

Application and Research of Bromodeoxyuridine in Biomedical Diagnosis

Jiandong Han, Eerdun, Meiling Wang, Yanqing Du, Fengying Liang, Gegentana*

Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia

Email: *523074081@163.com

Received: Feb. 27th, 2019; accepted: Mar. 13th, 2019; published: Mar. 21st, 2019

Abstract

The nucleoside and deoxynucleoside series of compounds are mainly used in the medical field, and are widely used, and new products are emerging one after another, and the application range is expanding. Nucleoside antiviral drugs are diverse in variety and structure, and are mainly used for anti-herpesvirus, HIV, HBV, and DNA and RNA viruses such as influenza and respiratory viruses for the purpose of destroying viral transcription, interference or termination of viral nucleic acid synthesis. It is currently the most widely used in this area, and new drugs are mainly concentrated on the treatment of the above diseases. As anti-tumor drugs, their main role is to interfere with the DNA synthesis of tumors, or to affect the transcription process of nucleic acids. Compounds that inhibit proteins have been used in many clinical applications, some of which have inhibitory effects on various fungi, and on mammals. There are almost no toxic side effects. As an antidepressant, nucleoside drugs can be used to treat neurological diseases and have a strong antidepressant effect. Some drugs can also be used as sedatives for the treatment of joint diseases, and are also effective for cerebrovascular dysfunction. In other respects, nucleosides and their nucleoside series of compounds, some can be used as edible flavoring agents in colleges and universities; some oligonucleotides can be used not only for gene therapy, but also for case detection, archaeology, and as a component of DNA computers.

Keywords

Nucleosid, Diagnosis, Synthesis

溴脱氧尿苷在生物医学诊断中的应用与研究

韩建冬, 额尔敦, 王美玲, 杜艳青, 梁凤英, 格格塔娜*

内蒙古医科大学, 内蒙古 呼和浩特

*通讯作者。

Email: *523074081@163.com

收稿日期: 2019年2月27日; 录用日期: 2019年3月13日; 发布日期: 2019年3月21日

摘要

核苷与脱氧核苷系列化合物主要用于医学领域, 用途广泛, 而且新产品层出不穷, 应用范围不断扩大。核苷类抗病毒药物品种繁多, 结构多样, 主要以破坏病毒转录、干扰或终止病毒核酸的合成作为目的, 用于抗疱疹病毒, HIV, HBV, 以及流感和呼吸系统病毒等DNA和RNA病毒。目前在这方面应用最多, 而且新出现的药物主要集中于治疗上述疾病。作为抗肿瘤药物, 它们的主要作用是干扰肿瘤DNA的合成, 或者影响核酸的转录过程, 抑制蛋白质的化合物已经有多种临床应用, 其中有部分产品对多种真菌具有抑制作用, 而且对哺乳动物几乎没毒性。作为抗抑郁药物, 核苷类药物可以用于治疗神经系统疾病, 有非常强的抗抑郁作用, 有的药物同时可以用作治疗关节疾病的镇定剂, 对脑血管功能障碍也有效。其他方面, 核苷及其核苷类系列化合物, 有的可以作为高校食用增鲜剂; 一些寡核苷酸不仅可以用于基因疗法, 还可以用作案件侦破, 考古以及作为DNA计算机的元件等。

关键词

核苷, 诊断, 合成

Copyright © 2019 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

溴脱氧尿苷(BrdUrd)是一种掺入 DNA 的胸苷类似物, 可以通过荧光或发色猝灭与 DNA 结合或对 BrdUrd 抗体进行定量分析。自 20 世纪 70 年代以来, 这些技术一直被用作测量分离的染色体和细胞和组织中 DNA 合成的工具。

在 20 世纪 60 年代和 70 年代, 引入了许多细胞化学方法, 试图了解染色体复制时间, 染色体不活动和姐妹染色单体交换。这些技术包括放射自显影, 吉姆萨染色, 奎纳克林荧光。对晚期复制的理解受到放射自显影技术的限制, 该技术是劳动密集型的并且通常是不精确的。随后的研究包括 Dutrillaux 等人对 BrdUrd 对荧光 DNA 染料的猝灭效应。使用 Giemsa 技术显示中度 X 射线剂量后第 1, 第 2 和第 3 分区中人和兔淋巴细胞的相对分布。Chebotarev 和 Selezneva 等人将该技术应用于细胞周期持续时间的快速动力学测定。Botto 等人通过评估第 1 至第 3 细胞分裂中的中期分析, 采用 Hoechst-Giemsa 方法分析人淋巴细胞动力学。Ardito 等人使用姐妹染色单体分化评估了四种猕猴的淋巴细胞中的细胞动力学。然后将荧光猝灭技术应用于 DNA 复制和细胞动力学的流式细胞术研究。Latt, Beck 和 Kubbies 等人[1][2][3][4][5]使用 Hoechst 的 BrdUrd 猝灭来区分掺入 BrdUrd 的细胞。Bohmer 和 Ellwart 等人将 Hoechst 与溴化乙锭结合, 允许同时测量 DNA 含量并猝灭 Ho33258 荧光。Epner 等人也使用 Hoechst/溴化乙锭技术显示 α 和 β 珠蛋白基因的复制发生在 S 期早期。Swartzendruber 等人在 Hoechst-mithramycin 组合中使用增强的光神霉素荧光, 显示诱导分化为浆细胞的鼠骨髓瘤细胞经历单细胞周期, 然后在 G1 中被阻断。

2. 第一代溴脱氧尿苷

目前针对 BrdUrd 产生的抗体提供了检测掺入 DNA 中的 BrdUrd 的免疫化学方法。Gratzner 等人发明了 BrdUrd 和 IdUrd 的抗血清,用于允许荧光检测掺入 BrdUrd 的 S 期细胞。Gratzner 等人描述了一种单克隆抗 BrdUrd,它随后将成为研究 DNA 合成的非常有价值的工具。免疫化学方法沿着两种不同的技术发展:流式细胞术(FCM)荧光方法和显微镜方法,包括图像分析。Gratzner 和 Gratzner 等人将掺入的 BrdUrd 和前向光散射的荧光染色结合起来以获得流式细胞术双变量分布,其用于计算 S phase 细胞的百分比。Dolbear 等人结合抗 BrdUrd-FITC 荧光与测定结合 BrdUrd 和碘化丙啶荧光来量化总细胞 DNA 含量[6] [7] [8] [9]。用 BrdUrd 脉冲标记的样品的顺序分析允许推导细胞周期参数和相持续时间。这成为评估增殖细胞中细胞动力学和标记指数的进一步工作的流式细胞术基础。与此同时发展,Raza 等人开发了在载玻片上的肿瘤组织切片中掺入 BrdUrd 的免疫化学染色方法。这些技术成为肿瘤切片,切片和细胞离心涂片制剂中掺入的 BrdUrd 的大量后续定量的标准方案。

Miller 等人允许对掺入 DNA 的卤代嘧啶类似物进行免疫化学定量。通过用溴尿苷蛋白或碘尿嘧啶蛋白免疫小鼠来产生单克隆抗体。将从免疫动物分离的脾细胞与小鼠骨髓瘤细胞融合,以产生产生抗体的杂交瘤细胞系[10]。最初通过 ELISA 测定筛选这些抗体,然后针对掺入卤化嘧啶类似物的细胞进行测试。目前,至少 20 种单克隆抗 BrdUrd 或抗 IdUrd 抗体是可购买的。大多数抗体属于 IgG1 亚型,并且与 BrdUrd 和 IdUrd 以及可能的 CldUrd 交叉反应。几个例外包括来自 Caltag 的 Br3,由 Vanderlaan 和他的同事描述,其与 BrdUrd 和 CldUrd 反应,但是对于 IdUrd 的反应性低,并且 Bakker 等人描述了来自 SeraLab 的大鼠单克隆。因为对 BrdUrd 和 CldUrd 具有反应性,但对 IdUrd 几乎没有反应性。研究人员将 B-75 抗体染色与 Becton Dickinson B44 抗 BrdUrd 结合,在高盐浓度条件下,它不与 CldUrd 结合,因此允许 CldUrd 和 IdUrd 的特异性染色而没有交叉反应性[11]-[17]。

最近 Jensen 等人证明了通过单克隆抗体 ABDM 和 B-44 将溴尿苷掺入 RNA,但不是通过 IU-4 掺入 RNA。Peters 等人在兔体内抗血清抗 5-氟-2'-脱氧尿苷-5-单-磷酸(FdUMP),可在水溶液中检测 0.1 至 5.0 皮摩尔范围内的 FdUMP,并可识别类似物与靶酶胸苷酸合成酶和叶酸辅助因子结合的三元复合物。固定剂用于免疫组织化学测定掺入的 BrdUrd 的早期技术使用 70%乙醇,冷丙酮或冷甲醇作为固定剂。这些溶剂允许稳定抗原如 BrdUrd 的组织化学染色,但通常导致核,细胞质和膜抗原的免疫化学染色减少。需要同时染色一些其他细胞抗原以及 BrdUrd,需要使用固定剂,以在将 BrdUrd 暴露于抗体所必需的苛刻变性条件下稳定抗原-抗体复合物。Houck 等人在 0°C 下使用 0.5%多聚甲醛 30 分钟,然后在室温下再使用 30 分钟以将结合的德克萨斯红抗 Thy1.2 固定在小鼠胸腺细胞的表面上。相比之下,Lokhorst 等人仅使用冷的 70%乙醇固定细胞离心涂片制剂,然后用 4M HCl 处理 30 分钟,能够获得 BrdUrd 和细胞质免疫球蛋白蛋白质的双荧光免疫染色。部分地,通过上述两个报道获得的差异可以存在于干燥载玻片制剂上的免疫球蛋白蛋白质与流式细胞术分析中悬浮细胞的变性性差异。对于小鼠肠中的隐窝标记,Schutte 等人发现交联剂如福尔马林和戊二醛在固定后产生了隐窝细胞染色强度的急剧增加。他们用胃蛋白酶固定后消化组织,然后进行 DNA 的酸变性。Cottell 等人在盐水中结合甲醛/戊二醛作为小鼠胚胎组织的固定剂。将组织嵌入蜡块可视化是通过抗生物素蛋白-生物素过氧化物酶或免疫金银,其给出最敏感的信号。Hanazono 等[18] [19] [20] [21]人采用固定在福尔马林和高碘酸盐-赖氨酸-多聚甲醛中的组合来固定子宫组织以嵌入聚酯蜡。

3. 第二代溴脱氧尿苷

BrdUrd 的多克隆抗体和单克隆抗体检测都要求使 DNA 变性以使 BrdUrd 可用于抗体结合。在用于流

式细胞术分析的 Gratzner 方法中, 使用 HCl, 其也快速水解 RNA。在室温下使用 HCl, 这是一种较温和的条件, 但是在某些类型的细胞或福尔马林或多聚甲醛固定的组织中不能使 DNA 变性。通过流式细胞术测量的灵敏度取决于信噪比(S/N), 根据使用的固定剂和变性方案, 信噪比可能会有很大差异。Sasaki 等人研究了绿色荧光与 HCl 在 22°C 下长达 1 小时的 S 期, 可达到的最大 S/N 比。Williamson 等人表明, 即使低浓度的 HCl 也可以产生足够的 DNA 变性, 从而可以确定某些组织中的标记指数, 而其他组织则需要更高的浓度。在 50%甲酰胺存在下在 80°C 下细胞的热变性产生了 S/N 比的显著增加, 但 G1 峰的变异系数为 3~5 [22]。

Magaud 等人比较了稀 NaOH, HCl, 在 85°C 下在柠檬酸中的热变性, 和甲酰胺加热在几种组织类型上, 这些组织已被切成低温恒温器切片并用丙酮固定在载玻片上。他们对第二抗原(HL-II, Ki67, CD8, 细胞角蛋白)使用免疫过氧化物酶染色, 然后进行变性程序。他们得出结论, 热甲酰胺方法对 BrdUrd 的形态学保存和免疫荧光染色都给出了优异的结果。通过限制性内切核酸酶处理然后进行核酸外切酶 III 处理, 可以避免热变性或酸水解。然而, 对于高亲和力抗体(IU-4)而言, 该技术似乎比使用低亲和力抗体如 IU-1 或 IU-2 更有效[23] [24] [25]。Dinjens 等人表明, 与抗 BrdUrd 组合的外切核酸酶 III 和 EcoRI 孵育可用于固定在福尔马林, 乙醇, 戊二醛, Carnoy's Bouin's 或 Zamboni's 固定剂中的样本, 并且产生更好的染色, DNA 损失比 HCl 更少。Humbert 等人, 在 EcoRI/ExoIII 组合之前使用 HCl, 能够在细胞上同时获得 PCNA 和 BrdUrd 的荧光染色, 用于共聚焦显微镜检查。Gonchoroff 等人使用 DNase I 来部分消化 DNA, 从而消除了恶劣的变性条件。Toba 等人报道了用表面表型抗原的藻红蛋白偶联抗体, BU-1 FITC-antiBrdUrd (含有核酸酶)和 7-氨基-放线菌素作为 DNA 染色剂对人外周血淋巴细胞进行三重染色的方法。Takagi 等人用 DNase I 处理载玻片处理载玻片, 用 DNase I 处理载玻片, 然后用核酸外切酶 III 处理细胞。Schutte 等人使用温和蛋白酶处理, 然后进行 HCl 处理, 以在福尔马林固定切片中观察 BrdUrd。他们发现在戊二醛固定的组织中需要高浓度的胃蛋白酶。Wilson 等人回顾了这种方法在临床材料中的应用, 特别是对于实体肿瘤, 因为小于 20 mg 的小活检样本足以产生足够的细胞核用于通过 FCM 分析动力学参数。Hayashi 等人表明蛋白酶处理允许在福尔马林中预先固定数周至数月的切片中可视化 BrdUrd。Van Erp 等人的一步中将胃蛋白酶处理和酸水解相结合, 得到良好的双变量分布, 对人类包皮角质形成细胞和人骨髓细胞的细胞损失最小。比较了上述大多数方案用于对脆弱的杂交瘤细胞进行流式细胞术分析。用联合胃蛋白酶 HCl 处理获得了最佳的 BrdUrd/DNA 双变量直方图。

Magaud 等人比较了稀 NaOH, HCl, 在 85°C 下在柠檬酸中的热变性, 和甲酰胺加热在几种组织类型上, 这些组织已被切成低温恒温器切片并用丙酮固定在载玻片上。他们对第二抗原(HL-II, Ki67, CD8, 细胞角蛋白)使用免疫过氧化物酶染色, 然后进行变性程序。他们得出结论, 热/甲酰胺方法对 BrdUrd 的形态学保存和免疫荧光染色都给出了优异的结果。通过限制性内切核酸酶处理然后进行核酸外切酶 III 处理, 可以避免热变性或酸水解。然而, 对于高亲和力抗体(IU-4)而言, 该技术似乎比使用低亲和力抗体如 IU-1 或 IU-2 更有效。Dinjens 等人表明, 与抗 BrdUrd 组合的外切核酸酶 III 和 EcoRI 孵育可用于固定在福尔马林, 乙醇, 戊二醛, Carnoy's Bouin's 等人固定剂中的样本, 并且产生更好的染色, DNA 损失比 HCl 更少。Humbert 等人在 EcoRI/ExoIII 组合之前使用 HCl, 能够在细胞上同时获得 PCNA 和 BrdUrd 的荧光染色, 用于共聚焦显微镜检查。Toba 等人报道了用表面表型抗原的藻红蛋白偶联抗体, BU-1 FITC-antiBrdUrd (含有核酸酶)和 7-氨基-放线菌素作为 DNA 染色剂对人外周血淋巴细胞进行三重染色的方法。Takagi 等人用 DNase I 处理载玻片处理载玻片, 用 DNase I 处理载玻片, 然后用核酸外切酶 III 处理细胞。Schutte 等人使用温和蛋白酶处理, 然后进行 HCl 处理, 以在福尔马林固定切片中观察 BrdUrd。他们发现在戊二醛固定的组织中需要高浓度的胃蛋白酶。Wilson 等人回顾了这种方法在临床材料中的应用, 特别是对于实体肿瘤, 因为小于 20 mg 的小活检样本足以产生足够的细胞核用于通过 FCM 分析动力

学参数。Hayashi 等人表明蛋白酶处理允许在福尔马林中预先固定数周至数月的切片中可视化 BrdUrd。Van Erp 等人的一步中将胃蛋白酶处理和酸水解相结合, 得到良好的双变量分布, 对人类包皮角质形成细胞和人骨髓细胞的细胞损失最小。Migheli 等人比较了来自大鼠脑胚胎的福尔马林和多聚甲醛固定切片上的乙醇钠, 甲酰胺, HCl, 并且发现仅 HCl 有效地检测增殖的脑细胞。Thoolen 等人使用 450 瓦微波在塑料嵌入组织上用 45 秒微波获得了类似的结果, 先前用氯仿处理以溶解塑料, 在 60°C 下用 HCl 洗涤 10 分钟。微波方法似乎是非常规的, 在 345 个染色罐中的载玻片上进行孵育, 染色溶液的温度将达到接近沸腾的温度 Kaufman 和 Robert-Nicoud 等人使用了一种没有 HCl 水解的新技术。他们用 pH8.3 的 Tris 缓冲液中的亚甲基蓝氧化溶液处理乙醇固定的大鼠成肌细胞, 随后用抗 BrdUrd, 抗肌动蛋白或抗 2-巨球蛋白和 Ho33258 染色细胞。在 Darzynkiewicz 及其同事最近的一篇出版物中, Li 等人使用含有 BrdUrd 的 DNA 的选择性光解, 然后用由外源末端脱氧核苷酸转移酶(TdT)催化的生物素-洋地黄毒苷-缀合的脱氧核苷酸标记链断裂。Larsen 等人介绍了几种消除细胞悬浮液组织化学处理离心的简短方案。作为无洗涤技术, 其通过在染色过程的每个阶段添加各种试剂来进行。最近的洗涤技术结合 RNase, 去污剂和 EDTA 或柠檬酸盐裂解细胞以提供细胞核, 然后加入 DNase I 以打开 DNA 或 1M HCl 以使 DNA 部分变性[26]。用 Tris 缓冲液中和 HCl, 并将悬浮液与抗体和碘化丙锭一起孵育。这些无洗涤技术避免了离心, 导致大多数细胞或核聚集。Landberg 等人使用该方法研究了几种淋巴细胞系中的各种核抗原和 DNA 合成。

4. 第三代溴脱氧尿苷

Beisker 等人, 使用先前的组蛋白提取技术, 然后在 100°C 蒸馏水中变性, 发现 FITC-抗 B. BrdUrd 荧光与 BrdUrd 掺入的持续时间成正比。当使用饱和浓度的抗体时和当用添加的胸苷进行 BrdUrd 标记以降低取代的 BrdUrd 的密度时, 超过 10,000 秒。Hoy 等人报道, 在热变性期间, 悬浮液中的细胞密度, 变性液体的 pH, 细胞悬浮液的体积和 DNA 变性的长度是影响化学计量的因素。分析由于 DNA 修复而导入的 BrdUrd 进入 G1 细胞, 检查变性时间, 变性温度和 DNA 修复时间, 以获得化学计量染色。在 90°C 变性 15 分钟的长修复时间(24~48 小时)产生化学计量结果, 即在非计划合成期间的 BrdUrd 掺入与紫外辐射水平或所用化学诱变剂的浓度成一定比例。

5. 展望

核苷系列药物的重要性是毋庸置疑的, 我们要加快核苷及衍生物的开发与生产。由于天然核苷的多样性, 为了防止体内酶对各种特定的核苷酸片段的降解, 需要在核苷或核苷酸的不同部位引入保护基或进行结构修饰; 而且为了治疗不同的疾病或者抵抗与防止病毒与肿瘤细胞的抗药性, 发展特殊结构的核苷类药物, 就必须对核苷碱基核苷键构型等多方面进行改造, 变换, 开发出多种千变万化的适应治疗多种疾病的核苷类药物。为了促使中国核苷类药物及其中间体的快速发展, 就应该主要从核苷碱基及核苷的保护与修饰方面去研究与开发。

参考文献

- [1] Chevalier, M., Morán, P., Ten, J.I., Fernández Soto, J.M., Cepeda, T. and Vañó, E. (2004) Patient Dose in Digital Mammography. *Medical Physics*, **31**, 2471-2479. <https://doi.org/10.1118/1.1784591>
- [2] Chu, R.Y., Parry, C. and Eaton, B.G. (1998) Entrance Skin Exposure in PA Chest Radiography. *Radiologic Technology*, **69**, 251-254.
- [3] Chu, R.Y., Parrym C., Thompson 3rd, W. and Loeffler, C. (1998) Patient Doses in Abdominal Aortogram and Aorta Femoral Runoff Examinations. *Health Physics*, **75**, 487-491. <https://doi.org/10.1097/00004032-199811000-00004>
- [4] Cohnen, M., Kemper, J., Möbes, O., Pawelzik, J. and Mödder, U. (2002) Radiation Dose in Dental Radiology. *Euro-*

- pean Radiology*, **12**, 634-637. <https://doi.org/10.1007/s003300100928>
- [5] Sequist, L.V., Waltman, B.A., Dias-Santagata, D., Digumarthy, S., Turke, A.B., Fidias, P., Bergethon, K., Shaw, A.T., Gettinger, S., Cosper, A.K., Akhavanfard, S., Heist, R.S., Temel, J., Christensen, J.G., Wain, J.C., Lynch, T.J., Verovskiy, K., Mark, E.J., Lanuti, M., Iafrate, A.J., Mino-Kenudson, M. and Engelman, J.A. (2011) Genotypic and Histological Evolution of Lung Cancers Acquiring Resistance to EGFR Inhibitors. *Science Translational Medicine*, **3**, 75ra26. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3002003>
- [6] Cohnen, M., Poll, L.J., Puettmann, C., Ewen, K., Saleh, A. and Mödder, U. (2003) Effective Doses in Standard Protocols for Multi-Slice CT Scanning. *European Radiology*, **13**, 1148-1153.
- [7] Cohnen, M., Vogt, C., Aurich, V., Beck, A., Háussinger, D. and Mödder, U. (2002) Multi-slice CT Colonography in Low-Dose Technique: Preliminary Results. *Fortschr Röntgenstr*, **174**, 835-838. <https://doi.org/10.1055/s-2002-32691>
- [8] Cohnen, M., Wittsack, H.J., Assadi, S., *et al.* (2006) Radiation Exposure of Patients in Comprehensive Computed Tomography of the Head in Acute Stroke. *American Journal of Neuroradiology*, **27**, 1741-1745.
- [9] Compagnone, G., Baleni, M.C., Pagan, L., Calzolaio, F.L., Barozzi, L. and Bergamini, C. (2006) Comparison of Radiation Doses to Patients Undergoing Standard Radiographic Examinations with Conventional Screen-Film Radiography, Computed Radiography and Direct Digital Radiography. *British Institute of Radiology*, **79**, 899-904. <https://doi.org/10.1259/bjr/57138583>
- [10] Compagnone, G., Pagan, L. and Bergamini, C. (2005) Effective Dose Calculations in Conventional Diagnostic X-Ray Examinations for Adult and Paediatric Patients in a Large Italian Hospital. *Radiation Protection Dosimetry*, **114**, 164-167. <https://doi.org/10.1093/rpd/nch508>
- [11] Contento, G., Malisan, M.R., Padovani, R., Maccia, C., Wall, B.F. and Shrimpton, P.C. (1988) A Comparison of Diagnostic Radiology Practice and Patient Exposure in Britain, France and Italy. *British Institute of Radiology*, **61**, 143-152. <https://doi.org/10.1259/0007-1285-61-722-143>
- [12] Conway, B.J., McCrohan, J.L., Antonsen, R.G., Rueter, F.G., Slayton, R.J. and Suleiman, O.H. (1992) Average Radiation Dose in Standard CT Examination of the Head: Results of the 1990 NEXT Survey. *Radiology*, **184**, 135-140. <https://doi.org/10.1148/radiology.184.1.1609069>
- [13] Conway, B.J., Suleiman, O.H., Rueter, F.G., Antonsen, R.G. and Slayton, R.J. (1994) National Survey of Mammographic Facilities in 1985, 1988, and 1992. *Radiology*, **191**, 323-330. <https://doi.org/10.1148/radiology.191.2.8153301>
- [14] Couleden, R.A. and Readman, L.P. (1993) Coronary Angiography: An Analysis of Radiographic Practice in the UK. *British Institute of Radiology*, **66**, 327-331. <https://doi.org/10.1259/0007-1285-66-784-327>
- [15] Crawley, M.T. and Rogers, A.T. (1994) A Comparison of Computed Tomography Practice in 1989 and 1991. *British Institute of Radiology*, **67**, 872-876. <https://doi.org/10.1259/0007-1285-67-801-872>
- [16] Feygelman, V.M., Huda, W. and Peters, K.R. (1992) Effective Dose Equivalents to Patients Undergoing Cerebral Angiography. *American Journal of Neuroradiology*, **13**, 845-849.
- [17] Fransson, S.G. and Persliden, J. (2000) Patient Radiation Exposure during Coronary Angiography and Intervention. *Acta Radiologica*, **41**, 142-144. <https://doi.org/10.1080/028418500127345154>
- [18] Gallagher, D. (1993) Current Practices in Accident and Emergency Skull Radiography. *Radiography Today*, **69**, 21-24.
- [19] Geleijns, J., Broerse, J.J., Chandie Shaw, M.P., *et al.* (1998) A Comparison of Patient Dose for Examinations of the Upper Gastrointestinal Tract at 11 Conventional and Digital X-Ray Units in the Netherlands. *The British Journal of Radiology*, **71**, 745-753. <https://doi.org/10.1259/bjr.71.847.9771385>
- [20] Gennaro, G., Baldelli, P., Taibi, A., Di Maggio, C. and Gambaccini, M. (2004) Patient Dose in Full-Field Digital Mammography: An Italian Survey. *European Radiology*, **14**, 645-652. <https://doi.org/10.1007/s00330-003-2010-9>
- [21] Gonzalez, L., Fernandez, R., Ziraldo, V., Vano, E. and Ortega, R. (2004) Reference Level for Patient Dose in Dental Skull Lateral Telerradiography. *The British Journal of Radiology*, **77**, 735-739. <https://doi.org/10.1259/bjr/72698808>
- [22] Gonzalez, L., Vano, E. and Fernandez, R. (2001) Reference Doses in Dental Radiodiagnostic Facilities. *The British Journal of Radiology*, **74**, 153-156. <https://doi.org/10.1259/bjr.74.878.740153>
- [23] Gonzalez, L., Vano, E. and Ruiz, M.J. (1995) Radiation Doses to Paediatric Patients Undergoing Micturating Cystourethrography Examinations and Potential Reduction by Radiation Protection Optimization. *The British Journal of Radiology*, **68**, 291-295. <https://doi.org/10.1259/0007-1285-68-807-291>
- [24] Gray, J.E., Ragozzino, M.W., Van Lysel, M.S. and Burke, T.M. (1981) Normalized Organ Doses for Various Diagnostic Radiologic Procedures. *American Journal of Roentgenology*, **137**, 463-470. <https://doi.org/10.2214/ajr.137.3.463>
- [25] Guglielmi, G., Gluer, C.C., Majumdar, S., Blun, B.A. and Genant, H.K. (1995) Current Methods and Advances in Bone Densitometry. *European Radiology*, **5**, 129-139. <https://doi.org/10.1007/BF00957107>
- [26] Hart, D., Hagggett, P.J., Boardman, P., Nolan, D.J. and Wall, B.F. (1994) Patient Radiation Doses from Enteroclysis Examinations. *The British Journal of Radiology*, **67**, 997-1000. <https://doi.org/10.1259/0007-1285-67-802-997>

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2326-3490，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：acrvm@hanspub.org