

KfK 4473  
September 1988

# **Frühe Knochenveränderungen nach Inkorporation kleiner Mengen von Alphastrahlern bei männlichen Ratten**

U. W. Längle  
Institut für Genetik und für Toxikologie von Spaltstoffen

**Kernforschungszentrum Karlsruhe**



KERNFORSCHUNGSZENTRUM KARLSRUHE

Institut für Genetik und für Toxikologie von Spaltstoffen

KfK 4473

FRUEHE KNOCHENVERAENDERUNGEN NACH INKORPORATION KLEINER  
MENGEN VON ALPHASTRAHLERN BEI MAENNLICHEN RATTEN

Ulrich Wilhelm Längle

vom Fachbereich Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität  
München genehmigte Dissertation

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH, Karlsruhe

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

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH  
Postfach 3640, 7500 Karlsruhe 1

ISSN 0303-4003

## Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Wirkung kanzerogener Dosen von Alphastrahlern auf frühe Veränderungen an langen Röhrenknochen der Ratte. Beschrieben werden radiologische, morphologische, angiographische, histologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen in qualitativer und quantitativer Anwendung. Hierbei wurde eine Methode zur Knochen-Angiographie der Ratte ausgearbeitet, und eine Meßmethode zur Bestimmung der Femurhalskopfwinkelung neu entwickelt. Zahlreiche Störungen des Knochenwachstums und -struktur, Störungen der Gefäßversorgung sowie der knochenbildenden Zellen, konnten dargestellt werden. Eine Beziehung der Schadenshöhe zur verabfolgten Dosishöhe, der Mikroverteilung und teilweise dem Alter der Tiere, ließ sich ableiten. Die Anwendung einer Dekorporationstherapie mit dem Chelatbildner Zn-DTPA reduzierte den durch Plutonium verursachten Schaden.

## Early bone changes after incorporation of low quantities of alpha emitters in male rats.

This work shows the early effects of cancergenic doses of alpha emitters in long bones of rats. The investigations were based on radiographic, morphologic, angiographic, histologic and electronmicroscopic methods. A special method for bone angiography in the rat was elaborated and a new method was developed for measurement of the femur neck-head angle. Numerous disturbances in bone growth and bone structure, in the blood supply of bone and also of the bone building cells were observed. There was a correlation between the severity of the damage and the radiation dose, the spacial distribution of the nuclide and partially the age of the rats. The bone injury due to plutonium was markedly reduced by administration of the chelating agent Zn-DTPA.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	
Problemstellung	1
1.1. Verteilung von Aktiniden im Skelett	2
1.2. Radiologische Strahlenschäden am Knochen	4
1.3. Histologie der Strahlenschäden	6
1.4. Strahlenschädigung an Knochengefäßen	9
2. MATERIAL UND METHODEN	11
2.1. Versuchstiere	11
2.2. Versuchsbeschreibung	11
2.2.1. Radionuklide	11
2.2.2. Chelatbildner	12
2.2.3. Versuche mit Ratten	12
2.2.4. Fluoreszenzmarkierung	13
2.3. Angiographie	14
2.4. Sektion und Entnahme von Organen	15
2.4.1. Längen und Breitenparameter an langen Röhrenknochen	16
2.5. Bestimmung der Radioaktivität	17
2.6. Röntgenaufnahmen	18
2.6.1. Längen- und Breitenmaße an Knochen	18
2.6.2. Abstandsmessung des Aktivitätsbandes	19
2.6.3. Messung der Femurhals- und Kopfachsenwinkelung	19
2.6.4. Messung diverser Parameter an Femurhals und -Kopf	20
2.7. Verarbeitung von unentkalkten Knochen	20
2.7.1. Einbettungen	20
2.7.2. Herstellung von Dickschnitten	21
2.7.3. Herstellung von Dünnschnitten	22
2.8. Autoradiographie	23
2.8.1. Autoradiographie mit Kernspurdetektor	23
2.8.2. Autoradiographie mit "Stripping Film"	24
2.8.3. Elektronenmikroskopische Autoradiographie	24
2.9. Morphometrie an dicken Querschnitten	25
2.9.1. Messung der Wachstumsrate an Hand der Fluoreszenzmarkierung	27
2.9.2. Abschätzung der Trabekularisation	27

2.10.	Histologische Auswertung an dünnen Querschnitten	28
2.10.1	Zählen von Zellen und leeren Osteozytenlakunen	28
2.10.2	Bestimmung der Resorption	28
2.11.	Statistik und Abbildungen	29
3.	ERGEBNISSE	30
3.1.1.	Retention von Aktiniden	30
3.1.2.	Konzentration von Aktiniden	30
3.1.3.	Strahlendosisleistung	31
3.2.	Morphologie der Knochen	31
3.3.	Knochengewichtsentwicklung	32
3.3.1.	Dekorporation mit Zn-DTPA	34
3.4.	Morphometrie der ganzen Knochen	34
3.4.1.	Längenmessungen	34
3.4.2.	Quermessungen	36
3.4.3.	Therapie mit Zn-DTPA	38
3.5.	Röntgenbildanalyse	39
3.5.1.	"Brückenbildung" an langen Röhrenknochen	40
3.5.2.	"Flaschenhalsbildung" am distalen Femur	41
3.5.3.	Femurhalskopfwinkelung	42
3.5.4.	Veränderungen an Femurhals- und Kopfbereich	42
3.6.	Histomorphometrie	43
3.6.1.	Endostales und periostales Wachstum	46
3.6.2.	Wachstumsdynamik	47
3.6.3.	Trabekularisation	49
3.6.4.	Autoradiographische Grobverteilung der Aktiniden	50
3.7.	Histologie an dünnen Querschnitten	51
3.7.1.	Zellpopulation und Resorption	52
3.7.2.	Autoradiographische Mikroverteilung der Aktiniden	53
3.8.	Angiographie der Markhöhlenarterien am Os femoris	54
3.8.1.	Häufigkeit und Größe der Arterien	56
3.8.2.	Elektronenmikroskopische Verteilung von $^{241}\text{Pu}$ in der Arterienwand	58
4.	DISKUSSION	59
4.1.	Retention, Konzentration und Strahlendosis- leistung der Aktiniden; Knochenfrischgewicht	59
4.2.	Morphologie	61

4.3.	Röntgenanalyse und "Brückenbildung"	62
4.4.	Knochenwachstum und -Wachstumsdynamik	65
4.5.	Histologie der Strahlenschäden	69
4.6.	Gefäßversorgung am Os femoris der Ratte	71
4.7.	Therapie mit Zn-DTPA	75
5.	ZUSAMMENFASSUNG	77
	SUMMARY	80
6.	TABELLEN UND ABBILDUNGEN	83
7.	SCHRIFTTUM	137

Erklärung von verwendeten Abkürzungen

DTPA	- Diäthylentriaminpentaessigsäure
FG	- Gesamtfläche am dicken Querschnitt
FM	- Markhöhlenfläche am dicken Querschnitt
IFG	- Integral von Gesamtflächen an dicken Querschnitten
IFM	- Integral von Markhöhlenflächen an dicken Querschnitten
IL <sub>1u.3</sub>	- Integral der Gesamtdurchmesser an dicken Femurquerschnitten
IL <sub>2u.4</sub>	- Integral der Markhöhlendurchmesser an dicken Femurquerschnitten
i.m.	- intramuskulär
i.p.	- intraperitoneal
IQ <sub>2,5,6</sub>	- Integral verschiedener Kompaktaquerdurchmesser an dicken Tibiaquerschnitten
i.v.	- intravenös
KG	- Körpergewicht
Mark.	- Markierung
MMA	- Methylmethacrylat
SEM	- Standardfehler des Mittelwertes
Wo.	- Woche

## 1. EINLEITUNG

### Problemstellung

Zu den Aktiniden gehören die radioaktiven Elemente mit der Ordnungszahl von 90 bis 103 (z.B. Th, U, Np, Pu, Am). Durch Kernenergie und Entsorgung des nuklearen Abfalls sowie der Herstellung von Kernwaffen haben insbesondere die Radionuklide Plutonium ( $^{239}\text{Pu}$ ) und Neptunium ( $^{237}\text{Np}$ ) an Bedeutung gewonnen. Die Aktiniden gehören zu den gefährlichsten osteotropen Radionukliden. Es ist bekannt, daß sie eine Affinität zur äußeren und inneren Knochenoberfläche haben und nach anfänglicher Konzentration an der Oberfläche einer sukzessiven Umverteilung infolge Knochenwachstum und Remodellierung unterliegen. Durch Emission von Alpha-Strahlen ist ihre Wirkung auf umliegende Zellen naheliegend, was sich nach einer gewissen Latenzzeit in Osteosarkomen manifestieren kann. Entscheidend hierbei ist auch die inkorporierte Menge an Radioaktivität, wobei am häufigsten zur Abschätzung des Strahlenrisikos die Berechnung der durchschnittlichen Strahlendosis für einzelne ganze Knochen herangezogen wurde.

Der Frage, inwieweit frühe Knochenveränderungen nach kleinen Plutoniummengen während der Latenzzeit des Osteosarkoms vorkommen, wurde bisher kaum nachgegangen, wobei der radiologische Nachweis von besonderem Interesse wäre. Weiterhin sind Untersuchungen selten, die einen Hinweis darauf geben könnten, inwieweit im Knochen abgelagerte Radionuklide die Knochenwachstumsrate beeinflussen. Schon immer hatte man der Blutgefäßversorgung eine bedeutende Rolle im Zusammenhang mit Knochenschäden zugemessen, doch auch hier fehlen, insbesondere hinsichtlich größerer Gefäße der Markhöhle, entsprechende systematische Untersuchungen.

Somit ergaben sich folgende Fragestellungen:

- 1) Wie wirken sich kleine Mengen von Aktiniden auf das Knochengewicht der Ratte aus?
- 2) Verursachen sie auch qualitative Knochenveränderungen, die sich radiologisch darstellen lassen?
- 3) Haben die Aktiniden Auswirkung auf das Knochenwachstum, wie Längen- und Breitenwachstum sowie Kortexdicke?

- 4) Welche Beeinflussung erfahren insbesondere die knochenbildenden Zellen durch kanzerogene Dosen von Aktiniden?
- 5) Bewirken Aktiniden Gefäßveränderungen in langen Röhrenknochen der Ratte, die mittels Radiographie sichtbar werden, und können mögliche Veränderungen auch quantitativ bestimmt werden?
- 6) Nach welcher Zeit der Nuklidablagerung treten die Knochenveränderungen auf, und sind diese vom Alter der Tiere abhängig?
- 7) Läßt sich das Auftreten von Knochenveränderungen durch eine Dekorporationstherapie nach Inkorporation von Aktiniden beeinflussen?

#### 1.1. Verteilung von Aktiniden im Skelett

Die Verteilung von Aktiniden soll am Beispiel des Plutoniums erläutert werden.

Plutonium (Pu) ist, wie alle anderen Aktiniden, ein Element das vor allem in Leber und Skelett angereichert wird (41). Je nachdem, in welcher physikochemischen Form Pu in den Körper gebracht wird, verteilt es sich unterschiedlich auf beide Organe. Sowohl bei jungen als auch bei erwachsenen Tieren wird initial polymeres Plutonium vor allem in der Leber und monomeres Plutonium mehr im Skelett aufgenommen (55).

Neben der chemischen Form spielt auch die Verabreichungsform des Elements eine Rolle. Wird Pu-Nitrat nicht intravenös, sondern intramuskulär verabfolgt, kann es zu einer Anreicherung an der Injektionsstelle durch Kolloidbildung (101) kommen. Pu-Citrat wird im allgemeinen nach intramuskulärer Injektion ebenso gut im Skelett angereichert wie nach einer intravenösen Injektion (89).

Da Plutonium in seinen chemischen Eigenschaften ähnlich jenen des Eisens ist, wird es auch an Transferrin gebunden und so im Blut transportiert (7, 75, 106).

Nach der Rate der Blutmenge, die den Knochen versorgt, richtet sich die Rate der Pu-Ablagerung. Sie bestimmt initial an inneren Knochenoberflächen des Skeletts die Dichte der Pu-

Ablagerung (39). Dabei wird Plutonium in verschiedenen Knochen des Skeletts je nach Blutversorgung und mechanischer Belastung in unterschiedlicher Höhe angereichert (11). Auch innerhalb der einzelnen Knochen gibt es Bereiche mit unterschiedlicher Verteilung. So sind vor allem die Wachstumszonen zum Beispiel der proximalen Tibia oder des distalen Femurs die Orte der größten Nuklidablagerung (4).

Nach der initialen Ablagerung - vor allem an den inneren Knochenoberflächen und weniger an den periostalen Oberflächen (39) - kommt es, abhängig vom Stoffwechsel des Knochens, zu einer Umverteilung. Dies geschieht hauptsächlich durch Prozesse der Knochenapposition und Resorption (45). An Oberflächen, an denen Apposition stattfindet, wird das Plutonium in Form einer "heißen Linie begraben". Andererseits wird es wieder an den resorptiven Oberflächen abgestreift, indem es durch Osteoklasten zusammen mit Knochenmatrix "aufgefressen" wird (74).

Priest (75) ist weiterhin der Meinung, daß innerhalb der Osteoklasten das Plutonium durch interzelluläre Verdauung befreit und anschließend aus den Osteoklasten ausgeschleust wird. Dieses Plutonium wird von Makrophagen des Knochenmarks aufgenommen und akkumuliert hier. Nicht aufgenommen werden von den Makrophagen Pu-Citrat oder Pu-Transferrin im Knochenmark. Im weiteren gelangt das Plutonium von den Makrophagen wieder ins Blut, so daß es über das Blut wieder zu einer Redeposition im Knochen kommt.

Durch Therapie mit Zn-DTPA kann eine Beeinflussung der Verteilung im Knochen erreicht werden. Volf (102) zeigt, daß die Pu-Konzentration durch Anwendung der Zn-DTPA-Therapie im Trinkwasser bevorzugt in Abschnitten mit hoher Trabekularisation, d.h. an proximalen Tibia und distalem Femur, am stärksten gesenkt werden kann. Somit können die Bereiche mit der größten Nuklidablagerung im Knochen entlastet werden.

## 1.2. Radiologische Strahlenschäden am Knochen

Nach Hug (36) werden Beziehungen zwischen Strahlendosis und biologischer Strahlenwirkung bzw. -Schäden nicht nur von der Strahlenart und Energie, sondern auch von anderen physikalischen Gegebenheiten, besonderen Eigenschaften des bestrahlten Objekts sowie den zu beobachtenden Endeffekten in verschiedenartiger Weise bestimmt.

Prinzipiell folgen Strahlenschäden im Organismus bei Einwirkung ionisierender Strahlen einer komplexen Dosiswirkungsbeziehung.

Häufig nimmt die Wirkung sigmoidförmig mit der Dosis zu und tritt unter Umständen erst nach überschreiten eines bestimmten Dosisbereiches, also einer Schwelle, auf. Dagegen wird bei Einwirkung dicht ionisierender Strahlen nicht selten eine exponentielle Dosiswirkungsbeziehung beobachtet.

Am Skelett verursacht die Einwirkung von ionisierenden Strahlen makroskopische Veränderungen, die sich am besten röntgenologisch untersuchen lassen (62).

Um röntgenologische Veränderungen qualitativ zu analysieren, können folgende Kriterien angewandt werden (5):

- 1) inhomogene Knochenmineralisation durch fleckige Osteoporose und/oder Sklerose (Nekrosen)
- 2) endostale Knochenerosionen ("endosteal scalloping")
- 3) Verbreiterung oder Verschmälerung des Kortex
- 4) abnormale Trabekulatur (Verdickung, Rarefizierung und/oder unscharfe Begrenzung)
- 5) Verdacht auf Strahlensarkom
- 6) Knochenfrakturen

Fabrikant et al. (16) beschreiben umfangreiche radiologische Untersuchungen nach Anwendung von Plutonium und Americium bei männlichen Ratten.  $^{239}\text{Pu}$  wird in einer Einzeldosis von 109 kBq/kg KG und fraktioniert mit 111kBq/kg KG in vier Intervallen von 14 Tagen, und  $^{241}\text{Am}$  in einer Einzeldosis von 93 und 215kBq/kg KG intravenös 6 bis 8 Wochen alten Tieren injiziert. Nach einem Monat zeichnet sich ein osteosklerose-

tisches Band quer über die distale Metaphyse von Femur und proximaler Metaphyse von Tibia ab, das sich im Laufe des Wachstums in Richtung Diaphyse bewegt. Histologische Untersuchungen weisen auf unresorbierte calcifizierte Knochensubstanz hin. Nach einem Jahr kann röntgenologisch dieses Knochenband nicht mehr gefunden werden.

Nach acht Monaten werden generalisierte diffuse Osteoporosen bei allen Tieren festgestellt. Der Grad dieser Schädigung nimmt mit fraktionierter Verabfolgung zu. Bei Plutonium ergeben sich lokale osteoporotische Stellen an Epiphyse und Metaphyse, die als Ausgangspunkt möglicher Osteosarkome angesehen werden. Weiterhin wird generalisierte Osteosklerose am Schaft des Femurs gesehen. Auch dieses Strahlenbild nimmt mit fraktionierter Verabfolgung zu. Bei  $^{241}\text{Am}$  sind vergleichbare Schäden erst bei höherer Dosierung bemerkbar. Lokale sklerotische Bezirke können ebenfalls an Epiphyse und Metaphyse gefunden werden, die hier als Ausgangspunkt sklerotisierender Osteosarkome angenommen werden.

Vier und fünf Monate nach Pu-Injektion werden Längenmessungen der langen Röhrenknochen am Röntgenbild vorgenommen. Bei  $^{239}\text{Pu}$  ergeben sich Wachstumsdefizite beim Femur um ca. 10%, Tibia und Humerus sind nur leicht betroffen.  $^{241}\text{Am}$  bewirkt bei höchster Dosierung ein Wachstumsdefizit von 10% bei der Tibia und 15 bis 20% beim Femur. Die Veränderungen sind nach einem Jahr immer noch zu finden. Eine starke radiologische Veränderung, vor allem nach höherer Dosierung von  $^{241}\text{Am}$  ergibt sich an der distalen Femurmetaphyse. Eine lokale Einengung des Breitenwachstums am distalen Femurdrittel wird beschrieben. Die Ursache wird zum Teil auf die Reduzierung der Kompaktadicke zurückgeführt, während der Markhöhlendurchmesser nur wenig verändert ist. Frakturen an der vorderen Oberfläche zeichnen sich bei der höchsten Dosierung von  $^{241}\text{Am}$  nach einem Jahr ab.  $^{239}\text{Pu}$  verursacht hingegen keine Frakturen. Osteosklerotische Knochentumore werden in der Metaphyse und Epiphyse von proximaler Tibia und distalem Femur bereits zwei Monate nach Injektion bei fraktionierter Verabfolgung gesehen.

Taylor (96) findet entsprechende Einengungen am distalen Drittel des Femurs ein Jahr nach Injektion von 150kBq/kg KG  $^{244}\text{Cm}$  bei zehn Wochen alten männlichen Ratten.

Hitchman et al.(33) führen röntgenologische Untersuchungen an Beagle Hunden durch. Hierbei werden drei Monate und sieben Monate alte Tiere nach i.v. Injektion von 106kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  miteinander verglichen. Alle sechs Monate unterliegen sie einer röntgenologischen Untersuchung. Bei beiden Altersgruppen ergeben sich im Laufe des Lebens nur selten Frakturen an Femur und Humerus, während Rippenfrakturen bei älteren Tieren häufiger als bei jungen Tieren vorkommen. Die Rippenfrakturen der jungen Tiere heilen restlos aus.

Längenuntersuchungen an Röntgenaufnahmen ergeben keine Defizite bei den jungen Tieren gegenüber ihren Kontrolltieren.

An Tibia wird eine sklerotische Zone parallel zur proximalen Epiphysenfuge beschrieben. Proximal dieser sklerotischen Linie ist die Kompaktawandung auf der einen Seite dicker und an der gegenüberliegenden Seite dünner als normal. Die Trabekulatur ist ungeordnet und reduziert.

### 1.3. Histologie der Strahlenschäden

Im folgenden soll der bisherige Kenntnisstand histologischer Untersuchungen an mehreren Spezies mit verschiedenen Radionukliden in unterschiedlicher Dosishöhe erläutert werden.

Heller (29) führte schon früh Untersuchungen an Sprague-Dawley Ratten durch.  $^{239}\text{Pu}$  wird intravenös in folgenden Dosishöhen verabfolgt: 4,6/3,7/2,2/1,1/0,55 und 0,3MBq/kg KG. Der Autor ermittelt eine Schwellendosishöhe von 1,1MBq/kg KG. Dosierungen über dieser Dosis verursachen starke Schädigungen, die im folgenden kaum durch reparative Prozesse des Organismus behoben werden. Unterhalb der Dosis sind die Schädigungen etwas geringer; Reparaturprozesse sind deutlich.

Die Strahlenschäden und darauffolgende Reparaturvorgänge beschreibt Heller (29) für 1MBq/kg KG folgendermaßen:

Sechzehn Tage nach Inkorporation kommt es zunehmend zur Un-

terbrechung zwischen Epiphysenfugenknorpel und der primären Spongiosa. Das Längenwachstum hört auf. Verbleibende Osteoblasten an der primären Spongiosa bilden atypischen Knochen, die sekundäre Spongiosa beinhaltet einige tote Osteozyten und besitzt keine Osteoblasten mehr.

Nach vierundsechzig Tagen wird das Längenwachstum wieder aufgenommen, und folgende Zonen von Epiphysenfuge bis zum Schaft werden beschrieben:

- 1) Eine Zone mit relativ normal verkalktem Knorpel und vielen Osteoblasten; Wiederherstellung der Verbindung zwischen Knorpel und Trabekeln
- 2) Eine breite Zone mit aktivem hämatopoetischem Knochenmark
- 3) Eine tote Zone mit hyperplastischem und atypischem Knochen ohne Knorpel mit gelatinösem Knochenmark; resultierend aus Nichtresorption
- 4) Toter Knochen und verkalkter Knorpel mit gelatinösem Knochenmark und vielen spindelförmigen Zellen
- 5) Aktives Knochenmark am Schaft

Jee et al. (44) beschreiben nach intravenöser Injektion von 100kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  bei Beagle Hunden über einen Beobachtungszeitraum vom 1. bis 1576. Tag frühe und späte Veränderungen.

Drei Tage nach Injektion finden sie an der Tibiametaphyse Störungen der primären Spongiosa und hyperplastische Knorpelzellen. Nach sieben Tagen sind nur noch wenige Osteoblasten aber keine Osteoklasten mehr vorzufinden. Nach vierzehn Tagen formieren die überlebenden Osteoblasten eine transverse Knochenplatte. Durch limitierte Osteoblastentätigkeit und totale Hemmung der Osteoklastentätigkeit entstehen verdickte Trabekeln. Atypischer Knochen wird gebildet. Nach zwei bis drei Monaten finden sich peritrabekuläre Fibrosen, die eine Barriere zwischen Knochen und Blutversorgung darstellen. Nach vierhundert Tagen Tod von Osteozyten. Es wird auf die Beziehung dieser Schäden zur Entwicklung von Knochengeschwülsten eingegangen.

Clarke (8) verabfolgt je drei männlichen Miniaturschweinen im

Alter von sechs Wochen, sechs Monaten und einem Jahr 48 kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  intravenös.

Acht Monate nach Inkorporation werden die ersten Tiere untersucht, wobei der proximale Teil einer siebten Rippe für histologische Untersuchungen herangezogen wird.

Bei sechs Wochen alten Tieren finden sich dicke, grobe und unregelmäßig calcifizierte Trabekeln, Nekrosen in älteren Trabekelanteilen, Desorganisation des lamellären Haversschen Systems und Fibrosen an den primären und sekundären Trabekeln sowie an Knochen und Gefäßen.

Nach sechs Monaten finden sich neben leichten Nekrosen in primärer und sekundärer Spongiosa auch Nekrosen und Fibrosen im Knochenmark. Weiterhin tritt zunehmende Desorganisation lamellärer Knochen auf.

Nach einem Jahr sind Knorpelreste in der primären Spongiosa sichtbar. Fibrosen der primären Spongiosa, Fibrosen und Nekrosen an sekundärer Spongiosa und Knochen sind immer noch ausgeprägt.

Moskalev (58) untersucht die Wirkung von  $^{237}\text{Np}$  an wachsenden Ratten. Die größten Effekte anhand Veränderungen am Knochen und Knochenmark werden an der Metaphyse beschrieben. Nach einmaliger intravenöser Verabfolgung von 185kBq/kg KG ergeben sich innerhalb der ersten drei Tage Nekrosen im Knochengewebe. Unterhalb der Knorpelfuge reduziert sich die Zahl der Osteoblasten. Da die Strahlenbelastung der ersten Tage nur bei 2 - 3 rad liegt, wird angenommen, daß die Schäden in der akuten Periode durch die chemische Toxizität des Neptuniums verursacht werden. Weiterhin findet sich in der akuten Phase eine verstärkte Knochenresorption, was aus Kalkablagerungen in den Nierentubuli gefolgert wird.

Zwischen dem dritten Tag und dem zwölften Monat kommt es zu Störungen des Knochenanbaus und des Knochenumbaus. Vor allem sind resorptive Prozesse vorherrschend. Die Trabekelanordnung wird unkoordiniert, und der Knochen erhält ein mosaikartiges Aussehen. Um die Trabekeln kommt es zur Atrophie von Knochenmark, das bindegewebig ersetzt wird. Die stärksten Veränderungen finden sich innerhalb des Aktivitätsbandes. Hier ent-

steht der Eindruck eines toten Gewebes. Dabei wird der Verdacht geäußert, daß eine Stimulierung der Revitalisierung durch bindegewebige Einsprossung aus endostaler Oberfläche angeregt wird.

In der Kompakta führen starke Resorptionsleistungen zu porotischen Erscheinungen, die zu Spontanfrakturen führen können. Nach einem Jahr ist die enchondrale Ossifikation immer noch stark vermindert.

Nach intratrachealer Verabfolgung von 185 bzw. 74kBq/kg KG  $^{237}\text{Np}$  treten die oben aufgeführten Veränderungen später und milder auf. Entlang der endostalen Kompaktaoberflächen und in der Metaphyse treten atypische osteoblastische Inseln auf, die als Präkanzerosen angesehen werden.

Gamer (22) untersucht den Einfluß von 37 bis 222kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  bei fünf und neun Wochen alten männlichen Ratten. Zur Histologie kommen der distale Femur und der dritte und vierte Lendenwirbel..

Es ergeben sich insbesondere bei den älteren Tieren osteoporotische Veränderungen der Spongiosa bis hin zu schweren Störungen der Knochenwachstumsstruktur im Bereich der Femurmetaphyse insbesondere durch Bildung eines Knochenquerbandes. Ferner treten Fibrosierung, Atrophie und Hämosiderose des Knochenmarks auf.

Die osteoporotischen Veränderungen werden anhand qualitativer Untersuchungen einer Steigerung der Knochenresorption bei zum Teil leicht erhöhter Knochenbildung zugeordnet. Insgesamt gesehen kommt es so zu einer Erhöhung der Stoffwechselaktivität nach innerer Bestrahlung.

#### 1.4. Strahlenschädigung an Knochengefäßen

Wesentlich strahlenempfindlicher als die großen Arterien sind die Arteriolen und Kapillaren (10).

Störungen der Eröffnungskapillaren an der Eröffnungszone werden sowohl nach externer Betastrahlung (47, 56) neun bis dreißig Tage nach 1800 R bei Ratten als auch nach interner

Bestrahlung (54) nach i.v. Injektion von 3,7 und 22,2MBq/kg KG des Betastrahlers  $^{90}\text{Sr}$  bei Kaninchen gesehen. Bei letzteren verursachen beide Dosierungen innerhalb von neun Tagen Gefäßschäden und Gefäßschwund. Die Gefäße werden dünnwandig und Extravasate treten auf. Nach hundertachtzig Tagen sind die Gefäße wieder normal. Ein Zusammenhang zwischen Abnahme der Kapillaren und Dickenzunahme der Knochenplatte wird vermutet.

Heller (29) beobachtet sechzehn Tage nach Inkorporation von 1,0MBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  eine Wiedereinsprossung von transversen Gefäßen in die primäre Spongiosa, nachdem sich zuvor die Kontinuitätsunterbrechung zwischen Fugenknorpel und Knochen ergeben hatte.

Jee et al. (44) finden vierhundert Tage nach i.v. Injektion von 100kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  bei Beagle Hunden eine Okklusion der Gefäße mit folgender Obliteration der Haversschen Kanälen. Dabei kommt es zuvor zur Anschwellung des Gefäßendothels und Ablagerung von Mukopolysacchariden zwischen Blutgefäß und Wänden. Die Mukopolysaccharide werden entweder vom Gefäßendothel oder von Fibroblasten gebildet.

Im Zusammenhang mit zunehmender Knochenmarksverfettung nach Inkorporation von 14,8MBq/Kg KG  $^{241}\text{Pu}$  stellen Miller et al. (57) eine starke Reduktion des Blutvolumens von 16% auf 2% in der Markhöhle fest. Dies resultiert aus der Abnahme der weiten Sinusoide im Fettmark gegenüber rotem Knochenmark.

Bei Hunden (Beagles), die eine intravenöse Injektion von 104 kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  erhalten, werden von Dougherty et al. (13) nach 1200 Tagen eine scheinbare Abnahme der spongiosaver-sorgenden Knochenmarksgefäße wahrgenommen.

Moskalev (58) findet nach 185kBq/kg KG  $^{237}\text{Np}$  bei der Ratte nach einem Jahr besonders in den pathologischen Zonen von Metaphyse und Diaphyse tote und obliterierte Gefäße der Markhöhle.

## 2. MATERIAL UND METHODEN

### 2.1. Versuchstiere

Männliche Sprague-Dawley Ratten der Wiga Versuchstierzucht Sulzfeld wurden in Gruppen von maximal fünf Tieren pro Käfig aufgenommen. Die Nahrung bestand aus einer handelsüblichen Standarddiät (Altromin<sup>R</sup>) und Leitungswasser. Zu allen Zeiten war freier Zugang zu Futter und Wasser möglich. Die Raumtemperatur des zwangsbelüfteten Stalles (Unterdruck um 15 Pa) betrug ca. 22<sup>o</sup>C mit 50 bis 55% relativer Luftfeuchtigkeit. Zum Tageslicht wurde in der Zeit von 7 bis 19<sup>oo</sup> Uhr zusätzlich eine Neonbeleuchtung eingeschaltet. Nach einer acht-tägigen Eingewöhnungszeit kamen die Tiere in den Versuch. Nach der Injektion von Aktiniden brachte man die Tiere während der Zeit der größten Ausscheidung in einen im Stall installierten umgebauten Abzug.

### 2.2. Versuchsbeschreibung

#### 2.2.1 Radionuklide

Die verwendeten Nuklide <sup>239</sup>Pu, <sup>238</sup>Pu und <sup>237</sup>Np wurden von "The Radiochemical Centre", Amersham, Braunschweig, als Nitrat-Stammlösung bezogen.

Als Injektionslösung waren Aliquots der jeweiligen <sup>238</sup>Pu- und <sup>239</sup>Pu-Stammlösungen in 1%iger Natriumcitrat-Lösung verdünnt und mit NaHCO<sub>3</sub> auf pH 7 eingestellt (71, 105). Kurz vor Versuchsbeginn wurde die Citrat-Injektionslösung zur Vermeidung kolloidaler Nuklidaggregationen filtriert (Mikropore<sup>R</sup>; 25 nm Porenweite). Neptunium wurde als Nitrat verabfolgt. Die Herstellung der Injektionslösung wurde von Prof. Volf, Karlsruhe, durchgeführt. Die Injektion (0,1 bis 0,22 ml) erfolgte dann unter Äthernarkose in die Oberschenkelmuskulatur. Die Np-Lösung wurde i.v. injiziert.

### 2.2.2. Chelatbildner

Zur Dekorporation der verabfolgten Radionuklide, wurde eine Dekorporationstherapie mit dem Zn-Chelat der Diäthylentriaminpentaessigsäure (Zn-DTPA) angewandt. Die Herstellung von Zn-DTPA (6) erfolgte aus  $H_5DTPA$  (Fluka), NaOH-Lösung (0,2mol/l, pH 7,4) und ZnO (Merck).

Zur Medikation (102) wurde Zn-DTPA dem Trinkwasser zugegeben. Die Konzentration betrug  $10^{-3}$  mol/l im Hinblick auf den Flüssigkeitsverbrauch einer Einnahme von ungefähr 300  $\mu\text{mol/kg/d}$  entsprach. Die Verabreichung erfolgte nach 30 Tagen und endete 112 Tage nach der Plutoniuminjektion.

### 2.2.3. Versuche mit Ratten

Es wurde Material von Versuchen mit jungen ( $A_1 - A_2$ ) ca. 100 g schweren, und einem Versuch mit jung-erwachsenen (B) ca. 330 g schweren männlichen Sprague-Dawley Ratten verarbeitet.

$A_1$ ) Hier wurden insgesamt fünf Gruppen aufgenommen. In der ersten Gruppe erhielten zwanzig Tiere  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG}$ , in der zweiten vier Tiere  $1 \times 37 \text{ kBq/kg KG}$ , in der dritten und vierten Gruppe je vier Tiere  $3 \times 37 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  - Citrat, wobei die letzteren Zn-DTPA Lösung als Trinkwasserersatz zusätzlich therapeutisch bekamen. Die fünfte Gruppe bestand aus dreiundzwanzig Tieren als unbehandelte, inaktive Kontrollen.

Von der ersten und fünften Gruppe kamen jeweils Tiere nach der ersten, zweiten, vierten, achten und sechzehnten Woche, die restlichen drei Gruppen nach sechzehn Wochen zur Sektion.

$A_2$ ) Nach Teilauswertung von  $A_1$  wurde ein weiterer Versuch mit jungen Ratten zur Klärung spezieller Fragen durchgeführt. Hier erhielten weitere vierzehn Ratten  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{238}\text{Pu}$  - Citrat, wovon fünf Tiere nach acht Wochen und neun Tiere nach sechzehn Wochen zur Sektion kamen.

Acht Ratten wurden  $1 \times 37 \text{ kBq/kg KG } ^{238}\text{Pu-Citrat}$  (Sektion nach acht Wochen) und neun Ratten die gleiche Dosierung  $^{237}\text{Np-Nitrat}$  (Sektion nach sechzehn Wochen) injiziert. Entsprechend wurden fünf inaktive Kontrollen nach acht und acht inaktive Kontrollen nach sechzehn Wochen getötet.

B) Auch hier, bei den jung-erwachsenen Ratten, ergaben sich fünf Gruppierungen.

Die erste Gruppe (16 Tiere) erhielt wiederum  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$ , die zweite und die dritte Gruppe (jeweils 4 Tiere)  $3 \times 37 \text{ kBq/kg KG}$ , letztere mit Zn-DTPA Lösung als Trinkwasserersatz, und die vierte Gruppe (11 Tiere)  $1 \times 222 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu-Citrat}$ . Die fünfte Gruppe setzte sich aus achtzehn inaktiven Kontrollen zusammen.

Die Sektionen erfolgten bei der ersten und fünften Gruppe nach zwei, vier, acht und sechzehn Wochen, bei der vierten Gruppe nach vier, acht und sechzehn Wochen und bei der zweiten und dritten Gruppe sechzehn Wochen nach Injektion der Radionuklide. Pro Sektionszeitpunkt und Gruppe wurden drei bis fünf Tiere getötet.

Weiterhin konnten von einem abgeschlossenen Langzeittoxizitätsversuch (106) unverarbeitetes Knochen- und Röntgenmaterial erwachsener weiblicher Sprague-Dawley Ratten übernommen werden. Diesen waren  $0,2$  oder  $1,0 \text{ mg } ^{237}\text{Np-Nitrat}$  i.v. injiziert worden; eine Gruppe diente als unbehandelte Kontrolle. Die Sektion erfolgte erst nach dem natürlichen Tod der Tiere. Jeweils zehn Tiere von jeder Gruppe wurden ausgewählt. Als Kriterium diente ein durchschnittliches Alter von ca. 630 Tagen.

#### 2.2.4. Fluoreszenzmarkierung

Die Bestimmung der endostalen und periostalen Knochenwachstumsrate bzw. -Dynamik erfolgte mit Hilfe der Vitalmarkierung (46, 78, 91).

Hierbei wurden den jungen Tieren  $25 \text{ mg Calcein/kg KG}$  in einer

1,5%igen, den jung-erwachsenen Ratten in einer 3%igen Injektionslösung verabfolgt. Den jung-erwachsenen Ratten wurde zusätzlich 30 mg Terramycin/kg KG in unterschiedlichen Intervallen subkutan verabfolgt.

<u>Sektion</u>	<u>1.Mark.</u>	<u>2.Mark.</u>	<u>3.Mark.</u>	<u>4.Mark.</u>
Wo. nach Pu-Inj.	d vor Sekt./ Uhrzeit	d nach 1.Mark.	d nach 1.Mark.	d nach 1.Mark.
Vers. A <sub>1</sub>				
1	3 / 16 <sup>00</sup>	2	-	-
2	3 / 16 <sup>00</sup>	2	-	-
4	5 / 16 <sup>00</sup>	4	-	-
8	7 / 9 <sup>00</sup>	6,25	-	-
16	9 / 15 <sup>00</sup>	8	-	-
Vers. A <sub>2</sub>				
8	7 / 9 <sup>00</sup>	6,25	-	-
16	24 / 15 <sup>00</sup>	7	16	23
Vers. B				
2	8 / 12 <sup>00</sup>	7*	-	-
4	9 / 12 <sup>00</sup>	8*	-	-
8	12 / 15 <sup>00</sup>	10,3*	-	-
16	16 / 16 <sup>00</sup>	13,25	-	-

\* Markierung (s. auch 2.9.1) mit Terramycin<sup>R</sup>

### 2.3. Angiographie

Das Ziel, eine arterielle Darstellung der Markhöhlenarterien von Rattenfemora zu erreichen, sollte mit Hilfe einer eigens modifizierten Kontrastmittelmethode nach Trueta erfolgen (23,93).

Hierbei erhielten die Ratten zu Beginn eine Injektionsnarkose mit Ketanest<sup>R</sup> (15 mg/100 g KG; teils i.m. und i.p.). Nach Fixierung der Ratte in Rückenlage wurden der Bauchraum er-

öffnet und an der caudalen Aorta ca. 1,5 cm vor ihrer Aufzweigung in die Aa. iliaca freipräpariert.

Ein homogenes Gemisch positiver Kontrastmittel aus 5 ml kolloidalem Mikropaque<sup>R</sup> (Damancy & Company Limited Slough, England) und 0,2 ml Angiographin<sup>R</sup> (Schering AG, Berlin), zusammen mit 8000 IE Heparin (Liquemin Depot<sup>R</sup>, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach, Wylen) und drei Tropfen blauer Stempelfarbe (Kores Nordic, Dänemark) als Indikator wurde nun an der präparierten Stelle mittels einer feinen Injektionskanüle (STERI "PHOENIX" RECORD, Waldeck, München-Nürnberg) langsam in Richtung des Blutstromes injiziert.

Der kolloidale Charakter der Mischung bewirkte den Verschluss der kapillaren Strombahn, so daß sich die arteriellen Bahnen retrograd sogar weit cranial der Injektionsstelle auffüllen konnten (Abb. 1). Mittels des Indikators war durch die blaue Gefäßzeichnung ihr Füllungszustand gut abzuschätzen. Um dem ansteigenden Blutstau im venösen Schenkel entgegenzuwirken, wurden kurz vor Beendigung der Kontrastmittelinfusion das Zwerchfell eröffnet und beide Lungenflügel eingeschnitten.

Zur radiographischen Auswertung wurde der linke Femur verwendet. Er wurde entweder unentkalkt oder in 5%iger HNO<sub>3</sub>-Lösung für ca. 24h entkalkt und in caudo-cranialem Strahlengang auf Strukturix D<sub>4</sub> Röntgenfilme (Agfa-Gevaert, Belgien) aufgenommen. Insgesamt ergaben sich Angiographien von vierzig Test- und dreiundzwanzig Kontrolltieren. Davon stammte je ein Tier pro Sektionszeitpunkt und Gruppe vom Versuch A<sub>1</sub> und B, die übrigen mit mindestens fünf Tieren pro Sektionszeitpunkt und Gruppe vom Versuch A<sub>2</sub>.

#### 2.4. Sektion und Entnahme von Organen

Tiere, die zur üblichen Sektion kamen, wurden zu Beginn mit Äther betäubt. Nach Eröffnung der Bauchhöhle zertrennte man ihnen die Aorta bzw. die Vena cava caudalis. Danach wurden den entbluteten Tieren die gesamten Bauch- und Brustorgane

entfernt. Der ausgeweidete Körper wurde in zwei Ebenen (latero-lateral und caudo-cranial) geröntgt. Anschließend wurden alle langen Röhrenknochen (Femur, Tibia und Humerus) herauspräpariert und weitgehendst, bis auf einige Knochen vom Versuch A<sub>2</sub>, vom Muskelgewebe gesäubert und in Feuchtkammern bis zur Bestimmung ihres Frischgewichtes frischgehalten. Im weiteren wurden nochmals von jedem Einzelknochen eine Röntgenaufnahme in zwei Ebenen angefertigt und die Längen bzw. verschiedene Breitenparameter bestimmt. Die Knochen der linken Körperhälfte wurden in neutral gepuffertem Formalin fixiert.

Die Knochen der rechten Körperhälfte kamen für ca. 2h bei 60 °C in den Trockenschrank. Am nächsten Tag konnten sie dann zur Bestimmung ihrer Trockenmasse und teilweise zur Aktivitätsbestimmung herangezogen werden.

#### 2.4.1. Längen- und Breitenparameter an langen Röhrenknochen

Die Bestimmung der Längen- und Breitenparameter an frischen Röhrenknochen der rechten und linken Körperhälfte erfolgte mit Hilfe einer Schublehre, deren Meßgenauigkeit bei 5/100 mm lag. Charakteristische Meßpunkte mußten definiert werden, die gleichermaßen an den einzelnen Röhrenknochen zu finden waren, um vergleichbare Werte zu erhalten.

So wurde das Längenmaß am Femur (Abb. 2, a) als Abstand des tiefsten Punktes der proximalen Kante der Verbindung zwischen Trochanter major und Femurhals bis hin zur Fossa intercondylaris und an der Tibia (Abb. 2, d) als Abstand von der Mitte der Eminentia intercondylaris bis zum Spalt zwischen dem Malleolus medialis und lateralis bestimmt.

Die Breitenparameter ergaben sich beim Femur am distalen Ende des Trochanter tertius (Abb. 2, b) und am proximalen Ende der Kniegelenksfläche (Abb. 2, c) als latero-laterale Maße bzw. als cranio-caudales Maß unmittelbar subcondylär am distalen Femur (Abb. 2, c'). An der proximalen Tibia wurde ein latero-laterales Maß und ein cranio-caudales Maß jeweils subcondylär

festgelegt (Abb. 2. e und f).

### 2.5. Bestimmung der Radioaktivität

Die Bestimmung der  $\alpha$ -Radioaktivität von Plutonium in den Knochen (Tibia und Femur) erfolgte mit der Methode von Seidel (88).

Hierzu wurden die Knochen in der Schaftmitte angesägt und gebrochen. Die Knochenteile kamen einzeln in ein Kunststoffszintillationsfläschchen. Hier wurden sie mit einem Gemisch von gleichen Teilen 70%iger Perchlorsäure und 30%igem Wasserstoffperoxid aufgelöst und 24h später bei 60°C im Trockenschrank erhitzt, nach dem Abkühlen mit Instagel<sup>R</sup> aufgefüllt und in einem Szintillationsspektrometer (Tri-Carb, Packard) gemessen.

Die Gamma-Radioaktivitätsbestimmung von Neptunium erfolgte in einem Beckman Gamma 8000 Szintillationsspektrometer.

Mit der ermittelten Aktivitätsmenge ließen sich folgende Berechnungen durchführen:

$$\text{Retention} = \frac{\text{Aktivitätsmenge im Knochen} \times 100}{\text{injizierte Gesamtaktivität}}$$

$$\text{Konzentration} = \frac{\% \text{ der injizierten Dosis}}{\text{Knochenfrischmasse in g}}$$

$$\text{Dosisleistung: } \dot{D} = 51,2 \times \bar{E} \times A_0 \quad (\text{cGy/d})$$

$\bar{E}$  ist die mittlere Energie der Alphateilchen in MeV;  $A_0$  ist die absolute Konzentration des Nuklides in Bq/g Knochenmasse (37).

## 2.6. Röntgenaufnahmen

Alle durchgeführten Röntgenaufnahmen erfolgten in einer Faxitron<sup>R</sup> Röntgenröhre unter Verwendung feinkörniger Röntgenfilme (D<sub>4</sub> von Agfa Gevaert). Nach einer Expositionszeit von 2,2 Minuten bei 40 kV und 2,5 mA wurden die Filme nach Herstellerangaben entwickelt und fixiert.

Neben qualitativem Anschauungsmaterial dienten sie auch der quantitativen Erfassung verschiedener Wachstumsparameter. Hierzu kam eine Meßlupe (Messwelk, Kleinostheim) mit siebenfacher Vergrößerung und einer zugehörigen Meßskala (Nr.101) für Längen- (1/10 mm Genauigkeit) und Winkelmessungen zum Einsatz.

Zum Betrachten und Vermessen der Röntgenaufnahmen fand ein 20x30 cm großer Durchleuchtungstisch von Kaiser Verwendung.

### 2.6.1. Längen- und Breitenmaße an Knochen

Die Bestimmung der Längen- und Breitenmaße an Ganzkörper-röntgenaufnahmen erfolgte an erwachsenen weiblichen Ratten des Neptunium-Langzeittoxizitätsversuches.

In Kombination mit einer einfachen Meßskala (1mm Genauigkeit) konnten mit Hilfe der Meßlupe die Abstände reproduzierbarer Knochenpunkte gemessen werden.

So wurde die Tibialänge der rechten und linken Körperhälfte zwischen dem höchsten sichtbaren Punkt von der Mitte der proximalen Gelenksfläche und dem tiefsten Punkt von der Mitte der sichtbaren distalen Gelenksfläche bestimmt. Die Femurlänge beider Körperhälften wurde zwischen dem höchsten Punkt am Femurkopf und dem tiefsten Punkt der sichtbaren Condyle festgelegt.

Drei Breitenmaße wurden an der engsten Stelle des Femurs im Bereich des Überganges von distaler Metaphyse und Diaphyse bestimmt. So waren dies die Gesamtbreite (Gd), die den Abstand der beiden dargestellten Kompaktaoberflächen repräsentierte, der Markhöhlendurchmesser (Mhd), der den Abstand zwischen beiden sichtbaren inneren Kompaktaoberflächen dar-

stellte, und die Kompaktadicke an dieser Stelle, die sich durch Subtraktion von Gd-(Mhd) ergab.

### 2.6.2. Abstandsmessung des Aktivitätsbandes

Die Messungen erfolgten an latero-lateralen Röntgenaufnahmen von Tibiae junger Ratten.

Bestimmt wurde hierbei die Entfernung von der Mitte der distalen Begrenzung der proximalen Epiphysenfuge zur proximalen Kante einer Querverbindung der durch das "heiße Band" verursachten endostalen wulstartigen Erhebungen an der proximalen Metaphyse bzw. Diaphyse.

In diesem Zusammenhang wurden die in Abschnitt 3.6.4 angegebenen Tibialängen an den gleichen Röntgenaufnahmen von Mitte der distalen Gelenksfläche bis Mitte der distalen Begrenzung der proximalen Epiphysenfuge festgelegt.

### 2.6.3. Messung der Femurhals- und Kopfachsenwinkelung

Um eine vergleichbare Beziehung zwischen Femurhalskopf und Femurlängsachse darstellen zu können, mußte eine neue konstruktive Methode entwickelt werden (Abb. 3).

Ausgangspunkt war zunächst, eine imaginäre Femurlängsachse durch zwei charakteristische Fixpunkte festzulegen. Dies sollten am proximalen Femur die Spitze des Trochanter major, und am distalen Femur die Fossa intercondylaris sein.

Von einem dritten Fixpunkt, dem Übergang der Verschattung des distalen Endes der Crista intertrochanterica auf die Basis des Femurhalses, konnte durch Projektion einer Senkrechten auf die Femurlängsachse ein Schnittpunkt S ermittelt werden.

Dieser Punkt S, als Bezugspunkt einer idealisierten Femurhalskopfachse zur Femurlängsachse, ermöglichte das Anlegen zweier Tangenten an die obere und untere Femurkopfbegrenzung. Nach Messung der graduellen Abweichung  $\alpha$  und  $\beta$  beider Tangenten zur Femurlängsachse konnte eine Winkelhalbierende nach

folgender Formel abgeleitet werden:

$$\gamma = \frac{\beta - \alpha}{2} + \alpha$$

Diese vom Bezugspunkt S ausgehende Winkelhalbierende war der Femurhalskopfachse gleichzusetzen.

#### 2.6.4. Messung diverser Parameter an Femurhals und -Kopf

Insgesamt wurden am Femurkopf nur zwei Messungen am caudo-cranialen Röntgenbild festgelegt (siehe Abb. 3): Einmal die Kopflänge entlang der Winkelhalbierenden und zum anderen der Kopfdurchmesser zwischen den Berührungspunkten der anliegenden Tangenten.

Des weiteren wurde als Femurhalslänge die Strecke entlang der Winkelhalbierenden zwischen Übergang von Hals und Kopf und dem Schnittpunkt der Verschattung der Crista intertrochanterica mit der Fossa trochanterica bestimmt.

### 2.7. Verarbeitung von unentkalkten Knochen

Damit die Knochen mehreren Aussagen hinsichtlich Wachstumsrate und Wachstumsdynamik mit Hilfe der Vitalmarkierung, der Nuklidverteilung mit zugehöriger Knochenstruktur und darüberhinaus der histologischen Untersuchung zugänglich wurden, mußten sie unentkalkt eingebettet werden.

#### 2.7.1. Einbettungen

Zwei Einbettungsmethoden kamen zur Anwendung. Knochen, die nicht zur histologischen Untersuchung bestimmt waren, erfuhren eine Einbettung in "Spurr's Low Viscosity Epoxy Resin" (103, 108), die routinemäßig im Institut durchgeführt wird. Hierbei kamen die frischen Knochenhälften für zwei bis drei

Tage in gepuffertes Formalin und anschließend bis zum Beginn der Einbettung in 50%iges Aceton. Die Entwässerung erfolgte in aufsteigender Acetonreihe, und die Infiltration in einem aufsteigendem Aceton-Resin Gemisch, die nach einigen Tagen in 100%igem "Spurr's Low Viscosity Epoxy Resin" endete. Nach Evakuierung bei  $15 \times 10^4$  Pa im Exsikkator konnten sie zur Einbettung in Silikon-Kautschuk-Formen überbracht werden.

Für die Histologie mußte wegen deren Ansprüche an Gewebserhaltung und Färbbarkeit der Einbettungen eine zweite, im Institut eingeführte Standardmethode (22), in Methylmethacrylat (MMA) durchgeführt werden (40, 84, 85).

Die Knochenhälften wurden hier nach Fixierung in neutralem Phosphat-gepufferten Formalin in aufsteigender Methanolreihe entwässert und danach mehrmals in 100%iges Ethanol überführt. Die anschließende Entfettung vollzog sich unter mehrmaligem Wechsel in Xylol. Die Infiltration erfolgte dann in einem MMA-Einbettungsgemisch über mehrere Tage. Zum Anstoß der Polymerisation des Kunstharzes, wurden die in MMA infiltrierte Knochen in Einbettgläsern für kurze Zeit in ein  $50^\circ\text{C}$  warmes Wasserbad gebracht und über mehrere Stunden bei  $34^\circ\text{C}$  auspolymerisiert.

#### 2.7.2. Herstellung von Dickschnitten

Zur Herstellung von Dickschnitten fanden ausschließlich die in "Spurr's Low Viscosity Epoxy Resin" eingebetteten Knochen Verwendung.

Per Hand wurden die Blöcke so bearbeitet, daß sich nach Montage auf einem Metallträger, die Knochenlängsachse, mit proximaler Tibia bzw. distalem Femur am oberen Ende, in senkrechter Stellung zum Trägerboden befand.

Mit einem Leitz 1600 Sägemikrotom konnten nun Serienquerschnitte von oben nach unten abgenommen werden. Als Ausgangspunkt zum ersten Querschnitt wurde die Unterkante des  $290 \mu\text{m}$  starken Sägeblattes unmittelbar subcondylär am distalen Femur bzw. an der proximalen Tibia eingestellt. Danach wurde

das Sägeblatt jeweils 440  $\mu\text{m}$  tiefer angesetzt. Insgesamt konnten so von dem vorhandenen Knochenstück jeweils vierunddreißig 150  $\mu\text{m}$  starke Querschnitte herausgeschnitten werden. Auf diese Weise wurden von allen untersuchten Knochen über 2000 Querschnitte hergestellt.

Zur Überprüfung der Mineralisation kam gelegentlich eine Alizarinrotfärbung zur Anwendung (79).

Zur Herstellung einiger dicker Längsschnitte von Femora, wurde das Blöckchen in horizontaler Stellung zum Trägerboden befestigt. Danach wurde ein 150  $\mu\text{m}$  starker Längsschnitt aus der Mitte des Knochens entnommen.

### 2.7.3. Herstellung von Dünnschnitten

Hier fanden die in Methylmethacrylat eingebetteten Knochen ihre Anwendung.

Einschließlich der Montage auf die Metallträger für das Sägemikrotom entsprach die Verarbeitung der oben beschriebenen Weise.

Drei Knochenblöcke sollten quer zum Femur und Tibiaschaft herausgeschnitten werden, der erste Block jeweils vom metaphysealen Bereich, der zweite vom Bereich der "heißen Zone" und der dritte Block vom diaphysealen Bereich. Um insgesamt Blöcke mit vergleichbarer Schnitthöhe zu erhalten, wurden Markierungen angebracht. Ausgangspunkt für die Markierungen bzw. Schnitthöhen war die metaphyseale Begrenzung der Epiphysenfuge. Die Abstände zu den einzelnen Schnitthöhen ergaben sich wie folgt:

für Femur 8 Wochen nach Injektion

Markierung (Schnitthöhe)	1	2	3	4
Abstand von Epiphysenfuge (mm)	6	10	14	19

für Femur 16 Wochen nach Injektion

Markierung (Schnitthöhe)	1	2	3	4
Abstand von Epiphysenfuge (mm)	6	12	16	21

für Tibia 8 Wochen nach Injektion

Markierung (Schnitthöhe)	1	2	3	4
Abstand von Epiphysenfuge (mm)	7	11	14	20

Die so erhaltenen Blöcke wurden weiterhin auf Kunststoffträger in der Weise aufgeklebt, daß sich die Schnittebenen der Markierungen eins, zwei und drei oben befanden. Dünnschnitte von 3  $\mu$ m konnten nun mit einem motorgetriebenen Jung Polycut Groß- und Hartschnittmikrotom entsprechend der üblichen Anleitung abgenommen und auf gelatinebeschichtete Objektträger aufgebracht werden.

Nachdem die Schnitte nach einigen Stunden in Xylol entacryliert waren, wurden sie mit Mayer's Hämalaun und 1%igem Eosin angefärbt (17, 79).

## 2.8. Autoradiographie

Zur Veranschaulichung der Beziehung von Häufigkeit und Verteilung radioaktiver Stoffe wurden verschiedene Autoradiographien aufgegriffen.

### 2.8.1. Autoradiographie mit Kernspurdetektor

Bei diesem auch als "makroskopisch" ansprechbaren Kontaktverfahren wurden Oberflächen der Knochendickschnitte je nach Dosierung für sechs bis siebzehn Stunden in engen Kontakt zu Makrofol-Kernspurdetektoren gebracht.

Danach konnten die durch ionisierende Strahlen hervorgerufenen molekularen Strukturveränderungen am Kernspurdetektor mittels eines elektrochemischen Ätzverfahrens (98) in Form

von Aushöhlungen, die als helle Punkte sichtbar wurden, gesehen werden. Ohne große optische Vergrößerung ließ sich nun eine Zuordnung zur Knochenstruktur herstellen.

### 2.8.2. Autoradiographie mit "Stripping Film"

Dieses "mikroskopische" Verfahren erfolgte durch permanenten Kontakt zum Objekt.

Hierzu wurde die gebräuchlichste "Stripping Platte" AR 10 von Kodak herangezogen. Die Photoemulsion, gleichermaßen von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Strahlen geschwärzt, mußte entacrylierten histologischen Dünnschnitten aufgezogen werden. Nach einer Expositionszeit von vier bis sechs Wochen bei 4°C wurden die Schnitte nach Gebrauchsanweisung in Kodak D 19 entwickelt und in Kodak Unifix fixiert. Anschließend erfolgte eine Färbung mit Mayer's Hämalaun und 1%igem Eosin (17, 79).

Histologische Details von ca. 2 bis 3  $\mu$ m Durchmesser sollten somit zugeordnet werden können (17, 79).

### 2.8.3. Elektronenmikroskopische Autoradiographie

Mit ihrer Hilfe sollte die interzelluläre Zuordnung eines  $\beta$ -Strahlen-emittierenden-Nuklids im Gewebe der Markhöhlenarterien von Rattenfemora ermöglicht werden.

Drei männliche ca. 310 g schwere Ratten erhielten in 0,1 ml Volumen 14,8MBq/kg KG  $^{241}\text{Pu}$ -Citratlösung (42) i.m. in den linken Oberschenkel.

Ein Tier wurde zusammen mit einem entsprechenden Kontrolltier nach zwei Tagen, ein weiteres radioaktives Tier nach vierzehn und dreißig Tagen getötet.

Nach Perfusion der Markhöhlenarterien mit Mikropaque<sup>R</sup> konnten diese, nun sichtbar dargestellt, aus der Markhöhle beider Femora präpariert werden.

Die weitere Verarbeitung des Materials erfolgte durch die Arbeitsgruppe von Prof. Hotz, Karlsruhe, nach einem im Institut gängigen Standardverfahren.

Hierbei wurde das Gewebe sofort in Glutaraldehyd- und Cacodylatpuffer fixiert, mit Osmiumtetroxid (nach Palade) nachfixiert und in Epon 812-Araldit (nach Standardmethode) eingebettet.

Danach konnten Schnitte von ca. 100 nm Dicke mit einem Sorvall MT2-B Ultramikrotom hergestellt und auf Objektträger aufgefangen werden. Nach Kontrastierung mit Bleicitrat und Uranylacetat wurden die "Grids" für die Autoradiographie mit einer Filmemulsion (Ilford L-4) nach der Drahtschlingemethode beschichtet. Die Expositionszeit betrug drei Monate bei 4°C. Anschließend wurden die Autoradiographien nach Standardmethode entwickelt und fixiert. In einem Siemens Elektronenmikroskop konnten die Schnitte dann ausgewertet werden.

#### 2.9. Morphometrie an dicken Querschnitten

Jeder vierte Querschnitt kam zur quantitativen Auswertung. Verwendung fand hierbei ein Digitalisierungssystem, der MOP-digiplan 1 (Kontron, München), zur halbautomatischen Bild-erfassung.

Die Funktionsweise des Gerätes erfolgt nach dem Magnetostruktionsprinzip. Unter einem Meßtablett befand sich ein Netzwerk von magnetischen Stahldrähten in x- und y- Richtung. Permanent wurden magnetostruktive Impulse (5000 m/sec.) vom Rand des Tablett über die Drähte ausgesandt und von einer im Auswertstift oder Cursor befindlichen Empfangsspule aufgenommen. Eine elektronische Kurzzeitmessung ermittelte die wegproportionale Laufzeit und damit das Koordinatenpaar des angetasteten Bildpunktes in Millimeter, die sofort von einem Mikroprozessor in eine Fläche oder Länge weiterverarbeitet wurde (48).

Durch Verbindung eines Leitz Orthoplan-Mikroskopes mit einer Zeicheneinrichtung, wodurch eine Leuchtdiode am Cursor auf das mikroskopische Bild projiziert wurde, konnten bei 12- und 27,8-facher Vergrößerung folgende Flächen und Längenparameter

an dicken Femur- und Tibiaquerschnitten bestimmt werden (s. auch Abb. 4):

Gesamtfläche (FG) - durch Umfahren der periostalen Begrenzung;

Markhöhlenfläche (FM) - durch Umfahren der endostalen Begrenzung;

Kompaktafläche (FK) - als Differenz von FG-(FM);

Markhöhlendurchmesser an Tibia ( $M_{1-3}$ ) - als Verbindungen zwischen drei endostalen Eckpunkten (s. Abb. 4 A);

Kompaktaquerdurchmesser an Tibia ( $Q_{1-6}$ ) -  $Q_{1;3u.5}$  an den endostalen Eckpunkten (s.v.);  $Q_{2;4u.6}$  an einer Senkrechten zur Mitte der einzelnen Markhöhlendurchmesser;

Gesamtdurchmesser am Femur ( $L_{1u.3}$ ) -  $L_1$  als Maß zwischen dem äußersten medialen und lateralen periostalen Punkt;  $L_3$  als Maß zwischen dem äußersten cranialen und caudalen periostalen Punkt;

Markhöhlendurchmesser am Femur ( $L_{2u.4}$ ) -  $L_2$  als Maß zwischen dem äußersten medialen und lateralen endostalen Punkt;  $L_4$  als Maß zwischen dem äußersten cranialen und caudalen endostalen Punkt;

Kompaktaquerdurchmesser am Femur ( $K_{1-4}$ ) -  $K_1$  am äußersten lateralen periostalen Punkt;  $K_3$  am äußersten caudalen periostalen Punkt;  $K_2$  am äußersten medialen endostalen Punkt;  $K_4$  am äußersten cranialen endostalen Punkt.

Die ermittelten Einzelwerte aus den insgesamt 34 Querschnitten eines Knochens wurden in Kurven graphisch dargestellt und

mit Hilfe des Auswertstiftes auf dem Digitalisierungstablett jeweils das Integral der unter den Kurven befindlichen Flächen bestimmt.

#### 2.9.1. Messung der Wachstumsrate an Hand der Fluoreszenzmarkierung

Zu den Zeitpunkten der Fluoreszenzmarkierung (s. 2.2.4.) entstanden am Knochen sichtbare Fluoreszenzlinien. Die zugebildete Knochenfläche zwischen zwei oder mehreren Fluoreszenzmarkierungen, unter Einbeziehung der Fluoreszenzlinien, wurde als Wachstumsrate zugrunde gelegt und pro Tag errechnet.

Die Anregung der Fluoreszenz des Calceins bzw. Tetracyclins wurde am Mikroskop mit einer Auflicht-Fluoreszenzeinrichtung, einer 100 Watt Quecksilberhöchstdrucklampe und einem I2 Fluoreszenzfilterblock (Durchlaßbreite des Bandpaßfilters BP von 450 - 490 nm) erreicht. Gemessen wurde bei 12- oder 27,8-facher Vergrößerung nach der oben beschriebenen halbautomatischen Bildanalyse. Der Maßstabsfaktor ergab sich durch Eichung anhand eines Objektträgermikrometers.

#### 2.9.2. Abschätzung der Trabekularisation

Da eine Quantifizierung der metaphysealen Trabekulatur von Femur und Tibia aufgrund komplexer Strukturen von primärer und sekundärer Spongiosa als äußerst problematisch erschien, wurde lediglich eine Abschätzung der Trabekularisation in Betracht gezogen.

Hierzu wurde einmal der qualitative Vergleich bei Betrachtung gleicher Schnittebenen aktiver und inaktiver Tiere herangezogen. Zum anderen konnten auf diese Weise das Auftreten von Trabekulatur und ihre Ausdehnung in Richtung Diaphyse anhand der dicken Querschnitte abgezählt werden.

## 2.10. Histologische Auswertung an dünnen Querschnitten

Im Interesse standen jene Zellen, die für die Gestaltung der Knochenstruktur verantwortlich erschienen. Dies waren die Osteoblasten, die Osteozyten und die Osteoklasten.

### 2.10.1. Zählen von Zellen und leeren Osteozytenlakunen

Die Auswertung erfolgte unter dem Mikroskop bei 270facher Vergrößerung mit Hilfe eines Leitz-Universal Zähllokulars, dessen rechteckiges Meßfeld  $0,027 \text{ mm}^2$  betrug.

Insgesamt wurden acht Meßfelder längs der endostalen bzw. periostalen Knochengrenze, unter Einbeziehung der Knochenoberfläche unmittelbar aufliegenden Osteoblastenreihe, angelegt. Dabei standen sich jeweils zwei Meßfelder sowohl periostal als auch endostal ca. in der Mitte am Querschnitt von zwei definierten Kompaktaseiten gegenüber. Dies waren beim Femur an Schnitthöhe 2 und 3 und bei der Tibia an Schnitthöhe 3 die craniale und caudale Seite, bzw. die laterale und mediale Seite beim Femur an Schnitthöhe 1 und bei der Tibia an Schnitthöhe 1 und 2. Gezählt wurden die innerhalb der Meßfeldbegrenzung liegenden Osteoblasten und Osteozyten.

Zur Bestimmung der Zahl der leeren Osteozytenlakunen wurden vier Meßfelder ausgezählt. Je zwei Meßfelder lagen genau zwischen den oben beschriebenen endostalen und periostalen Meßfeldbereichen beider je nach Schnitthöhe definierter Kompaktaseiten im Zentrum der Kompaktawandung.

### 2.10.2. Bestimmung der Resorption

Um eine Aussage über die Osteoklasten machen zu können, wurde ihre Resorptionstätigkeit bestimmt. Hierbei wurden ihre vitalmarkierten Resorptionslakunen (VRL) über die gesamte periostale und endostale Oberfläche an den ungefärbten Schnitten bei 190facher Vergrößerung ausgezählt (77).

Die Bestimmung der resorptiven Gesamtfläche der markierten Resorptionslakunen (GRL) erfolgte durch Summation der Anteile ( $\mu\text{m}$ ) markierter Resorptionslakunen mit Hilfe des Digitalisierers.

### 2.11. Statistik und Abbildungen

Als statistisches Verfahren wurde die Berechnung der arithmetischen Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und der Standardfehler der Mittelwerte (SEM) angewandt. Der Nachweis signifikanter Unterschiede zweier Mittelwerte erfolgte durch den zweiseitigen Student t-Test unter Angabe der Irrtumswahrscheinlichkeit P (82).

Die linearen Regressionen wurden mit Hilfe eines Computerprogrammes unter Angabe der Standardfehler der Mittelwerte (SEM) ermittelt.

Die Abbildungen wurden größtenteils über eine am Leitz-Orthoplan Mikroskop befindliche Kamera für die Mikrophotographie (Reichert, Austria) aufgenommen und entsprechend den Angaben gesamtvergrößert.

### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1.1. Retention von Aktiniden

Die Bestimmung einiger Retentionsdaten von Tibia und Femur sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt.

Es zeigte sich, daß zwischen dem 14. und 112. Tag nach Injektion von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  bei der Tibia der jungen Tiere eine Abnahme des prozentualen Anteils an der injizierten Dosis von ca. zwanzig Prozent erfolgte. Auch bei den jung-erwachsenen Tieren war nach Verabfolgung der gleichen Dosierung und über den gleichen Zeitraum, eine vergleichbare Abnahme der Retention zu verzeichnen. Die doppelte Dosierung mit  $1 \times 222 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  brachte keine höhere Retention hervor.

Eine sichtbare Erniedrigung zeigte sich bei der fraktionierten Verabfolgung von  $3 \times 37 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  mit Zn-DTPA-Therapie bei den jungen Tieren, im Vergleich zur fraktionierten Verabfolgung ohne Therapie oder einfacher Verabfolgung der gleichen Dosierung.

Gegenüber der Tibia wies der Femur bei entsprechender Dosierung signifikant höhere Retentionen auf.

#### 3.1.2. Konzentration von Aktiniden

Als weiterer Faktor kam hier das Knochenfrischgewicht zur Geltung. Dies bewirkte vor allem bei der Tibia der jungen Tieren hohe Konzentrationswerte zu den ersten Sektionszeitpunkten (Tabelle 2). Gegen Ende des Versuchszeitraumes glichen sich die Werte allmählich denen der jung-erwachsenen Tiere an. Somit ergab sich nach einer Dosierung von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  für den Zeitraum von 14 bis 112 Tagen nach Injektion bei den Tibiae der jungen Ratten ein Konzentrationsgefälle von ca. fünfzig Prozent, gegenüber ca. dreißig Prozent bei den jung-erwachsenen Ratten.

Auch hier lagen beim Femur der jungen Ratten die Konzentra-

tionswerte der  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$ -Dosisgruppe zu den beiden letzten untersuchten Sektionszeitpunkten statistisch signifikant über denen der Tibia.

### 3.1.3. Strahlendosisleistung

Die Werte der Dosisleistung sind aus der Tabelle 3 zu entnehmen.

Nach Verabfolgung von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  zeigten die Tibiae der jung-erwachsenen Tiere im Verlauf über mehrere Sektionszeitpunkte Dosisleistungen, die um das zwei- bis dreifache über den Werten vergleichbarer Gruppen der jungen Tiere lagen.

Die prozentuale Abnahme der Dosisleistung bei der  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$ -Dosisgruppe zwischen dem 14. und 112. Tag nach Injektion entsprach bei beiden Altersgruppen den zuvor erhaltenen prozentualen Konzentrationsabnahmen.

Die Anwendung der Zn-DTPA-Therapie brachte eine Reduktion der Dosisleistung sowohl bei den jungen als auch bei den jung-erwachsenen Ratten um ca. zwanzig Prozent gegenüber entsprechenden Vergleichsratten.

Die Werte der Strahlendosisleistung im Femur der jungen Tiere lag für die  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$ -Dosisgruppe ebenfalls signifikant über denen der Tibia.

### 3.2. Morphologie der Knochen

Schon bei makroskopischer Betrachtung der von ihrer Muskulatur gesäuberten frischen Knochen konnte ab einer Dosierung von  $111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  eine Reihe von Veränderungen festgestellt werden.

So fiel zu den beiden letzten Sektionszeitpunkten vor allem bei den jung-erwachsenen Tieren ein farblicher Unterschied zwischen den radioaktiven Knochen und den Knochen der unbehandelten Kontrolltiere auf. Während die Knochen der unbehandelten Kontrolltiere einheitlich eine hellbraune Farbe mit rotblauer Nuance am Schaftbereich vom durchschimmernden Kno-

chenmark hatten, zeigten die radioaktiven Knochen eine geteilte Farbgebung. Am Humerus und an der Tibia waren das proximale Drittel und am Femur das distale Drittel ihrer Knochenlänge von perlmutartiger Farbe, während an den übrigen Teilen eine hellbraune Farbe zu verzeichnen war. Vor allem am distalen Femurschaft und am proximalen Humerusschaft konnte ein schwacher weißer Ring quer zur Längsachse um den ganzen Knochen festgestellt werden.

Weiterhin konnte zu den gleichen Zeitpunkten nach Inkorporation bei den jungen Tieren eine mangelhaft ausgebildete oder gar fehlende Linea musculi poplitei an der caudalen Fläche der radioaktiven Tibiae beobachtet werden (Abb. 5). Dies war in weniger ausgeprägter Form, acht und sechzehn Wochen nach Plutoniumverabfolgung, auch bei den jung-erwachsenen Ratten feststellbar. Ebenfalls trat zu den letzten beiden Sektionszeitpunkten die schlankere und schwächere Gestaltung der aktiven langen Röhrenknochen, insbesondere am distalen Femur und proximalen Tibiaschaft hervor.

### 3.3. Knochengewichtsentwicklung

Da das Frischgewicht als maßgeblicher Faktor zur Berechnung der Retentionswerte Eingang fand, bzw. die vergleichende Betrachtung von Frischgewicht zum Trockengewicht keine wesentliche Abweichung aufwies, wurde auf die tabellarische Präsentation der Trockengewichte verzichtet.

Zu Beginn der Untersuchung, eine Woche nach Injektion, hatten die Knochenfrischgewichte aller untersuchten Knochen der jungen Ratten vom Versuch A<sub>1</sub> vergleichbare Ausgangswerte (Tabelle 4). Auch die beiden folgenden Sektionszeitpunkte brachten diesbezüglich keine Veränderung. Erst ab der achten Woche deutete sich bei den radioaktiven Tieren eine leichte Reduzierung der Knochengewichte um ca. 8 Prozent an. Aber lediglich beim Femur ergab sich zum letzten Sektionszeitpunkt bei der höchsten Dosierung von 111kBq/kg KG <sup>239</sup>Pu ein signifikanter Unterschied zu den entsprechenden unbehandelten Kontrolltieren.

Bekräftigt wurde dieses Ergebnis vom Versuch A<sub>2</sub>, wo bereits acht Wochen nach Inkorporation bei den jungen Ratten der Gruppe 111kBq/kg KG <sup>238</sup>Pu ein signifikanter Unterschied zur unbehandelten Kontrollgruppe auftrat, der sich jedoch bei der folgenden Sektion wieder aufhob (Tabelle 5).

Deutlicher traten die Gewichtsunterschiede zwischen radioaktiven und unbehandelten Tieren bei den jung-erwachsenen Ratten hervor (Tabelle 6). Zwar war auch hier lange Zeit nach Injektion keine Abweichung zwischen radioaktiven und unbehandelten Tieren zu verzeichnen. Zum letzten Sektionszeitpunkt aber konnten mehrere signifikante Unterschiede bei verschiedenen Dosierungen und Knochen festgestellt werden. Während die Werte der höchsten Dosisgruppe mit 1x222kBq/kg KG <sup>239</sup>Pu immer nur knapp unter der Signifikanzgrenze lagen, wiesen die Werte der fraktionierten Dosisgruppe mit 3x37 kBq/kg KG und die einfache Dosisgruppe mit 1x111kBq/kg KG sehr hohe signifikante Unterschiede gegenüber den unbehandelten Kontrolltieren auf.

Die Korrelation des Merkmales "Knochenfrischgewicht" (y) des Femurs zum Merkmal "Ganzkörpergewicht" (x), brachte sowohl bei den jungen als auch bei den jung-erwachsenen Tieren ohne und nach einer verabfolgten Dosierung von 1x111kBq/kg KG <sup>239</sup>Pu hohe Korrelationkoeffizienten (R) (s. unten).

Gruppe	B (0)	B (1)	R
Kontrolle, A <sub>1</sub>	0,17±0,05	0,0022±0,0001	0,98
Kontrolle, B	0,36±0,15	0,0018±0,0003	0,87
Radioaktiv, A <sub>1</sub>	0,23±0,07	0,0019±0,0002	0,93
Radioaktiv, B	0,51±0,10	0,0014±0,0002	0,89

$$y = B (0) + B (1)x$$

### 3.3.1. Dekorporation mit Zn-DTPA

Eine Wirkung des Chelatbildners zur Dekorporation der inneren Kontamination mit  $3 \times 37 \text{KBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  sechzehn Wochen nach Injektion auf die Gewichtsentwicklung, konnte bei den jungen Ratten nicht festgestellt werden. Schon die Vergleichsgruppe ohne Therapie wies entsprechende Knochengewichte wie die unbehandelten Kontrolltiere auf. Hingegen waren die Knochengewichte bei den Tieren mit Zn-DTPA-Therapie allgemein eher etwas niedriger als die der Vergleichsgruppe ohne Therapie. Bei den jung-erwachsenen Tieren, konnte der signifikante Unterschied der Vergleichsgruppe mit  $3 \times 37 \text{kBq/kg KG}$  zu den unbehandelten Kontrolltieren mit der Zn-DTPA-Therapie behoben werden.

### 3.4. Morphometrie der ganzen Knochen

Um den Einfluß der abgelagerten Radionuklide auf das Knochenwachstum über mehrere Wochen zu bewerten, wurden Längen- und Breitenparameter zunächst an ganzen Knochen mit Hilfe einer Schublehre quantitativ untersucht (Abb. 2).

#### 3.4.1. Längenmessungen

Die Längenmessungen an Femur und Tibia junger und jung-erwachsener radioaktiver und unbehalteter männlicher Ratten sind in den Tabellen 7 und 8 zusammengefaßt.

Bei den jungen Tieren zeigte sich während der ersten drei Sektionszeitpunkte keine Störung des Längenwachstums. Erst ab der achten Woche nach Injektion war auch hier entsprechend der Gewichtsentwicklung ein leichter Rückgang sowohl beim Femur als auch bei der Tibia zu verzeichnen. Zum letzten Sektionszeitpunkt stellte sich schließlich ein statistisch signifikanter Unterschied mit etwa 4 bis 5 Prozent an beiden Röhrenknochen zwischen der mit  $1 \times 111 \text{kBq/kg KG}$  behandelten Gruppe und der Kontrollgruppe ein. Aufgrund der gleichen Entwicklung des Längenwachstums (x) und des Frischgewichtes (y)

239

vom Femur der mit 1x111kBq/kg KG <sup>239</sup>Pu Gruppe und der unbehandelten Kontrollgruppe ergaben sich über den Untersuchungszeitraum gute lineare Korrelationen mit hohen Korrelationskoeffizienten (R) (s. unten).

Gruppe	B (0)	B (1)	R
Kontrolle A <sub>1</sub>	1,13±0,08	0,066±0,003	0,99
Radioaktiv A <sub>1</sub>	0,93±0,22	0,060±0,004	0,97

$$y = B (0) + B (1)x$$

Bei den jung-erwachsenen Tieren war der Einfluß von Plutonium auf das Längenwachstum kaum bemerkbar. Erst am Ende des Versuchszeitraumes zeigte sich lediglich bei der Tibia ein signifikanter Unterschied zwischen der unbehandelten Kontrollgruppe und der mit 1x222kBq/kg KG <sup>239</sup>Pu belasteten Gruppe.

Im Gegensatz zu den jungen Tieren hatten die linearen Korrelationen bei den jung-erwachsenen Tieren der 1x111kBq/kg KG <sup>239</sup>Pu-Gruppe und der Kontrollgruppe zwischen den Merkmalen "Längenwachstum" (x) und "Knochenfrischgewicht" (y) vom Femur nicht so hohe Korrelationskoeffizienten (R).

Unterschiede der Parameter B (1) zwischen den jungen und jung-erwachsenen radioaktiven und unbehandelten Tieren, welche die Steigung der entsprechenden Kurven charakterisierten, waren nicht signifikant (s. folgende Tabelle).

Gruppe	B (0)	B (1)	R
Kontrolle B	1,28±0,59	0,071±0,017	0,80
Radioaktiv B	0,65±0,33	0,052±0,010	0,86

$$y = B (0) + B (1)x$$

Weitere Messungen des Längenwachstums an erwachsenen weiblichen Ratten einundachtzig Wochen nach Injektion von 25,9 kBq/kg KG oder 5,2kBq/kg KG  $^{237}\text{Np}$ , zeigten keine Veränderungen gegenüber entsprechenden unbehandelten Kontrollen. Gemessen wurden hierbei verschiedene Röhrenknochen an Ganzkörperröntgenaufnahmen.

#### 3.4.2. Quermessungen

Die Meßdaten der verschiedenen Breitenmaße an distalem und diaphysalem Femur sind in den Tabellen 8, 9, und 10 zusammengefaßt.

An den Femora der jungen Ratten vom Versuch  $A_1$  waren relativ frühzeitig Veränderungen feststellbar (Tabelle 9).

Bereits ab der vierten Woche nach Injektion von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  ergab sich ein merklicher Rückgang, insbesondere der latero-lateralen Breitenmaße. Diese Tendenz setzte sich in der achten Woche nach Inkorporation fort. Alle drei gemessenen Breitenmaße erreichten hier einen statistisch signifikanten Unterschied zur unbehandelten Kontrollgruppe. In der sechzehnten Woche nach Inkorporation betrug, entsprechend der achten Woche zuvor, die Differenz der latero-lateralen Breitenmaße am proximalen Ende der Kniegelenksfläche und am distalen Ende des Trochanter tertius zwischen der höchsten Dosisgruppe und der unbehandelten Kontrollgruppe teilweise über zehn Prozent. Subcondylär am distalen Femur war die Differenz des cranio-caudalen Breitenmaßes etwas geringer, aber immer noch signifikant.

Bei den übrigen Dosierungen trat lediglich bei der fraktionierten Dosisgruppe mit  $3 \times 37 \text{ kBq/kg KG}$  sechzehn Wochen nach Injektion an einem latero-lateralen Maß ein signifikanter Unterschied zur unbehandelten Kontrollgruppe auf.

Der Folgeversuch  $A_2$  nach Injektion junger Ratten mit  $^{238}\text{Pu}$ , untermauerte wiederum die zuvor erhobenen Ergebnisse (siehe auch Tabelle 8).

Bei vergleichender Betrachtung der Daten der Versuche A<sub>1</sub> und A<sub>2</sub> ergaben sich für die Breitenmaße acht Wochen nach Injektion etwa gleiche prozentuale Defizite bei der 1x111kBq/kg KG <sup>238</sup>Pu-Dosierung zur entsprechenden unbehandelten Kontrollgruppe. Bis zur sechzehnten Woche nach Injektion zeigten die beiden latero-lateralen Breitenparameter mehr oder weniger unveränderte Defizite, während das cranio-caudale Breitenmaß eine Aufhebung des Defizites zur unbehandelten Kontrollgruppe erfuhr.

Auch hier brachte die schwächere Dosierung mit 1x37kBq/kgKG <sup>238</sup>Pu acht Wochen nach Injektion im wesentlichen keine Reduzierung aller Parameter gegenüber denen der unbehandelten Kontrollgruppe. Die gleiche Dosierung mit <sup>237</sup>Np brachte ausnahmsweise sechzehn Wochen nach Injektion am latero-lateralen Breitenparameter des proximalen Endes der Kniegelenksfläche einen statistisch signifikanten Unterschied zur unbehandelten Kontrollgruppe.

Bei den jung-erwachsenen Tieren traten Abweichungen der Breitenmaße am Femur zwischen radioaktiven und unbehandelten Tieren im Vergleich zu den jungen Tieren erst spät mit sechzehn Wochen nach <sup>239</sup>Pu Injektion auf (Tabelle 10). Die latero-lateralen Breitenparameter der radioaktiven Tiere hatten hier zu diesem Zeitpunkt aber entsprechende prozentuale Defizite zu den unbehandelten Kontrollen wie die jungen Tiere. Ebenso waren die cranio-caudalen Maße weniger stark beeinflusst, mit Ausnahme der 1x111kBq/kg KG Dosierung, wo ebenfalls am cranio-caudalen Breitenmaß eine hohe prozentuale Abweichung auftrat.

Das Breitenwachstum der proximalen Tibia wurde nur aus Versuch A<sub>2</sub> und teilweise aus Versuch B ermittelt (Tabelle 11).

Hier ergaben sich im Gegensatz zum Femur deutlich geringere Unterschiede zu den unbehandelten Kontrollen. Signifikanz war lediglich acht Wochen nach Injektion bei der höchsten Dosierung sowohl bei den jungen als auch bei den jung-erwachsenen Ratten nachweisbar. Deutlich bevorzugte Reduzierung des

latero-lateralen Breitenmaßes der radioaktiven Tiere, wie es beim Femur zu beobachten war, konnte bei der Tibia nicht festgestellt werden.

Inwieweit erwachsene weibliche Ratten, die bei einem Körpergewicht von dreihundert Gramm mit  $^{237}\text{Np}$  belastet worden waren, nach ihrem natürlichen Tode Breitenwachstumsveränderungen gegenüber entsprechenden unbehandelten Kontrollratten aufwiesen, zeigten die Quermessungen an Femora von Ganzkörperröntgenaufnahmen. Der Gruppenvergleich mehrerer Parameter an der engsten Stelle am Übergangsbereich von distalen Femurmetaphyse zur Femurdiaphyse ist in Abb. 6 dargestellt.

Im Alter von 91 Wochen konnten bei der höheren Dosierung von  $25.9\text{kBq/kg KG } ^{237}\text{Np}$  an zwei Parametern, der Gesamtbreite (Gd) und dem Markhöhlenquerdurchmesser (Mhd), statistisch signifikante Unterschiede zu entsprechenden unbehandelten Kontrollen nachgewiesen werden. Die Differenz der beiden Parameter Gd-(Mhd), also die Kompaktadicke, war mehr oder weniger unverändert. Dosisabhängig fand man bei der  $5,2\text{kBq/kg KG } ^{237}\text{Np}$ -Verabfolgung geringere Beeinflussung der Breitenmaße.

#### 3.4.3. Therapie mit Zn-DTPA

Im Bezug auf das Längenwachstum von Femur und Tibia war sowohl bei den jungen als auch den jung-erwachsenen Ratten nach Injektion von  $3 \times 37\text{KBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  mit oder ohne Zn-DTPA-Therapie keine Beeinflussung durch Radioaktivität nachweisbar.

Hingegen konnte die bei den Breitenmaßen am Femur teilweise bestehende Signifikanz der Vergleichsgruppe ohne Therapie zur Gruppe mit Zn-DTPA aufgehoben werden. Insgesamt zeigten die therapierten Gruppen geringere Defizite gegenüber den unbehandelten Kontrollen als die entsprechenden radioaktiven Vergleichsgruppen.

### 3.5. Röntgenbildanalyse

Der erste qualitative Befund einer radiologisch sichtbaren Veränderung konnte bereits eine Woche nach Injektion von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  bei den jungen Tieren erhoben werden. An allen langen Röhrenknochen der radioaktiven Tiere, sowohl der linken als auch der rechten Körperhälfte, konnte eine minimale Rarefizierung der gesamten Trabekularisation, insbesondere aber am distalen Femur bzw. den proximalen Anteilen von Tibia und Humerus, gefunden werden.

Ab der vierten Woche nach Inkorporation gesellte sich zu dem bisher vorhandenen Strahlenschaden eine unregelmäßige Begrenzung der inneren Kompaktaoberfläche ("endostal scalloping") hinzu. Außerdem trat im Bereich der distalen Femurdiaphyse bzw. Metaphyse, spiegelbildlich an beiden endostalen Kompaktaoberflächen, eine geringe wulstartige sklerotische Verdickung auf. Die beidseitigen Verdickungen verband eine parallel zur Epiphysenfuge verlaufende ringartige leichte Verschattung.

Bis zur achten Woche nach Inkorporation hatten sich die bisherigen Befunde seit ihrem ersten Auftreten langsam fortschreitend verstärkt. Weiter war festzustellen, daß sich, bei den unbehandelten Kontrollen am distalen Femur bzw. an proximaler Tibia und mit Einschränkung auch am proximalen Humerus, die Trabekularisation im Vergleich zu den beiden vorausgegangenen Zeitpunkten reduziert hatte.

Zum letzten Sektionszeitpunkt konnte praktisch bei der höchsten Dosierung keine weitere Verstärkung der Strahlenschäden mehr beobachtet werden.

Die fraktionierte Verabfolgung der gleichen Dosis mit  $3 \times 37 \text{ KBq/kg KG}$  zeigte zum letzten Sektionszeitpunkt eine deutliche Reduzierung der Strahlenschäden, insbesondere der Veränderungen an der Kompakta. Bei gleichzeitiger Anwendung der Zn-DTPA-Therapie war nur noch eine geringfügige Rarefizierung der Trabekulatur zu verzeichnen.

Der Befund bei der niedrigsten Dosierung mit  $1 \times 37 \text{ KBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  und  $^{237}\text{Np}$  gegen Ende des Versuchszeitraumes, war vergleichbar zur fraktionierten Gruppe mit Therapie.

Bei den jung-erwachsenen Tieren ließen sich ebenfalls frühzeitig zum ersten Sektionszeitpunkt vierzehn Tage nach Inkorporation radiologisch sichtbare Veränderungen feststellen. Auch zeigte sich, daß im Laufe des Beobachtungszeitraumes die Strahlenschäden hier wesentlich ausgeprägtere Formen annahmen.

So konnte zunächst bei der  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$ -Gruppe eine leichte Vergrößerung bei gleichzeitiger Rarefizierung der Trabekulatur, vor allem an den Prädilektionsstellen des distalen Femurs bzw. an proximaler Tibia und proximalem Humerus nachgewiesen werden. Des Weiteren war nach den folgenden zwei Wochen eine rasche Verschlechterung des Zustandes zu verzeichnen. Die zu diesem Zeitpunkt aufgenommene Gruppe mit einer Dosierung von  $1 \times 222 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$ , ließ graduell noch stärkere Strahlenschäden erkennen (Abb. 7).

Ab der achten Woche nach Inkorporation stellte sich auch hier bei beiden Dosisgruppen zusätzlich noch eine deutliche unregelmäßige Begrenzung der endostalen Knochenoberfläche ein. Bis zum letzten Sektionszeitpunkt waren die Schädigungen an Femur und Humerus so weit fortgeschritten, daß kaum noch eine gewöhnliche Trabekularisation festzustellen war. Vielmehr waren einige Trabekel an den Prädilektionsstellen der langen Röhrenknochen überdimensional verdickt und teilweise so miteinander verklumpt, daß ein ganz charakteristisches Bild einer Strahlenschädigung entstand, wofür eigens eine Namensgebung "Brückenbildung" geschaffen wurde. Schaftwärts und teilweise auch epiphysenwärts dieser Osteosklerosen befand sich vor allem an Tibia und Humerus bei der fraktionierten Dosis und den beiden höchsten Einzeldosierungen ein begrenzter osteolytischer Bezirk, mit teilweiser Auflösung der angrenzenden Kompakta (Abb. 8).

### 3.5.1. "Brückenbildung" an langen Röhrenknochen

Der Name ließ sich ableiten vom Bild des entstandenen Strahlenschadens am distalen Femur, der gewissermaßen an die Kon-

struktion einer Brücke erinnerte.

Bei caudo-cranialer Betrachtung der Röntgenaufnahmen (Abb. 8) fanden sich zwei osteosklerotische Säulen ("Stützpfeiler der Brücke"). Von der proximalen Begrenzung der Epiphysenplatte, der ursprünglichen Ausrichtung der Trabekulatur folgend, mündeten die "Stützpfeiler" in ein zur Epiphysenfuge parallel verlaufendes sklerotisches Knochenband. In ähnlicher Weise war eine "Knochenbrücke" auch bei der Tibia und dem Humerus (s. auch Abb. 7) vorhanden. Neben dem parallel zur Epiphysenplatte verlaufenden sklerotischen Band war aber nur ein "Stützpfeiler" vorhanden.

Die ersten konkreten Anzeichen der "Brückenbildung" waren acht Wochen nach Inkorporation zu erfassen. Im Verlauf des Längenwachstums vergrößerte sich der Abstand der "Knochenbrücke" zur Epiphysenfuge, und die "Stützpfeiler" traten kräftiger hervor. Ausmaß und Aussehen der Veränderungen waren von der verabreichten Dosis und vom Verabreichungsmodus abhängig. Wie in Abb. 8 zu sehen ist, nahm die Schadwirkung mit der Einzeldosierung und der Dosishöhe zu. Die Therapie mit Zn-DTPA wirkte sich günstig auf die Schadwirkung aus.

### 3.5.2. "Flaschenhalsbildung" am distalen Femur

Ein weiteres charakteristisches Merkmal der Strahlenwirkung war der "Flaschenhals" am distalen Femur, wie am Röntgenbild in Abb. 9 zu sehen ist.

Kennzeichnend ist eine auffällige allseitige Einschnürung des Schaftes am Übergangsbereich zwischen distaler Metaphyse und Diaphyse. Das Auftreten des Flaschenhalses war vor allem in der achten und sechzehnten Woche nach Inkorporation bei den jungen Tieren, insbesondere ab einer Dosierung von  $1 \times 10^{11}$  kBq/kg KG, auffällig - zu einem Zeitpunkt also, an dem das "heiße Band" durch Längenwachstum aus der distalen Epiphysenfuge (s. auch Abschnitt 3.6.4.) in den Bereich der physiologischen Einengung am distalen Femur zu liegen kam.

### 3.5.3. Femurhalskopfwinkelung

Schon bei Betrachtung caudo-cranialer Röntgenaufnahmen war bei hoher Aktivitätsbelastung der jungen Ratten eine veränderte Winkelung vom Femurhalskopf gegenüber der Femurlängsachse an rechten und linken Femora festzustellen. Mit der zuvor beschriebenen Methode wurde versucht, hierüber quantitative Aussagen zu erhalten; sie sind in Tabelle 12 zusammengefaßt.

Auch bei den unbehandelten Kontrolltieren zeigte sich zwischen der sechsten und dreizehnten Lebenswoche eine Veränderung des gemessenen Winkels " $\gamma$ ". Eine allmähliche Zunahme um ca. 7 Prozent konnte festgestellt werden. Ab der dreizehnten Woche blieb die Winkelung zwischen Femurhalskopf und Femurlängsachse innerhalb eines bestimmten Bereiches unverändert. So zeigten auch erwachsene weibliche unbehandelte Kontrolltiere nach ihrem natürlichen Tode Werte, die innerhalb dieser Schwankungsbreite lagen.

Die Injektion von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  und  $^{238}\text{Pu}$  bewirkte bei den jungen männlichen Ratten acht und sechzehn Wochen nach Inkorporation eine Vergrößerung des Winkels ( $\gamma$ ). Unterschiede bis zu 10 Prozent zwischen den radioaktiven, insbesondere den mit  $^{238}\text{Pu}$  behandelten Tieren, und entsprechender unbehandelter Kontrolltiere, konnten ermittelt werden.

Das Auftreten dieser Strahlenschäden war nicht nur dosisabhängig, sondern auch altersabhängig. So hatten bei gleicher Dosierung die jung-erwachsenen Tiere zu keinem Sektionszeitpunkt Winkelveränderungen gegenüber ihren unbehandelten Kontrolltieren aufzuweisen.

### 3.5.4. Veränderungen an Femurhals- und Kopfbereich

Diesbezügliche Untersuchungen wurden nur begrenzt zu zwei Sektionszeitpunkten der jungen Tiere nach einer Injektion von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{238}\text{Pu}$  im Vergleich zu ihren unbehandelten Kontrollen vorgenommen (Tabelle 13).

Neben den zuvor beschriebenen qualitativen Strahlenschäden,

wie Rarefizierung der Trabekel und endostalen Knochenerosionen, fanden sich auch quantitative Veränderungen. So war acht Wochen nach Inkorporation eine signifikante Abnahme des Kopfdurchmessers anzutreffen, was jedoch nach weiteren acht Wochen wieder behoben war. Zu diesem Zeitpunkt konnte dann zwischen definierten Punkten eine auffällige Verkürzung der Femurhalblänge, mit einem Unterschied von ca. 15 Prozent zu den unbehandelten Kontrollen, gemessen werden. Änderungen der Kopflänge waren zu keinem Zeitpunkt feststellbar.

### 3.6. Histomorphometrie

Aufgrund der in Abschnitt 3.4.2. festgestellten Einflüsse von Aktiniden auf die Breitenwachstumsparameter wurden umfangreiche morphometrische Untersuchungen an dicken Serienquerschnitten der proximalen Tibiae junger und jung-erwachsener Ratten (Versuch A<sub>1</sub> u. B) und von distalen Femora junger Ratten (Versuch A<sub>2</sub>) vorgenommen. Die aufgrund dieser Messungen gewonnenen Integrale sind in den Tabellen 14 bis 17 zusammengestellt.

Grundsätzlich ließ sich über den gesamten Versuchszeitraum sowohl bei den jungen als auch bei den jung-erwachsenen radioaktiven Ratten ein reduziertes Gesamtflächenvolumen (IFG) und Knochenmarkvolumen (IFM) über den zuvor (s. Methode) definierten Knochenabschnitt von Metaphyse und einem Teil der Diaphyse gegenüber entsprechenden unbehandelten Kontrollen bestimmen.

Bei den unbehandelten Kontrollen aller Versuche war vom ersten bis zum letzten Sektionszeitpunkt mit dem Wachstum eine ständige Zunahme der Integrale beider Parameter (FG und FM) insbesondere bei den jungen Tieren zu verzeichnen. Demgegenüber zeigten die radioaktiven Tiere der 1x111kBq/kg KG <sup>239</sup>Pu-Dosierung mit fortschreitendem Wachstum zunehmende Defizite von IFG und IFM zu den unbehandelten Kontrolltieren. Zunächst, erste und zweite Woche nach Inkorporation, waren hierfür vornehmlich die epiphysenfugennahen Schnitte verantwortlich. Später lag eine Reduzierung der Parameter über den

gesamten untersuchten Knochenabschnitt vor. Dabei resultierten häufig die stärksten Abweichungen gegenüber unbehandelten Kontrollen an der "heißen Zone".

Das Ausmaß der Veränderungen entsprach der Dosierung, wie in Abb. 10 bei den jung-erwachsenen Tieren acht Wochen nach Inkorporation zu sehen ist. So waren die Veränderungen bei der  $1 \times 222 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$ -Dosierung von der vierten bis zur sechzehnten Woche nach Inkorporation stellenweise sogar doppelt so stark ausgeprägt wie die der  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG}$ -Dosierung. Sowohl bei den jungen als auch bei den jung-erwachsenen Tieren zeigten sich jeweils bei den höchsten Dosierungen acht Wochen nach Inkorporation kurzfristig die größten prozentualen Abweichungen des Knochenmarkvolumens (IFM) zu den unbehandelten Kontrollen. Das Kompaktavolumen (IFK) war zu allen Zeitpunkten geringeren Abweichungen unterworfen.

Dies mußte aber nicht gleichzeitig bedeuten, daß die Kompakta keinem störenden Einfluß durch Plutonium unterlag.

Bei den Tibiae der jungen Tieren waren alle Integrale der Kompaktaquerdurchmesser ( $\text{IQ}_1 - \text{IQ}_6$ ) von der zweiten bis zur achten Woche nach Inkorporation entweder gleich oder leicht erhöht. Zum letzten Sektionszeitpunkt schien sich dies allmählich umzukehren, wobei insbesondere der  $\text{IQ}_2$  der caudalen Tibiawandung eine Abnahme um ca. 28 Prozent zur Kontrolle erfuhr (Tabelle 15).

Auch bei den Tibiae der jung-erwachsenen Tieren lag zunächst vier und acht Wochen nach Inkorporation bei beiden Dosisgruppen größtenteils eine leichte Erhöhung der integrierten Parameter vor, mit Ausnahme des  $\text{IQ}_6$  der lateralen Wandung. Ebenso wie bei den jungen Tieren ergab sich zum letzten Sektionszeitpunkt das umgekehrte Bild. Nur der Kompaktaquerdurchmesser der cranialen Seite ( $\text{IQ}_5$ ) erfuhr bei beiden Dosisgruppen gegenüber der unbehandelten Kontrolle eine Erhöhung um ca. 30 Prozent. Noch mehr als zuvor waren die Integrale der Querdurchmesser der lateralen Wandung ( $\text{IQ}_6$ ) betroffen. Eine Reduzierung von ca. 40 Prozent beider Dosisgruppen gegenüber ihren unbehandelten Kontrollgruppen konnte festge-

stellt werden. An manchen Querschnitten der  $1 \times 222 \text{ kBq/kg}$  KG  $^{239}\text{Pu}$ -Dosierung verblieben in der Nähe der "heißen Zone" nur noch extrem dünne Restbestände der Kompakta mit starker Inkongruenz der endostalen Begrenzung (Abb. 11). Auch am Femur der jung-erwachsenen Ratten zeigten sich sechzehn Wochen nach Injektion von  $1 \times 222 \text{ kBq/kg}$  KG  $^{239}\text{Pu}$  an der cranialen Kompakta-seite entsprechende pathologische Störungen.

Am Femur der jungen Tiere traten acht und sechzehn Wochen nach Injektion von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg}$  KG  $^{238}\text{Pu}$  permanent für alle integrierten Flächenmessungen am Querschnitt niedrigere Werte als bei den unbehandelten Kontrolltieren auf (Tabelle 16).

Inwieweit mit der Reduzierung von FM und FG der radioaktiven Tiere eine Formveränderung der Querschnitte einherging, konnte anhand der verschiedenen Durchmesser bestimmt werden. Es zeigte sich am Femur der jungen Tiere, acht und sechzehn Wochen nach Inkorporation von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg}$  KG  $^{238}\text{Pu}$ , daß sein Schaft insgesamt über die untersuchten Querschnitte an Meta- und Diaphyse eine kleinere und rundere Form im Vergleich zu den Kontrollen aufwies. Dies drückte sich, wie auch schon vorher in Abschnitt 3.4.2. zu sehen war, durch stärkere Abnahme der latero-lateralen Querdurchmesser ( $IL_1$  und  $IL_2$ ), als der cranio-caudalen ( $IL_3$  und  $IL_4$ ) Querdurchmesser aus (Tabelle 17).

Bei der Tibia der jungen und jung-erwachsenen Tiere konnten nach Inkorporation von Radionukliden keine derartigen Veränderungen wie beim Femur festgestellt werden.

Alle bestimmten Integrale der drei Markhöhlendurchmesser ( $IM_1$ ,  $IM_2$  und  $IM_3$ ) waren bei den jungen Tieren zu allen Sektionszeitpunkten zwar niedriger als bei den unbehandelten Kontrollen, aber keiner der Maße war besonders stark davon betroffen. Die größten prozentualen Abweichungen ergaben sich bei den jungen Ratten vier Wochen und bei den jung-erwachsenen Ratten acht Wochen nach Injektion. Bis zum letzten Sektionszeitpunkt trat dann bei beiden Altersgruppen wieder leichte Besserung auf (Tabelle 14).

### 3.6.1. Endostales und periostales Wachstum

Die mit Hilfe der Vitalmarkierung bestimmten absoluten endostalen und periostalen Appositionsraten sind den Tabellen 14 und 16 zu entnehmen.

Die endostale Wachstumsrate der Tibiae bei den jungen unbehandelten Kontrolltieren hatte von der ersten bis zur zweiten Woche nach Inkorporation zu - danach ab der vierten Woche dann stark abgenommen. Auch bei den jung-erwachsenen unbehandelten Kontrolltieren konnte in entsprechender Weise während der untersuchten Zeitpunkte - vier bis sechzehn Wochen nach Injektion - sinkende endostale Wachstumsraten bestimmt werden (Tabelle 14). Entsprechendes galt auch für achte und sechzehnte Woche nach Inkorporation für den Femur (Tabelle 16).

Nach Verabfolgung von  $1 \times 10^{11} \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  zeigte sich zwei Wochen nach Inkorporation bei den Tibiae der jungen Tieren eine außergewöhnliche Steigerung der endostalen Wachstumsrate um über die Hälfte der Kontrollwerte (s. auch Abb. 12). Danach aber sanken die Werte der jungen radioaktiven Tiere zunehmend mit fortschreitender Versuchsdauer rasch unter die Kontrollwerte (Tabelle 14). Auch bei den jung-erwachsenen Tieren schien diese Veränderung zu frühen Zeiten nach Inkorporation stattgefunden zu haben, was vier Wochen nach Inkorporation in Abb. 19 noch angedeutet ist.

Wesentlich ausgeprägter fand sich die Hemmung des endostalen Wachstums durch Radioaktivität gegen Ende des Versuchszeitraumes bei den jung-erwachsenen Tieren.

Obwohl einerseits bei den jung-erwachsenen Tieren die normale endostale Apposition durch Radionuklide, insbesondere an der "heißen Zone", stark reduziert war, gab es andererseits Stellen, an denen atypisches starkes endostales Wachstum gefunden werden konnte. So ließen sich, wie schon vorher röntgenologisch die als "Stützpfiler" charakterisierten Osteosklerosen, am Querschnitt größtenteils stark fluoreszierende umschriebene trabekulär-endostale Knochenzubildungen erkennen (Abb. 13). Auch am folgenden "transversen Knochenband"

konnte teilweise in wesentlich schwächerer Form homogen verteilte Fluoreszenz beobachtet werden. Es gab hier aber auch größere Bereiche, an denen keine Vitalität mehr festzustellen war (Abb. 14). Weiterhin konnte als atypisches Gebilde eine isoliert auftretende zapfenartige endostale Knochenzubildung, wie in Abb. 15 zu sehen ist, gefunden werden.

Die Entwicklung der periostalen Wachstumsrate bei den unbehandelten Kontrollen entsprach weitgehend der endostalen Wachstumsrate (Tabelle 14).

Auch hier nahm das periostale Wachstum bis zur zweiten Woche nach Inkorporation zu, reduzierte sich aber anschließend bis zum letzten Sektionszeitpunkt rascher und stärker als das endostale Wachstum.

Nach Verabfolgung von Plutonium ergab sich ein entscheidender Unterschied zwischen den jungen und jung-erwachsenen Tieren. Während bei den jung-erwachsenen Tieren zum Versuchsende hin kaum noch periostales Wachstum bestimmt werden konnte, zeigten die jungen Tiere nach anfänglicher Hemmung, eher eine Stimulierung des periostalen Wachstums. Sowohl an Tibia als auch an Femur waren zu den beiden letzten Sektionszeitpunkten höhere periostale Wachstumsraten ermittelt worden.

Regelrecht hyperplastische Prozesse an bestimmten periostalen Stellen der Querschnitte beider Röhrenknochen waren kennzeichnend (Abb. 16). So war dies am Femur an der caudo-medialen und an Tibia an der medialen periostalen Seite zu finden. Eine Knochenmineralfärbung mit Alizarinrot zeigte, daß das hyperplastische Knochengewebe an diesen Stellen nur schwach mineralisiert war.

### 3.6.2. Wachstumsdynamik

Gegenstand dieser Untersuchung war, an welchen Stellen die endostale und periostale Apposition über dreiundreißig fluoreszierenden Serienquerschnitten erfolgte.

Es ergab sich, daß bei Summation der einzelnen Bilder ein

einfaches Wachstumsmodell abzuleiten war, das weiterhin zu allen untersuchten Sektionszeitpunkten an beiden Röhrenknochen von Femur und Tibia zu finden war.

Abb. 17 veranschaulicht das Modell am Beispiel des Femurs. Subcondylär am distalen Femur Richtung Diaphyse beginnend, zeigte sich, auf kurzer Strecke entlang der Femurlänge um den ganzen Querschnitt, Wachstum über die gesamte Kompakta (s. auch Abb. 19; Kontrolle). Ziemlich bald stellte sich dann eine rein endostale Apposition ein (Abb. 17; 1).

Allmählich verschwand diaphysenwärts beim Femur an der caudo-medialen Seite (bei Tibia an der medialen Seite) die endostale Apposition. Im dem Maße, wie sich dies vollzog, begann an der gleichen Seite periostale Knochenapposition (Abb. 17; 2). Überlappungen, d.h. beginnende caudo-mediale periostale Apposition bei noch vollständig erhaltener endostaler Apposition (vor allem bei der Tibia), sowie der umgekehrte Fall, waren ebenfalls möglich.

Zunehmend verschwand dann die endostale Apposition, bis sich an der Diaphyse nur noch periostale Apposition eingestellt hatte (Abb. 17; 3). So ergaben sich je eine endostale und periostale Röhre, die sich teleskopartig ineinander schoben. Anwenden ließ sich das Modell auch bei den aktiven Tieren, soweit die endostale bzw. periostale Apposition nicht teilweise oder vollständig gehemmt, oder gar atypische Apposition induziert wurde.

Dadurch, daß nach dem Modell endostale und periostale Apposition unverändert immer an derselben Stelle stattfand, kam es im Bereich von Metaphyse und Diaphyse des distalen Femurs (bzw. der proximalen Tibia), wo einerseits an caudo-medialen Seite periostale Apposition und andererseits an cranio-lateralen Seite endostale Apposition stattfand (s. Abb. 17; 2), zu einer sogenannten "Drift" (92). Dies hatte zur Folge, daß es zu einer Längsachsenverschiebung in caudo-medialer Richtung (Tibia in medialer Richtung) kam, das im weiteren auch am Femurhalskopfbereich eine Induktion der Winkelveränderungen, wie schon in Abschnitt 3.5.3 festgestellt werden konnte, mit sich brachte.

Weiterhin konnte beobachtet werden, daß sich unter dem Fluoreszenzlicht auch die transvers verlaufenden Gefäße der Kompakta im allgemeinen gut abzeichneten und somit einen Eindruck der Vitalität vermittelten.

Nach Verabfolgung von Radioaktivität trat häufig eine Verminderung der fluoreszierenden Kanalzeichnung auf, wie in Abb.18 an der caudalen Tibiaseite einer jungen Ratte periostal zu sehen ist. Bei den jung-erwachsenen Tieren konnten bei der höchsten Dosierung oft keine Kanalzeichnungen mehr beobachtet werden.

### 3.6.3. Trabekularisation

Störungen der Trabekularisation, die schon zuvor röntgenologisch aufgefallen waren, konnten an den Querschnitten unter Fluoreszenzlicht näher beurteilt werden.

Hierbei wurden zunächst die Intensität der Trabekularisation und die Abschätzung ihrer diaphysären Reichweite bestimmt (Tabelle 18). Nicht berücksichtigt wurde hierbei die Dichte der Trabekularisation.

So konnte festgestellt werden, daß die normale Trabekularisation ihr größtes Ausmaß zur siebten bis neunten Lebenswoche hin hatte. Grundsätzlich besaßen die unbehandelten Kontrollen der jungen und jung-erwachsenen Tiere zu allen Sektionszeitpunkten die weitreichendste Trabekularisation.

Bei den jungen Tieren konnte bei Betrachtung subcondylärer Schnitte schon eine Woche nach Inkorporation von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  eine inhomogene Anordnung der Trabekulatur beobachtet werden. Bezirke mit lockerer und dichterem Trabekelanordnung lagen vor. Auch wiesen die Trabekeln ab der vierten Woche nach Inkorporation nachlassende Fluoreszenz auf, was ab der achten Woche nach Inkorporation deutlicher hervortrat. Die Kompakta war stets gut abgrenzbar.

Bei den jung-erwachsenen Tieren konnten vier Wochen nach Inkorporation von  $1 \times 222 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  wesentlich stärkere

Störungen festgestellt werden (Abb. 19). Die Trabekularisation lag ungeordnet in sehr dichter klumpiger Form mit wenig Fluoreszenz vor. Eine endostale Kompaktaoberfläche ließ sich nicht abgrenzen. Deutlich zu erkennen war auch hier die markhöhleneinengende endostale Knochenzubildung. Periostale Randbezirke waren dabei fluoreszenzfrei. Zum letzten Sektionszeitpunkt waren subcondylär nur noch wenige Trabekeln, außer der schon zuvor erwähnten atypischen trabekulär-endostalen Knochenzubildung ("Stützpfiler"), anzutreffen. Bei der  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$ -Dosierung traten die Störungen in abgeschwächter Form auf.

#### 3.6.4. Autoradiographische Grobverteilung der Aktiniden

Die autoradiographische Grobverteilung anhand Kernspurdetektoren zeigte an dicken Längsschnitten, daß es in einem quer zur Längsachse verlaufenden Band zu massiven Aktivitätsablagerungen kam. Dieses "heiße Band" hatte sich ursprünglich am metaphysealen Rand der Wachstumsfuge gebildet und kam infolge des Knochenlängenwachstums immer weiter diaphysenwärts zu liegen (Abb. 20).

Jedoch blieb es, indem sich vielmehr mit dem Wachstum die Epiphysenfuge allmählich entfernte, weitgehend an der gleichen Stelle, wie in Abb. 21 zu sehen ist. So war auch verständlich, daß sich bei den jungen Tieren wesentlich größere Abstände der Epiphysenfuge zum "heißen Band" als bei den jung-erwachsenen Tieren einstellten.

Eine Beziehung der "heißen Zone" zu dem Bereich, wo sowohl zur Hälfte periostales als auch zur Hälfte endostales Wachstum vorlag, wurde festgestellt. Somit war offensichtlich geworden, daß zu Versuchsbeginn zunächst mehr rein endostales Wachstum und ab der achten Woche nach Inkorporation der jungen Tiere dann gemischtes periostales und endostales Wachstum möglichen Einflüssen erhöhter Radioaktivität unterlag. Bei den jung-erwachsenen Tieren lag das "heiße Band" während des Versuchszeitraumes nur bei dem rein endostalen Wachstum.

Bei Betrachtung der dicken Querschnitte konnten weitere Details zur Dynamik grober Nuklidverteilung festgestellt werden (Abb. 22 ).

Im Bereich des nach Inkorporation neugebildeten Knochens zwischen Wachstumsfuge und "heißem Band" fand sich im allgemeinen geringere, mehr oder weniger diffuse Verteilung. Lediglich an den Sttzpfeilern, die sich in diesem Abschnitt befanden, kam es bei den jung-erwachsenen Tieren zu stärkeren Aktivittsansammlungen (Abb. 13).

An der "heißen Zone" war Aktivität über die ganze Kompakta und meist auch über das ganze Weichteilgewebe der Markhöhle - je nach Dosierung besonders intensiv - verteilt. Wie auch in Abb. 14 zu sehen ist, konnte das "heiße Band" der Knochenbrücke zugeordnet werden.

Nach der "heißen Zone" zeichneten sich diaphysenwärts, neben diffuser Aktivitätsverteilung über die Kompakta, sogenannte "heiße Linien" ab. Diese hatten gewöhnlich ein zum appositionellen Breitenwachstum entgegengerichtetes Verteilungsmuster. So fanden sie sich durch An- und Abbauvorgänge entweder an Knochenoberflächen oder in der Kompakta begraben. Bei den jungen Tieren waren die "heißen Linien" aufgrund intensiverer Umbauvorgänge nicht so prägnant wie bei den jung-erwachsenen Tieren. Dieses Verteilungsschema ließ sich an der Tibia sowohl bei den jungen als auch bei den jung-erwachsenen Tieren zu allen Sektionszeitpunkten, darüberhinaus auch an allen untersuchten Röhrenknochen, beobachten (Abb. 23).

### 3.7. Histologie an dünnen Querschnitten

Aufgrund der zuvor beschriebenen morphologischen und wachstumsdynamischen Veränderungen nach Einwirkung von Aktivität sollte durch eine begrenzte Untersuchung das hiermit gekoppelte zelluläre Geschehen beleuchtet werden. Gewählt wurde der Zeitpunkt acht Wochen nach Injektion von jungen Tieren. Drei Bereiche an Femur und Tibia waren von Interesse. Einmal war dies der Bereich der "heißen Zone", zum anderen

der Bereich oberhalb und unterhalb der "heißen Zone" an Metaphyse und Diaphyse. Die qualitativen Eindrücke am Querschnitt dieser Zonen ergaben sich wie folgt.

Am Knochenmark zeigte sich nach Injektion von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{238}\text{Pu}$  an der "heißen Zone" eine starke Atrophie. Dies äußerte sich in der Weise, daß zum einen die Zentralvene ziemlich erweitert war, zum anderen konnte unmittelbar peripher von ihr nur vereinzelt retikuläres Stützgerüst mit erythropoetischen Zellen und großen sinusoiden Räumen, teilweise mit Erythrozyten gefüllt, vorgefunden werden. Eine beginnende Fibrose des Stützgerüsts schien nachweisbar. Dichtere Anhäufungen von aktivem Knochenmark mit Markhöhlenarterien fanden sich in einem relativ schmalen Ring um die endostale Kompaktabegrenzung.

An den Markhöhlenarterien selbst konnten eine Aufspaltung mit teilweiser Atrophie der elastischen Membranen und leichte allgemeine Fibrosierung gefunden werden (Abb. 24).

Die der endostalen Oberfläche anliegenden Osteoblasten zeigten starke Hypertrophie mit viel basophilem Zytoplasma und großem Golgi-Apparat (Abb. 25). Ihre Zahl schien im Vergleich zu den Kontrollen reduziert. Veränderungen an den Osteoklasten konnten dagegen nicht beobachtet werden. Die Osteozyten, vor allem im Zentrum der Kompakta, waren meist nur schwach angefärbt, oder es fanden sich häufiger ihre leeren Lakunen vor.

Was das Knochenmark, die Osteoblasten und die Osteozyten anging, so zeigten, die durch Radioaktivität hervorgerufenen Veränderungen an der metaphysealen und diaphysealen Zone nur noch ein abgeschwächtes Bild gegenüber der "heißen Zone". Entsprechend galt dies insgesamt für alle drei Bereiche bei der niedrigeren Dosierung mit  $37 \text{ kBq/kg KG } ^{238}\text{Pu}$ .

### 3.7.1. Zellpopulation und Resorption

Aufgrund der zuvor gemachten qualitativen Beobachtungen wurde eine Zählung der Osteoblasten, der Osteozyten und der leeren Osteozytenlakunen an Tibia und Femur vorgenommen. Da sich die

Ergebnisse beider Röhrenknochen entsprachen, wurden nur die Werte der Tibia tabellarisch aufgeführt (Tabelle 19 und 20). So zeigte sich, daß endostal vor allem an der "heißen Zone", aber auch an der metaphysealen Zone die Osteoblastenzahl dosisabhängig niedriger war als bei den Kontrollen, wohingegen sie periostal eher erhöht war. Die Osteozytenzahl lag einheitlich sowohl an der endostalen als auch an der periostalen Seite unter denen der Kontrolltiere. Auch hier war die "heiße Zone" am stärksten betroffen. Weiterhin fanden sich nach Verabfolgung von Plutonium mehr leere Osteozytenlakunen (Tabelle 20) im Zentrum der Kompakta, und zwar wiederum am häufigsten an der "heißen Zone" und weniger an der diaphysealen Zone. An der Metaphyse konnte kein großer Unterschied zu den unbehandelten Kontrollen ermittelt werden.

Da die Differenzierung der Osteoklasten zuweilen Schwierigkeiten bereitete, wurde ihre Vitalmarkierung (VRL) an ungefärbten Schnitten unter dem Fluoreszenzmikroskop ausgezählt (Tabelle 19). Nach Bestimmung ihrer resorptiven Gesamtfläche (GRL) ließ sich zusammenfassend erkennen, daß sowohl an der metaphysealen und "heißen Zone" die periostale Resorption bei den unbehandelten Kontrollen um ca. 47 Prozent höher als bei den radioaktiven Tieren war, während endostal an "heißen Zone" und diaphysealen Zone der umgekehrte Fall vorlag. Hier war die Resorption der radioaktiven Tiere gegenüber den unbehandelten Kontrolltieren um durchschnittlich 69 Prozent erhöht.

### 3.7.2. Autoradiographische Mikroverteilung der Aktiniden

Mit Hilfe der "Stripping Film" Methode ließ sich die Aktivitätsverteilung an Querschnitten auf histologischer Ebene bewerten.

Die Untersuchungen beschränkten sich auf den Sektionszeitpunkt acht Wochen nach Inkorporation und auf Femora nur auf die Schnitthöhe zwei an der "heißen Zone". Diese Schnitthöhe lag in der Ebene, an der Apposition sowohl periostal an der

caudo-medialen Seite als auch endostal an der cranio-lateralen Seite, bzw. wo gleichzeitig Resorption an der jeweils gegenüberliegenden Kompaktaseite stattfand.

So war über den Stellen, wo periostale Resorption erfolgte, ein Aktivitätssaum zu finden, der nicht unmittelbar der periostalen Kompaktaoberfläche auflag, sondern vielmehr mitten im Gewebe des Periostes verlief (Abb. 26 A). An der Stelle, wo periostale Apposition vorkam, war der Aktivitätssaum im Periost verschwunden und stattdessen als "heiße Linie" in der Kompakta begraben (Abb. 26 B).

In der Kompakta selbst fanden sich Aktivitätsspuren häufig über den Gefäßkanälen oder den Osteozytenlakunen (Abb. 27 A). Auch diffus verteilte Aktivitätsspuren über der mineralisierten Knochensubstanz waren zu finden.

In der Markhöhle kamen Anhäufungen von Plutonium als sogenannte "Aktivitätssterne" in der Nähe der endostalen Oberfläche und somit u.a. in Reichweite des endostalen Osteoblastensaumes vor (Abb. 27 B). Auch weiter im Zentrum der Markhöhle waren diese zu finden, sowie ebenfalls nur einzelne Kernspuren von Aktivität überall in der Markhöhle auftraten.

### 3.8. Angiographie der Markhöhlenarterien am Os femoris

Zunächst konnte anhand entkalkter Knochen die normale Entwicklung der Gefäßversorgung über mehrere Wochen an jungen und jung-erwachsenen Ratten verfolgt werden (s. auch Abb. 28).

Im Alter von sechs Wochen war nach Eintritt der nutritiven Arterie in die Markhöhle ihre Aufsplitterung in eine Vielzahl von Markhöhlenarterien, insbesondere in distaler Richtung, zu beobachten. Diese wiederum teilten sich in Arteriolen und diese in eine Vielzahl von Kapillaren, indem schließlich das arterielle System an der metaphysealen Epiphysenplatte ihr Ende nahm. Dieser so entstandene Gefäßbaum war zum ersten Sektionszeitpunkt besonders dicht. Im Laufe der folgenden Sektionen wurde der Gefäßbaum immer lichter. Zunächst reduzierte sich die kapilläre Gefäßversorgung, später ab der

dritten Sektion war dies auch an den Arteriolen und Arterien zu verzeichnen.

Charakteristisch für das Bild der Markhöhlenarterien war zu allen Sektionszeitpunkten ein stark spiraliger Verlauf vor allem an den oberen Abschnitten. Die Entwicklung der Gefäße der jung-erwachsenen Kontrolltiere ließ sich problemlos in die Gefäßentwicklung der jungen Ratten eingliedern. Zwischen dem letzten Sektionszeitpunkt der jungen Tiere und dem der jung-erwachsenen Tiere konnte keine weitere Veränderung der Gefäßversorgung mehr festgestellt werden.

Nach Verabfolgung von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  schien schon nach einer Woche eine Auflichtung des kapillären Netzes verursacht worden zu sein. Zu den beiden folgenden Sektionszeitpunkten war eine Reduzierung des kapillären und auch des arteriolen Gefäßbaumes offensichtlich. Mit fortschreitender Einwirkungs-  
dauer und zunehmendem Alter der aktiven Tiere reduzierte sich auch die Zahl der Markhöhlenarterien beträchtlich.

Das charakteristische Bild des spiraligen Verlaufes der Markhöhlenarterien hatte sich fast vollständig verloren. Mehr oder weniger war nur noch ein geradliniger Verlauf mit nur angedeuteten Windungen vorhanden.

Definitive Aussagen brachte die spezielle Untersuchung der achten und sechzehnten Woche nach Inkorporation von Aktiniden mit mehreren radioaktiven und unbehandelten Kontrolltieren vom Versuch  $A_2$  (Abb. 29).

Es zeigte sich, daß bis zur achten Woche nach Inkorporation von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{238}\text{Pu}$  der Höhepunkt der Gefäßveränderungen erreicht war. Ausnahmslos waren hier bei den radioaktiven Tieren nur noch zwei einzelne Markhöhlenarterien radiologisch sichtbar, welche die distale Femurmetaphyse erreichten. Manchmal schien es so, als ob einer der beiden Stämme an der "heißen Zone" sein Ende finden würde. In der Weise, wie proximal der "heißen Zone" die Gefäßversorgung unterbunden wurde, traten distal in der Metaphyse verstärkt Gefäße aus den äußeren externen metaphysealen Arterien auf. Bis zur sechzehnten Woche nach Inkorporation schien eine geringe Bes-

serung der Gefäßversorgung wieder einzutreten.

Augenscheinlich war auch die geänderte Lage der Markhöhlenarterien in der Markhöhle bei den radioaktiven Tieren. Physiologischerweise befanden sich die Markhöhlenarterien bei den unbehandelten Kontrolltieren paramedian zu der im Zentrum der Markhöhle liegenden Zentralvene. Bei den radioaktiven Tieren hingegen waren die beiden verbleibenden sichtbaren Markhöhlenarterien vor allem im Bereich der "heißen Zone" häufig spiegelbildlich weit peripher an die endostale Kompaktabegrenzung verlagert.

Entsprechend der bisherigen Erfahrung war auch hier die Gefäßversorgung von der Dosishöhe und dem Injektionsmodus abhängig. Weder zur achten noch zur sechzehnten Woche nach Inkorporation konnte bei der niedrigeren Dosierung von  $1 \times 37$  kBq/kg KG von Plutonium oder Neptunium sichtbare Veränderungen bewirkt werden. Bei der fraktionierten Verabfolgung von  $3 \times 37$  kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  war zwar die Zahl der Markhöhlenarterien ebenfalls reduziert, doch schienen die verbleibenden Arterien durch intensiveren spiraligen Verlauf und kräftigeren Bau vitaler zu sein als diejenigen bei der entsprechenden Einzeldosierung. Mit Hilfe der Zn-DTPA-Therapie blieb ähnlich den unbehandelten Kontrollratten eine gute Gefäßversorgung erhalten.

Im großen und ganzen war die Veränderung nach Injektion von  $^{239}\text{Pu}$  bei den jung-erwachsenen Ratten entsprechend denen der jungen Ratten zu bewerten. Unterschiede zwischen den beiden Einzeldosierungen  $1 \times 111$  kBq und  $1 \times 222$  kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  konnten nicht festgestellt werden.

### 3.8.1. Häufigkeit und Größe der Arterien

Um der subjektiven Betrachtungsweise der Röntgenaufnahmen den Rahmen der objektiveren Quantifizierung zu verleihen, wurden jeweils an histologischen Präparaten Auszählungen der querschnittenen Gefäße unterschiedlichen Kalibers vorgenommen. Dabei wurden jeweils Präparate aus drei Schnittebenen eines

Femurs junger Ratten acht und sechzehn Wochen nach Verabfolgung von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{238}\text{Pu}$  und entsprechender unbehandelter Kontrollen herangezogen.

Wie aus Tabelle 21 zu ersehen ist, war acht Wochen nach Inkorporation durch Plutonium eine Reduzierung der Gesamtgefäßzahl mit einem Gefäßdurchmesser über fünfzehn Mikrometer um 45 bis 70 Prozent zu verzeichnen. Dies galt in ansteigendem Maße von der Schnitthöhe drei an der Diaphyse über die "heiße Zone" zur Metaphyse der Schnitthöhe eins. Zum letzten Sektionszeitpunkt ergab sich ein vergleichbares Bild. Jedoch fand hier eine Reduzierung der Unterschiede zu den unbehandelten Kontrollen gegenüber der achten Woche um 5 bis 12 Prozent statt. Dies war an Diaphyse und Metaphyse mehr oder weniger auch auf die Abnahme der Gefäßversorgung bei den unbehandelten Kontrollen zurückzuführen, während an der "heißen Zone" keine Abnahme der Gefäßzahl gegenüber der achten Woche aufzuweisen war.

Was die Zahl der größeren Gefäße ( $>53\mu\text{m}$ ) anging, die einen Teil an der Gesamtgefäßzahl ausmachten, ließ sich zum letzten Sektionszeitpunkt sowohl bei den radioaktiven als auch bei den unbehandelten Kontrolltieren eine leichte Zunahme gegenüber der achten Woche nach Inkorporation feststellen. Somit stand dies entgegen der vorherigen Abnahme der Gesamtgefäßzahl. Insgesamt hatten aber auch hier die radioaktiven Tiere an allen drei Schnittebenen gegenüber den unbehandelten Kontrollen die geringere Gefäßzahl. Der prozentuale Anteil der größeren Gefäße an der Gesamtgefäßzahl war an Metaphyse bei radioaktiven und unbehandelten Tieren zu beiden Sektionszeitpunkten relativ gleich. An Diaphyse und "heißen Zone" war hingegen der prozentuale Anteil der größeren Gefäße der radioaktiven Tiere um 3 bis 14 Prozent gegenüber der unbehandelten Kontrolle erniedrigt.

### 3.8.2. Elektronenmikroskopische Verteilung von $^{241}\text{Pu}$ in der Arterienwand

Eine quantitative Aussage, wie häufig und in welcher Anzahl Plutoniumtracks in den drei Schichten der Tunica interna, Tunica media und Tunica externa der Markhöhlenarterien auftreten, kann in Tabelle 22 entnommen werden.

Es zeigte sich, daß zwei bis dreißig Tage nach Inkorporation von 14,8MBq/kg KG  $^{241}\text{Pu}$  gleichermaßen häufig an Endothel und an der Basalmembran der Tunica interna Tracks zu finden waren. Auch die Anzahl der vorhandenen Tracks war unverändert.

Während an Tunica media und externa das Auftreten und die Zahl der Tracks zwischen zwei und vierzehn Tage nach Inkorporation konstant blieben, war bis zum dreißigsten Tag nach Inkorporation eine leichte Abnahme beider Parameter zu verzeichnen.

Es schien, wie in Abb. 30 zu sehen ist, daß Plutonium aus dem Gefäßlumen ins Endothel der Markhöhlenarterien aufgenommen werden konnte. Eine Lokalisation über zellulären Strukturen war stellenweise gegeben. So konnten Tracks über Muskelzellkernen und Endothelzellkernen gefunden werden (Abb. 30 A und B). Gelegentlich schien auch eine lysosomale Organellenstruktur zuordenbar zu sein, wie in Abb. 31 A, die sich hier in engem Kontakt zu einem Muskelzellkern befand. Auffällig häufig fanden sich Tracks über der Basalmembran und anderen kollagenen Membranstrukturen (Abb. 31 B). Oft waren sie auch in der Nähe eines Endes der im allgemeinen langgestreckten Zellkerne zu finden, wie ebenfalls in der Abb 31 B zu sehen ist. Viele Tracks konnten andererseits auch keinen zellulären Strukturen zugeordnet werden.

## 4. DISKUSSION

### 4.1. Retention, Konzentration und Strahlendosisleistung der Aktiniden; Knochenfrischgewicht

Aufgrund der guten Löslichkeit wird, wie diese Arbeit zeigt, das Plutonium-Citrat nach i.m. Injektion, ohne daß es an der Injektionsstelle Kolloide durch Hydrolyse bildet (28, 101), vollständig aus der Muskulatur über das Blut - ebenso wie nach einer i.v. Injektion (89) - im Knochen angereichert (14, 41, 55, 90).

Hierbei ergeben sich für die Retentionen der knochenaffinen Radionuklide zwischen jungen und jung-erwachsenen bzw. erwachsenen Tieren in der Literatur erhebliche Widersprüche. So fanden einige Autoren bei jungen Tieren eine niedrigere (22, 34), andere eine höhere Retention von Aktiniden (55, 105). Dabei wurde eine initial höhere Retention häufig mit einem intensiveren Knochenstoffwechsel begründet und gleichzeitig eine höhere Strahlenbelastung abgeleitet (68, 107). Eigene Ergebnisse an den Tibiae männlicher Ratten zeigen eher eine niedrigere Retention von Aktiniden. Erklären ließe sich dies anhand größerer innerer endostaler und trabekulärer Knochenoberflächen bei den jung-erwachsenen Tieren. Das größte Ausmaß der normalen Trabekularisation an der proximalen Tibia findet sich von der siebten bis neunten Lebenswoche, zu einem Zeitpunkt also, an dem die jung-erwachsenen Ratten in den Versuch aufgenommen wurden.

Doch spielt nach Meinung weiterer Autoren (15, 39) für die Anreicherung knochenaffiner Radionuklide auch die Blutgefäßversorgung eine wesentliche Rolle. Nach Humphreys et al. (39) bestimmt nur sie die Rate bzw. die Dichte der Plutonium-Ablagerung an den endostalen Knochenoberflächen. Demzufolge müßten die jungen Tiere initial wesentlich mehr Plutonium aufgenommen haben. Dies scheint aber hier im Bezug auf die Retentionswerte der jungen Tiere weniger tragend zu sein. Vielmehr kann aber der Blutversorgung die unterschiedliche Verteilung der Radionuklide innerhalb der Knochen vor allem

an den wachstumsintensiven Epiphysenfugen (4) von proximaler Tibia bzw. distalem Femur mit zugesprochen werden. Es ist festzustellen, daß zwar zum Injektionszeitpunkt innerhalb des Altersunterschieds von vier Wochen zwischen jungen und jung-erwachsenen Tieren die Gefäßzahl an Metaphyse und Diaphyse abnimmt, aber der Blutdurchfluß in der neunten Woche der jung-erwachsenen Tiere gegenüber der fünften Woche der jungen Tiere durch Zunahme der Kaliber der Markhöhlenarterien kompensiert werden kann.

Da die Retentionswerte der jungen Ratten nur wenig unter denen der jung-erwachsenen Ratten liegen, ergeben sich hier initial infolge bedeutend geringerer Knochengewichte wesentlich höhere Konzentrationen von Aktiniden als bei den jung-erwachsenen Ratten. Allerdings nahm die Konzentration der Aktiniden aufgrund des schnelleren Knochenwachstums doppelt so stark ab wie bei den jung-erwachsenen Tieren, obwohl bei letzteren mit vergleichbarer Dosierung von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  die strahlenbedingte Abnahme der Knochenfrischgewichte gegen Ende des Versuchszeitraumes gravierender hervortrat.

Somit ergibt sich, daß mit zunehmendem Knochenwachstum die Strahlenbelastung der Knochen abnehmen muß, und zwar um so mehr, je jünger die Tiere zum Zeitpunkt der Radionuklidinkorporation waren.

Bei der Ermittlung der Strahlendosisleistung machte sich der Einfluß der tatsächlich verwendeten Aktivitätsmengen pro kg Körpergewicht bemerkbar. Diese lagen bei den jungen Ratten bei  $13 \text{ kBq/Tier}$  und bei den jung-erwachsenen Ratten bei  $33 \text{ kBq/Tier}$ . So ergeben sich bei den jung-erwachsenen Ratten Werte, die um das zwei- bis dreifache über denen der jungen Ratten liegt. Aufgrund linearer Korrelationen zwischen dem Gesamtkörpergewicht und dem Femurfrischgewicht hätte eine initial vergleichbare mittlere Strahlenbelastung des Skeletts junger und jung-erwachsener Tieren erwartet werden können. Jedoch spielen die schon erwähnten Einflüsse, wie Intensität des Stoffwechsels, Blutversorgung, Alter und Oberfläche, eine entscheidende Rolle. Um hier vergleichbare mittlere Dosisleistungen bei jungen und jung-erwachsenen Ratten zu erhalten, hätte die gleiche Aktivitätsmenge pro Tier verabfolgt werden

müssen.

Für die Abschätzung der Strahlenbelastung sind ferner Umverteilung durch Knochenanbau und Knochenabbau (45, 76) sowie die Mikrodosisverteilung in den Knochenzellen (69, 70) von großer Bedeutung. Somit ist die bloße Berechnung einer mittleren Dosisleistung für den Knochen nicht ausreichend, da zum Beispiel "begrabenes" Plutonium wesentlich geringer schädigt als Plutonium, das sich in Nähe von Knochenmarkszellen befindet (97).

Es zeigt sich auch, daß innerhalb des Skeletts verschiedene Knochen je nach Beanspruchung unterschiedlich stark mit Aktiniden belastet sind (11, 106). So konnte am Femur eine wesentlich höhere Strahlenbelastung ermittelt werden als bei der Tibia.

#### 4.2. Morphologie

Die morphologisch sichtbaren elfenbeinartigen Farbveränderungen, wie sie vor allem bei den jung-erwachsenen Ratten ab einer Dosierung von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  insbesondere an den wachstumsintensiven Knochenabschnitten von distalem Femur oder proximaler Tibia zu sehen sind, wurden schon früher in der Literatur als Störung der Osteoblastentätigkeit einerseits und Verminderung der Mineraleinlagerung andererseits diskutiert (62). Nach eigenem Ermessen scheint hier aber die festgestellte Abnahme der Blutversorgung durch starke Reduzierung der Markhöhlenarterien eine entscheidende Rolle zu spielen. Weiterhin scheint die von Gamer (22) an jung-erwachsenen Ratten bei gleicher Dosierung festgestellte sukzessive Atrophie und zunehmende Verfettung des Knochenmarkes mitverantwortlich zu sein, da hier ebenfalls das Blutvolumen durch Reduzierung der weiten Sinusoide zugunsten enger Kapillaren im Fettmark vermindert wird (57). Geringere Durchblutung und Fettmark verleihen den "radioaktiven Knochen" nicht die gleiche rotblaue Nuance wie den Knochen der Kontrolltiere.

Der vorhandene weiße Ring, insbesondere am distalen Femur und

proximalen Humerus, spricht aber ausschließlich für die osteosklerotischen Prozesse durch das transversverlaufende Knochenband.

Gewöhnlich können Zug- und Druckkräfte an den Knochenoberflächen die Entstehung von Höckern, Fortsätzen oder auch von Furchen und Rinnen hervorrufen (60). Es ergab sich aber, daß nach Verabfolgung von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  sowohl bei den jungen als auch jung-erwachsenen Ratten die mäßigen externen Stimuli des verhältnismäßig schwachen Musculus popliteus keine Bildung einer Linea musculi poplitei an der caudalen proximalen Tibiafläche, wo er mit seinen Fasern angeheftet ist, anregen konnte. Dies läßt den Schluß zu, daß dem normalerweise zeitlebens formbaren Knochengewebe nach Pu-Verabfolgung eine mangelnde Anpassungsfähigkeit widerfährt, um ausreichend auf äußere Wachstumsstimuli zu reagieren.

#### 4.3. Röntgenanalyse und "Brückenbildung"

Von den in der Literatur beschriebenen Kriterien radiographischer Strahlenschäden (5, 62) ließen sich einige nach kanzerogenen Dosen zu frühen Zeitpunkten nach Injektion von Aktiniden bei der Ratte finden.

So ergeben sich bei ca. gleicher Dosierung von  $111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  entsprechend wie beim Hund (33) auch bei der Ratte eine allgemeine Reduzierung der Trabekulatur und Kompaktaverdickung bzw. -Verdünnung an der "heißen Zone". Bei beiden Altersgruppen der Ratten können aber zusätzlich noch zum Teil starke endostale Knochenerosionen (endosteal scalloping) gefunden werden.

Obwohl sich zeigt, daß die Verteilung des Plutoniums nicht nur endostal sondern insbesondere an der "heißen Zone" und der Diaphyse auch periostal zu finden ist, treten die Erosionen nur an der endostalen Kompaktaoberfläche auf. Ein direkter Zusammenhang mit der Radionuklidverteilung kann aber ausgeschlossen werden, da nach externer Röntgenbestrahlung ebenfalls nur endostal Knochenerosionen vorzufinden sind (5). Auffällig ist, daß die endostalen Knochenerosionen vor allem

ab der achten Woche nach Injektion besonders intensiv auftreten, zu einem Zeitpunkt also, an dem die Gefäßversorgung der Markhöhle ihre größte Reduzierung erfahren hat.

Es ist anzunehmen, daß sich an diesen Erosionen möglicherweise zu späteren Zeitpunkten Osteosarkome entwickeln können, die sich in der Literatur im allgemeinen bisher nur aus endostalen Oberflächen ableiten ließen (61, 99). So kann die zapfenartige fluoreszierende Zubildung (Abb. 15) einer jung-erwachsenen Ratte nach Injektion von  $1 \times 222 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  möglicherweise als eine intramedulläre Osteosarkomknospe angesehen werden. Dies sind frühe, drei bis vier Monate nach Inkorporation auftretende Gewächse, die meist malignen Charakter besitzen (61). Lokale osteosklerotische oder osteolytische Areale in der Nähe vom distalen Femur bzw. von proximaler Tibia, die ebenfalls als Ausgangspunkt für Osteosarkome angesehen werden können (16), finden sich nicht.

Die altersabhängige stärkere Schädigung der jung-erwachsenen Ratten erklärt sich mit der zuvor diskutierten höheren Strahlenbelastung und einem geringeren Stoffwechsel bzw. geringeren Wachstumsrate gegenüber den jungen Tieren. Während Plutonium bei den jungen Tieren an den wachsenden Knochenoberflächen schneller "begraben" wird, bleibt es bei den jung-erwachsenen Tieren längere Zeit an einem Ort der endostalen Oberfläche liegen, wobei es somit längere Zeit schädigend auf die radiosensiblen Zellen am Endost bzw. im Knochenmark einwirken kann (27, 73, 97).

Durch die stärkere Strahlenbelastung entsteht weiterhin bei den jung-erwachsenen Tieren eine "Brückenbildung" am distalen Femur bzw. an proximaler Tibia. Ein osteosklerotisches Knochenband, das mit dem Längenwachstum allmählich in der Diaphyse zu liegen kommt, wird in der Literatur von mehreren Autoren gesehen. (22, 29, 44, 58, 66). Über die Entstehung gehen jedoch ihre Meinungen teilweise auseinander. Während Heller (29), Moskalev (58) und Polig (66) das Knochenband mehr oder weniger als toten Knochen bezeichnen, der sich in Übereinstimmung von Jee et al. (44) aufgrund mangelnder Resorption ergibt, scheint dagegen nach eigener Feststellung, allerdings bei meist niedrigerer Aktivitätsmenge, innerhalb

der ersten vierzehn Tage nach Injektion ein hyperplastischer Prozeß an den Trabekeln und an der angrenzenden endostalen Kompaktaoberfläche stattzufinden. So kam es entsprechend wie bei Moskalev (58) zur Unordnung der Trabekulatur und weiterhin durch Verklumpung der Trabekulatur zu einem Knochenquerband. Entsprechend den Ergebnissen einiger oben genannter Autoren (29, 58, 66) ergeben autoradiographische Untersuchungen, daß das Aktivitätsband dem Knochenband zugeordnet werden kann. Mit zunehmendem Alter der Tiere nimmt die atypische Knochenbildung am "transversen Knochenband" allmählich ab, so daß nun auch der Eindruck eines toten Knochens entsteht. Es ist anzunehmen, daß am Versuchsende auch die osteoklastische Tätigkeit gehemmt ist.

Gamer (22) beschreibt zwar ebenfalls verstärkten Knochenanbau, der jedoch nicht an der "heißen Zone", sondern zwischen der "heißen Zone" und der Epiphysenfuge an der neu entstehenden Metaphyse entstehen soll. Nachweisbare methodische Unzulänglichkeiten scheinen aber dieses Ergebnis in Frage zu stellen. Weiterhin findet Gamer (22) sechzehn Wochen nach Inkorporation genügend Anzeichen von Knochenstoffwechsel, wobei die osteoklastische Aktivität überwiegt.

Eigene Fluoreszenzaufnahmen vom Querschnitt des Knochenbandes weisen zwar diffuse Calciumeinlagerungen neben totem Knochengewebe auf (Abb. 14), jedoch ist zu berücksichtigen, daß diese Aufnahme die fünffache Belichtungszeit benötigte, damit die Knochenstruktur abgebildet werden konnte.

Bei keinem der oben genannten Autoren finden sich die als "Stützpfeiler" bezeichneten trabekulären endostalen atypischen Knochenzubildungen in der neugebildeten Metaphyse. Die starke Fluoreszenz beweist intensive Stoffwechsellätigkeit (Abb. 13). Infolgedessen ist auch in die "Stützpfeiler" mehr Plutonium als in ihrer Umgebung eingelagert. Ihre Entstehung scheint primär nicht durch direkte Strahleneinwirkung bedingt zu sein. Auf Grund starker Reduzierung der normalen Trabekulatur werden sie eher als Folgereaktion auf Zug- und Druckbelastungen am Gesamtknochen gebildet. Die größte Stabilität wird erreicht, indem sie sich in der ursprünglichen Ausrichtung der Trabekulatur bilden. Da sich die "Stützpfeiler" im

Bereich häufig auftretender Spätschäden befinden (16, 62, 102), sind sie im Hinblick auf die Osteosarkomentstehung als kritisch anzusehen.

#### 4.4. Knochenwachstum und -Wachstumsdynamik

Zum Vergleich der Wachstumsrate langer Röhrenknochen zwischen radioaktiven Tieren und unbehandelten Kontrolltieren wird in der Literatur ausschließlich das Längenwachstum herangezogen. Während Hitchman et al. (33) beim Hund bei etwa gleicher Dosierung von 111kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  diesbezüglich keine Störungen ermitteln können, sind Defizite nach Fabrikant et al. (16) und eigenen Untersuchungen bei der Ratte aufzuweisen. Die von Fabrikant et al. (16) festgestellten unterschiedlich starken Wachstumsstörungen innerhalb verschiedener Röhrenknochen, wonach der Femur mehr als die Tibia beeinflusst wird, können nicht bestätigt werden. Ferner finden Fabrikant et al. (16) bei entsprechend jungen radioaktiven Ratten doppelt so starke Wachstumsrückstände. Gemeinsam jedoch ist die Feststellung, daß die Längenwachstumsstörungen der radioaktiven Tiere erst spät, ca. vier Monate nach Inkorporation, auftreten, obwohl sich bis zu diesem Zeitpunkt mit fortschreitendem Wachstum die Epiphysenfugen längst von der Hauptbelastungszone des "heißen Bandes" entfernt haben, und dadurch der Wachstumsknorpel nur noch wenig strahlenbelastet ist. Auch fand Gamer (22) anhand histologischer Untersuchungen bei entsprechender Dosierung keine wesentliche Störung des Wachstumsknorpels. Daraus läßt sich ableiten, daß das Wachstum, welches physiologischerweise bei der Ratte zwischen dem vierten und sechsten Lebensmonat beendet ist (72), nach Inkorporation von Plutonium schneller zum Wachstumsstillstand gelangen muß (schnellerer Alterungsprozeß). So erklärt sich auch, daß die jungen Tiere ab einer Dosierung von 111kBq/kg Kg  $^{239}\text{Pu}$  stärkere Defizite erfahren als die jung-erwachsenen Tiere, die sechzehn Wochen nach Inkorporation schon weitgehendst ihre normale Größe erreicht haben. Weiterhin ist festzuhalten, daß somit eingetretene Längenwachstumsdefizite keiner

Regeneration unterliegen und entsprechend den Angaben von Fabrikant et al. (16) bei erwachsenen Tieren noch vorzufinden sind. Untersuchungen des Längenwachstums nach Injektion von 5.2 oder 25,9kBq/kg KG  $^{237}\text{Np}$  ergaben keine Defizite gegenüber vergleichbaren unbehandelten Kontrollen. Es ist anzunehmen, daß entsprechend wie bei der niedrigsten Dosierung von 37kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  bzw.  $^{238}\text{Pu}$  ebenfalls keine Beeinflussung des Längenwachstums stattgefunden hatte.

Im Gegensatz zum Längenwachstumsparameter ist der Breitenwachstumsparameter wesentlich sensibler gegenüber Wachstumsstörungen nach Inkorporation von Aktiniden. Hier scheint eine direkte Strahlenwirkung vorzuliegen, da Veränderungen die schon frühzeitig ab dem zweiten Sektionszeitpunkt zwei Wochen nach Inkorporation zu sehen und mit dem "heißen Band" bzw. Orten größerer Nuklidablagerung gekoppelt sind. Somit ist eine Anpassung des Breitenwachstums an Längenwachstumsveränderungen auszuschließen, was auch der Feststellung von Rother et al. (80) entspricht, wonach das Längenwachstum und Breitenwachstum nicht miteinander korreliert sind. Außerdem ergeben sich wesentlich höhere prozentuale Defizite mit ca. 10% im Breitenwachstum gegenüber ca. 5% im Längenwachstum. Entgegen der Feststellung von Fabrikant et al. (16) und Taylor (96), die lediglich als Breitenwachstumsveränderungen eine lokale ringartige Einengung am distalen Femurdrittel beschreiben, beweisen histomorphometrische Untersuchungen an Serienquerschnitten der Gesamtfläche (FG) und der Markhöhlenfläche (FM) über mehrere Zeitpunkte, daß ein anfänglich an der Metaphyse verursachtes Breitenwachstumsdefizit sich mit zunehmendem Längenwachstum bis weit in die Diaphyse erstreckt. Die Kompaktastärke bleibt dabei weitgehend erhalten. Besonders starke Abweichungen ergeben sich am "heißen Band", das zusammen mit der physiologisch engsten Stelle am Femur zur "Flaschenhalsbildung" führt. Im Gegensatz zum Längenwachstumsdefizit lassen sich hier zum letzten Sektionszeitpunkt sechzehn Wochen nach Inkorporation leichte Anzeichen einer Regeneration feststellen.

Die Einengung erklärt sich im Zusammenhang mit der Knochenapposition an der Metaphyse. In Übereinstimmung mit Saunders

(83) findet an der distalen Metaphyse vom Femur (entsprechend proximaler Metaphyse an Tibia) nur rein endostale Apposition bei rein periostaler Resorption statt. (s. Abb. 17). Dadurch kann erreicht werden, daß die breite Metaphyse auf die schlankere Form der Diaphyse gebracht werden kann.

Innerhalb der ersten und zweiten Woche nach Inkorporation von Plutonium fand insbesondere an der "heißen Zone" eine atypische Hyperplasie der endostalen Apposition statt, wodurch die physiologische Einengung überzogen und somit der Knochen insgesamt schlanker aber auch unbelastbarer wird. Kommt jetzt noch eine Störung der Kompaktawandung hinzu, wie bei höchster Dosierung am IQ<sub>6</sub> bei den jung-erwachsenen Tieren (Abb. 11) und geringer am IQ<sub>2</sub> bei den jungen Tieren zu sehen ist,

könnte im Zusammenhang mit dem weniger vitalen Knochengewebe, das sich durch schlechte Anbauvorgänge in den Gefäßkanälen der Kompakta ableiten läßt, eine Knochenfraktur nicht mehr ausgeschlossen werden. Andererseits versucht der Knochen durch Verdickung einer anderen Wandseite (z.B. IQ<sub>5</sub> bei den jung-erwachsenen Tieren) eine Kompensation zu erreichen. Frakturen am Flaschenhals nach Inkorporation kanzerogener Dosen von Plutonium sind auch in der Literatur nicht beobachtet worden (16). Die Reduzierung der Kompaktawandung könnte womöglich auf die festgestellte Störung endostaler Apposition bei erhaltener Resorption zurückzuführen sein.

Jedoch spielt beim Breitenwachstum der langen Röhrenknochen noch ein weiterer Faktor eine wesentliche Rolle. Wie schon vorher zu sehen war, hat die Muskulatur eine entsprechende Einflußgröße auf die Knochenformung (20, 24, 26, 49, 60). So zeigen sich am distalen Femur, wo starke Muskulatur an der cranio-caudalen Fläche ansetzt, große externe Wachstumsstimuli, was sich durch geringere Defizite der cranio-caudalen Breitenparameter im Vergleich zu den latero-lateralen Breitenparameter ausdrückt. An der Tibia setzen hingegen starke Muskelzüge auch lateral an, wobei sich diesbezüglich keine Unterschiede beider Parameter ergeben.

Über den gesamten Versuchszeitraum gesehen, zeigte sich in Übereinstimmung zu Doniec und Garlicka (12) beim normalen

Breitenwachstum weniger periostale Apposition als endostale Apposition. Dies ist jedoch, wie am Modell (Abb.17) zu sehen, im wesentlichen abhängig davon, an welchen Knochenabschnitten die Untersuchungen vorgenommen werden. Befinden sich die untersuchten Abschnitte am Beispiel des Femurs am proximalen Teil, so wird mehr die periostale Apposition auf das Ergebnis Einfluß nehmen. Befindet sich der untersuchte Abschnitt mehr im distalen Teil, wird mehr das endostale Wachstum ins Gewicht fallen.

Nach Verabfolgung von kanzerogenen Dosen  $^{239}\text{Pu}$  zeigt sich insbesondere bei den jung-erwachsenen Tieren eine starke Reduzierung der normalen endostalen und periostalen Apposition. Hierbei ergibt sich bei den jungen Tieren ein wesentlicher Unterschied zu den jung-erwachsenen Tieren mit bedeutend gesteigertem periostalem Wachstum acht und sechzehn Wochen nach Inkorporation insbesondere an der "heißen Zone". Zu einem Zeitpunkt, an dem die "heiße Zone" infolge größeren Längenwachstums bei den jungen Tieren bis in den Bereich der endostalen-periostalen Appositionsgleichheit zu liegen kommt (Abb. 21). Abschnitte an der "heißen Zone" mit Erhöhung der periostalen Osteoblastenzahl und schlecht mineralisiertem Knochen sind vorzufinden. Nach Nilsson (62) ergibt sich häufig kurz nach Strahlenbelastung eine vorübergehende Vermehrung der Osteoblastenzahl mit gesteigerter Bildung argyrophiler Fasern eines unreifen Knochens. Die Bildung eines unreifen Knochens am Endost sieht der Autor häufig als Ausgangspunkt für fibroblastische Osteosarkome.

Indem sich das Zusammenspiel der endostalen und periostalen Apposition sowie die Stellung beider teleskopartig ineinander reichender Wachstumsröhren nicht verändert, erfährt die Knochenlängsachse durch die vorhandene "Drift" (92) im Bereich der endostalen und periostalen Appositionsgleichheit eine Verlagerung in Richtung der periostalen Apposition. Hierbei erfolgt Knochenanbau immer nur in einer Richtung, bei gleichzeitiger Resorption auf der gegenüberliegenden Seite. Dies wiederum induziert die Winkelveränderung ( $\gamma$ ) am Femurhals im Laufe des Wachstums. Es kommt zu einer leichten Varisierung der Gliedmaßenstellung vom jugendlichen bis zum erwachsenen

Alter. Ihre Entstehung könnte entsprechend der "osteoblastischen Drift" nach Frost (21) erklärt werden. Hiernach ergibt sich durch Verlagerung der Femurlängsachse nach medio-caudal, bei fester Position des Femurkopfes in der Beckenpfanne an der distalen Seite des Halses eine Druckspannung und an der proximalen Seite eine Zugspannung. Es kommt zur Verkürzung der distalen Seite bei gleichzeitiger Verdickung ihrer Wandstärke. Die proximale Seite wird länger und der Winkel ( $\gamma$ ) vergrößert sich. In diesem Zusammenhang kann auch bei den jungen Tieren acht und sechzehn Wochen nach Verabfolgung von 111kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  durch stärkere periostale Apposition eine stärkere Vergrößerung des Winkels verstanden werden.

#### 4.5. Histologie der Strahlenschäden

Anhand Untersuchungen an drei verschiedenen Bereichen eines Knochens ist zu sehen, wie einerseits Dosishöhe und andererseits die Feinverteilung der Radionuklide für die Schadenshöhe maßgeblich sind (67, 69). Die stärksten Schädigungen finden sich an der "heißen Zone", dem Ort der größten Nuklidablagerung. Dabei haben die jungen Tiere der höchsten Dosisgruppe Störungen an Knochenmark und Knochenzellen, die teilweise den in der Literatur beschriebenen Schäden bei meist mehrfacher Dosishöhe entsprechen (8, 29, 58). Gemäß einer Einteilung verschiedener Zellarten im Hinblick auf ihre relative Strahlenempfindlichkeit nach Rubin und Casarett (81) erfahren auch hier die strahlensensibleren erythropoetischen Zellen eine sichtbare Reduzierung, während das retikuläre Stützgerüst (Stroma) erhalten bleibt. Aber auch am Stroma zeigt sich die Strahlenwirkung durch Induktion von Fibrose. So wird das Stroma für die Bildung peritrabekulärer Fibrosen, wie sie von mehreren Autoren beschrieben sind (8, 22, 44, 58), verantwortlich gemacht (100). Peritrabekuläre Fibrosen in der distalen Femurmetaphyse finden sich bei den jungen Tieren nicht. Durch den Erhalt des Stromas ist andererseits die Grundlage geschaffen, daß im Laufe des Wachstums eine

Neubildung mit erythropoetischen Zellen möglich ist (22). Für den Schwund des erythropoetischen Knochenmarks, das hier vornehmlich im Zentrum der Markhöhle auftritt, können mehrere Ursachen angenommen werden. So ist eine Atrophie durch direkte Strahlenwirkung auf die Zelle gegeben. Ferner wäre auch eine Störung oder Hemmung der Zellvermehrung denkbar (hypoplastische Atrophie; 50). Weiterhin könnte eine strahlenbedingte Hyperämie, wie sie vor allem an der "heißen Zone" vorzufinden ist, in Betracht gezogen werden (22). Da aber eine strahlenbedingte Hyperämie mehr an den Anfang einer Strahlenbelastung einzuordnen ist, ließe sich auch eine Erhöhung des Blutdrucks mit dem gleichen Schadensbild diskutieren. Auf die mögliche Entstehung eines erhöhten Blutdrucks bei radioaktiven belasteten Tieren soll im nächsten Diskussionspunkt eingegangen werden. Zuletzt wäre als weitere indirekte Strahlenschädigung ein veränderter Regulationsmechanismus der Knochenmarksproliferation nicht auszuschließen (32, 86). Eine zunehmende Substitution der reduzierten erythropoetischen Knochenmarkszellen durch Fettzellen (22, 57) findet sich bei den jungen Ratten nicht.

Die Abnahme der endostalen Osteoblasten insbesondere an der "heißen Zone" steht im Einklang mit einigen Autoren (22, 29, 44, 54). In scheinbarem Widerspruch hierzu steht zunächst die gleichzeitige Zunahme der periostalen Osteoblasten. Beide Erscheinungsbilder sind aber nur im Zusammenhang mit dem Breitenwachstum zu verstehen. Bei der quantitativen Erfassung von Gesamtfläche (FG) und Markhöhlenfläche (FM) zeichnete sich am letzten Sektionszeitpunkt eine leichte Regeneration ab. Die Knochen wuchsen zur Stabilisierung wieder breiter. In Übereinstimmung damit standen auch die Resorptionsleistungen der Osteoklasten. Um eine Verbreiterung des Schaftes bzw. der Markhöhle zu erreichen, müssen die Resorption periostal sinken und die Apposition erhöht sein. Umgekehrt müssen endostal die Resorption erhöht und die Apposition erniedrigt sein.

Nichtsdestoweniger scheinen die endostalen Osteoblasten zusätzlich strahlenbedingt reduziert zu sein. Ihre hypertrophische Gestalt (Abb. 25), ohne daß morphologisch sichtbare Strahlenschäden vorhanden wären, spricht vermutlich für eine

hochaktive Form. Durch strahlenbedingte Hemmung ihrer Vorläuferzellen (Mesenchymzellen), die ihre Abstammung aus dem mesenchymalen Gewebe des Stromas haben (19, 63, 100, 104), versuchen die wenigen differenzierten Osteoblasten die notwendige Apposition aufrechtzuerhalten.

Entsprechend wie bei Jee (45), fanden sich leere Osteozytenlakunen in der Kompakta der höher strahlenbelasteten Abschnitte der "heißen Zone" und der Diaphyse. Eine direkte Strahlenwirkung kann entgegen der Auffassung von Jee (45) angenommen werden, da häufig Aktivitätsspuren in Osteozytenlakunen gefunden werden (Abb. 27A).

Die Mikroverteilung der Radionuklide entspricht weitgehend den Angaben von Priest (75). Zahlreiche mit Radioaktivität belastete Makrophagen finden sich in Nähe der endostalen Kompaktaoberfläche im Knochenmark. Zu bedenken ist allerdings, daß sich viele dieser Makrophagen in Nähe von endostalen Oberflächen aufhalten, wo ausschließlich Knochenanbau vorherrscht und nicht in Nähe resorptiver Oberflächen, wo sie Plutonium von Osteoklasten aufnehmen (74). Während Priest (75) periostal die Radioaktivität mehr an der unmittelbaren Knochenoberfläche oder dem Osteoid aufliegender Lamina limitans feststellt, findet sich hier meist ein durchgehender Saum in der Mitte des Periostes, wo möglicherweise eine Affinität zu Hämosiderin gegeben ist (1, 22).

#### 4.6. Gefäßversorgung am Os femoris der Ratte

Die Blutgefäßversorgung stellt einen der wichtigsten Faktoren für die Verteilung von Radionukliden in langen Röhrenknochen dar (39). Daneben mag sie entscheidend sein für die funktionelle Anpassung des Knochens auf Veränderungen bzw. als sensibles System auf Störungen mit Schädigung zu reagieren. Schon lange war die Gefäßversorgung Gegenstand der Diskussion zur Ursächlichkeit der Strahlenschädigung. Schädigungen von Knochen und Knochenzellen wurde einerseits als sekundäres Ereignis im Anschluß an Läsionen von Kapillaren (43, 53) oder von anderen als direkte Ursache für die Veränderungen ange-

sehen (52). Die heutige Auffassung zieht beide Möglichkeiten in Betracht (25).

Kenntnisse über die Intensität der normalen Gefäßversorgung junger wachsender männlicher Kontrollratten gibt die vergleichende Betrachtung über mehrere Wochen. Der Zusammenhang zwischen der Gefäßzahl und dem Alter bzw. der Wachstumsgeschwindigkeit der Knochen wird offensichtlich. So ist zwischen der sechsten und neunten Lebenswoche der jungen Ratten eine wesentlich größere Gefäßzahl festzustellen als für den Zeitraum von der neunten bis zur einundzwanzigsten Lebenswoche, wobei für beide Zeitabschnitte etwa die gleiche Längenwachstumsrate erreicht wird. Insgesamt gesehen kann bis zum jung-erwachsenen Alter eine physiologische Reduzierung der Gefäßzahl bestimmt werden. Vor allem zeigt sich dies am gefäßreichsten Gebiet der distalen Femurmetaphyse. Obwohl insgesamt die Gefäßzahl bis zum jung-erwachsenen Alter abnimmt, nimmt die Zahl der größeren Markhöhlenarterien zu. Es kann angenommen werden, daß somit das durchfließende Blutvolumen der Diaphyse zwischen jungen und älteren Tieren kompensiert werden kann, während lediglich die distale Metaphyse mit zunehmendem Alter und abnehmendem Längenwachstum weniger mit Blut versorgt wird. Eine große Zahl an diaphysären Markhöhlenarterien im jugendlichen Alter hat offensichtlich den Sinn, eine Aufspaltung in zahlreiche Arteriolen und Kapillaren zur intensiveren Blutversorgung der Wachstumsfuge zu erreichen. Ein weiterer Faktor für die Intensität der Gefäßversorgung ist die Belastung der Knochen. Steinberg und Trueta (93) zeigen dies anhand von Lauftraining an fünf bis zehn Wochen alten Ratten durch Zunahme der Markhöhlenarterien am proximalen Femur und Forwood und Parker (18) an drei Wochen alten Ratten an der Zunahme der Gefäßkanäle im Zentrum der Tibiakompakta. Ähnlich wie bei Steinberg und Trueta (93), die über einen Versuchszeitraum von fünf Wochen bei ihren Kontrolltieren keine Veränderung der Blutgefäßversorgung am proximalen Femur feststellen konnten, ist auch bei eigenen Ergebnissen kaum eine physiologische Reduzierung hier festzustellen. Vielmehr reduziert sich die Gefäßzahl am distalen Teil und Schaftbereich des Femurs. Dies unterstützt somit die Auffassung, daß

das Längenwachstum des ganzen Femurs mehr oder weniger aus der distalen Epiphysenfuge abzuleiten ist (22).

Die ersten Strahlenschäden nach Pu-Injektion finden sich auch am frühesten am bestdurchbluteten Gebiet des distalen Femurs, an der Eröffnungszone. Durch massive Belastung mit dem über das Blut herangebrachten Plutonium treten Reduzierungen der Kapillaren bereits eine Woche nach Inkorporation auf. Entsprechende Hinweise finden sich ebenfalls in der Literatur nach externer Bestrahlung (47, 56) sowie bei höheren Dosen nach innerer Betabestrahlung (54). Die von Dougherty et al. (13) an histologischen Präparaten gemachte Feststellung, daß die Zahl die Spongiosa versorgenden Markhöhlengefäße am distalen Femur scheinbar an Anzahl abnimmt, ließ sich nach eigenen Ermittlungen bestätigen. Hierbei tritt der Höhepunkt der Gefäßreduzierung sowohl bei den jungen als auch bei den jung-erwachsenen Ratten acht Wochen nach Inkorporation ab einer Dosierung von 111kBq/kg KG auf. Jedoch erfolgt gleichzeitig vom Organismus eine kompensatorische Maßnahme, indem, je mehr große Markhöhlenarterien reduziert werden, in die distale Femurmetaphyse aus dem extraossären Gefäßnetz verstärkt Gefäße im Knochen auftreten. Ebenso ist die leichte Zunahme der Markhöhlenarterien bis zum letzten Sektionszeitpunkt als Regenerationsversuch zu werten. Gefäßobliterationen in der Markhöhle gemäß der Beobachtung von Moskalev (58) lassen sich dagegen nicht finden.

Indem die doppelte Dosierung mit 222kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  bei den jung-erwachsenen Ratten keine größere Gefäßreduzierung als die 111kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  Dosierung, bzw. die niedrigste Dosierung bei den jungen Ratten mit 37kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  keine Störung der Gefäße hervorbrachte, kann eine Dosiswirkungsbeziehung mit Schwellenwert nach Hug (36) angenommen werden. Aufgrund der physiologischen Gefäßabnahme mit zunehmendem Alter liegt der Verdacht nahe, daß die stärkere und schnellere Reduzierung der Markhöhlenarterien bei den radioaktiven Tieren auf einer Beschleunigung dieses Alterungsprozesses beruht (9).

Andererseits lassen sich aber auch Störungen an den Markhöhlenarterien nachweisen. So ist ihre Windungszahl, die in der

Weise nur bei kleinen Säugetieren zu finden sind, stark reduziert. Ihrer Funktion nach sollen sie den systemischen Blutdruck herabsetzen (3). Eine Blutdruckerhöhung in der Diaphyse müßte demnach bei den radioaktiven Tieren die Folge sein, wodurch es wiederum zu Dilatation der Kapillaren bzw. der Sinusoide kommt (2), wie es auch insbesondere an der "heißen Zone" zu beobachten ist.

Mit Erweiterung der Sinusoide im Markzentrum und Atrophie der erythropoetischen Zellen kommt es vermutlich zur beobachteten Verlagerung der im retikulären Stützgerüst verankerten Arterien in die Nähe der endostalen Kompaktaoberfläche. Eine unmittelbare Nachbarschaft zu den in diesem Bereich häufig vorkommenden Aktivitätssternen ist somit gegeben.

Weiterhin können die durch Ödematisierung hervorgerufene Aufspaltung und Atrophie der elastischen Membranen (10) sowie allgemeine Fibrosierung als Strahlenschädigung gewertet werden.

Gemäß der mikroskopischen Verteilung von  $^{241}\text{Am}$  nach Taylor et al. (95) war elektronenmikroskopisch der Hauptanteil der  $^{241}\text{Pu}$ -Tracks zwar auch in der Tunica media zu finden, doch reduziert sich ihre Zahl im Laufe des Versuchszeitraumes, während sie in der Tunica interna gleich bleibt. Unter Berücksichtigung der Fläche, welche die Tunica interna und die Tunica externa einnehmen, ergäbe sich aber eine vergleichbar größere Strahlenbelastung der Tunica interna.

Daß Plutonium aus dem Gefäßlumen aufgenommen werden kann, scheint sich durch ständige Anwesenheit des Radionuklids in der Arterienwand zu bestätigen. Über den Aufnahmemechanismus kann aber nur anhand von Literaturdaten spekuliert werden. Schon früh beschreibt Huggins (38) eine starke phagozytotische Aufnahme von Fremdstoffen aus der Blutbahn ins Endothel. Auch finden sich Vermutungen einer Rezeptor-vermittelten Aufnahme von Pu-Transferrin ähnlich wie die des Fe-Transferrins (64, 65, 94), was neuerdings wegen einer anderen Konformation des Pu-Transferrins gegenüber dem Fe-Transferrin, wovon die Rezeptorbindung abhängig ist, wieder angezweifelt wird (59). Die Möglichkeit, daß Plutonium beim Schneiden der Kunststoffblöcke aus dem Gefäßlumen über die Gefäßwand hätte "schmie-

ren" können, läßt sich ausschließen. Hierzu befindet sich im Gefäßlumen selbst zu wenig Plutonium und zum anderen spricht die Art der Verteilung über die Gefäßwand gegen diese Annahme. So kann die Zuordnung über den Zellkernen und den Lysosomen als gesichert angesehen werden (35). Eine Zuordnung zur Basalmembran und zu anderen elastischen Membranen läßt das Vermögen collagener Fasern, Plutonium zu binden, vermuten. (7, 30, 31). Sichere Aussagen hierzu müßten durch biochemische Analysen gewonnen werden.

Die vergleichende Betrachtung der Gefäßschäden wie auch der Strahlenschäden am Knochen insgesamt ergeben bei entsprechender Verabfolgung der Radioisotope  $^{239}\text{Pu}$  bzw.  $^{238}\text{Pu}$  oder dem Radionuklid  $^{237}\text{Np}$  keine graduellen Unterschiede.

Trotz ca. gleicher mittlerer Energie ihrer Alpha-Teilchen von 5,2 ( $^{239}\text{Pu}$ ), 5,5 ( $^{238}\text{Pu}$ ) und 4,9 ( $^{237}\text{Np}$ ) MeV (87) unterscheiden sich ihre Massen beträchtlich.

Chemisch toxische Wirkungen der Radioisotope  $^{239}\text{Pu}$  oder  $^{238}\text{Pu}$  dürften auf Grund ihrer äußerst gering verabfolgten Masse von 16 bis 98  $\mu\text{g}$  bei 37 bis 222kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$  und 0,06 bis 0,2  $\mu\text{g}$  bei 37 bis 111kBq/kg KG  $^{238}\text{Pu}$  ausgeschlossen werden. Nicht so beim Radionuklid  $^{237}\text{Np}$ . Hier hätten chemisch-toxische Effekte bei einer verabfolgten Masse von 1,4 mg bei 37kBq/kg KG  $^{237}\text{Np}$  durchaus in Betracht gezogen werden können.

Zusammenfassend ist zu sehen, daß höhere kanzerogene Dosierungen zu frühen Zeiten eine starke Beeinflussung der Gefäße bewirken. Da im Hinblick auf die Wiederherstellung des gesamten Biomechanismus das Gefäßsystem als kritische Komponente angesehen werden kann (43), ist diesem eine bedeutende Rolle für die Entwicklung von Strahlenspätchäden beizumessen (25).

#### 4.7. Therapie mit Zn-DTPA

Die Therapie mit Zn-DTPA zeigt auch einen Monat nach Injektion von Pu-Citrat gute Dekorporationsergebnisse (102). Bei den jungen Ratten wird die Pu-Konzentration im Knochen stärker reduziert als bei den jung-erwachsenen Tieren. Dies

steht im Einklang mit den Ergebnissen von Volf (102) und Lloyd et al. (51). Danach wird offensichtlich durch raschere An- und Abbauvorgänge bei den jungen Tieren mehr Plutonium freigesetzt, das vom Zn-DTPA komplexiert und somit einer Redeposition entzogen wird.

Der weitgehendste Erhalt der Trabekularisation an den wachstumsintensiven Metaphysen, an denen die größte Nuklidablagerung (55) bzw. an denen auch die größte Reduktion der Pu-Konzentration stattfindet (102), spricht für die Wirksamkeit der Therapie. Weiterhin werden Störungen des Wachstums und der Blutgefäßversorgung mehr oder weniger mit Zn-DTPA verhindert. Aufgrund der geringeren Strahlenbelastung und der damit verbundenen geringeren frühen Strahlenschäden kann auch ein geringeres Risiko späterer Strahlenschäden angenommen werden (102).

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

Gemäß dem Ziel der Arbeit wurde versucht, frühe Veränderungen langer Röhrenknochen nach Aufnahme kleiner Mengen oberflächensuchender Aktinide vor allem anhand radiographischer, morphologischer, morphometrischer sowie qualitativer und quantitativer histologischer Untersuchungen nachzuweisen. Insbesondere wurde zur Bestimmung der Beziehung von Femurlängsachse zu Femurhalskopfachse eine spezielle Meßmethode entwickelt. Ein Angiographieverfahren für die Ratte konnte ausgearbeitet werden.

Wesentliche Ergebnisse ergaben sich wie folgt:

- 1) Trotz guter Korrelation von Gesamtkörpergewicht zu Femurfrischgewicht unterlagen die jung-erwachsenen Ratten nach Verabfolgung gleicher Aktivitätsmengen pro kg Körpergewicht einer dreifach höheren Strahlenbelastung als die jungen Tiere.
- 2) Alle Veränderungen waren graduell von der Höhe der Dosierung und zum Teil vom Alter abhängig. Verschiedene Radioisotope bzw. -Nuklide ( $^{238}\text{Pu}$ ,  $^{239}\text{Pu}$  und  $^{237}\text{Np}$ ) verursachten bei ähnlicher Dosierung vergleichbare Strahlenschäden.
- 3) Das transvers verlaufende "Knochenband" in der "heißen Zone" der jung-erwachsenen Ratten war nicht, wie meist vorher angenommen, das Ergebnis mangelnder Resorption, sondern entsprang - ebenso wie die "Stütz Pfeiler" in der neugebildeten Metaphyse - einer hyperplastischen atypischen Knochenbildung, wobei das "Knochenband" im Laufe des Wachstums einer sukzessiven Devitalisierung unterlag.
- 4) Ein allgemein anwendbares Modell für enchondrales Wachstum mit teleskopartig ineinanderreichender endostaler und periostaler Wachstumsröhre konnte erarbeitet werden. Die durch "Drift" hervorgerufene Femurlängsachsenverschiebung induzierte im Laufe des Wachstums eine zunehmende Varisierung der Hintergliedmaßen.
- 5) Das Breitenwachstum erwies sich mit einem Wachstumsdefizit von ca. zehn Prozent, insbesondere der latero-lateralen Breitenmaße am Femur, wesentlich sensibler gegenüber Strahlen-

wirkung als das Längenwachstum mit einem Defizit von ca. fünf Prozent. Übermäßige Bildung atypischen Knochengewebes bei gleichzeitiger Reduzierung des normalen endostalen und periostalen Wachstums im Zusammenhang mit mangelnder Reaktionsbereitschaft des Knochens auf externe knochenformende Stimuli verändern das Aussehen der radioaktiven Röhrenknochen. Breitenwachstumsveränderungen sind nicht nur, wie bisher beschrieben, auf eine lokale Einengung am distalen Femurdrittel beschränkt, sondern erstrecken sich von einem anfänglich an der Metaphyse verursachten Breitenwachstumsdefizit mit zunehmendem Längenwachstum bis weit in die Diaphyse. Eine "Flaschenhalsbildung" ergab sich, sobald das starke Wachstumsdefizit der "heißen Zone" zur Deckung mit der physiologisch engsten Stelle am distalen Femur kam. Periostale Hyperplasien bei den jungen Tieren vergrößerten den Winkel ( $\gamma$ ) zwischen Femurlängsachse und Femurhalskopfachse. Das Fehlen einer Linea musculi poplitei ergab sich häufig zu Versuchsende an der Caudalseite der proximalen Tibiae.

6) Histologische Veränderungen, mit Knochenmarksatrophie und Hypertrophie endostaler Osteoblasten erstreckten sich vor allem auf die "heiße Zone".

7) Entgegen den bisherigen systematischen Untersuchungen ergab sich nicht nur bei den kleineren Gefäßen, sondern auch bei den großen Arterien der Markhöhle unabhängig vom Alter eine starke Reduzierung mit Abnahme ihrer Windungszahl und Verlagerung an die Peripherie der Markhöhle, wobei Plutonium in der Gefäßwand zellulären Strukturen teilweise zuordenbar schien.

8) Die Effektivität der Zn-DTPA-Therapie war bei den jungen Tieren größer als bei den jung-erwachsenen. Die Strahlenschädigungen konnten bei beiden Altersgruppen deutlich gemindert werden.

#### Schlußfolgerung:

Frühe, zum Teil erhebliche Knochengewebsveränderungen mit Irritation der knochenbildenden Zellen nach Inkorporation oberflächensuchender Aktiniden lassen ein Risiko später Knochentumorentstehung annehmen.

Mit Hilfe der Zn-DTPA-Therapie kann es gelingen, das Risiko später Strahlenschäden zu mindern.

## SUMMARY

### Early bone changes after incorporation of low quantities of alpha emitters in male rats

The attempt to detect early changes of long tubular bones after uptake of small amounts of surface-seeking actinides has been the goal of the work described in this paper. The investigations were based on radiographic, morphologic, morphometric as well as qualitative and quantitative histological methods. Above all, a special method was developed for measuring the relation between the femur longitudinal axis and the femur neck-head axis. Furthermore, a method of angiography in the rat was elaborated.

These are the essential results obtained:

- 1) Despite a good correlation between the weight of the whole body and the fresh weight of the femur, the young grown-up rats had suffered from a radiation burden three times as high as that of the young animals after administration of the same amount of radioactivity per kg of body weight.
- 2) The severity of all changes was dependent on the actinide dose and, partially, on the age. Different radioisotopes and nuclides ( $^{238}\text{Pu}$ ,  $^{239}\text{Pu}$ ,  $^{237}\text{Np}$ ), respectively caused similar radiation damage when administered in comparable amounts.
- 3) The transverse running "bone band" in the "hot radioactive zone" of the young grown-up rats was not the result of a lack of resorption, as had been suggested earlier, but originated in the same way as the "supporting pillar" in the newly built metaphysis of a hyperplastic atypical bone development, with the "bone band" undergoing successive devitalisation in the course of growth.
- 4) A generally applicable model of enchondral growth, with telescope-like endosteal and periosteal growth of tubes extending into each other, was established. The shifting of the femur-longitudinal axis, caused by "drift", in the course

of growth induced an increasing variation of the rear-limbs.

5) The growth in width, with a deficit of about ten per cent, above all of the latero-lateral width of the femur, appeared to be much more sensitive to radiation than the longitudinal growth characterised by a deficit of about five per cent. The structure of the radioactive tubular bones undergoes changes due to the formation of excessive atypical bone tissue while, at the same time, normal growth, both endosteal and periosteal, is reduced, as a result of the lacking ability of the bone to react to external bone-forming stimuli. Changes of the growth in width are not only restricted to a local narrowing at the distal femur third, as suggested previously; but with growth in length they extend from a deficit of growth in width originally caused in the metaphysis well into the diaphysis. There was a bottle-neck as soon as the strong deficit in growth of the "hot zone" reached the physiologically narrowest place at the distal femur. Periosteal hyperplasia in the young animals increased the angle ( $\gamma$ ) between the longitudinal axis of the femur and the femur neck-head axis. The linea musculi poplitei on the caudal side of the proximal tibiae was often absent at the end of experiment.

6) Histological changes, mainly atrophy of the bone marrow and hypertrophy of endosteal osteoblasts, were most pronounced close to the "hot radioactive zone."

7) In contrast to previous systematical research into bone vascularisation a strong reduction was observed not only of the smaller vessels but also of the big arteries in the marrow cavity, independent of the age; at the same time, the number of windings diminished and shifted to the periphery of the marrow cavity. Some of the plutonium in the vascular wall seemed to be assignable to cellular structures.

8) The effectivity of the Zn-DTPA-therapy was greater in the young animals than in the young grown-up ones. The radioactive damage could be diminished considerably in both age-groups.

Conclusion:

We suppose that the early, partly considerable changes of the bone tissue due to irradiation of the bone forming cells after incorporation of surface-seeking actinides may play a role in the later development of bone tumors.

If so, diminishing these changes by means of the Zn-DTPA-therapy would reduce the risk of late radiation damage.

## 6. TABELLEN UND ABBILDUNGEN

Tab. 1: Aktinidenretention in Tibia und Femur von jungen u. jung-erwachsenen männlichen Ratten.

Tage nach Injektion	7	14	28	56	112	
junge Ratten <sup>b</sup>						
1x111kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu	2,0±0,16	1,77±0,13	1,98±0,02	1,65±0,07	1,44±0,09	Tibia
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu					1,33±0,06	
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu+ Zn-DTPA					0,95±0,11	
junge Ratten						
1x111kBq/kg KG <sup>238</sup> Pu <sup>c</sup>				2,24±0,14	2,19±0,05	
1x37 kBq/kg KG <sup>238</sup> Pu <sup>b</sup>				2,11±0,02		Femur
1x37 kBq/kg KG <sup>237</sup> Np <sup>c</sup>					1,70±0,05	
jung-erwachs. Ratten <sup>a</sup>						
1x111kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu		2,17±0,14	2,09±0,06	1,93±0,01	1,66±0,10	
1x222kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu			1,78±0,03	1,89±0,11	1,81±0,03	Tibia
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu					1,93±0,22	
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu +Zn-DTPA					1,63±0,05	

% der injizierten Dosis; Mittelwert ± SEM von a) 2 Tieren , b) 3 Tieren u. c) 4 Tieren pro Zeitpunkt und Gruppe.

Tab. 2: Aktinidenkonzentration an Tibia und Femur junger u. jung-erwachsener männlicher Ratten.

Tage nach Injektion	7	14	28	56	112	
junge Ratten <sup>b</sup>						
1x111kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu	3,44±0,13	2,50±0,14	2,26±0,10	1,64±0,10	1,24±0,08	
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu					1,04±0,07	Tibia
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu +Zn-DTPA					0,80±0,09	
junge Ratten						
1x111kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu <sup>c</sup>				2,49±0,07	1,94±0,03	
1x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu <sup>b</sup>				2,05±0,10		Femur
1x37 kBq/kg KG <sup>237</sup> Np <sup>c</sup>					1,30±0,04	
jung-erwachs. Ratten <sup>a</sup>						
1x111kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu		2,00±0,07	1,74±0,00	1,61±0,14	1,40±0,18	
1x222kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu			1,62±0,05	1,65±0,19	1,34±0,03	Tibia
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu					1,54±0,23	
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu +Zn-DTPA					1,24±0,13	

1  
85  
1

% der injizierten Dosis/Gramm Knochenfrischmasse; Mittelwert ± SEM von a) 2 Tieren, b) 3 Tieren u. c) 4 Tieren pro Zeitpunkt und Gruppe.

Tab. 3: Strahlendosisleistung in Tibia und Femur von jungen und jung-erwachsenen männlichen Ratten.

Tage nach Injektion	7	14	28	56	112	
junge Ratten <sup>b</sup>						
1x111kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu	3,36	2,44	2,21	1,60	1,21	
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu					1,02	Tibia
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu +Zn-DTPA					0,78	
junge Ratten						
1x111kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu <sup>c</sup>				2,21	1,72	
1x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu <sup>b</sup>				0,67		Femur
1x37 kBq/kg Kg <sup>239</sup> Pu <sup>c</sup>					0,48	
jung-erwachs. Ratten <sup>a</sup>						
1x111kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu		5,31	4,62	4,24	3,71	
1x222kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu			8,82	8,98	7,29	Tibia
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu					3,98	
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu + Zn-DTPA					3,27	

Berechnet in cGy/d aus den Mittelwerten der Nuklidkonzentration (s. Methode)

1  
8  
1

Tab. 4: Knochenfrischgewicht von Femur und Tibia junger männlicher Ratten ohne und nach Verabfolgung von  $^{239}\text{Pu}$ . (g).

Tage nach Injektion	7	14	28	56	112
<b>Femur</b>					
Kontrolle	0,59±0,01 <sup>b</sup>	0,72±0,001 <sup>a</sup>	0,83±0,002 <sup>a</sup>	1,12±0,07	1,26±0,03 <sup>c</sup>
1x37 kBq/kg KG					1,23±0,02
3x37 kBq/kg KG					1,24±0,04
3x37 kBq/kg KG + Zn-DTPA					1,21±0,04
1x111kBq/kg KG	0,56±0,03	0,71±0,02	0,81±0,06	1,01±0,02	1,14±0,02 <sup>*</sup>
<b>Tibia</b>					
Kontrolle	0,49±0,02 <sup>b</sup>	0,57±0,02 <sup>a</sup>	0,60±0,04 <sup>a</sup>	0,88±0,08	0,94±0,03 <sup>c</sup>
1x37 kBq/kg KG					0,96±0,02
3x37 kBq/kg KG					0,95±0,03
3x37 kBq/kg KG + Zn-DTPA					0,91±0,04
1x111kBq/kg KG	0,48±0,04	0,57±0,03	0,65±0,05	0,80±0,05	0,85±0,03

Mittelwert ± SEM von 4 Tieren, a) 3 Tieren, b) 5 Tieren und c) 8 Tieren pro Gruppe.

\*Statistisch signifikanter Unterschied zu entsprechenden Kontrollen: P < 0,01

Tab. 5: Knochenfrischgewicht von Femur und Tibia junger Ratten ohne und nach Injektion von  $^{238}\text{Pu}$  und  $^{237}\text{Np}$  (g).

Gruppe	Sektion nach i.m. Injektion	n	Femur	Tibia
Kontrolle		5	1,11±0,05	0,88±0,05
37 kBq/kg KG Pu	8 Wochen	8	1,08±0,02	0,82±0,04
111kBq/kg KG Pu		5	0,94±0,04 *	0,76±0,04
Kontrolle		8	1,27±0,03	0,99±0,03
37 kBq/kg KG Np	16 Wochen	9	1,21±0,04	0,96±0,04
111kBq/kg KG Pu		9	1,18±0,03	0,96±0,03

Mittelwert ± SEM von n Tieren

\* Statistisch signifikanter Unterschied zu entsprechenden Kontrollen:  $P < 0,05$

Tab. 6: Knochenfrischgewicht von Femur und Tibia jung-erwachsener Ratten ohne und nach Verabfolgung von  $^{239}\text{Pu}$  (g).

Tage nach Injektion	14	28	56	112
<b>Femur</b>				
Kontrolle	1,11±0,03	1,12±0,03 <sup>b</sup>	1,13±0,04 <sup>b</sup>	1,41±0,02
3x37 kBq/kg KG				1,27±0,02 <sup>*</sup>
3x37 kBq/kg KG + Zn-DTPA				1,31±0,06
1x111kBq/kg KG	1,06±0,02	1,15±0,04	1,16±0,05	1,26±0,04 <sup>*</sup>
1x222kBq/kg KG		1,11±0,06 <sup>a</sup>	1,12±0,08	1,33±0,04
<b>Tibia</b>				
Kontrolle	0,88±0,02	0,85±0,03 <sup>b</sup>	0,87±0,02 <sup>b</sup>	1,10±0,02
3x37 kBq/kg KG				0,97±0,02 <sup>*</sup>
3x37 kBq/kg KG + Zn-DTPA				1,00±0,05
1x111kBq/kg KG	0,87±0,02	0,86±0,02	0,93±0,04	0,98±0,02 <sup>*</sup>
1x222kBq/kg KG		0,84±0,03 <sup>a</sup>	0,87±0,05	1,02±0,03

Mittelwert ± SEM von 4 Tieren, a) 3 Tieren und b) 5 Tieren pro Gruppe.

\*Statistisch signifikanter Unterschied zu entsprechenden Kontrollen: "P < 0,02 bzw. << 0,02"

Tab. 7: Längenwachstum an Femur und Tibia junger und jung-erwachsener männlicher Ratten ohne und nach Injektion von  $^{239}\text{Pu}$  (mm).

Alter (Wo.)	6	7	9	11	13	17	21	25
<b>Femur</b>								
<b>junge Ratten</b>								
Kontrolle	25,5±0,2 <sup>b</sup>	27,2±0,3 <sup>a</sup>	30,3±0,2 <sup>a</sup>		33,7±0,4		36,5±0,2 <sup>c</sup>	
1x37 kBq/kg KG							36,0±0,3	
3x37 kBq/kg KG							35,7±0,3	
3x37 kBq/kg KG+Zn-DTPA							35,8±0,3	
1x111kBq/kg KG	25,0±0,1	26,9±0,2	29,6±0,4		32,7±0,4		34,6±0,2 <sup>*</sup>	
<b>jung-erwachs. Ratten</b>								
Kontrolle				32,6±0,3	34,2±0,3 <sup>b</sup>	34,9±0,4 <sup>b</sup>		37,5±0,1
3x37 kBq/kg KG								37,0±0,3
3x37 kBq/kg KG+Zn-DTPA								37,1±0,3
1x111kBq/kg KG				33,0±0,2	34,1±0,2	35,1±0,4		36,5±0,7
1x222kBq/kg KG					35,7±0,6 <sup>a</sup>	34,9±1,0		37,0±0,4
<b>Tibia</b>								
<b>junge Ratten</b>								
Kontrolle	30±2±0,2 <sup>b</sup>	32,4±0,4 <sup>a</sup>	35,2±0,3 <sup>a</sup>		39,3±0,6		42,5±0,3 <sup>c</sup>	
1x37 kBq/kg KG							42,2±0,2	
3x37 kBq/kg KG							41,5±0,2	
3x37 kBq/kg KG+Zn-DTPA							41,4±0,3	
1x111kBq/kg KG	30,4±0,2	32,1±0,3	34,8±0,6		38,7±0,5		40,9±0,2 <sup>*</sup>	
<b>jung-erwachs. Ratten</b>								
Kontrolle				40,0±0,3	40,8±0,3 <sup>b</sup>	41,2±0,4 <sup>b</sup>		44,6±0,3
3x37 kBq/kg KG								43,1±0,3
3x37 kBq/kg KG+Zn-DTPA								43,7±0,5
1x111kBq/kg KG				39,3±0,3	40,3±0,4	41,9±0,4		42,9±0,5
1x222kBq/kg KG					41,7±0,5 <sup>a</sup>	41,7±1,0		43,2±0,4 <sup>*</sup>

Mittelwert aus rechter und linker Seite ± SEM von 4 Tieren, a) 3 Tieren, b) 5 Tieren und c) 8 Tieren pro Gruppe.

\*Statistisch signifikanter Unterschied zu entsprechenden Kontrollen "P < 0,05 bzw. << 0,05"

Tab. 8: Längen- und Breitenmaße an Röhrenknochen junger männlicher Ratten ohne und nach Injektion von  $^{238}\text{Pu}$  oder  $^{237}\text{Np}$  (mm).

Gruppe	Wochen n. i.m. Inj.	n	Tibia- länge	Femur- länge	sub-condylär am Femur	dist. Ende des Troch. tertius	prox. Ende der Knie- gelenksfläche
Kontrolle		5	40,3±0,5	33,8±0,4	5,7±0,1	4,4±0,1	6,4±0,1
37 kBq/kg Pu	8	8	40,8±0,4	34,4±0,3	5,7±0,1	4,4±0,04	6,4±0,1
111kBq/kg Pu		5	39,1±0,6	32,8±0,5	5,2±0,1 *	4,0±0,03 *	5,7±0,1 *
Kontrolle		8	42,9±0,3	36,0±0,3	5,7±0,1	4,9±0,1	6,8±0,04
37 kBq/kg Np	16	9	42,1±0,4	35,7±0,4	5,7±0,1	4,6±0,1	6,4±0,1 *
111kBq/kg Pu		9	42,0±0,3	35,3±0,3	5,7±0,1	4,5±0,1 *	6,2±0,1 *

Mittelwert aus linker und rechter Seite ± SEM aus n Tieren pro Gruppe.

\* Statistisch signifikanter Unterschied zu entsprechenden Kontrollen : "P <0,02 bzw. <<0,02"

Tab. 9: Breitenwachstum am Femur junger männlicher Ratten ohne und nach Injektion von  $^{239}\text{Pu}$  (mm).

Alter (Wochen)	6	7	9	13	21	
Kontrollen	3,4±0,1 <sup>b</sup>	3,6±0,04 <sup>a</sup>	4,1±0,03 <sup>a</sup>	4,4±0,1	4,8±0,1 <sup>c</sup>	dist. Ende
1x37 kBq/kg KG					4,8±0,1	des Troch.
3x37 kBq/kg KG					4,5±0,1 <sup>*</sup>	tertius
3x37 kBq/kg KG +Zn-DTPA					4,7±0,1	(lat.-lat.)
1x111kBq/kg KG	3,3±0,1	3,6±0,1	3,6±0,2	4,0±0,1 <sup>*</sup>	4,4±0,1 <sup>*</sup>	
Kontrollen	6,0±0,1 <sup>b</sup>	6,1±0,2 <sup>a</sup>	6,3±0,1 <sup>a</sup>	6,6±0,1	7,0±0,1 <sup>c</sup>	prox. Ende
1x37 kBq/kg KG					6,8±0,1	der Kniege-
3x37 kBq/kg KG					6,6±0,2	lenksfläche
3x37 kBq/kg KG +Zn-DTPA					6,9±0,1	(lat.-lat.)
1x111kBq/kg KG	6,2±0,2	5,8±0,1	5,9±0,3	5,9±0,2 <sup>*</sup>	6,1±0,1 <sup>*</sup>	
Kontrolle	5,2±0,02 <sup>b</sup>	5,3±0,04 <sup>a</sup>	5,4±0,1 <sup>a</sup>	5,8±0,1	5,9±0,1 <sup>c</sup>	
1x37 kBq/kg KG					5,8±0,1	dist. Femur
3x37 kBq/kg KG					5,6±0,2	subcondylär
3x37 kBq/kg KG +Zn-DTPA					5,6±0,1	(cran.-caud.)
1x111kBq/kg KG	5,1±0,03	5,0±0,1	5,3±0,2	5,3±0,1 <sup>*</sup>	5,5±0,1	

Mittelwert aus rechter und linker Seite ± SEM aus 4 Tieren, a) 3 Tieren, b) 5 Tieren und c) 8 Tieren pro Gruppe.

\*Statistisch signifikanter Unterschied zu entsprechenden Kontrolltieren: "P <0,05 bzw. <<0,05"

Tab. 10: Breitenwachstum am Femur jung-erwachsener männlicher Ratten ohne und nach Injektion von  $^{239}\text{Pu}$  (mm).

Alter (Wochen)	11	13	17	25	
Kontrollen	4,5±0,1	4,4±0,1 <sup>b</sup>	4,5±0,1 <sup>b</sup>	5,0±0,1	dist. Ende
3x37 kBq/kg KG				4,6±0,1*	des Troch.
3x37 kBq/kg KG +Zn-DTPA				4,8±0,2	tertius
1x111kBq/kg KG	4,4±0,1	4,5±0,1	4,6±0,1	4,6±0,1*	(lat.-lat.)
1x222kBq/kg KG		4,2±0,02 <sup>a</sup>	4,4±0,1	4,6±0,1*	
Kontrolle	6,7±0,1	6,6±0,1 <sup>b</sup>	6,6±0,1 <sup>b</sup>	7,4±0,1	prox. Ende
3x37 kBq/kg KG				6,5±0,03*	der Kniege-
3x37 kBq/kg KG +Zn-DTPA				6,8±0,1*	lenksfläche
1x111kBq/kg KG	6,6±0,1	6,6±0,1	6,5±0,1	6,6±0,2*	(lat.-lat.)
1x222kBq/kg KG		6,4±0,1 <sup>a</sup>	6,2±0,2	6,5±0,1*	
Kontrolle	5,8±0,2	5,7±0,1 <sup>b</sup>	5,7±0,1 <sup>b</sup>	6,4±0,1	
3x37 kBq/kg KG				5,7±0,1*	dist. Femur
3x37 KBq/kg KG +Zn-DTPA				5,9±0,3	subcondylär
1x111kBq/kg KG	5,4±0,1	5,7±0,2	5,5±0,1	5,6±0,1*	(cran.-caud.)
1x222kBq/kg KG		5,5±0,1 <sup>a</sup>	5,8±0,2	5,9±0,2	

Mittelwert aus rechter und linker Seite ± SEM aus 4 Tieren, a) 3 Tieren und b) 5 Tieren pro Gruppe.

\*Statistisch signifikanter Unterschied zu entsprechenden Kontrollen: "P <0,05 bzw. <<0,05"

Tab. 11: Breitenwachstum an proximaler Tibia junger und jung-erwachsener männlicher Ratten ohne und nach Injektion von Plutonium oder Neptunium (mm).

Alter (Wochen)	11	13	17	21	25	
<b>junge Ratten</b>						
Kontrolle		5,5±0,1 <sup>b</sup>		5,6±0,1 <sup>c</sup>		subcondylär
1x37 kBq/kg KG <sup>237</sup> Np				5,5±0,1 <sup>d</sup>		(cran.-caud.)
1x37 kBq/kg KG <sup>238</sup> Pu		5,8±0,1 <sup>c</sup>				
1x111kBq/kg KG <sup>238</sup> Pu		5,1±0,1 <sup>b*</sup>		5,6±0,1 <sup>d</sup>		
<hr/>						
Kontrolle		5,4±0,1 <sup>b</sup>		5,3±0,1 <sup>c</sup>		subcondylär
1x37 kBq/kg KG <sup>237</sup> Np				5,1±0,1 <sup>d</sup>		(lat.-lat.)
1x37 kBq/kg KG <sup>238</sup> Pu		5,4±0,1 <sup>c</sup>				
1x111kBq/kg KG <sup>238</sup> Pu		4,7±0,1 <sup>b*</sup>		5,0±0,1 <sup>d</sup>		
<hr/>						
<b>jung-erwachsene Ratten</b>						
Kontrolle	5,4±0,1	5,4±0,1 <sup>b</sup>	5,4±0,1 <sup>b</sup>		5,9±0,2	
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu					5,5±0,1	subcondylär
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu+Zn-DTPA					5,9±0,3	(cran.-caud.)
1x111kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu	5,3±0,02	5,4±0,1	5,2±0,1		5,6±0,2	
1x222kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu		5,4±0,1 <sup>a</sup>	5,4±0,2		5,6±0,02	
<hr/>						
Kontrolle	5,3±0,03	5,2±0,1 <sup>b</sup>	5,3±0,1 <sup>b</sup>		5,6±0,2	
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu					5,1±0,1	subcondylär
3x37 kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu+Zn-DTPA					5,3±0,1	(lat.-lat.)
1x111kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu	5,2±0,03	5,1±0,1	5,2±0,2		5,2±0,04	
1x222kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu		5,2±0,1 <sup>a</sup>	4,9±0,1 <sup>*</sup>		5,3±0,1	

Mittelwert der rechten und linken Seite ± SEM von 4 Tieren, a) 3 Tieren, b) 5 Tieren, c) 8 Tieren und d) 9 Tieren pro Gruppe.

\*Statistisch signifikanter Unterschied zu entsprechenden Kontrollen: "P < 0,025 bzw. << 0,025"

Tab. 12: Winkelveränderung ( $\gamma$ ) zwischen Femurhalskopfachse und Femurlängsachse ohne und nach Inkorporation von Aktiniden (in Grad).

Alter (Wo.)	Wo. n. Inj.	Kontr. I	Kontr. II	1x111kBq/kg KG $^{239}\text{Pu}$ (junge Rat.)	1x111KBq/kg KG $^{238}\text{Pu}$ (junge Rat.)	1x111kBq/kg KG $^{239}\text{Pu}$ (jung-erw. Rat.)	1mg/kg KG $^{237}\text{Np}$ (erw. Rat.)
6	1	50,8±2,6		51,0±0,8			
7	2	51,6±0,4 <sup>b</sup>		51,7±1,1			
9	4	53,3±1,0 <sup>b</sup>		53,8±0,14			
11	2	53,0±0,5 <sup>b</sup>				53,2±0,5	
13	8 4	54,2±1,1	54,9±0,6 <sup>d</sup>	56,3±0,3	59,0±0,8 <sup>d*</sup>	54,2±0,9	
17	8	54,0±0,6				54,0±0,8	
21	16	54,4±0,9	54,0±0,8 <sup>e</sup>	59,4±0,6	60,0±0,7 <sup>f*</sup>		
25	16	54,3±0,1				54,0±1,8	
91	81	54,5±0,5 <sup>c</sup>					54,5±0,8 <sup>c</sup>

- 95 -

Mittelwert der rechten Seite ± SEM aus 3 Tieren, b) 2 Tieren, c) 4 Tieren, d) 5 Tieren, e) 8 Tieren und f) 9 Tieren/Gruppe; Kontrolle I: von Versuch A<sub>1</sub>, B und Np-Langzeitversuch; Kontrolle II: von Versuch A<sub>2</sub> mit  $^{238}\text{Pu}$ .

\*Statistisch signifikanter Unterschied zu entsprechenden Kontrollen: "P < 0,005 bzw. << 0,005"

Tab. 13: Messung verschiedener Parameter an Femurhals- u. Kopfbereich bei jungen männlichen Ratten nach Inkorporation von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{238}\text{Pu}$ .

Sektion n. i.m. Inj.	n	Gruppe	Femurhalslänge (mm)	Kopfdurchmesser (mm)	Kopflänge (mm)
8 Wo.	5	Kontr.	$2,7 \pm 0,2$	$4,6 \pm 0,08$	$3,2 \pm 0,1$
	5	$^{238}\text{Pu}$	$2,6 \pm 0,2$	$4,3 \pm 0,07$ *	$3,1 \pm 0,1$
16 Wo.	8	Kontr.	$3,2 \pm 0,1$	$4,7 \pm 0,03$	$3,0 \pm 0,1$
	9	$^{238}\text{Pu}$	$2,7 \pm 0,1$ *	$4,7 \pm 0,1$	$3,1 \pm 0,04$

Mittelwert aus  $n \pm \text{SEM}$ ;

\*Statistisch signifikanter Unterschied zu entsprechenden Kontrollen: " $P < 0,025$  bzw.  $\ll 0,025$ "

Tab. 14: Histomorphometrie an Querschnitten der Tibia junger und jung-erwachsener männlicher Ratten ohne und nach Injektion von  $^{239}\text{Pu}$ .

Tage	Gruppe	IFG	IFM	IFK	IEW	IPW	IM <sub>1</sub>	IM <sub>2</sub>	IM <sub>3</sub>
n. Inj.		(mm <sup>3</sup> )	(mm <sup>3</sup> )	(mm <sup>3</sup> )	(mm <sup>3</sup> )/d	(mm <sup>3</sup> )/d	(mm <sup>2</sup> )	(mm <sup>2</sup> )	(mm <sup>2</sup> )
<b>junge Ratten</b>									
7	Kontrolle <sup>a</sup>	90	50	40	1,32	1,27	32	28	32
	111kBq/kg <sup>a</sup>	83	40	43	1,23	1,20	32	27	34
14	Kontrolle	103±3	62±4	41±2	1,83±0,13	1,54±0,10	35±1	31±2	38±1
	111kBq/kg	96±2	52±1	44±3	4,30±0,18	0,95±0,10	34±2	30±1	36±1
28	Kontrolle	135±4	73±3	62±2	1,82±0,14	0,54±0,13	43±2	34±1	45±2
	111kBq/kg	111±4	51±5	60±2	1,09±0,16	0,48±0,11	35±3	28±2	35±2
56	Kontrolle	174±4	95±3	79±3	1,08±0,17	0,29±0,08	52±2	39±1	55±1
	111kBq/kg	141±10	67±7	74±4	0,59±0,12	0,36±0,1	44±2	32±3	45±3
112	Kontrolle	205±3	101±3	104±3	0,45±0,11	0,16±0,02	54±2	41±1	57±2
	111kBq/kg	165±8	77±2	88±6	0,19±0,06	0,20±0,04	47±2	34±2	50±1
<b>jung-erwachs. Ratten</b>									
28	Kontrolle	154±7	86±9	68±3	0,74±0,26	0,14±0,03	50±1	35±2	51±1
	111kBq/kg	144±9	76±7	68±5	0,69±0,25	0,13±0,02	46±1	32±3	46±2
	222kBq/kg	134±18	62±13	72±5	0,79±0,17	0,08±0,02	43±2	29±5	45±2
56	Kontrolle	165±9	85±2	80±8	0,71±0,06	0,13±0,02	51±2	35±0,4	53±1
	111kBq/kg	145±1	69±1	76±1	0,38±0,03	0,07±0,01	43±2	33±1	45±2
	222kBq/kg	132±2	57±4	75±4	0,16±0,02	0,07±0,02	33±4	27±4	40±5
112	Kontrolle	203±6	93±5	110±3	0,54±0,07	0,08±0,04	53±2	38±2	58±2
	111kBq/kg	169±10	74±9	95±7	0,09±0,04	0,04±0,03	45±3	36±3	48±3
	222kBq/kg	161±4	66±6	95±9	0,04±0,02	0,002±0,002	44±4	31±3	45±6

Mittelwert ± SEM aus 2 Tieren pro Gruppe; a) 1 Tier pro Gruppe

I: für Integral der Fläche unter der Kurve von Parametern aus 33 Serienquerschnitten; FG : Gesamtfläche; FM : Markhöhlenfläche; FK : Kompaktafläche; EW : Fläche des endostalen Wachstums; PW : Fläche des periostalen Wachstums; M<sub>1-3</sub> : Markhöhlendurchmesser

Tab. 15: Histomorphometrie an Querschnitten der Tibia junger und jung-erwachsener männlicher Ratten ohne und nach Injektion von  $^{239}\text{Pu}$ .

Tage	Gruppe	$\text{IQ}_1$ ( $\text{mm}^2$ )	$\text{IQ}_2$ ( $\text{mm}^2$ )	$\text{IQ}_3$ ( $\text{mm}^2$ )	$\text{IQ}_4$ ( $\text{mm}^2$ )	$\text{IQ}_5$ ( $\text{mm}^2$ )	$\text{IQ}_6$ ( $\text{mm}^2$ )
n. Inj.							
<b>junge Ratten</b>							
7	Kontrolle <sup>a</sup>	7,2	4,5	6,7	5,4	8,7	5,3
	111kBq/kg KG <sup>a</sup>	7,6	4,8	5,9	5,9	8,1	5,0
14	Kontrolle	7,2±0,4	5,4±0,3	5,8±0,1	7,5±0,5	10,5±0,3	5,0±0,6
	111kBq/kg KG	8,1±0,2	5,4±0,2	6,4±0,3	7,6±0,1	10,9±0,2	5,5±0,1
28	Kontrolle	8,4±0,5	5,2±0,6	6,7±0,6	7,4±0,6	12,8±1,4	5,4±0,2
	111kBq/kg KG	9,1±1,1	5,4±0,4	7,0±0,6	7,8±0,6	14,7±2,5	5,3±0,2
56	Kontrolle	9,5±2,0	6,7±0,1	8,3±0,6	7,8±0,5	12,8±1,8	5,7±0,1
	111kBq/kg KG	10,5±0,6	7,1±0,1	9,0±0,7	8,5±0,2	15,0±1,6	5,8±0,3
112	Kontrolle	12,2±1,3	8,7±0,3	9,5±0,7	8,3±0,7	13,0±0,6	7,3±0,3
	111kBq/kg KG	11,9±0,4	6,3±0,4	9,9±0,4	8,0±0,5	14,7±1,0	6,0±0,3
<b>jung-erwachsene Ratten</b>							
28	Kontrollen	10,6±0,2	6,4±0,6	7,9±0,4	7,1±0,5	14,1±1,7	6,2±0,1
	111kBq/kg KG	11,4±0,9	6,8±0,5	8,1±0,6	7,5±0,6	15,0±1,3	6,0±0,4
	222kBq/kg KG	10,9±0,8	6,8±0,6	9,1±0,8	7,6±0,4	15,9±1,2	6,0±0,3
56	Kontrolle	10,9±0,6	6,3±0,3	8,3±0,4	7,7±0,6	13,0±1,0	6,7±0,5
	111kBq/kg KG	13,6±1,5	6,7±0,9	10,2±1,1	8,7±0,6	13,5±1,0	5,7±0,5
	222kBq/kg KG	11,1±1,8	5,7±1,0	8,9±1,6	8,1±1,0	13,7±1,7	5,6±0,6
112	Kontrolle	14,7±0,6	6,7±0,2	11,2±0,6	7,9±0,7	13,4±1,5	7,3±0,6
	111kBq/kg KG	13,5±1,2	6,5±1,1	9,9±0,6	7,3±0,8	17,1±1,8	4,5±0,3
	222kBq/kg KG	13,2±2,1	5,3±1,3	8,9±1,3	6,9±0,4	17,5±2,4	4,0±0,9

Mittelwert ± SEM aus 2 Tieren pro Gruppe; a) 1 Tier pro Gruppe

I: für Integral der Fläche unter der Kurve von Parametern aus 33 Serienquerschnitten;  $Q_{1-6}$ :

Kompaktaquerdurchmesser

I  
8  
I

Tab. 16: Histomorphometrie an Querschnitten vom Femur junger männlicher Ratten ohne und nach Inkorporation von  $^{238}\text{Pu}$  oder  $^{237}\text{Np}$ .

Tage n.Inj.	Gruppe	IFG ( $\text{mm}^3$ )	IFM ( $\text{mm}^3$ )	IFK ( $\text{mm}^3$ )	IEW ( $\text{mm}^3$ )/d	IPW ( $\text{mm}^3$ )/d
56	Kontrolle	204±9	114±8	90±3	0,58±0,05	0,42±0,04
	111kBq/kg KG Pu	152±4	74±5	78±1	0,32±0,04	0,47±0,03
112	Kontrolle	218±8	114±3	104±6	0,54±0,04	0,11±0,03
	37 kBq/kg KG Np	175±5	85±4	90±4	0,23±0,02	0,27±0,07
	111kBq/kg KG Pu	191±6	92±3	99±2	0,45±0,13	0,22±0,05

Mittelwert ± SEM aus 2 Tieren pro Gruppe

I: Integral der Fläche unter der Kurve von Parametern aus 33 Serienquerschnitten; FG : Gesamtfläche; FM : Markhöhlenfläche; FK : Kompaktafläche; EW : Fläche des endostalen Wachstums; PW : Fläche des periostalen Wachstums

Tab. 17: Histomorphometrie an Querschnitten vom Femur junger männlicher Ratten ohne und nach Inkorporation von  $^{238}\text{Pu}$  oder  $^{237}\text{Np}$ .

Tage	Gruppe	IL <sub>1</sub> (mm <sup>2</sup> )	IL <sub>2</sub> (mm <sup>2</sup> )	IL <sub>3</sub> (mm <sup>2</sup> )	IL <sub>4</sub> (mm <sup>2</sup> )	IK <sub>1</sub> (mm <sup>2</sup> )	IK <sub>2</sub> (mm <sup>2</sup> )	IK <sub>3</sub> (mm <sup>2</sup> )	IK <sub>4</sub> (mm <sup>2</sup> )
n. Inj.									
56	Kontrolle	75±2	59±1	52±3	36±2	8,9±0,4	6,7±0,3	7,8±0,5	7,4±0,4
	111kBq/kg Pu	62±2	44±1	45±1	28±1	9,7±0,5	8,3±0,4	10,0±0,6	7,6±0,6
112	Kontrolle	79±1	63±1	53±2	36±2	8,2±0,3	8,5±0,6	8,8±0,5	7,8±0,6
	37 kBq/kg Np	73±1	55±1	49±3	30±1	9,4±0,4	9,2±0,6	10,1±0,8	8,1±0,5
	111kBq/kg Pu	70±1	50±1	49±1	30±1	10,4±0,8	9,5±0,4	10,4±0,8	8,6±0,6

Mittelwert ± SEM aus 2 Tieren pro Gruppe

I: Integral der Fläche unter der Kurve von Parametern aus 33 Serienquerschnitten; K<sub>1-4</sub>: Kompaktaquerdurchmesser; L<sub>1</sub> und L<sub>3</sub>: Durchmesser vom Gesamtquerschnitt; L<sub>2</sub> und L<sub>4</sub>: Markhöhlendurchmesser

Tab. 18: Reichweite der Trabekularisation diaphysenwärts von subcondylär des distalen Femurs bzw. proximaler Tibia bei jungen und jung-erwachsenen männlichen Ratten nach Injektion von Plutonium und Neptunium (mm).

Alter (Wo.)	6	7	9	13	17	21	25
<b>Femur</b>							
<b>junge Ratten</b>							
Kontrolle				6,5±0,6		5,8±0,3	
1x111kBq/kg KG <sup>238</sup> Pu				4,2±0		5,1±0,2	
1x37 kBq/kg KG <sup>237</sup> Np						6,2±0,4	
<b>Tibia</b>							
<b>junge Ratten</b>							
Kontrolle	4,4 <sup>a</sup>	7,0±0,2	6,3±0,3	5,1±0,2	4,4±0,4		
1x111kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu	4,0 <sup>a</sup>	4,0±0,4	4,2±0,7	3,5±0,9	2,4±0,7		
<b>jung-erwachs. Ratten</b>							
Kontrolle				4,2±0,2	4,2±0,2		5,1±1,1
1x111kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu				1,5±0,7	3,7±0,2		3,3±0,2
1x222kBq/kg KG <sup>239</sup> Pu				2,9±0,7	2,2±1,3		2,6±0,2

Mittelwert ± SEM von 2 Tieren und a) von 1 Tier pro Gruppe

Tabelle 19: Knochenzellzahlen und Parameter der Resorption am Tibiaschaft junger Ratten acht Wochen nach Injektion von  $^{238}\text{Pu}$ .

Schnitthöhe		1		2		3	
		(prox. Metaphyse)		("heiße Zone")		(Diaphyse)	
		endostal	periostal	endostal	periostal	endostal	periostal
OB (n)	Kontrolle	75,5±1,5	-	56,5±4,5	20,0±8,0	-	46,5±1,5
	37 kBq/kg KG	56,5±4,5	-	39,5±16,5	15,0±4,0	-	46,0±5,0
	111kBq/kg KG	46,5±3,5	-	26,5±1,5	22,5±1,5	-	50,5±0,5
OZ (n)	Kontrolle	40,0±7,0	45,0±3,0	41,5±6,5	43,5±10,5	43,0±7,0	41,5±11,5
	37 kBq/kg KG	39,0±2,0	41,0±7,5	39,5±1,5	40,5±2,5	33,5±0,5	30,0±1,0
	111kBq/kg KG	37,5±5,5	39,0±10	34,5±1,5	32,5±4,5	38,0±7,0	30,0±4,0
VRL (n)	Kontrolle	-	17,0±7,0	2,0±1,0	21,5±13,5	1,0±1,0	-
	37 kBq/kg KG	-	15,0±10	1,0±1,0	12,5±0,5	1,0±1,0	-
	111kBq/kg KG	-	9,5±1,5	2,5±1,5	10,5±4,5	2,5±0,5	-
GRL(µm)	Kontrolle	-	392,6±172	23,6±4,5	601,5±39	23,7±23,7	-
	37 kBq/kg KG	-	347,1±237	12,1±12,1	334,2±50	23,4±23,4	-
	111kBq/kg KG	-	244,7±6,1	51,6±33,7	168,4±61	88,4±19,5	-

Mittelwert ± SEM aus 2 Tieren pro Gruppe;

OB: Osteoblasten; OZ: Osteozyten; VRL: vitalmarkierte Resorptionslakunen; GRL: resorptive Gesamtfläche der markierten Resorptionslakunen.

Tab. 20: Leere Osteozytenlakunen am Querschnitt der Tibia in Höhe der "heißen Zone" acht Wochen nach Inkorporation von  $^{238}\text{Pu}$  (n).

Schnitthöhe	1 prox. Metaphyse	2 "heiße Zone"	3 Diaphyse
Kontrolle	1	2	1
1x37 kBq/kg KG	2	9	5
1x111kBq/kg KG	3	13	8

Summe aus vier Meßfeldern;

Schnitthöhe 1): 7mm subcondylär, 2) 11mm subcondylär und 3) 14 mm subcondylär

Tab. 21: Zahl der Markhöhlenarterien in Femurquerschnitten verschiedener Schnitthöhen ohne und nach Inkorporation von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{238}\text{Pu}$ .

Wo.nach Inkorp.	Schnitt- höhe	Gruppe	Gesamtgefäßzahl (G) mit Durchmesser $>15\mu\text{m}$ (n)	Zahl der Gefäße aus G mit Durchmesser $>53\mu\text{m}$ (n)	größter Gefäßdurchmesser ( $\mu\text{m}$ )
8	3	Kontr.	19,5 $\pm$ 3,5	6,0 $\pm$ 1,0	162 $\pm$ 27
		Akt.	11,0 $\pm$ 4,0	2,5 $\pm$ 1,5	123 $\pm$ 56
	2	Kontr.	16,5 $\pm$ 1,5	5,5 $\pm$ 0,5	174 $\pm$ 4
		Akt.	7,5 $\pm$ 0,5	1,5 $\pm$ 0,5	130 $\pm$ 7
	1	Kontr.	53,0 $\pm$ 12	6,5 $\pm$ 1,5	134 $\pm$ 7
		Akt.	16,0 $\pm$ 5,0	2,0 $\pm$ 1,0	98 $\pm$ 20
16	3	Kontr.	12,5 $\pm$ 2,5	8,0 $\pm$ 1,0	180 $\pm$ 3
		Akt.	8,5 $\pm$ 0,5	4,5 $\pm$ 0,5	133 $\pm$ 9
	2	Kontr.	16,0 $\pm$ 2,0	7,5 $\pm$ 0,5	186 $\pm$ 33
		Akt.	8,0 $\pm$ 0,0	3,5 $\pm$ 0,5	118 $\pm$ 14
	1	Kontr.	22,5 $\pm$ 6,5	7,0 $\pm$ 1,0	144 $\pm$ 11
		Akt.	9,5 $\pm$ 0,5	3,5 $\pm$ 2,5	119 $\pm$ 43

Mittelwert  $\pm$  SEM aus 2 Tieren pro Zeitpunkt und Gruppe;

Schnitthöhe 1): 6mm subcondylär an dist. Metaphyse, 2): 10mm subcondylär an "heißer Zone" und 3) 14 mm subcondylär an Diaphyse

Tab. 22: Verteilung u. Anzahl von Plutoniumtracks an zufällig ausgewählten elektronenmikroskopischen Aufnahmen der Gefäßwandung von Markhöhlenarterien nach Verabfolgung von 14,8MBq/kg KG  $^{241}\text{Pu}$ .

Sektion n. i.m. Inj. (d)	Tunica interna				Tunica media u. externa	
	Endothel		Basalmembran		a	b
	a	b	a	b		
2	5	1,0±0	2	1,0±0	10	2,4±0,7
14	5	1,6±0,4	4	1,5±0,3	11	2,3±0,6
30	4	1,0±0	2	2,0±1	8	1,6±0,2

a: Zahl der Aufnahmen in denen Pu-Tracks gefunden wurden (von insgesamt 26 Aufnahmen);

b: Anzahl der Pu-Tracks; Mittelwert ± SEM aus der Zahl der Tracks von a

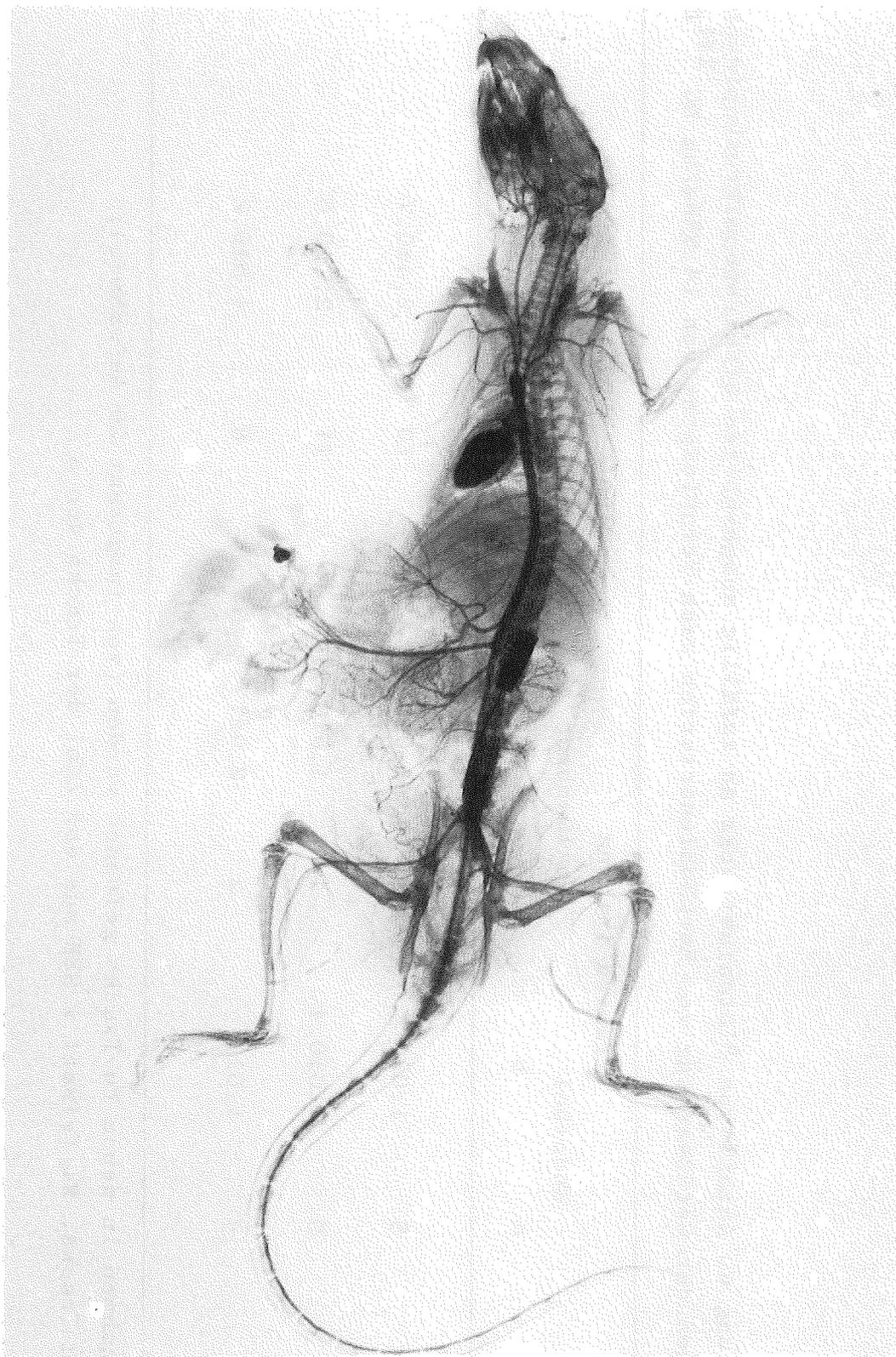
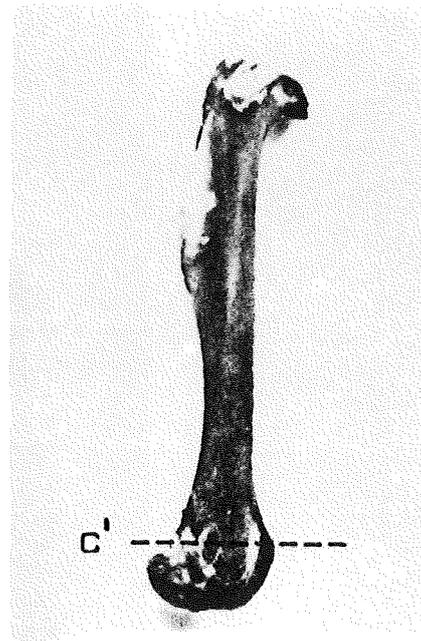
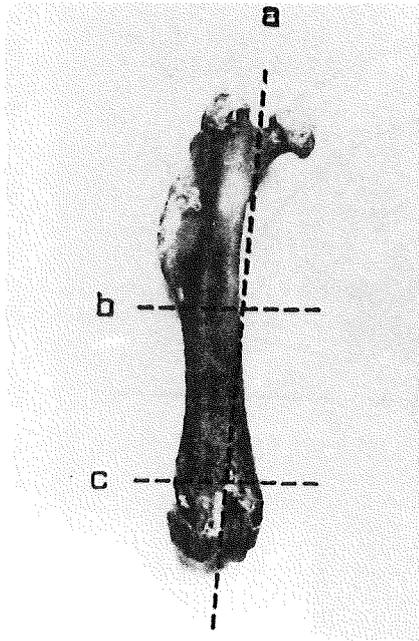


Abb. 1: Darstellung des arteriellen Gefäßsystems an einer jungen weiblichen Ratte nach Perfusion von Kontrastmittel an der caudalen Aorta (siehe Injektionsnadel). Röntgenaufnahme 0,8x

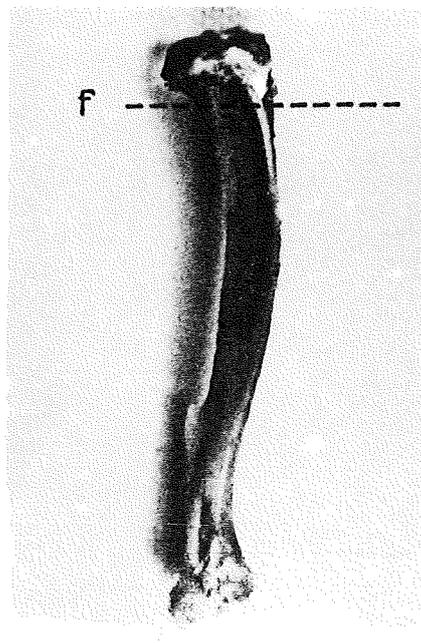
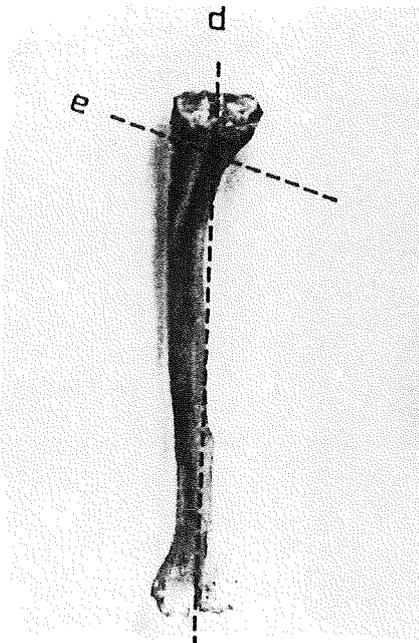
cran. Seite

lat. Seite



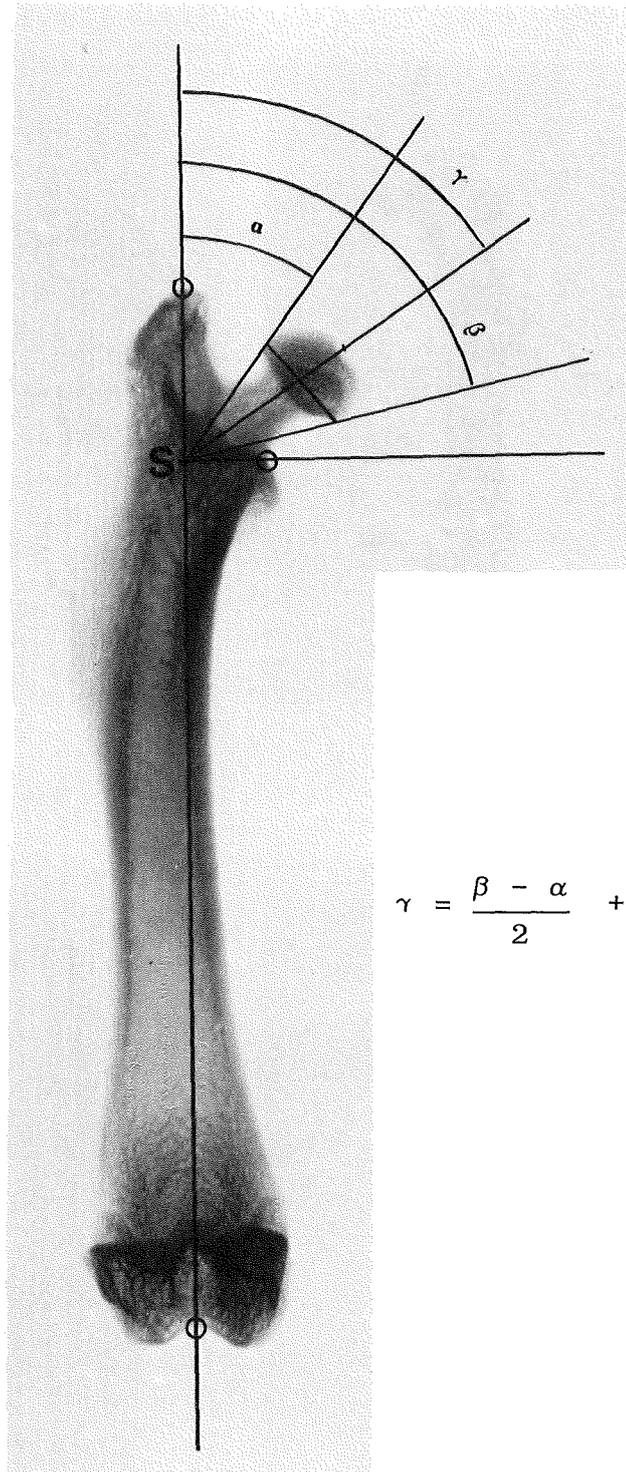
A

caud. Seite



B

Abb. 2: Bestimmung der Längen- u. Breitenparameter an Femur(A) u. Tibia(B),  
a: Längenmessung an Femur; b: distales Ende des Trochanter tertius  
c: proximales Ende der Kniegelenksfläche; c': subcondylär des dist  
Femurs; d: Längenmessung an Tibia; e u. f: subcondylär an prox.  
Tibia.



$$\gamma = \frac{\beta - \alpha}{2} + \alpha$$

Abb. 3: Schaubild zur Bestimmung der "Femurhals- u. Kopfachsenwinkelung" zum Punkt S auf der Femurlängsachse, mit definierten Fixpunkten (Kreise) an caud.-cran. Röntgenaufnahme. Markierungen im Bereich von Hals und Kopf zur Messung diverser Parameter.

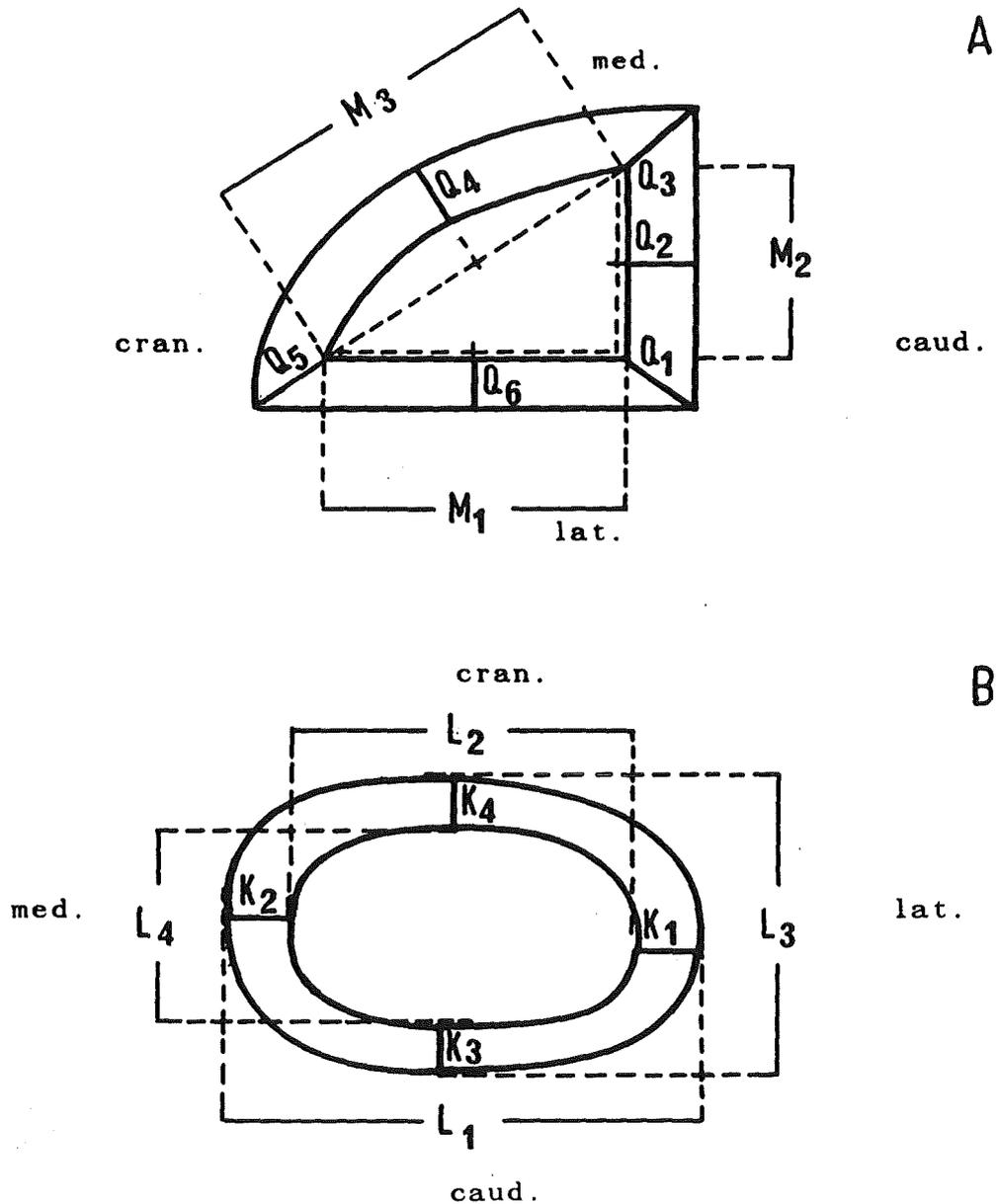


Abb. 4: Bestimmung verschiedener Parameter am Querschnitt von Tibia (A) und Femur (B).  $Q_{1-6}$ : Kompaktaquerdurchmesser an Tibia;  $M_{1-3}$ : Markhöhlendurchmesser an Tibia;  $K_{1-4}$ : Kompaktaquerdurchmesser am Femur;  $L_1$  u.  $3$ : Gesamtdurchmesser am Femur;  $L_2$  u.  $4$ : Markhöhlendurchmesser am Femur.

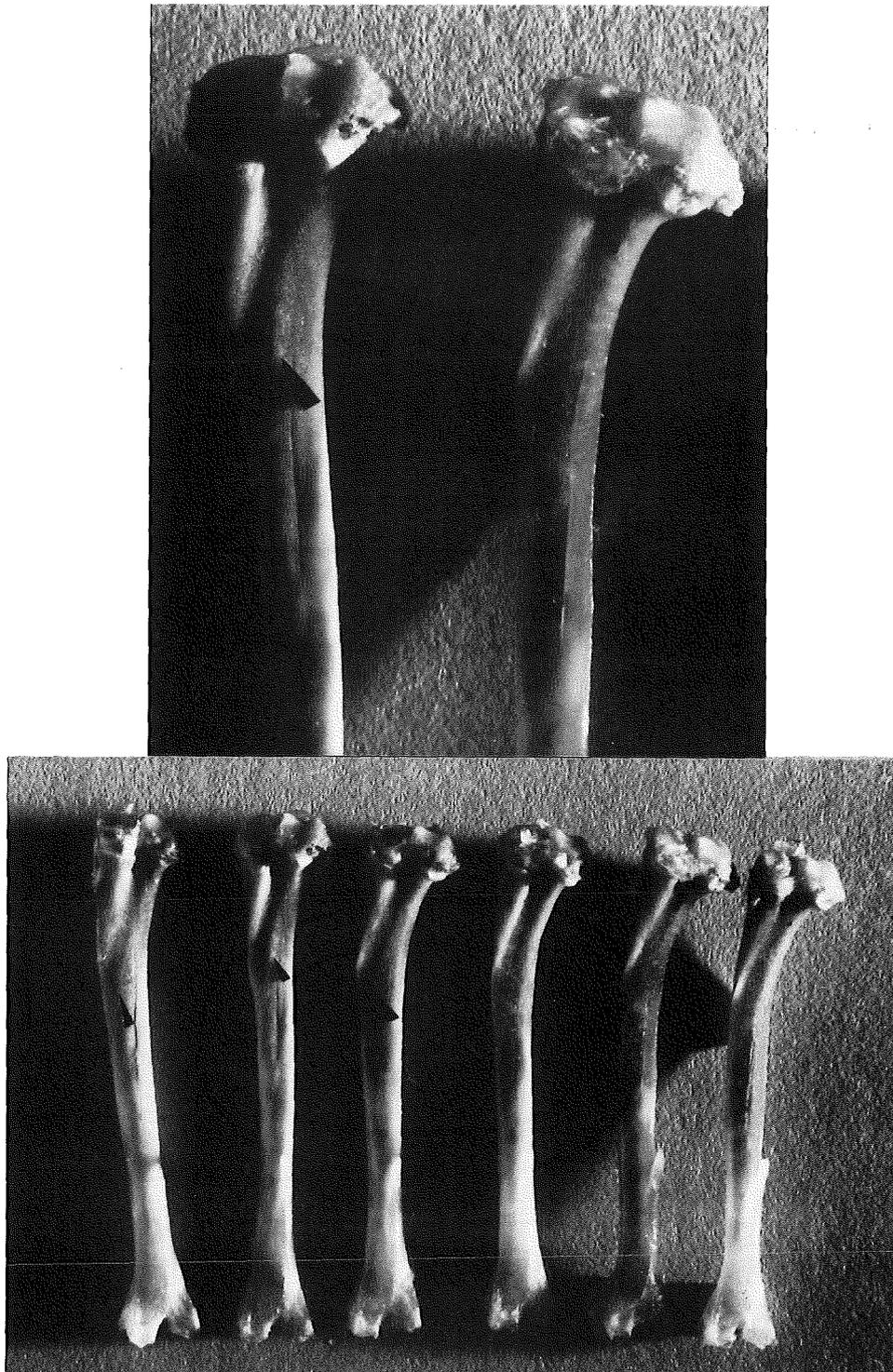


Abb. 5: Fehlen einer Linea poplitea an der caudalen Seite von Tibiae junger männlicher Ratten 16 Wochen nach Inkorporation von 111kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$ , im Vergleich zu entsprechenden Kontrolltieren (Pfeile). Vergrößerung 1,7x und 2,2x

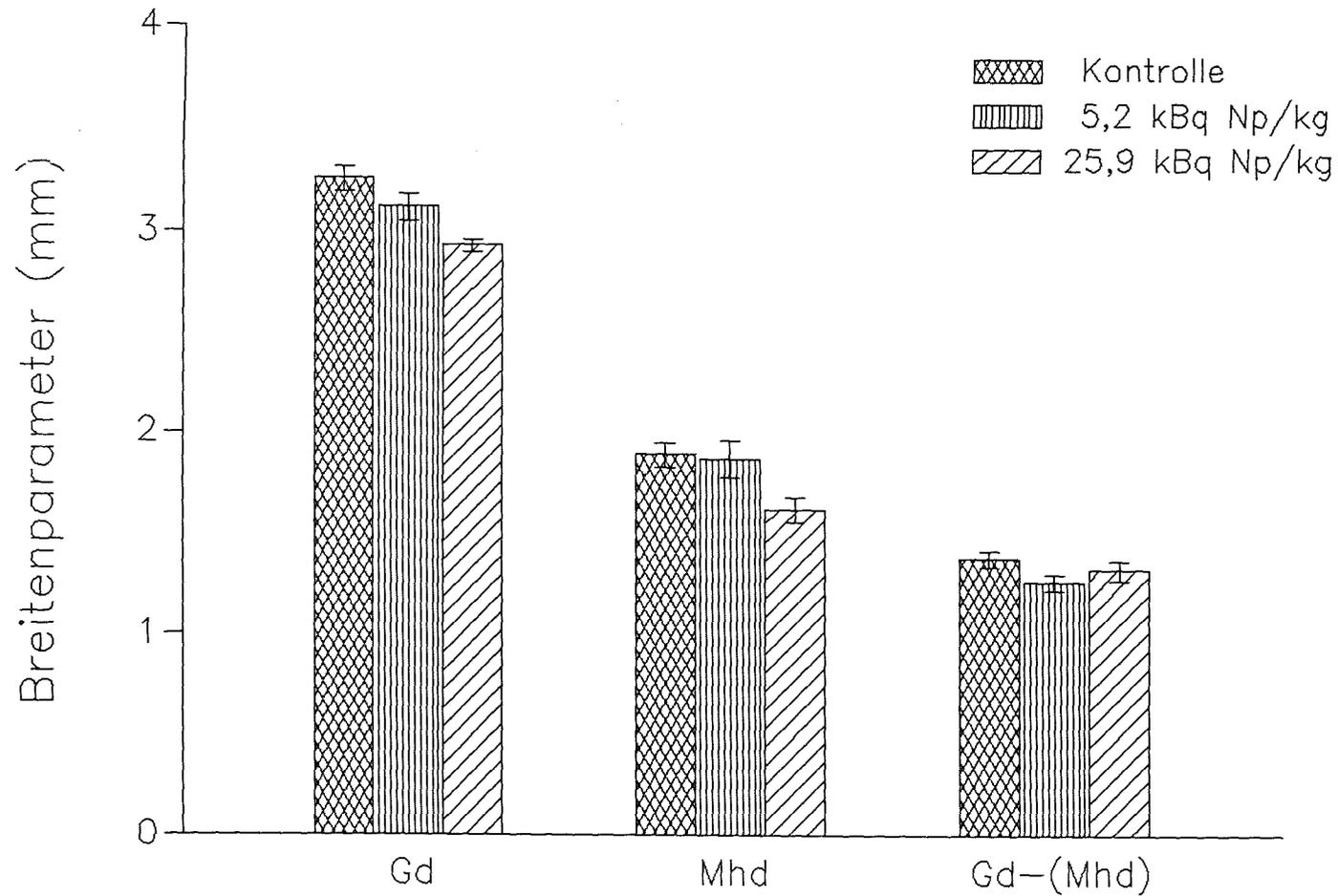


Abb. 6: Breitenparameter am Femur erwachsener weiblicher Ratten; Mittelwert  $\pm$  SEM von 10 Tieren pro Gruppe; Gd: Gesamtbreite; Mhd: Markhoehlen-durchmesser; Gd-(Mhd): Kompaktadicke

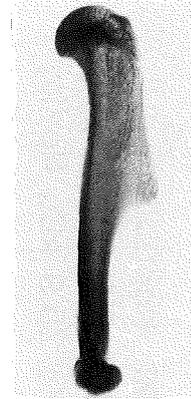
Wo. n. Inj.

4

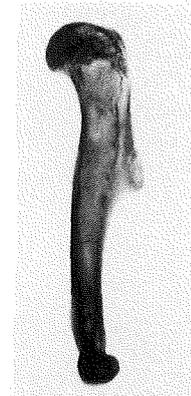
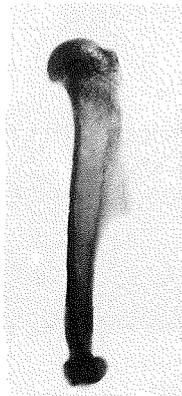
8

16

Kontrolle



111kBq/kg KG



222kBq/kg KG

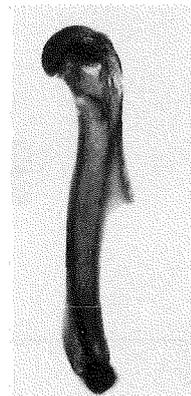
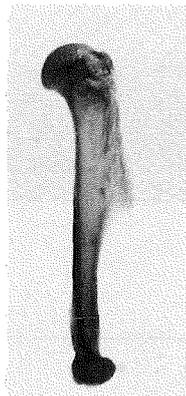


Abb. 7: Vergleichende Darstellung qualitativer Strahlenschäden an Humeri zu verschiedenen Sektionszeitpunkten und Dosierungen von  $^{239}\text{Pu}$  bei jung-erwachsenen männlichen Ratten. Röntgenaufnahmen 1,6x

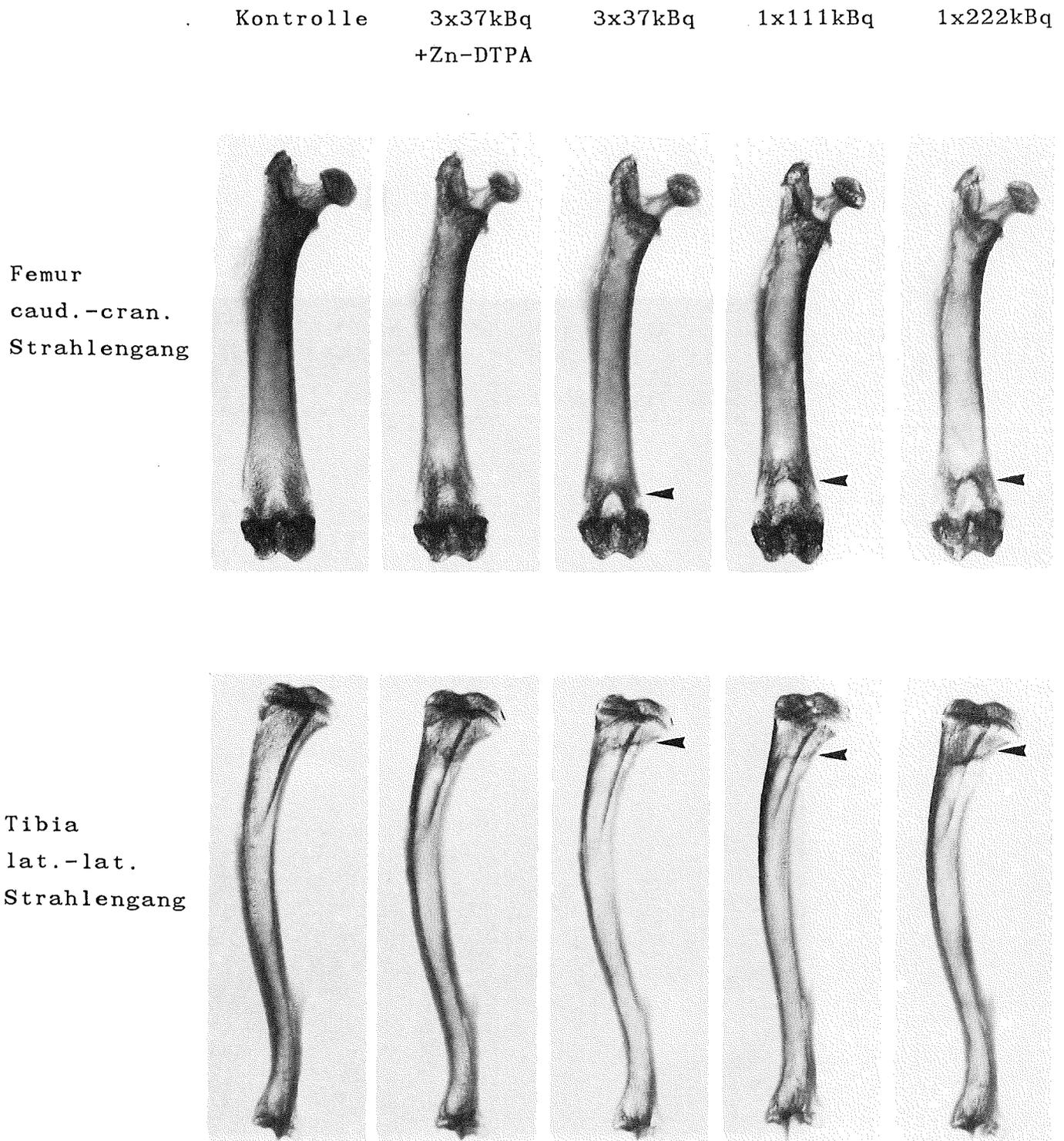


Abb. 8: "Brückenbildung" sechzehn Wochen nach Injektion verschiedener Dosierungen  $^{239}\text{Pu}/\text{kg}$  KG und einem Therapieversuch mit Chelatbildner an Femur und Tibia jung-erwachsener männlicher Ratten (Pfeile). Röntgenaufnahmen 1,8x

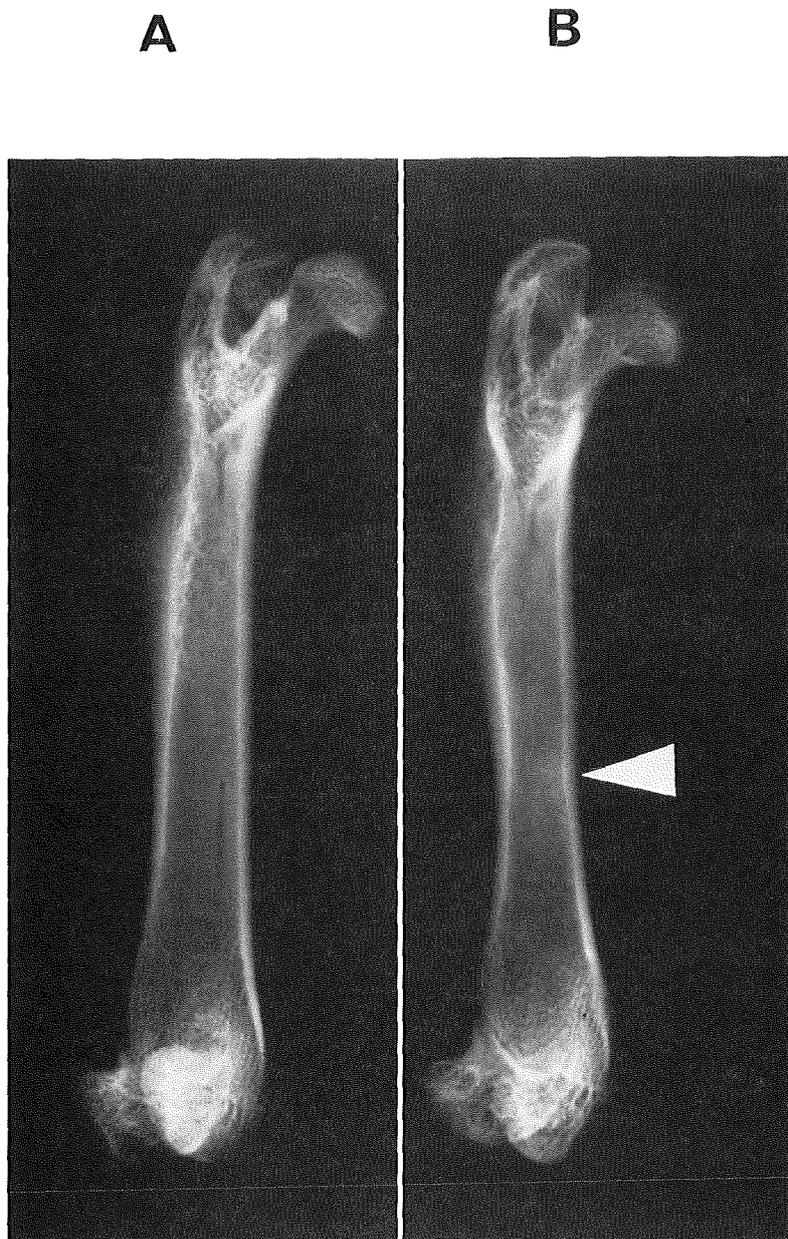


Abb. 9: "Flaschenhalsbildung" am Femurschaft (Pfeil) einer jungen männlichen Ratte sechzehn Wochen nach Injektion von  $111\text{kBq/kg}$   $\text{KG } ^{239}\text{Pu}$  (B); Kontrolle (A). Röntgenaufnahmen  $3,1\times$

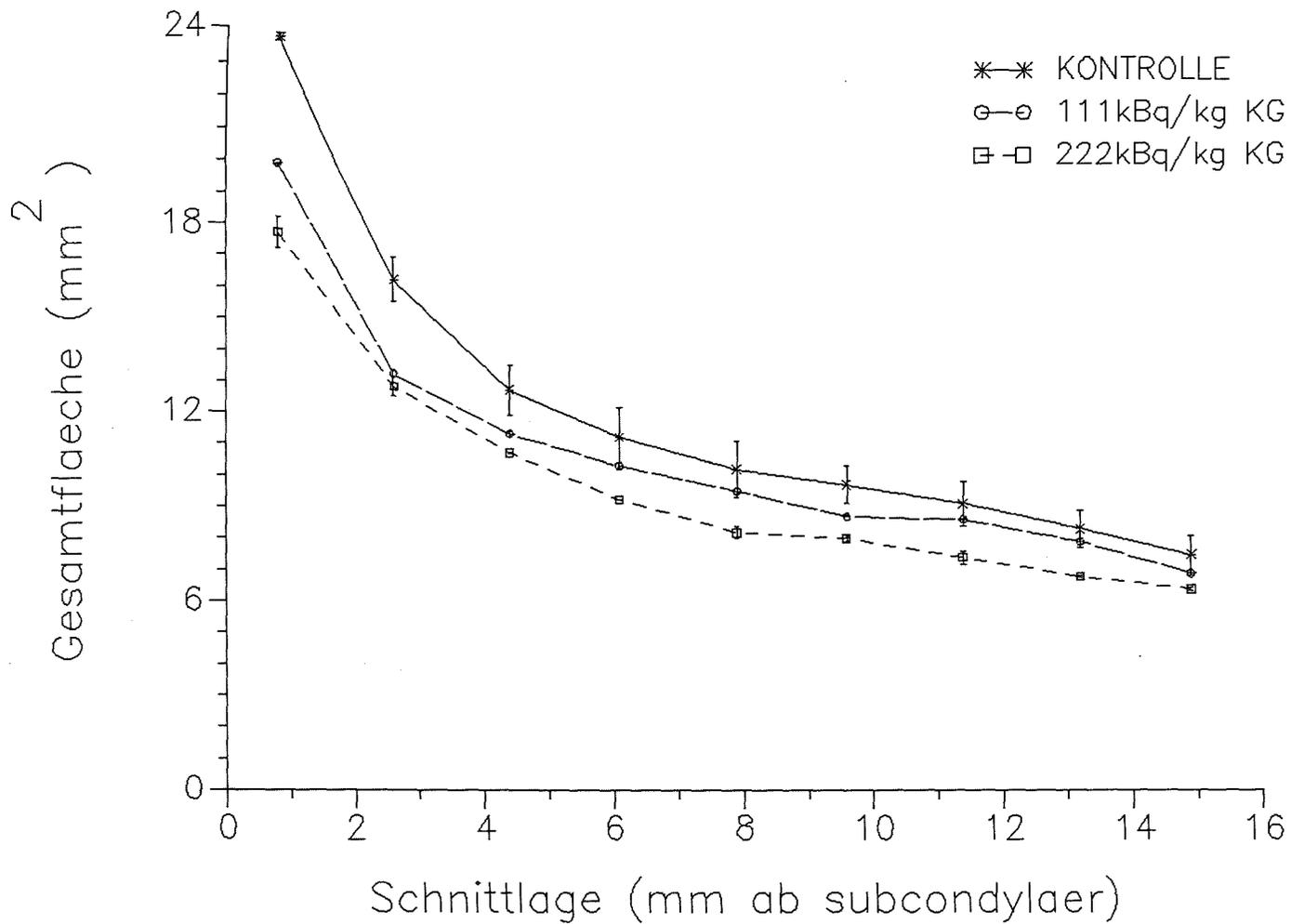
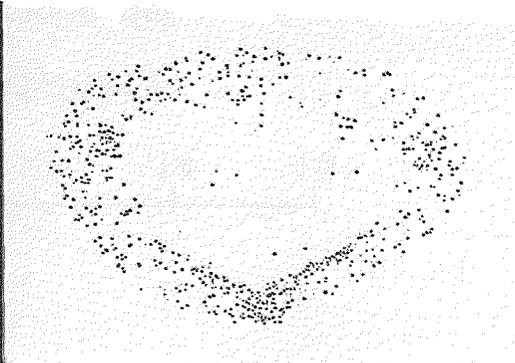
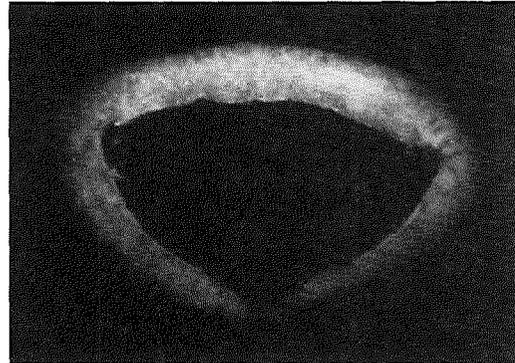
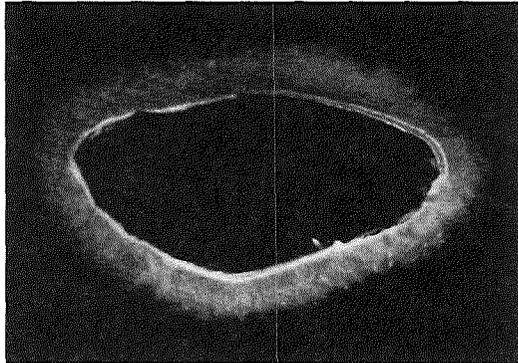


Abb. 10: Einfluss von Pu-239 auf die Gesamtflaeche der Querschnitte durch Tibia (jung-erwachs. Ratten) entlang der Knochenlaenge 8 Wochen nach Injektion; Mittelwert +/- SEM von 2 Tieren

Kontrolle

1x222kBq/kg KG

Femur



Tibia

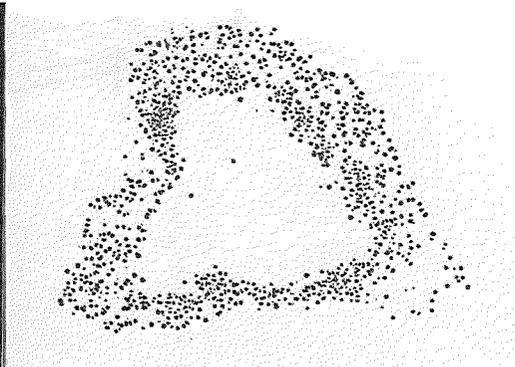
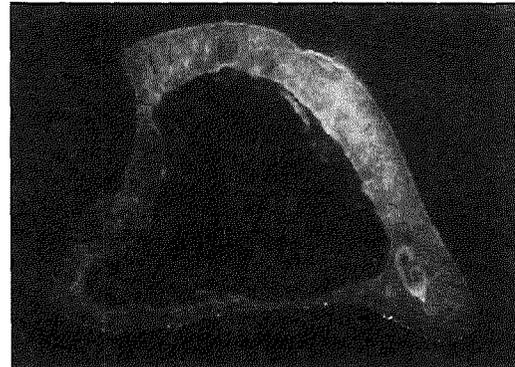


Abb. 11: Starke Deformation der Kompaktawandung am Schaft langer Röhrenknochen jung-erwach-sener männlicher Ratten nach Inkorporation von  $^{239}\text{Pu}$ . Fluoreszenz- und Autoradiogra-phiaufnahmen 11,4x

Kontrolle

1x111kBq/kg KG

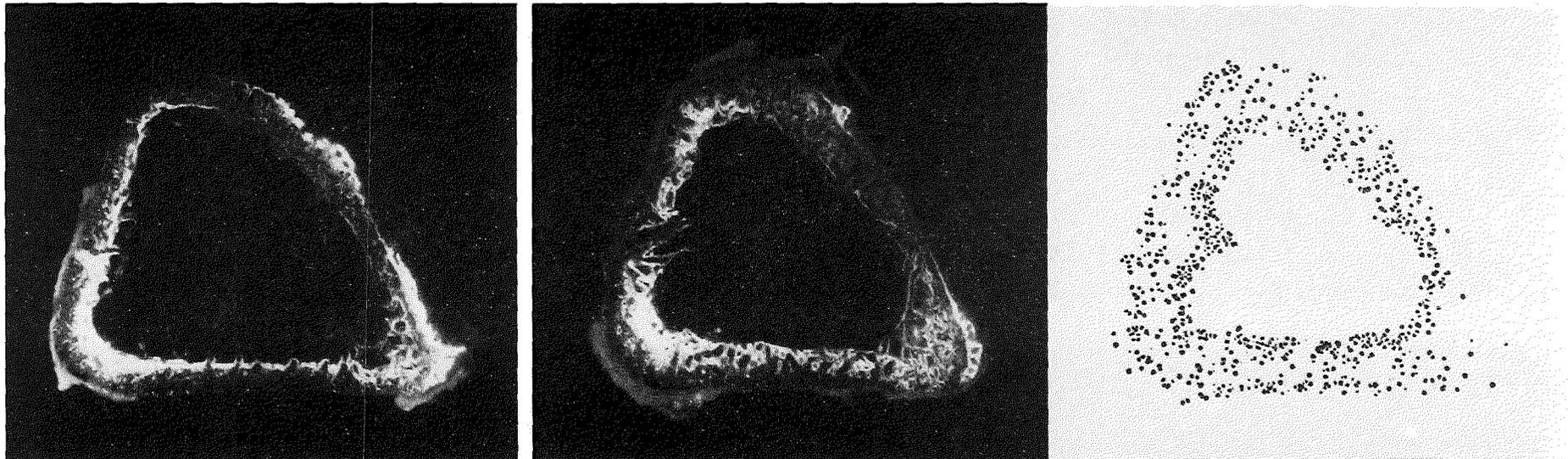
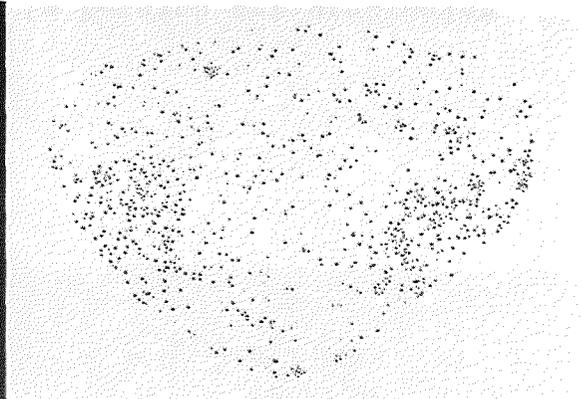
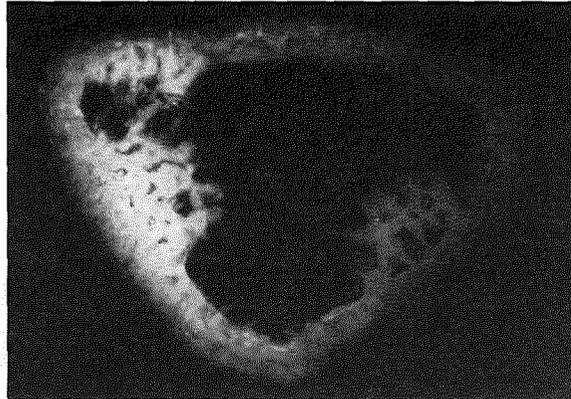
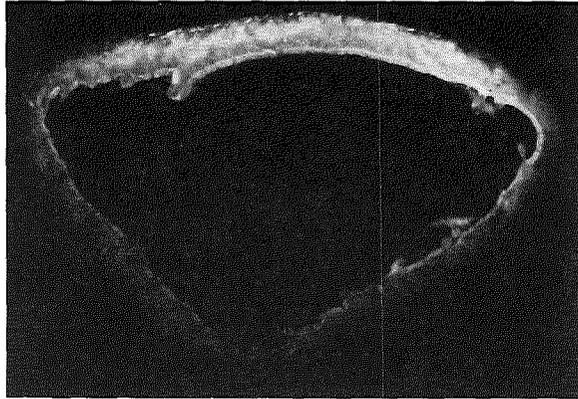


Abb. 12: Vermehrt endostale markhöhleneinengende Knochenbildung im Bereich der proximalen Tibiametaphyse einer jungen männlichen Ratte zwei Wochen nach Verabfolgung von  $^{239}\text{Pu}$ . Fluoreszenzaufnahmen und Autoradiographie 15,3x

Kontrolle

1x222kBq/kg KG

Femur



Tibia

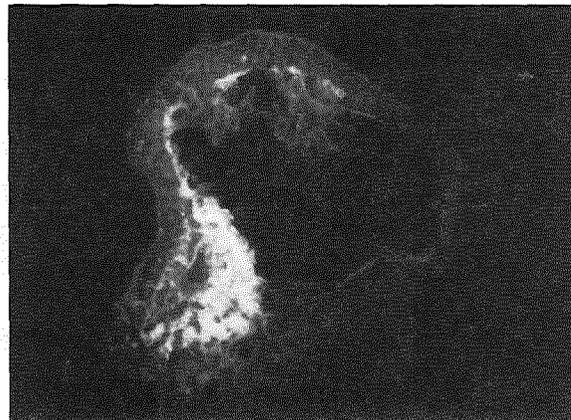
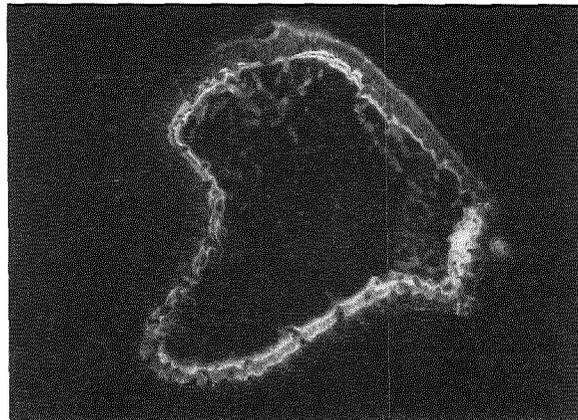
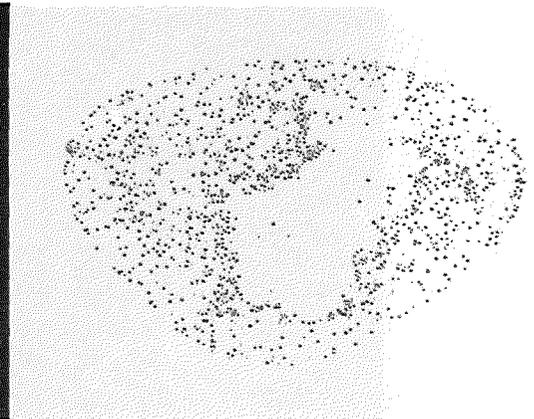
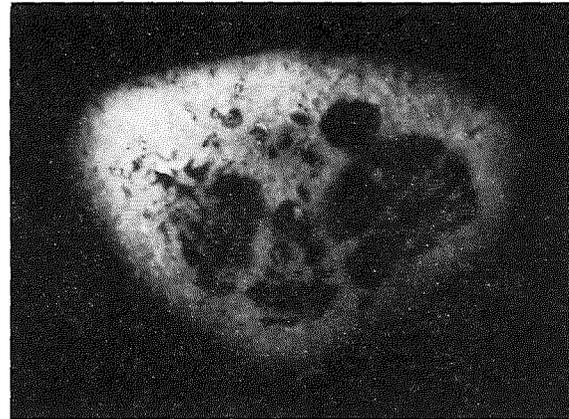
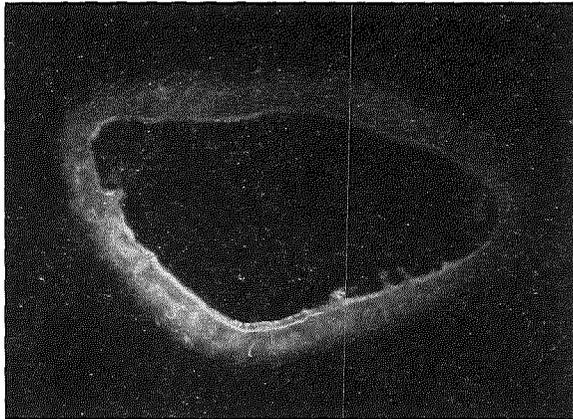


Abb. 13: Starke trabekulär-endostale atypische Knochenzubildung ("Stützpfähler") an der Metaphyse calceinmarkierter Querschnitte von dist. Femur und prox. Tibia jung- erwachsener männlicher Ratten sechzehn Wochen nach Verabfolgung von  $^{222}\text{Rn}$ . Vergrößerung 7,5x

Kontrolle

1x222kBq/kg KG

Femur



Tibia

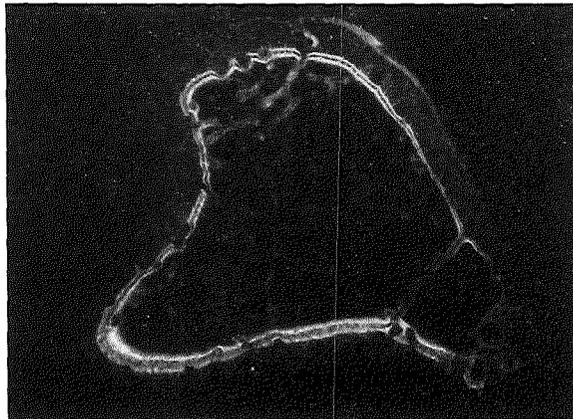


Abb. 14: Schnitt durch Knochenbrücke calceinmarkierter Querschnitte von distalem Femur und proximaler Tibia jung-erwachsener männlicher Ratten sechzehn Wochen nach Inkorporation von  $^{239}\text{Pu}$ . Vergrößerung 10,1x

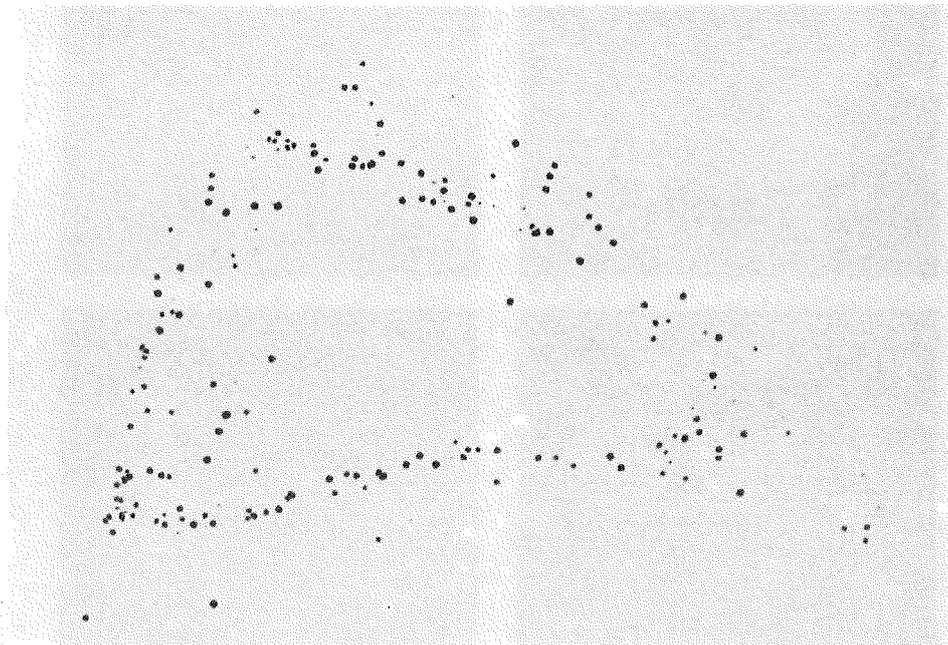
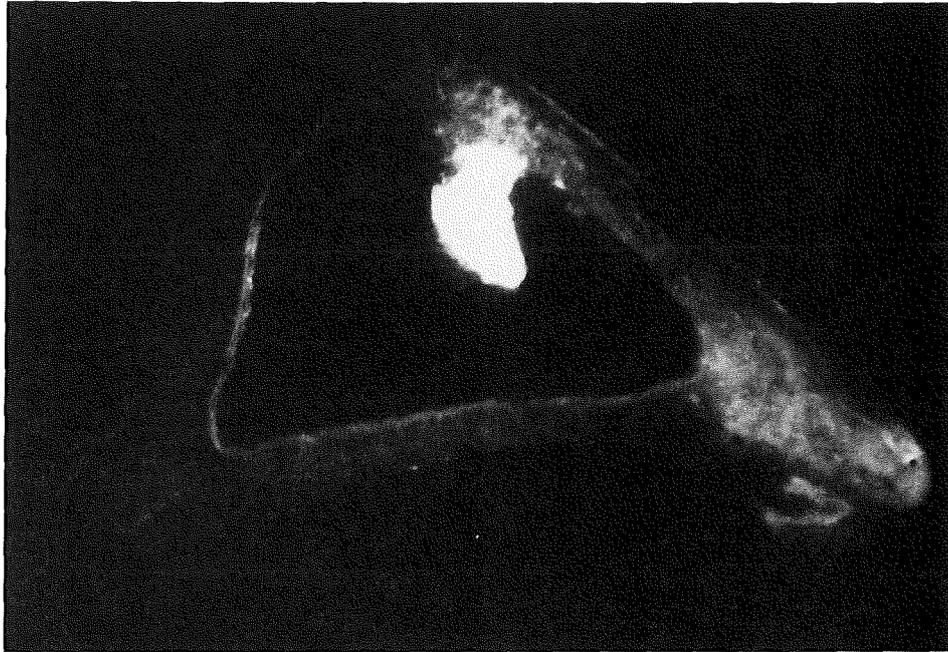
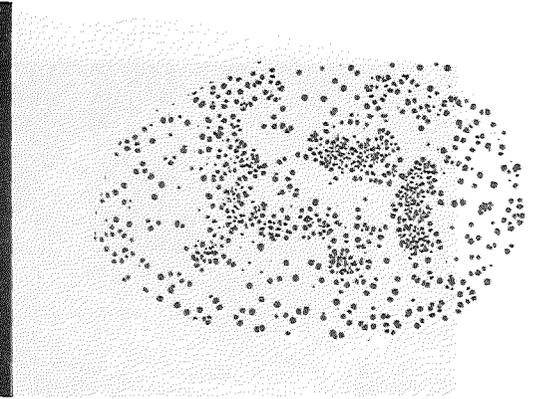
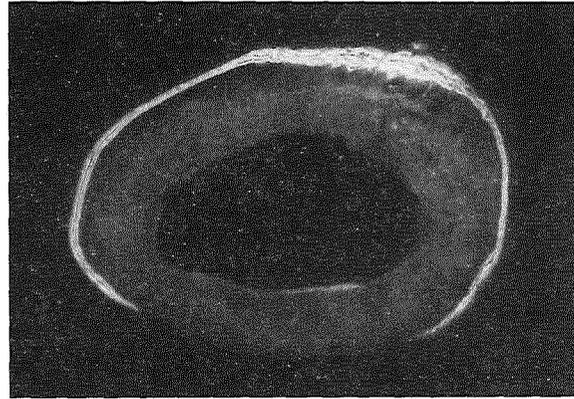
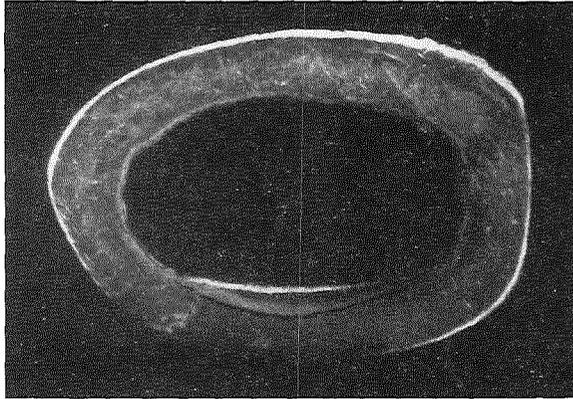


Abb. 15: Calceinmarkierte zapfenartige endostale Zubildung am mittleren Tibiaschaft einer jung-erwachsenen Ratte sechzehn Wochen nach Inkorporation von 222kBq/kg KG  $^{239}\text{Pu}$ . Vergrößerung 23,9x

Kontrolle

1x111kBq/kg KG

Femur 16 Wo.  
p. Inj. von  
 $^{238}\text{Pu}$



Tibia 8 Wo.  
p. Inj. von  
 $^{239}\text{Pu}$

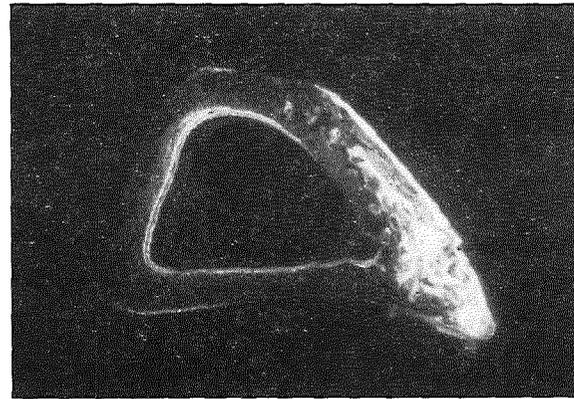


Abb. 16: Periostale Hyperplasie der Kompaktawandung caud.-med. am Querschnitt einer Femurdiaphyse bzw. med.-cran. einer proximalen Tibiadiaphyse junger männlicher Ratten nach Inkorporation von Plutonium. Fluoreszenz- und Autoradiographieaufnahmen 14x

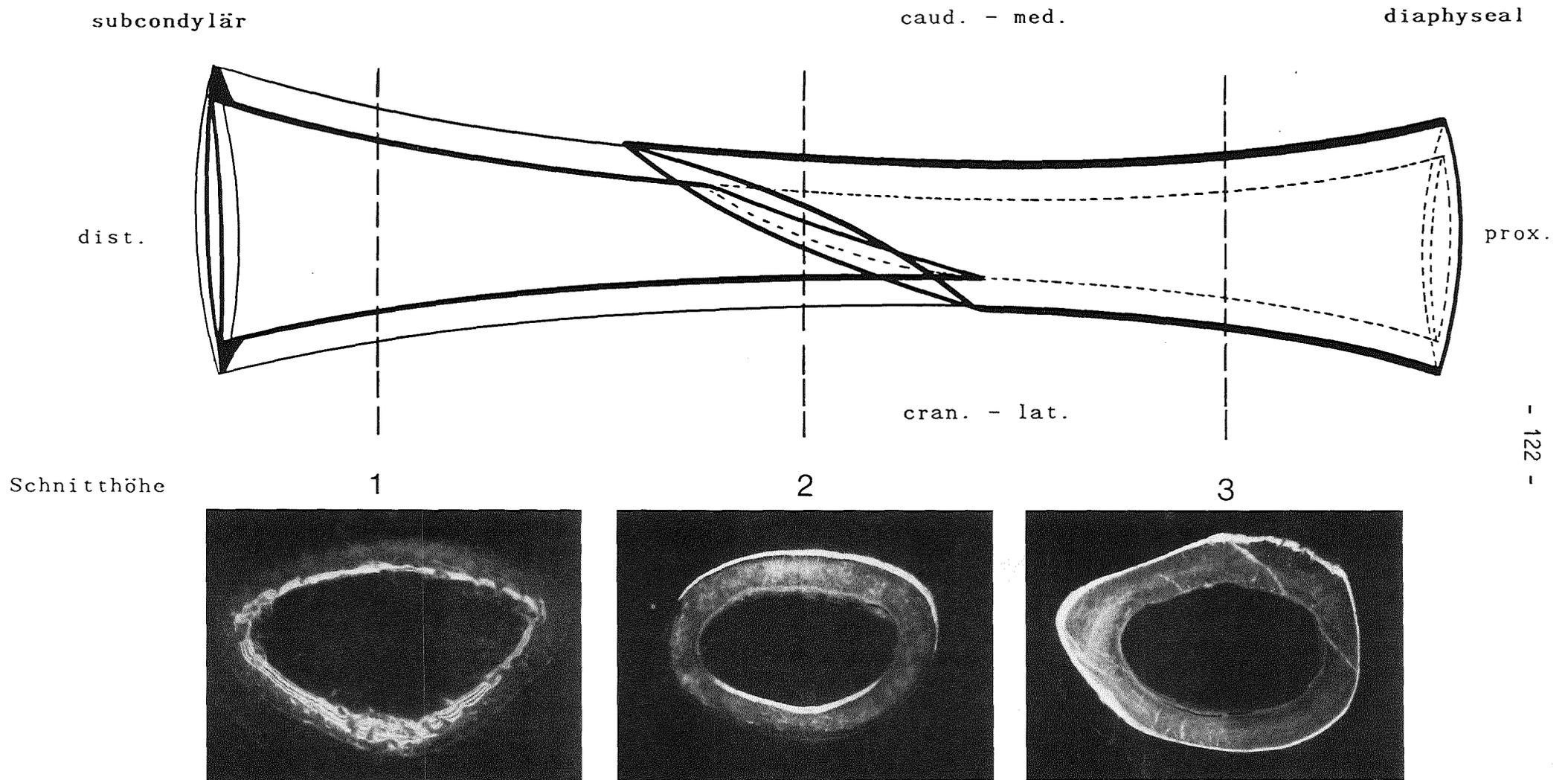
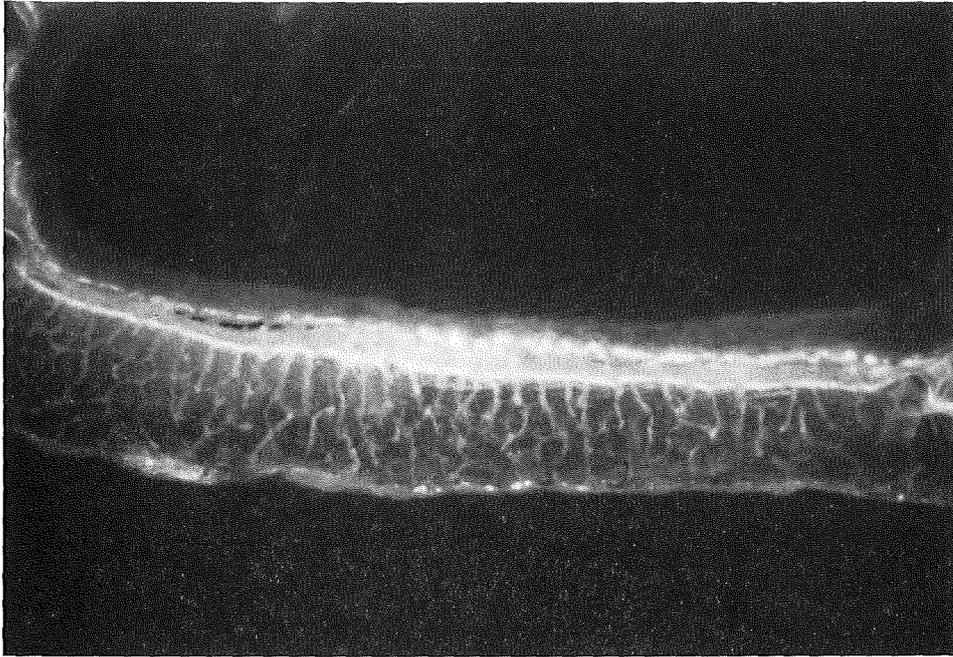
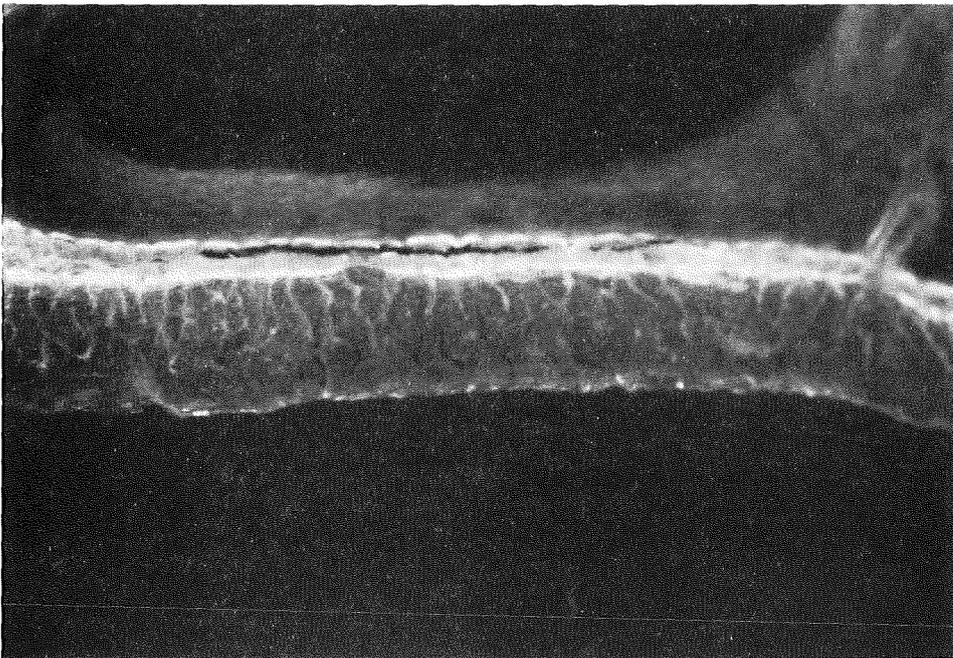


Abb. 17: Modell des Zusammenspiels zwischen endostaler und periostaler Apposition am Femurschaft einer Ratte, mit Beispielen calceinmarkierter Querschnitte aus drei verschiedenen Schnitthöhen. Fluoreszenzaufnahmen 2,3x



**A**



**B**

Abb. 18: Mangelnde Fluoreszenzzeichnung der Gefäßkanäle im äußeren Drittel der metaphysealen Tibiakompakta einer jungen männlichen Ratte acht Wochen nach Injektion von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  (B); mit entsprechendem Kontrolltier (A). Vergrößerung 59,9x

Kontrolle

1x111kBq/kg KG

1x222kBq/kg KG

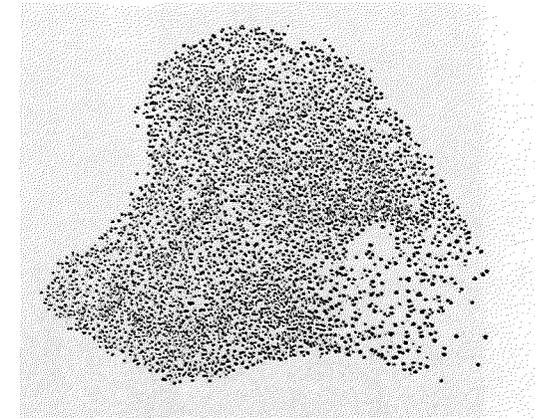
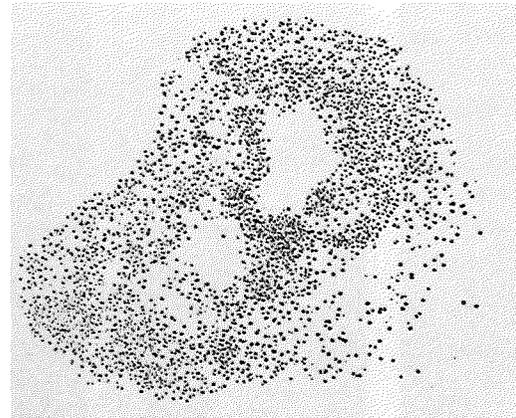
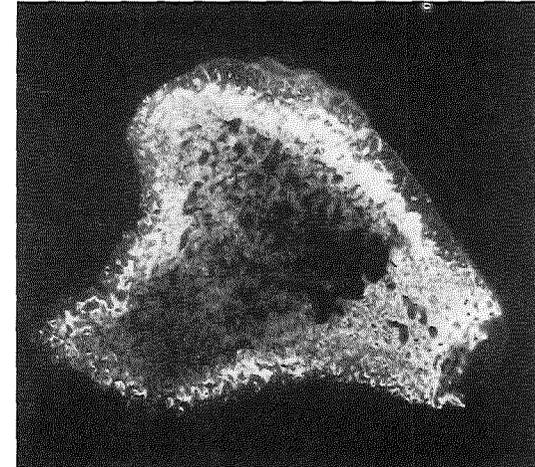
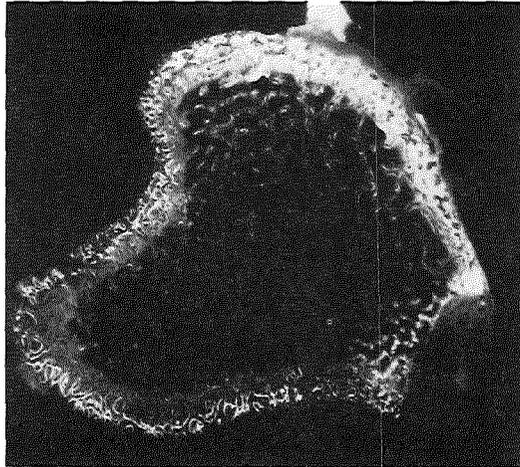


Abb. 19: Trabekularisation mit Autoradiographie am ersten subcondylären Querschnitt prox. Tibiae jung-erwachsener männlicher Ratten vier Wochen ohne und nach Inkorporation verschiedener Dosierungen <sup>239</sup>Pu. Vergrößerung 15,5x

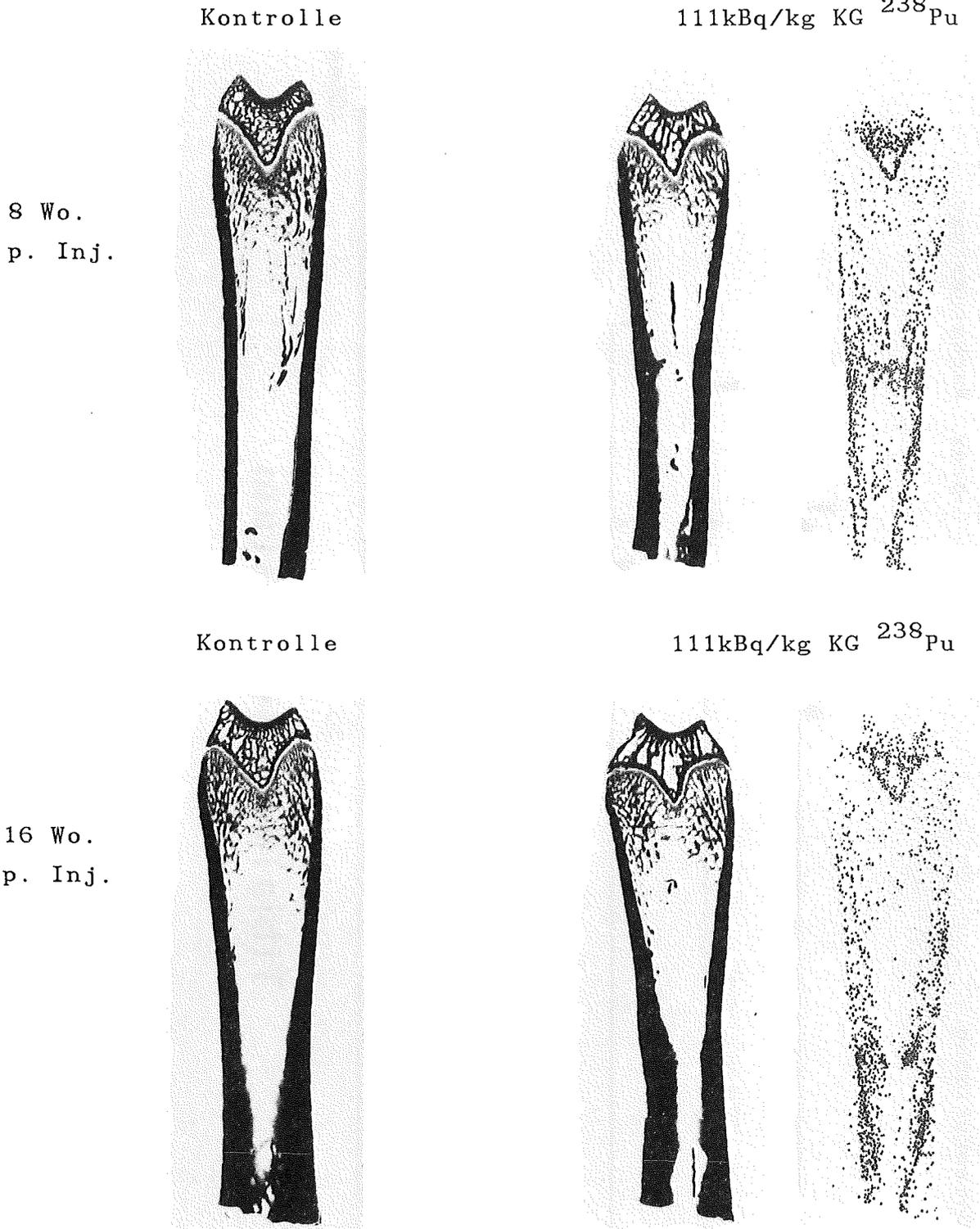


Abb. 20: Vergleichende Knochenstruktur mit Aktivitätsverteilung an Längsschnitten von Femora junger männlicher Ratten zu verschiedenen Zeitpunkten mit und ohne Verabfolgung von Plutonium. Mikroradiographie und Autoradiographie 3,4x

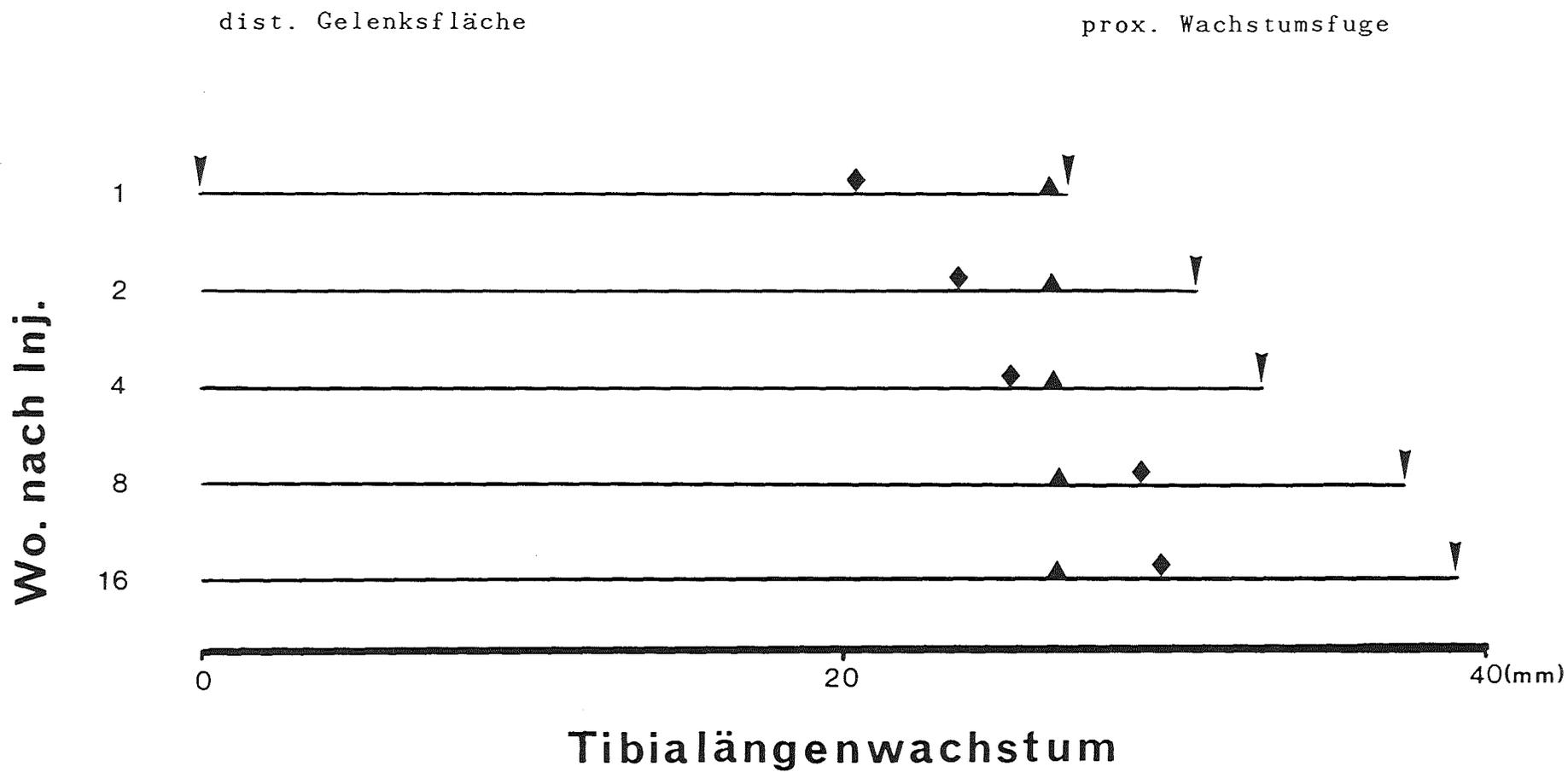


Abb. 21: Beziehung der "heißen Zone" (▲) zur Verschiebung der endostalen-/periostalen (◆) Appositionsgleichheit an der Tibia nach Injektion von  $1 \times 10^{11} \text{ kBq/kg KG } ^{239}\text{Pu}$  im Laufe des Versuchszeitraumes der jungen Tiere. Mittelwert jeweils aus zwei Tieren pro Gruppe.

Schnittthöhe

2

6

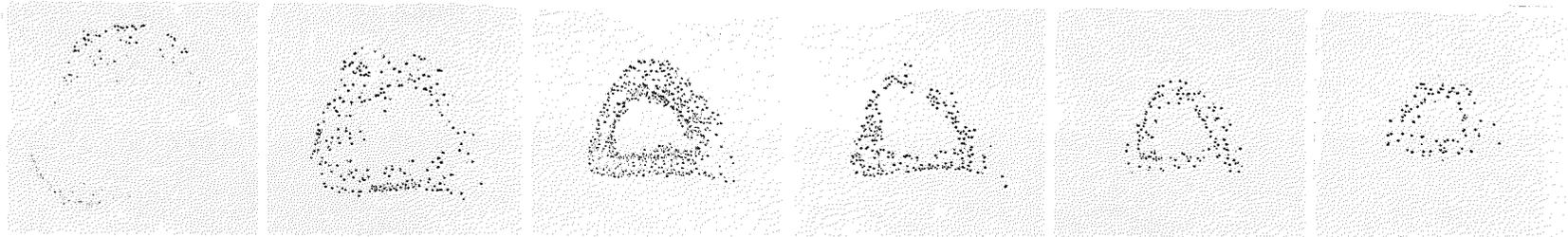
12

18

26

34

junge Ratten.  
4 Wo.n.Inj.



jung-erw. Ratten  
4 Wo.n.Inj.



8 Wo.n.Inj.



Abb. 22: Verteilungsbild von  $^{239}\text{Pu}$  an mehreren Serienquerschnitten (ab subcondylär) von Tibiae männlicher Ratten verschiedenen Alters und verschiedener Zeitpunkte nach Verabfolgung von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG}$ ; eine Schnittthöhe entspricht  $0,44 \mu\text{m}$ ; Makrofol-Kernspurautoradiographie  $6,0 \times$

Schnitthöhe

8

12

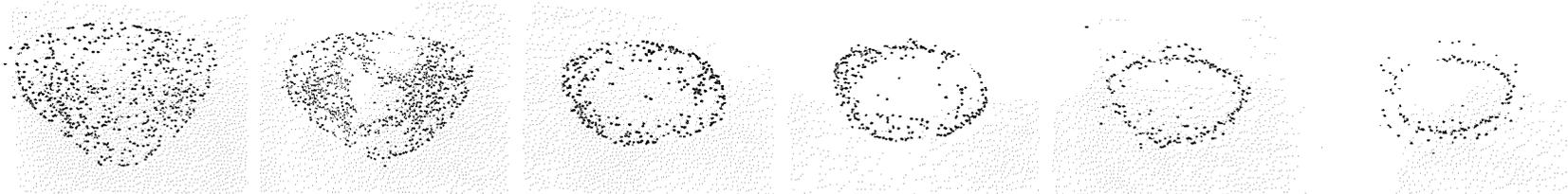
18

22

26

32

Femur



Tibia



Humerus

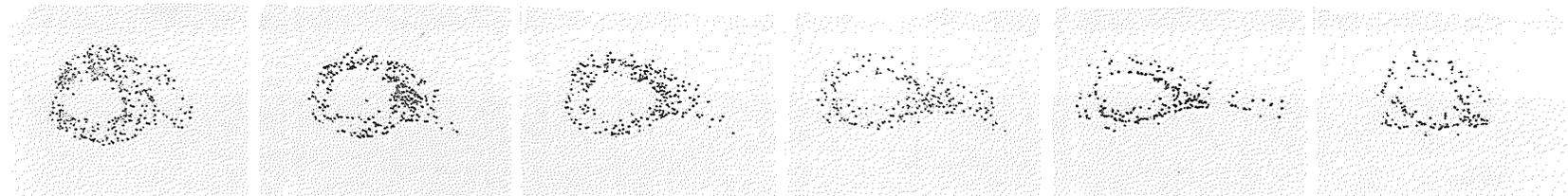
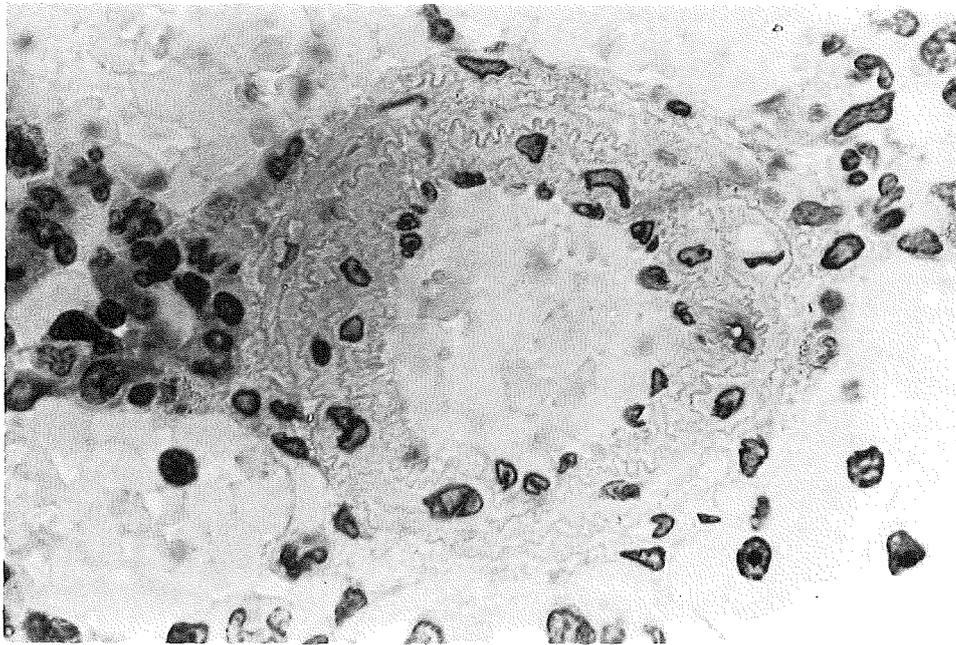
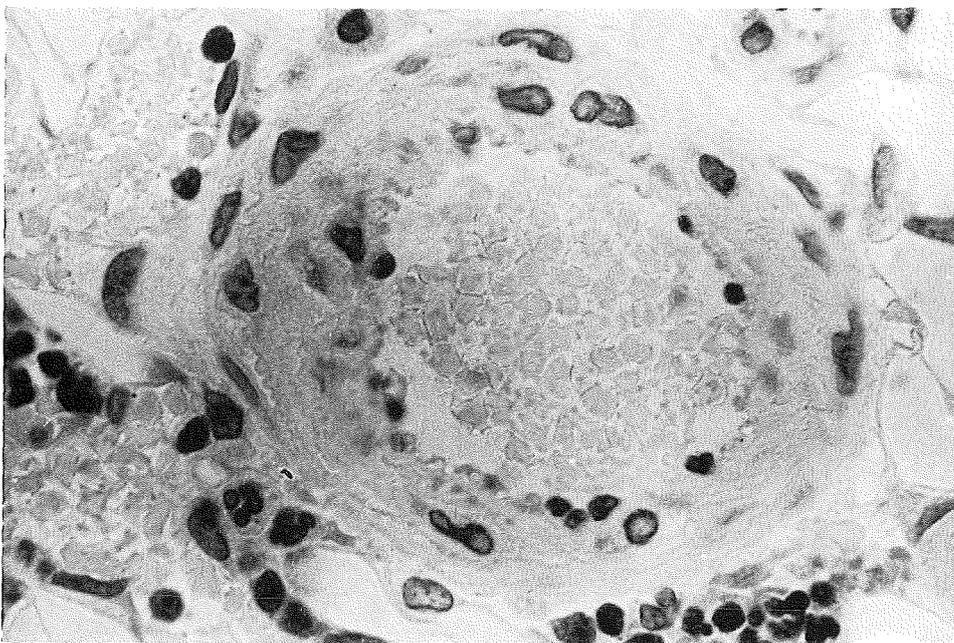


Abb. 23: Verteilungsbild von  $^{239}\text{Pu}$  an mehreren Serienquerschnitten (ab subcondylär) langer Röhrenknochen jung-erwachsener männlicher Ratten sechzehn Wochen nach Injektion von  $1 \times 222 \text{ kBq/kg KG}$ ; eine Schnitthöhe entspricht  $0,44 \mu\text{m}$ ; Makrofol-Kernspurautoradiographie  $4,8 \times$

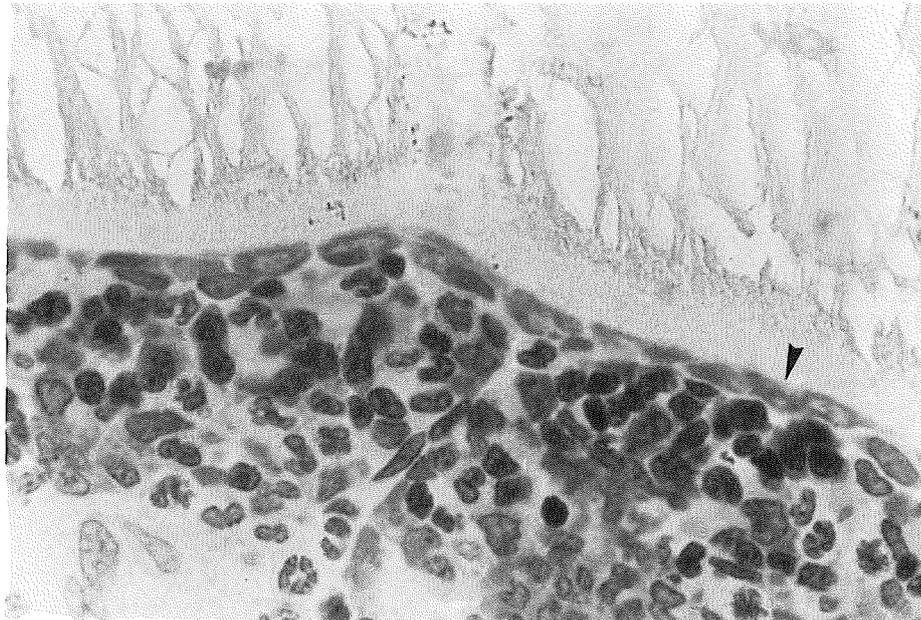


A

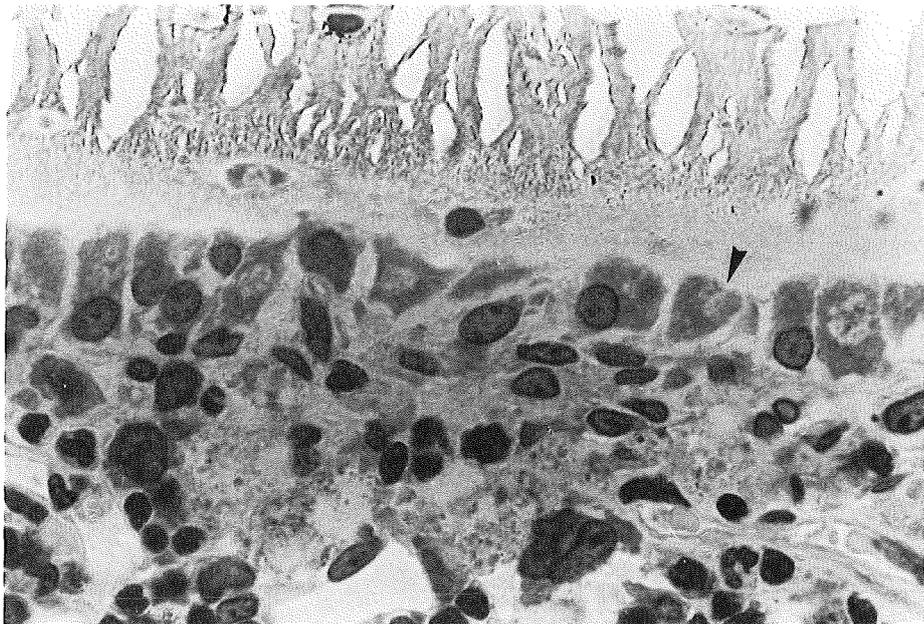


B

Abb. 24: Aufspaltung und teilweiser Untergang der Lamina elastica interna bzw. externa und Fibrosierung am Querschnitt einer Markhöhlenarterie vom Os femoris acht Wochen nach Injektion von  $1 \times 111 \text{ kBq/kg KG } ^{238}\text{Pu}$  (B), mit entsprechendem Kontrolltier (A). HE-Färbung 910x

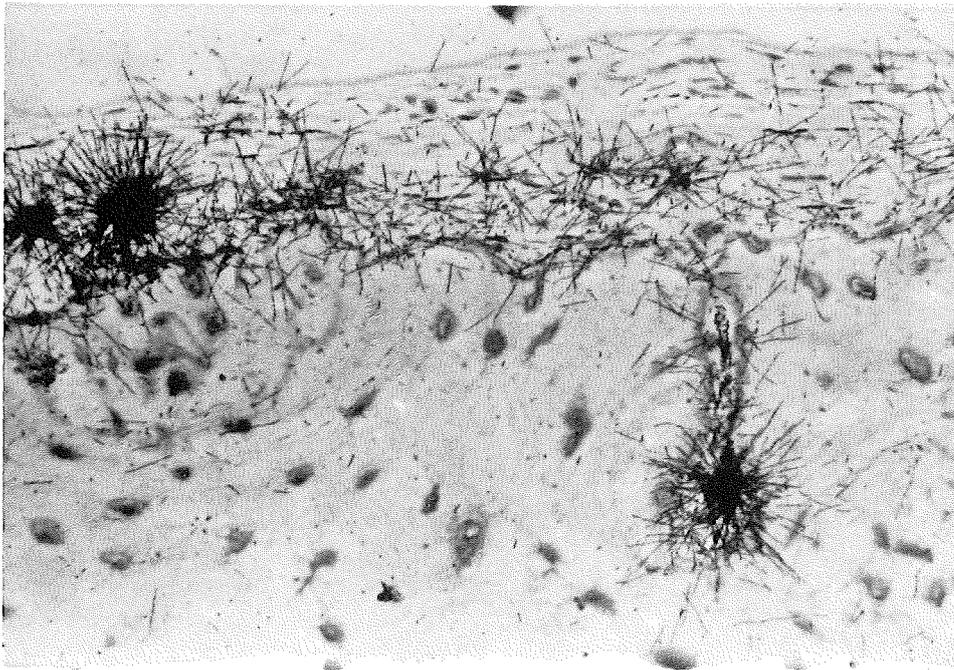


**A**

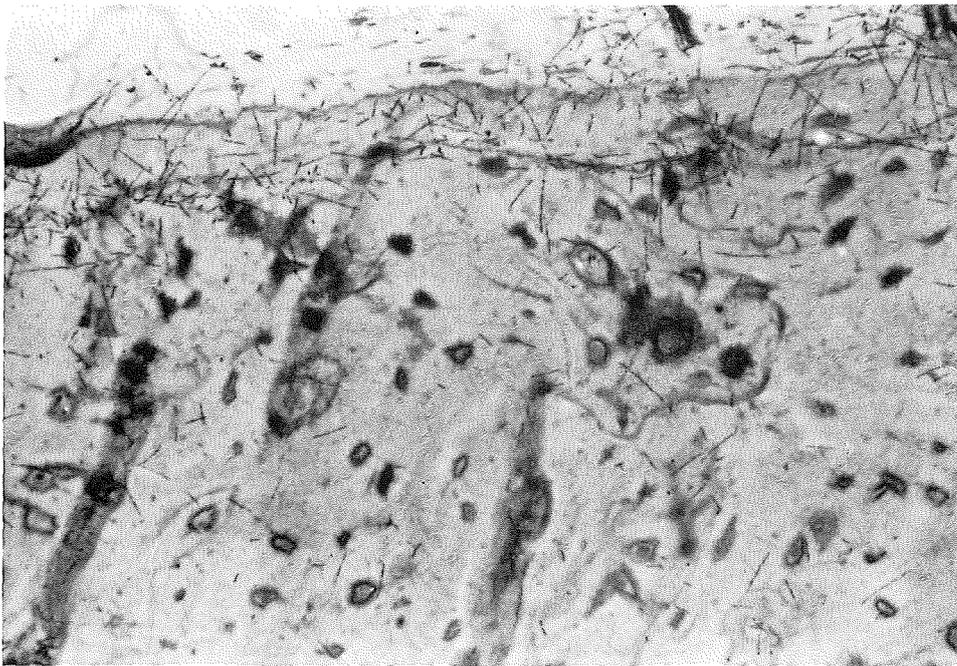


**B**

Abb. 25: Hypertrophie bei gleichzeitiger Reduzierung endostaler Osteoblasten in Höhe des "heißen Bandes" vom Femur einer jungen männlichen Ratte acht Wochen nach Injektion von  $1 \times 111 \text{KB/kg KG } ^{238}\text{Pu}$  (B), mit entsprechender Kontrolle (A). HE 910x

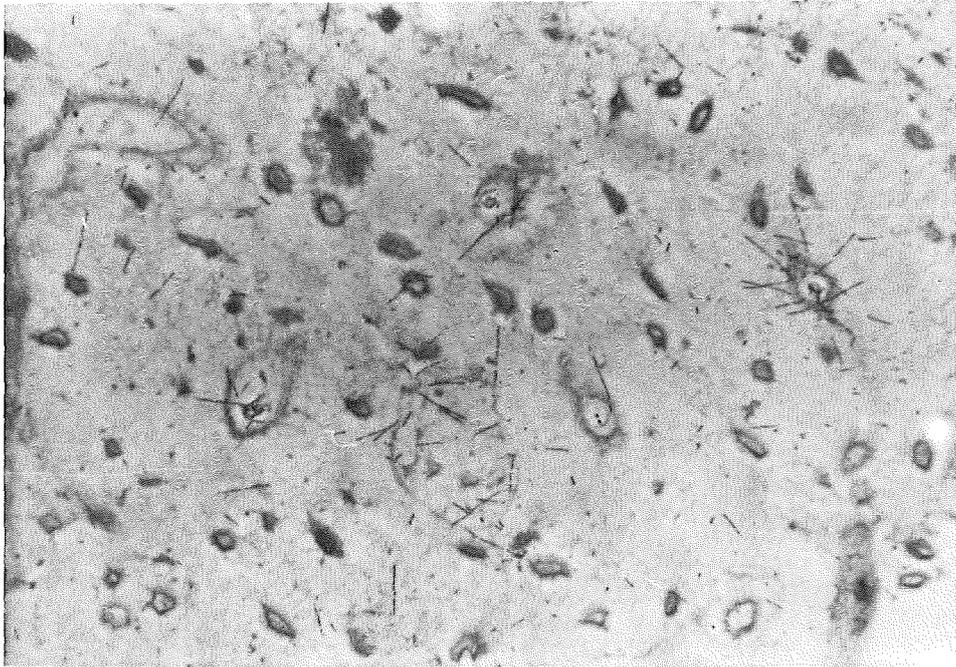


A

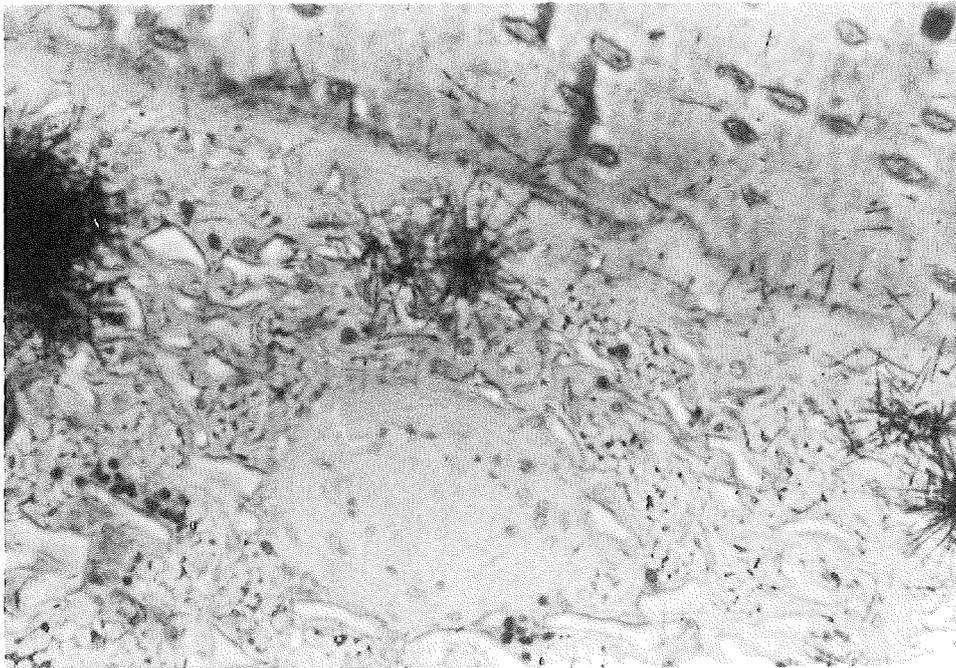


B

Abb. 26: Histoautoradiographie am Femurquerschnitt im Bereich der heißen Zone acht Wochen nach Injektion von 111kBq/kg KG  $^{238}\text{Pu}$ . A) Aktivitätssaum im Periost und entlang der Oberfläche eines Gefäßkanales; B) Begrabene "heiße Linie" in der Kompakta durch periostalen Knochenanbau. Vergrößerung 347x



**A**



**B**

Abb. 27: Histoautoradiographie am Femurquerschnitt an der "heißen Zone" acht Wochen nach Injektion von 111kBq/kg KG  $^{238}\text{Pu}$ . A) Spuren von Plutonium über Gefäßkanälen der Kompakta, Osteozytenlakunen und vereinzelt über mineralisiertem Knochen; B) Aktivitätssterne im Knochenmarksgewebe in Nähe der endostalen Osteoblasten. Vergrößerung 347x

Tage nach  
i.m. Inj.

7

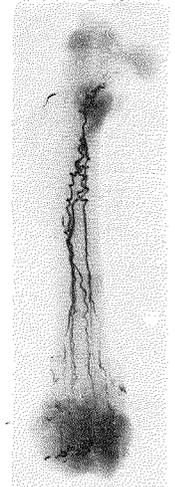
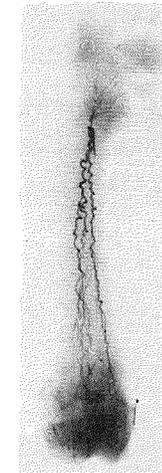
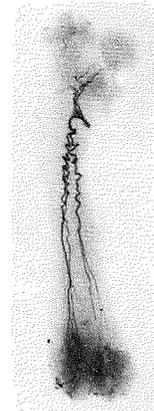
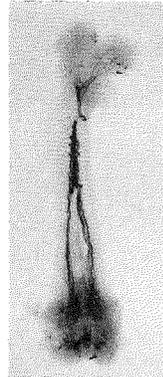
14

28

56

112

Kontrolle



1x111kBq/kg

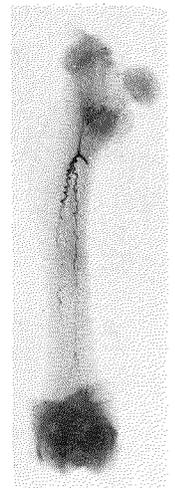
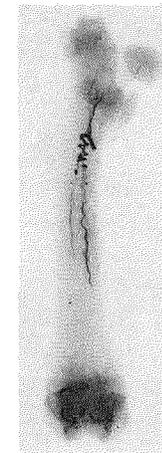
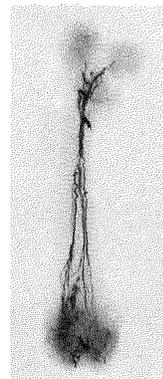


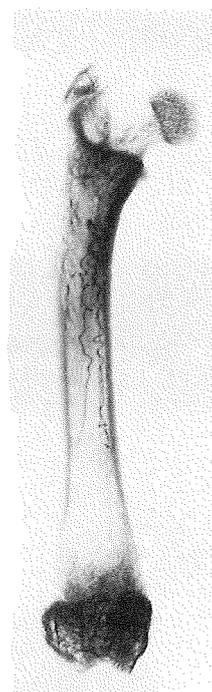
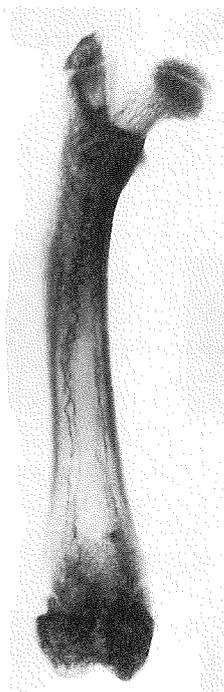
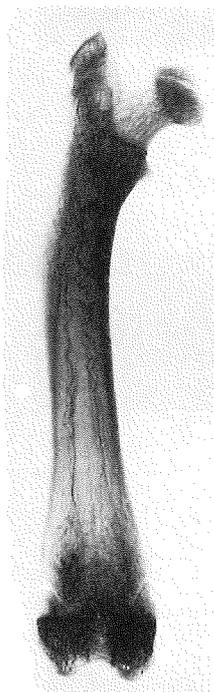
Abb. 28: Entwicklung des arteriellen Gefäßsystems mit Kontrastmittel perfundierter Femora junger männlicher Ratten über mehrere Tage ohne und nach Verabfolgung von  $^{239}\text{Pu}$ . Röntgenaufnahmen 1,55x

Kontrolle

1x37kBq/kg KG  $^{238}\text{Pu}$

1x111kBq/kg KG  $^{238}\text{Pu}$

8 Wo.  
p. Inj.



1x37kBq/kg KG  $^{237}\text{Np}$

16 Wo.  
p. Inj.

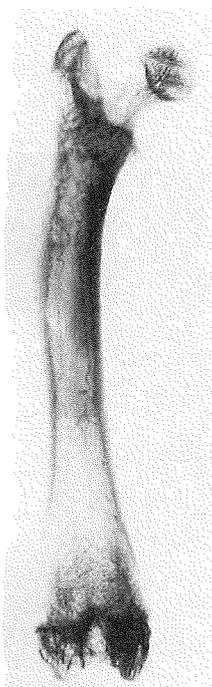
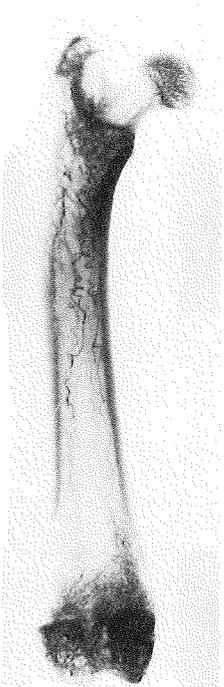
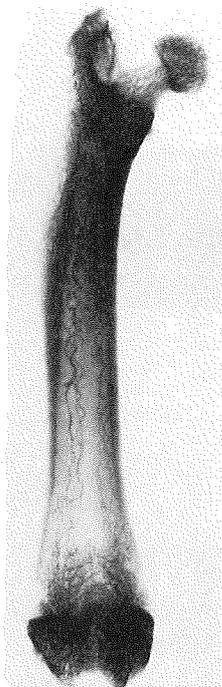
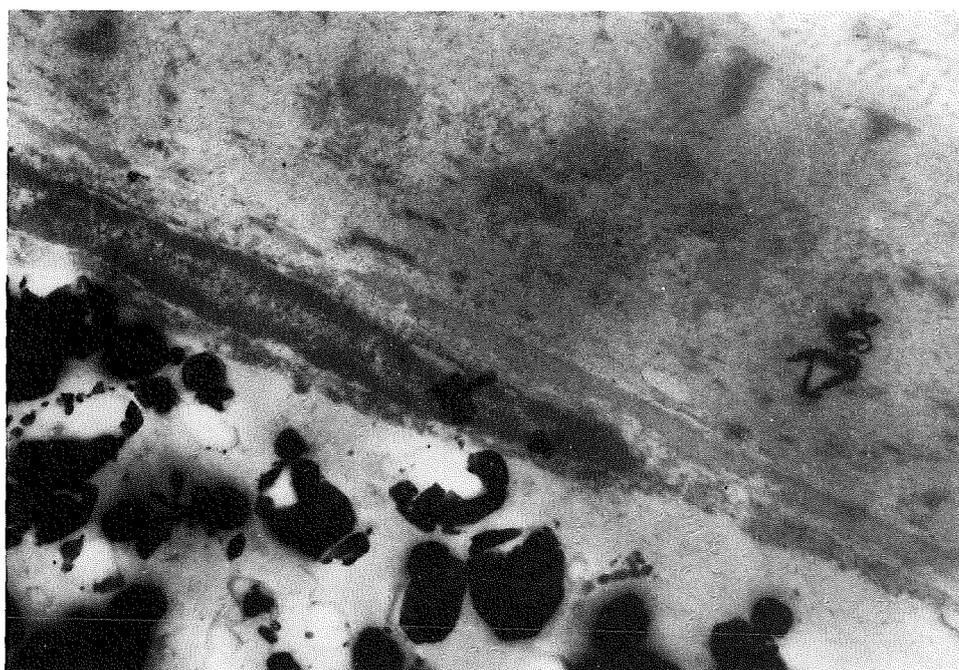


Abb. 29: Markhöhlenarterien dargestellt an Femora nach Kontrastmittelperfusion junger männlicher Ratten zu zwei Zeitpunkten mit und ohne Injektion von Aktiniden, Röntgenaufnahmen 2,1x

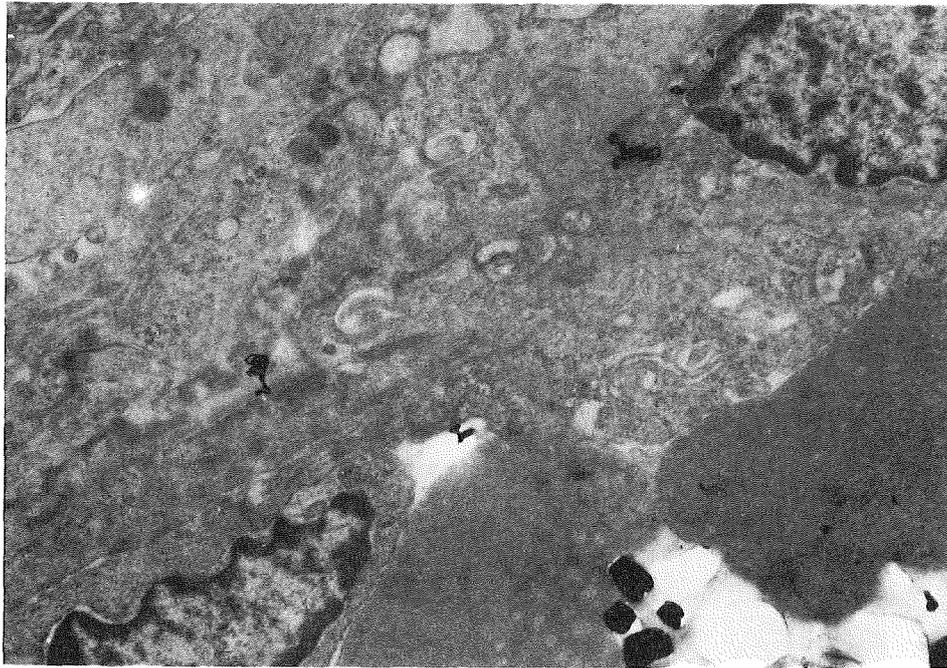


A

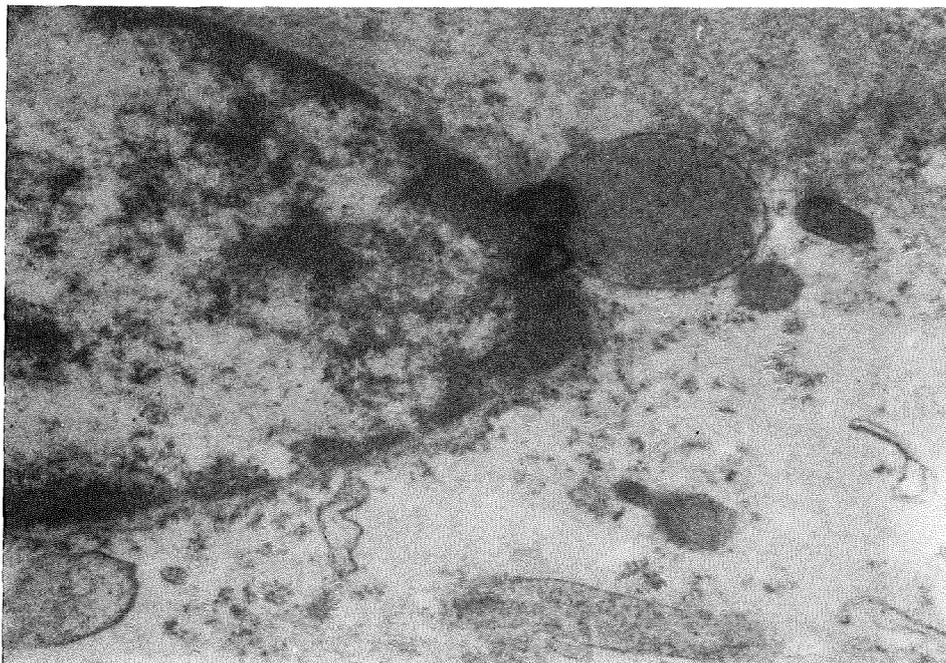


B

Abb. 30: Elektronenmikroskopische Autoradiographien vom Querschnitt perfundierter Markhöhlenarterien 14 Tage nach Verabfolgung von  $^{241}\text{Pu}$ . Über der Gefäßwand sind teilweise zellulären Strukturen (A: Muskelzellkern und Endothel, B: Endothelzellkern) fadenförmige Plutoniumtracks zuordenbar. Das Lumen ist mit schwarzen Bariumsulfat-Partikeln markiert. Vergrößerung 15900x



A



B

Abb. 31: Elektronenmikroskopische Autoradiographien von perfundierten Markhöhlenarterien. Pu-Tracks: A) über Basalmembran und in Nähe eines Muskelzellkerns zwei Tage nach  $^{241}\text{Pu}$  Verabfolgung; B) über einem Lysosomen mit engem Kontakt zu einem Muskelzellkern vierzehn Tage nach Nuklidverabfolgung zuordenbar. Vergrößerung A) 12000x und B) 36000x

## 7. SCHRIFTTUM

- 1 Beno, M.: A study of haemosiderin in the marrow of the femur of normal young adult rabbit compared with that in rabbits four months after an intravenous injection of  $^{239}\text{Pu}$ -nitrate. Br. J. Haemat. 15, 487-495 (1968)
- 2 Branemark, P.I.: A method for vital microscopy of mammalian bone marrow in situ. Univ. Arsska. Lund. 54, 5-41 (1958)
- 3 Brookes, M.: The blood supply of bones. Butterworths: London (1971)
- 4 Bruenger, F.W., J.M. Smith, D.R. Atherton, S.C. Miller, W.S.S. Jee and W. Stevens: Radiation dose rates to the proximal humerus of growing beagles injected with  $^{239}\text{Pu}$ . Radiat. Res. 97, 302-317 (1984)
- 5 Burgener, F.A., M.A. King und D.A. Weber: Korrelation zwischen radiologischen, szintigraphischen und histologischen Veränderungen im Knochen beim Kaninchen nach Bestrahlung mit Einzel- und fraktionierter Dosis. Fortschr. Röntgenstr. 130, 359-366 (1979)
- 6 Catsch, A. and E. von Wedelstaedt: Vergleichende Untersuchungen über die Toxizität der Ca- und Zn(II)-Chelate der Diäthylentriaminpentaessigsäure. Experientia 21, 210-213 (1965)
- 7 Chipperfield, A.R. and D.M. Taylor: Binding of plutonium and americium to bone glycoproteins. Nature (Lond.) 219, 609-610 (1968)
- 8 Clarke, W.J.: Comparative histopathology of plutonium, radium and strontium in pig bone. Health Phys. 8, 621-627 (1962)
- 9 Cottier, H.: Strahlenbedingte Lebensverkürzung. Springer: Berlin (1961)
- 10 Cottier, H.: Histopathologie der Wirkung ionisierender Strahlen auf höhere Organismen. in: Handbuch der medizinischen Radiologie, Bd.II, Teil2, Kapt.B, Abschn. 3c, Ed.: Zuppinger, A., Springer: Berlin (1966)
- 11 Crawley, F.E.H., E.R. Humphreys and J.W. Stather: A comparison of  $^{239}\text{Pu}$  on soft tissues and skeleton of

- mice, rats and hamsters. Health Phys. 30, 491-493 (1976)
- 12 Doniec, J. and I. Garlicka: Apposition rate in long bones of rabbits measured by tetracycline labelling. Z. Versuchstierk. 25, 289-291 (1983)
- 13 Dougherty, T.F., B.J. Stover, J.H. Dougherty, W.S.S. Jee, C.W. Mays, C.E. Rehfeld, W.R. Christensen and H.C. Goldthorpe: Studies of the biological effects of  $^{226}\text{Pu}$ ,  $^{239}\text{Pu}$ ,  $^{228}\text{Ra}$ ,  $^{228}\text{Th}$  and  $^{90}\text{Sr}$  in adult Beagles. Radiat. Res. 17, 625-681 (1962)
- 14 Durbin, P.W.: Metabolic characteristics within a chemical family. Health Phys. 2, 225-238 (1960)
- 15 Eißner, D. und R. Wolf: Strahlenbelastung des Kindes bei der Knochenszintigraphie mit  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -markierten Phosphatverbindungen. Fortschr. Röntgenstr. 132, 331-335 (1980)
- 16 Fabrikant, J., M.D. Smith and C.L.D. Smith: Radiographic changes following the administration of bone-seeking radionuclides. Radiat. Res. 37, 53-62 (1964)
- 17 Fischer, H.A. und G. Werner: Die Autoradiographie mikroskopischer Objekte. De Gruyter, Berlin (1971)
- 18 Forwood, M.R. and A.W. Parker: Effect of exercise on bone morphology. Acta Orthop. Scand. 57, 204-208 (1986)
- 19 Friedenstein, A.J.: Determined and inducible osteogenic precursor cells, hard tissue growth, repair and remineralization. pp. 169-181 in: Ciba Foundation Symp. No. 11, Ed.: Ciba Foundation, London, Elsevier: New York (1973)
- 20 Frost, H.M.: Bone modeling and skeletal modeling errors. Orthopaedic Lectures, Vol IV, C. C. Thomas: Springfield, Il., USA (1973)
- 21 Frost, H.M.: Osteogenesis imperfecta: The set point proposal (A possible causative mechanism). Clin. Orthop. Rel. Res. 216, 280-297 (1987)
- 22 Gamer, A.O.: Histomorphologische und -morphometrische Untersuchungen von frühen Knochenschäden nach Inkorporation optimal kanzerogener Dosen von  $^{239}\text{Pu}$  an männ-

- lichen Ratten verschiedenen Alters. Diss. med. vet. Univ. Gießen (1987), KfK 4380 (1988)
- 23 Garces, G.L.: A new method, using established techniques, to study the vascular anatomy of bones. Med. Sci. Res. 15, 725-726 (1987)
- 24 Geiser, M., B. Switzerland and J. Trueta: Muscle action, bone rarefaction and bone formation. J. Bone Joint Surg. 40B, 282-311 (1958)
- 25 Gössner, W.: Grundlagen und allgemeine pathologische Anatomie der Strahlenschäden. Verh. Deut. Ges. Pathol., Stuttgart 56, 168-187 (1972)
- 26 Grant, P.G., P.H. Buschung and D.W. Drolet: Positional relationships of structures attached to long bones during growth. Acta anat. 102, 378-384 (1978)
- 27 Green, D.G., G. Howells and M.C. Thorne: A new method for the accurate localization of  $^{239}\text{Pu}$  in bone. Phys. Med. Biol. 22, 284-297 (1977)
- 28 Harrison, J.D., A.J. David and J.W. Stather: Experimental studies of the translocation of plutonium from simulated wound sites in the rat. Int. J. Radiat. Biol. 33, 457-472 (1978)
- 29 Heller, M.: Histopathology of Irradiation. pp. 70-161 in: National Nuclear Energy Series IV-221, Chpt.5, Ed.: Bloom, W., McCraw-Hill Book Company: New York (1948)
- 30 Herring, G.M.: Mucosubstances and ion-binding in bone. Bibl. Nutr. et Dieta (Basel) 13, 147-154 (1969)
- 31 Herring, G.M.: A review of recent advances in the chemistry of calcifying cartilage and bone matrix. Calcif. Tiss. Res. 4, 17-23 (1970)
- 32 Heuvel, R., G. Schoetersund and O. Vanderborcht: Functional damage to bone marrow fibroblasts after contamination with  $^{241}\text{Am}$ . pp. 63-70 in: Metals in bone, Ed.: Priest, N.D., MTP Press: Lancaster (1985)
- 33 Hitchman, J.W., G.N. Taylor, J.A. Caton, L.R. Shabestari and W. Angus: Comparison of some skeletal effects of  $^{239}\text{Pu}$  administered at 3 months vs. 17 months of age in Beagles. pp. 169-186 in: Report COO-119-253, Univ. of Utah (1978)

- 34 Hollins, J.G. and M.C. Storr: An analysis of the retention of plutonium by the tissues of the rat. *Radiat. Res.* 61, 468-477 (1975)
- 35 Hotz, G. and A. Seidel: Association of plutonium with lysosomal, lipofuscin-like granules in chinese hamster hepatocytes: Evidence from electronmicroscopic and biochemical studies with  $^{241}\text{Pu}$  and  $^{239}\text{Pu}$ . *Int. J. Rad. Biol.*, im Druck (1988)
- 36 Hug, O.: Strahlenschäden und Strahlenschutz. *Atomwirtschaft-Atomtechnik* 16, 294-300 (1971)
- 37 Hug, O.: *Medizinische Strahlenkunde*. Springer: Berlin, (1974)
- 38 Huggins, C.: A quantitative study of the activity of the reticulo-endothelial structures in bone marrow in normal and ischaemic limbs as indicated by india ink and titanium dioxide. *Anat. Rec.* 74, 231-251 (1939)
- 39 Humphreys, E.R., D. Green, G.R. Howells and M.C. Thorne: Relationship between blood flow, bone structure, and  $^{239}\text{Pu}$  deposition in the mouse skeleton. *Calcif. Tissue Int.* 34, 416-421 (1982)
- 40 Hutzschenreuter, P. and H. Brümmer: Embedding, cutting and grinding methods to produce undecalcified cortical bone sections over the whole bone. *Acta Anat.* 118, 201-204 (1984)
- 41 ICRP Publication No. 48: The metabolism of plutonium and related elements. Pergamon Press: Oxford, UK (1986)
- 42 James, A.C. and G. Rowden: An electron microscopic autoradiographic study of plutonium localization in rat liver using plutonium-241-label. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* 20, 295-297 (1969)
- 43 Jee, W.S.S. and J.S. Arnold: Effects of internally deposited radioisotopes upon blood vessels of cortical bones. *Arch. Oral. Biol.* 2, 215-238 (1960)
- 44 Jee, W.S.S., S. James and M.D. Arnold: The toxicity of plutonium deposited in skeletal tissues of beagles. *Lab. Invest.* 10, 797-825 (1961)
- 45 Jee, W.S.S.: The distribution and toxicity of  $^{239}\text{Pu}$  in bone. *Health Phys.* 22, 583-595 (1972)

- 46 Jee, W.S.S., K. Ueno, Y.P. Deng and D.M. Woodbury: The effects of prostaglandin E2 in growing rats: Increased metaphyseal hard tissue and cortico-endosteal bone formation. *Calcif. Tissue Int.* 37, 148-157 (1985)
- 47 Kember, N.F. and J. Coggins: Changes in the vascular supply to rat growth cartilage during radiation injury and repair. *Int. J. Radiat. Biol.* 12, 143-151 (1967)
- 48 Kontron Messgeräte GmbH, Breslauerstraße 2, 8057 Eiching/München, MOP quantitative Bildauswertung Bedienungsanleitung (1979)
- 49 Lanyon, L.E.: The influence of function on the development of bone curvature. An experimental study on the rat tibia. *J. Zool. Lond.* 192, 457-466 (1980)
- 50 Letterer, E.: *Allgemeine Pathologie*. G.Thieme: Stuttgart (1959)
- 51 Lloyd, R.D., C.W. Mays, C.W. Jones, C.R. Lloyd, G.N. Taylor and M.E. Wrenn: Effect of age on the efficacy of Zn-diethylenetriaminepentaacetic acid therapy for removal of Am und Pu from beagles. *Radiat. Res.* 101, 451-459 (1985)
- 52 Looney, W.B.: Late effects of the early medical and industrial use of radioactive materials: their relation to the more accurate establishment of maximum permissible amounts of radioactive elements in the body. *J. Bone Joint Surg.* 37A, 1169-1187 (1955)
- 53 Macpherson, S.O.M.: Radiation damage in bone in relation to radiation dose from  $^{90}\text{Sr}$ . pp. 35-36 in: *Relation of radiation damage to radiation dose in bone*, Int. Atom. En. Agency., Wien (1960)
- 54 Macpherson, S.O.M. and J. Vaughan: The relation of radiation dose to radiation damage in the tibia of weanling rabbits injected with  $^{90}\text{Sr}$ . *Br. J. Radiol.* 35, 221-234 (1962)
- 55 Mahlum, D.D. and M.R. Sikov: Distribution and toxicity of monomeric and polymeric  $^{239}\text{Pu}$  in immature adult rats. *Radiat. Res.* 60, 75-88 (1974)
- 56 Melanotte, P.L. and R.H. Follis: Early effects of X-irradiation on cartilage and bone. *Am. J. Pathol.* 29,

- 1-15 (1961)
- 57 Miller, S.C., J.M. Smith, H.G. Rowland, B.M. Bowmann and W.S.S. Jee: The relationship of bone marrow microvasculature with plutonium incorporation into bone. pp. 63-71 in: Report COO-119-257, Univ. of Utah (1982)
- 58 Moskalev, Y.I. (Ed.), Toxicology and radiobiology of  $^{237}\text{Np}$ . pp. 67-78 in: Oak Ridge National Laboratory, Report: ORNL-tr-4936, Englische Übersetzung aus dem Russischen (1979)
- 59 Neu-Müller, M.: Vergleichende Untersuchungen zum Stoffwechsel von Eisen und Plutonium in Hepatozyten. Diss. rer. nat. Univ. Karlsruhe (1988) (in Vorbereitung)
- 60 Nickel, R., A. Schummer und K.H. Wille: Passiver Bewegungsapparat, Skelettsystem. pp. 12-23 in: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band I, Parey: Berlin (1977)
- 61 Nilsson, A.: Histogenesis of  $^{90}\text{Sr}$ -induced osteosarcomas. Acta Vet. Scand. 3, 185-200 (1962)
- 62 Nilsson, A.: Effekt der ionisierenden Strahlung auf das Skelett. pp. 456-487 in: Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere, Band I, 3.Aufl., Hrsg.: J. Dobberstein, G.Pllaske und H. Stünzi; Parey: Berlin (1969)
- 63 Owen, M.: The origin of bone cells in the postnatal organism. Arthrit. Rheumat. 23, 1073-1079 (1980)
- 64 Planas-Bohne, F., W. Jung and M. Neu-Müller: Uptake of  $^{59}\text{Fe}$  and  $^{239}\text{Pu}$  by rat liver cells and human hepatoma cells. Int. J. Radiat. Biol. 48, 797-805 (1985)
- 65 Planas-Bohne, F., M.D. Taylor and J.R. Duffield: Role of transferrin in metal uptake by human lymphoblasts in vitro. Cell Biochem. Funct. 3, 217-222 (1985)
- 66 Polig, E.: Topographic analysis of the microdistribution of  $^{241}\text{Am}$  in the rat femur as influenced by DTPA treatment. Radiat. Res. 67, 128-141 (1976)
- 67 Polig, E. und W. Sonntag: Alpha-dosimetry and fluorescence label analysis in bone. pp. 73-90 in: Bone and bone seeking radionuklides: Physiology, dosimetry and effects, European Communities, Report EUR 7168 EN (1981)

- 68 Polig, E., J.M. Smith and W.S.S. Jee: Microdistribution and localized dosimetry of  $^{241}\text{Am}$  in bones of beagle dogs. *Int. J. Radiat. Biol.* 46, 143-160 (1984)
- 69 Polig, E., O.B. Kimmel and W.S.S. Jee: Morphometry of bone cell nuclei and their location relative to bone surfaces. *Phys. Med. Biol.* 29, 939-952 (1984)
- 70 Polig, E and W.S.S. Jee: Cell-specific radiation dosimetry in the skeleton. *Calcif. Tissue Int.* 39, 119-122 (1986)
- 71 Popplewell, D.S., G. Boocock, D.M. Taylor and C.J. Danpure: The subcellular distribution of Am and Cm in rat liver. pp. 205-222 in: *Radiation Protection Problems, European Communities, Report EUR-4612-d-e-f* (1971)
- 72 Pott, F. und W. Jantzen: Röntgenologische Untersuchungen zur Knochenentwicklung der Ratte. *Z. Versuchstierk.* 14, 35-47 (1972)
- 73 Priest, N.D. and S.J. Giannola:  $^{241}\text{Pu}$  deposition and redistribution in the rat rib. *Int. J. Radiat. Biol.* 37, 281-298 (1980)
- 74 Priest, N.D. and S.J. Giannola: Uptake and loss of plutonium from osteoclasts and macrophages in the mandibular condyle of the rat. *Calcif. Tissue Int.* 30, 15-20 (1980)
- 75 Priest, N.D.: Plutonium in bone: The effects of bone remodeling. pp. 39-55 in: *Bone and bone seeking radionuclides: Physiology, dosimetry and effects, European Communities, Report EUR 7168 EN* (1981)
- 76 Priest, N.D., G. Howells, D. Green and J.W. Haines: Pattern of uptake of  $^{241}\text{Am}$  by the rat skeleton and its subsequent redistribution and retention: Implications for human dosimetry and toxicology. *Hum. Toxicol.* 2, 101-120 (1983)
- 77 Rahn, B.A.: Die polychrome Fluoreszenzmarkierung des Knochenanbaus. *Zeiss Information* 84, 1-32 (1976)
- 78 Rahn, B.A., C. Bacellar, L. Trapp and S.M. Perren: Methode zur Fluoreszenzmorphometrie des Knochenanbaues. *Acta Traumatol.* 10, 109-115 (1980)

- 79 Romais, B.: Mikroskopische Technik. Oldenburg: München (1968)
- 80 Rother, P., G. Krüger and G. Schramek: The proportion of femur and humerus independence of the length of bone. Anat. Anz. (Jena) 160, 65-76 (1985)
- 81 Rubin, P. and G.W. Casarett: Clinical radiation pathology. Vol. I, Saunders: Philadelphia (1968)
- 82 Sachs, L.: Statistische Auswertungsmethoden. Springer: Berlin (1968)
- 83 Saunders, S.R.: Surface and cross-sectional comparisons of bone growth remodelling. Growth 49, 105-130 (1985)
- 84 Savelkoul, T.J.F., W.J. Visser, J.M.M. Rölofs and M.H.F. Lentferink: A rapid method for preparing undecalcified sections of bone for autoradiographic investigation with short-lived radionuclides. Stain Technol. 58, 1-5 (1983)
- 85 Schenk, R.K., A.J. Olah and W. Herrmann: Preparation of calcified tissues for light microscopy. pp. 1-54 in: Methods of calcified tissue preparation, Ed: Dickson, G.R., Chpt. 1, Elsevier: Amsterdamm (1984)
- 86 Schoeters, G., R. Van den Heuvel and O. Vanderborcht: The study of damage to bone marrow cells as a biological dosimeter after contamination with osteotropic alpha emitters. pp. 51-61 in: Metals in Bone, Ed.: Priest, N.D., MTP Press: Lancaster (1985)
- 87 Seelmann, E.W., G. Pfennig, H. Münzel und H. Klewe-Nebenius: Karlsruher Nuklidkarte. Gersbach: München (1981)
- 88 Seidel, A. and V. Volf: Rapid determination of some transuranium elements in biological material by liquid scintillation counting. Int. J. Appl. Radiat. Isotop. 23, 1-4 (1972)
- 89 Seidel, A.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Dekoration von Americium (III) durch Diäthylentriamin-pentaacetat. Habil.-Schr. Univ. Karlsruhe (1974)
- 90 Sikov, M.R. and D.D. Mahlum: Influence of age and physicochemical form on the effects of  $^{239}\text{Pu}$  on the skeleton of the rat. pp. 33-47 in: The health effects

- of plutonium and radium, Ed.: Jee, W.S.S., J.W. Press: Salt Lake City, UT (1976)
- 91 Sontag, W.: An automatic microspectrophotometric scanning method for the measurement of bone formation rates in vivo. *Calcif. Tissue Int.* 32, 63-68 (1980)
- 92 Sontag, W.: Quantitative measurements of periosteal and cortical-endosteal bone formation and resorption in the midshaft of female rat femur. *Bone* 7, 55-62 (1986)
- 93 Steinberg, M.E. and J. Trueta: Effects of activity on bone growth and development in the rat. *Clin. Orthop.* 156, 52-60 (1981)
- 94 Tavassoli, M., T. Kishimoto, R. Soda, M. Kataoka and K. Harjes: Liver endothelium mediates the uptake of iron-transferrin complex by hepatocytes. *Exp. Cell Research* 165, 369-379 (1986)
- 95 Taylor, G.N., W.S.S. Jee, J.S. Williams, B. Burggraff and W. Angus: Microscopic distribution of  $^{241}\text{Am}$  in the beagle. pp. 97-118 in: Report C00-119-240, Univ. of Utah (1969)
- 96 Taylor, D.M.: Late biological effects of internally deposited curium-244 in rats. pp. 153-161 in: *Biological implications of radionuclides released from nuclear industries, Vol. I*, Int. Atom. En. Agency, Wien (1979)
- 97 Thorne, M.C.: Aspects of the dosimetry of plutonium in bone. *Nature (Lond)* 259, 539-541 (1976)
- 98 Urban, M.F.: Dosisbestimmung durch gleichzeitiges Messen der Radon/Thoronkonzentration und der Gleichgewichtsfaktoren in Luft mit Hilfe eines passiven Dosimeters. *Diss. rer. nat. Univ. Karlsruhe* (1984), KfK 3726
- 99 Vaughan, J., L. F. Lamerton and H. Lisco: The relation of radiation damage to radiation dose in bone. pp. 7-20 in: *Relation of radiation damage to radiation dose in bone*, Int. Atom. En. Agency, Wien (1960)
- 100 Vaughan, J.: Osteogenesis and Haematopoiesis. *The Lancet* Heft 18, 133-135 (1981)
- 101 Volf, V.: Experimental background for prompt treatment with DTPA of  $^{239}\text{Pu}$ -contaminated wounds. *Health Phys.* 27, 273-277 (1974)

- 102 Volf, V.: Removal of plutonium and americium from various parts of rat skeleton. pp. 211-220 in: Metals in Bone, Ed.: Priest N.D., MTP Press: Lancaster (1985)
- 103 Watts, R.H., D. Green and G.R. Howells: Improvements in histological techniques for epoxy-resin embedded bone specimens. Stain Technol. 56, 155-161 (1981)
- 104 Weiss, L.: The hemopoietic microenvironment of the bone marrow: an ultrastructural study of the stroma in rats. Anat. Rec. 186, 161-182 (1976)
- 105 Wirth, R. and V. Volf: Long term retention of  $^{237}\text{Np}$  in rats. Int. J. Radiat. Biol. 46, 787-792 (1984)
- 106 Wirth, R.E.: Biologie des Neptuniums. Diss. rer. nat. Univ. Karlsruhe (1985), KfK 4001
- 107 Wronski, T.J.: The microdistribution and retention of injected  $^{239}\text{Pu}$  on trabecular bone surfaces of the beagle: Implications for the induction of osteosarcoma. Radiat. Res. 83, 74-89 (1980)
- 108 Xipell, J., H. Makin and P. McKinnon: A method for the preparation of undecalcified bone sections for light microscopy and microradiography. Stain Technol. 49, 69-76 (1974)