

EGÉSZSÉGÜGYI
FŐISKOLAI
JEGYZETEK 6.

BIOLÓGIAI IZOTÓPTECHNIKA

A MOLEKULÁRBIOLÓGUS MESTERKÉPZÉS,
VALAMINT ORVOSI LABORATÓRIUMI
ÉS KÉPALKOTÓ DIAGNOSZTIKAI ANALITIKUS
ALAPKÉPZÉS HALLGATÓI SZÁMÁRA

Szerkesztette:
VARGA JÓZSEF



DEBRECENI EGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR

BIOLÓGIAI IZOTÓPTECHNIKA

A MOLEKULÁRBIOLÓGUS MESTERKÉPZÉS,
VALAMINT ORVOSI LABORATÓRIUMI
ÉS KÉPALKOTÓ DIAGNOSZTIKAI ANALITIKUS
ALAPKÉPZÉS HALLGATÓI SZÁMÁRA

Szerkesztette:
VARGA JÓZSEF



Debreceni Egyetemi Kiadó
Debrecen University Press
2015

Egészségügyi Főiskolai Jegyzetek 6.

Sorozatszerkesztők:
DR. LUKÁCSKÓ ZSOLT
DR. FÁBIÁN GERGELY
TAKÁCS PÉTER

A 2006. és 2011. évi kiadás változatlan utánnomása

A kötetet lektorálta:
Lenkey Ágota
Balogh Ádám

Borítóterv:
VARGA JÓZSEF
TAKÁCS PÉTER

ISBN 978 963 318 144 7

© Debreceni Egyetemi Kiadó Debrecen University Press,
beleértve az egyetemi hálózaton belüli elektronikus terjesztés jogát is

Kiadta a Debreceni Egyetemi Kiadó Debrecen University Press
www.dupress.hu

Felelős kiadó: Karácsony Gyöngyi
Készült a Debreceni Egyetem sokszorosító üzemében, 2015-ben.

TARTALOMJEGYZÉK

I.	BEVEZETÉS.....	5
I.1.	KIKNEK SZÓL EZ A TANKÖNYV?.....	5
I.2.	RADIOAKTÍV KÉSZÍTMÉNYEK ORVOSI ÉS BIOLÓGIAI ALKALMAZÁSAI.....	6
I.3.	TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉS	8
II.	ATOMFIZIKAI ALAPOK	10
I.1.	AZ ATOM FELÉPÍTÉSE.....	10
II.1.	RADIOAKTÍV SUGÁRZÁS.....	10
II.2.	A RADIOAKTÍV BOMLÁS JELLEMZŐI	14
II.3.	BOMLÁSI JELLEMZŐK KIKERESÉSE.....	16
II.4.	SUGÁRZÁS ÉS ANYAG KÖLCSÖNHATÁSA	17
III.	A SUGÁRZÁS DETEKTÁLÁSA	23
III.1.	SZCINTILLÁCIÓS SZÁMLÁLÓ.....	23
III.2.	GÁZIONIZÁCIÓS DETEKTOROK	26
III.3.	DETEKTORTÍPUSOK FELHASZNÁLÁSI TERÜLETEI	28
III.4.	SUGÁRZÁSMÉRÉSI EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE	29
IV.	SUGÁRHATÁSOK ÉS SUGÁRVÉDELEM.....	35
IV.1.	FIZIKAI DOZIMETRIA	35
IV.2.	EGYSÉGES SUGÁRVÉDELMI MÉRŐSZÁM: EFFEKTÍV DÓZIS	38
IV.3.	AZ IONIZÁLÓ SUGÁRZÁS BIOLÓGIAI HATÁSAI	39
IV.4.	SUGÁRVÉDELEM.....	42
IV.5.	A SUGÁRZÓ ANYAGOKKAL VÉGZETT MUNKA GYAKORLATA	49
V.	KÍSÉRLETI CÉLÚ ALKALMAZÁSOK.....	54
V.1.	LÁGY BÉTA-SUGÁRZÓK MÉRÉSE (LSC)	54
V.2.	AUTORADIOGRÁFIA	58
V.3.	FEHÉRJÉK JELZÉSI MÓDSZEREI.....	60
V.4.	KÖTÉSI VISZONYOK VIZSGÁLATA.....	64
V.5.	NUKLEINSAV PRÓBÁK JELÖLÉSE	71
VI.	GYÓGYÁSZATI ALKALMAZÁSOK.....	78
VI.1.	„ <i>IN VITRO</i> ” IZOTÓPDIAGNOSZTIKA	78
VI.2.	RADIOFARMAKONOK ELŐÁLLÍTÁSA ÉS MINŐSÉGELLENŐRZÉSE.....	92
VI.3.	„ <i>IN VIVO</i> ” IZOTÓPDIAGNOSZTIKA	99
VI.4.	RADIOIZOTÓP-TERÁPIA	111
VII.	GYAKORLATOK.....	113
VII.1.	IZOTÓPHÍGÍTÁSOS ANALÍZIS	113
VII.2.	GM-CSŐ KARAKTERISZTIKÁJA ÉS HOLTIDEJE.....	117
VII.3.	A ^{137}M Ba MAGIZOMER FELEZÉSI IDEJÉNEK MEGHATÁROZÁSA	122
VII.4.	GAMMA-SUGÁRZÁS ENERGIÁJÁNAK MÉRÉSE GAMMA-SPEKTROMETRIAI MÓDSZERREL.....	124
VII.5.	FEHÉRJE JELZÉSE ^{125}I IZOTÓPPAL	127
VII.6.	FOLYADÉKSZCINTILLÁCIÓS SZÁMLÁLÁS	128
VII.7.	TIROXIN (T4) SZÉRUM KONCENTRÁCIÓ MÉRÉSE KOMPETITÍV ^{125}I -JELZETT RADIOIMMUNOASSAY KÉSZLETTEL.....	130
VII.8.	DOZIMETRIAI MÉRÉSEK	133
VIII.	FÜGGELÉK.....	134
VIII.1.	A LEGGYAKRABBAN HASZNÁLT RADIONUKLIDOK BOMLÁSI ADATAI	134
VIII.2.	AJÁNLOTT IRODALOM	137

Kötetünk szerzői:

Bíró Sándor egyetemi docens DE Humángenetikai Intézet	V.5
Csongor József ny. tudományos főmunkatárs DE Nukleáris Medicina Tanszék	III.2, IV.5, V.1, V.2, V.3, V.4, VII.5, VII.6
Groska Erika vezető fizikus Pándy Kálmán Megyei Kórház, Sugárfizikai és Sugárvédelmi Csoport	IV.1, IV.3
Kónya József ny. egyetemi tanár DE Kolloid- és Környezetkémiai Tanszék Izotópalkalmazási Részleg	VII.1, VII.2 VII.3, VII.4
Környei József egyetemi docens DE Környezetfizikai Tanszék	VI.2
Lenkey Ágota biológus DE KBMPI	VI.1, VII.7
Nagy Noémi egyetemi docens DE Kolloid- és Környezetkémiai Tanszék Izotópalkalmazási Részleg	VII.1, VII.2, VII.3, VII.4
Varga József egyetemi docens DE Nukleáris Medicina Tanszék	I, II, III.1, III.3, III.4, IV.2, IV.3, IV.4, V.4, VI.3, VI.4, VII.8, VIII

I. Bevezetés

Varga József

I.1. Kiknek szól ez a tankönyv?

Azóta, hogy a XX. század első felében *Hevesy György* magyar származású vegyész kidolgozta, és elsőként alkalmazta a radioizotópos nyomjelzés technikáját, a radioizotópos módszerek fontos szerepet töltenek be az orvosi-biológiai gyakorlatban mind a gyógyítás, mind a kutatás területén. Míg az orvostanhallgatók „*Nukleáris Medicina*” tantárgyához előbb elektronikus [3], majd nyomtatott tankönyvünk [2] is megjelent, a molekulárbiológus és laboranalitikus hallgatók „*Izotóptechnika*” tárgyához korábban ajánlott kézikönyv [1] ma már szinte megszerzethetetlen. Az elmúlt évtizedek metodikai újdonságok sorozatát hozták, ezzel egyidejűleg a magyar laboratóriumi diagnosztika és kutatás infrastruktúrája, szerkezete, személyi összetétele és elvárásai is lényegesen átalakultak. Mindezek egyre sürgetőbbé tették egy új jegyzet kidolgozását a betegekkel közvetlen kapcsolatban nem álló laboratóriumi szakemberek képzéséhez.

Jelen jegyzetünk célja, hogy a molekulárbiológus és laboratóriumi analitikus képzésben részt vevők megismerjék a radioizotópos metodikák alapelveit és az orvosi-biológiai laboratóriumi munkában előforduló fő alkalmazási területeit, ezáltal egy kiinduló pontot kapjanak ilyen metodikák alkalmazási környezetének kialakításához és bevezetésének előkészítéséhez. Nem célja ugyanakkor ennek a kurzusnak az izotóplaboratóriumi asszisztensektől és diplomás szakemberektől elvárt részletességű ismeretek nyújtása, az „in vivo” izotópdiagnosztika és –terápia területének pedig csak labortechnikai vonatkozásaira tér ki.

I.2. Radioaktív készítmények orvosi és biológiai alkalmazásai

A. Gyógyászati alkalmazások (Nukleáris Medicina)

A Nukleáris Medicina (a továbbiakban: NM) *nyílt radioaktív készítmények* gyógyászati célú felhasználásával foglalkozó szakterület. *Nyílnak* az olyan radioaktív összetevőt tartalmazó készítményt nevezünk, amely a felhasználáskor a környezetével elkeveredhet ill. kémiai reakcióban is részt vehet.

A NM létrejöttének alapja a *radioaktív nyomjelzési technika* kidolgozása volt, amelyért *Hevesy György* magyar származású vegyész 1943-ban kémiai Nobel-díjat kapott. Ennek lényege, hogy ha egy vegyület valamelyik atomját annak sugárzó izotópjával helyettesítjük, a kapott „radioaktívan jelzett” anyag kémiai és biológiailag az eredeti, nem sugárzó vegyülettel azonosan viselkedik. A radioaktívan jelzett készítmények felhasználásával nyomon követhetjük egy adott vegyület (illetve származékai) mozgását, viselkedését kémiai reakciók során, vagy akár egy élő szervezetben is, külső sugárzás-érzékelők segítségével. A mai műszerekkel olyan kis mennyiségű anyagot lehet sugárzása alapján kimutatni a szervezetben, amelynek jelenléte a vizsgálni kívánt szerv működését nem változtatja meg (ellentétben egyes röntgenkontrasztanyagokkal), így lehetővé vált a *funkció* közvetlen leképezése.

Hevesy György (Bp., 1885 - Freiburg, 1966). Bevezette a radioaktív izotópok alkalmazását először az analitikában, majd a biológiai vizsgálatokban. Costerrel, Rutherforddal, majd Bohrral dolgozott együtt, és egyeduralkodó szerepet töltött be a radioaktív nyomjelzéses vizsgálati módszerek kifejlesztésében és alkalmazásában a rákkutatás és más orvosi kutatások területén.

A Nukleáris Medicina részterületei:

- *"In vivo" izotópdiagnosztika:* Élő szervezetben végbemenő folyamatok nyomon követése a vizsgált egyednek beadott radioaktív készítmény segítségével. (Ld. VI.2, VI.3)
- *"In vitro" izotópdiagnosztika:* Valamely anyag koncentrációjának mérése vérből, vizeletből vagy más preparátumból sugárzásméréseken alapuló eljárás segítségével. Ilyenkor a vizsgált egyed nem érintkezik radioaktív anyaggal, csak a tőle levett minta. (Ld. VI.1)
- *Radioizotóp-terápia:* Nyílt radioaktív preparátum beadása betegeknél terápiai céllal. (Ld. VI.4)

B. Kutatási alkalmazások

A nyílt radioaktív készítmények orvosi-biológiai kutatási alkalmazásainak fő céljai:

(a) „*In vivo*” és „*in vitro*” izotópdiagnosztikai módszerek alkalmazása kutatási célból

Míg a diagnosztikai alkalmazások célja egyetlen személy (egyed) állapotának megítélése, addig kutatási célból általában csoportokat hasonlítunk össze, amelyek egészségi állapota különböző, vagy amelyek különböző hatásoknak (pl. kezelés) voltak kitéve.

A megválaszolendő kérdések például ilyenek lehetnek:

- Hogyan változik meg egyes szervek működése bizonyos betegségekben?
- Alkalmas-e adott típusú vizsgálat valamilyen betegség azonosítására? (Ez a diagnosztikai célú felhasználás előkészítése ill. igazolása.)
- Különböző (radioizotópos és egyéb) metodikák összehasonlítása, pl. az egyszerűbb/olcsóbb eljárás használhatóságának igazolására.
- Javít-e bizonyos kóros állapotban egy adott (gyógyszeres vagy egyéb) kezelés, illetve meg tudja-e akadályozni a kóros állapot kialakulását?

(b) Molekuláris leképezés, „*molecular imaging*”

Ez a dinamikusan fejlődő terület a molekuláris- és sejtbiológia eszközeit ötvözi modern, nem-invazív leképezési módszerekkel. Célja módszerek és technológiák kifejlesztése az élő szervezetben végbemenő molekuláris- és sejtszintű történések leképezésére.

Különösen fontos terület a gyógyszerek és más vegyületek kinetikájának vizsgálata. Ennek alapja, hogy bármilyen vegyület mozgása nyomon követhető a szervezetben, ha valamelyik atomja radioaktív, akár „*in vivo*” (PET vagy gamma-kamerás, ld. VI.3), akár „*ex vivo*” (pl. autoradiográfiás, ld. V.2) leképezéssel. Az utóbbi esetben a radioaktív készítményt beadjuk az élő egyednek, azután a test valamelyik részéből (esetleg az állat leölése után) metszeteket készítünk, és azt képezzük le.

Felszívódási-beépülési vizsgálatok szövetmintákon is végezhetők, a sejten belüli részletek leképezésére azonban a jelenlegi gamma- és PET-kamerák felbontása nem elég, csak az autoradiográfiáé.

(c) Különböző laboratóriumi analitikai módszerek kombinálása radioaktív nyomjelzéssel

Ez a terület a molekuláris leképezés „*in vitro*” megfelelője, amikor a molekuláris biológia különböző módszereit egészítik ki radioaktív nyomjelzéssel. (Ld. V. fejezet.)

I.3. Történeti áttekintés

I.3-1. táblázat: A radioaktivitás orvosi-biológiai alkalmazásának mérföldkövei

Év	Esemény	Nobel-díj
1895	A. H. Becquerel felfedezte a radioaktivitást (urán)	1903
1898	Marie és Pierre Curie felfedezte a rádiumot és a polóniumot	1903
1899	E. Rutherford felfedezte, hogy az U α - és β -részecskéket bocsát ki	1908
1900	Villard felfedezte a γ -sugárzást	
1911	Rutherford ismertette atommag-modelljét	
1913	F. Soddy javasolta az "izotóp" elnevezést	1921
1919	Rutherford felfedezte, hogy az anyag szerkezete megváltoztatható α -bombázással	
1923	Hevesy György elvégezte az első Pb-radioizotópos nyomjelzéses vizsgálatot növények Pb-anyagcseréjének vizsgálatára. Hevesy felismerte, hogy a radioizotópok nem változtatják meg az atomok biokémiai tulajdonságait.	1943
1923	Blumgart először használt radioizotópokat klinikai diagnosztikai célra.	
1928	Geiger és Müller (GM) módszert dolgozott ki a sugárzás gázionizációs detektálására.	
1932	C. Anderson felfedezte a pozitront.	1936
1934	E. O. Lawrence megépítette az első ciklotront mesterséges radioaktív anyag előállítására.	1939
1934	I. Joliot Curie leírta a mesterséges radioaktivitást, és a N-13 és P-30 pozitron-sugárzását.	1935
1934	E. Fermi neutronot alkalmazott radionuklidok előállítására.	1938
1936	J. Lawrence először alkalmazott P-32-t kezelésre.	
1938	Tc-99m első előállítása (de még sokáig nem használták).	
1939	Hamilton először használt jód-131-et a pajzsmirigy-működés vizsgálatára.	
1942	Felépült az első atomreaktor (Oak Ridge)	
1943	Pajzsmirigy-rákot kezeltek I-131-gyel.	
1948	Először használták Co-60-at rák kezelésére.	
	R. Hofstadter felfedezte és kifejlesztette az első nátrium-jodid kristályos szcintillációs gamma-számlálót.	1961
1949	DeBenedetti leírta a pozitron-kibocsátás következtében fellépő megsemmisülési sugárzást.	
1951	B. Cassen megépítette az első radioizotóp-scannert.	
	M. Hamolsky összeállította az első in vitro izotópdiagnosztikai eljárást	

<i>Év</i>	<i>Esemény</i>	<i>Nobel-díj</i>
	(T3 hormon mérésére).	
1957	Hal Anger elkészítette az első gamma-kamerát.	
1960	W. Meyer bevezette a jód-125 alkalmazását in vitro vizsgálatokban.	
1960	R. Yalow (S. Bersonnal közösen) kidolgozta az első radioimmunoassay- összeállítást (inzulin mérésére)	1977
1963	Kuhl és Edwards kifejlesztett egy emissziós tomográfot, a SPECT előfutárát.	
1975	A Tl-201-es szívizom-perfúziós vizsgálatok nagy hatást gyakoroltak a Nukleáris Medicinára. M. Ter-Pogossian, M. Phelps és E. Hoffman bemutatta az első PETT scannert (Positron Emission Transaxial Tomography)	
1977	Kayes és Jaszczak (függetlenül) kifejlesztette a SPECT-et	
1980	A számítógépek széles körű alkalmazása a NM leképezésben.	
2000	PET kombinálása CT-vel.	

II. Atomfizikai alapok

Varga József

I.1. Az atom felépítése

Az *atom* az anyag azon legkisebb építőköve, amely a kémiai reakciókban részt vesz. Igen kis térfogatra koncentrálódó pozitív töltésű atommagból, és azt felhőként körülvevő elektronburokból áll. Maga az *atommag* is belső szerkezettel bír: *protonok* és *neutronok* építik fel. Ezeket közös néven *nukleonoknak* nevezik.

- A magban levő protonok száma, a *rendszám* határozza meg az atom kémiai jellegét. A rendszám megadása egyenértékű a kémiai elem megnevezésével. (Pl. a 6-os rendszámú elem a szén.)
- A magban levő nukleonok száma a *tömegszám*. Egy elemnek többféle tömegszámú változata lehetséges; mivel ezek a periódusos rendszer azonos helyén vannak, az adott elem izotópjainak (görögül "azonos helyen levőknek") nevezzük őket.

Egy adott izotópot az elem nevének és a tömegszámának megadásával jellemzünk, pl. C-13 vagy ^{13}C . (Időnként kiírják a rendszámot is, bár azt a vegyjel már meghatározza: $^{13}_6\text{C}$.

II.1. Radioaktív sugárzás

A. Az atommag energiaállapota

A nukleonokat az ún. *magerők* tartják össze, a protonok között az azonos töltés miatt fellépő taszítás ellenére. Az egy nukleonra jutó átlagos kötési energia a rendszámtól és a tömegszámtól is függ, és kb. a 120-as tömegszám környékén a legnagyobb. Ez azt eredményezi, hogy:

- Az igen nehéz magok kedvezőbb energia-helyzetbe kerülnek, ha két közepes méretűre *hasadnak*. Az ekkor felszabaduló energiát hasznosítják az atomerőművek és az atombombák.
- A legkönnyebb magok nagyobb magokká olvadhatnak össze. Ezt a jelenséget *magfúzió*nak nevezzük. A felszabaduló energia adja a napok melegét és a hidrogénbomba pusztító erejét, és kísérletek folynak fúziós erőmű kidolgozására.
- A nehéz magokról könnyen leszakadhat egy két protonból és két neutronból álló ún. alfa-részecske (He^{++} ion); ezt alfa-bomlásnak is nevezik.
- Protonok és neutronok egymásba átalakulhatnak (ld. a B pontot).

Az elem nem stabil változatait *radioaktív (=sugárzó) izotópoknak*, vagy radionuklidoknak nevezzük.

Magátalakulás úgy is előidézhető, ha az atommagot különböző részecskékkel bombázzák; ez lehetővé teszi a radioaktív anyagok mesterséges előállítását. Orvosi-biológiai célokra szinte kizárólag mesterségesen előállított radioaktív anyagot használunk (ld. VI.2), mert a számunkra kedvezőbb rövid felezési idejű anyagok (gyors lebomlásuk miatt) a természetben nem fordulnak elő olyan koncentrációban, hogy gazdaságosan ki lehetne őket vonni.

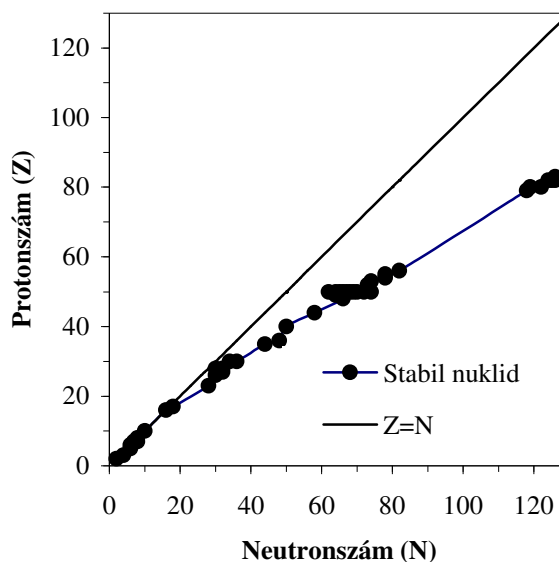
Az orvosi-biológiai gyakorlatban szerepet játszó magátalakulásokat a következő szakaszok részletezik, legfontosabb jellemzőiket ld. a II.1-1. táblázatban.

II.1-1. táblázat: Az orvosi-biológiai gyakorlat számára legfontosabb magátalakulások jellemzői

Bomlási mód:		Távozik	Változás:	
Neve	Jele		Rendszám	Tömegszám
alfa	α	$2p+2n$ (${}^4_2\text{He}^{++}$)	-2	-4
béta	β^-	e^-	+1	0
pozitív béta	β^+	e^+	-1	0
elektronbefogás	EC	(kar. rtg.)	-1	0
izomer magátalakulás	γ	γ	0	0

B. Béta- és gamma-sugárzás

Egy adott rendszámnál az átlagos kötési energia akkor a legnagyobb, ha a neutronok száma a magban a könnyebb elemek esetén kb. azonos, a nehezebbek esetén valamivel nagyobb a protonok számánál. Az ilyen stabil atommagok proton- és neutronszámanak összefüggése az ún. *stabilitási görbe* (ld. II.1-1. ábra). Az optimális aránytól eltérő magok nem stabilak, hanem átalakulnak az alábbi bomlási módok valamelyikével.



II.1-1. ábra: Stabilitási görbe

(a) Béta-bomlás (β^-)

Ha a magban neutrontöbblet van, úgynevezett (negatív) béta-bomlás mehet végbe: egy neutron átalakul protonná, miközben egy elektron és egy ún. antineutrínó is keletkezik:



(b) Pozitív béta- (pozitron-) bomlás (β^{+})

Ha pedig a magban protontöbblet van, pozitív béta-bomlás következhet be: egy proton alakul át neutronná, miközben egy pozitron és egy neutrínó is keletkezik:



A pozitív béta-bomlás speciális esete, amikor a magból ténylegesen nem távozik pozitron, hanem helyette befog egy héj-elektront, és így csökken eggyel a mag töltése (vagyis a rendszám); ezt a jelenséget elektronbefogásnak, vagy - mivel általában a legbelső, K héj elektronjáról van szó - *K-befogásnak* hívják:



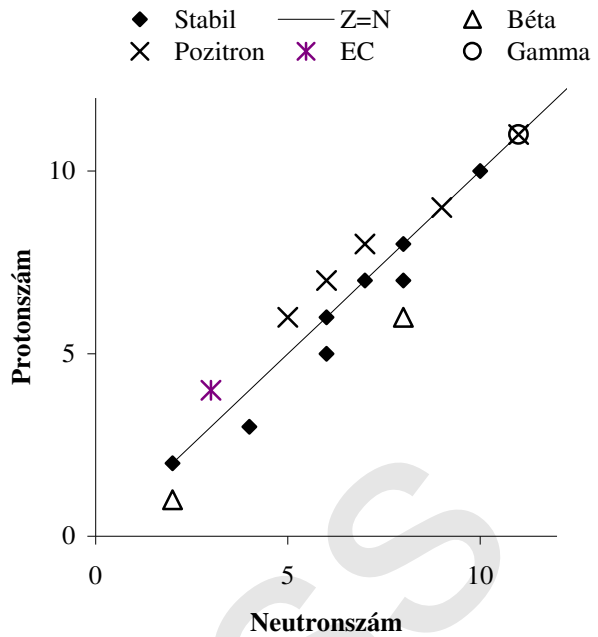
Ilyenkor a K-héjon keletkezett lyukba hamarosan beesik egy eredetileg magasabb energiaállapotú elektron, és az energiakülönbség a meghatározott energiájú *karakterisztikus röntgensugárzás* formájában távozik.

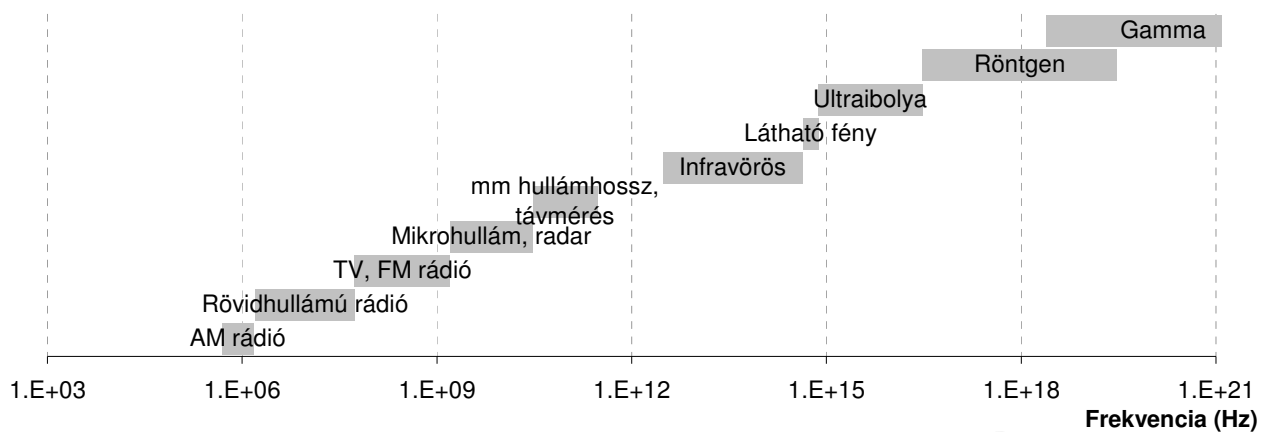
(c) Elektromágneses sugárzás

Az elektromágneses hullámok energiacsomagok, amelyek részecskeként és hullámként is viselkednek. Jellemzőjük, hogy frekvenciájuk (f) és energiájuk (E) között egyenes arányosság áll fenn, az arányossági tényező a Planck-állandó ($h=6.626 \cdot 10^{-34}$ J·s):

$$E = h \cdot f \quad (\text{II.1-4})$$

Az elektromágneses hullámok különböző fajtáit és ezek frekvenciatartományát a II.1-3. ábra foglalja össze.





II.1-3. ábra: Az elektromágneses spektrum

Gamma-sugárzás

Bármelyik bomlási mód esetén a keletkező energia egy része szigorúan meghatározott energiájú elektromágneses hullámcsomag: foton (vagy fotonok) formájában távozik a magból; ezt *gamma-sugárzás*nak hívják.

Előfordul, hogy a magátalakulás eredményeként létrejött új mag nem az alap-, hanem gerjesztett (magasabb) energiaállapotban van. Ez csak átmeneti, ún. *metastabil* mag, amely később egy gamma-foton kibocsátásával az alapállapotba megy át. A metastabil állapotot a tömegszám után írt „m” betűvel jelezzük, pl.: Tc-99m ill. ^{99m}Tc .

Röntgensugárzás

A *röntgensugárzás* a gamma-sugárzáshoz hasonlóan elektromágneses hullám; attól abban különbözik, hogy az elektronhéjban keletkezik, nem pedig az atommagban. Röntgensugárzás két módon keletkezhet:

- Ha töltött részecske (általában elektron) elektromos térben lassul, energiáját folytonos spektrumú ún. *fékezési röntgen* („bremsstrahlung”) formájában adja le, ld. II.4.A(c).
- Ha egy héjelektron alacsonyabb energiaszintre megy át, a két energiaállapot közötti különbséggel egyenlő energiájú *karakterisztikus röntgensugárzás* jön létre.

Az elektronhéjból egy elektron távozását, amelyet hamarosan karakterisztikus röntgensugárzás kísér, kívülről érkező sugárzás (pl. II.4.B(a)), és magátalakulás is előidézhetheti. Ez utóbbi legfontosabb esetei:

- Az elektronbefogás (ld. II.1.B(b)) következtében keletkezett lyukba hamarosan beesik egy eredetileg magasabb energiaállapotú elektron, és az energiakülönbség *karakterisztikus röntgensugárzás* formájában távozik.

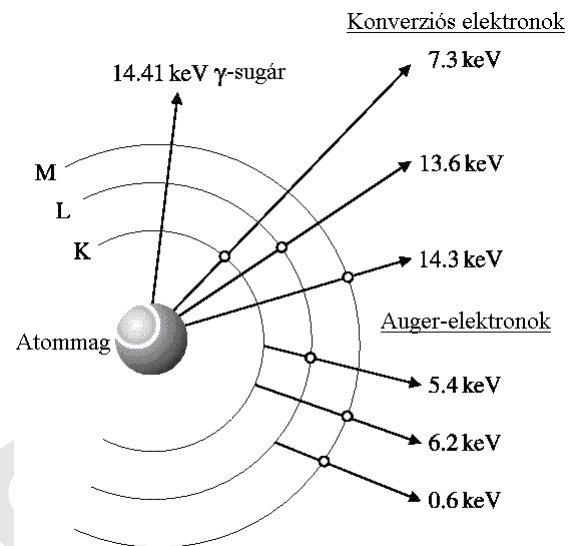
- A gerjesztett mag energiáját egy (leggyakrabban K, esetleg M vagy N) héjelektronnak is átadhatja (ld. II.1-4. ábra). Ez a *konverziós elektron* az $E_{\text{gerjesztési}} - E_{\text{ionizációs}}$ (jól meghatározott) energiával távozik, és a béta-sugárzáshoz hasonlóan viselkedik.
- Maga a karakterisztikus röntgensugárzás is magasabb energianívóra gerjeszthet elektronokat, hiszen energiája pontosan két héjelektron-szint különbségével egyenlő. A karakterisztikus röntgen által kilökött elektronokat *Auger-elektronoknak* hívják.

Ezeket az eseteket a II.1-4 ábra szemlélteti.

Gamma-sugárzás béta nélkül?

A gamma-sugárzás mindig valamilyen más magátalakulás kísérő jelensége, önállóan nem fordul elő. Ugyanakkor az „*in vivo*” alkalmazásoknál, amikor mérés-technikai okokból gamma-sugárzást szeretnénk mérni (ld. később), kívánatos, hogy a beteg sugárterhelését feleslegesen ne növelje az esetleges béta-sugárzás. Ezért a gyakorlat szempontjából különlegesen fontosak azok az esetek, amikor az atomból csak elektromágneses sugárzás távozik, részecske nem. Ez történik:

- *Metastabil magoknál*, amikor a béta-bomlás időben megelőzi a gamma-foton kibocsátását. A betegnek a már tisztán gamma-sugárzó metastabil radioizotópot tartalmazó készítményt adjuk be.
- *Az elektronbefogásnál*, amikor részecske (elektron) csak az atomon belül, elsődlegesen általában a K-héj és a mag, másodlagosan az elektronhéjak között mozog, és az atomból csak gamma- és röntgen-fotonok szállnak ki.



II.1-4. ábra: A Fe-57 bomlási sémája 14.41 keV-es gerjesztett állapotból.

A konverziós elektronokat a magból érkező gamma-sugárzás, míg az Auger-elektronokat karakterisztikus röntgensugárzás váltja ki.

II.2. A radioaktív bomlás jellemzői

Egy sugárzó anyag jellemzésekor elsősorban azt kell megadni, hogy:

- milyen fajtájú a sugárzás (alfa, béta, gamma)
- milyen a keletkezett részecskék energiája
- mekkora a minta radioaktivitása, azaz átlagosan hány bomlás történik időegységenként, és
- milyen gyorsan csökken a minta radioaktivitása.

A. A sugárzás energiája

Az atomi részecskék energiáját általában *elektronvolt*-ban (*eV*) szokás megadni. 1 eV az az energia, amelyet az elemi töltésű részecske 1 V feszültségen gyorsulva felvesz. ($1 \text{ eV} \approx 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ J}$)

(a) Béta-sugárzás

Béta-bomlásnál az elektron és az antineutrínó, illetve a pozitron és a neutrínó együttesen egy jól meghatározott energiát kap. Ez az energia azonban a két részecske között tetszőleges arányban oszlik meg, így a béta-sugárzás (azaz az elektron illetve pozitron) energiája folytonos spektrumú: vagyis a béta-részecske bármilyen mozgási energiájú lehet 0 és egy maximális érték között. Az adott béta-bomlásra a maximális energia (E_{max}) és az átlagos energia értéke jellemző.

(b) Gamma-sugárzás

A gammarészecskét alkotó hullámcsomag energiája és frekvenciája között egyenes arányosság van, ld. II.1.B(c). A gamma-sugárzás spektruma *vonalas*, azaz egy adott magátalakulási folyamat részeként egy vagy néhány, jól meghatározott energiájú gamma-foton keletkezik.

B. A radioaktivitás mértéke

Az atommag bomlása *statisztikai* jelenség: nem lehet pontosan megmondani, hogy egy adott instabil mag mikor fog elbomlani, csak annyit tudhatunk, mekkora a valószínűsége, hogy a bomlás egy bizonyos időn belül végbemegy. Két alapvető statisztikai törvény érvényes erre a jelenségkörre.

(a) Bomlási törvény

Ha egy bizonyos radioaktív atomot tartalmazó mintában N_0 bomlás megy végbe időegységenként, akkor azt, hogy t idő eltelte után várhatóan hány bomlás fog történni időegységenként, *exponenciális* függvény írja le:

$$N = N_0 \cdot 0.5^{t/T} \quad (\text{II.2-1})$$

A T -vel jelölt *felezési idő* értéke jellemző az adott radioizotópra. Szemléletesen azt adja meg, hogy a kibocsátott sugárzás T idő múlva felére, $2 \cdot T$ idő múlva negyedére, $3 \cdot T$ idő múlva nyolcadára csökken, és így tovább.

A (II.2-1) képletnek van egy másik olvasata is: ha kezdetben egy mintában N_0 darab még bomlásra képes atommag van, akkor t idő múlva várhatóan N darab marad még bomlásra képes.

A radioaktivitás egysége a *becquerel*. 1 Bq az aktivitása annak a radioaktív anyagmennyiségnek, amelyben átlagosan másodpercenként 1 bomlás megy végbe. Korábban és egyes országokban ma is használatos egység a *curie* (*Ci*). Átszámolás:

$$1 \text{ Ci} = 37 \text{ GBq} \quad (\text{II.2-2})$$

(b) Statisztikai ingadozás

Ha sok, ugyanabból az instabil atommagból azonos számú tartalmazó mintát figyelünk meg, az egyes mintákban adott idő alatt végbement bomlások ún. *Poisson-eloszlást* követnek, ld. III.4.D(b): ha átlagosan N bomlás történt, akkor a mért értékek szórása ennek négyzetgyöke (\sqrt{N}) lesz. (Bővebben ld. III.4.E)

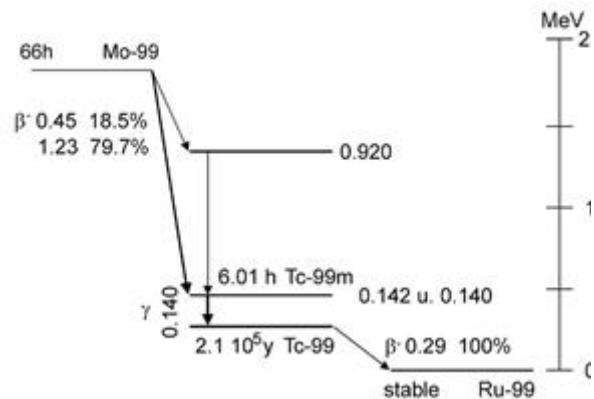
Az ingadozás nem a mérés tökéletlenségének eredménye: maga a radioaktív bomlás ilyen, csak statisztikai törvényekkel jellemezhető jelenség.

II.3. Bomlási jellemzők kikeresése

Az egyes radionuklidok bomlási jellemzőit általában kézikönyvekből vagy az internetről [6] kereshetjük ki. Az adatok megjelenítésének két gyakori formája: bomlási séma és táblázat. Az alábbiakban az ezekből nyerhető információk értelmezését részletezzük.

A. Bomlási sémák

A bomlási séma függőlegesen az atommag energiaszintjét, vízszintesen a rendszámot ábrázolja. Ennek megfelelően a balra lefelé mutató bomlási vonalak az energia- és rendszámcsökkenést (pl. β^+ bomlás), míg a jobbra lefelé mutató vonalak az energia-csökkenéssel, de rendszámnövekedéssel járó átalakulást (pl. β^- bomlás) jelzik.



II.3-1. ábra: A Mo-99 bomlási sémája

A II.3-1. ábra a molibdén-99 bomlását szemlélteti. A 66 órás felezési idejű béta-bomlás eredményeként nagyrészt (kb. 80%-ban) gerjesztett állapotú metastabil technécium-99m keletkezik, amely 6 órás felezési idővel, 140 keV-os gamma-fotont kibocsátva kerül alapállapotba. (A 210 000 éves felezési idejű Tc-99 a gyakorlat szempontjából stabilnak tekinthető.)

B. Részecske- és fotonenergiák táblázatból

A táblázatok általában tartalmazzák a radionuklid bomlási módját, felezési idejét, és a kisugárzott részecskék energiáit (ld. II.3-1. táblázat). A táblázat részletességétől függően csak a nagyobb valószínűségű sugárzások ill. részecskeenergiákat tüntetik fel. A Ga-67-nek pl. a gyakorlatban a 3 legnagyobb – a táblázatban vastagon szedett – csúcsát használjuk a mérésekhez.

Ha műszerünk csak egy csúcs mérésére képes, általában a 93 keV-ost szokás választani, bár ebbe beleszórnak a magasabb energiájú csúcsok – ld. később.

Figyeljük meg, hogy a százalékos valószínűségek együtt nem feltétlenül 100%-ot (hanem akár többet, akár kevesebbet) adnak ki, mert a bomlások számához vannak viszonyítva: azt mondják meg, hogy egy bomlás során átlagosan hány ilyen energiájú részecske keletkezik.

II.3-1. táblázat: A Ga-67 bomlási adatainak táblázata

Nuklid	Felezési idő		Bomlási mód	Energia (keV)	P (%)
Ga- 67	78.1	h	EC	91.3	3
				93.3	38
				185	24
				209	2
				300	16
				394	4

II.4. Sugárzás és anyag kölcsönhatása

A. Töltött részecskék kölcsönhatása a közeggel

(a) Ionizáció

Amikor a részecske a közegben levő molekulákkal ütközik, ionpárokat kelthet. Az ionizációs képesség mértéke a *fajlagos ionizáció* (az egységnyi úthosszon keltett ionpárok száma), amely a részecske és a közeg jellemzőitől egyaránt függ.

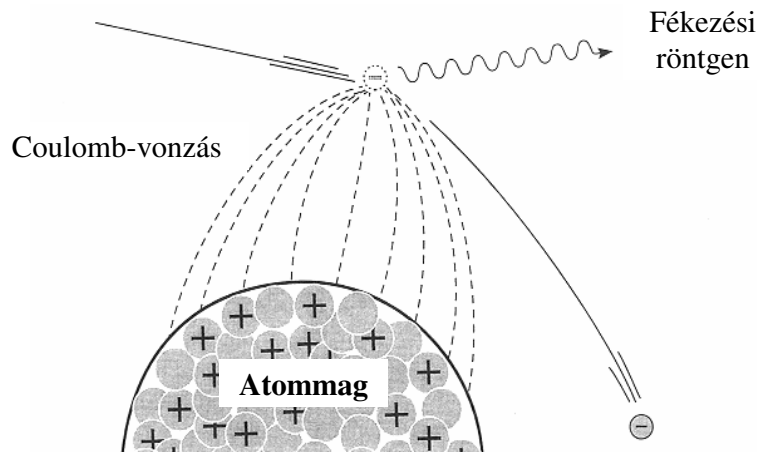
(b) Gerjesztés

Az ütközés eredményeként az atom vagy molekula átmenetileg magasabb (gerjesztett) energia-állapotba kerülhet. Ennek megszűnése fénykibocsátással is járhat; ezt a lumineszcenciát használjuk, pl. a kristályos detektorokban a sugárzás érzékelésére.

(c) Elektromágneses sugárzás keltése

Fékezési röntgensugárzás:

A mozgási energia átadása következtében folytonos spektrumú röntgensugárzás jön létre. Ezt figyelembe kell venni pl. béta-sugárzás elleni árnyékolás készítésekor, amikor ólomlemez használva a lemez mögött álló személy nagyobb sugárdózist kaphat az ólomlemezben keletkező fékezési röntgensugárzás miatt, mint amennyit árnyékolás nélkül kapna. (Béta-sugárzás árnyékolására pl. plexi-lapot használhatunk.)



II.4-1. ábra: Fékezési röntgensugárzás keletkezése

Cserenkov-sugárzás:

Ha a töltött részecske sebessége egy adott közegben nagyobb, mint ugyanott a fény sebessége, akkor fénysugárzás jön létre. (Pl. atomreaktorok hűtővizében, stb.)

(d) Magreakciók kiváltása

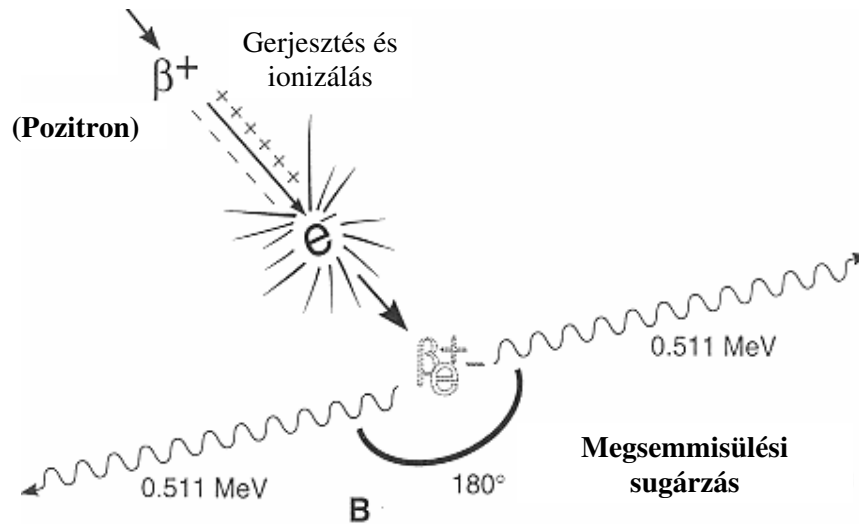
Nagy energiájú részecske becsapódása magreakciót is okozhat.

Megjegyzendő, hogy egy töltött részecske nagy valószínűséggel már az elektronsférával kölcsönhatásba lép (a béta-részecske pedig a kis tömeg miatt sem vált ki magreakciót), míg a semleges részecskéknél (pl. neutron) nagyobb esélye van magával a maggal ütközni.

Fontos hangsúlyozni, hogy az orvosi-biológiai gyakorlatban használatos, béta- és gamma-sugárzást kibocsátó radioaktív készítmények nem váltanak ki magátalakulást, vagyis miattuk nem keletkezik radioaktív anyag. A radioaktív preparátumot kapott beteg környezete, használati tárgyai nem válnak miatta radioaktívvá, sugárvédelmi szempontból csak a belőle kiinduló sugárzásra és az általa (testnedvek, széklet részeként) kiválasztott, eredetileg megkapott radionuklidra kell ügyelni (ld. IV. fejezet).

(e) Megsemmisülés

A (pozitív béta-sugárzásnál keletkezett) *pozitronok* a közeg egy elektronjával ütközve kölcsönösen megsemmisülhetnek, ilyenkor kettőjük teljes (nyugalmi + mozgási) energiáját két, ellentétes irányban elszálló gamma-fotonnak adják át. Mivel a két részecske együttes nyugalmi energiája 1022 keV, a gamma-fotonok energiája kb. 511 keV lesz.



II.4-2. ábra: Megsemmisülési sugárzás

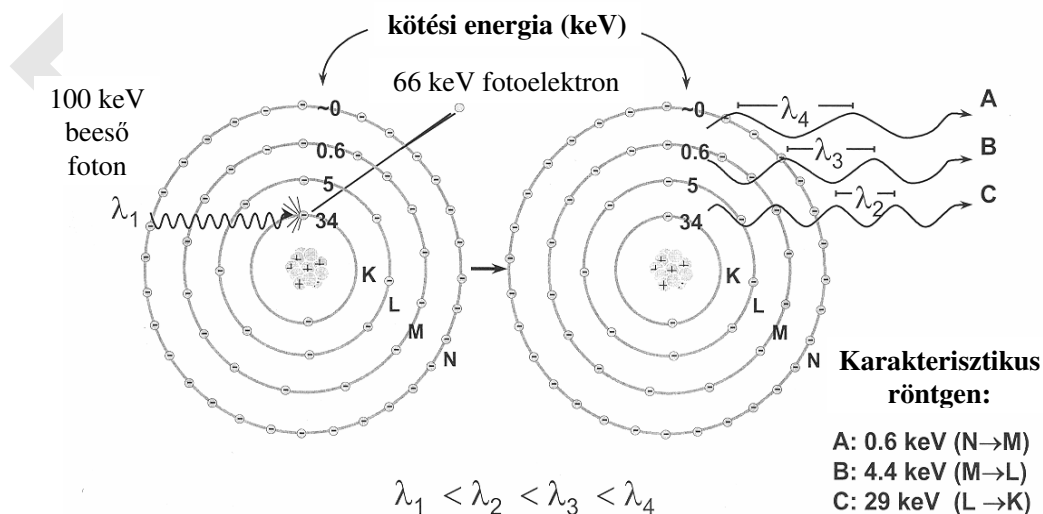
B. Elektromágneses hullám (gamma-, röntgensugárzás)

Az elektromágneses sugárzás anyagi közeggel főként háromféle kölcsönhatásba lép.

(a) *Fotoelektromos kölcsönhatás (rugalmatlan ütközés):*

A foton teljes energiáját átadja egy elektronnak, amely ezáltal magasabb energiaszintre kerül, és/vagy mozgási energiája megnő.

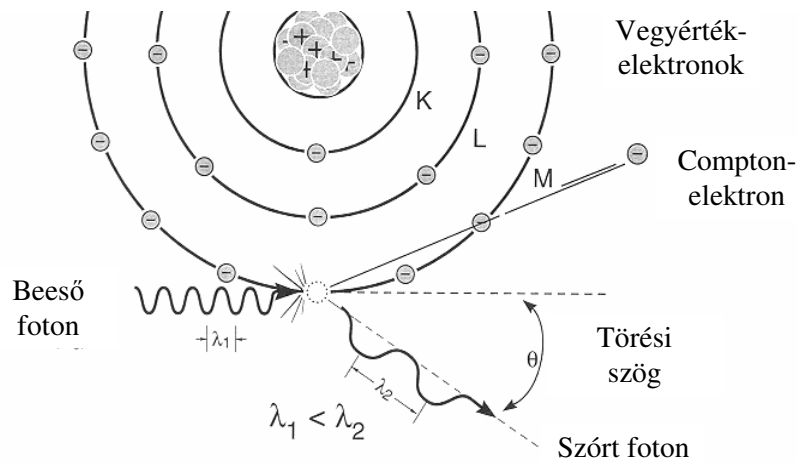
Ilyenkor a „megürült” elektronhelyre egy eredetileg magasabb energiaállapotú elektron „esik le”, és a két szint közötti energiakülönbséget elektromágneses hullám formájában adja le; ezt *karakterisztikus röntgensugárzásnak* hívjuk. (Röntgen, mert az elektronhéjból jövő elektromágneses sugárzás. *Karakterisztikus*, mert energiája az elektronok energiaszintjeire jellemző, azok különbségével egyenlő. Ld. II.4-3. ábra.)



II.4-3. ábra: Fotoelektromos kölcsönhatás (I-131) és karakterisztikus röntgensugárzás keltése

(b) Compton-szórás (rugalmas ütközés):

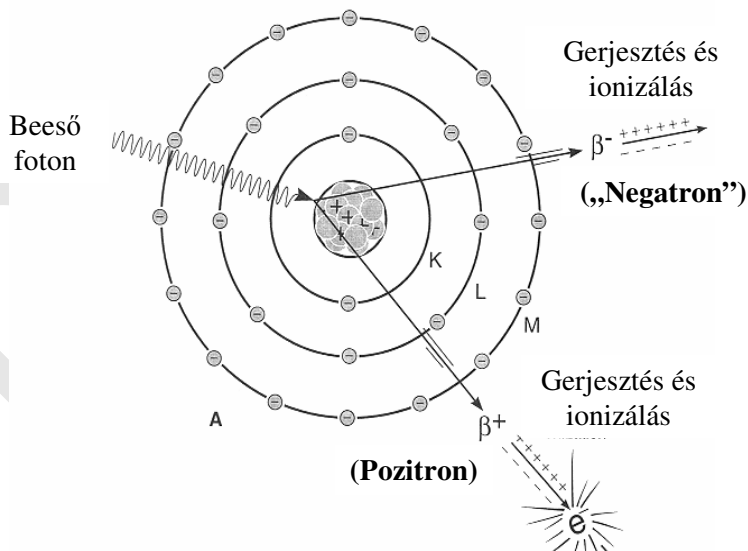
A foton energiája egy részét átadja egy elektronnak (ld. fent), és egy lecsökkent energiájú (alacsonyabb frekvenciájú) foton halad tovább, megváltozott irányban (ld. II.4-4. ábra).



II.4-4. ábra: Compton-szórás

(c) Párkeltés:

A nagy (>1022 keV) energiájú foton egy nagy tömegű atommagba ütközve egy elektron-positron párrá alakul át. (Az így keletkezett elektront „negatron”-nak is hívják. A keletkezett pozitron nagy valószínűséggel rövid távon belül egy elektronnal ütközve kölcsönösen megsemmisül. Ld. II.4-5. ábra.)

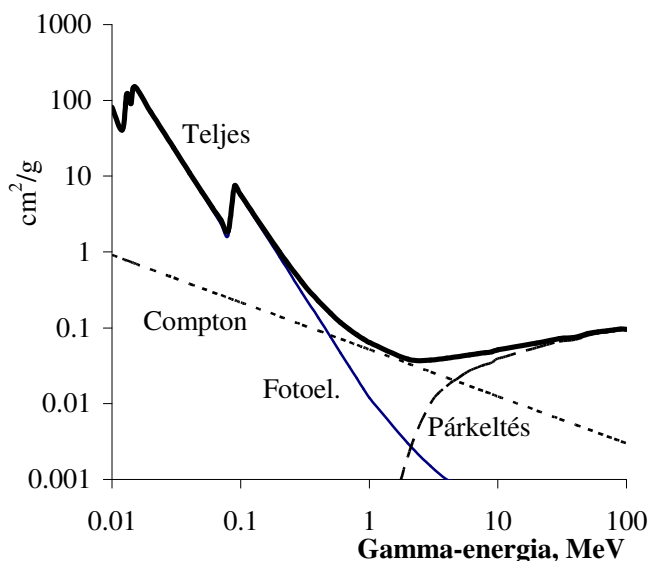


II.4-5. ábra: Párkeltés

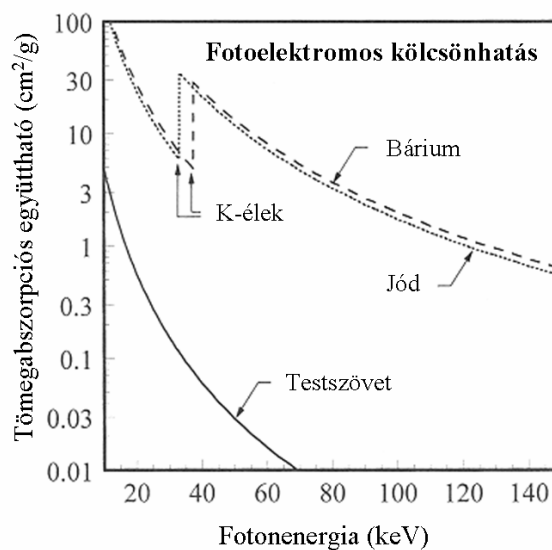
(d) Kölcsönhatási típusok valószínűsége

A háromféle kölcsönhatás valószínűsége a foton energiájától és az elnyelő közegtől függően változik. Alacsony energiánál a fotoelektromos kölcsönhatás dominál (ld. II.4-6. ábra). A

leképezésekhez használt (80-500 keV) tartományban vízben és testszövetben a Compton-szórás a döntő (vö. II.4-7. ábra).



II.4-6. ábra: Tömegabszorpciós együttható és összetevői ólomra



II.4-7. ábra: A fotoelektromos kölcsönhatás tömegabszorpciós együtthatójának energiafüggése jódban, báriumban és testszövetben.

C. A sugárzás gyengülése közegben

(a) Elektromágneses sugárzás

Az elektromágneses sugárzás intenzitása homogén közegben a rétegvastagsággal exponenciálisan gyengül:

$$N = N_0 \cdot e^{-\mu d} = N_0 \cdot 0.5^{d/d_{1/2}} \tag{II.4-1}$$

ahol N_0 a beeső, N az adott rétegen túljutó részecskék száma, $d_{1/2}$ pedig a felezési rétegvastagság, mely a sugárgyengítés mértékét jellemzi. Sugárvédelmi tervezési feladatokhoz ezen kívül hasznos a tizedelő rétegvastagság ($d_{1/10}$) ismerete is.

Például a Tc-99m 141 keV-os energiáján a víz felezési rétegvastagsága kb. 4,5 cm; a zsír és lágy testszövet elnyelése is ehhez közeli értékű. Ólomban ugyanezen az energián $d_{1/2}=0,27$ mm; $d_{1/10}=0,83$ mm.

(b) Nyugalmi tömeggel rendelkező részecskék

A nyugalmi tömeggel rendelkező részecskék (alfa- és béta-részecske, proton, neutron) mozgási energiájukat egy közegben általában kis részletenként, sok ütközés során adják le. Ennek megfelelően van olyan részecske, amelyik messzebb jut, mások rövidebb úton fékeződnek le teljesen.

A kis tömegű béta-részecskék, amelyek az azonos tömegű héjelektronokkal ütközgetnek, meglehetősen zezugos utat járnak be, míg a nagy tömegű alfa-részecskék csaknem egyenes úton haladnak. (Emlékeztetőül: a proton és a neutron tömege az elektronénak 1836 ill. 1839-szerese.)

Az adott típusú és energiájú részecskét ennek megfelelően a *maximális hatótávolság* jellemzi. Az egységnyi megtett úthosszon átadott energia mennyisége (*fajlagos energia-átadás*, LET) a lassulással egyre nő.

II.4-1. táblázat: A maximális hatótávolság nagyságrendje

Részecske:	levegőben	vízben (testszövetben)
alfa	~ cm	< 0.1 mm
béta	~ m	1 - 10 mm
10-20 MeV-os elektron	~ 10 m	~ cm

A nagyobb tömegű részecskék (alfa-részecske, proton, neutron) általában a héjelektronokkal történt számos ütközés eredményeként kb. azonos, az energiától függő úthosszat tesznek meg egy adott közegben; ezeket jól jellemzi az *átlagos szabad úthossz* megadása.

A *béta-sugárzás* viszont (a folytonos energia-spektrum miatt) jó közelítéssel exponenciálisan gyengül a közegben, mint ahogy az elektromágneses hullám; ld. az (II.4-1) képletet.

III. A sugárzás detektálása

Bár bizonyos célokra más (félvezető, termolumineszcens, film) érzékelőket is használnak (ld. a III.3-1. táblázatot), az orvosbiológiai célokra kétféle érzékelőt: szcintillációs (ld. III.1) és gázionizációs detektorokat (ld. III.2) alkalmaznak leggyakrabban.

III.1. Szcintillációs számláló

Varga József

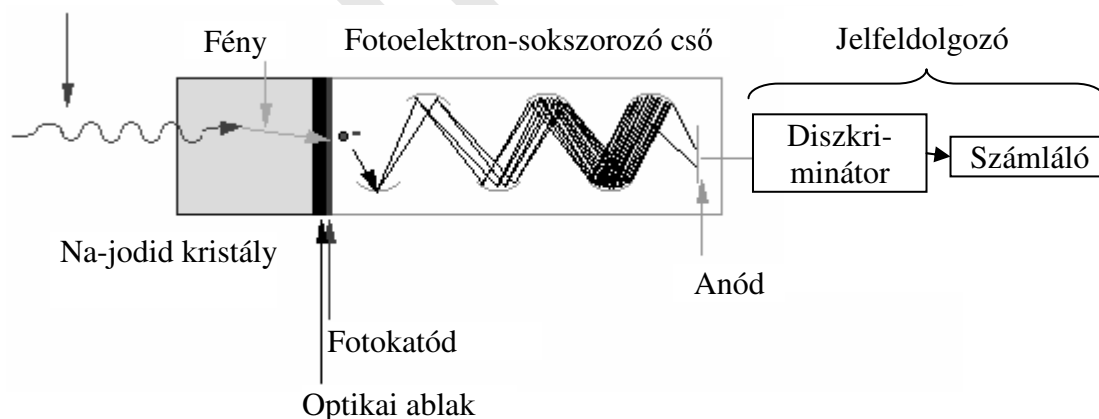
Bizonyos kristályokban a becsapódó sugárzás hatására fényfelvillanás keletkezik. Az orvosi-biológiai területen ez a legelterjedtebb detektortípus:

- kémcsöves minták mérésére (pl. üreges mérőhely, mintaváltók)
- élőlénybe bejuttatott sugárzó anyag külső detektálására (mérőfejek)
- élőlénybe bejuttatott sugárzó anyag eloszlásának leképezésére (scanner, gamma-kamera).

Kísérleti célra gyakran alkalmaznak béta-sugárzó radionuklidokat, ezek detektálására pedig folyadékszcintillációs mérőhelyet; ld. V.1.

(a) A szcintillációs számláló felépítése

A szcintillációs számláló az orvosi-biológiai célú sugárzásmérés legelterjedtebb eszköze, ld. III.1-1. ábra.



III.1-1. ábra: Szcintillációs számláló részei

(b) A mérőfej részei:

Szcintillációs kristály

Leggyakrabban talliummal szennyezett nátrium-jodid. A henger vagy korong alakú (esetleg furatot is tartalmazó) kristályban a becsapódó részecske fényfelvillanást kelt. (A Tl-al történő „aktiválás” növeli az energiakonverzió hatékonyságát.) A fényfelvillanások intenzitása arányos a

sugárzás energiájával. A sókristályt hengeres alakúvá formálják, légmentesen alumínium-tokba zárják, melynek egyik lapján üveglapon át lép ki a fény a PMT felé.

A sugárzás (részben vagy egészben) gerjesztéssel adja át az energiáját a szcintillátornak. A szcintillációs jelek bizonyos élettartammal rendelkeznek, a szervetlen alapú szcintillátorok lecsengési ideje 10^{-5} - 10^{-6} s, míg a szerves szcintillátoroké 10^{-9} s. Fontos a tökéletes optikai áteresztőképesség.

Fotoelektron-sokszorozó (PMT)

A fényt elektromos impulzussá alakítja át (és esetleg egy előerősítő a jelet felnagyítja). A kilépő jel mérete arányos a fotokatódra lépő fény intenzitásával, ami viszont az őt keltő sugárzás energiájával arányos.

A fotoelektron-sokszorozó cső (PMT) egy olyan vákuumcső, melynek végablaka fényérzékeny (alkálifém) bevonattal rendelkezik: ez a fotokatód. A csőben 10-12 lépcsőben egyre magasabb feszültségre kapcsolt elektródok (dinódák) vannak elhelyezve, melyek a fotokatódon fény hatására keletkező elektronokat felgyorsítják, ill. a dinódákon további elektronkilépés is történik, ezáltal „sokszorozódnak”, és a többlépcsős dinóda rendszeren áthaladva az anódon összegyűjthetők (ld. III.1-1 ábra). A begyűjtött elektronok számának sokszorozása 10^6 - 10^8 -szoros.

Árnyékolás

A mérőfejet általában ólomárnyékolás veszi körül, a kristály előtt a műszer céljától függő alakú nyílással vagy furatrendszerrel.

A fényvezetés hibái

A szcintillációs detektorok leggyakoribb, házilag is ellenőrizhető hibái a fényvezetés csökkenését okozzák:

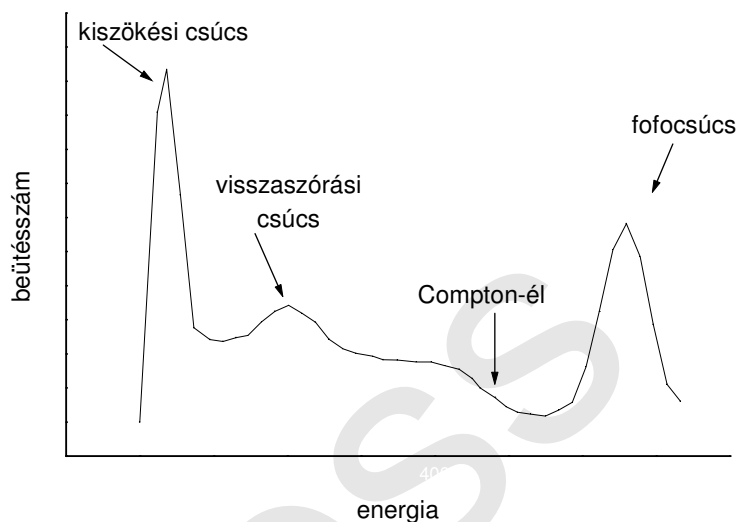
- Zárványok keletkezhetnek a kristályban. Ezek láthatóak, ha szétválasztjuk a kristályt a fotoelektron-sokszorozótól. (Normálisan a teljes kristály üvegszerűen átlátszó.) Ha ilyen látunk, ki kell cserélni a kristályt.
- Fellazulhat vagy elszennyeződhet a kristályt és a fotoelektron-sokszorozót összeillesztő mézserű fényvezető anyag. Alkoholos tisztítás után új fényvezetőt kell felkenni, és buborékmentesen összeilleszteni a kristályt a PMT-vel.

(c) A mérőfejből kilépő jel spektruma

A mérőfejet elhagyó elektromos impulzus nagysága arányos a detektált részecske energiájával.

- A vizsgált radionuklid (jól meghatározott) gamma-energiájának a *fotocsúcs* (több sugárzási energia esetén több csúcs) felel meg. A fotocsúcsot a félértékszélességgel jellemezzük, ld. VII.4-2 ábra.

- Nagyjából a fotocsúcs energiájának 30 és 70 %-a között a legjelentősebb a *Compton-szórt sugárzás* jelenléte. A szórtás történhet a radioizotópot tartalmazó közegben (minta és edény, vagy szövet), az esetleges közbülső közegben, és magában a detektorban is. A spektrum ezen szakaszának alakja nagyban függ a mérési elrendezéstől.



III.1-2. ábra: A spektrum az impulzusok gyakoriságát ábrázolja a jel nagyság függvényében

- A spektrum alján található a detektornak csak energiájuk egy részét leadó részecskékből származó, kisebb impulzusok („kiszökési csúcs”), és az elektronikus zaj. Ld. III.1-2. ábra.

(d) A jelfeldolgozó elektronika összetevői:

Diszkriminátor

Az *energia-szelektív számlálás* lényege, hogy a fenti impulzus-halmazból csak azokat engedjük tovább és számláljuk össze, amelyek a fotocsúcsba esnek, így módon javítva a jel/zaj viszonyt. Ezt a szétválogatást a diszkriminátor végzi, általában a gamma-energia 15-20 %-ának megfelelő "elektronikus ablak"-szélességgel. A beérkező impulzusokat tehát a diszkriminátor méret szerint szétválogatja, és csak azokat engedi tovább a számlálóba, amelyek nagysága:

- két megadott határ közé esik (differenciál-diszkriminátor)
- vagy egy adott határnál nagyobb (integrál-diszkriminátor).

A készülékek energia-hitelesítése különböző energiájú izotópokkal történik, a minták abszolút aktivitásának (azaz a számlálási hatásfoknak) meghatározása pedig egy ismert standardhoz való viszonyítással lehetséges. Speciálisan az általunk gyakran használt ^{125}I esetén a minta spektrumának analízisével is lehetőség van a hatásfok meghatározására (ld. még VII.4 gyakorlat).

A számláló megméri:

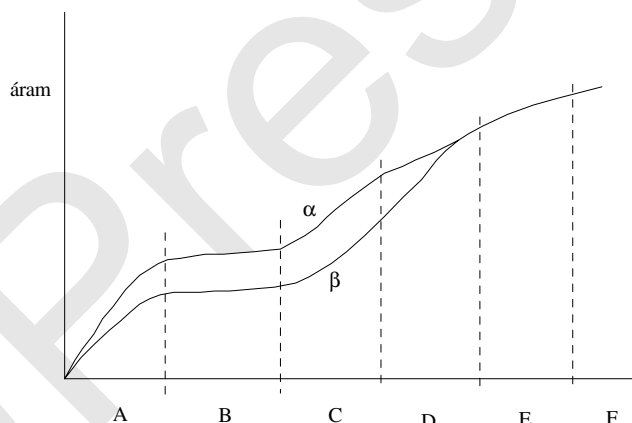
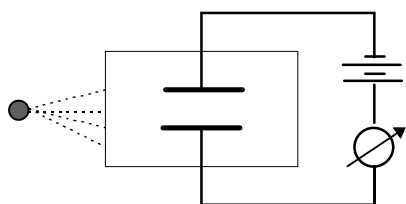
- egy adott idő alatt beérkező impulzusok számát (idő-előválasztás)
- vagy adott számú beütés beérkezésének idejét (impulzus-előválasztás).

A szcintillációs mérőhely beállításának részleteit ld. a VII.4 gyakorlat leírásában.

III.2. Gázionizációs detektorok

Csongor József

Gáztöltésű csőben sugárzás hatására ionpárok keletkeznek, amelyek a csőben elhelyezett elektródák között kialakított elektromos tér hatására az elektródák felé indulnak. A begyűjtött töltések száma (azaz az áramerősség) függ az alkalmazott feszültségtől, amint a III.2-1 ábra szemlélteti. Az alábbiakban az egyes működési tartományokat az ábrán szereplő betűjeleknek megfelelően ismertetjük.



III.2-1. ábra: Ionizációs kamra elvi vázlata

III.2-2. ábra: Az ionizációs kamra jelleggörbéje

A. Rekombinációs szakasz

A keletkezett ionok ellentétes ionnal találkozáskor semlegesíthetnek (rekombinálódhatnak). Nagyobb feszültségnél egyre több ion éri el (rekombinálódás nélkül) az elektródákat.

B. Ionizációs telítési tartomány

Elég nagy térerő esetén már minden keletkező ion eljut az elektródákra. Az ionáram függ a gáz anyagi minőségétől, a sugárzás fajtájától, a sugárzás energiájától és mennyiségétől (azaz aktivitásától). A keletkező igen kis ionáramok (10^{-14} A) felerősítés után könnyen mérhetők.

Az ionizációs kamrákat nagy aktivitások mérésére kiterjedten használják, pl. hordozható sugármérőknél, ahol a kijelző-műszerek skálája mR/óra vagy $\mu\text{Sv/óra}$ egységre van hitelesítve, ld. IV.1.C; illetve dóziskalibrátorokban.

Dóziskalibrátorok

A legtöbb fajta általunk alkalmazott sugármérő csak beütésszámot mér, amely arányos ugyan a forrás aktivitásával, de a számos befolyásoló tényező (főleg a sugárzás-elnyelés) miatt az arányossági tényező ismeretlen. Különösen a humán alkalmazásoknál (izotópdiagnosztika és –terápia, ld. VI.3 és VI.4) azonban szükséges és törvényi előírás, hogy ismerjük az abszolút (Bq-ben kifejezett) aktivitást. Erre szolgálnak a dóziskalibrátorok, amelyeknél minden egyes radionuklid – tartóedény - mintatérfogathoz egy kalibrált faktor tartozik, amelyet helyesen beállítva közvetlenül a minta aktivitását olvashatjuk le. Az ilyen műszert rendszeresen kalibráltatni kell az Országos Mérésügyi Hivatallal.

C. Proporciónális tartomány

Még nagyobb feszültséget alkalmazva a felgyorsult ionok további ionizációt okoznak, a cső erősítőként is működik. A *proporciónális számlálók* nagy előnye, hogy jelentős (akár 10^6 -szoros) jelerősítés érhető el, ezáltal igen kis intenzitású sugárzás is detektálható. Az áram a radioaktív sugárzás intenzitása (a becsapódó részecskeszám) mellett arányos lesz a részecskék energiájával is. Leggyakrabban igen alacsony aktivitások mérésére használják, pl. kutatási célból.

D. Átmeneti tartomány

Tovább növelve a térerőt, az ionok további ionpárokat kelthetnek a gázban, de itt már nincs arányosság az ionáram és feszültség között.

E. Geiger-Müller tartomány

A legelterjedtebb gáztöltésű számlálók a *Geiger-Müller (GM) számlálócsövek*. Ezekben legtöbbször egy hengeres katód veszi körül egy anód szálat, a fémhengert egy vékony fólia vagy csillámlemez zárja, ahol a sugárzás behatolni képes. Az alkalmazástól függően különböző típusokat fejlesztettek ki, leggyakrabban a „végablakos” GM-csövekkel találkozhatunk.

A GM-tartományban a nagyfokú erősítés miatt sorozatos másodlagos ionizáció történik, mely egy jól mérhető nagy jelet produkál. A kisülés pillanatában oly nagyfokú ellenállás-csökkenés, azaz feszültségesés történik, mely az ionlavina fenntartását és egy újabb kialakulását leállítja. Ugyanakkor a lassúbb mozgású kationok katódra történő becsapódása is megindul, ami az anódáram növekedését jelenti, azaz a cső bizonyos idő elteltével újra működőképes, számlálásra kész. Fontos tudni tehát, hogy a GM csövek néhány 100 μ sec-os holtidővel rendelkeznek, mely idő alatt nem képesek számlálni. Ezt méréseinknél mindig korrekcióba kell vennünk, különösen nagy (kb. 10^4 beütés/perc) aktivitásoknál.

A GM cső működésének optimális paramétereit egyedileg kell meghatározni a csövet jellemző karakterisztika felvételével, ld. a VII.2 gyakorlat leírását. A GM csövek működési

feltételei a használat során változnak, a gázok „elfogynak”, rendszeres ellenőrzésük szükséges. A Geiger-Müller számlálót főleg radioaktív szennyeződés kimutatására használják.

F. Állandó kisülés tartománya

Az ionáram önfenntartóvá válik, függetlenül a külső sugárzástól.

III.3. Detektortípusok felhasználási területei

Varga József

A III.3-1. táblázat összefoglalja a leggyakrabban alkalmazott detektortípusokat.

III.3-1. táblázat: Detektortípusok elve és felhasználási területei

Detektálás elve	Berendezés típusa	Alkalmazások
Levegő (vagy más gáz) ionizálása, elektron-sokszorozással a detektorban	Ionizációs kamra (IC)	Dózis és dózisintenzitás közvetlen mérése, minimális energiafüggéssel
	Geiger-Müller (GM)	Egyedi becsapódások érzékelése (alfa, béta, másodlagos elektron) aktivitásmérés céljából (mintákban és felületen)
	Proporcionális számláló (PC)	Alacsony intenzitású röntgen- és gamma-sugárzás detektálása
Félvezető ionizálása	Félvezető-dióda	Fotonok és részecskék detektálása és energiájának mérése, főleg laboratóriumban.
Ionizálást és gerjesztést követő fénykibocsátás	Szcintillátorok	Egyedi becsapódások érzékelése
	- szilárd	- NaI (Tl) - fotonok; energia-spektrometria - ZnS (Ag) – alfa-részecskék; csak detektálás
	- folyadék	- Alacsony energiájú béta-sugárzók mérése, szcintillátor-folyadékkal összekeverve
AgBr ionizálása	Fotó-film	Személyi dozimetria. Autoradiográfia
Kristály gerjesztése; fénykibocsátás felmelegítés hatására	Termolumineszcens detektor (TLD)	Személyi és környezeti dózismérés.

III.4. Sugárzásmérési eredmények értékelése

Varga József

A. Hibaforrások

Ha orvosi-biológiai méréseket látszólag teljesen azonos körülmények között többször megismétlünk, általában nem pontosan ugyanazt az eredményt kapjuk. Az eltérések többféle eredetűek:

(a) *Biológiai:*

Az élő szervezet viselkedésében, illetve a minta összetételében fellépő különbségek.

(b) *Labortechnikai:*

- a kimért térfogatokban
- a reakciók hőmérsékletében, idejében
- az adalékanyagok összetételében mutatkozó különbségek.

(c) *Méréstechnikai:*

- a mérőműszer működésében,
- a mérési körülményekben,
- a mérési elrendezésben jelentkező eltérések.

(d) *Nem determinisztikus természeti jelenségek:*

Ha radioaktív sugárzást mérünk, maga a radioaktív bomlás nem "determinisztikus", hanem "statisztikai" jelenség: az időegység alatt végbemenő bomlások számát nem adja meg pontos képlet, hanem csak a bomlások várható értékét.

Amennyiben méréseinkkel a szervezet működésében fellépett változásokat szeretnénk kimutatni, azt kell megítélnünk, hogy a mért értékek különbözősége lényegesen nagyobb-e, mint amit a véletlen ingadozás számlájára írhatunk. Az ilyen kérdésekkel a matematikai statisztika (speciálisan a biometria) foglalkozik. Itt az alapfogalmakon túl csak a sugárzásmérés speciális vonatkozásait említjük meg.

B. Populáció és minta

A statisztikai vizsgálatok célja, hogy egy valamilyen szempontból összetartozó sokaság (populáció) tulajdonságairól egy megfelelően („reprezentatíván”) kiválasztott

III.4-1. táblázat: Populációs és azokat becsülő paraméterek

<i>Populációs paraméter</i>	<i>A mintából számolt becslés</i>
várható érték (μ)	átlag (\hat{x})
szórás (σ)	korrigált tapasztalati szórás (SD)
sűrűségfüggvény	gyakorisági hisztogram

minta megfigyelt adatainak segítségével nyerjük képet. Vö. III.4-1. táblázat.

C. Leíró statisztika

Ha n darab mérési eredményünk van, és ezeket $\{x_1, \dots, x_n\}$ jelöli, akkor a mért adathalmazt leíró legfontosabb jellemzők:

(a) *Átlag:*

$$\hat{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (\text{III.4-1})$$

Az átlag a vizsgált paraméter várható értékét becsüli, vagyis azt jellemzi, hogy az adatok milyen érték körül helyezkednek el.

(b) *Szórás ("standard deviáció"):*

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \hat{x})^2}{n-1}} \quad (\text{III.4-2})$$

A szórás (teljes nevén: „korrigált tapasztalati szórás”) azt jellemzi, hogy az adatok mennyire széles tartományban szóródnak a középpérték körül.

(c) *Variációs együttható:*

$$VC = \frac{SD}{\hat{x}} \cdot 100\% \quad (\text{III.4-3})$$

A százalékosan kifejezett (relatív) szórás.

(d) *Az átlag szórása:*

$$SEM = \frac{SD}{\sqrt{n}} \quad (\text{III.4-4})$$

Az átlag becslésének pontatlanságát jellemzi. (Angol neve: „standard error of the mean”) Nem tévesztendő össze a szórással: (III.4-2).

D. Eloszlások

A „valószínűségi sűrűségfüggvény” egy véletlentől függő, ún. valószínűségi változót jellemez. Ezen függvény alatti terület bármelyik intervallumban azt adja meg, hogy az ilyen valószínűségi változó szerint eloszló adathalmazban milyen valószínűséggel esik egy adat az adott intervallumba.

(a) *Normális eloszlás*

Számos biológiai paraméter jellemezhető a normális (más néven Gauss-) eloszlással, melynek sűrűségfüggvénye:

$$f_{norm}(\mu, \sigma, x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot \exp\left(-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right) \quad (\text{III.4-5})$$

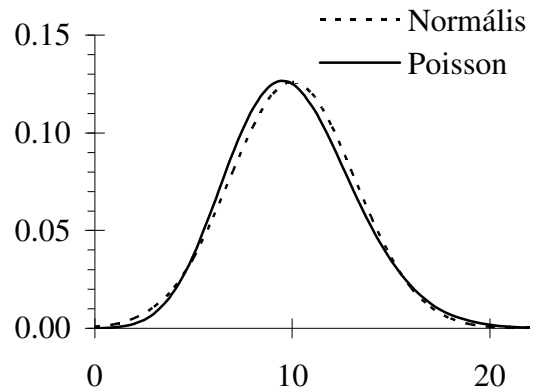
Az ilyen eloszlású mért értékek 68%-a a $(\mu \pm \sigma)$, 95%-a a $(\mu \pm 2\sigma)$, 99.7%-a a $(\mu \pm 3\sigma)$ intervallumba esik várhatóan. A normális eloszlású adatok átlaga a μ , szórása a σ paraméter becsléseként használható.

(b) *Poisson-eloszlás*

Azt a jelenséget, hogy egy adott mennyiségű radioaktív anyagot tartalmazó mintában időegység alatt hány bomlás megy végbe, az ún. Poisson-eloszlás írja le:

$$f_{\text{Poisson}}(\mu, x) = \frac{\mu^x \cdot e^{-\mu}}{x!} \quad \text{(III.4-6)}$$

A Poisson-eloszlást követő adatok átlagának μ , szórásának $\sqrt{\mu}$ a várható értéke. Amint az ábrán látható, a Poisson-eloszlás (különösen nagyobb várható értékek esetén) jól közelíthető azzal a normális eloszlással, amelynek szórás-paramétere: $\sigma = \sqrt{\mu}$



III.4-1. ábra: Poisson- és azt közelítő Gauss- eloszlás összehasonlítása ($\mu=10$)

E. Származtatott paraméterek hibája

A közvetlenül mért eredményekből általában származtatott paramétereket számolunk (legegyszerűbb példa az átlag). Fontos kérdés, hogyan számolható ezen származtatott paraméterek hibája. Erre vonatkozik a *Gauss-féle hibaterjedési törvény*:

Ha y összetett függvény:

Error! Objects cannot be created from editing field codes.

és a szórások rendre:

Error! Objects cannot be created from editing field codes.

akkor az eredmény hibája

Error! Objects cannot be created from editing field codes.

(szórásnégyzete):

codes. (III.4-7)

A képletben a ∂ szimbólum parciális deriválást jelöl. A III.4-2 táblázat néhány leggyakoribb összetett függvény parciális deriváltjait mutatja.

A szabályok alkalmazására a következő szakaszban mutatunk példákat.

III.4-2. táblázat: Néhány deriválási szabály

y	$\partial y / \partial f$	$\partial y / \partial g$
$a \cdot f + b \cdot g$	a	b
f / g	$1/g$	$-f/g^2$
$\ln(f)$	$1/f$	

F. A sugármérés hibája

A Poisson-eloszlás minden egyes mért beütésszámra érvényes. Ez azt eredményezi, hogy kétszer olyan hosszú mérési idő (vagyis kétszer akkora begyűjtött beütésszám) a relatív hibát $\sqrt{2}$ -ed részére csökkenti, ugyanis (ha n az eredetileg mért beütésszám):

$$VC(n) = \frac{\sqrt{n}}{n} \cdot 100\% \quad (III.4-8)$$

$$VC(2n) = \frac{\sqrt{2n}}{2n} \cdot 100\% = \frac{1}{\sqrt{2}} \cdot \frac{\sqrt{n}}{n} \cdot 100\%$$

A sugármérés eredménye tehát annál pontosabb,

- minél nagyobb a minta radioaktivitása, és
- minél hosszabb a mérési idő.

Ne feledjük: a négyzetgyökös hiba a *teljes* mért beütésszámba, nem pedig az időegységként mértre vonatkozik! Megjegyzendő, hogy izotópos *leképezésnél* a fenti gondolatmenet a digitalizált kép minden egyes képelemére érvényes, tehát minél több képelemre bontjuk, annál zajosabb képet kapunk.

(a) *Példa: beütésszám hibája*

Tegyük fel, hogy egy minta az üreges mérőhelyen lemérve 1000 beütés/perc (1000 cpm) számlálási sebességet ad. Meddig mérjük a mintát, hogy a sugármérés miatti hiba ne haladja meg az 1%-ot?

Megoldás: Ahhoz, hogy 1% legyen a mérési hiba, 10000 beütést kell begyűjtenünk, mert ekkor:

$$VC = \frac{\sqrt{10000}}{10000} \cdot 100\% = \frac{100}{10000} \cdot 100\% = 1\%$$

Tehát a szükséges minimális mérési idő:

$$t = \frac{10000 \text{ beü}}{1000 \text{ beü/perc}} = 10 \text{ perc}$$

(b) *Példa: háttérkorrigált aktivitás hibája (azonos mérési idővel)*

Ha megmértük a minta és a háttér beütésszámát azonos időre:

Mért értékek: $b = 10000$, $h = 2500$

Szórások: $\Delta b = 100$, $\Delta h = 50$

Akkor a különbség: $b' = b - h = 7500$

és a hibája: $\Delta b'^2 = \Delta b^2 + \Delta h^2 = 100^2 + 50^2 = 12500$

$$\Delta b' = 112$$

(c) *Példa: háttérkorrigált aktivitás hibája különböző mérési idők alkalmazásakor*

Mintánkat 3·2 percig, a háttérrel 2·10 percig mértük. Kérdés, hogy hány %-os a háttér-korrigált beütésszám relatív hibája? Az adatokat és a számolás menetét a III.4-3 táblázat mutatja.

III.4-3. táblázat: A hibaszámolás menete

Paraméter	Képlet	Minta		Háttér	
		beütés	idő (min)	beütés	idő (min)
mért	x_i, h_j	2100	2	4200	10
		2000	2	3800	10
		1900	2		
összeg	$X = \sum x_i ; H = \sum h_j$	6000	6	8000	20
összeg szórása	$S(X) = \sqrt{X}$	77.46	6	89.44	20
CV	$CV(X) = S / X \cdot 100\%$	1.29%		1.12%	
cpm	$x = X / t_x ; h = H / t_H$	1000		400	
cpm szórása	$s(x) = S(X) / t$	12.91		4.47	
korrigált cpm	$x' = x - h$	600			
korrigált cpm szórása	$s(x') = \sqrt{s^2(x) + s^2(h)}$	13.66			
CV	$CV(x') = s(x') / x' \cdot 100\%$	2.28%			

Ne feledjük:

- A négyzetgyökös hibaképlet a TELJES begyűjtött beütésszámra vonatkozik, nem az időegységenkéntire (cpm-re).
- Az időegységenkénti beütésszám („számlálási sebesség”) hibája a beütésszám hibája osztva az időtartammal (és NEM az időtartam négyzetgyökével!)
- A különbség hibája az egyes hibák NÉGYZETösszegének négyzetgyöke.

G. A sugármérő műszer stabilitásának ellenőrzése

A szcintillációs kristályos mérőhelyek érzékenysége számos tényezőtől függ. Esetenként felmerül a kérdés, vajon nem ingadozik-e az érzékenység a kémcsősorozat lemérése közben, ezáltal lerontva az eredmények pontosságát.

A mérőhely stabilitását úgy ellenőrizhetjük, hogy egy adott (a mérési időhöz képest igen hosszú felezési idejű) mintát többször lemérünk egymás után, és megnézzük, hogy a kapott adatok szórása megfelel-e a Poisson-eloszlás alapján várhatónak, vagy jelentősen nagyobb annál. Az erre szolgáló statisztikai próbát *Poisson-heterogenitási* vagy *diszperziós* próbának nevezik. A mért adatokból ki kell számolni az

$$X^2 = \frac{\sum_i (x_i - \hat{x})^2}{\hat{x}} = \frac{SD^2 \cdot (n-1)}{\hat{x}} \tag{III.4-9}$$

statisztikát, amely állandó várható értéket feltételezve $\chi^2_{(k-1)}$ eloszlást követ (*khi-négyzet* eloszlást $k-1$ szabadsági fokkal).

(a) *Példa*

Tegyük fel, hogy egy mintát 9-szer lemérve a kapott beütésszámok:

2531 2439 2475 2509 2607 2572 2417 2409 2457

Ezekből:

$$\text{átlag} = 2491 \qquad X^2 = 15.36$$

$$\text{szórás} = 69.2 \qquad \text{szab. fok} = 8$$

$$\text{Táblázatból: } \chi^2_{(8),0.05} = 15.51 > X^2 \quad \Rightarrow P > 0.05$$

Tehát a szórás eltérése a Poisson-eloszlásnál várhatótól 5%-os valószínűségi szinten nem szignifikáns. (Nem szignifikánsan nagyobb a szórás, mint véletlenszerűen várható, tehát nem rossz a mérőhely).

IV. Sugárhatások és sugárvédelem

IV.1. Fizikai dozimetria

Groska Erika

A. A dozimetria alapfogalmai

Az emberiség ősidők óta, mindig és mindenhol ki van téve a környezetéből érkező különböző típusú sugárzások hatásának, melyek természetes és mesterséges eredetűek lehetnek. A sugárzás az energia terjedésének egyik fajtája. A sugárzás mennyisége alatt azt az energiamennyiséget érthetjük, amelyet a sugárzás hordoz, illetve átad valamilyen közegnek. Mivel az energia mennyiségének kifejezésére a Joule (J) mértékegységet használjuk, így ezt alkalmazzuk a sugárzásoknál is.

$$1 \text{ J} = 1 \text{ kg}\cdot\text{m}^2/\text{s}^2 \quad (\text{IV.1-1})$$

A sugárzás intenzitása:

A sugárzás irányára merőleges, egységnyi felületen időegység alatt áthaladó energia (energia fluxus sűrűség). Egysége: J/m^2

A dozimetria feladata:

A sugárzás nagyságára vonatkozóan egy mérőszámot adni, amely alapján a sugárzás hatására létrejövő változásokat jellemezhetjük.

Mind a külső (testünkön kívüli) sugárforrások, mind a szervezetünkbe jutott radioaktív izotópok által besugárzott szövetekben, vagyis akár külső, akár belső sugárterhelés esetén az ionizáló sugárzás előbb fizikai és kémiai változásokat okoz. Ezek az ionizáció, a víz radiolízise (azaz a vízmolekulák elbomlása szabad gyökök keletkezésével), és molekulaszervezeti változások, melyek egy másodpercen belül lezajlanak. A fizikai, kémiai változások okozta biológiai hatások aztán időben elnyújtva, órák, napok, hetek, hónapok, sőt évek, évtizedek múltán figyelhetők meg.

B. Fizikai dózisfogalmak

(a) Elnyelt dózis (D)

A besugárzott anyag térfogatelemével átlagosan közölt (elnyelt) energiának és a térfogatelemben lévő tömegnek a hányadosa. (A sugárzás útján terjedő energia tömegegységenként elnyelt mennyisége az adott közegben.)

$$D = \frac{dE}{dm}; \quad [D] = 1 \text{ gray (Gy)} = 1 \frac{\text{J}}{\text{kg}} \quad (\text{IV.1-2})$$

(A IV.1-2 képletben és a következőkben egy fizikai mennyiség betűjele szögletes zárójelbe téve a mértékegységét jelöli. [D] olvasata: „az elnyelt dózis mértékegysége”.)

Additív: $D_{1+2} = D_1 + D_2$

(b) *Elnyelt dózisteljesítmény (dózisintenzitás, D')*:

Időegységre jutó elnyelt dózis:

$$D' = \frac{dD}{dt}; \quad [D'] = 1 \frac{\text{Gy}}{\text{s}} = 1 \frac{\text{J}}{\text{kg} \cdot \text{s}} \quad (\text{IV.1-3})$$

(c) *Besugárzási dózis*

A dózisintenzitás mérésére leggyakrabban használt ionizációs kamrák nem közvetlenül az elnyelt sugárzási energiát, hanem a sugárzás által a levegőben vagy más gázban keltett ionpárok számát mérik. Korábbi, az SI-ben nem használt, de táblázatokban gyakran szereplő egysége a röntgen (R), mely csak 3 MeV alatti energiájú röntgen- és gamma-sugárzásra értelmezett. 1 R röntgen- vagy gamma-sugárzás kb. 0.01 Gy szöveti elnyelt dózist eredményez.

(d) *LET (Linear Energy Transfer)*

Az ionizáló sugárzás biológiai károsító hatása a biológiai molekulákon okozott kémiai változások következménye, amelyek súlyossága és tartóssága viszont közvetlenül függ a hosszegységenként létrehozott ionpárok számától, vagy ami ezzel arányos, a részecske pályája mentén hosszegységenként leadott energia mennyiségétől. Ez utóbbit vonal menti (lineáris) energia-átadásnak hívjuk, és angol neve után („linear energy transfer”) **LET**-nek rövidítjük. Leggyakrabban használt mértékegysége: keV/μm. A növekvő ionizáció-sűrűség fokozódó biológiai hatást eredményez, melyet a *sugárzási súlytényezővel* (w_R) jellemezhetünk (ld. bővebben a IV.2 fejezetben).

A LET-érték változik a részecske pályája mentén: a vége felé (ahol már lelassul a részecske) éri el a csúcst, majd – miután a részecske semlegesítődik – megszűnik.

C. *Dózismérés*

Dózismérésre sokféle hatás felhasználható, amelyet a sugárzás kivált:

- levegő vagy más gáz ionizációja
- termolumineszcencia
- fotolumineszcencia
- filmfeketedés
- kémiai átalakulás, oxidáció.

Gázionizációs dózismérés

Leggyakrabban *gázionizációs detektort* alkalmaznak a dózis(intenzitás)-mérőkben, ld. *III.2.* Az ionizációs kamra levegőekvivalens anyagból (melynek effektív rendszáma a levegőével azonos) készült falú üreg. Egyik elektródája a kamra terébe nyúló drót, mely a kamra falától jó szigetelővel van elválasztva. A kamrafal vastagsága megfelel a sugárzás által kiváltott elektronok szabad úthosszának, a kamrafal tehát úgy viselkedik, mintha összenyomott levegő lenne, és vastagsága biztosítja a fal és a kamra ürege közti elektronegyensúlyt: vagyis ahány elektron elhagyja a kamra térfogatát és belép a falba, ugyanannyi, a falban keletkezett elektron fog belépni a kamra térfogatába. A fal és a középső elektróda közé akkora feszültséget kapcsolnak, hogy biztosítsa valamennyi elektron eljutását az elektródákra (ionizációs kamra vagy proporcionális számláló).

Az energiafüggésből származó mérési bizonytalanság 3%, sugárvédelmi méréseknél 20% is lehet. A mérési hatékonyság irányfüggő (pl. a műszer nyele árnyékolhat).

A dózisintenzitás-mérőket rendszeresen kalibrálni kell hitelesített sugárforrással. A működőképességet használat előtt általában beépített sugárforrással (pl. Sr-90, felezési idő: 28 év) ellenőrizzük. Ld. még a *VII.8* gyakorlatot.

Filmdoziméter

A személyi dozimetria legelterjedtebb eszköze. Fénytől elzárt fotófilm, amelynek különböző részterületei elé más-más elnyelő képességű árnyékolást (különböző vastagságú műanyag- és fémréteget) helyeznek. Egy-egy filmet egy-két hónapig hord a dolgozó, majd (ismert besugárzású kalibráló filmekkel együtt) előhívják. A részterületek feketedésének összehasonlításából lehet következtetni a dolgozót ért sugárzás jellegére (elektromágneses, béta, stb.); ennek segítségével az egésztest-dózis becsülhető.

A filmdozimétert a mellkas felett kell hordani. Amikor a dolgozó ólomkötényt visel, a filmdoziméternek alatta kell lenni (hogy a ténylegesen a testet ért dózist mérhesse).

Termolumineszcens dózismérő

Egyes kristályokban (pl. lítium-fluorid) sugárzás hatására az elektronok egy része gerjesztett állapotba kerül, és tartósan ott is marad („csapdába esik”). Innen melegítés hatására tud alapállapotba kerülni, miközben a sugárdózissal arányos mennyiségű fényt bocsát ki. A termolumineszcens dózismérő kisebb lehet a filmdoziméternél, újra felhasználható, és hosszú időtartamokra is megbízható. Gyakori felhasználásai: gyűrűdoziméter a kéz sugárterhelésének mérésére; kapszulában lenyelve a testen belüli dózisosok mérése.

IV.2. Egységes sugárvédelmi mérőszám: Effektív dózis

Varga József

A sugárhatások elleni védekezéshez olyan egységes mérőszámra van szükség, amely:

- jellemzi mind a külső, mind a szervezetbe bejutott sugárforrásból származó sugárzás hatását
- alkalmazható a különböző sugárzástípusokra
- és a különböző szervekre / sejttípusokra egyaránt.

Mivel a különböző eredetű és fajtájú sugárzások biológiai hatása összeadódik, a használt mérőszámnak is összegezhetőnek kell lennie. Jelenleg a nemzetközi gyakorlatban erre a célra az *effektív dózist*, illetve *lekötött effektív dózist* használjuk.

(a) *Külső sugárzás:*

A *dózisegyenérték* az egyes sugárzástípusokat azok biológiai hatásának megfelelően súlyozva összegzi. A T szövetben az R sugárzástípusból származó *elnyelt dózist* $D_{T,R}$ -rel jelölve (melynek egysége: gray, Gy), az összegzett dózisegyenérték (egysége sievert, Sv):

$$H_T = \sum_R H_{T,R} = \sum_R D_{T,R} \cdot w_R \quad (IV.2-1)$$

ahol w_R : a sugárzási súlytényező (más néven relatív biológiai hatékonyság, *RBE*), a *IV.2-1. táblázat* szerinti értékekkel.

Az egyes szervek ill. szövetek eltérő sugárérzékenységét a w_T szöveti súlytényezővel vesszük figyelembe (ld. *IV.2-2. táblázat*), amellyel súlyozva a dózisegyenértéket, az *effektív dózist* kapjuk. Ennek az egysége is a Sv.

$$E = \sum_T w_T \cdot H_T \quad (IV.2-2)$$

IV.2-1. táblázat: Sugárzási súlytényezők

β, γ , röntgen	1
n	5-20
p	5
α	20

IV.2-2. táblázat: Szöveti súlytényezők

Ivarszervek	0,20
Csontvelő (vörös), vastagbél, tüdő, gyomor	0,12
Hólyag, emlő, máj, nyelöcső, pajzsmirigy	0,05
Bőr, csontfelszín	0,01
Maradék (minden más)	0,05

(b) *Belső (szervezetbe bekerült radioizotóptól származó) sugárzás:*

A szervezetbe bekerült (inkorporálódott) sugárzó anyagok esetén azt a dózist kell meghatározni, amelyet a szervezetben tartózkodási ideje alatt az egyes szervekre lead, figyelembe véve mozgását a szervezetben, fizikai feleződését és biológiai kiürülését is.

A *lekötött dózisegyenértéket* a változó dózisegyenérték-teljesítmény (H'_T : az időegységenkénti dózisegyenérték, ld. (IV.2-1)) időbeli összegzésével (integrálásával) kaphatjuk meg:

$$H_T(\tau) = \int_0^{\tau} H'_T(t) dt \quad (IV.2-3)$$

Az összegzés szokásos időtartama (a τ értéke) felnőttek esetén 50 év, gyermekek esetén 70 éves korig. Amennyiben az éves felvételi korláthoz (ld. később) akarjuk a lekötött dózisegyenértéket hasonlítani, az integrálást *1 évre* kell végezni.

A szervenként lekötött dózisegyenértékekből a *lekötött effektív dózist* a korábban (ld. IV.2-2. táblázat) megismert szöveti súlytényezőkkel végzett összegzéssel kaphatjuk meg:

$$E(\tau) = \sum_T w_T \cdot H_T(\tau) \quad (IV.2-4)$$

IV.3. Az ionizáló sugárzás biológiai hatásai

Groska Erika, Varga József

A. A sugárzás és az élő anyag közötti kölcsönhatás

(a) *Hatásmechanizmusok*

Közvetlen (direkt) hatás:

Az energia elnyelődése és a kiváltott elsődleges folyamat ugyanazon a molekulán belül következik be.

Közvetett (indirekt) hatás:

Az energia elnyelődése, majd az általa kiváltott hatás különböző molekulán következik be. Leggyakoribb, amikor vízben a sugárzás hatására szabad gyökök keletkeznek, majd ezek másodlagos reakciók útján idézik elő a biológiailag aktív molekulák átalakulásait.

A sejt sérülések célterületei

A sejtben két különösen sugárérzékeny „célpont” van: a DNS-ek és a membránrendszer. Ezek sérülhetnek mind közvetlenül, mind közvetetten, a szabad gyökök hatására.

(b) *A sejtek sugárérzékenysége függ:*

- fizikai faktoroktól (sugárzás minősége, dózisteljesítmény, frakcionálás, hőmérséklet)
- kémiai faktoroktól (oxigén, szabadgyök-fogók, antioxidánsok)

- biológiai faktoroktól (osztódási ciklus, antioxidáns kapacitás, stb.)

Fizikai faktorok

Függés a sugárzás minőségétől: a relatív biológiai hatékonyság (RBE)

Az RBE ugyanazon biológiai hatás kiváltásához szükséges elnyelt dózisok hányadosa, amit minőségi tényezőnek vagy sugárzási súlytényezőnek (w_R) is szokás nevezni:

$$w_R = D_{von}/D_{vizsg} \quad (IV.3-1)$$

D_{von} = a referencia sugárzás elnyelt dózisa (250 kV röntgen- vagy Co-60 gamma-sugárzása)

D_{vizsg} = a kérdéses típusú sugárzás elnyelt dózisa.

A különböző LET-értékű sugárzások különböző biológiai hatásának kifejezésére szolgál. A különböző sugárzások azonos fizikai dózisa a w_R tényezőnek megfelelően 1-20-szor nagyobb biológiai hatást eredményez. A LET és a sugárzási súlytényező összefüggését a IV.3-1. táblázat mutatja. A (IV.2-1) képlet szerint a dózisegyenérték kiszámolásához használjuk.

IV.3-1. táblázat: LET-érték és minőségi tényező összefüggése

LET érték (keV/ μ m)	w_R
3.5-7	1
7-23	1-2
23-53	5-10
53-175	10-20

Hőmérséklet

Hipertermiás kezelés (41 °C felett) sugárérzékenyítő hatást vált ki.

Kémiai módosító tényezők

A szabad gyökökkel reakcióba lépve vagy közömbösítik, vagy éppen közvetítik a károsító hatást.

A kialakult (elsődleges) szabad gyökök a makromolekulákból is szabad gyököt képezhetnek, amelyek további reakciók után biológiai funkciók megváltozását eredményezhetik. A makromolekuláris szabad gyökök fő reakciótípusai: a direkt disszociáció, oxidáció, keresztkötés és helyreállítás. Mivel a helyreállítás nagyobb arányú kisebb sugárhatás (kevesebb keletkező szabad gyök) esetén, ugyanakkora sugárdózis nagyobb biológiai hatású, ha rövidebb idő alatt éri a sejtet. A leadandó sugárdózis időbeli felosztása nagy jelentőséget kap a sugárterápia hatásának tervezésében.

Oxigén

Elősegíti a reakcióképes, peroxid-típusú szabad gyökök keletkezését (oxigéneffektus).

Biológiai tényezők

A legfontosabb a *Bergonie-Tribondeau szabály*: annál nagyobb a sejt sugárérzékenysége, minél gyakrabban osztódik, és minél kevésbé differenciált. Az egyes szövettípusok sugárérzékenységét a *IV.3-2. táblázat* állítja sorrendbe. (Vö. *IV.2-2 Táblázat*.)

B. A szervezet sugárkárosodása

(a) *Besorolás a hatás jelentkezése szerint:*

Szomatikus hatások: az ionizáló sugárzás azon hatásai, melyek magán a besugárzott egyeden jelentkeznek.

Genetikai hatások: azon hatások, melyek a besugárzott egyed utódain jelentkeznek (rendszerint mutáció formájában).

(b) *Besorolás sugárvédelmi szempontból:*

IV.3-3. táblázat: Korai sugárkárosodás dóziszfüggése

Akut dózis (Sv)	Várható korai hatás
0,05-0,75	Kromoszóma-eltérések és átmeneti fehérvérsejtszám-csökkenés egyeseknél. Semmi más megfigyelhető hatás.
0,75-2	Hányás a személyek 5-50%-ánál néhány órán belül, fáradtsággal és étvágyvesztéssel. Mérsékelt vérkép-eltérések. Gyógyulás legtöbb tünetből néhány héten belül.
2-6	Hányás mindenkinél 2 órán belül. Súlyos vérkép-eltérések, vérzés, fokozott fogékonyság fertőzésre. 3 Sv felett hajhullás 2 hét után. Alacsonyabb dózisoknál legtöbb személy 1-12 hónap után gyógyul. A magasabb dózisokat csak kb. 20% éli túl.
6-10	Hányás 1 órán belül. Súlyos vérkép-eltérések, vérzés, fertőzés, hajhullás. A betegek 80-100%-a 2 hónapon belül elpusztul, a túlélőknél hosszú betegeskedés.

Determinisztikus sugárhatás

Az ionizáló sugárzás azon biológiai hatásait, amelyek kivétel nélkül minden egyes besugárzott egyeden megjelennek, amennyiben a dózis meghaladja az adott egyedre és adott biológiai hatásra jellemző **küszöbérték**et, determinisztikus sugárhatásnak nevezzük. Jellemzői:

- nem jelenik meg a küszöbértéknél kisebb dózisok esetén
- a küszöbérték feletti dózisok esetén a létrejövő biológiai hatás *súlyossága* arányos a dózissal.

IV.3-2. táblázat: A különböző szövetek sugárérzékenysége csökkenő sorrendben

nyirokszövet
 fehérvérsejtek, csontvelői éretlen
 vörösvérsejtek
 gyomor-, béltraktus nyálkahártyája
 ivarsejtek
 bőr proliferáló sejtrétege
 erek
 mirigyszövet, máj
 kötőszövet
 izomszövet
 idegszövet

Pl.: nem malignus bőrsérülések, hályog, sejtszám csökkenés a csontvelőben. Az emberi szervek és szövetek nem sztohasztikus sugárkárosodásának küszöbdózisa 2,5-20 Sv közé esik; ld.

IV.3-3. táblázat.

Sztohasztikus sugárhatások

Küszöbdózis nincs. Megjelenésük statisztikus törvényszerűségeket mutat, tehát egy besugárzott populációban várható *gyakoriságuk arányos a dózissal*, nem pedig a betegség súlyossága.

A sztohasztikus hatások csak néhány egyeden lépnek fel, látszólag véletlenszerűen; ld. IV.3-4. táblázat.

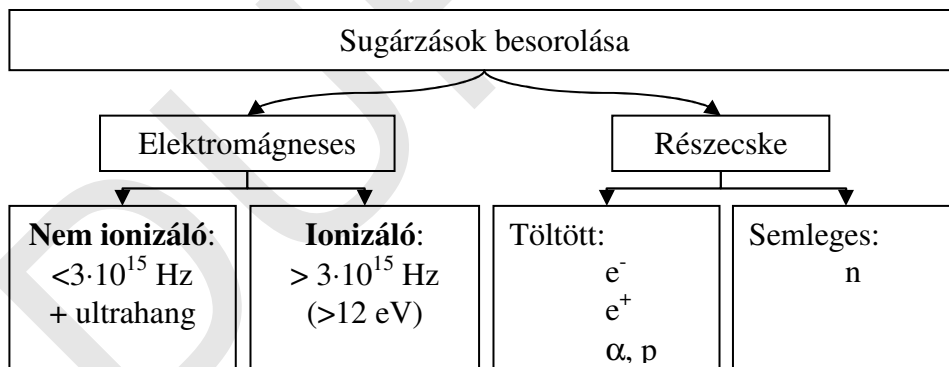
IV.3-4. táblázat: Sztohasztikus hatások valószínűsége a teljes lakosságra (% / 1 Sv)

Végzetes kimenetelű rosszindulatú daganat	5
Nem végzetes rosszindulatú daganat	1
Súlyos, örökletes károsodás	1,3

IV.4. SUGÁRVÉDELEM

Varga József

Az orvosi izotóplaboratóriumok sugárvédelmének célja az ionizáló elektromágneses és töltött részecske sugárzás elleni védekezés (vö. IV.4-1. ábra).



IV.4-1. ábra: Sugárzások besorolása a sugárvédelem számára

A. A lakossági dózis összetevői

A lakossági sugárdózis összetevőit a IV.4-1 táblázat mutatja. A természetes háttérsugárzás Magyarországon ennél magasabb (elsősorban a radon miatt), átlaga **3,1 mSv/év**.

A dóziskorlát a külső forrásból és az emberi szervezetbe került radionuklidoktól származó effektív dózis és lekötött effektív dózis összege, amelyet az ellenőrzött tevékenységből származó egyéni sugárterhelésnek nem szabad meghaladni.

A Magyarországon jelenleg érvényes jogszabályok szerinti foglalkozási dóziskorlátokat a *IV.4-2. táblázat* tartalmazza.

(b) Lakosság:

A cél az emberi populáció egészségének védelme anélkül, hogy a sugárzások hasznos alkalmazását indokolatlanul korlátoznák. A *IV.4-3. táblázatban* olvasható dóziskorlátok a lakosság egészségének mesterséges forrásokból származó sugárterhelésére vonatkoznak az egészségügyi alkalmazások és a sugárveszélyes munkakörben végzett munka körében elszenvedett sugárterhelés kivételével.

IV.4-3. táblázat: Lakossági dóziskorlátok

Egy év alatt	<1 mSv
Bőr, végtagok	50 mSv/év
Szem	15 mSv/év

(c) Betegek (egészségügyi alkalmazás):

A nemzetközi ajánlások az ionizáló sugárzás egészségügyi alkalmazásaira nem állapítanak meg számszerű korlátot, hanem helyette egy általános elvet szögeznek le: az ésszerűen alkalmazható legalacsonyabb radioaktivitásokat ill. sugárdózisokat kell használni. Angol rövidítése után ezt ALARA-elvnek hívják („As Low As Reasonably Achievable”). Ez úgy értendő, hogy mérlegelni kell az alkalmazástól (diagnosztikai vagy terápiás eljárástól) várható hasznot és az azzal járó kockázatot, és ez alapján kell dönteni.

C. A sugárvédelem hazai szabályozása

(a) A szabályozás szintjei

A sugárveszéllyel járó tevékenység szabályozása a magyar jogrendben négy szinten történik.

Törvény

A szabályozás alapja az **1996. évi CXVI. törvény az atomenergiáról**, mely az atomenergia mindenféle békés célú felhasználására vonatkozik.

Rendelet

A különböző (kormány- és minisztériumi) rendeletek közül kiemelkedő fontosságú a **16/2000. (VI. 8.) EüM rendelet** az atomenergiáról szóló 1996. évi CXVI. törvény egyes rendelkezéseinek végrehajtásáról, mely az izotóplaboratóriumok létesítésének és működésének követelményeit is tartalmazza.

Szabványok

A szabványok az Európai Unióban nem minősülnek kötelező jogszabálynak. A nemzeti szabvány alkalmazása önkéntes, kivéve, ha jogszabály kötelezően alkalmazandónak nyilvánítja.

Ennek megfelelően a sugárvédelemre vonatkozó magyar szabványok, elsősorban az MSZ 62, „Ionizáló sugárzás elleni védelem” című szabványcsoport (melynek 1-7. fejezete 1989 és 1999 között jelent meg) is olyan *ajánlásnak* tekintendő, amelynek alkalmazása esetén a jogszabályi előírások teljesülnek.

Munkahelyi Sugárvédelmi Szabályzat

A 16/2000. EüM rendelet előírja, hogy a sugárveszélyes munkahelyeken helyi szabályzatban kell meghatározni a munkavégzés speciális feltételeit és előírásait, természetesen összhangban a magasabb szintű előírásokkal.

(b) Izotóplaboratóriumok besorolása

Mentességi szint

A jogszabály radionuklidonként meghatározza azt a legnagyobb radioaktivitást, az úgynevezett mentességi szintet, amelyet még izotóplaboratóriumon kívül is fel lehet használni.

Ha egy laboratóriumban többféle radionuklid kis mennyiségével kívánnak dolgozni, a felhasználandó radioaktivitást radionuklidonként el kell osztani a vonatkozó mentességi szinttel, és az így kapott hányadosokat összeadni. Ha a kapott összeg 1-nél kisebb, a munkahelyet nem kell izotóplaboratóriumként engedélyeztetni.

Alapmennyiség (AM):

Egy radionuklid azon aktivitása, amelynek lekötött effektív dózisa lenyelés esetén az évi dóziskorlátot adná. Ennek segítségével határozza meg a rendelet a különböző szintű izotóplaboratóriumokban felhasználható radioaktivitás mennyiségét.

IV.4-4. táblázat: Orvosi izotóplaboratóriumok besorolása

Orvosi izotóplaboratóriumok:
Olyan izotóplaboratóriumok, melyben a radioizotópok gyógyászati (diagnosztikai vagy terápiás) célú felhasználása folyik.

Típus:	Elnevezés	Korlát:	
I.	„in vitro”	<1	AM
II.	„in vivo” diagnosztika	<100	AM
III.	terápia (is)	<10 000	AM

Ipari radioizotóp-laboratóriumok:

Egyéb izotóplaboratóriumok; ilyen szintek szerint sorolják be a kutatólaboratóriumokat is.

IV.4-5. táblázat: Ipari és kutatási célú izotóplaboratóriumok besorolása

Műveleti szorzók
A fenti mennyiségek a radionuklidok szokásos felhasználására vonatkoznak. Az igen egyszerű, illetve különösen veszélyes műveletek esetén a IV.4-4. táblázat és IV.4-5. táblázat szerinti értékeket az alábbi műveleti

Szint:	Korlát:	
C	< 10	AM
B	< 10 000	AM
A	> 10 000	AM

szorzókkal kell beszorozni:

tárolás:	100
egyszerű művelet (pl. kimérés):	10
cseppenés, fröccsenés:	0,1
száraz, porló anyag:	0,01

(c) Izotóplaboratóriumok létesítésének és működésének feltételei

Az izotóplaboratóriumoknak személyi, tárgyi és szervezési feltételeknek kell eleget tenni.

A működési engedélyt az ÁNTSZ ún. „sugár-egészségügyi decentrumai” adhatják ki, melyek közül hat hatásköre 3-3 megyére, a hetedik Budapestre és Pest megyére terjed ki. Ugyanezek végzik a folyamatos ellenőrzést a rendeletben meghatározott, az izotóplaboratórium szintjétől függő (C szintű labornál évenkénti) gyakorisággal.

Létesítés feltételei:

- szakértő által készített terv
- hatósági hozzájárulások (Környezetvédelem/Vízügy, Tűzoltóság, Rendőrség)
- Munkahelyi Sugárvédelmi Szabályzat
- egészségügyi (izotópdiaosztika, -terápia, röntgen) intézethez:
 - szakmai kollégiumi hozzájárulás
 - kalibrált dózisintenzitás-mérő
- izotópdiaosztikai és –terápiás laborhoz: aktivitásmérő („dózikalibrátor”).

Folyamatos ellenőrzés fő területei:

- egészségügyi alkalmassági vizsgálatok
- személyi dozimetria
- kivizsgálási szintet meghaladó dózisok (> 6 mSv / 2 hó)
- oktatottsági helyzet.

Személyi feltételek

- Sugárvédelmi megbízott és helyettese
- Sugárvédelmi képzettség mindenkinek
 - alap: aki maga nem dolgozik sugárzó anyaggal, csak kapcsolatba kerül vele (pl. sofőr, takarító)
 - átfogó: aki irányít, ellenőriz, terápiát elrendel
 - bővített: mindenki másnak
 - sugárvédelmi továbbképzés vizsgával 5 évenként
 - évi sugárvédelmi oktatás.

- Dolgozók besorolása:
 - „A”: ha a várható dózis meghaladhatja a 6 mSv/évet
⇒ személyi dozimetria is szükséges (film, elektronikus)
 - „B” sugárveszélyes munka, ez alatt.

Tárgyi feltételek

Az alábbiakban címszavakban összefoglaljuk a különböző szintű izotóplaboratóriumok fő követelményeit. A részletes előírásokat a rendeletek és szabványok tartalmazzák.

C és „in vitro” izotópdiaosztika: jól felszerelt kémiai labor +

- lemosható felületek (résmentes bútor, padló, lemosható fal)
- lekerekített fal-padló csatlakozás
- vegyi fülke, benne villany, víz, (gáz)
- izotóptároló: zárható, árnyékolt
- hulladéktároló: műanyag zsákkal bélelt, lábbal nyitható, fém
- könyökkel nyitható kézmosó
- tükör a kézmosónál
- papírtörülköző vagy kézszáritó.

B szint: még

- vízgyűjtő rendszer
- bejáratil zsilip (2 öltöző, közte zuhany, szennyezettségmérő a kijáratnál).

A szint: lehetőleg külön épület(rész).

Atomtechnikai létesítmények nyilvántartásai:

- orvosi alkalmassági vizsgálatok
- személyi dozimetriai mérések nyilvántartása
- sugárvédelmi oktatási napló
- radioizotóp-nyilvántartás
- sugárvédelmi műszerek hitelesítése
- saját sugárvédelmi ellenőrzések és mérések szennyezettségekről és dekontaminálásokról vezetett napló
- radioaktív hulladékok ideiglenes elhelyezéséről (aktivitásáról), végleges elhelyezéséről napló.

D. A munkahelyi sugárvédelem alapvető módszerei

A munkahelyi sugárvédelem a célja a dolgozók sugárterhelésének csökkentése azáltal, hogy:

- Megakadályozza a radioaktív készítményeknek a szervezetbe kerülését (inkorporáció)
- Minimálisra csökkenti a testet érő külső besugárzást.

(a) Védekezés radioaktív anyagok inkorporációja ellen

- A bőrfelület szennyeződésének megakadályozása gumikesztyű (és esetleg védőkötény) használatával. A védőkesztyűvel ne fogjunk meg olyan tárgyat, amit kesztyű nélkül (pl. telefon, toll).
- Az aktív folyadékok elcseppenésének megelőzése tálca, nedvszívó lap alkalmazásával.
- Véletlen szennyeződések felismerése rendszeres ellenőrző méréssel (testfelület, ruházat, munkafelületek, padló).
- A lecseppent aktivitás széthordásának megakadályozásában legfontosabb, hogy soha ne titkoljunk el a szennyeződést, hanem haladéktalanul kezdjük el a mentesítést!

Ennek lépései:

- a szennyeződés behatárolása, figyelmeztető jelzés elhelyezése
 - lehetőség szerinti felitatás illetve feltörítés
 - leterítés vízhatlan fóliával a széthordás megakadályozására (a lebomlásig)
 - esetleg árnyékolás a környezet besugárzásának csökkentésére.
- Külön köpeny, lábbeli használata az aktív laborban
 - Papír zsebkendő használata, kozmetikumok alkalmazásának mellőzése az aktív laborban.

(b) Védekezés külső sugárzás ellen

Ennek három fő módszere van, amelyeket kombinálva célszerű alkalmazni:

Távolság:

Ne feledjük, a sugárzás intenzitása a sugárforrástól mért távolság **négyzetével** csökken!

Lehetőleg ne fogjunk meg közvetlenül sugárzó készítményt: helyezzük tartóba, vagy használjunk távfogót, növelve a távolságot a kezünktől.

Idő

A dózis arányos a besugárzási idővel. Gyakoroljuk be a kritikus műveleteket inaktív készítményekkel, hogy az „éles” helyzetben gyorsabban dolgozhassunk. Csak a minimálisan szükséges ideig tartózkodjunk sugárforrás közelében.

Árnyékolás

Lehetőség szerint használjunk sugárelnyelő védelmet. Ennek anyaga a sugárzás típusától függjön:

- Gamma- és röntgensugárzás árnyékolására nagy sűrűségű anyag kell (ólom, wolfram).

- A béta-sugárzást plexivel célszerű árnyékolni, különben a keletkező fékezési röntgensugárzás növeli a sugárdózist.

Leggyakoribb megoldások: ólom vagy plexi tok az edényeknek, fecskendővédő ólomtok, ólomtéglá a munkaterület körül, ólomüveg ill. plexi ablak/pajzs/szemüveg, ólomgumi kötény. A lágy gamma-sugárzást a vasbeton fal is hatékonyan elnyeli.

IV.5. A sugárzó anyagokkal végzett munka gyakorlata

Csongor József

A. Az izotóplaboratóriumok kialakításának elvei

Az izotóplaboratóriumok építészeti kialakításának elvi szabályai igen egyszerűek: a laboratóriumban mindig a növekvő aktivitási szint irányába haladjunk! Tehát: a laboratórium bejáratánál legyenek az inaktív célzatú helységek, az öltöző, tisztálkodó (dekontamináló), szennyezettség-ellenőrző helyek. Ezután haladjunk az irodai- és dolgozószobák, mérlegszoba, mérőszoba (műszerszoba) irányába. A mérőszoba az aktív anyagot tároló helytől minél távolabb legyen. Az aktív anyagokkal dolgozó helyiségeknél is a növekvő aktivitási sorrend biztosítandó.

Mivel az egész laboratórium területén fennáll az elszennyeződés veszélye, biztosítani kell a felületek könnyű tisztíthatóságát. Ezért a fal, padló felülete sima, nem porózus legyen, korrózióknak ellenálljon, kémiaailag és fizikailag inert legyen, hőnek ellenálljon, és lehetőleg víztaszító legyen.

B. Általános munkavédelmi megfontolások

A radioizotópok biológiai jelentősége elvitathatatlan. Alkalmazásuk sok jelentős fiziológiai, biokémiai folyamat megismeréséhez segített hozzá. Ugyanakkor az izotópok alkalmazásával biztosított nagy analitikai érzékenységet ma már sok területen más, inaktív technikák is biztosítani tudják. Napjainkban annak vagyunk tanúi, hogy a „radioaktivitás” szó hallatán mindenki viszolyogva gondol Csernobilra és az atombomba utóhatásaira, és sokan elvetnek minden izotópkalkalmazási technikát. Természetesen minden módszernek vannak előnyei és hátrányai, és minden alkalmazott módszernek vannak szabályai és előírásai, melyek betartása a rizikófaktorokat minimálisra csökkenti. A megfelelő felkészültséggel végzett gondos munka megfelelő műszeres ellenőrzés biztosítása mellett garantálja, hogy a radioizotópokkal végzett munka biztonságos legyen. Minden felhasználónak be kell látnia annak felelősségét, hogy munkáját a szabályoknak megfelelően végezze, és biztosítsa, hogy a veszélyeztetettségi szint önmaga és a környezete számára is minimális legyen.

A következőkben az izotópokkal végzendő munka rendszabályairól tesziünk említést azon céllal, hogy az izotópok biztonságos használatával megismerkedjünk.

(a) Mikor használjunk radioizotópot?

Az előzőeknek megfelelően először is azt kell eldönteni, hogy használjunk-e izotópot, és ha igen, melyet? Ha az adott feladat inaktív módszerekkel is megoldható, természetesen azt kell választanunk, ill. csak akkor válasszunk radioizotópot, ha az alkalmazása mással nem helyettesíthető előnnyel jár. A legújabb sugárvédelmi előírások alapelve is az, hogy az ésszerűen lehetséges legkevesebb sugárzó anyagot használjuk munkánkhoz. (Ez az ALARA elv: „as low as reasonably achievable”). Másodsor: tudjuk-e biztosítani a tervezett munkához a szükséges munkakörülményeket és mérőberendezéseket?

IV.5-1. táblázat: Az általában használt β sugárzók tulajdonságai

	<i>Előnyök:</i>	<i>Hátrányok:</i>
H-3	biztonságos nagy spec.aktivitás szerves vegyületekben több pozícióban is igen nagy autoradiogr.felbontás	alacsony számlálási határfok izotóp kicserélődés izotóp effektus lép fel
C-14	biztonságos szerves vegyületekben több pozícióban is jó autorad. felbontás	alacsony spec.aktivitás
S-35	nagy spec.aktivitás jó autorad. felbontás	rövid felezési idő relatíve nagy biológiai felezési idő
P-32	könnyű detektálhatóság nagy spec.aktivitás egyszerű hulladékkezelés Cserenkov-számlálás	a rövid felezési idő miatt nagyobb ár és kísérleti terv külső sugárveszély rossz autoradiográfiás felbontás

(b) Radionuklidok kiválasztása

Biológiai jellegű kísérleti munkákhoz a következő markerek alkalmazhatók rutinszerűen : ^3H , ^{14}C , ^{35}S , ^{32}P , ^{125}I és ^{131}I . A felsorolási sorrend egyben toxicitási rangsort is jelent. Ez azt jelenti, hogy hacsak lehet, használjunk ^3H -jelzett anyagokat, hiszen azok a legkevésbé veszélyesek. (A

választást az is befolyásolja, hogy mely izotópokra szól az adott laboratórium működési engedélye.)

A felsorolt izotópok mindegyike béta-sugárzó, kivéve a jód izotópjait. A felsorolásban a sugárzás energiája is nő, ez erősen befolyásolja a detektálás határfokát és módját is.

C. A kísérletek tervezése

A kísérlet végrehajtása előtt kövessük végig az anyagunk útját, becsüljük meg a kívánt radionuklid mennyiségét, és próbáljuk számításba venni a várható nehézségeket. Ezután végezzünk egy "hideg" (dry) kísérletet a jelző anyag nélkül, hogy felfedhessük a gyakorlati problémákat. Az e célra fordított idő jelentősen növeli a siker esélyeit és csökkenti a felesleges sugárexpozíciót, a baleseti, kifröccsenéses és elszennyezéses kockázatot.

(a) A gondolati kísérlet szempontjai:

- számítsuk ki azt a minimális és maximális anyagmennyiséget, amely még jól mérhető, de nem zavarja meg a vizsgálandó rendszerünk egyensúlyi viszonyait (pl. a szubsztrát-koncentrációt egy enzim meghatározás során; az endogén pool mérete az in vivo jelzés esetén)
- becsüljük meg a beépülési/felvételi hányadot (sejttenyésztés)
- becsüljük meg az izotóp kinyerési határfokát a folyamatban
- a számlálás határfokát
- határozzuk meg a számlálás pontosságát és a számlálásra fordítható időt
- a kívánt párhuzamosok számát.
- A "hideg" kísérletet végrehajtásakor használjunk valamilyen színezéket, mely jól jelzi, hogy hol kell vigyáznunk a kontaminációs veszélyekre.

D. Az aktív anyag felhasználásának főbb lépései:

(a) Az érkező szállítmány fogadása és tárolása.

A szállítmányt egy jól elkülönített, biztonságos védelemmel ellátott helyen bontsuk ki. Az aktivitástól függően használjunk távfogókat, csipeszeket a minél nagyobb távolság biztosítására. Béta-sugárzás elleni védelmet plexi-vért is biztosít, gamma-sugárzás esetén ólomtéglákat használjunk. Kibontás után az izotóp jól zárható ólomtrezorba vagy ólomtokba kerüljön. A hőérzékeny biológiai anyagokat hűtőszekrényben tároljuk ólomvédelem biztosítása mellett (a gyártó által előírt hőmérsékletet betartva); a hűtőszekrénynek zárhatónak kell lennie. Az izotóp tárolására szolgáló helységet, valamint magát



IV.5-1. ábra: „Sugárveszély” szimbólum (a háromszög belseje sárga színű)

a trezort és hűtőszekrényt „RADIOAKTÍV ANYAG, SUGÁRVESZÉLY” felirattal és a radioaktív sugárzás nemzetközi szimbólumával (IV.5-1. ábra) kell ellátni.

(b) Kibontása, szétosztása (dozírozása).

A feldolgozást fülke alatt végezzük. Ha lehetséges, a különböző izotópokra különböző csipeszeket, fogókat használjunk. A készítményeket legtöbbször alumíniumkupakkal lezárt üvegfiolákban forgalmazzák, ezeket speciális kupakbontó fogókkal nyithatjuk. A bontási műveletet kesztyűben, szűrőpapírral fedett tálcán végezzük.

(c) A radioizotóp tényleges feldolgozása.

Ez történhet vegyifülkében, laborasztalon, stb. a felhasználási feladattól függően. Az elv az, hogy a munkát úgy szervezzük, hogy minimális besugárzási veszéllyel és szennyeződéssel történjen.

- laboreszközeinket mindig tálcára helyezzük
- a fülkében egyenletes légcserre biztosítandó
- gázképződéssel járó munkáknál mindig használjunk zárt boxot, melyen a kiáramló levegő szűrőre kerül.

(d) Minták mérésre történő előkészítése.

Itt főleg a minták tisztaságának megőrzése a probléma, ugyanis sokszor a mintavétel egy nagy aktivitású preparátumból kis mennyiségek kivételét jelenti, amit esetleg még tovább is hígítunk. Készíthetjük a mintát pl. egy csapadék szűréseként, centrifugálással, stb. E munkák közben igen nagy a lehetőség arra, hogy a számunkra értékes kis aktivitású anyagot elszennyezzük. (Célszerű pl. a kis és nagy aktivitású anyagokat színkóddal ellátni.)

(e) Számlálás.

A mérőszobában történik, ami „inaktív” terület kell, hogy legyen, jó szellőzéssel ellátva. Nyitott készítmények oda ne kerüljenek csak a kellően elkészített minták.

(f) A radioaktív hulladék összegyűjtése és tárolása, a készülékek, munkafelületek dekontaminálása.

A feldolgozó laboratóriumokban jól látható helyen hulladéktárolókat kell elhelyezni külön a szilárd, külön a folyékony hulladék számára. A tároló edények bélelték legyenek (pl. műanyag zsákkal). A hulladéktárolón szintén helyezzünk el veszélyt jelző táblát, valamint tüntessük fel a hulladék ismert adatait: keletkezésének ideje, izotóp fajtája, mennyisége, a felhasználó neve. A veszélyes hulladék fogalmát és mennyiségét törvény szabályozza, radionuklidtól függően.

A laboratóriumban jól látható helyen ki kell függeszteni a laboratóriumi munkarend szabályait és a sugárvédelmi megbízott adatait.

(g) *Még néhány megjegyzés a radioaktív anyagok kezelésével kapcsolatosan*

Minden radiotracer-termék vásárlásakor kötelezően mellékelnek egy *műbizonylatot*. Ez részletesen megadja a vegyület jellemzőit: képletét, tisztaságát, a minőségi ellenőrzés eredményét és a javasolt tárolási körülményeket.

Ne tároljuk az izotópokat a megadottól eltérő módon (pl. más hőmérsékleten). Tárolás közben a radiovegyyszerek több ok miatt is **elbomolhatnak**:

– *Radioaktív bomlás*: alapvető és elkerülhetetlen.

Pl.: $X-^{14}\text{CH}_3 \rightarrow X-^{14}\text{NH}_2 \rightarrow X-\text{NH}_2$ reakció, amit primer (belső) bomlásnak nevezünk.

– *Primer (külső) bomlás*: amikor a radioaktív molekula a miatt bomlik el kémiaiilag, hogy a külső sugárzást elnyeli. A bomlás mértéke több tényezőtől függ: hőmérséklettől (az alacsony hőmérséklet néha növeli a bomlást azáltal, hogy stabilizálja az átmeneti állapotokat), a specifikus aktivitástól, és a sugárzás energiájától (minél kisebb az energia, annál nagyobb a sugárabszorpció, tehát a bomlás). A nagy fajlagos aktivitású ^3H -vegyületek ezért különlegesen hajlamosak a külső dekompozícióra.

– *Szekunder dekompozíció*: amikor a jelzett molekulák kölcsönhatásba lépnek a sugárzás által keltett szabad gyökökkel.

– Kémiai lebomlás történhet a miatt is, hogy a használt radiovegyyszerek mennyisége nagyon kevés (nyomnyi) a nem radioaktív anyagokhoz képest, és számolni kell az üveg felületén történő jelentős *adszorptív veszteséggel*, amire nagyobb koncentrációnál nem szoktunk gondolni.

– Végezetül említendő a *mikrobiológiai fertőzés* lehetősége. Mindig biztosítsuk a steril körülményeket.

(h) *A tárolásra vonatkozó általános útmutató:*

– szigorúan tartsuk be a gyártó cég tárolásra vonatkozó ajánlásait

– lehetőleg a legalacsonyabb fajlagos aktivitással tároljunk

– tartsuk meg az oldat sterilitását

– hígítsuk meg az anyagot a gyártó által javasolt oldószerrel

– ha lehetséges, használjunk szabadgyök-befogókat (alkohol, nátriumformiát, glicerin, aszkorbinsav).

V. Kísérleti célú alkalmazások

V.1. Lágy béta-sugárzók mérése (LSC)

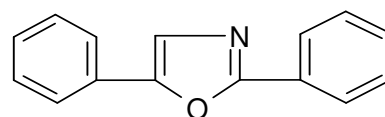
Csongor József

A. Alkalmazási terület

A biológiai tudományokban gyakran használt radioaktív izotópok (^{14}C , ^3H , ^{35}S , ^{45}Ca , ^{32}P) érdekes módon tiszta béta-sugárzók, és energiájuk alacsony. A folyadékszintillációs számlálókat (liquid scintillation counters, LSC) a kisenergiájú (lágy) béta-sugárzó izotópok mérésére fejlesztették ki. Lehetővé teszik, hogy a biológiai mintákban jó hatásfokkal meghatározhassuk a sugárzó anyagok mennyiségét, mivel a mintát közvetlenül a detektorba (a szcintillátor-oldatba) juttatjuk, és ez által biztosítjuk a tökéletes energiaátadás lehetőségét.

Megjegyzendő, hogy a gamma-sugárzók mérésére szokásosan használt elrendezés (minta kémcsőben, és külső sugárdetektálás szilárd szcintillációs kristályos mérőfejjel) a béta-sugárzás mérésére nem jó, mert a béta-sugárzást alkotó elektronok mm-es távon elnyelődnek magában a mintában, a kémcső falában, vagy a kristály burkolatában, vagyis el sem jutnak a szcintillációs kristályba; ezért kell a szcintillátor-folyadékot magával a mintával elkeverni.

A folyadékszintillátorok oldószereként aromás szerves vegyületek használhatók (toluol, xilol, kumén, újabban diizopropil-naftalin), a szcintillátor pedig legtöbbször difenil-oxazol (PPO, ld. V.1-1. ábra) ill. különböző származékai. A szcintillátorokkal szemben támasztott kívánalom a nagy fényhozam, jó oldékonyság, nagy kémiai stabilitás és alacsony ár.



PPO

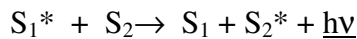
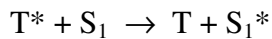
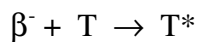
V.1-1. ábra: Difenil-oxazol

B. Az energiáttranszfer folyamatok vázlatosan

Az emittált béta-részecske kinetikus energiája 99 %-ban a legnagyobb mennyiségben jelenlévő oldószer-molekuláknak adódik át az ütközések során. (Az átadott energiának kb. 95 %-a szóródik, és csak mintegy 5%-a fordítódik gerjesztésre.) A szcintillátor molekulái újabb ütközések során kaphatják meg az oldószer-molekulák gerjesztési energiáját. A gerjesztett szcintillátor-molekula nyugalmi állapotba történő ugrása pedig foton, azaz fény keltésével jár. (A szcintillátorok a keltett fényt átengedik!) A teljes energiaátadási folyamat jól meghatározható idő (~ nsec) alatt történik. A kapott fényfelvillanásokat egy fénydetektor, a *fotoelektron-sokszorozó* (photomultiplier tube, PMT) méri, melynek optimális detektálási hullámhossza 400 nm körüli. Mivel a szcintillátor által kibocsátott fotonok hullámhossza ~300 nm, szokásos egy

újabb, ún. szekunder szcintillátor alkalmazása, hogy a fényjelek hullámhossza a detektor optimális tartományába kerüljön.

Vagy lépésként:



Az említett energiakonverziós lépések hozamát és a kapott fotonok leszámhlását sok tényező befolyásolja: főleg a szcintillációs mérőoldat („kocktél”), azaz a detektor, és a mérőberendezés (PMT) minősége. A folyadékszcintillátorokban 1 keV energia átlagosan 7 foton kelt. (Pl. a ^3H 5,5 keV-es átlagos energiája 35 foton kelt.) A keletkező fotonok közül azonban nem mindegyik éri el a PMT katódját, az oldatban elnyelődhetnek vagy az edény falán szóródhatnak.

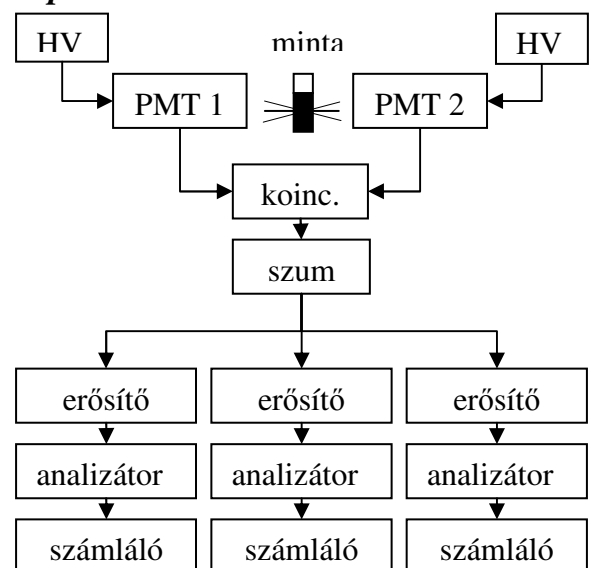
A PMT-t elérő fotonok fotoelektronokat keltenek (vö. III.1), ezek a dinódák sorából további szekunder elektronokat váltanak ki, végül egy jól kezelhető nagyméretű jelet kapunk. A PMT-ben nem csak a fotonok hatására keletkezhetnek elektronok, hanem spontán is, ezek a termikus zajok, melyek mérete megközelíti a kisenergiájú ^3H -jelek méretét, és mennyisége 10^3 - 10^5 cpm is lehet. Ezen zavaró jelek kiszűrése elektronikus úton lehetséges oly módon, hogy két PMT közé helyezzük a mintánkat, melyek jeleit egy időzítő (ún. koincidencia-egység) ellenőrzi, és csak azokat a jeleket engedi át, melyek azonos időben, 10^{-8} sec-on belül jelennek meg mindkét fotoelektron-sokszorozón. (A PMT háttér jelei nem egy időben keltődnek mindkét csőben.)

C. A folyadékszcintillációs számláló elvi felépítése

Az említett effektusok mind befolyásolják a számlálás hatásfokát, ami ezáltal mintánként eltérő. Fontos, hogy a szcintillációk száma arányos a minták radioaktivitásával, a fény intenzitása pedig az öt keltő β -részecske energiájával arányos.

(a) Kioltás (quenck)

A detektáláshoz szükséges energia-transzfer ill. fényátalakulási folyamatok károsodhatnak, ezt nevezük kioltásnak. A kioltás eredménye minden esetben az, hogy a minta spektruma a kisebb energia felé tolódik el (ld. V.1-3. ábra), a görbe



V.1-2. ábra: Folyadékszcintillációs számláló részei

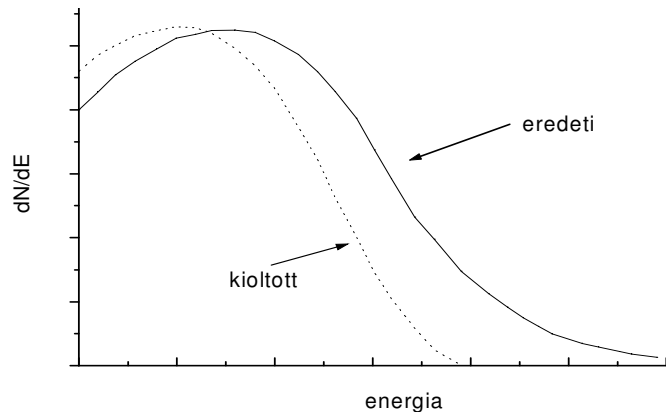
alatti területtel arányos bomlásebesség-érték (cpm: count per minute) csökken. A tényleges bomlásebesség az A abszolút aktivitás és az E hatásfok ismeretében adható meg:

$$A_{dpm} = \frac{N_{cpm}}{E} \quad (\text{V.1-1})$$

Fajtái:

1. szín kioltás

Akkor történik, ha a keltett fény elnyelése miatt a kapott jelek kisebbek, esetleg teljesen elnyelődnek. (Sok biológiai eredetű minta sárga/barnás színű, mely a kék színű fotonokat elnyeli.)



V.1-3. ábra: β -spektrum eltolódása a kioltás hatására

2. kémiai kioltás

Ezt okoznak a szcintillátorban lévő vegyszerek, a minta ill. mintakészítés oldószerei, stb., melyek az energiaátadási folyamatot gátolják valamelyik lépcsőben energia-disszipációt okozva. Ezek főleg ún. elektrodenz molekulák (szerves halidok, oxigén tartalmú vegyületek, víz!).

3. foton kioltás

Ebben az esetben a keltett fotonok szóródnak a heterogén (nem valódi) oldatban, pl. szuszpenziók vagy filterpapírok esetén.

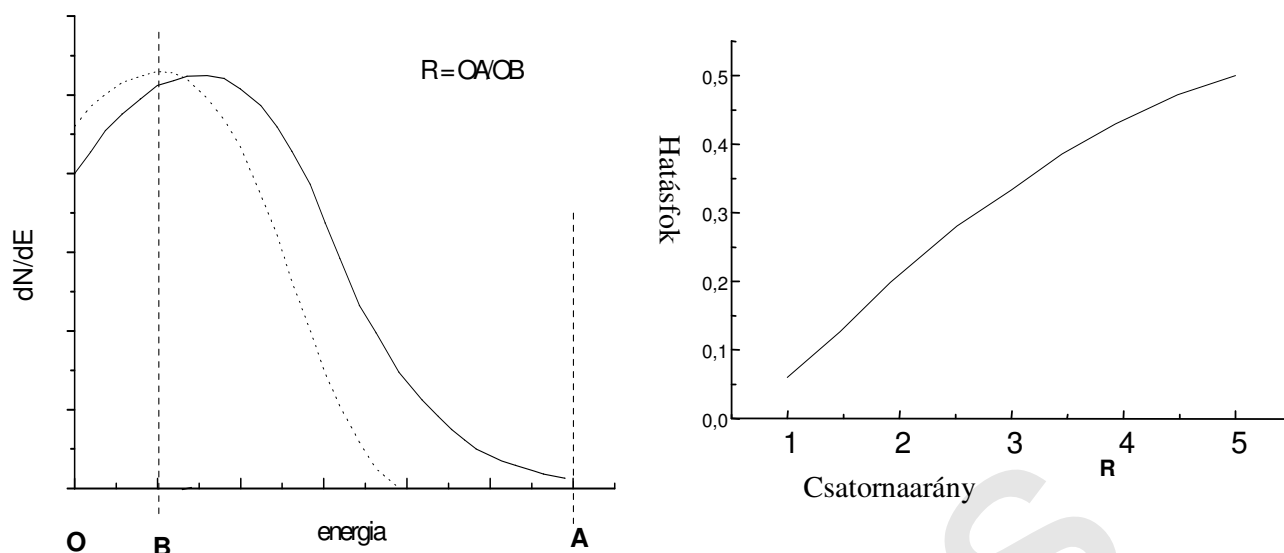
D. **Korrektációs eljárások a számlálási hatásfok megállapítására**

(a) Belső standardos eljárás

A minta lemérése (N_x) után ismert mennyiségű standardot adva a mintához ismételt mérést végzünk (N_{x+st}). A két mérési adatból a mérés hatásfoka ill. a minta abszolút aktivitása (dpm: disintegration per minute) kiszámítható:

$$\begin{aligned} N_x &= E \cdot A_x \\ N_{x+st} &= E \cdot (A_x + A_{st}) \\ E &= \frac{N_{x+st} - N_x}{A_{st}}, \text{ ill. } A_x = \frac{N_x}{E} \end{aligned} \quad (\text{V.1-2})$$

A módszer pontos, de hátránya, hogy viszonylag költséges standardok használatát igényli, sorozatmérésekre nem alkalmas. Kíváncsi, hogy az alkalmazott standard ne okozzon kioltást!



V.1-4. ábra: Csatornaarány számítása

(b) A csatornaarány-módszer

Itt azt használjuk fel, hogy kioltás során a spektrum alakja eltolódik az alacsony energiatartomány irányába. Minél több a kioltó anyag a mintában, annál nagyobb a spektrum eltolódásának mértéke.

Ha a teljes spektrumot az A csatornában mérjük, míg az első részét a B-ben, növekvő kioltással az $R=OA/OB$ arány is változni fog. A standard mintákra kapott értékekből megszerkeszthető egy kalibrációs görbe, amelyről leolvasható az ismeretlen mintában lévő hatásfok az R hányados ismeretében. (Ld. az V.1-4 ábrát.) A módszer előnye, hogy heterogén mintákra is alkalmazható és automatizálható, hátránya, hogy kis aktivitások vagy nagyfokú kioltás esetén pontatlan.

(c) A külső standardos csatornaarány-módszer

A mérendő minta mellé kívülről egy γ -sugárzó készítményt helyezünk el, és két csatornában mérjük a γ -abszorpció során keletkező Compton-elektronok spektrumát, mely a kioltás hatására ugyanúgy tolódik el, mint a minta β -spektruma, tehát a kapott csatornaarány jellemezni tudja a minták kioltását.

E módszer előnye, hogy alacsony aktivitású mintáknál is nagy pontosságot biztosít; hátránya, hogy csak valódi oldatok esetén használható. A minta csatornaaránya és a külső standardos csatornaarány összevetéséből éppen a minták heterogenitására lehet következtetni.

Kettős vagy többszörös jelzés folyadékszcintillációs méréseknél is lehetséges a spektrumok analízise alapján.

E. Cserenkov-sugárzás

Folyadékszintillációs számlálókkal a Cserenkov-sugárzás mérése is elvégezhető, hiszen ez a berendezés tulajdonképpen egy igen érzékeny fénydetektáló. A nagyenergiájú β -részecskék lefékeződésekor kapott fény vizes oldatban, szcintillátor nélkül, könnyen mérhető. (Pl. a biológiában gyakran használt ^{32}P kb. 50 %-os hatásfokkal.)

F. A mintakészítésről

Az általunk használt biológiai minták többsége vizes oldat, míg a szcintillációs oldatok, mint láttuk, szerves oldószereket tartalmaznak. A méréshez valódi oldatot ill. stabil szuszpenziót kell biztosítanunk. Ez nem mindig egyszerű feladat, költséges vegyszereket kíván, de ami a legfontosabb, ezek a „külső” anyagok minden esetben kioltást eredményeznek.

Másik zavaró tényező, ami a mintakészítés és mérés során felléphet, a *kemilumineszcencia* jelensége. Sok kémiai, biológiai folyamat képes lumineszcenciát létrehozni, és ezeket a nem radioaktív sugárzásból eredő fényjeleket meg kell tudni különböztetnünk a hasznos jelektől. Ez a megkülönböztetés a kétféle jel időanalízise alapján történik, mivel a lumineszcens jelek élettartama hosszabb. A kemilumineszcenciás jelek főleg a kisenergiájú ^3H mérésekor jelentkeznek és okoznak problémát.

V.2. Autoradiográfia

Csongor József

A sugárzások detektálásának legrégebbi és talán legegyszerűbb módszere, mely alapfokon semmiféle műszerezettséget nem igényel. Nagy előnye, hogy segítségével a sugárforrások lokalizációjára van lehetőség. Az autoradiográfia tulajdonképpen a sugárforrás lefényképezése két vagy három dimenzióban egy fotografiai emulzió segítségével. A vizsgálandó minták mérete alapján megkülönböztethetünk mikro- és makro-autoradiográfiát.

A *mikro-autoradiográfia* egy nagyméretű minta vékony metszetével foglalkozik. A metszeteket fényérzékeny réteggel borítva megfelelő expozíciós idő (több nap, hét vagy akár hónap is lehet!) után előhívjuk. A kapott kép értékelése fénymikroszkóppal vagy elektronmikroszkóppal történhet.

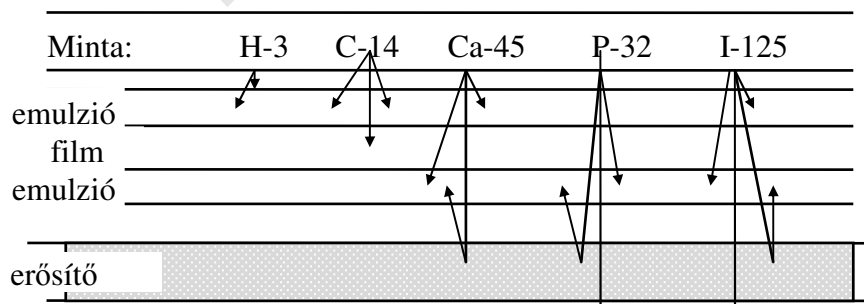
Makro-autoradiográfiánál nagyméretű mintákat értékelünk direkt kontaktust létesítve a minta és a film között, legtöbbször röntgenfilmet használva planáris mintákhoz. Feldolgozás után szabad szemmel is látható képet kapunk. E módszert kiterjedten használják kémiai analitikai célból, molekuláris biológiában, farmakológiai feladatokhoz, ipari feladatokhoz és még igen sok egyéb probléma megoldásához.

A. A fotográfiás folyamatok mechanizmusa

A fényérzékeny anyag (film) egy szilárd hordozóra felvitt, zselatinba ágyazott AgBr (ezüst-bromid). Az AgBr szerkezete kristályos, benne sok rácshibával. Ha fény vagy radioaktív sugárzás éri a kristályt, akkor egy elektron kilökődik és tovahalad a kristályon, majd egy hibahelyen befogódik. Az $\text{Ag}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{Ag}$ folyamatban keletkező Ag atomok az ún. *látens kép* prekursorai, mivel egy jól látható, stabil kép kialakulásához 3-6 Ag atom szükséges. Ezek létrehozásához több fény-foton szükséges, míg az ionizáló részecskék esetén egyetlen bomlás energiája is elegendő. A keletkező egyedülálló Ag-atomok instabilak, szobahőmérsékleten kb. 1 perces felezési idővel Ag^+ -á alakulnak vissza, ezáltal csökkentve a gócképződés lehetőségét. Ez a magyarázata annak, hogy látens kép képződését a hőmérséklet csökkentésével vagy a „preflash” technikával javítani lehet (ld. később).

A látens képet láthatóvá az *előhívási* folyamatban tesszük. Az *előhívó* oldat az AgBr szemcsék kémiai redukcióját végzi, mely folyamatot az Ag-atomok katalizálják, tehát ahol látens kép található, gyorsabban megjelenik a látható kép. (A hívási idő növelésével teljes redukció érhető el, ez a túlhívás; fontos a hívási receptúra pontos betartása!) A hívás után visszamaradó redukálatlan AgBr-ot a *fixirfürdő*ben távolítjuk el, majd alapos mosással eltávolítjuk a zselatinból a sókat.

Mivel az autoradiográfiás mérések célja a jelzett anyag lokalizációját megadni, fontos a mérőrendszerünk felbontóképességét ismerni, ami alatt azt a minimális távolságot értjük, amelyre elhelyezkedő két különálló pont képét még meg lehet különböztetni a filmen. Ez több paramétertől függ: a használt izotóp energiájától, a minta rétegvastagságától, a fotoemulzió rétegvastagságától, a minta és a film közötti távolságtól, az expozíciós és az előhívási időtől, stb. Másik fontos fizikai paraméter az érzékenység, ami az egységnyi aktivitás által okozott, felületegységenként (1 cm²-en) található Ag-szemcsék számát jelenti, és szintén a sugárzás energiájától, valamint az AgBr szemcsék méretétől függ.

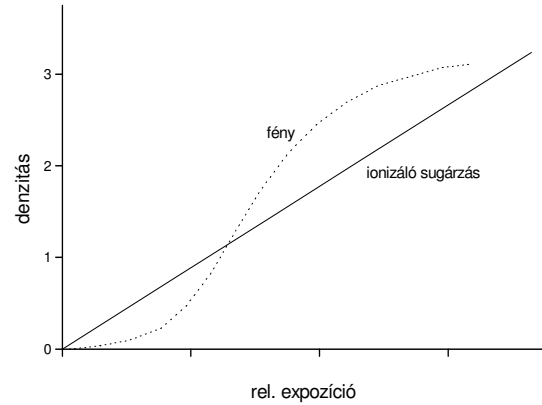


V.2-1. ábra: Autoradiográfia különböző radionuklidokkal

A gyakorlatban a két paraméter optimális állapota nem biztosítható egyidejűleg. Az érzékenység növelésére indirekt módszerek ismeretesek, amikor a sugárzás által keltett szemcsék

számát valamilyen másodlagos módszerrel növelik. A fluorográfia során a mintához szcintillátort adnak, és a szcintillátorból kilépő fény-fotonok szintén hozzájárulnak a latens kép kialakulásához. Nagyenergiájú sugárzások esetén növelni lehet a fényhozamot erősítő ernyők alkalmazásával is. A különböző lehetőségeket foglalja össze az *V.2-1. ábra*.

A feketedések értékelésére szolgálnak a *denzitométerek*. A kapott adatok értékelésénél nagy gondot jelent, hogy a feketedési értékek nem lineárisan változnak az aktivitással (ld. *V.2-2. ábra*). Más az emulzió válasza a radioaktív sugárzásra és más a fénykvantumra, mint azt már az előzőekben láthattuk. A probléma megoldására javasolt a „preflash” (elővilágítási) technika, amikor az expozíció megkezdése előtt a filmet elővilágítjuk szigorúan ellenőrzött feltételek mellett. Ez egy egyenletes eloszlású Ag-kialakulást biztosít, melyre a sugárzás keltette Ag-atomok mintegy ráülnek, így biztosítván a stabil gócok létrejöttét. Különösen fontos kis aktivitású mintáknál. Elővilágítást alkalmazva a válasz is közelítőleg lineáris lesz.



V.2-2. ábra: A feketedés nemlineáris függvénye a besugárzásnak.

$$D = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = 0.43 \cdot n \cdot a \quad (\text{V.2-1})$$

n : szemcseszám / cm^2

a : a szemcsék átlagos felülete (cm^2)

$D = 0,1$ eléréséhez $\sim 500-600 / 100 \mu^2$ szemcse szükséges, de már $5-10$ szemcse/ μ^2 is jól értékelhető.

A látens kép stabilizálását oly módon lehet biztosítani, hogy az expozíciót -70° -on végezzük. Az alkalmazandó film minőségét (szemcseméret, a film rétegvastagsága, stb.) a használt izotóp határozza meg.

V.3. Fehérjék jelzési módszerei

Csongor József

A fehérjék szerkezetének és funkciójának vizsgálata, érzékeny detektálásuk, lokalizálás, kvantitatív meghatározás és sok más egyéb analitikai célú vizsgálathoz nagy segítséget jelentett az izotóppal történő jelzés alkalmazása, az izotóp-mérések nagy érzékenységének kihasználása.

A jelzések fő szempontja az, hogy milyen radionuklidot (^{14}C , ^3H , ^{35}S , ^{125}I , stb.) használjunk, és ehhez milyen kémiai, biológiai felhasználható csoport van a jelendő fehérjén.

A. Kívánalmak:

- nagy érzékenységet biztosítson (nagy fajlagos aktivitás)
- a detektálási lehetőség biztosítva legyen
- a használt radionuklid felezési ideje optimális legyen
- a jelzés stabilitása megfelelő (recoil, radiolízis)
- a jelzés során a biológiai aktivitás ne károsodjon.

(a) *Néhány gyakran használt nuklid adatai*

Az V.3-1 táblázatban a laboratóriumi kutatási céllal leggyakrabban alkalmazott radionuklidok legfontosabb adatait tüntettük fel. (A bővebb táblázatot és átlagos béta-energiákat ld. VIII.1.)

V.3-1. táblázat: Gyakran alkalmazott radionuklidok a laboratóriumi kutatásban
(dpm: bomlás/perc; fmol: femtomol= 10^{-15} mol)

Radio-nuklid	sugárzás fajtája	T _{1/2}		Max. energia (MeV)	max. spec. akt. (dpm/fmol)
¹⁴ C	β	5730	év	0,156	0,1
³ H	β	12,43	év	0,018	63
¹²⁵ I	γ / rtg.	60	nap	0,035 / 0,027-0,035	4840
³⁵ S	β	87,3	nap	0,167	3410

A viszonylag egyszerű γ-számlálás miatt is előnyös a ¹²⁵I alkalmazása. Kutató laboratóriumokban főleg ³H markert használnak. A ³⁵S az előnyös autoradiográfiás tulajdonságai miatt terjed.

Megjegyezzük, hogy a (főleg amerikai gyártmányú) készítmények aktivitását esetenként a régi egységben (curie, Ci) adják meg. Emlékeztetőül: 1 Ci = $3,7 \cdot 10^{10}$ Bq.

B. Jelzett funkcionális csoport

Tirozin

A leggyakrabban használt fehérjejelzési technika a tirozin csoportok jódozása. A jelzéshez ¹²⁵I-t használunk A ¹²⁵I izotópot előnyös kémiai és fizikai tulajdonságai miatt kiterjedten használják. A NaI formában lévő nuklidból valamilyen oxidálószer segítségével egy igen reaktív I⁺(H₂O) gyök állítható elő, ami a jelzendő fehérje, peptid tirozin-csoportjaira kötődve mono- ill. di-jód származékokat hoz létre.

A jódatom kötődése a fehérje-molekulára megváltoztathatja a fehérje biológiai aktivitását. (Ellenőrzendő!!!) A fajlagos aktivitás növelésével mérőrendszerünk érzékenysége nő, de a jelzett termék stabilitása jelentősen csökken. (Általánosan elfogadott az 1:1 protein : jódatom arány.)

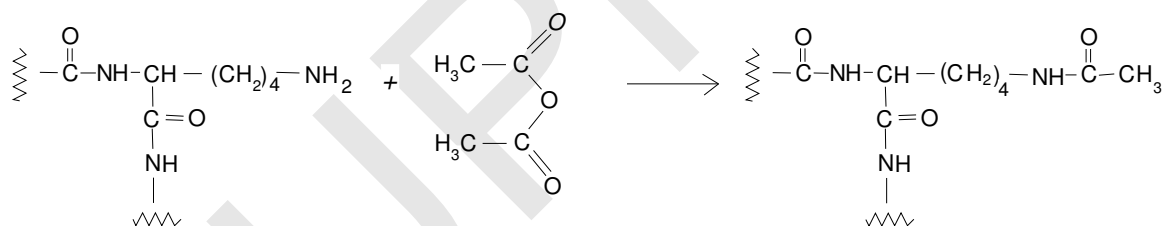
Fontos az oxidálószer megfelelő kiválasztása, hogy a fehérjék károsodása minél kisebb legyen az oxidatív beavatkozás folyamán. A tárolás során denaturáció és aggregáció történhet. (A tárolás $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történjen, kerülve az ismételt lefagyasztást.)

Elterjedt a Chloramin T használata, mert egyszerű és olcsó. Hátránya, hogy sok fehérje az oxidációs lépésben denaturálódik, a folyamat viszonylag gyors (sec), emiatt nehezen kontrollálható. A Iodogen nevű nem vízzoldékony oxidálószer kíméletesebbnek bizonyult, könnyebben kezelhető, a reakció lefolyása lassúbb. A legenyhébb oxidatív hatást enzimatis jódozással lehet biztosítani. Ekkor H_2O_2 jelenlétében történik az oxidáció laktoperoxidáz alkalmazásával. Hátránya az alacsony jódfelvétel, és hogy maga az enzim is jódozódhat, ami szennyezi a végterméket. A ICl használata igen érzékeny molekulák (pl. lipidek) jelzését is lehetővé teszi; hátránya, hogy a jelenlévő inaktív KI miatt alacsony fajlagos aktivitás érhető el.

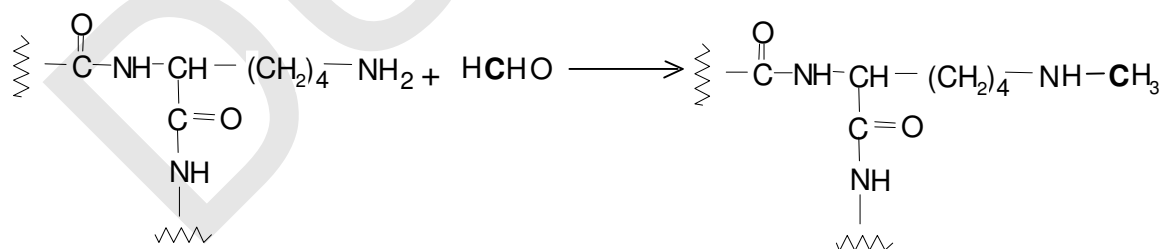
A jódozás befejeztével a be nem épült jódot *redukálni* kell, és a fehérjétől el kell választani. Ez rendszerint gélszűrőssel történik. Sokszor a mono- és di-jód származékok is elkülöníthetők HPLC technikával.

Amino-csoport

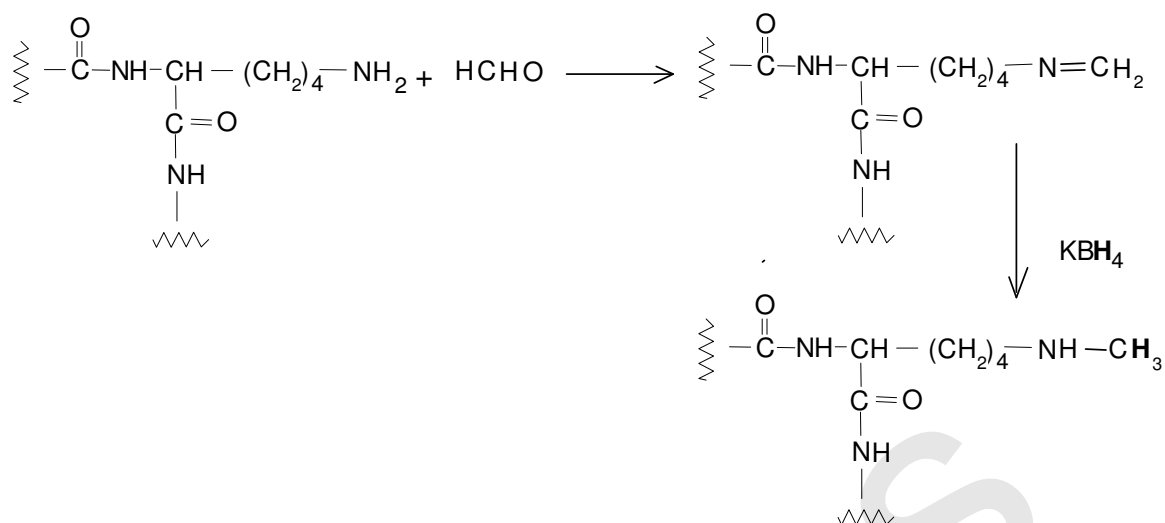
$[^{14}\text{C}^3\text{H}]$ - ecetsavanhidrid :



$[^{14}\text{C}]$ -formaldehid :

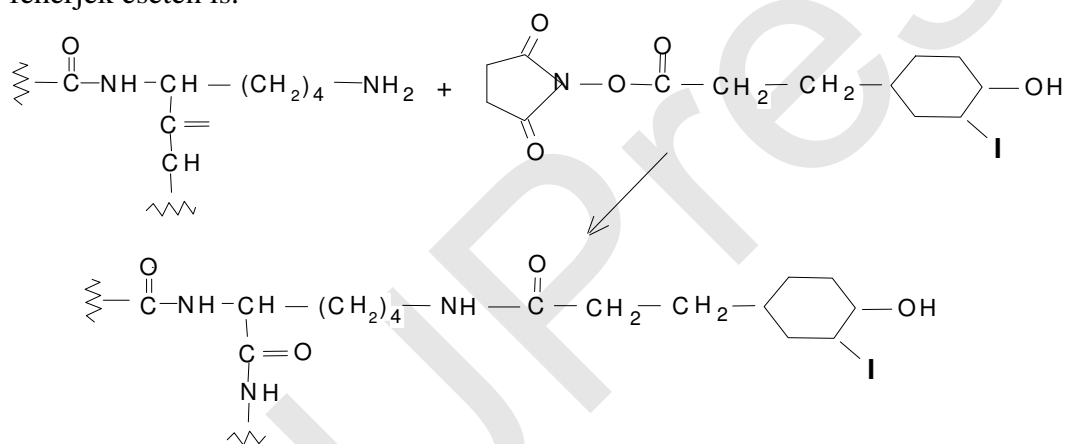


$\text{NaB}[\text{}^3\text{H}]_4$:



$[\text{}^{125}\text{I}]$ -Bolton-Hunter reagens :

Nagyon kedvelt jelzési módszer, mert a ^{125}I használatát teszi lehetővé tirozint nem tartalmazó fehérjék esetén is.

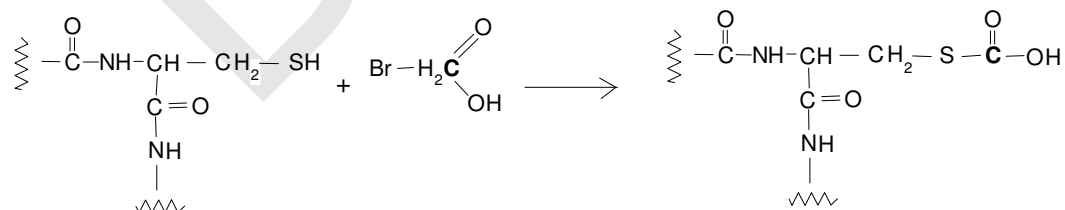


SH-csoport

$[\text{}^{14}\text{C} \beta\text{H}]$ - ecetsavanhidrid

$[\text{}^{14}\text{C} \beta\text{H}]$ -metiljodid

$\text{Cl-}[\text{}^{14}\text{C} \beta\text{H}]$ -ecetsav



V.4. Kötési viszonyok vizsgálata

Csongor József és Varga József

A. A kötési reakciókról általában

A biológiai rendszerekben számos olyan reakció megy végbe, ahol bizonyos molekulák fajlagosan (specifikusan) kötődnek valahová: a legismertebbek ezek közül a receptor-, antigén-antitest és enzim-kötések. Ezen kötések jellemzőinek meghatározására – a szereplő alacsony koncentrációk miatt – kiterjedten alkalmazzák a radioizotópos nyomjelzéses módszereket. Az alábbiakban ezen módszerekbe adunk rövid betekintést.

(a) A kötési reakciók leírása és jellemzői

A kötésbe kerülő molekulák számát döntően két körülmény határozza meg: a kötőhelyek koncentrációja és a kötése erősség (*affinitás*). További gyakori kérdés a kötés fajlagossága (*specificitás*), vagyis hogy a vizsgált kötés mennyivel erősebb, mint a résztvevő komponensek kötődése más, a vizsgált rendszerben előforduló anyagokhoz. Mindezek számszerű jellemzéséhez meg kell ismerkednünk a reakciók kinetikai leírásával.

A kötési reakciókban a kötődő anyagot idegen szóval *ligand*(um)nak nevezik, ezért a továbbiakban *L*-lel jelöljük, míg a kötőhelyeket *R*-rel (a receptorokra utalva). A ligand-kötőhely komplexeket *RL* jelöli. A kötődés és bomlás sebességét a k_{+1} asszociációs és a k_{-1} disszociációs sebességi állandó jellemzi:



A legegyszerűbb, ún. elsőrendű reakciókban az időegységenként keletkező ill. elbomló komplexek száma (a szögletes zárójelek koncentrációkat jelölnek):

$$[RL]^+ = k_{+1} \cdot [R] \cdot [L] \quad \text{ill.} \quad [RL]^- = k_{-1} \cdot [RL] \quad (\text{V.4-2})$$

Az **egyensúlyi helyzetet** az jellemzi, hogy a keletkező és elbomló komplexek száma azonos:

$$k_{+1} \cdot [R] \cdot [L] = k_{-1} \cdot [RL] \quad (\text{V.4-3})$$

$$K_A = \frac{k_{+1}}{k_{-1}} = \frac{[RL]}{[R] \cdot [L]} \quad ; \quad K_D = \frac{1}{K_A}$$

A K_A -t *egyensúlyi asszociációs állandónak*, reciprokát, a K_D -t pedig *egyensúlyi disszociációs állandónak* nevezik, és ezeket szokás leggyakrabban az *affinitás* mérőszámaiként használni.

(b) *Telítési kísérletek: a Scatchard-képlet*

Reakcióelegy-sorozatot készítünk, melyben a kötőanyag, reakció-térfogat és minden egyéb körülmény állandó, csak a (jelzett) ligand koncentrációját növeljük fokozatosan. Megvárjuk, míg az egyensúlyi kötési viszonyok kialakulnak, majd szétválasztjuk a szabadon maradt és a (specifikus és esetleg nonspecifikus) kötésbe került jelzett ligandot (ld. az alábbi példában). Megmérjük az egyes frakciók beütésszámát, átszámoljuk koncentráció-egységbe, ábrázoljuk a Scatchard-egyenest (ld. alább), és annak paramétereiből kiszámoljuk a kötési jellemzőket.

Levezetés

Szokás az angol rövidítések után a kötött ligand koncentrációját B -vel („bound”), a szabadét F -fel („free”) jelölni. A teljes kötőhely-koncentráció egyenlő a kötésbe kerülő ligand elvi maximális koncentrációjával (B_{max}):

$$B = [RL]$$

$$B_{max} = [R] + [RL]$$

$$B_{max} - B = [R]$$

$$F = [L]$$

Ezeket behelyettesítve az (V.4-3) egyensúlyi képletbe:

$$\frac{B}{(B_{max} - B) \cdot F} = \frac{1}{K_D}$$

$$K_D \cdot B = B_{max} \cdot F - B \cdot F$$

Ahonnán, beosztva $(K_D \cdot F)$ -fel:

$$\frac{B}{F} = \frac{B_{max}}{K_D} - \frac{1}{K_D} \cdot B \tag{V.4-4}$$

Az (V.4-4) az ún. **Scatchard-képlet**, mely szerint ha grafikonon ábrázoljuk (B/F) -et a B függvényében, (elsőrendű reakció esetén) egyenest kapunk, melynek meredekségéből és tengelymetszetéből megkapjuk mind az affinitást jellemző $K_A=1/K_D$ -t (-meredekség), mind a kötőhely-koncentrációt (B_{max} : x-tengely metszet); ld. V.4-1. ábra. (K_D jelentése: az a ligand-koncentráció, melynél a ligand fele kötődik.)

Néhány szempont:

- Az alábbi példában csak jelzett ligandot használtunk, és annak mennyiségét növeltük. Másik megoldás, hogy rögzített mennyiségű jelzett, és egyre növekvő mennyiségű jelzetlen ligandot teszünk a reakció-elegybe; ekkor a teljes ligand-koncentráció a kettő összege.
- A koncentrációkat mindig a reakcióelegy teljes térfogatára kell vonatkoztatni.
- A jelzett készítményeknél a gyártó sokszor csak a maximális fajlagos aktivitást adja meg, a tényleges értéket külön kísérletben ki kell mérnünk.

Példa a kísérlet kivitelezésére és kiértékelésére:

Ismert adatok:

Név	Érték	Megjegyzés
Specifikus aktivitás	$S_A = 95 \frac{\text{Ci}}{\text{mmol}} = 3.515 \frac{\text{Bq}}{\text{fmol}}$	$1 \frac{\text{Ci}}{\text{mmol}} = 0.037 \frac{\text{Bq}}{\text{fmol}}$
Inkubációs térfogat	$V = 1 \text{ ml}$	
Fehérje-koncentráció	$C_f = 0,34 \text{ mg/ml}$	
Detektálási hatékonyság	$E = 0,41 \text{ cpm/dpm}$	cpm: beütés/perc dpm: bomlás/perc

Számolás:

A koncentrációk (c) számolása a beütésszámokból (b):

$$c = b \cdot f$$

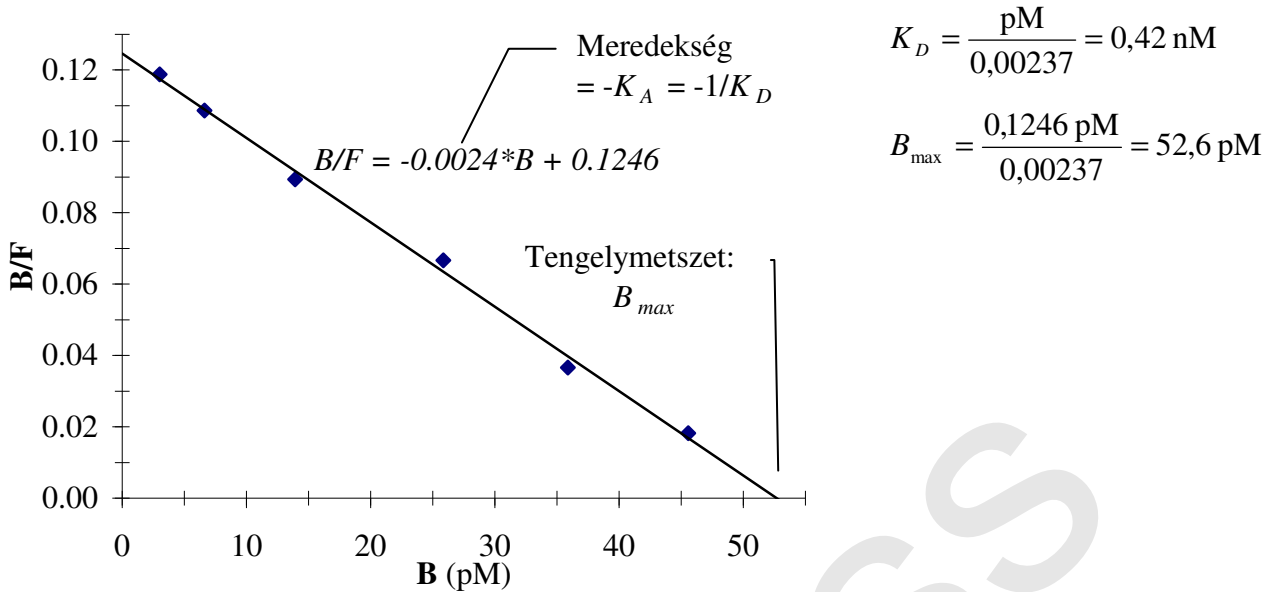
ahol az f faktor értéke (figyelembe véve, hogy $60 \text{ dpm} = 1 \text{ Bq}$, és $1 \text{ fmol/ml} = 1 \text{ pM}$):

$$f = \frac{1}{S_A \cdot V \cdot E} \cdot \frac{1 \text{ Bq}}{60 \text{ dpm}} = \frac{1}{3,515 \text{ Bq/fmol}} \cdot \frac{1}{1 \text{ ml}} \cdot \frac{1}{0,41 \text{ cpm/dpm}} \cdot \frac{1 \text{ Bq}}{60 \text{ dpm}} = 0,01156 \frac{\text{pM}}{\text{cpm}}$$

Adattáblázat:

Mért adatok (cpm):					Számolt adatok (pM):		B / F
Teljes bemért	teljes kötés	aspec. kötés	spec. kötés	szabad	spec. kötés (B)	szabad (F)	
2625	436	176	260	2189	3.01	25.30	0.119
6168	886	312	574	5282	6.64	61.06	0.109
15111	1629	424	1205	13482	13.93	155.85	0.089
36569	3004	767	2237	33565	25.86	388.01	0.067
90326	5449	2345	3104	84877	35.88	981.18	0.037
226729	10483	6541	3942	216246	45.57	2499.80	0.018

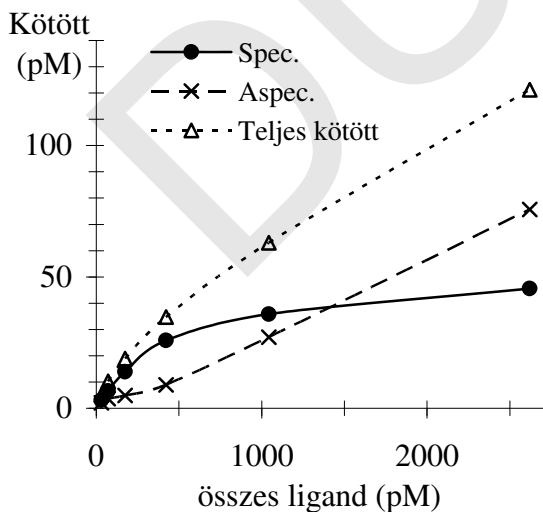
Scatchard-elemzés eredménye:



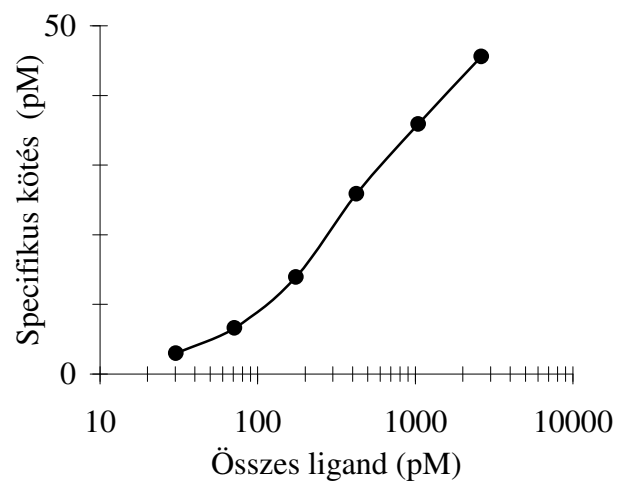
V.4-1. ábra: Scatchard-elemzés

Megjegyzések

- A fajlagos kötés jellemzője, hogy erős, de kimeríthető: telítési görbe jellemzi, ld. V.4-2. ábra. Ezzel szemben a nem fajlagos kötés sokkal magasabb koncentrációig csaknem egyenes arányban nő a bemért ligand koncentrációjával.
- Ha a specifikus kötést a bemért ligand-koncentráció *logaritmusának* függvényében ábrázoljuk, sajátos S-alakú (ún. „szigmoid”) görbét kapunk, melynek felső korlátja a kötőhely-koncentráció. (Ld. V.4-3. ábra.)



V.4-2. ábra: Megoszlás a specifikus és aspecifikus kötés között



V.4-3. ábra: A specifikus kötés a ligand-koncentráció logaritmusának függvényében szigmoid-görbét ad.

(c) *Kiszorításos (inhibíciós, gátlásos kísérletek)*

Ebben az esetben rögzítjük a kötőanyag és a radioligand mennyiségét, és változtatjuk a jelzetlen (gátló) anyag koncentrációját. A gátló anyag koncentrációjának növelésével a szabad kötőhelyek koncentrációja csökken, mert a radioligand és a gátló anyag vetekszenek a kötőhelyekért (és a radioligand - kötőhely komplex koncentrációja is csökken). A kötött radioligand koncentrációját a gátló anyag koncentrációjának (I) függvényében a következő egyenlet írja le:

$$B = \frac{B_{\max} \cdot F}{F + K_D \cdot (1 + I/K_I)}$$

K_I jelenti a gátló anyag affinitását (disszociációs állandóját) a receptorhoz.

Jól szemléltethetők a mérési adatok, ha a kötött radioligand mennyiségét ábrázoljuk a gátló anyag koncentráció-logaritmusának függvényében. A kiszorítási görbét (illetve a gátló anyagot) jellemzi az IC_{50} (vagy EC_{50}):

az a gátló anyag koncentráció, melynél a

radioligand kötése a felére csökken. (Értéke a görbéből könnyen meghatározható, ld. V.4-4. ábra).

A K_D és az IC_{50} ismeretében meghatározható a K_I is a következő összefüggés ismeretében (Cheng és Prusoff):

$$K_I = \frac{IC_{50}}{I + F/K_D}$$

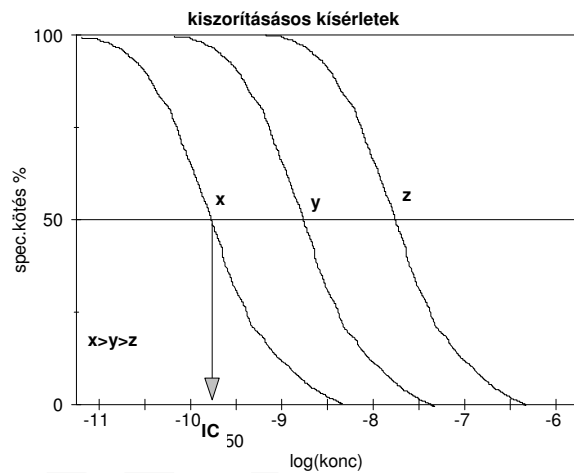
(d) *Kinetikai mérések***a. Asszociációs kísérletek:**

A kötőhelyek és a radioligandok mennyisége konstans, és vizsgáljuk a kötött radioligand koncentrációjának időbeli változását (ld. V.4-5. ábra). A kísérletek célja kettős:

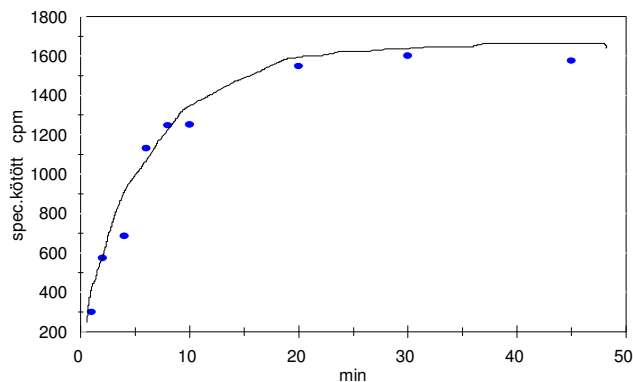
- meghatározhatjuk az egyensúly („steady state”) eléréséhez szükséges időt, ami a reaktánsok koncentrációjától függ
- a reakciósebesség (V.4-1) ismeretében is kiszámítható a K_D , ld. (V.4-3).

b. Disszociációs kísérletek:

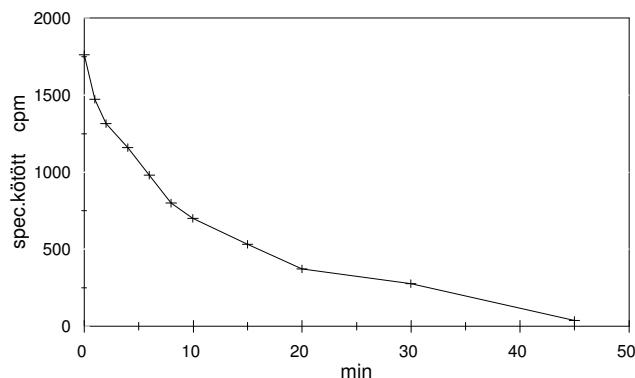
A k_{-1} disszociációs sebességi állandót határozzuk meg. Végrehajtása: a radioligandot bizonyos ideig inkubálva a kötőhelyekhez kötjük, majd a további specifikus kötést (asszociációt) nem jelzett liganddal vagy hígítással megakadályozzuk (ld. V.4-6. ábra).



V.4-4. ábra: Kiszorítási görbék



V.4-5. ábra: Asszociációs görbe



V.4-6. ábra: Disszociációs görbe

(e) Radionuklidok alkalmazása kötéselemzésre

A ligandok mennyisége femtomol - picomol 1 mg szövetre, ami 10^{-15} - 10^{-12} M koncentrációnak felel meg. Ezért indokolt a jelzett ligandok használata.

A ligandok jelzésére ^3H vagy ^{125}I jöhet számításba. A ^3H -mal történő jelzés előnye, hogy a jelzett vegyület kémiaiilag változatlan, és így biológiailag is megkülönböztethetetlen a jelzetlen anyagtól, míg a ^{125}I -dal történő jelzés esetén ez nem mindig biztosítható. A ^3H izotóp másik előnye a hosszabb felezési idő (12,3 év), ^{125}I esetén 4 - 6 hetente friss anyagot kell vásárolni vagy készíteni. A ^{125}I -készítmények előnye viszont az, hogy sokszor házilag is elkészíthetők (ár!), és hogy 80 Bq/fmol (2200 Ci/mmol) fajlagos aktivitás érhető el szemben a ^3H 1 - 3,7 Bq/fmol (30 - 100 Ci/mmol) értékével.

A jó radioliganddal szembeni kíváncsi az adott kötőanyaggal szembeni nagy affinitás. Ez alacsonyabb ligandkoncentráció használatát teszi lehetővé, ami alacsonyabb aspecifikus kötést biztosít, és nagy affinitás esetén kisebb a disszociációs sebesség is. A ^{125}I -al jelzett radioligandok pM, míg a ^3H -al jelzettek esetén nM affinitás (K_D) mérhető biztonságosan.

B. A receptorokról

A kötési vizsgálatok leggyakoribb alkalmazása a receptorok vizsgálata. A sejten belüli és a sejtek közötti jelátvitel a receptorokon kezdődik, a receptorok a jeltovábbító makromolekulák, legtöbbször glikoproteidek. A receptort tartalmazó célsejt felismeri a jelkeltő anyagot, a ligandot, az a receptorhoz kötődik, és megindul egy olyan reakció(sor), amely a sejt funkcionális megváltozásához vezet. Tehát a ligand (hormon) feladata az, hogy a receptorhoz kötődve annak tulajdonságait megváltoztassa.

(a) A jelkövetítés módjai:

- **Endokrin** szignalizáció esetén a kiválasztódott ligandok (hormonok, neurotranszmitterek) a vérárammal jutnak el a target sejthez.
- **Parakrin** jelátadás esetén a szignál és target sejt közelsége miatt a jelátadás közvetlenül megtörténhet és gyors (sec, min).
- **Autokrin** rendszerekben a sejt maga használja fel a ligandjait.

(b) A szignalizáció lépései:

1. ligand-szintézis
2. felszabadulás
3. transzport a célsejthez
4. detektálás
5. kötődés
6. jel elvezetés a receptortól valamilyen más fehérjéhez
7. válasz és szabályozás.

A receptorok lehetnek a sejtek felszínén (legtöbbször vízoldékony peptid-hormonok, prosztaglandinok, epinefrin és származékaik receptorai), melyek megindítják a szekunder messengerek vagy más anyagok keletkezését a citoszolban. A citoszolban található receptorok ligandjait (hidrofób vegyületek: steroid hormonok, tiroxin) a vér szállítja hordozó fehérjékhez kötötten, majd disszociálva bejutnak a sejtbe, ahol a citoszol specifikus receptoraihoz kötődnek. Hatásuk lassú, órákig, napokig megtalálhatók a keringésben.

(c) A receptorok tulajdonságai

- nagy specificitás
- nagy affinitás
- a kötés reverzibilis
- a kötőhelyek száma véges.

A receptorok preparálása teljesen egyedi és nem könnyű feladat, tárolásuk legtöbbször nem lehetséges. A kötés meghatározása annál pontosabb, minél nagyobb a receptor-koncentráció. A túl nagy receptor-koncentráció viszont nem előnyös, az összes radioligand ~10 %-os kötésénél legnagyobb a mérési pontosság. Megkülönböztetendő a **specifikus** kötés (nagy affinitás és kis kapacitás), és az **aspecifikus** kötés (kis affinitás és nagy kapacitás). A specifikus kötés az, ami a kérdéses receptorhoz kötődött, míg az aspecifikus kötés a mérhető többi. Meghatározása úgy történik, hogy a nem jelzett ligandot kb. 100-szoros koncentrációban alkalmazva teljesen telítjük

a specifikus kötőhelyeket. A specifikus kötést a teljes kötés és az aspecifikus kötés különbségéből számíthatjuk.

A kötési viszonyok természetesen függenek a mérési feltételektől, inkubálási időtől (steady state), hőmérséklettől (4 °C / 22 °C / 37 °C), az alkalmazott puffer minőségétől és pH értékétől.

Az *in vitro* kötési vizsgálatokhoz nagy tisztaságú szolubilizált, homogén receptorokra van szükség. Ezek előállítása teljesen egyedi és speciális. Szokás a sejtenyészttel kapott intakt sejtek kívánt receptorait közvetlenül vizsgálni.

A receptorszám meghatározásának egy másik radioizotópos jelzést használó lehetősége a kvantitatív autoradiográfiás módszer, ld. V.2.

A receptorok és radioligand kötések tanulmányozása nagyon fontos módszer a gyógyszerkutatásban, az új gyógyszerek hatásmechanizmusának megismerésében is. Külön fejezet az *in vivo* végzett receptorvizsgálatok területe, mely főleg a PET izotópok alkalmazásával lehetséges (ld. VI.3.E).

V.5. Nukleinsav próbák jelölése

Bíró Sándor

A nukleinsav hibridizálás a molekuláris genetika egyik legalapvetőbb módszere. Nélkülözhetetlen mind a klónok azonosításában, mind pedig a genom szerveződésének és expressziójának vizsgálatában.

A hibridizálásban használatos nukleinsav próbák jelölésére ma már számos izotópos és nem radioaktív módszer áll rendelkezésünkre. A legfontosabb és leggyakrabban alkalmazott radioaktív jelölési eljárásokat foglaljuk röviden össze az alábbiakban.

A. Nukleinsavak egyenletes eloszlású jelölése

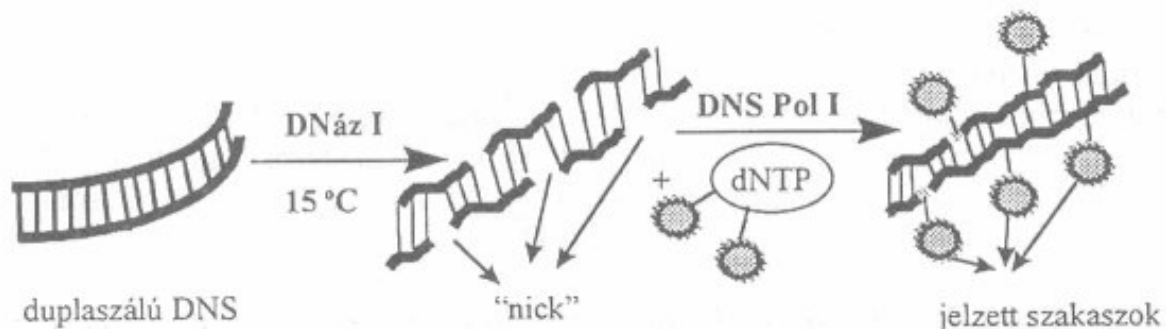
Elsőként olyan jelölési módszereket tárgyalunk, amelyekben a jelölés DNS vagy RNS polimerázok működésének eredményeként részben vagy teljes egészében újonnan szintetizált nukleinsav molekulákba épül be, s ennek megfelelően a jelölés eloszlása a molekulában egyenletes.

(a) Kettősszálú DNS jelölése nick translációval

A "nick" szó jelentése bevágás, bemetszés, s itt a rendkívül alacsony koncentrációban alkalmazott DNáz I enzim által, a kettősszálú DNS molekulában véletlenszerűen létrehozott bemetszésekre utal. A transláció szó jelentése itt eltolás, áthelyezés, s arra utal, hogy az eljárás során a DNáz I által létrehozott bemetszés a DNS polimeráz I enzim működése következtében az eredeti helyéről eltolódik. A DNáz I által létrehozott bemetszések ugyanis szabad 3'-véget hoznak

létre, amelyeknél a DNS polimeráz I enzim a mintaként szolgáló szál komplementerét kezdi szintetizálni, miközben 5'→3' irányban maga előtt az exonukleáz aktivitásával az 5'-végi nukleotidokat eltávolítja. Ezáltal ezeken a szakaszokon a régi DNS szál újonnan szintetizáltra cserélődik. Amennyiben α-pozícióban jelölt prekursor dezoxiribonukleotidokat (dNTP) használunk, az újonnan szintetizált szál jelölt lesz. Az eljárás kettőszálú DNS molekulák uniformizált jelölésére szolgál. A jelölt nukleotidok mindkét szálba beépülnek. Az eredeti eljárás ³²P-jelölt nukleotidokkal való jelölést ír le, de más radioaktívan (³³P, ³⁵S) vagy nem radioaktívan (Fluorescein-11-dUTP, biotin, digoxigenin) jelölt nukleotidok, illetve nukleotid analógok is beépíthetők.

Mivel az eljárás során megtörténhet, hogy a már beépült jelölést is lecseréljük jelölt nukleotiddal, a beépülés határfoka limitált. Általában az összes jelölt nukleotidnak nem több mint 40-60 százaléka épül be. Magas specifikus aktivitású (111 Bq/fmol=3000 Ci/mmol) ³²P-jelölt dNTP-t használva a próba specifikus aktivitása azonban így is magas, 10⁸ cpm/μg DNS. A beépülés változó határfoka miatt célszerű meghatározni a beépülés mértékét, illetve eltávolítani a be nem épült radioaktív prekuzort.



V.5-1. ábra: A nick transláció elve. A DNáz I bemetszést követi a DNS polimeráz I reakció, ami jelzett nukleotidokat épít be a DNS szálba.

A beépülés határfokának meghatározása DE81 ioncserélő papírral:

A módszer azon alapul, hogy a DNS sokkal erősebben kötődik a DFE81 ioncserélő papírhoz, mint a nukleotidok.

A beépülés határfokának meghatározása triklór ecetsavas (TCA) precipitációval:

Az eljárás alapja az, hogy a nukleinsav TCA-val kicsapható, míg a nukleotidok oldatban maradnak.

A próbába be nem épült nukleotidok eltávolítása Sephadex G-50 kromatográfiával:

A be nem épült nukleotidok eltávolítása ennél a jelölési módnál ajánlatos, mivel a be nem épült hányad viszonylag magas, s emiatt a hibridizáció során a háttér is magas. A próbát egy kicsiny, pl. 1 ml-es Eppendorf pipettahegybe öntött Sephadex G-50 oszlopon bocsátjuk át. A be

nem épült kis molekulájú jelölt nukleotid az oszlopról csak sokkal később eluálható, mint a nagyobb molekulatömegű jelölt DNS. Elvégezhető hagyományos elúcióval is, de manapság ennek egy centrifugálással kombinált igen gyors változatát használjuk.

A próbába be nem épült nukleotidok eltávolítása a jelölt DNS szelektív precipitációjával:

Elválaszthatjuk a jelölt DNS-t a be nem épült nukleotidtól a DNS etanolos lecsapásával is. Mivel a jelölt próba kettősszálú, hibridizáció előtt hődenaturálni kell (pl. 95 C°, 10 perc).

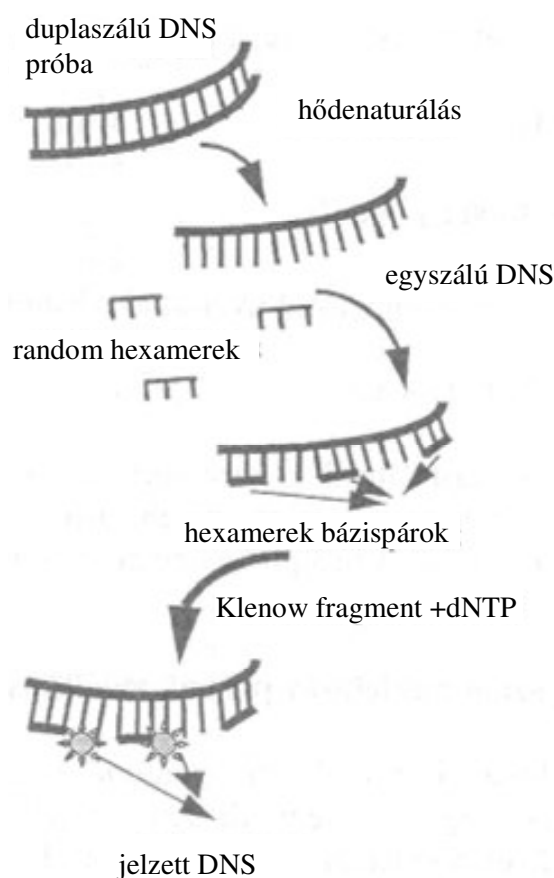
A nick transzláció ma már kevésbé használatos, leírását azonban tudománytörténeti és didaktikai szempontok indokolják.

(b) Nukleinsavak jelölése random szekvenciájú oligonukleotid primerek használatával

Az eljárás azon alapszik, hogy amennyiben egyszálú nukleinsavhoz rövid oligonukleotidok kötődnek, azok a nukleinsavon mint templáton a DNS polimerázok számára a szintézist iniciáló primerként szolgálnak, s ily módon a komplementer szál megszintetizálható. Amennyiben az oligonukleotidok szekvenciája véletlenszerű, a templáton több helyen is megtapadnak, s az 5'-végi szekvencia kivételével a teljes templát lemásolódik. Ha a szintézis során valamelyik nukleotid az α -pozícióban jelölt, nagy specifikus aktivitású próbák állíthatók elő.

Random oligonukleotidként kezdetben hexamereket, az újabb eljárásokban oktamereket és nonamereket használnak. Ezek mesterségesen szintetizált oligonukleotidok.

Az alkalmazott DNS polimeráz a templáttól függően, RNS templát esetén RNS függő DNS polimeráz (reverz transzkriptáz), illetve DNS templát esetén az *E. coli* DNS polimeráz I enzim egy olyan fragmentuma, az ún. Klenow fragment, amely nem rendelkezik 5' > 3' exonukleáz aktivitással. Az 5' > 3' exonukleáz aktivitás hiánya azért fontos, mert ez az enzim nem képes az újonnan szintetizált szál eltávolítására (ld. nick transzláció), s így nagyobb specifikus aktivitású próba állítható elő.



V.5-2. ábra: DNS jelölése random szekvenciájú primerekkel. A denaturált DNS mindkét szálához véletlenszerűen kötődnek a primerek, melyek komplementer szál szintézisét iniciálják.

Mivel templát csak egyszálú nukleinsav lehet, a jelölés előtt a kettősszálú DNS-t denaturálni kell.

Ezzel a módszerrel nagyon kis mennyiségű templát (25 ng) jelölhető igen nagy specifikus aktivitással (10^9 cpm/ μ g DNS), nagyon rövid idő alatt (5-30 perc). Mivel a beépülés határfoka is magas, általában nincs szükség a be nem épült nukleotidok eltávolítására sem. Amennyiben ez mégis szükséges, a beépülés határfoka, ill. a nem inkorporálódott nukleotidhányad a nick transzlációnál leírt módon meghatározható, ill. eltávolítható.

A hibridizációban való felhasználás előtt a próba denaturálása itt is szükséges.

B. Egyszálú nukleinsav próbák előállítása

Az egyszálú próbák használata több szempontból is előnyösebb a hagyományos kettősszálú próbáknál. Ilyenkor ugyanis nem áll fenn a jelölt próba két szála közötti hibridizáció lehetősége, ami csökkenti a detektálás érzékenységét. Ez különösen egymástól távoli fajok homológ génjeinek detektálása esetén jelentős. Ugyancsak előnyös a használatuk S1 nukleáz térképezéskor, ahol DNS-RNS hibridek keletkezése a cél, s nem kell a DNS-DNS hibridek keletkezésével számolni, illetve azok keletkezését gátló reakciókörülményeket alkalmazni. Az egyszálú próbák segítségével a transzkripcióra kerülő szál is könnyen azonosítható.

(a) Egyszálú DNS próba szintézise M13 fág vektorba (vagy fagemid vektorba) klónozott DNS fragmentumról

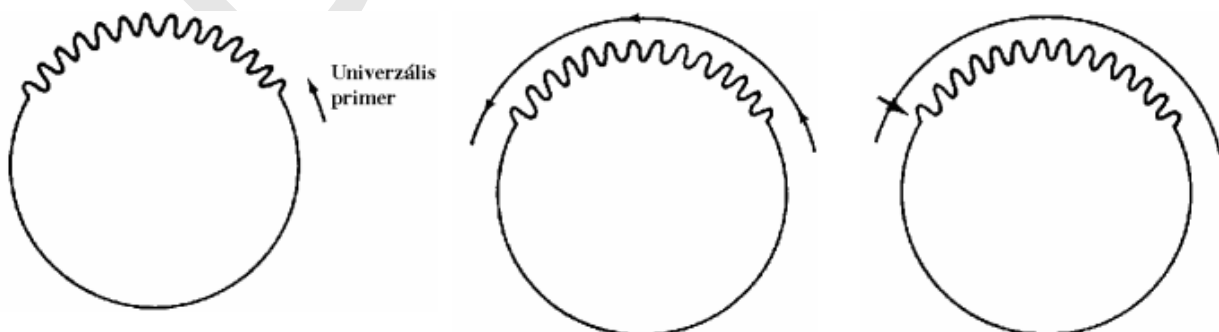
Az eljárás során a rekombináns M13 bakteriofághoz rövid oligonukleotidot hibridizálnak, s ezt primerként használva a klónozott DNS fragmentum komplementerét megszintetizálják.

Klónozzuk a jelölendő szekvenciát M13 fág vektorba

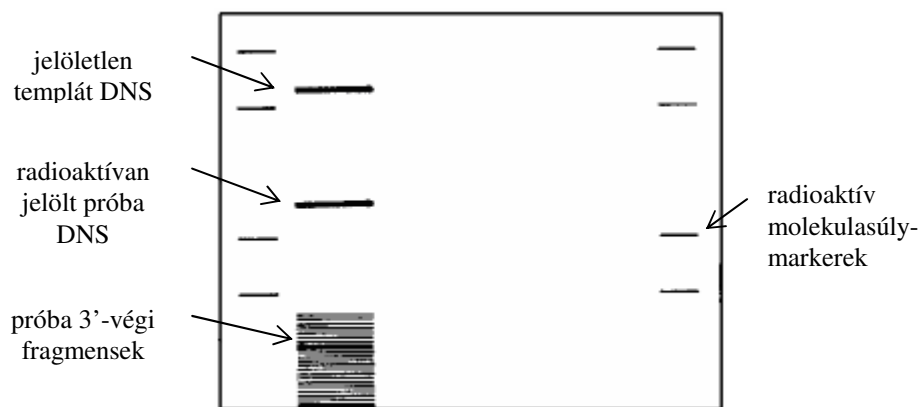
Szintetizáljuk meg a komplementer szálát.

Emésszük a DNS-t a jelölt szál 3'-végéhez közel hasító restrikciós enzimmal

E. coli Klenow fragment:
3 jelöletlen dNTP
1 radioaktív dNTP

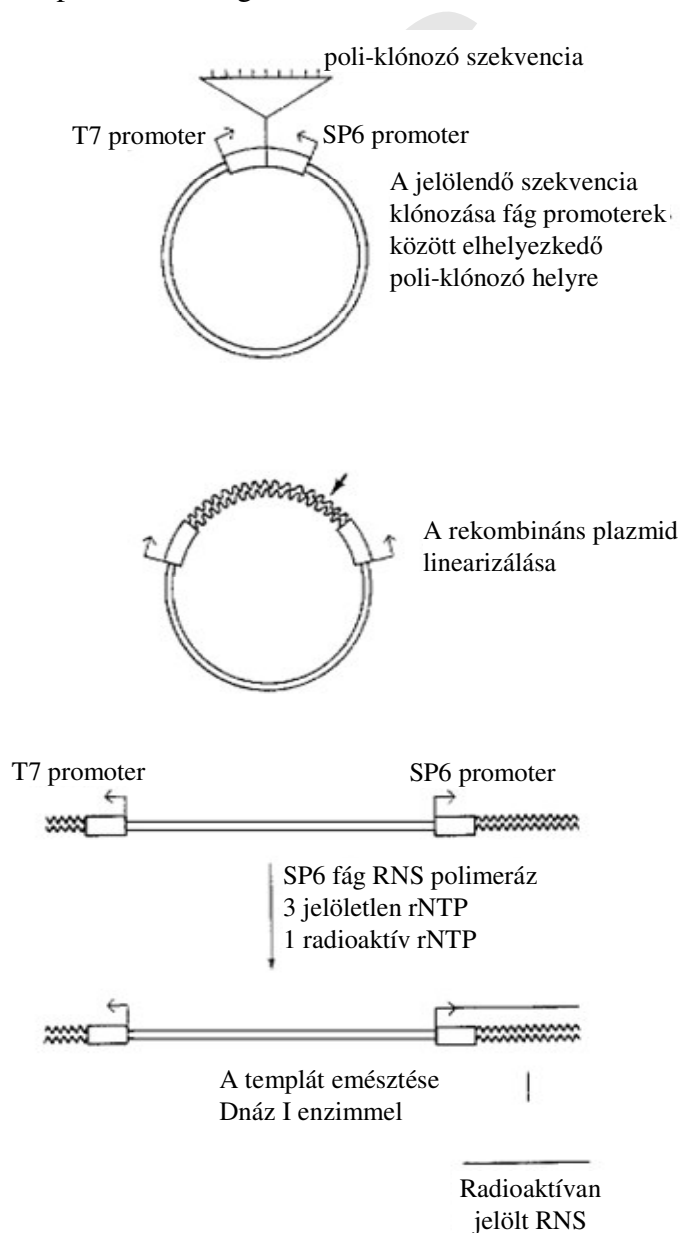


V.5-3. ábra: Egyszálú DNS próba szintézise M13 fágban



V.5-4. ábra: A jelölt próba tisztítása denaturáló poliakrilamid gélelektroforézissel

A primer általában a poliklónozó hely mellett *lac Z* génnel homológ. Ezt az oligonukleotidot több cég is forgalmazza univerzális primer néven. Az eljárás lépéseit az V.5-3. ábra mutatja be. A komplementer szálát Klenow fragmenttel szintetizáljuk. A reakció során valamelyik dezoxi-ribonukleotid α -helyzetben jelölt, pl. ^{32}P -vel. A prekursor nukleotidok koncentrációjának megválasztásával olyan reakciókörülményeket alkalmazunk, hogy parciálisan duplaszálú DNS molekulát kapjunk. Ezt a terméket emésztjük egy olyan restrikciós enzimmel, amelynek felismerőhelye vagy a klónozott fragmentumon belül, vagy közvetlenül utána található. A próba a templáttól és az emésztés során keletkezett rövid jelölt fragmentumoktól denaturáló poliakrilamid gélelektroforézissel elválasztható (V.5-4. ábra). A módszerrel 10^9 cpm/ μg DNS specifikus aktivitás érhető el.



V.5-5. ábra: Egyszálú RNS próba szintézise fág promoterről

megválasztott enzimek és jelölt nukleotid esetén lehetséges csak az egyik szál jelölése is. (Pl. *Bam*HI és *Hind*III kettős emésztés esetén [α - 32 P]dGTP az egyik, [α - 32 P]dATP a másik szálát jelöli.)

(b) 5'-vég jelölése T4 polinukleotid kinázzal (PNK)

A T4 PNK mind egyszálú, mind kettősszálú DNS molekula 5'-végének a jelölésére használható. A reakcióban a radioaktív nukleotid a jelölést γ -helyzetben kell tartalmazza, mivel az enzim a reakció körülményeitől függően vagy a szabad 5'-hidroxil csoporthoz kapcsolja a γ -helyzetű foszfát csoportot, s nukleozid difoszfát keletkezik, vagy pedig cserereakciót katalizál az 5'-végi foszfát és a γ -helyzetű foszfát között.

Szabad 5'-hidroxil csoport található általában a mesterségesen szintetizált oligonukleotidok végén, illetve létrehozható a DNS restrikciós fragmentumok defoszforilálásával. Erre a célra bakteriális és borjú bél alkalikus foszfátáz (calf intestine alkaline phosphatase = *CIAP*) használnak. Az utóbbi előnye, hogy hővel inaktiválható.

(c) 3'-vég jelölése terminális dezoxinukleotidil transzferázzal (TdT)

Az eljárás során az enzim mind egyszálú, mind kétszálú DNS molekulák 3'-hidroxil csoportjához további mono-nukleotidokat tud hozzákapcsolni. Így amennyiben azok α -helyzetben radioaktívan jelöltek, a DNS 3'-vége jelölődik. A reakcióelegytől függően vagy homopolimer farok jön létre, vagy (3'-deoxi nukleotid alkalmazásakor) egyetlen jelölt nukleotid kapcsolódik a molekulához.

Az eddig leírt legfontosabb és leggyakrabban használt radioaktív jelölési módok korántsem tekinthetők teljes körűnek. Ezekon kívül még más jelölési eljárások is használatosak. Itt végezetül még egy, egyre gyakrabban használatos eljárásra hívom fel a figyelmet, anélkül, hogy elvi vagy metodikai részletekkel szolgálnék: ez a DNS próbák jelölése polimeráz láncreakcióban (PCR).

VI. Gyógyászati alkalmazások

VI.1. „*In vitro*” izotópdiaosztika

Lenkey Ágota

A. Bevezetés

Az *in vitro* immunkémiai eljárások jelentősen megkönnyítették a kis molekulák mérése révén különösen az endokrin betegségek diagnosztikáját és kezelését. Jelenleg a ligandassay-vel (kötődő anyag = ligandum) meghatározható anyagok száma 1000 körül van, ezek legtöbbször fehérjék, peptid hormonok, szteroid hormonok, gyógyszerek, keringő antitestek, tumormarkerek, vitaminok, vírus antigének, allergének, stb. A korábbi klinikai kémiai módszerekkel szemben jellemzőjük a jelentősen kisebb mintatérfogat, nagy érzékenység (10^{-10} - 10^{-21} mol/l), specifitás és automatizálhatóság. Készletek formájában beszerezhetőek.

A módszerben a detektálhatóságot egy jól mérhető jelet hordozó reagens („jelző”, *tracer*) biztosítja. A jelzett reagenst alkalmazó ligandassay-k fejlődése a XX. század hatvanas éveiben a radioimmunoassay bevezetésével kezdődött. A ligandassay-kben az antigének meghatározására többségében immunglogulinok (*immunoassay*), de szükség szerint receptorfehérjék (*receptorassay*) vagy fiziológiás szállítófehérjék (kompetitív fehérje kötési analízis, *CPBA*) használhatók specifikus kötőanyagként.

B. Elméleti alapok, fogalmak

Az immunoassay fehérjekötésen alapuló immunanalitikai módszer, amelyben reverzibilis, elsőrendű immunkémiai reakció eredményeként az antigén (Ag) és a specifikus antitest (Ab) immunkomplexet képez. A komplexet gyenge erők tartják össze, úgymint: elektrosztatikus Van der Waals-erők, hidrofób kölcsönhatások, ionos kötések (elsődlegesen az antigén és antitest COO^- és NH_3^+ csoportjai között). A kialakuló konformáció és háromdimenziós szerkezet adja a komplex stabilitását.

Az antigén kötődése az antitesthez dinamikus elsőrendű folyamat, az egyensúly eléréséig tart, ahol a reakcióközegben együttesen jelen van az antigén és az antitest, részben szabad, részben kötött, immunkomplex (AgAb) formában; ld. a V.4.A fejezetben.

Nagyobb K_A érték esetén a reakció az asszociáció irányába tolódik el: az antitest csaknem teljesen telített, a szabad antitest mennyisége csekély. A poliklonális antiszérumoknál az antitest populáció aviditás-átlaga határozza meg a K_A értékét, és a k_{+1} -nek k_{-1} -hez viszonyított nagysága határozza meg az adott módszer érzékenységét. A tömeghatás törvénye értelmében

megállapítható, hogy állandó mennyiségű, adott affinitáskonstansú antiszérum jelenlétében az antigén megoszlását a kötött és szabad frakció között a jelenlévő antigén összmennyisége szabja meg. A kötésben lévő és szabadon maradt antigén megoszlásából következtetni lehet a közegben lévő antigén teljes mennyiségére. Az antigénnek a szabad és kötött frakció közötti megoszlását a közegbe adott, jól detektálható jelet hordozó molekula (tracer) teszi mérhetővé.

(a) Antigén (Ag) fogalma az immunoassay-ben

A ligandassay-ben az antigén (ligand) az az anyag, ami kötést képez a specifikus kötőágenssel (az immunoassay-ben az antitesttel), vagyis a mintában lévő meghatározni kívánt anyag, illetve annak ismert koncentrációit tartalmazó standard (kalibrátor) készítmény.

A specifikus antitest előállításához szükség van az antigén kémiai tisztaságára, amelynek a jelzett antigént használó módszerekben jelezhetőnek kell lennie. Az antigének immunreaktivitás szempontjából lehetnek immunogén antigének vagy haptének. Az immunogén antigén és a fehérjéhez kötött haptén képes immunválaszt - antitestképződést - kiváltani. *Epitóp*nak nevezzük az antigén „antigén determinánsát”: aminosavak, vagy más kémiai összetevők csoportját, többnyire egy fehérje molekula felszínén, amely képes antigén-választ kiváltani, és kötni az antitestet.

(b) Antitest (Ab) az immunoassay-ben

Az immunoassay-ben az antitestek az immunreakcióban specifikus kötésre képes immunglobulinok, amelyek a természetes és szintetikus antigének széles körével képesek kapcsolatba lépni, beleértve a proteineket, szénhidrátokat, nukleinsavakat, zsírokat és más molekulákat.

Az immunoassay-hez az antitest-preparátumot lehetőség szerint egy nemzetközileg elismert standard antigén-készítményre állítják elő. Az antitest legyen reprodukálhatóan és nagy mennyiségben előállítható, specifikus és magas affinitású az immunreakció antigén determinánsa tekintetében. Az immunglobulinok öt osztálya közül az IgG osztályba tartozó antitesteket alkalmazzák leggyakrabban reagensként az immunoassay-ben. Az immunglobulinok változatos aminosav-szekvenciájú aminoterminális régiója határozza meg az antitest antigénre vonatkozó fajlagosságát (specifitást). Ebben a régióban már néhány aminosav változása is jelentősen befolyásolhatja az antigén-kötőhelyek tulajdonságait, ez kulcskérdés az immunkémiai módszerekben az érzékenység (szenzitivitás) és reprodukálhatóság szempontjából egyaránt.

Egy komplex antigén, mely több antigén-determinánst hordoz, képes az immunválaszban változó specifitású és reaktivitású antitestek képződését kiváltani - ezek az immunológiailag heterogén *poliklonális* antiszérumok. A poliklonális antiszérumokat különböző állatok (nyúl,

birka, kecske, ló, stb.) immunizálásával nyerik. A kezdeti radioimmunoassay-ben poliklonális antiszérumot használtak. A különböző immunizálások során nyert antiszérumok antitest-populációja számottevően eltérhet egymástól. Részben ezzel magyarázható a különböző gyártók által, ugyanazon antigénre kifejlesztett immunoassay-k eredményeinek különbözősége, illetve a módszerek referenciatartományainak eltérése.

Az antiszérum *specifitását* a keresztreakció, vagyis az antigénnel rokon szerkezetű anyagokkal adott kötés mértéke jellemzi. A specifitás fokozása érdekében dolgozták ki a hibridoma technikával (1977, Kohler és Milstein) a *monoklonális*, egyetlen antigén-determináns ellen termelt, immunkémiaiilag homogén antitestek előállítását. Hátrány, hogy az egyetlen epitóp módosulása vagy hiánya megghiúsítja az immunreakciót. A monoklonális antitestek kis koncentrációjú antigén meghatározására önállóan kevésbé alkalmasak. Gyakori megoldás a két antitestes immunoassay-ben, hogy az úgynevezett fogó antitest specifikus monoklonális, míg a tracer antitest szenzitív poliklonális.

Az immunoassay-ben a megfelelő antiszérum hígításait használják. A reakcióban használt hígítást munkahígításnak nevezzük, ebben az oldatban a reakcióterben az antitest koncentrációja kisebb, mint a titer. (A *titer* önkényes egység, az antiszérum azon koncentrációja, hígítása, amely a közegbe adott jelzett Ag* 50%-át megköti.)

Kötéserősség

- *Affinitás*: kötési erősség egy antitest kötési hely és egy megfelelő antigén epitóp között.
- *Aviditás*: az antitest és antigén között lehetséges összes kötés affinitás erősségének összege.

Az affinitás (aviditás) az antitest és antigén közötti kötéserősséget, az immunkomplex stabilitását jellemzi, vö. V.4. Az affinitási konstans (K_A) értékével nő az érzékenység, és csökkennek a nem specifikus (vak) hatások. Az immunoassay-kben használt antiszérum affinitáskonstansa 10^9 - 10^{12} l/mol. Az affinitáskonstans függ a hőmérséklettől (a hőmérséklet csökkenésével arányosan nő), valamint a pH-tól is.

Az antitest készítmény fontos tulajdonsága a tárolási stabilitás, és mivel a módszerek egy részében az antitest a jelzett reagens, a jelzés utáni tisztíthatóság.

(c) Tracer az immunoassay-ben

A **tracer** jelzett *antigén* (Ag*) vagy jelzett *antitest* (Ab*). A radioimmunoassay-ben radioaktív, míg az alternatív assay-kben enzim-, fluorofor, luminofor jelet hordoz.

- A *jelzett antigén* a mintában lévő meghatározni kívánt anyag (Ag) jól mérhető jelet hordozó formája (Ag*). A vetélkedő típusú immunoassay tracer reagense.

- A *jelzett antitest* az immunoassay ellenanyagának jelzett formája (Ab*), elsősorban a nem vetélkedő típusú immunometrikus assay reagense (detektáló antitest).

A tracer készítése során fontos követelmény, hogy az alkalmazott jelzés jól detektálható és stabil jelet biztosítson. A jelzett molekula reaktív maradjon, a jelzés ne módosítsa a jelöletlen molekula azon tulajdonságait, amik képessé teszik az immunreakcióban való részvételre.

Jelenleg a radioaktív izotópok közül az *in vitro* diagnosztikában nagy többségben jód-125 jelzett (^{125}I , γ -sugárzó, $T_{1/2}$: 60 nap), továbbá kobalt-57 jelzett (^{57}Co , γ -sugárzó, $T_{1/2}$: 270 nap) immunoassay-készletek vannak használatban. Kevésbé gyakori a trícium (^3H , lágybéta-sugárzó, $T_{1/2}$: 12,26 év), szén-14 (^{14}C , lágybéta-sugárzó, $T_{1/2}$: 5760 év) jelölés.

A jód egy nagy atom, kis antigén-molekulák jelzésénél tekintettel kell lenni az epitóp elfedésével járó sztérikus hatás veszélyére. Fehérjéknél fehérjemolekulánként egy jódatom az általánosan elfogadott jelzési arány. A ^{125}I beépíthető közvetlenül a tirozin-gyök vagy hisztidin jelzésével, ezek hiányában (polipeptidek, haptének, drogok, szteroidok) egy konjugált hordozó fehérje jelzése a megoldás. Figyelmet érdemel, hogy a haptén-hordozófehérje immunogenitása eltérhet a természetes hapténétől, erősebben kötheti az antitestet, ami az immunoassay érzékenységét csökkentő tényező. A jódozás során sérülhet a jelzett vegyület, a sérülés következménye, hogy a jelzett antigén vagy antitest nem megfelelően reagál a rendszer más komponenseivel. A radioimmunoassay-készlet felhasználhatóságának határt szab a radionuklid fizikai felezési ideje, valamint a jelzett molekula radioaktív sugárzása hatására fellépő bomlása („radiolízis”).

Univerzális tracer-ként használható a ^{125}I -jelzett Protein A, amely specifikusan kötődik az immunglobulinok Fc régiójához, és ilyen módon képes közvetve jelezni bármely immunkomplexet, függetlenül a mért antigéntől.

Kettős radioaktív jelzéssel több analitikum szimultán meghatározása lehetséges. Pl. Folsav ^{125}I , B₁₂ vitamin ^{57}Co jelzéssel, illetve ^{57}Co jelzéssel FSH, ^{125}I jelzéssel LH páhuzamos mérése közös inkubációban történhet.

(d) Standardizálás

A módszerek hitelességéhez, a különböző meghatározások eredményeinek összehasonlításához nélkülözhetetlen a nemzetközileg egységes standardok használata az immunoassay-k kifejlesztése és gyártása során. Kis molekulák méréséhez rendelkezésre állnak szintetikus, nagy tisztaságú készítmények, de a nagyobb molekulatömegű, csak a funkcionális tulajdonságok alapján azonosítható antigének hiteles mennyiségi meghatározása csak *referens preparátumokkal* oldható meg. Ilyen készítményeket forgalmaz az Egészségügyi Világszervezet

(WHO) Biológiai Standardok Nemzetközi Laboratóriuma. Az immunkémiai módszerekkel mért antigének egy részére még nincs ilyen standard preparátum. A különböző módszerekkel kapott eredmények jelentős szórásához ez a körülmény is hozzájárul (pl. a pajzsmirigy-ellenes autoantitestek mérésekor).

(e) *Szenzitivitás*

A szenzitivitás (érzékenység) a mért paraméter kimutathatósági határa.

- Az *analitikai szenzitivitás* értékeléséhez egy sorozatban (intra-assay) 5-10 párhuzamossal mérjük a 0 koncentrációjú standardhoz tartozó jelet, ezek átlagából kivonjuk (kompetitív immunoassay) vagy hozzáadjuk (nem kompetitív immunoassay) a szórás (SD) kétszeresét.
- A *funkcionális szenzitivitás*, különösen kis koncentrációk mérésekor, jobban jellemzi a klinikum számára a módszer reprodukálható érzékenységét. A funkcionális érzékenység az a következetesen mérhető legkisebb antigén-koncentráció, amit 10 inter-assay mérésben 20 % relatív hibával mérünk.

C. *Csoportosítás az immunkémiai reakció szerint*

(a) *Immunoassay limitált (korlátozott) reagenssel*

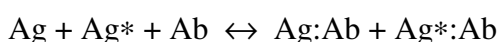
Kompetitív (vetélkedő) immunoassay jelzett antigénnel (Ag*):

Yelow és Berson (1960) elsőként írták le a **radioimmunoassay-t (RIA)**, a radioaktív izotópoknak nyomjelzőként való használatát egy immunológiai diagnosztikai módszerben. Elve: állandó koncentrációjú antitestet *korlátozott* mennyiségben, és ugyancsak állandó mennyiségű jelzett antigént feleslegben alkalmazva, a „hideg” antigén (Ag) mennyiségének növelésével a kötött (B) jelzett frakció (Ag*Ab) aránya csökken, a szabad (F) jelzett frakció (Ag*) aránya nő. Kis molekulák mérésére alkalmazzák a módszert.

Lehet: (a) szimultán, (b) szekvenciális kivitelezésű.

Szimultán kompetitív RIA elve:

Az egyszerre jelenlévő „hideg” (Ag) és jelzett (Ag*) antigén vetélkedik a korlátozott számú specifikus kötőhelyekért (Ab):



ahol:

Ag „hideg”, meghatározni kívánt anyag ill. standard

Ag* tracer: radioaktív, jelzett antigén

Ab a meghatározandó anyagra (Ag) specifikus antitest.

A mérendő hideg antigén (Ag) tartalom növekedésével a kötött jelzett frakció (Ag*Ab) aránya csökken, a szabad jelzett frakció (Ag*) aránya nő.

Szekvenciális kompetitív RIA (telítéses analízis)

Két lépésben reagáltatjuk előbb a „hideg”, aztán a jelzett antigént az antitesttel:

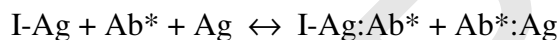


A tracer késleltetett adása következtében a módszer fokozottan érzékeny, ezért kis koncentrációjú antigének mérésére alkalmasabb, mint a szimultán kompetitív módszer. Kiküszöböli a hideg és a jelzett antigén esetleges affinitás-különbségéből adódó analitikai hibát.

Limitált reagensű, immunometrikus (antitest jelzett: Ab*) módszerek

Single-site immunometrikus assay (SSA)

A kezdeti immunometrikus assay fejlesztésben az oldott formában lévő, az antigén egy epitopjára specifikus jelzett antitest (Ab*) koncentrációja korlátozott, hasonlóan a kompetitív assay antitest-koncentrációjához: *immunoradiometrikus assay* (IRMA: Miles és Hales, 1968). Hasonló elvű a szabadhormon-koncentráció mérés gyakori módszere, a SPALT (Solid Phase Antigene Linked Technics):



A korlátozott mennyiségű jelzett antitest (Ab*) megoszlik az oldatban lévő antigén (Ag) és a szilárd fázishoz kötött antigén-analóg (I-Ag) között. A reakció végén a szilárd fázison mért jel (I-Ag:Ab*) mértéke fordítottan arányos a minta antigén-tartalmával.

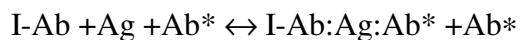
(b) Immunoassay reagens-felesleggel

Nincs vetélkedés. Jelzett komponens az antitest (Ab*). A single-site immunometrikus assay továbbfejlesztésével a jelzett antitest (Ab*) feleslegben adott mennyiségével alakult ki a nem kompetitív immunometrikus assay.

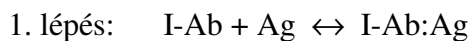
Two site, szendvics-típusú immunoassay (TSA)

A meghatározni kívánt antigén ellen kétféle specifikus antitestet (fogó és jelző) reagáltat. A két különböző epitopra specifikus antitest jelenléte miatt a TSA jóval specifikusabb, mint az egy antitestes módszerek. Az antitestek lehetnek monoklonálisak illetve poliklonálisak. Az egyik antitest szilárd fázison rögzített, ez a „fogó (capture) antitest”, ehhez kötődik a mérendő antigén (immunextrakció). A második antitest a tracer, ez a „detektáló (signal) antitest”. Együtt képezik a módszer elnevezésében is használt „szendvics” formációt. A módszert nagy molekulák mérésére dolgozták ki, de törekvés van minél szélesebb körű alkalmazására. A reakció lehet egy vagy két lépéses.

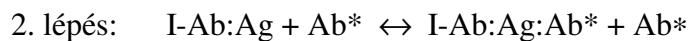
Egy lépéses szendvics assay működési elve:



Két lépéses szendvics assay működési elve:



leöntés



ahol:

I-Ab szilárd fázishoz kötött fogó antitest

Ab* jelző antitest

I-Ab:Ag:Ab* "szendvics" komplex a szilárd fázishoz kapcsoltn.

A két lépéses megoldás a szérumalkotók elöntése révén azok interferenciáját kiküszöböli. A reakció végén mindkét típusnál eltávolítjuk a folyadék-fázissal a szendvicsbe nem kötődött jelzett antitestet, és a szilárd fázison mért jel mértéke arányos a meghatározandó antigén koncentrációjával.

D. Csoportosítás elválasztástechnika alapján

(a) Heterogén immunoassay

A heterogén elnevezés utal arra, hogy a reakció közege nem egynemű. A reagensek valamelyike kezdetől szilárd fázison rögzített, vagy az elválasztási lépésben jelenik meg a szilárd fázis. A heterogén assay-kben az immunreakció eredményét csak akkor értékelhetjük, ha a reakció leállításkor *elválasztjuk* egymástól az immunkomplexbe került és a szabadon maradt jelet hordozó reagenst (tracert). Az elválasztó módszer nem változtathatja meg a reakcióközegben fennálló kötött/kötetlen frakció arányt. Lehetőségünk van mind a kötött, mind a szabad frakció jelének mérésére, de a gyakorlatban a kötött frakció mérése terjedt el. Az immunoassay-k technikai különbözősége leginkább a szeparálási eljárások változatosságának következménye.

A készletek egy részében még jelen vannak a hagyományos elválasztási módszerek, mint a frakcinált fehérje-precipitáció, második antitest használata, kromatográfia, gél filtráció, stb. Jelenleg azonban a diagnosztikában szinte kizárólagosak a **szilárd fázisú elválasztó módszerek**:

Immunszeparáció:

Az antitest vagy az antigén közvetlenül vagy közvetve szilárd fázishoz kötött (pl. assay-cső, mikrotitrációs lemez ürege, golyócska, papírkorong, stb. felszíne). A szilárd- és folyadékfázis többnyire igen egyszerű elkülönítésével (leöntés, leszívás, mosás, mágneses tálca) megtörténik az immunreakció kötött és szabad frakciójának és a közöttük megosztott jelnek az elválasztása.

– Szilárd fázishoz kötött antigén módszere (pl. SPALT)

- Szilárd fázishoz kötött antitest módszere (Solid Phase Antibody Coating, SPAC)

(Strept)avidin-biotin kapcsolaton alapuló elválasztás:

Ez az elválasztás fokozza a módszerek érzékenységét, mivel egy streptavidin molekula négy biotinizált antitest- vagy antigén-molekulát képes megkötni. A négy kötőhelyből egyet a szilárd fázis lefoglal. Az avidin–biotin kapcsolat indirekt módon rögzíti szilárd fázishoz (pl. mágneses mikropartikulum) az antitestet vagy az antigént; ez gyakori elválasztási módszer.

Protein A:

Specifikusan képes kötni az immunglobulin-molekula Fc régióját, ezért szilárd fázishoz kötve széles körben használható a kötött frakció (immunkomplex) immobilizálása révén a szabad és a kötött ligandum szeparálására.

(b) Homogén immunoassay

A homogén assay-kben nem szükséges mérés előtt elválasztani egymástól a kötött és a szabad jelzett antigént vagy antitestet. A radioimmunoassay-k kevésbé használják ezt a megoldást.

Scintillation proximity immunoassay(SPA):

Radioaktív homogén módszer, amelyben az antitest fluorofor-tartalmú mikrorészecskékhez kötött. Amennyiben az immunreakcióban a ^3H vagy ^{33}P , ill. ^{35}S vagy ^{125}I jelzett antigén az antitesthez kötődik, a radioaktív izotópból származó, kisebb mint 0,3 MeV energiájú részecskék áthatolnak a mikrorészecskén és excitálják a fluorofor molekulát. A kibocsátott fluoreszcens fény kizárólag az immunkomplexekből (kötött frakció) származik, intenzitása arányos a kötött frakció radioaktív antigén-tartalmával. Terápiás drogmonitorozásban alkalmazzák a módszer kompetitív formáját; szendvics-megoldása is létezik.

E. Mérés

A radioaktivitás mérésében a gamma-számlálás egyszerűbb és olcsóbb, mint a folyadékszintillációs számlálás. Nem szükséges a minta előkészítése, és a γ -sugárzó izotópok specifikus aktivitása jóval nagyobb, mint a β -sugárzóké, ennél fogva a mérési idő rövidebb. Többek között ennek eredményeként került előtérbe a γ -sugárzók használata a radioimmunoassay-ben. A radioimmunoassay automatizált feldolgozása és mérése elmaradt az alternatív jelölésű módszerektől. Jelenleg a rutin γ -számlálásra rendelkezésre állnak nyitott rendszerű teljes automaták (mint pl. a RIA-mat 280 „DiaSorin” készülék). Másik lehetőség a klinikai rutinlaboratóriumok számára a manuálisan kezelt, ^{125}I , ^{57}Co izotópok mérésére ajánlott **multidetektoros** számláló. Egyenértékű felszerelés rendelkezésre áll a β -számlálásra is (pl. Pharmacia 2450 Microbeta készülék). A γ -számlálóknak a kisebb (rendszerint a kötött) frakció

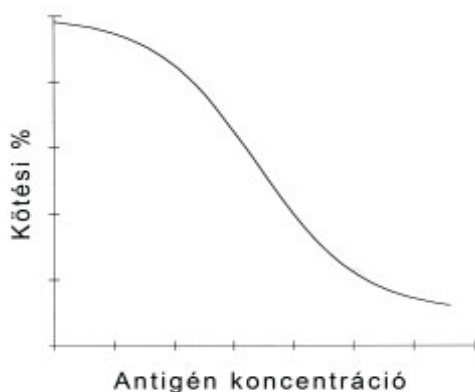
mérése ajánlott, a kristály üregének megfelelő méretű műanyag csőben. A számlálók többnyire *on line* kapcsolódnak egy számítógéphez, és a mérési eredményeket egy immunoassay-értékelő program feldolgozza.

A szemikvantitatív *autoradiográfias immunoassay*-ben, amikor a reakció mikrotitrációs lemez üregeiben megy végbe, a mérés röntgenfilm expozíciójával történik. A filmen keletkező foltok denzitása és mérete arányos az egyes üregek radioaktivitásával.

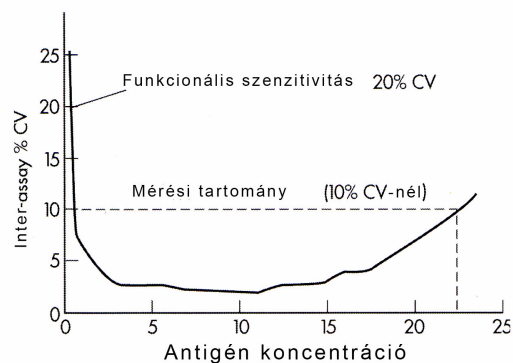
F. Értékelés, kalibráció

Az immunoassay-ben az analizált mintákkal megegyezően mérjük a meghatározni kívánt antigén ismert, növekvő koncentrációjú sorozatát, ez a kalibrátor- vagy **standardsor**. A sorozatban az antigén különböző koncentrációjú pontjainak száma 4-7 szokott lenni.

A reakció eredményeként a standardsor pontjaira mért jelet grafikusan ábrázoljuk a koncentráció függvényében. Ez a **dózis-válasz görbe** (VI.1-1. ábra). Dózis: a teljes, nem jelzett antigén koncentráció (x tengely), válasz: a hozzá tartozó jel (beütésszám), illetve annak százalékos értéke, kötési % (y tengely). Ezen görbéről keressük vissza az egyes minták mért jeléhez tartozó koncentrációt.



VI.1-1. ábra: Kompetitív assay tipikus dózis-válasz görbéje



VI.1-2. ábra: Precízió-profil

Az eredményeket befolyásolja a görbék szerkesztésében alkalmazott matematikai transzformáció és az illesztés módja. Leggyakoribb a \log_x -normály, a \log_x - \log_{it_y} transzformáció használata. Az illesztés módjában az egyenes szakaszokkal illetve polinomokkal történő interpolálás, valamint az utóbbi továbbfejlesztett változata, az ún. „spline”-közelítés a legelterjedtebb.

A mérés pontossága jelentősen változik a koncentráció függvényében, ezért a pontosságról a mérési tartomány legalább 3 pontján (alacsony, normál, magas) végzett párhuzamos mérések adnak felvilágosítást. Ha a párhuzamos minták relatív hibáját (CV%, variációs koefficiens)

ábrázoljuk (*precízió-profil*), akkor a szórás a görbe közepén 1-6%, a széli részeken 10-15% is lehet (VI.1-2. ábra). A precízió-profil jelzi a szélső értékek hibalehetőségét, felhívja a figyelmet arra, hogy mind a nagyon alacsony, mind a nagyon magas tartományban kapott eredményeket körültekintően kell megítélni az immunoassay-ben.

G. Interferenciák az immunoassay-ben

Az interferenciák (zavaró kölcsönhatások) pozitív vagy negatív irányú torzulást okozhatnak a mérések eredményében.

Keresztreakció:

Amikor hasonló struktúrájú molekulák, fragmensek hasonló vagy azonos epitopjai kapcsolódnak az immunoassay specifikus antitest-kötőhelyeihez.

Human heterofil antitestek, illetve anti-állat antitestek jelenléte a beteg mintájában:

Zavarhatják az immunreakciót, amennyiben a módszer specifikus antitestje azonos állatból származik. Pl. HAMA (human anti-mouse antibody) jelenléte monoklonális antitesteknél.

Autoantitestek a mintában:

A mérendő antigén ellenes (pl. anti-T4) antitest jelenléte.

Interferencia az antigén epitopok elfedése miatt, sterikus hatások

Interferencia az indikátor(jelző) mechanizmussal:

A minta vagy a háttér radioaktivitása.

Matrix effektus:

Pl. a minta extrakciója, hígítása, vagy az előírttól eltérő minta mérése esetén.

High dose hook jelenség (HDH):

Amikor a kalibrációs görbe nem szigorúan monoton csökkenő, hanem a végső szakasza újra megemelkedik. Oka a minta extrém magas antigén-tartalma. Csak egy lépéses szendvics módszerben jelentkezhet. A minta hígításával korrigálható az eredmény.

H. Minőségellenőrzés

(a) Új módszer bevezetése esetén szükséges vizsgálatok:

- *Pontosság* (precision) vizsgálata: ismételt mérések eredménye mennyire szór
 - Egy mérési sorozaton belüli (intra-assay, within-assay) reprodukálhatóság
 - Mérési sorozatok közötti (inter-assay, between-assay) reprodukálhatóság
- *Torzítás* (bias) vizsgálata: a mért koncentráció mennyire tér el a valóditól.
- *Linearitás* vizsgálata: a valódi koncentráció arányos-e a mérttel.
- Hemolízis-, lipémia-, icterus *interferencia* vizsgálata

- *Korreláció* analízis (egy esetleges korábbi módszerrel).
- *Carry over* vizsgálata: mennyire befolyásolja egy minta koncentrációja a rákövetkezők mért értékét; automatizált mérésnél, amennyiben egy pipettor méri ki a mintákat.

A szabad hormonfrakciót mérő módszerekben (pl. FT4) hígulással járó ellenőrző mérések nem végezhetők: pl. linearitás, interferenciák vizsgálata.

(b) A rutin felhasználás minőségbiztosítási feladatai

- Ismert koncentrációjú, a készlettel kapott és független kontrollok (pl. BIO-RAD Lyphocheck Immunoassay Plus) meghatározása mérési sorozatonként. Az eredmények Levi-Jennings ábrázolása, és értékelése a Westgard-szabályok figyelembe vételével.
- Ismeretlen koncentrációjú, hazai vagy nemzetközi kontrollkörök (pl. Qualicont, Labquality, RIQAS) kontrollmintáinak mérése.

I. Radioaktív (^{125}I -jelzett) immunoassay-k általános munkamenete

(a) A készletek tárolása:

- Az előírásnak megfelelően a sugárzó diagnosztikumok számára kijelölt hűtőszekrényekben 2-8°C-on.
- Feldolgozásuk a lejáratidőn belül történjen.
- Maradék esetén jelezzük a felbontás dátumát és a még rendelkezésre álló vizsgálati számot a készlet dobozán.
- A teljes felhasználás idejét be kell írni a „Radium” radioizotóp-nyilvántartó programba.
- Gyűjtött (pl. kontroll) szérumszámokat illetve plazmamintákat célszerű szétosztva lefagyasztani az ismételt kiolvasásból eredő mintasérülés elkerülése érdekében.

(b) Általános munkafolyamat:

- Gumikesztyűben, letakart felületen, vagy tálcán dolgozzunk.

1. A minták átvétele:

- Figyeljünk a preanalitikai követelmények teljesülésére!
- A minták azonosításához legalább két adat szükséges.
- Centrifugálás: általában 2-4 °C-on 20 percig kb. 2500 g-vel, a felülúszó szérumszám vagy plazma leöntése megfelelően azonosított műanyag csőbe, cup-ba történjen.
- Amennyiben nem történik azonnali mérés, a szeparált szérumszám, plazma gondosan lefedve tárolható a mérés idejéig a készlethez mellékelt leírás szerint.

2. Minták válogatása:

- A számítógépes adatnyilvántartás szerint; a mélyhűtött minták kiolvasztása, homogenizálása (vortex keveréssel), jelölése (sorszámozás) szükséges.

3. A készlet reagenseinek előkészítése:

- A készlethez mellékelt aktuális leírás szerint.
- Oldatban lévő reagenseket szobahőre hozunk általában 30 percre, ha a feldolgozás szobahőn történik.
- Liofilizált reagensek esetében az ampullák nyitásánál gondoljunk a bennük lévő vákuumra, oldásnál a bemért oldószerrel mozgatás nélkül 10 percig állni hagyjuk a reagenst, ezután óvatosan forgatva a dugóról is leoldjuk az anyagot, ismét állni hagyjuk 10 percig, majd homogenizáljuk óvatos keveréssel; a habzást kerülni kell.
- Ha több osztásban van a reagens, csak azonos sorozatszámú reagensek használhatók együtt. Egyszeri felhasználás esetén ezeket kimérés előtt össze kell önteni egy közös edénybe.
- A radioaktív reagens kinyitása, oldása során különös gonddal figyeljünk a kontaminációra, a dugók eltávolításakor célszerű azokat papírvattával megfogni és elhelyezni.
- A lefagyasztott (-20°C -on tárolt) vizsgálati minták és oldott reagensek ismételt kiolvasztása-fagyasztása kerülendő.
- Amennyiben a készlet bevonatos csövekkel dolgozik, a bevonatos csöveket a csomagolás kibontása nélkül kell szobahőre melegíteni (30 perc).

4. Reakciócsövek jelölése:

- Manuális feldolgozásnál minden esetben párhuzamosan (ugyanabból a mintából több kémcsőben) mérünk, így jelöljük a csöveket is.
- Automatizált feldolgozásnál, (pl. RIA-mat 280) a kalibráció és a kontroll mérés párhuzamos, a minták egy csőben mérődnek.
- Egy általános assay-sorozat csövei: total, standard (kalibráló sorozat 5-7 koncentrációval), készlet kontroll, minták, külső kontroll.

5. Összemérés:

- Mindig a használt készlethez mellékelt, friss útmutatás szigorú betartásával. A magyar nyelvű leírásokból közvetlenül, az idegen nyelvű leírásokból általában magyar fordítás segítségével dolgozunk.
- Minden újabb vizsgálati sorhoz külön kalibrációt készítünk.

- A szobahőn inkubálás 18-25°C hőmérsékletet jelent. Inkubálás alatt az assay-csövek fedése parafilmmel illetve alufóliával ajánlott, különösen ha az inkubáció 37°C-on vízfürdőben történik.
- Amennyiben a reakció jeges vízfürdőben történő hűtést igényel (pl. Renin-Angiotensin mérés), ügyeljünk a csőjelölések sértetlenségére.

6. Kontrollok:

- A készlet saját kontrolljai a kalibráló sor után következzenek.
- Minden összeállításban a lehetőségek szerint külső (pl. Lyphochek Immunoassay Plus három szintű) kontrollminta is legyen, a 3 koncentráció váltogatásával, a mintákat követően.
- A kontrollok eredményeit korábbi 15-20 inter-assay mérésből szerkesztett kontrollkártyán ábrázoljuk, illetve ezekről ellenőrző lapot vezetünk.

7. Radioaktivitás mérés:

- Általában multidetektoros gamma-mérőhelyen (pl. JNG 403), a kapcsolódó értékelő program használatával történik, 1 vagy 3 perces mérésidővel.
- Minden aktuális sorozatban kontrolláljuk a programban szereplő adatok (standard/kalibrátor-pontok, kontrollok száma, koncentráció-értékek) helyességét.
- Nézzük meg, nem változott-e az ajánlott referencia tartomány?
- A kalibráció, a kontrollok és minták mérési adatait, az eredményeket kinyomtatjuk, archiváljuk.
- A leletkiadást követően a mintákat 3 napig előírásosan tároljuk.

8. A meghatározás ismétlésének indokai:

- Az ugyanazon mintára kapott párhuzamos mérések >10% CV-értéke, illetve >5% CV-érték, ha ez diagnosztikai differenciát okoz.
- A mért kontrollok céltartományon kívüli eredménye, illetve eltérés a Westgard-szabályok szerint.

9. Eredményközlés:

- A minták koncentráció-értékeit csak a kalibrációs sorozat ismert koncentráció-értékei között adjuk meg. A kalibrációs tartomány alatti vagy fölötti értéket a szélső koncentrációk < ill. > jelölésével közöljük, vagy egy további assay-ben hígítással újra meghatározzuk a minta koncentrációját, és az eredményt megszorozzuk a hígítás fokával. (Szabadhormon-koncentráció meghatározásakor nem lehet hígítást mérni!)

(c) *Mit tehetünk a radioimmunoassay készletek feldolgozása során az eredmények minőségét befolyásoló tényezők optimalizálása érdekében?*

Manuális kivitelezés

- Ügyeljünk a mérendő minták egyértelmű azonosítására, az esetleges speciális mintavételi feltételek betartására. Manuális mérésnél gyakori a minták összegyűjtése, későbbi időpontban történő meghatározása. Általában -20 °C a javasolt tárolási hőmérséklet, és maximum 3 hónapos időtartam. Ettől eltérések lehetnek. Gondosan kerülendő tárolás során a beszáradás lehetősége!
- Ellenőrizzük a reagensek szállítási feltételeinek betartását: vizsgáljuk meg a készlet dobozának hőmérsékletét, a csomagolás sértetlenségét, tartalmát, a szállítás és megérkezés időpontját.
- A készletek lejáratí idejét, sorozatszámát jegyezzük fel. Különbözö sorozatú és lejáratú készletek nem használhatók egy munkafolyamatban. Lejáratí időn túl ne dolgozzunk a készletekkel.
- A hűtve tárolt reagenseknél figyeljünk a hűtöszekrény hőmérsékletére.
- Minden készlethez friss készletleírást mellékel a gyártó, aktuális minőségi adatokkal. Kerüljük az automatizmust / megszokást, minden esetben a használt készlethez mellékelt friss leírás szerint dolgozzunk.
- Felhasználásnál pontosan tartsuk be a reagensek oldására, az oldott reagensek tárolására vonatkozó utasításokat, ellenőrizzük az oldószer (pl. deszt.víz) minőségét, a pipetta pontosságát.
- Figyeljünk a minták és reagensek alapos, de lehetőleg habzásmentes homogenizálására.
- A reagensek összemérésének sorrendje nem térhet el a protokolltól.
- Amennyiben az osztott kiserelésben érkező reagenseket egy munkasorozatban kívánjuk használni, azokat össze kell önteni.
- Ügyeljünk az inkubációs idő és hőmérséklet pontos betartására (szobahő: $20\text{-}25\text{ °C}$!).
- Heterogén assay-knél a szeparálási és mosási lépések (mosóoldat ionerőssége!) kritikusak.
- Minden assay-sorozatban mérjük le a készlettel küldött 1 vagy 2 ellenőrzö szérumot, és egy egyéb gyártású, ismert koncentrációjú kontroll mintát. Ezek eredményeiről vezessünk kontroll kártyákat, minőségi adatlapokat.
- Egy assay folyamatot egy személy végezzen teljes egészében, zavaró körülmények nélkül. Az első és utolsó assay-cső közötti időintervallum a lehető legkisebb legyen.
- Egyszer használatos eszközökkel dolgozzunk.

- Fontos a mérőműszer folyamatos karbantartása.
- Kézi eredményközlésnél törekedjünk a többlépcsős ellenőrzésre (asszisztensi technikai ellenőrzés, asszisztensi konfirmálás más személy által, diplomás validálás).

Diagnosztikai automatákkal

Ezek lehetnek részben vagy teljesen automatizáltak. A Magyarországon leggyakrabban használt RIA-mat 280, 5 detektoros radioimmunoassay teljes automata, ún. nyitott rendszer, bármelyik gyártó ^{125}I -jelzett bevont csöves, vagy bevont golyós módszerét telepíthetjük rá.

VI.2. Radiofarmakonok előállítása és minőségellenőrzése

Környei József

A. Radiofarmakonok

Az *in vivo* radiofarmakon olyan készítmény,

- amit az élő szervezetbe szájon át vagy injekcióban beadnak,
- ami az élő szervezet bizonyos szervére, szövetére specifikus, beadás után azt „megtalálja”
- és aminek egyik atomja radioaktív izotóp (más szóval radionuklid).

A radionuklidot sugárzási tulajdonságai alapján választjuk ki képalkotási vagy terápiás célra. Képalkotásnál elektromágneses sugárzást kibocsátó radionuklidok jöhetnek szóba, mert a fotonok nagy része kijut az élő szervezetből és ott detektálható (vö. VI.3.C): a gamma-sugárzók, a pozitron-sugárzók, és a karakterisztikus röntgensugárzást kibocsátó radioaktív izotópok.

A képalkotásra használt fontosabb gamma- ill. röntgensugárzók: ^{67}Ga , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In , ^{123}I , ^{131}I , ^{201}Tl , míg pozitron-sugárzók ("PET izotópok"): ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F . A gamma-sugárzókkal végzett képalkotások 85 %-ához a $^{99\text{m}}\text{Tc}$ radioizotópot használják, míg a leggyakrabban alkalmazott PET-izotóp a ^{18}F .

Terápia esetében (vö. VI.4) az a cél, hogy a sugárzás lehetőleg ne jusson ki a kezelni kívánt szövetekből, mert a sugárzás elnyelődésével együtt járó energiaátadás jelenti a kezelést, a kóros képződmények "szétbombázását". Terápiás célra tehát korpuszkuláris sugárzást kibocsátó radionuklidokat választunk, mert a szövetekben az ilyen sugárzás - energiájától függően - mikrométer-milliméter nagyságrendű távolságon belül elnyelődik. Korpuszkuláris sugárzást kibocsátó radionuklidok:

- a (negatív) béta-sugárzók,
- a konverziós vagy Auger-elektront emittáló radioizotópok, továbbá
- az alfa-sugárzók.

A leggyakrabban használt béta-sugárzók: ^{32}P , ^{89}Sr , ^{90}Y , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re .

A radiofarmakonok az élő szervezetbe bejuttatva először elkeverednek (megoszlanak), majd ezt követően adszorbeálódnak, metabolizálhatnak vagy kiválasztódhatnak. Az elkeveredés során a szervezetben végbemenő makroszkopikus anyagáramlásról kaphatunk információt: pl. vérkeringés/ vérzés, liquor-keringés, nyirokkeringés, légáramlás a tüdőben vagy anyagáramlás a gasztrointesztinális traktusban. Az adszorpcióra a szövetszintű anyagáramlást (perfúziót) követően kerülhet sor. Az adszorpció oka lehet gátolt diffúzió („kolloidok”) vagy szelektív anyagmegkötődés, ez utóbbi történhet molekuláris (pl. jódmegkötés a pajzsmirigyben) vagy szupramolekuláris kölcsönhatás (pl. enzim-szubsztrát reakció, receptor-kötődés, immunreakció) következményeként. A metabolikus folyamatokban vagy a kiválasztásban szintén a szupramolekuláris kölcsönhatások dominálnak

Néhány fontosabb diagnosztikus és terápiás radiofarmakon alkalmazási területét a VI.2-1. táblázatban mutatjuk be.

VI.2-1. táblázat: Néhány fontosabb diagnosztikus és terápiás radiofarmakon

<i>Radiofarmakon</i>	<i>Kémiai, biokémiai megnevezés</i>	<i>Alkalmazási terület</i>
^{18}F -FDG	Fluoro-dezoxiglükóz	tumordiagnosztika, szívizom-diagnosztika, gyulladáskeresés PET leképezéssel
^{67}Ga -citrát	Gallium-citrát	tumor- és gyulladási diagnosztika
^{89}Sr -klorid	Stroncium-klorid	fájdalmas csontáttétek palliatív kezelése
^{90}Y -DOTATOC	Ittrium-DOTA-octreotide (8 aminosavból álló szekvencia)	felületükön somatostatin receptort tartalmazó tumorok specifikus radionuklid terápiája
^{90}Y -Zevalin	Ittriummal jelzett, a B-sejtek CD20 helyét célzó monoklonális antitest	non-Hodgkin limfóma radionuklid terápiája
^{90}Y -szilikát, vagy ^{90}Y -citrát	Ittrium-szilikát szuszpenzió vagy Ittrium-citrát kolloid	térdizületi gyulladások (rheumatoid arthritis) gyógyítása
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI	Technécium-metoxi-izobutiro-izonitril	szívizomdiagnosztika, tumor-áttétek és kiújulások (recidívák) kimutatása
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP	Technécium-metilén-difoszfónát	csontáttétek leképezése, lokalizációja
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA	Technécium-dietilén-triamin-	vese glomeruláris filtrációja, keringési

<i>Radiofarmakon</i>	<i>Kémiai, biokémiai megnevezés</i>	<i>Alkalmazási terület</i>
	tetrametilén-acetát	vizsgálatok (agy, végtag); aeroszolként tüdő
^{99m} Tc-DMSA	Technécium-dimerkapto-borostyánkősav	ha pH =3-4, veseszintigráfia, ha pH = 8-9, légyszöveti tumorszintigráfia
^{99m} Tc-EC	Technécium-etilén-dicisztein	vese tubuláris kiválasztása, kamera-renográfia
^{99m} Tc-ECD	Technécium-etilén-dicisztein-dietilészter	agyszintigráfia
^{99m} Tc-EHIDA	Technécium 2,6-dietil-N-fenil-karbamoilmetil-iminodiacetát	a máj kiválasztó funkciójának és a hepatobiliáris rendszer dinamikájának vizsgálata
¹³¹ I-NaI	Nátrium (¹³¹ I) jodid	pajzsmirigy diagnosztika és terápia
¹³¹ I-MIBG	Meta-jód-benzil-guanidin	neuorendocrin tumorok és áttétek helyének kimutatása és terápiája
¹⁵³ Sm-EDTMP	Szamárium-etilén-diamin-tetrametilén-foszfónát	fájdalmas csontáttétek palliatív kezelése
¹⁸⁶ Re-szulfid	Rénium-szulfid kolloid	közepes méretű ízületek (váll, csípő, könyök, boka) krónikus gyulladásainak gyógyítása
²⁰¹ Tl-klorid	Tallium-klorid	szívizom életképességének kimutatása, tumor-recidívák, metasztázisok kimutatása

B. Radiofarmakonok előállítása

(a) Mesterséges radionuklidok előállítása

A radiofarmakonok készítésének első lépése a kívánt radioaktív izotóp előállítása, ami atomreaktorban vagy ciklotronban hajtható végre. Reaktorban semleges neutronnal, ciklotronban pozitív töltésű részecskékkel (proton, deuteron, alfa-részecskék) történik az eredetileg nem radioaktív target atommagjának „bombázása”, aminek következtében ún. magreakcióban jön létre a radioaktív izotóp. Példaként lássunk néhány jellemző magreakciót:

- Reaktorban a szamárium 152-es tömegszámú nem radioaktív izotópjá egy neutron befogva radioaktív 153-as tömegszámú szamárium nukliddá alakul. Minthogy az atommagokban a protonok száma, azaz a rendszám nem változik meg, ugyanannak a kémiai elemnek kapjuk meg a radioaktív izotópját.

- Ciklotronban az oxigén 18-as tömegszámú, nem radioaktív izotópjának az atommagja egy protont fog be egy neutron egyidejű kilépése mellett, ezért a tömegszám nem változik, de a rendszám igen: a 18-as oxigén atom 18-as tömegszámú fluór-atommá alakul, tehát más kémiai elem keletkezik ebben a magreakcióban.

(b) Generátorok

Gyakorlati okok miatt sokszor célszerű, ha nem közvetlenül a kívánt radionuklidot állítjuk elő a magreakció során, hanem egy olyan izotópot (az anyaelemet), amelynek radioaktív bomlása eredményezi a kívánt radionuklidot (a leányelemet). Így az uránnak a reaktorban történő maghasításánál többek közt a 90-es tömegszámú stroncium és a 99-es tömegszámú molibdén izotóp is keletkezik és kinyerhető. Mindkettő béta-sugárzó radioizotóp, melyeknek bomlása során jönnek létre a radiofarmakon előállításban fontos ittrium és technécium izotópok:



Mint ahogy mindkét anyaelem lényegesen hosszabb fizikai felezési idejű, mint a leányelemeik, utóbbiak elválasztása után azok újraképződnek és egy későbbi időpontban ismét elválaszthatók. Ez elméletileg folytatható mindaddig, amíg az anyaelemek le nem bomlanak. A leányelemek folyamatos termelődése („generálódása”) miatt ezeket a rendszereket **izotópgenerátoroknak** nevezzük. A klinikai rutinban legfontosabb a ${}^{99}\text{Mo}/{}^{99\text{m}}\text{Tc}$ generátor, ("technécium-generátor"), ami a legtöbb képalkotó vizsgálathoz biztosítja a radioizotópot. Tekintettel arra, hogy a ${}^{99}\text{Mo}$ izotóp fizikai felezési ideje 66 óra, míg a ${}^{99\text{m}}\text{Tc}$ izotópé 6 óra, elegendő a technécium-generátort hetente (esetleg kéthetente) előállítani ill. a technéciumot naponta egyszer (szükség esetén kétszer) a generátorból kinyerni.

A radioaktív izotópelőállítás során nem szabad megfeledkeznünk arról, hogy nagy aktivitások kezelését (10-1000 GBq) kell megoldanunk. Az összes fizikai-kémiai folyamatot forrófülkékben, automatizálva és manipulátorok alkalmazásával kell végrehajtani. A radiofarmakonok ugyanakkor gyógyszernek minősülnek. Ebből adódik, hogy gyártásuk során a gyógyszer technológiákra vonatkozó általános előírásokat be kell tartani, hiszen a legtöbb esetben steril injekciót kell készíteni. Hiába van szó nagy aktivitású ill. aktivitás-koncentrációjú oldatokról, a radioaktív oldat saját sugárhatása következtében fellépő „önsterilizáció” gyógyszer technológiai szempontból nem tekinthető kielégítőnek.

(c) Jelzés radionuklidokkal

Az előállított radioaktív izotópok vagy generátor-eluátumok csak az esetek kisebb hányadában mutatnak specifitást szervek, szövetek iránt. A szerv vagy szövetspecifikus tulajdonságokat

annak a molekulának a fiziológiai, biokémiai tulajdonságai szabják meg, amihez a radionuklidot a radiofarmakon-előállítás során kötjük. Ugyanakkor a radionuklid és a specifikus molekula között kellően erős, stabilis kémiai kötést kell kialakítani, mert kiemelten fontos, hogy a radionukliddal jelzett vegyületekből sem oldatban, sem *in vivo* körülmények között a radionuklidok ne hasadjanak le. A radionuklid kémiai természetétől függően az alábbi reakció típusok jellemzők a radiofarmakonoknak, mint radionukliddal jelzett vegyületeknek az előállítására:

- *Szerves kémiai szintézis*, pl. metilezés, a ^{11}C -jelzett készítmények esetén.
- *Radiohalogénezés*, pl. elektrofil vagy nukleofil szubsztitúció, elektrofil addíció, halogéncsere vagy izotópcsera a ^{123}I vagy ^{131}I izotóppal radiojódozott ill. a ^{18}F radionukliddal radiofluórozott készítmények esetében.
- *Kompleképzés*: lényegében az összes fém-radionuklidot tartalmazó radiofarmakon előállításakor komplexképzési reakciót hajtunk végre. A $^{99\text{m}}\text{Tc}$ izotópnak ismeretes a legtöbbféle, radiofarmakonként alkalmazható komplexe.

Rövid fizikai felezési idejű ill. generátorból származó radioizotópot tartalmazó radiofarmakonokat általában célszerű a felhasználás helyszínén előállítani. Többnyire komplexképzési reakcióról van szó, amit úgy készítünk elő, hogy az ahhoz szükséges valamennyi komponenst liofilizált formában, nem radioaktív, ún. „hideg kit”-ként szereljük ki. A radiofarmakon előállítása ekkor a generátor-eluátumnak és a hideg kit tartalmának az elegyítéséből áll, melynek során mind a sugárvédelmi, mind a steril injekciók készítésére vonatkozó szabályokat be kell tartani (ólomárnyékolás, tisztatéri fülke). A reakciók a legtöbb esetben szobahőmérsékleten, 10-15 perc alatt végbemennek. Rendszerint valamennyi komponens egy ampullában kiszerezhető. Egyes esetekben azonban hőkezelésre van szükség, mert a komplexképző csak védett formában stabilis és a védőcsoportokat is el kell távolítani a reakció során, más esetekben a komponensek kémiaailag nem összeférhetők, ekkor több ampullás kiszerezést kell választani. A jelzési reakció azonban ekkor is csak rendkívül egyszerű műveletekből áll (anyagátvitel ampullából ampullába steril fecskendővel és tűvel). A kitekkel végrehajtott jelzés reakciónak csaknem teljes konverzióval kell végbemenniük, mert a felhasználás helyszínén (a kórházi izotóplaborokban) általában nincs lehetőség az el nem reagált radionuklidnak vagy mellékreakció-termékeknek az elválasztására.

(d) *A jelzett vegyületeknek (radiofarmakonok) legfontosabb jellemzői:*

- **Fajlagos aktivitás**: megadja, hogy a jelzett vegyület 1 mmól-ja mekkora radioaktivitásmennyiséget tartalmaz (MBq-ban). A radionuklid fizikai bomlásának következményeként a fajlagos aktivitás minden jelzett vegyület esetén időben csökkenő érték.

- **Radiokémiai tisztaság:** ez a szám megadja, hogy a radionuklid mennyiségének milyen hányada kötődik a kívánt molekulához. A készítményben végbemenő, a saját sugárzás által generált sugárhatáskémiai effektusok miatt, továbbá a vizes közegben esetlegesen mutatkozó hidrolízisre való hajlam miatt a radiokémiai tisztaság is időben csökkenő paraméter.

C. *Radiofarmakonok minőségellenőrzése*

A radiofarmakonok minőségellenőrzésére a gyógyszerkönyvi előírásoknak megfelelően kerül sor. A fő szempontok: megfelelés a gyógyszerformának, a tisztasági követelményeknek és a tartalommal kapcsolatos követelményeknek.

A gyógyszerformának történő megfelelést jelenti, ha az oldat színtelen, tiszta, vagy ha a liofilizátum maradék nélkül gyorsan, tisztán feloldódik. A tiszta oldat jelenlétét szabad szemmel vagy nagyító alatt vizuálisan vizsgáljuk, nagyobb radioaktivitások esetén kamerával. Kolloidok és szuszpenziók esetében a szemcseméret és -eloszlás a döntő, amit mikroszkóppal vagy a Thyndall-jelenségen alapuló lézeres részecskeméret-meghatározó készülékkel végzünk. Kapszulák esetében a kapszula adott időn belüli szétesése a döntő, amit mesterséges gyomorsav-oldatban vizsgálunk. Injekciók esetében általában előírás az izotóniás ozmózisnyomás és az 5-8 közötti pH-érték.

A tisztasági követelmények a készítmények kémiai, radionuklidos, radiokémiai és mikrobiológiai tisztaságára vonatkoznak.

- A *kémiai* tisztasághoz tartozik, hogy ólom és nehézfémek csak a határérték alatti mennyiségben lehetnek jelen, ill. a nemvizes közegben végrehajtott jelzési reakcióban kapott termékeknél az oldószermaradékok kizárhatók legyenek, amit gázkromatográfiás eljárással vizsgálunk.
- A *radionuklidos* tisztaság azt jelenti, hogy a kívánt izotópon túlmenően csak a megengedett határérték alatti mennyiségben lehetnek jelen egyéb radioizotópok a készítményben. A radionuklidos tisztaságot a gamma-, béta-, esetleg alfa-spektrumok felvételével és kiértékelésével határozzuk meg. A radionuklidos szennyezőkre megengedett határérték a legtöbb esetben 0,1 %, de a hosszú felezési idejű vagy a vérképző szervekre különösen veszélyes szennyezőknél ez egy-két nagyságrenddel szigorúbb is lehet.
- A *radiokémiai* tisztaság a készítmény farmakológiai tulajdonságait legnagyobb mértékben befolyásoló paraméter, hiszen a más kémiai formában vagy szabadon jelenlévő radionuklidnak eltér a biodisztribúciója a kíván molekuláétól. A radiokémiai szennyezők jelenléte képalkotásnál más szervek képeznek megjelenését okozza (pl. a szabadrádionuklid vagy technécium esetében a pajzsmirigy és a gyomor, a redukált-hidrolizált technécium

esetében a máj látszik a képen). A terápiás felhasználású készítményeknél azonban a radiokémiai szennyezők más, nem célzott szervek, szövetek besugárzását, így veszélyeztetettségét okozzák. A radiokémiai tisztaságot a rövid felezési idejű PET radiofarmakonoknál HPLC módszerrel határozzuk meg. A radiojódosított és technéciummal jelzett radiofarmakonok esetében legtöbbször papír- vagy vékonyréteg-kromatográfiás eljárást választunk, néhány esetben azonban itt is a HPLC jelenti a megoldást.

A *technécium-vegyületek* radiokémiai tisztaságának meghatározásánál sokszor 3 - 4 radioaktív komponens elválasztása a feladat. Minden esetben ismerni kell ugyanis a készítmény hatóanyaga mellett a szabad technécium (pertechnetát) tartalmát és a komplex elbomlásából származó redukált-hidrolizált technécium tartalmát. Egyes bonyolultabb készítményeknél a jelzett hatóanyag mellett attól eltérő ligandum/technécium arányú, szennyező komplexek is képződhetnek. E komponenseket alkalmasan megválasztott kromatográfiás rendszerben egy csíkon is elválaszthatjuk, ami általában hosszú kifejtési időt igényel. Sok esetben azonban inkább alkalmazzák a gyors kettős futtatást, pl. a hidrofíl anionos technécium komplexeknél a VI.2-2. táblázat szerint:

VI.2-2. táblázat: Gyors kettős futtatás hidrofíl anionos technécium komplexeknél

<i>Komponensek</i>	<i>I. rendszer: Whatman ET-31 papír, acetón kifejtőtöszér</i>	<i>II.: ITLC-SG réteg (szilikagél), fiziológiás sóoldat kifejtőtöszér</i>
Hidrofíl, anionos komplex (termék)	$R_f = 0$	$R_f = 0,8 - 1$
Szabad pertechnetát	$R_f = 0,7 - 1$	$R_f = 0,8 - 1$
Redukált-hidrolizált technécium	$R_f = 0$	$R_f = 0$

A kromatográfiás csíkok értékelését a radioaktivitás csík mentén történő megoszlása révén mérjük. A fenti példa alapján a radiokémiai tisztaságot a következőképpen számítjuk ki: Az I. és II. rendszerben kapott csíkoknál külön-külön meghatározzuk a startfrakcióhoz tartozó radioaktivitást, mint az adott csíkra felvitt teljes aktivitás hányadát (%-ban). Ha az első rendszerben kapott startfrakció %-ból levonjuk a II. rendszerben kapottat, pontosan adódik a hidrofíl, anionos technécium-komplex radiokémiai tisztasága, %-ban kifejezve. Készítményektől függően a radiokémiai tisztaságra megállapított határérték 90, 95 vagy 98 %.

A tisztaságra vonatkozó kritériumok következő szempontja a *mikrobiológiai* tisztaság. Az injekciós készítményeknek sterileknek kell lenniük, amit a készítmény mintájának táptalajra

történő leoltásával, a mikroorganizmusok kitenyésztésével vizsgálunk. Ha rövid fizikai felezési idejű radioaktív készítményeket validált tisztasági körülménynek között állítunk elő, a készítmény felhasználható a sterilitásvizsgálat eredményének bevétele nélkül is. Ez nem vonatkozik a hideg kitekre, amiket csak a sterilitásvizsgálat megfelelése esetén szabad felhasználni. Ugyanakkor a készítményben jelenlévő bakteriális endotoxin-tartalmat is vizsgálni kell injekciók esetében.

A radioaktív készítmények tartalmára vonatkozó meghatározások az összradioaktivitás vagy az aktivitás-koncentráció meghatározását jelentik. Előbbit MBq-ben, utóbbit MBq/cm³-ben adjuk meg, és ezek az értékek ± 10 %-kal térhetnek el az előírttól. Hideg kitek esetében a komplexképző hatóanyag mennyiségi meghatározása is követelmény, az analitikai módszerek (pl. spektrofotometriás eljárások) termékenként különbözőek.

VI.3. „*In vivo*” izotópdiaosztika

Varga József

A. *Részterületek*

Az "*in vivo*" kifejezés az *élő szervezet* vizsgálatára utal radioaktív nyomjelző anyag (radiofarmakon, ld. VI.2) felhasználásával. Mindezen eljárások közös vonása, hogy a radioaktív készítmény bekerül a vizsgált személy vagy állat szervezetébe, amely ennek következtében ionizáló sugárzásnak van kitéve (szemben az „*in vitro*” alkalmazásokkal, ld. VI.1).

Aszerint, hogy a sugárzás detektálása milyen körülmények között és módon történik, az eljárásokat feloszthatjuk:

- Nem leképező eljárásokra: amikor a vizsgált személytől valamilyen – többnyire vér- vagy vizelet – mintát veszünk, és annak radioaktivitását mérjük (ld. a VI.3.B szakaszban).
- Leképező eljárásokra (ld. a VI.3.C, D, E szakaszokban).

B. *Mintavételezéses (nem leképező) eljárások*

Ezeket az eljárásokat "*fél in vivo*" módszereknek is nevezik, mert bár az "*in vivo*" eljárásokhoz hasonlóan a (leképezéshez használatosnál nagyságrendekkel kisebb mennyiségű) radioaktív anyag bekerül a beteg szervezetébe, de a mérés nem a test valamely tájékáról történik külső detektorral, hanem az "*in vitro*" módszerekhez hasonlóan valamilyen levett (általában vér vagy vizelet) minta radioaktivitását mérjük meg kémcsőben.

Az alábbiakban a leggyakoribb ilyen módszereket vázoljuk fel.

(a) Radioizotópos vese-clearance vizsgálatok

A veseműködés összetevői

Egy anyag **vese-clearance**-e az a plazmatérfogat, amelyet a vese időegységenként megtisztít az illető anyagtól. Ez a definíció egyaránt alkalmazható azokra az anyagokra:

- amelyek kizárólag *passzívan szűrődnek* ki (a tubulusok falán egyik irányba sem jutnak át), mint pl. a DTPA (dietylén-triamin-pentaacetát), így clearance-ük a glomeruláris filtrációs sebességet (GFR) adja
- amelyek *vesén keresztüli kiválasztódása teljes*, mint pl. a para-amino-hippursav (PAH), ill. közelítőleg az orto-jód-hippursav (OIH), így clearance-ük a vese effektív vérplazma-átfolyását (ERPF) adja, illetve azzal arányos
- és további farmakonokra, amelyek a vérben nagyrészt fehérjéhez kötve találhatók, a kötésből a tubulusokon átfolyás rövid ideje alatt csak kis részük szabadul fel, ezért tubuláris kiválasztódásuk részleges (kb. az ERPF-fel arányos), clearance-ük az ún. tubuláris exkréciós sebességet (TER) adja. Ilyenek a merkaptó-acetil- triglicin (MAG3) és az etilén-dicisztein (EC) is.

Tehát a vizsgálathoz használt anyagtól függ, hogy a radiofarmakon intrarenalis áthaladása, illetve a mért clearance-érték a GFR-t, az ERPF-et, a TER-t, vagy azok valamilyen kombinációját jellemzi-e. A megfelelően stabil radioizotópos jelzés kézenfekvő lehetőséget kínál a clearance mérésére, mert - kémcsőbe levett minta aktivitás-méréséről lévén szó - igen kis jelzett anyag elegendő a vizsgálathoz. Megjegyzendő, hogy a clearance normál értéke nagyban függ a testmérettől; leggyakrabban a testfelszínre normalizálva, $1,73 \text{ m}^2$ -re vonatkoztatva szokás megadni.

A radioizotópos clearance-mérési eljárások lehetőségei

Az intravénás beadás után alapvetően két lehetőség van a clearance meghatározására: vagy azt mérjük, hogy az anyag milyen hányada jelenik meg a vizeletben, vagy azt, hogy milyen ütemben tűnik el a vérből. Mivel a hosszú időtartamú vizeletgyűjtés technikailag sokféle hibalehetőséget hordoz, a használatos radioizotópos módszerek a radiofarmakon vérbeli koncentráció-változását követik:

- Sok (6-8) vérminta levételével követve az anyag koncentrációjának csökkenését a vérben (általában biexponenciális görbét illesztve). Ez rutinszerű vizsgálatra alkalmatlan bonyolultsága miatt, de felhasználható az alábbi eljárások kalibrálására.
- Két vérmintával, exponenciális ürülést feltételezve.
Ezek kutatási célra is alkalmas, pontos eljárások.

- Vérvétel és gammakamerás vizsgálat kombinálása, amikor a *látszólagos eloszlási teret* egy időpontban vett vérmintából, a kiszűrés sebességét pedig gamma-kamerás képsorból, a szív felett mérhető aktivitás időbeli változásából számoljuk ki.

A módszer kidolgozása *Oberhausen* nevéhez fűződik. A klinikai rutin számára kiváló eljárás.

- Egyetlen, rögzített időpontban levett vérmintából (a teljes vértérfogat ismeretében ill. becsülésével a testméretekből) számolható a *látszólagos eloszlási tér*, vagyis hogy mennyi vérben lenne az összes beadott radiofarmakon teljes elkeveredést feltételezve, ha a mintában annyi van, amennyit mértünk. Ebből tapasztalati képletekkel következtethetünk a clearance-re.

Az ilyen metodikák kielégítő pontosságúak és elég egyszerűek a klinikai rutin számára.

- Vérmintavétel nélkül, pusztán a vese idő-aktivitás görbéjének paramétereiből, (amit renográfia vagy dinamikus veseszintigráfia során kapunk), tapasztalati képletek segítségével. Ezek a módszerek csak korlátozottan használhatók pontatlanságuk miatt.

(b) Vörösvértest élettartam mérése

Hosszú felezési idejű Cr-51 radionukliddal jelezzük a beteg véréből szeparált vörösvértesteket, majd újra beadva a betegnek vérmintákat veszünk 1 óra, 1, 3 nap, 1, 2, 3, 4 hét múlva, és a kapott kb. exponenciálisan csökkenő aktivitásból felezési időt számolunk.

Ily módon nem közvetlenül a vörösvértestek várható (normálisan 120 napos) élettartamát mérjük, hanem azt az időtartamot, amely alatt a megjelzett vegyes korú vvt-populációból az életben maradottak száma az eredeti felére csökken; ez az idő normálisan 30 nap körüli.

A kórosan lecsökkent élettartam hemolizisre utal. A módszer az anaemiák differenciáldiagnosztikájában használatos, az egyéb módon nem megállapítható, enyhe fokú hemolizis kimutatására. Szerv (lép, máj, szív, sacrum) feletti külső detektálással összekötve a vörösvértestek szétesési helyének megállapítására is alkalmas, hozzájárul a splenectomia indikálásához.

(c) Schilling-próba

A vizsgálat a B12 vitamin felszívódási zavarának kimutatására szolgál. A kobalt-57 vagy kobalt-58 radionukliddal jelzett B12 vitamint a beteg kapszulában veszi be, majd injekcióban nagy mennyiségű inaktív B12 vitamint kap. Ezután 24 órás vizeletgyűjtés következik, amelyben megmérve a jelzett anyag mennyiségét, kiszámolható, hogy a bevett B12 hány százaléka ürült ki a vizelettel.

B12 vitamin hiányos anaemia esetén a normális, 15% feletti érték helyett 10% alattit kapunk. Ha a kobaltizotóppal jelzett B12 vitamint intrinsic factorral kombinálva adjuk be és így a

Schilling próba normális eredményt ad, a beteg B12 vitamin hiánya az intrinsic factor hiányán alapul, azaz *anaemia perniciosáról* van szó. Ha a B12 vitamin felszívódása ekkor is csekély, a *felszívódás zavarát* okozó bélbetegségről vagy a B12 vitamin bélben való fokozott felhasználódásáról (*dysbacteriosis*) van szó.

C. Leképezés lehetősége radioizotópokkal

Az atommag bomlása során vagy következtében keletkező sugárzási fajták közül a nyugalmi tömeggel rendelkező alfa- és béta-részecskék testszövetben igen rövid távolságon belül elnyelődnek (vö. II.4), így az élő szervezetbe bejuttatott radioaktív anyag eloszlásának külső detektorral történő leképezésére az *elektromágneses sugárzások* különböző változatai használhatók:

- az atommagból kibocsátott *gamma-sugárzás*
- az elektronhéjból eredő *karakterisztikus röntgensugárzás* (mely akkor keletkezik, amikor pl. elektronbefogás vagy konverziós elektron után visszamaradt lyukba egy magasabb energiaszintről „beesik” egy elektron)
- a *megsemmisülési gamma-foton* pár, amely pozitron és elektron ütközésekor keletkezik.

Leképezést tehát gamma- vagy pozitron-sugárzó radioizotóp beadása után végezhetünk. A képalkotásra ma döntően *gamma-kamerát* vagy *PET-kamerát* használnak, amelyekben szcintillációs detektorokat alkalmaznak.

D. Leképezés gamma-sugárzó radionuklidokkal

A gamma-kamerás leképezések a legjelentősebb területét jelentik a Nukleáris Medicinának. Mi indokolja ebben az esetben sugárterheléssel járó radioaktív készítmények alkalmazását?

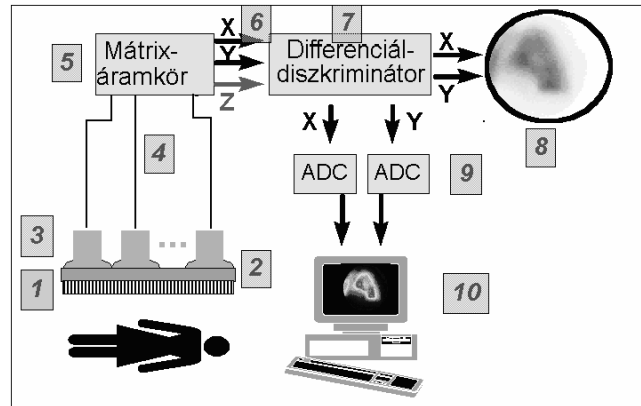
A többi általánosan elterjedt orvosi leképező eljárás: az ultrahang, a röntgen ill. a röntgensugárzáson alapuló, metszeti felvételek készítését lehetővé tevő CT, és a hagyományos mágneses magrezonancia-lépezési eljárás (MRI) is *strukturális* leképezési eljárások. Ez azt jelenti, hogy akkor tudunk egy elváltozást a szervezetben kimutatni, ha az már szerkezeti átépüléshez is vezetett. Pl. az ultrahang esetén a különböző rugalmasságú közegek határfelületét tudjuk kimutatni, és akkor látható valamilyen elváltozás, ha ott a szövet struktúrája más lesz. A röntgen-vizsgálatoknál (a CT-t is beleértve) a különböző sugárelnyelésű (vagyis a különböző sűrűségű) szövetek különíthetők el egymástól (így legegyszerűbben a szilárd csontok a lágyszövetektől).

Ezzel szemben a radioaktív jelzés felhasználásával különböző anyagok különböző szervekbe történő beépülésének, anyagcseréjének és kiválasztódásának folyamatát tudjuk nyomon követni, így a kóros folyamat, *működés* már abban a stádiumban kimutatható, amikor a vizsgált szerv

szerkezete még nem különbözik lényegesen a normálistól. Ezért mondjuk, hogy az izotópdiagnosztikai leképezések *funkcionális* (vagyis a működést mutató) leképezések.

(a) Az Anger-féle gamma-kamera felépítése

1. A *kollimátor* (általában párhuzamos) furatokat tartalmazó ólomkorong. A beteg testéből érkező sugárzás csak a furatok hosszában (általában a korongra merőlegesen) tud áthaladni rajta, mert egyébként elnyelődik a lyukak falában. Ezáltal egy pont "képe" a kristályon egy kis kiterjedésű folt lesz. A kamera térbeli felbontását alapvetően a kollimátor határozza meg.



VI.3-1. ábra: Gamma-kamera részei

2. A gamma-kamerák speciális szcintillációs detektort tartalmaznak. A *szcintillációs kristály* általában talliummal szennyezett nátrium-jodid egykristály, mely korong vagy téglalakú. Technécium leképezéséhez vastagsága általában 9 mm körüli. A kristályba becsapódó gamma-részecskék egy-egy fényfelvillanást keltenek.
3. A kamera detektorában sok (19-100) *fotoelektron-sokszorozó* van az egyetlen kristályra ráillesztve. Ezek mindegyike „látja” a fényfelvillanásokat; a közelebbieken nagyobb, a távolabbiak kisebb elektromos impulzus képződik kimeneti jelként.
4. A fotoelektron-sokszorozók kimeneti jeleit az úgynevezett *mátrix- (Anger-) áramkör*be vezetik.
5. Ez a sok jeltől kiszámolja az X és Y *koordinátákat*, valamint a becsapódott részecske energiájával arányos Z jelet.
6. A három (X,Y,Z) jelet átvezetik egy *differenciál-diszkriminátor*ba.
7. Innen csak azon beütések koordináta-jelei juthatnak tovább, amelyek energiája (Z-jele) a kiválasztott szűk, 15-20 %-os „ablakba” esik; így a felbontást lerontó szórt sugárzás kiszűrhető.
8. A *tárolócsöves oszcilloszkóp* az egyes beütések koordinátáinak megfelelő helyen felvillant egy néhány másodperc alatt elhalványuló fénypontot. Ezáltal kirajzolódik a vizsgált szerv képe, segítve a beteg helyes beállítását.
9. Az X és Y jelszinteket ún. *analóg-digitál átalakítók (ADC-k)* számpárrá alakítják, és átadják egy számítógépnek.

10. A számítógép egy *digitalizált képet* (számtáblázat) állít össze, melynek minden egyes képeleme a detektor megfelelő kis (négyzet alakú) részét ért beütések számával egyenlő. Ezeket a digitalizált képeket jelenítjük meg a képernyőn, dolgozzuk fel, illetve tároljuk mágneses vagy optikai háttértárolón.

A gamma-kamerák fejlődésében egyre nagyobb szerepet kap a *digitális* jelfeldolgozás. A legmodernebb készülékekben minden egyes fotoelektron-sokszorozó jelét közvetlenül digitalizálják, és a különböző korrekciókat valamint a koordináták kiszámolását már számítógép végzi.

A radioaktív preparátumokat alkalmazó leképezési eljárásokat *emissziós* leképezésnek nevezzük, mivel a beteg testéből *kibocsátott* sugárzást detektáljuk. Ezzel szemben a röntgensugárzáson alapuló leképezési eljárás (mint pl. a hagyományos röntgen és a röntgensugaras computer tomográfia, a CT) egy külső sugárforrásból jövő, a beteg szervezetén *áthaladó* sugárzás gyengüléséből következtet a szervezet szerkezetére; ennek megfelelően ezt *transzmissziós* leképezésnek nevezzük.

(b) *Az emissziós leképezés fajtái*

- A *statikus* vizsgálatoknál megvárjuk, amíg a radioaktívan jelzett vegyület egyensúlyi eloszlást ér el a szervezetben, és ezután a már nem vagy alig változó eloszlást képezzük le egy vagy néhány irányból.
- A *dinamikus* vizsgálat során egy adott beállításból képek sorozatát rögzítjük a radiofarmakon beépülésének ill. kiválasztásának folyamatáról. A kapott képek amellet, hogy egy-egy időpontban a radioaktív anyag eloszlásáról tájékoztatnak bennünket, azt is lehetővé teszik, hogy egy-egy részterület radioaktív koncentrációjának *időbeli* alakulását megvizsgáljuk.
- Az *egésztest* leképezés valójában statikus képek számítógép általi összekapcsolását jelenti, ily módon a gamma-kamera látómezőjénél nagyobb terület ábrázolható egyetlen képen.
- Végül a negyedik és leghatékonyabb leképezési eljáráscsalád az ún. *tomográfias* módszereké, amikor a szervezet metszeteinek radioizotóp-koncentráció eloszlását állítják elő számítógépes módszerrel. A metszetsor együttesen a teljes három dimenziós térbeli eloszlást adja meg.
 - Ha ezt gamma-sugárzó anyaggal végezzük, akkor az eljárás a *SPECT* nevet viseli („Single Photon Emission Computed Tomography”)
 - Ha pozitron-sugárzó anyagot használunk, akkor „Pozitron Emissziós Tomográfia”, vagyis *PET* eljárásról beszélünk (ld. a VI.3.E szakaszt).

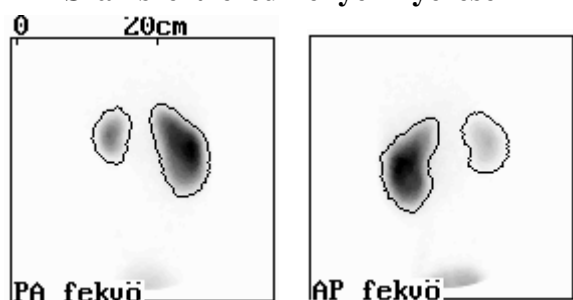
(c) Radioizotópos képek számítógépes feldolgozása

A radioaktív izotópok eloszlásáról készült képeket általában számítógépes úton elemezzük. A számítógép alkalmazásának leggyakoribb céljai a következők:

A képmínőség utólagos javítása

A digitális kép egy-egy eleme azt tükrözi, hogy a beteg testének megfelelő részéből hány beütés érkezett; ezt utólag színezve vagy szürkeárnyalatokkal szemléltethetjük. A paletta határainak alkalmas beállításával lehetővé válik, hogy a legaktívabb területnél lényegesen kisebb sugárzást kibocsátó részeket is jól és a környezetüktől elkülönítve vizsgálhassunk meg. Megfelelő szűrők alkalmazásával a zaj csökkenthető, lehetőleg a részletgazdagságot is megőrizve.

Számszerű eredmények nyerése

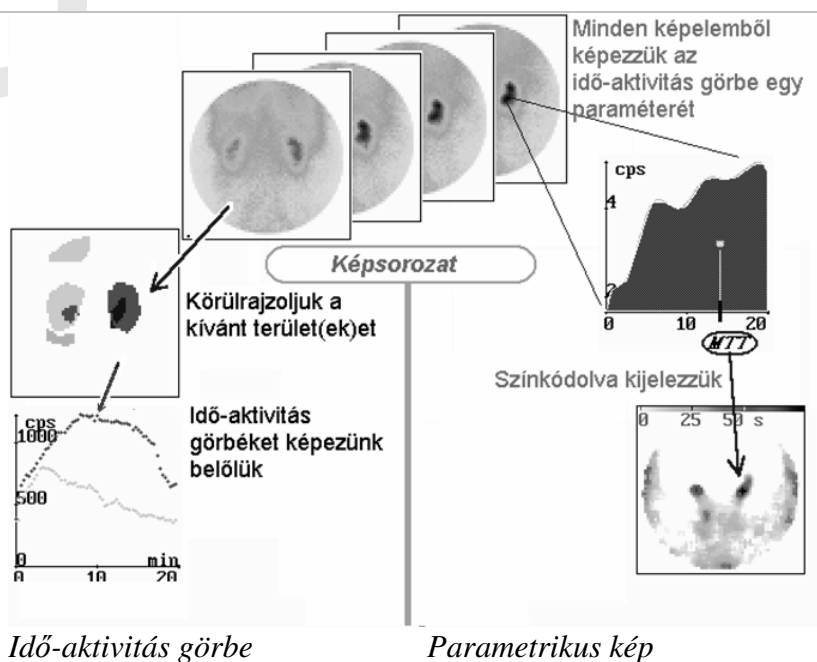


VI.3-2. ábra: Vesefunkció-arány számolása hátul- és előlnézeti kép beütésszámának mértani közepéből (bal: 13.7 %, jobb: 86.3 %)

Egy páros vagy szimmetrikus szerv leképezésénél összehasonlíthatjuk a két oldal radioaktivitásának mértékét különböző részterületeken. Ily módon pl. megállapíthatjuk (ld. VI.3-2 ábra), hogy a két vese működése hogyan aránylik egymáshoz, vagyis, hogy a különböző típusú kiválasztási funkciók elvégzéséből milyen mértékben veszi ki a részét az egyik ill. másik vese.

Információ-tömörítés

Gondoljunk bele, hogy egy hosszú, sok képből álló dinamikus vizsgálat hatalmas mennyiségű információ összegyűjtését jelenti. Pl. egy epeút-vizsgálatnál 128*128-as képmátrixból 110-120 db-ot gyűjtünk be. Ez kétmillió számadatot jelent, amelyet önmagában az emberi agy nem képes áttekinteni, ezért van szükségünk arra, hogy különböző számítógépes



VI.3-3. ábra: Dinamikus vizsgálatok feldolgozási lehetőségei

műveletek segítségével ebből a hatalmas információ-tömegeből a lényeges, informatív elemeket kiemeljük, és az alapján alakíthatjuk ki a szervezet működésére vonatkozó véleményt. Az alkalmazott megoldásokat a VI.3-3. ábra szemlélteti.

Archiválás

Hagyományosan az orvosi képeket filmen rögzítették, de a mai árak mellett kb. két nagyságrenddel olcsóbban lehet ugyanazt az izotópdiagnosztikai képet pl. CD-ROM-on tárolni, mint röntgen-film.

(d) SPECT technika

A SPECT ún. *tomográfias* eljárás. Lényege, hogy egy vagy több gammakamera-detektort körbemozgatva a beteg körül, a beteg szervezetéről sok, általában 30-128 irányból vetületi képet készítünk, és ezekből számítógépes eljárással kiszámoljuk a keresztmetszeti (transzaxiális) radiofarmakon-eloszlást.

Ez az eljárás matematikailag hasonló a röntgenes komputer-tomográfia (CT), mágneses magrezonancia-leképezés (MRI), valamint a később tárgyalandó PET során alkalmazotthoz.

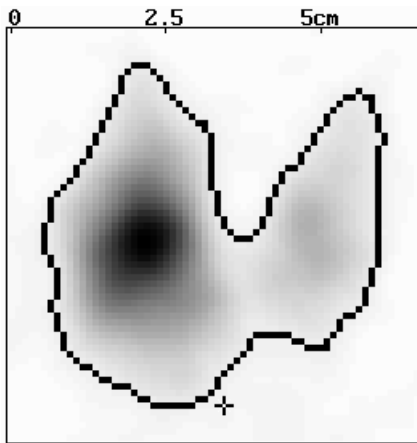
Mivel a betegből kibocsátott sugárzást mérjük, a SPECT és PET módszert együtt *emissziós tomográfiának* szokás nevezni; megkülönböztetésül a CT-t pedig *transzmissziós tomográfiának*. A SPECT technika előnye a CT-vel és MRI-vel szemben, hogy itt a működésről (*funkcióról*), nem csak a szerkezetről (struktúráról) nyerünk információt. Hátránya viszont a gyengébb térbeli felbontás (a szórt sugárzás miatt is), a zajos kép (a radioaktív bomlás statisztikai ingadozása miatt), valamint a sugár-elnyelés („attenuáció”) magában a beteg testében. A kétféle, emissziós és transzmissziós tomográfia ötvöztetésével funkcionális és strukturális információt együttesen szolgáltatnak a hibrid készülékek, ld. VI.3.E(c).

Egyszerre egy széles sávot képezünk le: a gammakamera-detektor általában a test hosszirányában is 30-40 cm méretű. Ezen belül utólag tetszőleges *ferde* metszetek állíthatók elő, amelyek síkját általában már a leképezett szerv állásához igazítjuk: pl. szívvizsgálat esetén a bal kamra hossz tengelyével párhuzamos és arra merőleges metszeteket állítunk elő.

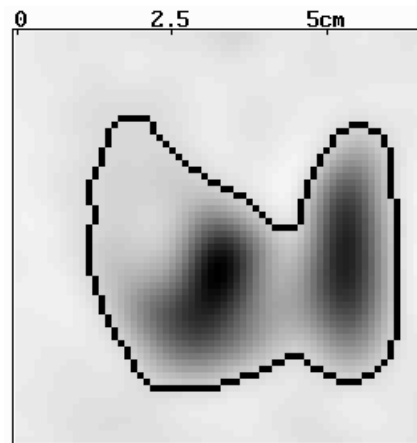
(e) Néhány példa a radioizotópos leképezési eljárásokra

Most a leggyakoribb gamma-kamerás vizsgálat típusokból mutatunk be példaként néhányat.

Pajzsmirigy szcintigráfia



VI.3-4. ábra: "Forró" göb a pajzsmirigy jobb lebenyében (előlnézeti kép)



VI.3-5. ábra: "Hideg" göb a pajzsmirigy jobb lebenyének csúcsán

A vérkeringésbe került jodid számottevő hányada néhány órán belül csapdába esik a pajzsmirigy-sejtekben, és hosszan ott is marad (a kiürülés biológiai félideje kb. 4 hónap): tirozinba, majd a pajzsmirigy-hormonokba (tiroxin, trijód-tironin) épül be. A pertechnetát (amit közvetlenül a technécium-generátorból nyerhetünk) szintén csapdába esik a pajzsmirigyben, de – mivel az szerves vegyületekbe nem építi be – rövidebb idő múlva távozik. Mindkettőt felhasználhatjuk a pajzsmirigyben tapintható (vagy ultrahanggal kimutatott) göbök természetének tisztázására. Míg egyes jó- és rosszindulatú daganatok a normális pajzsmirigy-szövetnél kevesebb radiofarmakont halmoznak („hideg göb”, ld. VI.3-5. ábra), addig az ún. autonóm adenoma (a hormonális szabályozástól függetlenül nagy mennyiségű pajzsmirigy-hormont gyártó sejtcsoport) a környezeténél jóval aktívabban ábrázolódik (VI.3-4. ábra).

Epilepszia-leképezés SPECT technikával

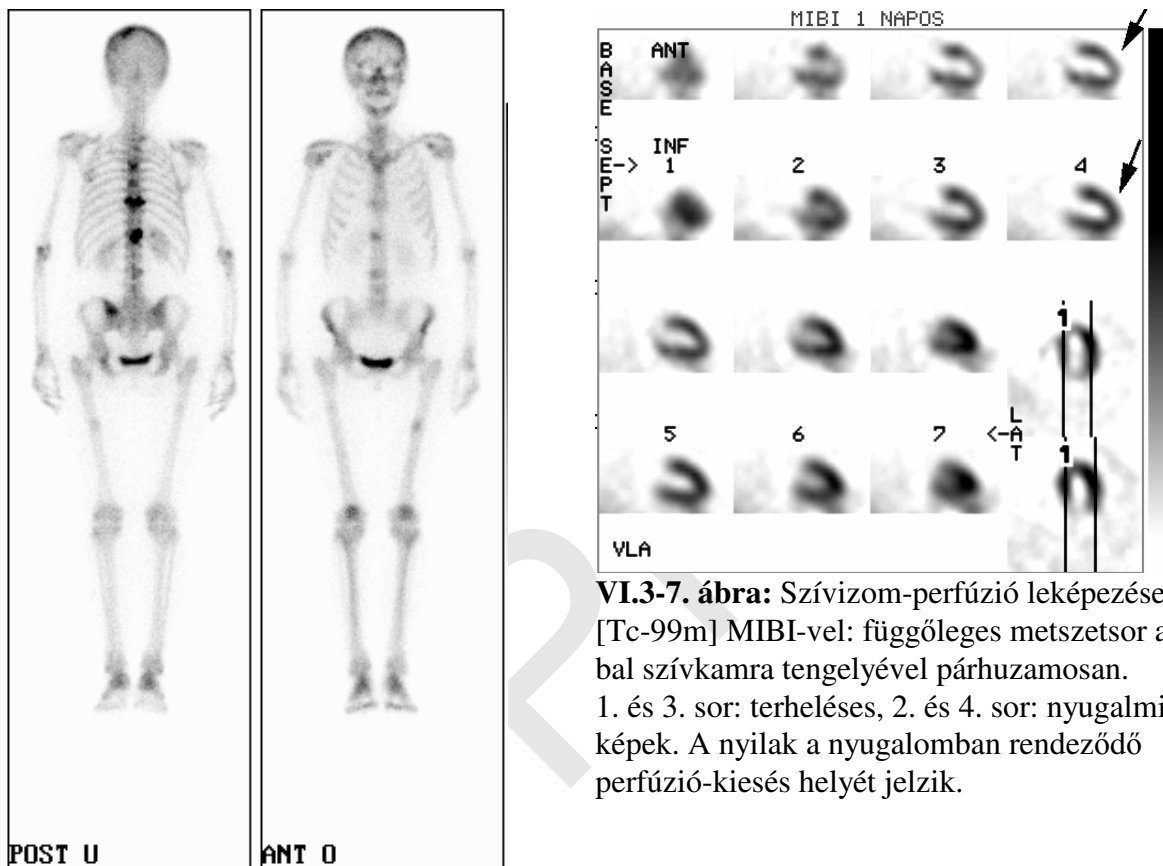
Ebben az esetben a problémát az jelenti, hogy a roham során a rángatózó beteget nagyon nehéz bármilyen módszerrel leképezni. Ugyanakkor az agyi vérátfolyás leképezésére használt radioaktív készítmény, a HMPAO (hexametil-paraamin-oxim) olyan tulajdonságú, hogy a vénás injekció formájában történt beadás után 1-2 percen belül egyensúlyi eloszlást ér el az agyban, és utána ez az eloszlás órák hosszáig változatlan marad. Ez lehetővé teszi azt, hogy ha roham kezdetekor sikerül beadni a radioaktív injekciót, akkor a leképezést 1-2 óra múlva, a roham elmúltá után végezhetjük el, amikor a beteg már képes mozdulatlanul fekédni a szükséges 20-30 percig. Az epilepsziás góc vérellátása egyébként a roham során a normális agyszövetéhez képest fokozott, míg rohamok közötti állapotban épp hogy csökkent mértékű.

Daganatok leképezése

A köztudatban sokan úgy tartják, hogy az izotópdiagnosztika általában daganatkeresést jelent. Ez egyáltalán nem így van. Az elvégzett vizsgálatok között ugyan lényeges súlyt (kb. a felét)

képviselik azok a leképezési módszerek, amelyekkel daganatot vagy annak áttétjét keressük, a többi azonban a szervezet valamilyen más működésének a leképezése, nyomon követése szokott lenni.

A daganatok leképezésére igazán jó általános módszer nincs, de egy-egy típusú daganat vagy áttétei felfedezésére az izotópdiagnosztikai módszerek jó vagy kiemelkedően jó lehetőséget adhatnak.



VI.3-6. ábra: Egésztest csontszcintigram daganat-áttétekkel a gerincben (hátsó- és előnézeti kép)

VI.3-7. ábra: Szívizom-perfúzió leképezése [Tc-99m] MIBI-vel: függőleges metszetsor a bal szívkamra tengelyével párhuzamosan. 1. és 3. sor: terheléses, 2. és 4. sor: nyugalmi képek. A nyilak a nyugalomban rendeződő perfúzió-kiesés helyét jelzik.

Az egyik ilyen a hagyományos *csontszcintigráfia*, amely évtizedek óta az egyik legelterjedtebben alkalmazott gamma-kamerás módszer szerte a világon. Ennek alapja, hogy a különböző radioaktívan jelzett difoszfónátok a csontba a csontépítő (osteoblast) folyamat sebességével arányosan épülnek be. Éppen ezért bizonyos típusú daganatok csontáttétei fokozott (Tc-99m-val jelzett) difoszfónát-felvételt mutatnak (VI.3-6. ábra). A csontmetasztázisok keresése azért is igen lényeges, mert a három leggyakoribb daganattípus: a tüdő-, az emlő- és a prosztata-daganat is gyakran szór a csontokba, és ezeknek az áttéteknek a korai felismerése lényegesen befolyásolhatja a terápia módját és eredményességét. Márpedig a csontszcintigráfias eljárással gyakran abban a fázisban azonosítható egy csontáttét, amikor röntgennel még hónapokig nem mutatható ki, hiszen (mint korábban már említettük) a röntgen-képen akkor láthatunk csak

elváltozást, hogyha a csont szerkezete, kalcifikációja a daganat-áttét következtében már lényegesen megváltozott.

Szívizom-perfúzió szcintigráfia

Mint tudjuk, Magyarország az egyik élenjáró ország a szív- és érrendszeri betegségek, és az ebből következő halálozás gyakoriságában. Igen lényeges kérdés, hogy a koszorúerek szűkülete mikor olyan súlyos, hogy emiatt már műtétre van szükség, ill. az ilyen betegségben szenvedők közül kik azok a személyek, akiknek a szíve egy érhelyreállító műtét eredményeképpen jobban fog működni, hiszen a műtéti kapacitás messze elmarad a koszorúér-betegség gyakorisága mögött.

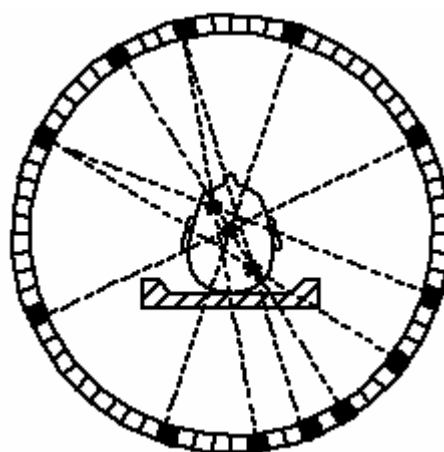
Ennek az eljárásnak az az alapja, hogy az elmeszesedett koszorúerek terhelés hatására (tehát pl. amikor futunk, vagy valamilyen értágító gyógyszer adásakor) nem, míg az egészséges koszorúerek jelentős mértékben ki tudnak tágulni. Ezért ha a szívizom vérellátását összehasonlítjuk nyugalomban és terheléses állapotban, akkor különböző területek - tehát a beszűkült, elmeszesedett ér által ellátott és a többi szívizom-terület - vérellátásának az aránya megváltozhat. Ha egy nyugalomban még egyenletes vérellátású szívizom terheléses körülmények között egy részterületen relatíve csökkent vérellátást mutat, ez vérellátási zavarra, ún. ischaemiára utal (VI.3-7. ábra). Ennek két szempontból is jelentősége van: ezek azok a betegek, akiknél a további komplikációk valószínűsége igen magas, másrészt ők azok, akiknél a beszűkült eret helyreállítva a szív, mint pumpa működése várhatóan javulni fog. A szívizom-perfúzió SPECT vizsgálatára leggyakrabban Tc-99m-jelzett metoxi-izobutil-izonitrilt (MIBI), ritkábban kálium-analóg Tl-201-gyel jelzett tallium-kloridot használnak.

E. Pozitron-emissziós tomográfia (PET)

Pozitron-sugárzó radioizotóppal jelzett farmakon eloszlásának vizsgálata a megsemmisülési gamma-sugárzás detektálásával.

(a) PET-kamera

A pozitron-emissziós tomográf gyűrűkén elhelyezett szcintillációs kristálydetektorokat tartalmaz (ld. VI.3-8. ábra), amelyek jelfeldolgozó elektronikája a pozitron és elektron kölcsönös megsemmisülésekor keletkező két, 180°-os irányban szétszálló, 511 keV-os gammafoton egyidejű becsapódását érzékeli (ún. koincidencia-áramkör), majd a keresztmetszeti síkok radioizotóp-eloszlása számítógépes segédlettel kiszámítható (M.



VI.3-8. ábra: Koincidencia-módú detektálás

Ter-Pogossian, M. Phelps és E. Hoffman, 1975). Mivel a két becsapódás helyét összekötő vonalon keletkezett a sugárzás, a gamma-kamerával ellentétben a PET-kamera nem tartalmaz kollimátort. Ennek előnyös következményei a nagyobb érzékenység és jobb térbeli felbontás. További előnye a PET-kamerának a SPECT-tel szemben, hogy a beteg testében történő sugárzás-elnyelés korrekciója egyszerűbben, közvetlenül a táblázatba rendezett nyers adatokon (a „sinogramon”) végezhető, még a rekonstrukció előtt.

(b) Koincidencia-módú gamma-kamera

A fent leírt koincidencia-detektálás két egymással szemben elhelyezett (kollimátor nélküli) gammakamera-detektorral is megvalósítható. A detektorok a SPECT technikához hasonlóan körbefordulnak a beteg körül. Az ilyen készülék a meglehetősen bonyolult jelfeldolgozó elektronika ellenére számottevően olcsóbb a PET kameránál, és az egyidejűleg leképezhető nagyobb testszelet miatt elsősorban onkológiai alkalmazása tűnt biztatónak. Mivel azonban a betegbe beadható radioaktivitás kisebb, érzékenysége gyengébb, a kimutatható áttét kevesebb, mint PET-kamerával.

(c) Hibrid készülékek

Az ezredforduló után rohamos terjedésnek indultak a CT-vel kombinált (hibrid) PET- és SPECT-készülékek. Ezekkel a beteg változatlan testhelyzetében végezhető el a CT-leképezés az emissziós begyűjtés előtt vagy után. Előnyük, hogy egyidejűleg nyújtanak funkcionális és anatómiai információt, segítve ezzel az elváltozások könnyebb lokalizálását, és csökkentve az álpozitív leletek arányát. Ráadásul az elnyelés-korrekció is elvégezhető a CT-kép segítségével, így egy-egy beteg teljes leképezési ideje rövidebb, az elvégzett vizsgálatok száma nagyobb lehet.

(d) A leggyakoribb PET leképezési eljárások

Daganat-keresés FDG-vel

Ma a világon klinikai célból végzett PET-vizsgálatok több mint 90%-a FDG-vel végzett tumorkeresés. Az [F-18] fluor-dezoxi glükóz a normál glükózhoz hasonlóan jut be a sejtekbe, de ott csapdába esik. Felvétele arányos a cukor-anyagcsere mértékével, amely fokozott számos daganattípusban. (Sajnos, a glükózt gamma-sugárzó radionukliddal nem tudjuk megjelezni: olyan kis molekula és olyan atomokat tartalmaz, amelyeknek nincs alkalmas gamma-sugárzó izotópja.)

Elsősorban a daganatos betegségek stádiumának meghatározására (az áttétek felderítésére) használják. Másik fontos alkalmazási területe az újrafelződő daganatok kimutatása, mivel egy műtét következtében a korábbi daganat helye és környezete olyan mértékben torzul, hogy a szerkezetet leképező eljárásokkal (pl. CT) a heget az újrafelződő daganattól elkülöníteni igen nehéz lehet. Különösen előnyösen alkalmazhatók daganat-keresésre a hibrid PET-CT készülékek

(ld. az előző szakaszban); az utóbbi években az ilyen berendezések elterjedése világszerte ugrásszerűen megnőtt.

A szívizom-anyagcsere vizsgálata

A szívizom-perfúziós SPECT vizsgálattal a szívizom vérellátási zavarai kimutathatók (ld. korábban), de további kérdés, hogy a nyugalomban is oxigénhiányosnak bizonyult terület már teljesen elhalt, vagy pedig ún. *hibernált* állapotban van, amikor a szívizmot alkotó sejtek még élnek, csak a tartós oxigénhiány miatt nem képesek a kívánt összehúzódást végezni. Szerencsére az utóbbi állapotban a szívizom még vesz fel cukrot (következésképp FDG-t is); ha így hibernált szívizmot sikerül bizonyítani, ez műtéti indikációt jelent, amíg a heges szívizom állapotán a műtét sem tud segíteni.

A PET kutatási célú alkalmazásai

A PET-kamera nagy előnye a SPECT-tel szemben, hogy *dinamikus tomográfiás* vizsgálatokat is lehetővé tesz. A PET gyógyszerkutatási alkalmazásai igen fontosak és évtizedek óta kiterjedtek: már többszáz féle pozitron-sugárzóval jelzett vegyületet adtak be állatoknak és embereknek kutatási célból, elsősorban *farmakokinetikai* vizsgálatok végzésére. Lehetővé vált olyan kis számú molekula leképezése az élő szervezetben (pl. receptorokhoz kötődő jelzett anyagokkal), amennyit korábban csak kémcsőben vagy metszetekben sikerült kimutatni. A dinamikus PET-vizsgálatokkal részterületek receptor- és transzporter-sűrűsége, valamint a kötési erősségek számolása is lehetséges. A leginkább kutatott terület az agyműködés egészséges és kóros állapotokban.

VI.4. Radioizotóp-terápia

Varga József

A. Elv

A Nukleáris Medicina harmadik részterülete a terápia **nyílt** radioaktív készítményekkel. Ennek alapja, hogy a radioaktív preparátum a betegben *molekuláris szinten* elkeveredik, az elpusztítandó sejt közvetlen közelébe kerül, és ott (lokálisan) fejti ki hatását. A terápiát általában **béta-sugárzó** radionuklidokkal végezzük (max. úthossz testszövetben: ~ mm).

Az ilyen célú alkalmazáshoz különösen specifikus radiofarmakonok kellene, vagyis olyanok, amelyek csak a célszervben dúsulnak, és lehetőleg sehol másutt a szervezetben.

Megjegyezzük, hogy külső sugárforrásokkal (pl. lineáris gyorsítóval és kobalt-ágyúval), valamint a testbe átmenetileg behelyezett zárt sugárforrásokkal is kiterjedten végeznek sugárterápiát, de ezek nem a Nukleáris Medicina részei.

B. A leggyakoribb radionuklid-terápiás alkalmazások

- **A hyperthyreosis radiojód-terápiája:** [I-131] NaI-ot itatunk (vagy adunk be kapszulában), mely a pajzsmirigy-sejtekbe beépülve fejt ki hatását. A beépülés mechanizmusa azonos a pajzsmirigy-szcintigráfiánál alkalmazottal, de a terápiás hatást a I-131 béta-sugárzása fejt ki. A pajzsmirigy-túlműködés különböző típusainak sugárérzékenysége különbözik, ettől függ a tervezett elnyelt dózis. A beadandó aktivitás számolásánál figyelembe kell venni a pajzsmirigy méretét, jódfelvételét, valamint a jód kiürülési sebességét a pajzsmirigyből (ami hyperthyreosis esetén jelentősen felgyorsulhat). A nem nagy (Magyarországon 550 MBq alatti) aktivitással végzett terápia járóbetegnek is adható.
- **Üregi terápia:** leggyakrabban az **ízületi gyulladás** kezelésére alkamazzák, amikor radioaktív kolloidot injektálnak az ízületi részbe.
- **Fájdalomcsökkentő** terápia csont-metasztázisokra: ezen terápia előrehaladott stádiumú rákos betegeknél elsősorban a csontáttétek által okozott fájdalom csökkentésére szolgál. A csontszcintigráfiához hasonlóan difoszfónátok beadásával történik, de ebben az esetben béta-sugárzókkal jelezve.
- Pajzsmirigy **carcinoma áttétek radiojód-terápiája:** a jódfelvevő tumorok áttéteinek besugárzása [I-131] NaI beadásával, mint a hyperthyreosis terápiájánál, de itt nagyságrenddel nagyobb aktivitásokra van szükség (ezért csak speciális radioizotóp-terápiás fekvőbetegosztályon végezhető).
- **Radioimmun terápia:** a tumorsejtek felszíni antigénjei ellen termeltetett monoklonális antitestek béta-jelzésével történik. Igen ígéretes módszer, de elterjedését korlátozza magas költsége, és hogy a betegek egy kisebb hányadában az egerben termeltetett antitest ellen immunreakció léphet fel, ami miatt nem ismételtető.

VII. Gyakorlatok

VII.1. Izotóphígítási analízis

Nagy Noémi, Kónya József

A. Az izotóphígítási elemzés főbb típusai

Az izotóphígítási elemzési módszerek mindegyik változatának lényege, hogy a radioizotópra nézve zárt rendszerben az összaktivitás (az adott izotóp mennyisége) nem változik azzal, hogy a stabil izotóp mennyiségét megváltoztatjuk, a fajlagos aktivitás (azaz az izotóparány) változása azonban mértéke lesz az izotóp-összetétel változásának. A hígítást radioaktív izotópokkal vagy stabil izotópokkal végezhetjük. Ha az elemzés során felhasznált izotóp radioaktív, a módszer kivitele egyszerűbb és sokkal nagyobb érzékenységet érhetünk el elemzés közben.

Az összaktivitás állandóságát ($A_o = A$) a fajlagos aktivitásokkal és az anyagmennyiségekkel felírva:

$$a_o = \frac{A_o}{m_o + m^x} \text{ és } a = \frac{A}{m_o + m^x + m} \quad (\text{VII.1-1})$$

$$a_o(m_o + m^x) = a(m_o + m^x + m) \quad (\text{VII.1-2})$$

ahol $A_o = A = a$ a rendszer összaktivitása

a_o = a hígítás előtti fajlagos aktivitás (pl. dpm/mg)

a = a hígítás utáni fajlagos aktivitás

m^x = az aktív izotóp mennyisége

m_o = az inaktív (hordozó) izotóp mennyisége

m = a hígító inaktív izotóp mennyisége.

Az összefüggésekből látható, hogy valamelyik anyag mennyiségét és a fajlagos aktivitásokat kell mérni. Ennek az az előnye, hogy nem szükséges kvantitatív kinyerés, csak megfelelő tisztaságban (szelektív kinyerés) és mérésre alkalmas formában kell a mérendő anyagot előállítani. A fajlagos aktivitások összehasonlíthatósága megköveteli a mérés körülményeinek azonosságát. Mivel részecskeintenzitást mérünk, szükséges, hogy az

$$a_o = \frac{i_o}{k_o} \quad \text{és} \quad a = \frac{i}{k} \quad (\text{VII.1-3})$$

definíciókban a $k_o = k$ legyen, vagyis felírható legyen:

$$i_o(m^x + m_o) = i(m^x + m_o + m) \quad (\text{VII.1-4})$$

ahol i_o = a hígítás előtti fajlagos intenzitás (pl. cpm/mg)

i = a hígítás utáni fajlagos intenzitás.

Az izotóphígításos elemzés főbb típusai:

(a) *Egyszerű izotóphígításos módszer*

(nem aktív anyag (m) mennyiségének meghatározása aktív anyag hozzáadásával)

A vizsgálandó mintához a keresett elem (molekula) pontosan ismert mennyiségű ($m_0 + m^x$) és ismert fajlagos aktivitású (a_0) jelzett alakját adjuk. Az elegyet tökéletesen összekeverjük, a keresett anyagot a szokásos szelektív módszerekkel elválasztjuk, tökéletesen megtisztítjuk. Teljesen mellékes, hogy milyen hozammal. Súlyállandóságig szárítjuk és meghatározzuk a fajlagos aktivitását (a).

Ha az aktív vegyület mennyisége (m^x) igen jelentéktelen az inaktív hordozó (m_0) mennyiségéhez képest, vagyis

$$m^x \ll m_0 \quad (\text{VII.1-5})$$

akkor a (VII.1-2) egyenletből az elegyben levő ismeretlen anyag mennyisége:

$$m = m_0 \left(\frac{a_0}{a} - 1 \right) \text{ ill. } m = m_0 \left(\frac{i_0}{i} - 1 \right) \quad (\text{VII.1-6})$$

Mérni kell tehát az aktív anyag tömegét és fajlagos intenzitását hígítás előtt, valamint a hígítás utáni fajlagos intenzitást. Általában $m = 0,01 * m_0$ esetben már nem kapunk pontos eredményt. Ez szabja meg a hígítás mértékét. A módszer érzékenységét a hígítás utáni fajlagos aktivitásmérés szabja meg. Igen jó eredménnyel alkalmazható az egyszerű izotóphígításos módszer minden olyan esetben, amikor a meghatározandó anyagot a kísérő anyagoktól nem tudjuk kvantitatíven elválasztani.

(b) *Fordított izotóphígításos módszer*

(radioaktív anyag mennyiségének ($m_0 + m^x$) meghatározása inaktív anyag hozzáadásával)

A fordított izotóphígításos módszert radioaktív anyagok vizsgálatára használjuk, főleg olyan esetekben, amikor több különféle radioaktív anyag keverékét vizsgáljuk. A vizsgálandó aktív alkotórészrel azonos inaktív anyag ismert mennyiségét adjuk (m) a vizsgálandó aktív mintához. Tökéletes homogenizálás után az anyag egy részét tiszta állapotban izoláljuk, fajlagos aktivitását meghatározzuk. Mivel általában $m^x \ll m_0$, az $(m^x + m_0) \approx m_0$.

Az előzőekben ismertetett összefüggésből:

$$m_0 = \frac{m}{\frac{a_0}{a} - 1} \text{ ill. } m_0 = \frac{m}{\frac{i_0}{i} - 1} \quad (\text{VII.1-7})$$

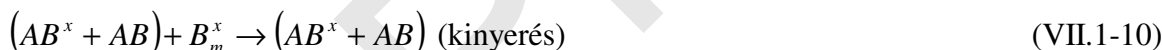
Mérni kell tehát a hígítás előtti és utáni fajlagos aktivitásokat és az m inaktív hígító mennyiségét.

Az a_0 -mérés érzékenységének mennyiségigénye szabja meg a még mérhető m_0 alsó határát. A fordított izotóphígítási módszert a mikrokémiai elemzésben használják. Alkalmos tisztaság meghatározásra, magreakciók hozamának megállapítására az aktivációs analízisben, stb.

(c) *Derivált izotóphígítási módszer*

Gyakran előfordul, hogy a meghatározandó elem vagy vegyület radioaktív formája nem hozzáférhető, a hígítási módszer közvetlenül nem alkalmazható. Ekkor a vizsgálandó anyaghoz olyan radioaktív reagenst adunk, amely a kérdéses meghatározandó anyaggal radioaktív származékot képez. Ennek a radioaktív vegyületnek a mennyiségét most már inaktív vegyületével való hígítással (fordított izotóphígítás) meghatározhatjuk. A mérés előtt elő kell állítani a radioaktív vegyületet, hígítani és tisztítani kell.

Ha a meghatározandó vegyület A , a radioaktív reagens B^x , a reagens feleslege B^x , a derivált hígítás menete a következő:



Meg kell határozni az aktív vegyület fajlagos aktivitását hígítás előtt, a fajlagos aktivitást a hígítás után és mérni kell a hígító mennyiségét.

(d) *Kettős izotóphígítási analízis*

(*radioaktív anyag mennyiségének (m^x) meghatározása inaktív anyag hozzáadásával*).

Ha olyan kis anyagmennyiség van csak, hogy a hígítás előtti fajlagos aktivitást (a_0) nem tudjuk meghatározni, akkor kettős izotóphígítást végzünk. A vizsgálandó keverék két alkotórészéhez két különböző mennyiségű (m_1 és m_2) inaktív hígítót adunk. Tökéletes összekeverés után mindkettőből izoláljuk a kémiaiilag tiszta anyagot, meghatározzuk a fajlagos aktivitásokat (a_1, a_2). A két hígításra felírva:

$$a_0 m_0 = a_1 (m_0 + m_1) \quad \text{ill.} \quad a_0 m_0 = a_2 (m_0 + m_2) \quad (\text{VII.1-11})$$

$$a_0 = \frac{a_1 a_2 (m_2 - m_1)}{a_2 m_2 - a_1 m_1} \quad (\text{VII.1-12})$$

$$m_0 = \frac{a_1 m_1 - a_2 m_2}{a_2 - a_1} \quad (\text{VII.1-13})$$

Mérnünk kell tehát az m_1 és m_2 inaktív hígítók mennyiségét, és az a_1 illetve a_2 hígítás utáni fajlagos aktivitásokat.

A módszert gyakran alkalmazzák a magkémiában, szerves és biokémiában, bár a módszer pontossága a három ismertetett közül a legkisebb. A legpontosabb az egyszerű izotóphígításos módszer.

A hibák forrása elsősorban a radioaktív mérés pontatlanságában van. A radioaktív bomlás statisztikus jellege miatt a mérés annál pontosabb, minél nagyobb aktivitást és minél hosszabb ideig mérünk. (A készülék feloldási idejét figyelembe véve.) A hígítással a minták fajlagos aktivitása csökken, a radioaktív izotóp fajtájától függően biztosítani kell az aktivitásmérések azonosságát (abszorpció, önabszorpció). Meg kell keresni az aktív és inaktív anyag keverési arányának, a mért impulzusok számának és a mérés időtartamának az optimumát.

B. Feladat

Ismeretlen KI oldat koncentrációjának meghatározása, egyszerű izotóphígítással. Az ismeretlen KI oldathoz pontosan 5 cm^3 -t adunk az ismert koncentrációjú jelzett KI oldatból. Az oldatot alaposan elkeverjük, és főlegben ólom-nitrát oldatot hozzáadva (legalább 10 cm^3) ólom-jodid csapadékként leválasztjuk. Vízfürdőn melegítve a csapadékot tömörítjük, lehűlés után vigyázva, gumikesztyűben, vákuummal leszűrjük, a csapadékot a szűrőn desztillált vízzel, majd alkohollal alaposan mossuk. A csapadék tetszőleges két részletét (kb. 1-1 g-ot) megmért Al-tálcákra súlyállandóságig szárítjuk, mérjük a beütésszámát és számítjuk a fajlagos aktivitást (a). A hígítás előtti fajlagos aktivitást (a_0) az előzőhöz hasonlóan határozzuk meg a jelzett oldat pontosan kimért 5 cm^3 -éből. Vigyázni kell arra, hogy az intenzitás-méréseket teljesen azonos körülmények között kell végezni (azonos kémiai forma, azonos geometria, azonos műszerbeállítás, stb.).

Ha a képletbe az 5 cm^3 -ben levő KI mennyiségét helyettesítjük be mg-ban (m_0), akkor az \underline{m} közvetlenül az ismeretlen oldatban levő KI mennyiségét adja meg.

A gyakorlat során az ismeretlen és a standardként használt oldat azonos koncentrációjú. Ilyenkor a képletben levő m_0 helyére a $V_0 = 5 \text{ cm}^3$ térfogatot helyettesítve az ismeretlen V térfogatát adhatjuk meg.

VII.2. GM-cső karakterisztikája és holtideje

Nagy Noémi, Kónya József

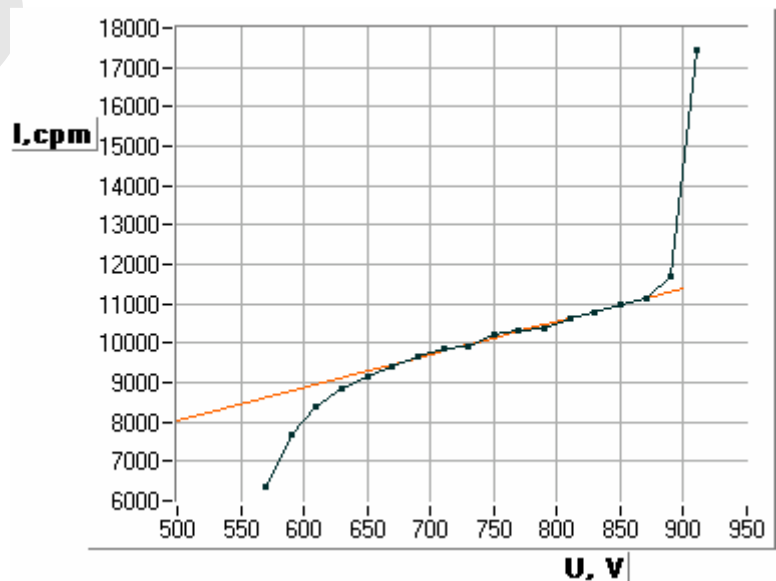
A GM-cső a legelterjedtebben használt gázionizációs detektor az α -, β - és γ -sugárzás mérésére.

A bővebb leírást ld.: III.2.

A gázionizációs detektorok akkor kerülnek az úgynevezett GM-tartományba, amikor a csőben olyan nagyra válik a térerő, hogy a molekulák szabad úthosszán belül az elsődleges ionizáció során képződött elektronok az adott gáz ionizációs energiáját meghaladó energiára gyorsulnak fel. A gyakorlatban használt töltőgáz-nyomásoknál 1000 V/cm körüli feszültségesésnél fog működni a cső. A sorozatos másodlagos ionizációk miatt a gáztér egészére kiterjed az ionizáció, és így nagy áramimpulzus keletkezik, melynek nagysága nem függ sem az ionizáló részecske fajtájától, sem annak energiájától. Ezen nagy impulzus következménye, hogy a csőben a térerő lecsökken a GM-tartomány alatti értékre, ami nem elégséges az ionlavina fenntartásához és újabb részecske által kiváltott ionizáció erősítésére sem. Azt az időt, amely alatt a cső eléri az eredeti feszültséget, *regenerálódási időnek* nevezzük ($\approx 450 \mu\text{s}$). A cső a regenerálódási idő letelte előtt valamennyivel már ad áramimpulzust, de kisebbet. A mérő berendezés ezeket a kisebb impulzusokat is képes észlelni. Azt az időt, ami ahhoz szükséges, hogy az első ionlavina után a következő ionizáló részecske észlelhető nagyságú jelet szolgáltatson, **holtidőnek** nevezzük. Nagysága 100 μs körüli, az adott GM-csőre jellemző érték;

ismerete nagyon fontos, mivel ez szabja meg az elérhető maximális számlálási sebességet. Igényesebb munkánál és nagyobb számlálási sebességeknél a kapott eredményt a holtidő miatti veszteséggel korrigálni kell.

A GM-cső üzemi feszültségét a karakterisztika-méréssel határozzuk meg, azaz egy adott radioaktív preparátum számlálási sebességét megmérjük a csőre adott különböző



VII.2-1. ábra: GM-cső karakterisztikája

feszültségnél. A számlálási sebesség (egyszerűbben maga a mérési idő alatt regisztrált beütések száma) a feszültség függvényében ábrázolva adja a cső karakterisztikáját.

Mint a VII.2-1. ábra mutatja, 670 és 870 V között helyezkedik el egy lineárisan emelkedő szakasz, ezt nevezzük platónak. Hossza esetünkben 200 V. A munkafeszültséget a plató első 1/3-ába célszerű megválasztani, azaz $670 + (200/3) = 740$ V (kerekítve). A plató meredeksége is jellemző a cső minőségére. A meredekséget ebben az esetben nem abszolút értékben (cpm/V) adjuk meg, hanem relatív egységben: %/100 V-ban. Esetünkben ez a következő lesz:

$$\text{meredekség} = \frac{I_{870} - I_{670}}{200I_{670}} * 100 * 100 = 8,15 \text{ \%}/100 \text{ V} \quad (\text{VII.2-1})$$

A meredekség 5–15 %/100 V között szokott lenni, az alacsonyabb (400–900 V) munkapontú halogén-gáz töltésű csövekben nagyobb, míg a szerves kioltó adalékot tartalmazó nemesgázokkal töltött csöveknél kisebb. A plató hossza fordítva változik, a halogénes csöveké rövidebb (100–200 V). A sokat használt csöveknél a plató hossza rövidül, a meredekség nő. Egy cső általában 10^8 – 10^9 impulzus regisztrálására képes, ennyi az élettartama. Vigyázat: a cső akkor is dolgozik, amikor az impulzusok számlálása éppen nem működik! **A karakterisztika kimérése után a nagyfeszültséget csökkentésük le, akár a preparátumot is vegyük ki a számláló cső alól annak kímélése céljából!**

A. A karakterisztika felvétele

Ismerkedjen meg a számláló-berendezés kezelőszerveivel! Keresse meg a nagyfeszültség állítására szolgáló potenciométert! Ez általában 10 fordulatot potenciométer, egy kis ablakban az egész fordulatot, a tárcsán az 1/100 fordulatot olvashatja le. A legtöbb berendezésen ezzel a potenciométerrel 0 – 2000 V között állíthatja a feszültséget úgy, hogy például az 5,00 érték 1000 V-ot jelent! Keresse meg a mérési idő beállítására szolgáló kapcsoló(ka)t. Állítsa be a kívánt mérési időt – 1–10 percre. A készülék jel nagyság-analizátorát (diszkriminátort) állítsuk integrális üzemmódra és a vágási szintet minimum 0,5 V-ra vegyük az elektronikus zaj kiszűrése céljából.

A radioaktív mintát helyezze be a GM-cső alá a védő toronyba. A magasságot úgy kell megválasztani, hogy a mért számlálási sebesség 10000 és 20000 impulzus/perc között legyen a GM-cső munkapontján.

A Laboratóriumban az a szokás, hogy minden mérőberendezést az optimális üzemi paraméterekre állítva hagyunk ott. Így a gyakorlat elején jól tudja ellenőrizni a minta helyes magasságát.

A karakterisztika felvételéhez a nagyfeszültséget csökkentse olyan kicsire, ahol a számlálás már megszűnik, és erről az értékről növelje akkorára, hogy már éppen számláljon a műszer, de 10

V-ra kerek érték legyen. Egy-egy feszültségen háromszor mérje meg a számlálási sebességet. Majd növelje a feszültséget 20–40 V-tal, és ismét mérjen három párhuzamosat. A feszültség növelés lépését úgy célszerű megválasztani, hogy 15 –20 pont megadja a teljes karakterisztikát. Ha nagy lépéseket választ, nem lesz szép a görbéje, ha túl kicsiket, akkor a mérése fog túl hosszúra nyúlni. A feszültség növelését addig kell folytatni, míg a platóban tapasztalható viszonylag egyenletes növekedés után egy gyorsabb növekedést mutató szakaszhoz nem ér. Ebben a tartományban nem szabad sokáig folytatni a feszültség növelését, mert az nagyon árt a GM-csőnek, élettartamát jelentősen csökkenti. Ha úgy dönt, hogy a karakterisztika felvételét befejezte, a nagyfeszültséget állítsa kisebbre, a becsült munkapont körülire, s az adatok feldolgozásának, a görbe megrajzolásának idejére a preparátumot vegye ki a toronyból!

A számlálási sebességek átlagait ábrázolja a csőre adott feszültség függvényében. Állapítsa meg a plató hosszát, a munkapont feszültségét és a plató meredekségét. Értékelje a cső minőségét, elhasználtságát!

B. A holtidő meghatározása

(a) Elvi alapok

Ha egységnyi idő alatt I a mért számlálási sebesség, s minden impulzus után τ ideig észlelésre képtelen állapotban volt a GM-cső, akkor $I\tau$ ideig nem működött a cső, illetve a mérés valós ideje $I - \tau$ volt. Ezért a valós I^* számlálási sebesség:

$$I^* = \frac{I}{1 - I\tau} \quad (\text{VII.2-2})$$

A feloldási- vagy holtidőt leggyakrabban az úgynevezett **kétpreparátumos módszerrel** határozzák meg. Olyan speciális preparátumtartót és preparátumot választanak a méréshez, amelyek biztosítják, hogy a preparátumok jól reprodukálható módon legyenek elhelyezhetőek a mérőberendezésben. Meg kell mérni a háttér, az egyik és a másik, illetve a két preparátum együttes számlálási sebességét (I_h , I_1 , I_2 , $I_{1,2}$). A preparátumok számlálási sebességén itt a preparátum és a háttér együttes számlálási sebességét kell érteni (ellentétben a szokásos szóhasználattal, amikor egy preparátum számlálási sebességén a háttérrel korrigált értéket értjük). A holtidő okozta veszteség miatt az $I_1 + I_2 = I_{1,2} + I_h$ egyenlőség nem áll fenn. A holtidőre korrigált számlálási sebességekre igaznak kell lennie az előbbihez hasonló egyenlőségeknek:

$$I_1^* + I_2^* = I_{1,2}^* + I_h^* \quad (\text{VII.2-3})$$

Helyettesítsük be a fenti kifejezésbe minden tagra a (VII.2-2) korrekciós formulát:

$$\frac{I_1}{1 - \tau I_1} + \frac{I_2}{1 - \tau I_2} = \frac{I_{1,2}}{1 - \tau I_{1,2}} + \frac{I_h}{1 - \tau I_h} \quad (\text{VII.2-4})$$

A (VII.2-4) egyenletből τ kifejezhető, de eléggé bonyolult képletet ad. Ha azonban kicsi a számlálási sebesség, azaz a korrekció csak 1-2%, a nagyobb hatványon szereplő tagok elhanyagolásával az alábbi közelítő formulát kapjuk:

$$\tau = \frac{I_1 + I_2 - I_{1,2} - I_h}{I_{1,2}^2 + I_1^2 + I_2^2} \quad (\text{VII.2-5})$$

A mai nemzetközi gyakorlat megkívánja, hogy egy kísérletileg meghatározott mennyiségnek a hibáját is megadjuk. Egy számlálási sebesség hibáját a mért ismételt adatok alapján statisztikai módszerrel számíthatjuk, ld. (III.4-2). A szórás értékét legegyszerűbben a zsebszámoló statisztikus programjával lehet kiszámítani. Ezek általában kétféle szórást adnak, s és σ jelöléssel, melyek csak abban különböznek, hogy a négyzetgyök alatt $(n-1)$, illetve n szerepel osztóként.

A hibával terhelt adatokból számolással kapott holtidő hibája a részeredmények hibájából számolható. Legyen

$$\begin{aligned} A &= I_{1,2}^2 - I_1^2 - I_2^2 \\ B &= I_1 + I_2 - I_{1,2} - I_h \end{aligned} \quad (\text{VII.2-6})$$

Ezen segédváltozókkal a holtidő hibája:

$$\Delta\tau = \left| \frac{A + 2BI_1}{A^2} \right| \Delta I_1 + \left| \frac{A + 2BI_2}{A^2} \right| \Delta I_2 + \left| \frac{A + 2BI_{1,2}}{A^2} \right| \Delta I_{1,2} + \left| \frac{-1}{A} \right| \Delta I_h \quad (\text{VII.2-7})$$

(A kifejezésekben I_i az i sorszámú minta átlagos számlálási sebességét, ΔI_i pedig az átlagának hibáját jelenti.

(b) Munkamenet

Állítsa a GM-cső karakterisztika mérése alapján kiválasztott munkapontra a detektor nagyfeszültségét. Helyezze a toronyba a detektor alá megfelelő távolságra a speciális kettős mintatartót.

Az egyik helyre tegye be az egyik aktív mintát, a másikra egy inaktív tálkát. Ez utóbbi azt a célt szolgálja, hogy a visszaszórási feltételeket azonosan tudjuk tartani. Mérjük meg a számlálási sebességet 3 – 10-szer az aktivitástól és a kívánt pontosságtól függően.

Ez után az inaktív tálka helyére tegye be a másik preparátumot úgy, hogy a bent maradó minta változatlan helyzetben maradjon. Mérje meg a két minta együttes számlálási sebességét.

Vegye ki az elsőnek mért mintát, s helyére tegye be az inaktív tálkát és mérje meg a második preparátum számlálásebességét. Ennek mérése után csak az inaktív tálkával mérje meg a készülék háttérét. A zsebszámoló gép statisztikus programjának használatával számolja ki az átlagokat, a szórásokat és az átlagok hibáit. Ezek felhasználásával határozza meg a holtidőt a (VII.2-5) és annak hibáját a (VII.2-7) kifejezés alapján. A (VII.2-4) kifejezés azonosságát ellenőrizze a kapott holtidő figyelembe vételével.

A mérőberendezés adatlapjára jegyezze fel a megállapított munkafeszültséget, a plató meredekségét és a holtidőt annak hibájával együtt. A kapott adatok alapján próbálja meg eldönteni, hogy halogénes vagy szerves kioltógázzal töltött GM-csővel van-e dolga, s az mennyire van elhasználva?

VII.3. A $^{137\text{m}}\text{Ba}$ magizomer felezési idejének meghatározása

Nagy Noémi, Kónya József

A radioaktív bomlás törvénye szerint a t időpontban még el nem bomlott magok számát a (II.2-1) képlet írja le, vagy e hatványával kifejezve:

$$N = N_0 e^{-\lambda t}, \quad (\text{VII.3-1})$$

ahol λ az ún. bomlási állandó. A felezési idő és a bomlási állandó kapcsolata:

$$T_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda}. \quad (\text{VII.3-2})$$

Az N számú mag által képviselt aktivitás $A = \lambda N$ nagyságú. Egy radioaktív preparátum mérésénél az aktivitással arányos számlálási sebességet mérjük: $I = kK_n A$, ahol K_n az egy bomlásra eső sugár-részecskék számát jelenti, k pedig a detektálás hatásfokát. Ha a mérés során az arányossági tényezőket állandó értéken tudjuk tartani, a (VII.3-1) kifejezést a számlálási sebességre is alkalmazhatjuk:

$$I = I_0 e^{-\lambda t}. \quad (\text{VII.3-3})$$

A λ bomlási állandó meghatározására a (VII.3-3) kifejezés linearizált formáját használhatjuk. Mindkét oldal természetes logaritmusát véve:

$$\ln I = \ln I_0 - \lambda t. \quad (\text{VII.3-4})$$

A konkrét mérésnél a számláló berendezésünk akkor is mutat egy bizonyos számlálási sebességet, ha nem tettünk oda semmilyen radioaktív anyagot sem. Ezt nevezzük a számláló háttérének (I_h). Így a számlálón kapott I_m adatokra a (VII.3-3) összefüggés a következő formában írható:

$$I_m = I_h + I_0 e^{-\lambda t}. \quad (\text{VII.3-5})$$

A (VII.3-5) kifejezést nem lehet a (VII.3-4) lineáris formává alakítani, csak az $I_m - I_h$ különbséget:

$$\ln(I_m - I_h) = \ln I_0 - \lambda T. \quad (\text{VII.3-6})$$

Természetesen a (VII.3-4) ill. (VII.3-6) kifejezés alapján a felezési időt csak abban az esetben tudjuk kellő pontossággal meghatározni, ha a bomlást akkora ideig követjük, ami alatt a kezdeti aktivitás jelentősen csökkent. Ez másképpen azt jelenti, hogy egy gyakorlat ideje alatt a perc nagyságrendű felezési időket tudjuk meghatározni. Az ilyen rövid felezési idejű izotópot a mérés előtt frissen kell előállítani, vagy anyaelemétől elkülöníteni. Erre a célra nagyon jó a tórium

bomlási sorozatában szereplő ^{208}Tl (ThC'), ami a ^{212}Bi α -bomlásával keletkezik. Az α -részecske visszalökő hatására a keletkező Tl magok egy része a gáztérbe lökődik, ahol elektromos térrel egy másik fémllemezen összegyűjthető és bomlása GM-csőves méréssel követhető. Egy másik szóba jöhető izotóp a 30 év felezési idejű ^{137}Cs -ből β -bomlással képződő $^{137\text{m}}\text{Ba}$, melynek γ -sugárzása szcintillációs detektorral kényelmesen mérhető. A $^{137\text{m}}\text{Ba}$ megfelelő generátorról egyszerűen leoldható.

A. Feladat

A ^{137}Cs -izotópot kálium-kobalt-hexaciano-vas(II) komplexhez kötve egy kicsi kromatográfiás oszlop tartalmazza. A Ba leányelemet a komplex nem köti szilárdan, híg salétromsav-oldattal az oszlopról lemosható. A gyors elválasztás érdekében az oldatot injekciós fecskendővel mozgatjuk egy T csap megfelelő helyzetbe fordítása után. A fecskendőbe 3–4 cm³ savoldatot kell felszívni, majd a csap átfordítása után a mérő edénybe átnyomni. Az edényt fedje le a tetejével, és helyezze bele a mérésre előkészített számláló üreges Na(Tl)I szcintillációs detektorába. A mérés kényelmesebbé tételét szolgálja a számlálóhoz kapcsolt nyomtató. A számlálón 0,5 perc mérési időt válasszon, a mérési mód kapcsolóját a folyamatos mérést jelző körkörös állásba tegye. A preparátum behelyezése után a start gomb megnyomásával elindul a mérés. Az eredmény kinyomtatása és a számláló újra indítása csak 0,05 s időkiesést jelent, ezt első közelítésben figyelmen kívül hagyhatjuk. Az aktivitás csökkenését legalább 10 felezési idő leteltéig mérjük. A beütésszám n felezési idő eltelte után 2^{-n} részére csökken az eredetinek; $2^{-10} \approx 0,001$ – azaz ha az első mérésadatunk 10000 nagyságrendű volt, akkor 10 felezési idő után tízes nagyságrendű lesz a maradék beütésszám. Ez kisebb, mint a készülék háttere, a valóságban 100–200 között állapodik meg a beütésszám. Ez nagyobb lehet a készülék háttérénel, mivel a bárium leoldásánál a Cs anyaelemből is oldódhat egy csekély mennyiség. Hogy ennek pontos nagyságát meghatározhassuk, a mérést célszerű tovább folytatni. A szennyezés nagyságát az utolsó 10 – 20 adat átlaga és a készülék külön megmért háttérének különbsége adja. A felezési idő meghatározásához a (VII.3-6) összefüggésnek megfelelően ábrázoljuk az adatainkat, azzal a különbséggel, hogy háttérként az utolsó 10–20 adat átlagát vonjuk le minden időpontban a mért beütésszámból. A különbséget vagy logaritmikus beosztású papíron ábrázoljuk, vagy az \ln értéküket normál milliméterpapíron rajzoljuk fel. A kapott egyenes meredeksége adja az izotóp bomlási állandóját. Abból számolja ki a felezési időt. Hasonlítsa össze a számított és az izotóp táblázatból kiolvasott felezési idők értékét. Számítsa ki a mintába került ^{137}Cs -szennyezés %-os értékét.

VII.4. Gamma-sugárzás energiájának mérése gamma-spektrometriai módszerrel

Nagy Noémi, Kónya József

A. A gamma-spektrometria elméleti alapjai

A gamma-sugárzás tulajdonságait a *II.1.B(c)*, közeggel való kölcsönhatásait a *II.4.B* fejezet részletezi.

A gyakorlaton a méréshez szcintillációs számlálót alkalmazunk, ld. *III.1*.

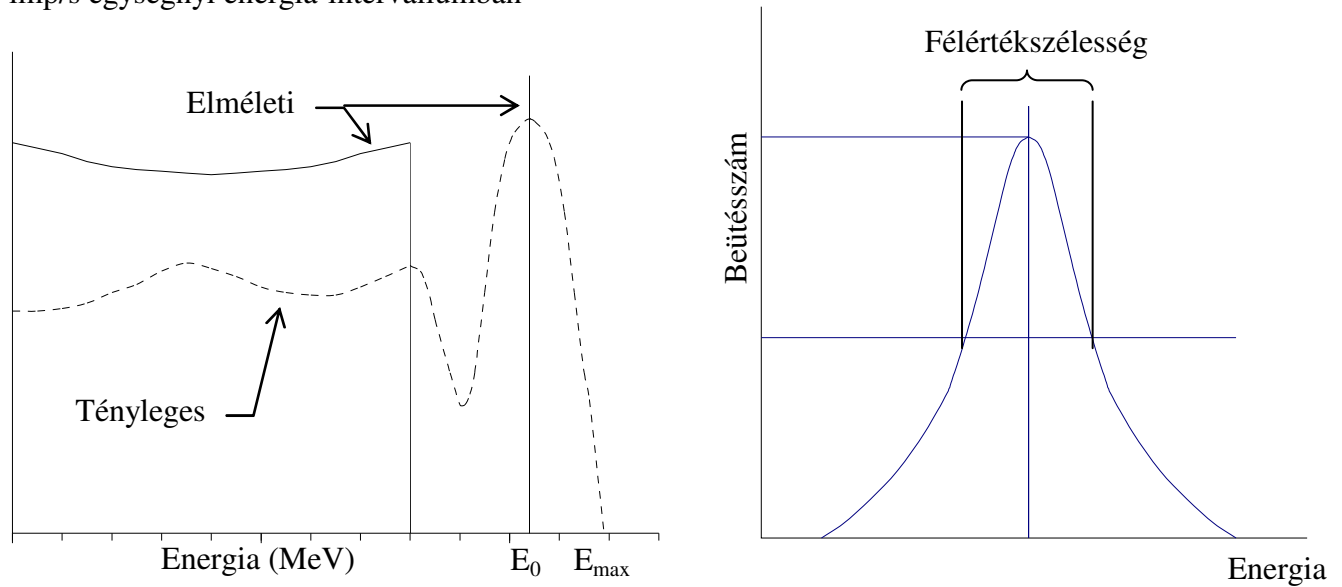
A *VII.4-1. ábra* E_0 -lal jelölt csúcsát azok a γ -fotonok hozzák létre, amelyek a kristályban fotoeffektus révén abszorbeálódtak. Az $E=0$ energiától egy maximumig, az ún. Compton-élig terjedő folytonos energiatartomány a Compton-szórás következménye. Az elméletileg várt éles monoenergiás vonal a kristályban lejátszódó statisztikus folyamatok miatt kiszélesedik. A detektor felbontóképességét (W) ezen csúcs relatív félértékszélességével definiálják az alábbi módon:

$$W = \frac{\Delta E}{E} \cdot 100 \% \quad (\text{VII.4-1})$$

A ΔE félértékszélesség jelentését a *VII.4-2. ábra* szemlélteti.

A felbontóképesség értékét a detektor anyagi minősége és mérete, a mérendő sugárzás energiája és a multiplier elektronikus tulajdonságai határozzák meg. A spektroszkópiai célra használható szcintillátorok energiafelbontása a $^{137\text{m}}\text{Ba}$ izotóp 662 keV-os vonalára 7-10 %. A gamma-spektroszkópiai célra kiterjedten alkalmazott Ge(Li) félvezető detektorok energiafelbontása lényegesen jobb, mint a szcintillációs számlálóké: a fotocsúcs félértékszélessége a $^{137\text{m}}\text{Ba}$ -izotóp vonalára 2-3 keV, azaz $W < 0,5 \%$.

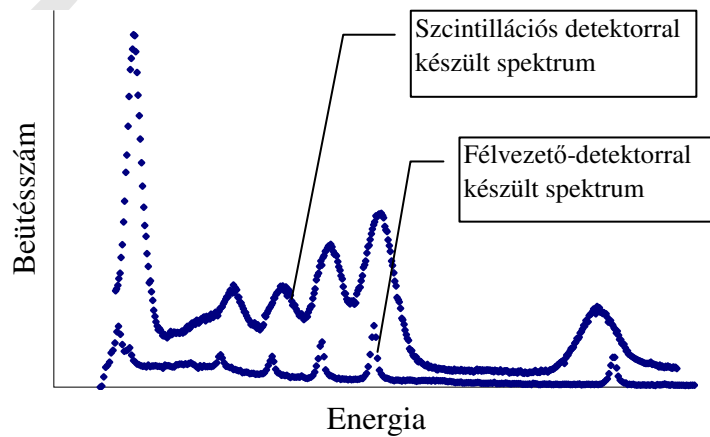
imp/s egységnyi energia-intervallumban



VII.4-1. ábra: Elméleti és tényleges γ -spektrum **VII.4-2. ábra:** Fotocsúcs félértékszélessége NaI(Tl) detektorban

A VII.4-3. ábra a ^{226}Ra és leányelemei gamma-spektrumát mutatja NaI, illetve Ge(Li) detektorral felvéve. Az ábra jól szemlélteti a félvezető detektorok használatának előnyét a γ -spektrometriában.

A mérőrendszer elektronikus paramétereit (nagyfeszültség és erősítés) konstans értéken tartva, a jel nagyság és a γ -energia között lineáris kapcsolat van. Ez ad lehetőséget a γ -sugárzás energiájának meghatározására.



VII.4-3. ábra: A ^{226}Ra és leányelemei γ -spektrumai

Egy radioaktív forrásból származó γ -sugárzás abszolút intenzitásának meghatározásához

ismerni kell a spektrométer hatásfokát, amely alatt a detektor által észlelt és az oda érkező E energiájú sugárzás arányát értjük. Ez az érték energiafüggő, ezért abszolút mérés esetén a hatásfok energiafüggését kísérletileg meg kell határozni. Ismerni kell továbbá a detektálás térszögét.

Az abszolút intenzitás ismeretében a forrás abszolút aktivitását is megadhatjuk, ha figyelembe vesszük, hogy a mért γ -vonal a bomlások hány százalékában fordul elő.

A γ -spektrum felvétele egycsatornás ill. sokcsatornás amplitúdó-analizátorral történhet. Az egycsatornás analizátorban a detektorból jövő elektromos jelek nagyság szerinti szétválogatását differenciál diszkriminátor végzi. Ez olyan szűrő, amely csak azokat a jeleket engedi át, amelyek egy adott V_D körüli ΔV_D feszültségtartományba esnek. A V_D alapszint és a ΔV_D szélesség változtatható. Ez lehetőséget ad arra, hogy a V_D értékét változtatva felvegyük a teljes γ -spektrumot, szakaszokra osztva. Célszerű a V_D értékét ΔV_D egységenként növelni, mert így a spektrum teljes tartományát folyamatosan regisztrálni tudjuk.

A sokcsatornás amplitúdó analizátorok előnye, hogy a teljes spektrumot egyszerre rögzítik. Ez időt takarít meg és különösen kedvező rövid felezési idejű illetve kis aktivitású minták esetén. A képernyőn folyamatosan megjelenik a jelamplitúdó spektrum. Az adatokat x-y regisztrálón is kirajzoltathatjuk.

A sokcsatornás analizátor lehetőséget ad a tárolt adatok aritmetikai feldolgozására. Például a háttér spektruma automatikusan kivonható a jelamplitúdó spektrumból, meghatározható a spektrum fotocsúcsaiban számlált impulzusok teljes összege. A memória egyik részében tárolt spektrum átvihető egy másik memóriarészbe és az itt tárolt spektrumhoz hozzáadható ill. abból kivonható. Ez a lehetőség több γ -sugárzó nuklidot tartalmazó minták elemzésénél hasznos.

B. Feladat

(a) *Mérés félvezető Ge(Li) detektoros, 8192 csatornás gamma-spektrométerrel:*

A mérés során különböző gamma-sugárzó radioaktív preparátumok – úgymint: ^{60}Co , ^{65}Zn , ^{85}Sr , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, $^{108\text{m}}\text{Ag}$, ^{131}I , ^{137}Cs , ^{226}Ra – spektrumát kell felvenni a megadott mérésidővel. A mérőrendszer energiakalibrálását irodalmi adatok segítségével a spektrumok elemzése után kell elvégezni. Az energiakalibrálással hitelesített készülékkel ezután azonosítani kell egy ismeretlen preparátumot a spektruma alapján.

(b) *A készülék hatásfokának meghatározása ^{226}Ra és ^{60}Co preparátum segítségével.*

A ^{60}Co preparátum aktivitása ismert egy adott időpontban, így a bomlástörvény segítségével meghatározható a preparátum aktivitása a mérés időpontjában. Vegyük figyelembe a különböző gamma-vonalak előfordulási valószínűségét! Ábrázoljuk a hatásfokot az energia függvényében! Figyeljük meg a csúcsok félértékszélességét is!

(c) *Mérés szcintillációs NaI(Tl) detektorral felszerelt 2 csatornás készülékkel:*

Határozzuk meg ^{60}Co preparátum egyik csúcsának hatásfokát és félértékszélességét! Vegyük fel a ^{137}Cs preparátum spektrumát, határozzuk meg a fotocsúcs félértékszélességét! Hasonlítsuk össze a két detektor típus felbontó képességét és hatásfokát!

VII.5. Fehérje jelzése ^{125}I izotóppal

Csongor József

A. *Feladat:*

Ismert mennyiségű fehérje jelzése ^{125}I izotóppal. Határozzuk meg a jelzés (a jód-felvétel) mértékét és a kapott jelzett fehérje fajlagos aktivitását.

B. *Lépések*

(a) *Jelzés:*

- Tegyük egy Eppendorf csőbe 20 μl fehérje oldatot (1 mg/ml marha szérum albumin [BSA] foszfát pufferben, pH 7,4).
- Adjunk hozzá 1-2 μCi ^{125}I oldatot (redukálószer-mentes NaOH oldatban).
- Ekkor vegyünk mintát egy kapilláris csővel a kromatográfiás rétegre.
- A reakciót IODOGÉN-nel indítjuk, melyet egy műanyag csíkra cseppentünk fel kloroformos oldatából.

A reakciót mintegy 5 percig követjük, eleinte 0,5 percenként, majd 1 és 2 perces időközönként veszünk mintát a reakcióelegyből, amit szintén vékonyréteg kromatográfiásan vizsgálunk. (A reakciót egy platina/kalomel elektródpar alkalmazásával is követjük.)

A reakciót 10 μl $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ hozzáadásával állítjuk le, majd 10 μl 1 mg/ml KI-ot adunk az elegyhez a jobb elválasztás biztosítására.

(b) *Elválasztás, a hozam kiszámítása:*

A kapott jelzett fehérjét a be nem épült ^{125}I -től gélszűrővel távolítjuk el. Lassú és egyenes áramoltatással 0,05 M foszfát pufferrel végezzük az elválasztást. Az oszlopról először a jelzett fehérje eluálódik a kizárási térfogatban, majd a szabad jodid. Az eluátumokat frakciószedővel (20-25 csepp/cső) gyűjtjük, majd a csövek aktivitását egy számlálóban meghatározzuk. Az aktivitásokat grafikusán ábrázoljuk, a két csúcstól mennyiségileg értékeljük. A reakció hozamát a fehérjéhez kötött jód és az össz-jód aránya adja.

(c) *Fajlagos aktivitás meghatározása:*

Készítményünket a fajlagos aktivitásával jellemezhetjük. Ennek kiszámításához ismernünk kell az általunk felhasznált fehérje tömegét és annak abszolút aktivitását, amit a megfelelően kalibrált műszerünk számlálási határfokának ismeretében kiszámíthatunk.

(Ha a számlálási határfokot nem ismerjük, akkor a spec. akt. cpm/mg, cpm/mol –ban adható meg.)

VII.6. Folyadékszintillációs számlálás

Csongor József

A. Feladat:

- a. különböző energiájú betasugárzók spektrumának összehasonlítása
- b. a számlálási hatásfok meghatározása csatorna-arány módszerrel
- c. ismeretlen minta aktivitásának meghatározása
 - c.1: csatorna-arány módszerrel
 - c.2: belső standard használatával
- d. aktivitásmérés heterogén mintákban.

B. Lépések:

(a) Spektrumok

Mérjük meg a ^3H , ^{14}C és ^{32}P spektrumait egy-egy mintában, valamint a $^3\text{H}+^{14}\text{C}$, $^3\text{H}+^{32}\text{P}$ és $^{14}\text{C}+^{32}\text{P}$ spektrumokat is.

(b) Hitelesítsük készülékünket ^3H izotópra a csatorna-arány módszerrel.

Mérjük meg egy ^3H minta aktivitását a szcintillációs folyadékban (ez adja a 100 %-os értéket), majd mérjük az aktivitás változását az egyre növekvő mennyiségű kioltó anyag jelenlétében. A mérést addig ismételjük, míg a minta aktivitása a kezdeti értékének kb. 5 %-ra nem csökkent. A kapott csatorna-arány faktor (SIS) függvényében ábrázoljuk a különböző kioltású mintáink aktivitását. Így a számlálás relatív hatásfokára kapunk kalibrációs lehetőséget.

(c) Határozzuk meg az ismeretlen mintánk aktivitását:

- A kalibrációs görbe segítségével.
- Mérjük meg az ismeretlen minta aktivitást (N_1 cpm), majd a mellékelt standard-oldat ismert mennyiségét adva mintánkhoz végezzünk újabb mérést (N_2 cpm).
- A hozzáadott standard aktivitásának ismeretében (S dpm) kiszámítjuk a szcintillátorunk számlálási hatásfokát:

$$E = (N_2 - N_1) / S \quad (\text{VII.6-1})$$

- A hatásfok ismeretében számítsuk ki az ismeretlen mintánk aktivitását.

(d) *Hasonlítsuk össze a két módszerrel kapott eredményünket!*

(e) *Mérés száraz mintából*

Az ismeretlen aktivitású mintából vigyünk ismert mennyiséget egy szűrőpapír-korongra, és száradás után mérjük aktivitásukat toluolos szcintillátorban. A kapott cpm értékeket vessük össze az oldatban mért adatokkal!

DUPRESS

VII.7. Tiroxin (T₄) szérum koncentráció mérése kompetitív ¹²⁵I-jelzett radioimmunoassay készlettel

Lenkey Ágota

A hallgatók a T₄ készlet leírása és ezen útmutató alapján készülnek fel a gyakorlati feladat önálló elvégzésére. A radioaktív készletek általános munkamenetéről ld. a VI.1.1 fejezetet.

A. Gyakorlati feladat

(a) *Mérés radioaktív jelzésű immunoassay készlettel:*

A munkát a készlet leírása alapján, a készlet reagenseivel és a rendelkezésére bocsátott eszközök, segédanyagok felhasználásával, a munkavédelmi előírások betartása mellett végezzék.

Kétszer két fős munkacsoport elkészíti a T₄ RIA készlet kalibrációs sorát és az ellenőrző minta mérését.

A többi hallgató önállóan dolgozik, mindenki 3-3 betegminta mérését végzi el.

Az immunreakció végeztével mérjék meg az assay-csövek radioaktivitását JNG 403 multidetektoros gamma-számlálón, a két kalibrációs sor közös használatával. A mérőműszerhez kapcsolódó értékelő program eredményét nyomtassák ki (*számítógépes eredmény*).

A kapott cpm értékekből szerkesszenek kalibrációs görbét lin-log milliméter-papíron a készlet leírásának útmutatása szerint. Olvassák le a mért kontroll- és páciens-minták T₄-koncentrációit (*manuális eredmény*). Vessék össze a minőségi mutatókat a készlethez mellékelt adatokkal!

Amennyiben az assay-sorozatot elfogadhatónak ítélik, a kit leírásában közölt referenciatartomány alapján értékeljék a mért minták diagnosztikai tartalmát. Hasonlítsák össze a manuális és a számítógépes értékelés eredményeit.

A gyakorlati munka menetét, adatait rögzítsék jegyzőkönyvben. A mérési eredményeket a VII.7.B pont szerinti értékelő lapon rögzítsék.

(b) *A radioaktív reagensekkel végzett munka munkavédelmi előírásai:*

- A laboratóriumban enni, inni, kozmetikumot használni tilos!
- Gumikesztyű használata kötelező.
- A munkafelületen egyszer használatos alufólia+papírvatta borítás legyen.
- A radioaktív munkában használt automata pipettákat más munkában ne használjuk. A radioaktív hulladékot a speciális hulladéktárolóba tesszük, szeparáltan kezeljük.

(c) Műszerkezelés

A radioaktivitás-mérést JNG-403 multidetektoros gamma-számlálóval végezzék. A műszer jellemzőiről és a kezelés lépéseiről ld. a műszer mellett elhelyezett használati utasítást.

DUPress

B. ¹²⁵I jelzésű radioimmunoassay (RIA) értékelőlap

Konkrét mérési eredmények felhasználásával töltsse ki a lapot, készítsen kalibrációs görbét és értékelje az ismeretlen mintákat

Meghatározandó anyag:	Készlet(kit) neve:	Gyártó cég:
Mért frakció :	B0/T%:	
Mértékegység:	Referencia tartomány:	

Assay csövek	mért cpm	átlag cpm	B/B0%		
Total /T/	1.				
	2.				
Standard 1 konc.:	1.				
	2.				
Standard 2 konc.:	1.				
	2.				
Standard 3 konc.:	1.				
	2.				
Standard 4 konc.:	1.				
	2.				
Standard 5 konc.:	1.				
	2.				
Standard 6 konc.:	1.				
	2.				
				számítógépes koncentráció, nmol/L	Manuális koncentráció, nmol/L
Kontroll szérum /kit/ konc.:	1.				
	2.				
paciens minta 1.	1.				
	2.				
paciens minta 2.	1.				
	2.				
paciens minta 3.	1.				
	2.				

Név:

Dátum:

VII.8. Dozimetriai mérések

Varga József

A. Feladat

A gyakorlat célja a dózisintenzitás-mérő műszerek megismerése, alapvető mérési módok kipróbálása. A gyakorlat során különböző gyártmányú és célú műszerekkel végeznek méréseket. Mindegyikkel a feladatok (a műszerhez mellékelt használati utasítás segítségével):

- A műszer lehetőségeinek megismerése
- Működés ellenőrzése
- Mérések végzése különböző üzemmódokban
- Jegyzőkönyv készítése (a B pontbeli sorszám + válasz ill. mért érték).

B. Lépések (műszerenként)

1. Jegyezze fel a műszer típusát!
2. Detektor fajtája? (ionizációs kamra, GM-cső)
3. Van beépített sugárforrás?
4. Mérési üzemmódok? (Számlálási sebesség ... egységben; dózisintenzitás ... egységben; kumulatív dózis ... egységben)
5. Egyéb szabályozási lehetőségek? (pl. időálló; korrekció légnedvességre/hőmérsékletre)
6. Leolvasott érték a beépített sugárforrással (ha van)
Háttérérték a beépített sugárforrás méréshatárával
Értelmezze a beépített sugárforrással kapott eredményt! Megfelel-e a vártnak?
7. Környezeti háttér mérése különböző helyeken és irányokból (6-8 mérés).
Értelmezze az eredményt! Magasabb-e a háttér a természetes háttérnél? Elég pontos-e a műszer a háttér méréséhez?
8. Dózisintenzitás a kapott sugárforrástól különböző (3-4) távolságra.
Értelmezze az eredményt! Hogyan csökken az intenzitás a távolsággal?
9. Ha kumulatív dózis mérhető: mozgassa a sugárforrást a műszertől változó távolságra, és mérje az összegzett dózist 1 percig.
Értelmezze az eredményt!
10. Hasonlítsa össze a kapott értékeket a többi műszerrel kapottakkal, és egy mondatban foglalja össze az eredményt.

VIII. Függelék

VIII.1. A leggyakrabban használt radionuklidok bomlási adatai

Béta-sugárzóknál az *átlagos* energiát tüntettük fel. Rövidítések:

- β^- : negatív béta-bomlás (e^-)
 β^+ : pozitív béta-bomlás (e^+)
 X: röntgen-sugárzás
 EC: elektron-befogás
 P: valószínűség (részecske/bomlás)

Nuklid	Felezési idő		Bomlási mód	Energia (keV)	P (%)
H - 3	12.3	év	β^-	5.7	100
C - 11	20.3	min	β^+	980	100
C - 14	5730	év	β^-	49.3	100
N-13	10	min	β^+	a.r.	100
O-15	124	sec	β^+	a.r.	100
F - 18	109	min	β^+	a.r.	194
Na- 22	2.6	év	β^+	a.r.	
				1275	
Na- 24	15	h	β^-	555	100
				1369	100
				2754	100
P-32	14.3	nap	β^-	695	100
S-35	87	nap	β^-	48.8	100
Ca- 45	165	nap	β^-		
Cr- 51	27.7	nap	EC	320	10
Co- 57	270	nap	EC	122	86
				136	10
Co- 58	71.3	nap	EC	811	
				864	
				1674	

Nuklid	Felezési idő		Bomlási mód	Energia (keV)	P (%)
Ga- 67	78.1	h	EC	91.3	3
				93.3	38
				185	24
				209	2
				300	16
				394	4
Se- 75	118.5	nap	EC	97	3
				121	16
				136	54
				265	57
				280	19
			(As- 75)	280	5
				401	12
Rb- 81	4.58	h	EC	446	23
				457	3
				538	2
			β+	a.r.	62
Kr-81m	13.6	sec	IM	190	
Sr-89	50.5	nap	β-	1462	
Mo- 99	66.7	h	> Tc-99m		
Tc- 99m	6.03	h	IM	141	88
In-111	2.81	nap	EC	172	90
				247	94
Sn-113	115	nap	> In-113m		
In-113m	99.4	min	IM	392	62
I -123	13	h	EC	159	84
I -125	60.2	nap	EC	35	7
			X	27.2	39
			X	27.4	76
			X	30.9	21
			X	31.8	4
			γ	35	7
I -129	1.6·10 ⁷	év	β-	40	8

Nuklid	Felezési idő		Bomlási mód	Energia (keV)	P (%)
				30-35	69
I-131	8.06	nap	β-	69	2
			β-	96	7
			β-	192	90
			γ	80	3
			γ	284	6
			γ	364	82
			γ	637	7
Xe-133	5.31	nap	β-	101	98
			γ	81	36
			X	30-36	47
Cs-137	30.2	év	β-	662	85
Sm-153	47	h	β-	710	
Yb-169	32	nap	EC	63.1	45
				110	4
				131	11
				177	17
				198	26
				308	11
Au-198	2.69	nap		412	96
Tl-201	73.1	h	EC	135	2
			γ	167	8
			X	65-82	

VIII.2. Ajánlott irodalom

- [1] Orvosi izotóptechnika (Szerk. Györgyi S., Krasznai I.)
Medicina, Bp., 1985.
- [2] A Nukleáris Medicina tankönyve (Szerk. Szilvási István)
B+V Kiadó, 2002.
- [3] Nukleáris Medicina Tankönyv (Szerk. Varga J.)
<http://www.nmc.dote.hu/nmtk/>
- [4] Jegyzet radiofarmakológiai szakasszisztensek számára. I.-III. kötet
ETI, 1995.
- [5] Juvancz I., Paksy A.: Orvosi biometria
Medicina, Bp., 1982.
- [6] Table of Nuclides
<http://atom.kaeri.re.kr/>