



Bundesministerium
für Umwelt, Naturschutz
und Reaktorsicherheit

SCHRIFTENREIHE REAKTORSICHERHEIT UND STRAHLENSCHUTZ

DOSISREKONSTRUKTION MIT EPR-SPEKTROSKOPIE VON MILCHZÄHNEN

BMU - 2003-628



WIR STEUERN UM AUF ERNEUERBARE ENERGIEN.

BMU – 2003-628

**Dosisrekonstruktion mit EPR-Spektroskopie von
Milchzähnen**

A. Wieser

N. El-Faramawy

IMPRESSUM

Dieser Band enthält einen Abschlussbericht über ein vom Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (BMU) gefördertes Vorhaben. Verantwortlich für den Inhalt sind allein die Autoren. Das BMU übernimmt keine Gewähr für die Richtigkeit, die Genauigkeit und Vollständigkeit der Angaben sowie die Beachtung privater Rechte Dritter. Der Eigentümer behält sich alle Rechte an der weiteren Nutzung oder Vervielfältigung des Berichts vor.

Der Bericht wurde durch das GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, Neuherberg, Arbeitsgruppe Risikoanalyse (Leitung P. Jacob) erstellt.

Der Bericht gibt die Auffassung und Meinung der Auftragnehmer wieder und muss nicht mit der des BMU übereinstimmen.

Herausgeber:

Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit
Arbeitsgruppe RS I 1
Postfach 12 06 29
53048 Bonn

ISSN 1612-6386

Erscheinungsjahr: 2003

INHALT

1	Ziel des Vorhabens	1
2	Methodik	4
2.1	Herangehensweise	4
2.2	Verwendete „Werkzeuge“	6
2.2.1	EPR Messungen	6
2.2.2	EPR Spektrenanalyse	7
2.2.3	Bestrahlungsanlagen	7
3	Verwendung von Milch-Schneidezähnen zur Rekonstruktion der absorbierten Strahlendosis	9
3.1	Aufbereitung von Milch-Schneidezähnen für EPR Messungen	9
3.2	Alternative L-Band EPR Messungen	10
3.3	Verfahren zur Akkumulation der EPR Spektren von ganzen Zähnen	11
3.4	Das EPR Spektrum von Milch-Schneidezähnen	12
3.5	Stabilität der EPR Signale in gamma-bestrahlten Milch-Schneidezähnen	16
3.6	Kalibrierung der EPR Dosimetrie für Milch-Schneidezähne	19
4	Verwendung von Milch-Backenzähnen zur Rekonstruktion der absorbierten Strahlendosis	23
4.1	Aufbereitung von Milch-Backenzähnen für EPR Messungen	23
4.2	Verfahren zur Akkumulation der EPR Spektren von Zahnschmelzpulver	24
4.3	Das EPR Spektrum von Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen	24
4.4	Stabilität der EPR Signale in Zahnschmelz von gamma-bestrahlten Milch-Backenzähnen	28
4.5	Kalibrierung der EPR Dosimetrie für Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen	30
5	Das EPR Spektrum von Zahnschmelz nach Bestrahlung mit UV-Licht	33
6	Zusammenfassung	39
7	Literatur	42

Anhang:

Protokoll für die Anwendung der EPR Spektrometrie zur Dosisrekonstruktion mit Milchzähnen

1 Ziel des Vorhabens

In den letzten Jahrzehnten wurde immer wieder infolge verschiedener Unfälle oder unsachgemäßer Anwendung und Entsorgung von Strahlenquellen eine nicht unerhebliche Anzahl von Personen radioaktiver Strahlung in unterschiedlichem Ausmaß ausgesetzt. Da sich auch trotz aller Vorsichtsmaßnahmen immer wieder Unfälle ereignen - jüngstes Beispiel ist der Unfall von Tokaimura - können erhöhte Strahlenexpositionen der Bevölkerung auch in Zukunft nicht ausgeschlossen werden. Nach derartigen Ereignissen zeigt sich häufig, dass Radioaktivitäts- und Ortsdosismessungen nicht in ausreichenden Maße durchgeführt wurden, um die Unfallsituation hinreichend genau zu beschreiben. Dies macht eine Ermittlung der Dosen, denen Einzelpersonen oder bestimmte Gruppen der Bevölkerung ausgesetzt waren, oftmals schwer, wenn nicht unmöglich. Die retrospektive Abschätzung von Strahlenexpositionen ist somit von grundlegender Bedeutung für die Analyse des Strahlenrisikos und sie ist ein wichtiger Bestandteil in vielen epidemiologischen Untersuchungen.

In der Strahlenschutzverordnung §§44-45 sind Grenzwerte für maximal zulässige Dosen festgelegt. Da die Kontrolle der möglichen Überschreitung der Grenzwerte in Fällen unkontrollierter Expositionen nicht unbedingt durch reguläre Messungen gewährleistet ist, wird der Einsatz von alternativen Meßmethoden zur Dosisrekonstruktion erforderlich.

Zur retrospektiven Ermittlung der individuellen Strahlendosis sind Messungen an biologischen, körpereigenen Materialien von besonderem Interesse. Die paramagnetische Elektronenresonanz (EPR) Spektroskopie von Zähnen ist hierbei am besten geeignet für die Messung von Strahlenexpositionen. Bei der EPR Dosimetrie wird in der mineralischen Zahnkomponente die durch ionisierende Strahlung erzeugte Konzentration an Radikalen gemessen. Durch die hohe Stabilität der Radikale kann die Methode zur Dosimetrie von lange zurückliegenden Expositionen verwendet werden. Durch die Verwendung von optimierten Verfahren zur Aufbereitung der Zahnproben und Auswertung der EPR Spektren wurde eine hohe Zuverlässigkeit der EPR Dosimetrie erzielt mit einer unteren Nachweisgrenze von etwa 100 mGy. Länger zurückliegende Strahlenexpositionen von dieser Größenordnung können mit Methoden der biologischen Dosimetrie nicht nachgewiesen werden. Das EPR Dosimetrie Verfahren wurde optimiert für Ermittlung von

Individualdosen von Erwachsenen durch Messung von Zahnschmelz von permanenten Zähnen.

Gegenüber von Erwachsenen besitzen jedoch Kinder das höchste Strahlenrisiko je Einheitsdosis und sind von den Auswirkungen unkontrollierter Strahlenexpositionen durch Unfälle, unsachgemäße Anwendung und Entsorgung von Strahlenquellen oder erhöhte natürliche Expositionen am stärksten betroffenen. Die Rekonstruktion der individuellen Strahlendosen von Kindern als kritischer Personengruppe ist für die Erfassung des Strahlenrisikos von größter Bedeutung. Milchzähne sind zwischen dem 1. und 3. Lebensjahr vollständig ausgebildet und stehen durch natürlichen Ausfall zwischen dem 6. und 12. Lebensjahr für EPR Messungen zur Verfügung. Es könnten hiermit Strahlendosen abgeschätzt werden die zwischen dem 1. und 12. Lebensjahr absorbiert wurden.

Das Ziel des vorliegenden Vorhabens ist die,

- Untersuchung des Potentials zur Weiterentwicklung der EPR Spektrometrie für die Verwendung von Milchzähnen zur Rekonstruktion von individuellen Strahlenexpositionen von Kindern,
- die Erarbeitung von geeigneten Verfahrensschritte zur Aufbereitung von Zahnproben, EPR Messung und Auswertung der EPR Spektren von Milchzähnen für die Ermittlung der absorbierten Dosis im Zahnschmelz mit einer
- Nachweisgrenze von 100 mGy und eine Messgenauigkeit von $\pm 25\%$, bzw. ± 70 mGy für Dosen unterhalb von 300 mGy (95 % Vertrauensintervall).

Ein übergeordnetes Ziel dieses Vorhabens ist die Verbesserung der Möglichkeiten der von der Strahlenschutzverordnung vorgesehenen Messungen. Um dies zu erreichen wurde das Forschungsvorhaben in vier Phasen gegliedert:

Die erste Phase beinhaltet die Überprüfung der Eignung der gegenwärtig verwendeten Verfahren und die Ermittlung der Verfahrensschritte für die eine Modifikation zur EPR Spektroskopie von Milchzähnen erforderlich ist. Durchführung von

alternativen L-Band EPR Messungen an nicht behandelten Zähnen und Überprüfung ihrer Anwendbarkeit zur Dosisrekonstruktion von Milchzähnen.

Die zweite Phase dient der Anpassung der gegenwärtig verwendeten und Entwicklung von zusätzlich erforderlichen Verfahrensschritten zur Optimierung der EPR Spektroskopie an Milchzähnen. Ausarbeitung des Verfahrens zur EPR Dosisrekonstruktion von Milchzähnen mit der Randbedingung von einer angestrebten Nachweisgrenze von 100 mGy und eine Meßgenauigkeit von $\pm 25\%$, bzw. ± 70 mGy für Dosen unterhalb von 300 mGy (95% Vertrauensintervall).

In der dritten Phase erfolgt die Kalibrierung der EPR Dosimetrie für Milchzähne. Die Erfassung des Hintergrundsignals und der Strahlenempfindlichkeit von Milchzähnen sowie die Erstellung der Kalibrierkurve.

In der vierten Phase erfolgt die Ausarbeitung eines Protokolls für *die Anwendung der EPR Spektrometrie zur Dosisrekonstruktion mit Milchzähnen*.

In dem vorliegenden Vorhaben war im Falle der Verfügbarkeit als Option die Rekonstruktion der individuellen Strahlendosis von bis zu 20 Milchzähnen von Kindern, die erhöhten Strahlenexpositionen ausgesetzt waren, enthalten. Während der Laufzeit des Vorhabens stand jedoch das entsprechende Zahnmaterial nicht zur Verfügung, sodass diese Option nicht durchgeführt werden konnte.

2 Methodik

2.1 Herangehensweise

Die paramagnetische Elektronenresonanz (engl.: Electron Paramagnetic Resonance, EPR) wird auch als Elektronen Spin Resonanz, ESR, bezeichnet und tritt bei Stoffen mit ungepaarten Elektronen auf. Werden diese in ein Magnetfeld gebracht, so spalten die Energieniveaus der ungepaarten Elektronen auf entsprechend der Ausrichtung ihrer magnetischen Momente. Unter dem Einfluss von Mikrowellenstrahlung geeigneter Frequenz werden Übergänge zwischen den Niveaus induziert. Es tritt ein paramagnetischer Resonanzeffekt auf, der sich durch Absorption der Mikrowellenstrahlung zeigt.

In dem Karbonatgerüst von Knochen und Zähnen werden durch ionisierende Strahlung extrem langlebige Radikale mit ungepaarten Elektronen erzeugt und können mit der EPR nachgewiesen werden. Die EPR Absorption ist proportional zur Strahlenexposition und erlaubt die Ermittlung der absorbierten Strahlendosis. Zur Zeit ist die EPR Spektroskopie von Zahnschmelz das einzige physikalische Dosimetrieverfahren zur retrospektiven Bestimmung der individuellen Dosis. Mit dem Verfahren können auch sehr lange zurück liegende Strahlenexpositionen nachgewiesen werden.

Die Anwendbarkeit von Zahnschmelz zum Nachweis von ionisierender Strahlung ist seit mehr als 30 Jahren bekannt (Brady et al., 1968). Durch seinen hohen mineralischen Gehalt ist er besonders zur Dosimetrie geeignet. Zahnschmelz besteht zu 96 Gewichts-% aus Hydroxylapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), 3 Gewichts-% Wasser und 1 Gewicht-% organischen Verbindungen (Driessens, 1980). Bei der Bildung von Zahnschmelz werden Karbonat-Ionen (CO_3^{2-}) als Verunreinigung, anstelle von PO_4^- und OH^- -Ionen im Hydroxylapatit Kristallgitter eingebaut (Moens et al., 1993). Durch die Absorption von ionisierender Strahlung werden aus den Karbonat-Verunreinigungen CO_2^- -Radikale erzeugt und können durch EPR nachgewiesen werden.

Ein wesentlicher Vorteil von Zahnschmelz für die Rekonstruktion von individuellen Strahlendosen folgt aus der Tatsache, dass Zahnschmelz nach seiner Ausbildung im Falle von Abnutzung oder Zerstörung durch Zahnkrankheit nicht mehr nachgebildet wird. Die

im Zahnschmelz durch Strahlung erzeugte Konzentration an CO_2^- -Radikale kann deshalb durch biologische Einflüsse nicht verändert werden. Die Lebensdauer der CO_2^- - Radikale im Zahnschmelz beträgt 10^7 Jahre bei einer Umgebungstemperatur von 25°C (Schwarz, 1985).

Der Zahn besteht neben Zahnschmelz in der Zahnkrone aus Zahnbein, das unter der Zahnkrone enthalten und aus dem die Zahnwurzel aufgebaut ist. Die Zahnwurzel ist von einer dünnen Zahnzementschicht überzogen. Zahnzement ist nur in sehr geringen Mengen vorhanden und zur Dosimetrie nicht geeignet. Zahnbein kann nur eingeschränkt für die Dosimetrie verwendet werden. Im Gegensatz zu Zahnschmelz wird Zahnbein ständig nachgebildet. Hierdurch ist Zahnbein nur für die Dosisrekonstruktion von kurz zurückliegenden Expositionen und kurze Expositionszeiträume geeignet. Zahnbein besteht zu 30 Gewichts-% aus organischem Material wodurch die Nachweisgrenze für absorbierte Strahlendosen erhöht wird. Die Dosisrekonstruktion mit niedriger Nachweisgrenze ist mit Zahnschmelz möglich bei dem durch geeignete Verfahren das Zahnbein vollständig abgetrennt wurde.

Bei der EPR-Messung wird die Stärke der Mikrowellenabsorption bei zunehmender Magnetfeldstärke gemessen. Bedingt durch die bei EPR Spektrometern verwendeten Lock-in Verstärker zur Rauschbefreiung werden bei der EPR Spektrumsaufzeichnung nicht die Mikrowellenabsorption an sich, sondern deren erste Ableitung gegen die Magnetfeldstärke aufgetragen. Die erste Ableitung der Mikrowellenabsorption wird im Weiteren als EPR Intensität bezeichnet. Die Differenz zwischen maximaler und minimaler Intensität einer Resonanzlinie als EPR Amplitude. Die Differenz in der Magnetfeldstärke bei maximaler und minimaler Intensität einer Resonanzlinie wird als Peak-to-Peak Linienbreite bezeichnet. Für die Analyse der EPR Spektren wird die Größe der Magnetfeldstärke, H durch den Landé-Faktor, g ersetzt. Beide Größen sind über die Beziehung (1) verknüpft:

$$(1) \quad g = (h \cdot \nu) / (\beta \cdot H)$$

mit der Planck Konstanten, h , dem Bohrschen Magneton, β und der Mikrowellenfrequenz, ν . Die Position einer EPR Resonanzlinie im Spektrum, bei einem bestimmten g -Wert ist charakteristisch für jedes spezifische Radikal. Weitere charakteristische Parameter einer Resonanzlinie sind ihre Symmetrie (isotrop, axial oder rhombisch), Linienform (Gauß oder

Lorentz) und Linienbreite. Durch diese Parameter kann eine Resonanzlinie einem bestimmten Radikal zugeordnet werden.

Das EPR Spektrum von Zahnschmelz besteht neben der Resonanzlinie von den CO_2^- -Radikalen, die zur Dosimetrie verwendet wird aus weiteren Resonanzlinien von mehreren zusätzlichen Radikal Typen die nicht zur Dosimetrie geeignet sind. Diese zusätzlichen Radikale werden als Hintergrund-Radikale bezeichnet. Ihr Ursprung ist zur Zeit nicht bekannt, er wird jedoch in dem organischen Bestandteil von Zahnschmelz vermutet. Die Konzentration der Hintergrund-Radikale bestimmt die Nachweisgrenze der CO_2^- -Radikale. Die Resonanzlinien von Hintergrund- und CO_2^- -Radikalen sind teilweise überlagert und erschweren die Messung der Intensität der Resonanzlinie der CO_2^- Radikale, im Besonderen für absorbierte Strahlendosen unterhalb von 500 mGy. Insbesondere für diesen Dosisbereich ist die Anwendung von geeigneten Verfahren zur Dekonvolution der EPR Spektren erforderlich.

2.2 Verwendete „Werkzeuge“

2.2.1 EPR-Messungen

Für die EPR-Messungen wurde ein EPR Spektrometer vom Typ Bruker ECS 106 verwendet. Es ist ausgerüstet mit einer X-band Mikrowellenbrücke (Mikrowellengenerator) vom Typ ER 041 XG, einem Mikrowellenresonator vom Typ 4108 TMH und einem 6-Zoll Magneten vom Typ ER 070. Das Gerät arbeitet im X-Band Mikrowellenbereich von 9 – 10 GHz. Die Mikrowellenbrücke kann eine maximale Leistung von 200 mW liefern. Der EPR Lock-in Signalverstärker arbeitet mit einer fest eingestellten Magnetfeldmodulationsfrequenz von 50 kHz. Die Magnetfeldmodulationsamplitude betrug bei den durchgeführten Messungen 0.15 mT. Bei jeder Messung wurden jeweils 40 Einzelspektren aufaddiert. Das analoge EPR Signal wurde durch einen Tiefpass mit einer Zeitkonstante von 164 ms gefiltert und anschließend über einen Analog-Digital-Konverter (ADC) in 1024 Kanäle mit einer Konversionszeit von jeweils 82 ms eingelesen. Die

resultierende Messzeit von jeder Messung betrug 56 Minuten. Bei den Messungen wurde ein Magnetfeld von 5 mT überstrichen bei einer mittleren Magnetfeldstärke von ca. 350 mT. Die Mikrowellenfrequenz betrug ca. 9,8 GHz bei einer Mikrowellenleistung von 25 mW.

2.2.2 EPR Spektrenanalyse

Bei Messungen mit unterschiedlichen Orientierungen der Zahnproben im Magnetfeld wurden die EPR Spektren aus den einzelnen Orientierungen zu einem Gesamtspektrum mit Hilfe des WINEPR Software Programms von Bruker aufaddiert. Diese Software wurde auch verwendet zur Subtraktion der Hintergrund EPR Spektren von Mikrowellenresonator und Probenhalter.

Die Dekonvolution der EPR Spektren wurde mit Hilfe des DOSIMETRY Software Programms durchgeführt. Das Programm wurde von der GSF in Zusammenarbeit mit dem „Institute of Metal Physics (IMP)“, Ekaterinburg, Russland entwickelt und basiert auf einer früheren Version einer Software die bei der GSF zur Dosimetrie mit Zahnschmelz verwendet wurde (Koshta et al., 2000). In der aktuellen Version des Programms können zur Spektren Dekonvolution neben Linearkombinationen von Gauß-Funktionen auch simulierte EPR Pulverspektren verwendet werden. Die Simulation der Pulverspektren wurde mit dem SimFonia Software Programm von Bruker durchgeführt. Alle Software Programme sind frei Verfügbar.

2.2.3 Bestrahlungsanlagen

Die Gammabestrahlungen wurden mit einer ^{60}Co Bestrahlungsanlage vom Typ Eldorado 78 durchgeführt. Die Anlage wurde von der Firma AECL in Kanada hergestellt und ist für medizinische Strahlenanwendungen konzipiert. Sie enthält eine punktförmige

Strahlenquelle und über Kollimatoren wird im gegebenen Abstand von der Quelle die benötigte Größe des Bestrahlungsfeldes eingestellt. Die Zähne wurden in einem Plexiglas Kasten-Phantom mit einem inneren Volumen von $9 \times 9 \times 1 \text{ cm}^3$ und einer Wandstärke von 0,5 cm bestrahlt. Die Oberfläche des Phantoms, senkrecht zur Strahlrichtung, hatte einen Abstand von 1 m von der Strahlenquelle. Die Luft-Kerma-Rate an der Phantom-Oberfläche, bei einem $12 \times 12 \text{ cm}^2$ großen Strahlenfeld, betrug 38 mGy/min. Die Luft-Kerma-Rate wurde mit einem NPL-Sekundär-Standarddosimeter (Ionisationskammer) vom Typ 2560 gemessen. Bei dieser Bestrahlungsanordnung beträgt der Konversionsfaktor von Luft-Kerma zu absorbierter Dosis in Hydroxylapatit (Zahnschmelz) 0.996 und wurde durch Monte Carlo Simulation berechnet (Wieser et al., 2000).

Die UV-Bestrahlungen wurden mit einer Nieder-Druck-Quecksilber Lampe vom Typ NK6/12 (Firma Heraeus) mit einer Bestrahlungsstärke von 8 mW/cm^2 durchgeführt. Das emittierte Lichtspektrum hatte zu 90% eine Wellenlänge von 254 nm. Die Proben wurden in einem Abstand von 10 cm bestrahlt.

3 Verwendung von Milch-Schneidezähnen zur Rekonstruktion der absorbierten Strahlendosen

Bei der Dosisrekonstruktion durch EPR Spektroskopie von Milchzähnen muss zwischen der Verwendung von Schneide- und Backenzähnen unterschieden werden. Beide Zahnarten erfordern unterschiedliche Verfahren der Probenaufbereitung und EPR Messverfahren.

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse zu den Untersuchungen an Milch-Schneidezähnen dargestellt (Wieser and EL-Faramawy, 2002). Untersucht wurden Verfahren zur Probenaufbereitung und die Erforderlichkeit von alternativen Messverfahren sowie Methoden zur Erfassung von EPR Spektren in der für die Analyse erforderlichen Qualität. Es wurden die Parameter des EPR Spektrums, die Stabilität der Resonanzlinien und die Dosis Kalibrierkurve bestimmt.

3.1 Aufbereitung von Milch-Schneidezähnen für EPR Messungen

Bei Milch-Schneidezähnen ist der Zahnschmelz nach dem dritten Lebensmonat und der gesamte Zahn nach dem Zweiten Lebensjahr vollständig ausgebildet. Milch-Schneidezähne fallen im Allgemeinen im 7-8-ten Lebensjahr aus. Natürlicherweise ausgefallene Zähne sind Zahnkronen ohne Wurzeln und haben typischerweise ein Gewicht von ca. 80 mg. Die Anwendung einer chemischen Aufbereitungsmethode für Zahnschmelz, die für die Abtrennung von Dentin optimiert ist führt bei Milchzähnen nur zu sehr geringen Probenmassen unterhalb von 50 mg. Für EPR Messungen mit ausreichendem Signal-zu-Rausch Verhältnis ist jedoch eine mindest Probenmenge von 50 mg erforderlich. Bei der Aufbereitung von Schneidezähnen muss deshalb auf Dentin eliminierende Prozesse verzichtet werden. Es wird empfohlen den Zahn nicht zu pulverisieren, sondern als ganzer Zahn zu behandeln. Es soll nur eine minimale chemische Behandlung angewendet werden zum beseitigen von Oberflächen Kontaminationen bei minimalem Verlust von Zahnschmelz und Zahnbein.

Für die Aufbereitung von Milch-Schneidezähne zur EPR Messung ist folgendes Verfahren geeignet:

- 1) Waschen der Zähne für eine Dauer von 5 Minuten in einem Ultraschallreiniger mit Azeton.
- 2) Anätzen der Zahnoberfläche für eine Dauer von 15 Minuten in einem Ultraschallreiniger mit einer 0.1 M Titriplex III-Lösung (EDTA Na₂, Ethylendinitrilotetraessigsäure Dinatriumsalz-Dihydrat).
- 3) Waschen der Zähne für eine Dauer von 5 Minuten in einem Ultraschallreiniger mit Ethanol (absolut).
- 4) Trocknen der Zähne unter Vakuum bei 40°C für eine Dauer von 30 Minuten.

3.2 Alternative L-Band EPR Messungen

EPR Messungen können in verschiedenen Mikrowellenbändern (Frequenzbereiche) durchgeführt werden. Bei Messungen von Zahnschmelz wird im Mikrowellen X-Band (~10 GHz) die höchste Nachweisgrenze erzielt, dies setzt jedoch trockenes Probenmaterial voraus. Mikrowellen des X-Bandes werden in feuchten Proben durch das enthaltene Wasser absorbiert, wodurch Quantitativen Messungen nicht mehr möglich sind. In diesen Fällen kann auf Mikrowellen des L-Bandes (~1 GHz) ausgewichen werden, die nicht durch Wasser absorbiert werden. EPR Messungen im L-Band Mikrowellenbereich bieten jedoch ausschließlich für Proben mit hoher Feuchtigkeit Vorteile. Ansonsten sind L-Band gegenüber X-Band (Standard) Messungen mit geringerer Spektrenauflösung und Nachweisempfindlichkeit behaftet. L-Band Messungen sollten deshalb nur dann verwendet werden wenn X-Band Messungen unmöglich sind.

Es wurde überprüft inwieweit bei der EPR Messung von Milch-Scheidezähne durch das im Zahnbein eventuell vorhandene Wasser X-band Mikrowellen absorbiert werden. Bei Zähnen die mit dem in Abschnitt 3.1 beschriebenen Verfahren Aufbereitet waren

konnte bei einer Mikrowellen-Exposition bis zu der maximalen Leistung von 200 mW keine Absorption durch vorhandenes Wasser nachgewiesen werden. Die aufbereiteten Milchzähne besitzen demnach nur eine geringe Restfeuchte und können problemlos im X-Band gemessen werden können. Für die Dosisrekonstruktion mit ganzen Milch-Schneidezähne sind keine L-Band EPR Messungen notwendig.

3.3 Verfahren zur Akkumulation der EPR Spektren von ganzen Zähnen

Die Erfassung der strahlungserzeugten Signale der CO_2^- Radikale aus den EPR Spektren von Milch-Schneidezähnen erfolgt mit Hilfe einer in den letzten Jahren entwickelten Methode zur Dekonvolution von EPR Spektren. Diese Methode setzt jedoch für ihre Anwendung EPR Spektren von Pulverproben voraus, d.h., dass die EPR Spektren unabhängig von der Orientierung der Probe im Magnetfeld sein müssen. Da die Schneidezähne als ganze Zähne gemessen werden müssen zunächst Pulverspektren durch mehrere Messungen mit unterschiedlicher Orientierung des Zahnes im Magnetfeld simuliert werden. In dem entwickelten Verfahren werden für jeden Zahn fünf Spektren akkumuliert, die jeweils nach Drehung um die Längsachse des Zahnes um 45° aufgenommen wurden. Die EPR Spektren der Milch-Schneidezahnproben besitzen, wegen den geringen Zahnmassen nur eine schwache Intensität und das Hintergrund EPR Spektrum von Mikrowellen-Resonator und Probenhalter trägt wesentlich zum Gesamtspektrum bei. Es ist deshalb notwendig das Hintergrund EPR Spektrum, durch Messung des leeren Probenhalters, in den entsprechenden fünf Orientierungen zu erfassen und von den Zahnspektren zu subtrahieren.

Die Position der EPR Signale auf der Magnetfeld-Achse ist Abhängig von der Umgebungstemperatur, Proben-Größe und -Geometrie, sowie der Orientierung der Probe im Mikrowellen-Resonator. Die Position der Resonanzlinien im EPR Spektrum ist unabhängig von diesen Einflussgrößen, wenn die Magnetfeld-Achse in die g-Wert-Achse konvertiert wurde (siehe Beziehung 1 in Abschnitt 2.1). Für die Addition bzw. Subtraktion der EPR Spektren muss deshalb die EPR Intensität gegen den g-Wert aufgetragen werden.

Die EPR Intensitäten der einzelnen Spektren werden dann bei gleichem g-Wert addiert bzw. subtrahiert.

3.4 Das EPR Spektrum von Milch-Schneidezähnen

Das EPR Spektrum von Milch-Schneidezähnen wurden hinsichtlich der EPR Parameter für die Signale der strahlungserzeugten CO_2^- Radikale sowie den im Zahn natürlich vorhandenen Hintergrund-Radikale analysiert. Für absorbierte Strahlendosen bis ca. 1 Gy ist die Konzentration der natürlichen Hintergrund-Radikale bedeutend höher als die der CO_2^- Radikale. Die Konzentration der CO_2^- Radikale kann deshalb für absorbierte Strahlendosen unterhalb von einem Gray nur durch Spektrum-Dekonvolution bestimmt werden. Die Dekonvolution der EPR Spektren zur Dosisrekonstruktion wird jedoch im Allgemeinen im gesamten Dosisbereich angewandt. Hierzu ist die genaue Kenntnis der EPR Parameter für beide Signale erforderlich. Die Spektralanalyse ergab, dass sich die EPR Parameter für das Signal von dem strahlungserzeugten CO_2^- Radikal von Milch-Schneidezähnen und Zahnschmelz von permanenten Zähnen nicht unterscheiden. Hingegen wesentlich verschieden ist das EPR Signal der natürlichen Hintergrund Radikale in Milch-Schneidezähnen und Zahnschmelz von permanenten Zähnen. Die Analyse der EPR Spektren der im Labor bestrahlten Milch-Schneidezähne ergab, dass die Struktur der Spektren und Strahlenempfindlichkeit, im Vergleich zu denen von Zahnschmelz mehr den Spektren von Zahnbein entspricht. Im Vergleich zu Zahnschmelz besitzen das Hintergrund Signal von ganzen Milch-Schneidezähnen eine geringere Linienbreite und einen etwas höheren g-Wert.

Die EPR Spektren von Milch-Schneidezähnen mit und ohne Gammabestrahlung sind in der Abbildung 1 dargestellt. Gezeigt sind die gemittelten Spektrum von fünf Zahnproben für jeweils fünf Orientierungen der Probe im Magnetfeld. Die in der Abbildung angegebenen g-Werte bezeichnen die charakteristischen Positionen der EPR Signale von den CO_2^- Radikalen ($g = 2,0019$ und $1,9973$), den Hintergrund Radikalen ($g = 2,0050$ und $2,0065$), und in Milch-Schneidezähnen zusätzlich vorhandenen möglicherweise Organische Radikale ($g = 2,0090$ und $1,9930$).

Die strahlungserzeugten CO_2^- Radikale werden zur Dosisrekonstruktion verwendet. Ihr EPR Signal besitzt axiale Symmetrie wobei das Zentrum der stärkeren Linie bei $g = 2,0019$ und das Minimum der zugeordneten schwächeren Linie bei $g = 1,9973$ liegt. Zur Dekonvolution wird das CO_2^- EPR Signal als Linearkombination von zwei Resonanzlinien mit Gaußscher Linienform bei $g_1 = 2,0019$ und $g_2 = 1,9989$ beschrieben. Beide Linien besitzen eine Breite von $0,40$ mT. Die EPR Amplitude der Linien bei g_1 ist doppelt so groß wie die der Linie bei g_2 . Diese Parameter gelten für die Simulation der CO_2^- EPR Signale von sowohl ganzen Milch-Schneide- und Backenzähnen als auch von Zahnschmelz der Milch-Backen- und permanenten Zähne.

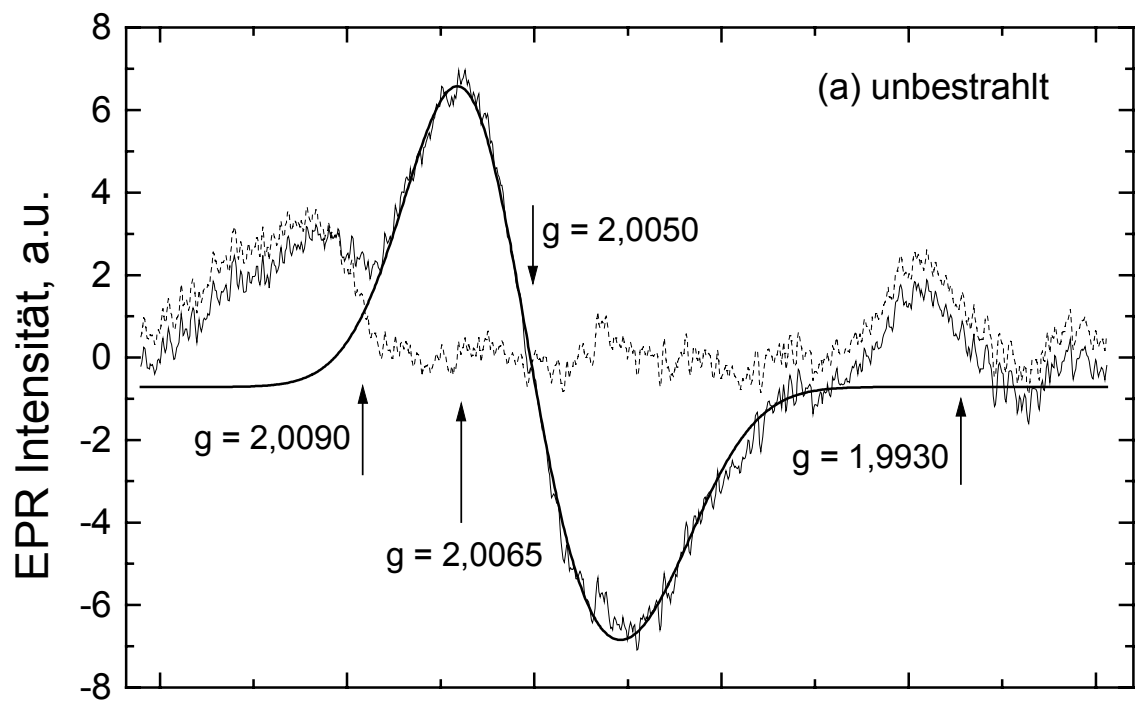
Das EPR Signal der Hintergrund Radikale von unbestrahlten und Gamma bestrahlten Milch-Schneidezähnen besitzt eine leicht axiale Symmetrie, die beiden zugeordneten Linien sind jedoch nicht aufgelöst. Das Zentrum des gesamten EPR Signals mit einer Linienbreite von $0,65$ mT liegt bei $g = 2,0050$ und das Maximum der EPR Intensität liegt bei $g = 2,0065$. Für die Dekonvolution wird das Hintergrund EPR Signal als Linearkombination von zwei Resonanzlinien mit Gaußscher Linienform bei $g_1 = 2,0055$ und $g_2 = 2,0032$ beschrieben. Beide Linien besitzen eine Breite von $0,62$ mT. Die EPR Amplituden der beiden Linien bei g_1 und g_2 haben ein Verhältnis von $2:1$. Diese Parameter gelten für die Simulation der Hintergrund EPR Signale von ganzen Milch-Schneide- und Backenzähnen. Die Hintergrund EPR Signale von ganzen Zähnen unterscheiden sich von denen von Zahnschmelz was durch Beiträge von EPR Signalen des Zahnbeins bedingt ist.

Bei der EPR Messung von ganzen gamma-bestrahlten Zähnen sind, neben dem strahlungserzeugten EPR Signal des CO_2^- Radikals, zwei weitere strahlungserzeugte EPR Signale bei $g = 2,0090$ und $g = 1,9930$ nachweisbar. Die beiden Signale haben eine Linienbreite von jeweils $0,5$ mT und sind um $2,8$ mT voneinander entfernt. Sie interferieren nicht mit dem CO_2^- EPR Signal und nur unwesentlich mit dem Hintergrund EPR Signal. Die beiden Signale müssen deshalb nicht bei der Dekonvolution berücksichtigt werden. Der Ursprung dieser beiden strahlungserzeugten EPR Signale ist zur Zeit nicht bekannt. Der Abstand in der Magnetfeldstärke von den beiden Resonanzlinien deutet darauf hin, dass sie möglicherweise Teil eines komplexeren EPR Spektrums von organischen Radikale im Zahnbein sind.

Nach der durchgeführten Analyse müssen für die Rekonstruktion von absorbierten Strahlendosen in ganzen Milch-Schneidezähnen bei der Spektrendekovolution zwei axiale EPR Signale einbezogen werden. Eines folgt von den CO_2^- -Radikalen und wird als dosimetrisches Signal verwendet, das zweite aus den Hintergrund-Radikalen. Die EPR Parameter der beiden Signale sind in der Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Parameter der axialen EPR Signale von CO_2^- - und Hintergrund-Radikalen für die Dekonvolution des EPR Spektrums von ganzen Milch-Schneidezähnen.

EPR Signal:	CO_2^-	Hintergrund
g_1:	2,0019	2,0055
g_2:	1,9989	2,0032
Linienbreite, mT:	0,40	0,62
g_1/g_2 EPR Amplitudenverhältnis:	2:1	2:1



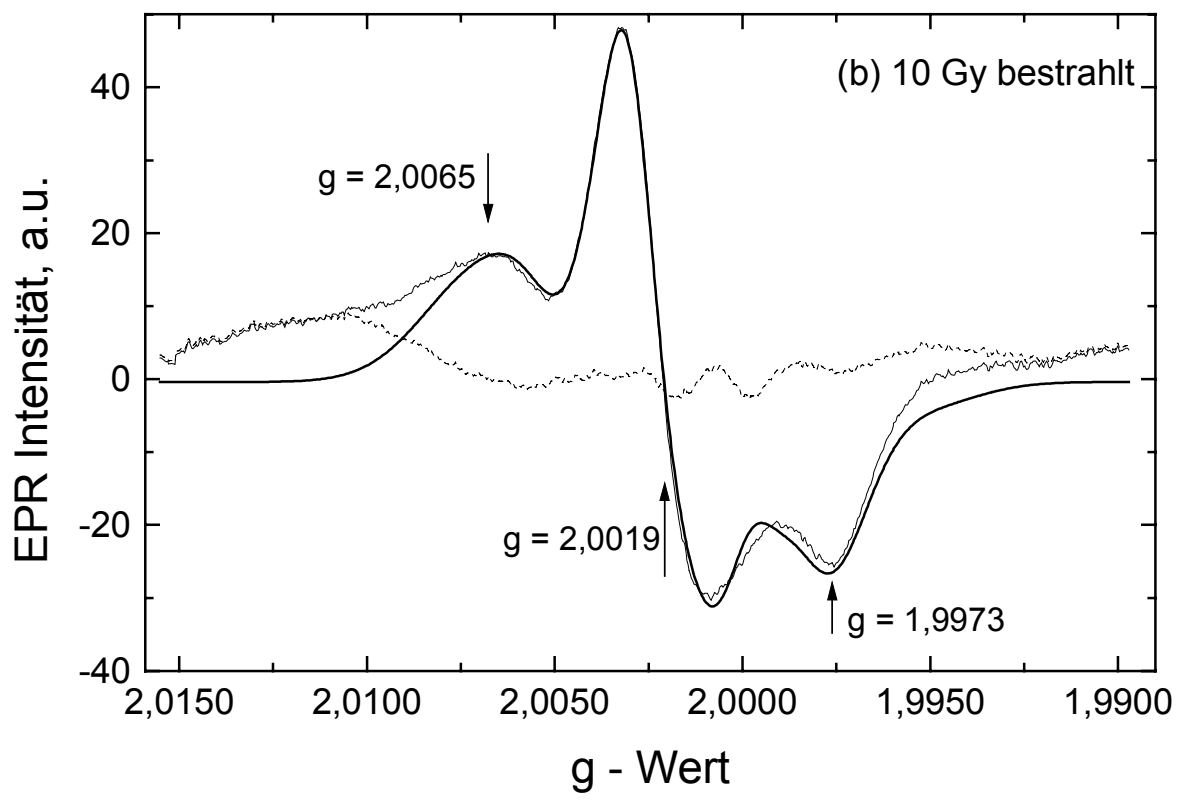


Abb. 1: Das EPR Spektrum (durchgezogene Linie) von Milch-Schneidezähnen, vor (a) und nach (b) der Bestrahlung mit einer absorbierten Dosis von 10 Gy. Gezeigt sind zusätzlich das simulierte Spektrum (fett durchgezogene Linie) und die Differenz (gepunktete Linie) zwischen gemessenem und simuliertem EPR Spektrum.

3.5 Stabilität der EPR Signale in gamma-bestrahlten Milch-Schneidezähnen

Die durch Gamma-Bestrahlung bedingten Änderungen in der Amplitude der EPR Signale von CO_2^- - und Hintergrund-Radikalen in Milch-Schneidezähnen wurden bei Zimmertemperatur über einen Zeitraum von 80 Tagen gemessen. Da die Konzentration der Hintergrund-Radikale nur geringfügig von der absorbierten Dosis Abhängig ist, wurden diese Untersuchungen bei einer hohen Strahlendosis von 10 Gy durchgeführt. Die Untersuchungen wurden an 5 Hälften von 3 Milch-Schneidezähnen des selben Kindes vorgenommen. Die EPR Messungen der fünf Proben zu gleichen Zeiten nach der Bestrahlung ergaben eine Variabilität in der EPR Amplitude von 13% (1σ) für das Hintergrund-Signal und von 7% (1σ) für das CO_2^- -Signal. Der zeitliche Verlauf der Mittelwerte der EPR Amplituden der CO_2^- - und Hintergrund-Signale ist in der Abbildung 2 dargestellt.

Die EPR Amplitude des Hintergrund-Signals im EPR Spektrum von Zahnschmelz wurde in früheren Publikationen als unabhängig von der absorbierten Strahlendosis angenommen (IAEA, 2002). Neuere Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass das Hintergrund-Signal geringfügig Strahlungsempfindlich ist (Vanhaelewyn et al., 2001; Zdravkova et al., 2003). Die in diesem Vorhaben durchgeführten Messungen der EPR Amplitude des Hintergrund-Signals von Milch-Schneidezähnen in Abhängigkeit der absorbierten Dosis sind in der Abbildung 3 dargestellt. Die Messungen haben ergeben, dass die EPR Amplitude des Hintergrund-Signals in Milch-Schneidezähnen schwach strahlungsempfindlich ist, der Anstieg der Amplitude jedoch erst bei hohen absorbierten Dosen nahe von 10 Gy deutlich sichtbar wird. Nach den Ergebnissen dieser Untersuchung kann das Anwachsen des Hintergrund-Signals sowohl durch eine lineare als auch exponentielle Abhängigkeit von der absorbierten Dosis beschrieben werden (siehe Abb. 3). Im Falle einer linearen Dosisabhängigkeit wächst die EPR Amplitude des natürlichen Hintergrund-Signals unmittelbar nach der Bestrahlung um 7% je Gray absorbiertes

Strahlendosis an. Im Falle einer exponentiellen Dosisabhängigkeit wächst die natürliche Signalamplitude bis zu einer absorbierten Dosis von etwa 1 Gy um ca. 30%/Gy. Jedoch für absorbierte Dosen oberhalb von 2,7 Gy befindet sich die Signalamplitude bereits im Sättigungsbereich mit nur noch minimalem Wachstum und ist ab einer absorbierten Dosis von 10 Gy vollkommen gesättigt.

Die Erhöhung der EPR Amplitude des Hintergrund-Signals durch absorbierte Strahlung klingt jedoch mit zunehmender Zeit nach der Exposition wieder allmählich ab (siehe Abb. 2). Bei den mit 10 Gy bestrahlten Proben war bei Zimmertemperatur die EPR Amplitude mit einer Zerfallskonstanten (Lebensdauer der instabilen Radikale) von 40 Tagen auf einen stabilen Wert I_s von 72% der ursprünglich erhöhten Amplitude abgefallen. Dieser stabile Wert ist um etwa 20% höher als die EPR Amplitude des natürlichen Hintergrund-Signals. Die bleibende strahlungserzeugte Erhöhung der EPR Amplitude des Hintergrund-Signals von Milch-Schneidezähne ist somit nur sehr gering und liegt für absorbierte Strahlendosen von weniger als etwa 1 Gy innerhalb der EPR Messgenauigkeit und kann nicht nachgewiesen werden. Nach dem Zerfall der instabilen Radikale nach 40 Tagen kann das EPR Hintergrund-Signal in Milch-Schneidezähnen für absorbierte Dosen bis zu 1 Gy als unabhängig von der Strahlendosis betrachtet werden.

Die EPR Amplitude des zur Dosisrekonstruktion verwendeten CO_2^- Signals war unmittelbar nach der Bestrahlung leicht erhöht. Dies ist nicht bedingt durch die Instabilität in der Konzentration der CO_2^- -Radikale, sondern durch Interferenzen mit anderen strahlungserzeugten kurzlebigen Radikalen. Durch die Interferenz resultierte eine Erhöhung der EPR Amplitude des CO_2^- Signals um 7%. Diese Interferenzen verschwinden bei Zimmertemperatur innerhalb von 14 Tagen und die EPR Amplitude des CO_2^- Signals erreicht einen stabilen Wert. Bei Messungen die 40 und 80 Tage nach der Bestrahlung durchgeführt wurden konnte keine Änderung in der EPR Amplitude des CO_2^- Signals festgestellt werden.

Aus den Ergebnissen der durchgeführten Untersuchung zur Stabilität des EPR Spektrums lassen sich die folgenden Schlussfolgerungen für die Anwendung von Milch-Schneidezähnen zur Dosisrekonstruktion ziehen:

- Quantitative EPR Messungen zur Dosisrekonstruktion mit Milch-Schneidezähnen sollten wegen der möglichen Interferenzen mit kurzlebigen Radikalen frühesten 14 Tage nach der Exposition durchgeführt werden.
- Bei EPR Messungen innerhalb von 14 Tagen nach der Exposition ist eine Dosisüberschätzung von bis zu 7% möglich.

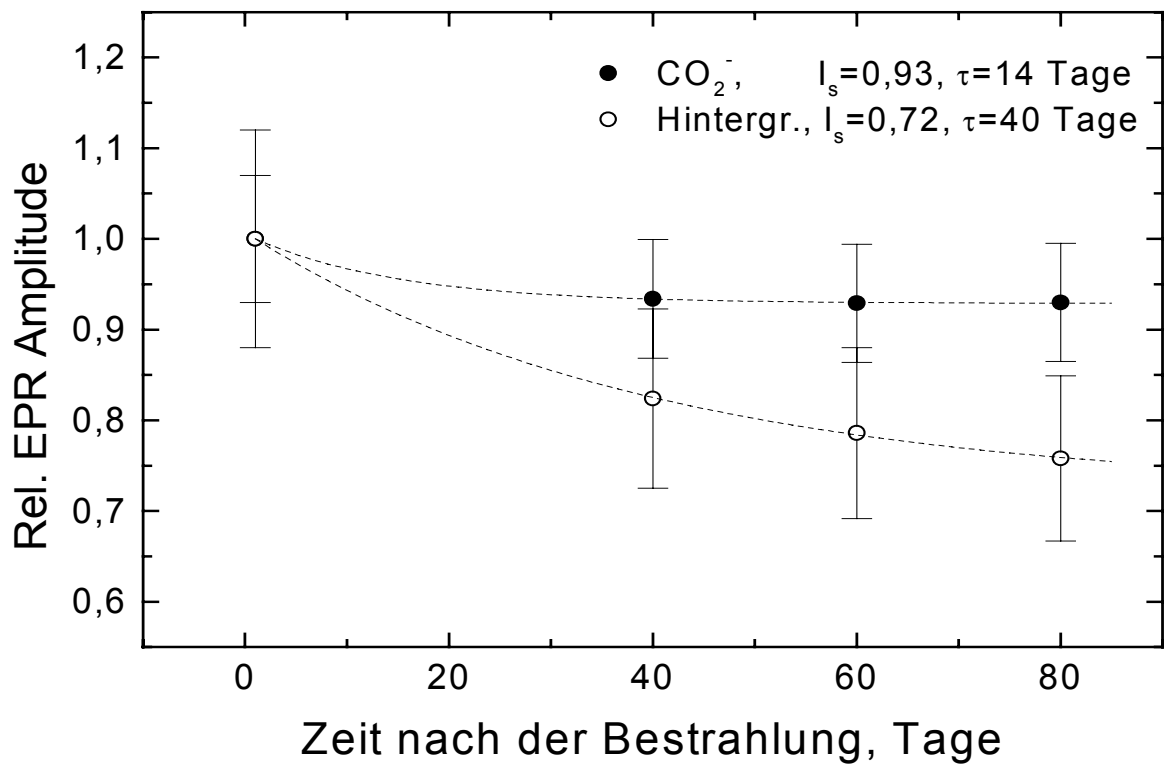


Abb. 2: Verlauf der Amplituden von EPR Signale der CO_2^- - und Hintergrund Radikale in Milch-Schneidezähnen nach der Gamma-Bestrahlung mit 10 Gy. Die gestrichelten Linien sind Fit-Kurven für einen exponentiellen Zerfall 1. Ordnung. Die stabilen Amplitudenwerte I_s (steady-state) für lange Zeit nach der Bestrahlung sowie die Zerfallskonstanten τ der instabilen Komponenten von CO_2^- - und Hintergrund-Radikale sind in der Abbildung angegeben. Gezeigt sind jeweils die Mittelwerte von den 5 Proben und ihre Standardabweichung von 7% und 13% für das CO_2^- - bzw. Hintergrund-Signal.

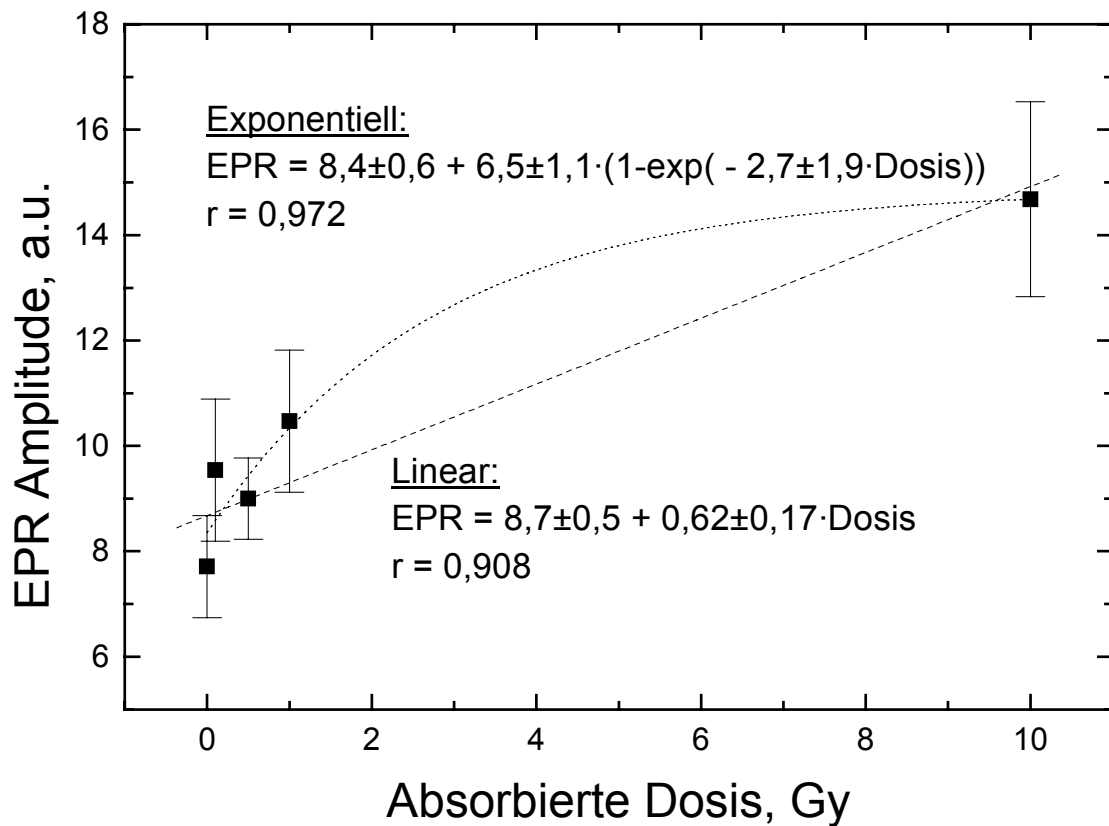


Abb. 3: Die EPR Amplitude des Hintergrund-Signals in Milch Schneidezähnen in Abhängigkeit der absorbierten Dosis. Die eingezeichneten Fit-Kurven entsprechen einem linearen (gestrichelten Linie) bzw. exponentiellen (gepunktete Linie) Wachstum der EPR Amplitude mit der absorbierten Dosis. Gezeigt sind jeweils die Mittelwerte von den 5 Proben und ihre Standardabweichung.

3.6 Kalibrierung der EPR Dosimetrie für Milch-Schneidezähne

Die Ermittlung der absorbierten Dosis in Zähnen erfolgt über die Amplitude des EPR Signals von dem CO_2^- -Radikal, die proportional zur absorbierten Strahlendosis anwächst. Der Proportionalitäts-Faktor muss experimentell bestimmt, d.h., der EPR Amplituden-

anstieg je absorbiertes Einheits-Dosis muss kalibriert werden. Dies kann individuell für jede einzelne Probe durch mehrere zusätzlich Bestrahlungen im Labor zur Ermittlung der individuellen Strahlungsempfindlichkeit erfolgen. Ein solches Verfahren ist jedoch, insbesondere durch die notwendigen Karenzzeiten durch instabile Radikale, extrem Zeitaufwendig und für die praktische Dosimetrie ungeeignet. Außerdem kann durch dieses Verfahren der Grundwert (Bias) der EPR Amplitude von unbestrahlten Zähnen nicht bestimmt werden. Die über zusätzliche Bestrahlung im Labor ermittelte absorbierte Dosis ist deshalb um diesen Grundwert überhöht. Eine schnelle Ermittlung der absorbierten Dosis mit Berücksichtigung des Bias erfolgt bei der Anwendung einer Dosis-Kalibrierkurve. Eine Dosis-Kalibrierkurve kann verwendet werden wenn die Variabilität der Strahlungsempfindlichkeit verschiedener Proben nur gering ist. Im Falle der Milch-Schneidezähne beträgt die Variabilität 7% wodurch eine individuelle Kalibrierung nicht erforderlich ist da sie keine Verbesserung in der Messgenauigkeit erbringen würde. Eine Kalibrierkurve wird erstellt, indem Proben mit keinen oder nur vernachlässigbar geringen absorbierten Strahlendosen im Labor in mehreren Schritten bestrahlt werden und nach jedem Bestrahlungsschritt eine EPR Messung durchgeführt wird. Die mathematische Formulierung der Kurve erhält man durch einen linearen Least-Square-Fit der Beziehung zwischen EPR Amplitude und absorbiertes Dosis mit Einbeziehung eines konstanten Terms für den Bias.

Die Kalibrierkurve für Milch-Schneidezähne (Abb. 4) wurde durch die Messung von 5 Zahnproben von einem Kind aus München ermittelt. Die Zähne wurden 1998/1999 gesammelt und bis zum Beginn der Messungen in 2001 ohne weitere Behandlung trocken gelagert. Die Variabilität der Strahlungsempfindlichkeit wurde nach einer Bestrahlung mit 10 Gy ermittelt und ergab eine Standardabweichung von 7%. Die Variabilität zwischen jeweils einem Zahn von 5 verschiedenen Kindern ergab eine Standardabweichung von 10%. Die Ermittelten Variabilitäten der Strahlungsempfindlich von Milch-Schneidezähnen sind identisch mit denen aus Untersuchungen mit Zahnschmelz von permanenten Zähnen (Wieser et al., 2001).

Die Kalibrierkurve wurde relative zur Standard-Kalibrierung für Zahnschmelz von permanenten Zähnen erstellt. Hierzu wurde die mit der Standard-Kalibrierung ermittelte Dosis gegen die im Milchzahn absorbierte Dosis aufgetragen (Abb. 4). Die mit EPR gemessene Dosis korreliert sehr gut ($r = 0,998$) mit der im Zahn absorbierten Dosis. Die

relative Standardabweichung der gemessenen Dosis nimmt mit abnehmender Dosis zu. Sie beträgt 7% bei 10 Gy und im Bereich 0,1 – 1 Gy ca. 15%. In unbestrahlten Zähnen beträgt die relative Standardabweichung 60%, dies entspricht einer Variabilität in der Dosis von 60 mGy. Hieraus folgt als Nachweisgrenze für Milch-Schneidezähne eine absorbierte Dosis von 120 mG. Die Nachweisgrenze ist hier definiert als die doppelte Standardabweichung der EPR Messungen von unbestrahlten Zähnen. Für die Dosisrekonstruktion folgt die in Milch-Schneidezähnen absorbierte Dosis, D_{MS} , aus der EPR Messung der absorbierte Dosis in Zahnschmelz mit Standard-Kalibrierung, D_{ST} , unter Verwendung der Beziehung (2):

$$(2) \quad D_{MS} / \text{Gy} = 2,14 \cdot D_{ST} / \text{Gy} - 0,11 \text{ Gy}$$

Diese Beziehung folgt aus der in der Abbildung 4 angegebenen Regressions-Funktion.

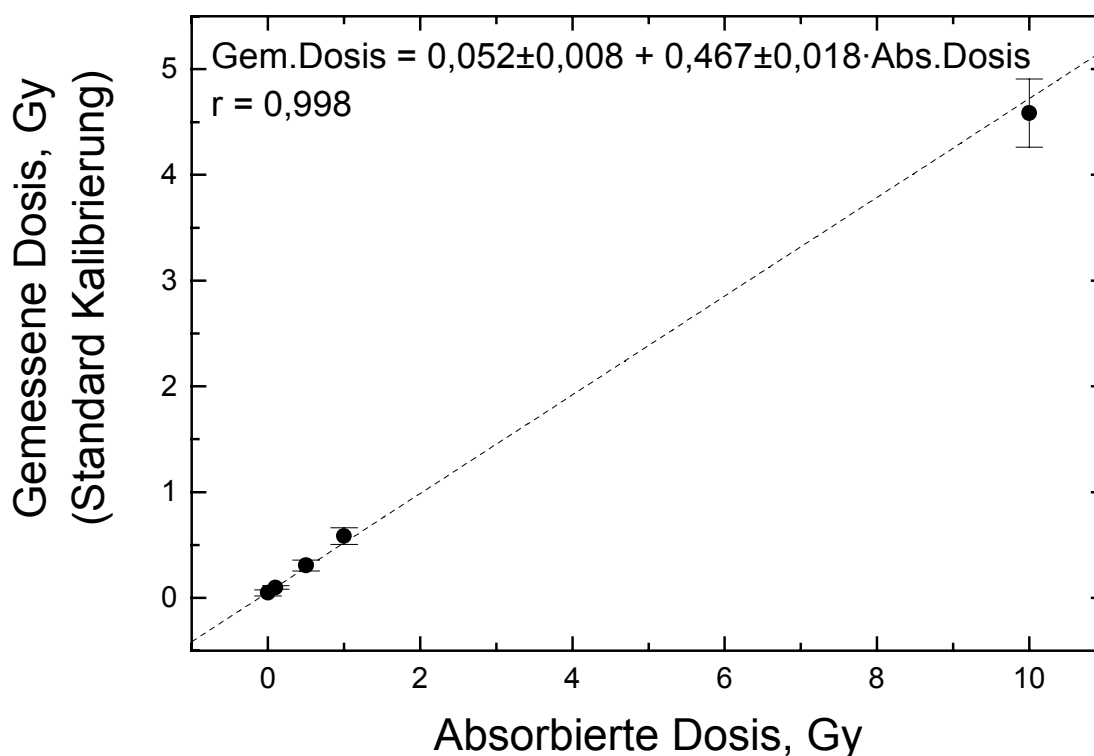


Abb. 4: Dosis-Kalibrierkurve für die Ermittlung der absorbierten Dosis in Milch-Schneidezähnen. Die Werte für die gemessene Dosis ergeben sich aus der Standard

Kalibrierung der EPR Dosimetrie für Zahnschmelz von permanenten Zähnen. Gemessene sowie absorbierte Dosis sind in der Einheit von absorbierter Dosis in Hydroxylapatit (Zahnschmelz) angegeben. Die Messpunkte sind die Mittelwerte von 5 Proben und ihre Standardabweichung.

Die Empfindlichkeit der EPR Messungen von Milch-Schneidezähnen ist gegenüber den Messungen von Zahnschmelz von permanenten Zähnen nur etwa halb so hoch. Dies ist zu etwa gleichen Anteilen bedingt durch Unterschiede in der Probengeometrie und der Tatsache dass in Milch-Schneidezähnen sowohl Zahnschmelz als auch Zahnbein zum EPR Signal beitragen. Zahnbein besteht nur zu 70% aus Hydroxylapatit und hat somit eine geringere Strahlungsempfindlichkeit. Aus der Strahlungsempfindlichkeit von Milch-Schneidezähnen lässt sich abschätzen dass der weitaus größte Teil des EPR Signals, nämlich etwa 90% des gesamten Signals vom Zahnbein herrührt. Durch den hohen Beitrag von Zahnbein und seinem hohen organischen Gehalt enthalten EPR Messungen von Milch-Schneidezähnen einen hohen Bias. Gegenüber den Messungen von Zahnschmelz ist der Bias um 110 mGy höher (siehe Beziehung (2)).

Zahnbein ist im Gegensatz zu Zahnschmelz ein biologisch aktives Material, d.h., durch Wachstum wird die Konzentration der Strahlungserzeugten Radikale verringert. Die Dosisrekonstruktion an Milch-Schneidezähnen sollte deshalb nur für Expositionen nach dem 2.-ten Lebensjahr durchgeführt werden, da nach dieser Zeit die Zähne vollständig ausgebildet sind. Für Expositionen vor dem 2.-ten Lebensjahr wird durch EPR Messungen nur eine Mindest-Dosis ermittelt.

4 Verwendung von Milch-Backenzähnen zur Rekonstruktion der absorbierten Strahlendosen

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse der Untersuchungen an Milch-Backenzähnen dargestellt. Untersucht wurden Verfahren zur Probenaufbereitung und Methoden zur Erfassung von EPR Spektren in der für die Analyse erforderlichen Qualität. Es wurden die Parameter des EPR Spektrums, die Stabilität der Resonanzlinien und die Dosis Kalibrierkurve bestimmt.

4.1 Aufbereitung von Milch-Backenzähnen für EPR Messungen

Bei Milch-Backenzähnen ist der Zahnschmelz nach etwa einem Jahr und der gesamte Zahn nach dem dritten Lebensjahr vollständig ausgebildet. Die Zähne bleiben im Allgemeinen bis zum 12.-13.-ten Lebensjahr erhalten. Natürlicherweise ausgefallene Milch-Backenzähne besitzen keine Zahnwurzeln. Die Zahnkronen haben ein Gewicht von ca. 200 mg und man kann daraus etwa 100 mg Zahnschmelzpulver gewinnen.

Milch-Backenzähne besitzen eine relativ dicke Zahnschmelzschicht die durch eine chemische Behandlung abgetrennt werden kann. Dazu werden die Zähne zunächst 3 Tage gewässert. Die Zahnoberfläche wird dann mit einer 0.1 M Titriplex-III-Lösung in einem Ultraschallreinigungsgesetz 15 Minuten gereinigt. Die Abtrennung des Zahnbeins erfolgt durch eine 15 Stunden lange Behandlung der Zahnkrone mit 5 M Natronlauge bei 60°C unter Einwirkung von Ultraschall. Die verbleibenden Zahnschmelz-Stücke werden gewaschen und in einem Mörser zu einer Korngröße von 125-600 Mikrometer zerrieben. Das Zahnschmelz-Pulver wird für 5 Minuten mit 20% Essigsäure angeätzt und anschließend in einem Vakuumofen 30 Minuten lang bei 40°C getrocknet. Das Zahnschmelz-Pulver ist dann bereit für die EPR Messungen. Eine detaillierte Beschreibung der einzelnen Probenaufbereitungsschritte erfolgt im Anhang „*Protokoll für die Anwendung der EPR Spektroskopie zur Dosisrekonstruktion mit Milchzähnen*“.

4.2 Verfahren zur Akkumulation der EPR Spektren von Zahnschmelzpulver

Die Erfassung der strahlungserzeugten Signale der CO_2^- Radikale aus den EPR Spektren von Milch-Backenzähnen erfolgt Dekonvolution von EPR Spektren. Die für diese Methode notwendigen isotropen Pulverspektren würde man durch die EPR Messung von Pulverproben mit einer Korngröße von weniger als 100 Mikrometer erzielen. Diese geringe Korngröße ist jedoch für die Messung von Zahnschmelz ungeeignet da bei den kleinen Körnern Radikale an der Oberfläche stärker in Erscheinung treten und die EPR Signale der CO_2^- Radikale verfälscht. Für die Messung von Zahnschmelzpulver liegt die optimale Korngröße im Bereich 125–600 Mikrometer. Bei dieser Körnung sind die EPR Spektren jedoch nicht vollständig isotrop was durch mehrfach wiederholte Messungen kompensiert werden muss. Hierzu wird jede Messung drei mal ausgeführt wobei zwischen den Messungen das Pulver im EPR Quarz Messröhrchen aufgeschüttelt wird damit die Körner umorientiert werden. Anschließend werden die 3 EPR Spektren aufaddiert. Das resultierende Spektrum besitzt dann eine ausreichende Isotropie für die Spektren Dekonvolution.

Insbesondere für Messungen von niedrigen Strahlendosen unterhalb von 500 mGy ist es erforderlich, es wird jedoch auch bei höheren Dosen empfohlen, das Hintergrund EPR Spektrum von Mikrowellen-Resonator und Probenhalter von den Zahnspektren zu subtrahieren. Das Hintergrund EPR Spektrum wird ermittelt durch dreimaliges messen des leeren EPR Quarz Messröhrchen und aufaddieren der Spektren.

4.3 Das EPR Spektrum von Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen

Das EPR Spektrum von Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen wurden hinsichtlich der EPR Parameter für die Signale der strahlungserzeugten CO_2^- Radikale sowie den im

Zahn natürlich vorhandenen Hintergrund-Radikale analysiert. Für absorbierte Strahlendosen bis ca. 500 mGy ist die Konzentration der natürlichen Hintergrund-Radikale bedeutend höher als die der CO_2^- Radikale. Für diesen Dosisbereich ist die Spektrum-Dekonvolution zur Dosisrekonstruktion zwingend erforderlich, eine direkte Messung der EPR Amplitude der CO_2^- Radikale aus dem unbearbeiteten EPR Spektrum ist nicht möglich. Die Dekonvolution der EPR Spektren zur Dosisrekonstruktion wird jedoch im Allgemeinen im gesamten Dosisbereich angewandt. Die Spektrenanalyse ergab, dass die Struktur der EPR Spektren von Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen und permanenten Zähnen identisch sind. Die EPR Parameter für die Signale von dem strahlungserzeugten CO_2^- Radikal und der natürlichen Hintergrund Radikale sind für beide Zahnarten gleich.

Die EPR Spektren von Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen mit und ohne Gammabestrahlung sind in der Abbildung 5 dargestellt. Gezeigt sind jeweils 3 aufaddierte Spektren von einer Zahnprobe. Die simulierten EPR Spektren wurden mit den in der Tabelle 2 angegebenen Parametern für das EPR Signale von den CO_2^- Radikalen und den Hintergrund Radikalen berechnet. Die sich aus der Simulation ergebende Amplitude des EPR Signals von den CO_2^- Radikalen wird für die Dosisrekonstruktion verwendet. Im EPR Spektrum von Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen ist eine zusätzliche EPR Linie bei $g = 2.0085$ von zur Zeit noch unbekanntem Ursprung enthalten (siehe Abb.1a).

Das EPR Signal der strahlungserzeugten CO_2^- Radikale besitzt axiale Symmetrie wobei das Zentrum der stärkeren Linie bei $g = 2,0019$ und das Minimum der zugeordneten schwächeren Linie bei $g = 1,9973$ liegt. Zur Dekonvolution wird das CO_2^- EPR Signal als Linearkombination von zwei Resonanzlinien mit Gaußscher Linienform bei $g_1 = 2,0019$ und $g_2 = 1,9989$ beschrieben. Beide Linien besitzen eine Breite von 0,40 mT. Die EPR Amplitude der Linien bei g_1 ist doppelt so groß wie die der Linie bei g_2 . Diese Parameter gelten für die Simulation der CO_2^- EPR Signale von allen Zahnarten.

Das EPR Signal der Hintergrund Radikale von Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen besitzt eine leicht axiale Symmetrie, die beiden zugeordneten Linien sind jedoch nicht aufgelöst. Das Zentrum des gesamten EPR Signals mit einer Linienbreite von 0,80 mT liegt bei $g = 2,0045$. Für die Dekonvolution wird das Hintergrund EPR Signal als Linearkombination von zwei Resonanzlinien mit Gaußscher Linienform bei $g_1 = 2,0052$ und $g_2 = 2,0025$ beschrieben. Beide Linien besitzen eine Breite von 0,69 mT. Die EPR

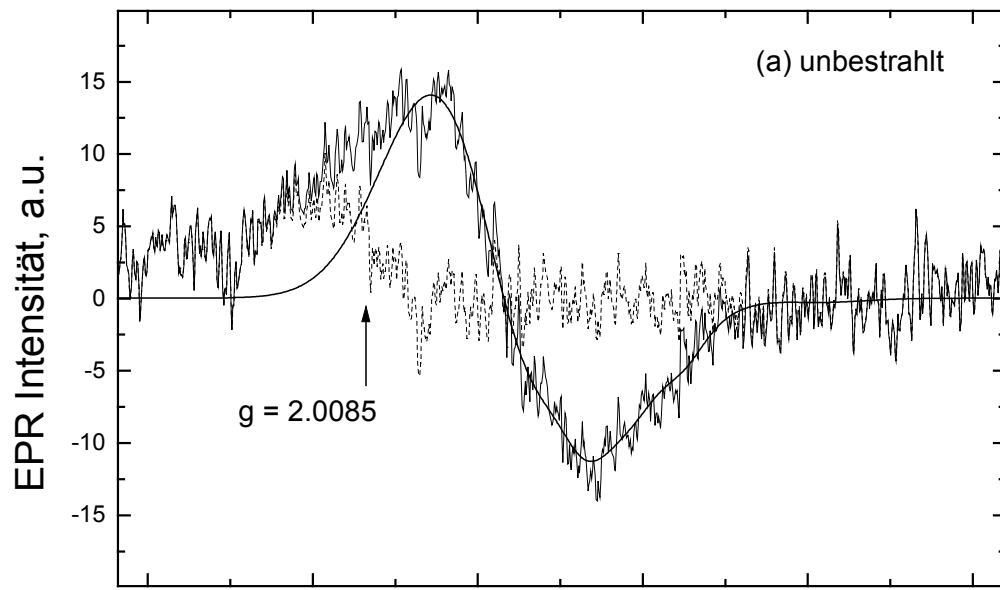
Amplituden der beiden Linien bei g_1 und g_2 haben ein Verhältnis von 2:1. Diese Parameter gelten für die Simulation der Hintergrund EPR Signale von Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen und permanenten Zähnen.

Bei der EPR Messung von Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen ist, neben den EPR Signalen von CO_2^- - und Hintergrund-Radikalen, ein weiteres EPR Signale bei $g = 2,0085$ mit einer Linienbreite von 0,87 mT nachweisbar. Das Signal interferieren nicht mit dem CO_2^- EPR Signal und nur unwesentlich mit dem Hintergrund EPR Signal und muss deshalb nicht bei der Dekonvolution berücksichtigt werden. Der Ursprung dieses EPR Signals ist zur Zeit nicht bekannt.

Nach der durchgeführten Analyse müssen für die Rekonstruktion von absorbierten Strahlendosen in Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen bei der Spektrendekonvolution zwei axiale EPR Signale einbezogen werden. Eines folgt von den CO_2^- -Radikalen und wird als dosimetrisches Signal verwendet, das zweite aus den Hintergrund-Radikalen. Die EPR Parameter der beiden Signale sind in der Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2: Parameter der axialen EPR Signale von CO_2^- - und Hintergrund-Radikalen für die Dekonvolution des EPR Spektrums von Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen.

EPR Signal:	CO_2^-	Hintergrund
g_1:	2,0019	2,0052
g_2:	1,9989	2,0025
Linienbreite, mT:	0,40	0,69
g_1/g_2 EPR Amplitudenverhältnis:	2:1	2:1



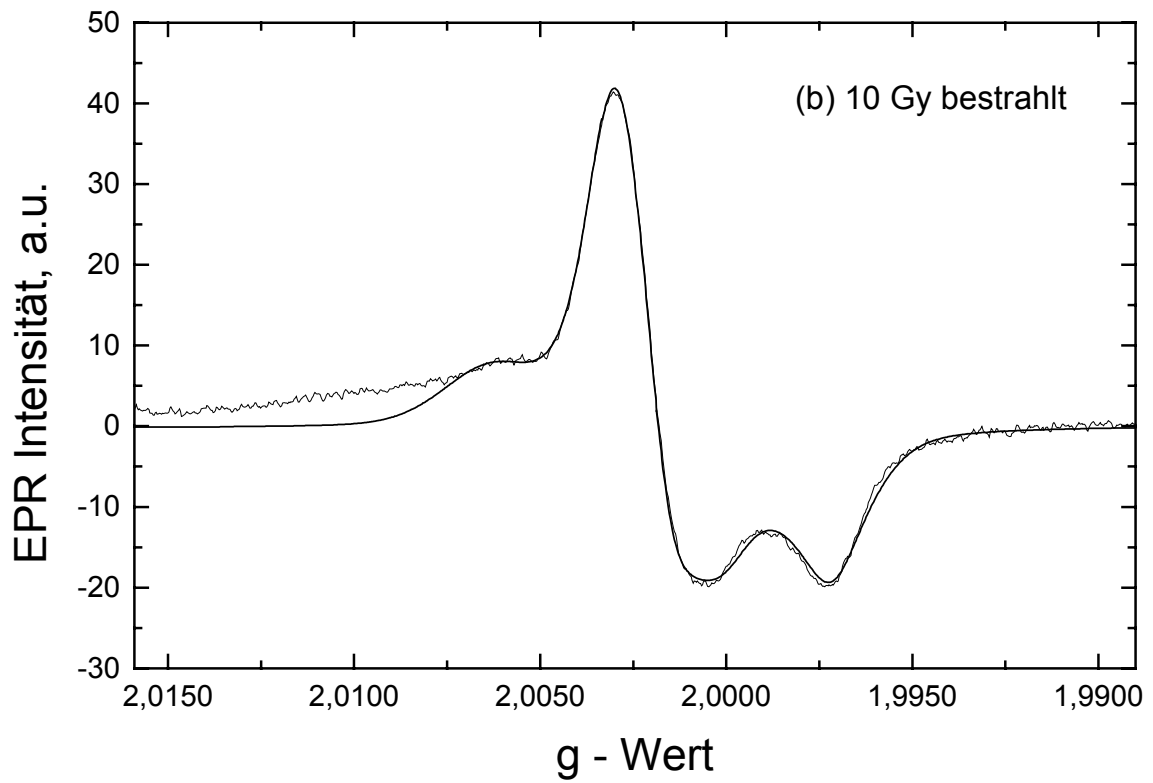


Abb. 5: Das EPR Spektrum (durchgezogene Linie) von Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen, vor (a) und nach (b) der Bestrahlung mit einer absorbierten Dosis von 10 Gy. Gezeigt sind zusätzlich das simulierte Spektrum (fett durchgezogene Linie) und die Differenz (gepunktete Linie) zwischen gemessenem und simuliertem EPR Spektrum.

4.4 Stabilität der EPR Signale in Zahnschmelz von gamma-bestrahlten Milch-Backenzähnen

Die durch Gamma-Bestrahlung bedingten Änderungen in der Amplitude der EPR Signale von CO_2^- - und Hintergrund-Radikalen in Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen wurden bei Zimmertemperatur über einen Zeitraum von 28 Tagen gemessen. Da die Konzentration der Hintergrund-Radikale nur geringfügig von der absorbierten Dosis Abhängig ist, wurden diese Untersuchungen bei einer hohen Strahlendosis von 10 Gy durchgeführt. Die Untersuchungen wurden an 3 Zahnproben von verschiedenen Kindern vorgenommen. Die EPR Messungen der drei Proben zu gleichen Zeiten nach der Bestrahlung ergaben eine Variabilität in der EPR Amplitude von 12% (1σ) für das Hintergrund-Signal und von 7% (1σ) für das CO_2^- -Signal. Der zeitliche Verlauf der Mittelwerte der EPR Amplituden der CO_2^- - und Hintergrund-Signale ist in der Abbildung 6 dargestellt.

Die in diesem Vorhaben durchgeführten Messungen der EPR Amplitude des Hintergrund-Signals von Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen in Abhängigkeit der absorbierten Dosis sind in der Abbildung 7 dargestellt. Die Messungen haben ergeben, dass die EPR Amplitude des Hintergrund-Signals in Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen schwach strahlungsempfindlich ist, der Anstieg der Amplitude jedoch erst bei hohen absorbierten Dosen von mehr als 5 Gy deutlich sichtbar wird. Nach den Ergebnissen dieser Untersuchung kann das Anwachsen des Hintergrund-Signals sowohl durch eine lineare als auch exponentielle Abhängigkeit von der absorbierten Dosis beschrieben werden (siehe Abb. 7). Im Falle einer linearen Dosisabhängigkeit wächst die EPR Amplitude des natürlichen Hintergrund-Signals unmittelbar nach der Bestrahlung um 8% je Gray absorbiertes Strahlendosis an. Im Falle einer exponentiellen Dosisabhängigkeit wächst die natürliche Signalamplitude bis zu einer absorbierten Dosis von etwa 1 Gy um ca. 30%/Gy. Jedoch für absorbierte Dosen oberhalb von 4,5 Gy befindet sich die Signalamplitude bereits im Sättigungsbereich mit nur noch minimalem Wachstum und ist ab einer absorbierten Dosis von 10 Gy vollkommen gesättigt.

Die Erhöhung der EPR Amplitude des Hintergrund-Signals durch absorbierte Strahlung ist stabil, im Gegensatz zu den Ergebnissen der Untersuchungen der

Schneidezähne (siehe Abb. 6 und Abb. 2). Bei den mit 10 Gy bestrahlten Proben war bei Raumtemperatur innerhalb der Fehlergrenzen innerhalb von 28 Tagen keine signifikante Änderung in der EPR Amplitude nachweisbar. Die strahlungserzeugte Erhöhung der EPR Amplitude des Hintergrund-Signals in Zahnschmelz von Milch-Backenzähne ist jedoch nur sehr gering. Im Vergleich zu den Messungen mit ganzen Schneidezähnen ist die Amplitude in Zahnschmelz von Backenzähnen etwa viermal kleiner. Für absorbierte Strahlendosen von weniger als etwa 1 Gy liegen die strahlungsbedingten Änderungen innerhalb der EPR Messgenauigkeit und können nicht nachgewiesen werden. Das EPR Hintergrund-Signal in Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen kann für absorbierte Dosen bis zu 1 Gy als unabhängig von der Strahlendosis betrachtet werden.

Bei der EPR Amplitude des zur Dosisrekonstruktion verwendeten CO_2^- Signals konnte innerhalb der Fehlergrenzen keine signifikante Änderung innerhalb von 28 Tagen nachgewiesen werden.

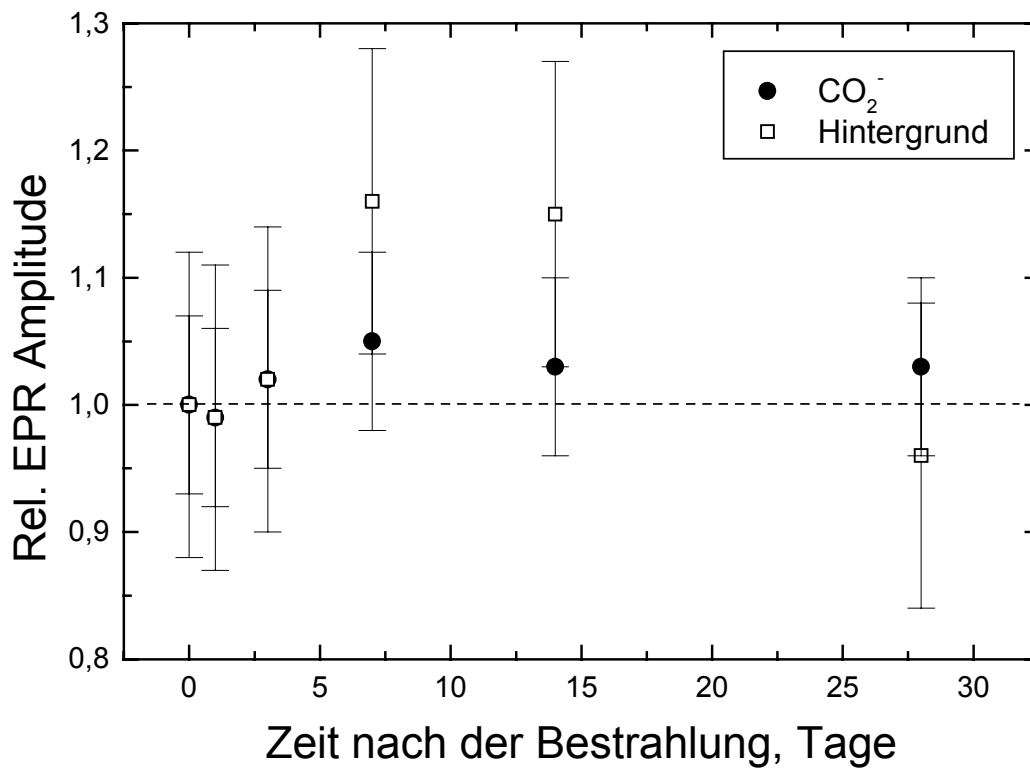


Abb. 6: Verlauf der Amplituden von EPR Signale der CO_2^- - und Hintergrund Radikale in Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen nach der Gamma-Bestrahlung mit 10 Gy. Die gestrichelten Linien stellt den Verlauf einer zeitlich unveränderten Amplitude da. Gezeigt sind jeweils die Mittelwerte von den 3 Proben und ihre Standardabweichung von 7% und 12% für das CO_2^- - bzw. Hintergrund-Signal.

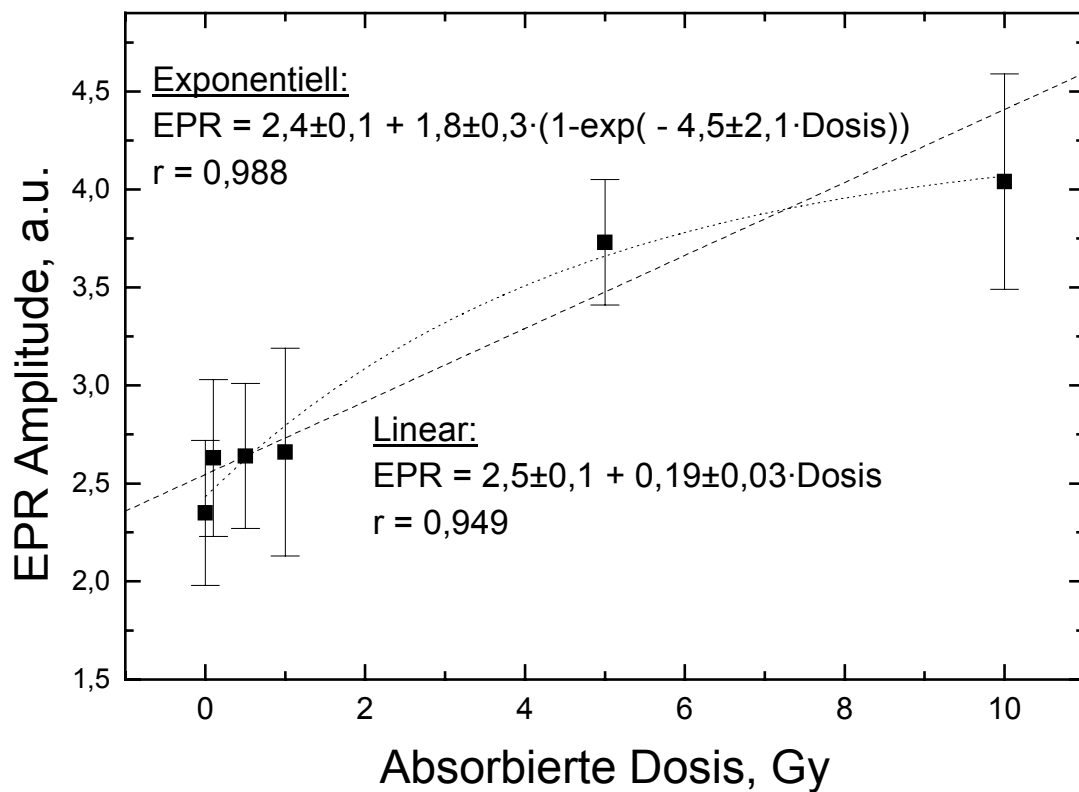


Abb. 7: Die EPR Amplitude des Hintergrund-Signals in Zahnschmelz von Milch Backenzähnen in Abhängigkeit der absorbierten Dosis. Die eingezeichneten Fit-Kurven entsprechen einem linearen (gestrichelten Linie) bzw. exponentiellen (gepunktete Linie) Wachstum der EPR Amplitude mit der absorbierten Dosis. Gezeigt sind jeweils die Mittelwerte von den 3 Proben und ihre Standardabweichung.

4.5 Kalibrierung der EPR Dosimetrie für Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen

Die Ermittlung der absorbierten Dosis in Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen erfolgt über die Amplitude des EPR Signals von dem CO_2^- Radikal mit der Verwendung einer Kalibrierkurve. Die Kalibrierkurve (Abb. 8) wurde durch die Messung von 3 Zahnproben von verschiedenen Kindern aus München ermittelt. Die Zähne wurden 1998/1999 gesammelt und bis zum Beginn der Messungen in 2002 ohne weitere Behandlung trocken gelagert. Die Variabilität der Strahlungsempfindlichkeit wurde nach einer Bestrahlung mit 10 Gy ermittelt und ergab eine Standardabweichung von 7%. Die Ermittelten Variabilitäten der Strahlungsempfindlich von Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen ist vergleichbar mit denen aus Untersuchungen mit Zahnschmelz von permanenten Zähnen (Wieser et al., 2001).

Die Kalibrierkurve wurde relative zur Standard-Kalibrierung für Zahnschmelz von permanenten Zähnen erstellt. Hierzu wurde die mit der Standard-Kalibrierung ermittelte Dosis gegen die im Milchzahn absorbierte Dosis aufgetragen (Abb. 8). Die mit EPR gemessene Dosis korreliert sehr gut ($r = 0,996$) mit der im Zahnschmelz absorbierten Dosis. Die relative Standardabweichung der gemessenen Dosis nimmt mit abnehmender Dosis nur gering zu. Sie beträgt 7% bei 10 Gy und 5 Gy, 9% bei 1 Gy und 0,5 Gy, und 16% bei 0,1 Gy. In unbestrahlten Zähnen beträgt die Standardabweichung 11 mGy. Hieraus folgt als Nachweisgrenze für Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen eine absorbierte Strahlendosis von 22 mG. Die Nachweisgrenze ist hier definiert als die doppelte Standardabweichung der EPR Messungen von unbestrahlten Proben. Für die Dosisrekonstruktion folgt die in Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen absorbierte Dosis, D_{MB} , aus der EPR Messung der absorbierte Dosis in Zahnschmelz mit Standard-Kalibrierung, D_{ST} , unter Verwendung der Beziehung (3):

$$(3) \quad D_{\text{MB}} / \text{Gy} = 0,93 \cdot D_{\text{ST}} / \text{Gy} - 0,02 \text{ Gy}$$

Diese Beziehung folgt aus der in der Abbildung 8 angegebenen Regressions-Funktion.

Die Empfindlichkeit der EPR Messungen von Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen ist gegenüber den Messungen von Zahnschmelz von permanenten Zähnen um 7% höher. Gegenüber den Messungen von Zahnschmelz ist der Bias um 20 mGy höher (siehe Beziehung (3)).

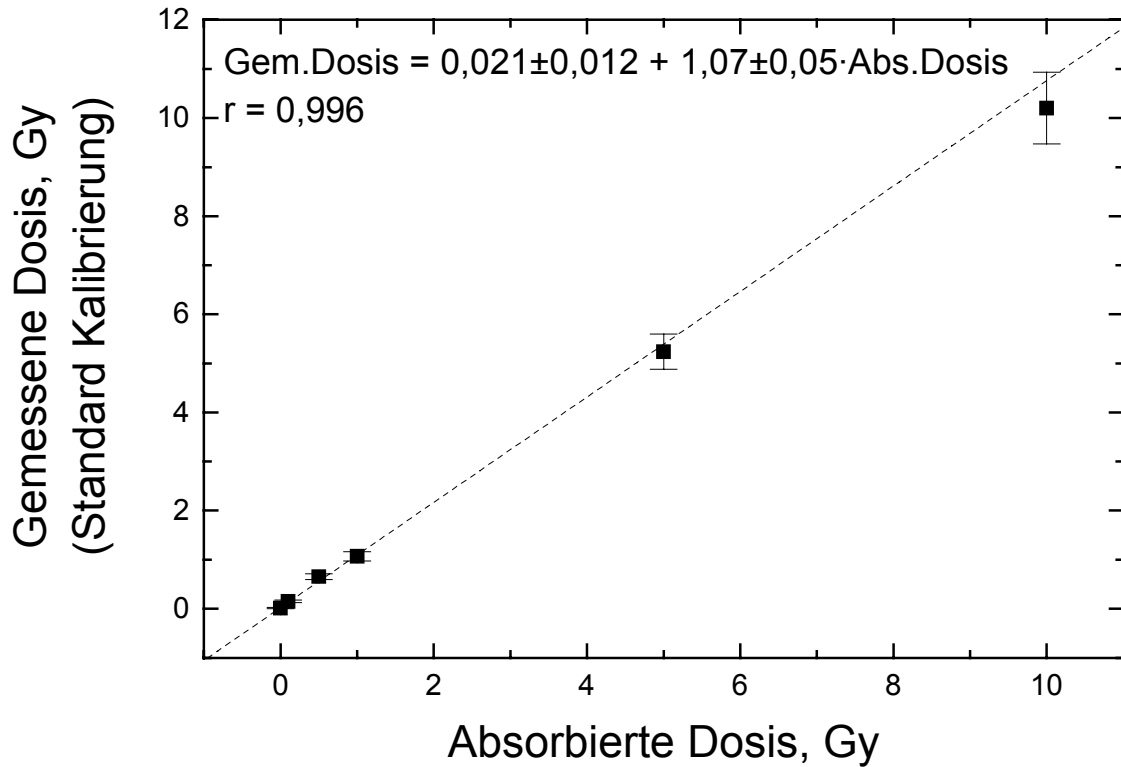


Abb. 8: Dosis-Kalibrierkurve für die Ermittlung der absorbierten Dosis in Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen. Die Werte für die gemessene Dosis ergeben sich aus der Standard Kalibrierung der EPR Dosimetrie für Zahnschmelz von permanenten Zähnen. Gemessene sowie absorbierte Dosis sind in der Einheit von absorbierte Dosis in Hydroxylapatit (Zahnschmelz) angegeben. Die Messpunkte sind die Mittelwerte von 3 Proben und ihre Standardabweichung.

5 Das EPR Spektrum von Zahnschmelz nach Bestrahlung mit UV-Licht

In Zahnschmelz werden CO_2^- Radikale sowohl durch Gamma-Bestrahlung als auch durch Bestrahlung mit kurzwelligem UV-Licht erzeugt. Die EPR Spektren von Zahnschmelz nach der Bestrahlung mit UV-Licht mit einer Wellenlänge von 254 nm und nach der Bestrahlung mit einer ^{60}Co -Strahlenquelle sind in der Abbildung 9 gezeigt. Bei den beiden gezeigten Spektren entspricht die EPR Amplitude der CO_2^- Radikale einer absorbierten Dosis von ca. 10 Gy. Die Parameter des CO_2^- EPR Signals sind für die beiden Strahlungsarten vollkommen identisch. Es kann somit nicht unterschieden werden durch welche Strahlungsart die CO_2^- Radikale erzeugt wurden. Die beiden Strahlungsarten erzeugen jedoch in unterschiedlichem Ausmaß Hintergrund-Radikale im Zahnschmelz (siehe Abb. 9). Bei der vorliegenden Untersuchung sollte geklärt werden inwiefern durch die Analyse der Hintergrund EPR Signale von Zahnschmelz zwischen einer UV- oder Gamma-Exposition unterschieden werden kann.

Die Untersuchungen wurden an Zahnschmelz-Blättchen von Milch-Backenzähnen durchgeführt. Die Blättchen waren dreieckig mit einer Schenkellänge von 3-5 mm und hatten eine Dicke von ca. 1 mm. Insgesamt wurden 4 Blättchen von 2 Backenzähnen eines Kindes untersucht. Ein Blättchen wurde mit einer 254 nm UV-Lampe und drei mit einer ^{60}Co -Strahlenquelle bestrahlt. Die Kalibrierung der absorbierten Dosis in Zahnschmelz-Blättchen wurde mit den drei gammabestrahlten Blättchen durchgeführt. Untersucht wurden die expositionsabhängigen Änderungen im EPR Spektrum und ihre Stabilität.

Die in einem Zahnschmelz-Blättchen mit EPR gemessene zunehmende absorbierte Dosis bei andauernder Exposition mit 254 nm UV-Licht ist in der Abbildung 10 gezeigt. Die gemessene absorbierte Dosis wächst in guter Korrelation ($r = 0.996$) mit der Expositionszeit. Bei einer Expositionszeit von 4200 Minuten entsprach die Konzentration der erzeugten CO_2^- Radikale einer absorbierten Dosis von 8,7 Gy. Die Stabilität der Radikale wurde bei Zimmertemperatur über 58 Tage untersucht. Die EPR Amplitude des CO_2^- Signals zeigte mit einer Standardabweichung von 4,7% keine Änderung während dieses Zeitraumes. Bei den mit 10 Gy durch eine ^{60}Co -Strahlenquelle bestrahlten Zahnschmelz-Blättchen war über den gleichen Zeitraum die EPR Amplitude des CO_2^-

Signals konstant mit einer Standardabweichung von 3,7%. Die mit UV-Licht und Gamma-Strahlung erzeugten CO_2^- Radikale zeigten somit keinen Unterschied in ihrer Stabilität.

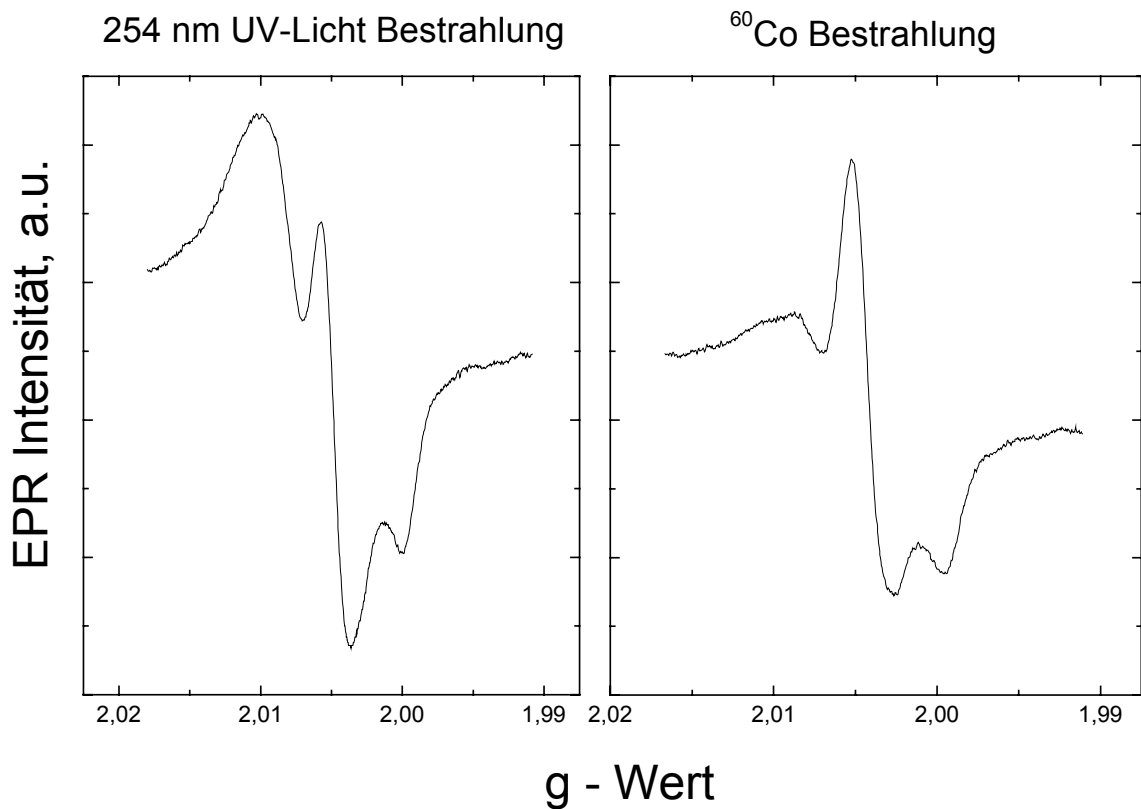


Abb. 9: Die EPR Spektren von Zahnschmelz-Blättchen nach der Bestrahlung mit 254 nm UV-Licht und einer ^{60}Co -Strahlenquelle. Die Intensität des CO_2^- EPR Signals in beiden Spektren entspricht einer absorbierten Dosis von ca. 10 Gy.

Die durch UV-Bestrahlung in den Zahnschmelz-Blättchen erzeugten Hintergrund Radikale erzeugen eine isotrope EPR Resonanzlinie bei $g = 2.0046$ mit einer Linienbreite von 0,95 mT. Diese Resonanzlinie ist in dem EPR Spektrum von nicht bestrahlten Proben nur sehr schwach erkennbar. Die Abbildung 11 zeigt die EPR Amplitude der Hintergrund-Radikale in Abhängigkeit der in Zahnschmelz-Blättchen gemessenen Dosis nach einer UV- oder Gamma-Exposition. Bei einer UV-Exposition wächst die EPR Amplitude des

Hintergrund-Signals linear mit der in dem Zahnschmelz-Blättchen gemessenen Dosis an. Bei einer Gamma-Exposition erfolgt nur ein geringer Anstieg der EPR Amplitude mit der absorbierten Dosis. Ab einer Dosis von 1,2 Gy ist bei einer Gamma-Exposition die EPR Amplitude nahezu konstant (siehe Abb. 11). Bis zu einer absorbierten Dosis von 1,2 Gy sind die Größen der EPR Amplituden nach UV- oder Gamma-Exposition innerhalb der Messgenauigkeit nicht unterscheidbar. Erst für höhere Dosen ist die EPR Amplitude des Hintergrund Signals nach einer UV-Exposition nachweisbar stärker als bei einer Gamma-Exposition. Für absorbierte Dosen oberhalb von 1,2 Gy kann somit durch die Messung der EPR Amplitude des Hintergrund Signals zwischen einer UV- oder Gamma-Exposition unterschieden werden.

Die nach einer Exposition der Zahnschmelz-Blättchen erzeugten Hintergrund Radikale sind nur teilweise stabil. Sowohl nach einer UV- als auch nach einer Gamma-Exposition sind bei Zimmertemperatur nur die Hälfte der in den Zahnschmelz-Blättchen erzeugten Hintergrund Radikale stabil. Die andere Hälfte zerfällt mit einer Zerfallskonstanten von 5,3 Tagen. Der Verlauf der EPR Amplitude des Hintergrund Signals bis zu 58 Tage nach einer UV-Exposition ist in der Abbildung 12 gezeigt.

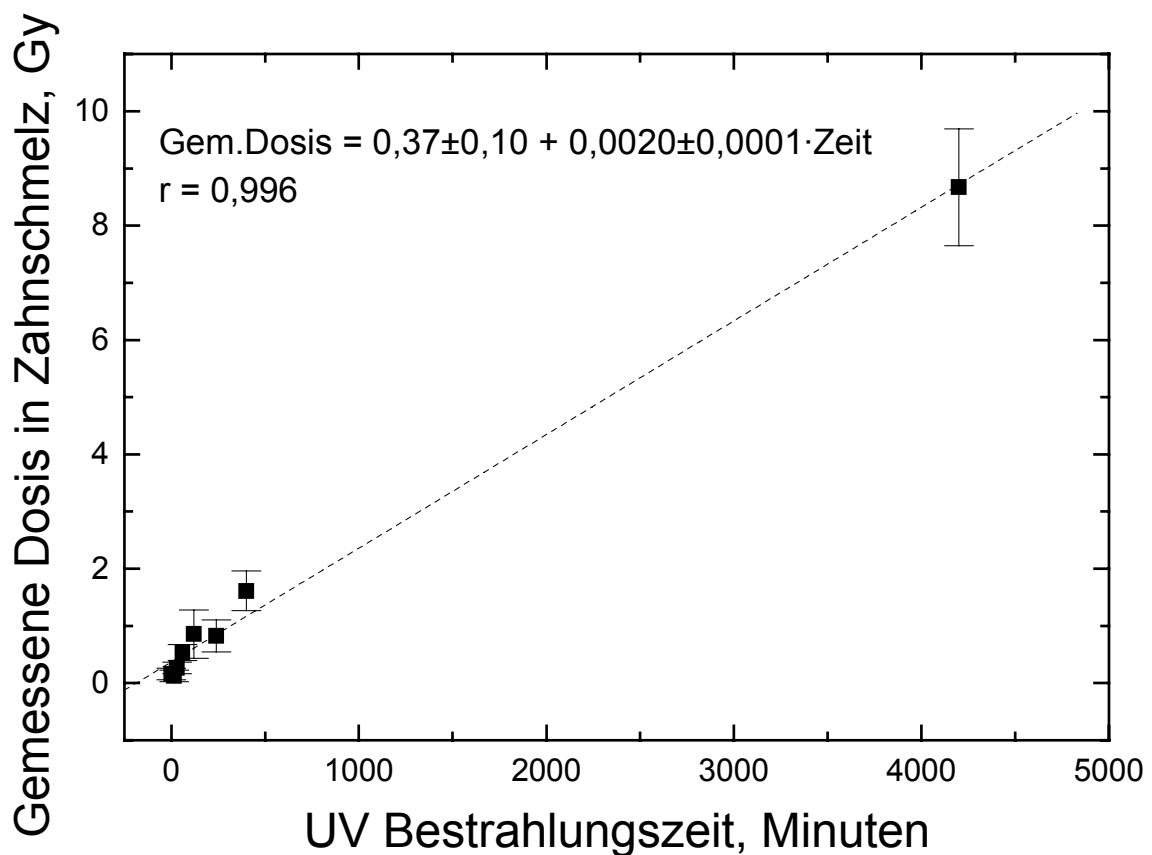


Abb. 10: Die in einem Zahnschmelz-Blättchen gemessene Dosis in Abhängigkeit der Bestrahlungszeit mit 254 nm UV-Licht. Gezeigt sind die Mittelwerte von 3 Messungen der Probe und ihre Standardabweichung.

Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, dass Beiträge durch natürlichem UV-Exposition nur an der Vorderseite von Schneidezähnen nachweisbar sind (Ivannikov et al., 1997). Dieser durch natürliche UV-Exposition bedingte Anteil an der gesamten im Zahnschmelz absorbierten Dosis kann typischerweise bis zu ca. 300 mGy betragen. Nach den Ergebnissen des vorliegenden Vorhabens ist es somit nicht möglich (Limit von 1,2 Gy) natürliche UV-Expositionen von anderen Gamma-Expositionen zu unterscheiden.

Nach den Untersuchungen von anderen Autoren (Ivannikov et al., 1997) liegen die zu erwartenden Beiträge von natürlicher UV-Strahlung zur gesamten absorbierten Dosis in der Vorderseite von Schneidezähnen bei maximal 10 mGy/Lebensjahr. Im Zahnschmelz

von Milch-Schneidezähnen können somit zwischen Zahndurchbruch im Alter von etwa einem Jahr und ihrem Ausfall im Alter von etwa sechs Jahren maximal 50 mGy im Zahnschmelz der Zahnvorderseite absorbiert werden. Die Eindringtiefe von natürlichem UV-Licht ist geringer als 0,3 mm und kann die Zahnschmelzschicht von Milch-Schneidezähnen nicht durchdringen. Nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung muss die Dosisrekonstruktion mit Milch-Schneidezähnen durch EPR Messungen am ganzen Zahn durchgeführt werden. Wobei der Beitrag von Zahnschmelz zur gesamten im Milch-Schneidezahn mit EPR gemessenen Dosis nur etwa 10% beträgt, d.h., der Beitrag vom Zahnschmelz der Zahnvorderseite ist 5%. Hieraus folgt, dass der durch natürliche UV-Strahlung zu erwartende Beitrag zur gesamten in Milch-Schneidezähnen gemessenen Dosis maximal 2,5 mGy beträgt und weit unterhalb der Nachweisgrenze liegt.

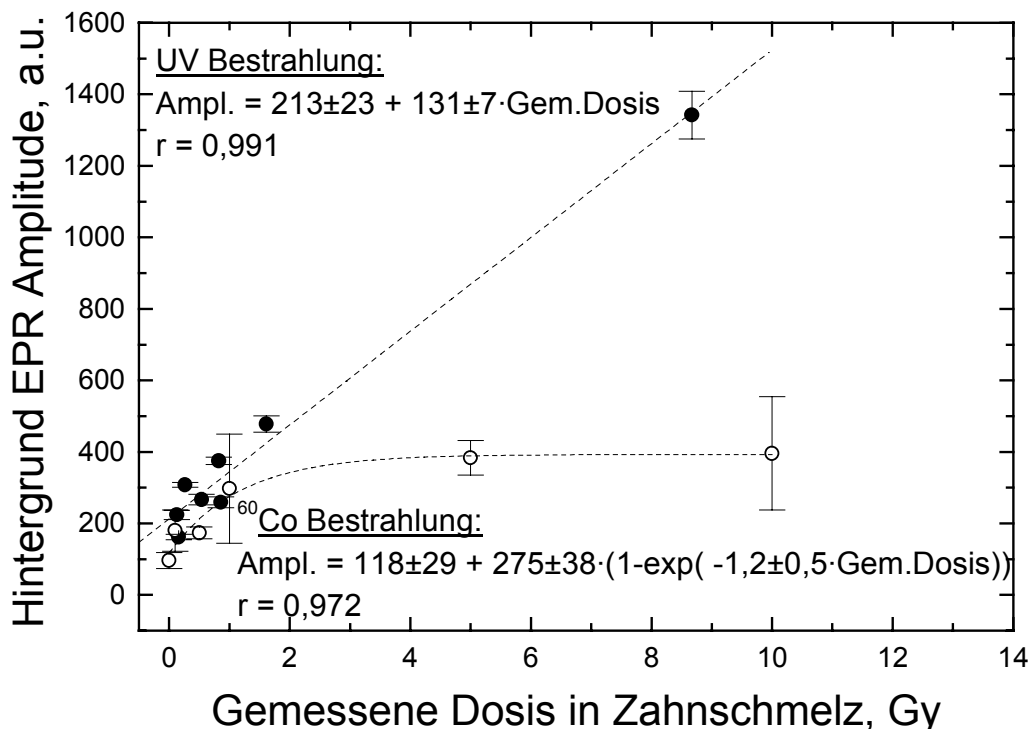


Abb. 11: Die Amplitude des Hintergrund EPR Signals ($g = 2.0046$, Linienbreite: $0,95 \text{ mT}$) in Zahnschmelz-Blättchen in Abhängigkeit der im Zahnschmelz gemessenen Dosis nach

UV und ^{60}Co Bestrahlung. Gezeigt sind im Falle der UV Bestrahlung die Mittelwerte von 3 Messungen der Probe und ihre Standardabweichung und im Falle der ^{60}Co Bestrahlung die Mittelwerte der Messungen von 3 Proben und ihre Standardabweichung.

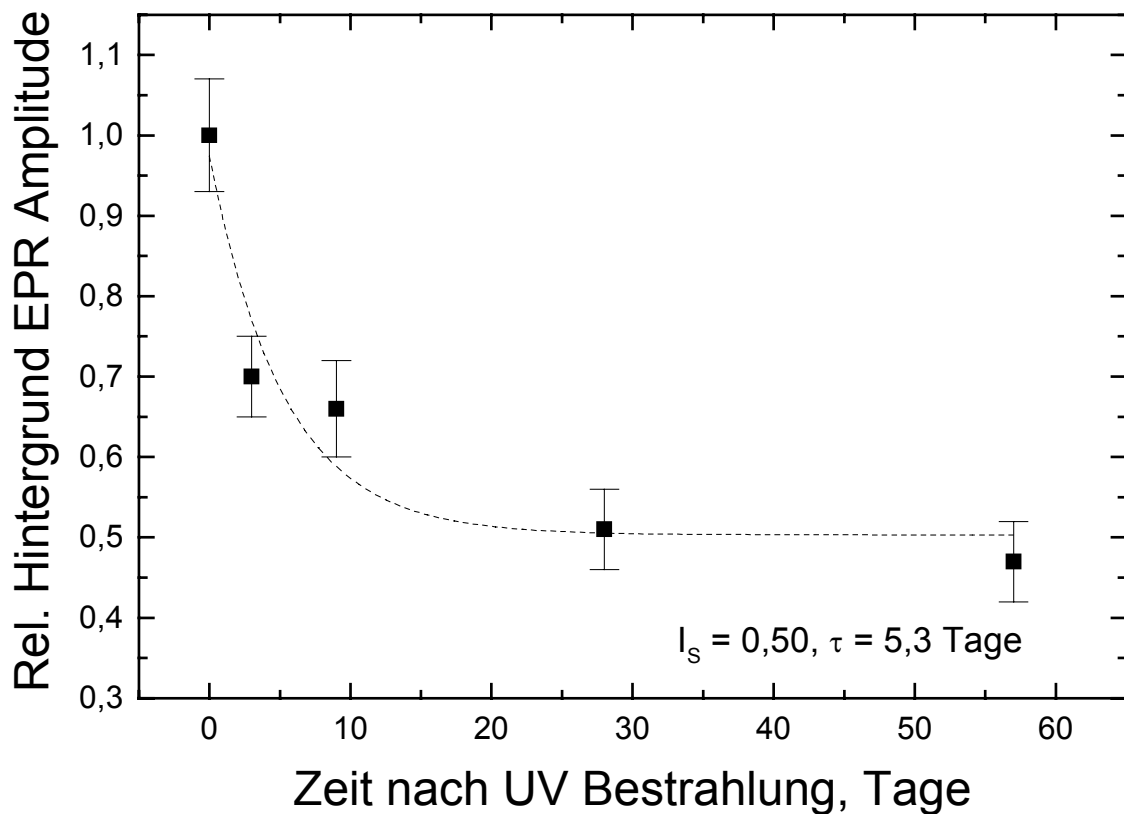


Abb. 12: Verlauf der Amplitude des Hintergrund EPR Signals in einem Zahnschmelz-Blättchen nach Bestrahlung mit 254 nm UV-Licht. Die in dem Blättchen mit EPR gemessene Dosis war 9 Gy. Die gestrichelte Linie ist die Fit-Kurve für einen exponentiellen Zerfall 1. Ordnung. Der stabile Amplitudenwert I_s (steady-state) für lange Zeit nach der Bestrahlung sowie die Zerfallskonstanten τ der instabilen Komponenten des Hintergrund Signals ist in der Abbildung angegeben. Gezeigt sind jeweils die Mittelwerte von 3 unmittelbar aufeinanderfolgende Messungen der Probe und ihre Standardabweichung.

6 Zusammenfassung

In dem abgeschlossenen Forschungsvorhaben wurden Milchzähne mit EPR Spektroskopie auf ihre Anwendbarkeit zur Dosisrekonstruktion untersucht. Die Untersuchungen ergaben dass bei der Verwendung von Milchzähnen für die Dosisrekonstruktion zwischen Schneide- und Backenzähnen unterschieden werden muss. Beide Zahnarten sind für die Rekonstruktion von absorbierten Strahlendosen geeignet jedoch mit Unterschieden in der Nachweisgrenze für absorbierte Strahlendosen und den erforderlichen Expositionszeiträumen. Für Schneide- und Backenzähne wurden Dosiskalibrierfunktionen erstellt. Die charakteristischen Merkmale bei der Anwendung der EPR Spektroskopie von Milch-Schneide- und –Backenzähnen zur Dosisrekonstruktion sind in der Tabelle 3 zusammengestellt. Für beide Zahnarten wurden standardisierte Verfahren entwickelt für die Ermittlung der absorbierten Dosis durch EPR Messungen an Milchzahnproben. Alle erforderlichen Verfahren für die Dosisrekonstruktion mit Milchzähnen sind im Anhang „*Protokoll für die Anwendung der EPR Spektrometrie zur Dosisrekonstruktion mit Milchzähnen*“ dokumentiert.

Bei Milch-Schneidezähnen ist die vorhandene Zahnschmelzmenge nicht ausreichend für EPR Messungen, sodass der gesamte Zahn einschließlich Zahnbein gemessen werden muss. Für die EPR Messung wird die Zahnoberfläche gereinigt ohne chemische Behandlung zur Vermeidung von Gewichtsverlusten. Die Variabilität der Strahlungsempfindlichkeit von Milch-Schneidezähnen verschiedener Kinder betrug 10%. Die Nachweisgrenze für absorbierte Strahlendosen war 120 mGy. In Milch-Schneidezähnen wird durch die EPR Messung vorwiegend die absorbierte Dosis im Zahnbein gemessen, der Beitrag von Zahnschmelz ist etwa 10%. In Milch-Schneidezähnen können Expositionen die zwischen der vollständigen Ausbildung und dem Ausfall des Zahnes auftreten nachgewiesen werden. Das sind Expositionen die im Alter zwischen drei und sechs Jahren aufgetreten waren. Durch Bestrahlung werden im Zahnbein der Schneidezähne zusätzlich kurzlebige Radikale erzeugt die das EPR Signal der CO_2^- Radikale (Dosimetriesignal) kurzzeitig beeinflussen. Für die Ermittlung der absorbierten Dosis in Milch-Schneidezähnen ist deshalb eine Karenzzeit von 14 Tagen zwischen der Exposition und der EPR Messung erforderlich.

In Milch-Backenzähnen ist ausreichend Zahnschmelz für EPR Messungen vorhanden. Für die Messung wird das Zahnbein auf chemischen Wege abgetrennt und der Zahnschmelz pulverisiert. Hierdurch sind sehr genaue EPR Messungen möglich. Die Variabilität der Strahlungsempfindlichkeit von Zahnschmelz von Backenzähnen verschiedener Kinder betrug 7%. Die Nachweisgrenze für absorbierte Strahlendosen war 22 mGy. Bei Backenzähnen wird mit EPR die absorbierte Dosis im Zahnschmelz gemessen. Dieser ist bereits vor dem Zahndurchbruch vollständig ausgebildet und erlaubt im Gegensatz zu den Messungen mit Schneidezähnen den Nachweis von absorbierten Strahlendosen aus einem längeren Expositionszeitraum. In Milch-Backenzähnen können Expositionen ermittelt werden die im Alter zwischen zwei und zwölf Jahren aufgetreten waren. Bei der Ermittlung der absorbierten Dosis im Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen ist keine Karenzzeit zwischen der Exposition und der EPR Messung erforderlich.

Durch kurzwelliges (Wellenlänge <254 nm) UV-Licht werden im Zahnschmelz CO_2^- Radikale erzeugt. Diese können nicht von denen durch Gamma-Bestrahlung erzeugten Radikalen unterschieden werden. Eine Exposition mit UV-Licht kann somit zu einer Überschätzung der absorbierten Dosis im Zahnschmelz führen. Es wurden Untersuchungen durchgeführt zur Identifikation von UV-Expositionen durch die EPR Messung der Hintergrund Radikale in Zahnschmelz. Nach den vorliegenden Ergebnissen kann erst bei sehr starken UV-Expositionen die einer absorbierten Dosis von mehr als 1,2 Gy entsprechen eine UV-Exposition identifiziert werde. Die Exposition durch natürliche UV-Strahlung ist wesentlich niedriger und wirkt sich nur auf die Vorderseite von Schneidezähnen aus. Für die Dosisrekonstruktion durch die EPR Messung von Milch-Schneidezähnen wurde eine Abschätzung der möglichen Beiträge durch natürliche UV-Strahlung durchgeführt. Hieraus folgt dass die durch natürliche UV-Strahlung zu erwartende Einflüsse auf EPR Messungen von Milch-Schneidezähnen unterhalb der Nachweisgrenze liegen.

Tabelle 3: Charakteristische Merkmale der EPR Spektroskopie von Milch-Schneide- und -Backenzähnen für die Dosisrekonstruktion.

Milchzahnart:	Schneidezahn	Backenzahn
Messprobe:	Ganzer Zahn	Zahnschmelzpulver
Probenaufbereitung für die EPR Messung:	Säubern der Zahnoberfläche	Chemische Abtrennung von Zahnbein
EPR Parameter CO₂⁻ Signal: (Dosimetriesignal)	g ₁ =2,0019, g ₂ =1,9989 Linienbreite 0,40 mT g ₁ /g ₂ Ampl.verh.: 2:1	g ₁ =2,0019, g ₂ =1,9989 Linienbreite 0,40 mT g ₁ /g ₂ Ampl.verh.: 2:1
EPR Parameter Hintergrund Signal:	g ₁ =2,0055, g ₂ =2,0032 Linienbreite 0,62 mT g ₁ /g ₂ Ampl.verh.: 2:1	g ₁ =2,0052, g ₂ =2,0025 Linienbreite 0,69 mT g ₁ /g ₂ Ampl.verh.: 2:1
Kalibrierfunktion:	$D_{MS}/Gy = 2,14 \cdot D_{ST}/Gy - 0,11Gy$	$D_{MB}/Gy = 0,93 \cdot D_{ST}/Gy - 0,02Gy$
Variabilität verschiedener Zähne:	10%	7%
Nachweisgrenze:	120 mGy	22 mGy
Anwendbar für Expositionszeitraum:	3. - 6. Lebensjahr	2. – 12. Lebensjahr
Karenzzeit zwischen Exposition u. EPR Messung:	14 Tage	Nicht erforderlich

D_{MS}: absorbierte Dosis in Milch-Schneidezähnen

D_{MB}: absorbierte Dosis in Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen

D_{ST}: mit EPR gemessene Dosis (Standardkalibrierung für Zahnschmelz von permanenter Zähne)

7 Literatur

- BRADY, J.M., AARESTAD, N.O., SWARTZ, H.M., (1968): *In vivo dosimetry by electron spin resonance spectroscopy*, Med. Phys., 15, S. 43-47.
- DRIESENS, F.C.M., (1980): *The mineral in bone, dentine and tooth enamel*, Bull. Soc. Chem. Belg., 89, S. 663-689.
- IAEA, (2002): *Use of electron paramagnetic resonance dosimetry with tooth enamel for retrospective dose assessment*, IAEA, Vienna 2002, IAEA-TECDOC-1331, ISBN 92-0-119402-1.
- IVANNIKOV, A.I., SKVORTZOV, V.G., STEPANENKO, V.F., TIKUNOV, D.D., FEDOSOV, I.M., ROMANYUKHA, A.A., WIESER, A., (1997): *Wide-scale EPR retrospective dosimetry. Results and problems*, Radiat. Prot. Dosim., 71, S. 175-180.
- KOSHTA, A.A., WIESER, A., IGNATIEV, E.A., BAYANKIN, S., ROMANYUKHA, A.A., DEGTEVA, M.O., (2000): *New computer procedure for routine EPR-dosimetry on tooth enamel: description and verification*, Appl. Radiat. Isot., 52, S. 1287-1290.
- MOENS, P., DE VOLDER, P., HOOGEWIJS, R., CALLENS, F., VERBEECK, R., (1993): *Maximum-likelihood common-factor analysis as a powerful tool in decomposing multicomponent EPR powder spectra*, J. Magn. Reson., 101, S. 1-15.
- SCHWARCZ, H.P., (1985): *ESR study of tooth enamel*, Nucl. Tracks 10, S. 865-867.
- VANHAELEWYN, G., AMIRA, S., DEBUYST, R., CALLENS, F., GLORIEUX, TH., LELOUP, G., THIERENS, H., (2001): *A critical discussion of the 2nd intercomparison on electron paramagnetic resonance dosimetry with tooth enamel*, Radiat. Meas., 33, 417-426.
- WIESER, A., MEHTA, K., AMIRA, S., ARAGNO, D., BERCEA, S., BRIK, A., BUGAI, A., CALLENS, F., CHUMAK, V., CIESIELSKI, B., DEBUYST, R., DUBOVSKY, S., DULIU, O.G., FATTIBENE, P., HASKEL, E.H., HAYES, R.B., IGNATIEV, E.A., IVANNIKOV, A., KIRILLOV, V., KLESCHENKO, E., NAKAMURA, N., NATHER, M., NOWAK, J., ONORI, S., PASS, B.P., PIVOVAROV, S., ROMANYUKHA, A., SCHERBINA, O., SHAMES, A.I., SHOLOM, S., SKVORTSOV, V., STEPANENKO, V., TIKOUNOV, D.D., TOYODA, S.,

(2000): *The 2nd International Intercomparison On EPR Tooth Dosimetry*, Radiat. Meas., 32, S. 549-557.

WIESER, A., EL-FARAMAWY, N., MECKBACH, R., (2001): *Dependencies of the radiation sensitivity of human tooth enamel in EPR dosimetry*, Appl. Radiat. Isot., 54, 793-799.

WIESER, A. AND EL-FARAMAWY, N., (2002): *Dose reconstruction with electron paramagnetic resonance spectroscopy of deciduous teeth*, Radiat. Prot. Dosim., 101, S. 545-548.

ZDRAVKOVA, M., WIESER, A., EL-FARAMAWY, N., IVANOV, D., GALLETZ, B, DEBUYST, R., (2003): *An in vitro L-band EPR study with whole human teeth in a surface coil resonator*, Radiat. Meas., 37, S. 347-353.

Anhang:

**Protokoll für die Anwendung der EPR Spektrometrie
zur Dosisrekonstruktion mit Milchzähnen**

Protokoll für die Anwendung der EPR Spektrometrie zur Dosisrekonstruktion mit Milchzähnen

INHALT

1	Einführung	A-1
2	Erforderliche Ausrüstung	A-4
2.1	Geräte für die Probenaufbereitung	A-4
2.2	Chemikalien für die Probenaufbereitung	A-4
2.3	Zubehör für EPR Messung und Spektrenbearbeitung	A-4
3	Zahnaufbereitung für die EPR Messung	A-5
3.1	Aufbereitung von Milch-Schneidezähnen	A-5
3.2	Aufbereitung von Milch-Backenzähnen	A-6
4	EPR Messung	A-8
5	Ermittlung des dosimetrischen EPR Signals	A-10
5.1	Allgemeines Verfahren zur Ermittlung des dosimetrischen EPR Signals	A-10
5.2	EPR Simulationsfunktion für Zähne	A-11
6	Ermittlung der absorbierten Dosis	A-13
7	Absorbierte Dosis in verschiedenen Materialien	A-13
8	Messgenauigkeit	A-15

1 Einführung

Die paramagnetische Elektronenresonanz (EPR) Dosimetrie mit Zähnen ist eine festkörperphysikalische Methode zur retrospektiven Ermittlung von individuellen Dosen. Die Dosis wird rekonstruiert durch Messung der Amplitude der EPR Signale die von CO_2^- Radikale herrühren. Diese Radikale werden durch ionisierende Strahlung in Hydroxylapatit -dem Hauptbestandteil von Zahnschmelz und Zahnbein- erzeugt. Das EPR Signal der CO_2^- Radikale wird im Weiteren als Dosimetrie Signal bezeichnet. Die Nachweisgrenze für die absorbierte Dosis in Zähnen ist nicht hauptsächlich begrenzt durch die Empfindlichkeit des verwendeten EPR Spektrometers, sondern durch störende Hintergrund Radikale. Diese sind sowohl im Zahnschmelz als auch in deutlich stärkerem Ausmaße in Zahnbein enthalten. Die EPR Signale der Hintergrund Radikale sind dem Dosimetrie Signal überlagert und erschweren dessen Quantifizierung insbesondere für absorbierte Strahlendosen von weniger als 1 Gy. Die genauesten EPR Messungen können mit reinen Zahnschmelz-Proben durchgeführt werden.

Das Ziel bei der Aufbereitung von Zahnschmelz-Proben ist die best mögliche Abtrennung von Zahnbein-Anhaftungen zu erreichen. Durch das in diesem Protokoll beschriebene Verfahren zur Aufbereitung von Zahnschmelz-Proben wird in kurzer Zeit in ausreichendem Masse das Zahnbein abgetrennt. Das Verfahren enthält nur begrenzt mechanische Bearbeitungsschritte zur Abtrennung des Zahnbeins um weitgehend Einflüsse des Anwenders auf die Qualität der Proben auszuschließen und somit eine konstante Probenqualität zu gewährleisten.

Das EPR Spektrum von bestrahlten Zähnen enthält zwei Haupt-Signale. Das Dosimetrie und das Hintergrund Signal die sich gegenseitig überlagern. Für absorbierte Strahlendosen von weniger als 300 mGy kann die Amplitude des Dosimetrie Signals nicht auf direktem Wege aus dem EPR Spektrum gemessen werden. In dem Protokoll ist ein Verfahren zur Dekonvolution der EPR Spektren beschrieben wodurch auch für niedrige Strahlendosen die Amplitude des Dosimetrie Signals ermittelt werden kann. Bei dieser Methode wird das gemessene EPR Spektrum durch eine Linear-Kombination von Gauß-Funktionen angepasst. Die Amplitude der Gauß-Funktion, die dem Dosimetrie Signals entspricht, wird zur Dosisermittlung verwendet.

Die EPR Spektrometrie an Zähnen ist ein relatives Dosimetrie Verfahren und erfordert eine Dosis-Kalibrierung. Die Ermittlung der absorbierten Dosis in Zähnen erfolgt über die Amplitude des EPR Signals der CO_2^- -Radikale, die proportional zur absorbierten Strahlendosis anwächst. Der Proportionalitäts-Faktor muss experimentell bestimmt, d.h., der EPR Amplitudenanstieg je absorbierten Einheits-Dosis muss kalibriert werden. Dies kann individuell für jede einzelne Probe durch mehrere zusätzlich Bestrahlungen im Labor zur Ermittlung der individuellen Strahlungsempfindlichkeit erfolgen. Ein solches Verfahren ist jedoch, insbesondere durch die notwendigen Karenzzeiten durch instabile Radikale, extrem Zeitaufwendig und für die praktische Dosimetrie ungeeignet. Außerdem kann durch dieses Verfahren der Grundwert (Bias) der EPR Amplitude von unbestrahlten Zähnen nicht bestimmt werden. Die über zusätzliche Bestrahlung im Labor ermittelte absorbierte Dosis ist deshalb um diesen Grundwert überhöht. Eine schnelle Ermittlung der absorbierten Dosis mit Berücksichtigung des Bias erfolgt bei der Anwendung einer Dosis-Kalibrierkurve.

Die in diesem Protokoll beschriebenen Verfahren beziehen sich auf die Anwendung von Milch-Schneide- und -Backenzähnen zur Dosisrekonstruktion mit EPR Spektroskopie. Die Verfahren beinhalten die Aufbereitung von Milch-Schneide- und -Backenzähnen für die EPR Messung, die Ermittlung der durch ionisierende Strahlung erzeugten CO_2^- EPR Signal Amplitude und die Ermittlung der absorbierten Dosis in ganzen Milch-Schneidezähnen und Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen. Charakteristische Merkmale für die Anwendung von Milchzähnen sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Die erforderliche Software zur EPR Spektrenbearbeitung (WinEPR von Bruker) und Dosisermittlung (DOSIMETRY von GSF/IMP) sind frei verfügbar.

Tabelle 1: Charakteristische Merkmale der EPR Spektroskopie von Milch-Schneide- und -Backenzähnen für die Dosisrekonstruktion.

Milchzahnart:	Schneidezahn	Backenzahn
Messprobe:	Ganzer Zahn	Zahnschmelzpulver
Probenaufbereitung für die EPR Messung:	Säubern der Zahnoberfläche	Chemische Abtrennung von Zahnbein
EPR Parameter CO₂⁻ Signal: (Dosimetriesignal)	g ₁ =2,0019, g ₂ =1,9989 Linienbreite 0,40 mT g ₁ /g ₂ Ampl.verh.: 2:1	g ₁ =2,0019, g ₂ =1,9989 Linienbreite 0,40 mT g ₁ /g ₂ Ampl.verh.: 2:1
EPR Parameter Hintergrund Signal:	g ₁ =2,0055, g ₂ =2,0032 Linienbreite 0,62 mT g ₁ /g ₂ Ampl.verh.: 2:1	g ₁ =2,0052, g ₂ =2,0025 Linienbreite 0,69 mT g ₁ /g ₂ Ampl.verh.: 2:1
Kalibrierfunktion:	$D_{MS}/Gy = 2,14 \cdot D_{ST}/Gy - 0,11Gy$	$D_{MB}/Gy = 0,93 \cdot D_{ST}/Gy - 0,02Gy$
Variabilität verschiedener Zähne:	10%	7%
Nachweisgrenze:	120 mGy	22 mGy
Anwendbar für Expositionszeitraum:	3. - 6. Lebensjahr	2. – 12. Lebensjahr
Karenzzeit zwischen Exposition u. EPR Messung:	14 Tage	Nicht erforderlich

D_{MS}: absorbierte Dosis in Milch-Schneidezähnen
D_{MB}: absorbierte Dosis in Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen
D_{ST}: mit EPR gemessene Dosis (Standardkalibrierung für Zahnschmelz von permanenter Zähne)

2 Erforderliche Ausrüstung

2.1 Geräte für die Probenaufbereitung

- Mikro Hand-Bohr/Fräsmaschine, $U = 18000 \text{ min}^{-1}$
- Fein- und Diamant-Sägeblatt, $\varnothing = 25 \text{ mm}$
- Rundkopf Hartmetallfräser, $\varnothing = 2 \text{ mm}$
- Rundkopf Diamantfräser, $\varnothing = 2 \text{ mm}$
- Achat-Mörser mit Pistill, $\varnothing = 125 \text{ mm}$
- Siebe, Korngröße $125 \mu\text{m}$ und $600 \mu\text{m}$, $\varnothing = 100 \text{ mm}$
- Ultraschall-Reinigungsgerät mit Heizung, $V = 9 \text{ l}$, 35 kHz
- Reagenzglas-Schüttelgerät
- Evakuierbarer Ofen, 40°C , und Vakuum Pumpe
- Präzisions-Waage, $0,1 \text{ mg}$

2.2 Chemikalien für die Probenaufbereitung

- Essigsäure, p.a.
- Azeton, p.a.
- Ethanol absolut, p.a.
- Natriumhydroxid Plätzchen, p.a.
- 0.1 M Titriplex III Lösung

2.3 Zubehör für EPR Messung und Spektrenbearbeitung

- EPR Spektrometer: X-band
- Mikrowellen-Frequenz-Zähler, 10 GHz
- Suprasil Quarzglas Probenröhrchen, I.D. = 3 mm (Zahnschmelzpulver), I.D. = 5 mm (Schneidezähne)
- Weak Pitch Referenzprobe
- PC und EPR Spektrenbearbeitungssoftware (WinEPR und DOSIMETRY)

3 Zahnaufbereitung für die EPR Messung

3.1 Aufbereitung von Milch-Schneidezähnen

Bei der Aufbereitung von Schneidezähnen muss auf Zahnbein eliminierende Prozesse verzichtet werden. Es wird empfohlen den Zahn nicht zu pulverisieren, sondern als ganzen Zahn zu messen. Es soll nur eine minimale chemische Behandlung angewendet werden zum beseitigen von Oberflächen Kontaminationen bei minimalem Verlust von Zahnschmelz und Zahnbein.

Für die Aufbereitung von Milch-Schneidezähne zur EPR Messung ist folgendes Verfahren geeignet:

- 1) Waschen der Zähne für eine Dauer von 5 Minuten in einem Ultraschall-Reinigungsgerät mit Azeton.
- 2) Entfernen von eventuell vorhandenen krankhaften (schwarzen) Stellen mit einem Diamantfräser.
- 3) Anätzen der Zahnoberfläche für eine Dauer von 15 Minuten in einem Ultraschall-Reinigungsgerät mit einer 0.1 M Titriplex III-Lösung (EDTA Na₂, Ethylendinitrilotetraessigsäure Dinatriumsalz-Dihydrat).
- 4) Waschen der Zähne für eine Dauer von 5 Minuten in einem Ultraschall-Reinigungsgerät mit Ethanol (absolut).
- 5) Trocknen der Zähne unter Vakuum bei 40°C für eine Dauer von 30 Minuten.

3.2 Aufbereitung von Milch-Backenzähnen

Bei Milch-Backenzähnen werden die EPR Messungen an Zahnschmelzpulverproben durchgeführt. Vor der Probenaufbereitung muss der Zahn mindestens einen Tag gewässert werden. Anschließend wird er in Azeton 5 Minuten lang in einem Ultraschall-Gerät gereinigt. In dem nun folgenden Verfahren müssen alle Säge- und Fräsarbeiten am Zahn mit Wasserkühlung durchgeführt werden.

- 1) Entfernen von eventuell vorhandenen Zahnfüllungen und krankhaften (schwarze) Stellen an der Zahnkrone mit einem Diamantfräser.**
- 1.1) Abtrennen der Zahnwurzel mit einem Fein-Sägeblatt und halbieren der Zahnkrone mit einem Diamant-Sägeblatt.
- 2) Waschen der Zahnkronenhälften in einem Reagenzglas mit 0.1 M Titriplex III Lösung (ca. 10 ml) für die Dauer von 15 Minuten in einem Ultraschall-Reinigungsgerät.
- 2.1) Waschen der Zahnkronenhälften in einem Reagenzglas mit Wasser (ca. 10 ml) für die Dauer von 5 Minuten in einem Ultraschall-Reinigungsgerät.**
- 3) Behandlung der Zahnkronenhälften in einem Reagenzglas mit 5 M NaOH Lösung (ca. 10 ml) bei 40°C in einem Ultraschall-Reinigungsgerät für die Dauer von 15 Stunden.
- 3.1) Dreimaliges waschen der Zahnkronenstücke in einem Reagenzglas mit jeweils frischem Wasser (ca. 10 ml) für die Dauer von 15 Minuten in einem Ultraschall-Reinigungsgerät.
- 3.2) Der Schritt 3.1 muss solange wiederholt werden bis das Wasser nicht mehr milchig trüb ist.
- 3.3) Spülen der Zahnkronenstücke im Reagenzglas mit Ethanol (ca. 10 ml).**
- 4) Trocknen der Zahnkronenstücke unter Vakuum bei 40°C für 30 Minuten.**
- 5) Entfernen von verbliebenen Zahnbeinresten mit einer Nadel oder einem Hartmetallfräser bei niedriger Drehgeschwindigkeit.**
- 6) Zerreiben der Zahnschmelzstücke mit einem Achat-Mörser und sieben des Pulvers (Korngrößen von 125-600 µm).**
- 7) Ätzen des Zahnschmelzpulvers mit 20%-iger Essigsäure (ca. 10 ml) in einem Reagenzglas für die Dauer von 5 Minuten. Zum Anfang des Ätzvorganges und

nach weiteren 3 Minuten muss das Reagenzglas in einem Schüttelgerät für 5 Sekunden geschüttelt werden.

7.1) Spülen des Zahnschmelzpulvers mit Wasser in einem Reagenzglas unter schütteln für 5 Sekunden. Das Wasser erst 10 Sekunden nach dem Schütteln abgießen. Diesen Spülvorgang 3 mal wiederholen.

7.2) Spülen des Zahnschmelzpulvers mit Ethanol (ca. 10 ml) in einem Reagenzglas für 5 Minuten. Nach jeder Minute das Reagenzglas in einem Schüttelgerät für 5 Sekunden schütteln. Erst 10 Sekunden nach Ende des gesamten Spülvorgangs das Ethanol abgießen.

8) Trocknen des Zahnschmelzpulvers unter Vakuum bei 40°C für 30 Minuten.

Bemerkung: Zur Herstellung einer 5 M NaOH Lösung 2 g NaOH Plätzchen in 10 ml Wasser lösen. Für die Ultraschallbehandlung der Zähne dürfen nur neue Reagenzgläser verwendet werden. Bei der Verwendung von bereits gebrauchten Reagenzgläsern besteht Bruchgefahr. Die Wassertemperatur in dem Ultraschall-Reinigungsgerät muss vor der Zahnbehandlung auf 40°C vorgeheizt werden. Während der Behandlung bleibt die Heizung ausgeschaltet. Die Wassertemperatur wird durch die Wirkung des Ultraschall bis zum Ende der Behandlung auf 60°C erhöht.

4 EPR Messung

- 1) Aufwärmen des EPR Spektrometers im 'Tune mode' für Dauer von 2 Stunden.
- 2) **Messung einer Weak Pitch Referenzprobe zur Kontrolle der Spektrometer-Empfindlichkeit und der Magnetfeldpositionierung. Die Messung wird mit den in der Tabelle 3 angegebenen Parametern durchgeführt jedoch mit nur 10 scans.**
- 3) **Kontrolle der Positionierung des EPR Messröhrchens. Die Zentren von Probe und Mikrowellen-Resonator müssen gleich sein.**
- 4) **Messung der Zahnproben mit den Bedingungen und Parameter die in den Tabellen 2 und 3 angegeben sind.**
Zahnschmelzpulver von Milch-Backenzähnen:
Jede Probe wird drei mal gemessen. Zwischen den Messungen wird das Pulver im EPR Messröhrchen aufgeschüttelt zum umorientieren der Körner.
Ganze Milch-Schneidezähne:
Jede Probe wird fünf mal gemessen. Zwischen den Messungen wird das Messröhrchen jeweils um 60° gedreht.
- 5) **Speicher des EPR Spektrums von jeder Messung auf Datenträger für die Bearbeitung auf dem PC.**

Bemerkung: Nach der Aufwärmphase kann sich die Empfindlichkeit des Spektrometers um bis zu 1%/Stunde ändern. In Abhängigkeit der erforderlichen Messgenauigkeit muss das Spektrometer nach entsprechenden Intervallen nachkalibriert werden. Das Hintergrund EPR Spektrum des leeren Messröhrchens zur Subtraktion von den Zahnproben EPR Spektren sollte alle 6 Monate neu ermittelt werden.

Tabelle 2: EPR Zubehör und Probenanforderung

EPR Spektrometer:		Bruker ECS 106
Typ des Mikrowellen-Resonator:		TMH
EPR Messröhrchen:	Material:	Suprasil
	Innerer Durchmesser, mm:	3 (Zahnschmelzpulver) 5 (ganzer Schneidezahn)
	Wandstärke, mm:	0,5
Probe:	Minimale Masse, mg:	50
	Gültigkeit ($\pm 1\%$) der linearen Massenkorrektur, mg:	50 - 150

Tabelle 3: Wesentliche Parameter für die EPR Messung

Centre field:	Entsprechend zu $g=2.0020$
Magnetic field sweep, mT:	5
Modulation amplitude, mT:	0,15
Microwave power, mW:	25
Time constant, msec:	160
Conversion time, msec:	80
Number of scans:	40

5 Ermittlung des dosimetrischen EPR Signals

Das Software Programm DOSIMETRY ist eine spezielle Software zur Ermittlung der absorbierten Dosis in Zahnproben. In dem Programm sind die EPR-Simulationsfunktion für Zähne (Abschnitt 5.2) und die EPR Parameter für Milch-Schneide- und Backenzähnen (Tabelle 4) installiert. Die Ermittlung der EPR Amplitude, Ah, für das dosimetrische Signal erfolgt durch das Programm automatisch nach einlesen des Proben- und Hintergrund-Spektrums. Die Addition der drei (Zahnschmelzpulver) bzw. fünf (ganze Schneidezähne) Einzelspektren zu einem Summenspektrum kann ebenfalls mit dem DOSIMETRY Programm durchgeführt werden.

Bei der Verwendung einer allgemeinen Software zum Anpassen von experimentellen Daten (z.B., ORIGIN 3.5) muss die Ermittlung der EPR Amplitude, Ah, für das dosimetrische Signal nach dem nachfolgend beschriebenen Verfahren durchgeführt werden. Die EPR-Simulationsfunktion für Zähne, TEPR, muss als benutzerdefinierte in das Programm eingegeben werden. Die EPR Amplitude des dosimetrischen Signals folgt dann aus der besten Anpassung des EPR Spektrums der Probe durch die Funktion TEPR.

5.1 Allgemeines Verfahren zur Ermittlung des dosimetrischen EPR Signals

Die Multiplikation und Addition der EPR Spektren wird mit dem Software Programm WinEPR durchgeführt.

- 1) Multiplizieren von jedem EPR Spektrum mit dem Kalibrierfaktor für die Spektrometer-Empfindlichkeit.
 - 1.1) Konvertieren der Magnetfeld-Achse des EPR Spektrums nach Einheiten des g - Wertes. Abspeichern des konvertierten Spektrums im ASCII format.
- 2) Importieren des EPR Spektrum in das ORIGIN Software Programm.
- 3) Eingabe der EPR Parameter nach der Tabelle 4.
- 4) Setzen des Fit-Fensters von 'g = 2.0080 + **sft**' bis zu 'g = 1.9970 + **sft**'. (**sft** ist der spektrometer-spezifische offset des Magnetfeldes)

- 5) Starten der Fit-Routine. Das Ergebnis für den Parameter, **A_h**, ist die Amplitude des dosimetrischen Signals.

5.2 EPR Simulationsfunktion für Zähne

$$\begin{aligned}
 \text{TEPR}(X) = \{ & A + A_h * ((X - (H_{0h} + \text{sft})) * \exp(-((X - (H_{0h} + \text{sft}))/dH_h)^2) / (dH_h^2) \\
 & + 0.5 * (X - (H_{0h} + \text{sft}) - D) * \exp(-((X - (H_{0h} + \text{sft}) - D)/dH_h)^2) / (dH_h^2) \\
 & + A_b * ((X - (H_{0b} + \text{sft})) * \exp(-((X - (H_{0b} + \text{sft}))/dH_b)^2) / (dH_b^2) \\
 & + 0.5 * (X - (H_{0b} + \text{sft}) - DB) * \exp(-((X - (H_{0b} + \text{sft}) - DB)/dH_b)^2) / (dH_b^2) \\
 & + A_a * ((X - (H_{0a1} + \text{sft})) * \exp(-((X - (H_{0a1} + \text{sft}))/ (1.5 * dH_a))^2) / ((1.5 * dH_a)^2) \\
 & + (X - (H_{0a2} + \text{sft})) * \exp(-((X - (H_{0a2} + \text{sft}))/dH_a)^2) / (dH_a^2) \\
 & + (X - (H_{0a3} + \text{sft})) * \exp(-((X - (H_{0a3} + \text{sft}))/dH_a)^2) / (dH_a^2) \\
 & + (X - (H_{0a4} + \text{sft})) * \exp(-((X - (H_{0a4} + \text{sft}))/ (2.4 * dH_a))^2) / ((2.4 * dH_a)^2) \\
 & + A_i * (X - (H_{0i} + \text{sft})) * \exp(-((X - (H_{0i} + \text{sft}))/dH_i)^2) / (dH_i^2) \}
 \end{aligned}$$

Tabelle 4: Bezeichnungen und Werte für die Parameter der EPR Simulationsfunktion TEPR

BEZEICHNUNG	AMPLITUDE	Feldposition : Wert	Linienbreite : Wert	Linienabstand : Wert
Signal offset	A : var.	-	-	-
Hintergrund Signal	Ab : var.	<u>Pulver:</u> H0b : 2,0052 <u>ganzer Zahn:</u> H0b : 2,0055	<u>Pulver:</u> dHb : 0,0028 <u>ganzer Zahn:</u> dHb : 0,0025	<u>Pulver:</u> DB : -0,0027 <u>ganzer Zahn:</u> DB : -0,0023
Dosimetrisches Signal (ax. CO₂⁻)	Ah : var.	H0h : 2,0019	dHh : 0,0018	D : -0,0031
Isotropes CO₂⁻ Signal	Ai : var.	H0i : 2,0005	dHi : 0,0011	-
Unbekanntes Signal	Aa : var.	H0a1 : 2,0050 H0a2 : 2,0026 H0a3 : 1,9995 H0a4 : 1,9964	dHa : 0,0009	-
Magnetfeld offset	sft : fest	-	-	-

Bemerkung: Die Parameter-Werte 'var.' folgen aus der Fit-Routine. Der Wert für den offset wird experimentell ermittelt mit Hilfe der Weak Pitch Referenzprobe (g=2,0028).

6 Ermittlung der absorbierten Dosis

Die ermittelte Dosis wird in der Einheit „absorbierte Dosis in Hydroxylapatit“ angegeben. Die absorbierte Dosis wird Ermittelt aus der Amplitude des dosimetrischen EPR Signals und dessen Kalibrierung für Zahnschmelz von permanenten Zähnen mit speziellen Zusatz-Kalibrierfunktionen für Milch-Schneide- und –Backenzähnen. Die Kalibrierung für Zahnschmelz von permanenten Zähnen (Standard-Kalibrierung) ist in dem DOSIMETRY Programm installiert. Die in ganzen Milch-Schneidezähnen und Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen absorbierte Dosis, D_{MS} und D_{MB} , wird berechnet aus dem Ergebnis der Standard-Kalibrierung, D_{ST} , und den Zusatz-Kalibrierfunktionen (1) und (2).

Zusatz-Kalibrierfunktion für ganze Milch-Schneidezähne:

$$(1) \quad D_{MS} / \text{Gy} = 2,14 \cdot D_{ST} / \text{Gy} - 0,11 \text{ Gy}$$

Zusatz-Kalibrierfunktion für Zahnschmelz von Milch-Backenzähnen:

$$(2) \quad D_{MB} / \text{Gy} = 0,93 \cdot D_{ST} / \text{Gy} - 0,02 \text{ Gy}$$

7 Absorbierte Dosis in verschiedenen Materialien

Die absorbierte Dosis in einem Material ist abhängig von seinem Massen-Energieabsorptionskoeffizienten, μ_{en}/ρ . Die Werte von μ_{en}/ρ in Abhängigkeit der Photonenenergie sind in der Literatur für verschiedene Elemente und Verbindungen verfügbar. Ein kleiner Auszug hieraus für die Werte von μ_{en}/ρ ist in der Tabelle 5 gegeben für die Bestrahlung mit ^{60}Co (1,25 MeV) von einigen Materialien die für die Bestrahlung von Zähnen relevant sind.

Tabelle 5: μ_{en}/ρ für Luft, Wasser, Weich-Gewebe und Hydroxylapatit für eine Photonenenergie von 1,25 MeV

Material	$\mu_{\text{en}}/\rho, \text{ cm}^2/\text{g}$
Luft	$2,666 \cdot 10^{-2}$
Wasser	$2,965 \cdot 10^{-2}$
Weich-Gewebe (ICRU-44)	$2,938 \cdot 10^{-2}$
Hydroxylapatit (Zahnschmelz)	$2,656 \cdot 10^{-2}$

Das Verhältnis der absorbierten Dosis in einem bestimmten Material zur absorbierten Dosis in Hydroxylapatit (Zahnschmelz) ist identisch mit dem Verhältnis der jeweiligen Massen-Energieabsorptionskoeffizienten, μ_{en}/ρ . Die Konversion der absorbierten Dosis in einem Material, M, zur absorbierten Dosis in Hydroxylapatit, HA, erfolgt über die Beziehung (3). Die Konversionsfaktoren, $f_{\text{HA/M}}$, sind für einige wichtige Materialien in der Tabelle 6 aufgeführt für die Bestrahlung mit ^{60}Co .

$$(3) \quad \text{absorbierte Dosis in HA / Gy} = f_{\text{HA/M}} \cdot \text{absorbierte Dosis in M / Gy}$$

Tabelle 6: Konversionsfaktoren für die absorbierte Dosis in Hydroxylapatit

Material M	Konversionsfaktor $f_{\text{HA/M}}$
Exposure / R	$8,7 \cdot 10^{-3}$
Luft Kerma / Gy	0,993
Absorbierte Dosis in Luft /Gy	0,996
Absorbierte Dosis in Wasser /Gy	0,896
Absorbierte Dosis in Weich-Gewebe /Gy	0,904

Referenzen zu den Massen-Energieabsorptionskoeffizienten:

Hubbell J.H., *Photon mass attenuation and energy-absorption coefficients from 1 keV to 20 MeV*, Int. J. Appl. Radiat. Isot. 33, 1269-1290 (1982)

web site of NIST: <http://physics.nist.gov/PhysRefData/XrayMassCoef/>

8 Messgenauigkeit

Die Messgenauigkeit für die Bestimmung der absorbierten Dosis in einer Zahnprobe wird ermittelt aus der Kombination von:

1. Unsicherheit in der Kalibrierung der Strahlenquelle zur Bestrahlung der Referenzproben,
2. Variabilität in der Strahlenempfindlichkeit und der Hintergrund Signale der Zahnproben,
3. Reproduzierbarkeit der EPR Messung und
4. Fluktuationen in der EPR Spektrometer-Empfindlichkeit.

Die Beiträge der einzelnen Unsicherheiten (2σ) für Milch-Schneide- und –Backenzähne sind in der Tabelle 7 angegeben für einen Vertrauensbereich von 95%. Die einzelnen Unsicherheiten sind unabhängig voneinander und die Gesamtunsicherheit folgt aus der Wurzel der quadratischen Summen der Einzelunsicherheiten. Die angegebene Gesamtunsicherheit ist gültig für Bestrahlungen mit ^{60}Co , ^{137}Cs oder einer äquivalenten Strahlungsart. Bei Bestrahlungen mit anderen Strahlungsqualitäten sind Korrekturen an der ermittelten Dosis erforderlich gemäß der Abhängigkeit der Strahlungsempfindlichkeit der Zahnprobe von der Photonenenergie.

Tabelle 7: Messgenauigkeit der EPR Dosimetrie mit Milch-Schneide- und –Backenzähnen.

Art der Unsicherheit	Ganze Schneidezähne		Zahnschmelz von Backenzähnen	
	Relativer Fehler, %	Mindest Fehler, mGy	Relativer Fehler, %	Mindest Fehler, mGy
Kalibrierung der Strahlenquelle	3	-	3	-

Variabilität der Strahlenempfindlichkeit	20	120	14	22
EPR Reproduzierbarkeit	20	120	14	22
Fluktuationen EPR Spektrometerempfindlichkeit	3	-	3	-
Gesamtunsicherheit	29	170	20	31