

Ressortforschungsberichte zur kerntechnischen Sicherheit und zum Strahlenschutz

**Untersuchungen zur Biokinetik von Zirkon-, Ruthen- und Tellur-
Isotopen sowie von Lanthaniden beim Menschen und
Folgerungen für die Strahlenschutzvorsorge
- Vorhaben 3605S04471**

Auftragnehmer: Helmholtz Zentrum München - Deutsches Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit

Uwe Oeh

Matthias Greiter

Augusto Giussani

Weibo Li

Vera Höllriegl

Das Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (BMU) und im Auftrag des Bundesamtes für Strahlenschutz (BfS) durchgeführt.

Dieser Band enthält einen Ergebnisbericht eines vom Bundesamt für Strahlenschutz im Rahmen der Ressortforschung des BMU (UFOPLAN) in Auftrag gegebenen Untersuchungsvorhabens. Verantwortlich für den Inhalt sind allein die Autoren. Das BfS übernimmt keine Gewähr für die Richtigkeit, die Genauigkeit und Vollständigkeit der Angaben sowie die Beachtung privater Rechte Dritter. Der Auftraggeber behält sich alle Rechte vor. Insbesondere darf dieser Bericht nur mit seiner Zustimmung ganz oder teilweise vervielfältigt werden.

Der Bericht gibt die Auffassung und Meinung des Auftragnehmers wieder und muss nicht mit der des BfS übereinstimmen.

BfS-RESFOR-03/09

Bitte beziehen Sie sich beim Zitieren dieses Dokumentes immer auf folgende URN:
urn:nbn:de:0221-2009011248

Salzgitter, April 2009

Inhaltsverzeichnis

1 Aufgabenstellung	1
2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde.....	2
3 Planung und Ablauf des Vorhabens	3
4 Wissenschaftlicher und technischer Stand	5
4.1 Vorbemerkungen zu f_1 - bzw. f_A -Wert.....	5
4.2 Zirkonium	5
4.3 Ruthenium.....	8
4.4 Cer	9
4.5 Technischer Stand bezüglich tracerkinetischer Untersuchungen.....	12
5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen	12
6 Methodik.....	13
6.1 Auswahl der zu verwendenden stabilen Isotope und toxikologische Überprüfung	13
6.2 Prüfung und Optimierung geeigneter Messverfahren	14
6.3 Ermittlung biokinetischer Parameter mittels Doppeltracertest an Probanden .	15
6.4 Untersuchung des Cer-Transfers in die Muttermilch	18
6.5 Vorschlag für biokinetische Modelle.....	19
7 Erzielte Ergebnisse.....	19
7.1 Auswahl der zu verwendenden stabilen Isotope und toxikologische Überprüfung	19
7.1.1 Zirkonium.....	19
7.1.2 Ruthenium	20
7.1.3 Cer.....	20
7.2 Prüfung und Optimierung geeigneter Messverfahren	20
7.2.1 Zirkonium.....	21
7.2.2 Ruthenium	25
7.2.3 Cer.....	27
7.3 Ermittlung biokinetischer Parameter mittels Doppeltracertest an Probanden .	29
7.3.1 Zirkonium.....	29
7.3.1.1 Ermittlung der zeitlichen Retention im systemischen Kreislauf	30
7.3.1.2 Ermittlung der zeitlichen systemischen Ausscheidung in Urin	32
7.3.1.3 Ermittlung des gastrointestinalen Absorptionsanteils (f_A -Faktor).....	33
7.3.2 Ruthenium	34
7.3.2.1 Ermittlung der zeitlichen Retention im systemischen Kreislauf	34
7.3.2.2 Ermittlung der zeitlichen systemischen Ausscheidung in Urin	34
7.3.2.3 Ermittlung des gastrointestinalen Absorptionsanteils (f_1 -Faktor).....	35

7.3.3 Cer.....	36
7.3.3.1 Ermittlung der zeitlichen Retention im systemischen Kreislauf	37
7.3.3.2 Ermittlung der zeitlichen systemischen Ausscheidung in Urin	37
7.3.3.3 Ermittlung des gastrointestinalen Absorptionsanteils (f_1 -Faktor).....	37
7.4 Untersuchung des Cer-Transfers in die Muttermilch	38
7.5 Vorschlag für biokinetische Modelle für die betrachteten Elemente auf Grundlage der vorangegangenen Ergebnisse	40
7.5.1 Zirkonium.....	40
7.5.2 Ruthenium	49
7.5.3 Cer.....	49
8 Ausblick	49
9 Literatur	50
Anhang	52
I Verwertbarkeit der Ergebnisse.....	52
II Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen.....	52
III Einhaltung der Kosten- und Zeitplanung	55
IV Kurzfassung des fachlichen Inhalts	56
V Summary of the scientific content.....	59

1 Aufgabenstellung

Für die Dosisabschätzung bei Inkorporation radioaktiver Stoffe ist es notwendig, Informationen über die Biokinetik der betreffenden Radionuklide im Menschen zu haben. Für viele Radionuklide liegen derzeit leider keine oder nur wenige entsprechende Daten vor. Dies gilt u.a. für Zirkonium, Ruthenium und auch für Lanthanide. Radionuklide dieser Elemente können bei kerntechnischen Unfällen signifikant zur Dosis für beruflich Strahlenexponierte und Einzelpersonen der Bevölkerung beitragen. Ziel des Vorhabens war es, in Untersuchungen mit stabilen Zirkonium- und Rutheniumisotopen am Menschen Informationen über die Absorption der entsprechenden Radionuklide vom Verdauungstrakt ins Blut sowie das Retentions- und Ausscheidungsverhalten zu gewinnen und daraus verbesserte biokinetische Modelle herzuleiten. Darüber hinaus galt es für das Element Cer aus der Gruppe der Lanthanide die Biokinetik von Cer in Bezug auf den Transfer in die Muttermilch näher zu untersuchen, da hier teilweise widersprüchliche Daten in der Literatur vorliegen.

Im Einzelnen wurden folgende Fragen und Teilaspekte zur Biokinetik von Zirkonium, Ruthenium und Cer in Probandenstudien durch den Einsatz stabiler Isotope bearbeitet:

- (1) Auswahl der zu verwendenden stabilen Isotope und toxikologische Überprüfung
 - (1.1) Zirkonium
 - (1.2) Ruthenium
 - (1.3) Cer
- (2) Prüfung und Optimierung geeigneter Messverfahren
 - (2.1) Zirkonium
 - (2.2) Ruthenium
 - (2.3) Cer
- (3) Ermittlung biokinetischer Parameter mittels Doppeltracertest an Probanden
 - (3.1) Zirkonium
 - (3.1.1) Ermittlung der zeitlichen Retention im systemischen Kreislauf
 - (3.1.2) Ermittlung der zeitlichen systemischen Ausscheidung in Urin
 - (3.1.3) Ermittlung des gastrointestinalen Absorptionsanteils
 - (3.2) Ruthenium
 - (3.2.1) Ermittlung der zeitlichen Retention im systemischen Kreislauf
 - (3.2.2) Ermittlung der zeitlichen systemischen Ausscheidung in Urin
 - (3.2.3) Ermittlung des gastrointestinalen Absorptionsanteils
 - (3.3) Cer

- (3.3.1) Ermittlung der zeitlichen Retention im systemischen Kreislauf
- (3.3.2) Ermittlung der zeitlichen systemischen Ausscheidung in Urin
- (3.3.3) Ermittlung des gastrointestinalen Absorptionsanteils
- (4) Untersuchung des Cer-Transfers in die Muttermilch
- (5) Vorschlag für biokinetische Modelle für die betrachteten Elemente auf Grundlage der vorangegangenen Ergebnisse
 - (5.1) Zirkonium
 - (5.2) Ruthenium
 - (5.3) Cer

2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Die interne Dosis nach Inkorporation von Radionukliden kann zwar nicht direkt gemessen, jedoch mit Hilfe von biokinetischen und dosimetrischen Modellen abgeschätzt werden. Hierfür ist das Wissen über das biokinetische Verhalten der betreffenden Radionuklide im Menschen von großer Bedeutung. Ziel der Forschung auf dem Gebiet der internen Dosimetrie war es daher schon immer, diese Informationen zu sammeln und zur Erstellung von biokinetischen Modellen zur Verfügung zu stellen. Für einige Radionuklide gibt es jedoch bis heute keine verlässlichen Humandaten, so dass diese entweder anhand von Einzeluntersuchungen, meist aufgrund von singulären Unfallereignissen, oder aufgrund von Tierversuchen abgeschätzt wurden. Die Richtigkeit der biokinetischen Parameter bzw. die Übertragbarkeit dieser auf den Menschen ist in diesen Fällen jedoch nicht gesichert. Die Genauigkeit der biokinetischen Modelle beeinflusst aber zu einem erheblichen Teil die Unsicherheit bei der Dosisabschätzung.

Zu den Radionukliden, für die kaum bzw. keine experimentellen Humandaten vorliegen, gehören Zirkonium und Ruthenium sowie die Lanthanide. Ein Grund hierfür ist die selbstverständliche Tatsache, dass es aus ethischen und strahlenschutztechnischen Gründen nicht möglich ist, biokinetische Untersuchungen dieser Radionuklide direkt am Menschen durchzuführen.

Am ehemaligen GSF-Forschungszentrum München (seit 01.01.2008 Helmholtz Zentrum München) wurde eine Methode entwickelt, mit Hilfe derer es möglich ist, dennoch solche Informationen direkt am Menschen zu generieren. So werden für die Biokinetikstudien anstelle der Radionuklide stabile Isotope desselben Elements herangezogen. So verhalten sich stabile Isotope hinsichtlich ihrer chemischen und biokinetischen Eigenschaften i.a. genau wie die radioaktiven Isotope desselben Elements, können jedoch (nach Prüfung ihrer chemischen Toxizität) problemlos in

Probandentests eingesetzt werden, da von diesen Tracer keine radioaktive Strahlung aus geht.

Im Rahmen dieses Vorhabens sollte nun diese Technik eingesetzt werden, um Untersuchungen zur Biokinetik von Zirkonium- und Ruthenium-Isotopen sowie von Lanthaniden (am Beispiel Cer) beim Menschen durchzuführen und Folgerungen für die Strahlenschutzvorsorge abzuleiten.

3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Wie in der Aufgabenstellung bereits erwähnt, sollten Untersuchungen zur Biokinetik und zur internen Dosimetrie für die Elemente Zirkonium und Ruthenium sowie für Cer durchgeführt werden. Da für jedes der Elemente völlig voneinander unabhängige Probandenstudien durchgeführt, die Meßmethoden jeweils separat entwickelt und auch die Auswertungs- und Modellierungsarbeiten für jedes Element einzeln und unabhängig durchgeführt werden mussten, war die Planung und der Ablauf des Vorhabens jeweils in drei zeitlich parallel laufende Einzelprojekte untergliedert (Zirkonium, Ruthenium, Cer). Diese Untergliederung spiegelt sich in den jeweiligen Kapiteln und Unterpunkten wider.

Im Einzelnen wurde das Vorhaben zeitlich wie folgt geplant:

Projektbeitrag	2005			2006			2007		
(1) Auswahl der stabilen Isotope und toxikologische Überprüfung (1.1) Zirkonium (1.2) Ruthenium (dieser Punkt entfällt hier; siehe Text) (1.3) Cer									
(2) Prüfung und Optimierung geeigneter Messverfahren (2.1) Zirkonium (2.2) Ruthenium (2.3) Cer									
3 Ermittlung biokinetischer Parameter mittels Doppeltracertest an Probanden (3.1) Zirkonium (3.1.1) Ermittlung der zeitlichen Retention (3.1.2) Ermittlung der zeitlichen Ausscheidung in Urin (3.1.3) Ermittlung des gastroint. Resorptionsanteils (3.2) Ruthenium (3.2.1) Ermittlung der zeitlichen Retention (3.2.2) Ermittlung der zeitlichen Ausscheidung in Urin (3.2.3) Ermittlung des gastroint. Resorptionsanteils (3.3) Cer (3.3.1) Ermittlung der zeitlichen Retention (3.3.2) Ermittlung der zeitlichen Ausscheidung in Urin (3.3.3) Ermittlung des gastroint. Resorptionsanteils									
(4) Untersuchung des Cer-Transfers in die Muttermilch									
(5) Vorschlag für biokinetische Modelle (5.1) Zirkonium (5.2) Ruthenium (5.3) Cer									
Statusgespräche									
Status-/Abschlussbericht für Programmreport Strahlenschutz Schlussbericht (6 Monate nach Projektende)									

4 Wissenschaftlicher und technischer Stand

4.1 Vorbemerkungen zu f_1 - bzw. f_A -Wert

Durch eine kürzlich veröffentlichte Publikation der Internationalen Strahlenschutzkommission (ICRP) wurde das bisherige Verdauungstraktmodell (GI-Tract-Model) durch ein neues Biokinetikmodell (Human Alimentary Tract Model, HATM) ersetzt [1]. Hierbei wurde das bisherige Symbol für den absorbierten Bruchteil f_1 durch das Symbol f_A ersetzt. Diese Neuerung spiegelt die Erkenntnis wider, dass neben dem Dünndarm auch weitere Regionen des Verdauungstrakts für eine Absorption in Frage kommen können. Spezifische Informationen über die f_A -Werte werden für jedes Element zusammen mit neuen biokinetischen Modellen in den nächsten Jahren von der ICRP erarbeitet. Bis dahin ist der f_A -Wert für das HATM dem bisher gültigen f_1 -Wert des GI-Tract-Modells gleich gestellt. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit nach wie vor das Symbol f_1 dann verwendet, wenn das GI-Tract-Modell die Grundlage der Berechnungen darstellte. Für die Zirkonium-Auswertungen wurde jedoch das HATM verwendet und somit auch das Symbol f_A .

4.2 Zirkonium

Die tägliche Aufnahme von Zirkonium über die Nahrung und das Vorkommen von Zirkonium im Körper schwanken beträchtlich. Minoia et al. fanden heraus, dass die Aufnahme von Zirkonium über Getränke 6,6% der gesamten Zirkonium-Aufnahme (370 μg pro Woche) für die italienische Bevölkerung beträgt [2]. Dagegen berichtet eine andere Arbeit von typischen Zirkonium-Konzentrationen von 0,5-4,1 $\mu\text{g/g}$ in verschiedenen Lebensmitteln und berechnet eine tägliche Aufnahme von 3,5 mg [3]. Einen Überblick über die Zirkonium-Konzentrationen in biologischen Proben zeigt die Tabelle 1.

Tabelle 1: Zirkoniumkonzentrationen in biologischen Proben.

Proben	Konzentration	Referenz
Säuger-Muskelgewebe	0,08 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (TG)	[4]
Humane Lymphknoten(UK)	0,3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	
Humane Lymphknoten (I)	0,7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	[5]
Gepooltes Blut (UK)	9,6 \pm 5,8 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	
Humanes Serum	0,9 – 7,4 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	[6]
Humanes Blutplasma	1,4 \pm 0,3 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	[7]
Humanes Gesamtblut	5,0 \pm 1,1 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	[7]
Tiergewebe	0,3 – 4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	[8]
Humanes Serum	90 – 160 $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$	[9]
Humaner Urin	20 – 38 $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$	[9]
Humanes Blutplasma	<14 – 500 $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$	[10]

Das derzeit gültige biokinetische Modell von Zirkonium (siehe Abbildung 1), beschrieben in der ICRP-Publikation 56, beruht fast ausschließlich auf Tierdaten. Die einzigen Humandaten über die systematische Biokinetik von Zirkonium stammen aus Messungen der Aktivitätskurve in Blut und Urin eines schwer erkrankten Patienten nach Injektion von ^{89}Zr -Citrat [11].

Die gastrointestinale Absorption von Zirkonium in den systemischen Kreislauf war vor allem an Tieren bestimmt worden; die daraus ermittelten f_1 -Werte wurden für Erwachsene der Bevölkerung übernommen, und ein f_1 -Wert von 10^{-2} für die Ingestion von Zirkonium für Erwachsene als Einzelperson der Bevölkerung sowie für Kinder im Alter von 1 Jahr und älter festgesetzt. Neugeborene und Säuglinge bis zu 3 Monaten haben höhere Absorptionsraten von Zirkonium ($2\cdot 10^{-2}$). Für beruflich strahlenexponierte Personen wurde ein f_1 -Wert von $2\cdot 10^{-3}$ festgelegt. Nach Aufnahme von Zirkonium ins Blut wird es sehr selektiv in die Knochen eingebaut.

Erste Arbeiten zur Biokinetik von Zirkonium mit stabilen Tracerisotopen am Menschen [12] deuten darauf hin, dass die Aufnahme des oralen Tracers in den systemischen Kreislauf sehr schnell ist. Der Abstrom von Zirkonium aus dem Plasma zeigt zunächst eine schnelle Phase, gefolgt von einer langsameren Komponente.

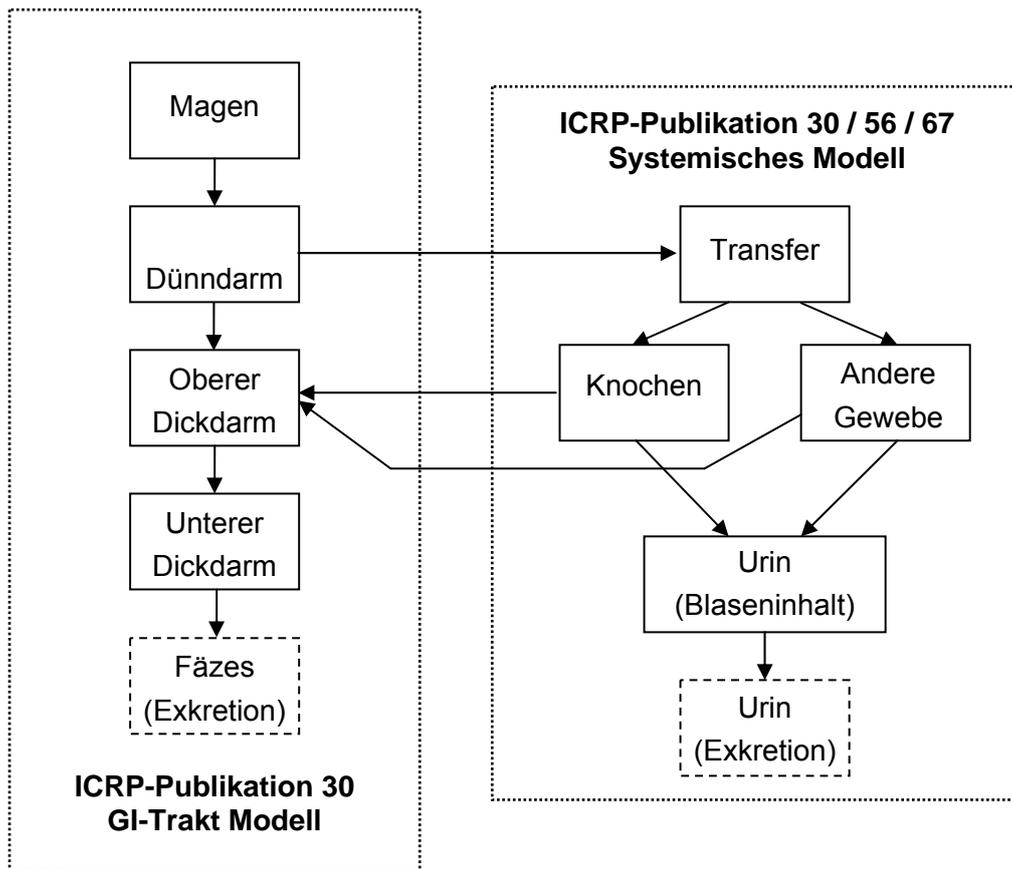


Abbildung 1: Das aktuell von der ICRP vorgeschlagene biokinetische Modell von Zirkonium.

Auf der Basis dieser vorläufigen experimentellen Daten, wurde ein Kompartimentmodell vorgeschlagen, das die wesentlichen Strukturen des ICRP-Modells enthält, und aus den Kompartimenten Magen und Dünndarm und dem Transferkompartiment besteht. Dieses Transferkompartiment wurde weiterhin in 2 Sub-Kompartimente (A und B) aufgeteilt, damit das Modell mit den experimentellen Daten übereinstimmt. Zirkonium wird in Kompartiment A absorbiert mit einer biologischen Halbwertszeit von 2,5 Stunden. Eine Fraktion von etwa 56% wird dann daraus nach Kompartiment B transferiert mit einer Verweildauer von etwa 3 d. Die ermittelte gastrointestinale Fraktion von Zirkonium ist mit $2,5 \cdot 10^{-3}$ etwas höher als die Werte aus Tierversuchen. Der f_1 -Wert ist in Übereinstimmung mit dem Wert von $2 \cdot 10^{-3}$, der für die Ingestion von anorganischem Zirkonium bei Arbeitern [13] empfohlen wird. Jedoch ist der Wert um den Faktor 4 geringer als der f_1 -Wert, der von der ICRP für die Bevölkerung vorgeschlagen wird [14, 15].

4.3 Ruthenium

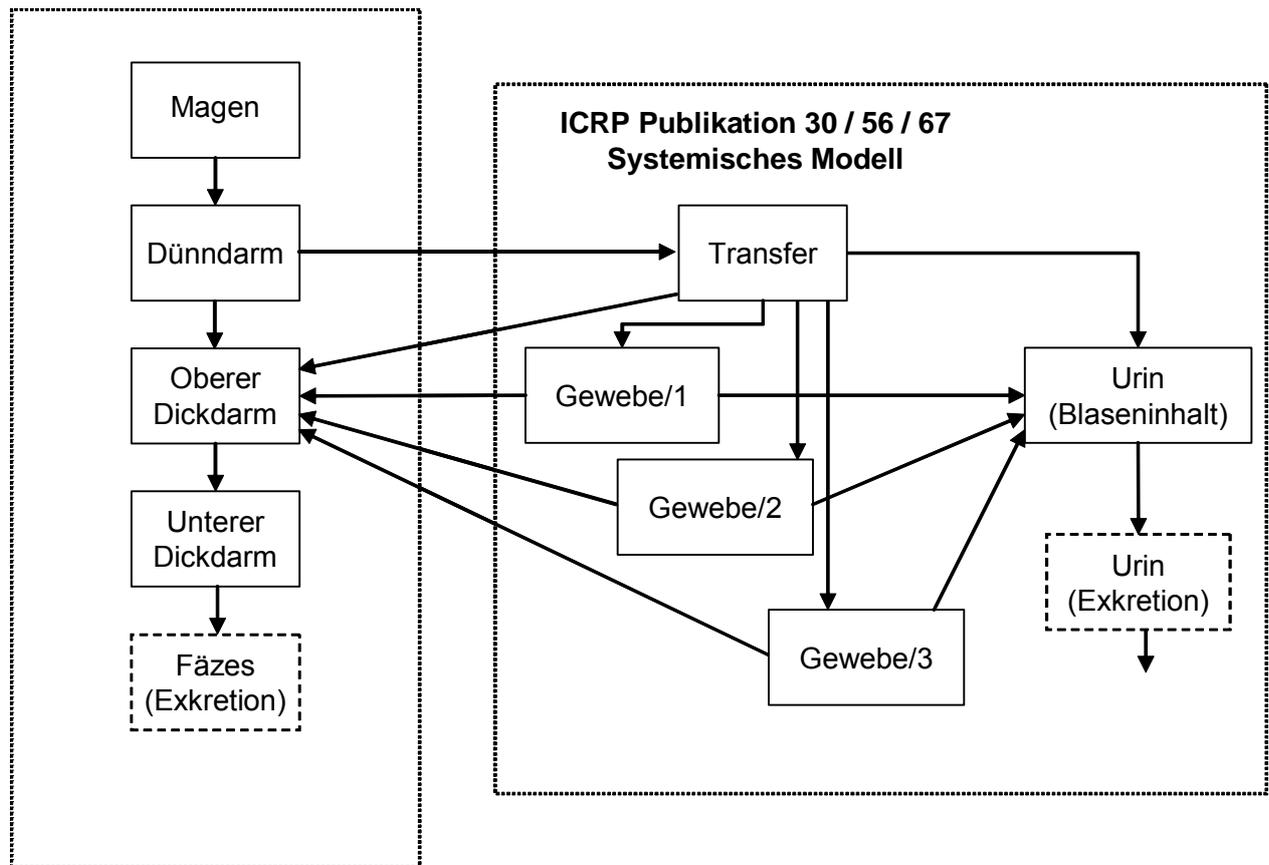


Abbildung 2: Das aktuell von der ICRP vorgeschlagene biokinetiche Modell von Ruthenium.

Wie in der Literatur gut dokumentiert, tragen die Radionuklide ^{103}Ru und ^{106}Ru bei kerntechnischen Unfällen zu einem nicht unwesentlichen Anteil zur Kontamination von Luft und Boden bei. Auch in der Nähe von Kernkraftwerken bzw. von Aufarbeitung- und Verwertungsanlagen von Brennstoffen sind erhebliche Wasserkontaminationen mit den Radionukliden von Ruthenium berichtet worden, die auf eine Freisetzung von Abwässern zurückzuführen sind. Die für die Dosisberechnung im Menschen nötigen biokinetiche Daten für Ruthenium basieren jedoch hauptsächlich auf Tierexperimenten. Es liegt nur eine Studie vor [16], in der ^{103}Ru in drei verschiedenen chemischen Formen am Menschen untersucht wurde. Auf der Grundlage dieser Veröffentlichungen hat die ICRP ein Biokineticmodell für Ruthenium (siehe Abbildung 2) mit einem f_1 -Wert von 0,1 für Neugeborene und von 0,05 für alle anderen Altersgruppen erstellt [13-15]. Das ins Blut aufgenommene Ruthenium verlässt dieses Kompartiment wieder mit einer Halbwertszeit von 0,3 d.

Dabei gelangt der größte Anteil (85%) des Rutheniums in Organe und Gewebe. Das Modell beinhaltet drei verschiedene Gewebekompartimente mit einer jeweiligen Retentionszeit von 8 d, 35 d und 1000 d. Die restlichen 15% des Rutheniums werden direkt ausgeschieden.

Im Rahmen einer vorausgegangenen Pilotstudie in Kooperation mit der Universität Mailand wurden bereits Probandentests mit stabilen Isotopen von Ruthenium durchgeführt, Urin- und Blutplasmaproben gesammelt und ein Teil der Blutproben gemessen. Daraus ergab sich, dass die chemische Speziation des Tracers großen Einfluss auf die Plasmaclearance hatte. Die Retentionszeit von anorganischem Ruthenium im Plasma betrug 23 ± 2 h, und die von mit Citrat komplexiertem Ruthenium (Ruthenium-Citrat) 17 ± 2 min. Die Messungen der Blutplasmakonzentration des oralen Tracers deuteten darauf hin, dass der gastrointestinale Absorptionsanteil möglicherweise geringer ist als von der ICRP veröffentlicht.

4.4 Cer

Zu den Radionukliden, für die kaum bzw. keine experimentellen Humandaten vorliegen, gehört das Element Cer. Vorschläge für biokinetische Modelle von Cer wurden aus Tierversuchen abgeleitet.

Es gibt eine Reihe von Untersuchungen über natürliche Cer-Gehalte in Blut bzw. Plasma/Serum und in Urin, die je nach Aufarbeitung und Messmethodik in der Größenordnung von $<0,2$ bis $45 \mu\text{g/L}$ liegen. Neuere Untersuchungen mit empfindlicheren Geräten [10] belegen, dass der Cer-Gehalt im menschlichen Blutplasma äußerst gering ist (berechneter Mittelwert von $<0,008 \mu\text{g/L}$; angegebener Bereich $<0,008$ bis $0,030 \mu\text{g/L}$).

Bettinelli et al. haben die Cer-Konzentration in Urin gemessen, und mittlere Werte von $15,7 \text{ ng/L}$ (Bereich $7\text{-}59 \text{ ng/L}$) erhalten [17]. In weiteren Untersuchungen wurde Cer in humanen Hauthaaren ($0,039 \mu\text{g/g}$) und in Fingernägeln ($0,225 \mu\text{g/g}$) [18] gefunden.

Untersuchungen über die tägliche Aufnahme von Cer über die Nahrung zeigten eine Aufnahme von $5,6\text{-}8,6 \mu\text{g/d}$, von höheren Ingestionswerten bis zu $115 \mu\text{g/d}$ wurden ebenfalls berichtet.

Von besonders großem Interesse ist die Situation hinsichtlich des Cer-Transfers in die Muttermilch. Bislang gibt es in der Literatur nur wenig Information über die natürliche Cer-Konzentration in der Muttermilch. Lediglich 2 Publikationen beschäftigten sich mit der Messung von Cer in menschlicher Muttermilch [19, 20]. Die Arbeitsgruppe um Friel [19] konnte aufgrund ungenügender Empfindlichkeit des

Gerätes (LOD= 5 µg/L) in ihren Proben kaum Cer nachweisen. In der Studie von Wappelhorst et al. [20] wurden mittlere Cer-Konzentrationen in der Muttermilch von 0,1 µg/L (Bereich 0,06-0,24 µg/L) gemessen.

Basierend auf diesen Konzentrationsmessungen in der Muttermilch und der Bestimmung der täglichen Aufnahme von Cer über die tägliche Nahrung bei den stillenden Probanden (ca. 5 µg/d) wurden von Wappelhorst et al. [20] daraus ein mittlerer Transferfaktor von Cer in die humane Muttermilch von 0,03 d/kg errechnet.

Anhand dieses Transferfaktors wurde für Cer in der ICRP-Publikation 95 [21] eine Absorptionsrate von einigen wenigen Prozent in den systemischen Teil des menschlichen Körper angenommen. Dieser Wert weicht jedoch mindestens um eine bzw. zwei Größenordnungen von den Absorptionsraten ab, die aus Tierexperimenten oder von beruflich exponierten Personen, oder aus Versuchen mit chemisch ähnlichen Elementen ermittelt wurden. Taylor und Leggett [22, 23] schlagen eine allgemeine Absorptionsrate (f_1 -Wert) für Cer von $5 \cdot 10^{-4}$ vor. Ähnliche Werte von f_1 ($3 \cdot 10^{-4}$) konnten von [24] bei nicht-laktierenden Tieren berechnet werden. Jedoch erhöht sich bei laktierenden Tieren dieser Wert auf $3 \cdot 10^{-3}$ [24].

Wappelhorst et al. [20] hatten neben der Cer-Konzentration in der Muttermilch den natürlichen Cer-Gehalt im Blut nicht mitgemessen. Dies hätte eine genauere Bestimmung des f_1 -Wertes für Cer ermöglicht. Die oben erwähnten Literaturdaten von Heitland und Köster [10] belegen, dass der Cer-Gehalt im menschlichen Blutplasma sehr gering ist. Aus den Ergebnissen der Studie von Wappelhorst et al. [20] lässt sich daher folgern, dass höhere Cer-Konzentrationen in der Muttermilch als im Plasma vorhanden sein könnten.

Zwei Modelle der systemischen Biokinetik von Cer-Radionukliden liegen in der Literatur vor. Die ICRP hat ein altersabhängiges biokinetisches Modell entwickelt, das auf Tierdaten beruht [14, 15]. Taylor und Leggett [23] haben ein allgemeines Modell für Lanthanide eingeführt, darunter ein Modell für das Element Cer, das ebenfalls auf Tierdaten basiert. In Abbildung 3 sind die systemischen Modelle der ICRP (A) bzw. von Taylor und Leggett (B) dargestellt. Die dazugehörigen biokinetischen Übergangsraten befinden sich in der ICRP-Publikation 67 [14] und bei Taylor und Leggett [23].

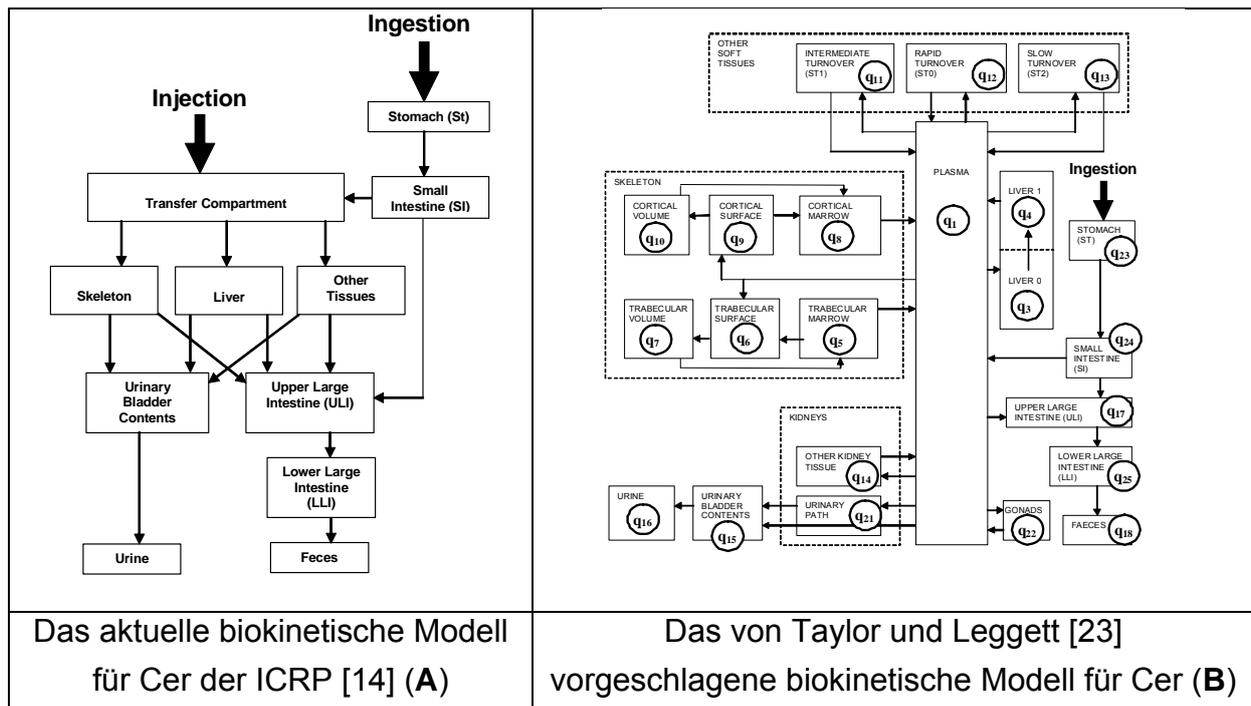


Abbildung 3: Systemische Modelle für Cer.

Tabelle 2: Ingestion-Dosiskoeffizienten (Sv/Bq) für ^{144}Ce und ^{141}Ce .

Organ	^{144}Ce	^{144}Ce	^{141}Ce	^{141}Ce
	Taylor und Leggett [23]	ICRP 67 [14]	Taylor und Leggett [23]	ICRP 67 [14]
Nebenniere	8,7E-12	1,6E-11	5,8E-12	5,4E-12
Blasé	2,4E-11	3,0E-11	3,2E-11	3,2E-11
Knochenoberfläche	3,6E-10	3,3E-10	4,9E-11	4,9E-11
Gehirn	4,9E-12	1,2E-11	1,5E-13	2,5E-13
Brust	5,4E-12	1,2E-11	8,0E-13	7,6E-13
Magen	1,1E-09	1,1E-09	5,2E-10	2,3E-10
Dünndarm	3,7E-09	3,7E-09	4,2E-10	5,8E-10
Oberer Dickdarm	2,3E-08	2,3E-08	3,0E-09	3,1E-09
Unterer Dickdarm	6,7E-08	6,7E-08	8,7E-09	8,7E-09
Niere	5,6E-11	2,0E-11	1,3E-11	1,2E-11
Leber	4,5E-10	9,6E-10	1,8E-11	2,4E-11
Lunge	6,0E-12	1,3E-11	1,6E-12	1,4E-12
Muskel	1,2E-11	1,8E-11	1,1E-11	1,1E-11
Ovarien	6,9E-11	7,5E-11	9,9E-11	1,0E-10
Pankreas	1,2E-11	1,9E-11	1,5E-11	1,1E-11
Rotes Knochenmark	2,0E-10	1,9E-10	1,9E-11	1,9E-11
Haut	7,0E-12	1,4E-11	3,1E-12	3,2E-12
Milz	1,0E-11	1,7E-11	1,1E-11	8,9E-12
Hoden	4,2E-11	1,7E-11	8,2E-12	7,9E-12
Thymus	5,3E-12	1,2E-11	6,1E-13	6,3E-13
Schilddrüse	4,9E-12	1,2E-11	1,9E-13	2,9E-13
Uterus	3,1E-11	3,8E-11	4,3E-11	4,5E-11
Übrige Gewebe	8,9E-11	9,5E-11	1,9E-11	2,2E-11
Effektive Dosis	5,2E-09	5,2E-09	7,2E-10	7,1E-10

In Tabelle 2 sind die Ingestion-Dosiskoeffizienten von ^{141}Ce und ^{144}Ce für Erwachsene zu finden, die mit dem Modell von Taylor und Leggett berechnet, und mit den ICRP Werten verglichen worden sind.

4.5 Technischer Stand bezüglich tracerkinetischer Untersuchungen

Das GSF-Forschungszentrum München arbeitet bereits seit vielen Jahren auf dem Gebiet der tracerkinetischen Studien am Menschen. Daher waren sowohl die technischen Voraussetzungen als auch das Knowhow zur Durchführung von Doppeltracer-Untersuchungen mit stabilen Isotopen von Zirkonium, Ruthenium und Cer am Menschen gegeben.

Für die Aufarbeitung und Messung der biologischen Proben standen entsprechende Laboreinrichtungen und Geräte zur Verfügung; es besteht eine langjährige Erfahrung im Umgang mit dem Massenspektrometer (TIMS), sowie mit der Protonenaktivierung.

Für die einzelnen Isotope (Zr, Ru, Ce) war es jedoch notwendig, jeweils neue Aufarbeitungsmethoden und Optimierungen für die Messungen am TIMS bzw. bei der Protonenaktivierung zu entwickeln.

5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Im Rahmen der Biokinetikuntersuchungen mit freiwilligen Probanden bestand eine Kooperation mit:

- dem GSF-Institut für Toxikologie bzw. dem Institut für Toxikologie und Umwelthygiene der Technischen Universität München (TUM), Prof. Dr. M. Göttlicher
- der Toxikologischen Abteilung der II. Medizinischen Klinik der TUM, Prof. Dr. T. Zilker

Die Protonenaktivierungsanalysen von biologischen Proben wurden entwickelt, durchgeführt und ausgewertet in:

- Universität Mailand, JRC Ispra, Italien; Dr. A. Giussani
- Maier-Leibnitz-Laboratorium der Universität München und der Technischen Universität München Garching, Prof. R. Krücken, Dr. R. Hertenberger

- Arbeitsgruppe Radioökologie des GSF-Instituts für Strahlenschutz, Dr. U. Gerstmann

Für die Messungen der Proben mit Induktiv Gekoppelter Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS) bestand eine Zusammenarbeit mit dem:

- GSF-Institut für Ökologische Chemie (IÖC), PD Dr. B. Michalke

6 Methodik

6.1 Auswahl der zu verwendenden stabilen Isotope und toxikologische Überprüfung

Im Vorfeld von Probandentests mussten die für die Untersuchungen geeigneten stabilen Isotope und deren Verabreichungsmengen ausgewählt werden. Dies wurde sowohl aus toxikologischen sowie aus messtechnischen Gesichtspunkten heraus betrachtet.

Die toxikologische Überprüfung der verabreichten Isotope (Tracer) und deren Mengen wurde in Kooperation mit dem Institut für Toxikologie der GSF (Prof. Dr. M. Göttlicher), dem Institut für Toxikologie und Umwelthygiene der Technischen Universität München (TUM) und der Toxikologischen Abteilung der II. Medizinischen Klinik der TUM durchgeführt. Hierzu übernahm Herr Prof. Göttlicher die medizinische Leitung der geplanten Probandentests. In dieser Aufgabe überprüfte er die verwendeten Isotope auf ihre generelle toxikologischen Eigenschaften und damit ihre prinzipielle Verwendbarkeit in den Probandenstudien sowie die maximal vertretbaren Mengen der eingesetzten Tracer. Herr Prof. Göttlicher stellte daraufhin gegebenenfalls einen offiziellen Ethikantrag bei der Ethikkommission der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München (Vorsitzender: Prof. Dr. A. Schömig). Erst nach einem positiven Votum der Ethikkommission wurden die Probandenversuche aufgenommen.

Um auch den messtechnischen Eigenschaften zu genügen, müssen die verabreichten und damit in den Körperflüssigkeiten angereicherten Isotope in den biologischen Proben nachweisbar sein. Dazu sollten diese Isotope zum einen ein geringes natürliches Vorkommen aufweisen und zum anderen für die maximal zugelassenen Verabreichungsmengen bezüglich der biokinetischen Fragestellungen in ausreichendem Maß messbar sein.

Die Auswahl und Überprüfung der Isotope hinsichtlich ihrer toxikologischen und messtechnischen Eignung erfolgte in parallelen Einzelprojekten jeweils für die stabilen Isotope von:

- (1) Zirkonium
- (2) Ruthenium
- (3) Cer

6.2 Prüfung und Optimierung geeigneter Messverfahren

Zur Untersuchung der Biokinetik von Isotopen im menschlichen Körper mussten die verabreichten Tracer in den biologischen Proben verlässlich bestimmt werden. Als zu untersuchende biologische Medien wurden Blut (Blutplasma), Urin und für die Studien mit Cer ebenfalls Muttermilch herangezogen. Die experimentelle Einbeziehung von Stuhlproben wurde nicht in Erwägung gezogen, da für die Datenermittlung der zeitlichen systemischen Ausscheidung in Stuhl eine langfristige Probennahme und -messung erforderlich gewesen wäre. Dies hätte jedoch einen erheblichen Aufwand sowohl für die Probanden als auch für die Personen dargestellt, die die Aufarbeitung hätten durchführen müssen. Zudem schien der Mehraufwand durch den damit erreichten zusätzlichen Informationsgewinn nicht gerechtfertigt. Aus diesen Gründen wurde auf eine Stuhlanalyse verzichtet.

Um die Tracerkonzentration letztendlich messen zu können, waren aufwendige chemische Aufarbeitungsschritte unter Reinraumbedingungen notwendig, die aus vielen aufeinander folgenden Eintrocknungs-, Aufschluss- und Reinigungsverfahren bestanden. Nur durch einen weitgehenden Aufschluss des organischen Materials der biologischen Proben und der Abtrennung störender Moleküle war eine verwertbare Messung mit geeigneten Messmethoden möglich.

Zur Messung der Tracer in den biologischen Proben wurden verschiedene Messverfahren überprüft, inwieweit diese Messtechniken geeignet waren. Zur Auswahl der Analysenmethode stand vor allem das hauseigene Thermionen-Massenspektrometer (TIMS) vom Typ TRITON (Thermo Electron) zur Diskussion, das zurzeit das modernste und leistungsstärkste Isotopen-Massenspektrometer auf dem Markt ist. Eine Kooperation mit dem Institut für Ökologische Chemie (IÖC) ermöglichte auch die Einbeziehung von Induktiv Gekoppelter Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS). Des Weiteren stand durch eine Kooperation mit der Universität Mailand (Dr. A. Giussani) und der TUM, Garching (Prof. Dr. R. Krücken) die wissenschaftliche und technische Expertise zur Verfügung, biologische Proben mittels Protonenaktivierungsanalytik (PAA) zu untersuchen. So wurde im Rahmen dieses Projekts eine Bestrahlungsmöglichkeit an der Tandem-Beschleunigeranlage

in Garching etabliert. Dafür wurde im Herbst 2005 die Bestrahlungskammer nach Garching transportiert, die früher für die Aktivierungsexperimente beim Zyklotronlabor des Paul Scherrer Instituts in Villigen (Schweiz) eingesetzt war. Die gammaspektrometrischen Messungen der aktivierten Proben wurden in dem radioanalytischen Labor des GSF-Forschungszentrums durchgeführt.

Die Prüfung und Optimierung geeigneter Messverfahren wurde parallel an den drei zu untersuchenden Elementen durchgeführt:

- (1) Zirkonium
- (2) Ruthenium
- (3) Cer

6.3 Ermittlung biokinetischer Parameter mittels Doppeltracertest an Probanden

Zur Ermittlung humanbiokinetischer Daten der zu untersuchenden Elemente wurde an freiwilligen Probanden die so genannte Doppeltracertechnik angewendet. Dabei wurde einem Probanden ein vorher ausgewähltes (stabiles) Isotop eines Elements intravenös injiziert und gleichzeitig ein anderes (stabiles) Isotop desselben Elements peroral verabreicht.

Die Injektions-Tracerlösungen wurden nach der European Pharmacopoeia [25] im Reinraumlabor unter sterilen und isotonen Bedingungen hergestellt. Die Lösungen wurden danach auf Keimfreiheit durch das Institut für Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene der TUM untersucht, und erst dann den Probanden injiziert.

Die Durchführung erfolgte auf nüchternen Magen. Während des Experiments wurde der Proband zur Vorsorge durch einen Arzt der Toxikologischen Abteilung der II. Medizinischen Klinik der TUM betreut, der auch die Injektionen des Tracers durchführte und bei den ersten Blutabnahmen anwesend war. Dem Probanden wurden Blutproben von je 10 ml zu bestimmten Zeitpunkten nach Verabreichung entnommen. Zusätzlich wurden Urinproben gesammelt, indem die Tagesurinmengen (pro 24 h) vom Probanden in geeigneten Behältern aufgefangen wurden. Die so gewonnenen Blut- und Urinproben wurden im Labor aufgearbeitet und für die einzelnen Messverfahren vorbereitet. Die speziellen chemischen Reinigungsschritte und Analysemethoden waren für jedes Element verschieden und mussten wie unter Punkt 6.2 beschrieben entwickelt und optimiert werden. Letztendlich wurden die Konzentrationen der verabreichten Tracer in den biologischen Proben gemessen.

Falls eine Versuchsperson bereit war, mehrmals an den Probandentests teilzunehmen, war zu beachten, dass zwischen 2 aufeinander folgenden Tests mindestens zwei Monate lagen.

Für Zirkonium und Cer wurden die Doppeltracerstudien an Probanden genau wie nachfolgend im Versuchsschema beschrieben durchgeführt. Die Ermittlung der zeitlichen Retention im systemischen Kreislauf erfolgte anhand von Einzelmesspunkten für die Plasmakonzentrationen der beiden peroral und intravenös verabreichten Isotope zu definierten Zeiten. Auf diese Weise konnten die beiden Konzentrationsverlaufskurven interpoliert und somit die Daten zur zeitlichen Retention im systemischen Kreislauf (Plasmaclearance) erhalten werden. Die Daten zur zeitlichen systemischen Ausscheidung in Urin wurden nach Aufarbeitung und Analyse der entsprechenden Tracerkonzentrationen im Urin ermittelt. Der Anteil des Elements, der vom Verdauungstrakt in den systemischen Kreislauf aufgenommen wird (f_1 -Faktor bzw. f_A -Faktor), wurde unter Zuhilfenahme der gewonnenen biokinetischen Daten berechnet. Dies wurde je nach Qualität der gewonnenen Versuchsergebnisse auf unterschiedliche Weise durchgeführt, entweder mit Hilfe der Doppelisotopenbestimmung anhand von Blutplasma- und/oder Urinwerten, mit Hilfe der Faltungintegraltechnik anhand von Blutplasmawerten nach intravenöser und peroraler Verabreichung, oder abgeleitet aus den Parameterwerten der biokinetischen Modellierung basierend auf dem gesamten Datensatz.

Aufgrund toxikologischer Bedenken des medizinischen Leiters der Probandenstudien Herrn Prof. Göttlicher durften im Rahmen dieses Projekts keine Probandenstudien mit Ruthenium weitergeführt werden. Im Rahmen einer vorausgegangenen Pilotstudie in Kooperation mit der Universität Mailand waren jedoch bereits einige Probandentests mit stabilen Ruthenium-Isotopen durchgeführt worden, und dabei Urin- bzw. Blutplasmaproben gesammelt worden, die jedoch noch nicht vollständig gemessen und ausgewertet waren. Diese standen daher zur weiteren Analyse und als Datengrundlage zur Verfügung. Dadurch konnten auf ähnliche Weise wie in den Experimenten mit Zirkonium die Informationen zur zeitlichen Retention im systemischen Kreislauf, zur zeitlichen systemischen Ausscheidung in Urin und zum gastrointestinalen Absorptionsanteil (f_1 -Faktor) bestimmt werden.

Die Durchführung der Doppeltracertests an Probanden erfolgte anhand folgenden Schemas:

- Im Vorfeld der Tests wurden Probanden akquiriert und ausgiebig über die geplanten Untersuchungen aufgeklärt und informiert.
- Nach Einwilligung der Probanden musste von ihnen eine Einverständniserklärung unterzeichnet werden.
- Der Gesundheitsstatus (inklusive kleines Blutbild) der Probanden wurde im Rahmen einer ärztlichen Untersuchung erstellt.

- Mindestens 1 d vor dem Testbeginn wurde von den Probanden eine 24-Stunden-Urinprobe gesammelt.
- Die Probanden durften am Vortag des Tests ab 21 Uhr nicht mehr essen und am Morgen des Untersuchungstags auch nichts frühstücken, so dass sichergestellt war, dass die Probanden zum Test nüchtern sind.
- Kurz vor dem Beginn des Tests wurden die Probenröhrchen beschriftet.
- Der oral zu verabreichende Tracer wurde kurz vor dem Test aus einer Stammlösung in der geeigneten Konzentration angesetzt.
- Die Probanden wurden am Untersuchungstag früh morgens ins Klinikum rechts der Isar (Toxikologische Abteilung der II. Medizinischen Klinik der TUM) gefahren, wo sie die ersten 90 min des Tests unter ärztlicher Aufsicht standen.
- Den Probanden wurde an einem Arm ein peripherer Venenverweilkatheter (Braunüle) vom leitenden Oberarzt gelegt.
- Durch den Katheter wurden zunächst 2-3 ml Blut entnommen und verworfen, um einer Kontamination der später entnommenen Blutproben über die Materialien des Katheters entgegenzuwirken.
- Danach wurden 10 ml Blut als Kontrollwert entnommen.
- Die Verabreichung der Tracer begann mit einer intravenösen Injektion einer Ampulle des steril angesetzten Tracers (i.v. Tracer) in den Arm, an dem nicht der Venenkatheter angelegt war. Die Zeitdauer der Injektion wurde notiert.
- Sofort nach der Injektion wurden die Probanden aufgefordert, den oral zu verabreichenden Tracer (p.o. Tracer) anhand der vorbereiteten Lösung so schnell wie möglich zu trinken.
- Die Blutentnahme (je 10 ml) erfolgte durch eine medizinisch-technische Assistentin gemäß eines bestimmten Zeitschemas, das je nach Studie/Element optimiert war; in der Regel wurden Blutproben nach 5 min, 15 min, 30 min, 45 min, 60 min, 90 min, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 24 h, 48 h, 30 d und 100 d entnommen. Dabei wurde das Blut während der ersten 8 h über den Katheter abgenommen, zu späteren Zeitpunkten dann mittels einer Butterfly-Kanüle.
- Der gesamte Urin wurde nach Beginn des Tests in 12- bzw. 24-h-Intervallen gesammelt.
- Zwischen der Blutabnahme bei 90 min und der bei 2 h wurden die Probanden zurück ans GSF-Forschungszentrum gebracht.
- Nach der Blutentnahme bei 2 h wurden die Probanden mit einem Standardfrühstück versorgt. Dies bestand aus einem Kaffee mit Zucker jedoch ohne Milch, zwei Brötchen mit Butter und Marmelade.
- Nach der Blutentnahme bei 3 h konnten die Probanden wieder nach Wunsch essen und trinken.

- Die auf diese Weise erhaltenen Blut- und Urinproben wurden mit dem geeigneten Analyseverfahren hinsichtlich der Tracerkonzentration untersucht.
- Im Fall der TIMS-Analytik wurden die biologischen Proben zur Markierung mit einem weiteren stabilen Isotop versetzt und anschließend chemisch aufgearbeitet.
- Im Fall der Protonenaktivierungsmessungen wurde bei allen Proben eine bekannte Menge eines Referenznuklids (^{51}V) zugegeben. Zusätzlich wurden Standardproben mit bekannten Mengen sowohl der Tracer als auch von ^{51}V vorbereitet. Blutplasma- und Urinproben wurden an der Luft getrocknet und anschließend in Form von Tabletten gepresst. Urinproben mussten zuerst chemisch aufgeschlossen werden.

Die weitere Behandlung der Proben und die Messung der darin enthaltenen Tracer wird im Kapitel Ergebnisse im Abschnitt 7.2 Prüfung und Optimierung geeigneter Messverfahren beschrieben.

6.4 Untersuchung des Cer-Transfers in die Muttermilch

In diesem Programmpunkt sollten speziell das biokinetische Verhalten von Cer bei stillenden Frauen und dessen Transfer in die Muttermilch untersucht werden. Es wurde versucht, weibliche Probanden zu gewinnen, die zum einen an der Cer-Biokinetikstudie teilnehmen und zusätzlich Muttermilch zur Verfügung stellen. Es ist jedoch zu betonen, dass hierfür keine "aktiv" stillenden Frauen in Frage kamen. Um den Säugling nicht zu gefährden, hätten die Frauen die orale und intravenöse Gabe von Cer erst kurz nach dem Abstillen bekommen, so dass zwar noch Muttermilch produziert, jedoch nicht mehr an den Säugling verfüttert hätte werden können. Aus diesem Grund wird im weiteren Verlauf des Textes anstelle von stillenden Frauen jeweils von (ab)stillenden Frauen gesprochen.

Leider war es jedoch nicht möglich, für genau diesen Versuch Probandinnen zu finden. So wurde sich hauptsächlich auf den Nachweis der natürlichen Ausscheidung von Cer in die Muttermilch konzentriert. Dazu wurde ohne künstliche Verabreichung von Cer bei freiwilligen Probandinnen lediglich Muttermilch gesammelt und mittels geeigneter Analysetechnik die natürliche Cer-Konzentration bestimmt.

6.5 Vorschlag für biokinetische Modelle

Die gewonnenen Ergebnisse bezüglich Absorption (f_1/f_A -Wert), Retention und Exkretion der untersuchten Elemente wurden mit den Annahmen und Vorhersagen der bisherigen ICRP-Biokinetikmodelle verglichen und dienten zur Validierung bzw. zur Verbesserung dieser Modelle. Mit Hilfe der Kompartimentmodellierung konnten sowohl die Modellstrukturen neu gestaltet als auch die Modellparameter ermittelt werden. Die Charakterisierung der relevanten Strukturen wurde v.a. mittels Sensitivity Analysis und durch Prüfung der Identifizierbarkeit ermöglicht. Die Modellierungsarbeiten wurden mit Hilfe von SAAM II durchgeführt.

Diese Ausführungen gelten für die drei untersuchten Elemente in gleicher Weise:

- (1) Zirkonium
- (2) Ruthenium
- (3) Cer

7 Erzielte Ergebnisse

7.1 Auswahl der zu verwendenden stabilen Isotope und toxikologische Überprüfung

Die toxikologische Überprüfung der in den tracerkinetischen Studien an Menschen eingesetzten Isotope wurde in Kooperation mit dem Institut für Toxikologie der GSF, dem Institut für Toxikologie und Umwelthygiene der Technischen Universität München (TUM) und der Toxikologischen Abteilung der II. Medizinischen Klinik der TUM durchgeführt. Für die letztendliche Genehmigung dieser wissenschaftlichen Untersuchung am Menschen war die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der TUM zuständig, die die entsprechenden Dokumente zur Durchführung tracerkinetischer Studien und deren ethische und rechtliche Bewilligung erteilt.

7.1.1 Zirkonium

Für die stabilen Isotope von Zirkonium lag bereits eine Zustimmung zur Durchführung tracerkinetischer Untersuchungen am Menschen von der Ethikkommission vor. Die maximal zugelassenen Verabreichungsmengen betragen: 10 µg/kg (intravenös) und 100 µg/kg (peroral). In Rahmen des Vorhabens wurde eine sorgfältige Planung der

Untersuchungen und Messverfahren durchgeführt, um die Effektivität und den Informationsgewinn bei den bewilligten Verabreichungsmengen zu maximieren. Es stellte sich heraus, dass für die PAA die Tracerisotope ^{90}Zr und ^{96}Zr geeignet waren, wohingegen zur Messung mittels TIMS auch das Isotop ^{91}Zr geeignet war.

7.1.2 Ruthenium

Für die stabilen Isotope von Ruthenium lag ebenfalls eine Zustimmung zur Durchführung tracerkinetischer Untersuchungen am Menschen von der Ethikkommission vor. Die maximal zugelassenen Verabreichungsmengen betragen: 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (intravenös) und 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (peroral). Wegen neu aufgekommener Bedenken aus toxikologischer Sicht mussten die maximal zugelassenen Verabreichungsmengen jedoch neu überprüft werden. Letztendlich durften keine neuen Probandenstudien mit Ruthenium aufgenommen werden. Jedoch wurden bereits einige Probandentests im Rahmen einer vorausgegangenen Pilotstudie in Kooperation mit der Universität Mailand durchgeführt und Urin- bzw. Blutplasmaproben gesammelt. Diese standen daher zur weiteren Analyse und Auswertung zur Verfügung. Die gewonnenen Ergebnisse wurden daher für die biokinetischen Fragestellungen eingesetzt. Als eingesetzte Tracer dienten die stabilen Isotope ^{99}Ru und ^{101}Ru .

7.1.3 Cer

Als ein Vertreter aus der Gruppe der Lanthanide wurde das Element Cer ausgewählt, für das ein Genehmigungsverfahren bei der Ethikkommission eingeleitet worden war. Nach ausgiebiger Recherche über die natürliche Cer-Aufnahme in den menschlichen Körper und über natürliche Cer-Konzentrationen in Körperflüssigkeiten konnte der Ethikantrag erfolgreich durchgesetzt werden. Die Ethikkommission kam zum Schluss, dass eine intravenöse Cer-Gabe von 0,0143 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht und eine orale Aufnahme von 1,43 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht vertretbar sind. Bei einem Normalgewicht von 70 kg entspricht dies einer Menge von 1 μg bei intravenöser sowie 100 μg bei oraler Verabreichung. Für die biokinetischen Studien stellten sich die stabilen Isotope ^{136}Ce und ^{138}Ce als ideal heraus. ^{136}Ce wurde oral und ^{138}Ce intravenös verabreicht.

7.2 Prüfung und Optimierung geeigneter Messverfahren

Die biokinetischen Untersuchungen wurden mit Hilfe der Doppeltracertechnik durchgeführt. Um die Tracerkonzentrationen in den biologischen Proben verlässlich bestimmen zu können, waren aufwändige chemische Aufarbeitungsschritte unter Reinraumbedingungen notwendig, die aus vielen aufeinander folgenden

Eintrocknungs-, Aufschluss- und Reinigungsverfahren bestanden. Nur durch einen weitgehenden Aufschluss des organischen Materials der biologischen Proben und der Abtrennung störender Moleküle war eine verwertbare Messung mit geeigneten Messmethoden möglich. Neben der Aufarbeitung von Blut- (Blutplasma-) und Urinproben wurden für die Untersuchungen von Cer auch Muttermilchproben aufgeschlossen.

Zur Messung der Tracer in den biologischen Proben wurden verschiedene Messverfahren überprüft, inwieweit diese Messtechniken geeignet waren. Dabei waren folgende Punkte zu eruieren: Linearität, Reproduzierbarkeit, Nachweisgrenze (Empfindlichkeit) und Einfluss von Interferenzen. Als Analysemethoden standen ein hauseigenes TIMS, ein ICP-MS im GSF-Institut für Ökologische Chemie und die PAA in Garching zur Auswahl.

7.2.1 Zirkonium

Im Prinzip standen die drei Analysemethoden TIMS, ICP-MS und PAA zur Verfügung. Es stellte sich heraus, dass ICP-MS wegen Interferenzen die erforderliche Nachweisgrenze nicht erreichen konnte. Die beiden übrigen Techniken TIMS und PAA eigneten sich jedoch sehr gut zur Bestimmung weniger Nanogramm von Zirkonium in menschlichen Blutplasma- und Urinproben. Durch Vergleich der Ergebnisse der unterschiedlichen Techniken ist eine interne Qualitätssicherung möglich.

Für die Thermionen-Massenspektrometrie sind die Nachweisgrenzen tracerabhängig und liegen im Bereich von 0,09 - 0,38 ng pro Probe. Dies ermöglicht die Bestimmung der Tracerkonzentration in Plasmaproben bis zu 30 d nach Injektion für den intravenösen Tracer, im Einzelfall auch darüber hinaus. Die geringere Konzentration des oralen Tracers kann im Regelfall nur bis zu wenigen Tagen nach Administration gemessen werden. In Urinproben kann der intravenöse Tracer meist bis zu 7 d, der orale meist nur innerhalb von 24 Stunden nach Gabe nachgewiesen werden.

Die Nachweisgrenzen der Protonenaktivierungsanalyse für die verwendeten Tracerisotope ^{90}Zr und ^{96}Zr liegen bei 1,8 ng bzw. 1,6 ng. Sie sind stark von den Randbedingungen von Bestrahlung und Messung abhängig, d.h. der Aktivierung der Proben sowie Abklingzeit der Proben und Messdauer der Gammaskpektrometrie. Die Wahl dieser Größen hat auch einen wesentlichen Einfluss auf die mittlere Messunsicherheit, weil auf Grund der begrenzten Anzahl von Bestrahlungsterminen und Gammaskpektrometern nur wenige Proben mit den bestmöglichen Parametern gemessen werden können.

Die relativen Messunsicherheiten der beiden Messmethoden zeigt Tabelle 3. Die relative Unsicherheit der Tracermessung mit TIMS ist weitgehend unabhängig von Probenmaterial und Tracer. Im Gegensatz dazu ist bei der PAA das Isotop ^{96}Zr

genauer messbar als ^{90}Zr , wenn beide Messungen nach der gleichen Probenaktivierung erfolgen.

Wegen des höheren Probendurchsatzes und der besseren Nachweisgrenzen wurde die TIMS im Lauf der Studie als Routinemethode eingesetzt. Die PAA wurde nicht für zusätzliche Probenmessungen, sondern als physikalisch unterschiedliche Methode zur Qualitätskontrolle verwendet.

Die zeitliche Stabilität der TIMS-Ergebnisse wurde anhand von Messungen einer Referenzlösung von natürlichem Zirkonium untersucht (PLZR2-2Y, SPEX Certiprep). Für die Isotopenverhältnisse $^{91}\text{Zr}/^{90}\text{Zr}$, $^{92}\text{Zr}/^{90}\text{Zr}$ und $^{96}\text{Zr}/^{90}\text{Zr}$ wurde dabei im Rahmen der Schwankungen keine Veränderung beobachtet. Lediglich das Verhältnis $^{94}\text{Zr}/^{90}\text{Zr}$ stieg seit Mitte 2007 etwas an (Abbildung 4). Dies könnte auf eine leichte Kontamination des TIMS mit dem in allen Plasma- und Urinproben zur Konzentrationsbestimmung zugesetzten Tracer ^{94}Zr (91,2 %) zurückzuführen sein.

Tabelle 3: Übersicht über die relativen Unsicherheiten bei der Messung von Zirkoniumtracern mit TIMS und PAA.

TIMS			
Tracer (Anreicherung)	Probentyp	Median (%)	Bereich (%)
^{90}Zr (98,2 %)	Plasma	4,37	4,33 – 15,0
^{91}Zr (88,7 %)	Plasma	4,75	4,46 – 25,0
^{96}Zr (58,3 %)	Plasma	4,57	4,39 – 19,6
^{96}Zr (86,4 %)	Plasma	4,35	4,33 – 20,7
^{90}Zr (98,2 %)	Urin	4,76	4,48 – 28,5
^{91}Zr (88,7 %)	Urin	4,74	4,52 – 64,0
^{96}Zr (58,3 %)	Urin	4,91	4,53 – 7,9
^{96}Zr (86,4 %)	Urin	4,49	4,47 – 18,1
PAA			
Tracer (Anreicherung)	Probentyp	Median (%)	Bereich (%)
^{90}Zr (98,2 %)	Plasma	32,7	7,4 – 90
^{96}Zr (86,4 %)	Plasma	16,3	6,1 – 39
^{90}Zr (98,2 %)	Urin	30,0	13,8 – 71
^{96}Zr (86,4 %)	Urin	12,3*	6,5 – 56*

(*) Nur 3 Messungen

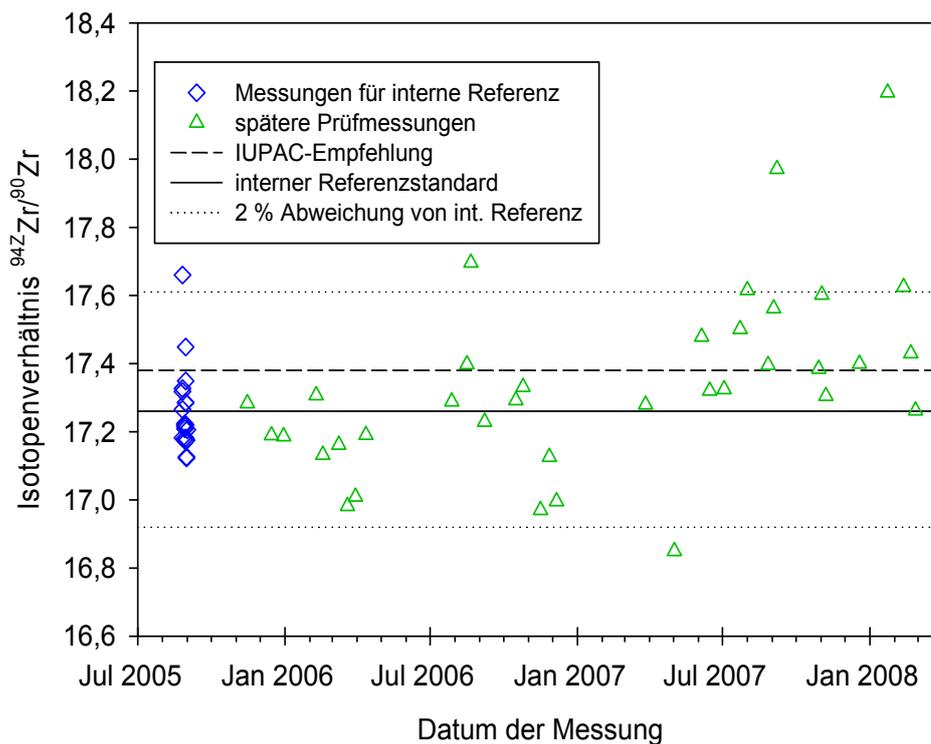


Abbildung 4: Zeitliche Änderung der Isotopenverhältnisses $^{94}\text{Zr}/^{90}\text{Zr}$.

Mit TIMS ist die Quantifizierung des Gehalts einer Probe an bis zu fünf verschiedenen isotopischen Mischungen von Zirkonium möglich, und damit auch eine Messung des Untergrunds an natürlichem Zirkonium. Ohne Zusatzinformation ist jedoch nicht unterscheidbar, aus welcher Quelle dieses natürliche Zirkonium stammt. Die aufwendige Probenvorbereitung bietet z.B. durch kontaminierte Lösungen viele Möglichkeiten für eine Erhöhung des Gehalts an natürlichem Zirkonium.

Im Gegensatz dazu ist mit der PAA nur die Quantifizierung der absoluten Mengen zweier Isotope (^{90}Zr und ^{96}Zr) in einer Messung möglich. Das Kontaminationsrisiko ist durch die einfache Probenvorbereitung sehr gering. Deshalb kann die PAA verwendet werden, um z.B. mit Blindproben die typische Konzentration von natürlichem Zirkonium einzugrenzen.

Die geringen bei PAA gemessenen Mengen waren ein Hinweis darauf, dass in der Anfangsphase der Methodenentwicklung für TIMS tatsächlich im Lauf der Probenvorbereitung natürliches Zirkonium in die Proben eingebracht wurde. Das in Abbildung 5 gezeigte Elutionsprofil für die dabei zum Einsatz kommende Säulenchromatographie liefert letztendlich einen Hinweis auf die Quelle dieser Verunreinigung. Vergleicht man die Konzentration des angereicherten Tracers mit der des natürlichen Zirkoniums, lässt sich folgendes feststellen:

- Die Konzentration des Tracers erreicht bei ca. 6-9 ml Elutionsvolumen ein Maximum. Die Ausbeute ist mit ~30 % nicht optimal, für die Isotopenverhältnisbestimmung mit TIMS aber ausreichend.
- Die Konzentration an natürlichem Zirkonium steigt beständig an. Dies wäre konsistent mit der Annahme, dass die zur Elution verwendete Säuremischung natürliches Zirkonium in einer Konzentration von mindestens 12-15 ng/ml enthält. Dies wurde später durch die Reinigung der verwendeten Säuren durch Destillation unter dem Siedepunkt bestätigt und führte zu einer Reduktion des natürlichen Untergrunds von Zirkonium-Messungen mit TIMS von ca. 100 ng auf typisch <10 ng pro Probe.

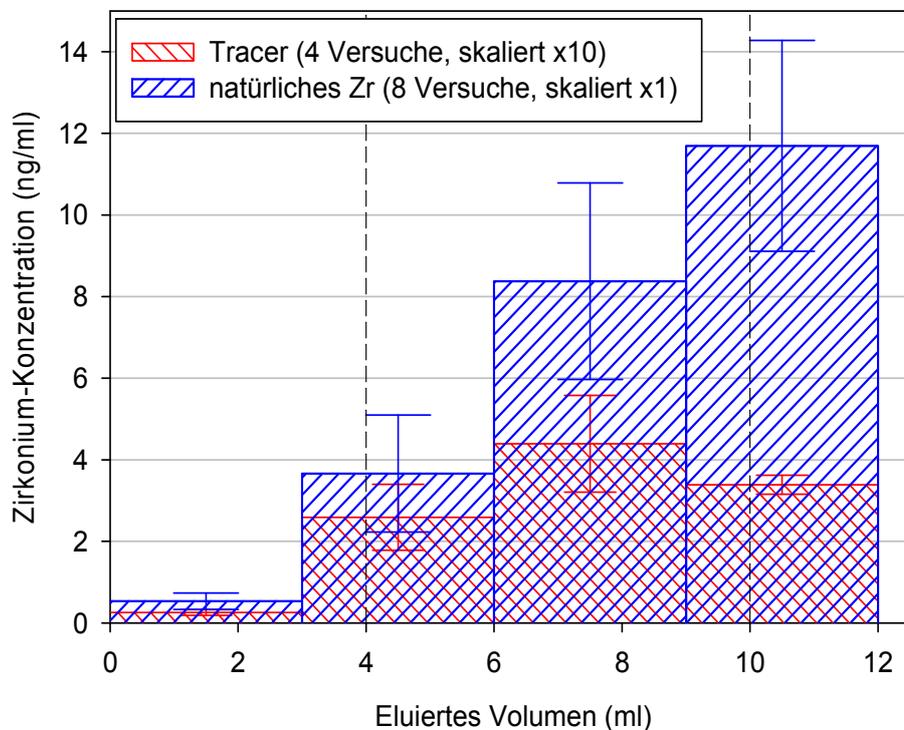


Abbildung 5: Elutionsschema der Säulenchromatographie bei der Probenaufarbeitung für TIMS. Der Bereich zwischen den gestrichelten Linien kennzeichnet das für Routinemessungen verwendete Eluatvolumen.

Zwei weitere Beobachtungen aus dem Methodenvergleich sind in Abbildung 6 erkennbar:

- Die Betrachtung der Messergebnisse von Zr.01.03 zeigt drei Datenpunkte deutlich abseits der restlichen Werte. Durch zusätzliche Berücksichtigung des zeitlichen Ablaufs der Tracerkonzentration konnten durch diese Auffälligkeit drei Fehlmessungen (zu geringe Konzentration bei der TIMS-Messung)

gefunden werden, die vermutlich aus Fehlern bei der aufwendigen Probenvorbereitung für TIMS resultierten.

- Der Vergleich von Messungen mit ^{90}Zr und ^{96}Zr als Tracer zeigt, dass für ^{96}Zr vermehrt höhere Zirkoniummengen mit PAA gegenüber TIMS gemessen wurden. Nach Überprüfung der den Auswertungen zugrunde liegenden Isotopenverhältnisse und der Ergebnisse der Gammaskpektrometrie wurde dieser Effekt einer kleinen Interferenz bei der PAA zugeordnet, die im Fall des Aktivierungsprodukts von ^{96}Zr zur ausgewerteten Peakfläche beitrug.

Der Methodenvergleich ermöglicht somit im Einzelfall die Erkennung von systematischen Fehlern bei der Messung und die Abgrenzung solcher zu zufälligen Schwankungen, und stellte damit eine große Hilfe bei der Methodenentwicklung dar.

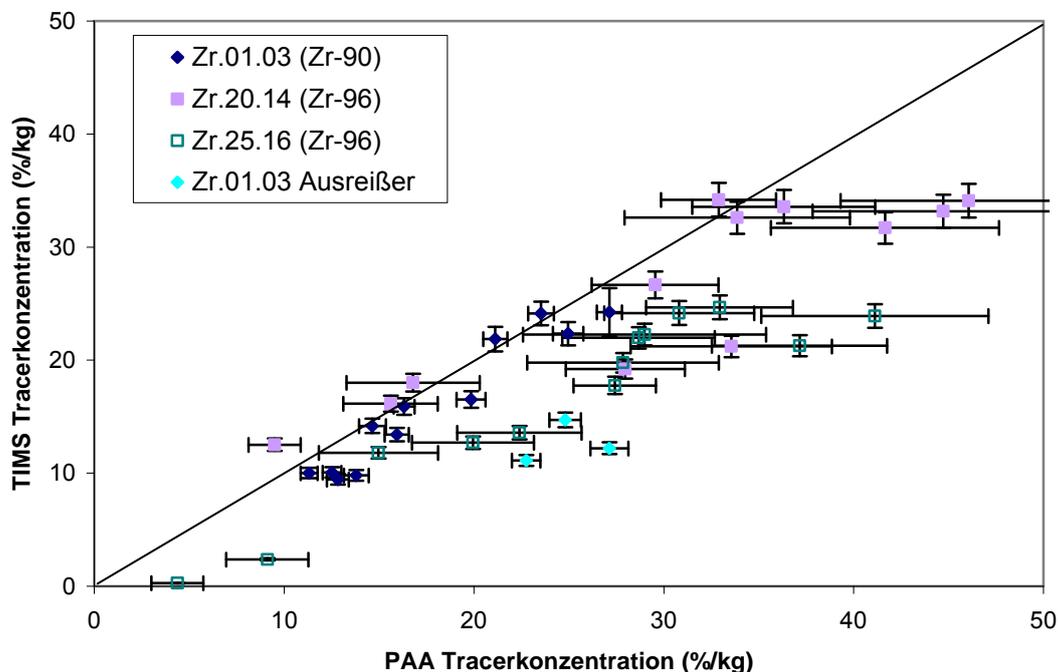


Abbildung 6: Ergebnisvergleich PAA-TIMS. Die diagonale Linie repräsentiert identische Ergebnisse beider Methoden.

7.2.2 Ruthenium

Obwohl aufgrund von Vorbehalten der Ethikkommission hinsichtlich der Toxikologie von Ruthenium keine neuen Experimente an Probanden mehr durchgeführt werden konnten, wurde für diese Arbeit zumindest ein Teil der bereits aus früheren Experimenten gewonnenen Proben analysiert. Die Plasma und Urinproben wurden am Tandembeschleuniger des Maier-Leibnitz Laboratoriums in Garching bestrahlt.

Tabelle 4: Die in der Protonenaktivierungsanalytik verwendeten Reaktionen und die physikalischen Eigenschaften der Reaktionsprodukte.

Reaktion	Produkt-Halbwertzeit	Haupt γ -Emissionen	
		Energie (keV)	Emissionswahrscheinlichkeit
$^{99}\text{Ru}(p,n)^{99}\text{Rh}$	16,1 d	528 keV	38,0 %
		353 keV	34,6 %
		90 keV	33,4 %
$^{101}\text{Ru}(p,n)^{101m}\text{Rh}$	4,34 d	307 keV	81 %
$^{51}\text{V}(p,n)^{51}\text{Cr}$	27,7 d	320 keV	10 %

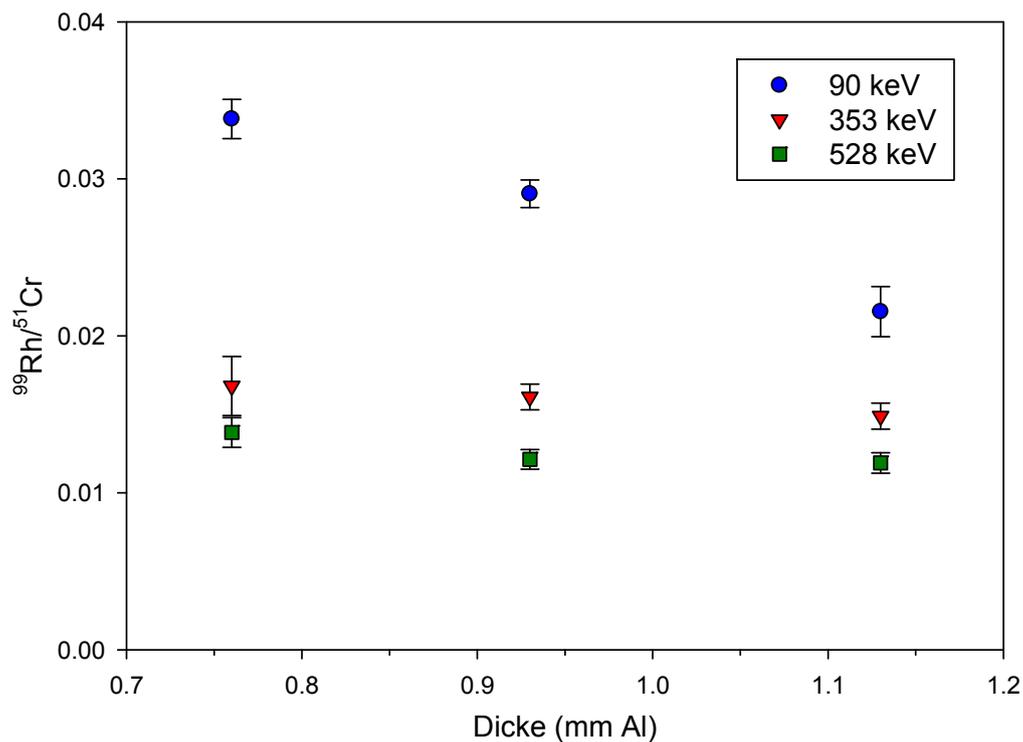


Abbildung 7: Optimierungsversuche hinsichtlich Schichtdicke der Aluminium-Probenhülle und der Auswahl der Emissionslinie von ^{99}Rh (Produkt von ^{99}Ru). Höhere Verhältnisse bedeuten eine bessere Messempfindlichkeit der Methode.

Die experimentellen Bedingungen für die Aktivierung der ausgewählten Tracer ^{99}Ru und ^{101}Ru mussten an die Eigenschaften des Protonenstrahles des Tandembeschleunigers angepasst werden (Protonenenergie 20 MeV, Strahlintensität max. 2.5 μA). Die für den Nachweis der Tracer ausgewählten Reaktionen und die Eigenschaften der Reaktionsprodukte ^{99}Rh und ^{101m}Rh sind in Tabelle 4 zusammen mit den entsprechenden Informationen über das Referenznuclid ^{51}V angegeben.

Um Linearitäts- und Reproduzierbarkeitstests durchzuführen, wurden biologischen Proben bekannte Mengen der beiden Tracer (etwa von 8-170 ng) zugegeben. Hierbei wurde u.a. auch die geeignete Dicke der Aluminiumhülle untersucht, in der die Proben eingekapselt wurden. Abbildung 7 zeigt die Verhältnisse zwischen ^{99}Rh (Produkt von ^{99}Ru) und ^{51}Cr (Produkt von ^{51}V) als Funktion der Dicke. Höhere Verhältnisse von ^{99}Rh (Produkt von ^{99}Ru) und ^{51}Cr (Produkt von ^{51}V) bedeuten eine bessere Messempfindlichkeit der Methode.

Aufgrund der Ergebnisse aus Abbildung 7 schienen die besten Versuchsbedingungen mit der dünnsten Aluminiumhülle und bei der Messung der 90 keV Emission erreichbar. Leider wurden bei 90 keV wie auch bei 353 keV Interferenzen in der biologischen Matrix gefunden, so dass die Quantifizierung von ^{99}Ru mit der Emissionslinie bei 528 keV erfolgen musste. In Optimierungsversuchen mit dem anderen Tracer ^{101}Ru wurden dagegen bessere Versuchsbedingungen unter Verwendung der dicksten Aluminiumhülle erzielt. Aus diesem Grund wurde letztendlich eine Aluminiumkapsel mit einer Schichtdicke von 0,93 mm ausgewählt.

Unter typischen Messbedingungen (Bestrahlungszeit >48 Stunden, Messzeit ~3 d) betragen die Nachweisgrenzen 7,5 $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ für ^{99}Ru und 2 $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ für ^{101}Ru in Blutplasma. In Urin liegen die Nachweisgrenzen bei 0,7 $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ für ^{99}Ru und 0,2 $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ für ^{101}Ru . Ein Grund für die geringeren Nachweisgrenzen bei der Messung von Urin ist die Tatsache, dass für die Vorbereitung der Proben-Tabletten etwa eine 10-fache größere Menge Urin eingesetzt werden kann als Blutplasma. Wie schon oben beim Punkt 7.2.1 erklärt, hängen die Nachweisgrenzen stark vom Abklingzeit und Messdauer, so konnten bei einzelnen Proben durch spezifische Optimierung der Messbedingungen deutlich niedrigere Konzentrationen gemessen werden (obwohl mit teilweise größer Unsicherheit).

7.2.3 Cer

Die Methode zur chemischen Aufbereitung von menschlichem Blutplasma- und Urinproben sowie von Muttermilch zum Nachweis von Cer wurde vollkommen neu entwickelt und hinsichtlich der Verwendung von Mikrowellen-Druckaufschluss und anschließend erfolgter Extraktionschromatographie optimiert. Als Ergebnis dieser Optimierungsphase wurde folgende Methodik gewählt:

Je 1 ml Urin bzw. 0,5 ml Blutplasma wurden mit 4,5 bis 6 ml konz. HNO₃ versetzt und die Lösung einem Mikrowellen-Druckaufschluss (Mikrowelle speedwave MWS-2, Firma Berghof) unterworfen. Anschließend erfolgt eine weitere Reinigung und Separation von Cer mittels Extraktionschromatographie an RE-resin-Säulenmaterial (Firma Eichrom, Frankreich) unter Verwendung von 1 N und 4 N HNO₃ und Elution mit 4 N HCl. Ausführliche Darstellung siehe Tabelle 5 und 6.

Das Extraktionschromatographie-Material RE-resin besteht aus 1 M Oktyl(phenyl)-N,N-diisobutylcarbonyl-methyl-phosphinoxid in Tributylphosphat, welches an einen inerten polymeren Träger gekoppelt ist. Nach Elution der Probe und anschließender Trocknung der Lösung ist die Probe bereit für die Messung mittels TIMS.

Tabelle 5: Probenaufschluss in der Mikrowelle.

Probe	0.5 ml Blutplasma	1 ml Urin
Zugefügter Spike	10 µl 142-Cer (1,75 ng) in 3 % HNO ₃	
Inkubation	8 h bei 37 °C	
Zugefügtes Reagenz	6 ml conc. HNO ₃	4,5 ml conc. HNO ₃ + 0.5 ml H ₂ O ₂
Mikrowellenaufschluss	55 min, 140-230 °C	40 min, 190 °C
Zugefügtes Reagenz	0,4 ml H ₂ O ₂	0,4 ml H ₂ O ₂
Evaporation zur Trockne	6 h bei 120 °C in 10 ml Teflongefäße	

Tabelle 6: Extraktionschromatographie.

	RE_resin (1 ml, Durchmesser ~ 8 mm, 100-150 µm Partikelgröße)	
	Volumen (ml)	Lösung
Lösen der Probe	1-2	1 N HNO ₃
Präkonditionierung der Säule	10	1 N HNO ₃
Probenbeladung	1-2	1 N HNO ₃
Spülen der Matrix	15	1 N HNO ₃
Weiteres Spülen	5	4 N HNO ₃
Elution von Cer	4,5*	4 N HCl
Evaporation der Probe	4 h bei 120 °C in 10 ml Teflongefäße	

*Der erste Milliliter wird verworfen.

Aufgrund der geringen von der Ethikkommission genehmigten Tracermengen für Cer und wegen störender Interferenzen durch natürliches Barium bei der Cer-Messung mittels TIMS konnten die ersten Messungen nicht erfolgreich durchgeführt werden. Die auftretenden Probleme konnten bis zum Projektende nicht vollständig gelöst werden und benötigen nach wie vor weitere Entwicklungsarbeit.

Hierzu wurden die als Probenträger bisher routinemäßig eingesetzten Rhenium-Bändchen durch Tantal-Bändchen ersetzt, die eine geringere Barium-Kontamination aufweisen sollen.

Für die Untersuchungen der Muttermilch hinsichtlich der natürlichen Cer-Konzentrationen stellte sich die ICP-MS als die geeignete Methode heraus. Die Milchproben wurden durch einen Druckaufschluss vorbereitet, und nach Zugabe von Iridium als interner Standard konnte die Cer-Konzentration direkt mittels ICP-MS gemessen werden. Um die Tauglichkeit unserer Methode, solch geringe Cer-Konzentrationen zu messen, zu testen, sind die Blindwerte, die Digestionsblindwerte und die Kontrollstandards (50 ng/L) direkt vor und nach der Probenmessung bestimmt worden. Des Weiteren wurden die Muttermilchproben mit bekannten Cer-Konzentrationen gespikt und die Wiederfindungsrate gemessen; sie betrug $96,9 \pm 3,2\%$.

7.3 Ermittlung biokinetischer Parameter mittels Doppeltracertest an Probanden

7.3.1 Zirkonium

Im Rahmen des Projekts wurden 16 Experimente mit Zirkonium bei 11 Probanden (6 w, 5 m) durchgeführt; von weiteren 7 im Vorfeld durchgeführten Experimenten (2 w, 2 m) waren ebenfalls noch Proben zur weiteren Verwendung vorhanden. Das Alter der Probanden lag zwischen 26 und 59 Jahren. Die orale Verabreichungsform wurde variiert; in 10 Experimenten wurde Zirkonium in einer Na-Citrat-gepufferten wässrigen Lösung verabreicht (5 w, 5 m), in weiteren 10 als Zirkonium-Oxalat-Komplex in wässriger Lösung (5 w, 5 m), und in einem zusätzlichen Experiment vermischt mit Babynahrung (w). 17 Experimente wurden als Doppeltracereexperimente durchgeführt, 4 nur mit oraler Tracergabe und 2 nur mit Tracerinjektion.

Die aktuell durchgeführten Tracereexperimente sind so gestaltet, dass pro Experiment insgesamt bis zu 27 Proben (Blutplasma und Urin) aus dem Zeitraum bis zu 100 d nach Tracergabe gewonnen und untersucht werden.

Zur Herstellung der Tracerlösungen wurden jeweils 20 – 100 mg ZrO_2 -Pulver der Firmen Campro bzw. Chemotrade zusammen mit 0,4 ml konzentrierter Salpetersäure (HNO_3) und 3,7 ml konzentrierter Flußsäure (HF) in einem verschlossenen Teflonbecher über 3 - 5 h bei 140 °C erhitzt. Die Lösung wurde getrocknet und danach in einer Mischung aus Salzsäure (HCl) und HNO_3 wieder aufgelöst, falls nötig unter Erhitzen und unter Einsatz eines Ultraschallbades. Die konzentrierte Lösung

wurde dann mit deionisiertem Wasser (Milli-Q) auf die gewünschte Konzentration von 100-500 mg·l⁻¹ verdünnt.

Als Tracer für die Injektion wurden ⁹⁰Zr (angereichert auf 98,2 %) oder ⁹⁶Zr (86,4 %) eingesetzt; für die orale Gabe ⁹⁰Zr (98,2 %), ⁹¹Zr (88,7 %), ⁹⁶Zr (58,3 %) oder ⁹⁶Zr (86,4 %); als Referenztracer zur Konzentrationsbestimmung mit TIMS ⁹⁴Zr (91,2 %).

Für die Zirkonium-Injektionslösung wurden 10 ml deionisiertes Wasser, 0,25 g Kaliumoxalat und 85 mg Oxalsäure zu 10 ml der ⁹⁰Zr-Stammlösung bzw. zu 40 ml der ⁹⁶Zr-Stammlösung gegeben. Nach vollständiger Auflösung wurden Zirkoniumoxalatkristalle durch Zugabe von Ethanol und fünfzigprozentiger Natronlauge ausgefällt, abfiltriert und mit Ethanol gewaschen. Die gereinigten Kristalle wurden in 25 ml deionisiertem Wasser und 175 ml steriler 0,9 %iger Kochsalzlösung aufgelöst. Die fertige Lösung wurde durch Sterilfilter in autoklavierte Ampullen abgefüllt; diese dann zugeschmolzen und nochmals autoklaviert. Die Sterilität der Proben wurde entsprechend der European Pharmacopoeia überprüft. Die empfohlene minimale Probenanzahl von 10% der Ampullen pro Charge wurde zufällig ausgewählt und auf mikrobielle Kontamination im Institut für Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene der TU München überprüft.

Die Konzentrationen von Zirkonium in Stammlösung und Ampullen wurde mittels ICP-OES und TIMS kontrolliert.

Für die orale Gabe wurden zwei verschiedene Trinklösungen hergestellt, jeweils direkt vor Beginn des entsprechenden Experiments:

- Zu einer Mischung von 30 ml deionisiertem Wasser und der gewünschten Menge der Tracerlösung wird Natrium-Citrat zugegeben, entsprechend 120 mg pro 7 mg Zirkonium. Die somit gepufferte Lösung wird mit NaOH (50 %) auf einen pH von ~4 eingestellt und mit deionisiertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt.
- Eine Zirkoniumoxalat-Trinklösung wurde durch Verdünnung von Injektionslösung mit deionisiertem Wasser oder aus einer eigens ähnlich zur Injektionslösung hergestellten Stammlösung präpariert.

7.3.1.1 Ermittlung der zeitlichen Retention im systemischen Kreislauf

Es wurde zunächst versucht, die Retentionszeit des intravenös applizierten Tracers im Plasma im Einklang mit den Empfehlungen der ICRP als Halbwertszeit einer einfach exponentiellen Abnahme der Konzentration zu bestimmen. Dies führte, wie in Abbildung 8a-d ersichtlich, nicht zu befriedigenden Ergebnissen.

Die Tracerkonzentration *C* in Plasma lässt sich angesichts der Schwankungen in den Daten gut mit einem doppelt exponentiellen Abstrom beschreiben, wie in Abbildung 9 beispielhaft dargestellt:

$$C = A \cdot e^{-(\ln 2 \cdot t / T_a)} + B \cdot e^{-(\ln 2 \cdot t / T_b)}$$

Für die beiden Zeitkonstanten finden sich im Vergleich der einzelnen Experimente Medianwerte von $T_a = 1,4$ h für die Halbwertszeit des schnellen Teilprozesses und $T_b = 3,3$ d für den langsamen Teilprozess. Die Gewichtung ist etwa gleich verteilt, d.h. $A \approx B$.

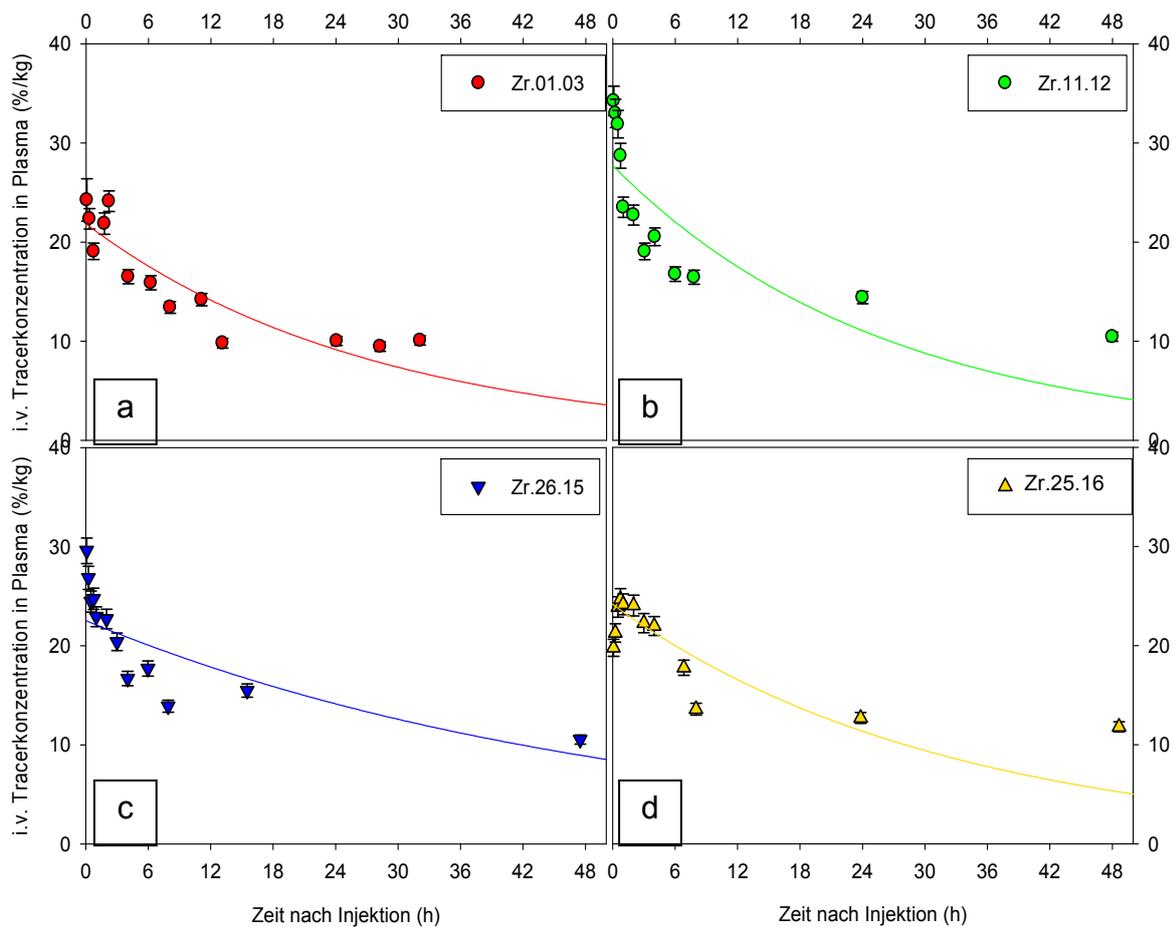


Abbildung 8: Beschreibung der Konzentration des intravenös applizierten Tracers durch einen einfach exponentiellen Abstrom.

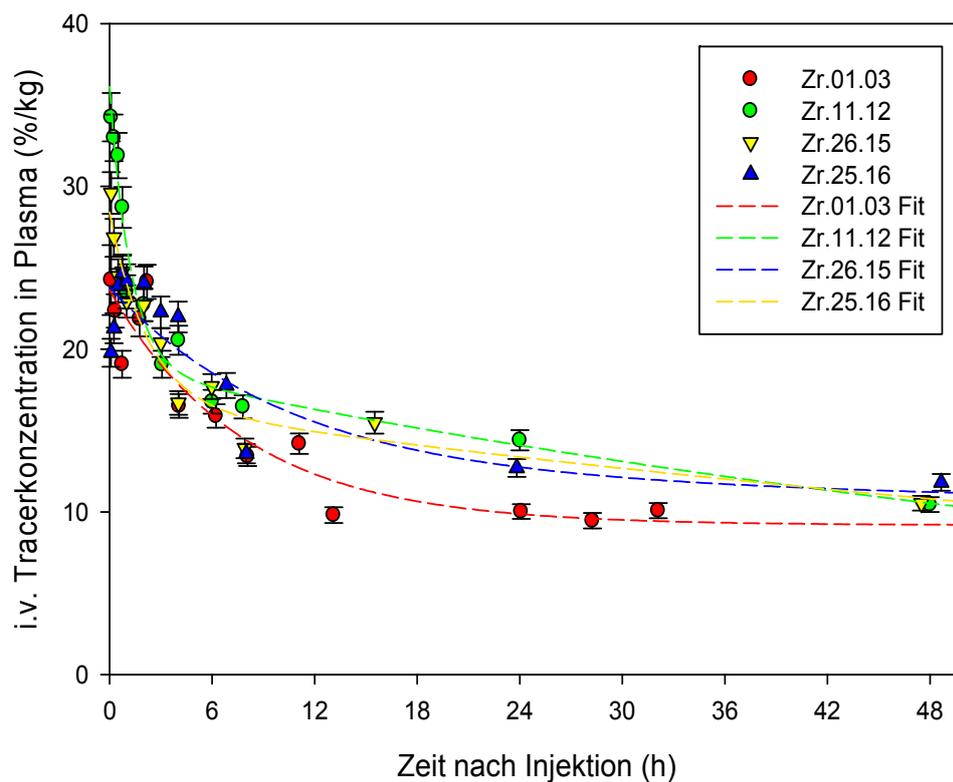


Abbildung 9: Beschreibung der Konzentration des intravenös applizierten Tracers durch einen doppelt exponentiellen Abstrom.

7.3.1.2 Ermittlung der zeitlichen systemischen Ausscheidung in Urin

Die gemessenen Tracerkonzentrationen in Urinproben schwanken sehr stark und liegen im Fall des oral verabreichten Tracers bereits in der ersten Woche der Experimente häufig unter der Nachweisgrenze.

Für beide Tracer ist eine tendenziell am ersten Tag erhöhte Ausscheidungsrate erkennbar, die für den Rest der ersten Woche in eine niedrigere, im Rahmen der Schwankungen konstante Ausscheidungsrate übergeht.

Für den intravenös applizierten Tracer lässt sich die kumulative Ausscheidung im Verlauf der ersten Woche bestimmen. Hierfür wurden Messwerte unter der Nachweisgrenze durch die halbe Nachweisgrenze ersetzt. Innerhalb der ersten 24 h nach Applikation werden demnach 0,6-2,9 % des injizierten Tracers mit dem Urin ausgeschieden. Die durchschnittliche tägliche Ausscheidung an den restlichen Tagen der ersten Woche liegt bei 0,3-0,9 %, und die kumulierte Ausscheidung nach der ersten Woche bei 2,5-7,0 %.

7.3.1.3 Ermittlung des gastrointestinalen Absorptionsanteils (f_A -Faktor)

Unter der Annahme, dass sich die beiden applizierten Tracer nach Aufnahme in den systemischen Kreislauf identisch verhalten, lässt sich der gastrointestinale Absorptionsanteil wie folgt bestimmen:

- (a) Durch das Konzentrationsverhältnis beider Tracer nach Abschluss des Aufnahmeprozesses, d.h. frühestens mehrere Stunden nach Beginn des Experiments. Diese Methode ist nur anwendbar, wenn Konzentrationsmessungen beider Tracer zur selben Zeit nach Verabreichung verfügbar sind. Das Ergebnis ist stark abhängig von den einzelnen Messwerten. Für die in Tabelle 7 angegebenen Werte wurden Messungen zwischen ~7 h und 48 h nach Tracergabe zugrunde gelegt.
- (b) Durch die Faltungsintegraltechnik. Hierbei werden die gemessenen Konzentrationen beider Tracer ohne Zugrundelegung eines biokinetischen Modells interpoliert. Die daraus erhaltenen Funktionen lassen sich mit der zu bestimmenden zeitabhängigen Absorptionsrate über ein Faltungsintegral verknüpfen. Die Lösung der Integralgleichung liefert die Absorptionsrate und, als deren Zeitintegral, den gastrointestinale Absorptionsanteil. Diese Technik ist nur schwach abhängig von der Schwankung einzelner Messwerte und setzt kein spezifisches Stoffwechselmodell voraus, benötigt aber wesentlich mehr Daten als der einfache Konzentrationsvergleich im Rahmen eines Doppeltracerexperiments.
- (c) Die biokinetische Modellierung mit Kompartimentmodellen liefert unter anderem Parameter für die Übergangsraten aus dem Verdauungstrakt in den systemischen Kreislauf ($\lambda_{\text{small intestine (SI)} \rightarrow \text{transfer}}$, siehe 6.5.1) und den konkurrierenden Übergang im Fortgang des Verdauungstrakts ($\lambda_{\text{SI} \rightarrow \text{right colon}}$). Der gastrointestinale Absorptionsanteil lässt sich für die in der aktuellen Studie verwendeten Kompartimentmodelle aus diesen beiden zeitlich konstanten Parametern wie folgt berechnen:

$$f_A = \frac{\lambda_{\text{SI} \rightarrow \text{transfer}}}{\lambda_{\text{SI} \rightarrow \text{transfer}} + \lambda_{\text{SI} \rightarrow \text{right colon}}}$$

Wie aus den in Tabelle 7 aufgeführten Mittelwerten ersichtlich, stimmen die Ergebnisse der drei Methoden sowohl hinsichtlich des Werts als auch der Streuung weitgehend überein. Die chemische Form in der Trinklösung ist hierbei entscheidend; Zirkonium-Oxalat wird um einen Faktor 5-8 stärker resorbiert als Zirkoniumionen in einer citratgepufferten Lösung.

Tabelle 7: Gastrointestinaler Absorptionsanteil f_A . Die angegebenen Unsicherheiten sind jeweils einfache Standardabweichungen.

Methode	citratgepufferte Zr-Lösung	Zr-Oxalat-Lösung
Konzentrationsverhältnis	$(1,5 \pm 0,9) \cdot 10^{-3}$	$(7,7 \pm 2,4) \cdot 10^{-3}$
Faltungintegral	$(1,5 \pm 0,9) \cdot 10^{-3}$	$(7,5 \pm 2,5) \cdot 10^{-3}$
Biokinetische Modellierung	$(1,0 \pm 0,7) \cdot 10^{-3}$	$(7,7 \pm 2,3) \cdot 10^{-3}$

7.3.2 Ruthenium

Wie bereits erwähnt beziehen sich die hier gezeigten Ergebnisse auf Probandenstudien, die noch vor dem Start dieses Vorhabens stattgefunden haben. Insgesamt wurden 16 Studien mit vier männlichen Probanden und einer weiblichen Probandin im Alter von 23-60 Jahren über einen Versuchszeitraum von 7 Jahren hinweg durchgeführt. Bei dieser Studie wurde insbesondere der Einfluss der chemischen Speziation auf die intestinale Aufnahme, das Retentionsverhalten im Blutplasma und die Ausscheidung untersucht. So wurde der orale Tracer in verschiedenen Formen verabreicht: in wässriger Lösung als Citrat- oder Ascorbat-Komplex, zusammen mit Baby-Nahrung oder Salat. Zusätzlich wurden drei verschiedene Injektionslösungen vorbereitet, die anorganisches Ruthenium und Ruthenium-Citratkomplexe in unterschiedlichen Konzentrationen beinhalteten.

7.3.2.1 Ermittlung der zeitlichen Retention im systemischen Kreislauf

Die Auswertung der Daten hierzu erfolgte bereits in der bereits erwähnten früheren Pilotstudie (siehe 4.3). Es zeigte sich, dass die Plasmaclearance deutlich von der chemischen Form von Ruthenium beeinflusst wird. Die Retentionszeit von anorganischem Ruthenium im Plasma betrug 23 ± 2 h, und die von Ruthenium-Citrat 17 ± 2 min.

7.3.2.2 Ermittlung der zeitlichen systemischen Ausscheidung in Urin

Die chemischen Speziation des Tracers spielt auch bei der Urinausscheidung eine große Rolle. Abbildung 10 zeigt die kumulierte Urinausscheidung nach Injektion von Ruthenium-Lösungen mit unterschiedlichen Komplexierungsstufen. Der größte Teil der Ausscheidung findet in den ersten 12 Stunden statt. Die nach 48-Stunden kumulierte Ausscheidung beträgt ca. 25% für anorganisches Ruthenium, für die überwiegend komplexierte Tracerlösung schwankt sie jedoch zwischen 55% und 75%. Diese Ergebnisse sind in guter Übereinstimmung mit den früher gewonnenen

Plasmatdaten, die auf eine schnellere Clearancerate für Ruthenium-Citrat-Komplexe hindeuteten.

Zum Vergleich: Das aktuelle ICRP-Modell sagt eine 48-Stunden-Ausscheidung von 16% vorher.

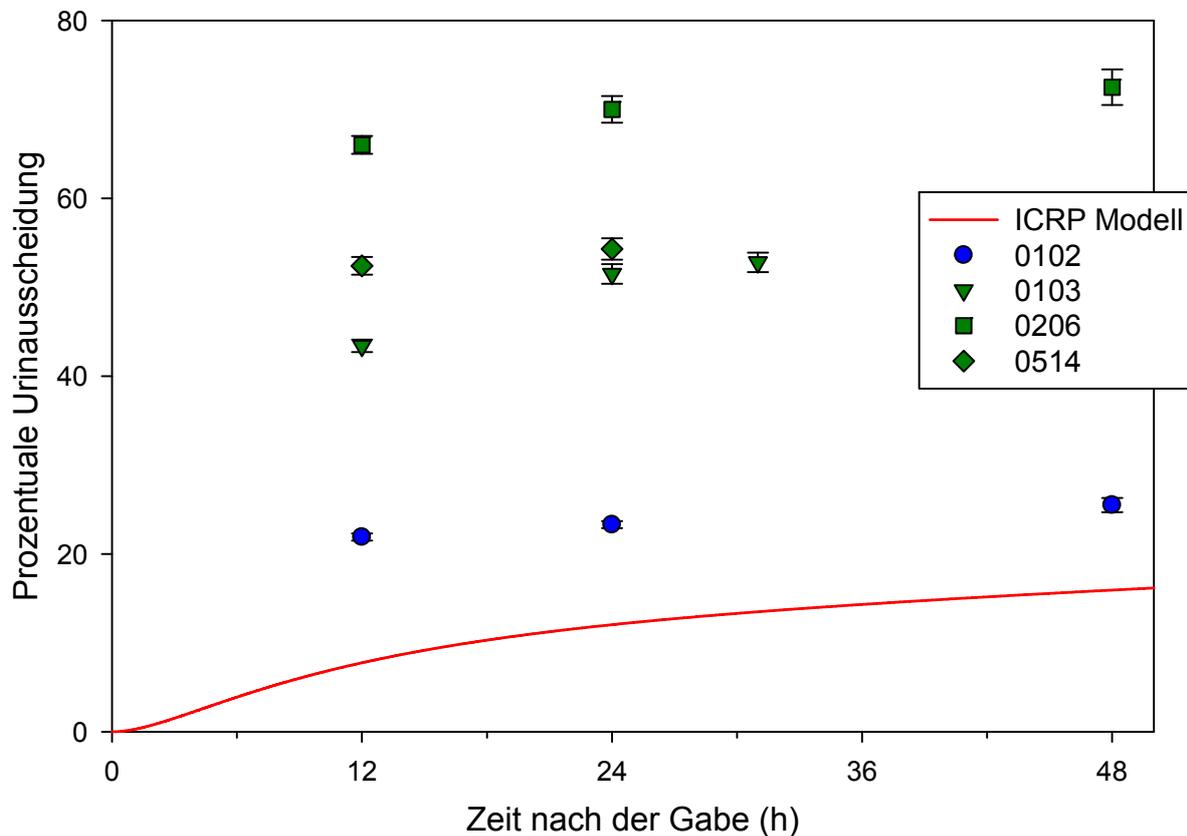


Abbildung 10: Prozentuale Urinausscheidung des intravenösen Tracers. Blaue Symbole: Lösung mit niedriger Komplexierungsstufe; Grüne Symbole: überwiegend komplexierte Lösung. Die Zahlen in der Legende beziehen sich auf die Studiencodes und repräsentieren je eine Testperson.

7.3.2.3 Ermittlung des gastrointestinalen Absorptionsanteils (f_1 -Faktor)

Die Konzentrationen des oralen Tracers in Blutplasma und Urin waren oft nah an der Nachweisgrenze oder sogar darunter, so dass in einigen Fällen nur eine Obergrenze des über den Magen-Darm-Trakt absorbierten Bruchteils abgeschätzt werden konnte. Darüber hinaus war es nicht immer möglich den Komplexierungsgrad von Ruthenium in der oral verabreichten Lösungen zu rekonstruieren, was aufgrund der oben beschriebenen kinetischen Unterschiede zu unterschiedlichen Werten für den

f_1 -Wert führen kann. Somit sind die damals erhaltenen Ergebnisse diesbezüglich fraglich. Infolgedessen konnte für den f_1 -Faktor nach Ingestion in wässriger Form lediglich ein Bereich (zwischen $1 \cdot 10^{-2}$ und $5,5 \cdot 10^{-2}$) ermittelt werden. Bei der Verabreichung des Ruthenium-Tracers zusammen mit Baby-Nahrung waren die Tracerkonzentrationen im Blutplasma stets unter der Nachweisgrenze, was einen f_1 -Wert deutlich kleiner als $2 \cdot 10^{-2}$ (Obergrenze) impliziert. Zusätzlich wurde Ruthenium zusammen mit Salat oral verabreicht. Dabei wurde anhand des 24-Stunden-Urinwerts ein f_1 -Wert von $(4,4 \pm 1,7) \cdot 10^{-3}$ ermittelt. Diese Ergebnisse sind in grober Übereinstimmung mit früheren Studien bei Menschen von Yamagata et al. [16] und im Allgemeinen etwas kleiner als der derzeit von der ICRP empfohlene Faktor von $5 \cdot 10^{-2}$ [14]. Dieser Wert entspricht somit einer Obergrenze der experimentell gewonnenen Werte und kann damit zu einer konservativen Abschätzung benutzt werden.

7.3.3 Cer

Wie bereits in 6.4 erwähnt, fanden sich keine (ab)stillenden Frauen bereit, an der Biokinetikstudie mit stabilen Isotopen von Cer teilzunehmen. Aus diesem Grund konnten die geplanten Untersuchungen hinsichtlich der Unterschiede in der Biokinetik von Cer für (ab)stillende und nicht-stillende Frauen nicht durchgeführt werden.

Nichtsdestotrotz wurden Probandentests mit stabilen Cer-Isotopen hinsichtlich des biokinetischen Verhaltens von Cer an anderen Personengruppen (Männer oder nicht-stillende Frauen) durchgeführt. Insgesamt fanden sich 6 Probanden (4 w, 2 m) im Alter von 21 bis 54 Jahren bereit. Drei der Probanden (1 w, 2 m) erhielten je $100 \mu\text{g}$ ^{136}Ce oral. Anschließend wurde nach einem festgelegten Zeitplan Plasmaproben und/oder Urin gesammelt. Den anderen drei Probanden wurden je $100 \mu\text{g}$ ^{136}Ce oral und zusätzlich je $1 \mu\text{g}$ ^{138}Ce intravenös verabreicht. Pro Experiment waren bis zu 13 Plasmaproben und 8 Urinproben gesammelt worden.

Die hochangereicherten Cer-Isotope ^{136}Ce , ^{138}Ce , und ^{142}Ce wurden über die Firma Campro als Ceroxidpulver geliefert. Die Anreicherung betrug 30,6 % für ^{136}Ce , 41,6 % für ^{138}Ce , und 93,88 % für ^{142}Ce . Zur Herstellung der entsprechenden Cer-Isotopenlösungen wurde das Ceroxid (10-20 mg) mit 3 ml 1 M konz. Salpetersäure (subboiled) und $100 \mu\text{l}$ H_2O_2 versetzt, und in einem verschlossenen Teflongefäß für 4 h bei 140°C erhitzt. Anschließend wurde die Lösung mit 30 ml 1 M konzentrierte Salpetersäure vermischt und mit deionisiertem Wasser auf ein Volumen von 100 ml gebracht.

Für die orale Cer-Gabe (^{136}Ce) wurde zunächst eine Stammlösung von 100 mg Ce/l hergestellt. Für den Probandentest wurden $100 \mu\text{g}$ Cer aus der Stammlösung mit einer wässrigen Lösung von etwa 80 ml vermischt; anschließend mit $2 \mu\text{l}$ HCl und

1 ml Natriumcitrat (10%) zur pH-Einstellung und pH-Stabilisierung versetzt, und das Gesamtvolumen mit deionisiertem Wasser auf 100 ml gebracht. Der pH der Lösung betrug etwa 4,4.

Für die intravenöse Cer-Lösung wurden folgende Komponenten gemischt: 400 ml NaCl (0,9%, steril), 180 µl HCl (conc., subboiled), 0,7 ml ^{138}Ce einer Stammlösung von 86 mg/L, 60 ml Natriumcitrat (10%), und das Gesamtvolumen mit deionisiertem Wasser auf 600 ml gebracht. Der pH der Lösung betrug etwa 6.1. Aliquots von 10 ml wurden in sterile Glasampullen gefüllt, zugeschmolzen und für 20 min bei 120°C autoklaviert. Die Sterilität der Proben wurde entsprechend der European Pharmacopoeia überprüft. Die empfohlene minimale Probenanzahl von 10% der Ampullen pro Charge wurde zufällig ausgewählt und auf mikrobielle Kontamination im Institut für Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene der TU München überprüft. Die Konzentrationen der Cer-Lösungen in Stammlösung und Ampullen wurden mittels ICP-MS und TIMS kontrolliert.

Für die Konzentrationsbestimmungen der Cer-Isotope in den biologischen Proben (Urin und Blutplasma) wurde ein Spike (^{142}Ce) eingesetzt. Hierfür wurde eine Stammlösung von ^{142}Ce hergestellt (ca. 175 mg/L), und diese entsprechend weiter verdünnt.

7.3.3.1 Ermittlung der zeitlichen Retention im systemischen Kreislauf

Wie im vorhergehenden Abschnitt beschrieben, wurden zwar Probandentests durchgeführt, jedoch konnten die biologischen Proben aufgrund der erheblichen Schwierigkeiten bei der Messung der Cer-Tracer mit TIMS noch nicht zuverlässig analysiert werden. Daher können hierzu noch keine Angaben gemacht werden.

7.3.3.2 Ermittlung der zeitlichen systemischen Ausscheidung in Urin

Aus dem gleichen Grund können auch hierzu noch keine Angaben gemacht werden.

7.3.3.3 Ermittlung des gastrointestinalen Absorptionsanteils (f_1 -Faktor)

Aus dem gleichen Grund können auch hierzu noch keine Angaben gemacht werden.

7.4 Untersuchung des Cer-Transfers in die Muttermilch

Zur Untersuchung des Cer-Transfers in die Muttermilch wurden Milchproben von 10 stillenden Müttern im Alter von 29 bis 40 Jahren gesammelt. Die Probensammlung wurde sowohl in der Geburtsstation des Klinikums rechts der Isar, in einer Stillgruppe oder zu Hause durchgeführt. Die gespendeten Milchproben umfassten Proben von unterschiedlichen Laktationsstadien, d.h. Milch von 5 d bis zu 51 Wochen post partum. Bei den meisten Proben handelte es sich um eine Einmalspende. Eine Person spendete insgesamt zwei Proben (6 Wochen und 19 Wochen post partum). Aufgrund von Hinweisen über mögliche Cer-Kontaminationen durch direkten Kontakt mit Materialien von Milchpumpen, wurde die Milch nicht mit einer Pumpe gesammelt, sondern, nach sorgfältiger Reinigung der Brust, durch Ausstreichung mit der Hand. Die Sammlung der Milch erfolgte in vorgereinigte Polyäthylengefäße. Anschließend wurden die Proben bis zur Messung bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ tief gefroren.

Zusätzlich gab es 3 ältere Milchproben, die aus einer früheren Untersuchung stammten. Diese Mütter waren um die 30 Jahre alt, und die Stillzeit betrug maximal 10 d post partum.

Tabelle 8: Geräteparameter von ICP-MS.

Instrument: ELAN DRC II, Perkin Elmer (Sciex, Toronto, Canada)
RF power: 1250 W
Plasma gas: 15 L Ar/min (Air Liquide, Gröbenzell)
Nebulizer: Meinhard (Glass Expansion)
Spray chamber: Cyclon (Perkin Elmer)
Nebulizer gas: 0.85 L Ar/min
Isotope: ^{140}Ce
Internal standard: ^{193}Ir , at 1 $\mu\text{g/L}$
Dwell time: 200 ms
Replicates: 3; 6 sweeps per reading
Sample introduction: Perimax peristaltic pump with "Antipulse-Head", Spetec, Erding.
Sample flow rate: 1.2 ml/min
Calibration: 8 point calibration (0-1000 ng/L): $r^2 = 0.99993$

Sämtliche Proben wurden nach Nassveraschung in einem Seif-Apparat mittels ICP-MS (Gerät ICP-MS ELAN, DRC II, Perkin Elmer, Sciex Ontario) gemessen. Die

instrumentellen Parameter des Gerätes sind in der Tabelle 8 gegeben. Die Nachweisgrenze (3σ Kriterium) in den Muttermilchproben betrug 5,8 ng/L, die Bestimmungsgrenze der Milchproben (10σ Kriterium) 10 ng/L. Die Blindbestimmung der Aufschlussprozedur wurde zusammen mit den Proben durchgeführt. Die Aufschlussblindwerte zeigten ebenso geringe Werte wie die Geräteblindwerte, die im Bereich von 0,2-0,3 ng/L lagen. Für die Proben CeMu0 und CeMu7 wurde die Bestimmungsgrenze auf 19 ng/L in der Muttermilch gesetzt, da von diesen Proben weniger als 1 ml zur Veraschung zur Verfügung standen.

Tabelle 9: Natürliche Cer-Konzentration in menschlicher Muttermilch (in ng/L).

Code	Alter (y)	Laktationsperiode (Tage oder Wochen post partum)	Cer in Muttermilch (ng/L) ^a Mittelwert±SE
CeMu1	39	5 T	23±15
CeMu5	40	5 T	10.7±0.7
CeMu4	33	6 T	11±6
CeMu2	31	>1 W	16.2±0.2
CeMu3	--	>1 W	13.0±1.1
CeMu6	29	4 W	14±9
CeMu9a	36	6 W	25.8±1.3
CeMu0	34	18 W	<LOQ*
CeMu9b	31	19 W	<LOQ*
CeMu7	37	20 W	<LOQ*
CeMu8	37	51 W	<LOQ*
Median			11 ng/L

^a Konzentrationen unterhalb des LOQ wurden berechnet als LOQ/2 für die Mittelwertsbestimmung.

In der Tabelle 9 sind die Ergebnisse der Cer-Messungen in der Muttermilch gezeigt. Die Auflistung entspricht der zunehmenden Laktationsperiode der Mütter. Angegeben sind die arithmetischen Mittelwerte der Ergebnisse, die aus 2 oder mehr Aliquots der jeweiligen Proben berechnet worden sind. Für die Proben CeMu0 und CeMu9a gab es lediglich eine einzelne Probe zur Messung.

Der Bereich der Cer-Konzentration in der Muttermilch lag zwischen der Nachweisgrenze und 25,8±1,3 ng/L. Der Medianwert betrug 11 ng/L. Der Cer-Gehalt in der Milch nach der 18. Woche post partum war kaum nachzuweisen und könnte

eine geringe Abnahme der Cer-Konzentration in der Muttermilch mit steigender Laktationsdauer bedeuten. Dieser mögliche Trend ist in Übereinstimmung mit der Studie von Wappelhorst et al. [20].

Die Konzentrationen von Cer in den 3 „alten“ Muttermilchproben ergaben Werte von 13 ± 3 , 36 ± 2 , und 41 ± 6 ng/L. Obwohl die Bedingungen für diese Proben (Sammlung unter anderen Bedingungen sowie eine längere Aufbewahrungsperiode) unterschiedlich waren, sind die gefundenen Cer-Konzentrationen den „neuen“ Muttermilchproben ähnlich (siehe Tabelle 9).

Im Allgemeinen liegen die Ergebnisse unserer Arbeit unterhalb des Bereiches, die Wappelhorst et al. [20] angegeben haben. Der Medianwert in der vorliegenden Arbeit ist etwa um den Faktor 10 niedriger als jener der Studie von Wappelhorst et al. [20].

Ein möglicher Grund für die von Wappelhorst et al. [20] veröffentlichten erhöhten Cer-Konzentrationen in der Muttermilch können die mehreren Präparationsschritte der Milchproben für die Messung mit dem ICP-MS sein (Gefriertrocknung, Poolen der Aufschlussproben oder offene Evaporierung der Proben), die ein höheres Kontaminationsrisiko mit Cer darstellen könnten. Zudem fehlen Angaben über Blindwertsbestimmungen von dieser komplizierten Aufarbeitungsprozedur.

Die gemessenen Konzentrationen von Cer in der Muttermilch entsprechen in übereinstimmender Weise den Werten von Cer im Blutplasma. Diese werden in der Literatur [10] mit bis zu 30 ng/L angegeben. Eine frühere Messung von Cer in 2 Blutplasmaproben, die von einem Freiwilligen unserer Arbeitsgruppe stammen, ergaben Werte von 26-55 ng/L.

Aus diesen Ergebnissen kann abgeleitet werden, dass von keiner Aufkonzentrierung von Cer aus dem Plasma in die Muttermilch während der Laktation auszugehen ist, nachdem beide Cer-Konzentrationen (Plasma und Milch) im selben Bereich liegen. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zur Studie von Wappelhorst et al. [20].

7.5 Vorschlag für biokinetische Modelle für die betrachteten Elemente auf Grundlage der vorangegangenen Ergebnisse

7.5.1 Zirkonium

Der Entwicklung des in Diagramm 11 gezeigten Modellvorschlags lagen das Modell der ICRP und die dazugehörigen Hintergrundinformationen zugrunde. Das angepasste neue Modell wurde aus folgenden Kriterien entwickelt:

- Die in Kapitel 7.3.1.1 präsentierte Beschreibung der zeitlichen Retention im Plasma durch die Summe zweier Exponentialfunktionen ist mit der Struktur des ICRP-Modells nicht konsistent. Die beobachtete Kinetik lässt sich aber

durch die Einführung eines Rückstroms von Zirkonium aus mindestens einem der beiden Gewebekompartimente erreichen. Dem Datensatz des intravenösen Tracers in Plasma kommt hierbei die größte Bedeutung zu, weil die Konzentrationen im Vergleich zu den anderen Datensätzen größer und die relativen Unsicherheiten kleiner sind.

- Die Einführung einer Rückflussmöglichkeit aus allen Gewebetypen in das Verteilungsvolumen (Transferkompartiment) bietet die Möglichkeit, die Urinausscheidung physiologisch orientiert zu modellieren, d.h. aus dem Transferkompartiment bzw. Plasma über die Harnblase in den Urin.
- Die Überprüfung der theoretischen Identifizierbarkeit limitiert die Auswahl möglicher Modellkandidaten. Überprüft wird hierbei die Frage, ob eine Modellstruktur mit dem gegebenen experimentellen Ablauf und den gemessenen Probentypen überhaupt eine eindeutige Lösung aller Parameter liefern kann.
- Weitere Randbedingungen für die Modellauswahl ist die praktische Identifizierbarkeit, d.h. die eindeutige Bestimmbarkeit von Parametern mit den gegebenen Daten und ihren Unsicherheiten. Hierbei spielt auch der zeitliche Rahmen der Untersuchungen eine Rolle.
- Alle Modellierungen wurden mit der SAAM II Software (Saam Institute 1992-2002) durchgeführt, die eine simultane Anpassung der Parameter einer Modellstruktur an den gesamten Datenbestand eines Experiments erlaubt. Die in Tabelle 10 angegebenen Parameterwerte sind die gewichteten Mittel der Ergebnisse aller betrachteten Experimente. Die angegebenen Unsicherheiten sind die jeweiligen einfachen Standardfehler.

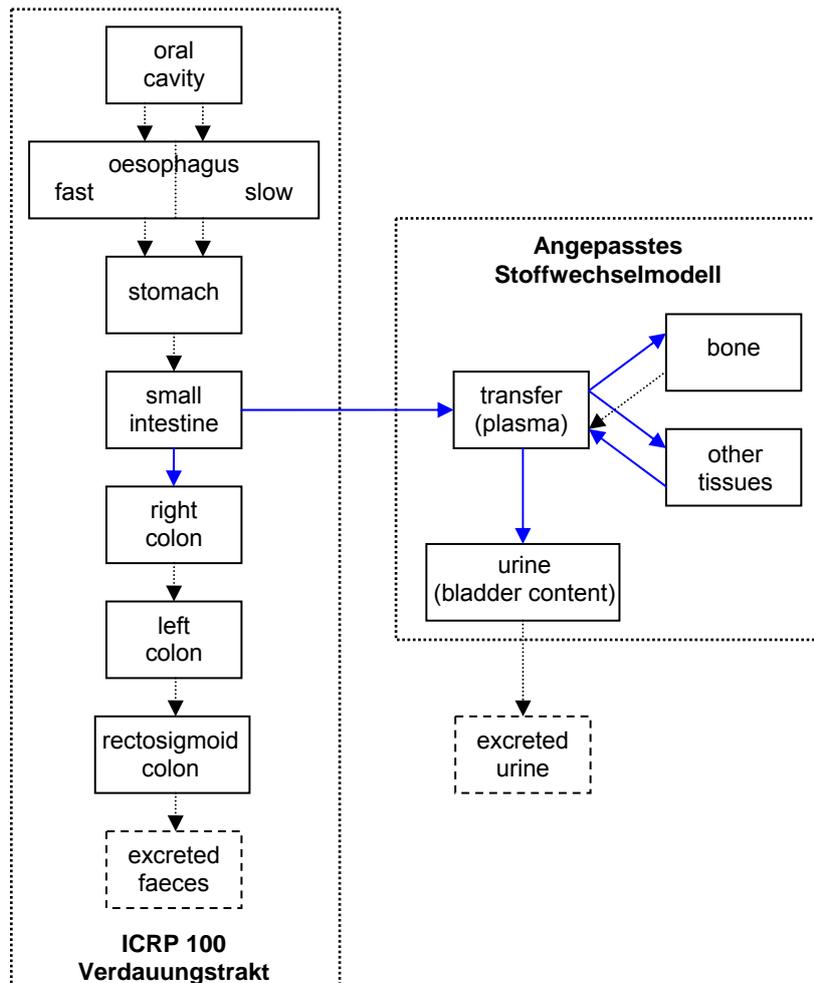


Abbildung 11: Struktur des vorgeschlagenen Modells für Zirkonium. Kompartimentbezeichnungen wurden von der ICRP übernommen. Durchgezogene blaue Pfeile symbolisieren Übergänge, deren Transferrate angepasst wurde. Die den gepunkteten Pfeilen zugrunde liegenden Transferraten wurden aus den Empfehlungen der ICRP übernommen.

Tabelle 10: Im Rahmen der Studie ermittelte Parameterwerte.

Parameter	Wert (h ⁻¹)	Unsicherheit (h ⁻¹)
$\lambda_{\text{small intestine (SI)} \rightarrow \text{right colon}}$	0,6	0,7
$\lambda_{\text{other tissue} \rightarrow \text{transfer}}$	$9,0 \cdot 10^{-2}$	$1,4 \cdot 10^{-2}$
$\lambda_{\text{transfer} \rightarrow \text{other tissue}}$	$8,9 \cdot 10^{-2}$	$1,8 \cdot 10^{-2}$
$\lambda_{\text{transfer} \rightarrow \text{bone}}$	$4,9 \cdot 10^{-3}$	$0,7 \cdot 10^{-3}$
$\lambda_{\text{transfer} \rightarrow \text{urine}}$	$5,1 \cdot 10^{-4}$	$0,7 \cdot 10^{-4}$
Plasma mass (kg)	3,39	0,19
Citrat		
$\lambda_{\text{SI} \rightarrow \text{transfer}}$	$6 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-4}$
f_A	$1,0 \cdot 10^{-3}$	$0,3 \cdot 10^{-3}$
Oxalat		
$\lambda_{\text{SI} \rightarrow \text{transfer}}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$6 \cdot 10^{-3}$
f_A	$7,7 \cdot 10^{-3}$	$1,3 \cdot 10^{-3}$

Auf drei Besonderheiten soll hier hingewiesen werden:

- Die modellierte Masse des Verteilungsvolumens ist konsistent mit der Masse des menschlichen Blutplasmas. Zumindest in den ersten Stunden nach Tracerapplikation dürfte demnach Zirkonium praktisch ausschließlich über den Blutkreislauf verteilt werden. Eine rasche Bindung an Erythrozyten ist sowohl aus dieser Beobachtung als auch aus dem Ergebnis eines hierzu durchgeführten in-vitro-Versuches mit Vollblut wahrscheinlich auszuschließen.
- Die langfristige Ausscheidung von Zirkonium aus dem Stoffwechsel ist unklar. Mit dem gegebenen experimentellen Ablauf können Hautschuppen, Schweiß, Haare und ähnliche Ausscheidungspfade nicht getrennt berücksichtigt werden. Die Ausscheidung über Sekretion in den Verdauungstrakt wurde bewusst nicht modelliert, weil mit den gegebenen Daten und Unsicherheiten keine eindeutige Unterscheidung zwischen diesem Ausscheidungspfad und einer langfristigen Speicherung in den Knochen möglich war. Weil in der Literaturrecherche keine zuverlässigen Daten zur fäkalen Ausscheidung gefunden werden konnten, jedoch Hinweise auf die Speicherung von Zirkonium in Knochen aus Tierversuchen vorliegen, wurde daher auf den Ausscheidungspfad über den Verdauungstrakt verzichtet. Die Transferrate aus den Knochen zurück in den systemischen Kreislauf wurde aus den

Empfehlungen der ICRP für Ausscheidung aus dem Knochen übernommen. Die zugehörige Halbwertszeit von 10^4 d für Erwachsene ist experimentell im Zeitrahmen der Studie nicht zu ermitteln.

- Die Unsicherheit der Transferraten aus dem Dünndarm ist sehr hoch. Dies ist eine Konsequenz des geringen aufgenommenen Anteils f_A , der Modellierung mit einer Kinetik erster Ordnung, und dem gemessenen schnellen Anstieg der Konzentration des oralen Tracers in Plasma in Kombination mit der interindividuellen Schwankung der ersten diesbezüglichen Messwerte. Durch die gute Bestimmbarkeit des f_A -Faktors beeinflussen die genauen Werte der beiden Transferraten das Ergebnis einer Dosisberechnung für mittel- und langlebige Radionuklide von Zirkonium nur wenig. Für Abschätzungen mit kurzlebigen Radionukliden (z.B. ^{86}Zr , ^{87}Zr oder ^{97}Zr) wäre eine genaue Kenntnis der Aufnahmekinetik im individuellen Fall aber wesentlich.

In den folgenden Abbildungen 12-15 werden für jeden Tracer und Probenotyp die gemessenen Daten, die Vorhersage des ICRP-Modells, und die Vorhersage des vorgeschlagenen Modells gegenübergestellt.

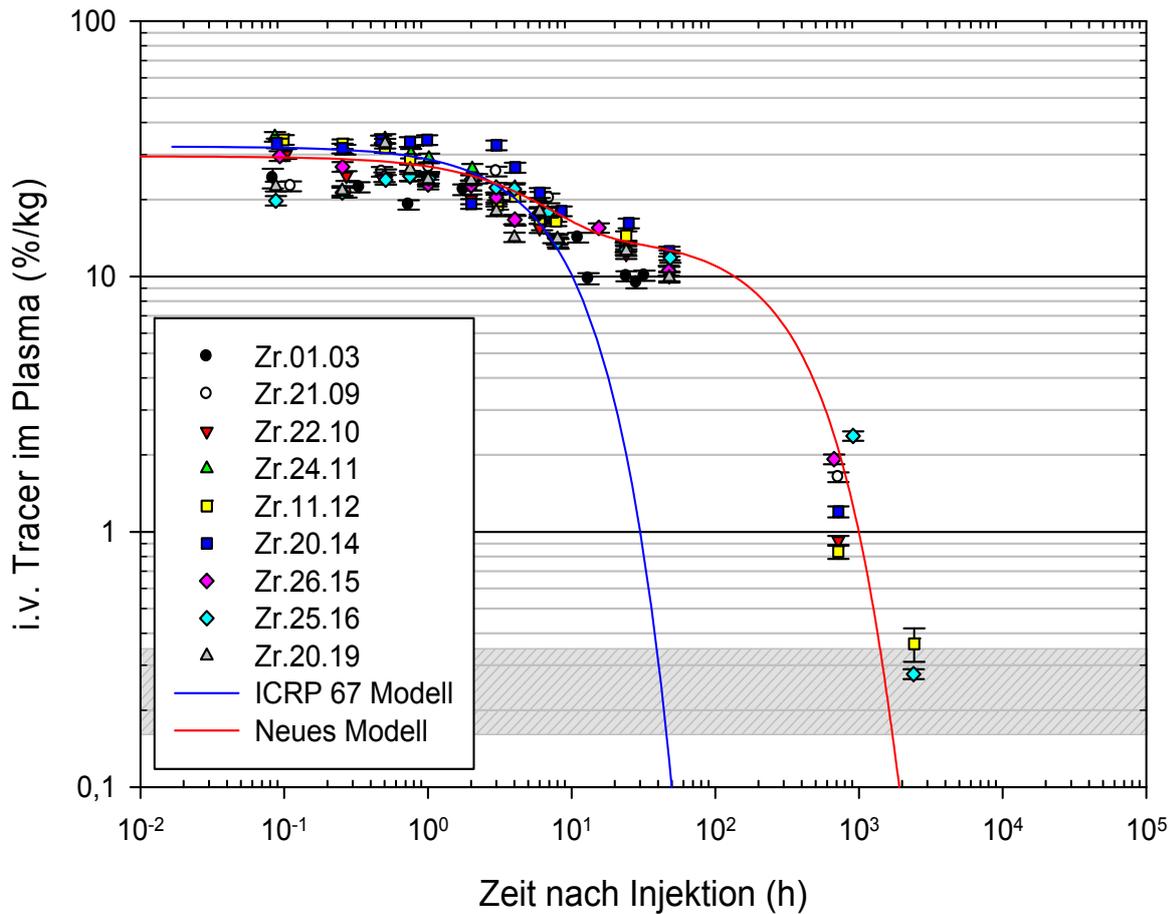


Abbildung 12: Intravenöser Tracer in Plasma für Zirkonium.

Mit einer Halbwertszeit von 6 h für die Retention im Plasma zeigt das ICRP-Modell eine deutlich zu schnelle Abnahme der Konzentration gegenüber den gemessenen Daten. Das neue Modell beschreibt die Daten bis zu 30 d gut. Für längere Zeiten lässt sich wegen Unterschreitung der Nachweisgrenze keine klare Aussage treffen.

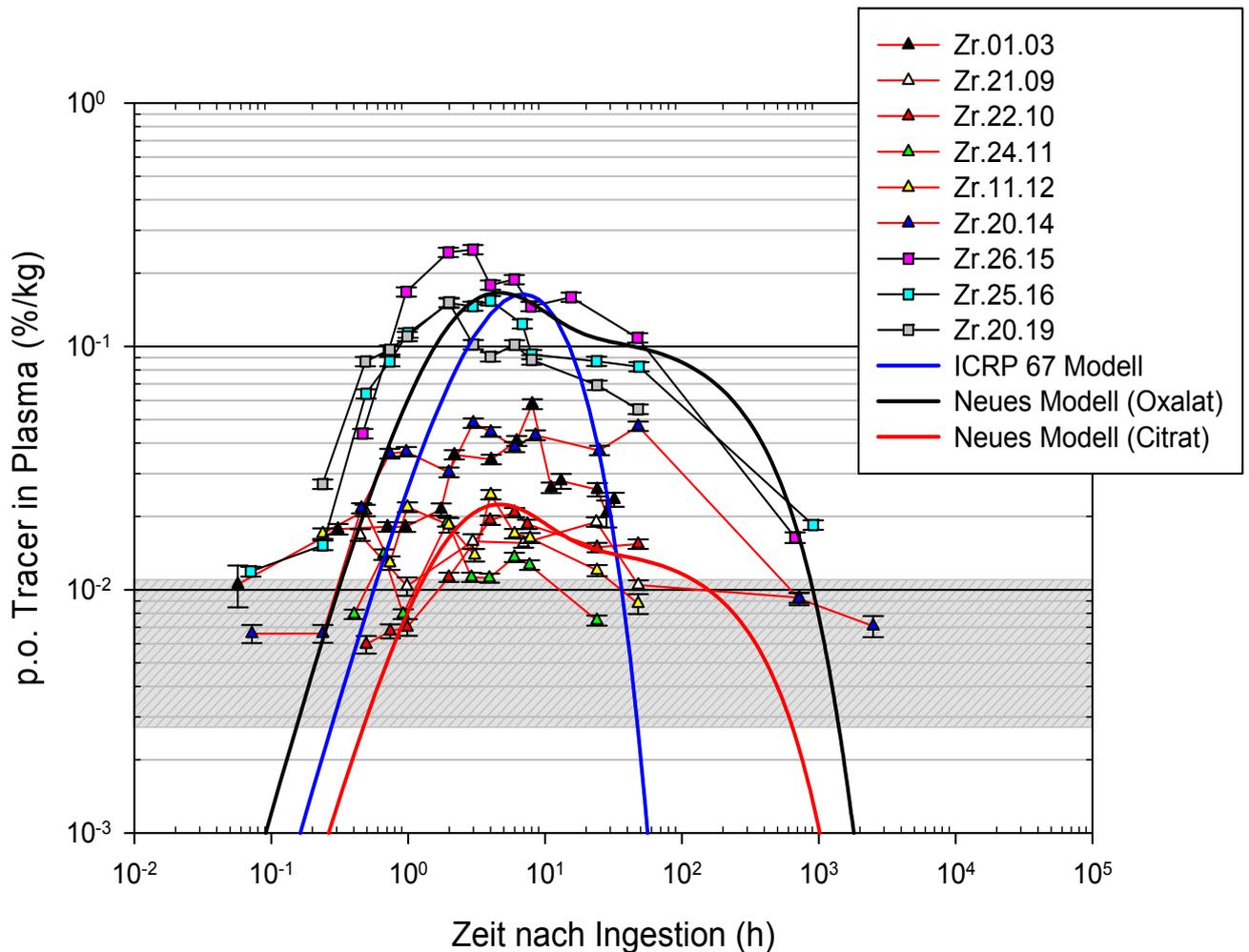


Abbildung 13: Oral verabreichter Tracer in Plasma. Experimente mit einer citratgepufferten Trinklösung sind mit roten Verbindungslinien dargestellt, Experimente mit Zirkonium-Oxalat-Lösung mit schwarzen Linien.

Generell zeigen alle Modelle eine gegenüber den Messdaten verzögerte Aufnahme aus dem Verdauungstrakt in das Plasma. Trotz der großen Streuung und individueller Unterschiede ist die erhöhte gastrointestinale Absorption von Zirkonium-Oxalat klar erkennbar. Die Lage der formspezifischen Konzentrationsverläufe des vorgeschlagenen Modells spiegelt dies wider.

Unabhängig von der chemischen Form des Zirkoniums in der Trinklösung weist das ICRP-Modell einen zu schnellen Abfall der Konzentration im Plasma auf. Für das vorgeschlagene Modell ist diesbezüglich nur eine qualitativ brauchbare Übereinstimmung festzustellen, weil zu Zeiten über 2 d die Mehrzahl der Messungen die Nachweisgrenze unterschreitet.

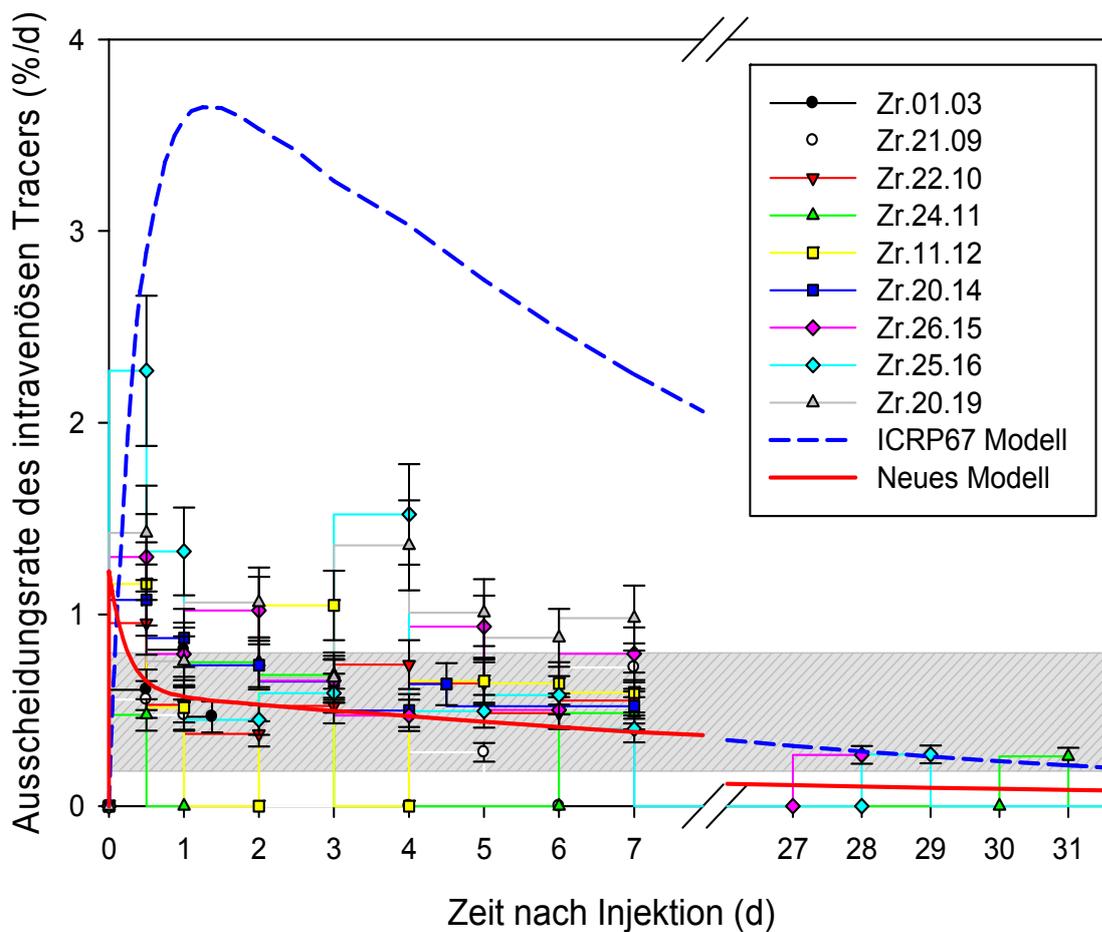


Abbildung 14: Intravenöser Tracer in Urin.

Im Verlauf der ersten Woche nach Injektion liegt die Vorhersage für Zirkonium im Urin des vorgeschlagenen neuen Modells näher an den Daten als die des ICRP-Modells, unterschätzt aber tendenziell die gemessenen Werte. Der im ICRP-Modell auffällige und in den Messdaten nicht nachvollziehbare Scheitelpunkt bei ~1,5 d entfällt mit dem neuen Modell.

Zu längeren Zeiten liegen kaum mehr Messwerte über der Nachweisgrenze vor.

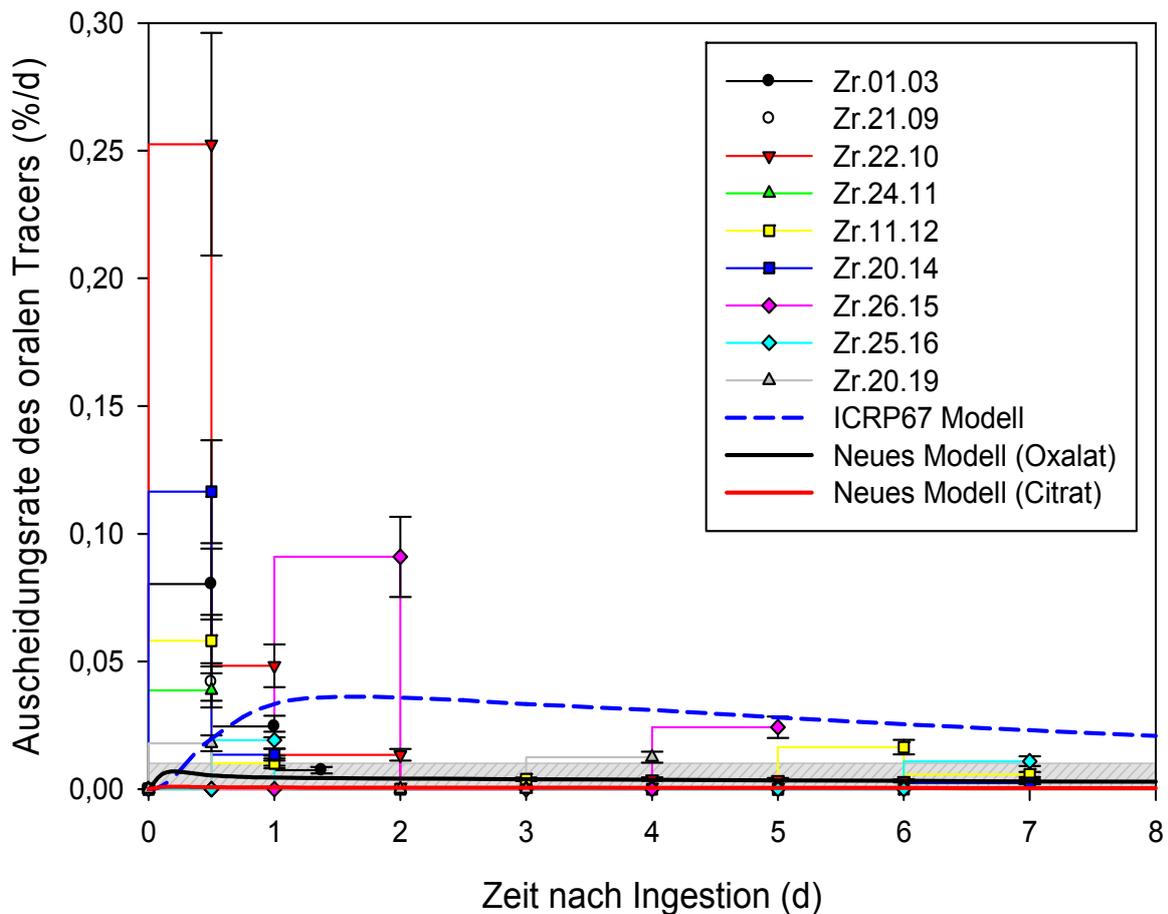


Abbildung 15: Oral verabreichter Tracer im Urin.

Die extreme Schwankung der Messdaten und die große Zahl der nicht mehr nachweisbaren Konzentrationen erlauben keine abschließende Beurteilung der Modelle. Das tendenzielle Verhalten der Modellvorhersagen hinsichtlich der Über- bzw. Unterschätzung der Messwerte ist aber ähnlich wie beim intravenös verabreichten Tracer.

Zusammenfassend stellt das vorgeschlagene neue Modell eine Verbesserung hinsichtlich der Beschreibung der Biokinetik von Zirkonium in Plasma dar. Durch die Einführung von Rückströmen aus Geweben in das Transfervolumen erlaubt das Modell besonders für Zeiten über 1 d nach Aufnahme hinaus eine präzisere Beschreibung der gewonnen Messdaten.

Die tendenzielle Unterschätzung der Urinausscheidung, verbunden mit der nicht mehr einbezogenen Ausscheidung aus dem systemischen Kreislauf in den

Verdauungstrakt, hat bei bekannter Aufnahme eine konservative Abschätzung der Dosis durch längeren Verbleib von Radionukliden im Körper zur Folge.

7.5.2 Ruthenium

Die für Ruthenium beschriebenen Ergebnisse hinsichtlich des biokinetischen Verhaltens lassen den Schluss zu, dass keine Änderungen der ICRP-Modellstruktur und der vorgeschlagenen f_1 -Werte notwendig sind. Die Ergebnisse dieser Studie lassen den Schluss zu, dass der von der ICRP vorgeschlagene f_1 -Wert als eine Obergrenze für eine konservative Abschätzung angesehen werden kann. Dagegen scheinen einzelne Transferkoeffizienten von der chemischen Form des verabreichten Rutheniums abhängig zu sein. Die Anzahl der verfügbaren Datensätze reicht jedoch nicht aus, um statistisch signifikante Aussagen hierzu zu treffen. Es können lediglich vorläufige Schätzungen für die Plasmaclearance (20 min für organisches Ruthenium, 1 d für anorganisch Ruthenium) und für die direkt ausgeschiedene Fraktion (50% für organisches Ruthenium, 20% für anorganisches Ruthenium) angegeben werden.

7.5.3 Cer

Wie oben im Text näher erläutert, konnten die Arbeiten zur Biokinetik von Cer noch nicht abgeschlossen werden. Aus diesem Grund können noch keine Aussagen zur Modellvalidierung getroffen werden.

8 Ausblick

Die im Rahmen dieses Projekts gewonnenen Ergebnisse haben bezüglich der Biokinetik von Zirkonium, Ruthenium und Cer (als Vertreter der Lanthanide) viele Kenntnislücken geschlossen, aber gleichzeitig auch neue Fragen mit sich gebracht. Aufgrund des im Fall von Ruthenium nachgewiesenen großen Einflusses der chemischen Speziation auf die systemische Kinetik wären weitere gezielte Untersuchungen des gastrointestinalen Absorptionsanteils von großem Interesse. Leider liegt jedoch im Moment keine Zustimmung des medizinischen Leiters der Probandentests zur Durchführung weiterer Studien am Menschen vor.

Die angefangenen Untersuchungen zur Biokinetik von Cer sollen zukünftig weiter fortgeführt werden. Dazu muss die Methodik zur Messung der verabreichten Cer-Tracer in den von der Ethikkommission erlaubten Konzentrationen optimiert und weitere Probandenstudien durchgeführt werden. Die Planung dieses Vorhabens ist im Gange, ebenso wie Studien hinsichtlich weiterer Elemente mit fehlender oder unsicherer Datenlage.

9 Literatur

1. ICRP 2006, Human alimentary tract model for radiological protection. ICRP Publication 100
2. Minoia, C., Sabbioni, E., Ronchi, A., Gatti, A., Pietra, R., Nicolotti, A., Fortaner, S., Balducci, C., Fonte, A., and Roggi, C. 1994, Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European community. IV. Influence of dietary factors. *The Science of The Total Environment* 141, 181-195
3. Ghosh, S., Sharma, A., and Talukder, G. 1992, Zirconium. An abnormal trace element in biology. *Biological Trace Element Research* 35, 247-271
4. Merian, E. 1984, *Metalle in der Umwelt: Verteilung, Analytik und biologische Relevanz*. Eds. Verlag Chemie
5. Hamilton, E.I., Sabbioni, E., and van der Venne, M.T. 1994, Element reference values in tissues from inhabitants of the European community. VI. Review of elements in blood, plasma and urine and a critical evaluation of reference values for the United Kingdom population. *The Science of The Total Environment* 158, 165-190
6. Morita, H., Kita, T., Umeno, M., Morita, M., Yoshinaga, J., and Okamoto, K. 1994, Analysis of serum elements and the contaminations from devices used for serum preparation by inductively coupled plasma mass spectrometry. *The Science of The Total Environment* 151, 9-17
7. de Bartolo, D., Cantone, M.C., Giussani, A., Garlaschelli, L., Roth, P., and Werner, E. 2000, Determination of biokinetic parameters for ingestion of radionuclides of zirconium in animals using stable tracers. *Radiation and Environmental Biophysics* 39, 53-58
8. Engström, E., Stenberg, A., Senioukh, S., Edelbro, R., Baxter, D.C., and Rodushkin, I. 2004, Multi-elemental characterization of soft biological tissues by inductively coupled plasma-sector field mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 521, 123-135
9. Rodushkin, I., Engström, E., Stenberg, A., and Baxter, D.C. 2004, Determination of low-abundance elements at ultra-trace levels in urine and serum by inductively coupled plasma-sector field mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 380, 247-257
10. Heitland, P. and Köster, H.D. 2006, Biomonitoring of 37 trace elements in blood samples from inhabitants of northern Germany by ICP-MS. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 20, 253-262
11. Mealey, J. 1957, Turn-over of carrier-free zirconium-89 in man. *Nature* 179, 673-674
12. Veronese, I., Cantone, M.C., Giussani, A., Maggioni, T., Birattari, C., Bonardi, M., Groppi, F., Garlaschelli, L., Werner, E., Roth, P., Höllriegl, V., Louvat, P., Felgenhauer, N., and Zilker, T. 2003, Stable tracer investigations in humans for assessing the biokinetics of ruthenium and zirconium radionuclides. *Radiation Protection Dosimetry* 105, 209-212

13. ICRP 1979, Limits for intakes of radionuclides by workers. Part 1. ICRP Publication 30
14. ICRP 1993, Age-dependent doses to members of the public from intake of radionuclides. Part 2: Ingestion dose coefficients. ICRP Publication 67
15. ICRP 1989, Age-dependant doses to members of the public from intake of radionuclides: Part 1: Ingestion dose coefficients. ICRP Publication 56
16. Yamagata, N. and Iwashima, K. 1969, Uptake and retention experiments of radioruthenium in man. *Health Physics* 16, 159-166
17. Bettinelli, M., Spezia, S., Terni, C., Ronchi, A., Balducci, C., and Minoia, C. 2002, Determination of rare earth elements in urine by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 16, 579-584
18. Rodushkin, I. and Axelsson, M.D. 2003, Application of double focusing sector field ICP-MS for multielemental characterization of human hair and nails. Part III. Direct analysis by laser ablation. *Science of the Total Environment* 305, 23-39
19. Friel, J.K., Andrews, W.L., Jackson, S.E., Longerich, H.P., Mercer, C., McDonald, A., Dawson, B., and Sutradhar, B. 1999, Elemental composition of human milk from mothers of premature and full-term infants during the first 3 months of lactation. *Biol Trace Elem Res* 67, 225-247
20. Wappelhorst, O., Kuehn, I., Heidenreich, H., and Markert, B. 2002, Transfer of selected elements from food into human milk. *Nutrition* 18, 316-322
21. ICRP 2004, Doses to infants from radionuclides ingested in mothers' milk. ICRP Publication 95
22. Taylor, D.M. and Leggett, R.W. 1998, A generic biokinetic model for the lanthanide elements. *Radiation Protection Dosimetry* 79, 351-354
23. Taylor, D.M. and Leggett, R.W. 2003, A generic biokinetic model for predicting the behaviour of the lanthanide elements in the human body. *Radiation Protection Dosimetry* 105, 193-198
24. Thorne, M.C. 2003, Estimation of animal transfer factors for radioactive isotopes of iodine, technetium, selenium and uranium. *Journal of Environmental Radioactivity* 70, 3-20
25. Arzneibuchkommentar 1999, Wissenschaftliche Erläuterungen zum Europäischen Arzneibuch und zum Deutschen Arzneibuch. Eds. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft GmbH Stuttgart, Govi-Verlag-Pharmazeutischer Verlag

Anhang

I Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die im Rahmen dieses Forschungsvorhabens gewonnenen Ergebnisse und Schlussfolgerungen wurden bereits teilweise und werden auch in weiteren Veröffentlichungen für die Allgemeinheit und für die ICRP im Speziellen zur Verfügung gestellt. Durch die Validierung bzw. Verbesserung von biokinetischen Modellen für radiologisch relevante Radionuklide wird ein Beitrag geliefert, die resultierende Strahlendosis nach Inkorporation radiotoxischer Umwelttoxine, sei es für Arbeiter im beruflichen Umfeld oder für die Allgemeinbevölkerung nach kerntechnischen Störfällen, gesicherter zu berechnen und Gefahrenpotentiale besser vorherzusagen.

Es wird derzeit keine Verwertbarkeit der Ergebnisse dieses Forschungsvorhabens im Sinne von Erfindungen, Schutzrechtsanmeldungen und dergleichen gesehen. Es ist nicht vorgesehen, die Ergebnisse dieses Forschungsvorhabens im wirtschaftlichen Sinne zu verwerten.

II Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen

Veröffentlichungen im Zeitraum 2005-2008

Greiter, M. (2008)

Study of the biokinetics of zirconium isotopes in humans and its relevance to internal dosimetry

Dissertation an der Technischen Universität München.

Veronese, I., Cantone, M.C., Giussani, A., Arogunjo, A., Roth, P., Höllriegl, V., Oeh, U., Holzwarth, U., Abbas, K. (2007)

A technique for the determination of ruthenium stable isotopes in urine samples.

Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry 271(2), 497-501.

Greiter, M., Abbas, K., Cantone, M.C., Carli, W., Geisler, A., Gerstmann, U., Giussani, A., Hertenberger, R., Holzwarth, U., Höllriegl, V., Oeh, U., Paretzke, H.G., Veronese, I. (2007)

Measurement techniques for tracer kinetic studies with stable isotopes of zirconium.

Radiation Protection Dosimetry 127, 1-4, 266-269.

Lopez, M.A., Etherington, G., Castellani, C.M., Franck, D., Hurtgen, C., Marsh, J., Nosske, D., Doerfel, H., Andrasi, A., Bailey, M., Balashazy, I., Battisti, P., Bérard, P., Berkowski, V., Birchall, A., Blanchardon, E., Bonchuk, Y., de Carlan, L., Cantone, M.C., Challeton-de Vathaire, C., Cruz-Suarez, R., Davis, K., Dorrian, D., Giussani, A., Le Guen, B., Hodgson, A., Jourdain, J.R., Koukoulidou, V., Luciani, A., Malatova, I., Molokanov, A., Moraleda, M., Muikku, M., Oeh, U., Puncher, M., Rahola, T., Ratia, H., Stradling, N. (2007)
Coordination of Research on Internal Dosimetry in Europe: The CONRAD Project.
Radiation Protection Dosimetry 127, 1-4, 311-316.

Noßke, D., Berkovski, V., Birchall, A., Blanchardon, E., Cantone, M.C., Davis, K., Giussani, A., Luciani, A., Marsh, J., Oeh, U., Ratia H., Lopez, M.A. (2007)
The work of the CONRAD task group 5.2: Research

Oeh, U., Höllriegl, V., Li, W.B., Roth, P., Paretzke, H.G. (2006)
Biokinetic Investigations with Stable Strontium, Ruthenium and Zirconium Isotopes for Dose Estimate of Incorporated Radionuclides.
In: Windisch, W., Plitzner, Ch. (Eds.), Experimentelle Modelle der Spurenelementforschung, Herbert Utz Verlag GmbH, München, 106-113.

Oeh, U., Höllriegl, V., Li, W.B., Roth, P. (2005)
Biokinetics and Internal Dosimetry of Incorporated Radionuclides.
Proceedings of the 14th International Conference of Medical Physics, Nürnberg, Germany, 14-17/09/2005.
In: Biomedizinische Technik, Vol. 50, Supplementary Vol. 1, Part 2, ISBN: 0939-4990, 919-920.

Giussani, A., Cantone, M.C., Carli, W., Gerstmann, U., Greiter, M., Hertenberger, R., Höllriegl, V., Leopold, K., Oeh, U., Veronese, I., Paretzke, H.G. (submitted)
Proton Activation Analysis for Tracer Kinetic Studies with Stable Isotopes of Ruthenium.
Jahresbericht 2007 Annual Report, Maier-Leibnitz-Laboratorium der LMU und TU München, Garching

Eingereichte Veröffentlichungen

Höllriegl, V., Giussani, A., Oeh, U., Michalke, B. (submitted)
Measurement of cerium in human breast milk.
J Trace Elements Biol Medicine

Lopez, M.A., Etherington, G., Castellani, C.M., Franck, D., Hurtgen, C., Marsh, J.W., Nosske, D., Breustedt, B., Blanchardon, E., Andrasi, A., Bailey, M.R., Balashazy, I., Battisti, P., Bérard, P., Birchall, A., Broggio, D., Challeton-de-Vathaire, C., Cruz-Suarez, R., Doerfel, H., Giussani, A., Hodgson, A., Koukoulidou, V., Kramer, G.H., Le Guen, B., Luciani, A., Malatova, I., Molokanov, A., Moraleda, M., Muikku, M., Oeh, U., Puncher, M., Rahola, T., Stradling, N., Vrba, T. (submitted)
Internal Dosimetry: Towards Harmonisation and coordination of research.
Radiation Protection Dosimetry

Noßke, D., Birchall, A., Blanchardon, E., Breustedt, B., Giussani, A., Luciani, A., Oeh, U., Lopez, M.A. (submitted)
Development, implementation and quality assurance of biokinetic models within CONRAD.
Radiation Protection Dosimetry

Geplante Veröffentlichungen (vorläufige Titel)

Oeh, U., Cantone, MC., Gerstmann, U., Giussani, A., Greiter, M., Hertenberger, R., Höllriegl, V., Leopold, K., Veronese, I. (submitted)
Biokinetics of ruthenium isotopes in humans and its dependence on chemical speciation.
Proceedings 12th International Congress of the International Radiation Protection Association, Buenos Aires, Argentina 2008

Giussani, A., Noßke, D., Birchall, A., Blanchardon, E., Breustedt, B., Luciani, A., Marsh, J., Oeh, U., Ratia, H., Lopez, MA. (submitted)
Characterisation, implementation and quality assurance of biokinetic models. The experience of the CONRAD Task Group 5.2
Proceedings 12th International Congress of the International Radiation Protection Association, Buenos Aires, Argentina 2008

Greiter, M., Giussani, A., Hertenberger, R., Höllriegl, V., Gerstmann, U., Oeh, U.
Study of the biokinetics of zirconium isotopes in humans and its relevance to internal dosimetry.

Greiter, M., Höllriegl, V., Oeh, U.
Application of thermal ionization mass spectrometry to tracer investigations in humans with enriched stable isotopes of zirconium

Khagai, O., Höllriegl, V., Giussani, A., Oeh, U.
Optimisation of thermal ionization mass spectrometry measurements for cerium isotopes

III Einhaltung der Kosten- und Zeitplanung

Die bewilligte Zuwendung betrug insgesamt 347.829,- €. Die Eigenbeteiligung am Projekt lag bei ebenfalls 347.829,- €. Die Projektausgaben konnten exakt eingehalten werden, so dass es zu keiner Überziehung der Kosten kam.

Der ursprüngliche Bewilligungszeitraum war vom 01.09.2005 bis 31.08.2007 vorgesehen. Aufgrund von Verzögerung bei der Personalgewinnung wurde eine kostenneutrale Projektverlängerung bis zum 31.12.2007 beantragt. Das Projekt konnte in dieser Zeit abgeschlossen werden.

IV Kurzfassung des fachlichen Inhalts

Das Wissen über das biokinetische Verhalten von Radionukliden ist von großer Bedeutung für die Dosisabschätzung nach Inkorporation dieser radioaktiven Stoffe. Für viele Radionuklide liegen jedoch bis heute nur wenige oder unzureichende Informationen zur Biokinetik vor, da diese Daten in vielen Fällen anhand von Tierexperimenten gewonnen wurden und die Übertragbarkeit auf den Menschen damit nicht gesichert ist. Dies gilt im Wesentlichen auch für Zirkonium, Ruthenium und auch für Lanthanide. Radionuklide dieser Elemente können bei kerntechnischen Unfällen signifikant zur Dosis für beruflich Strahlenexponierte und Einzelpersonen der Bevölkerung beitragen. Ziel des Vorhabens war es daher, das Wissen hinsichtlich der biokinetischen Gegebenheiten für diese Elemente direkt am Menschen experimentell zu generieren. Dies konnte durch den Einsatz von stabilen Isotopen ermöglicht werden, die sich aus biokinetischer Sicht von den entsprechenden Radioisotopen nicht unterscheiden.

Auf diese Weise war es möglich, Informationen bezüglich des Absorptions-, Retentions- und Ausscheidungsverhaltens der jeweiligen Radionuklide zu gewinnen und daraus verbesserte biokinetische Modelle herzuleiten. Darüber hinaus galt es für das Element Cer aus der Gruppe der Lanthanide den Transfer in die Muttermilch näher zu untersuchen, da hier teilweise widersprüchliche Daten in der Literatur vorlagen.

Im Vorfeld von Probandentests mussten die für die Untersuchungen geeigneten stabilen Isotope und deren Verabreichungsmengen ausgewählt werden. Dies wurde sowohl aus toxikologischen sowie aus messtechnischen Gesichtspunkten heraus betrachtet.

Für die Untersuchungen mit Zirkonium wurden zwei verschiedene Methoden zur Messung der Isotopenkonzentrationen in den biologischen Proben entwickelt und angewendet: Thermionen-Massenspektrometrie und Protonenaktivierungsanalytik. Insgesamt wurden 16 Experimente mit Zirkonium bei 11 Probanden durchgeführt. Von weiteren 7 im Vorfeld durchgeführten Experimenten waren ebenfalls noch Proben zur weiteren Verwendung vorhanden. Anhand dieser Experimente war es möglich, Informationen zur zeitlichen Retention von Zirkonium im systemischen Kreislauf zu gewinnen und diese mit bisherigen Literaturdaten zu vergleichen. Es zeigte sich, dass sich die Tracerkonzentration im Blutplasma gut mit einem doppelt exponentiellen Abstrom mit mittleren Halbwertszeiten von 1,4 h für den schnellen Teilprozess und 3,3 d für den langsamen Teilprozess beschreiben lässt. Für die injizierten Zirkonium-Tracer wurde darüber hinaus die kumulative Urinausscheidung im Verlauf der ersten Woche bestimmt. Es zeigte sich, dass innerhalb der ersten

24 h nach Zirkonium-Injektion 0,6-2,9 % des Tracers mit dem Urin ausgeschieden werden. Die durchschnittliche tägliche Ausscheidung an den restlichen Tagen der ersten Woche liegt bei 0,3-0,9 %, und die kumulierte Ausscheidung nach der ersten Woche bei 2,5-7,0 %. Durch die Verabreichung zweier verschiedener Zirkonium-Tracer, wovon einer oral und der andere intravenös appliziert wurde, konnte der gastrointestinale Absorptionsanteil bestimmt werden. Dabei zeigte sich, dass die chemische Form des Zirkoniums in der Trinklösung für die Absorption entscheidend ist. Zirkonium-Oxalat wurde um einen Faktor 5-8 stärker resorbiert als Zirkoniumionen in einer citratgepufferten Lösung. Die gastrointestinalen Absorptionsanteile (f_A -Werte) lagen mittels Faltungsintegral berechnet bei $(7,5 \pm 2,5) \cdot 10^{-3}$ für Zirkonium-Oxalat und bei $(1,5 \pm 0,9) \cdot 10^{-3}$ für die citratgepufferte Zirkonium-Lösung. Aufgrund der gewonnenen Ergebnisse wurde das bestehende ICPR-Biokinetikmodell von Zirkonium überprüft und in zwei wesentlichen Punkten modifiziert. Zum einen erlaubt das neue Modell durch die Einführung von Rückströmen aus Geweben in das Transfervolumen besonders für Zeiten über 1 d nach Aufnahme hinaus eine präzisere Beschreibung der experimentell gewonnenen Daten im Plasma. Zum anderen wurde die Modellierung der Ausscheidung physiologisch motiviert verändert. Neben einer grundsätzlich besseren Beschreibung der Messdaten hat dies wegen einer leichten Unterschätzung der Urinausscheidung eine konservative Abschätzung der Dosis durch längeren Verbleib von Radionukliden im Körper zur Folge. Insgesamt stellt das vorgeschlagene neue Modell eine deutliche Verbesserung hinsichtlich der Beschreibung der Biokinetik von Zirkonium dar.

Mit Ruthenium konnten im Rahmen dieses Vorhabens aus toxikologischen Bedenken keine Probandentests durchgeführt werden. Jedoch wurden bereits einige biologische Proben in einer vorausgegangenen Probandenstudie gesammelt, die damit zur weiteren Analyse und Auswertung zur Verfügung standen. Zur Messung der Ruthenium-Tracer wurde eine Protonenaktivierungsanalysemethode am Tandembeschleuniger des Maier-Leibnitz Laboratoriums in Garching etabliert und durchgeführt. Die Ergebnisse zur zeitlichen Retention im systemischen Kreislauf zeigten, dass die Plasmaclearance deutlich von der chemischen Form von Ruthenium abhängt. Die Retentionszeit von anorganischem Ruthenium im Plasma beträgt 23 ± 2 h, und die von Ruthenium-Citrat 17 ± 2 min. Ebenso spielt die chemischen Speziation des Tracers auch bei der Urinausscheidung eine große Rolle. So beträgt die nach 48 h kumulierte Ausscheidung ca. 25% für anorganisches Ruthenium und zwischen 55% und 75% für die komplexierte Tracerlösung. Diese experimentellen Daten deuten darauf hin, dass die tatsächliche kumulierte Urinausscheidung insgesamt größer ist, als das ICRP-Modell vorhersagt (16% nach 48 h). Für den absorbierten Bruchteil wurden Werte zwischen $4,4 \cdot 10^{-3}$ und $5,5 \cdot 10^{-2}$ je

nach Verabreichungsform ermittelt. Daher entspricht der von der ICRP empfohlene f_1 -Wert von $5 \cdot 10^{-2}$ eine Obergrenze der experimentell ermittelten Werte und kann somit zur konservativen Abschätzung verwendet werden.

Die Untersuchungen zur Biokinetik von Cer konnten im Rahmen dieser Studie noch nicht abgeschlossen werden, da sich die Neuentwicklung einer Methode zur Messung von Cer-Isotopen in den von der Ethikkommission erlaubten Konzentrationen in biologischen Proben sehr aufwändig und problematisch gestaltete. Die ebenfalls zu beantwortenden Fragen zum Transfer von Cer in die Muttermilch konnten jedoch weitgehend geklärt werden. Dazu wurden Muttermilchproben von stillenden Müttern gesammelt und auf ihren natürlichen Cer-Gehalt hin mittels Massenspektrometrie (ICP-MS) untersucht. Die so gemessenen Cer-Konzentrationen in der Muttermilch lagen zwischen der Nachweisgrenze und $25,8 \pm 1,3$ ng/L. Diese Werte in der Muttermilch entsprechen damit in guter Übereinstimmung den Werten im Blutplasma aus eigener Messung bzw. aus der Literatur. Aus diesen Ergebnissen kann abgeleitet werden, dass entgegen einer erst kürzlich veröffentlichten Studie, in der 10-mal höhere Cer-Konzentrationen in der Muttermilch gefunden worden waren, von keiner Aufkonzentrierung von Cer aus dem Plasma in die Muttermilch während der Laktation auszugehen ist.

V Summary of the scientific content

The knowledge about the biokinetic behaviour of radionuclides is of great importance for the dose estimation after incorporation of these radioactive substances. However, only little or insufficient information on the biokinetics is available so far, since these data have been obtained in many cases in animal experiments and their transferability to humans is still not assured. This is valid also for zirconium, ruthenium, as well as for lanthanides. In case of nuclear fallouts, the radionuclides of these elements can significantly affect both the occupational radiation exposure dose and that of the individuals among the population. The aim of the project was to experimentally generate the knowledge about the biokinetic properties of these elements directly on humans. This could be made possible by the use of stable isotopes, which, from the biokinetic view, do not differ from the corresponding radioisotopes.

In this way, it was possible to obtain information on the absorption, retention, and excretion behaviour of the respective radionuclides, which allowed generating improved biokinetic models. Furthermore, the transfer of the element cerium, a representative of the lanthanides, into human breast milk has been examined more closely, since in literature contradictory results have been published in this respect. Prior to the volunteer tests the appropriate stable isotopes had to be selected and the administration dose determined. This was considered both from toxicological as well as from analytical criteria.

For the investigations with zirconium, two different methods were developed and used for the measurement of the isotope concentrations in the biological samples: Thermion Mass Spectrometry and Proton Activation Analysis. Altogether, 16 experiments with zirconium were conducted with 11 volunteers. Samples from 7 precedent experiments were still available for further use. On the basis of these experiments, it was possible to obtain information about the temporal retention of zirconium in the systemic cycle and to compare it with previous literature data. It appeared that the tracer concentration in the blood plasma can be described as a double exponential clearance function with average half-lives of 1.4 h for the fast subprocess and of 3.3 d for the slow subprocess. Furthermore, the cumulative urine excretion of the injected zirconium tracers was determined during the first week. Within the first 24 h after zirconium injection, 0.6-2.9% of the tracer has been excreted with the urine. The average daily excretion in the following days of the first week is 0.3-0.9%, and the cumulated excretion after the first week is 2.5-7.0%. By the administration of two different zirconium tracers, one orally and the other one intravenously, the rate of the gastrointestinal absorption could be determined. This

has shown that the chemical form of the zirconium in the drinking solution is very important for the absorption. Zirconium oxalate was by a factor of 5-8 more strongly absorbed than zirconium ions in a citrate buffer solution. The gastrointestinal absorption rates (f_A -Values) calculated by convolution integral method were $(7.5-2.5) \cdot 10^{-3}$ for zirconium oxalate and $(1.5-0,9) \cdot 10^{-3}$ for the citrate buffered zirconium solution. On the basis of the results obtained, the existing ICRP biokinetic model of zirconium was examined and modified in two substantial points. On the one hand, the new model allows a more precise description of the data obtained experimentally in the plasma by the introduction of back currents from tissues into the transfer volume, particularly for periods of time beyond the first day after incorporation. On the other hand, the modelling of the excretion was changed of physiological reasons. Apart from an essentially better description of the measurement data, this entails a conservative estimation of the dose because of a slight underestimation of the urine excretion due to a longer presence of the radionuclides in the body. Altogether, the suggested new model represents a clear improvement regarding the description of the biokinetics of zirconium.

Due to toxicological concerns, no volunteer tests with ruthenium could be performed on volunteers within this project. However, some biological samples had already been collected in a previous volunteer study and were available for further analysis and evaluation. For the measurement of the ruthenium tracers, a proton activation analysis method at the tandem accelerator of the Maier Leibnitz Laboratory was established and performed in Garching, near Munich. The results for the temporal retention in the systemic cycle showed that the plasma clearance depends obviously on the chemical form of ruthenium. The retention time of the inorganic ruthenium in the plasma amounts to 23 ± 2 h, and of the ruthenium citrate to 17 ± 2 min. Similarly, the chemical speciation of the tracer also plays a large role in the urine excretion. Thus, the cumulated excretion amounts after 48 h to approximately 25% for the inorganic ruthenium and to between 55% and 75% for the complexed tracer solution. These experimental data indicate that, on the whole, the effective cumulated urine excretion is higher than predicted by the ICRP model (16% after 48 h). For the absorbed fraction, values between $4.4 \cdot 10^{-3}$ and $5.5 \cdot 10^{-2}$ were ascertained, depending on the administration mode. Therefore, the f_1 value of $5 \cdot 10^{-2}$ recommended by the ICRP corresponds to an upper limit of the experimentally determined values and can thus be used for a conservative estimation.

The investigations on the biokinetics of cerium could not be accomplished within this study, because the concentrations of the biological samples allowed by the Ethics Committee made the development of a new method for the measurement of cerium

isotopes very problematic and extensive. However, the questions concerning the transfer of cerium into human breast milk could be clarified to a large extent. For this purpose, samples of breast milk from breastfeeding mothers have been collected and examined for natural cerium content by mass spectrometry (ICP-MS). The cerium concentrations measured in the breast milk lay between the detection limit and 25.8 ± 1.3 ng/L. These values in the breast milk are in good agreement with concentrations of cerium in the blood plasma published in literature or obtained within an earlier own analysis.

It can be concluded from these results that during lactation, contrary to a recently published study, in which 10-fold higher cerium concentrations in the breast milk had been reported, an enrichment process of cerium in the breast milk through the blood plasma cannot be assumed.

| Verantwortung für Mensch und Umwelt |

Kontakt:

Bundesamt für Strahlenschutz

Postfach 10 01 49

38201 Salzgitter

Telefon: + 49 30 18333 - 0

Telefax: + 49 30 18333 - 1885

Internet: www.bfs.de

E-Mail: ePost@bfs.de

Gedruckt auf Recyclingpapier aus 100 % Altpapier.



Bundesamt für Strahlenschutz