

KERNFORSCHUNGSZENTRUM

KARLSRUHE

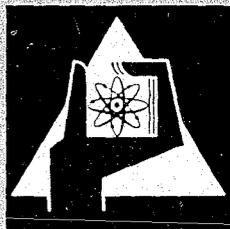
Mai 1968

KFK 775

Institut für Strahlenbiologie

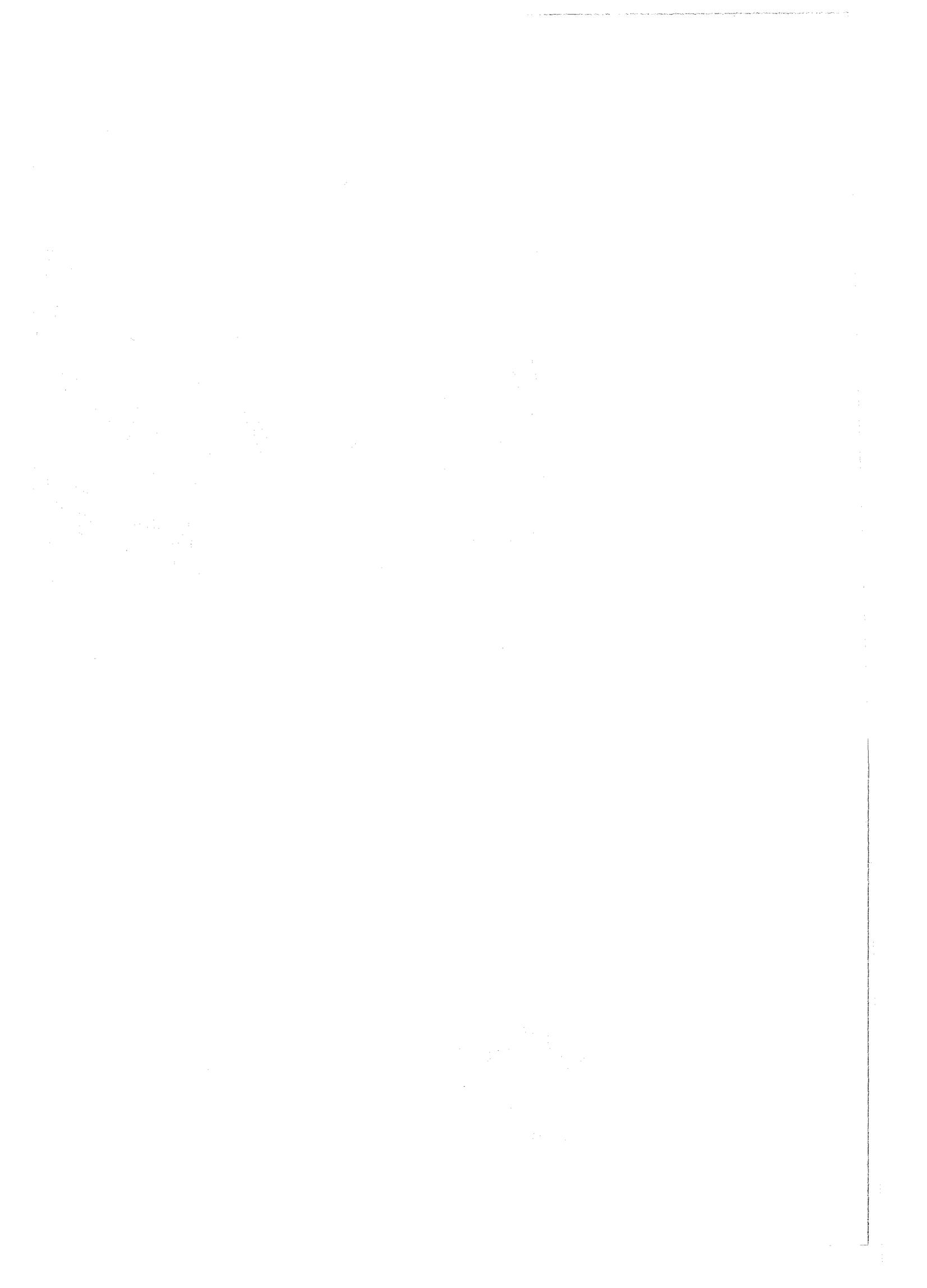
Einfluß von Chelaten auf den Stoffwechsel von Mangan

A. Kuhn



GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.

KARLSRUHE



Kernforschungszentrum Karlsruhe

Mai 1968

KFK 775

Institut für Strahlenbiologie

Einfluß von Chelaten auf den Stoffwechsel von Mangan

Anne Kuhn

Gesellschaft für Kernforschung m. b. H., Karlsruhe

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Material und Methode	6
Ergebnisse	9
Diskussion	17
Zusammenfassung	31
Literaturverzeichnis	32
Tabellen und Abbildungen	35

Einleitung

Untersuchungen über die Verwendung von Chelatbildnern zur Mobilisation toxischer Metalle oder ihrer radioaktiver Isotope aus dem Organismus wurden in den letzten 20 Jahren in zunehmendem Maße durchgeführt. Bei den Chelatbildnern handelt es sich um organische Verbindungen, bei denen bestimmte Atome (Schwefel, Sauerstoff und/oder Stickstoff) als Elektronendonatoren das Metall unter Bildung heterozyklischer Ringe zu binden vermögen. Am wirksamsten für die Dekorporation einer Reihe von Metallen erwiesen sich verschiedene synthetische Polyaminopolycarbonsäuren.

Bei der Bedeutung des Mangans sowohl in seinem Verhalten im Körper als lebensnotwendiges Spurenmetall als auch in toxikologischer Hinsicht - sei es als stabiles Element oder als radioaktives Isotop - ist es erstaunlich, daß bisher nur wenige Arbeiten sich mit dem Einfluß von Chelatbildnern auf die Verteilung und Ausscheidung von Mangan befaßten. Diese Lücke zu schließen, ist die Aufgabe der vorliegenden Arbeit.

Wie wichtig es ist, einen Chelatbildner mit maximaler Effektivität zu finden, zeigt uns das Bild der chronischen Manganvergiftung. Eine genaue Beschreibung dieses Krankheitsbildes zu geben, ist nicht Aufgabe dieser Arbeit. Eine Reihe ausführlicher Monographien darüber ist erschienen (3, 11, 25), und es soll hier nur ein kurzer Überblick gegeben werden: Es handelt sich um eine Krankheit der Bergleute und Arbeiter in Erzbergwerken und Metallindustrien, die Mangan in Form von Staub inhalieren. Entscheidend für die Toxizität und Krankheitsmanifestation sind neben der Expositionszeit (Monate bis Jahre) und der Mangankonzentration der Luft (nach Flinn et al. (11) $> 173 \text{ mg/m}^3$) die Teilchengröße der Partikel, die Oxydationsstufe des Mangans - MnO_2 ist weniger toxisch als Mn_2O_3 und MnSiO_3 (Rodier (27)) - und schließlich die

individuelle Empfindlichkeit. Das Krankheitsbild selbst manifestiert sich neben unspezifischen Symptomen (wie Anorexie, Apathie, psychotische Reaktionen und granulomatöse Pneumonien) mit einem sehr charakteristischen extrapyramidalem Syndrom, das durch Sprachstörungen, Maskengesicht, Gang- und Gleichgewichtsstörungen mit Pro- und Retropulsion und Verschiebungen im Schlaf- und Wachrhythmus gekennzeichnet ist. Die einzige therapeutische Möglichkeit bestand für lange Zeit in der Ausschaltung der Mn-Exposition, die bei leichten Fällen zu völliger Heilung, bei schweren Fällen zumindestens zum Stillstand führen sollte.

Was das radioaktive Isotop des Mangans anbelangt, kommt es als durch Neutronen induziertes Nuclid bei der Explosion nuclearer Waffen oder in unmittelbarer Nähe des Core eines Kernreaktors vor, wobei das Ausmaß der induzierten Aktivität von der Konzentration des stabilen Metalls abhängig ist. Nach der Testexplosion am 1. März 1954 auf dem Bikini Atoll ging der stärkste lokale Fallout 80 Meilen ostwärts auf dem Rongelap Atoll nieder. Untersuchungen über die radioaktive Kontamination in diesem Gebiet zeitigten folgendes Ergebnis (Held (17)): 5 Jahre nach der Explosion wurden die langlebigen Spaltprodukte (wie ^{90}Sr , ^{137}Cs) in den auf dem Lande lebenden Organismen gefunden, dagegen die Neutronen-induzierten Radionuclide (^{54}Mn , ^{60}Co , ^{65}Zn) vorwiegend in marinen Organismen. Die Akkumulation des ^{54}Mn in marinen Pflanzen und Tieren ist sehr ausgeprägt, was durch die metabolische Funktion dieses essentiellen Spurenelements erklärt wird; genauere Studien über das Ausmaß seiner Anreicherung liegen vor (1,12,19,21). Wenn auch die gefundenen Konzentrationen bis jetzt noch in keiner Weise besorgniserregend sind, so steht es doch außer Frage, daß in der kommenden Zeit mit der weiteren Entwicklung der Kerntechnik und einer damit zunehmenden Gefahr der Kontamination die Dekorporation von Radiomangan eine größere praktische Bedeutung erhalten wird.

Trotz der großen Anzahl an Arbeiten über das Verhalten von Mangan im Organismus (angefangen mit der ersten grundlegenden Veröffentlichung von Oettingen (24)), sind noch viele Fragen ungeklärt. Es soll hier nicht im einzelnen auf die große Reihe der Monographien eingegangen, sondern nur auf die Darstellung von Cotzias (9) hingewiesen werden, die einen guten Überblick vermittelt: Mangan gehört zu den lebensnotwendigen Spurenmetallen, dessen Fehlen in der Nahrung zu eindeutigen Mangelsymptomen führt, die bei den Vögeln in einem wohldefinierten und charakteristischen Krankheitsbild (Perosis) bestehen; bei den Säugtieren handelt es sich um mehr uncharakteristische Erscheinungen, wie Wachstumsstörungen, ovarielle und testikuläre Unterfunktion mit folgender Degeneration der Keimzellen, Paralyse und andere neurologische Erscheinungen. Das Ausmaß der Resorption des Mangans im Magen-Darm-Trakt hängt davon ab, ob es in Form seiner anorganischen Salze (geringe Resorption) oder zusammen mit der Nahrung gegeben wird, in der es wahrscheinlich in Form von organischen Chelaten vorliegt, die die Zellmembran leichter permeieren können. Seine Ausscheidung ist ausschließlich faecal, im Urin erscheinen nur Spuren. Der Hauptausscheidungsweg ist die Galle, ein geringerer Teil wird mit dem Pankreassaft eliminiert. Die Verteilung des Mangans im Körper, die mit Hilfe des radioaktiven Isotops ^{54}Mn geprüft wurde, ist von der Zeit und der isotopischen Verdünnung abhängig. Zu frühen Zeitpunkten zeigen die an Mitochondrien reichen Organe (Leber, Pankreas und Nieren) die höchste Konzentration an Radiomangan, Skelett und Muskulatur dagegen rund 10 mal niedrigere Werte. Mit fortschreitender Zeit nimmt die Konzentration in Leber, Pankreas und Nieren schneller als im Skelett und in der Muskulatur ab. Durch isotopische Verdünnung (d.h. gleichzeitige Verabfolgung des stabilen Isotops) erfolgt eine Veränderung der Verteilung, indem nun das Skelett die gleiche Konzentration an Radiomangan aufweist wie die parenchymatösen Organe und die Ausscheidung erhöht wird.

Der Gehalt an stabilem Mangan in den einzelnen Organen ist weitgehend konstant, desgleichen unabhängig von der Tierart. Die Werte für die einzelnen Gewebe betragen: Knochen durchschnittlich $3,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, Leber $2 - 2,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, Gastrointestinaltrakt, Pankreas, Speicheldrüsen und Nieren $0,7 - 1,7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Die niedrigste Konzentration zeigen Knochenmark ($0,04 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), Blut ($0,03 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) und Lunge ($0,01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

Der großen Anzahl an Untersuchungen über das Verhalten des Mangans im Organismus stehen nur wenige Arbeiten gegenüber, die sich mit dem Einfluß von Chelatbildnern auf sein Verhalten befassen. Die ersten Untersuchungen mit dieser Fragestellung wurden von Rodier et al. (26) durchgeführt, die eine Wirkung von Ca-ÄDTA (Äthylendiamintetraacetat) bei der experimentellen Manganvergiftung nachwiesen; die in den Organen gefundene Mn-Konzentration ist herabgesetzt, und die Ausscheidung im Urin steigt stark an. Demgegenüber beobachteten Šýkora und Eybl (32), daß das Ca-ÄDTA zwar eine deutliche Schutzwirkung bei der experimentellen Manganvergiftung ausübt, diese aber nicht durch eine insgesamt erhöhte Ausscheidung bedingt sein kann, weil - obgleich der Mangangehalt nach Verabreichung von ÄDTA im Urin erheblich ansteigt - die Ausscheidung mit den Faeces so stark absinkt, daß im Endeffekt nicht mehr ausgeschieden wird als bei unbehandelten Kontrolltieren. Der Schutzeffekt wird mit der Bildung eines nicht toxischen Mn-ÄDTA-Komplexes im Organismus gedeutet. Die einzige Arbeit, die neben ÄDTA auch andere Chelatbildner berücksichtigte, ist die von Fried et al. (15). Sie prüften drei Chelatbildner, ÄDTA (Äthylendiamintetraacetat), DTPA (Diäthylentriaminpentaacetat) und BAÄ (1:2-Bis[(carboxymethyl)aminoäthoxy]äthan). DTPA und ÄDTA, innerhalb der ersten drei Stunden verabfolgt, üben eine deutliche Schutzwirkung bei Mn-vergifteten Tieren (d.h. eine verminderte Letalität) aus, wobei DTPA sich wirksamer als ÄDTA erwies. BAÄ war ineffektiv, desgleichen ÄDTA und DTPA, wenn sie erst nach 5 Stunden verabfolgt wurden.

In einer anderen Versuchsreihe prüften Fried et al. (15) den Einfluß von ÄDTA und BAÄ auf die Verteilung und Ausscheidung von trägerfreiem ^{54}Mn . Sie zeigten, daß BAÄ wirkungslos ist, während ÄDTA eine leichte, aber statistisch signifikant erhöhte ^{54}Mn -Ausscheidung mit dem Urin bewirkt. Die faecale Ausscheidung ist jedoch herabgesetzt. Mit Ausnahme der Nieren, in denen der ^{54}Mn -Gehalt bis zu 20 % der Kontrolle gesenkt wurde, zeigte kein Organ eine Beeinflussung seines ^{54}Mn -Gehaltes durch ÄDTA, und auch die Gesamtretention des ^{54}Mn blieb praktisch unverändert.

Ermutigt durch die positiven Tierversuche, verwendete Pennalver (25) ÄDTA bei der Behandlung eines Patienten mit schwerer Manganvergiftung, dessen Krankheitsverlauf trotz Ausschaltung der Manganexposition progressiv verlief. Die Symptome (Paralyse der unteren Extremitäten, Maskengesicht und Torticollis) zeigten 11 Monate nach der ÄDTA-Behandlung völlige Reversibilität, und der Patient war wieder fähig, seine Familie zu unterhalten.

Bei der vorliegenden Arbeit stellten wir uns folgende Ziele:

- A. Die Verteilung von Radiomangan in Abhängigkeit von Zeit und isotopischer Verdünnung zu untersuchen und
- B. Chelatbildner mit optimalem Effekt auf die Ausscheidung von Radiomangan zu finden. Bei der Wahl der Chelatbildner bevorzugten wir solche, deren Stabilitätskonstante mit Mangan bekannt ist. Da dies aber nur bei einer begrenzten Anzahl der Fall ist, weiteten wir unsere Untersuchungen auch auf einige Chelatbildner aus, deren Stabilitätskonstante noch nicht bekannt ist.
- C. Prüfung spezieller Fragen bei einigen ausgewählten Chelatbildnern, wie die Abhängigkeit ihrer Wirksamkeit von Dosis, Zeitpunkt der Applikation und isotopischer Verdünnung.

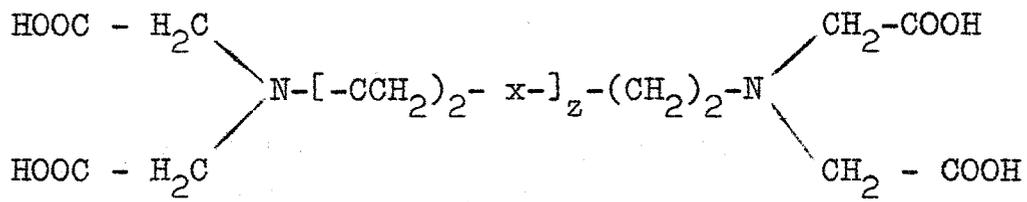
Material und Methode

Zur Untersuchung wurde trägerfreies ^{54}Mn in 0,1 % HCl verwendet. Die Aktivität der Injektionslösung betrug 2 μCi pro Tier (Kontrolltiere) bzw. 5 μCi (Chelat-behandelte Tiere), wobei der pH-Wert auf ~ 3 eingestellt wurde.

Als Versuchstiere dienten weibliche Albinoratten des Heiligenberg-Inzuchtstammes im Alter von 15 bis 19 Wochen und mit einem Körpergewicht von 165 bis 240 g. Ihre Ernährung bestand aus Wasser und Altromin-Rattenkeks ad libitum (42 mg Mn \cdot kg $^{-1}$). Die ^{54}Mn -Lösung (0,5 ml) wurde den Ratten in Äthernarkose in die Schwanzvene gespritzt. In den Versuchen, die die Wirksamkeit der Chelatbildner unter optimalen Bedingungen prüften, wurden die Ca-Chelate gleichzeitig mit ^{54}Mn verabreicht. Bei den übrigen Versuchen wurde ^{54}Mn allein injiziert, und erst nachträglich erhielten die Tiere intraperitoneal die Ca- bzw. Mn-Chelate (2 ml) in Äthernarkose. Zu bestimmten Zeitpunkten wurden die Tiere in Äthernarkose durch Ausbluten getötet, folgende Organe entnommen und auf ihren ^{54}Mn -Gehalt untersucht: Leber, Nieren, Pankreas, beide Femores und ein Stück des Musc. gastrocnemius. Diese Organe zeigten in einer orientierenden Untersuchung die höchste Retention des ^{54}Mn . Die Tiere, bei denen die Ausscheidung des ^{54}Mn mit Faeces und Urin bestimmt wurden, befanden sich in speziellen Stoffwechsellkäfigen (Nigrović und Mohr (23)), die eine weitgehende Trennung von Faeces und Urin ermöglichten.

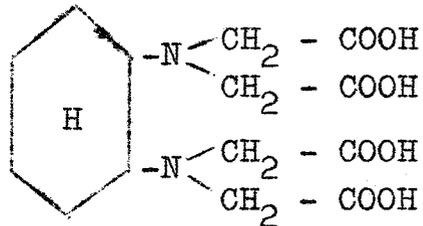
Die Bestimmung der γ -Aktivität der Proben (0,84 MeV) wurde mit einem γ -Szintillationsspektrometer (BAIRD-ATOMIC 530) vorgenommen. Das Spektrometer besteht aus einem Tl-aktivierten NaJ-Kristall und einem Elektronenvervielfacher. Durch die Strahlung werden in dem Kristall Photo- und Comptonelektronen erzeugt, die Fluoreszenz erregen. Die Fluoreszenzquanten lösen nach Passieren eines Lichtleiters Elektronen aus der Kathode des Sekundärelektronenverviel-

8. TTHA (Triäthylentetraaminhexaessigsäure)

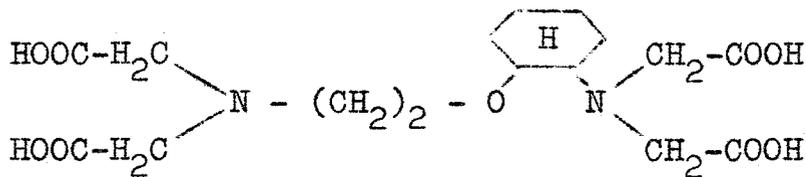


Chelatbildner	z	x
BADÄ	1	0
BADS	1	S
DTPA	1	N - CH ₂ - COOH
BAÄ	2	0
BATÄ	2	S
TTHA	2	N - CH ₂ - COOH

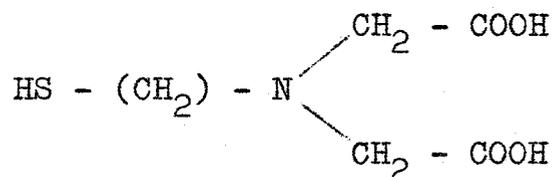
9. CDTA (trans-1,2-Cyclodiamintetraessigsäure)



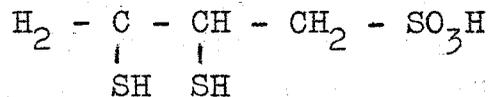
10. ACATA (2-(β-Aminoäthoxy)cyclohexylamintetraessigsäure)



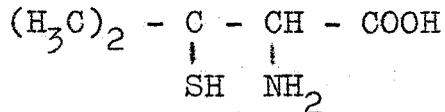
11. MÄIDA (Mercaptoäthyliminodiessigsäure)



12. DMPS (2:3-Dimercaptopropansulfosäure)



13. PA (D-Penicillamin)



Die Chelatbildner wurden entweder als Ca- oder als Mn(II)-Chelate injiziert. Zur Herstellung der Mn-Chelate wurde $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ verwendet. Um einen auch geringen Überschuß an unchelatiertem Mn zu verhindern, betrug die Molarität der Mn-Lösung ~ 95 % der des Chelatbildners.

Ergebnisse

Die größere Zahl von Kontrollgruppen, die den einzelnen Versuchsreihen zugeordnet waren, ermöglicht es, Auskunft über die Organ-Verteilung von ^{54}Mn in Abhängigkeit von der Zeit zu geben. Bei den Tieren, die 2 Tage nach Injektion von ^{54}Mn getötet wurden, handelt es sich um 8 Kontrollgruppen, bei der Sektion am 3. und 4. Tag um 2 bzw. 3 Gruppen, zu allen anderen Zeitpunkten um je 1 Gruppe. Das Ergebnis der Homogenitätsprüfung innerhalb der (bezüglich des Zeitpunkts der zusammengehörigen) Kontrollgruppen zeigt, daß in der Regel die Zwischengruppenvarianz mit $P < 0,05$ statistisch gesichert größer als die Varianz innerhalb der Gruppen ist. Diese Tatsache, die unter Umständen durch unterschiedliches Alter oder Körpergewicht der Tiere bedingt sein könnte, veranlaßte uns, bei der statistischen Auswertung jeder einzelnen Versuchsreihe, in der Chelate geprüft wurden, ihre eigene Kontrollgruppe zuzuordnen und nicht die Kontrollen zusammenfassen, um damit einen geringen Fehler zu erhalten.

Bei den in Tabelle 1 und den Abbildungen 2 - 4 wiedergegebenen Ergebnissen, die über die Retention von trägerfreiem ^{54}Mn bei unbehandelten Tieren orientieren, blieb die oben erwähnte Heterogenität unberücksichtigt, d.h. es wurden alle bezüglich des Zeitpunkts zusammengehörigen Gruppen zusammengefaßt, da es ja hier nur darum ging, sich einen Eindruck über das Verteilungsmuster in Abhängigkeit von der Zeit zu verschaffen. Nicht angeführt in der Tabelle 1 ist der schon nach 1 Stunde relativ niedrige ^{54}Mn -Gehalt des Blutes, der 0,71 % beträgt.

Die Darstellung in den Abbildungen 2 - 4 zeigt, daß die Verweilzeit des ^{54}Mn in den Organen insofern unterschiedlich ist, als Leber, Pankreas und Nieren eine schnellere Abnahme des ^{54}Mn -Gehalts als Muskulatur und Skelett aufweisen. Auf die Retentionsfunktionen wird in einem späteren Zusammenhang (S. 19) noch einmal eingegangen.

Was die Ausscheidung des ^{54}Mn betrifft, sind die Ergebnisse in Abbildung 5 und Tabelle 2 dargestellt. Während es sich in Abbildung 5 bei den mit • bezeichneten Punkten um die Ausscheidung innerhalb von 24 Stdn. handelt, sind in der Tabelle 2 die Daten der Versuchsreihen zusammengestellt, in denen die Ausscheidung für eine Zeitspanne von je 48 Stunden bestimmt wurde. Die halbierten Werte der Tabelle 2 sind in Abbildung 5 mit o gekennzeichnet. Das wesentliche Ergebnis ist, daß die Ausscheidung des ^{54}Mn vorwiegend mit den Faeces erfolgt; im Urin liegen die Raten um eine Größenordnung niedriger. Eine Diskrepanz, deren Ursache nicht klar ist, liegt insofern vor, als die Ausscheidung mit dem Urin in dem Versuch der Abbildung 5 während der ersten Tage niedriger als in dem Versuch der Tabelle 2 ist.

Dem Versuch, der den Trägereffekt prüfte, wurde durch die Toxizität des MnCl_2 eine Grenze gesetzt. Da nach Fried et al. (15) bei Ratten eine intraperitoneale Dosis von $27 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ der LD 90 % / 30 Tage entspricht, ist eine

Dosis von $100 \mu\text{mol}$ ($48 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 100 %ig letal. Wir wählten deshalb Dosen von 10 und $1 \mu\text{mol}$. Dabei erwies sich aber auch die Dosis von $10 \mu\text{mol}$ als toxisch, indem die Hälfte der Tiere bereits während der Injektion starb und von den restlichen 6 Tieren, die die Injektion überlebten, nach 2 Tagen nur noch 3 am Leben waren; die Dosis von $1 \mu\text{mol}$ dagegen wurde von allen Tieren gut vertragen.

Tabelle 3 zeigt, daß die isotopische Verdünnung die Ausscheidung von ^{54}Mn mit den Faeces stark intensiviert und die Retention in den Organen in mehr oder weniger starkem Maße herabsetzt. Hervorzuheben ist, daß die isotopische Verdünnung im Skelett offenbar ohne stärkeren Einfluß ist. Wie Tabelle 3 zu entnehmen ist, liegt der unter Trägereinfluß verminderten ^{54}Mn -Retention eine erhöhte faecale Ausscheidung zugrunde, während die Rate im Urin bei beiden Trägerdosen konstant zu sein scheint.

Um Chelatbildner mit maximaler Wirksamkeit zu finden, wurden die zu prüfenden Verbindungen in den ersten Versuchsreihen unter optimalen Bedingungen, d.h. gleichzeitig intravenös mit ^{54}Mn und in hoher Dosierung verabfolgt. Bei einigen Chelatbildnern wurden aber auch niedrigere Dosen geprüft. Die Sektion erfolgte nach 48 Stunden. Tabelle 4 zeigt, daß fast alle Chelatbildner in mehr oder weniger starkem Maße wirksam sind, wobei nach Maßgabe der Effektivität zwischen einzelnen Gruppen zu unterscheiden ist: Zu der Gruppe mit der größten Wirksamkeit gehören CDTA, ACATA, DTPA und TTHA, die in allen Organen den ^{54}Mn -Gehalt auf $\leq 10\%$ der Kontrollwerte senken. Eine Ausnahme stellt TTHA dar, die in Skelett und Leber eine etwas geringere Wirksamkeit zeigt. Die zweite Gruppe mit immer noch ausgeprägter Effektivität umfaßt BADÄ, BADS, ÄDTA und HÄDTA. Die restlichen Verbindungen zeigen eine nur geringfügige Wirksamkeit. MAIDA und BAA erwiesen sich in Leber bzw. Skelett nicht nur als unwirksam, sondern führten sogar zu einer Erhöhung des ^{54}Mn -Gehalts über den Kontrollwert hinaus. Bei einem Vergleich zwischen den einzelnen Organen

fällt generell auf, daß die Wirksamkeit aller Chelatbildner in Skelett und Leber schwächer als in den anderen Organen ausgeprägt ist. Auf die Dosisabhängigkeit der Chelateffektivität wird in der Diskussion eingegangen.

Über die Ausscheidung des ^{54}Mn unter dem Einfluß von DTPA und CDTA (Chelatbildner mit ausgesprochener Wirksamkeit), die unter den gleichen Bedingungen wie in der vorangegangenen Versuchsreihe verabfolgt wurden, nämlich zusammen mit ^{54}Mn und einer Dosis von $100\ \mu\text{mol}$, orientiert Tabelle 5. Es liegt eine deutliche "Umschaltung" des Ausscheidungsweges vor, indem die Ausscheidung durch die Niere unter dem Einfluß der Chelatbildner stark erhöht, die faecale Ausscheidung dagegen gegenüber der Kontrolle erniedrigt sind. Die Beobachtung von Šýkora und Eybl (32), daß die Gesamtausscheidung im Vergleich zu den Kontrolltieren nicht zunimmt, können wir nicht bestätigen. Die mit Urin und Faeces ausgeschiedenen ^{54}Mn -Mengen im Falle von DTPA und CDTA betragen 66 bzw. 64 % gegenüber 53 % in der Kontrolle. Allerdings lassen sich die Versuche insofern nicht vergleichen, als die erwähnten Autoren die Ausscheidung einer hohen Mn-Dosis unter dem Einfluß von ÄDTA untersuchten, wir dagegen trägerfreies ^{54}Mn und außerdem die stärker wirksamen DTPA und CDTA. Weiterhin wird in Tabelle 5 deutlich, daß die Intensivierung der Ausscheidung im Urin nur in den ersten 24 Stunden stattfindet. CDTA führt während der ersten 24 Stunden zu einer signifikant höheren ^{54}Mn -Ausscheidung mit den Faeces als DTPA. Die Gesamtausscheidung ist, wie bereits erwähnt, im Falle von CDTA und DTPA praktisch identisch, obwohl der ^{54}Mn -Gehalt der Organe durch CDTA eindeutig stärker reduziert wird (Tabelle 4). Daß die höhere Wirksamkeit der CDTA sich in der Ausscheidung nicht manifestiert, dürfte methodisch, d.h. durch die erhebliche Streuung der einzelnen Werte in Tabelle 5 bedingt sein.

In praktischer Beziehung ist die Frage nach der Wirksamkeit nachträglich verabreichter Chelatbildner wesentlich,

da im Falle einer Inkorporation von Radionucliden bzw. von toxischen Metallen die Behandlung in der Regel erst mit einer gewissen Verzögerung einsetzen kann. Ausser DTPA und CDTA schlossen wir in die entsprechende Versuchsreihe auch noch ACATA mit ein. Die Dosis betrug 250 μ mol, die Zeitspanne zwischen Injektion des ^{54}Mn und Verabfolgung der Chelatbildner variierte von 1 bis 24 Stunden. Tabelle 6 zeigt für alle Chelatbildner einen stark ausgeprägten Wirkungsverlust, selbst bei Verabfolgung nach 1 Stunde. Dagegen bleibt die Wirkung bei Verlängerung der Zeitspanne bis zu 8 Stunden praktisch konstant. Hervorzuheben ist, daß CDTA und ACATA in Leber und Nieren eine höhere Wirksamkeit als DTPA aufweist, während in den anderen Organen keine gesicherten Unterschiede in der Wirksamkeit beider Chelatbildner vorliegen. Zur Frage der Zeitabhängigkeit der Chelatwirksamkeit werden wir in einem späteren Zusammenhang (vgl. S. 16) noch einmal zurückkehren.

Ein wesentlicher Gesichtspunkt bei der Chelat-Therapie ist ihre Toxicität, die sich in einer Schädigung der Niere manifestiert. Der Mechanismus dieser, histologisch durch eine vakuolige Degeneration der proximalen Convoluten gekennzeichneten Schädigung wird auf einen Austausch des chelierten Ca mit endogenen Spurenmetallen und einer Beeinträchtigung der Funktion metallkontrollierter Enzyme zurückgeführt. Demnach wäre zu erwarten, daß Metallchelate mit einer höheren Stabilitätskonstante als die der Ca-Chelate auch eine geringere Toxicität aufweisen, was für die Zn- und Co(II)-Chelate der DTPA (Catsch (5), Catsch u. von Wedelstaedt (6)) auch tatsächlich der Fall ist. In einer kürzlich erschienenen Arbeit stellten Foreman und Nigrović (14) auch für die Mn(II)-DTPA eine geringere Toxicität als für Ca-DTPA fest. Dieser Umstand sowie der Nachweis, daß die Zn- und Co(II)-Chelate der DTPA mehr ^{65}Zn bzw. ^{60}Co deinkorporieren als Ca-DTPA (Catsch und Lê (7, 8)), d.h. daß das Prinzip des Isotopen-Austausches

in diesem Fall wirksamer als die einfache Chelierung ist, gaben den Anlaß, auch die Wirksamkeit von Mn-Chelaten zu prüfen. Daß der isotopische Austausch auch im Falle von ^{54}Mn wirksam ist, geht aus Untersuchungen von Strain et al. (31) mit Mn-ÄDTA hervor.

Zur Beurteilung der zu dieser Frage durchgeführten Versuche war es notwendig, sich zuerst einen Eindruck über die Retention von ^{54}Mn zu verschaffen, wenn die mit ^{54}Mn markierten Mn-Chelate injiziert werden. Tabelle 7 gibt die Ergebnisse eines entsprechenden Versuchs wieder, in dem der ^{54}Mn -Gehalt am 2. Tag bestimmt wurde. Zum Vergleich sind die Ergebnisse der Tabelle 4 noch einmal angeführt, d.h. die ^{54}Mn -Retention in den Organen nach gleichzeitiger Verabfolgung von trägerfreiem ^{54}Mn und 100 μmol der entsprechenden Ca-Chelate. Die Ergebnisse sind eindeutig: In Leber, Nieren und Pankreas liegt der ^{54}Mn -Gehalt nach Verabfolgung der Mn-Chelate um rund eine Größenordnung niedriger. Eine Ausnahme stellt das Skelett dar, das sowohl bei Verabfolgung der Ca- als auch der Mn-Chelate praktisch identische Werte aufweist. Auch in der Muskulatur ist der Unterschied schwächer als in den parenchymatösen Organen ausgeprägt. Auf Grund der eindeutig niedrigeren ^{54}Mn -Retention nun auf eine höhere "Effektivität" der Mn-Chelate zu schließen, ist jedoch insofern nicht zulässig, als der ^{54}Mn -Gehalt in % der Kontrolle auszudrücken wäre, die jedoch fehlt, da die Dosis von 100 μmol MnCl_2 wegen der Toxizität nicht untersucht wurde. Aus diesem Grunde wurde die Dosierung der Mn-Chelate, wobei wir uns auf die CDTA und DTPA beschränkten, auf 10 und 1 μmol reduziert, d.h. auf Dosen, für die entsprechende Kontrollwerte (Tabelle 3) vorliegen. Über die Ergebnisse dieser Versuchsanordnung orientiert Tabelle 8. Wird der ^{54}Mn -Gehalt der Organe in % der Dosis ausgedrückt, so nimmt zwar die Retention mit abnehmender Chelat-Dosis zu, jedoch liegen die Werte immer noch wesentlich niedriger als im Falle der Ca-Chelate (Tabelle 4). Drückt man dagegen

den ^{54}Mn -Gehalt in % der Kontrolle aus (Abbildung 6), so ergibt sich eine überraschend geringe Wirksamkeit, indem der ^{54}Mn -Gehalt aller Organe größer ist als bei Injektion von trägerfreiem ^{54}Mn und vergleichbaren Dosen der Ca-Chelate. Während der Unterschied in der Effektivität von CDTA und DTPA gewahrt ist, fällt im Falle der Mn-Chelate die schwächer ausgeprägte bzw. fehlende Dosisabhängigkeit der ^{54}Mn -Retention auf.

Abbildung 7 orientiert über die Ausscheidung des ^{54}Mn mit Urin und Faeces in dem gleichen Versuch. Die Ausscheidung mit dem Urin nimmt mit steigender Dosis des Chelats eindeutig zu, wobei die 1 μmol -Dosis CDTA eine höhere Ausscheidung als DTPA ergibt. In den Faeces sind die verhältnisse umgekehrt, indem mit steigender Chelatdosis die Ausscheidung mit den Faeces abnimmt, wobei CDTA im Falle der 1 μmol -Dosis eine gesichert niedrigere Wirksamkeit als DTPA zeigt. Die Gesamtausscheidung ist bei beiden Chelaten mit Werten von 60 - 70 % dosisunabhängig und praktisch konstant.

Die erste Versuchsreihe, in der die Tiere nach der Injektion von ^{54}Mn einmalig (nach 1. Tag) oder mehrfach (2., 4., 6., 8. Tag) 250 μmol Ca- bzw. Mn-DTPA oder -CDTA erhielten, führte zu einem sehr eindrucksvollen Ergebnis (Tabelle 9), indem die Mn-Chelate eine wesentlich höhere Effektivität als die Ca-Chelate aufweisen, die im Pankreas sogar so stark ist, daß bei wiederholter Verabreichung von Mn-CDTA ein Wert erreicht wird, der dem unter optimalen Bedingungen (vgl. Tabelle 4) gleichkommt.

Die Frage nach der Zeitabhängigkeit der Wirksamkeit des isotopischen Austausches hat nicht nur therapeutische Bedeutung, sondern kann auch über das Verhalten des Mangans im Körper Auskunft geben. In der entsprechenden Versuchsreihe erhielten die Tiere nachträglich, und zwar am 1., 2., 4., 8., 16. bzw. 32. Tag, einmalig 100 μmol der Ca- bzw. Mn-Chelate der DTPA und CDTA. Anschließend

wurden die Tiere 2 Tage in Stoffwechselkäfigen gehalten und danach die ^{54}Mn -Aktivität in den Organen und in den 48-Stunden-Ausscheidungen gemessen. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 8 - 14 zusammengestellt. Auch hier wird die nur schwache Wirkung der Ca-Chelate bei nachträglicher Verabreichung augenfällig; in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Tabelle 6 zeigen die Ca-Chelate in Pankreas, Skelett und Muskulatur innerhalb der ersten 24 Stunden praktisch keine Wirkung mehr. Nur CDTA bewirkt, am 2. Tag verabreicht, im Skelett eine geringfügige, jedoch statistisch gesicherte Senkung. In Leber und Nieren zeigen die Ca-Chelate nur innerhalb der ersten 4 Tage eine gesicherte Wirkung; eine Ausnahme ist Ca-CDTA, das aus der Leber auch noch nach 32 Tagen in einem geringen Ausmaß ^{54}Mn zu mobilisieren imstande ist. Im Vergleich hierzu zeigen die Mn-Chelate in allen Organen eine deutlich stärkere Wirksamkeit, die innerhalb der ersten 8 Tage abnimmt, um dann ein praktisch konstantes Niveau zu erreichen. Im Skelett und Muskulatur ist ab 8. Tag kein gesicherter Effekt mehr nachweisbar, in den parenchymatösen Organen dagegen liegt noch eine eindeutige Dekorporation von ^{54}Mn vor.

Wie auf Grund der verminderten Retention in den Organen zu erwarten war, wird die Ausscheidung des ^{54}Mn durch die Mn-Chelate deutlich stärker als durch die Ca-Chelate intensiviert (Abbildung 13 und 14). Selbst bei Verabfolgung am 32. Tag liegt noch eine starke Erhöhung gegenüber den Kontrollwerten vor, während dies bei den Ca-Chelaten nur noch angedeutet ist. Die auf Grund der fehlenden Effektivität der Ca-Chelate in den Organen getroffene Feststellung, daß die Ca-Chelate zu späteren Zeitpunkten unwirksam sind, muß jetzt insofern revidiert werden, als bei Verabfolgung am 32. Tag im Urin eine 2-fach höhere (in den Faeces eine praktisch gleiche) Ausscheidungsrate wie bei den Kontrolltieren vorliegt und damit die Werte für die Gesamtausscheidung geringfügig höher als in der Kontrolle liegen. Es muß also selbst bei einer späten Verabreichung der Ca-Chelate noch

ein gewisser Bruchteil des retenierten ^{54}Mn mobilisiert und mit dem Urin ausgeschieden werden, der allerdings zu gering ist, um sich in dem ^{54}Mn -Gehalt der Organe erfassen zu lassen. Im Unterschied zu den Ca-Chelaten vermögen die Mn-Chelate auch die ^{54}Mn -Ausscheidung durch die Faeces deutlich zu intensivieren, und zeigen ziemlich konstant, auch noch nach 32 Tagen, ungefähr 2-mal höhere Werte als in der Kontrolle. Im Urin liegt die Ausscheidungsrate des ^{54}Mn erheblich höher als bei den Kontrolltieren; dabei erweist sich aber das Ausmaß der ^{54}Mn -Ausscheidung im Urin im Falle von Mn-CDTA kleiner als bei Mn-DTPA, so daß die Gesamtausscheidung trotz der höheren faecalen Ausscheidung im Falle der CDTA niedriger als bei DTPA ist.

Die Aufgabe der letzten Versuchsreihe war die Prüfung, in welchem Maße die Mobilisierung von ^{54}Mn durch die Mn-Chelate von der Dosis abhängt. Trägerfreies ^{54}Mn wurde injiziert und die Mn-Chelate der DTPA bzw. CDTA intraperitoneal in verschiedener Dosierung am 16. Tag verabfolgt. Wir bestimmten in diesem Versuch nur die Ausscheidung innerhalb von 48 Stunden nach Applikation der Chelate. Über die Ergebnisse orientiert Abbildung 15. Eine deutliche Dosisabhängigkeit liegt nur im Urin vor, indem die mit dem Urin ausgeschiedene ^{54}Mn -Menge mit steigender Dosis der Mn-Chelate zunimmt. Hervorzuheben ist, daß die Ausscheidung im Falle von DTPA im gesamten Dosisbereich um rund eine Größenordnung höher liegt als im Falle der CDTA. Bezüglich der Ausscheidung mit den Faeces wird eine eindeutige Dosisabhängigkeit vermißt; statistisch nicht gesichert sind die etwas höheren Ausscheidungsraten nach Verabfolgung von CDTA.

Diskussion

Der Einfluß von Chelatbildnern auf das Verhalten von Metallionen im Organismus hängt grundsätzlich und allgemein formuliert von folgenden Faktoren ab:

1) Die Stabilität der Verbindungen, die das betreffende Metallion mit endogenen Akzeptoren eingeht. Ein Chelatbildner wird nur unter der Voraussetzung effektiv sein können, wenn die Stabilität seines Chelats mit dem infrage stehenden Metallion nicht wesentlich kleiner ist als die Stabilität der endogenen Metallverbindungen.

2) Die Art der endogenen Metallverbindungen, d.h. ob es sich um sog. Gleichgewichtskomplexe oder robuste Komplexe handelt. Bei robusten Assoziaten verläuft die Dissoziation des Komplexes unabhängig von der Höhe der Stabilitätskonstante, träge, und dementsprechend wird auch der Austausch von Liganden - um einen solchen handelt es sich ja bei der Mobilisierung inkorporierter Metallionen - ebenfalls nur langsam verlaufen, so daß ein Chelatbildner ungeachtet einer sehr hohen Affinität zum zu dekomplexierenden Metallion sich als absolut unwirksam erweisen kann.

3) Der Verteilungsraum des inkorporierten Metallions. Dieser Faktor wird dann von Bedeutung sein, wenn der therapeutische Chelatbildner im Organismus einen Verteilungsraum besitzt, der mit dem des Metallions nicht identisch ist. Wenn das Metallion sich im intracellulären Raum befindet, während (wie dies für die Gruppe der synthetischen Polyaminopolycarboxylsäuren experimentell nachgewiesen ist) die Chelationen sich im wesentlichen nur im extracellulären Raum verteilen, ist eine Mobilisierung zwar nicht ausgeschlossen, doch setzt dies voraus, daß die Geschwindigkeit, mit der die intracellulären Metallkomplexe dissoziieren und/oder das bei der Dissoziation freigewordene Metallion aus dem intracellulären in den extracellulären Raum transportiert wird, größer ist als die Geschwindigkeit, mit der der Chelatbildner aus dem Organismus ausgeschieden wird. Auch in diesem Fall wird natürlich von ausschlaggebender Bedeutung sein, ob die endogenen Metallkomplexe robuste Komplexe sind.

In dem speziellen Fall von Mn ist eindeutig bekannt, daß es besonders hohe Konzentrationen in den Mitochondrien aufweist (22) und eine entscheidende Rolle bei der Aktivität verschiedener Enzyme spielt, mit denen es - allerdings darf dies nicht verallgemeinert werden - eine Komplexbindung eingeht. Über die Stabilität dieser endogenen Mn-Verbindungen liegen noch keine Angaben vor. Einen gewissen Anhaltspunkt für die Stabilität der endogenen Metallverbindungen gibt die Geschwindigkeit, mit der das betreffende Metallion aus einem gegebenen Organ ausgeschieden wird; es gilt in erster Näherung, daß die Stabilität sich direkt proportional zur sog. biologischen Halbwertszeit verhält. Was die Retention von ^{54}Mn in den einzelnen Organen betrifft (Abbildungen 2 - 4), so kann sie (mit der einzigen Ausnahme des Pankreas) durch die Summe von 2 exponentiellen Terms wiedergegeben werden. Tabelle 10 orientiert über die Konstanten der Retentionsfunktion. Die Halbwertszeit der ersten Fraktion beträgt in allen Organen ~ 2 Tage. Demgegenüber verhalten sich die Organe unterschiedlich bezüglich der Halbwertszeit der zweiten, relativ langsam ausgeschiedenen ^{54}Mn -Fraktion. Während sie im Falle der Niere, der Leber und des Pankreas mit Werten von 9 - 11 Tagen praktisch identisch ist, wird das von der Muskulatur und dem Skelett retinierte ^{54}Mn mit Halbwertszeiten von 28 bzw. 36 Tagen wesentlich langsamer ausgeschieden. Ein weiterer Unterschied in dem Verhalten der einzelnen Organe betrifft den relativen Anteil der beiden Fraktionen a_1 und a_2 . Während im Falle der Muskulatur beide Fraktionen annähernd identisch sind, ist die "schnelle" Fraktion a_1 bei den anderen Organen größer als die zweite und langsam ausgeschiedene Fraktion.

Auf Grund der relativ kurzen Verweilzeit des ^{54}Mn in den einzelnen Organen - kurz vor allem, wenn man die erheblich längeren Verweilzeiten anderer Metallionen, z.B. der Transurane, zum Vergleich heranzieht - könnte entsprechend der oben angeführten Überlegung auf eine relativ instabile Bindung des Mn^{2+} durch endogene Liganden geschlossen werden.

Diese Folgerung ist jedoch insofern nicht ohne weiteres verbindlich, als grundsätzlich auch mit der Möglichkeit zu rechnen ist, daß die Bindung des Mn durch endogene Akzeptorgruppen relativ stabil ist, die kurze biologische Halbwertszeit aber auf den relativ schnellen Turnover der für die Bindung verantwortlichen biologischen Moleküle zurückzuführen ist.

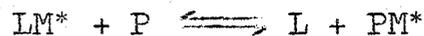
Eine multiexponentielle Retentionsfunktion wird allgemein mit der Annahme gedeutet, daß das fragliche Metallion von mehreren Kompartimenten eines gegebenen Organs retiniert wird, die eine unterschiedliche Affinität zu dem Metallion aufweisen. Was die sog. Schaltung der Kompartimente betrifft, so können sie parallel oder in Serie geschaltet sein. Der Nachweis einer multiexponentiellen Retentionsfunktion läßt allerdings noch keine Aussagen bezüglich der Art der Kompartimentschaltung zu.

Mn gehört zu den ausgesprochenen Spurenmعادallen, die im Körper in relativ sehr niedriger Konzentration vorhanden sind. Wir verweisen hier auf die in der Einleitung angeführten Mn-Konzentrationen in den verschiedenen Organen und Geweben. Der Gesamtgehalt des Rattenorganismus an Mn dürfte unter Berücksichtigung dieser Werte sowie der Masse der verschiedenen Organe in der Größenordnung von etwa 10 μmol liegen. Es ist weiterhin bekannt, daß Mn zu denjenigen Spurenmعادallen gehört, deren Konzentration in den einzelnen Organen durch homeostatische Regulationsmechanismen auf einem sehr konstanten Niveau gehalten werden. Das Wirksamwerden der Homeostase macht sich auch in dem starken Einfluß der isotopischen Verdünnung bemerkbar. Daß der Trägereffekt im Falle von trägerfreiem ^{54}Mn besonders stark ausgeprägt ist, indem die Ausscheidung mit wachsender Trägedosis sehr stark zunimmt, wurde bereits von Cotzias et al. (10) festgestellt; wir konnten dies in vollem Umfang bestätigen (Tab. 3). Dies gilt nicht nur für die bereits toxische Dosis von 10 μmol , sondern auch für die niedrige 1 μmol -Dosis. Allerdings ist 1 μmol Mn im Ver-

gleich zum Gesamtgehalt des Körpers an Mn eine nicht mehr vernachlässigbare Menge.

Die isotopische Verdünnung des ^{54}Mn führt bei beiden Trägerdosen zu einer deutlich erhöhten Ausscheidung des ^{54}Mn mit den Faeces. Die ^{54}Mn -Retention in den Organen ist entsprechend der erhöhten Gesamtausscheidung eindeutig reduziert; eine Ausnahme hiervon stellt das Skelett dar, das - unabhängig von der Höhe der Trägerdosis - einen praktisch konstanten Bruchteil von Mn zurückhält. Auf Grund dieser Befunde kann gefolgert werden, daß die homeostatische Regulation des Mn-Stoffwechsels nur diejenigen Organe betrifft, in denen das Mn eine eindeutig definierte biologische Funktion besitzt, während bei der Retention des Mn im Knochen offenbar die homeostatische Kontrolle überhaupt nicht, zumindest aber in wesentlich schwächerem Maße wirksam wird.

Kehren wir zu der Effektivität der Chelatbildner zurück. Sofern es sich um Fremdmetalle handelt, können die im Organismus ablaufenden Reaktionen durch



beschrieben werden, worin M^* das zu dekorporierende Metallion, L den therapeutischen Chelatbildner und P einen endogenen Chelatbildner (z.B. ein Protein) bedeuten. Es ist zwischen folgenden Situationen zu unterscheiden:

- 1) Das Radiometall wird gleichzeitig mit dem therapeutischen Chelatbildner injiziert, d.h. als LM^* -Chelat.
- 2) Das Radiometall ist bereits inkorporiert und liegt als PM^* vor; der Chelatbildner wird nachträglich verabfolgt.

Das Verhältnis LM^*/PM^* müßte an sich in beiden Fällen identisch sein. Tatsächlich ist es jedoch bei der Versuchsanordnung 2) in der Regel erheblich kleiner. Dies ist darauf zurückzuführen, daß ein mehr oder weniger grosser Bruchteil von M^* der Chelierung durch L entzogen ist; sei es, daß es im Organismus in Form robuster Komplexe vor-

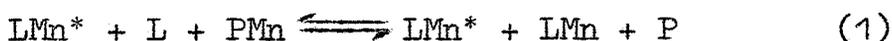
liegt, sei es, daß es sich in einem dem Chelatbildner nicht zugänglichen Verteilungsraum befindet. Daß LM^*/PM^* bei der Versuchsanordnung 1) einen höheren Wert erreicht, ist außerdem die Folge davon, daß das chelierte Metallion sehr schnell durch die Nieren ausgeschieden und allein dadurch der Konkurrenz der endogenen Liganden entzogen wird.

Handelt es sich nicht um Radioisotope von Fremdmetallen, sondern - wie im Falle von ^{54}Mn - von endogenen Spurenmetallen, ist als weitere Reaktion der Isotopen-Austausch zu berücksichtigen. Das Ausmaß des Isotopen-Austausches hängt im wesentlichen von zwei Faktoren ab: Dem Verhältnis der Konzentrationen des Metallions, das durch den exogenen und die endogenen Liganden gebunden ist, und der Geschwindigkeit mit der der Isotopen-Austausch erfolgt. Auch hier gilt, genau wie bei dem Liganden-Austausch, daß die Robustheit einer der beiden Chelatverbindungen die Geschwindigkeit und damit auch das Ausmaß des Isotopen-Austausches in erheblichem Maße beeinflussen wird. Beide Reaktionen, Liganden-Austausch und Isotopen-Austausch sind voneinander unabhängig wirksam.

Die Diskussion der mit den Chelatbildnern erzielten Ergebnisse hat von folgenden Tatsachen auszugehen:

- a) Ca-Chelate sind in der Lage, endogenes Mn zu mobilisieren (Tabelle 6, Abbildungen 8 - 14).
- b) Es findet Isotopen-Austausch statt (Tabelle 9, Abbildungen 8 - 14)
- c) Die Mn-Konzentrationen in den Geweben sind im Vergleich zu den Chelat-Dosen sehr klein.

Wird trägerfreies ^{54}Mn (Mn^*) gleichzeitig mit Ca-Chelaten (L) verabfolgt (Versuchsanordnung der Tabelle 4), kann gemäß a) die im Organismus ablaufende Reaktion durch



formuliert werden, wobei mit P ein endogener Chelatbildner bezeichnet ist und der Austausch von Ca gegen Mn der Einfachheit halber in der Schreibweise nicht berücksichtigt wird. Die Gleichgewichtskonstante von (1) hängt von dem Verhältnis der effektiven Stabilitätskonstanten der LMn- bzw. PMn-Komplexe E_L/E_P ab. Unabhängig von Reaktion (1) läuft der isotopische Austausch ab, d.h. die Mn*-Markierung von stabilem Mn, das als LMn und PMn vorliegt



wobei nach Ablauf von Reaktion (2) $\text{LMn}^*/\text{PMn}^* = \text{LMn}/\text{PMn}$ sein sollte; vorausgesetzt wird allerdings, daß der Isotopenaustausch schnell verläuft, d.h. die Mn-Komplexe nicht robust sind. Da die Größe von LM in (2) gemäß (1) von E_L/E_P abhängt, kann für die zur Diskussion stehende Versuchsanordnung (gleichzeitige Injektion von ^{54}Mn und von im Überschuß vorliegendem Ca-Chelat) erwartet werden, daß der Effektivitätsquotient, d.h. der ^{54}Mn -Gehalt eines Organs in % der Kontrolle ausgedrückt, mit wachsendem E_L , im folgenden der Einfachheit halber als E bezeichnet, abnimmt.

Bezüglich der Definition der effektiven Stabilitätskonstante E sei auf die ausführliche Darstellung bei Heller u. Catsch (18) verwiesen; in der effektiven Stabilitätskonstante wird der Dosis des Chelatbildners, der Konkurrenz der endogenen Ca-Ionen und schließlich auch der pH-Abhängigkeit der Komplexstabilität Rechnung getragen. Bei der Berechnung von E nahmen wir die Ca-Konzentration im Blutplasma mit 10^{-3} molar und den pH-Wert mit 7,4 an; die Konzentration des Chelatbildners im Organismus berechneten wir für einen physiologischen Verdünnungsraum, der 20 % des Körpergewichts ausmacht (Bohne et al. (2), Foreman et al. (13)). Die Werte für die Stabilität der Mn(II)- und Ca-Chelate entnahmen wir der Zusammenstellung von Sillén u. Martell (30).

Die Abbildungen 16 - 20 geben die Abhängigkeit der Effektivität von der effektiven Stabilitätskonstante E für die einzelnen Organe im doppel-logarithmischen Maßstab wieder. Von einigen, anschließend zu besprechenden Ausnahmen abgesehen, ist die theoretisch zu erwartende lineare Beziehung befriedigend realisiert. Natürlich ist die Streuung der Versuchspunkte nicht unerheblich, was im Hinblick auf die relativ großen Mutungsbereiche der einzelnen Punkte (vgl. Tabelle 4) nicht unerwartet ist und in der Regel bei Versuchen dieser Art auch bei anderen Metallionen angetroffen wird. Wir sehen somit, daß sowohl die Effektivität von verschiedenen Chelatbildnern mit unterschiedlichen effektiven Stabilitätskonstanten als auch von verschiedenen Dosen ein und desselben Chelatbildners befriedigend durch eine gemeinsame Gerade wiedergegeben werden kann.

Einige Chelatbildner verhalten sich jedoch, wie oben erwähnt, exzeptionell. Zunächst ist CDTA zu nennen, die - obwohl die effektive Stabilitätskonstante praktisch mit der von DTPA identisch ist - eine eindeutige und statistisch gesicherte höhere Effektivität aufweist. Im Falle der Nieren ist bei der Dosis von 100 μ mol der Unterschied nicht vorhanden, jedoch kann unter Berücksichtigung der Mutungsgrenzen angenommen werden, daß es sich hierbei nicht um einen realen Befund handelt. Die höhere Wirksamkeit der CDTA muß aller Wahrscheinlichkeit nach darauf zurückgeführt werden, daß dieser, eine zyklische Struktur aufweisende Chelatbildner eine größere Tendenz zur Bildung robuster Chelate als die aliphatischen Polyaminopolycarbonsäuren aufweist. Dies konnte sowohl in biologischen Versuchen, z.B. mit ^{59}Fe (Günther (16), Lê (20)) als auch komplex-chemisch (Schwarzenbach et al. (29)) nachgewiesen werden. Bei der ACATA scheinen die gleichen Verhältnisse vorzuliegen. Die Stabilitätskonstante von Mn(II)-ACATA ist zwar nicht bekannt, doch kann angenommen werden, daß - in Analogie zu den Verhältnissen bei ÄDTA und CDTA - die Stabilitätskonstante um 2 - 3 Größenordnungen höher liegt als bei der entsprechenden aliphatischen Polyaminopolycarbon-

säure, d.h. BADÄ. Die auffallend hohe Wirksamkeit der ACATA könnte - wie auch die der CDTA - mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit auf die Robustheit des Mn-Chelats zurückgeführt werden.

Abweichend verhält sich weiterhin die MÄIDA, die die ^{54}Mn -Retention in der Leber potenziert, d.h. einen höheren Wert als in der entsprechenden Kontrollgruppe ergibt, während in den anderen Organen MÄIDA eine eindeutige, wenn auch nicht sehr stark ausgeprägte Wirksamkeit zeigt. Die Ursache für die unter dem Einfluß von MÄIDA erhöhte Ablagerung von ^{54}Mn ist nicht klar. Der Mn-MÄIDA-Komplex weist nur eine negative Ladung auf, und man könnte deshalb versucht sein, daran zu denken, daß Mn-MÄIDA in stärkerem Maße als die 2- und 3-fach geladenen Mn-Chelate der anderen Liganden sich im intracellulären Raum anreichern und hier in direkten Kontakt mit endogenen Liganden gelangen, die eine höhere Affinität zu Mn^{2+} aufweisen. Falls dies der Fall wäre, müßte allerdings angenommen werden, daß die endogenen Liganden der Leberzelle eine höhere Affinität zu Mn^{2+} als die in den übrigen Organen aufweisen, da die potenzierte Retention von ^{54}Mn sich nur in der Leber manifestiert. Eine andere Erklärungsmöglichkeit wäre, daß MÄIDA in der Leber metabolisiert, d.h. abgebaut wird und im Laufe dieses Abbaues das Mn an endogene Liganden der Leberzelle verliert.

Ebenfalls ist nicht klar, warum BAÄ zu einer über den Kontrollwert hinausgehenden ^{54}Mn -Retention im Knochen führt.

Auch in einer anderen Beziehung verhält sich CDTA abweichend von DTPA, indem CDTA die ^{54}Mn -Ausscheidung mit den Faeces während der ersten 24 Stunden in etwas stärkerem Maße erhöht (Tab. 5). Als Erklärung hierfür bietet sich die Annahme an, daß der eine zyklische Struktur aufweisende Chelatbildner sich in der Leberzelle in stärkerem Maße als die aliphatische DTPA anreichert und mit der Galle ausgeschieden wird. Gewisse Hinweise in dieser Richtung gaben die Untersuchungen von Rubin und Prinziotto (28) sowie von Günther (16)

bei der Bestimmung der ^{59}Fe -Ausscheidung nach Injektion von Fe(III)-CDTA . Allerdings ist zuzugeben, daß diese Annahme rein spekulativ ist und noch einer experimentellen Verifizierung durch Untersuchungen mit ^{14}C -markierter CDTA bedarf.

Bevor wir die Diskussion der ersten Versuchsreihe abschließen, bleibt noch auf den allgemein wichtigen Punkt hinzuweisen, daß die effektiven Stabilitätskonstanten der Mn(II)-Chelate relativ niedrig sind; relativ, wenn man die wesentlich höheren Stabilitätskonstanten der Chelate mit anderen endogenen Spurenmetallen oder Fremdionen berücksichtigt (vgl. Sillén u. Martell (30)). Die Tatsache, daß trotz der nicht sehr großen E-Werte die Chelatbildner eine relativ hohe Wirksamkeit zeigen, könnte als Hinweis dafür angesehen werden, daß die endogenen Mn-Chelate nicht besonders stabil sind. Allerdings gilt dies nur mit dem Vorbehalt, auf den wir bereits weiter oben (S. 21) hinwiesen, d.h. den Umstand, daß die Retention eines Metallions unter den vorliegenden Versuchsbedingungen eine höhere Stabilität der Chelate vortäuschen kann.

Betrachten wir nun die Ergebnisse der Versuchsreihe, in der die mit ^{54}Mn markierten Mn(II)-Chelate in verschiedener Dosierung verabfolgt wurden (vgl. Tab. 7 und 8). Die Tatsache, daß der Chelatbildner in einem geringen Überschuß von 5 % vorlag, kann bei den folgenden Überlegungen unberücksichtigt bleiben. Die hierbei resultierende ^{54}Mn -Retention ist, wie der Vergleich in Tab. 7 zeigt, eindeutig geringer als bei Verabfolgung von trägerfreiem ^{54}Mn und äquimolaren Dosen der entsprechenden Ca-Chelate . Eine Ausnahme stellt einzig das Skelett dar, in dem unabhängig davon, ob der Chelatbildner als Ca- oder Mn-Chelat appliziert wird, praktisch gleiche ^{54}Mn -Mengen retiniert werden.

Wenn wir die allgemeinen Überlegungen der vorangehenden Abschnitte auf den vorliegenden Versuch übertragen, kann zunächst eine Mobilisation von endogenem Mn praktisch ausgeschlossen werden, es sei denn, daß man die Bildung des bimetallischen Mn(II)_2 -Chelats in Erwägung zieht. Allerdings ist dies wenig wahrscheinlich; einmal im Hinblick auf die Tatsache, daß Mn(II) eine Koordinationszahl von 6 betätigt, und zum anderen weil bereits die einfachen 1:1-Chelate keine besonders hohen effektiven Stabilitätskonstanten aufweisen. Man könnte somit annehmen, daß der beobachteten Retention von ^{54}Mn in den Geweben nur Isotopen-Austausch zugrunde liegt. In diesem Fall sollte jedoch das durch isotopischen Austausch ^{54}Mn -markierte Mn-Chelat, entsprechend dem für Chelate typischen Ausscheidungsweg (Tab. 5), ausschließlich mit dem Urin ausgeschieden werden. Tatsächlich aber werden neben einer eindeutig erhöhten Ausscheidung mit dem Urin auch faecale Ausscheidungsraten beobachtet, die eindeutig höher sind als nach Applikation von Ca-Chelaten. Sowohl die Ausscheidung mit dem Urin als auch mit den Faeces hängt von der Dosis des Chelatbildners ab, wie Abb. 7 zeigt. Da die Dosisabhängigkeit gegensinnig ist, ist die Gesamtausscheidung praktisch dosisunabhängig und konstant. Drückt man die ^{54}Mn -Retention in den Organen nicht, wie dies in Tab. 7 geschehen ist, in % der applizierten ^{54}Mn -Dosis, sondern in % der entsprechenden Kontrolle (Abb. 6), d.h. des ^{54}Mn -Gehalts bei Verabfolgung entsprechender Trägerdosen (Tab. 3) aus, so zeigt sich, daß die Wirksamkeit der Chelatbildner erheblich herabgesetzt ist gegenüber der ersten Versuchsanordnung, d.h. bei Applikation von Ca-Chelaten im Überschuß (Tab. 4). Diese Verhältnisse, d.h. sowohl das Ausscheidungsmuster als auch der Effektivitätsverlust, zwingen uns zu der Folgerung, daß die LMn-Chelate bei den vorliegenden Bedingungen dissoziieren, wobei das Ausmaß des Zerfalls mit zunehmender Dosis abnimmt. Grundsätzlich war dies auch zu erwarten; wie von Catsch (4) in einer allgemeinen Form ausgeführt wurde, nimmt die Effektivität der Chelatbildner bei isotopischer Verdünnung in mehr oder weniger starkem Maße ab.

Wir können somit die Ergebnisse der zur Diskussion stehenden Versuchsreihe dahingehend deuten, daß es zu einer Abspaltung des chelierten Mn im Organismus kommt und somit eine isotopische Verdünnung des ^{54}Mn vorliegt. Die abgespaltenen Mn-Mengen dürften sicherlich nicht besonders groß sein, jedoch immer noch wesentlich größer als die endogene austauschbare Fraktion des Mn-Pools, da anderenfalls man als Folge des isotopischen Austausches eine höhere ^{54}Mn -Retention in den Geweben erwarten sollte. Interessanterweise sind die Unterschiede in dem Verhalten von CDTA und DTPA, wie sie in dem vorangehenden Versuch vorlagen, in diesem Fall praktisch nivelliert, und die ^{54}Mn -Retention bzw. -Ausscheidung ist bei beiden Chelatbildnern (von geringfügigen Unterschieden abgesehen) praktisch identisch. Wir müssen somit folgern, daß die Robustheit der Mn-CDTA sich nicht beim Zerfall des Chelats, sondern nur beim isotopischen Austausch manifestiert.

Die vorstehend besprochenen Versuchsergebnisse gestatten, nun auch eine befriedigende Erklärung für die ausnehmend hohe Wirksamkeit der Mn-Chelate bei der Dekorporation von bereits in den Organen abgelagertem ^{54}Mn zu geben. Daß isotopischer Austausch bei bestimmten Radionucliden wie ^{60}Co oder ^{65}Zn wirksamer sein kann als das Prinzip der Chelierung, wurde durch die Untersuchungen von Catsch und Lê (7, 8) nachgewiesen. Allerdings ist der Unterschied in der Wirksamkeit der Ca-Chelate und der entsprechenden Metallchelate wesentlich schwächer ausgeprägt als im speziellen Fall von ^{54}Mn . Die Abbildungen 8 - 12 zeigen allerdings, daß die besonders hohe Effektivität der Mn-Chelate nicht alle Organe im gleichen Maße betrifft; eine besonders starke Ausprägung zeigen nur Pankreas und Leber, während die Dekorporationseffektivität in Nieren, Muskulatur und Skelett in der gleichen Größenordnung liegt, wie sie von Catsch und Lê (7, 8) für ^{60}Co bzw. ^{65}Zn beschrieben wurde. Nach der vorangegangenen Diskussion können wir annehmen, daß es nach Verabfolgung der Mn-Chelate im Orga-

nismus zu einem Chelat-Zerfall mit Freisetzung von Mn^{2+} kommt. Infolge der homeostatischen Kontrolle der Mn-Konzentration der Organe (mit der einzigen Ausnahme des Skeletts) wird das überschüssige Mn mit der Galle und dem Pankreassaft ausgeschieden. Bei der Passage beider Organe findet nun offenbar ein sehr intensiver Isotopen-Austausch statt, der zu der starken Reduktion der ^{54}Mn -Konzentration in beiden Organen führt.

Diese Vorstellung über den Wirkungsmechanismus der Mn-Chelate wird in vollem Umfang durch den Versuch bestätigt, in dem wir die Dosis-Abhängigkeit der Effektivität der Mn-Chelate untersuchten (Abb. 15): Die Ausscheidung von ^{54}Mn mit dem Urin ist unter dem Einfluß der Mn-Chelate eindeutig erhöht und im Falle der Mn-DTPA in stärkerem Maße als nach Verabfolgung von Mn-CDTA. Außerdem hängt die Ausscheidung von ^{54}Mn mit dem Urin eindeutig und der Erwartung entsprechend von der Dosis ab, indem sie mit wachsender Mn-Chelat-Dosis ansteigt. In den Faeces wird dagegen und bemerkenswerterweise eine eindeutig gesicherte Dosisabhängigkeit vermißt, wobei aber in Übereinstimmung mit den in Abb. 14 wiedergegebenen Ergebnissen die Ausscheidungsraten höher als in der Kontrollserie liegen. Folgende Deutung dieser Befunde wird nach Berücksichtigung aller vorangehend besprochenen Daten nahegelegt: Die durch Isotopen-Austausch gemäß Reaktion (2) mobilisierte ^{54}Mn -Menge wird mit dem Urin ausgeschieden und beschränkt sich im wesentlichen auf das in Skelett, Nieren und Muskulatur abgelagerte Radionuclid. Die Dosisabhängigkeit der Effektivität war theoretisch insofern zu erwarten, als das Ausmaß des isotopischen Austausches von dem Verhältnis Lm/Pm abhängt, das seinerseits mit steigender Chelatdosis zunimmt. Die fehlende Dosisabhängigkeit bei der ^{54}Mn -Ausscheidung mit den Faeces dürfte aller Wahrscheinlichkeit nach die Folge davon sein, daß die tatsächlich abgespaltene Mn-Menge - absolut betrachtet - bei den verschiedenen Chelat-Dosen wenig variiert und dass die abgespaltene Mn-Menge auf jeden

Fall erheblich größer als die austauschbare Fraktion des endogenen Mn-Pools ist.

Die Effektivität sowohl der Ca-Chelate als auch der Mn-Chelate bei nachträglicher Verabfolgung weist, wie die Abbildungen 8 - 12 zeigen, eine stark ausgeprägte Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Chelatverabfolgung auf; sie nimmt mit fortschreitender Zeit progredient ab. Die Zeitabhängigkeit der Effektivität steht, wie ein Vergleich mit den Kurven der Abbildungen 2 - 4 zeigt, in deutlicher Korrelation zu den Retentionsfunktionen.

Abschließend sei kurz auf die sich aus unseren Versuchsergebnissen ergebenden praktischen Konsequenzen eingegangen. Was die Art des Chelatbildners betrifft, so zeigen DTPA und CDTA praktisch identische Wirksamkeit, und man würde, da sowohl der therapeutische Index als auch das physiologische Verhalten der DTPA wesentlich eingehender untersucht wurde als für CDTA, bei der praktischen Verwendung der DTPA den Vorzug geben. Wenn man von den seltenen Fällen eines sehr frühzeitigen therapeutischen Eingreifens absieht, wird in der Regel der Beginn einer Medikation von Chelatbildnern mit einer gewissen Verzögerung stattfinden. Unter diesen Bedingungen haben wir eindeutig eine höhere Wirksamkeit der Mn-Chelate nachgewiesen, und es liegt somit nahe, für die Praxis der Applikation von Mn-DTPA anstelle von Ca-DTPA den Vorrang zu geben. Diese Empfehlung ist auch insofern berechtigt, als nach den Untersuchungen von Foreman und Nigrović (14) die Toxizität der Mn(II)-DTPA bei wiederholter Verabfolgung und in hoher Dosierung eindeutig niedriger liegt als die des Ca-DTPA. Naturgemäß ist die Anwendung von Mn-DTPA nur sinnvoll bei Inkorporation von Radiomangan.

Zusammenfassung

Untersuchungen über die Verteilung und Ausscheidung von trägerfreiem Radiomangan bei der Ratte brachten folgende Ergebnisse:

^{54}Mn wird bevorzugt von der Leber retiniert. Die Zeitabhängigkeit der Retention in den einzelnen Organen kann durch eine multiexponentielle Funktion beschrieben werden. Die Ausscheidung erfolgt vorwiegend mit den Faeces.

Isotopische Verdünnung führt zu einer verminderten Retention und zu einer entsprechend erhöhten Ausscheidung.

Es wurde eine Reihe verschiedener Chelatbildner in bezug auf die Beeinflussung des Mn-Stoffwechsels geprüft. Die größte Wirksamkeit zeigen Diäthylentriaminpentaacetat und trans-1,2-Cyclohexandiamintetraacetat. ^{54}Mn wird unter dem Einfluß der Chelatbildner vorwiegend mit dem Urin ausgeschieden und in geringerem Maße in den Geweben retiniert.

Die Wirksamkeit der Ca-Chelate zeigt eine starke Zeitabhängigkeit. Zu späteren Zeitpunkten verabfolgt, wird eine nur geringfügige ^{54}Mn -Menge mobilisiert. Im Gegensatz hierzu weisen die entsprechenden Mn(II)-Chelate eine erheblich größere Wirksamkeit und eine geringere Zeitabhängigkeit auf. Es handelt sich hierbei, wie die Versuche mit ^{54}Mn -markierten Mn-Chelaten zeigen, teils um Isotopenaustausch, teils um einen isotopischen Trägereffekt.

Literaturverzeichnis

- (1) Black, W.A., und R.L. Mitchell
J. Marine Biol. Assos. U.K., 30, 575 (1952)
- (2) Bohne, F., A.-E. Harmuth-Hoene, K. Kürzinger und
F. Havlicek
Strahlenther. im Druck
- (3) Boyer, J., und J. Rodier
Rev. neurol. 90, 13 (1954)
- (4) Catsch, A.
"Radioactive Metal Mobilization in Medicine"
Ch. C. Thomas, 1964
- (5) Catsch, A.
Naunyn-Schmiedbergs Arch. exp. Path. Pharmak. 246,
316 (1964)
- (6) Catsch, A., und E. von Wedelstaedt
Experientia 21, 210 (1965)
- (7) Catsch, A., und D. Kh. Lê
Experientia 21, 724 (1965)
- (8) Catsch, A., und D. Kh. Lê
Strahlenther. 130, 557 (1966)
- (9) Cotzias, G.C.
"Manganese in Health and Disease", Physiol. Rev. 38
(1958)
- (10) Cotzias, G.C., und J. Greenough
J. Clin. Invest. 37, (1958)
- (11) Flinn, R. et al.
Publ. Health Bull. 247, (1940)
- (12) Folsom, T.R. et al.
Nature 200, 327 (1963)

- (13) Foreman, H., C. Finnegan und C.C. Lushbaugh
J. A. M. A. 160, 1042 (1956)
- (14) Foreman, H., und V. Nigrović
im Druck
- (15) Fried, J., A. Lindenbaum und J. Schubert
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 100, 570 (1959)
- (16) Günther, R.
im Druck
- (17) Held, E.
"Qualitative distribution of radionuclides at
Rongelap Atoll"
Radioecology, 1963
- (18) Heller, H.J., und A. Catsch
Strahlenther. 109, 464 (1959)
- (19) Ichikawa, R.
Jap. Soc. Sci. Fish. 27, 66 (1961)
- (20) Lê, D. Kh.
Arzneim.-Forsch. 15, 387 (1965)
- (21) Mauchline, J.
Risley Report PG-248, 17 (1961)
- (22) Maynard, L., und G.C. Cotzias
J. Biol. Chem. 214, 489 (1955)
- (23) Nigrović, V., und T. Mohr
Strahlenther. 130, 314 (1966)
- (24) Oettingen, W.F.
Physiol. Rev. 15, 175 (1935)
- (25) Pennalver, R.
Arch. Ind. Health 16, 64 (1957)

- (26) Rodier, J., R. Mallet und L. Rodi
Arch. Malad. Prof. 15, 210 (1954)
- (27) Rodier, J.
Brit. J. Ind. Med. 12, 21 (1955)
- (28) Rubin, M., und J.V. Prinziotto
Ann. N.Y. Acad. Sci. 88, 450 (1960)
- (29) Schwarzenbach, G., H. Senn und G. Anderegg
Helv. Chim. Acta 40, 1886 (1957)
- (30) Sillen, L.G., und A.E. Martell
Stability Constants of Metal-Ion Complexes.
The Chemical Society 1964
- (31) Strain, W.H., D.T. Danahy, R.J.O. Reilly, M.R. Thomas,
R.M. Wilson und W.J. Pories
J. Nucl. Med. 8, 107 (1967)
- (32) Sýkora, J., und V. Eybl
Arch. int. Pharmacodyn. 33, 125 (1957)

Tabellen und Abbildungen

Tabelle 1: ⁵⁴Mn-Gehalt der Organe (in % der Dosis) zu verschiedenen Zeitpunkten nach i.v. Injektion.
 Der Mutungsbereich für P = 0,05 ist in Klammern angeführt. n = Zahl der Tiere,
 g = mittleres Körpergewicht.

Tag	n	g	Skelett	Leber	Muskulatur	Nieren	Pankreas
1 Std.	5	196	4,70 (4,05 - 5,46)	25,6 (21,2 - 30,8)	18,5 (15,5 - 22,2)	6,66 (6,13 - 7,25)	3,28 (1,96 - 5,50)
2	41	195	3,24 (2,96 - 3,54)	17,2 (16,4 - 18,1)	14,9 (14,2 - 15,7)	3,46 (3,31 - 3,61)	2,57 (2,36 - 2,80)
3	15	194	2,72 (2,28 - 3,26)	13,2 (12,3 - 14,2)	13,0 (12,2 - 13,8)	2,96 (2,75 - 3,20)	2,64 (2,28 - 3,04)
4	21	186	2,55 (2,34 - 2,77)	10,4 (9,75-11,1)	12,5 (11,9 - 13,1)	2,43 (2,32 - 2,55)	2,28 (2,14 - 2,44)
6	6	189	2,04 (1,76 - 2,36)	9,34 (7,80-11,2)	12,0 (9,45-14,7)	1,83 (1,62 - 2,06)	2,63 (2,26 - 3,06)
8	5	185	1,59 (1,37 - 18,4)	8,16 (7,03- 9,50)	11,8 (10,5 - 13,2)	1,55 (13,4 - 1,79)	1,34 (1,13 - 1,60)
10	6	185	1,23 (1,08 - 1,39)	5,80 (4,66- 7,22)	7,76 (6,50- 9,28)	1,19 (1,03 - 1,34)	1,53 (1,35 - 1,72)
12	6	209	1,22 (1,12 - 1,32)	4,12 (3,54- 4,80)	6,92 (5,64- 8,50)	1,07 (0,992-1,15)	1,14 (0,930-1,39)
16	5	200	1,02 (0,89 - 1,17)	3,24 (2,58- 4,06)	7,48 (5,53-10,1)	0,82 (0,694-0,97)	0,908 (0,65 - 1,26)
18	12	183	1,23 (1,07 - 1,41)	2,55 (2,18 - 2,98)	7,89 (6,96- 8,90)	0,75 (0,704-0,800)	0,89 (0,800-0,99)
32	5	210	0,728 (0,615- 0,86)	1,12 (1,01- 1,23)	4,23 (3,38- 5,29)	0,246 (2,26 - 2,68)	0,21 (0,128-0,344)
34	12	195	0,725 (0,661-0,794)	0,99 (0,92- 1,06)	4,94 (4,48- 5,44)	0,262 (0,243-0,282)	0,238 (0,206-0,274)

Tabelle 2: 48 Std.-Ausscheidung (in % der Dosis) zu verschiedenen Zeitpunkten nach i.v. Injektion. Der Mutungsbereich für $P = 0,05$ ist in Klammern angeführt.
 n = Zahl der Tiere, g = mittleres Körpergewicht.

Tag	n	g	Faeces	Urin
2.+ 3.	6	178	22,5 (19,9 -25,4)	0,0347 (0,0278 -0,0434)
3.+ 4.	12	194	12,6 (10,8 -14,7)	0,0253 (0,0224 -0,0286)
5.+ 6.	6	189	7,41 (6,65-- 8,25)	0,0309 (0,0183 -0,0522)
9.+10.	6	185	4,86 (4,36 - 5,42)	0,0392 (0,0252 -0,0612)
17.+18.	6	186	1,91 (1,54 - 2,37)	0,0267 (0,025 -0,0285)
33.+34.	12	195	0,765 (0,686- 0,852)	0,00775 (0,00635-0,00945)

Tabelle 3: ⁵⁴Mn-Gehalt der Organe und Ausscheidungen (in % der Dosis) am 2. Tag nach i.v. Injektion von trägerfreiem und isotopisch verdünntem ⁵⁴Mn. Der Mutungsbereich für P = 0,05 ist in Klammern angeführt. n = Zahl der Tiere, g = mittleres Körpergewicht.

μmol Mn	n	g	Skelett	Leber	Muskulatur	Nieren	Pankreas	Faeces	Urin
trägerfrei	41	195	3,24 (2,96-3,54)	17,2 (16,4 -18,1)	14,9 (14,2 -15,7)	3,46 (3,31-3,61)	2,57 (2,36 -2,80)	37,0 (28,7-47,7)	0,509 (0,268-0,987)
1	6	192	2,06 (1,93-2,19)	5,77 (5,38 -6,20)	3,92 (3,66-4,21)	0,71 (0,66-0,765)	1,32 (0,995-1,76)	59,6 (45,9-77,4)	0,16 (0,107-0,238)
10	3	187	2,80 (1,12-7,00)	1,25 (0,885-1,77)	1,71 (1,43-2,04)	0,166 (0,14-0,197)	0,226 (0,168-0,303)	69,2 (65,5-73,0)	0,24 (0,161-0,358)

Tabelle 4: ⁵⁴Mn-Gehalt der Organe (in % der Kontrolle) am 2. Tag nach i.v. Injektion von trägerfreiem ⁵⁴Mn und Chelatbildner. Der Mutungsbereich für P = 0,05 ist in Klammern angeführt. n = Zahl der Tiere, g' = mittleres Körpergewicht.

Chelat- bildner	μmol	n	g	Skelett	Leber	Muskulatur	Nieren	Pankreas
ÄDTA	100	6	192	35,2 (26,4 -47,1)	31,5 (26,5 -37,4)	20,3 (17,2 -24,0)	18,2 (15,7 -21,3)	21,3 (13,2 -34,4)
HÄDTA	100	6	208	53,5 (48,3 -59,1)	74,4 (62,0 -89,3)	29,6 (25,0 -35,0)	23,4 (21,5 -25,5)	31,0 (23,8 -40,4)
BADÄ	100	6	200	25,0 (15,8 -39,6)	25,1 (20,4 -31,0)	12,3 (9,49-16,1)	10,8 (9,0 -13,0)	11,8 (8,79-15,7)
BADS	100	6	190	27,6 (17,3--43,8)	42,5 (36,6 -49,4)	9,7 (8,39-11,2)	17,8 (14,9 -21,4)	13,4 (10,0 -17,9)
DTPA	1	12	188	74,0 (63,0 -83,0)	65,6 (60,0 -71,9)	28,9 (25,6 -32,8)	43,4 (39,8 -47,3)	35,8 (27,9 -46,0)
DTPA	10	6	198	24,7 (20,4 -30,0)	30,4 (25,8 -36,0)	9,09 (7,85-10,5)	15,2 (13,7 -16,9)	12,5 (9,07-17,7)
DTPA	100	6	190	5,39 (3,86- 7,52)	9,75 (8,26-11,5)	2,56 (2,17- 3,03)	4,40 (3,68- 5,26)	3,98 (2,74- 5,79)
DTPA	100	6	192	8,31 (7,10- 9,75)	8,95 (7,54-10,6)	3,47 (2,71- 4,44)	5,45 (4,70- 6,33)	3,78 (2,71- 5,25)
BAÄ	100	6	188	150 (130 - 173)	96,5 (85,6 - 109)	44,5 (39,2 -50,5)	46,8 (42,0 -52,0)	64,0 (48,0 -85,6)
BATÄ	100	6	202	98,5 (84,0 - 115)	72,5 (64,6 -81,1)	32,0 (27,6 -37,0)	47,5 (43,4 -52,1)	45,0 (37,0 -54,7)
TTHA	1	6	195	102 (80,3 - 129)	99,6 (84,1 - 118)	32,6 (26,8 -39,7)	47,5 (41,3 -54,6)	40,9 (27,2 -61,4)

Fortsetzung nächste Seite

Fortsetzung Tabelle 4

TTHA	100	4	193	20,1 (16,9 -23,9)	16,2 (14,5 -18,2)	5,66 (4,78- 6,69)	8,61 (7,57- 9,84)	7,40 (5,85- 9,35)
CDTA	1	12	187	10,3 (8,45-12,5)	8,61 (7,53- 9,86)	6,00 (4,74- 7,57)	16,7 (14,9 -18,8)	6,12 (4,90- 7,65)
CDTA	10	6	195	7,49 (5,21-11,0)	5,24 (4,50- 6,09)	3,16 (2,66- 3,76)	9,66 (8,56-10,9)	3,58 (2,65- 4,81)
CDTA	100	6	202	3,76 (2,98- 4,75)	2,49 (2,17- 2,86)	1,91 (1,62- 2,24)	4,44 (3,69- 5,34)	1,30 (0,97- 1,70)
ACATA	1	6	188	33,9 (28,6 -40,2)	29,3 (25,3 -33,9)	19,7 (16,7 -23,2)	34,2 (31,4 -37,1)	22,0 (16,0 -30,1)
ACATA	100	6	196	4,54 (3,84- 5,35)	3,06 (2,63- 3,56)	2,18 (1,67- 3,08)	1,42 (1,26- 1,59)	1,60 (1,27- 2,02)
MÄIDA	100	6	187	73,9 (53,0 - 103)	164 (141 - 192)	32,8 (30,0 -37,4)	70,0 (57,4 -85,4)	59,4 (40,3 -87,4)
MÄIDA	100	6	204	95,0 (84,0 - 107)	160 (137 - 187)	40,5 (32,2 -51,0)	66,8 (62,6 -71,4)	49,7 (38,2 -64,7)
DMPS	100	6	192	81,4 (61,9 - 107)	119 (101 - 141)	85,0 (67,4 - 107)	101 (83,6 - 122)	92,3 (62,4 - 137)
PA	100	6	196	94,5 (81,2 - 110)	89,1 (71,6 - 111)	98,2 (81,1 - 119)	106 (97,0 - 115)	82,4 (61,5 - 110)

Tabelle 5: 96 Std.-Ausscheidung von ^{54}Mn (in % der Dosis) nach gleichzeitiger i.v. Injektion von 100 μmol Ca-Chelat. Je 4 Tiere pro Gruppe mit einem mittleren Körpergewicht von 180 g. Die Mutungsbereiche für $P = 0,05$ sind in Klammern angeführt.

Tag	1	2	3	4	Summe
Chelat	U r i n				
DTPA	54,0 (52,0 - 56,0)	0,0197 (0,0132- 0,0294)	0,0139 (0,0112- 0,0173)	0,0177 (0,0102-0,0308)	54,6 (52,5 - 56,7)
CDTA	46,8 (42,4 - 51,6)	0,197 (0,157 - 0,248)	0,0612 (0,0520- 0,0723)	0,0224 (0,0196-0,0256)	47,3 (42,9 - 52,2)
Kontrolle	0,441 (0,354- 0,550)	0,0680 (0,0609- 0,0760)	0,0312 (0,0264- 0,0371)	0,0452 (0,0396-0,0515)	0,600 (0,510- 0,704)
	F a e c e s				
DTPA	7,25 (5,39 - 9,75)	2,06 (1,41 - 3,02)	1,19 (1,00 - 1,41)	0,669 (0,525 -0,850)	11,7 (5,50 -25,2)
CDTA	13,3 (9,45 -18,8)	2,47 (1,78 - 3,42)	0,654 (0,470 - 0,906)	0,372 (0,264 -0,524)	17,0 (12,1 -23,8)
Kontrolle	21,7 (20,0 -23,6)	15,3 (14,2 -16,5)	9,60 (8,99 -10,2)	6,10 (5,55 -6,69)	52,8 (50,5 -55,3)

Tabelle 6: ⁵⁴Mn-Gehalt der Organe (in % der Kontrolle) am 3. Tag nach i.v. Injektion und nachträglicher i.p. Injektion von 250 µmol Ca-Chelat zu verschiedenen Zeitpunkten. Der Mutungsbereich für P = 0,05 ist in Klammern angeführt. n = Zahl der Tiere, g = mittleres Körpergewicht.

Chelatbildner	Std.	n	g	Skelett	Leber	Muskulatur	Nieren	Pankreas
DTPA	1	6	196	75,9 (60,4-95,4)	72,2 (58,5-89,0)	63,1 (44,3-89,9)	67,8 (61,2-75,4)	80,5 (54,3-119)
	4	6	194	61,6 (52,6-72,1)	64,6 (56,6-73,6)	72,6 (58,0-114)	63,3 (55,0-73,0)	73,5 (48,3-112)
	8	6	210	66,7 (58,2-80,0)	73,5 (66,4-81,5)	75,9 (52,8-109)	71,4 (64,2-79,3)	72,1 (51,0-100)
	24	10	206	81,1 (59,4-111)	80,1 (72,4-89,0)	88,5 (79,0-99,0)	71,1 (64,1-79,0)	70,8 (51,6-97,0)
CDTA	1	6	188	78,0 (65,5-92,6)	35,9 (31,1-41,4)	61,0 (47,1-78,9)	37,3 (33,6-41,4)	76,4 (55,1-105)
	4	6	204	72,5 (62,5-84,0)	33,6 (30,0-37,8)	89,5 (71,4-112)	35,6 (30,1-42,1)	88,0 (68,0-114)
	8	6	210	68,1 (58,5-79,4)	32,2 (29,2-35,6)	87,0 (70,7-107)	39,2 (32,5-45,1)	79,6 (64,7-98,4)
	24	10	201	77,6 (59,6-101)	46,0 (41,0-51,8)	92,1 (80,8-105)	57,0 (48,6-66,5)	80,5 (65,5-99,1)
ACATA	1	6	194	72,5 (59,0-89,0)	31,8 (26,9-37,8)	68,6 (50,5-93,5)	19,7 (17,3-22,5)	62,8 (45,4-87,0)

Tabelle 7: ⁵⁴Mn-Gehalt der Organe (in % der Dosis) am 2. Tag nach i.v. Injektion von ⁵⁴Mn und 100 µmol Ca- bzw. Mn-Chelat. Der Mutungsbereich für P = 0,05 ist in Klammern angeführt. n = Zahl der Tiere, g = mittleres Körpergewicht.

Chelat	n	g	Skelett	Leber	Muskulatur	Nieren	Pankreas
Ca-ÄDTA	6	192	1,55 (1,47 -1,65)	4,86 (4,60 - 5,14)	3,04 (2,89 -3,20)	0,700 (0,665 -0,736)	0,412 (0,352 -0,483)
Mn-ÄDTA	6	196	1,26 (1,18 -1,33)	0,216 (0,200- 0,232)	0,791 (0,737-0,850)	0,0308 (0,0280-0,0338)	0,0463 (0,0425-0,0503)
Ca-BADS	6	190	0,924 (0,845-1,01)	6,45 (6,11 - 6,81)	1,40 (13,3 -1,47)	0,574 (0,550 -0,596)	0,405 (0,381 -0,430)
Mn-BADS	6	198	1,10 (1,03 -1,17)	0,218 (0,190- 0,250)	0,935 (0,805-1,09)	0,0452 (0,0421-0,0485)	0,0452 (0,0390-0,0524)
Ca-TTHA	6	195	0,475 (0,464-0,488)	3,11 (3,04 - 3,17)	0,818 (0,779-0,860)	0,300 (0,285 -0,317)	0,196 (0,183 -0,210)
Mn-TTHA	6	203	0,424 (0,400-0,448)	0,166 (0,160- 0,173)	0,486 (0,427-0,553)	0,0213 (0,0201-0,0226)	0,0359 (0,0323-0,0400)
Ca-DTPA	6	190	0,238 (0,216-0,262)	1,50 (1,44 -15,7)	0,385 (0,365-0,405)	0,169 (0,158 -0,180)	0,077 (0,071 -0,084)
Mn-DTPA	12	195	0,386 (0,372-0,401)	0,152 (0,144- 0,160)	0,205 (0,195-0,216)	0,0209 (0,0202-0,0216)	0,0268 (0,0240-0,0298)
Ca-CDTA	6	202	0,318 (0,236-0,431)	0,379 (0,361- 0,398)	0,276 (0,260-0,292)	0,142 (0,136 -0,149))	0,392 (0,369 -0,416)
Mn-CDTA	12	193	0,310 (0,294-0,324)	0,145 (0,138- 0,153)	0,256 (0,232-0,276)	0,0246 (0,0237-0,0255)	0,0313 (0,0298-0,0329)

Tabelle 8: ⁵⁴Mn-Gehalt der Organe (in % der Kontrolle) nach i.v. Injektion und nachträglicher i.p. einmaliger oder mehrmaliger Injektion von 250 µmol Ca- bzw. Mn-Chelat. Sektion erfolgte 2 Tage nach der letzten Chelatdosis. Der Mutungsbereich für P = 0,05 ist in Klammern angeführt. n = Zahl der Tiere.
g = mittleres Körpergewicht.

Chelat	Tag	n	g	Skelett	Leber	Muskulatur	Nieren	Pankreas
Ca-DTPA	1	10	201	81,1 (59,4- 111)	80,1 (72,4 -89,0)	88,5 (79,0-99,0)	71,1 (64,1-79,0)	70,8 (51,6 -97,0)
	2,4,6, 8,10	10	201	73,4 (61,5-82,4)	55,4 (48,3 -63,5)	103 (83,2- 127)	56,1 (50,0-63,0)	62,5 (49,4 -79,0)
Mn-DTPA	1	10	198	38,2 (29,0-50,2)	15,9 (14,2 -17,8)	52,9 (44,1-63,5)	19,8 (17,8-22,0)	5,11 (3,94- 6,61)
	2,4,6, 8,10	10	188	43,5 (37,8-50,0)	8,86 (7,75-10,2)	31,0 (25,4-38,8)	20,8 (19,3-22,6)	1,93 (1,61- 2,30)
Ca-CDTA	1	10	206	77,6 (59,6- 101)	46,0 (41,0 -51,8)	92,1 (80,8- 105)	57,0 (48,6-66,5)	80,5 (65,5 -99,1)
	2,4,6, 8,10	10	186	56,4 (48,4-66,0)	27,7 (24,7 -31,0)	104 (85,0- 126)	40,8 (36,0-46,5)	113 (89,5 - 142)
Mn-CDTA	1	10	189	54,3 (41,7-70,6)	16,8 (14,9 -19,0)	54,8 (45,2-66,5)	21,0 (18,6-23,6)	7,16 (5,20- 9,85)
	2,4,6, 8,10	10	193	88,0 (75,8- 102)	9,41 (8,15-10,9)	36,4 (27,0-49,1)	25,1 (21,5-29,3)	2,17 (1,69- 2,92)

Tabelle 9: ⁵⁴Mn-Gehalt der Organe und Ausscheidungen (in % der Dosis) am 2. Tag nach i.v. Injektion von ⁵⁴Mn-markierten Mn-Chelaten. Der Mutungsbereich für P = 0,05 ist in Klammern angeführt. n = Zahl der Tiere, g = mittleres Körpergewicht.

μmol Chelat	n	g	Skelett	Leber	Musk.	Nieren	Pankreas	Faeces	Urin
100 Mn-CDTA	12	193	0,309 (0,273-0,350)	0,145 (0,128-0,164)	0,256 (0,215-0,305)	0,0246 (0,0227-0,0266)	0,0313 (0,0281-0,035)	16,3 (13,3-20,1)	45,5 (40,3-51,5)
10 Mn-CDTA	6	187	0,71 (0,63 -0,80)	0,713 (0,598-0,852)	0,95 (0,894-1,01)	0,0996 (0,091 -0,109)	0,12 (0,108 -0,132)	30,6 (25,4-36,7)	38,4 (27,8-53,3)
1 Mn-CDTA	6	191	0,93 (0,814-1,06)	3,88 (3,28 -4,56)	3,18 (2,97 -3,41)	0,515 (0,451 -0,588)	0,726 (0,612 -0,865)	35,0 (29,8-41,0)	23,2 (19,4-27,6)
100 Mn-DTPA	12	195	0,386 (0,35 -0,427)	0,152 (0,135-0,17)	0,205 (0,183-0,23)	0,0209 (0,0193-0,0226)	0,0268 (0,021 -0,0341)	14,9 (12,3-18,1)	52,5 (49,0-56,3)
10 Mn-DTPA	6	204	1,00 (0,769-1,30)	1,04 (0,915-1,18)	1,19 (1,03 -1,37)	0,114 (0,107 -0,121)	0,149 (0,121 -0,184)	32,6 (20,6-51,8)	31,3 (23,3-42,0)
1 Mn-DTPA	6	191	1,75 (1,53 -1,99)	4,75 (4,0 -5,64)	4,20 (3,24 -5,44)	0,535 (0,495 -0,576)	0,822 (0,668 -1,01)	48,6 (45,0-52,5)	14,4 (10,2-20,2)

Tabelle 10: Konstanten der Retentionsfunktion

$$R_t = a_1 \exp(-\lambda_1 t) + a_2 \exp(-\lambda_2 t).$$

t = Tage, $\lambda_1 \sim 0,35$. $a_1, a_2 = \%$ der Dosis.

Organ	a_1	a_2	λ_2
Skelett	3,0	1,7	0,025
Leber	16,3	9,2	0,063
Muskulatur	8,5	10,0	0,019
Nieren	4,3	2,3	0,063
Pankreas	0	3,1	0,077

Abb. 1: Photopeak des ^{54}Mn

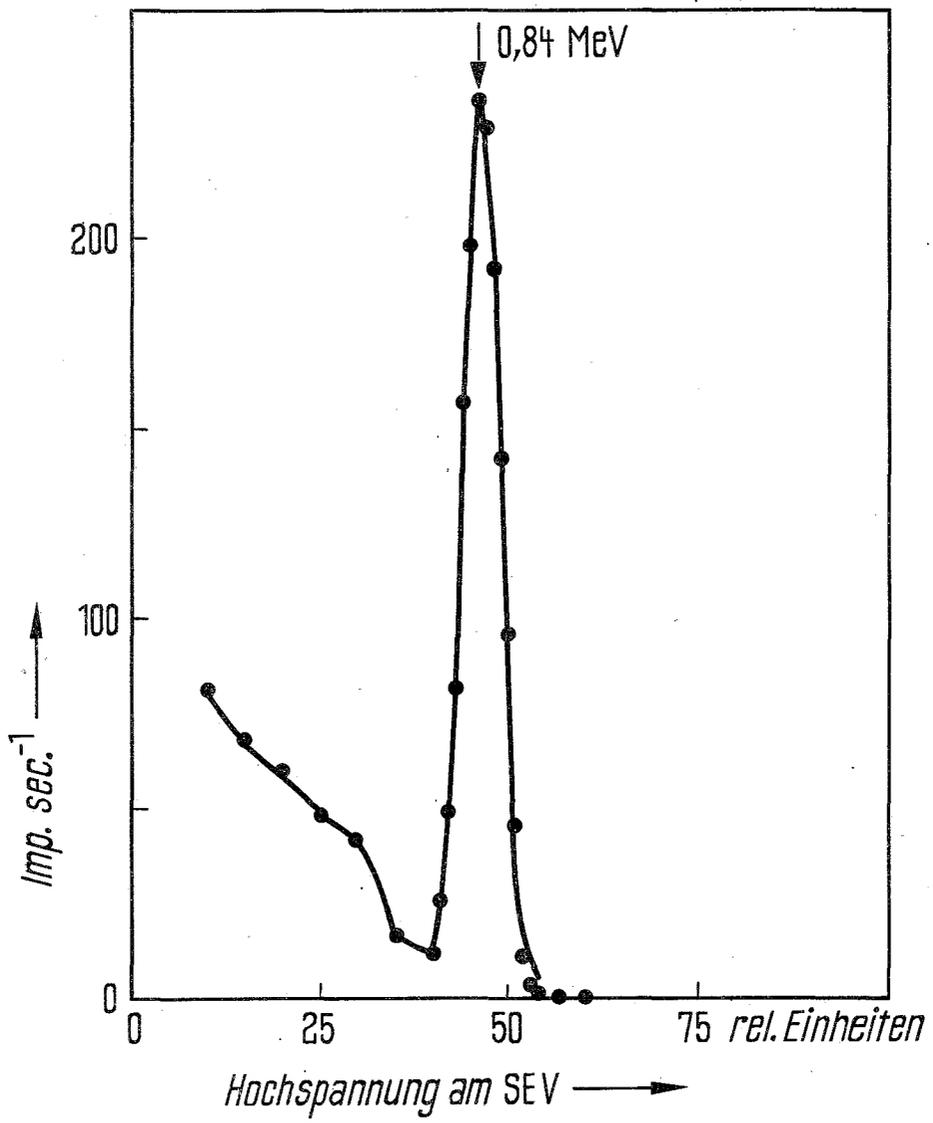


Abb. 2: Abhängigkeit des ^{54}Mn -Gehalts der Organe von der
Zeit. Mutungsbereiche für $P = 0,05$

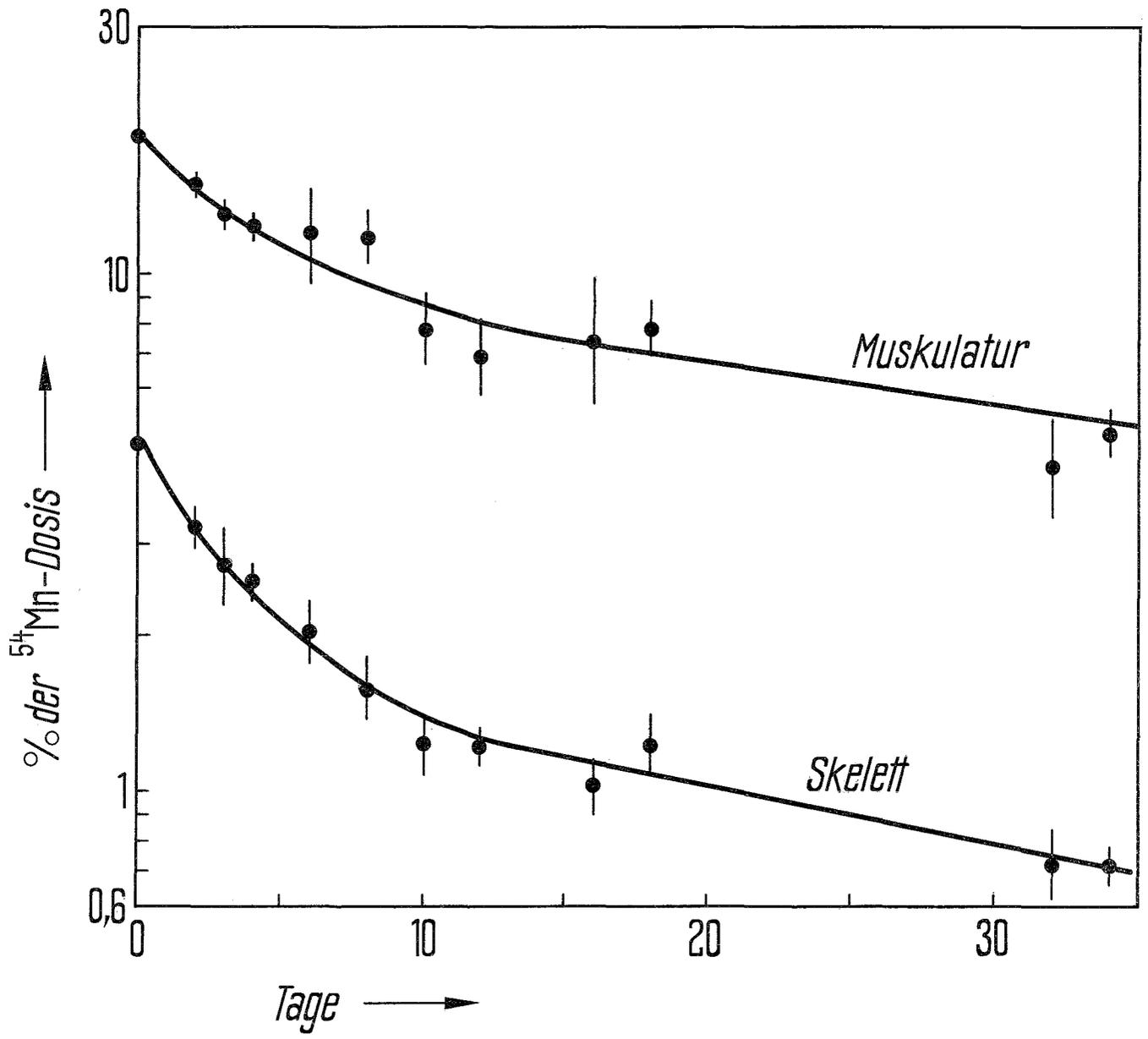


Abb. 3: Abhängigkeit des ⁵⁴Mn-Gehalts der Organe von der
Zeit. Mutungsbereiche für P = 0,05

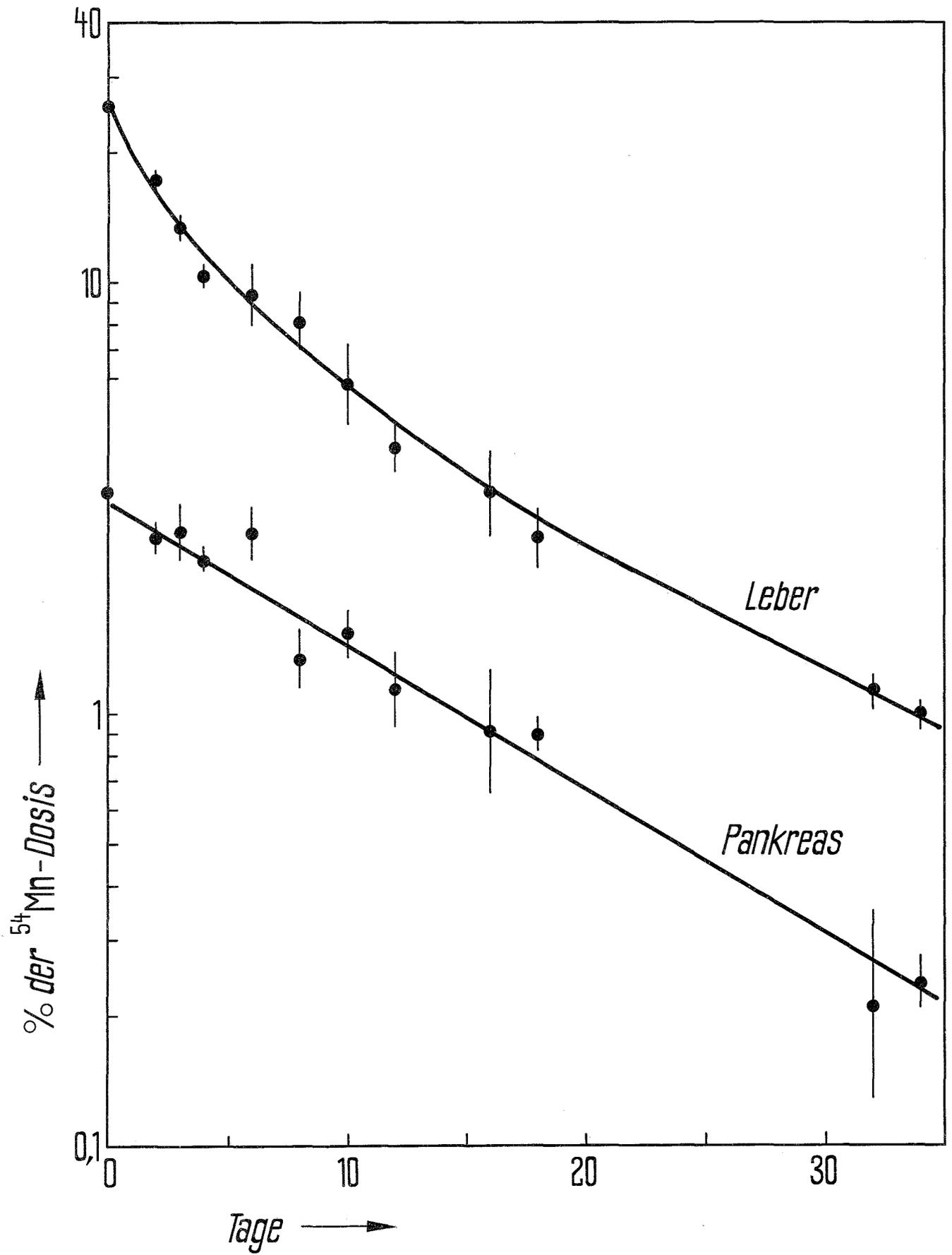


Abb. 4: Abhängigkeit des ⁵⁴Mn-Gehalts der Organe von der
Zeit. Mutungsbereiche für P = 0,05

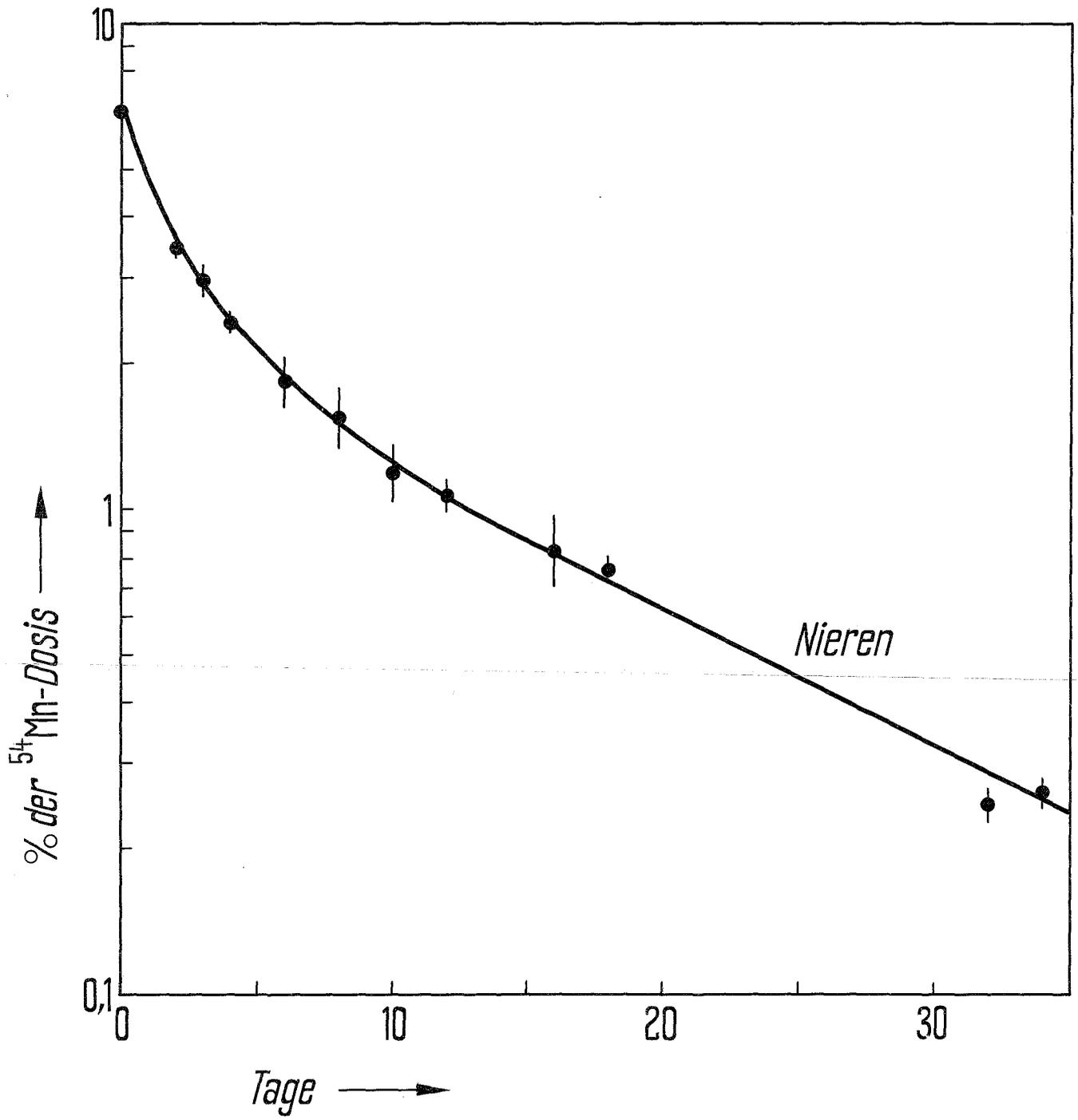


Abb. 5: Zeitabhängigkeit der ⁵⁴Mn-Ausscheidung. Mutungsbereiche für $P = 0,05$. Bedeutung der Symbole (oo) s. Text

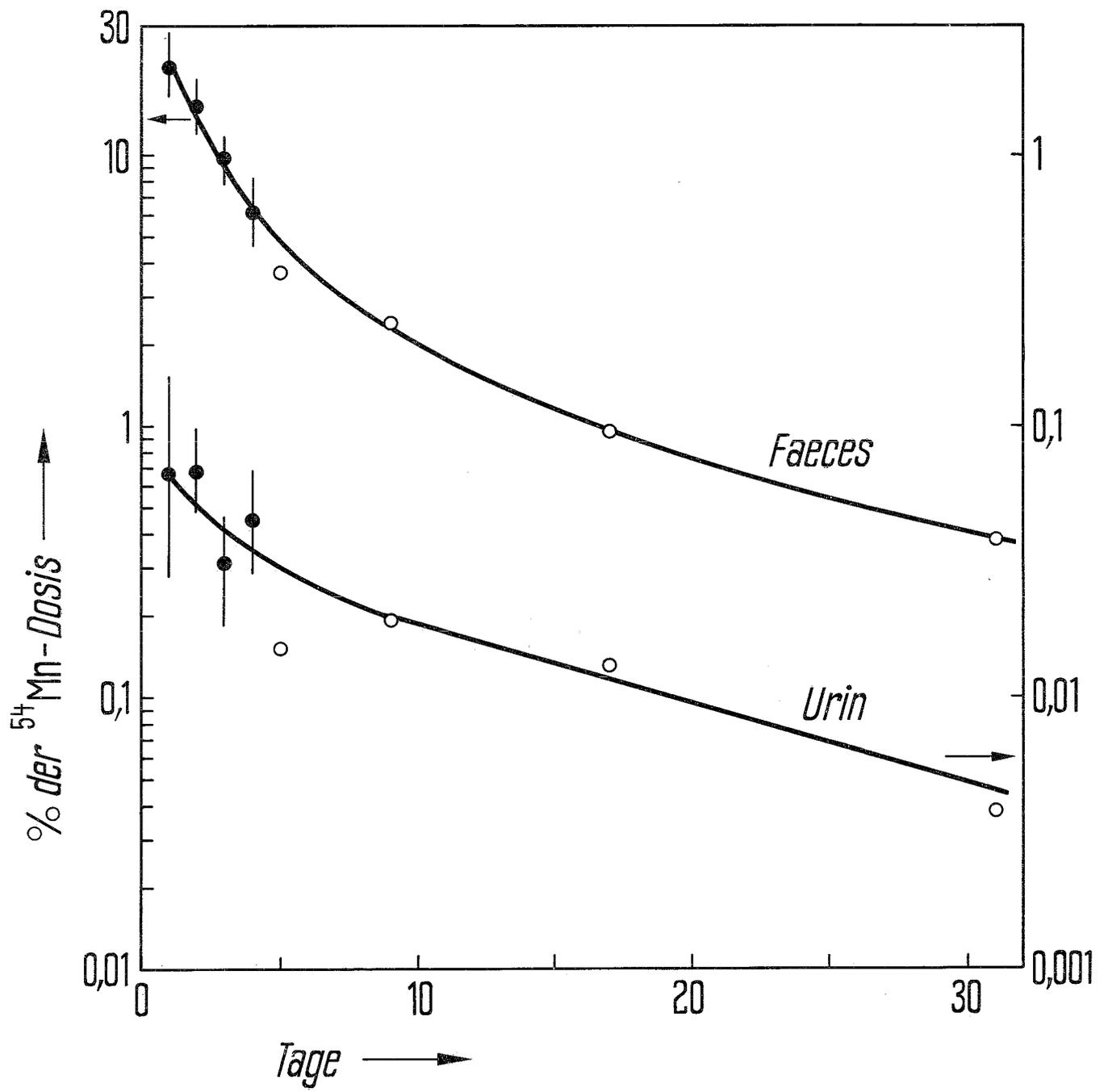


Abb. 6: ^{54}Mn -Gehalt der Organe (in % der Kontrolle (Tab.4))
nach Verabfolgung von ^{54}Mn -markierten Mn-Chelaten

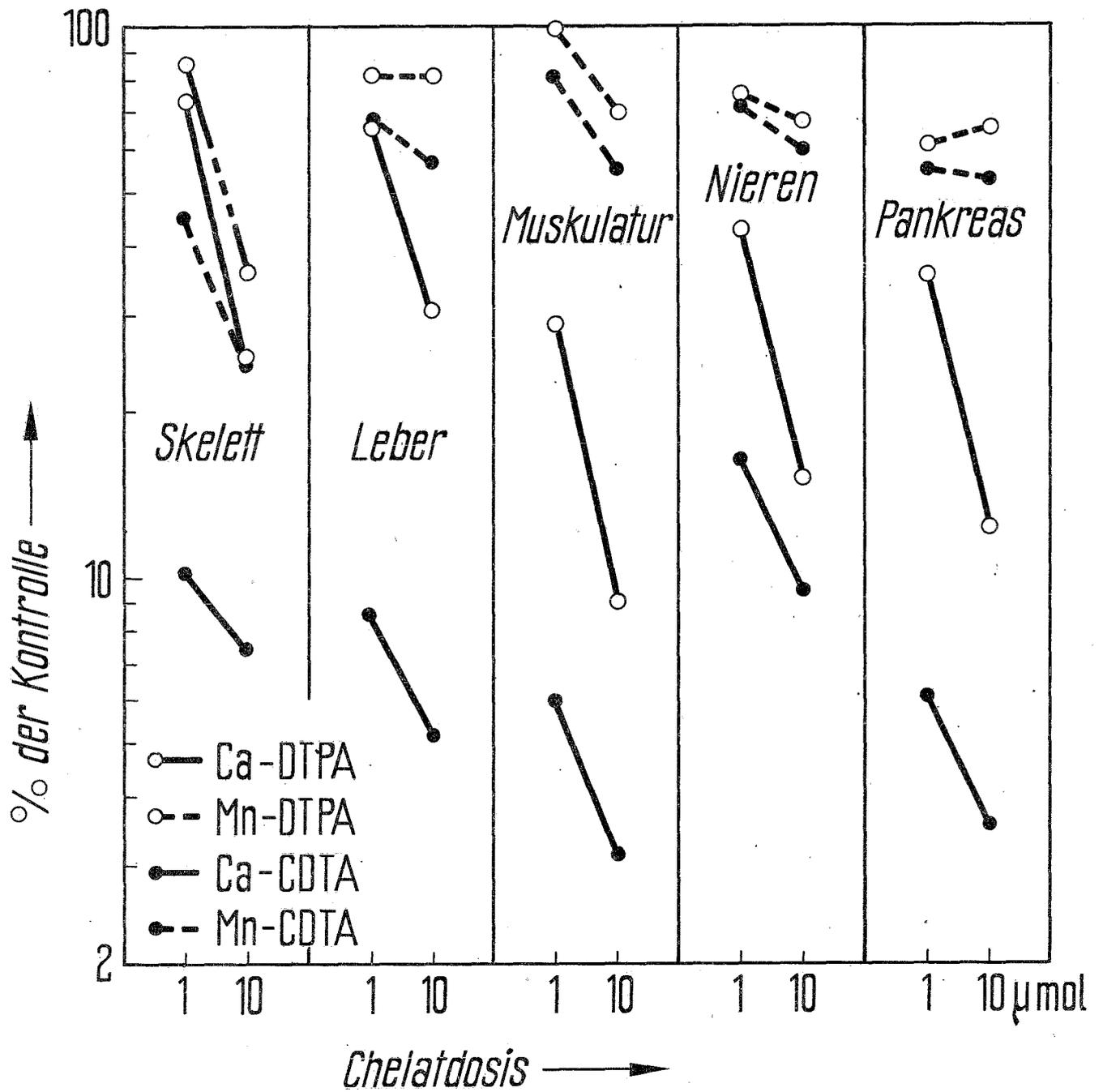


Abb. 7: ^{54}Mn -Ausscheidung nach Verabfolgung von ^{54}Mn -
markierten Mn-Chelaten. Mutungsbereiche für
 $P = 0,05$

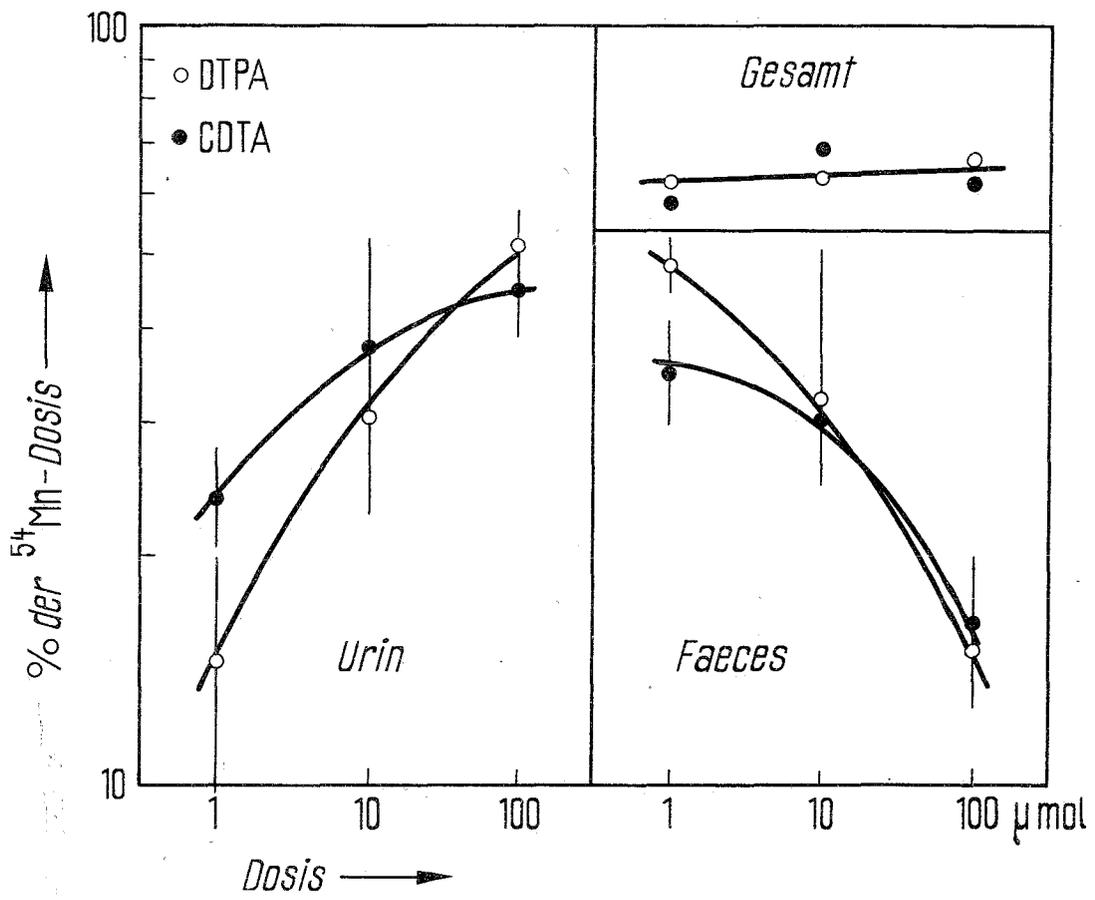


Abb. 8: ⁵⁴Mn-Gehalt des Skeletts nach Verabfolgung von
250 µmol Ca- bzw. Mn-Chelat zu verschiedenen
Zeitpunkten. Mutungsbereiche für P = 0,05

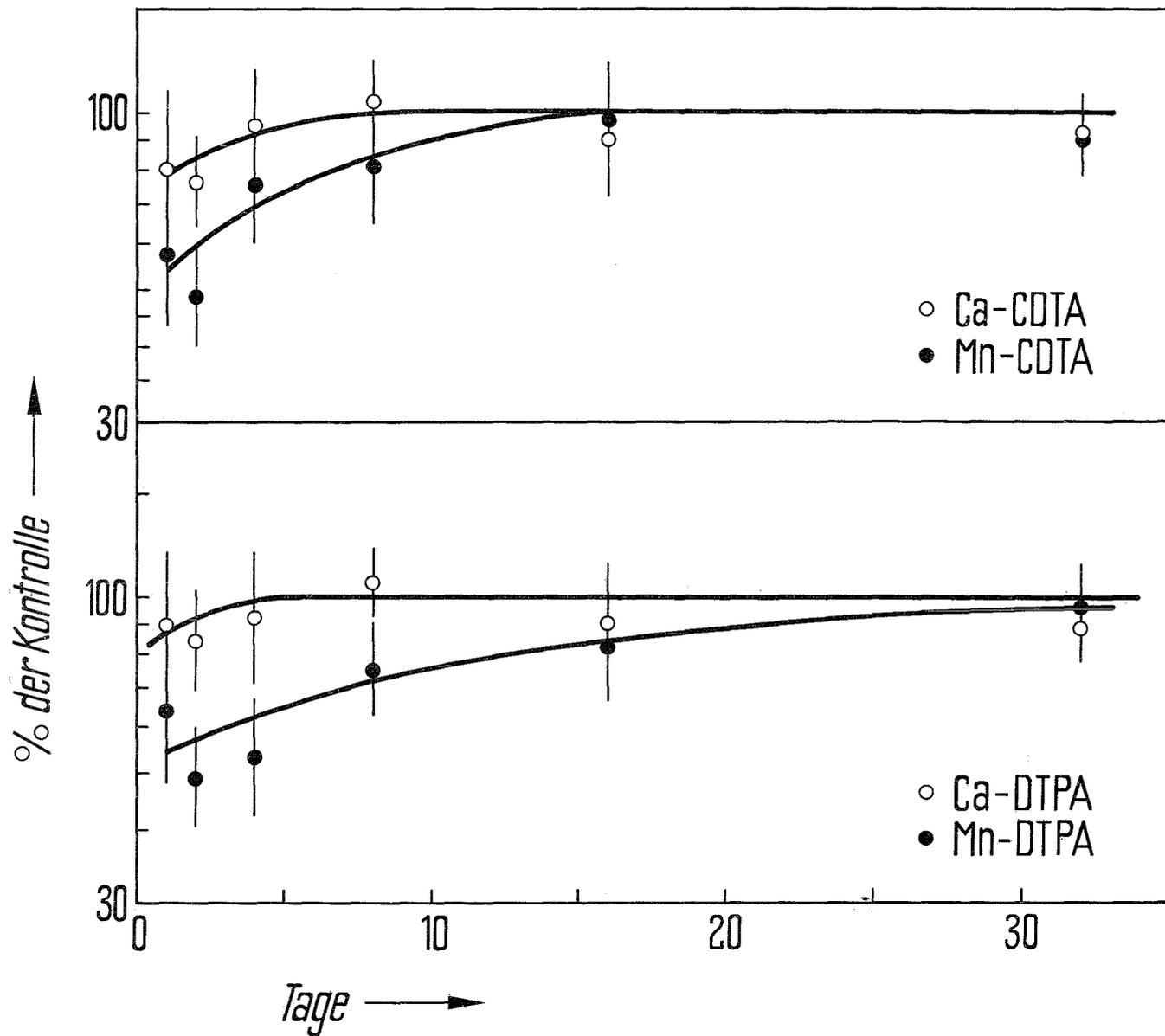


Abb. 9: ^{54}Mn -Gehalt der Leber nach Verabfolgung von
250 μmol Ca- bzw. Mn-Chelat zu verschiedenen
Zeitpunkten. Mutungsbereiche für $P = 0,05$

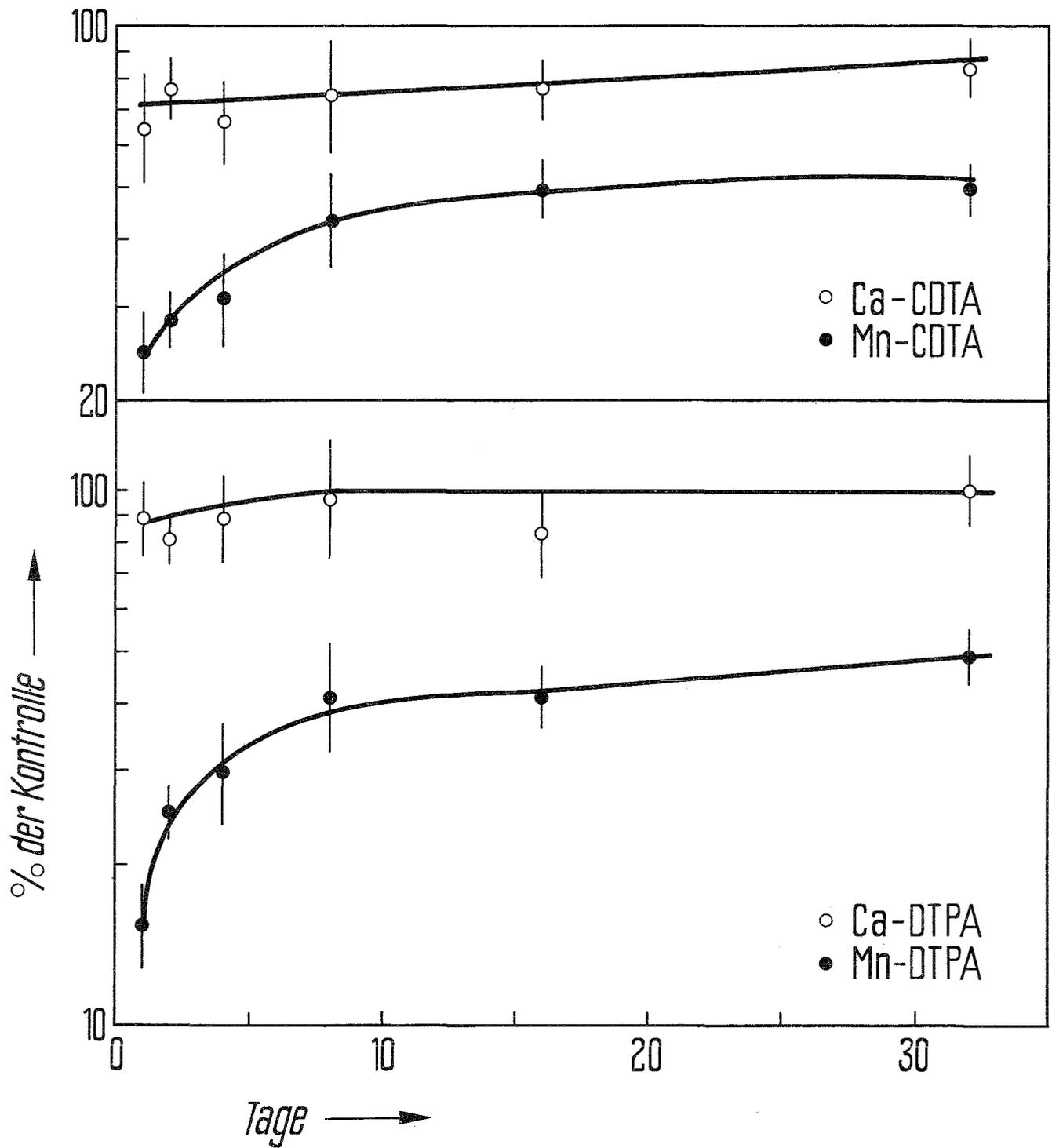


Abb. 10: ⁵⁴Mn-Gehalt der Muskulatur nach Verabfolgung von
250 µmol Ca- bzw. Mn-Chelat zu verschiedenen
Zeitpunkten. Mutungsbereiche für P = 0,05

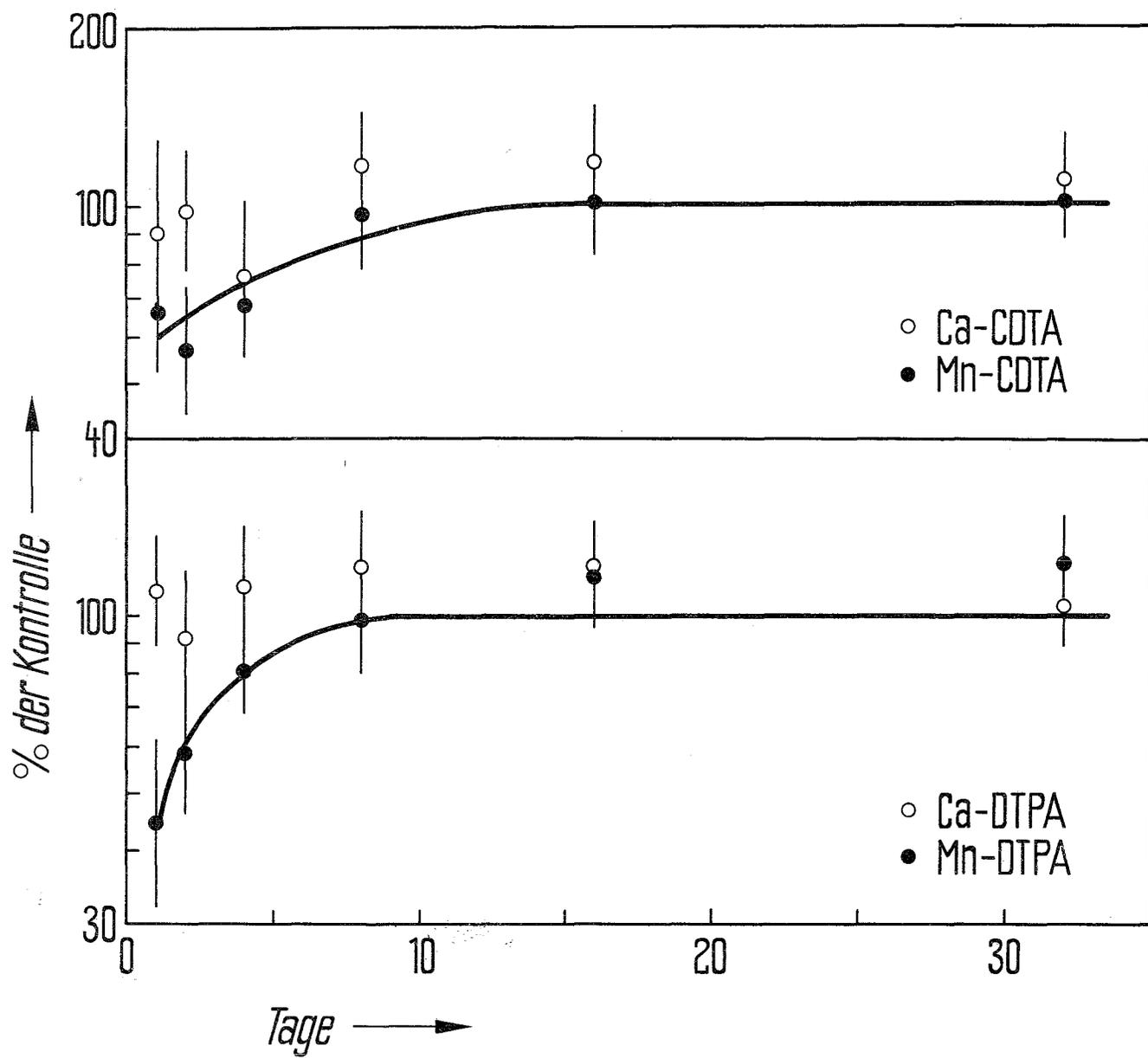


Abb. 11: ⁵⁴Mn-Gehalt der Nieren nach Verabfolgung von
250 µmol Ca- bzw. Mn-Chelat zu verschiedenen
Zeitpunkten. Mutungsbereiche für P = 0,05

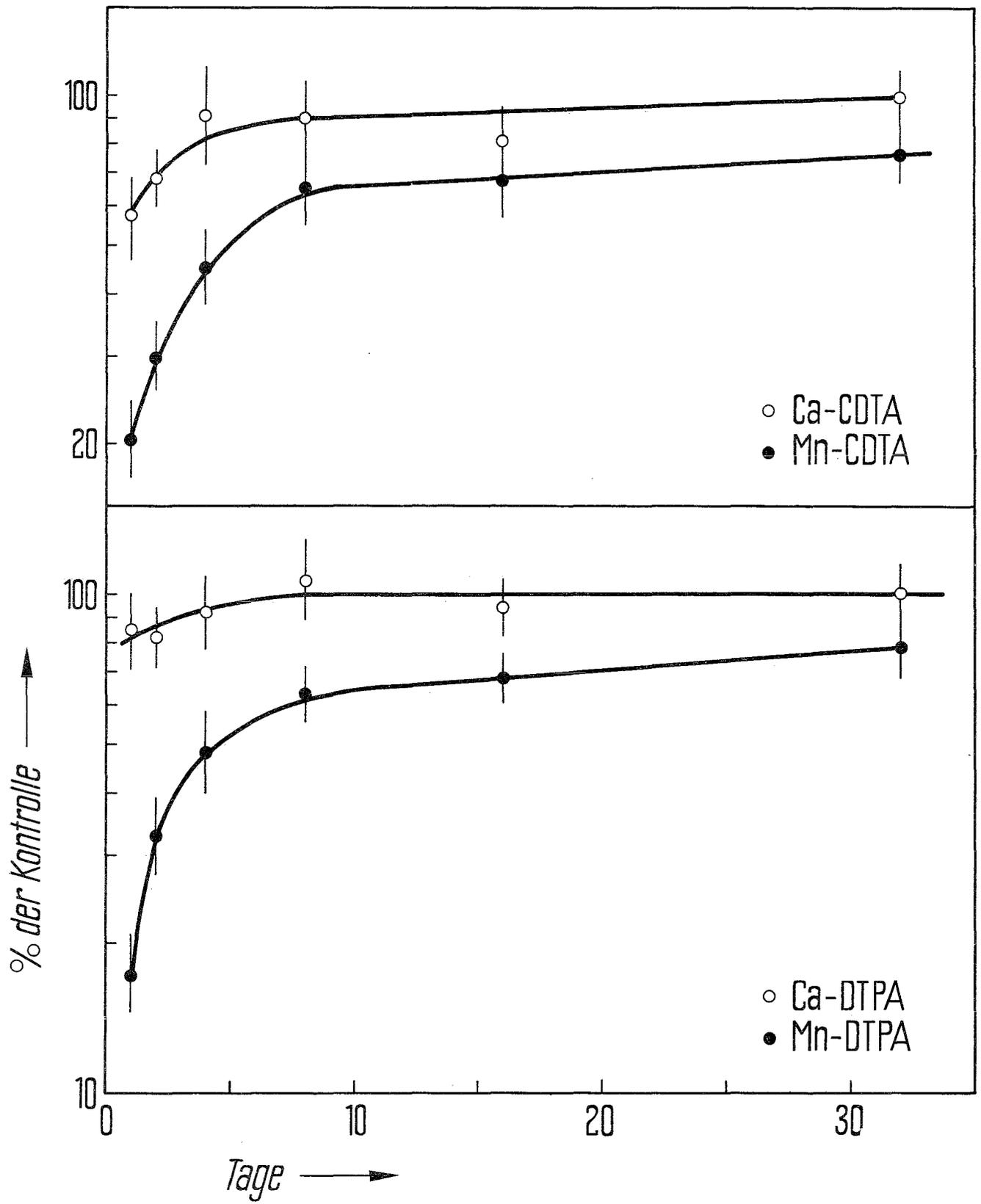


Abb. 12: ^{54}Mn -Gehalt des Pankreas nach Verabfolgung von
250 μmol Ca- bzw. Mn-Chelat zu verschiedenen
Zeitpunkten. Mutungsbereiche für $P = 0,05$

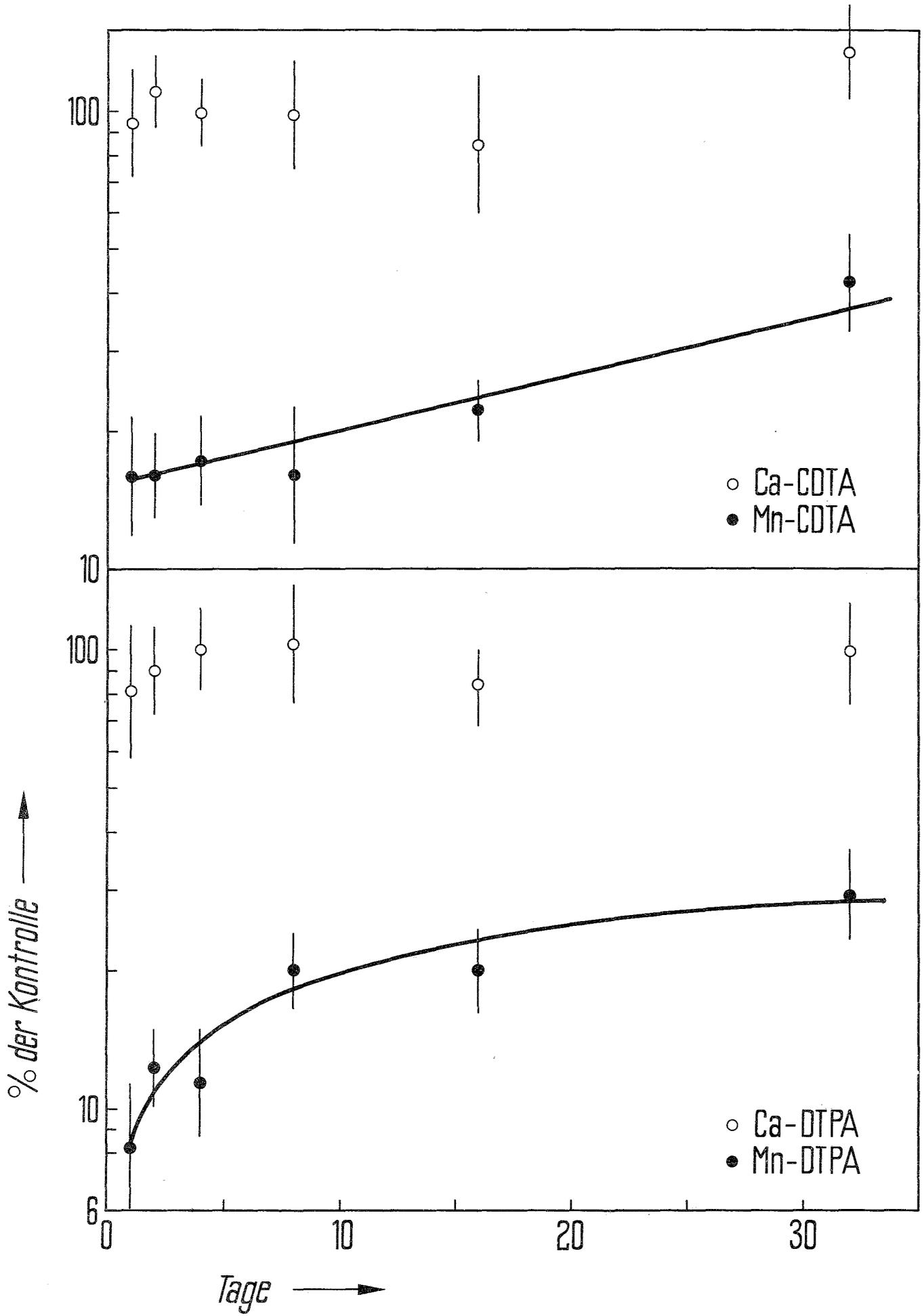


Abb. 13: ⁵⁴Mn-Ausscheidung mit dem 48 Std-Urin nach
Verabfolgung von 250 µmol Ca- bzw. Mn-Chelat
zu verschiedenen Zeitpunkten. Mutungsbereiche
für P = 0,05

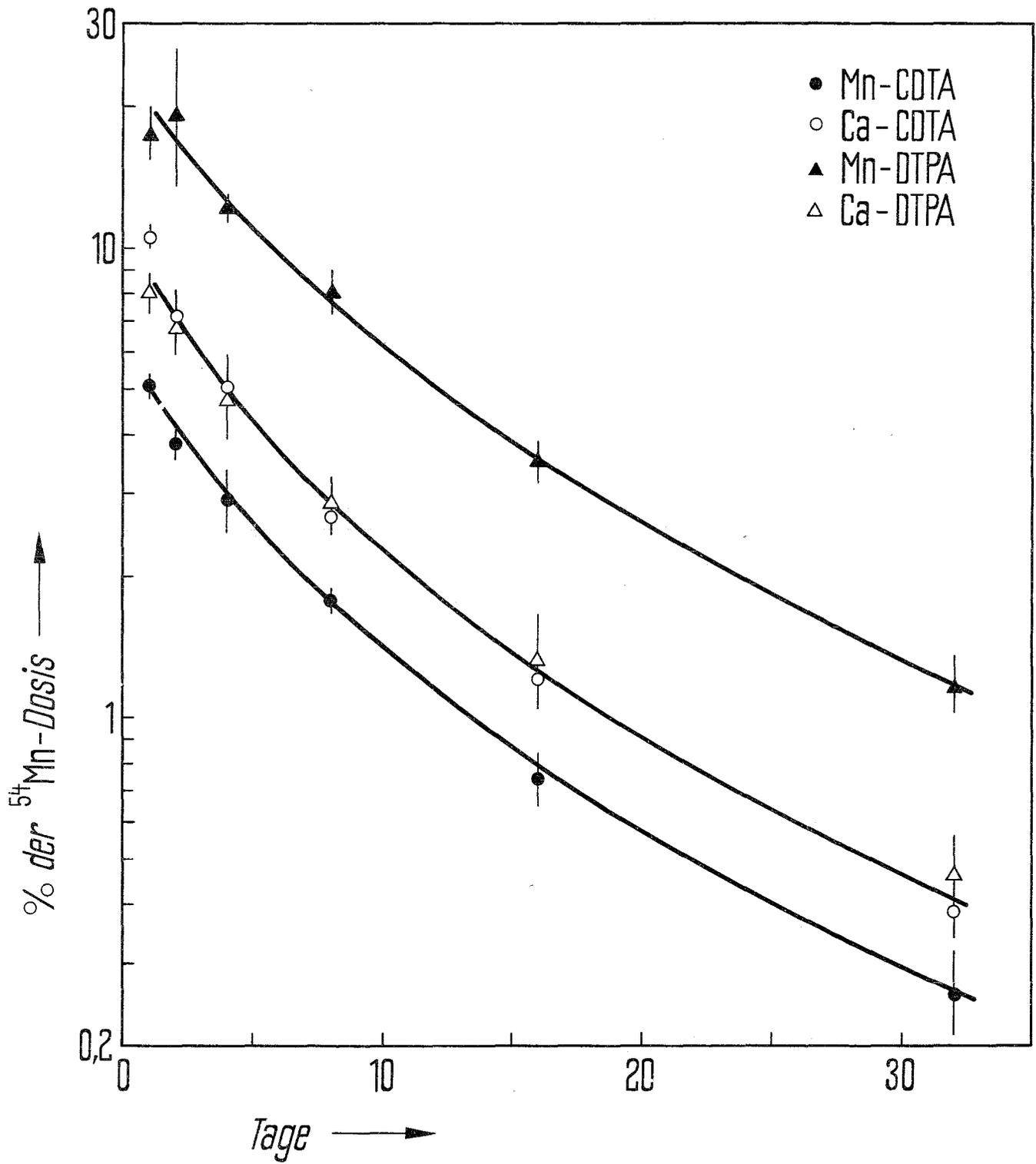


Abb. 14: ⁵⁴Mn-Ausscheidung mit den 48 Std.-Faeces nach
Verabfolgung von 250 μ mol Ca- bzw. Mn-Chelat
zu verschiedenen Zeitpunkten. Mutungsbereiche
für P = 0,05

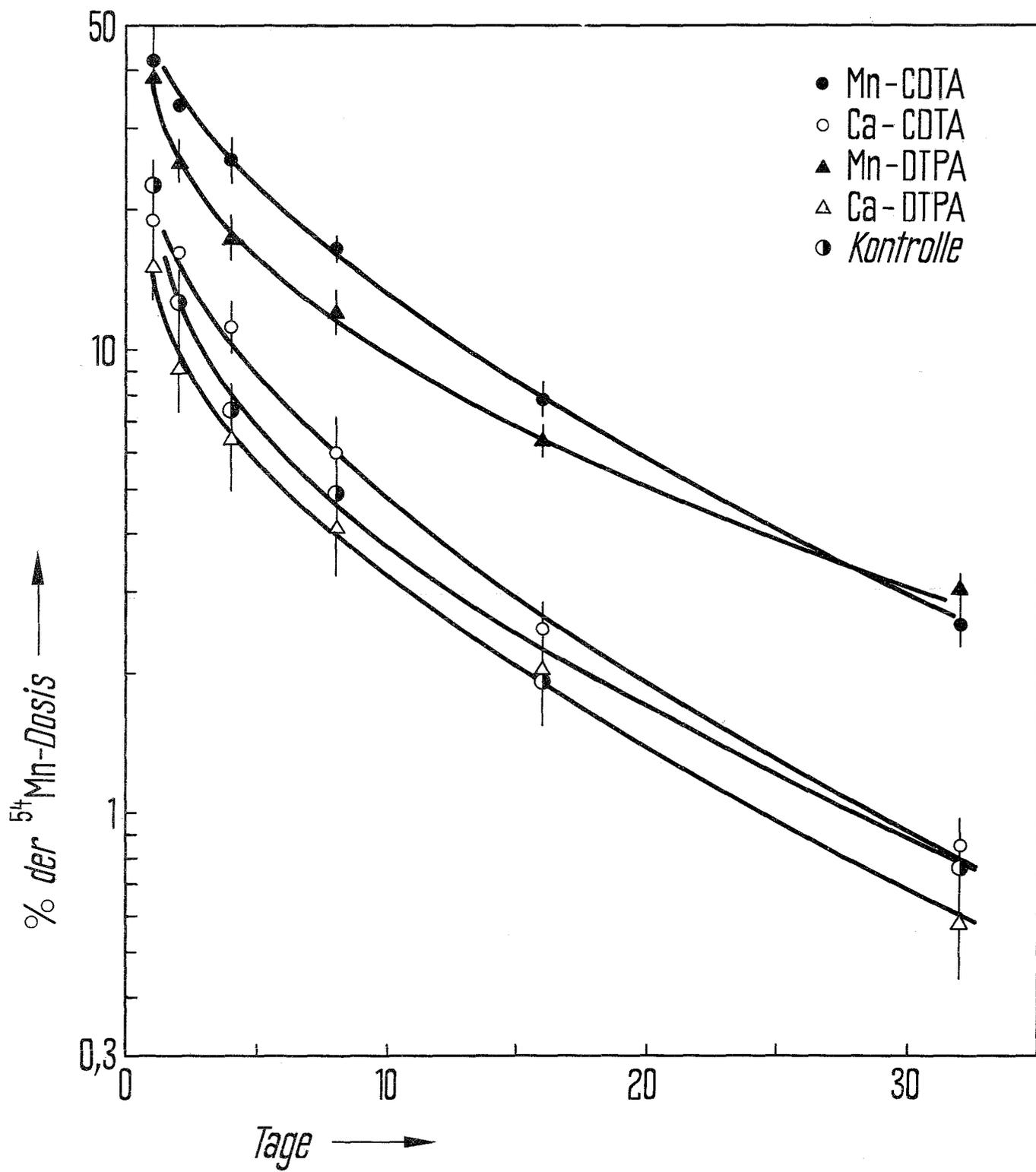


Abb. 15: ⁵⁴Mn-Ausscheidung (48 Std.) nach Verabfolgung
von verschiedenen Dosen der Ca- bzw. Mn-Chelate
am 16. Tag. Mutungsbereiche für P = 0,05

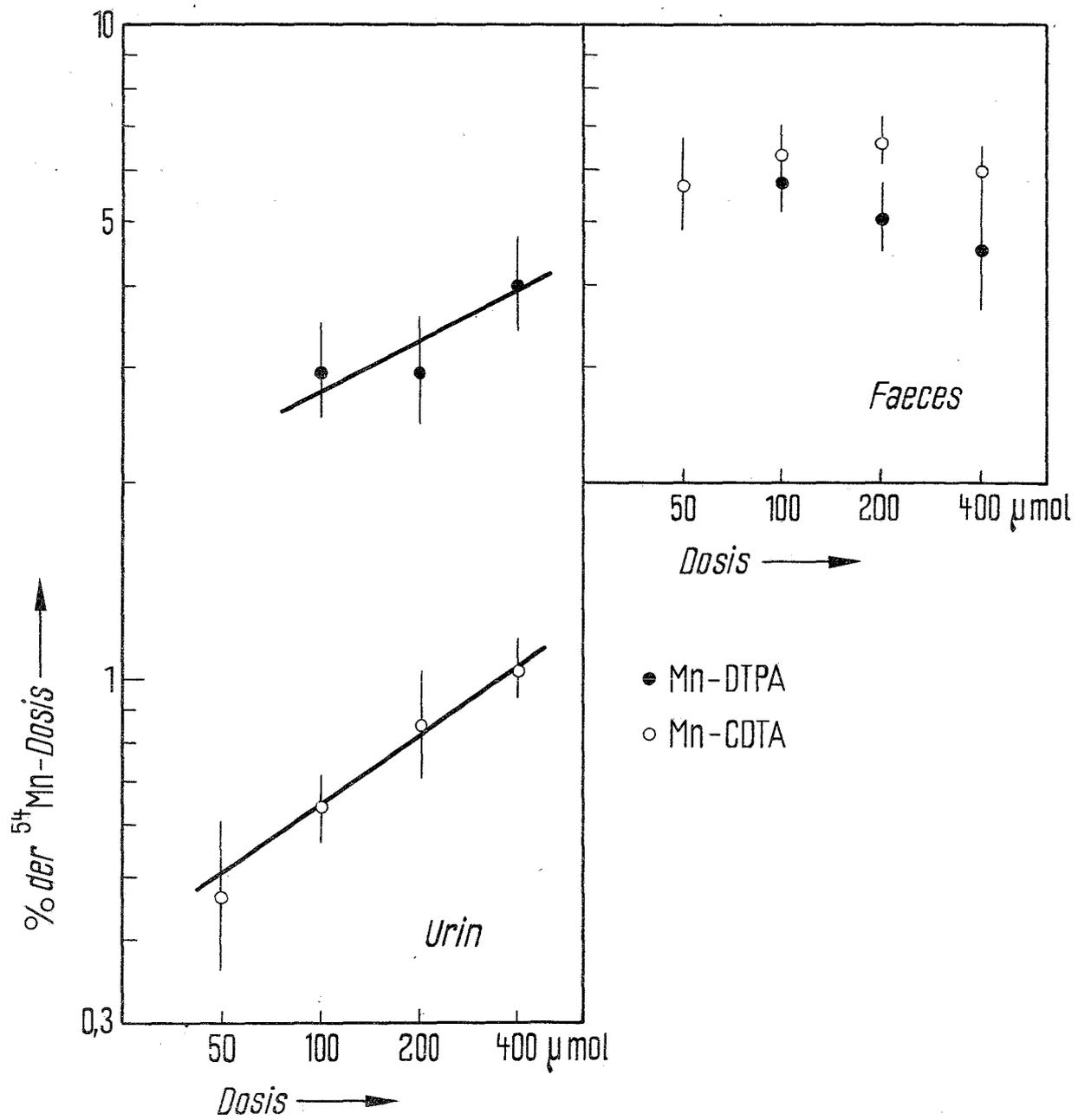


Abb. 16: Abhängigkeit der Chelateffektivität im Skelett
von der effektiven Stabilitätskonstante E

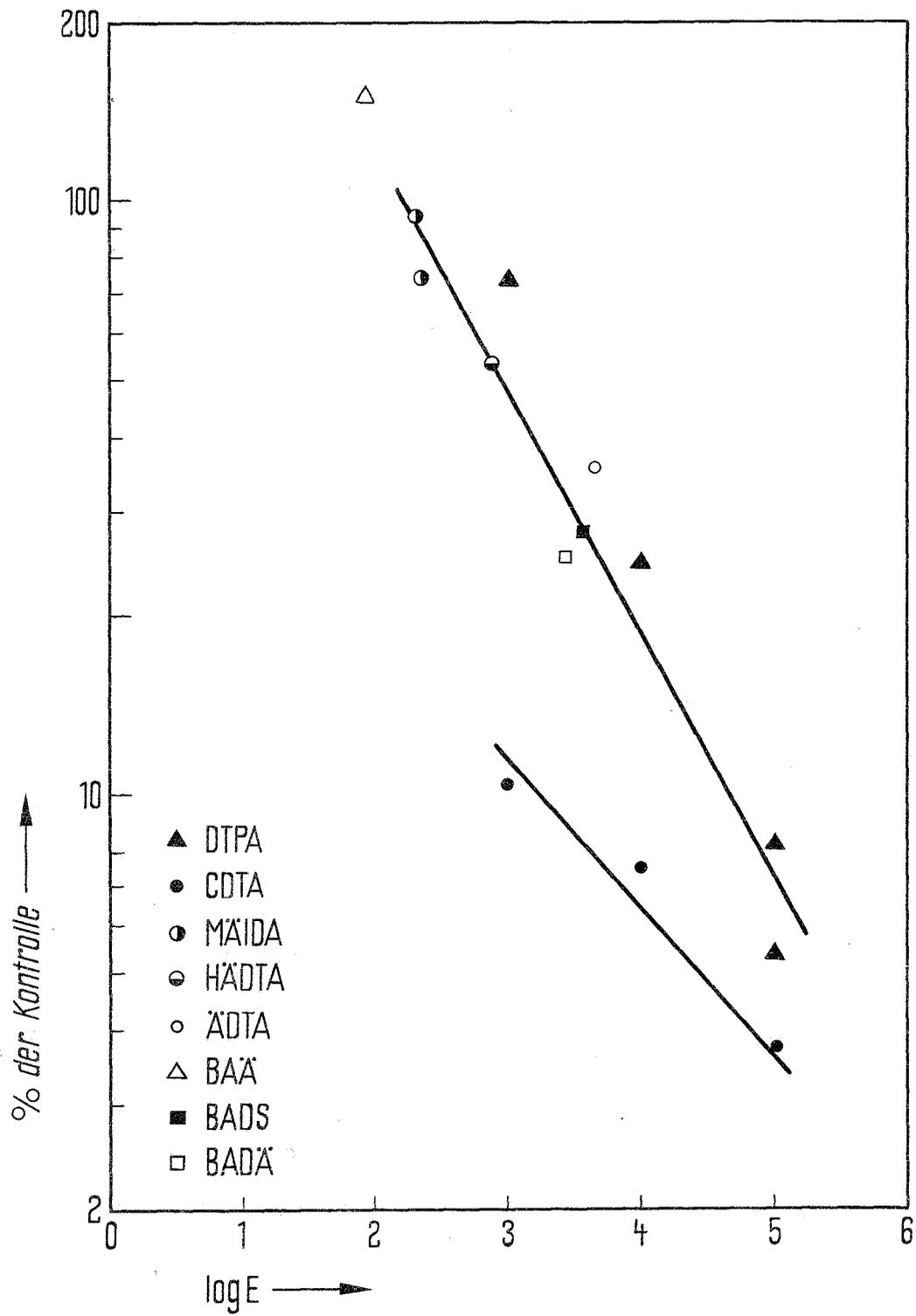


Abb. 17: Abhängigkeit der Chelateffektivität in der Leber
von der effektiven Stabilitätskonstante E

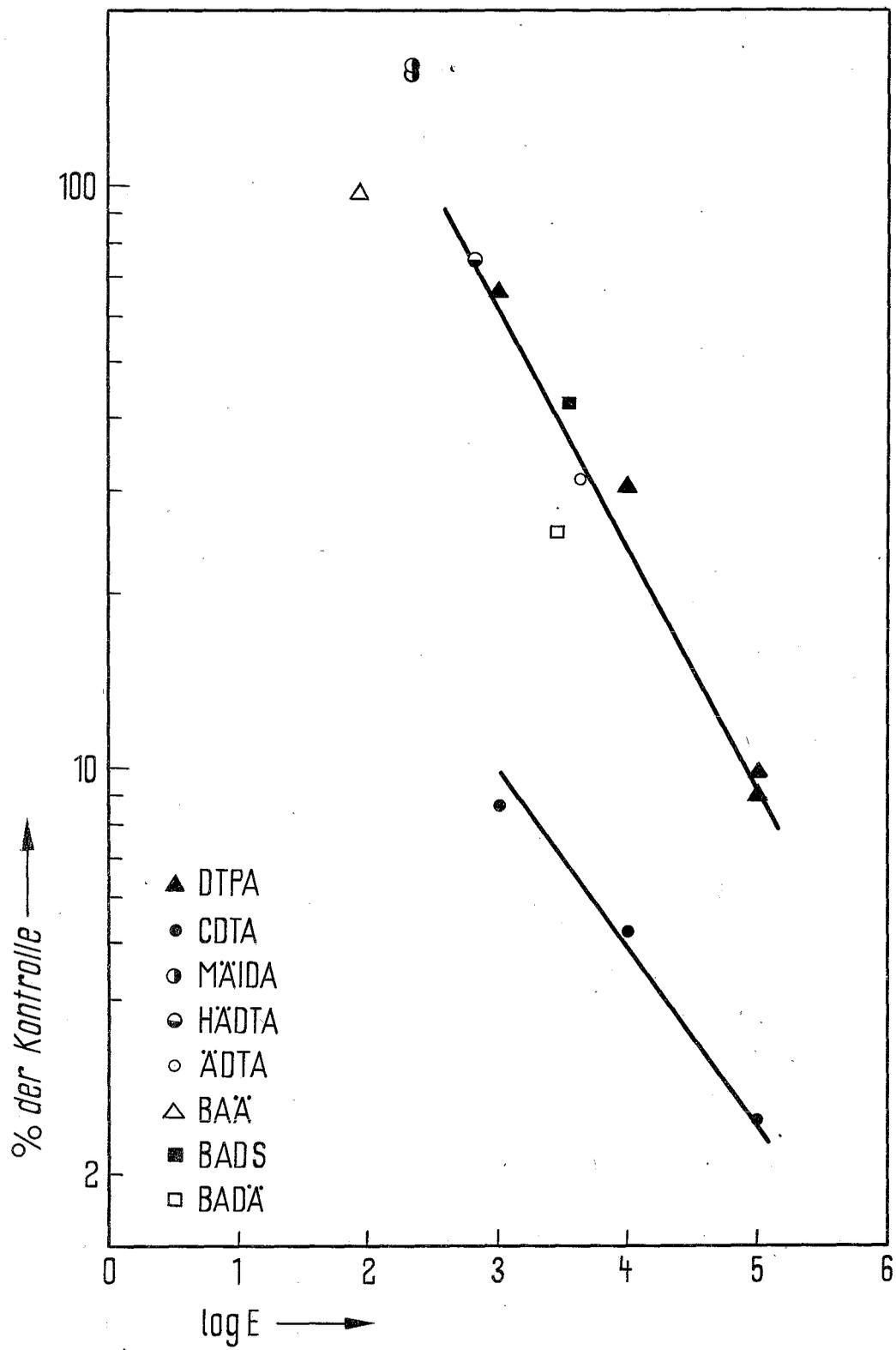


Abb. 18: Abhängigkeit der Chelateffektivität in der Muskulatur von der effektiven Stabilitätskonstante E

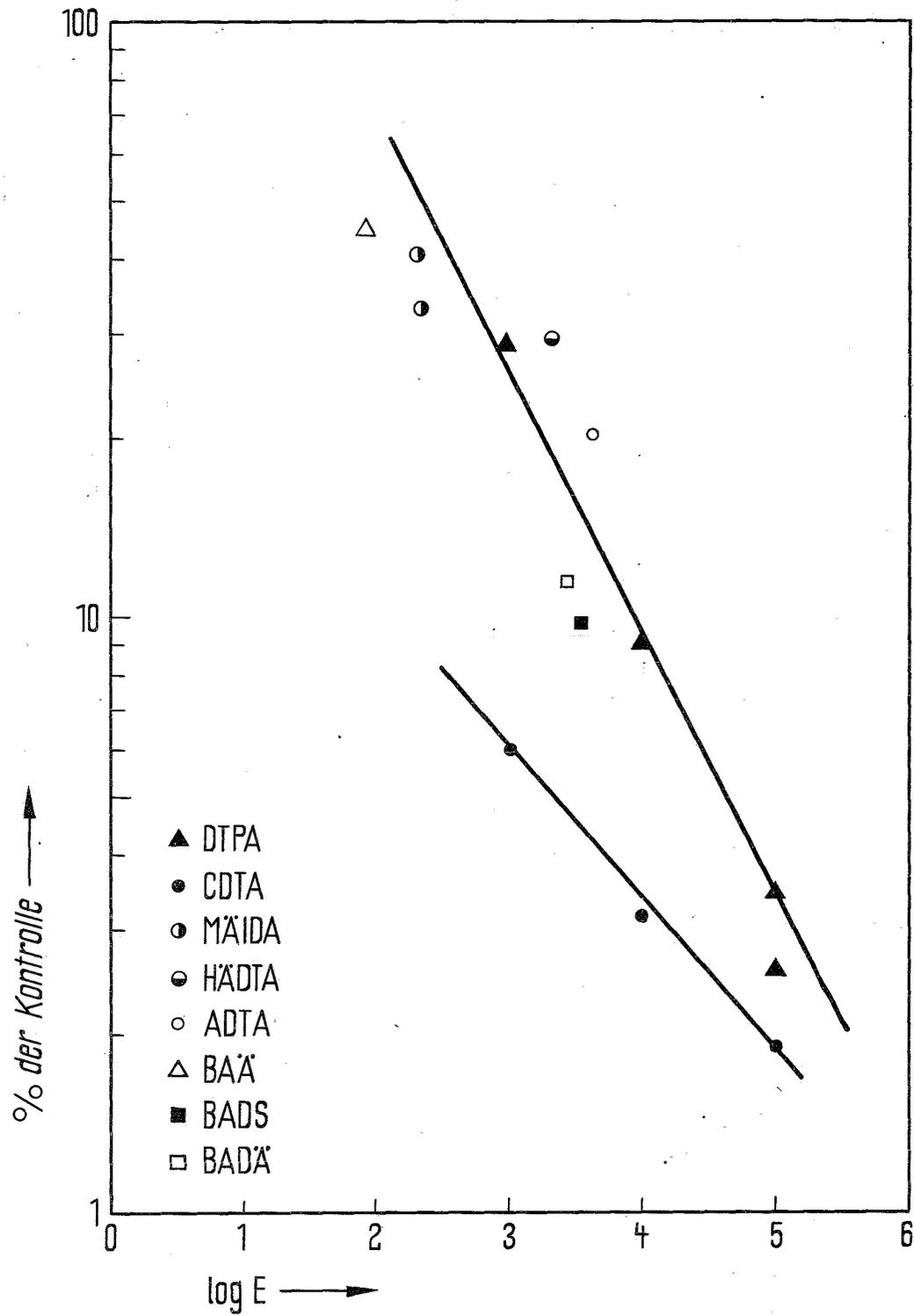


Abb. 19: Abhängigkeit der Chelateffektivität in den
Nieren von der effektiven Stabilitätskonstante E

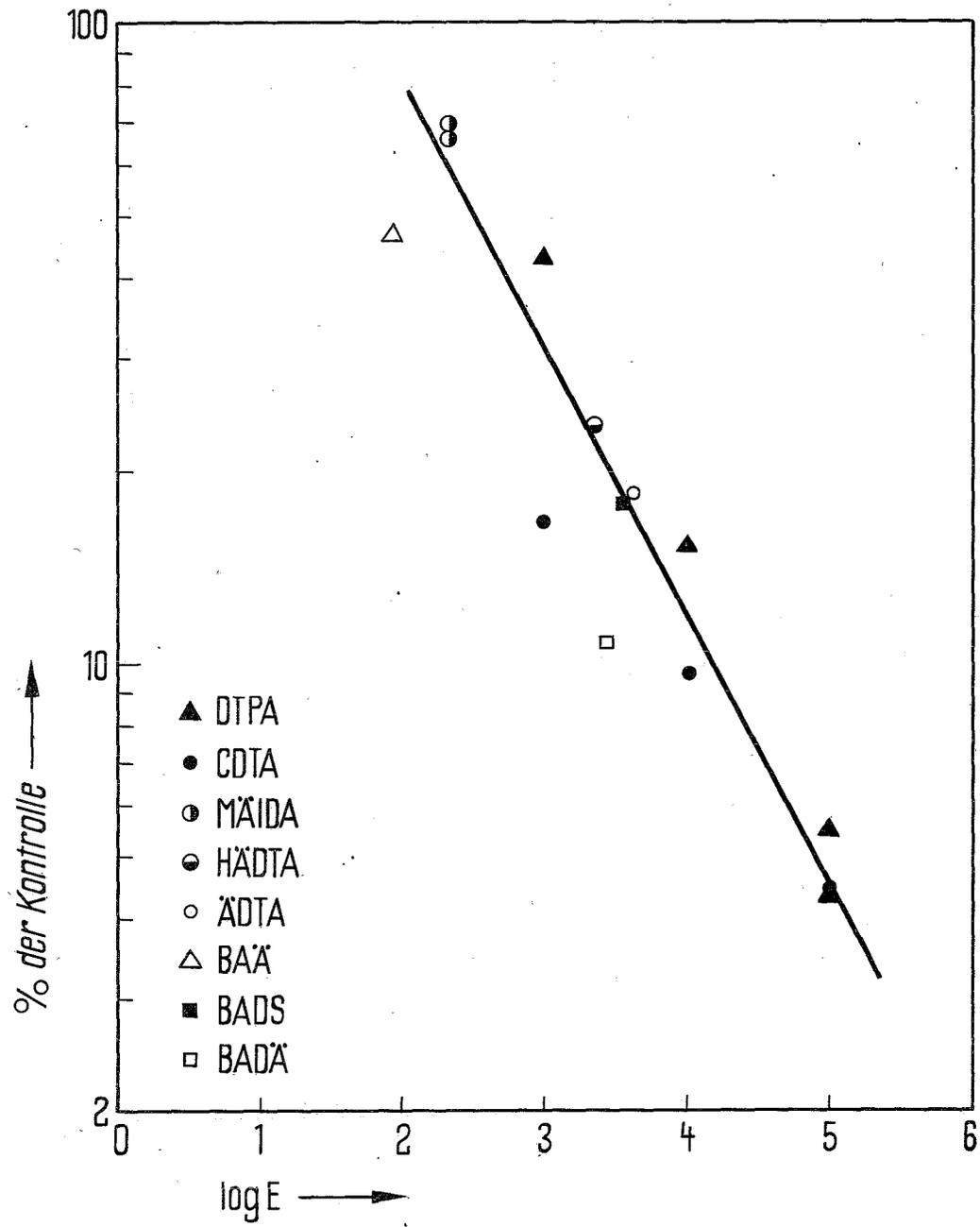


Abb. 20: Abhängigkeit der Chelateffektivität im Pankreas
von der effektiven Stabilitätskonstante E

