



**Zusammenhang zwischen physikalischer  
Dosimetrie und DNA Doppelstrangbrüchen in  
Lymphozyten nach Radionuklidtherapie**

**Relationship between internal dosimetry and  
DNA double strand breaks in lymphocytes after  
radionuclide therapy**

Dissertation zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades  
der Graduate School of Life Sciences,  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg,  
Klasse Biomedizin

vorgelegt von

Uta Eberlein  
aus  
Aalen

Würzburg, 2015



Eingereicht am: 24. Juli 2015

## Mitglieder des Promotionskomitees:

Vorsitzender: Prof. Dr. Bert Hecht

1. Betreuer: Prof. Dr. Michael Laßmann
2. Betreuerin: Prof. Dr. Tcholpon Djuzenova
3. Betreuer: Prof. Dr. Andreas Buck

Tag des Promotionskolloquiums: 30. September 2015

Doktorurkunde ausgehändigt am: .....



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Physikalische und strahlenbiologische Grundlagen und Methoden</b>	<b>5</b>
2.1	Atommodell . . . . .	5
2.2	Radioaktivität . . . . .	6
2.2.1	$\alpha$ -Zerfall . . . . .	7
2.2.2	$\beta$ -Zerfall . . . . .	8
2.2.3	$\gamma$ -Zerfall . . . . .	9
2.2.4	Innere Konversion . . . . .	9
2.3	$\beta$ -Strahler in der nuklearmedizinischen Therapie . . . . .	10
2.3.1	$^{131}\text{I}$ zur Behandlung des differenzierten Schilddrüsenkarzinoms . . . . .	10
2.3.2	$^{177}\text{Lu}$ zur Behandlung von neuroendokrinen Tumoren . . . . .	11
2.4	Wechselwirkung ionisierender Strahlung mit Materie . . . . .	12
2.4.1	Direkt ionisierende Strahlung . . . . .	12
2.4.2	Indirekt ionisierende Strahlung . . . . .	13
2.4.3	Ionisierungsvermögen . . . . .	16
2.4.4	Linearer Energie-Transfer (LET) . . . . .	17
2.5	Dosimetrie . . . . .	17
2.5.1	Dosisbegriffe . . . . .	18
2.5.2	MIRD-Formalismus . . . . .	20
2.5.3	Phantome für die Dosimetrie . . . . .	22
2.5.4	Blutbasierte Dosimetrie . . . . .	23
2.5.5	Messmethoden . . . . .	25
2.6	Strahlenbiologie . . . . .	30
2.6.1	Zellaufbau . . . . .	30
2.6.2	DNA-Aufbau . . . . .	31
2.6.3	Zellzyklus . . . . .	32
2.6.4	DNA-Schädigung . . . . .	33
2.6.5	DNA-Reparaturmechanismen . . . . .	36
2.6.6	$\gamma$ -H2AX und 53BP1 zum Nachweis von DNA Doppelstrangbrüchen . . . . .	38
2.6.7	Probenaufbereitung zum Nachweis von DNA Doppelstrangbrüchen . . . . .	40
<b>3</b>	<b>In-vitro Kalibrierung</b>	<b>43</b>
3.1	Materialien und Methoden . . . . .	43
3.1.1	Präparation der radioaktiven Proben . . . . .	43
3.1.2	Berechnung der Energiedosis im Blut . . . . .	44
3.2	Ergebnisse . . . . .	45
3.3	Diskussion . . . . .	48

<b>4</b>	<b>DNA Doppelstrangbrüche nach Radiopeptidtherapie</b>	<b>51</b>
4.1	Materialien und Methoden . . . . .	51
4.1.1	Studiendesign und Patientenkollektiv . . . . .	51
4.1.2	Blutabnahmen und Aktivitätsbestimmung . . . . .	52
4.1.3	Bestimmung der Aktivität im Ganzkörper . . . . .	52
4.1.4	Bestimmung der Energiedosis im Blut . . . . .	52
4.2	Ergebnisse . . . . .	52
4.2.1	Patienten . . . . .	52
4.2.2	Biomarker $\gamma$ -H2AX und 53BP1 . . . . .	53
4.2.3	Zeit-Aktivitäts-Kurven . . . . .	54
4.2.4	Dosimetrie . . . . .	55
4.2.5	In-vivo Kalibrierung nach Radiopeptidtherapie . . . . .	56
4.2.6	Modellierung des zeitlichen Verlaufs der RIF/Zelle nach PRRT . . . . .	57
4.3	Diskussion . . . . .	59
<b>5</b>	<b>DNA Doppelstrangbrüche nach Radioiodtherapie</b>	<b>63</b>
5.1	Materialien und Methoden . . . . .	63
5.1.1	Studiendesign und Patientenkollektiv . . . . .	63
5.1.2	Blutabnahmen und Aktivitätsbestimmung . . . . .	64
5.1.3	Bestimmung der Aktivität im Ganzkörper . . . . .	64
5.1.4	Bestimmung der Energiedosis im Blut . . . . .	64
5.2	Ergebnisse . . . . .	64
5.2.1	Patienten . . . . .	64
5.2.2	Biomarker $\gamma$ -H2AX und 53BP1 . . . . .	65
5.2.3	Zeit-Aktivitäts-Kurven . . . . .	66
5.2.4	Dosimetrie . . . . .	67
5.2.5	In-vivo Kalibrierung nach Radioiodtherapie . . . . .	68
5.2.6	Modellierung des zeitlichen Verlaufs der RIF/Zelle nach RIT . . . . .	70
5.2.7	Vergleich der Modellierung nach RIT und PRRT . . . . .	72
5.3	Diskussion . . . . .	73
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>75</b>
<b>7</b>	<b>Summary</b>	<b>79</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>83</b>
<b>A</b>	<b>Abkürzungen</b>	<b>93</b>
<b>B</b>	<b>Publikationsliste</b>	<b>95</b>
<b>C</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>99</b>
<b>D</b>	<b>Eidesstattliche Erklärung (Affidavit)</b>	<b>101</b>
<b>E</b>	<b>Danksagung</b>	<b>103</b>

# 1 Einleitung

Die Nuklearmedizin ist aus der Gesundheitsversorgung nicht mehr wegzudenken. Sie trägt wesentlich zum Erhalt und zur Verbesserung der Lebensqualität der Bevölkerung bei. Insbesondere bei der Diagnose und Therapie von Tumoren oder Herz-Kreislauf-Erkrankungen spielt sie eine große Rolle. Im Unterschied zur Röntgendiagnostik oder der Strahlentherapie befindet sich in der Nuklearmedizin die Strahlenquelle im Körper. Durch die systemische oder lokale Verabreichung von radioaktiven Substanzen, sogenannten Radiopharmaka, wird der Körper daher intern bestrahlt.

Zum einen ermöglicht die radioaktive Strahlung in der Nuklearmedizin die bildliche Darstellung von Bereichen mit hoher und geringer Radioaktivität und damit diagnostische Rückschlüsse auf den Stoffwechselfvorgang, der mögliche krankhafte Veränderungen anzeigen kann. Zum anderen wird sie auch therapeutisch eingesetzt. Das bedeutet, dass genau die Anreicherung der Radiopharmaka in den krankhaften Arealen, die in der Diagnostik für die Bildgebung genutzt wird, dazu eingesetzt wird, um diese Areale zu zerstören. In diesem Fall werden allerdings deutlich größere Mengen an Aktivität (radioaktive Zerfälle pro Zeit) des Radiopharmakons im Vergleich zur Diagnostik verabreicht. Primär werden dafür, wegen der kurzen Reichweite,  $\beta^-$ -Strahler eingesetzt.

Das Verteilungsmuster der verabreichten Aktivität des Radiopharmakons im Körper wird durch dessen chemische und physikalische Eigenschaften bestimmt. Außerdem ist die Höhe der Aktivität und die Art der Anreicherung ausschlaggebend für die durch ionisierende Strahlung deponierte Energie im Körper, der Energiedosis; ihre SI-Einheit ist das Gray (Gy). Die Bestimmung dieser Größe in den unterschiedlichsten Körperarealen wird Dosimetrie genannt. Ihre Aufgabe ist es, mittels physikalischer Messmethoden und Berechnungen, die Energiedosen zu bestimmen und die daraus abgeleitete Therapieaktivität so zu optimieren, dass die kritischen Organe nicht geschädigt werden, aber die Dosis im Tumor ausreicht, um diesen zu zerstören.

Beim Einsatz ionisierender Strahlung werden allerdings nicht nur die kranken Zellen zerstört, sondern es kann auch gesundes Gewebe geschädigt werden. Dies geschieht unter anderem durch direkte oder indirekte Wechselwirkung der Strahlung mit der DNA, die zur Schädigung der DNA-Struktur führt. Am häufigsten sind dabei Einzelstrangbrüche und Basenschäden. Doppelstrangbrüche (DSBs) sind im Vergleich zu Einzelstrangbrüchen und Basenschäden sehr selten (ca. 1%), aber sehr viel gefährlicher für die Zelle, da die Reparatur komplizierter ist und sie somit primär für den Zelltod bzw. für die Folgen nach fehlerhafter Reparatur verantwortlich sind.

Eine sehr schnelle Antwort auf strahleninduzierte oder auch durch andere Stoffe wie z.B. zytotoxische Substanzen [1, 2] induzierte DSBs ist die Phosphorylierung der Histon H2 Variante H2AX, die dann  $\gamma$ -H2AX genannt wird, da sie zum ersten Mal in Zellen nach  $\gamma$ -Bestrahlung entdeckt wurde [3]. Das Protein 53BP1 (TP53BP1 tumor supressor p53 binding protein 1) ist ein weiterer Biomarker, der strahleninduzierte Doppelstrangbrüche sehr effektiv nachweisen kann [4] und der auf sehr verlässliche Weise mit  $\gamma$ -H2AX kolokalisiert [5]. Mittels Immunfluoreszenzfärbung lassen sich  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 als umschriebene Farbflecken, sogenannte „Foci“, im Zellkern mikroskopisch darstellen, und durch zählen der Foci im Zellkern wird ein quantitativer Nachweis der Strahlenexposition ermöglicht. Dieser Assay wird auch „DNA damage focus assay“ genant [6]. Es wird angenommen, dass ein Focus einem DSB entspricht [7, 8]. Studien mit externer Bestrahlung zeigen einen linearen Zusammenhang zwischen der Zahl der Foci im Zellkern und der Energiedosis [3, 9–12]. Seit der Entdeckung dieser Biomarker (primär  $\gamma$ -H2AX) zum Nachweis von DNA Doppelstrangbrüchen steigt die Zahl der veröffentlichten wissenschaftlichen Arbeiten stetig an. Allein im ersten Halbjahr 2015 gab es bereits ca. 250 Veröffentlichungen aus den unterschiedlichsten Gebieten zu dem  $\gamma$ -H2AX-Assay. Die meisten Arbeiten der letzten Jahre zu strahleninduzierten  $\gamma$ -H2AX-Foci beschäftigen sich mit den Auswirkungen externer Bestrahlung in-vivo nach Strahlentherapie oder Röntgendiagnostik oder in-vitro auf Zellen oder Gewebeproben.

Der Unterschied zwischen der externen und internen Bestrahlung ist, dass bei der internen Bestrahlung die Probe oder die Zielorgane kontinuierlich bestrahlt werden, allerdings mit abnehmender Dosisleistung. Dadurch wird die Energiedosis in einem sehr viel größeren Zeitraum, also mit sehr viel kleinerer Dosisleistung als zum Beispiel bei der Strahlentherapie, deponiert. Dies beeinflusst möglicherweise die Strahlenwirkung bei gleicher Energiedosis.

Für den Bereich der nuklearmedizinischen Diagnostik und Therapie gibt es bisher erst vier Arbeiten, die sich mit der Entstehung von strahleninduzierten  $\gamma$ -H2AX-Foci in peripheren Lymphozyten beschäftigen. Diese Arbeiten beschreiben die Induktion von strahleninduzierten Foci nach Radionuklidtherapien mit  $^{131}\text{I}$  und  $^{177}\text{Lu}$  und nach der Diagnostik mit  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET/CT. Die ersten Arbeiten zu  $^{131}\text{I}$  lieferten nur sehr wenige Daten oder keine für die ersten Stunden nach Therapiebeginn [13, 14]. Es wurden erhöhte Foci-Werte gefunden, aber kein direkter Zusammenhang zwischen der Energiedosis im Blut und der Zahl der Foci hergestellt. Die erste Arbeit zu Patienten nach Therapie mit  $^{177}\text{Lu}$  lieferte zwar Foci-Werte für die ersten Stunden nach Therapiebeginn, aber auch hier gab es keine Korrelation zwischen der Zahl der Foci und der Energiedosis im Blut [15]. Bei der Arbeit zum  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET/CT konnte eine Strahlenwirkung qualitativ nachgewiesen werden. Durch das nahezu gleichzeitige CT konnten allerdings die durch  $^{18}\text{F}$ -FDG und das CT verursachten Effekte nicht mehr getrennt betrachtet werden [16].

Als Konsequenz aus diesen Veröffentlichungen ergaben sich folgende Ziele für diese Arbeit:

- Die Generierung einer bisher noch nicht beschriebenen in-vitro Kalibrierkurve nach interner Bestrahlung von Vollblut mit den in der Therapie eingesetzten  $\beta^-$ -Strahlern und den unter Therapie beobachteten Energiedosen.
- Die gleichzeitige Bestimmung der physikalischen Dosis sowie der strahleninduzierten



---

Anzahl der Foci in Lymphozyten, gewonnen aus Blutproben von Patienten nach erster Radiopeptidtherapie mit  $^{177}\text{Lu}$  und erster Radioiodtherapie mit  $^{131}\text{I}$  in den ersten Stunden nach Therapiebeginn und bis zur Entlassung der Patienten aus der Therapiestation.

- Eine umfassende Beschreibung der Induktion und der Abnahme der Foci in den Lymphozyten aus den Blutproben der Patienten unter Verwendung der in-vitro Kalibrierung, um einerseits den Zusammenhang zwischen den Energiedosen und der Zahl der Foci herzustellen und andererseits den dosis- und zeitabhängigen Verlauf der Anzahl der strahleninduzierten Foci zu bestimmen.

Das folgende Kapitel stellt die physikalischen und strahlenbiologischen Grundlagen und Methoden, die für das Verständnis der Arbeit wichtig sind, dar. Im Anschluss folgen drei Kapitel, beginnend mit der in-vitro Kalibrierung, gefolgt von den Ergebnissen zu den  $^{177}\text{Lu}$ -Therapien und den Radioiodtherapien. Abschließend werden die Ergebnisse diskutiert und die Arbeit endet mit einer Zusammenfassung der Ergebnisse und einem Ausblick auf weiterführende Forschungsmöglichkeiten zu dieser Thematik.



# 2 Physikalische und strahlenbiologische Grundlagen und Methoden

## 2.1 Atommodell

Erst Anfang des 20. Jahrhunderts wurde 1911 mit Ernest Rutherfords Streuexperimenten der Grundstein der modernen Atomphysik gelegt. Durch seine Streuversuche fand er heraus, dass das Atom aus einem Atomkern und einer Atomhülle bestehen muss. Im Kern konzentriert sich die Masse der positiv geladenen Teilchen, den Protonen (p) und den neutralen Teilchen, den Neutronen (n). Ihre Massen sind nahezu gleich groß. Die Protonenmasse  $m_p$  beträgt  $1,67 \cdot 10^{-27}$  kg und die der Neutronen  $m_n = 1,68 \cdot 10^{-27}$  kg. Die Atomhülle besteht aus Elektronen (e), die ein sehr viel größeres Volumen einnehmen und um den Kern kreisen, ihre Masse ist allerdings sehr viel kleiner als die der Protonen und Neutronen ( $m_e = 9,11 \cdot 10^{-31}$  kg). Die Größe des Atomkerns ist  $1 \text{ fm} = 10^{-15}$  m und daher sehr viel kleiner als das gesamte Atom ( $1 \text{ \AA} = 10^{-10}$  m) [17, 18]. Nach außen ist das Atom neutral, da es genauso viel Elektronen wie Protonen hat.

1913 entwickelte dann Niels Bohr aus dem Rutherford'schen Atommodell mit Hilfe der Planck'schen Quantenhypothese ein neues Atommodell, welches postulierte, dass sich die Elektronen nur auf bestimmten Kreisbahnen, den Elektronenschalen, mit diskreten Energieniveaus strahlungsfrei bewegen dürfen [18, 19]. Der Übergang von einer kernfernen zu einer kernnahen Bahn ist nur unter Aussendung von Strahlung mit der Frequenz  $\nu$  möglich. Die Energiedifferenz ist dabei:

$$\Delta E = h\nu \quad (2.1)$$

wobei  $h = 6,63 \cdot 10^{-34}$  Js das Planck'sche Wirkungsquantum ist. Umgekehrt ist es möglich ein Elektron durch ein Photon der Frequenz  $\nu$  in eine höhere Bahn anzuheben.

Generell bezeichnet man die Gesamtzahl aus Protonen und Neutronen als Massenzahl  $A$ , die Anzahl der Protonen im Kern als Protonenzahl oder auch Ordnungszahl  $Z$  und die Zahl der Neutronen als Neutronenzahl  $N$ . Daher ergibt sich für die Massenzahl:

$$A = N + Z \quad (2.2)$$

Die allgemeine Schreibweise für Nuklide ist:  ${}^A_Z\text{X}$  oder die Kurzform:  ${}^A\text{X}$ , wie sie im Weiteren in der Arbeit verwendet wird.

Kerne mit der gleichen Protonenzahl  $Z$  heißen Isotope. Da sie alle die gleiche Anzahl an Elektronen haben, haben sie zwar dieselben chemischen Eigenschaften [20], allerdings sehr unterschiedliche nukleare Eigenschaften. Kerne mit der gleichen Neutronenzahl  $N$  heißen Isotone und mit gleicher Massenzahl  $A$  Isobare.

Wie man aus der Nuklidkarte (Abbildung 2.1) erkennt gibt es keine stabilen Kerne oberhalb von  $Z > 83$  (Bismut).

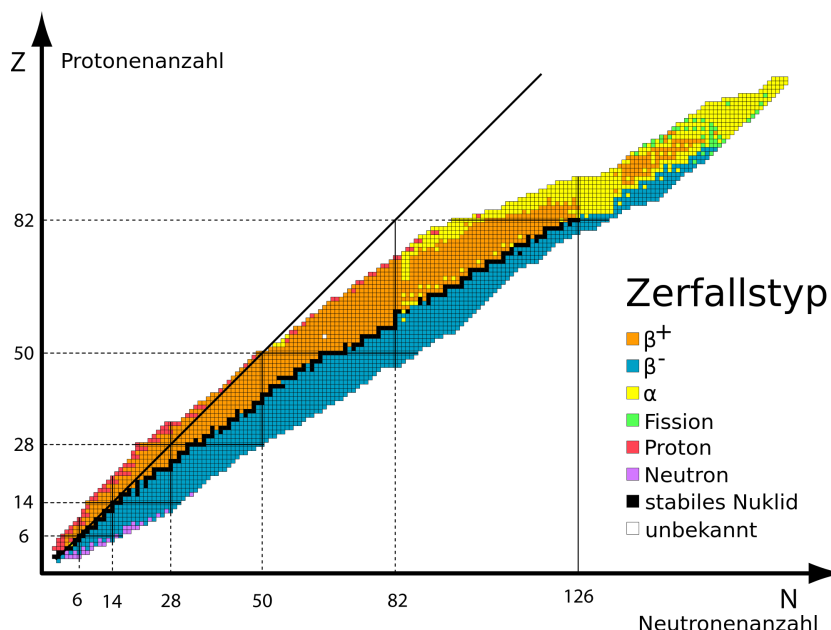


Abbildung 2.1: Die Nuklidkarte zeigt anschaulich, in welchen Bereichen sich stabile und instabile (Radionuklide) Kerne befinden. Die schwarzen Bereiche beschreiben die stabilen Nuklide, die farbigen die instabilen. Die schwarze Gerade kennzeichnet die Bereiche mit gleichen Protonen- und Neutronenzahlen [21] (© cc by-sa 3.0).

Zu beachten ist auch, dass die Masse des Atomkerns ( $M$ ) kleiner ist als die Summe der Masse der Protonen und Neutronen ( $p, n$ ). Die Differenz der Massen wird Massendefekt genannt und entspricht ausgedrückt in Energie der Bindungsenergie ( $E_B$ ) des Atomkerns [19].

$$E_B = \sum_{p,n} m_{p,n} c^2 - M c^2 \quad (2.3)$$

Darin ist  $c = 3,0 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$  die Lichtgeschwindigkeit.

## 2.2 Radioaktivität

Als Radioaktivität bezeichnet man den spontanen Prozess, bei dem ein instabiles Mutternuklid ( $X$ ) unter Aussendung von Teilchen- oder elektromagnetischer Strahlung in ein stabileres (nicht unbedingt stabiles) Tochternuklid ( $Y$ ) umgewandelt wird [17]. Die natürliche Radioaktivität wurde 1896 von Henry Becquerel entdeckt, nur ein Jahr nach dem Wilhelm Conrad Röntgen die Röntgenstrahlung entdeckte. Kurze Zeit später, 1898, entdeckten Marie Curie und ihr Mann Pierre Curie die Elemente Radium und Polonium und prägten damit den Namen Radioaktivität. Die künstliche Radioaktivität wurde von ihrer Tochter Irène Joliot-Curie und ihrem Mann Frédéric Joliot 1934 entdeckt [17].

Man kann zwar nicht direkt sagen, welcher Kern wann zerfällt, aber im Mittel ist die Zahl der Zerfälle pro Zeit  $t$  proportional zu der noch vorhandenen nicht zerfallenen Anzahl an Kernen  $N$ . Es gilt daher für die Zerfallsrate ( $-\frac{dN}{dt}$ )

$$-\frac{dN}{dt} = \lambda N \quad (2.4)$$

Durch Integration der Differentialgleichung kommt man dann zu dem Zerfallsgesetz

$$N = N_0 e^{-\lambda t} \quad (2.5)$$

$N_0$  ist die am Anfang vorhandene Zahl der radioaktiven Kerne und  $\lambda$  ist die Zerfallskonstante, die charakteristisch für jedes Radionuklid ist. Sie enthält die Halbwertszeit  $T_{1/2}$ , die angibt, nach welcher Zeit nur noch die Hälfte der Anzahl von  $N_0$  übrig ist.

$$\lambda = \frac{\ln 2}{T_{1/2}} \quad (2.6)$$

Eine wichtige Größe ist die Aktivität  $A$  eines Radionuklids, die nichts anderes als die Zerfallsrate ist, also die mittlere Anzahl der Zerfälle pro Zeiteinheit:

$$A = -\frac{dN}{dt} = \lambda N \quad (2.7)$$

Die SI-Einheit der Aktivität ist das Becquerel (1 Bq). Früher wurde das Curie (Ci) als Einheit verwendet, allerdings ist es immer noch in vielen wissenschaftlichen Publikationen zu finden. Zwischen den Einheiten besteht folgender Zusammenhang:

$$1 \text{ Ci} = 3,7 \cdot 10^{10} \text{ Bq} \quad (2.8)$$

Die wichtigsten radioaktiven Zerfallsarten sind der  $\alpha$ -Zerfall,  $\beta$ -Zerfall und  $\gamma$ -Zerfall, auf die im Folgenden näher eingegangen wird.

Diese Zerfälle können nur dann spontan ablaufen, wenn die Masse des Mutternuklids größer ist als die Summe der Massen der Reaktionsprodukte, d. h. wenn gilt [19]:

$$M(X) \geq M(Y) + M_2 \quad (2.9)$$

### 2.2.1 $\alpha$ -Zerfall

Bei einem  $\alpha$ -Zerfall zerfällt der Kern des Mutternuklids unter Aussendung eines Heliumkerns ( ${}^4_2\text{He}$ ), auch  $\alpha$ -Teilchen genannt, in das Tochternuklid



Auf Grund der Impuls- und Energieerhaltung verteilt sich die dabei freiwerdende Energie anteilig auf das  $\alpha$ -Teilchen und den Tochterkern. Somit ist das Spektrum der  $\alpha$ -Strahlung diskret [22].

### 2.2.2 $\beta$ -Zerfall

Von einem  $\beta$ -Zerfall spricht man, wenn der Kern unter Aussendung von einem Elektron ( $\beta^-$ ) oder einem Positron ( $\beta^+$ ) in das Tochternuklid umgewandelt wird. Beim  $\beta$ -Zerfall bleibt die Massenzahl konstant, allerdings ändert sich die Zahl der Protonen bzw. der Neutronen.

#### $\beta^-$ -Zerfall

Für den  $\beta^-$ -Zerfall gilt:



Bei diesem Zerfall wandelt sich ein Neutron unter Aussendung eines Elektrons und eines Antineutrinos ( $\bar{\nu}$ ) in ein Proton um. Der Prozess tritt nur bei Nukliden mit Neutronenüberschuss auf.

#### $\beta^+$ -Zerfall

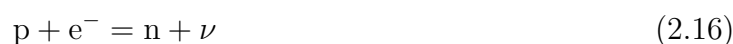
Für den  $\beta^+$ -Zerfall gilt analog:



Hier wandelt sich ein Proton unter Aussendung eines Positrons und eines Neutrinos ( $\nu$ ) in ein Neutron um. Der Prozess tritt nur bei Nukliden mit Protonenüberschuss auf: da die Masse des Neutrons größer ist, als die des Protons, wäre der Tochterkern energetisch ungünstig. Daher ist dieser Zerfall nur dann möglich, wenn das Neutron ein tieferes Energieniveau besetzt und wenn der Energieunterschied zwischen Mutter- und Tochterkern  $\geq 1022$  keV beträgt, also der Energie von  $2 \cdot m_n$  entspricht.

Die Reichweite des Positrons z.B. im menschlichen Körper, ist auf einige Millimeter beschränkt, da es bei dem Zusammentreffen mit einem Elektron ein Positronium bildet, welches dann unter Aussendung von zwei  $\gamma$ -Quanten in entgegengesetzter Richtung vernichtet wird (Annihilation) [23]. Dieser Prozess wird in der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) ausgenutzt, da die beiden  $\gamma$ -Quanten mit jeweils einer Energie von 511 keV in Koinzidenzmessung von ringförmig angeordneten Szintillationsdetektoren detektiert werden können.

Ein Spezialfall des  $\beta^+$ -Zerfalls ist der Elektroneneinfang. Hier wird ein Elektron, am ehesten aus der K-Schale, da dieses die größte Aufenthaltswahrscheinlichkeit am Kernort besitzt, vom Kern eingefangen. Dadurch wird die Kernladungszahl um 1 erniedrigt. Die durch den energetisch günstigeren Kernzustand freiwerdende Energie wird auf den Kern (angeregter Zustand) und auf das Neutrino übertragen.

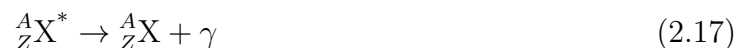


Der Elektroneneinfang kann nur auftreten wenn die Energiedifferenz zwischen Mutter- und Tochterkern  $\geq \epsilon$  (Anregungsenergie der Atomhülle des Tochterkerns) ist. Das freigewordene Loch wird sukzessive durch ein Elektron aus höheren Schalen unter Aussendung von charakteristischer Röntgenstrahlung aufgefüllt. Möglich ist auch, dass die Energie dazu verwendet wird ein weiteres Elektron in einer höheren Schale aus der Hülle freizusetzen; dies wird dann als Augereffekt bezeichnet.

Die beim  $\beta$ -Zerfall freiwerdende Energie  $\Delta E$  verteilt sich kontinuierlich und zufällig auf das Tochternuklid, das Elektron/Positron und das Antineutrino/Neutrino. Dadurch ist das  $\beta$ -Spektrum begrenzt auf die freiwerdende Energie  $\Delta E$ , die somit der maximalen Energie entspricht. Dazwischen können die Elektronen/Positronen jede kinetische Energie annehmen. Auf das Antineutrino/Neutrino wird der jeweilige Differenzbetrag der Zerfallsenergie als kinetische Energie übertragen [22].

### 2.2.3 $\gamma$ -Zerfall

Auf einen  $\beta$ - oder  $\alpha$ -Zerfall folgt oft ein  $\gamma$ -Zerfall, da sich der Kern nach diesen Zerfällen meistens noch in einem angeregten Zustand befindet. Da dieser Übergang häufig sehr schnell vonstattengeht (innerhalb von  $10^{-12}$  s) [17], sieht es so aus, als wäre der Zerfall direkt vom Mutternuklid ausgegangen. Erfolgt der Übergang verzögert, spricht man von einem metastabilen Zustand und der Übergang erfolgt aus Sicht des metastabilen Tochternuklids. Ein Beispiel wäre hier das in der nuklearmedizinischen Diagnostik am häufigsten verwendete Radionuklid  $^{99m}\text{Tc}$  [24]. Bei dem Übergang in den Grundzustand wird ein Photon emittiert mit der Energie entsprechend der Differenz zwischen dem angeregten und dem Grundzustand. Daher ist das Gammaspektrum diskret, und charakteristisch für ein Nuklid. Für den  $\gamma$ -Zerfall gilt daher:



${}^A_Z\text{X}^*$  bezeichnet dabei den angeregten Kernzustand des Nuklids  ${}^A_Z\text{X}$ .

### 2.2.4 Innere Konversion

Als Konkurrenzprozess zum  $\gamma$ -Zerfall kann der angeregte Kern auch mit einem Hüllenelektron in direkte Wechselwirkung treten, ihm seine Anregungsenergie übertragen und es auf diese Weise aus dem Atom werfen. Dieser Prozess tritt besonders bei schweren Kernen auf. Um das Elektron aus der Hülle zu lösen, muss die Bindungsenergie ( $E_B$ ) des Hüllenelektrons aufgebracht werden. Für die Energie des Konversionselektrons gilt dann:

$$E_e = E_\gamma - E_B \quad (2.18)$$

Wie beim  $\gamma$ -Zerfall ändern sich auch hier weder die Massenzahl noch die Protonenzahl:



$\frac{A}{Z}X^+$  steht für das einfach ionisierte Atom  $\frac{A}{Z}X$ . Auch bei diesem Prozess wird das entstandene Loch entweder durch aussenden von charakteristischer Röntgenstrahlung oder unter Erzeugung von Auger-Elektronen aufgefüllt.

## 2.3 $\beta$ -Strahler in der nuklearmedizinischen Therapie

Für die Therapie in der Nuklearmedizin werden primär  $\beta^-$ -Strahler verwendet, da die Reichweite der  $e^-$  im Körper sehr gering ist und somit gesundes Gewebe geschont wird. Der Vorteil der nuklearmedizinischen Therapie ist, dass die Nuklide mit Tracern markiert werden können, die dann gezielt an bestimmte Rezeptoren andocken oder, wie im Fall von  $^{131}\text{I}$ , dass nicht markiert werden muss, da es direkt von der Schilddrüse aufgenommen wird.

### 2.3.1 $^{131}\text{I}$ zur Behandlung des differenzierten Schilddrüsenkarzinoms

$^{131}\text{I}$  wird in der Nuklearmedizin primär zur Therapie von Schilddrüsenerkrankungen eingesetzt. Die Ergebnisse dieser Arbeiten wurden von Patienten erhoben, denen  $^{131}\text{I}$  Natriumiodid zur Behandlung des differenzierten Schilddrüsenkarzinoms (engl. differentiated thyroid cancer, DTC) nach Resektion der Schilddrüse verabreicht wurde, um Schilddrüsenreste und iodspeichernde Metastasen vollständig zu entfernen.

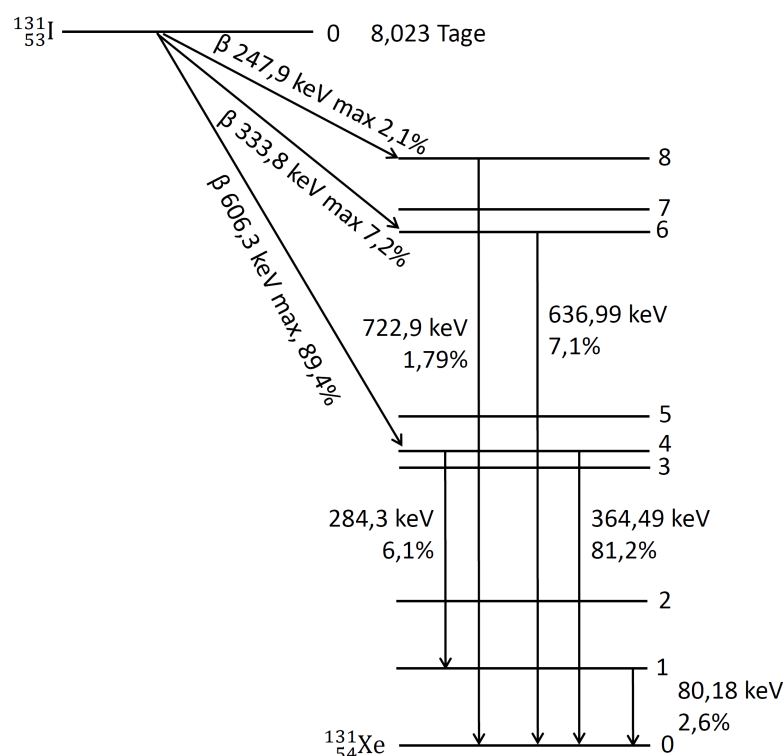


Abbildung 2.2: Schematische Darstellung der wichtigsten Übergänge von  $^{131}\text{I}$  in den Grundzustand des  $^{131}\text{Xe}$ . Nur Übergänge mit einer Zerfallswahrscheinlichkeit  $> 1\%$  sind dargestellt.



$^{131}\text{I}$  zerfällt unter  $\beta^-$  Zerfall zu  $^{131}_{54}\text{Xe}^*$ . Durch die angeregten Zustände treten sofort zusätzlich  $\gamma$ -Linien auf, dadurch geht es in den stabilen Grundzustand des  $^{131}_{54}\text{Xe}$  über. Die Halbwertszeit beträgt 8,023 Tage. Die maximale  $\beta$ -Energie beträgt 606,3 keV und das gewichtete Mittel über alle mittleren  $\beta$ -Energien beträgt 181,4 keV. Die mittlere Reichweite im Gewebe ist nur 0,5 mm. Es gibt insgesamt 19  $\gamma$ -Linien, die  $\gamma$ -Linie mit der höchsten Wahrscheinlichkeit ist die 364,5 keV-Linie mit einer Zerfallswahrscheinlichkeit von 81,2%, gefolgt von der Linie bei 637,0 keV, allerdings mit der geringen Zerfallswahrscheinlichkeit von 7,1% [25]. Das Zerfallsspektrum ist in Abbildung 2.2 schematisch dargestellt, es sind nur Zerfallswege mit Zerfallswahrscheinlichkeiten  $> 1\%$  berücksichtigt.

### 2.3.2 $^{177}\text{Lu}$ zur Behandlung von neuroendokrinen Tumoren

$^{177}\text{Lu}$  wird primär zur Therapie bei neuroendokrinen Tumoren eingesetzt. Dazu wird es mit einem Peptid markiert ( $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-D-PheTyr3-octreotate, kurz  $^{177}\text{Lu}$ -DOTATATE und  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-D-Phe-Tyr3-octreotide, kurz  $^{177}\text{Lu}$ -DOTATOC), das an die Rezeptoren (Somatostatinrezeptoren), die bei diesen Tumoren überexprimiert werden, andockt. Somit kann die  $\beta^-$ -Strahlung den Tumor gezielt erreichen.

$^{177}\text{Lu}$  hat eine etwas kürzere Halbwertszeit (6,647 Tage) als  $^{131}\text{I}$  und auch eine geringere Emissionswahrscheinlichkeit der  $\gamma$ -Linien. Es zerfällt unter  $\beta^-$  Zerfall zu  $^{177}_{72}\text{Hf}^*$  und prompt

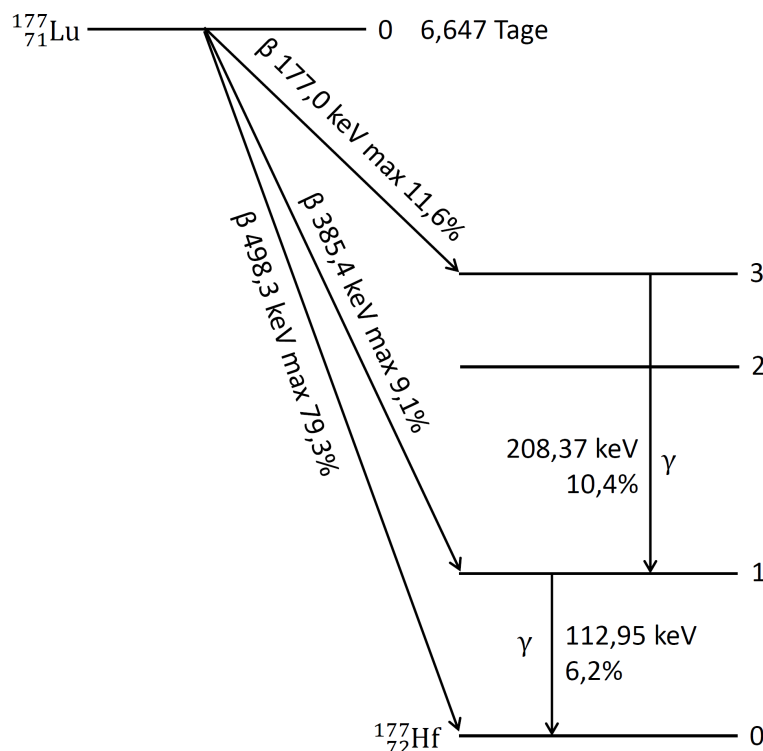


Abbildung 2.3: Schematische Darstellung der wichtigsten Übergänge von  $^{177}\text{Lu}$  in den Grundzustand des  $^{177}\text{Hf}$ . Nur Übergänge mit einer Zerfallswahrscheinlichkeit  $> 1\%$  sind dargestellt.

unter Aussendung von 6  $\gamma$ -Linien in den Grundzustand  $^{177}_{72}\text{Hf}$  (Abbildung 2.3). Die maximale  $\beta$ -Energie beträgt 498 keV und das gewichtete Mittel über alle mittleren  $\beta$ -Energien beträgt 134,2 keV. Die wichtigsten  $\gamma$ -Linien sind 208,4 keV und 113,0 keV mit einer jeweiligen Zerfallswahrscheinlichkeit von 10,4% und 6,2% [25].

## 2.4 Wechselwirkung ionisierender Strahlung mit Materie

### 2.4.1 Direkt ionisierende Strahlung

Zu der direkt ionisierenden Strahlung gehören die geladenen Teilchen, die aufgrund ihres elektrischen Coulombfeldes mit den Hüllenelektronen oder auch bei ausreichender Annäherung mit dem Coulombfeld des Atomkerns wechselwirken. Hierbei sind die wichtigsten Teilchen Elektronen ( $e^-$ ) und Positronen ( $e^+$ ), die z.B. bei  $\beta$ -Strahlern freigesetzt werden und Alphateilchen ( $\alpha$ ).

Der Energieübertrag des geladenen Teilchens auf die Materie/den Absorber ist sehr gering, daher werden bis zur vollständigen Abbremsung der Teilchen viele Wechselwirkungsprozesse durchlaufen. Die Wechselwirkung mit den Hüllenelektronen wird als Stoßbremsung bezeichnet, die mit dem Atomkern als Strahlungsbremsung. Dabei wird, abhängig vom Abstand des Teilchens vom Stoßzentrum (auch Stoßparameter  $s$  genannt) unterschieden.

- $s \gg r_{\text{Atom}}$ : Ist der Stoßparameter sehr viel größer als der Atomdurchmesser, spricht man von weichen Stößen („soft collisions“). Dabei wechselwirkt das Teilchen mit der gesamten Atomhülle, der Energieübertrag ist sehr gering, jedoch macht dieser Wechselwirkungsprozess ca. 50% aller Wechselwirkungen aus. Wegen der kleinen Energieverluste pro Stoß werden die einlaufenden Teilchen quasi kontinuierlich abgebremst, man spricht daher von „continuous slowing down“[22]. Bei diesen weichen Stößen kommt es entweder zur Verformung und Polarisierung des Atoms, zur Anregung oder das Atom wird durch Herausschlagen eines Elektrons ionisiert.
- $s \approx r_{\text{Atom}}$ : Kommt der Stoßparameter in die Größenordnung des Atomradius, kann ein geladenes Teilchen direkt mit einzelnen Hüllenelektronen wechselwirken. Dabei kommt es zu deutlich größeren Energieverlusten als bei den weichen Stößen, daher spricht man auch von harten Stößen („hard collisions“). Die durch den harten Stoß freiwerdenden Elektronen werden auch  $\delta$ -Elektronen genannt, die wiederum ausreichend Energie haben, um selbst weitere Atome zu ionisieren. Bei den harten Stößen ist es gerade umgekehrt wie bei den weichen Stößen. Es treten nur sehr wenig harte Stöße auf, allerdings werden dabei ca. 50% der kinetischen Energie auf das freiwerdende Elektron übertragen.
- $s \ll r_{\text{Atom}}$ : Ist die Energie der geladene Teilchen groß genug, um die abschirmende Elektronenhülle zu durchsetzen, können sie direkt mit dem Coulombfeld des Kerns wechselwirken. Erfolgt dies ohne Energieverlust, spricht man von Coulombstreuung bzw. elastischer Kernstreuung. Bei der inelastischen Kernstreuung, die auch Bremsstrahlungserzeugung genannt wird, wird das Teilchen unter Energieverlust abgelenkt und

ein Teil der Energie wird in Photonenstrahlung umgewandelt. Da die Wechselwirkungswahrscheinlichkeit proportional zu  $1/m^2$  ist, ist die Erzeugung von Bremsstrahlung nur für leichte Teilchen, wie Elektronen und Positronen, möglich [17].

Das totale Bremsvermögen für geladene Teilchen setzt sich aus dem Anteil der Stoßbremsung  $S_{\text{col}}$  und der Strahlungsbremsung  $S_{\text{rad}}$  zusammen. Eine genaue Beschreibung des Bremsvermögens liefert die Bethe-Bloch-Formel. Eine detaillierte Beschreibung der Bethe-Bloch-Formel findet man unter [17, 22]

$$S_{\text{tot}} = \left( \frac{dE}{dx} \right)_{\text{tot}} = S_{\text{col}} + S_{\text{rad}} \quad (2.20)$$

Als Abschätzung für das Verhältnis der beiden Bremsvermögen existieren neben der exakten auch empirische Formeln. Für  $E > 500$  keV gilt:

$$\frac{S_{\text{rad}}}{S_{\text{col}}} \approx \frac{Z \cdot E}{800} \quad (2.21)$$

und für  $E < 140$  keV

$$\frac{S_{\text{rad}}}{S_{\text{col}}} \approx \frac{Z \cdot E}{1400} \quad (2.22)$$

Als kritische Energie ( $E_c$ ) wird die Energie bezeichnet, bei der die Strahlungsbremsung die Stoßbremsung für Elektronen übertrifft. Für den menschlichen Körper, der durch die Ordnungszahl des Wassers angenähert werden kann ( $Z \approx 7,2$ ), ergibt sich mit Gleichung 2.21  $E_c = 110$  MeV. Für Blei ( $Z = 82$ ) ergibt sich  $E_c = 9,76$  MeV [22].

## 2.4.2 Indirekt ionisierende Strahlung

Die Photonenstrahlung ist eine indirekte ionisierende Strahlung, da sie zunächst geladene Teilchen erzeugen muss, welche dann die Ionisationen hervorrufen. Durch die Wechselwirkung mit Materie wird die Photonenstrahlung geschwächt. Die wichtigsten Prozesse sind dabei der Photoeffekt, der Comptoneffekt und die Paarbildung; der letztgenannte Prozess spielt aber nur bei Energien oberhalb von 1,022 MeV eine Rolle.

### Photoeffekt

Die Wechselwirkung zwischen einem Photon und einem „stark“ gebundenen Hüllenelektron wird als Photoeffekt bezeichnet. Das Elektron kann dann als stark gebunden angesehen werden, wenn die Energie des Photons in der Größenordnung der Bindungsenergie des Elektrons liegt ( $h\nu \geq E_B$ ).

Beim Photoeffekt wird ein Elektron aus den inneren Schalen (bevorzugt K- (ca. 80%) und L-Schale (ca. 20%)) eines Atoms freigesetzt. Dabei wird ein Teil der Photonenenergie, nämlich die Bindungsenergie ( $E_B$ ) des Elektrons, zum Herauslösen des Elektrons benutzt und die restliche Energie wird als Bewegungsenergie ( $E_{\text{kin}}$ ) auf das Elektron übertragen. Somit wird das Photon vollständig absorbiert. Das freigesetzte Elektron wird als Photoelektron bezeichnet. Der Energie- und Impulssatz können nur dann gleichzeitig erfüllt werden, wenn

das Atom einen Teil des Impulses aufnimmt, daher kann es keinen Photoeffekt an freien Elektronen geben. Für die kinetische Energie  $E_{\text{kin}}$  des Photoelektrons gilt [17]:

$$E_{\text{kin}} = h\nu - E_{\text{B}} \quad (2.23)$$

Das freigewordene Loch in der K- oder L-Schale wird sofort von einem Elektron aus einer höheren Schale aufgefüllt. Die dabei freiwerdende Energie wird entweder in Form von charakteristischer Röntgenstrahlung fortgetragen oder es werden Auger-Elektronen freigesetzt.

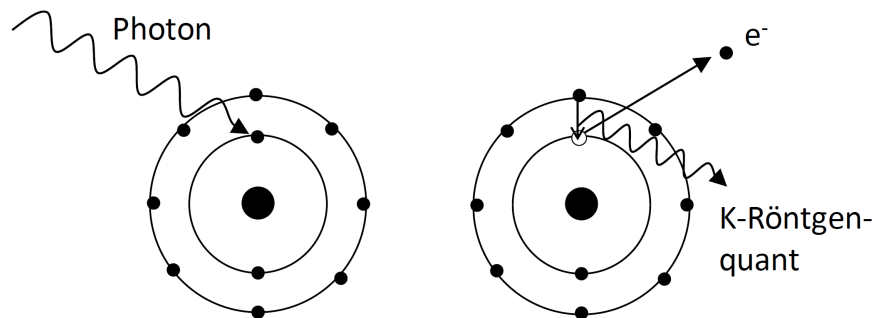


Abbildung 2.4: Schematische Beschreibung des Photoeffekts, mit Aussendung der charakteristischen Röntgenstrahlung (K-Linie)

Der Photoeffekt spielt in der Medizin primär bei niedrigen Energien, wie in der Röntgendiagnostik eine Rolle. Außerdem ist er ein wichtiger Effekt für den Strahlenschutz, da er bei Atomen mit hohen Massenzahlen (z.B. Bleischürzen oder Bleiabschirmungen für Spritzen in der Nuklearmedizin) und Energien um einige 100 keV die dominierende Wechselwirkung darstellt, wie auch in Abbildung 2.6 zu erkennen ist.

### Comptoneffekt

Beim Comptoneffekt wechselwirkt das Photon, im Gegensatz zum Photoeffekt, nur mit Elektronen deren Bindungsenergie sehr viel kleiner als die Energie der Photonen ist ( $E_{\text{B}} \ll h\nu$ ). Daher kommen nur Elektronen in den äußeren Schalen dafür in Frage. Diese werden dann als quasi-freie Elektronen bezeichnet.

Aus Sicht des Elektrons kommt es zu einem elastischen Stoß zwischen den beiden Teilchen. Das Photon gibt dabei einen Teil seines Impulses und seiner Energie an das Elektron ab. Da aber das Photon durch den Stoß mit dem Elektron in unterschiedliche Richtungen abgelenkt wird, kann man bei diesem Prozess auch von Streuung sprechen.

Aufgrund des Energieverlustes des Photons beobachtet man eine winkelabhängige Frequenzverringern der Photonen-Strahlung und somit eine Wellenlängenerhöhung. Diese Wellenlängenverschiebung lässt sich aus dem Energie- und Impulserhaltungssatz herleiten.

Für den Energiesatz gilt:

$$h\nu + m_0c^2 = h\nu' + mc^2, \quad (2.24)$$

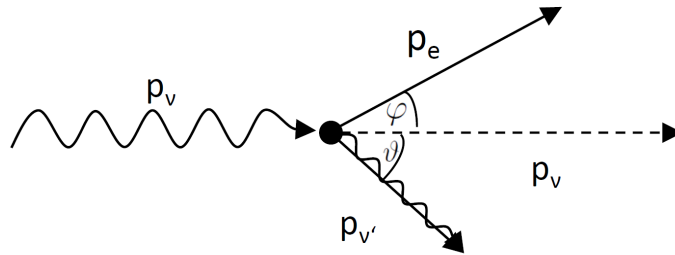


Abbildung 2.5: Schematische Beschreibung des Comptoneffekts

dabei ist  $m_0$  die Ruhemasse des Elektrons und  $m$  die Masse des bewegten Elektrons. Für das gestoßene Elektron gilt ferner die Energie-Impulsbeziehung:

$$E_e = \sqrt{(m_0 c^2)^2 + p_e^2 c^2} \quad (2.25)$$

Zerlegt man den Impuls des Photons und des Elektrons in seine Komponenten in x- und y-Richtung erhält man für den Impulssatz in x-Richtung:

$$\frac{h\nu}{c} = \frac{h\nu'}{c} \cos \vartheta + m\nu \cos \varphi \quad (2.26)$$

und in y-Richtung:

$$0 = -\frac{h\nu'}{c} \sin \vartheta + p_e \sin \varphi \quad (2.27)$$

Die Wellenlängenverschiebung  $\Delta\lambda$  lässt sich nun durch geschicktes kombinieren und quadrieren der obigen Gleichung berechnen und man erhält:

$$\Delta\lambda = \frac{h}{m_0 c} (1 - \cos \vartheta) = \lambda_c (1 - \cos \vartheta), \quad (2.28)$$

wobei  $\lambda_c$  die Comptonwellenlänge (Literaturwert:  $\lambda_c = 2,426$  pm) ist. Bei dieser Wellenlänge ist die Energie des Photons genauso groß wie die Ruheenergie des Elektrons.

### Paarbildung

Die Paarbildung ist ein Vorgang, bei dem aus einem Photon ein Elektron-Positron-Paar entsteht. Dies ist nur bei sehr hohen Energien möglich und zwar bei Energien die größer sind als die doppelte Ruheenergie des Elektrons ( $h\nu \geq 1,022$  eV), da die gesamte Photonenenergie auf die Ruhemasse und die kinetische Energie der beiden Teilchen übertragen wird.

$$h\nu = 2m_0 c^2 + E_{\text{kin}} \quad (2.29)$$

Die Wahrscheinlichkeit dafür, dass dieser Prozess auftritt, wächst mit steigender Energie der Photonenstrahlung. Erst ab ca. 10 MeV kommt als Absorptionsmechanismus fast nur noch Paarbildung vor. Wichtig bei dieser Wechselwirkung ist der Aspekt der Impulserhaltung, d.h. es muss ein Teilchen vorhanden sein, das die verlorene Energie des Photons aufnimmt.

Folglich ist Paarbildung im Vakuum nicht möglich. Das Impuls-aufnehmende-Teilchen könnte ein Elektron oder ein Atomkern sein. Da letzterer aufgrund seiner Größe einen größeren Wirkungsquerschnitt besitzt, ist es wahrscheinlicher, dass der Impuls an diesen statt an das Elektron übertragen wird.

Die Energiebereiche, bei denen die unterschiedlichen Wechselwirkungsmechanismen überwiegen, sind in Abbildung 2.6 veranschaulicht.

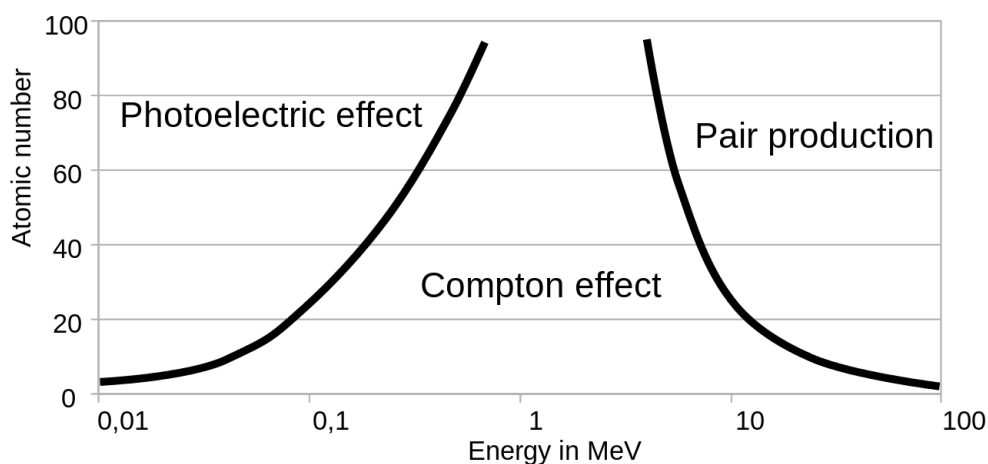


Abbildung 2.6: Wechselwirkungsprozesse bei unterschiedlichen Photonenenergien und Kernladungszahlen. Die Bereiche, in denen der Photoeffekt, der Comptoneffekt oder die Paarbildung überwiegen, sind durch die eingezeichneten Kurven begrenzt. Entlang der linken Kurve ist der Schwächungskoeffizient des Photoeffekts gleich dem des Comptoneffekts und entlang der rechten Kurve ist der Absorptionskoeffizient des Photoeffekts gleich dem der Paarbildung [26], (© cc-by-sa-3.0).

### 2.4.3 Ionisierungsvermögen

Als Ionisierungsvermögen ( $J$ ) wird die Anzahl der erzeugten Ionenpaare pro Weglänge eines geladenen Teilchens einer bestimmten Energie bezeichnet. Es hängt von der Teilchenart, der Teilchengeschwindigkeit und der Dichte des Mediums ab. Allerdings muss beachtet werden, dass nicht jeder Energieübertrag auch zur Ionisation führt, nur ca. bei der Hälfte der Wechselwirkungen finden Ionisationen statt. Berücksichtigt wird das dann mit dem mittleren Energieaufwand zur Erzeugung eines Ionenpaares im bestrahlten Medium der Ionisierungskonstante ( $W/e$ ), dabei ist  $e$  die Elementarladung und  $W$  die mittlere Ionisierungsenergie in eV [22]. Für Wasser beträgt  $W/e = 29,6 \text{ V}$  [27]. Berechnet wird das Ionisierungsvermögen aus dem Quotienten der Ladung  $dQ$  und der Wegstrecke  $dx$  bzw. dem Quotienten des Stoßbremsvermögens und der Ionisierungskonstante.

$$J = \frac{dQ}{dx} = \frac{S_{\text{col}}}{W/e} \quad (2.30)$$

### 2.4.4 Linearer Energie-Transfer (LET)

Der Lineare Energie-Transfer (LET) beschreibt den mittleren Energieübertrag  $dE$  auf den Absorber pro zurückgelegter Weglänge  $ds$  in einem bestrahlten Absorber durch geladene Teilchen. Die Einheit des LET ist  $\text{keV}/\mu\text{m}$  [22]. Primär wurde diese Größe für die Radiobiologie und den Strahlenschutz eingeführt, um die Strahlenqualität ionisierender Strahlung zu beschreiben [17].

$$\text{LET} = \frac{dE}{ds} \quad (2.31)$$

Je nach Ionisierungsdichte im Absorber unterscheidet man zwischen [22]

- niedrigem LET:  $\text{LET} \leq 3,5 \text{ keV}/\mu\text{m}$ , also locker ionisierende Strahlung: (low LET)
- hohem LET:  $\text{LET} \geq 3,5 \text{ keV}/\mu\text{m}$ , also dicht ionisierende Strahlung (high LET)

Die Tabelle 2.1 gibt eine Übersicht über verschiedene locker und dicht ionisierende Strahlungsarten.

Tabelle 2.1: Unterschiedliche locker und dicht ionisierende Strahlungsarten mit dem dazugehörigen LET (nach [24]).

Strahlungsart	LET ( $\text{keV}/\mu\text{m}$ )
$^{60}\text{Co}$ $\gamma$ -Strahlen	0,2
250 kVp Röntgenstrahlen	2,0
10 MeV Protonen	4,7
2,5 MeV $\alpha$ -Teilchen	166
1 MeV Elektronen	0,25
10 keV Elektronen	2,3
1 keV Elektronen	12,3

## 2.5 Dosimetrie

In der Regel muss man in Zellen, Zellarten oder Geweben von einer heterogenen Verteilung der Aktivität ausgehen. Um die deponierte Energie im Körper zu bestimmen, müssen diese Inhomogenitäten berücksichtigt werden, um realistische räumliche Verteilungen der durch Strahlung deponierten Energie zu erhalten. Diese Bestimmung wird Dosimetrie genannt [28]. Allerdings wird in einigen Fällen, für eine vereinfachte Berechnung der Dosis, von einer homogenen Aktivitätsverteilung im Körper ausgegangen.

## 2.5.1 Dosisbegriffe

### Energiedosis ( $D$ )

Der Begriff Energiedosis beschreibt die deponierte Strahlungsenergie, die pro Materiemenge absorbiert wird. Die Einheit ist daher Joule pro Kilogramm ( $\text{J kg}^{-1} = \text{Gy (Gray)}$ ). Die Energiedosis ist eine wichtige Größe, um die Auswirkungen bzw. das Risiko für den Patienten durch die ionisierende Strahlung zu beschreiben.

### Organdosis ( $H_T$ )

Um die Organdosis zu berechnen, wird die Energiedosis für das Organ mit einem Strahlungswichtungsfaktor multipliziert. Für unterschiedliche Strahlenarten unterscheiden sich diese Wichtungsfaktoren ( $\omega_R$ ). Damit wird die unterschiedliche Wirkung der Strahlenart für das Entstehen von stochastischen Strahlenschäden berücksichtigt, sie gelten nicht für deterministische Schäden, die unter Therapie auftreten [29]. Für Therapien mit  $\alpha$ -Strahlung wird von einer biologischen Wirksamkeit für das Auftreten von deterministischen Schäden zwischen dem Faktor 3 und 5 ausgegangen [29]. Für die Entstehung von stochastischen Schäden geht man bei  $\alpha$ -Strahlung von einem Faktor 20 aus (siehe Tabelle 2.2).

Für die in der Nuklearmedizin, wichtigsten Strahlungsarten sind die Wichtungsfaktoren für stochastische Schäden in Tabelle 2.2 aufgelistet.

$$H_T = \sum_R \omega_R D_{T,R} \quad (2.32)$$

Um die Organdosis von der Energiedosis zu unterscheiden, wird sie in Sievert (Sv) angegeben.

Tabelle 2.2: Strahlungswichtungsfaktoren nach ICRP 103 für die Diagnostik (nur stochastische Strahlenschäden) [30].

Art der Strahlung	Strahlungswichtungsfaktor $\omega_R$
Photonen	1
Elektronen	1
Alphateilchen	20

### Effektive Dosis ( $E$ )

Um unterschiedliche diagnostische Verfahren oder gleiche Verfahren in unterschiedlichen Einrichtungen zu vergleichen, gibt es im Strahlenschutz die Schutzgröße „effektive Dosis“. Sie ist durch eine gewichtete Summe von Organdosen definiert. Die Wichtungsfaktoren werden so gewählt, dass sie den relativen Beitrag einzelner Organe und Gewebe zu den gesamten, durch stochastische Effekte verursachten Strahlenschäden darstellen [30]. Die effektive Dosis wird altersunabhängig für eine erwachsene Referenzperson berechnet und ist daher nicht für individuelle Dosisabschätzungen und Risikobetrachtungen geeignet. Auch



für Personengruppen, die von der Referenzperson stark abweichen, wie z.B. Kinder, ist die Anwendung des Konzeptes der effektiven Dosis problematisch.

$$E = \sum_{\text{T}} \omega_{\text{T}} H_{\text{T}} \quad (2.33)$$

Dabei ist  $\omega_{\text{T}}$  der Gewebewichtungsfaktor für das Gewebe T (engl. tissue), wobei  $\sum_{\text{T}} \omega_{\text{T}} = 1$  gilt. Die Gewebewichtungsfaktoren beschreiben die Strahlenempfindlichkeit der verschiedenen Organe und Gewebe für stochastische Strahlenschäden und sind somit nicht auf die Therapie anwendbar [30].

Nach der neuesten ICRP (engl. International System of Radiological Protection) Veröffentlichung (ICRP 103) [30] werden die Organdosen für die männliche und weibliche Referenzperson gemittelt und daraus wird die effektive Dosis berechnet (siehe Kapitel 2.5.2).

$$E = \sum_{\text{T}} \omega_{\text{T}} \left( \frac{H_{\text{T}}^{\text{M}} + H_{\text{T}}^{\text{F}}}{2} \right) \quad (2.34)$$

dabei stehen  $H_{\text{T}}^{\text{M}}$  und  $H_{\text{T}}^{\text{F}}$  jeweils für die Organdosis der männlichen (engl. male) bzw. weiblichen (engl. female) Referenzperson. Die einzelnen Gewebewichtungsfaktoren nach ICRP 103 [30] sind in Tabelle 2.3 zusammengefasst. Tabelle 2.4 zeigt die alten Gewebewichtungsfaktoren nach ICRP 60 [31] zum Vergleich. Zu diesem Zeitpunkt gab es noch kein vorgegebenes Phantom.

Tabelle 2.3: Gewebewichtungsfaktoren für die Diagnostik, nach ICRP 103 [30].

Gewebe	$\omega_{\text{T}}$	$\sum \omega_{\text{T}}$
Brust, Dickdarm, Lunge, Magen, Rotes Knochenmark, restliche Gewebe*	0,12	0,72
Gonaden	0,08	0,08
Blase, Leber, Schilddrüse, Speiseröhre	0,04	0,16
Knochenoberfläche, Hirn, Speicheldrüsen, Haut	0,01	0,04

\* restliche Gewebe (jeweils 0,0086): Nebennieren, obere Atemwege, Gallenblase, Herz, Nieren, Lymphknoten, Muskelgewebe, Mundschleimhaut, Bauchspeicheldrüse, Prostata (m), Dünndarm, Milz, Thymus, Gebärmutter/Gebärmutterhals (w).

Für die in der Nuklearmedizin gebräuchlichsten Nuklide findet man in den Veröffentlichungen der ICRP („Radiation dose to patients from radiopharmaceuticals“, ICRP 53, ICRP 80, ICRP 106)[32–34] sogenannte Dosiskoeffizienten (gibt die effektive Dosis pro verabreichte Aktivität an mSv/MBq).

Auch die zum Abgabezeitpunkt dieser Arbeit aktuellste ICRP-Veröffentlichung (ICRP 106) [34] verwendet noch die älteren Gewebewichtungsfaktoren nach ICRP 60 [31], da es für die Nuklearmedizin zu diesem Zeitpunkt (2008) noch keine veröffentlichten S-Werte (siehe Kapitel 2.5.2) und damit auch keine mit den neuen Voxelfantomen berechneten Dosiskoeffizienten

Tabelle 2.4: Gewebewichtungsfaktoren für die Diagnostik, nach ICRP 60 [31].

Gewebe	$\omega_T$	$\sum \omega_T$
Dickdarm, Lunge, Magen, Rotes Knochenmark,	0,12	0,48
Gonaden	0,20	0,20
Blase, Brust, Leber, Schilddrüse, Speiseröhre, restliche Gewebe*	0,05	0,30
Knochenoberfläche, Haut	0,01	0,02

\* restliche Gewebe (jeweils 0,005): Nebennieren, Hirn, oberer Dickdarm, Dünndarm, Nieren, Muskelgewebe, Bauchspeicheldrüse, Milz, Thymus, Gebärmutter/Gebärmutterhals (w).

gab. Erst im September 2014 veröffentlichten Andersson et al. [35] Dosiskoeffizienten für 338 Radiopharmaka, die auf den ICRP Voxelphantomen beruhen. Es wird aber noch einige Zeit dauern, bis diese Werte Einzug in eine neue ICRP-Veröffentlichung erhalten.

## 2.5.2 MIRD-Formalismus

Bei der nuklearmedizinischen Diagnostik muss der Nutzen für den Patienten gegenüber dem Strahlenrisiko abgewogen werden und somit immer die niedrigste notwendige Aktivität verabreicht werden, um eine Diagnose stellen zu können. Zur Berechnung der effektiven Dosis und damit indirekt auch des strahlenbedingten Risikos müssen die Energiedosen im Körper bestimmt werden.

In der Therapie müssen die Energiedosen vor allem in den kritischen Organen bekannt sein, um dadurch die zu verabreichende Therapieaktivität zu optimieren. Hier gilt, dass die verabreichte Therapieaktivität nur so hoch sein sollte, dass die kritischen Organe nicht geschädigt werden, auch wenn eine deutlich höhere Aktivität verabreicht werden müsste, um den Tumor zu zerstören.

Mit Hilfe der Bestimmung der Kinetik im Zielvolumen durch die Gabe einer geringen Menge an Aktivität vor der Therapie kann die Aktivität berechnet werden, die bei geringster Strahlenexposition noch mit großer Wahrscheinlichkeit therapeutisch wirksam sein wird [36].

Eine Methode zur Abschätzung dieser Energiedosen beschreibt der sogenannte MIRD-Formalismus. Dieser wurde 1968 [37, 38] von der Arbeitsgruppe „Medical Internal Radiation Dose“ (MIRD) der Nuklearmedizinischen Gesellschaft der USA (SNM) entwickelt, 1976 aktualisiert [39] und 2009 verbessert [40]. Nach diesem Prinzip müssen zur Bestimmung der Energiedosis sowohl die physikalischen Eigenschaften der Strahlung, die Geometrie des bestrahlten Objektes sowie die Bioverteilung und –kinetik des Radiopharmazeutikums berücksichtigt werden. Das Prinzip wird im Folgenden kurz erläutert.

Die Verteilung der radioaktiven Substanz im Körper beschränkt sich im Normalfall nicht nur auf ein Organ, daher müssen die Energiedosen der Zielorgane, die von unterschiedlichen

Quellorganen herrühren, addiert werden. Zusätzlich ist die Verteilung der Radioaktivität im Körper zeitabhängig. In der Dosimetrie ist man jedoch an der zeitunabhängigen mittleren Energiedosis interessiert. Dazu muss die zeitabhängige Rate der von der Quellenregion (engl. source region  $r_S$ ) emittierten Dosis, die in der Zielregion (engl. target region  $r_T$ ) absorbiert wird, integriert werden [40]. Um die Dosis vollständig zu bestimmen, muss eine Integration bis unendlich durchgeführt werden. Möchte man die Dosis nur bis zu einem bestimmten Zeitpunkt wissen, darf die Integration nur bis zu dem Zeitpunkt  $T_D$  (engl. dose integration period) durchgeführt werden. Allgemein gilt daher:

$$D(r_T, T_D) = \int_0^{T_D} \sum_{r_S} A(r_S, t) S(r_T \leftarrow r_S) dt = \sum_{r_S} \tilde{A}(r_S, T_D) S(r_T \leftarrow r_S) \quad (2.35)$$

dabei ist  $A(r_S, t)$  die zeitabhängige Aktivität des Radiopharmazeutikums in der Quellenregion und  $S(r_T \leftarrow r_S)$  ist die mittlere Energiedosis pro Zerfall im Zielorgan.  $\tilde{A}(r_S, T_D)$  ist die gesamte Anzahl der Zerfälle (kumulierte Aktivität), die in der Quellenregion  $r_S$  entstehen. Sie berechnet sich aus dem Zeitintegral der Zeit-Aktivitätskurven (engl. time activity curve TAC) für das jeweilige Organ oder Gewebe.

Die Abnahme der Aktivität im Körper wird nicht nur über den physikalischen Zerfall bestimmt, sondern auch durch biologische Ausscheidungsvorgänge. Unter der Annahme eines mono-exponentiellen Zerfalls ergibt sich daher für die effektive Halbwertszeit  $T_{1/2 \text{ eff}}$  (Integration von 0 bis  $\infty$ ):

$$T_{1/2 \text{ eff}} = \frac{T_{1/2 \text{ phys}} \cdot T_{1/2 \text{ biol}}}{T_{1/2 \text{ phys}} + T_{1/2 \text{ biol}}} \quad (2.36)$$

dabei ist  $T_{1/2 \text{ phys}}$  die physikalische und  $T_{1/2 \text{ biol}}$  die biologische Halbwertszeit. In diesem Fall ergibt sich für das Integral der Zeit-Aktivitätskurve:

$$\tilde{A}(r_S, \infty) = \frac{T_{1/2 \text{ eff}}}{\ln 2} = \lambda_{\text{eff}} \quad (2.37)$$

Bezieht man die gesamte Anzahl der Zerfälle auf die dem Patienten verabreichte Aktivität  $A_0$ , so erhält man folgenden Ausdruck:

$$\frac{\tilde{A}(r_S, T_D)}{A_0} = \tilde{a}(r_S, T_D) = \tau_S(T_D) \quad (2.38)$$

Früher wurde dieser Ausdruck Residenzzeit  $\tau_S$  („Verweildauer“) genannt. Nach der neuesten MIRD-Veröffentlichung heißt er nun „time-integrated activity coefficient“  $\tilde{a}(r_S, T_D)$  [40] (im Folgenden wird er mit TIAC [41] abgekürzt). Jedoch wird der alte Begriff und das Symbol  $\tau_S$  noch vielfach gebraucht. Daher wird das Symbol auch in dieser Arbeit weiterhin verwendet. Der TIAC wird in Stunden angegeben, trotzdem darf er nicht als Zeit betrachtet werden. Er beschreibt die kumulierte Anzahl der Zerfälle pro verabreichter Aktivität  $A_0$  innerhalb der Zeit  $T_D$  in einem Quellorgan  $r_S$ .

Prinzipiell ist auch  $S(r_T \leftarrow r_S)$  zeitabhängig. Diese Abhängigkeit zur Bestimmung der Energiedosis muss aber nur berücksichtigt werden, wenn sich Tumore unter der Therapie

im Volumen stark verändern. Wenn Größe und Masse der Quell- und Zielorgane konstant bleiben, kann diese Zeitabhängigkeit vernachlässigt werden. Der S-Wert, wie er auch genannt wird (S-value), ist definiert als:

$$S(r_T \leftarrow r_S) = \frac{1}{M(r_T)} \sum_i E_i Y_i \phi(r_T \leftarrow r_S, E_i) \quad (2.39)$$

Der Index  $i$  läuft über alle möglichen Übergänge. Dabei ist  $E_i$  die mittlere Energie des  $i$ -ten Übergangs,  $Y_i$  die Übergangswahrscheinlichkeit des  $i$ -ten Übergangs,  $\phi(r_T \leftarrow r_S, E_i)$  ist der Anteil der emittierten Energie, die im Zielorgan absorbiert wird und  $M(r_T)$  ist die Masse des Zielorgans.

Meistens wird  $\phi(r_T \leftarrow r_S, E_i)$  auf die Zielmasse bezogen und heißt dann „specific absorbed fraction (SAF)“

$$\Phi(r_T \leftarrow r_S, E_i) = \frac{\phi(r_T \leftarrow r_S, E_i)}{M(r_T)} \quad (2.40)$$

Im S-Wert sind daher alle physikalischen und geometrischen Anteile der Bestrahlung zusammengefasst. Er ist charakteristisch für ein Radionuklid und das verwendete anatomische Modell. Für die Therapie werden die S-Werte patientenspezifisch generiert, d.h. Masse und Volumen des Patientenorgans werden bei der Berechnung berücksichtigt. Im Gegensatz dazu müssen bei der Diagnostik die Standardwerte der Phantome verwendet werden.

Zur Vereinfachung der Schreibweise wird der S-Wert nun wie folgt abgekürzt:  $S_{(T \leftarrow S)}$ .

### 2.5.3 Phantome für die Dosimetrie

Die ersten Dosimetrie-Phantome basierten auf anthropomorphen Standard-Phantomen, bei denen die Organgröße und -lage mittels mathematischer Funktionen beschrieben wurden. Mittlerweile basieren die neueren realistischen Voxelphantome auf in-vivo-Aufnahmen der CT oder der MRT [22, 42].

Bis vor kurzem gab es noch keine veröffentlichten S-Werten für die Nuklearmedizin, die mit diesen neuen Phantomern berechnet wurden, sondern nur energieabhängige SAF-Werte. Daher beruhen die zugänglichen S-Werte noch auf den geometrischen anthropomorphen Standard-Phantomern verschiedener Altersklassen [22, 43]. Anfang 2015 veröffentlichte Lamart et al. [44] erstmalig S-Werte für  $^{131}\text{I}$ , die auf Voxelphantomen beruhen.

Ein Programm, in dem die S-Werte für die wichtigsten Organe und Nuklide auf Basis der anthropomorphen Standard-Phantome hinterlegt sind und mit dem Organdosen berechnet werden können, ist OLINDA/(EXM) (Organ Level Dose Assessment with Exponential Modeling)[45].

Seit der ICRP Veröffentlichung 103 [30] wird die Verwendung eines Referenzphantoms nach ICRP Standardvorgaben [46] zur Berechnung der effektiven Dosis vorgeschrieben. Diese Referenzphantome wurden vom „Helmholtz Zentrum München - Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt“ in Kooperation mit der ICRP entwickelt und sind in der ICRP Veröffentlichung 110 genau spezifiziert [47]. Zur Veranschaulichung der Unterschiede

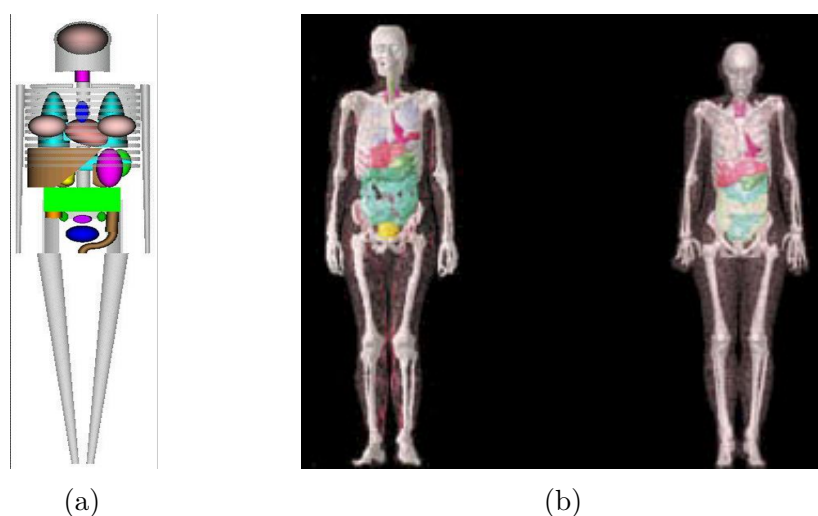


Abbildung 2.7: (a) Geometrisches anthropomorphes Standard-Phantomen wie es in OLINDA verwendet wird (Original veröffentlicht in [48] © by the Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, Inc.), (b) ICRP-Phantom des Helmholtz Zentrums [42] mit freundlicher Genehmigung von Frau Dr. Janine Becker, Helmholtz Zentrum, München.

zwischen den alten und den neuen Phantomen sind diese in Abbildung 2.7 dargestellt. Eine Übersicht über die Entwicklung der Phantome findet man im Handbuch für anatomische Modelle für die Dosimetrie [49] und in einer aktuellen Veröffentlichung von Xu [50]. Zudem gibt es auf der Homepage des „Consortium of Computational Human Phantoms“ (CCHP) [51] eine Auflistung aller vorhandenen Phantome.

Für das weibliche (RCP-FM) und das männliche Phantom (RCP-AM) gibt es SAF-Werte für drei typische Quellorgane (Lunge, Leber und Schilddrüse) und die wichtigsten Zielorgane (Darmwand, Magenwand, Lunge und die Brust). Berechnet wurden die Werte für diskrete Energien zwischen 10 keV und 10 MeV [52]. Für das RCP-AM gibt es weitere SAFs für 980 Quell- und Zielorgan-Paare für 12 verschiedene Energien [53].

#### 2.5.4 Blutbasierte Dosimetrie

Als Beispiel der Anwendung des MIRD-Formalismus in der nuklearmedizinischen Therapie soll hier die für diese Arbeit relevante Berechnung der Energiedosis im Blut gezeigt werden.

Vor allem bei der Radioiodtherapie des differenzierten Schilddrüsenkarzinoms dient die Bestimmung der Energiedosis im Blut als konservative Abschätzung der Dosis im kritischen Organ, dem roten Knochenmark, da diese nicht direkt bestimmbar ist [36].

Die Bestimmung der Energiedosis im Blut bei der Radioiodtherapie geht auf eine Arbeit von Benua et al. [54] aus dem Jahre 1962 zurück, der auf Basis von klinischen Daten und seiner langjährigen Erfahrungen mit klinischen Daten vorschlug, bei der Radioiodtherapie die Energiedosis im Blut auf 2 Gy zu begrenzen. Unterhalb dieses Wertes beobachtete er bei seinen Patienten so gut wie keine bedeutsame hämatologische Toxizität. Auf Basis dieser

klinischen Erfahrung entwickelte das Dosimetriekomitee der EANM 2008 eine Empfehlung, wie prä- und peritherapeutisch in Patienten die Energiedosis im Blut zu bestimmen ist [55].

Gemäß der EANM SOP (engl. standard operational procedure = Standardvorgehensweise) für das differenzierte Schilddrüsenkarzinom (DTC) [55] tragen zwei Komponenten zur Energiedosis im Blut bei: zum einen die lokale Selbstbestrahlung des Blutes (Bl) hauptsächlich durch die  $\beta$ -Strahlung und zum anderen die Bestrahlung durch Aktivität, die sich im restlichen Körper/Ganzkörper (GK) verteilt hat. Da die  $\beta$ -Strahlung des  $^{131}\text{I}$  in Weichteilgewebe nur eine mittlere Reichweite von etwa 0,4 mm hat, ist dabei jedoch nur die  $\gamma$ -Strahlung relevant [36]. Damit ergibt sich nach dem MIRD-Formalismus und unter Verwendung von Gleichung 2.35 die folgende Gleichung für die Energiedosis im Blut.

$$D_{\text{Bl}}(T_D) = A_0 \cdot (\tau_{\text{pro ml Bl}}(T_D) \cdot S_{\text{Bl} \leftarrow \text{Bl}} + \tau_{\text{GK}}(T_D) \cdot S_{\text{Bl} \leftarrow \gamma \text{ GK}}) \quad (2.41)$$

Für  $\beta$ -Strahler wie z.B.  $^{131}\text{I}$  oder  $^{177}\text{Lu}$  wird bei der Berechnung des S-Wertes ( $S(r_{\text{Bl}} \leftarrow r_{\text{Bl}})$ ) für die „Selbstbestrahlung“ des Blutes angenommen, dass die gesamte  $\beta$ -Energie im Blut unter Vernachlässigung der  $\gamma$ -Komponente in einem kleinen Volumen deponiert wird. Zu beachten ist, dass daher die Einheit des TIACs für das Blut ( $\tau_{\text{pro ml Bl}}$ )  $\text{h ml}^{-1}$  ist.

Zur Berechnung des S-Wertes für den Ganzkörper als Quellorgan wird von der folgenden Näherung ausgegangen:

$$S_{\text{Bl} \leftarrow \gamma \text{ GK}} \approx S_{\text{GK} \leftarrow \gamma \text{ GK}}$$

Bei dieser Näherung wird nur die  $\gamma$ -Komponente berücksichtigt und man kann diesen Anteil mit Hilfe der in OLINDA/EXM [45] verwendeten Phantome gewichtsabhängig berechnen.

$$S_{\text{Bl} \leftarrow \gamma \text{ GK}} = \frac{s_{\text{GK} \leftarrow \gamma \text{ GK}}}{wt^{2/3}} \quad (2.42)$$

Dabei ist  $s_{\text{GK} \leftarrow \gamma \text{ GK}}$  der für die Berechnung verwendete nuklidspezifische und gewichtsunabhängige S-Wert und  $wt$  das Gewicht des Patienten.

Tabelle 2.5: Maximal deponierbare  $\beta$ -Energie für die in dieser Arbeit verwendeten Therapie-nuklide  $^{177}\text{Lu}$  und  $^{131}\text{I}$  und die zugehörigen S-Werte/s-Werte [55–57]. Um die Ergebnisse dieser Arbeit mit denen früherer Veröffentlichungen vergleichen zu können, wurde die max. Energie für  $^{131}\text{I}$  aus dieser SOP [55] verwendet und nicht der Wert  $192 \text{ keV Bq}^{-1} \text{ s}^{-1}$  aus [56].

Nuklid	$E_{\text{max}}$ (keV Bq $^{-1}$ s $^{-1}$ )	$S_{\text{Bl} \leftarrow \text{Bl}}$ (Gy ml GBq $^{-1}$ h $^{-1}$ )	$s_{\text{GK} \leftarrow \gamma \text{ GK}}$ (Gy GBq $^{-1}$ h $^{-1}$ )
$^{177}\text{Lu}$	148	85,3	0,001 85
$^{131}\text{I}$	187	108,0	0,018 80

Für die zuvor beschriebene Berechnung der Energiedosis im Blut wird von einer homogenen Verteilung der Aktivität im Ganzkörper ausgegangen.

Mit der Kenntnis der S-Werte der Quellorgane Blut und Ganzkörper müssen nun noch die TIACs ( $\tau$ ) aus den Zeit-Aktivitäts-Kurven für Blut und Ganzkörper bestimmt werden. Für die Bestimmung des TIAC im Blut werden zu unterschiedlichen Zeiten Blutproben von Patienten nach  $^{131}\text{I}$ - oder  $^{177}\text{Lu}$ -Therapie abgenommen und jeweils ein Aliquot in einem kalibrierten Bohrlochmessplatz (engl. well counter) gemessen (siehe Kapitel 2.5.5).

Des Weiteren muss die Aktivität im Ganzkörper zu unterschiedlichen Zeitpunkten bestimmt werden. Für  $^{131}\text{I}$  und  $^{177}\text{Lu}$  werden dafür jeweils die Dosisleistung mit einer Sonde oberhalb des Patientenbetts gemessen (Kapitel 2.5.5). Bei den  $^{177}\text{Lu}$ -Patienten werden zusätzlich noch Gammakameramessungen (Kapitel 2.5.5) durchgeführt.

Die gewonnenen Zeit-Aktivitäts-Kurven werden mit einer Summe von Exponentialfunktion angenähert, je nach Anzahl der Messwerte und Lage der Punkte mono-, bi- oder tri-exponentiell.

$$\text{FIA}(t) = \frac{A(t)}{A_0} = \sum_{i=1}^3 a_i e^{-\lambda_i t} \quad (2.43)$$

FIA( $t$ ): relativer Anteil der verabreichten Aktivität (engl. fraction of the injected activity)  $A_0$  als Funktion der Zeit  $t$ ;  $a_i$  und  $\lambda_i = \lambda_{\text{phys}} + \lambda_{\text{biol}}$ , sind Fitparameter ( $\lambda_{\text{phys}} = 4,34 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$  für  $^{177}\text{Lu}$  oder  $3,60 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$  für  $^{131}\text{I}$ ), wobei  $a_i$  (Einheiten:  $a_{\text{Bl}i} \cdot \text{ml}^{-1}$ ,  $A_{\text{GK}i}$ : dimensionslos) den initialen Bruchteil der verabreichten Aktivität und  $\lambda_i$  (Einheiten:  $\text{h}^{-1}$ ) die Zerfallsrate einschließlich des biologischen und physikalischen Zerfalls beschreibt.

Durch die Berechnung des Integrals der entsprechenden Kurven von 0 bis  $T_D$  erhält man  $\tau_{\text{GK}}(T_D)$  und  $\tau_{\text{pro ml Bl}}(T_D)$ :

$$\tau(T_D) = \int_0^{T_D} \text{FIA}(t) dt = \sum_i \frac{A_i}{\lambda_i} (1 - e^{-\lambda_i t}) \quad (2.44)$$

## 2.5.5 Messmethoden

### Bohrlochmessplatz

Ein Bohrlochmessplatz wird verwendet, um  $\gamma$ -strahlende Proben wie Blut oder Urin mit geringer Aktivitätskonzentration zu messen. Das Gerät besteht aus einem zylindrischen Szintillatorkristall (meist aus Natriumiodid dotiert mit Thallium:  $\text{NaI}(\text{Tl})$ ). Der Kristall enthält eine zentrale Bohrung (daher der Name), in welchen die Probe eingebracht werden kann. Dadurch befindet sich die Probe in einer  $4\pi$ -Geometrie und Photonen können aus allen Richtungen auf den Detektor treffen [58] (Abbildung 2.8).

Im Szintillatorkristall wechselwirken die Gammaquanten mit dem Absorber. Dabei werden Elektronen herausgeschlagen (Photoeffekt, Comptoneffekt und Paarbildung), die wiederum Szintillatoratome im Kristall anregen, indem sie die Elektronen aus dem Valenz- in das Leitungsband heben, wodurch Elektron-Lochpaare entstehen. Durch die Dotierung mit Thallium wird bei der Rückkehr in den Grundzustand Licht im sichtbaren Bereich emittiert. Zur Erzeugung solch eines Photons sind im Mittel ca. 25 eV nötig [59].

Hinter dem Szintillator befindet sich ein Photomultiplier. Die Photonen treffen dort zuerst auf die Photokathode des Photomultipliers und lösen über den Photoeffekt Photoelektronen aus. Diese werden durch Anlegen einer Spannung an den Dynoden zu diesen hin beschleunigt.

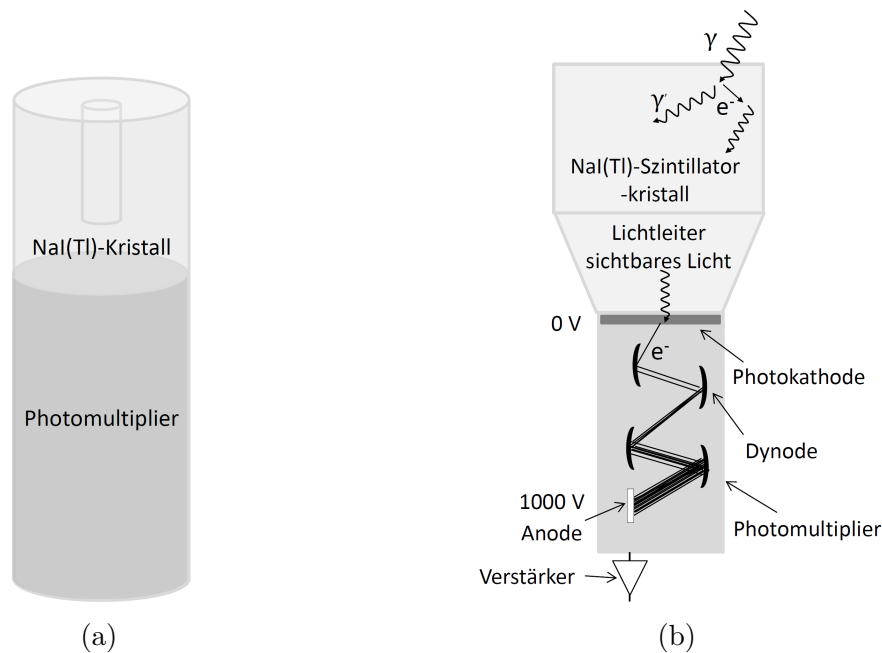


Abbildung 2.8: (a) Bohrlochmessplatz (b) Funktionsweise eines Szintillationsdetektors

Durch den Aufprall auf die Dynoden werden weitere Elektronen freigesetzt (Sekundärelektronenvervielfachung) und somit wird der Elektronenstrom verstärkt. Dieser erzeugt durch den Spannungsabfall an einem Widerstand das Ausgangssignal. Die Höhe des Spannungsimpulses ist proportional zu der im Szintillator entstandenen und auf die Photokathode auftreffenden Lichtmenge. Die Lichtmenge ihrerseits entspricht der im Detektor absorbierten Strahlungsenergie. Nach dem Durchgang durch den Verstärker wird das Signal mit einem Vielkanalanalysator ausgelesen, der die unterschiedlichen Impulshöhen unterschiedlichen Kanälen bzw. Energien zuordnet [24, 58].

Um nun das daraus erhaltene Spektrum zu quantifizieren, muss der Bohrlochmessplatz mittels auf Primärstandards zurückführbarer Kalibrierquellen für jedes der verwendeten Nuklide kalibriert werden.

### Germaniumdetektor

Ein Germaniumdetektor ist ein Halbleiterdetektor. Solch ein Detektor ist eine Halbleiterdiode, deren p-n-Übergang in Sperrrichtung betrieben wird. p-Halbleiter entstehen durch die Dotierung von in diesem Fall vierwertigen Atomen (Germanium) mit dreiwertigen Fremdatomen, die den Halbleiter zum Elektronenempfänger (Akzeptor) machen. n-Halbleiter entstehen durch Dotierung mit fünfwertigen Fremdatomen, die den Halbleiter zum Donator machen. Verbindet man einen p- und einen n-Halbleiter, so diffundieren die Elektronen aus dem n-Bereich und die Löcher aus dem p-Bereich in das jeweils andere Gebiet, wo sie teilweise rekombinieren. Dadurch entsteht eine positive bzw. negative Raumladung an der n- bzw. p-Zone. Da die n- und p-Halbleiter unterschiedliche Fermi-niveaus haben, kommt es bei der Zusammenführung zu einer Bandverbiegung, damit sie ein gemeinsames Fermi-niveau erreichen. Die Akzeptoren werden unter das Fermi-niveau gedrückt und daher mit Elektronen



besetzt und die Donatoren im n-Gebiet werden über das Fermi-niveau angehoben und somit entleert. Legt man eine Spannung  $U < 0$  an so vergrößert sich die Raumladungszone und die p-n Halbleiterdiode wird in Sperrrichtung betrieben.

Beim Durchgang ionisierender Strahlung werden in der Verarmungszone Elektron-Lochpaare erzeugt, die an den entgegengesetzten Polen einen Stromimpuls erzeugen (siehe Abbildung 2.9). Dieser ist proportional zur Zahl der Elektron-Lochpaare und der Energie der einfallenden Strahlung. Der Stromimpuls wird über einen Vorverstärker mit einem Vielkanalanalysator ausgelesen.

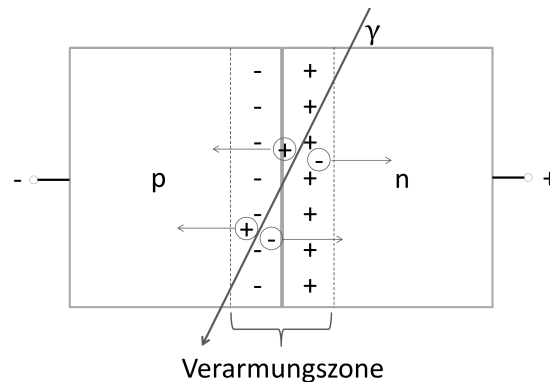


Abbildung 2.9: Schematische Funktionsweise eines Halbleiterdetektors

Auf Grund der geringen Bandlücke von Germanium (ca. 0,66 eV) [60] müssen sie bei niedrigen Temperaturen betrieben werden, meistens bei 77 K (Kelvin), da ansonsten die Elektronen durch die thermische Energie bei Raumtemperatur mit einer großen Wahrscheinlichkeit die Bandlücke überwinden können [19, 24, 61]. Die mittlere Energie zur Erzeugung eines Elektron-Lochpaares beträgt ca. 3 eV.

Für eine quantitative Messung der Aktivität im Detektor muss die Energieeffizienz für die zu messenden Energiebereiche bekannt sein.

Zur genauen Bestimmung der Aktivität einer radioaktiven Probe kann ein Aliquot in einem Germaniumdetektor gemessen werden. Dazu wird das Spektrum in dieser Arbeit jeweils solange aufgenommen, bis in dem gewünschten Peak 10000 Ereignisse erreicht werden, um den statistischen Fehler ( $\sqrt{\text{Ereignisse}}/\text{Ereignisse}$ ) beim Zählen so gering wie möglich zu halten ( $\pm 1\%$ ). Mit Kenntnis der energieabhängigen Detektoreffizienz, der Zerfallswahrscheinlichkeit und der Halbwertszeit des Nuklids kann somit die Aktivität des Aliquoten bestimmt werden.

## Gammakamera

Bei der nuklearmedizinischen Bildgebung unterscheidet man zwischen der Bildgebung mit Einzelphotonenemittern (planare Szintigraphie sowie SPECT (engl. Single Photon Emission Computed Tomography) und SPECT/CT) und der Bildgebung mit Positronenemittern (PET, PET/CT). Im Unterschied zur planaren Szintigraphie, bei der die Verteilung der Aktivität aus nur einer Blickrichtung gemessen wird, wird bei der Tomographie (SPECT) mit Hilfe eines Computers aus vielen in unterschiedlichen Blickwinkeln aufgenommenen Messungen die Aktivitätsverteilung dreidimensional berechnet. Bei der Szintigraphie und

der SPECT kommen Radionuklide zum Einsatz, die unter Emission eines Gammaquants ( $\gamma$ -Quant) zerfallen. Das derzeit am häufigsten verwendete Nuklid ist, aufgrund seiner leichten Verfügbarkeit, das Radionuklid  $^{99m}\text{Tc}$ .

Aufnahmen mit der Gammakamera können aber auch zur Therapiekontrolle, wie beispielsweise bei der Radiopeptidtherapie mit  $^{177}\text{Lu}$ , durchgeführt werden. Auf Grund der geringen Zerfallswahrscheinlichkeit der 208 keV  $\gamma$ -Line, ist es auch bei hohen Aktivitäten (7 GBq) möglich, eine Kameraaufnahme ohne Totzeitverluste durchzuführen.

Da die Emission der vom Patienten emittierten Gammaquanten im gesamten Raumwinkel erfolgt, ist die Gammakamera mit einem Bleikollimator ausgestattet (siehe Abbildung 2.10), damit nur diejenigen Gammaquanten registriert werden, die eine bestimmte Flugrichtung haben [62]. Je nach  $\gamma$ -Energie müssen Bleikollimatoren unterschiedlicher Bleistärken gewählt werden. Die Gammaquanten treffen auf einen Szintillationsdetektor und bis zu 75 Photomulti-

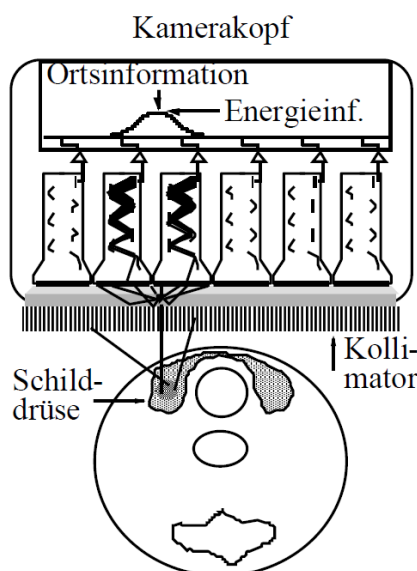


Abbildung 2.10: Funktionsweise einer Gammakamera [63]

plier lesen dann das Lichtsignal aus. Die daraus erhaltenen Energie- und Ortsinformationen werden über ein nachgeschaltetes Auswertesystem digitalisiert und daraus Schnittbilder rekonstruiert, die anschließend quantitativ ausgewertet werden können.

Für die Bestimmung der Aktivität im Ganzkörper, sind ausschließlich die Zählraten zu den jeweiligen Messzeitpunkten interessant. Dafür wird eine Kamera verwendet, die mit zwei gegenüberliegenden Köpfen ausgestattet ist, um so das geometrische Mittel ( $G$ ) aus den Zählraten der gegenüberliegenden Köpfe zu bilden. Die Tiefenabhängigkeit der Aktivitätsverteilung Körper kann näherungsweise durch das geometrische Mittel korrigiert werden:

$$G = \sqrt{I_a \cdot I_p} \quad (2.45)$$

Dabei sind  $I_a$  und  $I_p$  die anterior und posterior gemessenen Zählraten [28].

### Dosisleistungsmesssonde

In der Therapiestation werden die Patienten täglich mittels einer Dosisleistungsmesssonde im Abstand von 2,5 m oberhalb des Patientenbetts gemessen (morgens und abends). Diese Sonden sind über den Betten in die Decke fest eingebaut und somit kann auf einfache Weise die Körperaktivität der Patienten gemessen werden (siehe Abbildung 2.11). Die Erfassung der Photonen erfolgt anhand von Dosisleistungsmesssonden die die Äquivalentdosisleistung am Ort der Sonde ausgeben.

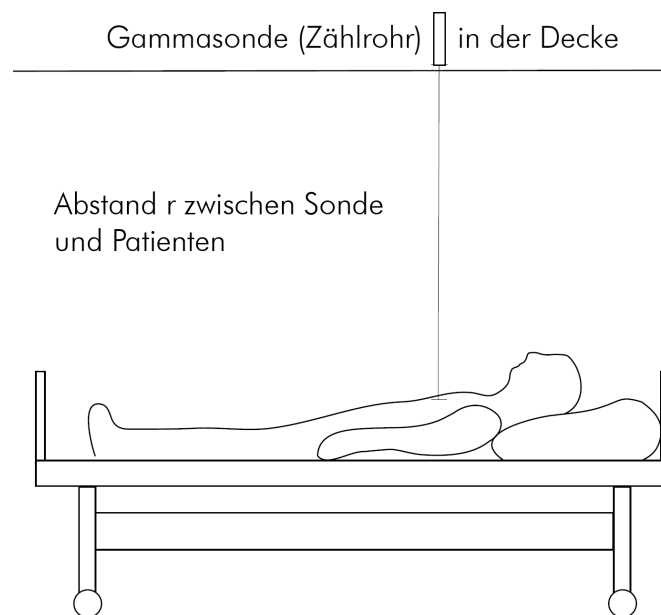


Abbildung 2.11: Anordnung einer Patientenmesssonde, die die Dosisleistung im Deckenbereich über dem Patientenbett erfasst [64].

Die enthaltene Gammasonde ist ein Geiger-Müller-Zählrohr. Dies ist ein gasgefüllter Ionisationsdetektor. Bei diesem können die durch Strahlung freigesetzten Elektronen durch das Anlegen einer sehr hohen Spannung und damit einer starken Beschleunigung der Elektronen weitere Elektronen freisetzen, bevor sie die Anode erreichen. Dies führt, ähnlich wie in einem Photomultiplier, zur Verstärkung des Ausgangssignals [19].

In Kombination mit den Gammakameramessungen (nur nach  $^{177}\text{Lu}$ -Therapie) wird jeweils der erste Messwert kurz nach Verabreichung der Therapieaktivität zur Normierung der vollständigen Aktivität (100%) im Ganzkörper verwendet, da für die Zeit-Aktivitäts-Kurven nur der relative Wert benötigt wird.

## 2.6 Strahlenbiologie

Sowohl die diagnostische als auch die therapeutische Anwendung ionisierender Strahlung verursacht Veränderungen in den betroffenen Zellen, welche zur Schädigung der DNA-Struktur führen können. Als Folge davon können unter anderem die Zellen irreparabel geschädigt werden oder kanzerogene Veränderungen der Zellen durch fehlerhafte Reparatur beobachtet werden. Die Beschreibung dieser Vorgänge ist Aufgabe der Strahlenbiologie [24].

### 2.6.1 Zellaufbau

Die Zelle ist die kleinste Lebenseinheit eines Organismus. Zellen bestehen aus unterschiedlichen Molekülen, wobei sie an Hand ihrer Größe in niedermolekulare Substanzen  $< 1000$  u (atomare Masseneinheit), wie z.B. Wasserionen, Glukose und größere Makromoleküle  $> 1000$  u aufgeteilt werden, die sich aus den folgenden drei wichtigen Stoffgruppen zusammensetzen, den Kohlehydraten, Proteinen und Nukleinsäuren [65].

Aufgrund der Zellstruktur können die Lebewesen in zwei verschiedene Gruppen eingeteilt werden, die Prokaryoten und die Eukaryoten (höhere Organismen). Die Prokaryoten besitzen keinen Zellkern und Organellen und sind einfach aufgebaut, zu diesen gehören z.B. Bakterien. Im Gegensatz dazu besitzen die Eukaryoten (z.B. Säugetierzellen) einen Zellkern und haben einen komplexeren Aufbau als die Prokaryoten. Abbildung 2.12 zeigt den Aufbau einer eukaryotischen Zelle [66].

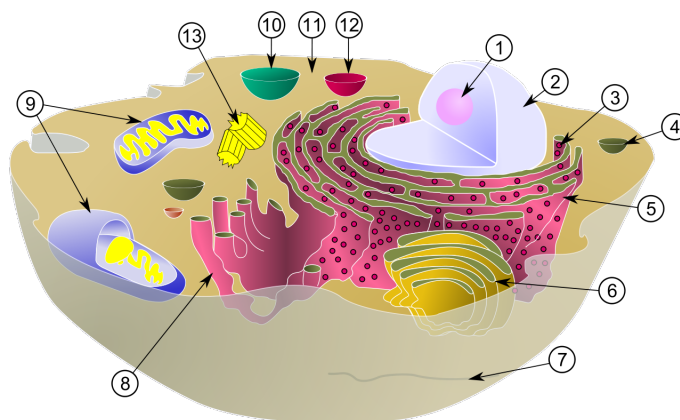


Abbildung 2.12: Schematische Darstellung einer eukaryotischen Zelle

1. Nukleolus
  2. Zellkern (Nukleus)
  3. Ribosomen
  4. Vesikel
  5. Raues Endoplasmatisches Reticulum (ER)
  6. Golgi-Apparat
  7. Mikrotubuli
  8. Glattes ER
  9. Mitochondrien
  10. Lysosom
  11. Zytosplasma
  12. Peroxisom (Mikrobody)
  13. Zentriolen
- [67] (© cc by-sa 3.0).

Jede eukaryotische Zelle wird von einer Zellmembran aus Proteinen und Phospholipiden umgeben und mechanisch durch das Zytoskelett, das aus drei verschiedenen fadenförmigen Proteinstrukturen den Aktinfilamenten, den Mikrotubuli und den Intermediärfilamenten besteht, stabilisiert [66]. Das Zellinnere setzt sich aus dem Zytosplasma und dem Karyoplasma (das Innere des Zellkerns) zusammen [22]. Den flüssigen Anteil des Zellinneren indem sich alle Zellorganellen und Strukturen befinden bezeichnet man als Zytosplasma. Die Zellorganellen

sind kleine abgeschlossene Funktionseinheiten der Zelle. Jeder Zellorganellentyp hat eine spezifische Aufgabe, arbeitet jedoch in Abstimmung mit den anderen Organellen. Der Zellkern ist die größte Organelle und auch das Steuerzentrum der Zelle, er enthält die gesamte biologische Erbinformation, die DNA (Desoxyribonukleinsäure) und assoziierte Proteine, zusammen spricht man vom Chromatin [66, 68]. Auf die DNA wird in den nächsten Unterkapiteln näher eingegangen.

Im Zellkern findet die Transkription statt. Dabei wird die DNA in Ribonukleinsäure (RNA) umgeschrieben. Je nach ihrer Funktion wird die RNA als messenger-RNA (mRNA), transfer-RNA (tRNA), ribosomale-RNA (rRNA), kleine Kern-RNA (snRNA), micro-RNA (miRNA) oder als mitochondriale RNA (mtRNA) bezeichnet [22, 65]. Im Inneren des Zellkerns befindet sich der Nukleolus, auch Kernkörperchen genannt, in dem rRNAs angereichert sind. Durch die Poren der Membran gelangt die RNA ins Zytoplasma. Dort wird die mRNA für die Proteinbiosynthese in Ribosomen eingeschleust. Im Endoplasmatischen Retikulum (ER), das den Zellkern umschließt, findet die membrangebundene Proteinbiosynthese statt, wobei die dabei entstehenden Proteine im Golgi-Apparat modifiziert und in Transportvesikel verpackt werden [66]. Lysosomen und Peroxisomen sind Membranvesikel, in denen der intrazelluläre Abbau von Molekülen stattfindet [66].

Die Mitochondrien gelten als „Kraftwerke“ der Zelle, da sie den Energieträger Adenosin-triphosphat (ATP), der für jede Zelle von essentieller Bedeutung ist, produzieren [66]. Die Zentriolen sind an der Steuerung der Zellteilung beteiligt und sind aus Mikrotubuli aufgebaut.

## 2.6.2 DNA-Aufbau

Der wesentliche Teil der menschlichen Erbinformation ist in der DNA gespeichert. Sie besteht aus zwei komplementär gegenläufigen Strängen, die sich in einer rechtsgängigen Doppelhelix umeinander winden [65]. Diese Stränge sind aus Nukleotiden aufgebaut, die aus Phosphorsäuren und Zuckermolekülen (Desoxyribose) bestehen und über je zwei komplementäre Basen (Adenin und Thymin; Guanin und Cytosin) über Wasserstoffbrückenbindungen miteinander verbunden sind. Dabei werden die Basen in zwei Gruppen eingeteilt, die Purinbasen (Adenin und Guanin) und die Pyrimidinbasen (Thymin und Cytosin)[22].

Die DNA eines humanen Zellkerns ist ungefähr 2 bis 3 m lang und enthält ca.  $3 \cdot 10^9$  Basenpaare [69]. Sie ist auf 46 Chromosomen aufgeteilt, wobei jedes Chromosom aus einem durchgehenden DNA-Strang der abwechselnd auf kompakte Proteinkörper (Histonoktamer) gewickelt ist besteht (siehe Abbildung 2.17) [22, 66]. Der Komplex aus DNA und Histonoktamer wird als Nukleosom bezeichnet. Die DNA Proteinkomplexe im Zellkern als Chromatin. Abbildung 2.13 veranschaulicht die Unterstruktur der Chromosomen.

Der Zellkern ist das größte, aber auch das strahlen-empfindlichste Zellorganell [69]. Verantwortlich dafür ist die DNA. Bereits vor 45 Jahren zeigten Munro et al. [71], dass bei der Bestrahlung des Zytoplasmas mit Polonium-Mikronadeln ( $\alpha$ -Strahlung) deutlich höhere Dosen erforderlich waren um die Zelle abzutöten, als bei der Bestrahlung des Zellkerns [69]. Da der Zellkern und die DNA, im Gegensatz zu den anderen Organellen und Makromolekülen, nur einmal pro Zelle vorhanden sind, sind Schäden z.B. durch Strahlung oder andere genotoxische Substanzen an der DNA besonders schwerwiegend [22]. Daher soll in den nächsten Abschnitten genauer auf die DNA-Schädigung und ihrer Reparatur eingegangen werden.

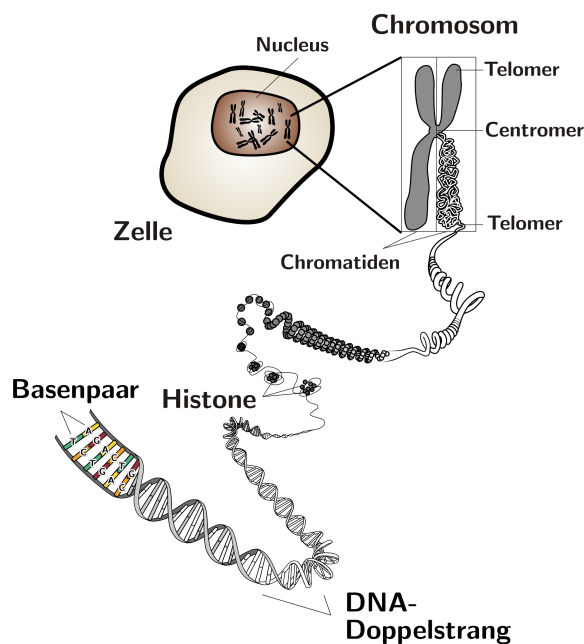


Abbildung 2.13: Darstellung der Chromosomenfeinstruktur [70] (Nutzung: gemeinfrei)

### 2.6.3 Zellzyklus

Als Zellzyklus werden die verschiedenen biochemischen Vorgänge, die während der Teilung einer eukaryotischen Zelle ablaufen, bezeichnet. Er wird in die Interphase und Mitose, bei der die Chromosomen zu sehen sind, unterteilt. Dabei macht die Interphase 90% der Zyklusdauer aus [66]. Die Interphase wird in vier unterschiedliche Phasen aufgeteilt: die  $G_1$ -Phase, die  $G_0$ , die S-Phase und die  $G_2$ -Phase. Die Abkürzung G steht für das englische Wort Gap (Pause, Lücke), da in diesen Phasen die Zellbestandteile für die S-Phase und danach für die Zellteilung synthetisiert werden [72].

- Die  **$G_1$ -Phase** bezeichnet den Zeitraum zwischen Kernteilung und DNA-Synthese. In dieser Phase wächst die Zelle und bereitet sich auf die nächste Runde der DNA-Replikation vor. Abhängig von den Bedingungen außerhalb der Zelle kann diese Phase den Zyklus auch verlangsamen. Aus dieser Phase können Zellen auch aus dem Zellzyklus austreten und in die  $G_0$ -Phase übergehen [65, 72].
- Die  **$G_0$ -Phase** stellt eine, in Bezug auf die Zellteilungsaktivität, Ruhephase dar. In ihr verharren ausdifferenzierte Zellen, die sich nicht mehr teilen (z.B. Nervenzellen). Manche dieser Zellen können aber auch durch Proliferationsreize wieder in den Zellzyklus eintreten. Zu diesen Zelltypen gehören z.B. Leberzellen und Lymphozyten [22, 65, 66, 69, 73].
- In der **S-Phase** (Synthese-Phase) wird die DNA repliziert, d.h. sie wird verdoppelt. Das bedeutet, dass am Ende dieser Phase jedes Chromosom aus zwei identischen Schwesterchromatiden besteht [65, 66, 69]. Man spricht auch von einem doppelten bzw. diploiden Chromosomensatz.

- die **G<sub>2</sub>-Phase** ist der Abstand zwischen S-Phase und Mitose. Sie überprüft, ob die DNA-Replikation korrekt abgeschlossen ist und bereitet die Zelle auf ihre Teilung in der Mitose vor [66].

In der Mitose, auch **M-Phase** genannt, verdichtet (kondensiert) sich zunächst die DNA und das Chromatin der Schwesterchromatiden, um anschließend gleichmäßig auf die beiden entstehenden Tochterzellen aufgeteilt zu werden, so dass jede Tochterzelle eine Kopie jedes Chromosoms erhält. Die M-Phase ist in vier Unterphasen aufgeteilt: der Pro-, Meta-, Ana- und Telophase, die sich durch unterschiedliche Kondensations- und Trennungsgrade unterscheiden [22, 69]. Auf die einzelnen Phasen und eine genaue Beschreibung soll hier aber nicht eingegangen werden.

Zellzykluskontrolle: Am Ende der G<sub>1</sub>-Phase und G<sub>2</sub>-Phase, aber auch in der S-Phase und der Mitose, gibt es jeweils einen Kontrollpunkt (Checkpoint), der den korrekten Ablauf des Zellzyklus gewährt. Treten Probleme oder Defekte auf, wird die Zelle am weiteren Fortschreiten des Verlaufs gehindert. Werden die Defekte an dieser Stelle nicht repariert, wird der programmierte Zelltod (Apoptose) eingeleitet. Dieser verhindert, dass sich die geschädigten Zellen vermehren [66].

### 2.6.4 DNA-Schädigung

Bei der Schädigung der DNA durch ionisierende Strahlung wird zwischen zwei verschiedenen Arten der Schädigung unterschieden: der direkten und der indirekten DNA-Schädigung. Diese darf aber nicht mit den direkten und indirekten Wechselwirkungen von Strahlung mit Materie verwechselt werden.

#### Direkte DNA-Schädigung

Unter direkter DNA-Schädigung versteht man den Prozess, bei dem ein über direkte oder indirekte Ionisation frei werdendes Elektron direkt mit der DNA wechselwirkt und den Schaden verursacht. Dabei führt die Ionisation und Anregung der DNA u.a. zum Aufbrechen der kovalenten Bindungen und damit zur Bildung von Radikalen dieser Verbindung somit zu einer Änderung/Schädigung der DNA Struktur. Allerdings ist diese Art von Strahlenwirkung an der DNA wegen ihres geringen relativen Massen- bzw. Volumenanteils in der Zelle selten [22]. Bei Strahlung mit niedrigem LET, wie z.B.  $\gamma$ -Strahlung, Röntgenstrahlung oder  $\beta$ -Strahlung, macht der direkte Effekt, nur ca. 1/3 der entstehenden DNA-Schädigung aus [24]. Bei hohem LET, wie  $\alpha$ -Strahlung oder Neutronenstrahlung überwiegt der direkte Effekt.

#### Indirekte DNA-Schädigung

Wechselwirkt die ionisierende Strahlung zuerst mit den Wassermolekülen im Zytoplasma, führt dies zur Ionisation oder , bei sehr kleinen Energieüberträgen, zur Anregung der Wassermoleküle. Es entstehen dabei hoch reaktive Wasserradikale, die dann die DNA schädigen. Radikale sind Atome oder Moleküle mit ungepaarten Valenzelektronen, die besonders reaktionsfreudig sind [69]. Dieser Vorgang wird als Radiolyse des Zellwassers bezeichnet [22].

Die wichtigsten Vorgänge werden hier kurz beschreiben. Eine genaue Darstellung aller Reaktionsgleichungen findet sich z.B. in [74].

Durch die Ionisation des Wassermoleküls entstehen ein Wasserion und ein freies Elektron:



Das Wasserion zerfällt zum Wasserstoffion und einem Hydroxylradikal:



Das freigewordene Elektron reagiert wiederum mit einem Wassermolekül und es entsteht ein Hydroxylion und ein Wasserstoffradikal



Die freien Elektronen können sich in der wässrigen Umgebung sofort mit einer Hülle aus Wassermolekülen ( $e_{aq}$ ) umgeben und wirken dann genauso aggressiv wie die Wasserradikale [22, 74].



Durch Rekombination können sich die entstandenen Radikale auch wieder zu nicht radikalen Molekülen vereinigen [69]. Zudem werden durch Kombination der freien Radikale  $\text{H}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Wasserstoffperoxid) gebildet [22, 74]:



Wasserstoffperoxid hat eine große biologische Wirksamkeit, das heißt, dass es die DNA schädigen kann und somit die Strahlenwirkung verstärkt [69].

Strahlenschäden können außerdem durch Sauerstoff bzw. den Sauerstoffgehalt beeinflusst werden (Sauerstoffeffekt). Das Vorhandensein von Sauerstoff in den Zellen führt durch die Reaktion mit den bei der Radiolyse gebildeten Radikalen zur Bildung von Hydroxyl-Peroxyradikalen ( $\text{HO}_2^\bullet$ ) und zu dem Superoxid-Radikal ( $\text{O}_2^\bullet$ ). Diese sind etwas weniger reaktionsfreudig als die bei der Radiolyse des Zellwassers entstehenden Radikale, aber sie können dadurch auch weiter entfernte Moleküle erreichen [69, 75]:



### Typen von DNA-Schäden

Wie schon im oberen Abschnitt erwähnt, entstehen durch ionisierende Strahlung direkte und indirekte Schäden an der DNA. Dabei sind die wichtigsten Schäden (siehe Abbildung 2.14):

- **Einzelstrangbrüche (ESB):** Bei diesem Schaden ist nur ein Strang der DNA betroffen und wird aufgebrochen.



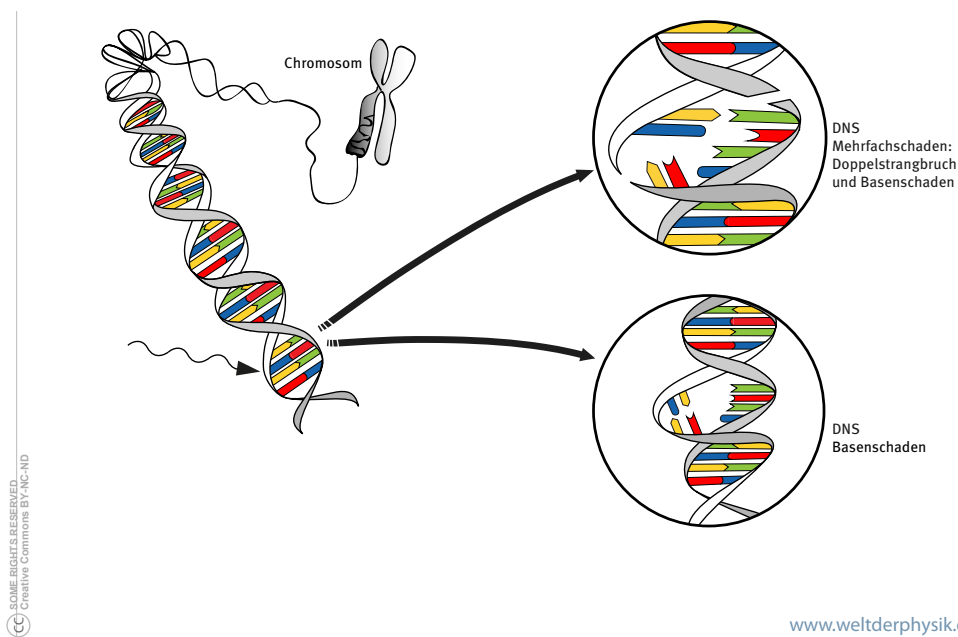


Abbildung 2.14: Schematische Darstellung der DNA-Schädigung. Trifft ionisierende Strahlung auf die DNA einer lebenden Zelle, kann dies zu unterschiedlichen Schäden führen. Neben Basenschäden sind auch Basenverlust sowie fehlerhafte Vernetzungen der Basenpaare möglich. Darüber hinaus kann es zu Einzel- oder Doppelstrangbrüchen kommen. Auch Chromosomenschäden sind möglich: Wird ein DNA-Strang unterbrochen, kann dies zum Verlust eines Chromosomfragments führen und damit zu einem Verlust von Erbgutinformationen (© Welt der Physik cc by-nc-nd [76]).

- **Doppelstrangbrüche (DSB):** in diesem Fall werden zwei dicht beieinander liegende DNA-Stränge geschädigt (maximaler Abstand: 10 Basenpaare [77]). Dies geschieht entweder durch ein Ein-Spur-Ereignis, also durch ein einzelnes Elektron (oder anderes geladenes Teilchen) oder durch ein Zwei-Spur-Ereignis, d.h. der Doppelstrangbruch wird durch zwei verschiedene Elektronen und somit durch zwei Einzelstrangbrüche verursacht.
- **Basenschäden:** Darunter versteht man chemische Veränderungen an den Basen selbst, deren Zerstörung oder deren Verlust, außerdem sind auch fehlerhafte Vernetzungen der Basenpaare möglich [22, 69].

DNA-Schäden können allerdings durch verschiedene Reparaturmechanismen behoben werden (siehe Kapitel 2.6.5), sofern sie ein bestimmtes Ausmaß nicht überschreiten.

Bei einer Bestrahlung mit 1 Gy entstehen ca. 4000-5000 Basenschäden, ca. 1000 Einzelstrangbrüche und nur ca. 40 Doppelstrangbrüche [69]. Die Doppelstrangbrüche tragen zwar nur mit 1% zu den DNA Schäden bei, verursachen aber die bedeutendsten biologischen Schäden: im Vergleich zu Einzelstrangbrüchen sind sie sehr viel schwieriger zu reparieren und die Wahrscheinlichkeit der Reparatur ist deutlich geringer [24, 69]. Dabei ist die Reparatur von

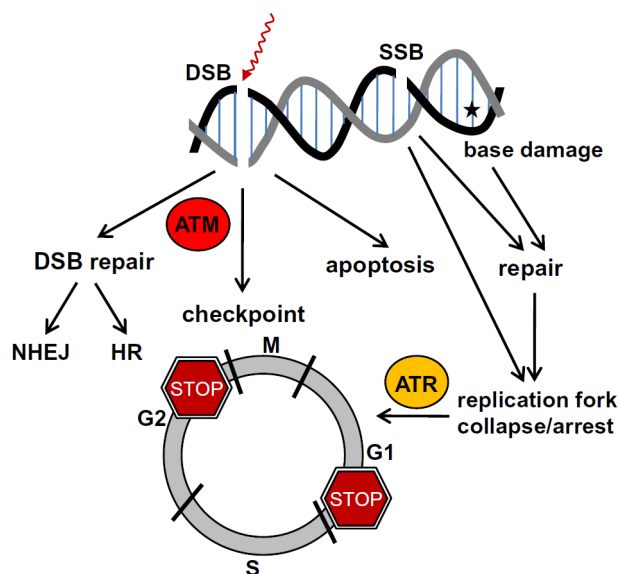


Abbildung 2.15: DNA-Schadensantwort nach Bestrahlung mit ionisierender Strahlung. Nur DSBs aktivieren die Signalkaskade, die über die Aktivität von ATM (Ataxia telangiectasia mutated) die Zelle im Zellzyklus arretiert und zur Reparatur, bzw. zur Apoptose, wenn das Schadensausmaß zu groß ist, führt. Kann ein Einzelstrangbruch nicht repariert werden und trifft eine Replikationsgabel (nur in der S-Phase) auf ihn, entsteht dadurch ein DSB und die Replikation kollabiert, sofern der Schaden nicht sofort repariert wird. Bei dieser Art von DSBs werden die Checkpoints über ataxia telangiectasia and Rad3-related protein (ATR) aktiviert [79] (mit freundlicher Genehmigung durch Elsevier).

Doppelstrangbrüchen zum Teil fehlerhaft oder wird gar nicht durchgeführt, so dass sie zu Mutationen, Chromosomenschäden oder zum Zelltod führen kann [22, 78–80]. Die Mutationen können zur Entstehung von Krebs oder auch Erbfehlern führen; Chromosomenschäden führen meistens zum Zelltod [24].

### 2.6.5 DNA-Reparaturmechanismen

Für die unterschiedlichen Arten von DNA-Schäden gibt es verschiedene Reparaturmechanismen, die an den oben beschriebenen Zellzyklus-Checkpoints nach der G<sub>1</sub>- und G<sub>2</sub>-Phase aktiviert werden (Abbildung 2.15). An dieser Stelle soll nur auf die Reparatur der DNA Doppelstrangbrüche näher eingegangen werden.

Einzelstrangbrüche und Basenschäden durch ionisierende Strahlung werden primär durch die Basenexzisionsreparatur (BER) beseitigt [81]; dabei wird der Schaden herausgeschnitten und mit Hilfe des noch vorhandenen komplementären zweiten Strangs eine Kopie dieses Strangs erstellt und an der defekten Stelle eingesetzt [69]. Bei Doppelstrangbrüchen gibt es für eukaryotische Zellen zwei verschiedene Möglichkeiten der DNA Reparatur (Abbildung 2.16). Die Wahl des Reparaturmechanismus hängt u.a. von der Zellzyklusphase der Zelle ab.

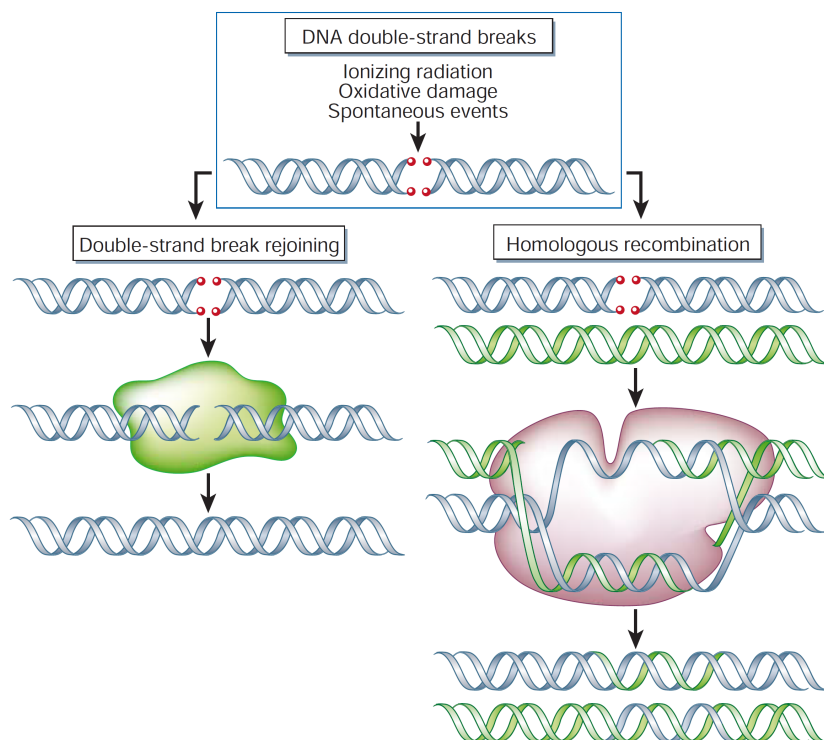


Abbildung 2.16: Schematische Darstellung der Reparaturmechanismen nach DSBs. Links: nicht homologe Rekombination und rechts: homologe Rekombination [82] (mit freundlicher Genehmigung durch Nature).

- **Nichthomologe Rekombination („Non-homologous end-joining“ (NHEJ)):** Bei der nichthomologen Verbindung der DNA-Enden werden die freien Enden durch Sensorproteine (Ku70/Ku80-Komplex) und den MRN-Komplex (Mre11, Rad50 und Nbs1) [83] erkannt. Dies ermöglicht die Aktivierung von Reparaturenzymen (XRCC4-Komplex/DNA-Ligase, DNA-abhängige Proteinkinase (DNA-PK)), die die geschädigten Nukleotide entfernen und die DNA-Enden verknüpfen [69]. Dieser Prozess muss ohne homologe Matrize stattfinden und ist somit nicht fehlerfrei, da nicht immer die richtige DNA-Sequenz wieder hergestellt werden kann. NHEJ kann in allen Zellzyklusphasen aktiviert werden, vor allem jedoch in der  $G_1/G_0$ -Phase (der einzige Mechanismus in dieser Zyklusphase) und ist der Hauptreparaturmechanismus bei Säugetierzellen [65, 69, 79, 80].
- **Homologe Rekombination (HR):** Für diesen Mechanismus wird das Schwesterchromatid als Matrize für die geschädigte Sequenz verwendet. Daher kann dieser nur in der späten S- und der  $G_2$ -Phase zum Einsatz kommen [65, 69, 79]. Auch hier werden die freien Chromosomenenden durch den MRN-Komplex erkannt und beim Schließen der Lücke sind die Proteine BRCA1 (Breast cancer 1) (Mutation dieses Gens erhöht das Risiko für Brustkrebs) und RAD51 beteiligt [65]. HR wird primär von Hefen und Bakterien zur Reparatur von DSBs eingesetzt [69]. Im Gegensatz zum NHEJ ist die HR zumeist fehlerfrei [24].

## 2.6.6 $\gamma$ -H2AX und 53BP1 zum Nachweis von DNA Doppelstrangbrüchen

Sofort nach einem DNA Doppelstrangbruch durch ionisierende Strahlung wird das Histon H2AX am Serin 139 primär durch die Kinase Ataxia telangiectasia mutated (ATM) phosphoryliert [84]. Dieses Protein wird dann  $\gamma$ -H2AX genannt, da es erstmals nach Bestrahlung mit  $\gamma$ -Strahlung entdeckt wurde [3]. Nach ungefähr einer Minute wird bereits das halbe Maximum der  $\gamma$ -H2AX Bildung erreicht, wobei das Maximum bei ca. 10 min liegt.

Es sind jeweils ca. 146 Basenpaare der DNA innerhalb des Chromatids um einen Histonoktamer gewunden. Das Oktamer besteht aus den Histonen H2A, H2B, H3 und H4, die sich paarweise zusammenschließen (H2A und H2B-Dimer und H3-H4-Dimer). Zwei H3-H4-Dimer bilden wiederum ein Tetramer an das sich zwei H2A-H2B-Dimere zu einem Oktamer anlagern (Abbildung 2.17). Das Histon H2A besteht aus drei Untergruppen: den Histonen H2A1-H2A2, H2AZ, und dem H2AX. Letzteres ist das relevante Molekül bei der Entstehung von  $\gamma$ -H2AX nach Bestrahlung mit ionisierender Strahlung [3]. Der Anteil von H2AX am Histon H2A in Säugetierzellen ist je nach Zelltyp unterschiedlich und liegt zwischen 2-25%. Nur ein kleiner Teil davon wird phosphoryliert (1-2% pro Gy) [3, 84]. Rougakou et al. [3] konnten zeigen, dass der prozentuale Anteil des  $\gamma$ -H2AX am Protein H2A pro DSB konstant 0,03% beträgt (humane Zellen und Hamsterzellen). Dadurch entstehen pro DSB z.B. bei humanen Fibroblasten 2000  $\gamma$ -H2AX-Proteine innerhalb eines Megabasenbereichs, der den DSB umgibt [3].

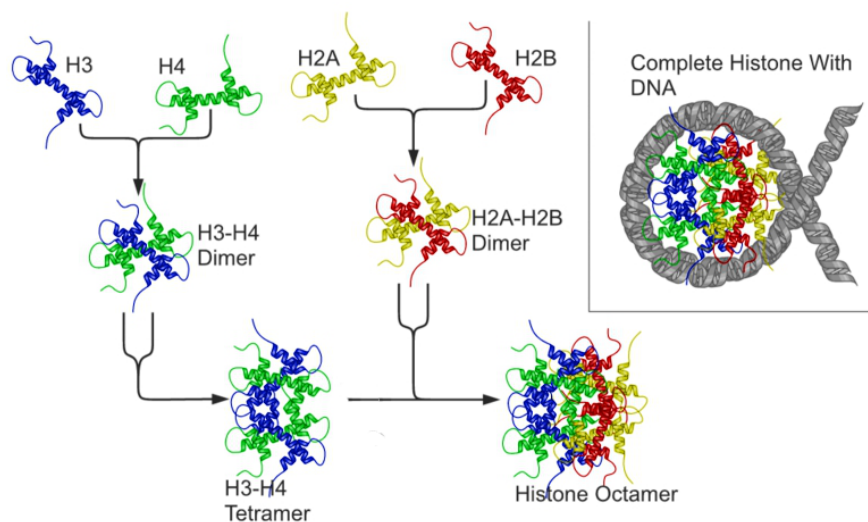


Abbildung 2.17: Histonoktamer: 146 Basenpaare der DNA sind ca 1,7 mal in einer linksgängigen superhelikalen Windung um ein zentrales Histon-Oktamer (Nukleosom) aus den Histonen H2A, H2B, H3 und H4 gewunden (© cc by-sa 3.0) [85].

Wird ein DSB durch Sensorproteine erkannt, reichert sich 53BP1 (TP53BP1 tumor suppressor p53 binding protein 1) sofort am Chromatin, das den DSB umgibt, an [3, 86, 87]. Daher ist

das Protein 53BP1 ein weiterer Biomarker, der strahleninduzierte Doppelstrangbrüche sehr effektiv nachweisen kann [4] und der sehr verlässlich mit  $\gamma$ -H2AX kolokalisiert [5]. Mittels Immunfluoreszenzfärbung lassen sich  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 als umschriebene Farbflecken 'Foci' im Zellkern mikroskopisch darstellen. Durch Zählen der Foci somit wird ein quantitativer Nachweis der Strahlenexposition ermöglicht. Unter der Annahme, dass ein Focus einem DSB entspricht, kann die Anzahl der Foci im Kern somit als Biomarker für DNA-Doppelstrangbrüche verwendet werden [7, 8]. Mit dem Fortschreiten der DSB Reparatur verschwinden die  $\gamma$ -H2AX und 53BP1-Foci wieder [88]. Horn et al. [89] und Mariotti et al. [90] haben gezeigt, dass das Verschwinden der Foci durch eine bi-exponentielle Funktion beschrieben werden kann, wobei die erste Komponente eine schnelle Reparatur und die zweite eine langsame beschreibt.

Periphere Lymphozyten des Bluts sind die am häufigsten verwendeten und am einfachsten zu gewinnenden Zellen für die Bestimmung von  $\gamma$ -H2AX-Foci [5, 91, 92]. Sie sind Teil der weißen Blutkörperchen, den Leukozyten, diese werden nach ihrer Morphologie in Granulozyten (58,5%), Lymphozyten (35%) und Monozyten (6,5%) unterteilt [46, 93]. Der Zellkerndurchmesser vom Lymphozyten beträgt ca. 7  $\mu$ m [94].

Insgesamt besteht das menschliche Blut aus Blutplasma (54,5% des gesamten Blutvolumens), roten Blutkörperchen (Erythrozyten:  $5 \cdot 10^6$  /mm<sup>3</sup>, 45%), Leukozyten ( $7 \cdot 10^3$  /mm<sup>3</sup>, 0,3%) und den Blutplättchen (Thrombozyten:  $250 \cdot 10^3$  /mm<sup>3</sup>, 0,15%). Die Hauptaufgabe der Erythrozyten ist der Transport von Sauerstoff, der durch den hohen Hämoglobanteil gewährleistet wird. Dieser ist auch verantwortlich für die rote Farbe der Erythrozyten [95]. Die Thrombozyten sind wichtig für die Blutgerinnung und die Leukozyten sind für die Abwehrvorgänge im Organismus verantwortlich [95].

Ein Vorteil der Verwendung von von peripheren Lymphozyten ist, dass sich diese Zellen in der G<sub>0</sub>-Phase des Zellzyklus befinden und die Foci-Werte daher zellzyklusunabhängig sind [92]. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Methode der  $\gamma$ -H2AX Immunofluoreszenzmikroskopie besonders sensitiv für sehr geringe Strahlendosen (bis zu 1 mGy) ist [9, 91, 96]. Sowohl in-vitro [3, 9, 10, 97] als auch in-vivo Studien haben gezeigt, dass die Zahl der strahleninduzierten  $\gamma$ -H2AX-Foci linear mit der Dosis nach externer Bestrahlung wie Strahlentherapie [11, 12] oder nach diagnostischen Untersuchungen mit CT [97–100] zunimmt.

In der Nuklearmedizin ist die Anwendung dieses Assays etwas schwieriger, da die Zielorgane kontinuierlich bestrahlt werden, allerdings mit sehr kleiner und abnehmender Dosisleistung. Trotzdem gibt es bereits Arbeiten, die die Wertigkeit des  $\gamma$ -H2AX-Assays nach Radioiodtherapie mit <sup>131</sup>I [13, 14], Radiopeptidtherapie mit <sup>177</sup>Lu-DOTATATE/-TOC [15] und nach der Diagnostik mit <sup>18</sup>F-FDG-PET/CT untersuchten [16].

Die ersten Arbeiten zu <sup>131</sup>I in Patienten nach Radioiodtherapie lieferten nur sehr wenige oder keine Daten für die ersten Stunden nach Therapiebeginn, die meisten Daten gab es zu späteren Zeitpunkten (Abnahmezeiten: 2 h, 24 h, 48 h, 72 h und 96 h). Es wurden erhöhte Foci-Werte gefunden, aber kein direkter Zusammenhang zwischen der Energiedosis im Blut und der Zahl der Foci hergestellt. Die erste Studie zu Patienten nach Therapie mit <sup>177</sup>Lu lieferte zwar Foci-Werte für die ersten Stunden und später (Abnahmezeiten: 10 min, 20 min,

30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 24 h und 72 h) nach Therapiebeginn, aber auch hier wurde keine direkte Korrelation zwischen der Zahl der Foci und der Energiedosis im Blut nachgewiesen. Bei der Untersuchung zum  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET/CT konnte eine Strahlenwirkung durch erhöhte Foci-Werte nachgewiesen werden. Durch die nahezu gleichzeitige Exposition durch Röntgenstrahlen durch das CT konnten allerdings die durch  $^{18}\text{F}$ -FDG und das CT verursachten Effekte wegen der resultierenden Überlagerung nicht mehr getrennt betrachtet werden [16].

### 2.6.7 Probenaufbereitung zum Nachweis von DNA Doppelstrangbrüchen

Die für die physikalische und biologische Dosimetrie benötigten Blutproben werden mit Li-Heparin Blutentnahmeröhrchen (Sarstedt, S-Monovette®) abgenommen. Das darin enthaltene Heparin verhindert die Blutgerinnung in den Entnahmeröhrchen. Sofort nach der Blutabnahme werden ca. 3 bis 4 ml Blut in ein kommerzielles Zellpräparationsröhrchen überführt (BD Vacutainer® CPT™). Das CPT-Röhrchen besteht aus einem Dichtentrennsystem aus Ficoll™ und Gel, das die Lymphozyten und Monozyten (mononukleare Zellen des peripheren Blutes (PBMC)) durch Zentrifugieren (20 min bei 1500 g) von den restlichen Blutbestandteilen trennt (Abbildung 2.18). Die PBMCs werden mit einer Pipette abgesaugt,

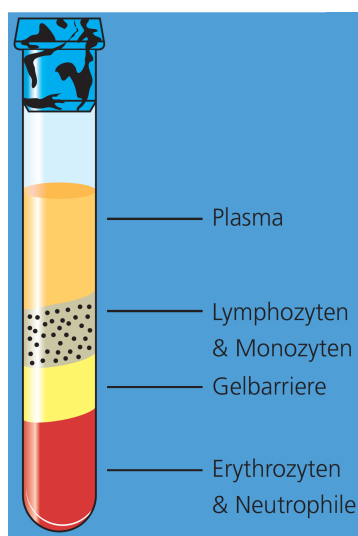


Abbildung 2.18: CPT-Röhrchen. Die Abbildung zeigt die Trennung des Blutes nach Zentrifugation mit dem CPT-System. Oberhalb der Gel-Barriere befinden sich die Lymphozyten und die Monozyten, darüber ist das Blutplasma und unter der Gel-Barriere die Erythrozyten und neutrophile Granulozyten [101]. Mit freundlicher Genehmigung durch BD Diagnostics.

in ein 15 ml Falcon-Röhrchen überführt und mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) aufgefüllt. Daraufhin werden die Zellen zweimal für 10 min bei 400 g zum Waschen zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen und das Zellpellet wird mit PBS auf 300  $\mu\text{l}$  aufgefüllt und zum Fixieren der Zellen werden sie mit eiskaltem Ethanol (99% unvergällt) auf 1 ml aufgefüllt,

damit eine 70%-ige Ethanollösung entsteht. Die so fixierten Zellen werden bei  $-20^{\circ}\text{C}$  für mindestens 24 h gelagert, bevor sie dann anschließend auf Eis zu unserem Kooperationspartner an das Institut für Radiobiologie der Bundeswehr in München, verschickt wurden. Dort wurde die Immunfluoreszenzfärbung und das manuelle Auszählen der Zellen durchgeführt. Da dieser Prozess nicht Bestandteil dieser Dissertation ist, wird an dieser Stelle nicht genauer auf die Immunfluoreszenzfärbung eingegangen. Für eine Beschreibung dieses Prozesses wird vielmehr auf die Literatur verwiesen [6, 13].

Für die Immunfärbung wurden folgende Antikörper verwendet:

- $\gamma\text{-H2AX}$ : primäre Antikörper: mouse-anti- $\gamma\text{-H2AX}$ , sekundärer Antikörper: goat anti-mouse Alexa-488
- 53BP1: primäre Antikörper: rabbit anti-53BP1, sekundärer Antikörper: donkey anti-rabbit-Cy3 Fab

In einem Zeiss (Axiobserver 2 epifluoreszenz) Mikroskop mit einem rot/grün Doppelbandpassfilter wurden durch unseren Kooperationspartner pro Probe jeweils 100 Zellen auf kolokalisierende  $\gamma\text{-H2AX}$  und 53BP1 Foci ausgezählt. Zellen mit geschädigter Morphologie wurden dabei nicht gezählt. In Abbildung 2.19 ist ein Ausschnitt aus einem Mikroskopbild zu sehen, der die kolokalisierenden  $\gamma\text{-H2AX}$  und 53BP1 Foci nach interner Blutbestrahlung mit 74 mGy zeigt.

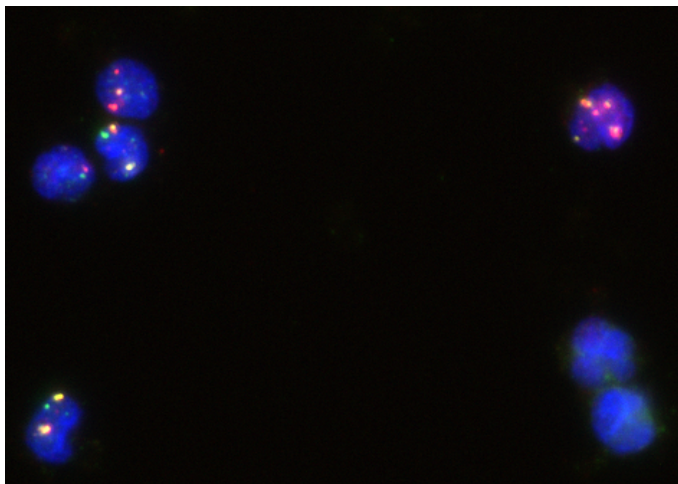


Abbildung 2.19: Kolokalisierende  $\gamma\text{-H2AX}$  und 53BP1 Foci nach interner Blutbestrahlung mit 74 mGy, grün:  $\gamma\text{-H2AX}$ , rot: 53BP1 und Blau: DNA gefärbt mit DAPI (4',6-Diamidin-2-phenylindol).

Für die Standardabweichung (SD) der Focizahlen/Zelle wurde eine Poisson-Statistik angenommen:

$$\text{SD} = \frac{\sqrt{\text{Gesamtzahl der Foci}}}{\text{Zahl der gezählten Zellen}} \quad (2.55)$$

Zusätzlich zu den bestrahlten Blutproben wurde auch immer eine sogenannte Nullprobe mit



aufbereitet. Die Nullprobe ist eine Blutprobe, die vor Verabreichung der Radionuklidtherapie abgenommen wird oder vor Aktivitätszugabe (bei der in-vitro Kalibrierung), um die Hintergrund-Foci-Rate ohne Bestrahlung zu bestimmen.

Dieser Nullwert wird von dem Ergebnis der intern bestrahlten Proben immer abgezogen und damit erhält man nur noch die Anzahl strahleninduzierten Foci, im folgenden auch RIF (radiation-induced foci) bezeichnet.



## 3 In-vitro Kalibrierung

Derzeit gibt es noch keine Beschreibung einer in-vitro Kalibrierkurve, die die Zahl der strahleninduzierten  $\gamma$ -H2AX Foci pro Zellkern als Funktion der Energiedosis im Blut nach interner in-vitro Niedrigdosis/Niedrigdosisleistungs-Bestrahlung mit löslichen Radionukliden bestimmt und somit ein Testsystem für den Niedrigdosisbereich darstellt. Die Energiedosen/-dosisraten wurden so gewählt, wie sie auch während der Radionuklidtherapie mit  $^{131}\text{I}$  und  $^{177}\text{Lu}$  auftreten.

Die hier präsentierten Ergebnisse wurden im April 2015 als „open access“ in PLOS One veröffentlicht [102]. Die Abbildungen sind aus dieser Veröffentlichung entnommen und haben daher englische Beschriftungen.

### 3.1 Materialien und Methoden

#### 3.1.1 Präparation der radioaktiven Proben

Für die Kalibrierversuche wurden Blutproben von drei gesunden Probanden entnommen. Die Probanden, im Alter von 31, 57 und 60 Jahren, erhielten einen Aufklärungsbogen und erst nach ihrer Zustimmung wurde ihnen Blut abgenommen (Votum der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität Würzburg lag vor: Az: 54/13). Bei jedem Probanden wurden an drei unterschiedlichen Tagen ca. 28 ml Blut mit Li-Heparin-Röhrchen abgenommen, so dass insgesamt neun Blutproben zu je 28 ml vorhanden waren.

Jede Blutprobe wurde dann in Aliquote mit je 3,5 ml aufgeteilt. Zur Bestimmung des Nullwertes der DNA-Reparatur-Foci wurde ein Aliquot nur mit Kochsalzlösung (0,9 %, B. Braun Melsungen AG, Deutschland) auf 4,5 ml aufgefüllt.

Zur internen Bestrahlung der Blutproben von gesunden Probanden wurde  $^{131}\text{I}$  (Mallinckrodt GmbH, Deutschland oder GE-Healthcare, Deutschland) und  $^{177}\text{Lu}$  (ITG Isotope Technologies Garching GmbH, Deutschland) ausgewählt, da sie zu den Nukliden gehören, die am häufigsten in der nuklearmedizinischen Therapie eingesetzt werden. Zur genauen Bestimmung der Aktivität in der radioaktiven Stammlösung wurde ein Aliquot von 10  $\mu\text{l}$  in einem Germaniumdetektor (Canberra GmbH, Deutschland) gemessen. Dazu wurde das Spektrum jeweils solange aufgenommen, bis in den Hauptpeaks, innerhalb von 30 Kanälen, 10000 Ereignisse erreicht wurden. Mit der nun bekannten Aktivitätskonzentration der Stammlösung wurden die Volumina berechnet, die für das Erreichen von Energiedosen zwischen  $5 \text{ mGy h}^{-1}$  und  $100 \text{ mGy h}^{-1}$  notwendig waren. Um das gleiche Volumen wie bei der Nullprobe zu erreichen, wurde die Differenz zwischen diesen Volumina und den benötigten 1 ml Lösung durch Zugabe einer NaCl-Lösung ausgeglichen. Die NaCl-Lösung wurde dafür bereits in

ein 5 ml Rundbodenröhrchen (Sarstedt AG & CO, Deutschland) überführt. Danach wurde nur noch die gewünschte Aktivität aus der Stammlösung und das Aliquot mit 3,5 ml Blut zugegeben. Anschließend wurde die Probe 1 h lang bei 37 °C in einem Brutschrank inkubiert. Während der gesamten Zeit befand sich das Blutröhrchen auf einem Rollenmischer, damit eine gleichmäßige Verteilung der Radioaktivität im Blut sichergestellt war. Die zugegebene Aktivität der beiden Nuklide lag zwischen 0,25 MBq und 4 MBq.

Direkt nach der Inkubation wurden die Blutproben wie in Kapitel 2.6.7 beschrieben verarbeitet. Dazu wurden der radioaktiven Blutmischung zur Separation der Lymphozyten 3,5 ml entnommen. 100 µl wurden zur genauen Bestimmung der Aktivität in den Blutproben entnommen und im Germaniumdetektor gemessen.

#### 3.1.2 Berechnung der Energiedosis im Blut

Um die deponierte Energie in den Blutproben zu bestimmen, wurde eine Monte-Carlo-Simulation der räumlichen Verteilung der Energiedeposition durchgeführt. Dazu wurde der „radiation transport code MCNPX v2.7“ [103] (Monte Carlo N-Particle Transport Code System for Multiparticle and High Energy Application) verwendet. Dieser Code stellt die deponierte Energie pro Volumenelement und Partikel bereit. Die Simulationen wurden für die durchdringende ( $\gamma$ ) und nicht-durchdringende (Elektronen) Strahlung separat durchgeführt. Die Zerfallsdaten für die beiden Nuklide  $^{131}\text{I}$  und  $^{177}\text{Lu}$  wurden der Veröffentlichung von Eckerman und Endo [56] entnommen. Die Simulationen entstanden nach dem selben Muster, wie in der Veröffentlichung von Hänscheid et al. [57] beschrieben.

Das simulierte Rundbodenröhrchen ist in Abbildung 3.1 dargestellt. Die linke Seite zeigt einen

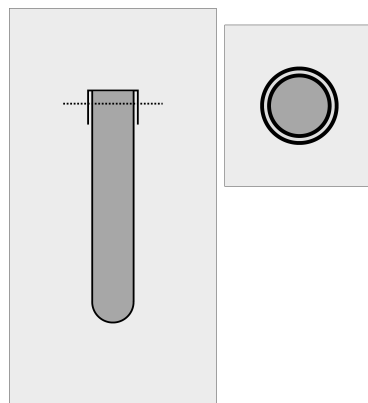


Abbildung 3.1: Vial Geometrie. Die schematische Zeichnung, die für die Monte Carlo Simulation verwendet wurde, zeigt einen Längsschnitt (links) und einen Querschnitt entlang der schwarzen gestrichelten Linie. Das Vial ist mit radioaktivem Blut gefüllt (dunkelgrau) und mit Luft (hellgrau) umgeben [102].

Längsschnitt des Röhrchens gefüllt mit dem radioaktiven Blut und umgeben von Luft. Auf der rechten Seite sieht man einen Querschnitt durch den Deckel des Röhrchens. Der Innendurchmesser des Röhrchens beträgt 0,96 mm und die innere Höhe 74,9 mm. Das Röhrchen besteht aus Polypropylen (Dichte  $\rho = 0,9 \text{ g cm}^{-3}$ ) und hat eine Dicke von 1,0 mm. In jede Richtung von der Röhrchenoberfläche wurden 5 cm Luft angenommen (Dichte  $\rho = 1,2 \cdot 10^{-3} \text{ g cm}^{-3}$ ).

Die chemische Zusammensetzung und die Dichte der Materialien wurde aus der Datenbank des „National Institute of Standards and Technology“ der Vereinigten Staaten (Nationales Institut für Standards und Technologie) (NIST) [104] entnommen.

Die berechneten deponierten Energien pro Volumenelement in dem Rundbodenröhrchen wurden in die mittlere Energiedosisrate, die pro Zerfall in 1 ml Blut auftritt, umgerechnet. In der Veröffentlichung von Hänscheid et al. [57] wird diese Energiedosisrate als  $\hat{S}$ -Wert bezeichnet. Die Einheiten von  $\hat{S}$  sind  $\text{Gy s}^{-1} \text{Bq}^{-1} \text{ml}$ . In diesem Fall unterscheidet sich dieser von den normalen S-Werten, da sich  $\hat{S}$  auf den Zerfall pro Volumenelement bezieht und nicht nur auf die Zahl der Zerfälle [57].

Diese Berechnungen wurden in unserer Arbeitsgruppe durchgeführt und mir zur Verwendung in dieser Arbeit überlassen.

## 3.2 Ergebnisse

Insgesamt wurden 55 Blutproben à 3,5 ml von drei Probanden (test persons TP1-TP3) analysiert. Dazu wurden nach Zugabe der unterschiedlichen Aktivitätskonzentrationen die Zahl der Foci/Zelle bestimmt und als Funktion der Energiedosis im Blut aufgetragen (Abbildung 3.2). Die dafür verwendeten S-Werte und Dosiskoeffizienten aus der Monte Carlo Simulation sind in Tabelle 3.1 zusammengefasst.

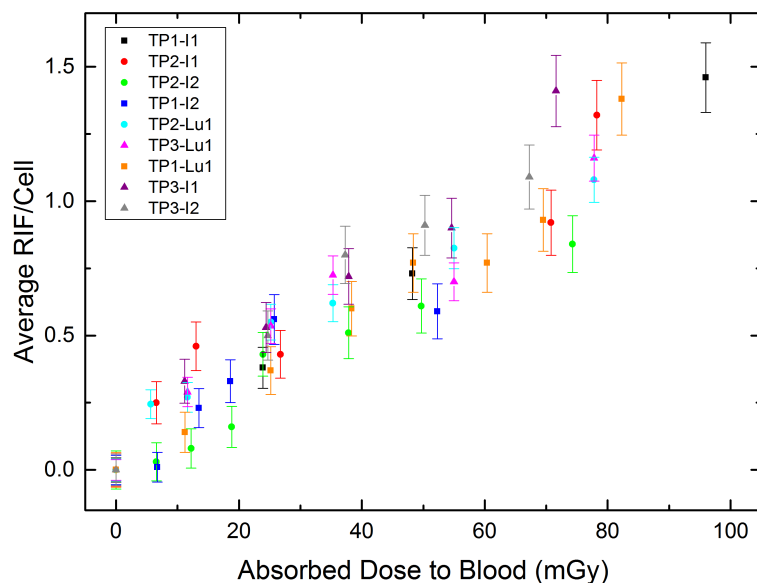


Abbildung 3.2: Gemittelte RIF/Zelle als Funktion der Energiedosis im Blut. Die Abbildung zeigt die unterschiedlichen Messreihen der einzelnen Probanden (TP1-TP3) deren Blut mit  $^{131}\text{I}$  und  $^{177}\text{Lu}$  versetzt und intern bestrahlt wurde. Ix und Lux bezeichnen die Versuchsreihen des jeweiligen Probanden. Die Fehlerbalken entsprechen der Standardabweichung der Auszählung wie in Gleichung 2.55 beschrieben [102].

Tabelle 3.1: Mittlere Energiedosisrate  $\hat{S}$ , die pro Zerfall in 1 ml Blut auftritt und die dazugehörige Energiedosis  $D$ , die nach 1 h Inkubation im Blut deponiert wird.

Nuklid	$\hat{S}$ (Gy s <sup>-1</sup> Bq <sup>-1</sup> ml)			$D$ (mGy MBq <sup>-1</sup> )
	Elektronen	Photonen	Total	Total
<sup>177</sup> Lu	$2,31 \cdot 10^{-11}$	$1,32 \cdot 10^{-13}$	$2,32 \cdot 10^{-11}$	83,34
<sup>131</sup> I	$2,94 \cdot 10^{-11}$	$1,11 \cdot 10^{-12}$	$3,05 \cdot 10^{-11}$	109,6

Der betrachtete Dosisbereich reichte von 6 mGy bis 95 mGy und die dazugehörigen RIF/Zelle-Werte von 0,01-1,48. Der Mittelwert der Nullwerte lag bei  $0,17 \pm 0,04$  Foci/Zelle. Die einzelnen Werte für <sup>131</sup>I und <sup>177</sup>Lu sind in den Tabellen 3.2 und 3.3 zusammengefasst. Für jede einzelne Datenreihe wurden separate Anpassungen durchgeführt. Die Ergebnisse der einzelnen Steigungen wurden mit Hilfe des Shapiro Wilk Tests auf Normalverteilung überprüft. Mit einem p-Wert von 0,30 kamen alle Steigungen aus der gleichen Grundgesamtheit. Der Mittelwert der Steigungen betrug  $(0,0150 \pm 0,0018)$  RIF/Zelle mGy<sup>-1</sup>. Zudem wurden die Mittelwerte der drei Steigungen der jeweiligen Probanden mit einer einfachen ANOVA (analysis of variance) miteinander verglichen. Bei diesem Test konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten der Steigungen gefunden werden. Daher wurden alle Datenpunkte zusammengefasst und eine lineare Anpassung durch diese Punkte durchgeführt (Abbildung 3.3).

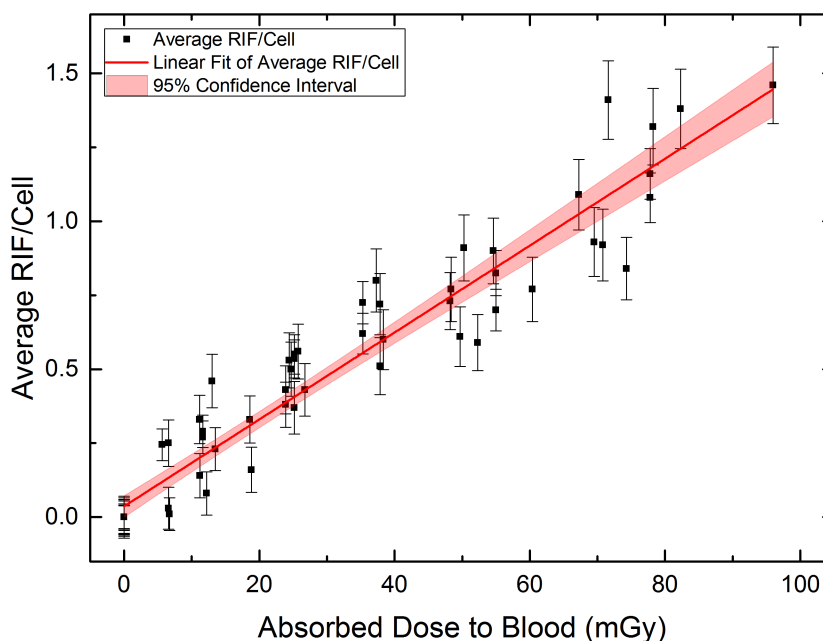


Abbildung 3.3: In-vitro Kalibrierkurve. Die Abbildung zeigt die Kalibrierkurve, die durch eine lineare Anpassung der zusammengefassten Datenpunkte generiert wurde. Das eingezeichnete Band beschreibt das 95% Konfidenzintervall [102].

Für die in-vitro Kalibrierkurve erhält man damit die folgende Funktion ( $R^2 = 0,92$ ):

$$y = 0,0363 \cdot \text{RIF/Zelle} + 0,0147 \cdot \text{RIF/Zelle} \cdot \text{mGy}^{-1} \cdot x \quad (3.1)$$

dabei gibt  $y$  die Zahl der RIF/Zelle an und  $x$  die Energiedosis im Blut in mGy. Der Standardfehler des y-Achsenabschnitts ist  $\pm 0,0182$  RIF/Zelle und der Fehler der Steigung ist  $\pm 0,0006$  RIF/Zelle  $\text{mGy}^{-1}$ .

Tabelle 3.2: Individuelle Foci-Werte für  $^{131}\text{I}$

$^{131}\text{I}$			
Probanden ID	Energiedosis im Blut (mGy)	RIF/Zelle	SD
TP1-I1	0,00	0,00	0,03
	23,89	0,38	0,076
	48,24	0,73	0,10
	95,96	1,48	0,13
TP1-I2	0,00	0,00	0,04
	6,73	0,01	0,06
	13,49	0,23	0,07
	18,58	0,33	0,08
	25,74	0,56	0,09
TP2-I1	0,00	0,00	0,06
	6,57	0,25	0,08
	13,04	0,46	0,09
	26,75	0,43	0,09
	70,79	0,92	0,12
	78,25	1,32	0,13
TP2-I2	0,00	0,00	0,05
	6,58	0,03	0,07
	12,24	0,08	0,07
	18,84	0,16	0,08
	23,92	0,43	0,08
	37,84	0,51	0,10
	49,69	0,61	0,10
74,29	0,84	0,11	
TP3-I1	0,00	0,00	0,06
	11,16	0,33	0,08
	24,40	0,53	0,09
	37,85	0,72	0,10
	54,59	0,90	0,11
TP3-I2	0,00	0,00	0,06
	24,69	0,50	0,09
	37,29	0,80	0,11
	50,28	0,91	0,11
	67,26	1,09	0,12

Tabelle 3.3: Individuelle Foci-Werte für  $^{177}\text{Lu}$

$^{177}\text{Lu}$			
Probanden ID	Energiedosis im Blut (mGy)	RIF/Zelle	SD
TP1-Lu1	0,00	0,00	0,06
	11,24	0,14	0,07
	25,19	0,37	0,09
	38,34	0,60	0,10
	48,36	0,77	0,11
	60,40	0,77	0,11
	69,54	0,93	0,12
	82,29	1,38	0,13
TP2-Lu1	0,00	0,00	0,03
	5,65	0,25	0,05
	11,63	0,27	0,05
	25,19	0,55	0,07
	35,29	0,62	0,07
	55,00	0,83	0,08
	77,79	1,08	0,08
TP3-Lu1	0,00	0,00	0,04
	11,63	0,29	0,05
	25,19	0,54	0,06
	35,29	0,73	0,07
	55,00	0,70	0,07
	77,79	1,16	0,09

### 3.3 Diskussion

Dieses Ergebnis zeigt erstmalig eine lineare Beziehung zwischen RIF/Zelle und der Energiedosis im Blut nach interner Bestrahlung mit den in der Radionuklidtherapie üblichen Nukliden  $^{131}\text{I}$  und  $^{177}\text{Lu}$ .

Die Bestrahlungsdauer von einer Stunde wurde so gewählt, dass die Inkubationszeit und die Zeit für die Probenaufbereitung (ca. 1 h) in einem ausgeglichenen Verhältnis stehen und dass Nebeneffekte soweit wie möglich vermieden werden.

Bei längeren Inkubationszeiten können weniger Proben pro Messreihe verarbeitet werden, mit dem Nachteil der verringerten Genauigkeit. Außerdem gehen die Foci-Zahlen wegen einsetzender Reparatur bereits zurück [3].

Eine weitere Einschränkung zeigte sich bei Vorversuchen: nach ca. 1,5 h Bestrahlungsdauer nahm die Zahl der Lymphozyten im Blut ab und die Lymphozyten verklebten. Die Proben konnten dann nicht mehr auf verlässliche Weise ausgezählt werden.

Kürzere Inkubationszeiten haben zur Folge, dass höhere Aktivitätsmengen eingesetzt werden müssen, um die gleichen Energiedosen im Blut zu erzielen. Diese Aktivitätsmengen hätten dann die im Labor zugelassene Grenze der Aktivitätsmenge überschritten.

Kalibrierkurven in einem Niedrigdosisbereich bis zu 500 mGy wurden bisher nur mit externer Röntgen- oder  $\gamma$ -Bestrahlung mit hoher Dosisleistung (bis zu  $1,7 \text{ Gy min}^{-1}$ ) durchgeführt [10, 89, 97, 99, 100, 105–107].

Beels et al. [10] beschreiben die Bestrahlung von Blutproben mit externer Photonenstrahlung mit einer Röntgenröhre ( $\leq 200 \text{ mGy}$  bei  $20 \text{ mGy min}^{-1}$ ) und mit externer  $\gamma$ -Bestrahlung mit  $^{60}\text{Co}$ , jedoch mit kleinerer Dosisleistung bis zu einer Dosis von  $200 \text{ mGy}$  ( $12 \text{ mGy min}^{-1}$ ) und höherer Dosisleistung zwischen  $200 \text{ mGy}$  und  $500 \text{ mGy}$  ( $300 \text{ mGy min}^{-1}$ ). Unterhalb von  $10 \text{ mGy}$  fanden sie bei der Bestrahlung mit der Röntgenröhre einen deutlich steileren linearen Anstieg der Foci-Werte als Funktion der Energiedosis im Blut, im Vergleich zu der Steigung bei Dosen oberhalb von  $10 \text{ mGy}$  [10, 97, 100]. Dieses Phänomen war allerdings nicht bei der externen  $\gamma$ -Bestrahlung mit  $^{60}\text{Co}$  zu beobachten; hier wurde nur ein linearer Dosisverlauf gefunden.

Die Kalibrierkurven von Beels et al. [10] lieferten im Dosisbereich von  $10$  bis  $500 \text{ mGy}$   $5,5 \text{ RIF/Zelle}$  für die Röntgenbestrahlung und  $4,3 \text{ RIF/Zelle}$  für die Bestrahlung mit  $^{60}\text{Co}$ . Die Autoren erklären dieses Phänomen an Hand der unterschiedlichen Weglängen der Sekundärelektronen. Die maximale Energie der Röntgenstrahlen beträgt  $100 \text{ kVp}$  und die der  $\gamma$ -Quanten von  $^{60}\text{Co}$   $1173 \text{ kV}$  und  $1332 \text{ kV}$  [25]. Durch die geringere Energie der Röntgenphotonen ist deren Ionisierungsdichte und damit der LET größer als die der  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ -Quanten (vergleiche dazu Tabelle 2.1).

Die interne Bestrahlung mit  $^{131}\text{I}$  und  $^{177}\text{Lu}$ , in dem in dieser Arbeit beschriebenen Versuchsaufbau, lieferte einen linearen Dosisverlauf von  $6$  bis  $95 \text{ mGy}$  im Gegensatz zu den Ergebnissen von Beels et al. [10]. Da kleinere Dosiswerte sehr schwer zu generieren sind, können wir nichts über den Dosisverlauf von  $1$  bis  $6 \text{ mGy}$  aussagen. Der Unterschied zwischen Beels et al. und unserem Versuchsaufbau ist, dass wir unsere Blutproben primär mit  $\beta$ -Strahlung ( $^{131}\text{I}$ : maximale Energie:  $606 \text{ keV}$ , mittlere Energie:  $181 \text{ keV}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ : maximale Energie:  $498 \text{ keV}$ , mittlere Energie:  $134 \text{ keV}$ ) bestrahlt haben. In diesem Energiebereich haben die Elektronen einen ähnlichen LET wie  $^{60}\text{Co}$ -Strahlung. Dies könnte der Grund für den nicht beobachteten steileren Foci-Verlauf bei kleinen Energiedosen sein.

Rothkamm et al. [99] untersuchten die Auswirkungen unterschiedlicher Röhrenspannungen der Röntgenröhre und Dosisleistungen. Sie wählten  $150 \text{ kV}$  ( $\min \leq 100 \text{ mGy}$  bei  $83 \text{ mGy min}^{-1}$ ,  $\geq 100 \text{ mGy} \leq 1000 \text{ mGy}$  bei  $160 \text{ mGy min}^{-1}$ ) und  $240 \text{ kV}$  ( $\min \leq 100 \text{ mGy}$  bei  $190 \text{ mGy min}^{-1}$ ,  $\geq 100 \text{ mGy} \leq 1000 \text{ mGy}$  bei  $400 \text{ mGy min}^{-1}$ ). Sie fanden keine Unterschiede zwischen den Steigungen bei der Verwendung von  $150 \text{ kV}$  und  $240 \text{ kV}$  und auch keine Abweichung von der Steigung unterhalb von  $10 \text{ mGy}$ . Bei einer Energiedosis von  $500 \text{ mGy}$  und einer Inkubationszeit von  $30 \text{ min}$  nach Bestrahlung ist der dazugehörige Foci-Wert ( $7,0 \text{ RIF/Zelle}$ ) sehr ähnlich zu dem Foci-Wert, den man durch Extrapolation aus der in Gleichung 3.1 beschriebenen Kalibrierung erhält ( $7,4 \text{ RIF/Zelle}$ ).

In einer kürzlich erschienen Arbeit von Vandevoorde et al. [108] wurde Nabelschnurblut von drei gesunden Neugeborenen mit bis zu  $500 \text{ mGy}$  mit einer Röntgenröhre ( $100 \text{ kVp}$ ) bestrahlt. Bei  $500 \text{ mGy}$  wurden  $5,7 \text{ RIF/Zelle}$  beobachtet. Im Niedrigdosisbereich von  $1$  bis  $12 \text{ mGy}$

fanden die Autoren einen ähnlichen Dosis-RIF-Verlauf wie bei Beels et al. [10], allerdings mit kleinen RIF-Werten. Bei Vandevorde et al. wurden die Blutproben vor der Verarbeitung 30 min lang bei 37 °C inkubiert und daraufhin wurden sie 15 min lang bei 0 °C gekühlt um den Reparaturprozess zu stoppen [108]. Bis zum Verarbeiten der Proben vergingen nicht mehr als 3 h und beim Transport der Proben wurden sie bei 4 °C aufbewahrt. Möglicherweise ist der Schritt des Kühlens verantwortlich für die Unterschiede zu Beels et al. [10].

Ein Vergleich zwischen unterschiedlichen Laboren hat gezeigt, dass trotz der Verwendung eines Standardprotokolls, das von Institution zu Institution leicht abwich, große Unterschiede in den Kalibrierkurven entstehen können [107]. Dies liegt vor allem daran, dass das Zählen der Foci sehr stark vom Operator abhängt und eine gewisse Erfahrung voraussetzt. Daher sollte dies, wenn möglich, innerhalb des Labors immer vom gleichen Operator durchgeführt werden, da sonst keine Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleistet ist.

Zu Unterschieden in den Foci-Werten kann es auch kommen, weil die meisten Labore die Zellen nicht fixieren, sondern sofort färben. Die hier gezeigte Methode der Fixierung ermöglicht es aber, Proben wiederholt zu färben, wenn bei der vorherigen Färbung Probleme aufgetreten sind.

Die hier beschriebene Pilotstudie zeigt bei drei Probanden erstmals, wie eine *in-vitro* Kalibrierung des DNA Damage Focus Assays für die interne Bestrahlung des Bluts durch die häufigsten in der Radionuklidtherapie verwendeten Radionuklide durchgeführt werden sollte. Bei den bisher veröffentlichten Kalibrierstudien, bei denen die Blutproben extern bestrahlt worden sind, ist die Anzahl der Probanden vergleichbar, teilweise sind in diesen Arbeiten sogar Datenpunkte zusammengefasst [10, 99, 100, 108], d.h. die einzelnen Datenpunkte sind nicht zu erkennen, da die Mittelwerte dargestellt werden.

Zur Erhöhung der statistischen Sicherheit und zur breiteren Verwendbarkeit des Assays für die interne Bestrahlung, müssten allerdings in Zukunft die Daten von weiteren Probanden erhoben und ein Spektrum von Nukliden mit weitaus unterschiedlicheren Emissionseigenschaften als bisher verwendet werden.



# 4 DNA Doppelstrangbrüche nach Radiopeptidtherapie

Patienten mit neuroendokrinen Tumoren (NET) [109–111] und auch anderen Tumoren (z.B. Meningiome [111–114] und Schilddrüsenkarzinome [115–117]), die Somatostatinrezeptoren des Subtyps 2 überexprimieren, werden mit  $^{177}\text{Lu}$ -DOTATATE und  $^{177}\text{Lu}$ -DOTATOC therapiert. Diese Therapie wird auch als Peptidrezeptor-Radionuklidtherapie (PRRT), verkürzt Radiopeptidtherapie, bezeichnet.

In diesem Teil der Arbeit wurden Patientenblutproben mittels  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 Immunfärbung auf DNA-Doppelstrangbrüche untersucht, die dazugehörige Energiedosis im Blut berechnet und der Verlauf der Foci modelliert. Zudem wurden die Ergebnisse mit den vorhergehenden Ergebnissen der in-vitro Kalibrierung verglichen.

Diese Studie wurde im Juni 2015 im European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging (EJNMMI) als „open access“ veröffentlicht [118]. Die Abbildungen sind aus dieser Veröffentlichung entnommen und haben daher englische Beschriftungen.

## 4.1 Materialien und Methoden

### 4.1.1 Studiendesign und Patientenkollektiv

In diese Studie wurden nur Patienten eingeschlossen, die zu ihrer ersten PRRT-Behandlung an das Universitätsklinikum Würzburg kamen. Damit wurden Effekte einer Vorbehandlung ausgeschlossen. Die Behandlung wird als „individueller Heilversuch“ bei Patienten durchgeführt, bei denen die Krankheit schon weit fortgeschritten ist oder es keine weiteren Therapieoptionen gibt. Eine Woche vor der Therapie sollte keine andere Behandlung oder Diagnostik mit ionisierender Strahlung erfolgt sein.

Einen Tag vor der Therapie werden die Patienten stationär aufgenommen. Am Tag der Verabreichung des Radiopharmakons bekommen die Patienten, zum Schutz der Nieren, eine Lösung aus L-Arginin und L-Lysin über 3,5 bis 4 h verabreicht. Anschließend wird die Aktivität mit Hilfe eines Perfusors über einen Zeitraum von 20 min appliziert. Der Endpunkt der Applikation ist der Zeitnullpunkt für die Messungen zur Dosimetrie. Im Normalfall bleiben die Patienten danach 48 h in der Therapiestation der Nuklearmedizin.

Vor Studienteilnahme wurden die Patienten von einem Arzt über die Studie aufgeklärt. Für diese Studie lag eine positive Stellungnahme der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität Würzburg (Az: 112/11) vor.

### 4.1.2 Blutabnahmen und Aktivitätsbestimmung

Kurz vor der Therapie (Nullwert) und nach 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 24 h und 48 h nach Therapiebeginn wurden Blutproben abgenommen und daraus die Lymphozyten separiert (wie in Kapitel 2.6.7 beschrieben). Die Aktivitätskonzentrationen in den einzelnen Blutproben wurden in einem Bohrlochmessplatz gemessen und die erhaltenen Werte wurden auf den Zeitpunkt der Blutabnahme zerfallskorrigiert. Daraus ergaben sich dann die Zeit-Aktivitäts-Kurven für das Blut.

### 4.1.3 Bestimmung der Aktivität im Ganzkörper

Bei allen Patienten wurden zwei Gammakameramessungen (Symbia T2; Siemens Healthcare, Deutschland) des Ganzkörpers durchgeführt (1 h und 24 h nach Therapiebeginn). Zudem wurden am ersten Tag mindestens drei Sondenmessungen über dem Patientenbett durchgeführt. Die erste Sondenmessung fand kurz nach Therapiebeginn statt. Dieser Wert wird für die Normierung des Ganzkörpers auf die verabreichte Aktivität verwendet. Weitere Sondenmessungen wurden jeden Tag morgens und abends durchgeführt. Die Messungen mit der Gammakamera und die der Sonde wurden kombiniert und daraus die Zeit-Aktivitäts-Kurven für den Ganzkörper für jeden Patienten generiert (siehe Kapitel 2.5.4).

### 4.1.4 Bestimmung der Energiedosis im Blut

Die Energiedosis wird, wie in Kapitel 2.5.4 beschrieben, berechnet. Daraus ergibt sich für  $^{177}\text{Lu}$ :

$$D_{\text{Bl}}(T_D) = A_0 \cdot \left( 85,3 \frac{\text{Gy ml}}{\text{GBq h}} \cdot \tau_{\text{pro ml Bl}}(T_D) + \frac{0,00185 \text{ Gy kg}^{2/3}}{wt^{2/3}} \frac{\text{Gy kg}^{2/3}}{\text{GBq h}} \cdot \tau_{\text{GK}}(T_D) \right) \quad (4.1)$$

## 4.2 Ergebnisse

### 4.2.1 Patienten

Insgesamt nahmen 16 Patienten (4 weiblich, 12 männlich) erfolgreich an der Studie teil. Die Patienten Lu9 und Lu15 beendeten die Teilnahme bereits nach der Nullprobe. Das mittlere Alter der Patienten betrug  $(61,2 \pm 10,5)$  Jahre und die mittlere verabreichte Aktivität  $(7,2 \pm 0,4)$  GBq. Die ersten 10 Patienten wurden mit  $^{177}\text{Lu}$ -DOTATATE (Lu1-Lu11) behandelt. Danach wurde das Pharmakon gewechselt, da DOTATATE nicht mehr lieferbar war. Die restlichen Patienten wurden daher mit  $^{177}\text{Lu}$ -DOTATOC (Lu12-Lu18) therapiert. Die meisten Patienten litten unter NET (10), weitere Erkrankungen waren Nebennierenrindenzinome, papilläres Schilddrüsenkarzinom, Meningiom oder die Tumorart war unbestimmt. Eine detaillierte Beschreibung der demographischen Patientendaten sowie der verabreichten Aktivität und des Radiopharmakons findet sich in Tabelle 4.1.

Tabelle 4.1: Demographische Daten der  $^{177}\text{Lu}$ -Patienten

Patienten ID	Geschlecht	Alter (y)	Gewicht (kg)	Aktivität (GBq)	Pharmakon	Tumorart
Lu1	männlich	65,8	96	7,03	DOTATOC	NET des Jejunums
Lu2	männlich	56,5	94	6,41	DOTATOC	NET des Pankreas
Lu3	männlich	72,8	92	7,94	DOTATOC	Papilläres Schilddrüsenkarzinom
Lu4	männlich	67,9	82	6,60	DOTATOC	unbekannter Primärtumor
Lu5	männlich	54,3	100	6,90	DOTATOC	Nebennierenrindenzkarzinom
Lu6	männlich	67,1	94	7,60	DOTATOC	NET der Lunge
Lu7	weiblich	56,4	41	7,00	DOTATOC	Nebennierenrindenzkarzinom
Lu8	männlich	30,6	95	7,30	DOTATOC	NET der Lunge
Lu10	männlich	68,5	82	7,05	DOTATOC	NET Ileum
Lu11	weiblich	67,2	70	7,13	DOTATOC	NET des Ileums
Lu12	männlich	61,5	70	7,70	DOTATATE	Meningiom
Lu13	männlich	61,4	64	7,70	DOTATATE	NET des Pankreas
Lu14	männlich	48,8	60	7,54	DOTATATE	NET der Lunge
Lu16	weiblich	67,5	79	7,01	DOTATATE	unbekannter Primärtumor
Lu17	männlich	61,3	75	6,97	DOTATATE	NET des Ileums
Lu18	weiblich	72,2	67	6,99	DOTATATE	NET des Magens

### 4.2.2 Biomarker $\gamma\text{-H2AX}$ und 53BP1

Direkt nach den einzelnen Blutabnahmen wurden die Lymphozyten separiert, fixiert und von unserem Kooperationspartner mittels Immunfluoreszenzfärbung gefärbt und manuell ausgezählt (siehe 2.6.7). Da nur die strahleninduzierten Foci-Werte (RIF) von Interesse sind, wurde von jedem Wert der Nullwert abgezogen. Auf Grund des Patientenmanagements konnten die nominellen Abnahmezeitpunkte allerdings nicht immer genau eingehalten werden.

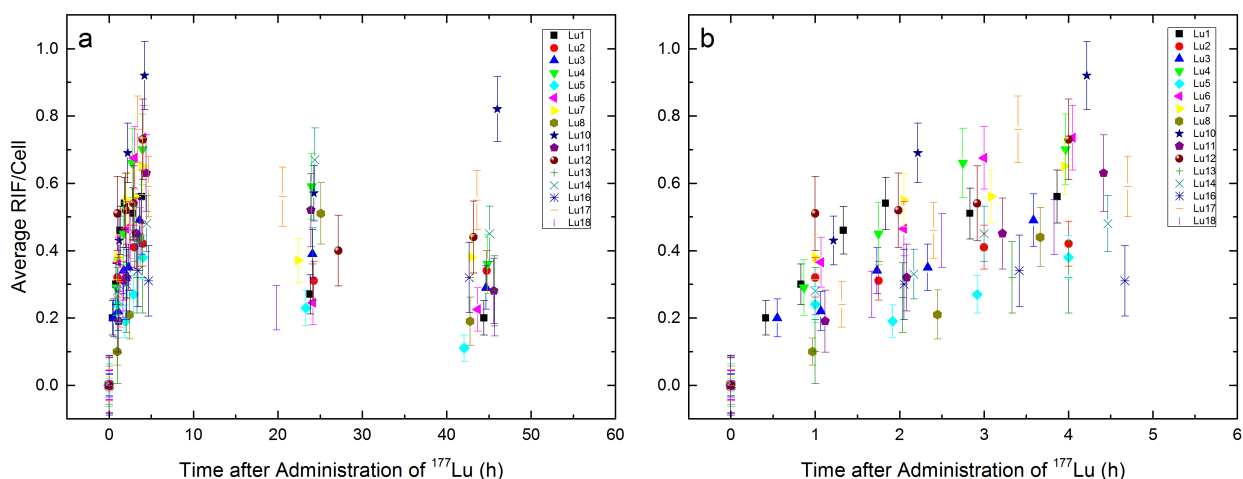


Abbildung 4.1: Anzahl der RIF/Zelle als Funktion der Zeit nach Verabreichung von  $^{177}\text{Lu}$ . (a) alle Zeitpunkte zwischen 0 h und 48 h, (b) detaillierter Ausschnitt der ersten Stunden nach Verabreichung: 0 h und 5 h [118].

Als Funktion der Zeit nimmt die Zahl der RIF/Zelle in den ersten Stunden nach Verabreichung von  $^{177}\text{Lu}$  zu (Abbildung 4.1). Danach erkennt man eine Abnahme der RIF/Zelle-Werte.

Um diese Abnahme genauer zu bestimmen, wurden die Mittelwerte der RIF/Zelle nach 4 h, 24 h und 48 h bestimmt. Die Mittelwerte ergaben sich zu  $(0,55 \pm 0,17)$  RIF/Zelle nach 4 h,  $(0,42 \pm 0,15)$  RIF/Zelle nach 24 h und  $(0,34 \pm 0,17)$  RIF/Zelle nach 48 h. Der Shapiro Wilk Test ergab, dass die Daten einer Normalverteilung folgen, dabei wurde der 48 h-Foci-Wert von Patient Lu10 als Ausreißer definiert und daher von weiteren Analysen ausgeschlossen. Mit dem gepaarten t-Test konnte gezeigt werden, dass sich die RIF/Zelle-Werte zu den Zeitpunkten 4 h, 24 h und 48 h signifikant voneinander unterscheiden ( $p < 0,008$ ) und somit den Abfall der Foci-Werte bestätigen.

### 4.2.3 Zeit-Aktivitäts-Kurven

Alle Zeit-Aktivitäts-Kurven des Ganzkörpers und des Blutes folgten einem bi-exponentiellen Verlauf (Gleichung 2.43), der mit Hilfe eines Fitprogrammes (Origin Version 9.1G+2015G) angepasst wurde. Das Integral dieser Funktionen entspricht den TIACs ( $\tau_{\text{pro ml Bl}}$  und  $\tau_{\text{GK}}$ ). Exemplarisch sind in Abbildung 4.2 jeweils eine Zeit-Aktivitäts-Kurve des Blutes und des Ganzkörpers für den Patienten Lu3 dargestellt. Die Mittelwerte der einzelnen Fitparameter sind in Tabelle 4.2 zusammengestellt.

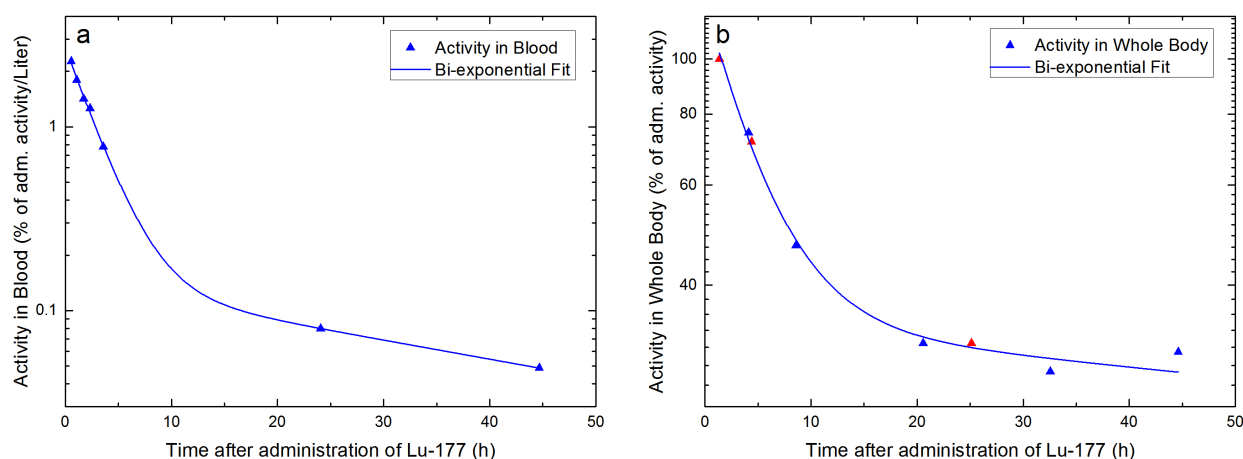


Abbildung 4.2: Zeit-Aktivitäts-Kurven für Patient Lu3. a: Zeit-Aktivitäts-Kurve des Blutes (% der verabreichten Aktivität/Liter als Funktion der Zeit). b: Zeit-Aktivitäts-Kurve für den Ganzkörper (% der verabreichten Aktivität als Funktion der Zeit). Die blauen Dreiecke entsprechen der Sondenmessung und die roten Dreiecke der Gammakameramessungen [118].

Tabelle 4.2: Mittelwerte der Fitparameter der Zeit-Aktivitäts-Kurven

	$a_{\text{Bl}1}$ ( $\text{ml}^{-1}$ )	$a_{\text{Bl}2}$ ( $\text{ml}^{-1}$ )	$\lambda_{\text{Bl}1}$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$\lambda_{\text{Bl}2}$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$a_{\text{GK}1}$	$a_{\text{GK}2}$	$\lambda_{\text{GK}1}$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$\lambda_{\text{GK}2}$ ( $\text{h}^{-1}$ )
Mean	1,77E-6	2,56E-5	2,71E-2	5,35E-1	7,45E-1	4,41E-1	2,95E-1	1,25E-2
SD	6,06E-7	1,35E-5	9,38E-3	4,63E-1	2,86E-1	2,14E-1	9,06E-2	1,12E-2

#### 4.2.4 Dosimetrie

Die Energiedosis im Blut wurde für jeden Patienten mit der Gleichung 4.1 und den dazugehörigen TIACs berechnet. Die einzelnen Dosiswerte für die Zeitpunkte 4 h, 24 h und 48 h sind in Tabelle 4.3 zusammengestellt. Die Mittelwerte der Energiedosis waren  $(34 \pm 13)$  mGy nach 4 h,  $(63 \pm 15)$  mGy nach 24 h und  $(79 \pm 16)$  mGy nach 48 h. Da die Patienten in der Regel nach 48 h entlassen wurden, war es nicht möglich Blutproben zu späteren Zeitpunkten zu gewinnen. Auf Grund der wenigen späten Datenpunkte wurde daher die Dosisberechnung nur bis zum letzten Datenpunkt durchgeführt und somit nicht die Gesamtdosis (Integration bis  $\infty$ ) berechnet, da dies sehr ungenau gewesen wäre. Zusätzlich sind in Tabelle 4.3 auch die  $\gamma$ -Anteile der Energiedosis zum Zeitpunkt 48 h enthalten. Diese liegen für alle Patienten zwischen 7% und 34%. Der  $\gamma$ -Anteil entspricht dem 2. Teil der Gleichung 4.1. und beschreibt die Bestrahlung des Blutes durch den Ganzkörper.

Tabelle 4.3: Energiedosen im Blut und Anzahl der RIF/Zelle zu den nominellen Blutabnahmezeitpunkten 4 h, 24 h und 48 h inklusive der  $\gamma$ -Anteile der Energiedosis zum Zeitpunkt 48 h.

Patient ID	Foci/Zelle Nullwert	D(4h) (mGy)	RIF/Zelle	D(24h) (mGy)	RIF/Zelle	D(48h) (mGy)	$\gamma$ -Anteil (%) 48 h	RIF/Zelle
Lu1	0,03	27,1	0,56	44,4	0,27	53,6	19	0,20
Lu2	0,01	23,7	0,42	50,7	0,31	68,0	29	0,34
Lu3	0,06	42,0	0,49	63,6	0,39	76,8	16	0,29
Lu4	0,20	16,4	0,70	40,5	0,59	57,4	33	0,36
Lu5	0,02	45,1	0,38	85,2	0,23	110,4	11	0,11
Lu6	0,04	29,1	0,74	55,2	0,25	75,5	18	0,23
Lu7	0,03	58,9	0,65	86,4	0,37	95,5	7	0,38
Lu8	0,16	8,4	0,44	34,1	0,51	57,5	34	0,19
Lu10	0,05	36,5	0,92	65,7	0,57	85,0	18	0,82*
Lu11	0,33	39,3	0,63	67,7	0,52	80,2	16	0,28
Lu12	0,35	43,0	0,73	65,8	0,40	73,3	10	0,44
Lu13	0,40	36,3	0,32	64,9	0,36	77,3	15	0,28
Lu14	0,11	54,0	0,48	81,0	0,67	88,2	8	0,45
Lu16	0,39	40,7	0,31	76,6	-	84,7	9	0,32
Lu17	0,11	33,3	0,59	59,9	0,56	67,1	12	0,55
Lu18	0,10	22,0	0,47	68,6	0,23	106,5	22	0,21
Mean	0,15	34,7	0,55	63,1	0,42	78,6	17	0,34
SD	0,14	13,3	0,17	15,4	0,15	16,4	9	0,17

\* Ausreißer

Wie man in Abbildung 4.3 beispielhaft für den Patienten Lu3 erkennen kann, nahm die Dosis in den ersten Stunden schnell zu. Bei den meisten Patienten wurden bereits nach 5 h 50% der Energiedosis im Blut (D(48 h)) erreicht und danach stieg sie nur noch sehr langsam an. Dies spiegelt sich auch in der Dosisleistung wider. Nach 48 h lag sie bereits unter  $0,5 \text{ mGy h}^{-1}$ .

Abbildung 4.4 zeigt die RIF/Zelle-Werte als Funktion der Energiedosis im Blut für den selben Patienten (Lu3). Die Zahl der RIF/Zelle, steigt wie erwartet, mit der Dosis an, allerdings

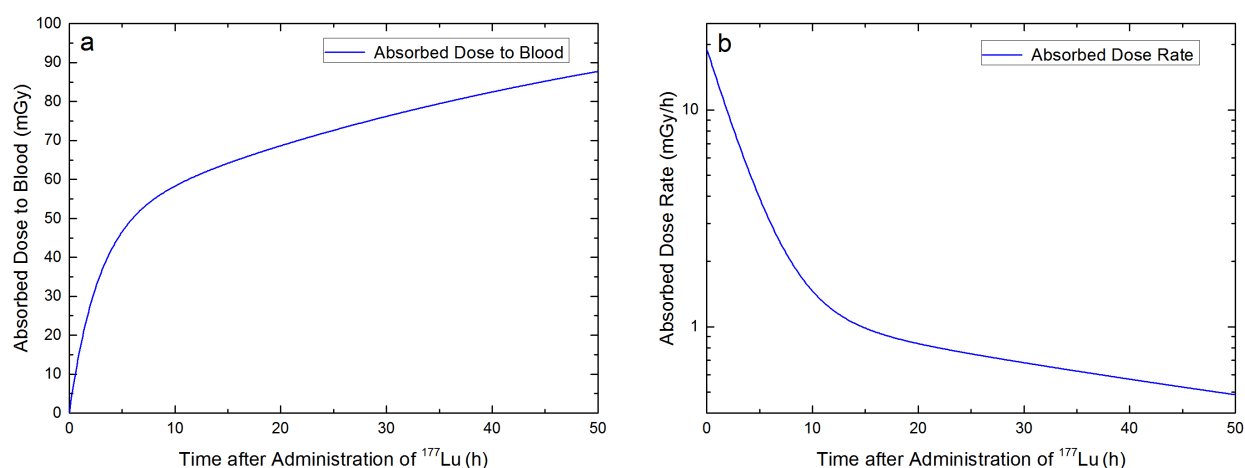


Abbildung 4.3: Beispielhafter Dosis-/Dosisleistungsverlauf für den Patienten Lu3. Verlauf der Energiedosis im Blut als Funktion der Zeit nach Verabreichung (a). Verlauf der dazugehörigen Dosisleistung im Blut (b) [118].

nur bis zu dem Abnahmezeitpunkt 3,6 h, danach nehmen die Foci-Werte ab.

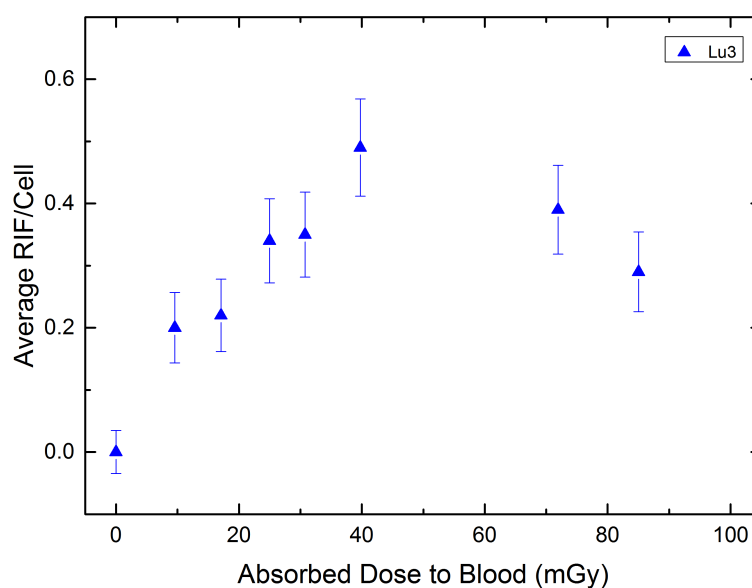


Abbildung 4.4: Zahl der RIF/Zelle von Patient Lu3 als Funktion der Energiedosis. Die Dosiswerte entsprechen den Abnahmezeitpunkten 0 h, 0,6 h, 1,1 h, 1,7 h, 2,3 h, 3,6 h, 24,1 h und 44,7 h [118].

#### 4.2.5 In-vivo Kalibrierung nach Radiopeptidtherapie

Gemäß den Ergebnissen des in-vitro Kalibrierexperiments würde man in den ersten Stunden nach Therapie einen linearen Zusammenhang zwischen der Zahl der RIF/Zelle und der Dosis erwarten. Trägt man die RIF/Zelle-Werte aller Patienten als Funktion der Energiedosis auf,

erkennt man, dass sie sich in den ersten Stunden (4 h) linear verhalten (Abbildung 4.5). Um diese Linearität mit den in-vitro Daten (Kapitel 3) zu vergleichen, wurden alle Datenpunkte der ersten 4 h zusammengefasst und eine lineare Anpassung durchgeführt. Für die in-vivo Kalibrierkurve erhält man die folgende Funktion ( $R^2 = 0,72$ ):

$$y = 0,0321 \cdot \text{RIF/Zelle} + 0,0127 \cdot \text{RIF/Zelle} \cdot \text{mGy}^{-1} \cdot x \quad (4.2)$$

dabei gibt  $y$  die Zahl der RIF/Zelle und  $x$  die Energiedosis im Blut in mGy an. Der Standardfehler des y-Achsenabschnitts ist  $\pm 0,0152$  RIF/Zelle und der Fehler der Steigung ist  $\pm 0,0009$  RIF/Zelle mGy $^{-1}$ . Zum Vergleich sind beide Kalibrierkurven (in-vitro und in-vivo) mit ihrem jeweiligen 95% Konfidenzintervall (engl. confidence interval, CI) abgebildet. Die relative Abweichung zwischen der Steigung der in-vitro Kalibrierung und der in-vivo Kalibrierung mit  $^{177}\text{Lu}$  beträgt 13,6%.

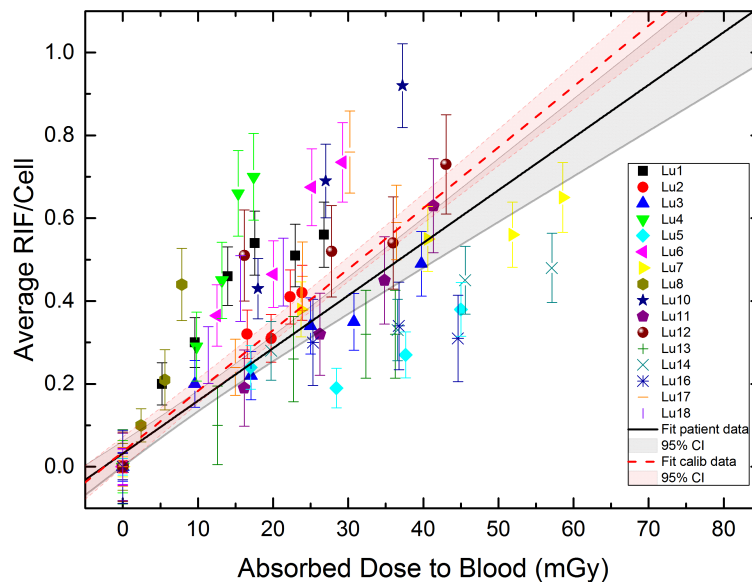


Abbildung 4.5: Zahl der RIF/Zelle als Funktion der Energiedosis in den ersten 4 h nach Verabreichung des Radiopharmakons. Die schwarze Gerade zeigt die den in-vivo Fit durch die Patientendaten nach  $^{177}\text{Lu}$ -Therapie mit dem dazugehörigen Konfidenzintervall. Die rote gestrichelte Gerade zeigt zum Vergleich den Fit der in-vitro Kalibrierung (vergleiche Gleichung 3.1) [118].

#### 4.2.6 Modellierung des zeitlichen Verlaufs der RIF/Zelle nach PRRT

Wie bereits in Kapitel 4.2.5 gezeigt wurde, kann die Zahl der RIF/Zelle in den ersten 4 h nach Therapiebeginn durch eine lineare Funktion genähert werden. Ein Einfluss der Reparatur, beschrieben durch eine Abnahme der Foci, wurde bis zu diesem Zeitpunkt nach der PRRT nicht beobachtet.

Wie experimentell nach externer Bestrahlung gezeigt wurde, kann der zeitliche Abfall des RIF/Zelle-Verlaufs durch das Einsetzen von Reparaturprozessen durch eine bi-exponentielle

Funktion angenähert werden [89, 90]. Zur Modellierung des zeitlichen Verlaufes der RIF/Zelle wurde daher eine Funktion aufgestellt, die einerseits eine lineare Induktion der Foci als Funktion der zeitabhängigen Energiedosis zu Beginn der Therapie beschreibt (1. Term in Gleichung 4.3), andererseits die zeitliche Abnahme der Foci durch Reparatur durch eine Kombination von Exponentialfunktionen (2. Term) annähert. Für den 1. Term wurde die Geradengleichung der in-vitro Kalibrierung verwendet (Gleichung 3.1):

$$N(t) = (a + m \cdot b \cdot D_{\text{Bl}}(t)) \cdot (k \cdot e^{-\lambda t} + (1 - k) \cdot e^{-\nu t}) \quad (4.3)$$

$N(t)$  ist die Zahl der RIF/Zelle zum Zeitpunkt  $t$ .  $a$  und  $b$  sind die Steigung und der y-Achsenabschnitt der in-vitro Kalibrierung (Gleichung 3.1),  $m$  beschreibt die Abweichung des linearen Anstiegs des individuellen Patienten von der in-vitro Kalibrierung und  $D_{\text{Bl}}(t)$  ist die zeitabhängige Energiedosis im Blut (Gleichung 4.1).  $\lambda$  und  $\nu$  beschreiben die Reparaturrate der Foci, wobei die erste Komponente  $\lambda$  eine schnelle Reparatur und die zweite Komponente  $\nu$  eine langsame beschreibt. Je größer  $\lambda$  bzw.  $\nu$  ist, desto schneller erfolgt die Reparatur.  $k$  ist ein anpassbarer Parameter, der den prozentualen Anteil der jeweiligen Reparaturkomponente angibt.

Auf Grund der wenigen Datenpunkte zu späten Zeitpunkten ( $>12$ h) war es allerdings für diese Studie nicht möglich, einen bi-exponentiellen Fit durchzuführen. Daher wurde  $k = 1$  gesetzt. Damit wird der 2. Teil der Gleichung 4.3 durch eine mono-exponentielle Reparaturrate beschrieben und nur die Reparaturrate  $\lambda$  berechnet. Für jeden Patienten wurde ein separater Fit durchgeführt, die entsprechenden Fitparameter  $m$  und  $\lambda$  sind in Tabelle 4.4 zu finden.

Die Patientendaten als Funktion der Zeit inklusive des modellierten Foci-Anstiegs und -Abfalls sind in Abbildung 4.6 abgebildet. Für diese mittlere Kurve ( $\bar{N}(t)$ ) wurden die

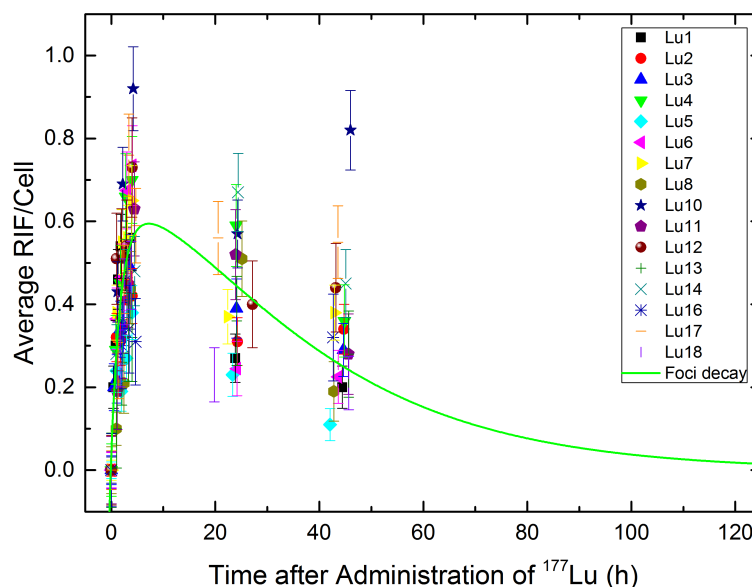


Abbildung 4.6: Zahl der RIF/Zelle als Funktion der Zeit nach Verabreichung von  $^{177}\text{Lu}$ . Für die Kurve, die den zeitlichen Foci-Verlauf beschreibt, wurden die Mittelwerte der einzelnen Fitparameter der Patienten verwendet [118].



Mittelwerte der Fitparameter aus Tabelle 4.2 und die Mittelwerte aller Fitparameter aus Gleichung 4.3 verwendet:  $m = 1,28 \pm 0,66$ ,  $\lambda = (0,0379 \pm 0,0187) \text{ h}^{-1}$ . Diese Reparaturrate entspricht einer mittleren „Halbwertszeit“ von 18,3 h. Das Maximum dieser Kurve liegt bei 7,2 h. Nach diesem Verlauf fällt die Zahl der RIF/Zelle nach 75,5 h unter den Wert der maximalen Standardabweichung des Nullwerts von  $(0,00 \pm 0,09)$  RIF/Zelle und hat somit das Niveau des Nullwertes erreicht.

Tabelle 4.4: Fitparameter

Patienten ID	$\lambda$ ( $\text{h}^{-1}$ )	m
Lu1	0,0553	1,86
Lu2	0,0295	1,14
Lu3	0,0313	0,83
Lu4	0,0407	2,84
Lu5	0,0506	0,55
Lu6	0,0673	1,95
Lu7	0,0345	0,82
Lu8	0,0424	1,91
Lu10	0,0261	1,54
Lu11	0,0287	0,94
Lu12	0,0366	1,23
Lu13	0,0234	0,60
Lu14	0,0140	0,63
Lu16	0,0194	0,56
Lu17	0,0218	1,22
Lu18	0,0841	1,81
Mean	0,0379	1,28
SD	0,0187	0,66

## 4.3 Diskussion

Kurz vor der Veröffentlichung dieser Daten [118] publizierten Denoyer et al. [15] eine sehr ähnliche Studie. Sie untersuchten das Verhalten von  $\gamma$ -H2AX-Foci in peripheren Lymphozyten von 11 Patienten nach PRRT. Nach Aufbereitung der Proben wurden die Foci-Werte mit Hilfe einer Computersoftware [119] in 50-100 Zellen bis 72 h nach Therapiebeginn gezählt. Bei Denoyer et al. [15] wurden die Daten nicht wie in dieser vorliegenden Arbeit bei der ersten Therapie gewonnen, sondern auch während wiederholter Therapien. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass bereits vorangegangene Therapien Einfluss auf die Entstehung von  $\gamma$ -H2AX-Foci hatten. Bei einigen Patienten wurde zusätzlich zur PRRT ein Chemotherapeutikum (5-FU) verabreicht. Dieses Medikament könnte die Zahl der Foci/Zelle verändert haben. Im Gegensatz zu den hier erzielten Ergebnissen, konnten Denoyer et al. keinen klaren Zusammenhang zwischen der Energiedosis im Blut und der Zahl der Foci/Zelle herstellen. Die maximalen Foci-Werte traten zu ganz unterschiedlichen Zeitpunkten auf, bei einem Patienten sogar erst nach 72 h.

Die mittlere gesamte Energiedosis im Blut betrug bei Denoyer et al. nur  $(42,0 \pm 3,9)$  mGy, dieser Wert ist nur halb so groß wie der hier berechnete Dosiswert nach 48 h von  $(79 \pm 16)$  mGy. Aufgrund der sehr ungenauen Angaben zur Dosisberechnung in dieser Publikation ist dieser Wert nicht nachvollziehbar.

Die erste Arbeit zu  $\gamma$ -H2AX nach Radioiodtherapie von Lassmann et al. [13] gibt im Blut von 24 Patienten eine mittlere gesamte Energiedosis von  $(310 \pm 100)$  mGy an. Dieser Wert ist deutlich größer als der in dieser Arbeit berechnete  $^{177}\text{Lu}$ -Dosiswert nach 48 h. Der Unterschied kommt unter anderem daher, dass der  $\gamma$ -Anteil an der Energiedosis von  $^{177}\text{Lu}$  um den Faktor 10 kleiner ist (vergleiche Tabelle 2.5) und somit sehr viel weniger Energie im Blut durch Photonen deponiert wird. Bei den meisten Patienten ist der  $\gamma$ -Anteil zum Zeitpunkt 48 h kleiner als 20% (siehe Tabelle 4.3). Zudem hat  $^{177}\text{Lu}$  in den ersten Stunden eine kürzere effektive Halbwertszeit als  $^{131}\text{I}$  (Vergleiche dazu die Zerfallsraten  $\lambda_{\text{BI}1}$  in den Tabellen 4.2 und 5.2 für  $^{177}\text{Lu}$  und  $^{131}\text{I}$ ), wodurch auch weniger Energie im Blut deponiert wird. In der Studie von Lassmann et al. [13] lag das Foci-Maximum bei 2 h, allerdings gab es auch keine weiteren Messwerte am ersten Tag. Die Foci-Werte nach 24 h, 48 h und bis zu 120 h nahmen ähnlich wie bei den hier vorgestellten  $^{177}\text{Lu}$ -Daten ab.

Doai et al. [14] konnten nach Radioiodtherapie keinen zeitlichen Verlauf ihrer Foci-Werte nachweisen, da der erste Messwert erst bei 96 h lag. Zur Bestimmung der Energiedosis im Blut wurde eine Kalibrierung durchgeführt. Dazu bestrahlten sie Blutproben von Probanden extern mit unterschiedlichen Dosen und bestimmten die Foci-Werte. Aus dem linearen Verlauf konnte nun an Hand der in-vivo Foci-Werte die Dosis bestimmt werden. Sie erhielten demnach eine Energiedosis von  $(770 \pm 310)$  mGy. Dieser Dosiswert ist im Vergleich zu den  $^{131}\text{I}$ -Werten von Lassmann et al. und dem hier berechneten  $^{177}\text{Lu}$ -Wert deutlich zu hoch. Angesichts der Ergebnisse aus dieser Studie erweist sich der Wert nach 96 h als wenig geeignet, um daraus eine Dosiswirkungsbeziehung zwischen der Energiedosis und der Zahl der strahleninduzierten Foci herzustellen. Zu diesem Zeitpunkt überwiegt die Abnahme der Foci aufgrund von DSB-Reparatur und es werden nur noch sehr wenige oder keine neuen Foci induziert.

Die leichte Abweichung von der in-vitro Kalibrierkurve von 14% innerhalb der ersten 4 h kann dadurch erklärt werden, dass in den ersten Stunden möglicherweise bereits eine geringe Foci-Abnahme infolge von Dephosphorylierung eintritt, die den linearen Verlauf noch nicht messbar beeinflusst, aber zu einer Reduktion der Steigung führen könnte.

Zudem wird bei der Berechnung der Energiedosis durch die Annahme, dass die gesamte  $\beta$ -Energie im Blut deponiert wird, dieser Anteil überschätzt. Hänscheid et al. [120] konnten zeigen, dass bei Berücksichtigung der realen Blutgefäßgrößen der  $\beta$ -Anteil geringer ist, als in dem hier verwendeten Modell angenommen wurde. In einer weiteren Veröffentlichung von Hänscheid et al. [57] wurde in einem theoretischen Modell gezeigt, dass möglicherweise die  $\gamma$ -Komponente bei  $^{177}\text{Lu}$  um den Faktor 2 unterschätzt wird. Da es aber bis zu diesem Zeitpunkt der Arbeit noch kein spezifisches Modell zur Berechnung der Energiedosis im Blut für die PRRT-Therapie gibt, wurde für die blutbasierte Dosimetrie das Verfahren der EANM SOP für das DTC [55] auf die PRRT übertragen.

Die Foci-Abnahme als Funktion der Zeit nach Bestrahlung wurde bereits von Horn et al. [89] und Mariotti et al. nach externer Bestrahlung [90] durch einen bi-exponentiellen Verlauf beschrieben. Die kurze Reparaturrate betrug bei Horn et al.  $0,35 \text{ h}^{-1}$  (77%) und bei Mariotti et al.  $0,23 \text{ h}^{-1}$  (91%). Die lange Komponente betrug bei Horn et al.  $0,018 \text{ h}^{-1}$  (23%) und bei Mariotti et al.  $3,33 \cdot 10^{-12} \text{ h}^{-1}$  (9%). Der in dieser Studie berechnete Mittelwert für den mono-exponentiellen Zerfall beträgt  $(0,0379 \pm 0,0187) \text{ h}^{-1}$  und ist ungefähr doppelt so groß wie der Wert von Horn et al. Wegen der wenigen Datenpunkte zu späten Zeitpunkten konnte in der hier beschriebenen Studie nur eine Reparaturrate ermittelt werden. Ein direkter Vergleich mit den Werten von Horn et al. und Mariotti et al. ist daher nicht möglich, aber der hier ermittelte Wert liegt in derselben Größenordnung.

Diese Studie zeigt zum ersten Mal einen linearen Zusammenhang zwischen der Anzahl der strahleninduzierten Foci und der Energiedosis im Blut in den ersten Stunden nach  $^{177}\text{Lu}$ -Verabreichung. Zudem weicht die Steigung dieser Funktion nur sehr wenig von derjenigen der in-vitro Kalibrierung ab. Dies ermöglicht, diesen Assay als „in-vivo Dosimeter“ für die ersten Stunden nach Therapie in Betracht zu ziehen. Weiterhin werden der weitere zeitliche Verlauf der dosisabhängigen Focus-Induktion und die Abnahme der RIF/Zelle durch Reparatur durch Anpassen an eine Modellfunktion beschrieben. Das Maximum dieser Kurve liegt bei etwa 7 h. Nach 75 h erreicht die Zahl der RIF/Zelle das Niveau des Nullwertes.

Das Ergebnis dieser Studie ist somit eine umfassende Charakterisierung der Induktion und des Abklingens der DNA Schäden nach Radiopeptidtherapie.



# 5 DNA Doppelstrangbrüche nach Radioiodtherapie

Bei Patienten mit differenzierten Schilddrüsenkarzinomen wird die Schilddrüse operativ entfernt (Thyreoidektomie). Dabei bleiben meistens Schilddrüsenreste übrig. Diese und auch eventuelle  $^{131}\text{I}$ -speichernde Metastasen werden mit Hilfe der sogenannten Radioiodtherapie (RIT) mit  $^{131}\text{I}$  behandelt [121, 122]. Dieses Patientenkollektiv erhält normalerweise keinerlei Vorbehandlungen mit Chemotherapeutika oder Strahlentherapie. Daher eignet sich diese Therapie besonders gut für die Bestimmung von Biomarkern im Blut dieser Patienten nach Radionuklidtherapie.

Die Vorgehensweise bei dieser Studie entsprach weitgehend der in Kapitel 4 dargestellten Methode, deshalb wird auf dieses Kapitel verwiesen und die Materialien und Methoden werden kürzer beschrieben.

## 5.1 Materialien und Methoden

### 5.1.1 Studiendesign und Patientenkollektiv

In diese Studie wurden nur Patienten eingeschlossen, die zu ihrer ersten Radioiodtherapie nach vollständiger Thyreoidektomie eines papillären oder follikulären Schilddrüsenkarzinoms an das Universitätsklinikum Würzburg kamen. Damit wurden Effekte einer Vorbehandlung ausgeschlossen. Vor einer Radioiodtherapie bekam jeder Patient 3 bis 8 MBq  $^{131}\text{I}$  verabreicht, um festzustellen, wie viel Iod noch im Schilddrüsenbett gespeichert wurde. War die  $^{131}\text{I}$ -Speicherung nach 24 h größer als 5%, wurde der Patient von der Studie ausgeschlossen und eine weitere Operation zur Entfernung der Schilddrüsenreste in Betracht gezogen. Außer der Schilddrüsen-Uptake-Messung wurden keine weiteren Untersuchungen mit ionisierender Strahlung vor der Radioiodtherapie durchgeführt.

Vor Studienteilnahme wurden die Patienten von einem Arzt über die Studie aufgeklärt. Für diese Studie lag eine positive Stellungnahme der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität Würzburg (Az: 112/11) vor.

$^{131}\text{I}$  wird in der Regel in Form einer Kapsel verabreicht. Der Zeitpunkt der Kapselgabe ist der Zeitnullpunkt für die Messungen zur Dosimetrie. Die Patienten bleiben danach mindestens 48 h, im Normalfall aber zwischen 3 und 4 Tagen in der Nuklearmedizin, bis die Dosisleistung im Abstand von 2 m unter  $3,5 \mu\text{Sv h}^{-1}$  gefallen ist.

### 5.1.2 Blutabnahmen und Aktivitätsbestimmung

Bei den Patienten wurden kurz vor der Therapie und nach 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 24 h, 48 h, 72 h, und bei manchen Patienten bis zu 168 h nach Therapiebeginn Blutproben abgenommen und daraus die Lymphozyten separiert (wie in Kapitel 2.6.7 beschrieben). Die Aktivitätskonzentrationen in den einzelnen Blutproben wurden in einem Bohrlochmessplatz gemessen und die erhaltenen Werte wurden auf den Zeitpunkt der Blutabnahme zerfallskorrigiert. Daraus ergaben sich dann die Zeit-Aktivitäts-Kurven für das Blut.

### 5.1.3 Bestimmung der Aktivität im Ganzkörper

Bei den  $^{131}\text{I}$ -Patienten wurden im Gegensatz zu den  $^{177}\text{Lu}$ -Patienten keine Gammakameramessungen durchgeführt, da der  $\gamma$ -Anteil beim  $^{131}\text{I}$  zu hoch ist, um eine Gammakameramessungen am ersten Tag durchzuführen, da Totzeiteffekte die Messung verfälschen würden. Daher wurden nur Sondenmessungen durchgeführt (siehe Kapitel 2.5.5). Die erste Messung fand kurz nach Therapiebeginn statt. Dieser Wert wurde zur Normierung verwendet und entsprach 100% der verabreichten Aktivität.

### 5.1.4 Bestimmung der Energiedosis im Blut

Die Energiedosis wird, wie in Kapitel 2.5.4 beschrieben, nach der EANM SOP [55] berechnet. Daraus ergibt sich für  $^{131}\text{I}$ :

$$D_{\text{Bl}}(T_{\text{D}}) = A_0 \cdot \left( 108,0 \frac{\text{Gy ml}}{\text{GBq h}} \cdot \tau_{\text{pro ml Bl}}(T_{\text{D}}) + \frac{0,0188 \text{ Gy kg}^{2/3}}{wt^{2/3}} \frac{\text{Gy kg}^{2/3}}{\text{GBq h}} \cdot \tau_{\text{GK}}(T_{\text{D}}) \right) \quad (5.1)$$

## 5.2 Ergebnisse

### 5.2.1 Patienten

Insgesamt nahmen 20 Patienten (12 weiblich, 8 männlich) erfolgreich an der Studie teil. Der Patient P28 wurde aus der Studie ausgeschlossen, da er nicht therapiert wurde. Das mittlere Alter der Patienten betrug  $55,1 \pm 17,1$  Jahre, die mittlere verabreichte Aktivität  $(3,5 \pm 0,3)$  GBq. Bis auf Patient P35 wurden alle Patienten in der Schilddrüsenunterfunktion (Hypothyreose) therapiert. P35 erhielt rekombinantes humanes TSH (Thyreoida-stimulierendes Hormon) als Alternative zum Schilddrüsenentzug und hatte somit eine normale Schilddrüsenfunktion (Euthyreose). Die Mehrzahl der Patienten hatten ein papilläres Schilddrüsenkarzinom (16). Eine detaillierte Beschreibung der demographischen Patientendaten findet sich in Tabelle 5.1.

Alle Patienten erhielten zum Zeitpunkt der Entlassung oder einige Tage später eine Ganzkörperaufnahme mit der Gammakamera zur Therapiekontrolle. Daher war es möglich auch noch zu späten Zeitpunkten (bis zu 168 h) eine Blutprobe zu gewinnen, ohne die Patienten für eine Blutabnahme erneut einzubestellen.

Tabelle 5.1: Demographische Daten der  $^{131}\text{I}$ -Patienten

Patienten ID	Geschlecht	Alter (y)	Gewicht (kg)	Aktivität (GBq)	Tumorart
P27	weiblich	56,8	50	3,9	papillär
P29	männlich	40,7	116	3,5	papillär (follikuläre Variante)
P30	männlich	80,2	137	3,7	papillär
P31	männlich	30,3	78	3,5	papillär (follikuläre Variante)
P32	weiblich	67,7	82	3,5	papillär
P33	weiblich	73,7	58	3,6	follikulär
P34	männlich	50,5	96	3,7	papillär
P35	weiblich	54,2	67	3,7	papillär
P36	weiblich	22,1	62	3,5	papillär
P37	männlich	41,6	86	3,5	follikulär
P38	männlich	68,0	100	3,6	schwach differenziert
P39	männlich	42,3	95	3,5	papillär
P40	weiblich	62,9	66	3,2	papillär
P41	weiblich	56,5	71	3,5	papillär
P42	weiblich	26,5	68	3,7	papillär
P43	weiblich	77,1	65	3,7	papillär
P44	männlich	65,7	105	3,7	follikulär
P45	weiblich	49,3	85	3,8	papillär
P46	weiblich	58,9	82	2,5	papillär (follikuläre Variante)
P47	weiblich	76,9	104	3,6	papillär

### 5.2.2 Biomarker $\gamma\text{-H2AX}$ und 53BP1

Direkt nach den einzelnen Blutabnahmen wurden die Lymphozyten separiert, fixiert und von unserem Kooperationspartner mittels Immunfluoreszenzfärbung gefärbt und manuell ausgezählt.

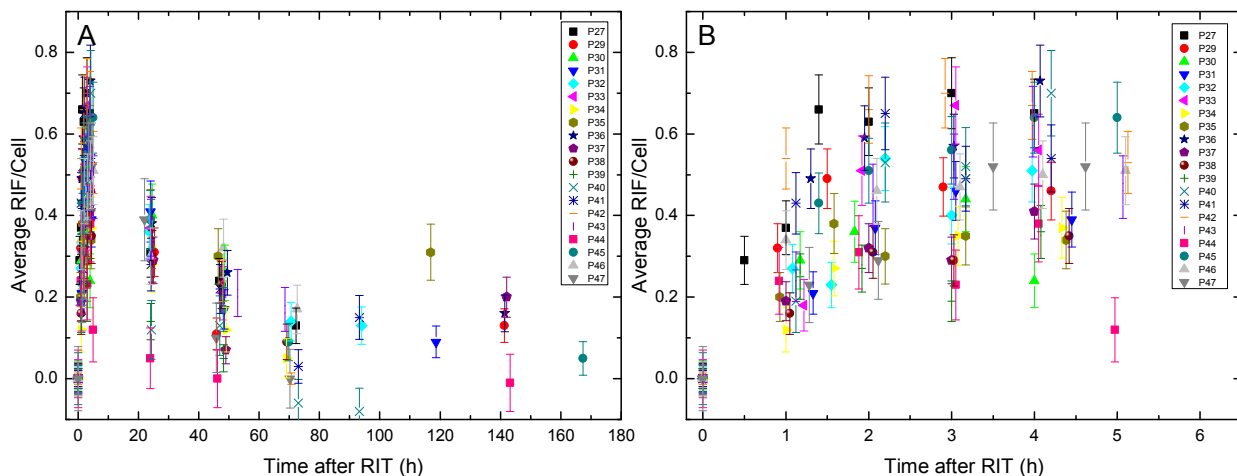


Abbildung 5.1: Anzahl der RIF/Zelle als Funktion der Zeit nach Verabreichung von  $^{131}\text{I}$ . (A) alle Zeitpunkte zwischen 0 h und 168 h, (B) detaillierter Ausschnitt der ersten Stunden nach Verabreichung: 0 h bis 5 h.

Als Funktion der Zeit nimmt die Anzahl der RIF/Zelle in den ersten Stunden nach Verabreichung des Radiopharmakons zu (Abbildung 5.1). Allerdings erkennt man schon nach kurzer Zeit eine sehr viel langsamere Zunahme der RIF/Zelle. Die Anzahl der RIF/Zelle nehmen nach dem letzten Messwert am ersten Tag deutlich ab.

Um diese Abnahme genauer zu bestimmen, wurden die Mittelwerte der RIF/Zelle nach 4 h, 24 h und 48 h bestimmt. Die Mittelwerte ergaben sich zu  $(0,50 \pm 0,14)$  RIF/Zelle nach 4 h,  $(0,31 \pm 0,10)$  RIF/Zelle nach 24 h und  $(0,18 \pm 0,09)$  RIF/Zelle nach 48 h. Die Mediane waren 0,51, 0,31 und 0,21 RIF/Zelle. Da der Datensatz bei 24 h nicht einer Normalverteilung entsprach, wurden alle drei Datensätze mit einem nicht-parametrischen Test (Wilcoxon Paarvergleichstest) verglichen. Damit konnte bestätigt werden, dass sich die Mediane der RIF/Zelle zu den drei unterschiedlichen Zeitpunkten signifikant voneinander unterscheiden ( $p < 0,0003$ ) und somit die Abnahme bestätigt werden.

### 5.2.3 Zeit-Aktivitäts-Kurven

Das Radioiod gelangt erst ins Blut, sobald sich die Kapsel aufgelöst hat. Diese verzögerte Aufnahme wurde in den Zeit-Aktivitäts-Kurven des Blutes mit einer Uptakephase berücksichtigt. Gemäß Leggett [123] wird von einem  $^{131}\text{I}$ -Uptake von 5% pro Minute aus dem Gastrointestinaltrakt ausgegangen. Deshalb wurden die ersten 20 min der Zeit-Aktivitäts-Kurven durch einen linearen Anstieg beschrieben. Der weitere Verlauf wurde durch bi- oder tri-exponentielle abnehmende Funktionen beschrieben (siehe Gleichung 2.43). Die Zeit-Aktivitäts-Kurven des Ganzkörpers folgten entweder einem mono-, bi- oder tri exponentiellen Verlauf. Alle Kurven wurden mit Hilfe eines Fitprogrammes (Origin Version 9.1G+2015G) angepasst. Die Mittelwerte der einzelnen Fitparameter sind in den Tabellen 5.2 und 5.3 zusammengestellt. Das Integral dieser Funktionen entspricht den TIACs ( $\tau_{\text{pro ml Bl}}$  und  $\tau_{\text{GK}}$ ).

Tabelle 5.2: Mittelwerte der Fitparameter der Zeit-Aktivitäts-Kurven des Blutes

	$a_{\text{Bl}1}$ ( $\text{ml}^{-1}$ )	$a_{\text{Bl}2}$ ( $\text{ml}^{-1}$ )	$a_{\text{Bl}3}$ ( $\text{ml}^{-1}$ )	$\lambda_{\text{Bl}1}$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$\lambda_{\text{Bl}2}$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$\lambda_{\text{Bl}3}$ ( $\text{h}^{-1}$ )
Mean	4,06E-5	1,93E-5	3,42E-7	4,67E-1	4,53E-2	3,60E-3
SD	1,64E-5	1,28E-5	9,57E-7	3,44E-1	3,71E-2	0

Tabelle 5.3: Mittelwerte der Fitparameter der Zeit-Aktivitäts-Kurven des Ganzkörpers

	$a_{\text{GK}1}$	$a_{\text{GK}2}$	$a_{\text{GK}3}$	$\lambda_{\text{GK}1}$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$\lambda_{\text{GK}2}$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$\lambda_{\text{GK}3}$ ( $\text{h}^{-1}$ )
Mean	7,79E-1	2,02E-1	2,06E-2	1,33E-1	1,18E-2	6,77E-3
SD	2,92E-1	2,81E-1	9,22E-2	1,60E-1	1,27E-2	1,42E-2



### 5.2.4 Dosimetrie

Die Energiedosis im Blut wurde für jeden Patienten mit der Gleichung 5.1 und den dazugehörigen TIACs berechnet. Die einzelnen Dosiswerte für die Zeitpunkte 4 h, 24 h und 48 h sind in Tabelle 5.4 zusammengestellt. Die Mittelwerte der Energiedosis waren  $(66 \pm 17)$  mGy nach 4 h,  $(205 \pm 49)$  mGy nach 24 h und  $(263 \pm 63)$  mGy nach 48 h. Der Mittelwert der gesamten Energiedosis (Integration bis  $\infty$ ) betrug  $(367 \pm 102)$  mGy. Zusätzlich sind in Tabelle 5.4 auch die  $\gamma$ -Anteile der Energiedosis zum Zeitpunkt 48 h enthalten. Diese liegen für alle Patienten zwischen 19% und 31%. Der  $\gamma$ -Anteil entspricht dem 2. Teil der Gleichung 5.1. und beschreibt die Bestrahlung des Blutes durch den Ganzkörper.

Tabelle 5.4: Energiedosen im Blut und Anzahl der RIF/Zelle zu den nominellen Blutabnahmezeitpunkten 4 h, 24 h und 48 h inklusive der  $\gamma$ -Anteile der Energiedosis zum Zeitpunkt 48 h.

Pat ID	Foci/Zelle Nullwert	D(4 h) (mGy)	RIF/Zelle	D(24 h) (mGy)	RIF/Zelle	D(48 h) (mGy)	$\gamma$ -Anteil (%) 48 h	RIF/Zelle	$D(\infty)$ (mGy)
P27	0,024	98	0,650	284	0,310	344	21	0,240	366
P29	0,020	52	0,460	139	0,310	169	25	0,110	299
P30	0,045	53	0,240	208	0,400	331	25	0,260	594
P31	0,024	51	0,390	163	0,410	203	28	0,170	370
P32	0,028	72	0,510	252	0,360	340	23	-	429
P33	0,047	98	0,560	270	0,370	328	19	0,210	350
P34	0,042	61	0,370	199	0,280	262	31	0,120	301
P35	0,040	59	0,340	149	0,390	203	27	0,300	665
P36	0,020	69	0,730	225	0,380	272	24	0,260	315
P37	0,020	55	0,410	186	0,290	231	29	0,070	340
P38	0,032	56	0,350	195	0,300	269	32	0,230	322
P39	0,024	60	0,360	156	0,140	207	25	0,050	256
P40	0,063	69	0,700	208	0,120	254	22	0,130	420
P41	0,037	86	0,540	265	0,280	347	27	0,220	401
P42	0,014	79	0,670	214	-	263	20	0,240	285
P43	0,035	92	0,630	286	0,370	363	20	0,210	418
P44	0,071	57	0,380	192	0,050	230	23	0,000	269
P45	0,035	63	0,640	205	0,390	264	25	0,170	380
P46	0,042	37	0,500	112	0,300	138	31	0,320	275
P47	0,079	56	0,520	183	0,390	247	23	0,100	286
Mean	0,037	66	0,498	205	0,307	263	25	0,179	367
SD	0,004	17	0,140	49	0,102	63	4	0,088	105

Wie man in Abbildung 5.2 beispielhaft für den Patienten P45 sieht, ist die Zunahme der Dosis in den ersten Stunden am höchsten. Bei diesem Patienten wurden nach 20 h 50% der gesamten Energiedosis im Blut ( $D(\infty)$ ) erreicht. Die Dosisleistung betrug zu diesem Zeitpunkt noch  $4 \text{ mGy h}^{-1}$ . Erst nach 80 h fällt die Dosisleistung unter  $0,5 \text{ mGy h}^{-1}$ .

Abbildung 5.3 zeigt die RIF/Zelle-Werte als Funktion der Energiedosis im Blut für den selben Patienten (P45). Die Zahl der RIF/Zelle steigt, wie erwartet, mit der Dosis an, allerdings

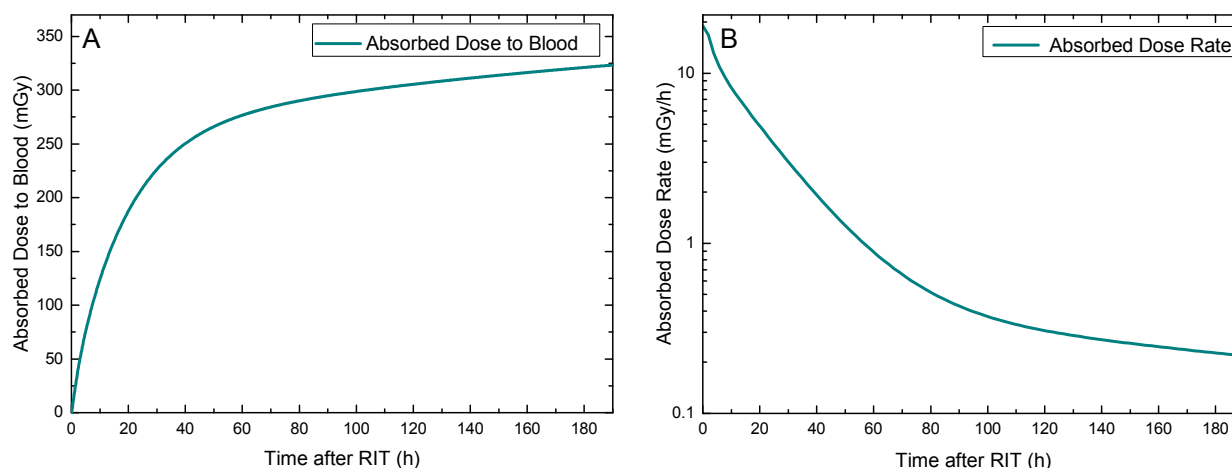


Abbildung 5.2: Beispielhafter Dosis-/Dosisleistungsverlauf für den Patienten P45. Verlauf der Energiedosis im Blut als Funktion der Zeit nach Verabreichung (A). Verlauf der dazugehörigen Dosisleistung im Blut (B).

nur bis zum Abnahmezeitpunkt 4 h. Danach ist kein weiterer Anstieg zu beobachten. Ab 24 h nehmen die Foci-Werte deutlich ab (siehe Kapitel 5.2.2) und es kann keine Foci-Dosis-Beziehung mehr hergestellt werden.

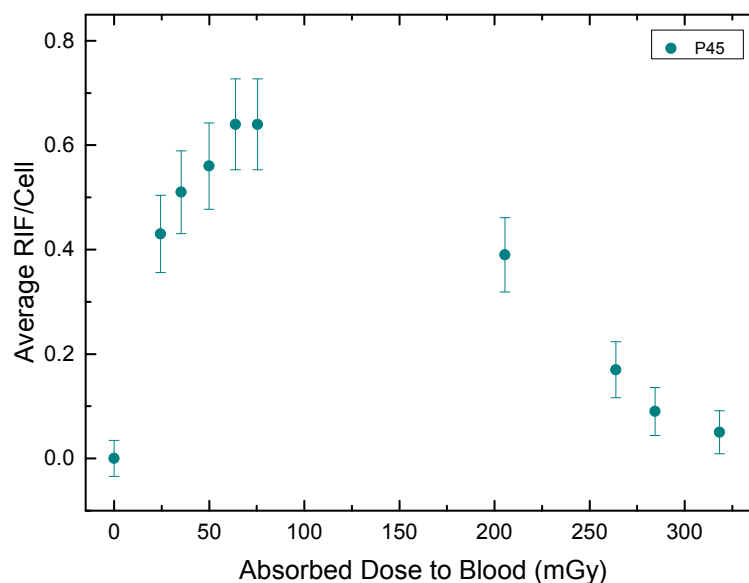


Abbildung 5.3: Zahl der RIF/Zelle von Patient P45 als Funktion der Energiedosis. Die Dosiswerte entsprechen den Abnahmezeitpunkten 0 h, 1,4 h, 2,0 h, 3,0 h, 4,0 h, 5,0 h, 24,0 h, 48,2 h, 69,8 h und 167,3 h.

### 5.2.5 In-vivo Kalibrierung nach Radioiodtherapie

Trägt man die RIF/Zelle-Werte aller Patienten als Funktion der Energiedosis in den ersten 5 h auf (Abbildung 5.4), ist nur in den ersten 2 h Stunden nach Verabreichung Linearität zu

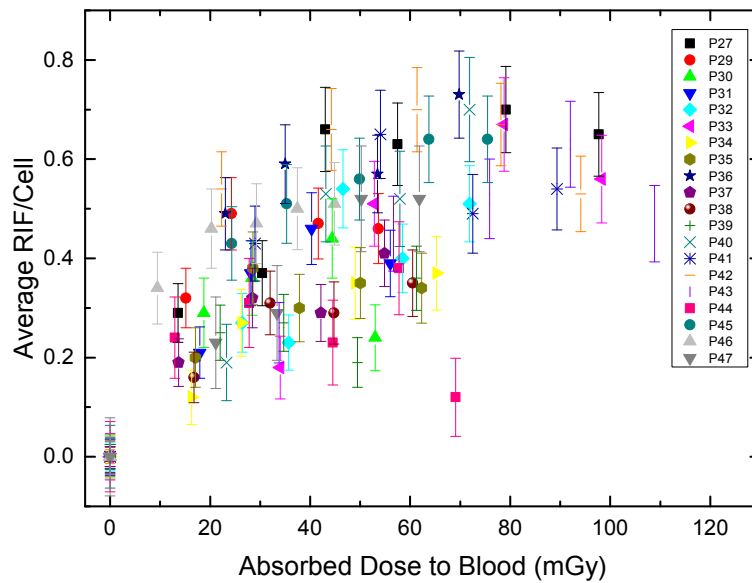


Abbildung 5.4: Anzahl der RIF/Zelle innerhalb der ersten 5 Stunden als Funktion der Energiedosis im Blut.

beobachten. Um diesen linearen Anstieg mit den in-vitro Daten aus Kapitel 3 und den in-vivo Daten zu  $^{177}\text{Lu}$  aus Kapitel 4 zu vergleichen, wurden alle Datenpunkte zusammengefasst und eine lineare Anpassung durchgeführt (Abbildung 5.5).

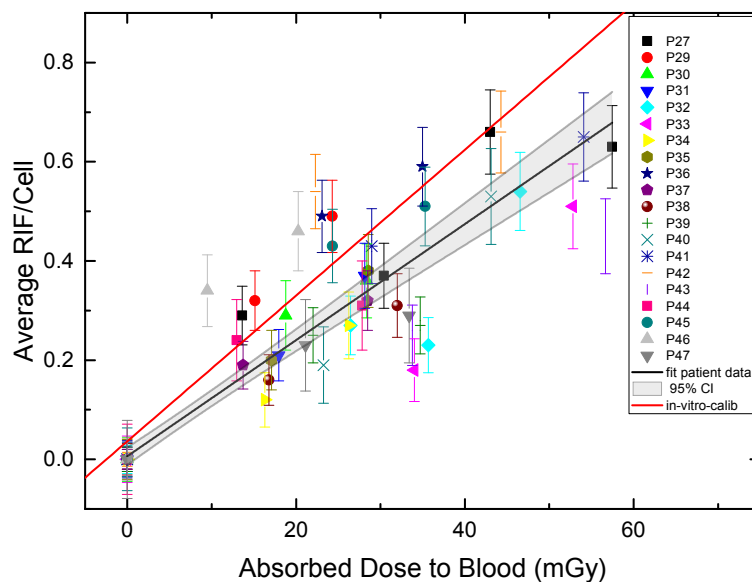


Abbildung 5.5: In-vivo Kalibrierung für  $^{131}\text{I}$ : Anzahl der RIF/Zelle innerhalb der ersten 2 Stunden als Funktion der Energiedosis im Blut. Die schwarze Gerade beschreibt die lineare Anpassung der Messwerte inklusive des 95% Konfidenzintervalls. In rot ist die lineare Funktion der in-vitro Kalibrierung zum Vergleich dargestellt (vergleiche Gleichung 3.1).

Für die in-vivo Kalibrierkurve für  $^{131}\text{I}$  erhält man die folgende Funktion ( $R^2 = 0,86$ ):

$$y = 0,0064 \cdot \text{RIF/Zelle} + 0,0117 \cdot \text{RIF/Zelle} \cdot \text{mGy}^{-1} \cdot x \quad (5.2)$$

Dabei gibt  $y$  die Zahl der RIF/Zelle und  $x$  die Energiedosis im Blut in mGy an. Der Standardfehler des y-Achsenabschnitts ist  $\pm 0,0089$  RIF/Zelle und der Fehler der Steigung ist  $\pm 0,0006$  RIF/Zelle  $\text{mGy}^{-1}$ . Diese Funktion ist in Abbildung 5.5 B) als schwarze Gerade inklusive des 95% Konfidenzintervalls abgebildet. Zum Vergleich ist die in-vitro Kalibrierkurve in rot aufgetragen. Die relative Abweichung zwischen der Steigung der in-vitro Kalibrierung und der in-vivo Kalibrierung mit  $^{131}\text{I}$  beträgt 20,4%. Zudem ist die Steigung um 7,9% kleiner als die Steigung der in-vivo Kalibrierung mit  $^{177}\text{Lu}$ .

### 5.2.6 Modellierung des zeitlichen Verlaufs der RIF/Zelle nach RIT

Wie schon in Kapitel 4 besprochen, wurde zur Beschreibung des zeitlichen Verlaufs der RIF/Zelle eine Funktion aufgestellt (Gl. 4.3), die sowohl den linearen Anteil (Induktion von Foci) zu Beginn der Therapie (1. Term in Gl. 4.3) als auch die Abnahme der Foci durch eine Kombination von Exponentialfunktionen (2. Term) beschreibt. Für den linearen Bereich in den ersten Stunden wurde die Gerade der in-vitro Kalibrierung verwendet (Gl. 3.1):

$$N(t) = (a + m \cdot b \cdot D_{\text{Bl}}(t)) \cdot (k \cdot e^{-\lambda t} + (1 - k) \cdot e^{-\nu t}) \quad (5.3)$$

Im Gegensatz zum vorherigen Kapitel 4 war es bei dieser Studie wegen der größeren Anzahl an Messpunkten 48 h und später nach Verabreichung für die Mehrzahl der Patienten möglich, einen bi-exponentiellen Fit durchzuführen. Für jeden Patienten wurde ein separater Fit durchgeführt, die entsprechenden Fitparameter  $m$ ,  $\lambda$ ,  $k$  und  $\nu$  sind in Tabelle 5.5 zusammengestellt.

Bei einigen Patienten waren jedoch die bi-exponentiellen Fits nicht erfolgreich, da sie einen sehr schnellen Abfall der Foci-Werte aufzeigten (P40, 42, und 44) und damit mit der zweiten Komponente nicht konvergierten. Drei Patienten wurden bereits nach 48 h entlassen, daher konnte hier kein bi-exponentieller Fit aufgrund fehlender später Datenpunkte durchgeführt werden (P30, P33, P39). Bei den Patienten P37 und P47 repräsentierte eine mono-exponentielle Funktion die Daten besser, obwohl bis 142 h bzw. 72 h Messpunkte vorlagen. Die mono-exponentielle Anpassung wurde daher wie bei  $^{177}\text{Lu}$  durchgeführt. Die Werte dieser 8 Patienten wurden nicht für die Mittelwertbildung in Tabelle 5.5 berücksichtigt.

Die Patientendaten als Funktion der Zeit inklusive des modellierten Foci-Anstiegs und -Abfalls ( $\bar{N}(t)$ ) sind in Abbildung 5.6 aufgetragen. Für diese Kurve aus der Modellrechnung (in grün) wurden die Mittelwerte der Fitparameter aus den Tabellen 5.2 und 5.3 und die Mittelwerte aller Fitparameter (Tabelle 5.5) aus Gleichung 5.3 verwendet:  $m = 1,10 \pm 0,53$ , die schnelle Reparaturrate  $\lambda = (0,3250 \pm 0,0128) \text{h}^{-1}$ , die langsame Reparaturrate  $\nu = (0,040 \pm 0,020) \text{h}^{-1}$  und  $k = 0,758 \pm 0,128$ . Dieser Mittelwert des k-Wertes gibt an, dass ca. 76% der Doppelstrangbrüche durch einen schnellen Reparaturprozess repariert werden. Diese mittleren schnellen und langsamen Reparaturraten entsprechen einer mittleren Halbwertszeit von 2,1 h bzw. 17,3 h.

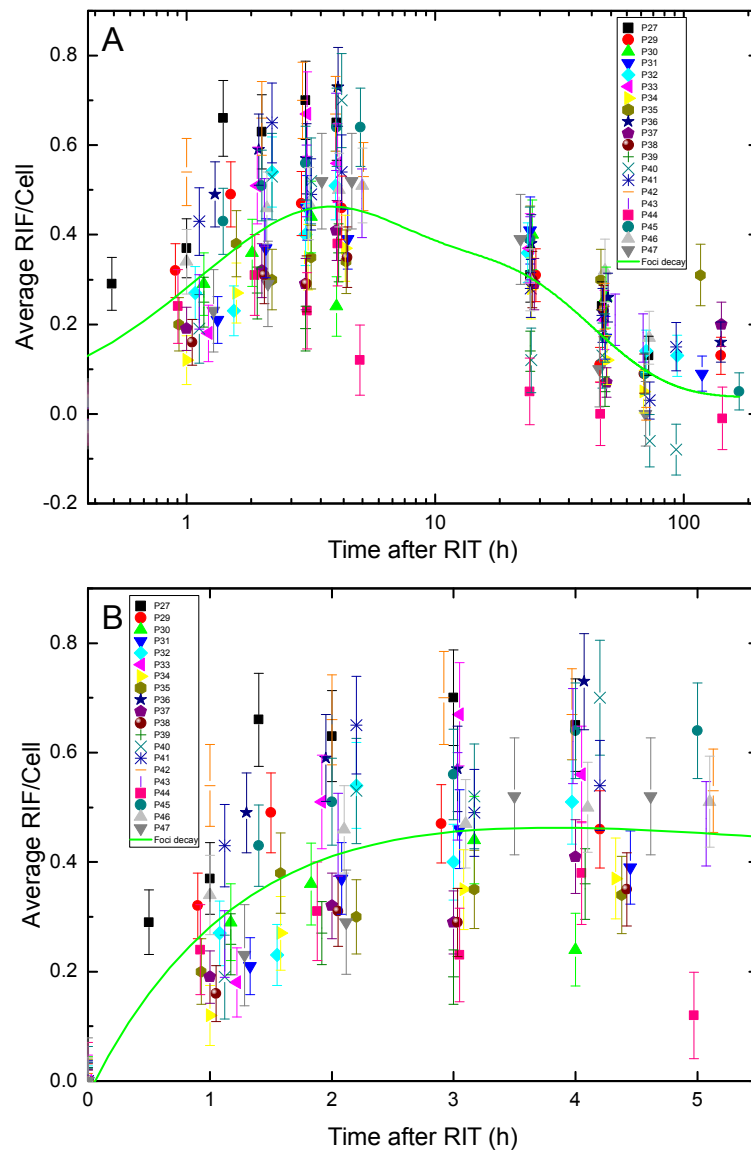


Abbildung 5.6: Zahl der RIF/Zelle als Funktion der Zeit nach Verabreichung von  $^{131}\text{I}$ . Die grünen Kurven modellieren den zeitlichen RIF/Zelle-Verlauf. Dafür wurden die Mittelwerte der einzelnen Patienten Fitparameter verwendet. (A) zeigt den ganzen Bereich logarithmisch aufgetragen. (B) zeigt einen Ausschnitt der ersten 5 h linear aufgetragen,

Für die mono-exponentiellen Anpassungen erhält man für den Mittelwert von  $m = 0,567 \pm 0,203$  und für  $\lambda = (0,077 \pm 0,015) \text{ h}^{-1}$ . Bedingt durch die mono-exponentielle Anpassung weicht die Kurve stark von der in-vitro-Kalibrierkurve ab ( $m = 0,57$ ), was die Vermutung nahelegt, dass die mono-exponentielle Beschreibung der Daten unzulänglich ist. Das Maximum des modellierten zeitlichen Verlaufs der RIF/Zelle (grüne Kurve in Abbildung 5.6) dieser Kurve liegt bei 3,2 h. 148 h nach Verabreichung fällt die Zahl der RIF/Zelle unter den Wert der maximalen Standardabweichung des Nullwerts von  $(0,00 \pm 0,04)$  RIF/Zelle und hat somit das Niveau des Nullwertes erreicht.

Die Modellkurve in Abbildung 5.6 bestätigt die Annahme aus Kapitel 5.2.5, dass der zeitliche und damit auch dosisabhängige Verlauf nur in den ersten 2 h durch eine Gerade angenähert werden kann. Abbildung 5.6 (B) zeigt deutlich das Abflachen der Kurve, das durch die früh einsetzenden Reparaturprozesse hervorgerufen wird.

Tabelle 5.5: Fitparameter

Patienten ID	m	$\lambda$ (h <sup>-1</sup> )	k	$\nu$ (h <sup>-1</sup> )	
P27	1,010	0,284	0,883	0,034	
P29	1,868	0,659	0,723	0,080	
P30*	0,338	0,058	1	-	
P31	1,050	0,414	0,520	0,058	
P32	0,750	0,207	0,782	0,035	* Bei diesen Patienten lagen nur Messwerte bis 48 h vor. Daher wurde eine mono-exponentielle Anpassung durchgeführt. Diese Fitparameter wurden bei der Mittelwertberechnung nicht berücksichtigt.
P33*	0,524	0,072	1	-	
P34	0,657	0,215	0,542	0,051	
P35	0,949	0,365	0,825	0,010	
P36	1,027	0,281	0,945	0,015	
P37**	0,639	0,083	1	-	** Bei diesen Patienten beschrieb eine mono-exponentielle Funktion die Daten besser, obwohl bis 142 h bzw. 72 h Messpunkte vorlagen. Diese Fitparameter wurden bei der Mittelwertberechnung nicht berücksichtigt.
P38	0,728	0,260	0,673	0,036	
P39*	0,461	0,098	1	-	
P40	Fit nicht konvergent				
P41	1,254	0,428	0,837	0,056	
P42	Fit nicht konvergent				
P43	0,566	0,153	0,790	0,026	
P44	Fit nicht konvergent				
P45	1,335	0,301	0,683	0,056	
P46	2,504	0,336	0,896	0,020	
P47**	0,875	0,076	1	-	
Mean	1,101	0,325	0,758	0,040	
SD	0,532	0,128	0,129	0,020	

### 5.2.7 Vergleich der Modellierung nach RIT und PRRT

Da sich das Verhalten der RIF/Zelle-Werte als Funktion der Dosis und der Zeit für <sup>131</sup>I und <sup>177</sup>Lu deutlich voneinander unterscheiden, wurden zusätzlich die Dosiswerte für das Blut 1 h nach Verabreichung genauer analysiert. Es zeigte sich, dass die Werte für das Blut der RIT-Patienten deutlich größer sind. Im Mittel betrug die Dosis zum Zeitpunkt 1 h für <sup>131</sup>I ( $23,1 \pm 7,6$ ) mGy und für <sup>177</sup>Lu ( $13,8 \pm 5,0$ ) mGy. Beide Datensätze waren normalverteilt und unterschieden sich signifikant von einander ( $p < 2 \cdot 10^{-4}$ ). Der Schnittpunkt der beiden Normalverteilungen lag bei 19,1 mGy.

Durch die höhere Dosis nach der Gabe von <sup>131</sup>I im Vergleich zu <sup>177</sup>Lu wird wahrscheinlich der Prozess, der die Reparatur der Foci steuert, stärker angeregt. Wie man Abbildung 5.6 entnehmen kann, kompensiert dieser Prozess schon zu einem frühen Zeitpunkt nach Verabreichung der Therapiekapsel die lineare Induktion von Foci.

Vergleicht man weiterhin die Reparaturraten aus Tabelle 4.4 und 5.5 für  $^{177}\text{Lu}$  und  $^{131}\text{I}$ , erkennt man, dass alle Reparaturraten für  $^{131}\text{I}$  größer sind als die für  $^{177}\text{Lu}$ . Zusätzlich überwiegt bei  $^{131}\text{I}$  die schnelle Reparaturrate.

Da die Datensätze aufgrund der unterschiedlichen späten Blutentnahmezeitpunkte nicht direkt vergleichbar sind, wurde, um eine bessere Vergleichbarkeit der Datensätze herzustellen, ein separater mono-exponentieller Fit unter Einbeziehung aller  $^{131}\text{I}$ -Daten bis 48 h durchgeführt. Bei diesem Fit erhält man ein  $\lambda$  von  $(0,075 \pm 0,005) \text{ h}^{-1}$ . Dieser Wert ist doppelt so groß wie das  $\lambda$  von  $^{177}\text{Lu}$  und deutet ebenfalls auf eine schnellere Reparatur hin. Umgekehrt zeigte ein bi-exponentieller Fit durch alle  $^{177}\text{Lu}$ -Datenpunkte keinen Hinweis auf eine schnelle Reparaturkomponente.

Diese Modellrechnungen lassen darauf schließen, dass bei einer Dosis von mehr als 20 mGy in der ersten Stunde nach Verabreichung des Radiopharmazeutikums eine Reparatur der DNA-Schäden schneller erfolgt als bei geringeren Dosen.

## 5.3 Diskussion

Die Untersuchung der Blutproben von Patienten nach Radioiodtherapie zeigen deutliche Unterschiede im Vergleich zu den Ergebnissen nach Radiopeptidtherapie. Zum einen wird nach RIT in kürzerer Zeit mehr Dosis im Blut deponiert, zum anderen ist die Dosisleistung zu Beginn der Therapie sehr ähnlich wie bei  $^{177}\text{Lu}$ , sinkt aber deutlich langsamer. Daher wird insgesamt auch eine größere Dosis im Blut nach  $^{131}\text{I}$ -Therapie erreicht. Die gesamte Dosis nach RIT lag bei  $(367 \pm 105) \text{ mGy}$ . Dieser Wert stimmt sehr gut mit den Werten von Lassmann et al. [13] überein, die eine mittlere gesamte Energiedosis von  $(310 \pm 100) \text{ mGy}$  im Blut von 24 Patienten berechneten. Die geringe Abweichung dieses Wertes kann darauf zurückzuführen sein, dass Lassmann et al. am ersten Tag nur eine Blutprobe zur Verfügung stand und somit die Berechnung der Energiedosis in den ersten Stunden sehr unsicher machte.

Bei der in-vitro Kalibrierung unterliegt die Bestimmung der Energiedosis nur der Monte-Carlo Simulation, der Aktivitätsbestimmung und der Inkubationsdauer. Somit ist nur die physikalische Halbwertszeit des verwendeten Nuklids ausschlaggebend und es muss keine patientenspezifische Biokinetik berücksichtigt werden.

Sowohl nach  $^{177}\text{Lu}$ - als auch nach  $^{131}\text{I}$ -Gabe erkennt man inter-individuelle Unterschiede in den RIF/Zelle-Werten in Abhängigkeit von der Energiedosis im Blut. Dies kann unter anderem daran liegen, dass die Berechnung der Dosis von mehreren Komponenten abhängt (Aktivitätsbestimmung der Blutproben, Messungen der Dosisleistung bzw. Gammakameramessungen, Genauigkeit der Kurvenanpassung und daraus die Bestimmung der TIACs). Gerade in den ersten 1-2 Stunden wird der Verlauf der Zeitaktivitätskurve durch nur wenige Punkte bestimmt, was zur Unsicherheit der anfänglichen Dosis beiträgt. Zusätzlich überschätzt die Annahme, dass die gesamte  $\beta$ -Energie im Blut deponiert wird, wahrscheinlich die Energiedosis, wie Hänscheid et al. [120] gezeigt haben.

Der Uptake von  $^{131}\text{I}$  im Blut wird durch eine konstante Rate für jeden Patienten gleich angenähert. Diese kann aber individuelle Unterschiede aufweisen, die nicht berücksichtigt werden können, da sie nicht direkt messbar sind. Durch die Verabreichung der Iod-Kapsel ist

die homogene Verteilung der Aktivität im Ganzkörper zu Beginn der Therapie nicht gegeben und kann daher zur ungleichmäßigen Bestrahlung des Blutes in den ersten 20 min führen. Dies verändert möglicherweise den Foci-Verlauf in Abhängigkeit von der Dosis.

Vergleicht man den RIF/Zelle-Verlauf in Abhängigkeit von der Energiedosis im Blut, konnte für  $^{177}\text{Lu}$  ein linearer Zusammenhang in den ersten 4 h festgestellt werden. Für  $^{131}\text{I}$  war dies nicht möglich, da die Kurve bereits nach 2 h abflachte. Daher war eine lineare Anpassung nur bis zu diesem Zeitpunkt sinnvoll. Die Abweichungen von der in-vitro Kalibrierung betrug bei  $^{131}\text{I}$  20,4% und bei  $^{177}\text{Lu}$  13,6%. Die größere Abweichung bei  $^{131}\text{I}$  deutet ebenfalls auf eine Abnahme der RIF/Zelle-Werte frühzeitig nach Verabreichung hin. Grund dafür ist wahrscheinlich, bedingt durch die höhere Dosis in den ersten Stunden, die Induktion einer schnelleren Reparaturrate, wie sie in den Kapiteln 5.2.6 und 5.2.7 gezeigt wurde.

Der Mittelwert der schnellen Reparaturrate von  $\lambda = (0,3250 \pm 0,0128) \text{ h}^{-1}$  bei  $^{131}\text{I}$  stimmt sehr gut mit den schnellen Raten in der Arbeit von Horn et al. [89] und Mariotti et al. [90] überein (Horn:  $0,35 \text{ h}^{-1}$  (77%), Mariotti:  $0,23 \text{ h}^{-1}$  (91%)). Die langsame Komponente von  $^{131}\text{I}$  ( $\nu = (0,040 \pm 0,020) \text{ h}^{-1}$ ) ist etwa doppelt so groß wie die langsame Komponente von Horn et al. ( $0,018 \text{ h}^{-1}$  (23%)). Die langsame Komponente bei Mariotti et al. trägt mit 9% Anteil sehr wenig bei und ist sehr klein ( $3,33 \cdot 10^{-12} \text{ h}^{-1}$ ) und damit nicht mit dem  $^{131}\text{I}$ -Wert vergleichbar.

Die Modellierungen des RIF/Zelle-Verlaufs für  $^{131}\text{I}$  und  $^{177}\text{Lu}$  zeigen, dass die Maxima der RIF/Zelle-Zahlen zu unterschiedlichen Zeitpunkten auftreten (3,2 h versus 7,2 h). Verantwortlich dafür ist das Einsetzen der schnellen Reparaturrate. Bei  $^{177}\text{Lu}$  fallen die RIF/Zelle-Werte nach 75,5 h unter den Wert der maximalen Standardabweichung des Nullwerts von  $^{177}\text{Lu}$  von  $(0,00 \pm 0,09)$  RIF/Zelle und haben somit das Niveau des Nullwertes erreicht. Bei  $^{131}\text{I}$  tritt dieser Prozess sehr viel später auf, erst 148 h nach Verabreichung fällt die Zahl der RIF/Zelle unter den Wert der maximalen Standardabweichung des Nullwerts von  $^{131}\text{I}$  von  $(0,00 \pm 0,04)$  RIF/Zelle und hat somit das Niveau des Nullwertes erreicht. Entscheidend dafür ist, dass die Dosisleistung als Funktion der Zeit von  $^{131}\text{I}$  deutlich langsamer abfällt als bei  $^{177}\text{Lu}$ . Dadurch wird zu späteren Zeitpunkten eine höhere Foci-Zahl als bei  $^{177}\text{Lu}$  induziert und deshalb sind die strahleninduzierten Foci in diesem Patientenkollektiv nach Radioiodtherapie länger nachzuweisen.

Diese Studie zeigt ebenfalls einen linearen Zusammenhang zwischen der Anzahl der strahleninduzierten Foci und der Energiedosis im Blut in den ersten Stunden nach  $^{131}\text{I}$ -Verabreichung. Nach Verabreichung von  $^{131}\text{I}$  werden allerdings höhere Energiedosen beobachtet und die Dosisleistung nimmt im Vergleich zur vorigen Studie langsamer ab. Die RIF/Zelle verhalten sich nur noch in den ersten zwei Stunden linear. Weiterhin wird der weitere zeitliche und dosisabhängige Verlauf der RIF durch Anpassen an eine Modellfunktion beschrieben. Nach Radioiodtherapie werden, im Unterschied zur PRRT, eine schnelle und langsame Reparaturrate beobachtet. Das Maximum dieser Kurve liegt bei etwa 3 h; nach 148 h erreicht die Zahl der RIF/Zelle das Niveau des Nullwertes.

Das Ergebnis dieser Studie ist somit eine umfassende Beschreibung der Induktion und des Abklingens der DNA-Schäden nach Radioiodtherapie und der Unterschiede zur Radiopeptidtherapie.



## 6 Zusammenfassung

In der nuklearmedizinischen Therapie werden radioaktive Substanzen, sogenannte Radiopharmaka, meist systemisch verabreicht. Primär werden dafür, wegen der kurzen Reichweite,  $\beta^-$ -Strahler eingesetzt. Als Folge davon verteilt sich das Radiopharmakon im Körper, reichert sich in Organen und Zielstrukturen an und bestrahlt somit den Körper intern, im Gegensatz zur externen Bestrahlung bei der Strahlentherapie.

Das Verteilungsmuster der verabreichten Aktivität im Körper wird durch die chemischen und physikalischen Eigenschaften des Radiopharmakons bestimmt. Außerdem sind die Aktivität und die Art der Anreicherung ausschlaggebend für die durch ionisierende Strahlung deponierte Energie im Körper, der Energiedosis; ihre SI-Einheit ist das Gray (Gy). Die Bestimmung der Energiedosis wird Dosimetrie genannt.

Für die Dosimetrie während der nuklearmedizinischen Therapie ist die Kenntnis der räumlichen Verteilung und des zeitlichen Verlaufs der Aktivitätsanreicherung im Körper notwendig. In der Regel muss man in Zellen, Zellarten oder Geweben von einer heterogenen Verteilung der Aktivität ausgehen. Allerdings wird in den meisten Fällen, für eine einfachere Berechnung der Dosis, von einer homogenen Aktivitätsverteilung im Quellorgan ausgegangen. Aufgabe der Dosimetrie ist damit, mittels physikalischer Messmethoden und Berechnungen, die Energiedosen zu bestimmen und die daraus abgeleitete Therapieaktivität so zu optimieren, dass die kritischen Organe nicht geschädigt werden, aber die Dosis im Tumor ausreicht, um diesen zu zerstören.

Bei der internen Bestrahlung in der Nuklearmedizin werden die Proben oder die Zielorgane kontinuierlich durch die aufgenommenen Radiopharmaka bestrahlt, allerdings mit abnehmender Dosisleistung. Deshalb wird die Energiedosis in einem sehr viel größeren Zeitraum, aber mit sehr viel kleinerer Dosisleistung als zum Beispiel bei der Strahlentherapie, deponiert. Dies beeinflusst möglicherweise die Strahlenwirkung bei gleicher Energiedosis.

Gemeinsam haben externe und interne Bestrahlungsverfahren, dass der Patient ionisierender Strahlung ausgesetzt ist, die nicht nur die kranken Zellen zerstört, sondern auch gesunde Zellen schädigen kann. Dies geschieht durch direkte oder indirekte Wechselwirkung der Strahlung mit der DNA, die zur Schädigung der DNA-Struktur führt. Am häufigsten sind dabei Einzelstrangbrüche (ca. 1000 pro Gy) und Basenschäden (ca. 5000 pro Gy). Die Doppelstrangbrüche (ca. 40 pro Gy) sind im Vergleich zu Einzelstrangbrüchen und Basenschäden sehr selten aber sehr viel schädlicher für die Zelle, da die Reparatur komplizierter ist. Somit sind diese primär für den Zelltod oder für die Folgen nach fehlerhafter Reparatur verantwortlich.

Eine sehr schnelle Antwort auf strahleninduzierte oder durch andere Stoffe, wie z.B. zytotoxische Substanzen, induzierte Doppelstrangbrüche ist die Phosphorylierung der Histon

H2 Variante H2AX, die  $\gamma$ -H2AX genannt wird. Zusätzlich reichert sich das Protein 53BP1 (TP53BP1 tumor suppressor p53 binding protein 1) nach dem Erkennen eines Doppelstrangbruchs durch Sensorproteine sofort am Chromatin, das den Doppelstrang umgibt, an. Damit ist 53BP1 ein weiterer Biomarker, der strahleninduzierte Doppelstrangbrüche sehr effektiv nachweisen kann und der auf sehr verlässliche Weise mit  $\gamma$ -H2AX kolokalisiert. Mittels Immunfluoreszenzfärbung lassen sich  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 als umschriebene Farbflecken, sogenannte „Foci“, im Zellkern mikroskopisch darstellen und zählen. Unter der Annahme, dass ein Focus einem Doppelstrangbruch entspricht, kann die Anzahl der Foci im Zellkern als quantitativer Biomarker für DNA Doppelstrangbrüche und damit für die Strahlenexposition und Strahlenwirkung verwendet werden. Zudem zeigen Studien der Induktion von  $\gamma$ -H2AX nach externer Bestrahlung von unterschiedlichen Gewebearten einen linearen Zusammenhang zwischen der Energiedosis und der Zahl der Foci im Zellkern.

Die meisten Arbeiten der letzten Jahre zu strahleninduzierten  $\gamma$ -H2AX-Foci beschäftigen sich mit den Auswirkungen externer Bestrahlung: in-vivo z.B. nach Strahlentherapie oder Röntgendiagnostik oder in-vitro auf Zellen oder Gewebeproben. Für den Bereich der nuklearmedizinischen Diagnostik und Therapie gab es bisher erst vier Arbeiten, die sich mit der Entstehung von strahleninduzierten  $\gamma$ -H2AX-Foci in peripheren Lymphozyten beschäftigen. Diese Arbeiten beschreiben die Induktion von strahleninduzierten Foci nach Radionuklidtherapien mit  $^{131}\text{I}$  und  $^{177}\text{Lu}$  und nach der Diagnostik mit  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET/CT. Die ersten Arbeiten zu  $^{131}\text{I}$  lieferten nur sehr wenige Daten oder keine für die ersten Stunden nach Therapiebeginn. Es wurden erhöhte Foci-Werte gefunden, aber kein direkter Zusammenhang zwischen der Energiedosis im Blut und der Zahl der Foci hergestellt. Die erste Arbeit zu Patienten nach Therapie mit  $^{177}\text{Lu}$  lieferte zwar Foci-Werte für die ersten Stunden nach Therapiebeginn, aber auch hier gab es keine Korrelation zwischen der Zahl der Foci und der Energiedosis im Blut. Bei der Arbeit zum  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET/CT konnte eine Strahlenwirkung qualitativ nachgewiesen werden. Durch das nahezu gleichzeitige CT konnten allerdings die durch  $^{18}\text{F}$ -FDG und das CT verursachten Effekte infolge der Überlagerung nicht mehr getrennt betrachtet werden.

Als Konsequenz ergaben sich folgende Ziele für diese Arbeit:

- Die Generierung einer bisher noch nicht beschriebenen in-vitro Kalibrierkurve nach interner Bestrahlung von Vollblut mit den in der Therapie eingesetzten  $\beta^-$ -Strahlern und den unter Therapie beobachteten Energiedosen.
- Die gleichzeitige Bestimmung der physikalischen Dosis sowie der strahleninduzierten Anzahl der Foci in Lymphozyten, gewonnen aus Blutproben von Patienten nach Radiopeptidtherapie mit  $^{177}\text{Lu}$  und Radioiodtherapie mit  $^{131}\text{I}$  in den ersten Stunden nach Therapiebeginn und bis zur Entlassung der Patienten aus der Therapiestation.
- Eine umfassende Beschreibung der Induktion und der Abnahme der Foci in den Lymphozyten aus den Blutproben der Patienten unter Einbeziehung der in-vitro Kalibrierung, um den dosis- und zeitabhängigen Verlauf der Anzahl der strahleninduzierten Foci zu bestimmen.

Für die in-vitro Kalibrierung mit  $^{131}\text{I}$  und  $^{177}\text{Lu}$  wurden bei Probanden Blutproben gewonnen und mit unterschiedlichen Aktivitätskonzentrationen ergänzt. Das Ziel war eine Energiedosis

---

von 5 mGy bis 100 mGy bei einer konstanten Bestrahlungsdauer von 1 Stunde zu erhalten. Nach der internen Bestrahlung wurden die Lymphozyten separiert und mittels Immunfluoreszenzfärbung mit  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 Antikörpern eingefärbt. Anschließend wurden die kolokalisierten  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 Foci im Mikroskop von Hand ausgezählt. Mittels einer Monte-Carlo-Simulation wurden die entsprechenden Energiedosen in den Blutproben berechnet. Das Ergebnis war, dass sich die Zahl der strahleninduzierten Foci in Abhängigkeit von der Energiedosis gut durch eine lineare Funktion beschreiben lässt, so wie es auch für die externe Bestrahlung bereits gezeigt wurde.

Die Patientenstudien befassten sich mit dem Zusammenhang zwischen der im Blut deponierten Energiedosis und der Anzahl und dem zeitlichen Verlauf der induzierten Doppelstrangbrüche im peripheren Blut von 16 Patienten unter Peptidrezeptor-Radionuklidtherapie mit  $^{177}\text{Lu}$  DOTATATE/-TOC und 20 Patienten unter Radioiodtherapie mit  $^{131}\text{I}$  bei Ablationstherapien nach Operation eines differenzierten Schilddrüsenkarzinoms. Die Blutproben umfassten einen Zeitraum von 0 bis 48 h ( $^{177}\text{Lu}$ ) und 0 bis 168 h ( $^{131}\text{I}$ ) nach Nuklidinkorporation.

Die durchschnittliche Anzahl induzierter DSB-Foci zeigte in den frühen Zeitpunkten (0 bis 4 h bei  $^{177}\text{Lu}$ , 0 bis 2 h bei  $^{131}\text{I}$ ) einen linearen dosisabhängigen Anstieg. In den ersten Stunden nach Therapie stimmten die in-vitro Kalibrierung und die Zahl der strahleninduzierten Foci sowohl für  $^{177}\text{Lu}$  als auch für  $^{131}\text{I}$  für die Patientendaten gut überein, wobei die Steigung für  $^{131}\text{I}$  flacher war als für  $^{177}\text{Lu}$ , was auf eine schnellere Abnahme der Anzahl der strahleninduzierten Foci schließen lässt. Trotzdem lässt dies den Assay als „in-vivo Dosimeter“ nach Inkorporation von Radionukliden in den ersten Stunden nach Therapiebeginn geeignet erscheinen.

Die späteren Zeitpunkte werden durch eine Abnahme der Dosisrate und der Foci-Anzahl, bedingt durch Reparatur der DNA-Schäden, charakterisiert. Eine mono-exponentielle Funktion beschreibt dabei die DNA Reparaturrate (Focus Abnahme) zu späten Zeitpunkten (10-12h). Überstiegen die Blutdosismerte in der ersten Stunde jedoch 20 mGy (nur nach  $^{131}\text{I}$ -Gabe beobachtet), dann war die Induktion eines zweiten, schnellen Reparaturprozesses festzustellen und eine bi-exponentielle Funktion beschreibt die Daten besser.

Mit den in dieser Arbeit vorgelegten experimentellen Ergebnissen und Modellierungen wird erstmalig die Dosisabhängigkeit und der zeitliche Verlauf der in-vitro und in-vivo DNA-Schadensantwort nach Inkorporation von  $\beta^-$ -emittierenden Radionukliden umfassend beschrieben.

Aufbauend auf diesen Arbeiten wäre es in Zukunft interessant, bei anderen Therapien, wie zum Beispiel bei der  $^{223}\text{Ra}$ -Dichloride (Xofigo)-Therapie, die DNA-Schadensantwort zu untersuchen. Bei dieser Therapie wird ein  $\alpha$ -Strahler für die Behandlung schmerzhafter Knochenmetastasen beim Prostatakarzinom eingesetzt. Gerade  $\alpha$ -Strahler sind, was die relative Strahlenwirkung in der Therapie angeht, bisher noch nicht ausreichend erforscht. Daher würde sich dieser Assay sehr gut für einen Vergleich der Schadensantwort von  $\alpha$  und  $\beta^-$ -Strahlern eignen. Die Erforschung der Strahlenschäden nach nuklearmedizinischer Diagnostik mit Positronenemittern wäre eine weitere wichtige Erweiterung des Einsatzbereiches des Assays. Für diese Arbeiten wäre es zudem notwendig, die in-vitro Kalibrierungsmessungen auf weitere für die Nuklearmedizin wichtige Isotope auszuweiten.



## 7 Summary

In radionuclide therapy radioactive substances, so-called radiopharmaceuticals, are administered mostly systemically. Primarily,  $\beta^-$ -emitters are used because of their short range in tissue. As a result the radiopharmaceutical distributes within the human body and accumulates in organs and target structures. Thus, the body is irradiated internally, in contrast to external irradiation in radiotherapy.

The pattern of the activity distribution within the human body is determined by the physical and chemical properties of the radiopharmaceutical. Furthermore, the amount of activity and its accumulation in organs or tissues is essential for the calculation of the absorbed dose which defines the energy deposited in the body by ionizing radiation. The SI-unit of the absorbed dose is Gray (Gy). The determination of the absorbed dose is called dosimetry.

In radionuclide therapy the knowledge of the spatial and temporal activity distribution in the body is crucial for performing dosimetry. In most cases the activity is distributed heterogeneously within cells, cell structures or tissues. However, for a simplified calculation of the absorbed dose often a homogenous distribution of the activity in the source organs is assumed. The task of nuclear medicine dosimetry is to define the absorbed dose in the critical organs and hence the therapy activity to be administered by means of physical measurements and calculations. The administered activity should be as high as possible to destroy the malignant tumor cells without damaging critical organs or tissues.

During internal irradiation in nuclear medicine the cells and organs are irradiated not only for seconds or minutes, but are continuously irradiated over a longer period with permanently changing dose rate. This is in contrast to external irradiation, for example in radiotherapy. This fact could potentially alter the impact of the ionizing radiation, although, the same absorbed dose is delivered.

During internal or external irradiation, patients are exposed to ionizing radiation which does not only destroy the malignant cells but also damages healthy tissue and cells. This is mainly caused by direct and indirect interaction of the radiation with the DNA which damages the DNA structure. Most frequently, there are single strand breaks ( $\approx 1000$  per Gy) and base damages ( $\approx 5000$  per Gy). DNA double strand breaks (DSBs) are rare ( $\approx 40$  per Gy); nevertheless, they are the most critical lesions for cells as repairing the damage is difficult. Unrepaired or misrepaired DNA could cause mutations, chromosomal aberrations or lead to cell death.

The formation of a DNA DSB in nuclear chromatin results in the rapid phosphorylation of the histone H2 variant H2AX, then called  $\gamma$ -H2AX. Furthermore, DSBs also recruit the damage sensor 53BP1 to the chromatin surrounding the DSBs, which leads to 53BP1 and  $\gamma$ -

H2AX co-localization in the chromatin surrounding a DSB. By immunofluorescence staining with  $\gamma$ -H2AX and 53BP1 antibodies those biomarkers can be addressed by microscopically visible DNA damage protein foci, this is also known as the DNA damage focus assay. With progression of DSB repair,  $\gamma$ -H2AX and 53BP1 foci disappear. It is assumed that one focus corresponds to one DSB. Therefore, the number of foci per cell can be used as a quantitative biomarker for DNA double strand breaks and hence for radiation exposure and radiation effects. Studies dealing with the induction of radiation-induced  $\gamma$ -H2AX foci after external irradiation of different tissues showed a linear relationship between the absorbed dose and the number of foci per cell.

Most studies dealing with the DNA damage focus assay performed in the last years were looking only on the effect of external irradiation: in-vivo for example after external radiation therapy or after diagnostic radiology procedures or in-vitro after irradiating of cells and tissue samples.

At present, there are only four studies that quantify radiation-induced DNA damage foci formation in peripheral lymphocytes after radionuclide therapy with  $^{131}\text{I}$  and  $^{177}\text{Lu}$  and after diagnostics with  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET/CT.

The first two studies dealing with  $^{131}\text{I}$ -therapies sampled only few or no data in the first hours after the administration of  $^{131}\text{I}$ . They showed that there is an elevated number of radiation-induced foci after administration, however, no dose-response relationship could be established. The study dealing with  $^{177}\text{Lu}$ -therapies provided foci values within the first four hours after administration, nevertheless, a clear dose-response relationship could not be established either.

After diagnostic  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET/CT scans a radiation-induced effect could be seen qualitatively. However, in that study the FDG-PET was followed directly by exposure to X-rays by a CT. Thus, the exposure to X-rays has most likely obscured any effect on the foci induced by the radiopharmaceutical.

As a consequence the aims of this thesis were:

- To develop a method to generate an in-vitro calibration curve for the DSB focus assay after internal irradiation with  $\beta^-$ -emitting radionuclides by creating a low dose and low dose-rate blood irradiation situation in-vitro, at dose-rates that are similar to the ones that have been observed in nuclear medicine patients.
- To determine the absorbed dose and the number of radiation-induced foci in lymphocytes by sampling blood from patients after radiopeptide therapy with  $^{177}\text{Lu}$  and radioiodine therapy with  $^{131}\text{I}$  in the first hours after administration of the radionuclide and up to the time point until they are discharged from the ward.
- To describe comprehensively the temporal and dose-dependent behavior of the DNA damage focus assay in radiation treatment-naive patients after their first radionuclide therapy using the results of the in-vitro calibration.

For the in-vitro calibration with  $^{131}\text{I}$  and  $^{177}\text{Lu}$  blood samples were drawn from volunteers. Different activity concentrations were added to the samples for achieving absorbed doses

---

between 5 mGy and 100 mGy at a constant irradiation time of 1 h. After the exposure the lymphocytes were separated and stained via immunofluorescence staining with  $\gamma$ -H2AX and 53BP1 antibodies. Immediately afterwards the colocalized  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 foci were counted in a microscope. The corresponding absorbed doses were calculated by a Monte-Carlo-simulation. As a result it was shown that the number of radiation-induced foci were linearly dependent of the absorbed dose. This is the same result that has been shown after external irradiation.

The patient studies addressed the relationship between the absorbed dose to the blood and the number and temporal behavior of radiation-induced DNA double strand breaks in peripheral blood samples of 16 patients under radiopeptide therapy and 20 patients under radioiodine therapy. The blood samples were taken between 0–48 h ( $^{177}\text{Lu}$ ) and 0–168 h ( $^{131}\text{I}$ ) after administration of the radiopharmaceutical.

The average number of radiation-induced foci showed a linear dose-response relationship within the first hours after administration of the radiopharmaceutical (0–4 h for  $^{177}\text{Lu}$ , 0–2 h for  $^{131}\text{I}$ ). The slope of the in-vitro calibration curve was in good agreement with the slopes of the linear functions fitted to the in-vivo data for  $^{177}\text{Lu}$  and  $^{131}\text{I}$ . However, the slope for the  $^{131}\text{I}$  patients was smaller than that for the  $^{177}\text{Lu}$  patients indicating a faster decay of the number of radiation-induced foci. Nevertheless, this linear relationship still supports the use of the DNA focus damage assay as an in vivo dosimeter in the first hours after therapy.

The later time points after 4 h were characterized by a diminishing number of radiation-induced foci which was in accordance with the progression of DNA repair and the declining dose rates. A mono-exponential function describes this decrease best for the  $^{177}\text{Lu}$ -patient data. Most patients treated with  $^{131}\text{I}$  exceeded 20 mGy in the first hour and in these patients the onset of a second fast repair component was observed and a bi-exponential fit described the data better.

With the experimental results and model calculations presented in this work, for the first time a dose-response relationship and a description of the time course of the in-vitro and in-vivo damage response after internal irradiation of  $\beta^-$ -emitters could be established.

In the future it would be interesting to learn about the DNA damage response for other radiopharmaceuticals, e.g. after therapy of prostate cancer bone metastases with  $^{223}\text{Ra}$  (XOFIGO). For this therapy an  $\alpha$  emitter ( $^{223}\text{Ra}$ ) is used. In particular, research on the relative effectiveness after therapeutic applications of  $\alpha$ -emitters is not sufficiently established yet. Therefore, this assay may be well suited to compare the DNA damage response between  $\alpha$ - and  $\beta^-$ - emitters. Additional research on radiation damage after diagnostics with high-energy positron emitters would lead to an important extension of the use of the DNA damage focus assay. For future research it would also be necessary to further expand the in-vitro calibration to other nuclides and isotopes.





## 8 Literaturverzeichnis

1. Takahashi A und Ohnishi T. Does gammaH2AX foci formation depend on the presence of DNA double strand breaks? *Cancer Lett* 2005;229:171–179.
2. Kuo LJ und Yang LX. Gamma-H2AX - a novel biomarker for DNA double-strand breaks. *In Vivo* 2008;22:305–309.
3. Rogakou EP, Pilch DR, Orr AH, Ivanova VS und Bonner WM. DNA double-stranded breaks induce histone H2AX phosphorylation on serine 139. *J Biol Chem* 1998;273:5858–5868.
4. Goodarzi AA und Jeggo PA. Irradiation induced foci (IRIF) as a biomarker for radiosensitivity. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 2012;736:39–47.
5. Rothkamm K, Barnard S, Moquet J, Ellender M, Rana Z und Burdak-Rothkamm S. DNA damage foci: Meaning and significance. *Environ Mol Mutagen* 2015.
6. Lamkowski A, Forcheron F, Agay D et al. DNA Damage Focus Analysis in Blood Samples of Minipigs Reveals Acute Partial Body Irradiation. *PLoS ONE* 2014;9:e87458.
7. Sedelnikova OA, Rogakou EP, Panyutin IG und Bonner WM. Quantitative detection of (125)IdU-induced DNA double-strand breaks with gamma-H2AX antibody. *Radiat Res* 2002;158:486–492.
8. Pilch DR, Sedelnikova OA, Redon C, Celeste A, Nussenzweig A und Bonner WM. Characteristics of gamma-H2AX foci at DNA double-strand breaks sites. *Biochem Cell Biol* 2003;81:123–129.
9. Rothkamm K und Löbrich M. Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:5057–5062.
10. Beels L, Werbrouck J und Thierens H. Dose response and repair kinetics of gamma-H2AX foci induced by in vitro irradiation of whole blood and T-lymphocytes with X- and gamma-radiation. *Int J Radiat Biol* 2010;86:760–768.
11. Sak A, Grehl S, Erichsen P et al. gamma-H2AX foci formation in peripheral blood lymphocytes of tumor patients after local radiotherapy to different sites of the body: dependence on the dose-distribution, irradiated site and time from start of treatment. *Int J Radiat Biol* 2007;83:639–652.
12. Zahnreich S, Ebersberger A, Kaina B und Schmidberger H. Biodosimetry Based on  $\gamma$ -H2AX Quantification and Cytogenetics after Partial- and Total-Body Irradiation during Fractionated Radiotherapy. *Radiat. Res.* 2015;183:432–446.

13. Lassmann M, Hänscheid H, Gassen D et al. In vivo formation of gamma-H2AX and 53BP1 DNA repair foci in blood cells after radioiodine therapy of differentiated thyroid cancer. *J Nucl Med* 2010;51:1318–1325.
14. Doai M, Watanabe N, Takahashi T et al. Sensitive immunodetection of radiotoxicity after iodine-131 therapy for thyroid cancer using  $\gamma$ -H2AX foci of DNA damage in lymphocytes. *Ann Nucl Med* 2013;27:233–238.
15. Denoyer D, Lobachevsky P, Jackson P, Thompson M, Martin OA und Hicks RJ. Analysis of  $^{177}\text{Lu}$ -Octreotate Therapy-Induced DNA Damage in Peripheral Blood Lymphocytes of Patients with Neuroendocrine Tumors. *J Nucl Med* 2015;56:505–511.
16. May M, Brand M, Wuest W et al. Induction and repair of DNA double-strand breaks in blood lymphocytes of patients undergoing  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT examinations. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2012;39:1712–1719.
17. Podgorsak EB. Radiation Physics for Medical Physicists. 2. Aufl. Biological and Medical Physics, Biomedical Engineering. Springer Berlin Heidelberg, 2010.
18. Demtröder W. Experimentalphysik 3: Atome, Moleküle und Festkörper. 4., überarb. Aufl. 2010. Berlin: Springer, 2010. 650 S.
19. Demtröder W. Experimentalphysik 4: Kern-, Teilchen- und Astrophysik. 3. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer Spektrum, 2009.
20. Halliday D, Resnick R und Walker J. Physik. Hrsg. von Koch SW. 1. Aufl. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2003.
21. Matthias M. Nuklidkarte. Wikipedia. 2010. <[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Isotopentabelle\\_Segre.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Isotopentabelle_Segre.svg)> (besucht am 16.06.2015).
22. Hanno Krieger. Grundlagen der Strahlungsphysik und des Strahlenschutzes. 4. Aufl. Wiesbaden: Vieweg+Teubner Verlag, 2012.
23. Morneburg H. Bildgebende Systeme für die medizinische Diagnostik. 3. Aufl. Publicis Publishing, 1995.
24. International Atomic Energy Agency. Nuclear medicine physics: a handbook for teachers and students. Wien: Intl Atomic Energy Agency, 2015.
25. Laboratoire National Henri Becquerel. Recommended data. 2014. <[http://www.nucleide.org/DDEP\\_WG/DDEPdata.htm](http://www.nucleide.org/DDEP_WG/DDEPdata.htm)> (besucht am 09.04.2014).
26. Wikipedia. Ionisierende Strahlung – Wikipedia. 2010. <[http://de.wikipedia.org/wiki/Ionisierende\\_Strahlung#/media/File:Xray-shielding.svg](http://de.wikipedia.org/wiki/Ionisierende_Strahlung#/media/File:Xray-shielding.svg)> (besucht am 04.05.2015).
27. Sabol J und Weng PS. Introduction to Radiation Protection Dosimetry. Singapore; River Edge, NJ: World Scientific Publishing Co Pte Ltd, 1995.
28. Lassmann M und Glatting G. Nuklearmedizinische Dosimetrie. In: *Nuklearmedizinische Onkologie*, Herausgeber: Krause B-J, Schwaiger M, Buck AK. 1. Aufl. Landsberg: ecomed-Medizin, 2007:107–130.
29. Sgouros G, Roeske JC, McDevitt MR et al. MIRD Pamphlet No. 22 (abridged): radiobiology and dosimetry of alpha-particle emitters for targeted radionuclide therapy. *J Nucl Med* 2010;51:311–328.

30. ICRP. Publication 103: The 2007 recommendations of the International Commission of Radiological Protection. *Ann ICRP* 2007;37 (2-4).
31. ICRP. Publication 60: 1990 recommendations of the International Commission on Radiological Protection. *Ann ICRP* 1991;21 (1-3).
32. ICRP. Publication 53: Radiation Dose to Patients from Radiopharmaceuticals. *Ann ICRP* 1987;18.
33. ICRP. Publication 80: Radiation dose to patients from radiopharmaceuticals: Addendum 2 to ICRP publication 53. *Ann ICRP* 1998;28 (3).
34. ICRP. Publication 106: Radiation dose to patients from radiopharmaceuticals: Addendum 3 to ICRP Publication 53. *Ann ICRP* 2008;38 (1-2).
35. Andersson M, Johansson L, Minarik D, Leide-Svegborn S und Mattsson S. Effective dose to adult patients from 338 radiopharmaceuticals estimated using ICRP biokinetic data, ICRP/ICRU computational reference phantoms and ICRP 2007 tissue weighting factors. *EJNMMI Physics* 2014;1:9.
36. Lassmann M und Hänscheid H. Individuelle Dosimetrie bei der Radiojodtherapie. *Der Onkologe* 2015;21:611–616.
37. Loevinger R und Berman M. A formalism for calculation of absorbed dose from radionuclides. *Phys Med Biol* 1968;13:205–217.
38. Loevinger R und Berman M. A schema for absorbed-dose calculations for biologically-distributed radionuclides. *J Nucl Med* 1968;Suppl 1:9–14.
39. Loevinger R und Berman M. MIRP Pamphlet No 1 (revised): A Revised Schema for Calculating the Absorbed Dose from Biologically Distributed Radionuclides. New York NY: Society of Nuclear Medicine, 1976.
40. Bolch WE, Eckerman KF, Sgouros G und Thomas SR. MIRP pamphlet No. 21: A generalized schema for radiopharmaceutical dosimetry—standardization of nomenclature. *J Nucl Med* 2009;50:477–484.
41. Senthamizhchelvan S, Bravo PE, Lodge MA, Merrill J, Bengel FM und Sgouros G. Radiation Dosimetry of  $^{82}\text{Rb}$  in Humans Under Pharmacologic Stress. *J Nucl Med* 2011;52:485–491.
42. Becker J. Helmholtz Zentrum, München, German Research Center for Environmental Health, AMSD Research Unit Medical Radiation Physics and Diagnostics. <<http://www.helmholtz-muenchen.de/amsd/research/groups/radiation-physics-in-medical-diagnostics/numerical-dosimetry-and-voxel-models/voxel-phantoms/index.html>> (besucht am 11.02.2015).
43. Stabin MG. Fundamentals of nuclear medicine dosimetry. 1. Aufl. New York: Springer, 2008.
44. Lamart S, Simon SL, Bouville A, Moroz BE und Lee C. S Values for  $^{131}\text{I}$  based on the ICRP adult voxel phantoms. *Radiat Prot Dosimetry* 2015.

45. Stabin MG, Sparks RB und Crowe E. OLINDA/EXM: the second-generation personal computer software for internal dose assessment in nuclear medicine. *J Nucl Med* 2005;46:1023–1027.
46. ICRP. Publication 89: Basic anatomical and physiological data for use in radiological protection: Reference values. *Ann ICRP* 2002;32 (3-4).
47. ICRP. Publication 110: Adult Reference Computational Phantoms. *Ann ICRP* 2009;39.
48. Stabin MG. Uncertainties in Internal Dose Calculations for Radiopharmaceuticals. *J Nucl Med* 2008;49:853–860.
49. Xu XG und Eckerman KF, Hrsg. Handbook of anatomical models for radiation dosimetry. Series in medical physics and biomedical engineering. Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor & Francis Group, 2009.
50. Xu XG. An exponential growth of computational phantom research in radiation protection, imaging, and radiotherapy: a review of the fifty-year history. *Phys Med Biol* 2014;59:R233–302.
51. Consortium of Computational Human Phantoms (CCHP). Virtualphantoms. <<http://www.virtualphantoms.org/index.html>> (besucht am 12. 02. 2015).
52. Hadid L, Desbrée A, Schlattl H, Franck D, Blanchardon E und Zankl M. Application of the ICRP/ICRU reference computational phantoms to internal dosimetry: calculation of specific absorbed fractions of energy for photons and electrons. *Phys Med Biol* 2010;55:3631.
53. Ocampo JC, Puerta JA und Morales J. Evaluation of specific absorbed fractions from internal photon sources in the ICRP Reference Male Phantom. *Radiat Prot Dosimetry* 2013;157:133–141.
54. Benua RS, Cicale NR, Sonenberg M und Rawson RW. The relation of radioiodine dosimetry to results and complications in the treatment of metastatic thyroid cancer. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1962;87:171–182.
55. Lassmann M, Hänscheid H, Chiesa C, Hindorf C, Flux G und Luster M. EANM Dosimetry Committee series on standard operational procedures for pre-therapeutic dosimetry I: blood and bone marrow dosimetry in differentiated thyroid cancer therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008;35:1405–1412.
56. Eckerman KF und Endo A. MIRD: radionuclide data and decay schemes. 2. Aufl. Reston, VA: Society of Nuclear Medicine, 2008.
57. Hänscheid H, Fernández M, Eberlein U und Lassmann M. Self-irradiation of the blood from selected nuclides in nuclear medicine. *Phys Med Biol* 2014;59:1515–1531.
58. Zanzonico P. Routine Quality Control of Clinical Nuclear Medicine Instrumentation: A Brief Review. *J Nucl Med* 2008;49:1114–1131.
59. Kramer M. Szintillatoren. 2009. <<http://www.hephy.at/project/halbleiter/VOSkriptum/VO-5-Szintillatoren.pdf>> (besucht am 26. 06. 2015).
60. Kramer M. Halbleiterdetektoren.pdf. 2009. <<http://www.hephy.at/project/halbleiter/VOSkriptum/VO-4-Halbleiterdetektoren.pdf>> (besucht am 26. 06. 2015).

61. Saha GB. Scintillation and Semiconductor Detectors. In: *Physics and Radiobiology of Nuclear Medicine*. Springer New York, 2006:81–107.
62. Ziegler SI. Instrumentierung: SPECT, PET, PET/CT. In: *Nuklearmedizinische Onkologie, Herausgeber: Krause B-J, Schwaiger M, Buck AK*. 1. Aufl. Landsberg: ecomed-Medizin, 2007:17–24.
63. Hänscheid H, Lassmann M und Reiners C. Universitätsklinikum Würzburg: Kursus der Nuklearmedizin. <<http://www.nuklearmedizin.ukw.de/studium-und-lehre/kursus-der-nuklearmedizin.html>> (besucht am 13.02.2015).
64. Weigel H, Schlögel S, Reiners C und Lassmann M. Nutzung von Geräten in nuklearmedizinischen Einrichtungen bei radiologischen Notfallsituationen mit hohen bis sehr hohen Körperaktivitäten im Rahmen des REMPAN-Netzwerkes - Vorhaben 3609S60012. 2012. <<http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:0221-201203027635>> (besucht am 29.06.2015).
65. Jacobi B und Partovi S. Basics Molekulare Zellbiologie. 1. Aufl. München: Elsevier, Urban & Fischer, 2011.
66. Joppien S, Maier SL und Wendling DS. BASICS Experimentelle Doktorarbeit. 1. Aufl. München: Elsevier, Urban & Fischer, 2011.
67. MesserWoland. Zelle (Biologie). Wikipedia. Page Version ID: 142626513. 2015. <[http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Zelle\\_\(Biologie\)&oldid=142626513](http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Zelle_(Biologie)&oldid=142626513)> (besucht am 01.06.2015).
68. Zellorganelle, aus dem Gesundheitslexikon | Gesundheit, Medizin und Heilkunde auf wissen.de. <<http://www.wissen.de/medizin/zellorganelle>> (besucht am 27.04.2015).
69. Herrmann T, Baumann M und Dörr W. Klinische Strahlenbiologie: kurz und bündig. 4. Aufl. Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH, 2006.
70. Wikipedia. Chromosom.svg – Wikipedia. 2005. <<http://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Chromosom.svg>> (besucht am 01.06.2015).
71. Munro TR. The relative radiosensitivity of the nucleus and cytoplasm of Chinese hamster fibroblasts. *Radiat Res* 1970;42:451–470.
72. Alberts B, Hrsg. Molecular biology of the cell. 4. Aufl. New York: Garland Science, 2002. 1548 S.
73. IAEA. Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies. 2011. <<http://www-pub.iaea.org/books/IAEABooks/8735/Cytogenetic-Dosimetry-Applications-in-Preparedness-for-and-Response-to-Radiation-Emergencies>> (besucht am 29.04.2015).
74. Rink H. Die Radiolyse des Wassers. *Chemie in unserer Zeit* 1971;5:90–95.
75. Adam G, Läger P und Stark G. Physikalische Chemie und Biophysik. 5. Aufl. Dordrecht Heidelberg London New York: Springer, 2009. 631 S.
76. Bergita Ganse und Felix Spanier. Welt der Physik: Einfluss der kosmischen Strahlung auf den Menschen. 2011. <<http://www.weltderphysik.de/gebiet/leben/physik-medizin-und-gesundheit/kosmische-strahlung/>> (besucht am 07.05.2015).

77. Schipler A und Iliakis G. DNA double-strand-break complexity levels and their possible contributions to the probability for error-prone processing and repair pathway choice. *Nucl. Acids Res.* 2013;41:7589–7605.
78. Jeggo PA und Löbrich M. DNA double-strand breaks: their cellular and clinical impact? *Oncogene* 2007;26:7717–7719.
79. Jeggo PA, Geuting V und Löbrich M. The role of homologous recombination in radiation-induced double-strand break repair. *Radiother Oncol* 2011;101:7–12.
80. Rothkamm K, Krüger I, Thompson LH und Löbrich M. Pathways of DNA double-strand break repair during the mammalian cell cycle. *Mol Cell Biol* 2003;23:5706–5715.
81. Kogel AVd und Joiner M, Hrsg. *Basic Clinical Radiobiology Fourth Edition*. 4t. London: Hodder Arnold, 2009. 375 S.
82. Friedberg EC. DNA damage and repair. *Nature* 2003;421:436–440.
83. Lamarche BJ, Orazio NI und Weitzman MD. The MRN complex in Double-Strand Break Repair and Telomere Maintenance. *FEBS Lett* 2010;584:3682–3695.
84. Chronis F und Rogakou EP. Interplay Between  $\gamma$ -H2AX and 53BP1 Pathways in DNA Double-Strand Break Repair Response. In: *Apoptosis, Senescence, and Cancer*. Hrsg. von Gewirtz DA, Holt SE und Grant S. *Cancer Drug Discovery and Development*. Humana Press, 2007:243–263.
85. Richard Wheeler. Nucleosome structure-2.png - Wikimedia Commons. 2011. <[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nucleosome\\_structure-2.png](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nucleosome_structure-2.png)> (besucht am 27.04.2015).
86. Panier S und Boulton SJ. Double-strand break repair: 53BP1 comes into focus. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014;15:7–18.
87. Zimmermann M und Lange T de. 53BP1: pro choice in DNA repair. *Trends Cell Biol* 2014;24:108–117.
88. Chowdhury D, Keogh MC, Ishii H, Peterson CL, Buratowski S und Lieberman J.  $\gamma$ -H2AX Dephosphorylation by Protein Phosphatase 2A Facilitates DNA Double-Strand Break Repair. *Mol.Cell.* 2005;20:801–809.
89. Horn S, Barnard S und Rothkamm K. Gamma-H2AX-based dose estimation for whole and partial body radiation exposure. *PLoS ONE* 2011;6:e25113.
90. Mariotti LG, Pirovano G, Savage KI et al. Use of the  $\gamma$ -H2AX Assay to Investigate DNA Repair Dynamics Following Multiple Radiation Exposures. *PLoS ONE* 2013;8:e79541.
91. Ivashkevich A, Redon CE, Nakamura AJ, Martin RF und Martin OA. Use of the  $\gamma$ H2AX assay to monitor DNA damage and repair in translational cancer research. *Cancer Letters* 2012;327:123–133.
92. Vanessa Valdiglesias SG.  $\gamma$ H2AX as a marker of DNA double strand breaks and genomic instability in human population studies. *Mutat Res* 2013.

93. Herman IP. Physics of the Human Body. Bearb. von Greenbaum E. Biological and Medical Physics, Biomedical Engineering. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2007.
94. Scherthan H, Hieber L, Braselmann H, Meineke V und Zitzelsberger H. Accumulation of DSBs in gamma-H2AX domains fuel chromosomal aberrations. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;371:694–697.
95. Shah-Derler B, Wintermantel E und Ha SW. Blut. In: *Medizintechnik: Life Science Engineering*. Hrsg. von Wintermantel E und Ha SW. 5. Aufl. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2009:155–162.
96. Mah LJ, El-Osta A und Karagiannis TC.  $\gamma$ H2AX: a sensitive molecular marker of DNA damage and repair. *Leukemia* 2010;24:679–686.
97. Beels L, Bacher K, Smeets P, Verstraete K, Vral A und Thierens H. Dose-length product of scanners correlates with DNA damage in patients undergoing contrast CT. *Eur J Radiol* 2012;81:1495–1499.
98. Löbrich M, Rief N, Kühne M et al. In vivo formation and repair of DNA double-strand breaks after computed tomography examinations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:8984–8989.
99. Rothkamm K, Balroop S, Shekhdar J, Fernie P und Goh V. Leukocyte DNA damage after multi-detector row CT: a quantitative biomarker of low-level radiation exposure. *Radiology* 2007;242:244–251.
100. Beels L, Bacher K, De Wolf D, Werbrouck J und Thierens H. Gamma-H2AX foci as a biomarker for patient X-ray exposure in pediatric cardiac catheterization: are we underestimating radiation risks? *Circulation* 2009;120:1903–1909.
101. BD. Anleitung zum Gebrauch des BD CPT Systems. <<https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=25126>>.
102. Eberlein U, Peper M, Fernández M, Lassmann M und Scherthan H. Calibration of the  $\gamma$ -H2AX DNA Double Strand Break Focus Assay for Internal Radiation Exposure of Blood Lymphocytes. *PLoS ONE* 2015;10:e0123174.
103. Pelowitz DB, Durkee JW, Elson JS et al. MCNPX 2.7.0 Extensions. Technical Report LA-UR-11-02295. Los Alamos National Laboratory (LANL), 2011. DOI: 10.2172/1058045.
104. National Institute of Standards and Technology (NIST). Compositions of Materials used in STAR Databases. 2014. <<http://physics.nist.gov/cgi-bin/Star/compos.pl>> (besucht am 07.07.2014).
105. Golfier S, Jost G, Pietsch H et al. Dicentric chromosomes and gamma-H2AX foci formation in lymphocytes of human blood samples exposed to a CT scanner: a direct comparison of dose response relationships. *Radiation Prot Dosimetry* 2009;134:55–61.
106. Roch-Lefèvre S, Mandina T, Voisin P et al. Quantification of gamma-H2AX foci in human lymphocytes: a method for biological dosimetry after ionizing radiation exposure. *Radiat Res* 2010;174:185–194.

107. Rothkamm K, Horn S, Scherthan H et al. Laboratory Intercomparison on the  $\gamma$ -H2AX Foci Assay. *Radiat Res* 2013;180:149–155.
108. Vandevoorde C, Franck C, Bacher K et al.  $\gamma$ -H2AX foci as in vivo effect biomarker in children emphasize the importance to minimize x-ray doses in paediatric CT imaging. *Eur Radiol* 2014.
109. Bodei L, Mueller-Brand J, Baum RP et al. The joint IAEA, EANM, and SNMMI practical guidance on peptide receptor radionuclide therapy (PRRNT) in neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2013;40:800–816.
110. Baum RP und Kulkarni HR. Peptide Receptor Radionuclide Therapy of Neuroendocrine Tumors Expressing Somatostatin Receptors. In: *Therapeutic Nuclear Medicine*. Hrsg. von Baum RP. Springer Berlin Heidelberg, 2014:583–603.
111. Van Essen M, Krenning EP, De Jong M, Valkema R und Kwekkeboom DJ. Peptide Receptor Radionuclide Therapy with radiolabelled somatostatin analogues in patients with somatostatin receptor positive tumours. *Acta Oncol* 2007;46:723–734.
112. Bartolomei M, Bodei L, De Cicco C et al. Peptide receptor radionuclide therapy with (90)Y-DOTATOC in recurrent meningioma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009;36:1407–1416.
113. Sabet A, Ahmadzadehfar H, Herrlinger U, Wilinek W, Biersack HJ und Ezziddin S. Successful radiopeptide targeting of metastatic anaplastic meningioma: case report. *Radiat Oncol* 2011;6:94.
114. Kreissl MC, Hänscheid H, Löhr M et al. Combination of peptide receptor radionuclide therapy with fractionated external beam radiotherapy for treatment of advanced symptomatic meningioma. *Radiat Oncol* 2012;7:99.
115. Budiawan H, Salavati A, Kulkarni HR und Baum RP. Peptide receptor radionuclide therapy of treatment-refractory metastatic thyroid cancer using <sup>90</sup>Yttrium and <sup>177</sup>Lutetium labeled somatostatin analogs: toxicity, response and survival analysis. *Am J Nucl Med Mol Imaging* 2013;4:39–52.
116. Lapa C, Werner RA, Schmid JS et al. Prognostic value of positron emission tomography-assessed tumor heterogeneity in patients with thyroid cancer undergoing treatment with radiopeptide therapy. *Nucl Med Biol* 2014.
117. Versari A, Sollini M, Frasoldati A et al. Differentiated thyroid cancer: a new perspective with radiolabeled somatostatin analogues for imaging and treatment of patients. *Thyroid* 2014;24:715–726.
118. Eberlein U, Nowak C, Bluemel C et al. DNA Damage in Blood Lymphocytes in Patients after Lu-177 Peptide Receptor Radionuclide Therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2015;Doi: 10.1007/s00259-015-3083-9.
119. Ivashkevich AN, Martin OA, Smith AJ et al.  $\gamma$ H2AX foci as a measure of DNA damage: a computational approach to automatic analysis. *Mutat Res* 2011;711:49–60.
120. Hänscheid H, Fernández M und Lassmann M. The absorbed dose to blood from blood-borne activity. *Phys Med Biol* 2015;60:741–753.



121. Luster M, Clarke SE, Dietlein M et al. Guidelines for radioiodine therapy of differentiated thyroid cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008;35:1941–1959.
122. American Thyroid Association (ATA) Guidelines Taskforce on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer, Cooper DS, Doherty GM et al. Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 2009;19:1167–1214.
123. Leggett RW. A physiological systems model for iodine for use in radiation protection. *Radiat Res* 2010;174:496–516.



# A Abkürzungen

In der vorliegenden Arbeit wurden folgende Abkürzungen verwendet:

ATM	Ataxia telangiectasia mutated
ATP	Adenosintriphosphat
ATR	Ataxia telangiectasia and Rad3-related protein
Bl	Blut
BER	Basenexzisionsreparatur
cc by-sa-3.0	Die Datei wurde unter der Lizenz „Creative Commons Namensnennung -Weitergabe unter gleichen Bedingungen“ in Version 3.0 veröffentlicht
cc by-nc-nd	Die Datei wurde unter der Lizenz „Creative Commons Namensnennung -Nicht-kommerziell - Keine Bearbeitung veröffentlicht
CI	Konfidenzintervall (engl. confidence interval)
CT	Computertomographie
DAPI	4',6-Diamidin-2-phenylindol
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOTATATE	DOTA-D-PheTyr3-octreotate
DOTATOC	DOTA-D-Phe-Tyr3-octreotide
DSB	Doppelstrangbruch
DTC	Differenziertes Schilddrüsenkarzinom (engl. differentiated thyroid cancer)
EANM	European Association of Nuclear Medicine and Molecular Imaging (Europäische Gesellschaft für Nuklearmedizin)
ER	Endoplasmatische Retikulum
ESB	Einzelstrangbruch
FDG	Fluordesoxyglucose
GK	Ganzkörper
HR	Homologe Rekombination (engl. homologous recombination)
ICRP	International System of Radiological Protection
LET	Linearer Energie-Transfer
mRNA	messenger-RNA
MRT	Magnetresonanz-Tomographie
miRNA	micro-RNA
MIRD	Medical Internal Radiation Dose
mtRNA	mitochondriale RNA
NIST	National Institute of Standards and Technology
NHEJ	Nichthomologe Verbindung (engl. non-homologous end-joining)
PBS	phosphatgepufferter Salzlösung
PET	Positronenemissionstomographie (engl. Positron Emission Tomography)

PBMC	mononukleare Zellen des peripheren Blutes
PRRT	Peptidrezeptor-Radionuklidtherapie
RCP-AM	männliches Referenzphantom nach ICRP110 (engl. adult male reference computational phantom)
RIF	Strahleninduzierte Foci (engl. radiation-induced foci)
RIT	Radioiodtherapie
RNA	Ribonukleinsäure
rRNA	ribosomale-RNA
SAF	specific absorbed fraction
SD	Standardabweichung (engl. standard deviation)
snRNA	kleine Kern-RNA
SNM	Society of Nuclear Medicine (Nuklearmedizinischen Gesellschaft der USA)
SOP	Standardvorgehensweise (engl. Standard Operational Procedure)
SPECT	Einzelphotonenemissionstomographie (engl. single photon emission computed tomography)
TAC	Zeit-Aktivitäts-Kurve (engl. time-activity-curve)
TIAC	Residenzzeit (engl. time-integrated activity coefficient)
tRnA	transfer-RNA
TSH	Thyreoida-stimulierendes Hormon

# B Publikationsliste

## Originalarbeiten

1. Eberlein U, Nowak C, Bluemel C et al. DNA Damage in Blood Lymphocytes in Patients after Lu-177 Peptide Receptor Radionuclide Therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2015;Doi: 10.1007/s00259-015-3083-9.
2. Eberlein U, Peper M, Fernández M, Lassmann M und Scherthan H. Calibration of the  $\gamma$ -H2AX DNA Double Strand Break Focus Assay for Internal Radiation Exposure of Blood Lymphocytes. *PLoS ONE* 2015;10:e0123174.
3. Herrmann K, Bluemel C, Weineisen M et al. Biodistribution and radiation dosimetry for a novel probe targeting prostate specific membrane antigen for Imaging and Therapy ( $^{68}\text{Ga}$ -PSMA I&T). *J Nucl Med* 2015;56:855–861.
4. Herrmann K, Lapa C, Wester HJ et al. Biodistribution and radiation dosimetry for the chemokine receptor CXCR4-targeting probe  $^{68}\text{Ga}$ -pentixafor. *J Nucl Med* 2015;56:410–416.
5. Lassmann M und Eberlein U. Radiation dosimetry aspects of  $^{177}\text{Lu}$ . *Curr Radiopharm* 2015;8:[Epub ahead of print].
6. Hänscheid H, Fernández M, Eberlein U und Lassmann M. Self-irradiation of the blood from selected nuclides in nuclear medicine. *Phys Med Biol* 2014;59:1515–1531.
7. Lassmann M, Eberlein U, Tosi G und Chiti A.  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT scans for children and adolescents. *Lancet Oncol* 2014;15:e243–244.
8. Bundschuh R, Eberlein U, Lassmann M und Buck A. PET/CT- und SPECT/CT-Diagnostik in der Onkologie – Wie kann die Strahlenexposition reduziert werden? *Der Nuklearmediziner* 2012;35:215–221.
9. Eberlein U und Lassmann M. Dosimetry of [(68)Ga]-labeled compounds. *Appl Radiat Isot* 2012;76:70–74.
10. Eberlein U, Bröer JH, Vandevorode C et al. Biokinetics and dosimetry of commonly used radiopharmaceuticals in diagnostic nuclear medicine – a review. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2011;38:2269–2281.
11. Mitri FG, Eberlein U und Fatemi M. Surface roughness imaging using the acoustic emission induced by the dynamic radiation force of ultrasound. *Appl Phys Lett* 2006;88:234105.

## Konferenzbeiträge

1. Eberlein U, Scherthan H, Peper M, Fernández M und Lassmann M. An in-vitro method for calibrating the gamma-H2AX DNA double strand break focus assay in blood lymphocytes for radionuclide therapy. In: *Onsite Program*. World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering (WC2015). Toronto, Ont., Canada, 2015:97.
2. Scherthan H, Eberlein U, Drouet M und Lassmann M.  $\gamma$ H2AX and 53BP1 DNA damage foci as indicators of external and internal radiation exposure. In: *Abstracts*. ConRad 2015. München, 2015:O21.
3. Lapa C, Herrmann K, Wester HJ et al. Biodistribution and radiation dosimetry for the novel chemokine receptor CXCR4-targeting probe [Ga-68] pentixafor. In: *Journal of Nuclear Medicine*. Theranostics World Congress. Bd. 56 Supplement 2. Baltimore, MD: J Nucl Med, 2015:42.
4. Eberlein U, Bluemel C, Werner RA et al. Can the  $\gamma$ -H2AX DNA double strand break focus assay assess radiation exposure in blood lymphocytes after incorporation of radionuclides? In: *Detailed Scientific Programme and Abstract Book*. International Conference on Individual Monitoring of Ionising Radiation. Bruges, Belgium, 2015:118.
5. Eberlein U, Peper M, Bluemel C et al. Blood-based dosimetry in radiopeptide therapy patients using the DSB focus assay. In: *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. Annual Congress of the EANM 2014. Bd. 41 Supplement 2. Gothenburg, Sweden: Springer, 2014:S284.
6. Eberlein U, Lassmann M, Peper M, Fernández M und Scherthan H. In-vitro dose calibration of DNA damage in blood lymphocytes after internal irradiation of whole blood with I- 131 and Lu-177 using the DSB focus assay. In: *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. Annual Congress of the EANM 2014. Bd. 41 Supplement 2. Gothenburg, Sweden: Springer, 2014:S294.
7. Eberlein U, Kaufmann J, Jodai L, Bouterfa H, Lassmann M und Jensen SB. [68Ga]-OPS202 targeting somatostatin receptors: In vivo biodistribution and dosimetry in a pig model. In: *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. Annual Congress of the EANM 2014. Bd. 41 Supplement 2. Gothenburg, Sweden, 2014:S317.
8. Eberlein U, Lassmann M, Nowak C et al. Investigation of early DNA damage after radioiodine therapy in patients with thyroid cancer using the gamma-H2AX focus assay. In: *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. Annual Congress of the EANM 2013. Bd. 40 Supplement 2. Lyon, France: Springer, 2013:S160.
9. Eberlein U, Fernández M, Bluemel C, Buck AK und Lassmann M. Bestimmung der Energiedosis im Blut nach Therapie mit Lu-177-DOTATATE. In: *Nuklearmedizin, Kongressausgabe*. 51. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin Bremen 2013. Bd. 52. 2. Bremen: Schattauer, 2013:A73.

10. Eberlein U, Lassmann M, Schrock G, Dießl S, Buck AK und Scherthan H. Early DNA repair focus formation in blood cells after thyroid cancer therapy with I-131. In: *Annual Congress of the EANM 2012, Milano, Italy*. Annual Congress of the EANM 2012, Milano, Italy. Bd. 39 Suppl 2. Milano, Italy: Springer, 2012:S336.
11. Eberlein U, Lassmann M, Echteld C van, Bender D, Kaufmann J und Bouterfa H. Biodistribution and dosimetry of [68Ga]-DOTASOM targeting somatostatin receptors in a pig model. In: *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. Annual Congress of the EANM 2012. Bd. 39 Supplement 2. Milano, Italy: Springer, 2012:S325.
12. Eberlein U, Haenscheid H, Biko J, Reiners C und Lassmann M. Blood-based dosimetry and the formation of micronuclei in thyroid cancer patients. In: *Society of Nuclear Medicine Annual Meeting Abstracts*. SNM 2012. Bd. 53 Supplement 1. Miami Beach, Florida, 2012:1498.
13. Lassmann M, Vase K, Eberlein U et al. [68Ga]-DOTASOM targeting somatostatin receptors: In vivo biodistribution and dosimetry. In: *Society of Nuclear Medicine Annual Meeting Abstracts*. SNM 2012. Bd. 53 Supplement 1. Miami Beach, Florida, 2012:1511.
14. Eberlein U, Broer J, Vandevoorde C et al. Results of the EU-project peddose.net: Dosimetry and health effects of diagnostic applications of radiopharmaceuticals. In: *Society of Nuclear Medicine Annual Meeting Abstracts*. SNM 2012. Bd. 53 Supplement 1. Miami Beach, Florida, 2012:1506.
15. Santos P, Eberlein U, Bröer JH et al. Literature review on existing phantoms for absorbed dose estimation and the impact of their characteristics on dosimetric results. In: *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. Annual Congress of the EANM 2011. Bd. 38 Supplement 2. Eur J Nucl Med Mol Imaging. Birmingham, UK: Springer, 2011:S439.
16. Eberlein U. Current Status of the Use of ESTABLISHED Radiopharmaceuticals in Diagnostics. EANM Congress: Pre-Symposium 3: Peddose.net - Do We Apply Too Much Radiation in Diagnostic Nuclear Medicine? Birmingham, UK, 2011.
17. Eberlein U, Bröer JH, Vandevoorde C et al. PEDDOSE.NET: Dosimetry and Health Effects of Diagnostic Applications of Radiopharmaceuticals with Particular Emphasis on the Use in Children and Adolescents. In: *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. Annual Congress of the EANM 2011. Bd. 38 Supplement 2. Eur J Nucl Med Mol Imaging. Birmingham, UK: Springer, 2011:S438.
18. Eberlein U, Bröer JH, Vandevoorde C et al. Review on biokinetics and dosimetry data of frequently used diagnostic radiopharmaceuticals. In: *Abstracts Nuklearmedizin2011 - Dreiländertagung in Bregenz*. Nuklearmedizin2011. Bd. 50. 2. Schattauer, 2011:A36.
19. Vandevoorde C, Eberlein U, Bröer JH et al. Multimodality imaging in nuclear medicine: a strong need for optimization of CT-protocols. In: *Abstracts Nuklearmedizin2011 - Dreiländertagung in Bregenz*. Nuklearmedizin2011. Bd. 50. 2. Schattauer, 2011:A111.

20. Eberlein U, Bröer JH, Vandevoorde C et al. Biokinetics and Dosimetry of Frequently used Diagnostic Radiopharmaceuticals. In: *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. Annual Congress of the EANM 2011. Bd. 38 Supplement 2. Eur J Nucl Med Mol Imaging. Birmingham, UK: Springer, 2011:S438.
21. Bröer JH, Eberlein U, Vandevoorde C et al. Diagnostic Reference Levels for Radiopharmaceuticals for Children and Adults - a Status Report. In: *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. Annual Congress of the EANM 2011. Bd. 38 Supplement 2. Eur J Nucl Med Mol Imaging. Birmingham, UK: Springer, 2011:S439.
22. Bröer JH, Eberlein U, Vandevoorde C et al. Diagnostische Referenzwerte für Radiopharmazeutika für Kinder und Erwachsene – ein Statusbericht. In: *Abstracts*. 3. Ländertagung der ÖGMP, DGMP und SGSMP 2011 – Medizinische Physik. 2011:95.
23. Eberlein U. Radiation Exposure in Nuclear Medicine for Children and Adults. ECR 2011: PEDDOSE.NET Session Multimodality Imaging: Do we apply too much radiation? Wien, 2011.



## **C Lebenslauf**



# D Eidesstattliche Erklärung (Affidavit)

## Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, die Dissertation „Zusammenhang zwischen physikalischer Dosimetrie und DNA Doppelstrangbrüchen in Lymphozyten nach Radionuklidtherapie eigenständig“, d. h. insbesondere selbständig und ohne Hilfe eines kommerziellen Promotionsberaters, angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Ich erkläre außerdem, dass die Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Würzburg, 23. Juli 2015

---

Uta Eberlein

## Affidavit

I hereby confirm that my thesis entitled „Relationship between internal dosimetry and DNA double strand breaks in lymphocytes after radionuclide therapy“ is the result of my own work. I did not receive any help or support from commercial consultants. All sources and / or materials applied are listed and specified in the thesis.

Furthermore, I confirm that this thesis has not yet been submitted as part of another examination process neither in identical nor in similar form.

Würzburg, 23. Juli 2015

---

Uta Eberlein



# E Danksagung

Zum Schluss möchte ich mich bei all denen bedanken, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre:

- Ein ganz besonderer Dank geht an meinem Doktorvater Prof. Dr. Michael Laßmann, der mich ermutigt und motiviert hat, diese Promotion anzugehen und mir dieses spannende Thema der Biodosimetrie überlassen hat. Er hat mich hervorragend betreut und hat sich für aufkommende Fragen und Diskussionen besonders viel Zeit genommen. Zudem bot er mir die Möglichkeit, meine Arbeit bei vielen internationalen Tagungen vorzustellen.
- Prof. Dr. Harry Scherthan danke ich für das unermüdliche, schnelle Zählen der Foci, für die Unterstützung bei biologischen Fragen und für wertvolle Diskussionen und Hinweise, die mir immer weitergeholfen haben. Ohne diese hervorragende fächerübergreifende Kooperation wäre diese Arbeit gar nicht erst möglich gewesen.
- Frau Prof. Dr. Tcholpon Djuzenova und Prof Dr. Andreas Buck danke ich für die sofortige Bereitschaft, Teil meines Promotionskomitees zu sein und dafür, dass sie mich während meiner Promotionszeit tatkräftig unterstützt haben.
- Prof. Dr. Buck danke ich zusätzlich für die gute Infrastruktur in der Klinik und die Möglichkeit interdisziplinär zu Arbeiten.
- Ein ganz besonderer Dank geht an die Stationsärzte und das Stationsteam. Vor allem an Dr. Christina Blümel, Dr. Rudolph Werner und Dr. Constantin Lapa für die ausgezeichnete Zusammenarbeit, die mit ihrem Engagement sowie mit der Patientenrekrutierung für die Studie die Durchführung dieser Arbeit erst möglich gemacht haben.
- Prof. Dr. Bert Hecht danke ich für die Übernahme des Prüfungsvorsitzes.
- Meiner ehemaligen Kollegin und Büronachbarin Frau Dr. Maria Fernández danke ich für die Monte Carlo Simulationen, ohne die die Berechnung der Energiedosis in den in-vitro Proben nicht möglich gewesen wäre.
- Heike Göbel, die mich zu Beginn meiner Arbeit im Labor in die Probenaufbereitung eingelernt hat, danke ich für die anfängliche aktive Unterstützung bei der Aufbereitung der Proben, bis ich auf eigenen Beinen stehen konnte.
- Inge Grelle danke ich für den Pipettierkurs und natürlich für die Messungen meiner Blutproben im Bohrloch.

- Hanne Jahn und Dr. Johannes Biko danke ich für die Unterstützung bei den Blutabnahmen bei den Probanden
- Ein großer Dank geht an das Team der Medizinphysik für ein tolles Arbeitsklima, besonders an meine Mitdoktorandinnen Seval Beykan und Jéssica Soares Machado, die frischen Wind in die Abteilung gebracht haben.
- Vielen Dank an Susanne Schlögl, die mir bei der Abfüllung der Aktivität behilflich war.
- Dr. Dominik Richter danke ich für den Erfahrungsaustausch während der gemeinsamen Doktorandenzeit.
- Dr. Katharina Lückerrath danke ich für die Hilfestellung bei biologischen Fragen und für das Korrekturlesen des Biologieteils.
- Allen andern Mitarbeitern der Nuklearmedizin danke ich für die gute Zusammenarbeit.
- Der EANM, besonders Dr. Lisa Bodei, Dr. Glenn Flux und Nena Ristevska danke ich für ein gelungenes YIM Meeting 2014 in Wien, und dass sie eine Medizinphysikerin für den YIM Award 2014 ausgewählt haben.
- Meinem Vater, Prof. Dr. Harry Scherthan und Dr. Johannes Tran-Gia danke ich für das intensive Korrekturlesen dieser Arbeit und die hilfreichen Änderungsvorschläge.
- Ich danke der Graduate School of Life Sciences (GSLs) der Universität Würzburg, die mit ihrem strukturierten Promotionsprogramm und den angebotenen Kursen eine Abwechslung zum Laboralltag lieferten und einen hervorragenden Rahmen für die Promotion gestellt hat. Zusätzlich hat sie mich mit mehreren Reisestipendien bei den Reisen zu Kongressen finanziell unterstützt.
- Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die Förderung dieses Projektes und die Verlängerung des Forschungsvorhabens für weitere 2 Jahre.

Ganz besonders möchte ich mich bei meinen Eltern Gisela und Ulrich Eberlein bedanken, die mich immer unterstützt und an mich geglaubt haben.