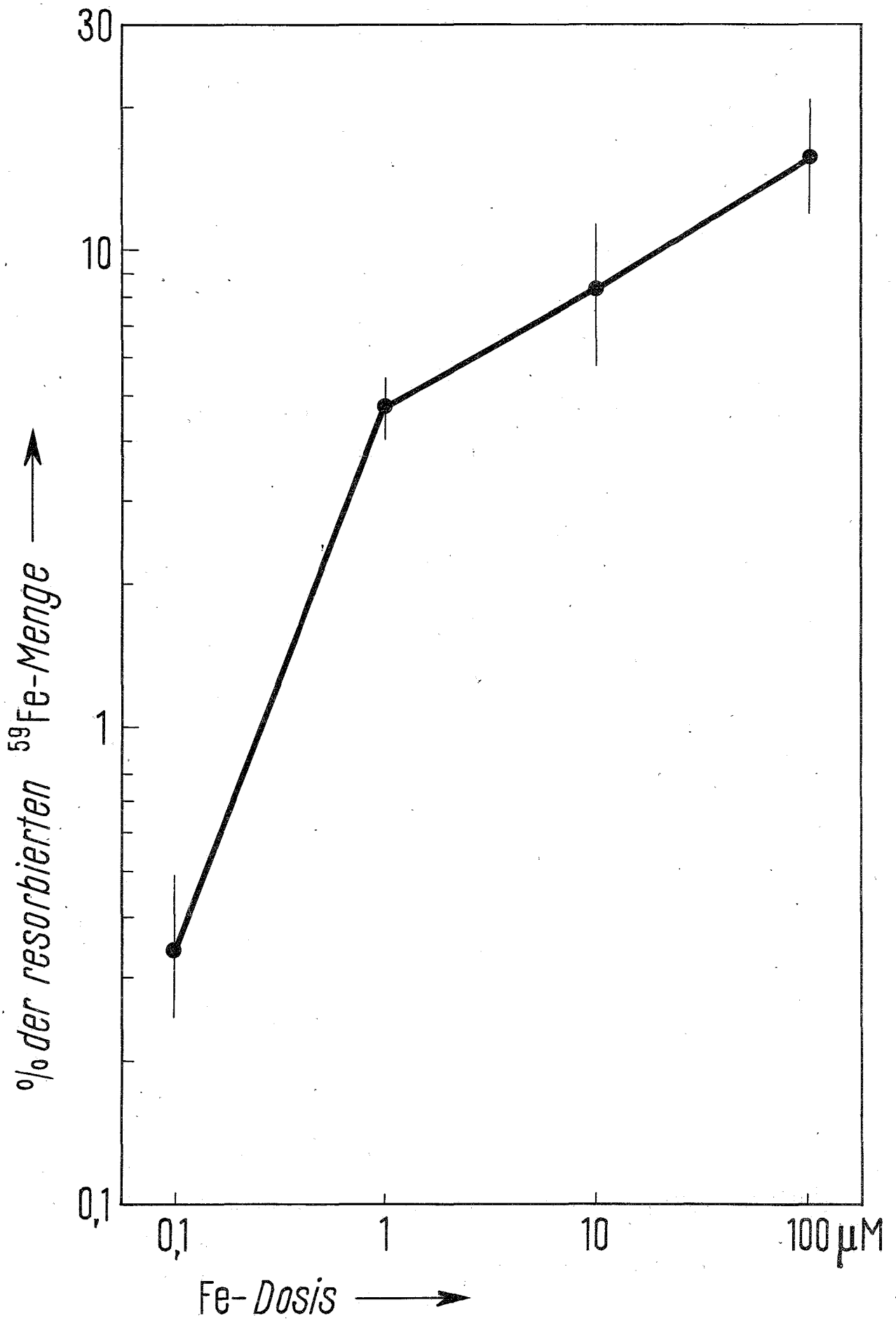


Abb. 3: Einfluß von oral verabfolgter DTPA bzw. DF auf die Resorption verschiedener Fe-Dosen. Bzgl. Ausgleichsgeraden s. Text.

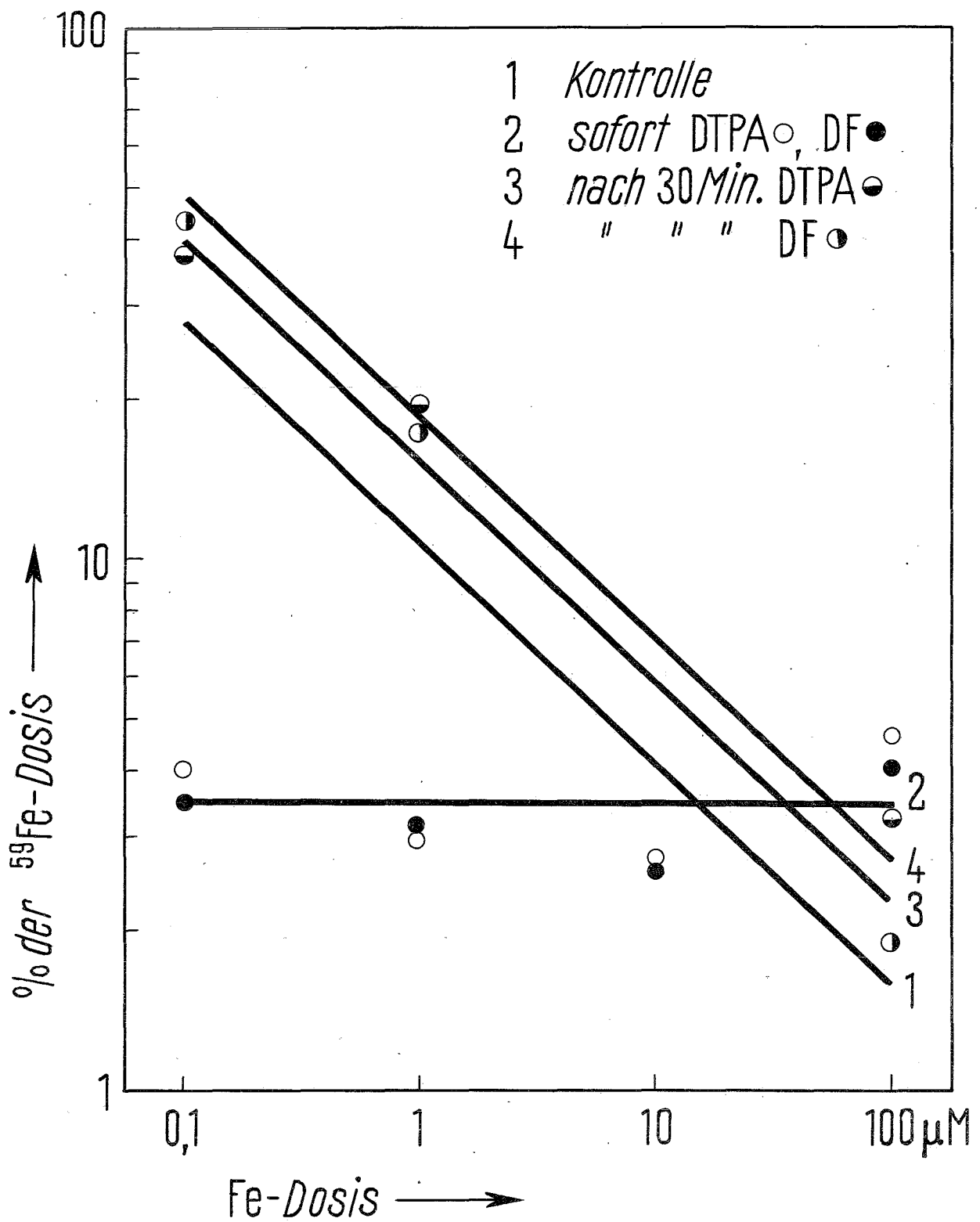


Abb. 4: Einfluß von oral verabfolgter DTPA bzw. DF auf die Ausscheidung verschiedener Fe-Dosen mit dem Urin. Bzgl. Ausgleichsgeraden s. Text.

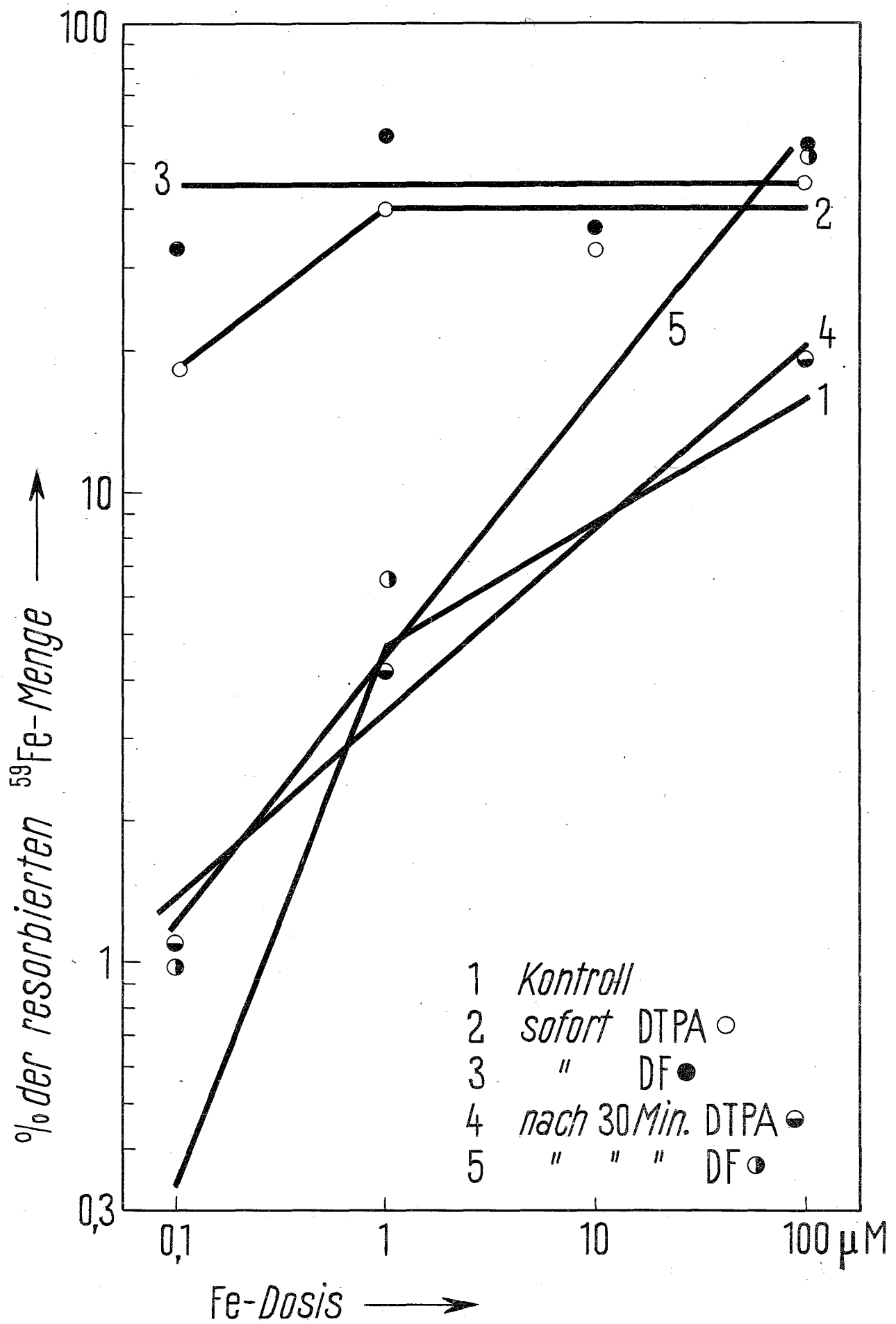


Abb. 5: Einfluß von oral verabfolgtem dip bzw. phen auf die Resorption verschiedener Fe-Dosen. Bzgl. Ausgleichsgeraden s. Text.

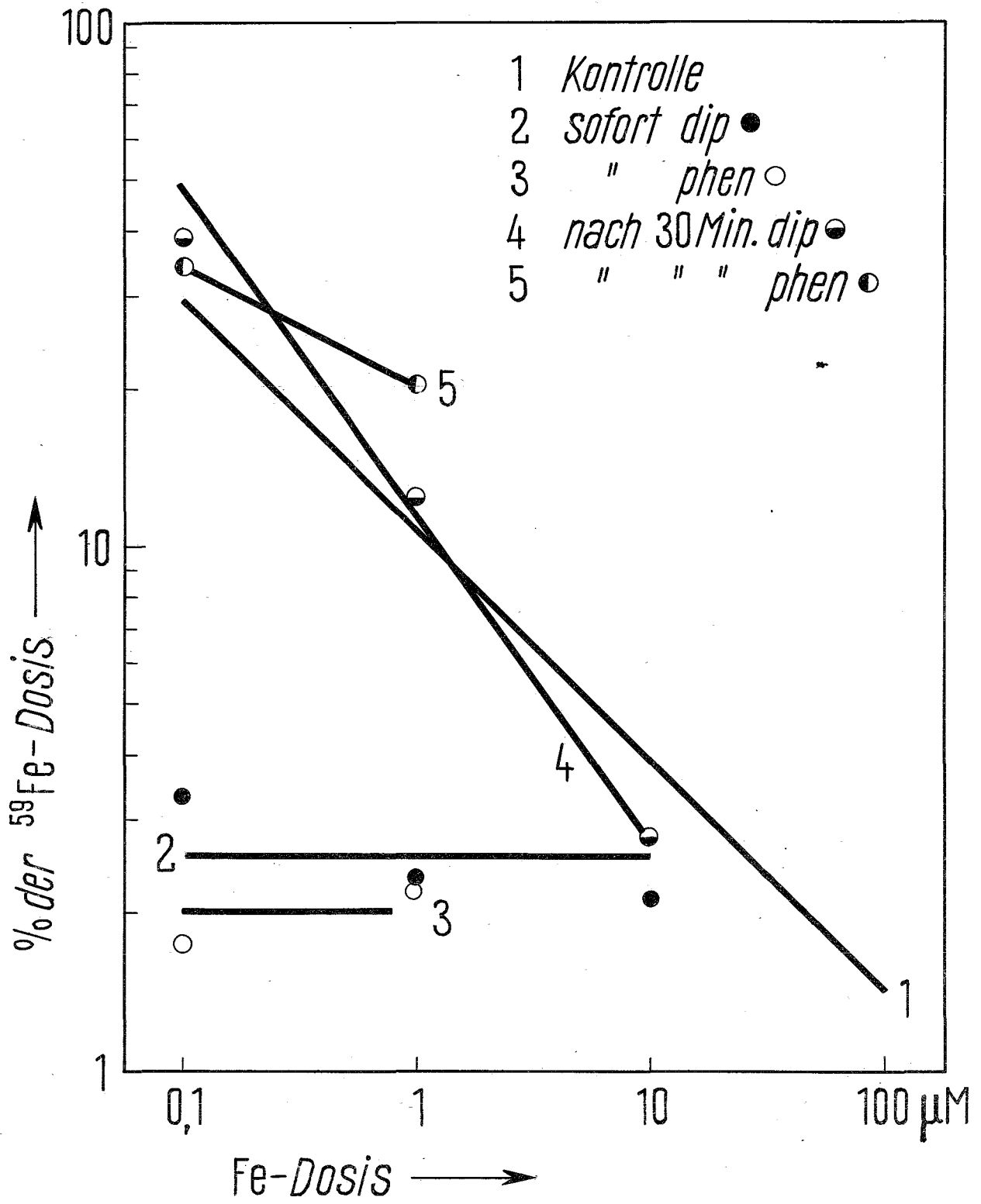


Abb. 6: Einfluß von oral verabfolgtem dip bzw. phen auf die Ausscheidung verschiedener Fe-Dosen mit dem Urin. Bzgl. Ausgleichsgeraden s. Text.

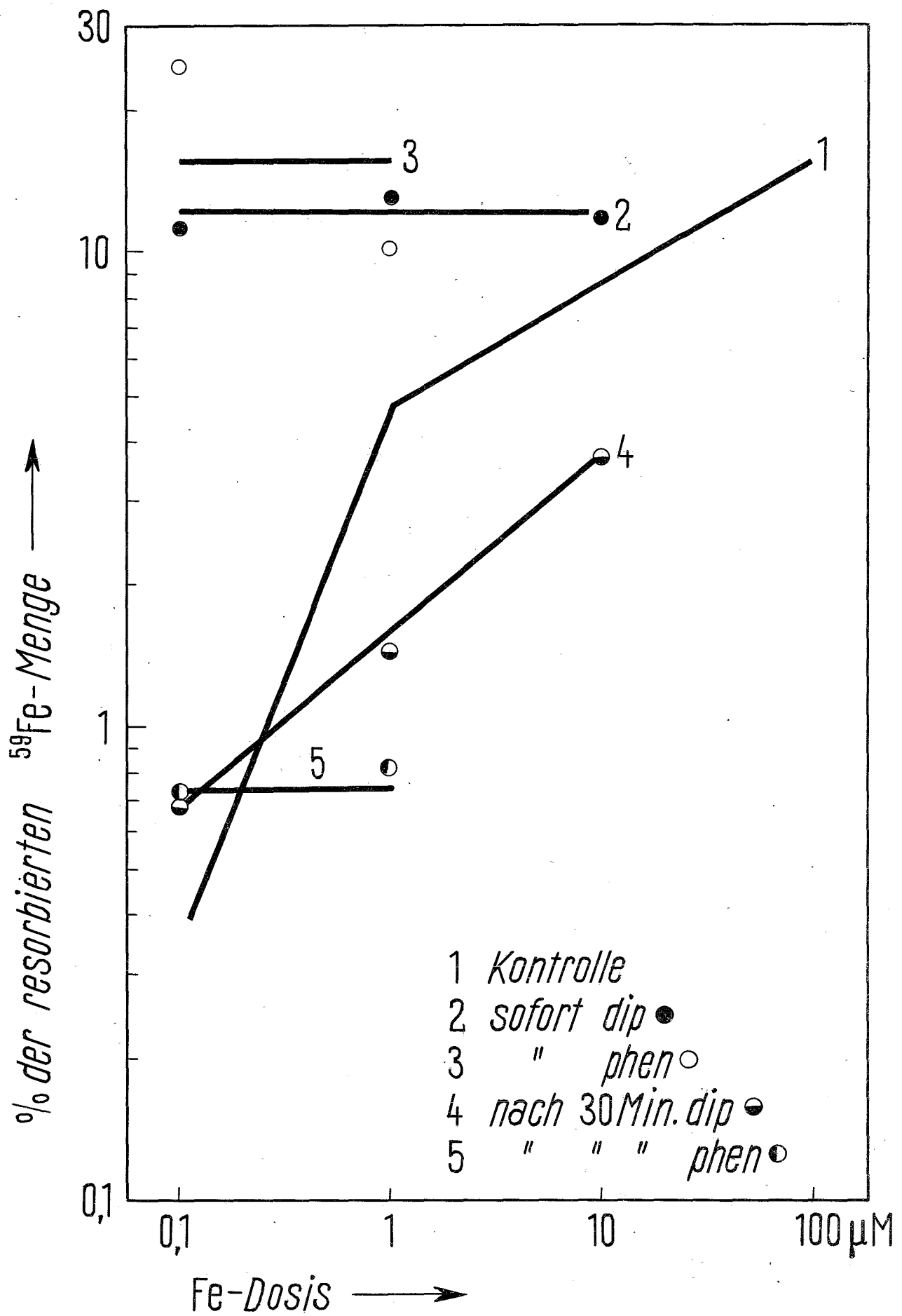


Abb. 7: Einfluß von intraperitoneal injizierter DTPA bzw. DF auf die Resorption verschiedener Fe-Dosen. Bzgl. Ausgleichsgeraden s. Text.

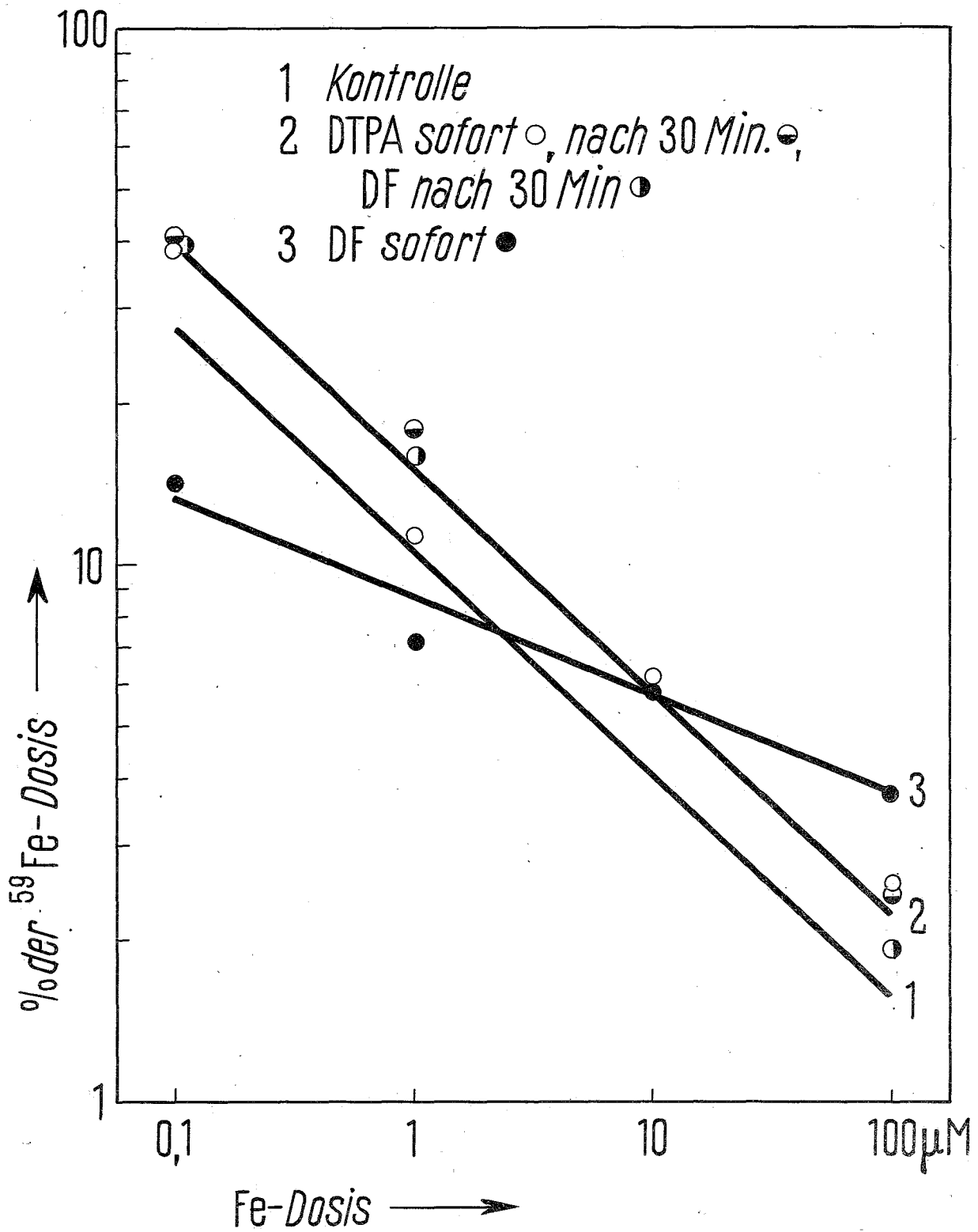


Abb. 8: Einfluß von intraperitoneal injizierter DTPA bzw. DF auf die Ausscheidung verschiedener Fe-Dosen mit dem Urin. Bzgl. Ausgleichsgeraden s. Text.

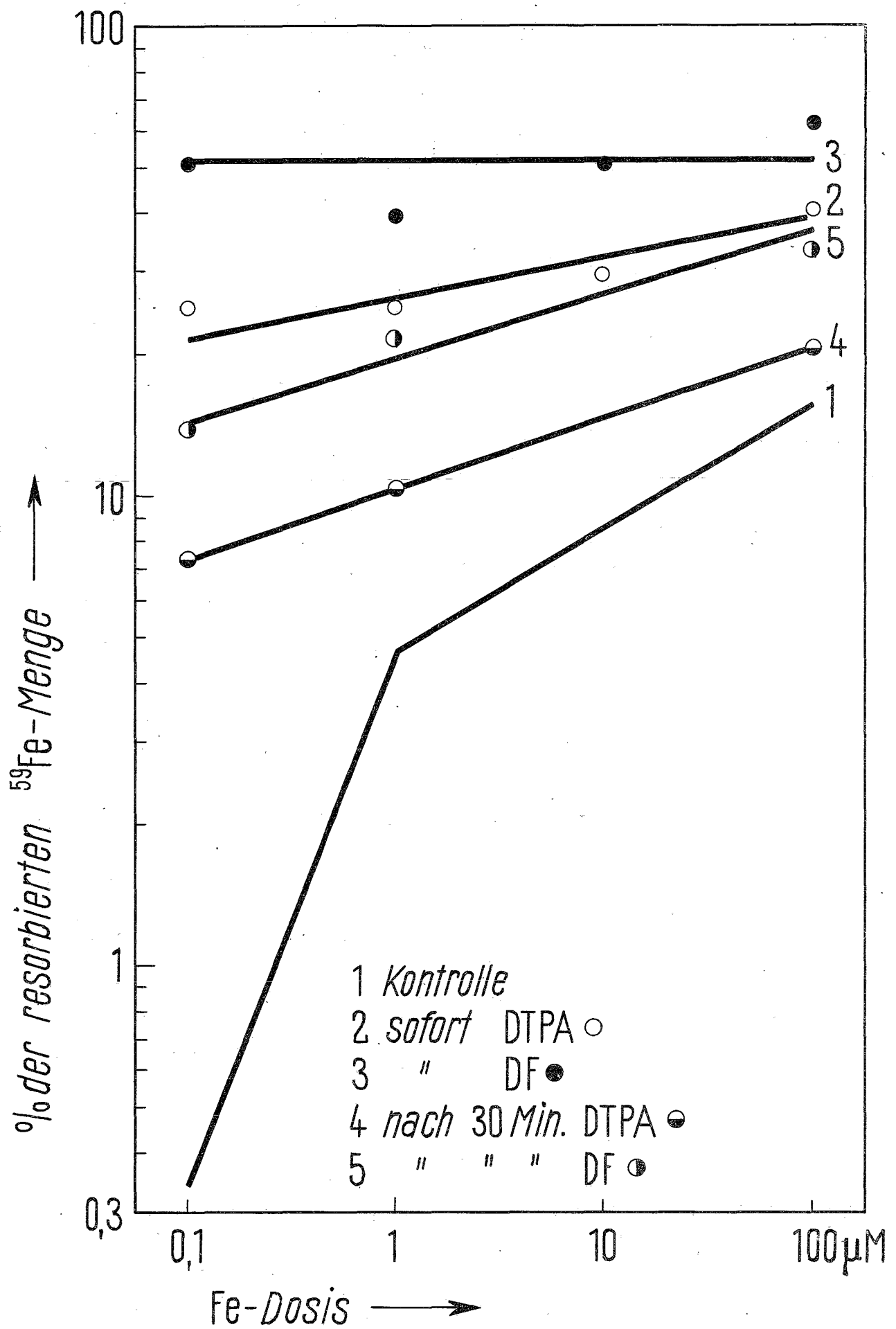


Abb. 9: Einfluß von intraperitoneal injiziertem dip bzw. phen auf die Resorption verschiedener Fe-Dosen. Bzgl. Ausgleichsgeraden s. Text.

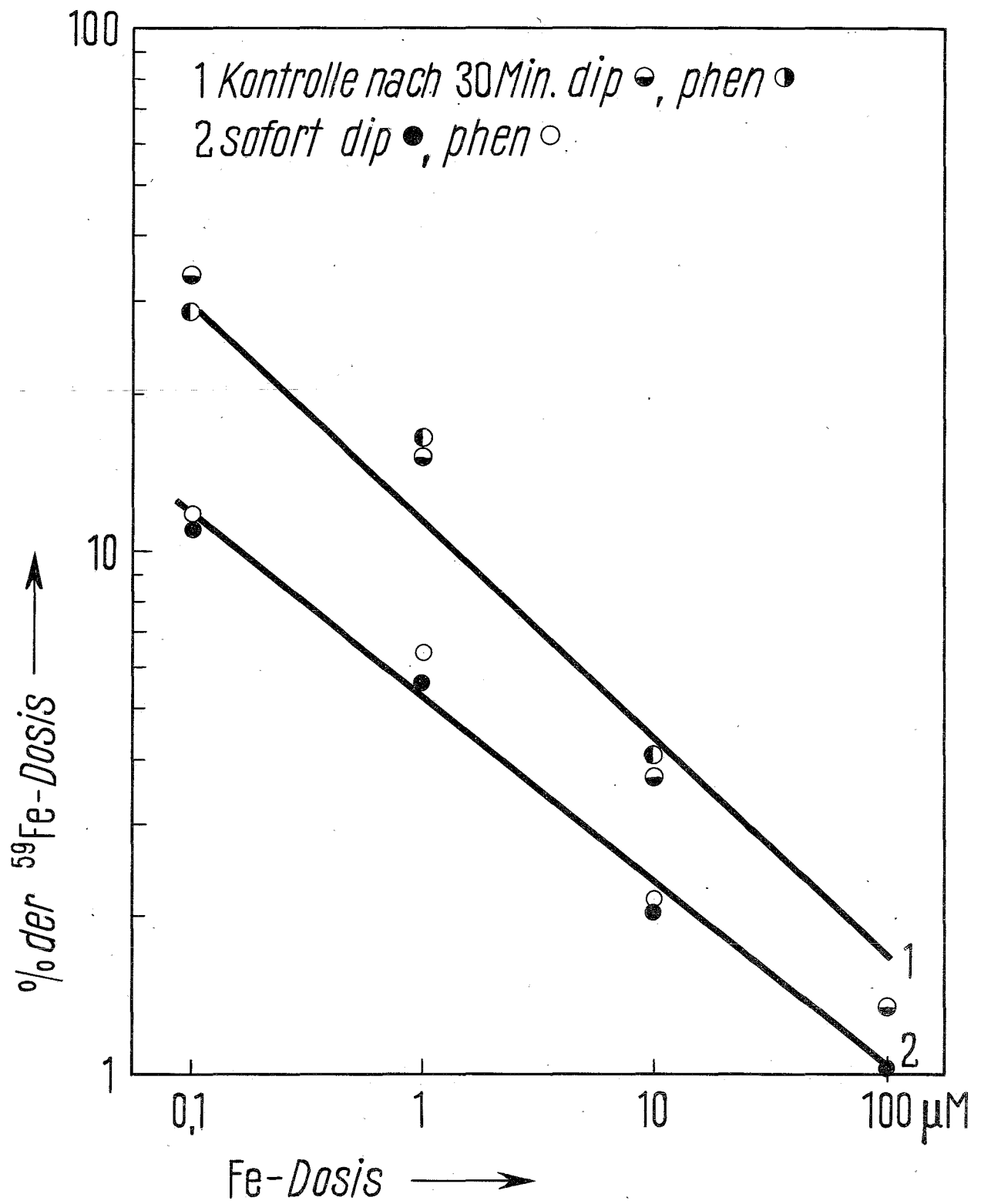
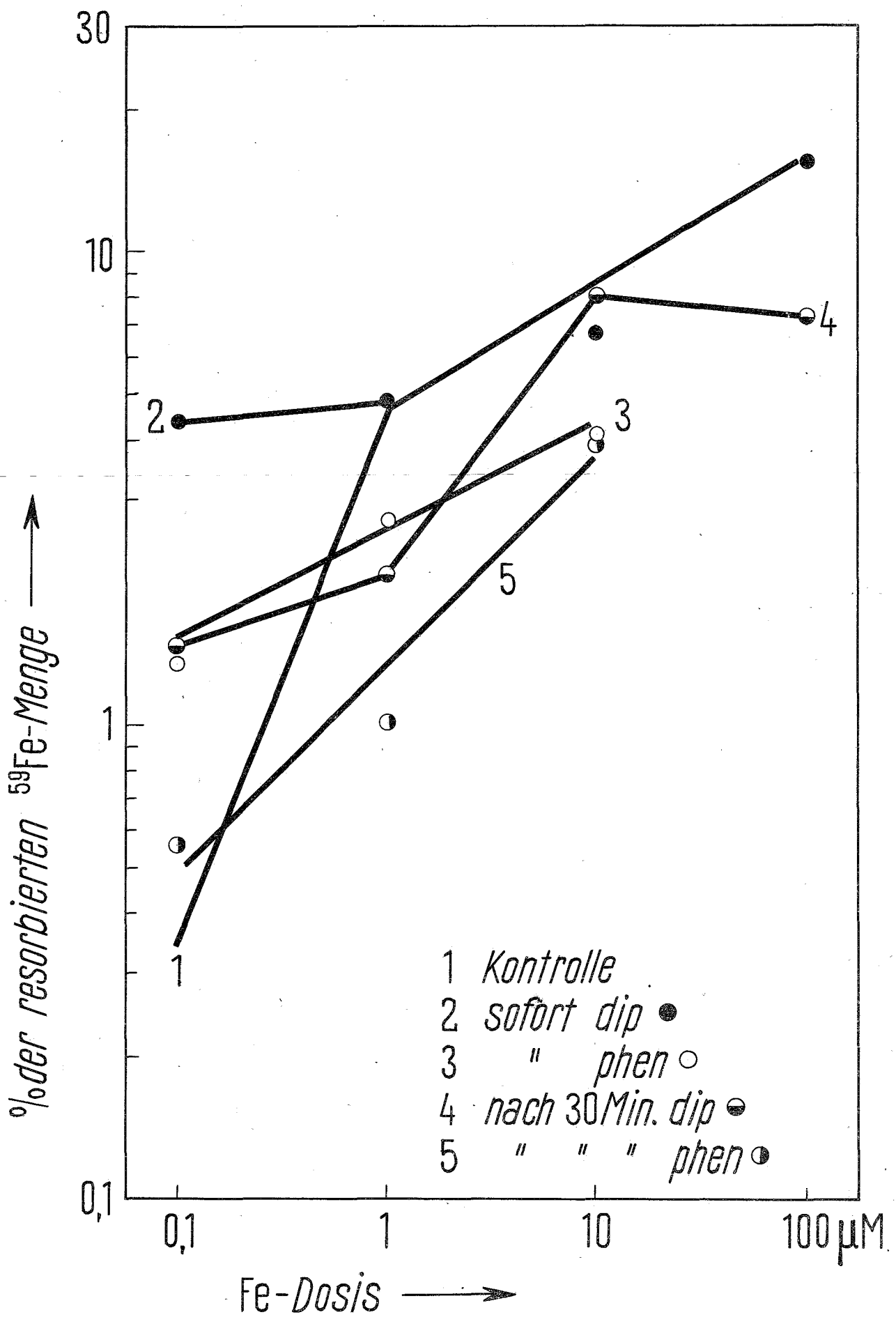


Abb. 10: Einfluß von intraperitoneal injiziertem dip bzw. phen auf die Ausscheidung verschiedener Fe-Dosen mit dem Urin. Bzgl. Ausgleichsgeraden s. Text.



Literaturverzeichnis

- Anderegg, G., Nägeli, P., Müller, F., Schwarzenbach, G.:
Helv. Chim. Acta 42, 827 (1959)
- Anderegg, G., L'Eplattenier, F., Schwarzenbach, G.: Helv. Chim.
Acta 46, 1409 (1963)
- Anderegg, G.: Helv. Chim. Acta 45, 1643 (1962)
- Anderegg, G.: Helv. Chim. Acta 46, 2397 (1963)
- Beutler, E., Kelly, B.M., Beutler, F.: Am. J. Clin. Nutr. 11,
559 (1962)
- Bothwell, T.H., Finch, C.A.: Iron Metabolism, p. 351, Springer-
Verlag (1962)
- Brown, E.B., Justus, B.W.: Am. J. Physiol. 194, 319 (1958)
- Copp, D.H., Greenberg, D.M.: J. biol. Chem. 164, 377 (1946)
- Dubach, R., Moore, C.V., Callender, S.T.: J. Lab. Clin. Med. 45,
599 (1955)
- Foreman, H.: Metal-Binding in Medicine, Lippincott, p. 82 und 160
(1960)
- Hahn, P.F., Bale, W.F., Ross, J.F., Balvour, W.M., Whipple, G.H.:
J. exp. Med. 78, 169 (1943)
- Hallberg, L., Hedenberg, L.: Scand. J. Haematol. 2, 277 (1965)
- Hwang, Y.F., Brown, E.B.: The Lancet 16, 135 (1965)
- Krumholz, P.: Ann. Acad. Brasil de Cienc 22, 263 (1950)
- Manis, J., Schachter, D.: Am. J. Physiol. 203, 73 (1962)
- Manis, J., Schachter, D.: Am. J. Physiol. 207, 893 (1964)
- Moeschlin, S., Schnider, U.: Iron Metabolism, p. 525,
Springer-Verlag (1964)
- Nigrović, V., Mohr, Th.: Strahlenther. 130, 314 (1966)
- Pfister, G.: Inaugural-Dissertation Heidelberg (1967)
- Schubert, J., Fried, J.F.: Nature 185, 551 (1960)
- Smith, M.D., Pannacciulli, I.M.: Brit. J. Haemat. 4, 428 (1958)
- Vanotti, A.: Iron Metabolism, p. 520, Springer-Verlag (1964)
- Wöhler, F.: Iron Metabolism, p. 551, Springer-Verlag (1964)