

**KERNFORSCHUNGSZENTRUM
KARLSRUHE**

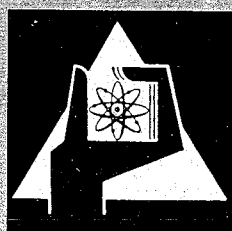
Mai 1967

KFK 589

Institut für Strahlenbiologie

Die Wirkung einiger Chelatbildner auf das metabolische
Verhalten und die akute Toxizität von Cadmium

B. Niemeier



GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.

KARLSRUHE



Kernforschungszentrum Karlsruhe

Mai 1967

KFK 589

Institut für Strahlenbiologie

Die Wirkung einiger Chelatbildner auf das metabolische
Verhalten und die akute Toxizität von Cadmium

B. Niemeier

Gesellschaft für Kernforschung m. b. H., Karlsruhe

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Einfluß der Chelatbildner auf die Verteilung von ^{115m}Cd	6
1. Methodik	6
2. Versuchsergebnisse	11
3. Diskussion	16
III. Einfluß der Chelatbildner auf die Toxizität von Cd	25
1. Methodik	25
2. Versuchsergebnisse	26
3. Diskussion	28
IV. Abschließende Bemerkungen	29
V. Zusammenfassung	31
VI. Schrifttum	32
VII. Tabellen und Abbildungen	34

I. Einleitung

Cadmium gehört neben Mangan, Blei, Quecksilber und Zink zu den besonders toxischen und gewerbemedizinisch bedeutungsvollen Metallen. Cd ist ein silberweißes, weiches Schwermetall der 2. Nebengruppe des periodischen Systems der Elemente; es hat die Ordnungszahl 48 und ein Atomgewicht von 112,41. Als Spurenelement wird Cd von den Pflanzen aus dem Erdboden aufgenommen; von dort gelangt es über den Körper der Herbivoren zu den Karnivoren. Auch im Meerwasser ist Cd ($\sim 0,55 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) enthalten.

Cd findet in Technik und Forschung mannigfaltige Verwendung: in der Medizin bei der Cadmiumsulfatreaktion, in der Industrie für die Oberflächenveredelung rostender Metalle, zur Elektrodenherstellung beim Akkumulatorenbau, als gelbe Farbe (CdS), für Leuchtschirme Braun'scher Röhren, für Photozellen und schließlich als Moderatorstäbe in Reaktoren. Diese wenigen Beispiele mögen genügen, die zahlreichen Möglichkeiten einer Vergiftung beim Umgang mit Cd aufzuzeigen.

Cd-Vergiftungen wurden nach Stockhausen (1656) bereits im ausgehenden Mittelalter beobachtet; eingehendere toxikologische Untersuchungen sind aber erst in diesem Jahrhundert durchgeführt worden. Für die Praxis sind zwei Inkorporationswege von Bedeutung: die Ingestion und die Inhalation; die perkutane Resorption dagegen ist von nur untergeordneter Bedeutung. Im einzelnen wurde zwar von Intoxikationen, verursacht durch Kontamination von Lebensmitteln mit Cd, berichtet, die weitaus größte Bedeutung kommt jedoch der Vergiftung bei beruflich exponierten Personen zu, beispielsweise nach Einatmen von Cd-Staub oder -Dämpfen. Im Hinblick auf die hohe Toxizität von Cd soll die maximale Konzentration an Arbeitsplätzen einen Wert von $0,1 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ nicht überschreiten (Friberg 1957). Die Häufigkeit der Cd-Vergiftung kann man daran erkennen, daß im Zeitraum 1941 - 1946 mindestens 689 Fälle bekannt wurden (Fairhall 1949).

Die Symptomatologie der akuten Cd-Vergiftung hängt naturgemäß vom Inkorporationsweg ab: Bei der Ingestion von Cd steht eine schwere exulzerative, mit Tenesmen, Erbrechen und Durchfällen einhergehende Gastroenteritis im Vordergrund, während bei der Inhalation charakteristische pulmonale Veränderungen beobachtet werden. Alle Symptome entwickeln sich unabhängig von der Art der Inkorporation relativ schnell innerhalb von wenigen Tagen. Die chronische Cd-Vergiftung ist durch Rhinitis, gastritische Magenbeschwerden, Nierenschäden, Schlafstörungen, Krampfanfälle sowie den typischen gelben Cd-Ring an den Zahnhälften gekennzeichnet. Hervorzuheben sind auch nekrotische Veränderungen der Samenkanälchen in den männlichen Keimdrüsen.

Was das Stoffwechselverhalten von Cd im Säugetierorganismus betrifft, so wurde von Prodan (1932) sowie Boudène und Truhaut (1954) seine Anreicherung in Nieren, Knochen und vor allem in der Leber nachgewiesen. Untersuchungen von Durbin et al. (1957), die mit dem Radioisotop ^{115m}Cd durchgeführt wurden, zufolge stellt die Leber das Hauptspeicherorgan dar, indem sie 60 - 80 % der intravenös injizierten Cd-Menge (bzw. des resorbierten Bruchteils bei anderen Applikationsarten) zurückhält. Im Skelett werden ungefähr 4 - 7 %, in den Nieren 1 - 3 % der applizierten Dosis abgelagert. Die Ausscheidung des Cd erfolgt im wesentlichen mit den Faeces. Die Resorption aus dem Magen-Darm-Trakt ist mit Werten von < 1 % relativ niedrig. Charakteristisch für das metabolische Verhalten von Cd ist, daß es, sobald es einmal in den Geweben abgelagert ist, aus diesen extrem langsam ausgeschieden wird.

Im Hinblick auf die relativ hohe potentielle Gefährlichkeit von Cd ist es ohne weiteres verständlich und bedarf es keiner eingehenderen Begründung, daß den Bemühungen um eine kausale Therapie der Cd-Vergiftung und der Entwicklung spezifischer Antidote eine große praktische Bedeutung zukommt. In dieser Beziehung bieten sich in erster Linie Chelatbildner an, d.h. eine spezielle Gruppe organischer Komplex-

bildner, die mehrere Elektronendonoratome (O, S bzw. N) aufweisen und die meisten Metallionen überaus stabil binden. Chelatbildner haben sich allgemein bei der Behandlung von Vergiftungen mit radioaktiven, aber auch nichtradioaktiven toxischen Metallionen (in erster Linie bei Blei) in den letzten Jahren hervorragend bewährt (ausführliche Literatur s. bei Catsch (1964)). Das Prinzip der Chelat-Therapie besteht darin, daß Chelatbildner unter der Voraussetzung, daß sie zu dem zu dekontaminierenden Metallion eine höhere Affinität als körpereigene Liganden aufweisen, das betreffende Metallion "maskieren" und somit die Reaktionen, die für seine Bindung in den Organen und Geweben verantwortlich sind, verhindern bzw. rückgängig machen.

Im Hinblick auf die überaus zahlreichen Untersuchungen, die in den letzten 20 Jahren über die Einwirkung von Chelatbildnern auf Verhalten und Wirkungen von Metallionen durchgeführt wurden, erscheint die relativ geringe Anzahl entsprechender Untersuchungen für den speziellen Fall von Cd überraschend. Der erste untersuchte Chelatbildner war 2,3-Di-mercaptopropanol, das sog. British Anti-Lewisit (BAL). Die mit BAL erzielten Ergebnisse - es handelt sich um Untersuchungen über den Einfluß auf die akute Cd-Vergiftung von Kaninchen - waren jedoch unbefriedigend (Gilman et al. 1946), was sicherlich zum Teil durch den geringen therapeutischen Index des BAL selbst bedingt sein dürfte. Von Friberg (1956) wurde ein besser verträglicher Chelatbildner untersucht, und zwar die Äthylendiamintetraessigsäure (ÄDTA), die eine höhere Affinität zu Cd^{2+} und überdies einen erheblich höheren therapeutischen Index als BAL aufweist. Die mit ÄDTA erzielten Ergebnisse waren jedoch auch nicht voll befriedigend. Es konnte zwar gezeigt werden, daß ÄDTA die Ausscheidung von Cd mit dem Urin bei Kaninchen erheblich erhöht, jedoch wurde bei wiederholter Verabreichung von Cd und ÄDTA trotz erhöhter Cd-Ausscheidung ein eindeutiger Einfluß auf die Cd-Toxizität nicht nachgewiesen, im Gegenteil, die Verabreichung von Cd und ÄDTA führte zu einer schwereren Schädigung der Nieren als

Cd bzw. ÄDTA allein. Dies wurde von Friberg als synergistische Wirkung gedeutet, da ÄDTA bekanntlich nephrotoxisch ist (Foreman et al. 1956). Nach einmaliger Verabreichung von Cd und ÄDTA allerdings wurde die akute Toxizität des Cd durch ÄDTA eindeutig positiv beeinflusst.

Die Bedeutung der ÄDTA als Metallantidot ist nun in den letzten Jahren geringer geworden. Das ist dadurch bedingt, daß in der Diäthylentriaminpentaessigsäure (DTPA) ein verwandter Chelatbildner zur Verfügung steht, der zu den meisten Metallionen eine erheblich höhere Affinität als ÄDTA und damit auch eine höhere Dekorporationseffektivität aufweist. Von Voigt und Sköld (1963) wurde an Mäusen nachgewiesen, daß DTPA die für die akute Cd-Vergiftung typischen nekrotischen Veränderungen der Samenkanälchen günstig beeinflusst, allerdings nur unter der Voraussetzung, daß die Applikation von DTPA kurzfristig innerhalb der ersten Stunden nach Injektion von Cd erfolgt.

In den letzten Jahren (zu einem Zeitpunkt, als die vorliegende Untersuchung bereits in Angriff genommen war) wurden von Eybl und Mitarbeitern die Untersuchungen auf andere Verbindungen ausgedehnt. Eybl et al. (1965) untersuchten an Ratten den Einfluß folgender Chelatbildner auf die Verteilung und Ausscheidung von ^{115m}Cd : ÄDTA, DTPA, Triäthylentetraaminhexaessigsäure (TTHA), Cyclohexan-1,2-diamintetraessigsäure (CDTA), Hydroxyäthyläthylendiamintriessigsäure (HÄDTA), BAL sowie N-Acetyl-DL-penicillamin (NAPA). Alle Chelatbildner zeigten einen Einfluß, und zwar war DTPA erwartungsgemäß wirksamer als ÄDTA, während die Effektivität von BAL und NAPA nur schwach war. Die Wirkung von TTHA, CDTA und HÄDTA war der von ÄDTA vergleichbar, so daß die Autoren aufgrund dieser Ergebnisse DTPA als Antidot empfehlen. In einer weiteren Versuchsreihe prüften Eybl und Sýkora (1966) den Einfluß der gleichen Chelatbildner auf die akute Toxizität von CdCl_2 . CdCl_2 weist bei subkutaner Verabfolgung eine LD 50 % / 10 Tage von $4,9 \text{ mg Cd} \cdot \text{kg}^{-1}$ auf. Werden die Ca-Chelate der oben angeführten Verbindungen

in äquimolaren Dosen gleichzeitig intraperitoneal injiziert, so wird die Toxizität des CdCl_2 reduziert, so daß höhere LD 50 %-Werte resultieren. Die Effektivität der Chelatbildner nimmt in folgender Reihenfolge zu: NAPA < BAL < HÄDTA < ÄDTA < CDTA < TTHA < DTPA. Interessanterweise wurden diese Effektivitätsunterschiede bei intravenöser Applikation der Cd-Chelate nicht in vollem Umfang bestätigt, indem die Toxizität von Cd-CDTA sowie -TTHA wesentlich geringer als die von Cd-DTPA war. Aller Wahrscheinlichkeit nach dürfte diese Diskrepanz ihre Ursache darin haben, daß es sich bei den Cd-Chelaten der CDTA bzw. TTHA um sog. robuste Chelate handelt, die - unabhängig von der absoluten Höhe der Stabilitätskonstante - nur sehr träge zerfallen. In der gleichen Mitteilung wurde auch die Verteilung von $^{115\text{m}}\text{Cd}$ nach der Applikation der entsprechenden Cd-Chelate untersucht und eine weitgehende Korrelation zwischen Toxizität und Radionuklidablagerung in den Organen festgestellt. Eybl et al. (1966) prüften die Zeitabhängigkeit der Schutzwirkung von ÄDTA und DTPA bei der Cd-Vergiftung und zeigten in Übereinstimmung mit den Befunden von Voigt und Sköld (1963), daß eine Schutzwirkung nur unter der Voraussetzung erzielt wird, daß die Chelatbildner innerhalb weniger Stunden nach Injektion von CdCl_2 verabfolgt werden. Die fehlende Schutzwirksamkeit bei späterer Verabreichung bestätigt sich auch in entsprechenden Verteilungsstudien, indem in diesem Fall eine gesicherte Senkung des Nuklidgehaltes der Organe vermißt wird.

Die besprochenen Befunde basieren auf tierexperimentellen Untersuchungen. Über die Anwendung von Chelatbildnern bei der Cd-Vergiftung des Menschen liegt - soweit bekannt - bisher nur eine kurze Mitteilung von Cotter (1958) vor, in der über 3 Fälle berichtet wird, bei denen durch wiederholte Verabreichung von ÄDTA die Symptome der Cd-Vergiftung günstig beeinflußt werden konnten und der Besserung des klinischen Zustandes eine erhöhte Cd-Ausscheidung mit dem Harn parallel ging.

Die Aufgabe der vorliegenden Untersuchung war es, die Effektivität einer größeren Zahl von Chelatbildnern zu prüfen und sich nicht nur auf die "klassischen" Vertreter der Polyaminopolycarboxylsäuren wie ÄDTA und DTPA zu beschränken. Der Grund hierfür ist, daß Cd^{2+} bekanntlich Schwefel gegenüber Sauerstoff als Elektronendonatoratom bei komplex-chemischen Reaktionen bevorzugt. Deshalb wurden in die Reihe der untersuchten Verbindungen schwefelhaltige Substanzen eingeschlossen, in denen der Schwefel in Thioäther- oder in Mercaptidform vorliegt.

Die Arbeit gliedert sich in zwei Teile: Im ersten wurde der Einfluß der Chelatbildner auf die Verteilung des $^{115\text{m}}\text{Cd}$ über die Organe der Ratte untersucht. Auf die Bestimmung der Ausscheidung wurde verzichtet, da aus dem $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Gehalt der Hauptspeicherorgane mit hinreichender Sicherheit auch auf die Ausscheidungsraten geschlossen werden kann. Zusätzlich untersuchte Parameter waren die isotopische Verdünnung des Radionuklids sowie die Abhängigkeit der Chelateffektivität vom Zeitpunkt ihrer Applikation und der Dosis. Im zweiten Teil der Arbeit sollte die Wirksamkeit einiger ausgewählter Chelatbildner, die sich aufgrund ihres Einflusses auf die Cd-Verteilung als besonders wirksam bzw. in anderer Beziehung als interessant erweisen würden, bei der akuten Toxizität von Cd untersucht werden. Nach Eybl et al. (1966) geht zwar der Einfluß der Chelatbildner auf die Verteilung der auf die Toxizität von Cd weitgehend parallel, jedoch braucht nach den Untersuchungen von Friberg (1956) dies nicht immer der Fall zu sein.

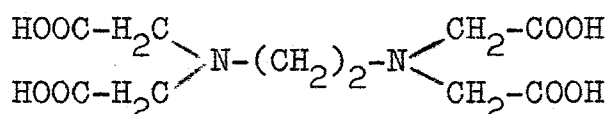
II. Einfluß der Chelatbildner auf die Verteilung von $^{115\text{m}}\text{Cd}$

1. Methodik

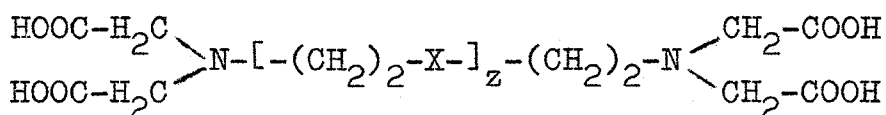
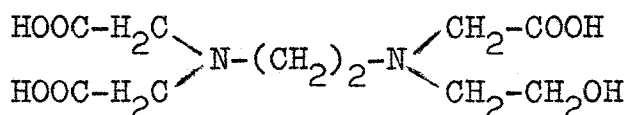
Als Versuchstiere dienten ausgewachsene Rattenmännchen des Heiligenberg-Albinoinzuchtstammes; das Körpergewicht der Tiere wird im späteren Zusammenhang bei den Versuchsergebnissen angeführt. Die Tiere erhielten zur Nahrung Standardpreßlinge der Fa. Altromin und Wasser ad libitum. Für die Untersuchungen wurde das aus dem stabilen Cd-Isotop durch

Beschuß mit Neutronen gewonnene ^{115m}Cd -Isotop verwendet, das eine Halbwertszeit von 43 Tagen hat. Bei dem Zerfall des ^{115m}Cd wird eine β -Strahlung mit einer mittleren Energie von 1,3 MeV emittiert. Das von The Radiochemical Center, Amersham, bezogene ^{115m}Cd lag als Sulfat zwar nicht in trägerfreier Form, aber mit der sehr hohen spezifischen Aktivität von $\leq 1 \text{ Ci} \cdot \text{g}^{-1} \text{ Cd}$ vor. Die entsprechend verdünnte Radionuklidstammlösung wurde den Tieren unter Äthernarkose in die Schwanzvene injiziert, wobei die Aktivität pro Tier $\sim 2 \mu\text{Ci}$ und das Volumen der injizierten wässrigen Lösung 0,5 ml betragen; der pH-Wert der Lösung wurde mittels Universalindikatorpapier zur Vermeidung von etwaigen Radio-kolloideffekten auf ~ 3 eingestellt. In den Versuchen, in denen ^{115m}Cd isotopisch verdünnt wurde, kam CdSO_4 (p.a.) zur Anwendung; die pro Tier injizierte Cd-Menge betrug 0,2 mg. Die in wässrigen Lösungen vorliegenden Chelatbildner wurden ausnahmslos intraperitoneal injiziert; das Volumen betrug 1,5 ml pro Tier. Im einzelnen handelt es sich um folgende Verbindungen:

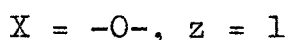
ÄDTA: Äthylendiamintetraessigsäure



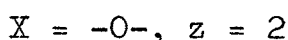
HÄDTA: Hydroxyäthyläthylendiamintriessigsäure



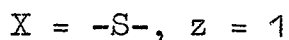
BADÄ: 2,2'-Bis[di(carboxymethyl)amino]diäthyläther



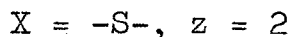
BAÄ: 1,2-Bis[2-di(carboxymethyl)aminoäthoxy]äthan



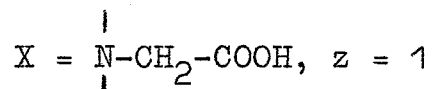
BADS: 2,2'-Bis[di(carboxymethyl)amino]diäthylsulfid



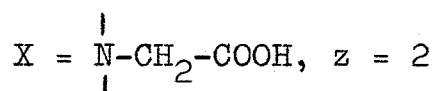
BATÄ: 1,2-Bis[2-di(carboxymethyl)aminoäthylthioläthan



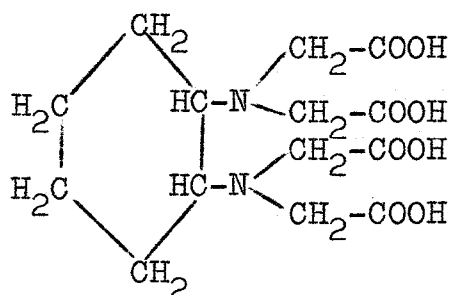
DTPA: Diäthylentriaminpentaessigsäure



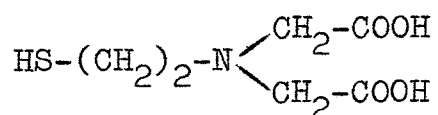
TTHA: Triäthylentetraaminhexaessigsäure



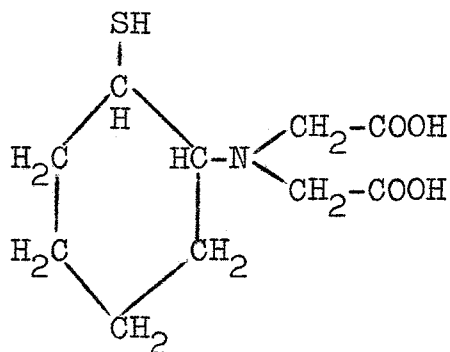
CDTA: trans-Cyclohexan-1,2-diamintetraessigsäure



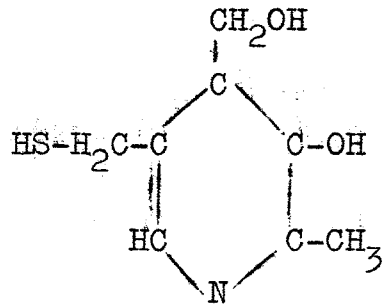
MÄIDA: 2-Mercaptoäthyliminodiessigsäure



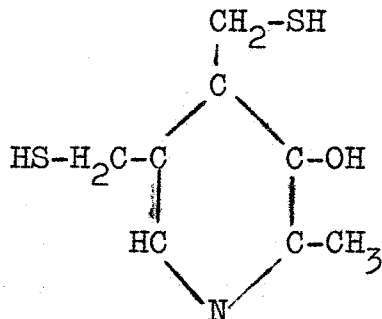
MCADA: 2-Mercaptocyclohexylamindiessigsäure



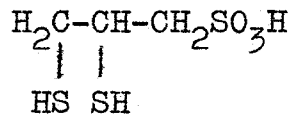
MPy: 5-Mercaptopyridoxin



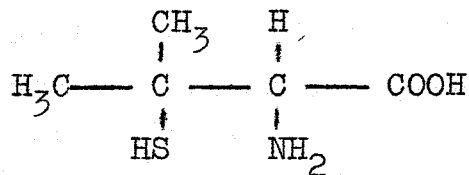
DMPy: 4,5-Dimercaptopyridoxin



DMPS: 2,3-Dimercaptopropan-(1-)-sulfosäure



PA: D-Penicillamin



Die Chelatbildner ÄDTA bis CDTA (in der oben angeführten Reihenfolge) lagen als Natrium-Kalzium-Chelate vor.

Die Tiere wurden zu verschiedenen Zeitpunkten - je nach Fragestellung des Versuchs - in Äthernarkose getötet. Es wurden aus der Vena cava inf. hierbei 0,5 ml Blut und die auf ihren $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Gehalt zu analysierenden Organe entnommen. Bei der weiteren Bearbeitung der zu messenden Proben wurde folgendermaßen vorgegangen: Das Blut wurde in Aluminium-

schälchen bei Zimmertemperatur nach Zugabe einiger Tropfen Glycerin getrocknet; die Leber und die Nieren wurden bei 250 °C verkohlt; die Femores dagegen wurden bei 700 °C verascht. Die veraschten Organe wurden gewogen, pulverisiert und Mengen von 100 - 200 mg der Organasche in Aluminiumschälchen eingebracht. Der Durchmesser der Schälchen betrug 20 mm, ihre Höhe 5 mm.

Die Messung der von den Organproben emittierten β -Strahlung erfolgte mittels eines Endfenster-Geiger-Müller-Zählrohres. Die gemessenen Impulsraten wurden nach Anbringung der Korrektur auf Selbstabsorption auf die Masse des gesamten Organes umgerechnet und in % der injizierten Aktivität ausgedrückt. Die Selbstabsorptionskurve wurde empirisch durch Aktivitätsmessung verschiedener Einwagen von $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -haltiger Organasche bestimmt. Die injizierte $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Dosis wurde durch parallele Messungen von aliquoten Teilen der für die Versuche verwendeten Lösungen erhalten. Bei der Umrechnung der in den Femores gefundenen Aktivität auf das gesamte Skelett wurde nach allgemein üblichem Vorgang das Gewicht des Skeletts dem 10-fachen beider Femores gleichgesetzt. Die Menge des Gesamtblutes wurde mit 8 % des Körpergewichtes angenommen.

Bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse wurde davon ausgegangen, daß die unter dem Einfluß der Chelatbildner gefundenen $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Werte in den Organen in % der Kontrollwerte, d.h. des $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Gehaltes der entsprechenden Organe von nichtbehandelten Tieren, ausgedrückt werden sollten. Aus diesem Grunde wurden die Mittelwert- und Standardfehlerberechnungen mit den logarithmisch transformierten Einzelwerten durchgeführt; hierbei wird der Fehler der Differenz der logarithmischen Mittelwerte zum Fehler des Quotienten der Mittelwerte der Antilogarithmen.

2. Versuchsergebnisse

Jede einzelne Versuchsserie enthielt eine eigene Kontrollgruppe, d.h. Tiere, denen nur $^{115\text{m}}\text{Cd}$ injiziert wurde. Tabelle 1 gibt eine Zusammenstellung der dabei gefundenen Verteilung. Den höchsten $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Gehalt von nahezu 70 % weist - in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen - die Leber auf, während das Skelett - das bevorzugte Speicherorgan für viele Metallionen - den relativ kleinen Bruchteil von rund 3 % der injizierten Dosis zurückhält. Ein noch geringerer Anteil von 2 % ist in den Nieren zu finden, wobei die Rinde 8-mal mehr als das Mark enthält (Gunn und Gould 1957); und der Blutgehalt liegt unter 1 %. Bei genauerer Betrachtung der Tabelle 1 fällt eine zum Teil recht starke Streuung zwischen den Mittelwerten der einzelnen Kontrollgruppen auf, die größer als die Variabilität innerhalb der Gruppen zu sein scheint. Dieser Eindruck wird durch die statistische Homogenitätsprüfung bestätigt (Tabelle 2), indem sich eine statistisch signifikante Heterogenität für die Nieren und das Skelett ergibt. Da das Körpergewicht der in den Kontrollen verwendeten Tiere mit Ausnahme einer Gruppe relativ konstant ist, kann dieser Faktor als Ursache für die besagte Heterogenität ausgeschlossen werden. Ob der pH-Wert der injizierten $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Lösungen, der (bedingt durch die oben angeführte Methodik) nur annähernd eingestellt wurde, eine ursächliche Rolle spielt, sei dahingestellt.

In einer weiteren Kontrollgruppe wurde das Verteilungsmuster von $^{115\text{m}}\text{Cd}$ in Abhängigkeit von der Zeit untersucht (Tabelle 3). In der Leber, den Nieren und im Skelett wird der maximale $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Gehalt bereits nach 24 Stunden erreicht und bleibt in der untersuchten Zeitspanne von 16 Tagen praktisch konstant, zumindest ist eine Abnahme statistisch nicht zu sichern. Die einzige Ausnahme stellt das Blut dar. Der am ersten Tag beobachtete Wert ist gesichert niedriger als zu späteren Zeitpunkten, und der maximale und dann konstante $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Gehalt wird offenbar erst nach 2 - 4 Tagen erreicht.

In einer letzten Kontrollgruppe wurde der Einfluß der isotopischen Verdünnung des ^{115m}Cd mit 0,2 mg Cd pro Tier auf die Verteilung geprüft. Wie die in Tabelle 4 zusammengestellten Ergebnisse dieser Versuchsreihe zeigen, wird ein stärkerer Einfluß der isotopischen Verdünnung vermißt. Während der Blutgehalt annähernd gleich groß ist, liegt der Gehalt der Nieren und des Skeletts bei Trägerzusatz etwas höher als beim nicht isotopisch verdünnten Nuklid, in der Leber dagegen niedriger.

Detailliertere Untersuchungen über das metabolische Verhalten von ^{115m}Cd wurden nicht vorgenommen, da dies außerhalb der Problemstellung der vorliegenden Arbeit fiele.

Wenn nun von den Versuchen mit den Chelatbildnern berichtet wird, so sollte in der ersten orientierenden Versuchsreihe geklärt werden, welche Chelatbildner überhaupt wirksam sind. Diese Frage läßt sich am zweckmäßigsten durch eine Versuchsanordnung klären, die einen möglichst hohen Dekorations-effekt gewährleistet. Als optimal in dieser Beziehung ist die der intravenösen Injektion des Radiometalls unmittelbar folgende intraperitoneale Verabfolgung einer höheren Dosis der zu prüfenden Chelatbildner anzusehen. Die in dem orientierenden Versuch verwendete Dosis der Chelatbildner betrug in der Regel 200 μmol pro Tier und lag damit noch weit unterhalb des toxischen Dosisbereichs. Nur bei einzelnen, besonders toxischen Substanzen mußte eine niedrigere Dosis gewählt werden. Die Sektion der Tiere erfolgte 48 Stunden nach Injektion von ^{115m}Cd .

Die Ergebnisse des Versuchs sind in Tabelle 5 zusammengestellt. Sie veranschaulichen, daß von allen untersuchten Chelatbildnern die Polyaminopolycarboxylsäuren DTPA und TTHA am wirksamsten sind und den ^{115m}Cd -Gehalt der Organe am stärksten reduzieren. Das Wirkungsmuster der CDTA, einer der zyklischen Polyaminopolycarboxylsäuren ist, im großen und ganzen betrachtet, dem der aliphatischen Polyaminopolycarboxylsäuren qualitativ vergleichbar, quantitativ jedoch ist die Wirkung schwächer. Interessant ist der Vergleich der Homo-

logen der DTPA und TTHA, die anstelle des substituierten Stickstoffs Sauerstoff bzw. Schwefel in Ätherbindung als Heteroatom(e) in der Alkylenbrücke enthalten: Die S-haltigen BADS und BATÄ sind eindeutig wirksamer als BADÄ bzw. BAÄ. Auffallend gering ist allerdings die Wirksamkeit des BADS in den Nieren; und BATÄ erhöht sogar die $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Retention durch die Nieren auf 130 % des Kontrollwertes. Besonders auffällig ist das Verhalten der sulfhydrylhaltigen Chelatbildner (MCADA, MÄIDA, DMPS, MPy, DMPy), die bezüglich der $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Ablagerung in Leber und Skelett mehr oder weniger stark wirksam sind; gemeinsam ist diesen Substanzen jedoch, daß sie die Retention von $^{115\text{m}}\text{Cd}$ durch die Nieren nicht nur nicht senken, sondern stark und über den Kontrollwert hinausgehend erhöhen.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde die Dosis der Chelatbildner variiert; die Versuchsanordnung war sonst der der vorangegangenen Untersuchungsreihe gleich, indem die Chelatbildner unmittelbar an die i.v.-Injektion von $^{115\text{m}}\text{Cd}$ i.p. injiziert und die Tiere 48 Stunden später seziiert wurden. Die Prüfung der Dosisabhängigkeit der Effektivität wurde auf DTPA als die wohl wirksamste Substanz sowie - im Hinblick auf ihr exzeptionelles Verhalten in den Nieren - PA, BADS, MÄIDA und BATÄ beschränkt. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 6 bis 10 zusammengestellt.

In Blut, Leber und Skelett nimmt die Wirksamkeit der Chelatbildner bei niedrigeren Dosen ab; allerdings ist die Effektivitätsabnahme relativ schwach ausgeprägt. Von besonderem Interesse ist bei den S-haltigen Chelatbildnern ihre Wirkung in den Nieren. Die Ergebnisse sind der Übersichtlichkeit halber graphisch noch einmal in Abbildung 1 wiedergegeben. Im Falle der BADS und BATÄ nimmt der $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Gehalt in den Nieren mit fallender Dosis zu, so daß auch die kleinste BADS-Dosis eine auf rund 140 % angestiegene $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Retention bedingt. Grundsätzlich anders verhalten sich PA und MÄIDA: Im Falle des PA nimmt die schon bei der niedrigsten Dosis auf rund 450 % erhöhte Ablagerung des $^{115\text{m}}\text{Cd}$ in den Nieren mit wachsender Dosis stark zu und erreicht bald ein

Plateau mit etwa dem 10-fachen Wert der Kontrolle. Für MÄIDA dagegen ist ein gesicherter Unterschied zwischen der Wirksamkeit der beiden niedrigsten Dosen, die die $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Ablagerung auf rund das 2-fache erhöhen, nicht festzustellen; eine weitere, jedoch geringfügige Zunahme der Dosis ruft überraschenderweise eine extreme Potenzierung der $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Anreicherung hervor.

Die nächste Frage war, ob der bei einer Sektion am 2. Tag zu beobachtende Dekorporationseffekt der Chelatbildner bereits maximal ist, oder ob ihr Einfluß sich nicht nur auf die Retention von $^{115\text{m}}\text{Cd}$, sondern auch auf die Ausscheidungsgeschwindigkeit aus den Organen erstreckt. Die Verabfolgung der Chelatbildner erfolgte, wie auch in den vorangegangenen Versuchen, intraperitoneal und unmittelbar im Anschluß an die i.v.-Injektion von $^{115\text{m}}\text{Cd}$, die Sektion am 1., 2., 4., 8. bzw. 16. Tag danach. Die entsprechenden Ergebnisse sind in den Tabellen 11 bis 13 zusammengetragen; bezüglich des Verhaltens von $^{115\text{m}}\text{Cd}$ bei nichtbehandelten Kontrolltieren wird auf die Zusammenstellung in Tabelle 3 verwiesen. Das Verteilungsmuster von $^{115\text{m}}\text{Cd}$ unter dem Einfluß der Chelatbildner und damit auch die Unterschiede in der Effektivität verschiedener Substanzen bleiben über den gesamten Zeitraum erhalten. Ebenso wie in den Kontrollen ist eine stärkere und gesicherte Ausscheidung aus den Organen nicht nachzuweisen. Insbesondere ist zu unterstreichen, daß auch der stark erhöhte $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Gehalt der Nieren nach Verabreichung von MÄIDA bzw. PA bis zum 16. Tag praktisch konstant bleibt.

Im Hinblick auf das unterschiedliche Wirkungsmuster der DTPA einerseits und von MÄIDA bzw. PA andererseits drängt sich zwangsläufig die Frage auf, wie sich besagte Chelatbildner bei einer kombinierten Verabfolgung verhalten. In Tabelle 14 sind die Ergebnisse einer entsprechenden Untersuchung angeführt. Die gleichzeitige i.p.-Injektion von je 100 μmol DTPA und MÄIDA pro Tier unmittelbar im Anschluß an $^{115\text{m}}\text{Cd}$ bietet in Blut und Leber eine nur etwas größere Wirksamkeit als 100 μmol DTPA allein, und im Skelett ist über-

haupt kein Unterschied festzustellen. Obwohl der ^{115m}Cd -Gehalt der Nieren die Kontrolle noch um 40 % übersteigt, ist dieser Wert doch eindeutig niedriger als bei alleiniger Verabreichung von MÄIDA. Bei gleichzeitiger Injektion von je 100 μmol DTPA und PA ist die Wirkung praktisch die gleiche wie bei alleiniger DTPA-Behandlung; dies gilt - im Gegensatz zu den Verhältnissen des Versuchs mit MÄIDA - auch für die Nieren, indem in diesem Fall die für PA charakteristische Steigerung der ^{115m}Cd -Retention nicht mehr vorliegt.

Eine weitere Versuchsserie befaßte sich mit der Frage, welche Bedeutung der Zeitspanne zwischen der Inkorporation des Radionuklids und der Verabreichung der Chelatbildner zukommt; die Untersuchungen wurden hierbei auf DTPA, BADS und PA beschränkt. Die Ratten erhielten intraperitoneal erst am 2., 4. und 6. Tag nach der i.v.-Injektion von ^{115m}Cd die Chelatbildner i.p. bzw. im Falle von PA, das eine hohe enterale Resorptionsrate aufweist, auch peroral appliziert. Die in Tabelle 15 zusammengestellten Ergebnisse zeigen, daß bei dieser Versuchsanordnung keiner der untersuchten Chelatbildner eine statistisch gesicherte Dekorporationseffektivität aufweist. Zu betonen ist, daß hierbei die S-haltigen Chelatbildner auch den ^{115m}Cd -Gehalt der Nieren nicht erhöhen.

Die letzte zu klärende Frage war, ob die isotopische Verdünnung des ^{115m}Cd die Wirkung der Chelatbildner beeinflusst. Die Dosis von 0,2 mg Cd ist nach Schwartz und Alsberg (1923) niedrig genug und sicherlich nicht toxisch. In allen anderen Beziehungen war die Versuchsanordnung mit der von Tabelle 4 identisch. Die Ergebnisse sind in Tabelle 16 aufgeführt. Die isotopische Verdünnung übt sichtlich keinen stärkeren Einfluß auf die Chelateffektivität aus, und es liegen nur einige Unterschiede geringfügiger Art vor. So ist beispielsweise die Wirksamkeit der DTPA bezüglich der Ablagerung des isotopisch verdünnten ^{115m}Cd in der Leber niedriger; das gleiche gilt für BADS, PA und DMPS. Der zweite Unterschied besteht darin, daß PA, MÄIDA

und DMPS die Retention des isotopisch verdünnten ^{115m}Cd in den Nieren zwar erhöhen, aber in geringerem Maße als beim trägerfreien Radionuklid.

Werden Chelatbildner erst vom 2. Tage an appliziert, so bleiben sie auch bei isotopischer Verdünnung des ^{115m}Cd absolut unwirksam, wie die Ergebnisse des in Tabelle 17 dargestellten Versuchs zeigen.

3. Diskussion

Wird zunächst kurz auf das Verhalten von ^{115m}Cd bei unbehandelten Kontrolltieren eingegangen, so ist festzustellen, daß die vorliegenden Ergebnisse in guter Übereinstimmung mit den Befunden früherer, in der Einleitung zitierter Autoren stehen. Die Leber stellt das Hauptspeicherorgan dar; dagegen ist im Vergleich hierzu die Retention des ^{115m}Cd durch andere Organe vernachlässigbar. Der zweite wesentliche Punkt ist, daß ^{115m}Cd , sobald es erst einmal in den Geweben deponiert ist, offenbar in einer dermaßen festen Bindung vorliegt, daß seine Ausscheidung aus dem jeweiligen Organ - zumindest in der untersuchten Zeitspanne - vernachlässigbar klein ist. Hervorzuheben ist schließlich das Verhalten des ^{115m}Cd im Blut; die Tatsache, daß im Gegensatz zu anderen Organen die maximale Konzentration relativ spät erreicht wird und dann bis zum 16. Tag praktisch konstant bleibt, ist nach den Untersuchungen von Carlson und Friberg (1957) sowie Eybl et al. (1966) dadurch bedingt, daß das anfänglich durch die Plasmaproteine (vorzugsweise durch das Albumin, wie schon Marmé (1867) vermutete) gebundene Cd erst allmählich die Erythrozytenmembran permeiert und in das Hämoglobin eingebaut wird. Schließlich ist darauf hinzuweisen, daß die isotopische Verdünnung im Gegensatz zu den Verhältnissen bei zahlreichen anderen Radiometallen keinen stärkeren Einfluß auf die Verteilung des in hoher spezifischer Aktivität vorliegenden ^{115m}Cd ausübt; allerdings war die untersuchte Dosis relativ niedrig, und es muß die Frage offen bleiben, ob

bei höheren Dosen, insbesondere im toxischen Dosisbereich, diese Aussage noch ihre Gültigkeit behält.

Wird ganz allgemein und, ohne zunächst auf quantitative Unterschiede näher einzugehen, die Wirksamkeit der Chelatbildner betrachtet, so kann sofort festgestellt werden, daß ein Effekt zwar vorliegt, der jedoch trotz optimaler Bedingungen - optimal in Bezug auf die Dosis und den Zeitpunkt der Verabfolgung der Chelatbildner - relativ gering und wesentlich schwächer ist, als er bei anderen Metallionen beobachtet wurde (vgl. hierzu Catsch 1964). Von Catsch (1964) wurde in allgemeiner Form postuliert, daß die Effektivität eines Chelatbildners sich umgekehrt proportional zu der Stabilität seiner Bindung durch endogene Liganden verhält, die wiederum ihren Ausdruck in der sog. biologischen Halbwertszeit findet. Anders ausgedrückt, kann aus einer großen biologischen Halbwertszeit auf eine relativ stabile Bindung durch endogene Akzeptorgruppen geschlossen werden, während eine kurze biologische Verweilzeit eine relativ instabile Bindung wahrscheinlich macht. In dem speziellen Fall von Cd, dessen Ausscheidung aus den Speicherorganen minimal ist, muß folglich eine relativ sehr feste Bindung in den Geweben angenommen und damit auch eine verhältnismäßig schwach ausgeprägte Chelateffektivität erwartet werden. In Übereinstimmung mit den obigen Vorstellungen steht auch die Tatsache, daß die Chelatbildner dann und nur dann die Cd-Retention in den Geweben beeinflussen, wenn die Zeitspanne zwischen ihrer Applikation und der Inkorporation von Cd relativ kurz ist, d.h. in der Größenordnung von wenigen Tagen liegt. So konnte gezeigt werden, daß die DTPA absolut unwirksam ist, wenn die erste Dosis 48 Stunden nach Inkorporation von ^{115m}Cd verabreicht wird. Es sei hier erwähnt, daß eine sehr ausgeprägte Zeitabhängigkeit der Chelateffektivität auch von Eysel et al. (1966) gefunden wurde; allerdings konnten diese Autoren zu früheren Zeitpunkten, d.h. innerhalb der ersten 24 Stunden, noch eine gewisse Dekorporationseffektivität nachweisen.

Ein zweiter allgemeiner Punkt ist der, daß alle Chelatbildner die ^{115m}Cd -Retention in Leber, Skelett und Blut senken und dann die quantitativen Unterschiede zwischen den Wirksamkeiten verschiedener Chelatbildner in den angeführten Organen gleichsinnig sind. Exzeptionell verhalten sich jedoch die Nieren, deren ^{115m}Cd -Gehalt durch bestimmte Chelatbildner, wie HÄDTA, in auffallend geringem Maße reduziert oder von allen S-haltigen Verbindungen sogar erhöht wird.

Von Heller und Catsch (1959) wurde eine semiquantitative Formel entwickelt, mit deren Hilfe die Dekorporationseffektivität eines Chelatbildners als Funktion der komplex-chemischen Stabilitätskonstante und der Chelatdosis ausgedrückt werden kann. Werden die Überlegungen von Heller und Catsch auf die vorliegenden Ergebnisse übertragen, so sollte die Effektivität einer gegebenen Dosis eines Chelatbildners (L) in erster Näherung der sog. effektiven Stabilitätskonstante E proportional sein. E ist definiert als:

$$E = \frac{K_{\text{CdL}}^{\text{Cd}} \cdot [\text{L}]_{\text{tot}}}{\alpha + K_{\text{CaL}}^{\text{Ca}} \cdot [\text{Ca}]}$$

$K_{\text{CaL}}^{\text{Ca}}$ und $K_{\text{CdL}}^{\text{Cd}}$ sind die Stabilitätskonstanten der einfachen 1:1 Ca- bzw. Cd-Chelate, $[\text{L}]_{\text{tot}}$ die Konzentration des Chelatbildners im physiologischen Verdünnungsraum und $[\text{Ca}]$ die mit $\sim 10^{-3}$ molar weitgehend konstante Konzentration von Ca^{2+} im Blutplasma. α ist eine Verteilungsfunktion, welche die Konkurrenz der Protonen, d.h. die pH-Abhängigkeit der Chelatstabilität berücksichtigt. Die für die Berechnung von E erforderlichen Stabilitäts- und Basizitätskonstanten sind nicht für alle hier untersuchten Substanzen bestimmt, sondern nur für HÄDTA, ÄDTA, DTPA, CDTA, BADÄ, BADS, BAÄ, BATÄ, MÄIDA (vgl. Sillén und Martell 1964) und PA (Lenz und Martell 1964).

Naturgemäß wird ein Chelatbildner nur dann wirksam sein, wenn der durch E definierte pCd-Wert mindestens genauso groß ist wie der pCd-Wert im Organismus bei Abwesenheit des Chelatbildners; anders ausgedrückt, muß ein bestimmter Schwel-

lenwert von E überschritten sein. In diesem Fall sollte der sog. Effektivitätsquotient (d.h. der ^{115m}Cd -Gehalt in einem Organ nach Chelatapplikation ausgedrückt in % der entsprechenden Kontrolle) im doppelt-logarithmischen Maßstab mit steigendem E linear abnehmen (Heller und Catsch 1959). Die Definition von E impliziert, daß sowohl die Wirksamkeit verschiedener Chelatbildner mit unterschiedlichen Stabilitätskonstanten als auch die Wirksamkeit verschiedener Dosen eines Chelatbildners durch eine gemeinsame Gerade wiedergegeben werden kann.

Für die oben angeführten Chelatbildner wurden die E-Werte berechnet; der Berechnung von α wurde der pH-Wert des Blutplasmas von 7,4 zugrunde gelegt, während bei $[\text{L}]_{\text{tot}}$ die jeweiligen Dosen in $\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ausgedrückt wurden. Dabei war allerdings klar, daß die Berechnung von $[\text{L}]_{\text{tot}}$ insofern einen methodischen Fehler enthält, als der physiologische Verdünnungsraum dem gesamten Organismus gleichgesetzt wird, was sicherlich in vivo nicht der Fall ist. Da aber der tatsächliche physiologische Verdünnungsraum für die einzelnen hier untersuchten Chelatbildner nicht bekannt ist, wurde keine andere Möglichkeit gesehen, $[\text{L}]_{\text{tot}}$ zu berechnen.

Die Abbildungen 2 bis 4 geben die Abhängigkeit der Effektivitätsquotienten für die Leber, das Skelett und das Blut von der sog. effektiven Stabilitätskonstante wieder. Bei denjenigen Chelatbildnern, die in verschiedenen Dosen verabfolgt wurden, ist versucht worden, die Dosisabhängigkeit für den jeweiligen Chelatbildner durch eine Gerade zu approximieren. Die Abbildungen 2 bis 4 zeigen sofort, daß die theoretisch zu erwartende gemeinsame Gerade, welche die Abhängigkeit der Effektivität verschiedener Chelatbildner von E wiedergibt, nicht realisiert ist. Im Gegenteil, man erhält zumindest auf den ersten Blick den Eindruck einer absolut zufälligen und unsystematischen Verteilung der einzelnen Punkte. Auf der anderen Seite gelingt es, die Dosisabhängigkeit der Effektivität für einen gegebenen Chelatbildner annähernd durch eine Gerade wiederzugeben. Eine mögliche Ausnahme ist

DTPA; allerdings dürften die Abweichungen von der Linearität statistisch nicht gesichert sein.

Eine genauere Betrachtung der in der Leber gefundenen Verhältnisse (Abbildung 2) zeigt, daß zwischen vier Gruppen von Chelatbildnern unterschieden werden kann, für die innerhalb der Gruppe die geforderte lineare Abhängigkeit der Effektivität von E zwar nicht besonders überzeugend, jedoch in erster Näherung erfüllt ist: I (PA, HÄDTA), II (ÄDTA, BAÄ, BADS, BATÄ), III (DTPA, BADÄ, CDTA) und IV (MÄIDA). Gruppe I ist wirksamer, als aufgrund der E-Werte zu erwarten gewesen wäre, dagegen sind Gruppe III und IV weniger wirksam. Im Skelett (Abbildung 3) sind die Unterschiede zwischen Gruppe II und III mehr oder weniger verwischt, und es ist nur die größere bzw. geringere Wirksamkeit von Gruppe I und Gruppe IV festzustellen. Zu erwähnen ist schließlich noch die auffallend niedrige Wirksamkeit der CDTA. Ähnlich liegen die Verhältnisse im Blut (Abbildung 4), indem auch hier innerhalb der Gruppen II und III die Effektivitätsunterschiede nicht stark ausgeprägt sind. Auffällig ist hier außerdem die sehr große und eindeutig unsystematische Streuung der einzelnen Punkte. Die somit fehlende Korrelation zwischen Effektivität und effektiver Stabilitätskonstante steht im ausgesprochenen Widerspruch zu den mit anderen Metallionen, wie z.B. den seltenen Erden und Yttrium erzielten Ergebnissen (vgl. hierzu Catsch 1964). Auf der anderen Seite gibt es auch Metallionen, für die - ähnlich den Verhältnissen bei Cd^{2+} - ebenfalls keine bzw. eine nur sehr unbefriedigende Korrelation nachgewiesen werden konnte; es handelt sich hierbei um Co^{2+} (Lê 1964), Hg^{2+} (Nigrović 1963), Fe^{3+} (Lê 1965, Bohne et al. 1967) und Zn^{2+} (Weber und Weber 1967).

Die Faktoren, die einer fehlenden Korrelation zwischen Effektivitätsquotienten und effektiver Stabilitätskonstante ursächlich zugrunde liegen könnten, wurden in allgemeiner Form von Catsch (1964) diskutiert. Eine fehlende Korrelation, d.h. ein Plateau über einen großen E-Bereich kann beispielsweise dann auftreten, wenn es sich um die Ab-

lagerung eines Metallions in einem kompartmentalisierten Organ handelt, wobei die verschiedenen Kompartimente des Organs stark unterschiedliche Affinitäten zu dem Metallion aufweisen. Diese Erklärung kann für den zur Diskussion stehenden Fall des Cd sicherlich nicht zutreffen, da 1) kein Plateau vorliegt, sondern eine starke Streuung, und da 2) bei verschiedener Dosierung eines Chelatbildners die theoretisch erwartete lineare Dosisabhängigkeit durchaus realisiert ist.

Es muß somit nach Gründen gesucht werden, die durch die Art des Liganden selbst bestimmt sein sollten. Eine Erklärungsmöglichkeit könnte von der Annahme ausgehen, daß die verschiedenen Chelatbildner ein unterschiedliches metabolisches Verhalten (z.B. bezüglich des physiologischen Verdünnungsraumes oder Abbaus) aufweisen. Eine Beantwortung dieser Frage wird jedoch dadurch erschwert, daß von den geprüften Chelatbildnern bisher nur sehr wenige entsprechend untersucht worden sind. Befriedigende Daten liegen für ^{14}C -markierte ÄDTA und DTPA vor (Foreman 1960), für die gewiß keine wesentlicheren Unterschiede nachgewiesen werden konnten. Im Gegensatz zu den aliphatischen Polyaminopolycarboxylsäuren wird CDTA offenbar, wie aufgrund von Versuchen mit ^{59}Fe -CDTA (Rubin 1965, Günther 1967) geschlossen werden kann, nicht nur mit dem Urin, sondern auch mit den Faeces ausgeschieden. Selbst wenn die Annahme gemacht wird, daß die anderen Chelatbildner sich anders als ÄDTA verhalten, erscheint es äußerst unwahrscheinlich, daß diese (nicht nachgewiesenen) Differenzen für die sehr ausgeprägten Effektivitätsunterschiede - der untersuchte Bereich der effektiven Stabilitätskonstante E umfaßt rund 6 Größenordnungen - verantwortlich gemacht werden können. Ein letztes Argument ist, daß ein unterschiedliches metabolisches Verhalten der Chelatbildner sich auch bei anderen Metallionen im gleichen Sinne wie bei $^{115\text{m}}\text{Cd}$ manifestieren sollte. Das ist aber, wie bereits erwähnt, nicht der Fall.

Da die Dekorporationseffektivität der Chelatbildner im Falle von ^{115m}Cd in sehr starkem Maße zeitabhängig ist, könnte eine unterschiedliche Effektivität auch dann resultieren, wenn die Chelatbildner, die i.p. injiziert wurden, sich in ihrer Resorptionsgeschwindigkeit stark von einander unterscheiden. Auch dieses ist, zumindest für die chemisch eng verwandten Polyaminopolycarboxylsäuren, sehr wenig wahrscheinlich und bei ÄDTA und DTPA aufgrund der Versuche von Foreman (1960) auszuschließen.

Man wird somit zu der Folgerung geführt, daß die den Berechnungen zugrunde gelegte Stabilitätskonstante der einfachen 1:1-Chelate $K_{\text{CdL}}^{\text{Cd}}$ offenbar nicht ausreicht, um die Effektivität der Chelatbildner zu bestimmen. Da Cd^{2+} tatsächlich eine Koordinationszahl von 4 betätigt, wäre es bei höherzähligen Liganden (wie es die DTPA und TTHA, BATÄ und BAÄ sind) durchaus möglich, daß bimetallische Cd_2 -Chelate gebildet werden. Jedoch ist die Stabilität der bimetallischen Chelate nicht besonders hoch; für DTPA wurde $K_{\text{Cd}_2\text{L}}^{\text{Cd}}$ zu $10^{2,86}$ bestimmt (Anderegg et al. 1959), und es ist aus komplexchemischen Überlegungen wenig wahrscheinlich, daß die Konstanten der bimetallischen Chelate der (nach Abbildung 2) wirksameren, allerdings weniger Elektrondonoratome besitzenden BADS, BAÄ und ÄDTA höhere Werte als DTPA erreichen. Schließlich darf auch nicht außer acht gelassen werden, daß der Chelatbildner in sehr starkem Überschuß zu dem praktisch trägerfreien ^{115m}Cd vorliegt und damit die Bildung bimetallischer Chelate von vornherein eine äußerst geringe Rolle spielen kann. Dieser Umstand begünstigt jedoch, besonders bei Liganden mit relativ wenigen Elektrondonoratomen die Bildung von 2 L : 1 Cd-Chelaten. Die Stabilität dieser Chelatspezies ist - soweit bestimmt - tatsächlich wesentlich höher als die der einfachen 1:1-Chelate. Der K_2 -Wert für MÄIDA beträgt $10^{5,35}$ (Sillén und Martell 1964) und für PA $10^{7,1}$ (Lenz und Martell 1964), so daß entsprechend hohe Bruttostabilitätskonstanten β_2 resultieren. Dies könnte auch die (aufgrund des E-Wertes) unerwartet hohe Effektivität des PA befriedigend erklären; bei MÄIDA versagt jedoch diese

Erklärung, da sie erheblich schwächer wirksam ist als die anderen Chelatbildner. Allerdings ist MÄIDA (desgleichen MCADA, MPy und DMPy) erheblich toxischer als PA und die SH-freien Chelatbildner, so daß die geringe Effektivität die Folge einer Schädigung der Nieren und deren Funktion sein könnte. Die einzelnen Liganden können sich nicht nur in der Höhe der Stabilitätskonstanten voneinander unterscheiden, sondern auch in der Schnelligkeit, mit der die Chelate gebildet werden bzw. zerfallen; es sind Unterschiede, die mit den Begriffen der "Gleichgewichtschelate" und "robusten Chelate" nach der Terminologie von Schwarzenbach (1958) bezeichnet werden. Die Bildung eines robusten Chelates würde relativ langsam verlaufen und somit - ungeachtet der Höhe der Stabilitätskonstante - sich eine geringere Effektivität ergeben als bei einem instabileren, aber sich schnell bildenden Chelat. Auch in dieser Beziehung liegen bisher noch keine experimentellen Daten vor, die zur Deutung der bestehenden Effektivitätsunterschiede herangezogen werden könnten.

Es muß demnach abschließend festgestellt werden, daß im Moment noch keine befriedigenden und experimentell begründeten Erklärungen für die zur Diskussion gestellten Befunde gegeben werden können.

Ein anderer und ebenfalls auf den ersten Blick überraschender Befund besagt, daß S-haltige Chelatbildner ausnahmslos die Ablagerung von ^{115m}Cd in den Nieren in nur sehr geringem Maße beeinflussen oder - was der weitaus häufigere Fall ist - sie sogar potenzieren. Der einzige nicht S-haltige Chelatbildner, für den dies ebenfalls zutrifft, ist HÄDTA. Ein ähnlich starker Effekt konnte für andere bisher untersuchte Metallionen (wie Ce, Y, Pb, Hg u.a.m. (vgl. hierzu Catsch 1964)) nicht nachgewiesen werden. Zur Erklärung dieses Phänomens bietet sich folgende Deutung an: Bei den den Abbildungen 2 bis 4 zugrunde gelegten Stabilitätskonstanten E wurde mit dem pH-Wert des Blutplasmas von 7,4 gerechnet. Es ist nun jedoch bekannt, daß der pH-Wert des Urins bei Ratten wesentlich niedriger liegt und Werte von 5 erreicht. Wird

die Berechnung von α für einen pH-Wert von 5 durchgeführt, so zeigt der in Tabelle 18 zusammengestellte Vergleich, daß die Abnahme der effektiven Stabilitätskonstanten E beim Übergang von pH 7 auf 5 bei allen Chelatbildnern, welche die ^{115m}Cd -Ablagerung in den Nieren potenzieren, wesentlich stärker ausgeprägt ist als bei den Chelatbildnern, die dieses Phänomen nicht aufweisen. Der Übersichtlichkeit halber ist in Abbildung 5 die Abhängigkeit des Effektivitätsquotienten von der effektiven Stabilitätskonstante noch einmal wiedergegeben, wobei aber nun bei der Berechnung von α ein pH-Wert von 5 zugrunde gelegt wurde. Die Abbildung 5 bringt zwar eine immer noch erhebliche Streuung der Punkte, ein Trend im Sinne der postulierten linearen Abhängigkeit ist aber nicht zu verkennen. Offenbar wird eine Reduktion der ^{115m}Cd -Ablagerung nur durch solche Chelatdosen bewirkt, deren E-Wert $>10^6$ ist. Die Tatsache, daß bei niedrigeren E-Werten die ^{115m}Cd -Ablagerung höher als in der Kontrolle, d.h. der Effektivitätsquotient >1 ist, kann zwanglos durch die Annahme erklärt werden, daß die Stabilität der durch die Nieren ausgeschiedenen Cd-Chelate in diesem Fall nicht hoch genug ist, um sich gegen die Konkurrenz gewebseigener Liganden - es ist hier an die in der Niere in hoher Konzentration vertretenen SH-Gruppen (Ellman 1959) zu denken - durchzusetzen. Daß die augenscheinlich sehr hohe Affinität der Niere zu Cd^{2+} sich bei unbehandelten Kontrolltieren nicht manifestiert, ist nicht weiter überraschend, da das in die Blutbahn gelangte ^{115m}Cd wegen der großen Masse und entsprechenden intensiven Durchblutung der Leber primär von diesem Organ zurückgehalten und den Nieren ein nur kleiner ^{115m}Cd -Bruchteil gewissermaßen "angeboten" wird. Abbildung 5 zeigt, daß die sehr starke Potenzierung der ^{115m}Cd -Ablagerung durch PA noch durchaus in Richtung der linearen Abhängigkeit liegt. Der einzige abweichende Punkt ist die 100 μmol -MÄIDA-Dosis. In diesem Zusammenhang sei auf Abbildung 1 verwiesen, aus der hervorgeht, daß die stark erhöhte Cd-Ablagerung nur bei der höchsten, nicht jedoch bei den beiden niedrigeren MÄIDA-Dosen auftritt. Oben wurde erwähnt, daß MÄIDA eine auffallend hohe Toxizität aufweist; die akute LD 50 % von Mäusen

bei intraperitonealer Injektion wurde von Catsch (1967) zu $1,08 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ bestimmt. Es liegt deshalb nahe, die sehr starke Retention von $^{115\text{m}}\text{Cd}$ im Falle von $100 \mu\text{mol}$ MÄIDA als den Ausdruck der toxischen Wirksamkeit des Chelatbildners mit einer Schädigung der Ausscheidungsfunktion der Niere aufzufassen.

Die isotopische Verdünnung des $^{115\text{m}}\text{Cd}$ beeinflusst weder dessen Verteilung noch die Effektivität der Chelatbildner in nennenswertem Maße. Dies steht mit früheren Erfahrungen und Beobachtungen insofern in guter Übereinstimmung, als eine Abschwächung der Chelatwirkung in der Regel nur dann auftritt, wenn der Trägerzusatz auch das metabolische Verhalten des Radionuklids in stärkerem Maße beeinflusst. Als Beispiel hierfür seien die Verhältnisse bei ^{144}Ce und ^{91}Y erwähnt (Altenstetter et al. 1966).

Äquimolare Dosen von PA zeigen entsprechend den niedrigeren E-Werten eine schwächere Wirkung als DTPA, so daß bei gleichzeitiger Verabreichung beider Liganden naturgemäß nur die Wirkung der effektiveren DTPA dominieren sollte. Dies ist auch der Fall, und insbesondere tritt die für PA charakteristische $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Anreicherung in den Nieren nicht auf. Bei dem BADÄ liegen die Verhältnisse anders, da die Wirksamkeit dieses Chelatbildners sich nicht wesentlich von der der DTPA unterscheidet, und dementsprechend bei gleichzeitiger Verabreichung eine nur geringfügige Senkung der Retention resultiert.

III. Einfluß der Chelatbildner auf die Toxizität von Cd

1. Methodik

Als Versuchstiere dienten Mäusemännchen des NMIR/Han-Inzuchtstammes mit einem mittleren Körpergewicht von 33 g, deren Ernährung aus Standardpreßlingen der Fa. Altromin und Wasser ad libitum bestand. Es wurde die Letalität der Mäuse innerhalb von 10 Tagen nach subkutaner (unter die Rückenhaut) Verabreichung von $3 \text{ CdSO}_4 \cdot 8 \text{ H}_2\text{O}$ (p.a.) untersucht. Die Beobachtungsdauer von 10 Tagen war dadurch bestimmt, daß

nach den vorliegenden Versuchen und denen von Eybl und Sýkora (1966) zu späteren Zeitpunkten keine weiteren Todesfälle zu beobachten sind.

Von den Chelatbildnern wurde nur DTPA geprüft, da sie sich in den Verteilungskurven als außerordentlich wirksam erwiesen hatte. Außerdem wurden einige Versuche mit PA durchgeführt; dies erschien insofern interessant, als PA die Ablagerung von ^{115m}Cd in den Nieren stark erhöht und sich somit die Frage ergibt, ob dadurch ein Einfluß auf die Letalität ausgeübt wird.

Die Dosis-Effekt-Kurve wurde mit Hilfe der sog. Probitanalyse (Finney 1952) berechnet. Der Vergleich der Letalitätsraten in verschiedenen Gruppen wurde nach Maßgabe der Klassenbesetzung entweder mit Hilfe der χ^2 -Analyse (mit Korrektur auf Kontinuität nach Yates) oder mit Hilfe der sog. exakten Auswertung nach Fisher durchgeführt.

2. Versuchsergebnisse

Bevor der Einfluß der Chelatbildner auf die Toxizität von CdSO_4 geprüft wurde, war es notwendig, die toxischen Dosen bei unbehandelten Tieren zu bestimmen. Tabelle 19 gibt eine Zusammenstellung der nach s.c.-Injektion verschiedener Cd-Dosen beobachteten Letalität wieder. Abbildung 6 zeigt die mittels der Probitanalyse berechnete Dosis-Letalitätskurve. Die errechnete LD 50 % beträgt $57,1 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($6,42 \text{ mg Cd} \cdot \text{kg}^{-1}$); die Mutungsgrenzen ($P = 0,05$) der LD 50 % sind $53,6$ und $60,5 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. Die LD 50 % liegt etwas höher als von Eybl und Sýkora (1966) angegeben.

Von Interesse war ferner die zeitliche Absterbeordnung, die Abbildung 7 zu entnehmen ist. Sie zeigt die sog. Zeit-Letalitätskurven für verschiedene, nach Maßgabe der Letalitätsraten zusammengefaßte Gruppen. Die kumulative Letalität bezieht sich nicht auf die Gesamtzahl der getesteten Tiere (in diesem Fall würden, da die Letalität nicht 100 % erreicht, sog. truncated Kurven resultieren), sondern auf die in den jeweiligen Gruppen ad exitum gekommenen Tiere.

Abbildung 7 macht deutlich, daß - zumindest in dem Letalitätsbereich von 35 - 90 % - keine gesichert unterschiedliche Absterbeordnung vorliegt. Eine mögliche Ausnahme ist die Gruppe, bei der nach Verabreichung der höchsten Cd-Dosis eine annähernd 100 %ige Mortalität resultierte. Die entsprechende Zeit-Letalitätskurve ist gegenüber den anderen Gruppen wohl eindeutig nach oben verschoben. Das bedeutet, daß die mit hohen Dosen vergifteten Tiere etwas schneller sterben.

In einer weiteren Versuchsgruppe erhielten die Mäuse s.c. CdSO_4 in 3 verschiedenen Dosen; DTPA wurde in einer Menge von 3 bzw. 30 μmol pro Tier i.p. unmittelbar im Anschluß an die Injektion von CdSO_4 oder zu anderen, in der Tabelle 20 angeführten Zeiten appliziert. Eine statistisch gesicherte Senkung der Letalität tritt nur dann auf, wenn der Chelatbildner unmittelbar im Anschluß an CdSO_4 injiziert wird, während eine Verabfolgung zu späteren Zeitpunkten, selbst nach 6 Stunden, absolut unwirksam ist. Wird die Effektivität einer einmaligen, nach einer Minute verabreichten DTPA-Dosis mit der Versuchsreihe, in der 3 Dosen (die erste nach 15 Minuten) appliziert wurden, verglichen, ergeben sich gleiche Letalitätsraten; es kann jedoch im Hinblick auf die Ineffektivität der einmalig nach 24 bzw. 48 Stunden applizierten DTPA mit Sicherheit angenommen werden, daß nur die erste, nach 15 Minuten gegebene Dosis für den beobachteten Schutzeffekt verantwortlich ist.

Bei zwei verschiedenen CdSO_4 -Dosen (70 bzw. 100 $\mu\text{mol Cd}\cdot\text{kg}^{-1}$) wurde die Wirksamkeit zweier verschiedener DTPA-Dosen (3 bzw. 30 μmol pro Tier) miteinander verglichen. Auch im Falle der niedrigsten DTPA-Dosis liegt ein Ligandenüberschuß vor, und dementsprechend ist auch die relativ kleine Dosis von 3 μmol noch ausgesprochen wirksam; allerdings ist die Wirksamkeit sowohl bei der 70 wie auch 100 $\mu\text{mol Cd}$ -Dosis etwas geringer als bei Verabfolgung der 10-fach höheren DTPA-Dosis.

Von der Prüfung anderer Chelatbildner wurde deshalb Abstand genommen, da einerseits DTPA - was den Einfluß auf die Verteilung von $^{115\text{m}}\text{Cd}$ betrifft - wohl der wirksamste Chelat-

bildner war (allerdings nicht, wenn man dem Vergleich der Wirksamkeit die Werte der effektiven Stabilitätskonstanten zugrunde legt), andererseits aus den Untersuchungen von Eybl et al. (1966) geschlossen werden kann, daß die Schutzwirkung der Chelatbildner weitgehend ihrem Einfluß auf die Verteilung von ^{115m}Cd parallel geht. Der einzige Chelatbildner, der in einer orientierenden Versuchsreihe geprüft wurde, war PA; dies geschah im Hinblick auf den Umstand, daß dieser Chelatbildner in besonders starkem Maße die ^{115m}Cd -Ablagerung in der Niere steigert, dabei aber die Retention des Nuklids in den anderen Organen eindeutig, wenn auch nicht in besonders starkem Maße, reduziert.

CdSO_4 wurde in zwei verschiedenen Dosen und PA in einer Dosierung von $30 \mu\text{mol}$ pro Tier unmittelbar im Anschluß an die Injektion des CdSO_4 i.p. appliziert. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 21 zusammengefaßt, und Abbildung 7 gibt die Zeit-Letalitätskurven für die behandelten und nichtbehandelten Tiere wieder. Die Verabreichung von PA hat bei beiden Cd-Dosen eine statistisch gesicherte Erhöhung der Letalität zur Folge. Besonders stark ist dies bei der niedrigsten geprüften Dosis von $40 \mu\text{mol Cd} \cdot \text{kg}^{-1}$ ausgeprägt. Aufschlußreich ist ebenfalls der Vergleich der Zeit-Letalitätskurven in Abbildung 8, die sich von der Darstellung in Abbildung 7 dadurch unterscheidet, daß die Letalitätsraten nicht auf die gestorbenen, sondern auf die insgesamt getesteten Tiere bezogen sind. Es kann kein Zweifel daran bestehen, daß die Verabfolgung einer an sich absolut atoxischen PA-Dosis die Cd-Giftigkeit potenziert.

3. Diskussion

Daß DTPA eine Schutzwirkung bei Cd-vergifteten Tieren nur unter der Voraussetzung einer sehr frühzeitigen Darreichung ausübt, ist keineswegs unerwartet und steht in guter Übereinstimmung mit der Tatsache, daß die Effektivität der DTPA bezüglich der Verteilung von ^{115m}Cd ausgesprochen zeitabhängig ist, indem ein gesicherter Effekt nur bei sehr früher

Chelat-Verabfolgung auftritt.

Interessant sind die mit PA erhaltenen Ergebnisse, d.h. die eindeutige und starke Potenzierung der Letalität bei Cd-vergifteten Tieren. PA übt zwar, wie die in II.2. wiedergegebenen Ergebnisse zeigen, keinen besonders starken Einfluß auf die Retention von ^{115m}Cd aus, so daß - wenn überhaupt - ein nur schwacher Schutzeffekt zu erwarten gewesen wäre. Daß jedoch eine potenzierte Letalität resultiert, kann nur auf die erhöhte Ablagerung des Cd in den Nieren unter dem Einfluß von PA zurückgeführt werden. Es ist demnach zu folgern, daß die Nieren das kritische Organ darstellen und bei einer akuten Cd-Intoxikation ihre Schädigung im Vordergrund des Krankheitsbildes steht und aller Wahrscheinlichkeit nach eine maßgebliche Rolle für den letalen Ausgang der Vergiftung spielt.

IV. Abschließende Bemerkungen

Die dargelegten Versuchsergebnisse sind in theoretischer Beziehung insofern interessant, als zum ersten Male ein Phänomen nachgewiesen wurde, das sich bei anderen Metallionen in nicht so ausgeprägtem Maße bzw. überhaupt nicht bemerkbar macht: Gemeint ist die Unmöglichkeit, die Effektivität von Chelatbildnern zu den sog. effektiven Stabilitätskonstanten in Beziehung zu setzen. Diese Feststellung impliziert zwangsläufig, daß bei Versuchen mit anderen Metallionen grundsätzlich immer die Möglichkeit einer fehlenden Korrelation (so wie sie für den speziellen Fall von Cd^{2+} festgestellt wurde) ins Auge gefaßt werden sollte. Eine Nichtbeachtung dieses Umstandes kann, wie die vorliegenden Versuche zeigen, zu schwerwiegenden Fehlschlüssen bei der aprioristischen Bewertung der in vivo-Effektivität von Chelatbildnern führen.

Ein zweiter, methodisch wie auch praktisch wichtiger Punkt ist, daß in Untersuchungen über die Dekorporationseffektivität von Chelatbildnern nicht (wie dies häufig geschieht) die Bestimmung der Ausscheidungsraten genügen darf, sondern zweckmäßigerweise die Verteilung des entsprechenden Metall-

ions über die Organe geprüft werden sollte. Ist der Einfluß der Chelatbildner auf die Organverteilung nicht bekannt, so kann die alleinige Bewertung der Ausscheidung zu vollkommen falschen Erwartungen bezüglich der Beeinflussung der toxischen Metallwirkungen führen, wie die Untersuchungen mit PA zeigen. Anders ausgedrückt, reicht es nicht aus - dies sei hier nachdrücklich betont -, die Ausscheidung des Metallions generell zu erhöhen, vielmehr muß ein effektiver und in der Praxis anwendbarer Chelatbildner in der Lage sein, die Metallablagerung in den kritischen Organen zu senken.

Was die praktischen Konsequenzen aus den vorgelegten Untersuchungen betrifft, so kommt als Antidot bei der Cd-Vergiftung des Menschen anstelle der von Moeschlin (1964) vorgeschlagenen BAL-Behandlung in erster Linie DTPA in Frage. Dies ist dadurch begründet, daß DTPA die Retention von Cd^{2+} im Organismus am stärksten beeinflusst, einen ausreichend hohen therapeutischen Index (einen höheren als BAL) besitzt und schließlich ebenfalls klinisch erprobt ist.

Allerdings decken die Untersuchungen auch die Grenzen einer Chelat-Therapie für den ganz speziellen Fall von Cd^{2+} auf. Der Umstand, daß DTPA über einen nur sehr beschränkten Zeitraum wirksam ist (sowohl was den Einfluß auf die Verteilung als auch auf die Toxizität von Cd^{2+} betrifft), limitiert natürlich in großem Maße den praktischen Wert der DTPA-Therapie. Auch dieser Punkt bedarf einer besonderen Betonung, da man bei klinischen Untersuchungen relativ häufig dem Trugschluß begegnet, daß eine Chelat-Therapie automatisch und unter allen Bedingungen zu einer intensivierten Metallausscheidung führt. Es muß somit bei der praktischen Durchführung einer Chelat-Therapie mit Nachdruck gefordert werden, daß jederzeit die Effektivität des Chelatbildners durch Bestimmung des zu dekorporierenden Metallions im Harn bzw. in den Faeces kontrolliert wird.

V. Zusammenfassung

Es wurde der Einfluß einer größeren Zahl von Chelatbildnern auf die Verteilung von ^{115m}Cd im Organismus der Ratte untersucht. Alle Substanzen reduzieren in mehr oder weniger starkem Maße die Ablagerung des ^{115m}Cd in den Organen. Am wirksamsten erwies sich die Diäthylentriaminpentaessigsäure. Exzeptionell verhalten sich nur die S-haltigen Chelatbildner, unter deren Einfluß eine zum Teil erhebliche Potenzierung der ^{115m}Cd -Retention durch die Nieren beobachtet wird.

Die isotopische Verdünnung des ^{115m}Cd beeinflusst nicht die Wirksamkeit der Chelatbildner. Dagegen liegt eine ausgeprägte Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Chelatverabfolgung vor, indem eine erhöhte Ausscheidung nur innerhalb der ersten Stunden auftritt.

In Übereinstimmung damit übt DTPA bei der akuten Cd-Vergiftung von Mäusen eine Schutzwirkung nur bei sehr früher Verabreichung aus. Penicillamin erhöht die Letalität, was mit der potenzierten Cd-Ablagerung in den Nieren in Zusammenhang steht.

Es wurden einige theoretische und praktische, sich aus den Untersuchungen ergebende Folgerungen und Fragen diskutiert.

VI. Schrifttum

- Altenstetter, F., F. Bohne und A. Catsch: Strahlentherapie 131, 361 (1966).
- Anderegg, G., P. Nägeli, F. Müller und G. Schwarzenbach: Helv. chim. Acta 42, 827 (1959).
- Bohne, F., A.-E. Harmuth-Hoene und K.M. Weber: Arch. exp. Path. Pharm., im Druck (1967).
- Boudène, C. und R. Truhaut: Arch. Hig. Rada 5, 19 (1954).
- Carlson, L.A. und L. Friberg: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 9, 1 (1957).
- Catsch, A.: Radioactive Metal Mobilization in Medicine, Springfield, Ill., 1964.
- Catsch, A.: Arzneimitt.-Forsch., im Druck (1967).
- Cotter, L.H.: J. Am. Med. Ass. 166, 735 (1958).
- Durbin, P.W., K.G. Scott und J.G. Hamilton: Univ. Calif. Publ. Pharmacol. 3, 1 (1957).
- Ellman, G.E.: Arch. Biochem. Biophys. 82, 70 (1959).
- Eybl, V., J. Sýkora und F. Mertl: Arch. exp. Path. Pharm. 252, 85 (1965).
- Eybl, V. und J. Sýkora: Act. Biol. Med. German. 16, 61 (1966).
- Eybl, V., J. Sýkora und F. Mertl: Act. Biol. Med. German. 17, 178 (1966).
- Fairhall, L.: Industrial Toxicology, Baltimore, 1949.
- Finney, D.J.: Probit Analysis, Cambridge, 1952.
- Foreman, H., C. Finnegan und C.C. Lushbaugh: J. Am. Med. Ass. 160, 1042 (1956).
- Foreman, H.: Metal-Binding in Medicine, p. 82 und 160, Philadelphia & Montreal, 1960.
- Friberg, L.: A. M. A. Arch. Ind. Health 13, 18 (1956).
- Friberg, L.: A. M. A. Arch. Ind. Health 16, 30 (1957).
- Gilman, A., F.S. Philips, R.P. Allen und E.S. Koelle: J. Pharm. Therap. 87 (suppl.), 85 (1946).
- Günther, R.: Persönl. Mitteilung (1967).
- Gunn, S.A. und T.C. Gould: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 96, 820 (1957).
- Heller, H.J. und A. Catsch: Strahlentherapie 109, 464 (1959).

- Lê, D. Kh.: Nature 204, 696 (1964).
- Lê, D. Kh.: Arzneim.-Forsch. 15, 387 (1965).
- Lenz, G.R. und A.E. Martell: Biochemistry 3, 745 (1964).
- Marmé, W.: Zschr. f. ration. Med. 29, 125 (1867).
- Moeschlin, S.: Klinik und Therapie der Vergiftungen,
Stuttgart, 1964.
- Nigrović, V.: Arzneim.-Forsch. 13, 787 (1963).
- Prodan, L.: J. Industr. Hyg. Toxic. 14, 174 (1932).
- Rubin, M.: Chelation Therapy, p. 66, Springfield, Ill.,
1965.
- Schwarzenbach, G.: Angew. Chem. 70, 451 (1958).
- Schwartz, E.W. und C.L. Alsberg: J. Pharm. Exptl. Therap.
21, 1 (1923).
- Sillén, L.G. und A.E. Martell: Stability Constants, London,
1964.
- Stockhausen, S. zit. nach Koelsch: Zbl. Gewerbehyg. N.F. 41
(1924).
- Voigt, G.E. und G. Sköld: Zschr. ges. exp. Med. 136, 326
(1963).
- Weber, J. und K.M. Weber: Persönl. Mitteilung (1967).

VII. Tabellen und Abbildungen

Tabelle 1: ^{115m}Cd -Gehalt der Organe (% der Dosis) am 2. Tag nach i.v. Injektion.

In der 2. Zeile ist der logarithmische Mittelwert und Standardfehler angegeben.

N = Zahl der Tiere, g = mittleres Körpergewicht.

N	g	Blut	Leber	Nieren	Skelett
5	359	0,802 $\bar{1},904 \pm 0,114$	70,8 $1,850 \pm 0,024$	2,10 $0,302 \pm 0,020$	2,70 $0,432 \pm 0,042$
5	281	0,643 $\bar{1},808 \pm 0,063$	69,5 $1,842 \pm 0,016$	2,18 $0,338 \pm 0,038$	2,37 $0,374 \pm 0,045$
5	255	0,646 $\bar{1},810 \pm 0,050$	70,8 $1,850 \pm 0,036$	2,21 $0,344 \pm 0,032$	2,79 $0,446 \pm 0,027$
5	235	0,836 $\bar{1},922 \pm 0,042$	68,6 $1,836 \pm 0,004$	3,65 $0,562 \pm 0,011$	3,24 $0,510 \pm 0,010$
5	258	0,791 $\bar{1},898 \pm 0,049$	66,7 $1,824 \pm 0,030$	2,02 $0,306 \pm 0,020$	3,44 $0,536 \pm 0,037$
5	242	0,679 $\bar{1},832 \pm 0,053$	67,3 $1,828 \pm 0,027$	1,97 $0,294 \pm 0,026$	3,15 $0,498 \pm 0,022$
5	220	0,682 $\bar{1},834 \pm 0,049$	68,2 $1,834 \pm 0,010$	1,88 $0,274 \pm 0,019$	3,05 $0,484 \pm 0,050$
6	262	0,753 $\bar{1},877 \pm 0,251$	66,4 $1,822 \pm 0,033$	1,61 $0,208 \pm 0,072$	2,74 $0,430 \pm 0,054$

Tabelle 2: Homogenitätsprüfung des in Tabelle 1 angeführten Materials. F = Varianzverhältnis, P = Signifikanzwahrscheinlichkeit.

Organ	F	P
Blut	1,47	> 0,05
Leber	2,41	> 0,01
Nieren	30,34	< 0,001
Skelett	6,91	< 0,01

Tabelle 3: ^{115m}Cd -Gehalt der Organe (% der Dosis) zu verschiedenen Tagen nach i.v. Injektion.
 Weitere Erklärung s. Legende zu Tab. 1.

N	g	Tag	Blut	Leber	Nieren	Skelett
6	296	1	0,492 $\bar{1},692 \pm 0,251$	66,4 $1,822 \pm 0,033$	1,91 $0,282 \pm 0,072$	3,35 $0,525 \pm 0,054$
41 ¹⁾	264	2	0,728 $\bar{1},862 \pm 0,039$	68,5 $1,836 \pm 0,007$	2,20 $0,342 \pm 0,019$	2,93 $0,467 \pm 0,021$
6	273	4	0,819 $\bar{1},913 \pm 0,251$	69,5 $1,842 \pm 0,033$	1,95 $0,290 \pm 0,072$	2,44 $0,387 \pm 0,054$
14	249	8	0,718 $\bar{1},856 \pm 0,030$	67,9 $1,832 \pm 0,012$	1,97 $0,294 \pm 0,016$	2,57 $0,410 \pm 0,021$
6	256	16	0,982 $\bar{1},992 \pm 0,251$	62,4 $1,795 \pm 0,033$	2,51 $0,400 \pm 0,072$	2,74 $0,437 \pm 0,054$

1) Mittelwert aus Tabelle 1.

Tabelle 4: ^{115}mCd -Gehalt der Organe (% der Dosis) am 2. und 8. Tag nach i.v. Injektion von ^{115}mCd + 0,2 mg Cd. Weitere Erklärungen s. Legende von Tab. 1.

N	g	Tag	Blut	Leber	Nieren	Skelett
5	248	2	0,702 $1,846 \pm 0,042$	55,0 $1,740 \pm 0,024$	2,64 $0,422 \pm 0,024$	3,21 $0,506 \pm 0,026$
7	206	8	0,736 $1,867 \pm 0,028$	50,8 $1,706 \pm 0,013$	2,82 $0,459 \pm 0,015$	3,11 $0,493 \pm 0,014$

Tabelle 5: ^{115m}Cd -Gehalt der Organe (% der Kontrolle und Mutungsbereich für $P = 0,05$) am 2. Tag nach i.v. Injektion. Die Chelatbildner (wenn nicht anders angegeben, 200 μmol pro Tier) wurden i.p. unmittelbar im Anschluß an ^{115m}Cd injiziert.

N	g	Chelat- bildner	Blut	Leber	Nieren	Skelett
5	365	HÄDTA	26,1 18,8 - 36,4	33,5 30,8 - 36,7	123 100 - 151	43,5 34,2 - 54,8
5	341	ÄDTA	54,7 29,8 - 100,2	57,8 50,9 - 65,8	87,6 78,6 - 97,6	54,4 43,7 - 67,8
5	357	DTPA	13,8 7,53 - 25,3	28,3 24,9 - 32,2	36,1 32,4 - 40,2	24,9 20,0 - 31,1
5	319	TTHA	20,4 11,2 - 37,5	27,0 23,7 - 30,8	37,5 33,8 - 41,7	25,7 20,6 - 32,1
5	343	BADÄ	38,5 21,1 - 70,6	36,0 31,6 - 41,0	70,5 63,3 - 78,6	24,2 19,3 - 30,1
5	373	BADS	19,4 10,6 - 35,7	23,7 20,9 - 27,0	85,7 76,7 - 95,2	16,5 13,2 - 20,6
5	291	CDTA	74,8 53,7 - 100,4	69,2 63,4 - 75,5	65,6 53,2 - 80,3	78,9 62,4 - 100,0
5	309	BAÄ	61,4 44,1 - 87,5	55,0 50,4 - 60,0	49,1 40,1 - 60,5	59,5 46,8 - 75,5
4	298	BATÄ	33,3 22,7 - 48,7	27,1 24,6 - 29,9	130 103 - 164	21,8 16,3 - 28,9

Fortsetzung nächste Seite

Fortsetzung Tabelle 5

N	g	Chelat- bildner	Blut	Leber	Nieren	Skelett
4	241	MCADA	24,4 16,6 - 36,4	35,7 32,4 - 39,4	715 564 - 904	21,6 16,2 - 28,8
5	254	PA	56,5 43,4 - 73,5	48,0 39,7 - 58,3	905 761 - 1072	68,5 59,5 - 79,2
5	263	MÄIDA ¹⁾	55,4 42,6 - 72,3	30,2 24,9 - 36,6	683 574 - 805	52,7 45,5 - 60,6
5	249	DMPS ¹⁾	79,4 61,0 - 100,3	49,2 40,6 - 59,7	282 238 - 333	92,1 79,6 - 106,4
5	273	MPy ¹⁾	126,9 97,5 - 165,6	22,7 18,6 - 27,5	153 129 - 181	94,6 82,1 - 109,7
5	262	DMPy ²⁾	60,3 48,3 - 75,1	84,7 82,9 - 86,4	118 111 - 125	70,4 67,0 - 74,1

1) 100 μmol pro Tier

2) 50 μmol pro Tier

Tabelle 6: ^{115}mCd -Gehalt der Organe (% der Kontrolle und Mutungsbereich für $P = 0,05$) am 2. Tag nach i.v. Injektion. DTPA wurde i.p. unmittelbar im Anschluß an ^{115}mCd injiziert.

N	g	$\mu\text{mol pro Tier}$	Blut	Leber	Nieren	Skelett
5	229	6,3	43,5 33,5 - 56,4	47,6 40,6 - 55,7	50,0 44,8 - 55,9	36,3 32,8 - 40,7
6	206	20,0	41,3 32,6 - 52,2	47,4 41,1 - 54,7	43,4 39,6 - 47,8	25,3 23,0 - 27,8
4	215	63,0	40,4 30,5 - 54,5	38,9 32,2 - 46,5	37,6 33,2 - 42,4	21,7 19,2 - 24,5
6	261	100,0	29,0 7,97 - 105,0	30,3 25,4 - 35,8	40,7 28,1 - 59,0	22,1 16,7 - 29,2

Tabelle 7: ^{115}mCd -Gehalt der Organe (% der Kontrolle und Mutungsbereich für $P = 0,05$) am 2. Tag nach i.v. Injektion. BADS wurde i.p. unmittelbar im Anschluß an ^{115}mCd injiziert.

N	g	$\mu\text{mol pro Tier}$	Blut	Leber	Nieren	Skelett
4	233	20	40,1 29,0 - 55,4	32,9 28,0 - 38,8	146 124 - 171	36,2 31,6 - 41,6
5	213	63	38,4 28,9 - 50,8	29,7 25,7 - 34,2	113 98,5 - 129	24,6 21,9 - 27,8

Tabelle 8: ^{115m}Cd -Gehalt der Organe (% der Kontrolle und Mutungsbereich für $P = 0,05$) am 2. Tag nach i.v. Injektion. BATÄ wurde i.p. unmittelbar im Anschluß an ^{115m}Cd injiziert.

N	g	$\mu\text{mol pro Tier}$	Blut	Leber	Nieren	Skelett
5	266	20	63,4 47,8 - 83,9	41,2 35,7 - 47,4	170 148 - 194	34,9 31,0 - 39,4
5	262	63	47,3 35,5 - 62,6	31,1 26,9 - 35,8	168 147 - 192	24,4 21,7 - 27,5

Tabelle 9: ^{115m}Cd -Gehalt der Organe (% der Kontrolle und Mutungsbereich für $P = 0,05$) am 2. Tag nach i.v. Injektion. MÄIDA wurde i.p. unmittelbar im Anschluß an ^{115m}Cd injiziert.

N	g	$\mu\text{mol pro Tier}$	Blut	Leber	Nieren	Skelett
5	239	31,6	72,5 54,8 - 96,1	43,2 37,5 - 50,0	224 195 - 256	70,5 62,5 - 79,4
5	219	63,0	65,1 49,2 - 86,3	39,1 33,9 - 45,0	212 185 - 243	61,6 54,6 - 69,5

Tabelle 10: ^{115m}Cd -Gehalt der Organe (% der Kontrolle und Mutungsbereich für $P = 0,05$) am 2. Tag nach i.v. Injektion. PA wurde i.p. unmittelbar im Anschluß an ^{115m}Cd injiziert.

N	g	$\mu\text{mol pro Tier}$	Blut	Leber	Nieren	Skelett
4	232	20	85,5 63,5 - 115	89,8 74,6 - 107,8	457 405 - 515	100,9 89,5 - 113,7
5	214	63	63,7 49,1 - 82,5	68,5 58,4 - 80,3	871 782 - 970	101,7 91,6 - 113,1
6	244	100	63,7 17,5 - 234	61,3 51,8 - 72,7	938 652 - 1360	104,0 78,8 - 136,1
5	231	630	40,9 31,6 - 53,1	47,7 40,6 - 55,8	1015 911 - 1134	59,9 53,8 - 66,6

Tabelle 11: $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Gehalt der Organe (% der Kontrolle und Mutungsbereich für $P = 0,05$) zu verschiedenen Tagen nach i.v. Injektion. 100 μmol DTPA wurden i.p. unmittelbar im Anschluß an $^{115\text{m}}\text{Cd}$ injiziert.

N	g	Tag	Blut	Leber	Nieren	Skelett
6	265	1	26,2 6,17 - 95,1	27,9 23,5 - 33,0	39,7 27,4 - 57,6	23,8 18,0 - 31,3
6	261	2	29,0 7,97 - 105	30,3 25,4 - 35,8	40,7 28,1 - 59,0	22,1 16,7 - 29,2
6	249	4	28,0 7,69 - 128	29,2 24,6 - 34,7	40,1 27,7 - 57,9	26,6 20,1 - 35,1
6	256	8	26,4 7,06 - 93,6	29,2 24,5 - 34,7	41,0 28,3 - 59,4	23,0 17,9 - 30,4
5	258	16	26,4 4,28 - 111	30,0 24,7 - 36,2	30,8 20,4 - 46,6	21,1 15,5 - 28,7

Tabelle 12: ^{115m}Cd -Gehalt der Organe (% der Kontrolle und Mutungsbereich für $P = 0,05$) zu verschiedenen Tagen nach i.v. Injektion. 100 μmol MÄIDA wurden i.p. unmittelbar im Anschluß an ^{115m}Cd injiziert.

N	g	Tag	Blut	Leber	Nieren	Skelett
6	266	1	54,9 15,0 - 201	29,2 24,5 - 34,6	895 618 - 1298	46,0 34,9 - 60,9
5	262	2	55,9 13,3 - 235	30,1 25,0 - 36,6	910 601 - 1368	66,8 49,6 - 91,6
6	256	4	52,2 14,4 - 189	29,1 24,5 - 34,4	834 579 - 1159	72,5 54,9 - 95,9
5	251	8	46,6 11,1 - 195	27,0 22,3 - 32,7	994 659 - 1497	78,1 57,4 - 106,3
6	231	16	39,9 11,0 - 145	27,4 23,1 - 32,5	626 434 - 869	58,4 44,2 - 77,0

Tabelle 13: $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Gehalt der Organe (% der Kontrolle und Mutungsbereich für $P = 0,05$) zu verschiedenen Tagen nach i.v. Injektion. 100 μmol PA wurden i.p. unmittelbar im Anschluß an $^{115\text{m}}\text{Cd}$ injiziert.

N	g	Tag	Blut	Leber	Nieren	Skelett
6	236	1	38,8 10,6 - 141	59,6 50,4 - 70,8	948 654 - 1372	85,1 64,5 - 112,4
6	244	2	63,7 17,5 - 234	61,3 51,8 - 72,7	938 652 - 1360	104,0 78,8 - 136,1
6	238	4	61,6 17,0 - 223	60,0 51,6 - 71,1	913 631 - 1323	102,4 77,5 - 134,3
6	239	8	55,4 15,3 - 200	54,1 45,7 - 63,4	1135 784 - 1649	113,5 86,1 - 150,1
6	254	16	45,5 12,5 - 165	63,1 53,2 - 74,9	657 454 - 952	98,9 74,8 - 130,7

Tabelle 14: ^{115m}Cd -Gehalt der Organe (% der Kontrolle und Mutungsbereich für $P = 0,05$) am 2. Tag nach i.v. Injektion. Je 100 μmol der Chelatbildner wurden i.p. unmittelbar im Anschluß an ^{115m}Cd injiziert.

N	g	Chelat- bildner	Blut	Leber	Nieren	Skelett
6	261	DTPA	29,0 7,97 - 105,0	30,3 25,4 - 35,8	40,7 28,1 - 59,0	22,1 16,7 - 29,2
10	262	MÄIDA	55,7 28,0 - 153,0	30,2 25,0 - 36,6	797 688 - 1086	59,8 47,6 - 76,6
6	244	PA	63,7 17,5 - 234,0	61,3 51,8 - 72,7	938 652 - 1360	104,0 78,8 - 136,1
5	209	DTPA + MÄIDA	18,8 14,5 - 23,9	18,0 17,1 - 19,1	243 220 - 269	24,0 18,9 - 31,2
5	210	DTPA + PA	31,5 24,3 - 40,9	33,7 32,0 - 35,6	45,9 41,5 - 50,6	21,2 16,3 - 27,6

Tabelle 15: ^{115m}Cd -Gehalt der Organe (% der Kontrolle und Mutungsbereich für $P = 0,05$) am 8. Tag nach i.v. Injektion. Je 100 μmol der Chelatbildner wurden am 2., 4. und 6. Tag i.p. injiziert.

N	g	Chelat- bildner	Blut	Leber	Nieren	Skelett
8	207	DTPA	123 106 - 142	98,4 94,8 - 102,1	111 100 - 125	119 110 - 128
8	230	BADS	156 135 - 181	98,3 94,7 - 101,9	105 94 - 117	119 110 - 128
8	234	PA	141 122 - 163	102,4 98,7 - 106,2	113 101 - 127	98 91 - 105
8	227	PA ¹⁾	140 121 - 161	99,6 96,0 - 103,3	120 108 - 134	110 101 - 118

1) peroral

Tabelle 16: ^{115m}Cd -Gehalt der Organe (% der Kontrolle und Mutungsbereich für $P = 0,05$) am 2. Tag nach i.v. Injektion von $^{115m}\text{Cd} + 0,2 \text{ mg Cd}$. 100 μmol der Chelatbildner wurden i.p. unmittelbar im Anschluß an ^{115m}Cd injiziert.

N	g	Chelat- bildner	Blut	Leber	Nieren	Skelett
5	262	DTPA	27,8 22,2 - 34,7	43,5 38,2 - 49,3	40,2 35,3 - 45,4	20,0 17,4 - 23,0
5	244	TTHA	28,2 22,5 - 35,2	34,7 30,5 - 39,3	33,1 29,2 - 37,6	20,9 18,2 - 24,0
5	248	BADS	38,4 30,7 - 48,1	38,2 33,6 - 43,3	61,7 54,5 - 70,0	17,8 15,6 - 20,5
5	272	PA	61,3 49,0 - 76,6	69,5 61,3 - 78,9	436 386 - 496	78,2 68,2 - 89,7
5	261	MÁIDA	49,1 39,3 - 61,5	28,0 24,7 - 31,8	344 303 - 390	31,1 27,1 - 35,8
5	262	DMPS	59,4 47,4 - 74,2	63,2 55,8 - 71,8	124 109 - 141	68,2 59,5 - 78,2

Tabelle 17: $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Gehalt der Organe (% der Kontrolle und Mutungsbereich für $P = 0,05$) am 8. Tag nach i.v. Injektion von $^{115\text{m}}\text{Cd} + 0,2 \text{ mg Cd}$. Je 100 μmol der Chelatbildner wurden am 2., 4. und 6. Tag i.p. injiziert.

N	g	Chelat- bildner	Blut	Leber	Nieren	Skelett
7	219	DTPA	107,0 92,7 - 121,8	90,5 82,9 - 99,2	112,8 105,0 - 121,6	108,3 100,7 - 116,1
7	202	BADS	99,9 86,6 - 115,1	102,7 93,7 - 112,3	100,8 93,6 - 111,0	93,9 87,4 - 101,0
7	220	PA	90,6 78,5 - 104,4	102,4 93,5 - 112,1	119,1 112,8 - 128,0	105,8 98,4 - 113,5

Tabelle 18: Effektive Stabilitätskonstanten für Cd^{2+} in Abhängigkeit vom pH-Wert. $[\text{L}]_{\text{tot}} = 1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Chelatbildner	pH	
	7	5
ÄDTA	8,9	8,9
HÄDTA	8,0	6,9
CDTA	10,1	10,1
BADÄ	10,8	9,5
BADS	10,1	6,2
BAÄ	9,0	8,3
BATÄ	9,8	5,8
DTPA	11,4	10,1
MÄIDA	11,7	7,7
PA	6,6	2,6

Tabelle 19: Letalität von Mäusen (33 g) zum 10. Tag nach s.c. Injektion von CdSO_4 .

$\mu\text{mol Cd}\cdot\text{kg}^{-1}$	Letalität (%)
25,1	1/30 = 3,3
28,2	0/30 = 0
31,6	2/30 = 6,7
35,5	7/30 = 23,3
40,0	10/50 = 20,0
44,6	12/30 = 40,0
50,0	13/40 = 32,5
56,2	11/30 = 36,7
63,0	20/30 = 66,7
70,8	37/55 = 67,3
79,5	15/20 = 75,0
89,1	15/20 = 75,0
100,0	47/50 = 94,0

Tabelle 20: Letalität von Mäusen zum 10. Tag nach s.c. Injektion von CdSO_4 und i.p. Injektion von DTPA. P = Signifikanzwahrscheinlichkeit.

$\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$		Zeitpunkt d. Chelatver- abfolgung	Letalität (%)		P
CdSO_4	DTPA				
70	0	-	37/55	67,3	-
70	91	1 Min.	2/25	8,0	$< 10^{-6}$
70	910	1 Min.	0/25	0	10^{-9}
70	910	6 Std.	12/20	60,0	$> 0,3$
70	910	24 Std.	12/18 ¹⁾	66,7	$> 0,7$
70	0	-	25/43 ¹⁾	58,1	-
70	910	48 Std.	5/10 ²⁾	50,0	$> 0,6$
70	0	-	10/28 ²⁾	35,7	-
70	3 x 910	15 Min., 24 u. 48 Std.	0/20	0	$< 10^{-7}$
100	0	-	47/50	94,0	-
100	91	1 Min.	6/30	20,0	$< 10^{-11}$
100	910	1 Min.	0/30	0	$< 10^{-18}$
200	910	1 Min.	13/38	34,2	-

1) Letalität nach 24 Std.

2) Letalität nach 48 Std.

Tabelle 21: Letalität von Mäusen zum 10. Tag nach s.c. Injektion von CdSO_4 . $910 \mu\text{mol PA} \cdot \text{kg}^{-1}$ wurden i.p. unmittelbar im Anschluß an CdSO_4 injiziert. P = Signifikanzwahrscheinlichkeit.

$\mu\text{mol Cd} \cdot \text{kg}^{-1}$	PA	Letalität (%)	P
40	-	10/50 = 20,0	10^{-9}
40	+	26/30 = 86,7	
70	-	37/55 = 67,3	10^{-4}
70	+	38/40 = 95,0	

Abb. 1: ^{115m}Cd -Gehalt der Nieren in Abhängigkeit von der Dosis verschiedener Chelatbildner.

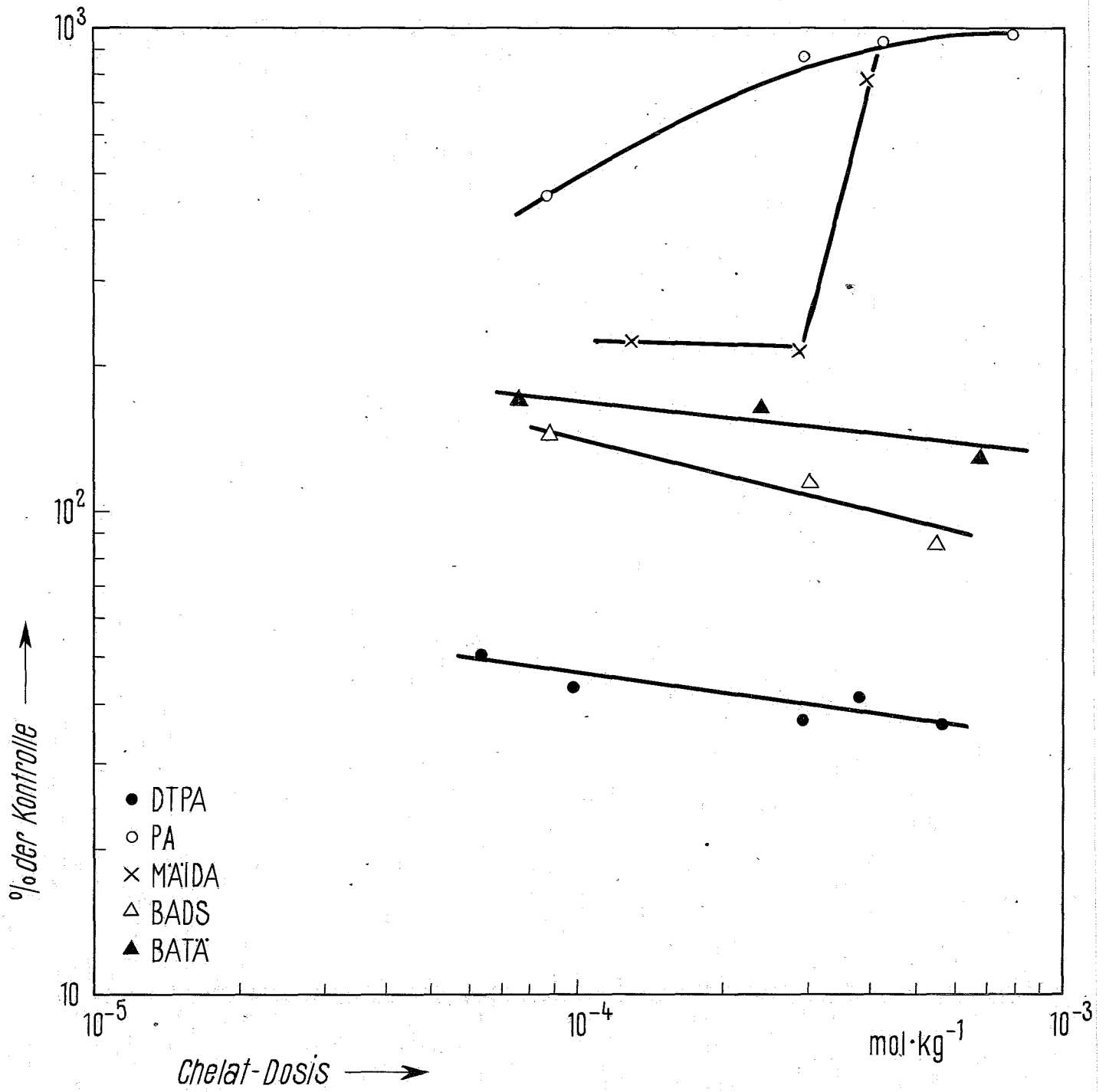


Abb. 2: $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Gehalt der Leber in Abhängigkeit von der effektiven Stabilitätskonstante. Die Geraden geben die Dosisabhängigkeit der Effektivität bestimmter Chelatbildner wieder.

Abb. 3: $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Gehalt des Skeletts in Abhängigkeit von der effektiven Stabilitätskonstante. Die Geraden geben die Dosisabhängigkeit der Effektivität bestimmter Chelatbildner wieder.

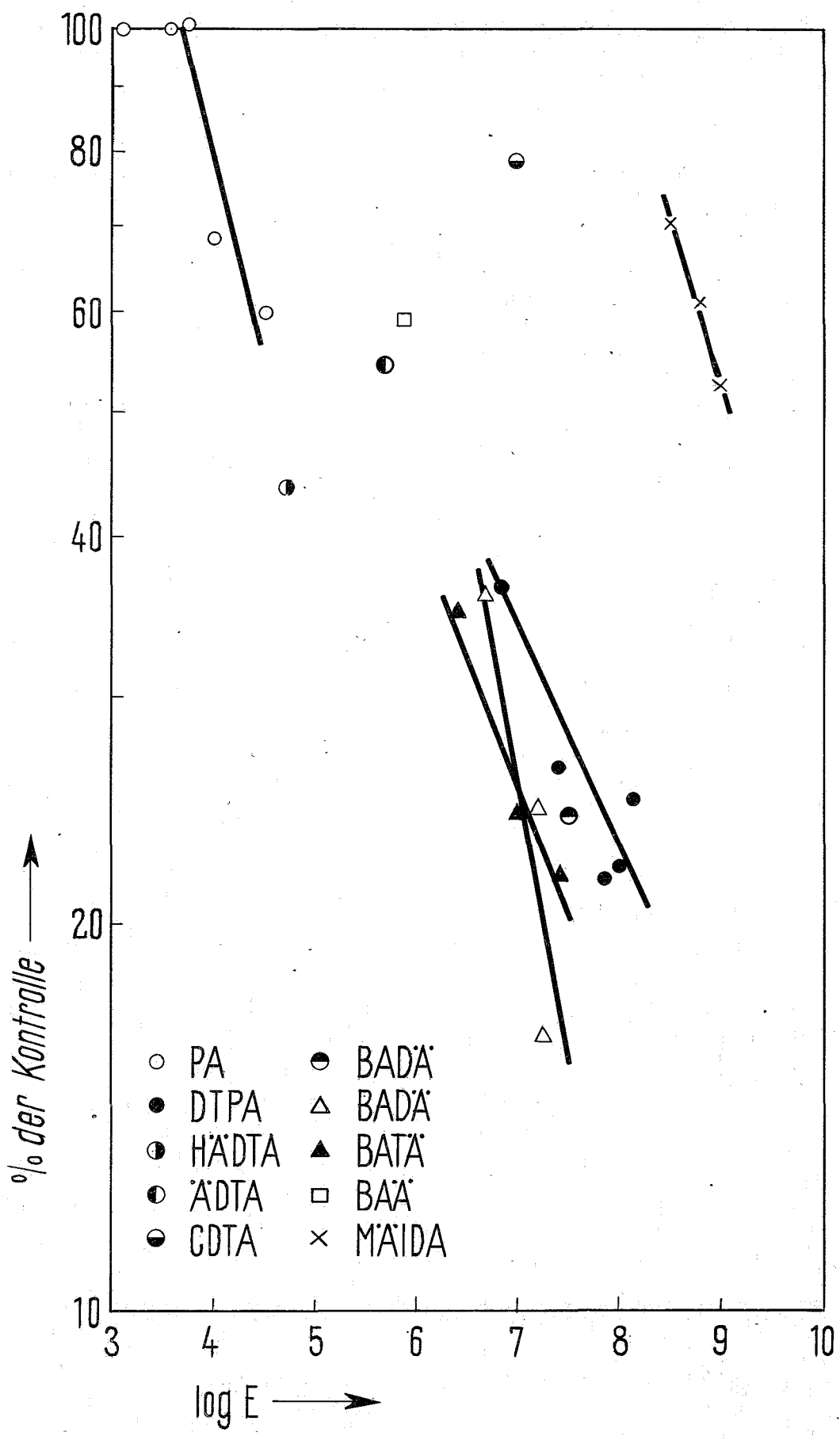


Abb. 4: $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Gehalt des Bluts in Abhängigkeit von der effektiven Stabilitätskonstante. Die Geraden geben die Dosisabhängigkeit der Effektivität bestimmter Chelatbildner wieder.

Abb. 5: $^{115\text{m}}\text{Cd}$ -Gehalt der Nieren in Abhängigkeit von der effektiven Stabilitätskonstante verschiedener Chelatbildner. Der Berechnung von α ist ein pH-Wert 5 zugrundegelegt. Die Dosis von $200 \mu\text{M}$ wurde gleich 1 gesetzt.

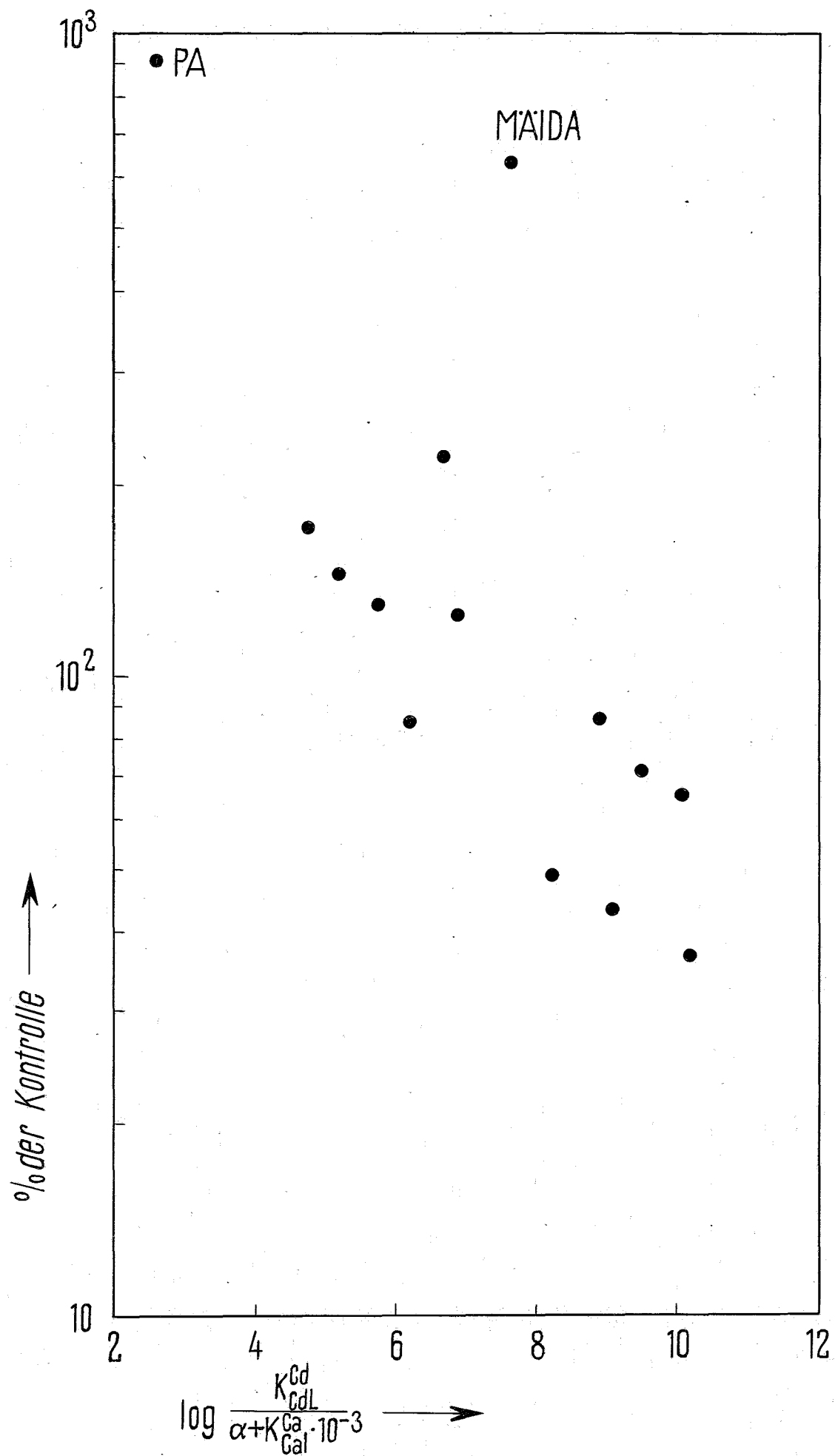


Abb. 6: Dosis-Letalitäts-Kurve. Bei \star handelt es sich um den sog. Arbeitsprobit bei 0 % Letalität.

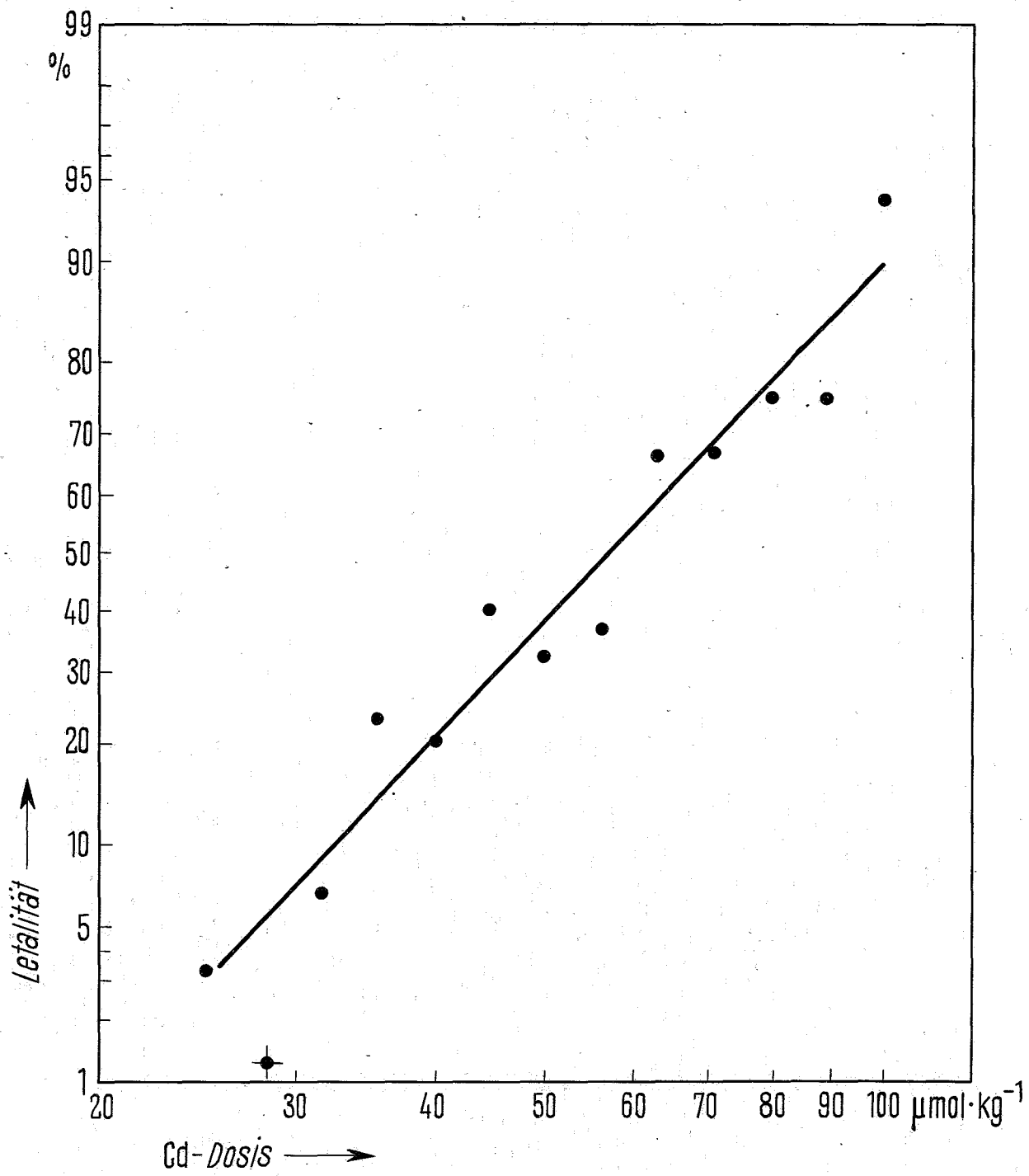


Abb. 7: Absterbeordnung in Abhängigkeit von der Letali-
tätsrate.

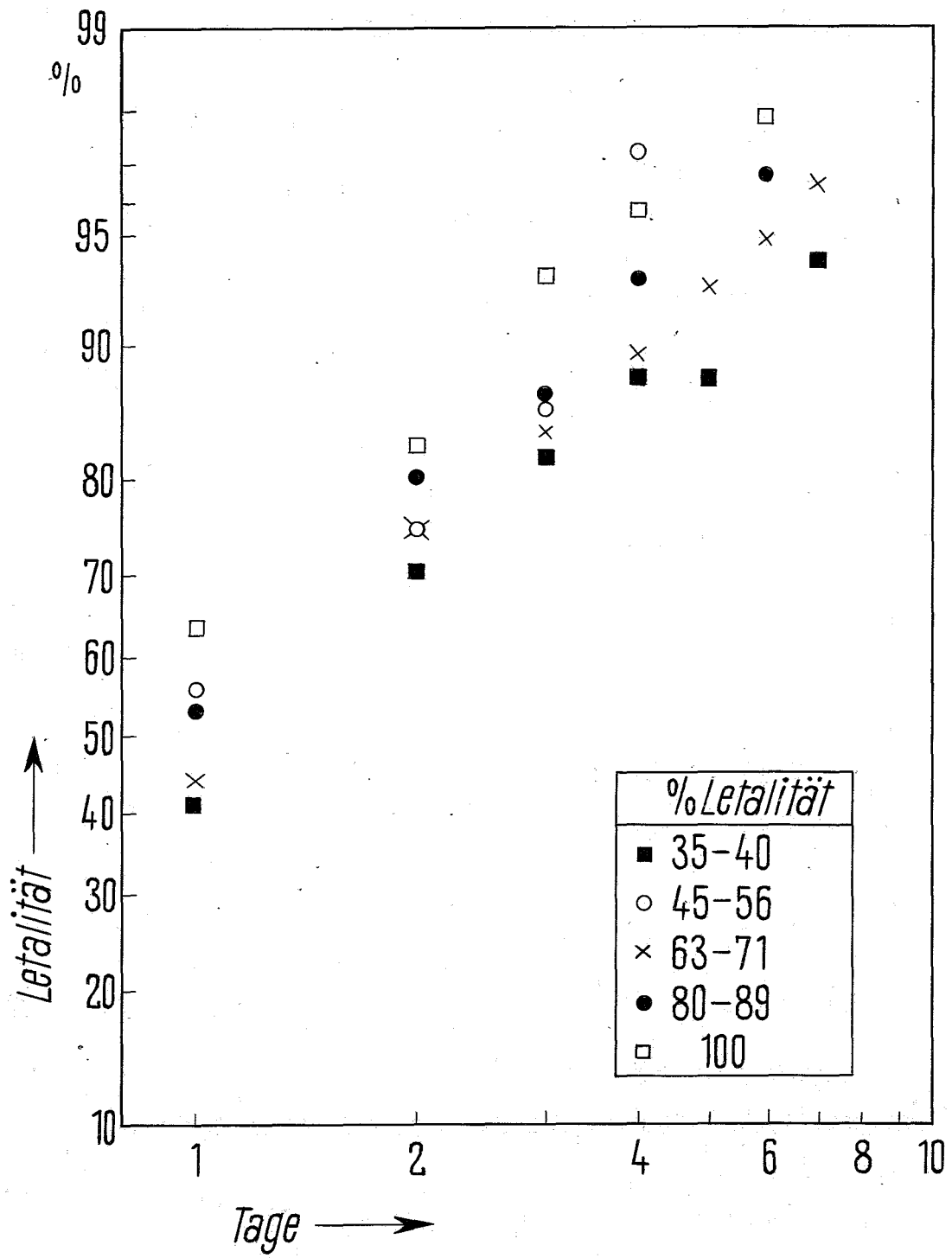


Abb. 8: Absterbeordnung bei Kontrolltieren und nach
PA-Behandlung.

