Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Zdravotně sociální fakulta

Měření absorbance moči při ozařování ionizujícím zářením při indikaci Mn²⁺

diplomová práce

Autor práce:Bc. Jan KonečnýStudijní program:Ochrana obyvatelstvaStudijní obor:Civilní nouzová připravenost

Vedoucí práce: Ing. Jan Singer, Csc.

Datum odevzdání práce: 20.5.2013

Abstrakt:

Měření absorbance moči ozářené určitou dávkou ionizujícího záření při indikaci Mn²⁺ by mělo sloužit ke zjištění dávky ozáření. Tato metoda by mohla přesně a spolehlivě fungovat pouze při homogenním ozáření jedince nebo jako hrubý odhad dávky, kterou jedinec obdržel při radiační havárii a mohla by tak přispět k rychlému roztřídění ozářených osob.

Cílem práce je zjistit, zda-li bude ozářená moč s přídavkem roztoku chloridu manganatého měnit svou absorbanci v závislosti na dávce ozáření a jestli ji lze tedy použít jako biologický dozimetr či nikoliv.

Hypotéza práce: při vyšších dávkách ionizujícího záření se v moči rozkládají různé sloučeniny. Při použití indikátoru Mn²⁺ moč mění svou absorbanci.

V teoretické části jsem se snažil popsat základní oblasti související s tématem a cílem práce. Tato část je rozdělena na sedm podkapitol: ionizující záření, radiační ochranu, radioterapii, urychlovače částic, spektrofotometrii, vylučování a moč a dozimetrii a její metody.

Zejména poslední čtyři podkapitoly velmi úzce souvisí s experimentální částí práce. V nich je popsán základní princip lineárního urychlovače částic, na kterém jsem ozařoval veškeré vzorky, princip spektrofotometru, na němž jsem měřil výslednou absorbanci, dozimetrické metody, do kterých tato metoda spadá a také složení definitivní moči.

Metodiku práce nelze popsat jednoznačně, během experimentů jsem zkusil uplatnit různé postupy s různými výsledky. Vždy však nejprve došlo k přípravě vzorků moči do zkumavek a k jejich následnému ozáření dávkami 1 – 25 Gy na lineárním urychlovači Clinac 2100 C/D v nemocnici České Budějovice, a.s. Před každým měřením jsem měl celkem 2 sady zkumavek s dávkami: 0, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20 a 25 Gy.

Další postup v laboratoři se již lišil. Při některých pokusech jsem přidával roztok chloridu manganatého do celé sady zkumavek najednou, při jiných zase do každé zkumavky zvlášť. Roztok jsem přidával do ozářené moči v různých koncentracích (od 1M do 5M) a v různém množství (od 1ml do 3ml do zkumavky).

Dalším rozdílem bylo použití centrifugy před samotným měřením na spektrofotometru. Zkumavky byly zcentrifugovány zhruba v polovině experimentů, ostatní měření probíhala bez centrifugace.

Posledním rozdílem bylo i samotné měření absorbance na spektrofotometru. Některé kyvety jsem měřil ihned po přidání chloridu manganatého, jiné s časovým zpožděním, to přineslo překvapivě velké rozdíly ve výsledcích.

V diskuzi jsem poté navrhl doporučenou metodiku. Doporučuji pouze měření bez centrifugace. Každá kyveta by dle mého názoru měla být měřena co nejdříve po ozáření a s co nejmenším časovým odstupem po přidání roztoku chloridu manganatého.

Výsledky práce nejsou jednoznačné, pouze u experimentů prováděných s centrifugací mohu říci, že tato metoda nefunguje u žádné testované koncentrace roztoku chloridu manganatého. Absorbance se u jednotlivých dávek ionizujícího záření nijak neměnila a hodnoty byly stejné při použití 1M, 3M i 5M roztoku MnCl₂. Ve výsledných grafech vyšly při všech experimentech v podstatě přímky (podkapitola 3.1).

Ve zbylých experimentech prováděných bez centrifugace zkumavek, byly výsledky mnohem zajímavější. U některých experimentů se změřená absorbance s dávkou ionizujícího záření opravdu měnila, takže hypotéza práce byla potvrzena. Avšak rozdíly byly příliš malé na to, aby se pomocí této metody daly spolehlivě určit dávky ozáření. (podkapitola 3.2)

Nejvíce experimentů jsem provedl s 3M roztokem MnCl₂, se kterým vypadaly výsledky měření nejlépe. U tohoto roztoku absorbance s rostoucí dávkou téměř lineárně klesala (Obr. č. 21). Tento experiment byl proveden několikrát a vždy se stejným výsledkem, pouze s drobnými odchylkami jednotlivých naměřených hodnot. Ovšem domnívám se, že zde výsledky značně ovlivnila použitá metodika. Při těchto experimentech jsem přidával 3M roztok do všech zkumavek najednou, tudíž byly jednotlivé zkumavky měřeny po sobě s časovým odstupem přibližně 150 s.

Jak ukázaly další experimenty, výsledek je významně ovlivněn časovým posunem jednotlivých měření. Zkoumal jsem to jen s 3M roztokem, u kterého

absorbance prvních 5 minut rostla (*viz tabulka č. 12, 13, 14 a 15 v kapitole 3. výsledky*), poté začala klesat, to trvalo minimálně 30 minut a poté opět začala růst, což potvrdilo měření po 2 hodinách, kde byla absorbance opět značně vyšší. Právě postupný pokles během prvních 30ti minut od přidání 3M roztoku MnCl₂ mohl významně ovlivnit výslednou podobu grafu.

Výsledky byly také porovnány s výsledky bakalářské práce Š. Radové, která prováděla velmi podobný experiment, ale s jiným indikátorem – FeSo₄. 7 H₂0. Bylo zjištěno, že indikátor FeSo₄. 7 H₂0 je pro měření dávky ionizujícího záření z moči vhodnější.

Na závěr lze tedy říci, že ačkoliv byla hypotéza práce potvrzena, metoda se v praxi použít nedá a ozářená moč s přidaným indikátorem MnCl₂ nefunguje jako biologický dozimetr.

Abstract:

Measurement of urine absorbance which has been irradiate by a dose of ionising radiation with addition of Mn^{2+} should serve to find the dose of radiation. This method could work quickly and reliably for homogeneous irradiation of person or as a rough estimate of the dose which the person received during a radiation accident. This method should serve for quick classification of the person.

The target of this thesis is to find out if the irradiated urine with the addition of a solution of manganese chloride will change absorbance according to radiation dose. And if urine can be used as a biological dosimeter.

In the theoretical part I describe the basic areas related to the topic and target of my thesis. This part is divided to seven subchapters: ionising radiation, radiation protection, radiotherapy, particle accelerators, spectrophotometry, excretion and urine, and dosimetry and its methods.

The last four subchapters are very closely related to the experimental part of this thesis. These subchapters describe the basic principles of the linear accelerator, in which I irradiated all samples, the principle of the spectrophotometer, which I used to measure absorbance, and the dosimetric methods used for classification in this method and the composition of the final urine.

Methods of this thesis are not clear. I tried different procedures during experiments with different results. First, I always prepared samples of urine in tubes and irradiated it in a linear accelerator Clinac 2100C/D in České Budějovice, a.s. hospital with doses from 1 to 25 Gy. Before each measurement I had two sets of tubes with these doses: 0, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20 and 25 Gy.

The following procedure was different in each experiment. Sometimes I tried adding a solution of manganese chloride to all tubes at once. Sometimes I tried to adding a solution of manganese chloride to each tube separately. I added the solution to irradiated urine at various concentrations of solution (from 1 do 5 mols) and different amounts (from 1 to 3 ml).

Another difference was the use of centrifuges. A centrifuge was use in about half of experiments. Other measurements were made without centrifugation.

The final difference was the actual measurement of absorbance in a spectrophotometer. Some cells I measured immediately after the addition of manganese chloride, others with a time lag, this brought a surprisingly large differences in the results.

In discussion I propose recommended methods. I recommend measuring only without centrifuges. Each cell should be measured as soon as possible after irradiation and simultaneously as soon as possible after adding the solution of manganese chloride.

Results of the thesis are not clear. Only some experiments which were measuring with centrifuge were clear. I can say that this method does not work when a centrifuge is used at any tested concentration of solution of manganese chloride. The absorbance of single doses of ionising radiation does not change and the values were the same when using 1M, 3M and 5M solutions of MnCl₂. The resulting graphs from all experiments have a constant absorbance value of all measured doses. (subchapter 3.1).

In the remaining experiments measured without the centrifuge the results were much more interesting. In some experiments the measured absorbance really changed with the dose of ionising radiation so the hypothesis of this study was confirmed. But the differences were too small for this method to be used for measuring radiation doses (subchapter 3.2).

Most experiments I conducted with 3M solution of MnCl₂, with which the results were the best. The absorbance of this solution with increasing dose decreased almost linearly (picture no. 21), This experiment was performed several times and always with the same result, with only minor deviations of the measured values. However, I believe that the results are significantly influenced by the methods used. In these experiments, I added the 3M solution to all tubes simultaneously, therefore, the individual tubes are measured in succession with an interval of approximately 150s.

The next experiments showed that the result is significantly influenced by the time interval of measurement. I measured this only with 3M solution of MnCl₂. The results showed that the absorbance increased in the first 5 minutes (see *tab no. 12, 13, 14 a 15 in chapter 3. results*), then began to decrease, afteranother 30 minutes at least it began to increase again, which confirmed measuring after two hours, when the

absorbance was again considerably higher. I think that the decrease during the first 30 minutes after addition of 3M solution of MnCl₂ could significantly affect the final form of the graph.

The results were compared with the results of the thesis "Measurement of urine extinction in depending on ionising radiation" from author Š. Radová. She performed a similar experiment, but with a different indicator - FeSO₄. 7 H₂0. It was found that the indicator FeSO₄. 7 H₂0 is preferable to measuring doses of ionising radiation in urine.

In conclusion I can say that the hypothesis of this study was confirmed, but the method could not be used in practice and irradiated urine with added $MnCl_2$ indicator does not function as a biological dosimeter.

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracoval 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

(jméno a příjmení)

.

.

Poděkování:

Tímto bych chtěl poděkovat vedoucímu mé diplomové práce Ing. Janu Singerovi, Csc. za vedení práce, názory, rady a připomínky, bez kterých by práce nevznikla.

Dále bych chtěl poděkovat kolektivu onkologického oddělení nemocnice České Budějovice a.s. za jejich ochotu a vstřícnost při ozařování vzorků, konkrétně Bc. Janě Rusínové a Mgr. Petru Malechovi.

Obsah:

Úvod		13
1. Teoret	tická část	14
1	.1. Ionizující záření	14
	1.1.1 Jednotky v oblasti IZ a radioaktivity	15
	1.1.2 Účinky ionizujícího záření	17
	1.1.3 Molekulární a buněčné změny po expozici IZ	18
	1.1.4 Účinky celotělových dávek na člověka	19
	1.1.5 Druhy ozáření	19
1	.2 Radiační ochrana	20
	1.2.1 Kategorizace zdrojů	20
	1.2.2 Optimalizace radiační ochrany při lékařském vyšetření	21
1.3 Radioterapie		21
	1.3.1 Základy radioterapie	22
	1.3.2 Zdroje ionizujícího záření používané v radioterapii	24
	1.3.3 Nežádoucí účinky radioterapie	25
1	.4 Urychlovače částic	28
	1.4.1 Betatron	
	1.4.2 Cyklotron	29
	1.4.3 Lineární urychlovač	31
	1.4.4 Vybavení v NČB, a.s.	33
1	.5 Spektrofotometrie	34
	1.5.1 Typy spektrofotometrů	35
	1.5.2 Základní princip absorpčního spektrofotometru	35
	1.5.3 Vzorce	36
1	.6 Vylučování a moč	38
	1.6.1 Fyziologie vylučování	38

1.6.2 Složení definitivní moči	39	
1.7 Dozimetrie a její metody	40	
1.7.1 Typy dozimetrie	41	
1.7.2 Biodozimetrie		
1.7.3 Chemická dozimetrie	43	
2. Hypotéza a metodika		
2.1 Hypotéza práce	45	
2.2. Metodika	45	
3. Výsledky		
3.1. Výsledky s centrifugací	53	
3.2. Výsledky bez centrifugace		
4. Diskuze		
5. Závěr		
6. Seznam informačních zdrojů		
8. Klíčová slova		

Seznam použitých zkratek:

IZ – ionizující záření

NČB, a.s. - nemocnice České Budějovice a.s.

DNA – deoxyribonukleová kyselina

RNA – ribonukleová kyselina

RTG - rentgen

MeV – mega Elektronvolt

keV-kilo Elektronvolt

TLD - termoluminiscenční dozimetrie

OSL – opticky stimulovaná dozimetrie

SÚJB – Státní úřad pro jadernou bezpečnost České republiky

UV – ultrafialová

(AP) – aritmetický průměr

M – molární

nm – nanometr

Úvod:

Měření absorbance moči ozářené určitou dávkou ionizujícího záření při indikaci Mn²⁺ by mělo prokázat myšlenku, že lze z moči zjistit přibližnou dávku ozáření. Mimotělní ozáření moči (in vitro) by mělo mít stejný výsledek jako ozáření uvnitř těla (in vivo). Tato metoda je samozřejmě pouze orientační, nemůže správně fungovat při nehomogenním ozáření jedince. Mohla by však sloužit jako hrubé určení dávky, kterou jedinec obdržel při nějaké radiační havárii.

Smyslem této diplomové práce je potvrdit hypotézu, že se při vyšších dávkách ionizujícího záření v moči rozkládají určité sloučeniny a po přidání MnCl₂ se mění absorbance moči v závislosti na dávce ionizujícího záření, kterým byla měřená moč ozářena.

Tato práce má přímo navázat na bakalářskou práci Š. Radové s názvem "Měření extinkce moči v závislosti na dávce ionizujícího záření" publikovanou v roce 2010 na ZSF JU. V této diplomové práci bude použit jiný indikátor, konkrétně Mn²⁺, místo Fe²⁺.

Hlavním cílem práce je tedy prokázat, zda-li je moč použitelná jako biologický dozimetr za pomoci indikátoru Mn^{2+} . Tedy, jestli se projeví změny absorbance při různých dávkách ionizujícího záření při použití Mn^{2+} a porovnat tyto výsledky s výsledky bakalářské práce Š. Radové.

1. Teoretická část

1.1 Ionizující záření

Ionizující záření lze charakterizovat jako tok hmotných částic nebo fotonů elektromagnetického záření, které jsou schopny ionizovat atomy nebo excitovat jádra. Jádro atomu se dostává do excitovaného stavu a elektron se tak stává nestabilní. Aby se atom opět vrátil do stabilního stavu musí vyzářit energii ve formě elektromagnetického záření (Navrátil, 2003).

Rozlišujeme dva základní typy ionizujícího záření

- I. Přímo ionizující záření
- II. Nepřímo ionizující záření

I. Přímo ionizujcí záření tvoří pouze nabité částice, mezi které patří elektrony, protony, častice α , částice β a antičástice elektronů, tedy pozitrony. Tyto částice mají dostatečnou kinetickou energii a jsou tak schopny přímo vyvolat ionizaci.

II. Do nepřímo ionizujícího záření řadíme dva typy částic a to fotony a neutrony. Tyto částice nedokáží přímo ionizovat prostředí, ale při interakcích s prostředím dochází k uvolnění přímo ionizujících částic. Ionizace prostředí je tak nepřímo způsobena těmito nenabitými částicemi. Podle charakteru ionizujícího záření zavádíme další 2 pojmy:

- a) Korpuskulární ionizující záření
- b) Fotonové ionizující záření

 a) Korpuskulární ionizující záření vychází ze slova "korpuskule" neboli částice, je to tedy záření částic. Toto záření je charakterizováno kinetickou energií, klidovou hmotností a také elektrickým nábojem. Částice můžeme podle hmotnosti rozdělit na 3 kategorie:

- těžké (baryony) do této kategorie řadíme nukleony (protony, neutrony) a hyperony
- středně těžké (mezony) sem patří kaony a piony

 lehké (leptony) – mezi leptony řadíme elektron, elektronové neutrino, mion, mionové neutrino, tauon a taunové neutrino (Štoll, 2010).

b) Naproti tomu pro fotonové ionizující záření je typický tzv. korpuskulárně-vlnový dualismus, tzn. že toto záření má duální charakter, chová se tedy jako vlnění i jako částice. Fotonové záření rozdělujeme na dva typy:

- záření γ
- rentgenové záření

Fyzikálně jsou záření takřka stejná, rozdíl je pouze v jejich vzniku a ve vlnové délce. Žáření γ vzniká v atomovém jádře, zatímco rentgenové záření vzniká v atomovém obalu, interakcí elektronu s těžkými atomy (kolektiv autorů, 2010).

Pokud se ještě vrátím k vlnově korpuskulárnímu dualismu, tak existuje jedno důležité kritérium podle kterého lze poznat zda se jedná o částici či vlnění. Tímto kritériem je klidová hmotnost částice označovaná jako m₀. Jednoduše lze říci, že v záření vlnovém částice nemají klidvou hmotnost, zatímco v záření korpuskulárním mají nenulovou klidovou hmotnost (Ullmann, 2010a).

S ionizujícím zářením souvisí také pojem radioaktivní atomy. To jsou atomy, jejichž jádra nejsou v čase stabilní a samovolně se přeměňují na jiná jádra. Atom se snaží dosáhnout stability a to právě cestou radiaktivní přeměny (kolektiv autorů, 2010).

1.1.1 Jednotky v oblasti IZ a radioaktivity

Základními jednotkami v této oblasti je becquerel (Bq), gray (Gy) a sievert (Sv). Všechny tři jednotky jsou pojmenovány po významných osobnostech v oblasti radioaktivity a ionizujícího záření. Henri Becquerel roku 1903 společně s Pierrem Currie a Marii Currie-Sklodowskou objevil přirozenou radioaktivitu. Proto jednotka aktivity je pojmenována po něm. Základním vzorcem pro aktivitu je vztah:

$$A = \frac{dN}{dt} \quad A = [Bq] \qquad \qquad 1Bq = 1Hz = 1s^{-1}$$

kde A je aktivita, dN je počet přeměn, dt je změna času v sekundách. Souhrnně lze říci, že aktivita je počet radioaktivních přeměn za jednu sekundu (Reichl, 2006).

Používá se také aktivita vztažená na plochu, objem nebo hmotnost. Nazývá se plošná aktivita (Bq/m²), objemová aktivita (Bq/l) a měrná aktivita (Bq/kg) (Singer, 2011).

Druhou základní jednotkou je gray, který je jednotkou absorbované dávky. Absorbovaná dávka je poměr střední energie předané ionizujícím zářením elementu látky (Havránek, 2012).

$$D = \frac{d \varepsilon}{dm} \quad D = [Gy]$$

Třetí a poslední základní jednotkou je sievert. Tato jednotka se používá pro ekvivalentní a efektivní dávku. Ekvivalentní dávka je definována jako střední absorbovaná dávka v orgánu násobená radiačním váhovým faktorem. Vztah pro tuto veličinu je následující:

$$H_{T,R} = w_r \times D_{T,R} \quad H_{T,R} = [Sv]$$

Radiační váhový faktor w_r charakterizuje typ záření, pro fotony a elektrony je roven 1, pro protony je roven 5, pro neutrony dle energie 5-20 a pro těžká jádra a alfa částice je roven 20. Pro záření gama tedy platí 1 Gy = 1 Sv.

Efektivní dávkou naopak označujeme střední hodnotu ekvivaletních dávek v orgánech násobenou tkáňovým váhovým faktorem.

$$E = \sum_{T} W_{T} * H_{T} \quad E = [Sv]$$

Tkáňový váhový faktor vyjadřuje podíl jednotlivých orgánů na celkovém riziku stochastických účinků. Hodnoty pro jednotlivé orgány se stále drobně korigují (Singer, 2012a).

Aktuální hodnoty vychází z doporučení ICRP č. 103 z roku 2007. Pro příklad některé uvedu (ICRP, 2007).

W _T
0,12
0,12
0,12
0,08
0,04
0,04
0,01
0,01

Tab. č. 1 – hodnoty tkáňových váhových faktorů

1.1.2 Účinky ionizujícího záření

Účinky ionizujícího záření nejsou dány pouze přesně stanovenými veličinami, jako je aktivita, ale závisí také na tom, jakou energii dané záření má a na prostředí, ve kterém se šíří (Škorpík, 2006).

V biologickém prostředí lze účinky IZ rozdělit na čtyři fáze, které následují po sobě:

- fyzikální
- fyzikálně-chemické
- chemické
- biologické

Při fyzikální fázi dochází k přenosu energie od ionizující částice na atomy prostředí, tato fáze trvá zhruba od 10⁻¹⁸s (u rychlých elektronů) do 10⁻¹³s (fotoelektrický jev, Comptonův rozptyl). Druhou fází je fáze fyzikálně-chemická, v ní dochází k excitaci jader a ionizaci atomů, tato fáze trvá kolem 10⁻¹⁰s. Ve třetí fázi, chemické, již dochází k primárnímu poškození biologických struktur, tato fáze trvá kolem 10⁻⁶s. V poslední biologické fázi dochází hlavně k reparaci poškozených buněk nebo ke smrti těchto buněk, tato fáze trvá od několika sekund po několik let. V některé literatuře jsou uváděny pouze tři fáze: fyzikální, chemická a biologická (Joiner, 2009).

Účinek ionizujícího záření může být buď přímý nebo nepřímý. Přímým účinkem

rozumíme, že dochází k absorbci energie uvnitř jádra buňky, to způsobuje změny v chemických vazbách a může to způsobit až rozpad molekuly. Přímý účinek je nejčastější u buněk obsahujících malé množství vody. Naopak pod termínem nepřímý účinek máme na mysli radiolýzu vody, tedy rozpad molekuly vody, při kterém dochází k tvorbě agresivních volných radikálů (Navrátil, 2005).

1.1.3 Molekulární a buněčné změny po expozici IZ

Přímé účinky ionizujícího záření nejsou tak časté, protože pravděpodobnost zasažení organické molekuly je relativně malá oproti nepřímým účinkům spojeným s tvorbou volných radikálů z vody. Radiolýzou vody mohou vzniknout různé radikály. Nejreaktivnějším je hydroxylový radikál OH⁻. Mezi další radikály řadíme superoxidový radikál O₂⁻, perhydroxylový radikál HO₂, peroxid vodíku H₂O₂ a singletový radikál ¹O₂.

Hydroxylový radikál je extrémně reaktivní a nejvíce poškozuje cílové biomolekuly. Reaguje velkou rychlostí se všemi biomolekulami – se sacharidy, aminokyselinami, fosfolipidy, nukleotidy i organickými kyselinami. Hlavní reakce hydroxylového radikálu s biomolekulami spočívá v tom, že jim odejme vodík H⁺. Příkladem tohoto odnětí vodíku je reakce OH s lecitinem, který patří mezi významné membránové fosfolipidy. Po odtržení vodíku se z lecitinu stává lipidový radikál, který spouští radikálové reakce vedoucí k poškození membrány. Stejným způsobem reaguje hydroxylový radikál i s ostatními biomolekulami a dochází tak k rozsáhlému poškození buněk.

Hlavními cílovými strukturami radikálového poškození jsou lipidy, protože ty jsou základní stavební jednotkou buněčných membrán. V důsledku poškození lipidů dochází k poruchám transportu a změnám odolnosti. To může ve výsledku způsobit, že membrána přestane působit jako překážka pro makromolekuly.

DNA je poškozována ionizujícím zářením také častěji nepřímo (z 80-90%). Nejčastější je oxidační poškození purinové nebo pyrimidinové báze. DNA je vůči záření mnohem citlivější než RNA. Hydroxylový radikál dokáže společně s protonem vytrhnout vodík z molekuly DNA. Ionizující záření vede tak k poškození baze a vyvolává zlomy, buď jednoduché nebo dvojné. Dvojné zlomy, tzn. zlomy obou řetězců DNA jsou nejhorším poškozením. Zatímco jednoduché zlomy se reparují poměrně dobře a rychle u zlomů dvojných je tomu naopak. Polovina dvojných zlomů se opraví během jedné hodiny po ozáření, ale zbytek se již opravuje velmi pomalu a pokud je poškození rozsáhlé, část zlomů se nemusí opravit vůbec. Rozsah poškození závisí na dávce ionizujícího záření, na typu záření, na typu buňky a fázi buněčného cyklu, ve kterém se buňka nacházela. Nejcitlivější je buňka v mitóze (M-fáze), naopak nejméně citlivá je v S-fázi buněčného cyklu (Kuna, 2007).

1.1.4 Účinky celotělových dávek na člověka

Co se týče celotělové dávky pro člověka, pod dávku 100 mGy nepoznáme žádné účinky. Při dávce více než 0,15 Gy dochází u mužů ke snížení spermatogeneze, minimum je okolo 45 dne. Při dávce větší než 0,7 Gy se začínají projevovat změny v kostní dřeni. Při dávce více jak 1 Gy obvykle dochází ke zvracení v čase 2 až 3 hodiny po ozáření, při vyšších dávkách je nástup zvracení rychlejší. U dávek nad 4 Gy je interval od ozáření po začátek zvracení méně než jedna hodina. LD₅₀ (letal dose), neboli letální dávka, při které zemře 50% ozářených jedinců je bez včasného ošetření pouze kolem 3,5 Gy. S ošetřením je LD₅₀ zhruba 5-5,5 Gy. Nad 10 Gy celotělově jsou dávky vždy smrtelné (Zölzer, 2012).

1.1.5 Druhy ozáření

Jednoduše lze ozáření rozdělit na 3 druhy :

- lékařské ozáření
- ozáření při práci (profesní)
- ozáření obyvatel

Ozáření lékařské je veškeré ozáření osob ionizujícím zářením, které je součástí vyšetřovacích nebo terapeutických metod. Ozáření při práci (profesní) vzniká zaměstnanci během práce nebo jako důsledek jeho práce. Do ozáření obyvatel spadají všechna ostatní ozáření (Kuna, 2005).

1.2 Radiční ochrana

Cílem radiační ochrany je úplně vyloučit deterministické účinky ionizujícího záření a co nejvíce potlačit účinky stochastické. V České republice máme s radiační ochranou spojeno mnoho právních předpisů, 2 nejvýznamnější jsou dle mého názoru zákon č. 18/1997Sb. o mírovém využívání jaderné energie a ionizujícího záření (atomový zákon) a o změně a doplnění některých zákonů a vyhláška SÚJB č. 307/2002 Sb. o radiační ochraně (Česko, 1997).

Jedním ze základních pojmů v této oblasti je termín optimalizace radiační ochrany a s ní velmi úzce souvisí princip ALARA (as low as reasonably achievable). Cílem tohoto principu je dosáhnout toho, aby dávky byly tak nízké jak je to rozumně dosažitelné. Při práci se zdroji ionizujícího záření musí mít provozovatel vždy zdůvodněnou činnost, pokud tam dochází k nějakému ozařování ionizujícím zářením, musí to mít určitý přínos pro společnost. Také musí dodržovat princip bezpečnosti zdrojů – zdroj musí být typově schválený, musí na něm docházet k pravidelným kontrolám, musí být řádně zabezpečen, smí s ním nakládat a pracovat pouze vycvičený a dostatečně vzdělaný personál atd. (Havránek, 2012).

Dále je nutné dodržovat veškerě limity ozáření, které jsou mimo jiné stanovené ve vyhlášce SÚJB č. 307/2002 Sb. o radiační ochraně. Limit pro radiační pracovníky je maximálně 50 mSv za kalendářní rok, ale maximálně 100 mSv za 5 po sobě jdoucích let. Limit pro učně a studenty je pouze 6 mSv za kalendářní rok (SÚJB, 2002).

1.2.1 Kategorizace zdrojů

Podle vyhlášky se také dělí zdroje ionizujícího záření do následujících kategorií:

- nevýznamné
- drobné (např. ionizační hlásič požáru)
- jednoduché (např. zubní rentgen, kabinové RTG)
- významné (např. urychlovače částic)
- velmi významné (jaderný reaktor) (SÚJB, 2002)

1.2.2 Optimalizace radiační ochrany při lékařském vyšetření

Pro lékařské ozáření platí totéž co obecně. Je uplatňován princip zdůvodnění – přínos pro pacienta musí být při daném vyšetření vyšší než riziko s vyšetřením související. Princip optimalizace – podle ALARA. Lékařské ozáření smí provádět pouze držitel povolení k nakládání se zdroji IZ a to pouze se zdroji typově schválenými SÚJB a i zde platí princip bezpečnosti zdrojů. Pro lékařské ozáření nejsou stanoveny žádné limity, je tedy nutné hlavně respektovat princip optimalizace a zdůvodnění (Seidl, 2012).

1.3 Radioterapie

Pod pojmem radioterapie se neskrývá nic jiného, než léčba ionizujícím zářením. Tato léčebná metoda se používá zhruba u 80% pacientů s onkologickým onemocněním. Nevyužívá se však samostatně, ale je třeba vytvořit komplexní léčebný program, který zahrnuje kromě radioterapie také léčbu cytostatiky nebo hormonální léčbu. Základním principem radioterapie je dosáhnout maximální absorbované dávky v ložisku nádoru, aniž bychom poškodili okolní zdravou tkáň.

Ionizujícím zářením nelze léčit všechny typy nádorů. Záleží na mnoha faktorech, zda-li nádor bude úspěšně léčitelný právě touto metodou. Mezi hlavní tři určující faktory patří citlivost nádoru na záření, neboli radiosenzitivita, velikost nádoru a lokalizace nádoru. U nádorů méně citlivých, či rezistentních má radioterapie pouze paliativní význam, proto mnohem účinnější metodou na tyto typy nádorů je brachyterapie.

Brachyterapie zahrnuje metody, při kterých se zářič zavádí přímo do ložiska nádoru. Díky tomu můžeme do nádoru dát velmi vysokou dávku, aniž bychom poškodili okolní zdravé tkáně. Avšak nejnovější metody v oblasti ozařování nádorů jsou založené na ozařování svazky protonů a iontů. Tyto svazky dokáží zničit radiorezistentní nádory, které byly donedávna prakticky neléčitelné. Dobré výsledky má také neutronová terapie, ale pouze pro určité tkáně, využívá se například pro terapii nádoru slinných žláz, prostaty, některé nádory hlavy a krku a další. Veškerá radioterapie je však léčbou lokální, ne systémovou. To znamená, že se využívá pouze na postižené místo. Systémová léčba, tedy celotělové ozáření, se využívá pouze u pacientů s hematologickými malignitami a slouží ke zničení imunity před transplantací kostní dřeně (Navrátil, 2005).

1.3.1 Základy radioterapie

Při průchodu ionizujícího záření látkou nebo vzduchem dochází k jeho zeslabení. Ve vzduchu je úbytek záření se čtvercem vzdálenosti. Naopak úbytek ionizujícío záření při průchodu látkou závisí hlavně na energii záření, na druhu záření a na absorpčních vlastnostech dané látky. Největší úbytek je u těžkých nabitých částic, naopak nejnižší u fotonů.

Vztah mezi ozářením a biologickou reakcí je v podstatě přímo úměrný, tzn. čím delší expozice, tím intenzivnější biologické účinky. Kromě délky expozice biologický účinek ovlivňují rovněž prostorové rozložení záření a kvalita zdroje.

Při ozáření tkáně se začnou projevovat destrukční, reparační a také proliferační procesy v rámci celé tkáně. Různé tkáně vykazující různou rychlost proliferace. U běžné zdravé tkáně je proliferace řízena homeostatickou kontrolou, zatímco u nádorové tkáně dochází k neřízenému množení buněk. Proto je biologický účinek závislý nejen na délce expozice, ale také na časovém faktoru.

To je také důvod, proč se nádory neozařují jednorázově, ale tzv. frakcionovaným způsobem. Celková dávka je rozdělena do několika dílčích dávek (frakcí), které se aplikují nejčastěji denně (5 frakcí týdně). Celkem to bývá 20-30 frakcí a celková dávka kolem 50 Gy. Hraje zde roli i tzv. faktor zotavení, to je schopnost zdravé tkáně se alespoň částečně obnovit mezi frakcemi. Rozlišujeme také hypofrakcionační a hyperfrakcionační režimy. Hypofrakcionační je ozáření méně než pětkrát týdně. Hyperfrakcionační režim je ozařování prováděné co nejvíce frakcemi, dvěmi až třemi denně (Navrátil, 2005).

Není však důležitá pouze dávka, jakou pacienta ozáříme, ale záleží na mnoha faktorech, které musí být dodrženy. Jedním z nich je například nutnost uložit pacienta

do nějaké pro něho příjemné polohy a zajistit, aby se během ozařování nehýbal. Na imobilizaci existuje spousta pomůcek, které jsou anatomicky tvarované přesně podle pacienta (Barrett, 2009).

Dalším důležitým pojmem je tzv. terapeutický poměr, což je poměr mezi letální nádorovou dávkou a dávkou tolerovanou zdravou tkání. Pokud je tento poměr menší než 1, jedná se o přiznivou situaci. Pokud je roven 1, jde o omezeně citlivý nádor a při ozařování musíme počítat s určitým procentem komplikací. Pokud je terapeutický poměr větší než 1, je léčba ionizujícím záření pro daný typ nádoru nevhodná.

Ve výsledku ozařování hrají velkou roli také ideální ozařovací podmínky. Ty mohou výsledkek léčby velmi významně ovlinit kladně i záporně. Proto je velmi důležité je optimalizovat. Mezi ozařovací podmínky řadíme kvalitu záření a jeho filtraci, ozařovací vzdálenost, ozařovací pole, ozařovaný objem a ozařovací čas (Spurný, 1999).

Účinek záření na nádorovou tkáň lze zvýšit několika způsoby:

- zvýšeným zásobením tkáně kyslíkem
- radiosenzibilizátory, neboli látkami, které vykazují kyslíkový efekt
- využitím záření o vyském LET (linear energy transport). Vysokou hodnotu LET má např. svazek rychlých neutronů, jejichž účinek je nezávislý na přítomnosti kyslíku
- kombinací radioterapie s cytostatiky (Navrátil, 2005).

Kombinace radioterapie a chemoterapie se používá velmi čisto ke zvýšení účinnosti léčby. Základní léčebnou metodou je radioterapie, která využívá efektu současně podávaných cytostatik. Účinnost léčby se tím sice zvyšuje, ale zároveň se zvyšuje také riziko nežádoucích účinků.

Nově je radioterapie také kombinována s biologickou léčbou. Jak jsem již uvedl v *kapitole 1.2.1* u nádorových buněk dochází k nekontrolovanému růstu. Tedy biologická léčba je cílena právě na růst buněk. Zjednodušeně lze říci, že biologická léčba blokuje růst buňky.

Radioterapie může být také kombinována s hypertermií, zpravidla 41 – 43°C.

Hypertermie poškozuje nejvíce hypoxické oblasti tumoru, zatímco záření zase okysličenou tkáň, takže tyto dvě metody se výborně doplňují (Doležalová, 2011).

1.3.2 Zdroje ionizujícího záření používané v radioterapii

Kobaltové a Césiové ozařovače

Kobaltové i Césiové zdroje se používají pro ozařování z dálky, Kobaltové ozařovače (⁶⁰Co) mají vysokou aktivitu a jsou tak využívány pro hloubkovou radioterapii. Poločas rozpadu ⁶⁰Co je 5,29 roku. Kobalt emituje dvě kvanta γ záření o energiích 1,33 a 1,17 MeV. Bývá uložen v hliníkovém nebo ocelovém kontejneru velmi malých rozměrů.

Naproti tomu Cesium má poločas přeměny 30,4 roku a emituje kvantum γ záření o energii 0,66 MeV. Využívá se pro ozáření patologických ložisek do hloubky 5cm (Navrátil, 2005).

Kobaltové i Césiové ozařovače mají dnes uplatnění pouze při paliativní léčbě a nenádorové terapii. Postupně jsou vyřazovány z provozu a nahrazovány jinými metodami (Doležalová, 2011).

Leksellův gama nůž

Leksellův gama nůž je zařízení používané k ozařování mozku. K tomu se používá 201 malých zdrojů gama záření Kobaltu ⁶⁰C, jejichž paparsky se protínají v bodě terapeutického působení. Hlava pacienta je při tomto ozařování fixována v kovové helmě (Zeman, 2004).

Dávka jednotlivých zdrojů je velmi malá, ale v ohnisku, kde se paprsky setkají, se všechny dávky sčítají. To slouží k tomu, že do ohniska je soustředěna maximální dávka a okolí dostane dávku minimální, tedy okolní tkáně zůstávají prakticky nepoškozeny. První gama nůž byl po řadě experimentů sestrojen Larsem Leksellem v roce 1968. Nejčastější indikací jsou benigní a maligní nádory, tato metoda má nulovou mortalitu (Navrátil, 2005).

Terapeutické rentgenové přístroje

Terapeutické rentgeny se využívají hlavně pro nádory kůže a dále, stejně jako

Césiové a Kobaltové ozařovače, při indikaci paliativní léčby a u nenádorových onemocnění. Jejich výhodou v oblasti nádoru kůže je maximální dávka na povrchu těla (Doležalová, 2011).

Zdroje používané v brachyterapii

V brachyterapii, neboli brachyradioterapii se používají pouze uzavřené zářiče velmi malých rozměrů (váleček o průměru 1 mm a délce 5 mm), které se přímo vkládají do ložiska nádoru. Emitují gama nebo beta záření.

Pro aplikaci zdroje do ložiska nádoru se využívá tzv. afterloadingová metoda, která probíhá ve dvou fázích, ve fázi neaktivní a aktivní. V první, tedy neaktivní fázi, se závádí aplikátory a makety zdroje, jejichž geometrie se kontroluje RTG snímkováním. V této fázi se také vypočítává potřebná dávka. Ve druhé, tedy aktivní fázi, dojde k vlastnímu zavedení zdroje do aplikátoru do přesně stanovené polohy. Při ukončení léčby nebo přerušení se zdroj automaticky vyjme afterloadingovým přístrojem zpět.

Otevřené zářiče

Otevřené zářiče se využívají pouze ke zcela specifickým účelům na pracovištích nukleární medicíny, kde se využívá jejich přirozeného metabolismu. Např. radioaktivní jód ¹³¹I se aktivně metabolizuje ve štítné žláze a tudíž se využívá právě při ozařování nádorů štítné žlázy. Samarium ¹⁴⁵Sm se používá k léčbě kostních metastáz, neboť vstupuje do kostního metabolismu (Doležalová, 2011).

Do této kapitoly "*Zdroje ionizujícího záření používané v radioterapii*" se řadí ještě urychlovače částic, kterým však věnuji celou následující kapitolu z důvodu, že jeden z těchto přístrojů využívám ve svém experimentu.

1.3.3 Nežádoucí účinky radioterapie

I přes to, že se léčba co nejvíce optimalizuje, stále část záření působí na zdravou tkáň. Rozlišujeme pět druhů nežádoucích účinků:

- Systémové příznaky
- Lokální změny
- Akutní nežádoucí účinky

- Pozdní nežádoucí účinky
- Velmi pozdní změny

Systémové příznaky se objevují především u vyšších dávek, nejčastěji v podobě únavy, nechutenství, nevolnosti či psychických změn. Při ozařování velkého objemu kostní dřeně se může objevit také hematologická toxicita. Jedná se hlavně o anémii, leukémii a trombocytopenii.

Lokální změny jsou ty, které se projevují v místě ozařování nádoru nebo velmi blízko u něho. Změny mohou být různého typu, záleží především na tom, v jakém místě se nádor nachází.

Akutní nežádoucí účinky definujeme jako změny v lidském organismu, které se projeví do tří měsíců po ukončení léčby. Nejvíce se změny projevují u rychle proliferujícíh tkání, jako je kožní epitel, hematopoetický systém nebo sliznice. Intenzita akutních změn závisí na mnoha faktorech. Častěji se tyto účinky objevují při vyšších celkových dávkách, při delší době léčby pomocí radioterapie, dále při hyperfrakcionaci nebo při kombinaci radioterapie s chemoterapií. Je však nutné říci, že všechny akutní nežádoucí účinky jsou reverzibilní, tedy dají se vyléčit. Konkrétně nejčastějšími projevy jsou např.: radiodermatitida, pneumonitida aj.

Pozdní nežádoucí účinky se začínají projevovat až v době od tří měsíců do zhruba tří let po ukončení ozařování. Veškeré tyto změny se objevují nejčastěji v pojivové tkáni, cévách, plicích, srdci, ledvinách, nervové tkáni, játrech nebo svalech a jsou ireverzibilní, tedy nevratné. Pozdní změny mohou vznikat náhle nebo postupně či navazují na akutní nežádoucí účinky. Mezi pozdní nežádoucí účinky řadíme např. fibrotické změny kůže a podkoží, atrofii pokožky, kataraktu, osteoporózu, fibrózu močového měchýře aj. Pozdní účinky nejsou závislé na celkové dávce běhěm ozařování, ale především na dávkách jednotlivých frakcí.

Poslední kategorií jsou *velmi pozdní změny*, které se objevují především v intervalu 5 – 15 let po ukončení ozařování. Tyto změny jsou také ireverzibilní a jedná se především o různé mutace, které vznikly ozářením. Tyto mutace se pak projevují

tvorbou různých malignit, např. nádorem prsu. Tyto změny jsou dány tzv. stochastickými účinky záření, tzn. že nemají žádnou prahovou dávku a nelze tedy určit zda vzniknou či nikoliv. Existují však tzv. toleranční dávky, které jsou stanovené na základě pozorování a umožňují nám přibližně určit míru rizika závažných chronických změn po ozařování. Zde rozlišujeme 2 hodnoty:

- TD_{5/5} je dávka, která způsobí závažné komplikace 5% pacientů v době během 5 let po ozařování.
- TD_{50/5} způsobí 50% pacientů závažné problémy během 5 let po ozařování (Doležalová, 2011).

Pro příklad uvádím tabulku s některými hodnotami tolerančních dávek.

orgán	TD _{5/5} -TD _{50/5} [Gy]
varlata	1–2
vaječníky	6–10
oční čočka	6–12
ledvina	20–30
kůže	30–40
kostní dřeň	40–50
GIT	50–55
mozek	55-70
sval	více než 70

Tab. č. 2 – hodnoty tolerančních dávek pro jednotlivé orgány (Doležalová, 2011).

Nejčastější reakce tkání a orgánů na ozáření hlavy a krku

- Kůže a podkožní tkáň její poškození vzniká nejčastějí při chemoradioterapii, většina těchto reakcí se zahojí do 4-6 týdnů po ozáření.
- Sliznice poškození sliznice dutiny ústní se vyskytuje téměř u všech ozařovaných pacientů, nejzávažnějším poškozením jsou vředové léze, které zde vznikají. Podobné poškození může být také na sliznicích hltanu.

Slinné žlázy – dochází k částečné nebo i úplné zástavě produkce slinných žláz.

Obnova do původního stavu může trvat několik měsíců i několik let (Hynková, 2008).

Mezi další nežádoucí účinky radioterapie mohou patřit zácpa a průjem, poškození srdečního svalu (kardiotoxicita), poškození ledvin (nefrotoxicita), neurotoxické projevy, plicní toxicita, sterilita, vypadávání vlasů (alopecie), různé alergické reakce, mutagenní a karcinogenní projevy (tvorba malignit) a další (Slezáková, 2010).

1.4 Urychlovače částic

Ve své diplomové práci používám k ozáření moči in vitro právě lineární urychlovač elektronů, proto se v této kapitole, mimo jiné, krátce zmíním o tom, na jakém principu toto zařízení funguje.

Urychlovačů částic dnes existuje mnoho typů, každý z vnějšku vypadá jinak a používají se v mnoha různých odvětvích. Základní princip urychlovačů je však stejný, jedná se o interakci elektrického náboje spojenou s působením statického nebo dynamického magnetického pole. Technická realizace tohoto principu vede k výrobě různých typů urychlovačů (Wiedemann, 1999).

Urychlovače lze rozdělit na tři zákádní:

- betatron
- cyklotron
- lineární urychlovač

1.4.1 Betatron

Betatron je založen na principu magnetické indukce, tedy že práce vykonaná pohybujícím se nábojem po uzavřené křivce není v přítomnosti proměnného magnetického pole nulová. Betatron se skládá z magnetu, uvnitř kterého je vakuová komora. Dalšími hlavními částmi jsou urychlovací a ladící štěrbina (Doležal, 2009).

Mezi póly elektromagnetu, ke kterým je přivedeno střídavé napětí o frekvenci až 500Hz, je tedy vakuum, v podobě skleněné nebo porcelánové trubice. Do trubice jsou v přesných časových intervalech vystřelovány elektrony, tím se dostavají do magnetického pole a po kruhové dráze se pak soustavně urychlují.

Ve vzduchoprázdné trubici není žádný odpor a rychlost elektronů se tak blíží rychlosti světla. Poté dojde k oslabení magnetického a elektrického pole, to způsobí, že elektrony buď vyletují nebo mohou dopadat na wolframový terčík. Na wolframovém terčíku díky prudkému zabrždění elektronů vzniká velmi tvrdé brzdné RTG záření, jehož energie je až několik desítek MeV. Toto záření přestavuje velmi úzký svazek, s maximální intenzitou uprostřed a prudkým poklesem po stranách. Kvůli tomu se používají tzv. homogenizační filtry tvaru disku. Ve střední části jsou tlustší a směrem ke stranám tenčí. Filtry se vkládají přímo do primárního svazku záření, tím se intenzita vyrovná (Navrátil, 2005).

Betatron se využívá ve třech kategoriích:

- v medicíně (k radioterapii)
- v průmyslu
- na fyzikální aplikace (testy detektorů vysokých energií)



http://www.cientificosaficionados.com/libros/aceleradores4.pdf

1.4.2 Cyklotron

První cyklotron sestavil americký fyzik Ernest Orlando Lawrence již v roce 1932, od té doby se tyto přístroje značně změnily, základní princip však zůstal stejný.

Cyklotron je vlastně kruhový urychlovač částic určený hlavně pro urychlování těžkých nabitých částic, jako jsou protony, deuterony, částice α nebo ionty (Navrátil, 2005).

Tento přístroj se skládá ze dvou elektrod (duantů) polokruhovitého tvaru. Duanty jsou uzavřeny v evakuovaném prostoru a jsou připojeny na zdroj střídavého napětí o vysoké frekvenci. Nabité částice jsou vystřelovány mezi duanty kolmo ke směru siločar magnetického pole. Bez urychlování by částice opisovaly pouze kruhovou dráhu, podobně jako je tomu u betatronu. Na duanty je však přiváděno vysokofrekvenční střídavé napětí, které umožňuje částice urychlovat, ovšem pouze v místě mezi duanty. Částice po urychlení v mezeře mezi duanty opět opíše půlkruh a zase vletí do protilehlé mezery. Mezitím však dojde k přepólování duantů, takže částice se i v protilehlé mezeře urychlí. Tento děj se stále opakuje, dochází k neustálému přepólování duantů a tak se částice zrychluje v každé mezeře a opisuje tak stále větší kružnice. To znamená, na rozdíl od betatronu, jsou částice u cyklotronu urychlovány po spirálové dráze. Poté co částice dosáhne maximální rychlosti, tak je odkloněna a vylétává z cyklotronu ven (Hrazdíra, 2001).



Obr. č. 2 – základní scháma cyklotronu, dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Cyklotron

1.4.3 Lineární urychlovač

Lineární urychlovač dnes patří ke standartnímu vybavení v oblasti radioterapie. Využívá se k vytvoření vysokoenergetického svazku fotonů nebo elektronů vytvořeného pomocí vysokého napětí v urychlovací trubici. Maximální dávka je 1 - 4 cm pod povrchem (Doležalová, 2011).

Mezi základní části urychlovače patří urychlovací vzduchoprázdná trubice, v níchž se nachází soustava elektrod, na které je ze zdroje přiváděno vysokofrekvenční napětí tím způsobem, že sudé elektrody jsou připojeny k jednomu pólu zdroje a liché elektrody k druhému pólu zdroje. Nabitá částice uvolněná ze zdroje (injektoru) vstupuje do vzduchoprázdné trubice, ve které dochází k vlastnímu urychlení pomocí válcových elektrod. První elektroda a každá další lichá v řadě je nabita opačně než částice. Tím je částice k elektrodě přitahována a je na své dráze částečně urychlována. Setrvačností pak částice proletí uvnitř elektrody rovnoměrným pohybem, protože uvnitř elektrody není žádné elektrické pole.



Obr. č. 3 – schéma lineárního urychlovače, (Reichl, 2006) – dostupné z: http://fyzika.jreichl.com/main.article/view/857-linearni-urychlovac

V mezeře mezi první a druhou elektrodou dochází k přepólování elektrod přesně v okamžiku, kdy částice vstupuje do mezery. Částice se tak v druhé mezeře opět urychlí. Takto to probíhá v celé trubici a částice se ve všech mezerách urychluje. Vzdálenost mezi elektrodami je všude stejná. Frekvence přepólování elektrod je také stejná. Je důležité, aby doba průletu elektrodou byla také všude stejná a protože se elektron postupně urychluje, musí se s rostoucí rychostí zvětšovat velikost elektrod. Pomocí těchto lineárních urychlovačů získáváme částice o energiích až desítky MeV (Navrátil, 2005).

Vysoenergetický svazek fotonů je v lineárním urychlovači ohraničen a tvarován pomocí tzv. vícelamelového kolimátoru (multi-leaf colimator). Tento kolimátor umožňuje pomocí soustavy lamel vytvoření nepravidelného tvaru ozařovaného pole, tedy např. se nastaví přesně na tvar nádoru. Urychlovače používané v radioterapii umožňují volit různé energie fotonů 4-25 MeV, záleží na konstrukci daného urychlovače.

Velmi důležitý faktor přispívající k přesnosti radioterapie je také zobrazovací systém, který je u moderních urychlovačů integrovaný přímo do přístroje. Ten umožňuje zjistit a korigovat různé odchylky a chyby, které mohou vzniknout v průběhu ozařování. Těmito odchylkami se rozumí minimální změna polohy pacienta nebo nějaké anatomické odchylky – např. úbytek váhy pacienta. Novější přístroje mají také systémy umožňující korekci dýchacích pohybů.

V současné době se v ČR také postupně začíná využítat také tzv. protonová terapie, ta také spadá do lineárních urychlovačů, protože protony se urychlují právě tímto způsobem. Protonový svazek má větší biologickou účinnost, protože se jedná o záření korpuskulární . Výhodou tohoto záření je, že maximální dávka záření je pouze v určité hloubce (tzv. Braggův efekt). Tato metoda je tak více šetrná ke zdravým tkáním před i za nádorem (Doležalová, 2011).



Obr. č. 4 – srovnání křivek jednotlivých druhů záření v závislosti na hloubce v tkáni, dostupné z: http://www.linkos.cz/aktualne-odbornikum/pohled-na-protonovou-terapii/

Protonová terapie je tak významným technickým pokrokem v oblasti radioterapie zhoubných nádorů. Správná indikace protonové terapie má méně vedlejších účinků a má i lepší výsledky ve smyslu lokální kontroly a prodloužení přežití. Hlavním problémem je cena těchto protonových urychlovačů. V ČR je v současnosti pouze jedno protonové centrum a to v Praze (Šlampa, 2012).

1.4.4 Vybavení v nemocnici České Budějovice a.s.

V rámci své diplomové práce využívám na radioterapeutickém oddělení nemocnice České Budějovice pouze jeden přístroj a tím je lineární urychlovač CLINAC 2100 C/D. Tento přístroj umožňuje tvorbu vysokoenergetického fotonového záření, s energiemi 6 a 18 MeV a také tvorbu elektronového záření s pěti různými energiemi. Pro ozařování moči používám pouze energii 6 MeV a to hlavně z důvodu možného srovnání výsledků s bakalářskou prací Š. Radové.



Obr. č. 5 – fotografie lineárního urychlovače Clinac 2100 C/D v nemocnici České Budějovice a.s.

1.5. Spektrofotometrie

Spektrofotometr je přístroj, jímž lze objektivně měřit emisní nebo absorpční spektra látek. Spektrofotometry se v základní konstrukci dají rozdělit na jednopaprskové a dvoupaprskové. U jednopaprskových nastavujeme přístroj pomocí slepého vzorku na nulovou koncentraci ještě před měřením. Přístroj využívá pouze jeden paprsek, takže musíme kyvety vždy vyměnit nebo posunout. U dvoupaprskových spektrofotometrů probíhá měření slepého a měřeného vzorku a jejich porovnávání kontinuálně, protože přístroj využívá dva světelné paprsky, tudíž měří obě kyvety současně (Klouda, 1996).

Spektrofotometr je nejčastěji používán pro stanovení koncentrace látky absorbující či vyzařující infračervené, viditelné nebo ultrafialové světlo. Přístroj se dá také nepřímo použít pro zjišťování chemické struktury látek.

1.5.1 Typy spektrofotometrů

- Absorpční spektrofotometry
- Emisní spektrofotometry

Emisní spektrofotometry mají pro medicínu malý význam. Zdrojem světla je u nich přímo analyzovaná látka, která se vstřikuje do bezbarvého plamene, případně je přítomna v elektrodách mezi kterými prochází elektrický oblouk. Světlo z dané látky pak prochází hranolem nebo mřížkou a vidíme tak obraz celého vyzářeného spektra (Hrazdíra, 2001).

Absorpční spektrofotometry se využívají pro měření absorpčních spekter záření prošlého prostředím a jsou mnohem častější než spektrofotometry emisní. Tento typ spektrofotometru v podstatě měří poměr intenzity záření absorbovaného měřeným vzorkem k intenzitě referenčního v závislosti na vlnové délce záření (Kymplová, 2013).

1.5.2 Základní princip absorpčního spektrofotometru

Absorpční spektrofotometr má poměrně jednoduchou základní strukturu, skládá se ze čtyřech základních součástí: zdroje světla, monochromátoru, místa pro ukládání vzorků a detektoru (Hrazdíra, 2001).

Jako zdroj světla se nejčastěji používá wolframová žárovka, halogenová žárovka nebo deuteriová lampa. Wolframová žárovka je nejběžnějším zdrojem, využívá se pro vlnové délky od 350 nm až do 3000 nm. Halogenová žárovka je v podstatě wolframová žárovka s malým obsahem jodu v křemenné baňce. Přítomný jod reaguje s plynným wolframem, který vzniká sublimací z vlákna. Touto reakcí se vytváří molekuly WI₂, které naráží na vlákno, tím se jodid opět rozloží a wolfram se tak vrací zpět na vlákno. Výhodou halogenové žárovky je její zhruba dvojnásobná životnost oproti žárovce wolframové. Má velmi široké spektrum, zasahuje až do ultrafialové oblasti záření. Třetím zdrojem světla používaným ve spektrofotometru je deuteriová lampa. Ta je ideální právě pro UV oblast, emituje záření v rozmezí vlnových délek od 160 nm do 375 nm (Kříženecká, 2007).

Ze zdroje záření putuje světelný paprsek k zrcátku, kde se odráží a vstupuje

do monochromátoru. Ten se skládá ze vstupní štěrbiny, 2 objektivů, odrazové optické mřížky a výstupní štěrbiny. Otočením odrazové optické mřízky lze měnit vlnovou délku světla. V monochromátoru se z polychromatického světla stává úzky monochromatický svazek světla. Tento svazek projde kyvetou se zkoumaným roztokem, kde se část světla absorbuje. Zbylá část světla se změří na fotoelektrickém detektoru, signál z detektoru je poté zesílen a výsledek se zobrazí na displeji přístroje nebo na monitoru počítače, se kterým je spektrofotometr propojený. Schéma spektrofotometru je na obrázku č. 6 (Hrazdíra 2001).



Obr. č. 6 – schéma spektrofotometru (Hrazdíra, 2001).

1.5.3 Vzorce

Absorpční spektrofotometrie je založena na principu, že úbytek intenzity světla procházející roztokem je úměrný intenzitě světla vstupujícího do roztoku, koncentraci roztoku, tloušťce vrstvy a konstantě k. Lze to zapsat následujícím vztahem:

-dI = k.c.I.dx kde -dI je úbytek intenzity světla, k je konstanta, c je
koncentrace a *I* je intenzita vstupujícího světla. Řešením této rovnice je tzv. Lambert-Beerův zákon vyjádřený vztahem:

 $I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon cx} \varepsilon$ je absorpční koeficient, x je tloušťka absorbující vrstvy, I_0 je intenzita světla vstupujícího a I je intenzita světla vystupujícího. Absorpční koeficient je označovaný jako látková konstanta, jeho hodnotu pro běžné chemické sloučeniny nalezneme v tabulkách. Hodnota je však vždy jen pro určitou vlnovou délku světla, při změně vlnové délky se koeficient ε mění.

Dalšími důležitými veličinami v souvislosti se spektrofotometrií jsou absorbance a transmitance. Transmitanci lze definovat jako poměr intenzity světla prošlého a dopadajícího.

$$T = \frac{I}{I_0}$$

Zatímco absorbance je dekadickým logaritmem převrácené hodnoty transmitance.

$$A = \log \frac{1}{T}$$

Absorbanci lze vyjádřit také po dosazení do Lambert-Beerova vztahu a výsledkem je:

 $A = \varepsilon.c.x$ Ze vztahu vyplývá, že absorbance je přímo úměrná koncentraci roztoku a tloušť ce vrstvy absorbující část světla (Hrazdíra, 2001).



Obr. č. 7 – schéma absorpce světla ve vzorku, dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Spektrofotometrie

1.6 Vylučování a moč

1.6.1 Fyziologie vylučování

V organismu vniká při metabolismu spousta látek tělu nepotřených nebo dokonce i škodlivých. Tyto látky se označují jako katabolity a je potřeba je vyloučit ven z těla. Vylučovacím orgánem jsou ledviny, které nejen ostraňují tyto katabolity, ale také přebytky látek pro tělo nutných (ionty, vodu atd.) (Trojan, 2004).

V ledvinách dochází k filtraci tekutiny velice podobné krevní plazmě. K filtraci dochází přes stěnu glomerulárních kapilár do renálních tubulů. Filtraci můžeme rozdělit na dvě fáze, na tubulární reabsorpci a tubulární sekreci. V tubulární reabsorpci dochází k odstraňování vody a rozpuštěných látek (solutů). V tubulární sekreci dojde k sekreci solutů do tubulární tekutiny (Ganong, 1995).

Ledvina se dá rozdělit na ledvinovou kůru a ledvinovou dřeň. Ledvinová kůra (korová vrstva) obsahuje asi milión stavebních a funkčních jednotek, které se nazývají nefrony, zatímco dřeň obsahuje hlavně vazivo, cévy a ledvinovou pánvičku (Dylevský, 1996).

Ledviny jsou bohatě zásobeny krví, projde nimi přibližně 1000-1300 ml krve za 1 minutu. Základní funkční jednotkou ledviny je nefron, skládající se z glomerulu, proximálního tubulu, Henleovy kličky, distálního tubulu a sběracího kanálku. Glomerulus je klubíčko kapilár, do kterého proudí krev, každý glomerulus je obklopen tzv. Bowmanovým pouzdrem. V glomerulu dochází k prvotní filtraci krve, tzv. glomerulární. Tím vzniká ultrafiltrát krevní plazmy, který je bez bílkovin. Glomerulární filtr je tedy nepropustný pro bílkoviny. Do filtrátu přejde asi 17-20% plazmy.

V další části nefronu, tedy v proximálním tubulu dojde ke vstřebání zhruba 75% glomerulárního filtrátu. Pouze 25% tedy vstupuje do Henleovy kličky, která má vlásenkové uspořádání a dochází v ní k resorpci asi 15% původního glomerulárního filtrátu. Ze zbývajících 10% glomerulárního filtrátu se dalších 5% vstřebá v distálním tubulu. Od distálního tubulu je již vstřebávání pod hormonální kontrolu. Resorpci řídí

antidiuretický hormon, aldosteron a parathormon. Poslední částí nefronu je sběrací kanálek, v němž se resorbuje kolem 4% glomerulárního filtrátu. Zbyde nám tedy definitivní moč, která má pouze okolo 1% původního filtrátu, to znamená zhruba 1,5 l denně. Tento objem moči se označuje pojmem diuréza (Trojan, 2004).

Objem tekutiny, který je filtrován za časovou jednotku ve všech glomerulech v ledvině může být označován jako velikost glomerulární filtrace. Běžně se tato hodnota pohybuje kolem 120 ml/min na tělesný povrch 1,73 m², tedy zhruba 1801 denně (Silbernagl, 2004).

Z ledvin je definitvní moč odváděná močovými cestami. Tedy močovody do močového měchýře a z močového měchýře močovou trubicí, neboli uretrou, ven z těla. Močový měchýř má kapacitu kolem 300 ml. Po překročení této kapacity se značně zvýší tlak a dostaví se kontrakce svaloviny s pocitem nucení k močení (Mourek, 2005).

Močovody jsou trubice dlouhé asi 30 cm, které probíhají podél páteře na zadní straně trupu a ústí do močového měchýře. Močový měchýř je dutý svalový orgán schopný zadržet moč, mění svůj tvar podle objemu moči, která se v něm nachází. Obsah moči v měchýři obvykle nepřesahuje 300 ml, nucení k močení nastává již při 150-200 ml. Vyprazdňování močového měchýře se označuje jako mikce a je to velmi složitý proces, na kterém se účastní různé svaly a svalové skupiny. Člověk může vyprazdňování částečně ovlivnit. Vůlí totiž ovládá zevní svěrač močové trubice, vše ostatní je automatické. Poslední částí močových cest je močová trubice, ta se liší u obou pohlaví. U mužů je značně delší, měří zhruba 20-25 cm a ústí na konci pohlavního údu. V úseku od předstojné žlázy je společnou vývodnou cestou močových a pohlavních orgánů. U žen měří pouze kolem 5cm a je pouze vývodnou močovou cestou (Dylevský, 2006).

1.6.2 Složení definitivní moči

Definitivní moč je tedy konečným produktem vylučování. Naprostá většina látek v ní obsažena je také součástí krevní plazmy, jsou mezi nimi jen nepatrné rozdíly. Čerstvá moč je čirá kapalina obarvená do zlatožluté barvy barvivem urochromem.

Při delším styku se vzduchem začíná mít čpavkový zápach, kvůli amoniakovému kvašení vyloučené močoviny. Při běžném vylučování se za 24 hodin vyloučí 55 – 70 g pevných látek, z toho přibližně 25g organických a 35g anorganických (Trojan, 2004).

substance (jednotka)	krevní plazma	definitivní moč
H ₂ O (%)	90-93	95
bílkoviny, tuky a jiné koloidy (g/l)	68-84	-
glukóza <i>(mmol/l)</i>	4,0-6,2	-
Na ⁺ (mmol/l)	136-148	150-170
Cl ⁻ (mmol/l)	95-110	159-170
močovina <i>(mmol/l)</i>	3,0-7,6	192-365
kyselina močová <i>(mmol/l)</i>	215-420	2,04-3,96
$\mathrm{NH_{4}^{+}}$ (mmol/l)	12,0-55,0	480-2200
Ca ²⁺ (mmol/l)	2,15-2,61	2,5-5,5
Mg ²⁺ (mmol/l)	0,66-0,94	1,5-2,5
anorganický P (mmol/l)	0,65-1,40	1,04-25,9
kreatinin (µmol/l)	65-110	4,35-13,2

Složení moči a krevní plazmy si můžete prohlédnout v následující tabulce:

Tab. č. 3 – složení krevní plazmy a definitivní moči (Trojan, 2004)

1.7 Dozimetrie a její metody

Dozimetrie je oblastí fyziky, která se zabývá ionizujícím zářením, konkrétně stanovením dávek IZ, vlastnostmi IZ, jeho měřením a výpočtem dozimetrických veličin souvisejících s ionizujícím zářením.

1.7.1 Typy dozimetrie

V osobní dozimetrii se dnes v České republice využívají dva typy dozimetrů a to *termoluminiscenční* a *filmové* dozimetry.

TLD dozimetrie je určena pro pracovníky vystavené riziku ozáření fotony s energií více než 30 keV nebo elektrony s energií vyšší než 2 MeV. V TLD dozimetru je zapouzdřen vzorek přesně definovaného množství látky (nejčastěji fluorid lithný, fluorid vápenatý nebo síran vápenatý). Po ukončení expozice je látka z dozimetru vyjmuta, zahřáta na teplotu 160 – 300°C (podle druhu látky) a pomocí fotonásobiče je snímáno emitované světlo. Při tom je zaznamenáván elektrický signál z fotonásobiče v závislosti na teplotě, tím vznikne tzv. vyhřívací křivka. Plocha pod touto křivkou je úměrná dávce v dozimetru (Ullmann, 2010b).

Filmové dozimetry se používají pro detekci ionizujícího záření pomocí fotochemické reakce materiálu obsahujícího halogenidy stříbra (bromid stříbrný – AgBr). V pouzdře, které je světlotěsně uzavřeno, je umístěno políčko se světlocitlivým filmem. Pokud dojde k ozáření dozimetru, na filmu se vyredukuje stříbro a materiál po vyvolání zešedne či zčerná, podle intenzity ionizujícího záření. Nejčastěji jsou tyto filmové dozimetry využívány u personálu na radiologických odděleních v nemocnicích (Dědina, 2008).

Dalšími používanými dozimetry jsou tzv. *prstové dozimetry*, využívané také pro energie fotonů více než 30 keV nebo elektronů nad 2 MeV. Předposledním typem je *neutronová dozimetrie* využívající se na místech, kde hrozí ozáření rychlými neutrony a posledním typem, který zde zmíním je *opticky stimulovaná dozimetrie – OSL*.

OSL je metoda, která se velmi rozšířila až během posledních let a postupně nahrazuje jak filmovou, tak termoluminiscenční dozimetrii. Mezi přednosti této metody patří vysoká citlivost a rychlost vyhodnocení. Ve světě se OSL dozimetry staly nejčastěji používanými dozimetry pro osobní monitorování (Hon, 2011).

Specifickým odvětvím dozimetrie je tzv. biodozimetrie, které věnuji následující podkapitolu.

1.7.2 Biodozimetrie

Při biodozimetrii se odebere nějaký vzorek z ozářeného člověka, ze kterého se následně určitou metodou zjišťuje dávka ozáření, kterou jedinec obdržel. Nejčastějším vzorkem je krev, v níchž se často zkoumá úbytek lymfocytů, změny na chromozomech, poškození DNA a další. Mezi biodozimetrické metody lze zařadit:

- CAPL cytogenetická analýza periferních lymfocytů
- FISH Fluorescenční in situ hybridizace
- Mikrojaderný test
- Mikrojaderně centromerový test
- PCC urychlená kondenzace chromozómů

Cytogenetická analýza periferních lymfocytů slouží k detekování strukturálních aberací pomocí fialového zbarvení Giemsovým barvivem. Při této metodě jsou dobře odhalitelné: dicentrické chromozómy, ringy, chromatidové záměny a fragmenty chromozómů. Výhodou této metody je relativně nízká cena, naopak nevýhodou poměrně dlouhá doba inkubace a čas vyhodnocení.

Fluorescence in situ hybridizací využívá speciálního selektivního zabarvení a umožňuje tak dle barvy rozlišit jednotlivé páry chromozómů. Využívá se k detekci jak strukturálních aberací, tak i translokací. Výhodou je rychlost vyhodnocení a snadné rozpoznání aberací. Nevýhodou je cena a dlouhá doba inkubace.

Mikrojaderný test se zabývá přítomností mikrojader, která mohou být tvořena buď fragmenty chromozómů nebo chromozómy celými. Tato mikrojádra se v anafázi opozdila a nebyla zahrnuta do dceřinného jádra. To je způsobeno tím, že nemají žádnou centromeru nebo mají centromery dvě a nebo došlo k poruše dělícího vřeténka. V této metodě se zkoumá přítomnost a počet vzniklých mikrojader. Nejnižší detekovatelné dávky touto metodou jsou kolem 50 mSv. Výhodou je rychlá detekce, nevýhodou opět dlouhá inkubace (Kuna, 2007).

Mikrojaderně-centromerový test je modifikací mikrojaderného testu. Od běžného mikrojaderného testu přibylo imunofluorescenční značení centromer. Díky tomu

můžeme určit, která mikrojádra vznikla spontánně a která díky radiačnímu ozáření. Postup i hodnocení je stejné jako u mikrojaderného testu. Dávky zjistitelné pomocí tohoto testu jsou 0,1 Gy a více (Hon, 2011).

Urychlená kondenzace chromozómů je oproti předchozím metodám velmi rychlá. Výsledky jsou dostupné po 3 až 4 hodinách po předání vzorku. Je to dáno hlavně tím, že při této metodě není nutné provádět dvoudenní inkubaci lymfocytů. Do lidských chromozómů se vloží speciální látka izolovaná z čínského křečka. Tato látka obsahuje dělící se ovariální buňky. Díky tomu, že látku vpíchneme do vzorku, dojde ke kondenzaci chromozómů a ke zobrazení v profázi. Pokud odebereme ozářené osobě krev do jedné hodiny po expozici, lze touto metodou stanovit i chromozomální aberace. Tato metoda je vhodná např. pro použití při radiačních haváriích. Pomocí PCC metody lze detekovat dávky od 0,1 Gy (Kuna, 2007).

1.7.3 Chemická dozimetrie

Metoda, kterou používám ve své diplomové práci patří do tzv. chemických metod používaných v dozimetrii. V těchto tzv. chemických dozimetrech se využívají radiačně chemické změny v ozářených látkách. V tomto typu dozimetru lze využít řadu chemických reakcí: radiolýzu, radiooxidaci, radioredukci, polymeraci, depolymeraci nebo změnu barvy. Nejznámější Frickeho dozimetr je založený na oxidaci dvojmocného železa Fe²⁺ na trojmocné Fe³⁺. Oxidace je způsobena volnými radikály a peroxidem vodíku. Obdobně lze využít i mangan, který se oxiduje z dvojmocného Mn²⁺ na sedmimocný Mn⁷⁺ (Singer, 2005).

Chemické dozimetry jsou obvykle roztoky anorganických nebo organických látek, které oxidují, redukují nebo se rozkládají vlivem ionizujícího záření. Používají se ale i chemické dozimetrické systémy, kde je rozpouštědlem místo vody ethanol. Chemické dozimetry se obvykle používají pro stanovení dávek 10 Gy a vyšších, protože při nižších dávkách bývají změny jen obtížně měřitelné. Aby byla radiačně chemická reakce použitelná musí být splněny následující podmínky:

nezávislost na dávkovém příkonu a lineárním přenosu energie

- malá závislost odezvy na teplotě
- potřebně velká hodnota radiačně chemického výtěžku
- reakční produkty musí být stálé a musí jít stanovit běžnými fotometrickými metodami (spektrofotometrií, titrací, měřením pH atd.) (Starý, 1987).

2. Hypotéza a metodika

2.1 Hypotéza práce

Při vyšších dávkách ionizujícího záření se v moči rozkládají různé sloučeniny. Při použití indikátoru Mn²⁺ moč mění svou absorbanci.

2.2 Metodika

Před každým pokusem jsem odebral vzorek vlastní moči nebo destilované vody. Moč jsem ve většině experimentů odebíral ranní, aby byla vždy srovnatelná a bylo možné porovnávat výsledky. V jediném experimentu jsem použil jinou moč než ranní a výsledky byly značně odlišné, více v kapitole *3. výsledky*.

Dále jsem moč pomocí odměrného válečku rozlil po pěti mililitrech do 10 ml plastových zkumavek a uzavřel gumovou zátkou. Takto připravených zkumavek bylo téměř vždy 20 kusů. Na zkumavky jsem si napsal lihovým fixem dávku, jakou mají obdržet, aby nedošlo k jejich záměně. Z dvaceti zkumavek jsem měl 2 sady na měření, každá sada obsahovala dávky: 0, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20 a 25 Gy. V některých experimentech byly dávky mírně upraveny nebo se měřily pouze některé.

Poté následovalo vlastní ozařování zkumavek na vysokofrekvenčním lineárním urychlovači CLINAC 2100 C/D v nemocnici České Budějovice, a.s. V tomto zařízení jsou elektrony urychlovány na 99,999% rychlosti světla a pomocí magnetu jsou otočeny o 270°ke stolu pacienta. Tento typ umožňuje použít buď 2 svazky fotonového záření o energiích 6 MeV a 18 MeV nebo 5 svazků elektronového záření o energiích 6 MeV, 9 MeV, 12 MeV, 16 MeV a 20 MeV.

Další technické parametry lineárního urychlovače CLINAC 2100C/D:

- Dávkový příkon 100-600 MU/min pro fotonové svazky, 100 500, 700 a 1000 MU/min pro elektronové svazky.
- Nastavení dávky 1 999 MU

- Nastavení velikosti ozařovaného pole 5 x 5 cm až 40 x 40 cm
- Multileaf kolimátor 120 lamel, 60 párů, 40 párů šíře 5 mm a 20 párů lamel šíře 10 mm
- Kalibrace přístroje: 100 MU = 1 Gy v referenční hloubce 5cm/SSD 95cm pro energii 6 MeV a v hloubce 10cm/SSD 90cm pro energii 18 MeV, elektronové svazky jsou kalibrovány také na hodnotu 100 MU = 1 Gy v hloubce maxima příslušné energie

Na urychlovači byly zkumavky umístěny na průhledných PVC deskách. Na zkumavkách byly položeny ještě další 4 desky, dohromady o výšce 4cm, aby byl vzorek ozařován přesně v referenční hloubce 5cm.



Obr. č. 8 – vlevo srovnané zkumavky v ozařovacím poli 10x10cm, vpravo zkumavky přikryté čtyřmi PVC deskami, připravené na ozáření

Při ozařování se používalo následující nastavení urychlovače:

- Ozařované pole 10 x 10 cm
- Nastavení Gantry 0°
- Nastavení kolimátoru 0°
- Příkon 300 MU/min
- Fotonové záření 6 MeV
- SSD 95 cm

Zkumavky byly tedy ozářeny stanovenými dávkami od 1 Gy až do 25 Gy.

Další část mé práce, a to vlastní měření, již pokračovala v laboratoři ZSF, v budově J. Boreckého 27, České Budějovice.

Po ozáření jsem do zkumavek přidával různé množství různě koncentrovaného roztoku MnCl₂:

- 1 M roztok MnCl₂ jsem přidával v množství 1 ml, 2 ml i 3 ml.
- 3 M roztok MnCl₂ jsem také přidával v množství 1 ml, 2 ml i 3 ml
- 5 M roztok MnCl₂ jsem přidával pouze v množství 1 ml

Při těchto pokusech se mi nejvíce osvědčilo přidání 1 ml 3M roztoku, se kterým bylo dosaženo nejlepších výsledků, takže byl při dalších pokusech jako indikátor používán výhradně tento roztok.



Obr. č. 9 – foto 3M roztoku MnCl₂

Všechny roztoky měly narůžovělou barvu, intenzita barvy je závislá na dané koncentraci. Vždy po přidání roztoku do zkumavky došlo k zakalení moči, zakalení bylo různé, opět podle koncentrace roztoku.

Při přípravě 3M roztoku jsem si navážil přesné množství chloridu manganatého na analytickách vahách BBC 22. Konkrétně 29,6858 g MnCl₂ a dolil jsem v 50 ml

odměrné baňce po rysku.

Takto připravený roztok jsem přidával do jednotlivých zkumavek pomocí pipety, kterou jsem si předem nastavil na objem 1 ml. Jak už jsem uváděl, do zkumavek jsem přidával nejčastěji 1 ml 3M roztoku, ale zkoušel jsem i jiné koncentrace a množství, viz předchozí strana.

I v přidávání však byly značné rozdíly. V některých experimentech jsem přidal roztok chloridu manganatého do celé sady zkumavek najednou, to znamená do všech deseti zkumavek s dávkami 0, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20 a 25 Gy.

Ale při jiných měřeních jsem zase přidal roztok do dané zkumavky až těsně před měřením. Značné rozdíly ve výsledcích se ukázaly i v tom, zda byla daná kyveta měřena ihned po přidání roztoku chloridu manganatého nebo s určitým časovým odstupem.

Pokud jsem dělal měření bez použití centrifugy, vždy jsem zkumavku před odebráním vzorku do kyvety řádně protřepal.



Obr. č. 10 – porovnání zkumavek, vlevo jsou zkumavky s ozářenou močí, vpravo jsou zkumavky s ozářenou močí po přidání 1 ml 3M roztoku MnCl₂

U některých experimentů jsem využíval také centrifugu CENTRIC 322A.

Tato centrifuga je řízena mikroprocesorem, který sleduje přesnou rychlost rotace, přesné časování, jemnou a bezpečnou změnu brždění a také různé poruchy. V případě delšího používání centrifugy je zde systém aktivního ochlazování zajišťující v komoře stálou teplotu (Centric, 2003).

Technické parametry centrifugy CENTRIC 322A:

- rychlost rotace 500 13 000 ot./min, v krocích po 100 ot./ min
- doba odstředění 1 90 minut, v krocích po 1 min.
- brždění 0 9, v krocích po 1



Obr. č. 11 – foto centrifugy CENTRIC 322A

Při prvních experimentech jsem používal stejné nastavení jako Š. Radová, tedy otáčky 1000 ot./min a čas 2 min. Protože však zkumavky byly stále značně zakaleny, použil jsem nastavení 1500 ot./min a čas 5 min. Při tomto nastavení byly zkumavky

po vyndání z centrifugy již čiré, ale za krátkou dobu se ještě trochu zakalily. Takže jako ideální nastavení se ukázalo následující:

- otáčky 2000 ot./min
- čas 15 minut

Při tomto nastavení byly veškeré usazeniny na dně zkumavky a dal se tedy pro měření kapátkem odebrat čistý vzorek bez kalu z vrchní části zkumavky.

Potom již následovalo přelití 1 ml vzorku pomocí kapátka do kyvety a vlastní měření na spektromotometru Uvikon XS (Uvikon, 2002).

Tento typ spektrofotomeru je dvoupaprskový, tedy jak jsem uváděl v podkapitole *1.5 spektrofotometrie*, má tento přístroj 2 komory označené písmeny R a S. Do levé komory označené písmenem R jsem umístil slepý vzorek, kterým byla nejčastěji destilovaná voda, v některých experimentech byla

použita zcentrifugovaná neozářená moč s přidaným rozotokem chloridu manganatého. Do pravé komory s nápisem S jsem dal ozářený vzorek s přidaným roztokem. Celý tento přístroj včetně všech nastavení jsem ovládal přes počítačový software Lab power junior (Lab power, 2002).

Parametry nastavené na spektrofotometru byly shodné s parametry Š. Radové:

Wavelenght Scan:

- Lambda min (min. vlnová délka v nm) 400 nm
- Lambda max (max. vlnová délka v nm) 675 nm
- Data interval (posun vlnové délky v nm) 5 nm
- Scan speed (rychlost posunu vlnové délky v nm/min) 200 nm/min



Obr. č. 13 - kyveta připravená k měření

Obr. č. 12 – zkumavky po centrifugaci 5 minut

- No. of cycles (opakované měření ve vybraných intervalech 1 10) 1
- Cycle time (čas jednoho cyklu 0,0 900,0 min) 0
- No. of samples (počet vzorků v jednom cyklu) 1



Obr. č. 14 – foto spektrofotometru Uvikon XS

Při pokusech jsem měřil různě 1 až 4 kyvety od každé dávky. Většinou jsem z jedné zkumavky připravil 2 až tři kyvety na měření, tedy z jedné sady zkumavek jsem měl 20 nebo 30 jednotlivých měření. Takže při jednom ozařování v nemocnici a následném měření v laboratoři jsem získal většinou 40 jednotlivých měření při následujících vlnových délkách:

- pro fialovou barvu 410, 415 a 420 nm
- pro modrou barvu 445, 450 a 455 nm
- pro zelenou barvu 510, 515 a 520 nm

- pro žlutou barvu 570, 575 a 580 nm
- pro oranžovou barvu 600, 605 a 610 nm
- pro červenou barvu 660, 665 a 670 nm

To znamená, že v součtu jsem jedním pokusem získal standartně kolem 720 hodnot absorbance.

Naměřené hodnoty byly ihned přepsány do programu Microsoft Excel a zpracovány, byly z nich vypočítány následující hodnoty:

- *aritmetický průměr* podle následujícího vzorce: $\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$
- *směrodatná odchylka* podle vzorce: _S =

$$=\sqrt{\frac{\sum (x-x_i)}{n-1}}$$

• Z výsledků byly zpracovány grafy.

3. Výsledky

3.1 Výsledky s centrifugací

První pokus jsem prováděl s destilovanou vodou, kterou jsem ozářil stanovenými dávkami od 1 do 25 Gy. V laboratoři jsem do všech zkumavek přidal 1 ml 1M roztoku chloridu manganatého. Všechny zkumavky jsem dal na 2 minuty do centrifugy, odebral jsem z každé 2 vzorky, byly tedy změřeny 4 kyvety u každé dávky. Výsledky byly následující

	Dávka [Gy]										
	0	1	2	3	5	7	10	15	20	25	
Fialová (AP)	0,00439	0,00168	0,00107	0,00192	0,00278	-0,0003	2E-005	0,00103	0,00283	0,00182	
sm.odchylka	0,00035	0,00026	0,00025	0,00033	0,00032	0,00032	0,0003	6E-005	9E-005	6E-005	
Modrá (AP)	0,00119	0,00031	-0,0002	0,00029	0,00101	-0,0006	-0,0007	-0,0003	0,00103	0,00055	
sm.odchylka	0,00014	0,0002	0,00023	0,00016	0,0001	0,00022	0,00018	0,00011	0,00014	0,00014	
Zelená (AP)	-0,0015	-0,0016	-0,001	-0,0023	-0,0024	-0,0028	-0,0033	-0,0033	-0,0022	-0,0023	
sm.odchylka	0,00014	0,00014	0,00015	0,00012	0,00012	1E-004	0,0001	0,00015	0,00011	0,00012	
Žlutá (AP)	-0,0006	-0,0007	-0,0006	-0,0008	-0,001	-0,0011	-0,0017	-0,0012	-0,0009	-0,0009	
sm.odchylka	6E-005	6E-005	6E-005	6E-005	5E-005	6E-005	6E-005	9E-005	6E-005	6E-005	
Oranžová (AP)	-0,0002	-0,0002	-0,0001	-0,0006	-0,0009	-0,001	-0,0015	-0,0008	-0,0008	-0,0007	
sm.odchylka	2E-005	1E-005	2E-005	3E-005	3E-005	3E-005	2E-005	2E-005	3E-005	1E-004	
Červená (AP)	-0,0016	-0,0016	-0,0015	-0,0022	-0,0025	-0,0026	-0,0031	-0,0024	-0,0024	-0,0022	
sm.odchylka	4E-005	6E-005	6E-005	5E-005	5E-005	5E-005	4E-005	4E-005	4E-005	0,00016	

Tab. č. 4 – výsledné hodnoty aritmetických průměrů (AP) absorbancí a směrodatné odchylky pro jednotlivé barvy ozářené destilované vody s přidaným 1ml 1M roztoku $MnCl_2$ a centrifugou 2 min.



Ozářená destilovaná voda + 1M MnCl2 + centrifuga 2 min

Obr č. 15 – graf ozářené destilované vody s přidaným 1ml 1M roztoku MnCl₂ a centrifugou 2 min.

Další pokusy probíhaly s různými koncentracemi a množstvím chloridu manganatého.

První je ozářená moč s přidaným 1 ml 1M roztoku chloridu manganatého a centrifugou 5 min.

	Dávka [Gy]									
	0	1	2	3	5	7	10	15	20	25
Fialová (AP)	0,44777	0,45203	0,45377	0,4559	0,45203	0,45643	0,46133	0,45407	0,4585	0,453
sm.odchylka	0,0028	0,00287	0,0029	0,00288	0,00288	0,0029	0,00298	0,0002	0,0002	0,0002
Modrá (AP)	0,2617	0,26267	0,26433	0,2655	0,2628	0,26667	0,2698	0,2641	0,26537	0,2633
sm.odchylka	0,0022	0,00226	0,00228	0,00225	0,00223	0,00228	0,00227	0,00225	0,00226	0,00219
Zelená (AP)	0,07983	0,07627	0,076	0,07907	0,0776	0,07833	0,0813	0,07753	0,078	0,08003
sm.odchylka	0,00086	0,00087	0,00086	0,0009	0,00088	0,00088	0,00089	0,00088	0,00089	0,00092
Žlutá (AP)	0,02353	0,01977	0,01957	0,02143	0,0203	0,0215	0,02377	0,02023	0,0201	0,02173
sm.odchylka	0,00019	0,0002	0,0002	0,00019	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002
Oranžová (AP)	0,01637	0,01237	0,01203	0,01413	0,01297	0,01397	0,01613	0,01263	0,01223	0,01407
sm.odchylka	7E-005	7E-005	6E-005	6E-005	7E-005	7E-005	6E-005	6E-005	6E-005	7E-005
Červená (AP)	0,01107	0,00733	0,007	0,0089	0,00777	0,00218	0,011	0,0076	0,0071	0,0084
sm.odchylka	5E-005	4E-005	4E-005	5E-005	4E-005	4E-005	4E-005	4E-005	4E-005	5E-005

Tab. č. 5 – výsledné hodnoty aritmetických průměrů absorbancí a směrodatné odchylky pro jednotlivé barvy pro ozářenou moč s 1ml 1M MnCl₂ a centrifugou 5 min..



Ozářená moč + 1ml 1M MnCl2 + centrifuga 5min

Obr č. 16 – výsledný graf pro ozářenou moč s 1ml 1M MnCl₂ a centrifugou 5 min.

Druhá je ozářená moč s přidáním 1 ml 5M roztoku a centrifugou 5 min

Dávka [Gy]										
	0	1	2	3	5	7	10	15	20	25
Fialová (AP)	0,50303	0,49137	0,49067	0,4864	0,49307	0,48793	0,4907	0,49683	0,50507	0,51197
sm.odchylka	0,01086	0,01114	0,01111	0,01107	0,01123	0,01113	0,01109	0,00127	0,00146	0,00135
Modrá (AP)	0,31679	0,30593	0,3055	0,30247	0,3077	0,3046	0,30703	0,3109	0,31833	0,32543
sm.odchylka	0,01014	0,00976	0,0098	0,00966	0,00981	0,00945	0,0097	0,00978	0,00997	0,01003
Zelená (AP)	0,10773	0,1014	0,1023	0,1001	0,10423	0,1021	0,10437	0,10766	0,1113	0,11557
sm.odchylka	0,0035	0,00352	0,00347	0,00348	0,00354	0,00352	0,00356	0,00325	0,00364	0,00372
Žlutá (AP)	0,037	0,03217	0,0331	0,0313	0,0333	0,0326	0,0345	0,03607	0,03963	0,0434
sm.odchylka	0,00135	0,00125	0,00123	0,00127	0,00067	0,00127	0,00127	0,00146	0,00135	0,00133
Oranžová (AP)	0,02417	0,02027	0,02133	0,01947	0,0224	0,02063	0,02237	0,02763	0,0271	0,03077
sm.odchylka	0,0005	0,00042	0,00044	0,00042	0,00041	0,0004	0,00046	0,00263	0,00044	0,0005
Červená (AP)	0,01563	0,01433	0,0151	0,01303	0,0154	0,01363	0,0151	0,01697	0,01983	0,02187
sm.odchylka	0,00017	1E-004	0,00015	1E-004	0,00015	0,00014	0,00012	0,00014	0,00016	0,00017

Tab. č. 6 – výsledné hodnoty aritmetických průměrů absorbancí a směrodatné odchylky pro jednotlivé barvy pro ozářenou moč s 1ml 5M MnCl₂ a centrifugou 5 min.



Obr č. 17 – výsledný graf pro ozářenou moč s 1ml 5M MnCl₂ a centrifugou 5 min.

Třetí je ozářená moč s přidaným 1 ml 3M roztoku a centrifugou 15 min. Při tomto experimetu byl přidán 3M roztok MnCl₂ ihned po ozáření vzorku přímo v nemocnici.

	Dávka [Gy]									
	0	1	2	3	5	7	10	15	20	25
Fialová (AP)	0,45403	0,4613	0,4646	0,46177	0,46982	0,47595	0,47132	0,46567	0,45922	0,45333
sm.odchylka	0,0102	0,0103	0,01044	0,01031	0,01034	0,01025	0,01033	0,0011	0,00107	0,00108
Modrá (AP)	0,27533	0,27832	0,27982	0,2784	0,28625	0,29138	0,2869	0,28268	0,27828	0,27245
sm.odchylka	0,00911	0,00934	0,00939	0,00935	0,00935	0,00957	0,00941	0,00931	0,00917	0,00908
Zelená (AP)	0,09467	0,09297	0,09347	0,09918	0,10087	0,10158	0,1007	0,09833	0,097	0,09212
sm.odchylka	0,00276	0,00286	0,00285	0,00612	0,00286	0,0029	0,00291	0,00285	0,00278	0,00273
Žlutá (AP)	0,03628	0,03348	0,03418	0,03452	0,04048	0,04077	0,03978	0,0384	0,03815	0,03397
sm.odchylka	0,00108	0,00106	0,00106	0,00107	0,00109	0,0011	0,0011	0,00107	0,00108	0,00107
Oranžová (AP)	0,02518	0,02267	0,0232	0,02328	0,02898	0,0289	0,02833	0,02715	0,02698	0,02322
sm.odchylka	0,00045	0,00043	0,00044	0,00054	0,00049	0,00049	0,00047	0,00048	0,00045	0,00055
Červená (AP)	0,01565	0,01322	0,01388	0,01392	0,01868	0,0188	0,01818	0,01728	0,01727	0,01393
sm.odchylka	0,00025	0,00026	0,00026	0,00028	0,00028	0,00024	0,00028	0,00028	0,00027	0,00026
T1 × 7 /	1 1 / 1	1 .		1 0	· • 1	1 /	× 1,	, 111	1.	1 .1. /

Tab. č. 7 – výsledné hodnoty aritmetických průměrů absorbancí a směrodatné odchylky pro jednotlivé barvy pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂ a centrifugou 15 min.



Obr č. 18 – výsledný graf pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂ a centrifugou 15 min.

Čtvrtá je ozářená moč s přidaným 1 ml 3M roztoku chloridu manganatého, 15 minutovou centrifugou a přidáním jedné kapky uhličitanu draselného.

	Dávka [Gy]									
	0	1	2	3	5	7	10	15	20	25
Fialová (AP)	0,78378	0,73302	0,91198	0,66707	0,82905	0,67852	0,77753	0,72888	0,71193	0,85562
sm.odchylka	0,01022	0,01015	0,00795	0,01024	0,01005	0,00911	0,01099	0,00046	0,00063	0,00127
Modrá (AP)	0,6017	0,56763	0,80312	0,51078	0,65642	0,51453	0,58832	0,56085	0,53197	0,67565
sm.odchylka	0,00789	0,00793	0,00245	0,00747	0,00862	0,00831	0,00944	0,00869	0,00873	0,00825
Zelená (AP)	0,46642	0,46352	0,73333	0,39662	0,5206	0,36192	0,41868	0,41127	0,3767	0,54947
sm.odchylka	0,00159	0,00304	0,00221	0,00973	0,00187	0,00205	0,00175	0,00225	0,0018	0,00017
Žlutá (AP)	0,40933	0,4392	0,75883	0,32407	0,50927	0,36305	0,41702	0,37363	0,3292	0,53068
sm.odchylka	0,00224	0,00065	0,00188	0,00151	0,00061	0,00199	0,00046	0,00063	0,00127	0,00154
Oranžová (AP)	0,40553	0,47443	0,76837	0,3042	0,52038	0,43748	0,43312	0,38327	0,31638	0,54202
sm.odchylka	0,00127	0,00065	0,00113	0,00067	0,00297	0,00727	0,00346	0,00022	0,00036	0,00252
Červená (AP)	0,43987	0,49593	0,84572	0,3082	0,61987	0,62438	0,44177	0,3974	0,30658	0,5463
sm.odchylka	0,00187	0,02267	0,00069	0,0019	0,0075	0,00704	0,00087	0,00037	0,00035	0,00066

Tab. č. 8 – výsledné hodnoty aritmetických průměrů absorbancí a směrodatné odchylky pro jednotlivé barvy pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂ a centrifugou 15 min a kapkou K₂CO₃

Ozářená moč + 1ml 3M MnCl2 + centrifuga 15 min. + kapka K2CO3



Obr č. 19 – výsledný graf pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂, centrifugou 15 min a přidanou kapkou K₂CO₃

3.2 Výsledky bez centrifugace

Ozářená moč + 1 ml 1M roztoku chloridu manganatého

Tento experiment byl změřen pouze pro vybrané dávky 0, 1, 3, 5, 10, 15 a 20 Gy.

Dávka [Gy]											
	0	1	3	5	10	15	20				
Fialová (AP)	2,04857	2,01307	1,97377	1,79583	1,8118	1,9634	1,98843				
sm.odchylka	0,01479	0,01206	0,01107	0,01152	0,01128	0,00289	0,00456				
Modrá (AP)	1,79623	1,7895	1,7466	1,58837	1,61927	1,7237	1,7369				
sm.odchylka	0,0106	0,01255	0,01239	0,01039	0,00963	0,01107	0,01466				
Zelená (AP)	1,5408	1,52993	1,4884	1,36293	1,40203	1,4535	1,4606				
sm.odchylka	0,00525	0,00477	0,00545	0,0043	0,00404	0,00505	0,00447				
Žlutá (AP)	1,3966	1,3837	1,34473	1,2466	1,29393	1,30333	1,30967				
sm.odchylka	0,00414	0,00421	0,00396	0,00289	0,00289	0,00456	0,00466				
Oranžová (AP)	1,3394	1,3258	1,2882	1,20927	1,2563	1,24113	1,24617				
sm.odchylka	0,00341	0,00338	0,00337	0,0021	0,0022	0,00368	0,00406				
Červená (AP)	1,2372	1,22313	1,1891	1,13863	1,19143	1,15203	1,15663				
sm.odchylka	0,00331	0,00329	0,00314	0,0026	0,00198	0,0023	0,00239				

Tab. č. 9 – výsledné hodnoty aritmetických průměrů absorbancí a směrodatné odchylky pro jednotlivé barvy pro ozářenou moč s 1ml 1M MnCl₂



Ozářená moč+1ml 1M MnCl2

Obr č. 20 – výsledný graf pro ozářenou moč s 1ml 1M MnCl2

	Dávka [Gy]										
	0	1	2	3	5	7	10	15	20	25	
Fialová (AP)	2,36478	2,34507	2,31232	2,26087	2,21528	2,14613	2,09503	2,02772	1,88285	1,88393	
sm.odchylka	0,02104	0,02261	0,01113	0,01632	0,01506	0,01595	0,01801	0,00566	0,00545	0,00529	
Modrá (AP)	2,0878	2,0711	2,0368	1,99102	1,94047	1,87352	1,81508	1,751	1,606	1,58472	
sm.odchylka	0,01338	0,01423	0,01351	0,01404	0,01309	0,01212	0,01292	0,01431	0,01388	0,01507	
Zelená (AP)	1,74287	1,73588	1,69745	1,64477	1,60372	1,53272	1,47547	1,40765	1,26138	1,22555	
sm.odchylka	0,01003	0,00839	0,0083	0,00812	0,00814	0,00857	0,00829	0,00831	0,00841	0,00881	
Žlutá (AP)	1,5082	1,51967	1,47767	1,42883	1,39293	1,31837	1,26467	1,2023	1,05852	1,01952	
sm.odchylka	0,00563	0,00618	0,00629	0,00599	0,00582	0,00584	0,00566	0,00545	0,00529	0,00529	
Oranžová (AP)	1,42188	1,43365	1,39017	1,3447	1,31123	1,23625	1,18552	1,12698	0,98612	0,94778	
sm.odchylka	0,00606	0,00519	0,00514	0,00494	0,0049	0,00479	0,00461	0,00431	0,00414	0,00404	
Červená (AP)	1,26887	1,28408	1,23888	1,2011	1,17202	1,09888	1,05432	1,00393	0,87105	0,83562	
sm.odchylka	0,00516	0,00457	0,00464	0,00444	0,00425	0,00414	0,00395	0,00371	0,00343	0,00327	

Ozářená moč + 1 ml 3M roztoku chloridu manganatého

Tab. č. 10 – výsledné hodnoty aritmetických průměrů absorbancí a směrodatné odchylky pro jednotlivé barvy pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂



Ozářená moč + 1ml 3M MnCl2 bez centrifugace

Obr č. 21 – výsledný graf pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂

	Dávka Gy										
	0	1	2	3	5	7	10	15	20	25	
Fialová (AP)	2,2812	2,23427	2,12002	2,07913	2,04972	1,96362	1,90575	1,83202	1,86538	1,97452	
sm.odchylka	0,01366	0,01005	0,01633	0,01506	0,01275	0,01809	0,01544	0,00429	0,00461	0,00485	
Modrá (AP)	2,02718	1,98583	1,87198	1,83705	1,80535	1,71592	1,65943	1,57437	1,5869	1,6625	
sm.odchylka	0,01262	0,01307	0,01217	0,01237	0,01303	0,01251	0,01243	0,01324	0,0138	0,01624	
Zelená (AP)	1,7216	1,68205	1,57285	1,54692	1,51445	1,42592	1,37307	1,26715	1,25363	1,28152	
sm.odchylka	0,00718	0,00755	0,00737	0,00701	0,0071	0,00691	0,00695	0,00736	0,00812	0,0093	
Žlutá (AP)	1,52875	1,49375	1,39038	1,37082	1,34175	1,25333	1,20647	1,08705	1,06178	1,05742	
sm.odchylka	0,00545	0,00502	0,00505	0,00474	0,00447	0,00448	0,00429	0,00461	0,00485	0,00573	
Oranžová (AP)	1,45473	1,42363	1,32293	1,30707	1,28045	1,19273	1,14967	1,02587	0,99733	0,98113	
sm.odchylka	0,00433	0,00413	0,00383	0,00361	0,00342	0,00339	0,00315	0,00343	0,00362	0,0043	
Červená (AP)	1,32813	1,30555	1,21263	1,20337	1,18193	1,09768	1,06275	0,93243	0,9006	0,8671	
sm.odchylka	0,00401	0,00282	0,00336	0,00312	0,00303	0,00287	0,00262	0,00275	0,00278	0,00326	

Ozářená moč + 1 ml 5M roztoku chloridu manganatého

Tab. č. 11 – výsledné hodnoty aritmetických průměrů absorbancí a směrodatné odchylky pro jednotlivé barvy pro ozářenou moč s 1ml 5M MnCl₂



Ozářená moč + 1ml 5M MnCl2 bez centrifugace

Obr č. 22 – výsledný graf pro ozářenou moč s 1ml 5M MnCl₂

Další experimenty jsou měřeny všechny s 3M roztokem chloridu manganatého, ale v různých přesných časových intervalech po jeho přidání do vzorku ozářené moči, rozdíly v naměřené absorbanci i výsledných grafech jsou značné.

Ozářená moč + 1 ml 3M roztoku chloridu manganatého, měřeno přes	ně 1
minutu po přidání u následujících dávek: 0, 5, 10, 15 a 20 Gy.	

	Dávka [Gy]											
	0	5	10	15	20							
Fialová (AP)	1,66013	1,6285	1,3263	1,24093	1,26533							
sm.odchylka	0,0198	0,02267	0,01859	0,00473	0,00441							
Modrá (AP)	1,33987	1,29823	1,0453	0,96617	0,9883							
sm.odchylka	0,01532	0,01584	0,01326	0,01289	0,01301							
Zelená (AP)	0,95187	0,903	0,72653	0,65803	0,6744							
sm.odchylka	0,00853	0,00853	0,00695	0,0066	0,00662							
Žlutá (AP)	0,732	0,6807	0,55147	0,49347	0,5073							
sm.odchylka	0,00591	0,00602	0,00473	0,00441	0,00448							
Oranžová (AP)	0,6505	0,59607	0,48663	0,43427	0,44617							
sm.odchylka	0,00466	0,00487	0,0037	0,00331	0,00347							
Červená (AP)	0,52567	0,47267	0,3885	0,34467	0,35333							
sm.odchvlka	0.00346	0.00342	0.00277	0.00254	0.00264							

Tab. č. 12 – výsledné hodnoty aritmetických průměrů absorbancí a směrodatné odchylky pro jednotlivé barvy pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂, měřeno přesně 1 minutu po přidání roztoku MnCl₂

Ozářená moč + 1 ml 3M MnCl2

měřeno přesně po 1 minutě od přidání rozotoku

Obr č. 23 – výsledný graf pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂ měřeno přesně po 1 minutě od přidání roztoku MnCl₂

	Ozářená	moč +	1 ml	3M	roztoku	chloridu	manganatého,	měřeno	přesně	5
minut po přidání u následujících dávek: 0, 5, 10, 15 a 20 Gy.										

Dávka[Gy]										
	0	5	10	15	20					
Fialová (AP)	1,92047	0,81643	1,77343	1,67637	1,86513					
sm.odchylka	0,01236	0,00978	0,0155	0,00858	0,00687					
Modrá (AP)	1,72523	0,68567	1,5324	1,41163	1,61743					
sm.odchylka	0,00985	0,00581	0,01192	0,01385	0,01263					
Zelená (AP)	1,45907	0,5862	1,1502	1,01	1,2144					
sm.odchylka	0,00768	0,00168	0,01092	0,0102	0,01126					
Žlutá (AP)	1,1944	0,55283	0,84023	0,74283	0,88167					
sm.odchylka	0,00951	0,00087	0,00858	0,00687	0,00933					
Oranžová (AP)	1,03807	0,5409	0,72277	0,65113	0,7591					
sm.odchylka	0,01043	0,0008	0,00651	0,00514	0,00443					
Červená (AP)	0,74673	0,51867	0,56447	0,50747	0,57187					
sm.odchylka	0,00651	0,00062	0,00421	0,00454	0,00479					

Tab. č. 13 – výsledné hodnoty aritmetických průměrů absorbancí a směrodatné odchylky pro jednotlivé barvy pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl2, měřeno přesně 5 minut po přidání roztoku MnCl2

Ozářená moč + 1 ml 3M MnCl2

měřeno přeně 5 minut po přidání MnCl2



Obr č. 24 – výsledný graf pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂ měřeno přesně po 5 minut od přidání roztoku MnCl₂

Ozářená moč + 1 ml 3M roztoku chloridu manganatého, měřeno přesně 10 minut po přidání u následujících dávek: 0, 5, 10, 15 a 20 Gy.

	Dávka [Gy]										
	0	5	10	15	20						
Fialová (AP)	1,7908	1,66833	1,72227	1,69203	1,82663						
sm.odchylka	0,01274	0,00927	0,01187	0,00423	0,00471						
Modrá (AP)	1,6116	1,51677	1,52813	1,50147	1,6277						
sm.odchylka	0,00824	0,00676	0,0097	0,00955	0,00961						
Zelená (AP)	1,39807	1,35747	1,3003	1,279	1,38583						
sm.odchylka	0,00478	0,00377	0,00532	0,0052	0,00566						
Žlutá (AP)	1,26333	1,2581	1,1544	1,14323	1,2331						
sm.odchylka	0,00395	0,00291	0,00423	0,00471	0,00446						
Oranžová (AP)	1,2061	1,21413	1,09367	1,08187	1,16837						
sm.odchylka	0,00345	0,00271	0,00354	0,00348	0,00381						
Červená (AP)	1,10627	1,12633	0,98913	0,9825	1,05893						
sm.odchylka	0,00306	0,00293	0,00318	0,00298	0,00335						

Tab. č. 14 – výsledné hodnoty aritmetických průměrů absorbancí a směrodatné odchylky pro jednotlivé barvy pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂, měřeno přesně 10 minut po přidání roztoku MnCl₂

Ozářená moč + 1 ml 3M MnCl2



měřeno přesně po 10 minutách od přidání rozotoku

Obr č. 25 – výsledný graf pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂ měřeno přesně po 10 minutách od přidání roztoku MnCl₂

Dávka [Gy]

Dávka [Gy]										
	0	1	2	3	5	7	10	15	20	25
Fialová (AP)	2,33813	2,44843	2,4694	2,66653	2,70897	2,6999	2,70607	2,68313	2,68937	2,7106
sm.odchylka	0,02367	0,01947	0,02776	0,02319	0,01429	0,00711	0,01955	0,00826	0,00803	0,00804
Modrá (AP)	2,0079	2,09063	2,12897	2,32153	2,3585	2,40103	2,35277	2,33443	2,32483	2,34463
sm.odchylka	0,01637	0,01651	0,01679	0,0149	0,01764	0,01574	0,01468	0,01626	0,01396	0,00863
Zelená (AP)	1,57607	1,65567	1,69393	1,88657	1,938	1,96247	1,91637	1,91647	1,90473	1,92867
sm.odchylka	0,01026	0,01035	0,01013	0,01072	0,01188	0,01154	0,01111	0,0116	0,00983	0,01126
Žlutá (AP)	1,3053	1,3796	1,4164	1,60217	1,6568	1,6752	1,62697	1,62073	1,6276	1,6563
sm.odchylka	0,00749	0,00778	0,00785	0,00808	0,00828	0,00853	0,00826	0,00803	0,00804	0,00764
Oranžová (AP)	1,19907	1,27073	1,30713	1,48763	1,54323	1,55703	1,51087	1,50537	1,51447	1,5468
sm.odchylka	0,00557	0,00643	0,00639	0,00672	0,00684	0,0071	0,00649	0,00697	0,00654	0,00666
Červená (AP)	1,03034	1,0953	1,12803	1,29697	1,35252	1,35783	1,31943	1,3108	1,32787	1,36347
sm.odchylka	0,00488	0,00511	0,00527	0,00572	0,00573	0,00591	0,0057	0,00649	0,00549	0,00549
m 1 × 1 =					~ 0 1				•	

Tab. č. 15 – výsledné hodnoty aritmetických průměrů absorbancí a směrodatné odchylky pro jednotlivé barvy pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂, měřeno 2 hodiny po přidání roztoku MnCl₂

Ozářená moč + 1 ml 3M MnCl2

měřeno 2 hodiny po přidání MnCl2



Obr č. 26 – výsledný graf pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂ měřeno po 2 hodinách od přidání roztoku MnCl₂

Dávka [Gy]										
	0	1	2	3	5	7	10	15	20	25
Fialová (AP)	2,7892	2,89793	2,86413	2,76747	2,79393	2,81243	2,80833	2,92657	2,8235	2,89643
sm.odchylka	0,02621	0,03622	0,01927	0,0147	0,02366	0,02017	0,0377	0,00914	0,00922	0,00905
Modrá (AP)	2,4039	2,46527	2,47027	2,4152	2,43847	2,46367	2,46707	2,5058	2,47353	2,49323
sm.odchylka	0,02041	0,02066	0,02552	0,01934	0,01247	0,01693	0,01617	0,01688	0,01653	0,01514
Zelená (AP)	1,9575	2,0195	2,03463	1,94643	1,9954	2,01623	2,0076	2,0577	2,011	2,0506
sm.odchylka	0,01243	0,00997	0,01223	0,01253	0,01103	0,01115	0,01189	0,01191	0,01322	0,01222
Žlutá (AP)	1,64427	1,71377	1,72563	1,63237	1,6805	1,70753	1,6933	1,7331	1,70073	1,73643
sm.odchylka	0,00891	0,00876	0,00868	0,00901	0,00858	0,00887	0,00914	0,00922	0,00905	0,00885
Oranžová (AP)	1,51853	1,5904	1,6013	1,5035	1,55223	1,5801	1,56613	1,6044	1,5743	1,6084
sm.odchylka	0,00759	0,00737	0,00757	0,00751	0,00753	0,00768	0,00764	0,00761	0,00722	0,00779
Červená (AP)	1,31173	1,38657	1,39357	1,29193	1,3387	1,3698	1,3567	1,38853	1,3656	1,39583
sm.odchylka	0,00618	0,00599	0,00614	0,00612	0,00624	0,00624	0,0061	0,00668	0,00618	0,00612

Ozářená moč + 1 ml 3M MnCl₂, měřeno 24 hodin po přidání MnCl₂

Tab. č. 16 – výsledné hodnoty aritmetických průměrů absorbancí a směrodatné odchylky pro jednotlivé barvy pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂, měřeno 24 hodin po přidání roztoku MnCl₂

Ozářená moč + 1ml MnCl2

měřeno 24 hodin po přidání MnCl2



Obr č. 27 – výsledný graf pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂ měřeno po 24 hodinách od přidání roztoku MnCl₂

Všechny předchozí výsledky byly měřeny pouze s ranní močí, jediný tento následující experiment byl dělán na méně koncentrované dopolední moči. Po přidání roztoku chloridu manganatého nedošlo k žádnému zákalu. Výsledky jsou následující:

Dávka Gy										
	0	1	2	3	5	7	10	15	20	25
Fialová (AP)	0,211	0,20493	0,20368	0,2026	0,2056	0,20563	0,2057	0,20405	0,20253	0,20532
sm.odchylka	0,00327	0,00353	0,00345	0,0034	0,00352	0,00347	0,00358	0,00067	0,00067	0,00067
Modrá (AP)	0,14753	0,14178	0,1416	0,1406	0,1427	0,1434	0,14288	0,14202	0,14098	0,14273
sm.odchylka	0,00383	0,00362	0,00359	0,00359	0,00363	0,00363	0,00362	0,00355	0,00355	0,0036
Zelená (AP)	0,07485	0,07325	0,07382	0,07278	0,074	0,07507	0,0752	0,07477	0,07442	0,0756
sm.odchylka	0,00108	0,00103	0,00101	0,00102	0,00105	0,00105	0,00102	0,00104	0,00103	0,00104
Žlutá (AP)	0,0443	0,04227	0,04273	0,04175	0,04273	0,0434	0,04362	0,04302	0,04295	0,04332
sm.odchylka	0,00064	0,00067	0,00066	0,00069	0,00066	0,00069	0,00067	0,00067	0,00067	0,0007
Oranžová (AP)	0,03798	0,03623	0,03612	0,03538	0,03623	0,0367	0,03708	0,0366	0,03628	0,03652
sm.odchylka	0,00027	0,00021	0,00024	0,00019	0,00023	0,00022	0,00023	0,00024	0,00028	0,00025
Červená (AP)	0,03337	0,03202	0,03198	0,03168	0,03227	0,03335	0,03277	0,03217	0,0321	0,0322
sm.odchylka	9E-005	1E-004	9E-005	9E-005	1E-004	1E-004	0,00011	1E-004	0,00012	0,00012

Tab. č. 17 – výsledné hodnoty aritmetických průměrů absorbancí a směrodatné odchylky pro jednotlivé barvy pro ozářenou dopolední moč s 1ml 3M MnCl₂



Ozářená moč + 1ml 3M MnCl2 bez centrifugace

Obr č. 28 – výsledný graf pro ozářenou dopolední moč s 1ml 3M MnCl₂

Poslední výsledek je ozářená moč s přidaným 3M roztokem chloridu manganatého. Roztok byl přidán ihned po ozáření v nemocnici.

Dawa [Gy]										
	0	1	2	3	5	7	10	15	20	25
Fialová (AP)	2,07997	2,08902	2,08392	2,05752	2,06187	2,1135	2,06565	2,0733	2,06298	2,04763
sm.odchylka	0,01704	0,0177	0,01958	0,02208	0,01621	0,0177	0,01934	0,00553	0,0057	0,00546
Modrá (AP)	1,77353	1,76477	1,7613	1,72967	1,74268	1,79898	1,7359	1,74695	1,76073	1,73968
sm.odchylka	0,01599	0,01668	0,01708	0,01685	0,0169	0,01572	0,01739	0,01804	0,01565	0,01567
Zelená (AP)	1,39857	1,36418	1,36457	1,33135	1,34007	1,40678	1,32712	1,34517	1,37495	1,36325
sm.odchylka	0,00793	0,00853	0,00815	0,00838	0,00858	0,00823	0,00889	0,00832	0,00806	0,00792
Žlutá (AP)	1,19963	1,15003	1,15153	1,1182	1,12302	1,19453	1,10656	1,12955	1,17063	1,16205
sm.odchylka	0,00537	0,00569	0,00567	0,00571	0,00577	0,00567	0,00553	0,0057	0,00546	0,00526
Oranžová (AP)	1,12828	1,07222	1,07392	1,07435	1,04438	1,11647	1,02615	1,05167	1,0966	1,09077
sm.odchylka	0,00407	0,00452	0,00442	0,02614	0,00452	0,00449	0,00457	0,00449	0,00425	0,00406
Červená (AP)	1,01528	0,94905	0,95113	0,9192	0,92122	0,99138	0,90093	0,92842	0,97842	0,97823
sm.odchylka	0,0033	0,00365	0,00362	0,0036	0,00361	0,00374	0,00367	0,00358	0,00355	0,00329

Tab. č. 18 – výsledné hodnoty aritmetických průměrů absorbancí a směrodatné odchylky pro jednotlivé barvy pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂, přidaného ihned po ozáření

Ozářená moč + 3M MnCl2



Obr č. 29 – výsledný graf pro ozářenou moč s 1ml 3M MnCl₂ přidaného ihned po ozáření

4. Diskuze



Při porovnání výsledků s měřeními Š. Radové jsou rozdíly značné.

Obr č. 30 – ozářená destilovaná voda s přidaným indikátorem FeSO₄. 7H₂O (Radová, 2010)



Ozářená destilovaná voda + 1M MnCl2 + centrifuga 2 min

Obr č. 31 – ozářená destilovaná voda s přidaným indikátorem MnCl₂

Z výsledků je zřejmé, že u experimentu měřeného se síranem železnatým (*Obr. č. 30*) dochází k jasnému nárůstu hodnot absorbance již od 3 Gy u všech barev spektra. Zatímco u experimentu s chloridem manganatým (*Obr. č 31*) nelze z grafu vyvodit jednoznačné závěry. U dávky do 2 Gy dochází u fialové a modré barvy k propadu, stejně jako v předchozím grafu. U těchto barev je také vidititelný nárůst od 7 Gy až do 20 Gy. Od 10 do 20 Gy rostou absorbance ve všech měřených vlnových délkách, avšak nárůst je oproti předchozímu grafu minimální. Nad 20 Gy dochází u vlnových délek fialové a modré barvy k poklesu hodnot absorbance. U ostatních vlnových délek jsou hodnoty stejné nebo nepatrně stoupají. Graf je velmi spekulativní a proto z něho nelze vyvodit žádné závěry. Jediné co je ve srovnání jasné na první pohled je to, že ozářená destilovaná voda s přidaným FeSO₄. 7H₂O funguje jednoznačně lépe jako dozimetr, než ozářená destilovaná voda s MnCl₂ (Singer, 2012b).

Druhé porovnání je opět se stejnými indikátory, ale místo destilované vody je již jako vzorek použita moč. U Grafu s přidaným 1 ml 1M FeSO₄ . 7H₂O je použita centrifuga, u druhého grafu s přidaným roztokem MnCl₂ nikoliv, protože při použití centrifugy v tomto případě nedošlo k žádným změnám mezi jednotlivými dávkami.



Obr č. 32 - závislost absorbance na dávce IZ pro moč s barevným indikátorem FeSo₄. 7 H₂O

Proto jsem se do tohoto porovnání rozhodl dát graf, ve kterém je znározněna závislost absorbance na dávce u ozářené moči s přidaným 1 ml 1M roztoku MnCl₂. Postup, kromě centrifugace, byl při těchto experimentech naprosto totožný. Všechny zkumavky byly ozářeny v nemocnici stanovenými dávkami IZ a poté až v laboratoři byl do celé sady zkumavek najednou přidán 1 ml indikátoru, v prvním případě 1M FeSO₄ . 7H₂O a ve druhém případě 1M MnCl₂. U zkumavek s 1M FeSO₄ . 7H₂O došlo navíc k centrifugaci 1000ot./min. po dobu 2 min. Poté byly absorbance změřeny na spektrofotometru (Radová, 2010).



Ozářená moč+1ml 1M MnCl2

Obr č. 33 – závislost absorbance na dávce IZ pro moč s indikátorem MnCl₂

Při srovnání těchto výsledků je u grafů jistá podobnost. U prvního grafu s indikátorem $FeSO_4$. $7H_2O$ (*Obr č. 32*) se až po hranici 10 Gy hodnoty pohybují kolem nuly a nelze z nich nic významného vyvodit. V druhé části grafu nad 10 Gy dochází ke značnému nárůstu hodnot absorbance u všech barev z 0 až k hodnotě 0,83 u fialové barvy, u které je rozdíl nejvýraznější.

U druhého grafu s indikátorem $MnCl_2$ (*Obr č. 33*) je v první části grafu do dávky 5 Gy viditelný pokles u všech měřeným vlnových délek. Od 5 Gy naopak hodnoty začínají růst u všech barev. Ale pouze u fialové, modré a zelené barvy rostou až do poslední měřené hodnoty absorbance pro dávku 25 Gy. U těchto tří barev se zdá průběh podobný, avšak mnohem méně výrazný, než u obrázku *č. 32*. Ale je nutné říci, že ani u fialové barvy u 25 Gy není hodnota absorbance vyšší než u hodnoty 0 Gy, což je dost podstatné pro užití tohoto indikátoru jako dozimetru.

Aby bylo možné výsledky lépe popsat, zpracoval jsem ještě následující grafy pro jednotlivé barvy. V každém grafu jsou zpracovány křivky pro tři koncetrace – 1M, 3M a 5M roztok chloridu manganatého a dále 3 časově odlišná měření – po 1 minutě, 10 minutách a 2 hodinách po přidání chloridu manganatého. Při těchto časových měřeních je použit vždy 3M roztok MnCl₂. Každý z těchto grafů je tedy pouze pro jedinou barvu, tzn. pro 6 měřených vlnových délek.



Obr č. 34 – srovnání výsledných křivek u fialové barvy

Pokud mám zkoumat změnu absorbance s rostoucí dávkou, jak bylo stanoveno v hypotéze a nesledovat přitom, jestli absorbance roste nebo klesá, zaujmou mě na *obrázku č. 34 pro fialovou barvu* nejvíce tři křivky pro 3M , 5M roztok a po 1 minutě.

Pro 5 M roztok chloridu manganatého křivka od 0 Gy až po 15 Gy klesá, v závěru se ale otáčí a začíná růst. Těžko říci, čím je tento jev způsoben, může to být

časovým odstupem jednotlivých měření. Při experimentech jsem vždy došel k závěru, že výsledek je významně ovlivněn časovým odstupem jednotlivých měření. Zkoumal jsem to jen s 3M roztokem, u kterého absorbance prvních 5 minut rostla (*viz tabulka č. 12, 13, 14 a 15 v kapitole 3. výsledky*), poté začala klesat, to trvalo minimálně 30 minut a poté opět začala růst, což potvrdilo měření po 2 hodinách, kde byla absorbance opět značně vyšší. U třímolárního roztoku tedy odhaduji, že absorbance začala opět růst mezi 30 minutami a 1 hodinou od přidání MnCl₂. U 5M roztoku, protože je koncentrovanější, by to teoreticky mohlo nastat dříve. Poslední dvě měření, při kterých se hodnoty obrací, byly zhruba 30 minut po přidání chloridu manganatého.

Křivka pro 3M roztok klesá po celou dobu s danou dávkou. Myslím si, že u tohoto grafu hraje velkou roli též časový posun jednotlivých měření. Jak jsem již psal v předchozím odstavci, hodnota absorbance se v jednom vzorku výrazně mění s časem. Nejdříve roste, zhruba po 5 minutách dosáhne prvního maxima a poté začíná pomalu klesat.

Jelikož jsem při tomto měření využíval stejnou metodiku jako Š. Radová ve své bakalářské práci, tedy přidal jsem třímolární roztok chloridu manganatého do celé sady zkumavek najednou. Tato skutečnost mohla, dle mého názoru, výsledek významně ovlivnit. Vzorek pro 0 Gy jsem měřil zhruba po 5 minutách, každý další zhruba po 150 s. To znamená, že při měření jedné kyvety pro každou dávku byl časový rozdíl mezi prvním a posledním vzorkem kolem 30 minut od přidání chloridu manganatého.

Tuto domněnku mi částečně potvrdil i experiment, při kterém jsem neprováděl měření od 0 do 25 Gy postupně, ale měřil jsem vzorky v následujícím pořadí: 0 Gy, 25 Gy, 1 Gy, 20 Gy, 2 Gy, 15 Gy, 3 Gy, 10 Gy, 5 Gy a 7 Gy.

Výsledkem je *obrázek č. 35.* Při tomto měření byla jako slepý vzorek použita neozářená moč + 1 ml 3M MnCl₂, tento graf byl měřen s centrifugou, ale pouze 5 minut, takže vzorek nebyl úplně čirý a docházelo tak k postupnému usazování v kyvetách. To si myslím, že významně ovlivnilo celkový výsledek grafu, který má minimum opět u posledních dvou měřených hodnot, kterými jsou 5 a 7 Gy. Domnívám se, že kdybych měřil absorbanci opět postupně od 0 do 25 Gy, měl by graf klesající tendenci.


Ozářená moč + 1 ml 3M MnCl2 + centrifuga 5 min

měřeno v pořadí: 0, 25, 1, 20, 2, 15, 3, 10, 5 a 7Gy

Obr č. 35 – graf zásvislosti absorbance na dávce IZ měřený odlišným způsobem

Na druhou stranu jsem naprosto stejnou metodiku používal i pro měření s 1M a 5M roztokem MnCl₂ a u nich jsou křivky odlišné. Takže rozhodně výsledek u třímolárního roztoku není zapříčiněn pouze časovým posunem. Navíc pro všechny tři koncentrace jsem měření několikrát opakoval a výsledek byl vždy téměř stejný (minimální rozdíly v hodnotách absorbance v řádech setin až tisícin).

Pokud se vrátím k obrázku č. 34, poslední je výsledná křivka z měření přesně 60 s po přidání 3M chloridu manganatého. Tato křivka má také výrazně klesající tendenci, ikdyž v posledním intervalu od 15 do 20 Gy začíná mírně stoupat. Toto měření je dle mého názoru nejpřesnější, protože jsem do každé zkumavky zvlášť přidal 3M roztok MnCl₂, zkumavku jsem 30 s protřepával, pak jsem vzorek umístil do spektrofotometru a přesně po 60 s od přidání 3M MnCl₂ jsem začal měření. Podmínky tedy byly u všech vzorků naprosto totožné, pouze byly zhruba dvou až tříminutové rozdíly od času ozáření vzorku, což jsem ale nemohl nijak ovlivnit.



Následující grafy jsou pro ostatní měřené barvy a od výsledku pro fialovou barvu se liší jen minimálně.

Obr č. 36 – srovnání výsledných křivek u modré barvy



Obr č. 37 – srovnání výsledných křivek u zelené barvy



Obr č. 38 – srovnání výsledných křivek u žluté barvy



Obr č. 39 – srovnání výsledných křivek u oranžové barvy

Grafy jednotlivých barev se liší pouze v posledních dvou intervalech křivky pro 5M roztok, tzn. od 15 do 25 Gy. Zatímco fialová, modrá a částečně i zelená barva rostou, červená a oranžová barva viditelně klesá. Žlutá barva, která je na rozhranní mezi



těmito rostoucími a klesajícími hodnotami, zůstává stejná. Jiné podstatné rozdíly v grafech nejsou.

Obr č. 40 – srovnání výsledných křivek u červené barvy

Pokud bych měl doporučit metodiku měření, postup by byl následující. Měření je nutné provádět co nejdříve po ozáření, u mě tento přesun z nemocnice do laboratoře zabral asi 30 minut, čím kratší doba zde bude, tím přesnější měření. Měření bych prováděl s tímto indikátorem pouze bez centrifugace. U vzorků s centrifugací nebyla pozorována u jednotlivých dávek IZ žádná změna a v grafem vyšly v podstatě přímky s konstantními hodnotami (viz *podkapitola 3.1*).

Pokud mají být měření přesná, musí se roztok chloridu manganatého přidávat do každé zkumavky zvlášť před vlastním měřením a ne do celé sady najednou. Důležité je dodržet stejný časový interval u všech měření. Je vhodné, aby čas od přidání chloridu manganatého po změření absorbance byl co nejkratší, protože čím déle, tím se rozdíly mezi dávkami postupně vytrácí. Myslím také, že pro zjednodušení experimentu a snížení časové náročnosti by stačilo měřit absorbance pouze pro vybrané tři barvy spektra, navrhoval bych fialovou, zelenou a červenou. Pokud to tedy shrnu, navrhovaná metodika je:

- měřit co nejdříve po ozáření vzorků
- jako slepý vzorek používat destilovanou vodu (při použití neozářené moči s přidaným rozotokem chloridu manganatého může i po centrifugaci docházet k drobnému zakalování)
- přidat chlorid manganatý do ozářené zkumavky, protřepat a po 30 s začít měření na spektrofotometru. Takto postupovat u všech měřených dávek.
- měřit pouze vlnové délky pro filovou barvu 410, 415 a 420 nm, zelenou barvu 510, 515 a 520 nm a pro červenou barvu 660, 665 a 670 nm.

5. Závěr

Při jednotlivých experimentech jsem zkoušel přidávat do ozářených vzorků různé koncentrace roztoku chloridu manganatého (1M, 3M a 5M), tyto roztoky jsem přidával také v různých množstvích (1 ml, 2 ml, 3 ml), avšak při těchto experimentech nebyly zjištěny žádné jednoznačné výsledky.

Měření jsem prováděl s centrifugou i bez centrifugy. Jednoznačně mohu řicí, že s centrifugou tato metoda nefunguje. Všechny výsledné grafy, ve kterých byla při postupu použita centrifuga, vyšly v podstatě jako přímky a hodnoty absorbance se u jednotlivých dávek vůbec neměnily (*podkapitola 3.1*).

Dále jsem tedy měnil způsob měření, přidával jsem roztok do celé sady zkumavek najednou nebo do každé zkumavky zvlášť a zkoušel jsem také měřit absorbanci v různě dlouhých časových intervalech od přidání roztoku chloridu manganatého do zkumavky. Bohužel ani tyto pokusy nepřinesly jednoznačné závěry.

Hypotéza práce byla potvrzena, protože drobné náznaky změny absorbance při jednotlivých dávkách byly zaznamenány u několika experimentů (bez centrifugace), ale změny byly přilíš malé na to, aby se pomocí této metody dala alespoň orientačně určit dávka ozáření.

Závěrem musím konstatovat, že ozářená moč po přidání roztoku chloridu manganatého nemůže sloužit jako biologický dozimetr a pomocí tohoto indikátoru tedy nelze spolehlivě určit dávku ozáření.

6. Seznam informačních zdrojů

- (Barrett, 2009) BARRETT, A. Practical radiotherapy planning. 4th ed. /. London: Hodder Arnold, c2009, viii, 468 p. ISBN 03-409-2773-9.
- (Česko, 1997) ČESKO. Zákon č. 18 ze dne 24. ledna 1997 o mírovém využívání jaderné energie a ionizujícího záření (atomový zákon) a o změně a doplnění některých zákonů. dostupné z: http://www.sujb.cz/fileadmin/sujb/docs/legislativa/zakony/Atomovy_zakon_201 20103.pdf
- (Dědina, 2008) DĚDINA, R. Detekce ionizujícího záření pomocí Geiger-Müllerova detektoru. Brno : Vysoké učení technické v Brně, 2008. s. 10-12.
- (Doležalová, 2011) DOLEŽALOVÁ, H. HYNKOVÁ, L. ŠLAMPA, P. Radioterapie, učební texty LF MU Brno 2011
- (Dylevský, 2006) DYLEVSKÝ, Ivan. Základy anatomie. Vyd. 1. Praha: Triton, 2006, 271 s. ISBN 80-725-4886-7.
- (Dylevský, 1996) DYLEVSKÝ, Ivan. Základy funkční anatomie člověka. Praha 1996. 140s.
- (Ganong, 1995) GANONG, William F. Přehled lékařské fyziologie. 1. vyd. vydavatelství H&H, 1995, 681 s. ISBN 80-857-8736-9.
- (Havránek, 2012) HAVRÁNEK, J. Prezentace: Základy radiační ochrany, ZSF JU, 2012
- (Hon, 2011) HON, Z. FREITINGER SKALICKÁ, Z. a ZÖLZER, F. Metody biologické dozimetrie. Prevence úrazů, otrav a násilí. 2011, 7/1, s. 92-97. ISSN 1801-0261. Dostupné z: http://casopis-zsfju.zsf.jcu.cz/prevence-urazu-otrav-anasili/administrace/clankyfile/20120330100904440748.pdf
- (Hrazdíra, 2001) HRAZDIRA, I. MORNSTEIN, V. Lékařská biofyzika a přístrojová technika. 1. vydání. Brno : Neptun. 2001. 396 s. ISBN 80-902896-1-4.

- (Hynková, 2008) HYNKOVÁ, L. a DOLEŽALOVÁ, H. Nežádoucí účinky radioterapie a podpůrná léčba u radioterapie nádorů hlavy a krku. Onkologie. 2008, č. 2, s. 88-90. [cit. 10.3.2013] Dostupné z: http://onkologiecs.cz/pdfs/xon/2008/02/06.pdf
- ICRP Publication 103. 2007. 295s. ISBN 978-0-7020-3063-5
- (Joiner, 2009) JOINER, M. KOGEL, A. Basic clinical radiobiology. 4th ed. London: Hodder Arnold, 2009, vi, 375 p. ISBN 978-034-0929-667.
- (Klouda, 1996) KLOUDA, P. Moderní analytické metody: Učebnice základů instrumentálních analytických metod. 1. vyd. Ostrava:1996, 203 s. ISBN 80-902-1550-5.
- (Křiženecká, 2007) KŘĺŽENECKÁ, S. Základy analytické chemie. Univerzita J. E. Purkyně, 2007. 110s. dostupné z: fzp.ujep.cz/ktv/uc_texty/zach/zach.pdf
- (Kuna, 2005) KUNA, P. NAVRÁTIL, L a kol.: Klinická radiobiologie, vydavatelství MANUS Praha 2005, 198 str., ISBN 80-86571-09-2
- (Kuna, 2007) KUNA, P. NAVRÁTIL, N. Zölzer, F. Mechanismy účinků ionizujícího záření. učební text ZSF JU. České Budějovice. 2007. 21 s.
- (Mourek, 2005) MOUREK, J. Fyziologie: učebnice pro studenty zdravotnických oborů. 1. vyd. Praha: Grada, 2005, 208 s. ISBN 80-247-1190-7.
- (Navrátil, 2003) NAVRÁTIL, L. ROSINA, J. et al. Biofyzika v medicíně. Praha: Manus, 2003, 398 s., ISBN: 80-86571-03-3
- (Navrátil, 2005) NAVRÁTIL, L. ROSINA, J. Medicínská biofyzika. Praha: Grada, 2005, 524 s. ISBN 80-247-1152-4
- (Radová, 2010) RADOVÁ, Š. Měření extinkce moči v závislosti na dávce ionizujícího záření. České Budějovice, 2010. Bakalářská práce ZSF JU.
- (Seidl, 2012) SEIDL, Z. Radiologie pro studium i praxi. Vyd. 1. Praha: Grada, 2012, 368 s., iv s. obr. příl. ISBN 978-80-247-4108-6.
- (Silbernagl, 2004) SILBERNAGL, S. DESPOPOULOS, A. Atlas fyziologie člověka. 6. přeprac. a rozš. vyd. Praha: Grada 2004, XII, 435 s. ISBN 80-247-0630-X.

- (Singer, 2005) SINGER, J. Dozimetrie ionizujícího záření. 1. vyd. V Českých Budějovicích: Jihočeská univerzita, Zdravotně sociální fakulta, 2005, 67 s. ISBN 80-704-0752-2.
- (Singer, 2011) SINGER, J. Prezentace: Jaderná fyzika 3, ZSF JU, 2011
- (Singer, 2012a) SINGER, J. Prezentace: Základy dozimetrie, ZSF JU, 2012
- (Singer, 2012b) SINGER, J. Radová, Š. Effects of irradiation on the urine absorbance. Bezpečnost jaderné energie. 2012, roč. 20, č. 3-4, s. 113-116. ISSN: 1210-7085.
- (Slezáková, 2010) SLEZÁKOVÁ, L. Ošetřovatelství v chirurgii II. 1. vyd. Praha: Grada, 2010, 300 s. ISBN 978-802-4731-308.
- (Spurný, 1999) SPURNÝ, V. ŠLAMPA, P. Moderní radioterapeutické metody.
 1. vyd. Brno: IDVPZ, 1999, 118 s. ISBN 80-701-3267-1.
- (Starý, 1987) STARÝ, J. a kol.: Cvičení z jaderné chemie, 3. vydání, ČVUT Praha, 1987.
- SÚJB. Vyhláška č.307 ze dne 13.června 2002 o radiační ochraně, dostupné z: http://www.sujb.cz/fileadmin/sujb/docs/legislativa/vyhlasky/v307_02.pdf
- (Štoll, 2010) ŠTOLL, I. Fyzika pro gymnázia Fyzika mikrosvěta. 4. vyd. Praha: Prometheus, 2010, 193 s. ISBN 978-807-1963-868.
- (Trojan, 2004) TROJAN, S. a kolektiv. Atlas fyziologie člověka. 6. přeprac. a rozš. vyd. Praha: Grada, 2004, XII, 435 s. ISBN 80-247-0512-5.
- (Wiedemann, 1999) WIEDEMANN, H. Particle accelerator physics. 2nd ed. New York: Springer, c1999, 2 v. ISBN 3-540-64671-X
- (Zeman, 2004) ZEMAN, M. et al. Speciální chirurgie. 2. vydání. Praha : Galén, 2004. 575 s. ISBN 80-7262-260-9.
- (Zölzer, 2012) ZÖLZER, F. Prezentace: Radiobiologie, ZSF JU, 2012

Internetové zdroje:

- (Doležal, 2009) DOLEŽAL, Z. Cyklické urychlovače Betatron. MFF-UK Praha, [online]. 2009. [cit. 21.1.2013] dostupné z: http://www-ucjf.troja.mff.cuni.cz/~dolezal/teach/accel/urych05_P.pdf
- (Doležal, 2012) DOLEŽAL, Z. Prezentace: Urychlovače. MFF UK Praha. [online]. 2012. [cit. 31.1.2013] dostupné z: www-ucjf.troja.mff.cuni.cz/dolezal/teach/accel/urych01_t.pdf
- Encyklopedie fyziky. Lineární urychlovač. [online]. 2006-2013. [cit. 27.2.2013] dostupné z: http://fyzika.jreichl.com/main.article/view/857-linearni-urychlovac
- (Kolektiv autorů, 2010) kolektiv autorů. Radiobiologie [online]. 2010. [cit. 15.11.2012] dostupné z: http://fbmi.sirdik.org/
- (Kymplová, 2013) KYMPLOVÁ, J. Katalog metod v biofyzice [online]. 2013. [cit. 3.4.2013]. dostupné z: http://portal.lfl.cuni.cz/clanek-793-katalog-metod-vbiofyzice
- (Reichl, 2006) REICHL, J. VŠETIČKA M. Encyklopedie fyziky [online]. 2006-2013. [cit. 10.2.2013] dostupné z: http://fyzika.jreichl.com/
- Schéma absorpce světla ve vzorku [online]. [cit. 5.4.2013] dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Spektrofotometrie
- Schéma betatronu [online]. [cit. 22.2.2013] dostupné z: http://www.cientificosaficionados.com/libros/aceleradores4.pdf
- Schéma cyklotronu [online]. [cit. 2.2.2013] dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Cyklotron
- (Škorpík, 2006) ŠKORPÍK, J. Radioaktivita a vliv ionizujícího záření [online]. 2006-2013. [cit. 10.3.2013] dostupné z: http://www.transformacnitechnologie.cz/radioaktivita-a-vliv-ionizujiciho-zareni.html
- (Šlampa, 2012) ŠLAMPA, P. Pohled na protonovou terapii. [online]. 2012.
 [cit. 25.2.2013] dostupné z: http://www.linkos.cz/aktualne-odbornikum/pohled-na-protonovou-terapii/

- (Ullmann, 2010b) ULLMANN, V. Detekce a spektrometrie ionizujícího záření [online]. 2010b. [cit. 10.4.2013] dostupné z: http://astronuklfyzika.cz/DetekceSpektrometrie.htm
- (Ullmann, 2010a) ULLMANN, V. Jaderná fyzika, radiační fyzika, radioisotopy: Ionizující záření [online]. 2010a. [cit. 3.1.2013] dostupné z: http://astronuklfyzika.cz/JadRadFyzika6.htm

Použité manuály

- (Uvikon, 2002) Secocam. Operating Manual Uvikon XS. 2002
- (Lab power, 2002) Secocam. Software uživatelský manuál Lab power junior pro Uvikon XS
- (Centric, 2003) Tehtnica Slovenia. Laboratorijska centrifuga CENTRIC 322A. 2003

7. Klíčová slova

Absorbance

Moč

Ozáření

Dávka ionizujícího žáření

Ionizující záření

Dozimetr

Chlorid manganatý