

KFK-200

**KERNFORSCHUNGSZENTRUM
KARLSRUHE**

September 1963

KFK 200

Institut für Strahlenbiologie

Der Einfluß von Chelatbildnern
auf das Verhalten von Quecksilber im Organismus

V. Nigrović

Gesellschaft für Kernforschung m. b. H.
Zentralbücherei

17. APR 1964



GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.
KARLSRUHE



Sonderdruck aus:

» ARZNEIMITTEL-FORSCHUNG «
» DRUG RESEARCH «
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) **13**, 787—792 (1965)
Editio Cantor / Aulendorf i. Württ.

Aus dem Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe

Der Einfluß von Chelatbildnern auf das Verhalten von Quecksilber im Organismus

Von

V. Nigrović

Gesellschaft für Kernforschung m.b.H.
Zentralbücherei

7. Apr 1964

Aus dem Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe
**Der Einfluß von Chelatbildnern auf das Verhalten von
Quecksilber im Organismus**

Von V. Nigrovic

Nach den ersten günstigen Erfahrungen bei der Behandlung von Quecksilbervergiftungen mit 2:5-Dimercaptopropanol (BAL) wurden auch andere Chelatbildner, insbesondere die Äthylendiamintetraessigsäure (ADTA), sowohl tierexperimentell als auch klinisch untersucht. Während für BAL und BAL-Glukosid [1] im Tierversuch eine Verminderung des Hg-Gehaltes der Nieren und eine erhöhte Hg-Ausscheidung mit dem Urin nachgewiesen werden konnten, sind die Ergebnisse bei der Anwendung von ADTA nicht eindeutig: Spode [21] berichtet über eine Erniedrigung des ^{203}Hg -Gehaltes der Nieren bei Mäusen, Turrian et al. [23] konnten dagegen bei Ratten eine Beeinflussung der ^{203}Hg -Ausscheidung mit dem Urin nicht nachweisen. Die Hg-Toxizität, wie sie sich in der LD_{50} manifestiert, blieb bei niedrigen ADTA-Dosen ($< 450 \mu\text{M}/\text{kg ip.}$) unbeeinflusst, bei höherer Dosierung ($1,5 \text{ mM}/\text{kg ip.}$) resultierte sogar eine Potenzierung der Hg-Toxizität. Die mit ADTA behandelten Tiere wiesen eine erhöhte Hg-Konzentration im Blut auf, die im wesentlichen auf eine Zunahme der Hg-Konzentration in den Erythrocyten zurückzuführen ist. Auch die klinische Anwendung von ADTA bei Kranken mit chronischer Quecksilbervergiftung wird unterschiedlich bewertet: Bell et al. [4] konnten eine vermehrte Hg-Ausscheidung nach BAL-, nicht aber nach ADTA-Behandlung beobachten; Woodcock [24] berichtet im Gegensatz hierzu über eine vermehrte Hg-Ausscheidung bei mit ADTA behandelten Patienten. Eine Reduktion der Hg-Toxizität konnte in letzter Zeit für N-acetyl-DL-Penicillinamin [3] und für DL- α -Liponsäure [11] nachgewiesen werden. Der Einfluß beider Substanzen auf das Verteilungsmuster wurde noch nicht untersucht. Die vorliegende Arbeit stellt sich die Aufgabe, die Wirkung einer größeren Zahl von Chelatbildnern unter identischen Bedingungen auf die Verteilung von Quecksilber zu prüfen. Unter Berücksichtigung der Besonderheiten im koordinations-chemischen Verhalten von Quecksilber — die lineare Anordnung von zwei stärkeren Haftstellen bei einer maximalen Koordinationszahl von 4 [19] und die höhere Affinität zu Stickstoff und Schwefel — wurden folgende Chelatbildner untersucht:

1. Äthylendiamintetraessigsäure (ADTA)
2. Hexamethylendiamintetraessigsäure (HMDTA)
3. 2'-Bis[di(carboxymethyl)amino]diäthyläther (BADA)
4. 2'-Bis[di(carboxymethyl)amino]diäthylsulfid (BADS)
5. 2'-Bis[di(carboxymethyl)amino]diäthyldisulfid (BADDS)
6. Diäthylentriaminpentaessigsäure (DTPA)
7. 1:2-Bis[di(carboxymethyl)aminoäthoxy]äthan (BAÄ)
8. 1:2-Bis[di(carboxymethyl)aminoäthylthio]äthan (BATA)
9. Triäthylentetraaminhexaessigsäure (TTHA)
10. 1:2-Diaminocyclohexantetraessigsäure (DCHTA)
11. Äthylendiamindiessigsäure (ADDA)
12. Iminodiessigsäure (IDA)
13. 2-Merkaptoäthyliminodiessigsäure (MAIDA)*
14. 2:5-Dimercaptopropanol (BAL)
15. 2:5-Dimercaptopropionsäure (DMP)
16. 2:5-Dimercaptopropanol-(1)-sulfosäure (DMPS)
17. 5-Merkaptoimidoxin (MP)
18. D-Penicillinamin (PA)
19. α -Liponsäure (LS)
20. Triäthylentetraamin (trien)
21. Tetrakis-(2-aminoäthyl)äthylendiamin (penten)

*) Wegen der kleinen uns zur Verfügung stehenden Menge mußte die Zahl der Versuche beschränkt bleiben.

Methodik

Als Versuchstiere dienten weibliche Albino-Ratten des Heiligenberg-Inzuchtstammes (8–12 Wochen alt, mittleres Gewicht $141 \pm 30,0 \text{ g}$ (Standardabweichung)), denen in $0,5 \text{ ml}$ $2\text{--}5 \mu\text{C}$ $^{203}\text{Hg}(\text{II})\text{Nitrat}$ in die Schwanzvene injiziert wurden. Die spezifische Aktivität der einzelnen Chargen betrug $67\text{--}225 \text{ mc/g}$. Der pH der Injektionslösung wurde auf $\sim 2,5$ eingestellt. Gegebenenfalls wurde ^{203}Hg durch Zusatz von nichtradioaktivem $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ isotopisch verdünnt. Die Chelatbildner 1–15 wurden in Form ihrer Calcium-Natrium-Chelate verabreicht.

Die Tiere wurden durch Ausbluten in Äther-Narkose getötet, nachdem vorher Blut aus der Vena cava inf. mit Hilfe einer heparinisierten Spritze entnommen wurde. Anschließend wurden Leber, Milz, beide Nieren, Femores sowie ein Stück des Musc. quadriceps femoris entnommen. Zur Gewinnung von Plasma wurde das Blut zentrifugiert (15 min bei 3000 U/min). Die Aktivitätsbestimmungen erfolgten wegen der bekannt hohen Flüchtigkeit von Hg an nicht veräschten Organen bzw. aliquoten Teilen der Leber in Al-Schälchen mit Hilfe eines KJ(Tl)-Szintillationskristalls. Eine Korrektur bezüglich der Selbstabsorption war wegen der relativ harten γ -Strahlung ($E_{\text{max}} = 0,28 \text{ MeV}$) nicht notwendig. Die in den Organen gefundene Radioaktivität wurde in % der insgesamt injizierten Aktivitätsmenge ausgedrückt, die auf Grund von parallel durchgeführten Messungen von Standardproben bestimmt wurde. Die Aktivität des gesamten Skeletts wurde dem 20fachen Wert der in einem Femur gefundenen Aktivität gleichgesetzt; das Gewicht der Muskulatur wurde mit 45% des Körpergewichts, das des Blutes mit 8% , des Plasmas (auf Grund von Hamatokritbestimmungen) mit $4,4\%$ angenommen. Die statistischen Berechnungen führten wir mit logarithmisch transformierten Einzelwerten durch. Im einzelnen verwendeten wir die Methoden der Varianz- und Regressionsanalyse.

Ergebnisse

Tab. 1 gibt die Ergebnisse der ersten Versuchsserie wieder, in der die Chelatbildner zur Erzielung einer maximalen Wirkung gleichzeitig mit trägerfreiem ^{203}Hg iv. appliziert wurden. Die Ergebnisse der zweiten Versuchsserie, in der die Chelatbildner nach 2 min ip. verabreicht wurden, sind in Tab. 2 zusammengestellt.

Bei der Betrachtung der Kontrollwerte fällt eine sehr starke Streuung auf, die besonders ausgeprägt in den Nieren ist. Als Ursache für diese statistisch gesicherte, auffallend hohe und bei anderen Radionukliden nicht beobachtete Heterogenität könnte ein Einfluß des Körpergewichts der Tiere, des pH sowie der spezifischen Aktivität — Faktoren, die von Versuch zu Versuch in gewissem Maße variierten — durch spezielle Versuche ausgeschlossen werden. Plausibel erscheint dagegen eine vom Methodischen ausgehende Erklärung: Es stellte sich nämlich heraus, daß die Flüchtigkeit des Hg so hoch ist, daß in den Standardproben, die zur Bestimmung der injizierten Gesamtaktivität dienten, bereits bei Zimmertemperatur ein Verlust an Aktivität eintritt, der z. B. für 12 h bis zu 50% betragen kann. Demgegenüber bleibt die Aktivität der Organproben über längere Zeit konstant. Da die Bezugszahl somit keine konstante Größe hat, werden die in Frage stehende Variabilität verständlich sowie die Tatsache, daß die sog. Bilanz in einigen Versuchsgruppen $> 100\%$ der injizierten ^{203}Hg -Menge beträgt. Da jeder einzelne Versuch eine Kontrollgruppe enthielt, die Proben eines gegebenen Organs eines gegebenen Versuchs immer in einer relativ kurzen Zeitspanne gemessen wurden und da die Aktivität der Standardproben gleichzeitig bestimmt wurde, sind die Effektivitäten der Chelatbildner definiert als

$$\frac{\text{^{203}Hg-Gehalt des Organs nach Chelat-Applikation}}{\text{^{203}Hg-Gehalt des Organs bei Kontrolltieren}} \times 100.$$

miteinander durchaus vergleichbar.

Trotz der starken Streuung der Werte ist es unverkennbar, daß die Nieren den überwiegenden Teil des ^{203}Hg binden und damit das kritische Organ darstellen, während der ^{203}Hg -Gehalt der übrigen Organe relativ klein bleibt. Das einzige Organ, dessen ^{203}Hg -Gehalt von allen Chelatbildnern gesichert reduziert wird, sind die Nieren. Als besonders wirksam, mit einer Reduktion auf weniger als 50% des Kontrollwerts, erwiesen sich MAIDA, MP und BADDS. Der ^{203}Hg -Gehalt der übrigen Organe wird dagegen durch

die Chelatbildner, wenn überhaupt, so in nur geringem Maße, zum Teil auch im Sinne einer erhöhten Ablagerung beeinflusst. Grundsätzlich liegen die gleichen Verhältnisse auch in der zweiten Versuchsserie vor, in der die Chelatbildner kurzfristig nach Injektion von ^{203}Hg ip. verabreicht wurden (Tab. 2). Auch hier war MAIDA den anderen untersuchten Chelatbildnern deutlich überlegen.

Die mehrmalige Verabreichung von BADDs oder DTPA (Tab. 3) zu noch späteren Zeitpunkten läßt eine deutliche Wirkung erkennen, wobei die Effektivität der BADDs größer ist als bei sofortiger Verabreichung, während bei DTPA dies nicht der Fall ist. Der gegenüber der Kontrolle erhöhte ^{203}Hg -Gehalt der Leber ist weniger ausgeprägt als bei gleichzeitiger Verabreichung der Chelatbildner und auch statistisch nicht mehr signifikant; die Gleichsinnigkeit der Werte legt jedoch die Annahme nahe, daß es sich hierbei doch um einen realen Befund handelt. Der ^{203}Hg -Gehalt des Skeletts bleibt praktisch unverändert.

Zur Klärung der Frage, was der Erhöhung des ^{203}Hg -Gehaltes in der Leber und den anderen Organen unter dem Einfluß einiger Chelatbildner ursächlich zu Grunde liegt, wurde die zeitliche Abhängigkeit der Verteilung von cheliertem ^{203}Hg geprüft: 100 μM DTPA/Tier wurden gleichzeitig mit ^{203}Hg iv. injiziert und die Tiere zu verschiedenen Zeitpunkten getötet; als Kontrolle dienten Tiere, die nur trägerfreies ^{203}Hg erhielten. Die Ergebnisse sind in Tab. 4 wiedergegeben. Der maximale ^{203}Hg -Gehalt der Nieren von Kontrolltieren wird nach etwa 8–15 h, bei den mit DTPA behandelten Tieren bereits nach 5–6 h erreicht. Dies ist offensichtlich die Folge der schnellen renalen Ausscheidung des chelierten ^{203}Hg . In der Leber bewirkt DTPA nur anfänglich einen gegenüber der Kontrolle herabgesetzten ^{203}Hg -Gehalt; die Ausscheidung des fixierten ^{203}Hg -DTPA scheint jedoch verlangsamt zu sein, so daß am zweiten Tag der ^{203}Hg -Gehalt höher liegt als in der Kontrolle. Im Skelett liegen keine stärkeren Unterschiede zwischen beiden Versuchsgruppen vor; es sei jedoch daran erinnert, daß in den früheren Versuchen DTPA auch im Skelett eine gewisse Erhöhung der ^{203}Hg -Ablagerung bewirkte. Im Blut sind die Verhältnisse denen in der Leber ähnlich. Der ^{203}Hg -Gehalt des Blutplasmas und der (rechnerisch ermittelte) ^{203}Hg -Gehalt der Erythrocyten sind ebenfalls nur anfänglich niedriger als in der Kontrolle. Aufschlußreich ist die zeitliche Veränderung des Verhältnisses des ^{203}Hg -Erythrocytengehaltes zu dem des Plasmas (Abb. 1): Die Erythrocyten der Kontrolltiere zeigen von Anfang an einen gesichert höheren Gehalt als das Plasma, und während der ersten 4 h nimmt das Verhältnis sogar noch zu. Erst ab 2. Tag finden sich annähernd gleiche Konzentrationen. Das unterschiedliche Verhalten der DTPA-Gruppe manifestiert sich während der ersten 2 h, indem der ^{203}Hg -Gehalt des Plasmas signifikant höher ist als der der Erythrocyten.

Das durch Zugabe entsprechender $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ -Mengen isotopisch verdünnte ^{203}Hg zeigt ein vom trägerfreien ^{203}Hg abweichendes Verteilungsmuster (Tab. 5): Mit

Tab. 1: ^{203}Hg -Gehalt der Organe (48 h nach iv. Injektion). Die Chelatbildner wurden gleichzeitig mit ^{203}Hg injiziert. Für die Kontrollgruppen ist der mittlere ^{203}Hg -Gehalt (in % der injizierten Menge) angeführt. Der ^{203}Hg -Gehalt in den Chelatgruppen ist in % des jeweiligen Kontrollwerts (1. Zeile) mit Mutungsgrenzen für $P = 0,05$ (2. Zeile) ausgedrückt. N = Zahl der Tiere.

Chelatbildner ($\mu\text{M}/\text{Tier}$)	N	Skelett	Leber	Nieren	Milz	Muskulatur	Blut
Kontrolle	5	3,20	5,25	32,5	0,885	1,58	2,66
100 ADTA	5	153 (116–177)	149 (111–200)	77 (65–91)	47 (35–67)	138 (79–242)	252 (194–328)
100 DTPA	5	126 (100–156)	136 (101–187)	64 (54–75)	35 (24–50)	117 (67–206)	223 (171–290)
Kontrolle	2	2,85	5,88	61,6	0,456	2,72	2,29
100 HMDTA	5	129 (100–170)	154 (105–225)	49 (38–64)	111 (68–183)	125 (80–188)	185 (140–244)
100 BADA	5	125 (95–163)	147 (101–215)	41 (32–53)	116 (71–189)	82 (53–125)	143 (109–189)
100 BAX	5	119 (90–157)	119 (82–174)	50 (39–65)	156 (95–255)	89 (58–136)	115 (86–156)
Kontrolle	2	2,57	5,98	46,8	0,456	2,52	1,25
100 DCHTA	5	150 (88–192)	134 (76–256)	61 (36–102)	48 (35–68)	125 (86–177)	129 (75–229)
100 TTHA	5	109 (74–161)	86 (49–152)	67 (40–112)	39 (27–56)	92 (64–132)	95 (54–169)
Kontrolle	2	4,57	11,7	51,2	0,822	3,50	2,52
100 BADS	5	123 (82–185)	83 (46–152)	65 (52–81)	46 (35–60)	141 (97–205)	208 (156–318)
100 BATA	4	71 (47–106)	41 (22–74)	79 (65–98)	26 (20–33)	66 (45–95)	99 (64–155)
Kontrolle	2	5,27	5,69	44,1	0,555	3,12	2,51
50 BADDs	5	101 (60–170)	115 (66–203)	28 (19–43)	51 (27–97)	190 (108–335)	156 (49–376)
100 ADDA	5	159 (83–234)	159 (90–280)	48 (32–72)	57 (30–109)	170 (97–298)	186 (67–515)
Kontrolle	4	5,46	5,85	33,4	0,684	2,51	2,52
100 IDA	5	172 (112–265)	250 (206–302)	47 (39–58)	119 (87–165)	229 (172–305)	276 (208–366)
Kontrolle	5	5,94	6,42	39,0	0,584	—	1,44
100 DMPS	5	70 (41–118)	75 (49–108)	48 (34–66)	47 (34–65)	—	68 (45–105)
100 PA	5	49 (29–83)	60 (40–89)	70 (50–96)	45 (33–62)	—	58 (37–90)
Kontrolle	5	2,96	6,50	72,6	0,530	4,41	—
25 MAIDA	5	65 (53–75)	85 (68–107)	12 (9–15)	25 (21–30)	51 (39–66)	—
100 MP	5	88 (72–108)	147 (115–190)	29 (21–39)	56 (45–70)	151 (111–205)	—
25 LS	5	95 (78–111)	119 (96–149)	38 (29–49)	64 (53–77)	102 (78–135)	—

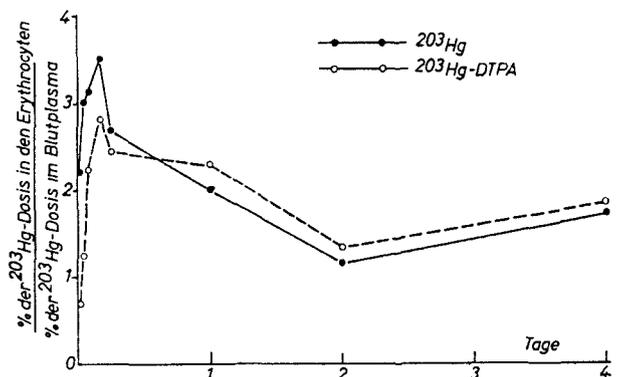


Abb. 1: Verhältnis des ^{203}Hg -Gehalts der Erythrocyten und des Plasmas zu verschiedenen Zeitpunkten. Statistisch signifikant sind die Unterschiede zwischen den Kurven bis zur 4. h.

Tab. 2: ²⁰³Hg-Gehalt der Organe (48 h nach iv. Injektion). Die Chelatbildner wurden unmittelbar im Anschluß an ²⁰³Hg ip. injiziert. Weitere Erklärungen vgl. Tab. 1.

Chelatbildner µM/Tier	N	Skelett	Leber	Nieren	Milz
Kontrolle	6	2,69	4,18	27,5	0,495
100 XDTA	6	127 (96-169)	155 (122-196)	58 (43-79)	142 (96-208)
100 DTPA	6	124 (94-165)	157 (124-199)	51 (37-69)	158 (108-232)
100 HMDTA	6	105 (77-137)	116 (91-146)	105 (77-145)	125 (84-181)
Kontrolle	2	2,85	4,53	27,8	0,655
100 BADA	6	109 (74-161)	124 (77-201)	70 (42-106)	105 (65-163)
100 BAA	6	99 (66-146)	100 (62-161)	83 (50-138)	85 (53-134)
100 DCHTA	6	105 (71-156)	156 (84-219)	65 (39-107)	95 (39-148)
Kontrolle	2	3,72	5,62	50,1	1,01
50 trien	6	81 (65-105)	66 (57-115)	105 (85-127)	54 (31-95)
25 penten	6	78 (61-100)	86 (49-150)	100 (80-123)	56 (32-98)
100 TTHA	6	82 (64-105)	95 (54-167)	80 (65-99)	67 (38-118)
Kontrolle	6	2,90	4,70	24,6	0,675
100 BADS	6	122 (85-174)	174 (105-296)	67 (32-88)	105 (78-158)
100 BAA	6	117 (82-167)	122 (72-206)	74 (37-96)	90 (67-120)
Kontrolle	5	5,95	17,0	15,1	0,885
100 ADDA	6	101 (75-141)	86 (61-121)	101 (81-156)	85 (65-113)
Kontrolle	4	5,46	5,85	35,4	0,684
100 IDA	6	152 (126-184)	208 (175-250)	66 (55-80)	174 (128-236)
Kontrolle	6	3,52	5,95	84,9	0,725
25 LS	6	130 (95-179)	162 (100-262)	75 (63-88)	85 (63-115)
100 MP	6	95 (69-131)	201 (124-325)	63 (53-74)	77 (57-103)
50 MÅIDA	6	158 (115-217)	176 (109-284)	24 (21-29)	157 (117-211)
Kontrolle	6	4,95	9,57	81,4	1,00
50 BADDs	6	134 (106-169)	134 (94-192)	49 (41-58)	135 (94-194)

Tab. 4: ²⁰³Hg-Gehalt der Organe (in % der injizierten ²⁰³Hg-Menge) zu verschiedenen Zeitpunkten nach iv. Injektion von 1) ²⁰³Hg; 2) ²⁰³Hg + 100 µM CaNa₂DTPA. In Klammern sind die logarithmischen Mittelwerte angeführt, auf die sich der Standardfehler (s_x) bezieht. Je 4 Tiere pro Gruppe.

Zeitpunkt der Sektion	Skelett		Leber		Nieren		Blut		Plasma	
	²⁰³ Hg	²⁰³ Hg-DTPA								
30 min	5,50 (0,740)	6,45 (0,810)	51,6 (1,500)	8,40 (0,925)	55,0 (1,545)	55,8 (1,747)	56,1 (1,558)	19,2 (1,285)	11,6 (1,065)	11,5 (1,055)
1 h	6,25 (0,797)	5,50 (0,740)	51,4 (1,498)	10,50 (1,020)	41,0 (1,615)	61,2 (1,787)	27,4 (1,458)	11,5 (1,055)	6,95 (0,845)	5,21 (0,718)
2 h	4,98 (0,698)	5,55 (0,728)	50,6 (1,485)	9,55 (0,980)	50,6 (1,705)	67,5 (1,830)	18,4 (1,265)	8,26 (0,918)	4,65 (0,668)	2,65 (0,420)
4 h	5,10 (0,708)	4,41 (0,645)	24,1 (1,383)	10,50 (1,020)	59,0 (1,770)	64,9 (1,812)	16,6 (1,222)	9,21 (0,965)	5,78 (0,578)	2,58 (0,415)
6 h	5,40 (0,752)	3,88 (0,590)	20,4 (1,310)	8,09 (0,908)	65,0 (1,815)	68,6 (1,857)	12,7 (1,105)	7,68 (0,885)	5,50 (0,545)	2,54 (0,370)
1 Tag	3,82 (0,582)	5,32 (0,522)	7,90 (0,898)	6,55 (0,815)	60,2 (1,780)	55,7 (1,555)	4,29 (0,653)	5,57 (0,750)	1,46 (0,165)	1,72 (0,255)
2 Tage	2,94 (0,468)	5,00 (0,478)	5,28 (0,723)	7,08 (0,850)	36,8 (1,567)	18,0 (1,255)	1,85 (0,268)	5,46 (0,540)	0,565 (-0,062)	1,52 (0,185)
4 Tage	1,50 (0,177)	1,55 (0,190)	2,14 (0,350)	2,62 (0,418)	26,1 (1,417)	15,5 (1,185)	0,605 (-0,217)	0,971 (-0,012)	0,205 (-0,692)	0,550 (-0,455)
s _x	(0,041)	(0,035)	(0,059)	(0,041)	(0,027)	(0,037)	(0,059)	(0,076)	(0,053)	(0,052)

Tab. 5: ²⁰³Hg-Gehalt der Organe (am 8. Tag nach iv. Injektion) nach 1- oder 2maliger ip. Verabfolgung von DTPA und BADDs. Je 5 Tiere pro Gruppe. Weitere Erklärung vgl. Tabelle 1.

Gruppe	Skelett	Leber	Nieren
Kontrolle	1,55	1,07	27,8
DTPA je 100 µM nach 24 u. 72 h	102 (79-152)	126 (86-185)	67 (47-92)
DTPA 100 µM nach 24 h	95 (72-119)	137 (94-202)	77 (55-111)
BADDs je 50 µM nach 24 u. 72 h	106 (82-156)	154 (92-197)	10 (7-15)
BADDs 50 µM nach 24 h	108 (84-159)	126 (86-186)	24 (17-36)

Tab. 5: ²⁰³Hg-Gehalt der Organe (48 h nach iv. Injektion) ausgedrückt in % der injizierten ²⁰³Hg-Menge, in Abhängigkeit von der spezifischen Aktivität. In Klammern sind die logarithmischen Mittelwerte angeführt, auf die sich der Standardfehler (s_x) bezieht. Weitere Erklärungen vgl. Tab. 4. Je 5 Tiere pro Gruppe.

mg Hg/kg	Skelett	Leber	Nieren	Milz	Muskulatur
0,15	6,10 (0,786)	11,6 (1,066)	90,4 (1,956)	0,748 (-0,126)	6,85 (0,856)
0,50	4,70 (0,672)	10,5 (1,012)	50,4 (1,702)	0,900 (-0,046)	5,52 (0,726)
0,45	4,16 (0,620)	9,65 (0,984)	42,6 (1,650)	0,855 (-0,068)	4,42 (0,646)
0,60	6,55 (0,802)	12,8 (1,106)	41,1 (1,614)	1,14 (0,076)	5,84 (0,766)
0,90	8,79 (0,944)	19,7 (1,294)	54,8 (1,542)	1,56 (0,194)	7,50 (0,892)
1,20	14,7 (1,168)	28,2 (1,450)	42,5 (1,628)	2,41 (0,582)	9,68 (0,956)
s _x	(0,054)	(0,047)	(0,057)	(0,046)	(0,054)

Tab. 6: ²⁰³Hg-Gehalt der Organe (48 h nach iv. Injektion), ausgedrückt in % der injizierten ²⁰³Hg-Menge in Abhängigkeit von der 24 h vorher iv. injizierten Dosis von stabilem Hg. Je 5 Tiere pro Gruppe. Weitere Erklärungen vgl. Tab. 4.

mg Hg/kg	Skelett	Leber	Nieren	Milz	Muskulatur
Kontrolle	5,82 (0,765)	10,0 (1,002)	82,1 (1,915)	1,35 (0,125)	6,59 (0,819)
0,15	5,27 (0,722)	7,90 (0,892)	88,6 (1,948)	1,57 (0,197)	5,89 (0,770)
0,45	7,50 (0,864)	17,7 (1,248)	48,5 (1,686)	3,50 (0,519)	7,60 (0,881)
0,82	18,9 (1,277)	32,2 (1,508)	24,5 (1,386)	4,95 (0,695)	12,7 (1,105)
1,2	18,3 (1,262)	35,4 (1,550)	16,0 (1,205)	8,12 (0,910)	15,5 (1,125)
s _x	(0,041)	(0,053)	(0,024)	(0,061)	(0,052)

zunehmender Trägerdosis (bis etwa 0,45 mg Hg/kg) nimmt der prozentuale ²⁰³Hg-Gehalt der Nieren auf rund die Hälfte ab, während der ²⁰³Hg-Gehalt der anderen Organe bei Trägerdosen von mehr als 0,45 mg Hg/kg zunimmt. Der Widerspruch zu den Ergebnissen von Rothstein et al. [16, 17], die keinen Einfluß der spezifischen Aktivität auf die Verteilung von ²⁰³Hg nachweisen konnten, ist insofern nur scheinbar, als diese Autoren einen relativ niedrigen Dosisbereich (0,02–0,2 mg Hg/kg) untersuchten. Es sei noch bemerkt, daß zwar die höchsten Dosen unseres Versuchs nicht letal waren, jedoch makroskopisch sichtbare Veränderungen der Nieren (Schwellung, Ausbildung eines pararenalen gallertartigen Transudats) bewirkten. Die vorherige Applikation (24 h) von stabilem Hg beeinflusst das Verteilungsmuster von nachträglich injiziertem ²⁰³Hg im wesentlichen in gleichem Maße und in der gleichen Richtung wie eine gleichzeitige Verabreichung (Tab. 6). Auch andere Schwermetallionen mit Affinität zum Nierengewebe wie Uran, Wis-

und BAL in die Untersuchungen einbezogen. Das letztere wurde im. verabfolgt. Tab. 8 gibt die Versuchsergebnisse bei gleichzeitiger Verabreichung der Chelatbildner wieder. Die untersuchten Chelatbildner reduzieren die ²⁰³Hg-Ablagerung in allen Organen, was im Gegensatz zu den Verhältnissen bei trägerfreiem ²⁰³Hg steht. Die Abhängigkeit des Wirkungsmusters von der spezifischen Aktivität zeigt in eindrucksvoller Weise Abb. 2: Während in den Nieren die Effektivität offenbar nicht oder in nur geringfügigem Maße von dem Träger beeinflusst wird, ist die Effektivität der Chelatbildner in den anderen Organen sowie im Blut bei isotopisch verdünntem ²⁰³Hg erheblich höher als bei trägerfreiem ²⁰³Hg. Besonders hervorzuheben ist, daß auch solche Chelatbildner die Ablagerung des isotopisch verdünnten ²⁰³Hg reduzieren, die (wie DTPA oder BADDS) die Ablagerung von trägerfreiem ²⁰³Hg erhöhen. Die Unterschiede der Wirksamkeit der einzelnen Chelatbildner bleiben, wie Abb. 2 zu entnehmen ist, bei trägerfreiem und isotopisch verdünntem ²⁰³Hg weitgehend gewahrt.

Tab. 7: ²⁰³Hg-Gehalt der Organe. 24 h vor der iv. Injektion von ²⁰³Hg erhielten die Tiere iv. die angeführten Schwermetallnitrats. Die Sektion erfolgte 48 h nach Injektion von ²⁰³Hg. Weitere Erklärungen vgl. Tab. 1.

Metall	mg/kg	N	Skelett	Leber	Nieren	Milz	Muskulatur
Kontrolle		5	2,99	6,55	57,5	0,952	4,76
Cd	2,5	4	173 (151–200)	167 (123–227)	88 (77–100)	186 (110–314)	114 (91–142)
Bi	5,0	5	125 (107–140)	150 (97–175)	76 (67–87)	120 (74–196)	106 (56–152)
U (VI)	0,6	5	179 (157–204)	244 (182–324)	59 (52–67)	152 (81–215)	157 (127–194)

Tab. 8: ²⁰³Hg-Gehalt der Organe (48 h nach iv. Injektion von ²⁰³Hg + 1,5 mg Hg/kg). Die Chelate wurden gleichzeitig iv. injiziert. Je 5 Tiere pro Gruppe. Weitere Erklärungen vgl. Tab. 1.

Chelatbildner µM/Tier	Skelett	Leber	Nieren	Blut
Kontrolle	12,8	50,8	22,7	7,27
100 DTPA	58 (48–70)	56 (47–67)	71 (56–90)	75 (62–90)
50 BADDS	51 (26–58)	55 (29–42)	57 (29–47)	42 (33–50)
Kontrolle	9,69	25,2	54,4	11,5
40 DMP	7 (3–12)	6 (4–9)	40 (25–64)	4 (5–7)
40 BADDS	29 (15–56)	26 (16–40)	59 (25–62)	86 (50–148)
Kontrolle	9,86	25,4	18,0	6,19
40 DMPS	11 (7–17)	12 (6–26)	56 (28–47)	8 (4–18)
40 PA	12 (8–19)	10 (7–21)	50 (39–64)	17 (8–37)

Werden die Chelatbildner erst 24 h nach der Injektion von isotopisch verdünntem ²⁰³Hg verabreicht, so resultiert gegenüber der gleichzeitigen Gabe eine deutliche Verschlechterung der Effektivität, insbesondere in der Leber (Tab. 9). Auch bei dreimaliger Verabreichung erreichen die Chelatbildner nicht die Wirksamkeit der gleichzeitigen Gabe (Tab. 10). In beiden Versuchen zeigte BAL die stärkere Wirksamkeit.

Diskussion

Unsere Ergebnisse zeigen, daß die Nieren nach iv. Injektion von trägerfreiem ²⁰³Hg den höchsten ²⁰³Hg-Gehalt aufweisen und daß die Ablagerung in den anderen Organen um eine Größenordnung, in der Milz um zwei Größenordnungen kleiner ist. Die besonders hohe Affinität des Quecksilbers zu Liganden, die freie

Tab. 9: ²⁰³Hg-Gehalt der Organe (96 h nach iv. Injektion von ²⁰³Hg + 1,0 mg Hg/kg). Je 40 µM der Chelatbildner wurde ip. nach 24 h injiziert. Weitere Erklärungen vgl. Tab. 1.

Chelatbildner	N	Skelett	Leber	Nieren
Kontrolle	5	5,32	10,8	12,9
DMP	5	51 (37–72)	129 (80–206)	50 (59–62)
BAL	4	57 (41–80)	59 (37–95)	28 (22–35)
DMPS	5	57 (26–52)	88 (55–142)	46 (56–57)
PA	5	106 (76–149)	151 (82–209)	80 (63–100)
BADDS	5	95 (68–135)	60 (37–96)	27 (22–35)

mut und Cadmium, zeigen einen ähnlichen Effekt (Tab. 7).

Bei der Prüfung der Chelateffektivität im Falle von isotopisch verdünntem ²⁰³Hg begnügten wir uns mit der Untersuchung einiger repräsentativer Substanzen. Im Hinblick auf die relativ gute Wirksamkeit der SH-haltigen Chelatbildner, die sich in den ersten Versuchsreihen (Tab. 1 u. 2) ergab, wurden DMP

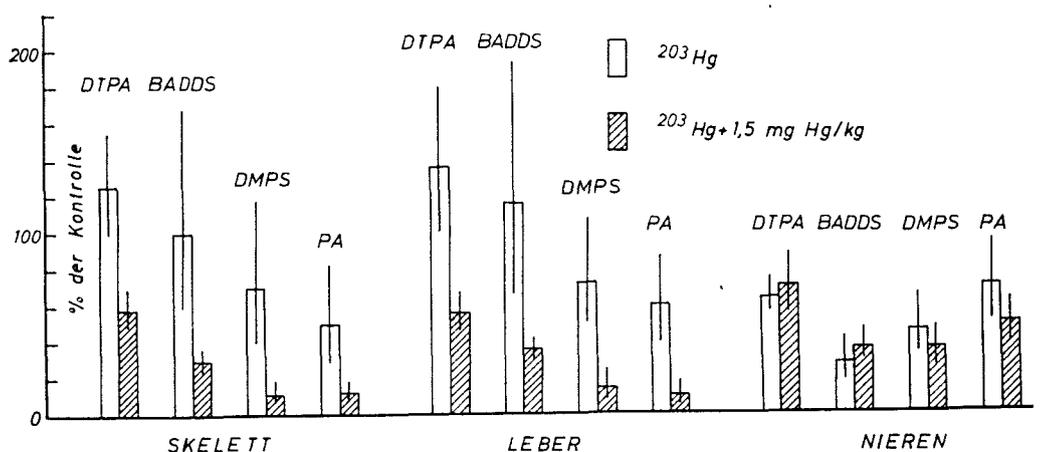


Abb. 2: Vergleich der Wirksamkeit einiger Chelatbildner bei trägerfreiem und isotopisch verdünntem ²⁰³Hg. Es sind die Mutungsbereiche für P = 0,05 angegeben.

Tab. 10: ^{203}Hg -Gehalt der Organe (144 h nach iv. Injektion von $^{203}\text{Hg} + 0,725 \text{ mg Hg/kg}$). Je $40 \mu\text{M}$ der Chelatbildner wurden nach 4, 72 und 120 h ip. injiziert. Je 5 Tiere pro Gruppe. Weitere Erklärungen vgl. Tab. 1.

Chelatbildner	Skelett	Leber	Nieren
Kontrolle	0,911	1,07	26,2
DTPA	108 (71–164)	121 (86–171)	86 (65–117)
DMP	59 (25–59)	60 (45–85)	16 (12–22)
IDA	97 (64–147)	125 (88–174)	84 (62–115)
BAL	20 (15–31)	42 (30–60)	7 (5–10)

SH-Gruppen aufweisen [12], einerseits und die hohe Konzentration freier SH-Gruppen in den Nieren [10] andererseits legen die Vermutung nahe, daß diese Faktoren die hohe Affinität der Nieren zu Hg bedingen.

Der Besprechung der Chelateffektivität sei zunächst die Diskussion der isotopischen Verdünnung vorangestellt. Eine durch isotopische Verdünnung bedingte Änderung des Verteilungsmusters eines Radiometalls kann grundsätzlich auf einen der folgenden Mechanismen zurückgeführt werden [7, 22]:

1. Entstehung von Kolloiden oder unlöslichen Verbindungen, die von den Organen des reticulo-endothelialen Systems (RES) abgefangen und gespeichert werden,
2. beschränkte Bindungskapazität von endogenen Akzeptorgruppen,
3. toxische Wirkung hoher Dosen und
4. Wirksamwerden homeostatischer Regulationsmechanismen.

Der im speziellen Fall von ^{203}Hg beobachtete Trägereffekt kann, wie von Nigrovic [14] ausführlich begründet wird, auf ein beschränktes Aufnahmevermögen eines bestimmten Compartments der Nieren sowie eine Schädigung der renalen Ausscheidungsfunktion im höheren und bereits toxischen Dosisbereich zurückgeführt werden.

Wenn wir jetzt zu der Frage der Chelatwirksamkeit übergehen, so ist zunächst festzustellen, daß Verhältnisse vorliegen, die von denen bei anderen Radiometallen (cf. Catsch [8]) insofern wesentlich abweichen, als eine Reduktion der ^{203}Hg -Ablagerung nur in den Nieren festzustellen ist, während der ^{203}Hg -Gehalt der übrigen Organe in den meisten Fällen erhöht wird. Selbst bei gleichzeitiger Injektion der Chelatbildner, d. h. bei optimalen Bedingungen, ist die Effektivität auffallend gering. Da die Chelatbildner den ^{203}Hg -Gehalt nicht nur in den Organen des RES, sondern auch im Skelett, in der Muskulatur und vor allem im Blutplasma erhöhen, kann die Bildung von polynuklearen, nicht mehr ausscheidbaren Chelatagregaten ausgeschlossen werden. Wir haben gesehen, daß es sich aller Wahrscheinlichkeit nach bei dem in Frage stehenden Effekt um eine Verlangsamung der Ausscheidung und nicht um eine echte Erhöhung der Ablagerung unter dem Einfluß der Chelatbildner handelt. Das in einigen Punkten abweichende komplex-chemische Verhalten von Hg^{2+} legt hierfür folgende Deutung nahe: Die lineare Anordnung von zwei stärkeren Haftstellen begünstigt die Bildung von sog. ternären Komplexen. Es erscheint nun im Hinblick auf die fixierte sterische Anordnung der Ligandenatome und -gruppen in großen biologischen Molekülen fraglich, ob im Falle der endogenen Komplexe die zwei linear angeordneten Haftstellen des Hg^{2+} voll abgesättigt sind. In diesem Fall könnte das bereits von einem endogenen Liganden gebundene Hg^{2+} mit einer weiteren Gruppe des therapeutischen Chelatbildners unter Bildung eines ternären Komplexes reagieren, was seinerseits eine kinetisch kontrollierte Ablösung des ^{203}Hg durch endogene Liganden zur Folge haben könnte. Auf diese Möglichkeit wurde im Rahmen allgemeiner Überlegungen auch von Reilly [15] hingewiesen. Grundsätzlich sollte natürlich eine verlangsamte Ausscheidung von

überschweren

^{203}Hg auch bei stark wirksamen Chelatbildnern vorliegen, die, wie z. B. BADDs oder MAIDA, am zweiten Tag keine Erhöhung des ^{203}Hg -Gehalts erkennen ließen. Wir sind uns natürlich der Tatsache wohl bewußt, daß diese Vorstellung einen stark hypothetischen Charakter trägt, sehen aber im Moment keine andere begründete Erklärungsmöglichkeit.

Unerwartet war in den Versuchen mit isotopisch verdünntem ^{203}Hg , daß Chelatbildner die Hg-Ablagerung auch in solchen Organen in stärkerem Maße erniedrigten, die bei trägerfreiem ^{203}Hg zu einem höheren Gehalt führten (Abb. 2). Es ist bekannt, daß die Bildung bestimmter Chelatspezies in gewissem Maße von dem molaren Verhältnis des Metallions und des Chelatbildners abhängen kann. Die von uns untersuchten Hg-Trägerdosen sind jedoch immer noch sehr klein, und der Chelatbildner liegt in deutlichem Überschuß vor, so daß dieser Faktor als mögliche Ursache nicht diskutiert zu werden braucht. Eine plausible Erklärung ergibt sich aus der Deutung des Trägereffekts: Die Stabilität der von uns untersuchten Hg-Chelate könnte danach nicht ausreichend hoch sein, um sich gegen die Konkurrenz der Liganden eines ersten Compartments durchzusetzen, sie reicht aber aus, um die Bindung des Hg durch weitere Compartments mit geringerer Affinität zu verhindern.

Wie von Heller u. Catsch [15] ausgeführt wird, hängt die Wirksamkeit verschiedener Chelatbildner bzw. verschiedener Dosen eines Chelatbildners in erster Näherung von der Größe E ab:

$$E = \frac{K_{ML}^M \cdot [L]_t}{\alpha + K_{CaL}^{Ca} \cdot [Ca]}$$

wobei K_{ML}^M die Stabilitätskonstante des Metall (M)-Ligand(L)-Chelats

$$K_{ML}^M = \frac{[ML]}{[M][L]}$$

und $[L]_t$ die Gesamtkonzentration des Chelatbildners bedeuten. α gibt den Anteil des freien Anions L^- an der Summe aller unkomplexierten Protonierungsstufen der Säure H_nL wieder und errechnet sich für ein gegebenes pH aus den Aciditätskonstanten der Säure (cf. [15]). Die Einführung der (analog zu K_{ML}^M definierten)

Stabilitätskonstante K_{CaL}^{Ca} und der (im biologischen Milieu praktisch konstant gehaltenen Konzentration der Ca^{2+} -Ionen $[Ca]$ wird dadurch bedingt, daß Ca^{2+} das wichtigste konkurrierende endogene Kation darstellt. Der Effektivitätsquotient (Definition s. zuvor) sollte nach Überschreiten eines Schwellenwertes von E im doppelt-logarithmischen Raster eine lineare Funktion von E darstellen. Eine entsprechende Prüfung läßt sich nur für einige der von uns untersuch-

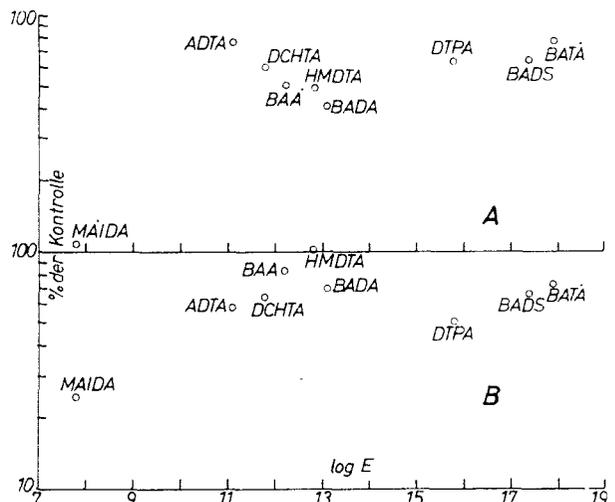


Abb. 5: Abhängigkeit der Effektivität einiger Chelatbildner von der Effektivitätskonstante E. A: Gleichzeitige iv. Verabreichung der Chelatbildner; B: Nachträgliche ip. Verabreichung.

ten Chelatbildner durchführen, für welche die zur Berechnung von E notwendigen Konstanten bekannt sind [2, 5, 18, 19]. Abb. 5 gibt die entsprechenden Resultate für die in den Tab. 1 u. 2 zusammengestellten Daten wieder. Auffallend und im Widerspruch zur Erwartung stehend ist zunächst die Tatsache, daß die MAIDA die größte Effektivität zeigt, obgleich ihr E-Wert um einige Größenordnungen kleiner ist als der der anderen und weniger effektiven Substanzen. Auch dann, wenn man die MAIDA aus dieser Betrachtung ausschaltet, läßt sich keine statistisch gesicherte Abhängigkeit der Effektivität von E nachweisen. Die Erklärung für die unerwartet hohe Wirksamkeit der MAIDA ist darin zu suchen, daß im Falle der nur vierzähligen MAIDA 2L:1Hg-Chelate gebildet werden, deren Stabilität aber um 6 Größenordnungen höher liegt als die der einfachen 1:1-Chelate [18]. Obgleich entsprechende Stabilitätsbestimmungen nicht vorliegen, erscheint es plausibel, daß die im Vergleich zu höherzähligen Liganden auffallend hohe Effektivität der ADDA und IDA ebenfalls auf die Bildung stabilerer 2:1-Chelate zurückzuführen ist.

Eine fehlende Abhängigkeit der Effektivität von E, ein sogenanntes Effektivitätsplateau, kann, wie von Catsch [8] diskutiert wird, auch dann resultieren, wenn ein Organ sich aus mehreren Compartments zusammensetzt, die sich bezüglich der Bindung des in Frage stehenden Metalls stark voneinander unterscheiden. Dies ist aber, wie oben dargelegt, im Falle der Nieren und Hg der Fall.

Die überraschend hohe und der MAIDA fast gleichkommende Wirksamkeit von BADDS wurde bereits von Catsch [9] für Blei beschrieben und diskutiert.

Es bleibt abschließend noch darauf hinzuweisen, daß der therapeutische Wert eines Chelatbildners nicht ausschließlich durch sein Vermögen, ein Radiometall zu mobilisieren und zur Ausscheidung zu bringen, bestimmt wird, sondern auch durch seine therapeutische Breite. Durch die Tatsache, daß die meisten der von uns untersuchten Sulfhydryl-Verbindungen — eine Ausnahme stellt einzig das Penicillamin dar — eine erheblich höhere Toxizität als die anderen Polyaminopolycarboxylsäuren aufweisen, erfährt ihre praktische Bedeutung naturgemäß eine starke Einschränkung. Dies gilt um so mehr, als die Toxizität der SH-haltigen Verbindungen und auch der anderen Polyaminopolycarboxylsäuren in besonderem Maße die Nieren betrifft, und Hg ebenfalls eine ausgeprägte Nephrotoxizität aufweist. Es ist somit die Gefahr einer synergistischen Wirkung beider Faktoren, d. h. einer Potenzierung der Hg-Toxizität durch den „therapeutischen“ Chelatbildner, gegeben. Die Untersuchungen von Turrian et al. [23] sowie von Bonati [6], der eine hohe Toxizität des MAIDA-Hg-Komplexes feststellte, dürften auf diesen Umstand zurückzuführen sein. Für zukünftige Untersuchungen ergibt sich daraus die Folgerung, daß auch die Toxizität verschiedener SH-haltiger Substanzen eingehender zu untersuchen wäre, als es bis jetzt geschah. Daß ein endgültiges Urteil über den praktisch-therapeutischen Wert eines Chelatbildners nicht allein durch Verteilungsversuche abgegeben werden kann, sondern nur nach Durchführung toxikologischer Untersuchungen — in der strengen Definition dieses Begriffs — ist eine Selbstverständlichkeit.

Zusammenfassung

Es wurde der Einfluß einer größeren Anzahl von Chelatbildnern sowie der isotopischen Verdünnung auf die Verteilung von ^{203}Hg untersucht. Im Falle von trägerfreiem Radioquecksilber wird von allen Chelatbildnern am stärksten dessen Ablagerung in den Nie-

ren reduziert, während die Wirkung bei den anderen Organen sowie im Blut schwächer ausgeprägt ist bzw. unter dem Einfluß bestimmter Chelatbildner sogar die Ausscheidung von Radioquecksilber verlangsamt ist. Chelatbildner mit freien Sulfhydryl-Gruppen, insbesondere 2:2'-Bis[di(carboxymethyl)amino]diäthylsulfid, 2-Merkaptoäthyliminodiessigsäure, 2:3-Dimercaptopropanol und D-Penicillamin, erwiesen sich als allen anderen Substanzen überlegen. Der Einfluß einer isotopischen Verdünnung auf das Verteilungsmuster von Radioquecksilber wird auf die beschränkte Kapazität eines Nierencompartments sowie auf die toxische Wirkung hoher Hg-Dosen zurückgeführt. Die theoretische und praktische Bedeutung der Ergebnisse wird diskutiert.

Für gewissenhafte technische Assistenz danke ich Frl. H. Reckert und für Überlassung der Präparate den Firmen: Chemiewerk Homburg, Frankfurt/M. (BAL, DMP), Heyl & Co., Berlin (PA) und E. Merck, Darmstadt (MP). Die DMPS verdanken wir der Freundlichkeit des Radiologischen Instituts, Freiburg i. Br. Alle übrigen Substanzen wurden uns freundlicherweise von J. R. Geigy AG., Basel, zur Verfügung gestellt.

Summary

The Influence of Chelating Agents on the Distribution of Mercury in the Organism

The influence of a large number of chelating agents, as well as of isotopic dilution, on the metabolism of ^{203}Hg in the rat was studied. All chelating agents were found to reduce the renal deposition of the carrier-free ^{203}Hg while the action on other organs or the blood is less marked. Under the influence of certain types of chelating agents the excretion of radiomercury is reduced. Chelating agents with free sulfhydryl groups proved to be superior to all other substances tested. This is particularly true with 2:2'-bis[di(carboxymethyl)amino]diethylsulfide, 2-mercaptoethyliminodiacetic acid, 2:3-dimercaptopropanol and D-penicillamine. The influence of the isotopic dilution on the distribution of radiomercury is ascribed to the limited capacity of a renal compartment and to the toxic effect of high Hg doses. The theoretical and practical significance of the findings is discussed.

Literatur

- [1] Adam, K. R., Brit. J. Pharmacol. 6, 483 (1951)
- [2] Anderegg, G., Nägeli, P., Müller, F., Schwarzenbach, G., Helv. Chim. Acta, 42, 827 (1959)
- [3] Aposhian, H. V., and Aposhian, M. M., J. Pharmacol. and Exper. Therap. 126, 131 (1959)
- [4] Bell, R. F., Dunn, W. S., Arch. Ind. Health 11, 231 (1955)
- [5] Bjerrum, J., Schwarzenbach, G., Sillén, L. G., Stability Constants, London 1957
- [6] Bonati, F., Arch. ital. sci. Farmacol. 9, 125 (1959)
- [7] Catsch, A., Naturwissenschaften 11, 292 (1956)
- [8] Catsch, A., Fed. Proc. 20, Suppl. 10, 206 (1961)
- [9] Catsch, A., Arzneim.-Forsch. 12, 924 (1962)
- [10] Ellman, G. E., Arch. Biochem. and Biophys. 82, 70 (1959)
- [11] Grunert, R. R., Arch. of Biochem. and Biophys. 86, 190 (1960)
- [12] Gurd, F. R. N., and Wilcox, Ph. E., Advances in Protein Chemistry 11, 311 (1956)
- [13] Heller, H. J. u. Catsch, A., Strahlenther. 109, 464 (1959)
- [14] Nigrović, V., Dissertation, Univ. Heidelberg 1962
- [15] Reilley, C. N., Fed. Proc. Suppl. 10, 22 (1961)
- [16] Rothstein, A. and Hayes, A., AEC Report: UR-556 (1959)
- [17] Rothstein, A., Hayes, A., and Bruton, W., AEC Report UR-543 (1959)
- [18] Schwarzenbach, G., Anderegg, G., Schneider, W. u. Senn, H., Helv. Chim. Acta 58, 1147 (1955)
- [19] Schwarzenbach, G., Gut, R. u. Anderegg, G., Helv. Chim. Acta 37, 957 (1954)
- [20] Schwarzenbach, G., Senn, H. u. Anderegg, G., Helv. Chim. Acta 40, 1886 (1957)
- [21] Spode, E., Zsch. ges. Inn. Med. Grenzgeb. 15, 603 (1960)
- [22] Stokinger, H. E., Nucleonics 11, Nr. 4, 24 (1953)
- [23] Turrian, H., Grandjean, E., Battig, K. u. Turrian, V., Helv. Physiol. Acta 14, 50 (1956)
- [24] Woodcock, S. M., Brit. J. Indust. Med. 15, 207 (1958)

Ansd. d. Verf.: Dr. V. Nigrović, Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum, 75 Karlsruhe, Postfach 947

Verantwortlich für die Redaktion: Dr. W. Saenger; Verlag: Editio Cantor, 796 Aulendorf i. Württ.; Ruf: Aulendorf (07525) 431

Druck: Vereinigte Buchdruckereien, August Sandmaier & Sohn, 7952 Bad Buchau a. F.

Bezugsbedingungen: Die Zeitschrift erscheint monatlich einmal. Sie kann vom Verlag oder durch eine Buchhandlung bezogen werden. Der Bezugspreis beträgt im Abonnement pro Halbjahr (6 Hefte) 55,— DM einschl. Versandkosten. Das Einzelheft kostet 6,— DM einschl. Versandkosten. Kostenlose Probehefte liefert der Verlag auf Anforderung. Auslandsabonnements errechnen sich pro Jahr einschl. Versand auf der Basis von 72,— DM.