

- treatment time on local control of slow growing human GL squamous cell carcinoma in nude mice treated by fractionated irradiation[J]. *Radiother and Oncol*, 1999, 50: 107-111.
- Baumann M, Liertz C, Baisch H, et al. Impact of overall treatment time of fractionated irradiation on local control of human FaDu squamous cell carcinoma in nude mice[J]. *Radiother and Oncol*, 1994, 32:137-143.
- Petersen C, Zips D, Krause M, et al. Repopulation of FaDu human squamous carcinoma during fractionated radiotherapy correlates with reoxygenation[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2001, 51: 483-493.
- Roberts SA and Hendry JH. The delay before onset of accelerated tumour cell repopulation during radiotherapy: a direct maximum-likelihood analysis of a collection of worldwide tumour-control data[J]. *Radiother and Oncol*, 1993, 29:69-74.
- Thames HD, Ruifrok ACC, Milas L, et al. Accelerated re-
- [20] population during fractionated irradiation of a murine ovarian carcinoma: downregulation of apoptosis as a possible mechanism[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1996, 35: 951-962.
- Beck-Bornholdt HP, Omniczynski M, Theis E, et al. Influence of treatment time on the response of rat rhabdomyosarcoma R1H to fractionated irradiation[J]. *Acta Oncologica*, 1991, 30: 57-63.
- [21] Roberts SA and Hendry JH. Time factors in larynx tumor radiotherapy: lag times and intertumor heterogeneity in clinical datasets from four centers [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1999, 45: 1247-1257.
- [22] Sanchez-Nieto B, Nahum AE and Dearnaley DP. Individualization of dose prescription based on normal-tissue dose-volume and radiosensitivity data[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2001, 49: 487-499.

文章编号: 1001-098X(2002)04-0186-05

牙釉质电子顺磁共振剂量重建研究的若干进展

吴伟章

摘要: 介绍了牙釉质电子顺磁共振回顾性剂量学的目前研究概况,着重阐述了低剂量区去除背景信号的新方法,同时也对其在体测量及紫外线影响等方面进行了讨论。

关键词: 电子顺磁共振; 牙釉质; 剂量重建; 拟合

中图分类号: R144.1 **文献标识码:** A

Progresses in dose reconstruction by tooth enamel electron paramagnetic resonance

WU Wei-zhang

(*Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China*)

Abstract: The present review focuses on the current developments on electron paramagnetic resonance (EPR) on retrospective dosimetry in tooth enamel. Details are presented on elimination of background signal in low dose region, *in vivo* EPR measurement in tooth enamel and UV effects are also discussed.

Key words: electron paramagnetic resonance; enamel; dose reconstruction; simulation

收稿日期: 2002-04-25

作者简介: 吴伟章 (1977-), 男, 广东梅州人, 中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所 (天津, 300192) 硕士研究生, 主要从事牙釉质 EPR 剂量重建技术的研究。

审校者: 中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所 张良安

电子顺磁共振 (electron paramagnetic resonance, EPR) 在回顾性剂量学中的应用已有几十年历史了。人牙齿、指甲、骨骼、穿戴材料 (如: 各种织物、手表的玻璃盖), 甚至含糖物都可用于 EPR 剂量学测量, 而充分去除牙本质的牙釉质具有最佳剂量响应特

性和较低的测量下限,且它所含自由基寿命长(约107年)、浓度高,因而在各种不可控制的核事故中得到广泛应用,并取得了令人满意的结果。经过几十年的研究和改进,牙釉质EPR剂量重建技术已能够和FISH(荧光原位杂交)技术相媲美^[1],但是,当它应用于辐射流行病学研究的小剂量区域,特别是低于300 mGy时,仍然有一些问题亟待解决^[2]。

1 低剂量区背景信号的去除

电离辐射辐照后牙釉质EPR信号主要包括两种相互重叠的信号,一种是辐射诱发信号(radiation induced signal, RIS),主要来源于牙釉质无机基质(羟基磷灰石)中的CO₂·⁻自由基;另一种即所谓背景信号(background signal, BGS),主要来源于牙釉质有机成分(主要是蛋白质)^[3],与辐射无关^[4]。在高剂量区域,BGS与RIS相比,幅度要小得多,其影响可以忽略;但在剂量较低的区域,情况就完全不同了: EPR谱中的BGS典型峰-峰值与1 Gy剂量信号比值为5:3^[5],有时(< 300 mGy)BGS甚至在EPR谱中占主要地位,完全覆盖了剂量信号,再加上不同牙齿剂量信号灵敏度变化在10%以内,而单位质量背景信号强度变化达30%~40%,这些因素都要求从EPR复合谱中扣除BGS,以得到较为精确的剂量谱^[3]。对此,目前较常用的方法有两种,一种是在样品处理阶段用化学方法尽可能去除BGS,另一种方法是在谱处理时扣除参考或用各种模型函数拟合的BGS。

1.1 样品处理阶段用化学法去除背景信号

在牙釉质中,羟基磷灰石针状晶体分散于水-有机凝胶中,占牙釉质质量的95%~97%,其余为约2%的水和1%的有机成分。BGS主要来源于牙釉质有机成分,因此可以在样品处理阶段尽量去除牙釉质中有机成分来减少BGS。已有一些学者作过有益尝试^[6,7],他们主要是用不同浓度的碱溶液与牙釉质粉末作用,去除有机成分。Romanyukha AA等^[8]对这种方法进行了改进,他们把一个白齿用2.5 Gy剂量辐照后分成两半,一半用纯机械方法分离牙本质,另一半机械法去除牙本质后粉碎,再用KOH的过饱和溶液在60℃超声水浴70 h,经比较发现,后者能更有效地去除BGS。另外,Haskell EH等^[9]发现,受表面自由基影响,BGS幅度强烈依赖于牙釉质粒度,粒度越小,其幅度越大。因此,BGS一方面可因去除有机成分而减小,另一方面又可因机械粉碎过程中产生表面自由基而增加,碱处理可以有效去除表面自由基的影响^[9]。

Ivannikov AI等^[2]用强还原剂肼(hydrazine, HA)处理牙釉质粉末,取得了更令人满意的结果,之所以选择肼,是因为它具有极强的还原作用和很强的穿透作用,可以进入到羟基磷灰石微小棱柱与里面的蛋白质作用。图1^[2]所示为未经辐照的牙釉质粉末经过和未经HA处理的EPR谱。从图1可以看出,牙釉质粉碎后有明显的MIS(机械处理引发信号),用HA处理后,BGS和MIS基本消失。牙釉质经0.5 Gy剂量辐照后磨成粉末(< 20 μm),分别测量其经过和未经HA处理的EPR谱,结果如图2^[2]所示,可以看出,HA处理后BGS也基本消失,RIS却没有明显改变。

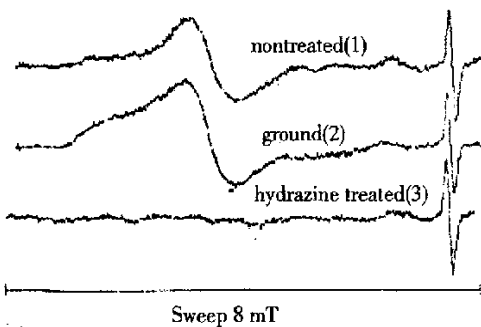


图1 未经辐照的牙釉质粉末用HA处理后的EPR谱:未粉碎的初始谱(1);牙釉质粉碎后(<0.1mm)的EPR谱(2);HA处理后的谱(3)。

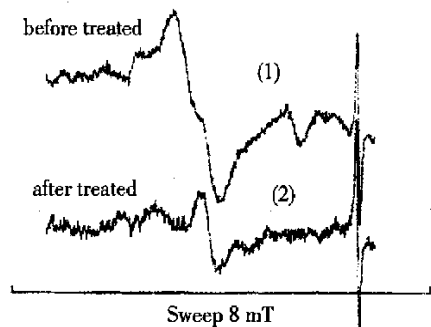


图2 经0.5Gy辐照,用HA处理后的牙釉质的EPR谱:未经粉碎的EPR谱(1);经HA处理后的EPR谱(2)。

他们的实验还发现，当牙釉质的粒度小于200 μm时，BGS和MIS实际上完全消失，但粒度太小时会损失一些牙釉质，最高可达20%，这些损失主要是由于倾液体试剂和粉末处理时造成的；另外，粒度太小时也会影响RIS，他们得出最佳样品粒度为100 μm ~ 200 μm。

1.2 谱处理方法扣除背景信号

对牙釉质EPR复合谱进行不同处理也可以减小BGS影响。与上述方法不同的是，这种方法并不是直接从EPR谱中去除BGS（即EPR谱中仍然包括BGS），只是在计算RIS时从EPR谱中扣除BGS，减小其对计算精度的影响。

一些学者^[9,10]采用谱相减方法，即把未受辐照的标准牙釉质EPR谱作为参考信号，从EPR复合谱中减去该标准信号，所得差谱即为“纯”剂量信号。但是，不同牙齿的牙釉质辐射敏感性有很大差别，标准信号的选择对结果的影响也很大，因此该法的应用有一些限制。Ignatiev EA等^[11]则采用选择饱和法，在低剂量区得到较为可靠的剂量重建结果。他们用一大一小两种不同功率微波记录EPR信号，在这两种功率上，BCS饱和幅度相同，两个谱相减即可扣除BGS，得出剂量信号。然而功率饱和会改变信号线型，尤其是背景信号^[12]，因此其应用也受到限制。

对于上述谱处理方法，为了取得较为可靠的结果，要求操作人员具有丰富经验，因此有必要发展一种方法，减少操作人员干预，又能获得精度可以接受的结果，谱拟合技术就可以达到这个目的。

谱拟合的数学基础是，EPR复合谱各种组分线型可用高斯函数或洛仑兹函数一阶微商来描述，复合谱本身和其各个组分都可以用上述函数的线性和非线性组合，再适当调整各个参数达到最佳拟合。

1996年，Egersdörfer S^[13]提出用高斯函数一阶微商的线性组合来模拟EPR谱，其数学表述如下述方程：

$$y = a + bx + c_1 \left[\frac{x - x_1}{w_1^2} \cdot e^{-\left(\frac{x - x_1}{w_1}\right)^2} + \frac{1}{2} \frac{1}{w_1^2} \frac{x - x_1 - d}{w_1^2} \cdot e^{-\left(\frac{x - x_1 - d}{w_1}\right)^2} \right] + c_2 \cdot \frac{x - x_2}{w_2^2} \cdot e^{-\left(\frac{x - x_2}{w_2}\right)^2}$$

上式前两个高斯函数表示CO₂⁻自由基信号，后一个表示背景信号，至于1/2是因为自由基g张量是轴对称的缘故；w₁是CO₂⁻信号线宽，d表示该信号两个分量场距离，它们由受100 Gy剂量辐照后的牙釉质

EPR谱决定，w₂表示背景信号线宽，由未经辐照的牙釉质谱决定。其他6个参数通过对剂量在100 mGy和500 mGy之间的谱拟合得到：a和b表示基线线性漂移，c₁及c₂和x₁及x₂表示CO₂⁻和背景信号的幅度和磁场。所有拟合都采用Marquardt-Levenberg非线性最小二乘法曲线拟合算法在微机上进行。

Koshta AA等^[14]在上述方程后面添加了两项，分别表示辐射诱发的各向同性分量和一些未知信号，添加的两个函数也是高斯函数的线性组合，用此方程拟合的CO₂⁻自由基信号幅度得出的重建剂量与选择饱和法结果有很强相关性，回归方程斜率为0.94 ± 0.043，非常接近1。

最近，Ivannikov AI等^[2]编写了一种基于高斯函数线性组合的Marquardt-Levenberg非线性最小二乘法曲线拟合算法EPR谱自动去卷积程序。他们用的基本方程是高斯函数一阶微商：

$$G(x - x_0, D_p) = A \cdot \frac{x_0 - x}{D_p} \cdot e^{-2\left(\frac{x - x_0}{D_p}\right)^2}$$

式中，x为磁场强度值，x₀为函数中心场位置，D_p为峰-峰宽，A = 2e^{1/2}使函数幅度归一化。此函数在x = x₀ ± (-D_p/2)处有极值 ± 1。RIS和BGS的拟合函数分别为：

$$F_r(h) = G(h - H_r, D_r) + 0.5 G[h - (H_r + DH_r), D_r] + A_n G[h - (H_r + DH_n), D_n] + A_m G[h - (H_r + DH_m), D_m]$$

$$F_b(h) = G(h - H_b, D_b) + 0.5 G[h - (H_b + DH_b), D_b] + A_n G[h - (H_b + DH_{bn}), D_{bn}]$$

参数定义同上，RIS函数第一、二项分别为xy分量和z分量，第三项为中间分量（intermediate component），用于调整RIS线型，第四项为附加宽成分（additional wide component），用于模拟宽信号，BGS函数少了中间分量。它们的参数分别由经1 kGy辐照和未经辐照的来源于不同牙齿的牙釉质均匀混合物拟合得到。全谱由下式表示：

$$F_{br} = A_b F_b(h) + A_r F_r(h + DH_{br})$$

A_b和A_r分别为BGS和RIS幅度的贡献，DH_{br}则为它们之间场距离（BGS-RIS shift），再考虑垂直（A₀）和水平偏移（DH₀），用于调整谱精确位置，上式可写成：

$$F_r(h) = A_0 + F_{br}(h + DH_0)$$

用上式进行全谱拟合时，一些参数由拟合决定，如：A₀、DH₀、A_b和A_r等；一些是固定参数，如：RIS和BGS拟合所得参数。还有一些参数需要优化，优化过程见下面流程图^[2]：

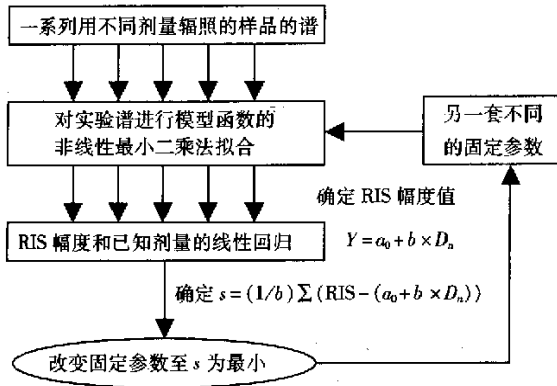


图3 谱处理程序的优化算法
 D_n = 已知剂量, a_0 和 b 为回归线的参数。

参数优化标准是, 拟合得到的RIS幅度和已知剂量的回归直线标准差最小。具有最优化参数的去卷积程序的重建剂量标准误为30 mGy。Dubovsky S等^[12]提出, 全谱可以用洛仑兹函数、高斯函数和各向异性函数的卷积来描述, 用这种方法他们取得了相似的结果。

上面所述两种减小BGS影响、提高RIS测量精度的方法, 在实际测量中联合应用, 效果会更好。

2 太阳紫外光对牙釉质EPR测量的影响

Ivannikov AI等^[15]在比较大范围测量统计分析结果时发现, 前部牙齿(主要为切齿和犬齿)剂量比后部牙齿(前磨牙和磨牙)要高, 这个影响主要是由太阳紫外线(UV)造成的, 它能在前部牙齿牙釉质中诱发与RIS具有相同特性的EPR信号, 用这类牙齿进行剂量测量时, 会对剂量信号产生干扰。太阳光诱发的顺磁中心在牙釉质中指数分布深度约为300 μm , 用化学腐蚀方法也不能完全去除这层牙釉质。进一步研究发现, 前部牙齿内侧部分和后部牙齿基本上不受UV影响。

Nilsson J等^[16]对用不同种类UV照射牙釉质的结果、UV诱发自由基浓度随时间变化以及UV辐照对回顾性剂量学测量的影响进行了研究, 发现UV辐照可在牙釉质中产生稳定和不稳定自由基, 不稳定自由基约在3个星期内消失, 稳定自由基对剂量信号和背景信号都能产生影响; 在BGS峰处, UVA、UVB(波长分别为315 ~ 400 nm和280 ~ 315 nm)和UVC(100 ~ 280 nm)产生的稳定自由基具有饱和效应。粗略估计, 太阳光产生的信号强度与15 mGy/h(60 kV X射线)相当。牙科医生用于硬化补牙塑料

的蓝灯(blue lamp)在UVA、UVB区域有一狭窄拖尾, 在BGS峰处会产生稳定自由基。UVC对RIS测量的影响相对更大, 但在穿越同温层时被臭氧吸收, 无法到达地面, 其影响反而要小。

为了减小UV对测量的影响, 可以采取如下措施: ①尽量不用前部牙齿和补牙塑料附近的牙齿, 在不得不使用切齿和犬齿时, 只测量其内侧部分; ②测量前将牙齿置于黑暗中至少1个星期, 以减少不稳定自由基对EPR谱的贡献; ③用退火法消除时间依赖信号^[17], 将样品置于90 $^{\circ}\text{C}$ ~ 95 $^{\circ}\text{C}$ 2 h。

3 牙釉质EPR的在体测量

常规牙釉质EPR测量, 必须把牙齿从人身上取出来, 并经过一系列处理后才能进行, 必须等病人牙齿因为牙病拔出来后才能进行剂量测量, 因此它的应用, 特别是在核事故后需要及时知道病人照射剂量以便对其分级, 进行相应医疗救治时受到较大限制。若能进行在体测量, 则EPR在剂量学上的应用会更加广阔。

曾有一种具有在体应用潜力的便携式EPR谱仪^[8], 其有一个壁上带锥形小孔的圆柱形谐振腔, 微波频率约为9GHz, 通过小孔泄漏出来的微波经样品吸收来获得EPR信号。这种谱仪的检测下限约为2 Gy, 从实用的角度看, 即使能达到这个灵敏度, 将其应用于人体剂量的在体测量仍然是不够的。

Miyake M等^[19]研究发现, 低频EPR(~ 1.2 GHz)在精确和灵敏地进行牙齿吸收剂量在体测量的应用方面有潜在优势。他们用的是线圈振荡器(用于产生微波, 测量时套在牙冠上), 在用低频EPR谱仪测量拔除的人牙时(未经处理), 检测下限为0.2 Gy, 大鼠在体测量, 检测下限是2 Gy, 且具有较好的剂量响应特性。根据这个结果, 再考虑到人牙齿和大鼠牙齿的质量比(大鼠一对门牙平均质量为172 \pm 20 mg, 而人的一颗牙齿的平均质量为1.69 \pm 0.33 g), 推测人牙齿在体测量检测下限至少为0.5 Gy是合理的。

对于同一大小样品, 低频测量的灵敏度比高频低, 但是, 降低频率可以提高微波对样品的穿透能力, 因此可以测量体积大得多的样品。信号强度取决于样品总自旋数, 增大测量样品总体积可以提高RIS测量灵敏度。使用低频不仅可以测量单颗牙齿, 还可以同时测量活体2 ~ 3颗牙齿。

离体牙釉质测量中常用的刻度方法——附加

剂量法,在在体测量时难以安全快捷地使用,但是,当剂量响应关系在不同牙齿之间变化不大时,可根据离体牙齿的测量数据构建“标准”刻度曲线,而且牙齿EPR在体测量主要应用于上述核事故目的,其精确度和灵敏度已完全能够满足要求。

4 结语

牙釉质EPR作为剂量重建的一种重要手段,由于其具有准确性、可靠性高,过程简单,测量无破坏等特点,得到越来越广泛的应用。近几年来虽然在上述几个方面取得了很大进展,却远没有完善,虽然举行了两次国际比对大会^[9,20],到目前为止仍然没有建立标准的牙釉质EPR测量方案。在内暴露方面,由于缺少将EPR测量的牙釉质吸收剂量转化为其他器官(如:骨、骨髓)吸收剂量的模型,剂量重建变得非常复杂、困难^[2]。未来在这两方面的研究还应当加强。

参考文献:

- [1] Dieter R. From dating to biophysics - 20 years of progress in applied ESR spectroscopy[J]. *Appl Radiat Isot*, 2000, 52: 1023-1030.
- [2] Ivannikov AI, Skvortsov VG, Stepanenko VF, et al. EPR tooth enamel dosimetry: optimization of the automated spectra deconvolution routine[J]. *Health Phys*, 2001, 81: 124-137.
- [3] Ostrowski K, Dziedzic-Gostawska A, Stachowicz W, et al. Stable radiation-induced paramagnetic entities in tissue mineral and their use in calcified tissue research [A]. In: Pryar W (Ed), *Free Radicals in Biology*[M], Vol 4, Academic Press, New York, 1980. 321-344.
- [4] Ivannikov AI, Tikunov DD, Skvortsov VG, et al. Elimination of the background signal in tooth enamel samples for EPR-dosimetry by means of physical-chemical treatment[J]. *Appl Radiat Isot*, 2001, 55: 701-705.
- [5] Haskell EH, Hayes RB, Kenner GH, et al. Electron paramagnetic resonance techniques and space biodosimetry [J]. *Radia Res*, 1997, 148: S51-S59.
- [6] Fattibene P, Aragno D, Onori S, et al. Effectiveness of chemical etching for background electron paramagnetic resonance signal reduction in tooth enamel [J]. *Health Phys*, 1998, 75: 500-505.
- [7] Romanyukha AA, Ignatiev EA, Vasilenko EK, et al. Geographic variations in the EPR spectrum of tooth enamel [J]. *Radiat Prot Dosim*, 1999, 84: 445-450.
- [8] Romanyukha AA, Desrosiers MF, Regulla DF. Current issues on EPR dose reconstruction in tooth enamel [J]. *Appl Radiat Isot*, 2000, 52: 1265-1273.
- [9] Chunk V, Bailiff I, Baran N, et al. The first international intercomparison of EPR dosimetry with teeth: first results[J]. *Appl Radiat Isot*, 1996, 47: 1281-1286.
- [10] Haskell EH, Hayes RB, Kenner GH, et al. Achievable resolution and accuracy in EPR dosimetry of tooth enamel [J]. *Radiat Prot Dosim*, 1999, 84: 525-535.
- [11] Ignatiev EA, Romanyukha AA, Koshta AA, et al. Selective saturation method for EPR dosimetry with tooth enamel [J]. *Appl Radiat Isot*, 1996, 47: 333-337.
- [12] Dubovsky S, Kirillov V. Reconstruction of individual absorbed doses by tooth enamel on the base of non-linear simulation of their EPR spectra[J]. *Appl Radiat Isot*, 2001, 54: 833-837.
- [13] Egersdörfer S, Wieser A, Muller A. Tooth enamel as a detector material for retrospective EPR dosimetry[J]. *Appl Radiat Isot*, 1996, 47: 1299-1303.
- [14] Koshta AA, Wieser A, Ignatiev EA, et al. New computer procedure for routine EPR dosimetry on tooth enamel: description and verification[J]. *Appl Radiat Isot*, 2000, 52: 1287-1290.
- [15] Ivannikov AI, Skovortsov VG, Stepanenko VF, et al. Wide scale EPR retrospective dosimetry, results and problems[J]. *Radiat Prot Dosim*, 1997, 71: 175-180.
- [16] Nilsson J, Lund E, Lund A. The effects of UV-irradiation on the ESR dosimetry of tooth enamel [J]. *Appl Radiat Isot*, 2001, 54: 131-139.
- [17] Sholom SV, Haskell EH, Hayes RB, et al. Influence of crushing and additive irradiation procedures on EPR dosimetry of tooth enamel[J]. *Radiat Meas*, 1998, 29: 101-111.
- [18] Yamanaka C, Ikeya M, Hara H. ESR cavities for in vivo dosimetry of tooth enamel[J]. *Appl Radiat Isot*, 1993, 44: 77-80.
- [19] Miyake M, Liu KJ, Tadeusz M, et al. In vivo EPR dosimetry of accidental exposures to radiation: experimental results indicating the feasibility of practical use in human subjects [J]. *Appl Radiat Isot*, 2000, 52: 1031-1038.
- [20] Wieser A, Onori S, Aragno D, et al. Comparison of sample preparation and signal evaluation methods for EPR analysis of tooth enamel[J]. *Appl Radiat Isot*, 2000, 52: 1059-1064.
- [21] Seltzer SM, Romanyukha AA, Nagy V. Monte Carlo calculations of the dose distribution in teeth due to internal exposure from ⁹⁰Sr: application to EPR tooth dosimetry[J]. *Radiat Prot Dosim*. 2001, 93: 245-260.