

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta

**Biodozimetrie pro osoby exponované zářením alfa:
závislost na nádorovém onemocnění (exp. práce)**

diplomová práce

Autor práce: Marcela Křížová, Bc.
Studijní program: Ochrana obyvatelstva
Studijní obor: Civilní nouzová připravenost
Vedoucí práce: doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzer, Ph.D.

Datum odevzdání práce: 21. 5. 2012

Abstrakt

V této diplomové práci se zabývám hodnocením vlivu familiárního výskytu nádorového onemocnění na přítomnost a počet mikrojadер v krevních preparátech u konkrétních skupin osob. Použita byla jedna z metod biodozimetrie, test na přítomnost, počet a druh mikrojadер. Samotné dávky a souvislost počtu mikrojadер s dávkou jsem nezjišťovala, ale zabývala jsem se vlivem vedlejšího potenciálně ovlivňujícího faktoru na přítomnost a počet mikrojadер, kterým je familiární výskyt nádoru. Jelikož pod toto téma spadá i velké množství informací o ionizujícím záření, jeho zdrojích, radioaktivitě, radiobiologicky významných veličinách, mechanismech účinků, molekulárních a buněčných změnách a i samotných biodozimetrických metodách, je jim věnována pozornost v teoretické části této diplomové práce.

V praktické části je provedeno hodnocení počtu a druhu mikrojadер u stanovených skupin osob, které jsou vystaveny zejména záření α . Jedná se o zaměstnance Lázní Jáchymov, bývalé horníky z již uzavřených uranových dolů Příbram a současné horníky z uranových dolů GEAM o. z. Dolní Rožínka. Tyto vybrané osoby jsou rozděleny podle svých pracovišť vždy do dvou skupin, tj. skupina osob bez výskytu nádorového onemocnění v rodině a skupina osob, u kterých se v rodině rakovina objevila. U všech těchto osob byly za použití flourecenčního mikroskopu stanoveny počty dvoujaderných buněk bez mikrojadер i s mikrojádry a druhy mikrojadер. Následovalo vyjádření a porovnání procentuálních podílů dvoujaderných buněk s mikrojádry s celkovým počtem všech dvoujaderných buněk u a vyjádření a porovnání podílů mikrojadер bez centromer s počtem mikrojadер obou druhů (s centromerami a bez centromer) u všech osob a skupin. Z výsledků získaných ze statistického hodnocení bylo zjištěno, že rozdíly mezi procentuálními podíly mikrojadер dvou hlavních srovnávaných skupin osob neprokázaly vyšší genomickou nestabilitu (statisticky významný rozdíl) u osob s familiárním výskytem nádorového onemocnění než u osob bez nádorového onemocnění v rodině. Ale na základě porovnání podílů mikrojadер bez centromery byl statisticky významný rozdíl mezi těmito skupinami prokázán.

Abstract

In the thesis I focus on evaluation of the effect of familiar occurrence of cancer on presence and number of micro-nuclei in blood preparations with particular groups of persons. One of the biodosimetry methods, test for presence, number and kind of micro-nuclei, was used. I was not investigating the dosages as such and connection of the number of micro-nuclei with the dose, however, I followed up the effect of potentially influencing side factor on presence and number of micro-nuclei, which is the familiar occurrence of tumour. As a lot of information about ionizing radiation, its sources, radioactivity, radio-biologically important quantities, mechanisms of effects, molecular and cellular changes and biodosimetric methods as such falls under the topic, the theoretical part of diploma project is dedicated to such information.

In the practical part, evaluation of the number and kind of micro-nuclei with set groups of persons is carried out. These groups of persons are particularly exposed to α radiation. They are employees of spa Lázně Jáchymov, former miners from already closed uranium mines in Příbram and current miners from uranium mines GEAM o. z. Dolní Rožínka. These selected persons are divided according to their workplaces into two groups, i.e. a group of persons without cancer occurrence in the family and a group of persons with occurrence of cancer in their families. The numbers of bi-nuclei cells without micro-nuclei and with micro-nuclei and the kinds of micro-nuclei were determined with all these persons using fluorescence microscope. Expression and comparison of percentages of bi-nuclei cells with micro-nuclei to total number of all bi-nuclei followed and then expression and comparison of proportion of micro-nuclei without centromeres to the number of micro-nuclei of both kinds (with centromeres and without centromeres) with all persons and groups were carried out. Based on the results gained from statistical assessment, it was found that differences between percentages of the two main compared groups of persons did not show higher genomic instability (statistically significant difference) in persons with familiar occurrence of cancer than in persons without cancer in the family. But by comparing the shares of micronuclei without centromeres was proved statistically significant difference between these main groups.

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 21. 5. 2012

.....

Poděkování

Ráda bych vyjádřila poděkování vedoucímu práce panu doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzerovi Ph.D. za pomoc při zpracovávání této diplomové práce, za jeho rady, připomínky a zprostředkování informací a údajů podstatných pro tuto práci, které byly pro mne velmi cenné. Dále bych také ráda poděkovala panu Ing. Ladislavu Beránkovi CSc., MBA. a zaměstnancům SÚJCHBO v.v.i za pomoc, ochotu a vstřícnost, kterou projevili.

Obsah

Úvod	8
1. Současný stav	10
1. 1 Ionizující záření	11
1. 1. 1 Základní dělení ionizujícího záření	11
1. 1. 2 Přímé a nepřímé ionizující záření	12
1. 1. 3 Vlnové a korpuskulární záření	12
1. 2 Zdroje ionizujícího záření	12
1. 2. 1 Přírodní zdroje ionizujícího záření	13
1. 2. 2 Umělé zdroje ionizujícího záření	15
1. 3 Radioaktivita	17
1. 3. 1 Záření α a jeho interakce s prostředím	19
1. 3. 2 Záření β a jeho interakce s prostředím	21
1. 3. 3 Záření γ a jeho interakce s prostředím	22
1. 4 Nejvýznamnější radionuklidy mající vliv na ozáření obyvatelstva	24
1. 4. 1 Rizika radonu	26
1. 5 Vybrané veličiny a jednotky dozimetrie a radiační ochrany	27
1. 6 Účinky záření na živý organismus	30
1. 6. 1 Deterministické a stochastické účinky	31
1. 6. 2 Teorie o účincích ionizujícího záření	33
1. 6. 3 Jednotlivé fáze účinku ionizujícího záření	35
1. 6. 4 Změny na molekulární úrovni	37
1. 6. 5 Genové mutace a chromozomové aberce	40
1. 6. 5. 1 Genové mutace	40
1. 6. 5. 2 Chromozomové aberace	41
1. 6. 6 Změny na buněčné a tkáňové úrovni	44
1. 7 Biodozimetrie a její metody	45
1. 7. 1 Cytogenetická analýza lymfocytů periferní krve	46
1. 7. 2 Fluorescenční in situ hybridizace (FISH)	46

1. 7. 3	Urychlená kondenzace chromozómů (PCC)	47
1. 7. 4	Test na přítomnost a počet mikrojadér	47
2.	Cíle práce a hypotéza	49
2. 1	Cíle práce	49
2. 2	Hypotéza	49
3.	Metodika	50
4.	Výsledky	54
4. 1	Údaje z dotazníků dle zkoumaných skupin	54
4. 2	Zjištěné počty mikrojadér a jejich druhů	60
4. 3	Statistické hodnocení parametrů MN% a MN CM-	84
4. 3. 1	Skupina Dolní Rožínka	84
4. 3. 2	Skupina Příbram	88
4. 3. 3	Skupina Lázně Jáchymov	92
4. 3. 4	Všichni pracovníci bez rozdělení dle pracovišť	96
5.	Diskuse	100
6.	Závěr	103
7.	Klíčová slova	105
8.	Seznam použitých zdrojů	106
9.	Přílohy	112

Úvod

Ionizující záření a jaderná energie jsou v současné době celosvětově skloňovaná témata. Od konce 19. století, kdy bylo objeveno rentgenové záření W. C. Röntgenem, radioaktivita uranu H. Becquerelem a radioaktivita radia a polonia M. C. Sklodowskou, až po současnost se odehrál obrovský vývoj a posun celého odvětví. Získané poznatky našly uplatnění v mnoha oborech, především v medicíně a jaderné energetice, ale i v mnoha dalších. Kromě obrovského přínosu objevu ionizujícího záření pro celé lidstvo v sobě zahrnuje i velké riziko v podobě nežádoucích účinků působících na živé organismy respektive na člověka. Těmito účinky ionizujícího záření na živé organismy se zabývá vědní obor radiobiologie. Její poznatky jsou uplatňovány především v medicíně při diagnostice a léčbě onkologických pacientů a v radiační ochraně jak z pohledu ochrany pracovníků vykonávajících povolání spojené se zdroji ionizujícího záření, tak z pohledu ochrany obyvatelstva.

Účinky ionizujícího záření můžeme rozdělit na dva základní typy, jsou jimi deterministické a stochastické účinky. Deterministické jsou podmíněny prahovou dávkou, stochastické nikoliv. Velmi důležitou veličinou pro zjišťování míry ozáření je dávka ionizujícího záření. Možnosti detekování těchto dávek lze v zásadě rozdělit na dva způsoby. Prvním z nich je použití různých zařízení pracujících na fyzikálních a chemických principech, jedná se především o filmové dozimetry, termoluminiscenční detektory, elektronické dozimetry, scintilační detektory, ionizační komory, aj. Druhým způsobem hodnocení míry ozáření je biodozimetrie a lze ji považovat za podobor radiobiologie. Absorbovaná dávka je zjišťována na základě postiradiační odpovědi živého organismu. Chybí-li tedy fyzikální a chemické prostředky pro určení dávky, lze uplatnit různé biodozimetrické metody. Na základě konkrétních biologických ukazatelů lze zpětně stanovit míru poškození. Mezi tyto biologické markery patří chromozomové aberace, mikrojádra, změny v krevním obraze, aj.

V praktické části této diplomové práci jsem použila biodozimetrickou metodu zvanou Test na přítomnost a počet mikrojader. Samotné dávky či závislost počtu mikrojader na dávce jsem nezjišťovala, ale zabývala jsem tím, zda má na přítomnost,

počet a druh mikrojadér vliv familiární výskyt nádorových onemocnění u osob, které pracují v prostředí, v němž jsou vystaveni hustě ionizujícímu záření α pocházejícího z radioaktivní přeměny radonu ^{222}Rn a jeho rozpadových produktů.

1. Současný stav

O ionizujícím záření, jeho zdrojích a účincích na živé organismy bylo až doposud nashromážděno velké množství poznatků. Při zjišťování míry ozáření pak našla své uplatnění biodozimetrie. Ta jako součást radiobiologie v současné době nalézá stále častěji možnosti aplikace v mnoha směrech. Od 60. let 20. století do současnosti se díky možnostem biodozimetrie událo několik důležitých objevů a bylo vyvinuto několik jejích metod. Bylo zjištěno, že míra ozáření přímo souvisí s počtem chromozomálních aberací, které mohou vypovídat o poškození organismu. Výhodou biodozimetrie a jejích metod je možnost určení míry expozice i s několikaletým časovým odstupem od samotného ozáření. Díky této výhodné možnosti zpětného hodnocení míry ozáření doposud proběhlo několik aplikovaných studií zejména na skupinách pracovníků, kteří jsou profesně vystaveni ionizujícímu záření. Na základě těchto studií bylo zjištěno, jak nízké dávky záření mohou způsobit genomickou nestabilitu (chromozomové aberace, mikrojádra).

Tyto ukazatele pak mohou upozornit na možný vznik mutací a závažných nádorových onemocnění. Vliv na výskyt malignit však nemá jenom ionizující záření, existují další faktory, které riziko vzniku nádorů zvyšují. Patří mezi ně např. věk, životní styl (např. kouření, stravování), familiární výskyt nádorů. Zvláště ohroženou skupinou obyvatelstva jsou osoby pracující na pracovištích, kde jsou přítomny zdroje ionizujícího záření.

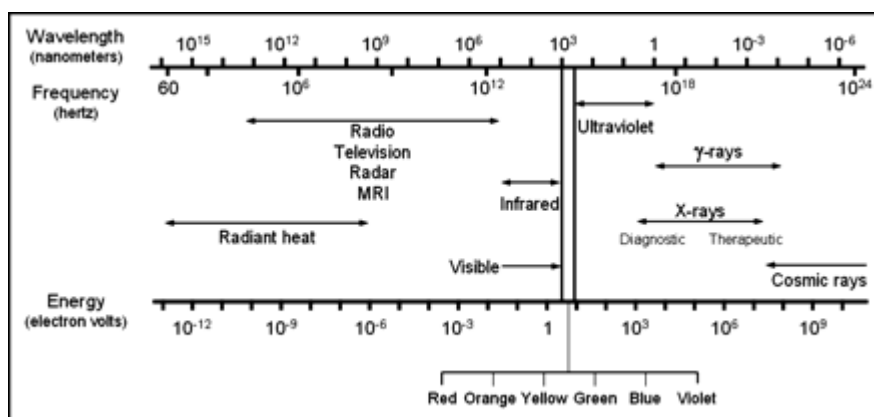
V současné době se biodozimetrie zabývá převážně výzkumem nových možných ukazatelů míry poškození a vývinem nových rychlých a spolehlivých metod, které by bylo možné uplatnit i v nestandardních podmínkách.

1.1 Ionizující záření

Ionizujícím zářením označujeme takové záření, které má schopnost svým působením z elektricky neutrálních atomů vytvářet kladné a záporné ionty, tzn. látku ionizovat. Kvanta záření vyrážejí z elektronového obalu atomu elektrony nebo excitují jádra atomů, ty se pak stávají nestabilními. Návrat atomu do stabilního stavu se uskuteční vyzářením částic nebo fotonů, tzn. ionizujícího záření. Kvanta záření představují jak hmotné částice, tak fotony elektromagnetického záření o energii od 5 keV a větší.

1. 1. 1 Základní dělení ionizujícího záření

Existuje několik druhů ionizujícího záření, jejichž společným znakem je schopnost látku ionizovat. Podle způsobu interakce záření s látkou lze ionizující záření rozdělit do dvou základních skupin, jsou jimi přímo ionizující záření a nepřímo ionizující záření. Jiný způsob dělení zohledňuje, zda se je záření částicového nebo vlnového charakteru. Oblast ionizujícího záření v elektromagnetickém spektru je znázorněna na obrázku 1.



Obr. 1. Elektromagnetické spektrum. ⁽⁴²⁾

1. 1. 2 Přímé a nepřímé ionizující záření

Přímé ionizující záření je takové, jehož kvanta jsou tvořeny částicemi nesoucími elektrický náboj. Díky coulombickým elektrickým silám a dostatečné kinetické energii jsou tyto elektricky nabitě částice schopny přímo vyřadit elektrony z atomů, látka je tedy přímo ionizována. Jedná se především o záření α , β^- , β^+ a protonové záření p^+ .

Nepřímé ionizující záření se skládá z elektricky neutrálních kvant. Elektricky neutrální částice předají svou kinetickou energii nabitým částicím látky, jedná se především o interakci s elektrony nebo jádry atomů. Uvolněné sekundární částice pak látku přímo ionizují. Mezi nepřímé ionizující záření patří rentgenové záření a záření γ , jejichž kvanta jsou složena z fotonů a také neutronové záření n^0 .

1. 1. 3 Vlnové a korpuskulární záření

Korpuskulární záření tvoří proud částic. Podle hmotnosti těchto částic je lze rozdělit do tří skupin, tzn. lehké částice (elektrony e^- , pozitrony e^+), středně těžké částice (mezony) a těžké částice (protony p^+ , neutrony n^0 , α částice). Kvanta částic se pohybují rychlostí menší než je rychlost světla a jsou charakterizována nenulovou klidovou hmotností a při zastavení pohybu nezanikají.

Kvanta vlnového záření na rozdíl od korpuskulárního nemají klidovou hmotnost. Fotony se pohybují rychlostí světla, a pokud zabrzdí, všechnu svou kinetickou energii předají částicím, se kterými interagují, pak následuje jejich zánik. Do skupiny vlnového záření patří rentgenové záření a záření γ .

1. 2 Zdroje ionizujícího záření

Zdroje ionizujícího záření lze podle jejich původu rozdělit do dvou skupin, na přírodní a umělé. Z hlediska nebezpečnosti pro člověka jsou v současné době obávanější

zdroje umělé, ale prokazatelně více na člověka působí ionizující záření pocházející z přírodních zdrojů.

1. 2. 1 Přírodní zdroje ionizujícího záření

Do skupiny přírodních zdrojů ionizujícího záření řadíme kosmické záření a přírodní radionuklidy, které se nacházejí v přírodě.

Kosmické záření je tvořeno kvanty částic vstupujících do atmosféry, která se pohybují vysokou rychlostí. Rozhodující je, do jaké nadmořské výšky pronikne, kam na Zemi dopadne a jakou má energii. Dolní energetickou mezí kosmického záření je 10^9 eV a horní hranicí je energie až 10^{20} eV. Pro srovnání je třeba uvést, že člověk je schopen v urychlovačích vyprodukovat částice o energii v řádu nejvýše 10^{12} eV. Kosmické záření se skládá ze tří složek. Jedná se o galaktické záření, které z 85 až 90 % tvoří protony, 9 až 14 % jsou jádra hélia a zbytek se skládá z elektronů, jiných prvků a elementárních částic. Druhou složkou je sluneční záření, jehož původcem jsou především sluneční erupce. V tomto případě převažují protony. Třetí složkou jsou radiační (van Allenovy) pásy Země. Jsou to oblasti částic zachycené magnetickým polem Země. Vnitřní pás je tvořen především protony s energií v řádech desítek MeV a nachází se ve výšce 3000 km. Vnější pás se stává především z elektronů a je ve výšce 20 000 km. Energie elektronů vnějšího pásu se pohybuje v řádech keV. Pásy končí v úhlu 65 stupňů od rovníku a až nad póly nezasahují. Mezeru mezi oběma pásy udržují nízkofrekvenční radiové vlny.

Poté co do zemské atmosféry vstoupí částice primárního kosmického záření, interagují zde s přítomnými atomy a molekulami a vzniká sekundární kosmické záření. Z velké části se jedná o částice vzniklé interakcemi primárních fotonů, tyto částice jsou schopné proniknout až k zemskému povrchu. Následnými srážkami částic v zemské atmosféře se reakce rozvětluje a na zemský povrch dopadá tzv. sprška sekundárního záření.

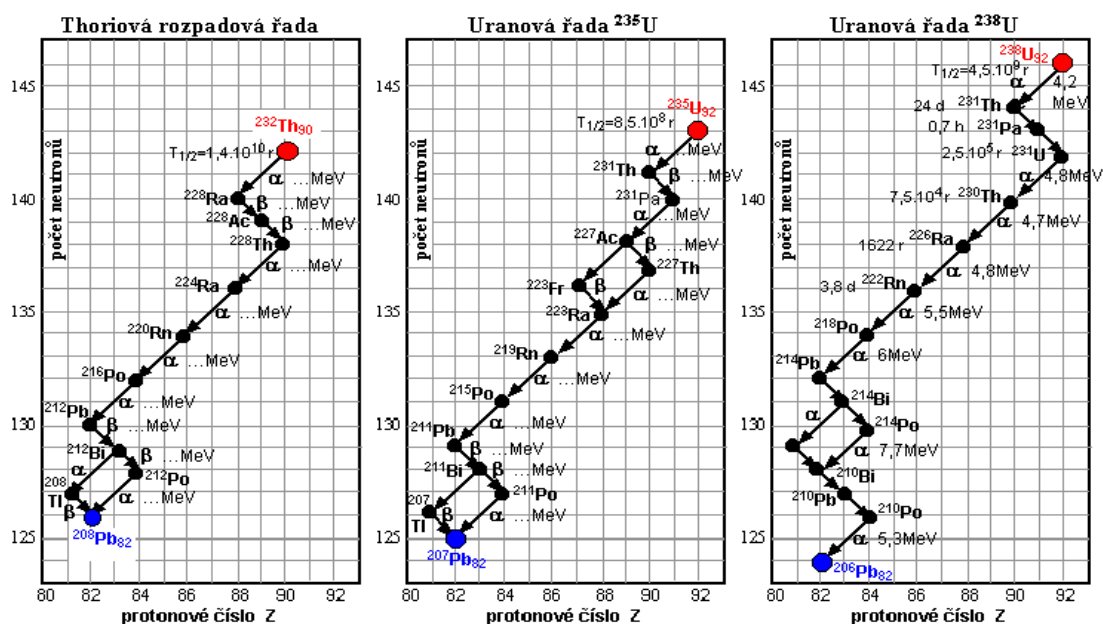
Druhou důležitou součástí přírodních zdrojů ionizujícího záření jsou přírodní radionuklidy. Ty lze podle způsobu vzniku a původu dále rozdělit na kosmogenní

radionuklidy a radionuklidy tzv. “ Zemního ” původu neboli terestrální, tyto pak dále rozlišujeme na primordiální a na radionuklidy vznikající sekundárně z původních radionuklidů utvářejících rozpadové řady.

Kosmogenní radionuklidy vznikají neustále jadernými reakcemi při srážkách sekundárního kosmického záření se stabilními prvky vyskytujícími se převážně v atmosféře, ale také v dalších částech vnějšího obalu Země (hydrosféra, litosféra, biosféra). Existuje skupina radionuklidů, která je významná z hlediska radiálního zatížení pro obyvatelstvo. Do této skupiny patří uhlík ^{14}C , tritium ^3H , beryllium ^7Be , sodík ^{22}Na .

Primordiální radionuklidy jsou významné z hlediska jejich velmi dlouhých poločasů rozpadu (více než 10^8 roků). Vznikaly již v raných stádiích vesmíru a stále se jich na Zemi nachází velké množství. Do této skupiny řadíme draslík ^{40}K , thorium ^{232}Th , rubidium ^{87}Rb a velmi významné izotopy uranu ^{235}U a ^{238}U .

Poslední zmíněnou skupinou z přírodních zdrojů jsou radionuklidy vznikající v přeměnových řádách. Schématicky je znázorňuje následující obrázek 2.



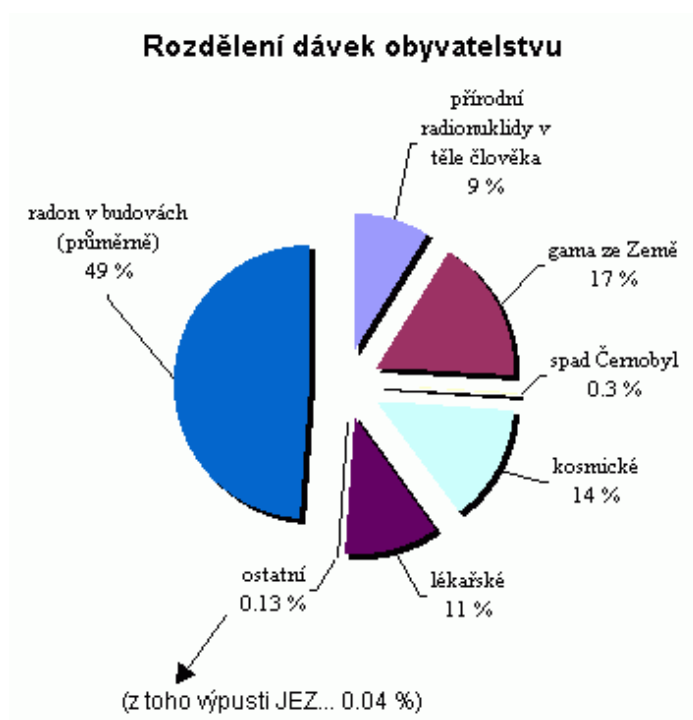
Obr. 2. Tři přírodní rozpadové řady. (28)

Známe čtyři rozpadové řady, thoriová (^{232}Th), aktiniová (^{235}U), uranová (uran-radiová) (^{238}U) a uměle vytvořená řada neptuniová (^{237}Np). Všechny tři přírodní řady

končí stabilními izotopy železa, neptuniová řada vizmutem. Nejvýznamnějším radionuklidům bude věnována v samostatná kapitola.

1. 2. 2 Umělé zdroje ionizujícího záření

Jak již z názvu podkapitoly vyplývá, původcem těchto zdrojů je člověk. Jejich užití zasahuje do mnoha odvětví, nejčastěji se s nimi však můžeme setkat v medicíně a v energetickém průmyslu, široké je i jejich technické využití. Ve zdravotnických zařízeních se lze setkat s umělými zdroji, které jsou uplatňovány jak při diagnostice tak při léčbě. Na ozáření obyvatelstva se podílí 11 %. Procentuální podíly, v jakých je obyvatelstvo ozařováno různými zdroji ionizujícího záření, jsou patrné na obrázku 3.



Obr. 3. Znázornění poměru dávek záření z různých zdrojů pro obyvatelstvo. ⁽³⁵⁾

Mezi nejvýznamnější umělé zdroje patří rentgenky, urychlovače, umělé radionuklidy, jaderné reaktory.

Rentgenka bývá nezbytnou součástí několika typů převážně radiodiagnostických přístrojů, jsou jimi skiagrafické a skiaskopické přístroje, mamografy, zubní rentgeny a výpočetní tomografy. Je to skleněná trubice, ve které je hluboké vakuum, katoda a anoda. Z katody, ve které je žhavené většinou wolframové vlákno, vylétávají elektrony, ty jsou usměřovány do jednoho bodu na anodě. Mezi katodou a anodou je vysoké napětí, které urychluje elektrony. Při dopadu na anodu se jejich kinetická energie z 99 % změní v teplo a jen malá část se změní v energii fotonů rentgenového záření. Energie tohoto elektromagnetického ionizujícího záření se pohybuje v rozmezí desítek až stovek keV.

Urychlovače částic jsou složitá technická zařízení, která jsou schopna působením elektrické energie a magnetického pole dodat částicím vysokou kinetickou energii. Své uplatnění mají v medicíně, průmyslu a výzkumu fyziky elementárních částic. Uměle urychlit lze pouze stabilní elektricky nabitě částice, např. elektrony, pozitrony, protony, těžké ionty. Vlastní urychlení částic zapříčiňuje elektrické pole, magnetické pole dokáže měnit dráhu těchto nabitých částic. Podle způsobu technického provedení a tvaru dráhy rozlišujeme dva typy urychlovačů, kruhové a lineární. Mezi zástupce kruhových urychlovačů patří betatron. Elektrony jsou v něm urychlovány uvnitř prstencové trubice. V minulosti byl používán k radioterapii a je předchůdcem lineárního urychlovače. Dále lze jmenovat cyklotron, v něm jsou urychlovány protony, deuterony nebo těžká jádra po spirálové dráze. Na konci spirály je vložen terčík, do kterého částice narazí a vyvolá jaderné procesy, při kterých vzniknou neutrony o vysokých energiích. Posledním zástupcem je lineární urychlovač. Částice jsou během svého pohybu po přímkové dráze urychlovány působením elektromagnetické vlny. Tyto přístroje jsou zdroje tvrdého brzdného rentgenového záření o energiích 5 – 40 MeV. V současnosti jsou hojně užívány v radioterapii.

Existence štěpné řetězové reakce umožnila využití jaderné energie k přeměně na energii elektrickou v jaderných reaktorech. Tyto jaderné štěpné reakce jsou významným zdrojem záření γ a neutronů. Na světě lze nalézt velké množství typů jaderných reaktorů především v jaderných elektrárnách ale i ve výzkumných ústavech. Odlišují se od sebe druhem paliva, technickým uspořádáním, výkonem, druhem

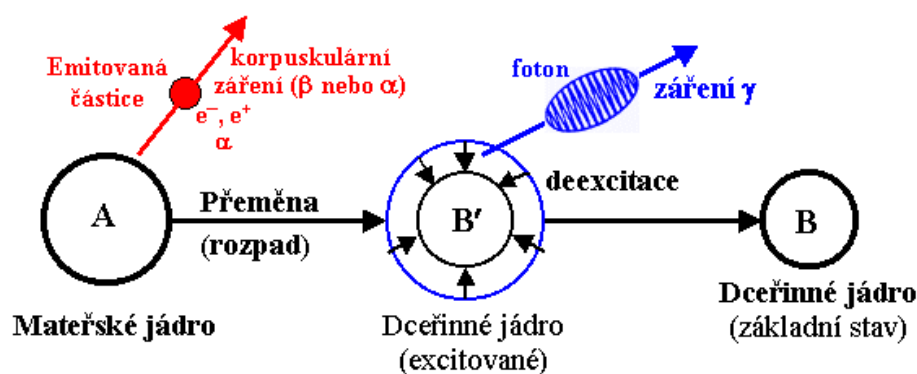
moderátoru i chladiva. Podle použitého moderátoru rozlišujeme reaktory grafitové, lehkovodní a těžkovodní. V České republice jsou v obou jaderných elektrárnách použity lehkovodní tlakové reaktory. Palivem je obohacený uran ve formě oxidu uraničitého UO_2 a chladivem i moderátorem je voda. V reaktoru dochází k řízené štěpné reakci v palivu – jádra izotopu ${}_{92}\text{U}^{235}$ zasažená pomalými neutrony se rozpadají na jádra lehčích prvků (fragmenty) a zároveň se při každé štěpné reakci uvolní dva rychlé neutrony. Tyto rychlé neutrony je nutné zpomalit, tedy zmoderovat na energii 0,025 – 0,5 eV, pak může probíhat řízená štěpná řetězová reakce.

Uměle vyrobené radionuklidy našly své uplatnění v nukleární medicíně. Jsou vyráběny v jaderných reaktorech, cyklotronech a generátorech. Užívány jsou pro diagnostiku i léčbu. Nejčastěji se do těla pacienta aplikují radiofarmaka intravenózně nebo parenterálně. Radiofarmaka jsou požadované biochemické látky značené radionuklidy. Společným znakem radionuklidů je jejich relativně krátký poločas rozpadu. Pro terapii zhoubných i nezhoubných nádorů jsou používány zářiče β , pro léčbu onemocnění štítné žlázy bývá aplikován radiojód ${}^{131}\text{I}$ a pro paliaci metastáz kostí se používají radiofarmaka značené samariem ${}^{153}\text{Sm}$, stronciem ${}^{89}\text{Sr}$. K diagnostickým účelům slouží čisté γ zářiče. V České republice je nejvíce používáno technecium ${}^{99\text{m}}\text{Tc}$, které je vyráběno v ${}^{99}\text{Mo} - {}^{99\text{m}}\text{Tc}$ (molybden – techneciovém) generátoru. Celá řada radionuklidů je vyráběna pro speciální druhy vyšetření, jako jsou SPECT a PET, v cyklotronech a jaderných reaktorech. Ve formě uzavřených zářičů γ se radionuklidy kobalt ${}^{60}\text{Co}$, cesium ${}^{137}\text{Cs}$ a iridium ${}^{92}\text{Ir}$ uplatňují v radioterapii.

1. 3 Radioaktivita

Objev radioaktivity na konci 19. století lze považovat za jeden z nejdůležitějších v historii lidstva. Nelze nejmenovat vědce, které objev a výzkum radioaktivity proslavil. H. Becquerel jako první zpozoroval, že některé nerosty (uranové sloučeniny) emitují neznámé záření, které dokáže pronikat skrz světlotěsné obaly fotografických desek a způsobovat jejich zčernání. Ve zkoumání tohoto jevu se dále zabývala polská vědkyně

M. Sklodovská-Curie, její manžel P. Curie a G. Bémont. V uranové rudě našli další prvky emitující záření, radium a polonium. Od této doby je tento jev pojmenován jako radioaktivita. Název pochází z latiny, *radius* znamená paprsek a *activitas* činnost. Radioaktivitu lze definovat jako proces, při kterém se nestabilní jádro určitého nuklidu samovolně přeměňuje na jádro jiného nuklidu, přičemž vzniká a je emitováno ionizující záření v podobě částic nebo elektromagnetického záření. Nově vzniklá jádra mohou být opět radioaktivní nebo už stabilní. Na stabilitu atomových jader má vliv jejich vazebná energie a poměr a hodnoty neutronových čísel N a protonových čísel Z . Pro většinu stabilních nuklidů platí: N je 1,0 až 1,6 Z . Nestabilní jádro, které se přeměňuje, nazýváme mateřské a vzniká jádro dceřiné. Přeměna jader je statistický jev, který lze stanovit pouze určitou pravděpodobností, s jakou se jádra radionuklidů přemění za jednotku času. Každý radionuklid lze charakterizovat několika parametry: typ přeměny, energie emitované částice či záření a poločas přeměny. Radioaktivní přeměna je vlastně změna počtu neutronů nebo protonů a změna, ve smyslu snížení, vazebné jaderné energie, která je předána druhu záření, jež je emitováno při tomto radioaktivním rozpadu. V přírodě se vyskytuje 340 nuklidů, z toho 270 je stabilních a 70 radioaktivních. Rozlišujeme několik druhů radioaktivního záření, tedy α , β a γ . Na obrázku 4 je schematicky znázorněna radioaktivní přeměna.



Obr. 4. Základní obecné schéma radioaktivní přeměn. ⁽²⁸⁾

Je nutné rovněž uvést nejdůležitější veličiny a jednotky radioaktivity, pomocí nichž ji lze kvantifikovat. Základními charakteristikami každého radionuklidu, kromě typu přeměny a energie, jsou aktivita a poločas přeměny.

Aktivita je definována jako počet radioaktivních přeměn za jednotku času, přičemž jednotkou je jedna přeměna za jednu sekundu. Nazývá se becquerel (Bq). Čím větší je radioaktivita daného radionuklidu, tím vyšší počet jader se za sekundu přemění a intenzita záření je vyšší. V praxi se také používají tzv. měrné aktivity ve vztahu ke konkrétnímu zářiči, např. hmotnostní aktivita a objemová aktivita. Počet nerozpadnutých jader N radionuklidu v čase t udává zákon radioaktivní přeměny:

$$N = N_0 * e^{-\lambda * t}$$

kde N_0 je počet jader v čase $t = 0$ s; e je Eulerovo číslo a λ je přeměnová konstanta.

Za poločas přeměny je označována jako střední doba, za kterou se přemění právě polovina jader atomů ve vzorku. Nelze jej žádnými chemickými ani fyzikálními podmínkami ovlivnit a jeho hodnoty mohou být od několika sekund až po milióny let podle konkrétních radionuklidů. Platí:

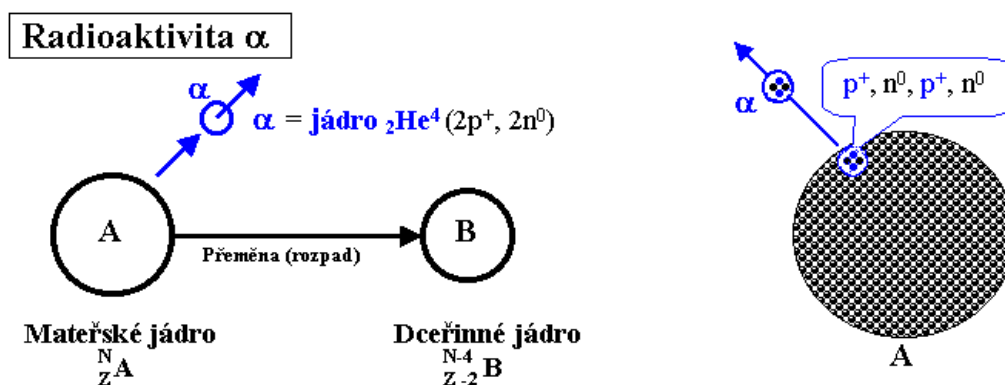
$$T = \frac{\ln 2}{\lambda}$$

Kromě uvedeného fyzikálního poločasu přeměny existuje i biologický poločas, který udává, za jakou dobu organismus vyloučí polovinu přijatého množství radionuklidu. Efektivní poločas je pak součtem fyzikálního a biologického poločasu přeměny a je to tedy doba, za kterou klesne aktivita radionuklidu na polovinu vlivem biologické eliminace i poločasem rozpadu.

1. 3. 1 Záření α a jeho interakce s prostředím

Záření α je proud rychle letících heliových jader ${}^4\text{He}_2$. Je považováno za přímo ionizující korpuskulární záření. Při přeměně alfa vylétávají z mateřského jádra částice α (heliová jádra), které jsou tvořené dvěma protony a dvěma neutrony, následně vznikne jádro nového prvku s nukleonovým číslem $A - 4$ a protonovým číslem $Z - 2$, který je v tabulce periodické soustavy prvků posunut o dvě místa doleva. Jaderné síly mezi

nukleony mají pouze krátký dosah a celková vazebná energie jádra je úměrná nukleonovému číslu A , tj. počtu nukleonů. Jak probíhá radioaktivní přeměna α znázorňuje obrázek 5.



Obr. 5. Schéma radioaktivní přeměny α . ⁽²⁸⁾

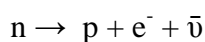
Odpudivé elektrostatické síly mezi protony však nemají omezený dosah a elektrostatická energie odpovídá protonovému číslu Z^2 . Jádra obsahující 210 a více nukleonů jsou tak velká, že jaderné síly držící jádra pohromadě, nestačí korigovat vzájemné odpuzování protonů. Vyzařováním α částic se radionuklid snaží dosáhnout stability zmenšováním jader. Spektrum tohoto druhu záření je čárové.

Energie těchto emitovaných částic, též někdy nazývaných heliony, se podle druhu mateřského radionuklidu pohybuje v rozmezí 2 až 8 MeV. Rychlost, s jakou radioaktivní prvky emitují částice α , se pohybuje v řádech $10^7 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$. Je známa souvislost mezi počáteční rychlostí částice a poločasem rozpadu, čím kratší je poločas rozpadu, tím rychlejší částice jsou mateřským radionuklidem vysílány. Díky vysoké hmotnosti částic záření α a jejich silnému náboji $2p^+$ činí i přes jejich vysokou energii dolet ve tkáni nebo vodě asi do 0,1 mm. Ve vzduchu za normálního tlaku mají částice dolet od 2,6 do 11,5 cm. Záření α lze zachytit listem papíru, jeho ionizační účinky jsou však velmi silné. Pro vytvoření jednoho iontového páru ve vzduchu je zapotřebí energie 32,5 eV, to znamená, že jedna částice je schopná během svého letu až do úplného zabrzdění podél trajektorie vytvořit milion iontů. Zhruba polovina energetických ztrát ionizující částice α způsobí ionizaci a druhá polovina připadá na excitaci atomů prostředí.

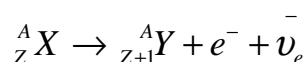
Nejsilnější ionizující účinky mají částice α na konci své dráhy doletu. Pro člověka je α zářič nebezpečný v případě ingesce či inhalace. Právě kvůli svému krátkému doletu v řádu mikrometrů, bude působit jen uvnitř organismu. Lze tedy říci, že při vnitřním ozáření je alfa záření nejrizikovějším typem záření s nejvyšším destrukčním potenciálem. Při zevním ozáření dopadají částice α na kůži a jsou absorbovány již v horních vrstvách epidermis. Nejvýznamnějšími α zářiči jsou izotopy uranu, thoria, radium a radon.

1. 3. 2 Záření β a jeho interakce s prostředím

Bylo zjištěno, že záření β existuje dvojího druhu: β^- a β^+ . Je přímo ionizující a částicového charakteru. Záření β^- vzniká při přeměně mateřského jádra s nadbytkem neutronů a je emitován elektron. Je známo, že elektrony se v jádře nevyskytují. Tento elektron vzniká tak, že neutron se přemění na proton, elektron a antineutrino. Nově vzniklý proton zůstává v jádře, zatímco elektron s antineutrinem z jádra vyletí. Díky této přeměně se počet protonů v jádře zvýšil o jeden a z toho vyplývá, že nově vzniklý dceřiný radionuklid je posunut v tabulce periodické soustavy prvků o jedno místo doprava, hmotnostní (nukleonové) číslo A se nemění. Energie, která byla uvolněna, je náhodně rozdělena mezi elektron a antineutrino. Obecný předpis má následující podobu:



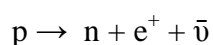
nebo



Při interakci záření β^- elektron prolétávající hmotným prostředím atomy přímo ionizuje nebo excituje. Elektron je mnohem lehčí než částice α a proto se i při stejné energii pohybují mnohem rychleji a tím pádem i méně ionizují. Na základě elektrostatických sil se elektron od atomů prostředí, které ionizuje či excituje, odráží, prudce mění směr a jeho dráha není přímočará. Dosah elektronu závisí na jeho energii a hustotě prostředí, kterým prochází. Střední dosah v tkáních se pohybuje v rozmezí od 1 do 4 mm. Ve vzduch dosáhne záření β^- o energii 2 MeV do vzdálenosti asi 8 metrů, ve vodě 1 cm a v hliníku 4 mm. Kromě ionizace a excitace atomů prostředí při průchodu

elektronů se uplatňuje i brzdné záření. Jedná se o elektromagnetické záření, které vzniká, zabrzdí-li elektron v elektrostatickém poli jádra atomu v důsledku působení coulombovských sil. Jakmile elektron zabrzdí, je emitováno fotonové záření, které pokračuje v původní dráze letu elektronu. Intenzita respektive počet fotonů tohoto nově vzniklého elektromagnetického vlnění závisí na energii elektronů a protonovém čísle prostředí. Brzdné záření se uplatňuje především u elektronů s vyššími energiemi a má spojité spektrum. Čím vyšší energii elektrony mají, tím větší podíl na ztrátě jejich energie má brzdné záření. Zbytek připadá na ionizaci případně excitaci atomů prostředí. Mezi zářiče β^- řadíme např. stroncium ^{90}Sr a tritium ^3H .

Některé uměle vyrobené radionuklidy důsledkem přeměny β^+ z jádra atomu emitují kladně nabitě pozitrony (antičástice k elektronu). Proton v jádře se přemění na neutron, pozitron e^+ a neutrino. V důsledku této přeměny z mateřského radionuklidu vznikne dceřiný radionuklid s protonovým číslem o jedničku menší a v periodické soustavě se posune o jedno místo doleva. Spektrum tohoto záření je spojité. Přeměně β^+ podléhá např. uhlík ^{11}C , sodík ^{22}Na nebo fosfor ^{30}P . Obecný předpis je následující:



Pozitron vykonává velmi podobný pohyb jako elektron. Poté co ztratí svou energii, tak zabrzdí a setká-li se s elektronem, dojde k anihilaci. Obě částice zanikají a vzniká elektromagnetické záření γ v podobě dvou fotonů o energii 511 keV, které z bodu anihilace vylétávají v opačném směru.

1. 3. 3 Záření γ a jeho interakce s prostředím

Tento druhu nepřímo ionizujícího záření téměř vždy vzniká spolu se zářením α nebo β . V přírodě se čistý gama zářič nevyskytuje. Při přeměnách α a β často vzniká dceřiné jádro v energeticky vzbuzeném stavu, které následně přechází do základního stavu. Tento proces deexcitace se uskuteční vyzářením přebytečné energie ve formě elektromagnetického záření γ . Vlnová délka tohoto záření se pohybuje v řádech od 10^{-11} do 10^{-13} metrů a značí velkou energii a vysokou pronikavost tohoto druhu záření. Jelikož fotony nemají žádný náboj, neodchylují se v elektrickém ani magnetickém poli.

Při tomto druhu přeměny se nemění ani protonové ani nukleonové číslo. Kvůli vysoké pronikavosti γ záření je nezbytné se před ním chránit stíněním, intenzitu gama záření o energii 500 keV sníží na polovinu přibližně 30 mm betonu nebo 4,2 mm olova. Mezi nejznámější gama zářiče řadíme kobalt ^{60}Co , cesium ^{137}Cs a iridium ^{192}Ir .

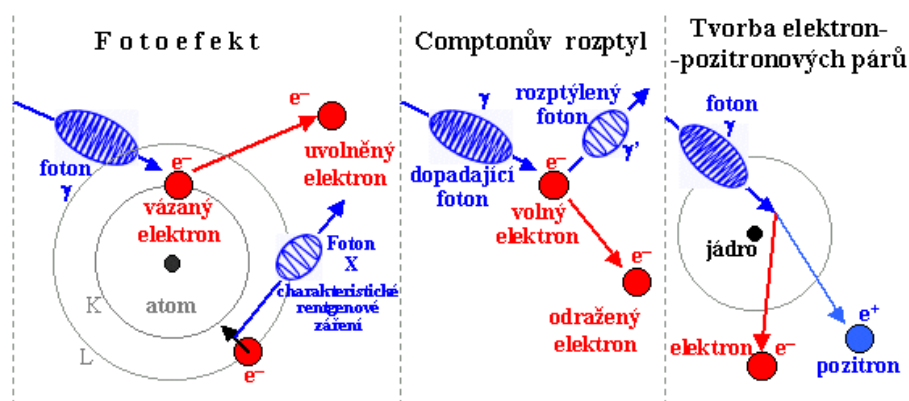
Aby mohla nastat ionizace, musí elektricky neutrální fotony interagovat s prostředím za vzniku sekundárních přímo ionizujících částic. energii ztrácí záření gama při průchodu hmotou několika způsoby, jsou jimi fotoefekt (= fotoelektrický jev), Comptonův rozptyl nebo tvorba elektron – pozitronového páru. To, jakým z těchto způsobů bude foton interagovat s prostředím, záleží na jeho energii a na objemové hmotnosti (hustotě) prostředí. U fotonů s nejnižšími energiemi při průchodu látkou dochází především k fotoefektu, při vyšších energiích dochází k Comptonovu rozptylu a při energiích nad 1 MeV začíná převládat tvorba elektron – pozitronových párů.

K fotoefektu dochází při energiích γ záření pod 50 keV. Foton γ interaguje s vázaným elektronem na orbitu atomu a předá mu všechnu svou energii, díky které může opustit atom. Tento jev se nazývá fotoemise. Kinetická energie elektronu je pak snížena o jeho vazebnou energii na vnitřní slupce. Uvolněné místo vnitřní slupky pak obsadí elektron z vyšší slupky a jeho přebytečná energie je vyzářena ve formě charakteristického rentgenového záření.

Comptonův rozptyl převládá u energií fotonů v rozmezí 100 keV až 10 MeV v látkách s nízkým protonovým číslem, kterou prochází. Na rozdíl od fotoefektu interaguje foton s valenčním nebo slabě vázaným elektronem, který není tak silně vázán jako elektrony na vnitřních slupkách. Primární foton předá elektronu pouze část své energie a sám pak pokračuje v letu, ale v rozdílném směru a s nižší energií. Odražený elektron se pohybuje s energií rovnou rozdílu energií primárního a rozptýleného fotonu a dále interaguje s prostředím za vzniku ionizace a excitace. Rozptýlený foton může, v závislosti na své energii, dále interagovat s prostředím fotoefektem nebo znovu Comptonovým jevem.

Posledním zmíněným typem interakce záření γ je tvorba elektron – pozitronového páru. Nastává, pokud foton má energii větší než 1,022 MeV a proletí v dosahu coulombovských sil kolem jádra. Energie fotonu je pak využita na tvorbu páru elektron

– pozitron. Tyto nabité částice pak mohou dále ionizovat a excitovat atomy prostředí. Pozitron pak na konci své dráhy anihiluje s některým z dalších elektronů za vzniku dvou γ fotonů o energii 511 keV. Možné interakce záření γ popisuje obrázek 6.



Obr. 6. Typy interakcí záření γ . ⁽²⁸⁾

1. 4 Nejvýznamnější radionuklidy mající vliv na ozáření obyvatelstva

Z hlediska radiační zátěže na obyvatelstvo jsou některé radionuklidy velmi důležité. Nejdůležitějším z nich bude v této kapitole věnována pozornost. Prvním je uhlík ^{14}C . Vzniká interakcí neutronů, vyzařených kosmickým zářením z jader atomů dusíku ^{14}N , nacházejícím se ve vyšších vrstvách atmosféry. Uhlík ^{14}C je čistý β^- zářič, o energii 158 keV s poločasem rozpadu 5 730 roků. V živých organismech představuje 1 g ^{14}C aktivitu 0,25 Bq. V lidském těle se celková aktivita uhlíku ^{14}C pohybuje kolem 5 kBq. Dalším radionuklidem je tritium ^3H . Je to β^- zářič s poločasem rozpadu 12,3 roků a energií 18 keV. Vzniká interakcí neutronů kosmického záření a jader kyslíku a dusíku v atmosféře. Naprostá většina tritia je zabudována do přírodního koloběhu vody, takže se zabudovává i do živých organismů včetně člověka a může se tak podílet na vnitřním i vnějším ozáření. Nejčastějším způsobem, jakým se tyto jmenované kosmogenní radionuklidy dostávají do organismu, je ingestí neboli požitím látek jimi kontaminovaných.

Následující radionuklidy patří do skupiny terestrálních a velmi významné jsou z hlediska vnitřního ozáření. Všechny přírodní formy draslíku obsahují i draslík ^{40}K . Jeden ze sta draslíkových atomů je atom ^{40}K , ve svém jádře má 19 protonů a 21 neutronů. Jedná se o beta zářič s poločasem rozpadu 1 300 000 000 let. Je obsažen v lidském těle, kde slouží hlavně jako mediátor signálů buněk. V průměrném lidském těle je běžně obsaženo 13 mg draslíku ^{40}K o aktivitě v řádu stovek Bq/kg. Hodnota vnitřního ozáření lidského těla díky draslíku ^{40}K může ročně činit 1 mSv. Dalšími významnými radionuklidy obsaženými v zemské kůře jsou thorium ^{232}Th a izotopy uranu ^{235}U a ^{238}U . Ve všech třech případech jde o alfa zářiče. V přírodě je uran obsažen v různých horninách pouze v koncentracích od 0,04 do 3 %. Jedná se o směs izotopů v poměru ^{238}U 99,28% , ^{235}U 0,71% a ^{234}U 0,0058%. Poločasy rozpadu jsou u izotopu ^{235}U je $7,1 \cdot 10^8$ roků a u izotopu ^{238}U je $4,51 \cdot 10^9$ roků. Thorium má poločas přeměny $1,39 \cdot 10^{10}$ roků. Průměrné hmotnostní aktivity těchto radionuklidů se pohybují v řádu desítek až stovek Bq/kg. Tyto terestrální radionuklidy jsou počátečními prvky přeměnových řad popisujících postupný radioaktivní rozpad. Vznikají rozpadové produkty, z nichž některé se velkou měrou podílí na míře ozáření obyvatelstva. Do životního prostředí se dostávají působením různých geochemických a fyzikálních procesů. Jsou obsaženy v půdě, ve vodě, ve vzduchu ale i v potravním řetězci. Všeobecně se dá říci, že nejčastějším způsobem příjmu radionuklidu, s výjimkou radonu, je ingesce. V České republice je ve srovnání s ostatními zeměmi hodnota ingesce vyšší právě díky vyššímu obsahu přírodních radionuklidů. V závislosti na množství a druhu požitého radionuklidu může efektivní dávka činit 120 μSv za rok. Z hlediska vnějšího ozáření je pro člověka nejnebezpečnější záření γ . Jeho zdroje jsou obsaženy v půdách a horninách, jde především o radium ^{226}Ra (uranová rozpadová řada ^{238}U), draslík ^{40}K , thorium ^{232}Th ale i další.

Kromě ingesce, je dalším důležitým způsobem vstupu radionuklidu do těla inhalace. V případě vdechování alfa zářičů dochází k vnitřnímu ozáření a největším podíl (50%) na něj mají izotopy radonu a jejich rozpadové produkty.

Radon je přírodní, bezbarvý a inertní plyn uvolňovaný z hornin obsahujících uran. Po uvolnění se stává součástí vzduchu pórů zemin a ze zemského povrchu přechází do

atmosféry, do budov a obsažen je i ve vodě, zemním plynu a stavebních materiálech. Množství radonu se většinou udává v jednotkách Bq/m^3 . V České republice je objemová aktivita radonu ve venkovní atmosféře asi 5 Bq/m^3 , v budovách průměrně 118 Bq/m^3 . Průměrná efektivní dávka je v ČR odhadována na 2 mSv za rok. Vyskytuje se v podobě tří nestabilních izotopů, podle toho z jaké rozpadové řady pochází. Jedná se o radon ^{222}Rn z uran-radiové řady, thoron ^{220}Rn s poločasem rozpadu 55,6 sekund z thoriové řady a aktinon ^{219}Rn s poločasem rozpadu 3,92 sekund z aktiniové řady. Nejrozšířenějším z nich (95%) je radon ^{222}Rn s poločasem rozpadu 3,8 dní a vzniká přeměnou radia ^{226}Ra s poločasem rozpadu 1620 roků. Při přeměně radia ^{226}Ra je emitována α částice o energii 5,49 MeV a opačným směrem atom radonu ^{222}Rn o energii 0,1 MeV.

1. 4. 1 Rizika radonu

Ve skutečnosti největší hrozbou při vdechování není přímo radon, protože je opět vydechnut. Větší nebezpečí představují jeho rozpadové produkty. Jedná se totiž o kovy (^{218}Po , ^{214}Pb , ^{214}Bi , ^{214}Po , ^{210}Pb), které se zachycují na povrchu prachových částic ve vzduchu. Ty se po vdechnutí usazují v dýchacích cestách i v plicích a způsobují vnitřní ozáření organismu. Vdechnutý aerosol obsahující tyto izotopy se v plicích může setrvat až půl hodiny, což je postačující interval na to, aby se radionuklidy rozpadly. Přitom emitují vysoce radiobiologicky účinné alfa částice, a jelikož se tak děje v dostatečné blízkosti senzitivních plicních buněk, může dojít k poškození těchto buněk respektive jejich DNA. Radon je od roku 1988 klasifikován jako humánní karcinogen rakoviny plic a po kouření je podle Světové zdravotnické organizace (WHO) α záření radonu druhou nejčastější příčinou vzniku karcinomu plic. Proto zhoubné plicní novotvary indukované ionizujícím zářením postihují zejména muže pracující v uranových dolech.

1. 5 Vybrané veličiny a jednotky dozimetrie a radiační ochrany

Stejně jako v jiných podoborech fyziky lze i v oblasti ionizujícího záření kvantifikovat prostřednictvím veličin a jednotek. Obecně jsou tyto veličiny členěny do dvou skupin, jsou jimi veličiny ryze fyzikální pro dozimetrii a veličiny radiační ochrany. S ohledem na téma této diplomové práce budou níže uvedeny pouze vybrané veličiny převážně z oblasti radiační ochrany.

Absorbovaná dávka: je definována jako podíl střední sdělené energie $d\varepsilon$ a hmotnosti objemového elementu dm v daném bodě, kterému byla energie předána.

$$D = \frac{d\varepsilon}{dm}$$

Jednotkou je 1 Gy (gray), ($= 1 \text{ J.kg}^{-1}$).

Dávkový příkon: je definován jako dávka dD předaná látce za čas dt .

$$D = \frac{dD}{dt}$$

Jednotkou je Gy.s^{-1} nebo také Gy.h^{-1} .

Lineární přenos energie (LET): popisuje míru ztráty energie primárního záření podél dráhy částice v prostředí. Je definována jako střední energie prolétající částice, předaná prostředí na jednotkové dráze.

$$L = \frac{dE}{dl}$$

Jednotkou je J.m^{-1} , v praxi se také používá jednotka $\text{keV.}\mu\text{m}^{-1}$ ($1 \text{ keV.}\mu\text{m}^{-1} = 1,602 \cdot 10^{-10} \text{ J.m}^{-1}$).

Čím vyšším lineárním přenosem energie se částice vyznačují, tím více poškozují tkáň a tím pádem představují i vyšší riziko. Vysoký LET mají těžké částice hustě ionizujícího záření (α částice, protony o nižších energiích), nižším LET se vyznačují γ záření, elektrony a rentgenové záření.

Relativní biologická účinnost: je poměr dávek (v Gy) dvou druhů ionizujícího záření, které vyvolají stejné biologické účinky. Za referenční záření se považuje rentgenové záření o energii 200 až 250 keV nebo standardní záření γ (^{60}Co).

$$RB\dot{U} = D_{standard} / D_{test}$$

Je-li RB \dot{U} větší než 1, k vyvolání stejného účinku záření stačí dávka menší, tzn. je záření účinnější.

Ekvivalentní dávka: je to absorbovaná dávka zohledňující radiační účinnost daného typu záření pomocí tzv. radiačního váhového faktoru. Je dána součinem střední absorbované dávky $D_{T,R}$ ve tkáni či orgánu, způsobená zářením daného typu R a radiačního váhového faktoru w_R .

$$H_T = \sum_R w_R D_{T,R}$$

Jednotkou je 1 Sv (sievert) ($=1 \text{ J.kg}^{-1}$).

Tab. 1. Radiační váhové faktory w_R podle ICRP 103 ⁽³⁶⁾

fotony	1
elektrony	1
α částice	20

Efektivní dávka: je dána součtem ekvivalentních v jednotlivých tkáních či orgánech, vážených tkáňovým váhovým faktorem w_T .

$$E = \sum_T w_T H_T$$

Jednotkou je 1 Sv ($=1 \text{ J.kg}^{-1}$).

Tkáňový váhový faktor w_T udává, jak je daný orgán či tkáň citlivá k radiačnímu poškození z pohledu pravděpodobnosti vzniku bezprahových stochastických účinků.

Tab. 2. Tkáňové váhové faktory w_T podle ICRP 103 ⁽³⁶⁾

gonády	0,20
červená kostní dřev	0,12
tlusté střevo	0,12
plíce	0,12
žaludek	0,12
močový měchýř	0,05
mléčná žláza	0,05
játra	0,05
jícen	0,05
štítná žláza	0,05
kůže	0,01
povrch kostí	0,01
ostatní orgány a tkáň	0,05

Doposud popisované veličiny se týkaly zevního ozáření, ty však kvantifikují ozáření pouze za dobu, po kterou je lidský organismus vystaven ionizujícímu záření zvenčí. Pokud je radionuklid přijat do těla inhalací či ingestí, je organismus ozařován od momentu příjmu. Ozáření se mění spolu s pohybem radionuklidu v těle, podle toho, zda je vylučován nebo inkorporován a také podle jeho úbytku na základě poločasu přeměny. Tyto časové závislosti berou v potaz veličiny popisující vnitřní ozáření, vybrané jsou uvedeny níže.

Příjem radionuklidu: je aktivita přijatá lidským organismem inhalací nebo ingestí. Vypočítá se podílem aktivity A naměřené v těle, orgánech či exkrettech a exkretční nebo retenční funkce v čase $m(t)$.

$$I = \frac{A}{m(t)}$$

Jednotou je 1 becquerel (1 Bq).

Úvazek ekvivalentní dávky: je časový integrál příkonu ekvivalentní dávky H_T za dobu τ v dané tkáni či orgánu od příjmu radionuklidu. τ je doba, přes kterou se určuje úvazek ekvivalentní dávky a konvenčně, pokud není stanoveno jinak, se stanovuje pro dospělé 50 let a pro děti 70 let.

$$H_T(\tau) = \int_{t_0}^{t_0+\tau} H_t(t) dt$$

Jednotkou je 1 sievert (1Sv).

Úvazek efektivní dávky: dostaneme, vynásobíme-li odpovídající tkáňové váhové faktory w_T sumované přes všechny tkáně a orgány s úvazkem ekvivalentní dávky $H_T(\tau)$.

$$E(\tau) = \sum_T w_T H_T(\tau)$$

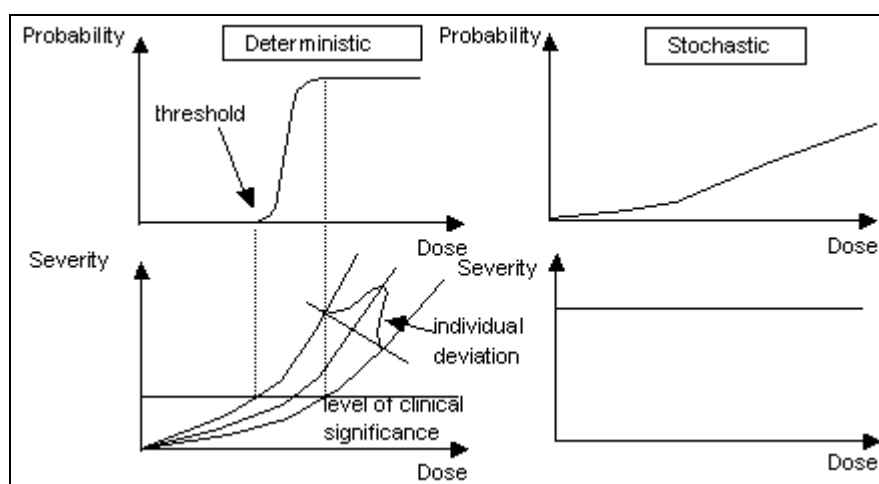
Jednotkou je 1 sievert (1Sv).

1. 6 Účinky záření na živý organismus

Vliv ionizujícího záření a jeho účinky na živé organismy byly zkoumány od doby, kdy bylo na konci 19. století objeveno rentgenové záření a radioaktivita. Poznatků bylo získáno velké množství, ale stále je mnoho neprobádaného, zejména v onkologickém oboru. Existuje však několik významných faktorů ovlivňující biologické účinky ionizujícího záření. Vliv na ně má zejména relativní biologická účinnost záření, absorbovaná dávka, koncentrace kyslíku v organismu, fáze buněčného cyklu, ve které se buňky tkání nachází v momentě ozáření, odlišná radiosenzitivita tkání a orgánů, pohlaví jedince (ženy jsou odolnější), celkový stav organismu a také věk.

1. 6. 1 Deterministické a stochastické účinky

Základními typy účinků ionizujícího záření na člověka jsou deterministické a stochastické účinky. Projeví-li se účinky na ozářené osobě, jedná se o somatické účinky. Projeví-li se účinky až na potomstvu, jde o genetické účinky. V obou těchto případech se ale v zásadě může jednat jak o deterministické tak stochastické účinky. Z hlediska radiační ochrany v souvislosti s jejími principy je nutné deterministické účinky zcela eliminovat a pravděpodobnost vzniku stochastických účinků snížit na nejnižší možnou míru. Rozdíl mezi deterministickými a stochastickými je patrný z obrázku 7.



Obr. 7. Vztah účinku a dávky pro deterministické a stochastické účinky. ⁽⁴³⁾

V případě **deterministických účinků** dochází k zániku velkého počtu buněk ve tkáních. Deterministické účinky, přesněji jejich konkrétní klinické projevy nastávají, je-li překročena prahová dávka, přičemž s rostoucími dávkami stoupá i závažnost poškození. Míra postižení organismu se odvíjí od velikosti absorbované dávky, dávkového příkonu, citlivosti tkání a charakteru záření. U různých tkání jsou rozlišovány i různé prahové dávky a je-li dávka malá, tedy podprahová pro danou tkáň, k manifestaci poškození nedochází. Znamená to tedy, že k tomu aby nastal deterministický efekt, musí být překročen dávkový práh, tím pádem bude usmrceno velké množství buněk určité tkáně, anebo je alespoň změněna funkce těchto buněk.

Není-li poškození smrtelné, jsou životaschopné kmenové buňky schopny zajistit repulaci poškozené tkáně. Mezi klinické projevy těchto účinků patří především akutní nemoc z ozáření (prahová dávka nad 0,7 až 1 Gy), radiační dermatitida (nad 3 – 4 Gy), zákal oční čočky (katarakta), (nad 1,5 až 2 Gy), poškození embrya či plodu in utero (od 100 mGy) a pokles fertility (u žen nad 2 Gy a u mužů nad 0,5 Gy). Účinky vznikají krátce po ozáření v průběhu několika hodin, dní, případně až týdnů, s výjimkou katarakty, u níž může být doba latence delší než jeden rok.

Stochastické účinky nejsou na rozdíl od deterministických vymezovány konkrétními hodnotami prahových dávek, ale vyskytují se pouze s určitou pravděpodobností, která ale závisí na míře ozáření. Čím vyšší je míra ozáření (dávka), tím vyšší je pravděpodobnost vzniku stochastických účinků. Vztah účinku a dávky je bezprahový. Stochastické účinky mohou být důsledkem změny již jedné buňky nebo několika buněk, to znamená, že i jediná ionizace může způsobit poškození DNA a následnou změnu cytogenetické informace. Jedná se o změny typu mutace nebo maligní transformace. Z toho vyplývá, že lze stochastické účinky rozdělit do dvou kategorií, jimiž jsou nádory indukované zářením a genetické změny (mutace). Mutaci lze definovat jako stabilní změnu struktury DNA. Při postižení zárodečných buněk se přenáší na potomstvo, poškození somatických buněk může vyústit v genezi nádorů. Nádorové onemocnění jsou pak charakteristická neřízeným růstem buněk zapříčiněným poruchou kontrolních mechanismů a změnou diferenciací kmenových buněk.

Frekvence stochastických účinků se s dávkou zvyšuje, ale jejich závažnost ne, tzn., že stupeň malignity nádoru vzniklého působením ionizujícího záření nezávisí na dávce. Stochastické účinky se vyznačují dlouhou dobou latence, genetické změny se mohou projevit na dalších generacích, solidní nádory se mohou vyskytnout 5 – 40 let od ozáření a např. leukemie za 2 – 20 let po expozici. Poměr mezi všemi nádorovými onemocněními vyvolanými zářením a závažnými dědičnými následky je 10 : 1. Z hlediska vnímavosti tkání ke vzniku nádorového bujení (vyvolání cytogenetického efektu) jsou za nejvnímavější považovány kostní dřeň, plíce a tlusté střevo. Stochastický charakter spočívá v tom, že je možné předpovědět pouze nárůst výskytu maligních projevů v ozářené populaci, ale nikoliv u konkrétní osoby. Kvantitativními ukazateli

rizika výskytu nádorů v důsledku ozáření jsou tzv. koeficienty rizika stanovené Mezinárodní komisí radiologické ochrany ICRP. Jednotlivé koeficienty rizika jsou uvedeny v tabulce 3.

Koeficient rizika je individuální pravděpodobnost úmrtí na nádor příslušného typu v průběhu života po ozáření konkrétního orgánu nebo tkáně. Jsou vztažené na 100 osob a ekvivalentní dávku v orgánu 1 Sv. Ze součtu všech dílčích pravděpodobností jednotlivých tkání a orgánů vyplývá, že po ozáření dávkou 1 Sv je 5% pravděpodobnost smrti na zhoubný nádor v obecné populaci (při 100 mSv 0,5%).

Tab. 3. Koeficienty rizika podle ICRP ⁽³⁶⁾

močový měchýř	0,30
kostní dřev	0,50
kostní povrch	0,05
mléčná žláza	0,20
tlusté střevo	0,85
játra	0,15
plíce	0,85
jícen	0,30
ovarium	0,10
kůže	0,02
štítná žláza	0,50
žaludek	0,08
zbývající tkáně	1,10
celkem	5,00

1. 6. 2 Teorie o účincích ionizujícího záření

Působení záření na živý organismus se řídí obecnými zákonitostmi, které platí i pro neživou hmotu, dochází k ionizaci i excitaci a je absorbována energie. Z rozsáhlých získaných poznatků vzešly dvě základní teorie.

Zásahová teorie pojednává o přímém zásahu a přímém účinku. Podle ní kvantum záření přímo zasahuje a poškozuje buněčné struktury a hlavně buněčné jádro. Kvantum záření se v místě zásahu absorbuje, nastává ionizace a dochází k chemickým změnám v místě absorpce. Přímý účinek by mohl teoreticky nastat v případě hustě ionizujícího

záření (např. alfa záření). Její podstatou je tedy fyzikální přenos energie. Pravděpodobnost přímého zásahu a poškození biomolekuly je ale několikanásobně menší než pravděpodobnost vzniku účinků prostřednictvím nepřímého zásahu. Přestože přímé interakce jsou vzácnější než nepřímé interakce, mohou vést k závažným poškozením DNA včetně paralelního poškození obou vláken, které může mít na buňku letální efekt. Za inaktivaci buňky však nezodpovídá celá molekula DNA, ale pouze její část, tzv. terč. Pokud interakce záření s molekulou DNA zasáhne terč v molekule, buňka je inaktivována a následně odumírá. Přímý účinek převládá u buněk s menším obsahem vody.

Druhou a zároveň pravděpodobnější a častěji uplatňovanou teorií je **radikálová teorie** nepřímého účinku. Lidské tělo je z 80 % tvořeno vodou, ve které jsou rozpuštěny aktivní látky. Z toho vyplývá, že interakce ionizujícího záření s živými organismy bude probíhat na molekulární úrovni, přičemž většina ionizace připadá na ionizaci molekul vody. Působením ionizace dochází k radiolýze vody. Vzniknou tak velmi agresivní volné radikály, tj. superoxidový radikál $O_2^{\cdot-}$, hydroxylový radikál OH^{\cdot} , vodíkový radikál H^{\cdot} , hydroperoxylový radikál (vodíkový superoxid) HO_2 a sloučeniny způsobující oxidace peroxid vodíku H_2O_2 a singletový kyslík 1O_2 (tyto dva se nezařazují do skupiny volných radikálů, ale reaktivní jsou). Volné radikály jsou velmi reaktivní, protože mají ve svém elektronovém obalu volný nepárový elektron. Tyto agresivní molekuly a částice jsou pak schopné chemicky poškodit prakticky všechny typy makromolekul (sacharidy, nukleové kyseliny, lipidy, aminokyseliny). Štěpí různé druhy vazeb v biomolekulách a degradují jejich struktury. Může tak dojít ke změnám majícím vliv na metabolické procesy, tyto změny vznikají hlavně kvůli poškození DNA struktury. Podstatou radikálové teorie je tedy chemický přenos energie. Přibližně 70 % letálního poškození buněk je produkováno nepřímým účinkem záření.

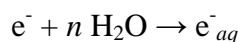
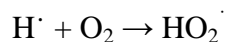
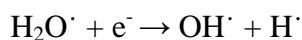
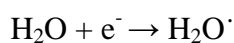
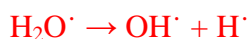
Radikálová teorie byla dále rozpracována do větších podrobností jako molekulárně biologická teorie. Tato teorie bere v potaz poznatky jak z radikálové teorie tak poznatky z oboru molekulární biologie. Poškození je podle této teze závislé na počtu zlomů vláken molekul DNA a na následných reparačních procesech. Bylo zjištěno, že na

biologický účinek záření má vliv několik faktorů, tj. senzitivita tkání, absorbovaná energie (dávka), prostorová a časová distribuce energie a hustota ionizace a další.

1. 6. 3 Jednotlivé fáze účinku ionizujícího záření

Jako první nastává při interakci záření s živou hmotou fáze fyzikální. Dochází při ní k absorpci záření v atomech za vzniku ionizace a excitace, při nichž dochází k narušování chemických vazeb. Pro to, aby k ionizaci vůbec mohlo dojít, je zapotřebí minimálně energie 33 eV. Tato fáze průměrně trvá pouze 10^{-16} sekund.

Po fyzikální fázi nastává fyzikálně – chemická fáze. Dochází k druhotným procesům interakce molekul a iontů. Při radiolýze vody dochází k disociaci molekul a vzniku vysoce reaktivních volných radikálů OH^\cdot , H^\cdot , O_2 , HO_2 , H_2O_2 . Průměrná doba trvání této fáze je 10^{-10} sekund.



Hydroxylový radikál OH^\cdot má silné oxidační účinky. Hydratovaný elektron e^-_{aq} se vyznačuje silnými redukčními vlastnostmi. Vodíkový radikál H^\cdot dokáže působit oxidačně i redukčně. Za přítomnosti kyslíku O_2 z vodíkového radikálu H^\cdot vzniká hydroperoxylový radikál HO_2^\cdot , který má silné oxidační účinky. Při reakci dvou hydroxylových radikálů OH^\cdot vzniká peroxid vodíku H_2O_2 .

Volné radikály lze charakterizovat jako molekuly, atomy či jejich fragmenty i ionty, které ve své vnější slupce mají jeden nebo více nespárovaných elektronů a jsou schopny, byť jen krátkou dobu, samostatné existence. Silná reaktivita je zapříčiněna volným elektronem ve snaze jej kompenzovat. Pokud spolu zreagují dva radikály, nespárované elektrony každého z nich mohou vytvořit pár a ukončit tak svou vysokou

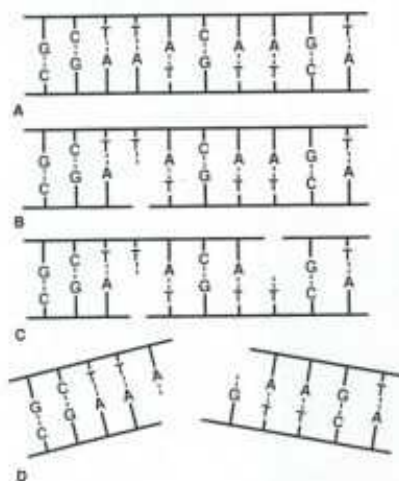
reaktivitu. Pokud reaguje volný radikál s neradikálem, může vzniknout nový volný radikál, který bude dále vysoce reaktivní. Významnou hodnotou je tzv. G hodnota, která udává, kolik radikálů určitého druhu vznikne po absorbování energie 100 eV. Hodnota G pro vodíkový radikál $H\cdot$ je 0,6, pro hydroxylový radikál $OH\cdot$ je 2,3 a pro hydratovaný elektron e^-_{aq} je také 2,3.

Chemická fáze označovaná též jako biochemická, nastává ihned po vzniku volných radikálů, iontů a excitovaných atomů. Tyto vysoce reaktivní částice v této fázi reagují s biologicky významnými biomolekulami, především nukleovými kyselinami a bílkovinami. Tyto reakce probíhají maximálně v rozmezí několika sekund. Nastává změna struktur a funkcí molekul. Charakteristickými poruchami na molekulární úrovni jsou jednovláknové i dvouvláknové zlomy DNA. Radikály mohou také vzájemně reagovat mezi sebou, tzn. rekombinovat. Důležitou roli z hlediska účinků záření hraje také kyslík v organismu, jeho přítomnost totiž zvyšuje účinky radikálů. Kyslík reagující s molekulami, které byly napadeny radikály, tak vzniklé poškození ještě umocní. V místech kde, není kyslík přítomen, je poškození několikanásobně nižší. Tento jev nazývaný jako kyslíkový efekt je často zmiňován i v souvislosti s radioterapií. Existují také látky, které jsou schopny zachytávat radikály a tím pádem snižovat jejich nepříznivé účinky až na polovinu. Jedná se o látky obsahující thiolovou skupinu SH, např. aminokyselina cystein.

Biologická fáze je poměrně časově rozsáhlejší než všechny fáze předchozí. Může se jednat o časový úsek od několika sekund, desítek minut až po roky v závislosti na dávce a také na tom, zda změny pozorujeme na buněčných úrovních nebo na úrovni organismu jako celku. V této fázi nastupují reparační procesy, od jejichž úspěšnosti se pak dále odvíjí osud buňky. Jsou-li dávky vysoké, mohou se účinky somaticky projevit do několika desítek minut či hodin, střední dávky se na organismu manifestují do několika dní a při nízkých dávkách a tudíž možné dlouhé době latence se účinky ionizující záření mohou projevit za několik roků, až za desítky let nebo až na potomcích, tedy geneticky.

1. 6. 4 Změny na molekulární úrovni

Z pohledu účinků ionizujícího záření je v buňce tou nejdůležitější molekulou DNA. V buňce je přítomna ve dvou kopiích. Přímou ionizací nebo působením volných radikálů může v molekule DNA dojít k přerušení chemických vazeb a případnému vytvoření vazeb nových. Nejdůležitějšími typy poškození DNA jsou jednoduché a dvojně zlomy (jednoduchý zlom-přerušení jednoho vlákna, dvojný zlom- přerušení obou vláken). Přerušení vláken nastane při zrušení fosfodiesterové vazby propojující jednotlivé nukleotidy. Jsou-li dva jednoduché zlomy od sebe ve vzdálenosti více než 3 páry bází, vodíkové můstky mezi bázemi jsou pak schopny zamezit vzniku dvojného zlomu. Pokud je ale tato vzdálenost menší, vodíkové můstky nejsou natolik pevné, aby zamezily vzniku dvojného zlomu.



Obr. 8. Tvorba dvojných zlomů z blízkých jednoduchých zlomů. ⁽²⁷⁾

Přerušeny mohou být také vazby mezi jednotlivými bázemi (adenin, guanin, cytosin, thymin) v nukleotidech a tyto báze pak mohou být modifikovány. Po absorpci dávky 1 Gy vznikne v každé buňce více jak 350 000 reaktivních radikálů. A ty pak vyvolají přibližně 1000 jednoduchých zlomů, 40 dvojných zlomů a 1000 modifikací bází. Nepříznivé je také to, že všechna jmenovaná poškození mohou být vícečetná a nacházet se blízko sebe ve formě tzv. shluků (klastřů). Důvodem je kaskádovitý charakter ionizace, která vyvolá vznik několika reaktivních radikálů na krátkém úseku.

Došlo-li k poškození DNA, jsou v buňce zahájeny biochemické procesy za účelem poškození opravit nebo zmírnit jeho následky. Specifické senzorové molekuly (bílkoviny) se naváží na místa zlomů a místa přerušení vazeb mezi bázemi a aktivují další specifické bílkoviny. Pokud vznikne dvojný zlom, je v jeho místě vytvořen tzv. MRN komplex (komplex tří proteinů MRE11, RAD50 a NBS1). NBS1 poté váže další protein ATM (ATM kináza), který se přitom aktivuje a zahajuje fosforylaci histonu H2AX (specifická forma histonu H2A, histony jsou složky jádra nukleozomu, okolo které je rozprostřena DNA). Při fosforylaci dochází k přenosu fosfátové skupiny za účelem zaktivizovat histon. Fosforylovaný H2AX nazývaný γ H2AX a jeho funkce spočívá v tom, že specifické protilátky jej rozpoznají. Po jejich označení je pak lze pod mikroskopem pozorovat.

Jedním z nejlépe prozkoumaných cest navazujících na poškození DNA je fosforylace a vzestup množství proteinu p53. Za fyziologických okolností je hladina p53 v organismu velmi nízká. ATM kináza stabilizuje a aktivizuje p53 prostřednictvím fosforylace. p53 má ústřední význam pro některé velmi důležité signalizační cesty a proto se nazývá „strážcem genomu“ nebo tumorsupresor. Jeden z procesů, které zahajuje, je zastavení buněk v G₁ fázi buněčného cyklu (tzn. před nástupem DNA syntézy). Účelem je poskytnout buňce více času na reparaci DNA ještě před její replikací. Dva další proteiny fosforylované prostřednictvím ATM kinázy jsou Chk1 a Chk2 (check point kinázy). Po jejich aktivaci zpomalí buňku v S-fázi a zastaví ji v G₂ fázi buněčného cyklu. Účelem je poskytnout buňce více času na reparaci DNA před samotnou mitózou. Tyto kontrolní mechanismy ve zmiňovaných buněčných fázích se nazývají „checkpoint control“ a jsou důležité hlavně z kvalitativního pohledu na reparaci DNA. Pokud mechanismy „checkpoint control“ selhávají, dochází ke genetické nestabilitě.

Jednoduché zlomy a modifikované báze jsou poškození mírnější, jelikož mají neporušené templáty (předlohy) DNA protějšího řetězce, které lze využít pro reparaci. Jednoduché zlomy bývají zpravidla opraveny tzv. nukleotidovou excizí, modifikované báze tzv. excizí bází. Klíčovým regulátorem jsou poly (ADP-ribosa) polymeráza 1 a 2. Tyto enzymy jsou schopny rozeznat jednoduché zlomy DNA a modifikovat histony

v místě poškození. To vede k aktivaci dalších enzymů, které připraví konce zlomu. Polymerázy pak mohou vložit jeden nebo více nukleotidů a za působení další řady proteinů se tak uzavře tak poškozené vlákno. Je-li poškozená báze, je uplatněna excize. Zjednodušeně lze říci, že báze je vystřižena DNA-glykosylázou a po přípravě na závěrečnou část opravy pak DNA-polymerázy vkládají jeden nebo více nových nukleotidů. Pak následuje ligace, tj. spojení řetězce. DNA-polymerázy jsou enzymy účastníci se replikace DNA, které katalyzují polymeraci řetězce DNA, v místě replikace DNA vkládají nukleotidy a prodlužují tak řetězec.

Hlavními způsoby reparace poškození dvojných zlomů DNA je homologní rekombinace (HR) a nehomologní spojení konců (NHEJ). Homologní rekombinace je proces, ve kterém se pro opravu DNA použije informace z nepoškozeného homologního úseku DNA. Protože dvojný zlom není téměř nikdy „čistým“ zlomem dvou řetězců DNA, které mohou být jednoduše opět spojeny, je třeba konce na obou stranách nejprve připravit. MRN komplex částečně natráví a vytvoří spojení připomínající řetězce, ty jsou pak obaleny specifickými proteiny. Tento komplex DNA-protein použije homologní úsek DNA a nalézá příslušnou oblast pro čtení informace, která byla ztracena během zlomů a natrávení. Pro tento složitý proces je potřeba celá řada proteinů, jedním z nich je DNA helikáza (enzym, který rozvinuje DNA při její replikaci). Potom DNA polymeráza zkopíruje požadovanou informaci z homologní nepoškozené části DNA a s pomocí dalších proteinů je dokončena oprava. Homologní rekombinace může proběhnout jen v případě, že je dostupná sesterská chromatida, tzn. až v pozdějších fázích buněčného cyklu (v G₂ a S fázi je již každý chromozom dvojený a tvořen párem sesterských chromatid).

Dalším způsobem opravy dvojného zlomu je nehomologní spojení konců. Probíhá tak, že proteiny Ku70 a Ku80 se naváží na konce zlomu, aby zamezily jejich natrávení a aktivizují DNA-dpk (DNA-dependentní protein kináza je makromolekula přemostující přerušené konce). DNA-dpk pak aktivuje pomocí fosforylace další bílkoviny, které jsou místo zlomu schopny spojit (ligace), obvykle tak, že jsou vloženy nebo odstraněny jeden nebo několik párů bází ale nehomologně. Toto nehomologní spojení konců je

způsob reparaace, který je u lidských buněk pravděpodobně častější a zároveň jednodušší a rychlejší než homologní rekombinace.

1. 6. 5 Genové mutace a chromozomové aberace

Záleží na několika faktorech (dávka, fáze buněčného cyklu aj.), které ovlivňují podíl špatně a správně opravených poškození. Ale i přes to při 40 dvojných zlomech, 1000 jednoduchých zlomech 1000 modifikovaných bazích vždy na jednu buňku ozářenou 1 Gy se úspěšnost oprav rovná 99,99%. Nelze ale úplně vyloučit tu možnost, že oprava byla chybná, zvláště bylo-li nutné opravit klastry. Tou nejlepší a bezchybnou variantou je úplná obnova původní sekvence DNA a dochází k ní zejména při homologní rekombinaci. Pokud je oprava chybná, mohou vzniknout genové (bodové) a chromozomové mutace (aberrace).

1. 6. 5. 1 Genové mutace

Genové mutace probíhají na úrovni vlákna DNA. Jsou to tedy takové změny, které mění pořadí nukleotidů oproti normální sekvenci (normálnímu pořadí). Genové mutace, týkající se změny v rozsahu jednoho nukleotidu jsou označovány jako mutace bodové. Genové mutace mohou vzniknout jak v kódujících, tak v nekódujících oblastech genomu. Podle mechanismu vzniku rozlišujeme hned několik typů genových mutací.

Původní sekvence:

A-A-A-G-G-G-C-C-C-T-T-T

- **Adice (inzerce)**

Zařazení jednoho nebo více nadbytečných nukleotidových párů. Pokud je zařazen takový počet nukleotidů, který není celočíselným násobkem čísla 3 ($3n$), potom dojde k posunu, tzv. shiftu, a následně k syntetizování zcela odlišného polypeptidu. Zařazení $3n$ nukleotidů (nenarušujících původní čtecí rámec) obecně prodlužuje

polypeptidový řetězec (=dvouvláknová molekula DNA) o n aminokyselin podle inzertované sekvence.

A-A-A-G-G-T-T-G-C-C-C-T-T-T

- *Delece*

Jde o ztrátu jednoho nebo více nukleotidů původní sekvence DNA. Účinek je podobný jako u adicí, pouze namísto prodloužení polypeptidového řetězce dochází ke zkracování. Delece mohou rovněž vést k posunu čtecího rámce.

A-A-A-G- -G-C-C-C-T-T-T

- *Substituce*

Substituce je náhrada (záměna) báze původní sekvence báží jinou. Pokud jde o záměnu purinové báze (adenin, guanin) za purinovou bázi nebo o záměnu pyrimidinové báze (cytosin, thymin) za pyrimidinovou bázi – je tato substituce označena jako transice. Záměna purinové báze za bázi pyrimidinovou nebo naopak se označuje jako transverze. Následky substituce mohou být různé, podle toho, na které pozici kodonu (tripletu tj. sekvenci tří nukleotidů) k substituci došlo.

A-A-A-G-A-G-C-C-C-T-T-T

1. 6. 5. 2 Chromozomové aberace

Chromozomové mutace (aberace) jsou strukturní změny či numerické změny na úrovni jednotlivých chromozomů. Obecně se označují jako chromozomové aberace. Strukturní změny chromozomů vznikají jako následek chromozomální nestability (tj. chromozomálních zlomů, vznikajících díky dvojným zlomům), způsobené nadměrnou expozicí jedince ionizujícím zářením (i jiným mutagenům), nebo zhoršenou funkcí reparačních mechanismů. Následky těchto odchylek závisí na tom, zda je i po strukturní přestavbě zachováno normální množství genetické informace. Pokud ne, potom dochází k projevům, které se odvíjí od toho, která část genomu (kompletní sekvence DNA jedné sady chromozomů) chybí nebo je strukturně poškozena, či naopak přebývá. Numerické aberace vznikají díky chybě při rozchodu chromozomů do dceřiných buněk během

buněčného dělení (tzv. nondisjunkce). Řada z nich je neslučitelná se životem nebo způsobují závažné syndromy (např. Downův syndrom, Turnerův syndrom). Strukturální aberace jsou následkem chromozomových zlomů, po kterých následuje určitá přestavba chromozomů. Mohou vznikat spontánně nebo jako následek působení různých vnějších faktorů. Lze je dělit na balancované (zachováno původní množství genetického materiálu) a nebalancované (část genetického materiálu chybí či přebývá). Chromozomové strukturální přestavby lze klasifikovat dle mechanismu:

- **Duplikace**

Znásobení úseku chromozomu. Může být způsobeno nerovnoměrným crossing-overem (překřížením chromozomů), jehož následkem dojde na jednom chromozomu k duplikaci sledovaného úseku, zatímco na druhém je tentýž úsek „vymazán“.

- **Delece**

Část chromozomu chybí. Deletován může být konec raménka chromozomu (potom jde o terminální delecii) nebo střední část raménka chromozomu (intersticiální delece). Delece vznikají jako následek chromozomální nestability nebo nerovnoměrného crossing-overu. Jsou označovány jako stabilní chromozomové aberace a mohou být pozorovány i několik desítek let od jejich vzniku.

- **Inzerce**

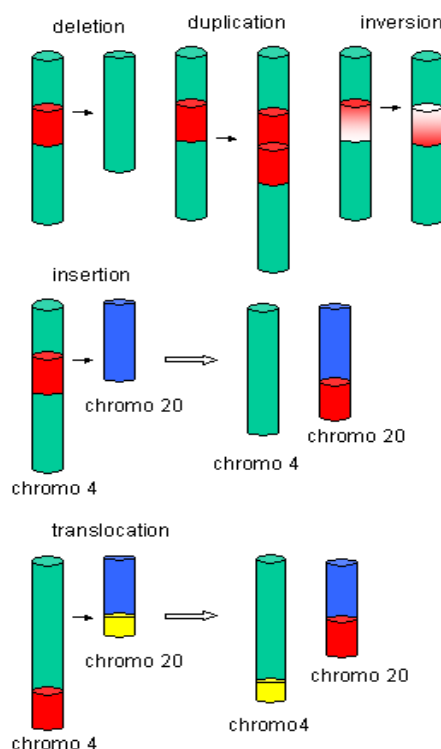
Inzerce vzniká jako následek minimálně 3 chromozomálních zlomů, kdy dojde k začlenění části odštěpené z určitého chromozomu do jiného chromozomu.

- **Inverze**

Při inverzi dochází vlivem chromozomové nestability k odštěpení části chromozomu, jejímu převrácení a následnému napojení. Například následkem inverze na chromozomu s původní sekvencí A-B-C-D-E-F-G-H by byla sekvence A-B-F-E-D-C-G-H

- **Translokace**

Při translokaci je část chromozomu oddělena z původního chromozomu a připojena k jinému chromozomu. Translokace mohou být balancované (zachováno stejné množství genetické informace v buňce) nebo nebalancované (původní množství není dodrženo). Jsou označovány jako stabilní chromozomové aberace a mohou být pozorovány i několik desítek let od jejich vzniku.



Obr. 9. Typy chromozomových mutací. ⁽³⁷⁾

- **Dicentrický chromozom**

Vzniká v důsledku zlomů dvou chromozomů a jejich následné fúze zlomenými konci. Takto vzniklý abnormální chromozom pak má dvě centromery. Jsou označovány jako nestabilní chromozomové aberace.

- ***Ring chromozom***

Vzniká, jestliže dojde u chromozomu k delecí konců obou ramének (telomer), tento chromozom se pak může stočit, koncové části se spojí a vznikne "kolečko" - tedy kruhový chromozom (ring). Jsou označovány jako nestabilní chromozomové aberace.

1. 6. 6 Změny na buněčné a tkáňové úrovni

Poškození indukované ionizujícím zářením lze pozorovat i na buněčné úrovni. Pokud byla oprava poškození chybná, pomalá, neúplná či úplně nemožná, s velkou pravděpodobností dojde k mitotické smrti buňky nebo k apoptóze.

- ***Mitotická buněčná smrt***

Mitotická smrt buňky neboli mitotická katastrofa je taková forma buněčné smrti, ke které dochází během mitotického dělení nebo těsně po něm v důsledku poškození DNA a zároveň při narušení mechanismů kontrol v buněčném cyklu. Buňka se během mitózy snaží oddělit chromatidy, je ale vysoká pravděpodobnost, že se aparát dělicího vřeténka zamotá, a tím není schopen poskytovat dva oddělené soubory chromozomů. Chromozomová aberace (dicentrický chromozom) bývá nejčastější příčinou mitotické smrti buňky.

- ***Apoptóza***

Buňky, které se aktivně nereprodukuje nebo jsou staré a nefunkční (ireparabilní poškození DNA, chybná oprava) mohou zaniknout tzv. programovou buněčnou smrtí (apoptózou). Ta podléhá regulaci kooperace proapoptických a antiapoptických proteinů. Indukce apoptózy závisí na aktivaci klíčových enzymů (kapsáz), protože jsou schopny štěpit buněčné substráty. To vede k řadě morfologickým a biochemickým změnám v buňce a nakonec k vzniku apoptických tělísek, které jsou fagocytovány.

- *Bystander effect*

Z pohledu účinků na úrovni tkání nelze nezmínit tzv. „bystander effect“. Studie provedené v posledních 20 letech totiž objevili, že neozářené buňky sousedící s buňkami ozářenými (zejména α zářením) také vykazují poškození svých DNA v důsledku přijatých chemických signálů z ozářených buněk. Tento přenesený účinek záření byl prokázán již po dávce 5 mGy.

Tuto kapitolu uzavírá známý „Zákon Bergonie a Tribondeau“ (1906). Říká, že „radiosenzitivita tkáně je přímo úměrná reprodukční aktivitě a nepřímo úměrná stupni diferenciace“. Jeho autoři pozorovali jako první, že nádorové buňky jsou obecně radiosenzitivnější než normální buňky a také, že nejcitlivějšími buňkami jsou nejcitlivější spermatogonie, erytroblasty, gastrointestinální kmenové buňky, epidermální kmenové buňky a nejrezistentnějšími buňkami jsou svalové a nervové buňky. Za nejrezistentnější jsou považovány buňky v S-fázi.

1. 7 Biodozimetrie a její metody

Biodozimetrie (biologická dozimetrie) je považována za vědní podobor radiobiologie. Za vznik této disciplíny se zasloužilo zejména zjištění, že chromozomové aberace vzniklé v lymfocytech periferní krve mohou indukovat poškození způsobené ionizujícím zářením. Změny v chromozomech umožňují odhadnout míru expozice a stupeň poškození organismu. Pomocí metod biodozimetrie tak lze zpětně odvodit absorbovanou dávku ionizujícího záření na základě kvantifikace změn vzniklých v důsledku ozáření jak na úrovni organismu, tak na úrovni buněčné. Prakticky lze biodozimetrii uplatnit v podstatě pro jakoukoliv oblast, kde člověk přichází do kontaktu s ionizujícím zářením. Zvláště důležitá je pak pro osoby, které jsou vystaveny ionizujícímu záření v pracovním prostředí (např. horníci v uranových dolech, zaměstnanci radonových lázní), protože expozice genotoxickým faktorů (ionizujícímu záření) zvyšuje riziko vzniku nádorových onemocnění. Od počátku 21. století se ubírá

rozvoj biodozimetrie velmi rychle kupředu, zabývá se především výzkumem a zdokonalováním nových, spolehlivých a snadno aplikovatelných metod (např. testy založené na detekci mutací nebo testy na detekci poškození DNA). Současně nejužívanější (mikroskopické) metody jsou níže popsány.

1. 7. 1 Cytogenetická analýza lymfocytů periferní krve

Tato metoda pracuje s lymfocyty periferní krve, u kterých bylo indukováno dělení lymfocytů fytohemaglutininem (PHA) in vitro a následně blokována mitóza v metafázi kolchicinem. PHA mitogen podněcuje lymfocyty, které jsou zpravidla v klidové G_0 fázi, k zahájení dělení. Kolchicin je přírodní mitotický jed, který je schopen zadržet buňku v metafázi mitotického dělení, účelem je snadnějšího pozorování pod mikroskopem (v praxi je dnes používán syntetický derivát kolcemid). Takto připravené lymfocyty jsou pak barveny Giemsovým barvivem. Poté mohou být detekovány strukturální aberace (dicentrické chromozómy, ringy, fragmenty chromozómů). Nevýhoda této metody je taková, že si laboratoř provádějící tuto analýzu musí nejprve vytvořit kalibrační křivku ozáření lymfocytů ex vivo pro následné hodnocení míry ozáření. Za další nevýhody této metody lze považovat její časovou a materiálovou náročnost a potřebu značných zkušeností. Detekovat lze dávky od 0,2 Gy.

1. 7. 2 Fluorescenční in situ hybridizace (FISH)

Tato metoda je v podstatě modernější verze cytogenetické analýzy lymfocytů. Chromozomy lymfocytů jsou obarveny speciálním fluorescenčním barvivem. DNA sondy jedinečné pro každý z 23 chromozómů jsou označeny různými druhy fluorescenčních barviv a poté jsou připojeny (hybridizovány) ke svým chromozómům. DNA sonda přesně odpovídá sekvenci původní DNA na přesně určeném místě a tak lze na základě barevných rozdílů pozorovat translokace, dicentrické chromozómy i ringy. Výhodou této metody je právě zobrazení translokací, protože na rozdíl od nestabilních chromozómových aberací (dicentry, ringy) jsou pozorovatelné i po několika letech od

ozáření, takže je možné stanovit dávky i velkým časovým odstupem. FISH je poměrně finančně náročná a neobejde se bez fluorescenčního mikroskopu. Detekovat lze dávky od 0,2 Gy.

1. 7. 3 Urychlená kondenzace chromozómů (PCC)

Tato metoda je oproti ostatním mnohem méně časově náročná, protože u ní není třeba třídní inkubace lymfocytů s mitogenem a kolcemidem, tzn., že může poskytnout výsledky už za několik hodin. Výhodná je i pro hodnocení velmi poškozených buněk, které nereagují na mitogen. Fúzí lymfocytů s ovariálními buňkami čínské křečka a působením mitotických faktorů těchto buněk dojde ke kondenzaci chromozómů. Po kondenzaci lze zobrazené chromozomy pozorovat v profázi. Nejvíce viditelné jsou chromozomální fragmenty (neopravené zlomy DNA), méně pak dicentrické chromozomy, ringy nebo translokace. Detekovatelná dávka je minimálně 0,1 Gy.

1. 7. 4 Test na přítomnost a počet mikrojader

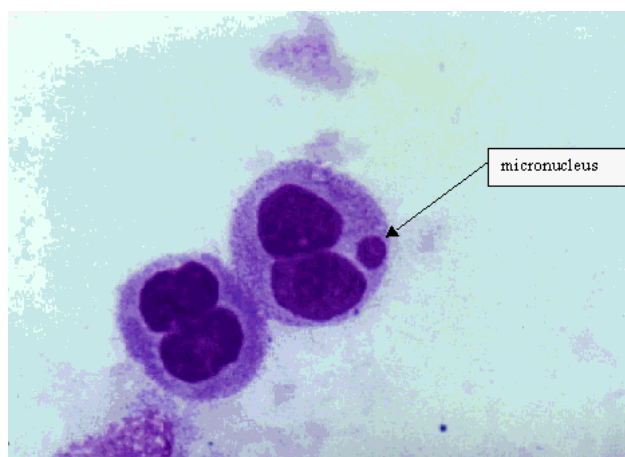
Mikrojádra jsou malé struktury vznikající po větším poškození DNA působením ionizujícího záření. Nepodaří-li se dostatečně opravit dvojně zlomy dvoušroubovice DNA, dojde k oddělení většího fragmentu chromozomu, který je pak identifikovatelný po mitóze v cytoplazmě buňky jako malé jádérko. Do dceřiné buňky tyto fragmenty nejsou zahrnuty, protože se opozdily v anafázi (fáze mitózy). Mikrojádra pak obsahují celé chromozomy nebo jejich fragmenty a jsou pozorovatelná na konci mitotického dělení.

Před provedením mikrojaderného testu jsou lymfocyty periferní krve inhibovány k dělení fytohemaglutininem. K blokaci mitózy se pak použije cytochalasin B, ten je schopen cytoskeletální struktury blokovat tak, že dceřiná jádra jsou uvnitř jedné buňky a mikrojádru je mezi nimi. Mikrojádru se vyznačují podobným barvením jako buněčné jádro, pro toto barvení se nejčastěji používá DAPI, Giemsovo barvení nebo akridinová oranž. Pod fluorescenčním mikroskopem jsou pak mikrojádru počítána.

Citlivost metody se může zvýšit, použijeme-li navíc značení tzv. specifickými protilátkami pro centromery. Na základě toho lze rozpoznat mikrojádra, která vznikla po ozáření, protože mikrojádra obsahující celé chromosomy (s centromerou) obvykle nevznikají vlivem záření, expozicí jsou totiž indukována mikrojádra obsahující pouze fragmenty chromosomů bez centromer (centrální část chromozomu). Nevýhodou této metody je její časová náročnost. Frekvence výskytu mikrojader se pohybuje u ozářených osob kolem 1%. Minimální detekovatelná dávka se pohybuje od 100 mGy.

Dokonalejší verzí této metody je její automatizace pomocí analýzy obrazu, která umožňuje počítat mikrojádra u tisíců buněk a tak i zvýšit statistickou spolehlivost výsledků. Detekovatelné dávky jsou nižší, zhruba 50 mSv.

Ještě nižší dávku (20-50 mSv) je možné detekovat při použití průtokového cytometru, ten tak nahrazuje fluorescenční mikroskop. Počítat a diferencovat lze velké množství buněk, měřeny jsou světelný rozptyl nebo fluorescenční signály, které vysílají mikrojádra. Výsledky jsou pak výstupem počítačové analýzy. Zatím nejlepších výsledků bylo dosaženo při použití průtokového cytometru, když byly použity retikulocyty, jejich nevýhodou je ale krátká životnost.



Obr. 10. Dvojaderná buňka s mikrojádrem. ⁽³⁹⁾

2. Cíle práce a hypotéza

Prvotním záměrem bylo zjistit, zda vyšší genomickou nestabilitu vykazují osoby, které mají nádorové onemocnění než osoby, které nádorové onemocnění nemají. V souboru osob, ze kterých byli jednotlivci vybíráni, však nebylo možné nalézt dostatečně velkou skupinu osob s nádorovým onemocněním a proto byly osoby do skupin vybírány podle toho, zda se u nich nádorové onemocnění vyskytlo v rodině nebo se v rodině nevyskytlo.

2. 1 Cíl práce

1. Srovnání dvou skupin krevních vzorků (odebraných pracovníkům) na základě počtu a druhu mikrojader. (1. skupina- s nád. onemocněním v rodině, 2. skupina - bez nád. onemocnění v rodině).
2. Zjištění závislosti počtu a typu mikrojader na výskytu onemocnění.
3. Potvrzení vyšší genomické nestability u skupiny s nádorovým onemocněním v rodině.

2. 2 Hypotéza

Genomická nestabilita je vyšší u osob s familiárním výskytem nádorového onemocnění, než u osob bez familiárního výskytu nádorového onemocnění.

3. Metodika

Pro zpracování praktické části této diplomové práce byl vytvořen soubor 50 osob. Jedná se o současné i bývalé pracovníky, kteří byli nebo jsou vystavováni při výkonu svého povolání působení ionizujícího α záření (radonu a jeho rozpadových produktů). Jedná se o horníky pracující v uranových dolech GEAM o. z. Dolní Rožínka, zaměstnance Lázní Jáchymov (převažuje inhalace radonu) a bývalé horníky uranových dolů Příbram. Pro potřeby již ukončeného předchozího velkého výzkumu poskytly tyto osoby krevní vzorky a údaje v dotaznících s písemnými souhlasy. Krevní preparáty byly připraveny a zpracovány zaměstnanci v laboratořích Státního úřadu jaderné, chemické a biologické ochrany (SÚJCHBO v.v.i). Pro tuto práci jsem z vybraných 50 osob (25 osob a k porovnání dalších 25 osob), vytvořila 2x3 skupiny dle pracovišť (2x6 horníků z Dolní Rožínky, 2x10 horníků z Příbrami, 2x9 zaměstnanců Lázní Jáchymov). Osoby byly do jednotlivých skupin vybírány na základě toho, zda se v jejich rodinách vyskytlo nádorové onemocnění nebo nevyskytlo nádorové onemocnění. Dalšími pomocnými kritérii výběru zajišťující adekvátní porovnávání osob byl věk a doba práce vykonávané v riziku ionizujícího záření a u horníků z Dolní Rožínky navíc ještě efektivní dávka v mSv obdržená za tři roky.

Po sestavení skupin následovalo stanovení počtu dvoujaderných buněk, počtu a druhů jejich mikrojader z krevních preparátů u každé vybrané osoby pomocí fluorescenčního mikroskopu OLYMPUS IX71 (optické zvětšení 40x, 400x celkové zvětšení). Počet mikrojader byl možný zjistit, protože preparáty obarvené fluorochromem DAPI byly ozářeny ultrafialovým zářením a poté pozorovány v modré barvě v temném zorném poli. Druh mikrojader (s centromerou x bez centromery) byl možný zjistit na základě toho, že preparáty obarvené zelenou barvou FITC, byly osvětleny modrým zářením a poté pozorovány v zelené barvě v temném zorném poli. Vše pozorováno s pomocí odpovídajících filtrů. Tato praktická část byla vykonána v objektu SÚJCHBO v.v.i Kamenná u Příbrami.

Následovalo sestavení tabulek pro každou skupinu. V tabulkách horníků z Dolní Rožínky je uvedeno číslo vzorku (krevního preparátu), věk, pohlaví, délka práce

v riziku ionizujícího záření, efektivní dávka v mSv obdržená za tři roky a familiární výskyt karcinomu. V tabulkách bývalých příbramských horníků je uvedeno číslo vzorku (krevního preparátu), věk, pohlaví, délka práce v riziku ionizujícího záření, doba od skončení práce v riziku ionizujícího záření a familiární výskyt karcinomu. V tabulkách pracovníků Lázní Jáchymov je uvedeno číslo vzorku (krevního preparátu), věk, pohlaví, délka práce v riziku ionizujícího záření, doba od skončení práce v riziku ionizujícího záření a familiární výskyt karcinomu.

Spočítány byly ve všech skupinách průměrný věk a průměrná délka práce v riziku ionizujícího záření. U skupin horníků z Dolní Rožínky byla navíc vypočítána průměrná efektivní dávka v mSv. U skupin bývalých horníků byla spočítána navíc průměrná doba od skončení práce v riziku ionizujícího záření.

Zjištěné počty dvoujaderných buněk bez mikrojader i s mikrojádry a druhy mikrojader (s centromerou nebo bez centromery) jsou rovněž uvedeny v tabulkách dle skupin pracovníků. Z počtů dvoujaderných buněk bez i s mikrojádry (jejich součtu) byly u každé osoby vypočítány procentuální podíly dvoujaderných buněk obsahující mikrojádra spočítaných v krevním vzorku a také podíl dvoujaderných buněk obsahující mikrojadra bez centromery z celkového počtu dvoujaderných buněk obsahujících mikrojádra (tzn. s centromerami i bez centromer).

Dále byl stanoven průměr procentuálních podílů dvoujaderných buněk s mikrojádry u každé skupiny, průměr počtů dvoujaderných buněk bez mikrojader u každé skupiny, rozptyl procentuálních podílů dvoujaderných buněk s mikrojádry u každé skupiny, směrodatná odchylka procentuálních podílů dvoujaderných buněk s mikrojádry u každé skupiny a medián procentuálních podílů dvoujaderných buněk s mikrojádry u každé skupiny.

Průměr, rozptyl, směrodatná odchylka a medián podílů byly rovněž stanoveny u dvoujaderných buněk obsahující mikrojádra bez centromery z celkového počtu dvoujaderných buněk obsahujících mikrojádra (tzn. s centromerami i bez centromer). Průměr, rozptyl, směrodatná odchylka a medián byly vypočítány pomocí funkcí tabulkového editoru Microsoft Excel (funkce PRŮMĚR, VAR, SMODCH., MEDIAN).

Poté následovalo celkové porovnání procentuálních podílů počtů dvoujaderných buněk s mikrojádry a podílů počtů mikrojader bez centromer u pracovníků s familiárním a bez familiárního výskytu (2 skupiny po 25 osobách) a výpočet průměrů, rozptylů, směrodatných odchylek a mediánů jak u procentuálních podílů počtů dvoujaderných buněk s mikrojádry, tak u podílů počtů mikrojader bez centromer (v těchto 2 skupinách).

Pro srovnání byly zjištěné počty a hodnoty uvedené v předchozích dvou odstavcích komparovány s hodnotami předchozího výzkumu, který prováděl pan doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzer Ph.D. Také byla provedena korelace pomocí aplikace v MS Excel mnou zjištěných hodnot (procentuální podíly MN%) s hodnotami doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzera Ph.D.

Pro srovnání procentuálních podílů dvoujaderných buněk s mikrojádry (MN%) a pro srovnání podílů mikrojader bez centromer (MN CM-) u všech vytvořených skupin (vždy s familiárním výskytem ca^+ x bez familiárního výskytu nádorového onemocnění ca^-), tzn. pro zjištění, zda se vyšší genomickou nestabilitou vyznačuje skupina osob, u kterých se v rodině objevila rakovina, bylo provedeno statistické hodnocení – testování hypotéz.

Byly provedeny testy normality, pro zjištění zda mají zjištěné hodnoty (MN% a MN CM-) daných skupin normální rozdělení a test shodnosti rozptylů. Pro testování hypotéz byly použity dvouvýběrový t-test (testování hypotézy o rovnosti středních hodnot) a neparametrické testy - Kolmogorovův-Smirnovův test (test o shodném rozdělení) a Mann-Whitney test (test pro dva nezávislé výběry (pro rozdíl mediánů)). Dvouvýběrový t-test předpokládá normální rozdělení. Neparametrické testy jsou použity pro případ, že by hodnoty neodpovídaly normálnímu rozdělení a také z důvodu rozsahu souboru hodnot. Použit byl statistický software NCSS (Number Cruncher Statistical Systems), který pokrývá naprostou většinu požadavků i velmi sofistikované statistické analýzy dat.

$$H_0 : ca^+ = ca^-, p > 0,05$$

$$H_A : ca^+ \neq ca^-, p < 0,05$$

$\alpha = 0,05$ (hladina významnosti, chyba 1. druhu)

p-hodnota: odhadovaná pravděpodobnost zamítnutí nulové hypotézy H_0 .

H_0 : statisticky **nevýznamný** rozdíl mezi skupinou s familiárním výskytem nádorového onemocnění a skupinou bez familiárního výskytu s nádorového onemocnění.

H_A : statisticky **významný** rozdíl mezi skupinou s familiárním výskytem nádorového onemocnění a skupinou bez familiárního výskytu s nádorového onemocnění.

4. Výsledky

4.1 Údaje z dotazníků dle zkoumaných skupin

Tabulka 4.1 Údaje z dotazníků – horníci Dolní Rožínka (s familiárním výskytem nádorového onemocnění).

číslo vzorku	pohlaví	věk	délka práce v riziku IZ	efektivní dávka mSv	familiární výskyt karcinomu
164	M	34	11	6,86	ca prsu
154	M	44	15	7,35	ca tlustého střeva
105	M	43	2	15,4	myeloidní nádor
139	M	33	8	24,89	ca žaludku
137	M	39	12	29,11	ca plic
163	M	33	8	38,28	ca žaludku

Průměrný věk: 37,67 let

Průměrná délka práce v riziku ionizujícího záření: 9,33 let

Průměrná celková efektivní dávka v mSv (za 3 roky): 20,32 mSv

Tabulka 4.2 Údaje z dotazníků – horníci Dolní Rožínka (bez familiárního výskytu nádorového onemocnění).

číslo vzorku	pohlaví	věk	délka práce v riziku IZ	efektivní dávka v mSv	familiární výskyt karcinomu
150	M	29	5	6,46	0
161	M	35	5	8,93	0
121	M	41	1	14,29	0
171	M	33	9	25,51	0
122	M	31	8	28,76	0
111	M	34	3	37,45	0

Průměrný věk: 33,83 let

Průměrná délka práce v riziku ionizujícího záření: 5,17 let

Průměrná celková efektivní dávka v mSv (za 3 roky): 20,23 mSv

Tabulka 4.3 Údaje z dotazníků – horníci Příbram (s familiárním výskytem nádorového onemocnění).

číslo vzorku	pohlaví	věk	délka práce v riziku IZ	doba od skončení práce v riziku IZ	familiární výskyt karcinomu
2	M	65	20	24	ca jater, ca žaludku
21	M	61	30	10	ca jater, ca slinivky
28	M	61	17	22	ca plic
29	M	57	17	22	ANO (neuveдено)
32	M	54	15	18	ca prsu
42	M	55	9	20	ca plic, ca mozku
43	M	70	29	21	ca tlustého střeva, ca hrtanu
46	M	71	16	36	2x ca tlustého střeva
47	M	65	13	31	ca vaječníku
49	M	64	7	20	ca plic

Průměrný věk: 62,30 let

Průměrná délka práce v riziku ionizujícího záření: 17,30 let

Průměrná doba od skončení práce v riziku ionizujícího: 22,40 let

Tabulka 4.4 Údaje z dotazníků – horníci Příbram (bez familiárního výskytu nádorového onemocnění).

číslo vzorku	pohlaví	věk	délka práce v riziku IZ	doba od skončení práce v riziku IZ	familiární výskyt karcinomu
17	M	61	23	20	0
11	M	62	37	10	0
31	M	66	20	21	0
35	M	59	16	22	0
36	M	56	14	21	0
7	M	55	10	19	0
48	M	76	30	21	0
4	M	71	18	21	0
3	M	66	11	30	0
34	M	63	9	33	0

Průměrný věk: 63,50 let

Průměrná délka práce v riziku ionizujícího záření: 18,80 let

Průměrná doba od skončení práce v riziku ionizujícího: 21,80 let

Tabulka 4.5 Údaje z dotazníků – pracovníci Lázně Jáchymov (s familiárním výskytem nádorového onemocnění).

číslo vzorku	pohlaví	věk	délka práce v riziku IZ	doba od skončení práce v riziku IZ	familiární výskyt karcinomu
200	F	44	4	0	ca prsu
204	F	53	13,5	0	ca plic
208	F	53	7	0	ca žaludku, mandlí
210	F	55	6	0	ca krajina břišní
215	F	42	1	0	ca prsu, ca pankreatu
217	F	56	1	0	ca gynekol., ca tlustého střeva
226	F	40	22	0	ca gynekol.
228	F	59	18	0	ca krku, ca jater
241	M	63	23	0	ca močového měchýře

Průměrný věk: 51,67 let

Průměrná délka práce v riziku ionizujícího záření: 10,61 let

Tabulka 4.6 Údaje z dotazníků – pracovníci Lázně Jáchymov (bez familiárního výskytu nádorového onemocnění).

číslo vzorku	pohlaví	věk	délka práce v riziku IZ	doba od skončení práce v riziku IZ	familiární výskyt karcinomu
230	F	48	5	0	0
207	F	56	11	0	0
209	F	53	5	0	0
216	F	56	4	0	0
224	F	37	3	0	0
233	F	56	3	0	0
227	F	46	18	0	0
213	F	59	14	0	0
242	M	65	19	0	0

Průměrný věk: 52,89 let

Průměrná délka práce v riziku ionizujícího záření: 9,11 let

Vysvětlivky:

MN(%)procentuální podíl dvoujaderných buněk obsahující mikrojádra (z celkového počtu dvoujaderných buněk, tzn. bez i s mikrojádry)

MN-počet dvoujaderných buněk bez mikrojadern

MN+1počet dvoujaderných buněk obsahujících v cytoplazmně jedno mikrojádro

MN+2počet dvoujaderných buněk obsahujících v cytoplazmně dvě mikrojádra

MN CM-počet mikrojadern bez centromer

MN CM+počet mikrojadern s centromerami

podíl MN CM-podíl dvoujaderných buněk obsahující mikrojádro bez centromery (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojádry bez centromer i s centromerami)

x.....nebylo hodnoceno (počty dvoujaderných buněk nebyly z krevních vzorků stanoveny)

4. 2 Zjištěné počty mikrojadér a jejich druhů

Tab. 4.7 Počty dvoujaderných buněk bez mikrojadér i s mikrojádry, procentuální podíly dvoujaderných buněk s mikrojádry z celkového počtu dvoujaderných buněk, podíl dvoujaderných buněk obsahující mikrojádro bez centromery (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojádry bez centromer i s centromerami) (horníci Dolní Rožínka s familiárním výskytem nádorového onemocnění).

číslo vzorku	MN(%)	MN-	MN+1	MN+2	MN CM-	MN CM+	podíl MN CM-
164	0,474	630	3	0	1	2	0,33
154	0,402	248	1	0	1	0	1
105	0,435	229	1	0	1	0	1
139	1,092	453	5	0	3	2	0,6
137	1,118	619	6	1	4	2	0,67
163	0,361	552	2	0	2	0	1

Průměr MN% : 0,647

Průměr MN- : 455,2

Rozptyl MN% : 0,106⁶

Směrodatná odchylka MN% : 0,326

Medián MN% : 0,454

Průměr podílů MN CM- : 0,767

Rozptyl podílů MN CM- : 0,255

Směrodatná odchylka podílů MN CM- : 0,065

Medián MN CM- : 0,830

Tab. 4.8 Počty dvoujaderných buněk bez mikrojader i s mikrojádry, procentuální podíly dvoujaderných buněk s mikrojádry z celkového počtu dvoujaderných buněk, podíl dvoujaderných buněk obsahující mikrojádru bez centromery (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojádry bez centromer i s centromerami) (horníci Dolní Rožínka bez familiárního výskytu nádorového onemocnění).

číslo vzorku	MN(%)	MN-	MN+1	MN+2	MN CM-	MN CM+	podíl MN CM-
150	0,000	187	0	0	0	0	0
161	0,683	291	2	0	2	0	1
121	0,000	296	0	0	0	0	0
171	0,913	217	2	0	1	1	0,5
122	0,000	174	0	0	0	0	0
111	1,481	133	2	0	2	0	1

Průměr MN% : 0,513

Průměr MN- : 216,3

Rozptyl MN% : 0,319

Směrodatná odchylka MN% : 0,565

Medián MN% : 0,341

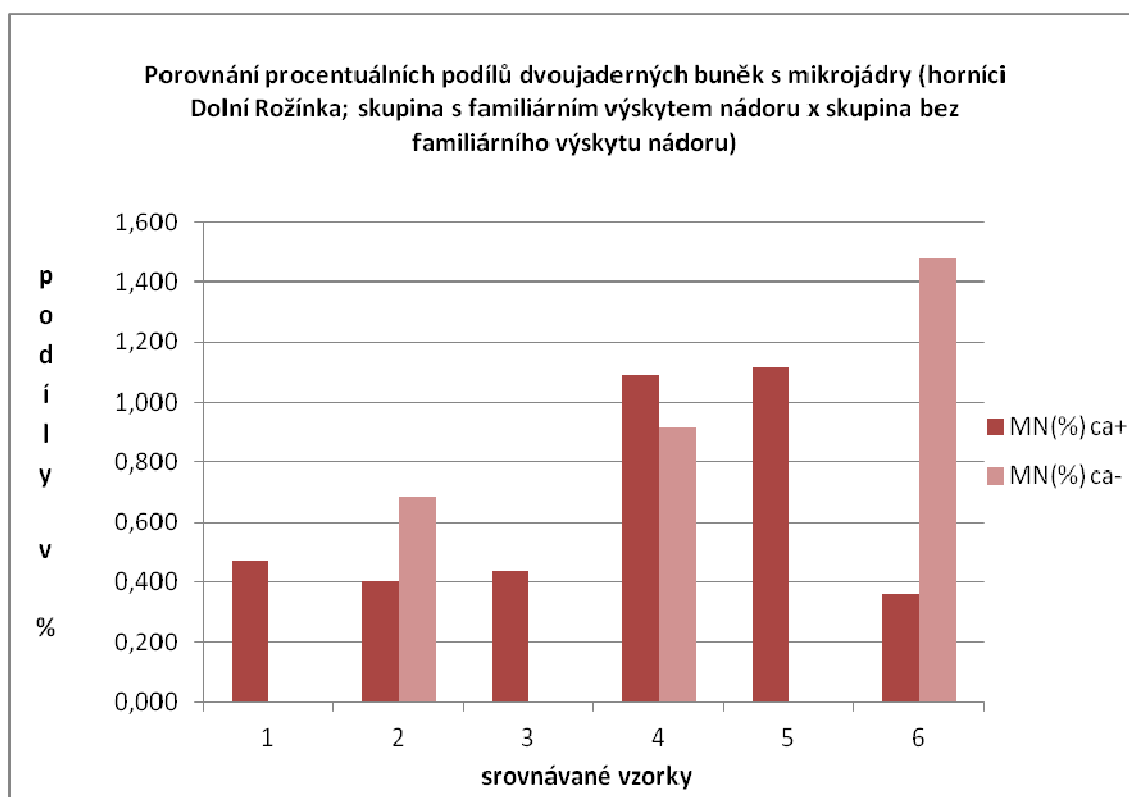
Průměr podílů MN CM- : 0,417

Rozptyl podílů MN CM- : 0,449

Směrodatná odchylka podílů MN CM- : 0,201

Medián MN CM- : 0,250

Graf 1. Porovnání MN% - horníci Dolní Rožínka (mnou zjištěné hodnoty)



Tab. 4.9 Počty dvoujaderných buněk bez mikrojader i s mikrojádry, procentuální podíly dvoujaderných buněk s mikrojádry z celkového počtu dvoujaderných buněk, podíl dvoujaderných buněk obsahující mikrojádru bez centromery (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojádry bez centromer i s centromerami) (horníci Dolní Rožínka s familiárním výskytem nádorového onemocnění) – hodnoty z výzkumu pana doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzera Ph.D.

číslo vzorku	MN(%)	MN-	MN+1	MN+2	MN CM-	MN CM+	podíl MN CM-
164	0,585	510	3	0	0	1	0
154	0,000	197	0	0	0	0	0
105	0,400	249	1	0	0	1	0
139	0,957	414	4	0	2	1	0,67
137	0,766	518	4	0	2	0	1
163	0,586	509	3	0	3	0	1

Průměr MN% : 0,549

Průměr MN- : 399,5

Rozptyl MN% : 0,090

Směrodatná odchylka MN% : 0,300

Medián MN% : 0,585

Průměr podílů MN CM- : 0,444

Rozptyl podílů MN CM- : 0,458

Směrodatná odchylka podílů MN CM- : 0,210

Medián MN CM- : 0

Tab. 4.10 Počty dvoujaderných buněk bez mikrojadra i s mikrojadry, procentuální podíly dvoujaderných buněk s mikrojadry z celkového počtu dvoujaderných buněk, podíl dvoujaderných buněk obsahující mikrojadro bez centromery (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojadry bez centromer i s centromerami) (horníci Dolní Rožínka bez familiárního výskytu nádorového onemocnění) – hodnoty z výzkumu pana doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzera Ph.D.

číslo vzorku	MN(%)	MN-	MN+1	MN+2	MN CM-	MN CM+	podíl MN CM-
150	0,625	159	0	1	0	0	0
161	0,329	303	1	0	0	0	0
121	0,435	229	1	0	0	0	0
171	1,020	194	2	0	0	0	0
122	0,000	137	0	0	0	0	0
111	0,781	127	1	0	0	0	0

Pozn. V tabulkách z výzkumu pana doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzera Ph.D. počty dvoujaderných buněk s mikrojadry někdy neodpovídají počtům dvoujaderných buněk s mikrojadry rozdělených, podle toho zda mikrojadra obsahovaly centromery nebo neobsahovaly centromery z toho důvodu, že hodnotitel nemohl jednoznačně rozhodnout, zda se jedná o mikrojadro s centromerou nebo bez centromery.

Průměr MN% : 0,532

Průměr MN- : 191,5

Rozptyl MN% : 0,107

Směrodatná odchylka MN% : 0,327

Medián MN% : 0,530

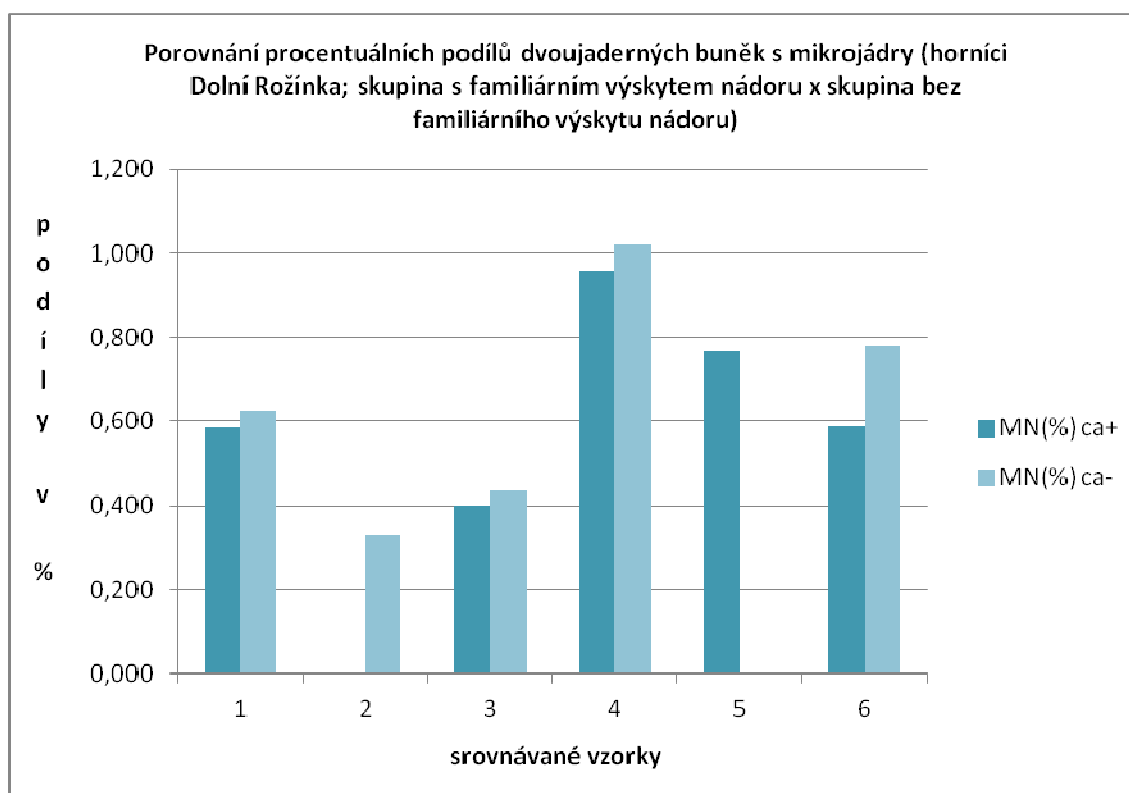
Průměr podílů MN CM- : 0

Rozptyl podílů MN CM- : 0

Směrodatná odchylka podílů MN CM- : 0

Medián MN CM- : 0

Graf 2. Porovnání MN% - horníci Dolní Rožínka (hodnoty doc. Zölzer)



Tab. 4.11 Počty dvoujaderných buněk bez mikrojader i s mikrojádry, procentuální podíly dvoujaderných buněk s mikrojádry z celkového počtu dvoujaderných buněk, podíl dvoujaderných buněk obsahující mikrojádru bez centromery (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojádry bez centromer i s centromerami) (horníci Příbram s familiárním výskytem nádorového onemocnění).

číslo vzorku	MN(%)	MN-	MN+1	MN+2	MN CM-	MN CM+	podíl MN CM-
2	1,852	265	5	0	4	1	0,8
21	0,445	447	2	0	0	2	0
28	0,159	627	1	0	1	0	1
29	1,385	641	8	1	3	5	0,38
32	0,000	213	0	0	0	0	0
42	0,000	182	0	0	0	0	0
43	0,216	461	1	0	1	0	1
46	1,429	207	3	0	2	1	0,67
47	0,299	334	1	0	1	0	1
49	1,413	279	4	0	3	1	0,75

Průměr MN% : 0,720

Průměr MN- : 365,6

Rozptyl MN% : 0,456

Směrodatná odchylka MN% : 0,676

Medián: MN% : 0,372

Průměr podílů MN CM- : 0,559

Rozptyl podílů MN CM- : 0,408

Směrodatná odchylka podílů MN CM- : 0,166

Medián MN CM- : 0,700

Tab. 4.12 Počty dvoujaderných buněk bez mikrojader i s mikrojádry, procentuální podíly dvoujaderných buněk s mikrojádry z celkového počtu dvoujaderných buněk, podíl dvoujaderných buněk obsahující mikrojádru bez centromery (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojádry bez centromer i s centromerami) (horníci Příbram bez familiárního výskytu nádorového onemocnění).

číslo vzorku	MN(%)	MN-	MN+1	MN+2	MN CM-	MN CM+	podíl MN CM-
17	0,784	253	2	0	1	1	0,5
11	0,000	169	0	0	0	0	0
31	0,000	311	0	0	0	0	0
35	0,000	304	0	0	0	0	0
36	0,808	614	4	1	3	1	0,75
7	0,435	458	2	0	0	2	0
48	0,000	208	0	0	0	0	0
4	0,313	319	1	0	0	1	0
3	0,316	631	2	0	2	0	1
34	0,000	279	0	0	0	0	0

Průměr MN% : 0,266

Průměr MN- : 354,6

Rozptyl MN% : 0,095

Směrodatná odchylka MN% : 0,308

Medián MN% : 0,156

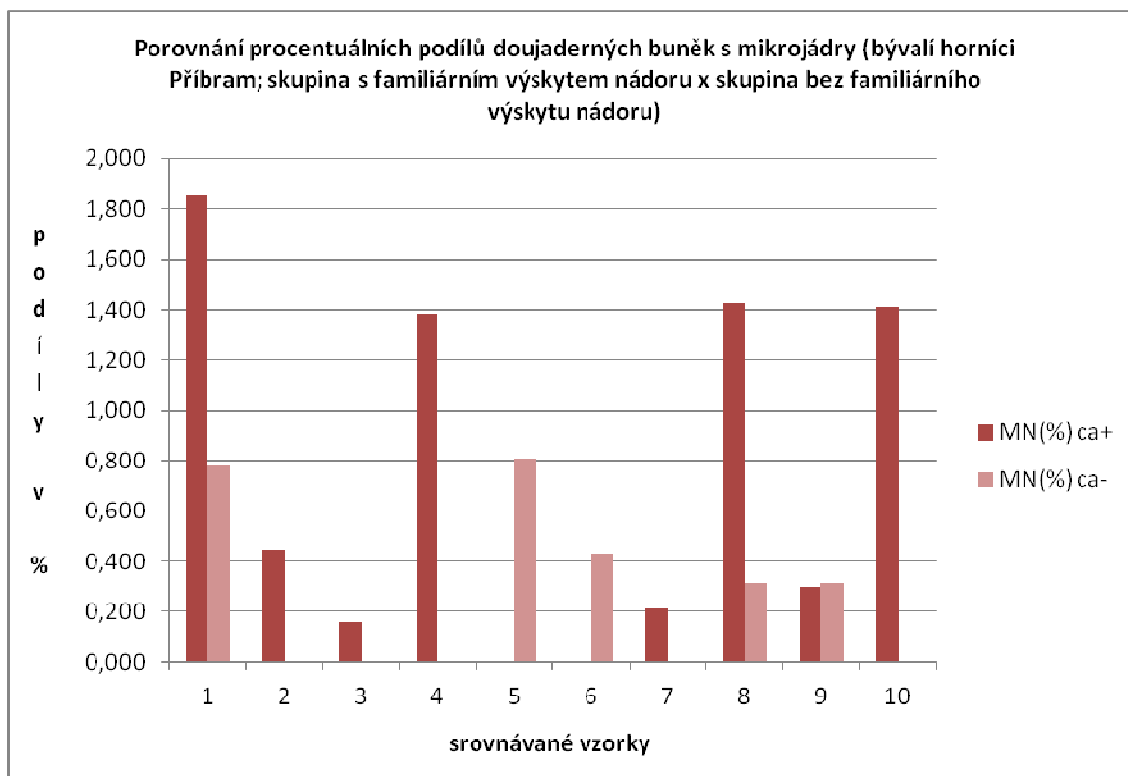
Průměr podílů MN CM- : 0,225

Rozptyl podílů MN CM- : 0,361

Směrodatná odchylka podílů MN CM- : 0,131

Medián MN CM- : 0

Graf 3. Porovnání MN% - bývalí horníci Příbram (mnou zjištěné hodnoty)



Tab. 4.13 Počty dvoujaderných buněk bez mikrojader i s mikrojádry, procentuální podíly dvoujaderných buněk s mikrojádry z celkového počtu dvoujaderných buněk, podíl dvoujaderných buněk obsahující mikrojádru bez centromery (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojádry bez centromer i s centromerami) (horníci Příbram s familiárním výskytem nádorového onemocnění) – hodnoty z výzkumu pana doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzera Ph.D.

číslo vzorku	MN(%)	MN-	MN+1	MN+2	MN CM-	MN CM+	podíl MN CM-
2	1,478	200,00	3	0	0	0	0
21	0,493	404,00	2	0	0	2	0
28	0,000	506,00	0	0	0	0	0
29	1,190	498,00	6	0	1	4	0,2
32	x	x	x	x	x	x	x
42	x	x	x	x	x	x	x
43	0,000	375,00	0	0	0	0	0
46	1,990	197,00	3	1	1	1	0,5
47	0,787	252,00	2	0	2	0	1
49	1,449	204,00	3	0	0	0	0

Průměr MN% : 0,923

Průměr MN- : 329,5

Rozptyl MN% : 0,463

Směrodatná odchylka MN% : 0,680

Medián MN% : 0,989

Průměr podílů MN CM- : 0,213

Rozptyl podílů MN CM- : 0,341

Směrodatná odchylka podílů MN CM- : 0,116

Medián MN CM- : 0

Tab. 4.14 Počty dvoujaderných buněk bez mikrojadra i s mikrojadry, procentuální podíly dvoujaderných buněk s mikrojadry z celkového počtu dvoujaderných buněk, podíl dvoujaderných buněk obsahující mikrojadro bez centromery (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojadry bez centromer i s centromerami) (horníci Příbram bez familiárního výskytu nádorového onemocnění) – hodnoty z výzkumu pana doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzera Ph.D.

číslo vzorku	MN(%)	MN-	MN+1	MN+2	MN CM-	MN CM+	podíl MN CM-
17	0,581	171,00	1	0	0	0	0
11	0,000	113,00	0	0	0	0	0
31	x	x	x	x	x	x	x
35	0,000	197,00	0	0	0	0	0
36	0,393	507,00	2	0	1	1	0,5
7	0,771	386,00	3	0	1	2	0,33
48	x	x	x	x	x	x	x
4	0,402	248,00	1	0	0	0	0
3	0,198	505,00	1	0	0	0	0
34	0,493	202,00	0	1	0	1	0

Průměr MN% : 0,355

Průměr MN- : 291,1

Rozptyl MN% : 0,065

Směrodatná odchylka MN% : 0,256

Medián MN% : 0,397

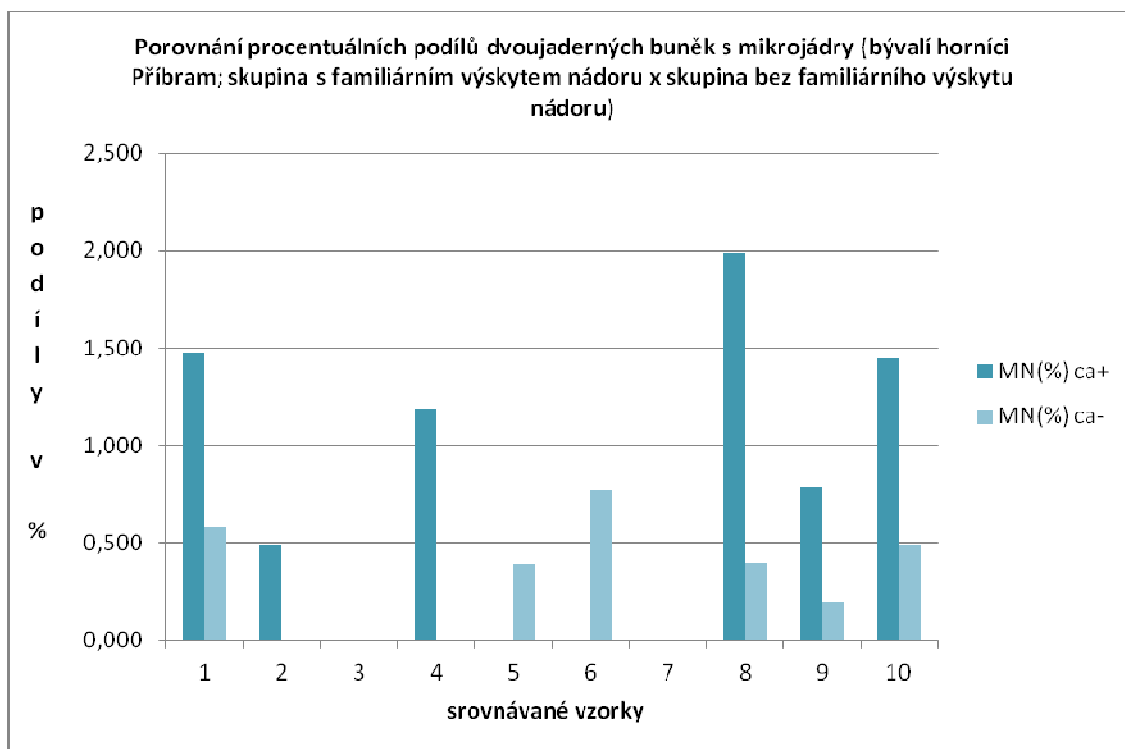
Průměr podílů MN CM- : 0,104

Rozptyl podílů MN CM- : 0,185

Směrodatná odchylka podílů MN CM- : 0,034

Medián MN CM- : 0

Graf 4. Porovnání MN% - bývalí horníci Příbram (hodnoty doc. Zöelzer)



Tab. 4.15 Počty dvoujaderných buněk bez mikrojader i s mikrojádry, procentuální podíly dvoujaderných buněk s mikrojádry z celkového počtu dvoujaderných buněk, podíl dvoujaderných buněk obsahující mikrojádru bez centromery (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojádry bez centromer i s centromerami) (pracovníci Lázně Jáchymov s familiárním výskytem nádorového onemocnění).

číslo vzorku	MN(%)	MN-	MN+1	MN+2	MN CM-	MN CM+	podíl MN CM-
200	2,076	283	5	1	4	3	0,57
204	0,311	321	1	0	1	0	1
208	0,813	366	3	0	2	1	0,67
210	1,075	276	3	0	3	0	1
215	1,262	313	4	0	3	1	0,75
217	0,236	423	1	0	0	1	0
226	0,000	264	0	0	0	0	0
228	0,800	248	2	0	2	0	1
241	0,444	224	1	0	1	0	1

Průměr MN% : 0,780

Průměr MN- : 302,0

Rozptyl MN% : 0,360

Směrodatná odchylka MN% : 0,600

Medián MN% : 0,800

Průměr podílů MN CM- : 0,665

Rozptyl podílů MN CM- : 0,387

Směrodatná odchylka podílů MN CM- : 0,150

Medián MN CM- : 0,750

Tab. 4.16 Počty dvoujaderných buněk bez mikrojader i s mikrojádry, procentuální podíly dvoujaderných buněk s mikrojádry z celkového počtu dvoujaderných buněk, podíl dvoujaderných buněk obsahující mikrojádru bez centromery (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojádry bez centromer i s centromerami) (pracovníci Lázně Jáchymov bez familiárního výskytu nádorového onemocnění).

číslo vzorku	MN(%)	MN-	MN+1	MN+2	MN CM-	MN CM+	podíl MN CM-
230	0,633	314	2	0	2	0	1
207	0,882	337	3	0	2	1	0,67
209	0,000	131	0	0	0	0	0
216	1,351	292	4	0	3	1	0,75
224	0,308	324	1	0	1	0	1
233	0,870	228	2	0	1	1	0,5
227	0,488	204	1	0	0	1	0
213	1,311	301	4	0	1	3	0,25
242	0,000	179	0	0	0	0	0

Průměr MN% : 0,649

Průměr MN- : 256,7

Rozptyl MN% : 0,224

Směrodatná odchylka MN% : 0,474

Medián MN% : 0,633

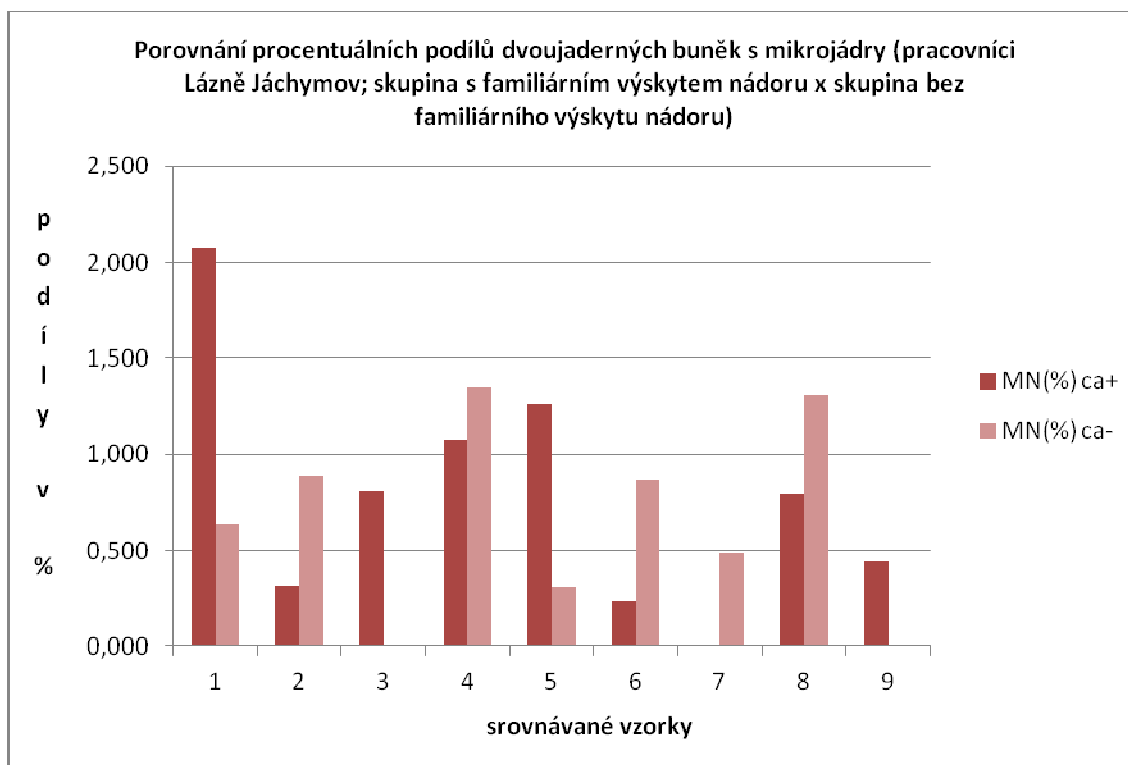
Průměr podílů MN CM- : 0,463

Rozptyl podílů MN CM- : 0,393

Směrodatná odchylka podílů MN CM- : 0,154

Medián MN CM- : 0,500

Graf 5. Porovnání MN% - pracovníci Lázně Jáchymov (mnou zjištěné hodnoty)



Tab. 4.17 Počty dvoujaderných buněk bez mikrojader i s mikrojádry, procentuální podíly dvoujaderných buněk s mikrojádry z celkového počtu dvoujaderných buněk, podíl dvoujaderných buněk obsahující mikrojádru bez centromery (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojádry bez centromer i s centromerami) (pracovníci Lázně Jáchymov s familiárním výskytem nádorového onemocnění) – hodnoty z výzkumu pana doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzera Ph.D.

číslo vzorku	MN(%)	MN-	MN+1	MN+2	MN CM-	MN CM+	podíl MN CM-
200	3,187	243	7	1	0	1	0
204	0,400	249	1	0	1	0	1
208	0,400	249	1	0	0	0	0
210	0,800	248	2	0	0	0	0
215	2,000	245	5	0	1	0	1
217	0,400	249	1	0	0	1	0
226	x	x	x	x	x	x	x
228	1,000	198	1	1	0	0	0
241	0,500	199	1	0	0	0	0

Průměr MN% : 1,086

Průměr MN- : 235,0

Rozptyl MN% : 0,887

Směrodatná odchylka MN% : 0,942

Medián MN% : 0,650

Průměr podílů MN CM- : 0,250

Rozptyl podílů MN CM- : 0,433

Směrodatná odchylka podílů MN CM- : 0,188

Medián MN CM- : 0

Tab. 4.18 Počty dvoujaderných buněk bez mikrojader i s mikrojádry, procentuální podíly dvoujaderných buněk s mikrojádry z celkového počtu dvoujaderných buněk, podíl dvoujaderných buněk obsahující mikrojádru bez centromery (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojádry bez centromer i s centromerami) (pracovníci Lázně Jáchymov bez familiárního výskytu nádorového onemocnění) – hodnoty z výzkumu pana doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzera Ph.D.

číslo vzorku	MN(%)	MN-	MN+1	MN+2	MN CM-	MN CM+	podíl MN CM-
230	0,800	248	2	0	0	0	0
207	0,800	248	2	0	1	1	0,5
209	0,000	150	0	0	0	0	0
216	1,200	247	3	0	1	1	0,5
224	0,800	248	2	0	0	0	0
233	2,000	196	3	1	2	1	0,67
227	x	x	x	x	x	x	x
213	1,600	246	4	0	1	2	0,33
242	x	x	x	x	x	x	x

Průměr MN% : 1,029

Průměr MN- : 226,1

Rozptyl MN% : 0,359

Směrodatná odchylka MN% : 0,599

Medián MN% : 0,800

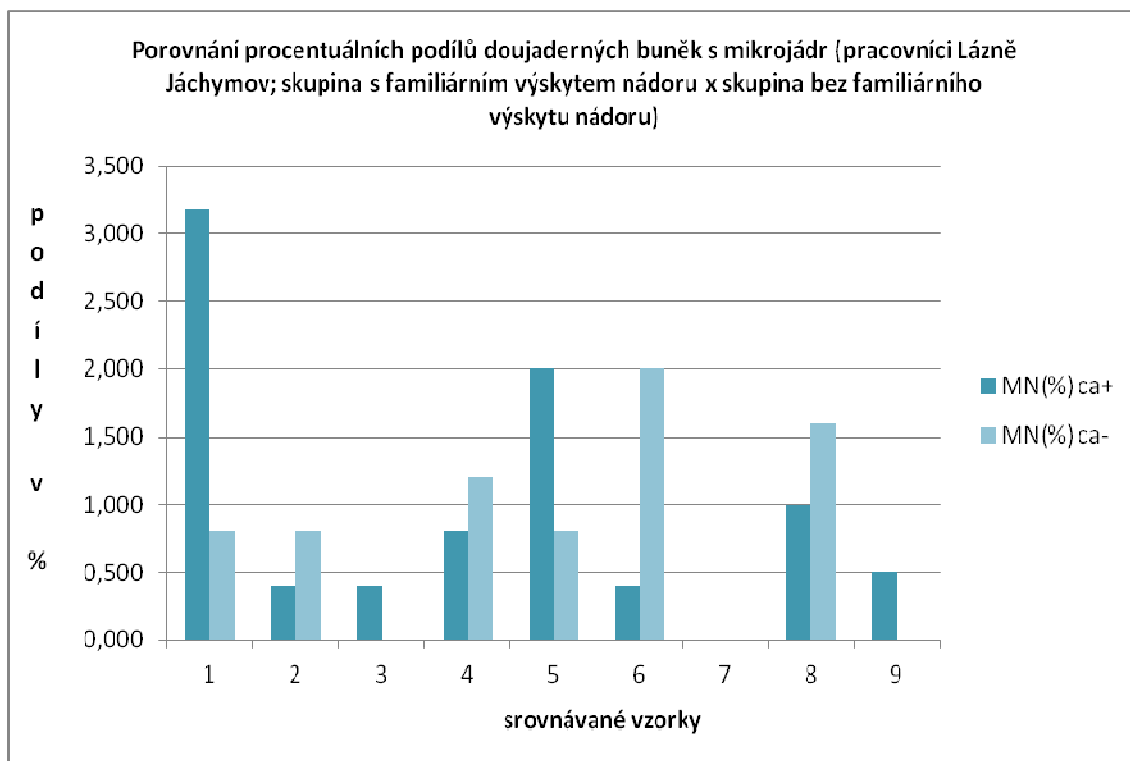
Průměr podílů MN CM- : 0,286

Rozptyl podílů MN CM- : 0,263

Směrodatná odchylka podílů MN CM- : 0,069

Medián MN CM- : 0,333

Graf 6. Porovnání MN% - pracovníci Lázně Jáchymov (hodnoty doc. Zöelzer)



Tab. 4. 19

Všechny osoby s familiárním
výskytem nádorového onemocnění

číslo vzorku	MN(%)
164	0,474
154	0,402
105	0,435
139	1,092
137	1,118
163	0,361
2	1,852
21	0,445
28	0,159
29	1,385
32	0,000
42	0,000
43	0,216
46	1,429
47	0,299
49	1,413
200	2,076
204	0,311
208	0,813
210	1,075
215	1,262
217	0,236
226	0,000
228	0,800
241	0,444

Průměr MN% : 0,724

Rozptyl MN% : 0,340

Směrodatná odchylka MN% : 0,583

Medián MN% : 0,454

Tab. 4.20

Všechny osoby bez familiárního
výskytu nádorového onemocnění

číslo vzorku	MN(%)
150	0,000
161	0,683
121	0,000
171	0,913
122	0,000
111	1,481
17	0,784
11	0,000
31	0,000
35	0,000
36	0,808
7	0,435
48	0,000
4	0,313
3	0,316
34	0,000
230	0,633
207	0,882
209	0,000
216	1,351
224	0,308
233	0,870
227	0,488
213	1,311
242	0,000

Průměr MN% : 0,463

Rozptyl MN% : 0,224

Směrodatná odchylka MN% : 0,473

Medián MN% : 0,316

(hodnoty pan doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzer Ph.D.)

Tab. 4. 21
Všechny osoby s familiárním
výskytem nádorového onemocnění

číslo vzorku	MN(%)
164	0,585
154	0,000
105	0,400
139	0,957
137	0,766
163	0,586
2	1,478
21	0,493
28	0,000
29	1,190
32	x
42	x
43	0,000
46	1,990
47	0,787
49	1,449
200	3,187
204	0,400
208	0,400
210	0,800
215	2,000
217	0,400
226	x
228	1,000
241	0,500

Průměr MN% : 0,880

Rozptyl MN% : 0,561

Směrodatná odchylka MN% : 0,749

Medián MN% : 0,676

Tab. 4.22
Všechny osoby bez familiárního
výskytu nádorového onemocnění

číslo vzorku	MN(%)
150	0,625
161	0,329
121	0,435
171	1,020
122	0,000
111	0,781
17	0,581
11	0,000
31	x
35	0,000
36	0,393
7	0,771
48	x
4	0,402
3	0,198
34	0,493
230	0,800
207	0,800
209	0,000
216	1,200
224	0,800
233	2,000
227	x
213	1,600
242	x

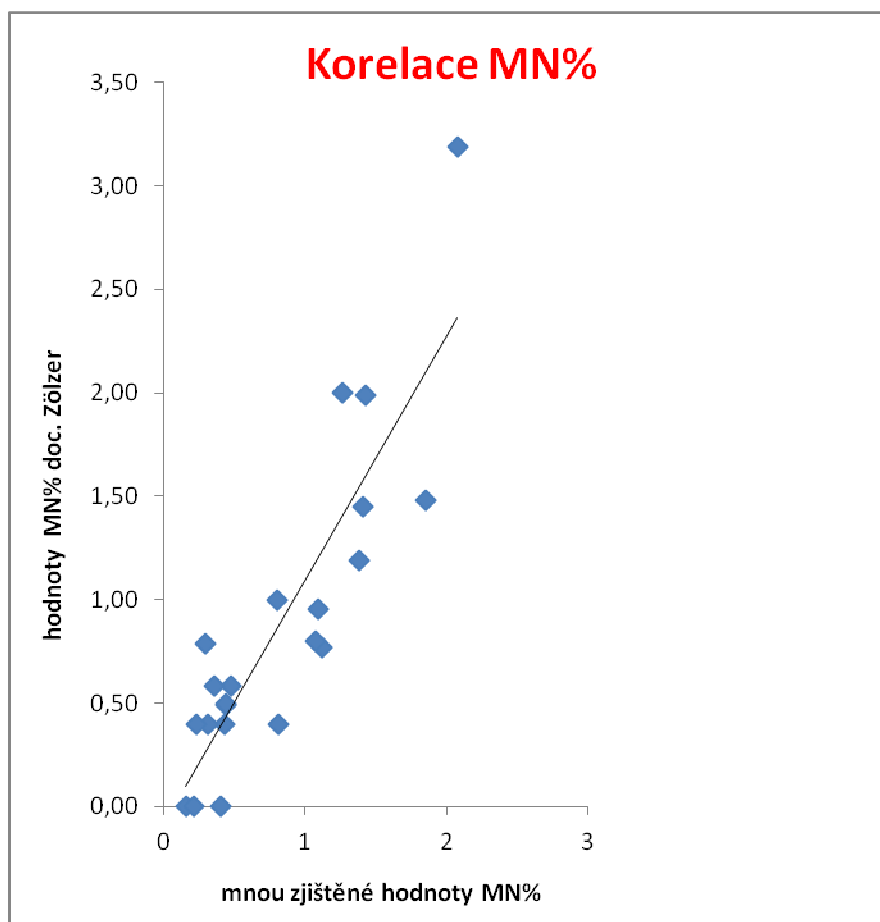
Průměr MN% : 0,630

Rozptyl MN% : 0,260

Směrodatná odchylka MN% : 0,510

Medián MN% : 0,581

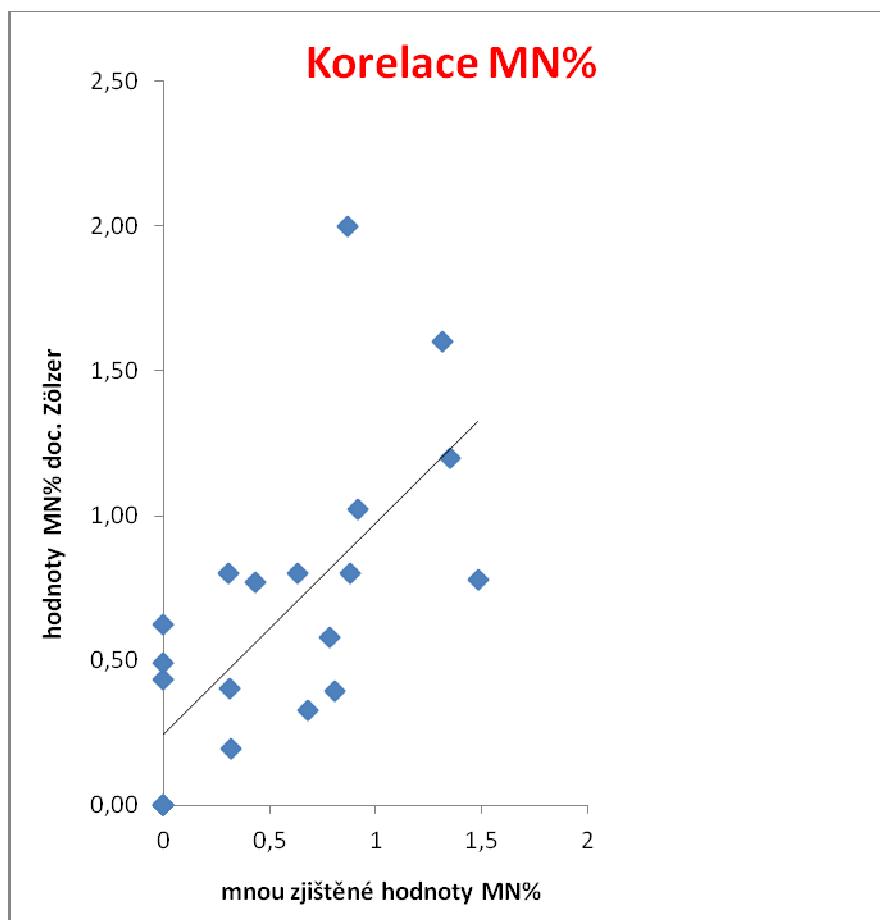
Graf 1. Korelace mezi mými hodnotami MN% a hodnotami MN% pana doc. Zölzera (osoby s familiárním výskytem nádorového onemocnění).



p-hodnota: $1,36 \cdot 10^{-7}$

→ prokazatelná závislost (korelace) mezi mnou zjištěnými hodnotami a hodnotami z výzkumu pana doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzer Ph.D. (p-hodnota : $1,36 \cdot 10^{-7} < 0,05$ hladina významnosti α)

Graf 2. Korelace mezi mými hodnotami MN% a hodnotami MN% pana doc. Zöelzera (osoby bez familiárního výskytu nádorového onemocnění).



p-hodnota: 0,00576

→ prokazatelná závislost (korelace) mezi mnou zjištěnými hodnotami a hodnotami z výzkumu pana doc. Dr. rer. nat. Friedo Zöelzer Ph.D. (p-hodnota : $0,00576 < 0,05$ hladina významnosti α)

Tab. 4. 23

Všechny osoby s familiárním
výskytem nádorového onemocnění

číslo vzorku	podíl MN CM-
164	0,333
154	1
105	1
139	0,600
137	0,667
163	1
2	0,800
21	0
28	1
29	0,375
32	0
42	0
43	1
46	0,667
47	1
49	0,750
200	0,571
204	1
208	0,667
210	1
215	0,750
217	0
226	0
228	1
241	1

Průměr MN CM- : 0,647

Rozptyl MN CM- : 0,143

Směrodatná odchylka MN CM- : 0,378

Medián MN CM - : 0,750

Tab. 4.24

Všechny osoby bez familiárního
výskytu nádorového onemocnění

číslo vzorku	podíl MN CM-
150	0
161	1
121	0
171	0,5
122	0
111	1
17	0,5
11	0
31	0
35	0
36	0,75
7	0
48	0
4	0
3	1
34	0
230	1
207	0,667
209	0
216	0,75
224	1
233	0,5
227	0
213	0,25
242	0

Průměr MN CM- : 0,357

Rozptyl MN CM- : 0,168

Směrodatná odchylka MN CM- : 0,410

Medián MN CM- : 0

(hodnoty pan doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzer Ph.D.)

Tab. 4. 25

Všechny osoby s familiárním
výskytem nádorového onemocnění

číslo vzorku	podíl MN CM-
164	0
154	0
105	0
139	0,667
137	1
163	1
2	0
21	0
28	0
29	0,2
32	x
42	x
43	0
46	0,5
47	1
49	0
200	0
204	1
208	0
210	0
215	1
217	0
226	x
228	0
241	0

Průměr MN CM- : 0,289

Rozptyl MN CM- : 0,177

Směrodatná odchylka MN CM- : 0,421

Medián MN CM- : 0

Tab. 4.26

Všechny osoby bez familiárního
výskytu nádorového onemocnění

číslo vzorku	podíl MN CM-
150	0
161	0
121	0
171	0
122	0
111	0
17	0
11	0
31	x
35	0
36	0,5
7	0,333
48	x
4	0
3	0
34	0
230	0
207	0,5
209	0
216	0,5
224	0
233	0,667
227	x
213	0,333
242	x

Průměr MN CM- : 0,135

Rozptyl MN CM- : 0, 049

Směrodatná odchylka MN CM- : 0,222

Medián MN CM- : 0

4. 3 Statistické hodnocení parametrů MN% a MN CM-

4. 3. 1 Skupina Dolní Rožínka

- Statistické hodnocení procentuálních podílů dvoujaderných buněk s mikrojádry MN% z celkového počtu dvoujaderných buněk (horníci s familiárním výskytem nádorového onemocnění ca+ x bez familiárního výskytu nádorového onemocnění ca-).
- hodnoty **vykazují normální rozdělení** na 5% hladině statistické významnosti

Tab. 4. 27 Popisná statistika

skupina	počet vzorků	střední hodnota	směrodatná odchylka	standardní chyba	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	6	0,647	0,357	0,146	0,273	1,021
ca-	6	0,513	0,619	0,256	-0,137	1,162

Tab. 4. 28 Rozdíl středních hodnot

rozptyly	stupně volnosti	rozdíl	směrodatná odchylka	standardní chyba	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
rovnost	10	0,134	0,505	0,292	-0,516	0,784

Tab. 4. 29 Výsledek t-testu

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti	hodnota síly testu pro hladinu významnosti 5%
0,655	Přijata H₀	0,070

Tab. 4. 30 Mediány

skupina	počet	medián	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	6	0,455	0,361	1,118
ca-	6	0,342	0,000	1,481

Tab. 4. 31 Výsledek Mann-Whitney testu pro rozdíl mediánů

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
0,519	Přijata H_0

Tab. 4. 32 Výsledek Kolmogorov-Smirnovova testu o shodném rozdělení

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
0,474	Přijata H_0

- Statistické hodnocení podílů dvoujaderných buněk obsahující mikrojádru bez centromery **MN CM-** (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojádry bez centromer i s centromerami), (horníci s familiárním výskytem nádorového onemocnění ca+ x bez familiárního výskytu nádorového onemocnění ca-).
- hodnoty **vykazují normální rozdělení** na 5% hladině statistické významnosti

Tab. 4. 33 Popisná statistika

skupina	počet	střední hodnota	směrodatná odchylka	standardní chyba	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	6	0,767	0,279	0,114	0,474	1,059
ca-	6	0,417	0,492	0,201	-0,099	0,933

Tab. 4. 34 Rozdíl středních hodnot

rozptyly	stupně volnosti	rozdíl	směrodatná odchylka	standardní chyba	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
rovnost	10	0,350	0,400	0,231	-0,164	0,864

Tab. 4. 35 Výsledek t-testu

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti	hodnota síly testu pro hladinu významnosti 5%
0,160	Přijata H₀	0,279

Tab. 4. 36 Mediány

skupina	počet	medián	dolní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	6	0,834	0,333	1,000
ca-	6	0,250	0,000	1,000

Tab. 4. 37 Výsledek Mann-Whitney testu pro rozdíl mediánů

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
0,181	Přijata H_0

Tab. 4. 38 Výsledek Kolmogorov-Smirnovova testu o shodném rozdělení

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
0,474	Přijata H_0

4. 3. 2 Skupina Příbram

- Statistické hodnocení procentuálních podílů dvoujaderných buněk s mikrojádry MN% z celkového počtu dvoujaderných buněk (horníci s familiárním výskytem nádorového onemocnění ca+ x bez familiárního výskytu nádorového onemocnění ca-).
- hodnoty **vykazují normální rozdělení** na 5% hladině statistické významnosti

Tab. 4. 39 Popisná statistika

skupina	počet	střední hodnota	směrodatná odchylka	standardní chyba	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	10	0,720	0,712	0,225	0,210	1,229
ca-	10	0,266	0,325	0,103	0,033	0,498

Tab. 4. 40 Rozdíly středních hodnot

rozptyly	stupně volnosti	rozdíl	směrodatná odchylka	standardní chyba	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
nerovnost	12,59	0,454	0,783	0,248	-8,233E-02	0,991

Tab. 4. 41 Výsledek t-testu (varianta t-testu pro neshodné rozptyly: Aspin-Welch test)

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti	hodnota síly testu pro hladinu významnosti 5%
0,090	Přijata H₀	0,396

Tab. 4. 42 Mediány

skupina	počet	medián	dolní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	10	0,372	0,000	1,429
ca-	10	0,157	0,000	0,784

Tab. 4. 43 Výsledek Mann-Whitney testu pro rozdíl mediánů

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
0,164	Přijata H_0

Tab. 4. 44 Výsledek Kolmogorov-Smirnovova testu o shodném rozdělení

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
0,418	Přijata H_0

- Statistické hodnocení rozdílů podílů dvoujaderných buněk obsahující mikrojádro bez centromery MN CM- (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojádry bez centromer i s centromerami), (horníci s familiárním výskytem nádorového onemocnění ca+ x bez familiárního výskytu nádorového onemocnění ca-).
- hodnoty **nevykazují normální rozdělení** na 5% hladině statistické významnosti (použity pouze neparametrické testy).

Tab. 4. 45 Popisná statistika

skupina	počet	střední hodnota	směrodatná odchylka	standardní chyba	dolní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	10	0,559	0,430	0,136	0,252	0,867
ca-	10	0,225	0,381	0,120	-4,75E-02	0,498

Tab. 4. 46 Rozdíl středních hodnot

rozptyly	stupně volnosti	rozdíl	směrodatná odchylka	standardní chyba	dolní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
rovnost	18	0,334	0,406	0,182	-4,73E-02	0,716

Tab. 4. 47 Mediány

skupina	počet	medián	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	10	0,709	0,000	1,000
ca-	10	0,000	0,000	0,750

Tab. 4. 48 Výsledek Mann-Whitney testu pro rozdíl mediánů

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
0,081	Přijata H_0

Tab. 4. 49 Výsledek Kolmogorov-Smirnovova testu o shodném rozdělení

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
0,418	Přijata H_0

4. 3. 3 Skupina Lázně Jáchymov

- Statistické hodnocení rozdílů procentuálních podílů dvoujaderných buněk s mikrojádry MN% z celkového počtu dvoujaderných buněk (pracovníci s familiárním výskytem nádorového onemocnění ca+ x bez familiárního výskytu nádorového onemocnění ca-).
- hodnoty **vykazují normální rozdělení** na 5% hladině statistické významnosti

Tab. 4. 50 Popisná statistika

skupina	počet vzorků	střední hodnota	směrodatná odchylka	standardní chyba	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	9	0,780	0,636	0,212	0,291	1,269
ca-	9	0,649	0,502	0,167	0,263	1,035

Tab. 4. 51 Rozdíl středních hodnot

rozptyly	stupně volnosti	rozdíl	směrodatná odchylka	standardní chyba	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
rovnost	16	0,130	0,573	0,270	-0,442	0,703

Tab. 4. 52 Výsledek t-testu

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti	hodnota síly testu pro hladinu významnosti 5%
0,636	Přijata H₀	0,074

Tab. 4. 53 Mediány

skupina	počet	medián	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	9	0,800	0,236	1,262
ca-	9	0,633	0,000	1,311

Tab. 4. 54 Výsledek Mann-Whitney testu pro rozdíl mediánů

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
0,894	Přijata H_0

Tab. 4. 55 Výsledek Kolmogorov-Smirnovova testu o shodném rozdělení

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
1,000	Přijata H_0

- Statistické hodnocení rozdílů podílů dvoujaderných buněk obsahující mikrojádro bez centromery MN CM- (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojadry bez centromer i s centromerami), (pracovníci s familiárním výskytem nádorového onemocnění ca+ x bez familiárního výskytu nádorového onemocnění ca-).
- hodnoty **vykazují normální rozdělení** na 5% hladině statistické významnosti

Tab. 4. 56 Popisná statistika

skupina	počet vzorků	střední hodnota	směrodatná odchylka	standardní chyba	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	9	0,665	0,411	0,137	0,350	0,981
ca-	9	0,463	0,417	0,139	0,143	0,783

Tab. 4. 57 Rozdíl středních hodnot

rozptyly	stupně volnosti	rozdíl	směrodatná odchylka	standardní chyba	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
rovnost	16	0,202	0,414	0,195	-0,211	0,616

Tab. 4. 58 Výsledek t-testu

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti	hodnota síly testu pro hladinu významnosti 5%
0,315	Přijata H₀	0,164

Tab. 4. 59 Mediány

skupina	počet	medián	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	9	0,750	0,000	1,000
ca-	9	0,500	0,000	1,000

Tab. 4. 60 Výsledek Mann-Whitney testu pro rozdíl mediánů

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
0,295	Přijata H_0

Tab. 4. 61 Výsledek Kolmogorov-Smirnovova testu o shodném rozdělení

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
0,730	Přijata H_0

4. 3. 4 Všichni pracovníci bez rozdělení dle pracovišť

(2 skupiny po 25 osobách)

- Statistické hodnocení rozdílů procentuálních podílů dvoujaderných buněk s mikrojádry MN% z celkového počtu dvoujaderných buněk (pracovníci s familiárním výskytem nádorového onemocnění ca+ x bez familiárního výskytu nádorového onemocnění ca-).
- hodnoty **vykazují normální rozdělení** na 5% hladině statistické významnosti

Tab. 4. 62 Popisná statistika

skupina	počet vzorků	střední hodnota	směrodatná odchylka	standardní chyba	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	25	0,724	0,595	0,119	0,478	0,97
ca-	25	0,463	0,483	0,097	0,264	0,662

Tab. 4. 63 Rozdíl středních hodnot

rozptyly	stupně volnosti	rozdíl	směrodatná odchylka	standardní chyba	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
rovnost	48	0,261	0,542	0,153	-0,047	0,569

Tab. 4. 64 Výsledek t-testu

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti	hodnota síly testu pro hladinu významnosti 5%
0,095	Přijata H₀	0,385

Tab. 4. 65 Mediány

skupina	počet	medián	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	25	0,445	0,311	1,092
ca-	25	0,316	0	0,784

Tab. 4. 66 Výsledek Mann-Whitney testu pro rozdíl mediánů

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
0,108	Přijata H_0

Tab. 4. 67 Výsledek Kolmogorov-Smirnovova testu o shodném rozdělení

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
0,285	Přijata H_0

- Statistické hodnocení rozdílů podílů dvoujaderných buněk obsahující mikrojádro bez centromery MN CM- (z celkového počtu dvoujaderných buněk s mikrojádry bez centromer i s centromerami), (pracovníci s familiárním výskytem nádorového onemocnění ca+ x bez familiárního výskytu nádorového onemocnění ca-).
- hodnoty **nevykazují normální rozdělení** na 5% hladině statistické významnosti (použity pouze neparametrické testy).

Tab. 4. 68 Popisná statistika

skupina	počet vzorků	střední hodnota	směrodatná odchylka	standardní chyba	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	25	0,647	0,385	7,71E-02	0,488	0,806
ca-	25	0,357	0,418	8,37E-02	0,184	0,529

Tab. 4. 67 Rozdíl středních hodnot

rozptyly	stupně volnosti	rozdíl	směrodatná odchylka	standardní chyba	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
rovnost	48	0,291	0,402	0,114	6,18E-02	0,519

Tab. 4. 68 Mediány

skupina	počet vzorků	medián	spodní interval spolehlivosti 95,00 %	horní interval spolehlivosti 95,00 %
ca+	25	0,75	0,571	1
ca-	25	0	0	0,667

Tab. 4. 69 Výsledek Mann-Whitney testu pro rozdíl mediánů

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
0,018	Zamítnuta $H_0 \rightarrow$ Přijata H_A

Tab.4. 70 Výsledek Kolmogorov-Smirnovova testu o shodném rozdělení

p-hodnota	rozhodnutí na 5% hladině významnosti
0,036	Zamítnuta $H_0 \rightarrow$ Přijata H_A

5. Diskuse

Ionizující záření je charakteristické svým přínosem pro člověka například v energetice nebo v medicíně, ale i tím že, může způsobovat závažná poškození lidského organismu. Při vystavení organismu ionizujícímu záření nastává celá řada biochemických změn, které mohou vést k poškození jednotlivých buněčných organel, nejkritičtější je však chromozomy v buněčném jádře, respektive molekula DNA. Lze tedy hovořit o genotoxickém účinku ionizujícího záření. Další osud buněk závisí na míře poškození. Molekula DNA může být zcela opravena nebo opravena s chybou a právě na základě těchto chybných oprav mohou vznikat genové mutace a chromozomové aberace. Po reprodukci buňky se pak mohou objevit fragmenty chromosomů – mikrojádra. Měl-li fragment centromeru, vzniklo mikrojádro s centromerou, pokud fragment centromeru neměl, pak ani mikrojádro ji nemá. Pozorovat je lze pomocí mikrojaderně-centromerového testu. Osoby (horníci, pracovníci v radonových lázních), které pracují v prostředí, kde je přítomno ionizující záření α pocházející z přeměny radonu a jeho rozpadových produktů, jsou tedy predisponováni k vyšší frekvenci chromozomových aberací.

Kryscio A. a kolektiv (2001) provedli výzkum, ve kterém hodnotili frekvenci výskytu mikrojader u bývalých horníků z bývalých uranových dolů Wismut AG bývalé NDR. Překvapivé bylo, to že mikrojádra byly pozorovány i po dlouhém časovém odstupu, protože obvykle mají dobu přežití pouze několik let. Proto lze přítomnost mikrojader v lymfocytech i po desítkách let považovat za důkaz genomické nestability. Horníci byli rozděleni do skupin bez bronchiálního karcinomu a s bronchiálním karcinomem. Mikrojádra byly hodnoceny v tomto výzkumu i dle svého druhu (bez centromery- jsou indukována zářením; s centromerou). A právě u horníků, kteří měli bronchiální karcinom, byla frekvence mikrojader bez centromerty vyšší než u horníků bez bronchiálního karcinomu. A právě toto zjištění tedy jen potvrdilo zjištěnou genomickou nestabilitu.

Původním záměrem diplomové práce bylo zjistit, zda vyšší genomickou nestabilitu vykazují osoby, které mají nádorové onemocnění než osoby, které nádorové

onemocnění nemají. V souboru osob, ze kterých byli jednotlivci vybíráni, však nebylo možné nalézt dostatečně velkou skupinu osob s nádorovým onemocněním a proto byly osoby do skupin vybírány podle toho, zda se u nich nádorové onemocnění vyskytlo v rodině nebo nevyskytlo v rodině.

Zda má na genomickou nestabilitu osob pracujících v prostředí, ve kterém je přítomno hustě ionizující záření α , vliv familiární výskyt nádorového onemocnění jsem zjišťovala u třech skupin pracovníků (horníci z GEAM o. z. Dolní Rožínka, bývalý horníci Příbram, zaměstnanci Lázní Jáchymov). Hodnoceny byly tyto parametry: procentuální podíly dvoujaderných buněk obsahující mikrojádru (MN%) a podíl mikrojader bez centromer (MN CM-).

U skupiny 12 horníků z GEAM o. z. Dolní Rožínka (rozdělení na skupiny po 6: s familiárním výskytem a bez familiárního výskytu nádorového onemocnění) hodnoty obou parametrů (MN%, MN CM-) vykazovaly normální rozdělení na 5% hladině statistické významnosti. Po provedení dvouvýběrového t-testu, Mann-Whitney testu i Kolmogorov-Smirnovova testu pro oba parametry (MN% a MN CM-) byla přijata nulová hypotéza, to znamená, že s 95% pravděpodobností nebyly prokázány statisticky významné rozdíly mezi skupinou s a skupinou bez familiárního výskytu nádorového onemocnění.

Skupina bývalých horníků z bývalých uranových dolů Příbram čítá 20 osob (rozdělení na skupiny po 10: s familiárním výskytem a bez familiárního výskytu nádorového onemocnění). Při statistickém testování parametru MN% hodnoty vykazovaly na 5% hladině významnosti normální rozdělení. T-test, Mann-Whitney test i Kolmogorov-Smirnovova test potvrdily nulovou hypotézu, tzn. že, s 95% pravděpodobností nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi skupinami s a bez familiárního výskytu nádorového onemocnění. Hodnoty MN CM- však nevykazovaly na hladině 5% statistické významnosti normální rozdělení. Z toho důvodu byly použity pouze neparametrické testy Mann-Whitney test a Kolmogorov-Smirnovův test. Tyto testy potvrdily nulovou hypotézu, tzn. že, s 95% pravděpodobností nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi skupinami s a bez familiárního výskytu nádorového onemocnění.

Třetí hodnocenou skupinou byly zaměstnanci radonových Lázní Jáchymov. 18 osob bylo rozděleno po 9 do skupin s a bez familiárního výskytu nádorového onemocnění. Hodnoty obou parametrů (MN%, MN CM-) vykazovaly normální rozdělení na 5% hladině statistické významnosti. Po provedení dvouvýběrového t-testu, Mann-Whitney testu i Kolmogorov-Smirnovova testu pro oba parametry (MN% a MN CM-) byla přijata nulová hypotéza, to znamená, že s 95% pravděpodobností nebyly prokázány statisticky významné rozdíly mezi skupinou s a skupinou bez familiárního výskytu nádorového onemocnění.

Na závěr bylo hodnoceno všech 50 osob, rozděleny byly do dvou skupin po 25 (25 s familiárním výskytem a 25 bez familiárního výskytu nádorového onemocnění). Při statistickém testování parametru MN% hodnoty vykazovaly na 5% hladině významnosti normální rozdělení. T-test, Mann-Whitney test i Kolmogorov-Smirnovova test potvrdily nulovou hypotézu, tzn. že, s 95% pravděpodobností nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi skupinami s a bez familiárního výskytu nádorového onemocnění. Hodnoty MN CM- nevykazovaly na hladině 5% statistické významnosti normální rozdělení. Z toho důvodu byly použity pouze neparametrické testy - Mann-Whitney test a Kolmogorov-Smirnovův test. Tyto testy potvrdily alternativní hypotézu, tzn. že, s 95% pravděpodobností byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi skupinami s a bez familiárního výskytu nádorového onemocnění.

Za velmi důležité je nutné považovat to, že mikrojádra lze najít nejenom u osob, které samy mají nádorové onemocnění, ale i u těch u kterých se nádorové onemocnění vyskytlo v rodině. To lze považovat za důkaz genomické nestability, kterou mají osoby takto dědičně zatížené. Důležité je ale také to, že pokud jsou srovnávány pouze počty mikrojadér, není pozorován signifikantní rozdíl mezi porovnávanými skupinami, pokud jsou však sledovány i druhy mikrojadér (s centromerou, bez centromery), rozdíl mezi skupinami existuje.

6. Závěr

Pomocí mikrojaderně-centromerového testu s použitím fluorescenčního mikroskopu lze z krevních vzorků stanovit počty dvoujaderných buněk obsahující mikrojádra a také druh těchto mikrojader. Na frekvenci výskytu těchto mikrojader má vliv několik faktorů (věk, ionizující záření, kouření, aj).

Cílem této práce bylo porovnat stanovené skupiny na základě počtu a druhu mikrojader a zjistit zda má familiární výskyt nádorového onemocnění vliv dané počty a druhy mikrojader. Důležitá je také prokázaná korelace mezi mnou zjištěnými podíly mnou zjištěnými procentuálními podíly dvoujaderných buněk s mikrojádry (MN%) a hodnotami MN% z výzkumu pana doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzer Ph.D.

Mezi skupinami horníků z o. z. GEAM Dolní Rožínka na základě hodnocení počtu a druhu mikrojader nebyla potvrzena vyšší genomická nestabilita u skupiny s familiárním výskytem nádorového onemocnění.

Při testování skupin bývalých příbramských horníků na základě počtů a druhů mikrojader rovněž nebyla prokázána genomická nestabilita u skupiny s familiárním výskytem nádorového onemocnění.

Zaměstnanci Lázní Jáchymov stejně jako předchozí hodnocené skupiny také neprokázali z hlediska počtu ani druhu mikrojader vyšší genomickou nestabilitu u skupiny s familiárním výskytem nádorového onemocnění.

V závěru testování byly osoby rozděleny do dvou 25-členných skupin pouze podle toho, zda se u nich vyskytlo nádorové onemocnění v rodině či nevyskytlo, při statistickém testování počtu mikrojader nebyla prokázána vyšší genomická nestabilita u skupiny s familiárním výskytem nádorového onemocnění, ale rozdíl mezi těmito skupinami na základě druhu mikrojader (bez centromery) statisticky významný byl. Znamená to tedy že, u osob u kterých se vyskytlo nádorové onemocnění v rodině, vzniklo větší množství mikrojader (bez centromer) než u osob bez familiárního výskytu nádorového onemocnění. Lze tak tedy familiární výskyt rakoviny považovat za důležitý faktor mající vliv na druh vzniklých mikrojader.

Test na počet a přítomnost mikrojaderné je metoda biodozimetrie, kterou lze hodnotit v podstatě jakoukoliv skupinu osob, a právě z toho důvodu jsou v současné době tyto mikrojaderné testy mezi odborníky velmi diskutované téma. Mnou zjištěné výsledky tak mohou přispět do tohoto podoboru radiobiologie, protože je lze použít k porovnání výsledků jiných výzkumů.

7. Klíčová slova

ionizující záření

radioaktivita

účinky ionizujícího záření

biodozimetrie

mikrojádru

nádorová onemocnění

8. Seznam použitých zdrojů

1. KUNA, P., NAVRÁTIL, L., a kolektiv autorů. *Klinická radiobiologie*. 1. vydání. Praha: Manus, 2005. 222 s. ISBN 80-86571-09-2.
2. KOLEKTIV AUTORŮ. *Principy a praxe radiační ochrany*. 1. vydání. Praha: Státní úřad pro jadernou bezpečnost, 2000. 619 s. ISBN 80-238-3703-6.
3. ÖSTERREICHER, J., VÁVROVÁ, J. *Přednášky z radiobiologie*. 1. vydání. Praha: Manus, 2003. 116 s. ISBN 80-86571-01-7.
4. ŠLAMPA, P., PETERA, J. *Radiační onkologie*. 1. vydání. Praha: Galén, 2007. 443 s. ISBN 978-80-7262-469-0.
5. KUPKA, Karel, KUBINYI, Jozef, ŠÁMAL, Martin, a kolektiv autorů. *Nukleární medicína*. 1. vydání. Příbram: P3K, 2007. 185 s. ISBN 978-80-903584-9-2.
6. ŘEZÁČOVÁ, Martina, VÁVROVÁ, Jiřina. *Molekulární mechanismy účinku ionizujícího záření*. 1. vydání. Hradec Králové: RNDr. František Skopec, CSc. - Nucleus HK[®], 2011. 96 s. ISBN 978-80-87009-82-6.
7. HYNKOVÁ, L., ŠLAMPA, P. a kol. *Radiační onkologie- učební texty*. 1. vydání. Brno: Masarykův onkologický ústav, 2009. 242 s. ISBN 978-80-86793-13-9.
8. NAVRÁTIL, Leoš a kol. *Vnitřní lékařství pro nelékařské zdravotnické obory*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing, 2008. 424 s. ISBN 978-80-247-2319-8.

9. NAVRÁTIL, Leoš, ROSINA Jozef a kol. *Medicínská biofyzika*. Praha: Grada Publishing, 2005. ISBN 80-247-1152-4.
10. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Radioactive waste management glossary*. 4. vydání. Vídeň: IAEA Library. ISBN 92-0-105303-7.
11. HALL, Eric, J. *Radiobiology for the radiologist*. 5. vydání. Philadelphia USA: Lippincott Williams and Wilkins, 2000. 588 s. ISBN 0-7817-2649-2.
12. STEEL, Gordon, G. *Basic clinical Radiobiology*. 3. vydání. London Great Britain: Hodder Arnold, 2002. 262 s. ISBN 978-0-340-80783-5.
13. JOINER, Michael, VAN DER KOGEL, Albert. *Basic clinical Radiobiology*. 4. vydání. London Great Britain: Edward Arnold, 2009. 375 s. ISBN 978-0-340-929-667.
14. ZÖLZER, Friedo, FREITINGER SKALICKÁ, Zuzana, HAVRÁNKOVÁ, Renata, HON, Zdeněk, NAVRÁTIL, Leoš, ROSINA, Josef, ŠKOPEK, Jiří. Enhanced frequency of micronuclei in lymphocytes from current as opposed to former uranium miners. *Journal of applied biomedicine*. České Budějovice: 2011, roč. 9, č. 9, s. 1-6. ISSN 1214-0287.
15. VILASOVÁ, Zdeňka, ÖSTERREICHER, Jan, VÁVROVÁ, Jiřina. Biodozimetrie 1: Praktická potřeba biodozimetrie a nejdůležitější aktivované mechanismy po ozáření. *Vojenské zdravotnické listy*. Hradec Králové: 2005, roč. 74, č. 2, s. 81-84. ISSN 0372-7025.

16. VILASOVÁ, Zdeňka, ÖSTERREICHER, Jan, VÁVROVÁ, Jiřina. Biodozimetrie 2: Přehled současných metod a perspektiva biodozimetrie. *Vojenské zdravotnické listy*. Hradec Králové: 2005, roč. 74, č. 3-4, s. 135-139. ISSN 0372-7025.
17. PEJCHAL, Jaroslav, ÖSTERREICHER, Jan, ZÁRYBNICKÁ, Lenka, ŠINKOROVÁ, Zuzana, TICHÝ, Aleš, VÁVROVÁ, Jiřina. Biodozimetrické postupy. *Vojenské zdravotnické listy*. Hradec Králové: 2010, roč. 79, č. 2, s. 64-71. ISSN 0372-7025.
18. ÖSTERREICHER, Jan, VOGT, Jürgen, BUTZ, Tilman, PRŮCHOVÁ, Šárka, MACELA, Tomáš. Vedlejší účinky ionizujícího záření 3: reakce buněk v okolí ozářené oblasti na buněčné úrovni a možnosti jejich inhibice. *Vojenské zdravotnické listy*. Hradec Králové: 2003, roč. 72, č. 6, s. 284-289. ISSN 0372-7025.
19. JOHANNES, J., et al. The yield of radiation-induced micronuclei in early and late-arising binucleated cells depends on radiation duality. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. č. 701. Netherlands: Elsevier, 2010, s. 80-85 ISSN 1383-5718.
20. HADJIDEKOVA, V., B., BULANOVA, Minka, BONASSI, Stefano, NERI, Monica. Micronucleus frequency is increased in peripheral blood lymphocytes of nuclear power plant workers. *Radiation Research*. č. 160. Lawrence: Radiation Research Society 2003, roč. 9, s. 684-690. ISSN 0033-7587.
21. STEFFER, C., MÜLLER, W., U. KRYSCIO, A., BÖCKER, W. Micronuclei – biological indicator for retrospective dosimetry after exposure to ionizing radiation. *Mutation Research*. č. 404. Netherlands: Elsevier, 1998, s. 101-105. ISSN 0027-5107.

22. IAMARCOVAI, G., CEPPI, M., BOTTA, A., ORSIERE, T., BONASSI, S. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes of cancer patients: A meta analysis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. č. 659. Netherlands: Elsevier, 2008, s. 274-283. ISSN 1383-5742.
23. BONASSI, Stefano, ET ALL. Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort study of 22 358 subjects in 11 countries. *Oxford Journals: Carcinogenesis*. č. 6. Oxford: Oxford university press, 2008, s. 1178-1183. ISSN 0143-3334.
24. THIERENS, Hubert, VRAL, Anne. The micronucleus assay in radiation accidents. *Ann Ist Super Sanità*. č. 3. Italy, Roma: Istituto superiore di sanità, 2009, s. 260-264. ISSN 0021-2571.
25. MÜLLER, W.,U., KRYSSCIO, A., STREFFER, C. *Micronuclei in lymphocytes of uranium miners of the Wismut SDAG*. [online] 2012 [cit. 2012-4-5]. Dostupné z: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15162054>>
26. KRYSSCIO, A., MÜLLER, W.,U., WOJCIK, A., KOTSCHY, N., GROBELNY, S., STREFFER, C. *A cytogenetic analysis of the long term effect of uranium mining on peripheral lymphocytes using the micronucleus-centromere assay*. [online] 2012 [cit. 2012-4-5]. Dostupné z: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11683979>>

Internetové zdroje

27. KOLEKTIV AUTORŮ. *Radiobiologie*. [online] 2012 [cit. 2012-2-3]. Dostupné z: <<http://fbmi.sirdik.org/>>
28. RNDr. ULLMANN V. *Jaderná fyzika a fyzika ionizujícího záření*. [online] 2011 [cit. 2011-10-9]. Dostupné z: <<http://astronuklfyzika.cz/strana2.htm>>
29. VALASEK, J. *Detekce ionizujícího záření*. [online] 2012 [cit. 2012-1-3]. Dostupné z: <<http://www.radioaktivita.cz/osveta.html>>
30. UNSCEAR. *DNA repair and mutagenesis*. [online] 2012 [cit. 2012-4-3]. Dostupné z: <<http://www.unscear.org/docs/reports/annexf.pdf>>
31. IAEA. *Dosimetry and Medical Radiation Physics*. [online] 2012 [cit. 2012-1-3]. Dostupné z: <http://www-naweb.iaea.org/NAHU/DMRP/faq/index.html#What_is_Medical_Physics>
32. NAVRÁTIL L. *Klinická radiobiologie*. [online] 2012 [cit. 2012-5-3]. Dostupné z: <<http://www.eamos.cz/amos/kra/modules/external/inex.php?kodkurzu=kra7169>>
34. Fyzika v moderním lékařství. *Nepřímo ionizující záření*. [online] 2012 [cit. 2012-1-3]. Dostupné z: <<http://cz7asm.wz.cz/fyz/index.php?page=nepioza>>
35. SÚRO. *Přírodní radioaktivita a problematika radonu*. [online] 2012 [cit. 2012-2-1]. Dostupné z: <<http://www.suro.cz/cz/prirodnioz>>
36. SÚJB. *Doporučení mezinárodní komise radiologické ochrany 2007: Publikace 103*. [online] 2012 [cit. 2012-2-1]. Dostupné z: <<http://www.sujb.cz/fileadmin/sujb/docs/radiacni-ochrana>>

37. Modern view of evolution. *Type sof mutations*. [online] 2012 [cit. 2012-4-4].
Dostupné z: <<http://bioserv.fiu.edu/~walterm/humanonline/evolution/evolution.htm>>
38. Česká onkologická společnost české lékařské společnosti J. E. Purkyně. *Zdroje a biologické účinky záření*. [online] 2012 [cit. 2012-4-4]. Dostupné z:
<<http://www.linkos.cz/radioterapie-1/zdroje-a-biologicke-ucinky-zareni/>>
39. Genotoxicity: The micronucleus test. *Micronucleus*. [online] 2012 [cit. 2012-4-4]. Dostupné z: <http://www.crios.be/genotoxicitytests/micronucleus_test.htm>
40. MUDr. ŠÍPEK Antonín jr. *Genetika-biologie*. [online] 2012 [cit. 2012-4-4].
Dostupné z: <<http://www.genetika-biologie.cz/mutace>>
41. NTD Resource center. *Biological effects*. [online] 2012 [cit. 2012-4-4].
Dostupné z: <<http://www.ndt-ed.org/EducationResources/CommunityCollege/RadiationSafety/biological/biological.htm>>
42. Journal of nuclear medicine technology. *The electromagnetic spectrum*.
[online] 2012 [cit. 2012-1-3]. Dostupné z:
<http://tech.snmjournals.org/content/32/3/139/F2.large.jpg>
43. Nuclear safety and radiation protection. *Mechanism of biological effects*.
[online] 2012 [cit. 2012-1-3]. Dostupné z:
http://www.kntc.re.kr/openlec/policy/part3/part3_chapter10.htm#CHAPTER_10

9. Přílohy

- Příloha 1** Protokol o zpracování krevních vzorků v laboratoři SÚJCHBO v.v.i.
- Příloha 2** Snímek úseku preparátu, v jehož spodní části je viditelná dvoujaderná buňka obsahující mikrojádro.
- Příloha 3** Grafy znázorňující procentuální podíly dvoujaderných buněk s mikrojádry (Graf x. mnou zjištěné hodnoty, Graf x hodnoty doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzera Ph.D.)

Příloha 1: Protokol o zpracování krevních vzorků v laboratoři SÚJCHBO v.v.i.

Protokol 20-23. 4. 2010

Vzorky krev: Příbram horníci č. 100, 101, 102, 103

Vzorky heparinizované krve byly po 0,5 ml přidány do Petriho misek s kultivačním médiem obsahujícím 20% FCS, fytohemaglutinin (15 μ l/ml) a ATB/ATM 100x koncentrovaný roztok (5ml/500média) a kultivovány 44h/37°C/5% CO₂. Po 44 h od začátku kultivace lymfocytů byl do každé misky přidán cytochalasin B (6 μ g/ml) a vzorky byly kultivovány dalších 24 h při 37°C/5% CO₂. Po 68 h od začátku kultivace byly buňky dále zpracovány:

číslo	počet	hypotonizace 3, stáč.7,do zaschnutí
H100	2	ANO
H101	2	ANO
H102	2	ANO
H103	2	ANO

Buňky s Petriho misek jsou přepipetovány do zkumavky a stočeny (1000 rpm/10 min) a bez další promývání je k peletu přidáno 5 ml lyzačního roztoku (10 mM EDTA, 155 mM NH₄Cl, 10 mM KHCO₃). V tomto roztoku jsou buňky protřepány a ihned stočeny (250g, 6 min). K peletu je opět přidáno 5 ml lyzačního roztoku (10 mM EDTA, 155 mM NH₄Cl, 10 mM KHCO₃). V tomto roztoku jsou buňky opět protřepány a ihned stočeny (250g, 6 min). Pak jsou buňky promyty v promývacím médiu bez fetálního telecího séra (5ml) a znovu stočeny (1000 rpm/ 10 min), (1x).

Vzorky jsou naředěny v 5ml hypotonizačním roztokem v poměru (1/4). Poté jsou buňky ve vzorcích hypotonizovány 3 min.

Buňky jsou nanесeny do komůrek a stočeny (1200 rpm/ 7 min). Po stočení jsou komůrky rozebrány a z podložních sklíčек je přebytečná tekutina odsáta pomocí filtračního papíru, preparáty jsou u vzorků nechány schnout do zaschnutí pomocí proudícího vzduchu.

Buňky jsou fixovány na sklíčkách v 1% paraformaldehydu při laboratorní teplotě 5 min a poté je z podložních sklíčек přebytečná tekutina odsáta pomocí filtračního papíru, preparáty nechány 10 minut zaschnout.

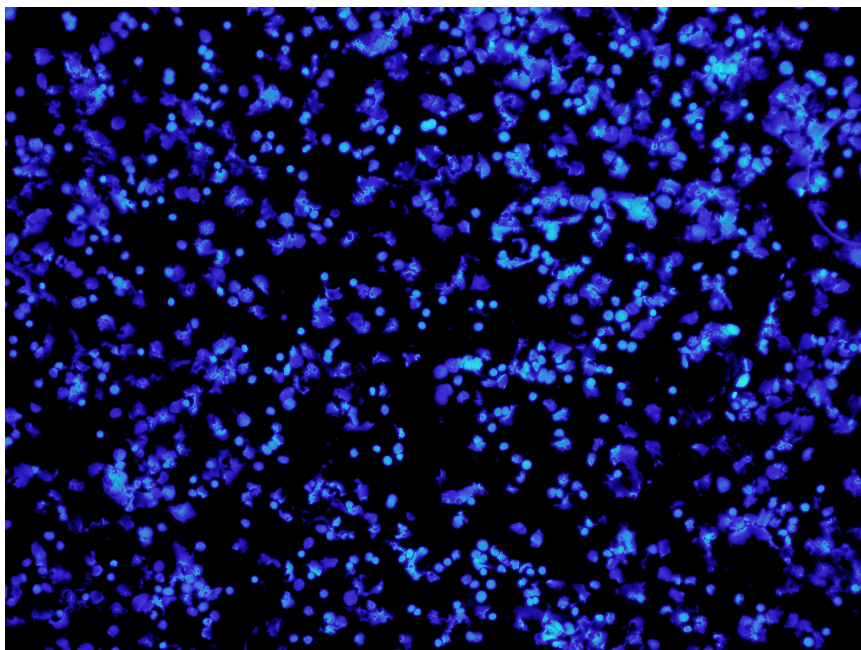
Sklíčka jsou ponořena do komůrek obsahujících: 0,1% Triton X-100 v PBS a permeabilizovány 5 min při laboratorní teplotě.

Po vyjmutí sklíčек z komůrek jsou buňky inkubovány s primární protilátkou CENP-B (H-65), 1:50 ředěnou v 0,1% Triton X-100 v PBS 1 hod. při laboratorní teplotě.

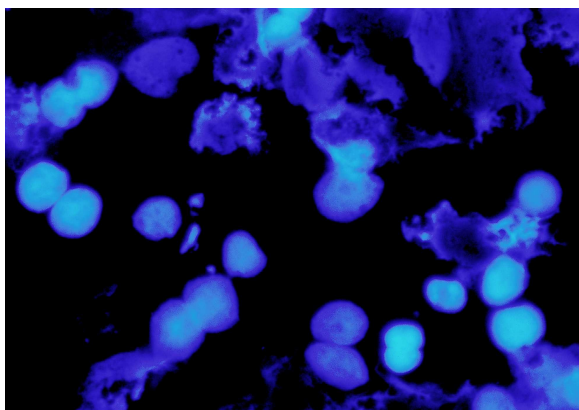
Poté jsou preparáty promyty 3x v komůrkách v PBS a inkubovány se sekundární protilátkou Alexa Fluor 488 goat anti rabbit 1: 500 ředěnou v 0,1% Triton X-100 v PBS 1 hod. při laboratorní teplotě.

Poté jsou preparáty promyty 3x v komůrkách v destilované vodě. Jádra jsou 5min barvena roztokem DAPI. Na závěr jsou preparáty promyty v komůrkách 3x v destilované vodě a 10 minut nechány zaschnout. Na preparáty jsou pomocí ProLong Gold montovacího média přilepena krycí skla.

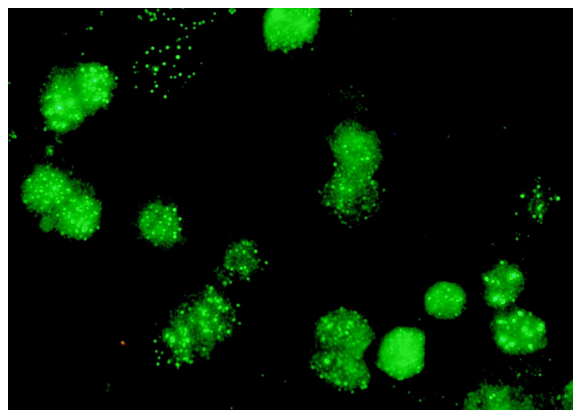
Výsledky:



(a)



(b)



(c)

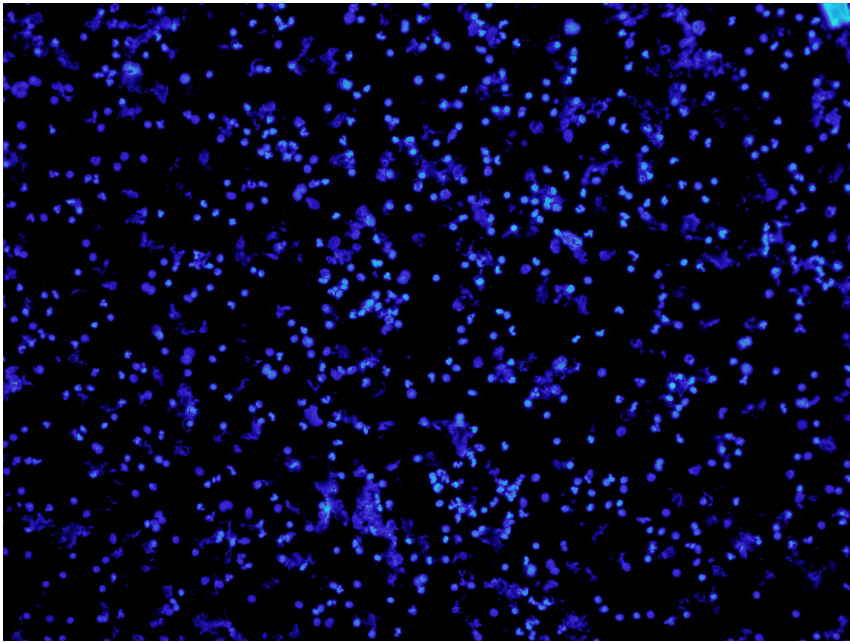
Obr 1.: Vzorek Horník-100

Buňky fixované 1% paraformaldehydem a permeabilizovány v 0,1% Tritonu, hypotonizované 3min, stočené 7 min, sušené do zaschnutí.

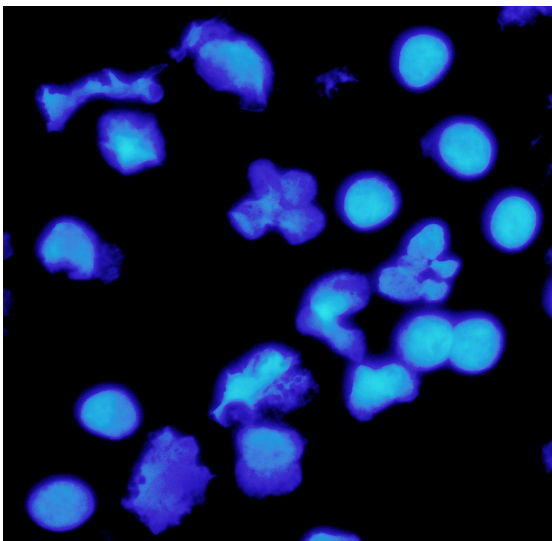
(a) barvení DAPI, zvětšení 100x

(b) barvení DAPI, zvětšení 400x

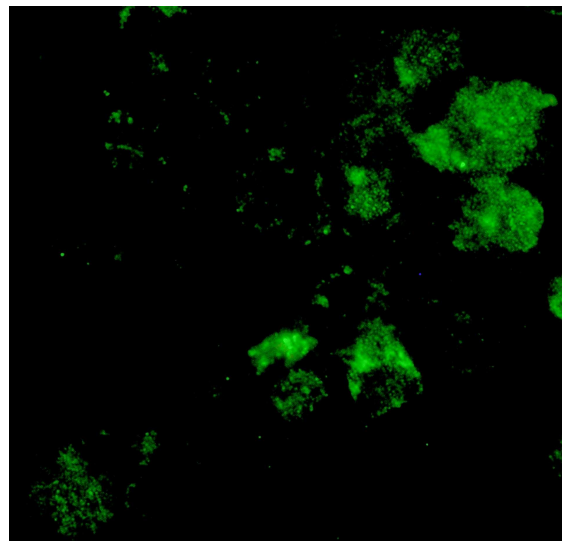
(c) barvení CENP-B(H65) 1:100 a Alexa Fluor 488 1:500, zvětšení 400x



(a)



(b)



(c)

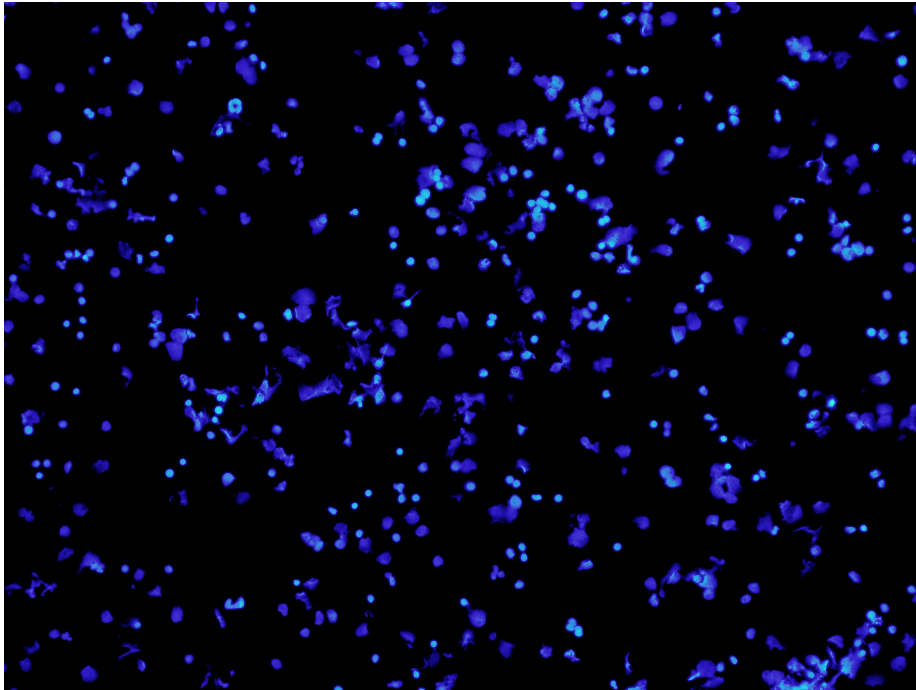
Obr 2.: Vzorek Horník-101

Buňky fixované 1% paraformaldehydem a permeabilizovány v 0,1% Tritonu, hypotonizované 3min, stočené 7 min, sušené do zaschnutí.

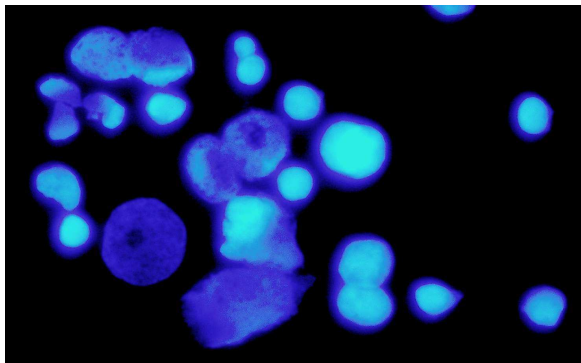
(a) barvení DAPI, zvětšení 100x

(b) barvení DAPI, zvětšení 400x

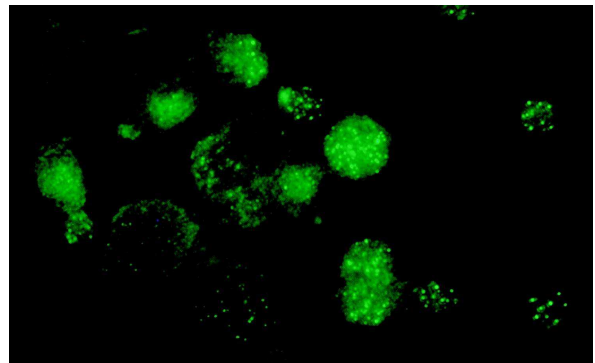
(c) barvení CENP-B(H65) 1:100 a Alexa Fluor 488 1:500, zvětšení 400x



(a)



(b)



(c)

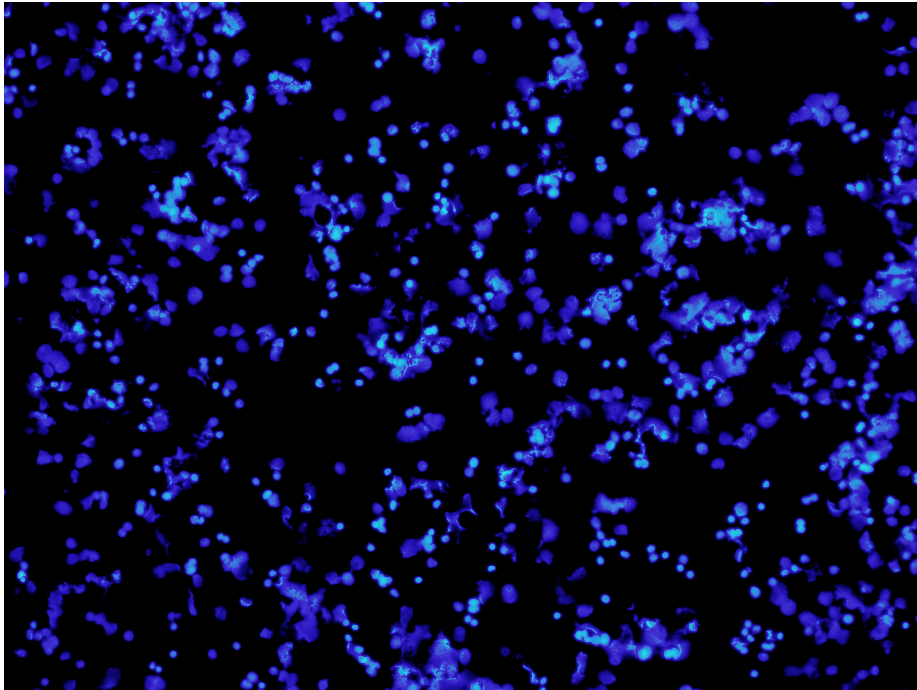
Obr 3.: Vzorek Horník-102

Buňky fixované 1% paraformaldehydem a permeabilizovány v 0,1% Tritonu, hypotonizované 3min, stočené 7 min, sušené do zaschnutí.

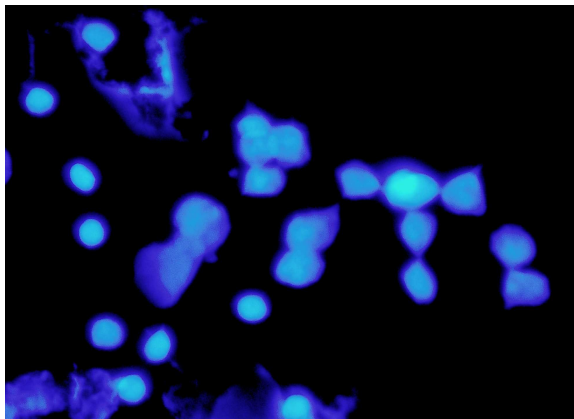
(a) barvení DAPI, zvětšení 100x

(b) barvení DAPI, zvětšení 400x

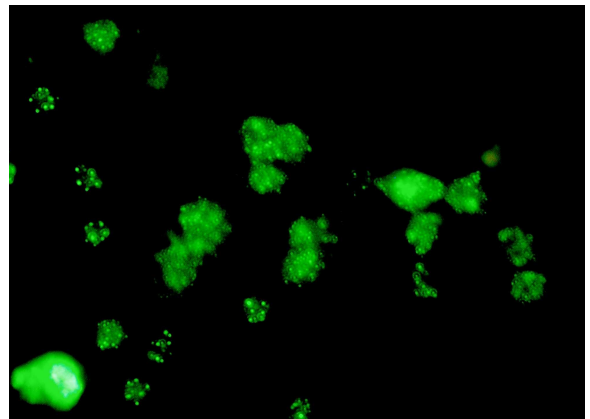
(c) barvení CENP-B(H65) 1:100 a Alexa Fluor 488 1:500, zvětšení 400x



(a)



(b)



(c)

Obr 4.: Vzorek Horník-103

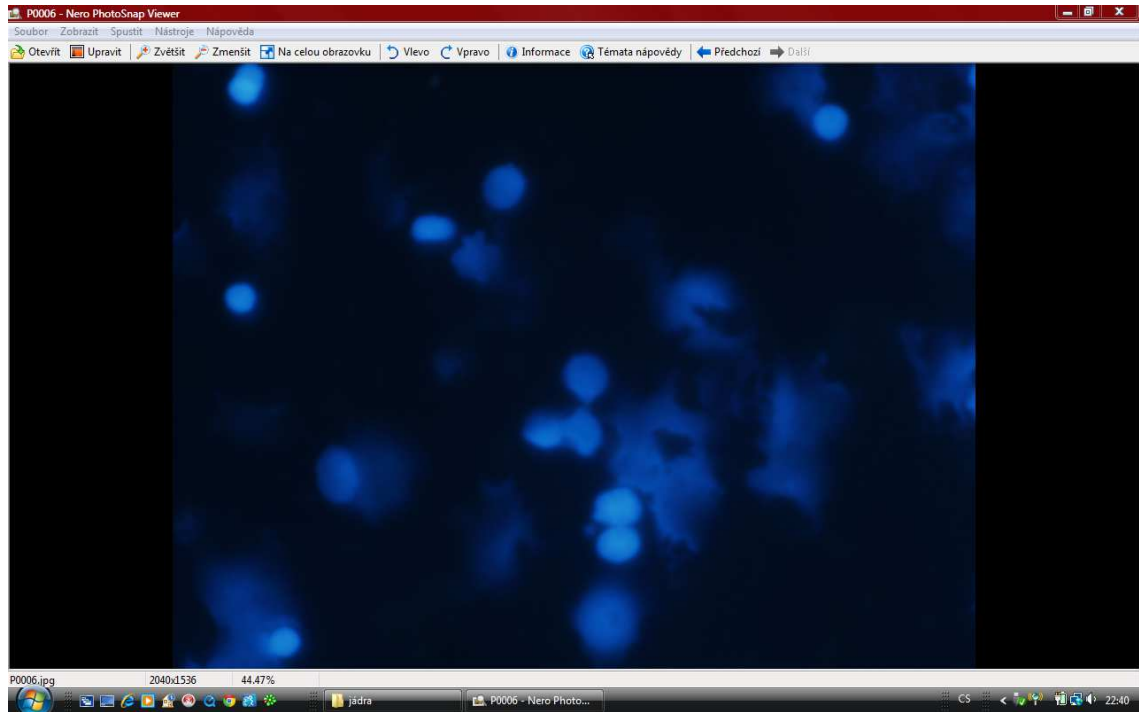
Buňky fixované 1% paraformaldehydem a permeabilizovány v 0,1% Tritonu, hypotonizované 3min, stočené 7 min, sušené do zaschnutí.

(a) barvení DAPI, zvětšení 100x

(b) barvení DAPI, zvětšení 400x

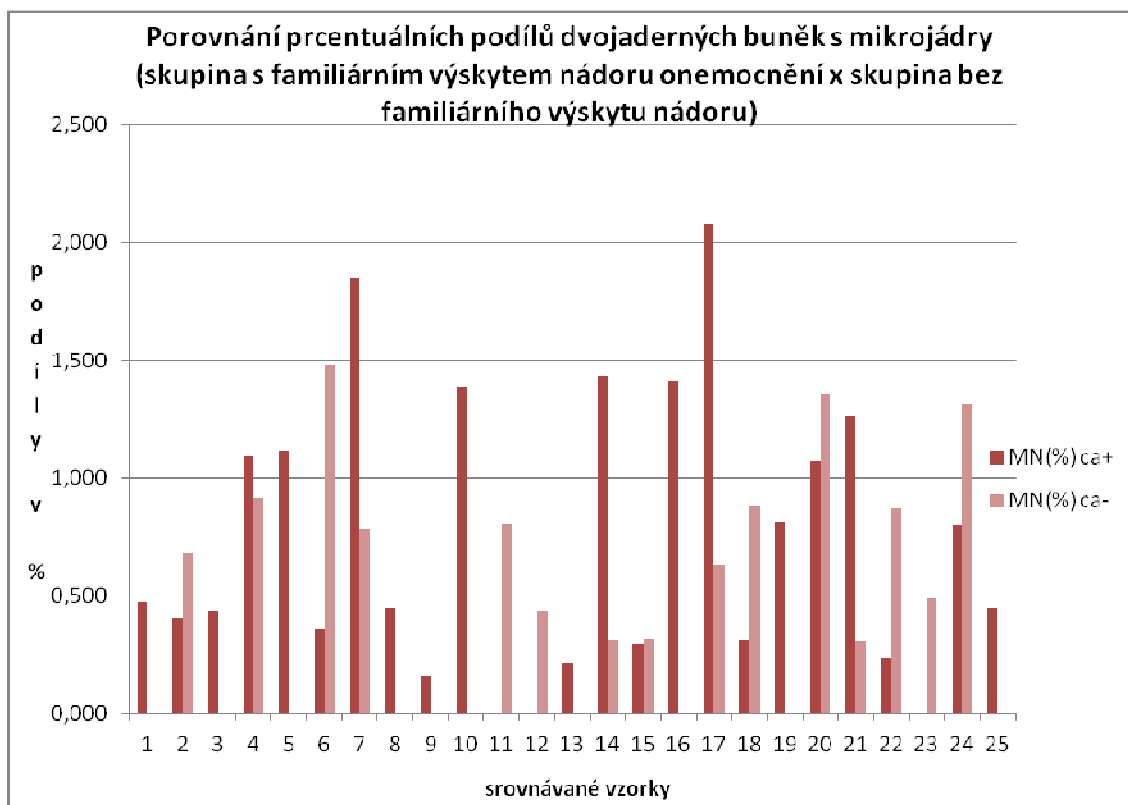
(c) barvení CENP-B(H65) 1:100 a Alexa Fluor 488 1:500, zvětšení 400x

Příloha 2: Snímek úseku preparátu, v jehož spodní části je viditelná dvoujaderná buňka obsahující mikrojádro.



Příloha 3: Grafy znázorňující procentuální podíly dvojaderných buněk s mikrojádry (Graf 1. mnou zjištěné hodnoty, Graf 2 hodnoty doc. Dr. rer. nat. Friedo Zölzera Ph.D.)

Graf 1



Graf 2

