

# Využití Petriho sítí pro simulaci chemické fáze radiolýzy vody

Ing. Mgr. Jiří Barilla, CSc.

## **HABILITAČNÍ PRÁCE**

Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem  
Přírodovědecká fakulta  
Katedra informatiky

Ústí nad Labem 2018

<b>1. Úvod .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Petriho sítě .....</b>	<b>7</b>
2.1. Úvod do Petriho sítí .....	7
2.2. Typy Petriho sítí .....	9
2.3. Spojité Petriho sítě .....	10
<b>3. Radiolýza vody .....</b>	<b>13</b>
3.1. Mechanismus předání energie .....	13
3.2. Excitace a ionizace molekul, vznik radikálů .....	16
3.3. Radiačně-chemické reakce .....	17
3.4. Radiolýza vody a primární reakce radiačních produktů .....	19
<b>4. Biologický účinek radiolýzy vody .....</b>	<b>22</b>
4.1. Faktory ovlivňující radiobiologický účinek .....	22
4.2. Tři fáze radiobiologického mechanismu .....	23
4.3. Vliv kyslíku na výsledný radiační účinek .....	24
4.4. Přímý účinek a nepřímý účinek ionizujícího záření .....	26
4.5. Vznik dvojných zlomů .....	26
4.6. Reparabilní a irreparabilní dvojně zlomy .....	29
<b>5. Matematický model chemické fáze radiolýzy vody .....</b>	<b>30</b>
5.1. Difuze a rekombinace radikálů .....	31
5.2. Vznik dvojných zlomů na DNA .....	38
<b>6. Simulace chemické fáze radiolýzy vody .....</b>	<b>40</b>
6.1. Simulační model s využitím Spojitých Petriho sítí .....	40
6.2. Aplikace simulačního modelu na experimentální data za anoxických podmínek .....	52
6.3. Simulace vlivu kyslíku na chemickou fázi radiolýzy vody .....	59
6.4. Simulace vlivu $N_2O$ na chemickou fázi radiolýzy vody .....	66
6.5. Zhodnocení výsledků dosažených pomocí Petriho sítí .....	73
<b>7. Shrnutí a závěr .....</b>	<b>75</b>
<b>Literatura .....</b>	<b>77</b>
<b>Seznam obrázků .....</b>	<b>82</b>
<b>Seznam tabulek .....</b>	<b>84</b>
<b>Dodatky .....</b>	<b>85</b>
<b>A. Základní údaje o buňce .....</b>	<b>85</b>
<b>A.1 Složení a struktura buňky .....</b>	<b>85</b>
<b>A.2 Struktura DNA .....</b>	<b>86</b>

# 1. Úvod

Radiolýza vody je rozklad molekul vody způsobený ionizujícím zářením. Obvykle toto ionizující záření pochází z rozkladu radioaktivních jader, nosníků zrychlených nabitých částic (elektronů, protonů atd.) a rentgenového záření (s fotonovou energií větší než 50-100 eV).

Radiolýza vody se vyskytuje zejména v radioterapii (SCHMID, 2010), v radiosterilizaci (MAQUILLE, 2008), při čištění odpadních vod (GUO, 2008), při ozařování potravin (KATAYAMA, 2006) atd. V mnoha případech je tato radiolýza vody ovlivněna rozhraním pevné a kapalně fáze. Například v jaderných reaktorech chlazených vodou vyvolává ionizující záření reakce ve vodě a na rozhraní pevného palivového pláště a kapaliny. V souvislosti se skladováním a likvidací jaderného odpadu mohou použité heterogenní materiály (betony, malty atd.) zachytit značné množství vody. Radiolýza těchto zachycených molekul vody nastává v důsledku přítomnosti jaderného odpadu uloženého v těchto materiálech (BOUNIOL, 2008). Tvorba radiolytických produktů, jako je  $H_2$  nebo  $H_2O_2$ , musí být z bezpečnostních důvodů sledována, aby se zabránilo lámání nebo koroze uzavírací matrice.

V této práci se budu zabývat účinkem radiolýzy vody na biologické objekty, což je využíváno v radioterapii, ochraně proti ionizujícímu záření, v biotechnologii apod.

Dopadají-li ionizující částice do látkového prostředí, předávají mu postupně svojí energii. Jedná-li se o prostředí biologické, může přitom dojít k výrazným biologickým reakcím. Omezíme-li se na mechanismus v jednotlivých buňkách, lze celý proces rozdělit do tří postupných fází:

- a) vlastní přenos energie z částice na látkové prostředí (fáze fyzikální);
- b) vznik primárních poškození (fáze fyzikálně chemická);
- c) reparace vzniklých poškození a inaktivační mechanismus v buňce (fáze biologická).

Procesy první fáze jsou jednoznačně určeny vlastnostmi dopadajících částic a fyzikálním a chemickým složením daného prostředí. Dochází přitom k ionizaci a excitaci molekul, z nichž je buňka složena a ke vzniku různých iontů a radikálů, jež pak mohou vyvolat další chemické reakce a narušení životně důležitých center. Úkolem studia první fáze je stanovit pokud možno detailní strukturu jednotlivých aktů předávání energie, neboť jejich charakter i hustota ovlivňují nepochybně podstatným způsobem výchozí podmínky druhé fáze.

Do druhé fáze řadíme procesy, v nichž se uplatňuje difuze a chemické reakce radikálů a iontů, které vznikly předáním energie ionizující částicí vodnímu prostředí za vzniku radikálového clusteru. Tyto agresivní radikály pak mohou způsobit poškození důležitých biomolekul.

Do třetí fáze patří procesy, které jsou uvedeny v činnosti těmito poškozeními a jejichž cílem je vzniklá poškození napravit. Je nepochybné, že v druhé a třetí fázi se výrazným způsobem může uplatnit též vliv dalších přídatných látek. Studium těchto fází by mělo směřovat ke stanovení podílů jednotlivých reakcí a mechanismů na výsledném letálním účinku s cílem využít získaných poznatků k případné modifikaci účinku záření pomocí radiosenzitivních nebo radioprotektivních látek v klinických aplikacích.

Účinek různých činidel na buňku, jež mají za následek její zničení, se zpravidla charakterizuje tzv. křivkami přežití (viz LOKAJÍČEK a kol., 2000); na vodorovnou osu se vynáší množství příslušného činidla a na svislou osu podíl přežívajících buněk. Podíl přežívajících buněk klesá přibližně exponenciálně se vzrůstající dávkou, tzn., že určitá část buněčné populace může ozařování ionizujícími částicemi přežít.

Při dopadu záření se předává živé tkáni energie, což má za následek zničení určitého počtu buněk. Podle velikosti účinku a druhu takto rozrušené tkáně může dojít ke smrti celého organismu, ač celkové množství předané energie může být zcela zanedbatelné ve srovnání např. s energií, kterou organismus potřebuje k udržování svého života. Tato skutečnost je někdy nazývána radiobiologickým paradoxem. Hlavní důvod radiobiologického paradoxu spočívá zřejmě v tom, že stačí rozrušit jedno důležité centrum v buňce (anebo několik málo), aby došlo k její inaktivaci. V souvislosti s tím vyvstává otázka, které objekty v buňce mají takový důležitý význam. I když funkce buňky může být narušená i po zásahu jiných objektů, např. buněčných membrán, pokládá se dnes za rozhodující faktor dvojný zlom (DZ) řetězce molekuly deoxyribonukleové kyseliny (DNA), tj. současné narušení obou jejích řetězců v nepřilíh vzdálených místech.

Velice důležitým činidlem, které ovlivňuje účinek záření na buňku je kyslík. Kyslík přitom ovlivňuje účinek záření dvojným způsobem (viz BARILLA a LOKAJÍČEK, 2000; BARILLA a kol., 2013):

1. Molekulární kyslík  $O_2$  působí obecně jako radioprotektivní činidlo, protože reaguje s agresivními radikály  $H^\bullet$  a hydratovaným elektronem  $e_{aq}^-$  a tím způsobuje jejich úbytek.

2. V úsecích husté ionizace (vzniku radikálových clusterů) může vznikat radikál  $HO_2^\bullet$ , který je také značně agresivní. Kyslík pak působí jako radiosenzitivní látka.

Celý tento proces lze popsat pomocí matematického modelu, který umožňuje analyzovat mikroskopické mechanismy na základě makroskopických měření. Pro modelování fyzikálně-chemické fáze je často používána metoda Monte Carlo, která poskytuje poměrně dobré výsledky. Procesy chemické a biologické fáze jsou složitější a uplatňuje se při nich vliv chemických reakcí za současné difuze radikálů do okolí clusteru. Pro modelování těchto složitějších procesů je výhodnější analytický model, který popisuje dynamiku chemických reakcí a difuzi soustavou diferenciálních rovnic. Řešení analytického modelu je časově méně náročné a lze proto využít optimalizační postupy pro stanovení parametrů matematického modelu.

Dynamické systémy, které zahrnují více různých procesů současně (např. chemické reakce a difuzi radikálů po vzniku radikálových clusterů) lze výhodně simulovat pomocí Spojitých Petriho sítí. Petriho sítě umožňují jednoduchým grafickým nástrojem rychle vytvořit daný matematický model bez pracného programování. V modelu lze snadno provádět změny parametrů a tak ho analyzovat za účelem získání potřebných informací. Stejně tak lze Petriho sítě použít pro detailní reprezentaci časových závislostí v difundujícím radikálovém clusteru.

Cílem této práce je pomocí matematických simulačních modelů analyzovat chemickou fázi radiolýzy vody tak, abychom byli schopni vysvětlit vliv jednotlivých radikálů, hydratovaného elektronu a dalších přídatných látek na poškození molekuly DNA při jejím ozařování ionizujícím zářením, což má význam zejména při radioterapii, biotechnologii a ochraně proti ionizujícímu záření.

V kapitole 2 je stručný úvod do Petriho sítí, který poskytuje základní informace pro pochopení simulačního modelu chemické fáze radiolýzy vody vytvořeného pomocí Spojitých Petriho sítí.

Třetí kapitola popisuje fyzikální a chemickou fázi radiolýzy vody od mechanismu předání energie až po radiačně chemické reakce.

V kapitole 4 je popsán mechanismus biologického účinku radiolýzy vody, ve kterém se uplatňuje přímý a nepřímý účinek ionizujícího záření.

Pátá kapitola popisuje obecný matematický model dynamického procesu chemické fáze radiolýzy vody a vznik jednoduchých a dvojných zlomů na molekule DNA.

V šesté kapitole jsou využity Spojité Petriho sítě pro simulaci chemické fáze radiolýzy vody. Simulační model byl aplikován na experimentální data za anoxických podmínek průběhu radiolýzy vody a byla dosažena velmi dobrá shoda výsledků simulačního modelu s experimentálními hodnotami. Dále byl pomocí simulačního modelu analyzován vliv kyslíku a  $N_2O$  na chemickou fázi radiolýzy vody.

Sedmá kapitola pak shrnuje dosažené výsledky, hodnotí je a ukazuje možnosti jejich praktického využití.

## 2. Petriho síť

Petriho sítěmi je označována rozsáhlá třída matematických modelů, které umožňují specifickými prostředky popisovat řídicí toky a informační závislosti uvnitř modelovaných systémů (KOCHANÍČKOVÁ, 2008; PETERSON, 1981; RESIG a ROZENBERG, 1998). V roce 1962 zavedl německý matematik C. A. Petri ve své disertační práci (PETRI, 1962) nové koncepty popisu vzájemné závislosti mezi událostmi a podmínkami modelovaného systému. Tyto koncepty vyšly z dekompozice systému na podsystemy popisované konečnými automaty, jež pracují autonomně, avšak jejich činnost může být v potřebné míře vzájemně koordinována.

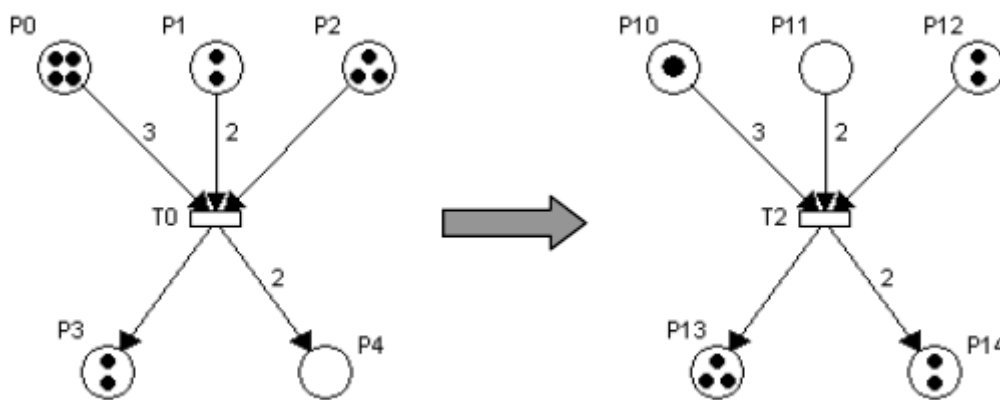
### 2.1. Úvod do Petriho sítí

Pojem Petriho síť (PN) byl postupně obohacován a zobecňován tak, aby jeho modelovací schopnost vyhověla praktickým potřebám. Aby bylo možné pomocí Petriho sítí vytvářet rozsáhlé modely, bylo nutné do nich zavést hierarchický způsob návrhu systému, který umožňuje rozdělení systému do dobře definovaných komponent. Petriho sítě se tak dostaly do popředí zájmu v souvislosti s aplikacemi pro modelování a teoretické zkoumání distribuovaných a paralelních systémů, jako jsou komunikační protokoly (BILLINGTON a kol., 1999), počítačové sítě či databázové systémy. V současné době jsou Petriho sítě předmětem zájmu široké vědecké komunity (viz např. EHRING, 2001; GIRAULT a VALK, 2003; HAAS, 2002; YAKOVLEV a kol., 2000; SILVA and RECALDE 2004; SILVA et al. 2011; GU and DONG 2005; DAVID and ALLA 2010; LIU, 2014; JENSEN, 2009; MASHKOV a BARILLA, 2013).

Petriho sítě vznikly rozšířením modelovacích schopností konečných automatů (HOPOCROFT, 2007). Základními elementy Petriho sítě (ČEŠKA, 2009; CASSANDRAS, 2008) jsou **místa**, která představují podmínku, a **přechody**, které reprezentují nějakou událost. Místa (places) jsou graficky zobrazována kružnicemi a přechody (transitions) úsečkami nebo obdélníky. Počty míst i přechodů jsou konečné a s výjimkou degenerovaných případů také nenulové. Místa a přechody jsou vzájemně propojeny **orientovanými hranami** (arcs). Hrana spojuje buď místo s přechodem nebo přechod s místem, nikdy však místo s místem nebo přechod s přechodem. Jinými slovy je Petriho síť bipartitním orientovaným grafem se dvěma typy uzlů: místy a přechody.

Okamžitý stav systému je definován umístěním značek - tokenů (tokens) v místech, což je v grafu Petriho sítě vyjádřeno příslušným počtem teček (u většího počtu je pak počet tokenů vyjádřen celým číslem) v místech. Přítomnost tokenu v místě modeluje skutečnost, že daný stav systému je momentálně aktuální.

Každý přechod má definovanu množinu vstupních a výstupních míst. Vstupní a výstupní podmínky přechodu určují počty odebíraných a umísťovaných tokenů, což je v grafu Petriho sítě specifikováno ohodnocením orientovaných hran. Hrana, která není v grafu sítě explicitně ohodnocena, má implicitně váhu 1. Přechod může být proveden v případě, že má splněny všechny vstupní podmínky, tj. všechna jeho vstupní místa obsahují příslušné počty tokenů. Na obrázku 2.1 je vidět provedení přechodu pro jednoduchou **P/T Petriho síť** (Place/Transition Petri Net), kdy se v závislosti na ohodnocení orientovaných hran odstraní tokeny ze vstupních míst a umístí se nové tokeny do výstupních míst.



**Obrázek 2.1** Změna stavu po provedení přechodu

Matematicky můžeme **P/T Petriho síť** definovat jako šestici

$N = (P, T, F, W, K, M_0)$  (viz Češka, 2009), jestliže:

- trojice  $(P, T, F)$  je konečná síť, kde  $P$  je množina míst,  $T$  je množina přechodů a  $F$  tokovou relací (Flow relation). Množiny  $P$  a  $T$  jsou disjunktní.
- $F \subseteq (P \times T) \cup (T \times P)$
- zobrazení  $W: F \rightarrow \mathbb{N} \cup \{0\}$  je ohodnocení hran grafu sítě určující **váhu** každé hrany,
- zobrazení  $K: P \rightarrow \mathbb{N} \cup \{\omega\}$  specifikuje **kapacitu** (i neomezenou) každého místa,
- zobrazení  $M_0: P \rightarrow \mathbb{N} \cup \{\omega\}$  je **počáteční značení** míst sítě respektující kapacity míst, tj.  $\forall p \in P: M_0(p) \leq K(p)$ .



P/T Petriho sítě umožňují řešit pouze diskrétní systémy, ve kterých místa jsou značena celočíselnou hodnotou udávající počet tokenů.

## 2.2. Typy Petriho sítí

Petriho sítě byly postupně rozšiřovány a zobecňovány tak, aby jejich modelovací schopnosti vyhověly praktickým potřebám. Zde si uvedeme stručný přehled některých základních typů Petriho sítí (viz KOCHANÍČKOVÁ, 2008):

- *C/E Petriho síť* (Condition/Event Petri Net) je z hlediska vyjadřovací síly nejslabší, protože každé místo může obsahovat nejvýše jeden token. Odpovídá vyjadřovací síle konečných automatů.
- *P/T Petriho síť* (Place/Transition Petri Net) umožňuje do každého místa umístit více tokenů (viz obrázek 2.1) a tak řešit i složitější úlohy než *C/E Petriho síť*.
- *Petriho sítě s inhibičními hranami* (Petri Nets with Inhibitors). Inhibiční hrany blokují přechody v Petriho sítích na základě přítomnosti tokenu v odpovídajícím místě. Zavedení inhibičních hran zvýšilo vyjadřovací schopnost Petriho sítí na úroveň Turingova stroje.
- *Petriho sítě s prioritami* (Petri Nets with Priorities) umožňují na základě přiřazených priorit k přechodům tyto přechody preferovat.
- *Časované Petriho sítě* (Timed Petri Nets) umožňují vytvářet simulační modely, které popisují časovou změnu diskrétních systémů. Pomocí těchto sítí lze řešit praktické problémy probíhající v reálném čase.
- *Barevné Petriho sítě* (Coloured Petri Nets) využívají různé typy tokenů. V rámci daného typu mohou tokeny nabývat různých hodnot (barev). Pro zpracování tokenů různých barev jsou Petriho sítě rozšířeny o další prvky jako proměnné, deklarace typů, inskripční výrazy hran či stráže a akce přechodů. V místech se mohou nacházet multimnožiny tokenů různých barev, ale vždy jen jediného typu, který je danému místu přiřazen. Přechody mohou být ohodnoceny podmínkami, které musí být splněny pro jeho provedení. Hrany jsou ohodnoceny multimnožinami tokenů, jejichž barvy patří do množiny barev přiřazené místu s danou hranou incidentní.
- *Hierarchické Petriho sítě* (Hierarchical Petri Nets) zavedly do Petriho sítě možnost hierarchického strukturování, což umožňuje členit vytvářenou síť na jednotlivé podsítě, které jsou navzájem propojeny. Použití těchto sítí je výhodné, když potřebujeme např. substituovat přechody nebo místa, kdy je přechod nebo místo nahrazeno substituující sítí, nebo slučovat místa či přechody.

- *Objektově orientované Petriho sítě* (Object-oriented Petri Nets) rozšiřují Petriho sítě o možnost Objektové orientace. Každé místo může obsahovat tokeny, které reprezentují například čísla, symboly, jména objektů, jména třídy či n-tici z nich složenou. Hrany jsou ohodnoceny hranovými výrazy, které po navázání proměnných reprezentují multimnožiny prvků univerza.
- *Spojité Petriho sítě* (Continuous Petri Nets) mohou pracovat s reálnými čísly, což umožňuje vytvářet simulační model kontinuálních procesů, které se v praxi často vyskytují. Jelikož v této práci jsou Spojité Petriho sítě využity, je jim věnovaná samostatná podkapitola 2.3.
- *Stochastické Petriho sítě* (Stochastic Petri Nets) umožňují simulovat náhodné procesy, které probíhají s určitou pravděpodobností. V praxi je lze využít pro zjišťování spolehlivosti různých systémů, pravděpodobnosti vzniku různých událostí apod.
- *Hybridní Petriho sítě* (Hybrid Petri Nets) v sobě zahrnují diskrétní a spojité Petriho sítě, což umožňuje simulovat současně diskrétní i spojité procesy. Používají se například pro simulaci výrobních procesů, kde samotný výrobní proces je reprezentován spojitou částí a ovládací prvky částí diskrétní.

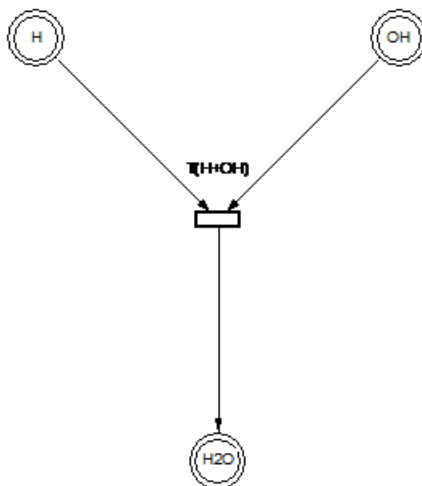
### 2.3. Spojité Petriho sítě

Pro řešení našeho matematického modelu, který zahrnuje současně dynamiku chemických reakcí a difuzi clusteru, potřebujeme Spojité Petriho sítě, ve kterých budou místa označena reálným číslem, které udává množství příslušné látky. Časovou změnu této látky určuje přechod, do kterého (nebo ze kterého) směřuje orientovaná hrana a je dána řešením příslušné diferenciální rovnice.

**Spojité Petriho sítě** (Continuous Petri nets) pak můžeme definovat matematicky jako čtveřici  $N = (P, T, Pre, Post)$  kde:

- $P$  je množina míst (places) reprezentovaná kružnicemi (viz obrázek 2.2),  $|P| = m$  je počet všech míst;
- $T$  je množina přechodů (transitions) reprezentovaná úsečkami nebo obdélníky,  $|T| = n$  je počet všech přechodů;
- $Pre : P \times T \rightarrow R_0^+$  je pre-incidenční funkce, která specifikuje hrany vedoucí z míst k přechodům;
- $Post : T \times P \rightarrow R_0^+$  je post-incidenční funkce, která specifikuje hrany vedoucí od přechodů k místům.

Na obrázku 2.2 je jednoduchá Spojitá Petriho síť, která simuluje časovou změnu koncentrace radikálů  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$  a molekuly,  $H_2O$  při reakci



**Obrázek 2.2** Simulace reakce radikálů  $H$  a  $OH$  za vzniku molekuly vody

Za předpokladu, že  $H$ ,  $OH$  a  $H_2O$  označují koncentrace radikálů  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$  a molekuly  $H_2O$  můžeme úbytek radikálů a přírůstek molekuly vody popsat následujícími diferenciálními rovnicemi:

$$\frac{dH}{dt} = -k \cdot H \cdot OH, \quad (2.2)$$

$$\frac{dOH}{dt} = -k \cdot H \cdot OH, \quad (2.3)$$

$$\frac{dH_2O}{dt} = k \cdot H \cdot OH, \quad (2.4)$$

kde  $k$  je rychlostní konstanta reakce mezi radikály  $H^\bullet$  a  $OH^\bullet$ . Diferenciální rovnice (2.2) a (2.3) představují úbytek koncentrace radikálů  $H^\bullet$  a  $OH^\bullet$ , kdežto diferenciální rovnice (2.4) popisuje přírůstek koncentrace molekul vody.

Ve Spojitých Petriho sítích je změna koncentrace radikálů  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$  a molekuly  $H_2O$  řešena pomocí přechodu  $T(H+OH)$  (viz obrázek 2.2) tak, že:

$$\frac{dH}{dt} = -T(H + OH), \quad (2.5)$$

$$\frac{dOH}{dt} = -T(H + OH), \quad (2.6)$$

$$\frac{dH_2O}{dt} = T(H + OH), \quad (2.7)$$

kde  $T(H+OH)$  je vyjádřeno vztahem

$$T(H + OH) = k \cdot H \cdot OH. \quad (2.8)$$

To, jestli tento přechod vyjadřuje úbytek nebo přírůstek látky určuje směr orientované hrany, která tento přechod spojuje s příslušným místem. Jestliže orientovaná hrana směřuje do přechodu, pak způsobuje tento přechod úbytek koncentrace, kdežto v opačném případě její přírůstek. Použitím více přechodů a míst pak můžeme simulovat více současně probíhajících chemických reakcí.

### 3. Radiolýza vody

Studium radiolýzy vody není jednoduchou záležitostí. Poměrně podrobný rozbor lze nalézt v práci (SAUER, 1978; NAVRÁTIL, 1985; PIKAJEV, 1986; BUXTON, 2001; BUXTON, 2004; UEHARA, 2006; WATANABE, 2001; LE CAËR, 2011). Zde uvedeme pouze krátký přehled.

#### 3.1. Mechanismus předání energie

Vysokoenergetické částice ztrácejí svou energii v důsledku srážek s částicemi prostředí, kterým procházejí. Obecně mohou být srážky pružné (kinetická energie se zachovává, vnitřní stav srážejících se částic se nemění) nebo nepružné (část kinetické energie se spotřebuje na změnu vnitřního prostředí srážejících se částic).

Nabitě částice interagují s atomy prostředí v důsledku elektromagnetických interakcí. Průměrná ztráta energie na jednotku dráhy částice  $-\frac{dE}{dx}$  se nazývá **lineární přenos energie** (LPE, angl. LET - linear energy transfer). Závisí především na náboji částice  $Z$  a na její rychlosti  $v$ . Obecně je LPE úměrný elektronové hustotě prostředí  $n_e$ :

$$-\frac{dE}{dx} = \frac{Z^2 \cdot n_e}{v^2} f(v, W), \quad (3.1)$$

kde  $f(v, W)$  je funkce rychlosti částice a průměrné ionizační energie  $W$  molekul prostředí. LPE roste v pořadí:

*rychlé elektrony < pomalé elektrony < částice alfa < štěpné trosky* (viz tabulka 3.1).

Interakce rychlých elektronů s atomy prostředí probíhá většinou (z 95%) jako nepružná srážka: část kinetické energie se odevzdá na excitaci a ionizaci atomů (viz podkapitola 3.2) a část se přenáší na kinetickou energii atomu a na uvolňovaný elektron. Původní elektron pokračuje v pohybu se zmenšenou rychlostí a změněnou hybností (směrem pohybu). Při jedné srážce se průměrně odevzdává asi 40 eV energie (viz NAVRÁTIL, 1985). I když mohou vznikat vyšší excitované a ionizované stavy, excitační energie atomů jsou řádově 2-7 eV a ionizační energie 5-15 eV, z čehož plyne, že větší část energie se přenáší na sekundární elektrony, uvolňované při ionizaci. Sekundární elektrony proto disponují dostatečně velkou energií, aby pokračovaly v procesu za vzniku terciálních a dalších elektronů. Jejich energetické spektrum se nazývá degrační spektrum elektronů. Pružné srážky (s atomovými jádry) tvoří pouze asi 5% srážek rychlých elektronů.

**Tabulka 3.1** Hodnoty LPE ve vodě (převzato z NAVRÁTIL, 1985)

Druh záření	LPE (eV.nm <sup>-1</sup> )
Teoretická minimální hodnota pro rychlou nabitou částici z (2)	0,18
rychlé elektrony (1-2 MeV)	0,2
středně rychlé elektrony (10 keV)	2,3
pomalé elektrony (100 eV)	20,0
protony (1 MeV)	25,0
protony (10 MeV)	4,7
deuterony (10 MeV)	8,2
částice alfa (10 MeV)	55,0
štěpné trosky (100 MeV)	1 800

Při interakci záření X nebo gama dochází k úplnému nebo alespoň značnému odevzdání energie sekundárnímu elektronu, který dále rozptyluje svou energii srážkami popsány výše. Předpokládáme, že předávání energie se neděje v daném prostoru spojitě, nýbrž v určitých malých od sebe oddělených oblastech (clusterech). Lze říci, že již zmíněné radikálové clustery vznikají v podstatě při přenosu energie hustě ionizujícími konci drah sekundárních elektronů. Elektron o energii 6 keV ztratí energii přibližně na dráze 1  $\mu\text{m}$ . Elektron 1,5 keV ztratí energii asi na dráze 20 nm a elektron 1 keV na dráze asi 10 nm, což jsou ovšem z větší části již tak malé energie, kdy k ionizaci bude docházet jen s velmi malou pravděpodobností. Za oblast **efektivního radikálového clusteru**, který může mít biologický dopad, můžeme proto považovat rozměr přibližně 20 - 30 nm. Oblast 20 - 30 nm budeme proto považovat za přibližnou velikost efektivního radikálového clusteru. Prostorové rozložení těchto clusterů a jejich hustota závisí pro dané prostředí na velikosti dávky záření.

V dalších našich analýzách budeme proto vycházet z velikosti efektivního clusteru 20 - 30 nm, jenž byl vytvořen konečnou částí jednotlivých primárních nebo sekundárních elektronů. Radikálové složení těchto clusterů bude pak záviset na konkrétním vodním prostředí. Jejich hustota a četnost bude pak dána druhem ionizující částice a předáním dávky v jejím konci.

Při interakci záření X (nebo gama) v místě s nejvyšší elektronovou hustotou atomu, (zejména na 1s a 2s orbitalech) dochází k odevzdání energie kvanta gama příslušnému vnitřnímu elektronu; vzniká

*fotoelektrický jev.*

Jeho pravděpodobnost silně závisí na protonovém čísle atomů a je úměrná přibližně  $Z^5$ . Záření X při fotoelektrickém jevu (fotoefektu) zaniká, jeho energii zmenšenou o vazebnou energii v atomu přebírá sekundární elektron.

Záření gama s energií 0,6 – 2 MeV interaguje pak se slabě vázanými (valenčními) elektrony jako s „volnými“; vzniká

### ***Comptonův rozptyl.***

Při Comptonově rozptylu (viz obrázek 3.1) ztrácí kvantum záření gama značnou část své původní energie, zbývající energii přebírá uvolněný, tzv. Comptonův elektron. Energie ( $E$ ) rozptýlených kvant gama leží v intervalu

$$E_{\gamma} > E > \frac{E_{o,e}}{2 + \frac{E_{o,e}}{E_{\gamma}}}, \quad (3.2)$$

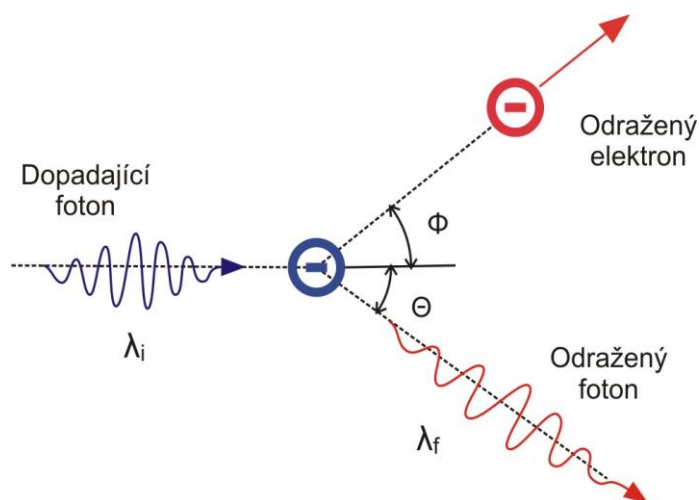
kde  $E_{\gamma}$  je původní energie kvanta gama,  $E_{o,e}$  je klidová energie elektronu (0,51 MeV). Je-li  $E_{\gamma} \gg E_{o,e}$ , pak energie rozptýleného záření gama leží nad hodnotou 0,25 MeV a naopak, energie Comptonových elektronů je přibližně pod hodnotou  $E_{\gamma} = 0,25$  MeV.

Při vysokých energiích záření gama se stává charakteristickým typem interakce záření v oblasti jader s vysokým nábojem

### ***Tvorba elektronových párů***

(elektron - pozitron).

Ze zákona zachování energie vyplývá, že minimální záření gama musí být 1,02 MeV. Prakticky převládá tvorba párů až při mnohem vyšších energiích záření X nebo gama.



**Obrázek 3.1** Comptonův rozptyl

### 3.2. Excitace a ionizace molekul, vznik radikálů

Důsledkem přenosu energie záření na částice látky, kterou záření prochází, je vznik elektronově vzbuzených (excitovaných) molekul, což lze symbolicky zaznamenat následující rovnicí



a vznik ionizovaných molekul



Energetický rozdíl mezi základními a nejnižšími vzbuzenými elektronovými orbitály je 2-3 eV. Na rozdíl od fotochemické excitace, při které se budí hladina odpovídající frekvenci absorbovaného světelného kvanta, proces (3.3) radiační excitace vede k vybuzení širokého spektra energetických stavů, a to zejména v oblasti vyšších energií, odpovídajících ultrafialové oblasti a ionizačnímu kontinuu. Při excitaci pomalými (degradovanými) elektrony s energií asi 3-300 eV roste pravděpodobnost toho, že elektrony budou excitovat molekuly se současným „rozpárováním“ elektronových spinů, tj. do stavů se zvýšenou multiplicitou.

Převyšuje-li absorbovaná energie ionizační energii (viz tabulka 3.2), dochází k uvolnění vnějšího elektronu, ionizaci. Vznikající ionty jsou převážně nestabilní, protože jde o iontové radikály, a za přítomnosti volného elektronu se rychle zpětně neutralizují na excitovanou molekulu (tzv. geminální rekombinace). Ukázalo se, že pravděpodobnost ionizace je zhruba 1/3, tj. poměr  $M^*:M^+$  je přibližně 2:1. Děje (3.3) a (3.4) probíhají za dobu asi  $10^{-16}$  až  $10^{-15}$ s a označujeme je za fyzikální stádium radiačně-chemických reakcí.

Obecně platí, že přechod od elektronového vzbuzení k vibračnímu může znamenat disociaci molekuly, většinou homolytickou, jde tedy o symetrické rozdělení vazebného elektronového páru



Homolytickou disociací vznikají volné radikály  $R_1^{\bullet}$  a  $R_2^{\bullet}$ . Proces vibračního vzbuzení a disociace proběhne za dobu trvání jedné vibrace ( $10^{-13}$  -  $10^{-12}$ s), ve víceatomových molekulách až za  $10^{-9}$ s. Je to obvykle kratší čas, než je doba srážek mezi sousedními molekulami ( $10^{-11}$  -  $10^{-12}$ s v kapalinách a až  $10^{-10}$ s v plynech), avšak část vzbuzených molekul přece jen rozptyluje svou excitační energii během srážek s jinými molekulami. Přenos excitační energie může probíhat mezi stejnými molekulami





nebo různými molekulami



Iontové radikály, vznikající podle schématu (3.4), disociují podobně jako elektronově excitované molekuly. Jejich disociací vzniká obvykle stabilní molekulární ion a neutrální radikál



Vznik radikálového iontu a neutrální molekuly je daleko řidší.

**Tabulka 3.2** První ionizační energie některých atomů a molekul v plynné nebo tuhé fázi (ozn. (s)) (NAVRÁTIL, 1985)

Molekula	Energie		Molekula	Energie	
	(eV)	(kJ.mol <sup>-1</sup> )		(eV)	(kJ.mol <sup>-1</sup> )
He	24,58	2368	O2	12,08	1164
SF6	19,30	1859	Br2	10,55	1016
Ar	15,76	1518	C2H5OH	10,50	1011
N2	15,60	1503	C6H6	9,24	890
H2	15,43	1486	Au	9,22	888
Kr	14,00	1348	Li	5,40	520
CO2	13,79	1328	Cs	3,89	375
CH4	13,04	1256	Si(s)	1,09	105
H2O	12,59	1213	Li+ v Si	0,033	3,2
			Li+ v Ge	0,0093	0,9

### 3.3. Radiačně-chemické reakce

Přihlédneme-li k mechanismům přenosu energie, projevuje se průchod jaderného záření látkou jako odevzdávání energie této látce - absorpce energie látkou. Specifickým projevem absorpce energie vysokoenergetického záření je ionizace látky.

Celková energie záření absorbovaná v jednotkovém množství látky se nazývá **absorbovaná dávka** nebo jen dávka (D) a definuje se jako poměr střední energie  $\Delta E_D$  ionizujícího záření, která se absorbovala v objemovém elementu látky o hmotnosti  $\Delta m$ :

$$D = \frac{\Delta E_D}{\Delta m} . \quad (3.9)$$

Jednotkou dávky je gray (Gy),  $1 \text{ Gy} = 1 \text{ J.kg}^{-1}$ . **Dávková rychlost**  $D^\bullet$  je střední přírůstek dávky  $\Delta D$  v časovém intervalu  $\Delta t$

$$D^\bullet = \frac{\Delta D}{\Delta t}. \quad (3.10)$$

Její jednotkou je gray za sekundu ( $\text{Gy.s}^{-1} = \text{W.kg}^{-1}$ ).

Radiačně-chemické reakce jsou chemické reakce vyvolané ionizujícím zářením. Příčinou vzniku nových látek při ozařování jsou procesy, které probíhají po absorpci energie záření. V případě, že se vznikající produkty navzájem neovlivňují, je látkové množství určité vznikající látky  $\Delta n$  úměrné absorbované energii  $\Delta E_D$

$$\Delta n = f \cdot \Delta E_D. \quad (3.11)$$

Ze vztahů (3.9) a (3.11) plyne, že přírůstek koncentrace produktu ( $\Delta c = \Delta n/V \text{ mol.dm}^{-3}$ ) je úměrný dávce záření

$$\Delta c = f \cdot \rho \cdot D, \quad (3.12)$$

kde  $f$  je koeficient úměrnosti a  $\rho$  je měrná hmotnost ( $\rho = \Delta m/V$ ). Rychlost přírůstku koncentrace produktu je úměrná dávkové rychlosti

$$\frac{\Delta c}{\Delta t} = f \cdot \rho \cdot D^\bullet. \quad (3.13)$$

Veličina  $f$  ze vztahu (3.11) je různá pro různé látky a charakterizuje poměr množství vytvořené látky k absorbované energii, tj. výtěžek reakce vzhledem k dodané energii ( $\text{mol.J}^{-1}$ ). Historicky se **střední výtěžek radiačně-chemické** reakce definuje jako střední počet  $N$  částic (molekul, iontů, radikálů apod.), který vznikne po absorpci 100 eV energie ionizujícího záření v látce a označuje se symbolem  $G$

$$G = 100 \cdot \frac{\Delta N}{\Delta E_D} (\text{eV}^{-1}). \quad (3.14)$$

To znamená, že po absorpci  $\Delta E_D$  (eV) energie vznikne  $\Delta N = G \cdot \Delta E_D / 100$  molekul a pro energii  $\Delta E_D$  v joulech to bude

$$\Delta N = \frac{G \cdot \Delta E_D}{100 \cdot 1,6 \cdot 10^{-19}}. \quad (3.15)$$

Protože  $\Delta N = N_A \cdot \Delta n = 6,023 \cdot 10^{23} \Delta n$ , bude

$$\Delta n = 1,04 \cdot 10^{-7} G \cdot \Delta E_D, \quad (3.16)$$

tj. při uvedené definici  $G$  má konstanta  $f$  ve vztazích (3.11)-(3.13) hodnotu  $1,04 \cdot 10^{-7} G$  a můžeme psát

$$\Delta c = 1,04 \cdot 10^{-7} G \cdot \rho \cdot D \quad (3.17)$$

a dále

$$\frac{\Delta c}{\Delta t} = 1,04 \cdot 10^{-7} G \cdot \rho \cdot D \cdot \quad (3.18)$$

Například, je-li střední radiačně chemický výtěžek produktu při ozařování látky s hustotou  $\rho = 1 \text{ kg dm}^{-3}$  dávkovou rychlostí  $D \cdot = 1 \text{ Gy} \cdot \text{s}^{-1}$  roven 1 molekula/100eV, vzniká tento produkt s rychlostí přírůstku koncentrace  $1,04 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{s}^{-1}$ .

### 3.4. Radiolýza vody a primární reakce radiačních produktů

Absorpce záření vede primárně k ionizaci molekul vody (ionizační potenciál činí 12,56 eV):



Iont  $H_2O^+$  se může rozpadnout a produkovat radikály  $OH \cdot$ :



Při dopadu fotonu o energii asi 7 eV se molekula vody excituje a její následná disociace vede opět k tvorbě radikálů  $OH \cdot$  a  $H \cdot$ :



Elektron uvolněný podle reakce (3.19) se váže na molekuly vody



a elektrony  $e_{aq}^-$  se pak podílejí také na tvorbě radikálů vodíku  $H \cdot$ :



Elektrony  $e_{aq}^-$  mohou v této formě existovat poměrně dlouho. Vžilo se pro ně označení - **hydratované elektrony**. Ve stavu po zachycení molekulou vody mohou difundovat na značné vzdálenosti a reagovat s kritickými biomolekulami. Spolu s hydratovanými elektrony  $e_{aq}^-$  vykazují značnou toxicitu též radikály  $OH \cdot$  a  $H \cdot$ . Hydratované elektrony a radikály  $OH \cdot$  a  $H \cdot$  se souhrnně označují - vodní radikály.

Z experimentálních dat (viz např. obr. 6.17) vyplývá, že přítomnost kyslíku v roztoku musí při ozáření nutně zvyšovat toxický účinek; kyslík je nepochybně zdrojem agresivních radikálů, které mohou vznikat následujícími reakcemi:

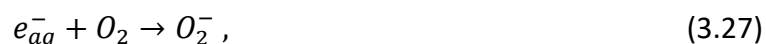


minimální energie - 4 eV, maximum výtěžnosti - 8 eV.

Část těchto radikálů okamžitě reaguje ve vodním prostředí za vzniku nových radikálů:



Dále vznikají kyslíkové radikály reakcemi:



Při nízké koncentraci  $O_2$  při pH7 je podporována disociace (3.30). Při vyšší koncentraci  $O_2$  je naopak podporován vznik radikálů  $HO_2^{\bullet}$  podle reakce (3.29) (viz např. PIKAJEV, 1986).

Po proběhnutí těchto reakcí dochází k rekombinačním reakcím za vzniku molekulárních produktů  $H_2$ ,  $H_2O$  a  $H_2O_2$ . Příslušné reakce spolu s rychlostními konstantami jsou uvedeny v tabulce 3.3. Vzniklé radikály jsou velmi reaktivní a reakcí s funkční skupinou DNA způsobují jednoduchý zlom na šroubovici této molekuly (viz podkapitola 4.5).

**Tabulka 3.3** Rekombinační reakce (BUXTON, 2004 a CHATTERJEE a kol., 1983)

	<b>Reaction</b>	<b>Rate constants (<math>\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}</math>)</b>
1.	$H^\bullet + H^\bullet \rightarrow H_2$	$1 \times 10^{10}$
2.	$e_{aq}^- + H^\bullet \rightarrow H_2 + OH^-$	$2.5 \times 10^{10}$
3.	$e_{aq}^- + e_{aq}^- \rightarrow H_2 + 2OH^-$	$6 \times 10^9$
4.	$e_{aq}^- + OH^\bullet \rightarrow OH^- + H_2O$	$3 \times 10^{10}$
5.	$H^\bullet + OH^\bullet \rightarrow H_2O$	$2.4 \times 10^{10}$
6.	$OH^\bullet + OH^\bullet \rightarrow H_2O_2$	$4 \times 10^9$
7.	$H_3O^+ + e_{aq}^- \rightarrow H^\bullet + H_2O$	$2.3 \times 10^{10}$
8.	$H_3O^+ + OH^- \rightarrow H_2O$	$3 \times 10^{11}$
9.	$H^\bullet + H_2O_2 \rightarrow H_2O + OH^\bullet$	$1 \times 10^8$
10.	$e_{aq}^- + H_2O_2 \rightarrow OH^\bullet + OH^-$	$1.2 \times 10^{10}$
11.	$OH^\bullet + H_2O_2 \rightarrow H_2O + HO_2^\bullet$	$5 \times 10^7$
12.	$OH^\bullet + H_2 \rightarrow H_2O + H^\bullet$	$6 \times 10^7$
13.	$HO_2^\bullet + H^\bullet \rightarrow H_2O_2$	$1 \times 10^{10}$
14.	$e_{aq}^- + O_2 \rightarrow O_2^- + H_2O$	$1.9 \times 10^{10}$
15.	$HO_2^\bullet + OH^\bullet \rightarrow H_2O + O_2$	$1 \times 10^{10}$
16.	$HO_2^\bullet + HO_2^\bullet \rightarrow H_2O_2 + O_2$	$2 \times 10^6$
17.	$H^\bullet + O_2 \rightarrow HO_2^\bullet$	$1 \times 10^{10}$
18.	$O_2^- + H_3O^+ \rightarrow HO_2^\bullet$	$3 \times 10^{10}$
19.	$H_2O \rightarrow H_3O^+ + OH^-$	$5.5 \times 10^{-6}$
20.	$HO_2^\bullet \rightarrow H_3O^+ + O_2^-$	$1 \times 10^6$

## 4. Biologický účinek radiolýzy vody

Při studiu biologického účinku ionizujícího záření bylo zjištěno, že lze rozlišit dva základní typy radiačního působení. Jedná se o **přímé** a **nepřímé působení**. Taková klasifikace je zdůvodněna na molekulární úrovni, kde je největší pravděpodobnost rozlišení obou efektů. Protože se ukazuje, že jisté molekuly jsou důležité pro život buňky, budeme o nich mluvit jako o kritických biomolekulách.

Jak již bylo dříve naznačeno, za tyto molekuly je nutno považovat molekuly DNA chromozomálního systému. Ve shodě s obecným názorem budeme dvojný zlomy řetězce DNA považovat za rozhodující faktory letálního účinku.

**Přímým účinkem** (viz např. MICHAELS, 1978) se rozumí absorpce záření v molekule DNA, která se tímto zářením poškodí. Daleko častější je však poškození molekuly DNA „z vnějšku“, tj. poškození **nepřímým účinkem**, kdy se absorpce záření týká jiných molekul a k poškození biomolekuly dojde v důsledku následných reakcí. Dosavadní práce, které takovéto mechanismy studují, vycházejí však převážně z představy rovnoměrné distribuce předané energie a používají klasické metody řešení časového vývoje takových soustav, které jsou založeny na homogenní koncentraci produktů radiolýzy (viz např. CHATTERJEE, 1983). Energie předávaná jednotlivými ionizujícími částicemi není však rozdělena homogenně a biologicky účinné jsou především **shluky radikálů (clusters)**, které se vytváří v oblasti s většími lokálními přenosy energie (BEUVE, 2009).

### 4.1. Faktory ovlivňující radiobiologický účinek

I když absorbovaná dávka je zatím všeobecně brána za jeden z důležitých faktorů, který určuje míru biologického účinku záření na živou buňku, zejména při jednorázovém ozáření, může být tento účinek velmi výrazně ovlivněn též celou řadou dalších faktorů; některé z nich se vztahují na vlastnosti ozařovacího svazku (faktory fyzikální), jiné na chemické složení ozařované tkáně (chemické faktory) a další na vlastní typ buňky (faktory biologické).

**Z fyzikálních faktorů** lze za hlavní považovat **dávkovou rychlost** a **lineární přenos energie**. Studium závislosti výsledného účinku na obou těchto faktorech představuje důležitou cestu k pochopení příslušných radiobiologických mechanismů. U dávkové rychlosti jsme ovšem v praktických případech omezeni na poměrně úzký interval hodnot, takže při léčebných aplikacích není tento faktor zatím příliš podstatný. Mnohem důležitější je v tomto ohledu lineární přenos energie (LPE), jenž je definován jako množství energie, kterou předá tkáni

částice dopadajícího záření na jednotkové délce dráhy. Přitom je nutno si uvědomit, že u svazku nenabitých částic (např. u fotonů a neutronů) je faktor LPE dán vlastnostmi sekundárních částic, jimž je předána energie při primárních (resp. dalších) interakcích. K vyjádření vlivu tohoto faktoru se zavádí tzv. **relativní biologická účinnost** (RBU), jež je definována jako poměr dávky standardního záření X nebo gama k dávce záření s jiným LPE, jíž se dosahuje stejného biologického účinku.

**Z chemických faktorů** je pak nejdůležitější tzv. **kyslíkový efekt**. Je totiž známo, že alespoň u některých druhů záření je biologický účinek mnohem větší, obsahují-li buňky kyslík, nežli u buněk anoxických. Zavádí se tzv. **kyslíkový poměr** (KP), který je definován jako poměr dávek, jimiž se dosahuje stejného účinku u buněk anoxických a u buněk, jež jsou v rovnováze se vzdušným kyslíkem. Velikost KP závisí na druhu použitého záření, charakterizovaném faktorem LPE; je větší u záření s nižším LPE. Vzhledem k tomu, že solidní nádory obsahují zpravidla anoxické buňky, může být u záření s nízkým LPE jeho ničivý účinek na zdravou tkáň často větší, nežli na buňky nádorové.

K chemickým faktorům se ovšem kromě kyslíku řadí vliv dalších látek, jež lze vpravit do ozařovaných tkání. Podle svého složení mohou tyto látky biologický účinek na buňky daného typu jak zvyšovat, tak i snižovat; mluvíme o **radiosenzitivních** nebo **radioprotektivních** látkách.

Účinnou cestou k efektivnímu využití všech zmíněných faktorů v klinických aplikacích je nepochybně úsilí o nalezení odpovídajících matematicko-fyzikálně-chemických modelů, jež by pokud možno detailně reprezentovaly celý mechanismus biologického účinku záření v buňce i tkáni a tak umožnily studovat jeho ovlivňování v různých jeho fázích.

## 4.2. Tři fáze radiobiologického mechanismu

Dopadají-li ionizující částice do látkového prostředí, předávají mu postupně svoji energii. K předání energie dochází při doběhu ionizujících částic za vzniku radikálového clusteru. Jedná-li se o prostředí biologické, může přitom dojít k výrazným biologickým reakcím. Jelikož je buňka složena z větší části z vody, dochází ke vzniku agresivních radikálů prostřednictvím radiolýzy vody. Omezíme-li se na mechanismus v jednotlivých buňkách, lze celý proces rozdělit do tří postupných fází:

- a) vlastní přenos energie z částice na látkové prostředí (fáze fyzikální);
- b) vznik primárních poškození (fáze fyzikálně-chemická);

c) reparace vzniklých poškození a inaktivační mechanismus v buňce (fáze biologická).

Procesy **první fáze** jsou jednoznačně určeny vlastnostmi dopadajících částic a fyzikálním a chemickým složením daného prostředí. Dochází přitom k ionizaci a excitaci molekul, z nichž je buňka složena a ke vzniku různých iontů a radikálů, jež pak mohou vyvolat další chemické reakce a narušení životně důležitých center. Úkolem studia první fáze je stanovit pokud možno detailní strukturu jednotlivých aktů předávání energie, neboť jejich charakter i hustota ovlivňují nepochybně podstatným způsobem výchozí podmínky druhé fáze.

Do **druhé fáze** řadíme procesy, v nichž se uplatňuje difuze a chemické reakce radikálů a iontů, které vznikly v radikálovém clusteru při předání energie z částice do vodního prostředí. Ihned po vzniku radikálového clusteru dochází k difuzi radikálů do okolí a současně i k jejich chemickým reakcím. Tyto agresivní radikály pak mohou způsobit poškození důležitých biomolekul.

Do **třetí fáze** patří procesy, které jsou uvedeny v činnost těchto poškození a jejichž cílem je vzniklá poškození napravit. Je nepochybné, že v druhé a třetí fázi se výrazným způsobem může uplatnit též vliv dalších přídavných látek, které mohou biologický účinek radikálů snížit (radioprotektivní látky) anebo zvýšit (radiosenzitivní látky). Studium těchto fází by mělo směřovat ke stanovení podílu jednotlivých reakcí a mechanismů na výsledném letálním účinku s cílem využít získaných poznatků k případné modifikaci biologického účinku záření pomocí radiosenzitivních nebo radioprotektivních látek v klinických aplikacích.

Potřebné zákonitosti uplatňující se v jednotlivých fázích nelze ovšem stanovit bez pomoci vhodných matematicko-fyzikálních modelů, neboť je to důležitá cesta, jak analyzovat mikroskopické mechanismy na základě makroskopických měření. V tomto ohledu se může v radiobiologii uplatnit celá řada technik a postupů obvyklých v různých fyzikálních oblastech, zejména v úseku nukleární a subnukleární fyziky.

### **4.3. Vliv kyslíku na výsledný radiační účinek**

Pojem **kyslíkový efekt** označuje fakt, že radiační senzitivita makromolekul a biologických systémů ozářených za přítomnosti kyslíku nebo vzduchu je obecně vyšší než při ozařování v inertní atmosféře. Uvedené tvrzení se týká ionizujícího záření. Tento jev má značný význam pro vysvětlení molekulární podstaty radiačního poškození a tedy pochopitelně v dalším kroku i pro praktické aplikace v medicíně.



**Kyslíkový poměr (KP)** je poměr citlivostí v anaerobních a aerobních podmínkách. Podle Alperové (viz ALPER, 1956) může být závislost kyslíkového poměru na koncentraci kyslíku  $O_2$  popsána vztahem

$$KP[O_2] = \frac{m_0[O_2] + K}{[O_2] + K}, \quad (4.1)$$

kde  $m_0$  je maximum KP při vysoké koncentraci kyslíku a  $K$  je konstanta, kterou lze určit experimentálně.

Základní rysy kyslíkového efektu mohou být shrnuty takto (viz KIEFER, 1975):

1. Kyslík musí být přítomen během ozařování. Jestliže je dodán několik milisekund po expozici, nevykazuje žádný účinek.
2. Kyslík modifikuje biologický účinek dané dávky.
3. Kyslíkový efekt je omezen na ionizující záření.
4. Velikost kyslíkového efektu závisí na povaze záření; snižuje se s rostoucím lineárním přenosem energie LPE.
5. Ochranné látky a senzitivizéry snižují maximum ziskatelného KP.

Lze předpokládat, že existuje jeden nebo více typů biomolekul, jejichž neporušenost je podstatná pro reprodukční schopnost buňky. Záření může molekuly poškodit jednak přímým působením, jednak nepřímo prostřednictvím volných radikálů vytvořených po absorpci energie. Poškozené molekuly se mohou zúčastnit dalších fyzikálně-chemických reakcí nebo mohou být opraveny. Podle (KIEFER, 1975) je nutno pro objasnění role kyslíku zvažovat tyto čtyři možnosti:

1. Kyslík mění vlastní citlivost různých typů molekul, tj. existují biomolekuly, které jsou velmi citlivé v kyslíku a relativně odolné, pokud kyslík není přítomen. To znamená, že za bezprostřední biologický účinek jsou zodpovědné různé biomolekuly podle toho, jestli se ozařování děje v kyslíku nebo dusíku. Lze rozlišovat proto poškození typu  $O$  nebo  $N$ .
2. Kyslík reaguje s primárními radikály předtím, než dosáhnou biomolekul, a tak mění rozsah nepřímého účinku.
3. Kyslík se může zúčastnit buněčných oprav např. prostřednictvím energetického metabolismu.

4. Kyslík může reagovat s biomolekulou bezprostředně po tom, kdy je primárně poškozena, a tak měnit kvalitativně a kvantitativně fyzikálněchemické reakce.

K těmto může ovšem přistoupit pátý bod - kyslík sám je zdrojem agresivních radikálů (viz EWING, 1998), což je vlastně jiná interpretace mechanismu uvažovaného jako první možnost. Pokud se zjišťují účinky záření na molekuly DNA v nebiologických materiálech, zůstávají pouze první dvě možnosti.

#### 4.4. Přímý účinek a nepřímý účinek ionizujícího záření

Absorpce ionizujícího záření ve hmotě se děje prostřednictvím různých primárních procesů, jako jsou např. excitace, ionizace nebo elastické srážky. **Přímý účinek** je pak výsledkem takových primárních procesů v biomolekulách. V důsledku toho je třeba zvážit biologickou účinnost jednotlivých absorpčních procesů. Provedené experimenty ukazují, že ionizace nebo jaderné srážky působí s vysokou pravděpodobností inaktivaci molekuly. Excitace naproti tomu má mnohem menší biologickou účinnost. Pro elastické jaderné srážky je navíc charakteristické, že jejich účinek není ovlivňován ochrannými látkami. Přímým účinkem vznikají s největší pravděpodobností pouze jednoduché zlomy (JZ) řetězce molekuly DNA, pokud se nejedná o ionizující částice s velice vysokým LPE.

**Nepřímý účinek** představuje absorpci záření „vně“ biomolekuly. Děj nepřímého působení lze rozdělit do tří fází:

- a) vznik volných radikálů, resp. radikálových clusterů,
- b) difuze radikálových clusterů,
- c) interakce radikálových clusterů s biomolekulou.

Nepřímý účinek je výrazný zejména ve vodních roztocích biomolekul, a jelikož voda je přítomna prakticky ve všech biologických systémech, hraje v biologických reakcích důležitou úlohu radiolýza vody a reakce primárních radikálů vzniklých radiolýzou.

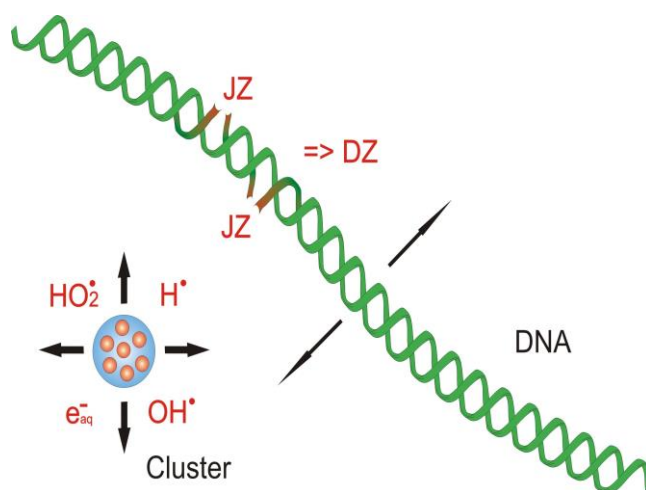
#### 4.5. Vznik dvojných zlomů

Ionizující záření indukuje zlomy polynukleotidového (internukleotidového) řetězce jak přímým způsobem, tak nepřímým působením radiolytických produktů. Použitím současných metodik je nyní možné po separaci obou vláken dvoušroubovité DNA rozlišovat jednoduché zlomy (zlomy vyskytující se v jednom řetězci) od zlomů dvojných. **Dvojný zlom** vzniknou, když jsou obě

vlákna zlomena na protilehlých místech komplementárního řetězce DNA; protilehlé zlomy mohou být o nějaký počet nukleotidů posunuty.

Vznik **dvojného zlomu** je dán jako důsledek dvou **zlomů jednoduchých**, vytvořených buď současně při průchodu jediné dopadající částice anebo dvěma částicemi nezávislými. Tyto jednoduché zlomy vznikají v určitých kritických místech řetězce DNA, za něž se obvykle pokládá fosfátová vazba; počet kritických míst na jednom řetězci je tedy možno ztotožnit s celkovým počtem nukleotidů  $N_S$ . K vytvoření dvojného zlomu může ovšem dojít i když jednoduché zlomy jsou od sebe vzdáleny o určitý počet bází (resp. kritických míst). Jak dlouhý je tento úsek je možno odhadnout z korelací mezi počtem dvojných a jednoduchých zlomů při ozáření roztoku DNA (viz LOKAJÍČEK, 1981.).

Při nepřímém účinku vznikají zlomy účinkem agresivních radikálů, které interagují s molekulou DNA (viz obrázek 4.1). K interakci molekuly DNA s radikály dochází tak, že v dostatečné blízkosti DNA vznikne dostatečně veliký energetický cluster (tzv. efektivní cluster). Vlivem ionizací a excitací vzniknou v clusteru radikály  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$  a hydratovaný elektron  $e_{aq}^-$ . Koncentrace radikálů se rychle snižuje difuzí, rekombinačními reakcemi a reakcemi radikálů s okolními molekulami. Molekula DNA se pohybuje v prostředí určitou rychlostí (tepelný pohyb molekul). Pokud DNA je anebo se dostane do oblasti s dostatečnou koncentrací radikálů, může dojít k interakci DNA s radikály a tím ke vzniku i většího počtu jednoduchých zlomů (JZ) řetězce DNA a v důsledku toho i ke vzniku dvojného zlomu (DZ).



**Obrázek 4.1** Interakce radikálového clusteru s molekulou DNA

Nechť střední počet jednoduchých zlomů připadající pro danou dávku na jedno kritické místo je  $r_S$ . Předpokládáme-li, že skutečný počet zlomů je rozdělen poissonovsky, pak

pravděpodobnost, že se v kritickém místě vytvoří alespoň jeden zlom, bude rovna (viz LOKAJÍČEK, 1981):

$$p_s = 1 - \exp(-r_s) . \quad (4.2)$$

Necht' dále střední délka kritické oblasti v druhém řetězci, v níž vznik jednoduchých zlomů povede k vytvoření zlomu dvojného, je rovna  $n$  (měřeno počtem kritických míst). Pravděpodobnost vzniku alespoň jednoho zlomu v této oblasti bude pak rovna:

$$p_n = 1 - \exp(-r_s \cdot n) . \quad (4.3)$$

Pravděpodobnost, že v daném kritickém místě vznikne DZ, bude pak rovna:

$$p_d = p_s \cdot p_n . \quad (4.4)$$

Je zcela oprávněné předpokládat, že pro daný typ záření bude  $r_s$  úměrné dávce a lze tedy psát:

$$r_s = p_s D + \beta , \quad (4.5)$$

kde  $\beta$  vyjadřuje existenci spontánních jednoduchých zlomů, jež při větších dávkách  $D$  bude zcela zanedbatelná; může však částečně ovlivnit dávkovou závislost při malých  $D$ .

Rovnice (4.4) byla odvozena za předpokladu, že všechny DZ vznikají jako kombinace dvou jednoduchých zlomů, vzniklých nezávisle (tj. při průchodu dvou různých částic). Pro srovnání s experimentálními daty je však nutno předpokládat, že alespoň část DZ je vytvářena při průchodu jedné částice; tato část bude růst lineárně s aplikovanou dávkou. Místo rovnice (4.4) je tedy nutno použít obecnější relace (opět za předpokladu poissonovského rozdělení):

$$p_d = 1 - \exp(-r_d) , \quad (4.6)$$

kde střední počet dvojných zlomů  $r_d$  připadající na jedno kritické místo bude roven:

$$r_d = -\lg(1 - p_s \cdot p_n) + \rho_d d . \quad (4.7)$$

V případě dostatečně malých hodnot  $\rho_s$ ,  $\rho_d$  (resp. malých dávek  $d$ ) je možno exponenciály v (4.2), (4.3) a (4.6) rozvinout v mocninné řady a omezit se na lineární členy, v takovém případě dostaneme:

$$r_d \cong \rho_d \cong (p_s d + \beta)^2 n + \beta_d d . \quad (4.8)$$

Hodnoty parametrů  $\rho_s$ ,  $\beta$ ,  $n$  a  $\rho_d$  můžeme pak stanovit z měření závislosti veličiny  $r_d$  na dávce.

## 4.6. Reparabilní a irreparabilní dvojně zlomy

**Reparací** rozumíme obnovu genetické aktivity poškozené DNA, tzv. reparačními mechanismy. Reparace je zajišťována enzymatickými procesy, jimiž jsou rozlišovány, ale také napravovány různé typy poškození struktury DNA. Reparačními mechanismy je poškozený úsek DNA uveden do původního stavu nebo opravena poškozená struktura tak, že je schopna replikace, transkripce a translace. Některé z enzymů se jeví jako specifické pro reparační procesy a jejich evoluce je zdůvodnitelná zřejmě jako ochrana buněk proti fyzikálním a chemickým faktorům vnějšího prostředí (záření, chemické látky mutagenní a karcinogenní povahy).

Podle Resnickova modelu (RESNICK, 1976) je reparace dvojných zlomů v diploidních buňkách založena na rekombinačním procesu mezi dvěma homologickými chromozomy, pokud alespoň jeden z těchto chromozomů je v příslušné oblasti neporušený.

Budeme proto předpokládat, že pokud se na dvojici chromozomů vyskytnou párová poškození nejméně ve dvou odpovídajících si homologických segmentech, je nutno taková poškození pokládat za irreparabilní. Pokud nejsou párově poškozeny homologické segmenty, může dojít k jejich reparaci.

## 5. Matematický model chemické fáze radiolýzy vody

První pokus vyřešit tento problém byl učiněn v práci (BARILLA, 1987). Pokusili jsme se analyzovat jednotlivé procesy, které při radiolýze vody probíhají. Vycházeli jsme přitom z předpokladu, že v blízkosti DNA vznikne cluster s  $N$  radikály, které postupně ubývají vzájemnými rekombinacemi anebo interakcemi s molekulami prostředí.

Takový proces může být ovlivněn přítomností dalších látek a zejména pak molekulárního kyslíku. Ovšem touto přítomností může být též rozhodujícím způsobem ovlivněno i složení radikálů v původním clusteru. Byl navržen jednoduchý matematický model, s jehož pomocí bylo možno stanovit úbytek jednotlivých radikálů po určitém krátkém časovém intervalu. O zbývajících radikálech se pak předpokládalo, že jsou zodpovědné za vznik příslušných JZ, z nichž se párovým účinkem vytvářely DZ.

Tento zjednodušený model byl pak aplikován na data obsažená v práci (BLOK a LOMAN, 1973), kde byl stanoven počet zlomů ve vodním roztoku v závislosti na různém obsahu kyslíku. Byl pak učiněn pokus odvodit jednak velikost efektivních clusterů a jednak podíl jednotlivých radikálů na vzniku dvojných zlomů při různé koncentraci kyslíku. Hodnoty všech volných parametrů se ukázaly jako realistické (viz BARILLA, 1987), a proto bylo rozhodnuto zdokonalit matematický model tak, aby byl schopen vzít v úvahu i skutečnost, že v průběhu rekombinace dochází k difuzi clusterových radikálů, což se v daném modelu neuvažovalo. Zdokonalení a rozšíření modelu mělo též umožnit zahrnout vliv dalších látek, které mohou ovlivnit fyzikálně-chemické procesy, na vznik DZ a tím i na celý radiobiologický efekt.

Detailnější model, který zahrnoval vliv rekombinace radikálů a jejich difuzi byl vytvořen v práci (BARILLA, 1994). Tento model bral v úvahu účinek radikálů  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$  a  $HO_2^\bullet$  na vznik poškození DNA.

V práci (BARILLA a LOKAJÍČEK, 2000) byl navržen model, který bral v úvahu i účinek hydratovaného elektronu  $e_{aq}^-$ . Difuze jednotlivých radikálů byla aproximovaná difuzí středního clusteru.

V práci (BARILLA a kol., 2013) byl vytvořen matematický model, který pomocí soustavy diferenciálních rovnic řešil dynamiku chemických reakcí za současné difuze jednotlivých radikálů. Byly použity tabulkové hodnoty difusních koeficientů a rychlostních konstant reakcí.

Práce (BARILLA a kol., 2014, BARILLA a kol., 2015, BARILLA a kol., 2016 a BARILLA a kol., 2017) řeší dynamiku chemických reakcí a difuze pomocí Spojitých Petriho sítí.

## 5.1. Difuze a rekombinace radikálů

Po vzniku radikálů v clusteru dochází okamžitě k jejich postupnému úbytku vlivem **rekombinačních reakcí** (viz tabulka 3.3) a současně i ke snižování koncentrace radikálů vlivem **difuze**. Difuze je způsobena koncentračním spádem mezi clusterem a jeho okolím a můžeme jí popsat rovnicí

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = D_i \nabla^2 c_i, \quad (5.1)$$

kde  $c_i$  je koncentrace radikálů  $i$ ,  $t$  je čas a  $D_i$  je odpovídající difuzní koeficient. Platí, že

$$c_i = c_i(x, y, z, t) \quad (5.2)$$

a

$$\nabla^2 c_i = \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 c_i}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 c_i}{\partial z^2}. \quad (5.3)$$

Pro záření z **nízkým LPE** můžeme pro difuzi clusteru do okolí uvažovat **sférický symetrický případ** (viz MOZUMDER a MAGEE, 1966 a PIMBLOTT a MOZUMDER, 2004). Jestliže  $r$  je vzdálenost od středu clusteru, pak platí:

$$r^2 = x^2 + y^2 + z^2 \quad (5.4)$$

a

$$\nabla^2 c_i = \frac{\partial^2 c_i}{\partial r^2} + \frac{2\partial c_i}{r\partial r} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial c_i}{\partial r} \right). \quad (5.5)$$

Po dosazení do rovnice (5.1) dostaneme

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = D_i \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial c_i}{\partial r} \right), \quad (5.6)$$

kde

$$c_i = c_i(r, t). \quad (5.7)$$

Pro trojrozměrný případ má rovnice (5.6) řešení ve tvaru

$$c_i(r_i, t) = \frac{\alpha}{t^{\frac{3}{2}}} \exp\left(-\frac{r^2}{4D_i t}\right). \quad (5.8)$$

Konstanta  $\alpha$  má vztah k mohutnosti zdroje, tj. k počátečnímu počtu radikálů (označíme tento počet  $N_i$ ). Protože celkový počet molekul v soustavě zůstává konstantní, musí pro jakýkoliv okamžik  $t$  platit

$$N_i = \int_0^{\infty} c_i(r, t) 4\pi r^2 dr, \quad (5.9)$$

odkud po dosazení za  $c_i(r, t)$  z rovnice (5.8) plyne

$$N_i = 8\alpha \sqrt{(\pi^3 D_i^3)} \quad (5.10)$$

a

$$\alpha = \frac{N_i}{8\sqrt{(\pi D_i)^3}}. \quad (5.11)$$

Po dosazení do rovnice (5.8) dostaneme pak výsledné řešení ve tvaru

$$c_i(r, t) = \frac{N_i}{8\sqrt{(\pi D_i)^3}} \exp\left(-\frac{r^2}{4D_i t}\right). \quad (5.12)$$

Difuze radikálů do okolí clusteru má za následek snížení jejich koncentrace, což ovlivňuje dynamiku chemických reakcí.

Pro simulaci chemické fáze radiolýzy vody budeme vycházet z těchto předpokladů:

1. Pro ozařování vodního roztoku bude použito záření s **nízkým LPE**.
2. K předání energie dochází v clusteru o velikosti několika **desítek nanometrů**.
3. Difuzi radikálů clusteru do okolí budeme popisovat jako **sféricky symetrický případ** pomocí rovnic (5.6) a (5.12).
4. Celý proces popisu dynamiky chemické fáze začíná po skončení fyzikálně chemické fáze, při které dojde k předání energie clusteru za vzniku radikálů, které pak reagují mezi sebou a s molekulami okolí.
5. Současně s chemickými reakcemi dochází k difuzi radikálů do okolí clusteru, což má za následek snížení jejich koncentrace.

Difuzi radikálů do okolí clusteru lze také popsat tak, že stanovíme **střední vzdálenost**, do níž radikály prodifundují za dobu  $t$ . Pravděpodobnost, že radikál  $i$  za dobu  $t$  prodifundoval do oblasti  $r$  a  $r + dr$  označíme  $p_i(r, t)dr$ . Tuto pravděpodobnost vypočítáme jako podíl počtu radikálů  $i$  v oblasti mezi  $r$  a  $r + dr$  k celkovému počtu radikálů  $N_i$

$$p_i(r, t)dr = \frac{c_i(r, t)4\pi r^2 dr}{N_i}. \quad (5.13)$$



**Střední vzdálenost**, do níž radikály  $i$  prodifundují za dobu  $t$  vypočítáme podle rovnice

$$\bar{r}_i(t) = \int_0^{\infty} r p_i(r, t) dr \quad (5.14)$$

a po dosazení za  $p_i(r, t)$  a  $c_i(r, t)$  z rovnic (5.13) a 5.12) dostaneme:

$$\bar{r}_i(t) = \frac{\pi}{2\sqrt{(\pi Dt)^3}} \int_0^{\infty} r^3 \exp\left(-\frac{r^2}{4Dt}\right) dr. \quad (5.15)$$

Řešením této rovnice získáme závislost **středního poloměru**  $\bar{r}_i$  na čase  $t$

$$\bar{r}_i(t) = 4 \sqrt{\left(\frac{D_i t}{\pi}\right)}. \quad (5.16)$$

Dosazením rovnice (5.16) do rovnice

$$\bar{V}_i = \frac{4}{3} \pi \bar{r}_i^3 \quad (5.17)$$

dostaneme vztah pro výpočet **středního objemu**  $\bar{V}_i$ , který zaujímá cluster v době  $t$ , ve tvaru

$$\bar{V}_i(t) = \frac{256}{3} \sqrt{\left(\frac{D_i^3 t^3}{\pi}\right)}. \quad (5.18)$$

Vztahy (5.16) a (5.18) popisují změnu středního poloměru a středního objemu clusteru v závislosti na čase a jejich derivace pak udávají rychlost této změny (viz (5.19) a (5.20))

$$\frac{d\bar{r}_i}{dt} = 2 \sqrt{\left(\frac{D_i}{\pi t}\right)} \quad (5.19)$$

a

$$\frac{d\bar{V}_i}{dt} = 128 \sqrt{\left(\frac{D_i^3 t}{\pi}\right)} \quad (5.20)$$

Vidíme, že vztahy (5.18) a (5.20) pro výpočet závislosti objemu a jeho derivace na čase nezávisí na počtu částic v clusteru, nýbrž pouze na difuzních koeficientech. To platí v případě malého počtu částic v clusteru, kdy počet částic průběh difuze prakticky neovlivňuje. U záření s nízkým LPE je tento předpoklad splněn.

Vzhledem k tomu, že velikost clusteru je malá (několik desítek nm), lze uvažovat koncentrační profil radikálů v clusteru jako Gaussovský a můžeme zavést **průměrnou koncentraci**  $\bar{c}_i(t)$  látky  $i$ :

$$\bar{c}_i(t) = \frac{N_i(t)}{V_i(t)}, \quad (5.21)$$

kde  $N_i(t)$  je počet částic látky  $i$  v čase  $t$  a  $V_i(t)$  je objem clusteru, který se mění v závislosti na čase podle rovnice (5.18), což můžeme pokládat za postačující aproximaci pro simulaci dynamiky chemického procesu v difundujícím clusteru.

**Časovou změnu průměrné koncentrace** jednotlivých látek  $i$  chemickými reakcemi můžeme vyjádřit jako součet dvou členů

$$\frac{d\bar{c}_i(t)}{dt} = - \sum_j k_{ij} \bar{c}_i(t) \bar{c}_j(t) + \sum_{j,k \neq i} k_{jk}^{(i)} \bar{c}_j(t) \bar{c}_k(t), \quad (5.22)$$

kde,  $k_{ij}$  jsou rychlostní konstanty chemických reakcí. První člen na pravé straně soustavy obyčejných diferenciálních rovnic (5.22) představuje úbytek radikálů  $i$  jeho reakcí s ostatními radikály a molekulami zatímco druhý člen představuje jejich přírůstek vlivem chemických reakcí látek  $j$  a  $k$  (viz tabulka 3.3).

Časovou změnu koncentrace  $\bar{c}_i(t)$  nahradíme **časovou změnou počtu částic**  $N_i(t)$ , která je pro analýzu chemické fáze radiolýzy vody výhodnější, protože můžeme jednoduše do dynamiky chemických procesů zahrnout i difuzi jednotlivých radikálů.

$$\frac{d}{dt} \left( \frac{N_i(t)}{V_i(t)} \right) = - \sum_j k_{ij} \frac{N_i(t) N_j(t)}{V_i(t) V_j(t)} + \sum_{j,k \neq i} k_{jk}^{(i)} \frac{N_j(t) N_k(t)}{V_j(t) V_k(t)}. \quad (5.23)$$

Po zderivování a úpravě dostaneme konečnou soustavu obyčejných diferenciálních rovnic ve tvaru:

$$\frac{dN_i(t)}{dt} = \frac{N_i(t)}{V_i(t)} \frac{dV_i(t)}{dt} - \sum_j k_{ij} \frac{N_i(t) N_j(t)}{V_j(t)} + V_i(t) \sum_{j,k \neq i} k_{jk}^{(i)} \frac{N_j(t) N_k(t)}{V_j(t) V_k(t)}. \quad (5.24)$$

První člen na pravé straně soustavy obyčejných diferenciálních rovnic (5.24) reprezentuje změnu koncentrace radikálů  $i$  vlivem difuze částic do okolí, zatímco druhý a třetí člen představuje jejich úbytek (radikál  $i$  reaguje s ostatními radikály a molekulami) a přírůstek (reakcí látek  $j$  a  $k$  vzniká radikál  $i$ ) vlivem chemických reakcí.

Soustava obyčejných diferenciálních rovnic (5.24) a (5.20) popisuje dynamiku chemických reakcí, která je závislá na difuzi clusteru. Difuze clusteru má za následek snižování koncentrace radikálů, což vede ke zpomalení rychlosti chemických reakcí.

Pro řešení soustavy obyčejných diferenciálních (5.24) a (5.20) je zapotřebí stanovit **počáteční podmínky**, které získáme na základě experimentálních dat. Jelikož v našem matematickém modelu popisujeme chemickou fázi radiolýzy vody, budeme předpokládat, že **začátek celého procesu** bude po **skončení fyzikálně-chemické fáze** (začátek chemické fáze), kdy je dokončeno předání energie v clusteru za vzniku radikálů  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$ , hydratovaného elektronu  $e_{aq}^-$ , iontu  $H_3O^+$  a molekuly  $H_2$ . Počty těchto částic jsou dány **počáteční výtěžností**  $G^o$ , která udává, kolik radikálů vznikne při předání energie 100 eV. Z toho lze pak vypočítat počáteční počty pro konkrétní energii clusteru.

Počáteční objemy  $V_i$  závisí na množství předané energie. Difuzní koeficienty  $D_i$  a rychlostní konstanty  $k_{ij}$  lze získat z literatury jako tabulkové hodnoty.

Pomocí Spojitých Petriho sítí můžeme tyto soustavy vyjádřit ve formě

$$\frac{dN_i(t)}{dt} = T_i - \sum_j T_{(i+j)} + \sum_{j,k \neq i} T_{(j+k)}^{(i)} \quad (5.25)$$

$$\frac{dV_i(t)}{dt} = T_{V_i}, \quad (5.26)$$

kde

$$T_i = 128 \frac{N_i(t)}{V_i(t)} \sqrt{\left(\frac{D_i^3 t}{\pi}\right)}, \quad (5.27)$$

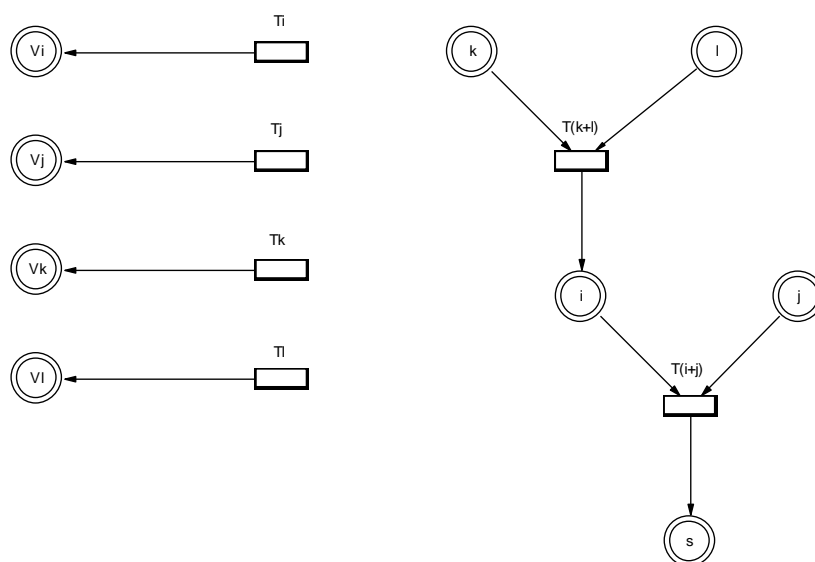
$$T_{(i+j)} = k_{ij} \frac{N_i(t)N_j(t)}{V_i(t)}, \quad (5.28)$$

$$T_{(j+k)}^{(i)} = V_i(t)k_{jk}^{(i)} \frac{N_j(t)N_k(t)}{V_j(t)V_k(t)}, \quad (5.29)$$

$$T_{V_i} = 128 \sqrt{\left(\frac{D_i^3 t}{\pi}\right)}. \quad (5.30)$$

$N_i$  je počet radikálů, iontů nebo molekul látky  $i$  a  $V_i$  je objem, který tato látka zaujímá. V Petriho síti jsou  $N_i$  a  $V_i$  znázorněny kružnicemi a přechody  $T_i$  obdélníky (viz obrázek 5.1).

- Přechod (5.27) reprezentuje změnu koncentrace radikálů  $i$  vlivem difuze částic do okolí podle prvního členu na pravé straně rovnice (5.25).
- Přechod (5.28) vyjadřuje rychlost úbytku látky  $i$  při reakci s látkou  $j$  podle druhého členu na pravé straně rovnice (5.25).
- Přechod (5.29) vyjadřuje rychlost přírůstku látky  $i$  při reakci látky  $j$  s látkou  $k$  podle třetího členu na pravé straně rovnice (5.25).
- Přechod (5.30) vyjadřuje přírůstek objemu látky  $i$  vlivem její difuze do okolí podle rovnice (5.26).



**Obrázek 5.1** Jednoduchá Petriho síť pro simulaci obecného modelu

Na obrázku 5.1 je uveden pro názornost jednoduchý příklad Spojité Petriho sítě, která popisuje dynamický proces úbytku látky  $i$  reakcí s látkou  $j$  a naopak její přírůstek reakcí látky  $k$  s látkou  $l$  podle diferenciální rovnice

$$\frac{dN_i(t)}{dt} = -T_{(i+j)} + T_{(k+l)}, \quad (5.31)$$

kde přechod  $T_{(i+j)}$  je vyjádřen vztahem (5.28) a přechod  $T_{(k+l)}$  je určen rovnicí

$$T_{(k+l)} = V_i(t)k_{kl} \frac{N_k(t)N_l(t)}{V_k(t)V_l(t)}. \quad (5.32)$$

Současně s probíhajícími chemickými reakcemi dochází i ke zvětšování objemů  $V_i, V_j, V_k$  a  $V_l$  jednotlivých látek vlivem jejich difuze do okolí podle rovnic

$$\frac{dV_i(t)}{dt} = T_i, \quad (5.33)$$

$$\frac{dV_j(t)}{dt} = T_j, \quad (5.34)$$

$$\frac{dV_k(t)}{dt} = T_k, \quad (5.35)$$

$$\frac{dV_l(t)}{dt} = T_l, \quad (5.36)$$

kde přechody  $T_i, T_j, T_k$  a  $T_l$  jsou dány rovnicemi

$$T_i = 128 \sqrt{\left(\frac{D_i^3 t}{\pi}\right)}, \quad (5.37)$$

$$T_j = 128 \sqrt{\left(\frac{D_j^3 t}{\pi}\right)}, \quad (5.38)$$

$$T_k = 128 \sqrt{\left(\frac{D_k^3 t}{\pi}\right)}, \quad (5.39)$$

$$T_l = 128 \sqrt{\left(\frac{D_l^3 t}{\pi}\right)}. \quad (5.40)$$

Pro Petriho síť platí, že přechod  $T$  způsobuje úbytek látky, jestliže:

- a) Hodnota funkce tohoto přechodu je kladná.
- b) Orientovaná hrana spojující místo s přechodem směřuje od místa k přechodu.

Jestliže platí bod a) a orientovaná hrana spojující místo s přechodem směřuje od přechodu k místu, pak tento přechod má za následek přírůstek látky.

## 5.2. Vznik dvojných zlomů na DNA

Z experimentálních dat plyne, že alespoň v oblasti menších dávek roste **počet dvojných zlomů** lineárně s dávkou. To znamená, že dvojně zlomy musí vznikat již při průchodu jednotlivých částic ozařovacího svazku. Pouze v případě velmi vysokých dávek mohou DZ vznikat jako kombinace dvou zcela nezávislých JZ. Vzniká tak otázka, jaký je skutečný mechanismus vzniku DZ při průchodu jedné ionizující částice.

V případě vytváření DZ v živých buňkách nelze v principu vyloučit, že DZ vzniká v důsledku chybné opravy JZ. Takový mechanismus však nepřichází v úvahu v případě, že jsou ozařovány molekuly DNA ve vodním roztoku. Pravděpodobnost vzniku DZ přímým účinkem ionizující částice je ovšem příliš malá. Je proto nutno předpokládat, že ke vzniku DZ dochází kombinací dvou zlomů jednoduchých vyvolaných agresivními radikály. Aby však existovala dostatečně velká pravděpodobnost vzniku takového páru JZ, musí se v blízkosti molekuly DNA vytvořit dostatečně veliký radikálový cluster a je nutno se potom ptát, jaký může být vlastní mechanismus vzniku DZ v takovém případě. Jak velké radikálové cluster se v takovém případě mohou efektivně uplatnit a jak se na tvorbě jednotlivých JZ podílí příslušné radikály, případně jaký je podíl přímého účinku dopadajících ionizujících částic.

Ionizující záření indukuje zlomy polynukleotidového (internukleotidového) řetězce jak přímým způsobem, tak i nepřímým působením radiolytických produktů. Použitím současných metodik je nyní možné po separaci obou vláken **dvoušroubovité DNA** rozlišovat jednoduché zlomy (zlomy vyskytující se v jednom řetězci) od zlomů dvojných. Dvojně zlomy vzniknou, když jsou obě vlákna zlomena na **protilehlých místech komplementárního řetězce DNA**; protilehlé zlomy mohou být o nějaký počet nukleotidů posunuty.

Vznik dvojného zlomu je dán jako důsledek dvou zlomů jednoduchých, vytvořených buď současně při průchodu jediné dopadající částice anebo dvěma částicemi nezávislými. Tyto jednoduché zlomy vnikají v určitých kritických místech řetězce DNA, za něž se obvykle pokládá **fosfátová vazba**; počet kritických míst na jednom řetězci je tedy možno ztotožnit s celkovým počtem nukleotidů  $N_s$ . K vytvoření dvojného zlomu může dojít, i když jednoduché zlomy jsou od sebe vzdáleny o určitý počet bází (resp. kritických míst).

Při nepřímém účinku vznikají zlomy účinkem agresivních radikálů, které interagují s molekulou DNA. K interakci molekuly DNA s radikály dochází tak, že v její těsné blízkosti vznikne dostatečně veliký radikálový cluster (tzv. efektivní cluster). Vlivem ionizací a excitací vzniknou v clusteru radikály  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$ ,  $HO_2^\bullet$  a hydratovaný elektron  $e_{aq}^-$ . Koncentrace radikálů

se rychle snižuje difuzí, rekombinačními reakcemi a reakcemi radikálů s okolními molekulami. Molekula DNA se pohybuje v prostředí určitou rychlostí (tepelný pohyb molekul). Pokud se DNA setká s difundujícím radikálovým clusterem brzy po jeho vzniku, může dojít k interakci DNA s radikály a tím ke vzniku i většího počtu jednoduchých zlomů (JZ) řetězce DNA a v důsledku toho i ke vzniku dvojného zlomu (DZ).

**Pravděpodobnost vzniku jednoduchých zlomů DNA** způsobenými jednotlivými radikály  $i$  vypočítáme podle vztahů

$$p_i = \int_{t_0}^{t_m} \alpha_i N_i(t) \xi dt, \quad (5.41)$$

kde  $\alpha_i$  jsou koeficienty účinnosti radikálů  $i$ .

**Celková pravděpodobnost vzniku JZ** je pak dána vztahem

$$p_S = \sum_i p_i + p_1, \quad (5.42)$$

kde  $p_1$  zahrnuje vliv přímého účinku ionizujícího záření.

**Pravděpodobnost vzniku dvojných zlomů DNA** je dána:

$$p_D = \frac{1}{2} p_S^2, \quad (5.43)$$

neboť pouze dva jednoduché zlomy vzniklé na různých vláknech komplementárního řetězce DNA mohou vytvořit dvojný zlom.

## 6. Simulace chemické fáze radiolýzy vody

V práci (BARILLA a kol., 2013) jsme aplikovali optimalizační matematický model na experimentální data, abychom získali pomocí optimalizační procedury základní charakteristiky pro detailnější a přesnější simulační model s využitím Petriho sítí. Petriho sítě nám umožnily mnohem detailnější a přesnější analýzu chemické fáze radiobiologického mechanismu. Jejich výhodou je rychlé vytvoření simulačního modelu pomocí grafického nástroje, který umožňuje snadnou změnu parametrů modelu a jejich verifikaci. Celý proces simulace se tím značně zrychlí, což nám umožňuje analýzu většího množství dynamických modelů chemické fáze radiolýzy vody.

Výsledky této kapitoly pro anoxický případ byly publikovány v pracích (BARILLA a kol., 2014 a BARILLA a kol., 2015). Simulace vlivu kyslíku na chemickou fázi radiolýzy vody pomocí Petriho sítí byla publikovaná v práci (BARILLA a kol., 2016 a BARILLA a kol., 2017). Simulace  $N_2O$  ještě publikovaná nebyla.

### 6.1. Simulační model s využitím Spojitých Petriho sítí

V kapitole 5 byl popsán obecný matematický model chemické fáze radiolýzy vody pomocí soustav obyčejných diferenciálních rovnic (5.24) a (5.20), který umožňuje řešit současně dynamiku chemických reakcí a difuzi radikálového clusteru. Pro simulaci pomocí Spojitých Petriho sítí byl tento matematický pak vyjádřen vztahy (5.25-5.30)

Pro simulační model byly vybrány radikály, ionty a ostatní látky uvedeny v tabulce 6.1, ve které jsou současně i difuzní koeficienty jednotlivých látek.

**Tabulka 6.1** Difuzní koeficienty (HERVÉ DU PENHOAT a kol., 2000)

Látka	Difuzní koeficienty ( $\text{nm}^2.\text{ns}^{-1}$ )	Počet částic	Označení difuzních koeficientů
1. $H^\bullet$	7.0	$N_H$	$D_H$
2. $OH^\bullet$	2.2	$N_{OH}$	$D_{OH}$
3. $e_{aq}^-$	4.9	$N_e$	$D_e$
4. $H_3O^+$	9.5	$N_{H_3O}$	$D_{H_3O}$
5. $OH^-$	5.3	$N_{OH^-}$	$D_{OH^-}$
6. $H_2$	5	$N_{H_2}$	$D_{H_2}$
7. $H_2O_2$	2.2	$N_{H_2O_2}$	$D_{H_2O_2}$
8. $O_2^-$	1.8	$N_{O_2^-}$	$D_{O_2^-}$
9. $HO_2^\bullet$	2.3	$N_{HO_2}$	$D_{HO_2}$



Chemické reakce, které jsou uvažovány pro simulační model, jsou pak spolu s rychlostními konstantami uvedeny v tabulce 6.2.

**Tabulka 6.2** Vybrané chemické reakce z tabulky 3.3

	Reakce	Rychlostní konstanty ( $\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ )
1.	$H^\bullet + H^\bullet \rightarrow H_2$	$10 \times 10^{10}$
2.	$e_{aq}^- + H^\bullet \rightarrow H_2 + OH^-$	$2.5 \times 10^{10}$
3.	$e_{aq}^- + e_{aq}^- \rightarrow H_2 + 2OH^-$	$6 \times 10^9$
4.	$e_{aq}^- + OH^\bullet \rightarrow OH^- + H_2O$	$3 \times 10^{10}$
5.	$H^\bullet + OH^\bullet \rightarrow H_2O$	$2.4 \times 10^{10}$
6.	$OH^\bullet + OH^\bullet \rightarrow H_2O_2$	$4 \times 10^9$
7.	$H_3O^+ + e_{aq}^- \rightarrow H^\bullet + H_2O$	$2.3 \times 10^{10}$
8.	$HO_2^\bullet + H^\bullet \rightarrow H_2O_2$	$1 \times 10^{10}$
9.	$HO_2^\bullet + OH^\bullet \rightarrow H_2O + O_2$	$1 \times 10^{10}$
10.	$HO_2^\bullet + HO_2^\bullet \rightarrow H_2O_2 + O_2$	$2 \times 10^6$
11.	$O_2^- + H_3O^+ \rightarrow HO_2^\bullet$	$3 \times 10^{10}$
12.	$H_3O^+ + OH^- \rightarrow H_2O$	$1 \times 10^{11}$
13.	$H^\bullet + H_2O_2 \rightarrow H_2O + OH^\bullet$	$1 \times 10^8$
14.	$e_{aq}^- + H_2O_2 \rightarrow OH^\bullet + OH^-$	$1.2 \times 10^{10}$
15.	$OH^\bullet + H_2O_2 \rightarrow H_2O + HO_2^\bullet$	$5 \times 10^7$
16.	$OH^\bullet + H_2 \rightarrow H_2O + H^\bullet$	$6 \times 10^7$
17.	$HO_2^\bullet \rightarrow H_3O^+ + O_2^-$	$1 \times 10^6$
18.	$e_{aq}^- + O_2 \rightarrow O_2^- + H_2O$	$1.9 \times 10^{10}$
19.	$H^\bullet + O_2 \rightarrow HO_2^\bullet$	$1 \times 10^{10}$

Dynamiku chemických reakcí z tabulky 6.2 za současné difuze radikálového clusteru (viz difuzní koeficienty v tabulce 6.1) můžeme popsat tak, že do obecné soustavy obyčejných diferenciálních rovnic (5.25) a (5.26) dosadíme konkrétní chemické reakce z tabulky 6.2 a dostaneme výslednou soustavu ve tvaru:

$$\frac{dN_H}{dt} = T_H - T_{(H+H)} - T_{(H+OH)} - T_{(H+e)} - T_{(H+H_2O_2)} - T_{(H+HO_2)} - T_{(H+O_2)} + T_{(e+H_3O^+)}^{(H)} + T_{(OH+H_2)}^{(H)} \quad (6.1)$$

$$\frac{dN_{OH}}{dt} = T_{OH} - T_{(OH+H)} - T_{(OH+OH)} - T_{(OH+e)} - T_{(OH+H_2)} - T_{(OH+H_2O_2)} - T_{(OH+HO_2)} + T_{(H+H_2O_2)}^{(OH)} + T_{(e+H_2O_2)}^{(OH)} \quad (6.2)$$

$$\frac{dN_e}{dt} = T_e - T_{(e+H)} - T_{(e+OH)} - T_{(e+e)} - T_{(e+H_3O^+)} - T_{(e+H_2O_2)} - T_{(e+O_2)} \quad (6.3)$$

$$\frac{dN_{H_3O^+}}{dt} = T_{H_3O^+} - T_{(H_3O^++e)} - T_{(H_3O^++OH^-)} - T_{(H_3O^++O_2^-)} + T_{(HO_2)}^{(H_3O^+)} \quad (6.4)$$

$$\frac{dN_{OH^-}}{dt} = T_{OH^-} - T_{(OH^-+H_3O^+)} + T_{(H+e)}^{(OH^-)} + T_{(OH+e)}^{(OH^-)} + T_{(e+e)}^{(OH^-)} + T_{(e+H_2O_2)}^{(OH^-)} \quad (6.5)$$

$$\frac{dN_{H_2}}{dt} = T_{H_2} - T_{(H_2+OH)} + T_{(H+H)}^{(H_2)} + T_{(H+e)}^{(H_2)} + T_{(e+e)}^{(H_2)} \quad (6.6)$$

$$\begin{aligned} \frac{dN_{H_2O_2}}{dt} = & T_{H_2O_2} - T_{(H_2O_2+H)} - T_{(H_2O_2+OH)} - T_{(H_2O_2+e)} + T_{(H+HO_2)}^{(H_2O_2)} + T_{(OH+OH)}^{(H_2O_2)} \\ & + T_{(HO_2+HO_2)}^{(H_2O_2)} \end{aligned} \quad (6.7)$$

$$\frac{dN_{O_2^-}}{dt} = T_{O_2^-} - T_{(O_2^-+H_3O^+)} + T_{(e+O_2)}^{(O_2^-)} + T_{(HO_2)}^{(O_2^-)} \quad (6.8)$$

$$\begin{aligned} \frac{dN_{HO_2}}{dt} = & T_{HO_2} - T_{(HO_2+H)} - T_{(HO_2+OH)} - T_{(HO_2+HO_2)} - T_{(HO_2)} + T_{(H+O_2)}^{(HO_2)} + T_{(OH+H_2O_2)}^{(HO_2)} \\ & + T_{(H_3O^++O_2^-)}^{(HO_2)} \end{aligned} \quad (6.9)$$

$$\frac{dN_{O_2}}{dt} = -T_{(O_2+H)} - T_{(O_2+e)} + T_{(OH+HO_2)}^{(O_2)} + T_{(HO_2+HO_2)}^{(O_2)} \quad (6.10)$$

$$\frac{dV_H}{dt} = T_{V_H}, \quad (6.11)$$

$$\frac{dV_{OH}}{dt} = T_{V_{OH}}, \quad (6.12)$$

$$\frac{dV_e}{dt} = T_{V_e}, \quad (6.13)$$

$$\frac{dV_{H_3O^+}}{dt} = T_{V_{H_3O^+}}, \quad (6.14)$$

$$\frac{dV_{OH^-}}{dt} = T_{V_{OH^-}}, \quad (6.15)$$

$$\frac{dV_{H_2}}{dt} = T_{V_{H_2}}, \quad (6.16)$$

$$\frac{dV_{H_2O_2}}{dt} = T_{V_{H_2O_2}}, \quad (6.17)$$

$$\frac{dV_{O_2^-}}{dt} = T_{V_{O_2^-}}, \quad (6.18)$$

$$\frac{dV_{HO_2}}{dt} = T_{V_{HO_2}}. \quad (6.19)$$

Soustava obyčejných diferenciálních rovnic (6.1) – (6.19) popisuje dynamiku chemické fáze radiolýzy vody, kde koncentrace reagujících látek se zmenšuje v důsledku chemických reakcí a difuzi radikálového clusteru, jehož objem se pro jednotlivé látky zvětšuje podle soustavy obyčejných diferenciálních rovnic (6.11) – (6.19). Všechny výše uvedené procesy probíhají současně.

Pomocí Spojitých Petriho sítí (viz obrázek 6.1) budeme soustavy obyčejných diferenciálních rovnic (6.1) – (6.10) řešit tak, že nahradíme členy na pravé straně těchto rovnic následujícími přechody:

$$T_H = 128 \frac{N_H(t)}{V_H(t)} \sqrt{\left(\frac{D_H^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.20)$$

$$T_{OH} = 128 \frac{N_{OH}(t)}{V_{OH}(t)} \sqrt{\left(\frac{D_{OH}^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.21)$$

$$T_e = 128 \frac{N_e(t)}{V_e(t)} \sqrt{\left(\frac{D_e^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.22)$$

$$T_{H_3O^+} = 128 \frac{N_{H_3O^+}(t)}{V_{H_3O^+}(t)} \sqrt{\left(\frac{D_{H_3O^+}^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.23)$$

$$T_{OH^-} = 128 \frac{N_{OH^-}(t)}{V_{OH^-}(t)} \sqrt{\left(\frac{D_{OH^-}^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.24)$$

$$T_{H_2} = 128 \frac{N_{H_2}(t)}{V_{H_2}(t)} \sqrt{\left(\frac{D_{H_2}^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.25)$$

$$T_{H_2O_2} = 128 \frac{N_{H_2O_2}(t)}{V_{H_2O_2}(t)} \sqrt{\left(\frac{D_{H_2O_2}^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.26)$$

$$T_{O_2^-} = 128 \frac{N_{O_2^-}(t)}{V_{O_2^-}(t)} \sqrt{\left(\frac{D_{O_2^-}^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.27)$$

$$T_{HO_2} = 128 \frac{N_{HO_2}(t)}{V_{HO_2}(t)} \sqrt{\left(\frac{D_{HO_2}^3 t}{\pi}\right)}. \quad (6.28)$$

Přechody (6.20) – (6.28) představují difuzi radikálového clusteru okolí v závislosti na difuzním koeficientu  $D_i$  (viz tabulka 6.1).

$$T_{(H+H)} = 2k_1 \frac{N_H(t)N_H(t)}{V_H(t)}, \quad (6.29)$$

$$T_{(H+OH)} = k_5 \frac{N_H(t)N_{OH}(t)}{V_{OH}(t)}, \quad (6.30)$$

$$T_{(H+e)} = k_2 \frac{N_H(t)N_e(t)}{V_e(t)}, \quad (6.31)$$

$$T_{(H+H_2O_2)} = k_{13} \frac{N_H(t)N_{H_2O_2}(t)}{V_{H_2O_2}(t)}, \quad (6.32)$$

$$T_{(H+HO_2)} = k_8 \frac{N_H(t)N_{HO_2}(t)}{V_{HO_2}(t)}, \quad (6.33)$$

$$T_{(H+O_2)} = k_{19} \frac{N_H(t)N_{O_2}(t)}{V_{O_2}(t)}, \quad (6.34)$$

$$T_{(e+H_3O^+)}^{(H)} = k_7 V_H(t) \frac{N_e(t)N_{H_3O^+}(t)}{V_e(t)V_{H_3O^+}(t)}, \quad (6.35)$$

$$T_{(OH+H_2)}^{(H)} = k_{16} V_H(t) \frac{N_{OH}(t)N_{H_2}(t)}{V_{OH}(t)V_{H_2}(t)}, \quad (6.36)$$

$$T_{(OH+H)} = k_5 \frac{N_{OH}(t)N_H(t)}{V_H(t)}, \quad (6.37)$$

$$T_{(OH+OH)} = 2k_6 \frac{N_{OH}(t)N_{OH}(t)}{V_{OH}(t)}, \quad (6.38)$$

$$T_{(OH+e)} = k_4 \frac{N_{OH}(t)N_e(t)}{V_e(t)}, \quad (6.39)$$

$$T_{(OH+H_2)} = k_{16} \frac{N_{OH}(t)N_{H_2}(t)}{V_{H_2}(t)}, \quad (6.40)$$

$$T_{(OH+H_2O_2)} = k_{15} \frac{N_{OH}(t)N_{H_2O_2}(t)}{V_{H_2O_2}(t)}, \quad (6.41)$$

$$T_{(OH+HO_2)} = k_9 \frac{N_{OH}(t)N_{HO_2}(t)}{V_{HO_2}(t)}, \quad (6.42)$$

$$T_{(H+H_2O_2)}^{(OH)} = k_{13} V_{OH}(t) \frac{N_H(t)N_{H_2O_2}(t)}{V_H(t)V_{H_2O_2}(t)}, \quad (6.43)$$

$$T_{(e+H_2O_2)}^{(OH)} = k_{14} V_{OH}(t) \frac{N_e(t) N_{H_2O_2}(t)}{V_e(t) V_{H_2O_2}(t)}, \quad (6.44)$$

$$T_{(e+H)} = k_2 \frac{N_e(t) N_H(t)}{V_H(t)}, \quad (6.45)$$

$$T_{(e+OH)} = k_4 \frac{N_e(t) N_{OH}(t)}{V_{OH}(t)}, \quad (6.46)$$

$$T_{(e+e)} = 2k_3 \frac{N_e(t) N_e(t)}{V_e(t)}, \quad (6.47)$$

$$T_{(e+H_3O^+)} = k_7 \frac{N_e(t) N_{H_3O^+}(t)}{V_{H_3O^+}(t)}, \quad (6.48)$$

$$T_{(e+H_2O_2)} = k_{14} \frac{N_e(t) N_{H_2O_2}(t)}{V_{H_2O_2}(t)}, \quad (6.49)$$

$$T_{(e+O_2)} = k_{18} \frac{N_e(t) N_{O_2}(t)}{V_{O_2}(t)}, \quad (6.50)$$

$$T_{(H_3O^++e)} = k_7 \frac{N_{H_3O^+}(t) N_e(t)}{V_e(t)}, \quad (6.51)$$

$$T_{(H_3O^++OH^-)} = k_{12} \frac{N_{H_3O^+}(t) N_{OH^-}(t)}{V_{OH^-}(t)}, \quad (6.52)$$

$$T_{(H_3O^++O_2^-)} = k_{11} \frac{N_{H_3O^+}(t) N_{O_2^-}(t)}{V_{O_2^-}(t)}, \quad (6.53)$$

$$T_{(HO_2)}^{(H_3O^+)} = k_{17} V_{H_3O^+}(t) \frac{N_{HO_2}(t)}{V_{HO_2}(t)}, \quad (6.54)$$

$$T_{(OH^-+H_3O^+)} = k_{12} \frac{N_{OH^-}(t) N_{H_3O^+}(t)}{V_{H_3O^+}(t)}, \quad (6.55)$$

$$T_{(H+e)}^{(OH^-)} = k_2 V_{OH^-}(t) \frac{N_H(t) N_e(t)}{V_H(t) V_e(t)}, \quad (6.56)$$

$$T_{(OH+e)}^{(OH^-)} = k_4 V_{OH^-}(t) \frac{N_{OH}(t)N_e(t)}{V_{OH}(t)V_e(t)}, \quad (6.57)$$

$$T_{(e+e)}^{(OH^-)} = 2k_3 V_{OH^-}(t) \frac{N_e(t)N_e(t)}{V_e(t)V_e(t)}, \quad (6.58)$$

$$T_{(e+H_2O_2)}^{(OH^-)} = k_{14} V_{OH^-}(t) \frac{N_e(t)N_{H_2O_2}(t)}{V_e(t)V_{H_2O_2}(t)}, \quad (6.59)$$

$$T_{(H_2+OH)} = k_{16} \frac{N_{H_2}(t)N_{OH}(t)}{V_{OH}(t)}, \quad (6.60)$$

$$T_{(H+H)}^{(H_2)} = k_1 V_{H_2}(t) \frac{N_H(t)N_H(t)}{V_H(t)V_H(t)}, \quad (6.61)$$

$$T_{(H+e)}^{(H_2)} = k_2 V_{H_2}(t) \frac{N_H(t)N_e(t)}{V_H(t)V_e(t)}, \quad (6.62)$$

$$T_{(e+e)}^{(H_2)} = k_3 V_{H_2}(t) \frac{N_e(t)N_e(t)}{V_e(t)V_e(t)}, \quad (6.63)$$

$$T_{(H_2O_2+H)} = k_{13} \frac{N_{H_2O_2}(t)N_H(t)}{V_H(t)}, \quad (6.64)$$

$$T_{(H_2O_2+OH)} = k_{15} \frac{N_{H_2O_2}(t)N_{OH}(t)}{V_{OH}(t)}, \quad (6.65)$$

$$T_{(H_2O_2+e)} = k_{14} \frac{N_{H_2O_2}(t)N_e(t)}{V_e(t)}, \quad (6.66)$$

$$T_{(H+HO_2)}^{(H_2O_2)} = k_8 V_{H_2O_2}(t) \frac{N_H(t)N_{HO_2}(t)}{V_H(t)V_{HO_2}(t)}, \quad (6.67)$$

$$T_{(OH+OH)}^{(H_2O_2)} = k_6 V_{H_2O_2}(t) \frac{N_{OH}(t)N_{OH}(t)}{V_{OH}(t)V_{OH}(t)}, \quad (6.68)$$

$$T_{(HO_2+HO_2)}^{(H_2O_2)} = k_{10} V_{H_2O_2}(t) \frac{N_{HO_2}(t)N_{HO_2}(t)}{V_{HO_2}(t)V_{HO_2}(t)}, \quad (6.69)$$

$$T_{(O_2^-+H_3O^+)} = k_{11} \frac{N_{O_2^-}(t)N_{H_3O^+}(t)}{V_{H_3O^+}(t)}, \quad (6.70)$$

$$T_{(e+O_2)}^{(O_2^-)} = k_{18}V_{O_2^-}(t) \frac{N_e(t)N_{O_2}(t)}{V_e(t)V_{O_2}(t)}, \quad (6.71)$$

$$T_{(HO_2)}^{(O_2^-)} = k_{17}V_{O_2^-}(t) \frac{N_{HO_2}(t)}{V_{HO_2}(t)}, \quad (6.72)$$

$$T_{(HO_2+H)} = k_8 \frac{N_{HO_2}(t)N_H(t)}{V_H(t)}, \quad (6.73)$$

$$T_{(HO_2+OH)} = k_9 \frac{N_{HO_2}(t)N_{OH}(t)}{V_{OH}(t)}, \quad (6.74)$$

$$T_{(HO_2+HO_2)} = 2k_{10} \frac{N_{HO_2}(t)N_{HO_2}(t)}{V_{HO_2}(t)}, \quad (6.75)$$

$$T_{(HO_2)} = k_{17}N_{(HO_2)}(t), \quad (6.76)$$

$$T_{(H+O_2)}^{(HO_2)} = k_{19}V_{HO_2}(t) \frac{N_H(t)N_{O_2}(t)}{V_H(t)V_{O_2}(t)}, \quad (6.77)$$

$$T_{(OH+H_2O_2)}^{(HO_2)} = k_{15}V_{HO_2}(t) \frac{N_{OH}(t)N_{H_2O_2}(t)}{V_{OH}(t)V_{H_2O_2}(t)}, \quad (6.78)$$

$$T_{(H_3O^++O_2^-)}^{(HO_2)} = k_{11}V_{O_2^-}(t) \frac{N_{H_3O^+}(t)N_{O_2^-}(t)}{V_{H_3O^+}(t)V_{O_2^-}(t)}, \quad (6.79)$$

$$T_{(O_2+H)} = k_{19} \frac{N_{O_2}(t)N_H(t)}{V_H(t)}. \quad (6.80)$$

$$T_{(O_2+e)} = k_{18} \frac{N_{O_2}(t)N_e(t)}{V_e(t)}, \quad (6.81)$$

$$T_{(OH+HO_2)}^{(O_2)} = k_9V_{O_2}(t) \frac{N_{OH}(t)N_{HO_2}(t)}{V_{OH}(t)V_{HO_2}(t)}, \quad (6.82)$$

$$T_{(HO_2+HO_2)}^{(O_2)} = k_{10}V_{HO_2}(t) \frac{N_{HO_2}(t)N_{HO_2}(t)}{V_{HO_2}(t)V_{HO_2}(t)}, \quad (6.83)$$



Přechody (6.29) – (6.83) způsobují změnu počtu jednotlivých částic v důsledku chemických reakcí. Změnu objemu clusteru odpovídající jednotlivým částicím v případě sférické symetrie podle diferenciálních rovnic (6.11) – (6.19) lze vyjádřit v Petriho sítích pomocí přechodů:

$$T_{V_H} = 128 \sqrt{\left(\frac{D_H^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.84)$$

$$T_{V_{OH}} = 128 \sqrt{\left(\frac{D_{OH}^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.85)$$

$$T_{V_e} = 128 \sqrt{\left(\frac{D_e^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.86)$$

$$T_{V_{H_3O^+}} = 128 \sqrt{\left(\frac{D_{H_3O^+}^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.87)$$

$$T_{V_{OH^-}} = 128 \sqrt{\left(\frac{D_{OH^-}^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.88)$$

$$T_{V_{H_2}} = 128 \sqrt{\left(\frac{D_{H_2}^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.89)$$

$$T_{V_{H_2O_2}} = 128 \sqrt{\left(\frac{D_{H_2O_2}^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.90)$$

$$T_{V_{O_2^-}} = 128 \sqrt{\left(\frac{D_{O_2^-}^3 t}{\pi}\right)}, \quad (6.91)$$

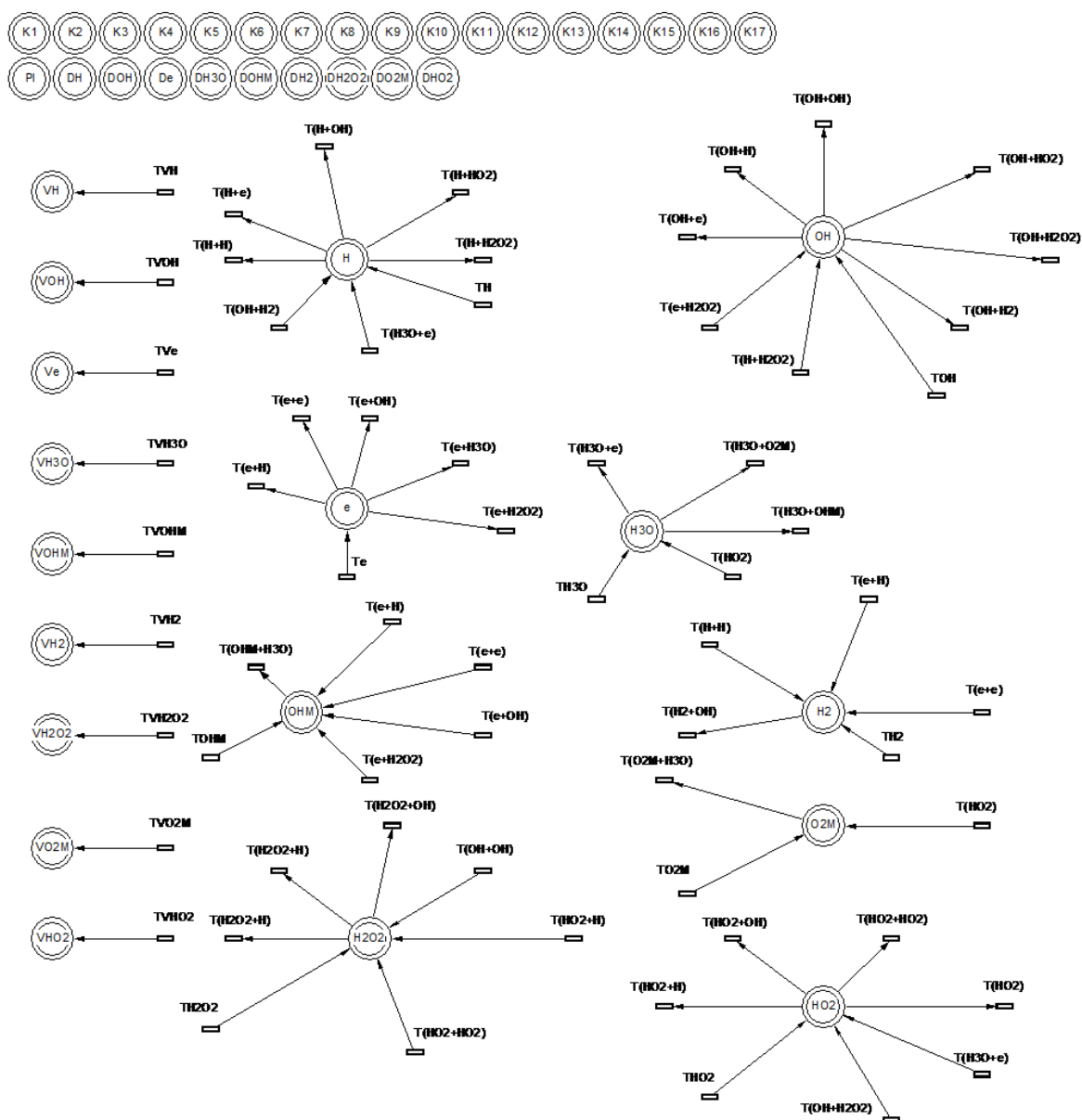
$$T_{V_{HO_2}} = 128 \sqrt{\left(\frac{D_{HO_2}^3 t}{\pi}\right)}. \quad (6.92)$$

Pro vyřešení soustavy obyčejných diferenciálních rovnic (6.1) - (6.19) pomocí Spojitých Petriho sítí (viz obrázek 6.1) musíme zadat počáteční podmínky řešení. Tyto počáteční podmínky jsou:

- Počáteční počty jednotlivých látek  $N_H, N_{OH}, N_e, N_{H_3O}, N_{OH^-}, N_{H_2}, N_{H_2O_2}, N_{O_2^-}$  a  $N_{HO_2}$ .
- Počáteční objemy, ve kterých se nacházejí jednotlivé látky  $V_H, V_{OH}, V_e, V_{H_3O}, V_{OH^-}, V_{H_2}, V_{H_2O_2}, V_{O_2^-}$  a  $V_{HO_2}$ . Na začátku výpočtu jsou všechny objemy stejné a rovnají se počátečnímu objemu clusteru.
- Difuzní koeficienty  $D_H, D_{OH}, D_e, D_{H_3O}, D_{OH^-}, D_{H_2}, D_{H_2O_2}, D_{O_2^-}$  a  $D_{HO_2}$  jsou převzaty z literatury.
- Rychlostní konstanty  $k_1 - k_{19}$  jsou rovněž převzaty z literatury.

Pro sestavení matematického modelu pomocí Spojitých Petriho sítí byl použit systém **Visual object net ++** (viz RAINER, 2008). Místa, která jsou v horní části obrázku 6.1 reprezentována kružnicemi, představují rychlostní konstanty a difuzní koeficienty. Tato místa nejsou spojena s žádným přechodem, protože se v průběhu výpočtu nemění. Visual object net ++ dovoluje v přechodových funkcích používat i místa, která nejsou s nimi přímo spojena orientovanou hranou (viz obrázek 6.1), což umožňuje jednoduše a přehledně vytvářet Petriho síť bez nepřehledné směsice čar, které se různě kříží. Místa (počet částic nebo velikost objemu), která jsou s přechody spojena orientovanou hranou, se s časem mění na základě přechodové funkce.

Místa, která jsou umístěna na levé straně obrázku 6.1, představují objemy, ve kterých se nacházejí jednotlivé látky. Tyto objemy se s časem zvětšují podle přechodů s nimi spojených (viz rovnice (6.84) – (6.92)).



**Obrázek 6.1** Řešení dynamiky chemických reakcí a difuze v clusteru pomocí Spojitých Petriho sítí za anoxických podmínek

Místa uprostřed obrázku 6.1 reprezentují počty částic jednotlivých radikálů, iontů a molekul, které se zúčastňují chemických reakcí za současné difuze clusteru. Jednotlivé látky spolu reagují prostřednictvím přechodových funkcí, které jsou reprezentovány přechody (obdélníky), se kterými jsou místa spojená.

Petriho sítě umožňují sledovat stav jednotlivých míst (počet částic a velikost objemů) v každém časovém okamžiku a získat tak časovou závislost koncentrace jednotlivých látek.

V případě interakce radikálového clusteru s molekulou DNA má pak koncentrace radikálů rozhodující vliv na poškození DNA (vznik dvojných zlomů).

## 6.2. Aplikace simulačního modelu na experimentální data za anoxických podmínek

Navržený matematický simulační model s použitím Spojitých Petriho sítí (viz obrázek 6.1) nám umožňuje studovat **časový vývoj procesů probíhajících v radikálovém clusteru** během chemické fáze radiolýzy vody. V práci (BARILLA a kol., 2013) byly na základě experimentálních dat Bloka a Lomana (viz BLOK a LOMAN, 1973) pomocí optimalizačního modelu zjištěny základní charakteristiky chemické fáze radiobiologického mechanismu jako jsou:

- **Průměr efektivního radikálového clusteru** byl stanoven na cca 20 - 27 nm.  
V této práci budeme uvažovat radikálový cluster o průměru 20 nm.
- Pro **energii efektivního clusteru** byla optimalizační procedurou zjištěna hodnota 300 eV.

Tyto hodnoty pak spolu s dalšími parametry modelu budou použity jako počáteční podmínky pro simulaci chemické fáze radiolýzy vody. Nejdříve však provedeme verifikaci modelu na základě dalších experimentálních dat tak, že ukážeme, že z počátečních výtěžností radikálů  $G^0$  při energii clusteru 100 eV vyplývají konečné výtěžnosti  $G$  v dobré shodě s experimentálními hodnotami.

**Počáteční velikost clusteru** je určena počtem radikálů, iontů a molekul  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$ ,  $e_{aq}^-$ ,  $H_3O^+$  a  $H_2$  tak, aby tento počet odpovídal experimentálně zjištěným hodnotám počáteční výtěžnosti  $G^0$  při energii clusteru 100 eV a průměru clusteru 20 nm (viz BUXTON, 2004; LAVERNE a PIMBLOTT, 1991):

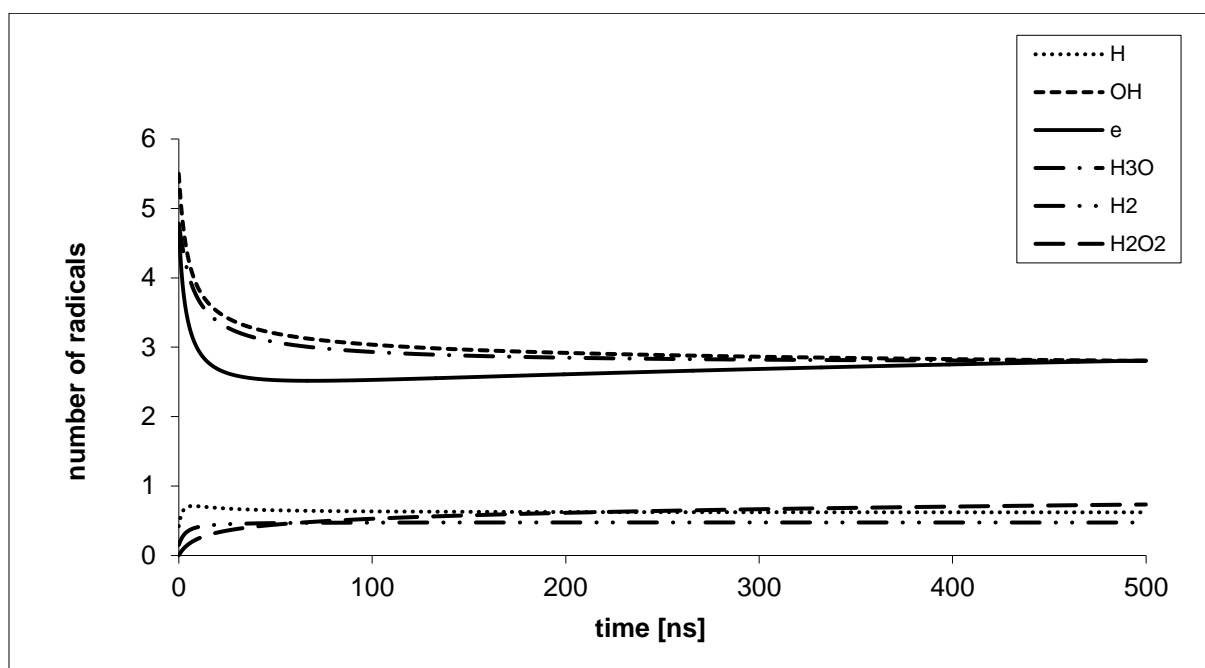
$$N_H = 0.42, N_{OH} = 5.5, N_e = 4.78, N_{H_3O^+} = 4.78, N_{H_2} = 0.15.$$

Pomocí spjitých Petriho sítí (viz obrázek 6.1) byla zjištěna časová závislost počtu radikálů, iontů a molekul  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$ ,  $e_{aq}^-$ ,  $H_3O^+$ ,  $H_2$  a  $H_2O_2$ . Porovnání hodnot získaných na konci chemické fáze s experimentálními hodnotami výtěžnosti  $G$  můžeme vidět v tabulce 6.3 a na obrázku 6.2, kde je patrná velmi dobrá shoda mezi experimentálními hodnotami a hodnotami získaných pomocí Petriho sítí.

Podobný účinek ionizujícího záření, kde byly vzaty v úvahu chemické reakce a difuze clusteru, byl řešen v práci Swiatla-Wojcik a Buxton (viz SWIATLA-WOJCIK a BUXTON, 1995).

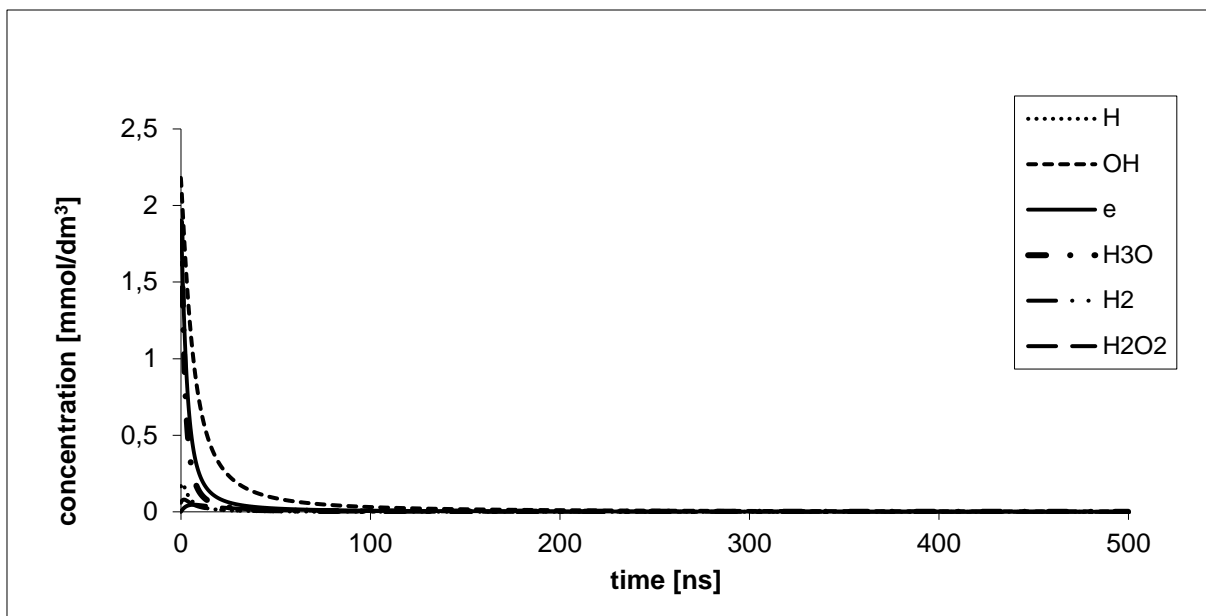
**Tabulka 6.3** Porovnání vypočítaných hodnot s experimentálními daty

Substance	Initial yield (G <sup>0</sup> )	Experimental yield (G)	Petri nets (G)
1. $H^\bullet$	0.42	0.62	0.620
2. $OH^\bullet$	5.5	2.8	2.804
3. $e_{aq}^-$	4.78	2.8	2.808
4. $H_3O^+$	4.78	2.8	2.802
5. $H_2$	0.15	0.47	0.473
6. $H_2O_2$	0	0.73	0.733



**Obrázek 6.2** Závislost počtu radikálů na čase pro cluster o průměru 20 nm a energii 100 eV za anoxických podmínek

Pro studium nepřímého účinku ionizujícího záření na poškození DNA (jednoduché a dvojné zlomy) je daleko důležitější **závislost koncentrace radikálů na čase** (viz obrázek 6.3), protože rychlost chemických reakcí je dána rychlostní konstantou a koncentrací vstupních látek. Budeme předpokládat, že jednoduché a dvojné zlomy molekuly DNA způsobují radikály  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$ ,  $HO_2^\bullet$  a hydratovaný elektron  $e_{aq}^-$ . Na obrázku 6.3 vidíme, že koncentrace v čase 100 ns se blíží k nule, a tudíž už radikály nemohou způsobit poškození molekuly DNA. Z koncentrační závislosti radikálů na čase (viz obrázek 6.3, 6.4 a 6.5) můžeme usoudit, ve shodě s všeobecně uznávaným názorem, že největší účinek na poškození DNA mají radikály  $OH^\bullet$ . Tyto radikály mají na začátku nejvyšší koncentraci, a tato koncentrace se snižuje pomaleji než koncentrace ostatních radikálů.



**Obrázek 6.3** Závislost koncentrace radikálů na čase pro cluster o průměru 20 nm a energii 100 eV za anoxických podmínek

Radikály  $H^\bullet$  mají v důsledku své malé počáteční výtěžnosti nízkou koncentraci, která zpočátku lehce stoupá a pak rychle klesá na nulovou hodnotu. Tyto radikály mohou mít jen malý účinek na tvorbu jednoduchých a dvojných zlomů molekuly DNA.

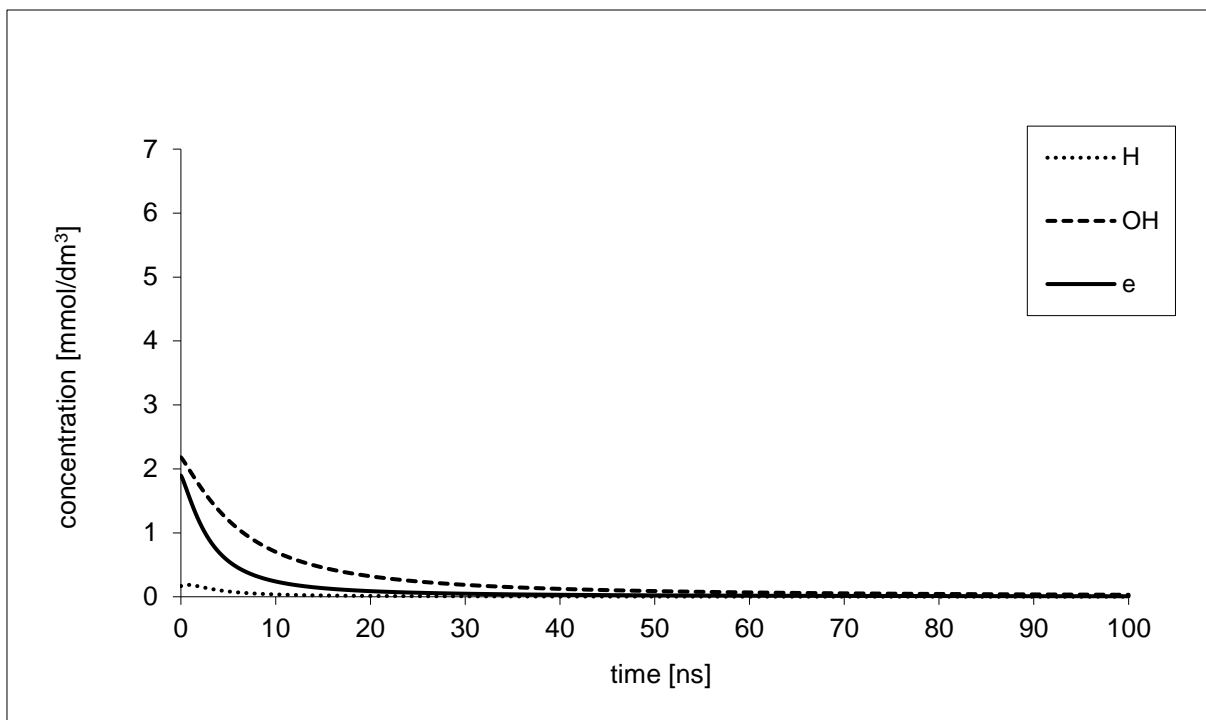
Koncentrace hydratovaných elektronů  $e_{aq}^-$  klesá rychleji než koncentrace radikálů  $OH^\bullet$ , a tak i jejich účinek na poškození molekuly DNA bude menší.

Účinek radikálů  $HO_2^\bullet$  za anoxických podmínek je zanedbatelný, protože tyto radikály vznikají pouze v malém množství reakcemi 11 a 19 (viz tabulka 6.2).

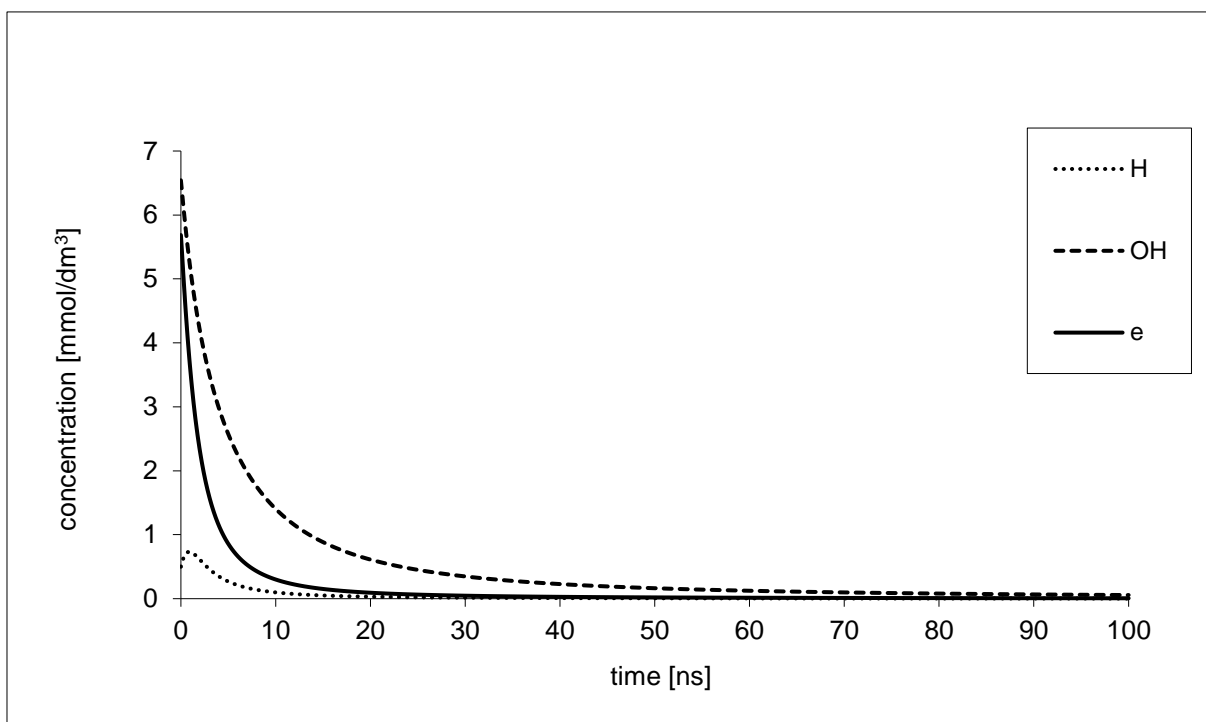
Pro porovnání byla provedena analýza clusterů o energiích v rozmezí 100 – 300 eV a čase 0 – 100 ns. Tyto energie odpovídají záření s nízkým LET, kde lze pro matematický model clusteru použít sférickou symetrii. Za **anoxických podmínek** porovnáme časové závislosti koncentrací radikálů  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$  a hydratovaného elektronu  $e_{aq}^-$  pro dvě hraniční energie clusteru 100 a 300 eV. Pro energii clusteru 100 eV použijeme jako počáteční výtěžnosti radikálů  $G^0$  hodnoty z tabulky 6.3. Pro energii clusteru 300 eV musíme použít přepočítané hodnoty počátečních výtěžností  $G^0$ :

$$N_{H^\bullet} = 1.26, N_{OH^\bullet} = 16.5, N_{e_{aq}^-} = 14.34, N_{H_3O^+} = 14.34, N_{H_2} = 0.45,$$

Na obrázku 6.4 můžeme vidět časové závislosti koncentrace radikálů  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$  a hydratovaného elektronu  $e_{aq}^-$  u clusteru o průměru 20 nm a energii 100 eV a na obrázku 6.5 stejné závislosti pro cluster o energii 300 eV.



**Obrázek 6.4** Závislost koncentrace radikálů na čase pro cluster o průměru 20 nm a energii 100 eV za anoxických podmínek



**Obrázek 6.5** Závislost koncentrace radikálů na čase pro cluster o průměru 20 nm a energii 300 eV za anoxických podmínek

Porovnáním obrázků 6.4 a 6.5 zjistíme, že koncentrace radikálů  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$  a hydratovaného elektronu  $e_{aq}^-$  je závislá na energii clusteru tak, že čím větší je energie clusteru, tím větší je

koncentrace radikálů a hydratovaného elektronu. Clustery s vyšší koncentrací agresivních radikálů  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$  a hydratovaného elektronu  $e_{aq}^-$  pak způsobují větší poškození molekuly DNA. Pro vznik jednoduchých a zejména dvojných zlomů na molekule DNA je nezbytné, aby molekula DNA interagovala s radikálovým clusterem v co nejkratším čase po jeho vzniku, protože koncentrace radikálů a hydratovaného elektronu prudce klesá. Dále z naší analýzy vyplývá, že nejúčinnější složkou při poškození DNA je radikál  $OH^\bullet$ , což je dáno zejména jeho výrazně vyšší koncentrací v průběhu difuze clusteru (viz obrázky 6.4 a 6.5).

Další zajímavou analýzou budou časové závislosti koncentrací jednotlivých radikálů a hydratovaného elektronu při energiích clusteru 100, 150, 200, 250 a 300 eV. Hodnoty počátečních výtěžností  $G^0$ , které byly použity jako počáteční podmínky pro simulační model, jsou uvedeny v tabulce 6.4.

**Tabulka 6.4** Počáteční výtěžnosti radikálů  $G^0$  pro různé energie clusteru

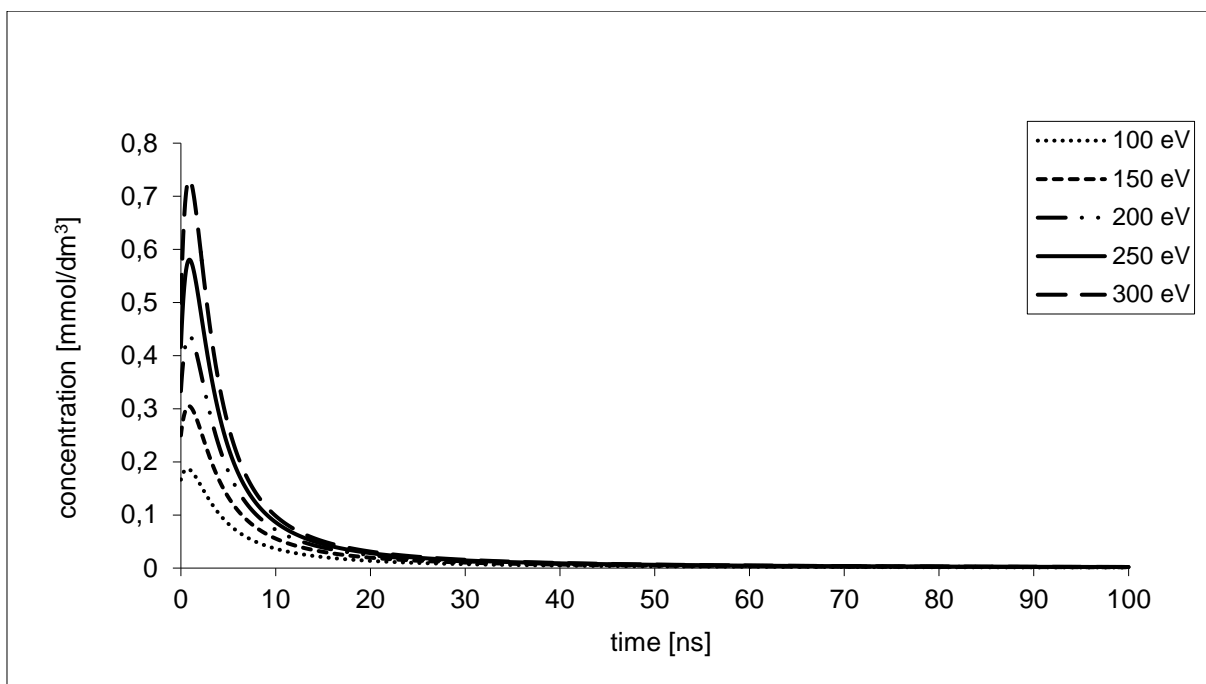
Energy (eV)	Initial yield $H^\bullet$	Initial yield $OH^\bullet$	Initial yield $e_{aq}^-$	Initial yield $H_3O^+$	Initial yield $H_2$
1. 100	0.42	5.5	4,78	4.78	0.15
2. 150	0.63	8.25	7.17	7.17	0.225
3. 200	0.84	11	9.56	9.56	0.3
4. 250	1.05	13.75	11.95	11.95	0.375
5. 300	1.26	16.5	14.34	14.34	0.45

Na obrázcích 6.6, 6.7 a 6.8 vidíme, že časové průběhy koncentrací radikálů  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$  a hydratovaného elektronu  $e_{aq}^-$  jsou závislé na energii clusteru tak, že při větší energii clusteru je i vyšší koncentrace radikálů a hydratovaného elektronu.

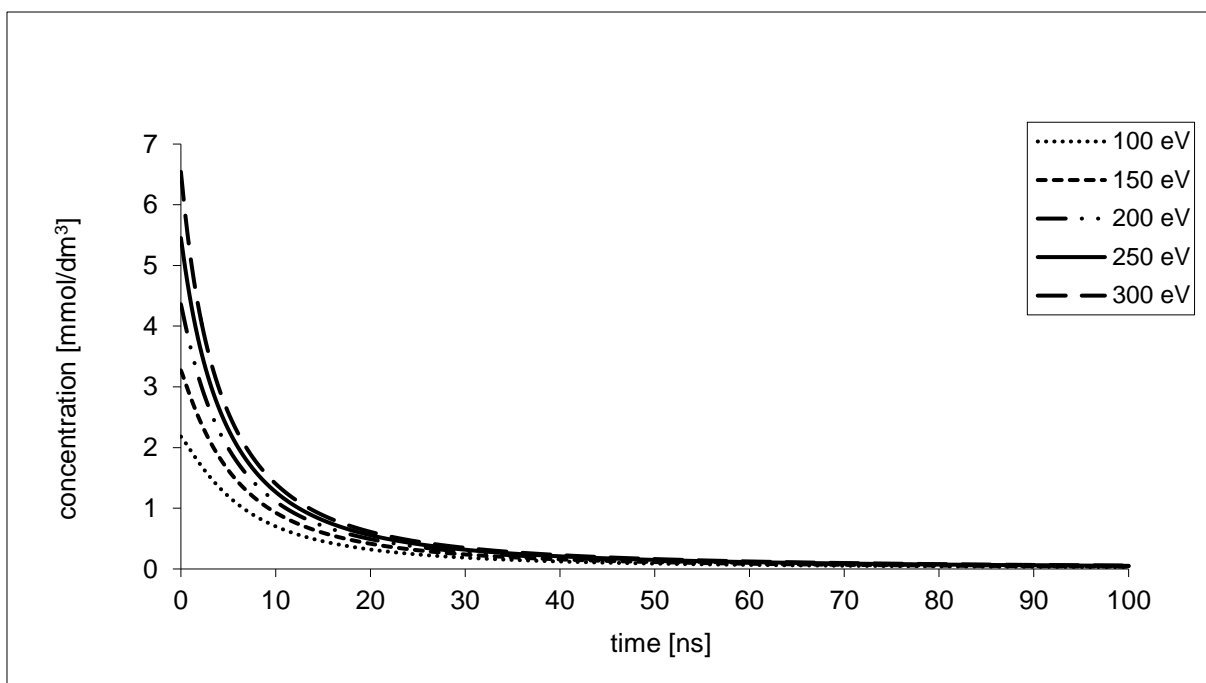
Na obrázku 6.9 je pak znázorněna časová závislost změny velikosti clusteru, která nám umožňuje sledovat rychlost difuze radikálů  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$  a hydratovaného elektronu  $e_{aq}^-$  do okolí. Pro interakci clusteru s molekulou DNA platí, že čím je cluster větší, tím větší je pravděpodobnost interakce s molekulou DNA, ale současně i nižší koncentrace jednotlivých látek.

Časové závislosti prezentované pomocí grafů na obrázcích 6.3 – 6.9 nám umožňují sledovat časovou změnu koncentrací jednotlivých složek i velikosti clusteru, což jsou základní informace pro odhad biologického účinku radikálů  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$  a hydratovaného elektronu  $e_{aq}^-$  při chemické fázi radiolýzy vody.

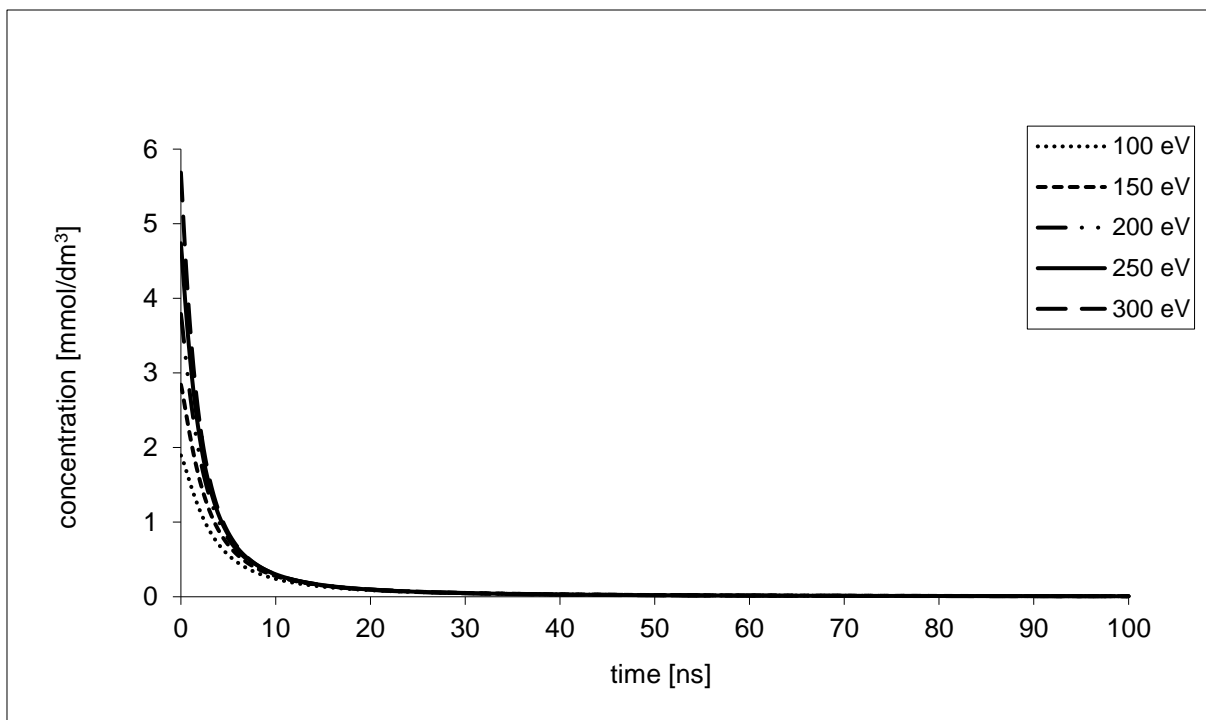




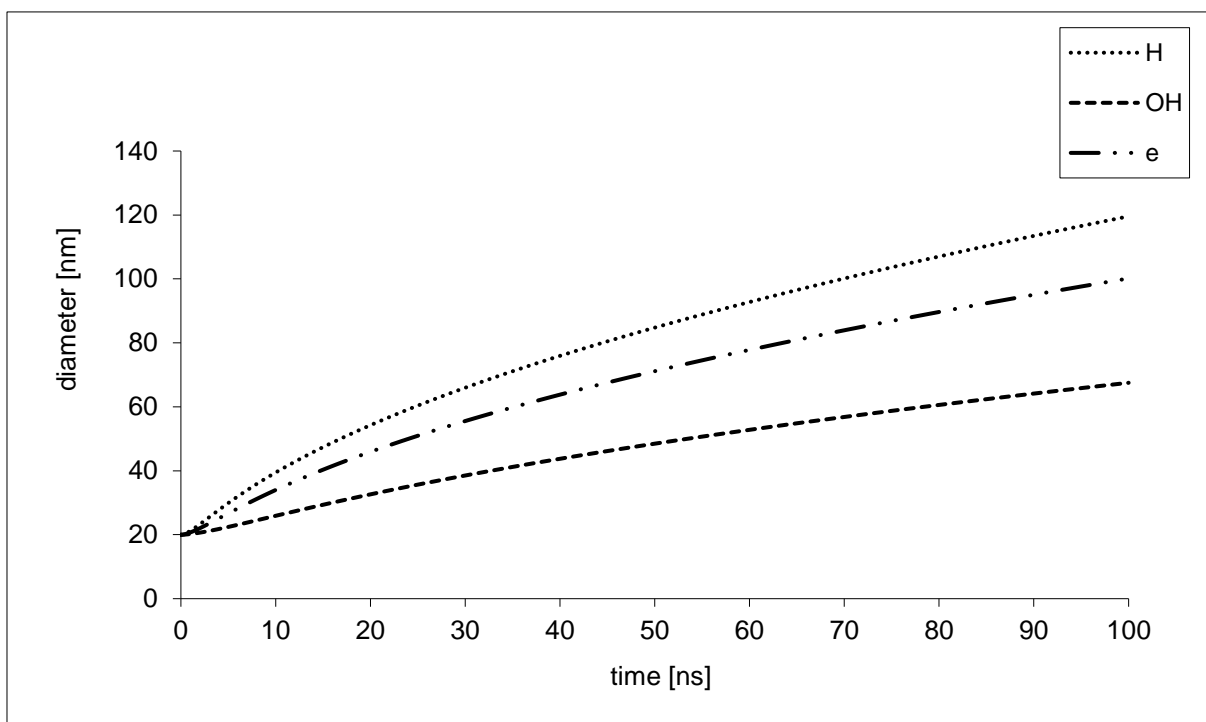
**Obrázek 6.6** Závislost koncentrace radikálu  $H$  na čase pro cluster o průměru 20 nm a různých energiích za anoxických podmínek



**Obrázek 6.7** Závislost koncentrace radikálu  $OH$  na čase pro cluster o průměru 20 nm a různých energiích za anoxických podmínek



**Obrázek 6.8** Závislost koncentrace hydratovaného elektronu na čase pro cluster o průměru 20 nm a různých energiích za anoxických podmínek



**Obrázek 6.9** Závislost průměru clusterů pro radikály  $H$ ,  $OH$  a hydratovaného elektronu  $e_{aq}^-$  v závislosti na čase

Vytvořený matematický model nám umožňuje simulovat chemickou fázi radiolýzy vody a získat tak časové závislosti koncentrace radikálů a ostatních látek v odpovídajících clusterech. Spojité Petriho sítě umožňují lépe simulovat současné procesy difuze clusteru a chemických reakcí v něm probíhajících. Model může být lehce rozšířen o vliv dalších látek, které mohou ovlivnit koncentraci radikálů během chemické fáze a tak působit jako radioprotektivní nebo radiosenzitivní látky. Z vodního roztoku DNA lze lehce přejít na studium radiobiologického účinku v živých buňkách (viz ALIZADEH a kol., 2011; ALIZADEH a SANCHE, 2012; VACCHELLI, 2013; YAN, 2016; ZHAO, 2015).

V této práci předpokládáme pro řešení difuze radikálového clusteru sférickou symetrii, což odpovídá ionizujícímu záření s nízkým lineárním přenosem energie. Model však může být lehce přizpůsoben i pro válcovou (cylindrickou) symetrii, která odpovídá ionizujícímu záření o vyšší energii.

### 6.3. Simulace vlivu kyslíku na chemickou fázi radiolýzy vody

V podkapitole 6.2 byla provedena podrobná analýza chemické fáze radiolýzy vody za anoxických podmínek. Pro studium chemické fáze radiolýzy vody má velmi důležitý vliv kyslík (kyslíkový efekt), protože kyslík je v živých buňkách stále přítomný. Zvláště důležitý je jeho vliv při radioterapii, protože v nádorových buňkách je jeho koncentrace nižší než v buňkách zdravých. Z tohoto důvodu je zajímavé zjistit, jak koncentrace kyslíku ovlivňuje dynamiku chemických reakcí a tím i účinek radikálového clusteru na poškození DNA.

Tento problém už byl studován pomocí optimalizačního modelu v práci (BARILLA a kol., 2013), kde na základě experimentálních dat byla zjištěna závislost počtu dvojných zlomů molekuly DNA na koncentraci kyslíku. Optimalizační procedurou byly zjištěny základní parametry modelu, které byly použity v podkapitole 6.2 pro nastavení počátečních podmínek Spojité Petriho sítě. Na základě simulace dynamiky chemických reakcí za současné difuze, pro clustery různých velikostí a energií, bylo zjištěno, že pro simulaci vlivu kyslíku na biologický účinek chemické fáze radiolýzy vody (pro záření s nízkým lineárním přenosem energie) je nejvhodnější radikálový cluster o průměru 20 nm a energii 300 eV.

Je-li ve vodním roztoku během ozařování přítomen kyslík, pak probíhají chemické reakce 18 a 19 (viz tabulka 6.2), které mají za následek úbytek radikálů  $H^\bullet$  a hydratovaného elektronu  $e_{aq}^-$  a naopak přírůstek radikálů  $HO_2^\bullet$ , který je vůči molekule DNA také agresivní. Pro velikost clusteru 20 nm a energii 300 eV byly použity tyto počáteční hodnoty výtěžností radikálů  $G^0$ :

$$N_H = 1.26, N_{OH} = 16.5, N_e = 14.34, N_{H_3O^+} = 14.34, N_{H_2} = 0.45.$$

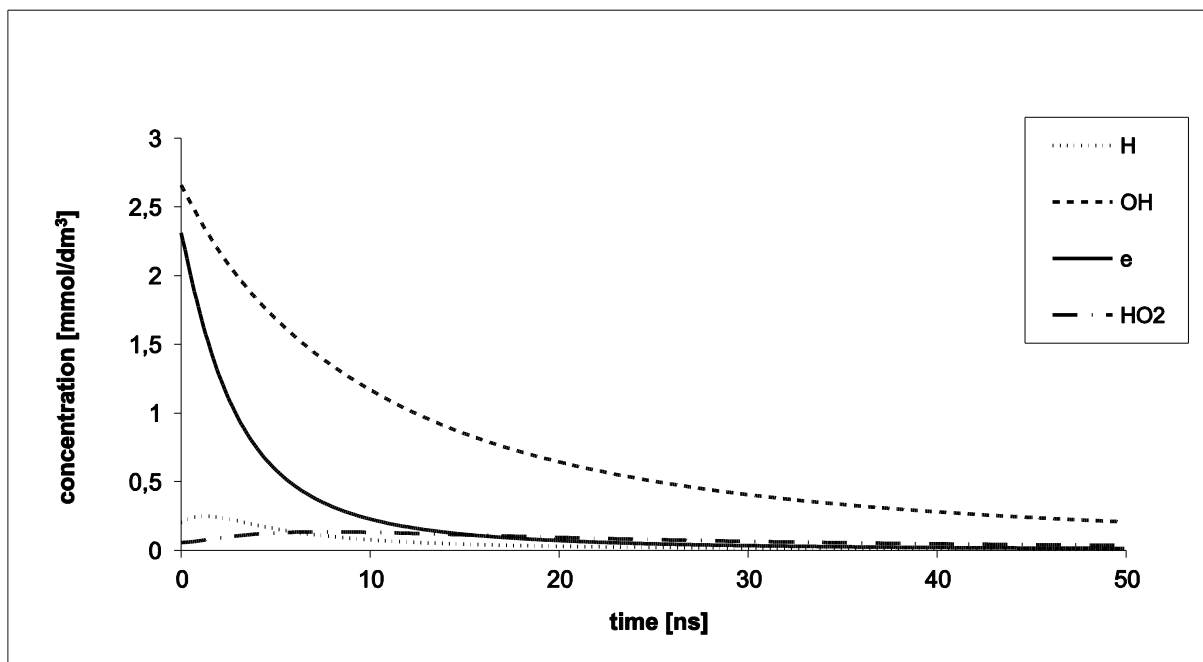
Ostatní počáteční parametry jsou stejné jako v podkapitole 6.2.

Pro studium koncentrační závislosti na čase byly vybrány radikály  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$ ,  $HO_2^\bullet$  a hydratovaný elektron  $e_{aq}^-$ . Tyto radikály a hydratovaný elektron mohou způsobit jednoduché a dvojnásobné zlomy na molekule DNA při interakci clusteru s touto biomolekulou. Na základě analýz v podkapitole 6.2 byl pro lepší názornost zvolen mezní čas 50 ns, při kterém už se koncentrace jednotlivých složek blíží k nule, a tudíž už nemohou způsobit poškození DNA. Analýzy byly provedeny za těchto podmínek:

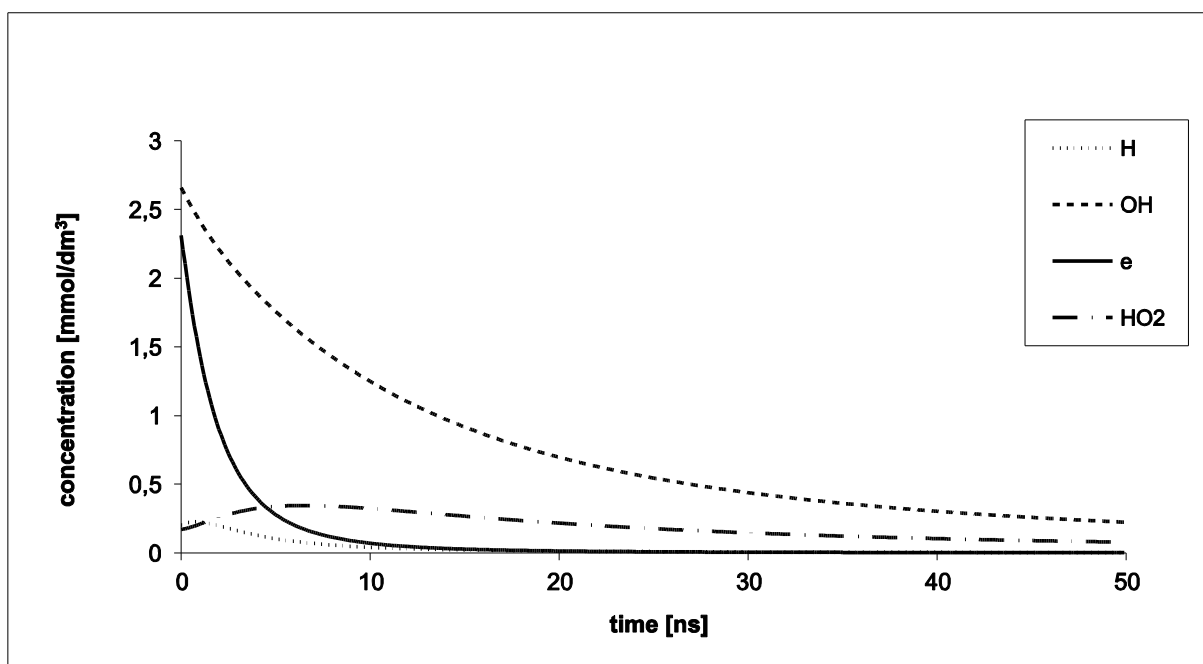
- Anoxické podmínky, kdy koncentrace kyslíku je nulová (viz obrázek 6.5).
- Nízká koncentrace kyslíku  $0.056 \text{ mmol.dm}^{-3}$  (viz obrázek 6.11).
- Střední koncentrace kyslíku  $0.171 \text{ mmol.dm}^{-3}$  (viz obrázek 6.12).
- Nasycený roztok kyslíkem při koncentraci  $0.284 \text{ mmol.dm}^{-3}$  (viz obrázek 6.13).

V matematickém modelu vytvořeném v podkapitole 6.1 (viz rovnice 6.1-6.92) byl vliv kyslíku uvažován. Nebyl pouze uvažován v simulačním modelu vytvořeném pomocí Spojitých Petriho sítí (viz obrázek 6.1), protože tento simulační model byl použit pro analýzy za anoxických podmínek. Pro simulaci vlivu kyslíku byl simulační model doplněn o další místa a přechody, které tento vliv zahrnují (viz obrázek 6.10). Difuzi molekul kyslíku můžeme zanedbat, protože kyslík je před ozářením ve vodě již přítomen.

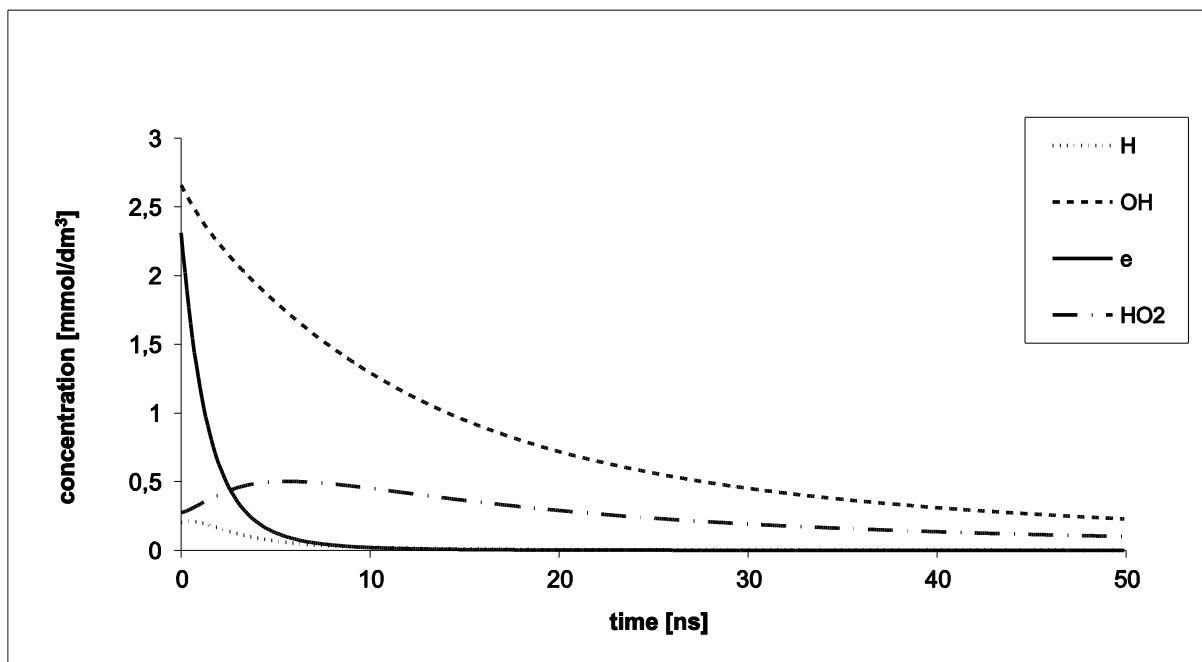




Obrázek 6.11 Závislost koncentrace radikálů na čase pro koncentraci kyslíku 0.056 mmol.dm<sup>-3</sup>



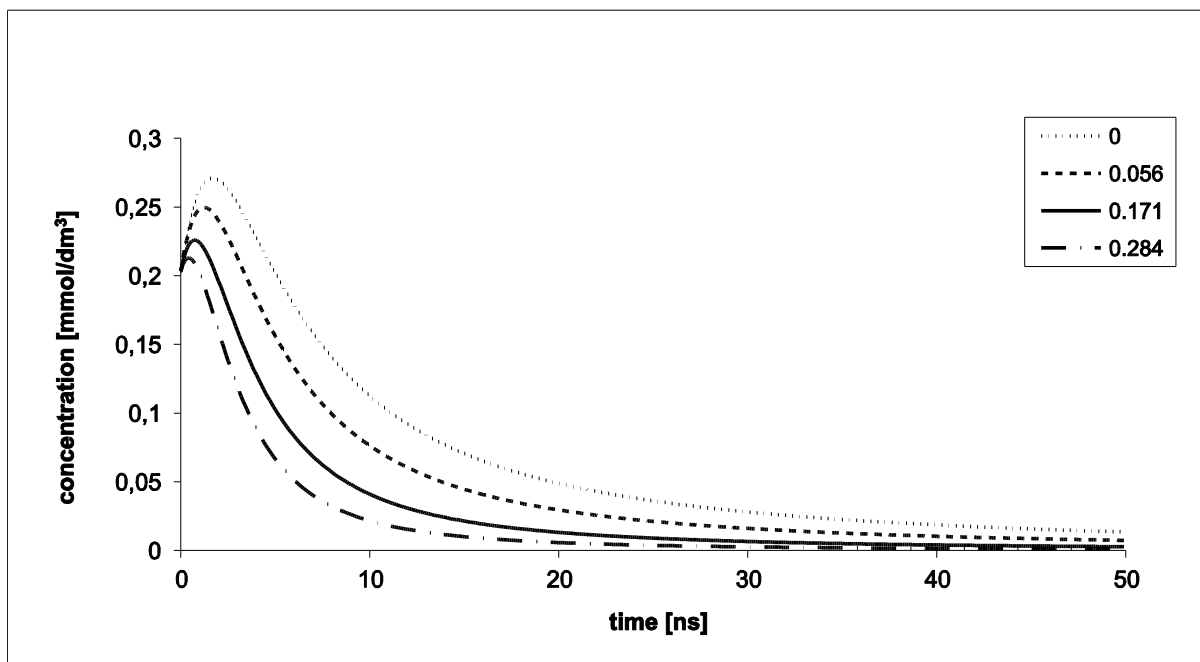
Obrázek 6.12 Závislost koncentrace radikálů na čase pro koncentraci kyslíku 0.171 mmol.dm<sup>-3</sup>



**Obrázek 6.13** Závislost koncentrace radikálů na čase pro koncentraci kyslíku 0.284 mmol.dm<sup>-3</sup>

Ze závislostí koncentrace radikálů na čase pro různé koncentrace kyslíku (viz obrázky 6.5, 6.11 – 6.13) můžeme usoudit, že **jednoduché a dvojně zlomy molekuly DNA způsobuje hlavně radikál  $OH^\bullet$** , jehož koncentrace je výrazně vyšší než u ostatních radikálů a hydratovaných elektronů. Na obrázku 6.15 vidíme, že jeho koncentrace s narůstající koncentrací kyslíku mírně stoupá.

Druhou největší koncentraci má hydratovaný elektron  $e_{aq}^-$ , ale jeho koncentrace prudce klesá, takže v době střetu radikálového clusteru s molekulou DNA už není příliš vysoká, a tudíž hydratované elektrony už nemají tak velkou biologickou účinnost jako radikály  $OH^\bullet$ . Na obrázku 6.16 můžeme vidět, že jeho koncentrace s narůstající koncentrací kyslíku klesá, což je způsobeno zejména reakcí 18 (viz tabulka 6.2), ve které kyslík reaguje s hydratovanými elektrony.



**Obrázek 6.14** Závislost koncentrace radikálů  $H$  na čase pro různé koncentrace kyslíku [ $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ]

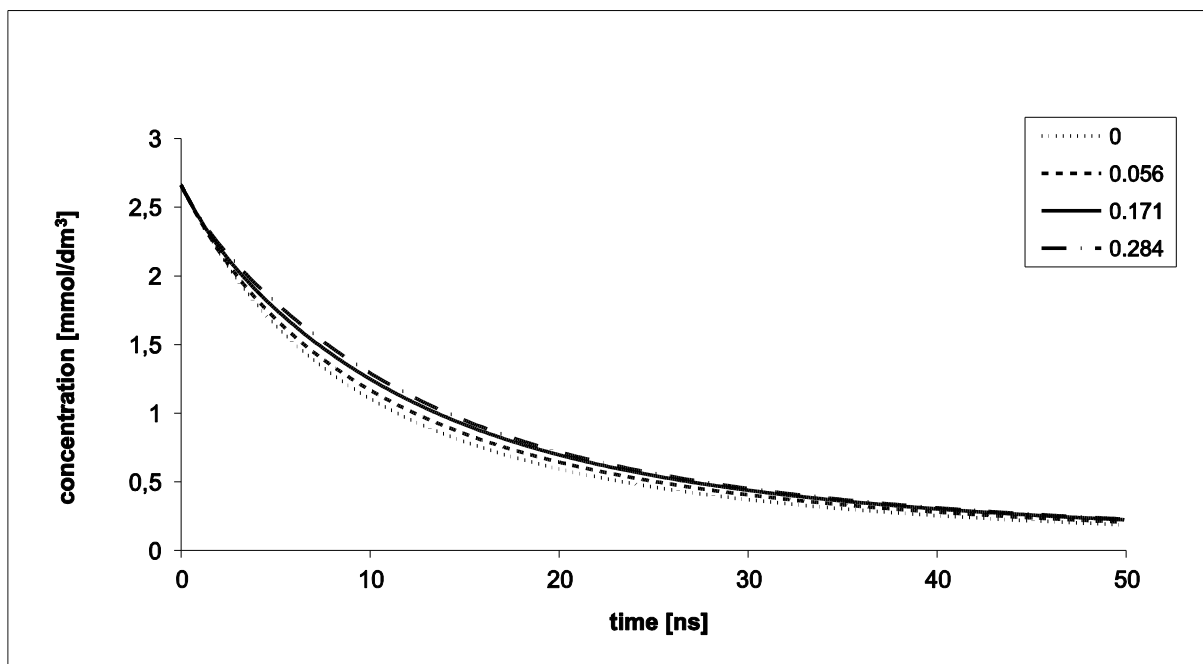
Radikály  $H^\bullet$  mají příliš nízkou koncentraci, aby mohli způsobit poškození molekuly DNA. Jejich koncentrace s rostoucí koncentrací kyslíku klesá (viz obrázek 6.14), protože kyslík reaguje s radikály  $H^\bullet$  podle reakce 19 (viz tabulka 6.2).

Větší význam, než radikály  $H^\bullet$  a hydratované elektrony  $e_{aq}^-$  mají radikály  $HO_2^\bullet$ , jejichž koncentrace s vrůstající koncentrací kyslíku stoupá (viz obrázek 6.17), zejména v důsledku reakce 19 (viz tabulka 6.2). Tyto radikály mají v době cca od 5 ns druhou největší koncentraci (viz obrázek 6.13), a tudíž mohou způsobit jednoduché a dvojné zlomy na molekule DNA.

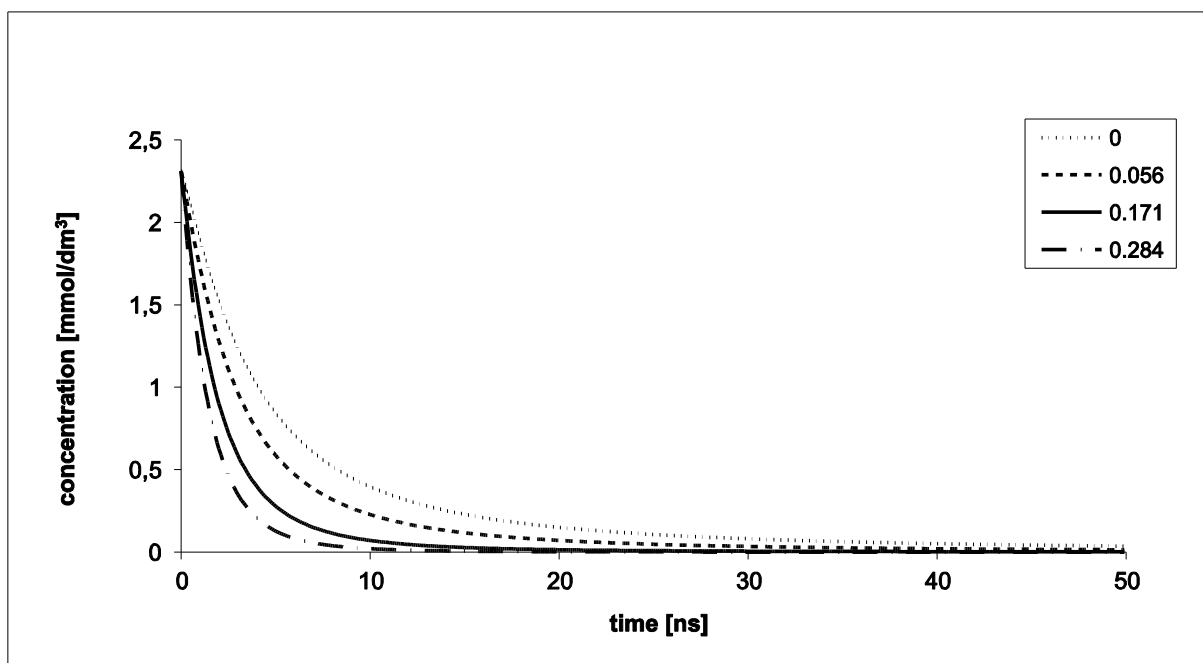
Kyslík tedy hraje v chemické fázi radiobiologického mechanismu dvojí roli:

1. Při nízké koncentraci působí jako radioprotektivní látka tím, že vycytává hydratované elektrony  $e_{aq}^-$  a agresivní radikály  $H^\bullet$  podle rovnic 18 a 19 (viz tabulka 6.2) a tím jejich účinek na poškození DNA snižuje.
2. Při vyšší koncentraci vznikají agresivní radikály  $HO_2^\bullet$  podle rovnic 11 a 19 (viz tabulka 6.2), které způsobují jednoduché a dvojné zlomy na molekule DNA.

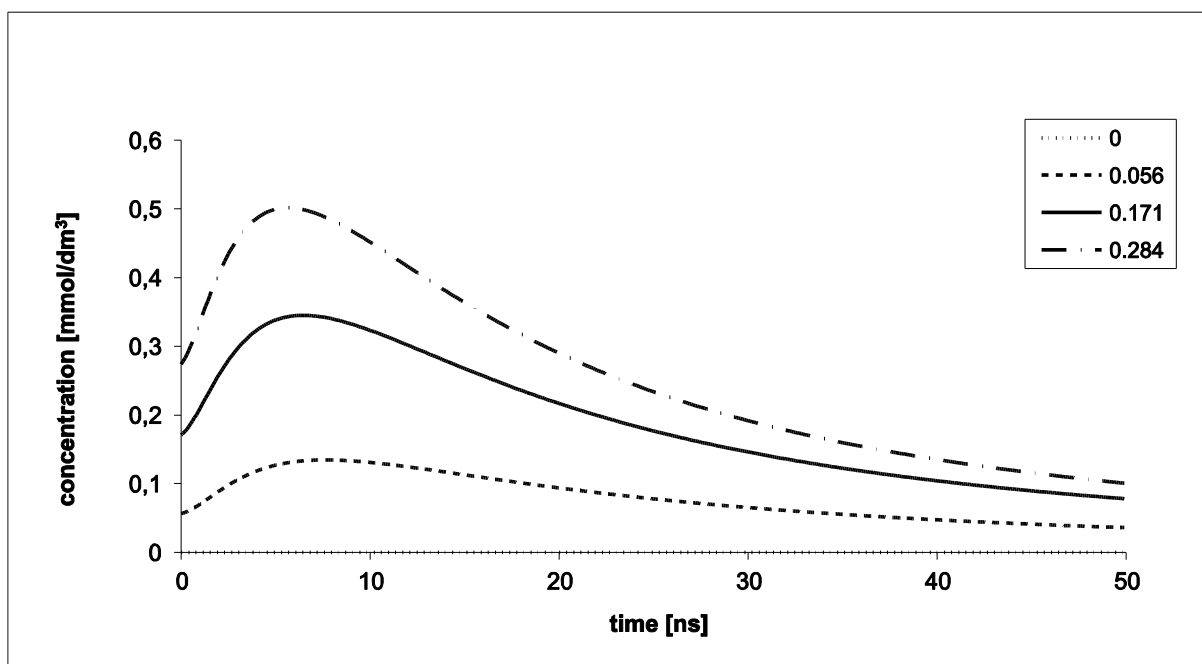




Obrázek 6.15 Závislost koncentrace radikálů *OH* na čase pro různé koncentrace kyslíku [mmol.dm<sup>-3</sup>]



Obrázek 6.16 Závislost koncentrace hydratovaného elektronu na čase pro různé koncentrace kyslíku [mmol.dm<sup>-3</sup>]

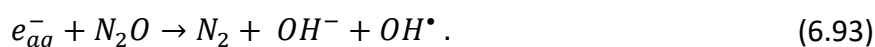


Obrázek 6.17 Závislost koncentrace radikálů  $HO_2$  na čase pro různé koncentrace kyslíku  $[mmol \cdot dm^{-3}]$

#### 6.4. Simulace vlivu $N_2O$ na chemickou fázi radiolýzy vody

Vedle kyslíku má také velký vliv na studium chemické fáze radiobiologického mechanismu **kysličník dusný  $N_2O$** , který se používá v lékařství a je mnohem více rozpustný ve vodě než kyslík. Jeho vliv na poškození molekuly DNA byl studován v práci (BARILLA a LOKAJÍČEK, 2000). Zde bude provedena podrobnější analýza pomocí Spojitých Petriho sítí.

Je-li ve vodním roztoku během ozařování ionizujícím zářením přítomen  $N_2O$ , pak je významná jeho reakce s hydratovanými elektrony  $e_{aq}^-$  podle reakce



Při této reakci vznikají agresivní radikály  $OH^\bullet$ , které mají větší účinek na poškození DNA, než hydratovaný elektron (viz podkapitoly 6.2 a 6.3). Současně  $N_2O$  vychytává hydratované elektrony  $e_{aq}^-$ . Rychlostní konstanta této reakce je  $k_{20} = 9.1 \cdot 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (viz SONNTAG, 1987; TAKAHASHI a kol., 2004).

Dynamiku chemických reakcí spolu s difuzí clusteru můžeme popsat soustavou obyčejných diferenciálních rovnic, ve které už bude zahrnut vliv  $N_2O$ . Ve tvaru:

$$\begin{aligned} \frac{dN_H}{dt} = & T_H - T_{(H+H)} - T_{(H+OH)} - T_{(H+e)} - T_{(H+H_2O_2)} - T_{(H+HO_2)} - T_{(H+O_2)} \\ & + T_{(e+H_3O^+)}^{(H)} + T_{(OH+H_2)}^{(H)} \end{aligned} \quad (6.94)$$

$$\begin{aligned} \frac{dN_{OH}}{dt} = & T_{OH} - T_{(OH+H)} - T_{(OH+OH)} - T_{(OH+e)} - T_{(OH+H_2)} - T_{(OH+H_2O_2)} - T_{(OH+HO_2)} \\ & + T_{(H+H_2O_2)}^{(OH)} + T_{(e+H_2O_2)}^{(OH)} + T_{(e+N_2O)}^{(OH)} \end{aligned} \quad (6.95)$$

$$\begin{aligned} \frac{dN_e}{dt} = & T_e - T_{(e+H)} - T_{(e+OH)} - T_{(e+e)} - T_{(e+H_3O^+)} - T_{(e+H_2O_2)} - T_{(e+O_2)} \\ & - T_{(e+N_2O)} \end{aligned} \quad (6.96)$$

$$\frac{dN_{H_3O^+}}{dt} = T_{H_3O^+} - T_{(H_3O^++e)} - T_{(H_3O^++OH^-)} - T_{(H_3O^++O_2^-)} + T_{(HO_2)}^{(H_3O^+)} \quad (6.97)$$

$$\frac{dN_{OH^-}}{dt} = T_{OH^-} - T_{(OH^-+H_3O^+)} + T_{(H+e)}^{(OH^-)} + T_{(OH+e)}^{(OH^-)} + T_{(e+e)}^{(OH^-)} + T_{(e+H_2O_2)}^{(OH^-)} \quad (6.98)$$

$$\frac{dN_{H_2}}{dt} = T_{H_2} - T_{(H_2+OH)} + T_{(H+H)}^{(H_2)} + T_{(H+e)}^{(H_2)} + T_{(e+e)}^{(H_2)} \quad (6.99)$$

$$\begin{aligned} \frac{dN_{H_2O_2}}{dt} = & T_{H_2O_2} - T_{(H_2O_2+H)} - T_{(H_2O_2+OH)} - T_{(H_2O_2+e)} + T_{(H+HO_2)}^{(H_2O_2)} + T_{(OH+OH)}^{(H_2O_2)} \\ & + T_{(HO_2+HO_2)}^{(H_2O_2)} \end{aligned} \quad (6.100)$$

$$\frac{dN_{O_2^-}}{dt} = T_{O_2^-} - T_{(O_2^-+H_3O^+)} + T_{(e+O_2)}^{(O_2^-)} + T_{(HO_2)}^{(O_2^-)} \quad (6.101)$$

$$\begin{aligned} \frac{dN_{HO_2}}{dt} = & T_{HO_2} - T_{(HO_2+H)} - T_{(HO_2+OH)} - T_{(HO_2+HO_2)} \\ & - T_{(HO_2)} + T_{(H+O_2)}^{(HO_2)} + T_{(OH+H_2O_2)}^{(HO_2)} + T_{(H_3O^++O_2^-)}^{(HO_2)} \end{aligned} \quad (6.102)$$

$$\frac{dN_{O_2}}{dt} = -T_{(O_2+H)} - T_{(O_2+e)} + T_{(OH+HO_2)}^{(O_2)} + T_{(HO_2+HO_2)}^{(O_2)} \quad (6.103)$$

$$\frac{dN_{N_2O}}{dt} = -T_{(e+N_2O)} \quad (6.104)$$

Pro časovou změnu objemů  $V_H, V_{OH}, V_e, V_{H_3O^+}, V_{OH^-}, V_{H_2}, V_{H_2O_2}, V_{O_2^-}$  a  $V_{HO_2}$  použijeme soustavu obyčejných diferenciálních rovnic (6.11) – (6.19).

Také zůstávají v platnosti přechody Petriho sítě (6.20) – (6.92). K těmto přechodům musíme přidat přechody, které zajistí časovou změnu látek  $e_{aq}^-, N_2O, OH^-$  a  $OH^\bullet$  probíhající podle chemické reakce (6.93). Tyto přechody vyjádříme ve tvaru:

$$T_{(e+N_2O)}^{(OH)} = k_{20} V_{OH}(t) \frac{N_e(t) N_{N_2O}(t)}{V_e(t) V_{N_2O}(t)}. \quad (6.105)$$

$$T_{(e+N_2O)} = k_{20} \frac{N_e(t) N_{N_2O}(t)}{V_e(t)}. \quad (6.106)$$

Pro velikost clusteru 20 nm a energii 300 eV byly použity tyto počáteční hodnoty výtěžností radikálů  $G_0$ :

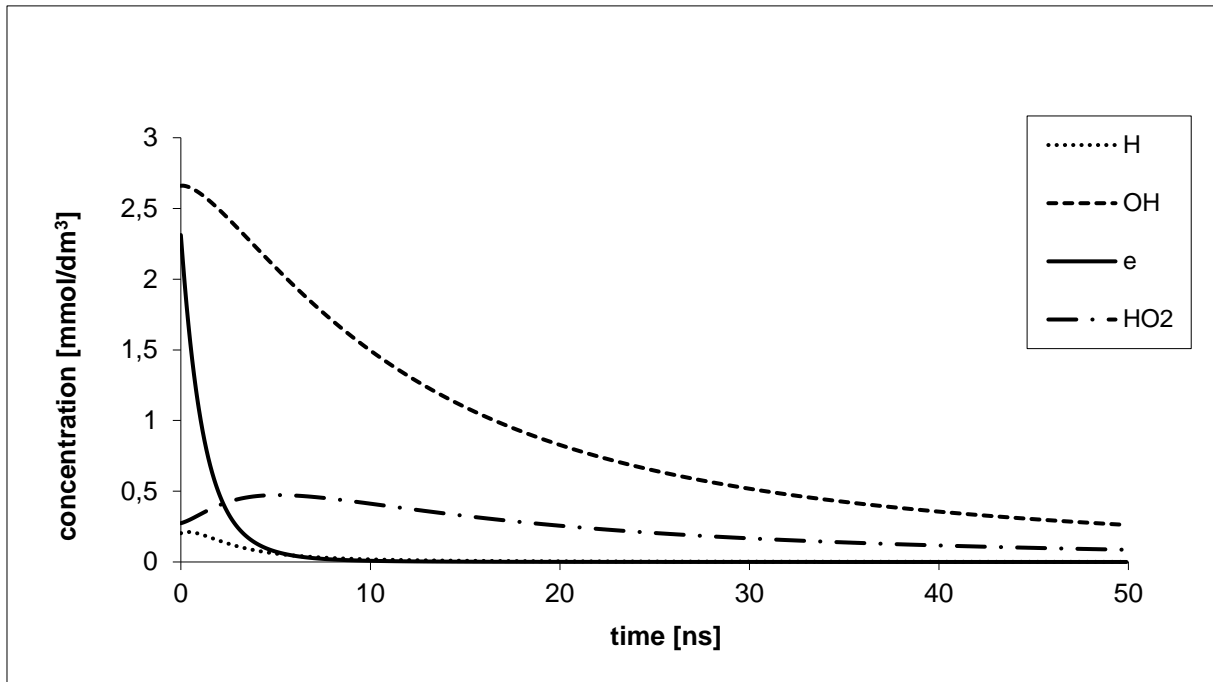
$$N_H = 1.26, N_{OH} = 16.5, N_e = 14.34, N_{H_3O^+} = 14.34, N_{H_2} = 0.45.$$

Ostatní počáteční parametry jsou stejné jako v podkapitole 6.3.

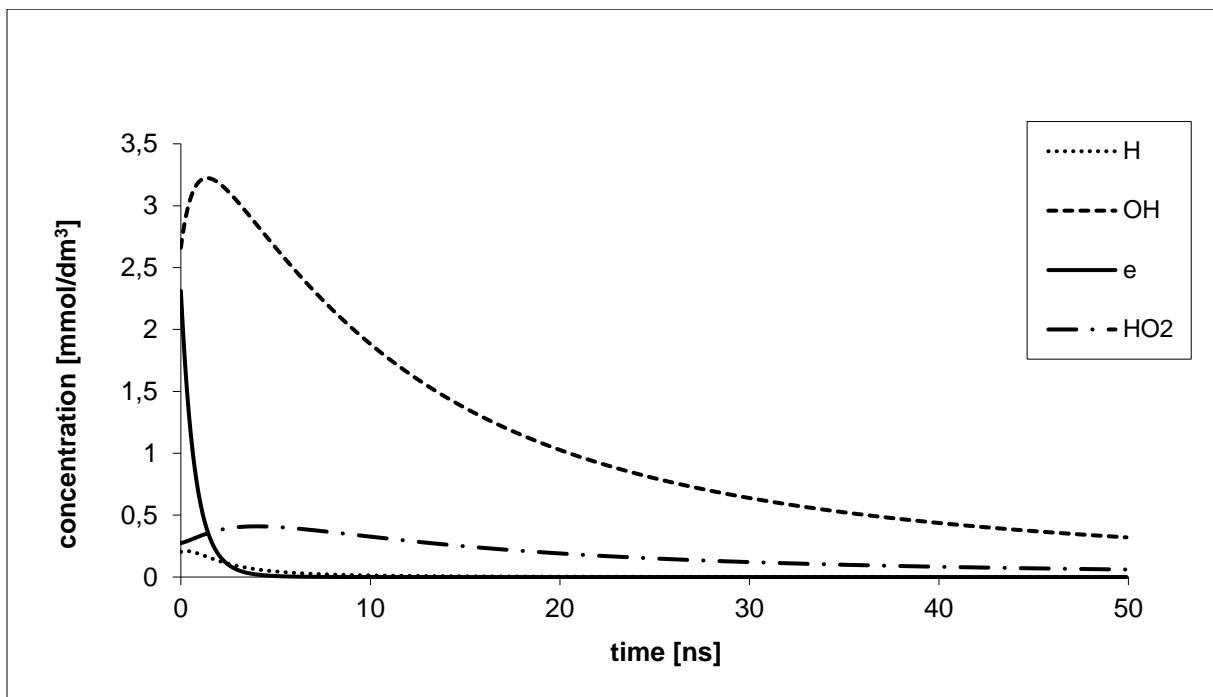
Stejně jako v odstavci 6.4 byly pro sledování koncentrační závislosti na čase vybrány radikály  $H^\bullet, OH^\bullet, HO_2^\bullet$  a hydratované elektrony  $e_{aq}^-$ , které mohou způsobit jednoduché a dvojné zlomy na molekule DNA. Čas 50 ns je pro grafické znázornění dostačující, protože se v tomto čase koncentrace jednotlivých složek blíží k nule, a tudíž už nemohou způsobit poškození molekuly DNA. Analýzy byly provedeny při nasyceném roztoku kyslíkem (viz podkapitola 6.3) od nulové koncentrace  $N_2O$  až po nasycený roztok  $24.161 \text{ mmol.dm}^{-3}$  (viz YOUNG, 1981):

- Nulová koncentrace  $N_2O$  (viz obrázek 6.13).
- Koncentrace  $N_2O$   $1.660 \text{ mmol.dm}^{-3}$  (viz obrázek 6.18).

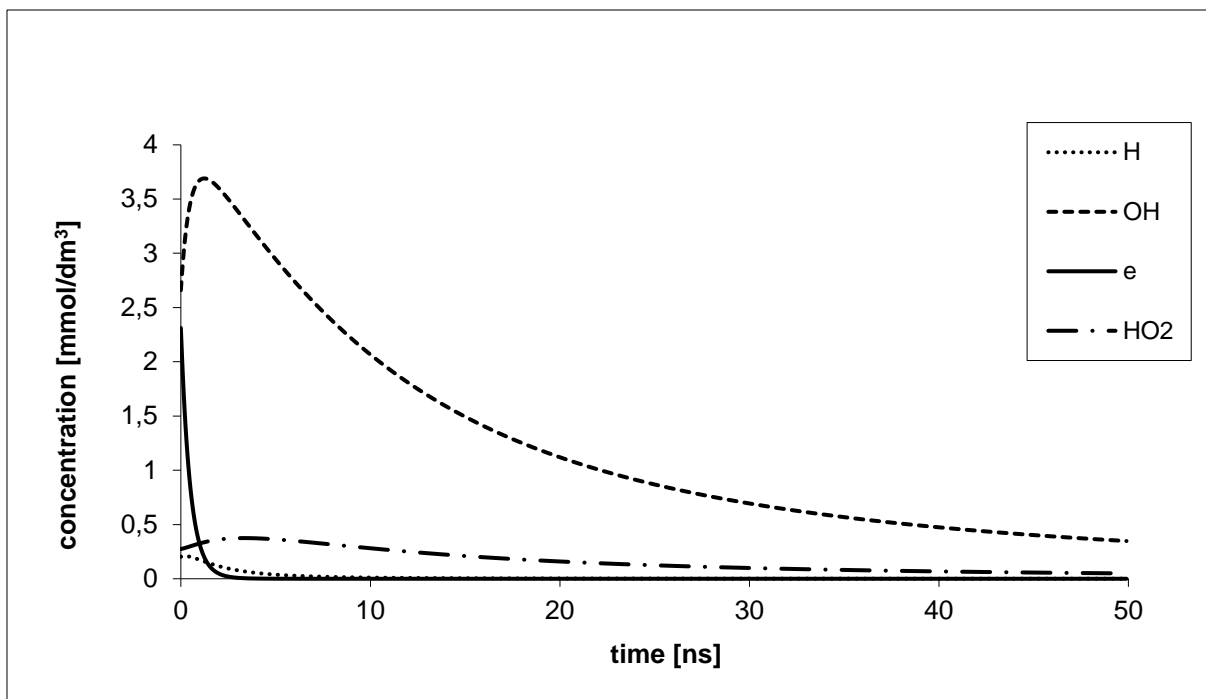
- Koncentrace  $N_2O$  8.303  $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (viz obrázek 6.19).
- Koncentrace  $N_2O$  16.605  $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (viz obrázek 6.20).
- Koncentrace  $N_2O$  24.161  $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (viz obrázek 6.21).



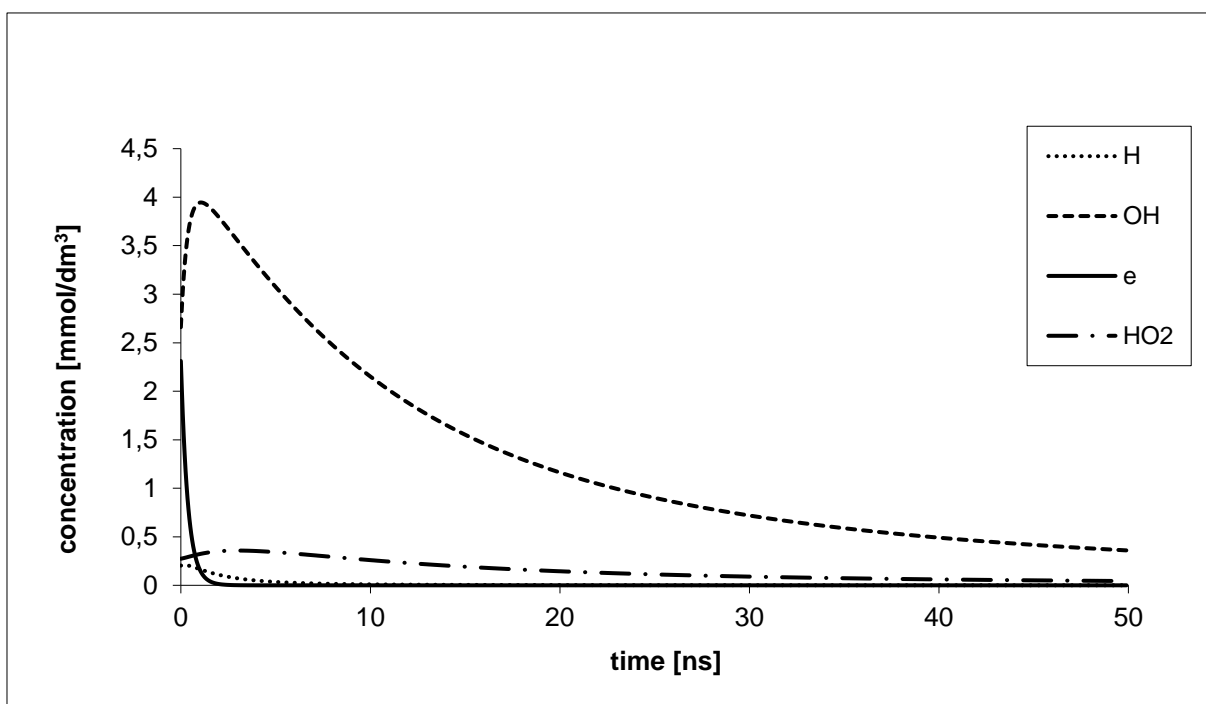
Obrázek 6.18 Závislost koncentrace radikálů na čase pro koncentraci  $N_2O$  1.660  $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$



Obrázek 6.19 Závislost koncentrace radikálů na čase pro koncentraci  $N_2O$  8.303  $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$



Obrázek 6.20 Závislost koncentrace radikálů na čase pro koncentraci  $N_2O$  16.605 mmol.dm<sup>-3</sup>

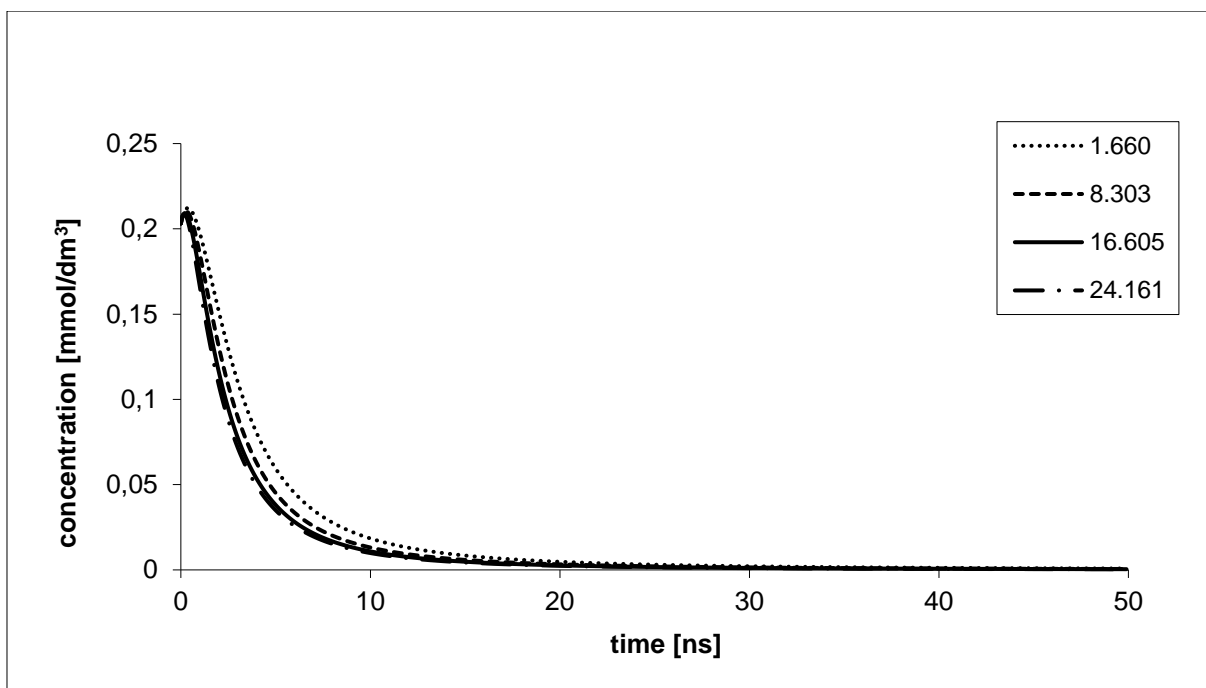


Obrázek 6.21 Závislost koncentrace radikálů na čase pro koncentraci  $N_2O$  24.161 mmol.dm<sup>-3</sup>

Ze závislostí koncentrace radikálů na čase pro různé koncentrace  $N_2O$  (viz obrázky 6.13, 6.18 – 6.21) můžeme usoudit, že jednoduché a dvojně zlomy molekuly DNA způsobují hlavně radikály  $OH^\bullet$ , jejichž koncentrace je výrazně vyšší než u ostatních radikálů a hydratovaného elektronu. Jeho koncentrace roste se zvyšující se koncentrací  $N_2O$  (viz obrázek 6.23). Z toho

lze usoudit, že přítomnost  $N_2O$  při ozařování buněk ionizujícím zářením má za následek větší poškození DNA.

Druhou největší koncentraci má hydratovaný elektron  $e_{aq}^-$ , ale jeho koncentrace prudce klesá, takže v době střetu radikálového clusteru s molekulou DNA už není příliš vysoká, a tudíž hydratované elektrony už nemají tak velkou biologickou účinnost jako radikály  $OH^\bullet$ . Na obrázku 6.24 vidíme, že se stoupající koncentrací  $N_2O$  klesá koncentrace hydratovaného elektronu. To je způsobeno reakcí (6.93), ze které vyplývá, že  $N_2O$  vychytává hydratované elektrony  $e_{aq}^-$ .

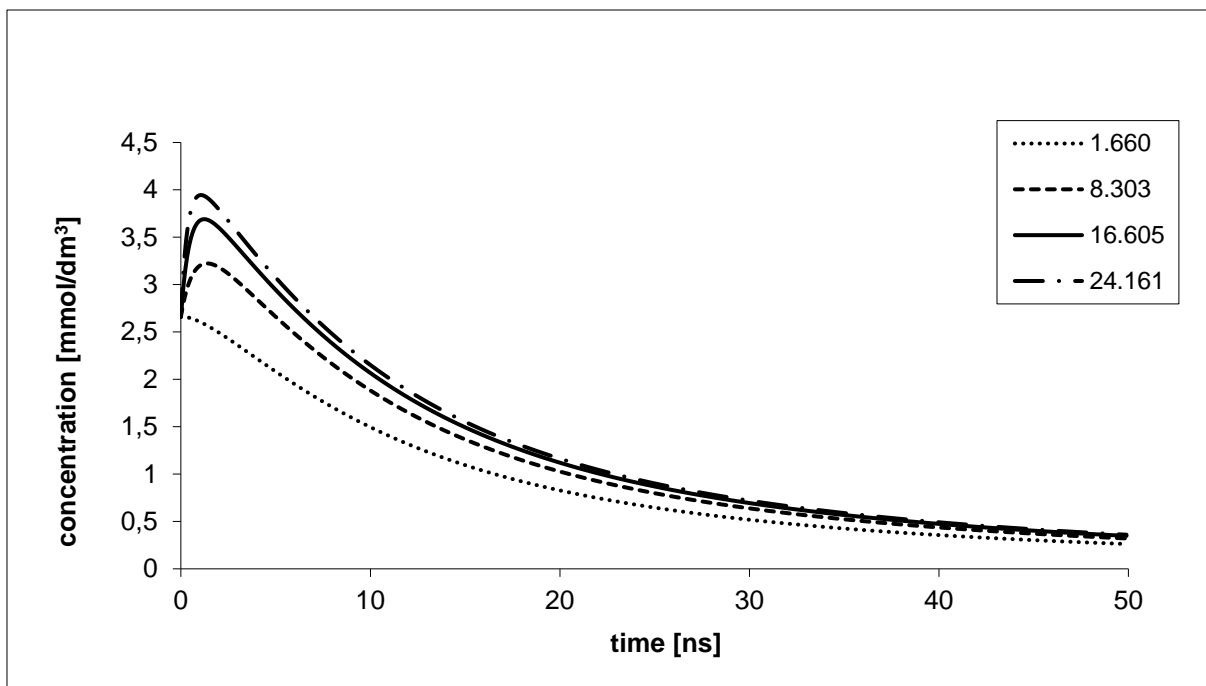


**Obrázek 6.22** Závislost koncentrace radikálů  $H$  na čase pro různé koncentrace  $N_2O$  [mmol.dm<sup>-3</sup>]

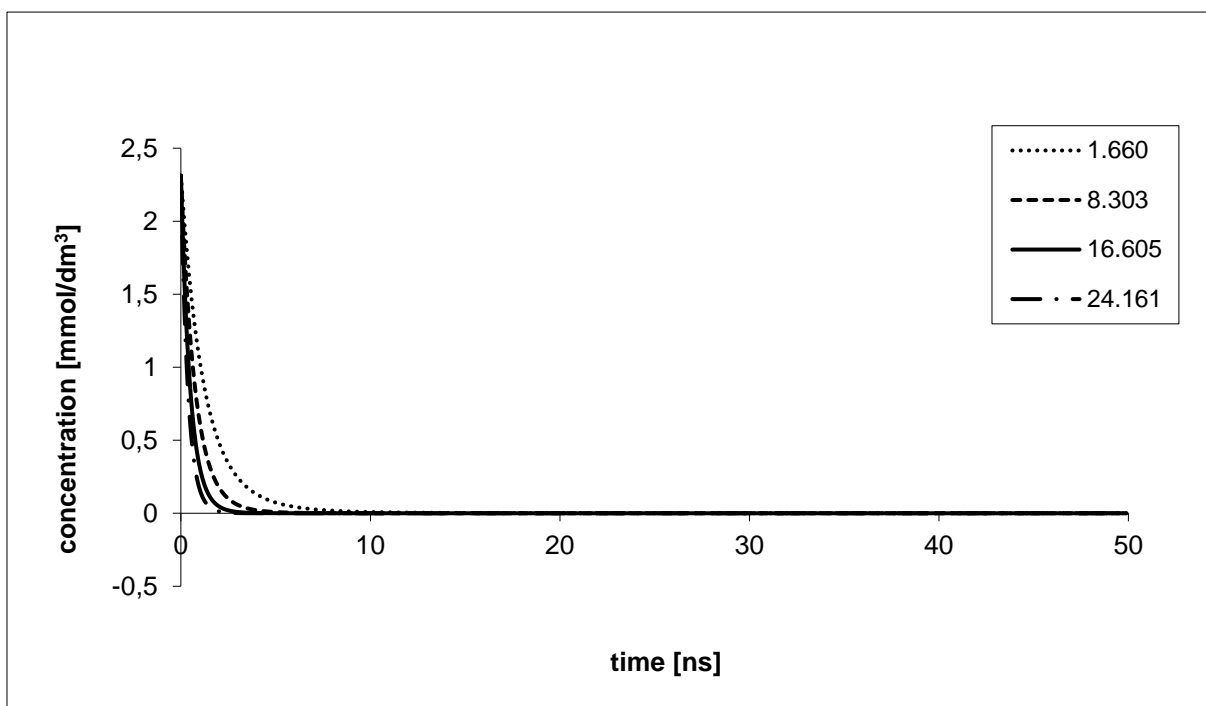
Radikály  $H^\bullet$  mají příliš nízkou koncentraci, aby mohli způsobit poškození molekuly DNA. Jejich koncentrace s rostoucí koncentrací  $N_2O$  klesá (viz obrázek 6.22).

Větší význam, než radikály  $H^\bullet$  a hydratované elektrony  $e_{aq}^-$  mají radikály  $HO_2^\bullet$ , jejichž koncentrace s vrůstající koncentrací  $N_2O$  také klesá (viz obrázek 6.25). Tyto radikály mají v době cca od 3 ns druhou největší koncentraci, a tudíž mohou způsobit jednoduché a dvojné zlomy na molekule DNA.

Na základě provedených analýz lze učinit závěr, že  $N_2O$  způsobuje nárůst koncentrace radikálu  $OH^\bullet$ , který má největší účinek na poškození molekuly DNA. Z toho vyplývá, že za přítomnosti  $N_2O$  v buňkách bude jejich poškození ionizujícím zářením větší.

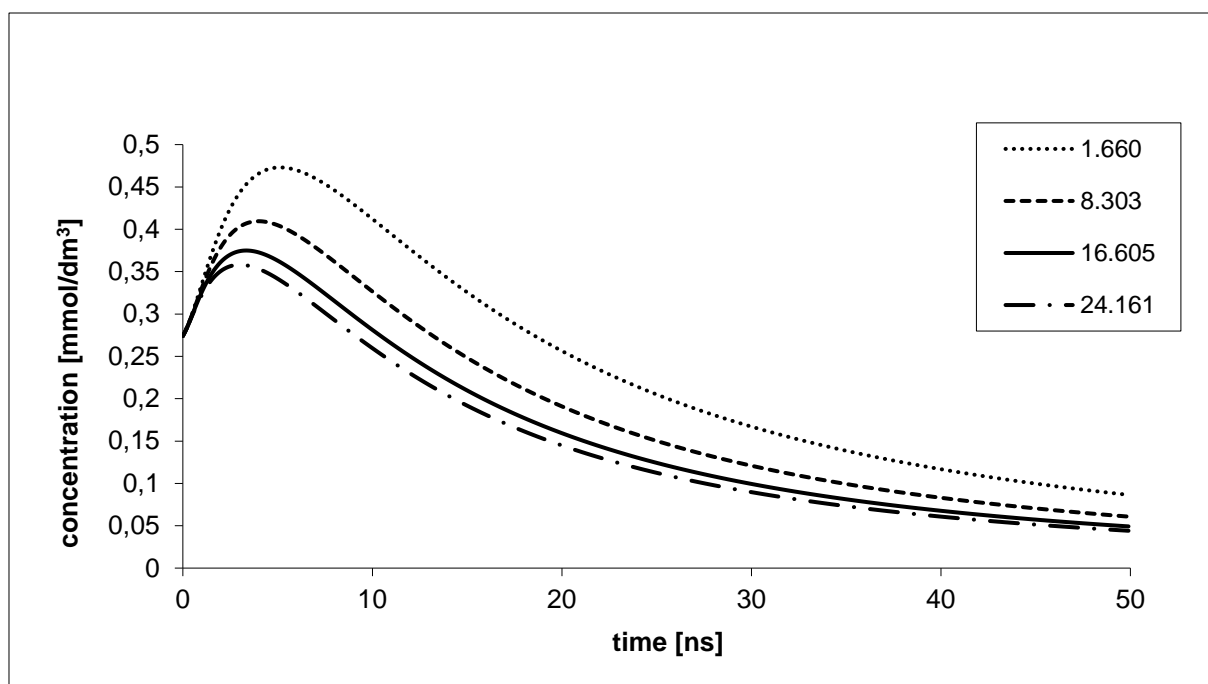


**Obrázek 6.23** Závislost koncentrace radikálů *OH* na čase pro různé koncentrace N<sub>2</sub>O [mmol.dm<sup>-3</sup>]



**Obrázek 6.24** Závislost koncentrace hydratovaného elektronu na čase pro různé koncentrace N<sub>2</sub>O [mmol.dm<sup>-3</sup>]





**Obrázek 6.25** Závislost koncentrace radikálů  $\text{HO}_2$  na čase pro různé koncentrace  $\text{N}_2\text{O}$  [ $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ]

## 6.5. Zhodnocení výsledků dosažených pomocí Petriho sítí

Pro ověření našeho simulačního modelu bylo důležité, abychom za stejných počátečních výtěžností  $G^0$  dostali po skončení chemické fáze výtěžnosti  $G$ , které jsou v dobré shodě s experimentálními výsledky. V tabulce 6.3 a na obrázku 6.2 můžeme vidět dobrou shodu výsledků získaných simulačním modelem s experimentálními daty. Ověření modelu bylo provedeno za anoxických podmínek.

Pro studium účinku záření na biologické objekty je důležitá koncentrace radikálů v radikálovém clusteru, protože pouze dostatečná koncentrace radikálů může způsobit poškození molekuly DNA. Z tohoto důvodu je důležitější závislost koncentrace radikálů na čase než závislost počtu radikálů na čase, která je znázorněna na obrázku 6.2. Na obrázcích 6.3 až 6.9 jsou koncentrační závislosti radikálů na čase pro různé energie clusterů, což umožnilo provést analýzu účinnosti těchto clusterů na poškození DNA. Ve shodě s výsledky naší práce (BARILLA a kol., 2013), jsme v další analýze předpokládali, že průměrný rozměr clusteru je 20 nm a jeho energie odpovídá 300 eV. Z obrázků 6.5, 6.13 a 6.21 můžeme určit, že největší vliv na tvorbu jednoduchých a dvojných zlomů molekuly DNA má radikál  $\text{OH}$ , což je ve shodě s experimentálně zjištěnými skutečnostmi.

V podkapitole 6.3 byl pomocí navrženého simulačního modelu zkoumán vliv kyslíku na chemickou fázi radiobiologického mechanismu, protože kyslík je v živých buňkách vždy

přítomen. Na obrázcích 6.11 až 6.13 jsou uvedeny koncentrace radikálů a hydratovaného elektronu na čase při třech různých koncentracích kyslíku v roztoku a na obrázcích 6.14 až 6.17 jsou uvedeny výsledky pro jednotlivé radikály a hydratovaný elektron. Ze získaných informací lze usoudit, že kyslík neovlivňuje příliš koncentraci radikálů  $OH$ , nepatrně ovlivňuje koncentraci radikálů  $H$  a hydratovaného elektronu a výrazně ovlivňuje koncentraci kyslíkového radikálu  $HO_2$ , který také způsobuje poškození molekuly DNA. Na základě těchto analýz lze vysvětlit tzv. kyslíkový efekt; kyslík má dvojitý účinek: při nízké koncentraci vychytává agresivní radikály a při vyšší koncentraci způsobuje vznik radikálů  $HO_2$ .

V podkapitole 6.4 byl pomocí simulačního modelu zkoumán vliv  $N_2O$  na chemickou fázi radiobiologického mechanismu při nasyceném roztoku kyslíkem. Zkoumání vlivu  $N_2O$  je také velice důležité, protože  $N_2O$  se v lékařství používá a jak jsme viděli, může ovlivnit účinek ionizujícího záření na živé buňky. Na obrázcích 6.18 až 6.21 jsou uvedeny koncentrace radikálů a hydratovaného elektronu na čase při čtyřech různých koncentracích  $N_2O$  v roztoku a na obrázcích 6.22 až 6.25 byl sledován vliv jednotlivých radikálů a hydratovaného elektronu. Na základě těchto závislostí lze usoudit, že poškození molekuly DNA způsobují hlavně radikály  $OH$ , jejichž koncentrace je výrazně vyšší než u ostatních radikálů a hydratovaného elektronu a se zvyšující se koncentrací  $N_2O$  stoupá. Radikály  $H$  a hydratovaný elektron mají velice nízkou koncentraci a tudíž na tvorbu jednoduchých a dvojných zlomů takřka nemají vliv. Určitý vliv může mít pouze radikál  $HO_2$ , jehož koncentrace se zvyšující se koncentrací  $N_2O$  klesá. Na radikály  $H$  a hydratovaný elektron nemá koncentrace  $N_2O$  příliš vliv.

## 7. Shrnutí a závěr

Hlavním cílem habilitační práce bylo vytvořit matematický model chemické fáze radiolýzy vody, pomocí kterého by bylo možné studovat interakci ionizujícího záření s molekulou DNA, protože právě studium biologického účinku produktů radiolýzy vody má velký význam v biotechnologii, radioterapii a ochraně proti ionizujícímu záření. V práci jsem se zaměřil na chemickou fázi radiolýzy vody, protože u záření s nízkým LPE dochází k poškození molekuly DNA tzv. nepřímým účinkem, kdy vznikají jednoduché a dvojně zlomy reakcí radikálů  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$ ,  $HO_2^\bullet$  a hydratovaných elektronů  $e_{aq}^-$  s touto molekulou. Z tohoto důvodu je důležité sledovat dynamiku celého chemického procesu za současné difuze, kdy po předání energie ionizující částicí dochází ke vniku výše uvedených radikálů a hydratovaných elektronů, které reagují mezi sebou a s molekulami v okolí za současné difuze. Chemickými reakcemi a difuzí dochází ke snižování jejich koncentrace. K tomu, aby vznikl jednoduchý nebo dvojný zlom na molekule DNA, je zapotřebí, aby se radikálový cluster setkal s molekulou DNA ještě v době, kdy bude dostatečná koncentrace radikálů.

Hlavním výsledkem této práce jsou proto závislosti koncentrace radikálů na čase, které mohou být dále ovlivněny přítomností dalších přídavných látek. Na základě těchto závislostí lze zkoumat, jak veliký musí být radikálový cluster (jak velká musí být energie předaná clusteru) a jak musí být cluster vzdálen od molekuly DNA, aby mohl být účinný (aby vznikly jednoduché a dvojně zlomy na molekule DNA).

V kapitole 5 je navržen obecný matematický model difuze a rekombinace radikálů, který popisuje dynamiku chemických reakcí za současné difuze, pomocí soustavy obyčejných diferenciálních rovnic. Pro záření s nízkým LET je předpokládána sférická symetrie. Řešení tohoto matematického modelu není časově náročné, což umožňuje řešit složité dynamické systémy za současné optimalizace parametrů modelu.

Šestá kapitola se zabývá simulací chemické fáze radiolýzy vody pomocí Spojitých Petriho sítí. Pomocí Petriho sítí byl vytvořen matematický model, který umožňuje podrobně analyzovat chemickou fázi radiolýzy vody. Nejprve byl model otestován za anoxických podmínek na experimentálních datech, aby byla ověřena jeho věrohodnost. Hodnoty uvedené v tabulce 6.3 a na obrázku 6.2 ukazují, že výsledky získané pomocí našeho simulačního modelu jsou v dobré shodě s experimentálními daty, z čehož vyplývá, že daný model je dostatečně přesný pro další analýzy. Nejdříve byly za anoxických podmínek pomocí koncentračních závislostí radikálů na čase zkoumány clusterly odpovídající různým hodnotám energie. Na základě těchto analýz bylo

zjištěno, že pro záření s nízkým lineárním přenosem energie je účinný cluster o průměru 20 nm a energii 300 eV, což je shodě s výsledky naší dřívější práce (viz BARILLA a kol., 2013). Tento cluster byl pak použit pro analýzu vlivu kyslíku a  $N_2O$  na chemickou fázi radiolýzy vody. Na rozdíl od práce (BARILLA a kol., 2013), která se také zabývá vlivem kyslíku na tvorbu dvojných zlomů DNA, byly v této kapitole provedeny podrobnější analýzy na základě časové závislosti koncentrace jednotlivých radikálů za různé koncentrace kyslíku a  $N_2O$ . Tyto analýzy potvrdily výsledky z práce (BARILLA a kol., 2013), i výsledky, které byly publikovány v práci (BARILLA a LOKAJÍČEK, 2000) a umožnily ještě detailnější analýzu chemické fáze radiobiologického mechanismu. Výsledky týkající se  $N_2O$  jsou zde uvedeny poprvé, jinde ještě publikovány nebyly.

Výsledky získané v této práci mohou být využity v radioterapii, biotechnologii a všude tam, kde dochází k interakci ionizujícího záření s molekulou DNA, neboť byl popsán podrobněji mechanismus, jak kyslík i  $N_2O$  tvorbu jednoduchých a dvojných zlomů na molekule DNA ovlivňují.

Náš model bude dále rozšiřován a zpřesňován tak, aby v něm byla zahrnutá i interakce radikálového clusteru s molekulou DNA (viz BARILLA a kol., 2017), což umožní analýzu tvorby jednoduchých a dvojných zlomů na této molekule v závislosti na koncentraci kyslíku,  $N_2O$  a dalších radioprotektivních a radiosensitivních látek. Model může být také aplikován na ionizující záření s vyšším lineárním přenosem energie, kde se už může uplatňovat válcová symetrie. Petriho sítě také umožní propojit chemickou a biologickou fázi biologického účinku radiolýzy vody, což umožní studovat reparační mechanismy v buňce.

## Literatura

ALIZADEH, E., CLOUTIER, P., HUNTING, D., SANCHE, L. Soft X-ray and Low Energy Electron-Induced Damage to DNA under N<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> Atmospheres. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2011, vol. 115, no. 15, s. 4523-4531. DOI: 10.1021/jp200947g.

ALIZADEH, E., SANCHE, L. Induction of strand breaks in DNA films by low energy electrons and soft X-ray under nitrous oxide atmosphere. *Radiation Physics and Chemistry*, 2012, vol. 81, no. 1, s. 33-39. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2011.09.004.

ALPER T., HOWARD-FLANDERS P. Role of oxygen in modifying the radiosensitivity of E. Colli B. *Nature*, 1956, vol. 178, s. 978–979.

BARILLA, J. *Matematicko – fyzikální model vlivu kyslíku na biologický účinek ionizujících částic*. Praha, 1987. Diplomová práce na Matematicko-fyzikální fakultě Univerzity Karlovy.

BARILLA, J. *Mechanismus radiobiologického účinku v biologicky důležitých objektech*. Praha 1994. Kandidátská disertační práce na Matematicko-fyzikální fakultě Univerzity Karlovy.

BARILLA J., LOKAJÍČEK M. The role of Oxygen in DNA Damage by Ionizing Particles. *Journal of Theoretical Biology*, 2000, vol. 207, no. 3, s. 405-414. DOI: 10.1006/jtbi.2000.2188.

BARILLA, J., LOKAJÍČEK, M., PISAKOVÁ, H., SIMR, P. Analytical model of chemical phase and formation of DSB in chromosomes by ionizing radiation. *Australasian Physical & Engineering Sciences in Medicine*, 2013, vol. 36, no. 1, s. 11-17. DOI: 10.1007/s13246-012-0179-4.

BARILLA, J., LOKAJÍČEK, M., PISAKOVÁ, H., SIMR, P. Simulation of the chemical stage in water radiolysis with the help of Continuous Petri nets. *Radiation Physics and Chemistry*, 2014, vol. 97, s. 262-269. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2013.12.019.

BARILLA, J., LOKAJÍČEK, M., PISAKOVÁ, H., SIMR, P. Applying Petri nets to modeling the chemical stage of radiobiological mechanism. *Journal of Physics and Chemistry in Solids*, 2015, vol. 78, s. 127-136. DOI: 10.1016/j.jpcs.2014.11.016.

BARILLA, J., LOKAJÍČEK, M., PISAKOVA, H., SIMR, P. Influence of oxygen on the chemical stage of radiobiological mechanism. *Radiation Physics and Chemistry*, 2016, 124, 116-123, DOI: 10.1016/j.radphyschem.2016.01.035.

BARILLA, J., LOKAJÍČEK, M., PISAKOVA, H., SIMR, P. Using Petri Nets to Model the Chemical Stages of the Radiobiological Mechanism. Nova Science Publishers, Inc., New York, USA, 2017, ISBN: 978-1-53612-896-3.

BEUVE M, COLLIAUX A, DABLI D, et al. Statistical effects of dose deposition in track-structure modelling of radiobiology efficiency. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 2009; 267:983-988.

BILLINGTON J., DIAZ M., ROZENBERG G. *Application of Petri Nets to Communication Networks: Advances in Petri Nets*. New York: Springer, 1999, Lecture Notes in Computer Science, vol. 1605, s. 303. ISBN 354065870x.

BLOK J., LOMAN H. The effects of gamma-radiation in DNA. *Current Topics in Radiation Research*, 1973, vol. 9, no. 2, s. 165–245.

BOUNIOL P., BJERGBAKKE E. A comprehensive model to describe radiolytic processes in cement medium. *J. Nucl. Mat.* 2008, 372, 1-15.

BUXTON G. V. High Temperature Water Radiolysis. *Radiation Chemistry: Present Status and Future Trends*, edit. Jonah, C. D. and Rao, B. S. M, 2001, Amsterdam: Elsevier,., s. 145-162. ISBN: 0-444-82902-4.

BUXTON G. V. The Radiation Chemistry of Liquid Water. *Charged Particle and Photon Interactions with Matter: chemical, physicochemical, and biological consequences with applications*, ed. Mozumder, A. and Hatano, Y., 2004. New York, Marcel Dekker, pp. 331-363. ISBN: 0-8247-4623-6.

CASSANDRAS G. C., LAFORTUNE S. Introduction to Discrete Event Systems. Springer, 2008.

ČEŠKA M., V. MAREK P. NOVOSAD a T. VOJNAR. Petriho sítě: Studijní opora. Fakulta informačních technologií. VUT Brno, 2009, 238 s. [cit. 2013-03-11]. Dostupné z: [http://www.fit.vutbr.cz/study/courses/PES/public/Pomucky/PES\\_opora.pdf](http://www.fit.vutbr.cz/study/courses/PES/public/Pomucky/PES_opora.pdf).

DAVID R., ALLA H. *Discrete, Continuous and Hybrid Petri nets*, 2010, Berlin: Springer-Verlag, 2. vydání, s. 550. ISBN 978-3-642-10668-2

EHRING H., JUHÁS G., PADBERG J., ROZENBERG G. *Unifying Petri Nets: Advances in Petri Nets*, 2001, LNCS 2128, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, s. 484. ISBN: 978-3-540-43067-4

EWING D. The oxygen fixation hypothesis: A Reevaluation. *American Journal of Clinical Oncology*, 1998, vol. 21, no. 4, pp. 355-361.

GIRAULT C., VALK R. *Petri Nets for Systems Engineering: a Guide to Modeling, Verification and Applications*, 2003, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, s. 607. ISBN: 978-3-662-05324-9.

GU T., DONG R. A novel continuous model to approximate time Petri nets: Modelling and analysis. *International Journal of Applied Mathematics and Computer Science*, 2005, vol. 15, no. 1, s. 141-150.

GUO, Z.B.; TANG, D.Y.; LIU, X.G.; ZHENG, Z. Gamma irradiation-induced Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> removal from different kinds of water. *Rad. Phys. Chem.* 2008, 77, 1021-1026.

HAAS P. J. *Stochastic Petri Nets - Modelling, Stability, Simulation*. 2002, Springer New York, s. 510. ISBN: 978-0-387-21552-5.

HERVÉ DU PENHOAT M. A., GOULET T., FRONGILLO Y., FRASER M. J., BERNAT P., JAY-GERIN J. P. Radiolysis of Liquid Water at Temperatures up to 300 °C: A Monte Carlo Simulation Study. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2000, vol. 104, no. 50, pp. 11757–11770. DOI: 10.1021/jp001662d.

HOPOCROFT J. E., MOTWANI R., ULMANN J. D. Automata Theory, Languages, and Computation. Addison Wesley, 2007.

CHATTERJEE A., MAGGIE J. L., DEY S. K. The Role of Homogeneous Reaction in the Radiolysis of Water. *Radiation Research*, 1983, vol. 96, no. 1, s. 1-19.

JENSEN k., KRISTENSEN L. M. Coloured Petri Nets. Springer, 2009.

KATAYAMA, T.; NAKAUMA, M.; TODORIKI, S.; PHILLIPS, G.O.; Tada, M. Radiation-induced polymerization of gum arabic (*Acacia senegal*) in aqueous solution. *Food Hydrocolloid*. 2006, 20, 983-989.

KIEFER, J. Theoretical Aspects and Implications of the Oxygen Effect, *Radiation research: biomedical, chemical, and physical perspectives : proceedings of the fifth International Congress of Radiation Research held at Seattle, Washington, U.S.A., July 14-20, 1974*, eds. Nygaard O. F., Adler H. J., Sinclair W. K. 1975, Acad. Press 1975 New York: Academic Press, s. 1381. ISBN 0125233507.

KOCHANÍČKOVÁ M. *Petriho síť*. 2008, Olomouc, Univerzita Palackého, s. 69.

LAVERNE J. A., PIMBLOTT S. M. Scavenger and time dependences of radicals and molecular products in the electron radiolysis of water: examination of experiments and models. *he Journal of Physical Chemistry*, 1991, vol. 95, no. 8., s. 3196-3206. DOI: 10.1021/j100161a044.

LE CAËR, S. Water Radiolysis: Influence of Oxide Surfaces on H<sub>2</sub> Production under Ionizing Radiation. *Water*, 2011, 3, 235-253

LIU F., BLÄTKE MA., HEINER M., YANG M. Modelling and simulating reaction-diffusion systems using coloured Petri nets. *Computers in Biology and Medicine*, 2014, Volume 53, 297-308.

LOKAJÍČEK M. Mathematical and physical models of the biological effect of ionizing particles on cells and tissues. *Internal report of Institute of Physics*, 1981, Praha, AVČR, report FZU-81-5.

LOKAJÍČYOUNEK M., BARILLA J., ČECHÁK T., JUDAS L., KLUSOŇ J., KUNDRÁT V., PROKEŠ K. Survival curves of accelerated protons (and other ions) and radiobiological mechanism (in Czech). *Research report FYZ-D 20000231*, 2000, Praha, AVČR. Zpráva o řešení grantového projektu č. 202/99/1115 (GAČR) - Křivky přežití urychlených protonů (a dalších iontů) a radiobiologický mechanismus.

MAQUILLE, A. J.; JIWAN, J. L. H.; TILQUIN, B. Radiosterilization of drugs in aqueous solutions may be achieved by the use of radioprotective excipients. *Int. J. Pharm.* 2008, 349, 74-82.

MASHKOV V., BARILLA J., SIMR P., 2013: Applying petri nets to modeling of many-core processor self-testing when tests are performed randomly. *Journal of Electronic Testing: Theory and Applications (JETTA)* 29 (1) , pp. 25-34.

MICHAELS H. B., HUNT, J. W. A Model for Radiation Damage in Cells by Direct Effect and by indirect Effect: A Radiation Chemistry Approach. *Radiation Research*, 1978, vol. 74, No. 1, s. 23-34.

MOZUMDER A., MAGEE J. L. Model of Tracks of Ionizing Radiations of Radical Reaction Mechanisms, *Radiation Research*, 1966, vol. 28, No. 2, s. 203-214.

MOZUMDER A., HATANO, Y. *Charged Particle and Photon Interactions with Matter: Chemical, Physicochemical, and Biological Consequences with Applications*. 2004, New York, Marcel Dekker, s. 870. ISBN: 9780824746230.

NAVRÁTIL O., HÁLA J., KOPUNEC R., LEŠETICKÝ L., MACÁŠEK F., MUKULAJ V. *Jaderná chemie*. 1985, Praha, Academia, s. 301. ISBN: 21-017-85.

PETERSON J. L. *Petri net theory and Modelling of Systems*. 1981, New Jersey, Prentice-Hall, s. 290. ISBN: 0136619835

PETRI C. A. *Kommunikation mit Automaten*. 1962, Bonn. PhD thesis, Schiften des IIM Nr. 3, na Rheinisch-Westfälisches Institut für Instrumentelle Mathematik, Universität Bonn.

PIKAJEV A. K. *Sovremennaja Radiacionnaja Chimija: radioliz gazov i židkостей*. 1986, Moskva: Nauka, s. 439.

PIMBLOTT SM, MOZUMDER A. Modeling of Physicochemical and Chemical Processes in the Interactions of Fast Charged Particles with Matter, *Charged Particle and Photon Interactions with Matter*; Marcel Dekker: New York 2004; 75-103, ed. Mozumder, A. and Hatano, Y.

RAINER D. *VON: Visual Object Net++*. c2008. Dostupné z: <<http://www.techfak.uni-bielefeld.de/~mchen/BioPNML/Intro/VON.html>>

RESIG W., ROZENBERG G. *Lectures on Petri Nets I: Basic Model Advances in Petri Nets*. 1998, Berlin, Springer-Verlag, s. 691. ISBN: 978-3-540-49442-3.

RESNICK M. A., MARTIN P. The repair of doublestrand breaks in the nuclear DNA of *Saccharomyces cerevisiae* and its genetic control. *Molecular & General Genetics*, 1976, vol. 143, no. 2, s. 119–129. DOI: 10.1007/bf00266917.

SAUER C. M., SCHMIDT K. H., JONAH CH. D., NALEWAY C. A., HART E. High-LET Pulse Radiolysis: O<sub>2</sub> and Oxygen Production in Tracks. *Radiation Research*, 1978, vol. 75, no. 3, s. 519-528.

SCHMID, T.E.; DOLLINGER, G.; HABLE, V.; GREUBEL, C.; ZLOBINSKAYA, O.; MICHALSKI, D.; MOLLS, M.; ROEPER, B. Relative biological effectiveness of pulsed and continuous 20 MeV protons for micronucleus induction in 3D human reconstructed skin tissue. *Radiother. Oncol.* 2010, 95, 66-72.

SILVA M., RECALDE L. On fluidification of Petri net models: from discrete to hybrid and continuous models. *Annual Reviews in Control*, 2004, vol. 28, no. 2, s. 253-266. DOI: 10.1016/j.arcontrol.2004.05.002.

SILVA M., JÚVEZ J., MAHULEA C., VÁZQUEZ C. R. On fluidization of discrete event models: observation and control of continuous Petri nets. *Discrete Event Dynamic Systems*, 2011, vol. 21, no. 4, s. 427-497. DOI: 10.1007/s10626-011-0116-9.

SONNTAG C. *The chemical basis of radiation biology*. 1987, London, Taylor and Francis. ISBN 085066375x.



SWIATLA-WOJCIK D., BUXTON G. V. Modeling of Radiation Spur Processes in Water at Temperatures up to 300. degree. *The Journal of Physical Chemistry*, 1995, vol.99, no. 29, s. 11464-11471. DOI: 10.1021/j100029a026.

TAKAHASHI K., OHGAMI S., KOYAMA Y., SAWAMURA S., MARIN T. W., BARTELS D. M., JONAH Ch. D. Reaction rates of the hydrated electron with N<sub>2</sub>O in high temperature water and potential surface of the N<sub>2</sub>O<sup>-</sup> anion. *Chemical Physics Letters*, 2004, vol. 383, No. 5-6, s. 445-450. DOI: 10.1016/j.cplett.2003.11.050.

UEHARA S, NIKJOO H. Monte Carlo simulation of water radiolysis for low-energy charged particles. *Journal of Radiation Research* 2006; 47:69–81.

VACCHELLI E, VITALE I, TARTOUR E., et al. Trial Watch Anticancer radioimmunotherapy. *Oncoimmunology* 2013; Volume 2, Issue 9.

WATANABE R, SAITO K. Monte Carlo simulation of water radiolysis in oxygenated condition for monoenergetic electrons from 100 eV to 1 MeV. *Radiation Physics and Chemistry* 2001; 62:217-228.

YAKOVLEV A., GOMES L., LAVAGNO L. *Hardware Design and Petri Nets*. 2000, Boston, MA: Springer US. ISBN 978-1-4757-3143-9.

YAN H, WANG G, ZHANG X., et al. A fast method to evaluate water eutrophication. *JOURNAL OF CENTRAL SOUTH UNIVERSITY* 2016; Volume 23, Issue 9.

YOUNG C. L. Oxides of Nitrogen, *iUPAC Solubility Data Series*. 1981, vol. 8, Pergamon Press, Oxford, England.

ZHAO Y, ZHONG R, SUN L., et al. Ionizing Radiation-Induced Adaptive Response in Fibroblasts under Both Monolayer and 3-Dimensional Conditions. *PLOS ONE* 2015; Volume 10, Issue 3.

## Seznam obrázků

<b>Obrázek 2.1</b> Změna stavu po provedení přechodu .....	8
<b>Obrázek 2.2</b> Simulace reakce radikálů H a OH za vzniku molekuly vody .....	11
<b>Obrázek 3.1</b> Comptonův rozptyl .....	15
<b>Obrázek 4.1</b> Interakce radikálového clusteru s molekulou DNA .....	27
<b>Obrázek 5.1</b> Jednoduchá Petriho síť pro simulaci obecného modelu.....	36
<b>Obrázek 6.1</b> Řešení dynamiky chemických reakcí a difuze v clusteru pomocí Spojitých Petriho sítí za anoxických podmínek.....	51
<b>Obrázek 6.2</b> Závislost počtu radikálů na čase pro cluster o průměru 20 nm a energii 100 eV za anoxických podmínek.....	53
<b>Obrázek 6.3</b> Závislost koncentrace radikálů na čase pro cluster o průměru 20 nm a energii 100 eV za anoxických podmínek.....	54
<b>Obrázek 6.4</b> Závislost koncentrace radikálů na čase pro cluster o průměru 20 nm a energii 100 eV za anoxických podmínek.....	55
<b>Obrázek 6.5</b> Závislost koncentrace radikálů na čase pro cluster o průměru 20 nm a energii 300 eV za anoxických podmínek.....	55
<b>Obrázek 6.6</b> Závislost koncentrace radikálu H na čase pro cluster o průměru 20 nm a různých energiích za anoxických podmínek .....	57
<b>Obrázek 6.7</b> Závislost koncentrace radikálu OH na čase pro cluster o průměru 20 nm a různých energiích za anoxických podmínek .....	57
<b>Obrázek 6.8</b> Závislost koncentrace hydratovaného elektronu na čase pro cluster o průměru 20 nm a různých energiích za anoxických podmínek.....	58
<b>Obrázek 6.9</b> Závislost průměru clusterů pro radikály H, OH a hydratovaného elektronu $e_{aq}^-$ – v závislosti na čase .....	58
<b>Obrázek 6.10</b> Řešení dynamiky chemických reakcí a difuze v clusteru pomocí Spojitých Petriho sítí za přítomnosti kyslíku.....	61
<b>Obrázek 6.11</b> Závislost koncentrace radikálů na čase pro koncentraci kyslíku $0.056 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ .....	62
<b>Obrázek 6.12</b> Závislost koncentrace radikálů na čase pro koncentraci kyslíku $0.171 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ .....	62
<b>Obrázek 6.13</b> Závislost koncentrace radikálů na čase pro koncentraci kyslíku $0.284 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ .....	63
<b>Obrázek 6.14</b> Závislost koncentrace radikálů H na čase pro různé koncentrace kyslíku [ $\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ] .....	64
<b>Obrázek 6.15</b> Závislost koncentrace radikálů OH na čase pro různé koncentrace kyslíku .....	65
<b>Obrázek 6.16</b> Závislost koncentrace hydratovaného elektronu na čase pro různé koncentrace kyslíku [ $\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ].....	65
<b>Obrázek 6.17</b> Závislost koncentrace radikálů $\text{HO}_2$ na čase pro různé koncentrace kyslíku [ $\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ].....	66
<b>Obrázek 6.18</b> Závislost koncentrace radikálů na čase pro koncentraci $\text{N}_2\text{O}$ $1.660 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ .....	69
<b>Obrázek 6.19</b> Závislost koncentrace radikálů na čase pro koncentraci $\text{N}_2\text{O}$ $8.303 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ .....	69
<b>Obrázek 6.20</b> Závislost koncentrace radikálů na čase pro koncentraci $\text{N}_2\text{O}$ $16.605 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ .....	70

<b>Obrázek 6.21</b> Závislost koncentrace radikálů na čase pro koncentraci $N_2O$ 24.161 $mmol.dm^{-3}$ .....	70
<b>Obrázek 6.22</b> Závislost koncentrace radikálů $H$ na čase pro různé koncentrace $N_2O$ [ $mmol.dm^{-3}$ ] .....	71
<b>Obrázek 6.23</b> Závislost koncentrace radikálů $OH$ na čase pro různé koncentrace $N_2O$ [ $mmol.dm^{-3}$ ].....	72
<b>Obrázek 6.24</b> Závislost koncentrace hydratovaného elektronu na čase pro různé koncentrace $N_2O$ [ $mmol.dm^{-3}$ ] .....	72
<b>Obrázek 6.25</b> Závislost koncentrace radikálů $HO_2$ na čase pro různé koncentrace $N_2O$ [ $mmol.dm^{-3}$ ].....	73
<b>Obrázek A. 1</b> Složení nukleotidu s dusíkatou bází – adeninem .....	87
<b>Obrázek A. 2</b> Schéma vytváření polynukleotidového řetězce .....	87
<b>Obrázek A. 3</b> Chemické složení dusíkatých bází: cytosin, guanin, adenin, uracil, thymin.....	88
<b>Obrázek A. 4</b> Schéma dvoušroubovice vytvářející molekulu DNA.....	89

## Seznam tabulek

<b>Tabulka 3.1</b> Hodnoty LPE ve vodě (převzato z NAVRÁTIL, 1985).....	14
<b>Tabulka 3.2</b> První ionizační energie některých atomů a molekul v plynné nebo tuhé fázi (ozn. (s)) (NAVRÁTIL, 1985).....	17
<b>Tabulka 3.3</b> Rekombinační reakce (BUXTON, 2004 a CHATTERJEE a kol., 1983).....	21
<b>Tabulka 6.1</b> Difuzní koeficienty (HERVÉ DU PENHOAT a kol., 2000).....	40
<b>Tabulka 6.2</b> Vybrané chemické reakce z tabulky 3.3 .....	41
<b>Tabulka 6.3</b> Porovnání vypočítaných hodnot s experimentálními daty.....	53
<b>Tabulka 6.4</b> Počáteční výtěžnosti radikálů $G^0$ pro různé energie clusteru .....	56
<b>Tabulka A. 1</b> Příklad buněčného cyklu savčí buňky.....	86

# Dodatky

## A. Základní údaje o buňce

### A.1 Složení a struktura buňky

Z hlediska složení lze buňku definovat jako soubor chemických sloučenin, jež jsou organizovány v určitých strukturních elementech (organelách) a odděleny od okolí membránou. O modelové buňce se předpokládá, že má průměr 10  $\mu\text{m}$ ; molární koncentrace důležitých sloučenin je pak:

DNA	...	0,058
RNA	...	0,150
Bílkoviny	...	0,750
Aminokyseliny	...	0,050
Nukleotidy	...	0,032

U prokaryontních buněk je DNA volná, zatímco u eukaryontních buněk je DNA uložena v jádře, jehož rozměr se bere roven 1  $\mu\text{m}$ . Jádro pak obsahuje:

95 % buněčné DNA,  
15 % buněčných bílkovin,  
10-15 % RNA.

Z hlediska tvorby letálních poškození při ozáření nás zajímají především molekuly DNA; tato buněčná složka je u eukaryontů organizována v nukleoproteinových komplexech a ve vyšších strukturách (chromozómech). Chromozómy vznikají cyklyzací (tj. propojením konců) a mnohonásobnou spiralizací dvouřetězové DNA, přičemž do spirál jsou ukládány i bílkovinné součásti. Dvojřetězec DNA je nejprve složen do „spirální spirály“ o průměru asi 10 nm; dvě takové spirály jsou složeny a vytváří tzv. plektonickou spirálu o průměru 20 až 25 nm. Plektonická spirála je nakonec znovu stočena do „superspirály“ o průměru asi 200 až 300 nm. Tyto superspirály jsou pak základní stavební jednotkou chromozómu.

Během buněčného cyklu je chromozóm nepřetržitě narušován průběžnou despiralizací; ve fázích kdy probíhá replikace (opis genetické informace na DNA, jež je určena pro dceřiné buňky), je DNA v buňce prakticky volná.

Změny v organizaci DNA v průběhu buněčného cyklu jsou na příkladu savčí buňky uvedeny v tabulce A.1, která je převzata z práce (LOKAJÍČEK, 1981).

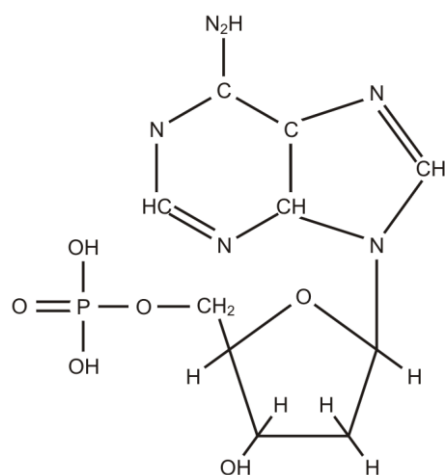
## A.2 Struktura DNA

Molekula DNA je nositelem genetické informace, jež je zapsána lineárně po celé délce molekuly jistou posloupností článků řetězce. Přitom trojice článků tvoří vždy jakési „slovo” - kodon a řazením těchto „slov” je definována příslušná genetická informace. Funkčním článkem řetězce je nukleotid. Je složen z cukru deoxyribozy a z fosforečné kyseliny a dále z části (tzv. dusíkaté báze), která určuje specifický charakter v genetickém kódu (viz obr. A.1). Je běžně známo 5 různých typů těchto dusíkatých bází: adenin, guanin, uracil, thymin a cytosin. Chemické složení adeninu je patrné z obr. A.1; ostatní čtyři báze jsou pak znázorněny na obr. A.3. Vazbu mezi jednotlivými nukleotidy zprostředkuje kyselina fosforečná; schéma vytváření polynukleotidového řetězce je pak znázorněno na obr. A.2. Dva komplementární polynukleotidové řetězce se pak spojují vodíkovými můstky do dvouřetězce, jež vytváří molekulu DNA a je schematicky znázorněn na obr. A.3 a A.4.

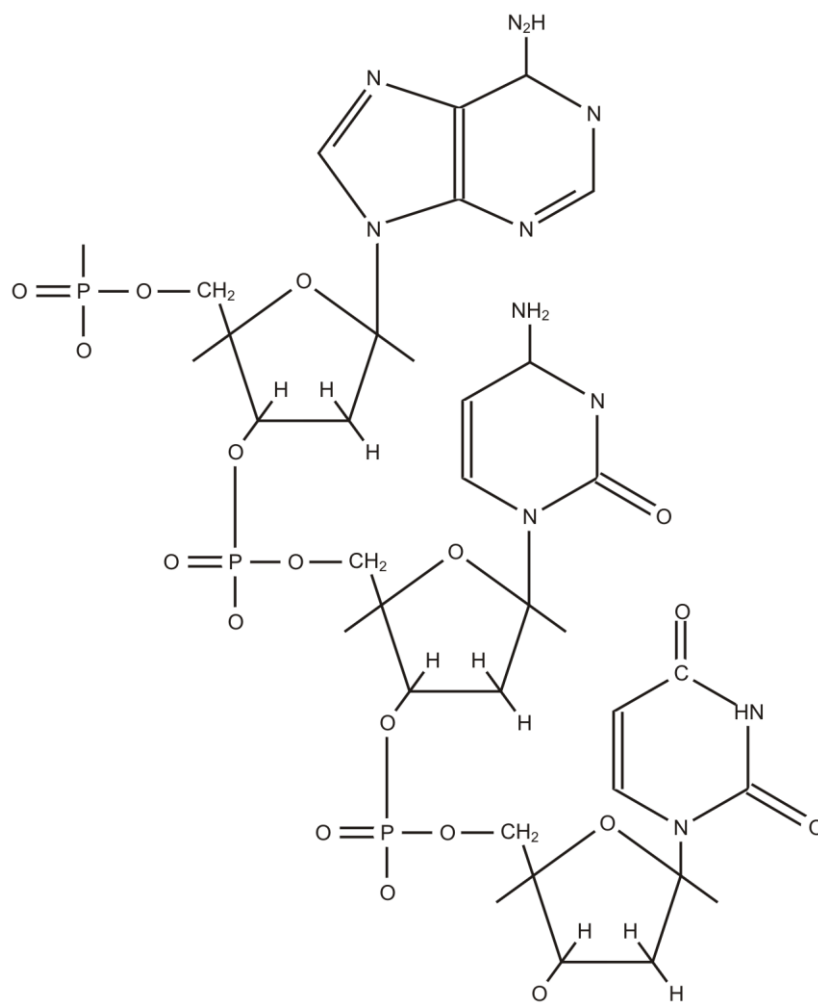
Průměrná molekulová hmotnost jednoho nukleotidu je asi 330. Molekulová hmotnost jednotkové délky molekuly DNA je pak přibližně  $10^{12} \text{m}^{-1}$ .

**Tabulka A. 1** Příklad buněčného cyklu savčí buňky

Fáze	Intervize			Mitóza				
	G <sub>1</sub>	S	G <sub>2</sub>	Profáze	Metafáze	Anafáze	Telefáze	
Organizace DNA	Despiralizovaná DNA	Plektonická spirála	Superspiralizace	Superspirála				Despiralizovaná DNA
Trvání	14	5	4	24				

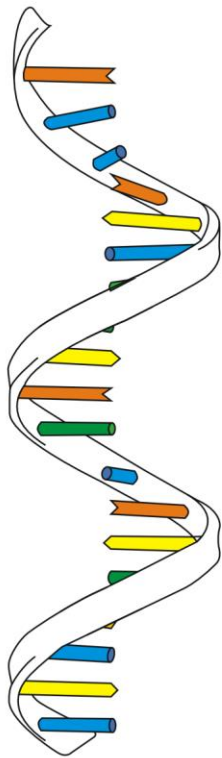


**Obrázek A. 1** Složení nukleotidu s dusíkatou bází – adeninem

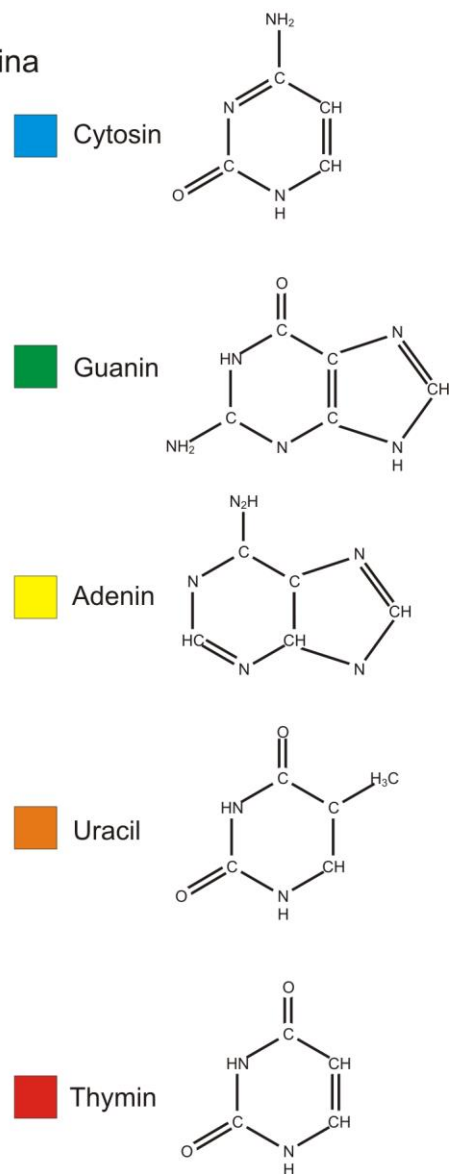
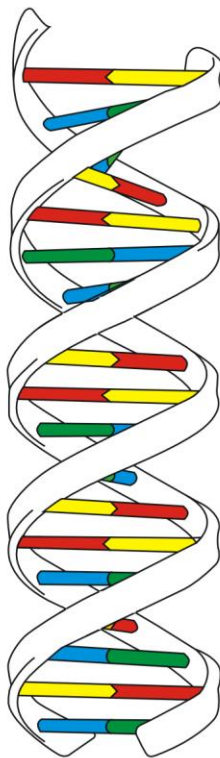


**Obrázek A. 2** Schéma vytváření polynukleotidového řetězce

**RNA**  
Ribonukleová kyselina

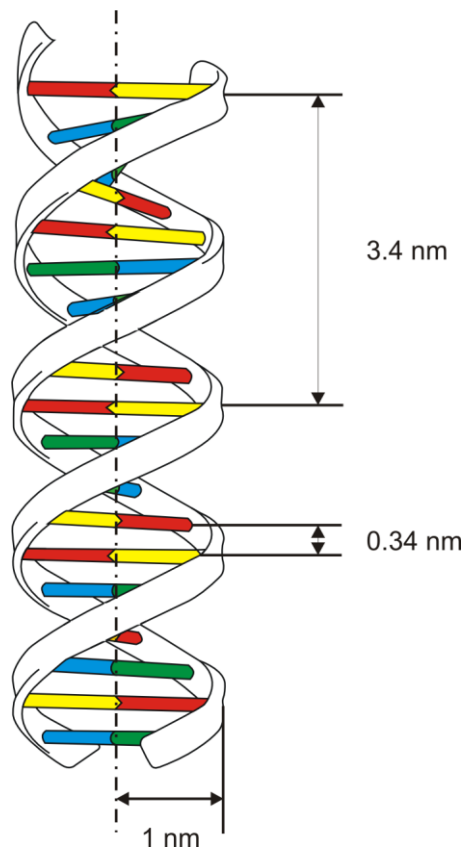


**DNA**  
Deoxyribonukleová kyselina



**Obrázek A. 3** Chemické složení dusíkatých bází: cytosin, guanin, adenin, uracil, thymin





**Obrázek A. 4** Schéma dvoušroubovice vytvářející molekulu DNA