

**KERNFORSCHUNGSZENTRUM  
KARLSRUHE**

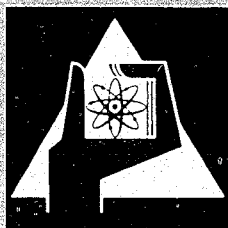
August 1968

KFK 821

Institut für Strahlenbiologie

Der Einfluß von Chelatbildnern auf die Verteilung und  
Ausscheidung von Radioeisen ( $^{59}\text{Fe}$ ) bei der Ratte

R. Günther



GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.  
KARLSRUHE



Kernforschungszentrum Karlsruhe

August 1968

KFK 821

Institut für Strahlenbiologie

Der Einfluß von Chelatbildnern auf die Verteilung und  
Ausscheidung von Radioeisen ( $^{59}\text{Fe}$ ) bei der Ratte

Rolf Günther

Gesellschaft für Kernforschung m. b. H., Karlsruhe



## Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Material und Methodik	4
Ergebnisse	7
Diskussion	17
Zusammenfassung	31
Literaturverzeichnis	33
Tabellen und Abbildungen	37

---



## Einleitung

Eisen ist das vielseitigste der biologisch aktiven Metallionen, lebensnotwendig und in allen Körperzellen enthalten. Als sog. Funktionseisen bildet es die prosthetische Gruppe des Hämoglobins, des Myoglobins und wichtiger Enzyme (Cytochrome, Peroxydasen, Katalasen, Flavoproteide u.a.m.). Im Blutplasma wird es von einem spezifischen Globulin, dem Transferrin, transportiert und als Ferritin und Hämosiderin vornehmlich in Leber, Milz und Knochenmark intrazellulär gespeichert (45); im gesunden Organismus überwiegt dabei das Ferritin, bei pathologischen Eisenablagerungen dagegen findet sich in fast allen Organen hauptsächlich Hämosiderin.

Die therapeutische Beseitigung pathologischer Eisenablagerungen stellt in der Medizin immer noch ein Problem dar, das nicht zufriedenstellend gelöst ist. Exzessive Eisendeponierung und Fibrose, Zirrhose und funktionelle Insuffizienz der betroffenen Organe treten meist gemeinsam auf, wobei die Ätiologie noch umstritten ist. Ob der Gewebeschaden oder die Eisenablagerung pathogenetisch primär sind, soll hier nicht diskutiert werden; immerhin beweisen die Behandlungserfolge (11,12,17,31), daß durch die Verminderung der Eisendepots das Fortschreiten der Erkrankung aufgehalten und der Krankheitszustand wesentlich gebessert werden. Eine Reihe von Erkrankungen sind durch abnorme Eisenablagerungen gekennzeichnet:

1. Idiopathische und sekundäre Hämochromatose,
2. Transfusionshämosiderose,  
Siderose der Bantuneger,  
Kaschin-Becksche Krankheit,
3. Sideroachrestische hypochrome Anämie,
4. Thalassämie und hämolytische Anämie.

Aderlässe, bei der idiopathischen Hämochromatose als therapeutische Maßnahme angewendet, erwiesen sich wegen der gleichzeitigen Stimulierung der Erythropoese und der daraus resultierenden erhöhten Fe-Resorption aus dem Gastrointestinaltrakt als unzureichend. Für die Minderung der Eisenablagerungen stellen Chelatbildner heute das Mittel der Wahl dar.

Schon 1942 wurde von Kety (25,26) der Vorschlag gemacht, die Ablagerung von Metallionen im Organismus mit Hilfe wasserlöslicher organischer Komplexbildner zu verhindern bzw. rückgängig zu machen. Da nun der Eisenmetabolismus einer ausgeprägten homeostatischen Kontrolle unterliegt und die endogenen Fe-Verbindungen eine hohe Stabilität aufweisen, ergeben sich für die Mobilisation von Eisen Schwierigkeiten; nur Chelatbildner mit hohen Stabilitätskonstanten können dafür in Frage kommen. Erschwerend kommt hinzu, daß die Effektivität der Chelatbildner bei der Mobilisation des Eisens durch die Konkurrenz anderer endogener Kationen, vor allem der Ca-Ionen eingeschränkt wird, so daß die Wirksamkeit der Chelatbildner nicht der Stabilitätskonstante  $K_{FeL}^{Fe}$ , sondern in erster Näherung dem Verhältnis  $K_{FeL}^{Fe}/K_{CaL}^{Ca}$  bzw. der noch andere Faktoren berücksichtigenden effektiven Stabilitätskonstante E proportional ist (Catsch (8)).

Die Idee eines "pharmakodynamischen Magneten" (44) für die Entfernung von Eisen wurde von Foreman (19) als erstem verwirklicht. Er zeigte, daß durch Verabreichung von Di-(2-hydroxyäthyl)aminoessigsäure die Ausscheidung von injiziertem  $^{59}Fe$  bei Ratten um einen Faktor 2 - 2,5 erhöht werden konnte. In rascher Folge wurden weitere Chelatbildner für die Mobilisierung von Gewebeeisen untersucht: Ohlsson et al. (34) benutzten, allerdings mit wenig überzeugendem Erfolg, 2,3-Dimercaptopropanol (BAL) im Falle der Transfusionshäm siderose; Seven et al. (41) konnten durch Hydroxyäthyläthylediamintriessigsäure bei zwei Patienten die Eisenausscheidung von 2,6 mg auf 16 mg innerhalb



24 Stunden steigern, während die mit Äthylendiamintetraessigsäure (ÄDTA) erzielten Ergebnisse weniger befriedigend waren (15,21,30,47). Der Wert dieser Substanzen trat in den Hintergrund, als die Diäthylentriaminpentaessigsäure (DTPA) in die Therapie eingeführt wurde ( 1,13, 14,16). Durch die i.v. oder i.m. Verabreichung von DTPA erhöht sich die Eisenausscheidung bei Hämochromatose-Kranken auf 109 mg in 24 Stunden, während beim Gesunden die normale Ausscheidung von 0,5 mg Fe/Tag kaum beeinflußt wird. Bei Patienten, die an Thalassämie erkrankt waren, konnte eine ähnlich gute Wirksamkeit festgestellt werden (43). Vergleichbare Resultate ergaben sich auch mit Äthylendiamin-di(o-hydroxyphenyllessigsäure) in tierexperimentellen und klinischen Untersuchungen ( 9,27); es wurde dabei auch eine beträchtliche Zunahme der Fe-Ausscheidung in den Faeces beobachtet.

Bei den bisher genannten Chelatbildnern handelt es sich mit Ausnahme des BAL um synthetische Polyaminopolycarboxylsäuren. Auf einen grundsätzlich anderen Chelatbildner, das Desferrioxamin B, machte Wöhler (46) aufmerksam. DFOA ist ein Stoffwechselprodukt von Aktinomyceten und besitzt mit seinen drei Hydroxamgruppen ein hohes und spezifisches Bildungsvermögen für dreiwertiges Eisen. Diese Substanz erzielte klinisch beachtliche Erfolge.

Der kasuistische Charakter des klinischen Materials läßt keinen quantitativen Vergleich der Effektivität von DTPA und DFOA zu. Bei Ratten mit einer experimentell induzierten Hämochromatose zeigte DFOA eine gesichert höhere Wirksamkeit als DTPA (Bohne et al. (3 )); die Effektivität von DTPA wurde jedoch - in Übereinstimmung mit den orientierenden Untersuchungen von Lê (29) - durch die 2-( $\beta$ -aminoäthoxy)cyclohexylamintetraessigsäure (ACATA) übertroffen. Bei gleichzeitiger Verabreichung mit  $^{59}\text{Fe}$  zeigte die trans-Cyclohexan-1,2-diamintetraessigsäure (CDTA) eine exzeptionell hohe Wirksamkeit (29).

Die vorliegende Untersuchung verfolgt das Ziel,

- 1) mit Hilfe von  $^{59}\text{Fe}$  den Fe-Metabolismus im Organismus der Ratte in Abhängigkeit von der Fe-Dosis zu untersuchen und
- 2) den Einfluß einer größeren Anzahl von Chelatbildnern auf die Retention von  $^{59}\text{Fe}$  in Abhängigkeit von verschiedenen Parametern, insbesondere vom Zeitpunkt der Chelatapplikation, zu bestimmen.

### Material und Methodik

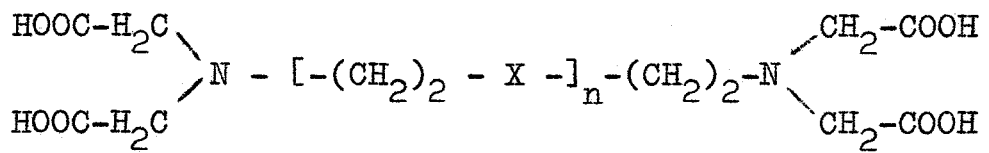
Als Versuchstiere dienten (größtenteils männliche) Albinoratten des Heiligenberg-Inzuchtstammes. Die Rattenweibchen (10 - 15 Wochen alt) und die Rattenmännchen (6 - 10 Wochen alt) wogen  $190 \pm 33$  g (Standardabweichung), wurden mit Altrominpreßfutter und Wasser ernährt. Zur Bestimmung der Ausscheidung befanden sich die Tiere in Stoffwechselkäfigen (Nigrović und Mohr (32)), die eine weitgehende Trennung von Faeces und Urin ermöglichen. Je nach Versuchsanordnung wurden die Tiere zu verschiedenen Zeitpunkten in Äthernarkose durch Ausbluten getötet, nachdem zuvor 2 ml Blut aus der Vena cava inferior entnommen worden waren. Femur, Leber, Milz, Nieren und ein Teil des Musculus quadriceps wurden herauspräpariert und ihr  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt bestimmt. Um den  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt im ganzen Skelett zu berechnen, wurde die in den beiden Femura gefundene Aktivität mit 10 multipliziert. Die Masse der Gesamtmuskulatur wurde mit 45 %, des Gesamtbluts mit 7,3 % des Körpergewichtes angenommen.

Für die Toxizitätsversuche dienten Mäusemännchen (mittl. Gewicht 33 g) des NMRI/Han-Inzuchtstammes. Die akute LD 50 % wurde mit Hilfe der Probitanalyse berechnet (18).

Das von uns benutzte Radionuklid  $^{59}\text{Fe}$  zerfällt mit einer Halbwertszeit von 45,1 Tagen und geht unter Aussendung einer  $\beta$ -Energie von 0,27, 0,46 und 1,56 MeV und einer  $\gamma$ -Energie von 1,29, 1,1 und 0,19 MeV in das stabile  $^{59}\text{Co}$

über. Infolge der hohen Durchdringungsfähigkeit der  $\gamma$ -Strahlen konnten die Meßproben ohne weitere Aufarbeitung in einem Szintillationsbohrlochkristall und mit Hilfe eines  $\gamma$ -Spektrometers (Baird Atomic, Cambridge) gemessen werden. Die spezifische Aktivität der  $^{59}\text{FeCl}_3$ -Stammlösungen betrug  $5,8 - 13 \text{ Ci} \cdot \text{g}^{-1}$ . Nach entsprechender Verdünnung der Stammlösung wurde in  $0,5 \text{ ml}$  eine Aktivitätsmenge von  $3 \text{ } \mu\text{Ci}$  in die freipräparierte Schwanzvene der mit Äther narkotisierten Ratte injiziert; nur bei einigen Versuchen erfolgte die Injektion zusammen mit Chelatbildnern intraperitoneal. Der pH-Wert der  $^{59}\text{FeCl}_3$ -Lösung wurde - auch bei isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  - auf  $\sim 2$  eingestellt.

In den Versuchen mit isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  betrug die Dosis des  $\text{FeCl}_3$ -Trägers im allgemeinen  $15 \text{ } \mu\text{M}/\text{Tier}$ . Das Injektionsvolumen war auch hier auf  $0,5 \text{ ml}$  festgesetzt. Die Chelatbildner (je  $100 \text{ } \mu\text{M}/\text{Tier}$  in  $2 \text{ ml i.p.}$  injiziert) wurden überwiegend als NaCa-Chelate verabreicht, DFOA als Methansulfonat, ÄDHPA als Na-Salz, PA als freie Säure. Die untersuchten Chelatbildner sind nachstehend aufgeführt:



ÄDTA: Äthylendiamintetraessigsäure

$$n = 0$$

BADÄ: 2,2'-Bis[di(carboxymethyl)amino]diäthyläther

$$n = 1 \quad \text{X} = \text{O}$$

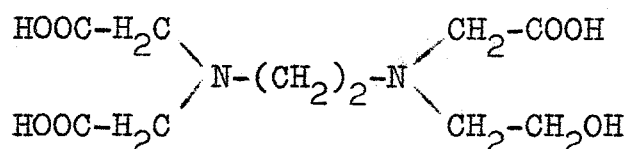
DTPA: Diäthylentriaminpentaessigsäure

$$n = 1 \quad \text{X} = \text{N-CH}_2\text{-COOH}$$

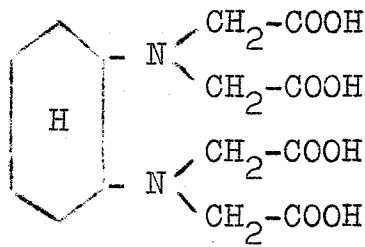
TTHA: Triäthylentetraminhexaessigsäure

$$n = 2 \quad \text{X} = \text{N-CH}_2\text{-COOH}$$

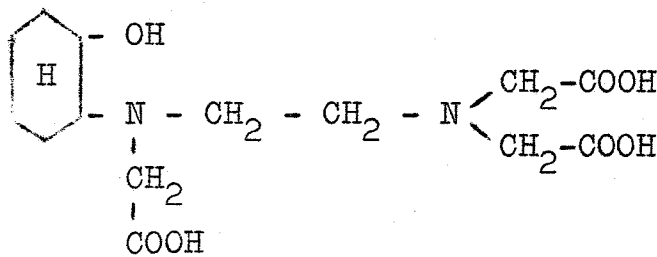
HÄDTA: Hydroxyäthyläthylendiamintriessigsäure



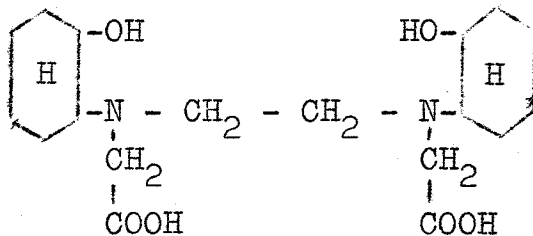
CDTA: trans-Cyclohexan-1,2-diamintetraessigsäure



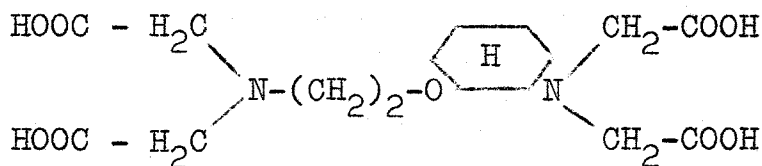
HCÄTA: (2-Hydroxycyclohexyl)äthylendiamin-N,N,N'-triessigsäure



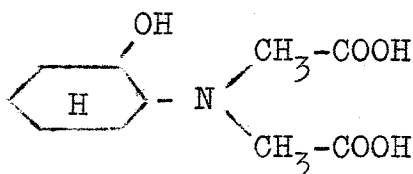
BHCÄDA: Bis(2-hydroxycyclohexyl)äthylendiamin-N,N'-diessigsäure



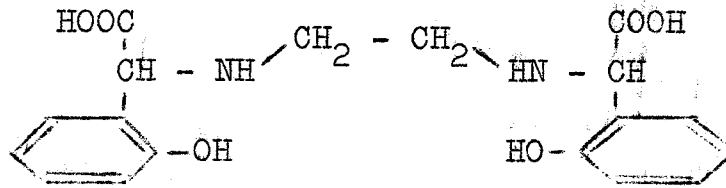
ACATA: 2-(β-Aminoäthoxy)cyclohexylamintetraessigsäure



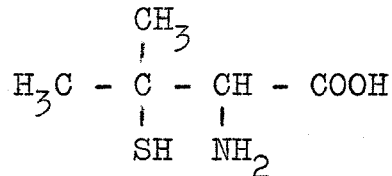
OCIDA: 2-Oxycyclohexyliminodiessigsäure



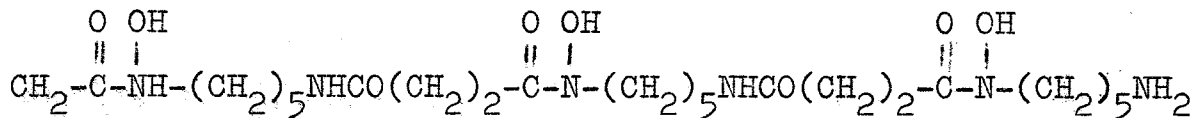
ÄDHPA: Äthylendiamin-di(o-hydroxyphenyllessigsäure)



PA: D-Penicillamin



DFOA: Desferrioxamin B



Bei der Auswertung der Versuche wurden die Aktivitäten in % der  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis bzw. in % der Kontrolle (sog. Effektivitätsquotient) angegeben. Alle statistischen Berechnungen wurden mit logarithmisch transformierten Einzelwerten durchgeführt. Mit Hilfe der logarithmischen Transformation werden heterogene Streuungen normalisiert und außerdem die Berechnungen des Standardfehlers des Effektivitätsquotienten ermöglicht, indem der Standardfehler des Effektivitätsquotienten gleich dem Fehler der Differenz der logarithmischen Mittelwerte ist.

### Ergebnisse

Die Versuche lassen sich in zwei Teile ordnen: Im ersten Teil untersuchten wir das Verteilungsmuster und die Ausscheidung von trägerfreiem und isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  ohne Einfluß von Chelatbildnern. Die Wirkung der verabreichten Chelate auf die Verteilung und Ausscheidung des trägerfreien bzw. isotopisch verdünnten  $^{59}\text{Fe}$  prüften wir in einem zweiten Teil.

Jede unserer Versuchsserien besaß eine eigene Kontrollgruppe. Diejenigen Kontrollen, die nur trägerfreies  $^{59}\text{Fe}$  ( $\sim 3 \mu\text{Ci}$ ) i.v. erhielten, sind in Tab. 1 zusammengefaßt; sie geben das Verteilungsmuster von trägerfreiem Radioeisen in Abhängigkeit von der Zeit wieder. Die Abb. 1 und 2 veranschaulichen die gefundenen Ergebnisse. Die geradlinig verlaufenden Kurvenabschnitte wurden mit Hilfe der Regressionsanalyse (36) berechnet.

Im Blut findet sich das meiste Radioeisen. Vom 1. bis zum 4. Tag ansteigend bleibt der  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt dann bis zum 18. Tag mit rund 80 % der verabreichten Dosis nahezu konstant. Die beträchtliche Aktivitätszunahme im Blut rührt im wesentlichen von der gleichzeitigen erheblichen Abgabe des  $^{59}\text{Fe}$  aus dem Skelett her; eine nur unbedeutende Menge dürfte aus der Milz stammen. Alle Organe - Skelett und Milz ausgenommen - verhalten sich ungefähr gleich: innerhalb der ersten 4 Tage erhöht sich ihr Gehalt an Radioeisen und sinkt dann mehr oder weniger langsam ab. Nur ein sehr kleiner Teil des Eisens wird mit dem Urin ausgeschieden: 0,5 % der Dosis nach vier Tagen; die Ausscheidung mit den Faeces in derselben Zeit ist dagegen etwa 20 mal höher (Tab. 2).

Die Ergebnisse mit isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  bei sonst gleichen Versuchsbedingungen geben Tab. 3 sowie die Abb. 3 und 4 wieder. Die Dosis des Trägers betrug  $15 \mu\text{M Fe}$  pro Tier, und zwar in der Form von  $\text{FeCl}_3$ . Der "isotopische Verdünnungseffekt" in Leber und Blut ist augenfällig: Die Leber weist mit etwa 50 % der Dosis am 1. Tag den zehnfachen Gehalt des Blutes auf. Damit haben sich die Verhältnisse - verglichen mit dem ersten Versuch (Tab. 1) umgekehrt. Innerhalb der folgenden Tage steigt jedoch der Radioeisengehalt im Blut stark an und ist am 16. Tag (43 %) höher als der inzwischen um 20 % gefallene  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Leber. Das Eisen wird offensichtlich zunächst in der Leber abgelagert, nach und nach wieder mobilisiert und ins

Knochenmark befördert, um hier ins Hämoglobin eingebaut zu werden. Diese Verwertung des Eisens scheint sehr rasch vonstatten zu gehen, da andernfalls der Transfer von 30 % des injizierten  $^{59}\text{Fe}$  aus der Leber sich in einer erheblichen Zunahme der Aktivität des Skeletts bemerkbar machen müßte. Stattdessen nimmt der  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt im Skelett ab; eine ähnliche Abnahme ist auch in der Milz zu verzeichnen. Im Vergleich zum vorangegangenen Versuch weist die Muskulatur etwas weniger Aktivität auf, verhält sich aber sonst nicht wesentlich anders. Die anfängliche Abnahme der Aktivität in den Nieren fällt prozentual nicht ins Gewicht.

Tab. 4 zeigt, daß die Gesamtausscheidung von isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  niedriger als beim trägerfreien Radionuklid ist; das Verhältnis Faeces/Urin ist dagegen unverändert.

Die Änderung des Verteilungsmusters unter dem Einfluß unterschiedlich hoher Trägerdosen war Gegenstand des folgenden Versuches:  $\text{FeCl}_3$  wurde in vier verschiedenen Dosen ( $10^{-2}$ ,  $10^{-1}$ , 1,  $10 \mu\text{M}$ ) zusammen mit  $^{59}\text{Fe}$  i.v. verabreicht und die Verteilung 18 Tage danach bestimmt (Abb. 5 und 6). Die kleinste Trägerdosis läßt im Vergleich zu dem entsprechenden Versuch mit trägerfreiem Fe (Tab. 1, 18. Tag) nur in Leber und Milz einen isotopischen Effekt erkennen. Vergrößert man jedoch weiter die Trägerdosis, dann verändert sich das Verteilungsmuster, vor allem in Blut und Leber, beträchtlich. Die beiden Organe verhalten sich mit zunehmender Trägerdosis gerade entgegengesetzt: Im Blut erniedrigt sich der Gehalt an Radioeisen um die Hälfte, steigt dagegen in der Leber auf das Doppelte an. In den anderen Organen fällt der isotopische Verdünnungseffekt schwächer aus: In der Muskulatur bleibt der Gehalt konstant und sinkt erst bei der höchsten Trägerdosis ab. Die Aktivität in Skelett, Milz und Niere wird nicht in nennenswertem Maße erhöht.

Der Einfluß der Chelatbildner auf das Verhalten von Radioeisen wird im nächsten Teil untersucht. Die erste, mit den Chelatbildnern durchgeführte Versuchsreihe verfolgte die Aufgabe, sich einen Eindruck über die Wirksamkeit verschiedener Chelatbildner unter optimalen Bedingungen zu verschaffen; optimal, indem die Chelatbildner in einer Dosis von 100  $\mu$ M gleichzeitig mit trägerfreiem  $^{59}\text{Fe}$  intravenös injiziert wurden. Die Tiere wurden während zwei Tagen in Stoffwechsellkäfigen gehalten, Urin und Faeces getrennt und die Tiere anschließend seziiert. Tab. 5 orientiert über die  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung mit Urin und Faeces. Betrachtet man zunächst die Gesamtausscheidung, so läßt sich nach Maßgabe der Effektivität eine Gruppierung der Chelatbildner in vier verschiedene Gruppen durchführen:

- 1) Eine sehr hohe Effektivität mit einer Ausscheidung von rund 90 % weisen CDTA und ACATA auf.
- 2) Eine schwächere Wirksamkeit mit einer Ausscheidung in der Größenordnung von 40 - 60 % zeigen DTPA, DFOA, ÄDHPA, ÄDTA, BADÄ und BHCÄDA.
- 3) Schwach wirksam mit einer Ausscheidung von etwa 20 - 35 % sind HCÄTA, TTHA und HÄDTA, während
- 4) OCIDA und PA praktisch unwirksam sind.

Im Falle der wirksamen Chelatbildner betrifft die Intensivierung der Ausscheidung im wesentlichen den Urin. Ausnehmend verhalten sich jedoch ACATA, HCÄTA, BHCÄDA und insbesondere ÄDHPA, die nicht nur die Ausscheidung mit dem Urin, sondern auch in den Faeces intensivieren. Bei den erwähnten Chelatbildnern ist hervorzuheben, daß es sich ausnahmslos um Verbindungen mit einer zyklischen bzw. aromatischen Struktur handelt. Eine Ausnahme ist CDTA, die - obwohl es sich um einen Zylohexanderivat handelt - nur die  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung mit dem Urin intensiviert.



Tab. 6 orientiert über die  $^{59}\text{Fe}$ -Retention durch die verschiedenen Organe in der gleichen Versuchsreihe. Diese Ergebnisse stehen in guter Übereinstimmung mit den Daten bezüglich der  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung (Tab. 5), indem die Rangordnung der Chelatbildner auch bezüglich der Beeinflussung der  $^{59}\text{Fe}$ -Retention gewahrt bleibt. Hervorzuheben ist bei einer näheren Betrachtung der in der Tab. 6 angeführten Daten, daß die Wirksamkeit aller Chelatbildner sich in den verschiedenen Organen bzw. Geweben unterschiedlich stark manifestiert: Die Beeinflussung der  $^{59}\text{Fe}$ -Retention in den Nieren ist erheblich schwächer als in den anderen Organen ausgeprägt und weiterhin bleiben die Chelatbildner in der Muskulatur praktisch wirkungslos. Die einzigen Ausnahmen hiervon sind CDTA, ACATA und BHCÄDA, die im Gegensatz zu allen anderen Chelatbildnern die  $^{59}\text{Fe}$ -Ablagerung auch in der Muskulatur gesichert senken. TTHA verhält sich in folgender Beziehung exzeptionell: Während dieser Chelatbildner unter Berücksichtigung der  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung mit Urin und Faeces sowie der Retention in allen anderen Organen zu den relativ unwirksamen Chelatbildnern zu rechnen ist, übt er einen eindeutigen und relativ starken Effekt auf den  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt im Blut aus.

In der nächsten Versuchsreihe prüfen wir die Wirksamkeit einiger ausgewählter Chelatbildner, die sich in der vorangehenden Versuchsreihe besonders wirksam oder exzeptionell verhielten, bei nachträglicher Verabfolgung: Es wurde trägerfreies  $^{59}\text{Fe}$  intravenös und 100  $\mu\text{M}$  Chelatbildner intraperitoneal injiziert, und zwar 2 bzw. 16 Tage nach Injektion von  $^{59}\text{Fe}$ . Nach Verabfolgung der Chelatbildner wurden die Tiere wiederum für die Dauer von 2 Tagen in Stoffwechselkäfigen gehalten und 2 Tage später, d.h. am 4. bzw. 18. Tag, seziiert.

Betrachten wir zunächst die Ergebnisse des Versuchs, in dem die Chelatbildner nach 2 Tagen appliziert wurden. Tab. 7 orientiert zunächst wiederum über die  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung. Allgemein ist festzustellen, daß die Chelat-

bildner ausnahmslos einen nur sehr schwachen bzw. überhaupt keinen gesicherten Einfluß auf die Ausscheidung ausüben. Die Ausscheidung mit dem Urin wird um einen Faktor von 1,2 - 4,8 intensiviert; die höchste Wirksamkeit weisen ÄDHPA und ACATA auf. Was die faecale  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung betrifft, so sind alle Chelatbildner mit Ausnahme der ÄDHPA unwirksam. ÄDHPA, die bereits in der ersten Versuchsreihe eine exzeptionell hohe  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung in den Faeces zur Folge hatte, führt auch bei nachträglicher Verabfolgung zu einer rund 2 mal höheren  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung mit den Faeces. Besonders hervorzuheben ist, daß die unter optimalen Bedingungen, d.h. in der ersten Versuchsreihe, extrem wirksamen Chelatbildner, wie ACATA und CDTA, bei nachträglicher Wirksamkeit sich nicht wesentlich von den anderen Chelatbildnern unterscheiden.

Im Hinblick auf die nur geringfügige Intensivierung der  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung ist es auch nicht überraschend, daß der  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe (vgl. Tab. 8) unter dem Einfluß der nachträglich verabfolgten Chelatbildner nur geringfügig beeinflusst wird. In der überwiegenden Zahl der Organe bzw. Chelatbildner wird eine statistisch signifikante Senkung des  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalts nicht erreicht. Die einzigen Fälle, in denen ein statistisch annähernd gesicherter Einfluß zu verzeichnen ist, sind: Skelett-ACATA, Leber-ÄDHPA und BHCÄDA. Es sei hier vermerkt, daß die zuletzt genannten Chelatbildner in der ersten Versuchsreihe einen verhältnismäßig starken Einfluß auf die faecale Ausscheidung von  $^{59}\text{Fe}$  ausübten. Einer besonderen Besprechung bedürfen die Verhältnisse in der Muskulatur. Alle untersuchten Chelatbildner sind nicht nur nicht in der Lage, den  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Muskulatur zu senken, sondern führen sogar zu einer über die Kontrolle hinaus gehenden Aktivität. Die potenzierte  $^{59}\text{Fe}$ -Retention erreicht zwar nicht bei allen Chelatbildnern statistische Signifikanz, und ein statistisch gesicherter Effekt liegt nur im Falle der DTPA und des BADÄ vor. Im Hinblick jedoch auf die Gleichsinnigkeit der

Ergebnisse erhebt sich natürlich die Frage, ob es sich (ungeachtet der nicht vollen statistischen Signifikanz) trotzdem um einen realen Befund handelt. Zur Prüfung führten wir den sog. pooled t-Test nach entsprechender z-Transformation durch (36). Die Ergebnisse zeigten, daß es sich um realen Befund, d.h. um eine gesicherte Erhöhung der  $^{59}\text{Fe}$ -Ablagerung in der Muskulatur handelt.

Die Ergebnisse des analogen Versuchs, jedoch mit Verabreichung der Chelatbildner erst 16 Tage nach  $^{59}\text{Fe}$ , sind in den Tab. 9 und 10 zusammengestellt. Was die Ausscheidungsdaten (Tab. 9) betrifft, so scheinen auf den ersten Blick prinzipiell die gleichen Verhältnisse wie auch bei frühzeitiger Verabfolgung der Chelatbildner am 2. Tag vorzuliegen, d.h. eine nur geringfügige Erhöhung der  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung. Die Ausscheidungsrate in den Faeces bei den nichtbehandelten Tieren hat im Laufe der Zeit stark abgenommen, indem sie rund 1/10 der Ausscheidungsrate während der ersten Tage beträgt, während die Ausscheidung im Urin annähernd konstant bleibt. Wie auch bei frühzeitiger Verabreichung verhält sich ÄDHPA insofern von den anderen Chelatbildnern unterschiedlich, als dieser Chelatbildner zu einer eindeutig erhöhten faecalen  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung führt.

Da der Effekt der Chelatbildner bei später Verabreichung, absolut, d.h. auf die gesamte  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis bezogen, sehr klein ist, sollte man keinen stärkeren Einfluß auf den  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe erwarten. Dies ist auch tatsächlich, wie der Tab. 10 zu entnehmen ist, nicht der Fall, und die überwiegende Zahl der Werte unterscheidet sich nicht signifikant von der Kontrolle. Eine Ausnahme stellt wiederum ÄDHPA dar, die eine stärkere und gesicherte Senkung der  $^{59}\text{Fe}$ -Aktivität in Leber und Milz bewirkt. Wie auch im vorangehenden Versuch findet sich fast ausnahmslos ein erhöhter  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt in der Muskulatur und - dies unterschiedlich zum Versuch mit früher Verabfolgung - auch im Skelett.

Da eine einmalige Verabfolgung der Chelatbildner nur schwach wirksam ist und zu einer praktisch kaum ins Gewicht fallenden Verminderung des  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalts des Organismus führt, wurde in der nächsten Versuchsreihe geprüft, ob die wiederholte Verabfolgung zu einer stärkeren Wirksamkeit führt und damit auch Aussagen über etwaige Unterschiede im Wirkungsmuster der verschiedenen Chelatbildner zuläßt. Die Chelatbildner wurden in einer Dosis von  $100 \mu\text{M}\cdot\text{d}^{-1}$  am 2., 4., 6., 8., 10., 12. und 14. Tag nach Injektion von  $^{59}\text{Fe}$  intraperitoneal verabfolgt und die Tiere am 16. Tag seziiert. Die Gesamtdosis der Chelatbildner betrug somit  $700 \mu\text{M}/\text{Tier}$ ; eine Ausnahme hiervon stellt die ÄDHPA dar, da im Laufe des Versuchs 3 von insgesamt 6 Tieren starben, was auf eine höhere Toxizität dieses Chelatbildners hinweist. Wir sahen uns deshalb genötigt, die Verabfolgung des Chelatbildners abubrechen, so daß die Gesamtdosis in diesem Fall nur  $500 \mu\text{M}$  betrug. Den in Tab. 11 zusammengestellten Ergebnissen ist zu entnehmen, daß auch bei wiederholter Verabfolgung der Chelatbildner ihre Wirkung relativ schwach bleibt. Statistisch gesichert ist die Senkung des  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalts der Leber durch ACATA, DFOA und ÄDHPA. Die in den beiden vorangegangenen Versuchen nachgewiesene erhöhte Ablagerung von  $^{59}\text{Fe}$  in Skelett und Muskulatur bestätigt sich auch bei wiederholter Verabfolgung, indem alle Chelatbildner die Aktivität erhöhen.

Die nachstehend beschriebenen Versuche befassen sich mit dem Einfluß verschiedener Chelatbildner auf das Verhalten von isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$ . Werden  $15 \mu\text{M } ^{59}\text{FeCl}_3$  gleichzeitig mit  $100 \mu\text{M}$  Chelatbildner intravenös injiziert, so erhalten wir die in Tab. 12 zusammengestellten Ausscheidungsdaten. Vergleicht man diese Daten mit denen für trägerfreies  $^{59}\text{Fe}$  (vgl. Tab. 5), so fällt in erster Linie auf, daß praktisch alle Chelatbildner mit Ausnahme von CDTA und ACATA die Ausscheidung von isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  stärker erhöhen. Die in Tab. 13 zusammengestellten Daten

zeigen, daß alle Chelatbildner, entsprechend dem ausgeprägten Effekt auf die Ausscheidung, den  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe in starkem Maße reduzieren.

In dem nächsten Versuch prüften wir die Wirksamkeit der Chelatbildner, die 2 Tage nach der i.v. Injektion des isotopisch verdünnten  $^{59}\text{Fe}$  verabfolgt wurden; die Trägermenge betrug wiederum  $15\ \mu\text{M}$ , die Dosis der Chelatbildner  $100\ \mu\text{M}$ . Unter diesen Versuchsbedingungen ist, wie der Tab. 14 zu entnehmen ist, ein eindeutiger, wenn auch in bezug auf die absolut ausgeschiedene  $^{59}\text{Fe}$ -Menge nicht besonders ins Gewicht fallender Einfluß der Chelatbildner zu verzeichnen. Alle Verbindungen führen zu einer statistisch gesicherten Intensivierung der Gesamtausscheidung, wobei die höchste Wirksamkeit ÄDHPA aufweist; dann folgen ACATA, DFOA und BHCÄDA, während die anderen Liganden eine verhältnismäßig schwache Wirkung zeigen, insbesondere auch CDTA, was im Hinblick auf die hohe Wirksamkeit dieses Chelatbildners bei gleichzeitiger Verabreichung besonderer Beachtung bedarf. Die Ausscheidung des  $^{59}\text{Fe}$  erfolgt bei allen Chelatbildnern mit dem Urin; in den Faeces zeigen ÄDHPA, ACATA, BHCÄDA und DFOA eine deutliche Wirkung. Die für die zyklischen Chelatbildner erhöhte faecale Ausscheidung steht in Übereinstimmung mit früheren Befunden, während dies in so ausgeprägtem Maße für DFOA nicht beobachtet wurde.

Tab. 15 zeigt, daß die Chelatbildner den  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt in Leber und Milz senken, während er in den übrigen Organen unverändert bleibt oder sogar leicht erhöht wird. Vergleicht man die Wirksamkeit der Chelatbildner bei isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  mit der beim trägerfreien Radionuclid (bei sonst vergleichbaren Versuchsbedingungen), ist unverkennbar, daß die Chelatbildner bei isotopischer Verdünnung eine höhere Wirksamkeit zeigen.

Im Hinblick auf die ausgeprägte Zeitabhängigkeit der Chelateffektivität schien es uns angezeigt, die Wirksamkeit der Chelatbildner bei noch kürzeren Zeitintervall zu prüfen: Das mit 15  $\mu$ M isotopisch verdünnte  $^{59}\text{Fe}$  wurde intravenös injiziert und die Chelatbildner in einer Dosis von 100  $\mu$ M intraperitoneal unmittelbar im Anschluß an  $^{59}\text{Fe}$  verabfolgt. Wie der Tab. 16 zu entnehmen ist, zeigt DFOA eine eindeutig höhere Wirksamkeit als ACATA, und diese eine höhere als DTPA bzw. BADÄ. Bemerkenswert ist die sehr geringe Wirksamkeit des CDTA; bemerkenswert deswegen, weil bei gleichzeitiger Verabfolgung CDTA den stärksten Einfluß ausübte. Was den Ausscheidungsweg des  $^{59}\text{Fe}$  betrifft, so zeigen zwar alle Chelatbildner eine deutlich intensivierte Ausscheidung mit dem Urin; hervorzuheben ist aber jedoch, daß ACATA und - im Gegensatz zu den Versuchen bei gleichzeitiger Verabfolgung - DFOA auch zu einer erhöhten Ausscheidung des  $^{59}\text{Fe}$  mit den Faeces führen. Tab. 17 orientiert über die  $^{59}\text{Fe}$ -Verteilung über die Organe. Unbeeinflusst bleibt die Aktivität im Blut; relativ schwach ist die Wirksamkeit in den Nieren, im Skelett und in der Muskulatur, während eine offensichtlich stärkere Senkung des  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalts - wie auch in dem vorangehenden Versuch - in Leber und Milz vorzuliegen scheint.

Weiter beschäftigte uns die Frage, ob eine Inkubation der Lösung von Fe und Chelatbildner einen Einfluß auf ihre Wirksamkeit ausübt. Dazu stellten wir Lösungen von Chelatbildnern und isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  her, die Ratten i.v. injiziert wurden, und zwar a) unverzüglich nach Herstellung der Lösung, b) nach 48 stündiger Inkubation der Lösung. Die Versuchstiere wurden 2 Tage nach der Injektion getötet. Die Ergebnisse in Tab. 18 zeigen, daß ein stärkerer und gleichsinniger Einfluß des Alters der Fe(III)-Chelatlösungen offensichtlich nicht vorliegt.

Nachdem im Falle von inkorporiertem  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{65}\text{Zn}$  (Catsch und Lê (6,7)) sowie  $^{54}\text{Mn}$  (Kuhn (28)) gezeigt wurde, daß durch Verabfolgung der entsprechenden Metallchelate, d.h. durch Isotopen-Austausch, eine Mobilisation des Radionuclids möglich ist, lag die Prüfung dieser Frage auch für  $^{59}\text{Fe}$  nahe. Ein entsprechender Versuch hatte jedoch ein absolut negatives Ergebnis (Tab. 19).

In unseren Versuchen war die exzeptionell hohe Toxizität von ÄDHPA aufgefallen. Wir bestimmten deshalb für diese Substanz die akute LD 50 % an Mäusemännchen (NMRI/Han), zum Vergleich diente  $\text{Na}_2\text{Ca-ÄDTA}$ . Nach der i.p. Verabreichung der Chelatbildner trat der Exitus innerhalb von 24 Stunden ein. ÄDHPA erwies sich mit einem LD 50 % Wert von  $0,576 \text{ mM}\cdot\text{kg}^{-1}$  ( $0,405 - 0,822$  für  $P = 0,05$ ) als äußerst toxisch. Der Fe(III)-Komplex dieser Substanz scheint, wie sich aus den obigen Versuchen mit Ratten ergab, noch giftiger zu sein. Die akute LD 50 % der  $\text{Na}_2\text{Ca-ÄDTA}$  beträgt dagegen  $17,4 \text{ mM}\cdot\text{kg}^{-1}$  ( $18,1 - 16,6 \text{ mM}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,  $P = 0,05$ ).

### Diskussion

Zunächst soll auf das Verhalten von trägerfreiem  $^{59}\text{Fe}$  im Organismus kurz eingegangen werden. Da wir in unseren Versuchen trägerfreies  $^{59}\text{Fe}$  verwendeten, beschreibt das Verteilungsmuster sowie dessen Zeitabhängigkeit mit Sicherheit physiologische Prozesse. Es wird allgemein angenommen, daß trägerfreies Radioeisen im wesentlichen zunächst vom Transferrin des Blutplasmas gebunden, dann an das Knochenmark abgegeben und hier in das Hämoglobin der unreifen Erythrozyten eingebaut wird (24, 35). Die zentrale Bedeutung des Knochenmarks im Eisenstoffwechsel hatten schon 1946 Copp und Greenberg (10) erkannt. Das im Knochenmark in das Hämoglobin eingebaute  $^{59}\text{Fe}$  wird mit den reifen Erythrozyten und den Retikulozyten wieder in den Blutkreislauf entlassen. Hier bleibt die  $^{59}\text{Fe}$ -Konzentration im Hinblick auf die große Lebensdauer der Erythrozyten über

längere Zeit praktisch konstant. Die in den Abb. 1 und 2 wiedergegebenen Befunde unserer Untersuchungen scheinen, zumindest auf den ersten Blick, die obigen Vorstellungen zu unterstützen, indem der  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt des Bluts im gleichen Zeitraum, in dem der  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt im Skelett abnimmt, ansteigt und dann über einen Zeitraum von 3 Wochen sich kaum verändert. Die Abnahme des  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalts in der Milz könnte darauf zurückzuführen sein, daß die Milz bei kleinen Nagetieren als ein extramedulläres erythropoetisches Organ fungiert. Die Leber, ein wichtiges Speicherorgan im Eisenstoffwechsel weist über einen Zeitraum von 18 Tagen in guter Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen (33) einen mit 9 % nahezu konstanten  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt auf. Bei einer genaueren Betrachtung der Daten fällt allerdings auf, daß die zwischen 1. und 8. Tag im Blut beobachtete  $^{59}\text{Fe}$ -Zunahme um rund 20 % der  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis kleiner ist als die aus Skelett und Milz ausgeschiedene Menge, die rund 30 % ausmacht. Es erscheint somit fraglich, ob die von uns beobachteten Verteilungsdaten ausschließlich die oben kurz umrissenen physiologischen Prozesse widerspiegeln. Es ist vielmehr wahrscheinlicher, daß - ungeachtet der oben beschriebenen Prozesse - die beobachteten  $^{59}\text{Fe}$ -Konzentrationen zu einem Teil auch auf eine direkte Markierung des endogenen Fe in den verschiedenen Organen und Geweben zurückzuführen sind. In die gleiche Richtung weist auch der später ausführlicher zu beschreibende Umstand hin, daß die Abhängigkeit der Chelateffektivität von der effektiven Stabilitätskonstante für die verschiedenen Organe einen unterschiedlichen Charakter aufweist; dies trifft insbesondere für den  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt des Blutes und des Skeletts zu.

Unter dem Einfluß der isotopischen Verdünnung ändert sich das  $^{59}\text{Fe}$ -Verteilungsmuster in erheblichem Maße (Abb. 3 und 4), indem jetzt der überwiegende Teil der injizierten  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis primär von der Leber zurückgehalten wird, der  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt des Blutes während der ersten Tage wesentlich



niedriger als im Falle des trägerfreien Radionuclids liegt und erst im Laufe der ersten 3 Wochen höhere Werte, jedoch nicht den Wert nach Applikation von trägerfreiem  $^{59}\text{Fe}$  erreicht. Was die dem Trägereinfluß ursächlich zugrundeliegenden Faktoren betrifft, könnte man zunächst versucht sein, daran zu denken, daß es im Blut zur Bildung von kolloidalen bzw. unlöslichen Fe-Verbindungen kommt; eine Annahme, die im Hinblick auf die ausgeprägten hydrolytischen Tendenzen von Fe(III) durchaus plausibel ist. Mit dieser Annahme stünde zwar die erhöhte Ablagerung von  $^{59}\text{Fe}$  in der Leber als dem Hauptorgan des retikuloendothelialen Systems durchaus in Übereinstimmung, nicht zu vereinen damit wäre jedoch die nur geringfügige Erhöhung der  $^{59}\text{Fe}$ -Ablagerung in der Milz unter dem Einfluß der isotopischen Verdünnung. Eine mindestens 10-fach höhere Ablagerung von isotopisch verdünnten und kolloidalen Radiometallen in der Milz ist nämlich charakteristisch für das sog. RES-Verteilungsmuster. Da somit die obige Annahme als wenig plausibel ausgeschlossen werden kann, wird man an eine Übersättigung der Transferrin-Bindungskapazität denken; dies wäre bei der Konzentration des Transferrins im Blut von  $2 \cdot 10^{-5}$  molar (38a) bereits bei Dosen von  $\geq 0,1 \mu\text{M}$  Fe pro Tier durchaus der Fall; der nicht vom Transferrin gebundene Bruchteil des  $^{59}\text{Fe}$  würde dann von anderen Plasmaproteinen nur locker und insbesondere von der Leber gebunden werden. Eine vollkommene Absättigung des Transferrins sollte bereits durch Dosen in der Größenordnung von  $0,1 \mu\text{M}$  erfolgen. Dies wird im wesentlichen auch durch die Versuchsreihe bestätigt, in der die Abhängigkeit des  $^{59}\text{Fe}$ -Verteilungsmusters von der Trägerdosis untersucht wurde (Abb. 5 und 6). Hier bleibt der  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt des Bluts bis zu einer Dosis von  $0,1 \mu\text{M}$  konstant, um dann eindeutig abzunehmen. Konstant bis zu der eben genannten Dosis bleibt auch die  $^{59}\text{Fe}$ -Ablagerung im Skelett und in der Muskulatur, während sie in der Milz, Leber und in der Niere geringfügig zunimmt. Es hat also im Hinblick auf diese Ergebnisse den

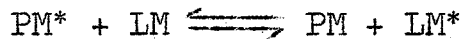
Anschein, daß auch bei einer Teilsättigung des Transferrins, d.h. bei niedrigen Trägerdosen ( $< 0,1 \mu\text{M}$ ) ein Einfluß der isotopischen Verdünnung auf das metabolische Verhalten von  $^{59}\text{Fe}$  vorliegt und - anders ausgedrückt - daß die Eisenretention in bestimmten Organen und insbesondere in der Leber auch vom Sättigungsgrad des Transferrins abhängt. Bei der Auswertung dieser Befunde ist allerdings insofern eine gewisse Vorsicht am Platze, als in der Versuchsreihe der Abb. 5 und 6 der  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt erst am 18. Tag nach Injektion des  $^{59}\text{Fe}$  untersucht wurde und die Daten somit keine Aussagen über die primäre Kinetik des  $^{59}\text{Fe}$ -Metabolismus zulassen.

Die bisher beschriebenen Untersuchungen über das metabolische Verhalten von trägerfreiem bzw. isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  lassen somit keine eindeutigen Aussagen zu, was jedoch auch nicht beabsichtigt war, da die besagten Versuchsreihen im wesentlichen nur die Aufgabe verfolgten, die Kontrolle für diejenigen Versuchsreihen zu bilden, in denen der Einfluß der Chelatbildner geprüft wurde.

Die Diskussion der mit den Chelatbildnern erzielten Versuchsergebnisse hat von folgenden, experimentell eindeutig verifizierten Befunden auszugehen:

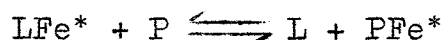
- 1) Die Ca-Chelate verschiedener Liganden sind in der Lage, endogenes Fe zu mobilisieren. Dies geht aus den Versuchsreihen hervor, in denen wir eine eindeutig über die Kontrolle hinausgehende Ausscheidung von  $^{59}\text{Fe}$  bei nachträglich injizierten Chelatbildnern feststellten (Tab. 7-10). Hier ist auch auf die Untersuchungen von Bohne und Lessmann (4) sowie Bohne et al. (3) hinzuweisen, denen zufolge DTPA, BADÄ, DFOA und ACATA bei der Ratte die Ausscheidung von stabilem Fe mit dem Urin erhöhen.
- 2) Es findet kein Isotopenaustausch zwischen endogenem und cheliertem Fe statt. Dieser Schluß basiert auf dem Nachweis, daß die Fe(III)-Chelate nicht in der Lage sind,

endogenes,  $^{59}\text{Fe}$ -markiertes Fe zu mobilisieren (Tab. 19). Über analoge Ergebnisse berichten Harmuth-Hoene und Ohrtmann (22), die in vitro keinen isotopischen Austausch im System: Transferrin - Fe(III)-Chelate nachweisen konnten. Dieser Punkt ist insofern bemerkenswert, als bei anderen endogenen Spurenmetallen wie Zn, Co (6, 7) sowie Mn (28) ein Isotopenaustausch gemäß der Reaktion



stattfindet, wobei interessanterweise die austauschbare Fraktion des endogenen Metallpools eindeutig größer als die durch Chelierung mobilisierbare Fraktion ist.

Betrachten wir zunächst die Versuchsreihen, in denen trägerfreies  $^{59}\text{Fe}$  gleichzeitig mit hohem Überschuß (100  $\mu\text{M}$ ) von Chelatbildner injiziert wurde (Tab. 5 und 6). Unter diesen Versuchsbedingungen findet eine eindeutige Erhöhung der  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung statt, deren Ausmaß von der Art des Chelatbildners abhängt. Dementsprechend wird ein bestimmter Bruchteil des zugeführten  $^{59}\text{Fe}$  in den Organen zurückgehalten. Da nach dem unter 2) charakterisierten Sachverhalt der  $^{59}\text{Fe}$ -Retention in diesem Fall ein isotopischer Austausch nicht zugrunde liegen sollte, sind wir zu der Folgerung gezwungen, daß es sich hierbei um eine echte Abspaltung des Fe aus dem Chelat handelt; eine Annahme, die auf den ersten Blick mit der Feststellung 1) in Widerspruch steht. Wenn nämlich die Stabilität der betreffenden Fe(III)-Chelate ausreichend hoch sind, um eine Mobilisierung von endogenem Fe zu bewirken, ist es nicht einzusehen, daß unter den Bedingungen eines sehr hohen Überschusses von freiem Chelatbildner eine Abspaltung von  $^{59}\text{Fe}$  stattfindet, d.h. daß die Reaktion



nach rechts verläuft. Durch L wird der Chelatbildner, durch P endogene Akzeptorgruppen bezeichnet. Dieser offenbare Widerspruch könnte nun dadurch bedingt sein, daß die

endogenen Akzeptorgruppen, die für die Retention des chelierten  $^{59}\text{Fe}$  verantwortlich sind, nicht identisch sind mit denjenigen Akzeptorgruppen, die diejenige Fe-Fraktion binden, aus der das endogene Fe durch den Chelatbildner mobilisiert wird. Diese, zunächst rein formale Vorstellung kann ohne weitere Untersuchungen nicht spezifiziert, d.h. keine Aussagen darüber gemacht werden, wie die beiden verschiedenen Fe-Kompartimente biochemisch definiert sind.

Das Ausmaß der  $^{59}\text{Fe}$ -Retention in verschiedenen Organen bzw. in den Ausscheidungen sollte eine Funktion der sog. effektiven Stabilitätskonstante E sein. E ist definiert als

$$E = \frac{K_{\text{FeL}}^{\text{Fe}} \cdot [\text{L}]_{\text{total}}}{\alpha + K_{\text{CaL}}^{\text{Ca}} \cdot [\text{Ca}]}$$

In diesem Ausdruck wird nach Heller und Catsch (23) den Umständen Rechnung getragen, daß eine Konkurrenz zwischen  $\text{Fe}^{3+}$  und endogenem  $\text{Ca}^{2+}$  vorliegt, dessen Konzentration mit  $10^{-3}$  molar = const. angenommen wird.  $[\text{L}]_{\text{total}}$  ist die Gesamtkonzentration des Chelatbildners im physiologischen Verdünnungsvolumen, das nach Bohne et al. (3) und Foreman (20) mit 20 % des Körpergewichts angenommen wurde. Die Abhängigkeit der Chelatstabilität vom pH wird durch den Verteilungskoeffizienten  $\alpha$  berücksichtigt. Die Werte der Stabilitätskonstanten  $K_{\text{FeL}}^{\text{Fe}}$  und  $K_{\text{CaL}}^{\text{Ca}}$  entnehmen wir der Zusammenstellung von Sillén und Martell (42).

Die Abb. 7 - 11 geben die Abhängigkeit des Effektivitätsquotienten (s. S. ) von der effektiven Stabilitätskonstante E für die verschiedenen Organe sowie für den  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt des Organismus, (berechnet auf Grund der Ausscheidungswerte in Tab. 4) wieder. Zunächst fällt auf, daß die Abhängigkeit des Effektivitätsquotienten von der effektiven Stabilitätskonstante für die verschiedenen Organe unterschiedlichen Charakter aufweist. Identisch ist die Abhängigkeit für die Gesamtretention (Abb. 7) sowie das Blut (Abb. 8),

indem bei E-Werten  $\geq 10^{16}$  ein Plateau vorliegt; dies bedeutet, daß der  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt trotz steigender Stabilitätskonstante mit Werten von 40 bzw. 25 % der Kontrolle praktisch konstant bleibt. Die Übereinstimmung im  $^{59}\text{Fe}$ -Verhalten im gesamten Körper und im Blut war insofern zu erwarten, als gemäß Abb. 1 die Hauptmenge der injizierten  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis vom Blut zurückgehalten wird. In der Leber (Abb. 10) und im Skelett (Abb. 9) dagegen nimmt der Effektivitätsquotient mit steigendem E linear ab, während in der Niere (Abb. 11) eine eindeutige Korrelation überhaupt vermißt wird. Auf die Wiedergabe der Verhältnisse in der Muskulatur wurde verzichtet, weil die Mehrzahl der Chelatbildner unwirksam sind oder die  $^{59}\text{Fe}$ -Retention sogar potenzieren. Schließlich ist noch hervorzuheben, daß einige Chelatbildner sich exzeptionell verhalten: CDTA senkt den  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt aller Organe in erheblich stärkerem Maße als Chelatbildner mit identischen E-Werten wie z.B. ÄDTA und BADÄ. ÄDHPA zeigt in den Nieren eine auffallend hohe Wirksamkeit. TTHA weist im Blut eine dem E-Wert entsprechende Effektivität auf, während in den anderen Organen ein Einfluß praktisch vermißt wird. Wie von Heller und Catsch (23) näher begründet wurde, ist mit steigenden E-Werten eine lineare Abnahme des Effektivitätsquotienten im doppellogarithmischen Maßstab zu erwarten. Abweichungen von der theoretisch zu erwartenden linearen Abhängigkeit, wie sie in Abb. 7 und 8 vorliegt, können, wie Catsch (8) näher ausführt, dann auftreten, wenn es sich bei dem betroffenen Organ nicht um eine funktionelle Einheit handelt, es vielmehr kompartmentalisiert ist. Unterscheiden sich nun die Kompartimente, die strukturell und/oder biochemisch definiert sind, bezüglich ihrer Affinität zu dem zur Diskussion stehenden Radiometall stärker voneinander, so kann eine Abhängigkeit des Effektivitätsquotienten von der Stabilitätskonstante E resultieren, die in Abhängigkeit von der Zahl der Kompartimente und von den Unterschieden in den Affinitäten ein oder mehrere Plateaus aufweist.

Im Falle des Bluts würden wir somit annehmen, daß das Blut mindestens zwei Ligandengruppen enthält, von denen die einen das Fe(III) in wesentlich stärkerem Maße als die Liganden des zweiten Kompartiments binden. Chelatbildner mit effektiven Stabilitätskonstanten  $\geq 10^{16}$  wären demnach imstande, die Bindung des  $^{59}\text{Fe}$  durch ein Kompartiment, nicht aber durch das zweite Kompartiment zu verhindern. Für diese rein formale Vorstellung entsteht jedoch folgende Schwierigkeit: Als endogener Ligand kommt im Falle von trägerfreiem  $^{59}\text{Fe}$  nur das Apotransferrin in Frage, da die Stabilität des Transferrins mit einer Konstante von  $\sim 10^{30}$  mit Sicherheit erheblich höher ist als die von anderen Fe(III)-Komplexen der Plasmaproteine. Die Annahme von zwei verschiedenen Kompartimenten ist damit hinfällig, da nach dem oben Gesagten allein das Apotransferrin zu berücksichtigen ist. Wenn daher dem  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt des Bluts die Bildung von Transferrin zugrunde liegt, ist zu folgern, daß Chelatbildner mit E-Werten von  $10^{16}$  in der Lage sind, sich gegen die Konkurrenz des Apotransferrins durchzusetzen. Dann aber erhebt sich die Frage, warum die  $^{59}\text{Fe}$ -Retention durch das Apotransferrin mit wachsendem E konstant bleibt und nicht, wie zu erwarten, abnimmt. Eine Erklärung hierfür können die in vitro-Untersuchungen von Bates et al. (2) sowie Harmuth-Hoene und Ohrtmann (22) geben, denen zufolge der Fe-Retention durch das Apotransferrin die Bildung intermediärer ternärer Komplexe



vorangeht, bei der die Stabilität von LFe eine untergeordnete Rolle spielt; ausschlaggebend dabei ist vielmehr die Molekularkonfiguration von L und/oder Robustheit von FeL. Unter robusten Komplexen versteht man nach Schwarzenbach (39) solche Assoziate, die ungeachtet der thermodynamisch definierten Stabilitätskonstante relativ träge dissoziieren. Ein Chelatbildner, dessen Fe-Komplexe robust sind, würde natürlich auch dann eine hohe in vivo-Effek-

tivität zeigen, wenn die postulierten ternären Komplexe nicht gebildet werden und wenn andere endogene Liganden als das Apotransferrin den konkurrierenden Reaktionspartner darstellen. Dies trifft jedoch nicht zu - zumindest für die meisten Chelatbildner -, da der Effektivitätsquotient in Leber und Skelett im Gegensatz zum Blut abnimmt.

Dagegen dürfte es keinem Zweifel unterliegen, daß die exzeptionell hohe Wirksamkeit der CDTA, die sich in allen Organen manifestiert, im wesentlichen durch die Robustheit von Fe(III)-CDTA bedingt ist. Daß CDTA generell zur Bildung robuster Assoziate tendiert, geht auch aus komplexchemischen Untersuchungen von Schwarzenbach et al. (40) hervor.

Eine ähnlich starke Effektivität wie bei CDTA beobachten wir auch im Falle von ACATA (Tab. 5 und 6). Die Stabilitätskonstante von Fe(III)-ACATA ist bisher nicht bestimmt. Da die ACATA ein Cyclohexanderivat des BADÄ ist und die analoge Substitution der Äthylengruppe der ÄDTA durch Cyclohexan zu einer Erhöhung der Stabilität der CDTA-Chelate um 2 - 3 Größenordnungen führt, kann vermutet werden, daß die effektive Stabilitätskonstante von Fe(III)-ACATA ebenfalls um 2 - 3 Zehnerpotenzen die von Fe(III)-BADÄ übertrifft; sie würde bei der von uns verwendeten Dosis  $\sim 10^{17} - 10^{18}$  betragen. Die Effektivität ist jedoch wesentlich höher, als dieser E-Wert erwarten läßt. Es liegt natürlich im Hinblick auf die Cyclohexanstruktur die Annahme nahe, daß Fe(III)-ACATA ein robustes Chelat darstellt.

Unsere Vorstellung, daß die hohe Effektivität der CDTA und ACATA auf der Robustheit der Fe(III)-Chelate beruht, wird dadurch gestützt, daß bei nachträglicher Applikation diese Chelatbildner ihre unikale Position verlieren.

Ein anderer Chelatbildner, der sich exzeptionell verhält, ist TTHA; exzeptionell, weil - ungeachtet der hohen Effektivität der TTHA bezüglich der  $^{59}\text{Fe}$ -Ablagerung im Blut - eine nur geringfügige oder sogar fehlende Effektivität im Skelett, Leber, Nieren und der Muskulatur vorliegt. Die Frage nach den Ursachen für diese Diskrepanz muß zum gegenwärtigen Zeitpunkt offen bleiben; es kann insbesondere nicht entschieden werden, ob bei diesem unerwarteten Verhalten die Bildung von polymetallischen Chelatspezies - dies ist durchaus plausibel im Hinblick auf die hohe Zähigkeit dieses Liganden - eine Rolle spielt.

Die ÄDHPA, deren Wirksamkeit in allen Organen der von Chelatbildner mit ähnlich hohen Stabilitätskonstanten vergleichbar ist, zeigt, wie bereits erwähnt, in der Niere mit einer Senkung des  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalts auf 22 % der Kontrolle eine wesentlich stärkere Wirksamkeit als alle anderen Chelatbildner, die den  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt in den Nieren nur unwesentlich senken. Die selektiv auf dieses Organ beschränkte Wirksamkeit der ÄDHPA dürfte dadurch bedingt sein, daß dieser, eine aromatische Struktur aufweisende Chelatbildner nicht (wie die anderen Chelatbildner) mit dem Urin, sondern im wesentlichen mit den Faeces ausgeschieden wird (Tab. 5). Dadurch würde das chelierte  $^{59}\text{Fe}$  natürlich der Konkurrenz der Akzeptorgruppen der Niere in wesentlich stärkerem Maße als bei den anderen Chelatbildnern entzogen.

Es wurde eben erstmalig der Ausscheidungsweg der Fe(III)-Chelate erwähnt. Im Falle der aliphatischen Chelatbildner wird das chelierte  $^{59}\text{Fe}$  vorwiegend mit dem Urin ausgeschieden. Eine genauere Betrachtung der in der Tab. 5 angeführten Daten zeigt, daß die faecale Ausscheidung nicht nur im Falle des aromatischen ÄDHPA sondern auch bei einigen zyklischen Chelatbildnern stärker ausgeprägt als bei den aliphatischen Polyaminopolycarbonsäuren ist. Dies betrifft die ACATA, BHCÄDA und HCÄTA; im Falle der



CDTA dagegen ist die Intensivierung der faecalen Ausscheidung nur angedeutet. Es sei hier auch vermerkt, daß die unterschiedlichen Ausscheidungswege der eben erwähnten Chelatbildner sich auch bei anderen Versuchsanordnungen im vollen Umfang bestätigen und daß auch von anderen Autoren (37,38) auf die Ausscheidung der zyklischen bzw. aromatischen Chelatbildner mit der Galle hingewiesen wurde. In diesem Zusammenhang sei erwähnt, daß die ÄDHPA eine wesentlich höhere Toxicität als alle anderen Chelatbildner aufweist. Dies könnte ebenfalls als Hinweis dafür angesehen werden, daß ÄDHPA im wesentlichen durch die Leber ausgeschieden wird. Ob die hohe Toxicität der ÄDHPA auf die intakte Chelatmolekel oder die bei evtl. intracellulären Abbau entstehenden Metaboliten zurückzuführen ist, kann im Moment noch nicht beantwortet werden.

Die in den Abb. 7 - 11 sowie in der Tab. 6 angeführten Daten zeigen, daß der Einfluß der Chelatbildner auf die  $^{59}\text{Fe}$ -Retention durch die verschiedenen Organe und Gewebe unterschiedlich ausgeprägt ist. Hervorzuheben ist insbesondere, daß die  $^{59}\text{Fe}$ -Retention durch die Muskulatur kaum beeinflußt oder sogar potenziert wird; dies gilt allerdings nicht für ACATA und CDTA. Durch die Chelierung des Fe im extracellulären Raum gelangt offenbar ein größerer Bruchteil in den Einflußbereich der Akzeptorgruppen der Muskulatur als bei Abwesenheit des Chelatbildners, wenn die Fe-Bindung im intravasalen Raum durch das Transferrin dominiert.

Wird das  $^{59}\text{Fe}$  mit einer Trägerdosis von 15  $\mu\text{M}$  verdünnt und mit in Überschuß (100  $\mu\text{M}$ ) vorliegendem Chelatbildner gleichzeitig injiziert, so ist der wesentliche Unterschied zu den Verhältnissen beim trägerfreien Radionuklid, daß die Wirksamkeit der Chelatbildner mehr oder weniger stark erhöht ist. Besonders deutlich kommt dies bei solchen Chelatbildnern zum Ausdruck, die wie OCIDA, HÄDTA und HCÄTA bei isotopischer Verdünnung in allen Organen eine deutliche und statistisch gesicherte Hemmung der  $^{59}\text{Fe}$ -

Retention herbeiführen, während im Falle des trägerfreien  $^{59}\text{Fe}$  ihre Wirksamkeit wesentlich geringer war bzw. vollständig vermißt wurde.

Trägt man den Effektivitätsquotienten gegen die effektive Stabilitätskonstante auf (Abb. 12 - 17), so fällt in erster Linie auf, daß die Kurven für das Blut mit einer geringen Neigung linear verläuft. CDTA und ACATA zeigen, wie auch in dem vorangehenden Versuch eine größere Wirksamkeit, als ihrem E-Wert entspricht.

Was liegt der größeren Wirksamkeit der Chelatbildner bei isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  ursächlich zugrunde? Die plausibelste wäre, daß die Konzentration der endogenen Akzeptorgruppen, die für die eine sehr stabile Bindung des  $\text{Fe}^{3+}$  verantwortlich sind, relativ sehr klein ist und daß die Stabilität der zugeführten Fe-Chelate ausreicht, um die Bindung des Fe durch zwar in höherer Konzentration vorliegenden, jedoch eine niedrigere Affinität zu Fe aufweisenden Akzeptorgruppen zu verhindern.

Die Wirksamkeit der Chelatbildner nimmt bei nachträglicher Verabfolgung stark ab. Dies gilt sowohl für trägerfreies (Tab. 7 - 11) als auch isotopisch verdünntes (Tab. 14 - 17). Dies bedeutet, daß das  $^{59}\text{Fe}$  sehr schnell in eine Form überführt wird, in der es durch Chelatbildner nicht mehr mobilisiert werden kann; sei es, weil das Fe in Form robuster und/oder äußerst stabiler Chelate (z.B. als Hämoglobin und Myoglobin) vorliegt, sei es, daß es sich in Kompartimenten befindet, die den Chelatbildner nicht zugänglich sind.

Die Intensivierung der Ausscheidung ist bei dem isotopisch verdünnten  $^{59}\text{Fe}$  stärker als beim trägerfreien Nuklid ausgeprägt (Tab. 7 vs. 14). Dies steht mit unseren früheren Vorstellungen in Übereinstimmung, daß es nach Absättigung des Transferrins zu einer Ablagerung von Fe in einer relativ lockeren und leichter mobilisierbaren Speicher-

form kommt. Zu der gleichen Schlußfolgerung kamen auch Bohne et al. (3, 4), welche zeigen konnten, daß Chelatbildner bei Ratten mit einer exzessiven Fe-Speicherung erheblich mehr Fe zur Ausscheidung bringen als bei Tieren mit nicht gestörtem Fe-Stoffwechsel. Auch beim Menschen ist die durch DTPA mobilisierte Fe-Menge eine direkte Funktion der Größe der Fe-Depots (Fahey et al. (13)). Es ist deswegen auch verständlich, daß die Chelatbildner bei nachträglicher Verabfolgung den  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt nur solcher Organe senken, in denen das Fe in "Speicherform" vorliegt; das sind im Falle des isotopisch verdünnten  $^{59}\text{Fe}$  Leber und Milz (Tab. 15) und beim trägerfreien  $^{59}\text{Fe}$  die Leber (Tab. 11). Die anderen Gewebe bleiben dagegen unbeeinflusst. Besonders stark ausgeprägt ist die  $^{59}\text{Fe}$ -Mobilisation aus der Leber durch ÄDHPA. Auch dies bestätigt erneut die früher geäußerte Vermutung, daß ÄDHPA höhere Konzentrationen im intracellulären Raum der Leber erreicht.

Über die Unterschiede in der Wirksamkeit der wichtigsten Chelatbildner bei nachträglicher Verabfolgung orientiert nachstehende Zusammenstellung.

- Tab. 7: ÄDHPA > DFOA ~ CDTA ~ ACATA ~ DTPA > ÄDTA  
Tab. 9: ÄDHPA > ACATA > DFOA > DTPA  
Tab. 11: ÄDHPA > ACATA ~ DFOA > DTPA  
Tab. 14: ÄDHPA > ACATA > DFOA > DTPA > CDTA ~ ÄDTA  
Tab. 16: DFOA > ACATA > DTPA > CDTA

Die Überlegenheit der ÄDHPA ist eindeutig; desgleichen die im Vergleich zu den übrigen Verbindungen größere Wirksamkeit der ACATA. DFOA ist wirksamer als DTPA. Der Nachweis: ACATA > DFOA > DTPA ist in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Bohne et al. (3) und Lê (29). Während wir die größere Wirksamkeit der ACATA bei gleichzeitiger Verabfolgung mit  $^{59}\text{Fe}$  auf die Robustheit des Fe(III)-Chelats zurückführten, kann diese Erklärung für

die auch bei nachträglicher Injektion höhere Effektivität offensichtlich nicht übernommen werden, da in diesem Fall die effektive Stabilitätskonstante den relevanten Faktor darstellt. Dies geht auch aus dem sehr ausgeprägten Effektivitätsverlust der CDTA hervor. Wie weiter oben ausgeführt wurde, ist es wenig wahrscheinlich, daß der  $K_{FeL}^{Fe}$ -Wert der ACATA größer als der von DFOA ist. Eine Erklärung für die somit vorliegende Diskrepanz könnte darin gesehen werden, daß DFOA nicht in der Lage ist, stabile Komplexe mit Fe(II) zu bilden, während dies für ACATA - in Analogie zu BADÄ, CDTA u.a.m. - nicht zutreffen sollte. Die im Vergleich zu DFOA größere Wirksamkeit der ACATA könnte dementsprechend darauf beruhen, daß DFOA nur endogenes Fe(III), ACATA aber Fe(III) und Fe(II) mobilisiert. Da nun die Stabilität von Fe(II)- und Fe(III)-ACATA kaum höher sein dürfte als im Falle von DTPA, erhebt sich die Frage, warum DTPA weniger wirksam als ACATA ist. Hier dürfte unseres Erachtens die Robustheit eine ursächliche Rolle spielen, d.h. der tatsächliche Mobilisationseffekt der DTPA wurde dadurch vermindert, daß ein Teil des mobilisierten Fe in höherem Umfang als bei ACATA an potentere endogene Liganden verloren geht.

Was die aus unseren Ergebnissen sich ergebenden praktischen Konsequenzen für die Therapie der Eisenspeicherkrankheiten betrifft, kommt die Verwendung von ÄDHPA, dem Chelatbildner mit der an sich höheren Effektivität insofern nicht in Frage, als die LD 50 % und damit auch der therapeutische Index sehr niedrig sind. Unsere Betrachtungen können sich somit auf die Verbindungen mit der nächsthöheren Effektivität, d.h. ACATA und DFOA beschränken. Im Hinblick auf den von uns vermuteten unterschiedlichen Angriffsort der beiden Chelatbildner erscheint die kombinierte Verabfolgung von DFOA und ACATA angezeigt zu sein. Dies konnte auch von Bohne und Lessmann (4) für die Ratte und den Menschen bestätigt werden:

Die gleichzeitige Verabfolgung von ACATA und DTPA ergab eine höhere Fe-Ausscheidung mit dem Urin als bei entsprechender Erhöhung der Dosis von ACATA bzw. DFOA. Der therapeutische Index der ACATA ist nach Bohne et al. (3) höher als der von DFOA.

### Zusammenfassung

Es wurde die Verteilung und Ausscheidung von trägerfreiem Radioeisen ( $^{59}\text{Fe}$ ) bei der Ratte untersucht. Der überwiegende Bruchteil des  $^{59}\text{Fe}$  wird vom Blut retiniert, die Ausscheidung erfolgt vorwiegend mit den Faeces.

Bei isotopischer Verdünnung des  $^{59}\text{Fe}$  mit  $\text{FeCl}_3$  tritt prozentual die Speicherung des  $^{59}\text{Fe}$  in der Leber in den Vordergrund, was auf eine Übersättigung des Transferrins zurückgeführt wird.

Es wurde der Einfluß einer größeren Anzahl von Chelatbildnern auf das Verhalten von  $^{59}\text{Fe}$  untersucht. Ihre Effektivität hängt von der Art des Liganden, vom Zeitpunkt der Verabfolgung und von der isotopischen Verdünnung ab.

Die stärkste Hemmung der  $^{59}\text{Fe}$ -Retention durch die Gewebe wird bei gleichzeitiger Verabfolgung der Chelatbildner beobachtet. Es handelt sich hierbei um eine echte Abspaltung des chelierten Fe, da ein isotopischer Austausch in einem speziellen Versuch ausgeschaltet werden konnte. Das Ausmaß der  $^{59}\text{Fe}$ -Retention hängt von der Stabilität und von der Robustheit der Fe-Chelate ab.

Die nachträgliche Verabfolgung der Chelatbildner führt zu einem sehr starken Effektivitätsverlust, d.h. die mobilisierbare Fraktion des Fe-Pools ist relativ klein. Im Falle von isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  ist die Mobilisation größer als beim trägerfreien  $^{59}\text{Fe}$ , was auf eine geringere Stabilität der Fe-Bindung in der Speicherform zurückgeführt wird.

Die Befunde werden theoretisch wie auch bezüglich der praktischen Konsequenzen für die Behandlung von Eisen-speicherkrankheiten diskutiert.

Literaturverzeichnis

- (1) Bannerman, R.M., S.T. Callender, D.I. Williams  
Brit. Med. J. 2, 1573 (1962)
- (2) Bates, G.W., C. Billups, P. Saltman  
J. Biol. Chem. 242, 2816 (1967)
- (3) Bohne, F., A.E. Harmuth-Hoene, K.M. Weber  
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. u. Exp. Path.  
257, 409-419 (1967)
- (4) Bohne, F. und J. Lessmann  
Arzneimittelforschg., im Druck
- (5) Bohne, F., A.E. Harmuth-Hoene, K. Kürzinger,  
F. Havliček  
Strahlentherapie, im Druck
- (6) Catsch, A. und D. Kh. Lê  
Experientia 21, 724 (1965)
- (7) Catsch, A. und D. Kh. Lê  
Strahlentherapie 130, 557 (1966)
- (8) Catsch, A.  
Dekorporierung radioaktiver und stabiler Metall-  
ionen - Therapeutische Grundlagen.  
Verlag K. Thiemig, München, 1968
- (9) Cleton, F., A. Turnbull, C.A. Finch  
J. Clin. Invest. 42, 327 (1963)
- (10) Copp, D.H. and D.M. Greenberg  
J. Biol. Chem. 164, 389 (1946)
- (11) Crosby, W.H. and T.W. Sheeby  
Clin. Res. Proc. 5, 139 (1957)

- (12) Davis, W.D. and W.R. Arrowsmith  
J. Lab. and Clin. Med. 39, 526 (1952)
- (13) Fahey, J.L., C.E. Rath, J.V. Princiotto, B.J. Brick,  
M. Rubin  
J. Lab. Clin. Med. 57, 436 (1961)
- (14) Fahey, J.L., J.V. Princiotto, C.E. Rath, M. Rubin  
Circul. Res. 3, 52 (1960)
- (15) Figueroa, W.G., W.S. Adams, S.H. Basset  
Am. J. Med. 17, 101 (1954)
- (16) Figueroa, W.G. and S.G. Tuttle  
Clin. Res. 9, 92 (1961)
- (17) Finch, C.A. and T.H. Bothwell  
Arch. Int. Med. 107, 807 (1961)
- (18) Finney, D.J.  
Probitanalysis, Cambridge 1952
- (19) Foreman, H., R.L. Huff, J.M. Oda, J. Garcia  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 79, 520 (1952)
- (20) Foreman, H.  
Metal-Binding in Medicine  
J.B. Lippincott, Philadelphia, p. 82, 160 (1960)
- (21) Greenwalt, T.J. and V.E. Ayers  
Am. J. Clin. Path. 25, 226 (1955)
- (22) Harmuth-Hoene, A.E. und R. Ohrtmann  
Unveröffentlichte Ergebnisse
- (23) Heller, H.J. und A. Catsch  
Strahlentherapie 109, 464 (1959)
- (24) Huff, R.  
Chem. Invest. USA 29, 1041 (1950)



- (25) Kety, S.S.  
J. Biol. Chem. 142, 181 (1942)
- (26) Kety, S.S. and T.V. Letonoff  
Amer. J. med. Sci. 205, 406 (1943)
- (27) Korman, S.  
J. Clin. Invest. 38, 1018 (1959)
- (28) Kuhn, A.  
Naturwissenschaften 1, 38 (1968)
- (29) Lê, D. Kh.  
Arzneimittelforschung 15, 387-388 (1965)
- (30) McMahon, F.G.  
J. Lab. and Clin. Med. 48, 589 (1956)
- (31) Moeschlin, S. and U. Schnider  
Iron Metabolism (Springer, Heidelberg, Berlin, 1964)  
p. 541, 528-536
- (32) Nigrović, V. und Th. Mohr  
Strahlentherapie 130, 314 (1966)
- (33) Nagarajan, B.  
Biochem. J. (Great Britain) 92, 531-537 (1964)
- (34) Ohlsson, W.T.L., G.T. Kullendorf, L.K. Ljungberg  
Acta Med. Scandinav. 145, 410 (1953)
- (35) Pollycove, M. and R. Mortimer  
J. Clin. Invest. USA 40, 753 (1961)
- (36) Quenouille, M.H.  
Introductory Statistics, London 1953
- (37) Rubin, M., J.V. Princiotto  
Ann. N.Y. Acad. Sci. 88, 450 (1960)

- (38) Rubin, M.  
Chelation Therapy  
Ch. C. Thomas, Springfield, USA, 1964, p. 66
- (38a) Schubert, J.  
Iron Metabolism (Springer 1964)  
p. 479-484
- (39) Schwarzenbach, G.  
Angew. Chemie 70, 451 (1958)
- (40) Schwarzenbach, G., R. Gut, G. Anderegg  
Helv. Chim. Acta 37, 937 (1954)
- (41) Seven, M.J., H. Gottlieb, H.L. Israel,  
J.G. Reinhold, M. Rubin  
Amer. J. Med. Sci. 228, 646 (1954)
- (42) Sillén, L.G. and A.E. Martell  
Stability Constants of Metal-Ion Complexes  
Chemical Society London 1964
- (43) Smith, R.S.  
Brit. Med. J. 2, 1577 (1962)
- (44) Tripod, J. und H. Keberle  
Helv. Med. Acta 29, 674 (1962)
- (45) v. Moore, C. und R. Dubach  
Mineral Metabolism 2, 316 Part B (1962)
- (46) Wöhler, F.  
Proc. 8<sup>th</sup> Congr. Europ. Soc. Haemat. Vienna 1961  
I, 244. Karger, Basel u. New York
- (47) Whishinsky, H., T. Weinberg, E. Prevost  
J. Lab. Clin. Med. 42, 550 (1953)

Tabellen und Abbildungen

Tabelle 1:  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe (% der  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis) zu verschiedenen Zeitpunkten nach i.v. Injektion von trägerfreiem  $^{59}\text{Fe}$ . In der 2. Zeile ist der Mutungsbereich für  $P = 0,05$  aufgeführt.  
 $g$  = Körpergewicht der Versuchstiere,  $N$  = Anzahl der Versuchstiere.

Tag	g	N	Blut	Skelett	Leber	Milz	Muskulatur	Niere
1	221	4	56,3 83,0 - 38,0	35,4 46,4 - 27,1	9,1 10,6 - 7,85	2,4 4,26 - 1,35	5,3 6,30 - 4,36	0,83 1,06 - 0,65
2	231	11	68,5 75,6 - 62,0	16,6 20,1 - 13,7	12,0 13,0 - 11,1	1,4 1,60 - 1,19	6,7 7,45 - 6,10	0,89 0,98 - 0,82
4	214	12	84,0 91,6 - 77,1	8,0 10,2 - 6,16	10,6 11,6 - 9,68	0,82 0,90 - 0,76	7,5 8,90 - 6,31	0,99 1,08 - 0,90
8	225	4	84,1 100 - 70,3	4,6 7,19 - 2,93	9,5 19,5 - 4,67	0,97 1,58 - 0,60	8,9 13,6 - 5,82	1,0 1,53 - 0,72
16	222	10	81,2 86,5 - 76,4	3,6 3,86 - 3,26	9,1 10,0 - 8,3	0,66 0,76 - 0,57	8,9 11,4 - 7,0	0,95 1,10 - 0,82
18	218	6	80,9 89,3 - 73,0	2,6 3,16 - 2,13	8,5 10,0 - 7,20	0,57 0,72 - 0,46	7,9 9,06 - 6,82	0,85 1,03 - 0,70

Tabelle 2:  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung (% der  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis) mit Urin und Faeces

Tag	g	N	Faeces	Urin	Summe
1- 2	231	11	3,8 4,2 - 3,4	0,19 0,30 - 0,10	4,0 4,3 - 3,6
3- 4	214	12	6,8 7,8 - 6,0	0,35 0,43 - 0,28	7,2 8,2 - 6,2
16-18	218	6	0,61 0,67- 0,55	0,14 0,16 - 0,13	0,75 0,84- 0,67

Tabelle 3:  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe (% der  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis) zu verschiedenen Zeitpunkten nach i.v. Injektion von isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  ( $15 \mu\text{M}$ ).

Tag	g	N	Blut	Skelett	Leber	Milz	Muskulatur	Niere
1	181	6	4,2 4,83 - 3,60	14,5 17,9 - 11,7	48,2 54,5 - 42,5	2,7 3,12 - 2,29	3,8 4,64 - 3,11	1,2 1,39 - 1,09
2	157	13	11,5 13,6 - 9,60	11,5 12,3 - 10,5	49,0 52,5 - 45,0	2,5 2,75 - 2,30	3,5 4,03 - 2,98	0,89 0,97 - 0,81
4	190	5	17,4 20,3 - 14,9	9,8 10,9 - 8,76	50,8 54,8 - 47,0	2,4 3,08 - 1,80	3,7 4,61 - 2,96	0,83 0,91 - 0,76
8	185	6	28,5 29,8 - 27,2	9,1 10,1 - 8,25	39,8 41,1 - 38,6	1,8 2,05 - 1,54	4,4 5,3 - 3,6	1,3 1,37 - 1,24
16	186	5	43,3 51,0 - 36,6	4,8 5,73 - 4,00	27,6 32,2 - 23,6	1,1 1,25 - 0,88	5,3 5,97 - 4,62	1,3 1,40 - 1,24

Tabelle 4: Ausscheidung des mit  $15 \mu\text{M}$  Fe isotopisch verdünnten  $^{59}\text{Fe}$  (% der  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis) mit Urin und Faeces.

Tag	g	N	Faeces	Urin	Summe
1-2	157	13	1,8 2,0 - 1,6	0,19 0,25 - 0,15	2,0 2,2 - 1,4
3-4	190	5	1,6 1,9 - 1,3	0,09 0,14 - 0,06	1,7 2,0 - 1,4

Tabelle 5:  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung am 1. und 2. Tag (% der  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis) nach gleichzeitiger i.p. Injektion von trägerfreiem  $^{59}\text{Fe}$  und 100  $\mu\text{M}$  Chelatbildner. In Klammern ist die Ausscheidung in % der Kontrolle wiedergegeben. Zahl und Gewicht der Tiere s. Tab. 6.

Chelatbildner	Faeces	Urin	Summe
ACATA	8,0 (211) 9,8 - 6,4	80,0 (40700) 82,2 - 78,5	88,0 89,6 - 85,4
DTPA	2,0 (53) 2,8 - 1,4	58,0 (29500) 72,0 - 45,0	60,0 62,6 - 57,9
DFOA	3,9 (102) 4,18- 3,12	55,0 (28800) 56,0 - 54,0	58,9 62,0 - 56,2
ÄDHPA	44,6 (1175) 53,6- 36,6	13,9 (6890) 21,8 - 7,8	58,5 67,1 - 51,6
CDTA	4,3 (114) 6,6 - 2,8	86,6 (45500) 90,0 - 83,4	90,9 93,0 - 89,4
ÄDTA	2,0 (54) 2,94- 1,42	53,4 (28000) 59,4 - 48,0	55,4 61,2 - 49,3
BADÄ	4,0 (104) 5,1 - 3,1	40,7 (21300) 44,2 - 37,2	44,7 49,8 - 40,5
BHCÄDA	31,2 (803) 34,9-28,4	25,1 (13200) 28,6 - 22,4	56,3 63,0 - 51,4
HCÄTA	26,8 (708) 30,1-23,9	6,9 (3640) 8,1 - 6,0	33,7 38,1 - 30,0
TTHA	4,3 (113) 4,9 - 3,8	23,4 (12300) 24,9 - 22,1	27,7 29,2 - 26,0
HÄDTA	3,0 (79) 3,57- 2,5	16,4 (8600) 17,4 - 15,4	19,4 20,6 - 18,0
OCIDA	3,4 (89) 3,6 - 3,2	0,1 (55) 0,13 - 0,09	3,5 3,76 - 3,35
PA	3,2 (83) 3,9 - 2,5	0,16 (84) 0,195- 0,131	3,3 3,92 - 2,8



Tabelle 6:  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe (% der Kontrolle) am 2. Tag nach der i.p. Injektion von trägerfreiem  $^{59}\text{Fe}$  und 100  $\mu\text{M}$  Chelatbildner.

Chelat- bildner	g	N	Blut	Skelett	Leber	Milz	Muskulatur	Niere
ACATA	263	6	10,0 11,5 - 8,7	19,3 32,4 - 11,4	15,0 17,4 - 12,9	11,6 14,3 - 9,12	22,2 30,9 - 15,5	33,7 39,8 - 27,8
DTPA	215	6	21,8 30,2 - 15,8	42,7 79,4 - 22,8	25,1 32,4 - 19,5	23,7 30,9 - 18,2	80,3 117,5 - 55,0	56,9 69,1 - 46,8
DFOA	224	6	23,0 26,3 - 19,9	20,4 30,2 - 14,0	13,9 16,6 - 11,5	18,9 24,6 - 14,6	109 138 - 87	82,2 98,7 - 69,2
ÄDHPA	182	5	22,9 26,9 - 19,5	14,8 19,0 - 11,3	10,8 15,1 - 7,9	13,0 17,0 - 9,76	103 135 - 77,6	17,7 25,1 - 12,3
CDTA	239	6	3,16 3,89 - 2,57	6,0 8,7 - 4,1	6,3 7,4 - 5,4	3,3 4,1 - 2,7	9,5 14,1 - 6,4	41,3 60,3 - 28,8
ÄDTA	229	6	27,3 32,4 - 23,0	36,6 54,6 - 24,6	25,7 33,8 - 19,5	18,1 22,4 - 14,1	48,2 63,0 - 37,0	65,3 81,3 - 51,3
BADÄ	248	6	33,9 40,7 - 28,2	64,5 88,5 - 47,0	40,3 49,0 - 33,8	35,0 47,8 - 25,1	105 132 - 83	77,6 91 - 66
BHCÄDA	205	6	31,6 42,5 - 23,6	22,0 33,3 - 15,0	24,4 38,9 - 15,1	34,2 41,7 - 28,1	68,9 85,5 - 55,5	46,2 62,2 - 34,4
HCÄTA	222	6	80,0 94,0 - 68,0	75,0 99,5 - 56,5	61,0 70,0 - 53,0	71,2 88,0 - 57,7	152 188 - 122	92,5 108,0 - 78,6
TTHA	195	6	19,8 27,0 - 14,5	87,6 121,0 - 63,5	92,2 129,0 - 66,0	44,0 57,5 - 33,1	167 209 - 135	90,5 112,0 - 74,0
HÄDTA	231	6	65,0 73,0 - 57,9	75,9 100,0 - 56,9	57,5 64,5 - 51,3	63,2 79,5 - 51,3	157 195 - 129	67,6 79,4 - 57,5
OCIDA	230	6	83,1 94,4 - 73,2	91,0 144,0 - 57,5	90,6 105,0 - 78,4	84,7 107,5 - 66,9	103 127 - 82,5	96,0 114,0 - 81,3
PA	220	6	89,6 100 - 79,8	91,0 123,0 - 67,5	100 115,0 - 88,2	89,0 108,8 - 73,3	106 134 - 83,5	110,4 133,0 - 91,6

Tabelle 7:  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung am 3. und 4. Tag (% der  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis). Am 2. Tag wurden i.p. 100  $\mu\text{M}$  Chelatbildner verabfolgt. In Klammern ist die Ausscheidung in % der Kontrolle wiedergegeben. Zahl und Gewicht der Tiere s. Tab. 8.

Chelatbildner	Faeces	Urin	Summe
ACATA	7,2 (117)	0,80 (311)	8,0
	5,8 - 8,7	0,92 - 0,74	9,46 - 6,66
DTPA	7,3 (100)	0,54 (119)	7,8
	8,7 - 6,2	0,86 - 0,34	9,0 - 6,8
DFOA	7,6 (111)	0,76 (218)	8,4
	9,7 - 5,9	0,93 - 0,65	10,4 - 6,8
ÄDHPA	11,2 (191)	1,3 (484)	12,5
	15,9 - 7,9	2,1 - 0,70	17,5 - 8,9
CDTA	7,7 (113)	0,70 (198)	8,4
	9,5 - 6,2	0,85 - 0,56	10,2 - 6,9
ÄDTA	5,5 (76)	0,58 (126)	6,1
	6,1 - 4,9	0,75 - 0,44	6,7 - 5,5
BADÄ	6,0 (82)	0,50 (117)	6,5
	7,4 - 4,8	0,78 - 0,36	8,8 - 4,96
BHCÄDA	6,25 (92)	0,45 (126)	6,7
	7,0 - 5,5	0,49 - 0,40	7,6 - 6,0

Tabelle 8:  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe (% der Kontrolle) am 4. Tag nach i.v. Injektion von trägerfreiem  $^{59}\text{Fe}$ .  
Am 2. Tag wurden  $100\ \mu\text{M}$  Chelatbildner i.p. verabreicht.

Chelat- bildner	g	N	Blut	Skelett	Leber	Milz	Muskulatur	Niere
ACATA	230	6	90,0 103 - 77,5	72,7 96,7 - 54,6	94,4 110 - 81,3	85,0 100 - 71,2	100 124 - 81,5	81,6 100 - 67
DTPA	207	6	94,4 115 - 77,5	122 165 - 71,5	116 145 - 92,4	116 143 - 94,8	165 206 - 131	113 132 - 97,2
DFOA	207	6	84,1 100 - 69,8	93,3 126 - 69,2	111 134 - 91,5	100 135 - 75	116 164 - 81,3	113 131 - 97,5
ÄDHPA	210	6	96,0 107 - 86,3	80,6 116 - 56,0	70,0 87,0 - 56,2	86,6 103 - 72,8	100 127 - 80,6	91,0 115 - 72,4
CDTA	213	6	92,2 109 - 79,5	83,0 112 - 61,6	110 129 - 95	91,7 103 - 81,8	106 128 - 88,3	116 136 - 98
ÄDTA	194	6	107 123 - 93,4	100 133 - 75,6	87,0 100 - 75,5	102 123 - 85	126 160 - 98,5	99,8 122 - 81,2
BADÄ	204	6	99,5 113 - 87,6	105 145 - 77,3	91,1 110,4 - 75,3	105 138 - 84,3	149 191 - 116	115 142 - 92,4
BHCÄDA	208	6	96,0 108 - 85,2	89,0 114 - 69,6	82,0 94,4 - 71,2	100 114 - 88,0	107 121 - 94,4	88,7 103 - 76,5

Tabelle 9:  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung am 17. und 18. Tag (% der  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis). Am 16. Tag wurden i.p. 100  $\mu\text{M}$  Chelatbildner verabfolgt. In Klammern ist die Ausscheidung in % der Kontrolle wiedergegeben. Zahl und Gewicht der Tiere s. Tab. 10.

Chelatbildner	Faeces	Urin	Summe
ACATA	0,95 (157)	0,85 (589)	1,8
	1,07 - 0,85	1,04 - 0,69	1,97 - 1,66
DTPA	0,56 (92)	Verlust	
	0,69 - 0,46		
DFOA	1,0 (167)	0,20 (141)	1,2
	1,1 - 0,91	0,27 - 0,15	1,37 - 1,07
ÄDHPA	2,1 (346)	0,28 (197)	2,4
	3,5 - 1,3	0,43 - 0,18	3,56 - 1,54
CDTA	0,57 (94)	0,18 (128)	0,75
	0,65 - 0,51	0,20 - 0,17	0,79 - 0,70
BADÄ	0,43 (71)	0,11 (79)	0,54
	0,51 - 0,37	0,15 - 0,08	0,65 - 0,45

Tabelle 10:  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe (% der Kontrolle) am 18. Tag nach i.v. Injektion von trägerfreiem  $^{59}\text{Fe}$ .  
Am 16. Tag wurden 100  $\mu\text{M}$  Chelatbildner i.p. verabreicht.

Chelat- bildner	g	N	Blut	Skelett	Leber	Milz	Muskulatur	Niere
ACATA	221	6	100 112 - 90,4	212 257 - 174	102 120 - 87	109 137 - 86	148 229 - 95,5	105 126 - 91
DTPA	211	6	100 115 - 89	269 346 - 209	129 156 - 106	107 142 - 81	163 200 - 131	123 151 - 100
DFOA	170	5	105 125 - 87,6	180 228 - 143	73 100 - 53	70,5 139 - 35,8	105 139 - 78,6	110 131 - 91,4
ÄDHPA	151	6	93,6 107 - 82	221 295 - 166	66,9 81,5- 54,8	53,7 76,5- 37,6	128 157 - 105	132 163 - 107
CDTA	242	6	103 114,5- 92,2	140 176 - 112	102 125 - 83,5	93,2 117 - 74,3	124 154 - 99,7	97,2 122 - 79
BADÄ	238	6	100 113 - 89,5	134 161 - 112	110 128 - 94,2	95,5 120 - 75,8	92 124 - 68	123 167 - 90,4

Tabelle 11:  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe (% der Kontrolle) am 16. Tag nach i.v. Injektion von trägerfreiem  $^{59}\text{Fe}$ .  
 Am 2., 4., 6. .... 14. Tag wurden je 100  $\mu\text{M}$  - insgesamt 700  $\mu\text{M}$  Chelatbildner i.p. verabreicht.  
 (im Falle von ÄDHPA der hohen Toxizität wegen nur 500  $\mu\text{M}$ ).

Chelat- bildner	g	N	Blut	Skelett	Leber	Milz	Muskulatur	Niere
ACATA	203	5	110 122 - 89,6	120 161 - 71,2	68,4 80,8 - 57,8	171 215 - 136	199 256 - 156	69,5 131 - 36,9
DTPA	187	6	100 112 - 91,1	117,5 134 - 103	110 130 - 94,6	136 187 - 99	159 238 - 105	80,9 110 - 59,3
DFOA	208	6	107 120,5 - 95,2	145 172 - 122	69,4 82,4 - 58,4	124 169 - 90,4	132 213 - 81,6	89,5 129 - 62,2
ÄDHPA	163	3	88,2 104 - 74,8	151 186 - 123	40,3 48,7 - 33,2	94,0 117 - 76,0	95,4 156 - 58,4	57,8 77,1 - 43,1

Tabelle 12:  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung am 1. und 2. Tag (% der  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis) nach gleichzeitiger i.p. Injektion von  $15 \mu\text{M FeCl}_3$  und  $100 \mu\text{M}$  Chelatbildner. In Klammern ist die Ausscheidung in % der Kontrolle wiedergegeben. Zahl und Gewicht der Tiere s. Tab. 13.

Chelat- bildner	Faeces	Urin	Summe
ACATA	8,50 (584)	78,5 (30200)	87,0
	11,4 - 6,34	81,5 - 73,7	90,3 - 83,9
DTPA	1,70 (114)	75,8 (29500)	77,5
	2,60 - 1,08	80,4 - 71,5	81,2 - 74,1
DFOA	4,20 (286)	79,8 (31600)	84,0
	4,97 - 3,59	82,7 - 76,9	86,9 - 81,0
CDTA	3,90 (267)	83,4 (32400)	87,3
	4,58 - 3,30	86,2 - 80,1	89,6 - 84,9
ÄDTA	1,47 (110)	75,8 (29500)	77,27
	3,64 - 0,59	78,6 - 73,1	80,3 - 75,0
BADÄ	1,90 (128)	73,1 (28200)	75,0
	2,88 - 1,25	67,9 - 78,7	80,5 - 70,1
HÄDTA	2,20 (153)	67,8 (26400)	70,0
	4,19 - 1,20	72,0 - 63,3	73,0 - 67,3
OCIDA	6,36 (436)	14,04 (5370)	20,4
	7,55 - 5,37	15,8 - 12,4	22,5 - 18,5

Tabelle 13: <sup>59</sup>Fe-Gehalt der Organe (% der Kontrolle) und Mutungsbereich für P = 0,05 am 2. Tag nach i.p. Injektion von 15 µM FeCl<sub>3</sub> und 100 µM Chelatbildner.

Chelat- bildner	g	N	Blut	Skelett	Leber	Milz	Muskulatur	Niere
ACATA	171	12	9,4 11,0 - 7,64	5,94 7,48 - 4,8	1,76 2,17 - 1,43	2,68 3,34 - 2,16	29,5 38,4 - 22,6	12,6 16,1 - 9,85
DTPA	164	12	36,6 43,0 - 31,0	18,2 22,1 - 14,8	5,5 6,38 - 4,84	5,64 6,55 - 4,85	50,1 59,4 - 42,3	28,5 33,6 - 24,2
DFOA	178	12	35,7 43,9 - 29,0	10,7 13,1 - 8,7	2,22 2,53 - 1,94	4,53 5,64 - 3,64	45,7 53,4 - 39,2	42,4 52,7 - 34,0
CDTA	160	12	6,53 7,9 - 5,4	3,04 3,84 - 2,42	0,94 1,09 - 0,82	1,13 1,5 - 0,85	15,8 19,4 - 12,8	20,0 24,7 - 16,1
ÄDTA	178	12	24,7 30,8 - 19,9	19,4 22,6 - 16,6	5,55 6,65 - 4,65	3,89 4,76 - 3,2	56,2 66,2 - 48,0	50,0 60,8 - 41,3
BADÄ	169	12	41,0 50,0 - 33,6	17,3 20,5 - 14,6	6,84 8,3 - 5,64	6,11 7,51 - 4,96	63,1 76,7 - 51,9	28,0 34,6 - 22,6
HÄDTA	192	6	52,4 69,5 - 39,4	35,3 41,6 - 30,0	12,7 14,45 - 11,2	9,4 10,8 - 8,2	80,6 91,5 - 71,1	38,4 44,5 - 33,2
HCÄTA	173	5	36,0 46,5 - 27,9	17,5 21,6 - 14,3	5,28 6,64 - 4,20	6,35 8,20 - 4,92	73,0 94,0 - 56,9	33,2 41,3 - 26,6
OCIDA	182	10	47,4 64,5 - 35,0	74,4 97,6 - 56,8	73,2 84,5 - 63,5	19,9 26,2 - 15,1	98,8 120 - 81,0	260 387 - 175



Tabelle 14:

$^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung am 3. und 4. Tag (% der  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis) nach i.v. Injektion von  $15\ \mu\text{M}$   $\text{FeCl}_3$ . Am 2. Tag wurden i.p.  $100\ \mu\text{M}$  Chelatbildner verabfolgt. In Klammern ist die Ausscheidung in % der Kontrolle wiedergegeben. Zahl und Gewicht der Tiere s. Tab. 15.

Chelatbildner	Faeces	Urin	Summe
ACATA	4,7 (296)	1,1 (1289)	5,8
	5,6 - 4,0	1,35 - 1,02	6,9 - 5,3
DTPA	2,1 (132)	0,50 (555)	2,6
	2,3 - 1,9	0,64 - 0,39	2,9 - 2,4
DFOA	4,26 (267)	0,59 (645)	4,9
	4,6 - 4,0	0,64 - 0,54	5,4 - 4,6
ÄDHPA	9,1 (580)	0,8 (889)	9,9
	11,7 - 7,2	1,0 - 0,65	13,5 - 7,1
CDTA	2,2 (138)	0,5 (550)	2,7
	2,6 - 1,9	0,65 - 0,39	3,3 - 2,3
ÄDTA	1,8 (115)	0,96 (1050)	2,78
	2,1 - 1,6	1,12 - 0,82	3,1 - 2,5
BADÄ	1,6 (97)	0,35 (389)	1,9
	1,9 - 1,3	0,38 - 0,34	2,2 - 1,6
BHCÄDA	4,1 (254)	0,4 (416)	4,5
	5,1 - 3,3	0,47 - 0,35	5,5 - 3,6

Tabelle 15:  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe (% der Kontrolle) am 4. Tag nach i.v. Injektion von  $15 \mu\text{M FeCl}_3$ .  
 Am 2. Tag wurden  $100 \mu\text{M Ca}$ -Chelate i.p. verabreicht.

Chelat- bildner	g	N	Blut	Skelett	Leber	Milz	Muskulatur	Niere
ACATA	188	6	123 151 - 100	112 131 - 95	72,4 83,7 - 62,6	52,1 65,2 - 41,7	146 195 - 106	100 126 - 79,5
DTPA	195	6	100 122 - 82,1	106,5 119 - 94,8	81,5 88 - 75,6	63,7 80 - 51	200 267 - 150	132 149 - 118
DFOA	200	6	91,8 117 - 72,2	107 119 - 96	86,0 93,6 - 78,7	83,1 118 - 58,5	95,5 125 - 73	104 120 - 90
ÄDHPA	191	7	126 151 - 105	75,5 87,6 - 64,6	55,5 61,2 - 50,2	76,6 100 - 58,6	115 140 - 95	68 78,1 - 59
CDTA	183	6	115 137 - 96,1	130 155 - 110	85 94 - 76,7	69,1 91,8 - 52	92,6 113 - 75,8	115 135 - 102,5
ÄDTA	199	6	117 136 - 100	119 136 - 104	85,9 94,8 - 77,7	77,6 107 - 56,2	121 150 - 97,2	100 114 - 87,9
BADÄ	192	6	114 136 - 94,4	129 148,7 - 112	89 96,8 - 81,5	70,8 90 - 55,7	110 133 - 91	108 121 - 95,6
BHCÄDA	194	6	93,3 120 - 72,4	97,7 110 - 86,9	86,9 93,2 - 81,0	93,3 117 - 74,6	102 125 - 83,7	104 117 - 92,5

Tabelle 16:  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung am 1. und 2. Tag (% der  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis) nach i.v. Injektion von  $15 \mu\text{M}$   $\text{FeCl}_3$ .  $100 \mu\text{M}$  Chelatbildner wurden i.p. unmittelbar danach verabreicht. In Klammern ist die Ausscheidung in % der Kontrolle wiedergegeben. Zahl und Gewicht der Tiere s. Tab. 17.

Chelatbildner	Faeces	Urin	Summe
ACATA	9,5 (496)	17,0 (11500)	26,5
	11,6 - 7,7	19,7 - 14,6	31,0 - 22,3
DTPA	1,8 (95)	14,7 (9905)	16,5
	2,5 - 1,3	16,1 - 13,3	18,5 - 14,6
DFOA	8,3 (431)	28,8 (19200)	37,1
	9,6 - 7,0	33,3 - 24,4	42,8 - 33,1
CDTA	2,8 (147)	3,3 (2190)	6,1
	3,9 - 2,0	3,9 - 2,8	7,5 - 5,0
BADÄ	1,4 (76)	13,7 (9270)	15,1
	2,1 - 1,0	15,8 - 11,9	16,6 - 13,7

Tabelle 17: <sup>59</sup>Fe-Gehalt der Organe (% der Kontrolle) am 2. Tag nach i.v. Injektion von 15 µM FeCl<sub>3</sub>. 100 µM Chelatbildner wurden unmittelbar danach i.p. verabreicht.

Chelat- bildner	g	N	Blut	Skelett	Leber	Milz	Muskulatur	Niere
ACATA	137	6	96,0 129 - 71,2	64,8 87,0 - 47,9	55,5 63,5 - 48,4	82,5 103 - 65,9	63,5 100 - 39,4	70,8 89,0 - 56,2
DTPA	137	5	120 164 - 87,5	74,0 90,4 - 60,8	79,4 88,2 - 71,5	66,3 77,8 - 56,6	93,2 137 - 63,5	62,5 74,6 - 52,4
DFOA	178	6	93,7 126,5 - 69,5	63,4 82,6 - 48,5	45,7 56,7 - 36,8	59,8 72,5 - 48,3	69,2 103 - 47,4	53,2 61,2 - 46,0
CDTA	153	6	133 179 - 99,0	93,7 115,4 - 76,0	89,0 98,0 - 81,1	75,5 90,7 - 62,8	86,3 125 - 39,7	78,5 94,5 - 65,2
BADÄ	130	4	100 140,6 - 71,0	70,5 103,5 - 48,2	85,2 96,5 - 77,0	75,6 100 - 56,1	91,1 144,5 - 57,3	70,7 94,6 - 53,0

Tabelle 18:  $^{59}\text{Fe}$ -Ausscheidung mit Urin und Faeces am 1. und 2. Tag (% der  $^{59}\text{Fe}$ -Dosis) nach i.v. Injektion von  $15 \mu\text{M FeCl}_3$  und  $100 \mu\text{M Ca}$ -Chelat. Injektion der Lösung sofort (a) oder 48 Std. nach Herstellung (b).

Chelat- bildner	(a)	(b)
ACATA	64,0 (3260)	72,4 (3670)
	72,4 - 56,7	79,4 - 66,0
DTPA	66,0 (3340)	71,3 (3640)
	70,1 - 61,6	79,5 - 64,7
DFOA	70,4 (3590)	67,5 (3420)
	78,3 - 65,4	69,5 - 65,6
CDTA	62,5 (3670)	75,0 (3800)
	75,9 - 70,0	78,9 - 71,2
BADÄ	65,0 (3300)	65,8 (3340)
	71,2 - 59,3	70,0 - 61,9

Tabelle 19: <sup>59</sup>Fe-Gehalt der Organe (in % der Kontrolle) am 4. Tag nach i.v. Injektion von trägerfreiem <sup>59</sup>Fe.  
Am 2. Tag wurden 100 µM Chelat i.p. verabreicht.

Chelat	g	N	Blut	Skelett	Leber	Milz	Muskulatur	Niere
Ca-DTPA	222	4	97,6 133 - 71,5	100 123 - 81,2	91,1 112,4 - 73,9	97,2 120,5 - 82,2	91,4 171 - 48,5	104 138 - 77,8
Fe-DTPA	214	5	102 135 - 77,5	100 124 - 80,5	96,8 111 - 84,4	115 125 - 82,0	93,3 151 - 57,6	95,9 139 - 66,0
DFOA	218	5	107 142 - 80,6	77,5 96,4 - 62,4	92,8 111 - 77,5	114 130 - 107	103 151 - 68,7	99,5 122 - 81,0
Fe-DFOA	218	4	95,5 128 - 71,3	79,5 102 - 61,6	90,5 108 - 75,8	78,5 101 - 61,1	94,2 147 - 60,3	100 127 - 79,2

Abb. 1:  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe in Abhängigkeit von der  
Zeit. Mutungsbereiche für  $P = 0,05$

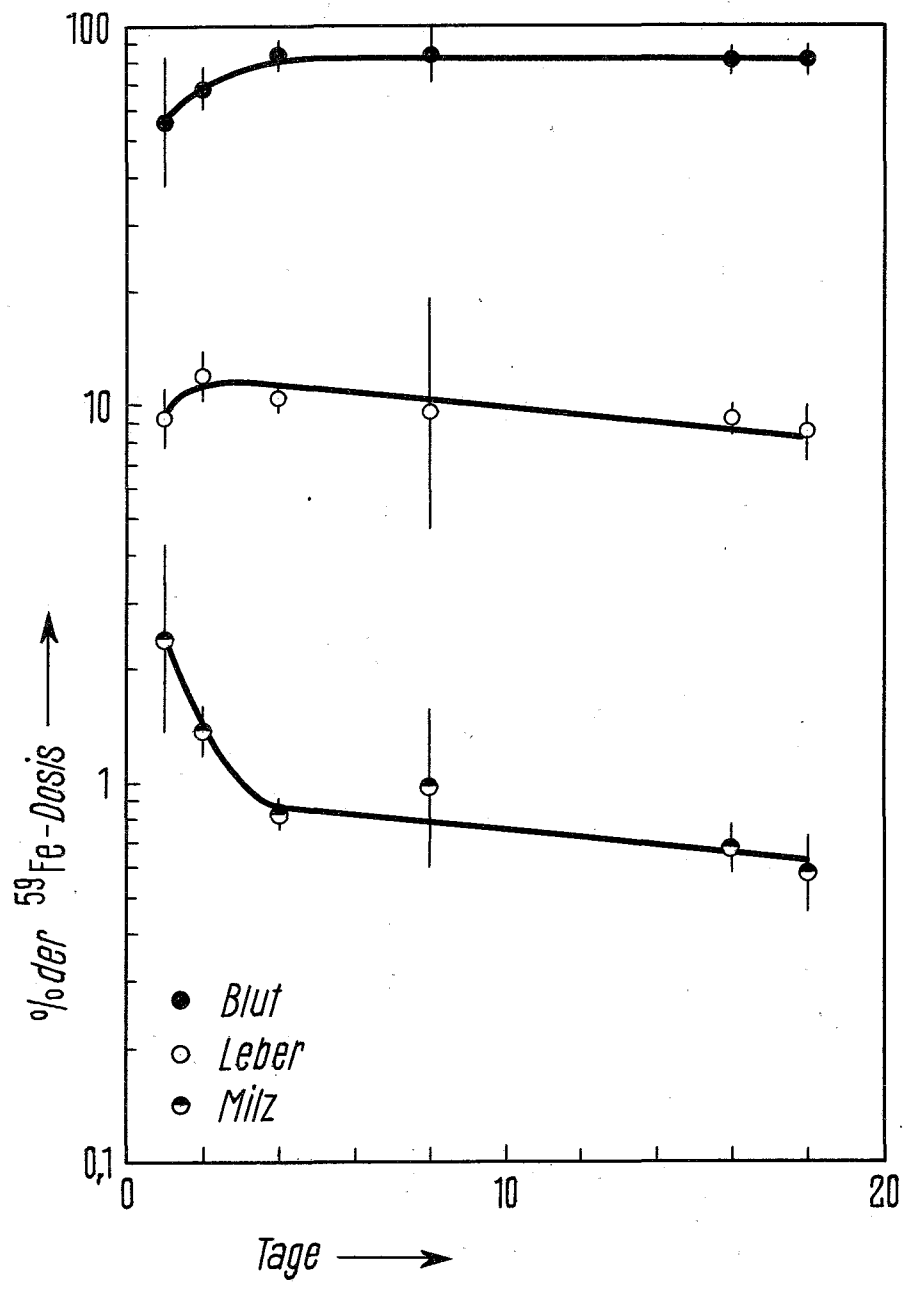




Abb. 2:  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe in Abhängigkeit von der  
Zeit. Mutungsbereiche für  $P = 0,05$

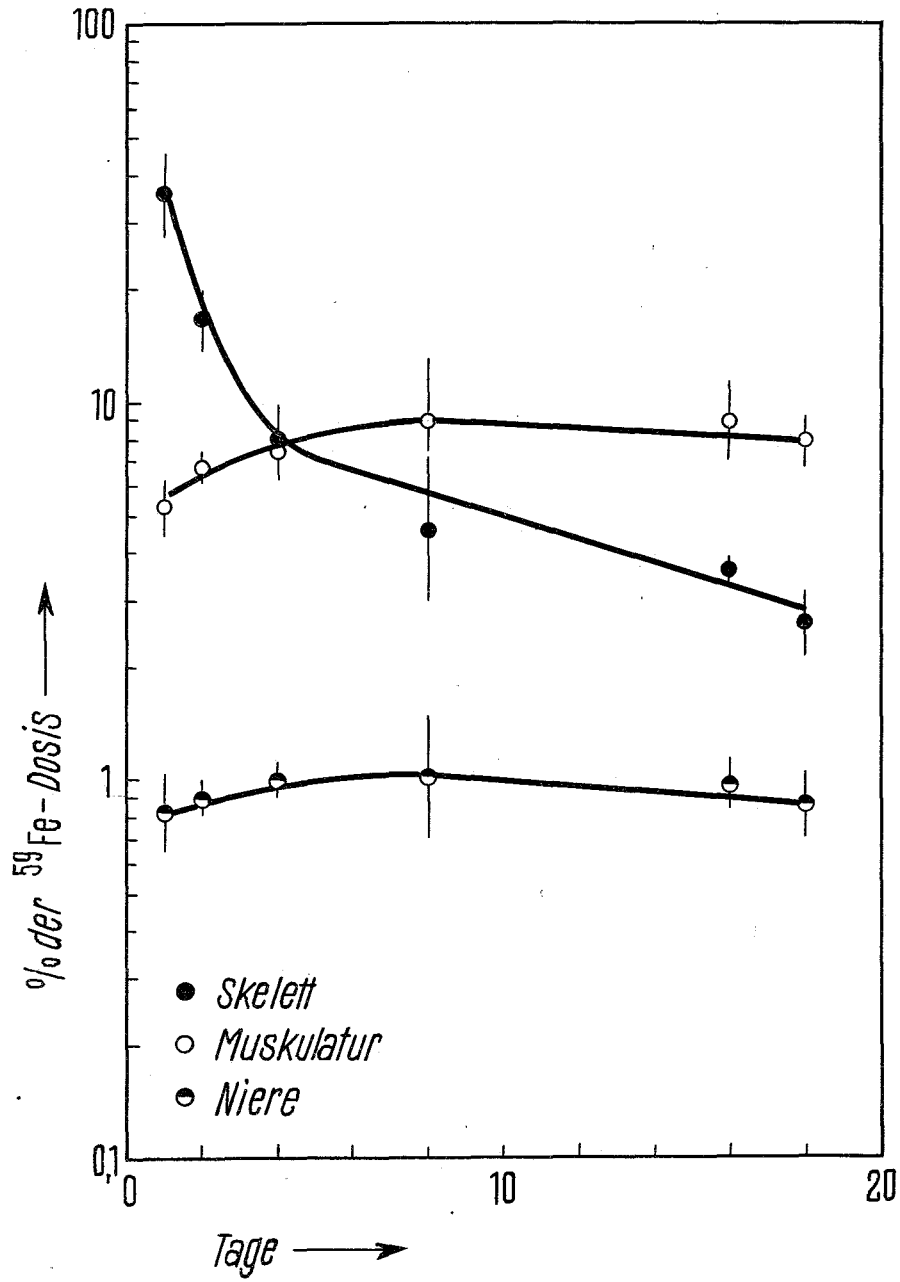


Abb. 3:  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe in Abhängigkeit von der Zeit und bei isotopischer Verdünnung mit  $15\ \mu\text{M}$   $\text{FeCl}_3$ . Mutungsbereiche für  $P = 0,05$

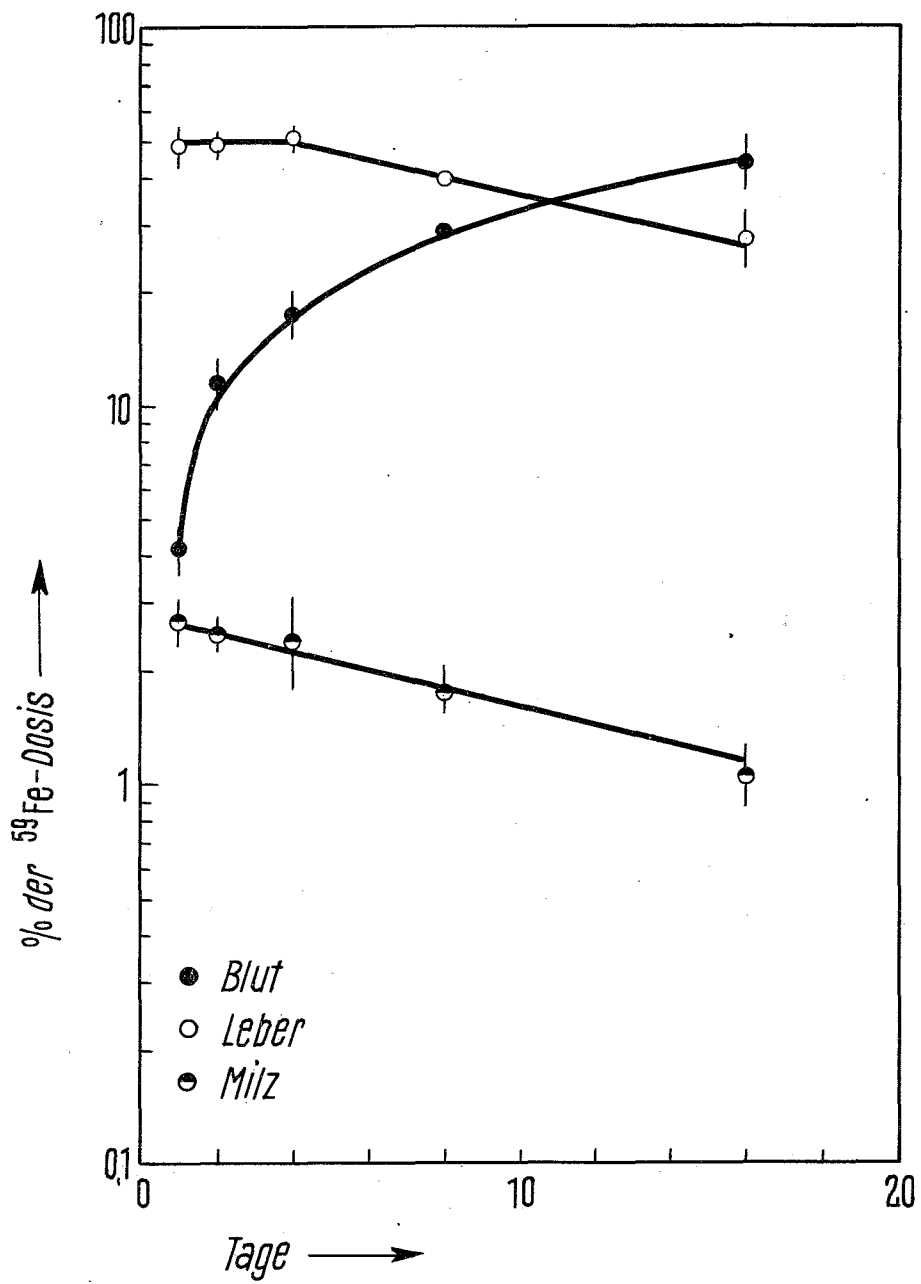


Abb. 4:  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe in Abhängigkeit von der Zeit und bei isotopischer Verdünnung mit  $15\ \mu\text{M}$   $\text{FeCl}_3$ . Mutungsbereiche für  $P = 0,05$

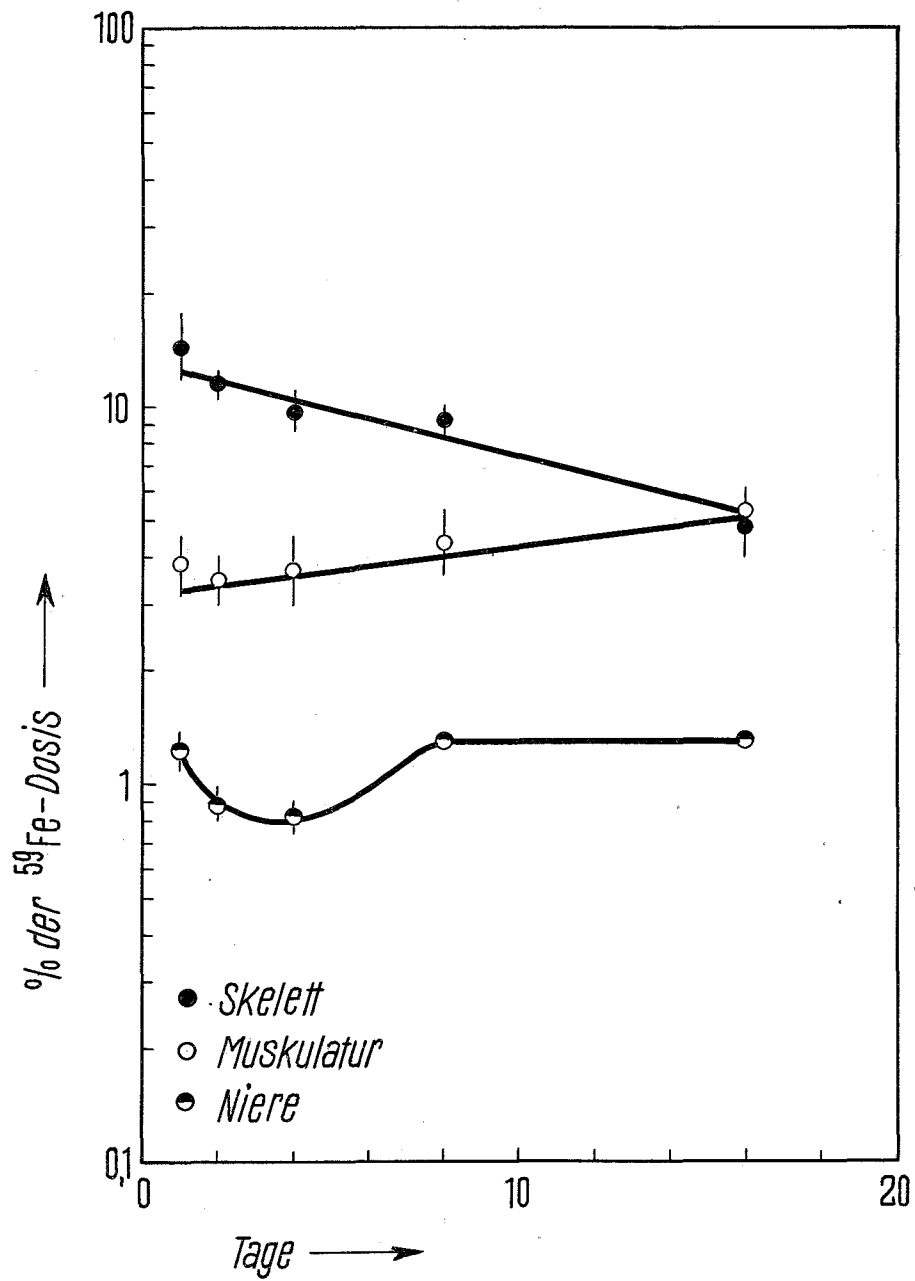


Abb. 5:  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe am 18. Tag in Abhängigkeit von der Trägerdosis. Mutungsbereiche für  $P = 0,05$

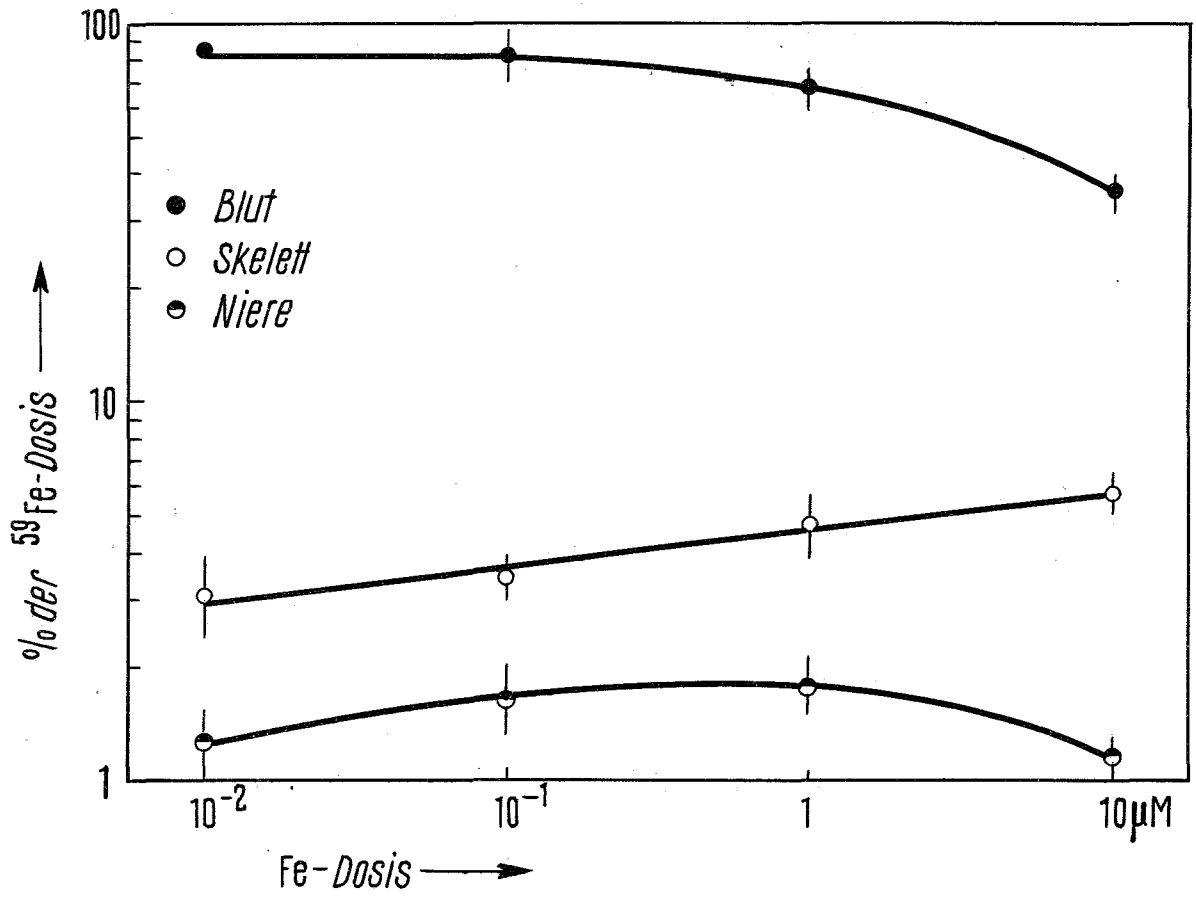




Abb. 6:  $^{59}\text{Fe}$ -Gehalt der Organe am 18. Tag in Abhängig-  
keit von der Trägerdosis. Mutungsbereiche für  
 $P = 0,05$

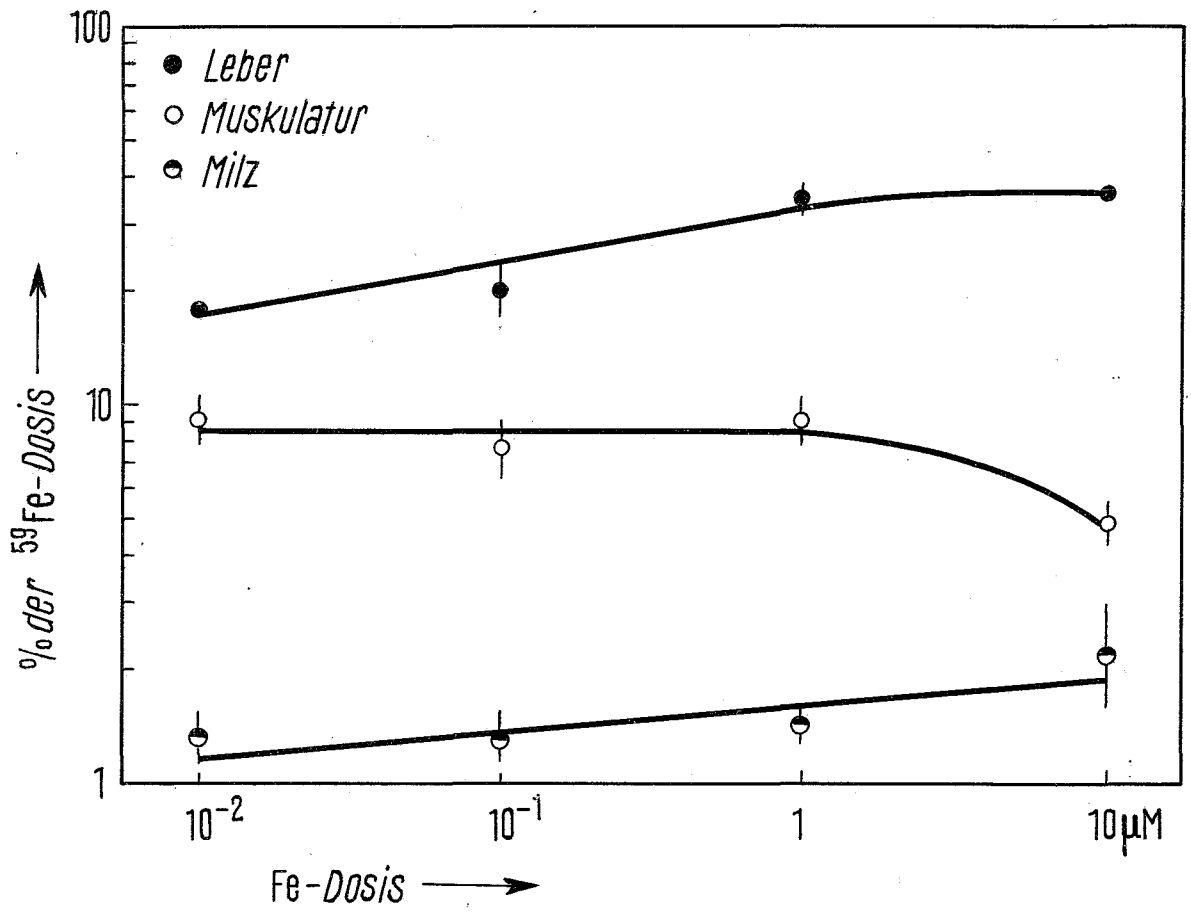


Abb. 7: Abhängigkeit der Chelateffektivität beim träger-  
freien <sup>59</sup>Fe (Gesamtretention = 100 %-Ausscheidung)  
von der effektiven Stabilitätskonstante E.  
Mutungsbereiche für P = 0,05

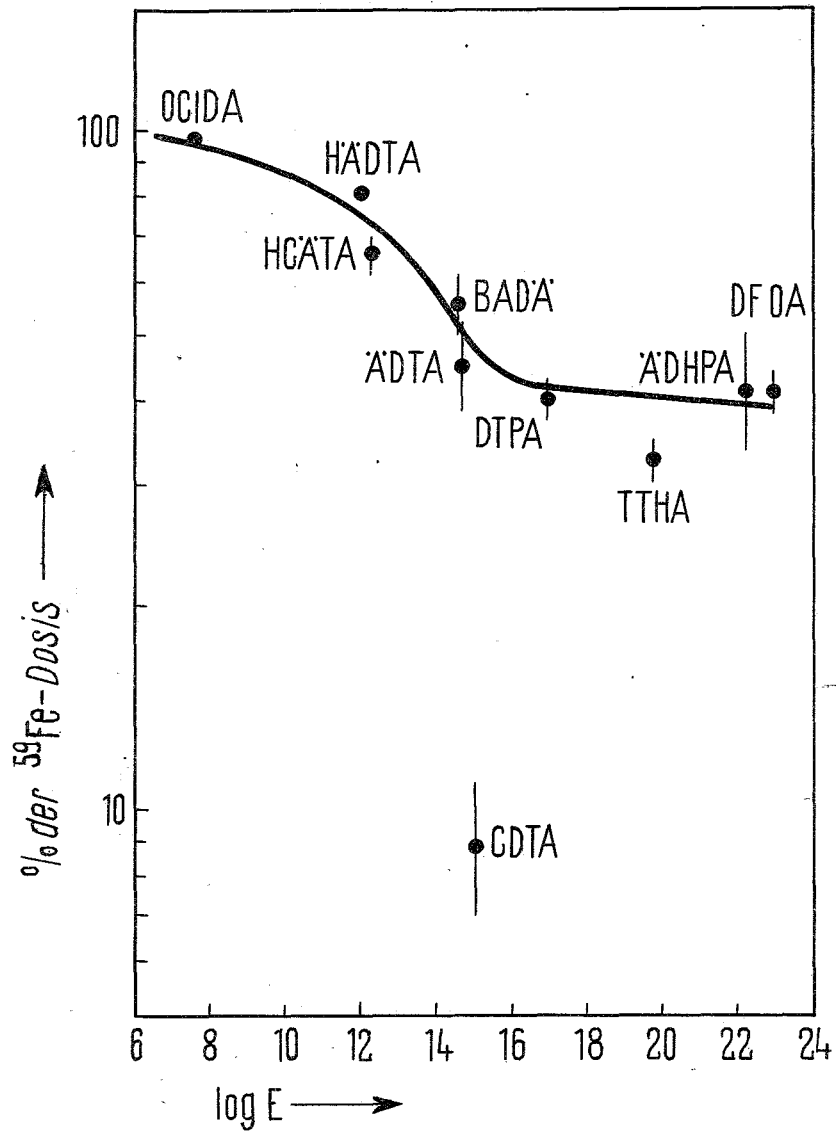


Abb. 8: Abhängigkeit der Chelateffektivität beim träger-  
freien  $^{59}\text{Fe}$  (Blut) von der effektiven Stabilitäts-  
konstante E. Mutungsbereiche für  $P = 0,05$

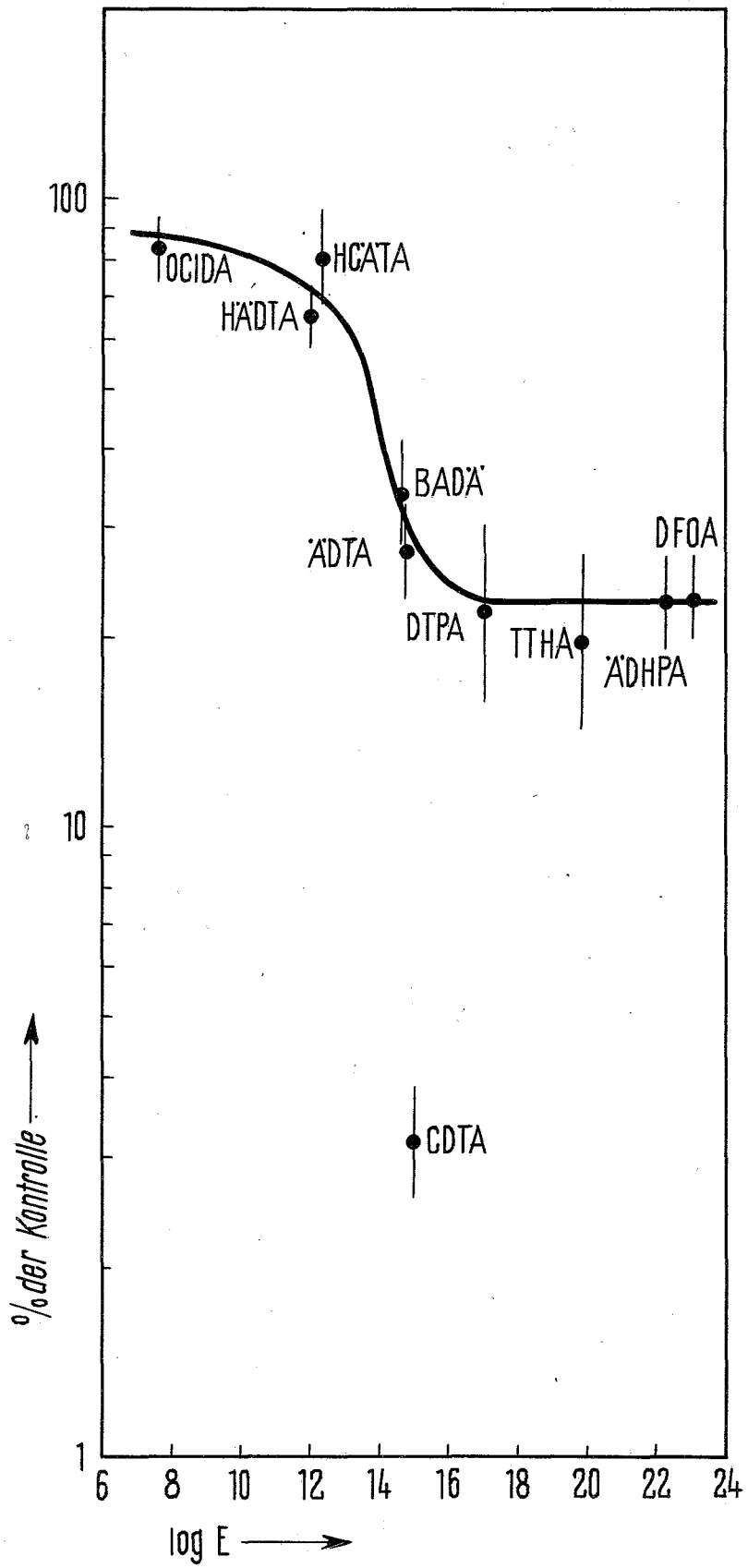


Abb. 9: Abhängigkeit der Chelateffektivität beim trägerfreien  $^{59}\text{Fe}$  (Skelett) von der effektiven Stabilitätskonstante E. Mutungsbereiche für  $P = 0,05$

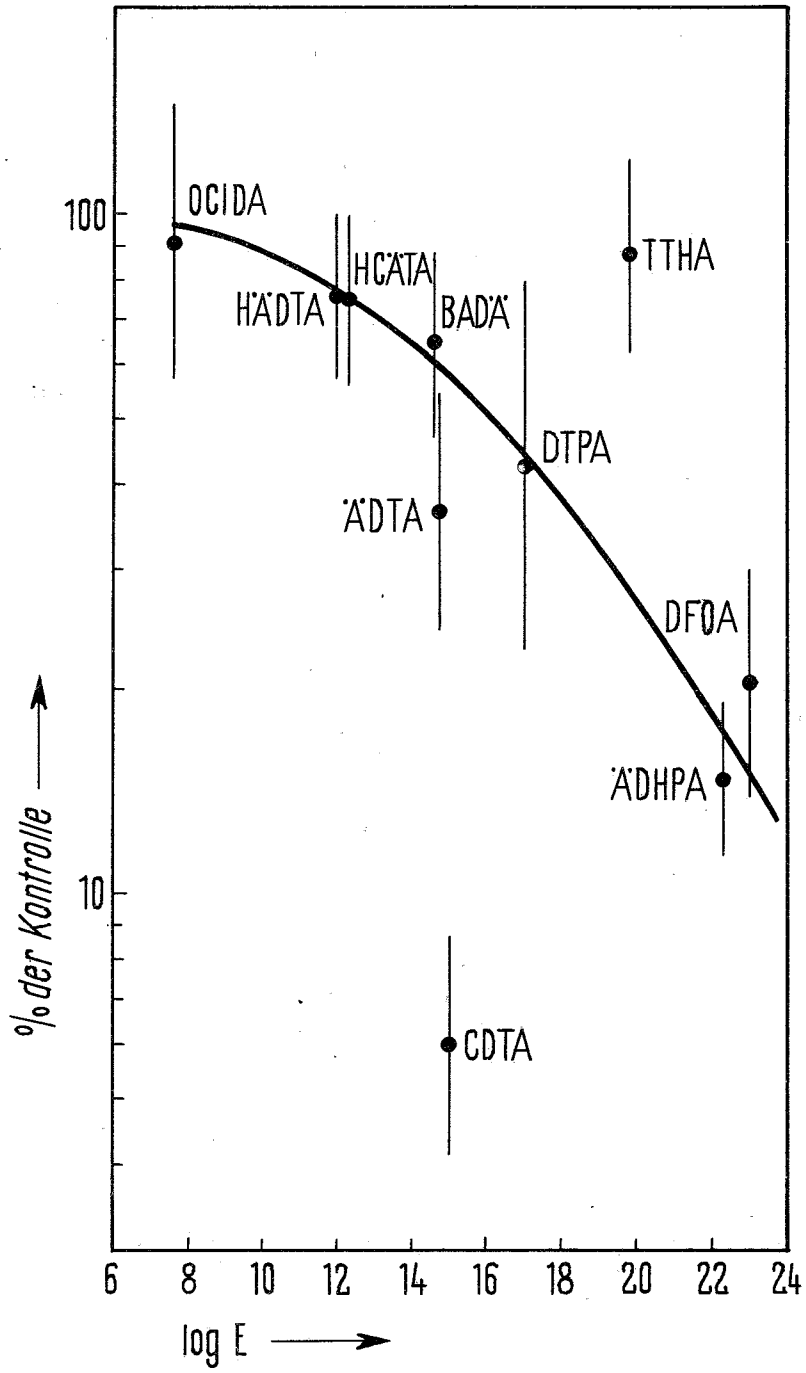




Abb. 10: Abhängigkeit der Chelateffektivität beim trägerfreien  $^{59}\text{Fe}$  (Leber) von der effektiven Stabilitätskonstante E. Mutungsbereiche für  $P = 0,05$

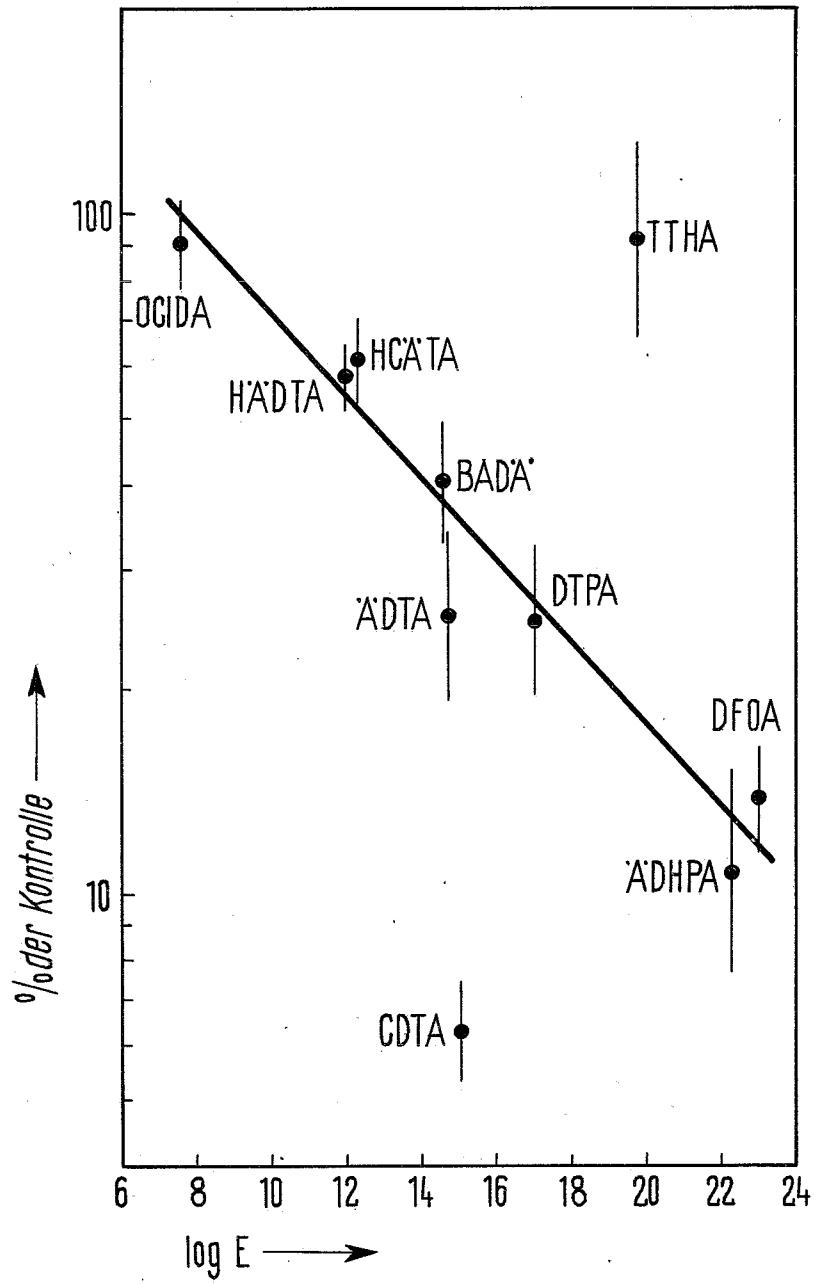


Abb. 11: Abhängigkeit der Chelateffektivität beim trägerfreien  $^{59}\text{Fe}$  (Nieren) von der effektiven Stabilitätskonstante E. Mutungsbereiche für  $P = 0,05$

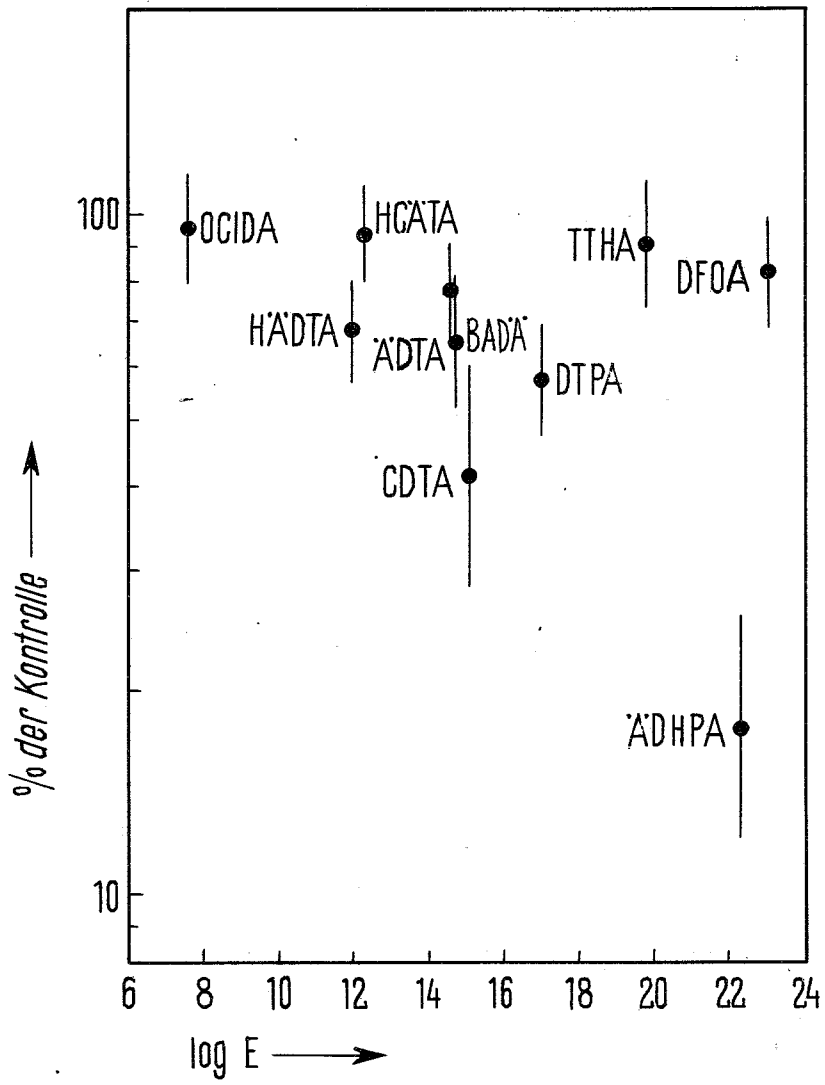


Abb. 12: Abhängigkeit der Chelateffektivität bei isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  (15  $\mu\text{M}$ ) (Gesamtretention = 100 % - Ausscheidung) von der effektiven Stabilitätskonstante E. Mutungsbereiche für  $P = 0,05$

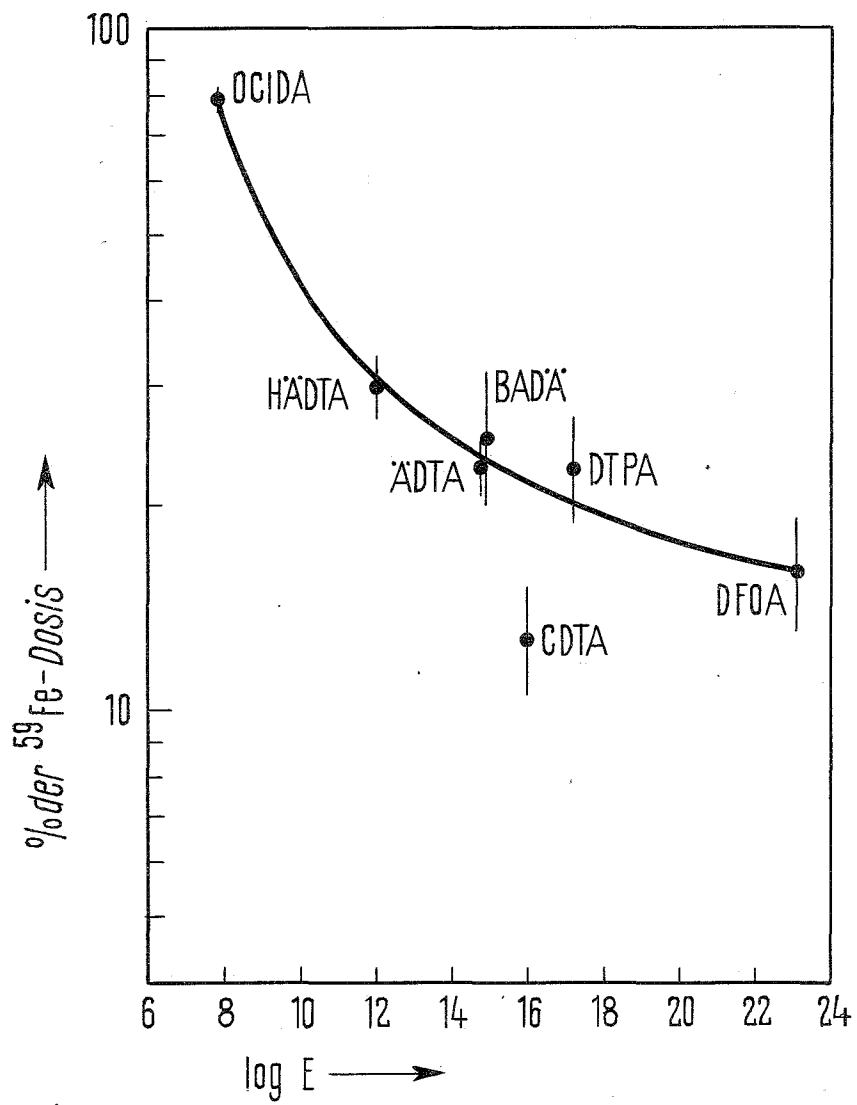


Abb. 13: Abhängigkeit der Chelateffektivität bei isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  ( $15 \mu\text{M}$ ) (Blut) von der effektiven Stabilitätskonstante E. Mutungsbe-  
reiche für  $P = 0,05$

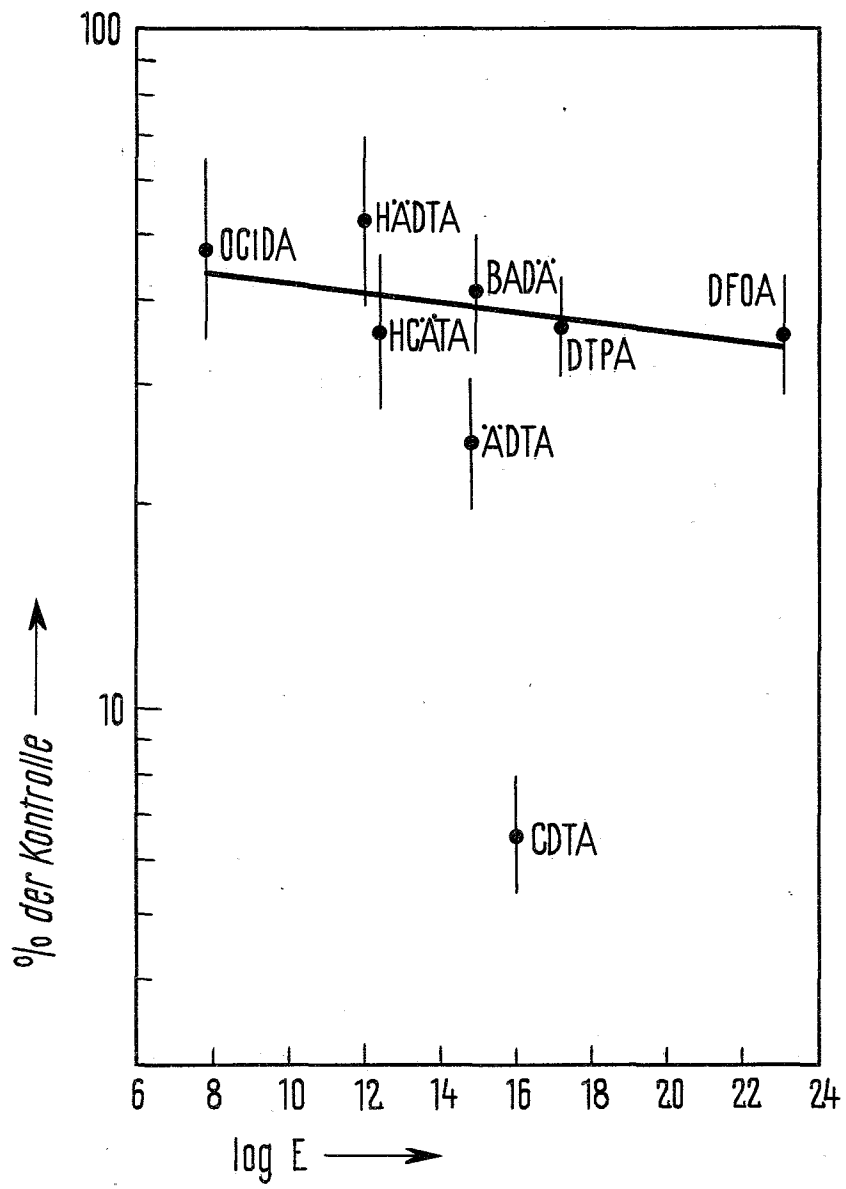




Abb. 14: Abhängigkeit der Chelateffektivität bei isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  ( $15 \mu\text{M}$ ) (Skelett) von der effektiven Stabilitätskonstante E. Mutungsbe-  
reiche für  $P = 0,05$

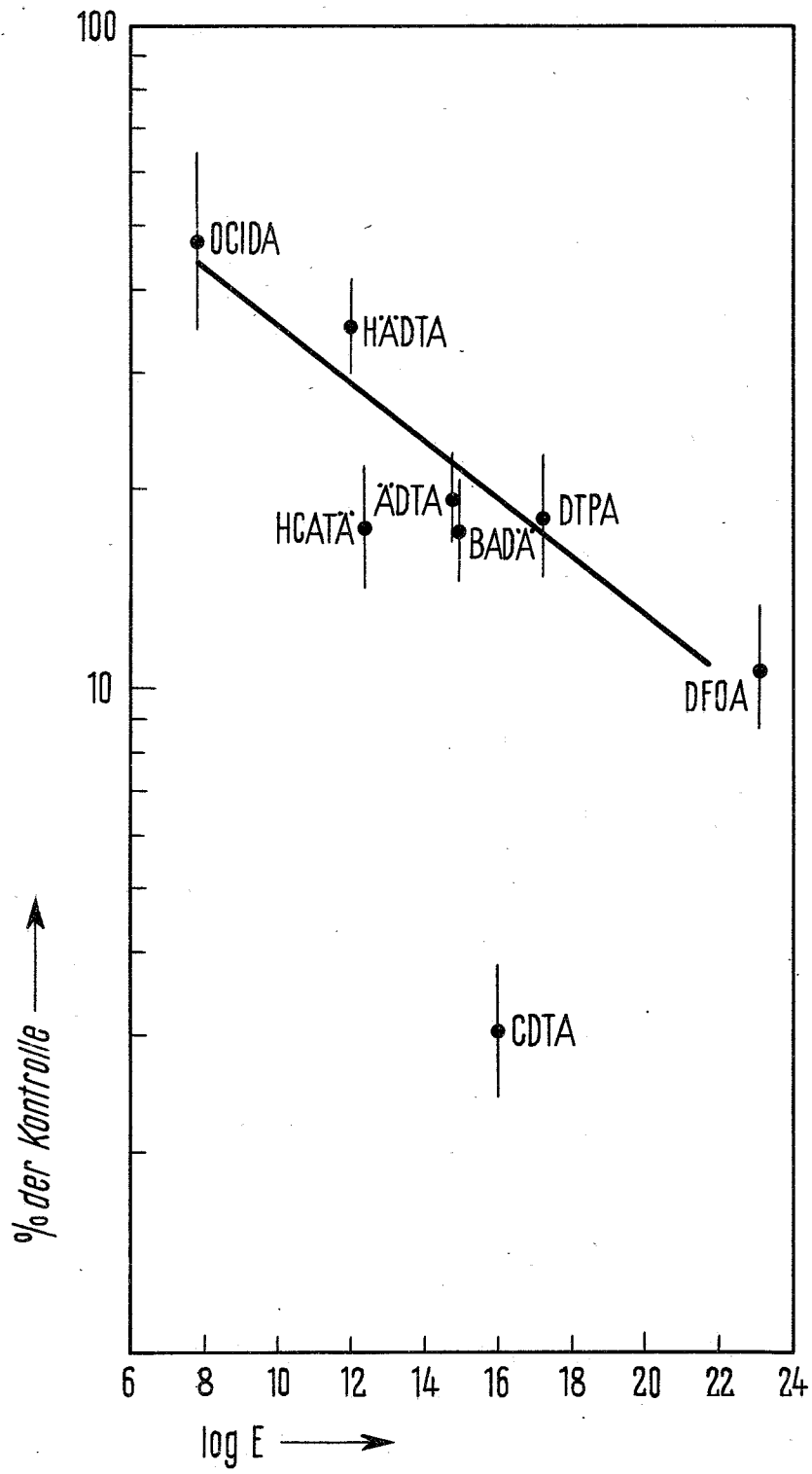


Abb. 15: Abhängigkeit der Chelateffektivität bei isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  ( $15 \mu\text{M}$ ) (Leber) von der effektiven Stabilitätskonstante E. Mutungsbe-  
reiche für  $P = 0,05$

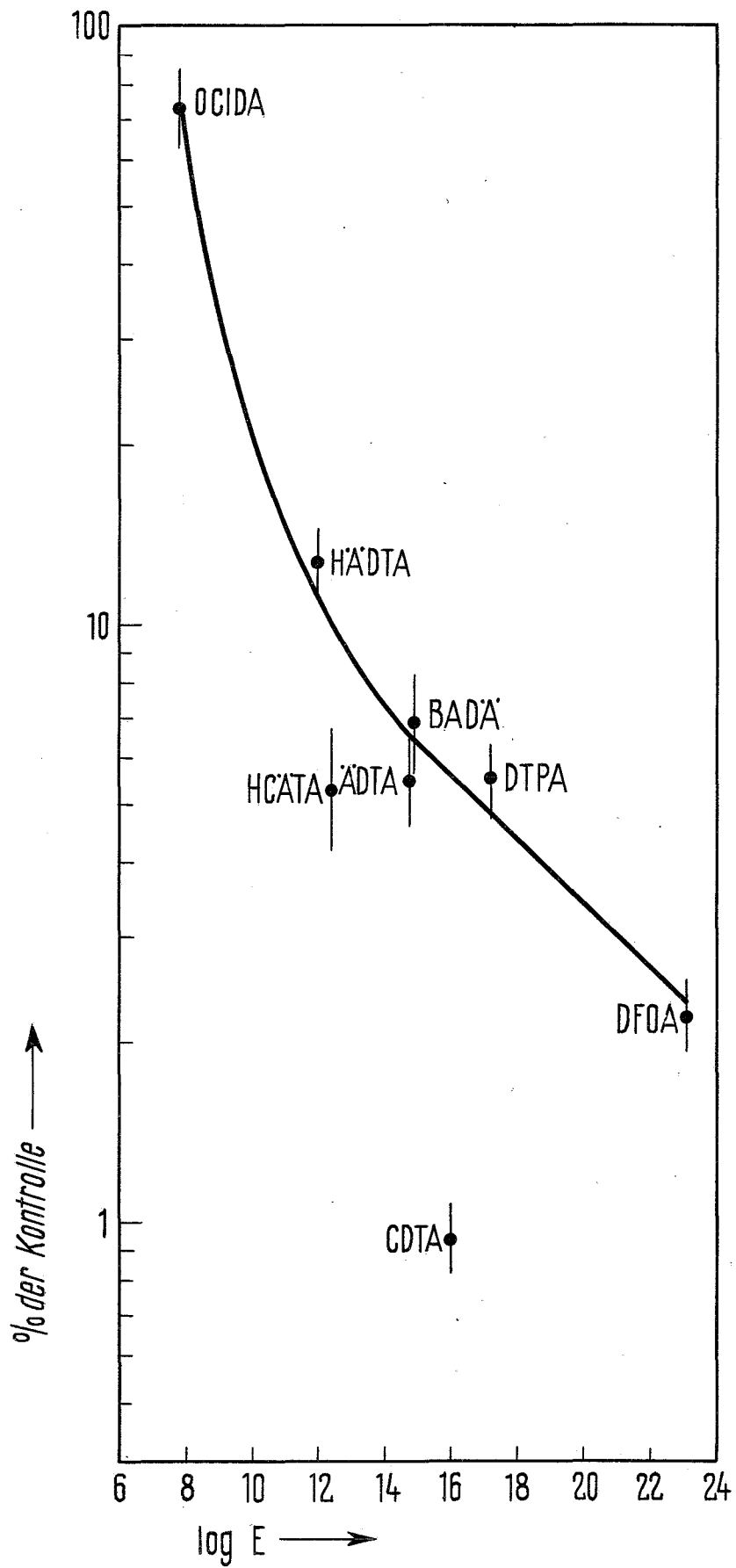


Abb. 16: Abhängigkeit der Chelateffektivität bei isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  ( $15 \mu\text{M}$ ) (Nieren) von der effektiven Stabilitätskonstante E. Mutungsbereiche für  $P = 0,05$

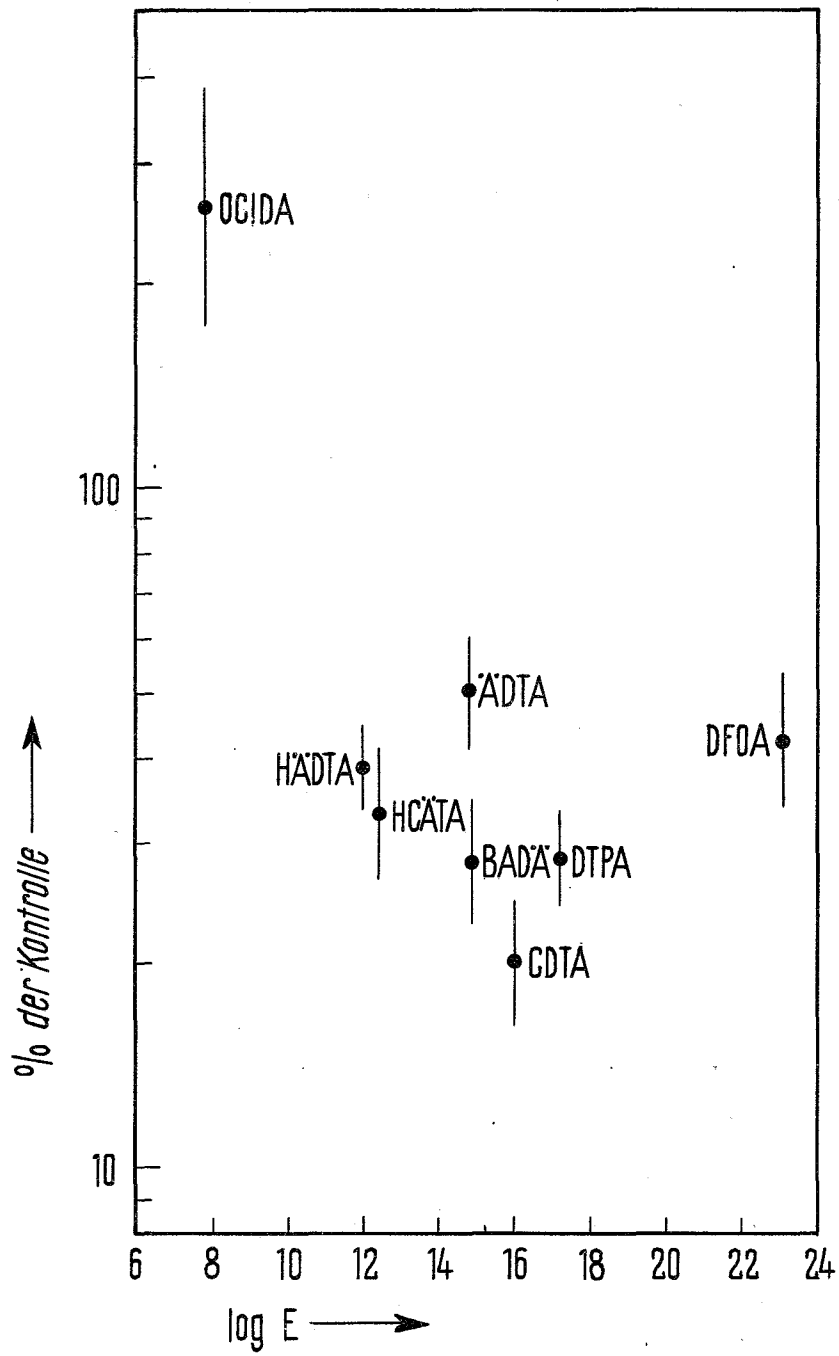


Abb. 17: Abhängigkeit der Chelateffektivität bei isotopisch verdünntem  $^{59}\text{Fe}$  ( $15 \mu\text{M}$ ) (Muskulatur) von der effektiven Stabilitätskonstante E. Mutungsbereiche für  $P = 0,05$

