

**KERNFORSCHUNGSZENTRUM
KARLSRUHE**

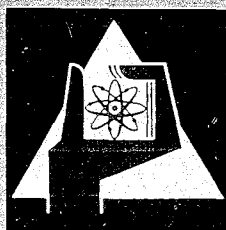
Oktober 1968

KFK 873

Institut für Strahlenbiologie

Probleme der Chelat-Therapie

A. Catsch



GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.

KARLSRUHE

Die *chronische Toxizität* des Ca-DTPA und ihm verwandter Polyamino-polycarboxylsäuren (wie des Äthylendiamin-tetraacetats (ÄDTA)) ist histopathologisch durch vakuolig-degenerative Veränderungen der proximalen Convoluten der Nierentubuli (Fig. 1) charakterisiert. In anderen Organen sind keine eindeutig als primär anzusprechende Schäden nachzuweisen. Da eine enge Korrelation zwischen Nephrotoxizität und Letalität vorzuliegen scheint und Nierenschäden auch beim Menschen nach massiver ÄDTA-Behand-

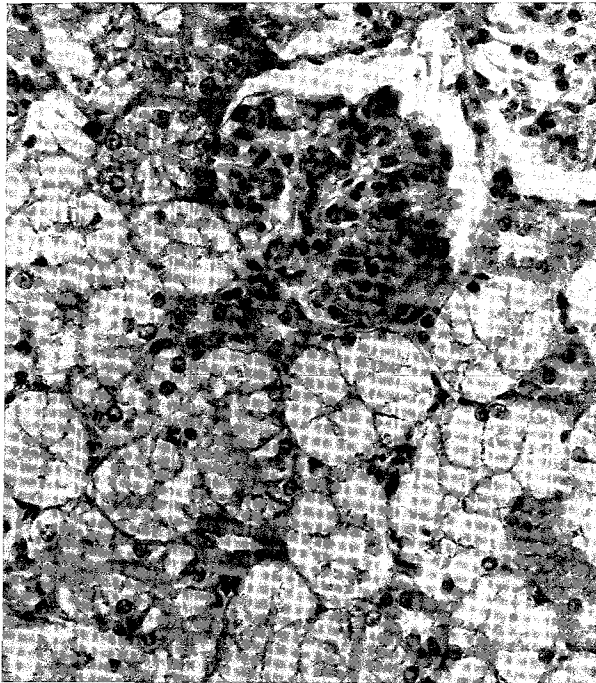


Fig. 1. Äußere Rinde einer Rattenniere nach 6maliger i. p. Injektion von 4 mmol Ca-ÄDTA · kg⁻¹ · d⁻¹. Goldner-Färbung. 330 ×. (Versuche von WEBER [46])

lung im Vordergrund des klinischen Bildes standen, ist es berechtigt, sich mit der Pathogenese der Nierenschädigung, als *der* offenbar relevanten Reaktion, eingehender zu befassen.

Die Stabilität des Ca-DTPA und des Ca-ÄDTA ist um mehrere Größenordnungen kleiner als die der Chelate mit allen essentiellen Spurenmetallen (Tabelle 2). So-

Tabelle 2. Logarithmen der Stabilitätskonstanten von 1:1-Metallchelaten des ÄDTA und DTPA (nach MARTELL [34]). Q = Verhältnis der effektiven Stabilitätskonstanten von DTPA zu ÄDTA, berechnet nach HELLER u. CATSCH [31] für $pH = 7,4$

Metallion	ÄDTA	DTPA	Q
Ca ²⁺	10,70	10,89	—
Mn ²⁺	14,04	15,60	23
Fe ²⁺	14,33	15,97	28
Fe ³⁺	25,1	27,50	162
Co ²⁺	16,21	19,27	590
Cu ²⁺	18,79	21,53	355
Zn ²⁺	16,26	18,40	89

mit liegt es nahe, ihre toxischen Wirkungen auf den Austausch und die Mobilisierung eines oder mehrerer Spurenmetalle und auf die dadurch bedingte Beeinträchtigung der *Funktion metallkontrollierter Systeme* zurückzuführen. Diese Vorstellung wird durch

den Nachweis gestützt, daß es unter dem Einfluß der Ca-Chelate zu einer erhöhten renalen Ausscheidung von Mn, Fe und — in besonders starkem Maße — von Zn [7, 29, 37, 42] sowie zu einer Inaktivierung verschiedener, in der Nierenrinde lokalisierter Enzyme [3, 9, 36, 40] kommt. Eine weitere Möglichkeit, die Annahme zu prüfen, liegt im Vergleich der Toxizität von Metallchelaten, die sich bezüglich ihrer Stabilität unterscheiden. Falls nämlich der Austausch eines bestimmten Metallions gegen das chelierte Ca die entscheidende Reaktion darstellt, wäre für Chelate mit einer im Vergleich zum Ca-Komplex höheren Stabilität eine entsprechende Herabsetzung der Toxizität zu erwarten. Dies ist auch im Falle des Zn- und Co(II)-DTPA [13, 20] sowie des Mn(II)-DTPA [24] tatsächlich der Fall.

Diese Befunde scheinen die zur Diskussion gestellte Hypothese zu stützen. Bei näherer Betrachtung ergibt sich jedoch eine Komplikation. Das Ausmaß der Mobilisierung eines endogenen Spurenmetalls und damit auch der toxischen Wirkungen sollte durch die sog. effektive Stabilitätskonstante (vgl. hierzu [31]) bestimmt sein. Der Tabelle 2 ist zu entnehmen, daß nach Maßgabe des beteiligten Metallions für DTPA eine im Vergleich zu ÄDTA 20 bis 600mal höhere biologische Wirksamkeit zu erwarten ist. Was die Zn-Ausscheidung mit dem Urin [29] und die in vitro-Inaktivierung der renalen alkalischen Phosphatase [36] betrifft (die einzigen Reaktionen, für die bisher quantitativ verwertbare Daten vorliegen), ist DTPA in Übereinstimmung mit dem Verhältnis der Stabilitätskonstanten der Zn-Chelate rund 100mal wirksamer als ÄDTA. Dagegen sind sowohl die akute als auch chronische Toxizität des DTPA, wie sie sich aus den LD 50%-Werten ergibt [13, 15, 26], nur 1,5- bis 2mal höher als die des ÄDTA. Diese Diskrepanz stellt naturgemäß die einfache Gleichsetzung von Toxizität und Mobilisation von Zn — generell auch von allen anderen Spurenmetallen (vgl. Tabelle 2) — in Frage. Der Einwand könnte allerdings durch die Annahme entkräftet werden, daß entweder der Enzyminaktivierung die Bindung des Metallions in situ, d. h. ein ternärer Komplex zugrunde liegt oder daß der Mobilisierung des Spurenmetalls zeitlich die Bildung eines ternären Komplexes verangeht [16]. In diesem Falle wären beim ersten Reaktionsschritt nicht alle Ligandenatome des Chelatbildners an der Bindung des Metallions beteiligt. Es wäre dementsprechend auch nicht zulässig, mit den in Tabelle 2 angeführten Konstanten zu operieren, die definitionsgemäß nur für die Bindung *freier* Metallionen und nicht für die Bildung ternärer Komplexe Gültigkeit haben. Die in vitro-Inaktivierung der Carboanhydratase durch Chelatbildner beispielsweise verläuft über die Bildung eines intermediären (enzymatisch inaktiven) Komplexes und läßt eine Korrelation zwischen Inaktivierung und den Stabilitätskonstanten der jeweiligen Zn-Komplexe vermissen [11]. Unerläßliche Voraussetzung für diesen Wirkungsmechanismus sind natürlich die unmittelbare Reaktion zwischen Enzym und Ligand und — übertragen auf die Verhältnisse in vivo — die *intracelluläre Anreicherung* des Chelatbildners.

Die ersten Untersuchungen über die Plasmaclearance der ¹⁴C-markierten Ca-Chelate des ÄDTA und DTPA [23, 25] ergaben ein physiologisches Verdünnungsvolumen, das mit rund 25 % des Körpergewichts dem

des extracellulären Wassers entspricht, d. h. die mehrfach geladenen Chelatanionen wären demnach nicht in der Lage, Zellmembranen zu permeieren. Neuere Untersuchungen [6] machen jedoch eine gewisse Revision dieses Befunds, der die Bildung ternärer Komplexe ausschließen würde, notwendig: Sowohl ÄDTA als auch DTPA zeigen eine multiexponentielle Plasma-clearance, deren „langsamer“ Term wahrscheinlich dem intracellulären Transfer der Chelate zugeordnet werden kann. Die Geschwindigkeit des Transfers verhält sich umgekehrt proportional zur Zahl der negativen Ladungen. Diese Annahme wird durch den Nachweis gestützt, daß die ^{14}C -Konzentrationen der Leber und insbesondere der Nieren zu späteren Zeitpunkten (> 4 Std) eindeutig höher als die des Blutplasmas sind [6, 44] und daß die durch DTPA intensivierte ^{239}Pu -Ausscheidung mit den Faeces über die Galle erfolgt [4], was seinerseits eine Passage der Leberzelle voraussetzt.

Wenn die intracelluläre Verteilung der Chelatbildner somit kaum in Zweifel gezogen werden kann, so steht jedoch auch fest, daß die Geschwindigkeit des Transfers relativ klein ist und daß nach Verabfolgung akutoxischer Chelatdosen ($\geq 10 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$) in der Niere eine intracelluläre Konzentration in der Größenordnung von nur 10^{-3} molar zu erwarten ist. Es fragt sich, ob diese Konzentration für die Inaktivierung eines Enzyms ausreichend ist. Die Konzentrationen, die in vitro zu einer gesicherten Inaktivierung der alkalischen Phosphatase [39] und der Carboanhydratase [41] führen, sind jedenfalls erheblich höher. Da die renale alkalische Phosphatase in vivo jedoch bereits auf Chelatdosen von $\geq 0,1 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ anspricht [36], erscheint es zweifelhaft, ob es sich hierbei überhaupt um eine primäre Reaktion handelt. Dies gilt umsomehr, als die enzymatische Aktivität auch dann noch herabgesetzt ist, wenn der Chelatbildner bereits fast vollständig ausgeschieden ist. Die Inaktivierung anderer, in den Lysosomen der Tubuluszellen lokalisierter Enzyme dagegen manifestiert sich mit einer gewissen Verzögerung, d. h. bei einer bereits deutlich ausgeprägten Vakuolisierung der Tubuluszellen [40]; auch dies kann als Hinweis dafür angesehen werden, daß die Enzyminaktivierung eine sekundäre Reaktion darstellt.

Trotz der unter dem Einfluß der Ca-Chelate stark erhöhten Zn-Ausscheidung mit dem Urin kommt es selbst bei einer über längere Zeit fortgesetzten Chelatverabfolgung zu keiner Verarmung des Organismus an Zn [29, 35], da die Resorption von Zink aus dem Gastrointestinaltrakt sowie die Retention durch die Gewebe im Anschluß an die Chelatdosis erhöht sind [8]. In diesem Zusammenhang ist auch nachdrücklich zu vermerken, daß die chronische Chelattoxizität weder mit den Symptomen einer allgemeinen Zn-Defizienz noch anderer Spurenmetall-Mangelzustände identisch ist. Der Zn-Gehalt der Nieren ist nach wiederholter Verabreichung von Chelaten sogar höher als normal [21, 45]. Die hierfür verantwortlichen Reaktionen sind noch nicht bekannt. Eine Erklärung könnte davon ausgehen, daß die Chelatstabilität mit kleiner werdendem pH-Wert bekanntlich abnimmt, so daß es im sauren Urin zu einem Chelatzerfall mit anschließender Retention des Zn durch die Nieren kommt. Diese Möglichkeit wurde von SEVEN [41] bereits diskutiert und zur Erklärung der Nephrotoxici-

tät, im Sinne einer „Vergiftung“ von Enzymen mit Schwermetallionen, herangezogen. Die experimentellen Befunde sprechen allerdings gegen diese Hypothese, da die Zn-Chelate — wie erwähnt — eine gegenüber den Ca-Komplexen deutlich herabgesetzte Toxizität besitzen und da weiterhin die Konzentration von Mn, Cu, Fe, Co und Cd in der Nierenrinde bei wiederholter Verabfolgung hoher Chelatdosen unverändert bleibt [40].

Als „osmotische Nephrose“ werden nach ALLEN [1] die hydropisch-vakuoligen degenerativen Veränderungen der Tubuli bezeichnet, die nach Verabfolgung massiver Dosen von Glucose, Rohrzucker, Dextran® u. a. m. auftreten. Ihre Pathogenese ist noch keineswegs vollständig geklärt, doch neigt man dazu, der Pinocytose der osmotisch aktiven Molekel eine entscheidende Rolle zuzuschreiben. Verschiedene Autoren [10, 21, 22, 40] verwiesen nun auf die Ähnlichkeit der

Tabelle 3. $^{14}\text{CO}_2$ -Gehalt in der von Ratten innerhalb von 24 Std ausgeatmeten Luft nach i. p. Injektion von 0,1 mmol Ca-Chelat. (Versuche von HAVLÍČEK et al. [30])

Chelat	Markierung	% der ^{14}C -Dosis
ÄDTA	Äthylen	0,051
ÄDTA	Acetat-C-1	1,024
ÄDTA	Acetat-C-2	1,069
DTPA	Acetat-C-1	0,854

osmotischen Nephrose mit den durch die Chelatbildner induzierten Veränderungen und diskutierten auch einen identischen Wirkungsmechanismus. Abgesehen davon, daß bei den betr. Verbindungen die zur Auslösung einer osmotischen Nephrose wirksamen Dosen wesentlich höher als im Falle der Chelate sind und die intracelluläre Chelatkonzentration relativ niedrig ist, bliebe im Hinblick auf die definitionsgemäß unspezifische Ätiologie der osmotischen Nephrose nur schwer verständlich, warum die Toxizität von Ca-ÄDTA und Ca-DTPA bzw. der Ca- und Zn-Chelate sich unterscheidet.

In der niedrigen Toxizität stabilerer Metallchelate (wie des Zn-DTPA) hatten wir früher ein Argument zugunsten der Wechselwirkung der Ca-Chelate mit essentiellen Spurenmetallen gesehen. Bei näherer Betrachtung ergibt sich jedoch auch hier die Schwierigkeit, der wir beim Vergleich der Toxizität des Ca-ÄDTA und Ca-DTPA begegneten. Es handelt sich darum, daß die effektive Stabilitätskonstante des Zn-DTPA um Größenordnungen höher als die des Ca-DTPA ist, während die chronische LD 50% des ersteren nur 2mal größer ist.

Es stellt sich somit die Frage, ob die bisherigen Überlegungen nicht zu einseitig orientiert waren und grundsätzlich andersartige Deutungsmöglichkeiten übersehen wurden. Wir sind bisher davon ausgegangen, daß die Chelate sich metabolisch inert verhalten, d. h. im Organismus nicht abgebaut werden. Diese Annahme basiert auf Untersuchungen von FOREMAN et al. [23, 25], die jedoch methodisch nicht voll befriedigen. Ihre Überprüfung erschien uns deshalb angezeigt. Die Untersuchungen von HAVLÍČEK et al. [30] wiesen — im Gegensatz zu den älteren Befunden — tatsächlich einen gewissen Abbau der Chelate in vivo nach (Tabelle 3): Während die Äthylengruppe praktisch nicht angegriffen wird,

unterliegt die Acetatgruppe offensichtlich einem Abbau. Daß die Metabolisierung des ÄDTA die des DTPA signifikant übertrifft, könnte — zusammen mit der Tatsache, daß der intracelluläre Transfer beim ÄDTA schneller verläuft — als Hinweis für den intracellulären Abbau der Polyamino-polycarboxylsäuren angesehen werden. Erste orientierende in vitro-Versuche [47] stützen diese Vermutung. Sie weisen darüber hinaus in Nierenhomogenaten einen erheblich höheren Abbau als im Blutplasma und in der Leber nach. Das legt die reizvolle, im Moment allerdings noch sehr spekulative Annahme nahe, nicht in den intakten Chelationen, sondern in den bei ihrem Abbau entstehenden Metaboliten die für die Nephrotoxizität verantwortlichen Agentien zu sehen. Die Identifizierung der Abbauprodukte und der beteiligten Enzyme ist die erste Aufgabe laufender Untersuchungen.

Tabelle 4. Einfluß von 0,25 mmol Ca-DTPA bzw. Mn(II)-DTPA (i. p. nach 24 Std) auf die Retention von trägerfreiem ^{54}Mn in den Organen der Ratte. (Versuche von KUHN [32])

Chelat	% der Kontrolle			
	Leber	Pankreas	Nieren	Skelett
Ca-DTPA	80	73	71	78
Mn(II)-DTPA	16	5	20	39

Was das funktionelle Korrelat der Nierenschädigung betrifft, so ergaben die bisher keineswegs systematischen Untersuchungen keine eindeutigen Befunde: Die glomeruläre Filtration sowie die tubuläre Rückresorption von Wasser soll durch Chelatbildner geringfügig gehemmt [43], die Ausscheidung von Na und Cl leicht erhöht sein [38]. Die in vivo-Speicherung von Trypanblau, die allgemein als ein äußerst empfindliches Kriterium für eine Nierenschädigung angesehen wird, wird kaum beeinflusst [13]. Nach DOOLAN et al. [20] ist der Kreatinin- und Harnstoffgehalt des Bluts nicht erhöht, die Proteinausscheidung im Urin mit der bei Kontrollratten identisch. Diese, im wesentlichen negativen Befunde führen zu der Frage, ob die Schädigung der Nieren für die allgemeine, d. h. zum Exitus führende Reaktion entscheidend ist oder — überspitzt ausgedrückt — ob es sich nicht nur um einen irrelevanten Nebenbefund handelt. In die gleiche Richtung weist auch die erst in letzter Zeit gemachte Beobachtung, daß die Vakuolisierung der Tubuluszellen im Falle des ÄDTA ein stärkeres Ausmaß als bei DTPA erreicht [21, 45], obwohl bezüglich der akuten und chronischen Letalität die beiden Chelatbildner sich gerade umgekehrt verhalten. Von DOOLAN et al. [21] wird außerdem ein Teil der nach Chelatverabfolgung beobachteten Todesfälle explizit nicht auf die Nierenschädigung, sondern auf eine „systemic reaction“ zurückgeführt, ohne daß heute gesicherte Aussagen über die Natur und Pathogenese dieser Allgemeinreaktion gemacht werden können.

Die Ausführungen des vorstehenden Abschnitts scheinen im Widerspruch zu human-medizinischen Erfahrungen zu stehen. In allen Fällen (Literatur s. bei CATSCH [14]), bei denen eine ÄDTA-Behandlung zu schwereren Komplikationen führte, standen Sym-

ptome von seiten der Nieren im Vordergrund des klinischen und pathologischen Bildes: Positiver Urinbefund (d. h. Auftreten von Eiweiß, Zylindern und Erythrocyten), erhöhter Rest-N im Blut, letal verlaufende Urämie mit pathologischen Veränderungen der Nieren, die eine weitgehende Ähnlichkeit mit den im Tierexperiment beobachteten Bildern aufweisen. Trotzdem sollten diese Beobachtungen — darin gehen wir mit anderen Autoren [21, 33] einig — insofern nicht überbewertet werden, als sie sicherlich keine repräsentative Stichprobe sind: Bei den fraglichen Fällen handelte es sich teils um Bleivergiftungen, teils um schwere hypercalcämische (mit $\text{Na}_2\text{-ÄDTA}$ behandelte) Zustände, bei denen aller Wahrscheinlichkeit nach bereits vor Einsetzen der Chelattherapie eine Nierenschädigung vorlag. Die Rolle des Chelatbildners in diesen Fällen dürfte damit, zumindest als alleiniger ätiologischer Faktor, in Frage gestellt sein, und allenfalls wären wir berechtigt, nur von einer synergistischen Wirkung zu sprechen.

Der Erfolg der Chelattherapie in späteren Stadien der Radionuclid-Inkorporation hängt nach den bisherigen Erfahrungen weniger von der Höhe als von der Zahl der Einzeldosen (d. h. von der Behandlungsdauer) ab. Hier könnte der herabgesetzten Toxizität des Zn-DTPA — unabhängig davon, welche Faktoren dem ursächlich zugrunde liegen — insofern eine praktische Bedeutung zukommen, als unter diesen Bedingungen, d. h. bei gleich hohen Einzeldosen, die kumulative LD 50% des Zn-DTPA rund 30mal höher als die des Ca-Chelats [20] und seine Dekorporationseffektivität nur unwesentlich niedriger sind [19]. Dies würde mit einem mindestens auf das 10fache erhöhten therapeutischen Index einen nicht unerheblichen Gewinn an Sicherheit bedeuten. Bedenken gegen die praktische Verwendung des Zn-DTPA, und zwar im Hinblick auf die mögliche Abspaltung und Retention von Zn in einem vom toxikologischen Standpunkt nicht vertretbaren Ausmaß, bestehen nicht. Nach Verabfolgung von ^{65}Zn -DTPA wird zwar eine in Abhängigkeit von der Dosis mehr oder weniger stark ausgeprägte Retention von ^{65}Zn im Körper beobachtet; spezielle, mit dem doppelt markierten Chelat (^{65}Zn , ^{14}C) durchgeführte Versuche zeigten jedoch, daß es sich hierbei nicht um eine echte Abspaltung, sondern um Isotopen-Austausch handelt [27, 28].

Der Gedanke, inkorporierte Radionuclide mittels Isotopen-Austausches, d. h. durch Verdünnung mit dem entsprechenden stabilen Isotop, zur Ausscheidung zu bringen, ist an sich nicht neu. Seiner praktischen Realisierbarkeit stand jedoch im Wege, daß die betreffenden stabilen Isotope wegen ihrer Toxizität in der Regel in nur sehr niedriger Dosierung verabfolgt werden können, das Ausmaß des Isotopen-Austausches aber eine direkte Funktion der Dosis ist. Nachdem die Untersuchungen von HARMUTH-HOENE [27] den grundsätzlichen Nachweis führten, daß der Isotopen-Austausch auch dann wirksam wird, wenn das stabile Isotop in Form eines (seine wesentlich höhere Dosierung zulassenden) Chelats verabfolgt wird, lag es nahe, die Wirksamkeit dieses Prinzips mit dem der einfachen Chelierung zu vergleichen. Die bisher vorliegenden Ergebnisse sind nicht gleichsinnig: Sowohl Ca- als auch Sr-Chelate sind nicht in der Lage, im Knochen fixiertes ^{85}Sr zu mobilisieren [12]. Bei Inkorporation von ^{59}Fe sind Chelatbildner nur schwach,

Isotopen-Austausch überhaupt nicht wirksam [5]. Im Falle von ^{88}Y zeigten Ca-DTPA und Y-DTPA einen gleich starken Dekorporationseffekt [44], während Co- und Zn-DTPA eindeutig mehr ^{60}Co bzw. ^{65}Zn zu dekorporieren imstande sind als das Ca-Chelat [17, 18]. Eine besonders eindrucksvolle Dekorporation durch Isotopen-Austausch konnte, wie Tabelle 4 zeigt, im Falle von ^{54}Mn erzielt werden [32]. In denjenigen Fällen, in denen die austauschbare Fraktion des Radionuclids größer als der durch Chelierung mobilisierbare Anteil ist, wird auch für die Praxis die Verwendung des entsprechenden und sich im Vergleich zum Ca-Chelat durch eine bessere Verträglichkeit auszeichnenden Metallchelats nahegelegt.

[1] ALLEN, A. C.: The Kidney. New York: Grune & Stratton 1951. — [2] ALTENSTETTER, F., F. BOHNE u. A. CATSCH: Strahlenther. 131, 361 (1966). — [3] ARKHIPOVA, O. G., E. YA. GOLUBOVICH i V. J. SPIRIDONOVA: Farm. Toksik. 28, 92 (1965). — [4] BALLOU, J. E., and J. L. PALOTAY: Health Phys. 12, 895 (1966). — [5] BOHNE, F.: Unveröffentlichte Ergebnisse. — [6] BOHNE, F., A.-E. HARMUTH-HOENE, K. KÜRZINGER u. F. HAVLÍČEK: In Vorbereitung. — [7] BOHNE, F., A.-E. HARMUTH-HOENE u. K. M. WEBER: Arch. exp. Path. Pharm. 257, 409 (1967). — [8] BOHNE, F., V. NIGROVIĆ u. A.-E. HARMUTH-HOENE: Strahlenther. 134, 293 (1967). — [9] BRUNK, U., and G. SKÖLD: Acta Histochem. 27, 55 (1967). — [10] BUTT, E. M.: Metal-Binding in Medicine. Philadelphia-Montreal: J. B. Lippincott 1960, S. 157. — [11] CARPY, S.: Biochim. biophys. Acta 151, 245 (1968). — [12] CATSCH, A.: Int. J. Rad. Biol. 4, 75 (1961). — [13] CATSCH, A.: Arch. exp. Path. Pharm. 246, 316 (1964). — [14] CATSCH, A.: Radioactive Metal Mobilization in Medicine. Springfield, Ill.: Ch. C. Thomas 1964. — [15] CATSCH, A.: Arzneimittel-Forsch. 17, 493 (1967). — [16] CATSCH, A., F. HAVLÍČEK, A.-E. HARMUTH-HOENE, and S. CARPY: Symp. on Diagnosis and Treatment of Deposited Radionuclides. Richland,

Wash. 1967. In press. — [17] CATSCH, A., and D. KH. LÊ: Experientia 21, 724 (1965). — [18] CATSCH, A., u. D. KH. LÊ: Strahlenther. 130, 557 (1966). — [19] CATSCH, A., D. KH. LÊ, and D. CHAMBAULT: Int. J. Rad. Biol. 8, 35 (1964). — [20] CATSCH, A., u. E. VON WEDELSTAEDT: Experientia 21, 210 (1965). — [21] DOOLAN, P. D., et al.: Toxic. appl. Pharm. 10, 481 (1967). — [22] FOREMAN, H.: Diagnosis and Treatment of Radioactive Poisoning. Wien: IAEA 1963, S. 379. — [23] FOREMAN, H., C. C. LUSHBAUGH, M. MAGEE, and G. HUMASON: LAMS-2445, 67 (1960). — [24] FOREMAN, H., and V. NIGROVIĆ: Symp. on Diagnosis and Treatment of Deposited Radionuclides, Richland, Wash., 1967. In press. — [25] FOREMAN, H., M. VIER, and M. MAGEE: J. Biol. Chem. 203, 1045 (1953). — [26] GÜNTHER, R.: In Vorbereitung. — [27] HARMUTH-HOENE, A.-E.: Strahlenther. 134, 110 (1967). — [28] HARMUTH-HOENE, A.-E., A. CATSCH, V. NIGROVIĆ, and F. BOHNE: Int. J. Rad. Biol. 10, 479 (1966). — [29] HAVLÍČEK, F.: Strahlenther. 134, 296 (1967). — [30] HAVLÍČEK, F., F. BOHNE u. H. ZORN: In Vorbereitung. — [31] HELLER, H.-J., u. A. CATSCH: Strahlenther. 109, 464 (1959). — [32] KUHN, A.: Naturwissenschaften 55, 38 (1968). — [33] LACHNIT, V.: Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. 18, 495 (1961). — [34] MARTELL, A. E.: Stability Constants of Metal-Ion Complexes. Section II. London: The Chemical Society 1964. — [35] MILLAR, M. J., M. I. FISCHER, C. A. MAWSON, and P. V. ELCOATE: Nature 174, 881 (1954). — [36] NIGROVIĆ, V.: Arch. exp. Path. Pharm. 249, 206 (1964). — [37] PERRY, H. M., and E. F. PERRY: J. Clin. Inv. 38, 1452 (1959). — [38] PULLMAN, T. N., A. R. LAVENDER, and J. AHO: J. Clin. Inv. 40, 1073 (1961). — [39] SCHÜSSLER, H.: Biochim. biophys. Acta 151, 383 (1968). — [40] SCHWARTZ, S. L., J. R. HAYES, R. S. IDE, C. B. JOHNSON, and P. L. DOOLAN: Biochem. Pharm. 15, 377 (1966). — [41] SEVEN, M. J.: Metal-Binding in Medicine. Philadelphia-Montreal: J. B. Lippincott 1960, S. 95. — [42] TARUI, S.: Med. J. Osaka Univ. 10, 499 (1960). — [43] TREGUBENKO, I. P.: Dokl. Akad. Nauk UdSSR 110, 874 (1956). — [44] VOLF, V.: Unveröffentlichte Ergebnisse. — [45] WEBER, I., u. K. M. WEBER: Unveröffentlichte Ergebnisse. — [46] WEBER, K. M.: Unveröffentlichte Ergebnisse. — [47] ZORN, H.: Unveröffentlichte Ergebnisse.

Eingegangen am 27. März 1968