

电子顺磁共振技术在生物样品辐射剂量重建中的应用研究进展

毕帆, 胡海生, 石慧烽, 冯坤, 樊文慧, 涂文勇

上海交通大学医学院附属第九人民医院口腔颌面-头颈肿瘤科, 上海 200011

【摘要】电子顺磁共振技术可用于检测样品中的顺磁分子,可在较短时间内完成辐射剂量的重建,对于大范围辐射事故人群的剂量重建、分类诊治和医用X线人员辐射流行病学研究具有重要的现实意义。该文首先介绍了电子顺磁共振技术的基本原理和应用现状,该技术可直接检测物质中的顺磁分子,可在较短时间内提供吸收剂量的评估结果;然后分别从牙齿、指甲和其他生物样品的电子顺磁共振辐射剂量重建的应用现状与进展展开了综述,上述样品在剂量重建中均有优劣势,但在剂量重建的灵敏度和准确性方面需进一步研究,该综述以期能为电子顺磁共振技术在生物样品剂量重建的相关研究提供新思路,为电子顺磁共振技术的进一步推广应用奠定基础。

【关键词】电子顺磁共振技术;生物样品;剂量重建;综述

【中图分类号】R318;R818

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2020)01-0029-04

Progress on application of electron paramagnetic resonance technology in radiation dose reconstruction of biological samples

BI Fan, HU Haisheng, SHI Huifeng, FENG Kun, FAN Wenhui, TU Wenyong

Department of Oromaxillofacial Head and Neck Oncology, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China

Abstract: Electron paramagnetic resonance (EPR) technology which can be used to detect paramagnetic molecules in samples and to reconstruct radiation dose in a relatively short time has important practical significance for the dose reconstruction, diagnosis and treatment of large-scale radiation accidents and radiation epidemiology research by medical X-ray personnel. The basic principle and application status of EPR are firstly introduced. EPR can be used to directly detect paramagnetic molecules in substances and provide the evaluation results of absorbed doses in a short period of time. The application status and progress of dose reconstruction of EPR in teeth, nails and other biological samples are also reviewed. The above samples have their advantages and disadvantages in dose reconstruction, but the sensitivity and accuracy of dose reconstruction need to be further researched. This review aims to provide new ideas for the research of EPR technology in dose reconstruction of biological samples, thereby laying a foundation for the further promotion and application of EPR technology.

Keywords: electron paramagnetic resonance technology; biological sample; dose reconstruction; review

前言

人类把核与辐射广泛应用于医疗、工业和农业等领域,在造福人类的同时与其相关的辐射事故不断增加。当人体组织受到的辐射剂量超过1.5 Gy时,可能引起相应的生物效益,导致放射性疾病综合征。根据受照剂量及引起的反应,放射损伤可分为骨髓型(<10 Gy)、

肠型(10~50 Gy)和脑型(>50 Gy)^[1-2]。在全球范围内,不当使用放射源造成辐射损伤事故不断发生,故在辐射暴露后进行快速剂量重建意义重大,以便于快速开展分类诊疗;同时辐照剂量的重建在医用X线工作人员辐射流行病学研究中也是极为重要的。当前剂量重建主要分为3种方法:模拟方法(理论模拟或实验模拟)、直接测量方法和间接测量方法^[3],上述方法或通过物理化学方式重建辐射剂量,或通过回顾性分析放射损伤事故中的数据进行分析来重建辐射剂量,上述方法均无法实时或便捷地进行重建。因此亟需一种无创、实时、稳定可靠和便于操作的剂量重建方法。电子顺磁共振技术(Electron Paramagnetic Resonance, EPR)或电子自旋共振技术(Electron Spin Resonance, ESR)可检测

【收稿日期】2019-10-20

【基金项目】上海交通大学医学院技术转移项目(ZT201807)

【作者简介】毕帆,硕士,助理工程师,物理师,研究方向:医学物理及生物医学工程,E-mail: bifan_felix@126.com

【通信作者】涂文勇,博士,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:肿瘤放射治疗与医学物理,E-mail: tu4you@163.com

电离辐射诱导产生的自由基,作为一种成熟的辐射剂量测定技术,可在较短时间内(≤ 10 min)得到吸收完成生物样品的剂量测量与重建^[46]。据文献报道早在20世纪60年代就有学者使用EPR进行剂量测量与重建^[7],后续有研究者应用不同的生物样品来进行EPR辐射剂量重建^[8-10]。本文在简要介绍EPR的原理后,分别综述牙齿、指甲和其它生物样品的EPR辐射剂量重建的应用现状与进展,以期对EPR技术在辐射剂量重建中的研究提供新思路。

1 EPR原理及现状

电子是带负电荷的基本粒子,同时进行两种运动:一种是在围绕原子核轨道上运动,另一种是围绕其中心轴自旋。电子在运动中产生了电流和磁矩。在外加恒磁场 H 中,电子磁矩的作用如同一根磁针;由于电子的自旋量子数为 $1/2$,故电子的外磁场具有两种取向:低能级状态和高能级状态,两种状态相互平行,能级差为 gH 。若在垂直于外磁场的方向加上频率为 ν 的电磁波满足 $h\nu=gbH$ (其中, h 为普朗克常数, b 为电子磁矩的自然单位, g 为波谱分裂因子)这一条件时,低能级的电子由于吸收电磁波的能量而跃迁到高能级,此现象成为电子顺磁共振现象和基本原理。受激跃迁产生的吸收信号经过处理可得到EPR的吸收谱线。

EPR作为一种新型的检测方法,可用于检测顺磁性离子、自由基及顺磁性配合物分子的结构,在生物、医学和化学领域均有较广泛应用。该技术可直接测量物质中的顺磁分子,可以在较短时间内提供吸收剂量的评估结果。人体组织在受到电离辐射后会产生大量自由基,由于自由基含有未成对的电子,具有自旋角动量,可产生磁性和自旋磁矩,自由基会对蛋白质、脂质和DNA等生物分子造成损伤,同时也会产生氧化应激,最终导致生物细胞的破坏和引起各种疾病,故研究辐射剂量测量与重建具有重要意义。以EPR为代表的辐射剂量重建方法具有样本制备简单、样本可选范围较大、测量范围宽、辐照信息留存较长、测试速度相对较快和测试过程不破坏剂量信息等特点,已成为一种辐照事故现场快速分类的方法^[11],在医用X线人员辐射流行病学研究和辐射事故发生后及时开展剂量重建及分类救治等方面具有重要意义。电离辐射诱导的自由基由于其长期的稳定性,钙化组织如牙齿、骨头和指甲等生物样品的自由基稳定性,使其重建生物样品的剂量成为可能。Brady等^[7]最早使用EPR技术进行辐射剂量的测算与重建,该方法取样过程无创或微创,样品不需要生物学方法进行处理。

2 牙齿EPR辐射剂量重建的应用进展

牙齿在受到大剂量辐照后进行辐射剂量测定已被证实可用于剂量重建,该方法在大范围辐射暴露事故中已被证实有效^[12-13]。然而对于大范围辐射暴露事故发生后,需要快速对伤员进行分类便于诊疗,但现有技术和方法不具备明显时效性;唯一的在体牙齿EPR测量由于受到设备的限制,无法大量同时进行,严重影响了剂量重建和病人诊疗。使用牙齿进行EPR剂量重建主要是采集牙釉质作为样品进行EPR测试,牙釉质电子顺磁共振剂量学上应用已非常成熟,国际原子能委员会已对牙釉质剂量重建给出了标准^[14],但该方法样品收集和处理比较复杂且样品收集是有创的。牙釉质中由于辐射产生的自由基主要是由碳酸根衍生得到的,包括 $\text{CO}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{CO}_3^{\cdot-}$ 、 $\text{CO}_3^{\cdot-}$ 和 $\text{CO}^{\cdot-}$ 。在目前已知最稳定的自由基是 $\text{CO}_2^{\cdot-}$,其寿命在 25°C 下可达 10^7 年。 $\text{CO}_2^{\cdot-}$ 自由基数量与辐射剂量增加呈线性关系,尤其是在 $50\text{ mGy}\sim 100\text{ Gy}$ 事故剂量范围^[15]。丁艳秋等^[16]利用电离辐射在牙釉质中诱导产生的 $\text{CO}_2^{\cdot-}$ 自由基浓度与牙釉质剂量呈正比的特点,通过EPR测量了电离辐射在牙釉质中诱导产生的自由基浓度,重建了14名医用诊断X射线工作者的牙釉质剂量,其剂量范围为 $89\sim 870\text{ mGy}$ 。

此外研究其它物种的牙釉质的辐射剂量重建的可行性也成为研究热点^[17]。Jiao等^[18]研究了应用EPR技术对其它牙釉质样本的辐射剂量重建的结果,包括对牛和山羊的牙釉质进行重建,结果显示牛和山羊的牙釉质样品的本底信号相比人类牙釉质本底信号要弱;牛和山羊的牙釉质和人类牙釉质辐射敏感性非常接近,表明牛和山羊的牙釉质可作为辐射剂量重建的替代材料。El-Faramawy等^[19]同样应用EPR技术重建了骆驼磨牙牙釉质样品的辐射剂量,研究结果显示辐射诱导的EPR信号随辐照剂量增加而线性增加,最高可达 15 kGy 左右,随后随剂量的增加,其剂量响应曲线趋于平稳。骆驼磨牙牙釉质的本底信号在 $g=2.00644$ 处,与人类牙釉质类似,但不同于牛和山羊牙釉质的测试结果,骆驼牙釉质适用于 γ 射线的辐射剂量重建。现有研究结果表明,牛、山羊和骆驼牙釉质均可用于辐射剂量重建。

3 指甲EPR辐射剂量重建的应用进展

指甲EPR辐射剂量重建主要是利用指甲角蛋白基质中稳定的辐射诱导信号进行物理生物剂量测定的技术。应用指甲EPR进行辐射剂量重建这一研究起源较早,Brady等^[7]早在1968年提出指甲作为EPR辐射剂量重建应用的可能性,而后研究者多次证实了指甲中辐射诱发信号与辐照剂量间存在线性关系^[20-21]。指甲在受到电离辐射后会产生自由基,这些自由基在相对较

长时间内(几天到几周)是稳定的。辐射诱导的指甲EPR信号在常温下的半衰期为300 h,在200 K的温度下未观察到信号衰减。指甲EPR信号共包含3类信号,分别为本底信号、机械诱导信号和辐射诱导信号^[22]。其中本底信号为指甲本身含有的自由基信号;机械诱导信号为指甲样品再收集过程中由于剪切产生的自由基信号;辐射诱导信号为辐照引起的信号。Trompier等^[10]提出指甲EPR进行剂量重建和重建的操作规程,包括样品的采集、储存、测量参数和剂量评估方法等内容;提出一种快速指甲EPR测量的剂量估算的操作方法,尝试建立指甲EPR辐射剂量快速重建的操作规程。国内也有学者研究标准化的指甲EPR剂量重建方法^[23],现研究中离体指甲EPR辐射剂量重建首先是对剪切的指甲样品进行清洗、自然晾干/烘干、称重等工序,以进行EPR波谱采集,通过自由基信号重建样品的受照剂量。为保证测试结果的一致性,需要严格控制样品的储存环境、重量和处理流程。通常在测量中需要加入自旋浓度确定的物质作为信号参照物来标定样品中自由基浓度的大小。

指甲样品收集和处理测试过程的不同也会导致辐射剂量重建的差异性。He等^[24]对指甲EPR剂量重建方法进行了验证,结果显示,实际的辐射诱导信号与波谱分析得到的信号具有良好的一致性,此外所有样品在0~6 Gy范围内剂量响应均呈线性;第二个实验收集了16位供体的96片指甲样品,用来验证波谱拟合模型,结果表明,虽然实际的辐射诱导信号与模型预测的剂量响应相似,但是两者的变异性增加,这可能与供体样本的背景信号变异性有关。而Sholom等^[25]在样品采集后和辐照后的储存条件下,对结果的影响进行了研究,结果显示样品在收集和辐照后保存在真空条件下信号保持较高的稳定性。同时在实验室条件下验证了该方法,证明了在0~10 Gy范围内剂量重建的能力,在小于2 Gy的范围内剂量重建的不确定度为0.3~0.4 Gy;在5~10 Gy范围内不确定度上升到0.6~0.7 Gy。

使用指甲EPR进行辐射剂量重建的特点是测定样品方便可取,且取样过程无创,具有实时快速评估的能力,在辐射剂量重建应用方面存在一定优势,但该方法也存在问题:在样品收集产生的机械诱导信号和辐射诱导信号会产生重叠,对剂量重建产生挑战。因此使用指甲EPR信号进行辐射剂量重建和完整的波谱分析需要注意以下几点:(1)最大限度分离指甲被剪切产生的机械诱导信号机械诱导信号与辐射诱导信号,努力提高剂量重建的准确性;(2)了解指甲的物理和化学特性,如含水量和含氧量的影响;受到辐照后辐射诱导信号与指甲基质的变化有关,且该因素与人口统计学

特性有关,值得进一步研究其差异性。

4 其它生物样品EPR辐射剂量重建的应用进展

使用其它生物样品开展EPR剂量重建也是研究的热点^[26-28],如在头发EPR的辐射剂量重建。Tepe等^[27]研究了头发作为生物剂量计的可能性,该研究分别对黑色、棕色、红色、金色和染黑色的头发样品应用 γ 射线进行低剂量(5~50 Gy)和高剂量(75~750 Gy)辐照,剂量率为0.25 Gy/s,结果显示不同的头发样品的峰高和g值与头发颜色有关,在300 Gy后样品的剂量曲线达到饱和,而在不同的黑色头发中尚未观察到波谱和信号强度的差异。在辐照的信号衰减方面,黑色、金色、棕色、干燥黑色和红色头发分别在44、41、41、35和17 h后衰减到信号的一半。Tepe等^[27]认为考虑到现有的实验条件下可将头发作为生物剂量计使用,用于辐射剂量的重建。头发中也含有大量 α -角蛋白,但头发中含有大量黑色素,黑色素的EPR信号很强,在某种程度上可掩盖辐射诱导信号,使得头发中的剂量重建不如指甲中的准确。头发样品进行EPR剂量重建的困难在于头发在受到辐照后,EPR信号衰减较快;若需要用头发进行辐射剂量进展,需在辐照后短时间内进行测试重建,以确保由于辐照产生的信号衰减较少,最大限度保证剂量重建的准确性。此外,Çolak等^[28]研究了头发辐照剂量的最低可被EPR测试得到的阈值,结果显示剂量探测阈值为6 Gy,说明辐照剂量高于6 Gy时可使用EPR进行辐射剂量重建。同时该研究对比得到黑色头发相对于浅色头发样品的EPR信号较高,原因是黑色素含量较高,其信号主要来源于黑色素中的半胱氨酸。此外,头发样品的辐射诱导信号可以稳定数小时,若在辐照后数小时内采集并储存在低于室温条件下,则信号稳定时间要长很多。

此外,研究者针对各种附属物的EPR信号进行研究,探求进行剂量重建的可行性。Sholom等^[29]研究了塑料制品的人体物品的EPR剂量重建问题,包括纽扣、内衣附属物和手机按键等塑料材料的辐射诱导的电子顺磁共振信号。研究了0~25 Gy范围内的剂量响应曲线,辐照后暴露在不同温度下辐射诱导信号的稳定性以及太阳辐照后样品剂量的变化。研究结果,塑料制品的人体物品被认为是一种潜在的生物剂量计材料,可作为灵敏度阈值低于5 Gy的独立剂量计使用,在超过10 Gy后剂量曲线达到饱和。Maja等^[30]研究了使用纳钙玻璃进行剂量重建的可能性,分别使用3种方法对样本实施了剂量重建,结果显示g值法在0~10 Gy内辐射剂量的测定与重建中具有较高的应用价值,但仍需进一步研究该方法的信号稳定性和温度依赖性。

5 结 语

EPR作为一种新的检测方法,在生物医学、化学和环境等方面应用广泛。EPR可直接监测样品中的顺磁分子,在较短时间内完成辐射剂量重建。测试过程可通过X-波段的EPR波谱仪完成,该设备应用广泛,可应用于肿瘤放射治疗领域。该剂量重建方法优势广泛、样品制备简单、剂量估算时间短、剂量范围宽。现有研究表明EPR在牙齿、指甲和头发等生物样品的辐射剂量重建中应用广泛,此外在其它物品的附属物上的剂量重建也有一定应用,但EPR在不同样品的辐射剂量重建中的准确性仍需进一步研究。

【参考文献】

- [1] 李晔雄,王绿化,高黎,等.肿瘤放射治疗学[M].第5版.北京:中国协和医科大学出版社,2018: 1-3.
LI Y X, WANG L H, GAO L, et al. Radiation oncology[M]. 5th ed. Beijing: Peking Union Medical College Press, 2018: 1-3.
- [2] HALL E J, GIACCIA A J. 放射生物学—放射与放疗学者读者[M]. 卢铀,刘青杰,译.北京:科学出版社,2015: 105-107.
HALL E J, GIACCIA A J. Radiobiology for the radiologist[M]. LU Y, LIU Q J. Beijing: Science Press, 2015: 105-107.
- [3] 周莉.医用诊断X线工作者职业受照剂量估算的理论方法和实验方法比较[D].北京:中国协和医科大学,2007.
ZHOU L. Comparison between dose estimated through calculation based on a mathematical model and dose reconstructed by EPR dosimetry with tooth enamel for medical diagnostic X-ray workers [D]. Beijing: Pecking Union Medical College, 2007.
- [4] FATTIBENE P, TROMPIER F, WIESER A, et al. EPR dosimetry intercomparison using smart phone touch screen glass[J]. Radiat Environ Biophys, 2014, 53(2): 311-320.
- [5] MARRALE M, LONGO A, D'OCA M C, et al. Watch glasses exposed to 6 MV photons and 10 MeV electrons analysed by means of ESR technique: a preliminary study[J]. Radiat Meas, 2011, 46(9): 822-826.
- [6] TROMPIER F, BURBIDGE C, BASSINET C, et al. Overview of physical dosimetry methods for triage application integrated in the new European network RENEB[J]. Int J Radiat Biol, 2017, 93(1): 65-74.
- [7] BRADY J M, AARESTAD N O, SWARTZ H M. *In vivo* dosimetry by electron spin resonance spectroscopy[J]. Health Phys, 1968, 15(1): 43-47.
- [8] SWARTZ H M, BURKE G, COEY M, et al. *In vivo* EPR for dosimetry [J]. Radiat Meas, 2007, 42(6-7): 1075-1084.
- [9] ROMANYUKHA A, TROMPIER F, LEBLANC B, et al. EPR dosimetry in chemically treated fingernails[J]. Radiat Meas, 2007, 42 (6-7): 1110-1113.
- [10] TROMPIER F, KORNAK L, CALAS C, et al. Protocol for emergency EPR dosimetry in fingernails[J]. Radiat Meas, 2007, 42(6-7): 1085-1088.
- [11] 陈英,周平坤,吴可.放射损伤生物剂量估算技术研究[J].辐射防护, 2008, 28(6): 385-391.
CHEN Y, ZHOU P K, WU K. Studies on the dose estimation techniques for radiation damage[J]. Radiation Protection, 2008, 28 (6): 385-391.
- [12] CLAIRAND I, TROMPIER F, BOTTOLIER-DEPOIS J F, et al. *EX vivo* ESR measurements associated with Monte Carlo calculations for accident dosimetry: application to the 2001 Georgian accident[J]. Radiat Prot Dosimetry, 2006, 119(1-4): 500-505.
- [13] DEGTEVA M O, SHAGINA N B, SHISHKINA E A, et al. Analysis of EPR and FISH studies of radiation doses in persons who lived in the upper reaches of the Tcha river[J]. Radiat Environ Biophys, 2015, 54(4): 433-444.
- [14] International Atomic Energy Agency. Use of electron paramagnetic resonance dosimetry with tooth enamel for retrospective dose assessment[R]. Vienna: IAEA, 2002, IAEA-TECDOC-1331.
- [15] WU W, YU A, ZHANG W, et al. Dose estimation by EPR spectroscopy of tooth enamel in Chinese medical diagnostic X-ray workers [J]. Radiat Prot Dosimetry, 2006, 118(1): 102-105.
- [16] 丁艳秋,周莉,焦玲,等.牙釉质EPR剂量学方法应用于医用诊断X射线工作者剂量重建的方法研究[J].中国辐射卫生, 2010, 19(1): 15-16.
DING Y Q, ZHOU L, JIAO L, et al. The study on method of dose reconstruction of enamel EPR dosimetry for medical diagnostic X-ray workers[J]. Chinese Journal of Radiological Health, 2010, 19(1): 15-16.
- [17] HARSHMAN A, JOHNSON T. A brief review-EPR dosimetry and the use of animal teeth as dosimeters[J]. Health Phys, 2018, 115(5): 600-607.
- [18] JIAO L, LIU Z C, DING Y Q, et al. Comparison study of tooth enamel ESR spectra of cows, goats and humans[J]. J Radiat Res, 2014, 55(6): 1101-1106.
- [19] EL-FARAMAWY N A, EL-SOMANY I, MANSOUR A, et al. Camel molar tooth enamel response to gamma rays using EPR spectroscopy [J]. Radiat Environ Biophys, 2018, 57(1): 63-68.
- [20] BLACK P J, SWARTS S G. *Ex vivo* analysis of irradiated fingernails: chemical yields and properties of radiation-induced and mechanically-induced radicals[J]. Health Phys, 2010, 98(2): 301-308.
- [21] ZHANG T, ZHANG W, ZHAO Z, et al. Two factors influencing dose reconstruction in low dose range: the variability of BKG intensity on one individual and water content[J]. Radiat Prot Dosimetry, 2015, 171 (3): 297-303.
- [22] TROMPIER F, ROMANYUKHA A, REYES R, et al. State of the art in nail dosimetry: free radicals identification and reaction mechanisms [J]. Radiat Environ Biophys, 2014, 53(2): 291-303.
- [23] 田烨,吴可.指甲EPR测量方法[J].辐射防护通讯, 2018, 38(2): 11-15.
TIAN Y, WU K. Fingernail EPR *in vivo* measurement[J]. Radiation Protection Bulletin, 2018, 38(2): 11-15.
- [24] HE X, SWARTS S G, DEMIDENKO E, et al. Development and validation of an *ex vivo* electron paramagnetic resonance fingernail biodosimetric method[J]. Radiat Prot Dosimetry, 2014, 159(1-4): 172-181.
- [25] SHOLOM S, MCKEEVER S W. Emergency EPR dosimetry technique using vacuum-stored dry nails[J]. Radiat Meas, 2016, 88: 41-47.
- [26] IVANOV D V, SHISHKINA E A, OSIPOV D I, et al. Otoliths as object of EPR dosimetric research[J]. Radiat Environ Biophys, 2018, 57(4): 357-363.
- [27] TEPE ÇAM S, POLAT M, SEYHAN N. The use of human hair as biodosimeter[J]. Appl Radiat Isot, 2014, 94: 272-281.
- [28] ÇOLAK S, ÖZBEY T. An ESR study on fingernail as a biological dosimeter[J]. J Phys Educ Sport, 2012, 12(3): 289-301.
- [29] SHOLOM S, CHUMAK V. EPR emergency dosimetry with plastic components of personal goods[J]. Health Phys, 2010, 98(2): 395-399.
- [30] MAJA V K, NADICA M S. Dose reconstruction from ESR signal of gamma-irradiated soda-lime glass for triage application[J]. Radiat Prot Dosim, 2019. DOI: 10.1093/rpd/ncy290.

(编辑:谭斯允)