

KFK-368

**KERNFORSCHUNGSZENTRUM
KARLSRUHE**

Geellschaft für Kernforschung m. B. H.
Veröffentlichung des Zentralarchivs

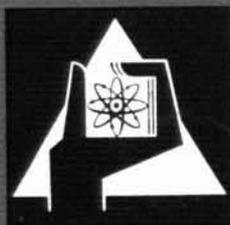
August 1965

KFK 368

Institut für Strahlenbiologie

Beiträge zu den strahlenbiologischen Grundlagen der maximal
zulässigen Strahlendosen

K.G. Zimmer



GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.
KARLSRUHE

Beiträge zu den strahlenbiologischen Grundlagen der maximal zulässigen Strahlendosen*

Von K. G. ZIMMER

(Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe)

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 18. Februar 1965)

Summary. 1. The irregular rise of mutation frequency with X-ray dose observed when testing gametes after irradiation at different stages of development is shown to average out to a linear rise for a population of gametes comprising many stages. Consequently, the experiments lend further support to the generally accepted view that maximum permissible doses have to be fixed assuming a linear rise of mutation frequency and complete absence of a threshold dose.

2. Elastic nuclear collisions produced by protons of less than 1 keV are demonstrated to cause damage in the biologically important enzyme ribonuclease. In fact, the probability of inactivation is four times larger for elastic nuclear collisions than for ionizations. The results indicate that calculations or measurements of ionization may be inadequate for assessing the risk of damage by very slow protons and, consequently, for setting maximal permissible doses for epidermal neutrons.

1. Einleitung

Für alle Anlagen und Arbeitsvorgänge, bei denen Strahlungen entstehen oder verwendet werden, sollen die Schutzmaßnahmen eine möglichst große Sicherheit gewährleisten, um gesundheitliche Schäden für die

Strahlenschutz würde sinnlos werden, wenn die so geschützten Angehörigen einer Volkswirtschaft dadurch ihre Konkurrenzfähigkeit verlieren. Man wird daher immer weiter nach Mitteln und Wegen suchen müssen, einen ausreichenden Schutz auf wirtschaftlich

Tabelle. Untersuchungen zur Bestimmung der Proportionalitätskonstante k bei der Auslösung rezessiv geschlechtsgebundener Letalfaktoren bei *Drosophila melanogaster*. Das hier dargestellte Material betrifft Versuche von TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, ZIMMER u. Mitarb. (Aus ZIMMER 1943)

Dosis ¹ D in Ionenpaaren je cm^2	$\frac{N^* N_0}{1 - N^* N_0}$	$k = - \frac{\ln N^* N_0}{D}$	N_0	$k N_0$	$\bar{k} = \frac{\sum k_i N_{0,i}}{\sum N_{0,i}}$
Radium- β -Strahlung					
$2,33 \cdot 10^{15}$	0,9621	$1,67 \cdot 10^{-17}$	1872	$3,13 \cdot 10^{-14}$	$1,78 \cdot 10^{-17} \text{ cm}^3$
$4,67 \cdot 10^{15}$	0,9082	$2,06 \cdot 10^{-17}$	1531	$3,15 \cdot 10^{-14}$	
$7,24 \cdot 10^{15}$	0,8847	$1,68 \cdot 10^{-17}$	1214	$2,04 \cdot 10^{-14}$	
$9,33 \cdot 10^{15}$	0,8512	$1,73 \cdot 10^{-17}$	1057	$1,83 \cdot 10^{-14}$	
Radium- γ -Strahlung					
$2,17 \cdot 10^{15}$	0,9645	$1,66 \cdot 10^{-17}$	1642	$2,72 \cdot 10^{-14}$	$1,76 \cdot 10^{-17} \text{ cm}^3$
$4,34 \cdot 10^{15}$	0,9188	$1,96 \cdot 10^{-17}$	1293	$2,53 \cdot 10^{-14}$	
$7,24 \cdot 10^{15}$	0,8800	$1,77 \cdot 10^{-17}$	1184	$2,09 \cdot 10^{-14}$	
$8,69 \cdot 10^{15}$	0,8653	$1,67 \cdot 10^{-17}$	822	$1,37 \cdot 10^{-14}$	
Röntgenstrahlung, 160 kV					
$0,97 \cdot 10^{15}$	0,9828	$1,76 \cdot 10^{-17}$	3082	$5,43 \cdot 10^{-14}$	$1,77 \cdot 10^{-17} \text{ cm}^3$
$1,93 \cdot 10^{15}$	0,9669	$1,76 \cdot 10^{-17}$	5020	$8,83 \cdot 10^{-14}$	
$3,86 \cdot 10^{15}$	0,9375	$1,68 \cdot 10^{-17}$	3948	$6,65 \cdot 10^{-14}$	
$5,79 \cdot 10^{15}$	0,8966	$1,88 \cdot 10^{-17}$	3504	$6,66 \cdot 10^{-14}$	
$7,82 \cdot 10^{15}$	0,8739	$1,75 \cdot 10^{-17}$	3107	$5,43 \cdot 10^{-14}$	
$9,65 \cdot 10^{15}$	0,8412	$1,79 \cdot 10^{-17}$	9116	$16,3 \cdot 10^{-14}$	
Röntgenstrahlung, 70 kV					
$1,21 \cdot 10^{15}$	0,9793	$1,74 \cdot 10^{-17}$	9346	$16,3 \cdot 10^{-14}$	$1,81 \cdot 10^{-17} \text{ cm}^3$
$2,42 \cdot 10^{15}$	0,9575	$1,78 \cdot 10^{-17}$	16467	$29,3 \cdot 10^{-14}$	
$4,42 \cdot 10^{15}$	0,9185	$1,92 \cdot 10^{-17}$	3466	$6,65 \cdot 10^{-14}$	
$4,73 \cdot 10^{15}$	0,9141	$1,86 \cdot 10^{-17}$	11738	$21,9 \cdot 10^{-14}$	
$6,03 \cdot 10^{15}$	0,8815	$2,09 \cdot 10^{-17}$	2064	$4,32 \cdot 10^{-14}$	
$7,23 \cdot 10^{15}$	0,8768	$1,81 \cdot 10^{-17}$	6442	$11,7 \cdot 10^{-14}$	
$9,65 \cdot 10^{15}$	0,8412	$1,79 \cdot 10^{-17}$	9116	$16,3 \cdot 10^{-14}$	
$1,75 \cdot 10^{15}$	0,9698	$1,71 \cdot 10^{-17}$	3338	$5,71 \cdot 10^{-14}$	
$2,42 \cdot 10^{15}$	0,9588	$1,74 \cdot 10^{-17}$	2731	$4,75 \cdot 10^{-14}$	
$3,51 \cdot 10^{15}$	0,9395	$1,76 \cdot 10^{-17}$	2124	$3,75 \cdot 10^{-14}$	
$4,83 \cdot 10^{15}$	0,9201	$1,72 \cdot 10^{-17}$	1816	$3,13 \cdot 10^{-14}$	
$7,00 \cdot 10^{15}$	0,8869	$1,71 \cdot 10^{-17}$	1641	$2,82 \cdot 10^{-14}$	$1,73 \cdot 10^{-17} \text{ cm}^3$

¹ Berechnet unter der Annahme, daß 1 R Röntgen-, β - und γ -Strahlung $1,61 \cdot 10^{12}$ Ionenpaare je cm^3 Gewebe erzeugt.

jetzt Lebenden und für ihre Nachkommen auszuschließen. Von dieser Forderung her wird man die maximal zulässigen Strahlendosen möglichst niedrig festlegen. Andererseits erschweren und verteuern Schutzmaßnahmen den Bau und Betrieb von Anlagen auf diesem (wie auch auf anderen) Gebieten oft sehr beträchtlich. Als Extremfall: ein übertrieben sicherer

tragbare Weise zu gewährleisten. Demzufolge können auch die jeweils gesetzlich festgelegten maximal zulässigen Strahlendosen nicht den Charakter des Endgültigen beanspruchen. Sie dürfen nur als die beste zum betreffenden Zeitpunkt erreichbare Lösung angesehen werden, und die bei ihrer Festlegung von den gesetzgebenden Gremien benutzten wissenschaftlichen Ergebnisse werden stets weitere Bearbeitung in allen ihren naturwissenschaftlichen, medizinischen und technischen Aspekten erfordern. Selbstverständlich kann es im Laufe solcher Arbeiten dazu kommen, daß Erleichterungen möglich oder Verschärfungen unumgänglich erscheinen, so daß etwa für bestimmte technische Situationen oder für spezielle Strahlungen die bestehenden Bestimmungen oder Vorschriften überprüft werden müßten.

Im folgenden soll kurz über zwei recht umfangreiche Untersuchungen strahlenbiologischer Art zu diesem Problembereich berichtet werden, die in letzter Zeit in unserem Institut durchgeführt wurden. Dabei wollen wir uns weitgehend auf die Versuche und deren Ergebnisse beschränken und bezüglich eventueller praktischer Konsequenzen den Beratungen zuständiger Gremien nicht vorgreifend lediglich die Fragen umreißen, für welche die Arbeiten von Bedeutung sein könnten.

2. Die Beziehung zwischen Strahlendosis und Mutationsrate

Viele sehr eingehende, hauptsächlich in den Jahren 1930 bis 1940 an verschiedenen pflanzlichen und tierischen Objekten durchgeführte Untersuchungen ergaben, daß die als „Punktmutationen“ bezeichneten, meist schädlichen Erbänderungen mit der Dosis ionisierender Strahlungen nach $N^*/N_0 = 1 - \exp(-kD)$ zunehmen, wobei N^* die Anzahl der eine Erbänderung zeigenden aus N_0 mit der Dosis D bestrahlten und genetisch analysierten Keimzellen und k einen Proportionalitätsfaktor bedeuten (ZIMMER 1934, TIMOFÉEFF-RESSOVSKY

* Nach einem Vortrag vor dem Aufsichtsrat der Gesellschaft für Kernforschung m.b.H. am 13. 7. 1964.

und ZIMMER 1947). Für die bezüglich des Strahlenschutzes besonders interessierenden kleinen Dosen ist $N^*/N_0 \cong kD$, der Anstieg also praktisch linear aus dem Nullpunkt heraus. Gerade dieser lineare Anstieg aus dem Nullpunkt, d.h. das Fehlen eines Schwellenwertes zwingt zur Festlegung besonders niedriger maximal zulässiger Strahlendosen, wenn man Erbänderungen und damit Schädigung der Nachkommen vermeiden will. Bei manchen anderen biologischen Strahlenwirkungen hingegen kennt man das Auftreten von Schwellenwerten der Dosis, d.h. das Fehlen erkennbarer Wirkungen bei Dosen unterhalb eines bestimmten Wertes — ein Befund, der, wenn er auch für genetische Effekte nachgewiesen werden könnte, unter Umständen eine Festlegung höherer maximal zulässiger Dosen gestatten würde (vgl. ZIMMER 1961). Die Frage nach dem Vorliegen oder der Abwesenheit eines Schwellenwertes für strahleninduzierte Erbschäden bedarf daher einer sehr sorgfältigen Bearbeitung, wobei die statistische Natur sowohl der Strahlenabsorption wie der Vererbung die Heranziehung einer sehr großen Individuenzahl erfordern, um gesicherte Aussagen zu erhalten. Tabelle 1 zeigt als Beispiel die an etwa 10^7 Nachkommen von fast 10^5 bestrahlten männlichen Keimzellen der Fliege *Drosophila melanogaster* erhaltenen Ergebnisse. Unabhängig von Dosis und Strahlenart schwankt der Proportionalitätsfaktor k nur geringfügig und ungerichtet um einen gemäß dem Umfang der Einzelversuche gewichteten Mittelwert von $\bar{k} = 1,77 \cdot 10^{-17}$. Durch diese und ähnliche Versuche erscheinen die Abwesenheit eines Schwellenwertes und der lineare Anstieg der durch ionisierende Strahlen ausgelösten Mutationen als durchaus gesichert und damit die Festlegung einer möglichst kleinen maximal zulässigen Dosis für solche Strahlen als unbedingt erforderlich.

Bei allen genannten Versuchen wurden Keimzellen aller Reifestadien gleichzeitig bestrahlt und kamen ohne besondere Auswahl zur Untersuchung: ein Fall, der offenbar den praktischen Gegebenheiten des Strahlenschutzes sehr nahe kommt. In der Zwischenzeit erschienen im Zusammenhang mit ganz anderen Untersuchungen Befunde, die das Auftreten einer der Strahlendosis fast linear proportionalen Zunahme der Zahl der Punktmutationen schwer verständlich erscheinen ließen. Eine besondere Versuchstechnik, deren Beschreibung hier zu weit führen würde, machte es möglich, an aufeinanderfolgenden Tagen jeweils alle reifen Spermien der bestrahlten Fliegenmännchen zu Befruchtungen zu verbrauchen, so daß an späteren Tagen nur solche Spermien zur Verfügung standen, die zum Zeitpunkt der Bestrahlung sich noch in früheren Entwicklungsstadien befunden hatten. Dabei ergab sich, wie aus dem in Abb. 1 dargestellten Beispiel ersichtlich, eine sehr ausgeprägte Abhängigkeit der Mutationsrate vom „Alter“ (Entwicklungsstadium) der Spermien zum Zeitpunkt der Bestrahlung, wobei diese Abhängigkeit bei verschiedenen Strahlendosen sehr unterschiedlich war. Man erkennt leicht, daß ein solcher Befund die lineare Zunahme der Mutationsrate mit der Dosis sehr bemerkenswert macht, die in den oben erwähnten Versuchen bei summarischer Auswertung von Keimzellen aller Reifegrade stets gefunden wurde.

Durch sehr mühevollen und eingehenden Versuche (TRAUT 1962, 1963) konnte diese Frage folgendermaßen

aufgeklärt werden. Unter Auswertung von etwa $2 \cdot 10^7$ Nachkommen von ungefähr $2 \cdot 10^5$ bestrahlten und genetisch untersuchten Keimzellen von Fliegen ließ sich zeigen, daß die Zunahme der Mutationsrate mit der Dosis für verschiedene Reifegrade sehr ver-

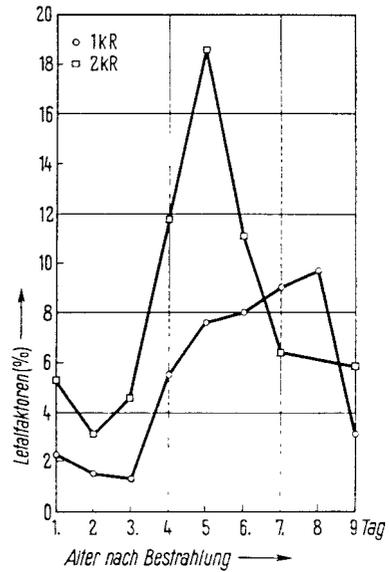


Abb. 1. Die Abhängigkeit der Rate strahleninduzierter Letalfaktoren vom Reifegrad der Keimzellen bei Bestrahlung von Männchen der Fliege *Drosophila melanogaster* mit Röntgenstrahlen. (Nach TRAUT 1962)

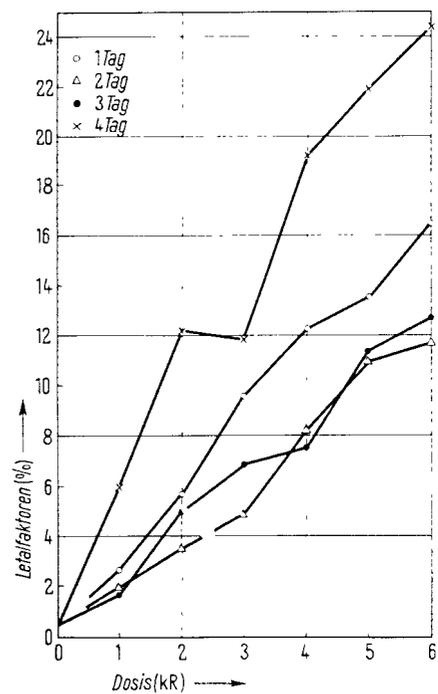


Abb. 2. Die Abhängigkeit der Rate strahleninduzierter Letalfaktoren von der Röntgenstrahlendosis bei verschiedenem Reifegrad der Keimzellen zum Zeitpunkt der Bestrahlung. (Nach TRAUT 1962)

schieden und keineswegs linear verläuft (Abb. 2). Dabei zeigte eine genaue statistische Analyse der Ergebnisse mehrfach wiederholter Versuche, daß die Abweichungen von der Linearität durchaus gesichert sind, die Kurven also nicht auf zufälligen Schwankungen beruhen. Andererseits ergab eine einfache Addition aller für eine bestimmte Dosis gewonnener Mutationen (rechnerische Summierung über alle Reifegrade) eine Dosis-Effekt-Kurve, die mit der früher

unter Vernachlässigung der Reifegradabhängigkeit erhaltenen fast identisch ist (Abb. 3). Völlige Übereinstimmung der Kurven ist nicht zu erwarten, da die rechnerische Summierung über Versuche bei einzelnen willkürlich abgegrenzten Reifegradintervallen doch nicht genau dasselbe ist wie die eine „biologische Summierung“ bedeutende Vernachlässigung der Reifegradabhängigkeit. Doch beweisen die Experimente ganz eindeutig, daß keinerlei Widerspruch zwischen älteren und neueren Ergebnissen besteht. Da nun in der Praxis des Strahlenschutzes im allgemeinen Keimzellen aller Reifegrade vor einer Gefährdung zu schützen sein werden, lassen sich aus der hier untersuchten Reifegradabhängigkeit der Mutationsrate pro Dosis-

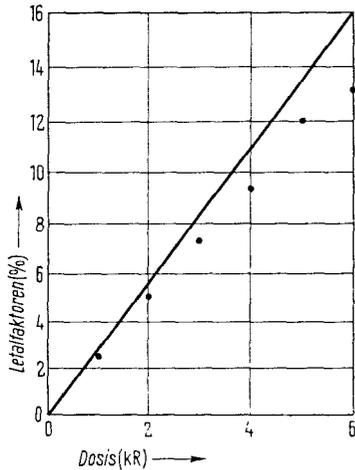


Abb. 3. Die Abhängigkeit der Rate strahleninduzierter Letalfaktoren von der Röntgenstrahlendosis. — Versuche von TIMOFEFF-RESSOVSKY, ZIMMER u. Mitarb. unter Vernachlässigung (= biologischer Summierung) der Reifegrade. Die Neigung der Geraden entspricht $\bar{k} = 1,77 \cdot 10^{-11}$. ● Versuche von TRAUT (1962) nach rechnerischer Summierung über alle Reifegrade

einheit keine Argumente dagegen ableiten, daß den maximal zulässigen Strahlendosen eine lineare Zunahme der Erbschädigungsgefahr mit der Dosis und Abwesenheit eines Schwellenwertes zugrunde gelegt werden. Doch sei angemerkt, daß naturgemäß Versuche an Insekten nicht hinsichtlich aller Aspekte des Problems für Säugetiere gültige Aussagen ermöglichen. So sind z.B. über das Stadium „Spermatogonien“ weitere Untersuchungen nötig.

3. Die maximal zulässigen Dosen epithermischer Neutronen

Die ionisierenden Strahlungen verdanken diese Bezeichnung der Tatsache, daß Ionisation ihre am leichtesten zu beobachtende Wirkung auf Material ist. Durch solche Betonung eines von vielen Effekten kam es zu einer gewissen Eingleisigkeit des Denkens, indem jahrzehntelang alle Dosisangaben auf Ionisation bezogen und die biologischen Wirkungen weitgehend auf Ionisationen zurückgeführt wurden. Auch die Festlegung maximal zulässiger Dosen für den Strahlenschutz stützt sich fast ausschließlich auf Berechnungen oder Messungen der Ionisation, die z.B. bei Bestrahlung mit schnellen Neutronen durch die im biologischen Material erzeugten Rückstoßkerne oder beim Einfang thermischer Neutronen durch Folgeprozesse hervorgerufen wird. Die Vernachlässigung anderer physikalischer Effekte mit möglicher biologischer Wirkung, etwa der Anregungen, hat bisher kaum zu Schwierig-

keiten für die Probleme des Strahlenschutzes geführt und erscheint im allgemeinen unbedenklich, da die Zahl der Anregungen zu der der Ionisationen bei fast allen ionisierenden Strahlungen in einem ungefähr konstanten Verhältnis steht.

Anders liegen die Dinge bei sehr langsamer Teilchenstrahlung, für die bisher weder dosimetrische noch strahlenbiologische Versuche bekannt wurden, obwohl z.B. sehr langsame Rückstoßprotonen bei Bestrahlung von Menschen mit epithermischen Neutronen in großer Zahl entstehen. Bei diesen sehr langsamen Protonen könnte, worauf wir vor Jahren schon hin-

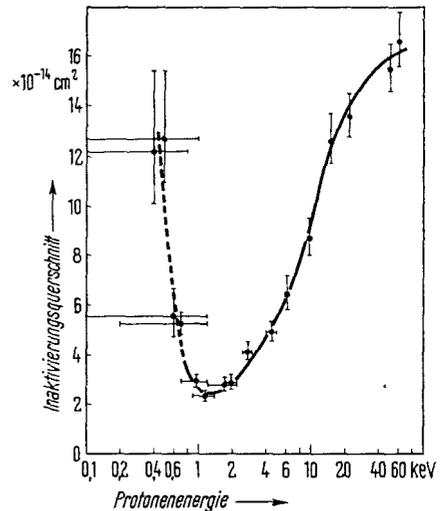


Abb. 4. Abhängigkeit des Wirkungsquerschnitts für die Inaktivierung von Ribonuclease von der Energie der eingestrahlten Protonen. (Nach JUNG 1964)

gewiesen haben (ZIMMER 1956), die Ionisation als Maß einer biologischen Wirkung versagen. Dies deshalb, weil für sehr langsame Teilchen die Wahrscheinlichkeit einer Ionisationserzeugung stark abnimmt, dafür aber die Wahrscheinlichkeit für elastische Stöße mit anderen Kernen schnell ansteigt. Messungen oder Berechnungen der Ionisation lassen daher epithermische Neutronen als relativ harmlos im Sinne des Strahlenschutzes erscheinen. Andererseits könnte es leicht sein, daß elastische Stöße erhebliche biologische Wirkungen zur Folge haben, falls sie mit Atomen erfolgen, die biologisch wichtigen Molekülen angehören, und zur Dissoziation solcher Moleküle führen. Bis vor kurzem lag experimentelles Material zu dieser Frage, wie erwähnt, praktisch nicht vor. Das ist verständlich, denn die Durchführung entsprechender Versuche mit epithermischen Neutronen oder mit sehr langsamen Protonen ist schwierig.

Erst neuerdings gelang der einwandfreie Nachweis der Schädigung einer biologisch wichtigen Molekülart durch elastische Kernstöße (JUNG 1964, 1965). Zunächst wurde in eingehenden Vorversuchen an Kunststoff-Folien gezeigt, daß Protonen der Energie um 1 keV in den Kunststoff-Molekülen spezifische chemische Änderungen bewirken, die durch schnelle stark ionisierende Protonen oder durch Gammastrahlung nicht erzeugt werden (JUNG 1964). Diese Messungen erfolgten integral, d.h. auch die sehr dünnen Folien aus Polyäthylenterephthalat waren noch dicker als die Reichweite der Protonen. Anschließend wurden extrem dünne Schichten des Fermentes Ribonuclease

auf polierten Feingoldscheiben bestrahlt und der Wirkungsquerschnitt je Protonendurchgang bezüglich der Inaktivierung des Fermentes in Abhängigkeit von der Protonenenergie gemessen. Bei diesen Versuchen war nach Ausarbeitung sehr empfindlicher Nachweismethoden der Enzymaktivität eine differentielle Messung möglich; die Schicht wurde auch von den langsamsten benutzten Protonen ganz durchlaufen. Dabei ergab sich der in Abb. 4 wiedergegebene Befund: Von hohen Protonenenergien her nimmt der Wirkungsquerschnitt etwa proportional zur Ionisierung ab, steigt aber nach Durchlaufen eines Minimums sehr steil wieder an, nunmehr etwa proportional zur Wahrscheinlichkeit des Eintretens elastischer Kernstöße. Damit ist einwandfrei nachgewiesen, daß elastische Kernstöße durch Beschädigung biologisch wichtige Moleküle inaktivieren, d.h. funktionsunfähig machen können. Die Bedeutung dieses Ergebnisses für den praktischen Strahlenschutz ist nicht leicht abzuschätzen und sollte, wie eingangs hervorgehoben, von den zuständigen Gremien, insbesondere der International Commission for Radiological Protection (ICRP) festgestellt werden. Die Durchführung analoger Messungen an anderen biologisch wichtigen Molekülarten wäre wünschenswert, obwohl Ribonuclease sicher ein glücklich gewähltes Beispiel darstellt, da dieses Ferment eine wichtige Rolle bei der Verdoppelung des Erbguts spielt. Zur Erleichterung einer Abschätzung der praktischen Bedeutung sei jedoch noch folgendes erwähnt: 1. Berechnungen oder Messungen der erzeugten Ionisation sind nach diesen Ergebnissen bei epithermischen Neutronen *kein* Maß der möglichen biologischen Wirkung (Schädigung), da der Reaktionsmechanismus nicht über Ionisationen verläuft und auch nicht von solchen in konstantem Verhältnis begleitet wird, und 2. die Schädigungs-„Ausbeute“ ist bemerkenswert hoch, da ein elastischer Kernstoß mit

viermal größerer Wahrscheinlichkeit zur Inaktivierung des Fermentmoleküls führt, als eine in diesem erzeugte Ionisation.

4. Schlußbemerkungen

Die in den vorhergehenden Abschnitten beschriebenen Versuche geben je ein Beispiel dafür, daß viele Aspekte der Festlegung maximal zulässiger Strahlendosen auf gut gesicherter Grundlage beruhen, andere jedoch im Laufe weiterer theoretischer und experimenteller Bearbeitung ein verändertes Gewicht erhalten können. Neue Gesichtspunkte werden voraussichtlich auch dadurch auftreten, daß wir im Rahmen der Grundlagenforschung bezüglich der physikochemischen Mechanismen der Strahlenwirkung auf das Erbgut einen tieferen Einblick in die Vorgänge der Strahlenschädigung erhalten. Diese Untersuchungen „molekularbiologischer und molekulargenetischer“ Art (um modernere Bezeichnungen zu verwenden) bilden wichtige Arbeitsgebiete unseres Instituts, über die noch zu berichten sein wird.

Literatur: JUNG, H.: In: Biological Effects of Neutron and Proton Irradiations. Internat. Atomic Energy Agency, Wien 1964; — Diss. Heidelberg 1964; — Z. Naturforsch. (im Druck) (1965). — TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N.W., u. K. G. ZIMMER: Das Trefferprinzip in der Biologie. Leipzig: S. Hirzel 1947. — TRAUT, H.: Habil.-Schr. Heidelberg 1962; — In: Repair from Genetic Radiation Damage, ed. F. SOBELS. London: Pergamon Press 1963. — ZIMMER, K. G.: Strahlentherapie 51, 179 (1934); — Physik. Z. 44, 233 (1943); — Strahlentherapie 101, 143 (1956); — Studies on Quantitative Radiation Biology. Edinburgh: Oliver & Boyd 1961.

Anschrift: Prof. Dr. K. G. ZIMMER
Institut für Strahlenbiologie
Kernforschungszentrum Karlsruhe
75 Karlsruhe
Postfach 947