

**METHODE NOUVELLE D'ETUDE
DE L'EFFICACITE DES CHELATEURS
DE LA SERIE DES ACIDES POLYAMINES
POUR LA DECONTAMINATION INTERNE**

par

*Jacques LAFUMA, Jean-Claude NENOT,
Michèle MORIN*

Centre d'Etudes Nucléaires de Fontenay-aux-Roses

Rapport CEA - R - 3519

Rapport EUR - 3864 f

1968

Ba

SERVICE CENTRAL DE DOCUMENTATION DU C.E.A

C.E.N. - SACLAY B.P. n°2, 91 - GIF-sur-YVETTE - France

CEA-R-3519 - LAFUMA Jacques, NENOT Jean-Claude,
MORIN Michèle

EUR-3864 f

METHODE NOUVELLE D'ETUDE DE L'EFFICACITE DES
CHELATEURS DE LA SERIE DES ACIDES POLYAMINES
POUR LA DECONTAMINATION INTERNE

Sommaire. - La méthode consiste à suivre le devenir biologique d'un complexe formé d'une part avec une terre rare (cérium 144) ou un transuranien (plutonium 239) et d'autre part avec un chélateur de la série des acides polyaminés (EDTA, BAETA, DTPA, TTHA).

Elle permet d'étudier :

- 1 - la stabilité in vivo des différents complexes, de les comparer ;
- 2 - la stabilité des complexes en fonction des rapports

./.

CEA-R-3519 - LAFUMA Jacques, NENOT Jean-Claude,
MORIN Michèle

EUR-3864 f

NEW METHOD FOR STUDYING THE EFFICIENCY OF
CHELATING AGENTS OF THE POLYAMINE ACID SERIES
FOR INTERNAL DECONTAMINATION

Summary. - We followed the biological fate of a complex formed on one side with either a rare earth (cerium-144) or a transuranium element (plutonium-239), and on the other side with a chelating agent of the polyamino acid series (EDTA, BAETA, DTPA, TTHA).

This method allowed to study :

- 1 - the in vivo stability of the various complexes and to compare them ;
- 2 - the stability of the complexes as a function of the isotope-chelating agent weight relationships ;

./.

pondéraux isotope - chélateurs ;

3 - le métabolisme des chélateurs formant des complexes stables, essentiellement DTPA et TTHA.

Cette méthode simple dégage la suprématie du DTPA en ce qui concerne la chélation des terres rares et du plutonium, et son utilisation à des fins thérapeutiques.

1968

23 p.

Commissariat à l'Energie Atomique - France

3 - the metabolism of the chelating agents resulting in stable complexes, i. e. DTPA and TTHA mainly.

This simple method brought out the higher efficiency of DTPA in chelating rare earths and plutonium and for therapeutic purposes.

1968

23 p.

Commissariat à l'Energie Atomique - France

A partir de 1968, les rapports CEA sont classés selon les catégories qui figurent dans le plan de classification ci-dessous et peuvent être obtenus soit en collections complètes, soit en collections partielles d'après ces catégories.

Ceux de nos correspondants qui reçoivent systématiquement nos rapports à titre d'échange, et qui sont intéressés par cette diffusion sélective, sont priés de se reporter à la lettre circulaire CENS/DOC/67/4690 du 20 décembre 1967 que nous leur avons adressée, et qui précise les conditions de diffusion.

A cette occasion nous rappelons que les rapports CEA sont également vendus au numéro par la Direction de la Documentation Française, 31, quai Voltaire, Paris 7^e.

PLAN DE CLASSIFICATION

- | | |
|--|---|
| 1. APPLICATIONS INDUSTRIELLES DES ISOTOPES ET DES RAYONNEMENTS | 8. PHYSIQUE
8. 1 Accélérateurs
8. 2 Electricité, électronique, détection des rayonnements
8. 3 Physique des plasmas
8. 4 Physique des états condensés de la matière
8. 5 Physique corpusculaire à haute énergie
8. 6 Physique nucléaire
8. 7 Electronique quantique, lasers |
| 2. BIOLOGIE ET MEDECINE
2. 1 Biologie générale
2. 2 Indicateurs nucléaires en biologie
2. 3 Médecine du travail
2. 4 Radiobiologie et Radioagronomie
2. 5 Utilisation des techniques nucléaires en médecine | 9. PHYSIQUE THEORIQUE ET MATHEMATIQUES |
| 3. CHIMIE
3. 1 Chimie générale
3. 2 Chimie analytique
3. 3 Procédés de séparation
3. 4 Radiochimie | 10. PROTECTION ET CONTROLE DES RAYONNEMENTS. TRAITEMENT DES EFFLUENTS
10. 1 Protection sanitaire
10. 2 Contrôle des rayonnements
10. 3 Traitement des effluents |
| 4. ETUDES DU DOMAINE DE L'ESPACE | 11. SEPARATION DES ISOTOPES |
| 5. GEOPHYSIQUE, GEOLOGIE, MINERALOGIE ET METEOROLOGIE | 12. TECHNIQUES
12. 1 Mécanique des fluides - Techniques du vide
12. 2 Techniques des températures extrêmes
12. 3 Mécanique et outillage |
| 6. METAUX, CERAMIQUES ET AUTRES MATERIAUX
6. 1 Fabrication, propriétés et structure des matériaux
6. 2 Effets des rayonnements sur les matériaux
6. 3 Corrosion | 13. UTILISATION ET DEVELOPPEMENT DE L'ENERGIE ATOMIQUE
13. 1 Centres d'études nucléaires, laboratoires et usines
13. 2 Etudes économiques, programmes
13. 3 Divers (documentation, administration, législation, etc...) |
| 7. NEUTRONIQUE, PHYSIQUE ET TECHNOLOGIE DES REACTEURS
7. 1 Neutronique et physique des réacteurs
7. 2 Refroidissement, protection, contrôle et sécurité
7. 3 Matériaux de structure et éléments classiques des réacteurs | |

Les rapports du COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE sont, à partir du n° 2200, en vente à la Documentation Française, Secrétariat Général du Gouvernement, Direction de la Documentation, 31, quai Voltaire, PARIS VII^e.

The C.E.A. reports starting with n° 2200 are available at the Documentation Française, Secrétariat Général du Gouvernement, Direction de la Documentation, 31, quai Voltaire, PARIS VII^e.

- Rapport CEA-R-3519 -

Rapport EUR-3864 f

Centre d'Etudes Nucléaires de Fontenay-aux-Roses

Département de la Protection Sanitaire

Association Euratom CEA

Mouvement de certains isotopes chez les animaux et chez l'homme

METHODE NOUVELLE D'ETUDE DE L'EFFICACITE DES CHELATEURS
DE LA SERIE DES ACIDES POLYAMINES POUR LA DECONTAMINATION INTERNE*

par

Jacques LAFUMA, Jean-Claude NENOT, Michèle MORIN

*Travail réalisé au Département de la Protection Sanitaire,
Centre d'Etudes Nucléaires de Fontenay-aux-Roses
dans le cadre du contrat Euratom n° 049-64-3 BIAF, C.E.A. 6356/r

- Juin 1968 -

METHODE NOUVELLE D'ETUDE DE L'EFFICACITE DES CHELATEURS DE LA SERIE DES ACIDES POLYAMINES POUR LA DECONTAMINATION INTERNE

La technique classique d'étude de l'efficacité des chélateurs comporte deux temps successifs : contamination interne à l'aide de l'isotope choisi, puis administration du chélateur, d'une manière définie et à un temps déterminé.

Une telle méthode, bien que tentant de reproduire la chronologie et les conditions d'un accident, n'y réussit que très mal, et ne donne qu'un aperçu très étroit du problème.

L'efficacité d'un chélateur dépend d'une part de ses chances de rencontre avec l'isotope, d'où la nécessité évidente de connaître leurs cycles biologiques respectifs, et d'autre part de la stabilité du complexe formé jusqu'au moment de son élimination.

A - Le métabolisme général d'un isotope est extrêmement différent selon qu'il s'agit d'un élément qui n'existe que sous forme monomérique ou d'un élément qui peut exister sous deux formes, monomérique et polymérique.

Dans le premier cas, par exemple le strontium 90, la biologie est pratiquement indépendante de la voie d'introduction ; seuls diffèrent les pourcentages absorbés et la vitesse d'absorption. L'injection intraveineuse, qui présente l'énorme avantage d'être expérimentalement reproductible, donne alors des résultats représentatifs de la biologie générale de l'élément. Même si son administration s'effectue sous forme de sels insolubles, par une autre voie que la voie intraveineuse, dès leurs solubilisations dans l'organisme, le métabolisme devient identique à celui qui suit une intraveineuse de sels solubles.

Ce schéma n'est absolument plus applicable dès que l'on aborde le chapitre des terres rares et des actinides. En effet, au pH de la matière vivante, les sels solubles des isotopes de ces groupes s'hydrolysent et passent très rapidement de la forme monomérique à la forme polymérique pour donner un colloïde. La taille du colloïde est liée à la nature de la solution, à la vitesse de la neutralisation, à la concentration de la solution, etc. . . .

Par voie intraveineuse, la polymérisation se fait dans le sang où coexistent toutes les tailles de particules : depuis le monomère, soit libre, soit lié à une protéine, jusqu'aux plus gros colloïdes ; toutes ces formes ont chacune leur biologie propre, leur territoire de prédilection, leur voie et vitesse d'élimination.

L'évolution biologique peut se schématiser de la façon suivante :

- une première fraction monomérique reste libre, disparaît rapidement du sang et migre vers le squelette et le tissu hépatique ;
- une deuxième fraction monomérique se fixe sur un support organique, protéinique, formant une chélation naturelle, et suit alors le destin de son support .

La fraction polymérique se dirige vers le système réticulo-endothélial du foie, de la rate et du squelette, les répartitions topographiques et les vitesses de migration dépendant de la taille du polymère.

C'est cette taille du polymère qui est responsable du devenir de l'isotope quand ce dernier est administré sous forme polymérique. Suivant la taille de la particule, il s'arrête dans le filtre dont la dimension des mailles lui correspond. Il est alors dégradé au niveau de l'organe dans lequel il est bloqué. Lorsque la particule est devenue suffisamment petite elle peut repartir dans la circulation ; il y a soit nouvel effet de filtre, soit chélation naturelle. Le sang se recharge ainsi continuellement et sert de véhicule.

C'est dire la complexité du métabolisme de l'isotope après une injection intra-veineuse ; mais surtout, elle n'est en aucune manière représentative de ce qui se passe dans le cas des contaminations humaines ; dans ce cas le devenir de l'isotope est lié à sa diffusion à partir de la porte d'entrée.

Du point de vue expérimental, il existe par ailleurs un grand nombre de facteurs souvent difficiles à maîtriser parfaitement lorsque l'on procède par injections intra-veineuses ; parmi les plus importants il faut citer :

- la difficulté, voire l'impossibilité d'obtenir des solutions comparables de certains isotopes (cas du plutonium),
- le pH de la solution d'origine,
- son âge,
- sa charge pondérale,
- la durée de l'injection,
- le volume injecté.

Il s'ensuit des variations des conditions expérimentales qui peuvent encore bouleverser le cycle du radioélément.

Toutes ces difficultés rencontrées dans l'étude du métabolisme du radioélément nous ont incités à étudier avec précision le métabolisme du chélateur, dans le but de comprendre les variations d'efficacité en fonction de la chronologie du traitement et des modalités de l'administration du radioélément.

Cette étude consiste à rechercher et à évaluer les compartiments de dispersion, les temps de séjour et la répartition dans ces territoires en fonction du mode d'introduction, l'exis-

tence ou non de rétention, l'élimination et ses voies, et à mesurer les vitesses de ces divers phénomènes. Elle peut se conduire de deux manières différentes :

- soit technique de prélèvements, qui présente de nombreux inconvénients : elle nécessite des lots importants d'animaux, tant à cause des variations individuelles que des erreurs inhérentes à chaque mesure, afin d'obtenir des résultats statistiquement valables, elle ne donne que des points et non des courbes, elle ne permet pas de suivre pas à pas le devenir du produit étudié. La mesure des échantillons peut se faire par dosage chimique ou par mesure nucléaire après substitution dans une chaîne d'un carbone stable par un carbone ^{14}C ou d'un hydrogène par un tritium, technique très séduisante, mais, relativement complexe, nécessitant une élaboration chimique ;
- soit par enregistrement de l'activité des différents organes. Le marquage des chélateurs ne peut se faire avec le ^3H et le ^{14}C lorsque l'on veut utiliser cette technique.

La méthode générale adoptée consiste à former le complexe isotope-chélateur in vitro pour l'administrer ensuite à l'animal.

On étudie ainsi :

- la stabilité ou l'instabilité dans l'organisme vivant du complexe formé ;
- le métabolisme du chélateur qui est ainsi marqué de la façon la plus simple ; il peut être suivi pas à pas dans l'animal, et ce, en utilisant la même installation électronique que pour l'étude du radioélément isolé ; l'identité des résultats obtenus en marquant le chélateur avec des radioéléments de poids atomiques très différents permet d'affirmer que l'on étudie bien la biologie du chélateur ;
- enfin les territoires de rétention et l'élimination naturelle de la fraction de l'isotope lorsque la chélation n'est pas stable.

Pour cette expérimentation, nous avons choisi deux radioéléments :

le CERIUM 144, produit de fission du groupe des terres rares,
le PLUTONIUM 239 du groupe des actinides,

et quatre chélateurs :

l'EDTA, acide éthylène diamine tétracétique,
le BAETA, éther 2 : 2' bis (dicarboxy-méthyl-amino) diéthylique,
le DTPA, acide di-éthyl-triamino-pentacétique¹⁾,
le TTHA, acide tri-éthyl- tetramino-héxacétique¹⁾.

1) Nous remercions le laboratoire GEIGY qui nous a largement fourni ces deux produits.

TECHNIQUES EXPERIMENTALES.

1. Matériel biologique.

Les animaux utilisés sont des rats mâles de race Wistar albinos, âgés de quatre à cinq mois, d'un poids moyen de trois cents grammes (300 ± 30 g). L'anesthésie de l'animal est obtenue par injection sous-cutanée de carbamate d'éthyle dosé à 0,175 g pour 100 g de poids d'animal, l'anesthésie générale ainsi obtenue est calme et profonde, et de durée jamais inférieure à 36 heures ; elle perturbe peu les fonctions métaboliques de l'animal.

L'animal est alors opéré :

- dérivation de la circulation sanguine à l'aide d'un double cathétérisme carotido-carotidien. Ainsi est constituée une "cellule" de sang circulant, de volume constant ($0,5 \text{ cm}^3$) au contact de laquelle sera placé un détecteur ;
- cathétérisme du canal cholédoque. L'absence de vésicule biliaire chez le rat fait que la production de bile est régulière ; ainsi l'enregistrement continu de l'activité biliaire est un reflet fidèle du phénomène biologique ;
- cathétérisme de la vessie (cystostomie) permettant de recueillir les urines et éventuellement d'enregistrer leur activité ;
- cathétérisme de la jugulaire pour les perfusions continues. Les cathéters utilisés sont en polyéthylène, stériles et apyrogènes.

Après la préparation chirurgicale, l'animal est placé en regard des détecteurs et le complexe lui est administré.

2. Préparation du complexe.

Dans un premier temps, on mélange l'isotope, acide, à pH inférieur à 1, et le chélateur ; dans un deuxième temps, pour former le complexe, on ajuste ce mélange à pH 5 ; on se trouve ainsi dans les meilleures conditions de pH pour la chélation. Cette technique rudimentaire est suffisante pour une terre rare comme le cérium 144, ainsi que le prouvent les contrôles effectués par dialyses et électrophorèses. Les complexes de plutonium 239 doivent être préparés à l'aide de résines échangeuses d'ions.

3. Administration à l'animal.

Le complexe est administré à l'animal suivant différents modes :

- voie intra-veineuse, soit par injection rapide dans la veine saphène interne, soit par perfusion lente régulée et temporisée par un moteur synchrone dans la veine jugulaire ;

- voie intra-musculaire dans les masses musculaires de la loge interne de la cuisse ;
- voie sous-cutanée dans la même région ;
- par blessures, plus ou moins anfractueuses, du membre postérieur ;
- voie digestive, par sonde oesophagienne ; dans ce cas, l'animal est anesthésié uniquement pendant le temps de l'administration par une bouffée du mélange gazeux oxygène-gaz carbonique à parties égales ;
- enfin, nous avons vérifié la formation du complexe "in vivo" en chargeant l'animal en chélateur avant d'injecter le radioélément.

4. Mesures.

Les mesures comprennent deux parties : détection et mesure.

A toutes les méthodes nous avons préféré la méthode par enregistrements ; nous avons mis au point un appareillage d'enregistrement continu qui permet de suivre dans chaque animal vivant le devenir du radioélément chélaté, en le détectant dans les divers compartiments de l'organisme. Nous avons ainsi enregistré séparément l'activité dans les compartiments de dispersion intéressés, c'est-à-dire le sang, l'os, le foie et la bile, les reins et l'urine.

Les détecteurs permettant l'enregistrement ont été choisis, d'une part en fonction de l'organe à mesurer, d'autre part en fonction de l'émission du radioélément. Les problèmes sont différents selon que l'on considère le cérium 144 ou le plutonium 239.

Le cérium 144, en équilibre avec le praséodyme 144, se caractérise par une double émission bêta et gamma ; émission bêta d'énergie 3 MeV avec une particule par désintégration, émission gamma de 0,135 KeV qui ne représente que 10 % des désintégrations. La solution utilisée est un nitrate ionique sans entraineur à pH 1,5.

L'activité du sang est détectée par son émission bêta, la faible épaisseur de la dérivation sanguine permettant d'obtenir un excellent résultat avec un détecteur type GEIGER-MULLER. Nous utilisons un compteur "cloche" 13 AP 7 de LCT, dont le rendement bêta est de l'ordre de 90 % et le rendement gamma de quelques pour cent, ce qui présente, outre une excellente géométrie, l'avantage de diminuer l'effet parasite dû à la charge de l'animal. Les faibles taux de comptage justifient l'utilisation d'un tel détecteur malgré son temps mort important. Le sang circulant sous le détecteur, l'activité sanguine est enregistrée à chaque instant.

Une méthode comparable n'a pas été jugée utilisable pour la bile et l'urine en raison des faibles volumes et de leur variabilité dans le temps. On a donc enregistré les activités cumulées en recueillant urine et bile dans des tubes. Afin de réduire le temps de transit dans les catheters et d'enregistrer la quantité émise (on a ainsi à chaque instant l'activité spécifique) nous avons utilisé un détecteur à scintillation dont la partie sensible est un cylindre d'iodure de césium de 25 mm de diamètre et de 3 mm d'épaisseur, placé perpendiculairement au corps de l'animal. Ceci dans le but d'avoir l'angle solide le moins favorable à l'émission parasite venant de l'animal. Le tube placé à 1 mm du cristal et face à lui, est monté sur une balance électronique qui permet d'enregistrer les variations de poids de 0 à 5 grammes ± 1 % avec un déplacement

de l'échantillon inférieur à 0,1 mm ; les tubes se vident par siphon, lorsqu'ils ont recueilli 2 cm³ des liquides excrétés. Ce montage permet d'enregistrer simultanément la quantité et l'activité de la bile ou des urines.

L'enregistrement de l'activité du foie se fait avec un détecteur à scintillation collimaté. Bien que la géométrie ne soit pas reproductible d'un animal à l'autre, il est seulement nécessaire que la géométrie reste constante pendant la durée de la mesure. La technique de contention de l'animal a permis de résoudre ce problème.

Au niveau du rein, de l'os et du muscle, nous avons utilisé un détecteur à scintillation composé d'un petit cristal d'iodure de césium, monté à l'extrémité d'une aiguille, et relié à un photomultiplicateur par un conduit de lumière. Le cristal est placé au contact de l'organe dont on désire enregistrer l'évolution de l'activité. L'effet de focalisation est obtenu par la très faible distance entre l'organe et le détecteur, ainsi que par le petit volume du cristal.

Tous ces détecteurs sont reliés à des ensembles de mesure identiques de manière à pouvoir utiliser les mêmes constantes des temps d'intégration afin que toutes les courbes soient comparables entre elles. Celles-ci sont enregistrées sur un potentiomètre multivoies. Les voies disponibles sont utilisées pour contrôler certains paramètres comme le débit sanguin, la température de l'animal, la régularité de la perfusion, etc. . . .

De plus, une technique d'enregistrement sans constante de temps a été utilisée pour suivre l'évolution de l'activité au cours même de l'injection et durant les secondes suivantes.

Le plutonium 239 pose des problèmes de détection et de manipulation tout à fait différents. Les conditions expérimentales (travail entièrement en boîte à gants) limitent le nombre d'organes qu'il est possible de détecter, essentiellement le sang, le foie et le lieu d'introduction de l'isotope. Les urines et la bile sont recueillies et fractionnées dans des flacons de polyéthylène. Ces conditions font que seule la détection des émissions X a été utilisée. Il a été nécessaire d'une part d'avoir des détecteurs spéciaux avec un grand facteur d'amplification, d'autre part d'employer non pas une technique d'intégration, mais de totalisation, étant donné le petit nombre de particules mesurées.

A la fin de l'expérience, l'animal est sacrifié avec une injection intraveineuse de chlorure de potassium saturé. L'animal est autopsié et on mesure l'activité des organes suivants : sang, foie, poumons, rate, os, muscle, reins, éventuellement lieu d'administration, ainsi que celle de l'urine et de la bile.

Connaissant l'activité injectée et le taux de comptage de chaque organe d'une part, le niveau terminal de la courbe d'activité du même organe d'autre part, on peut calculer à chaque instant le pourcentage d'activité présent dans chaque organe ou compartiment.

ETUDE DE LA STABILITE "IN VIVO" DU COMPLEXE.

Au cours d'études préliminaires de dialyse, nous avons mis en évidence la chélation totale "in vitro" de l'isotope, et ce, pour l'un quelconque des quatre produits étudiés, EDTA, BAETA, DTPA ou TTHA. En effet, alors que le cérium colloïdal, à pH 5, ne dialyse pas, les complexes formés par cet isotope avec des chélateurs dialysent entièrement. La cinétique de dialyse ainsi obtenue est comparable à celle de n'importe quelle substance sous forme monomérique ; la vitesse de passage est moins grande, ce qui se conçoit étant donné la taille plus grande de la molécule. Les résultats de dialyse des solutions de plutonium sont comparables, à condition de faire abstraction de la fraction polymérique irréversible, fraction toujours existante mais à des degrés divers, dans les solutions d'origine.

Par contre, dès que l'on étudie la stabilité "in vivo" de ces quatre chélateurs, il apparaît rapidement des différences essentielles entre l'EDTA et le BAETA d'une part, et le DTPA et le TTHA d'autre part.

ETUDE DE LA STABILITE DES COMPLEXES FORMES AVEC L'EDTA et le BAETA.

Il s'avère que les complexes formés avec ces deux produits sont instables en milieu biologique.

Après une injection intraveineuse, on retrouve, tant pour l'un que pour l'autre, des proportions notables de l'activité injectée dans le foie (5 %) et dans le squelette (10 %). La migration du radioélément vers ces deux organes est extrêmement rapide, de l'ordre de grandeur de la minute, ainsi qu'en témoignent les enregistrements rapides et les sacrifices des animaux à des temps de plus en plus rapprochés de l'injection.

Après une injection intramusculaire, les résultats de l'autopsie sont identiques. L'activité restant au lieu d'injection est négligeable ; la séparation se fait donc à un stade suivant.

Ces deux faits portent à penser que la rupture de la chélation a lieu au niveau du sang. (Figures n° 1 et n° 2).

Les électrophorèses sur papier du complexe formé "in vitro" montrent la présence de deux pics distincts, donc de deux formes différentes.

Les essais de variations des doses de chélateurs d'un facteur 100 ne modifient pas ces résultats.

ETUDE DE LA STABILITE DES COMPLEXES FORMES AVEC LE DTPA et le TTHA.

Par contre, les complexes formés avec ces deux chélateurs sont totalement stables ; toute la quantité administrée est éliminée par l'animal.

Il est tout aussi impossible de rompre la liaison isotope-chélateur après un ou plu-

sieurs passages dans l'animal : l'injection intra-musculaire ou intraveineuse des urines d'un premier animal contenant le complexe éliminé à un deuxième animal est suivie dans les mêmes conditions par l'élimination totale de la même quantité et ainsi de suite.

Ces résultats confirment ceux des dialyses du complexe ^{144}Ce - DTPA formé après combinaison du cérium 144 et de son support plasmatique : une combinaison cérium-plasma de rat à pH 7 ne dialyse pas (moins de 1 % du cérium est libre) ; quel que soit le temps de contact entre le cérium et le plasma, l'addition de DTPA est suivie d'un passage du cérium, donc de formation d'un complexe après rupture des liaisons entre le cérium et le plasma.

INFLUENCE DU RAPPORT DES QUANTITES CHELATEUR-ISOTOPE SUR LA STABILITE DU CHELATEUR.

Les essais de variation des doses de DTPA montrent l'existence d'un facteur cent entre la dose toxique d'une part et la dose qui tolère une rétention de l'isotope, si faible soit-elle, d'autre part.

La dose toxique se situe vers 500 milligrammes par kilogramme d'animal vivant, la toxicité est essentiellement rénale.

C'est vers la dose de 2 milligrammes par Kg d'animal que l'on retrouve une proportion notable de l'isotope dans le foie et le squelette ; il ne s'agit cependant pas d'une rupture de la chélation dans l'organisme, mais, étant donné le rapport pondéral trop faible, d'une chélation incomplète avant l'injection, ainsi qu'en témoignent l'électrophorèse sur papier et l'injection intra-musculaire à la même dose. Dans ce dernier cas, on retrouve au point d'injection la même activité que l'on retrouve dans les tissus hépatique et osseux dans le cas d'une intraveineuse à la même dose. C'est exactement le contraire du cas du complexe instable en milieu biologique formé avec l'EDTA ou le BAETA.

Dose de DTPA en mg/Kg	Mode d'administration	Foie	Os	Patte injectée	Urines
1,5	Intraveineuse	16	4		78
"	Intramusculaire	2	0,5	19	75
0,5	Intraveineuse	51	7		40
0,25	Intraveineuse	70	10		17

Pourcentage dans les divers compartiments après une injection de ^{144}Ce -DTPA à doses variables. Animaux sacrifiés 24 heures après l'injection.

ETUDE DU METABOLISME DU DTPA.

Le complexe formé avec le DTPA se disperse essentiellement dans le sang et dans le milieu extra-cellulaire. Son élimination se fait par voie rénale, très secondairement par voie biliaire. Cette dernière représente entre 0,5 % et 1 % de la quantité éliminée. L'élimination urinaire est très rapide, les courbes d'épuration sanguine d'une part, d'élimination par voie urinaire d'autre part, sont symétriques ; ce fait ne peut s'expliquer que s'il existe un pourcentage constant du complexe présent dans le sang épuré par unité de temps.

Nous avons étudié les variations induites par le mode d'introduction du complexe.

1. Injection intraveineuse.

C'est évidemment par cette voie que la diffusion et l'élimination sont les plus rapides. Les reins se chargent presque instantanément. Plus de 50 % de l'activité sont éliminés dans la première demi-heure, et 80 % dans la première heure. Pratiquement, l'animal est épuré à 99 % après 5 heures. (Figures n° 3 et n° 3 bis).

Cette élimination urinaire rapide nous a amenés à la comparer à celle de la série des corps utilisés en néphrologie pour le radio-diagnostic. Ceci ouvre des perspectives nouvelles quant aux possibilités d'exploration rénale à l'aide des chélateurs marqués, puisque tous les corps de la série des lanthanides ont une chimie identique, mais des périodes radioactives et des énergies différentes.

L'étude d'analyse mathématique des courbes sanguines du complexe donnerait directement les constantes d'épuration du produit ; ce qui permettrait de pratiquer une exploration rénale simple, puisque basée sur un seul compartiment.

2. Perfusion intraveineuse.

Une perfusion intraveineuse se comportant comme une suite d'injections, la charge sanguine est plus faible, la durée du séjour sanguin est plus longue, les territoires de dispersion et les cinétiques sont identiques et la charge rénale instantanée est beaucoup plus faible.

Les perfusions sont effectuées à un débit moyen et régulier de $0,3 \text{ cm}^3$ à l'heure.

Les différents compartiments, sang, liquide interstitiel, rein, foie, sont en équilibre après cinq heures environ. Les perfusions qui durent une dizaine d'heures permettent de saisir les différentes phases : mise en charge des compartiments, équilibre, puis, à la fin de la perfusion, décharge progressive. (Figure n° 4)

Quand les compartiments sont en équilibre, toute modification du débit de la perfusion modifie le niveau de l'équilibre et la quantité éliminée par unité de temps.

Il faut noter qu'il est nécessaire de calculer à chaque instant les pourcentages de l'activité réellement présente dans l'animal. Sinon, le calcul, durant la perfusion, en pourcentage de l'activité totale, n'est pas représentatif des phénomènes réels (puisque cette activité ne

sera administrée en totalité qu'à la fin de la perfusion). On trouve alors des plateaux représentant l'équilibre entre les divers compartiments. Les courbes de décharge de ces compartiments ne sont pas symétriques des courbes de charge ; l'élimination est plus lente.

3. Injection intramusculaire.

Alors que l'injection intraveineuse constitue un apport instantané, que la perfusion constitue un apport linéaire, l'injection intramusculaire correspond à un apport décroissant dans le temps suivant une fonction exponentielle. La période d'épuration du point d'injection est plus longue ; elle est d'environ deux heures. En douze heures, la patte est pratiquement vidée et 95 % de l'activité injectée sont passés par les reins. (Figures n° 5 et n° 5 bis).

4. Injection sous-cutanée.

Les injections sous-cutanées sont moins reproductibles car dépendant beaucoup du volume injecté et de la vascularisation du point d'injection. La diffusion à partir du tissu sous-cutané est, dans tous les cas, moins rapide qu'à partir du muscle : période d'épuration supérieure à 3 heures.

5. Diffusion à partir d'une blessure.

La contamination d'une blessure par le complexe représente la combinaison de deux mécanismes : diffusion, comme dans le cas d'une intraveineuse et surtout apport suivant une loi exponentielle comme dans le cas d'une intramusculaire. Les résultats, bien que n'ayant pas la même reproductibilité, sont très cohérents.

Les vitesses d'échange entre les divers compartiments restent toujours identiques. La différence de reproductibilité est liée aux divers mécanismes de diffusion. Ainsi, dans une blessure profonde et anfractueuse, 90 % du chélateur diffusent en cinq heures ; de toutes façons, la totalité du chélateur est éliminée.

6. Absorption digestive.

La succession brutale de pH très différents, acide au niveau de l'estomac (pH 1), puis brusquement alcalin dès l'arrivée de la bile dans le duodénum (pH 8,5), détruit le complexe DTPA-cérium, ce qui empêche son absorption à ce niveau.

ETUDE DE LA FORMATION DU COMPLEXE "IN VIVO".

Après avoir vérifié la stabilité du complexe, il est essentiel d'en contrôler la formation dans l'animal vivant. Pour ce faire, on lui administre dans un premier temps du DTPA par voie intraveineuse pour réaliser une charge sanguine élevée en DTPA, et, dans un deuxième temps (quelques minutes après cette injection), l'isotope est injecté par la même voie en même temps que débute une perfusion de DTPA à débit lent.

La période de décontamination sanguine est la même que dans le cas d'une injection intraveineuse du complexe formé "in vitro" : 15 à 20 minutes.

L'élimination urinaire est légèrement moins rapide : 90 % en 2 heures ; en effet cette partie éliminée correspond à la fraction chélatée instantanément, mais aussi à la fraction polymérique dégradée puis chélatée. Mais surtout, le pourcentage total est toujours moindre ; il existe constamment une rétention hépatique et osseuse. Même en élevant la charge sanguine en DTPA avant et pendant l'injection de l'isotope, cette fixation hépatique et osseuse existe dans les conditions de l'expérience. (Figure 6).

Pour connaître le mécanisme de ce phénomène, nous avons procédé à des enregistrements rapides (base de temps égale à une seconde) des activités hépatique et osseuse, en contaminant des animaux avec du cérium ionique. Dès le début de l'injection intraveineuse, qui dure entre cinq et huit secondes, le foie se charge. Cette charge est très rapide, puisqu'elle atteint en 20 secondes 30 % de l'activité totale injectée. (Figure n° 7).

Ce métabolisme rapide est probablement lié à deux mécanismes : assimilation cellulaire rapide du radioélément qui est encore sous forme monomérique, et migration normale de la partie colloïdale qui n'a pu être chélatée en raison de la rapidité de la bascule du pH.

CHELATION A UN TEMPS ULTERIEUR.

L'élimination d'un chélateur suit des lois exponentielles, avec des périodes courtes ; très rapidement, 99 % ou plus du chélateur sont éliminés ; le pour cent restant séjourne dans les organes plus longtemps.

Avec les techniques employées au cours de cette étude, le métabolisme de cette quantité n'est pas mesurable, mais ne doit pas être négligé pour autant, car, à ce niveau, le chélateur peut encore être efficace.

ETUDE DU METABOLISME DU TTHA.

Le TTHA, donnant des complexes aussi stables que le DTPA, suit un cycle biologique très comparable. Seules des techniques fines d'enregistrements permettent d'extérioriser deux différences : l'élimination urinaire est plus rapide et l'élimination biliaire moindre. (Figure n° 8).

Sur le plan expérimental, le TTHA, à doses égales, possède une toxicité supérieure à celle du DTPA.

CONCLUSIONS.

1. STABILITE.

Il est évident qu'il faut écarter systématiquement tout chélateur, comme l'EDTA ou le BAETA, donnant des complexes instables avec les lanthanides et les actinides. Tout emploi de ces produits après une contamination transformerait une migration réduite et lente dans le temps en une fixation osseuse et rapide.

2. PROBLEMES EXPERIMENTAUX.

Connaissant expérimentalement les cycles biologiques du chélateur et de l'isotope, donc les territoires communs de dispersion, et le temps de séjour dans ces territoires, on peut évaluer les chances de formation du complexe dans l'organisme vivant. Les territoires de dispersion du DTPA sont le SANG et le milieu EXTRA-CELLULAIRE. La charge hépatique ne correspond qu'au passage du courant sanguin (le DTPA accélère l'élimination biliaire naturelle de l'isotope mais n'augmente pas la quantité totale éliminée par le foie) ; le DTPA ne pénètre pas dans l'os.

Donc on ne peut espérer retirer en plus de l'organisme que ce qui est présent dans le sang et le milieu extra-cellulaire.

Encore faut-il que l'isotope y soit sous forme monomérique libre ou liée aux protéines.

Comparaison de chélateurs.

Toutes les expériences visant à comparer des chélateurs différents entre eux consistent classiquement à injecter des produits à des temps identiques après une contamination par un radioélément donné. Elles ne peuvent être comparables entre elles qu'à la condition de connaître parfaitement la fraction monomérique libre ou protéinique de l'isotope se trouvant dans les territoires de séjour du chélateur.

Efficacité d'un chélateur.

Toute expérience d'efficacité du chélateur en fonction du délai entre la contamination radioactive et l'administration du produit étudié ne peut donner de résultats exploitables qu'à la condition de connaître l'état physique du radioélément présent dans le sang et l'extra-cellulaire.

3. UTILISATION CLINIQUE DES CHELATEURS.

L'administration de DTPA directement au niveau de la porte d'entrée - c'est-à-dire en solution dans une blessure ou en aérosols par voie pulmonaire - ne présente que des avantages: toute la fraction du radioélément répondant aux conditions physico-chimiques de formation du complexe est rapidement et totalement éliminée ; le chélateur n'entraîne aucune modification de la fraction hydrolysée qui reste sur place.

On peut élaborer un schéma thérapeutique de longue durée valable aussi longtemps que le radioélément diffuse à partir de la porte d'entrée. En maintenant un taux sanguin en chélateur suffisamment élevé, l'isotope entraîné par le sang est piégé et éliminé.

La charge corporelle d'un radioélément s'estime d'après l'excrétion urinaire. Cette excrétion, minime, représente un pourcentage de la charge du sang et du milieu extra-cellulaire. Une injection unique de DTPA, épurant ces deux milieux, augmente dans d'importantes proportions l'excrétion urinaire. Ceci constitue une technique simple d'appréciation de la charge de ces deux compartiments.

Manuscrit reçu le 15 mars 1968

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

BALLOU J. E.

Preliminary evaluation of several chelating agents for plutonium removal.
Hanford symposium on the biology of the transuranic elements, Richland,
28-30 May 1962.
Health Physics, 1962, 8, 731-734.

BULDAKOV L. A., MOSKALEV Yu. I.

Distribution of Plutonium 239 in the skeleton and liver of rats and kinetics of its
elimination depending on the dose and rhythm of the isotope.
Radiobiologiya, 1961, 1, 4. Traduction américaine AEC-Tr-5425, 1961, 37-45.

BULDAKOV L. A., MOSKALEV Yu. I., STREL'TSOVA V.

Materials concerning the biological action of plutonium-239
Byull. Eksp. Biol. Médits., (URSS), 1961, n° 11, 57-61.

CATSCH A. (KAWIN B., trad.)

Radioactive metal mobilization in medicine, Springfield, Ch. C. Thomas, 1964

LAFUMA J.

Diagnostic et traitement d'un cas d'intoxication par le plutonium, local d'abord et
généralisé ensuite.
Ds : Diagnosis and treatment of radioactive poisoning, Vienna, 15-18 October 1962.
Vienne, Agence internationale de l'énergie atomique, 1963, pp. 381-386.

LANGHAM W. H.

Physiological properties of plutonium and assessment of body burden in man.
Ds : Assessment of radioactivity in man, Heidelberg, 11-16 May, 1964. Vienne,
Agence internationale de l'énergie atomique, 1964, Vol. 2, pp. 565-581.

LINDENBAUM A., MARKLEY J. F., ROSENTHAL M. W.

Removal of plutonium from blood as a function of DTPA treatment and of the physical
state of plutonium.
Hanford symposium on the biology of the transuranic elements, Richland, 28-30 May
1962.
Health Physics, 1962, 8, 695-697.

LISTER B. A. J., MORGAN A., SHERWOOD R. J.

Excretion of plutonium following accidental skin contamination.
Health Physics, 1963, 9, 803-815.

MARKLEY J. F., ROSENTHAL M. W., LINDENBAUM A.

Comparative studies on the removal of monomeric and polymeric plutonium by
DTPA (abstract)
Hanford symposium on the biology of the transuranic elements, Richland 28-30 May
1962.
Health Physics, 1962, 8, 739

NORWOOD W. D.

Therapeutic removal of plutonium in humans.
Hanford symposium on the biology of the transuranic elements, Richland 28-30 May
1962.
Health Physics, 1962, 8, 747-750.

NORWOOD W. D.

Medical therapy for internally deposited radioisotopes.
Am. ind. Hyg. Ass. J., 1963, 24, 492-496.

STEVENS E., ROSOFF B., WEINER M., SPENCER H.

Metabolism of the chelating agent Diethylenetriamine pentaacetic acide (C^{14} DTPA)
in man.
Proc. Soc. exp. Med. Biol., 1962, 111, 235-238.

LEGENDE DES FIGURES.

- Figure 1 : Injection intra-veineuse de ^{144}Ce - EDTA (50 mg/Kg)
- Figure 2 : Injection intra-veineuse de ^{144}Ce - BAETA (50 mg/Kg)
- Figure 3 : Injection intra-veineuse de ^{144}Ce - DTPA (50 mg/Kg)
- Figure 3 bis: Injection intra-veineuse de nitrate de ^{239}Pu - DTPA (50 mg/Kg)
- Figure 4 : Perfusion intra-veineuse de ^{144}Ce - DTPA (50 mg/Kg)
- Figure 5 : Injection intra-musculaire de ^{144}Ce - DTPA (50 mg/Kg)
- Figure 5 bis: Injection intra-musculaire de nitrate de ^{239}Pu - DTPA (50 mg/Kg)
- Figure 6 : Injection intra-veineuse de ^{144}Ce à un rat sous perfusion intra-veineuse de DTPA (50 mg/Kg) avec charge élevée de DTPA avant l'injection de l'isotope.
- Figure 7 : Enregistrement rapide de l'activité hépatique (base de temps égale à 1 seconde), après injection intra-veineuse de ^{144}Ce sans complexant.
- Figure 8 : Injection intra-veineuse de ^{144}Ce - TTHA (50 mg/Kg).

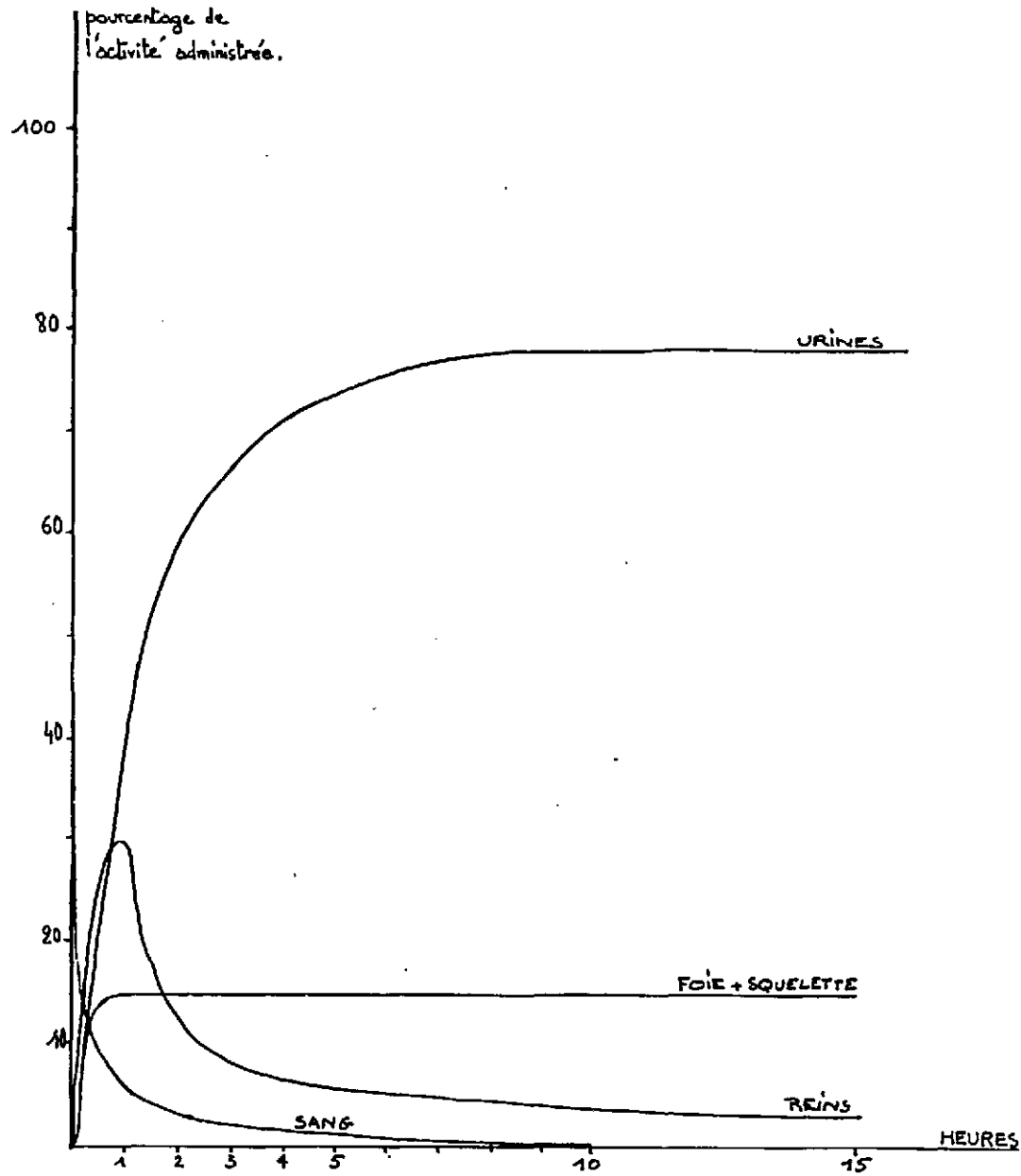


Figure 1 : Injection intra-veineuse de ^{144}Ce - EDTA (50 mg/Kg)

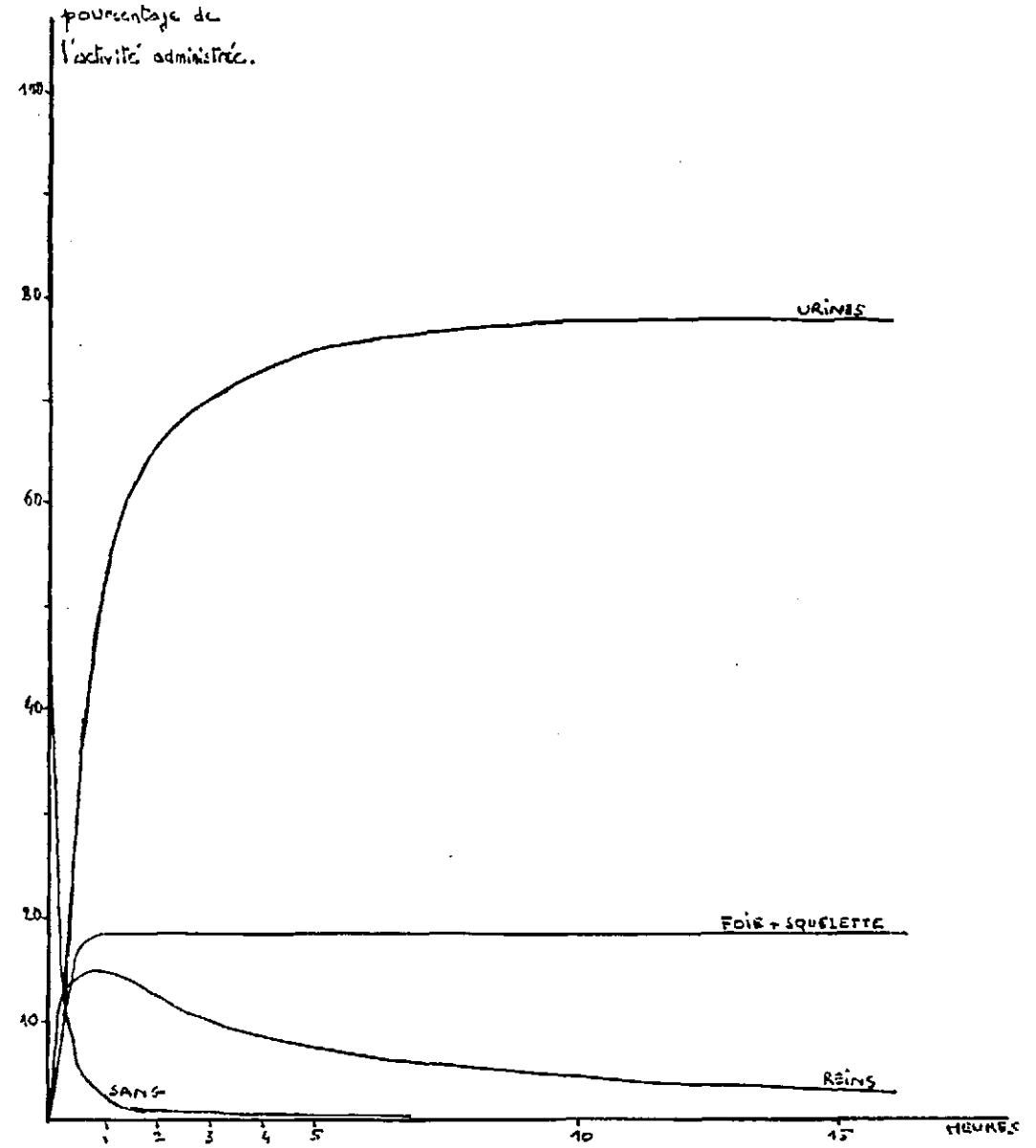


Figure 2 : Injection intra-veineuse de ^{144}Ce - BAETA (50 mg/Kg)

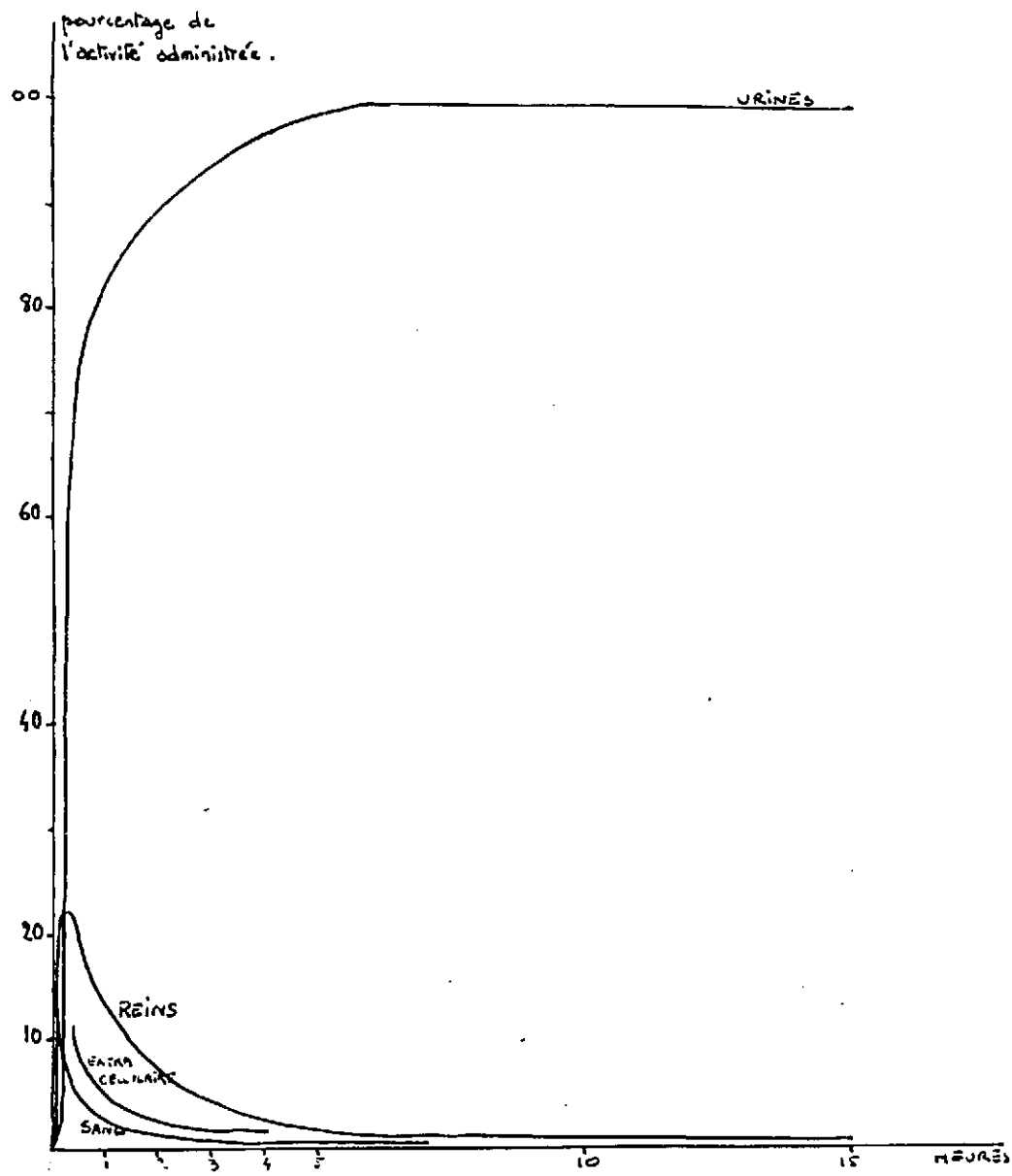


Figure 3 : Injection intra-veineuse de ^{144}Ce - DTPA (50 mg/Kg)

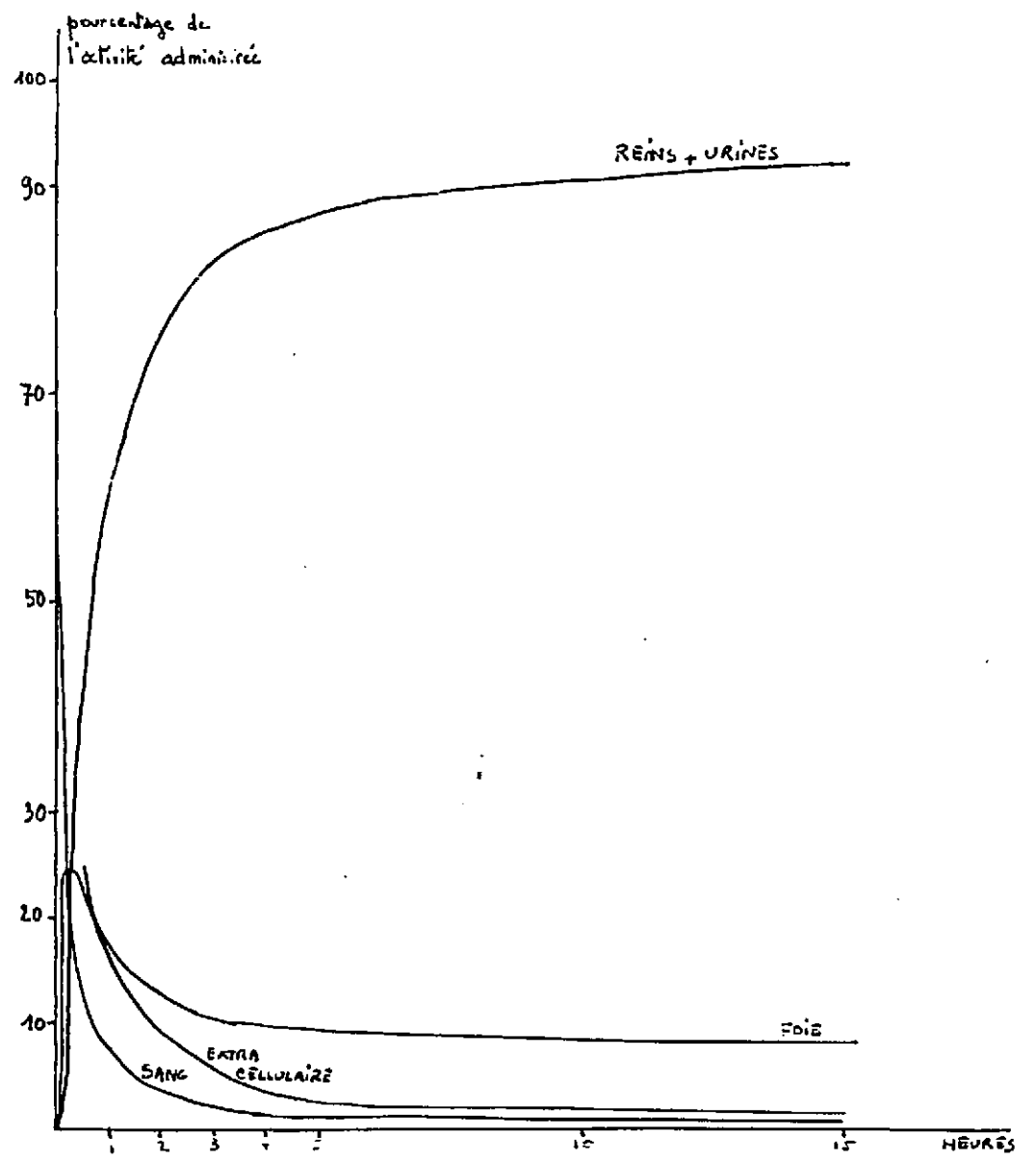


Figure 3 bis: Injection intra-veineuse de nitrate de ^{239}Pu - DTPA (50 mg/Kg)

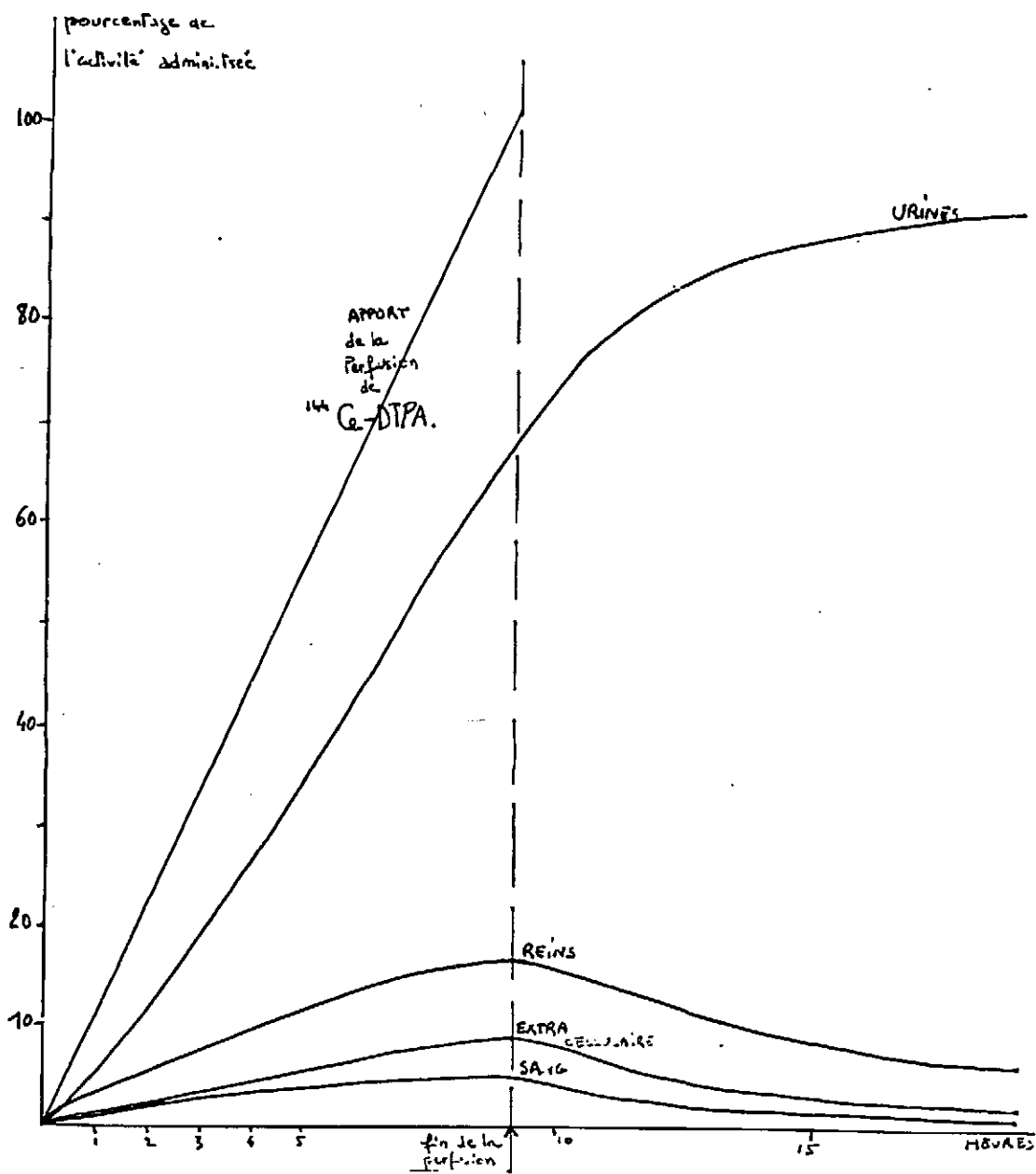


Figure 4 : Perfusion intra-veineuse de ^{144}Ce - DTPA (50 mg/Kg)

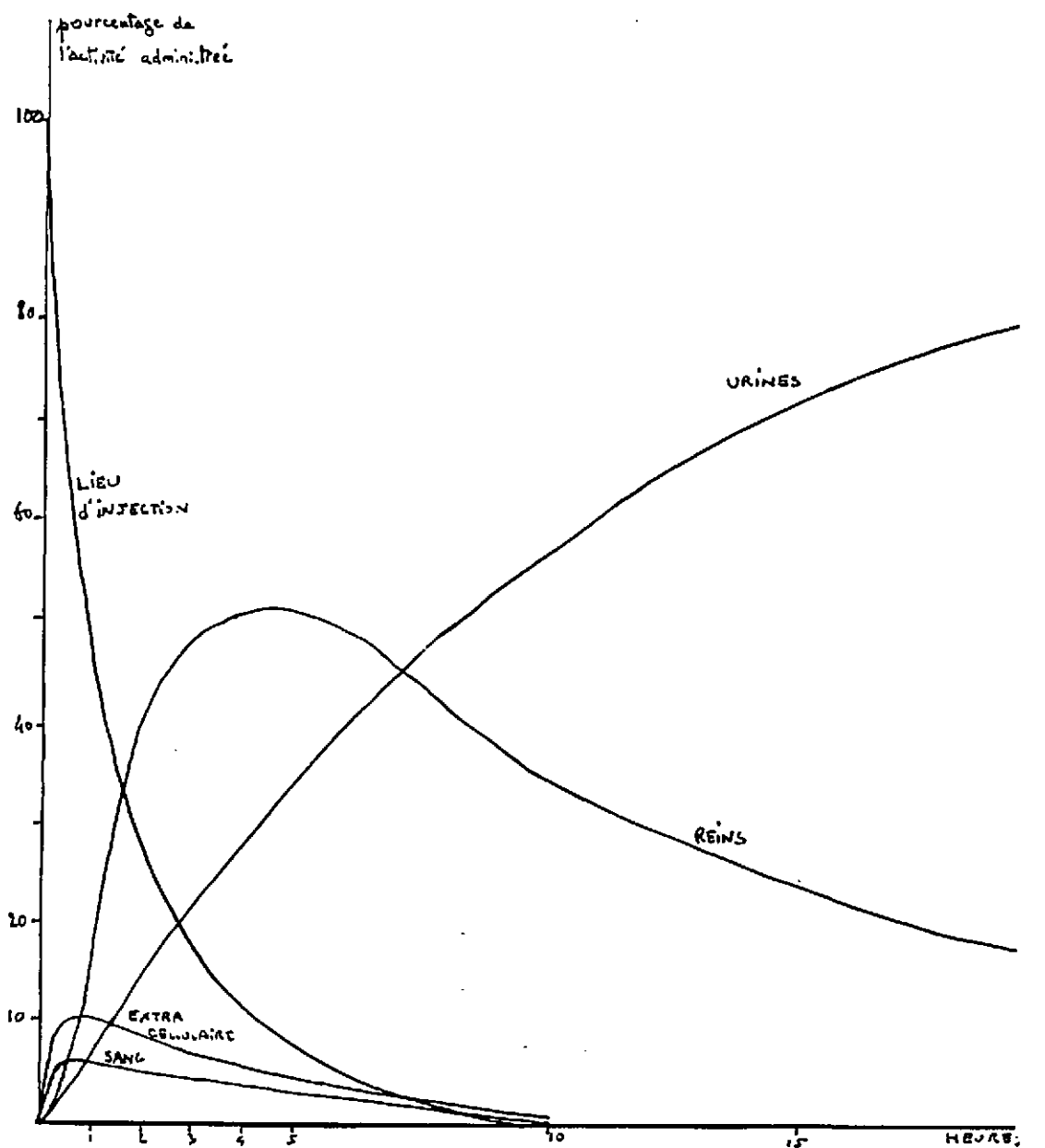


Figure 5 : Injection intra-musculaire de ^{144}Ce - DTPA (50 mg/Kg)

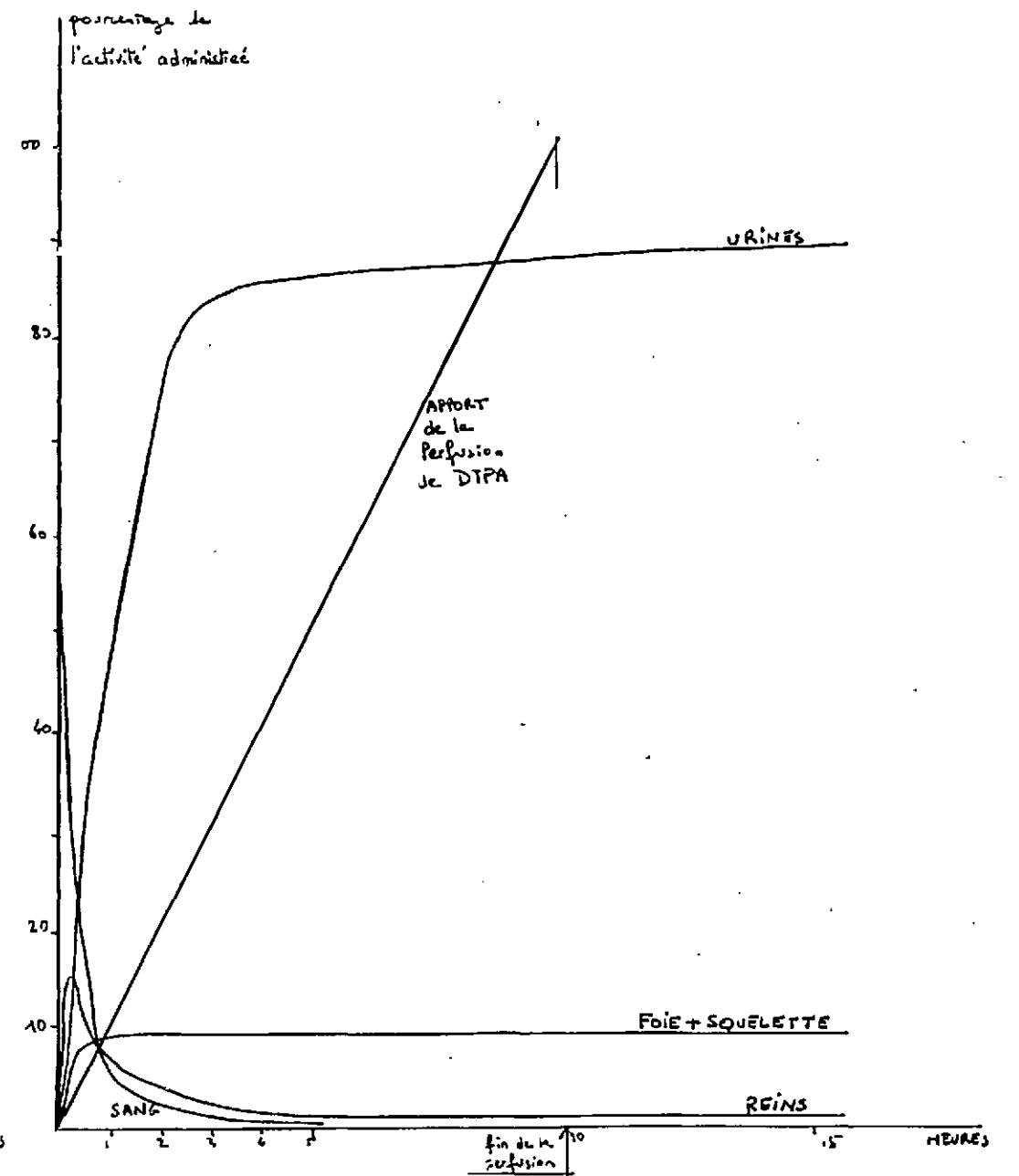
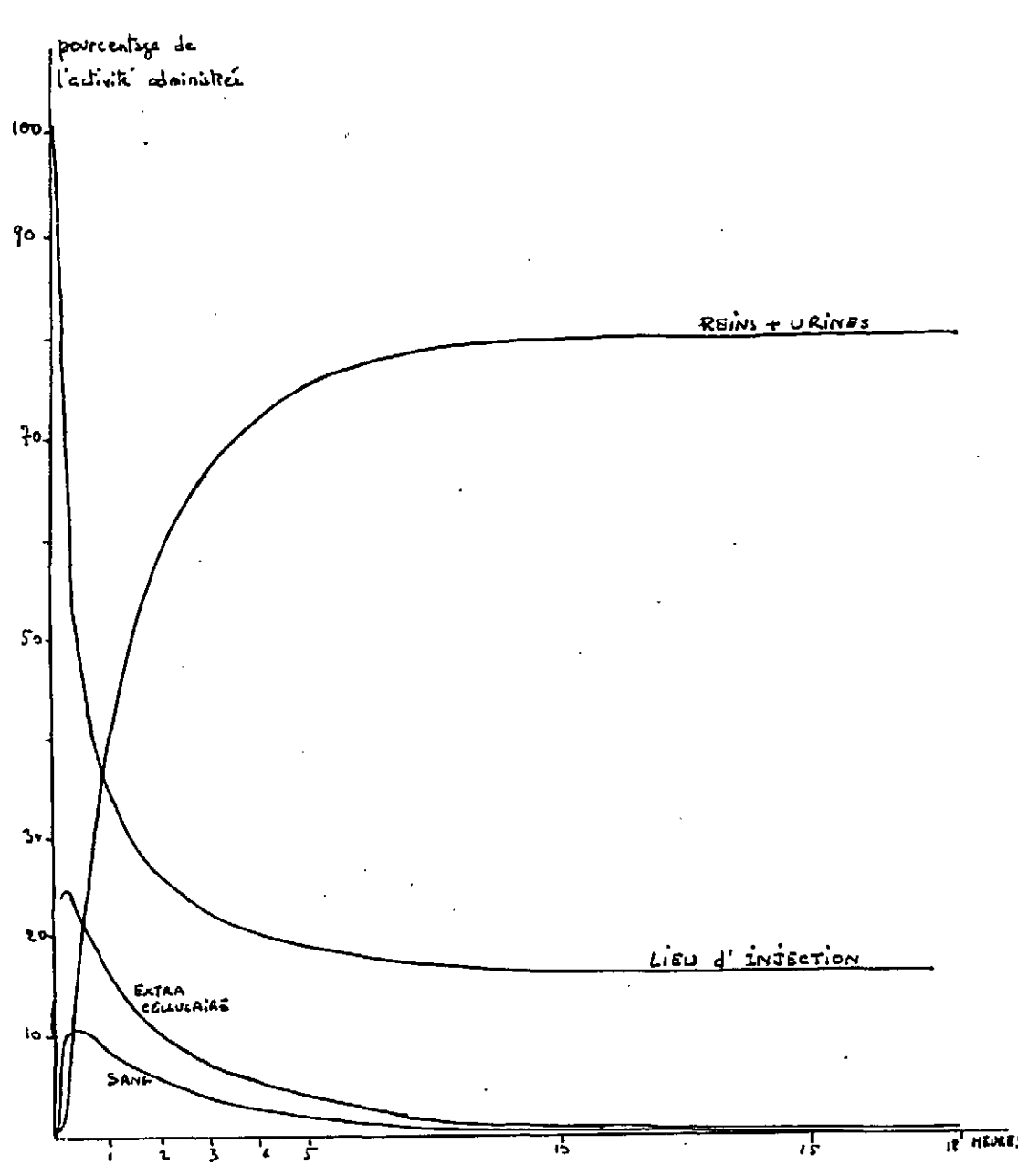


Figure 5 bis: Injection intra-musculaire de nitrate de ^{239}Pu - DTPA (50 mg/Kg)

Figure 6 : Injection intra-veineuse de ^{144}Ce à un rat sous perfusion intra-veineuse de DTPA (50 mg/Kg) avec charge élevée de DTPA avant l'injection de l'isotope.

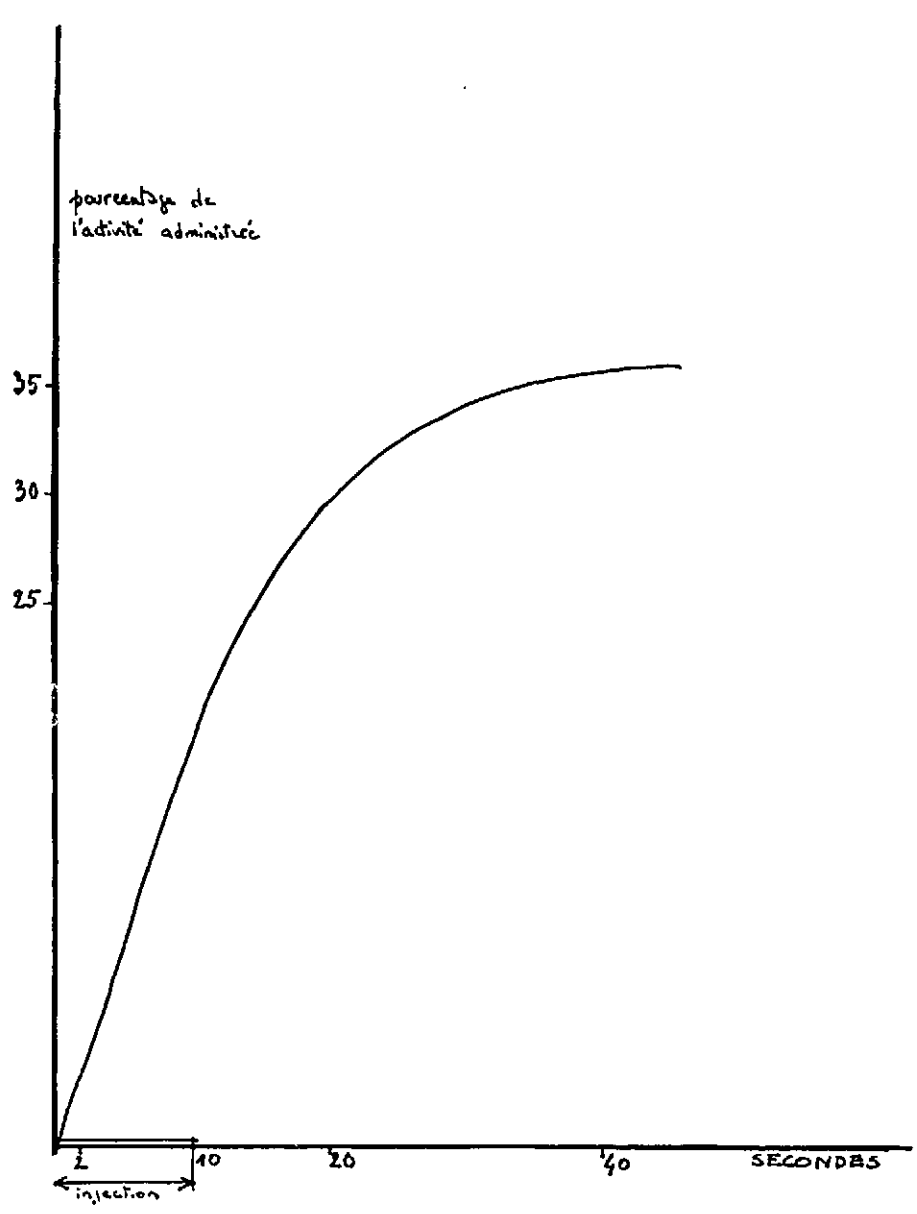


Figure 7 : Enregistrement rapide de l'activité hépatique (base de temps égale à 1 seconde), après injection intra-veineuse de ^{144}Ce sans complexant.

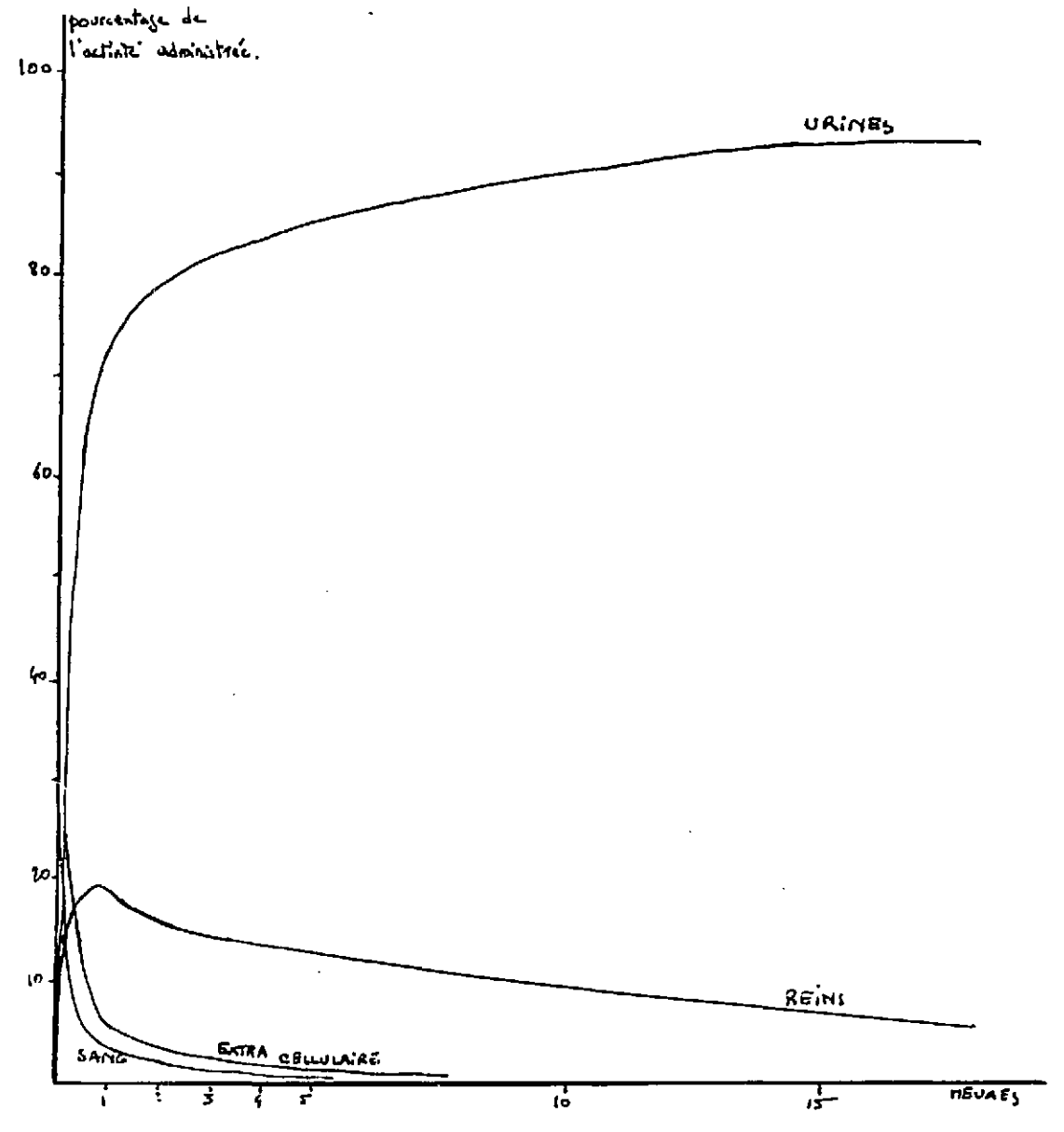


Figure 8 : Injection intra-veineuse de ^{144}Ce - TTHA (50 mg/Kg).

FIN