

Strahlenbiologische Effekte nach Radiosynoviorthese mit Rhenium-186-Sulfid und Erbium-169-Citrat

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereiches Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Annika Jeannine Schnurbus-Duhs
aus Berlin

Gießen 2012

Aus der Klinik für Nuklearmedizin
der Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH
Standort Gießen

Gutachter: Priv.-Doz. Dr. med. Dipl. Phys. R. Klett

Gutachter: Prof. Dr. med. A. Drzezga

Tag der Disputation: 16. August 2013

Die vorliegende Arbeit wurde auf Anregung und unter Anleitung von Priv.-Doz.
Dr. med. Dipl. Phys. R. Klett in der Zeit von Juli 2007 bis September 2012 angefertigt.

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

Klett R, Schnurbus-Duhs A, Mödder G, Schmid E, Voth M.

Biological dosimetry after radiosynoviorthesis with rhenium-186 sulphide and erbium-169 citrate.

Nuklearmedizin 2012; 51: 17–25

Inhalt

1	Einleitung.....	1
1.1	Radiosynoviorthese.....	1
1.2	Evaluation der Strahlenexposition.....	3
1.2.1	Biologische Dosimetrie	4
1.3	Zielsetzung	8
2	Methoden.....	9
2.1	Studiendesign.....	9
2.2	Studienpopulation.....	9
2.2.1	Einschlussverfahren.....	9
2.2.2	Einschlusskriterien.....	10
2.2.3	Ausschlusskriterien.....	10
2.2.4	Kriterien für Studienabbruch und Ersatz.....	11
2.2.5	Identifikation von Patienten und Blutproben	11
2.3	Radiosynoviorthese.....	12
2.4	Aktivitätsabtransport	12
2.5	Biologische Dosimetrie.....	13
2.6	Statistik.....	18
3	Ergebnisse	19
3.1	Patientenkollektiv	19
3.2	Applizierte Aktivität.....	21
3.3	Dosimetrie.....	21
3.3.1	Rhenium-186	21
3.3.2	Erbium-169	23
3.3.3	Rogue cells.....	25
3.4	Aktivitätsabtransport	25

4	Diskussion	27
4.1	Dosimetrie	27
4.1.1	Einflüsse auf die Aberrationsrate.....	28
4.2	Rogue cells	30
4.3	Aktivitätsabtransport.....	31
4.4	Protokollverletzungen	32
4.5	Vergleich mit früheren Arbeiten.....	33
4.5.1	Biologische Dosimetrie.....	33
4.5.2	Aktivitätsabtransport	35
4.6	Schlussfolgerung.....	37
5	Zusammenfassung	38
6	Abkürzungsverzeichnis	40
7	Tabellen- und Abbildungsverzeichnis	42
7.1	Tabellenverzeichnis	42
7.2	Abbildungsverzeichnis	44
8	Literaturverzeichnis	45
9	Anhang: Statistische Analyse	50
10	Eidesstattliche Erklärung	64
11	Danksagung.....	65
12	Lebenslauf.....	66

1 Einleitung

1.1 Radiosynoviorthese

Der Einsatz radioaktiver Strahlung zur Behandlung entzündlicher Gelenk- und Skeletterkrankungen wird seit dem Ende des neunzehnten Jahrhundert beschrieben [1, 2]. Erste Veröffentlichungen über die intraartikuläre Applikation von Radionukliden bei Patienten mit rheumatischen Erkrankungen stammen von Karl Fellingner aus dem Jahr 1952 [3]. Der Begriff „Radiosynoviorthese“, im Folgenden mit RSO abgekürzt, wurde 1968 von Florian Delbarre eingeführt [4].

Die intraartikuläre Injektion eines geeigneten Radiopharmakons führt zu einer Reaktion der entzündlich veränderten und hypertrophierten Synovialis, die man als Strahlensynovialitis bezeichnet. Die verwendeten Radionuklide emittieren hauptsächlich Betastrahlung mit einer maximalen (Gewebe-)Reichweite von nur wenigen Millimetern. Die Strahlung dringt kaum in tiefere Gewebeschichten vor und wirkt fast ausschließlich auf die Synovialis. Oberflächliche Synovialzellen phagozytieren das in kolloidaler Form applizierte Radionuklid und es kommt zu einer strahleninduzierten Gewebsnekrose, die unter Narbenbildung abheilt. Histopathologisch handelt es sich dabei um eine Fibrosierung und Sklerosierung der Synovialis, die mit einer reduzierten Proliferationsneigung einhergehen. Hierdurch gehen sowohl Schmerzen als auch Gelenkergüsse deutlich zurück [5, 6, 7, 8, 9].

Die Wahl des Radionuklids ist vor allem von der Gelenkgröße abhängig. Für kleine Gelenke werden Nuklide mit geringer Reichweite, für große Gelenke solche mit größerer Reichweite eingesetzt. Die zu applizierende Aktivität wird von der Dicke der Synovialis, der entzündlichen Aktivität und dem Gelenkvolumen bestimmt.

Folgende Anforderungen werden an ein ideales Radiopharmakon gestellt:

- Penetration und Ablation des entzündlich veränderten Synovialgewebes ohne Schädigung des darunter befindlichen Gelenkknorpels oder der darüber liegenden Haut

- Bindung des Radionuklids an Partikel, die klein genug sind, um phagozytiert zu werden, jedoch zu groß, um das Gelenk zu verlassen, bevor sie phagozytiert werden können
- biologische Abbaubarkeit der Partikel, um eine Induktion der Gewebegranulation zu vermeiden

In Europa werden vornehmlich die Radionuklide Rhenium-186 (Re-186), Erbium-169 (Er-169) und Yttrium-90 (Y-90) eingesetzt [10]. Tabelle 1 zeigt deren jeweilige Halbwertzeiten, Energie und Reichweite im Gewebe sowie die behandelbaren Gelenke mit der zu applizierenden Aktivität.

Tabelle 1

Halbwertzeit (HWZ), Energie und Reichweite der Betastrahlung, Gelenke und empfohlene Aktivität für die Radionuklide Re-186, Er-169 und Y-90 (OSG, oberes Sprunggelenk; USG, unteres Sprunggelenk; MCP, Metacarpophalangealgelenk; MTP, Metatarsophalangealgelenk; PIP, proximales Interphalangealgelenk; DIP, distales Interphalangealgelenk), Daten aus Clunie *et al.* [11]

Radio-nuklid	HWZ [h]	max./durchschnittl. Energie [MeV]	durchschnittl. Reichweite in Weichteilen [mm]	Gelenke	empfohlene Aktivität [MBq]
Re-186	89	1,07/0,349	1,2	Hüfte, Schulter	74–185
				Ellbogen	74–111
				Handgelenk	37–74
				OSG, USG	74
Er-169	226	0,34/0,099	0,3	MCP	20–40
				MTP	30–40
				PIP, DIP	10–20
Y-90	64	2,27/0,935	3,6	Kniegelenk	185–222

Re-186 wird als Sulfid-Kolloid zur Behandlung mittelgroßer Gelenke eingesetzt. Es zerfällt dabei zu stabilem Osmium-186. Re-186 besitzt neben der therapeutisch wirksamen mittlereenergetischen Betastrahlung auch einen Gammastrahlenanteil mit einem Photopeak bei 137 keV, sodass postinterventionell die szintigraphische Darstellung der Nuklidverteilung möglich ist.

Er-169, ein niederenergetischer Betastrahler mit kurzer Reichweite, wird als Citrat-Kolloid für kleine Gelenke verwendet. Es zerfällt zu stabilem Thulium-169. Es besitzt einen geringen Gammastrahlenteil, der jedoch nur etwa 0,1 % ausmacht.

^{90}Y wird in kolloidaler Form als Citrat für das Kniegelenk verwendet. Es handelt sich um einen reinen hochenergetischen Betastrahler, der zu über 99% zu stabilem Zirkonium-90 zerfällt.

Die jeweiligen Zerfallsprodukte entwickeln keine therapeutische oder toxische Aktivität.

Indikationen für die RSO mit den oben genannten Radionukliden sind gemäß der Europäischen Gesellschaft für Nuklearmedizin folgende Erkrankungen [11]:

- die rheumatoide Arthritis
- die seronegative Spondylarthropathie (z.B. reaktive oder Psoriasisarthritis)
- andere entzündliche Gelenkerkrankungen (z.B. Lyme-Borreliose oder M. Behçet)
- der chronische Gelenkerguss
- die Arthritis bei Hämophilie
- die Kristallarthropathie
- die villonoduläre Synovitis
- der chronische Gelenkerguss nach Gelenkersatz
- die undifferenzierte Arthritis (charakterisiert durch Synovitis, Synovialisverdickung oder Gelenkerguss)

Die RSO ist durch die Verwendung radioaktiver Substanzen mit einer Strahlenexposition des Patienten verbunden, welche zwar für die Behandlung des entzündeten Gelenkes notwendig, für andere Gewebe und Organe jedoch nicht erwünscht ist. Die Exposition hängt unter anderem von der in das Gelenk injizierten und dort verbleibenden Aktivität ab, die in Form von Beta- und deren Bremsstrahlung auf das Gewebe wirkt. Für die unerwünschte Strahlenexposition außerhalb des Gelenkes ist vor allem der Aktivitätsabtransport aus dem Gelenk von Bedeutung.

1.2 Evaluation der Strahlenexposition

Die Strahlenexposition wird üblicherweise anhand der Verteilung der Radioaktivität im Körper über die Zeit und der Beschaffenheit des exponierten Gewebes unter

Berücksichtigung der physikalischen Eigenschaften der Strahlung gemessen. Die Verteilung einer radioaktiven Substanz im Körper kann durch eine Ganzkörper-szintigraphie ermittelt werden, mittels derer sich die emittierte Gammastrahlung darstellen lässt. Für Re-186 kann so dessen Verteilung im Körper und damit der quantitative Aktivitätsabtransport aus dem behandelten Gelenk bestimmt werden. Entscheidend hierfür ist der Gammastrahlenanteil des Nuklids. Da dieser bei Er-169 nur gering ist, kann die Messung eines potentiellen Aktivitätsverlusts hier nicht mithilfe der Szintigraphie erfolgen, woraus sich die Notwendigkeit alternativer Verfahren ableitet. Als anerkannte Methode für die Bewertung der radiobiologischen Wirkung der RSO gilt die biologische Dosimetrie, die über die Analyse von Chromosomenveränderungen in Lymphozyten Rückschlüsse auf die Gewebeexposition zulässt [12].

1.2.1 Biologische Dosimetrie

Es handelt sich bei der biologischen Dosimetrie um ein Verfahren, das durch die Untersuchung biologischer Indikatoren eine Gewebeexposition mit ionisierender Strahlung nachweisen kann.

Die biologische Wirkung aller ionisierenden Strahlen beruht auf radiobiologischen Wirkungsketten, die mehrere, zum Teil noch unerforschte Schritte umfassen [13]:

- Ionisierung (Dauer: 10^{-13} s)
- Radiolyse des Zellwassers mit Bildung aggressiver Radikale (Dauer: 10^{-9} s)
- Reaktion der Radikale mit dem Zellwasser unter Bildung von Peroxiden (Dauer: wenige Sekunden)
- Reaktion der Radiolyseprodukte mit DNA, RNA, Enzym- und Membranlipiden

Die strahleninduzierte Zell- und Gewebeschädigung hängt zum einen von der Strahlenempfindlichkeit der Zellen sowie vom unmittelbaren Strahlenschaden ab und wird zum anderen von Erholungs- und Reparaturprozessen der Zellen geprägt.

Ein Maß für die Wirkung von Strahlung ist der lineare Energietransfer (LET). Er gibt die Energieabgabe dE in Kiloelektronenvolt pro Mikrometer Weglänge dx (dE/dx) eines Teilchens beim Durchgang durch biologische Materie an und ist somit ein indirektes Maß für die Anzahl der Ionisationen pro Wegstrecke. Man unterscheidet locker

ionisierende, niederenergetische *low*-LET-Strahlung von dicht ionisierender, hochenergetischer *high*-LET-Strahlung. Im Falle locker ionisierender Strahlen wie Röntgen-, Beta- und Gammastrahlung sind die Ionisationsprozesse im Gewebe und damit auch die strahlenbiologischen Schäden weit voneinander entfernt, da die Energie im Gewebe durch wenige zufällige Molekülzusammenstöße abgegeben wird. Es kommt mit zunehmender Gewebedicke zu einer exponentiellen Reduktion der Energieabgabe. Bei dicht ionisierender Strahlung, z.B. Alphastrahlung, liegen die Ionisationsereignisse infolge zahlreicher Zusammenstöße mit Elektronen des bestrahlten Gewebes als dichte Spur entlang der Bahn des Teilchens und bewirken eine hohe lokale Schadensdichte. Durch die Ablenkung und Abbremsung insbesondere von Betastrahlung kommt es zusätzlich zur Aussendung elektromagnetischer Strahlung, sogenannter Bremsstrahlung [14, 15, 16, 17].

Die Analyse von Chromosomenaberrationen als Methode der biologischen Dosimetrie ist ein empfindliches Verfahren zur Abschätzung der Dosis ionisierender Strahlung, die auf ein Individuum eingewirkt hat. Diese Abschätzung basiert auf der Häufigkeit struktureller Chromosomenaberrationen, vor allem dizentrischer Chromosomen, deren Auftreten nachweislich mit strahleninduzierten Zellschäden korreliert [12]. Sie sind Folge primärer Strahlenschäden an der DNA und hier vor allem von Doppelstrangbrüchen [15]. Nichtreparierte Brüche sind auf Chromosomenebene als Fragmente sichtbar, Fehlreparaturen geschädigter DNA-Stränge führen zu einer Vielzahl von Austauschaberrationen wie dizentrischen Chromosomen, Ringen oder Translokationen (siehe auch Abbildung 2, Seite 16) [18].

Auf die Auswertung sogenannter stabiler Aberrationen wie reziproker Translokationen oder Insertionen wurde in der Vergangenheit häufig verzichtet. Sie können nur mit aufwendigen Färbemethoden wie dem Giemsa-Banding oder der Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (FISH) detektiert werden [19, 20, 21], die durch Automatisierung zur Auswertung höherer Zellzahlen genutzt werden kann. Sie sind jedoch mit einem hohen Zeitaufwand und im Falle von FISH mit hohen Kosten verbunden.

Dizentrische Chromosomen sind ein charakteristischer Indikator für ionisierende Strahlung und zeigen unter reproduzierbaren Expositions- und Kulturbedingungen eine eindeutige Dosiskorrelation. Sie sind einfach zu detektieren und haben gegenüber

anderen Chromosomenaberrationen eine hohe Spezifität, da sie in Kontrollpopulationen mit einer geringen Spontanrate zu lediglich 1‰ gefunden werden [22, 23, 24]. Sie gehören jedoch zu den instabilen Aberrationen, da es bei jeder Zellteilung zu einer Verminderung ihrer Anzahl um 50% kommt [25]. Dies kann zu einer Unterschätzung des strahleninduzierten Schadens führen, wenn ein langer Zeitraum (Monate bis Jahre) zwischen Strahlenexposition und Untersuchung liegt. Für die vorliegenden Studien erfolgen die Probenentnahmen in Abhängigkeit von der Halbwertszeit des jeweiligen Radiopharmakons, sodass das Vorhandensein der Strahlenwirkung bis zum Zeitpunkt der Entnahme angenommen werden kann. *In vitro* werden die Zellen in der ersten Mitose untersucht, sodass auch hier eine Unterschätzung von Chromosomenschäden vermieden wird [26].

Die Untersuchung dizentrischer Chromosomen gilt als empfindlichste und zuverlässigste Methode zum Nachweis einer Strahlenexposition und wurde deshalb in der vorliegenden Arbeit gewählt [12].

Wegen ihrer Omnipräsenz im Körper und ihrer einfachen Gewinnung werden bei der biologischen Dosimetrie vor allem Lymphozyten des peripheren Blutes (periphere Blutlymphozyten, PBL) untersucht. Sie befinden sich überwiegend in der G₀-Phase des Zellzyklus¹. Dies ist von Bedeutung für die Untersuchung von Strahlenschäden, da sich die Strahlenempfindlichkeit von Zellen im Verlauf des Zellzyklus ändert [27]. Die hier untersuchten Zellen sind somit hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit vergleichbar.

Kommt es zur Schädigung der DNA oder treten bei der DNA-Replikation Fehler auf, wird der Zellzyklus arretiert. Untersuchungen *in vitro* ergaben, dass stark geschädigte

¹ Der Zellzyklus umfasst die Ereignisse, die zwischen dem Ende der einen und dem Ende der nächsten Zellteilung liegen. Er kann grob in eine kurze Teilungs- oder Mitose-Phase (M-Phase) und eine längere Interphase unterteilt werden, die sich wiederum in G₁-, S- und G₂-Phase gliedert. Die S-Phase (Synthase-Phase) dient der DNA-Replikation. M- und S-Phase sind durch zwei zeitliche Lücken (engl.: *gaps*) getrennt, die G₁- und die G₂-Phase, in denen das genetische Material auf Fehler geprüft und ggf. repariert wird. In beiden G-Phasen gibt es einen Kontrollpunkt, der nur unter bestimmten Voraussetzungen überschritten werden kann. Nach der M-Phase benötigt die gesunde Zelle Reize durch Wachstumsfaktoren, um die nächste G₁-Phase zu beginnen. Bei Fehlen solcher mitogener Faktoren tritt die Zelle in die sogenannte G₀-Phase ein, eine proliferatorische Ruhephase, aus der sie wiederum durch Reize von Wachstumsfaktoren in den Zellzyklus zurückkehren kann.

Zellen die erste Mitose nach Bestrahlung mit erheblichen Verzögerungen erreichen [28]. Die Dauer dieser mitotischen Verzögerung hängt hierbei von Art und Anzahl der strahleninduzierten Schäden ab, d.h. sowohl von der Dosis als auch vom LET der Strahlung. Zellen mit einem hohen DNA-Schaden unterliegen einer stärkeren Verzögerung als weniger geschädigte Zellen [29]. Es kann demzufolge zu einer Unterschätzung des strahleninduzierten Schadens kommen [30], wenn Metaphasen nur zu einem relativ frühen Zeitpunkt untersucht werden.

In bisherigen Studien, die sich mit radiobiologischen Effekten nach RSO beschäftigten, wurden oftmals Methoden zur Evaluation der Strahlenwirkung eingesetzt, die in ihrer Sensitivität und insbesondere der Spezifität nicht mit der Aussagekraft der Analyse dizentrischer Chromosomen vergleichbar sind. Unter anderem wurden alle Aberrationen oder andere als dizentrische Chromosomen bewertet und eine nicht ausreichende Zahl an Zellen ausgewertet [31, 32]. In den wenigen Arbeiten, bei denen die biologische Dosimetrie zur Anwendung kam, wurden Schwierigkeiten hinsichtlich der Kulturtechniken beschrieben. Unter den verwendeten Kulturbedingungen wurden von den Autoren nicht die in ihrer Arbeit geforderte Zahl von 500 Metaphasen erzielt, zudem zeigte sich eine hohe interindividuelle Variabilität der Anzahl [33]. Derartige Probleme wurden bei den vorliegenden Untersuchungen dadurch umgangen, dass längere Kulturzeiten gewählt und 1000 Metaphasen pro Probe ausgewertet wurden. Diese Anzahl ist geeignet, um nach längerer Einwirkung locker ionisierender (*low*-LET-) Strahlung in einem bestrahlten Kollektiv Strahlendosen von 50 bis 100 mGy nachzuweisen [12].

1.3 Zielsetzung

Das Ziel dieser Arbeit war es, die RSO mit den Betastrahlern Re-186 und Er-169 hinsichtlich biologischer Strahleneffekte sowie des Aktivitätsabtransports aus den behandelten Gelenken zu untersuchen, um die Sicherheit des Verfahrens abzuschätzen.

Folgende Fragen wurden zu Beginn der Arbeit formuliert:

1. Kommt es nach RSO mit Re-186 und Er-169 zu einem Anstieg der Häufigkeit des Auftretens chromosomaler Aberrationen in Lymphozyten des peripheren Blutes (PBL)?
2. Kommt es zu einer signifikanten Zunahme dizentrischer Chromosomen in PBL?
3. Zeigen sich weitere Auffälligkeiten auf zellulärer Ebene?
4. Findet bei der RSO mit Re-186 ein relevanter Aktivitätsabtransport aus dem behandelten Gelenk statt?

Der Schwerpunkt der vorliegenden Untersuchungen liegt auf der Auswertung chromosomaler Aberrationen in Zellen des peripheren Blutes der Patienten. Dieses Verfahren wird von der *International Atomic Energy Agency* zur Bewertung derartiger Strahleneffekte empfohlen, da es als zuverlässig und empfindlich gilt [12].

2 Methoden

2.1 Studiendesign

Die vorliegenden Studien wurden als prospektive, explorative, offene, multizentrische klinische Studien an je einer Patientengruppe durchgeführt. Die Patienten dienten sich selbst als Kontrolle, da ihre Blutproben jeweils vor und nach dem zu untersuchenden Verfahren analysiert wurden. Es wurde keine weitere Kontrollgruppe in die Prüfung eingeschlossen.

Für die Studien lag ein positives Votum der zuständigen Ethikkommissionen vor. Alle Patienten gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme.

2.2 Studienpopulation

Für beide Studien sollen jeweils zehn Patienten untersucht werden, bei denen die Indikation für eine RSO des Handgelenks (Re-186) oder der kleinen Fingergelenke (Er-169) gestellt wurde, nachdem eine sechsmonatige konservative Behandlung einer rheumatoiden oder seronegativen Arthritis versagt hatte. Für Patienten mit hochgradiger Gelenkdestruktion stellt die RSO kein geeignetes Verfahren dar, sodass diese nicht in die Studien eingeschlossen wurden.

2.2.1 Einschlussverfahren

Für die Studie mit Re-186 ist der Einschluss von Patienten an zwei Zentren in Deutschland geplant:

- Klinik für Nuklearmedizin der Universität Gießen (Zentrum 01)
- Praxis für Nuklearmedizin, 50858 Köln (Zentrum 02).

Der Einschluss der Patienten soll für die Er-169-Studie an drei Zentren erfolgen:

- Klinik für Nuklearmedizin der Universität Gießen (Zentrum 01)
- Praxis für Nuklearmedizin, Rubensstraße 125 in 12157 Berlin (Zentrum 02)
- Nuklearmedizinische Praxis, Genter Straße 74 in 13353 Berlin (Zentrum 03).

Die Studienteilnahme wird solchen Patienten angeboten, die die Einschlusskriterien erfüllen. Patienten werden nur dann in die Studie eingeschlossen, wenn alle Einschlusskriterien vollständig erfüllt und alle Ausschlusskriterien sämtlich nicht erfüllt sind, sie ausreichend Zeit und Möglichkeit hatten, sich mit den Einzelheiten der Untersuchung auseinanderzusetzen und über die Teilnahme zu entscheiden, alle Fragen des Patienten zu der Studie zu seiner oder seines gesetzlichen Vertreters Zufriedenheit beantwortet wurden sowie bei eigenhändiger Signierung der Einverständniserklärung durch den Teilnehmer.

2.2.2 Einschlusskriterien

1. Geplante ambulante RSO eines Handgelenkes (Re-186) bzw. eines Finger- oder Daumensattelgelenkes (Er-169) mit Synovialitis
2. Diagnose einer rheumatoiden oder seronegativen Arthritis durch einen rheumatologisch und mit Gelenkerkrankungen erfahrenen Arzt
3. Alter: mindestens 20 Jahre
4. Vorliegen einer eigenhändigen schriftlichen Einverständniserklärung

2.2.3 Ausschlusskriterien

1. Kontraindikationen für eine RSO gemäß der aktuellen Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin
2. Radiologischer Grad der Gelenkdestruktion höher als Grad III (nach Steinbrocker) oder intraartikuläre Fraktur
3. Jegliche vorangegangene oder bis 50 Tage nach der RSO geplante Operation des zu behandelnden Gelenkes
4. Septische Arthritis des zu behandelnden Gelenkes
5. Geplante radiologische Untersuchung oder Behandlung innerhalb von drei Wochen (Re-186) bzw. 50 Tagen (Er-169) vor oder nach der RSO
6. Szintigraphie oder Radionuklidtherapie innerhalb zehn physikalischer Halbwertszeiten des verwendeten Radionuklids vor der RSO bzw. geplant bis drei Wochen (Re-186) bzw. 50 Tage (Er-169) nach der RSO
7. Laufende oder geplante Chemotherapie innerhalb von drei Wochen (Re-186) bzw. 50 Tagen (Er-169) vor oder nach der RSO

8. Änderung einer bestehenden immunsuppressiven Therapie innerhalb von drei Wochen (Re-186) bzw. 50 Tagen (Er-169) vor oder nach der RSO
9. Bereits ein Gelenk innerhalb der Studie therapiert
10. RSO von mehr als einem Gelenk geplant
11. Vorheriger Einschluss in eine andere klinische Studie

Die Ausschlusskriterien dienen der Gewährleistung der Sicherheit der Patienten (Kriterien 1–4), der Zusammenstellung einer homogenen Studienpopulation (Kriterien 2, 3 und 5–11) und dem Ausschluss solcher Bedingungen und Erkrankungen, die eine korrekte Analyse und Interpretation der Studienergebnisse behindern könnten (Kriterien 1–8).

2.2.4 Kriterien für Studienabbruch und Ersatz

Jeder Patient hat das Recht, die weitere Teilnahme an der Untersuchung zu jeder Zeit ohne die Angabe von Gründen zu beenden.

Bei vorzeitigem Studienabbruch ohne Anwendung der RSO und/oder ohne die erforderlichen Blutprobenentnahme und/oder fehlerhafter Analyse der Blutproben sowie im Falle von Protokollverletzungen wird der Studienteilnehmer ersetzt, um die geforderte Patientenzahl zu gewährleisten.

2.2.5 Identifikation von Patienten und Blutproben

An jeden Patienten wird eine eindeutige Codenummer vergeben, die sich aus der zweistelligen Zentrumsnummer (bei Re-186: 01 für Gießen, 02 für Köln; bei Er-169: 01 für Gießen, 02 für Berlin Rubensstraße, 03 für Berlin Genter Straße) und einer für Rhenium zweistelligen, für Erbium dreistelligen, dem Patienten in den einzelnen Zentren zugeordneten Zahl zusammensetzt.

Die Blutproben werden mit der Studiennummer, dem Patientencode und dem Datum der Blutentnahme versehen. Die Blutproben, die vor der RSO entnommen wurden, werden mit einem „A“ gekennzeichnet, die Blutproben, die nach der RSO entnommen wurden, mit einem „B“.

2.3 Radiosynoviorthese

Die RSO erfolgt jeweils ambulant mit Re-186-Sulfid oder Er-169-Citrat (Hersteller: Cisbio). Die Radioaktivität in der Spritze, die die Substanz enthält, wird vor und nach der RSO gemessen, um die injizierte Aktivität zu ermitteln. Diese ist in Abhängigkeit von der Größe des zu behandelnden Gelenkes zu wählen (siehe Tabelle 1, S. 2). Die Injektion erfolgt unter Röntgenkontrolle.

Zusätzlich wurden in der Re-186-Studie 5 mg Triamcinolonhexacetonid (Lederlon®) injiziert, da diese Kombinationstherapie die besten Erfolge zeigt [34].

Nach der Injektion von Re-186 oder Er-169 wird das behandelte Gelenk drei Tage lang durch eine Schiene immobilisiert, um den Aktivitätsabtransport aus dem behandelten Gelenk und die Aktivitätsaufnahme in die regionalen Lymphknoten zu minimieren [35].

Nur erfahrene Ärzte führen die RSO durch.

2.4 Aktivitätsabtransport

Drei Tage nach der RSO mit Re-186 wird eine Ganzkörperszintigraphie (Verteilungsszintigramm) in ventraler und dorsaler Sicht unter Verwendung einer Zweikopf-Gammakamera mit Niederenergiekollimator (*Bodyscan*, MIE) jeweils für das behandelte Gelenk und den Körperstamm durchgeführt. Die Scan-Geschwindigkeit beträgt 10–12 cm/min. Die Szintigraphie erfolgt bei einem Energiefenster von 137 keV, dem Photopeak der Gammastrahlung von Re-186, und einer Fensterbreite von 20%.

Der quantitative Aktivitätsabtransport in axilläre Lymphknoten, Leber und Milz sowie die Aktivität im behandelten Handgelenk werden mittels ROI-Technik (*regions of interest*) ermittelt. Es ist bekannt, dass radioaktive Kolloide sich bei einem Aktivitätsabtransport vornehmlich in diesen Organen ansammeln [36]. Die Lymphknoten-ROI umfasst alle im Szintigramm sichtbaren Lymphknoten. Die Größe der ROI für Leber und Milz entspricht dem sichtbaren Teil des jeweiligen Organs. Die Größe der Handgelenk-ROI wird so gewählt, dass nur die intraartikuläre Aktivität gemessen wird. Die Bestimmung der ROI erfolgt für jeden Patienten hintergrunds- und absorptionskorrigiert: Eine Fläche von 50×30 Pixeln außerhalb des Körpers auf Höhe

des Kopfes dient als Hintergrund-ROI. Für die Absorptionskorrektur wird das geometrische Mittel aus ventraler und dorsaler Sicht gebildet. Aus allen ROI wird der Aktivitätsabtransport aus dem Gelenk ermittelt:

$$\frac{\text{Lymphknoten} + \text{Leber} + \text{Milz}}{\text{Handgelenk} + \text{Lymphknoten} + \text{Leber} + \text{Milz}}$$

Kann visuell kein Aktivitätsabtransport festgestellt werden, wird der prozentuale Anteil auf Null gesetzt.

In Abbildung 1 ist beispielhaft die Szintigraphie einer Patientin dargestellt. Die Aktivität im Handgelenk, den axillären Lymphknoten, in der Leber sowie in der Milz ist gut zu erkennen.

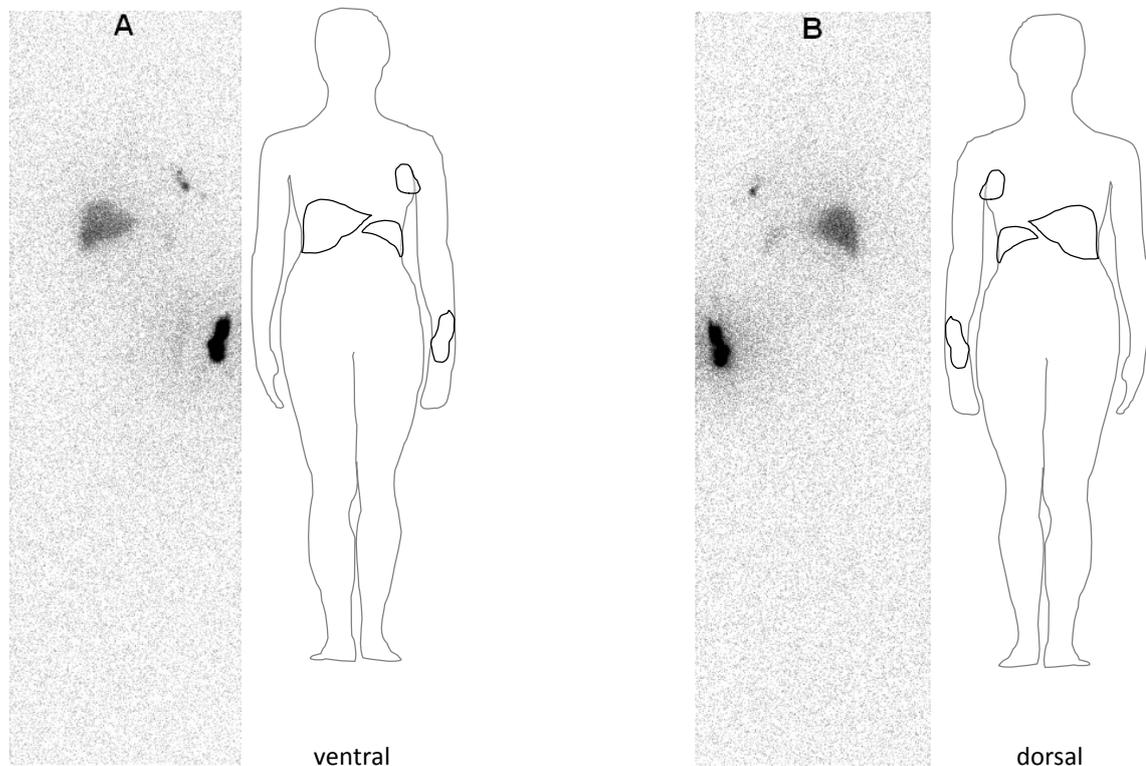


Abbildung 1

Szintigraphie der Patientin mit der Codenummer 0101 nach RSO des linken Handgelenks in **A**: ventraler und **B**: dorsaler Ansicht; ergänzend jeweils korrespondierende schematische Darstellung der Bereiche, die in der Szintigraphie Aktivität aufweisen (linkes Handgelenk, axilläre Lymphknoten links, Leber, Milz).

2.5 Biologische Dosimetrie

Allen Patienten wird nach Einschluss in die vorliegenden Studien direkt vor der RSO etwa 7,5 ml venöses Blut unter Verwendung von Sarstedt Monovette®-Röhrchen mit

Heparin entnommen. Nach dem gleichen Prinzip erfolgt 17 bis 20 Tage (Re-186) bzw. 45 bis 50 Tage (Er-169) nach der RSO die zweite Blutentnahme. Diese Expositionszeiten entsprechen 4,85 Halbwertzeiten von Re-186 bzw. 5,01 Halbwertzeiten von Er-169, in denen jeweils mehr als 95 % der während und nach der RSO maximal emittierten Strahlendosis erreicht werden. Die kodierte Blutproben werden bis zur Versendung bei Raumtemperatur gelagert und an das zytogenetische Labor des Strahlenbiologischen Instituts der Universität München gesandt. Die dort angefertigten Berichte dienen als Grundlage der hier dargestellten Methoden und Ergebnisse der biologischen Dosimetrie^{2,3}.

Für die Bewertung der radiobiologischen Wirkung müssen die Zellen zunächst kultiviert und in der Metaphase der Mitose arretiert werden. Dann können Chromosomenpräparate erstellt und lichtmikroskopisch auf eventuelle Chromosomenaberrationen untersucht werden. Die verwendete Kulturtechnik für Lymphozyten entspricht grundsätzlich der von der *International Atomic Energy Agency* beschriebenen Methode [12], die den Erfordernissen der jeweiligen Studie, wie nachfolgend beschrieben, angepasst wird.

Um die von Manil *et al.* [33] beschriebenen Schwierigkeiten zu geringer Metaphaseraten zu vermeiden, werden die Kulturen während der gesamten Inkubationszeit mit dem Spindelgift Colcemid behandelt und Kulturzeiten von 50 bis 60 Stunden in Anwesenheit des Lymphozytenstimulators PHA gewählt. Diese sind um bis zu 15 Stunden länger als die üblicherweise unter Befolgung des Standardprotokolls angewendete Kulturzeit (45 Stunden). Kanda *et al.* [37] schlugen die Wahl solch langer Kulturzeiten vor, um Probleme der verzögerten Lymphozytenstimulation, wie sie von Manil *et al.* beschrieben worden sind, auszuschließen. Für die zuerst durchgeführte Analyse der Proben aus der Rhenium-Studie wird zudem parallel der Ansatz nach dem

² Schmid E. Quantifizierung der Strahlenexposition bei der RSO mit dem Radionuklid Rhenium-169 am Beispiel von Chromosomenaberrationen in peripheren Lymphozyten. 2007.

³ Schmid E. Quantifizierung der Strahlenexposition bei der RSO mit dem Radionuklid Erbium-186 am Beispiel von Chromosomenaberrationen in peripheren Lymphozyten. 2008.

Standardprotokoll angefertigt, um eventuelle Unterschiede zwischen den Protokollen aufzudecken.

Da die verschiedenen Ansätze gleiche Ergebnisse lieferten, wird für die Erbium-Studie nur noch der modifizierte Ansatz gewählt (siehe Tabelle 2, S. 16). Auch hier werden zwei Kulturen angelegt, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten.

Die Kultur- und Färbebedingungen stellen sicher, dass die Chromosomenanalyse ausschließlich in Metaphasen des ersten Zellzyklus *in vitro* durchgeführt und dass alle Zellen, die die Mitose vor Fixation erreichten, analysiert werden. Dadurch können hier auch Zellen untersucht werden, die eine beispielsweise durch eine hohe Aberrationsrate bedingte verzögerte PHA-Stimulation oder starke Mitoseverzögerung aufweisen. Zellen, die bereits einer zweiten Zellteilung unterlagen, sind hierbei leicht als tetraploide Mitosen oder Endomitosen erkennbar (siehe Abbildung 3, S. 17).

Es werden von jeder Blutprobe zwei Kulturen mit 0,5 ml Vollblut und 4,5 ml RPMI-1640-Medium angelegt. Das Medium enthält Elektrolyte, Puffer, Aminosäuren, Kohlenhydrate und Vitamine. Zur Wachstumsförderung werden zusätzlich 16% fetales Kälberserum zugegeben, außerdem 2,5% Phytohämagglutinin (PHA) zur Lymphozytenstimulation [38], 1% Glutamin sowie Antibiotika zur Vermeidung von Bakterienwachstum.

Für die Re-186-Studie wird je eine der zwei angefertigten Kulturen anhand des Standardprotokolls in Anwesenheit von 12 µg/ml Bromodesoxyuridin (BrdU) 48 Stunden bei 37°C inkubiert. Während der letzten drei Stunden wird 0,1 µg/ml des Colchicinanalogs Colcemid zugefügt. Die Inkubation der zweiten Kultur erfolgt nach dem angepassten Protokoll für 50–60 Stunden, wobei Colcemid in einer geringeren Konzentration von nur 0,08 µg/ml während der gesamten Kulturzeit anwesend ist.

Für die Er-169-Studie werden beide Kulturen über 50–60 Stunden in Gegenwart von 0,03 µg/ml Colcemid inkubiert.

Die Re-186-exponierten Zellen, die 48 Stunden inkubiert wurden, werden nach dem Standardprotokoll des Bundesamtes für Strahlenschutz [39] präpariert und mit Fluoreszenz plus Giemsa (FPG) gefärbt. Die Zellen beider Studien, die 50–60 Stunden inkubiert wurden, werden nur mit Giemsa gefärbt.

Tabelle 2 gibt einen Überblick über die verwendeten Techniken.

Tabelle 2

Kulturtechniken in der Re-186- und Er-169-Studie

(PHA, Phytohämagglutinin, BrdU, Bromodesoxyuridin; FPG, Fluoreszenz plus Giemsa)

Kulturansatz	Radionuklid	Kulturzusätze	Kulturzeit	Färbung
0,5 ml Vollblut 4,5 ml RPMI-1640-Medium 16% fötales Kälberserum 2,5% PHA 1% Glutamin Antibiotika	Re-186	12 µg/ml BrdU 0,1 µg/ml Colcemid während letzter 3 h	48 h	FPG
		12 µg/ml BrdU 0,08 µg/ml Colcemid während gesamter Kulturzeit	50–60 h	Giemsa
	Er-169	0,03 µg/ml Colcemid während gesamter Kulturzeit	50–60 h	Giemsa

Vor und nach der RSO wird die Häufigkeit von Chromosomenaberrationen untersucht. Nur vollständige Metaphasen in mindestens 1000 Zellen pro Blutprobe werden auf dizentrische Chromosomen, zentrische Ringe, Deletionen, Chromatidbrüche sowie Chromatidaustauschfiguren analysiert. Die verschiedenen Aberrationen sind in Abbildung 2 schematisch dargestellt.

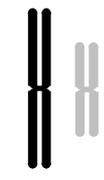
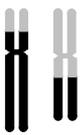
intrachromosomal	normal	Chromatidbruch <i>cbr</i>	Deletion <i>del</i>	zentrischer Ring <i>cr</i>
				
interchromosomal	normal	dizentrisches Chromosom <i>dic</i>	reziproker Austausch <i>exch</i>	
				

Abbildung 2

Schematische Darstellung der in den Studien untersuchten, in Metaphasepräparaten auftretenden Aberrationstypen in Anlehnung an Speicher [40]

Im Rahmen der Chromosomenanalysen der Blutproben beider RSO-Kollektive wird zusätzlich das Auftreten sogenannter *rogue cells* dokumentiert. Es handelt sich dabei um schwer gestörte Zellen, die sich insbesondere durch eine abnorm hohe Aberrationsrate auszeichnen. Hierzu wird in der Diskussion Stellung genommen.

Abbildung 3 zeigt Metaphasen der ersten Mitose *in vitro*, die nach 60 Stunden Kulturzeit in Anwesenheit von Colcemid untersucht wurden. Abbildung 3a zeigt eine normale Metaphase. Für den Fall, dass Zellen dem Colcemid-induzierten Metaphaseblock auswichen, können sie an ihrer Erscheinung als Zellen mit tetraploidem Chromosomensatz (siehe Abbildung 3b) oder einer Endomitose (siehe Abbildung 3c) leicht als Zellen in Metaphasen der zweiten Zellteilung erkannt werden. Diese Zellen wurden bei der Auswertung ausgeschlossen, um lediglich Zellen nach der ersten Teilung zu erfassen. In Abbildung 3d ist eine *rogue cell* dargestellt.

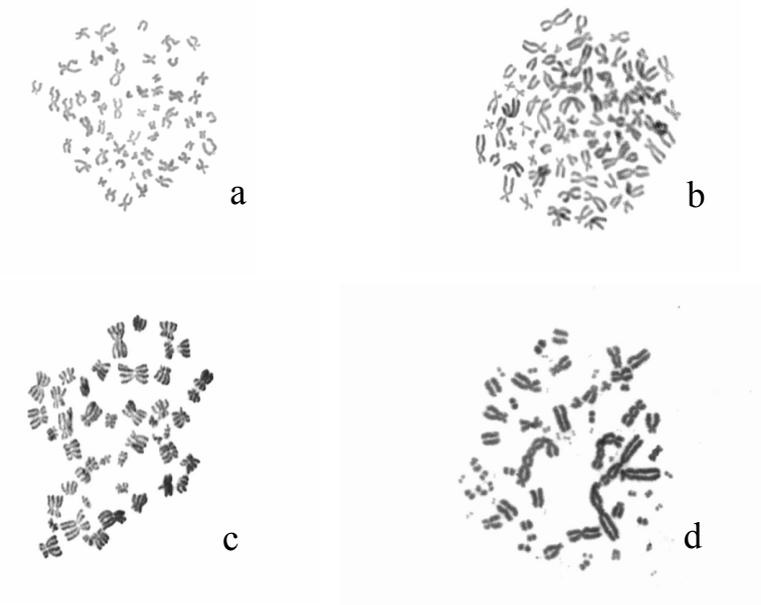


Abbildung 3

Erscheinungsbild von Lymphozyten in der Metaphase aus einer 60-Stunden-Kultur in Anwesenheit von 0,03 µg/ml Colcemid:

a normale Zelle in der ersten Mitose *in vitro*

b tetraploide Zelle in der zweiten Mitose *in vitro*

c Endomitose in der zweiten Mitose *in vitro*

d stark gestörte *rogue cell* in der ersten Mitose *in vitro*

2.6 Statistik

Für das Auftreten dizentrischer Chromosomen wird der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für die Häufigkeitsverteilung gepaarter Stichproben durchgeführt, da ein Häufigkeitsanstieg dieser Aberration in Lymphozyten als sensitiver und charakteristischer Bioindikator für jegliche Strahlenexposition des Menschen betrachtet wird [41].

Der Test kann eingesetzt werden, um die Nullhypothese zu bestätigen, dass sich die getesteten Werte (hier: Häufigkeit dizentrischer Chromosomen) in gepaarten Stichproben zweier Populationen (vor und nach RSO) in Anzahl oder Art nicht unterscheiden. Die Nullhypothese in der vorliegenden Arbeit lautete: „kein Strahleneffekt“. Als Signifikanzniveau wird ein $p < 0,05$ verwendet.

3 Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Re-186

Zehn Patienten (acht Frauen, zwei Männer) erhielten eine RSO des Handgelenks mit Re-186-Sulfid. Sie waren zum Zeitpunkt der Behandlung zwischen 39 und 77 Jahre alt (Median: 62,5 Jahre). Tabelle 3 zeigt unter anderem die zugrundeliegenden Krankheiten und die Medikation dieser Patienten. Keiner der mit Re-186 behandelten Patienten wurde zwischen den Blutentnahmen nuklearmedizinisch oder radiologisch untersucht oder behandelt (abgesehen von der RSO).

Tabelle 3

Patientendaten, Expositionsbedingungen und Blutentnahmezeiten (Re-186)

(Geschlecht: f, weiblich; m, männlich; Diagnosen: RA, rheumatoide Arthritis; Medikamente:

Ai, nichtsteroidales antientzündliches Medikament; An, Analgetikum; Co, Corticosteroid;

Mtx, Methotrexat; Chl, Hydroxychloroquin; Lfl, Leflunomid; Sif, Sulfasalazin; At, TNF- α -Blocker)

Codendr.	Alter	Geschlecht	Diagnose	Medikamente	applizierte Aktivität in MBq	Blutentnahmezeit in Tagen	
						vor RSO	nach RSO
0101	65	f	RA	Co	58	0	19
0102	39	m	Spondyl- arthritis	Ai, Co	57	0	18
0201	66	f	RA	An, Co	51	0	17
0202	77	f	RA	Ai, Mtx	46	0	17
0203	66	f	Spondylitis ankylosans	At	47	0	17
0204	53	f	RA	Co, Mtx, Chl	51	0	17
0205	63	f	RA	Ai, Co	50	0	17
0206	57	f	RA	Ai, Co, Lfl	49	0	17
0207	40	f	RA	Co, Sif	50	0	18
0208	64	m	RA	Ai, Co, Mtx, Chl	45	0	18

Er-169

An den drei in Kapitel 2.2.1 (siehe S. 9) genannten Zentren wurden Patienten für eine RSO mit Er-169 rekrutiert. Dreizehn Patienten (zwölf Frauen, ein Mann) erhielten eine RSO kleiner Gelenke (PIP, MCP, MTP, CMC) mit Er-169-Citrat. Aufgrund von Protokollverletzungen bei drei Patienten (siehe unten) wurden drei Patienten mehr als ursprünglich geplant eingeschlossen. Das Alter der Patienten bei der Behandlung lag zwischen 42 und 71 Jahren (Median: 55 Jahre). Tabelle 4 zeigt unter anderem die zugrundeliegenden Krankheiten und die Medikation dieser Patienten.

Tabelle 4

Patientendaten, Expositionsbedingungen und Blutentnahmezeiten (Er-169)

(Geschlecht: f, weiblich; m, männlich; Diagnosen: RA, rheumatoide Arthritis; Medikamente: Ai, nichtsteroidales antientzündliches Medikament; Co, Corticosteroid; Mtx, Methotrexat; Lfl, Leflunomid; Slf, Sulfasalazin; Is, Immunsuppressivum; Gelenke: PIP, proximales Interphalangealgelenk; MCP, Metacarpophalangealgelenk; CMC, Carpometacarpalgelenk; MTP, Metatarsophalangealgelenk; *, Protokollverletzung)

Codenr.	Alter	Geschlecht	Diagnose	Medikamente	Gelenk	applizierte Aktivität in MBq	Blutentnahmezeit in Tagen	
							vor RSO	nach RSO
01001	71	f	Psoriasis- arthritis	Mtx	PIP II	19	0	48
01002	55	f	RA	Ai	MCP III	33	0	48
01003	60	f	RA	Co	PIP IV	17	0	45
02001	65	f	Psoriasis- arthritis	Ai	PIP IV	12	0	50
02002	56	f	Psoriasis- arthritis	Lfl	PIP V	11	0	46
02003*	42	m	Psoriasis- arthritis	Is	MTP I	10	0	50
02004*	45	f	RA	Ai, Co	PIP V	9	0	49
02005*	64	f	RA	Ai, Mtx	MCP II	11	0	46
03001	53	f	RA	Ai	CMC I	20	0	50
03002	53	f	RA	-	CMC I	20	0	50
03003	51	f	RA	Ai, Slf	PIP II	20	0	48
03004	65	f	RA	Co	PIP III	20	0	47
03005	47	f	RA	Ai	MCP IV	20	0	48

Bei drei Patienten gab es Protokollverletzungen (in Tabelle 4 mit „*“ gekennzeichnet):

- Bei einem Patienten (Codenummer 02003) wurde ein Fußgelenk behandelt (statt wie im Studienprotokoll verlangt ein Gelenk der oberen Extremität). Zudem wurde hier eine zu geringe Dosis appliziert (10 MBq, korrekte Dosis für das MTP: 30–40 MBq).
- Bei einer Patientin (Codenummer 02004) wurde 28 Tage nach der RSO eine radiologische Untersuchung durchgeführt und die applizierte Aktivität war mit 9 MBq zu gering (korrekte Dosis für das PIP: 10–20 MBq).
- Eine Patientin (Codenummer 02005) erhielt nicht die für das behandelte Gelenk erforderliche Dosis (11 MBq, korrekte Dosis für das MCP: 20–40 MBq).

Die Patienten wurden in den Ergebnissen weiterhin berücksichtigt; hierzu wird in der Diskussion Stellung genommen.

3.2 Applizierte Aktivität

Die verabreichte Aktivität von Re-186 lag zwischen 45 und 58 MBq pro Gelenk (Median: 50 ± 4 MBq). Die Aktivität des verabreichten Er-169 lag zwischen 9 und 33 MBq (Median: $19,0 \pm 6,3$ MBq).

Die korrekte Position der Injektionsnadel bei der Gelenkpunktion wurde jeweils durch Röntgenkontrolle gesichert.

3.3 Dosimetrie

3.3.1 Rhenium-186

Die Ergebnisse der Chromosomenanalyse vor und nach RSO mit Re-186 sind in Tabelle 5 zusammengefasst. In den 20488 analysierten Zellen der 20 Blutproben der zehn mit Re-186 behandelten Patienten wurden insgesamt 99 dizentrische Chromosomen gefunden, 40 vor und 59 nach der Behandlung. Damit handelt es sich um einen Häufigkeitsanstieg von 0,39% auf 0,57%. Bei keinem der Patienten wurden Zellen mit mehr als zwei dizentrischen Chromosomen vor oder nach der Behandlung gefunden.

Der Wilcoxon-Test zeigte keinen statistisch signifikanten Anstieg der Anzahl dizentrischer Chromosomen (5% Signifikanz) (siehe Anhang, Tabelle 11, S. 50). Für zentrische Ringe, Chromatidbrüche und -austauschfiguren wurde kein Häufigkeitsanstieg beobachtet (siehe Anhang, Tabelle 13–15, S. 52–54), hingegen ließ sich ein signifikanter Anstieg von Deletionen feststellen (siehe Anhang, Tabelle 12, S. 51).

Tabelle 5

Chromosomenaberrationen in PBL vor und nach RSO mit Re-186 und interzelluläre Verteilung dizentrischer Chromosomen (dic, dizentrische Chromosomen; cr, zentrische Ringe; del, Deletionen; cbr, Chromatidbrüche; exch, Chromatidaustauschfiguren)

Codenr.	vor / nach RSO	analyzierte Zellen	Anzahl der Chromosomenaberrationen					interzelluläre Verteilung dizentrischer Chromosomen		
			dic	cr	del	cbr	exch	0	1	2
0101	vor	1034	9	2	4	1	1	1025	9	
	nach	1002	8	2	19	1	0	994	8	
0102	vor	1014	2	0	8	8	2	1012	2	
	nach	1012	2	0	8	0	3	1000	2	
0201	vor	1012	8	0	16	2	0	1005	6	1
	nach	1046	22	0	40	6	0	1026	18	2
0202	vor	1004	7	0	19	2	0	997	7	
	nach	1066	4	0	20	4	0	1062	4	
0203	vor	1034	2	0	8	2	0	1032	2	
	nach	1040	5	0	10	2	0	1035	5	
0204	vor	1022	2	0	6	4	0	1020	2	
	nach	1022	2	0	10	3	0	1020	2	
0205	vor	1018	0	0	2	0	0	1018		
	nach	1026	2	1	6	5	0	1024	2	
0206	vor	1006	0	0	3	0	0	1006		
	nach	1034	3	0	4	0	0	1031	3	
0207	vor	1008	0	0	3	2	1	1008		
	nach	1046	1	0	6	0	0	1045	1	
0208	vor	1016	10	0	12	4	0	1006	10	
	nach	1026	10	0	11	2	0	1017	8	1
Σ	vor	10168	40	2	81	25	4	10129	38	1
	nach	10320	59	3	134	23	3	10254	53	3

Es fällt auf, dass 14 der nach der RSO mit Re-186 neu aufgetretenen 19 dizentrischen Chromosomen in der Blutprobe der Patientin mit der Codenummer 0201 auftraten (siehe Abbildung 4).

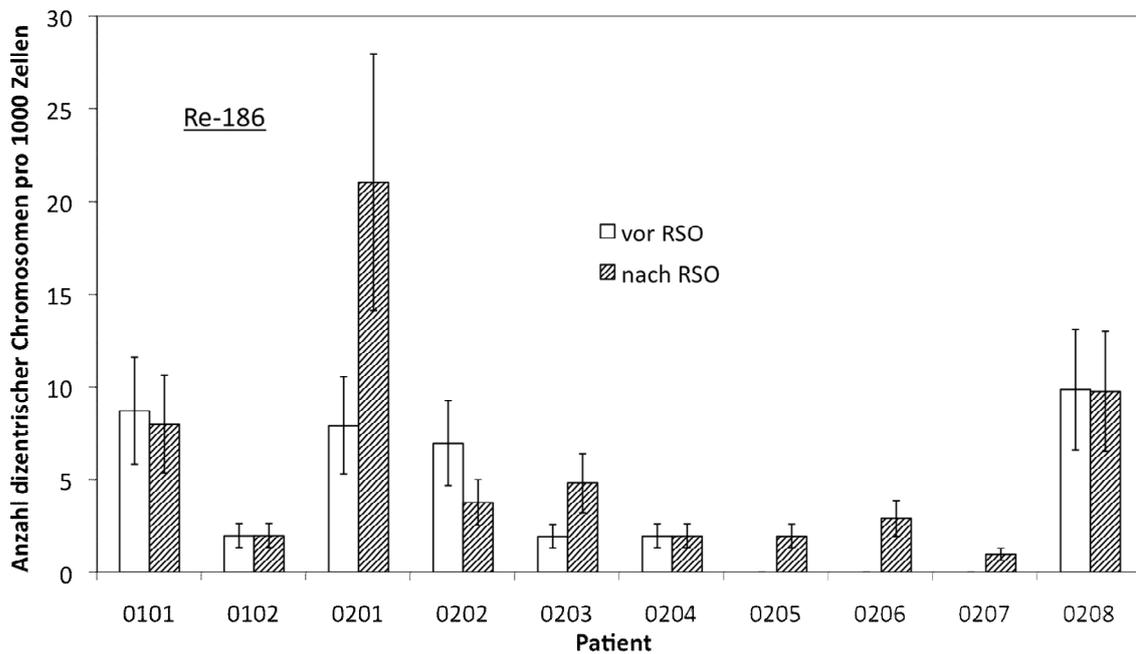


Abbildung 4

Häufigkeit dizentrischer Chromosomen in Lymphozyten vor und nach RSO mit Re-186

3.3.2 Erbium-169

Tabelle 6 zeigt die Ergebnisse der Chromosomenanalysen vor und nach der RSO mit Er-169. In insgesamt 26529 Zellen aus 26 Blutproben wurden 193 dizentrische Chromosomen gefunden, davon 88 vor und 105 nach der Behandlung, was einem Häufigkeitsanstieg von 0,66% auf 0,79% entspricht. Zellen mit mehr als zwei dizentrischen Chromosomen wurden bei zwei Patienten beobachtet. Bei einer Patientin (Codenummer 02002) wurde eine solche Zelle bereits vor der RSO erfasst, bei der zweiten Patientin (Codenummer 01001) wurden vier derartige Zellen nach der RSO beobachtet.

Der Wilcoxon-Test zeigte hier keine statistische Signifikanz für einen Anstieg der Anzahl dizentrischer Chromosomen nach der RSO (5% Signifikanz) (siehe Anhang, Tabelle 16, S. 55). Für Chromatidbrüche ließ sich ein signifikanter Anstieg nachweisen (siehe Anhang, Tabelle 19, S. 58), alle anderen Aberrationen (zentrische Ringe, Deletionen und Chromatidaustauschfiguren) wiesen keine statistisch signifikanten Veränderungen auf (siehe Anhang, Tabelle 22–24, S. 61–63).

Tabelle 6

Chromosomenaberrationen in PBL vor und nach RSO mit Er-169 und interzelluläre Verteilung
dizentrischer Chromosomen (dic, dizentrische Chromosomen; cr, zentrische Ringe; del, Deletionen; cbr,
Chromatidbrüche; exch, Chromatidaustauschfiguren; *, Protokollverletzungen)

Codenr.	vor / nach RSO	analysierte Zellen	Anzahl der Chromosomenaberrationen					interzelluläre Verteilung dizentrischer Chromosomen			
			dic	cr	del	cbr	exch	0	1	2	3
01001	vor	1004	60	9	39	0	0	954	40	10	0
	nach	1026	66	8	51	6	2	980	30	12	4
01002	vor	1005	4	0	6	8	2	1001	4	0	0
	nach	1002	19	0	10	10	0	983	19	0	0
01003	vor	1019	6	0	5	2	1	1013	6	0	0
	nach	1037	4	0	6	11	0	1034	2	1	0
02001	vor	1014	0	0	2	0	0	1014	0	0	0
	nach	1006	0	0	6	2	0	1006	0	0	0
02002	vor	1029	4	0	7	2	0	1027	1	0	1
	nach	1018	2	0	3	4	0	1016	2	0	0
02003*	vor	1028	2	0	0	8	0	1026	2	0	0
	nach	1021	3	2	8	9	0	1019	1	1	0
02004*	vor	1018	0	0	11	5	0	1018	0	0	0
	nach	1023	1	1	4	5	0	1022	1	0	0
02005*	vor	1015	1	0	9	2	0	1014	1	0	0
	nach	1010	0	0	12	19	1	1010	0	0	0
03001	vor	1011	0	0	2	1	0	1011	0	0	0
	nach	1032	0	0	2	3	0	1032	0	0	0
03002	vor	1023	0	0	4	11	0	1023	0	0	0
	nach	1029	1	0	11	4	0	1028	1	0	0
03003	vor	1032	3	0	0	0	0	1029	3	0	0
	nach	1034	2	0	5	5	0	1032	2	0	0
03004	vor	1022	4	0	12	3	0	1018	4	0	0
	nach	1031	4	0	7	4	1	1028	2	1	0
03005	vor	1019	4	0	5	3	1	1015	4	0	0
	nach	1021	3	0	6	5	0	1018	3	0	0
Σ	vor	13239	88	9	102	45	4	13163	65	10	1
	nach	13290	105	11	131	87	4	13208	63	15	4

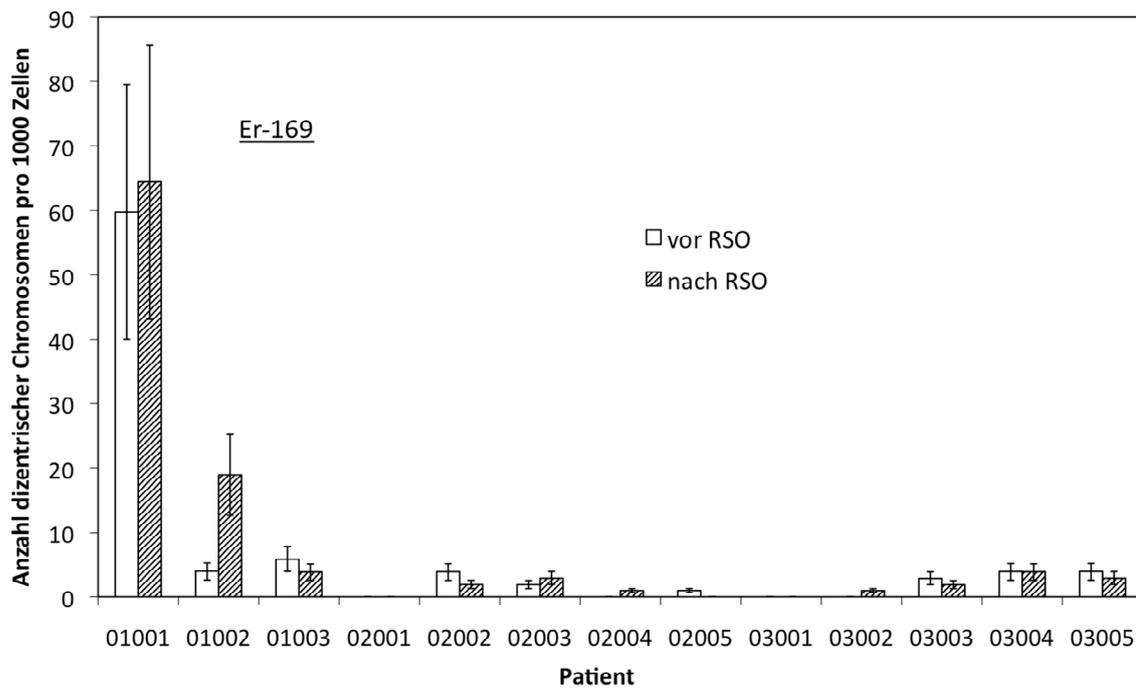


Abbildung 5

Häufigkeit dizentrischer Chromosomen in Lymphozyten vor und nach RSO mit Er-169

Wie in Abbildung 5 zu erkennen ist, befanden sich rund zwei Drittel der dizentrischen Chromosomen vor und nach der RSO in den Blutproben nur einer Patientin (Codenummer 01001).

3.3.3 Rogue cells

In beiden Studien wurden insgesamt sechs *rogue cells* bei vier Patienten gefunden. Drei dieser stark gestörten Zellen zeigten sich bei einem Patienten (Codenummer 0102) nach der RSO mit Re-186, jeweils eine solche Zelle bei zwei Patientinnen vor der RSO mit Er-169 (Codenummern 01002 und 03003) und eine bei einer Patientin (Codenummer 02001) nach der RSO mit Er-169.

Die Inzidenz von *rogue cells* lag bei 1 : 7800.

3.4 Aktivitätsabtransport

Bei acht der zehn mit Re-186 behandelten Patienten konnte mittels der Ganzkörperszintigraphie ein medianer Aktivitätsabtransport von $2,0\% \pm 6,6\%$ ($1,0 \pm 3,9$ MBq) mit einem maximalen Abtransport von 23,4% (13,6 MBq) festgestellt werden.

Bei zwei Patientinnen (Codenummern 0202 und 0206) wurde keinerlei Aktivitätsabtransport beobachtet. Die gemessene Aktivität ließ sich in den axillären

Lymphknoten bei allen acht Patienten mit Aktivitätsabtransport nachweisen, zudem in der Leber von zwei Patienten (Codenummern 0101 und 0102) und in der Milz von einer Patientin (Codenummer 0101). Insgesamt handelt es sich um einen geringen Aktivitätsabtransport.

Tabelle 7 fasst die Ergebnisse der Szintigraphie zusammen. In Kapitel 2.4 ist eine Szintigraphie von der Patientin mit der Codenummer 0101 abgebildet (siehe Seite 13).

Tabelle 7
Aktivitätsabtransport (Re-186)

Codenr.	Lymphknoten in %	Leber in %	Milz in %	gesamt in %	Aktivität in MBq
0101	1,9	20,2	1,3	23,4	13,6
0102	0,8	2,3	0,0	3,1	1,8
0201	4,3	0,0	0,0	4,3	2,2
0202	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0203	1,2	0,0	0,0	1,2	0,6
0204	2,7	0,0	0,0	2,7	1,4
0205	1,6	0,0	0,0	1,6	0,8
0206	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0207	2,4	0,0	0,0	2,4	1,2
0208	0,3	0,0	0,0	0,3	0,1

4 Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die radiobiologische Wirkung der zur intraartikulären Therapie chronisch entzündlicher Gelenkerkrankungen eingesetzten Betastrahler Re-186 und Er-169 zu ermitteln. Hierzu wurde eine Chromosomenanalyse angewendet (biologische Dosimetrie). Ergänzend erfolgte für Re-186 die Bestimmung des Aktivitätsabtransports aus dem behandelten Gelenk durch eine Ganzkörperszintigraphie. Im Vordergrund der Betrachtungen stand die Häufigkeit des Auftretens dizentrischer Chromosomen in Lymphozyten des peripheren Blutes der behandelten Patienten. Es konnte für die beiden untersuchten Radionuklide nachgewiesen werden, dass es keinen statistisch signifikanten Anstieg radiobiologischer Effekte gab.

4.1 Dosimetrie

In der Re-186-Studie zeigten sich 14 der nach der RSO neu aufgetretenen 19 dizentrischen Chromosomen in der Blutprobe der Patientin mit der Codenummer 0201 (siehe Abbildung 4, S. 23). Darüberhinaus fand sich bei dieser Patientin auch ein signifikanter Anstieg von Deletionen. In der Anamnese der Patientin ließen sich keine besonderen Faktoren oder Ereignisse eruieren, die einen solchen Anstieg erklären. Allerdings zeigte sich bei ihr der zweithöchste Aktivitätsabtransport aus dem Gelenk, sodass die Annahme einer mangelnden Ruhigstellung oder einer anderen mit einem erhöhten Abtransport einhergehenden individuellen Problematik zulässig ist.

In den Ergebnissen der Untersuchung von Er-169 befanden sich etwa 65% aller dizentrischen Chromosomen vor und nach der RSO in den Blutproben nur einer Patientin (Codenummer 01001; siehe Abbildung 5, S. 25). Die Häufigkeit dizentrischer Chromosomen vor der RSO (60 von 1004 Zellen, entspricht 5,98%) war 26-mal höher als der Durchschnittswert der Häufigkeit dieser Aberration in den Zellen der anderen zwölf Patienten vor der RSO (28 von 12235 Zellen, entspricht 0,23%). Dies ist als Folge der Strahlentherapie eines Brusttumors dieser Patientin sechs Monate vor der Gelenkbehandlung mit Er-169 zu werten. In der Sub-Gruppen-Analyse zeigte sich jedoch weder unter Ein- noch unter Ausschluss der Daten dieser Patientin eine

statistische Signifikanz des Anstiegs dizentrischer Chromosomen für die Gesamtpopulation (siehe Anhang, Tabelle 16, S. 55).

Des Weiteren fiel auf, dass es bei einer Patientin (Codenummer 01002) zu einer deutlich höheren Zunahme dizentrischer Chromosomen nach der RSO kam als bei den anderen Patienten des Kollektivs. Diese Patientin hat als einzige der mit Er-169 behandelten Patienten eine höhere Therapieaktivität erhalten (33 MBq gegenüber ≤ 20 MBq), sodass ein Strahleneffekt nahezu liegen scheint. Dagegen sprechen die Ergebnisse unserer Untersuchung von Re-186 mit Aktivitäten von 45 bis 58 MBq sowie die publizierten Ergebnisse der Anwendung von Y-90 mit Aktivitäten von 188 bis 203 MBq [42], die jeweils keinen Strahleneffekt zeigten. In der Anamnese der Patientin findet sich darüber hinaus kein die Daten erklärender Faktor. Auch hier sollte man, analog zu dem oben beschriebenen Fall der Re-186-Studie, von einem Zufallsbefund ausgehen. Offen bleibt, ob es postinterventionell zu einer mangelnden Ruhigstellung des Gelenks mit konsekutiv erhöhtem Abtransport kam.

4.1.1 Einflüsse auf die Aberrationsrate

Eine erhöhte individuelle Strahlenempfindlichkeit kann einen Häufigkeitsanstieg dizentrischer Chromosomen in PBL verursachen. Vor der RSO wurde bei den zehn mit Re-186 und den 13 mit Er-169 behandelten Patienten eine durchschnittliche Anzahl von $3,93 \pm 0,62$ (Re-186) und $2,29 \pm 0,43$ (Er-169) dizentrischen Chromosomen pro 1000 Zellen gefunden. Im Vergleich dazu zeigte sich bei den zehn mit Y-90 behandelten Patienten, die von Voth *et al.* untersucht wurden [42], ein Durchschnittswert von $2,57 \pm 0,50$ pro 1000 Zellen vor der RSO. Der Kontrollwert für gesunde Personen mittleren Alters, der vom Bundesamt für Strahlenschutz ermittelt wurde, liegt dagegen bei nur $0,95 \pm 0,14$ pro 1000 Zellen [43], also 2,5- bis 4-mal niedriger als die in den genannten Studien vor der RSO bestimmten Werte. Daraus kann abgeleitet werden, dass die Patienten der drei Studien bereits vor der ersten Blutentnahme ionisierender Strahlung oder zytotoxischen chemischen Substanzen wie Zytostatika ausgesetzt gewesen sein müssen.

In den vorliegenden Untersuchungen stellten sich 23 bzw. 12% aller Chromosomenaberrationen vor der RSO und 20 bzw. 27% nach der RSO mit Re-186 bzw. Er-169 als

Aberrationen vom Chromatidtyp (Chromatidbrüche und -austauschfiguren) dar (siehe Kapitel 3.3, Tabelle 5 und Tabelle 6), welche nachgewiesenermaßen charakteristisch für die biologischen Effekte chemischer Substanzen sind [44]. Bei der Auswertung ist folglich zu berücksichtigen, dass Chromosomenaberrationen, die in PBL dieser Patienten auftraten, nicht ausschließlich auf eine Strahlenexposition zurückzuführen sind. Dies betrifft insbesondere den in der Er-169-Studie festgestellten signifikanten Anstieg von Chromatidbrüchen, welcher unter Ausschluss der mit Methotrexat und Immunsuppressiva vorbehandelten Patienten (Codenummern 01001, 02003 und 02005) nicht mehr signifikant war (siehe Anhang, Tabelle 20, S. 59). Hingegen fand sich in der Re-186-Studie ein signifikanter Anstieg von Deletionen, der sich anhand der zur Verfügung stehenden Daten nicht sicher erklären ließ. Da es sich jedoch bei Deletionen nicht um für Strahlenschäden spezifische Aberrationen handelt, wie es für dizentrische Chromosomen zutrifft, und da letztere keinen signifikanten Anstieg zeigten, ist der Strahleneffekt auch in der Re-186-Studie als geringfügig zu beurteilen.

Aus verschiedenen Arbeiten geht hervor, dass es mehrere Faktoren gibt, die die Lymphozytenteilung beeinflussen und damit die Strahlenempfindlichkeit der Zellen verändern können. Dieser Einfluss ist abhängig vom Alter des Patienten [45], den zugrundeliegenden Krankheiten [46], dem Zigarettenkonsum [43] und der Therapie, die der Patient erhält oder erhalten hat. Von Bedeutung sind in diesem Zusammenhang die Behandlung mit Corticosteroiden [47], Methotrexat [44, 48] und Cyclophosphamid [44]. Es ist darüber hinaus bekannt, dass Methotrexat selbst sowohl *in vivo* [48] als auch *in vitro* [49] Chromosomenaberrationen induziert.

In der Re-186-Studie wurden alle bis auf eine Patientin (Codenummer 0203) mit Corticosteroiden und/oder Methotrexat behandelt, trotzdem fand sich kein relevanter Unterschied zwischen den Patienten, was dem geringen Strahleneffekt der RSO mit Re-186 zuzuschreiben ist.

In der Er-169-Studie ist unter Ausschluss der betroffenen Patienten (Codenummern 01001, 01003, 02003, 02004, 02005 und 03004) der Anstieg von Chromatidbrüchen nicht mehr signifikant (siehe Anhang, Tabelle 21, S. 60), sodass diese hier am ehesten als eine Folge der vorbestehenden Medikation zu werten sind.

Vor dem Hintergrund der Vielzahl die Aberrationsrate beeinflussenden Faktoren gewinnt die Erhebung einer ausführlichen Anamnese an Bedeutung, die neben der Erfassung früherer Strahlenexpositionen und bisheriger und aktueller Medikamente auch die Dokumentation von Lebensgewohnheiten und Freizeitaktivitäten beinhalten sollte. Insbesondere in Fällen, bei denen die biologischen Effekte nicht durch die erfahrene Strahlenexposition erklärbar sind, sollte ein anderer Auslöser für die veränderten Parameter in Betracht gezogen werden. Es ist deshalb vonnöten, jeden möglichen Strahleneffekt zu untersuchen und dabei vor allem die Plausibilität der Ergebnisse kritisch zu bewerten.

4.2 Rogue cells

Rogue cells, wie sie in der vorliegenden Arbeit bei vier Patienten vor und nach RSO gefunden wurden, werden sowohl bei gesunden, nicht-exponierten, als auch bei strahlenexponierten Personen gefunden [50]. Die Analyse von insgesamt neun zytogenetischen Studien strahlenexponierter Populationen und nicht exponierter Vergleichsgruppen aus Prüfzentren in Großbritannien, Frankreich und Finnland ergab bezüglich jener Zellen eine hohe interindividuelle Variabilität. Die höchste Inzidenz fand sich in einer Kontrollgruppe junger Auszubildender (1:400), während die geringste Inzidenz (1:36500) bei versehentlich mit hohen Dosen ionisierender Strahlung in Kontakt gekommenen Menschen gefunden wurde [51]. Unter anderem wurde ein Zusammenhang des Auftretens von *rogue cells* mit JC-Polyomavirus-Infektionen postuliert [52].

Da die Frage des Ursprungs dieser Zellen nicht abschließend geklärt ist, kann die hier ermittelte Inzidenz von 1:7800 für *rogue cells* nicht mit der RSO in Zusammenhang gebracht werden.

4.3 Aktivitätsabtransport

Der durchschnittliche Aktivitätsabtransport erwies sich mit $2,0\% \pm 6,6\%$ ($1,0 \pm 3,9$ MBq) bei allen Patienten als gering. Er entspricht einer mittleren effektiven Dosis von $2,8 \pm 4,5$ mSv ($49,7 \pm 77,4$ μ Sv/MBq) in Anlehnung an Hänscheid *et al.*, die für die RSO mit Re-186 eine effektive Dosis von $10,2$ μ Sv pro MBq injizierter Aktivität und Prozent Abtransport berechneten ($10,2$ μ Sv/MBq/%leakage) [53]. Zum Vergleich gab das Umweltbundesamt die mittlere effektive Dosis der natürlichen Strahlenexposition für die deutsche Bevölkerung im Jahr 2010 mit $2,1$ mSv pro erwachsener Person an.⁴

Da sich zudem kein signifikanter Anstieg der durchschnittlichen Häufigkeit dizentrischer Chromosomen in den 20488 untersuchten Zellen von zehn Patienten vor und nach RSO mit Re-186 zeigte, decken sich diese Beobachtungen mit denen von Mikrokernanalysen zur Untersuchung der Korrelation zwischen Aktivitätsabtransport und Anstieg der Häufigkeit chromosomaler Aberrationen [54, 55]. Gleich geringe oder niedrigere Abtransportraten und damit eine geringere Strahlenexposition sind auch für Er-169 zu erwarten, welches bei der RSO der kleinen Gelenke mit geringerer Aktivität als das hier auf den Abtransport untersuchte Nuklid Re-186 injiziert wird.

Bei einer Patientin (Codenummer 0101) zeigte sich ein sehr viel höherer Aktivitätsabtransport von $23,4\%$ ($13,6$ MBq). Ein Anstieg dizentrischer Chromosomen ließ sich bei der Patientin nicht nachweisen, hingegen zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Deletionen, der sich jedoch nicht von dem der Gesamtpopulation der Re-186-Studie unterscheidet. Diese Patientin erhielt die höchste in der Studie verabreichte Aktivität von 58 MBq. Dieser Wert liegt $8,44$ ($1-13$) MBq bzw. 17 ($2-26$) % über dem Mittelwert von $49,56$ MBq der ansonsten in der Studie applizierten Aktivität. Darüberhinaus ließen sich keine das Ergebnis erklärenden Faktoren eruieren. Eine mögliche Ursache für den erhöhten Aktivitätsabtransport in diesem einen Fall ist eine mangelnde Ruhigstellung des Gelenks nach der RSO.

⁴ Bundesamt für Strahlenschutz, veröffentlicht in Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit, Umweltradioaktivität und Strahlenbelastung, Jahresbericht 2010, Reihe Umweltpolitik

4.4 Protokollverletzungen

Bei drei Patienten der Er-169-Studie kam es zu Protokollverletzungen (siehe Kapitel 3.1, S. 21). Ein Einfluss auf die Sicherheit der Patienten, die Homogenität der Studienpopulation oder die Analyse und Interpretation der Ergebnisse ist durch die genannten Protokollverletzungen nicht zu erwarten. Insbesondere führen sie nicht dazu, dass die Zahl der Chromosomenschäden durch die Berücksichtigung dieser Patienten vermindert und dadurch die Strahlenexposition unterschätzt würde (s.u.). Die Ergebnisse der betroffenen Patienten unterschieden sich nicht wesentlich von denen der anderen Patienten und führten nicht zu einer veränderten Bewertung des Strahleneffekts (siehe Anhang, Tabelle 17, S. 56).

Bei einem Patienten (Codenummer 02004) wurde 28 Tage nach der RSO eine radiologische Untersuchung durchgeführt. Dies führte nicht zum Studienausschluss, da die zusätzliche Strahlenexposition das Ergebnis im Sinne der Fragestellung eher ungünstiger ausfallen ließe. Bei diesem Patienten wurde zudem eine etwas zu geringe Aktivität appliziert. Die Abweichung liegt jedoch mit 10 % (9 statt 10 MBq) im Bereich der Messgenauigkeit zur Feststellung der injizierten Aktivität.

Eine zu geringe Aktivität wurde auch bei zwei weiteren Patienten appliziert (Codenummern 02003 und 02005). Die Reduktion der injizierten Aktivität im Zuge der Reduktion des Injektionsvolumens ist nicht auf fehlerhafte Injektion zurückzuführen, sondern in Einzelfällen bei zu hohem Injektionsdruck notwendig, um keine zusätzliche Druckschädigung des Gelenkes zu provozieren. Hierbei wird die größtmögliche Aktivität appliziert. Dieses Vorgehen soll in erster Linie die Patientensicherheit gewährleisten und spiegelt die praktische Realität beim Einsatz der RSO wieder. Die Reduktion der Aktivität wirkt sich in der Regel nicht wesentlich auf den Behandlungserfolg aus, sodass angenommen werden darf, dass die Expositionsbedingungen dieser Patienten mit denen der restlichen Studienpopulation vergleichbar sind.

Bei dem Patienten mit der Codenummer 02003 wurde außerdem das Metatarsophalangealgelenk (MTP) statt einem Gelenk der oberen Extremität behandelt. Die im Studienprotokoll festgelegte Auswahl kleiner Gelenke der oberen Extremität dient

vorrangig der Sicherung einer homogenen Studienpopulation mit ähnlichen Expositionsbedingungen. Die postinterventionelle Ruhigstellung des MTP ist jedoch weniger gut zu gewährleisten als die der Fingergelenke, sodass eine Unterschätzung des Strahleneffekts nicht zu erwarten ist.

Zusammenfassend wurden alle Protokollverletzungen als nicht gravierend eingeschätzt und führten nicht zum Studienausschluss der Patienten.

4.5 Vergleich mit früheren Arbeiten

4.5.1 Biologische Dosimetrie

In den Blutproben aller 23 behandelten Patienten ließ sich für den kritischen Faktor, der spezifisch für die Exposition durch ionisierende Strahlung ist, nämlich die Häufigkeit dizentrischer Chromosomen in PBL, kein signifikanter Anstieg nachweisen. Diese Beobachtung stimmt weitgehend mit den Ergebnissen früherer Untersuchungen von Strahlendosen nach RSO überein [32, 33, 42, 56]. Tabelle 8 gibt einen Überblick über die entsprechenden Studien.

Tabelle 8

Bisherige Studien zur RSO über Chromosomenaberrationen (CrA) für Re-186, Er-169, Y-90 und/oder Au-198 (n, Patientenzahl; DC, Untersuchung auf dizentrische Chromosomen; dic, dizentrische Chromosomen)

Autoren	n	Nuklid	Methode	Ergebnisse	Kommentar
Houvenagel <i>et al.</i> [32]	16	Re-186, Y-90	DC + andere CrA	erhöhte Chromatid-aberrationen, signifikanter Anstieg von CrA, v.a. dic	nur 2 Patienten mit Re-186 behandelt
Falcon de Vargas und Fernandez-Palazzi [56]	31	Re-186, Au-198, Y-90	DC + CrA	erhöhte dic nach 6 Monaten, nach 1 Jahr nicht mehr nachweisbar → sichere Methode	nur Patienten mit Hämophilie
Manil <i>et al.</i> [33]	48	Re-186, Er-169	DC + CrA + Blutzähler	Er: kein signifikanter dic-Anstieg; Re: höhere Aktivität im Blut, vermehrte dic	Probleme mit Kulturzeiten; z. T. fehlende Ausgangsdaten
Voth <i>et al.</i> [42]	10	Y-90	DC + CrA + Szintigraphie	geringe Strahlenexposition	z. T. mehrere Gelenke pro Patient behandelt

Houvenagel *et al.* [32] untersuchten 16 Patienten vor und nach RSO mit Re-186 bzw. Y-90. Sie nutzten dafür die Chromosomenanalyse und fanden nach der Behandlung insgesamt erhöhte Raten von Chromatidbrüchen und einen signifikanten Anstieg von Chromosomenaberrationen, insbesondere der dizentrischen Chromosomen. Da nur zwei der 16 Patienten mit Re-186 behandelt wurden und nur einer dieser Patienten nach der Behandlung eine erhöhte Aberrationsrate aufwies, ist dieses Ergebnis für die RSO mit Re-186 nicht genügend aussagekräftig.

In den Blutproben der 31 von Falcon de Vargas und Fernandez-Palazzi [56] untersuchten Patienten vor und nach der RSO mit Re-186 zeigte sich bei der Analyse von Chromosomenaberrationen eine Häufigkeitszunahme für das Auftreten dizentrischer Chromosomen nach sechs Monaten, die aber ein Jahr nach der Behandlung nicht mehr nachweisbar war. Die Autoren schlossen daraus, dass es sich bei der RSO um eine aus zytogenetischer Sicht sichere Therapiealternative handelt, was die vorliegenden Ergebnisse bestätigen.

Die Resultate der Prüfung von Strahleneffekten nach RSO mit Y-90-Citrat von Voth *et al.* [42] stimmen mit denen der vorliegenden Untersuchungen von Re-186 und Er-169 überein. Tabelle 9 fasst die entsprechenden Ergebnisse der drei Studien mit Y-90, Re-186 und Er-169 zusammen. Obwohl für alle drei Nuklide ein tendentieller Anstieg der Häufigkeit dizentrischer Chromosomen in PBL beobachtet wurde, stellte sich dieser immer als statistisch nicht signifikant dar.

Tabelle 9

Häufigkeit von Chromosomenaberrationen in PBL vor und nach RSO mit Y-90, Re-186 und Er-169 (n, Patientenzahl; dic, dizentrische Chromosomen; cr, zentrische Ringe; del, Deletionen; cbr, Chromatidbrüche; exch, Chromatidaustauschfiguren)

n	RSO mit verschiedenen Nukliden		Anzahl analysierter Zellen	Anzahl der Chromosomenaberrationen				
				dic	cr	del	cbr	exch
10	Y-90	vorher	10098	26	0	45	45	9
		nachher	10094	34	4	69	45	8
10	Re-186	vorher	10168	40	2	81	25	4
		nachher	10320	59	3	134	23	3
13	Er-169	vorher	13239	88	9	102	45	4
		nachher	13290	105	11	131	87	4

Manil *et al.* [33] haben im Blut der Patienten nach der RSO mit Re-186 eine um ein Hundertfaches höhere Strahlung als nach der Behandlung mit Er-169 gemessen. Derartige Beobachtungen sind mit den vorliegenden Untersuchungen nicht in Einklang zu bringen. Einschränkend muss gesagt werden, dass in jener Studie nicht bei allen Patienten die Ausgangsdaten erfasst und deshalb geschätzt wurden. Da etwa ein Drittel der gezählten dizentrischen Chromosomen bei den Patienten auftraten, bei denen keine Ausgangsdaten erhoben wurden, ist das Ergebnis nicht aussagekräftig. Die Diskrepanz zu den vorliegenden Beobachtungen kann zudem durch die verschiedenen zur strahlenbiologischen Bewertung herangezogenen Methoden erklärt werden. Insgesamt wurde jedoch auch bei Manil *et al.* nur ein geringer Strahleneffekt beobachtet.

Wie bereits einleitend erwähnt, wurden die von Manil *et al.* beschriebenen Probleme mit der Untersuchung von Chromosomenaberrationen im Blut von Patienten, bei denen eine RSO mit Re-186 oder Er-169 durchgeführt worden war, in der vorliegenden Arbeit berücksichtigt. Unter Einhaltung des Standardprotokolls mit einer Inkubationszeit von 45 Stunden und Anwendung der FPG-Färbemethode [12] erzielten die Autoren zu geringe und zu variable Metaphaseraten. Obwohl sie daraufhin eine längere Kulturzeit von 52 Stunden wählten, wurde in über der Hälfte der Blutproben nach RSO mit Re-186 und Er-169 nicht die für ein valides Ergebnis benötigte Anzahl von 500 interpretierbaren Metaphasen erreicht. Die Untersuchung von mehr als 1000 Zellen pro Blutprobe in der vorliegenden Arbeit ist besser geeignet, um nach längerer Einwirkung locker ionisierender Strahlung in einem bestrahlten Kollektiv die im Rahmen der RSO erwarteten Strahlendosen von 50 bis 100 mGy nachzuweisen [12]. Die hier gemachten Beobachtungen sind damit im Ergebnis aussagekräftiger als die früheren Studien zu diesem Thema.

4.5.2 Aktivitätsabtransport

Der nach Behandlung mit Re-186 gemessene durchschnittliche Aktivitätsabtransport von $2,0\% \pm 6,6\%$ ($1,0 \pm 3,9$ MBq) steht überwiegend in Einklang mit den in vorherigen Untersuchungen gemachten Beobachtungen. Tabelle 10 gibt einen Überblick über die entsprechenden Publikationen.

Tabelle 10

Vergleich von Studien zum Aktivitätsabtransport nach RSO mit Re-186 (n, Patientenzahl)

Autoren	n	Abtransportrate in % (Standardabweichung)
eigene Ergebnisse	10	2,0 (\pm 6,6)
van der Zant <i>et al.</i> (2007) [58]	30	2,6 (\pm 2,8)
Gedik <i>et al.</i> (2006) [60]	13	2,7 (\pm 1,3)
van der Zant <i>et al.</i> (2004) [59]	40	3,2 (\pm 3,2)
Manil <i>et al.</i> (2001) [33]	10	8,1 (\pm 8,2)
Gratz <i>et al.</i> (1999) [61]	20	0
Tönshoff <i>et al.</i> (1997) [57]	23	0,67

Die Untersuchungen von van der Zant *et al.* (2007) [58] ergaben Abtransportraten für Rhenium von $2,6 \pm 2,8$ %. Zudem konnte eine Korrelation mit dem Alter des Patienten festgestellt werden. Drei Jahre zuvor fand die gleiche Gruppe geringfügig höhere Raten von $3,2 \pm 3,2$ % [59]. Gedik *et al.* [60] beschrieben 2006 Abtransportraten von $2,7 \pm 1,3$ % nach RSO mit Re-186. Auch diese sind im Vergleich mit den vorliegenden Ergebnissen nicht wesentlich höher. Einschränkend muss bei dieser Studie genannt werden, dass zum einen überwiegend Hämophilie-Patienten (12 von 13 Patienten) und zum anderen bei sechs der 13 Patienten mehr als ein Gelenk behandelt wurden, sodass eine Überschätzung des Abtransports im Vergleich zu nur einmal behandelten Patienten möglich ist. Manil *et al.* [33] wiesen 2003 deutlich höhere Abtransportraten von $8,1 \pm 8,2$ % nach RSO mit Re-186 nach. Die Autoren räumen eine mögliche Überschätzung der Abtransportraten aufgrund einer Unterschätzung der injizierten Aktivität ein. Leider sind die einzelnen Daten zum Aktivitätsabtransport in dieser Studie nicht publiziert, sodass eine denkbare Korrelation mit den Ausgangsdaten der Patienten oder der Anzahl behandelter Gelenke nicht überprüfbar ist. Die Untersuchungen von Gratz *et al.* [61] ergaben vernachlässigbar geringe Abtransportraten. Ebenso berichteten Tönshoff *et al.* [57] von einem sehr geringen Aktivitätsabtransport von 0,67 %.

4.6 Schlussfolgerung

Die Radiosynoviorthese wird für die Behandlung von Erkrankungen eingesetzt, die nicht obligat mit einer Minderung der Lebenserwartung verbunden sind. Sie birgt jedoch ein theoretisches Risiko für Chromosomenveränderungen, die zu malignen Erkrankungen führen können. Bisher fehlende Berichte über eine erhöhte Inzidenz von Tumorerkrankungen bei behandelten Patienten, wie sie beispielsweise nach Wirbelsäulenbestrahlung von Patienten mit ankylosierender Spondylitis vorliegen, implizieren einen geringen Strahleneffekt dieses Verfahrens.

Die vorliegenden Untersuchungen der Lymphozyten von Patienten, die durch Radiosynoviorthese mit Rhenium-186 oder Erbium-169 behandelt wurden, ergaben keinen statistisch signifikanten Anstieg biologischer Strahleneffekte und nur einen geringen Aktivitätsabtransport aus dem behandelten Gelenk. Diese Beobachtungen decken sich größtenteils mit den Ergebnissen früherer Untersuchungen. Unterschiede zu Studien, die erhöhte Häufigkeiten chromosomaler Aberrationen nach der RSO mit diesen Nukliden ermittelten, können durch die verschiedenen Protokolle erklärt werden. Da die vorliegende Arbeit auf der Analyse des Parameters mit der höchsten Sensitivität und Spezifität zur Aufdeckung möglicher strahleninduzierter Effekte beruht und eine ausreichende Anzahl von Zellen daraufhin untersucht wurde, darf gefolgert werden, dass die RSO mit Rhenium-186 und Erbium-169 lediglich mit einer geringen Strahlenexposition und folglich mit einem geringen Risiko verbunden ist. Für andere Chromosomenaberrationen zeigte sich ebenfalls kein signifikanter Anstieg nach Korrektur der jeweiligen Population für Störgrößen wie die Behandlung mit alkylierenden Substanzen. Demzufolge ist der Einsatz dieser lokalen, ambulant durchführbaren Therapie entzündlicher Gelenkerkrankungen auch bei Patienten im reproduktionsfähigen Alter vertretbar.

5 Zusammenfassung

Ziel. Zur Abschätzung der radiobiologischen Sicherheit des Verfahrens wird in dieser Arbeit die Radiosynoviorthese (RSO) mit Re-186 und Er-169 hinsichtlich biologischer Strahleneffekte untersucht.

Methoden. Bei 23 Patienten wurde eine RSO mit Rhenium-186-Sulfid- (10 Patienten) oder Erbium-169-Zitratkolloid (13 Patienten) durchgeführt. Das behandelte Gelenk wurde anschließend ruhig gestellt. Bei allen Patienten erfolgte vor und 17–19 Tage (Re-186) bzw. 45–50 Tage (Er-169) nach der RSO eine venöse Blutentnahme. Zur Analyse der Strahlenexposition wurde die Häufigkeit von dizentrischen Chromosomen in Lymphozyten der ersten Zellteilung *in vitro* bestimmt. Pro Patient wurden mindestens 1000 Zellen vor und nach der RSO untersucht, was nach längerer Einwirkung niederenergetischer Strahlung ausreichend ist, um im bestrahlten Kollektiv die im Rahmen der RSO erwarteten Strahlendosen nachzuweisen. Ergänzend wurde bei den mit Re-186 behandelten Patienten der Aktivitätsabtransport aus dem Gelenk mittels Ganzkörperszintigraphie bestimmt.

Ergebnisse. In der Untersuchung von insgesamt 47017 Zellen fanden sich vor RSO mit Re-186 bzw. Er-169 40 bzw. 88, danach 59 bzw. 105 dizentrische Chromosomen in Lymphozyten des peripheren Blutes. Eine signifikante Zunahme der dizentrischen Chromosomen nach der RSO zeigte sich nicht. Der Aktivitätsabtransport nach RSO mit Re-186 lag durchschnittlich unter 5% (unter 3 MBq) und ist damit als gering einzustufen.

Schlussfolgerung. Die Ergebnisse der Untersuchung von Chromosomenaberrationen und des Aktivitätsabtransports nach Radiosynoviorthese mit Rhenium-186 und Erbium-169 sprechen für eine geringe Strahlenexposition der Patienten und damit für die Sicherheit des Verfahrens.

Summary

Aim. The aim of the present studies was to investigate the biological radiation effect of radiosynoviorthesis (RSO) with Re-186 and Er-169 in order to evaluate the safety of this procedure.

Methods. RSO with rhenium-186 sulfide colloid (10 patients) or erbium-169 citrate colloid (13 patients) was carried out in a total of 23 patients. Afterwards, the treated joint was immobilised for three days using splints. From all patients, blood was drawn immediately before and 17 to 19 days (Re-186) or 45 to 50 days (Er-169) after RSO. To evaluate the radiation dose, the yield of dicentric chromosomes in lymphocytes was determined exclusively in metaphases of the first cell cycle *in vitro*. At least 1000 cells per patient have been analysed before and after RSO which is sufficient to find potential radiation effects after long-term exposure to low energy radiation such as to expect after RSO. In addition, for Re-186 the activity leakage from the treated joint was measured by whole-body scintigraphy.

Results. In a total of 47017 cells analysed from 46 blood samples, 40 and 88 before and 59 and 105 dicentrics after RSO with Re-186 and Er-169 were found. This showed no statistically significant increase in the number of dicentric chromosomes. The measured average activity leakage of less than 5% (less than 3 MBq) was considered to be low.

Conclusion. The results of chromosome analysis and activity measurement after RSO prove that this procedure is associated with a low effective dose in treated patients and thus can be considered a safe treatment.

6 Abkürzungsverzeichnis

Ai	nichtsteroidales antientzündliches Medikament
An	Analgetikum
At	Anti-TNF-Therapeutikum
Au-198	Gold-198
Bq	Becquerel
BrdU	Bromodesoxyuridin
cbr	Chromatidbruch
Chl	Hydroxychloroquin
CMC	Carpometacarpalgelenk
Co	Corticosteroid
cr	zentrischer Ring
CrA	Chromosomenaberration
d	Differenz
d	Betrag der Differenz
DC	Untersuchung auf dizentrische Chromosomen
del	Deletion
dic	dizentrisches Chromosom
DNA	Desoxyribonukleinsäure
Er-169	Erbium-169
exch	Chromatidaustauschfigur
f	weiblich
FISH	Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung
FPG	Fluoreszenz plus Giemsa
G [-Phase]	<i>gap</i> , Lücke
Gy	Gray
HWZ	Halbwertszeit
Is	Immunsuppressivum
keV	Kiloelektronenvolt
LET	linearer Energietransfer
Lfl	Leflunomid

m	männlich
MCP	Metacarpophalangealgelenk
MeV	Megaelektronenvolt
MIE	<i>Medical Imaging Electronics</i>
M [-Phase]	Mitose
MTP	Metatarsophalangealgelenk
Mtx	Methotrexat
n	Patientenzahl
PBL	periphere Blutlymphozyten
PHA	Phytohämagglutinin
PIP	proximales Interphalangealgelenk
RA	rheumatoide Arthritis
Re-186	Rhenium-186
RNA	Ribonukleinsäure
ROI	<i>regions of interest</i> , interessierende Regionen
RPMI [-Medium]	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
RSO	Radiosynoviorthese
S [-Phase]	Synthese
Slf	Sulfasalazin
TNF	Tumornekrosefaktor
USG	Unteres Sprunggelenk
Y-90	Yttrium-90

7 Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

7.1 Tabellenverzeichnis

Tab. Nr.	Titel	Kapitel	Seite
1	Halbwertszeit (HWZ), Energie und Reichweite der Betastrahlung, Gelenke und empfohlene Aktivität für die Radionuklide Re-186, Er-169 und Y-90	1.1	2
2	Kulturtechniken in der Re-186- und Er-169-Studie	2.5	16
3	Patientendaten, Expositionsbedingungen und Blutentnahmezeiten (Re-186)*	3.1	19
4	Patientendaten, Expositionsbedingungen und Blutentnahmezeiten (Er-169)*	3.1	20
5	Chromosomenaberrationen in PBL vor und nach RSO mit Re-186 und interzelluläre Verteilung dizentrischer Chromosomen*	3.3.1	22
6	Chromosomenaberrationen in PBL vor und nach RSO mit Er-169 und interzelluläre Verteilung dizentrischer Chromosomen*	3.3.2	24
7	Aktivitätsabtransport (Re-186)*	3.4	26
8	Bisherige Studien zur RSO über Chromosomenaberrationen für Re-186, Er-169, Y-90 und/oder Au-198*	4.5.1	33
9	Häufigkeit von Chromosomenaberrationen in PBL vor und nach RSO mit Y-90, Re-186 und Er-169*	4.5.1	34
10	Vergleich von Studien zum Aktivitätsabtransport nach RSO mit Re-186 (n, Patientenzahl)	4.5.2	36
11	Wilcoxon-Test für das Auftreten dizentrischer Chromosomen in der Rhenium-186-Studie	9	50
12	Wilcoxon-Test für das Auftreten von Deletionen in der Rhenium-186-Studie	9	51
13	Wilcoxon-Test für das Auftreten zentrischer Ringe in der Rhenium-186-Studie	9	52

Tab. Nr.	Titel	Kapitel	Seite
14	Wilcoxon-Test für das Auftreten von Chromatidbrüchen in der Rhenium-186-Studie	9	53
15	Wilcoxon-Test für das Auftreten von Chromatid-austauschfiguren in der Rhenium-186-Studie	9	54
16	Wilcoxon-Test für das Auftreten dizentrischer Chromosomen in der Erbium-169-Studie	9	55
17	Wilcoxon-Test für das Auftreten dizentrischer Chromosomen in der Erbium-169-Studie (exkl. der Patienten Codenrn. 02003, 02004 und 02005)	9	56
18	Wilcoxon-Test für das Auftreten dizentrischer Chromosomen in der Erbium-169-Studie (exkl. der Patientin Codenr. 01001)	9	57
19	Wilcoxon-Test für das Auftreten von Chromatidbrüchen in der Erbium-169-Studie	9	58
20	Wilcoxon-Test für das Auftreten von Chromatidbrüchen in der Erbium-169-Studie (exkl. der Patienten Codenrn. 01001, 02003 und 02005)	9	59
21	Wilcoxon-Test für das Auftreten von Chromatidbrüchen in der Erbium-169-Studie (exkl. der Patienten Codenrn. 01001, 01003, 02003, 02004, 02005 und 03004)	9	60
22	Wilcoxon-Test für das Auftreten zentrischer Ringe in der Erbium-169-Studie	9	61
23	Wilcoxon-Test für das Auftreten von Deletionen in der Erbium-169-Studie	9	62
24	Wilcoxon-Test für das Auftreten von Chromatid-austauschfiguren in der Erbium-169-Studie	9	63

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. Nr.	Titel	Kapitel	Seite
1	Szintigraphie der Patientin mit der Codenummer 0101 nach RSO des linken Handgelenks	2.4	13
2	Schematische Darstellung der in den Studien untersuchten, in Metaphasepräparaten auftretenden Aberrationstypen	2.5	16
3	Erscheinungsbild von Lymphozyten in der Metaphase*	2.5	17
4	Häufigkeit dizentrischer Chromosomen in Lymphozyten vor und nach RSO mit Re-186*	3.3.1	23
5	Häufigkeit dizentrischer Chromosomen in Lymphozyten vor und nach RSO mit Er-169*	3.3.2	25

Die mit „*“ versehenen Abbildungen und Tabellen wurden bereits veröffentlicht.⁵

⁵ Klett R, Schnurbus-Duhs A, Mödder G, Schmid E, Voth M. Biological dosimetry after radiosynoviorthesis with rhenium-186 sulphide and erbium-169 citrate. Nuklearmedizin 2012; 51:17–25

8 Literaturverzeichnis

- 1 Fried C. Die Röntgenbehandlung der chronischen Gelenkerkrankungen. Langenbeck's Archives of Surgery 1930; 227 (1):399–413.
- 2 Spishakoff NM, Low-Beer BV. Roentgen therapy of rheumatoid spondylitis. Calif Med 1949; 70(2):124-9.
- 3 Fellingner K, Schmid J. Die lokale Behandlung der rheumatischen Erkrankungen. Wien Z Inn Med 1952; 33(9):351–63.
- 4 Delbarre F, Cayla J, Menkes C, Aignan M, Roucayrol JC, Ingrand J. La synoviorthese par les radioisotopes. Presse Med 1968; 76(22):1045–50.
- 5 Yates DB. Arthroscopy of the knee after the injection of ^{90}Y . Ann Rheum Dis 1973; 32, supplement:48-50.
- 6 Pavelka K, Meier-Ruge W, Müller W, Fridrich R. Histological study of effects of colloidal ^{90}Y on knee joint tissues of rabbits. Ann Rheum Dis 1975; 34(1):64–9.
- 7 Myers SL, Slowman SD, Brandt KD. Radiation synovectomy stimulates glycosaminoglycan synthesis by normal articular cartilage. J Lab Clin Med 1989; 114(1):27–35.
- 8 Savaser AN, Hoffmann KT, Sörensen H, Banzer DH. Die Radiosynoviorthese im Behandlungsplan chronisch-entzündlicher Gelenkerkrankungen. Z Rheumatol 1999; 58(2):71–8.
- 9 Wang SJ, Lin WY, Chen MN, Chen JT, Ho WL, Hsieh BT, Huang H, Shen LH, Ting G, Knapp Jr FF. Histologic study of effects of radiation synovectomy with Rhenium-188 microsphere. Nucl Med Biol 2001; 28:727-732.
- 10 Fischer M, Mödder G. Radionuclide therapy of inflammatory joint diseases. Nucl Med Commun. 2002; 23(9):829–31.
- 11 Clunie G, Fischer M; EANM. EANM procedure guidelines for radiosynovectomy. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2003; 30(3):BP 12–6.
- 12 International Atomic Energy Agency (IAEA). Biological dosimetry: Chromosomal aberration analysis for dose assessment. Technical Reports Series No. 260, Vienna 1986;1–68.
- 13 Riede UN. Physikalische Zellschädigung. Riede UN, Werner M, Schaefer HE, eds. Allgemeine und spezielle Pathologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2004:150–6.

- 14 Ward JF. Biochemistry of DNA lesions. *Radiation Research* 1985; 104:103–11.
- 15 Goodhead DT. The initial physical damage produced by ionizing radiations. *International Journal of Radiation Biology* 1989; 56:623–34.
- 16 Krämer M, Kraft G. Track structure and DNA damage. *Advances in Space Research* 1994; 14:151–159.
- 17 Kraft G, Scholz M, Bechthold U. Tumor therapy and track structure. *Radiation and Environmental Biophysics* 199; 38:229–237.
- 18 Lloyd DC, Dolphin GW. Radiation-induced chromosome damage in human lymphocytes. *Br J Ind Med* 1977; 34:261–73.
- 19 Pinkel D, Straume T, Gray JW. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83(9):2934–8.
- 20 Gray JW, Pinkel D, Brown JM. Fluorescence in situ hybridization in cancer and radiation biology. *Radiat Res* 1994; 137(3):275–89. Review.
- 21 Jordan R, Edington J, Evans HH, Schwartz JL. Detection of chromosome aberrations by FISH as a function of cell division cycle (harlequin-FISH). *Biotechniques* 1999; 26(3):532–4.
- 22 Bianchi M, Bianchi NO, Brewen JG, Buckton KE, Fabry L, Fischer P, Gooch PC, Kucerova M, Leonard A, Mukherjee RN, Mukherjee U, Nakai S, Natarajan AT, Obe G, Palitti F, Pohl-Ruling J, Schwarzacher HG, Scott D, Sharma T, Takahashi E, Tanzarella C, van Buul PP. Evaluation of radiation-induced chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes in vitro: result of an IAEA-coordinated programme. *Mutat Res* 1982; 96(2–3):233–42.
- 23 Bauchinger M. Cytogenetic research after accidental radiation exposure. *Stem Cells* 1995; 13 Suppl 1:182–90.
- 24 Edwards AA. The use of chromosomal aberrations in human lymphocytes for biological dosimetry. *Radiation Research* 1997; 148:39–44.
- 25 Sasaki MS, Norman A. Selection against chromosome aberrations in human lymphocytes. *Nature* 1967; 214(5087):502–3.
- 26 Bauchinger M, Schmid E, Braselmann H. Cell survival and radiation induced chromosome aberrations. II. Experimental findings in human lymphocytes analysed in first and second post-irradiation metaphases. *Radiat Environ Biophys* 1986; 25(4):253–60.

- 27 Zaider M, Wu CS, Minerbo GN. The combined effects of sublethal damage repair, cellular repopulation and redistribution in the mitotic cycle. I. Survival probabilities after exposure to radiation. *Radiat Res* 1996; 145(4):457–66.
- 28 George K, Wu H, Willingham V, Furusawa Y, Kawata T, Cucinotta FA. High- and low-LET induced chromosome damage in human lymphocytes: a time-course of aberrations in metaphase and interphase. *Int J Radiat Biol* 2001; 77(2):175–83.
- 29 Lloyd DC, Dolphin GW, Purrott RJ, Tipper PA. The effect of x-ray induced mitotic delay on chromosome aberration yields in human lymphocytes. *Mutat Res* 1977; 42(3):401–12.
- 30 Poncelet E, Léonard A, Léonard ED, Dutrillaux B. Biological dosimetry: radiation-induced mitotic delay can lead to an underestimate of the part of the body exposed after non-uniform irradiation. *Strahlenther Onkol* 1988; 164(9):542–3.
- 31 Goh K, Jacox RF, Anderson, FW. Chromosomal abnormalities. Findings in a patient with lymphoma and rheumatoid arthritis treated with intra-articular gold Au 198. *Arch Pathol Lab Med* 1980; 104(9):473–75.
- 32 Houvenagel E, Debouvry L, Leloire O, Croquette MF, Vincent G, Carpentier P, Sulman C. Anomalies cytogénétiques après synoviorthèse isotopiques au cours de la polyarthrite rhumatoïde. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 1991; 58(1):31–4.
- 33 Manil L, Voisin P, Aubert B, Guerreau D, Verrier P, Lebègue L, Wargnies JP, Di Paola M, Barbier Y, Chossat F, Menkes CJ, Tébib J, Devaux JY, Kahan A. Physical and biological dosimetry in patients undergoing radiosynoviorthesis with erbium-169 and rhenium-186. *Nuclear Med Comm* 2001; 22:405–416.
- 34 Göbel D, Gratz S, von Rothkirch T, Becker W, Willert HG. Radiosynoviorthesis with rhenium-186 in rheumatoid arthritis: a prospective study of three treatment regimens. *Rheumatol Int* 1997; 17:105–8.
- 35 Gumpel JM, Stevenson AC. Chromosomal damage after intra-articular injection of different colloids of yttrium 90. *Rheumatol Rehabil.* 1975; 14(1):7–12.
- 36 International Commission on Radiological Protection. ICRP Publication 53: Radiation dose to patients from radiopharmaceuticals. Oxford: Pergamon Press 1988; *Annals of the ICRP* 18 (1–4).
- 37 Kanda R, Jiang T, Hayata I, Kobayashi S. Effects of Colcemid concentration on chromosome aberration analysis in human lymphocytes. *J Radiat Res (Tokyo)* 1994; 35:41–7.

- 38 Nowell PC. Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. *Cancer Res* 1960; 20:462–6.
- 39 Stephan G, Pressl S. Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes from healthy subjects as detected in first cell division. *Mutat Res* 1999; 446:231–7.
- 40 Speicher M. Strukturelle Chromosomenaberrationen. Murken J, Grimm T, Holinski-Feder E, eds. *Humangenetik*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2006:184–96.
- 41 Wilcoxon F. Individual comparisons by ranking methods. *Biometrics* 1945; 1:80–3.
- 42 Voth M, Klett R, Lengsfeld P, Stephan G, Schmid E. Biological dosimetry after yttrium-90 citrate colloid radiosynoviorthesis. *Nuclear Med* 2006; 45:223–8.
- 43 Stephan G, Pressl S. Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes from healthy subjects as detected in first cell division. *Mutat Res* 1999; 446:231–7.
- 44 Lacki JK, Schochat T, Sobieska M, Leszczynski P, Wiktorowicz K, Mackiewicz U, Mackiewicz SH, Muller W. Immunological studies in patients with rheumatoid arthritis treated with methotrexate or cyclophosphamide. *Z Rheumatol* 1994; 53:76–82.
- 45 Joksić G, Petrović S, Ilić Z. Age-related changes in radiation-induced micronuclei among healthy adults. *Braz J Med Biol Res*. 2004; 37(8):1111–7.
- 46 Venkatachalam P, Paul SF, Mohankumar MN, Prabhu BK, Gajendiran N, Kathiresan A, Jeevanram RK. Higher frequency of dicentrics and micronuclei in peripheral blood lymphocytes of cancer patients. *Mutat Res* 1999; 425:1–8.
- 47 van den Brink HR, van Wijk MJ, Bijlsma JW. Influence of steroid hormones on proliferation of peripheral blood mononuclear cells in patients with rheumatoid arthritis. *Br J Haematol* 1992; 31:663–7.
- 48 Wascher TC, Hermann J, Brezinschek HP, Brezinschek R, Wilders-Truschnig M, Rainer F, Krejs GJ. Cell-type specific response of peripheral blood lymphocytes to methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Investig* 1994; 72:535–40.
- 49 Mondello C, Giorgi R, Nuzzo F. Chromosomal effects of methotrexate on cultured human lymphocytes. *Mutat Res* 1984; 139:67–70.
- 50 Awa AA, Neel JV. Cytogenetic 'rogue' cells: what is their frequency, origin, and evolutionary significance? *Proc Natl Acad Sci USA*. 1986; 83:1021–5.

- 51 Mustonen R, Lindholm C, Tawn EJ, Sabatier L, Salomaa S. The incidence of cytogenetically abnormal rogue cells in peripheral blood. *Int J Radiat Biol* 1998; 74:781–5.
- 52 Neel JV, Major EO, Awa AA, Glover T, Burgess A, Traub R, Curfman B, Satoh C. Hypothesis: "Rogue cell"-type chromosomal damage in lymphocytes is associated with infection with the JC human polyoma virus and has implications for oncopogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(7):2690–5.
- 53 Hänscheid A, Lassmann M, Pinkert J, Voth M, Reiners C. Strahlenexposition des Patienten nach Radiosynoviorthese mit Er-169 und Re-186. *Nuklearmedizin* 2005; 44: A136.
- 54 Prosser JS, Moquet JE, Lloyd DC, Edwards AA. Radiation induction of micronuclei in human lymphocytes. *Mutat Res* 1988; 199:37–44.
- 55 Abend M, Kehe K, Riedel M, Van Beuningen D. Correlation of micronucleus and apoptosis assays with reproductive cell death can be improved by considering other modes of death. *Int J Radiat Biol*. 2000; 76(2):249–59.
- 56 Falcon de Vargas V, Fernandez-Palazzi F. Cytogenetic studies in patients with hemophilic hemiarthrosis treated by 198Au, 186Re, and 90Y radioactive synoviorthesis. *J Pediatr Orthop* 2000; B 9:52–4.
- 57 Tönshoff G, Bohuslavizki KH, Kröger S, Brenner W, Jancke G, Henze E. Quantifizierung des Nuklidabflusses nach Radiosynoviorthese mit Rhenium-186-Kolloid. *Nuklearmedizin* 1997; 36:A39.
- 58 van der Zant FM, Jahangier ZN, Gommans GG, Moolenburgh JD, Jacobs JW. Radiation synovectomy of the upper extremity joints: does leakage from the joint to non-target organs impair its therapeutic effect? *Appl Radiat Isot* 2007; 65(6):649–55.
- 59 van der Zant FM, Jahangier ZN, Moolenburgh JD, van der Zee W, Boer RO, Jacobs JW. Radiation synovectomy of the ankle with 75 MBq colloidal 186rhenium-sulfide: effect, leakage, and radiation considerations. *J Rheumatol* 2004; 31(5):896–901.
- 60 Gedik GK, Ugur O, Atilla B, Pekmezci M, Yildirim M, Seven B, Varoglu E. Comparison of extraarticular leakage values of radiopharmaceuticals used for radionuclide synovectomy. *Ann Nucl Med* 2006; 20(3):183–8.
- 61 Gratz S, Göbel D, Behr TM, Herrmann A, Becker W. Correlation between radiation dose, synovial thickness, and efficacy of radiosynoviorthesis. *J Rheumatol* 1999; 26(6):1242–9.

9 Anhang: Statistische Analyse

Tabelle 11

Wilcoxon-Test für das Auftreten dizentrischer Chromosomen in der Rhenium-186-Studie*

Codendr.	mittlere Anzahl dizentrischer Chromosomen pro Zelle in Tausend		Differenz, d	d	Rang von d	Vorzeichen- Ränge	
	vor RSO	nach RSO				(-)	(+)
0101	8,704	7,984	-0,720	0,720	3	3	
0102	1,972	1,976	0,004	0,004	1		1
0201	7,905	21,032	13,127	13,127	9		9
0202	6,972	3,752	-3,220	3,220	8	8	
0203	1,934	4,808	2,874	2,874	6		6
0205	0	1,949	1,949	1,949	5		5
0206	0	2,901	2,901	2,901	7		7
0207	0	0,956	0,956	0,956	4		4
0208	9,843	9,747	-0,096	0,096	2	2	
Mittelwert =	4,148	6,123			Summe =	13	32

= T_{calc}

Nullhypothese H_0 : kein Strahleneffekt

$n = 9$ (effektive Populationsgröße)

kritisches T (T_{crit}) = 5 (zweiseitig, 5 % Signifikanz)

$T_{\text{crit}} < T_{\text{calc}} \rightarrow H_0$ annehmen

*Differenzen von Null vom Test ausgenommen:

Codendr.	vor RSO	nach RSO	Differenz, d	d
0204	1,957	1,957	0	0

Tabelle 12

Wilcoxon-Test für das Auftreten von Deletionen in der Rhenium-186-Studie

Codendr.	mittlere Anzahl von Deletionen pro Zelle in Tausend		Differenz, d	d	Rang von d	Vorzeichen- Ränge	
	vor RSO	nach RSO				(-)	(+)
0101	3,868	18,962	15,094	15,094	9		9
0102	7,890	7,905	0,015	0,015	1		1
0201	15,810	38,241	22,431	22,431	10		10
0202	18,924	18,762	-0,162	0,162	2	2	
0203	7,737	9,615	1,878	1,878	5		5
0204	5,871	9,785	3,914	3,914	8		8
0205	1,965	5,848	3,883	3,883	7		7
0206	2,982	3,868	0,886	0,886	3		3
0207	2,976	5,736	2,760	2,760	6		6
0208	11,811	10,721	-1,090	1,090	4	4	
Mittelwert =	7,983	12,944			Summe =	<u>6</u>	40

= T_{calc} **Nullhypothese H_0 : kein Strahleneffekt** **$n = 10$** (effektive Populationsgröße)kritisches T ($T_{\text{crit}} = 8$) (zweiseitig, 5% Signifikanz) **$T_{\text{crit}} > T_{\text{calc}} \rightarrow H_0$ ablehnen**

Tabelle 13

Wilcoxon-Test für das Auftreten zentrischer Ringe in der Rhenium-186-Studie*

Codenr.	mittlere Anzahl zentrischer Ringe pro Zelle in Tausend		Differenz, d	d	Rang von d	Vorzeichen- Ränge	
	vor RSO	nach RSO				(-)	(+)
0101	1,934	1,996	0,062	0,062	1		1
0205	0	0,974	0,974	0,974	2		2
Mittelwert =	1,226	1,485			Summe =	<u>0</u>	3

= T_{calc} **Nullhypothese H_0 : kein Strahleneffekt** **$n = 2$** (effektive Populationsgröße)kritisches T ($T_{\text{crit}} = 0$) (zweiseitig, 5% Signifikanz) **$T_{\text{crit}} = T_{\text{calc}} \rightarrow H_0$ annehmen**

*Differenzen von Null vom Test ausgenommen:

Codenr.	vor RSO	nach RSO	Differenz, d	d
0102	0	0	0	0
0201	0	0	0	0
0202	0	0	0	0
0203	0	0	0	0
0204	0	0	0	0
0206	0	0	0	0
0207	0	0	0	0
0208	0	0	0	0

Tabelle 14

Wilcoxon-Test für das Auftreten von Chromatidbrüchen in der Rhenium-186-Studie*

Codenr.	mittlere Anzahl von Chromatidbrüchen pro Zelle in Tausend		Differenz, d	d	Rang von d	Vorzeichen- Ränge	
	vor RSO	nach RSO				(-)	(+)
0101	0,967	0,998	0,031	0,031	2		2
0102	7,890	0	-7,890	7,890	9	9	
0201	1,976	5,736	3,760	3,760	7		7
0202	1,992	3,752	1,760	1,760	4		4
0203	1,934	1,923	-0,011	0,011	1	1	
0204	3,914	2,935	-0,979	0,979	3	3	
0205	0	4,873	4,873	4,873	8		8
0207	1,984	0	-1,984	1,984	5	5	
0208	3,937	1,949	-1,988	1,988	6	6	
Mittelwert =	2,733	2,463			Summe =	24	<u>19</u>

= T_{calc}**Nullhypothese H₀: kein Strahleneffekt****n = 9** (effektive Populationsgröße)kritisches T (T_{crit}) = 5 (zweiseitig, 5% Signifikanz)T_{crit} < T_{calc} → H₀ annehmen

*Differenz von Null vom Test ausgenommen:

Codenr.	vor RSO	nach RSO	Differenz, d	d
0206	0	0	0	0

Tabelle 15

Wilcoxon-Test für das Auftreten von Chromatidaustauschfiguren in der Rhenium-186-Studie*

Codenr.	mittlere Anzahl von Chromatidaustauschfiguren pro Zelle in Tausend		Differenz, d	d	Rang von d	Vorzeichen-Ränge	
	vor RSO	nach RSO				(-)	(+)
0101	0,967	0	-0,967	0,967	1,0	1,0	
0102	1,972	2,964	0,992	0,992	2,5		2,5
0207	0,992	0	-0,992	0,992	2,5	2,5	
Mittelwert =	1,310	0,988			Summe =	3,5	<u>2,5</u>

= T_{calc} **Nullhypothese H_0 : kein Strahleneffekt** **$n = 3$** (effektive Populationsgröße)kritisches T ($T_{\text{crit}} = 0$) (zweiseitig, 5 % Signifikanz) **$T_{\text{crit}} < T_{\text{calc}} \rightarrow H_0$ annehmen**

*Differenzen von Null vom Test ausgenommen:

Codenr.	vor RSO	nach RSO	Differenz, d	d
0201	0	0	0	0
0202	0	0	0	0
0203	0	0	0	0
0204	0	0	0	0
0205	0	0	0	0
0206	0	0	0	0
0208	0	0	0	0

Tabelle 16

Wilcoxon-Test für das Auftreten dizentrischer Chromosomen in der Erbium-169-Studie*

Codenr.	mittlere Anzahl dizentrischer Chromosomen pro Zelle in Tausend		Differenz, d	d	Rang von d	Vorzeichen- Ränge	
	vor RSO	nach RSO				(-)	(+)
01001	59,761	64,327	4,567	4,567	10		10
01002	3,980	18,962	14,982	14,982	11		11
01003	5,888	3,857	-2,031	2,031	9	9	
02002	3,887	1,965	-1,923	1,923	8	8	
02003	1,946	2,938	0,993	0,993	7		7
02004	0	0,978	0,978	0,978	4		4
02005	0,985	0	-0,985	0,985	5	5	
03002	0	0,972	0,972	0,972	2		2
03003	2,907	1,934	-0,973	0,973	3	3	
03004	3,914	3,880	-0,034	0,034	1	1	
03005	3,925	2,938	-0,987	0,987	6	6	
Mittelwert =	7,927	9,341			Summe =	32	34

= T_{calc} **Nullhypothese H_0 : kein Strahleneffekt****n = 11** (effektive Populationsgröße)kritisches T (T_{crit}) = 10 (zweiseitig, 5% Signifikanz) $T_{\text{crit}} < T_{\text{calc}} \rightarrow H_0$ annehmen

*Differenzen von Null vom Test ausgenommen:

Codenr.	vor RSO	nach RSO	Differenz, d	d
02001	0	0	0	0
03001	0	0	0	0

Tabelle 17

Wilcoxon-Test für das Auftreten dizentrischer Chromosomen in der Erbium-169-Studie (exkl. der Patienten Codenrn. 02003, 02004 und 02005)*

Codenr.	mittlere Anzahl dizentrischer Chromosomen pro Zelle in Tausend		Differenz, d	d	Rang von d	Vorzeichen- Ränge	
	vor RSO	nach RSO				(-)	(+)
01001	59,761	64,327	4,567	4,567	7		7
01002	3,980	18,962	14,982	14,982	8		8
01003	5,888	3,857	-2,031	2,031	6	6	
02002	3,887	1,965	-1,923	1,923	5	5	
03002	0	0,972	0,972	0,972	2		2
03003	2,907	1,934	-0,973	0,973	3	3	
03004	3,914	3,880	-0,034	0,034	1	1	
03005	3,925	2,938	-0,987	0,987	4		4
Mittelwert =	10,533	12,354			Summe =	17	19

= T_{calc}

Nullhypothese H_0 : kein Strahleneffekt

$n = 8$ (effektive Populationsgröße)

kritisches T (T_{crit}) = 3 (zweiseitig, 5% Signifikanz)

$T_{\text{crit}} < T_{\text{calc}} \rightarrow H_0$ annehmen

*Differenzen von Null und fragliche Patientendaten vom Test ausgenommen:

Codenr.	vor RSO	nach RSO	Differenz, d	d
02001	0	0	0	0
02003	1,946	2,938	0,993	0,993
02004	0	0,978	0,978	0,978
02005	0,985	0	-0,985	0,985
03001	0	0	0	0

Tabelle 18

Wilcoxon-Test für das Auftreten dizentrischer Chromosomen in der Erbium-169-Studie (exkl. der Patientin Codenr. 01001)*

Codenr.	mittlere Anzahl dizentrischer Chromosomen pro Zelle in Tausend		Differenz, d	d	Rang von d	Vorzeichen- Ränge	
	vor RSO	nach RSO				(-)	(+)
01002	3,980	18,962	14,982	14,982	10		10
01003	5,888	3,857	-2,031	2,031	9	9	
02002	3,887	1,965	-1,922	1,922	8	8	
02003	1,946	2,938	0,992	0,992	7		7
02004	0	0,978	0,978	0,978	4		4
02005	0,985	0	-0,985	0,985	5	5	
03002	0	0,972	0,972	0,972	2		2
03003	2,907	1,934	-0,973	0,973	3	3	
03004	3,914	3,880	-0,034	0,034	1	1	
03005	3,925	2,938	-0,987	0,987	6	6	
Mittelwert =	2,743	3,842			Summe =	32	23

= T_{calc}

Nullhypothese H_0 : kein Strahleneffekt

$n = 10$ (effektive Populationsgröße)

kritisches T (T_{crit}) = 8 (zweiseitig, 5% Signifikanz)

$T_{\text{crit}} < T_{\text{calc}} \rightarrow H_0$ annehmen

*Differenzen von Null und fragliche Patientendaten vom Test ausgenommen:

Codenr.	vor RSO	nach RSO	Differenz, d	d
01001	59,761	64,327	4,567	4,567
02001	0	0	0	0
03001	0	0	0	0

Tabelle 19

Wilcoxon-Test für das Auftreten von Chromatidbrüchen in der Erbium-169-Studie

Codenr.	mittlere Anzahl von Chromatidbrüchen pro Zelle in Tausend		Differenz, d	d	Rang von d	Vorzeichen- Ränge	
	vor RSO	nach RSO				(-)	(+)
01001	0,000	5,848	5,848	5,848	10		10
01002	7,960	9,980	2,020	2,020	8		8
01003	1,963	10,608	8,645	8,645	12		12
02001	0,000	1,988	1,988	1,988	7		7
02002	1,944	3,929	1,985	1,985	6		6
02003	7,782	8,815	1,033	1,033	3		3
02004	4,912	4,888	-0,024	0,024	1	1	
02005	1,970	18,812	16,842	16,842	13		13
03001	0,989	2,907	1,918	1,918	4		4
03002	10,753	3,887	-6,866	6,866	11	11	
03003	0,000	4,836	4,836	4,836	9		9
03004	2,935	3,880	0,945	0,945	2		2
03005	2,944	4,897	1,953	1,953	5		5
Mittelwert =	3,396	6,560			Summe =	12	79

= T_{calc} **Nullhypothese H_0 : kein Strahleneffekt** **$n = 13$** (effektive Populationsgröße)kritisches T (T_{crit}) = 17 (zweiseitig, 5 % Signifikanz) **$T_{\text{crit}} > T_{\text{calc}} \rightarrow H_0$ ablehnen**

Tabelle 20

Wilcoxon-Test für das Auftreten von Chromatidbrüchen in der Erbium-169-Studie
(exkl. der Patienten Codenrn. 01001, 02003 und 02005)

Codenr.	mittlere Anzahl von Chromatidbrüchen pro Zelle in Tausend		Differenz, d	d	Rang von d	Vorzeichen- Ränge	
	vor RSO	nach RSO				(-)	(+)
01002	7,960	9,980	2,020	2,020	7		7
01003	1,963	10,608	8,645	8,645	10		10
02001	0,000	1,988	1,988	1,988	6		6
02002	1,944	3,929	1,985	1,985	5		5
02004	4,912	4,888	-0,024	0,024	1	1	
03001	0,989	2,907	1,918	1,918	3		3
03002	10,753	3,887	-6,866	6,866	9	9	
03003	0,000	4,836	4,836	4,836	8		8
03004	2,935	3,880	0,945	0,945	2		2
03005	2,944	4,897	1,953	1,953	4		4
Mittelwert =	3,440	5,180			Summe =	10	45

= T_{calc}

Nullhypothese H_0 : kein Strahleneffekt

$n = 10$ (effektive Populationsgröße)

kritisches T (T_{crit}) = 8 (zweiseitig, 5% Signifikanz)

$T_{\text{crit}} \leq T_{\text{calc}} \rightarrow H_0$ annehmen

*Differenzen von Null und fragliche Patientendaten vom Test ausgenommen:

Codenr.	vor RSO	nach RSO	Differenz, d	d
01001	59,761	64,327	4,567	4,567
02003	7,782	8,815	1,033	1,033
02005	1,970	18,812	16,842	16,842

Tabelle 21

Wilcoxon-Test für das Auftreten von Chromatidbrüchen in der Erbium-169-Studie
(exkl. der Patienten Codennr. 01001, 01003, 02003, 02004, 02005 und 03004)

Codenr.	mittlere Anzahl von Chromatidbrüchen pro Zelle in Tausend		Differenz, d	d	Rang von d	Vorzeichen- Ränge	
	vor RSO	nach RSO				(-)	(+)
01002	7,960	9,980	2,020	2,020	5		5
02001	0,000	1,988	1,988	1,988	4		4
02002	1,944	3,929	1,985	1,985	3		3
03001	0,989	2,907	1,918	1,918	1		1
03002	10,753	3,887	-6,866	6,866	7	7	
03003	0,000	4,836	4,836	4,836	6		6
03005	2,944	4,897	1,953	1,953	2		2
Mittelwert =	3,513	4,632			Summe =	<u>7</u>	21

= T_{calc}

Nullhypothese H_0 : kein Strahleneffekt

n = 7 (effektive Populationsgröße)

kritisches T (T_{crit}) = 2 (zweiseitig, 5 % Signifikanz)

$T_{\text{crit}} < T_{\text{calc}} \rightarrow H_0$ annehmen

*Differenzen von Null und fragliche Patientendaten vom Test ausgenommen:

Codenr.	vor RSO	nach RSO	Differenz, d	d
01001	59,761	64,327	4,567	4,567
01003	1,963	10,608	8,645	8,645
02003	7,782	8,815	1,033	1,033
02004	4,912	4,888	-0,024	0,024
02005	1,970	18,812	16,842	16,842
03004	2,935	3,880	0,945	0,945

Tabelle 22

Wilcoxon-Test für das Auftreten zentrischer Ringe in der Erbium-169-Studie*

Codendr.	mittlere Anzahl zentrischer Ringe pro Zelle in Tausend		Differenz, d	d	Rang von d	Vorzeichen- Ränge	
	vor RSO	nach RSO				(-)	(+)
01001	8,964	7,797	-1,167	1,167	2	2	
02003	0	1,959	1,959	1,959	3		3
02004	0	0,978	0,978	0,978	1		1
Mittelwert =	2,988	3,578			Summe =	<u>2</u>	4

= T_{calc} **Nullhypothese H_0 : kein Strahleneffekt** **$n = 3$** (effektive Populationsgröße)kritisches T (T_{crit}) = 0 (zweiseitig, 5% Signifikanz) $T_{\text{crit}} < T_{\text{calc}} \rightarrow H_0$ annehmen

*Differenzen von Null vom Test ausgenommen:

Codendr.	vor RSO	nach RSO	Differenz, d	d
1002	0	0	0	0
1003	0	0	0	0
2001	0	0	0	0
2002	0	0	0	0
2005	0	0	0	0
3001	0	0	0	0
3002	0	0	0	0
3003	0	0	0	0
3004	0	0	0	0
3005	0	0	0	0

Tabelle 23

Wilcoxon-Test für das Auftreten von Deletionen in der Erbium-169-Studie

Codenr.	mittlere Anzahl von Deletionen pro Zelle in Tausend		Differenz, d	d	Rang von d	Vorzeichen- Ränge	
	vor RSO	nach RSO				(-)	(+)
01001	38,844	49,708	10,864	10,864	13		13
01002	5,970	9,980	4,010	4,010	7		7
01003	4,907	5,786	0,879	0,879	2		2
02001	1,972	5,964	3,992	3,992	6		6
02002	6,803	2,947	-3,856	3,856	5	5	
02003	0,000	7,835	7,835	7,835	12		12
02004	10,806	3,910	-6,896	6,896	11	11	
02005	8,867	11,881	3,014	3,014	4		4
03001	1,978	1,938	-0,040	0,040	1	1	
03002	3,910	10,690	6,780	6,780	10		10
03003	0,000	4,836	4,836	4,836	8		8
03004	11,742	6,790	-4,952	4,952	9	9	
03005	4,907	5,877	0,970	0,970	3		3
Mittelwert =	7,747	9,857			Summe =	26	65

= T_{calc} **Nullhypothese H_0 : kein Strahleneffekt** **$n = 13$** (effektive Populationsgröße)kritisches T (T_{crit}) = 17 (zweiseitig, 5 % Signifikanz) **$T_{\text{crit}} < T_{\text{calc}} \rightarrow H_0$ annehmen**

Tabelle 24

Wilcoxon-Test für das Auftreten von Chromatidaustauschfiguren in der Erbium-169-Studie*

Codenr.	mittlere Anzahl von Chromatidaustauschfiguren pro Zelle in Tausend		Differenz, d	d	Rang von d	Vorzeichen- Ränge	
	vor RSO	nach RSO				(-)	(+)
01001	0	1,949	1,949	1,949	5		5
01002	1,990	0	-1,990	1,990	6	6	
01003	0,981	0	-0,981	0,981	2,5	2,5	
02005	0	0,990	0,990	0,990	4		4
03004	0	0,970	0,970	0,970	1		1
03005	0,981	0	-0,981	0,981	2,5	2,5	
Mittelwert =	0,659	0,652			Summe =	11	10

= T_{calc} **Nullhypothese H_0 : kein Strahleneffekt****n = 6** (effektive Populationsgröße)kritisches T (T_{crit}) = 0 (zweiseitig, 5% Signifikanz) $T_{\text{crit}} < T_{\text{calc}} \rightarrow H_0$ annehmen

*Differenzen von Null vom Test ausgenommen:

Codenr.	vor RSO	nach RSO	Differenz, d	d
02001	0	0	0	0
02002	0	0	0	0
02003	0	0	0	0
02004	0	0	0	0
03001	0	0	0	0
03002	0	0	0	0
03003	0	0	0	0

10 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.

11 Danksagung

Mein Dank gilt in erster Linie meinem Doktorvater Herrn Dr. Klett, dessen Geduld, Beharrlichkeit, persönlicher Einsatz und nicht zuletzt dessen kritische und sicher zeitraubende Begutachtung auch in der Neueröffnungszeit seiner Praxis die Entstehung und den Abschluss dieser Arbeit erst möglich machten.

Großer Dank gilt auch dem zweiten Gutachter Prof. Drzezga.

Weiterhin danke ich ganz herzlich Herrn Dr. Wolf-Stefan Richter, der mich mit viel Begeisterung an die Nuklearmedizin und besonders „mein Thema“ heranführte und mich uneigennützig und umfassend von Anfang bis Ende in jeder Hinsicht und zu jeder möglichen und unmöglichen Zeit unterstützte und mir immer mit Rat und Tat und nötigenfalls Nachdruck zur Seite stand.

An dieser Stelle möchte ich auch allen Mitarbeitern von Pharmtrace und insbesondere Frau Romy Schütte-Schmidt danken, die immer hilfsbereit waren und von denen ich viel lernen durfte. Auch dem Sponsor *cis bio* sei für alles gedankt.

Großer Dank gilt weiterhin Herrn Prof. Schmid aus dem Strahlenbiologischen Institut in München für die Durchführung der Analysen und die freundliche Beantwortung all meiner Fragen trotz „Unruhestand“.

Den Studienzentren und besonders den *principal investigators* Herrn Prof. Mödder in Köln, Herrn Dr. Stabell und Herrn große Darrelmann in Berlin danke ich freundlichst für die Zusammenarbeit und die nicht gescheute Mühe, die die Studien mit sich brachten. Insbesondere danke ich Herrn Dr. Stelling für seine nette Beratung.

Darüber hinaus möchte ich allen Mitautoren der im Rahmen der Studien entstandenen Publikation meinen Dank ausdrücken.

Ich bedanke mich auch bei allen Patienten, die an den Studien teilgenommen und die Untersuchung damit erst möglich gemacht haben.

Schließlich danke ich meiner Familie für all ihre Geduld, Unterstützung, ihr in mich gesetztes Vertrauen und ihre beharrlichen Nachfragen. Besonders gedankt sei meinen Eltern Ralf und Marion Schnurbus, meinen Großeltern Heinz und Ingrid Schnurbus, meinem Mann Marcel Duhs und meinem Schwager Benjamin Duhs für die unermüdlichen, wenn auch ermüdenden Korrekturen.

Danke!