

KERNFORSCHUNGSZENTRUM

KARLSRUHE

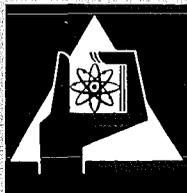
Januar 1972

KFK 1617

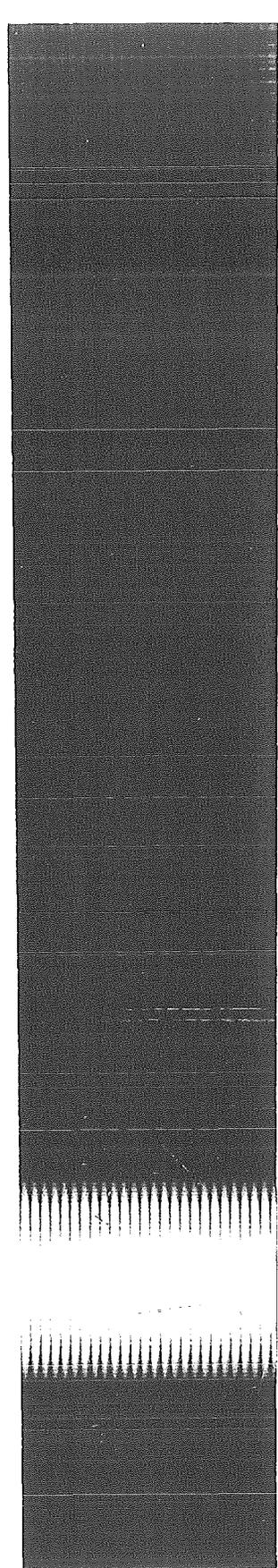
Institut für Strahlenbiologie

**Metabolismus und Toxizität therapeutischer Chelatbildner
XII. Mitteilung: Wirkung auf die DNS-Synthese
in Kryptenzellen des Rattendarms**

F. Bohne



**GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H
KARLSRUHE**



Sonderdruck

143/1

1972

Strahlentherapie

**Archiv für klinische
und experimentelle Radiologie**

Metabolismus und Toxizität therapeutischer Chelatbildner

XII. Mitteilung: Wirkung auf die DNS-Synthese in Kryptenzellen des Rattendarms

F. Bohne

Aus dem Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe



URBAN & SCHWARZENBERG

MÜNCHEN - BERLIN - WIEN

Alle Rechte, auch die des Nachdrucks, der photomechanischen Wiedergabe und der Übersetzung, vorbehalten
© Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien 1971

Metabolismus und Toxizität therapeutischer Chelatbildner

XII. Mitteilung: Wirkung auf die DNS-Synthese in Kryptenzellen des Rattendarms

F. Bohne

Aus dem Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe

Der Einfluß von Ca-ÄDTA, Ca-DTPA und Zn-DTPA auf die DNS-Synthese der Kryptenzellen im Rattendarm wurde an Hand der Inkorporation von ^3H -TdR in die DNS untersucht. Die Ca-Chelate bewirkten eine vorübergehende Hemmung, die nach Ca-DTPA stärker war als nach Ca-ÄDTA. Zn-DTPA erwies sich als unwirksam. Die Resultate weisen auf die Hemmung einer der DNS-Synthese vorausgehenden Reaktion durch Chelierung von Zn^{2+} , Mn^{2+} und/oder Fe^{2+} hin. Die Bedeutung der Ergebnisse für die Chelattoxizität wird diskutiert.

Die toxischen Nebenwirkungen von Chelatbildnern wie Ca-Äthylendiamintetraacetat (Ca-ÄDTA) und Ca-Diäthylentriaminpentaacetat (Ca-DTPA) wurden lange Zeit allein auf eine Schädigung der Nieren zurückgeführt [8, 14, 17, 29–31], Weber [41] stellte diese Auffassung jedoch kürzlich in Frage, da er keine Korrelation zwischen Nierenveränderungen und letaler Wirkung der Chelatbildner feststellen konnte. Ahrens u. Aronson [1] und Seidel [32] zeigten außerdem, daß die Nierenfunktion selbst durch relativ hohe Dosen nicht beeinträchtigt wird. Andererseits beobachteten Ahrens u. Aronson [1] sowohl funktionelle als auch schwere morphologische Schäden der Darmmukosa nach Ca-ÄDTA. Das gleiche gilt auch für Ca-DTPA [40]. Die Art dieser Darmschäden legte die Vermutung nahe, daß die Zellproliferation in den Krypten beeinträchtigt wird.

In orientierenden Experimenten wurde die Inkorporation von ^3H -Thymidin (^3H -TdR) in die DNS von Kryptenzellen des Dünndarms autoradiographisch untersucht. Nach Verabreichung von Ca-DTPA trat eine Hemmung der DNS-Synthese auf [42]. Die Auswertung der Präparate ist jedoch nicht einfach und die Bestimmung des Markierungsindex mit erheblichen Fehlern behaf-

tet. Daher führten wir die vorliegende Untersuchung mit einer anderen Methode durch, um genauere Daten über Zeit- und Dosisabhängigkeit dieser Chelatwirkung sowie Aufschluß über eventuelle Unterschiede zwischen akuter und chronischer Toxizität [8, 11] zu erhalten. Die Wirkung von Zn-DTPA wurde untersucht, da die Toxizität dieser Substanz wesentlich geringer ist als die der Ca-Chelate [8, 11, 32, 40], obwohl die Dekorporationswirksamkeit gegenüber vielen Radionukliden gleich ist [10, 33, 36].

Methodik

Die Chelatbildner $\text{Na}_2(\text{Ca-ÄDTA}) \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_3(\text{Ca-DTPA}) \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ und $\text{Na}_3(\text{Zn-DTPA}) \cdot 4,5 \text{H}_2\text{O}$ wurden in destilliertem Wasser gelöst und der pH auf 7,4 eingestellt. Die Konzentration der Chelatlösungen betrug 10 bis 40 %.

^3H -Thymidin (^3H -Methyl) erhielten wir vom Radiochemical Centre, Amersham, mit einer spezifischen Aktivität von 500 mCi/mmol. Die Lösung wurde mit physiologischer Kochsalzlösung auf 100 $\mu\text{Ci/ml}$ verdünnt.

Versuchstiere waren weibliche Ratten des Heiligenberg-Inzuchtstammes mit einem Durchschnittsgewicht von 200 g. Sie erhielten Futter und Wasser ad libitum. 1 bis 3 ml Chelatlösung wurden subkutan zu verschiedenen Zeiten vor intraperitonealer Injektion von 0,5 $\mu\text{Ci/g}$ ^3H -TdR verabreicht. Die Kontrolltiere erhielten äquimolare Kochsalzlösung an Stelle der Chelatbildner. Die Markierung mit ^3H -TdR ge-

schah in allen Serien zwischen 8.30 und 9.30 Uhr vormittags, da die mitotische Aktivität der Kryptenzellen starke tageszeitliche Schwankungen aufweist. Eine Stunde nach der Injektion mit ^3H -TdR wurden die Ratten getötet, 60 cm Dünndarm, beginnend mit dem Ileum, entfernt, gespült und in eiskalte physiologische NaCl gelegt. Die folgende Aufarbeitung wurde, wenn nicht anders angegeben, bei 0°C durchgeführt. Die Isolierung der Krypten erfolgte nach der Methode von *Harrison et al.* [20]. Vom umgestülpten Darm werden zunächst durch Vibration die Villi entfernt. Durch eine zweite Vibration bei maximal gedehntem Darm lassen sich danach die Krypten abtrennen. Die Isolierung erfolgt in einem Puffer aus 5 mM $\text{Na}_2\text{H}_2\text{-ÄDTA}$ und 0,14 M NaCl. Anschließend wurden die Krypten bei 2500 g zentrifugiert, in physiologischer NaCl gewaschen und nochmals zentrifugiert. Das Sediment wurde in 5 ml dest. H_2O in einem Potter-Elvehjem-Homogenisator mit Teflonstempel homogenisiert. Die Fraktionierung des Homogenisates führten wir nach der Methode von *Hinrichs et al.* [22] durch. Dabei erfolgt eine Auftrennung in säurelösliche Phase, RNS, DNS und Proteine. In den einzelnen Fraktionen bestimmten wir mittels eines Flüssigszintillationszählers die ^3H -Aktivität [3]. Für verschiedenen Löschgrad wurde korrigiert. Ein Teil der DNS-Fraktion diente zur Messung der DNS-Menge, die wir mit der spektrophotometrischen Bestimmung nach *Burton* [7] durchführten. Auf Grund der Aktivitäts- und der DNS-Messung konnte die Inkorporation des ^3H -TdR in Zerfällen pro Minute pro μg DNS ($\text{ZpM}/\mu\text{g}$) berechnet werden.

Ergebnisse

Die Inkorporation von ^3H -TdR in die DNS der Kryptenzellen betrug bei den Kontrolltieren 2339 $\text{ZpM}/\mu\text{g}$ DNS. Sie wurde durch die Menge und Konzentration der injizierten NaCl-Lösung nicht beeinflusst. Wie erwartet, fand sich praktisch kein ^3H -TdR in der RNS- und Proteinfraktion (0,1 bis 0,5% des ^3H im Homogenat). Alles nicht in die DNS eingebaute ^3H -TdR sollte sich in der säurelöslichen Phase befinden. In unseren Versuchen enthielt diese Fraktion jedoch nur 5 bis 10% des gesamten ^3H , und dieser

Prozentsatz veränderte sich nicht, auch wenn bei behandelten Tieren eine deutliche Veränderung der Inkorporation in die DNS auftrat. Da die Isolierung der Krypten in einem Puffer durchgeführt wird, der 5 mmol/l $\text{Na}_2\text{H}_2\text{-ÄDTA}$ enthält, geht wahrscheinlich ein beträchtlicher Teil des ^3H -TdR aus der säurelöslichen Phase durch eine Erhöhung der Permeabilität verloren, während das fest gebundene ^3H -TdR nicht beeinflusst wird.

Im ersten Experiment erhielten die Ratten 4 oder 8 mmol/kg Ca-DTPA zu verschiedenen Zeiten vor Verabreichung von ^3H -TdR (Tab. 1). Sechs Stunden nach 4 mmol/kg Ca-DTPA gibt es noch keinen signifikanten Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrolltieren. Nach zwölf Stunden ist die DNS-Syntheserate auf 24% gesunken. Sie steigt dann bis zu 24 Stunden schnell, später langsamer an, bis nach 72 Stunden wieder Kontrollwerte erreicht werden. Der Verlauf nach 8 mmol/kg ist ähnlich, aber der Abfall ist ausgeprägter (18% der Kontrolle nach zwölf Stunden), und die Erholung dauert länger. Sie ist erst nach fünf Tagen abgeschlossen. Zeichen einer toxischen Wirkung, wie

Tab. 1. Inkorporation von ^3H -TdR in die DNS ($\text{ZpM}/\mu\text{g}$) der intestinalen Kryptenzellen von Tieren, die zu verschiedenen Zeiten mit Ca-DTPA behandelt wurden. Mittelwerte und Mutungsbereiche für $P = 0,05$; in Klammern die Zahl der Versuchstiere.

Zeit nach Ca-DTPA (Std.)	4 mmol/kg	8 mmol/kg
Kontrolle	2339 \pm 217 (20)	
6	1959 \pm 429 (5)	
12	562 \pm 182 (5)	417 \pm 109 (6)
18	1179 \pm 353 (4)	
24	1494 \pm 323 (5)	682 \pm 219 (4)
48	1737 \pm 569 (5)	1191 \pm 223 (5)
72	1891 \pm 846 (4)	1308 \pm 883 (4)
96		1370 \pm 658 (5)
120		2173 \pm 344 (4)

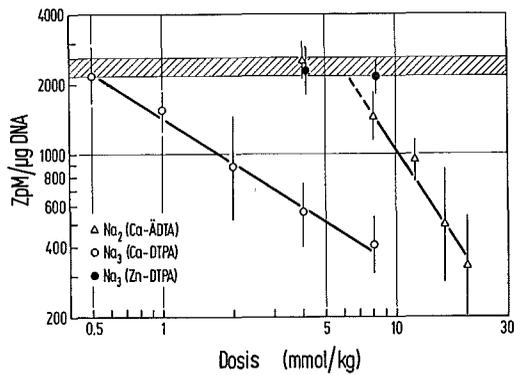


Abb. 1. Inkorporation von ³H-TdR in die DNS von intestinalen Kryptenzellen (ZpM/µg DNS) in Abhängigkeit von der Chelatdosis. Die schraffierte Fläche gibt den Mutungsbereich der Kontrolle (20 Tiere) an. Die experimentellen Punkte sind Mittelwerte von vier bis sechs Tieren, die vertikalen Striche Mutungsbereiche (P = 0,05).

Durchfall, blutige Nase und Augen und struppiges Fell, entwickelten sich 24 bis 48 Stunden nach Verabreichung von 4 bis 8 mmol/kg Ca-DTPA. 20% der Tiere starben zwischen 48 und 72 Stunden nach Injektion von 8 mmol/kg.

Im zweiten Experiment wurde der Einbau von ³H-TdR in die DNS zwölf Stunden nach Verabreichung verschiedener Chelatdosen untersucht. Der Zeitpunkt wurde gewählt, weil er den maximalen Effekt zeigt. Bei Auftragung im doppelt-logarithmischen Maßstab ist die Dosisabhängigkeit bei beiden Ca-Chelaten offensichtlich linear (Abb. 1). Zn-DTPA dagegen bewirkt bis zu einer

Tab. 2. Inkorporation von ³H-TdR in die DNS der intestinalen Kryptenzellen von Ratten, die täglich 30 µmol/kg Ca- oder Zn-DTPA an 30 Tagen erhielten. N= Zahl der Tiere

Chelat	N	Inkorporation von ³ H-TdR in die DNS	
		ZpM/µg	% der Kontrolle
Kontrolle	20	2339 ± 217	100 ± 9
Ca-DTPA	6	3180 ± 599	136 ± 26
Zn-DTPA	6	2769 ± 370	118 ± 16

Dosis von 8 mmol/kg keine Veränderung. Bei der Regressionsanalyse wurden alle Werte, die sich nicht signifikant von der Kontrolle unterschieden, weggelassen. Es ergab sich ein signifikanter Unterschied der beiden Steigungen (P < 0.005). Beide Kurven zeigen einen Schwellenwert, der für DTPA 0,54 mmol/kg und für ÄDTA 6,3 mmol/kg beträgt, d. h., Ca-DTPA ist in der Schwellenwertregion 11,7 mal so effektiv wie Ca-ÄDTA. Dieser Faktor sinkt jedoch mit steigender Dosis bis auf einen Wert von 2,5 bei der höchsten verwendeten Dosis.

Die Wirkung von wiederholten niedrigen Dosen von Ca-DTPA und Zn-DTPA im Bereich, der für die Behandlung von Menschen empfohlen wird (15 bis 60 µmol/kg), untersuchten wir in einem dritten Experiment. Die Ratten erhielten täglich 30 µmol/kg 30 Tage lang Ca- oder Zn-DTPA. Zwölf Stunden nach der letzten Injektion wurde ³H-TdR verabreicht. Zn-DTPA hatte keinen Effekt (Tab. 2). Dagegen bewirkte Ca-DTPA eine leichte, aber signifikante Erhöhung (P < 0,05) auf 135%.

Diskussion

Da die histologischen Bilder in den Arbeiten von *Abrens* u. *Aronson* [1] und *Weber* [40] Nekrosen der Darmschleimhaut nach Ca-ÄDTA und Ca-DTPA zeigen, muß zunächst die Frage diskutiert werden, ob die Abnahme der ³H-TdR-Inkorporation in unseren Untersuchungen lediglich eine Folge des Zelltodes ist. Unserer Meinung nach sprechen folgende Tatsachen dagegen:

1. Die eine der oben angegebenen Arbeiten [1] ist mit unseren Versuchen nicht vergleichbar, a) da es sich um eine kontinuierliche Infusion der Chelatbildner handelt und die histologische Untersuchung 36 Stunden nach Beginn der Infusion durch-

geführt wurde, b) da die Versuchstiere Hunde sind. Es ist bekannt, daß sich die Toxizität der Chelatbildner bei Hunden von der bei Ratten unterscheidet, indem z. B. die LD 50% bei wiederholter Verabreichung im Gegensatz zu den Verhältnissen bei kleinen Nagetieren von der Einzeldosis unabhängig ist [2], d. h. Regenerationsvorgänge zumindest in geringerem Maße wirksam werden.

2. In den Versuchen von *Weber* [40] an Ratten wurden die Chelatbildner täglich verabreicht. Trotzdem wird ausdrücklich festgestellt, daß 24 Stunden nach 2 mal 2 mmol/kg Ca-DTPA keine Nekrosen auftreten. In einer späteren Arbeit [42], in der die Chelatwirkung bis 14 Stunden nach einmaliger Injektion untersucht wurde, waren ebenfalls keine Anzeichen für nekrotische Veränderungen festzustellen.

3. Schließlich zeigt der erste Versuch der vorliegenden Arbeit, daß bereits sechs Stunden, nachdem das Minimum erreicht war, eine Verdoppelung der DNS-Synthese eingetreten ist (Tab. 1). Das wäre unseres Erachtens nicht möglich, wenn die Reduktion der DNS-Synthese auf einem Absterben der Kryptenzellen beruhte, da ein Zellzyklus dieser Zellen etwa 18 Stunden und allein die DNS-Synthesephase 7,5 Stunden dauert [38].

Wir halten es daher für sehr viel wahrscheinlicher, daß es sich bei der Hemmung des ^3H -TdR-Einbaus in die DNS um eine spezifische Wirkung der Chelatbildner handelt.

Da die DNS-Synthese nur durch Ca-Chelate, nicht durch Zn-DTPA mit einer höheren Stabilitätskonstanten beeinträchtigt wird, kann man schließen, daß der zugrunde liegende Mechanismus die Bindung eines oder mehrerer Metallionen ist, die zur DNS-Synthese gebraucht werden. Zn^{2+} selbst sowie Mn^{2+} oder Fe^{2+} könnten beteiligt sein.

Die Stabilitätskonstanten von Zn-, Mn(II)- und Fe(II)-DTPA sind $10^{18,4}$, $10^{15,6}$ bzw. $10^{16,0}$ und damit erheblich höher als die von Ca-DTPA mit $10^{10,9}$. Eine Wechselwirkung mit Mg^{2+} kann ausgeschlossen werden, da die Affinität zu DTPA geringer ist als die von Ca^{2+} . Ebenso unwahrscheinlich ist die Reaktion mit Co^{2+} , Cu^{2+} oder Fe^{3+} , da ihre Stabilitätskonstanten ($10^{19,3}$, $10^{21,5}$ bzw. $10^{27,5}$) höher sind als die von Zn-DTPA. Die Ausscheidung von Zn [15, 21] und Mn [27] wird durch Ca-ÄDTA und -DTPA deutlich erhöht. Die Eisenausscheidung wird weniger stark intensiviert [5], jedoch kann man nicht nachweisen, ob dies auf einer Mobilisierung von Fe(II) oder Fe(III) beruht. Eine Verarmung des Dünndarms an Zn wurde von *Millar* [25], an Mn von *Nadolny* [27] nachgewiesen. Dagegen ist der Einfluß von Ca-Chelaten auf die Ausscheidung anderer Spurenmetalle nur gering [28, 37]. Die erwähnten Ergebnisse und Überlegungen machen es wahrscheinlich, daß die Ursache für die DNS-Synthesehemmung eine Bindung von Zn, Mn und/oder Fe(II) ist.

Viele Untersuchungen wiesen die Bedeutung von Metallionen für die DNS-Synthese selbst und/oder vorhergehende Reaktionen nach. *Lieberman* et al. [23, 24] und *Fujioka* et al. [18] fanden eine Hemmung der DNS-Synthese durch Na_4 -ÄDTA in Zellkulturen und in der Leber von Ratten nach partieller Hepatektomie. Sie konnte durch Zn^{2+} , jedoch nicht durch Ca^{2+} , Mg^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} oder Mn^{2+} (allein oder in Kombination) rückgängig gemacht werden. Die Aktivität von TdR-Kinase und DNS-Polymerase war reduziert, wogegen andere Enzyme nicht beeinträchtigt waren. Die Autoren nehmen an, daß die verminderte Aktivität der beiden Enzyme nicht auf einer Hemmung, sondern auf einer Verringerung ihrer Synthese beruht, obwohl sie keinen Effekt auf RNS- oder Proteinsynthese finden

konnten. Daß die DNS-Polymerase selbst durch Chelatbildner gehemmt werden kann, wurde von Slater [35] nachgewiesen. Aus der Art der Hemmung schließt der Autor, daß das an DNS-Polymerase gebundene Zn, welches eine funktionelle Rolle bei der Wechselwirkung mit der DNS spielt, blockiert wird. Eine Hemmung der Reaktion zwischen der terminalen Deoxynucleotidyltransferase und DNS durch metallchelierende Verbindungen wurde von Chang et al. [13] festgestellt. Auch in diesem Fall ist Zn^{2+} das einzige Metallion, das den Effekt aufheben kann. Die Teilnahme von Fe^{2+} an einer Reaktion, die der DNS-Synthese vorausgeht, wurde von Moore et al. [26] für die Synthese von Deoxycytidindiphosphat durch Cytidindiphosphatase gezeigt. Die Bedeutung schließlich von Mn^{2+} für die RNS-Synthese ist durchaus bekannt [z. B. 12, 34]. Zur Frage, ob wir es mit einem primären Effekt auf die DNS-Synthese zu tun haben oder ob wesentliche vorhergehende Schritte beeinflußt werden, muß betont werden, daß – in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Weber et al. [42] – eine Zeitspanne von etwa zwölf Stunden verstreicht, bevor die Hemmung der DNS-Synthese nachgewiesen werden kann. Die Hauptmenge der Chelate wie der chelierten Metalle wird jedoch innerhalb von sechs Stunden ausgeschieden [4, 15, 16, 39]. Das scheint darauf hinzuweisen, daß die Chelatbildner die DNS-Synthese nicht direkt beeinflussen, sondern eine der vorangehenden Reaktionen; d. h., die Hemmung der DNS-Synthese muß als sekundärer Effekt angesehen werden. Die Frage, welche Reaktion im Zellzyklus durch Chelatbildner beeinträchtigt wird, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Nachdem der maximale Effekt erreicht ist, beobachten wir eine zunächst rasche Erholung, die jedoch nicht vollständig ist. Das

bedeutet, daß die Metalldepots mit einer gewissen Verzögerung aufgefüllt werden. Es ist gezeigt worden, daß auf parenterale Verabreichung von Ca-DTPA eine erhöhte Retention des vom Darm resorbierten Zn folgt, obwohl die Resorptionsrate als solche nicht verstärkt wird [6]. Andererseits führt die toxische Wirkung der Chelatbildner zu einer stark verminderten Nahrungsaufnahme, so daß nach 48 Stunden der Magen-Darm-Trakt praktisch leer ist und die Erholung dadurch verzögert wird.

Die Stabilität von Zn-, Mn(II)- und Fe(II)-DTPA ist höher als die der entsprechenden ÄDTA-Verbindungen. In Übereinstimmung damit zeigen die Dosiseffektkurven eine höhere Effektivität von Ca-DTPA gegenüber Ca-ÄDTA. Die relative Potenz von Ca-DTPA nimmt jedoch mit steigender Dosis ab. Hierzu muß bemerkt werden, daß beim Einfluß der Ca-Chelate auf die Exkretion von Zn und Mn eine grundsätzlich ähnliche Situation vorliegt: DTPA ist wirksamer als ÄDTA. Die relative Potenz des ersteren ist jedoch umgekehrt proportional zur Dosis, und bei hohen Dosen beider Chelate strebt die Metallausscheidung einem Plateau zu [15, 21, 27]. Offenbar ist die insgesamt mobilisierbare Menge an Metallionen klein, und die Grenze wird bei hohen Chelatdosen erreicht.

Chronische Verabreichung niedriger Dosen von Ca-DTPA führt zu einer gegenüber Kontrolltieren leicht erhöhten 3H -TdR-Inkorporation. Es ist denkbar, daß wiederholte Chelatgaben unterhalb der Schwellenwertdosis zu leichten Schäden der intestinalen Mukosa führen, die von hyperproliferativen Prozessen begleitet sind, wie es von Weber [41] für die Nieren beschrieben wurde. Langzeituntersuchungen über die Wirkung von kleinen Chelatdosen auf die Darmschleimhaut liegen bisher nicht vor.

Die Frage, ob in den Darmschäden die Hauptursache für die letale Wirkung der Chelatbildner gesehen werden kann, ist bisher nicht eindeutig zu entscheiden, und das war auch nicht Ziel der vorliegenden Arbeit. Es ist jedoch eindrucksvoll und vielleicht nicht zufällig, daß in unseren Experimenten die relative Potenz von DTPA (verglichen mit ÄDTA) im hohen Dosisbereich 2,5 beträgt und gut mit dem Verhältnis der akuten und chronischen LD 50%-Werte von etwa 2,0 vergleichbar ist [8, 9, 19].

Es erscheint möglich, daß die Hemmung der DNS-Synthese durch Chelatbildner nicht auf den Darm beschränkt ist, sondern andere proliferative Gewebe ebenfalls erfaßt.

Vorläufige Experimente zeigten, daß dies für das Knochenmark zutrifft, wo ebenfalls ein Abfall der ^3H -TdR-Inkorporation beobachtet werden konnte.

Die Autorin dankt Frau U. Rabe für ihre geschickte und umsichtige technische Hilfe.

Metabolism and Toxicity of Therapeutic Chelating Agents

12th Communication: Effect on DNA-Synthesis in Intestinal Crypt Cells of the Rat

The influence of Ca-EDTA, Ca-DTPA, and Zn-DTPA on DNA-synthesis in intestinal crypt cells of the rat was assayed by the incorporation of ^3H -TdR into the DNA. A transient inhibition by the Ca-chelates was observed, DTPA being more effective than EDTA. Zn-DTPA proved to be ineffective. The results indicate that a reaction preceding DNA-synthesis is inhibited by chelation of Zn^{2+} , Mn^{2+} , and/or Fe^{2+} . The relevance of the results for chelate toxicity is discussed.

Metabolisme et toxicité des chélateurs thérapeutiques

12^{ème} communication: Effet sur la biosynthèse de l'ADN dans les cryptes intestinales chez le rat

L'influence du Ca-EDTA, Ca-DTPA et Zn-DTPA sur la biosynthèse de l'ADN dans les cryptes intestinales du rat a été étudiée au moyen de l'incorporation de thymidine ^3H . Les chélateurs calciques montrent une inhibition temporaire, plus importante dans le cas de DTPA que de l'EDTA. Le Zn-DTPA n'a aucun effet. Les résultats permettent de conclure qu'une réaction, précédant la synthèse de l'ADN, est inhibée par la chélation de Zn^{++} , Mn^{++} ou Fe^{++} . Leur signification pour la toxicité des agents chélateurs y est discutée.

Literatur

- [1] Abrens, F. A., A. L. Aronson: Toxicol. appl. Pharmacol. 18 (1971), 10.
- [2] Bauer, R. O., F. R. Rullo, C. Spooner, E. Woodman: Fed. Proc. 11 (1952), 321.
- [3] Bohne, F.: Int. J. applied Radiat. Isotopes 22 (1971), 384.
- [4] Bohne, F., A.-E. Harmuth-Hoene, K. Kürzinger, F. Havlíček: Strahlentherapie 136 (1968), 699.
- [5] Bohne, F., A.-E. Harmuth-Hoene, K. M. Weber: Arch. Pharm. exp. Path. 257 (1967), 409.
- [6] Bohne, F., V. Nigrović, A.-E. Harmuth-Hoene: Strahlentherapie 134 (1967), 293.
- [7] Burton, K.: Biochem. J. 62 (1956), 315.
- [8] Catsch, A.: Arch. Pharm. exp. Path. 246 (1964), 316.
- [9] Catsch, A.: Arzneimittel-Forsch. 17 (1967), 493.
- [10] Catsch, A., D. Kh. Lê, D. Chambault: Int. J. Radiat. Biol. 8 (1964), 35.
- [11] Catsch, A., E. v. Wedelstaedt: Experientia (Basel) 21 (1965), 210.
- [12] Capobianco, G., A. Vescia: Ital. J. Biochem. 19 (1970), 217.
- [13] Chang, L. M. S., F. J. Bollum: Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 65 (1970), 1041.
- [14] Doolan, P. D., S. L. Schwartz, J. R. Hayes, J. C.

- Mullen, N. B. Cummings: *Toxicol. appl. Pharmacol.* 10 (1967), 481.
- [15] Dvořák, P.: *Strahlentherapie* 139 (1970), 611.
- [16] Foreman, H., M. Vier, M. Magee: *J. biol. Chem.* 203 (1953), 1045.
- [17] Foreman, H., C. Finnegan, C. C. Lushbaugh: *J. Amer. med. Ass.* 160 (1956), 1042.
- [18] Fujjoka, M., I. Lieberman: *J. biol. Chem.* 239 (1964), 1164.
- [19] Günther, R.: *Arch. Pharm. exp. Path.* 262 (1969), 405.
- [20] Harrison, D. D., H. L. Webster: *Exp. Cell. Res.* 55 (1969), 257.
- [21] Havlíček, F.: *Strahlentherapie* 134 (1967), 296.
- [22] Hinrichs, H. R., R. O. Petersen, R. Baserga: *Arch. Path.* 78 (1964), 245.
- [23] Lieberman, I., P. Ove: *J. biol. Chem.* 237 (1962), 1634.
- [24] Lieberman, I., R. Abrams, N. Hunt, P. Ove: *J. biol. Chem.* 238 (1963), 3955.
- [25] Millar, M. J., M. I. Fischer, C. A. Mawson, P. V. Elcoate: *Nature (Lond.)* 174 (1954), 881.
- [26] Moore, E. C., P. Reichard: *J. biol. Chem.* 239 (1964), 3433.
- [27] Nadolny, W.: *Strahlentherapie* 141 (1971), 100.
- [28] Perry, M., E. F. Perry: *J. clin. Invest.* 38 (1959), 1452.
- [29] Reuber, M. D.: *Arch. environm. Hlth* 15 (1967), 141.
- [30] Reuber, M. D.: *J. Path.* 97 (1969), 335.
- [31] Reuber, M. D., G. C. Schmieler: *Arch. environm. Hlth* 5 (1962), 430.
- [32] Seidel, A.: *Strahlentherapie* 139 (1970), 603.
- [33] Seidel, A., V. Volf, A. Catsch: *Int. J. Radiat. Biol.* 19 (1971), 399.
- [34] Seifart, K. H., C. E. Sekeris: *Europ. J. Biochem.* 7 (1969), 408.
- [35] Slater, J. P., S. Mildvan, L. A. Loeb: *Biochem. biophys. Res. Commun.* 44 (1971), 37.
- [36] Smith, V. H.: BNWL-1050, part 1 (1970), 5. 3. – 5. 4.
- [37] Tarui, S.: *J. Osaka Univ. dent. Soc.* 10 (1960), 499.
- [38] Thrasher, J. D., R. C. Greulich: *J. exp. Zool.* 159 (1965), 39.
- [39] Volf, V., A. Seidel, M. Vladár: *Atomkernenergie* 15 (1970), 141.
- [40] Weber, K. M.: *Z. ges. exp. Med.* 150 (1970), 354.
- [41] Weber, K. M.: *Virchows Arch. Abt. B Z.* 5 (1970), 39.
- [42] Weber, K. M., F. Bohne, U. Rabe: *Europ. J. Pharmacol.* 11 (1970), 117.

Verfasser: Dr. rer. nat. Felicitas Bohne, Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe, 75 Karlsruhe 1, Postfach 3640.