

KFK-202

**KERNFORSCHUNGSZENTRUM
KARLSRUHE**


Januar 1964

KFK 202

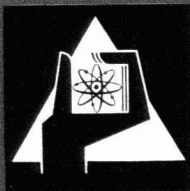
Institut für Strahlenbiologie

Zur Toxikologie der Diäthylentriaminpentaessigsäure

Alexander Catsch

Gesellschaft für Kernforschung 
Zentralbücherei

7. Apr. 1964



GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.
KARLSRUHE

Aus dem Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe

Zur Toxikologie der Diäthylentriaminpentaessigsäure

Von

ALEXANDER CATSCH

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 20. Juli 1963)

Gesellschaft für Kernforschung m. b. H.
Zentralbücherei

7. Apr 1964

Zu den Chelatbildnern, die für die Behandlung von Vergiftungen mit nichtradioaktiven oder radioaktiven Metallionen eine größere praktische Bedeutung erlangt haben, gehört seit längerem die Äthylendiamintetraessigsäure (ÄDTA). Neuerdings konnte im Tierversuch für eine der ÄDTA verwandte Polyaminopolycarboxylsäure, die Diäthylentriamin-pentaessigsäure (DTPA), eine erheblich größere Dekorporationseffektivität nachgewiesen werden (vgl. hierzu CATSCH 1961, 1962); die Überlegenheit der DTPA bestätigte sich auch klinisch bei der Behandlung der Eisenspeicherkrankheit (FAHEY et al. 1961) und der Inkorporation von Plutonium (LAFUMA 1963; NORWOOD 1960, 1962) sowie Lanthan und Yttrium (ROSOFF et al. 1961).

Sowohl tierexperimentelle Untersuchungen (FOREMAN et al. 1956; REUBER u. SCHMIELER 1962) als auch klinische Beobachtungen (Übersicht bei BRUGSCH 1959) zeigten, daß nephrotische Veränderungen im Vordergrund der toxischen Nebenwirkungen der ÄDTA stehen und einen ihre praktisch-therapeutische Anwendung limitierenden Faktor darstellen. Im Hinblick auf das weitgehend identische metabolische Verhalten der ÄDTA und DTPA (FOREMAN 1960) und das breite koordinations-chemische Spektrum beider Chelatbildner war der Nachweis einer Nephrotoxizität auch für DTPA (FOREMAN 1960) nicht unerwartet.

Während langjährige klinische Erfahrungen jetzt eine durchaus sichere Dosierung der ÄDTA zulassen (e.g. FOREMAN et al. 1956; SEVEN 1960), ist die therapeutische Breite der DTPA noch nicht bekannt. Die Toxizität der ÄDTA und DTPA ist zwar bei *einmaliger* Verabreichung annähernd identisch (CATSCH et al. 1958), doch braucht dies nicht notwendigerweise auch bei *wiederholter* Verabfolgung der Fall zu sein, d. h. unter Bedingungen, wie sie bei einer therapeutischen Anwendung in der Regel gegeben sind.

In der vorliegenden Untersuchung, die sich die Aufgabe stellt, die Toxizität der DTPA mit der von ÄDTA zu vergleichen, wählten wir als Testreaktion die Letalität; die histopathologischen Untersuchungen, deren quantitative Auswertung bekanntlich erhebliche Schwierigkeiten bereitet, haben einen mehr orientierenden Charakter und erheben keinen Anspruch, systematisch und erschöpfend zu sein.

Material und Methodik

Als Versuchstiere dienten Ratten beiderlei Geschlechts des Heiligenberg-Inzuchtstammes und NMRJ-Mäuse-Männchen, denen die Chelatbildner intraperitoneal injiziert wurden. $\text{Na}_2\text{Ca-DTPA} \cdot 4\frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ lag uns in Substanz vor, während $\text{Na}_2\text{Ca-ÄDTA}$ durch Lösung einer äquimolaren Lösung von CaCl_2 in $\text{Na}_2\text{-ÄDTA}$ hergestellt wurde. Die in den Versuchen an Ratten geprüften anderen Metallchelate der DTPA wurden ebenfalls durch Lösung von CoCl_2 , ZnCl_2 bzw. FeCl_2 in $\text{Na}_2\text{-DTPA}$ hergestellt. Bei den Versuchen an Mäusen lagen uns $\text{Na}_2\text{Zn(II)-DTPA} \cdot 4\frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ (Überschuß an freier DTPA $\leq 2\%$) und $\text{Na}_2\text{Fe(III)-DTPA} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (Überschuß an freier DTPA $\leq 1\%$) in Substanz vor, $\text{Na}_2\text{Co(III)-DTPA}$ als Lösung (Überschuß an freier DTPA $\leq 0,5\%$).

Für die histopathologischen Untersuchungen wurden ausnahmslos nur die Organe (Nieren, Leber und Milz) von eindeutig moribunden Tieren, die durch Äthernarkose getötet wurden, herangezogen. Die Organe wurden in Bouinscher Lösung fixiert und in Paraffin eingebettet. Die 6μ dicken Schnitte wurden gefärbt mit 1. Weigert-Hämatoxylin-Eosin, 2. Trichromfärbung nach GOLDNER und 3. PAS-Färbung nach HOTCHKISS-MACMANUS. Zur Prüfung des Speichervermögens der Nierenhauptstücke wurde $0,5\%$ ige Trypanblaulösung (0,05 ml pro 1 g Körpergewicht) Mäusen subcutan injiziert. Die 10μ dicken Paraffinschnitte blieben sonst ungefärbt.

Ergebnisse

Die Dosierung der Chelatbildner erfolgte durchgehend unter Berücksichtigung des Körpergewichts, d. h. in mM pro kg Körpergewicht. Ein orientierender Versuch, in dem je zehn 1 Jahr alte Ratten (mit einem mittleren Körpergewicht von 348 g) bzw. 5 Wochen alte Tiere (mit einem mittleren Gewicht von 52 g) an fünf aufeinanderfolgenden Tagen $2,5 \text{ mM Na}_2\text{Ca-DTPA}$ pro kg und Tag erhielten, zeigte jedoch eine stark unterschiedliche Reaktion beider Gruppen: Die Letalität betrug 100% bei den alten und 0% bei den jungen Ratten. Dieser, übrigens auch bei späteren Versuchsgruppen (vgl. Tab. 1) beobachtete Unterschied ist mit $P = 6 \cdot 10^{-4}$ signifikant. Da die Nieren offenbar das kritische Organ darstellen (vgl. Diskussion), könnte eine Proportionalität zwischen Effekt und $\text{mM} \cdot \text{kg}^{-1}$ -Dosen dann vermißt werden, wenn das relative Nierengewicht nicht konstant ist. Untersuchungen an 48 Ratten, deren

Tabelle 1. Letalität von Ratten nach intraperitonealer Verabreichung von $\text{Na}_2\text{Ca-ÄDTA}$ und $\text{Na}_2\text{Ca-DTPA}$ an 16 aufeinanderfolgenden Tagen

mM $\text{kg}^{-1}\text{d}^{-1}$	Gewicht (g)	gestorbene Tiere
		untersuchte Tiere
0,89 ÄDTA	123	0/16
0,89 DTPA	121	0/16
1,40 ÄDTA	158	0/16
1,40 DTPA	144	2/16
2,24 ÄDTA	150	4/6
2,24 ÄDTA	178	9/16
2,24 ÄDTA	185	0/20
2,24 DTPA	148	5/6
2,24 DTPA	169	12/16
2,24 DTPA	180	12/20
2,00 ÄDTA	290	4/10
2,00 DTPA	276	10/10
2,50 DTPA	287	20/20
3,55 ÄDTA	168	6/6
3,55 DTPA	165	6/6

Gewicht von 50–350 g variierte, zeigten tatsächlich, daß eine negative Korrelation zwischen Körpergewicht (x) und dem (in Prozent des Körpergewichts ausgedrückten) Gewicht der Nieren (y) besteht: $y = 1,05 - 0,0019 x$. Daraus ergeben sich für die Tiere der obigen Versuchsgruppen DTPA-Dosen von rund 0,57 bzw. 0,26 mM pro 1 g Nierengewicht. Es sei dahingestellt, ob dies allein die höhere Toxizität der DTPA bei den älteren Tieren erklären kann.

Tab.1 orientiert über die Letalität nach wiederholter Verabreichung beider Chelatbildner in verschiedenen hoher Dosierung. Sie ist bei den mit DTPA behandelten Tieren durchgehend höher als in den entsprechenden ÄDTA-Gruppen. Ein stärker protrahiertes Behandlungsschema, d. h. die Einschaltung von 2–3 Tagen zwischen die einzelnen Dosen, bewirkt bei beiden Chelatbildnern eine mit $P = 0,04$ bzw. 0,01 deutliche Senkung der Letalität (Tab.2). Es ist somit zu folgern, daß die gesetzten Schäden

Tabelle 2. Letalität von Ratten nach 30 intraperitonealen Injektionen von 2,50 mM Na_2Ca -ÄDTA bzw. Na_3Ca -DTPA pro kg und Tag

Gruppe	Gewicht (g)	$\frac{\text{gestorbene Tiere}}{\text{untersuchte Tiere}}$	P
ÄDTA täglich	128	9/20	
ÄDTA jeden 3.—4. Tag	127	3/20	0,041
DTPA täglich	121	18/20	
DTPA jeden 3.—4. Tag	123	10/20	0,010

in einem gewissen Umfang reversibel sind. In die gleiche Richtung weist auch die Tatsache, daß bei den in Tab.1 wiedergegebenen Versuchsgruppen die Letalität bei annähernd gleichen *Gesamtdosen* mit kleiner werdender *Einzeldosis* abnimmt (Abb.1).

Die Bestimmung und der Vergleich der Dosis-Effekt-Kurven erfolgte mit Hilfe der Probit-Analyse, wobei dem oben erwähnten Einfluß des Körpergewichts dadurch Rechnung getragen wurde, daß 1. als (logarithmisch transformierte) Dosiseneinheit „mM pro g Nierengewicht“ gewählt wurde oder 2. bei Wahl der ebenfalls logarithmisch transformierten „mM pro kg Körpergewicht“-Dosiseneinheit die Tiere mit höherem Körpergewicht ausgeschlossen wurden. Im Falle der Versuchsgruppe in Tab.2 wurden natürlich nur die vergleichbaren, d. h. bis zur 16. Injektion registrierten, Letalitätsraten berücksichtigt. Die Berechnungen ergaben, daß die Toxizität der DTPA 1,46 (Dosiseneinheit 1) bzw. 1,25mal (Dosiseneinheit 2) größer als die der ÄDTA ist; die entsprechenden Mutungsbereiche (für $P = 0,05$) betragen 1,21–1,71 bzw. 1,10–1,40. Diese Effektivitätsfaktoren sind jedoch insofern fraglich, als die Reversibilität der Schäden offenbar von der Höhe der Einzeldosis (vgl. Abb.1) und

damit auch von der Art des Chelatbildners abhängig ist. Die Zeit-Letalitäts-Kurven der einzelnen Versuchsgruppen zeigen dementsprechend stark unterschiedliche Neigungen, und die den Berechnungen zugrundegelegten Dosis-Effekt-Kurven sind somit, streng genommen, nicht ohne weiteres miteinander vergleichbar.

Bei den weiteren, an Mäusen durchgeführten Versuchen wurde daher die Dosierung der ÄDTA von vornherein höher als im Falle der DTPA gewählt. Durch graphische Inter- bzw. Extrapolation der Zeit-

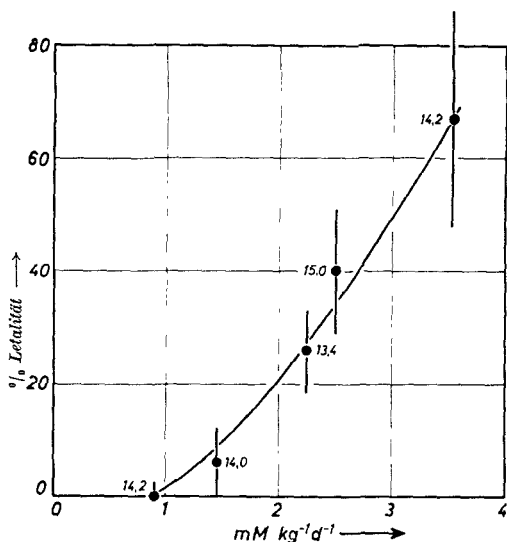


Abb. 1

Abb. 1. Letalität von Ratten (\pm Standardfehler) bei Verabreichung verschieden hoher Na₂Ca-DTPA-Dosen (mM kg⁻¹d⁻¹). Die Zahlen geben die jeweiligen Gesamtdosen (in mM kg⁻¹) wieder

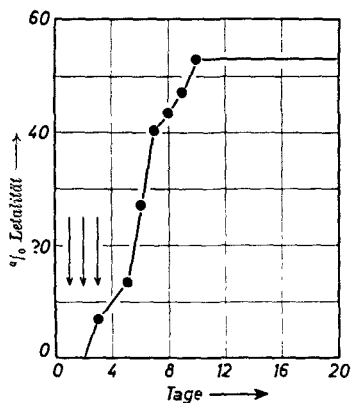


Abb. 2

Abb. 2. Kumulative Letalität von Mäusen nach dreimaliger intraperitonealer Injektion von je 5 mM Na₂Ca-DTPA pro kg. 30 Mäuse mit einem mittleren Körpergewicht von 32 g

Effekt-Kurven wurden die kumulativen Dosen für Letalitätsraten von 15, 50 und 85% ermittelt. In Übereinstimmung mit den in Abb. 1 angeführten Befunden nehmen die kumulativen LD-Werte im niederen Dosisbereich mit wachsender Einzeldosis ab, um aber dann im höheren Dosisbereich wieder zuzunehmen. Diese scheinbare Abnahme der Toxizität muß offenbar dadurch bedingt sein, daß die durch die Chelatbildner gesetzten Schäden eine gewisse Zeit beanspruchen, ehe sie zum letalen Ausgang führen, so daß die während dieser Zeit applizierten und in die LD-Werte eingehenden Dosen zum Effekt nichts mehr beitragen. Dies geht auch aus einem speziellen, in Abb. 2 wiedergegebenen Versuch hervor: Bei einer dreimaligen Verabreichung von je 5 mM DTPA pro kg erreicht die Letalitätsrate einen konstanten Wert erst 6 Tage nach der letzten DTPA-Dosis.

Der Vergleich der Toxizität von ÄDTA und DTPA wurde derart vorgenommen, daß wir die Abhängigkeit der Zahl der Injektionen, die den einzelnen LD-Werten entspricht, von der Höhe der Einzeldosis bestimmten und die so erhaltenen Kurven durch Verschiebung der Dosis-Koordinate zur Deckung zu bringen suchten (Abb.3). Dabei ergeben sich für die gegenüber der ÄDTA höhere Toxizität der DTPA Werte von 1,90, 2,22 bzw. 1,79.

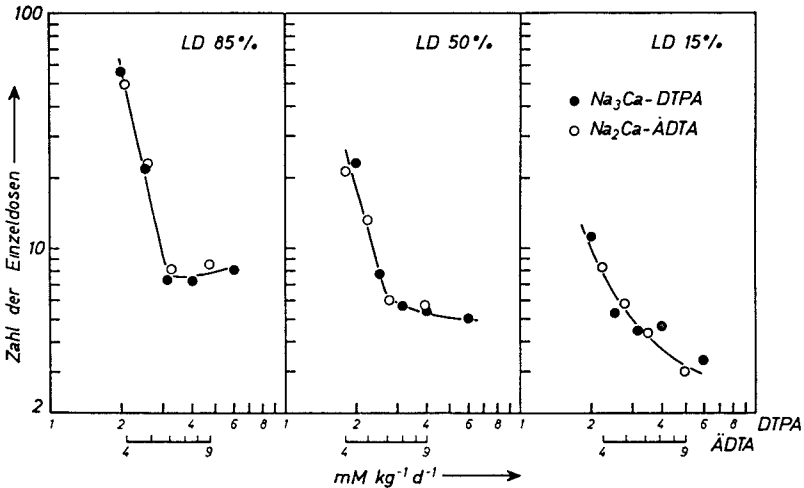


Abb.3. Letalität von Mäusen nach täglicher intraperitonealer Injektion von $\text{Na}_3\text{Ca-ÄDTA}$ und $\text{Na}_3\text{Ca-DTPA}$. Es ist die den angegebenen LD-Werten entsprechende Zahl der Einzeldosen in Abhängigkeit von ihrer Höhe ($\text{mM kg}^{-1}\text{d}^{-1}$) wiedergegeben. 280 Mäuse mit einem mittleren Gewicht von 30 g

Tab.3 zeigt, daß bei der höheren DTPA-Dosis eine stärkere Protrahierung der Behandlung ohne Einfluß bleibt, bei einer niedrigen Dosis jedoch und in Übereinstimmung mit den Versuchen an Ratten zu einer weitgehenden Aufhebung der Toxizität führt.

Über die Toxizität anderer Metallchelate der DTPA orientiert Tab.4. Die Toxizität der Co(II)-DTPA und insbesondere der Zn(II)-DTPA ist gegenüber dem Ca-Chelat deutlich herabgesetzt. Die im Vergleich zu Zn(II)-DTPA höhere Letalität in den Co(II)-DTPA -Gruppen ist mit $P = 0,074$ und $0,046$ gesichert. Eine genaue Bestimmung der Dosis-Effekt-Kurven konnte nicht durchgeführt werden, weil für die Verabfolgung noch höherer Dosen die Löslichkeit der entsprechenden Metallchelate bzw. zu große Injektionsvolumina einen limitierenden Faktor darstellen. Auffallend hoch ist die Toxizität sowohl der Fe(II)- als auch der Fe(III)-DTPA .

Die histologischen Untersuchungen beschränkten sich auf je 3–6 Ratten aus jeder Versuchsgruppe. Eindeutige pathologische und für beide

Chelatbildner qualitativ identische Veränderungen konnten hierbei nur in den Nieren nachgewiesen werden. Es handelt sich um eine hydropische Vakuolisierung der Tubuluszellen in den proximalen Convoluten, so daß ein überaus charakteristisches „sieb“artiges Bild resultiert (Abb.4). Gelegentlich findet man geschwollene Glomerulumschlingen und einen

Tabelle 3. *Einfluß des Behandlungsmodus auf die Letalität von Mäusen nach intraperitonealer Verabfolgung von $\text{Na}_3\text{Ca-DTPA}$*

$\text{mM kg}^{-1}\text{d}^{-1}$	Behandlungsfreier Intervall in Tagen	Zahl der Injekt.	Gewicht (g)	$\frac{\text{gestorbene Tiere}}{\text{untersuchte Tiere}}$
3,16	0,5	13	24	24/24
3,16	1	7	25	20/20
3,16	2	7	26	24/24
3,16	3	13	25	21/23
3,16	4	9	25	23/24
2,00	1	30	33	14/30
2,00	2	30	32	0/29
2,00	3	30	33	1/29
2,00	4	30	35	1/30

Tabelle 4. *Letalität nach intraperitonealer Verabfolgung verschiedener Chelate der DTPA*

Tierart	DTPA-Chelat	$\text{mM kg}^{-1}\text{d}^{-1}$	Zahl der Injekt.	Gewicht (g)	$\frac{\text{gestorbene Tiere}}{\text{untersuchte Tiere}}$
Ratte	Fe(II)	2,00	4	271	10/10
Ratte	Co(II)	2,00	10	271	2/10
Ratte	Fe(II)	2,50	3	291	10/10
Ratte	Zn(II)	2,50	15	303	0/10
Ratte	Co(II)	2,50	23	237	4/10
Maus	Zn(II)	6,00	17	31	0/10
Maus	Co(II)	6,00	17	30	4/8
Maus	Fe(III)	6,00	1	31	8/10

kaum sichtbaren Kapselspalt. Hervorzuheben ist, daß der Bürstensaum auch bei fortgeschrittener Schädigung der Tubuluszellen in der Regel erhalten bleibt. Die Zahl der in Mitleidenschaft gezogenen Tubuli und die Schwere der Schädigung ist annähernd proportional der Dosis; bei massiven, akut toxischen Dosen dehnen sich die degenerativen Veränderungen auch auf die distalen Teile der Hauptstücke aus. Relativ häufig finden sich zahlreiche hyaline Cylinder (Abb. 5).

Die in einem früheren Zusammenhang hervorgehobene Reversibilität der Schäden konnte auch durch die histologischen Untersuchungen bestätigt werden, indem bei den Tieren, die eine 16malige Applikation von je 2,24 mM DTPA pro kg überlebten und 2 Wochen nach Beendigung des Versuchs untersucht wurden, keine oder nur minimale Veränderungen nachweisbar waren.



Abb. 4. Niere einer Ratte nach Injektion von 2,5 mM $\text{Na}_2\text{Ca-DTPA}$ pro kg und Tag an vier aufeinanderfolgenden Tagen. Seziert 1 Tag nach letzter Injektion. PAS-Färbung, Vergr. 920mal. Hydropische Vakuolisierung der Tubuluszellen bei erhaltenem Bürstensaum. Hyaline Cylinder

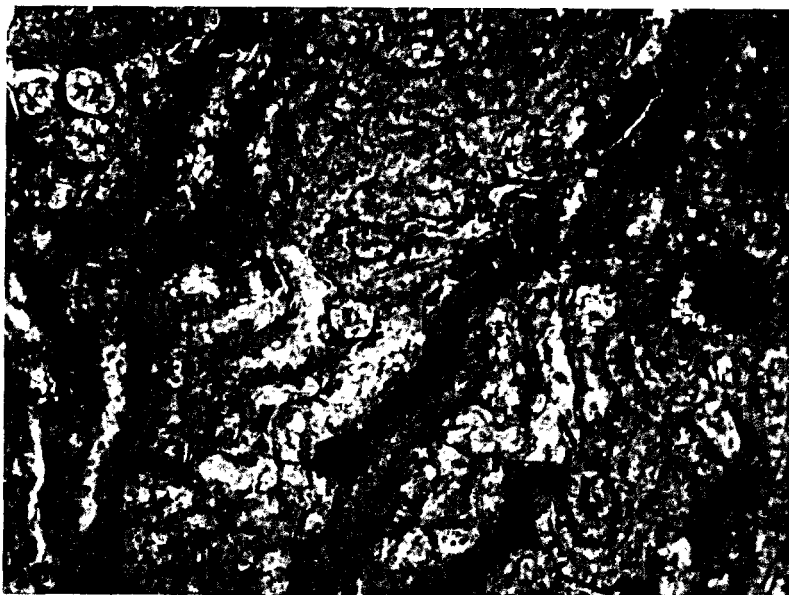


Abb. 5. Niere einer Ratte nach Injektion von 4 mM $\text{Na}_2\text{Ca-DTPA}$ pro kg und Tag an drei aufeinanderfolgenden Tagen. Seziert 2 Tage nach letzter Injektion. PAS-Färbung. Vergr. 230mal. Hyaline Cylinder in den Partes rectae der Hauptstücke

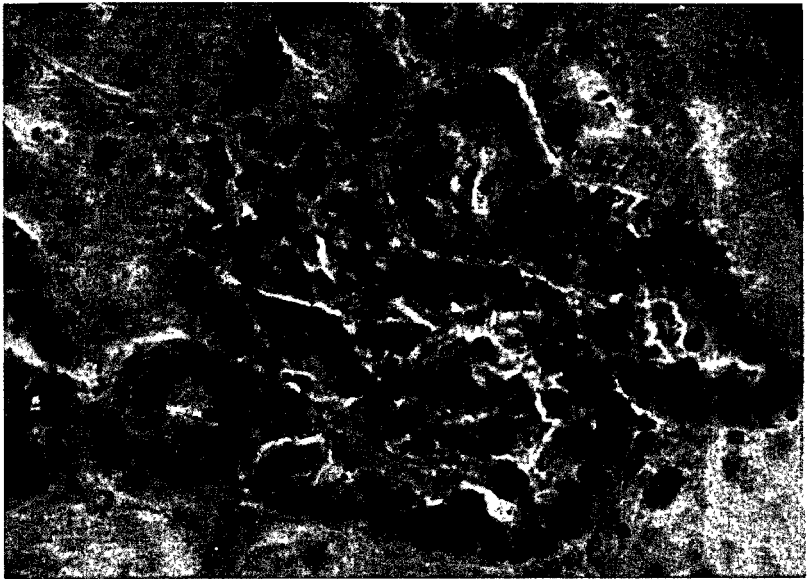


Abb.6. Niere einer Ratte nach 30maliger Injektion von je 2,5 mM $\text{Na}_4\text{Ca-DTPA}$ pro kg (jeden 3.—4. Tag). Gram-Färbung, Vergr. 920 mal. Ablagerung von schollig-kristallinen Massen in den Tubuluszellen

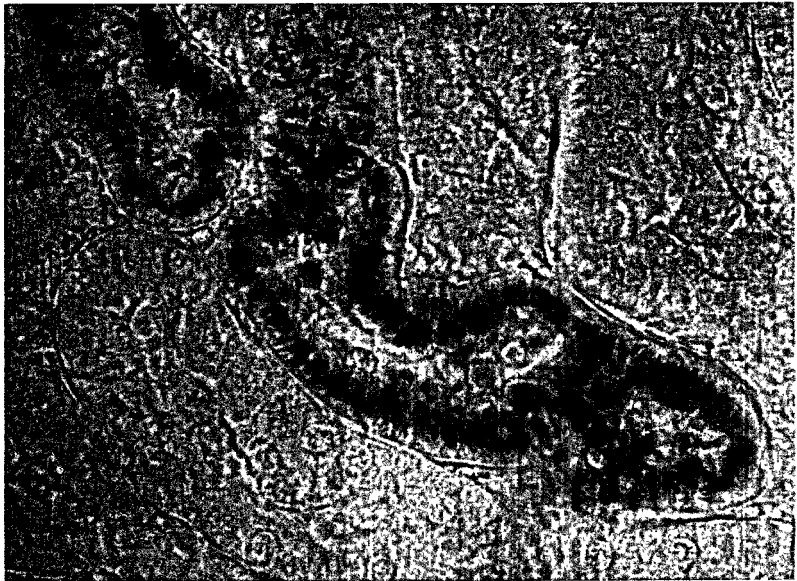


Abb.7. Trypanblauspeicherung in der Niere einer Kontrollmaus. 48 Std nach der Injektion von Trypanblau. Vergr. 920 mal

Einen auffallenden Befund zeigen die Ratten, denen DTPA in einem stärker protrahierten Behandlungsmodus appliziert wurde (Tab.2): Hydropisch degenerierte Tubuli sind noch eindeutig nachweisbar, daneben finden sich jedoch auch Tubuli, deren Zellen sehr dicht gepackte schollige, zum Teil kristalline Massen aufweisen, die sich bei der Trichromfärbung nach GOLDNER leuchtend ziegelrot, bei der PAS-Färbung negativ, positiv dagegen bei der Gramfärbung (Abb.6) färben, so daß es sich offenbar nicht um hyaline Substanz, sondern um Eiweiß handelt.

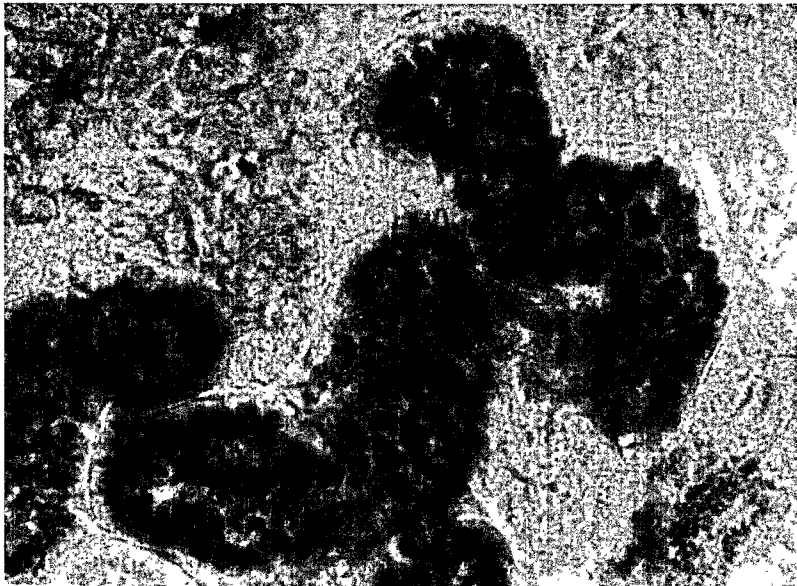


Abb.8. Trypanblauspeicherung in der Niere einer Maus nach Injektion von je 4 mM $\text{Na}_2\text{Ca-DTPA}$ pro kg und Tag an drei aufeinanderfolgenden Tagen. Trypanblau im Anschluß an die letzte DTPA-Injektion; Sektion nach 48 Std. Vergr. 920mal

Um einen Eindruck von der funktionellen Leistungsfähigkeit der geschädigten Tubuli zu gewinnen, prüften wir die Trypanblauspeicherung, die sich bei der Sublimatvergiftung als ein überaus empfindlicher Test erwies (LAPP u. SCHAFÉ 1960). Mäuse erhielten intraperitoneal an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 4 mM Ca-DTPA/kg und im Anschluß daran subcutan Trypanblau. Maximale Speicherung wurde sowohl bei den DTPA- als auch bei den Kontrolltieren nach 24 und 48 Std beobachtet. Die Zahl der speichernden Tubuli und die Intensität der Speicherung sind gegenüber den Kontrollen nicht herabgesetzt; deutlich abweichend dagegen ist das Speichermuster. Während in den Kontrollnieren (Abb.7) längliche Farbstoffgranula sich bevorzugt im basalen Cytoplasma angeordnet finden, zeigen die Tubuli unter dem Einfluß von

DTPA eine ausgesprochen diffuse und zum Teil grobschollige Speicherung (Abb. 8).

In den Nieren der mit Co(II)- und Zn(II)-DTPA behandelten Tiere konnten überhaupt keine oder nur sehr schwach ausgeprägte nephrotische Veränderungen nachgewiesen werden.

Diskussion

Da die durch eine wiederholte parenterale Verabreichung von ÄDTA und DTPA ausgelösten histopathologischen Veränderungen sich im wesentlichen auf die Nieren beschränken, da weiterhin in bezug auf die Dosisabhängigkeit und die Reversibilität der Schäden sowie die unterschiedliche Wirksamkeit verschiedener Metallchelate der DTPA eine weitgehende Parallelität zwischen Letalität und Nephrotoxizität vorliegt, ist man berechtigt, die Nieren als kritisches Organ anzusehen. Daß daneben auch andere, pathogenetisch jedoch weniger relevante Schäden auftreten, soll nicht abgestritten werden; entsprechende Hinweise finden sich in dem Übersichtsreferat von SEVEN (1960).

Was die Pathogenese der Nierenschäden betrifft, ist die Annahme, daß die Toxizität durch das Chelatanion als Ganzes verursacht wird, von vornherein sehr wenig wahrscheinlich. Die im Vergleich zu Ca(II)-DTPA stark herabgesetzte Toxizität der stabileren Co(II)- und Zn(II)-Chelate spricht vielmehr zugunsten der Auffassung, daß die Toxizität der Ca(II)-DTPA dadurch bedingt ist, daß das Ca^{2+} des Chelats gegen stärker gebundene, essentielle Metallionen ausgetauscht wird. Es sei in diesem Zusammenhang erwähnt, daß die Zn(II)- und Co(II)-Chelate der ÄDTA bei oraler Verabreichung ebenfalls wesentlich besser als Ca(II)-ÄDTA vertragen werden (SULLIVAN 1960).

Eine erhöhte renale Ausscheidung von Zn und — allerdings in wesentlich geringerem Maße — von anderen Spurenmetallen unter dem Einfluß von ÄDTA konnte direkt nachgewiesen werden (MILLAR et al. 1954; PERRY u. PERRY 1959; RIEDERS 1955; TEISINGER u. FIŠEROVÁ-BERGEROVÁ 1958). Desgleichen konnte für bestimmte pharmakologische Wirkungen der ÄDTA, wie die Senkung der Adrenalinempfindlichkeit der präcapillären Sphincteren (CRISMON u. DREYER 1956) und den vasodepressorischen Effekt (SCHROEDER u. PERRY 1955), die Chelierung spezifischer endogener Metallionen wahrscheinlich gemacht werden.

Die nephrotoxischen Wirkungen wurden ebenfalls auf die Chelierung bestimmter für die Aktivität renaler Enzyme wesentlicher Metallionen zurückgeführt. Daß Enzyme durch Chelatbildner inaktiviert werden können, ist an sich bekannt, es darf jedoch auch nicht übersehen werden, daß essentielle und durch endogene Liganden gebundene Spurenmetalle in vitro selbst durch so wirksame Chelatbildner wie ÄDTA oft überhaupt nicht oder in nur geringem Maße mobilisierbar sind und daß

dementsprechend zahlreiche Metalloenzyme sich weitgehend resistent gegenüber exogenen Chelatbildner verhalten (WESTERFELD 1961). Die Klärung der Frage, ob überhaupt und welche renalen Enzyme durch DTPA in vivo inaktiviert werden, ist die Aufgabe von noch nicht abgeschlossenen Untersuchungen.

Was das oder die Metallionen betrifft, deren Chelierung, der obigen Arbeitshypothese entsprechend, pathogenetisch wirksam wird, so sollte an sich erwartet werden, daß bei Metallchelaten, deren Stabilität niedriger als die des kritischen Metallions ist, die Toxicität mit größer werdender Stabilitätskonstante abnimmt, um bei Überschreitung der für das kritische Metallion gegebenen Stabilitätskonstante vollkommen aufgehoben zu werden. Wenn auch die Zahl der von uns untersuchten Metallchelate nicht ausreichend ist, kann doch festgestellt werden, daß die theoretisch geforderte Korrelation experimentell nicht bestätigt wird. Die log-Werte der entsprechenden DTPA-Chelate betragen nach ANDEREGG et al. (1959) und VANDEGAER et al. (1959): 10,89 [Ca(II)], 16,66 [Fe(II)], 18,55 [Zn(II)], 19,27 [Co(II)], und 28,6 [Fe(III)]. Es sollte somit für Co(II)-DTPA eine gleiche, auf keinen Fall aber eine größere Toxicität als für Zn(II)-DTPA erwartet werden, was aber tatsächlich nicht der Fall ist. Besonders auffallend ist die sehr hohe und Ca(II)-DTPA deutlich übertreffende Toxicität der beiden Fe-Chelate. Ähnliche Befunde, d. h. eine unter Berücksichtigung der Stabilitätskonstanten unerwartet hohe Toxicität, wurden bereits früher für Cu(II)-ÄDTA (SEMENOV 1957), Fe(II)-ÄDTA (NOFRE et al. 1962) und Pb(II)-ÄDTA (BAUER et al. 1952; CLARK u. TOMICH 1955; IVERMARK u. SELDINGER 1957) festgestellt. Die Ursachen für die exzeptionell hohe Toxicität bestimmter Metallchelate sind noch nicht bekannt.

Da die Ca-Chelate der Polyaminopolycarboxylsäuren als wasserlösliche und mehrfach negativ geladene Ionen nicht in der Lage sind, Zellmembranen zu permeieren, sich fast ausschließlich im extracellulären Raum verteilen und schnell aus dem Körper ausgeschieden werden (FOREMAN et al. 1953), ist es verständlich, daß ihre toxische Wirksamkeit sich nicht auf andere Organe erstreckt. In den Nieren liegen insofern andere Verhältnisse vor, als die Chelate nach FOREMAN et al. (1953) zum Teil aktiv von den Tubuli sezerniert werden. Weiterhin kann auch angenommen werden, daß die tubuläre Rückresorption von Wasser einen sehr starken und damit das Eindringen der Chelate in den intracellulären Raum begünstigenden Konzentrationsgradienten schafft.

Im Hinblick auf die oben entwickelten Vorstellungen über den Wirkungsmechanismus der Chelatbildner steht die Tatsache, daß die DTPA eine höhere Toxicität als ÄDTA aufweist, in guter Übereinstimmung mit den höheren Stabilitäten der meisten DTPA-Chelate (ANDEREGG et al. 1959; SCHWARZENBACH et al. 1954).

Es liegen bisher keine Hinweise dafür vor, daß Unterschiede in der Empfindlichkeit verschiedener Tierarten und des Menschen gegenüber den Polyaminopolycarboxylsäuren bestehen, und wir gehen bei den folgenden, die Dosierung der DTPA beim Menschen betreffenden Überlegungen von dem bei kleinen Nagetieren gefundenen Toxizitätsunterschied zwischen ÄDTA und DTPA aus. Nach den bisherigen Erfahrungen kann im Falle der ÄDTA für den erwachsenen Menschen eine Tagesdosis von 7 mM als gut verträglich angesehen werden; dies entspricht rund 2,5 g wasserfreier $\text{Na}_2\text{Ca-ÄDTA}$. Die maximale Tagesdosis der DTPA sollte, wenn man einen Effektivitätsfaktor von zwei zugrunde legt, auf 3,5 mM, d. h. auf rund 1,75 g wasserfreier $\text{Na}_3\text{Ca-DTPA}$ reduziert werden, die, in 5%iger Glucose gelöst, langsam in einem Zeitraum von 1–3 Std i.v. zu infundieren sind. Im Hinblick auf die wesentlich bessere Verträglichkeit eines stärker protrahierten Behandlungsmodus erscheint es zweckmäßig, 1–3 behandlungsfreie Tage einzuschalten. Ein Verlust an therapeutischer Effektivität ist dabei nicht zu befürchten; im Gegenteil, die Mobilisation von in der Leber abgelagerten Metallionen ist unter diesen Bedingungen sogar stärker ausgeprägt (CATSCH 1962; CATSCH u. SEIDEL 1963). Die gesamte Dauer der DTPA-Behandlung wird von dem eventuellen Auftreten unerwünschter Nebeneffekte und vor allem von dem erzielten therapeutischen Effekt abhängen (vgl. hierzu CATSCH 1963).

Wenn auch eine Dosierung der $\text{Na}_3\text{Ca-DTPA}$ mit einer maximalen Tagesdosis von 1,75 g nach den bisherigen und eingangs angeführten klinischen Erfahrungen einen befriedigenden therapeutischen Effekt gewährleistet, bleibt das Bedürfnis nach gleichwirksamen, jedoch höher dosierbaren Substanzen grundsätzlich bestehen. Einen Ansatzpunkt in dieser Richtung bietet die von uns festgestellte erheblich bessere Verträglichkeit der Co(II) - und insbesondere der Zn(II)-DTPA , die eine mindestens 2–3 mal höhere Dosierung zulassen dürfte. Die Dekorporationseffektivität dieser Metallchelate ist, wie orientierende Untersuchungen an Radiocer (CATSCH 1963) zeigen, gegenüber Ca(II)-DTPA nur unwesentlich herabgesetzt.

Zusammenfassung

Die letalen und histologisch faßbaren nephrotoxischen Wirkungen der Ca-Chelate der Diäthylentriaminpentaessigsäure (DTPA) und Äthylendiamintetraessigsäure (ÄDTA) auf Ratten und Mäuse bei chronischer parenteraler Verabfolgung wurden bestimmt. Die Toxizität der DTPA ist zweimal größer als die der ÄDTA. Die durch die Chelatbildner gesetzten Schäden sind reversibel und können durch eine zeitliche Protrahierung der Behandlung weitgehend vermieden werden. Eine im Vergleich zu Ca(II)-DTPA stark herabgesetzte Toxizität zeigen

die Co(II)- und Zn(II)-Chelate. Die sich aus den Befunden ergebenden theoretischen und die therapeutische Anwendung der DTPA beim Menschen betreffenden praktischen Folgerungen werden diskutiert.

Für Ratschläge und wertvolle Hinweise bei der Beurteilung der histologischen Präparate danken wir Herrn Prof. Dr. F. ROULET, Basel, für ihre Anfertigung Frau I. ADAMOWSKI. Die Chelate wurden uns freundlicherweise von der J. R. Geigy AG., Basel, zur Verfügung gestellt.

Literatur

- ANDEREGG, G., P. NÄGELI, F. MÜLLER u. G. SCHWARZENBACH: Komplexe XXX. *Helv. chim. Acta* **42**, 827 (1959).
- BAUER, R. O., F. R. RULLO, C. SPOONER and E. WOODMAN: Acute and subacute toxicity of EDTA acid salts. *Fed. Proc.* **11**, 321 (1952).
- BRUGSCH, H. G.: Fatal nephropathy during edathamil therapy in lead poisoning. *Arch. Industr. Hlth* **20**, 285 (1959).
- CATSCH, A.: Radioactive metal mobilization. *Fed. Proc.* **20**, Suppl. 10, 206 (1961).
— Principles and trends in therapeutic removal of internally deposited radionuclides. *Hlth Phys.* **8**, 725 (1962).
— Dekorporierung radioaktiver Stoffe. In: *Strahlenschutz Bd. 3*, S. 181. Freiburg i. Br.: Rombach & Co. 1963.
— D. KH. LÈ u. H. MELCHINGER: Untersuchungen über therapeutische Möglichkeiten bei Vergiftungen mit radioaktiven Spaltprodukten. Die Wirkung von Diaminodiäthyläthertetraessigsäure und Diäthylentriaminpentaessigsäure auf die Verteilung von Radiocor. *Strahlentherapie* **106**, 606 (1958).
—, and D. SEIDEL: Rare earths and ruthenium: metabolism and removal from the mammalian body. In: *Diagnosis and Treatment of Radioactive Poisoning*, Vienna, International Atomic Energy Agency 1963, p. 191.
- CLARK, B. J., and E. G. TOMICH: Pharmacological studies on lead E.D.T.A. *Brit. med. J.* **1955** II, 831.
- CRISMON, J. M., and R. L. DREYER: Vascular responses to adrenaline in the rat mesoecum after intravenous ferrous sulfate, ethylenediamine tetraacetate and beta-globulin. *Amer. J. Physiol.* **185**, 113 (1956).
- FAHEY, J. L., C. E. RATH, J. V. PRINCIOTTO, I. B. BRICK and M. RUBIN: Evaluation of trisodium calcium diethylenetriaminopentaacetate in iron storage disease. *J. Lab. clin. Med.* **57**, 436 (1961).
- FOREMAN, H.: The pharmacology of some useful chelating agents. In: *Metal-Binding in Medicine*, p. 82. Philadelphia and Montreal: J. B. Lippincott 1960.
— C. FINNEGAN and C. C. LUSHBAUGH: Nephrotoxic hazard from uncontrolled edathamil calcium-disodium therapy. *J. Amer. med. Ass.* **160**, 1042 (1956).
— M. VIER and M. MAGEE: The metabolism of C^{14} -labeled ethylenediaminetetraacetic acid in the rat. *J. biol. Chem.* **203**, 1045 (1953).
- IYEMARK, B., and S. I. SELDINGER: Renal damage in rats from the lead salt of EDTA and from umbradil. *Acta radiol. (Stockh.)* **48**, 366 (1957).
- LAFUMA, J.: Diagnostic et traitement d'un cas d'intoxication par le plutonium, local d'abord et généralisé ensuite. In: *Diagnosis and Treatment of Radioactive Poisoning*, Vienna, International Atomic Energy Agency 1963, p. 381.
- LAPP, H., u. K. SCHARÉ: Morphologische, histochemische und Speicherungsuntersuchungen über den Verlauf der Sublimatnephrose bei der Ratte. *Beitr. path. Anat.* **123**, 77 (1960).
- MILLAR, J. M., M. I. FISCHER, C. A. MAWSON and P. V. ELCOATE: Influence of ethylenediamine-tetra-acetic acid on the excretion of zinc by the rat. *Nature (Lond.)* **174**, 881 (1954).

- NOFRE, C., A. CIER et A. PAQUELIER: L'activité radiomimétique de l'ion ferreux chélaté. *Path. et Biol.* **10**, 1203 (1962).
- NORWOOD, W. D.: DTPA-effectiveness in removing internally deposited plutonium from humans. *J. occup. Med.* **2**, 371 (1960).
— Therapeutic removal of plutonium in humans. *Hlth Phys.* **8**, 747 (1962).
- PERRY, H. M., and E. F. PERRY: Normal concentrations of some trace metals in human urine: changes produced by ethylenediaminetetraacetate. *J. clin. Invest.* **38**, 1452 (1959).
- REUBER, M. D., and G. C. SCHMIELER: Edetate kidney lesions in rats. *Arch. environm. Hlth* **5**, 430 (1962).
- RIEDERS, F.: Effects of intravenous disodium calcium ethylenediamine tetraacetate (Na_2CaEDTA) on urinary excretion of Pb, Fe, Cu and Zn in man. *Fed. Proc.* **14**, 382 (1955).
- ROSOFF, B., S. RITTER, K. SULLIVAN, H. E. HART and H. SPENCER-LASZLO: Effect of chelating agents on the removal of yttrium and lanthanum from man. *Hlth Phys.* **6**, 177 (1961).
- SCHROEDER, H. A., and H. M. PERRY: Antihypertensive effects of metal binding agents. *J. Lab. clin. Med.* **46**, 416 (1955).
- SCHWARZENBACH, G., R. GUT u. G. ANDEREGG: Komplexone XXIV. *Helv. chim. Acta* **37**, 937 (1954).
- SEMENOV, D. I.: Wirkungsmechanismus von Komplexonen. *Trud. Inst. Biol. Akad. Nauk SSSR, Ural. Fil.* **9**, 4 (1957).
- SEVEN, M. J.: Observations on the toxicity of intravenous chelating agents. In: *Metal-Binding in Medicine*, p. 95. Philadelphia u. Montral: J. B. Lippincott 1960.
- SULLIVAN, T. J.: The effects of metallic edetates on the growth and blood formation of rats. *Arch. int. Pharmacodyn.* **124**, 225 (1960).
- TARUI, S.: Studies on zinc metabolism. I. The influences of chelating agents on urinary excretion of metals. *Med. J. Osaka Univ.* **10**, 499 (1960).
- TEISINGER, J., u. V. FIŠEROVÁ-BERGEROVÁ: Über den Einfluß des zur Therapie der Bleivergiftung angewendeten Calciumdinatriumsalzes der Äthylendiamintetraessigsäure auf den Eisen- und Kupferspiegel im Blut und Urin. *Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg.* **16**, 478 (1958).
- VANDEGAER, J., S. CHABEREK and A. E. FROST: Iron chelates of diethylenetriamine-pentaacetic acid. *J. Inorg. Nucl. Chem.* **11**, 210 (1959).
- WESTERFELD, W. W.: Effect of metal-binding agents on metalloproteins. *Fed. Proc.* **20**, Suppl. 10, 158 (1961).

Prof. Dr. ALEXANDER CATSCH,

Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe, 75 Karlsruhe,
Postfach 947