

指甲电子顺磁共振受照剂量重建误差分析

张腾达 张文艺 张海英 阮书州 焦玲

(北京协和医学院&中国医学科学院放射医学研究所 天津 300192)

摘要 探索采用指甲电子顺磁共振方法进行事故受照剂量重建不准确的误差来源。实验通过比较照射与未照射的指甲样品烘干与未烘干的信号差别,研究水分对信号强度的影响。对样品进行烘干处理后,分别照射至吸收剂量为0、1、2、3和5 Gy,考察烘干后的指甲受照剂量响应。取同一个人的指甲样品,按照拇指、食指、中指、无名指和小指顺序,分别测量它们的本底自由基浓度。结果表明,烘干后样品的电子顺磁共振信号强度大幅度提高,基线更加平稳,对照射与没照射的样品作用是相似的。烘干后的样品,其不同的剂量响应规律依然很混乱,没有良好的规律性。同一人不同手指指甲中的本底自由基含量不同,实验组中最大与最小之间相差可以达到55.89%。不同手指的指甲的BKG信号强度不同,差异很大。水分对于准确的测量也会有影响,应该在以后的研究中加入干燥这一步骤。

关键词 电子顺磁共振,辐射剂量学,指甲

中图分类号 TL72, O536

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2015.rj.33.030501

人体在短时间内受到大剂量电离辐射照射后会引起急性放射损伤,根据受照剂量及其引起的反应,放射损伤分为骨髓型(小于10 Gy)、肠型(10 Gy至50 Gy)和脑型(大于50 Gy)。其中,骨髓型又按受照剂量分为轻度(0–2 Gy)、中度(2–4 Gy)、重度(4–6 Gy)和极重度(6–10 Gy)。不同的损伤类型所采用的救治方法有所差异。电子顺磁共振(Electron paramagnetic resonance, EPR)作为一种可以定性及定量检测自由基的工具在生物、医学和化学领域均得到较广泛应用。电离辐射与人体组织发生反应,会产生大量的自由基^[1],目前比较成熟的测量方法是牙釉质电子顺磁共振剂量学方法,但由于牙釉质EPR适用于离体、健康的白齿,并样品收集有一定困难,样品处理制备较繁琐,从而限制了其在大规模人群受照后的受照剂量重建。而指甲样品获取简单,对受测人员没有二次损伤,样品处理简单,因此引起了研究人员的关注。

使用EPR方法探测指甲中自由基浓度,进行受照剂量重建已经有了一些研究。2014年法国的Trompier等^[2]详细区分了指甲中可能产生的EPR信号,剪切产生的信号有4种(Mechanically induced signals, MIS),即MIS1、MIS2、MIS3和MIS4;辐

射引起5种信号(Radiation induced signals, RIS),即RIS1、RIS2、RIS3、RIS4和RIS5,加上指甲的本底信号(Background Signals, BKG),剪切下来经过照射的指甲,用蒸馏水泡10 min后,可以消除了MIS和RIS1、2、3、4,只剩下了RIS5和BKG两种信号。目前一种可行的方法是收集一个人的指甲,把样品分成 N 份,其中一份作为本底不进行照射并测量其自由基浓度作为BKG信号强度,其他几份样品照射不同的剂量,测量这些样品的RIS信号强度,然后减去未照射样品的BKG信号强度,得到指甲样品的EPR信号强度的剂量响应关系。这种方法在剂量大于100 Gy时较为准确,而在小于10 Gy时没有一个很好的剂量响应关系^[3]。对于在小于10 Gy时为什么剂量响应比较混乱,目前还没有发现原因。研究小于10 Gy范围内指甲EPR的剂量重建,对于快速有效的进行医学应急救治是很有必要的。

国内外的研究团队对于样品的处理流程还未达成共识^[4–6]。对于测量中出现的现象,没有合理的解释。例如水洗消除MIS信号的同时,削弱BKG信号强度,水洗过后一段时间BKG信号强度会恢复。对此现象的原因没有进行解释。BKG信号的稳定对于准确的剂量重建很关键。本文探寻水洗和烘干对

基金资助:中国医学科学院放射医学研究所发展基金公益类(1534)及探索基金(1551)资助

第一作者:张腾达,男,1990年7月出生,2013年毕业于南方医科大学,生物医学工程专业,目前为在读硕士研究生

通讯作者:焦玲,副研究员,Email: jiaoling@irm-cams.ac.cn

收稿日期:初稿 2015-03-30;修回 2015-04-13

BKG 信号的影响以及小于 10 Gy 剂量重建不准确的原因。

1 材料与方法

1.1 样品来源

指甲样品来自于研究所内的工作人员, 包括男性和女性, 年龄范围 24–50 岁, 所有的指甲样品在收集后立即进行实验, 并在 24 h 内完成所有实验。

1.2 测量条件

电子顺磁共振在 X 波段下进行测量, 所有实验均在温度 25 °C, 湿度 40% 的条件下进行。中心磁场为 3510 G, 放大增益是 2000, 调制频率 100 kHz, 调制振幅 5 G, 扫描次数 15, 时间常数 40.96 ms, 扫场时间 20.48 s。使用 Bruker 的 ER 4119HS-2100 型号的标记对信号的 g 因子进行校准。测量后根据样品质量进行信号强度质量归一化。

1.3 仪器

照射使用加拿大原子能公司 Gammacell-40 型号 ^{137}Cs 源。指甲放在小型塑料袋内后, 放入样品托盘中央进行照射, 剂量率为 0.7 Gy/min。

2 结果

2.1 干燥对测量结果的影响

同一人十指的指甲用指甲钳剪成长宽 1–3 mm 的小碎块, 以 20 mg 左右为一份, 取 2 份, 分别照射 0 Gy 和 5 Gy, 然后把照射后的样品泡在蒸馏水中 10 min, 之后取出样品, 用纸巾擦干表面的水分, 在空气中干燥 5 min, 分别在不同的微波功率下进行测量(0.25、0.64、1、2.25、4、6.25、9 和 16 mW)。

测量完成的样品放入鼓风干燥箱中经 70 °C 3 h 的干燥, 去除指甲中的水分^[7], 然后在不同微波功率下(0.25、0.64、1、2.25、4、6.25、9 和 16 mW), 进行 EPR 测量。共测量 3 例。实验的结果如图 1 所示。

样品干燥后, EPR 信号强度大幅度提高, 并且在 1 mW 时, 信号强度与功率的平方根还属于线性区, 1.5 mW 时测量样品的 EPR 信号强度不再随微波功率的升高而增强, 也就是说 1.5 mW 的时候已经达到饱和功率, 不再处于线型区域, 为了避免出现微波功率饱和, 之后的实验微波功率参数均选择 1 mW。照射与未照射样品的微波功率饱和现象相同, 干燥与未干燥样品都没有出现在微波功率过饱和后 EPR 峰峰值下降的现象。

EPR 的谱图如图 2 所示。从图 2 可以更加直观地看出干燥对于 EPR 信号强度的提高, 对照射以及没照射的样品来说, 作用是相同的。并且, 由于信号的增强, 相比较而言基线也变得更加平稳。在有基线漂移的情况下, 读取的峰峰值是不准确的, 所以, 干燥也会使读取的数据更准确。

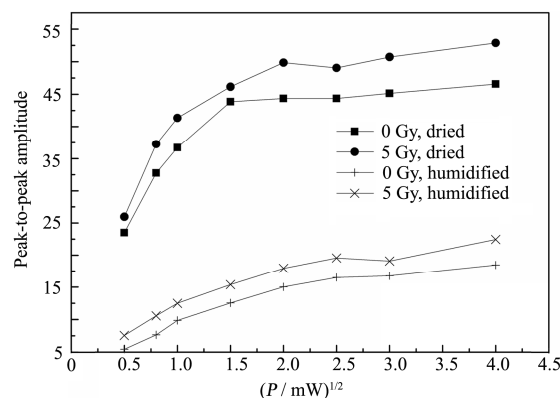


图 1 样品干燥前后在不同微波功率下信号强度的变化

Fig.1 The peak-to-peak amplitude of EPR signal of samples before and after irradiation under a series of microwave power

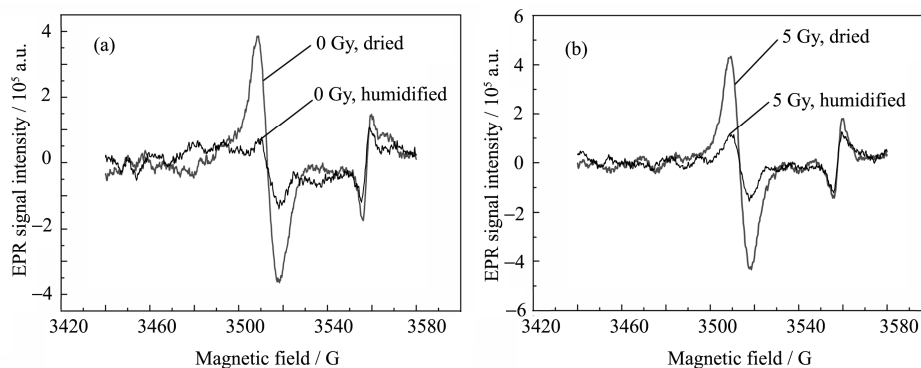


图 2 没照射(a)与照射 5 Gy (b)的样品的 EPR 谱图

Fig.2 The EPR spectra of finger nails irradiated with dose of 0(a) and 5 Gy(b)

2.2 不同吸收剂量对测量结果的影响

同一人10个手指的指甲剪成长宽1-3 mm的小碎块，以20 mg左右为一份，取5份，分别照射至吸收剂量为0、1、2、3和5 Gy，照射后的样品浸于蒸馏水中10 min，之后将样品放入鼓风干燥箱中70 °C 干燥3 h，最后分别在不同的微波功率下进行测量(0.25、0.64、1、2.25、4、6.25、9和16 mW)。共测2例。实验结果如图3所示。

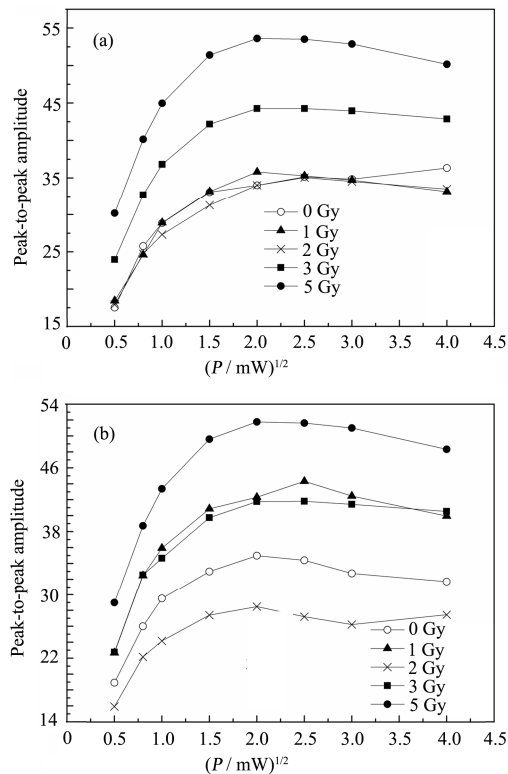


图3 照射0, 1, 2, 3, 5 Gy的样品在不同微波功率作用下的信号强度

Fig.3 Peak-to-peak amplitude of EPR signal of samples irradiated at 0, 1, 2, 3, 5 Gy under different microwave powers

在0-5 Gy范围内，受照剂量与EPR信号峰峰值之间的响应关系比较混乱，没有呈现出明确的规律性，这与以往的研究结果一致。

2.3 不同手指指甲的测量结果

收集一个人的指甲，按拇指、食指、中指、无名指和小指分成5份，分别剪成1-3 mm小碎块放在5个标号托盘里，从每盘中取出一部分(5份质量尽量接近)泡在蒸馏水中10 min，放入鼓风烘干机70 °C 3 h，使用EPR测量。使用Bruker的ER 4119HS-2100型号的标记物作为自旋浓度单位量，EPR测得的样品峰峰值与一起放入谐振腔中的标记物的峰峰值相除，得到相对信号强度。共测5例。实验结果如图4所示。

图4清晰地显示了同一个人的不同手指的BKG信号强度是不同的，并且差异很大。以每个人拇指BKG信号强度为单位量1，其余手指的值取相对值，具体结果见表1。由表1可以清晰的看到，同一人的手指与手指之间的BKG信号强度有很大差异，在我们的实验中，最大与最小相差达到了55.89%。

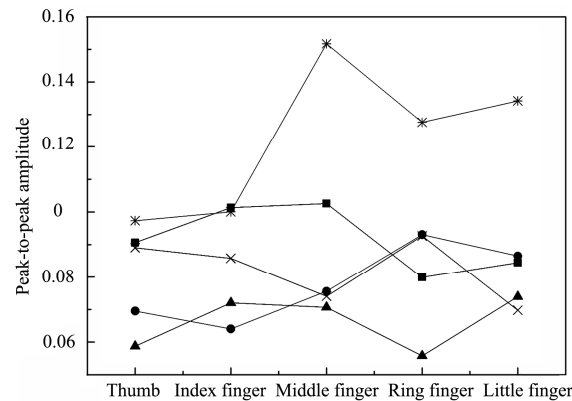


图4 同一人5个手指指甲的BKG信号强度(n=5)
Fig.4 The BKG intensity of fingernails for 5 different fingers

表1 同一人不同手指指甲的相对BKG信号强度
Table 1 Relative BKG intensity of different finger nails of one individual (n=5)

编号 No.	拇指 Thumb	食指 Index finger	中指 Middle finger	无名指 Ring finger	小指 Little finger	最大/最小 Max/Min
1	1	1.1181	1.1315	0.8814	0.9319	1.2685
2	1	0.9211	1.0873	1.3392	1.2450	1.4538
3	1	1.2272	1.2035	0.9500	1.2596	1.3259
4	1	0.9640	0.8315	1.0406	0.7834	1.3283
5	1	1.0279	1.5589	1.3106	1.3786	1.5589

注：拇指的BKG信号强度为1，其余手指相对于拇指的相对强度，最大表示5指中BKG最大的值，最小表示5指中BKG最小的值，最大/最小表示同一个人中BKG信号最大相差的程度。共测5例。

Note: The values of other finger nails were divided by that of thumb nails, which was regarded as the unit amount. Max means the largest value of BKG among five finger nails, and min means the minimum. Max/Min represent the largest differences of BKG in one individual. n=5.

3 讨论

Ignatiev 等^[8]在研究牙釉质的受照剂量重建时,发现辐射诱导信号(RIS)与本底信号(BKG)的微波功率饱和现象是不同的,从而在未饱和区与饱和区挑选两个不同的微波功率,在这两个功率下 BKG 信号强度是一样的,而 RIS 信号强度差异巨大,由此可以使在 EPR 谱图中位置重合的 RIS 信号与 BKG 信号分离开,以消除 BKG 信号对于受照剂量重建的影响。Trompier 等^[2]报道在指甲中, RIS5 与 BKG 信号也有类似的现象。可是在干燥实验中我们没有观察到类似于 Ignatiev 等^[8]报道的牙釉质中的现象,不论样品是干燥还是潮湿。对于自由基的归类,主要的方法是通过 g 值来归类是哪种原子中心的自由基;而 RIS5 与 BKG 信号都出现在 $g=2.004$, 并且水洗都无法消除掉,所以现在研究猜测这两种信号是同一种自由基产生的,只是辐射后的样品中的自由基浓度更高。因此,干燥实验中两种信号的饱和现象相同,似乎更加合理一点。

Choi 等^[7]试图通过 RIS 信号与 BKG 信号在 0.25~1 mW 范围内的微波饱和曲线的斜率不同来,建立一个斜率与受照剂量的函数关系来进行受照剂量重建。主流的方法都是建立代表自由基浓度的信号峰峰值与受照剂量的函数关系,而这种微波功率饱和曲线在某段的斜率与受照剂量通过统计建立起来的函数关系,其原理很难让人理解,合理性不免让人质疑,所以我们没有采用这种方法来分离 BKG 与 RIS,认为目前这两种信号无法分离。那么只能使用照射后得到的 RIS 信号强度减去 BKG 信号强度后的差值,建立与受照剂量的函数关系来进行剂量重建。从图 2 看干燥对于信号强度的提高更加明显,并且可见,干燥后由于样品 EPR 信号的强度大幅提高,使得基线变得更加平整,基本没有基线漂移,更有利于准确读取数据。干燥过后, EPR 信号强度提高的原因,尚未有过讨论。在 Trompier 等^[2]的研究中, RIS5 以及 BKG 信号在 70 °C 的温度下,信号强度是稳定的,所以不是由于温度引起的。我们认为这是由于干燥去除的水分引起的。由水分子的模型(图 5)可知,两个氢离子带有正电荷,氧离子带有负电荷,正负电荷的中心不重合,所以水分子是有极分子,可以简化为一个偶极子。偶极子在恒定电场的作用下,受到力矩会旋转直至稳定。这是一个消耗能量的过程(图 6)。

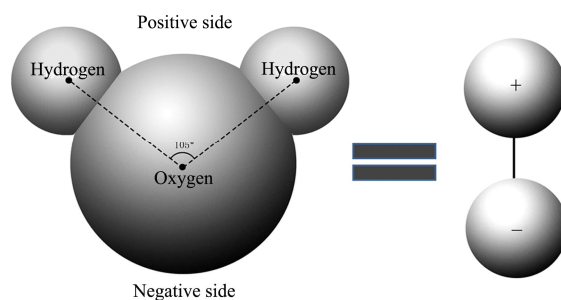


图 5 水分子的偶极子模型
Fig.5 The model of H₂O

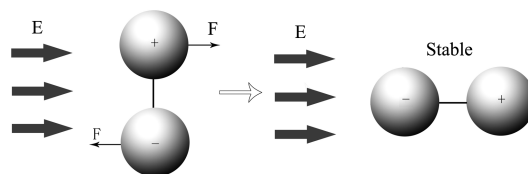


图 6 偶极子在恒定电场下旋转消耗能量
Fig.6 The dipole rotates under constant electric field with energy consuming.

而如果电场的方向时刻在改变,那么水分子就会一直旋转而消耗能量。电子顺磁共振中,为了使自旋未配对电子能级跃迁,在谐振腔中会有以 ω 频率方向变化的电磁波存在, $\omega = -\gamma H$, γ 是旋磁比, H 是磁场强度。所以当设定好微波功率后,有水分子存在的时候,微波的能量一部分消耗在水分子的旋转上,另一部分用来激发电子跃迁上。而 EPR 信号的强度与微波功率的平方根在线性区是成正比的,所以未烘干的样品 EPR 信号强度低于干燥的样品。信号强度与 Q 值有关, Q 值又叫优值,是反映谐振腔内电磁波功率损耗情况的一个量。 Q 值越大,峰峰值越大。在实验中我们发现,干燥样品的 Q 值是 5800,未烘干的样品是 4800。以此原理,可以解释以往实验中发现的诸多现象。以往的研究表明^[2],样品经过水洗去除剪切指甲引起的 MIS 信号后测的 BKG 信号强度,经过反复的水洗,强度都不变,但是样品放在空气中信号强度会逐渐升高,然后在经过水洗后强度又会恢复到最初值,反复几次都获得同样的结果。对于 BKG 信号的这种可恢复性,完全可以用我们提出的水分子耗能理论解释。一个来自韩国的实验组测得指甲在空气中由于失水重量的变化情况^[7],一个来自法国的实验组测的指甲 BKG 信号强度随天数的变化^[2],而把这两个实验结果放在一起,发现 BKG 信号变化的经过的时间与指甲在空气中自然失水的时间相符。Reyes 等^[9]在测量 RIS 稳定性的时候发现,样品在空气中, RIS 信

号强度逐渐增强最后稳定，同样可以用我们的理论解释，并且 Marciniak 等^[10]的水洗对于 EPR 信号的影响中发现的现象，同样可以解释。

由此，明白了水分子的作用，那么烘干样品这个处理流程对于准确的剂量重建就是很有必要的了。Farren 等^[11]给出指甲断层的显微照片，可以清楚的看到指甲中有很多空隙；Reyes 等^[5]的研究表明，指甲像海绵一样有一定的吸水性，提出了一个多孔率的概念，并且有个体差异。如果每一份样品经过水洗后吸水量不同，那么自然 EPR 信号的强度就不一样。按照以往的研究中的处理流程，这是在剂量重建中被忽视的一个误差。干燥这个流程对于精确剂量重建是很有必要的，而我们接下来的实验，按照 Choi 等^[7]对于指甲干燥时间研究结果，都进行了烘干处理。

去除掉水分对于准确剂量重建的影响，按照剂量实验，我们研究了 0、1、2、3 和 5 Gy 各吸收剂量与 EPR 信号强度之间的关系，发现想要准确的剂量重建在 1–5 Gy 内是很困难的。我们没有选择通过大量的样品数据来得到统计结论，因为这样的结论在实际应用中针对于每一个体来说都是不准确的；相反我们试图找到导致这种现象的原因。通过图 1 和图 3 我们可以看到，辐射产生的自由基与指甲本底自由基的浓度是处于同一量级的，在以往的研究中，对于指甲样品的收集处理，研究者们认为同一个人不同手指的指甲中自由基含量，也就是 BKG 信号的强度是相同，没有差别的。Reyes^[12]的研究中表明，在不同人群中，指甲 BKG 信号强度的个体差异性是很小的，只有 8%。人与人的差距如此之小，那同一个人不同手指之间的 BKG 信号强度认为是相同的，就显得合理了。但是不同手指指甲实验结果表明，同一人中不同的手指的信号强度是有很大的差异，远远不止 8%，最大与最小之间的相差很大，在实验中达到了 55.89%。按照我们的结果，BKG 信号的不稳定性必然会影响指甲的受照剂量重建。我们的结果与 Reyes^[5]的结果差异如此之大，可能是样品的处理流程不同所导致，我们对样品进行了烘干处理。水分的存在，会大幅度降低 EPR 信号的强度，从而使原本比较显著的差异，变的更加接近。如果为了使 BKG 信号稳定，那么同样的作用也会作用于 RIS 信号，这样就降低了不同受照剂量之间的分辨率以及探测的灵敏度。所以，我们建议，在样品处理流程中，在 EPR 测量前，加

入干燥这一环节。人的 5 根手指的指甲宽度以及厚度都是不一样的，所以 5 根手指 BKG 信号的不同，是可以理解的。而我们的实验结果显示没有一个明确的规律哪根手指有相对稳定的 BKG 信号，这似乎是有个体差异的，对于 BKG 信号强度的影响因素需要我们进一步的研究。目前我们发现，在小于 10 Gy 内的受照剂量重建，以往的研究中存在两个误差：(1)样品吸水量不同所引起的 EPR 信号强度不同以及水分降低了分辨率使读数的不准确；(2)同一人不同手指的 BKG 信号是不同的，并有很大差异。对于第一类误差，在测量前把样品在 70 °C 条件下干燥 3 h 彻底去除水分，可以解决；对于第二种误差，目前还没有好的解决办法。同一人的同一根手指的指甲，照射不同的剂量后是否还会出现剂量响应混乱，目前尚不清楚。因为实验所使用的是 X 波段微波桥，同一根手指的指甲分成若干份后，质量达不到测量的要求。而 Q 波段的 EPR 可以测量质量更少的样品，希望可以使用 Q 波段 EPR 的研究组，可以对此进行验证。

参考文献

- 1 Reisz J A, Bansal N, Qian J, *et al.* Effects of ionizing radiation on biological molecules- mechanisms of damage and emerging methods of detection [J]. *Antioxid Redox Signaling*, 2014, **21**(2): 260-292.
- 2 Trompier F, Romanyukha A, Reyes R, *et al.* State of the art in nail dosimetry: free radicals identification and reaction mechanisms [J]. *Radiation and Environmental Biophysics*, 2014, **53**(2): 291-303.
- 3 屈喜梅, 刘忠超, 张文艺, 等. 基于辐照后指甲电子顺磁共振谱线的剂量重建 [J]. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2013, **31**(2): 23-26
QU Ximei, LIU Zhongchao, ZHANG Wenyi, *et al.* Dose reconstruction based on EPR spectra of irradiated fingernails [J]. *Radiation Research and Radiation Processing*, 2013, **31**(2): 23-26
- 4 Romanyukha A, Trompier F, Leblanc B, *et al.* EPR dosimetry in chemically treated fingernails [J]. *Radiation Measurements*, 2007, **42**(6-7): 1110-1113.
- 5 Reyes R A, Romanyukha A, Trompier F, *et al.* Electron paramagnetic resonance in human fingernails: the sponge model implication [J]. *Radiation and Environmental Biophysics*, 2008, **47**(4): 515-526.
- 6 He X, Swarts S G, Demidenko E, *et al.* Development and

- validation of an ex vivo electron paramagnetic resonance fingernail biodosimetric method[J]. Radiation Protection Dosimetry, 2014, **159**(1-4):172-181.
- 7 Choi H, Park B, Choi M, *et al.* An alternative method using microwave power saturate in fingernail/electron paramagnetic resonance dosimetry [J]. Radiation Protection Dosimetry, 2014, **159**(1-4): 164-171.
- 8 Ignatiev E A, Romanyukha A A, Koshta A A, *et al.* Selective saturation method for EPR dosimetry with tooth enamel [J]. Applied Radiation and Isotopes, 1996, **47**(3): 333-337.
- 9 Reyes R A, Trompier F, Romanyukha A. Study of the stability of EPR signals after irradiation of fingernail samples [J]. Health Physics, 2012, **103**(2): 175-180.
- 10 Marciniak A, Ciesielski B, Prawdzik-Dampc A. The effect of dose and water treatment on EPR signals in irradiated fingernails [J]. Radiation Protection Dosimetry, 2014, **162**(1-2): 6-9.
- 11 Farren L, Shayler S, Ennos A R. The fracture properties and mechanical design of human fingernails [J]. Journal of Experimental Biology, 2004, **207**(5):735-741.
- 12 Reyes R A, Romanyukha A, Olsen C, *et al.* Electron paramagnetic resonance in irradiated fingernails: variability of dose dependence and possibilities of initial dose assessment [J]. Radiation and Environmental Biophysics, 2009, **48**(3): 295-310.

Error analysis of dosimetry by fingernail electron paramagnetic resonance

ZHANG Tengda ZHANG Wenyi ZHANG Haiying RUAN Shuzhou JIAO Ling

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

ABSTRACT The aim is to find errors of electron paramagnetic resonance dosimetry in fingernails. By comparing the EPR intensity of irradiated and unirradiated fingernail samples with/without dehydration, influences of water content on EPR measurements were investigated. The samples irradiated at 0, 1, 2, 3, 5 Gy were measured after dehydration to search the dose-response relationship. The BKG intensity of fingernails for 5 different fingers on one individual was measured. The experimental results showed that the signal intensity of samples dehydrated was higher than that without dehydration for both the irradiated and unirradiated samples, and the base line was flatter. The dose-response relationship was still disordered. The BKG intensity of fingernails for 5 different fingers was quite different. The biggest difference among experimental groups was 55.89%. As described above, the radical concentration of 5 different fingers' nails was different, and cannot be regarded as the same with that other researchers previously did. Since the water content in fingernails influences the radiation dosimetry, the procedure of dehydration should be added before measurements in future investigation.

KEYWORDS Electron paramagnetic resonance, Radiation dosimetry, Fingernails

CLC TL72, O536