

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

ZDRAVOTNĚ SOCIÁLNÍ FAKULTA

Faktory ovlivňující biologické účinky ionizujícího

záření

(e - learnig)

bakalářská práce

Autor práce: Michaela Nedvědová
Studijní program: B5345 / Specializace ve zdravotnictví
Studijní obor: 5345R010 / Radiologický asistent

Vedoucí práce: doc. Dr. Ph. D. Friedo Zölzer

Datum odevzdání práce: 2. květen 2012

[Zadejte text.]

SHRNUTÍ

Text se zabývá faktory ovlivňujícími biologické účinky ionizujícího záření a je zaměřen na e-learningový program v prostředí Moodle, který by měl sloužit studentům Zdravotně sociální fakulty Jihočeské univerzity. Práce je rozdělena na čtyři hlavní témata, která studentům danou problematiku přibližují a jsou v podstatě shodná s tématy v e-learningovém programu. První zpracovává základní poznatky o DNA a buněčném cyklu, což je důležité pro správné pochopení toho, jak ionizující záření účinkuje na buňku, tkáň a orgány. Ve druhém tématu jsou popsány účinky ionizujícího záření na živou hmotu z několika aspektů – časné a pozdní, deterministické a stochastické, přímé a nepřímé a radiobiologické modely. Ve třetím tématu jsou pak nastíněny faktory ovlivňující biologické účinky ionizujícího záření. Z fyzikálních jsou to dávka, druh záření, dávka záření, rozdělení dávky záření v čase a distribuce dávky v organismu savce, dále jsou uvedeny faktory chemické a biologické. Poslední část se dotýká problematiky některých odlišností v oblasti malých dávek záření.

.

[Zadejte text.]

ABSTRACT

The text deals with the Biological Effects of the Ionizing Radiation affecting Factors and is focused on education Programme in the Moodle e-learning environment for students of the Radiology and Toxicology Department Health and Social Faculty of the University of South Bohemia. The text is composed of four main topics. The first topic arranges the DNA and cell cycle basic knowledges which are very important to the correct understanding of the cell, tissues and organs ionizing radiation affects. In the second topic there are biological effects of the Ionizing radiation to the living matter from the various aspects – early and late, determinstic and stochastic, direct and indirect and radiobiological models described. In the third topic there are outlined the biological effects of the Ionizing radiation such as the dose, time dose distribution and dose distribution in mammalian organism from the physical factors and subsequently are touched chemical and biological factors after that. The last part explains certain differences in the small doses field.

[Zadejte text.]

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou 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 bakalářské 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 své kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 2. 5. 2012

.....

Michaela Nedvědová

[Zadejte text.]

Poděkování

Děkuji panu docentovi Friedo Zölzerovi za rady, poznámky a připomínky bez nichž by tato práce neobsáhla některé důležité údaje.

Děkuji také panu ing. Richardu Šemberovi za pomoc a rady při vytváření e-learningového programu.

[Zadejte text.]

OBSAH

ÚVOD	1
1 SOUČASNÝ STAV	2
1. 1 DNA a její funkce	5
1. 1. 1 <i>Struktury DNA</i>	7
1. 1. 2 <i>Replikace DNA</i>	8
1. 1. 3 <i>Buněčný cyklus</i>	9
1. 2 Biologické účinky ionizujícího záření	12
1. 2. 1 <i>Fáze (stádia) biologických účinků IZ</i>	12
1. 2. 2 <i>Přímé a nepřímé účinky IZ</i>	15
1. 2. 3 <i>Deterministické a stochastické účinky IZ</i>	17
1. 2. 4 <i>Časné a pozdní účinky IZ</i>	19
1. 2. 5 <i>Radiobiologické modelování</i>	25
1. 3 Faktory ovlivňující biologický účinek záření	27
1. 3. 1 <i>Fyzikální faktory</i>	27
1. 3. 2 <i>Chemické faktory</i>	33
1. 3. 3 <i>Biologické faktory</i>	35
1. 3. 4 <i>Radiorezistence a radiosenzitivita</i>	37
1. 4 Problematika v oblasti malých dávek IZ	40
1. 4. 1 <i>Hypersenzitivita k nízkým dávkám</i>	40
1. 4. 2 <i>Bystander effect</i>	41
DISKUZE	42
HYPOTÉZA A METODIKA ZPRACOVÁNÍ	43
VÝSLEDKY	44
ZÁVĚR	47
SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	48
KLÍČOVÁ SLOVA	50

ÚVOD

Proč se věnovat právě tomuto tématu? Oborem, kterému se věnuji přibližně 8 let, je radiologie a z mého pohledu jde o práci poměrně zajímavou a to nejen z pohledu zdravotníka, ale také technika.

O účincích ionizujícího záření a v této souvislosti nutnosti podrobnějšího sledování radiační zátěže se mluví více až v posledních letech, kdy „promořenost“ české populace vyšetřeními s radiační zátěží je velmi vysoká, podobně jako v ostatních civilizovaných zemích. Jedná se tedy o aktuální téma a člověka pracujícího s ionizujícím zářením se navíc dennodenně přímo týká přinejmenším z hlediska radiační ochrany.

Další nezanedbatelný fakt je, že se mi naskytla příležitost prohloubit a utřídit si znalosti dané problematiky. Doufám, že tak je budu moci předat budoucím studentům v co nejsrozumitelnější a nejpřínosnější podobě. Především bych se ráda zaměřila na informace, které bezprostředně souvisí se současnou praxí v oborech, které ionizující záření využívají.

Zřejmě rozhodující pro práci s tímto tématem, souvisejícím s nyní tolik žádoucím e-learningem jako jednou z nejmodernějších praktických a snadno dostupných výukových metod, je ale možnost – byť pouze hypotetická – následného využití vzniklého textu v praxi.

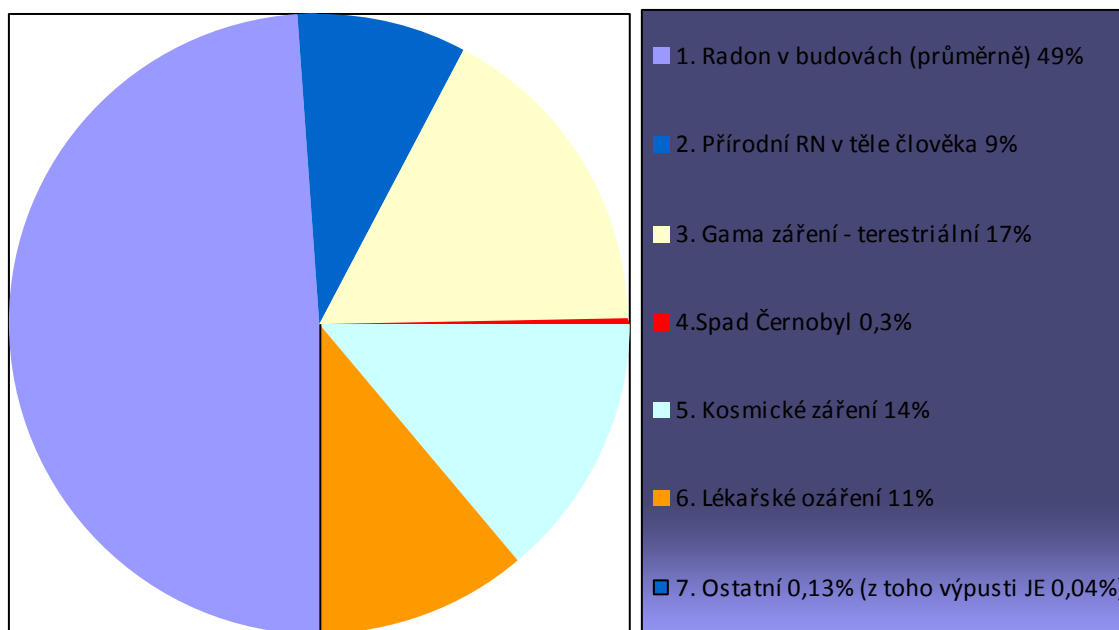
1 SOUČASNÝ STAV

Možností jak se setkat se zdrojem ionizujícího záření (IZ) je několik. Jednak je zde existence přirozeného pozadí, kam patří ozáření ze zdrojů přirozeně se vyskytujících v horninovém prostředí (terestriální záření) a záření přicházející z kosmického prostoru (kosmické záření). Celoroční dávka záření z přirozeného pozadí je kolem 2 mSv, některé zdroje uvádí i 2,7 mSv někdy i 3,5 mSv na osobu, což souvisí zřejmě se stále dokonalejšími systémy měření a jistě i s místem měření. Pro srovnání, při prostém RTG snímku plic je možno obdržet dávku až 0,05 mSv, při CT vyšetření plic dokonce 10 mSv a více – dle postupu vyšetření. Na tomto místě je ještě důležité zmínit radon, neboť představuje značné riziko vážného poškození zdraví, o čemž svědčí i fakt, že představuje téměř polovinu z celkové dávky, obdržené z přirozeného pozadí za celý rok (viz obr. 1) Jedná se o inertní plyn, který se pozvolna uvolňuje z horninového prostředí a vzniká rozpadem Uranu případně Thoria (izotopy Radonu vzniklé jako produkty Thoria však mají velmi krátký poločas rozpadu, proto nepředstavují tak významné zdravotní riziko). Produkty radonu jsou alfa zářiče a inhalací se dostávají hluboko do plic, kde destruktivně působí na jejich tkáň. Hlavním důvodem proč je Rn tak nebezpečný, je, že dceřinné produkty rozpadu radonu – kovy polonium, vizmut a olovo mají nepříjemnou vlastnost usazovat se na povrchu prachových částic a aerosolů, které se volně pohybují v prostředí. Rn navíc neproniká jen do vnější atmosféry; za předpokladu, že je v cestě objekt, proniká i dovnitř tohoto objektu, kde se koncentruje, rozpadá a vytváří část vnitřního mikroklimatu. Největší problém je tedy Rn v uzavřených, nedostatečně větraných obytných prostorách. [15]

Z umělých zdrojů jmenujme mimořádné události, jako byly havárie jaderných reaktorů v Černobyli v roce 1986 a ve Fukušimě po zemětřesení a následné vlně Tsunami v roce 2011, krádež opuštěného radioaktivního zdroje ^{137}Cs v brazilském městě Goiânia. Dalším zdrojem je těžba a úprava radioaktivních rud, zpracování vyhořelého jaderného paliva, radiodiagnostika, radioterapie a nukleární medicína ve zdravotnictví, průmyslové využití v defektoskopii. V minulosti bylo

množství radioaktivního materiálu emitováno do atmosféry při testech jaderných zbraní ve 20. století, přesněji v 50. letech do roku 1962. Částice z výbuchů těchto zbraní se dostaly do vyšších vrstev atmosféry, odkud sice pozvolna sedimentovaly, avšak v takových výškách podléhají i dálkovému přenosu a jejich depozice byla pozorována i ve velkých vzdálenostech od místa výbuchu. Podobná situace pak nastala také po havárii v Černobylu, v důsledku čehož byly zvýšené koncentrace ^{137}Cs a ^{131}I naměřeny např. na Ostravsku a v mase divokých zvířat jsou rozpadové produkty nacházeny dodnes. [15]

Zdá se, že v poslední době jsou v naší zemi tendence k podceňování rizik spojených s IZ. Přestože hysterie jistě není namístě, je nutno říct, že nebezpečí související s využíváním zdrojů IZ je významné a že jejich zlehčování a v jiných končinách naopak přeceňování souvisí především s neznalostí dané problematiky a rovněž s nízkou informovaností.

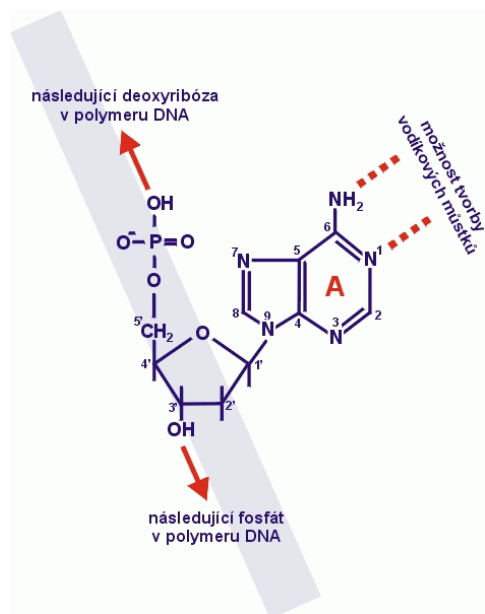


Obr. 1: Grafické znázornění průměrných úhrnů dávek IZ obyvatelstvu ČR (zdroj SÚRO)

Jak vyplývá z názvu, při emisi ionizujícího záření dochází k ionizaci a excitaci, přičemž je absorbována energie. Na tento fyzikální proces navazuje řada dějů, podmíněných složitou organizací živé hmoty. Bylo zjištěno, že množství energie IZ potřebné např. k usmrcení jedince, je neobyčejně malé v porovnání s jinými druhy energie. Tento nesoulad byl jedním z podnětů k vypracování různých teorií o účincích záření na živou hmotu. IZ nemá selektivní účinek a může postihnout kteroukoliv strukturu buňky, kde působí její destrukci. Postižení buňky zářením, např. mutace genů, tak závisí na zasaženém cíli. Kritickým místem, které následkem zásahu IZ především v jádrech buněk může znamenat jejich nevratné poškození vedoucí až k mitotické smrti buňky, je molekula DNA. [5]

1. 1 DNA a její funkce

DNA (deoxyribonucleic acid) se vyskytuje ve všech buněčných organismech. Nese genetickou informaci, v níž je předurčeno, jak má bakterie, houba, rostlina či živočich vypadat a jak budou probíhat veškeré jejich životní procesy. U nebuněčných organismů hraje tuto úlohu RNA (např. RNA viry). Pro život je DNA tedy nezbytnou látkou. Přestože ve své struktuře uchovává genetickou výbavu celého jedince, pouze část této informace je v konkrétní buňce realizována. Pro každou konkrétní buňku však DNA znamená „návod“ pro specifickou realizaci svého programu. V eukaryotních buňkách (rostliny a živočichové, některé viry) je uložena v jádře na chromozómech, přičemž svou vlastní DNA mají také mitochondrie a chloroplasty, zatímco u prokaryot (bakterie) se nachází volně v cytoplasmě. DNA je biologická makromolekula – polymer, tvořený dvěma řetězci nukleotidů ve dvou vláknech. Jednotlivé nukleotidy se skládají ze tří složek – fosfát, cukr deoxyribóza (pentóza), nukleová báze (dusíkaté heterocyklické sloučeniny) – obrázek 2. [13]



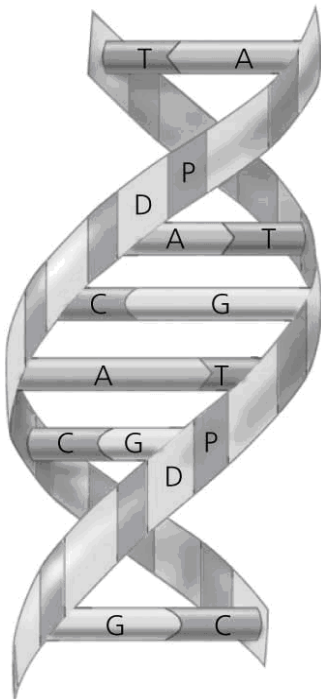
Obrázek 2: Nukleotid se skládá z deoxyribózy, fosfátu a některé ze 4 bází, zde adeninu (A). Zvyklost je nejdříve očíslovat atomy heterocyklických sloučenin (zde báze adeninu 1-9), deoxyribóza se v nukleotidu kvůli odlišení čísluje s apostrofem (1'-5'). Báze se váže na 1'-uhlík deoxyribózy. Kostrou polymeru DNA jsou střídající se deoxyribózy a fosfáty (vázané přes 3'- a 5'-uhlíky deoxyribózy). Osa řetězce je v obrázku zvýrazněna modrým podtiskem. (dostupné z <http://biologie.upol.cz/metody/Slovník/Nukleotid.htm>).

V DNA se v různých kombinacích vyskytují čtyři nukleové báze resp. Deoxyribonukleotidy, v jejichž pořadí je zakódována informace o složení ribonukleových kyselin a bílkovin daného organismu. Dvě purinové adenin (A) a guanin (G) a dvě pyrimidinové (thymin (T) a cytosin (C)). Spojení dusíkaté báze s deoxyribózou se nazývá nukleosid, po navázání některé z bází A, G, T, C jde o nukleotid. Nukleotidy jsou uspořádány do řady za sebou a jejich spojení zajišťují fosfátové zbytky. Spojují uhlík jedné deoxyribózy s uhlíkem druhé. Na uhlík deoxyribózy se váží dusíkaté báze (A, G, T, C), které se navzájem spojují s odpovídající bází z protějšího řetězce a to takto:

$A \leftrightarrow T + T \leftrightarrow A$ (vzájemně spojeny dvěma vodíkovými vazbami)

$C \leftrightarrow G + G \leftrightarrow C$ (vzájemně spojeny třemi vodíkovými vazbami)

Jde o tzv. komplementaritu bází – na určité pozici v molekule je jeden nukleotid z dvojice a v protějším vlákně je druhý z nich, tedy DNA je složena ze dvou komplementárních (ne však identických) vláken – obrázek 3.



Obrázek 3: dvoušroubovice - dihelix DNA a komplementarita bází adenin-thymin, guanin-cytosin

Takto se uchovává v každém z vláken tatáž informace, pouze s tím rozdílem, že jde o vzájemný „negativ“. DNA je tak v organismu uchovávána ve formě pravotočivé dvoušroubovice – dihelix, ve které se nacházejí dva antiparalelní řetězce 5'-3' a 3'-5' (číslování znázorněno na obr. 1). Při sobě je drží vodíkové můstky mezi komplementárními dusíkatými bázemi. Tato struktura se narušuje jen pokud je nutné DNA zreplikovat či použít genetickou informaci v ní ukrytou. Genetická informace se v DNA kóduje pomocí genetického kódu, který přiřazuje k jednotlivým tripletům (trojicím nukleotidů) aminokyseliny. Genetický kód je shodný prakticky u všech organismů (drobné odchylky byly nalezeny u mitochondrií). [12]

1. 1. 1 Struktury DNA

Primární

Je dána pořadím nukleotidů, jejich sekvencí, které jsou do polynukleotidového řetězce. Tato struktura sama přímo určuje genetickou informaci. Dá se znázornit lineárně jako řada nukleotidů, případně zapsat řadou písmen, které odpovídají dusíkatým bázím. Podle konvence se pořadí nukleotidů zapisuje směrem 5' → 3'. Tato struktura určuje pořadí aminokyselin v bílkovinách, přičemž sekvenci nukleotidů, které kódují jednu bílkovinu, nazýváme gen. Soubor všech genů nacházejících se v buňce se nazývá genom. Většina genů potřebných pro život se v eukaryotech nachází v jádře na chromozómech, částečně v mitochondriích a u rostlin v chloroplastech. U prokaryot na tzv. prokaryotním chromozómu a v plasmidech, jak již zmíněno. Právě porucha této struktury DNA, tedy porucha v sekvenci nukleotidů, působí genetické poruchy. [12]

Sekundární

Forma stočení dvoušroubovice. Vlákna DNA se přirozeně stáčí do dvoušroubovice, avšak forma stočení není vždy za všech podmínek stejná. Jiná je in vitro, jiná in vivo a má vliv na reaktivitu molekuly. [13]

Vyšší úrovně struktury

Velmi dlouhá molekula DNA není jen neuspořádaným klubkem náhodně zamotaného vlákna. Celá molekula se velmi pečlivě několikanásobně navíjí a skládá do tzv. nadšroubovicového vinutí – chromatinová vlákna. Stavbu chromatinových vláken spoluvytváří také specifické proteiny – např. histony, které vytváří komplexy s DNA. [12]

1. 1. 2 Replikace DNA

Je jí dána schopnost DNA zajišťovat dědičnost. Je to proces, kdy z jedné mateřské molekuly DNA vzniknou dvě identické DNA dceřiné (každá s jedním vláknem z původní DNA). Toto zdvojování se nazývá semikonzervativní replikace – řízený proces přesného kopírování sekvence DNA na základě výše zmíněné komplementarity nukleových bází. Při vlastní syntéze DNA se obě vlákna původní molekuly začnou od sebe vzdalovat a rozplétat působením helicázy, jakoby se rozepínal zip. Do rozevřené DNA se na obě vlákna připojí enzym RNA-polymeráza a vytvoří na každém vlákně krátký úsek RNA (tzv. primer). Na něj se pak napojuje nově vytvořená DNA. Zásadní úlohu při replikaci DNA mají enzymy DNA polymerázy. U člověka se vyskytuje 5 druhů těchto enzymů. Aby DNA polymeráza mohla zahájit připojování nukleotidů nového vlákna DNA, musí být nejprve narušeny vodíkové můstky. Místa kde tato narušení vzniknou, jsou označována jako replikační body – lokus OriC. U jednobuněčných pouze jeden, zatímco u lidské DNA vzhledem k její velikosti a tedy urychlení procesu replikace desítky tisíc. Poté co jsou k templátovým (vzorovým, původním) vláknům syntetizována vlákna nová, replikace DNA je dokončena. DNA polymeráza udělá 1 chybu asi na 10^7 replikovaných bází (mohou vznikat i dvojice G-T a A-C, jsou ale značně nestabilní), navíc má sama korekční funkci. V následujícím procesu dělení buněk, probíhá v podstatě současně, se každá z molekul začne skládat do chromatinu, do chromozómů a je spolu s chromozómem citlivě řízeným procesem oddělena do dceřiné buňky. Při replikaci i přes výše zmíněnou funkci samokorekce DNA polymeráz může být ve výsledném genetickém materiálu množství chyb. Proto mají buňky řadu metod opravy DNA, jak toto poškození napravit (reparační procesy). [12]

1. 1. 3 Buněčný cyklus

Pro pochopení buněčných mechanismů účinků IZ je potřeba nastínit fungování buněčného cyklu a jeho regulace. Buněčný cyklus je perioda mezi dvěma buněčnými děleními a má čtyři specifické fáze.

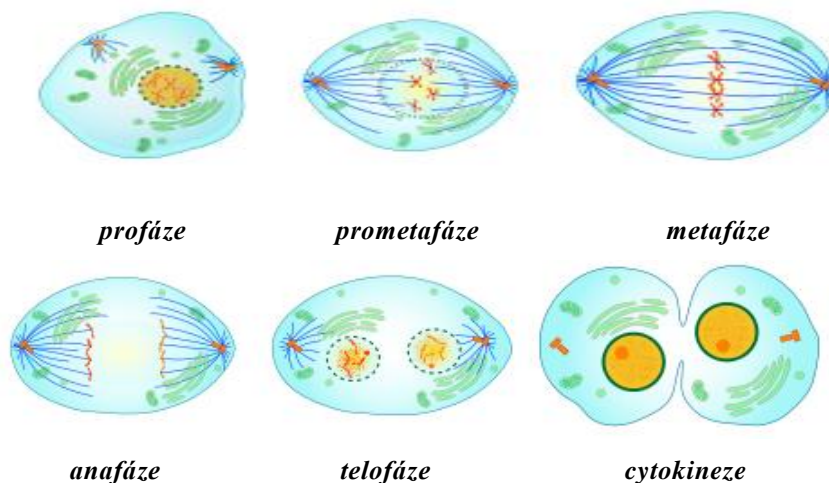
G₁ fáze (G z angl. gap, mezera) je nejdelší, buňka je těsně po rozdělení a probíhají v ní normální fyziologické procesy. Dochází ke zdvojení buněčné hmoty, tvoří se RNA, proteiny, zásoba nukleotidů a enzymů pro replikaci DNA, buňka roste.

G₀ fáze – z G₁ fáze může buňka pokračovat v cyklu fází S nebo vstoupit do klidové G₀ fáze, ve které se již dále nedělí. Jde většinou o vysoce diferencované buňky, např. neurony. Jiné buňky, např. hepatocyty, jsou schopny v případě potřeby přejít z G₀ fáze do G₁ fáze a začít se opět dělit.

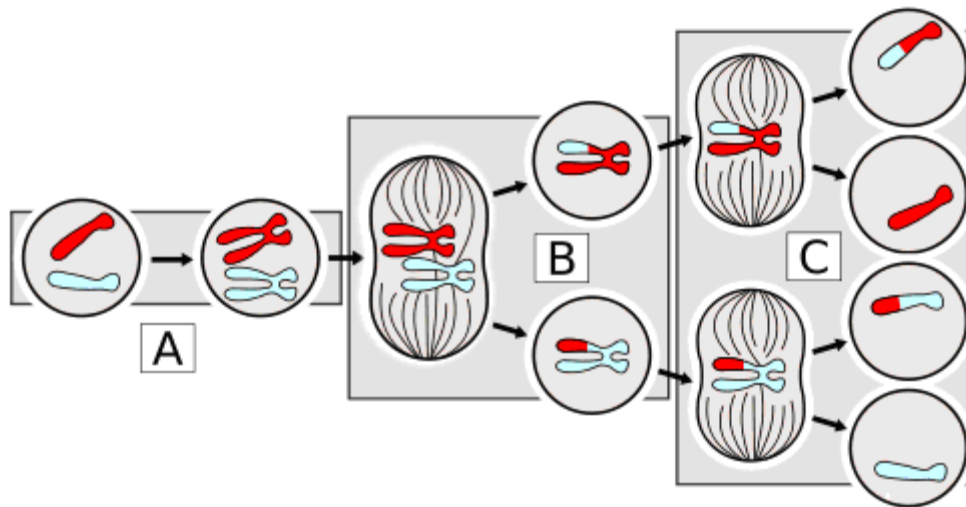
S (synthesis) fáze je náročná na energii neboť dochází k replikaci DNA na dvojnásobné množství, všechny chromosomy jsou na konci této fáze zdvojeny.

G₂ fáze nastává po skončení replikace DNA, zdvojují se organely, tvoří se struktury potřebné pro dělení buňky.

M fáze sestává ze dvou částí. Jaderného dělení – karyokineze a vlastního dělení buňky – cytokineze. Častější **mitózy** somatických buněk (obr. 4), kdy z mateřské buňky vznikají dvě zcela identické buňky dceřiné a **meiózy** (obr. 5) při níž vznikají buňky haploidní, typicky buňky pohlavní (s polovičním počtem chromozómů). [1]



Obr. 4: Jednotlivé fáze mitotického dělení (modifikováno podle <http://www.genetika-biologie.cz/mitoza>)

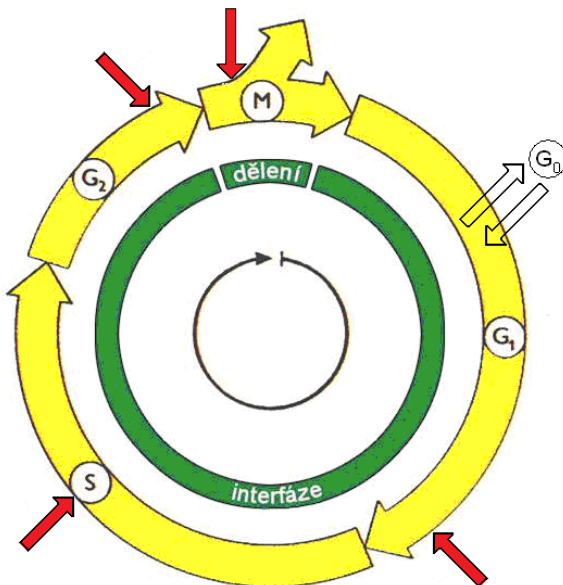


Obr. 5: Hlavní fáze meiotického dělení: A – replikace DNA, B – meióza I, C – meiózaII (modifikováno dle http://www.ncbi.nlm.nih.gov/About/primer/genetics_cell.html)

Z výše popsaného vyplývá, že buněčný cyklus je složitý proces, který musí podléhat regulaci. Stěžejními jsou tzv. kontrolní body (checkpoints), které se nachází v klíčových místech buněčného cyklu a slouží k posouzení stavu buňky a její schopnosti v cyklu pokračovat (obr. 6). Pokud je kontrolním mechanismem signalizován problém, cyklus je zastaven a spustí opravné mechanismy, případně mechanismy vedoucí k programované smrti buňky. [1]

Nejdůležitější kontrolní body se nachází v místě přechodu G1/S fáze, a dále G2/M fáze. Přejít z jedné fáze do druhé je koordinován systémem enzymů, jejichž aktivita je zase ovlivňována mimo jiné inhibitory. Nejdůležitějším proteinem, který kontroluje buněčný cyklus, je **p53**, mnohdy označovaný jako strážce genomu. Působí v přechodu G1/S fáze, tedy těsně před zahájením replikace DNA. Jeho aktivace v G1 fázi pak vede k zastavení buněčného cyklu a zahájení reparace DNA tak, aby byla zajištěna maximální přesnost replikace DNA. Po skončení oprav se množství p53 sníží a cyklus pokračuje dál k replikaci. Jestliže dojde k poškození v premitotické fázi nebo je poškození natolik závažné, že nelze opravit, p53 vede buňku k buněčné smrti cestou apoptózy. Reparace DNA

je možná několika mechanismy. U jednoduchých zlomů odstraněním postižených bází (*BER* - *base excision repair*) nebo části řetězce s lézí nukleotidu (*NER* - *nukleotid excision repair*). Složitější je reparace dvojitých zlomů ve fázi buněčného cyklu, kdy nejsou přítomny sesterské chromatidy a často dochází jen ke spojení zlomů bez oprav. Tím se zvyšuje riziko vzniku mutací. Neopravitelné poškození genomu buňky může vést signálem uvnitř buňky k její programované smrti - k apoptóze. Další možností reakce na ireparabilní poškození je mitotická smrt. Buňky nejsou schopny projít mitózou a následně hynou a nebo projdou i několika mitózami ale pak stejně zanikají. [4]



Obr. 6: Buněčný cyklus, jeho fáze a kontrolní body (checkpoints) – naznačené červenými šipkami (modifikováno dle http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Bunecny_cyklus1.jpg)

1. 2 Biologické účinky ionizujícího záření

Na účinky IZ se lze dívat z několika aspektů. Z hlediska mechanismu působení na fyzikální, fyzikálně-chemické a chemické úrovni mohou být účinky IZ přímé nebo nepřímé, z hlediska vztahu dávky a účinku stochastické či deterministické, z hlediska doby nástupu a časového průběhu se lze zabývat účinky časnými a pozdními, somatickými a genetickými. Je nutné si uvědomit, že tyto pohledy na účinky IZ se vzájemně prolínají. Obdobně lze nahlížet mechanismy působení IZ, tedy mechanismy na fyzikální úrovni, na chemické úrovni, na biomolekulární úrovni, na buněčné úrovni, na tkáňové úrovni. Znalost toho co a jak se odehrává na fyzikální úrovni, vysvětluje děje na úrovni chemické, následně na biomolekulární atd., přičemž tyto děje na sebe navazují jeden na druhý s tím, že určitý děj může být na některé z následujících úrovní zastaven. Např. chemický účinek IZ nemusí nutně vyvolat účinek na úrovni tkáňové díky obranným mechanismům na úrovni biomolekulární nebo buněčné.

1. 2. 1 Fáze (stádia) biologických účinků IZ

K nástupu biologických účinků IZ nedochází ihned, ale ve čtyřech významných fázích, které se vyznačují odlišnými, různě rychle probíhajícími procesy (obr. 8) [6]

Fyzikální

Časový úsek primárních účinků. Při interakci kvanta IZ s hmotou dochází k absorpci energie v atomech nebo molekulách a následně, v podstatě okamžitě, k ionizaci a excitaci atomů. Různé druhy emitovaného záření mají zpravidla značně vysokou energii, mnohem větší než obvyklé světlo. Tato vysoká energie **kvant** ionizujícího záření – IZ je totiž hmotou absorbováno nikoli spojitě, ale po diskrétních množstvích, tedy kvantech – a také některých dalších druhů záření, je důležitou vlastností, rozhodující o účincích záření na hmotu, přičemž IZ je myšleno takové záření, jehož kvanta mají natolik vysokou energii, že jsou schopna

vyřázet elektrony z atomového obalu a tím látku ionizovat. Aby IZ mohlo ionizovat, potřebuje určitou energii, min. 33 eV, nebo určitou vlnovou délku max. 40 nm, přičemž je jasné, že energie IZ a vlnová délka spolu souvisí nepřímo. Energie záření je předávána především orbitálním elektronům. Pokud mají uvolněné elektrony dostatečně vysokou energii, vytvářejí kaskádu excitací a ionizací dalších atomů. Při absorpci dávky 1Gy tkání se vytváří přibližně 10^5 ionizací v každé ozářené buňce. Tento primární proces je velmi rychlý a trvá cca $10^{-16} - 10^{-14}$ sekund. [17]

Fyzikálně – chemická

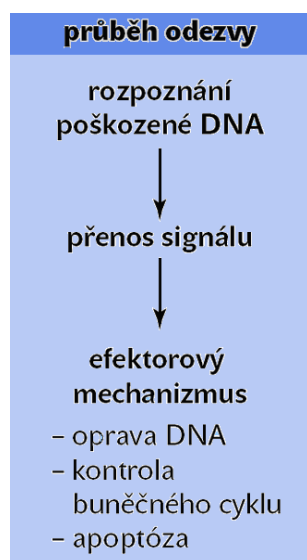
Je dobou mezimolekulárních interakcí spojených s absorpcí energie a vlastním energetickým transferem. V důsledku ionizace a excitace jsou narušeny chemické vazby mezi atomy a molekulami, dochází k interakcím vzniklých iontů s molekulami, při nichž dochází k disociaci molekul za vzniku volných radikálů a následně produktů schopných oxidace (H_2O_2 , HO_2). Tento proces je rovněž velmi rychlý, ne delší než $10^{-14} - 10^{-10}$ sekund. [17]

Chemická (biochemická)

Tvorba volných radikálů a jejich interakce s biologicky významnými molekulami, především s NK, proteiny, enzymy, mění jejich složení a funkci. V případě DNA dochází k poškození všech jejích složek (bází, cukrů, fosfátů) jsou narušeny chemické vazby. Typicky dochází ke zlomům vláken DNA. Jednoduché zlomy (single-strand breaks - SSBs) vznikají častěji a jsou zpravidla reparable. Dvojitě zlomy (double-strand breaks - DSBs) vznikají při poškození obou vláken současně nebo ze dvou jednoduchých zlomů blízko sebe. Zvláště v případě hustě ionizujícího záření mohou vznikat i celé klastry poškození, tzv. LMDS (Locally Multiply Damaged Sites). Tato poškození buňka opravuje hůře anebo vůbec. Dále mohou vznikat atypické vazbové můstky (cross-links) uvnitř dvouvlákna DNA, lokální denaturace, modifikaceází a další chemické změny. Chemické stadium trvá od tisícín sekundy po řádově jednotky sekund a závisí na době, která je nutná pro vznik jednotlivých poškození. [16]

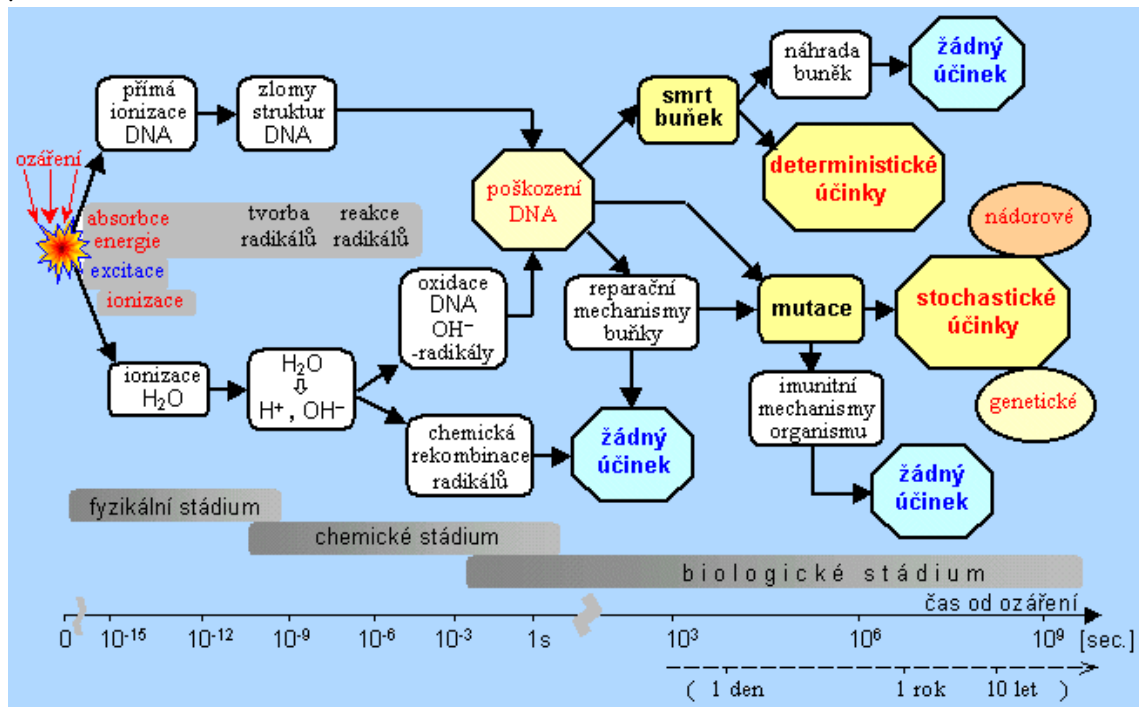
Biologická

Jedná se o komplex interakcí produktů předešlých fází na různých úrovních organismu. Dochází k rozvoji biologické odpovědi na základě molekulárních změn v biologicky významných látkách. Na základě rozpoznání poškození DNA jsou v buňce aktivovány signální řetězce, další postup závisí na míře poškození a stadiu buněčného cyklu, ve kterém se buňka nachází (obr. 7). Podle těchto faktorů kolísá délka fáze od sekund na buněčné úrovni po léta na úrovni tkáňové a následně celého organismu. [5]



Obr. 7: Po ozáření buněčné populace zůstává část buněk geneticky (vyvoláním mutace) nepoškozených. Ale mohou být zvýšeně vnímavé na možný vznik poruch v jednotlivých buňkách příštích generací (dostupné z <http://www.vesmir.cz/clanek/male-davky-zareni-a-riziko-rakoviny>)

Rozmanitost a dlouhodobější rozložení biologických změn souvisí se složitostí biochemických a metabolických pochodů v živých organismech. Biologické stádium se na úrovni celého organismu může somaticky projevit při vysokých dávkách záření již po několika desítkách minut, při středních dávkách během několika dní (ANO, akutní poškození kůže) a při poškození nízkými dávkami IZ může vykazovat dobu latence několika let nebo i desítek let (pozdní stochastické účinky – dříve poměrně obvyklé u rentgenologů po časté a především opakované expozici rukou, očí). [5]

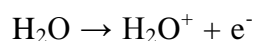


Obr. 8: Znázornění nejdůležitějších procesů biologických účinků ionizujícího záření a jejich časová posloupnost. Logaritmické měřítko na časové ose je v některých úsecích upraveno tak, aby jednotlivé děje mohly být zakreslené přehledně (zdroj: <http://astronuklfyzika.cz/RadiacniOchrana.htm>)

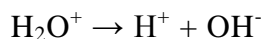
1. 2. 2 Přímé a nepřímé účinky IZ

Teorie přímého účinku IZ je označována jako teorie zásahová a její podstatou je fyzikální a fyzikálně-chemický proces absorpce energie záření vedoucí k přímým změnám ve významných buněčných strukturách. Převládá v buňkách s nízkým obsahem vody. K poškození důležitých částí buňky, tedy DNA, nastává při přímém zásahu kvantem záření, při němž dochází k lokální absorpci energie, ionizaci a následné chemické změně zasažené struktury (obr. 9 nahoře, obr. 8 horní větve fyzikálně-chemického stádia). Tento mechanismus má ale víceméně druhořadý význam, protože pravděpodobnost "přímých zásahů" je poměrně nízká a tak by citlivost živé tkáně k záření musela být podstatně menší, než je pozorováno. Přímý účinek se může výrazněji projevit v případě hustě ionizujícího záření (např. částice α , tedy proud prostých Heliových jader ${}^4_2\text{He}$). [18]

K vysvětlení chování živé hmoty po expozici IZ, které je skutečně pozorované, je proto třeba hledat jiný mechanismus, a tím je účinek nepřímý, způsobený produkty radiolýzy vody. Tento účinek je zvláště významný a hojnější než účinek přímý a to proto, že cytoplazma buňky je téměř celá tvořena vodou. Ionizována tak může být kterákoli buněčná molekula. Ionizace molekulu vody destabilizuje,

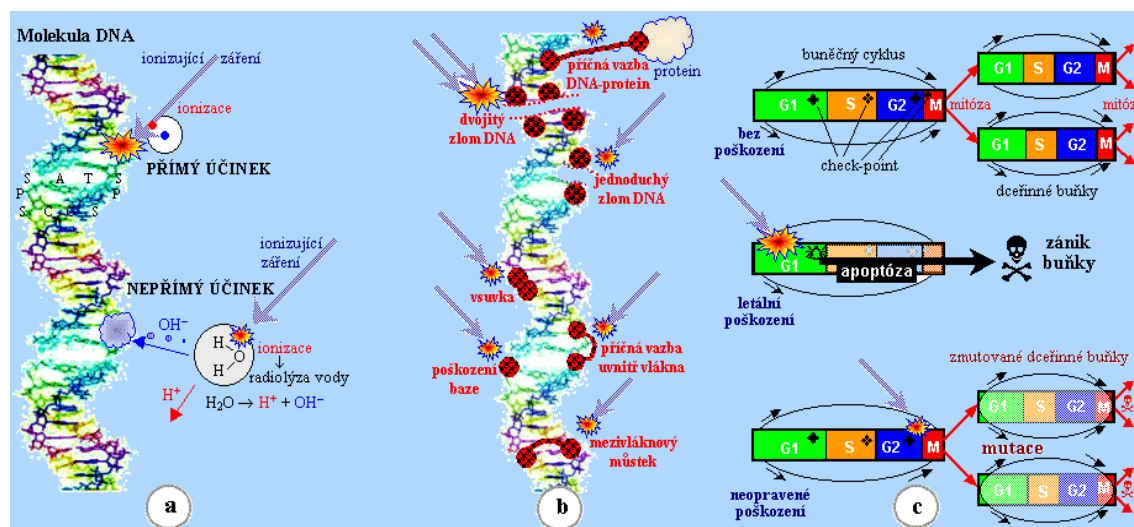


a ta se poté ve velmi v krátké době se rozpadá na vodíkový iont (H^+) a hydroxylový radikál (OH^\cdot).



Radikály jsou nenabitě molekuly s lichým počet elektronů. Díky těmto nespárovaným elektronům (označený tečkou) jsou radikály abnormálně reaktivní činidla, neboť elektrony mají tendenci se ihned začít párovat. Radikály mohou difundovat a na krátké vzdálenosti od místa svého vzniku zasahovat a poškozovat kritické biomolekuly v buňce. Mohou také reagovat s dalšími ionty či radikály, přičemž pro buňky má likvidační následky především reakce $\text{OH}^\cdot + \text{OH}^\cdot$, která vede k vytvoření peroxidu vodíku (H_2O_2) nesmírně účinného oxidačního činidla. Mohou vznikat i další volné radikály. Teorie nepřímého účinku – teorie radikálová – má za základ chemický přenos energie a jak plyne z předchozího textu, převažuje v buňkách s vysokým obsahem vody. Je udáváno, že nepřímý účinek je zastoupen přibližně v 70 %.

Účinky záření se projevují na celé úrovni buňky. Dochází ke změnám rozmnožovací aktivity, kdy je dočasně zastavena proliferace nebo dojde k reprodukční smrti buněk – dočasné uchování funkce při ztrátě proliferační schopnosti, případně dojde ke kumulaci radiačních změn v buňce, které mohou vyústit v neschopnost další mitózy nebo apoptózu (obr. 9). [5]



Obr. 9: Radiobiologické účinky na subcelulární úrovni: **a) Nahoře:** Při ataku molekuly DNA dojde k ionizaci a přímému účinku. **Dole:** IZ interaguje s molekulou vody, dochází k radiolýze vody za vzniku volných radikálů **b)** Druhy poškození DNA **c)** Účinky IZ v průběhu buněčného cyklu. (zdroj: <http://astronuklfyzika.cz/RadiacniOchrana.htm>)

1. 2. 3 Deterministické a stochastické účinky IZ

Z hlediska vztahu dávky a účinku jsou rozlišovány účinky **stochastické** – především pozdní a genetické a **deterministické** – časně a především somatické. Je ale důležité zmínit, že se mohou vzájemně překrývat.

Stochastické účinky jsou účinky vyvolané změnami v genetické informaci buňky (mutacemi) a předpokládá se pro ně bezprahový, lineární vztah mezi dávkou a účinkem. Závislost těchto účinků na dávce má statistický charakter a proto pro ně bylo zavedeno označení účinky stochastické (pravděpodobné, náhodné). Velikost dávky záření nemění závažnost projevu jednotlivce, ale v populaci mění frekvenci přídatné četnosti zhoubných novotvarů a dědičných poškození v důsledku mutací. S dávkou tedy vzrůstá pro jednotlivce pravděpodobnost poškození. Klinický obraz těchto účinků není typický, neodlišuje se od "spontánně" vzniklých případů. Bezprahovost závislosti v oblasti velmi nízkých dávek se ale pouze **předpokládá**, což vyvolává otázky, zda IZ v oblasti velmi malých dávek nepůsobí na organismy příznivě. „Podle nejnovějších závěrů Mezinárodní komise pro radiologickou ochranu (ICRP – International Commission

on Radiological Protection) v současné době neexistují o takových účincích důkazy. Jedná se zřejmě o průvodní nález v průběhu reparačních dějů“. [8]

Někteří autoři nicméně odkazují na studie, které uvádí, že ionizující záření může v oblasti velmi nízkých dávek stimulovat chromozómové reparace a to i ty, které by jinak signálnímu systému buněk mohly uniknout, což pak vede k pozitivnímu účinku IZ. Týká se pouze řídky ionizujícího záření, nikoli tedy např. silně toxického záření alfa. Tento jev se nazývá radiační hormeze (z řec. hormaein – vybudit, posílit). [7]

O **deterministických účincích** hovoříme, pokud v důsledku ozáření dochází ke smrti části exponované buněčné populace. Jejich závažnost vzrůstá s dávkou od určitého dávkového prahu, pod nímž se účinek neprojeví, a mají charakteristický klinický obraz. S rostoucí dávkou pak roste nejen pravděpodobnost vzniku poškození, ale zvyšuje se také závažnost poškození daného jedince. Při ozáření souboru osob tedy roste počet jedinců, u nichž lze poškození prokázat, přičemž při vyšších dávkách se účinky projeví u každého. Základním patogenním mechanismem je snížení počtu buněk v ozářené tkáni, na kterém se následně podílí i toxické látky, vznikající při zániku a rozpadu velkého počtu buněk. V ozařované buněčné populaci je zpravidla velká funkční rezerva, takže pokles počtu buněk se stoupající dávkou zpočátku nezpůsobuje žádné funkční potíže a k somatickým projevům vede teprve deficit buněk po obdržení vyšších dávek záření. Udávaná hodnota celotělové prahové dávky pro člověka kolem 1Gy je průměrná a orientační, každá tkáň má obecně jinou prahovou dávku projevu deterministických účinků, závislou na radiosenzitivitě buněk a funkční rezervě. Pro typickou existenci dávkového prahu – nejsou náhodné – bývají označovány deterministické účinky též jako nestochastické. Do této skupiny patří např. akutní nemoc z ozáření (ANO) nebo postradiační erytém (zánět kůže). [5]

Stochastické a deterministické účinky záření od sebe nelze vždy striktně oddělit, protože základní intracelulární mechanismy a některé vnější aspekty mají společné. Při středních a vyšších dávkách je počet usmrcených buněk natolik velký, že statistické fluktuace se prakticky neprojevují a výsledná závislost má deterministický

charakter, přestože mechanismus deterministických účinků spočívá v radiačním usmrcování buněk, které má na buněčné úrovni charakter pravděpodobnostní (tj. "stochastický"). I při dávkách nižších než prahových, u nichž se většinou uvažuje pouze o stochastických účincích, dochází skrytě k usmrcování určitého menšího počtu buněk, což se neprojevuje proto, že zbylé nepoškozené buňky stačí zajistit funkční potřebu tkáně nebo orgánu a jsou včas nahrazeny dělením nepoškozených buněk. Je třeba si také uvědomit, že spolu s časnými účinky deterministickými se latentně mohou uplatňovat i pozdní účinky stochastické, pokud organismus deterministické účinky přežije. Tento jev bývá pozorován např. při radioterapii. Je založená na deterministických účincích IZ na nádorovou tkáň a vedle akutní radiotoxicity se po delším čase mohou vyskytnout sekundární postradiační malignity. Jsou způsobeny stochastickými účinky části záření, která byla absorbována v okolí cílového objemu, což je samozřejmě negativní jev. [6]

Vlastnosti	Deterministické účinky	Stochastické účinky
Patogeneze	Smrt buněk a snížení jejich počtu	Změna cytogenetické informace (mutace)
Specifika	Specifický klinický obraz typický pro účinky IZ	Nespecifický obraz, nedá se odlišit od spontánních případů
Závislost na dávce	Účinek se projevuje od určité prahové dávky, pak roste s dávkou	Předpoklad, že pravděpodobnost výskytu roste s dávkou od nuly (bezprahová závislost)
Závislost časová	Většinou poměrně rychlý nástup	Pozdní účinky a dlouhá doba latence

Tab. 2: Charakter deterministických a stochastických účinků – porovnání (modifikováno dle <http://astronuklfyzika.cz/RadiacniOchrana.htm>)

1. 2. 4 Časné a pozdní účinky IZ

Z hlediska doby nástupu a časového průběhu účinků záření na organismus či jeho tkáně a orgány rozlišujeme dvě skupiny (tab. 3).

Časné účinky ozáření se vyvíjejí během poměrně krátké doby (dny až týdny) po jednorázovém ozáření velkého objemu větší dávkou záření. Jsou způsobeny zánikem významné části především kmenových buněk a buněk rychle proliferujících tkání, které mají krátký životní cyklus. Chybění těchto buněk se odráží ve zhoršení funkce ozářené tkáně. Tkáně s vysokou radiosenzitivitu (např. krvetvorná tkáň či buňky sliznic) mají rychlou reakci na ozáření. Jedná se o akutní

velmi závažné účinky. Pokud ale není poškozeno příliš mnoho kmenových buněk, např. při necelotělovém ozáření, po jejich překonání nastává poměrně rychlé zotavení tkání buněčnou repulací a návrat k normální funkci. [10]

Velmi časně účinky IZ se vyskytují při celotělovém ozáření vysokou dávkou záření velmi rychle, během několika hodin. Jde o příznaky jako je únava, nevolnost, sucho v ústech. Tyto projevy ale nepůsobí mechanismy radiačního poškození buněk – větší počet buněk je poškozen, avšak toto poškození se projevuje až později, při mitóze. Působí je dráždění regulačních center organismu produkty radiolýzy. Při velmi vysokých jednorázových dávkách (stovky Gy) nastupují rychlé fatální účinky vlivem denaturace buněčného obsahu i mezibuněčného prostředí za rychlé nekrotické smrti buněk. [5]

Mezi časně účinky ozáření patří:

Akutní nemoc z ozáření (akutní postradiační syndrom). Je charakterizována jako poškození organismu dávkou vyšší než 0,7 Gy. Klinický průběh závisí na velikosti absorbované dávky IZ, může se vyskytovat formou dřeňovou, střevní a neurovaskulární.

Při dávkách kolem 0,7 Gy vzniká dřeňová forma způsobená poškozením orgánů krevetvorby. Krevním obraz ukazuje výrazný útlum krevetvorby, nejdříve však po 24 hod. Klinický obraz dřeňového syndromu se plně rozvíjí 3. – 6. týden po ozáření v závislosti na dávce. První známky regenerace krevetvorby jsou patrný 1. týden po ozáření za předpokladu, že jsou v kostní dřeni zachovány ostrůvky funkčních kmenových buněk krevetvorby. Průvodním jevem narušené krevetvorby je pak snížená imunita v důsledku aplázie lymfatické tkáně.

Při dávkách vyšších než 10Gy se rozvíjí **střevní** (gastrointestinální) forma nemoci z ozáření, způsobená zánikem buněk střevního epitelu. Sliznice střeva je citlivá již od dávky 4 Gy, přičemž při dávkách 10 – 100 Gy celotělového ozáření je střevní forma dominantním příznakem ANO. Dochází k závažným poruchám hospodaření organismu s tekutinami a minerály, někdy s bakteriální invazí.

Neurovaskulární forma je dominantní formou ANO po ozáření dávkou vyšší než 80 Gy. Nastupuje velmi rychle v závislosti na dávce do 100 Gy během dnů od 500 Gy do 2 hod nebo okamžitě po obdržení dávky od 1000 Gy. Je spojená se zánikem většího množství nervových buněk, následnými poruchami orientace a koordinace, křečemi, třesem, těžkou poruchou vědomí při akutním zánětu mozkových plen, otoku mozku, končí vždy smrtí.

Akutní radiační dermatitida. Podle závažnosti postižení kůže má 3 stupně, kterými se také řídí prognóza ANO.

1. stupeň se klinicky projevuje při ozáření dávkou 3 – 15Gy v závislosti na dávce časným erytémem s dočasnou epilací, se zvyšující se dávkou i s hyperpigmentací kůže za doprovodu suchého zánětu s olupováním kůže.

2. stupeň po ozáření dávkou 16 – 25 Gy je časný erytém vystřídán erytémem pozdním 14 dní po expozici. Je provázen epilací, která je trvalá, svěděním, puchýři, které v závislosti na dávce jsou s nebolestivými exulceracemi a až hlubokými bolestivými exkoriacemi. Pak je kůže oteklá, zanícená. Hojení s mokváním a jizvením nastává 4 týdny po ozáření. Kůže zůstává depigmentovaná se zvyšující se absorbovanou dávkou i s teleangiektáziemi, pak je i po zhojení tenká, jemná a v důsledku atrofie mazových žláz šupinatá.

3. stupeň nastává po ozáření dávkou vyšší 25 Gy. Kožní nekróza vzniká již první den ozáření, dlouho se ohraničuje, vyznačuje se bolestivými velmi špatně se jizvou hojícími vředy, kůže se snadno rozpadá a opětovně hojí. [5]

Poškození fertility

Problematika ozáření ovarií a varlat je obdobná a spočívá v tom, že buňky zárodečného epitelu těchto orgánů jsou mimořádně citlivé na ozáření.

Velikost dávky nutné k usmrcení buněk ovarií závisí jednak na věku ozářeného objektu – u mláďat v ovariích ještě neprobíhá téměř žádná proliferace a buňky jsou radiorezistentnější – a navíc je radiosenzitivita rozdílná u buněk produkujících pohlavní hormony – zde je nižší, vyšší je pak u buněk zárodečných – proliferujících. Jiná dávka tedy způsobí sterilitu – neplodnost a jiná radiační kastraci. Jak bylo řečeno, radiosenzitivita závisí rovněž na vyspělosti organismu –

čím vyšší věk, tím více proliferující zárodečná a tedy radiosensitivnější tkáň a nižší dávka ozáření vedoucí ke sterilitě.

U varlat obdobně jako u ovarií rozlišujeme mezi zárodečnými buňkami varlat (spermatocyty) a buňkami, které produkují pohlavní hormony (Leydigovy buňky). I zde platí, že zárodečné buňky jsou radiosenzitivnější než buňky Leydigovy. Co je ale nejdůležitější, zárodečné buňky jsou **mimořádně radiosektivní**. Citlivost je tím vyšší, čím časnější je stádium vývoje spermatocyty. (spermatogeneze: spermatogonie typu Ad → spermatogonie typu A → spermatogonie typu B → primární spermatocyt → sekundární spermatocyt, radiosektivita je nejvyšší u spermatogonie typu Ad a pak klesá) Poškození tvorby spermií může nastat již po ozáření dávkou 0,15 Gy. Např. po cíleném ozařování oblasti pánve mladých mužů pro maligní lymfom je často pozorováno částečné poškození spermatogeneze vedoucí k oligospermii (snížený počet spermií). Návrat k původní produkci je dlouhodobá záležitost a k úpravě ad normam mnohdy ani nedojde, přičemž dávky nad 8 Gy působí trvalou sterilitu ve všech případech. [1]

Poškození embrya a plodu. Zárodek a plod je tvořen buňkami, které se intenzivně dělí. Je proto velmi vnímavý k IZ a k jeho poškození může dojít při ozáření již dávkou 0,1 Gy. Charakter poškození kromě dávky závisí na stádiu vývoje. V prvních 3 týdnech, kdy je počet buněk v zárodku ještě malý a jejich funkce není specializovaná, má ozáření za následek buď zánik zárodka a ukončení gravidity nebo zárodek přežije bez následků. Tento jev je vysvětlován tak, že je buňkami vyhodnoceno, zda k nějakému poškození došlo či nikoliv, a pokud ano zárodek zaniká. V tomto případě tedy nedochází k vyhodnocení opravitelnosti DNA. V období 3. – 8. týdne může ozáření způsobit orgánové malformace. V období 2. – 6. měsíce gravidity se objevuje riziko vývojových poruch a mentálního postižení dítěte. V posledním trimestru gravidity je již radiosenzitivita nižší, avšak vystavení zárodka IZ vede k podstatně vyššímu riziku stochastických účinků nádorového charakteru, než při ozáření dospělé osoby. [6]

Pozdní účinky ozáření se vyznačují relativně dlouhým obdobím latence. Mohou se objevit několik měsíců, let až desítky let od ozáření a vznikají buď jako

deterministické účinky po intenzivním ozáření nebo dlouhodobé/opakované expozici menšími dávkami záření – nenádorová pozdní poškození nebo jako stochastické účinky – nádorová a genetická postižení. Pozdní deterministické účinky jsou způsobeny poškozením tkání s nízkou proliferační aktivitou kmenových buněk tkání s pomalou obnovou. Jejich poškození se proto objevuje s odstupem řádově měsíců, v období nástupu mitózy nutné pro obnovu funkční tkáně. Nízkou proliferační aktivitu vykazují vysoce specializované tkáně (např. tkáň svalovou, renální, pojivovou) s nízkou radiosenzitivitou a pomalou reakcí na ozáření. Účinky však přetrvávají dlouho a následky ozáření mohou být někdy i trvalého charakteru. [3]

Časné	Pozdní		
Somatické		Genetické	
akutní nemoc z ozáření	nenádorová pozdní poškození chronická radiodermatitis zákal oční čočky	zhoubné nádory	genetické účinky u potomstva
akutní lokální změny			
akutní radiodermatitis			
poškození fertility			
poškození vývoje plodu			
Deterministické		Stochastické	

Tab. 3: Přehled hlavních typů účinků IZ na člověka (dostupné z <http://www.sujb.cz/radiacni-ochrana/oznameni-a-informace/strucny-prehled-biologickych-ucinku-zareni>)

Deterministické pozdní účinky IZ jsou **chronická radiodermatitis**, **katarakta** (zákal oční čočky), **nenádorová pozdní poškození**, mezi stochastické účinky IZ jsou řazeny **zhoubné nádory**, které mohou vznikat následkem mutací za ztráty kontroly nad dělením buněk a následně jejich maligní zvrát a **genetické změny**, které se projevují postižením potomstva ozářených osob na základě mutací v zárodečných buňkách. Stejně jako u stochastických a deterministických, také u

časných a pozdních účinků IZ může docházet k jejich kombinaci. Orgány jsou tvořeny různými druhy funkčně propojených tkání, některé jsou radiosenzitivní, jiné radiorezistentní a po expozici IZ proto nastupuje jak časná akutní radiotoxicita, tak s odstupem času i následná radiotoxicita pozdní.

1. 2. 5 Radiobiologické modelování

Radiobiologické účinky záření na buňky a tkáně obecně závisí na řadě fyzikálních aspektů, především na absorbované dávce, druhu záření, druhu buněk ve tkáni a také na časových faktorech (bude podrobně popsáno v další kapitole). Tyto obecně složité závislosti byly experimentálně zjišťovány ve spoustě radiobiologických měření a dále byly ověřovány v klinických studiích, především v radioterapii. Vznikla snaha tyto zákonitosti popsat, což lze nejlépe pomocí matematických modelů a funkcí, které by závislost radiobiologické odezvy na dávce D , její časové distribuci a vlastnostech ozařované tkáně vyjádřily. Modely, které umožňují srovnat a analyzovat různá radiobiologická data a předpovídají buněčné přežití i biologické vlastnosti buněk a tkání (radiosenzitivita, reparační schopnosti buněčných linií normálních i nádorových). [6]

Mezi nejnovější a v klinické praxi nejvíce používaný patří **LQ model** (lineárně kvadratický model). Používá se nejčastěji v radioterapii pro srovnávání různých frakcionačních schémat, kdy je nutné zjistit, zda některý režim má při srovnatelné toxicitě vyšší radiobiologickou účinnost. LQ model vychází z křivky přežití buněk při aplikaci různých dávek. Křivky vychází ze studií na tkáňových kulturách. Na počátku křivky je tzv. raménko, které znamená reparaci subletálního poškození. Při vysokých dávkách je raménko malé a spád křivky prudký. Při nižších dávkách se raménko prodlužuje a spád křivky je mírnější. Základem je vztah

$$E = \alpha nd + \beta nd^2$$

kde E je efekt ozařovací série, n počet frací, d je jednotlivá dávka, α je lineární koeficient, β je kvadratický koeficient. Efekt záření je tedy dán součtem efektů časně a pozdně reagující tkáně. Oba koeficienty jsou parametry senzitivity tkání k ionizujícímu záření. Není důležitá velikost parametrů, ale vzájemný poměr α/β . Vysoký poměr je pozorován u rychle proliferujících tkání, nízký u tkání reagujících pozdně. Časně reagující tkáně mají poměr $\alpha/\beta=10$, pozdně reagující tkáně $\alpha/\beta=3$, nervová tkáň má dokonce poměr α/β roven 1.

Ze základního vztahu $E = \alpha nd + \beta nd^2$ pak lze vypočítat BED (Biologically effective dose). Ekvivalentní dávka srovnává jednotlivé frakcionační režimy, jejich účinnosti a rizika pozdních komplikací při aplikaci záření v radioterapii. Je dána vztahem

$$BED = D (1+d/(\alpha/\beta))$$

kde D je celková aplikovaná dávka, d je jednotlivá dávka, α je lineární koeficient, β je kvadratický koeficient. Tak např. dávka, která je z hlediska časných účinků ($\alpha/\beta = 10$) biologicky ekvivalentní 50 Gy ve standardním režimu, je:

$$BED_{10} = 50 (1+d/10)$$

1. 3 Faktory ovlivňující biologický účinek záření

Celkový biologický efekt ionizujícího záření je výsledkem vztahu záření a objektu, který byl v určitém čase záření vystaven a toto záření absorboval. Je-li exponován savčí organismus, výsledek tohoto vztahu je dán aktuálním stavem ozařovaného organismu (pohlavím, stáří, fyziologický stav) a charakteristikou daného záření.

Faktory, které tento výsledek ovlivňují, jsou obvykle děleny dle mechanismu účinku na fyzikální a fyzikálně chemické – dávkový ekvivalent, dávková rychlost, teplota, prostorové rozdělení absorbované dávky, přítomnost vody a kyslíku a biologické – druh organismu, orgánu nebo tkáně, stupeň diferenciacce buněk, fyziologický stav organismu, schopnost spontánní reparační, repopulace a regenerace.

Znalost těchto mechanismů umožňuje jejich další využití v praxi jednak při ochraně před zářením nebo naopak jejich využitím v medicínských oborech při cíleném ozařování.

1. 3. 1 Fyzikální faktory

Patří mezi ně druh záření, dávka záření, rozdělení dávky záření v čase a distribuce dávky v organismu savce.

Závislost biologického účinku na druhu záření

Biologický účinek záření a jeho závažnost se s jednotlivými druhy ionizujícího záření mění. Je to dáno rozdílnou interakcí s organismem, který jej absorboval. Charakter této interakce navíc významně závisí také na energii a dávkovém příkonu konkrétního druhu záření.

V buňkách živých systémů ionizací a excitací molekul způsobují všechny druhy ionizujícího záření. Přesto je každý typ ionizujícího záření charakterizován specifickým průnikem buněčnými tkáněmi v závislosti na energii, která je při něm předávána různým způsobem. Fotony elektromagnetického záření (gama, X), α a β částice (rychlé elektrony nebo pozitrony), protony reagují s elektrony atomů

ozářeného objektu. Odlišná a složitější je situace v případě neutronů, protože i velmi pomalé neutrony jsou schopny penetrovat jádra a vyvolávat ionizaci sekundárně. Díky své značné energii mohou ionizovat částečně také prostřednictvím „vyražených“ částí těžkých nabitých jader a protonů, jež atakovaly, a částečně formou γ záření.

Distribuci absorbované energie jednotlivých druhů IZ nebo také rozdělení dávky nejlépe charakterizuje ukazatel **lineární přenos energie LET (Linear Energy Transfer)**. Je definován jako množství energie, kterou ionizující částice předá tkáni na dráze jednoho mikrometru, fyzikální rozměr je $\text{keV} \cdot \mu\text{m}^{-1}$. Jedná se o podíl ztráty energie záření na jednotku délky dráhy částice. Hodnota LET je přímo úměrná **střední hustotě ionizace** – množství iontů vzniklých podél jednotkové dráhy ionizující částice o délce 10^{-6}m . Pokud je hustota ionizace vysoká, pravděpodobnost zasažení důležité biomakromolekuly je rovněž vysoká. Hodnota LET je přímo ovlivněna nábojem a nepřímo rychlostí ionizující částice. Z tohoto důvodu částice α (proud prostých Heliových jader ${}^4_2\text{He}$), protony a neutrony mají hodnoty LET vysoké (desítky až stovky $\text{keV} \cdot \mu\text{m}^{-1}$), kdežto elektrony, záření X a γ mají hodnoty LET nízké (desetiny až jednotky $\text{keV} \cdot \mu\text{m}^{-1}$). Záření o vysokém LET také mnohem častěji než záření s nízkou hodnotou LET působí LMDS, i když tomu tak nemusí být vždy a LMDS mohou vznikat i působením záření s LET relativně nízkým. [5, 17]

Biologický účinek ionizující částice závisí na hustotě a rozložení ionizací v průběhu její dráhy. Částice s vysokými hodnotami LET tak budou v hloubce, do níž jsou schopny penetrovat, ve výsledku vyvolávat větší poškození na jednotku dráhy než částice o nízkém LET. Při srovnávání jednotlivá rizik biologických účinků záření na celý organismus, je nutné brát v úvahu hloubkovou pronikavost srovnávaných druhů záření a tedy **objem** tkání organismu, který bude daným typem záření poškozen. [5]

Protože biologická účinnost různých druhů záření se v závislosti na hustotě ionizace značně liší, zavádí se pro účely radiobiologie a radiační ochrany pro každý druh záření tzv. **relativní biologická účinnost RBE** (Relative Biological

Effectivnes). Rozdíly biologických účinků jednotlivých druhů ionizujícího záření jsou srovnávány na základě této veličiny. Jak vyplývá z názvu, jedná se o bezrozměrnou veličinu danou vztahem

$$RBE = D_{\text{stand}} / D_{\text{test}}$$

D je efektivní dávka záření v Gy standardního a testovaného záření. Vyplývá, že hodnota RBE větší než 1 znamená biologicky účinnější záření, protože k vyvolání stejného definovaného biologického účinku je nutná menší dávka testovaného záření. Pro zkoumaný druh záření může existovat více hodnot RBE, záleží na tom, jaký biologický účinek záření byl vybrán ke srovnání. RBE je tedy **experimentální** veličina a např. alfa záření může mít v různých experimentálních systémech RBE 2 nebo 100. Pro zjednodušení výpočtu ekvivalentní dávky byl ICRP zaveden **jakostní faktor Q** pro dávkový ekvivalent, případně je používán **radiační váhový faktor w_R** pro ekvivalentní dávku. Udává, kolikrát je daný druh záření účinnější než záření fotonové. Je vyjádřen poměrem dávky standardního záření (γ záření ^{60}Co nebo rentgenové záření X o hodnotě 220 kV) a záření srovnávaného (např. neutronů), které je nutné k vyvolání stejného předem definovaného biologického účinku. [5, 6]

Druh záření	Střední hustota ionizace [iont. párů/ μm]	LET [keV/ μm]	(Q)
β , X, γ	100	2 - 40	1
pomalé neutrony	100 - 500	5 - 50	3
rychlé neutrony, protony	200 - 1000	20 - 80	5
α	1000 - 3000	50 - 150	10
štěpné produkty	3000 - 5000	100 - 200	10 - 20

Tab. 4: Hodnoty střední hustoty ionizace, LET, Q pro jednotlivé druhy záření

Závislost biologického účinku na dávce záření

Absorbovaná dávka (obvykle jen dávka) je energie záření absorbovaná jednotkou hmotnosti. Tedy:

$$D = E \cdot m^{-1} = [J \cdot kg^{-1}] = Gy$$

Jednotkou dávky veškerých druhů ionizujícího záření je gray (Gy), tedy množství energie o velikosti 1 J absorbované 1 kg hmotnosti ozářeného objektu.

Na organismus jako celek má větší biologický účinek jednorázová **celotělová** dávka než stejná, rovněž jednorázová dávka na pouhou určitou oblast.

Vzhledem k rozdílným účinkům jednotlivých typů záření na živé organismy byla pro účely radiační ochrany zavedena veličina **dávkový ekvivalent**, která tyto rozdíly zohledňuje. Při velkých absorbovaných dávkách dávkový ekvivalent nereprezentuje účinky ionizujícího záření na člověka a je užíván pro vyjádření radiační zátěže v oblasti radiačních limitů a nižších dávek. Je dán vztahem:

$$H = D \cdot Q$$

kde D je absorbovaná dávka (Gy) a Q jakostní faktor. Jednotkou ekvivalentní dávky je sievert (Sv). V praxi se ale používají jednotky dílčí, nejčastěji mSv.

V současné době se místo dávkového ekvivalentu užívají dvě jiné veličiny ekvivalentní dávka a efektivní dávka.

Ekvivalentní dávka se od dříve používaného dávkového ekvivalentu liší jinou metodikou určování hodnot faktorů vyjadřujících vliv různých typů záření na organismus, což ve srovnání s dávkovým ekvivalentem vede k jiným číselným hodnotám. Ekvivalentní dávka je dána součtem ekvivalentních dávek jednotlivých typů záření, kterým je organismus vystaven. Ekvivalentní dávka daného typu záření je součinem radiačního váhového faktoru a dávky daného typu záření absorbovanou v organismu nebo jeho části. Je dána vztahem:

$$H_T = \sum H_{TR} = \sum w_R D_R$$

kde H_{TR} je ekvivalentní dávka daného typu záření, W_R radiační váhová faktor a D_R dávka daného typu záření. Jednotkou je $Jkg^{-1} = Sv$. Radiační váhový faktor w_R vyjadřuje míru poškození organismu, kterou daný typ záření způsobí v organismu nebo jeho části. Nejnižší w_R mají fotony a elektrony ($w_R = 1$), nejvyšší pak částice α , těžká jádra a štěpné produkty.

Efektivní dávka má tu výhodu, že při nerovnoměrném ozáření organismu umožňuje vyjádřit radiační zátěž organismu jedinou číselnou hodnotou, což umožňuje srovnávat různé typy ozáření organismu. Efektivní dávka je součtem středních hodnot ekvivalentních dávek v různých tkáních lidského těla, tedy

$$E = \sum w_T H_T$$

kde H_T je ekvivalentní dávka v dané tkáni a w_T (je rovno w_R) je tkáňový váhový faktor vyjadřující relativní příspěvek dané tkáně k celkové zdravotní újmě způsobené při rovnoměrném ozáření celého těla. Pro jednotku této fyzikální veličiny platí $E = H_T$ a jednotkou je rovněž Sv.

Pokud bude konečným měřítkem biologického účinku dávky záření zvoleno usmrcení organismu, dávky záření jsou označovány jako subletální a letální. Pro hodnocení je důležité brát v úvahu také pravděpodobnost rozvoje zvoleného biologického účinku.

Subletální dávka záření nevede ke smrti žádného člena z ozářené skupiny.

Letální dávka usmrtí nejméně jednoho nebo všechny členy ozářené skupiny. Letální dávka je obvykle definovaná procentuálním výskytem úmrtí/úhynu jedinců ve skupině k určitému časovému intervalu po expozici.

Střední letální dávka je smrtelná dávka 50 % ozářených jedinců ke 30. ($LD_{50/30}$) nebo 60. dni ($LD_{50/60}$).

Minimální absolutní letální dávka je dávka záření, která usmrtí všechny jedince z ozářené skupiny.

Supraletální dávka je dávka záření vyšší než minimální letální dávka a liší se délkou doby přežití. Způsobuje vždy 100% úmrtí jedinců v ozářené skupině. [5]

Rozdělení dávky v čase

Kromě hodnoty dávky ionizujícího záření je pro charakteristiku ozáření neméně důležitá **doba** expozice, během níž byla energie IZ objektem absorbována. Přírůstek dávky v určitém časovém intervalu se nazývá **dávkový příkon** – počet grayů za jednotku času, tedy $\mu\text{Gy}\cdot\text{h}^{-1}$ ($\text{Gy}\cdot\text{s}^{-1}$). Hodnota dávkového příkonu je nepřímo úměrná druhé mocnině vzdálenosti od bodového zdroje, tedy s druhou mocninou klesá intenzita záření.

Jak již víme, po ozáření v organismu probíhají reparační procesy. Pokud by k nim nedocházelo, radiační poškození úměrné dávce záření by vzniklo bez ohledu na čas, po který byl organismus dávce vystaven, protože by vzniknul stejný počet ionizací, kterému by odpovídala totožná kvantita radiačního poškození. Stejná dávka rozložená v čase má tedy ve srovnání s jednorázovou dávkou menší nebo žádné účinky a na tomto velmi důležitém poznání je postavena (nejen) radioterapie, která jej využívá v léčbě záření při používání různých frakcionačních schémat. Pouze ireparabilní radiační poškození se zvětšuje úměrně kumulované dávce.

Kromě využití zmíněných poznatků v radioterapii jsou výše uvedené skutečnosti základním kamenem radiační ochrany a hygieny a spolu s vhodným výběrem stínění tvoří trojici stěžejních zásad ochrany před zářením a těmi jsou **čas, vzdálenost, stínění**.

Velikost dávky i dávkového příkonu závisí na intenzitě záření v ozařovaném místě, na druhu a energii kvant ionizujícího záření, na vlastnostech interakce a absorpce daného záření v určité látce.

Rozdělení dávky záření v organismu

Závažnost radiačního poškození organismu závisí na distribuci absorbované dávky ionizujícího záření v tomto organismu. Zvláštnosti poškození při nerovnoměrném ozáření vyplývají ze dvou skutečností. Jednak dochází k menšímu výchozímu poškození, ale hlavně jsou přítomny méně ozářené příp. úplně neozářené oblasti, které jsou zdrojem dostatečného počtu kmenových buněk, které přechází

krvní cestou do záření postižených částí a zde jsou zdrojem reparačních procesů. Především v oblasti krvetvorby je to zásadní skutečnost, která ovlivňuje prognózu postradiačních následků. Ozáření dávkou 1 Gy neznamená shodné následky v případě ozáření všech buněk (celého těla) a v případě ozáření pouze jejich části. Je také důležité si uvědomit, že v případě vyšších organismů hraje roli i to, že jeden typ tkáně/orgánu ovlivňuje druhý, takže pokud bude ozářen např. i jen krátký úsek střevní sliznice, bude to mít vliv na celý systém GIT. Pro tyto potřeby se v radioterapii orgány dělí na sériové a paralelní. Jde o to, že u některých orgánů záleží hlavně na velikosti maximální dávky (myšlena dávka, která usmrtí všechny buňky v ozářené části bez možnosti reparace) a objem není tak důležitý, orgány sériové (mícha, mozkový kmen a optické nervy). U jiných orgánů maximální dávka nehraje roli, pokud bude touto dávkou ozářena pouze část funkční tkáně, protože se organismus bez této části obejde. Pokud ale ozáříme veškerou funkční tkáň, organismus bez následků nepřežije, orgány paralelní (plíce, játra, ledviny, hypofýza aj.) [1, 5, 18]

Na tom, které části těla a v nich uložené orgány a tkáně byly ozářeny závisí také průběh ANO. V klinickém obraze převládá porucha funkcí ozářených orgánů a systémů, i když se rozvíjí i celková reakce organismu a některé druhotné efekty záření. Např. převažuje-li ozáření abdominální oblasti, rozvíjí se forma střevního syndromu. [1, 5]

1.3.2 Chemické faktory

Nejdůležitějšími chemickými faktory jsou koncentrace kyslíku (H_2O , CO , CO_2) v buňkách nebo tkáních organismu, tzv. **kyslíkový efekt** a přítomnost **chemických radiomodifikujících látek**.

Koncentrace kyslíku v buňce během ozařování má velmi důležitý význam pro tvorbu volných radikálů, jejich množství je přímo úměrné množství kyslíku, po ukončení ozáření je O_2 nutný pro nastartování reparačních procesů.

Radiomodifikující látky rozdělujeme na radiosenzibilizátory, využívané především v radioterapii ke zvýšení citlivosti zvláště hypoxických nádorových buněk, a na radioprotektivní látky (RPL).

. O radioprotektivní účinnosti látek se hovoří za předpokladu, že jsou ve tkáních organismu (v buňkách tkáňových kultur při pokusech in vitro) přítomny před zahájením a v průběhu ozařování. Podání látky nebo léčiva po skončení ozařování má terapeutický, ne ochranný význam.

Kromě případu méně pravděpodobného zneužití jaderné zbraně by vhodná RPL by mohla být využita např. záchranáři v případě velké radiační havárie s rizikem nebezpečného zevního γ ozáření, jak se ostatně ukázalo v nedávné době. Mohla by také sloužit jako prostředek k ochraně zdravých tkání při radioterapii.

„Měla by splňovat tyto požadavky:

- měla by mít dostatečnou účinnost bez závažných nežádoucích účinků
- nástup účinku do 30 minut, vhodné podání a délka trvání účinku alespoň 2 hodiny
- nesmí být toxická – terapeutický index, tj. poměr mezi letální dávkou (LD_{50}) a účinnou dávkou (ED_{50}) by měl dosáhnout alespoň hodnoty 3,0
- podání nesmí ani krátkodobě negativně ovlivnit psychický stav
- má být netoxická i při opakovaném podání a nemá mít kumulativní účinky“ [5]

Optimální radioprotektivní látka dosud neexistuje, hlavním problémem humánní aplikace je jejich vysoká toxicita, která vyvolává řadu vedlejších nežádoucích účinků, mezi něž patří nauzea, zvracení, hypotenze, bradykardie, křeče. Účinné ochranné dávky se blíží dávkám toxickým a podání není bez rizika jak akutních tak pozdních účinků. Rozmach výzkumu RPL byl největší v šedesátých a sedmdesátých letech.

„Radioprotektivní účinek RPL je hodnocen **redukčním faktorem dávky DRF** (Dose Reduction Factor) který udává, kolikrát je nutné zvýšit dávku záření k vyvolání stejného radiačního účinku radioprotektivní látkou chráněných systémů ve srovnání s nechráněnými systémy. Závisí na zvoleném kritériu radiačního poškození, je dán vztahem:

$$DRF = \frac{D \text{ chráněných systémů testovanou RPL}}{D \text{ nechráněných systémů}}$$

Kde D je dávka. Látka má radioprotektivní účinek, dosáhne-li uvedený poměr hodnoty vyšší než 1.

Pro posouzení radioprotektivního účinku je nejdůležitější hodnota DRF, vyčíslená srovnáním průběhu křivek závislosti letality kontrolních a chráněných jedinců na dávce záření. Nejčastěji se používá srovnání zjištěných středních letálních dávek záření. Pak se DRF určí ze vztahu:

$$DRF_{50/30} = \frac{LD_{50/30} \text{ v Gy chráněných jedinců zvolenou RPL}}{LD_{50/30} \text{ v Gy nechráněných jedinců}}$$

Jedinci v uvedeném zlomku mohou být buď celé organizmy, nebo buněčné kultury“. [5]

Na základě dlouhodobě známého radioprotektivního účinku hypoxie byly testovány např. látky působící na cévní stěnu – účinek díky vasokonstrikci a následné tkáňové hypoxii. Nenalezly ale praktické využití v oblasti radiační ochrany vzhledem k nízkému ochrannému efektu v případě celotělového ozáření. Dalším radioprotektivem jsou cysteinamin a cystamin, nemají ale dostatečně vysoký DRF a navíc mají řadu vedlejších účinků. Za nejúčinnější RPL je považován preparát s označením WR 2721, který se po aplikaci a farmakokinetickém procesu stává donátorem volného atomu vodíku (H^+), jenž je schopen inaktivovat postradiační volné radikály nebo je využit k opravám poškozené DNA. [5]

1. 3. 3 Biologické faktory

Výsledný efekt zásahu savců IZ je ovlivněn celkovým aktuálním stavem organismu v době expozice, především jeho stářím, pohlavím a zdravotním stavem. Starý nebo nemocný, zraněný, vyčerpaný jedinec bude k účinku ionizujícího záření citlivější, naopak stejná dávka absorbovaná dospělým zdravým jedincem bude méně nebezpečná.

Senzitivita organismu vůči záření (radiosenzitivita/radiorezistence) se v souvislosti s těmito faktory mění i v průběhu života, nejméně bývá organismus citlivý v dospělosti, mladý organismus je k ozáření citlivější v důsledku nízkého stupně diferenciaci buněk a tkání, které mají ještě poměrně značnou mitotickou aktivitu, starý organismus je vnímavější

vzhledem k podstatně pomaleji probíhajícím biologickým pochodům reparační nevyjímaje. Dětský organismus je k IZ vysoce vnímavý a pozdní změny mohou mít tzv. mutilující následky tzn. vedoucí k viditelnému tělesnému postižení (asymetrický vývoj kostí, poruchy žláz s vnitřní sekrecí aj.)

Pohlaví jedince ovlivňuje biologickou odpověď samičího (ženského) organismu ve smyslu mírně vyšší odolnosti než samčího (mužského), což je zmiňováno i v souvislosti s jinými škodlivými faktory zevního prostředí.

Výrazné reakce na IZ mívají jedinci s určitými genetickým odchylkami, např. ataxia teleangiektasia vede u lidí s tímto onemocněním ke vzniku kožních nádorů.

Známa je také druhová odlišnost citlivosti biologických systémů k účinkům ionizujícího záření. Tab. 7 ukazuje vzrůstající hodnoty střední letální dávky zevního celotělového γ ozáření. [5, 16, 2]

Druh	Dávka (Gy)
Ovce	1,5 - 2,5
Osel	2,0 - 3,8
Pes	2,5 - 3,0
Člověk	2,5 - 3,5
Opice	2,5 - 6,0
Myši	6,0 - 15,0
Potkani	7,0 - 9,0
Ptáci	8,0 - 20,0
Ryby	8,0 - 20,0
Králík	9,0 - 10,0
Křeček	9,0 - 10,0
Zmije	80,0 - 200,0
Hmyz	10,0 - 100,0
Rostliny	0 - 1 500,0

Tab. 7 Hodnoty LD_{50} v Gy celotělového γ ozáření různých biologických objektů (Jarmonenko, 1988)

1. 3. 4 Radiorezistence a radiosenzitivita

Citlivost buněk vůči IZ radiosenzitivita, či jejich odolnost radiorezistence závisí na mnoha faktorech, především na reparační schopnosti buňky. Ta je ovlivňována fází buněčného cyklu, stupněm diferenciací buňky (vysoce diferencované buňky jsou méně citlivé, což souvisí se schopností proliferace) na obsahu a objemu H₂O a tedy O₂ v buňce. Různá radiační citlivost jednotlivých druhů tkání je důležitá jednak z hlediska **radiační ochrany**, z druhé strany hraje klíčovou úlohu při **léčbě záření** v radioterapii.

Faktory týkající se O₂ souvisí s výše zmíněným kyslíkovým efektem, který je v praxi mimořádně důležitý z hlediska radioterapie. Právě na tomto faktoru totiž závisí nejen již zmíněná radiosenzitivita, ale související reparační schopnost buněk. Kyslíkové radikály vznikající při aplikaci IZ jsou zodpovědné za poškození tkání. Buňky, hypoxické jsou tedy radiorezistentní, tím spíše pokud se nacházejí ve stavu G0 fáze. Nádorové buňky jsou hypoxické často, a to z důvodu chaotického uspořádání buněk a nedostatečného krevního zásobení zvláště u nádorů o velkém objemu. Aplikace radioterapie může vést díky zmenšení nádorové masy k reoxygenaci, tedy k opětovnému zlepšení zásobení kyslíkem. Dochází k obnově krevního zásobení a proto také ke zvýšení radiosenzitivity.

Z hlediska buněčného cyklu se největší radiosenzitivita projevuje při zasažení buňky v pozdní G1 a premitotické G2 fázi, kdy mechanismy kontrolních bodů mohou zastavit průběh buněčného cyklu. Poněkud menší citlivost je v M fázi a v přechodu mezi fází G1 a S, nejmenší citlivost buněk je pozorována ve fázi G0. Živá tkáň je tvořena směsí buněk v nejrůznějších stádiích buněčného cyklu a v léčbě nádorů je často aplikována radioterapie v kombinaci s chemoterapie pro dosažení synchronizace buněčného cyklu s cyklem ozařovacím.

Průměrná doba, během které se buňky nacházejí v určitých fázích, závisí na druhu tkáně. Velmi senzitivní jsou tkáně s krátkým buněčným cyklem, které mají častější časové zastoupení buněčných fází G2 a M, tedy tkáně s rychle se dělicími a málo diferencovanými buňkami (embryonální, germinativní, epidermální, retikuloendotelové a též nádorové – zde především rychle rostoucí, v časném stadiu).

Relativně radiorezistentní jsou naopak tkáně dobře diferencované, u nichž není nutná permanentní obnova, buňky se dělí málo a většina z nich setrvává poměrně dlouho ve fázi G1 a část dokonce v klidovém stadiu G0 (buňky nervové, svalové, vazivové). U rychle proliferující tkáně se poškození IZ projeví akutně (kostní dřeň, epitel, gonády) přičemž k obnově poškozené tkáně dochází ze zbytkové populace kmenových buněk. Pomalu proliferující tkáně mívají toxicitu pozdní a při obnově poškozené tkáně je významný především mechanismus reparace.

Citlivost tkání podle klesající radiosenzitivity
Lymfatická
Zárodečný epitel varlat
Kostní dřeň
Epitel gastrointestinální
Ovaria
Buňky melanomu
Vazivová tkáň
Hepatocyty
Tkáň ledvin
Nervová tkáň
Mozek
Svalová tkáň

Tab. 8: *Klesající radiosensitivita tkání*

Přestože mezi reakcí zdravé a nádorové tkáně existují při ozáření rozdíly, funguje radiorezistence a radiosenzitivita u tkáně nádorové podobně, i když zde hrají roli i další faktory, které vnímavost nádorové tkáně vůči záření mohou snižovat či zvyšovat. Nádorová tkáň na rozdíl od normální zdravé tkáně nemá tolik možností, jak poškození opravit, což souvisí s tzv. klonogenicitou nádorové tkáně, kdy jsou přítomny klonogenní buňky. Pouze ony jsou schopné nekontrolovatelného bujení na rozdíl od svých buněk dceřiných, které tuto schopnost postrádají a hynou.

Jedním z faktorů, který velmi významně ovlivňuje vnímavost nádoru k IZ je objem. Čím je počet buněk větší, tím více poškození a tedy vyšší dávka je

nutná k jejich zničení. Například malý sarkom (do 0,5 cm), který by měl být relativně radioresistentní, může být senzitivnější než karcinom o velkém objemu (17 cm) přestože karcinomy jsou obecně radiosenzitivnější než sarkomy. Dalším faktorem je stupeň diferenciacie (vyzrálosti) nádorové tkáně.

Obecně se mezi radiosenzitivní nádory řadí hematologické malignity, mezi radiorezistentní nádory patří sarkomy, maligní melanom, meningeom. [2]

1. 4 Problematika v oblasti malých dávek IZ

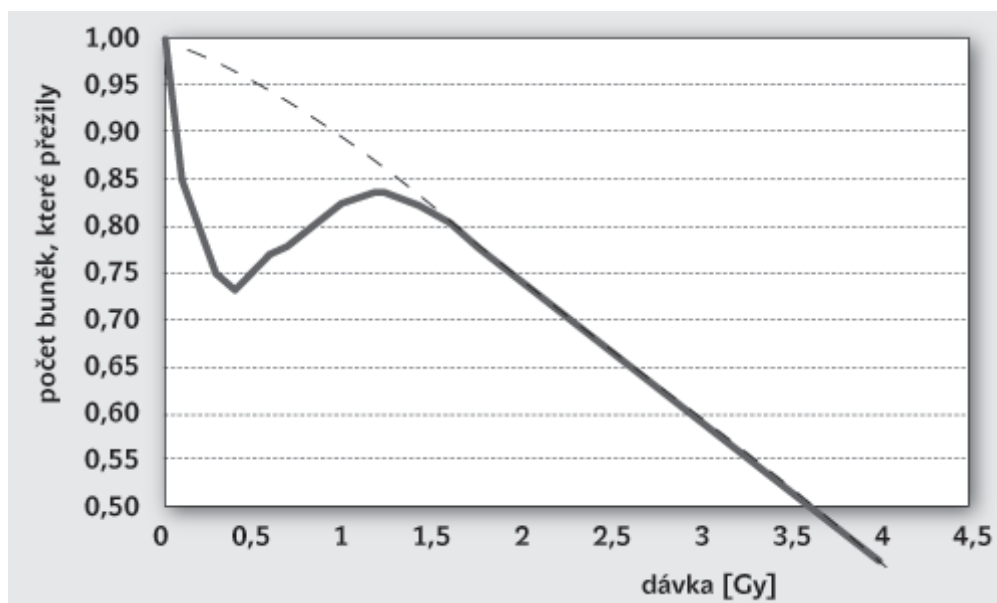
V závěru práce je nutné zmínit se také o radiobiologických jevech, které se některým závěrům klasické radiobiologie vymykají. Z výše uvedeného vyplývá, že by mělo platit: čím vyšší dávka, tím větší radiační poškození. Jak je to ale s dávkami, které jsou naopak velmi malé?

1. 4. 1 Hypersenzitivita k nízkým dávkám

Některé radiobiologické experimenty ukázaly, že v oblasti velmi nízkých dávek 0,01 – 0,5 Gy má křivka přežití poměrně prudký spád ukazující na zvýšenou citlivost buněk v oblasti těchto dávek. Tento jev byl pozorován nejen při ozařování kvasinek a řas, ale také u buněk lidských, a to i nádorových. Nejzajímavější zjištění je ale to, že hyperradiosenzitivita se týká převážně buněk, které jsou radiorezistentní, zatímco buněk radiosenzitivních se tolik netýká. V rozmezí 0,5 - 1 Gy nastává relativní radiorezistence, což je dáno nejspíše tím, že nízká dávka indukuje dokonalejší reparační mechanismy a buňky jsou pak lépe připraveny na další případnou expozici. Poté křivka přežití klesá normálně.

Detailní mechanismus tohoto paradoxního chování zatím není objasněn, nejpravděpodobnější se zdá být hypotéza, že hyperradiosenzitivita je fyziologickým obranným mechanismem proti mutagenním účinkům ionizujícího záření na buňky. Buňky exponované velmi nízkým dávkám záření hynou, což je z hlediska evoluce výhodnější, než jejich přežití s poškozeným genomem.

Nicméně, praktické využití je zatím problematické, nepodařilo se dosud dosáhnout přesvědčivých experimentálních výsledků. [1]



Obr. 9: Přežití buněk v oblasti malých dávek. Plná čára vyznačuje odezvu nalezenou experimentálně, přerušovaná čára předpokládaný průběh (dostupné z <http://www.vesmir.cz/clanek/male-davky-zareni-a-riziko-rakoviny>)

1. 4. 2 Bystander effect

V klasickém pojetí radiobiologie se předpokládá, že radiační poškození nastává pouze v buňkách, kterými prošel foton nebo částice. Studie provedené v 90. letech minulého století však náhled na tyto obecné předpoklady změnily. Bylo zjištěno, že jsou-li jednotlivé buňky ozářeny velmi tenkým svazkem záření (tzv. microbeam je tak tenký, že je jím možno ozařovat jednotlivé buňky) vykazují sousední buňky známky poškození dokonce na úrovni DNA, aniž by ony samy byly ozářeny. K obdobnému jevu může dojít za situace, kdy je k neozářené buněčné kultuře přidáno médium, ve němž jsou buňky, které byly ozařovány. Neozářené buňky pak odpovídají stejným způsobem, což se jeví tak, že buňky, které byly zasaženy zářením, vytvářejí určité faktory, které jsou schopny ovlivnit jiné sousední buňky – „bystandery“. Jaké faktory to jsou, se však zatím přesně neví, avšak existuje několik hypotéz, jak si buňky mezi sebou mohou přes své kontaktní spoje informaci předat. [1, 18]

HYPOTÉZA A METODIKA ZPRACOVÁNÍ

Cílem této práce je text, na jehož základě je vytvořen e-learningový kurz na radiobiologické téma. Jak plyne z názvu, jedná se o kurz v edukačním programu a z toho důvodu je vedený snahou zaměřit se spíše na obecně platné radiobiologické principy, a jejich vysvětlení na příkladech, s množstvím ilustrativních obrázků. K vytvoření poměrně jednoduchého e-learningového kurzu došlo a hypoteticky by mohl výuku radiobiologie zkvalitnit.

Metodika práce spočívala v integraci dostupných dat týkajících se dané problematiky jak z literatury, tak z internetových zdrojů a následném zpracování podkladů pro edukační program pomocí e-learningového prostředí Moodle. Samotný kurz je vytvářen pomocí speciálního programu, který umožňuje tvorbu stránek přístupných z internetu, je možno zakomponovat obrázky, tabulky, vytvářet hypertextové odkazy apod.

VÝSLEDKY

V e-learningovém prostředí Moodle byl na základě textu teoretické části uvedené v této kvalifikační práci vytvořen výukový kurz. Nazývá se *Faktory ovlivňující biologické účinky ionizujícího záření* a je dostupný na webových stránkách Jihočeské univerzity na adrese <http://moodle.zsf.jcu.cz/> v kategorii kurzů pod hlavičkou Katedra radiologie a toxikologie.

Struktura výukového programu:

Výukový program je rozdělen na pět hlavních částí.

1. Úvod do kurzu
2. DNA a její funkce
3. Biologické účinky ionizujícího záření
4. Faktory ovlivňující biologický účinek záření
5. Problematika v oblasti malých dávek IZ

Součástí každé části je:

- shrnutí látky;
- studijní materiál včetně obrázků, tabulek a grafů;
- procvičovací test.
- doporučená literatura je uvedena pokud se liší od doporučené pro celý kurz

DISKUZE

Současný stav dané problematiky, tedy problematiky tvorby e-learningových programů ukazuje, že tato metoda bezesporu patří mezi moderní trendy v oblasti výukových technik, kde má již své pevně stanovené místo. Usnadňuje výuku a podporuje samostudium studentů.

V rámci výuky předmětů zaměřených na radiobiologii a také radiační ochranu jsou přednášena témata týkající se tohoto oboru, a jak se zdá spolehlivých zdrojů, především v obecné radiobiologii v českém jazyce není mnoho. Setkáváme se spíše s díly, která se věnují pouze radiobiologii klinické či krizové. Existuje mnoho zdrojů, především internetových, které se tématy ionizujícího záření zabývají. Nicméně jsou roztržena na mnoho jednotlivostí podle toho, která profesní organizace takové dílo vydala. Zdá se, že pro účely výuky bakalářských programů ucelený přehled neexistuje.

Cílem této práce bylo vytvoření výukového e-learningového programu, jehož je právě tento text základem, k čemuž s výhradami došlo a hypoteticky by mohl výuku radiobiologie zkvalitnit. Výsledkem je práce vedená snahou zaměřit se spíše na obecně platné radiobiologické principy, a jejich vysvětlení na příkladech.

Metodika práce spočívala v integraci dostupných dat, týkajících se dané problematiky jak z literatury, tak z internetových zdrojů a následném zpracování podkladů pro edukační program pomocí e-learningového prostředí Moodle.

Nicméně, nemohu si na základě svých zjištění nepoložit některé otázky. Splňuje e-learningové prostředí Moodle skutečně požadavky na VŠ výuku? Nebyly by lepší klasické e-stránky? Pokusím se vysvětlit, proč se tyto otázky nabízí. Jak jsem měla možnost si všimnout, zdá se, že většina vysokých škol využívá téměř výhradně právě tento způsob elektronického vzdělávání a domnívám se, že e-stránky jsou jednoznačně lepší variantou a fungují v podstatě jako elektronická skripta. Lze je kontinuálně rozvíjet přidávat stále další a další informace, jsou interaktivní, dá se do nich okamžitě nahlédnout bez nutnosti přístupových práv, není problém do nich zasahovat a reagovat tak velmi pružně na nové poznatky ve vědě a výzkumu tak, aby aktuální informace byly stále a ihned k dispozici. Navíc na rozdíl od prostředí Moodle, v němž jednotlivé kurzy tvoří

jednotliví autoři, e-stránky vznikají díky jednomu webmasterovi a jsou proto jednoznačně přehlednější a mají jednotný styl. Další nevýhoda prostředí Moodle spočívá, dle mého názoru, v určité rigidnosti tohoto programu, kdy například obrázky lze vkládat pouze po té, co došlo k uložení na pevný disk, ze kterého jsou nahrány do programu Moodle a pak teprve do textu, na veškeré operace v rámci přesouvání obsahu se musí použít určitá ikonka – nelze „přetahovat“ myší, stejně probíhá i mazání nepotřebných kapitol a prostředí na mě působí celkově nepřehledně. Tento program byl ve své době bezesporu jednou z nejlepších variant jak vytvářet prostředí pro elektronickou výuku, ale myslím, že dnes již existují flexibilnější programy, v nichž lze tvořit snadněji a rychleji. Soudím na základě svých zkušeností s vývojem programů pro tvorbu amatérských e-stránek. Materiály v kurzu obsažené jsou navíc dostupné až po zadání klíče, což v podstatě popírá smysl snažení, které bylo dílu věnováno, když k němu má přístup pouze hrstka studentů. Není snad logické chtít vynaložené úsilí a množství času rozumným způsobem zúžitkovat, v tomto případě nejlépe tak, že text bude zpřístupněn komukoli, kdo o téma bude mít zájem.

Další problémem může být i to, že v Moodle jsou vypracovaná starší témata, která dosud figurují jen jako připravovaná, což může zavadat příčinu k pochybnostem, zda má cenu soustředit se na něco, co stejně nebude použito. Teoreticky to může vést k menší motivaci studentů chtít případně na takových programech s katedrou spolupracovat. Skutečnou příčinu toho, že témata v sekci připravovaných kurzů zůstávají, může být spíše v již zmíněné rigiditě systému Moodle. Je v něm poměrně složité docílit kýženého výsledku, tedy rychle vytvořeného, přehledného, interaktivního kurzu, se spoustou odkazů, který má studentům a nejen jim mnoho co nabídnout.

Elektronické prostředí, zvláště pokud je rychle dostupné, má bezesporu mnoho výhod oproti klasické literatuře, na kterou může navíc bez problému odkazovat. Musí být ale rychlé, přehledné, interaktivní, pružné, uživatelsky příjemné a jednoduché, což dle mého názoru Moodle ne zcela splňuje. Je to však pouze můj názor, který mohou jistě ovlivňovat moje nemnohé zkušenosti s tímto programem. Člověk znalejší se s mým názorem nemusí ztotožňovat a může jej zpochybnit.

Kapitolu o druzích IZ a jejich fyzikálních vlastnostech jsem po úvaze do své práce nezařadila. Nejsou jejím předmětem, byla by příliš obširná a vše o tomto tématu již bylo zpracováno v jiné absolventské práci s názvem Vnější a vnitřní kontaminace radioaktivními látkami z roku 2010. Záměrně jsem nevytvořila verzi práce v Power pointu. Považuji tento program za přednáškový a dle mého názoru by přednáška či prezentace měla být ryze osobní záležitostí přednášejícího, co do výběru obsahu, grafiky a v neposlední řadě i designu.

ZÁVĚR

Cílem práce bylo vytvořit e-learningový edukační program se zaměřením na biologické účinky ionizujícího záření. Po zpracování dostupných dat z různých zdrojů má výukový program sloužit pro vzdělávání studentů jihočeské univerzity, jakož zřejmě i dalších v rámci celoživotního vzdělávání.

Cíl práce byl splněn vytvořením výukového programu v textovém editoru Microsoft Word, který slouží jako zdroj pro kurz v e-learningovém prostředí Moodle.

Hypotéza ve znění: „vytvořený e-learningový program zkvalitní výuku radiobiologie“ by mohla být potvrzena. V rámci výuky předmětů zaměřených na radiobiologii a také radiační ochranu není mnoho zdrojů, v nichž by byl ucelený přehled týkající se obecné radiobiologie. Setkáváme se spíše s díly, která se věnují pouze radiobiologii klinické či krizové. Zdá se, že pro účely výuky bakalářských programů a v rámci celoživotního vzdělávání ucelený přehled neexistuje. Většina výuky je přednášena z knižních materiálů a v dané problematice chybí přednášky pomocí moderních výukových metod.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. Feltl, D. – Cvek, J. *Klinická radiobiologie* 1. vyd. Havlíčkův Brod: Tobiáš, 2008, 105 s. ISBN 978-80-7311-103-8
2. Hrazdira, I. – Mornstein, V. – Škorpíková, J. *Základy biofyziky a zdravotnické techniky* 1. vyd. Brno: Neptun, 2006, 312 s. ISBN 80-86850-01-3
3. Hrazdira, I. – Mornstein, V. *Lékařská biofyzika a přístrojová technika* 1. Vyd. Brno: Neptun, 2001, 381 s. ISBN 80-902896-1-4
4. Kozlová, L. – Kubelová, V. *Jak psát bakalářskou a diplomovou práci* České Budějovice, 2009, 45 s. ISBN 978-80-7394-155-0
5. Kuna, P. – Navrátil, L. a kol. *Klinická radiobiologie* 1. vyd. Praha: Manus, 2005, 222 s. ISBN 80-86571-09-2
6. Ullmann, V. *Biologické účinky ionizujícího záření – Radiační ochrana* [online]. Ostrava: KNM FNsP, kapitola 5., platné
dostupné z: <http://www.astronuklfyzika.cz>
7. Klener, V. *Malé dávky záření a riziko rakoviny* [online]. Publikováno: Vesmír 87, 189, 2008/3, platné
dostupné z: www.vesmir.cz/clanek/male-davky-zareni-a-riziko-rakoviny
8. Státní úřad pro jadernou bezpečnost *Stručný přehled biologických účinků záření* [online]. Praha: SUJB, 1997, platné
dostupné z: <http://www.sujb.cz/radiacni-ochrana/oznameni-a-informace/strucny-prehled-biologickych-ucinku-zareni/>
9. Hynková, L., Doleželová, H., Šlampa, P. *Radiační onkologie - učební text pro studenty 5. roč. LF MU Brno* [online], platné
dostupné z: <http://www.mou.cz/cz/radiacni-onkologie--ucebni-text-pro-studenty-5-roc-lf-mu-brno/article.html?id=68>
10. Mornstein, V., Hrazdira, I. *Přednášky z lékařské biofyziky Biofyzikální ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno* [online], platné
dostupné z: http://www.google.com/search?as_q=p%F8edn%E1%9Aky+z+l%E9ka%F8sk%E9+biofyziky&hl=cs&inlang=cs&ie=utf-8&filter=0&as_sitesearch=med.muni.cz

11. Draft report: *Low-dose Extrapolation of Radiation-Related Cancer Risk* [online],
platné
dostupné z: <http://www.icrp.org/page.asp?id=79>
12. Raclavský, V. *Metody molekulární genetiky*, Olomouc [online], platné
dostupné z: <http://biologie.upol.cz/metody/Slovník/Nukleotid.htm>
13. Šípek, A. *Cytogenetika – Buněčný cyklus, mitóza, meióza* [online], platné
dostupné z: <http://www.genetika-biologie.cz/bunecny-cyklus>
14. Draft report: *ICRP Statement on Radon AND Lung cancer risk from radon and progeny*, [online], platné
dostupné z: <http://www.icrp.org/page.asp?id=83>
15. *Přírodní radioaktivita a problematika radonu*, [online], platné
Dostupné z: <http://www.suro.cz/cz/prirodnioz>
16. Hynková, L., Šlampa, P. a kol. *Radiační onkologie – učební texty*, Klinika radiační onkologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Masarykův onkologický ústav
1. vyd. 2009, Brno, 242 s., ISBN 978-80-86793-13-9
17. Averback, D., *The impact of locally multiply damaged sites*, odkaz [online],
platné
Dostupné z: <http://www.colloquium.fr/06irpa/cdrom/searchauteur.html>
18. Kolektiv autorů, *Radiobiologie*, [online], platné
Dostupné z: <http://fbmi.sirdik.org/>
19. Obrázek, [online], platné,
dostupné z: http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Bunecny_cyklus1.jpg

Z nich citované zdroje: [8] na str. 17 -18

[5] na str. 34 a 34 – 35

KLÍČOVÁ SLOVA

Ionizující záření (IZ)

Deoxyribonukleová kyselina (DNA)

Buňky

Biologické účinky

Dávka záření

Faktory ovlivňující biologické účinky

Radiosenzitivita, radiorezistence

E-learning

Prostředí Moodle