

KfK 4770

Juli 1990

# **Einfluß des Knochenzustandes auf Retention und Verteilung von Americium-241 im Knochen kleiner Nagetiere**

**G. B. Martens**

**Institut für Genetik und für Toxikologie von Spaltstoffen**

**Kernforschungszentrum Karlsruhe**



KERNFORSCHUNGSZENTRUM KARLSRUHE

Institut für Genetik und für Toxikologie von Spaltstoffen

KfK 4770

EINFLUSS DES KNOCHENZUSTANDES AUF RETENTION  
UND VERTEILUNG VON AMERICIUM-241 IM KNOCHEN KLEINER  
NAGETIERE

Gisela B. Martens

Von der Fakultät für Bio- und Geowissenschaften  
der Universität Karlsruhe (TH)  
genehmigte Dissertation

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH, Karlsruhe

Als Manuskript gedruckt  
Für diesen Bericht behalten wir uns alle Rechte vor

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH  
Postfach 3640, 7500 Karlsruhe 1

ISSN 0303-4003

## Zusammenfassung:

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß des Knochenzustandes auf die Retention und Verteilung von Americium-241 im Knochen kleiner Nagetiere untersucht. Durch vermehrte körperliche Tätigkeit vor und nach Radionuklidinjektion konnten nur geringe Veränderungen in Knochenstruktur und Verhalten des Americiums im Knochen bewirkt werden. Eine mit Hilfe einer Phosphor- oder Calciummangeldiät erhöhte Knochenresorption resultierte in einer vermehrten Ausscheidung von Americium aus dem Knochen, wobei Zn-DTPA als Chelatbildner eine zusätzliche Fraktion entfernte. Gleichzeitig zu einer Calciummangeldiät kontinuierlich verabreichte pharmakologische Mengen von Vitamin D-Hormonen erhöhten die Knochenresorption und damit eine Ausscheidung von Americium aus dem Knochen nicht über die Wirkung der Calciummangeldiät allein hinaus.

## Effect of Bone-status on Retention and Distribution of Americium-241 in Bones of Small Rodents

Forced physical exercise before and after application of americium-241 resulted in only small changes in bone-structure and behaviour of the radionuclide in bone. Feeding of a low phosphorus or low calcium diet resulted in an increased excretion of americium from bone, whereby Zn-DTPA as chelating agent removed an additional fraction of the radionuclide from bone. Low calcium diet and simultaneous continuous infusion of pharmacological doses of vitamin D-hormones didn't increase the excretion of americium more than the low calcium diet alone.

| INHALTSVERZEICHNIS |  | Seite |
|--------------------|--|-------|
| 1.                 | Einleitung   | 1     |
| 1.1.               | Allgemeines  | 1     |
| 1.2.               | Knochenstoffwechselfaktoren  | 3     |
| 1.3.               | Arbeiten zum Einfluß des Knochenstoff-<br>wechsels auf die Retention und Vertei-<br>lung von Actiniden | 5     |
| 1.4.               | Zielsetzung  | 8     |
| 2.                 | Material und Methoden  | 10    |
| 2.1.               | Versuchstiere  | 10    |
| 2.2.               | Herstellung der Radionuklidlösung und<br>Injektion   | 10    |
| 2.3.               | Sektion und Entnahme von Organen   | 11    |
| 2.3.1.             | Trockengewichtsbestimmung der Knochen  | 11    |
| 2.3.2.             | Bestimmung von Knochenlänge und -durch-<br>messer  | 12    |
| 2.3.3.             | Röntgenaufnahmen einzelner Knochen   | 12    |
| 2.4.               | Bestimmung der Radioaktivität  | 12    |
| 2.4.1.             | Ganzkörpermessung der Tiere  | 12    |
| 2.4.2.             | Messung der Aktivität in den einzelnen<br>Organen  | 13    |
| 2.5.               | Bestimmung von Calcium und anorganischem<br>Phosphat im Blutplasma                                     | 13    |
| 2.6.               | Einbettung und Aufarbeitung von nicht-<br>entkalkten Knochen   | 14    |
| 2.6.1.             | Einbettung in Methylmethacrylat (MMA)  | 14    |
| 2.6.2.             | Schneiden der Methylmethacrylat-Blöck-<br>chen   | 15    |
| 2.6.3.             | Färbung der Knochenschnitte  | 16    |
| 2.7.               | Autoradiographie   | 17    |
| 2.7.1.             | Autoradiographie mit Kunststoffolie  | 17    |
| 2.7.2.             | Histoautoradiographie mit stripping-film   | 18    |
| 2.8.               | Histomorphometrische Methodik  | 18    |
| 2.8.1.             | Messung an Fluoreszenzpräparaten   | 19    |
| 2.8.2.             | Knorpelfugenbreite des distalen Femurs   | 19    |
| 2.9.               | Versuchsbeschreibungen   | 20    |

## II

|            |  |    |
|------------|--|----|
| 2.9.1.     | Versuche zum Einfluß von körperlicher Aktivität auf die Retention von $^{241}\text{Am}$            | 20 |
| 2.9.1.1.   | Versuche mit Syrischen Hamstern  | 20 |
| 2.9.1.2.   | Versuche mit männlichen und weiblichen Ratten  | 21 |
| 2.9.1.2.1. | Laufmaschine   | 21 |
| 2.9.1.2.2. | Trainingsschema  | 21 |
| 2.9.1.2.3. | Durchführung der Trainingsversuche   | 22 |
| 2.9.2.     | Versuche zum Einfluß von Diät und/oder Chelattherapie auf die Retention von $^{241}\text{Am}$      | 23 |
| 2.9.2.1.   | Phosphor- und calciumarme Diät   | 23 |
| 2.9.2.2.   | Chelatbildner  | 24 |
| 2.9.2.3.   | Fluoreszenzmarkierung  | 24 |
| 2.9.2.4.   | Durchführung der Diätversuche  | 24 |
| 2.9.3.     | Versuche zum Einfluß von Vitamin $\text{D}_3$ und seinen Metaboliten auf die Radionuklidretention  | 25 |
| 2.9.3.1.   | Applikation von Vitamin $\text{D}_3$ , $25(\text{OH})\text{D}_3$ und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ | 25 |
| 2.9.3.2.   | Versuchsdurchführung   | 26 |
| 2.10.      | Statistik und Abbildungen  | 27 |
| <br>       |  |    |
| 3.         | Ergebnisse   | 28 |
| 3.1.       | Versuche zum Einfluß von körperlichem Training   | 28 |
| 3.1.1.     | Syrische Hamster   | 28 |
| 3.1.1.1.   | Körper- und Organgewichte  | 28 |
| 3.1.1.2.   | Knochenmessungen   | 29 |
| 3.1.1.3.   | Ganzkörperretention  | 29 |
| 3.1.1.4.   | Organretention und -konzentration  | 30 |
| 3.1.1.5.   | $^{241}\text{Am}$ -Verteilung im distalen Femur  | 31 |
| 3.1.2.     | Ratten   | 32 |
| 3.1.2.1.   | Körper- und Organgewichte  | 32 |
| 3.1.2.2.   | Knochenlänge und -durchmesser  | 33 |
| 3.1.2.3.   | Ganzkörperretention  | 34 |
| 3.1.2.4.   | Organretention und -konzentration  | 35 |
| 3.1.2.5.   | Makroskopische $^{241}\text{Am}$ -Verteilung im distalen Femur                                     | 37 |

### III

|        |   |    |
|--------|---|----|
| 3.2.   | Versuche zum Einfluß von phosphor- bzw. calciumarmer Diät und/oder Chelattherapie   | 37 |
| 3.2.1. | Körper- und Organgewichte   | 37 |
| 3.2.2. | Ganzkörperretention   | 39 |
| 3.2.3. | Organretention und -konzentration   | 40 |
| 3.2.4. | $^{241}\text{Am}$ -Verteilung in Femur und Lendenwirbeln  | 43 |
| 3.2.5. | Histologische Messungen   | 45 |
| 3.2.6. | Calcium- und Phosphatkonzentrationen im Blut  | 45 |
| 3.3.   | Versuche zum Einfluß von Vitamin $\text{D}_3$ , $25(\text{OH})\text{D}_3$ und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und calciumarmer Diät | 46 |
| 3.3.1. | Körper- und Organgewichte   | 46 |
| 3.3.2. | Ganzkörperretention   | 47 |
| 3.3.3. | Organretention und -konzentration   | 47 |
| 3.3.4. | Knochenstrukturen und Autoradiographien   | 48 |
| 3.3.5. | Histologische Meßergebnisse   | 49 |
| 3.3.6. | Konzentration von Calcium und Phosphat im Blut  | 50 |
| 4.     | <b>Diskussion</b>   | 51 |
| 4.1.   | Einfluß von körperlichem Training   | 52 |
| 4.1.1. | Syrische Hamster  | 53 |
| 4.1.2. | Ratten  | 55 |
| 4.2.   | Einfluß von Mangeldiäten  | 58 |
| 4.3.   | Einfluß von Vitamin $\text{D}_3$ , $25(\text{OH})\text{D}_3$ und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$                                    | 67 |
| 5.     | <b>Zusammenfassung</b>  | 73 |
| 6.     | <b>Literaturverzeichnis</b>   | 75 |
| 7.     | <b>Tabellen und Abbildungen</b>   | 91 |

**Erklärung von verwendeten Abkürzungen**

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| CT                            | - Calcitonin                                    |
| i.m.                          | - intramuskulär                                 |
| i.v.                          | - intravenös                                    |
| KG                            | - Körpergewicht                                 |
| MMA                           | - Methylmethacrylat                             |
| SD                            | - Standardabweichung des Mittelwertes           |
| SEM                           | - Standardfehler des Mittelwertes               |
| Zn-DTPA                       | - Zn-Chelat der Diäthylentriaminpentaessigsäure |
| $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ | - $1\alpha,25$ -Dihydroxycholecalciferol        |
| $25(\text{OH})\text{D}_3$     | - 25-Hydroxycholecalciferol                     |

## 1. EINLEITUNG

### 1.1. Allgemeines

Viele Isotope der Transuranelemente, wie z.B. Plutonium-239 oder Americium-241, gehören zur Gruppe  $\alpha$ -Strahlen emittierender, knochensuchender Radionuklide.

Americium-241, ein Isotop des Elements 95, das Ende des Jahres 1944 von G.T. Seaborg und seinen Mitarbeitern entdeckt wurde (Sea46), wurde in der vorliegenden Arbeit als ein Beispiel solcher Radionuklide angewandt. Es hat eine Halbwertszeit von 432,6 Jahren (See81) und entsteht im Reaktorbrennmaterial hauptsächlich durch  $\beta$ -Zerfall von Plutonium-241. Selbst keine nuklearen Eigenschaften besitzend, wird es bei der Wiederaufarbeitung abgebrannter Uranbrennelemente und bei der Produktion von Plutoniumbrennstoff abgetrennt und angereichert. Das angereicherte  $^{241}\text{Am}$  wird in Medizin und Industrie als langlebiger  $\alpha$ -Partikel und aufgrund seiner 60 keV  $\gamma$ -Strahlung als niederenergetische  $\gamma$ -Quelle genutzt, z.B. bei Ionisationskammerrauchdetektoren.  $^{241}\text{Am}$  ist jedoch hauptsächlich ein Abfallprodukt der Nuklearindustrie, das auch in die Umwelt gelangen kann (Het76). Vor allem Arbeiter in der Nuklearindustrie (Hei79), aber auch die Gesamtbevölkerung können diesem Element potentiell exponiert sein.

Tierexperimente, die bereits kurz nach der Entdeckung des Americiums an Ratten durchgeführt wurden (Ham47, Sco48), haben gezeigt, daß ein signifikanter Betrag dieses Radionuklids im Körper vor allem von Leber und Skelett zurückgehalten wird. Weitere Versuche mit Ratten (Tay61, Ben65, Durb69, Pri83, Son83), Syrischen Hamstern (Rod77, Sei77), Chinesischen Hamstern (McK72, Sei77) und Beagle Hunden (Llo70) bestätigten diese ersten Befunde. Aus der Leber von Ratte und Maus wird das  $^{241}\text{Am}$  sehr rasch ausgeschieden und die biologische Halbwertszeit beträgt in der Rattenleber nur etwa 8 Tage (Übersicht bei Durb73), während sie sich beim Chinesischen Hamster (Sei78) und beim Hund (Llo70) als außerordentlich

lange erwies. Ein beträchtlicher Teil des im Skelett befindlichen  $^{241}\text{Am}$  verweilt mit sehr langer biologischer Halbwertszeit im Knochen.

Americium-241 wird anfänglich an allen Arten von Knochenoberflächen abgelagert, an endostalen, periostalen und an den Oberflächen von Gefäßkanälen im kompakten Knochen (Tay61, Durb69, Llo70). In den langen Knochen der Ratte wird  $^{241}\text{Am}$  in einem Band entlang der Epiphysenoberfläche der Wachstumsfuge konzentriert (Nen72, Pol76). Besonders bevorzugt wird es jedoch an solchen Oberflächen abgelagert, die ruhen oder resorbieren (Her62). Dort wird das Americium überwiegend an Glykoproteine gebunden (Chi72). Von diesen Oberflächenablagerungen aus werden durch die kurzreichenden  $\alpha$ -Partikel des  $^{241}\text{Am}$  kritische Zellpopulationen bestrahlt, die nahe diesen Oberflächen liegen, wie knochenbildende Zellen oder Zellen des benachbarten Knochenmarks. Auf diese Weise können Knochentumore (Tay61) oder in seltenen Fällen Leukämien hervorgerufen werden (Vau73).

Im Laufe des Knochenwachstums wird ein Teil dieser oberflächlichen Ablagerungen durch Knochenanbau begraben. Umbau des Knochens (remodelling) ist dafür verantwortlich, daß durch Knochenresorption an den Oberflächen abgelagertes  $^{241}\text{Am}$  von diesen Oberflächen wieder entfernt wird. Dabei kann das resorbierte  $^{241}\text{Am}$  zum einen zunächst durch phagocytotische Zellen im Knochenmark festgehalten und anschließend wieder zu den benachbarten Knochenoberflächen transferiert werden (local recycling), zum andern kann es die Blutbahn betreten und an anderen Stellen im Knochen wieder abgelagert werden (systemic recycling) (Durb69, Pri83). Die Wiederverteilung von Actiniden an neue Stellen im Knochen nach Resorption anfänglicher Oberflächenablagerungen war eine der frühesten Beobachtungen zum Verhalten dieser Radionuklide (Cop47). Arnold und Jee beschrieben die Wiederverteilung von Plutonium in den langen Knochen der Ratte detailliert (Arn57).

Genauere Kenntnisse über Verteilungsmuster, Wiederverteilung und Retentionscharakteristika im Knochen sind wichtig, da sie

die Strahlendosen, die die sensitiven Zellen erhalten, beeinflussen. Das während des Knochenumbaus freigesetzte  $^{241}\text{Am}$  kann mit Hilfe einer Chelattherapie aus dem Knochen entfernt werden (Jam71,Pol76) und so die Strahlenbelastung erheblich gesenkt werden. Der in der vorliegenden Arbeit eingesetzte Chelatbildner, das Zn-Chelat der Diethylentriaminpentaessigsäure (Zn-DTPA) als Mittel der Wahl einer Dauerchelatherapie, bildet mit den ungebundenen Schwermetallatomen stabile Komplexe, die dann ausgeschieden werden (Vol74a,Tay80,Vol84).

Der Umfang und die Geschwindigkeit von An- und Abbauvorgängen, mit denen sich Knochenmasse und -struktur verändern, haben einen großen Einfluß auf die Kinetik von inkorporiertem  $^{241}\text{Am}$ . Der gesamte Knochenstoffwechsel unterliegt den Einflüssen vieler Faktoren, die physiologische Prozesse im Knochen stimulieren oder hemmen können. Durch diese Faktoren könnte auch die Actinidretention und die Zugänglichkeit des Actinids für einen Chelatbildner beeinflußt werden.

Im folgenden Abschnitt sollen nun einige dieser Faktoren kurz umrissen werden.

## 1.2. Knochenstoffwechselfaktoren

Die Regulation des Knochenan-, -um- und -abbaus hängt von der Aktion vieler Hormone, Wachstumsfaktoren und lokaler Regulationsfaktoren mit direkten oder indirekten Effekten auf den Knochen ab. Die einzelnen Faktoren und ihre Wirkungsweise, soweit bekannt, sind entsprechenden Übersichtsartikeln zu entnehmen (Can83,Can88,Mark88,Vae88).

Ein klassisches an der Calciumregulation beteiligtes Hormon ist das hypocalcämisch wirkende Calcitonin (CT), dessen Aufgabe im Knochenstoffwechsel in einer Hemmung der osteoclastären Resorption und der renal-tubulären Phosphatrückresorption besteht.

Ein weiteres wichtiges hier zu nennendes Hormon ist das Parathormon (PTH). Die biologischen Wirkungen des PTH haben eine Anhebung des Serumcalciums zum Ziel. PTH stimuliert die Osteoclasten mittels enzymatischer Auflösung der Hydroxyl-

apatitkristalle im Knochen, Calcium zu mobilisieren. Auch der Abbau der Knochenmatrix wird durch PTH gefördert, was an einem Anstieg der Hydroxyprolinausscheidung im Urin erkenntlich ist.

Vitamin D<sub>3</sub> verursacht, nach Metabolisierung in Leber und Niere zu seinem wirksamen Metaboliten 1,25-Dihydroxycholecalciferol, eine Erhöhung der Plasmacalcium- und -phosphat-spiegel durch drei Grundmechanismen:

- Stimulation der Enterocyten des Dünndarms, Calcium vom Lumen ins Plasma zu transportieren, ebenso Phosphor.
- bei Fehlen von ausreichenden Mengen Calcium in der Nahrung benutzt der Körper das Skelett als Quelle für Calcium, wobei bei der Mobilisierung die Vitamin D-Hormone und PTH zusammenwirken.
- Rückresorption von Calcium im distalen Nierentubulus.

Überblicke zum Wissensstand über die genauen Wirkungsweisen von Vitamin D und seinen Metaboliten findet man bei Rai80, Nor82, Hen84 und DeL88.

Es ist bekannt, daß mechanische Belastung des Knochens, z.B. Gewichtsbelastung und Zug von Sehnen und Muskeln, Prozesse von Knochenbildung und Calciumablagerung stimulieren (Sav69, Ste81, Dar85). Fehlen diese physikalischen Impulse z.B. durch Immobilisierung oder Schwerelosigkeit, so ist die osteoplastische Tätigkeit reduziert, während sich die osteoclastäre Resorption erhöht oder mit normaler Rate fortgesetzt wird (Whe58, Maz83). Durch diese Vorgänge wird die corticale und trabekuläre Knochenbildung gehemmt, immer mehr Knochenmasse wird abgebaut und Osteoporose kann sich entwickeln.

Umgekehrt kann sich durch eine erhöhte Belastung des Knochens die Knochenmasse vergrößern (Sav69, Ste81) und so sogar der altersbedingten Osteoporose entgegengewirkt werden (Bey85), was zwangsläufig mit einer Intensivierung des Knochenstoffwechsels einhergehen muß. Mechanische Belastung steigert die Knochenbildung möglicherweise durch piezoelektrische Stimulation der Osteoblastenaktivität. Training könnte auch die hormonelle Kontrolle des

Knochenmetabolismus beeinflussen (Myb89). All dies könnte die Retention und Verteilung von an den Knochenoberflächen abgelagertem  $^{241}\text{Am}$  entscheidend beeinflussen.

### 1.3. Arbeiten zum Einfluß des Knochenstoffwechsels auf die Retention und Verteilung von Actiniden

Im Folgenden soll ein Überblick der bisher durchgeführten Arbeiten zum Einfluß des Knochenstoffwechsels auf Retention und Verteilung von Actiniden im Knochen gegeben werden.

Copp et al. (Cop47) führte bereits Ende der 40er Jahre Versuche zur Beeinflussung von Strontium-90, einem knochen-volumen-suchenden Radionuklid, aber auch von Plutonium-239, Yttrium-88 und Cer-144 - alle drei Radionuklide sind oberflächen-affin - durch, einmal mit Diäten, die einen hohen bzw. niedrigen Calciumanteil enthielten, zum anderen mit phosphorarmer Diät. Als Versuchstiere dienten junge und erwachsene Ratten, denen die Diäten vor Radionuklidgabe gefüttert wurden. Junge Tiere mit calciumarmer Diät absorbierten die höchste Dosis von  $^{90}\text{Sr}$ . Bei den anderen Radionukliden absorbierten junge Tiere mit calciumarmer Diät den gleichen Prozentsatz wie ausgewachsene Tiere mit der calciumreichen Diät. Bei den Tieren, die die phosphorarme Diät erhielten, wurde aufgrund der extremen Demineralisierung des Skeletts Plutonium in der nicht calcifizierten organischen Matrix abgelagert, was sich in einer Erhöhung der absorbierten Dosis von 30% bei den Kontrolltieren auf 58% bei den Tieren mit der phosphorarmen Diät bemerkbar machte.

Weitere resorptionsstimulierende Agenzien wie Parathormon, Ammoniumchlorid und Citrat, die bei chronischen Radiumvergiftungen eingesetzt wurden, hatten keine signifikanten Effekte auf die Exkretion von Pu, Y und Ce, obwohl sie die Exkretion von Sr leicht erhöhten.

Versuche mit Plutonium, bei denen die Ratten nach Injektion einen Monat lang einer resorptionsstimulierenden Behandlung unterworfen wurden und anschließend einer Remineralisierungsphase mit einer optimalen Diät, werden in

dieser Arbeit erwähnt. Ziel dieser Behandlung war, die Plutoniumablagerungen auf den Knochenoberflächen mit neuem Knochen zu begraben.

Leider finden sich in dieser Arbeit keine Angaben über die Retention in den einzelnen Skeletteilen.

Cuisinier-Gleizes et al. (Cui76) verabreichten die knochen-suchenden Radionuklide  $^{85}\text{Sr}$ ,  $^{177}\text{Lu}$  und das Actinid  $^{237}\text{Np}$  an parathyroidektomierte und normale Ratten. Die Radionuklide dienten hier als Knochenmarker für Vorgänge, die an der Knochenoberfläche stattfinden. 3 Wochen vor Diätbeginn wurden die Radionuklide den Tieren intravenös injiziert. Die phosphorarme Diät (0,03% P, 0,6% Ca) wurde eine Woche lang gefüttert. Für  $^{237}\text{Np}$  wurde eine leicht erhöhte Ausscheidung bei den Tieren, die die phosphorarme Diät erhielten, beobachtet, die jedoch nicht signifikant verschieden von der der Kontrolltiere war (0,21% der injizierten Dosis gegenüber 0,14%).

Thomasset et al. (Tho76) verfolgten in sehr ähnlichen Versuchen neben dem Einfluß einer phosphorarmen Diät auf die Ausscheidung von  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{85}\text{Sr}$  und  $^{237}\text{Np}$  auch den einer calciumarmen Diät (0,05% Ca, 0,3% P). Auch hier ist eine leichte Erhöhung der  $^{237}\text{Np}$ -Ausscheidung zu verzeichnen, die über einen Zeitraum von 7 Tagen bei den Tieren mit calciumarmer Diät signifikant höher liegt als bei den Kontrolltieren.

Hollins et al. untersuchten in einer Reihe von Arbeiten die Retention von Am und Pu während Perioden von anabolischer und katabolischer Aktivität im Skelett von Ratten (Hol72, Dur73, Hol73). Es wurden Wirkungen von Alter, Geschlecht, Trächtigkeit und Säugen, und Effekte von künstlichem Streß, wie parenterale Gabe von Parathormon, Calcitonin, Östrogen, Calciumgluconat, calciumfreier Diät und Parathyroidektomie untersucht. Ihrer Meinung nach vergrößert eine Erhöhung der Knochenresorption durch Gabe resorptionsstimulierender Substanzen wie PTH die resorbierende Oberfläche und damit die

Retention des Actinids, das sich bevorzugt an ruhenden und resorbierenden Oberflächen ablagert. Auch bei calciumfreier Diät wurde eine ansteigende Retention bei Am und Pu beobachtet. Bei gleichzeitiger Gabe von PTH und calciumfreier Diät kam es zu einem weiteren Anstieg der Retention bei Am, während sie bei Pu gleich blieb. Gabe von Calciumgluconat sollte den Blutcalciumspiegel erhöhen und damit gleichzeitig mit einer Reduzierung der Knochenresorption die Retention herabsetzen. Verabreichung von Calcitonin hatte keinen Effekt auf die Retention von Pu und Am. Eine abfallende Retention von Am wurde nach Parathyroidektomie aufgrund gesunkener Blutcalciumspiegel beobachtet.

Fisher et al. befaßten sich mit der Dekorporation von  $^{241}\text{Am}$  aus männlichen und weiblichen Mäusen mit Hilfe von Zn-DTPA und dem knochenresorptionsstimulierenden Hormon PTH, desweiteren mit Ammoniumchlorid und Heparin (Fis74, Fis75, Fis76). Es wurde hier eine leicht erhöhte Dekorporation von  $^{241}\text{Am}$  beobachtet, wenn in der 3.-6. Woche der Chelattherapie 400 USP-Einheiten/kg PTH pro Tag verabreicht wurden (Fis74) oder einmalig 4000 USP-Einheiten/kg PTH während einer Zn-DTPA-Behandlung am 3.-25. Tag nach Radionuklidinjektion (Fis76). Ammoniumchlorid und Heparin erwiesen sich dagegen als nicht wirksam. Die Retention des  $^{241}\text{Am}$  in den einzelnen Knochen wurde in dieser Arbeit nicht bestimmt.

Bhattacharyya und Peterson (Bha80) versuchten die Dekorporation von im Knochen abgelagertem Pu zu erhöhen, indem sie erwachsenen weiblichen Mäusen gleichzeitig mit Zn-DTPA eine hohe Dosis Vitamin  $\text{D}_3$  (20000 IU) intramuskulär applizierten. Nach Injektion von Pu-Citrat wurden die Mäuse auf eine calciumarme Diät umgestellt. In dieser Arbeit erhöhte eine Behandlung mit Vitamin D die Freisetzung von Plutonium aus dem Skelett nicht, weder mit noch ohne DTPA-Behandlung. Die Pu-Spiegel lagen bei Vitamin D behandelten Tieren sogar noch etwas höher. Nach Bhattacharyya bewirkt die pharmakologische Dosis von Vitamin D zwar einen signifikanten Anstieg der

Knochenresorptionsrate, aber dieser Anstieg geht nicht parallel mit einer erhöhten Freisetzung von Pu aus dem Skelett. Als ein möglicher Grund wird ein Unterschied zwischen den Stellen der Plutoniumablagerung im Knochen und den Stellen, an denen die durch Vitamin D hervorgerufene Resorption stattfindet, genannt.

Zu Versuchen, die den möglichen Einfluß einer vermehrten körperlichen Tätigkeit auf die Actinidretention untersuchen, findet man in der Literatur keine Hinweise.

#### 1.4. Zielsetzung

Aufgrund der wenigen bisher durchgeführten Arbeiten zum Einfluß des Knochenzustandes auf die Retention und Verteilung von Actiniden im Knochen ist es nun Ziel dieser Arbeit

1. zu untersuchen, ob vermehrte körperliche Bewegung einen Einfluß auf die Retention von  $^{241}\text{Am}$  in Organen und Knochen von Syrischen Hamstern und männlichen und weiblichen Ratten haben könnte, mit einem besonderen Augenmerk auf die Verteilung des Radionuklids im Knochen.
  - a) wobei bei Hamstern der Einfluß eines Laufradtrainings vor und nach Radionuklidinjektion untersucht werden sollte.
  - b) bei Ratten aus Gründen des Strahlenschutzes nur der Einfluß eines Trainings vor Injektion von  $^{241}\text{Am}$  mit einer eigens zu diesen Zwecken gebauten Laufmaschine.

Bisher durchgeführte Arbeiten zur Retention von Americium wurden ausschließlich an im Käfig sitzenden Tieren vorgenommen.

2. zu testen, inwieweit eine calciumarme bzw. phosphorarme Diät die Knochenresorption und damit eine mögliche Americiumfreisetzung aus dem Knochen beeinflussen könnte. Das freigesetzte Americium sollte mit Hilfe einer Langzeit-

dekorporationstherapie mit Zn-DTPA im Trinkwasser aus dem Körper entfernt werden.

3. zu untersuchen, ob auch Gaben von erhöhten Dosen von Vitamin D und seinen beiden Metaboliten 25-Hydroxycholecalciferol und 1,25-Dihydroxycholecalciferol, die kontinuierlich während des Versuchszeitraumes mit Hilfe von osmotischen Minipumpen verabreicht werden, eine Stimulation der Knochenresorption bei gleichzeitiger Gabe calciumarmen Futters und damit eine erhöhte Freisetzung des Americiums bewirken könnten.

## 2. MATERIAL UND METHODEN

### 2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten männliche, 4 Wochen alte Hamster, bezogen vom Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover, und männliche und weibliche Sprague-Dawley Ratten verschiedenen Alters, bezogen von der Wiga Versuchstierzucht, Sulzfeld. Die Haltung erfolgte bei den Hamstern in Einzelkäfigen, bei den Ratten in Käfigen mit maximal 3 Tieren.

Die Raumtemperatur in den Ställen betrug etwa 22° C bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50 bis 55 %. Die Raumbeleuchtung war 12 Stunden lang angeschaltet.

Das Futter bestand aus einer Standarddiät für Hamster bzw. Ratten (Altromin<sup>R</sup>, altromin GmbH u.Co KG, Lage), sowie einer speziellen phosphor- bzw. calciumarmen Rattendiät (ebenfalls Altromin<sup>R</sup>) ad libitum. Als Trinkwasser diente entweder Leitungswasser, destilliertes Wasser oder Zn-DTPA, ebenfalls ad libitum (Genaueres siehe Versuchsbeschreibung 2.9.2. und 2.9.3.).

Nach der Injektion des Radionuklids wurden die Tiere in Käfige mit Wegwerfenneneinsätzen und -fußrosten umgesetzt. Für die restliche Versuchsdauer wurden die Tiere in speziellen Klimaschränken im Tierstall gehalten.

Einmal pro Woche wurden die Tiere gewogen und die Gewichtskurven erstellt.

### 2.2. Herstellung der Radionuklidlösung und Injektion

Das in allen Versuchen verwendete <sup>241</sup>Americium wurde von der Firma Amersham, Großbritannien, bezogen. Die Herstellung der Stamm- und Injektionslösungen führte Herr Prof. Dr. V. Volf in einer Handschuhbox durch. Jeweils einen Tag vor der Injektion der Tiere wurden entsprechende Aliquots der Stammlösung mit 1% Natriumcitratlösung verdünnt und mit NaHCO<sub>3</sub> auf einen pH-Wert von 7 eingestellt.

Kurz vor Verabreichung wurde die Lösung durch einen 0,025  $\mu\text{m}$  Filter (Schleicher+Schüll GmbH, Dassel) filtriert, um kolloidale Nuklidaggregationen in der Injektionslösung zu vermeiden.

Alle Injektionen der Radionuklidlösungen erfolgten in einer Handschuhbox unter Äthernarkose intramuskulär (i.m.) in die innere Seite des rechten Oberschenkels. Über die Kanüle wurde ein Kunststoffschlauch gezogen, um eine konstante Einstichtiefe zu erreichen (Vol74).

### 2.3. Sektion und Entnahme von Organen

Die Sektion erfolgte ebenfalls unter Äthernarkose. Die Tiere wurden durch Öffnen der großen Bauchgefäße entblutet. Das Blut wurde in mit Liquemin Depot<sup>R</sup> (Hoffmann-LaRoche, Grenzach-Wyhlen) heparinisierten Zentrifugenröhrchen aufgefangen. Das so ungerinnbar gemachte Blut wurde zentrifugiert und das erhaltene Blutplasma diente zur Calcium- und Phosphatbestimmung.

Die inneren Organe der Tiere wurden aus Bauch- und Brusthöhle entfernt und der restliche Körper dorso-ventral geröntgt (siehe 2.3.3.). Ein Teil der inneren Organe wurde gewogen und auf die enthaltene Aktivität untersucht. Die langen Knochen und alle 6 Lendenwirbel wurden entnommen, von anhaftendem Gewebe gesäubert und gewogen. Die langen Knochen der linken Körperhälfte und der 3. und 4. Lendenwirbel wurden in neutralem, phosphatgepufferten 8% Formalin (Merck, Darmstadt) fixiert.

#### 2.3.1. Trockengewichtsbestimmung der Knochen

Die Knochen der rechten Seite und die restlichen Lendenwirbel dienten zur Bestimmung der Trockengewichte.

Hierfür wurden die Knochen zunächst 3 Tage an der Luft und anschließend bis zur Gewichtskonstanz in einem Wärmeschrank bei 80°C getrocknet, wofür eine Trocknungsdauer von 24 Stunden ausreichte. Sofort im Anschluß daran wurden die Knochen gewogen.

### 2.3.2. Bestimmung von Knochenlänge und -durchmesser

Länge und Durchmesser der Knochen wurden mit Hilfe einer Schublehre (Meßgenauigkeit 5/100 mm) ermittelt. Als Längenmaß beim Femur diente der Abstand zwischen dem tiefsten Punkt der Verbindung zwischen Trochanter major und Femurhals und der Fossa intercondylaris (Län88).

Der Femurdurchmesser wurde latero-lateral unmittelbar unterhalb der Crista femoris ermittelt.

### 2.3.3. Röntgenaufnahmen einzelner Knochen

Alle entnommenen langen Knochen wurden einzeln geröntgt, um etwaige Schäden an den Knochen bereits makroskopisch feststellen zu können. Die Aufnahmen wurden mit einer Faxitron<sup>R</sup>-Röntgenröhre erstellt, wobei die Expositionszeit 2,2 Minuten bei 40kV und 25 mA betrug. Als Filmmaterial dienten hier feinkörnige Röntgenfilme (D<sub>4</sub> von Agfa-Gaevert).

Die Entwicklung der Filme erfolgte mit handelsüblichem Röntgenfilm-Entwickler und -Fixierer (adefo-Chemie GmbH, Nürnberg) nach Vorschrift.

## 2.4. Bestimmung der Radioaktivität

### 2.4.1. Ganzkörpermessung der Tiere

Die vorhandene Gesamtaktivität von <sup>241</sup>Am im Körper lebender Tiere wurde mit Hilfe eines Ganzkörperzählers für Kleintiere gemessen (Berthold, Wildbad). Als Detektoren dienten 12.5 x 7.5 NaJ(Tl)-Kristalle. Die von <sup>241</sup>Am emittierte 60 keV  $\gamma$ -Strahlung konnte hiermit direkt erfaßt werden. Die Tiere wurden zur Messung in Plexiglasdosen zwischen die Kristalle gesetzt, um vergleichbare Geometriefaktoren zu erhalten. Die Meßeffektivität betrug ca. 10%. Als 100% der verabreichten Dosis diente der Wert der ersten Ganzkörpermessung, die 30 Minuten nach Radionuklidinjektion erfolgte.

#### 2.4.2. Messung der Aktivität in den einzelnen Organen

Die Bestimmung der emittierten  $\gamma$ -Strahlung von  $^{241}\text{Am}$  in den einzelnen Organproben wurde mit Hilfe eines Szintillationspektrometers (Beckman Gamma 8000<sup>R</sup>) vorgenommen. Das Meßgerät war mit einem NaJ(Tl)-Bohrlochkristall mit 76 mm (3 Zoll) Durchmesser ausgestattet. Die Organe und Knochen konnten ungeteilt in Polyäthylenfläschchen gemessen werden. Die Meßzeit für jede Probe betrug 10 Minuten. Die Meßeffektivität für die 60 keV  $\gamma$ -Strahlung des  $^{241}\text{Am}$  betrug hier ca. 24%. Als Standards dienten bei allen Versuchen jeweils 4 Dosen der entsprechenden Injektionslösungen in je 20 ml 0,1 n  $\text{HNO}_3$  (Merck).

Die relativen Aktivitätsmaße berechnen sich wie folgt:

$$\% \text{ der injizierten Dosis} = \frac{\text{Menge der Aktivität im Organ}}{\text{injizierte Gesamtaktivität}} \times 100$$

$$\text{Aktivitätskonzentration} = \frac{\% \text{ der injizierten Dosis}}{\text{Organfeuchtgewicht in g}}$$

#### 2.5. Bestimmung von Calcium und anorganischem Phosphat im Blutplasma

Bei den Diätversuchen (siehe 2.9.2.) wurde die Calcium- und Phosphatkonzentration im gewonnenen Blutplasma untersucht. Die Bestimmung der Calciumkonzentration erfolgte mit Hilfe eines photometrischen Tests (Calcium MTB, ingotest, Boehringer, Ingelheim). Dabei bildet Methylthymolblau in alkalischer Lösung bei Anwesenheit von Calciumionen einen blaugrünen Farbkomplex, dessen Extinktionsmaximum bei 610 nm liegt.

Die Konzentration von anorganischem Phosphat im Plasma wurde ebenfalls mittels eines photometrischen Tests bestimmt (Mer-

ckotest 3331, Merck). Hier entsteht aus im Plasma anorganisch gebundenem Phosphat mit Natriummolybdat Phosphormolybdat, das durch Reduktion in kolloidales Molybdänblau überführt wird und so photometrisch bestimmt werden kann. Das Extinktionsmaximum liegt bei 750 nm.

Die photometrischen Bestimmungen wurden mit Hilfe eines Beckman Du<sup>R</sup>-65 Spektrophotometers durchgeführt.

## 2.6. Einbettung und Aufarbeitung von nicht-entkalkten Knochen

Um die Knochenwachstumsrate mit Hilfe einer Vitalmarkierung mit Calcein, einem Fluoreszenzfarbstoff, bestimmen zu können, desweiteren um Aussagen über die Radionuklidverteilung in entsprechenden Knochenstrukturen treffen zu können, wurden die Knochen unentkalkt eingebettet, wobei die Methode der Einbettung in Methylmethacrylat zu Anwendung kam.

### 2.6.1. Einbettung in Methylmethacrylat (MMA)

Diese Art der Einbettung von Hartgeweben zur histologischen Untersuchung wurde von Burkhardt in Deutschland in der Humanmedizin eingeführt und weiterentwickelt (Bur66, Bur66a). Nach Einführung als Standardmethode an unserem Institut (Gam88) wurde diese Einbettung wie folgt durchgeführt.

Distale Femora und 3. und 4. Lendenwirbel, die in Formalin fixiert worden waren (siehe 2.3.), wurden zunächst in destilliertem Wasser gespült. Die für die Einbettung notwendige Entwässerung des Knochengewebes erfolgte mit einer aufsteigenden Alkoholreihe von 50% bis 100% Methanol (Merck) innerhalb einer Woche in Kunststoffläschchen. Nach Überführen der Knochen in 100% Ethanol wurde dieses innerhalb einer Woche mehrmals gewechselt. Im Anschluß wurde eine Entfettung der Proben durch dreimaligen Wechsel in Xylol (Merck) durchgeführt.

Die Infiltration des MMA-Einbettgemisches erfolgte in fünf Schritten, wobei die beiden letzten Schritte im Vakuum (Exsikkator) mit Phosphorpentoxid (Sicapent, Merck) als Trockenmittel stattfanden, und die Knochenproben in Rollrand-

glasfläschchen überführt wurden. Nach Verschließen dieser Fläschchen mit Schnappdeckeln wurde die Polymerisation des MMA durch ein fünfzigminütiges Einstellen in ein 50°C warmes Wasserbad eingeleitet. Die weitere Auspolymerisation erfolgte dann bei 34°C über das Wochenende.

Nach Entnehmen der Fläschchen aus dem Wasserbad wurden diese noch für einige Tage bei Raumtemperatur ausgehärtet, bevor sie zerschlagen wurden, um die Blöckchen zu erhalten.

Die Entwässerungs-, Entfettungs- und Infiltrationsschritte dauerten insgesamt vier Wochen.

1 Liter Methylmethacrylat-Einbettgemisch (ausreichend für 20 Proben) wurde wie folgt hergestellt:

25,6 g Benzoylperoxid (Merck), bei 40°C 48h im Wärmeschrank getrocknet, wurde in 800 ml Methylmethacrylat (Merck), das durch Filtern über eine mit Aluminiumoxid (Alumina B, ICN Biomedicals GmbH, Eschwege) gefüllte Säule entstabilisiert wurde, unter Rühren gelöst. Nach vollständiger Auflösung des Benzoylperoxids wurden 200 ml Plastoid N (Röhm Pharma GmbH, Weiterstadt) zugegeben.

Die Aufbewahrung des Einbettgemisches erfolgte im Kühlschrank bei 4°C.

#### 2.6.2. Schneiden der Methylmethacrylat-Blöckchen

Um die entsprechende Schnittebene der eingebetteten Knochen zu erhalten, wurden die auspolymerisierten Blöckchen mit der Hand angefeilt.

Im Anschluß daran wurden sie, auf Metallplättchen aufgeklebt, mit einem Leitz 1600 Innenlochsägemikrotom so zugeschnitten, daß eine glatte Schnittfläche entstand. Die so vorbereiteten Blöckchen wurden mit Zweikomponentenkleber (UHU endfest plus 300) auf speziell angefertigte Trägerklötzchen aus Kunststoff aufgeklebt. Mit einem motorgetriebenen Jung Polycut Groß- und Hartschnittmikrotom wurden zunächst 5 µm dicke Schnitte bis zur gewünschten Schnittebene in der Knochenmitte abgenommen. Mehrere 5 µm dicke Schnitte wurden für Fluoreszenzmikroskopie und Alizarinrotfärbung erstellt, solche von 3 µm Dicke für histologische Fragestellungen. Die Schnitte

wurden unter Befeuchtung von Blöckchen und Messer mit 30%igem Ethanol mit einem Marderhaarpinsel auf das Messer aufgestrichen und mit einer feinen Pinzette auf Gelatine-beschichtete Objektträger überführt. Nach einem mehrminütigen Weichen der Schnitte mit 96%igem Ethanol wurden diese mit Hilfe von zwei feinen Pinzetten vorsichtig gestreckt, mit Ethanol-feuchten Zigarettenpapierchen bedeckt und mit einer Gummiwalze auf die Objektträger gepreßt. Die Objektträger wurden zwischen Kunststoffscheiben mit aufgelegtem Bleiklotz bei 40°C im Trockenschrank über Nacht getrocknet und konnten dann weiterverarbeitet werden.

### 2.6.3. Färbung der Knochenschnitte

Für die Fluoreszenzmikroskopie wurden 5 µm dicke getrocknete Schnitte ohne weitere Behandlung mit Eukitt<sup>R</sup> (Riedel-De Haen AG, Seelze-Hannover), einem gebrauchsfertigen Einschlußmittel, mit Deckgläsern eingedeckt.

Für die Bewertung der Knochenstruktur wurden 5 µm dicke Schnitte ohne Entacrylierung mit Alizarinrot gefärbt (Rom68). Dazu wurden sie 3 Minuten in eine Alizarinrotlösung (pH 6,4) gestellt, die aus 1 g Alizarinrot S (Fluka), 90 ml Aqua dest. und 10 ml 0,25%iger Ammoniaklösung bestand. Im Anschluß wurden die Schnitte kurz in destilliertem Wasser, danach in salzsaurem Alkohol (1000 ml absolutes Ethanol mit 0,1 ml rauchender Salzsäure) und schließlich in absolutem Ethanol gespült. Nach Lufttrocknung wurden sie mit Xylol benetzt und mit Eukitt<sup>R</sup> eingedeckt.

Für die histologischen Fragestellungen und die Histoautoradiographien wurden 3 µm dicke Schnitte nach Giemsa gefärbt (Gam88). Dazu mußte das MMA aus den entsprechenden Schnitten entfernt werden. Dies erfolgte durch Einstellen der Präparate in Xylol im Wärmeschrank (40°C) über Nacht. Nach zweimaligem Spülen in absolutem Methanol erfolgte im Anschluß eine absteigende Methanolreihe bis zum destillierten Wasser. Für die Giemsafärbung wurden die Schnitte aus dem Wasser für 50 Minuten bei 50°C in eine Lösung aus 98 ml Aqua dest., 2 ml

Phosphatpuffer pH 6,7 und 0,4 ml Giemsa-Lösung (Merck) gebracht, und anschließend 30 Minuten bei 40°C in einer Lösung aus 98 ml Aqua dest., 2 ml Phosphatpuffer pH 6,6 und 0,4 ml Giemsa-Lösung gefärbt. Gespült wurden die Schnitte in destilliertem Wasser mit 3 Tropfen Eisessig pro 100 ml. Danach wurden sie zwischen Filterpapierblöckchen getrocknet und mit Eukitt<sup>R</sup> eingedeckt.

## 2.7. Autoradiographie

Um die Radionuklidverteilung im Knochen sichtbar zu machen, wurden zwei unterschiedliche Verfahren angewandt. Zum einen wurde für makroskopische Übersichten der Verteilung in Längsschnitten distaler Femora und in den Lendenwirbeln Kunststoffdetektoren verwendet, zum anderen für die Aktivitätsverteilung in histologischen Strukturen die stripping-film Methode.

### 2.7.1. Autoradiographie mit Kunststoffolie

Die hierfür verwendeten Kunststoffolien (MAKROFOL), ein Polymerisat von Dioxiphenylpropen und Carbonylchlorid, sind Kernspurdetektoren, bei denen durch  $\alpha$ -Teilchen Störungen in der molekularen Struktur hervorgerufen werden. Diese molekularen Veränderungen können mit Hilfe eines elektrochemischen Ätzverfahrens (Urb84) als feine Punkte in der Folie sichtbar gemacht werden. Bei diesem Verfahren wird eine Seite der Folie mit 30%iger KOH, die andere mit 0,25 n KOH in Kontakt gebracht. Nach einem einstündigen Vorätzintervall ohne Spannung und Frequenz wird eine Spannung von 800 V bei einer Frequenz von 2000 Hz für 2 Stunden angelegt. Die Punkte sind danach gerade mit dem bloßen Auge sichtbar.

Für die Exposition wurde die Oberfläche der mit dem Mikrotom geschnittenen Blöckchen mit den MAKROFOL-Folien für 72 Stunden in Kontakt gebracht. Zwischen Blöckchen und Folie wurden 7  $\mu$ m dicke Alufolien gelegt, um Spuren aus tieferen Regionen der Blöckchen zu vermeiden.

Die Folien wurden photographisch vergrößert und mit den

entsprechenden Alizarinrot-gefärbten Knochenschnitten verglichen, die in gleichem Maßstab vergrößert wurden.

### 2.7.2. Histoautoradiographie mit stripping-film

Zur Histoautoradiographie von  $\alpha$ -Strahlern wurde AR10 stripping-film der Firma Kodak verwendet. Diese Methode beruht auf einer photochemischen Reaktion von ionisierender Strahlung und sensibilisiertem Halogensilber.

Nach Entacrylierung wurden ausgewählte, 3  $\mu\text{m}$  dicke Schnitte mit dem stripping-film beschichtet und 16-20 Wochen im Kühlschrank bei 4°C exponiert.

Die Entwicklung dieser Filme erfolgte mit Kodak D-19 Entwickler (5 Minuten), die anschließende Fixierung mit Kodak Unifix Fixierer nach Herstellerangaben.

Unmittelbar im Anschluß wurden die noch ungefärbten Schnitte mit Giemsa gefärbt (siehe 2.3.6.) und an einem staubfreien Ort getrocknet.

### 2.8. Histomorphometrische Methodik

Die quantitative Auswertung zur Bestimmung der Knochenmineralisationsrate und der Breite der distalen Epiphysenfuge des Femurs erfolgte mit einer Digitalisiereinrichtung, MOP-Digiplan 1 (Kontron, München), zur halbautomatischen Bild-erfassung. Mit Hilfe dieser Digitalisiereinrichtung kann man beliebige Strecken durch Nach- und Umfahren messen. Diese Einrichtung (Gam88) besteht aus einem Meßtablett, einem Cursor und einer Zentraleinheit zur Steuerung. Eine gleichzeitige Benutzung eines Orthoplan-Mikroskops (Leitz, Wetzlar) mit Zeicheneinrichtung gestattet es, ein Bild des Cursors auf dem Meßtablett mit einer Leuchtdiode über das mikroskopische Bild zu projizieren und so jede beliebige Struktur nachzufahren.

Das Meßtablett arbeitet nach dem Magnetostruktionsprinzip, d.h. unter der Meßfläche befindet sich ein Netzwerk von magnetisierten Stahldrähten, das ein permanentes Magnetfeld erzeugt. Von den Seiten des Meßtablets werden magnetostik-

tive Pulse ausgesandt, die durch eine Empfängerspule im Cursor aufgenommen werden. Durch elektronische Kurzzeitmessung wird die wegproportionale Laufzeit und damit das Koordinatenpaar des angetasteten Bildpunktes in absoluten mm-Werten gemessen. Die Weiterverarbeitung der Koordinatenwerte in Länge und Fläche erfolgt mit einem nachgeschalteten Mikroprozessor (Kon79).

#### 2.8.1. Messung an Fluoreszenzpräparaten

Die Messung der Wachstumsrate der fluoreszenzmarkierten Femora wurde mit Hilfe des oben beschriebenen Digitalisierers und dem Orthoplan-Mikroskop mit einer Ploemak Auflicht-Fluoreszenzeinrichtung (100 Watt Gleichstrom Quecksilberhöchstdrucklampe) durchgeführt. Als Fluoreszenzfilter diente der Filter I2 von Leitz, mit dem man eine selektive Grünfluoreszenz des in den Knochen eingebauten Calceins, dem hier verwendeten Fluoreszenzfarbstoff, erhält. Mit Hilfe der zweifachen Fluoreszenzmarkierung der Tiere in einem bestimmten zeitlichen Abstand (siehe 2.9.2.3.) entstanden zwei Fluoreszenzlinien im Knochen, da sich der Farbstoff bei der Mineralisation des Knochens einlagert, wobei der Abstand der beiden Fluoreszenzlinien der Wachstumsrate entspricht. Die Messungen erfolgten an 5  $\mu\text{m}$  dicken ungefärbten Schnitten (siehe 2.6.3.) sowohl endostal am Femurschaft, wie an den Knochenbälkchen. An mehreren doppelt markierten Stellen wurde in gleichen Abständen jeweils die kürzeste Strecke zwischen beiden Fluoreszenzlinien bestimmt. Pro Knochenschnitt wurden je 30 Meßwerte am Schaft bzw. an den Trabekeln ermittelt. Die Wachstumsrate in  $\mu\text{m}/\text{d}$  wurde mit Hilfe von entsprechenden Maßstabsfaktoren (Eichung mit einem Objektträgermikrometer) und den Markierungsintervallen berechnet (Jee85).

#### 2.8.2. Knorpelfugenbreite des distalen Femurs

Die Dicke und auch die Struktur der distalen Epiphysenfuge sind wichtig für das Längenwachstum des Knochens. Störungen im Knochenstoffwechsel, die durch bestimmte Mangeldiäten oder auch durch in der Epiphyse abgelagerte Radionuklide hervor-

gerufen werden, können sich direkt auf ihre Funktion auswirken.

Die Messung der Knorpelfugendicke erfolgte an Giemsa-gefärbten Schnitten ebenfalls mit dem Orthoplan-Mikroskop und der Zeicheneinrichtung an 30 Punkten in äquidistanten Abständen über die gesamte Fuge. Ausgemessen wurde die Strecke von der Keimschicht der Fuge bis zum Rand des Blasenknorpels und mit den entsprechenden Maßstabsfaktoren in die tatsächliche Strecke in  $\mu\text{m}$  umgerechnet (Jee85, Gam88).

## 2.9. Versuchsbeschreibungen

### 2.9.1. Versuche zum Einfluß von körperlicher Aktivität auf die Retention von $^{241}\text{Am}$

#### 2.9.1.1. Versuche mit Syrischen Hamstern

Zwölf Syrische Hamster mit einem Körpergewicht von etwa 65 g wurden in zwei Gruppen von je 6 Tieren aufgeteilt. Nach intramuskulärer Gabe von 51,8 kBq/kg Körpergewicht (KG) (1,4  $\mu\text{Ci}/\text{kg}$ )  $^{241}\text{Am}$ -Citrat wurde den Tieren der einen Gruppe ein Laufrad aus Metall zur Verfügung gestellt, in dem die Tiere sich freiwillig bewegen konnten, wobei keine Kontrolle der Laufleistung erfolgte. Die zweite Gruppe diente als nicht-bewegte Kontrolle. Zehn Wochen post injectionem wurden die Tiere getötet.

In einem zweiten Versuch wurde der Einfluß einer körperlichen Tätigkeit vor Injektion des Radionuklids auf dessen Retention untersucht. Fünf Hamster mit einem Anfangsgewicht von ca. 65g wurden mit einem Laufrad versehen, weitere fünf Tiere stellten die Kontrollen. 15 Wochen nach Versuchsbeginn wurden 25,9kBq/kg KG (0,7 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$ )  $^{241}\text{Am}$  injiziert und die Tiere 7 Tage später seziiert.

Um sicherzugehen, daß die Tiere die ihnen zur Verfügung stehenden Laufräder tatsächlich nutzten, wurde zu verschiedenen Zeitpunkten während der Nacht kontrolliert.

## 2.9.1.2. Versuche mit männlichen und weiblichen Ratten

### 2.9.1.2.1. Laufmaschine

Nach vergeblichen Versuchen auch Ratten das Laufen in einem Laufrad beizubringen, wurde eine elektrisch betriebene Laufmaschine, ähnlich der von Jette et al. (Jet69) beschriebenen, nach eigenen Plänen in unserer Institutswerkstatt gebaut.

Diese Laufmaschine besteht aus einem Endlos-Band (Transilon, Siegling, Hannover), das über zwei nach außen hin konische Kunststoffwalzen läuft, die auf einen aus Winkelstahl geschweißten Rahmen montiert sind, und das von einem stufenlos regelbaren Elektromotor (Portescape Deutschland, Pforzheim) angetrieben wird. Zwei abnehmbare, mit Drahtdeckeln bestückte Plexiglasaufsätze mit jeweils 5 Abteilungen erlauben es, zehn Tiere gleichzeitig zu trainieren (Abb.1b).

Bei der Laufmaschine von Jette et al. (Jet69) wurden Elektroschockgitter in die Rückwände der Laufabteile integriert, an die eine Spannung gelegt wurde, falls die Tiere sich nicht freiwillig entgegen der Laufrichtung des Bandes bewegten. Auch für unsere Laufmaschine wurden solche Gitter konstruiert, die allerdings herausnehmbar sind. An diese Gitter könnte mittels einer PKW-Zündspule eine Spannung angelegt werden (siehe Abb.1a). Diese Schockgitter kamen jedoch nicht zum Einsatz, da vor allem die weiblichen Ratten sehr schnell lernten, sich auf dem Band zu bewegen. Bei männlichen Tieren dagegen ergaben sich während des Trainingszeitraums von 12 Wochen Schwierigkeiten, so daß einige der Tiere zu unterschiedlichen Zeitpunkten aus dem Versuch genommen werden mußten, da sie, vor allem bei den höheren Bandgeschwindigkeiten, begannen, sich vehement gegen die Laufrichtung des Bandes zu stemmen. Hinweise auf Schwierigkeiten dieser Art findet man auch in der Literatur beschrieben (Dar85).

### 2.9.1.2.2. Trainingsschema

Das Training der Tiere erfolgte fünfmal pro Woche morgens. Um die Tiere nicht zu überanstrengen, mußte ein entsprechendes

Trainingsschema ausgearbeitet werden.

Zunächst wurden die Tiere zwei Tage lang durch wiederholtes Einsetzen in die Laufabteile und sehr langsames Anfahren des Bandes an die Bedingungen in der Laufmaschine gewöhnt (Jet69).

Begonnen wurde dann mit einer Trainingsdauer von 5 min bei einer Laufgeschwindigkeit des Bandes von 7,5 m/min. Die Laufzeit und die Bandgeschwindigkeit wurden innerhalb von 4 Wochen täglich gesteigert bis auf einen Endwert von 40 min bei einer Geschwindigkeit von 18 m/min, was einer täglichen Laufstrecke von 720 m entsprach. Diese Trainingsbedingungen waren für weitere 8 Wochen gültig.

#### 2.9.1.2.3. Durchführung der Trainingsversuche

Für die Versuche zum Einfluß von körperlicher Aktivität auf die  $^{241}\text{Am}$ -Retention wurden Ratten nur vor Injektion des Radionuklids trainiert, da ein Training von radioaktiven Tieren auf der Laufmaschine aus Strahlenschutzgründen nicht möglich war.

Zunächst wurden fünf männliche Tiere, wie oben beschrieben, 12 Wochen lang trainiert. Sechs Tiere dienten als nicht-trainierte Kontrollgruppe. Die Ratten wogen zu Versuchsbeginn etwa 80 g und waren 4 Wochen alt. Nach Beendigung der Trainingsphase erhielten sie eine intramuskuläre Gabe von 16,3 kBq/kg KG ( 0,44  $\mu\text{Ci}/\text{kg}$ )  $^{241}\text{Am}$ -Citrat.

Parallel zu der Gruppe der männlichen Ratten gelangte eine Gruppe von 7 Weibchen zum Training, 6 Tiere wurden als Kontrolltiere herangezogen. Alter und Körpergewicht zu Versuchsbeginn entsprachen dem der Rattenmännchen. Nach 12 Wochen Training wurden diesen Tieren 14,8 kBq/kg KG (0,4  $\mu\text{Ci}/\text{kg}$ ) des Radionuklids injiziert.

Analog dazu wurde ein Versuch mit bei Trainingsbeginn bereits ausgewachsenen Ratten durchgeführt. Die fünf Tiere, die ins Training gelangten und die sechs nicht-trainierten Kontrollen wogen zu Anfang des Versuchs etwa 230 g und waren 12 Wochen alt. Hier wurden 12,2 kBq/kg KG (0,33  $\mu\text{Ci}/\text{kg}$ ) des  $^{241}\text{Am}$ -

Citrats injiziert.

Einem nur vierwöchigen, aber intensiveren Trainingsprogramm wurde eine Gruppe von 8 jungen Rattenweibchen unterzogen. Die Trainingstiere und die nicht-trainierten Kontrollen wogen anfänglich 80 g. Diese Tiere erhielten eine Injektion von 19,6 kBq/kg KG (0,53  $\mu$ Ci/kg).

Die Sektion der Tiere aller Versuche erfolgte 14 Tage nach Radionuklidinjektion. Während der gesamten Versuchsdauer wurde die Körpergewichtsentwicklung der Tiere und der Futterverbrauch protokolliert.

#### 2.9.2. Versuche zum Einfluß von Diät und/oder Chelattherapie auf die Retention von $^{241}\text{Am}$

Um die Einwirkungen der Zufuhr von zu geringen Mengen der für den Knochen essentiellen Ionen, Calcium und Phosphat, auf den Knochenstoffwechsel und damit möglicherweise auch auf die Actinidretention zu untersuchen, kamen bei diesen Versuchen eine Phosphor- bzw. Calciummangeldiät zur Anwendung. Gleichzeitig wurde versucht, durch Chelattherapie das gegebenenfalls durch Knochenresorption freigesetzte  $^{241}\text{Am}$  aus dem Körper auszuschleusen.

##### 2.9.2.1. Phosphor- und calciumarme Diät

Diese Mangeldiäten wurden von der Fa. altromin GmbH u. Co KG in pelletierter Form bezogen. Als Kontrolldiät diente die normale Haltungsdiet für Ratten und Mäuse (altromin 1324) mit einem Calciumgehalt von 0,9% und einem Phosphorgehalt von 0,75%. Die Phosphormangeldiät (C 1048) enthielt einen Phosphoranteil von 0,015%, während der Calciumanteil dem der normalen Diät gleich (0,95%). Bei der calciumarmen Diät (C 1031) betrug der Calciumgehalt nur 0,08%, der Phosphoranteil dagegen 0,6%.

Alle weiteren Bestandteile der beiden Diäten waren identisch. Die Tiere haben diese Diäten während des Versuchszeitraums von 4 Wochen gut vertragen und machten einen vitalen Eindruck.

Gleichzeitig mit den Diäten wurde destilliertes Wasser anstelle von Leitungswasser als Trinkwasser angeboten, um eine Ionenaufnahme über das Wasser zu vermeiden.

Die Futter- und Wasseraufnahme wurde über die gesamte Versuchsdauer verfolgt.

#### 2.9.2.2. Chelatbildner

Zur Dekorporationstherapie des verabreichten Actinids wurde das Zn-Chelat der Diäthylentriaminpentaessigsäure (Zn-DTPA) in einer Konzentration von  $3 \times 10^{-3}$  M/l im Trinkwasser eingesetzt (Vol84). Die Stammlösung wurde aus  $H_5$ DTPA (Fluka), ZnO (Merck) und NaOH (Merck) in einer Konzentration von 0,2 M/l mit einem pH-Wert von 7,4 hergestellt und mit destilliertem Wasser entsprechend verdünnt.

Bei einem durchschnittlichen Verbrauch von etwa 50 ml Flüssigkeit pro Tier und Tag ergibt sich so eine Zn-DTPA-Konzentration von 600  $\mu$ Mol/kg/Tag zu Beginn der Chelatverabreichung. Diese Konzentration wurde über den Verabfolgungszeitraum von 4 Wochen gut vertragen.

#### 2.9.2.3. Fluoreszenzmarkierung

Für eine Vitalmarkierung der Knochen mit Fluoreszenzfarbstoff zur Bestimmung der Mineralisationsrate wurde den Tieren einige Tage vor der Sektion zweimal in einem für jeden Versuch genau definierten zeitlichen Abstand Calcein (Fluka) subcutan injiziert. Die Dosis betrug 25 mg/kg KG in einer 3%igen Lösung: 750 mg Calcein, 500 mg  $NaHCO_3$  (Merck) und 25 ml Aqua bidest. (Son80, Jee85).

#### 2.9.2.4. Durchführung der Diätversuche

Vierundzwanzig männliche Ratten mit einem Körpergewicht von 130 g wurden in 4 Gruppen mit je 6 Tieren aufgeteilt und erhielten eine Injektion von 21,5 kBq/kg KG (0,58  $\mu$ Ci/kg)  $^{241}$ Am. 14 Tage nach Injektion wurde mit der Diät bzw. der

Chelattherapie begonnen.

Eine Gruppe, an die weiterhin die normale Haltungsdiät verfüttert wurde, diente als Kontrollgruppe, die zweite Gruppe erhielt zusätzlich zum normalen Futter Zn-DTPA im Trinkwasser. Bei der dritten Gruppe wurde der Einfluß der Phosphormangeldiät getestet und die vierte Gruppe erhielt zu der Mangeldiät Zn-DTPA im Trinkwasser.

Diese Behandlung wurde 4 Wochen lang durchgeführt und die Tiere im Anschluß getötet.

Analog dazu wurde ein Versuch mit calciumarmer Diät durchgeführt, wobei die beiden Gruppen, die Zn-DTPA erhielten, aus 6 Tieren bestanden, die beiden anderen aus 5 Tieren.

Eine Gruppe von 5 Tieren wurde vor Beginn der Therapie getötet und diente als 2 Wochen Kontrolle.

Die Ganzkörpermessung erfolgte zunächst täglich, später dreimal pro Woche.

### 2.9.3. Versuche zum Einfluß von Vitamin D<sub>3</sub> und seinen Metaboliten auf die Radionuklidretention

Um einen möglichen Einfluß von Vitamin D und seinen beiden Metaboliten 25-Hydroxycholecalciferol und 1 $\alpha$ ,25-Dihydroxycholecalciferol auf den Knochenstoffwechsel und damit auf im Knochen abgelagertes <sup>241</sup>Am zu untersuchen, wurden den Ratten diese Substanzen über einen längeren Zeitraum kontinuierlich verabfolgt bei gleichzeitiger Gabe von calciumarmen Futter.

#### 2.9.3.1. Applikation von Vitamin D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>3</sub> und 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>

Die Applikation von Vitamin D und seinen beiden Metaboliten erfolgte mit Hilfe von osmotischen Minipumpen (Modell 2ML4, Alza Corp., Palo Alto, USA), die eine kontinuierliche Abgabe dieser Substanzen ins Gewebe über 4 Wochen gewährleisten.

Diese Methode der Verabfolgung wurde von mir als eine Weiterentwicklung der subcutanen Dauerinfusion (Pla76) an unserem Institut eingeführt.

Die Minipumpen (Länge 5,1 cm, Durchmesser 1,4 cm) funktionieren nach dem osmotischen Prinzip und werden den Tieren subcutan unter die Rückenhaut implantiert. Sie bestehen aus einem zusammenpressbaren Reservoir für die zu applizierende Substanz, das von flexiblem, impermeablem Material umgeben ist. An diese impermeable Membran schließt sich nach außen ein osmotisches Agens an, das von einer semipermeablen Membran als Außenhülle abgegrenzt wird. Gelangt die Pumpe nun in ein wässriges Milieu, saugt die osmotische Flüssigkeit mit einer konstanten Geschwindigkeit durch die semipermeable Membran Wasser an, wobei das Volumen des osmotischen Agens vergrößert wird und einen Druck auf das Reservoir ausübt. Dadurch wird ein konstanter Fluß der zu verabreichenden Substanz aus dem Reservoir verursacht (Alz86).

Die Pumprate bei dem hier verwendeten Modell betrug 2,14  $\mu\text{l/h}$ . Den Tieren wurden pro Tag entweder 250  $\mu\text{g}$  (10000 IE) Vitamin  $\text{D}_3$  (Aldrich-Chemie, Steinheim), 300 ng  $25(\text{OH})\text{D}_3$  (Roussel Uclaf, Romainville, Frankreich), oder 80 ng  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (Hoffmann-La Roche, Basel, Schweiz) appliziert. Die drei Substanzen wurden in den entsprechenden Konzentrationen in reinem Propylenglykol (Merck) gelöst (Mar85).

Das Füllen der Pumpenreservoirs erfolgte mit Hilfe einer stumpfen Kanüle. Die Pumpen wurden vor und nach dem Füllen gewogen, um eventuelle Luftblasen zu entdecken. Nach Sektion der Tiere wurden die Reservoirs der Pumpen durch Aufschneiden überprüft.

Die Tiere wurden durch die am Rücken implantierten Minipumpen in keiner Weise in ihrer Bewegungsfähigkeit eingeschränkt.

#### 2.9.3.2. Versuchsdurchführung

30 männliche Ratten mit einem Körpergewicht von 130-140 g

wurden in 5 Gruppen mit jeweils 6 Tieren eingeteilt. 14 Tage nach i.m.-Injektion von 21,5 kBq/kg KG  $^{241}\text{Am}$ -Citrat begann die Verabfolgung von Vitamin D und seinen beiden Metaboliten. Eine Kontrollgruppe erhielt weiterhin normales Futter, eine zweite Gruppe calciumarmes Futter (siehe 2.9.2.1.). Den Tieren dreier weiterer Gruppen wurden Minipumpen mit den jeweiligen Substanzen unter Äthernarkose implantiert.

Nach Fluoreszenzmarkierung der Tiere (siehe vorne) erfolgte die Sektion 4 Wochen später.

Die Messung der Ganzkörperretention erfolgte auch hier zunächst täglich, dann dreimal pro Woche.

## 2.10. Statistik und Abbildungen

Das statistische Verfahren in dieser Arbeit war die Berechnung der arithmetischen Mittelwerte und ihrer Standardabweichungen (SD) bzw. der Standardfehler des Mittelwertes (SEM). Die Prüfung statistischer Unterschiede erfolgte mit Hilfe des zweiseitigen t-Tests (Sac68).

In den Abbildungen sind die arithmetischen Mittelwerte mit Standardabweichungen dargestellt. Zum Teil wurde aufgrund der besseren Übersicht auf Einbringen der Fehlerbalken verzichtet.

Die Abbildungen der Knochenstruktur und der Autoradiographien mit den Kunststoffolien wurden durch direkte Vergrößerungen der Alizarinrot-gefärbten Schnitte bzw. der Folien auf graphischen Film (COH-4 von Du Pont) erstellt.

Die mikroskopischen Aufnahmen erfolgten mit einer speziellen Kamera für Mikrophotographie (Reichert, Austria) auf hochempfindlichen Film (Agfa Pan 400 professional, Agfa Gevaert, Leverkusen).

Bei den Abbildungen sind jeweils die Endvergrößerungen angegeben.

### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1. Versuche zum Einfluß von körperlichem Training

##### 3.1.1. Syrische Hamster

Die Versuche zum freiwilligen Laufradtraining Syrischer Hamster vor und nach Injektion von  $^{241}\text{Am}$ , um einen möglichen Einfluß von vermehrter körperlicher Aktivität auf die Radionuklidretention aufzudecken, waren als Vorversuche bis zur Fertigstellung der Laufmaschine für Ratten, den eigentlichen Versuchstieren, gedacht und lieferten einige interessante Ergebnisse.

##### 3.1.1.1. Körper- und Organgewichte

Die Körpergewichtsentwicklung bei Tieren, die nach der Radionuklidinjektion 10 Wochen lang ein Laufrad zur Verfügung hatten, verlief parallel der der entsprechenden Kontrollgruppe (siehe Abb.2).

Bei den 15 Wochen lang "vortrainierten" Hamstern dagegen zeigte sich eine Tendenz zu höherem Körpergewicht. Die Unterschiede zu den entsprechenden Kontrollen wiesen jedoch keine Signifikanz auf (Abb.2).

Wie aus den Körpergewichten schon ersichtlich ist, ergaben sich bei den Tieren, die nach Injektion 10 Wochen lang trainierten, bei Organ- und Knochengewichten keine Unterschiede (siehe Tab.1). Ebenfalls keine Unterschiede waren bei den Knochentrockengewichten zu verzeichnen. Sie betragen nach Trocknung der Knochen bis zur Gewichtskonstanz bei beiden Gruppen für Femur, Tibia und Humerus etwa 60% des Feuchtgewichts, bei den Lendenwirbeln 42%.

Bei den 15 Wochen lang vortrainierten Tieren dagegen entwickelten Milz und Herz signifikant höhere Organgewichte (siehe Tab.1). Alle untersuchten Knochen tendierten ebenfalls zu höheren Gewichten bei der Laufradgruppe (Tab.1), jedoch waren auch hier die Unterschiede nicht signifikant. Die

Knochentrockengewichte beider Gruppen wiesen keine Unterschiede auf. Bei Laufradtieren und Kontrollen resultierte die Trocknung der Knochen bis zur Gewichtskonstanz für den Femur in 63-66%, für die Tibia in ca. 65%, für den Humerus in 62-63% und für die Lendenwirbel 1-5 in 44-45% der Knochenfeuchtgewichte.

### 3.1.1.2. Knochenmessungen

Die mit der Schublehre gemessene Länge des Femurs ergab bei den Hamstern mit 10wöchigem Laufradtraining nach Injektion  $24,4 \pm 0,5$  mm (Mittelwert mit Standardfehler) bei der entsprechenden Kontrollgruppe  $24,8 \pm 0,2$  mm; der Femurdurchmesser betrug bei beiden Gruppen 3,3 mm. Auch die Tibialänge erwies sich mit  $23,8 \pm 0,3$  mm bei den Laufradtieren und  $23,9 \pm 0,3$  mm bei den Kontrollen als gleich, ebenso die Humeruslänge mit  $21,0 \pm 0,2$  mm bei den Laufradtieren und mit  $21,3 \pm 0,1$  mm bei den Kontrollen. Hier, wie auch schon bei den Knochengewichten, veränderte vermehrte körperliche Tätigkeit nach Radionuklidinjektion Knochenparameter wie Länge und Durchmesser nicht.

Ein 15wöchiges Training vor Radionuklidapplikation dagegen resultierte in veränderten Knochenparametern. So war der Femur der Laufradgruppe mit  $26,8 \pm 0,6$  mm signifikant länger als der der Kontrollgruppe mit  $25,3 \pm 0,2$  mm ( $P=0,05$ ). Auch der Femurdurchmesser wies Unterschiede auf ( $3,9 \pm 0,1$  mm bei den vortrainierten Tieren gegenüber  $3,6 \pm 0,07$  mm bei den Kontrollen). Die Tibia zeigte ebenfalls Veränderungen hinsichtlich der Länge ( $26,7 \pm 0,7$  mm bei der Trainingsgruppe gegenüber  $25,0 \pm 0,5$  mm bei den Kontrollen). Die Längenunterschiede beim Humerus waren dagegen weniger ausgeprägt. So wurden bei der Laufradgruppe  $22,9 \pm 0,5$  mm und bei der Kontrollgruppe  $22,1 \pm 0,2$  mm gemessen.

### 3.1.1.3. Ganzkörperretention

Die Ganzkörperretention von  $^{241}\text{Am}$  nahm bei den Tieren, die nach Radionuklidinjektion 10 Wochen lang ein Laufrad zur Verfügung hatten, während der ersten 24 Stunden nach

Injektion um 12% ab, bei den entsprechenden Kontrolltieren um etwa 10%. Während des gesamten Versuchszeitraums von 70 Tagen lag die Ganzkörperretention der Laufradgruppe unter der der Kontrollen, unterschied sich jedoch nicht signifikant. Nachdem die Ganzkörperretentionsunterschiede bereits 24 Stunden nach Injektion ersichtlich waren, sind sie wahrscheinlich auf andere Ursachen als auf das gerade erst beginnende Laufradtraining zurückzuführen. Am Tag der Sektion betrug sie bei beiden Gruppen etwa 69% der ursprünglich injizierten Dosis (Abb.3).

Die Tiere, die vor  $^{241}\text{Am}$ -Injektion einem 15wöchigen Laufradtraining unterzogen wurden, retinierten das Americium in etwas geringerem Maße im Körper als die Kontrollgruppe. Bereits 24 Stunden post injectionem lag die Ganzkörperretention der Laufradtiere 4% unter der der Kontrollen, was sich bis zum Sektionszeitpunkt fortsetzte und als signifikant erwies (Abb.4).

#### 3.1.1.4. Organretention und -konzentration

Tab.2a zeigt die Retention in weichen Organen und Knochen 70 Tage nach Radionuklidapplikation. Wie der Tabelle zu entnehmen ist, unterschied sich die Retention in den weichen Organen bei beiden Gruppen nicht, während sie bei den Knochen der Laufradgruppe leicht, aber signifikant niedriger als bei den Kontrollen war, im Durchschnitt um etwa 0,1%.

Die Radionuklidkonzentration geht als maßgeblicher Faktor bei der Berechnung der Strahlenbelastung ein. Trotz geringerer Retentionswerte in den Knochen der Laufradtiere, war die Konzentration des  $^{241}\text{Am}$  mit Ausnahme der Tibia bei dieser Gruppe gleich der der Kontrollen (Tab.2b). Grund dafür waren die etwas geringeren, aber nicht signifikant unterschiedlichen Knochengewichte bei den Kontrolltieren (Tab.1), so daß von einer gleichen Strahlenbelastung der Knochen bei beiden Gruppen ausgegangen werden kann.

Bei den vortrainierten Tieren zeigte sich 7 Tage nach der  $^{241}\text{Am}$ -Injektion eine eindeutig geringere Retention in der Leber - hier betrug der Unterschied zur Kontrollgruppe 4% -

und in allen untersuchten Knochen (siehe Tab.3). Aus Tab.4 ist zu entnehmen, daß mit Ausnahme von Nieren und Humerus auch die  $^{241}\text{Am}$ -Konzentration bei der trainierten Gruppe signifikant unter der der Kontrollen lag.

### 3.1.1.5. $^{241}\text{Am}$ -Verteilung im distalen Femur

Zehn Wochen nach Americium-Injektion zeigte sich bei den Knochenstrukturen des Femurs und den zugehörigen makroskopischen Autoradiographien folgendes Bild (siehe Abb.5): Die Metaphysentrabekel des Laufradtiers wiesen eine eher längliche Form auf, die des Kontrolltiers eine eher rundliche. Im Vergleich zu den vortrainierten Tieren (Abb.6 oben) erschienen die Epiphysen beider Gruppen leicht osteoporotisch. Bei der Verteilung des  $^{241}\text{Am}$  im Knochen traten deutliche Unterschiede zwischen den Laufradtieren und den Kontrollen zu Tage. Bei der trainierten Gruppe waren insgesamt weniger  $^{241}\text{Am}$ -Spuren zu verzeichnen. Im Gegensatz zur Kontrollgruppe war deutlich mehr Americium im Periost abgelagert, während weniger im Schaft begraben wurde. Endostal dagegen erschien die Ablagerung bei beiden Gruppen gleich. Eine starke Americiumablagerung fand sich auch am distalen Ende der Epiphysenfuge. In der Epiphyse selbst waren bei beiden Gruppen die Spuren mit den Trabekeln assoziiert. Durch den Einfluß des Längenwachstums war ein Band erhöhter Aktivität entstanden, ein sogenanntes "Heißes Band", über der relativ wenig belasteten Region des seit Injektion neugebildeten metaphysären Knochens. Die Wachstumsfuge und damit die Epiphyse entfernte sich im Laufe des Knochenwachstums von dieser Aktivitätsverdichtung.

Nach einem 15wöchigen Training vor Injektion zeigten sich bei der Struktur des Femurs in beiden Gruppen deutliche Unterschiede (Abb.6), die sich in einer ausgeprägteren primären Spongiosa und in einer stärker trabekularisierten Epiphyse bei den Laufradtieren widerspiegelten. 7 Tage nach Injektion war die Radionuklidverteilung im distalen Femur im allgemeinen diffus, obwohl man bei den trainierten Tieren eine deutliche Konzentrierung der Spuren in der primären Spongiosa der Metaphyse erkannte. Auch hier war die

Spurendichte bei den trainierten Tieren deutlich geringer. Bei den Präparaten dieses Versuchs waren, verglichen mit den oben beschriebenen, insgesamt weniger Spuren zu verzeichnen, was auf die geringere injizierte Dosis, das höhere Alter der Tiere bei Radionuklidinjektion und auf die beim Syrischen Hamster initial hohe Leberretention (Sektion bereits 7 Tage nach Injektion) zurückzuführen sein könnte.

### 3.1.2. Ratten

#### 3.1.2.1. Körper- und Organgewichte

Wie aus Tabelle 5 zu entnehmen ist, unterschieden sich die Körpergewichte der Trainings- und der jeweiligen Kontrolltiere nicht signifikant, obwohl sich bei den 12 Wochen lang trainierten männlichen Ratten eine Tendenz zu niedrigeren Körpergewichten und bei den ebenfalls 12 Wochen lang trainierten jungen und erwachsenen weiblichen Ratten zu höheren Körpergewichten zeigte. Bei jungen weiblichen Tieren mit einem nur 4wöchigen Training ergaben sich dagegen keinerlei Unterschiede.

Ein möglicher Grund dafür könnte der unterschiedliche Futterverbrauch zumindest bei den weiblichen Ratten sein, der bei den trainierten Tieren im Durchschnitt pro Tier und Tag etwa 27 g betrug, bei den sitzenden Kontrollen etwa 22 g. Bei den Männchen dagegen betrug die Futtermenge bei beiden Gruppen pro Tier und Tag etwa 30 g.

Auch bei den Organgewichten spiegelte sich der Trend, der schon bei den Körpergewichten zu beobachten war, wider. So lagen Organ- und Knochengewichte der männlichen Kontrollratten geringfügig über denen der Laufmaschinentiere, während bei den trainierten Weibchen die Gewichte geringfügig über denen der Kontrollen lagen. Auch bei den Herzgewichten ergaben sich keine Unterschiede zwischen den Trainingsgruppen und ihren sitzenden Kontrollen. Bei Weibchen, die nur 4 Wochen Training absolviert hatten, waren im Hinblick auf die Organgewichte keine Unterschiede zu erkennen. Als ein Beispiel für die geringen und nicht

signifikanten Unterschiede sind die Femurfeuchtgewichte in Tabelle 5 aufgelistet.

Auch die Knochentrockengewichte wiesen keine signifikanten Differenzen auf. Sie betragen bei den jungen 12 Wochen lang trainierten Männchen und Weibchen und den entsprechenden Kontrolltieren für den Femur 67 - 70% des Knochenfeuchtgewichts, für die Tibia 68 - 70%, für den Humerus 66 - 70%, für Radius und Ulna 71 - 73% und für die Lendenwirbel 1-5 56 - 59%. Die Werte der bei Versuchsbeginn bereits ausgewachsenen Weibchen entsprachen, mit Ausnahme der Werte für Radius und Ulna mit 71 - 73% des Feuchtgewichts, den oben angeführten Werten. Die jungen Weibchen, die nur 4 Wochen trainiert wurden, zeigten aufgrund des geringeren Alters niedrigere Werte für die Trockengewichte. So wurden für beide Gruppen beim Femur 61 %, bei der Tibia 62 - 63 %, beim Humerus 62 %, bei Radius und Ulna 66 - 67% und bei den Lendenwirbeln 53% des Knochenfeuchtgewichts errechnet.

#### 3.1.2.2. Knochenlänge und -durchmesser

Aus Tabelle 5 ist ersichtlich, daß bei den jungen 12 Wochen lang trainierten Weibchen eine Tendenz zu größeren Femora gegenüber den Kontrollen bestand. So war der Femur signifikant länger als bei der Kontrollgruppe, der Unterschied beim Durchmesser jedoch nur angedeutet.

Bei den 12 Wochen lang trainierten männlichen Tieren lagen Femurlänge und -durchmesser eher unter denen der sitzenden Kontrolltiere, die Unterschiede hier waren jedoch nicht signifikant.

Bei den zu Versuchsbeginn bereits ausgewachsenen, 12 Wochen lang trainierten Weibchen zeigte die Femurlänge keine Unterschiede zu den Kontrolltieren, der Femurdurchmesser war jedoch größer, wenn auch nicht signifikant.

Bei den nur 4 Wochen lang trainierten jungen Rattenweibchen dagegen erwiesen sich Femurlänge und -durchmesser als nicht unterschiedlich zu den Kontrollen.

Auch Tibia und Humerus unterschieden sich in Hinblick auf ihre Länge bei allen Versuchsgruppen nicht wesentlich. Die

Tibia der trainierten männlichen Ratten wies eine Länge von  $41,7 \pm 0,5$  mm (Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler) auf, die der Kontrollen  $42,8 \pm 0,8$  mm. Die Humeruslänge betrug  $29,5 \pm 0,4$  bzw.  $30,2 \pm 0,4$  mm.

Bei den jungen 12 Wochen trainierten Weibchen wurde eine Tibialänge von  $37,7 \pm 0,3$  mm bzw.  $37,2 \pm 0,2$  mm für die Kontrolltiere gemessen und eine Humeruslänge von  $26,6 \pm 0,2$  bzw.  $26,4 \pm 0,2$  mm.

Bei den zu Versuchsbeginn ausgewachsenen Weibchen maß die Tibia  $38,5 \pm 0,2$  mm bei der Trainingsgruppe bzw.  $38,3 \pm 0,3$  bei der Kontrollgruppe und der Humerus  $27,5 \pm 0,3$  bzw.  $27,2 \pm 0,3$  mm.

Die Gruppe der jungen Ratten, die nur 4 Wochen trainierte, wies eine Tibialänge von  $35,3 \pm 0,3$  mm auf, die Kontrollgruppe von  $35,6 \pm 0,3$  mm. Beim Humerus ergaben sich bei den Laufmaschinentieren  $24,4 \pm 0,1$  mm und bei den entsprechenden Kontrolltieren  $24,7 \pm 0,3$  mm.

### 3.1.2.3. Ganzkörperretention

Die Abbildungen 7, 8a und 8b zeigen den zeitlichen Verlauf der Ganzkörperretentionen bei allen 4 durchgeführten Versuchen über einen Zeitraum von 14 Tagen. Die Ganzkörperretention der weiblichen trainierten Tiere und die ihrer entsprechenden Kontrolltiere verlief jeweils parallel, unabhängig vom Alter der Tiere und von der Trainingsdauer.

Die Retentionswerte am Ende der Beobachtungsperiode 14 Tage nach Radionuklidinjektion betragen für die jungen 4 Wochen lang trainierten Rattenweibchen 57% der injizierten Dosis (Kontrollen 59%), für die 12 Wochen lang trainierten jungen Weibchen 45% (Kontrollen 46%) und für die 12 Wochen trainierten ausgewachsenen Weibchen 53% bzw. 52% für die Kontrollen. Bei den trainierten Rattenmännchen lag die Ganzkörperretention ab dem 7.Tag nach Injektion leicht unter der der Kontrolltiere, die Unterschiede waren nicht signifikant. So ergab sich nach 14 Tagen für die trainierten Tiere eine Ganzkörperretention von 51% der injizierten Americiumdosis und für die entsprechenden Kontrolltiere von 54%.

#### 3.1.2.4. Organretention und -konzentration

Bei allen Gruppen, die einem 12wöchigen Training auf der Laufmaschine unterzogen wurden, fällt eine erhöhte Americiumretention in der Leber auf. Bei den zu Versuchsbeginn jungen Weibchen und Männchen wiesen diese Erhöhungen Signifikanz auf, bei den zu Versuchsbeginn bereits ausgewachsenen Weibchen war diese Erhöhung nur angedeutet (siehe Tab.6 und Tab.8). Die jungen weiblichen Tiere retinierten in der Leber etwa 25% mehr  $^{241}\text{Am}$  als ihre gleichaltrigen sitzenden Kontrollen, die männlichen Tiere ca. 20% mehr. Ein nur 4wöchiges Laufmaschinentraining bewirkte bei jungen Rattenweibchen dagegen eine eher niedrigere Leberretention, etwa 12% (Tab.10). Für die Nieren ergab sich bei den jungen 12 Wochen lang trainierten Weibchen eine um etwa 16% erhöhte Retention gegenüber den Kontrollen (Tab.6). Bei den Knochen hingegen waren kaum Unterschiede zwischen trainierten und entsprechenden Kontrollgruppen ersichtlich. Geringfügige Unterschiede waren beim Femur der jungen Weibchen mit 12wöchigem Training und bei Humerus und Radius+Ulna der männlichen Tiere zu verzeichnen (Tab.6). Bei den zu Trainingsbeginn bereits ausgewachsenen Weibchen und bei den nur 4 Wochen lang trainierten jungen Weibchen zeigte sich die Radionuklidretention für alle weiteren untersuchten Organe und Knochen nicht signifikant unterschiedlich zu den Kontrolltieren (siehe Tab.8 und 10).

Berechnet man die  $^{241}\text{Am}$ -Konzentration in Organen und Knochen, so ergeben sich bei den beiden Versuchsgruppen der Rattenmännchen mit Ausnahme des Humerus keine Konzentrationsunterschiede (Tab.7). Bei den jungen 12 Wochen lang trainierten Weibchen dagegen lag die Konzentration in allen untersuchten weichen Organen signifikant über der der Kontrollen, die Konzentration in Radius und Ulna und in den Lendenwirbeln geringfügig darunter. Bei den erwachsenen weiblichen 12 Wochen lang trainierten Tieren (Tab.9) ergab sich eine erhöhte Konzentration in den Nieren. Auch bei dieser trainierten Gruppe lag die Nuklidkonzentration in Radius und Ulna unter der der Kontrolltiere. Bei den jungen

nur 4 Wochen trainierten Tieren (Tab.11) bestand eine Tendenz zu erniedrigter  $^{241}\text{Am}$ -Konzentration in der Leber, alle anderen Organe wiesen ähnliche Konzentrationen wie die Kontrollgruppe auf, wenn auch ein Trend zu leicht erhöhter Nuklidkonzentration in den Knochen der trainierten Tiere erkenntlich war.

Ein Vergleich zwischen männlichen und weiblichen gleichaltrigen trainierten bzw. nicht-trainierten Ratten zeigte in Leber, Milz und Herz eine ähnlich hohe Retention, in den Nieren der Männchen war diese jedoch signifikant höher. Die  $^{241}\text{Am}$ -Retention in Femur und Tibia erwies sich bei den beiden Gruppen der männlichen Tiere signifikant niedriger als bei den entsprechenden Gruppen der Weibchen, während sie bei Humerus, Radius und Ulna und den Lendenwirbeln etwa gleich lag. Erwachsene weibliche Ratten mit 12wöchigem Laufmaschinentraining und ihre entsprechenden Kontrolltiere wiesen im Vergleich zu den jungen 12 Wochen lang trainierten Weibchen und ihren Kontrollen eine signifikant höhere Retention in der Leber und eine signifikant niedrigere in den Nieren auf (Tab.6 und Tab.8). Bei den langen Knochen glichen sich die Retentionen, während sie in den spongiösen Knochen der Lendenwirbeln bei den erwachsenen Tieren in beiden Versuchsgruppen signifikant höher lag. Junge 4 Wochen trainierte weibliche Tiere und ihre Kontrolltiere hatten im Vergleich zu den jungen 12 Wochen lang trainierten Tieren und ihren entsprechenden Kontrollen eine signifikant höhere Retention in der Leber und eine signifikant niedrigere in den Nieren. Die Knochen der jüngeren trainierten und nicht-trainierten Tiere wiesen durchweg signifikant höhere Retentionen auf als die der 12 Wochen lang trainierten und nicht-trainierten Weibchen. Dies ist auch in den Organkonzentrationen widergespiegelt.

Bei all diesen Versuchen waren jedoch keine deutlichen Unterschiede hinsichtlich der Retention und Konzentration in Organen und Knochen zwischen Tieren mit vermehrter körperlicher Aktivität vor Radionuklidinjektion und im Käfig sitzenden Tieren zu erkennen.

### 3.1.2.5. Makroskopische $^{241}\text{Am}$ -Verteilung im distalen Femur

In Abb.9 ist die  $^{241}\text{Am}$ -Verteilung in den distalen Femora männlicher und weiblicher Ratten mit und ohne Vortraining 14 Tage nach Radionuklidinjektion dargestellt.

Bei den weiblichen Kontrollratten zeigte sich in der Epiphyse etwas weniger Trabekularisierung als bei den trainierten Tieren. Die Metaphysen dagegen waren bei beiden Gruppen gleichmäßig trabekularisiert. Die Spuren wiesen in allen 4 dargestellten Gruppen eine ähnliche Verteilung auf. Verdichtungen waren bei allen Tieren im Bereich der primären Spongiosa der Metaphyse zu verzeichnen. Im distalen Femur eines jungen weiblichen Tieres mit einem 12wöchigen Vortraining schienen die Spuren weniger dicht, obwohl der Mittelwert für die Retention im gesamten Femur über dem der Kontrollgruppe lag (siehe Tab.6).

## 3.2. Versuche zum Einfluß von phosphor- bzw. calciumarmer Diät und/oder Chelattherapie

Um zu untersuchen, inwieweit eine phosphor- bzw. calciumarme Diät die Knochenresorption stimuliert und damit eine mögliche Americiumfreisetzung aus dem Knochen, wurde männlichen Ratten 14 Tage nach Radionuklidinjektion vier Wochen lang die jeweilige Diät und gleichzeitig Zn-DTPA verabreicht.

### 3.2.1. Körper- und Organgewichte

Die Körpergewichte aller Gruppen lagen zu Anfang etwa gleich, da gleichaltrige Tiere für diese Versuche herangezogen wurden (siehe Tab. 12). Die Ratten vertrugen die Mangeldiäten vier Wochen lang gut und machten während des gesamten Versuchszeitraums einen normalen und lebhaften Eindruck.

Die Tiere, an die die calciumarme Diät verfüttert wurde, wogen zu Versuchsende soviel wie die entsprechenden Kontrolltiere (Tab.12). Die Tiere mit der phosphorarmen Diät dagegen wiesen gegenüber den Kontrollen geringere Endgewichte auf, was aber nur für die Gruppe, die zusätzlich zur

phosphorarmen Diät Zn-DTPA im Trinkwasser erhielt, signifikant war (Tab.12). Sowohl bei der calciumarmen wie bei der phosphorarmen Diät war die Futteraufnahme mit rund 20g pro Tier und Tag eindeutig geringer als bei den Kontrolltieren, an die die normale Haltungsdiät verfüttert wurde, mit etwa 30g.

Keine Unterschiede ergaben sich bei den Gewichten der weichen Organe wie Leber, Nieren und Milz zwischen den einzelnen Versuchsgruppen des jeweiligen Versuchs.

Calcifikationen in den Nieren waren bei beiden Mangeldiäten nicht zu verzeichnen.

Die Femurfeuchtgewichte der phosphorarmen Tiere lagen unter denen der entsprechenden Kontrollgruppen, die Unterschiede wiesen jedoch keine Signifikanz auf (Tab.12). Bei den Ratten mit calciumarmer Diät war das Femurfeuchtgewicht der Gruppe, die zusätzlich DTPA erhielt, signifikant geringer als das der Kontrollgruppe. Die Körpergewichte und auch die Femurgewichte aller Gruppen des Versuchs mit der calciumarmen Diät waren höher als die der phosphorarmen Tiere (siehe Tab. 12).

Die Tibiafeuchtgewichte der phosphorarmen Tiere erwiesen sich als geringfügig, aber nicht signifikant leichter als die der entsprechenden Kontrolltiere. So betrug das Tibiafeuchtgewicht für die Kontrollgruppe mit normaler Diät  $0,706 \pm 0,058\text{g}$  (Mittelwert  $\pm$  SEM), für die mit normaler Diät + Zn-DTPA  $0,730 \pm 0,037\text{g}$ , für die phosphorarme  $0,667 \pm 0,012\text{g}$  und für die phosphorarme + Zn-DTPA  $0,634 \pm 0,022\text{g}$ .

Bei dem Versuch mit der calciumarmen Diät lagen auch die Tibiafeuchtgewichte aller 4 Gruppen über denen des Versuchs mit der phosphorarmen Diät, innerhalb der 4 Versuchsgruppen gab es jedoch keine Unterschiede ( $0,818 \pm 0,028\text{g}$  normal,  $0,830 \pm 0,025\text{g}$  normal + Zn-DTPA,  $0,784 \pm 0,021\text{g}$  calciumarm und  $0,796 \pm 0,021$  calciumarm + Zn-DTPA).

Die Knochentrockengewichte, in % des Knochenfeuchtgewichts ausgedrückt, sind in Abb.14 dargestellt. Bei der phosphorarmen Diät wies der Femur 7,5% weniger auf als der der entsprechenden Kontrollgruppe mit der normalen Diät. Bei der calciumarmen Diät betrug diese Differenz sogar 8,3%. Auch

bei der Tibia zeigten sich Unterschiede, die jedoch nicht so ausgeprägt waren. So lagen die Tibiatrockengewichte der phosphorarmen Tiere 5% unter denen der Kontrolltiere, die der calciumarmen Tiere 7,8%. Die gravierensten Unterschiede ergaben sich jedoch für die spongiösen Lendenwirbel, die sich in deutlich geringeren Trockengewichten bei der phosphorarmen Diät (9% weniger als die Kontrollen) und bei der calciumarmen Diät (12% weniger) manifestierten.

Weitere Knochenparameter wie Länge und Durchmesser des Femurs unterschieden sich bei allen 3 Diäten kaum (Tab.12). Auch bei der Tibialänge traten keine signifikanten Unterschiede auf. Sie betrug bei dem Versuch mit der phosphorarmen Diät zwischen 37,5 und 38 mm, bei dem mit der calciumarmen Diät zwischen 39,2 und 39,9 mm.

Von der calciumarmen Diät verursachte osteoporotische Schäden an den Knochen, vor allem an der Tibia, waren bereits bei der Sektion der Tiere ersichtlich. Die Knochen mußten sehr vorsichtig entnommen und von dem anhaftenden Gewebe befreit werden, da sie sich als äußerst brüchig erwiesen. Spontane Frakturen der Knochen waren jedoch bei keinem der Tiere aufgetreten.

### 3.2.2. Ganzkörperretention

Der Verlauf der Ganzkörperretention für den Versuch mit der phosphorarmen Diät ist in Abb. 10 dargestellt. Die Ganzkörperretention aller 4 Gruppen verlief für die ersten 14 Tage des Versuchs gleich und betrug zu Beginn der Diät und der Dekorporationstherapie etwa 58% der injizierten Americiumdosis. Die für diese Versuche gewählte 14tägige Wartezeit sollte sicherstellen, daß sich der größte Teil des im Körper befindlichen Americiums im Kompartiment des Skeletts deponiert hatte, denn aus der Rattenleber wird das  $^{241}\text{Am}$  mit kurzer Halbwertszeit wieder ausgeschieden. Nach Therapiebeginn sank die Retention der DTPA-Tiere deutlich. Ab dem 18. Tag der Therapie lag die Ganzkörperretention der Tiere, die zusätzlich phosphorarmes Futter erhielten, unter der der Normaldiättiere. Der Unterschied betrug zu

Versuchsende etwa 4%, erwies sich jedoch als nicht signifikant. Die Phosphormangeldiät allein dagegen bewirkte keine vermehrte Mobilisation und Ausscheidung von Americium aus dem Körper, was am parallelen Verlauf der Retentionskurven von Tieren mit normaler und phosphorarmer Diät ersichtlich ist.

Bei dem Versuch mit der calciumarmen Diät dagegen ergab sich ein etwas anderes Bild (siehe Abb.11). Auch hier verlief die Ganzkörperretention aller 4 Versuchsgruppen während der ersten 14 Tage des Versuchs parallel. Zu Diät- und Therapiebeginn lag sie bei allen Gruppen zwischen 60-61% der injizierten Dosis. Bei den DTPA-Gruppen divergierten die Kurven bereits nach dem 3. Tag der Diät und Therapie. Ab dem 6. Tag nach Diätbeginn lag die Retention der Gruppe mit dem calciumarmen Futter signifikant unter der mit normalen Futter. Zu Versuchsende, 6 Wochen post injectionem, betrug der Unterschied etwa 10%. Auch hier bewirkte die calciumarme Diät alleine keine erhöhte Americiummobilisation aus dem Körper.

### 3.2.3. Organretention und -konzentration

Die Retention in den einzelnen Organen 6 Wochen nach  $^{241}\text{Am}$ -Injektion für den Versuch mit der Phosphormangeldiät und/oder gleichzeitiger Gabe von Zn-DTPA im Trinkwasser ist in Tab.13 aufgelistet. Mit Zn-DTPA-Behandlung (Therapiebeginn 2 Wochen nach Radionuklidinjektion) ließ sich die Retention in der Leber bei normaler Diät gegenüber den Kontrollen ohne Zn-DTPA-Therapie um 90% senken, in der Milz um 50% und in den Nieren um 55%. In den Knochen betrugen diese Reduktionen 43% für den Femur, 37% für die Tibia und sogar 50% für die Lendenwirbel. Vergleicht man die Tiere mit normaler Diät mit denen, die phosphorarme Diät verabreicht bekamen, so ergab sich bei den Tieren mit Phosphormangeldiät eine um 18% geringere Retention in der Leber, eine um 7% geringere in den Nieren und eine um 10% höhere in der Milz. Größere Retentionsunterschiede dagegen ergaben sich in den Knochen, wobei bei den phosphorarmen Tieren im Femur 16%, in Tibia mit Fibula 14% und in den Lendenwirbeln 9% weniger  $^{241}\text{Am}$

retinierte. Bei der Versuchsgruppe, die zusätzlich zur phosphorarmen Diät Zn-DTPA erhielt, wurde im Vergleich zur Gruppe mit Normaldiät und Zn-DTPA eine weitere Reduktion der Retention um 4% in der Leber und um 14% in den Nieren erreicht. In den Knochen war diese Reduktion noch ausgeprägter und betrug im Femur 16%, in der Tibia 13% und vor allem im spongiösen Knochen der Lendenwirbel 22%. Bei der phosphorarmen Diät wurde also eine zusätzliche Fraktion des inkorporierten Actinids für Zn-DTPA zugänglich.

Für den Versuch mit der calciumarmen Diät wurde eine zusätzliche Kontrollgruppe herangezogen, die bereits 14 Tage nach Radionuklidinjektion getötet wurde, um die Organretention und -konzentration zu Beginn der Diät und Therapie zu ermitteln. Während des 4wöchigen Beobachtungszeitraums nahm die Retention bei normaler Diät vor allem in der Leber aufgrund der kurzen Halbwertszeit ab, weniger ausgeprägt war die Abnahme dagegen in den Knochen (siehe Tab.16). Bei diesem Versuch war die Retentionserniedrigung durch Behandlung mit Zn-DTPA bei gleichzeitiger normaler Diät in den weichen Organen effektiver als bei dem oben beschriebenen Versuch, die Retention in den Knochen dagegen ergab ein ähnliches Bild (Tab.16). Überraschenderweise war in den weichen Organen bei calciumarmer Diät eine erhöhte Retention zu verzeichnen, die in der Leber 46%, in der Milz 56% und in den Nieren sogar 72% höher lag als bei den Tieren mit normaler Diät. Bei den Knochen dagegen erwies sie sich als signifikant geringer, in Femur und Tibia um 14% und in den Wirbeln sogar um 23%. Bei den Tieren, die zusätzlich zur calciumarmen Diät Zn-DTPA erhielten, resultierte in den weichen Organen eine ähnliche Retention wie bei den Tieren mit normaler Diät und Zn-DTPA, im Femur konnte man dagegen zusätzliche 24%, in der Tibia 28% und bei den Wirbeln sogar 39% chelieren. Die Fraktion, die in den weichen Organen kumulierte, konnte aus dem Körper deponiert werden und zusätzlich war in den Knochen ein größerer Prozentsatz des deponierten <sup>241</sup>Am für den Chelatbildner zugänglich.

Betrachtet man die Konzentration des <sup>241</sup>Am in den Organen und Knochen der Tiere mit phosphorarmer Diät (Tab.14), so zeigt

sich ein der Retention sehr ähnliches Bild, da sich die Organ- und Knochengewichte der einzelnen Versuchsgruppen nicht signifikant unterschieden.

Die  $^{241}\text{Am}$ -Konzentrationen in den einzelnen Organen und Knochen von Tieren, die calciumarme Diät und/oder Zn-DTPA erhielten, sind in Tab.17 dargestellt. Keine Konzentrationsunterschiede bei den Knochen sind zwischen calciumarmen Tieren und Tieren mit normaler Diät zu verzeichnen. Dies beruht auf dem etwas geringeren, jedoch nicht signifikant unterschiedlichen Knochengewicht bei den Tieren mit Calciummangeldiät. Bei den Ratten, die zusätzlich zur calciumarmen Diät noch Zn-DTPA im Trinkwasser erhielten, gab es trotz der etwas geringeren Knochengewichte eine eindeutig geringere Konzentration in den Knochen. Der Femur wies 21%, die Tibia 22% und die Wirbel 39% weniger auf als die Kontrolltiere.

In den Tabellen 15 und 18 ist die Verteilung der Dosis zwischen distalen und proximalen Teilen von Femur und Tibia bei phosphorarmer bzw. calciumarmer Diät und/oder Chelattherapie dargestellt.

Die phosphorarme Diät allein konnte die Dosis im distalen Teil des Femurs leicht, aber nicht signifikant (5%) und in dessen proximalen Teil signifikant um 16% verringern. Bei der calciumarmen Diät allein dagegen war die Dosis im Femur sowohl distal wie proximal signifikant erniedrigt und zwar um 7 bzw. 12 %.

Bei der Tibia wurde die Dosis in beiden Knochenhälften durch die phosphorarme Diät signifikant reduziert, distal um 9%, proximal sogar um 18%. Auch bei der calciumarmen Diät erfolgte eine signifikante Reduzierung der Dosis in beiden Tibiahälften. Hier war die Dosis im Gegensatz zu den Tieren mit phosphorarmer Diät vor allem im distalen Teil erniedrigt und zwar um 19%, während sie proximal nur 8% unter der der Kontrolltiere lag.

Mangeldiät bei gleichzeitiger Zn-DTPA-Behandlung verringerte die Retention in beiden Hälften von Femur und Tibia im Vergleich zur normalen Diät + Zn-DTPA um weitere Prozentsätze. So konnten im distalen Femur bei phosphorarmer

Diät + Zn-DTPA weitere 12% cheliiert werden, im proximalen sogar 21%. Bei der calciumarmen Diät + Zn-DTPA waren noch größere Mengen des  $^{241}\text{Am}$  im Femur für den Chelatbildner zugänglich. Distal konnten 16% und proximal sogar 29% mehr Americium aus dem Femur entfernt werden als bei normaler Diät + Zn-DTPA.

Auch bei der Tibia erwiesen sich die Mangeldiäten + Zn-DTPA wirksamer als die normale Diät + Zn-DTPA. Bei phosphorarmer Diät konnten distal weitere 13% und proximal 14% der Dosis entfernt werden. Bei calciumarmer Diät waren distal 28% und proximal 27% mehr Americium für den Chelatbildner zugänglich. Insgesamt erwies sich hier die calciumarme Diät als effektiver bei der Mobilisierung des  $^{241}\text{Am}$  aus dem Knochen, vor allem im proximalen Teil des Femurs und im distalen Teil der Tibia.

#### 3.2.4. $^{241}\text{Am}$ -Verteilung in Femur und Lendenwirbeln

Bereits röntgenologisch (Abb.13) waren osteoporotische Veränderungen in Femur und Tibia von Tieren, die die Mangeldiäten erhielten, zu erkennen, vor allem im distalen Bereich des Femurs und im proximalen der Tibia (Pfeile). Die Osteoporose war bei den Tieren mit der calciumarmen Diät ausgeprägter, was sich schon bei den Knochentrockengewichten angedeutet hatte (Abb.14). Rachitische Veränderungen, wie Verkürzung und verkrümmtes Wachstum der langen Knochen aufgrund mangelnder Calcifizierung, wurden durch beide Mangeldiäten nicht bewirkt.

In Abb.15 sind Knochenstrukturen und die makroskopischen Autoradiographien von Femora nach 4 Wochen phosphorarmer Diät und/oder Chelattherapie dargestellt. Strukturmäßig erkennt man bei den Tieren mit der phosphorarmen Diät in den Metaphysen, aber auch in den Epiphysen, deutlich die osteoporotischen Veränderungen, die sich in einer Ausdünnung der Knochenbälkchen manifestieren. Bei der phosphorarmen Diät allein trat eine leichte Reduktion der  $^{241}\text{Am}$ -Spuren in der Epiphyse zu Tage. Eine ausgeprägte Reduzierung der Spuren war das Ergebnis der Zn-DTPA-Behandlung. Americium, das im Knochen begraben war, wie am Schaft erkenntlich, konnte vom

Chelatbildner nicht angegriffen werden. Auch das in den Epiphysenfugen abgelagerte  $^{241}\text{Am}$  war für Zn-DTPA nicht oder nur teilweise zugänglich. Mit den Epiphysentrabekeln assoziiertes Radionuklid konnte bei normaler Diät + Zn-DTPA in geringerem, bei phosphorarmer Diät + Zn-DTPA jedoch in verstärktem Maße cheliiert werden. Das "Heiße Band" (siehe 3.1.1.5.) dagegen wurde bei beiden Gruppen fast vollständig eliminiert.

Eine deutlicher ausgeprägte Osteoporose war in den Lendenwirbeln der phosphorarmen Tiere sichtbar (Abb.16). Bei dem Tier, das nur die Diät allein erhielt, waren, auch ohne Chelattherapie, deutlich weniger Spuren in den Wirbelkörpern zu verzeichnen. Nur noch wenige Spuren sind bei phosphorarmer Diät und Gabe von Zn-DTPA zu finden, was sich bereits bei den Retentions- und Konzentrationswerten abzeichnete (Tab.13 und 14).

Ein ganz ähnliches Bild zeigte sich auch nach calciumarmer Diät und/oder Chelattherapie (Abb.17). Auch hier waren die Ablagerungen an der Epiphysenfuge nicht oder nur in geringem Maße für den Chelatbildner zugänglich. Eine deutliche Reduzierung der  $^{241}\text{Am}$ -Depositionen in der Epiphyse war bei den Tieren, die calciumarme Diät und Zn-DTPA erhielten, zu verzeichnen, verglichen mit den Tieren, denen die normale Haltungsdiät und Zn-DTPA verabreicht wurde.

Bei den Wirbelkörpern war die Osteoporose ausgeprägter als bei den Tieren mit der phosphorarmen Diät (Abb.18). Auch hier bewirkte die Mangeldiät allein bereits eine Reduzierung der Am-Ablagerungen. Bei gleichzeitiger Zn-DTPA-Behandlung konnte die Retention in den Lendenwirbeln um 90% gesenkt werden, was sich in den wenigen vorhandenen Spuren darstellte (Abb.18d).

Nach einer Expositionszeit von 16-20 Wochen zeigten Histoautoradiographien mit stripping-film von Längsschnitten distaler Femora bei Tieren, die die Mangeldiäten und gleichzeitig Zn-DTPA im Trinkwasser erhielten, deutliche Aktivitätsablagerungen im Periost, die vom Chelatbildner nicht angegriffen werden konnten. Teilweise fanden sich auch

im Knochen begrabene Spuren (Abb.23). Dichte  $^{241}\text{Am}$ -Spuren traten, wie aus den makroskopischen Autoradiographien schon ersichtlich, bei beiden Diäten und Zn-DTPA-Behandlung auch am distalen Ende der Epiphysenfuge auf, wo das Americium anscheinend fest gebunden und somit für den Chelatbildner schwer zugänglich ist (Abb.24).

### 3.2.5. Histologische Messungen

Bei beiden Mangeldiäten war die Wachstumsrate ( $\mu\text{m}/\text{d}$ ) des Schaftes, gemessen mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie am Abstand der beiden Fluoreszenzlinien, endostal eindeutig verringert, ebenso die Wachstumsrate der Metaphysentrabekel bei der phosphorarmen Diät, während Messungen an Trabekeln von Tieren, die die calciumarme Diät erhielten, aufgrund fehlender Doppelmarkierungen (Abb.22B) gar nicht möglich waren (Tab.24).

Die Breite der distalen Knorpelfuge unterschied sich bei allen Diätgruppen nicht von der der Kontrollen, was aufgrund des normalen Längenwachstums auch nicht zu erwarten war (Tab.24). Erweiterte Epiphysenfugen hätten auf rachitische Veränderungen in den langen Knochen hingewiesen.

### 3.2.6. Calcium- und Phosphatkonzentrationen im Blut

Bei Tieren, die die phosphorarme Diät erhielten, war der Spiegel von anorganischem Phosphat im Blut auf etwa die Hälfte gegenüber den Kontrollen erniedrigt, während die Calciumkonzentration leicht, aber nicht signifikant erhöht war (Tab.23). Die Tiere, an die 4 Wochen lang calciumarme Diät verfüttert wurde, wiesen Phosphat- und Calciumspiegel auf (Tab.23), wie sie auch für die Kontrolltiere ermittelt wurden.

### 3.3. Versuche zum Einfluß von Vitamin $D_3$ , $25(OH)D_3$ und $1,25(OH)_2D_3$ und calciumarmer Diät

#### 3.3.1. Körper- und Organgewichte

Die Körpergewichte der fünf Versuchsgruppen unterschieden sich zu Beginn und zu Ende des Versuchs nicht signifikant voneinander (siehe Tab.19), trotz der geringeren Futteraufnahme bei calciumarmer Diät (ca. 20g pro Tier und Tag gegenüber ca. 30g bei den Kontrolltieren mit normaler Diät).

Bei den weichen Organen wie Leber, Milz und Nieren ergaben sich hinsichtlich des Organfeuchtgewichts keine Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen, während bei den untersuchten Knochen teilweise eindeutige Unterschiede zu erkennen waren. So erwiesen sich die Femurfeuchtgewichte der Tiere, die die calciumarme Diät allein erhielten, und die der Tiere, die zusätzlich  $25(OH)D_3$  oder  $1,25(OH)_2D_3$  verabreicht bekamen, als signifikant leichter als die der Kontrollgruppe mit normaler Diät (Tab.19).

Unterschiede waren, wie schon durch die Femurfeuchtgewichte angedeutet, auch bei den Femurtrockengewichten zu verzeichnen. Sie betragen bei der Kontrollgruppe etwa 60% der Feuchtgewichte, während sie bei allen 4 Gruppen mit der calciumarmen Diät nur 50% erreichten.

Weitere Femurparameter wie Länge und Durchmesser waren bei allen Gruppen fast identisch (Tab.19).

Auch bei der Tibia, dem zweiten langen Knochen, der untersucht wurde, ergaben sich Gewichtsunterschiede. Die Tibia der Kontrollgruppe erreichte  $0,809 \pm 0,014g$  (Mittelwert mit Standardfehler), alle 4 Gruppen, an die die calciumarme Diät verfüttert wurde, wiesen mit  $0,701 - 0,767 g$  deutlich geringere Knochenfeuchtgewichte auf.

Bei den Tibiatrockengewichten kamen die Kontrollen auf etwa 62% des Feuchtgewichts, alle anderen Gruppen auf 53-55%.

Hinsichtlich der Länge der Tibia waren keine Unterschiede zu erkennen. Sie lag bei allen Gruppen zwischen 38,9 und 39,3 mm.

### 3.3.2. Ganzkörperretention

Die Ganzkörperretention über den gesamten Versuchszeitraum verlief bei allen Gruppen identisch (siehe Abb.12). Zu Beginn der Hormonbehandlung, 14 Tage nach Radionuklidinjektion, betrug sie 58-60% der injizierten Dosis, zu Versuchsende bei allen Gruppen etwa 44%.

Dies deutete an, daß, wie schon bei dem Versuch mit der calciumarmen Diät, diese allein bzw. zusammen mit dem knochenresorptionsstimulierenden Vitamin D und seinen Metaboliten keine vermehrte Ausscheidung von  $^{241}\text{Am}$  aus dem Körper bewirkte.

### 3.3.3. Organretention und -konzentration

Die Retention in den untersuchten weichen Organen und Knochen ist in Tab.20 aufgelistet.

Auch bei diesem Versuch lag die Leberretention bei den Tieren, die calciumarmes Futter erhielten, erheblich über der der Kontrolltiere und zwar um 36-48% (siehe auch 3.2.3). Die Milz und die Nieren retinierten  $^{241}\text{Am}$  ebenfalls in höherem Maße.

Die Retention des Americiums im Femur unterschied sich zwischen den einzelnen Gruppen. So retinierte der Femur der Gruppe, die das calciumarme Futter allein erhielt, Americium in deutlich geringerem Maße als der der Kontrollgruppe (vgl. Tab.16). Ebenso verhielt es sich bei der Gruppe, der zusätzlich Vitamin  $\text{D}_3$  appliziert wurde. Die Femurretention der Gruppe calciumarm +  $25(\text{OH})\text{D}_3$  lag signifikant über der Kontrollgruppe, während die der Gruppe calciumarm +  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  der der Kontrollgruppe glich. Die  $^{241}\text{Am}$ -Retention in der Tibia erwies sich für die Gruppen mit calciumarmer Diät und calciumarmer Diät + Vitamin  $\text{D}_3$  ähnlich der des

Femurs. Die beiden anderen Gruppen glichen den Kontrollen. Einheitlich bei allen behandelten Gruppen ergab sich eine um 13-18% erniedrigte Retention des Radionuklids in den Lendenwirbeln.

Die  $^{241}\text{Am}$ -Konzentrationen in den einzelnen Organen sind in Tabelle 21 aufgelistet.

In den weichen Organen änderten sich die prozentualen Verhältnisse zwischen Kontrolltieren und behandelten Tieren kaum, da diese Organe keine unterschiedlichen Feuchtgewichte aufwiesen (Tab.21).

Die Knochen der behandelten Tiere dagegen tendierten, wie das Beispiel des Femurs zeigt (Tab.19), zu höheren Konzentrationen, da die Knochenfeuchtgewichte durchschnittlich unter denen der Kontrolltiere lagen, was vor allem bei den langen Knochen ausgeprägt war (Tab.21).

Die Verteilung der  $^{241}\text{Am}$ -Dosis zwischen distalem und proximalem Teil des Femurs und der Tibia war bei allen Gruppen sehr ähnlich (siehe Tab.22). Bei der Gruppe, die die calciumarme Diät allein erhielt, war der prozentuale Anteil der Dosis im distalen Femur um 8% geringer als der der Kontrollen, während er sich im proximalen Teil im Gegensatz zu oben beschriebenem Versuch mit calciumarmer Diät nicht veränderte. In der distalen Tibia zeigte sich eine um 9%, in der proximalen eine um 8% geringere Dosis. Bei allen 3 Gruppen, die zusätzlich zur Diät Hormone verabreicht bekamen, glich die Dosis im distalen Teil von Femur und Tibia der der Kontrollen. Die Dosis im proximalen Femur glich, mit Ausnahme der Gruppe, die  $25(\text{OH})\text{D}_3$  erhielt, wo eine 21%ige Erhöhung zu verzeichnen war, ebenfalls der Kontrollgruppe. Diese erhöhte Dosis im proximalen Femurteil war für die deutlich erhöhte Retention im gesamten Femur bei dieser Gruppe verantwortlich (siehe Tab.20).

#### 3.3.4. Knochenstrukturen und Autoradiographien

In Abb.19 sind die Knochenstrukturen der distalen Femora und die zugehörigen Autoradiographien dargestellt.

Das Kontrolltier (a) wies eine normale Trabekularisierung in Epi- und Metaphyse, die Tiere mit Behandlung dagegen (b-e) wiesen eine mehr oder weniger ausgeprägte Ausdünnung der Trabekel (Osteoporose) sowohl im Bereich der Metaphyse wie der Epiphyse auf. Besonders ausgeprägt war diese Osteoporose bei den Tieren, denen zusätzlich zur calciumarmen Diät  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  verabfolgt wurde. Auch die Dicke der Compacta war bei den Hormonbehandelten Tieren deutlich reduziert.

Eine eindeutige Verminderung der  $^{241}\text{Am}$ -Spuren im distalen Femur durch calciumarme Diät und Hormonbehandlung trat hier nicht zu Tage, was sich bereits aufgrund der Retentionswerte im distalen Femur abzeichnete.

In Abb.20 sind die Strukturen und die zugehörigen Autoradiographien der Lendenwirbel 3 und 4 abgebildet. Auch hier fällt eine starke Osteoporose bei den Tieren, die calciumarme Diät erhielten, auf. Eine verminderte Spurendichte in den Wirbelkörpern war angedeutet, aber nicht deutlich zu erkennen, obwohl die Retention in den Wirbeln der calciumarmen Tiere unter der der Kontrollen lag (Tab.20). Die Spurendichte wurde in dieser Arbeit nicht quantitativ ausgewertet.

### 3.3.5. Histologische Meßergebnisse

Interessant war hier, den Einfluß der Calciummangeldiät und der Vitamin D-Hormone auf die Knochenwachstumsrate zu sehen. Die calciumarme Diät allein bewirkte eine deutliche Reduktion des endostalen Breitenwachstums am Schaft (Tab.24). Beide Fluoreszenzmarkierungsbande lagen enger zusammen, was auf einen geringeren Knochenanbau innerhalb des Zeitraumes zwischen beiden Calceinjektionen hindeutete (vgl. 3.2.5.). In Abb.21 sind die Fluoreszenzmarkierungen bei normaler und bei calciumarmer Diät gegenübergestellt. Bei zusätzlicher Behandlung mit Vitamin D und seinen beiden Metaboliten glich die Wachstumsrate am Schaft, mit Ausnahme der Gruppe calciumarm+ $25(\text{OH})\text{D}_3$ , bei der sie sich ebenfalls als niedriger erwies, der der Kontrolltiere.

An den Trabekeln der Tiere, die nur calciumarmes Futter erhielten, war keine Messung möglich, da eine Doppelmarkierung generell fehlte (siehe Abb.22).

Bei den Hormonbehandelten Gruppen dagegen war eine Messung an den Trabekeln in der Metaphyse möglich, da sich hier eine deutliche Doppelmarkierung zeigte. Die Wachstumsrate der Vitamin D<sub>3</sub>-Gruppe lag sogar deutlich über der der Kontrollen (Tab.24).

Keine Unterschiede waren, was die Breite der distalen Knorpelfuge betraf, zu verzeichnen (Tab.24). Äußerlich waren auch bei den Knochen dieser Tiere keine Anzeichen von rachitischen Veränderungen zu erkennen.

### 3.3.6. Konzentration von Calcium und Phosphat im Blut

Die photometrisch bestimmten Blutplasmawerte von Calcium und anorganischem Phosphat aller 5 Versuchsgruppen unterschieden sich nicht signifikant voneinander (siehe Tab.23).

#### 4. DISKUSSION

Americium ist neben Plutonium einer der wichtigsten Vertreter der Transuranelemente. Sein biologisches Verhalten nach Inkorporation wird durch eine bevorzugte Ablagerung in Leber und Skelett charakterisiert. Aus der Leber wird  $^{241}\text{Am}$  speziesabhängig mit unterschiedlicher Halbwertszeit ausgeschieden. Bei der Ratte beispielsweise, bei der Americium hauptsächlich über die Galle ausgeschieden wird (ICRP86), ist die biologische Halbwertszeit mit ca. 8 Tagen relativ kurz, beim Syrischen Hamster dagegen ist sie mit ca. 150 Tagen, vergleichbar mit der des Affen, relativ lang (Sei75). Im Skelett wird das Americium jedoch bei allen untersuchten Spezies mit langer Halbwertszeit retiniert (Übersicht bei Durb73).

Americium ist, im Gegensatz zum Radium, ein Knochenoberflächensucher. Es wird an allen Arten von Knochenoberflächen abgelagert, bevorzugt an solchen, die resorbieren. Bei Ratten aller Altersstufen erfolgt deshalb eine starke Ablagerung an den resorbierenden Oberflächen (Her62, Vau73). Das Unvermögen sich im Volumen des Knochenminerals zu verteilen läßt den Schluß zu, daß  $^{241}\text{Am}$  nicht in größerem Maße mit den Calciumionen der Hydroxylapatitkristalle im Austausch steht. Möglicherweise bindet  $^{241}\text{Am}$  an saure Moleküle, die Bestandteile der Knochenmatrix sind. Anscheinend kann durch den Resorptionsprozess eine vorher nicht erreichbare Bindungsstelle freigelegt werden oder die Aufnahme durch eine bereits verfügbare Stelle erhöht werden. Auch der Osteoclast könnte eine Substanz freisetzen, die sowohl an Knochenoberflächen, wie an  $^{241}\text{Am}$  bindet (Pri83). Die Beobachtungen von Chipperfield und Taylor (Chi72) zeigten, daß Metalle in vitro ganz verschiedene Affinitäten für Knochenmatrixkomponenten haben und daher ist es möglich, daß sie an unterschiedliche Substanzen, die an denselben Stellen im Knochen vorhanden sind, binden.

Im Knochenmark wurde  $^{241}\text{Am}$  nach Vaughan (Vau73) nicht gefunden, während Priest (Pri83) Konzentrationen von  $^{241}\text{Am}$  innerhalb des Knochenmarks fand, wo dieses Actinid

wahrscheinlich durch Knochenmarksmakrophagen zurückgehalten wird. Von dort aus könnte es durch lokales Recycling wieder zu benachbarten Knochenoberflächen gelangen.

Knochen ist ein dynamisches Gewebe, das markante strukturelle Änderungen als Antwort auf körperliche Belastung oder Immobilisation, auf Einflüsse der Gefäßversorgung, auf endocrine und solche die Nahrung betreffende Einflüsse zeigt. Während des gesamten Lebens werden Knochen konstant durch An- und Abbauvorgänge remodelliert. Internes Remodelling läuft, vor allem im Cortex, kontinuierlich ab. Am ausgeprägtesten sind die An- und Abbauvorgänge jedoch während Skelettwachstum und -entwicklung. Durch eine Stimulation der Resorptionsvorgänge mittels verschiedener Faktoren könnte das an den resorbierenden Oberflächen bevorzugt abgelagerte Americium möglicherweise wieder freigesetzt werden, danach relokiert oder mit Hilfe von Chelatbildnern durch Komplexierung die Redeposition verhindert werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde den Tieren, aufgrund der guten Reproduzierbarkeit,  $^{241}\text{Am}$  als Citratkomplex injiziert, obwohl der Charakter der Verteilung und Retention bei der Ratte weitgehend unabhängig von der chemischen Form des  $^{241}\text{Am}$  (Chlorid, Nitrat, Citrat) und auch von der Kontaminationsroute (intravenöse, intramuskuläre oder intraperitoneale Injektion, intratracheal oder Inhalation) ist (Sei74).

#### 4.1. Einfluß von körperlichem Training

Alle bisherigen Versuche zur Retention von Actiniden bei kleinen Versuchstieren, wie z.B. Ratten oder Syrischen Hamstern wurden ausschließlich an im Käfig sitzenden Tieren durchgeführt, deren natürliche Bewegungsfähigkeit durch die Käfiggröße limitiert ist (z.B. Pri83, Rod77, Tay61). Dies entspricht nicht den natürlichen Bedingungen, unter denen sich die Tiere frei bewegen können.

Die Auswirkungen von vermehrter körperlicher Tätigkeit bei Mensch und Tier, oder auch die des anderen Extrems, der Immobilisierung, wurden in anderem Zusammenhang als der Retention von Actiniden untersucht. So wurden vor allem

Auswirkungen auf Knochenmasse, auf den Gesamtstoffwechsel (Dav86), auf den Stoffwechsel von einzelnen Organen (Bey84, Cha87), oder auf die Lebensspanne von trainierten Ratten verglichen mit nicht-trainierten (Goo80) beleuchtet. Langzeittraining ist beispielsweise verbunden mit einer Hypertrophie des Humerus von Tennisspielern (Jon77), einer erhöhten Knochendichte im distalen Femur von Athleten verglichen mit Nicht-Athleten (Nil71), sowie einem erhöhten Knochenmineralgehalt bei Athleten (Dal74). Regelmäßiges Training kann bei Mensch (Alo78) und Tier (Bey86) den altersbedingten Knochenverlust (Osteoporose) ganz oder teilweise kompensieren. Im Gegensatz dazu führt eine Reduktion der Knochenbelastung, z.B. durch Immobilisierung (Föl86, LeB85, Maz83) oder Schwerelosigkeit (Pat87), zu einem meßbaren Abfallen der Knochendichte. Die primären Effekte von Immobilisierung werden einer gestiegenen osteoclastären Resorption und Hemmung von corticaler und trabekulärer Knochenbildung zugeschrieben (Myb89), während die physiologischen Mechanismen, die den Effekten von Training auf den Knochenmetabolismus und auf das Längenwachstum von Knochen zugrunde liegen noch wenig verstanden sind (Myb89, Swi89). Es wurde gezeigt, daß mechanische Belastung die Knochenbildung steigert, wahrscheinlich durch piezoelektrische Stimulation der Osteoblasten. Training könnte aber auch die hormonelle Kontrolle des Knochenmetabolismus beeinflussen. So stimuliert Training die Sekretion von Wachstumshormon, das eine allgemeine trophische Wirkung auf das Skelett hat und das Knochenremodelling anregt (Myb89).

In der vorliegenden Arbeit wurde zunächst der Einfluß von freiwilligem Laufradtraining vor und nach Applikation von  $^{241}\text{Am}$  beim Syrischen Hamster und der Einfluß eines längeren Trainings auf der Laufmaschine nach  $^{241}\text{Am}$ -Injektion bei Ratten auf die  $^{241}\text{Am}$ -Retention und -Verteilung untersucht. Desweiteren wurde ein Augenmerk auf Knochenparameter wie Gewicht und Länge geworfen.

#### 4.1.1. Syrische Hamster

Die Tendenz zu erhöhtem Körpergewicht bei 15 Wochen lang

vortrainierten Hamstern steht in guter Übereinkunft zur Arbeit von Borer (Bor80), bei der Hamster mit freiwilligem Training ebenfalls höhere Körpergewichte aufwiesen. Im Schnitt verbrachten die Hamster hier 10 Stunden pro Nacht im Laufrad und pausierten jeweils nur kurz, was mit eigenen Beobachtungen übereinstimmte.

Hamster, die nach Radionuklidinjektion trainierten, unterschieden sich hinsichtlich ihrer Körpergewichte nicht von den Kontrolltieren. Eine mögliche Erklärung könnte in der Menge der gespritzten  $^{241}\text{Am}$ -Aktivität liegen (51,8 kBq/kg KG), die für eine Wachstums hemmung verantwortlich sein könnte, obwohl sich bei Ratten selbst für Dosen von 222 kBq/kg KG Pu-239 die Gewichtszunahme weitgehend unbeeinflusst von der Nuklidapplikation erwies (Gam88).

Bei vortrainierten Tieren zeigte sich neben erhöhten Herzgewichten auch eine Tendenz zu schwereren, längeren und dichteren Femora und Tibiae, was auch bei wachsenden Ratten bereits nach einer Woche Training zu beobachten war (Ste81). Tiere, die nach Radionuklidinjektion trainierten, und ihre entsprechenden Kontrollen zeigten, wie aufgrund der Körpergewichtsentwicklung schon zu erwarten war, keine Unterschiede hinsichtlich ihrer Knochengewichte. Hier war auch eine deutliche Verminderung der Trabekelmasse (Osteoporose) im Bereich der Femurepiphyse zu verzeichnen, unabhängig davon, ob die Tiere trainierten oder nicht. Auch Gamer (Gam88) stellte bei jugendlichen Ratten, die keine ins Auge fallenden Gewebeschäden aufwiesen, nach Pu-239-Injektion eine Osteoporose fest. Die grundlegende Beziehung zwischen Training und somatischem Wachstum ist bis heute nicht gut verstanden. Möglicherweise stimuliert das Training bei Mensch und Tier die Proteinsynthese (Bor80). Regelmäßig trainierte Tiere haben im allgemeinen größere Herzen aufgrund eines größeren Blutvolumens (Dar85), was sich bei den vortrainierten Hamstern in einem höheren Herzgewicht manifestierte.

Im Gegensatz zur Hamstergruppe mit Nachtraining lag die Ganzkörperretention von  $^{241}\text{Am}$  der vortrainierten Tiere signifikant unter der ihrer Kontrollen. Das könnte zum einen

auf eine bereits initial geringere Ablagerung des Americiums in der Leber, zum anderen auf eine erhöhte Ausscheidung des bereits in der Leber abgelagerten  $^{241}\text{Am}$  über die Galle zurückzuführen sein.

Da die biologische Halbwertszeit des  $^{241}\text{Am}$  beim Hamster mit ca. 150 Tagen relativ lang ist, befanden sich auch 70 Tage nach Americiuminjektion noch etwa 40% der injizierten Dosis in der Leber. Grund für die verglichen mit der Ratte lange Halbwertszeit in der Leber ist der unterschiedliche Bindungszustand von  $^{241}\text{Am}$ , was sich auch in der Mobilisierbarkeit des Americiums aus der Hamsterleber durch DTPA widerspiegelt (Vol74a). Training nach Nuklidinjektion (Sektion 70 Tage nach Injektion) oder Vortraining (Sektion 7 Tage nach Injektion) bewirkten eine signifikant geringere Retention in den untersuchten Knochen. Im Hinblick auf die Radionuklidretention in den Knochen der Kontrolltiere stimmen die Daten hier mit früheren Studien anderer Autoren überein (Sei74, Rod77). Dies spricht dafür, daß durch Training gesteigerter Knochenstoffwechsel einen, wenn auch geringen Einfluß auf die Ablagerung des  $^{241}\text{Am}$  haben könnte, was sich auch in einer geringeren Spurendichte in den distalen Femora der trainierten Tiere niederschlug. Grund für die starke periostale  $^{241}\text{Am}$ -Ablagerung bei Tieren mit Training nach Nuklidapplikation könnte die bei wachsenden Tieren starke Resorption an der periostalen Oberfläche sein, besonders an der Verengung des Femurschaftes (Pri83), die durch das Training möglicherweise verstärkt wurde. Die geringere Anzahl von im Cortex begrabener Spuren bei diesen Tieren ist aller Wahrscheinlichkeit nach auf gesteigertes internes Remodelling im Cortex zurückzuführen.

#### 4.1.2. Ratten

Im Gegensatz zu in der Literatur beschriebenen freiwilligem Laufradtraining bei männlichen und weiblichen Ratten (Goo80, Holl85) waren die Tiere in dieser Arbeit nicht bereit, sich freiwillig im Laufrad zu bewegen. Daher wurde in mühevoller Arbeit den Ratten das Laufen in einer eigens gebauten Laufmaschine beigebracht. Aufgrund der unausweichlichen Verschmutzung der Laufmaschine durch den Kot

und Urin der Tiere wurde aus Strahlenschutzgründen auf ein Training der Ratten nach Radionuklidinjektion verzichtet. Weibliche Ratten lernten sehr schnell, sich auf dem Laufband zu bewegen und liefen bis zu Versuchsende sehr willig, während sich die Rattenmännchen vor allem bei den höheren Bandgeschwindigkeiten weigerten weiterzulaufen und aus diesem Grunde einige der Tiere aus dem Versuch genommen werden mußten. Diese Schwierigkeiten mit den männlichen Ratten wurden auch von anderen Autoren berichtet (Dar85).

Hinsichtlich der Körpergewichte antworteten männliche und weibliche Ratten unterschiedlich auf chronisches Training. Während weibliche Ratten ihren Futterverbrauch steigerten, was sich in einer Tendenz zu höheren Körpergewichten widerspiegelte, blieb er bei den Rattenmännchen, die eher zu niedrigeren Gewichten neigten, gleich. Dies steht in guter Übereinstimmung zur Arbeit von Nikoletseas (Nik80). Möglicherweise ist eine durch das Training bewirkte Appetitsuppression der Grund hierfür (Doh77).

Steinberg (Ste81) fand bei ausgewachsenen Ratten, die trainiert wurden, im Vergleich zu den Kontrollen keine Unterschiede im Körpergewicht, während sich in der vorliegenden Arbeit bei erwachsenen Tieren, die sich bereits in einer langsamen Wachstumsphase befanden, eine Tendenz zu höheren Körper- und Organgewichten zeigte, wie sie auch von Darby (Dar85) bestätigt wurde. Auch der Femurdurchmesser war im Gegensatz zur Arbeit von Steinberg geringfügig größer. Wachsende Tiere wiesen laut Steinberg bereits nach einer Woche Training schwerere und größere Knochen auf. Die wachsenden 12 Wochen lang trainierten Weibchen dieser Versuche hatten ebenfalls eine Tendenz zu schwereren Knochen, eindeutig größer war bei diesen Tieren die Femurlänge, während sich die Knochengewichte und -längen bei nur 4 Wochen lang trainierten wachsenden Weibchen nicht von denen der Kontrollen unterschieden. Bei den trainierten Männchen dagegen ergaben sich, wie schon durch das geringere Körperwachstum angedeutet, leichtere und kleinere Knochen. Die Herzgewichte wiesen im Gegensatz zu den Hamstern bei trainierten und nicht-trainierten Tieren keine Unterschiede auf, obwohl man bei regelmäßig trainierten Tieren im

allgemeinen aufgrund eines größeren Blutvolumens größere Herzen findet (Dar85).

Die Unterschiede bei den wachsenden 12 Wochen lang trainierten Tieren waren nicht so ausgeprägt wie bei Steinberg (Ste81), möglicherweise war das Training auf der Laufmaschine in der vorliegenden Arbeit gemäßiger. Nach Frost (Fro87) reagieren Knochen auf Belastung durch Änderungen ihrer Struktur und Anstieg der Knochenmasse. Diese Veränderungen treten jedoch nur auf, wenn die Belastung über einem unteren Grenzwert liegt.

Die Ganzkörperretention des  $^{241}\text{Am}$  verlief bei allen trainierten Tieren parallel zu der der jeweiligen Kontrolltiere, was nicht auf eine erhöhte Ausscheidung des Americiums hindeutete. 12 Wochen lang trainierte junge männliche und weibliche Ratten wiesen eine signifikant höhere Retention des Radionuklids in der Leber auf. Bei den 12 Wochen lang trainierten ausgewachsenen Weibchen war diese erhöhte Retention ebenfalls angedeutet. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen bei vortrainierten Hamstern, die eine geringere Leberretention zeigten. Möglicherweise hängen diese Befunde auch mit der speziesspezifischen Bindung des Americiums in der Leber zusammen (Sei79).

Bei der Ratte und beim Syrischen Hamster findet man anfänglich eine gleichmäßige Verteilung der  $\alpha$ -Spuren über die gesamte Leber. Lysosomen und Ferritin, das Eisenspeicherprotein der Leber, sind bedeutende Bindungsstellen. Nach der ersten Ablagerung kann dann das Americium aus der Leber in den Verdauungstrakt ausgeschieden werden oder in der Leber wiederverteilt werden. Bei höheren Dosen kann auch das Freisetzen der Nuklide nach dem Strahlentod der Leberzellen eine Rolle spielen.

Bei den vorliegenden Versuchen könnte eine Stimulation des Gesamtstoffwechsels einen Einfluß auf die Americiumretention in der Leber haben, die sich bei den vortrainierten Ratten als höher und bei den vortrainierten Hamstern als niedriger erwies. Der Grund für die normalerweise schon unterschiedliche Elimination von  $^{241}\text{Am}$  aus der Leber von Hamstern und Ratten hängt wahrscheinlich mit dem Schicksal der Lysosomen in der Leber beider Spezies zusammen (Sei79).

das wiederum in Zusammenhang mit körperlichem Training stehen könnte.

Bei den untersuchten Knochen waren kaum Unterschiede hinsichtlich der Retention zu verzeichnen. Ebenfalls keine auffälligen Unterschiede waren hinsichtlich der Verteilung des Radionuklids im distalen Femur zu erkennen. Ein Grund dafür könnte das Nichterreichen des von Frost (Fro87) postulierten minimalen Signalwertes durch diese Art von Training auf der Laufmaschine sein, unter dem der Knochen nicht mit Änderungen der Struktur und einem Anstieg der Knochenmasse reagiert, die mit einem gesteigerten Knochenstoffwechsel und damit auch gesteigerten An- und Abbauvorgängen einhergehen. Der Unterschied zum Verhalten des Americiums in den Knochen trainierter Hamster könnte seine Ursache in der anderen Bewegungsweise im Laufrad haben, die sich von der in der Laufmaschine unterscheidet. Hier könnten andere Kräfte auf den Knochen einwirken. Außerdem könnten sich der Signalwert und die Reaktion des Knochens darauf von Spezies zu Spezies unterscheiden.

Ausgehend von der Annahme, daß körperliches Training den Knochenumsatz so steigert, daß eine vermehrte Freisetzung von im Knochen abgelagertem  $^{241}\text{Am}$  bewirkt werden könnte, konnten am Ende der aufwendigen Versuche nur geringe Veränderungen in Knochenstruktur und im Verhalten des Americiums festgestellt werden, so daß für künftige Retentionsversuche mit  $^{241}\text{Am}$  und wahrscheinlich auch anderen Actiniden keine Unterschiede zwischen nur im Käfig sitzenden und vermehrt bewegten Tieren berücksichtigt werden müssen.

#### 4.2. Einfluß von Mangeldiäten

Der Knochenstoffwechsel wird nicht nur durch die mechanische Belastung des Knochens beeinflusst, sondern in hohem Maße auch durch Faktoren in der Nahrung. Besonders wichtig sind die für die Mineralisation der Knochenmatrix verantwortlichen Elemente Calcium und Phosphor, die das Hydroxylapatit  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  bilden. Fehlen diese Elemente in der Nahrung

in ausreichendem Maße und können daher normale Serumspiegel von Calcium und von anorganischem Phosphat im Blut nicht mehr aufrechterhalten werden, so greift der Körper auf die Phosphor- und Calciumspeicher im Skelett zurück. Dies geschieht mit Hilfe von Resorption des Knochens, die durch die Osteoclasten an den Knochenoberflächen erfolgt, wobei der genaue Mechanismus noch nicht aufgedeckt ist (Mark88). Aktivierte Osteoclasten resorbieren unabhängig vom Stimulus sowohl Knochenmineral wie die organische Knochenmatrix, was sich in einer vermehrten Urinausscheidung von Hydroxyprolin, einem Baustein des Collagens, zeigt (Dam82). Als Endergebnis einer gesteigerten Knochenresorption steht immer eine Osteoporose. Es gibt zwei Determinanten der osteoclastären Resorptionsrate, die Zellzahl und die Zellgröße (Cui76,Thomp75). In der vorliegenden Arbeit wurden die Wirkungen von Mangeldiäten auf die Zellzahlen, die von vielen Autoren untersucht wurden (Cui76,Sis85,Sta73,Thomp75), nicht ermittelt, da im Vordergrund die Frage der Ausscheidungsintensivierung von  $^{241}\text{Am}$  aus dem Knochen stand.

Der Serumphosphorspiegel im Körper ist, im Gegensatz zum Serumcalciumspiegel, nicht so fein reguliert, wobei die genauen Mechanismen noch weitgehend unbekannt sind. Man weiß aber, daß Phosphormangel ein wirkungsvoller Stimulus für die Synthese von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  ist, das im proximalen Nierentubulus mit Hilfe der 25-Hydroxyvitamin- $\text{D}_3$ - $1\alpha$ -Hydroxylase aus  $25(\text{OH})\text{D}_3$  entsteht. Resultat dieses Mangels ist eine Osteolyse, die unabhängig von Schilddrüsen und Nebenschilddrüsen verläuft und vor allem in trabekulären Knochen mit hoher Umsatzrate stattfindet, während die Diaphyse relativ unempfindlich ist und nur leichte endostale Resorption aufweist (Deb72). Daneben verursacht der Phosphormangel eine akute Hemmung der Knochenmineralablagerung und eine gesenkte Matrixbildung (Bru75). Die resorptive Antwort funktioniert als homeostatischer Mechanismus, um Serum- und intrazelluläre Phosphorkonzentrationen aufrechtzuerhalten, denn beträchtliche Beträge von Phosphor werden nach Resorption in den Weichgeweben abgelagert (Bay71).

Als Antwort auf den Mangel an Calcium fand Stauffer (Sta73) eine um 400% gestiegene Rate endostaler Knochenresorption bei jungen wachsenden Ratten. Bei der Regulation des Calciumspiegels bei Calciummangeldiät spielt das Parathormon eine wichtige Rolle im Gegensatz zur Phosphormangeldiät. Hier wurden hohe Serumspiegel von PTH und ein Anstieg im Volumen der Parathyreoidea beobachtet (Thomp75). Die durch die Mangeldiäten erhöhte Menge an  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  bewirkt eine erhöhte Absorption von Calcium und Phosphor aus dem Darm. Zusätzlich zu den Mangeldiäten wurde daher destilliertes Wasser geboten, um die Aufnahme dieser Elemente über das Trinkwasser zu verhindern.

Auswirkungen auf die Körpergewichte der Versuchstiere bei calciumarmer Diät waren hier trotz geringerer Futteraufnahme wie bei Thomas et al. (Thom88) nicht zu verzeichnen, während Stauffer et al. (Sta73) von einer geringeren Gewichtszunahme der calciumarmen Tiere berichteten. Bei den Phosphormangeltieren dagegen gab es eine Tendenz zu geringeren Körpergewichten, die aber nicht so ausgeprägt war wie in der Literatur beschrieben wurde (Bay71, Day39). Die Tiere vertrugen beide Diäten gut und es traten keine wie von Day (Day39) beschriebenen Todesfälle auf. Ein Grund für das normale körperliche Wachstum der Tiere trotz Mangeldiäten ist der unterschiedliche Calcium- und Phosphorbedarf für maximales Wachstum und maximale Mineralisation (Ber69). Nach Bernhart (Ber69) brauchen junge männliche Ratten etwa 22 mg Calcium und 20 mg Phosphor für ein maximales Wachstum und 48 mg Calcium und 34 mg Phosphor für eine maximale Mineralisation des Skeletts pro Tag. Die über die aufgenommene Futtermenge berechnete Aufnahme von Calcium und Phosphor bei der Phosphormangeldiät betrug in der vorliegenden Arbeit 0,3 mg Phosphor und 190 mg Calcium pro Tag. Die Phosphorrestriktion machte sich hier sicherlich auch in den Weichgeweben bemerkbar und könnte der Grund für das verzögerte Wachstum sein. Bei der calciumarmen Diät nahmen die Tiere etwa 16 mg Calcium und 123 mg Phosphor täglich zu sich. Die aufgenommene Calciummenge liegt nicht weit von der für maximales Wachstum nötigen Calciummenge entfernt. Daher

ergaben sich bei den Calciummangeltieren keine Körpergewichtsunterschiede zu den Kontrolltieren. Die Körpergewichtsunterschiede zwischen den Versuchstieren beider Versuche sind nicht erklärbar, da die Tiere unter identischen Bedingungen gehalten wurden. Für eine maximale Mineralisation reichten die aufgenommenen Calcium- bzw. Phosphormengen nicht aus. Allein an den etwas geringeren Knochenfeuchtgewichten der Diättiere, die aber nur bei einer Gruppe Signifikanz aufwiesen, war die geringere Mineralisation schon erkennbar, was sich in den Knochentrockengewichten noch manifestierte, besonders ausgeprägt zu erkennen an den Wirbeln.

Bei jungen Ratten ist Phosphormangel begleitet von normalen bis leicht erhöhten Serumspiegeln von Calcium und einem sehr niedrigen Phosphatspiegel, während sich die Calciumspiegel bei calciumarmer Diät kaum ändern und auch keine Schwankungen im Phosphatspiegel auftreten (Geo72,Rad79). Dies konnte auch hier bestätigt werden. Die Calcium- und Phosphatspiegel der Kontrolltiere entsprachen den vom Züchter angegebenen Werten für diesen Rattenstamm und diese Altersgruppe männlicher Tiere (Char84). Die Streuungen bei den Plasmaspiegeln der behandelten Tiere sind relativ groß, wofür die individuell unterschiedliche Reaktion der Tiere auf die Mangeldiäten verantwortlich sein könnte.

Verknüpft in diesen durch die Mangeldiäten stimulierten Stoffwechsel war nun die Ablagerung von  $^{241}\text{Am}$  an ruhenden und resorbierenden Oberflächen, wo es vermutlich an Mucosubstanzen, die an den Oberflächen vorhanden sind, gebunden ist. In vitro wurden Bindungsversuche mit Glykoproteinen aus dem corticalen Knochen von Rindern durchgeführt, wobei besonders das Knochensialoprotein und der Chondroitinsulfat-Protein-Komplex detailliert beschrieben wurde (Chi72).  $^{241}\text{Am}$  weist für diese Glykoproteine jedoch eine geringere Affinität auf als  $^{239}\text{Pu}$ . Diese Moleküle sind jedoch keineswegs die einzigen, die für eine Bindung von Americium oder Plutonium im Knochen in Frage kommen, da z.B. Plutonium auch an Knochenmineral (For62), Collagen und andere Glykoproteine binden kann (Chi72). Desweiteren werden in der Knochenmatrix auch Plasmamoleküle wie Albumin und Transferrin, das Transportmolekül für Plutonium (Boo65), Neptunium (Wir85) und Thorium (Pet81) im Blut, gefunden.

Albumin und Transferrin können durch Adsorption an die Mineralphase während der Bildung von calcifizierten Gewebe akkumulieren und dort verbleiben bis der Knochen wieder resorbiert wird (Mark88,Vae88). Albumin könnte, wie im Blut, auch im Knochen einen Bindungsort für Americium darstellen, während dieses Radionuklid an Transferrin nur sehr schwach gebunden wird (Tay73).

Der Gedanke, die Ablagerung von Plutonium und Americium im Knochen durch Eingriffe in den Knochenstoffwechsel mittels Mangel-diäten zu beeinflussen, trat bereits kurz nach der Entdeckung dieser Radionuklide Ende der 40er Jahre auf. Copp et al. (Cop47) fanden weniger Plutonium in jungen Ratten mit calciumarmer Diät als in alten Ratten mit calciumreicher. Die Aufnahme von Plutonium im Körper phosphorarmer Tiere war höher als bei Kontrolltieren und im Hinblick auf die Retentionskinetik wurden keine signifikanten Effekte beobachtet. Allerdings wurde die Diät hier bereits vor Radionuklidinjektion gefüttert und somit ist anzunehmen, daß sich durch vergrößerte resorbierende Flächen auch mehr Plutonium bevorzugt anlagerte. Versuche von Cuisinier-Gleizes (Cui76) mit einem weiteren Actinid, Neptunium-237, als Marker für die Knochenresorption an den Knochenoberflächen, zeigten eine leicht, jedoch nicht signifikant gesteigerte Ausscheidung dieses Radionuklids im Urin bei phosphorarmer Diät 3 Wochen nach Radionuklidinjektion (Ciu76). Auch in der vorliegenden Arbeit bewirkte ein 4wöchiges Füttern von phosphorarmer Diät nach Radionuklidinjektion allein kein signifikant vermehrtes Ausscheiden von Americium aus dem Körper, was hier mit Hilfe der Ganzkörperretention ermittelt wurde. Nachdem hier ein Modell für Spättherapie nach Americiumablagerung im Knochen getestet werden sollte, sicherte eine vierzehntägige Wartezeit nach Radionuklidapplikation die Umverteilung aus der Leber in den Knochen und die dortige Ablagerung. Gleichzeitig verabreichter Chelatbildner zeigte bei Tieren mit Kontrolldiät, wie bei den Diättieren, unabhängig davon, ob es sich um phosphorarme oder calciumarme Diät handelte, ein deutliches Absinken der Ganzkörperretention von <sup>241</sup>Am. Als Chelatbildner wurde hier das Zn-Chelat der

Diäthylentriaminpentaessigsäure (Zn-DTPA) eingesetzt, das mit vielen Metallen feste wasserlösliche Komplexe bildet. Die Metalle verlieren dabei ihre charakteristischen chemischen und biologischen Eigenschaften und werden vom Organismus ausgeschieden. Protrahierte Verabfolgung von Zn-DTPA senkt die Retention auch bei späterem Therapiebeginn deutlich. Das Zn-Chelat der DTPA, das weder Zink noch Mangan, für den Körper essentielle Elemente, entfernt, ist weniger toxisch als Ca-DTPA (Vol80). Fortgesetzte Gabe von kleinen Beträgen von Zn-DTPA im Trinkwasser bietet einen guten Weg der Verabfolgung. Die über den Trinkwasserverbrauch berechnete tägliche Dosis von etwa 600  $\mu\text{Mol/kg KG}$  betrug die zwanzigfache Menge des i.v. 'human dose equivalent' von 30  $\mu\text{Mol/kg KG}$  von Zn-DTPA. Die tatsächlich aufgenommene Zn-DTPA-Menge lag wahrscheinlich unter dem angegebenen maximalen Wert, da durch Bewegung der Tiere im Käfig unterhalb der Wasserflaschen Trinkwasserverluste entstanden. Die Dosis wurde deshalb so hoch angesetzt, da nur etwa 3% des per os verabreichten DTPA das Blut erreicht (Vol84). Im Verlauf des Versuchs stieg bei den jungen wachsenden Männchen das Körpergewicht schneller als die Wasseraufnahme, so daß sich die aktuelle Wasser- und DTPA-Aufnahme pro kg verringerte und die Zn-DTPA-Dosis am Ende des vierwöchigen Verabfolgungszeitraum nur noch etwa 390  $\mu\text{Mol/kg KG}$  betrug.

Eine die Chelattherapie unterstützende, durch Stimulation der Knochenresorption vermehrte Ausscheidung des Radionuklids war bei der phosphorarmen Diät angedeutet, bei der calciumarmen Diät klar ausgedrückt. Offenbar konnte eine zusätzliche Fraktion des Radionuklids für den Chelatbildner zugänglich gemacht werden und somit die Strahlenbelastung des Körpers reduziert werden.

Gabe der phosphorarmen Diät resultierte in einer signifikant geringeren Retention in der Leber. In allen untersuchten Knochen lag die Retention ebenfalls 9 - 13 % unter der der Kontrollen, was für eine gesteigerte Ausscheidung des Radionuklids aus den Knochen sprach. Durch gleichzeitiges Verabreichen von Zn-DTPA konnten bei der phosphorarmen Diät im Vergleich zur Anwendung bei normaler Diät zusätzlich 13 - 22 % aus dem Knochen entfernt werden. Bei der calciumarmen Diät ergaben sich überraschenderweise um 46 - 72 % erhöhte

Retentionen des Americiums in Leber, Nieren und Milz, während die Retention in allen untersuchten Knochen um 14 - 23 % reduziert war. Die erhöhte Organretention in der Leber könnte auf eine erhöhte Bindung des  $^{241}\text{Am}$  und damit geringere Ausscheidung aus diesem Organ während der calciumarmen Diät zurückzuführen sein oder auf eine Akkumulation des aus den Knochen freigesetzten  $^{241}\text{Am}$ , wofür die gegenüber den 2-Wochen-Kontrollen erhöhte Retention in den Nieren und auch in der Milz sprechen könnte. Die zusätzliche Fraktion in den Weichgeweben konnte bei Gabe von Zn-DTPA in demselben Maß wie bei normaler Diät aus dem Körper eliminiert werden. An eine Bindung des  $^{241}\text{Am}$  an Albumin oder in der Leber an Ferritin wäre hier zu denken.

Thomasset et al. (Tho76) fanden im Zusammenhang mit Versuchen, bei denen das Actinid Neptunium-237 als Marker für die Knochenresorption diente, bei phosphorarmen Tieren ebenfalls eine verminderte Leberretention dieses Actinids, während sie bei der calciumarmen Diät höher als bei den Kontrollen lag. Die Unterschiede wiesen im Gegensatz zu den vorliegenden Versuchen keine Signifikanz auf. Hollins und Durakovic (Hol72) fanden bei laktierenden Rattenmüttern ebenfalls eine höhere  $^{241}\text{Am}$ -Retention in der Leber als bei den Kontrollen, allerdings erwies sich das Lebergewicht hier höher, so daß sich die Konzentration in diesem Organ nicht von der der Kontrolltiere unterschied. Laktation stellt für den mütterlichen Knochen einen erheblichen Stress dar, da Calcium und andere Elemente durch erhöhte Resorptionsraten aus dem Knochen freigesetzt werden. Durch die gesteigerte Knochenresorption wird nach Hollins der Anteil der resorbierenden Oberflächen im Knochen erhöht und damit stehen mehr Bindungsorte für das  $^{241}\text{Am}$ , das sich ja bevorzugt an resorbierenden Oberflächen ablagert, zur Verfügung. Insgesamt befanden sich bei den Rattenmüttern am Ende der Laktationsphase 30% mehr  $^{241}\text{Am}$  im Körper. Dagegen ist die Retention von Plutonium in Leber und Femur laktierender Ratten signifikant reduziert durch die durch ein komplexes Zwischenspiel von vielerlei Hormonen verursachte Erhöhung des mütterlichen Knochenstoffwechsels (Tay80a). Eine Retentionserhöhung von Americium und Plutonium im Femur stellten Hollins et al. (Hol73) auch bei Ratten fest, denen 7

Tage vor Radionuklidinjektion calciumarme Diät gefüttert wurde. 14 Tage nach Applikation der Nuklide lag die Retention vom  $^{241}\text{Am}$  im Femur der Diättiere um 18 % höher als bei den Kontrolltieren, die von  $^{239}\text{Pu}$  um 6 %. Zusätzlich zur Diät verabreichtes Parathormon steigerte die Retention von  $^{241}\text{Am}$  im Femur um weitere 26 %, während die von  $^{239}\text{Pu}$  blieb gleich. Auch hier schreibt Hollins die erhöhte Retention einer Vergrößerung der resorbierenden Oberfläche zu. In der vorliegenden Arbeit dagegen konnte die Retention von  $^{241}\text{Am}$  durch calciumarme Diät nach Americiuminjektion in Femur und Tibia um 14% und in den Lendenwirbeln um 23 % gegenüber den Kontrollen gesenkt werden.

Es ist bekannt, daß Knochenwachstum und Remodellierungsraten in distalen und proximalen Teilen von langen Knochen unterschiedlich sind. Sie bestimmen den Grad der Radionuklidablagerung und -freisetzung. In distalem Femur und proximaler Tibia, die hohe Anteile an trabekulären Knochen in der Metaphyse besitzen, ist der Knochenstoffwechsel erhöht, auch bedingt durch die Nähe des Kniegelenks, auf das mechanische Einflüsse einwirken. Diese Teile der Knochen reagieren auch effektiver auf die Behandlung mit DTPA. Relativ unzugänglich für den Chelatbildner ist im allgemeinen die Femurepiphyse, was sich gegenüber der Metaphyse in relativ vielen  $\alpha$ -Spuren nach Zn-DTPA-Behandlung manifestiert (Vol84). Daher war es erstaunlich zu sehen, daß sich durch die phosphorarme Diät allein bereits deutlich mehr  $^{241}\text{Am}$  im unempfindlicheren proximalen Femurteil eliminieren ließ. Durch die calciumarme Diät erfolgte dies noch in größerem Ausmaß. In der Tibia resultierte eine Reduzierung der Retention im proximalen und vor allem im sonst für den Chelatbildner nicht so zugänglichen distalen Teil. Durch gleichzeitige Gabe von Zn-DTPA wurde die Dosis in den distalen Teilen von Femur und Tibia um weitere Prozentsätze verringert. Mit Hilfe der Mangeldiäten wurden auch die sonst für Zn-DTPA relativ unzugänglichen Femurepiphyse für dessen Wirkung empfänglich. Dies wurde auch an den wenigen Spuren in der Epiphyse der behandelten Tiere deutlich. In ähnlicher Weise wurde auch das in den Wirbeln abgelagerte  $^{241}\text{Am}$  entfernt, bei denen die Knochenumbaurate im allgemeinen hoch

ist und durch die Mangeldiäten noch verstärkt wird. Auch bei den Wirbeln waren bei den Tieren mit calciumarmer Diät und Zn-DTPA auf den makroskopischen Autoradiographien kaum noch Spuren zu verzeichnen.

Histoautoradiographisch waren bei den Diättieren mit DTPA-Behandlung größere Actinidablagerungen nur noch am distalen Ende der Epiphysenfuge in der Region der hypertrophischen Knorpelzellen und Ablagerungen am Schaft zu erkennen. Im Schaft war das Americium teilweise durch den Anbau neuen Knochens begraben, jedoch fanden sich auch Ablagerungen im Periost, wo das <sup>241</sup>Am anscheinend fest, für den Chelatbildner unzugänglich gebunden ist. Die starke Bindung in der Epiphysenfuge könnte zum einen durch die geringe Durchblutung des Knorpels zu erklären sein, wodurch der Chelatbildner nicht an das Americium gelangen könnte, zum anderen wird die Bindung einem Sialomucin zugeschrieben, das gerade in dieser Region nachgewiesen werden konnte (Vau73).

Die Erhöhung der Effektivität von Zn-DTPA in den Knochen durch die Mangeldiäten hatte jedoch nicht nur positive Effekte. Durch den Mangel an Calcium und Phosphor wurden die Knochen in ihrer Struktur ganz erheblich beeinflußt. Bereits auf den Röntgenbildern einzelner Knochen war eine starke Osteolyse im Bereich der Metaphysen zu erkennen, die in den Knochenschnitten noch deutlicher hervortrat. Die Erwartung, daß Calcium- und Phosphormangeldiät eine Erweiterung der Epiphysenfugen bewirken, wie sie zumindest für die Phosphormangeldiät beschrieben wurde (Deb73) und die auf rachitische Veränderungen im Knochen hingewiesen hätte, hatte sich nicht erfüllt. Da die Knorpelfugenbreite mit dem Längenwachstum korreliert ist (Gam88), zeigten sich auch keine Unterschiede im Längenwachstum der Knochen.

Es stellt sich nun die Frage, inwieweit eine Entmineralisierung des Knochens durch resorptionsstimulierende Diäten zur Unterstützung der Chelattherapie gerechtfertigt ist, wenn man die Schäden, die vor allem an wachsenden Knochen entstehen, in Betracht zieht. Zu untersuchen bliebe sicherlich, ob mit einer Diät die weniger phosphorarm bzw. calciumarm ist, die starken Schäden in der Knochenstruktur vermindert werden könnten und die Resorption

trotzdem in gleichem Maße stimuliert werden könnte. Es wäre auch interessant zu sehen, ob die Demineralisierung durch Füttern von optimaler Diät wieder rückgängig gemacht werden könnte und in welchem Ausmaß, denn es wird für eine durch calciumarme Diät verursachte Osteoporose von einer Reversibilität der entstandenen Schäden durch Fütterung einer optimalen Diät bei ausgewachsenen Ratten berichtet (Sev77), die jedoch bei jungen wachsenden Tieren nicht möglich war (Sta72). Bereits Copp (Cop47) versuchte 12 Wochen nach Pu-Injektion mit einer calcium- und phosphorarmen Diät, die Knochenresorption zu stimulieren und die Knochen dann anschließend mit einer ausgewogenen Diät zu remineralisieren. Leider liegen hier keine Daten zur Retention in den Knochen vor. Am Ende des Versuchs waren starke Pu-Ablagerungen im Knochen begraben. Der Sinn dieser Remineralisierung war, durch Begraben des  $\alpha$ -Strahlers, die strahlenempfindlichen Zellen zu schützen. Zu diesem Zeitpunkt standen noch keine Chelatbildner zur Dekorporation der Radionuklide zur Verfügung.

Diese Versuche zeigten deutlich, daß, wie erwartet wurde, durch eine mit Hilfe von Mangeldiäten verursachte erhöhte Knochenresorption nach Radionuklidinjektion vermehrt  $^{241}\text{Am}$  aus dem Körper ausgeschieden werden konnte, besonders bei gleichzeitiger Verabreichung eines Chelatbildners. Dies fand jedoch zumindest bei den hier eingesetzten wachsenden Tieren auf Kosten der Intaktheit der Knochen statt.

#### 4.3. Einfluß von Vitamin $\text{D}_3$ , $25(\text{OH})\text{D}_3$ und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

Vitamin  $\text{D}_3$ , ein Hormon mit Effekten auf den Knochen- und Mineralmetabolismus, muß zunächst zu seiner physiologisch aktivsten Form, dem  $1\alpha,25$ -Dihydroxycholecalciferol ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) (Bro85), metabolisiert werden. Dies geschieht durch eine Hydroxylierung an Position 25 in der Leber und nach Transport in die Niere durch Hydroxylierung an Position 1. Die Vitamin D-Metaboliten sind bekannt dafür, die Regulation von Mineralisation und Resorption von Knochen zu

beeinflussen.  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  ist ein potenter Stimulator der Knochencalciumresorption *in vitro* (Rai72) und *in vivo* in intakten (Tan71, Mar83) und auch in thyroparathyroid-ektomierten Tieren (Rey76), da gezeigt wurde, daß  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  die Anzahl und die Aktivität von Osteoclasten in Abwesenheit von Parathormon steigert (Wei78). Die Mobilisation kann, entsprechend dem Bedarf an Calcium im Serum schnell erfolgen, auch wenn noch keine erhöhte Osteoclastenzahl vorhanden ist (Mar83). Bei jungen Mäusen ist die osteoclastäre Knochenresorption, die durch kontinuierliche Gabe von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  induziert wurde, mit einer gesteigerten Knochenmineralisation verbunden ohne Änderungen in der Serummineralkonzentration. Die genauen Mechanismen, durch die  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  Calcium aus dem Knochen mobilisieren kann, sind noch nicht aufgedeckt (DeL88). Cytosolische Rezeptoren für  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  wurden nur in Osteoblasten und Preosteoblasten gezeigt, nicht jedoch in Osteoclasten. Es ist wahrscheinlich, daß die osteoclastische Aktivität durch eine andere Zelle in der Knochenumgebung vermittelt. Ein potentieller Kandidat ist der Osteoblast, da diese Zelle, wie oben erwähnt, Rezeptoren für  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  besitzt. Diskutiert werden auch Effekte auf die Osteoclastenentwicklung (Mark88).

Die stimulatorischen bzw. inhibitorischen Effekte der Vitamin D-Metaboliten sind wahrscheinlich abhängig von der Dosis, der Dauer der Verabreichung, dem Alter der Tiere und der gefütterten Diät (Boy83). So können physiologische Dosen von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  die Knochencollagensynthese in Organkulturen hemmen (Can83) oder die Osteoclastenaktivität und -anzahl sowohl *in vitro* wie *in vivo* erhöhen (Rai80), pharmakologische Dosen den Betrag und die Bildungsrate von neuer Knochenmatrix bei Mäusen (Mar85) oder die osteoplastische Collagensynthese in jungen Ratten hemmen (Hoc86). Hohe Dosen von Vitamin D stimulieren die osteoclastische Resorption bei Ratten (Bay73).

Exogen verabreichtes  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  wird sehr schnell metabolisiert und so ergibt sich durch intermittierende Gabe keine konstante Verfügbarkeit für dieses Hormon.

Schwierigkeiten beim Untersuchen der Effekte von Vitamin D und seinen Metaboliten dürften zum Teil darauf zurückzuführen sein (Mark88). Eine kontinuierliche Infusion sichert dagegen eine konstante Lieferung der Hormone. Daher kam hier eine Dauerinfusion mit Hilfe osmotischer Minipumpen zu Einsatz, die 4 Wochen lang konstante Hormonmengen lieferte und für die Versuchstiere besser verträglich war als ständige Injektionen. Gleichzeitiges Füttern von calciumarmer Diät sollte die resorptive Wirkung der Vitamin D-Hormone unterstützen, da bei ausreichendem Calcium in der Nahrung exogene pharmakologische Dosen zumindest von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  einen anabolischen Effekt auf das Skelett haben (Boy83). Ein weiterer Grund für die calciumarme Diät war, daß hohe Dosen von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  toxisch wirken können, da sie Hypercalcämie und Calcifikationen in der Niere hervorrufen können (Lar77). Auch auf die Gabe von hohen Vitamin D-Dosen reagieren Ratten mit einer gestiegenen Knochenresorption (Bay73). Junge Mäuse reagieren ebenfalls mit gesteigener Knochenresorption auf die Gabe von  $25(\text{OH})\text{D}_3$ , obwohl der Effekt geringer ist als bei  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (Rey73). Das  $25(\text{OH})\text{D}_3$  muß zuerst zu  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  umgewandelt werden, da nur  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  in anephrischen Ratten einen calciummobilisierenden Effekt aufweist (Ho72). Daher wurden Vitamin D und  $25(\text{OH})\text{D}_3$  parallel zu  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  untersucht, aber in höheren Dosen eingesetzt.

Die Auswirkungen der calciumarmen Diät und die Gabe von den Vitamin  $\text{D}_3$ -Hormonen auf die Futteraufnahme, auf Körper- und Knochengewichte, und auf die Spiegel von Calcium und Phosphat im Blut waren die gleichen wie die in Abschnitt 4.2. erläuterten, daher soll an dieser Stelle nicht weiter darauf eingegangen werden. Die Knochenlängen waren aufgrund einer auch bei diesem Versuch normalen Wachstumsfuge ebenfalls nicht unterschiedlich. Toxische Effekte der Metaboliten bei gleichzeitiger calciumarmer Diät auf die Chondrocyten, die sich in einer Hemmung des Knochenwachstums manifestieren (Boy83), wurden nicht beobachtet.

Der identische Verlauf der Ganzkörperretention deutete

bereits an, daß keine vermehrte Ausscheidung von  $^{241}\text{Am}$  aus dem Körper durch die Stimulation der Knochenresorption erfolgte. Die erhöhten Retentionswerte in den Weichgeweben bei allen calciumarmen Tieren, unabhängig davon, welchen Metaboliten sie erhielten, bestätigten die Ergebnisse des im vorangehenden Kapitel diskutierten Versuchs mit der calciumarmen Diät. Die unterschiedlichen Retentionen in den langen Knochen bei den einzelnen calciumarmen Gruppen könnten das Ergebnis von unterschiedlichen Wirkungen der verabreichten Mengen an Metaboliten auf Knochenresorption oder Matrixbildung sein. Eine bei allen Tieren mit calciumarmer Diät erniedrigte Retention des Actinids in den Lendenwirbeln spricht eher für eine durch Stimulation der Knochenresorption beschleunigte Ausscheidung des Radionuklids im trabekulären Knochen. Die stimulierte Knochenresorption wurde zudem durch eine ausgeprägte Osteoporose in distalem Femur und den Lendenwirbeln bestätigt. Da hier kein Zn-DTPA als Chelatbildner eingesetzt wurde, konnte nicht beurteilt werden, inwieweit durch die Behandlung vermehrt  $^{241}\text{Am}$  für den Chelatbildner an den Knochenoberflächen zugänglich gewesen wäre oder wieviel des resorbierten  $^{241}\text{Am}$  wieder im Knochen abgelagert wurde, ohne von DTPA abgefangen zu werden.

Bhattacharyya und Peterson (Bha80) fanden bei Mäusen, denen nach Injektion von  $^{239}\text{Pu}$  eine extrem calciumarme Diät gefüttert wurde, keine Retentionsunterschiede zwischen Tieren, die zusätzlich zu einer Zn-DTPA-Behandlung eine einmalige Injektion einer großen Menge an Vitamin  $\text{D}_3$  erhielten und solchen, denen nur Zn-DTPA verabreicht wurde. Eine einmalige Gabe von Vitamin D allein hatte keinen Effekt auf die  $^{239}\text{Pu}$ -Retention im Femur. Leider gab es bei diesem Versuch keine Kontrollgruppe mit einer normalen Diät, so daß die Retention im Femur bei allen Versuchsgruppen möglicherweise insgesamt niedriger lag. Außerdem wurde nur eine einmalige Gabe von Vitamin  $\text{D}_3$  verabreicht, das vom Körper schnell wieder abgebaut wird. Die Reaktion der Tiere auf eine Calciummangeldiät ist spezieabhängig, da Ratten nach calciumarmer Diät leichte bis starke osteoporotische Schäden zeigen, Mäuse dagegen unter denselben Bedingungen normal bis nur leicht osteoporotisch sind und sich der

calciumarmen Diät besser anpassen können (Orn74). Ein Speziesunterschied in der Skelettantwort auf  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  ist ebenfalls wahrscheinlich (Wro86). Die erhöhten Serumcalciumspiegel der Mäuse in dem Versuch von Bhattacharyya würden jedoch für eine Erhöhung der Knochenresorption sprechen. Nach Bhattacharyya gibt es eine Unterscheidung zwischen Stellen der Skelettablagerung von Plutonium und denen der durch Vitamin D verursachten Knochenresorption, was in der vorliegenden Arbeit für  $^{241}\text{Am}$  nicht bestätigt werden konnte, da zumindest im trabekulären Knochen der Lendenwirbel mit viel endostaler Oberfläche Americium allein durch calciumarme Diät und auch durch zusätzliche Gabe von Vitamin D und seinen Metaboliten eindeutig reduziert werden konnte. Nach Bhattacharyya könnte Plutonium vermehrt durch Osteoclasten aufgenommen werden (Arn57), die, durch Vitamin  $\text{D}_3$  stimuliert, in größerer Anzahl auftreten könnten, und damit könnte es nicht mehr für DTPA zugänglich sein. Retentionswerte in der Leber sind in dieser Arbeit leider nicht angegeben.

Man könnte nun annehmen, daß sich die Wirkung der calciumarmen Diät auf den Knochen, die unter Mitwirkung von Parathormon durch  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  vermittelt wird, durch eine zusätzliche Gabe von Vitamin D-Hormonen nicht mehr erhöht, da das Endergebnis in allen behandelten Tieren in einer starken, nicht von einander zu unterscheidenden Osteolyse, besonders im trabekulären Knochen, bestand. Für eine Wirksamkeit der verabreichten Hormone, die ja auch eine Rolle bei der Matrixbildung und Mineralisation spielen, spricht, daß die Wachstumsrate am Schaft für die Tiere, die Vitamin D oder  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  erhielten, der der Kontrollen glich, während sie für Tiere die nur die calciumarme Diät erhielten eindeutig vermindert war. Zudem waren bei allen Tieren, die mit den Vitamin D und seinen beiden Metaboliten behandelt wurden, Messungen der Wachstumsrate im trabekulären Knochen durch deutliche Fluoreszenzdoppelmarkierungen möglich, während solche Doppelmarkierungen bei den calciumarmen Tieren völlig fehlten.

Auch hier konnte man sagen, daß trotz großer Eingriffe in den Knochenstoffwechsel durch calciumarme Diät und eine kontinuierliche Verabfolgung von Vitamin D und seinen Metaboliten, relativ viel  $^{241}\text{Am}$  im Knochen verbleibt. Unterschieden werden konnte auch hier nicht zwischen fest abgelagertem und begrabenen Actinid und solchem das durch Resorption freigesetzt und anschließend wieder abgelagert wurde. Eine Gabe von Zn-DTPA als Chelatbildner hätte hier vielleicht freigesetztes Radionuklid chelieren können.

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

Durch den verbreiteten Einsatz von Kernkraftwerken zur Deckung unseres Energiebedarfs entsteht neben anderen strahlenden Restprodukten auch das Isotop Americium-241, das bei der Wiederaufarbeitung abgebrannter Uranbrennelemente abgetrennt und angereichert wird und für verschiedene Zwecke technologisch genutzt werden kann. Die Inkorporation dieses  $\alpha$ -strahlenden Radionuklids stellt ein großes gesundheitliches Risiko dar, da es langfristig vor allem im Skelett abgelagert wird.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß des Knochenzustandes auf die Retention und Verteilung von Americium-241 im Knochen untersucht:

1. Es konnte gezeigt werden, daß bei Hamstern mit Laufradtraining vor und nach Injektion von Americium-241 und bei Ratten mit einem Training auf einer eigens zu diesem Zweck gebauten Laufmaschine nach Injektion von Americium-241 durch eine Stimulierung des Knochenstoffwechsels aufgrund vermehrter körperlicher Tätigkeit nur geringe Veränderungen in der Knochenstruktur und dem Verhalten des Americiums im Knochen bewirkt werden konnten. Dieser Befund hat Bedeutung im Hinblick auf die Interpretation der meisten bisherigen Versuchsergebnisse mit Americium-241, die an sich wenig bewegenden Tieren gewonnen wurden und bei denen es nicht sicher war, inwieweit die Daten auf frei bewegliche Tiere übertragen werden können.

2. Eine mit Hilfe von Mangeldiäten verursachte erhöhte Knochenresorption resultierte in einer vermehrten Ausscheidung von Americium aus den Knochen, wobei bei der Phosphormangeldiät 9 - 16 % und bei der Calciummangeldiät 14 - 23 % mehr  $^{241}\text{Am}$  aus den Knochen ausgeschieden wurden. Bei gleichzeitiger Verabreichung von Zn-DTPA als Chelatbildner konnte die Ausscheidung von  $^{241}\text{Am}$  aus den Knochen bei der Phosphormangeldiät im Vergleich zur Anwendung bei normaler Diät um 13 - 22 % und bei der Calciummangeldiät

sogar um 24 - 39 % erhöht werden. Zn-DTPA bei gleichzeitiger Mangeldiät konnte eine zusätzliche Fraktion des abgelagerten Radionuklids aus dem Knochen entfernen, vor allem in sonst für Zn-DTPA relativ unzugänglichen Teilen des Knochens. Diese Ergebnisse zeigen die Grenzen einer verspäteten Dekorporierungstherapie, d.h. inwieweit das im Knochen bereits abgelagerte  $^{241}\text{Am}$  in vivo entfernt werden kann. Die extrem hohe, bisher nicht erzielte Wirksamkeit einer Spättherapie fand allerdings bei den hier eingesetzten wachsenden Ratten auf Kosten der Unversehrtheit der Knochen statt, da die erhöhte Knochenresorption in einer starken Osteoporose resultierte. Auf der anderen Seite haben diese Veränderungen bei keinem der Tiere zum Versagen der stützenden Knochenfunktion, dem pathologischen Knochenbruch, geführt.

3. Zusätzlich zu einer Calciummangeldiät kontinuierlich verabreichte pharmakologische Mengen der Knochenresorption-stimulierenden Hormone Vitamin  $\text{D}_3$ , 25-Hydroxycholecalciferol und 1,25-Dihydroxycholecalciferol, erhöhten die Knochenresorption und damit eine Ausscheidung von Americium aus dem Knochen nicht über die Wirkung der Calciummangeldiät allein hinaus. Als Endergebnis stand auch hier eine Osteoporose der Knochen.

## 6. LITERATURVERZEICHNIS

- Alo78 Aloia, J.F., Cohn, S.H., Ostuni, J.A., Cane, R., and Ellis, K., "Prevention of involutinal bone loss by exercise", *Ann. Int. Med.* 89, 356-358, 1978
- Alz86 Alza Corp., 950 Page Mill Road, Palo Alto, USA  
Technical application file, 1986
- Arn57 Arnold, J.S., and Jee, W.S.S., "Bone growth and osteoclastic activity as indicated by radioautographic distribution of plutonium", *Am. J. Anat.* 101, 367-418, 1957
- Bay71 Baylink, D., Wergedal, J., and Stauffer, M., "Formation, mineralization and resorption of bone in hypophosphatemic rats", *J. Clin. Invest.* 50, 2519-2530, 1971
- Bay73 Baylink, D., Sipe, J., Wergedal, J., and Whittemore, J., "Vitamin D-enhanced osteocytic and osteoclastic bone resorption", *Am. J. Physiol.* 224, 1345-1357, 1973
- Ben65 Benstedt, J.P.M., Taylor, D.M., and Sowby, F.D., "The carcinogenic effects of americium 241 and plutonium 239 in the rat", *Brit. J. Radiol.* 38, 920-925, 1965
- Ber69 Bernhart, F.W., Savini, S., and Tomarelli, R.M., "Calcium and phosphorus requirements for maximal growth and mineralization of the rat", *J. Nutr.* 98, 443-448, 1969
- Bey84 Beyer, R.E., and Fattore, J.E., "The influence of age and endurance exercise on the myoglobin concentration of the skeletal muscle of the rat", *J. Gerontol.* 39, 525-530, 1984

- Bey85 Beyer, R.E., Huang, J.C., and Wilshire, G.B., "The effect of endurance exercise on bone dimensions, collagen, and calcium in the aged male rat", *Experimental Gerontology* 20, 315-323, 1985
- Bha80 Bhattacharyya, M.H., and Peterson, D.P., "Effect of hypervitaminosis D on skeletal plutonium levels in mice", *Health Phys.* 39, 338-342, 1980
- Boo65 Boocock, G., and Popplewell, D.S., "Distribution of plutonium in serum proteins following intravenous injection into rats", *Nature Lond.* 208, 282-283, 1965
- Bor80 Borer, K.T., "Characteristics of growth-inducing exercise", *Physiology & Behaviour* 24, 713-720, 1980
- Bou72 Bourne, G.H., "The biochemistry and physiology of bone" Vol. II, Academic Press, New York and London, 1972
- Boy83 Boyce, R.W., and Weisbrode, S.E., "Effect of dietary calcium on the response of bone to  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ", *Lab. Invest.* 48, 683-689, 1983
- Bro85 Brommage, R., and DeLuca, H.F., "Evidence that 1,25-dihydroxyvitamin  $\text{D}_3$  is the physiologically active metabolite of vitamin  $\text{D}_3$ ", *Endocrine Reviews* 6, 491-511, 1985
- Bru75 Bruin, W.J., Baylink, D.J., and Wergedal, J.E., "Acute inhibition of mineralization and stimulation of bone resorption mediated by hypophosphatemia", *Endocrinology* 96, 394-399, 1975
- Bur66 Burkhardt, R., "Präparative Voraussetzungen zur klinischen Histologie des menschlichen Knochenmarkes. 1. Mitteilung", *Blut* 13, 337-357, 1966
- Bur66a Burkhardt, R., "Präparative Voraussetzungen zur

- klinischen Histologie des menschlichen Knochenmarkes. 2. Mitteilung", Blut 14, 30-46, 1966
- Can83 Canalis, E., "The hormonal and local regulation of bone formation", Endocrine Reviews 4, 62-77, 1983
- Can88 Canalis, E., McCarthy, T., and Centrella, M., "Growth factors and the regulation of bone remodeling", J. Clin. Invest. 81, 277-281, 1988
- Cha87 Chaouloff, F., Laude, D., Serrurier, B., Merino, D., Guenzennec, Y., and Elghozi, J.-L., "Brain serotonin response to exercise in the rat: The influence of training duration", Biogenic Amines 4, 99-106, 1987
- Char84 Charles River Technical Bulletin, 3(2), 1984
- Chi72 Chipperfield, A.R., and Taylor, D.M., "The binding of thorium (IV), plutonium (IV), americium (III) and curium (III) to the constituents of bovine cortical bone in vitro", Radiat. Res. 51, 15-30, 1972
- Cop47 Copp, D.H., Axelrod, D.J. and Hamilton, J.G., "The deposition of radioactive metals in bone as a potential health hazard", Am. J. Roentgenol. 58, 10-16, 1947
- Cop51 Copp, D.H., Hamilton, J.G., Jones, D.C., Thompson, D.M. and Cramer, C., "The effect of age and low phosphorus rickets on calcification and the deposition of certain radioactive metals in bone", Conf. Metabolic Interrelations Trans.3, 226-252, 1951
- Cui76 Cuisinier-Gleizes, P., Thomasset, M., Sainteny-Debove, F., and Mathieu, H., "Phosphorus deficiency, parathyroid hormone and bone resorption in the growing rat", Calcif. Tiss. Res. 20, 235-249, 1976
- Dal74 Dalen, N., and Olsson, K.E., "Bone mineral content and

- physical activity", Acta Orthop. Scand. 45, 170-174, 1974
- Dam82 Dambacher, M.A., "Praktische Osteologie", Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1982
- Dar85 Darby, L.A. Pohlman, R.L., and Lechner, A.J., "Increased bone calcium following endurance exercise in the mature female rat", Laboratory Animal Science 35, 382-386, 1985
- Dav86 Davies, C.T.M., and Thompson, M.W., "Physiological responses to prolonged exercise in ultramarathon runners", J. Appl. Physiol. 61, 611-617, 1986
- Day39 Day, H.G., and McCollum, E.V., "Mineral metabolism, growth, and symptomatology of rats on a diet extremely deficient in phosphorus", J. Biol. Chem. 130, 269-283, 1939
- Deb72 Debove, F., Benest, D., Cuisinier-Gleizes, P., and Mathieu, H., "Stimulation de l'osteolyse periosteocytaire par la carence en phosphore", C. R. Acad. Sc. Paris 274, 3273-3276, 1972
- Deb73 Debove, F., George, A., and Mathieu, H., "Phosphate deficiency and parathyroid function", Fed. Proc. 32, 322, 1973
- DeL88 DeLuca, H.F., "The vitamin D story: a collaborative effort of basic science and clinical medicine", FASEB J. 2, 224-236, 1988
- Doh77 Dohm, G.L., Beecher, G.R., Stephenson, T.P., and Womack, M., "Adaptations to endurance exercise training at three intensities of exercise", J. Appl. Physiol. 42, 753-757, 1977
- Dur73 Durakovic, A.B., Hollins, J.G., and Storr, M.C., "The

- influence of age and sex on the metabolism of americium by rats", Health Phys. 24, 541-546, 1973
- Durb69 Durbin, P.W., Jeung, N., and Williams, M.H., "Dynamics of  $^{241}\text{Am}$  in the skeleton of the rat: A study of the relationship between behaviour of bone seeking elements and bone growth status" in: Delayed effects of bone seeking radionuclides, 137-156, University of Utah Press, Salt Lake City, USA, 1969
- Durb73 Durbin, P.W., "Metabolism and biological effects of the transplutonium elements", in: Handbuch der experimentellen Pharmakologie XXXVI, O. Eichler et al. (Hrsg.), 739ff, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1973
- Fis74 Fisher, D.R., Taysum, D.H., Mays, C.W., Kimmel, D., Brammer, D., Brammer, T., and McFarland, S.S., "Decorporation of  $^{241}\text{Am}$  from bone using DTPA and osteoporotic agents", COO-119-249, 161-169, 1974
- Fis75 Fisher, D.R., Mays, C.W. and Dockum, J.G., "Decorporation of  $^{241}\text{Am}$  from mouse bone using Zn-DTPA, parathyroid hormone, and ammonium chloride", COO-119-250, 213-221, 1975
- Fis76 Fisher, D.R., Mays, C.W., and Dockum, J.G., "Decorporation of  $^{241}\text{Am}$  from mouse bone using Zn-DTPA and parathyroid hormone", Health Phys. 30, 313-315, 1976
- Föl86 Földes, I., Gyarmati, J., Rapcsak, M., Szöör, A., and Szilagyí, T., "Effect of plaster-cast immobilization on the bone", Acta Physiologica Hungarica 67, 413-418, 1986
- For62 Foreman, H. "Studies on the mechanism of plutonium uptake by bone", Health Phys. 8, 713-716, 1962
- Fro87 Frost, H.M., "Bone 'mass' and the 'mechanostat': a

- proposal", The Anatomical Record 219, 1-9, 1987
- Gam88 Gamer, A.O., "Histomorphologische und -morphometrische Untersuchungen von frühen Knochenschäden nach Inkorporation optimal kanzerogener Dosen von  $^{239}\text{Pu}$  an männlichen Ratten verschiedenen Alters", Dissertation Universität Gießen, 1987, Kernforschungszentrum Karlsruhe Bericht KfK 4380, 1988
- Geo72 George, A., Cuisinier-Gleizes, P. and Mathieu, H., "Composition de l'os chez le rat carence en phosphore. Influence de la parathyroïdectomie", C.R. Acad. Sc. Paris 275, 239-242, 1972
- Goo80 Goodrick, C.L., "Effects of long-term voluntary wheel exercise on male and female Wistar rats", Gerontology 26, 22-23, 1980
- Ham47 Hamilton, J.G., "The metabolism of the fission products and the heaviest elements", Radiology 49, 325-343, 1947
- Hei79 Heid, K.R., Palmer, H.E., McMurray, B.J., Breitenstein, B.D. and Wald, N., "The 1976 Hanford americium incident" in: Biological implications of radionuclides released from nuclear industries Vol.II, 27-38, IAEA, Wien, 1979
- Hen84 Henry, H.L., "Vitamin D: metabolism and biological actions", Ann. Rev. Nutr. 4, 493-520, 1984
- Her62 Herring, G.M., Vaughan, J., and Williamson, M., "Preliminary report on the localization and possible binding agent for yttrium, americium and plutonium in the cortical bone", Health Phys. 8, 717-724, 1962
- Het76 Hetherington, J.A., Jeffries, D.F., Michell, N.T., Pentreath, R.J. and Woodhead, D.S., "Environmental and public health consequences of the controlled disposal of

- transuranic elements to the marine environment" in: Transuranium nuclides in the environment, 139-154, IAEA, Wien, 1976
- Hoc86 Hock, J.M., Gunness-Hey, M., Poser, J., Olson, H., Bell, N.H., and Raisz, L.G., "Stimulation of undemineralized matrix formation by 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in long bones of rats", Calcif. Tiss. Int. 38, 79-86, 1986
- Ho72 Holick, M.F., Garabedian M., and DeLuca, H.F., "1,25-Dihydroxycholecalciferol: metabolite of vitamin D<sub>3</sub> active on bone in anephric rats", Science 176, 1146, 1972
- Hol72 Hollins, J.G. and Durakovic, A.B., "The metabolism of americium in lactating rats", Health Phys. 22, 627-631, 1972
- Hol73 Hollins, J.G., Storr, M.C., and Durakovic, A., "The effect of natural physiological stresses and artificial hormone stresses on the retention of americium and plutonium by rat bone", AED-Conf. 73-426-053, 1973
- Hol185 Holloszy, J.O., Smith, E.K., Vining, M., and Adams, S., "Effect of voluntary exercise on longevity of rats", J. Appl. Physiol. 59, 826-831, 1985
- Huf88 Huffer, W.E., "Biology of disease - Morphology and biochemistry of bone remodeling: possible control by vitamin D, parathyroid hormone and other substances", Laboratory Investigation 59, 418-442, 1988
- ICRP86 ICRP Publication 48, "The metabolism of plutonium and related elements", Vol. 16, No 2/3, 1986
- Jam71 James, A.C., and Taylor, D.M., "DTPA therapy for chelation of <sup>239</sup>Pu in bone: the influence of bone

- remodelling", Health Phys. 21, 31-39, 1971
- Jee85 Jee, W.S.S., Ueno, K., Deng, Y.P., and Woodbury, D.M.,  
"The effects of prostaglandin E2 in growing rats:  
increased metaphyseal hard tissue and cortico-endosteal  
bone formation", Calcif. Tiss. Int. 37, 148-157, 1985
- Jet69 Jette, M.J., Windland, L.M., and O'Kelly, L.J., "An  
inexpensive motor-driven treadmill for exercising small  
laboratory animals", J. Appl. Physiol. 26, 863-864, 1969
- Jon77 Jones, H.H., Priest, J.D., Hayes, W.C., Tichenor, C.C.,  
and Nagel, D.A., "Humeral hypertrophy in response to  
exercise", J. Bone Joint Surg. 59A, 204-208, 1977
- Kon79 Kontron Messgeräte GmbH, Breslauerstr. 2, 8057  
Eching/München, MOP Quantitative Bildauswertung:  
Bedienungsanleitung, März 1979
- Kum86 Kumar, R., "The metabolism and mechanism of action of  
1,25-dihydroxyvitamin D", Kidney Int. 30, 793-803, 1986
- Län88 Längle, U.W., "Frühe Knochenveränderungen nach  
Inkorporation kleiner Mengen von Alphastrahlern bei  
männlichen Ratten", Dissertation Universität München 1988,  
Kernforschungszentrum Karlsruhe Bericht KfK 4473, 1988
- Lar77 Larsson, S.-E., Lorentzon, R., and Boquist, L., "Low  
doses of 1,25-dihydroxycholecalciferol increase mature  
bone mass in adult normal rats", Clin. Orthop. Rel. Res.  
127, 228-235, 1977
- LeB85 LeBlanc, A., Marsh, C., Evans, H., Johnson, P.,  
Schneider, V., and Jhingram, S., "Bone and muscle atrophy  
with suspension of the rat", J. Appl. Physiol. 58,  
1669-1675, 1985
- Llo70 Lloyd, R.D., Mays, C.W., Taylor, G.N. and Atherton,

- D.R., "Americium-241 studies in beagles", Health Phys. 18, 149-156, 1970
- Mar83 Marie, P.J., and Travers, R., "Continuous infusion of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> stimulates bone turnover in the normal young mouse", Calcif. Tiss. Int. 35, 418-425, 1983
- Mar85 Marie, P.J., Hott, M., and Garba, M.-T., "Contrasting effects of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on bone matrix and mineral appositional rates in the mouse", Metabolism 34, 777-783, 1985
- Mark88 Marks, S.C., Jr., and Popoff, S.N., "Bone cell biology: The regulation of development, structure and function in the skeleton", Am. J. Anat. 183, 1-44, 1988
- Maz83 Mazess, R.B., and Whedon, G.D., "Immobilization and bone", Calcif. Tiss. Int. 35, 265-267, 1983
- McK72 McKay, L.R., Brooks, A.L., and McClellan, R.O., "The retention, distribution, dose and cytogenetic effects of <sup>241</sup>Am citrate in the Chinese Hamster", Health Phys. 22, 633-640, 1972
- Myb89 Myburgh, K.H., Noakes, T.D., Roodt, M., and Hough, F.S., "Effect of exercise on the development of osteoporosis in adult rats", J. Appl. Physiol. 66, 14-19, 1989
- Nen72 Nenot, J.C., Masse, R., Morin, M., and Lafuma, J., "An experimental comparative study of the behaviour of <sup>237</sup>Np, <sup>238</sup>Pu, <sup>239</sup>Pu, <sup>241</sup>Am and <sup>242</sup>Cm in bone", Health Phys. 22, 657-665, 1972
- Nik80 Nikolettseas, M.M., "Food intake in the exercising rat: a brief review", Neurosci. Biobehav. Rev. 4, 265-267, 1980
- Nil71 Nilsson, B.E., and Westlin, N.E., "Bone density in

- athletes", Clin. Orthop. 77, 179-182, 1971
- Nor82 Norman, A.W., Roth, J., and Orci, L., "The vitamin D endocrine system: steroid metabolism, hormone receptors and biological response (calcium binding proteins)", Endocrine Reviews 3, 331-366, 1982
- Orn74 Ornoy, A., Wolinsky, I., and Guggenheim, K., "Structure of long bones of rats and mice fed a low calcium diet", Calcif. Tiss. Res. 15, 71-76, 1974
- Pat87 Patterson-Buckendahl, P., Arnaud, S.B., Mechanic, G.L., Martin, R.B., Grindeland, R.E., and Cann, C.E., "Fragility and composition of growing rat bone after one week in spaceflight", Am. J. Physiol. 252, R240-R246, 1987
- Pet81 Peter, E., and Lehmann, M., "Interaction of thorium with blood serum proteins in vivo", Int. J. Radiat. Biol. 40, 445-450, 1981
- Pla76 Planas-Bohne, F., and Lohbreier, J., "Toxicological studies on DTPA" in: Diagnosis and treatment of incorporated radionuclides, 505-515, IAEA, Wien, 1976
- Pol76 Polig, E., "The influence of  $^{241}\text{Am}$  and DTPA on morphometric parameters of the rat femur", Radiat. Environ. Biophys. 13, 27-41, 1976
- Pri83 Priest, N.D., Howells, G., Green, D., and Haines, J.W., "Pattern of uptake of americium-241 by the rat skeleton and its subsequent redistribution and retention: implications for human dosimetry and toxicology", Human. Toxicol. 2, 101-120, 1983
- Rad 79 Rader, J.I., Baylink, D.J., Hughes, M.R., Safilian, E.F., and Haussler, M.R., "Calcium and phosphorus deficiency in rats: effects on PTH and

- 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>", Am. J. Physiol. 236 (2), E118-E122, 1979
- Rai72 Raisz, L.G., Trummel, C.L., Holick, M.F., and DeLuca, H.F., "1,25-Dihydroxycholecalciferol: a potent stimulator of bone resorption in tissue culture", Science 175, 768-769, 1972
- Rai80 Raisz, L.G., "Direct effects of vitamin D and its metabolites on skeletal tissue", Clin. Endocrinol. Metabol. 9, 27-41, 1980
- Rey73 Reynolds, J.J., Holick, M.F., and DeLuca, H.F., "The role of vitamin D metabolites in bone resorption", Calcif. Tiss. Int. 12, 295-301, 1973
- Rey76 Reynolds, J.J., Pavlovitch, H., and Balsan, S., "1,25-Dihydroxycholecalciferol increases bone resorption in thyroparathyroidectomized mice", Calcif. Tiss. Res. 21, 207-212, 1976
- Rod77 Rodwell, P., and Stather, J.W., "The distribution of plutonium-239 and americium-241 in the Syrian hamster following its intravenous administration as citrate", NRPB R & D/2, 11-14, 1977
- Rom68 Romeis, B., "Mikroskopische Technik", 315, Oldenburg Verlag, München, 1968
- Sac68 Sachs, L., "Statistische Auswertungsmethoden", Springer Verlag, Berlin, 1968
- Sav69 Saville, P.D. and Whyte, M.P., "Muscle and bone hypertrophy. Positive effect of running exercise in the rat", Clin. Orthop. 65, 81-88, 1969
- Sco48 Scott, K.G., Copp, D.H., Axelrod, D.J., and Hamilton, J.G., "The metabolism of americium in the rat", J.

- Biol. Chem. 175, 691-705, 1948
- Sea46 Seaborg, G.T., "The transuranium elements", Science 104, 379-386, 1946
- See81 Seelmann-Eggebert, W., Pfennig, G., Münzel, H., Klewe-Nebius, H., "Karlsruher Nuklidkarte", Gersbach Verlag, München, 1981
- Sei74 Seidel, A., "Tierexperimentelle Untersuchungen zu Dekorporation von Americium (III) durch Diäthylentriamin-pentaacetat", Habilitationsschrift, Universität Karlsruhe, 1974
- Sei75 Seidel, A., "Retention von  $^{241}\text{Am}$  bei Ratte und Syrischem Hamster", Strahlentherapie 149, 442-449, 1975
- Sei77 Seidel, A., "The deposition of  $^{241}\text{Am}$  and  $^{252}\text{Cf}$  in the skeleton of Chinese hamster, Syrian hamster and the rat", Health Phys. 33, 83-86, 1977
- Sei78 Seidel, A., "Excorporation efficacy with Ca-DTPA of  $^{241}\text{Am}$  and  $^{252}\text{Cf}$  in the skeleton, liver and kidney of the rat and Syrian and Chinese hamsters", Radiat. Res. 76, 60-69, 1978
- Sei79 Seidel, A., Winter, R., Jentzsch, C., Gruner, R., Heumann, H.-G., Hanke, S., "The biochemical mechanisms responsible for differences in the half-life of monomeric  $^{239}\text{Pu}$  in rat and Syrian hamster liver" in: Biological implications of radionuclides released from nuclear industries Vol. I, 401-415, IAEA, Wien, 1979
- Sev77 Sevastikoglou, J.A., Thomaidis, V.Th., and Lindholm, T.S., "Reversibility of osteoporosis induced in adult rats by calcium deficiency. Long- and short-term observations", Calcif. Tiss. Res. 22, 260-265, 1977

- Sis85 Sissons, H.A., Kelman, G.J., and Marotti, G., "Bone resorption in calcium-deficient rats", *Bone* 6, 345-347, 1985
- Son80 Sontag, W., "An automatic microspectrophotometric scanning method for the measurement of bone formation rates in vivo", *Calcif. Tissue Int.* 32, 63-68, 1980
- Son83 Sontag, W., "The early distribution of  $^{239}\text{Pu}$ ,  $^{241}\text{Am}$  and  $^{233}\text{U}$  in the soft tissues and skeleton of old rats. A comparative study", *Human. Toxicol.* 2, 91-100, 1983
- Sta72 Stauffer, M., Baylink, D., Wergedal, J., and Rich, C., "Bone repletion in calcium-deficient rats fed a high calcium diet", *Calcif. Tiss. Res.* 9, 163-172, 1972
- Sta73 Stauffer, M., Baylink, D., Wergedal, J., and Rich, C., "Decreased bone formation, mineralization, and enhanced resorption in calcium-deficient rats", *Am. J. Physiol.* 225, 269-276, 1973
- Ste81 Steinberg, M.E., and Trueta, J., "Effects of activity on bone growth and development in the rat", *Clin. Orthop.* 156, 52-60, 1981
- Swi89 Swissa-Sivan, A., Simkin, A., Leichter, I., Nyska, A., Nyska, M., Statter, M., Bivas, A., Menczel, J., and Samueloff, S., "Effect of swimming on bone growth and development in young rats", *Bone and Mineral* 7, 91-105, 1989
- Tan71 Tanaka, Y., and DeLuca, H.F., "Bone mineral mobilization activity of 1,25-dihydroxycholecalciferol, a metabolite of vitamin D", *Arch. Biochem. Biophys.* 146, 574-578, 1971
- Tay61 Taylor, D.M., Sowby, F.D., and Kember, N.F., "The metabolism of americium and plutonium in the rat" *Physics*

- in Medicine and Biology 6, 73-86, 1961
- Tay73 Taylor, D.M., "Chemical and physical properties of the transplutonium elements", in: Handbuch der experimentellen Pharmakologie XXXVI, O. Eichler et al. (Hrsg.), 732, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1973
- Tay80 Taylor, D.M., and Volf, V., "Oral chelation treatment of injected  $^{241}\text{Am}$  or  $^{239}\text{Pu}$  in rats", Health Phys. 38, 147-158, 1980
- Tay80a Taylor, D. M., "Mobilization of internally deposited plutonium from the rat by pregnancy and lactation", Int. J. Radiat. Biol. 38, 357-360, 1980
- Tho76 Thomasset, M., Cuisinier-Gleizes, P., and Mathieu, H. "Bone resorption measurement with unusual bone markers: Critical evaluation of the method in phosphorus-deficient and calcium-deficient growing rats", Calcif. Tiss. Res. 21, 1-15, 1976
- Thom88 Thomas, M.L., Ibarra, M.J., Solcher, B., Wetzell, S., and Simmons, D.J., "The effect of low dietary calcium and calcium supplementation in the immature, growing rat", Bone and Mineral 4, 73-82, 1988
- Thomp75 Thompson, E.R. Baylink, D.J., and Wergedal, J.E., "Increases in number and size of osteoclasts in response to calcium or phosphorus deficiency in the rat", Endocrinology 97, 283-289, 1975
- Urb84 Urban, M.F., "Dosisbestimmung durch gleichzeitiges Messen der Radon/Thoronkonzentration und der Gleichgewichtsfaktoren in Luft mit Hilfe eines passiven Dosimeters", Dissertation Universität Karlsruhe, 1984
- Vae88 Vaes, G., "Cellular biology and biochemical mechanism

- of bone resorption", Clin.Orthop.Rel.Res. 231, 239-271, 1988
- Vau73 Vaughan, J.M., "The effects of irradiation on the skeleton", Clarendon Press, Oxford, 1973
- Vol74 Volf, V., "Experimental background for prompt treatment with DTPA of  $^{239}\text{Pu}$ -contaminated wounds", Health Phys. 27, 273-277, 1974
- Vol74a Volf, V., and Seidel, A., "Decorporation of  $^{239}\text{Pu}$  and  $^{241}\text{Am}$  in the rat and hamster by Zn-DTPA", Radiat. Res. 59, 638-644, 1974
- Vol80 Volf, V., "Dekorporationstherapie: DTPA als Mittel der Wahl", in: Industrielle Störfälle und Strahlenexposition. Strahlenschutz in Forschung und Praxis. Band XXI, Messerschmidt, O., Feinendegen, L.E., Hunzinger, W. (Hrsg.), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1980
- Vol84 Volf, V., "Effect of drinking Zn-DTPA on  $^{238}\text{Pu}$  and  $^{241}\text{Am}$  in rat bones", Radiat. Environ. Biophys.23, 141-143, 1984
- Wei78 Weisbrode, S.E., Capen, C.C., and Norman, A.W. "Ultrastructural evaluation of the effects of 1,25-dihydroxyvitamin  $\text{D}_3$  on bone of thyroparathyroid-ectomized rats fed a low-calcium diet", Am. J. Pathol.92, 459-472, 1978
- Whe58 Whedon, G.D., "Osteoporose: atrophy of disuse" in: Bone as a tissue: proceedings of a conf. Oct. 30-31, 67ff, 1958
- Wir85 Wirth, R., Taylor, D.M., and Duffield, J., "Identification of transferrin as the principal neptunium-binding protein in the blood serum of rats", Int. J. Nucl. Med. Biol. 12, 327-330, 1985

Wro86 Wronski, T.J., Halloran, B.P., Bikle, D.D., Globus, R.K., and Morey-Holton, E.R., "Chronic administration of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>: increased bone but impaired mineralization", *Endocrinology* 119, 2580-2585, 1986

## **7. TABELLEN UND ABBILDUNGEN**

Tab.1 Organ- und Knochenfeuchtgewichte männlicher Syrischer Hamster mit Laufradtraining vor und nach Injektion von  $^{241}\text{Am}$ -Citrat

| Organe           | Feuchtgewichte in g  |                   |   |                   |
|------------------|--|-------------------|---|-------------------|
|                  | 10 Wochen Laufrad<br>nach Injektion (6) <sup>a</sup><br>(Sektion 70 Tage nach Injektion) | Kontrollen<br>(6) | 15 Wochen Laufrad<br>vor Injektion (5)<br>(Sektion 7 Tage nach Injektion) | Kontrollen<br>(5) |
| Leber            | 3,95 ± 0,3   | 3,94 ± 0,1        | 4,35 ± 0,38   | 3,92 ± 0,18       |
| Milz             | 0,07 ± 0,005   | 0,08 ± 0,004      | 0,11 ± 0,008*   | 0,09 ± 0,001      |
| Nieren           | 0,85 ± 0,04  | 0,79 ± 0,02       | 1,02 ± 0,07   | 0,89 ± 0,04       |
| Herz             | -  | -                 | 0,53 ± 0,02*  | 0,46 ± 0,02       |
| 1 Femur          | 0,31 ± 0,01  | 0,33 ± 0,01       | 0,39 ± 0,03   | 0,35 ± 0,007      |
| 1 Tibia+Fibula   | 0,21 ± 0,01  | 0,20 ± 0,01       | 0,25 ± 0,02   | 0,22 ± 0,01       |
| 1 Humerus        | 0,22 ± 0,01  | 0,24 ± 0,01       | 0,28 ± 0,03   | 0,25 ± 0,007      |
| Lendenwirbel 1-5 | 0,50 ± 0,03  | 0,54 ± 0,03       | 0,67 ± 0,06   | 0,58 ± 0,04       |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

\* Signifikant verschieden von den jeweiligen Kontrollen

a. Anzahl der Tiere pro Gruppe

Tab.2a Einfluß eines 10wöchigen körperlichen Trainings nach i.m-Injektion von  $^{241}\text{Am}$  (51,8 kBq/kg KG) auf dessen Retention in Organen und Knochen männlicher Syrischer Hamster

| Organe           | % der injizierten Dosis<br>70 Tage nach Injektion |               |
|------------------|---|---------------|
|                  | Laufрад   | Kontrollen    |
| Leber            | 40,34 ± 1,74                                      | 40,51 ± 0,51  |
| Milz             | 0,01 ± 0,007                                      | 0,02 ± 0,0008 |
| Nieren           | 0,94 ± 0,08                                       | 0,85 ± 0,02   |
| 1 Femur          | 1,35 ± 0,02*                                      | 1,44 ± 0,02   |
| 1 Tibia + Fibula | 0,77 ± 0,01*                                      | 0,85 ± 0,01   |
| 1 Humerus        | 0,85 ± 0,02*                                      | 0,95 ± 0,02   |
| Lendenwirbel 1-5 | 1,30 ± 0,03*                                      | 1,43 ± 0,04   |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

\* Signifikant verschieden von den Kontrollen (P = 0,05)

6 Tiere pro Gruppe

Tab.2b Einfluß eines 10wöchigen körperlichen Trainings nach i.m.-Injektion von  $^{241}\text{Am}$  (51,8 kBq/kg KG) auf dessen Konzentration in Organen und Knochen männlicher Syrischer Hamster

| Organe           | % der injizierten Dosis/g Feuchtgewicht<br>70 Tage nach Injektion |              |
|------------------|---|--------------|
|                  | Laufрад   | Kontrollen   |
| Leber            | 10,69 ± 1,12  | 10,34 ± 0,20 |
| Milz             | 0,19 ± 0,06   | 0,22 ± 0,01  |
| Nieren           | 1,10 ± 0,05   | 1,08 ± 0,02  |
| 1 Femur          | 4,47 ± 0,24   | 4,45 ± 0,07  |
| 1 Tibia + Fibula | 3,70 ± 0,15*  | 4,18 ± 0,07  |
| 1 Humerus        | 4,00 ± 0,20   | 3,96 ± 0,06  |
| Lendenwirbel 1-5 | 2,70 ± 0,22   | 2,64 ± 0,07  |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

\* Signifikant verschieden von den Kontrollen (P = 0,05)

6 Tiere pro Gruppe

Tab.3  $^{241}\text{Am}$ -Retention in Organen und Knochen bei Syrischen Hamstern mit 15wöchigem körperlichem Training vor i.m.-Injektion von 25,9 kBq/kg KG

| Organe           | % der injizierten Dosis<br>7 Tage nach Injektion |               |
|------------------|--|---------------|
|                  | Laufрад  | Kontrollen    |
| Leber            | 43,41 ± 0,65*                                    | 47,42 ± 0,81  |
| Milz             | 0,12 ± 0,003                                     | 0,12 ± 0,0009 |
| Nieren           | 4,96 ± 0,20                                      | 4,32 ± 0,06   |
| Herz             | 0,31 ± 0,01                                      | 0,30 ± 0,003  |
| 1 Femur          | 1,17 ± 0,01*                                     | 1,23 ± 0,01   |
| 1 Tibia + Fibula | 0,75 ± 0,01*                                     | 0,85 ± 0,04   |
| 1 Humerus        | 0,87 ± 0,01*                                     | 0,93 ± 0,01   |
| Lendenwirbel 1-5 | 1,68 ± 0,02*                                     | 1,77 ± 0,02   |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

\* signifikant verschieden von den Kontrollen (P = 0,05)

5 Tiere pro Gruppe

Tab.4  $^{241}\text{Am}$ -Konzentration in Organen und Knochen von Syrischen Hamstern mit 15wöchigem körperlichem Training vor i.m.-Injektion von 25,9 kBq/kg KG

| Organe           | % der injizierten Dosis/g Feuchtgewicht<br>7 Tage nach Injektion |              |
|------------------|--|--------------|
|                  | Laufрад  | Kontrollen   |
| Leber            | 10,43 ± 0,60*  | 12,22 ± 0,35 |
| Milz             | 1,21 ± 0,05*   | 1,36 ± 0,02  |
| Nieren           | 4,84 ± 0,08  | 4,87 ± 0,10  |
| Herz             | 0,59 ± 0,02*   | 0,65 ± 0,01  |
| 1 Femur          | 3,08 ± 0,12*   | 3,49 ± 0,05  |
| 1 Tibia + Fibula | 3,08 ± 0,13*   | 3,82 ± 0,15  |
| 1 Humerus        | 3,28 ± 0,20  | 3,71 ± 0,08  |
| Lendenwirbel 1-5 | 2,61 ± 0,14*   | 3,09 ± 0,08  |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

\* signifikant verschieden von den Kontrollen (P = 0,05)

5 Tiere pro Gruppe

Tab.5 Einfluß von körperlichem Training auf Körpergewichte und Femurparameter weiblicher und männlicher Ratten

|                           |                  | Anfangsgewicht<br>(g) | Endgewicht<br>(g) | Femurfeucht-<br>gewicht (g) | Femurlänge<br>(mm) | Femurschaft-<br>durchmesser (mm) |
|---------------------------|------------------|-----------------------|-------------------|-----------------------------|--------------------|----------------------------------|
| <b>12 Wochen Training</b> |                  |                       |                   |                             |                    |                                  |
| <b>Männchen</b>           |                  |                       |                   |                             |                    |                                  |
| (4 Wochen alt)            |                  |                       |                   |                             |                    |                                  |
| trainiert                 | (5) <sup>a</sup> | 80,8±1,4              | 474,0±24,0        | 1,311±0,069                 | 35,3±0,1           | 4,9±0,08                         |
| nicht-<br>trainiert       | (6)              | 79,4±1,6              | 493,1±29,9        | 1,377±0,050                 | 36,2±0,5           | 4,9±0,06                         |
| <b>Weibchen</b>           |                  |                       |                   |                             |                    |                                  |
| (4 Wochen alt)            |                  |                       |                   |                             |                    |                                  |
| trainiert                 | (7)              | 86,9±1,5              | 272,4± 6,1        | 0,936±0,042                 | 32,6±0,2*          | 4,0±0,1                          |
| nicht-<br>trainiert       | (6)              | 84,2±2,4              | 262,7± 9,6        | 0,840±0,039                 | 31,8±0,3           | 3,9±0,08                         |
| (12 Wochen alt)           |                  |                       |                   |                             |                    |                                  |
| trainiert                 | (5)              | 226,1±8,3             | 298,0±11,8        | 0,902±0,021                 | 32,7±0,2           | 4,4±0,08                         |
| nicht-<br>trainiert       | (6)              | 226,5±7,7             | 279,0± 8,2        | 0,842±0,023                 | 32,7±0,5           | 4,2±0,06                         |
| <b>4 Wochen Training</b>  |                  |                       |                   |                             |                    |                                  |
| <b>Weibchen</b>           |                  |                       |                   |                             |                    |                                  |
| (4 Wochen alt)            |                  |                       |                   |                             |                    |                                  |
| trainiert                 | (8)              | 73,4±1,5              | 213,8± 4,8        | 0,686±0,016                 | 29,6±0,2           | 3,7±0,05                         |
| nicht-<br>trainiert       | (6)              | 75,0±0,6              | 210,7± 4,0        | 0,741±0,019                 | 29,9±0,3           | 3,7±0,04                         |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern; \* signifikant verschieden von den entsprechenden Kontrolltieren (P=0,05); a. Anzahl der Tiere pro Gruppe

Tab.6 Einfluß eines 12wöchigen Trainings vor i.m.-Injektion von  $^{241}\text{Am}$  auf dessen Retention in Organen und Knochen junger männlicher und weiblicher Ratten

| Organe           | % der injizierten Dosis 14 Tage nach $^{241}\text{Am}$ -Injektion |                |               |                |
|------------------|---|----------------|---------------|----------------|
|                  | Männchen  |                | Weibchen      |                |
|                  | Trainiert (5) <sup>a</sup>  | Kontrollen (6) | Trainiert (7) | Kontrollen (6) |
| Leber            | 11,03 ± 0,70*   | 8,84 ± 0,53    | 11,41 ± 0,44* | 8,49 ± 0,21    |
| Milz             | 0,11 ± 0,003  | 0,11 ± 0,001   | 0,11 ± 0,002* | 0,12 ± 0,002   |
| Nieren           | 2,45 ± 0,07   | 2,60 ± 0,07    | 1,35 ± 0,03*  | 1,14 ± 0,02    |
| Herz             | 0,11 ± 0,003*   | 0,09 ± 0,003   | 0,10 ± 0,002  | 0,10 ± 0,002   |
| 1 Femur          | 1,24 ± 0,03   | 1,28 ± 0,03    | 1,52 ± 0,03*  | 1,39 ± 0,02    |
| 1 Tibia+Fibula   | 0,92 ± 0,03   | 0,95 ± 0,05    | 1,17 ± 0,03   | 1,10 ± 0,01    |
| 1 Humerus        | 0,59 ± 0,01*  | 0,53 ± 0,008   | 0,64 ± 0,01   | 0,66 ± 0,02    |
| 1 Radius+Ulna    | 0,32 ± 0,005*   | 0,34 ± 0,007   | 0,34 ± 0,003  | 0,35 ± 0,007   |
| Lendenwirbel 1-5 | 2,09 ± 0,04   | 2,16 ± 0,04    | 2,22 ± 0,05   | 2,28 ± 0,04    |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern; \* signifikant verschieden von den jeweiligen Kontrolltieren ( P = 0,05 )

a. Anzahl der Tiere pro Gruppe

Tab.7 Einfluß eines 12wöchigen Trainings vor Injektion von  $^{241}\text{Am}$  auf dessen Konzentration in Organen und Knochen junger männlicher und weiblicher Ratten

| Organe           | % der injizierten Dosis/g Feuchtgewicht 14 Tage nach $^{241}\text{Am}$ -Injektion |                |               |                |
|------------------|---|----------------|---------------|----------------|
|                  | Männchen  |                | Weibchen      |                |
|                  | Trainiert (5) <sup>a</sup>  | Kontrollen (6) | Trainiert (7) | Kontrollen (6) |
| Leber            | 0,66 ± 0,05   | 0,53 ± 0,04    | 1,20 ± 0,05*  | 0,96 ± 0,03    |
| Milz             | 0,17 ± 0,005  | 0,17 ± 0,004   | 0,26 ± 0,003* | 0,24 ± 0,005   |
| Nieren           | 0,89 ± 0,03   | 0,87 ± 0,01    | 0,79 ± 0,02*  | 0,69 ± 0,02    |
| Herz             | 0,07 ± 0,002  | 0,06 ± 0,006   | 0,11 ± 0,003* | 0,12 ± 0,003   |
| 1 Femur          | 0,96 ± 0,03   | 0,94 ± 0,03    | 1,50 ± 0,09   | 1,67 ± 0,04    |
| 1 Tibia+Fibula   | 0,91 ± 0,04   | 0,91 ± 0,03    | 1,73 ± 0,04   | 1,73 ± 0,03    |
| 1 Humerus        | 1,03 ± 0,03*  | 0,94 ± 0,02    | 1,67 ± 0,04   | 1,79 ± 0,05    |
| 1 Radius+Ulna    | 0,82 ± 0,03   | 0,81 ± 0,02    | 1,24 ± 0,01*  | 1,35 ± 0,04    |
| Lendenwirbel 1-5 | 0,98 ± 0,03   | 0,95 ± 0,03    | 1,43 ± 0,03*  | 1,53 ± 0,02    |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

\* Signifikant verschieden von den jeweiligen Kontrolltieren ( P = 0,05 )

a. Anzahl der Tiere pro Gruppe

Tab.8 Einfluß eines 12wöchigem Vortrainings auf die  $^{241}\text{Am}$ -Retention in Organen und Knochen erwachsener weiblicher Ratten 14 Tage nach i.m.-Injektion

| Organe           | % der injizierten Dosis    |                     |
|------------------|----------------------------|---------------------|
|                  | Trainiert (5) <sup>a</sup> | Nicht-trainiert (6) |
| Leber            | 16,53 ± 1,66               | 14,47 ± 0,41        |
| Milz             | 0,14 ± 0,003               | 0,13 ± 0,003        |
| Nieren           | 1,07 ± 0,03                | 1,00 ± 0,02         |
| Herz             | 0,10 ± 0,002               | 0,10 ± 0,002        |
| 1 Femur          | 1,55 ± 0,04                | 1,51 ± 0,03         |
| 1 Tibia+Fibula   | 1,25 ± 0,04                | 1,14 ± 0,03         |
| 1 Humerus        | 0,74 ± 0,02                | 0,70 ± 0,02         |
| 1 Radius+Ulna    | 0,33 ± 0,02                | 0,36 ± 0,004        |
| Lendenwirbel 1-5 | 3,09 ± 0,11                | 3,14 ± 0,14         |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

a. Anzahl der Tiere pro Gruppe

Tab.9 Einfluß eines 12wöchigem Vortrainings auf die Konzentration von  $^{241}\text{Am}$  in Organen und Knochen erwachsener weiblicher Ratten 14 Tage nach i.m.-Injektion

| Organe           | % der injizierten Dosis/g Feuchtgewicht |                     |
|------------------|---|---------------------|
|                  | Trainiert (5) <sup>a</sup>              | Nicht-trainiert (6) |
| Leber            | 1,62 ± 0,15                             | 1,52 ± 0,08         |
| Milz             | 0,26 ± 0,006                            | 0,24 ± 0,008        |
| Nieren           | 0,57 ± 0,01*                            | 0,51 ± 0,01         |
| Herz             | 0,11 ± 0,002                            | 0,12 ± 0,003        |
| 1 Femur          | 1,73 ± 0,04                             | 1,81 ± 0,05         |
| 1 Tibia+Fibula   | 1,78 ± 0,06                             | 1,68 ± 0,05         |
| 1 Humerus        | 1,80 ± 0,08                             | 1,89 ± 0,06         |
| 1 Radius+Ulna    | 1,22 ± 0,04*                            | 1,34 ± 0,01         |
| Lendenwirbel 1-5 | 1,71 ± 0,06                             | 1,72 ± 0,09         |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

\* signifikant verschieden von den nicht-trainierten Tieren (P = 0,05)

a. Anzahl der Tiere pro Gruppe

Tab.10 Einfluß eines vierwöchigen Vortrainings auf die  $^{241}\text{Am}$ -Retention in Organen und Knochen junger weiblicher Ratten 14 Tage nach i.m.-Injektion

| Organe           | % der injizierten Dosis    |                |
|------------------|----------------------------|----------------|
|                  | Trainiert (8) <sup>a</sup> | Kontrollen (6) |
| Leber            | 14,70 ± 0,50               | 16,55 ± 1,26   |
| Milz             | 0,10 ± 0,002               | 0,11 ± 0,004   |
| Nieren           | 0,77 ± 0,02                | 0,72 ± 0,02    |
| Herz             | 0,08 ± 0,001               | 0,08 ± 0,001   |
| 1 Femur          | 1,88 ± 0,03                | 1,93 ± 0,04    |
| 1 Tibia+Fibula   | 1,52 ± 0,02                | 1,53 ± 0,03    |
| 1 Humerus        | 0,83 ± 0,01                | 0,83 ± 0,02    |
| 1 Radius+Ulna    | 0,52 ± 0,008               | 0,52 ± 0,01    |
| Lendenwirbel 1-5 | 2,76 ± 0,06                | 2,65 ± 0,05    |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

a. Anzahl der Tiere pro Gruppe

Tab.11 Einfluß eines vierwöchigen Vortrainings auf die Konzentration von  $^{241}\text{Am}$  in Organen und Knochen junger weiblicher Ratten 14 Tage nach i.m.-Injektion

| Organe           | % der injizierten Dosis/g Feuchtgewicht |                |
|------------------|---|----------------|
|                  | Trainiert (8) <sup>a</sup>              | Kontrollen (6) |
| Leber            | 1,68 ± 0,07                             | 2,04 ± 0,26    |
| Milz             | 0,22 ± 0,004                            | 0,22 ± 0,01    |
| Nieren           | 0,46 ± 0,008                            | 0,46 ± 0,01    |
| Herz             | 0,12 ± 0,002                            | 0,11 ± 0,002   |
| 1 Femur          | 2,74 ± 0,04                             | 2,61 ± 0,05    |
| 1 Tibia+Fibula   | 2,73 ± 0,03                             | 2,60 ± 0,05    |
| 1 Humerus        | 2,69 ± 0,03                             | 2,53 ± 0,05    |
| 1 Radius+Ulna    | 2,31 ± 0,04                             | 2,22 ± 0,04    |
| Lendenwirbel 1-5 | 2,13 ± 0,05                             | 2,05 ± 0,04    |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

a. Anzahl der Tiere pro Gruppe

Tab.12 Die Effekte von 4 Wochen phosphor- und calciumarmer Diät auf Körpergewichte und Femurparameter männlicher Ratten

|                         |                  | Anfangsgewicht<br>(g) | Endgewicht<br>(g) | Femurfeucht-<br>gewicht (g) | Femurlänge<br>(mm) | Femurschaft-<br>durchmesser (mm) |
|-------------------------|------------------|-----------------------|-------------------|-----------------------------|--------------------|----------------------------------|
| normal<br>(Kontrollen)  | (6) <sup>a</sup> | 138,7±1,9             | 330,3±25,8        | 0,960±0,077                 | 32,2±0,8           | 4,1±0,1                          |
| normal<br>+Zn-DTPA      | (6)              | 137,5±1,0             | 328,2±14,7        | 0,903±0,043                 | 32,9±0,5           | 4,1±0,2                          |
| phosphorarm             | (6)              | 143,5±0,9             | 282,3± 8,2        | 0,882±0,048                 | 32,4±0,3           | 4,2±0,07                         |
| phosphorarm<br>+Zn-DTPA | (6)              | 141,3±2,0             | 260,5± 7,9*       | 0,883±0,035                 | 31,7±0,3           | 4,0±0,09                         |
| normal<br>(Kontrollen)  | (5)              | 138,0±3,8             | 386,0±11,0        | 1,086±0,042                 | 33,8±0,3           | 4,2±0,1                          |
| normal<br>+Zn-DTPA      | (6)              | 138,5±2,7             | 381,5±11,4        | 1,042±0,030                 | 33,7±0,3           | 4,3±0,06                         |
| calciumarm              | (5)              | 142,6±3,5             | 377,6±17,2        | 0,995±0,046                 | 34,4±0,4           | 4,3±0,09                         |
| calciumarm<br>+Zn-DTPA  | (6)              | 138,2±2,4             | 390,0± 7,7        | 0,938±0,016*                | 33,9±0,3           | 4,3±0,1                          |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern; \* signifikant verschieden von den Tieren mit normaler Diät, ( P = 0,05 ); a. Anzahl der Tiere pro Gruppe

Tab.13 Einfluß einer phosphorarmen Diät und Zn-DTPA ( $3 \times 10^{-3}M$ ) im Trinkwasser in der 2.-6. Woche nach i.m.-Injektion von  $^{241}Am$  auf dessen Retention in den Organen und Knochen männlicher Ratten

| Organe           | % der injizierten Dosis 6 Wochen nach $^{241}Am$ -Injektion |                                   |                                  |                                    |
|------------------|---|-----------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|
|                  | normal<br>(5) <sup>a</sup>                                  | normal<br>+ Zn-DTPA (6)           | phosphorarm<br>(5)               | phosphorarm<br>+ Zn-DTPA (6)       |
| Leber            | 1,54 ± 0,08<br>(100)  | 0,16 ± 0,007<br>(10) <sup>b</sup> | 1,26 ± 0,01 <sup>*</sup><br>(82) | 0,09 ± 0,002 <sup>**</sup><br>(6)  |
| Milz             | 0,10 ± 0,003<br>(100)                                       | 0,05 ± 0,0008<br>(50)             | 0,11 ± 0,002<br>(110)            | 0,05 ± 0,0008<br>(50)              |
| Nieren           | 0,85 ± 0,05<br>(100)  | 0,38 ± 0,02<br>(45)               | 0,79 ± 0,05<br>(93)              | 0,26 ± 0,02 <sup>**</sup><br>(31)  |
| 1 Femur          | 2,43 ± 0,03<br>(100)  | 1,39 ± 0,02<br>(57)               | 2,03 ± 0,06 <sup>*</sup><br>(84) | 1,00 ± 0,03 <sup>**</sup><br>(41)  |
| 1 Tibia+Fibula   | 1,69 ± 0,03<br>(100)  | 1,07 ± 0,02<br>(63)               | 1,45 ± 0,04 <sup>*</sup><br>(86) | 0,84 ± 0,03 <sup>**</sup><br>(50)  |
| Lendenwirbel 3-4 | 1,02 ± 0,02<br>(100)  | 0,51 ± 0,02<br>(50)               | 0,93 ± 0,03 <sup>*</sup><br>(91) | 0,28 ± 0,008 <sup>**</sup><br>(28) |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

\* Signifikant verschieden von den Tieren mit normaler Diät ( P = 0,05 )

\*\* Signifikant verschieden von den Tieren mit normaler Diät und Zn-DTPA ( P = 0,05 )

a. Anzahl der Tiere pro Gruppe

b. Werte in Klammern bedeuten % der Kontrolltiere mit normaler Diät

Tab.14 Einfluß einer phosphorarmen Diät und Zn-DTPA im Trinkwasser ( $3 \times 10^{-3} M$ ) in der 2.-6. Woche nach i.m.-Injektion von  $^{241}Am$  auf dessen Konzentration in den Organen und Knochen männlicher Ratten

| Organe           | % der Dosis / g Feuchtgewicht 6 Wochen nach $^{241}Am$ -Injektion |                                     |                                    |                                     |
|------------------|---|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
|                  | normal<br>(5) <sup>a</sup>  | normal<br>+ Zn-DTPA (6)             | phosphorarm<br>(5)                 | phosphorarm<br>+ Zn-DTPA (6)        |
| Leber            | 0,13 ± 0,007<br>(100)   | 0,013 ± 0,0006<br>(10) <sup>b</sup> | 0,11 ± 0,004 <sup>*</sup><br>(85)  | 0,009 ± 0,0002 <sup>**</sup><br>(7) |
| Milz             | 0,17 ± 0,009<br>(100)   | 0,11 ± 0,004<br>(65)                | 0,21 ± 0,009 <sup>*</sup><br>(123) | 0,11 ± 0,004<br>(65)                |
| Nieren           | 0,51 ± 0,02<br>(100)  | 0,22 ± 0,008<br>(43)                | 0,42 ± 0,008 <sup>*</sup><br>(82)  | 0,16 ± 0,006 <sup>**</sup><br>(31)  |
| 1 Femur          | 2,62 ± 0,12<br>(100)  | 1,56 ± 0,04<br>(60)                 | 2,27 ± 0,07 <sup>*</sup><br>(87)   | 1,14 ± 0,03 <sup>**</sup><br>(44)   |
| 1 Tibia+Fibula   | 2,45 ± 0,15<br>(100)  | 1,56 ± 0,04<br>(64)                 | 2,23 ± 0,08 <sup>*</sup><br>(91)   | 1,26 ± 0,04 <sup>**</sup><br>(51)   |
| Lendenwirbel 3-4 | 1,75 ± 0,04<br>(100)  | 0,80 ± 0,04<br>(46)                 | 1,63 ± 0,07 <sup>*</sup><br>(93)   | 0,48 ± 0,02 <sup>**</sup><br>(27)   |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

<sup>\*</sup>, <sup>\*\*</sup>, a. und b. siehe Tab.13

Tab.15 Verteilung der Dosis von injiziertem  $^{241}\text{Am}$  zwischen distalem und proximalem Teil von Femur und Tibia nach phosphorarmer Diät und Zn-DTPA-Behandlung in der 2.-6. Woche nach Injektion

|                         |       | % der Dosis<br>distal | % der Dosis<br>proximal | proximal/<br>distal |
|-------------------------|-------|-----------------------|-------------------------|---------------------|
| normal                  | Femur | 1,41±0,04 (100)       | 1,00±0,02 (100)         | 0,72±0,03           |
|                         | Tibia | 0,64±0,01 (100)       | 0,98±0,02 (100)         | 1,55±0,04           |
| normal<br>+Zn-DTPA      | Femur | 0,73±0,04 (52)        | 0,67±0,007 (67)         | 0,95±0,05           |
|                         | Tibia | 0,51±0,01 (80)        | 0,53±0,01 (54)          | 1,05±0,03           |
| phosphorarm             | Femur | 1,33±0,07 (95)        | 0,84±0,01 (84)*         | 0,65±0,03           |
|                         | Tibia | 0,58±0,009 (91)*      | 0,80±0,02 (82)*         | 1,39±0,02           |
| phosphorarm<br>+Zn-DTPA | Femur | 0,57±0,01 (40)**      | 0,46±0,03 (46)**        | 0,80±0,03           |
|                         | Tibia | 0,43±0,01 (67)**      | 0,37±0,02 (38)**        | 0,87±0,03           |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern; \* signifikant unterschiedlich zu den Tieren mit normaler Diät; \*\* signifikant unterschiedlich zu den Tieren mit normaler Diät + Zn-DTPA; ( P = 0,05 ); Werte in Klammern bedeuten Prozent der Kontrolltiere; 6 Tiere pro Gruppe.

Tab.16 Einfluß einer calciumarmen Diät und Zn-DTPA (  $3 \times 10^{-3} \text{M}$  ) im Trinkwasser in der 2.-6. Woche nach i.m.-Injektion von  $^{241}\text{Am}$  auf dessen Retention in den Organen und Knochen männlicher Ratten

| Organe           | % der injizierten Dosis 6 Wochen nach $^{241}\text{Am}$ -Injektion |                                  |                                  |                                    |                                    |
|------------------|--|----------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
|                  | normal<br>2 Wo. Kontrolle<br>(5) <sup>a</sup>                      | normal<br>6 Wo. Kontrolle<br>(5) | normal<br>+ Zn-DTPA<br>(6)       | calciumarm<br>(5)                  | calciumarm<br>+ Zn-DTPA<br>(6)     |
| Leber            | 7,19 ± 0,27  | 1,42 ± 0,04<br>(100)             | 0,10 ± 0,005<br>(7) <sup>b</sup> | 2,07 ± 0,10 <sup>*</sup><br>(146)  | 0,08 ± 0,004<br>(6)                |
| Milz             | 0,12 ± 0,003   | 0,09 ± 0,004<br>(100)            | 0,03 ± 0,001<br>(33)             | 0,14 ± 0,002 <sup>*</sup><br>(156) | 0,02 ± 0,001 <sup>**</sup><br>(22) |
| Nieren           | 1,93 ± 0,04  | 1,27 ± 0,04<br>(100)             | 0,34 ± 0,01<br>(27)              | 2,18 ± 0,03 <sup>*</sup><br>(172)  | 0,38 ± 0,01<br>(30)                |
| 1 Femur          | 2,56 ± 0,02  | 2,32 ± 0,01<br>(100)             | 1,40 ± 0,02<br>(60)              | 2,00 ± 0,03 <sup>*</sup><br>(86)   | 0,84 ± 0,02 <sup>**</sup><br>(36)  |
| 1 Tibia+Fibula   | 1,95 ± 0,05  | 1,65 ± 0,02<br>(100)             | 1,10 ± 0,01<br>(67)              | 1,42 ± 0,03 <sup>*</sup><br>(86)   | 0,65 ± 0,02 <sup>**</sup><br>(39)  |
| Lendenwirbel 3-4 | 1,09 ± 0,009   | 0,98 ± 0,01<br>(100)             | 0,48 ± 0,01<br>(49)              | 0,75 ± 0,01 <sup>*</sup><br>(77)   | 0,10 ± 0,003 <sup>**</sup><br>(10) |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

\* Signifikant verschieden von den Tieren mit normaler Diät (  $P = 0,05$  )

\*\* Signifikant verschieden von den Tieren mit normaler Diät und Zn-DTPA (  $P = 0,05$  )

a. Anzahl der Tiere pro Gruppe; b. Werte in Klammern bedeuten % der Tiere mit normaler Diät

Tab.17 Einfluß einer calciumarmen Diät und Zn-DTPA ( $3 \times 10^{-3}M$ ) im Trinkwasser in der 2.-6. Woche nach i.m.-Injektion von  $^{241}Am$  auf dessen Konzentration in den Organen und Knochen männlicher Ratten

| % der Dosis / g Feuchtgewicht 6 Wochen nach $^{241}Am$ -Injektion |   |                                  |                                    |                     |                               |
|---|---|----------------------------------|------------------------------------|---------------------|-------------------------------|
| Organe  | normal<br>2 Wo. Kontrolle<br>(5) <sup>a</sup> | normal<br>6 Wo. Kontrolle<br>(5) | normal<br>+Zn-DTPA<br>(6)          | calciumarm<br>(5)   | calciumarm<br>+Zn-DTPA<br>(6) |
| Leber   | 0,64 ± 0,03                                   | 0,10 ± 0,003<br>(100)            | 0,006 ± 0,0003<br>(6) <sup>b</sup> | 0,15 ± 0,007*       | 0,005 ± 0,0002<br>(5)         |
| Milz  | 0,19 ± 0,004                                  | 0,13 ± 0,009<br>(100)            | 0,04 ± 0,002<br>(31)               | 0,21 ± 0,009*       | 0,02 ± 0,002**                |
| Nieren  | 0,95 ± 0,02                                   | 0,52 ± 0,009<br>(100)            | 0,14 ± 0,008<br>(27)               | 0,84 ± 0,02*        | 0,14 ± 0,003<br>(27)          |
| 1 Femur   | 3,48 ± 0,06                                   | 2,15 ± 0,04<br>(100)             | 1,35 ± 0,04<br>(63)                | 2,03 ± 0,06<br>(94) | 0,90 ± 0,02**<br>(42)         |
| 1 Tibia+Fibula  | 3,08 ± 0,07                                   | 1,97 ± 0,02<br>(100)             | 1,31 ± 0,01<br>(67)                | 1,80 ± 0,06<br>(91) | 0,89 ± 0,01**<br>(45)         |
| Lendenwirbel 3-4  | 2,34 ± 0,06                                   | 1,25 ± 0,01<br>(100)             | 0,65 ± 0,02<br>(52)                | 1,16 ± 0,04<br>(93) | 0,16 ± 0,004**<br>(13)        |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

\*, \*\*, a., b. siehe Tab.16

Tab.18 Verteilung der injizierten  $^{241}\text{Am}$ -Dosis zwischen distalem und proximalem Teil von Femur und Tibia nach calciumarmer Diät und Zn-DTPA-Behandlung in der 2.-6. Woche nach Injektion

|   |       | % der Dosis<br>distal | % der Dosis<br>proximal | proximal/<br>distal |
|---|-------|-----------------------|-------------------------|---------------------|
| normal (5) <sup>a</sup><br>2 Wo.Kontrolle | Femur | 1,69±0,05             | 0,85±0,01               | 0,50±0,01           |
|   | Tibia | 0,58±0,03             | 1,27±0,03               | 2,43±0,20           |
| normal (5)<br>7 Wo.Kontrolle              | Femur | 1,49±0,03 (100)       | 0,84±0,02 (100)         | 0,57±0,02           |
|   | Tibia | 0,69±0,006 (100)      | 0,90±0,01 (100)         | 1,29±0,02           |
| normal<br>+ Zn-DTPA (6)                   | Femur | 0,82±0,02 (55)        | 0,63±0,01 (75)          | 0,77±0,01           |
|   | Tibia | 0,55±0,005 (80)       | 0,53±0,001 (59)         | 0,97±0,02           |
| calciumarm (5)                            | Femur | 1,39±0,03 (93)*       | 0,74±0,02 (88)*         | 0,53±0,004          |
|   | Tibia | 0,56±0,03 (81)*       | 0,83±0,02 (92)*         | 1,57±0,09           |
| calciumarm<br>+ Zn-DTPA (6)               | Femur | 0,58±0,02 (39)**      | 0,30±0,01 (36)**        | 0,52±0,005          |
|   | Tibia | 0,36±0,03 (52)**      | 0,29±0,008 (32)**       | 0,80±0,01           |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern; \* signifikant verschieden von den Tieren mit normaler Diät; \*\* signifikant verschieden von den Tieren mit normaler Diät+Zn-DTPA, ( P= 0,05 ); a. Anzahl der Tiere pro Gruppe; Werte in Klammern bedeuten % der Kontrolltiere mit normaler Diät

Tab.19 Die Effekte von 4 Wochen calciumarmer Diät und Gabe von Vitamin D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>3</sub> oder 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> auf Körpergewichte und Femurparameter männlicher Ratten

|   |                  | Anfangsgewicht<br>(g) | Endgewicht<br>(g) | Femurfeucht-<br>gewicht (g) | Femurlänge<br>(mm) | Femurschaft-<br>durchmesser (mm) |
|---|------------------|-----------------------|-------------------|-----------------------------|--------------------|----------------------------------|
| normal  | (6) <sup>a</sup> | 141,2 ± 2,3           | 392,7 ± 8,3       | 1,051 ± 0,020               | 33,6 ± 0,2         | 4,3 ± 0,08                       |
| calciumarm  | (6)              | 133,5 ± 3,5           | 378,5 ± 10,6      | 0,911 ± 0,018*              | 33,4 ± 0,2         | 4,3 ± 0,06                       |
| calciumarm<br>+ Vitamin D <sub>3</sub>              | (6)              | 140,2 ± 5,0           | 395,3 ± 18,1      | 0,983 ± 0,029               | 34,3 ± 0,3         | 4,4 ± 0,05                       |
| calciumarm<br>+25(OH)D <sub>3</sub>                 | (6)              | 135,3 ± 4,7           | 377,0 ± 11,8      | 0,921 ± 0,026*              | 33,8 ± 0,2         | 4,3 ± 0,07                       |
| calciumarm<br>+1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> | (6)              | 133,0 ± 4,7           | 369,0 ± 13,9      | 0,859 ± 0,037*              | 33,4 ± 0,3         | 4,2 ± 0,08                       |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

\* Signifikant verschieden von den Kontrollen ( P = 0,01 )

a. Anzahl der Tiere pro Gruppe

Tab.20 Einfluß von calciumarmer Diät und Gabe von Vitamin D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>3</sub> und 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> in der 2.-6. Woche nach Injektion von <sup>241</sup>Am auf dessen Retention in Organen und Knochen männlicher Ratten

| Organe           | % der injizierten Dosis 6 Wochen nach <sup>241</sup> Am-Injektion |                                    |  |                                      |  |
|------------------|---|------------------------------------|--|--------------------------------------|--|
|                  | normal  | calciumarm                         | calciumarm<br>+ Vitamin D <sub>3</sub> | calciumarm<br>+ 25(OH)D <sub>3</sub> | calciumarm<br>+ 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> |
| Leber            | 1,57 ± 0,04<br>(100)  | 2,32 ± 0,10*<br>(148) <sup>a</sup> | 2,13 ± 0,08*<br>(136)                  | 2,16 ± 0,05*<br>(138)                | 2,29 ± 0,02*<br>(146)                                |
| Milz             | 0,11 ± 0,002<br>(100)   | 0,16 ± 0,004*<br>(146)             | 0,15 ± 0,002*<br>(136)                 | 0,18 ± 0,006*<br>(164)               | 0,15 ± 0,002*<br>(136)                               |
| Nieren           | 1,21 ± 0,03<br>(100)  | 2,04 ± 0,06*<br>(169)              | 2,09 ± 0,04*<br>(173)                  | 2,17 ± 0,02*<br>(179)                | 2,02 ± 0,01*<br>(167)                                |
| 1 Femur          | 2,20 ± 0,02<br>(100)  | 2,06 ± 0,03*<br>(94)               | 2,07 ± 0,02*<br>(94)                   | 2,32 ± 0,05*<br>(106)                | 2,10 ± 0,03<br>(96)                                  |
| 1 Tibia+Fibula   | 1,52 ± 0,01<br>(100)  | 1,42 ± 0,03*<br>(93)               | 1,42 ± 0,02*<br>(93)                   | 1,51 ± 0,02<br>(99)                  | 1,55 ± 0,02<br>(102)                                 |
| Lendenwirbel 3-4 | 1,08 ± 0,004<br>(100)   | 0,88 ± 0,01*<br>(82)               | 0,89 ± 0,006*<br>(82)                  | 0,94 ± 0,01*<br>(87)                 | 0,92 ± 0,009*<br>(85)                                |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

\* Signifikant verschieden von den Kontrolltieren mit normaler Diät ( P = 0.05 )

a. Werte in Klammern bedeuten % der Kontrolltiere mit normaler Diät

6 Tiere pro Gruppe

Tab.21 Einfluß von calciumarmer Diät und Gabe von Vitamin D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>3</sub> und 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> in der 2.-6. Woche nach i.m.-Injektion von <sup>241</sup>Am auf dessen Konzentration in Organen und Knochen männlicher Ratten

| % der Dosis / g Feuchtgewicht 6 Wochen nach <sup>241</sup> Am-Injektion |                       |                                     |  |                                      |  |
|---|-----------------------|-------------------------------------|--|--------------------------------------|--|
| Organe  | normal                | calciumarm                          | calciumarm<br>+ Vitamin D <sub>3</sub> | calciumarm<br>+ 25(OH)D <sub>3</sub> | calciumarm<br>+ 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> |
| Leber   | 0,10 ± 0,003<br>(100) | 0,14 ± 0,004*<br>(140) <sup>a</sup> | 0,13 ± 0,004*<br>(130)                 | 0,14 ± 0,004*<br>(140)               | 0,16 ± 0,02*<br>(160)                                |
| Milz  | 0,19 ± 0,004<br>(100) | 0,22 ± 0,003*<br>(116)              | 0,19 ± 0,008<br>(100)                  | 0,25 ± 0,008*<br>(132)               | 0,23 ± 0,008*<br>(121)                               |
| Nieren  | 0,48 ± 0,02<br>(100)  | 0,79 ± 0,02*<br>(165)               | 0,77 ± 0,01*<br>(160)                  | 0,85 ± 0,02*<br>(177)                | 0,81 ± 0,02*<br>(169)                                |
| 1 Femur   | 2,12 ± 0,02<br>(100)  | 2,26 ± 0,04<br>(107)                | 2,11 ± 0,03<br>(100)                   | 2,52 ± 0,05*<br>(119)                | 2,46 ± 0,05*<br>(116)                                |
| 1 Tibia+Fibula  | 1,80 ± 0,02<br>(100)  | 2,00 ± 0,05*<br>(111)               | 1,91 ± 0,03<br>(106)                   | 2,09 ± 0,04*<br>(116)                | 2,23 ± 0,05*<br>(124)                                |
| Lendenwirbel 3-4  | 1,36 ± 0,02<br>(100)  | 1,44 ± 0,07<br>(106)                | 1,39 ± 0,04<br>(102)                   | 1,42 ± 0,05<br>(104)                 | 1,60 ± 0,04*<br>(118)                                |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

\* signifikant verschieden von den Kontrolltieren mit normaler Diät ( P = 0,01 )

a. Werte in Klammern bedeuten % der Kontrolltiere mit normaler Diät

6 Tiere pro Gruppe

Tab.22 Verteilung der injizierten  $^{241}\text{Am}$ -Dosis zwischen distalem und proximalem Teil von Femur und Tibia nach calciumarmer Diät und Gabe von Vitamin  $\text{D}_3$ ,  $25(\text{OH})\text{D}_3$ ,  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  in der 2.-6. Woche nach Injektion

|                                |       | % der Dosis<br>distal | % der Dosis<br>proximal | proximal/<br>distal |
|--------------------------------|-------|-----------------------|-------------------------|---------------------|
| normal                         | Femur | 1,30±0,02 (100)       | 0,83±0,01 (100)         | 0,64±0,01           |
|                                | Tibia | 0,64±0,008 (100)      | 0,79±0,007 (100)        | 1,23±0,02           |
| calciumarm                     | Femur | 1,19±0,03 (92)*       | 0,85±0,04 (102)         | 0,73±0,09           |
|                                | Tibia | 0,58±0,01 (91)*       | 0,73±0,009 (92)*        | 1,28±0,02           |
| calciumarm<br>+Vitamin D       | Femur | 1,26±0,02 (97)        | 0,82±0,01 (99)          | 0,65±0,01           |
|                                | Tibia | 0,66±0,009 (103)      | 0,70±0,006 (89)*        | 1,06±0,01           |
| calciumarm<br>+25(OH)D         | Femur | 1,35±0,02 (104)       | 1,00±0,06 (121)*        | 0,75±0,05           |
|                                | Tibia | 0,65±0,02 (102)       | 0,76±0,008 (96)*        | 1,19±0,03           |
| calciumarm<br>+1,25(OH) $_2$ D | Femur | 1,27±0,06 (98)        | 0,80±0,01 (96)          | 0,65±0,04           |
|                                | Tibia | 0,64±0,07 (100)       | 0,81±0,01 (103)         | 1,27±0,02           |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern; \* signifikant verschieden von den Kontrolltieren. (P=0,05)

6 Tiere pro Gruppe

Werte in Klammern bedeuten % der Kontrolltiere mit normaler Diät

Tab.23 Plasmawerte von Calcium und von anorganischem Phosphat nach 4 Wochen phosphor- bzw. calciumarmer Diät und Gabe von Vitamin D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>3</sub> oder 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>

|  |                   | Plasmaphosphat | Plasmacalcium |
|--|-------------------|----------------|---------------|
|  |                   | (mg/100 ml)    | (mg/100 ml)   |
| normal                                 | (16) <sup>a</sup> | 8,45 ± 0,27    | 10,03 ± 0,21  |
| normal<br>+ Zn-DTPA                    | (12)              | 8,32 ± 0,24    | 9,98 ± 0,18   |
| phosphorarm                            | (6)               | 4,43 ± 0,38*   | 11,07 ± 0,4   |
| phosphorarm<br>+ Zn-DTPA               | (6)               | 3,62 ± 0,39*   | 10,88 ± 0,38  |
| calciumarm                             | (11)              | 8,48 ± 0,44    | 9,75 ± 0,13   |
| calciumarm<br>+ Zn-DTPA                | (6)               | 8,22 ± 0,41    | 10,21 ± 0,40  |
| calciumarm<br>+ Vitamin D <sub>3</sub> | (6)               | 7,41 ± 0,35    | 9,97 ± 0,22   |
| calciumarm<br>+ 25(OH)D <sub>3</sub>   | (6)               | 8,01 ± 0,26    | 10,17 ± 0,09  |
| calciumarm<br>+ 1,25(OH)D <sub>3</sub> | (6)               | 9,17 ± 0,42    | 10,25 ± 0,20  |

Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

\* signifikant verschieden von den Kontrolltieren mit normaler Diät

a. Anzahl der Tiere

Tab.24 Histologische Meßergebnisse an distalen Femora männlicher Ratten nach 4 Wochen phosphor- bzw. calciumarmer Diät, Gabe von Hormonen und Chelattherapie

|                                      | Wachstumsrate ( $\mu\text{m}/\text{d}$ ) |                         | Knorpelfugenbreite ( $\mu\text{m}$ )<br>distal |
|--------------------------------------|--|-------------------------|--|
|                                      | Schaft<br>(endostal)                     | Trabekel<br>(Metaphyse) |  |
| normal                               | 5,98 $\pm$ 0,73                          | 3,12 $\pm$ 0,20         | 337,5 $\pm$ 21,1                               |
| normal + Zn-DTPA                     | 6,93 $\pm$ 0,94                          | 3,09 $\pm$ 0,25         | 289,0 $\pm$ 16,1                               |
| phosphorarm                          | 3,36 $\pm$ 0,42*                         | 2,11 $\pm$ 0,18*        | 283,5 $\pm$ 41,3                               |
| phosphorarm + Zn-DTPA                | 3,08 $\pm$ 0,65*                         | 2,34 $\pm$ 0,34         | 248,2 $\pm$ 8,5                                |
| calciumarm                           | 3,13 $\pm$ 0,29*                         | - <sup>a</sup>          | 270,3 $\pm$ 8,6                                |
| calciumarm + Zn-DTPA                 | 3,28 $\pm$ 0,44*                         | - <sup>a</sup>          | 264,5 $\pm$ 8,6                                |
| calciumarm + Vitamin D               | 4,20 $\pm$ 0,47                          | 4,11 $\pm$ 0,34*        | 301,5 $\pm$ 26,4                               |
| calciumarm + 25(OH)D                 | 3,89 $\pm$ 0,42*                         | 3,30 $\pm$ 0,06         | 315,8 $\pm$ 15,3                               |
| calciumarm + 1,25(OH) <sub>2</sub> D | 6,35 $\pm$ 0,23                          | 3,51 $\pm$ 0,20         | 292,9 $\pm$ 4,9                                |

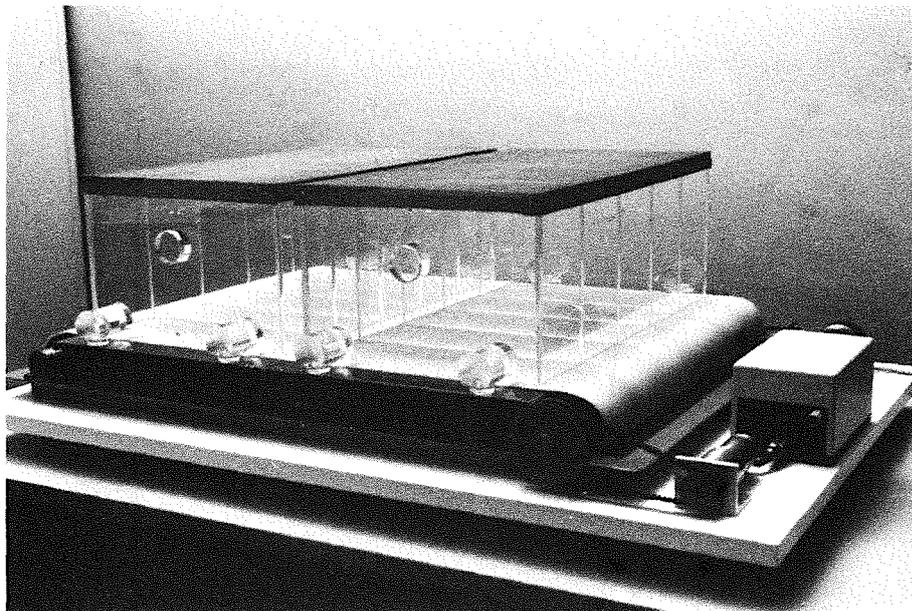
Arithmetische Mittelwerte mit Standardfehlern

\* signifikant unterschiedlich von den Kontrollen mit normaler Diät ( P = 0,05 )

a. Messung war aufgrund fehlender Doppelmarkierung nicht möglich

2 Tiere pro Gruppe wurden ausgemessen

**A**



**B**

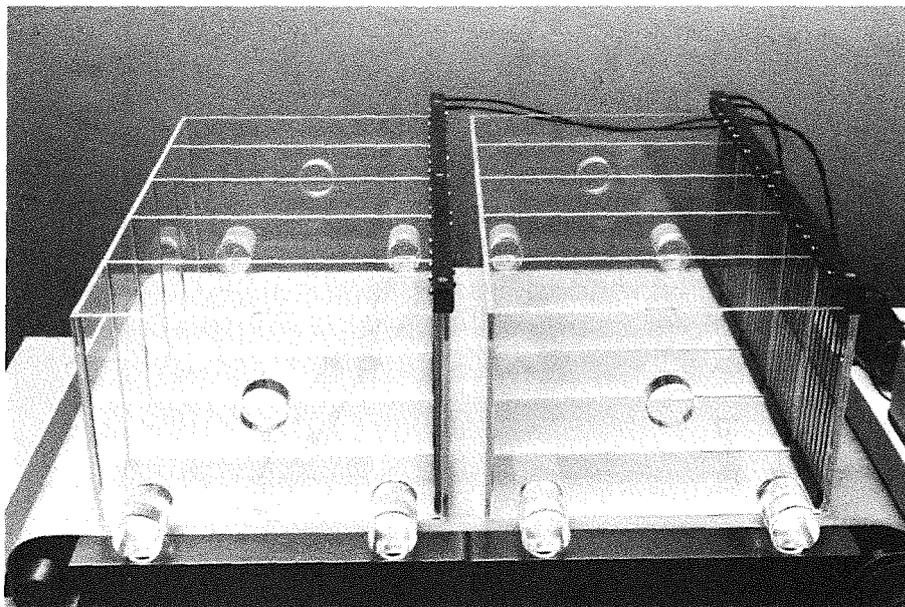


Abb.1 Eine mit Elektromotor betriebene Laufmaschine für Ratten  
A. ohne Schockgitter, B. mit Schockgitter

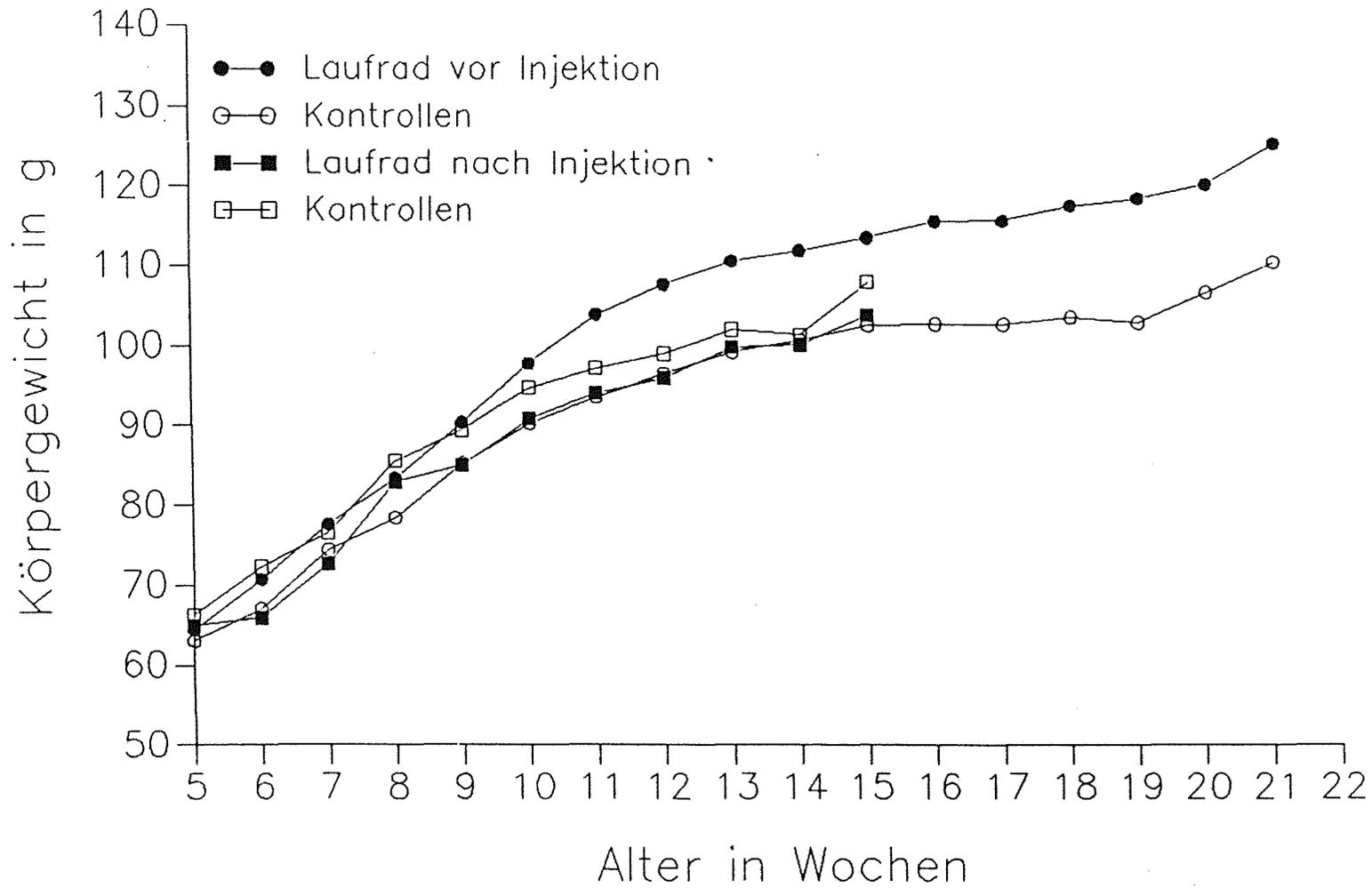


Abb.2 Körpergewichtsentwicklung männlicher Syrischer Hamster im Alter zwischen 5 und 15 bzw. 21 Wochen mit und ohne Lauftradtraining.

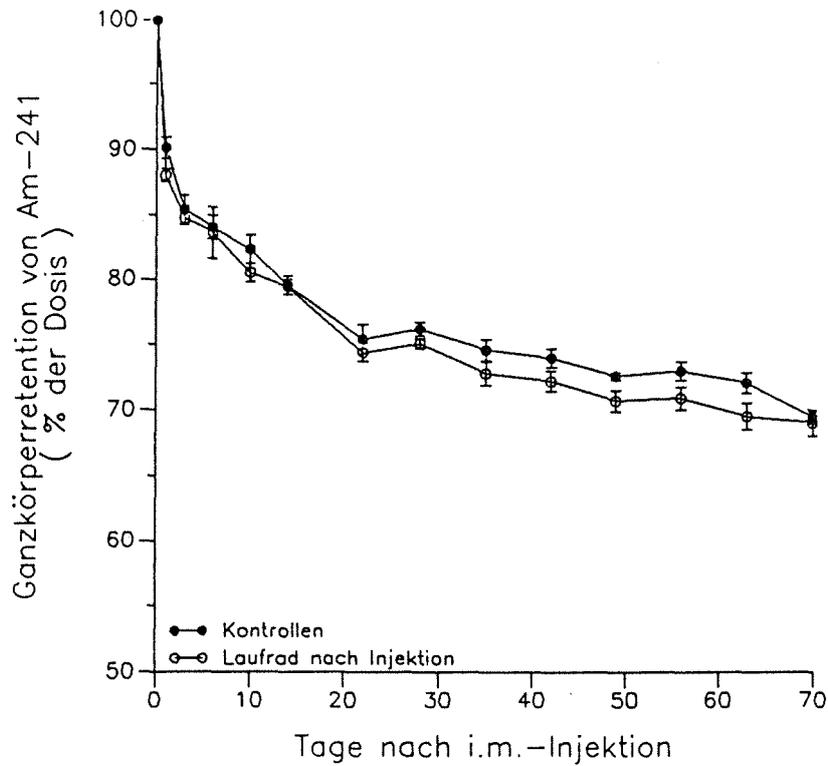


Abb.3 Zeitlicher Verlauf der Ganzkörperretention von Am-241 (51,8 kBq/kg KG) nach i.m.-Applikation bei männlichen Syrischen Hamstern mit und ohne 10wöchigem Laufrad-training nach Injektion.

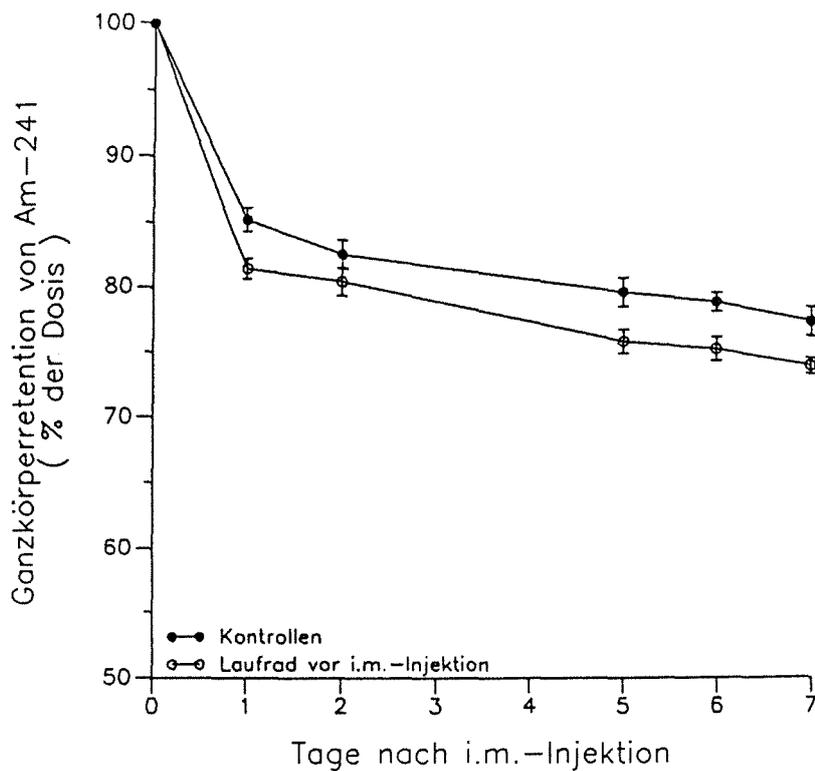


Abb.4 Zeitlicher Verlauf der Ganzkörperretention von Am-241 (25,9 kBq/kg KG) nach i.m.-Injektion bei männlichen Syrischen Hamstern mit und ohne 15wöchigem Laufrad-training vor Radionuklidapplikation.

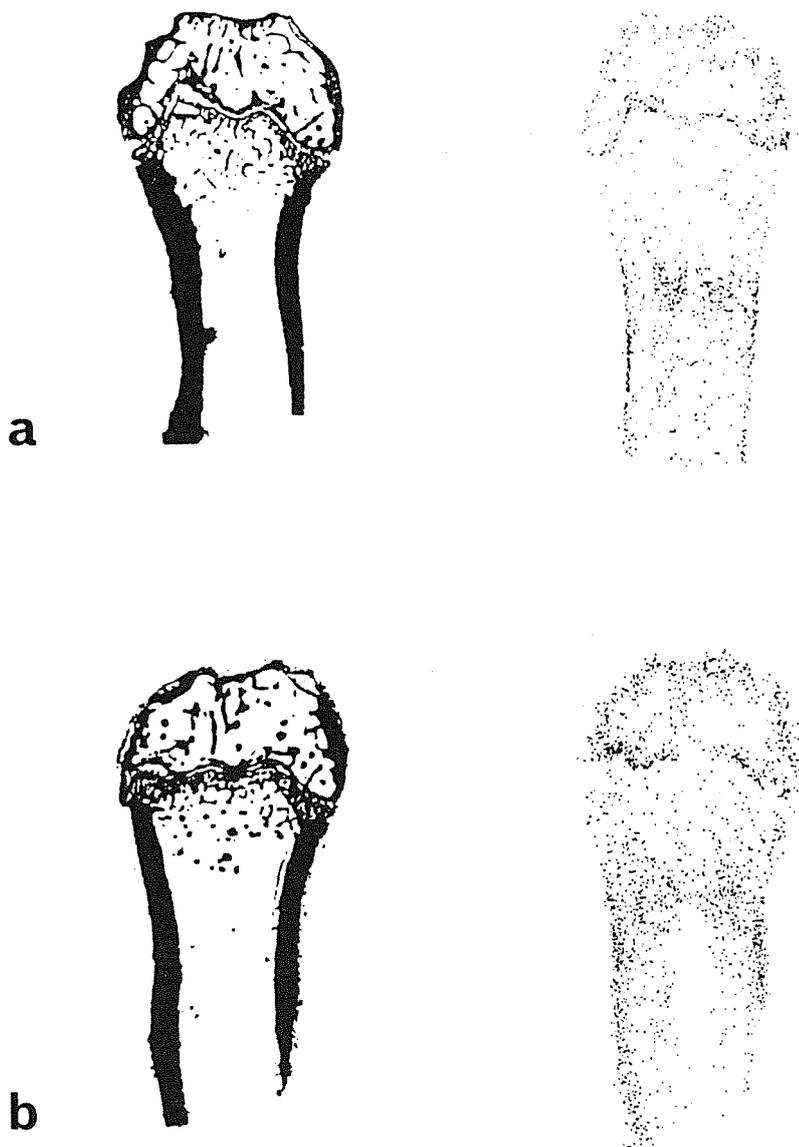


Abb.5 Knochenstrukturen (links) und zugehörige Autoradiographien (rechts) der Verteilung von <sup>241</sup>Am (51,8 kBq/kg KG) in Längsschnitten distaler Femora Syrischer Hamster 10 Wochen nach Radionuklidinjektion.

a. Tier mit Laufrad, b. Kontrolltier ohne Laufrad  
(Vergrößerung 5.5x)

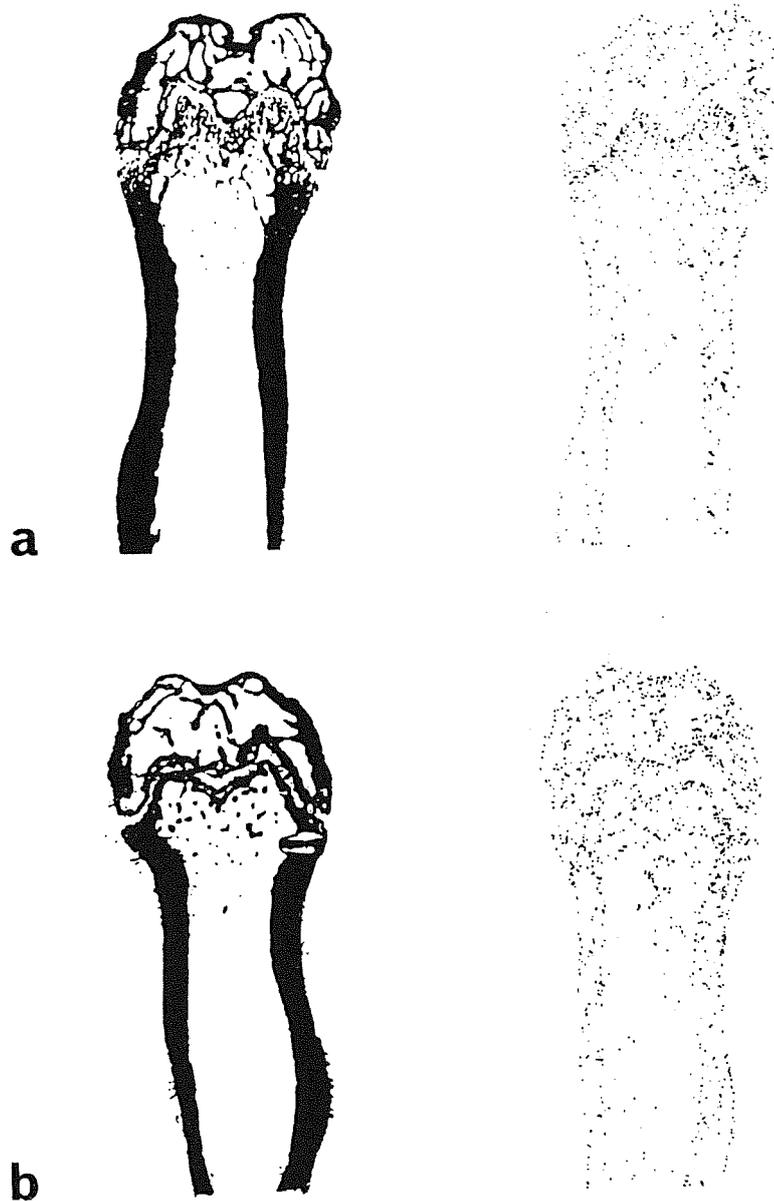


Abb.6 Knochenstrukturen (links) und zugehörige Autoradiographien (rechts) der  $^{241}\text{Am}$ -Verteilung in distalen Femurlängsschnitten Syrischer Hamster 7 Tage nach i.m.-Injektion von 25,9 kBq/kg  
a. Tier, das vor Injektion 15 Wochen lang ein Laufrad zur Verfügung hatte, b. Kontrolltier ohne Laufrad  
(Vergrößerung 5,5x)

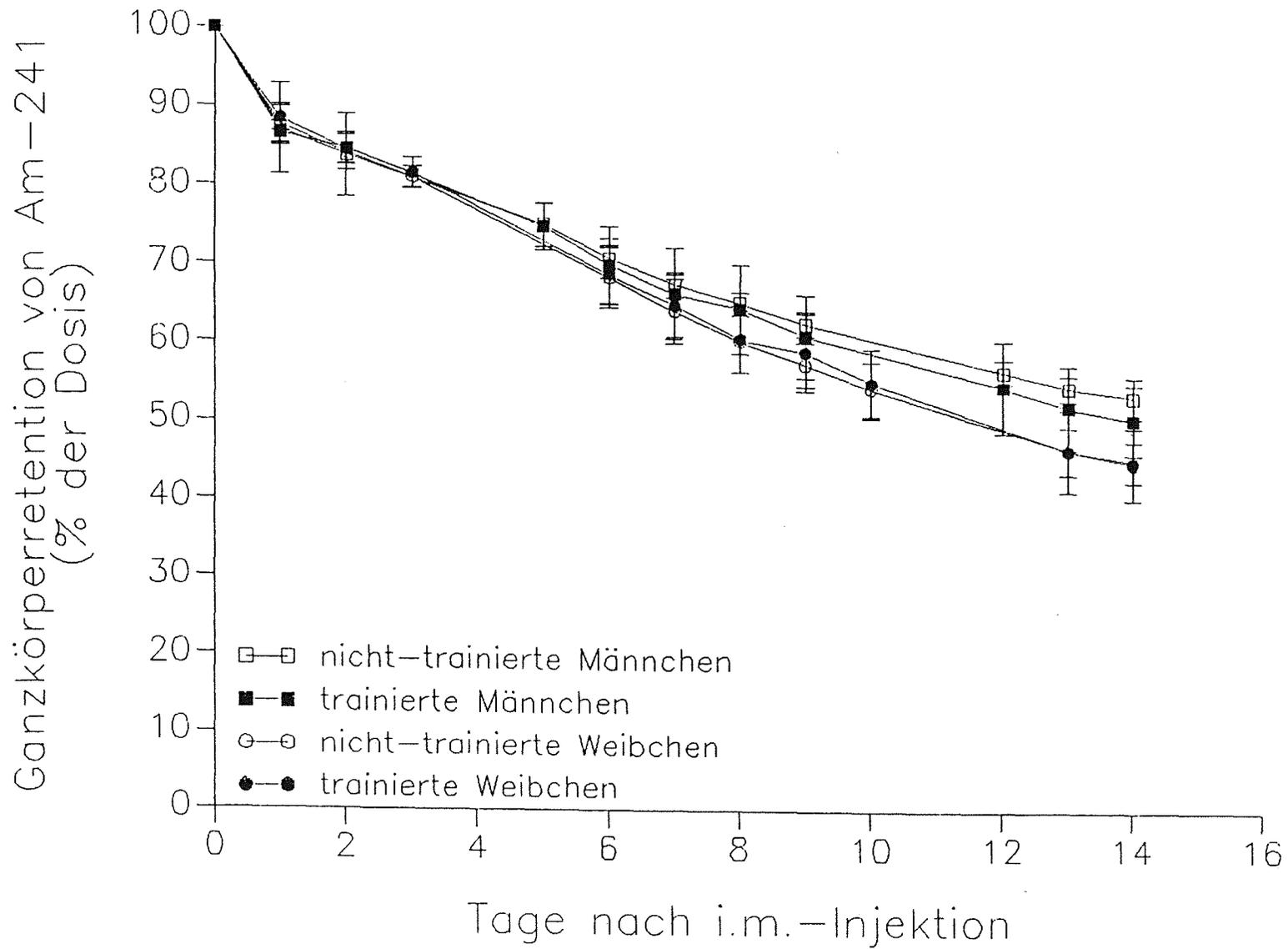


Abb.7 Zeitlicher Verlauf der Ganzkörperretention von injiziertem  $^{241}\text{Am}$  bei männlichen und weiblichen Ratten nach einem 12wöchigen Training auf der Laufmaschine vor Radionuklidapplikation.

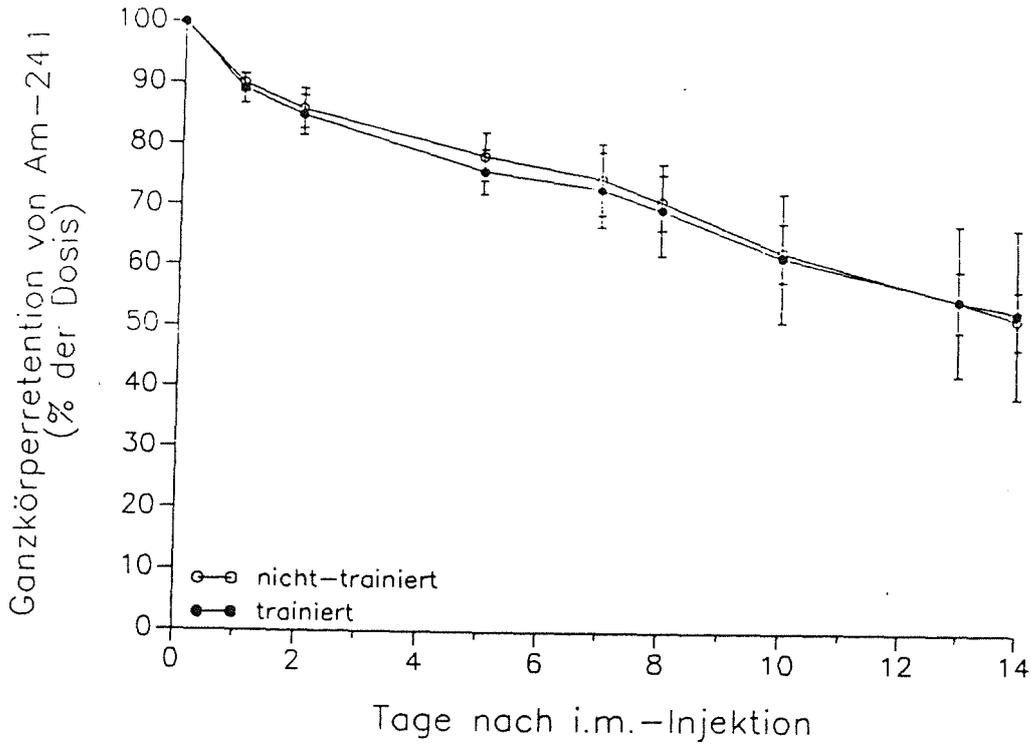


Abb. 8a Zeitlicher Verlauf der Ganzkörperretention von Am-241 (12,2 kBq/kg KG i.m.) bei erwachsenen weiblichen Ratten (12 Wochen alt bei Versuchsbeginn) mit und ohne einem 12wöchigen Training auf der Laufmaschine vor Injektion.

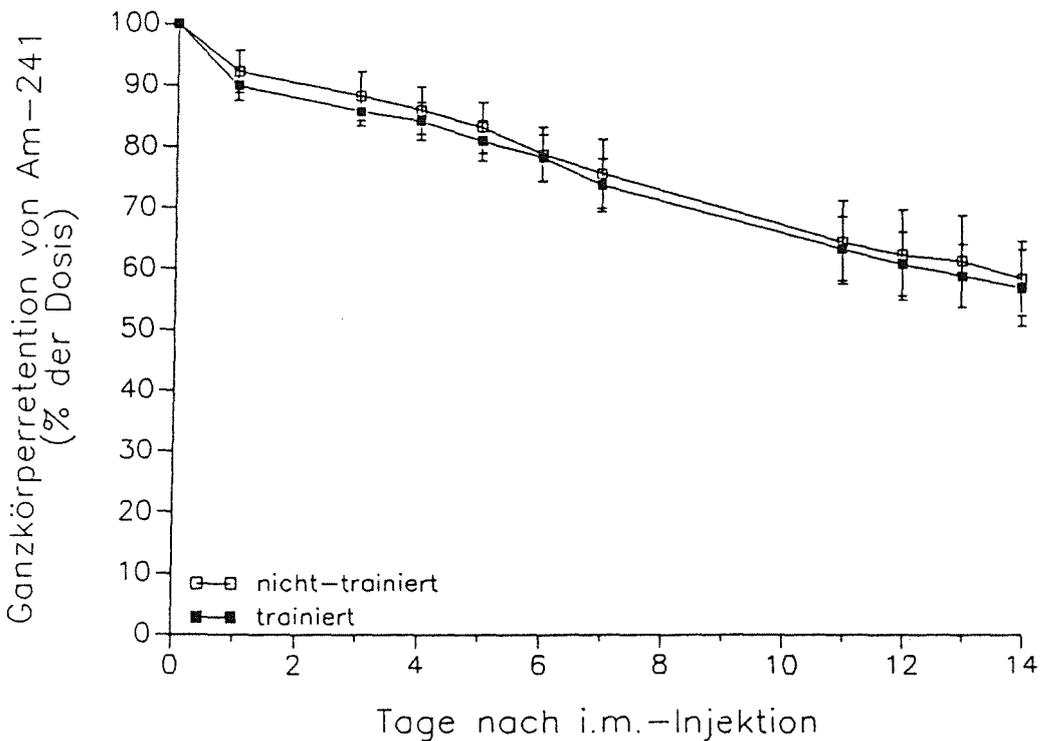
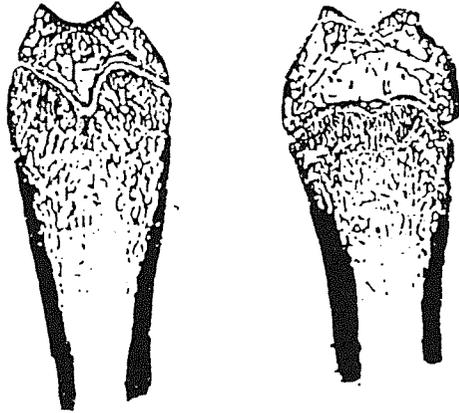


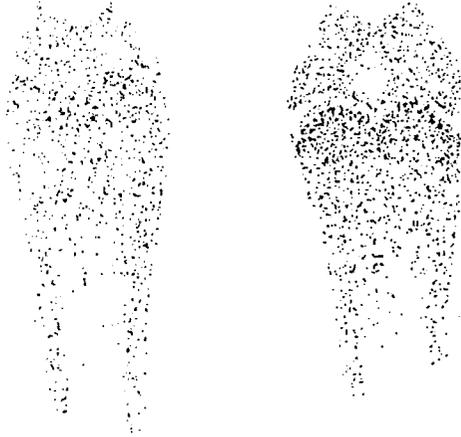
Abb. 8b Zeitlicher Verlauf der Ganzkörperretention von Am-241 (19,6 kBq/kg KG i.m.) bei jungen Rattenweibchen mit und ohne einem 4wöchigen Laufmaschinentraining vor Injektion.

## Weibchen

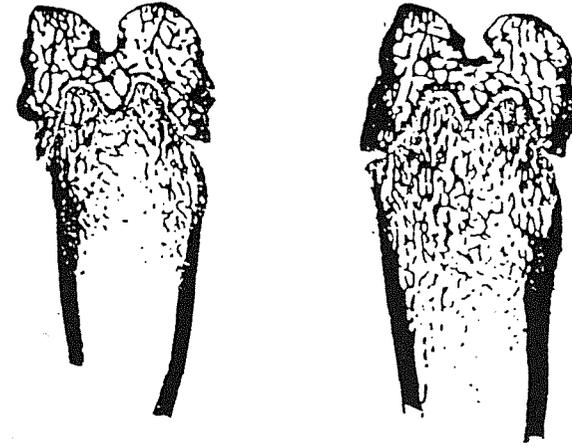


a

b



## Männchen



a

b

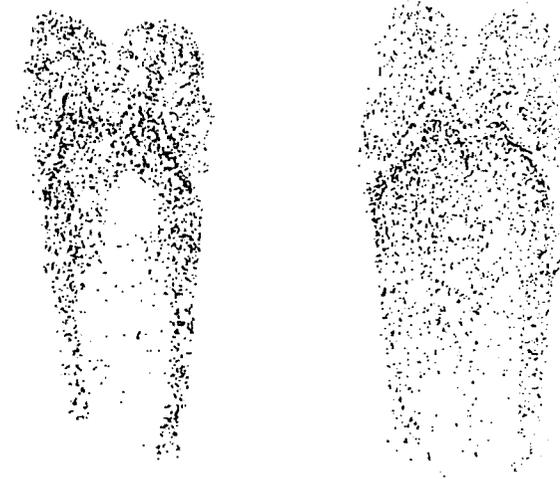


Abb.9 Vergleichende Darstellung von Knochenstrukturen (oben) und zugehörigen Autoradiographien (unten) der <sup>241</sup>Am-Verteilung in Längsschnitten distaler Femora 14 Tage nach Radionuklidapplikation

a. Tier mit 12wöchigem Vortraining auf der Laufmaschine

b. nicht-trainiertes Kontrolltier

(Vergrößerung 4x)

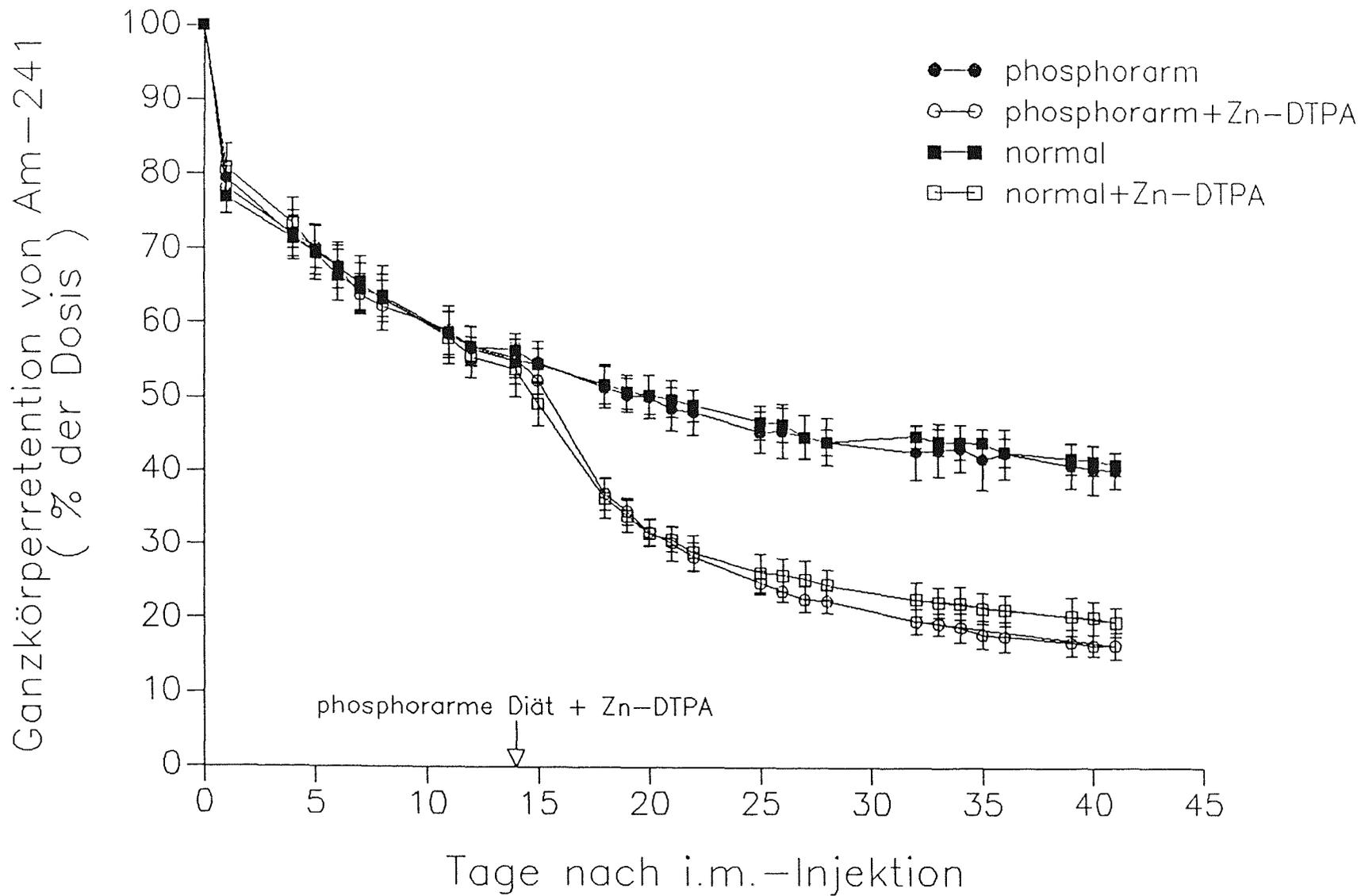


Abb.10 Zeitlicher Verlauf der Ganzkörperretention von  $^{241}\text{Am}$  nach i.m.-Injektion von 21,5 kBq/kg KG bei männlichen Ratten, wobei in der 2.-6. Woche nach Injektion eine Dekorporationstherapie mit Zn-DTPA im Trinkwasser ( $3 \times 10^{-3} \text{ M}$ ) bei gleichzeitiger Gabe phosphorarmen Futters erfolgte.

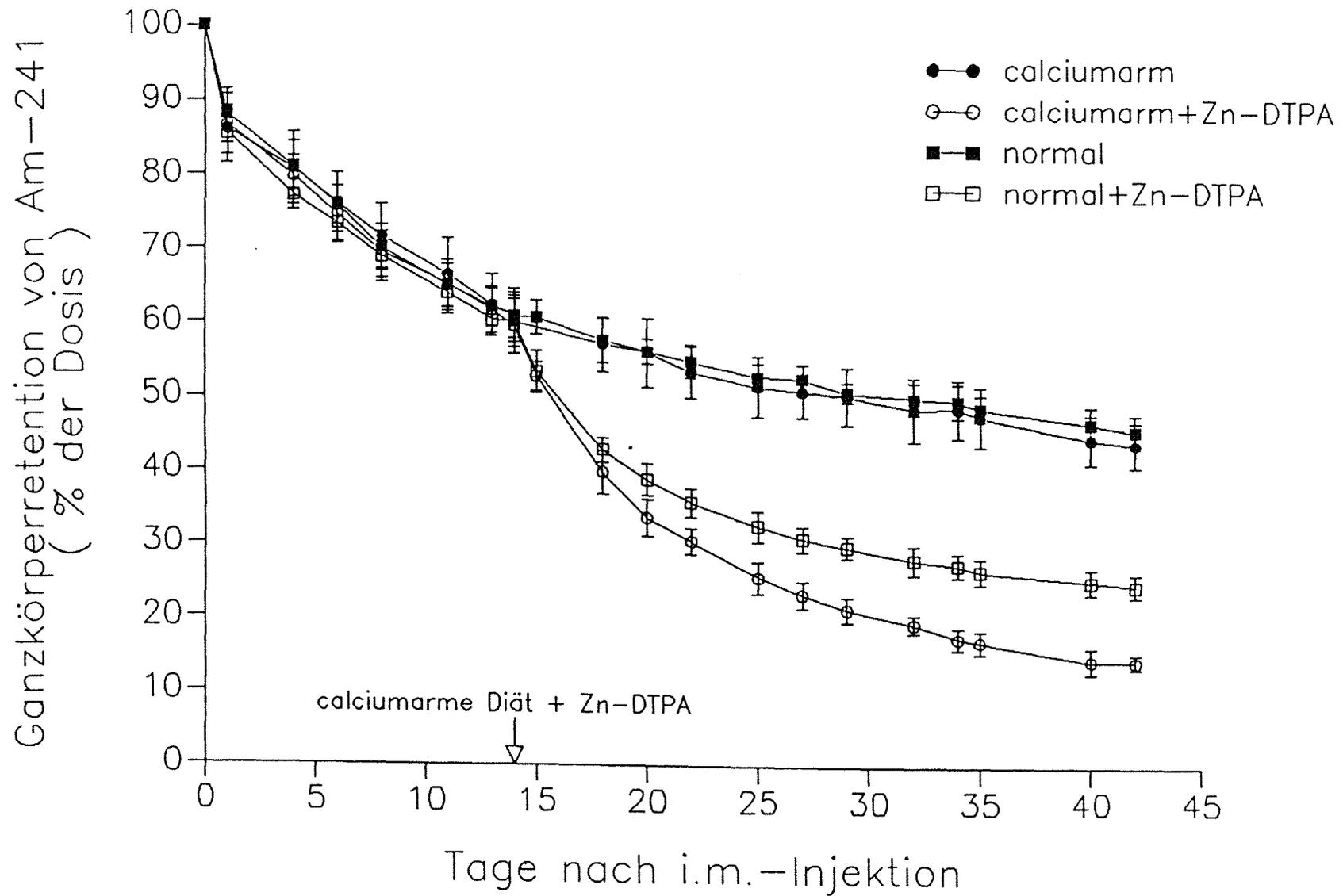


Abb.11 Zeitlicher Verlauf der Ganzkörperretention männlicher Ratten nach i.m.-Injektion von  $^{241}\text{Am}$ -Citrat ( $21.5 \text{ kBq/kg KG}$ ) und oraler Chelattherapie mit Zn-DTPA ( $3 \times 10^{-3} \text{ M}$  im Trinkwasser) bei gleichzeitiger Gabe von calciumarmer Diät 2-6 Wochen nach Injektion

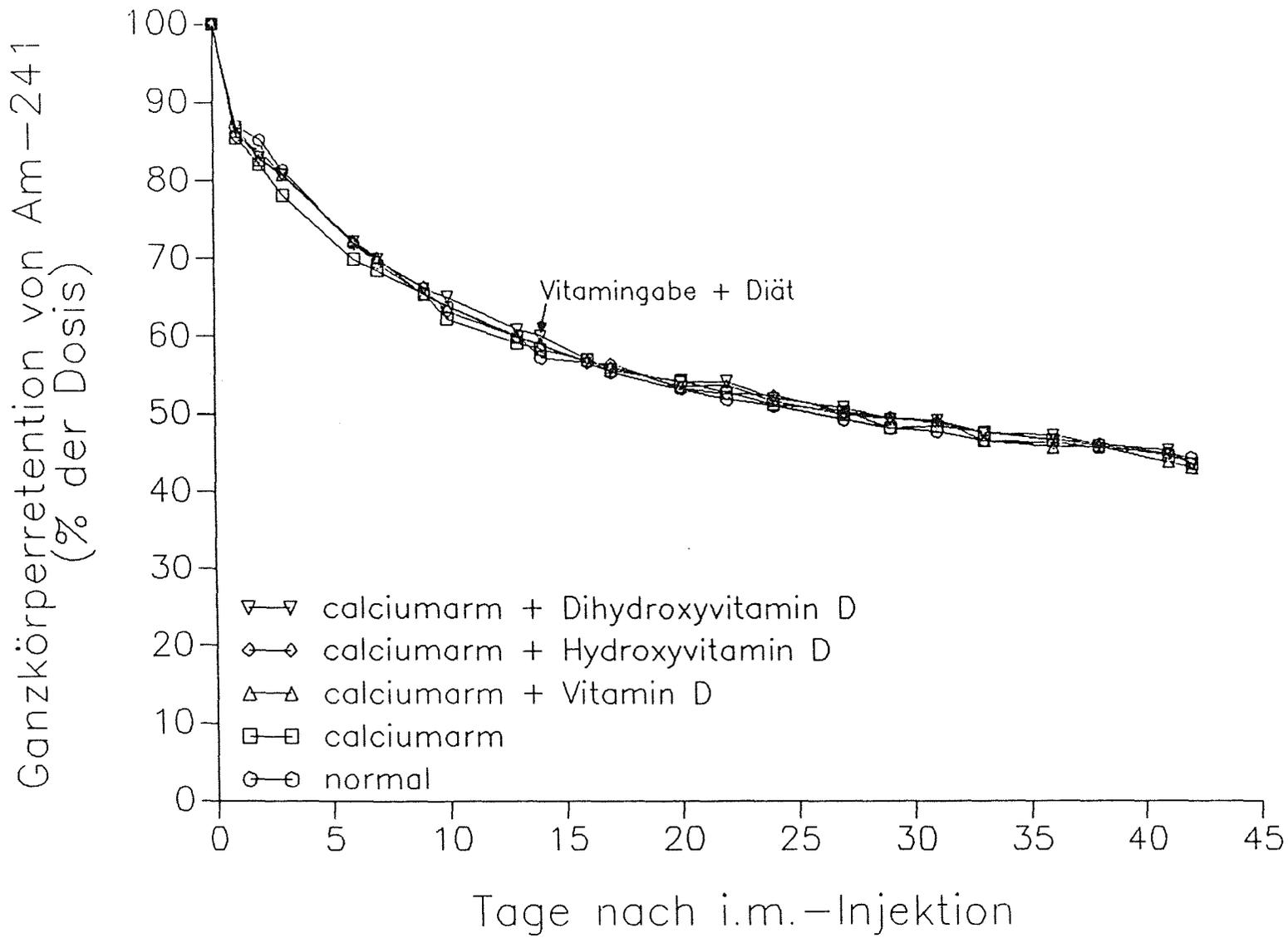


Abb.12 Ganzkörperretention von  $^{241}\text{Am}$  nach i.m.-Injektion von 21.5 kBq/kg KG bei männlichen Ratten über einen Zeitraum von 6 Wochen, wobei in der 2.-6. Woche nach Radionuklidapplikation gleichzeitig mit calciumarmer Diät Vitamin  $\text{D}_3$ ,  $25(\text{OH})\text{D}_3$  oder  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  verabreicht wurde.

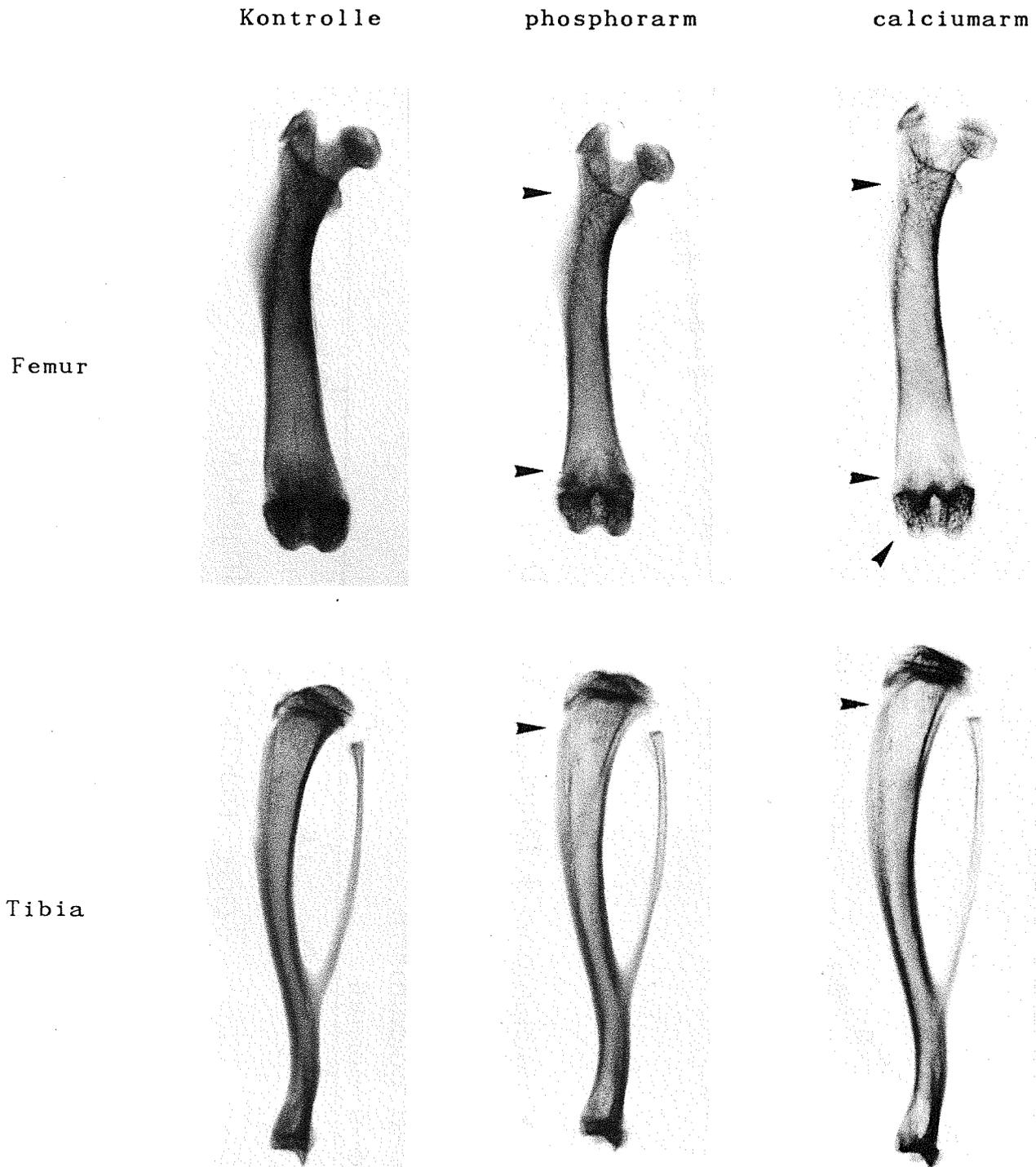


Abb.13 Röntgenologisch sichtbare osteoporotische Veränderungen in Femur und Tibia männlicher Ratten (Pfeile) nach phosphor- bzw. calciumarmer Diät in der 2.-6. Woche nach  $^{241}\text{Am}$ -Injektion (21,5 kBq/kg KG). Röntgenaufnahmen 2x.

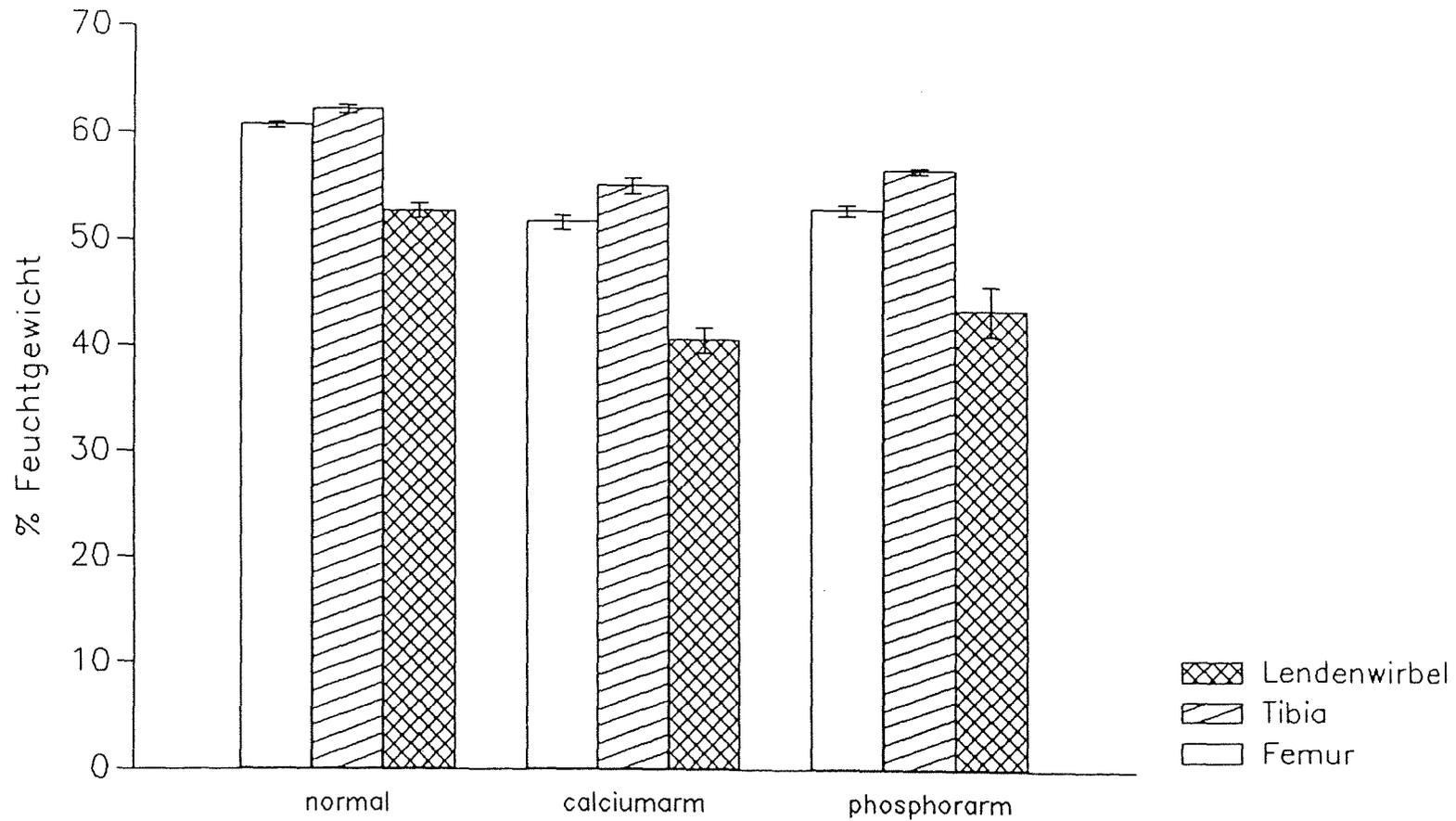


Abb.14 Einfluß einer vierwöchigen calcium- bzw. phosphorarmen Diät auf die Knochentrockengewichte männlicher Ratten; Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler

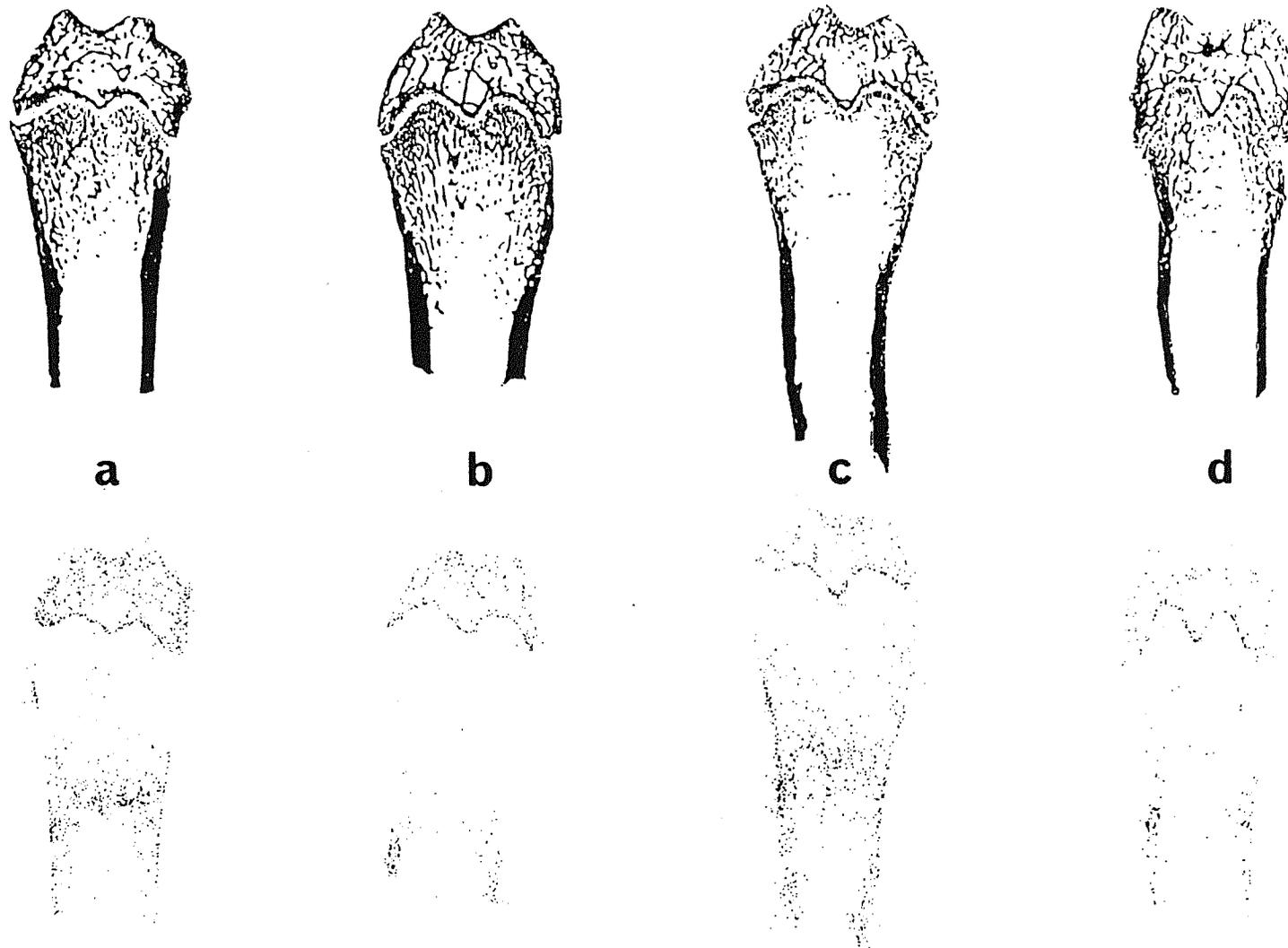


Abb.15 Knochenstrukturen (oben) und zugehörige Autoradiographien (unten) von Femurlängsschnitten 6 Wochen nach Injektion von  $^{241}\text{Am}$  (21,5 kBq/kg KG i.m.) und Behandlung mit Zn-DTPA ( $3 \times 10^{-3}$  M im Trinkwasser) und phosphorarmer Diät 2-6 Wochen nach Applikation. a. Kontrolltiere mit normaler Diät, b. normale Diät + Zn-DTPA, c. phosphorarme Diät, d. phosphorarme Diät + Zn-DTPA. ( Vergrößerung: 4x )



Abb. 16 Knochenstrukturen (links) und zugehörige Autoradiographien (rechts) von Längsschnitten der Lendenwirbelkörper 3 und 4 6 Wochen nach Applikation von  $21,5 \text{ kBq/kg KG } ^{241}\text{Am}$  und Behandlung mit Zn-DTPA im Trinkwasser bei gleichzeitiger phosphorarmer Diät in der 2.-6. Woche nach Injektion. a.-d. siehe Abb.15. (Vergrößerung 5,5x)

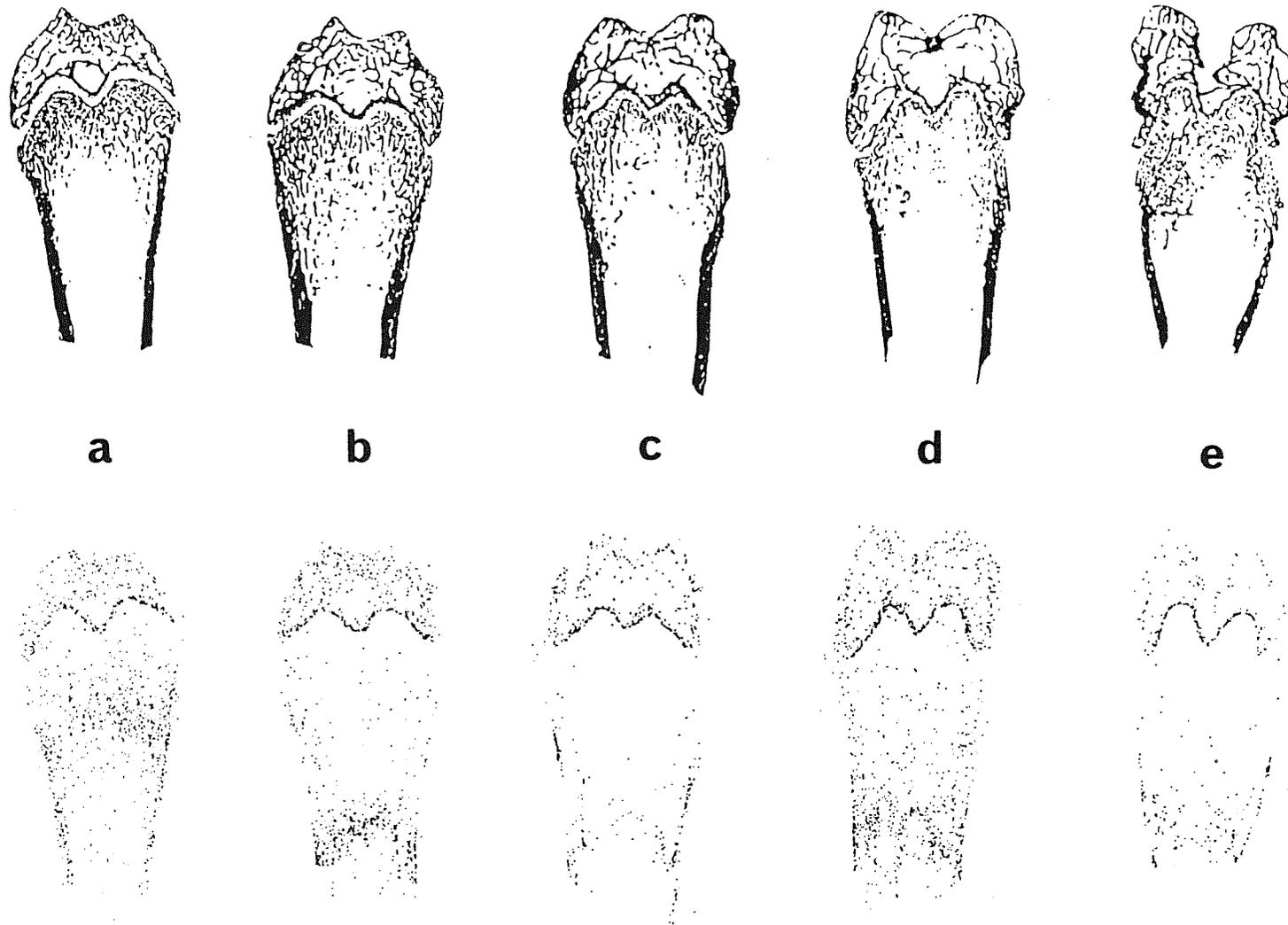


Abb. 17 Vergleichende Darstellung von Knochenstrukturen (oben) und Autoradiographien (unten) der Verteilung von  $^{241}\text{Am}$  im distalen Femur männlicher Ratten bei calciumarmer Diät und Zn-DTPA-Behandlung ( $3 \times 10^{-3} \text{M}$  im Trinkwasser) 2-6 Wochen nach Injektion  
 Sektionszeitpunkt: 6 Wochen nach Radionuklidapplikation (i.m.)  
 a. 2 Wochen Kontrollen, b. 6 Wochen Kontrollen, c. normale Diät + Zn-DTPA, d. calciumarme Diät, e. calciumarme Diät + Zn-DTPA. (Vergrößerung: 4x)

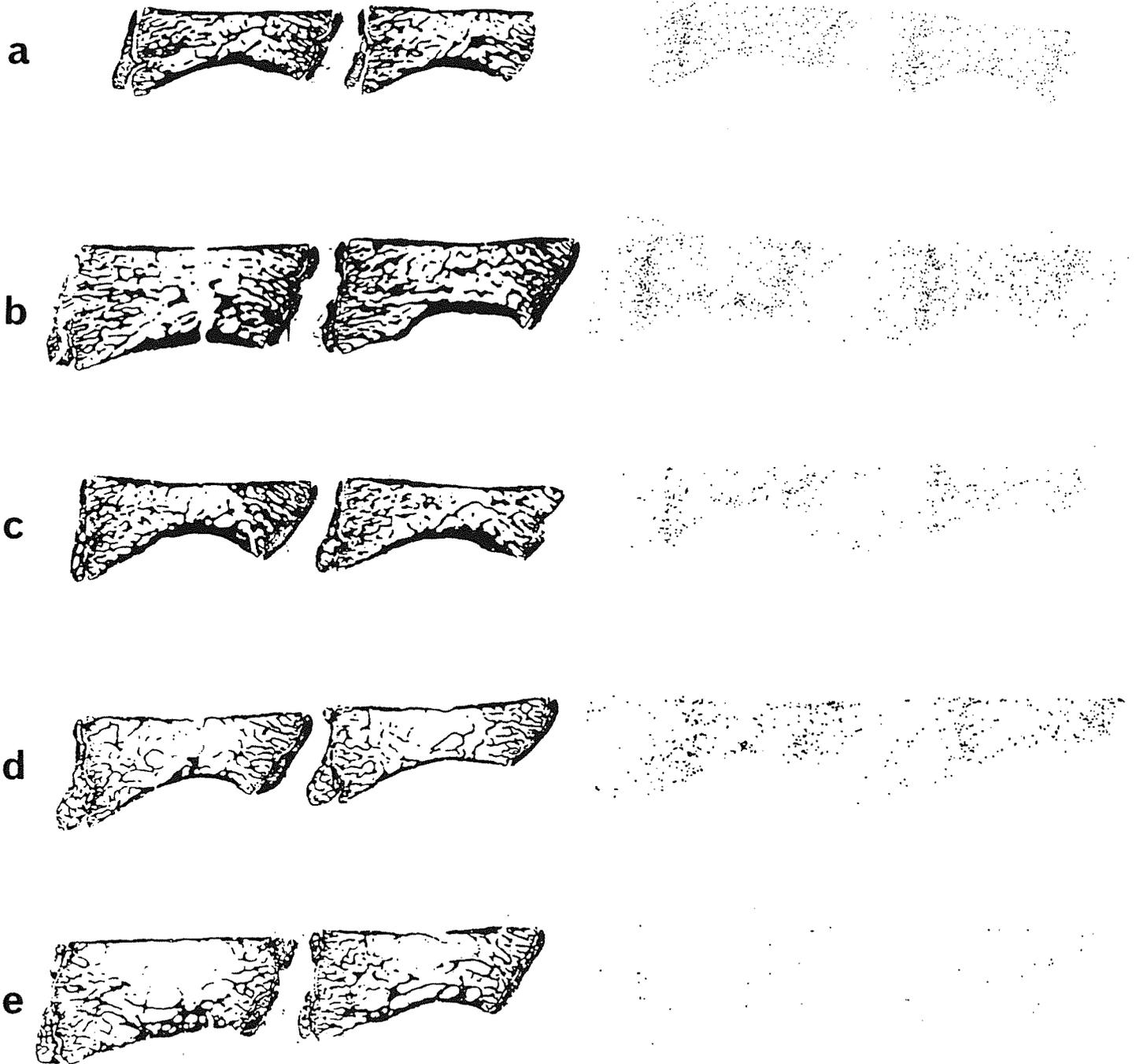


Abb. 18 Knochenstrukturen (links) und zugehörige Autoradiographien (rechts) von Längsschnitten der Lendenwirbelkörper 3 und 4 6 Wochen nach Injektion von <sup>241</sup>Am (21,5 kBq/kg KG) und oraler Chelattherapie mit Zn-DTPA ( $3 \times 10^{-3}$  M im Trinkwasser) bei gleichzeitiger Gabe von calciumarmer Diät in der 2.-6. Woche nach Radionuklidapplikation.  
a.-e. siehe Abb. 17. (Vergrößerung 5,5x)

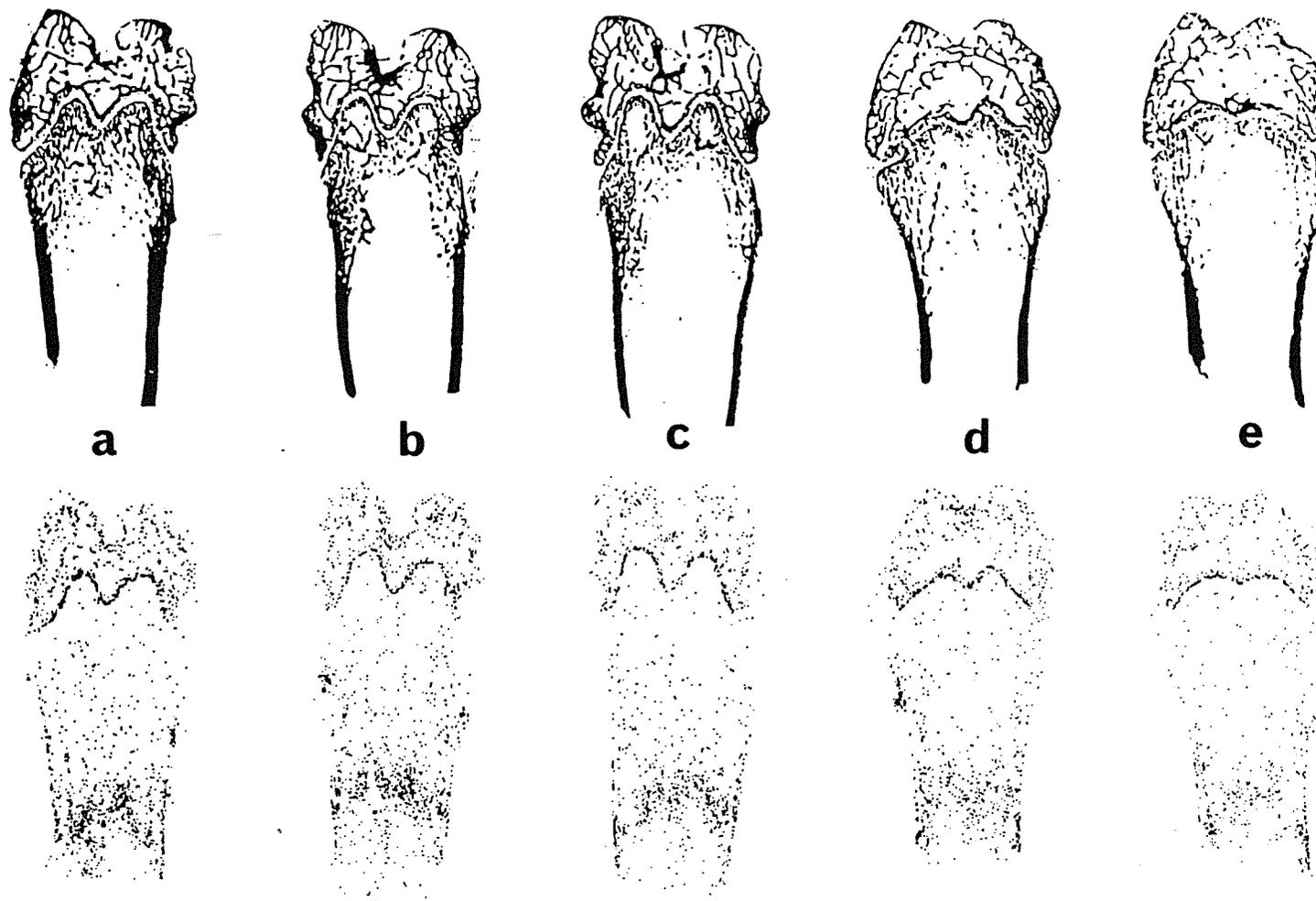


Abb.19 Knochenstruktur (oben) und zugehörige Autoradiographien (unten) von Längsschnitten distaler Femora männlicher Ratten 6 Wochen nach i.m.-Injektion von 21,5 kBq/kg KG  $^{241}\text{Am}$  und nach calciumarmer Diät bei gleichzeitiger Gabe von Vitamin  $\text{D}_3$ ,  $25(\text{OH})\text{D}_3$  oder  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  in der 2.-6. Woche nach Radionuklidapplikation.

a. Kontrolltiere ohne Behandlung, b. calciumarme Diät, c. calciumarme Diät + Vitamin  $\text{D}_3$ , d. calciumarme Diät +  $25(\text{OH})\text{D}_3$ , e. calciumarm +  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . (Vergrößerung 4x)

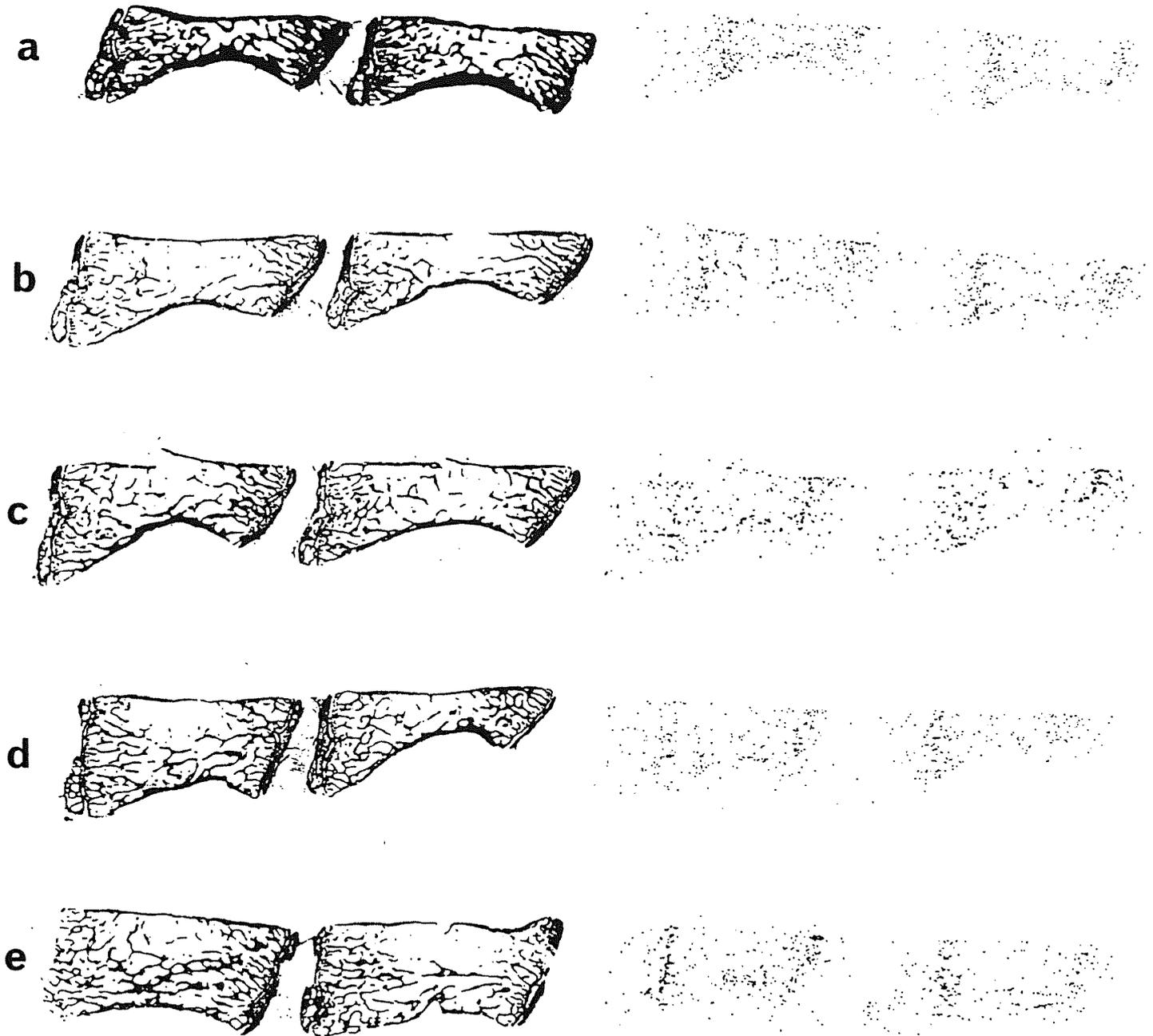
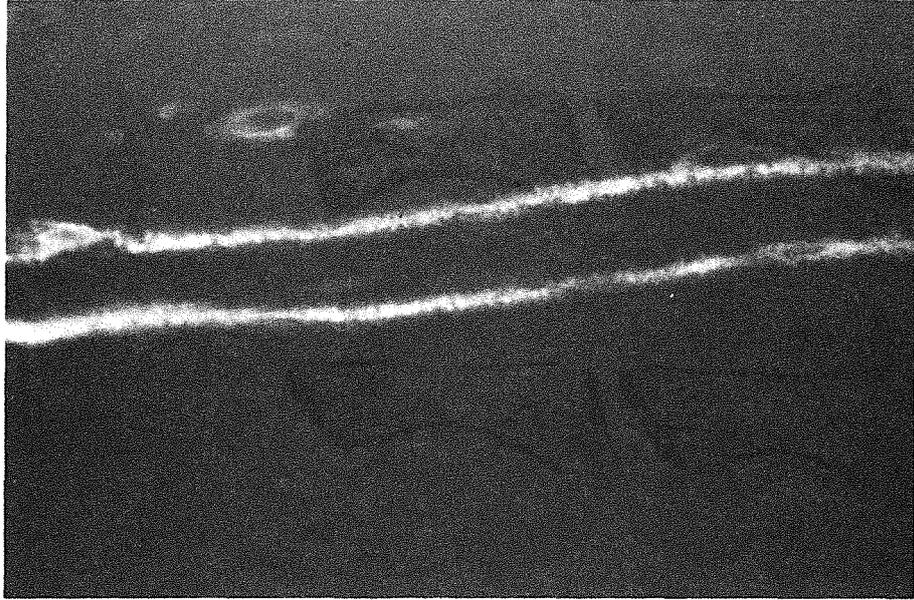


Abb. 20 Knochenstrukturen (links) und zugehörige Autoradiographien (rechts) von Längsschnitten der Lendenwirbelkörper 3 und 4 6 Wochen nach Applikation von 21.5 kBq/kg KG  $^{241}\text{Am}$  und Verabfolgung von Vitamin D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>3</sub> oder 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> bei gleichzeitiger calciumarmer Diät in der 2.-6. Woche nach Radioapplikation. a.-e. siehe Abb.19. (Vergrößerung 5.5x)

**A**



**B**

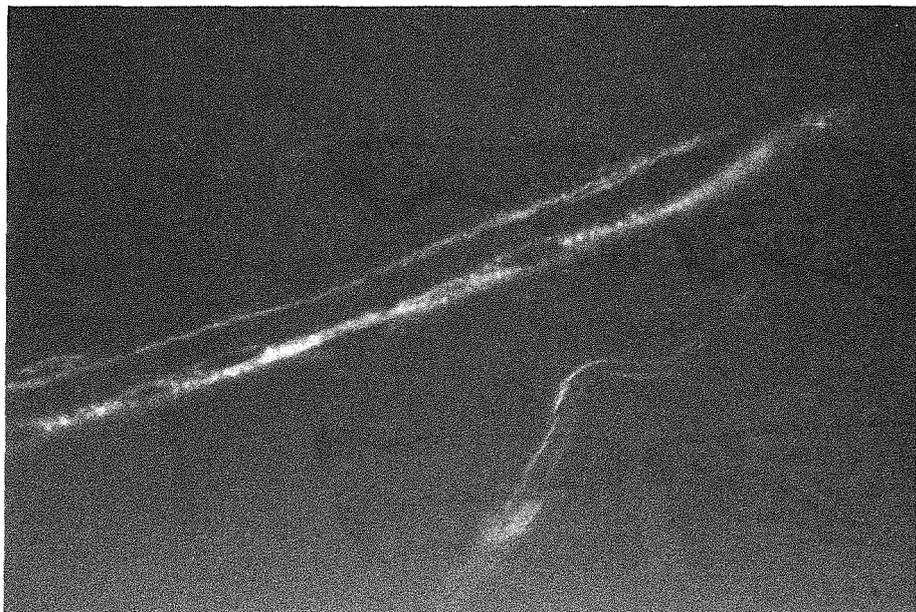
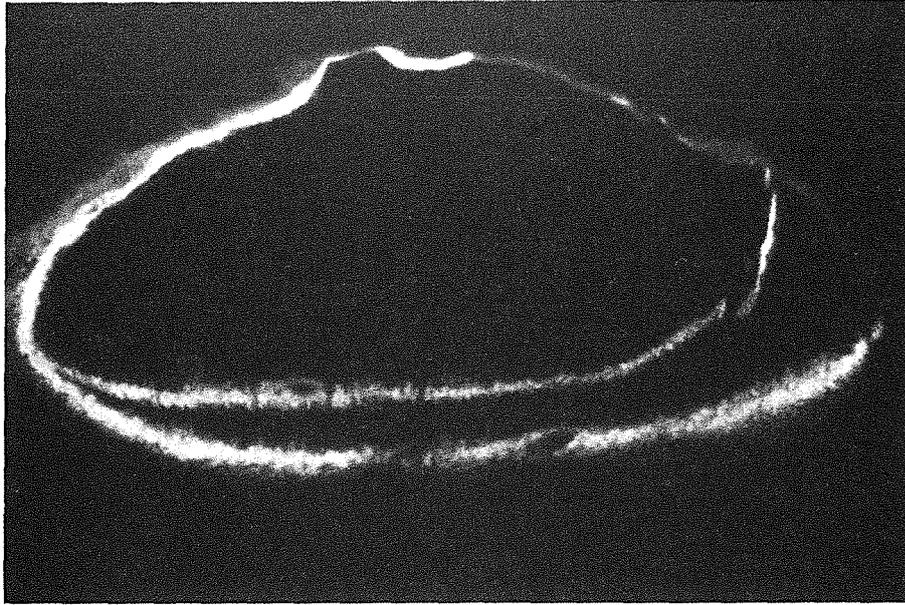


Abb. 21 Abstand beider Fluoreszenzlinien im endostalen Bereich des Femurschaftes A) bei normaler Diät, B) bei calciumarmer Diät in der 2.-6. Woche nach  $^{241}\text{Am}$ -Injektion. Vergrößerung 100x.

**A**



**B**

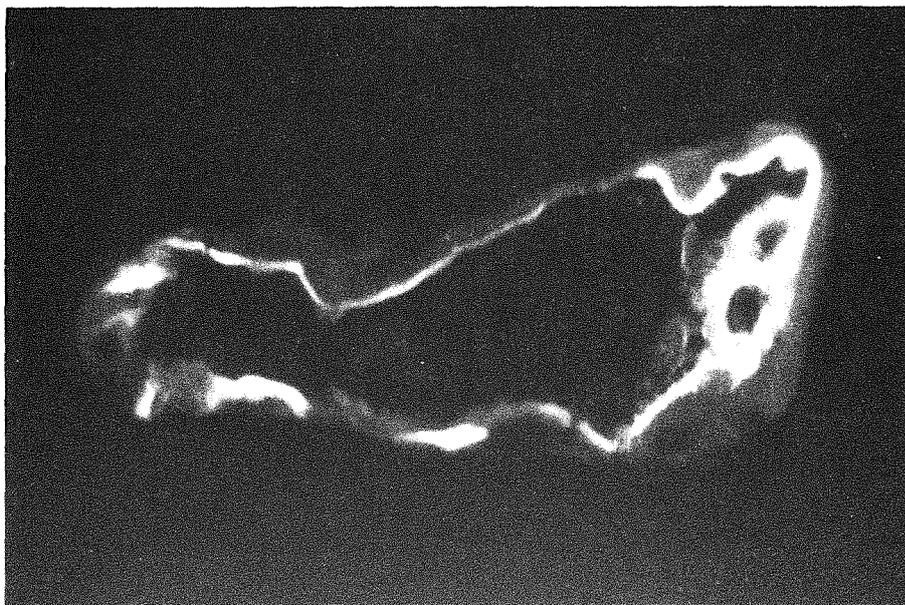


Abb.22 Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen von Querschnitten durch Metaphysentrabekel A) bei einem Tier mit normaler Diät, B) bei einem Tier mit calciumarmer Diät in der 2.-6. Woche nach Radionuklidapplikation. Vergrößerung 100x.

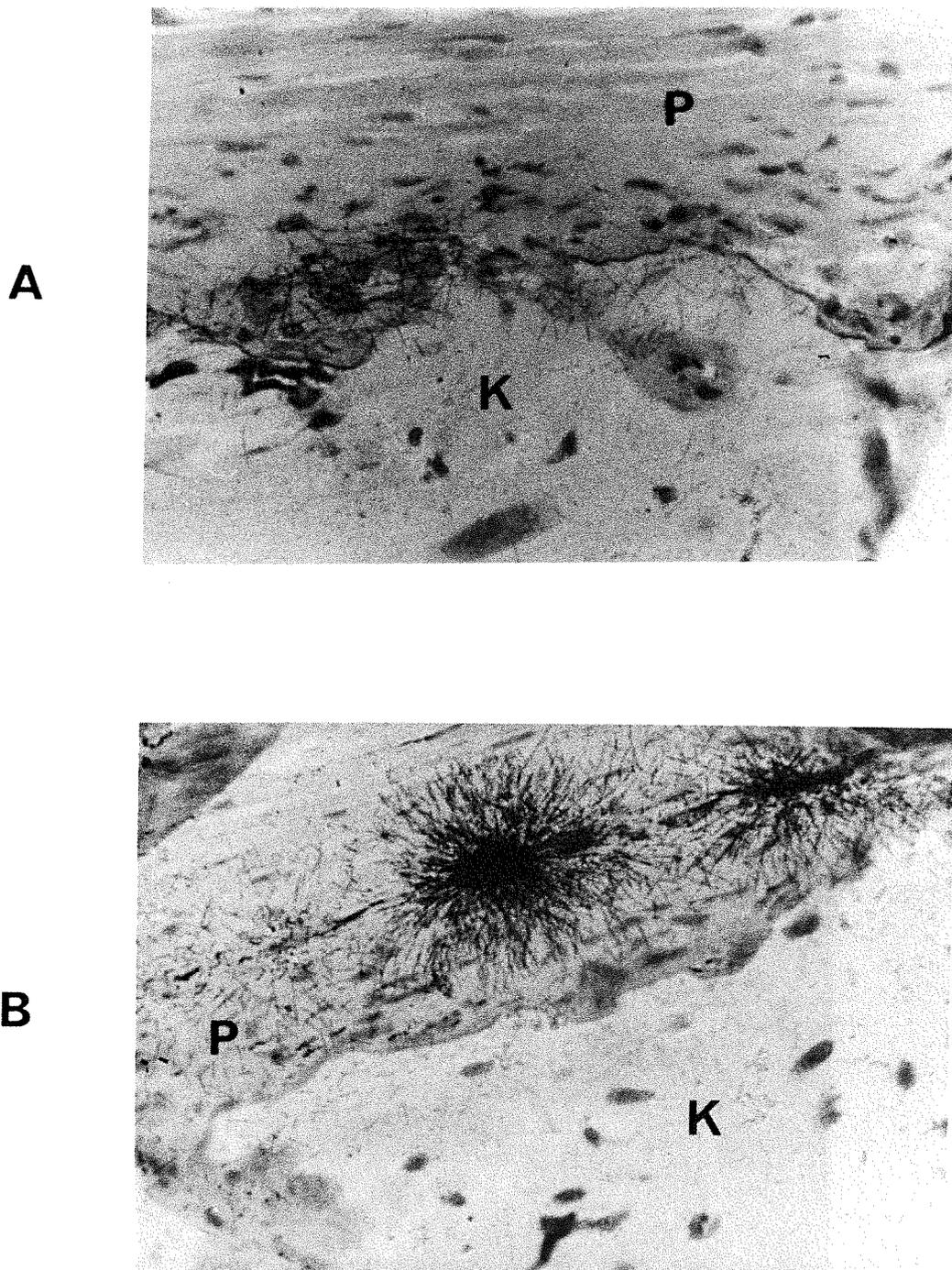


Abb. 23 Histoautoradiographien an Femurlängsschnitten männlicher Ratten, die zusätzlich zu phosphor- bzw. calciumarmer Diät nach Radionuklidinjektion mit Zn-DTPA therapiert wurden. Aktivitätssaum im Periost und teilweise im Knochen begrabene Spuren A) bei phosphorarmer Diät und B) bei calciumarmer Diät. K = Knochen, P = Periost. Vergrößerung 347x.

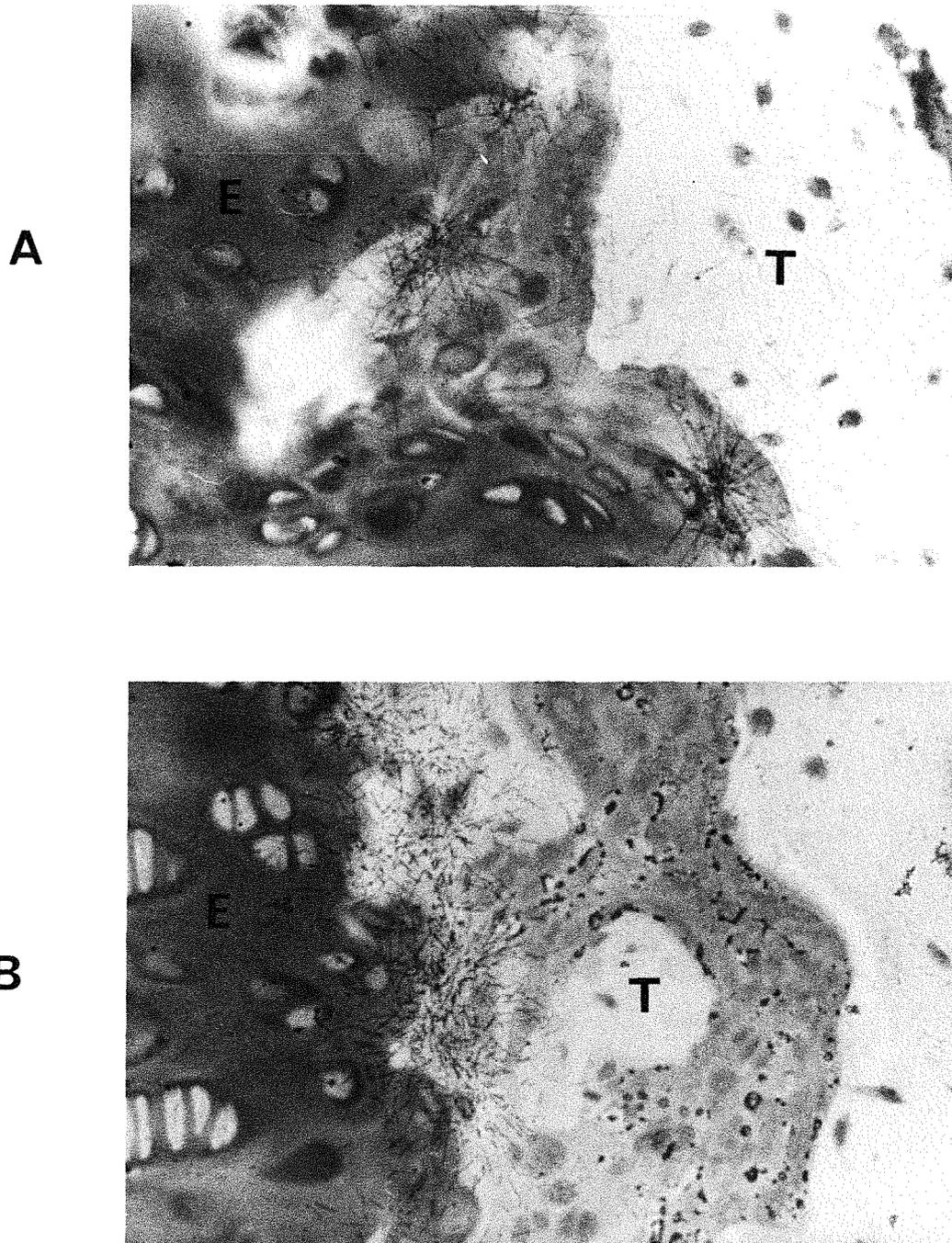


Abb.24 Histoautoradiographien an Femurlängsschnitten mit teilweise massiven Aktivitätsablagerungen am distalen Ende der Epiphysenfuge und in den Epiphysentrabekeln begrabene Spuren bei A) phosphorarmer Diät, und B) calciumarmer Diät bei gleichzeitiger Therapie mit Zn-DTPA. E = Epiphysenfuge, T = Trabekel. Vergrößerung 347x.