



Τμήμα Ιατρικής, ΔΠΘ



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

Τμήμα Ιατρικής, ΕΚΠΑ



Τμήμα ΣΕΜΦΕ, ΕΜΠ



ΔΠΜΣ "ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ-ΑΚΤΙΝΟΦΥΣΙΚΗΣ"

ΚΟΡΔΩΝΗΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ

ΑΜ: 7450132100008

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

**«Συλλογή και Ανάλυση Ραδιοβιολογικών Δεδομένων για
Έκθεση Ανθρωπίνων Κυττάρων σε Ιοντίζουσες
Ακτινοβολίες»**

Τριμελής Επιτροπή

Αδάμ Αδαμόπουλος,
Αναπληρωτής
Καθηγητής Τμ.
Ιατρικής, ΔΠΘ,
Επιβλέπων

Αλέξανδρος
Γεωργακίλας,
Καθηγητής Τμ.
ΣΕΜΦΕ, ΕΜΠ,
Επιβλέπων

Ευστράτιος
Καραβασίλης,
Επίκουρος Καθηγητής
Τμ. Ιατρικής, ΔΠΘ,
Μέλος

Αθήνα

2023

Ευχαριστίες

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα της μεταπτυχιακής διπλωματικής μου εργασίας, τον κ.Γεωργακίλα Αλέξανδρο Καθηγητή του Τμήματος ΣΕΜΦΕ του ΕΜΠ, για την ανάθεση αυτής της εργασίας και την συνεχή του καθοδήγηση καθ' όλη την διάρκεια εκπόνησης της. Η συνεισφορά του ήταν ιδιαίτερα σημαντική τόσο στο θεωρητικό υπόβαθρο, για την κατανόηση των επιδράσεων των ιοντιζουσών ακτινοβολιών στο DNA, όσο και σε πειραματικό επίπεδο, που αφορούσε τους κώδικες προσομοίωσης των βλαβών στο μόριο του DNA.

Ακόμα, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον συνεπιβλέποντα μου κ.Αδαμόπουλο Αδάμ, Αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Ιατρικής του ΔΠΘ, για την άριστη συνεργασία και επικοινωνία που είχαμε κατά την διάρκεια της διπλωματικής εργασίας, καθώς και για τις απαραίτητες διορθώσεις και συμβουλές του.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Υποψήφια Διδάκτορα κ. Ζαννή Βασιλική, που με βοήθησε στη διαδικασία της συλλογής δεδομένων, των προσομοιώσεων καθώς και στον έλεγχο της σωστής καταγραφής και λειτουργίας αυτών.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένεια και τους φίλους μου που με στήριξαν όλο αυτό το διάστημα των σπουδών μου καθώς και τους καθηγητές του ΔΠΜΣ «Ιατρικής Φυσικής-Ακτινοφυσικής» που μου μετέδωσαν όλες τις απαραίτητες θεωρητικές γνώσεις και τα εργαλεία που απαιτούνται για την μετέπειτα επιστημονική/επαγγελματική μου πορεία, ως Ακτινοφυσικός Ιατρικής.

Περίληψη

Με τον όρο Ιοντίζουσες ακτινοβολίες εννοούμε τις ακτινοβολίες εκείνες, οι οποίες διαθέτουν την ικανότητα να μεταφέρουν ικανή ενέργεια ώστε κατά την αλληλεπίδραση τους με την ύλη να προκαλέσουν στα άτομα της ιονισμό. Υπάρχουν δύο βασικές κατηγορίες ιοντίζουσών ακτινοβολιών οι ηλεκτρομαγνητικές και οι σωματιδιακές. Στη κατηγορία των ηλεκτρομαγνητικών περιλαμβάνονται οι ακτίνες-γ και οι ακτίνες-X, ενώ στις σωματιδιακές ακτινοβολίες συμπεριλαμβάνονται τα πρωτόνια, τα α-σωμάτια, τα ηλεκτρόνια και τα βαρέα ιόντα. Σ' αυτή τη διπλωματική εργασία πραγματοποιείται η συλλογή και η ανάλυση των ραδιοβιολογικών δεδομένων, που αφορούν την επαγωγή βλαβών στο μόριο του DNA ύστερα από την έκθεση ανθρωπίνων κυττάρων σε Ι.Α. και ειδικότερα σε α-σωμάτια.

Αναλυτικότερα, στο 1^ο κεφάλαιο αναφέρονται κάποια στοιχεία βιολογίας, όπως η δομή ενός ευκαρυωτικού κυττάρου, η δομή του DNA, ο κυτταρικός κύκλος, η κυτταρική διαίρεση καθώς και οι παράγοντες που οδηγούν στη καρκινογένεση. Στο 2^ο κεφάλαιο, περιγράφεται η αλληλεπίδραση των Ι.Α. με την ύλη, κάποιες δοσιμετρικές ποσότητες και δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στα α-σωμάτια. Στο 3^ο κεφάλαιο παρουσιάζονται αναλυτικά η αλληλεπίδραση των Ι.Α. με το DNA μέσω σταδίων, αλλά και το αποτέλεσμα αυτής που είναι η επαγωγή βλαβών, όπως οι DSBs, SSBs κ.α. Επίσης, αναφέρονται οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί, η καμπύλη επιβίωσης και το LQ-Model που είναι το μοντέλο που έχει επικρατήσει σε πειραματικό επίπεδο και στην κλινική πράξη. Στο 4^ο κεφάλαιο παρουσιάζεται η συλλογή και η καταγραφή ραδιοβιολογικών δεδομένων (Data mining), μέσω δημοσιεύσεων του PubMed και η εξαγωγή των α και β παραμέτρων ακτινοευαισθησίας του LQ-Model από καμπύλες επιβίωσης ανθρώπινων κυττάρων ύστερα από την έκθεση α-ακτινοβολίας, με τη βοήθεια του προγράμματος WebPlotDigitizer και της γλώσσας προγραμματισμού Python. Στο 5^ο και τελευταίο κεφάλαιο γίνεται η λεπτομερής ανάλυση των παραμέτρων α και β του LQ-Model και η συσχέτιση τους με την ακτινοθεραπεία. Επιπροσθέτως, μέσω του λογισμικού προσομοιώσεων βλαβών στο DNA, του Monte Carlo Damage Simulation (MCDS), διερευνάται η επίδραση διάφορων παραγόντων σχετικά με τον αριθμό των βλαβών, όπως η συγκέντρωση O₂, η ενέργεια του σωματιδίου, η δόση που εναποτίθεται στο πυρήνα των κυττάρων και ο παράγοντας DMSO. Στο τέλος της παρούσας εργασίας, πραγματοποιείται και η σύγκριση των α-σωματίων με τη γ- ακτινοβολία και τη β-ακτινοβολία και παρουσιάζονται και κάποιες κλινικές εφαρμογές.

Abstract

Ionizing radiation refers to those radiations that have the ability to transfer sufficient energy to cause ionization of matter atoms during their interaction with matter. There are two main categories of ionising radiation: electromagnetic and particle radiation. The electromagnetic category includes gamma and X-rays, while particle radiation includes protons, α -particles, electrons and heavy ions. In this MSc thesis, the collection and analysis of radiobiological data related to the induction of DNA damage after exposure of human cells to ionizing radiations and especially to α -particles is performed.

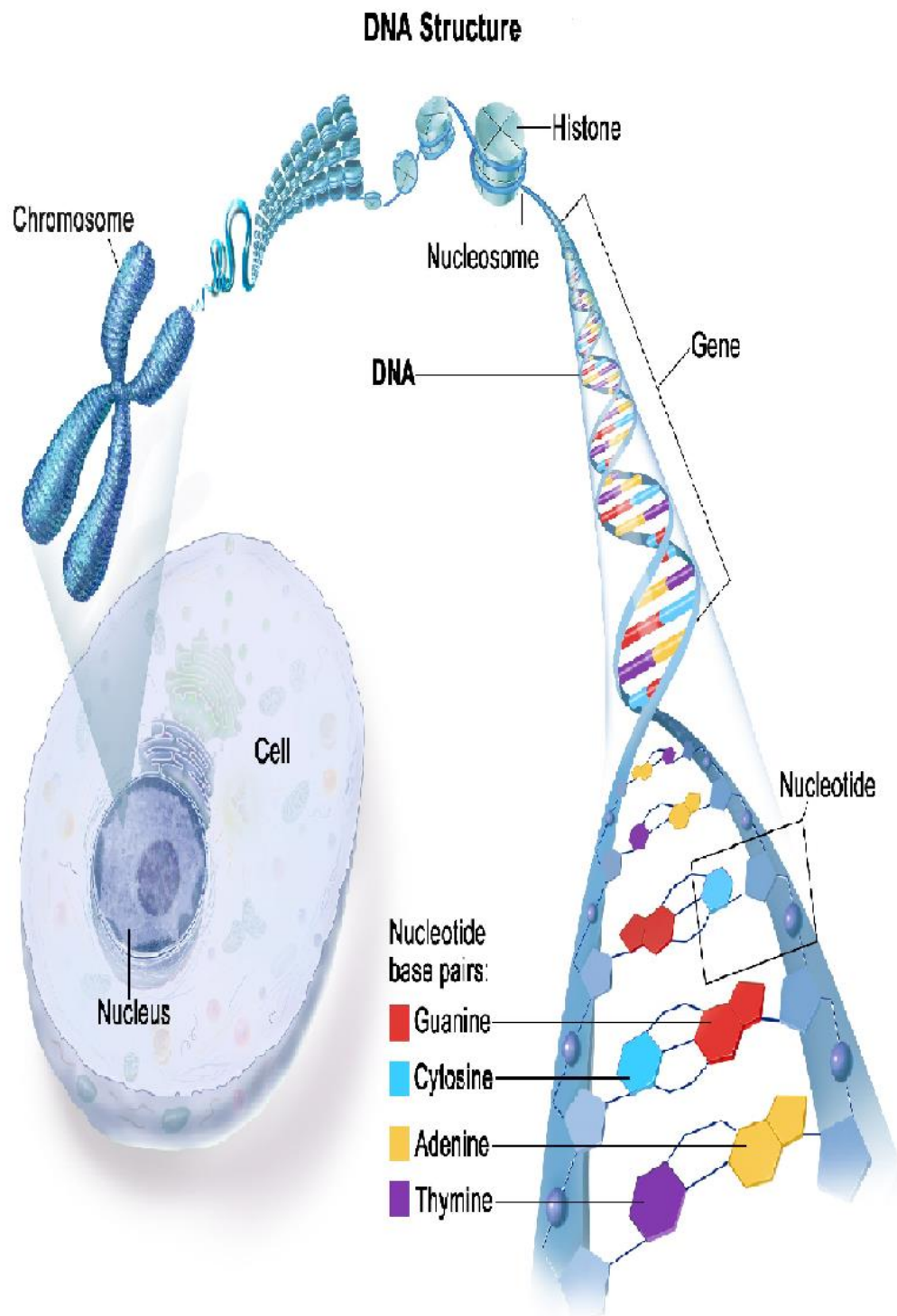
More specifically, in 1st Chapter, some principles of biology are mentioned, such as the structure of a eukaryotic cell, the structure of DNA molecule, the cell cycle, cell division and the causes that lead to carcinogenesis.. The 2nd Chapter describes the interaction of Ionizing Radiations with matter, some dosimetric quantities and special emphasis is placed on α -particles.. Chapter 3 presents in detail the interaction of Ionizing Radiations with DNA, through steps and the result of this interaction, which is the induction of damage, such as DSBs, SSBs etc. Also mentioned the repair mechanisms, the survival curve and the LQ-Model, which is the predominant model in experimental and clinical practice. Chapter 4 presents the collection and recording of radiobiological data (Data mining), through PubMed publications and the extraction of the a and b radiosensitivity parameters of the LQ-Model from human cell survival curves after α -radiation exposure, using the WebPlotDigitizer program and the Python programming language. In the 5th and last Chapter the detailed analysis of the parameters a and b of the LQ-Model and their correlation with radiotherapy is presented. In addition, the DNA damage simulation software, Monte Carlo Damage Simulation (MCDS), investigates the effect of various factors on the number of lesions, such as O₂ concentration, particle energy, the dose deposited in the cell nucleus and the DMSO agent. At the end of this MSc thesis, a comparison of α -particles with γ -radiation and β -radiation is made and some clinical applications are presented.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ.....	1
1.1 Εισαγωγή	2
1.2 Δομή ευκαρυωτικού κυττάρου	2
1.3 Δομή DNA.....	9
1.4 Κυτταρικός κύκλος	13
1.5 Κυτταρική Διαίρεση	19
1.6 Καρκίνος	20
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΦΥΣΙΚΗ ΤΩΝ ΙΟΝΤΙΖΟΥΣΩΝ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΩΝ	25
2.1 Εισαγωγή	26
2.2 Αλληλεπίδραση Η/Μ ακτινοβολίας με την ύλη	27
2.3 Αλληλεπίδραση Σωματιδιακής ακτινοβολίας με την ύλη	31
2.4 Στοιχεία Δοσιμετρίας	39
2.5 Μελέτη α-σωματιδίων	42
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΚΤΙΝΟΒΙΟΛΟΓΙΑ	46
3.1 Εισαγωγή	47
3.2 Στάδια αλληλεπίδρασης Ι.Α. με τους βιολογικούς ιστούς	47
3.3 Άμεση και έμμεση δράση Ι.Α.	49
3.4 Βλάβες DNA και επιδιορθωτικοί μηχανισμοί	50
3.5 Τροποποιητικοί μηχανισμοί της δράσης των Ι.Α. – Καμπύλη επιβίωσης – LQ Model	55
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΛΛΟΓΗ ΡΑΔΙΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ	62
4.1 Εισαγωγή-Εξόρυξη δεδομένων (Data mining)	63
4.2 Εξαγωγή παραμέτρων α και β του LQ Model	66
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΝΑΛΥΣΗ ΡΑΔΙΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ	70
5.1 Εισαγωγή	71
5.2 Ανάλυση παραμέτρων α και β του LQ Model	71
5.3 Συσχέτιση του λόγου α/β με τη θεραπεία	75
5.4 Προσομοιώσεις με το MCDS	78
5.4.1 Γενικά χαρακτηριστικά του MCDS	78

5.4.2 Προσομοιώσεις MCDS με α-σωμάτια.....	82
5.4.3 Σύγκριση α-σωματίων με γ και β-ακτινοβολία.....	88
5.4.4 Ανάλυση κλινικών εφαρμογών.....	102
5.4.5 Τελικά συμπεράσματα	106
Βιβλιογραφία.....	108
Παράρτημα 1.....	112
Παράρτημα 2.....	114

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ



Η Δομή του DNA.

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το κύτταρο είναι η βασική μονάδα δομής και λειτουργίας των ζωντανών οργανισμών. Τα κύτταρα συμπράττουν μεταξύ τους για να σχηματίσουν ιστούς, στη συνέχεια με τη σειρά τους οι ιστοί δημιουργούν τα όργανα, τα όργανα τα συστήματα οργάνων και στο τέλος την ανάπτυξη ενός οργανισμού. Τα κύτταρα είναι λοιπόν, κάποιες δυναμικές «οντότητες» που απαιτούν την προμήθεια πρώτων υλών από το περιβάλλον και τις χρησιμοποιούν σαν δομικούς λίθους για να συνθέσουν τα συστατικά τους. Τα κύτταρα μπορούν να χαρακτηριστούν και ως χημικά «εργοστάσια», όπου το πρόγραμμα της ζωής βρίσκει την έκφρασή του σε πολύπλοκες μορφές χημικής δραστηριότητας.

Τα κύτταρα χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες τα ευκαρυωτικά κύτταρα που το γενετικό τους υλικό περιβάλλεται από πυρηνική μεμβράνη και τα προκαρυωτικά κύτταρα, όπου το γενετικό υλικό δεν περιβάλλεται από πυρηνική μεμβράνη και βρίσκεται ελεύθερο στο κυτταρόπλασμα. Ευκαρυωτικά κύτταρα διαθέτουν όλοι οι ζωικοί (συμπεριλαμβανόμενου και του ανθρώπινου οργανισμού) και φυτικοί οργανισμοί. Ενώ, προκαρυωτικά κύτταρα διαθέτουν τα βακτήρια. Στη παρούσα εργασία θα επικεντρωθούμε στα κύτταρα των ανθρώπινων οργανισμών και γι' αυτό στην επόμενη παράγραφο θα αναλύσουμε τη δομή ενός τυπικού ευκαρυωτικού κυττάρου. Ένας ανθρώπινος οργανισμός διαθέτει κατά μέσο όρο περίπου 50 με 100 τρισεκατομμύρια ευκαρυωτικά κύτταρα, ανάλογα την ηλικία και τη μάζα του.

1.2 ΔΟΜΗ ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ

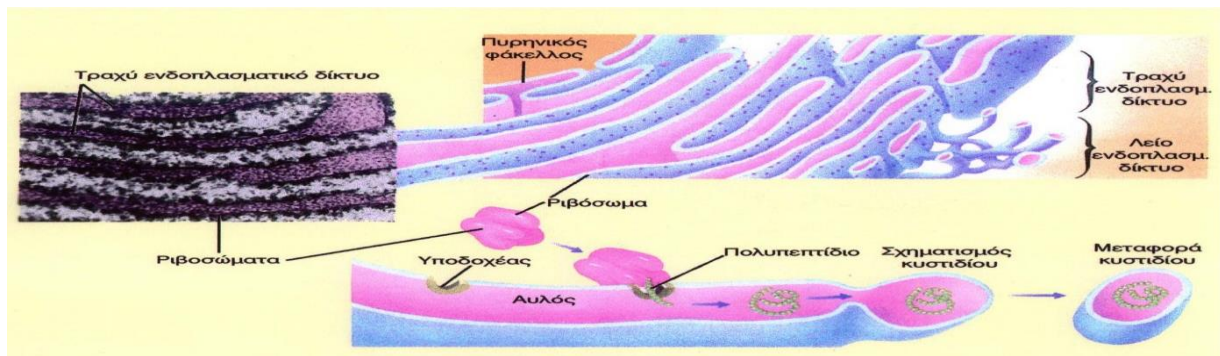
Ένα τυπικό ευκαρυωτικό κύτταρο αποτελείται από τρία κύρια μέρη, τα οποία είναι ο πυρήνας, το κυτταρόπλασμα και η πλασματική μεμβράνη.

Ο πυρήνας κατέχει κυρίαρχη θέση και από δομική, αλλά και από λειτουργική άποψη μέσα σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο λόγω του ότι περιέχει το γενετικό υλικό (DNA) καθώς και απαραίτητα ένζυμα για της διαδικασίες της αντιγραφής και της μεταγραφής του. Επίσης, μέσα στον πυρήνα συναντάμε το πυρηνικό σκελετό αλλά και τον πυρηνίσκο, όπου συνθέτεται το ριβοσωμικό RNA (rRNA) και άλλα μόρια, όπως για παράδειγμα πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη γονιδιακή ρύθμιση, αλλά και στο «πακετάρισμα» του DNA σε χρωμοσώματα. Ο πυρήνας ενός ευκαρυωτικού κυττάρου έχει σχήμα ωοειδές ή σφαιρικό και η διάμετρος του ποικίλλει σε διαφορετικές κατηγορίες κυττάρων, με τάξη μεγέθους τα μm. Περιβάλλεται από τον πυρηνικό φάκελο. Ακόμα, αξίζει να αναφερθεί ότι όλα όσα περιγράψαμε προηγουμένως περιέχονται εντός μίας ημίρρευστης ουσίας που ονομάζεται πυρηνόπλασμα.^[6]

Το κυτταρόπλασμα είναι μία ημίρρευστη ουσία που εκτείνεται από την κυτταρική μεμβράνη μέχρι το πυρηνικό περίβλημα. Το μεγαλύτερο ποσοστό της σύστασης του κυτταροπλάσματος είναι νερό μέσα στο οποίο βρίσκονται διαλυμένες ή αιωρούνται μεγάλο πλήθος οργανικών και ανόργανων ενώσεων. Το συγκεκριμένο ρευστό στοιχείο του κυττάρου ονομάζεται κυτοσόλιο ή αλλιώς κυτταρόλυμα και περιλαμβάνει διάφορα ένζυμα, ιόντα και πρωτεΐνες που εξυπηρετούν διάφορες λειτουργίες του κυττάρου καθώς

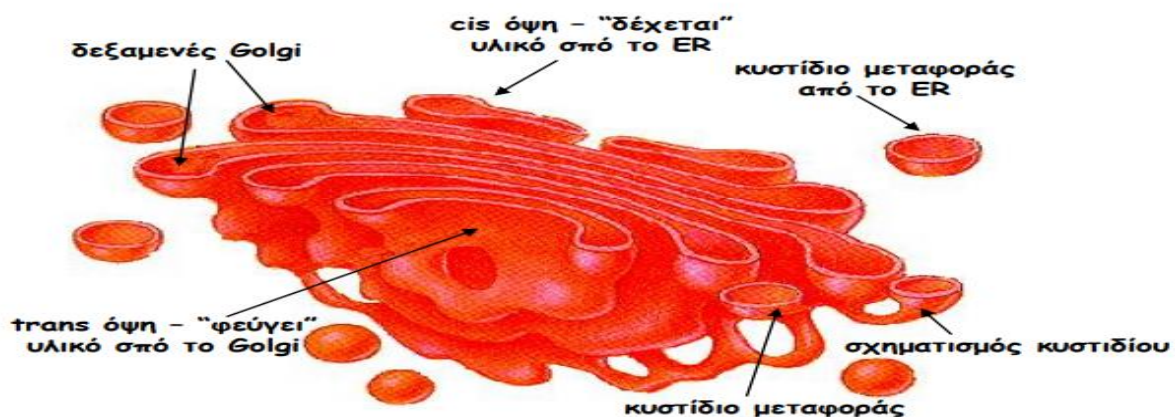
και ριβοσωμικές υπομονάδες, όπου σ' αυτές πραγματοποιείται η σύνθεση των πρωτεϊνών. Πέρα από το κυτοσόλιο, στο κυτταρόπλασμα συναντάμε οργανίδια, τα οποία είναι ουσιαστικά ενεργές κυτταρικές δομές, όπου η καθεμιά εξυπηρετεί ένα συγκεκριμένο σκοπό στη λειτουργία και επιβίωση του κυττάρου. Το κυτοσόλιο αποτελεί κατά μέσο όρο το 50% του όγκου του κυτταροπλάσματος. Επίσης, μέσα στο κύτταρο υπάρχει ένα ενδομεμβρανικό σύστημα το οποίο περιλαμβάνει το λείο και αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο, το σύμπλεγμα Golgi, λυσοσώματα, υπεροξειδοσώματα αλλά και κενοτόπια, όπου δημιουργούνται κατά την διαδικασία της ενδοκύττωσης μικροοργανισμών, αλλά και σωματιδίων τροφής.^[6]

Αρχικά, περίπου μισή μεμβρανική επιφάνεια του κυττάρου περικλείεται από διαμερίσματα σε σχήμα λαβύρινθου που ονομάζεται ενδοπλασματικό δίκτυο. Στο ενδοπλασματικό δίκτυο βρίσκονται συνδεδεμένα τα ριβοσώματα που είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση μεμβρανικών πρωτεϊνών, όπου οι περισσότερες από αυτές κατευθύνονται σε άλλα οργανίδια ή προορίζονται για έκκριση. Άλλη μία χρησιμότητα του ενδοπλασματικού δικτύου είναι η παραγωγή των λιπιδίων ενός κυττάρου, αλλά και η αποθήκευση ιόντων ασβεστίου. Το ενδοπλασματικό δίκτυο χωρίζεται στο αδρό (ή αλλιώς κοκκιώδες) ενδοπλασματικό δίκτυο και στο λείο ενδοπλασματικό δίκτυο. Το αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο είναι αυτό πάνω στο οποίο βρίσκονται συνδεδεμένα τα ριβοσώματα και γίνονται οι διαδικασίες που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Το λείο ενδοπλασματικό δίκτυο που είναι η συνέχεια του αδρού δεν περιλαμβάνει ριβοσώματα, αλλά είναι άφθονο μόνο σε κάποια εξειδικευμένα κύτταρα και συμμετέχει στο μεταβολισμό των λιπών και στην αποτοξίνωση λιποδιαλυτών φαρμάκων ή άλλων βλαβερών ουσιών, οι οποίες παράγονται από το μεταβολισμό. Βέβαια, σε κάποια σημεία το ενδοπλασματικό δίκτυο είναι μερικώς αδρό και μερικώς λείο. Τα σημεία αυτά λέγονται στοιχεία μετάπτωσης και αποτελούν τις θέσεις από τις οποίες δημιουργούνται τα κυστίδια τα οποία μεταφέρουν διάφορες νεοσυντιθέμενες πρωτεΐνες και λιπίδια προς το σύμπλεγμα Golgi. Έχουν εντοπιστεί 20 πρωτεΐνες του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου που δεν υπάρχουν στο λείο. Είναι προφανές πως αυτές οι πρωτεΐνες έχουν σχέση με εξειδικευμένες λειτουργίες που λαμβάνουν χώρα μόνο στο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο, όπως κάποιες από αυτές είναι η πρόσδεση των ριβοσωμάτων, αλλά και η διατήρηση του επιπεδοποιημένου σχήματος του. Επομένως το ενδοπλασματικό δίκτυο αποτελεί το πρώτο «μονοπάτι» διαλογής και μεταφοράς των πρωτεϊνών προς τα διάφορα τμήματα του κυττάρου.^[6]



1.1 Εικόνα: Ενδοπλασματικό δίκτυο και δημιουργία κυστιδίων.^[6]

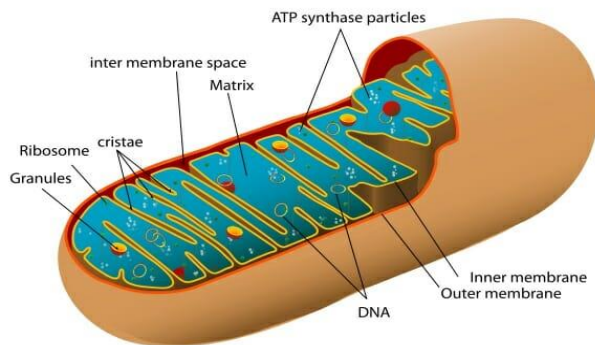
Επιπρόσθετα, στο κυτταρόπλασμα υπάρχει το σύμπλεγμα Golgi. Το σύμπλεγμα Golgi αποτελείται από μία στοίβα παραλλήλων σακοειδών δεξαμενών με πεπλατυσμένη κεντρική περιοχή και διογκωμένη περιφέρεια. Το συγκεκριμένο οργανίδιο έχει ως κυρία λειτουργία τη συγκέντρωση και την τροποποίηση των πρωτεϊνών που έχουν παραχθεί στο αδρό ή αλλιώς όπως ονομάζεται κοκκιώδες ενδοπλασματικό δίκτυο. Το μέγεθος κάθε στοίβας κυμαίνεται από 0,5 έως 1μm και μπορεί να αποτελείται από 3 έως 20 δεξαμενές, ενώ συχνά παρατηρούνται και κυστίδια στις άκρες των δεξαμενών μεγέθους 50nm. Κάθε σύμπλεγμα Golgi διαθέτει δύο όψεις. Η μία όψη ονομάζεται cis (εισόδου) και η άλλη trans (εξόδου), ενώ ανάμεσα σε αυτές τις όψεις υπάρχουν και ενδιάμεσες δεξαμενές. Η cis και η trans όψη είναι μεταξύ τους στενά συνδεδεμένες μέσω ειδικών διαμερισμάτων που αποτελούνται από ένα δίκτυο διασυνδεδεμένων σωλήνων και δεξαμενικών δομών που ονομάζονται cis-Golgi network (CGN) και trans-Golgi network (TGN). Τα δύο αυτά δίκτυα έχουν σημαντική χρησιμότητα σχετικά με τη διαλογή των μεταφερόμενων πρωτεϊνών, που προέρχονται από το κοκκιώδες ενδοπλασματικό δίκτυο. Ειδικότερα, οι πρωτεΐνες που εισέρχονται από το ενδοπλασματικό δίκτυο στην cis-όψη ελέγχονται για το αν πρέπει να συνεχίσουν περαιτέρω ή να επιστρέψουν πάλι πίσω, ενώ το σημείο όπου πραγματοποιείται η διαλογή των πρωτεϊνών που εξέρχονται από το σύμπλεγμα Golgi είναι το δίκτυο trans. Σ' αυτό το σημείο οι πρωτεΐνες που έχουν εισέλθει «πακετάρονται» εκλεκτικά σε εκκριτικά κυστίδια και κατευθύνονται προς διαφορετικές κατευθύνσεις ανάλογα με την λειτουργικότητά τους είτε για παράδειγμα προς την πλασματική μεμβράνη, είτε προς το λυσόσωμα, είτε σε άλλα οργανίδια του κυττάρου.^[6]



1.2 Εικόνα: Σύμπλεγμα Golgi με τις πλευρές «εισόδου»-«εξόδου».^[6]

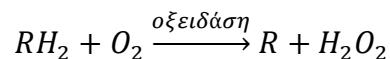
Επιπλέον, ένα μεγάλο μέρος του όγκου του κυτταροπλάσματος σε ποσοστό περίπου 20% αποτελούν τα μιτοχόνδρια. Τα μιτοχόνδρια είναι οργανίδια υπεύθυνα για την παραγωγή ενέργειας μέσω του μηχανισμού της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και ανακαλύφθηκαν το 1866 από τον Altmann. Το σχήμα και ο αριθμός τους ποικίλλει (ωοειδές, επίμηκες ή σφαιρικό) ανάλογα με τον τύπο κυττάρου. Η σύσταση τους είναι 66% νερό, 22% πρωτεΐνες, 11% λιπίδια και 1% νουκλεοτίδια και ιόντα, ενώ οι διαστάσεις τους είναι της τάξης του 0.3-1 μm. Αποτελούνται από δύο μεμβράνες μία εξωτερική και

μία εσωτερική, που σχηματίζει μεγάλο αριθμό πτυχώσεων. Τα μιτοχόνδρια, λοιπόν, έχουν ως πρωτεύοντα ρόλο την παραγωγή ενέργειας με τη μορφή τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP). Τα μόρια ATP (10 δισεκατομμύρια περίπου για ένα τυπικό ευκαρυωτικό κύτταρο) που παράγονται συμβάλλουν στην επίτευξη πολλών σημαντικών λειτουργιών, όπως για παράδειγμα τη σύνθεση μακρομορίων (π.χ. των πρωτεϊνών, του DNA του RNA, των λιπιδίων κ.α.), τη σύσπαση των μυϊκών κυττάρων, αλλά και την ενεργή μεταφορά ιόντων και ρυθμιστικών μορίων μέσω των μεμβρανών, την ρύθμιση της απόπτωσης και κατάλυση διάφορων ενζύμων.^[6]

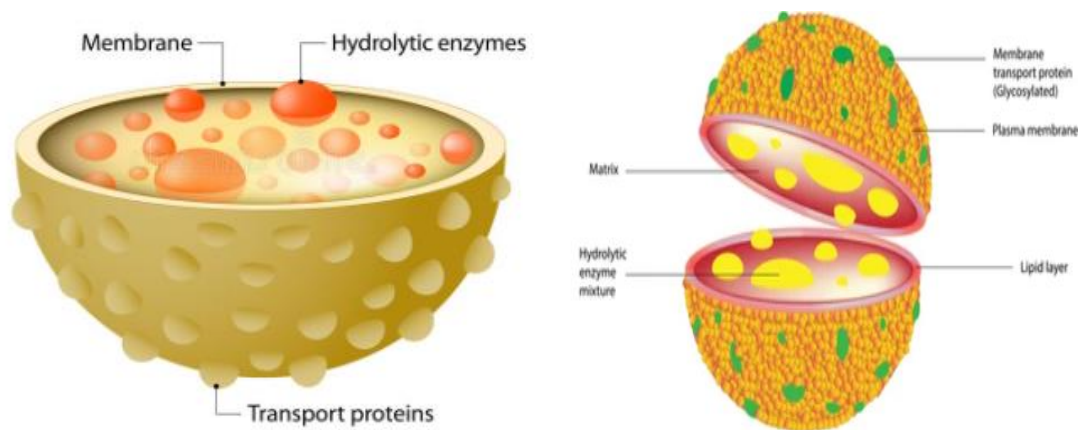


1.3 Εικόνα: Δομή μιτοχονδρίου.
(Πηγή <https://biologydictionary.net/mitochondria/>)

Άλλα οργανίδια τα οποία περιέχονται στο κυτταρόπλασμα ζωικών ευκαρυωτικών κυττάρων είναι τα λυσοσώματα και τα υπεροξυσώματα. Τα λυσοσώματα είναι οργανίδια που περιέχουν ένζυμα και έχουν ως κύριο ρόλο την αποικοδόμηση άχρηστων ουσιών του κυττάρου, ή ουσιών οι οποίες έχουν εισέλθει στο κύτταρο, ενώ άλλες φορές στοχεύουν στη λειτουργική μετατροπή ενός μορίου. Τα λυσοσώματα συμμετέχουν σε πολλές κυτταρικές δραστηριότητες, όπως η πέψη, η θρέψη, η ανακύκλωση μεταβολιτών, η αυτοφαγία, ο κυτταρικός θάνατος, η άμυνα, η διαφοροποίηση κ.α. Αποτελούν, μόλις το 1% του όγκου του κυτταροπλάσματος, έχουν σχήμα σφαιρικό και η διάμετρος τους κυμαίνεται από 25nm έως 1μm. Επίσης, τα λυσοσώματα προέρχονται συνήθως είτε από το σύμπλεγμα Golgi, ως κυστίδια τα οποία αποκόπτονται από αυτό και περιείχαν λυσοσωμικά ένζυμα, είτε από ωρίμανση ή σύντηξη προϋπάρχοντων οργανιδίων μέσα στο κυτταρόπλασμα. Τώρα, όσο αφορά τα υπεροξυσώματα είναι οργανίδια τα οποία στοχεύουν στη παραγωγή και στη διάσπαση του υπεροξειδίου του υδρογόνου περιέχοντας τα ένζυμα της οξειδάσης και καταλάσης. Τα υπεροξυσώματα έχουν σφαιρικό σχήμα με διάμετρο από 0.3 έως 1 μm και αποτελούν το 1% του όγκου του κυτταροπλάσματος, όπως και τα λυσοσώματα. Ειδικότερα, στα υπεροξυσώματα συμβαίνουν οξειδώσεις του τύπου:



Στη συγκεκριμένη αντίδραση το υδρογόνο του μορίου R που είναι ένας υδρογονάνθρακας, ενώνεται με το οξυγόνο με αποτέλεσμα την παραγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου, το οποίο οξειδώνει άλλα μόρια μέσω ενός ενζύμου που ονομάζεται καταλάση. Η καταλάση είναι ιδιαίτερα σημαντική διότι διασπά τα μόρια H_2O_2 που είναι τοξικά για το κύτταρο.



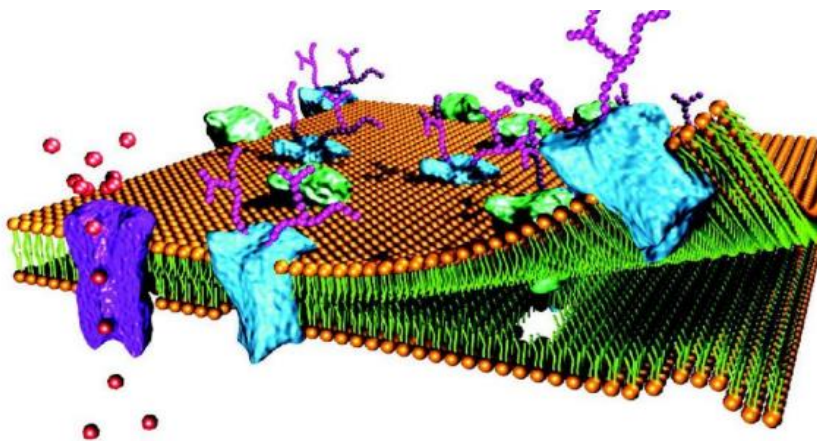
1.4 Εικόνα: Λυσόσωμα (αριστερά) και Υπεροξειδόσωμα (δεξιά).

(Πηγή: <https://www.dreamstime.com/anatomy-lysosome-vector-diagram-medical-use-hydrolytic-enzymes-membrane-transport-proteins-organelle>)

Το τρίτο και τελευταίο κύριο στοιχείο ενός κυττάρου είναι η πλασματική μεμβράνη. Αυτή η βιολογική μεμβράνη είναι ένα οργανωμένο υπερ-μοριακό συγκρότημα που αποτελείται από λιπίδια υδατάνθρακες και πρωτεΐνες, τα οποία οριοθετούν το κύτταρο και τα διαχωρίζουν από το εξωτερικό περιβάλλον. Οι βασικές λειτουργίες της πλασματικής μεμβράνης περιλαμβάνουν το καθορισμό των ορίων του κυττάρου και των οργανιδίων που περιέχει, την οργάνωση των θέσεων των κυτταρικών λειτουργιών, τον έλεγχο της διαπερατότητας μορίων και ιόντων και την αποδοχή εξωτερικών ερεθισμάτων. Συγκεκριμένα, παρατηρείται μεταφορά υδρόφοβων μορίων (όπως στεροειδείς ορμόνες, O_2 , N_2) που διαπερνούν τις κυτταρικές μεμβράνες διαμέσου της λιπιδικής διπλοστοιβάδας από το χώρο της υψηλότερης γι' αυτές συγκεντρώσεις προς το χώρο της χαμηλότερης. Η μεταφορά ακολουθεί το νόμο της απλής διάχυσης και ολοκληρώνεται όταν οι συγκεντρώσεις μεταξύ του εξωκυττάρου χώρου και του εσωτερικού του κυττάρου εξισωθούν. Επιπλέον, πραγματοποιείται μεταφορά μικρών αφόρτιστων πολικών μορίων, όπου ακολουθείται πάλι ο νόμος της απλής διάχυσης, όπως είναι η γλυκερόλη, η αιθανόλη και το νερό. Το νερό εξαιτίας του μικρού μοριακού του βάρους δίνει τη δυνατότητα στα μόρια του να εισχωρήσουν στα διάφορα κενά που εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της κίνησης των λιπιδικών αλυσίδων της διπλοστοιβάδας. Ένας άλλος τρόπος, όπου μεταφέρεται το νερό και διάφορα άλλα πολικά μόρια είναι μέσω πρωτεϊνών που ονομάζονται δίαυλοι ή περμεάσες, που είναι εξειδικευμένες για κάθε μόριο. Στη περίπτωση του νερού ονομάζονται υδατοπορίνες και η βασική τους λειτουργία είναι η αύξηση της ταχύτητας μεταφοράς του νερού σε κύτταρα διάφορων ιστών, όπως στους νεφρούς ή στο γαστρεντερικό σωλήνα. Επιπροσθέτως, γίνεται και μεταφορά ιόντων, μέσω ενεργητικής μεταφοράς καταναλώνοντας ενέργεια και ταυτόχρονα προσπαθώντας να επιτευχθεί διατήρηση της ομοιόστασης των ηλεκτρικών φορτίων εκατέρωθεν της διπλοστοιβάδας της μεμβράνης. ^[6]

Επίσης, η πλασματική μεμβράνη διαθέτει τους κατάλληλους μηχανισμούς για την επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων, την κυτταρική σύνδεση και την προσκόλληση. Ακόμα, έχει την ιδιότητα να επιδιορθώνει οπές με αποτέλεσμα να αποκαθιστά τη συνοχή της. Η

πλασματική μεμβράνη σχηματίζεται από την επαφή ουράς με ουράς δύο λιπιδικών φύλλων. Λόγω του σχήματος που λαμβάνουν τα λιπίδια, αλλά και εξαιτίας της αμφίφιλης φύσης τους δημιουργείται ένα υδάτινο περιβάλλον που καλείται αυτοσυγκράτηση, δηλαδή ένας αυθόρμητος σχηματισμός διπλοστοιβάδας. Οι διπλοστοιβάδες είναι δομές που χαρακτηρίζονται από θερμοδυναμική σταθερότητα. Όσο αφορά τη σύσταση, η πλασματική μεμβράνη χαρακτηρίζεται από αναλογία λιπιδίων – πρωτεϊνών (1:1). Η πλασματική μεμβράνη λειτουργεί σαν «ρευστό μωσαϊκό». Το συγκεκριμένο μοντέλο εκφράστηκε από τους Singer και Nicolson και προβλέπει την ρευστότητα, αλλά και την μωσαϊκότητα, όπου αναφέρεται στην πολυάριθμη παρουσία πολλών και διαφορετικών μορίων. Σύμφωνα, με το παραπάνω μοντέλο η βασική επαναλαμβανόμενη μονάδα της μεμβράνης αποτελείται από μόρια φωσfolιπιδίων σε διάταξη διπλοστοιβάδας με πάχος περίπου 5nm, ενώ οι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες βρίσκονται στο επίπεδο της λιπιδικής διπλοστοιβάδας με φαινομενικά τυχαίο τρόπο. Οι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες έχουν τη δυνατότητα να αλληλεπιδρούν μόνο με τη μία μονοστοιβάδα, άλλες έχουν την ιδιότητα να διαπερνούν ολόκληρη τη διπλοστοιβάδα, ενώ άλλες βρίσκονται βυθισμένες εξ ολοκλήρου μέσα στην πλασματική μεμβράνη. Η ρευστότητα της μεμβράνης εξαρτάται από το κορεσμό, αλλά και το μήκος των υδρογονοανθρακικών ουρών των φωσfolιπιδίων. Όταν υπάρχουν κορεσμένα λιπαρά οξέα στη περιεκτικότητα της κυτταρικής μεμβράνης η ρευστότητα μειώνεται. Αντίθετα, στην περίπτωση που παρατηρούνται ακόρεστα λιπαρά οξέα εμφανίζεται αύξηση της ρευστότητας της κυτταρικής μεμβράνης. Επίσης, ανάλογα με το μήκος των υδρογονοανθρακικών ουρών επηρεάζεται η ρευστότητα της μεμβράνης. Δηλαδή όσο αυξάνεται το μήκος των ουρών τόσο λιγότερη είναι η ρευστότητα της μεμβράνης. Τέλος, στα ζωικά κύτταρα, όπως και στα ανθρώπινα κύτταρα η ρευστότητα επηρεάζεται και από την παρουσία της χοληστερόλης.^[6]



1.5 Εικόνα: Η πλασματική μεμβράνη του κυττάρου.^[6]

Στον ανθρώπινο οργανισμό υπάρχει τεράστιο πλήθος διαφορετικών κυττάρων, που παρόλο την διαφορετική χρησιμότητα τους διαθέτουν όλα το ίδιο γενετικό υλικό που περιβάλλεται από την πυρηνική μεμβράνη του πυρήνα και αποτελούνται κατά βάση από τα ίδια οργανίδια, την ίδια σε σύσταση πλασματική μεμβράνη και φυσικά το κυτταρόπλασμα. Ο όγκος και το σχήμα του κάθε κυττάρου βέβαια από ιστό σε ιστό διαφέρει. Στο παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται κάποια ενδιαφέροντα στοιχεία σχετικά

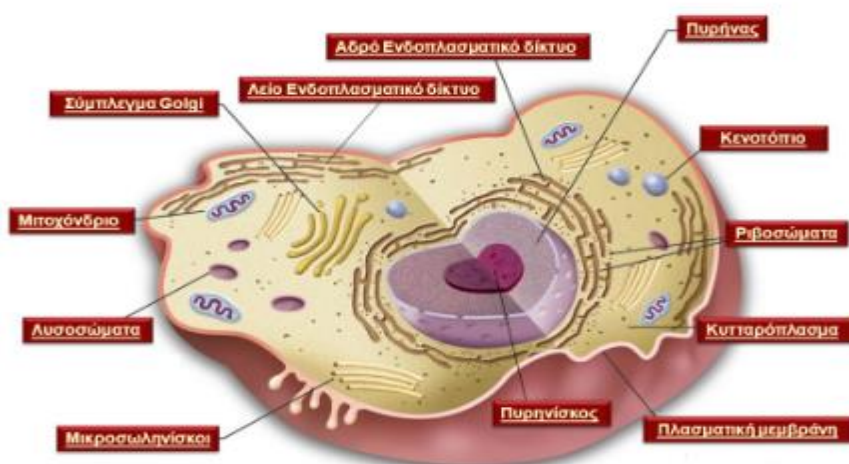
με τον όγκο του κάθε κυττάρου. Επίσης, στην εικόνα 1.6 απεικονίζεται συγκεντρωτικά η δομή ενός τυπικού ευκαρυωτικού κυττάρου, που συνήθως έχει διάμετρο της τάξης των 20-40 μm , με διάμετρο πυρήνα 5 μm -6 μm .

Τύπος κυττάρου	Όγκος κατά μέσο όρο (μm^3)
Σπερματοζωάριο (sperm cell)	30
Ερυθροκύτταρο (red blood cell)	100
Λεμφοκύτταρο (lymphocyte)	130
Νευρικό (neutrophil)	300
Κύτταρο Beta (πάγκρεας)	1000
Κύτταρο του εντέρου (enterocyte)	1400
Κύτταρο του δέρματος (fibroblast)	2000
Καρκινικό κύτταρο HeLa (καρκίνου της μήτρας)	3000
Hair cell	4000
Οστεοκύτταρο (osteoblasts)	4000
Μακροφάγο (macrophage)	5000
Καρδιομυϊκό κύτταρο (cardiomyocyte)	15000
Μεγακαρυοκύτταρο (megakaryocyte)	30000
Κύτταρο λίπους (fat cell)	600000
Ωάριο (oocyte)	4000000

Πίνακας 1.1: Τυπικά μεγέθη όγκου για διαφορετικούς τύπους ανθρώπινων κυττάρων.

(πηγή: Ron Milo and Rob Phillips: Cell Biology by numbers (2015)).

Από τον παραπάνω πίνακα, παρατηρούμε ότι το σπερματοζωάριο είναι πολλές τάξεις μεγέθους μικρότερο από το ωάριο, όπου είναι πέντε τάξεις μεγέθους μεγαλύτερο. Ακόμα, τα κύτταρα λίπους διαθέτουν πολύ μεγάλο όγκο, ενώ τα καρκινικά κύτταρα του καρκίνου της μήτρας έχουν όγκο $3000 \mu\text{m}^3$, κάτι το οποίο σημαίνει ότι αν ήταν κυβικού σχήματος θα είχαν ακμή $\sim 14.5 \mu\text{m}$, ενώ στη περίπτωση που ήταν σφαιρικά θα διέθεταν διάμετρο $\sim 18.5 \mu\text{m}$.

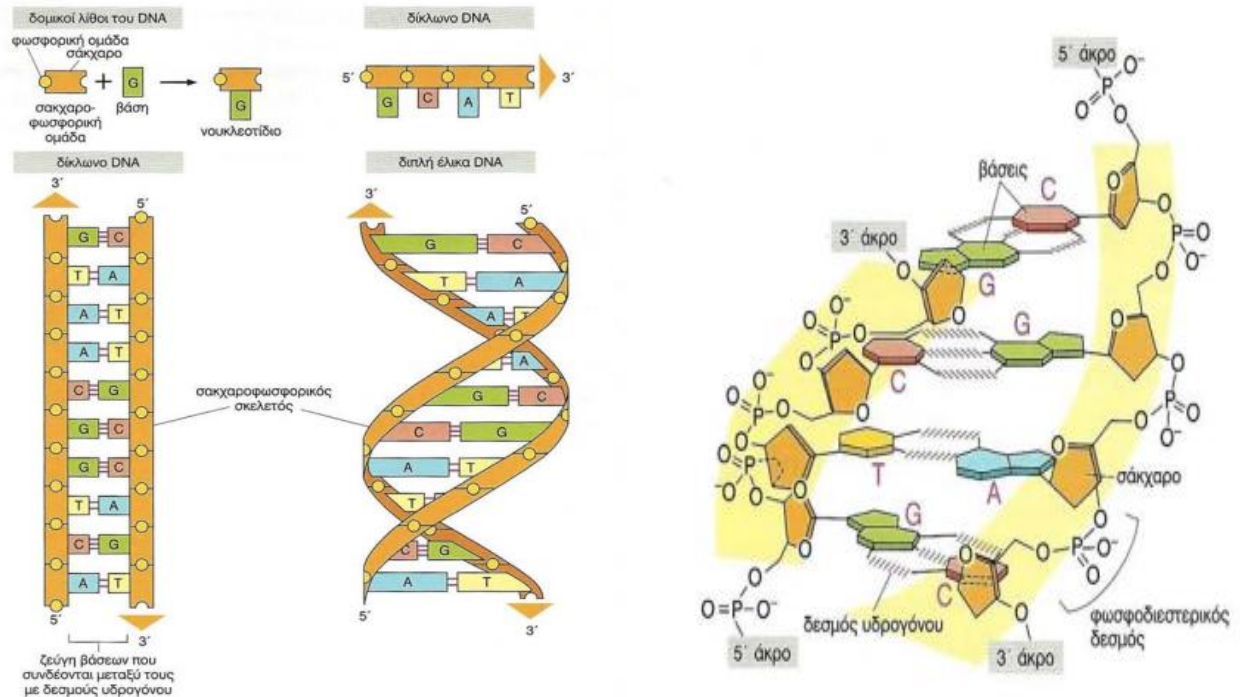


1.6 Εικόνα: Η δομή ενός τυπικού ζωικού ευκαρυωτικού κυττάρου.

1.3 ΔΟΜΗ DNA

Το 1953 στο Cambridge ανακαλύφθηκε η δομή του DNA από τους James Watson και Francis Crick, που αξιοποίησαν τις κρυσταλλογραφικές εικόνες της Rosalind Franklin και του καθηγητή της Maurice Wilkins. Το DNA χωρίς υπερβολές μπορεί να χαρακτηριστεί ως το μόριο της «ζωής». Όλες οι κυτταρικές μορφές έχουν συγκεντρωμένες τις γενετικές τους πληροφορίες με τη μορφή μίας γραμμικής αλληλουχίας τεσσάρων χημικών οργανικών αζωτούχων βάσεων, οι οποίες είναι η αδενίνη (A), η θυμίνη (T), η γουανίνη (G) και η κυτοσίνη (C) και αποτελούν το μακρομόριο που ονομάζεται δεοξυριβονουκλεϊνικό οξύ (DNA).

Ειδικότερα, το μόριο ενός νουκλεϊκού οξέος αποτελείται από το συνδυασμό τριών ειδών μορίων, τα οποία είναι ένα μόριο σακχάρου, ένα μόριο φωσφορικού οξέος και μία αζωτούχο βάση, που είναι είτε πυριδιμίνη, είτε πουρίνη. Το σάκχαρο είναι μία πεντόζη, που ονομάζεται δεσοξυριβόζη, ενώ οι αζωτούχες βάσεις που είναι συνδεδεμένες με την πεντόζη είναι είτε πυριδιμίνες, όπως η θυμίνη (T) και η κυτοσίνη (C), είτε πουρίνες, όπως είναι η αδενίνη (A) και η γουανίνη (G). Το σάκχαρο συνδέεται και με ένα φωσφορικό οξύ, σχηματίζοντας έτσι ένα νουκλεοτίδιο. Έτσι στη συνέχεια, σχηματίζονται τα πολυνουκλεοτίδια μέσω της συνένωσης του φωσφορικού οξέος του πρώτου μορίου με την πεντόζη του δεύτερου μορίου, του φωσφορικού οξέος του δεύτερου μορίου με την πεντόζη του τρίτου μορίου κ.ο.κ. Μ' αυτό το τρόπο σχηματίζεται μία αλυσίδα, που αποτελείται από χιλιάδες νουκλεοτίδια και ουσιαστικά σχηματίζεται μία έλικα. Το μόριο DNA δημιουργείται από μία διπλή έλικα, που οργανώνεται μέσω των τεσσάρων αζωτούχων βάσεων που βρίσκονται στο εσωτερικό του μορίου και στην εξωτερική πλευρά του μορίου υπάρχει ο βασικός σκελετός σακχάρου-φωσφόρου, όπου σχηματίζονται ομοιοπολικοί δεσμοί μεταξύ των μορίων. Μεταξύ των αλυσίδων του DNA υπάρχει συμπληρωματικότητα των αζωτούχων βάσεων, δηλαδή απέναντι από αδενίνη (A) είναι υποχρεωτικό να υπάρχει θυμίνη (T) και αντίστροφα, ενώ απέναντι από γουανίνη (G) υπάρχει κυτοσίνη (C) και αντίστροφα. Μεταξύ των αζωτούχων βάσεων υπάρχουν δεσμοί υδρογόνου και συγκεκριμένα μεταξύ A-T σχηματίζονται 2 δεσμοί υδρογόνου, ενώ μεταξύ των βάσεων G-C σχηματίζονται τρεις δεσμοί υδρογόνου. Η διάταξη των δύο αλυσίδων στο χώρο παρουσιάζει αντιπαράλληλες διευθύνσεις, δηλαδή η μία έχει προσανατολισμό 5' προς 3' και η συμπληρωματική της έχει προσανατολισμό 3' προς 5'. Οι διευθύνσεις αυτές καθορίζονται από τα 5' (ομάδες φωσφόρου) και τα 3' (ομάδες υδροξυλίου) άκρα του σακχάρου δεσοξυριβόζη.^{[7],[8]}

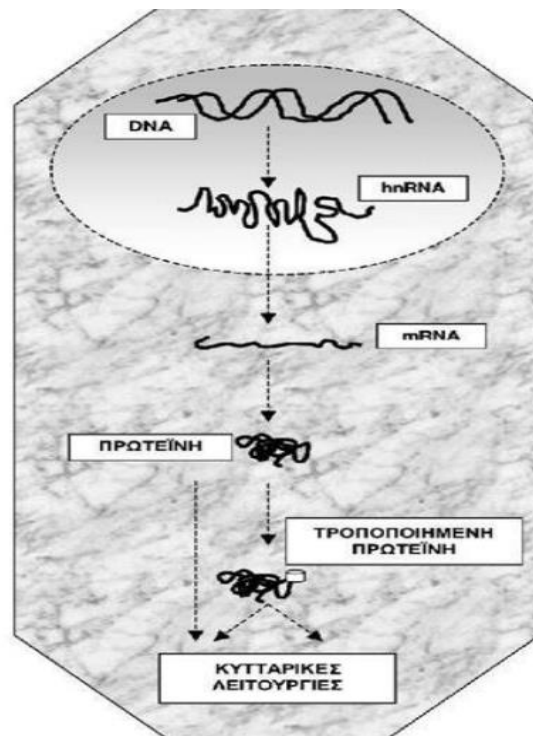


1.7 Εικόνα: Η δομή ενός δίκλωνου μορίου DNA (αριστερά). Δύο κλώνοι της δίκλωνης αλυσίδας του DNA που συγκρατούνται μεταξύ τους σχηματίζοντας ζεύγη βάσεων (δεξιά).^[8]

Στη παραπάνω εικόνα παρατηρείται ότι τα νουκλεοτίδια συνδέονται ομοιοπολικά μεταξύ τους με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς ανάμεσα στην 3'-υδροξυλομάδα (-OH) του ενός σακχάρου και την 5'-φωσφορική ομάδα (P) του επόμενου. Αυτό, έχει ως αποτέλεσμα να δημιουργείται μία χημική πολικότητα, δηλαδή εμφανίζεται μία χημική διαφορά μεταξύ των δύο ακρών μίας αλυσίδας.

Η αλληλουχία των τεσσάρων αζωτούχων βάσεων A,T,G,C μπορεί να δημιουργήσει πολλούς συνδυασμούς, αλλά είναι αποδεδειγμένο ότι το DNA όλων των ευκαρυωτικών κυττάρων προτιμάει ένα συνδυασμό $4^3 = 64$ που αντιστοιχεί σε 64 δυνατούς συνδυασμούς που ονομάζονται κωδικόνια (τριπλέτες των αζωτούχων βάσεων) και καθένα από αυτά κωδικοποιεί ένα από τα 20 αμινοξέα. Άρα το DNA λειτουργεί σαν την απαραίτητη πληροφορία για τη παραγωγή των πρωτεϊνών που χρειάζονται για να επιτελέσει ένα κύτταρο τις λειτουργίες του και κατ' επέκταση ένας οργανισμός. Σε ένα οργανισμό το σύνολο των πληροφοριών που περιέχεται στο DNA του λέγεται γονιδίωμα του οργανισμού. Κάθε γονίδιο, λοιπόν, ορίζεται ως το χημικό πολυμέρες των τεσσάρων αζωτούχων βάσεων του DNA, το οποίο περιλαμβάνει την πολύτιμη βιολογική πληροφορία, ενώ παράλληλα με τη βοήθεια ενός ενζυμικού συστήματος μπορεί να αναπαράγει τον εαυτό του. Η οργάνωση των γονιδίων πραγματοποιείται με βάση καθορισμένα πρότυπα, τα οποία προκύπτουν από τις ιδιαιτερότητες στη δομή τους και τις λειτουργικές τους ανάγκες. Τα γονίδια των ευκαρυωτικών κυττάρων παρουσιάζουν ασυνέχειες όσο αφορά την γενετική πληροφορία, δηλαδή υπάρχουν περιοχές κωδικές (εξώνια) και περιοχές μη κωδικές (εσώνια), οι οποίες εναλλάσσονται διαδοχικά. Μέσω,

ειδικών υπερμοριακών συμπλεγμάτων πρωτεϊνών και μικρών πυρηνικών RNAs (snRNAs) αφαιρούνται η μη κωδικές περιοχές από τα πρόδρομα μόρια hnRNAs. Έτσι προκύπτει ένα ώριμο μεταφραζόμενο μόριο mRNA, το οποίο έχει προκύψει από την αποκοπή των εσωνίων και τη συρραφή των εξωνίων, μέσω διάφορων ενζύμων. Το μόριο αυτό του mRNA αφού μεταφραστεί και με τη βοήθεια των tRNAs (όλα αυτά συμβαίνουν στο ριβόσωμα) θα παραχθεί μια πρωτεΐνη, η οποία μέσω και της μετα-μεταφραστικής τροποποίησης της θα επιτελέσει μία κυτταρική λειτουργία. Αυτή η διαδικασία, που μόλις προαναφέρθηκε πολύ συνοπτικά, περιγράφει το κεντρικό δόγμα της ροής των γενετικών πληροφοριών, δηλαδή «DNA $\leftrightarrow$ RNA $\rightarrow$ Πρωτεΐνη» που ακολουθείται από όλους τους κυτταρικούς τύπους του ανθρώπινου οργανισμού. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι το RNA, λέγεται και ριβονουκλεϊκό οξύ, είναι μονόκλωνο μόριο σε αντίθεση με το DNA που έχει τη μορφή διπλής έλικας, ενώ μία ακόμα διαφορά είναι ότι οι διαθέσιμες βάσεις που έχει είναι η αδενίνη (A), η γουανίνη (G), η κυτοσίνη (C) και η ουρακίλη (U) αντί της θυμίνης.^{[6],[8]}

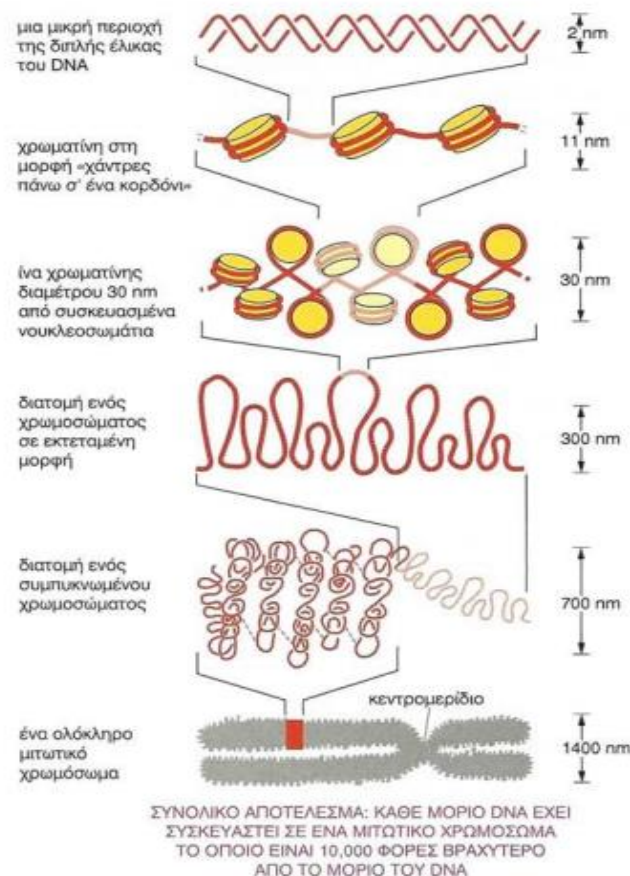


1.8 Εικόνα: Διαγραμματική απεικόνιση της ροής των γενετικών πληροφοριών, όπου διακρίνονται οι βασικοί μηχανισμοί: (i) της μεταγραφής του DNA σε hnRNA, (ii) της ωρίμανσης του hnRNA σε mRNA (iii) της μετάφρασης του mRNA σε πρωτεΐνη και (iv) της μετα-μεταφραστικής τροποποίησης της πρωτεΐνης.^[6]

Η τεράστια ποσότητα των γενετικών πληροφοριών που περιέχονται στο μόριο του DNA, πρέπει να έχει τη δυνατότητα να αποθηκεύεται σε μικρό χώρο και ταυτόχρονα να είναι σε διαθεσιμότητα για να αποκωδικοποιηθεί και να μεταγραφεί σε πρόδρομο ετερογενές RNA (hnRNA). Επομένως, στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς το DNA κατανέμεται σε μία ομάδα διαφορετικών χρωμοσωμάτων. Ο ανθρώπινος οργανισμός αποτελείται από 46

χρωμοσώματα, όπου τα 44 είναι αυτοσωμικά και τα 2 είναι τα φυλετικά και καθορίζουν το φύλο. Ένα άνδρας διαθέτει ένα φυλετικό X χρωμόσωμα και ένα Y χρωμόσωμα, ενώ μία γυναίκα διαθέτει 2 φυλετικά X χρωμοσώματα. Το συνολικό ανθρώπινο γονιδίωμα, περιέχει κατά προσέγγιση 3.2×10^9 νουκλεοτίδια που κατανέμονται σε 24 χρωμοσώματα, διότι τα αυτοσωμικά ανά δύο είναι πανομοιότυπα. Το κάθε χρωμόσωμα αποτελείται από ένα μακρύ γραμμικό μόριο DNA, το οποίο εμφανίζει μία αλληλεπίδραση με πρωτεΐνες, οι οποίες διαθέτουν την ικανότητα να διπλώνουν και να συσχευάζουν τη λεπτή ίνα του DNA σε μία πιο συμπαγή δομή. Το σύμπλοκο των πρωτεϊνών μαζί με το DNA ονομάζεται χρωματίνη. Ειδικότερα, οι πρωτεΐνες που προσδένονται στο DNA για να κατασκευάσουν τα χρωμοσώματα διαχωρίζονται σε δύο κατηγορίες τις ιστόνες και τις υπόλοιπες χρωμοσωμικές πρωτεΐνες, που ονομάζονται και «μη» ιστόνες. Οι ιστόνες είναι οι πρωτεΐνες, οι οποίες είναι υπεύθυνες για το αρχικό και πιο βασικότερο στάδιο συσκευασίας της χρωματίνης, που ονομάζεται νουκλεοσωμάτιο. Ένα νουκλεοσωμάτιο περιέχει έναν πρωτεϊνικό πυρήνα, ο οποίος αποτελείται από οκτώ μόρια ιστονών και από ένα τμήμα δίκλωνου DNA με μήκος 146 ζεύγη νουκλεοτιδίων, το οποίο περιελίσσεται γύρω από το οκταμερές των ιστονών. Δύο πυρήνες νουκλεοσωμάτων διαχωρίζονται μεταξύ τους από μία περιοχή συνδετικού DNA (περίπου 80 ζεύγη νουκλεοτιδίων). Ο σχηματισμός των νουκλεοσωμάτων μετατρέπει ένα μόριο DNA σε μία ίνα χρωματίνης, η οποία έχει μήκος περίπου το 1/3 του αρχικού μορίου DNA και άρα αποτελεί το πρώτο επίπεδο συσπείρωσης του DNA. Δηλαδή, το DNA είναι σαν το «κορδόνι» και κάθε «χάντρα» είναι ο πυρήνας του νουκλεοσωματίου που περιέχει DNA γύρω από ένα πρωτεϊνικό πυρήνα ιστονών. Σ' αυτό το σημείο αξίζει να αναφερθεί ότι τα τέσσερα είδη ιστονών (H2A, H2B, H3 και H4) είναι πρωτεΐνες μικρού μεγέθους, όπου περιέχονται κατά κύριο λόγο θετικά φορτισμένα αμινοξέα, δηλαδή λυσίνη και αργινίνη. Τα θετικά φορτισμένα αμινοξέα δίνουν τη δυνατότητα στις ιστόνες να συνδεθούν ισχυρά με το σάκχαρο-φωσφορικό σκελετό του DNA, το οποίο είναι αρνητικά φορτισμένο. Επιπλέον, οι ιστόνες διαθέτουν μία «ουρά» από αμίνες, η οποία προεξέχει από το «πυρήνα». Οι αμινοτελικές ουρές υπόκεινται σε διάφορες μορφές ομοιοπολικής τροποποίησης και ουσιαστικά ελέγχουν πολλές πτυχές της δομής της χρωματίνης.

Στα ευκαρυωτικά κύτταρα συνήθως η χρωματίνη δεν ακολουθεί την εκτεταμένη μορφή «κορδονιού με χάντρες», αλλά τα νουκλεοσωμάτια βρίσκονται το ένα πάνω στο άλλο σαν στοίβα και έτσι σχηματίζουν μία πιο συμπαγής δομή, που καλείται ως ίνα των 30 nm. Η συμπαγής αυτή δομή στην ίνα των 30 nm στηρίζεται σε ένα 5^ο είδος ιστόνης (την ιστόνη H1), η οποία έχει την ιδιότητα να πλησιάζει τα νουκλεοσωμάτια κοντά το ένα στο άλλο σε μία επαναληπτική συστοιχία. Το πως τα νουκλεοσωμάτια καταλήγουν στην ίνα χρωματίνης των 30 nm περιγράφονται από το μοντέλο ζιγκ-ζαγκ, όπου είναι ένας όρος που περιγράφει μία ομάδα δομικών παραλλαγών. Στη παρακάτω εικόνα παρουσιάζονται τα επίπεδα πακεταρίσματος της χρωματίνης, όπου έχουν τελικό αποτέλεσμα τη δημιουργία του πολύ συμπυκνωμένου μιτωτικού χρωμοσώματος, που πλέον είναι και ορατό από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.^[8]



1.9 Εικόνα: Επίπεδα συσκευασίας της χρωματίνης, που οδηγούν στη δημιουργία του συμπυκνωμένου μιτωτικού χρωμοσώματος.^[8]

1.4 ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ

Με τον όρο «κυτταρικός κύκλος» εννοείται η διαδικασία κατά την οποία ένα κύτταρο ενός μονοκύτταρου ή πολυκύτταρου οργανισμού διέρχεται μέσα από διάφορες φάσεις έως ότου στο τέλος διαιρεθεί σε δύο πανομοιότυπα θυγατρικά κύτταρα. Κατά την διάρκεια ενός δευτερολέπτου υπολογίζεται ότι 25 εκατομμύρια κύτταρα διαιρούνται σε έναν ανθρώπινο οργανισμό με σκοπό την αντικατάσταση των νεκρών ή γηρασμένων κυττάρων. Τα περισσότερα κύτταρα στον άνθρωπο ακολουθούν μία διαδικασία που ονομάζεται μίτωση, με εξαίρεση τα γαμετικά κύτταρα που ακολουθούν τη διαδικασία της μείωσης. Ο κύκλος διαίρεσης και αναπαραγωγής ενός κυττάρου διαχωρίζεται στη: α) φάση της μεσόφασης, όπου ουσιαστικά πραγματοποιείται ο έλεγχος για το αν ένα κύτταρο θα προχωρήσει στη διαδικασία της διαίρεσης και θα διπλασιαστεί το μόριο του DNA και β) στη φάση της μίτωσης, όπου πραγματοποιείται η διαίρεση του γενετικού υλικού σε δύο πανομοιότυπα μέρη και παρατηρείται και κυτταροκίνηση. Ο κυτταρικός κύκλος παρότι χωρίζεται σε στάδια είναι μία συνεχής διαδικασία. Η μία κατάσταση ή η άλλη είναι αποτέλεσμα συνεχούς αλληλεπίδρασης του κυττάρου με το εξωτερικό του περιβάλλον, αλλά και με τα γειτονικά του κύτταρα. Τα μηνύματα που εισέρχονται έχουν κατάληξη μέσω ειδικών μονοπατιών μεταγωγής σήματος σε ένα εσωτερικό σύστημα

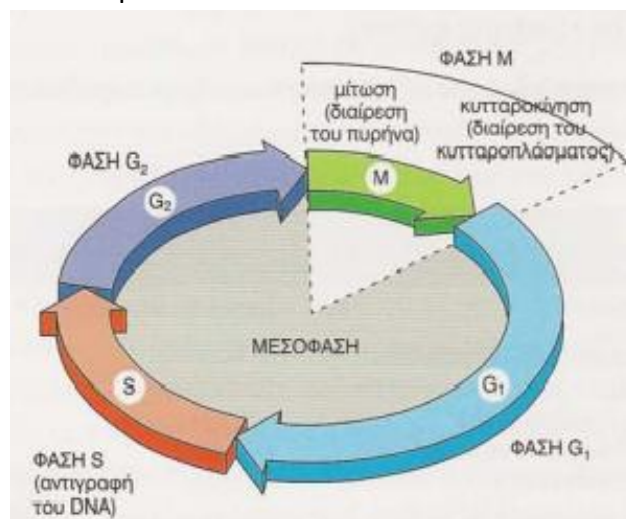
ελέγχου. Τα συγκεκριμένα μηνύματα είτε παρουσιάζονται ως σήματα που αφορούν την αναστολή του διπλασιασμού σε περίπτωση μη ευνοϊκού περιβάλλοντος, είτε ως σήματα για την επαγωγή της κυτταρικής διαίρεσης (π.χ. μιτογόνα, περίσσεια τροφής). Στο κεντρικό σύστημα ελέγχου εισέρχονται και μηνύματα που αφορούν την ομοιόσταση του κυττάρου, δηλαδή αν έχει αλλοιωθεί ή όχι το μόριο του DNA. Αυτά τα μηνύματα είναι ιδιαίτερα σημαντικά, διότι ακόμα και αν το εξωτερικό περιβάλλον παρουσιάζει ευνοϊκές συνθήκες για την έναρξη της κυτταρικής διαίρεσης, το κύτταρο δεν θα εισέλθει στη διαδικασία να διαιρεθεί εφόσον υπάρχουν διάφορες βλάβες στο DNA.

Ο έλεγχος και η διαδικασία προώθησης από στάδιο σε στάδιο του κυτταρικού κύκλου στηρίζεται σε μία σειρά από κινάσες, οι οποίες αποτελούνται από μια ρυθμιστική (κυκλίνη-Cyc) και μια καταλυτική υπομονάδα (κυκλινο-εξαρτώμενη κινάση-Cdk). Η διαδοχική ενεργοποίηση, όπως θα αναφερθεί και παρακάτω, των διάφορων κινάσων σε κάθε φάση του κυτταρικού κύκλου έχει την λειτουργία σαν μία σειρά από μοριακούς διακόπτες με αυξανόμενη ή μειούμενη ενεργότητα που κάθε διακόπτης αποτελεί ένα ειδικό μονοπάτι μεταγωγής σήματος. Όμως, υπάρχουν και κάποιοι αναστολείς αυτών των μονοπατιών που ονομάζονται αναστολείς της ενεργότητας της κινάσης (Cdk-αναστολείς ή Cdk-Inhibitors). Αυτοί οι αναστολείς ενεργοποιούνται σε περιπτώσεις βλάβης του DNA, έλλειψης τροφής, μη σωστού σχηματισμού της μιτωτικής ατράκτου κλπ. Επιπλέον, παρατηρούνται και κάποιες περιπτώσεις, όπου αναστέλλεται ο διπλασιασμός είτε λόγω της τελικής διαφοροποίησης των κυττάρων (π.χ. νευρικά κύτταρα), είτε λόγω του φαινομένου της κυτταρικής γήρανσης. Τέλος, σε κάθε περίπτωση οι διαφοροποιήσεις που παρατηρούνται μεταξύ των οργανισμών σχετικά με την πιθανότητα να αποσυντονιστεί ο κυτταρικός κύκλος και αυτό να οδηγήσει σε καρκινογένεση δεν εξαρτάται μόνο από την παρουσία των κινάσων, αλλά και από το πόσο συχνά ρυθμίζεται και ελέγχεται η δράση αυτών των μορίων.

Ειδικότερα και με βάση τα παραπάνω, ο κυτταρικός κύκλος ξεκινάει με το στάδιο της μεσόφασης, το οποίο διαχωρίζεται σε τρία επιμέρους στάδια. Το 1^ο στάδιο λέγεται **G₁ (Gap 1)** που ακολουθεί αμέσως μετά το τέλος της μίτωσης και προηγείται του 2^ο σταδίου της μεσόφασης που είναι η **φάση S (σύνθεση)** κατά το οποίο πραγματοποιείται η αντιγραφή του DNA του πυρήνα και έτσι διπλασιάζεται το γενετικό υλικό. Ακόμα, το 3^ο και τελευταίο στάδιο της μεσόφασης είναι το **G₂ (Gap 2)**, όπου βρίσκεται μετά το διπλασιασμό του DNA και πριν την έναρξη της μίτωσης. Όσο εξελίσσεται συνολικά το στάδιο της μεσόφασης, η διαδικασία μεταγραφής των γονιδίων ενός κυττάρου συνεχίζεται κανονικά με αποτέλεσμα να συνθέτονται και πρωτεΐνες και να αυξάνεται σε μάζα. Τα στάδια της μεσόφασης G₁ και G₂ εξυπηρετούν προσθέτοντας επιπρόσθετο χρόνο στο κύτταρο, ώστε να αυξηθεί και να διπλασιάσει τα οργανίδια του κυτταροπλάσματος. Το πρώτο ξεκάθαρο σήμα ότι ένα κύτταρο έχει τη δυνατότητα να εισέλθει στη φάση της μίτωσης είναι ότι τα χρωμοσώματά του συμπυκνώνονται προοδευτικά, τα οποία βέβαια έχουν αντιγραφεί προηγουμένως κατά την φάση S. Κατά τη διάρκεια της φάσης S τα δύο πανομοιότυπα αντίγραφα παραμένουν συνδεδεμένα ισχυρά μεταξύ τους. Η χρονική στιγμή κατά την οποία συμπυκνώνονται τα χρωμοσώματα σηματοδοτεί το τέλος της G₂

φάσης. Σ' αυτό το σημείο τα χρωμοσώματα είναι πλέον και ορατά από το φωτονικό μικροσκόπιο. Η συγκεκριμένη συμπύκνωση είναι ιδιαίτερα χρήσιμη καθώς διευκολύνει το διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων κατά τη φάση της μίτωσης, δίχως να προκαλείται κάποιο ανάμειξη.

Όπως, αναφέρθηκε και στις δύο πρώτες παραγράφους αυτής της υποενότητας, υπάρχει ένα κεντρικό σύστημα ελέγχου, που πυροδοτεί τις κύριες διεργασίες του κυτταρικού κύκλου. Κατά τη διαδικασία της διαίρεσης ενός κυττάρου λοιπόν, υπάρχουν κάποια **σημεία ελέγχου** (checkpoints), που σε περίπτωση που συμβεί κάτι ο κυτταρικός κύκλος θα πρέπει να είναι σε θέση να καθυστερήσει ή και να σταματήσει τη πορεία του. Δύο είναι τα κύρια σημεία ελέγχου, το ένα βρίσκεται στο τέλος της φάσης G_1 , όπου επιτρέπει στο κύτταρο να εξακριβώσει αν το περιβάλλον έχει τις κατάλληλες συνθήκες (π.χ. επαρκής θρεπτικές ουσίες που λαμβάνει από το εξωκυττάριο περιβάλλον) ώστε να πολλαπλασιαστεί πριν ξεκινήσει η φάση S . Όταν οι συνθήκες που επικρατούν έξω από το κύτταρο είναι μη ευνοϊκές για την ανάπτυξη του, τότε ο κυτταρικός κύκλος σταματάει στη φάση G_1 και τα κύτταρα εισέρχονται σε μία κατάσταση ηρεμίας, με αποτέλεσμα να παραμένουν αδρανείς. Αυτή η φάση ονομάζεται φάση G_0 και κάποιες κατηγορίες ανθρώπινων κυττάρων παραμένουν σ' αυτή την κατάσταση, όπως είναι για παράδειγμα τα νευρικά κύτταρα και γραμμωτά μυϊκά κύτταρα. Το άλλο σημείο ελέγχου βρίσκεται στο τέλος της φάσης G_2 , όπου ελέγχεται αν έχει διπλασιαστεί το DNA και αν δεν υπάρχουν βλάβες σ' αυτό. Σε αντίθετη περίπτωση η διαδικασία σταματάει και το κύτταρο δεν εισέρχεται στη φάση της μίτωσης και έτσι δεν δημιουργούνται δύο πανομοιότυπα αντίγραφα του αρχικού κυττάρου.^[8]

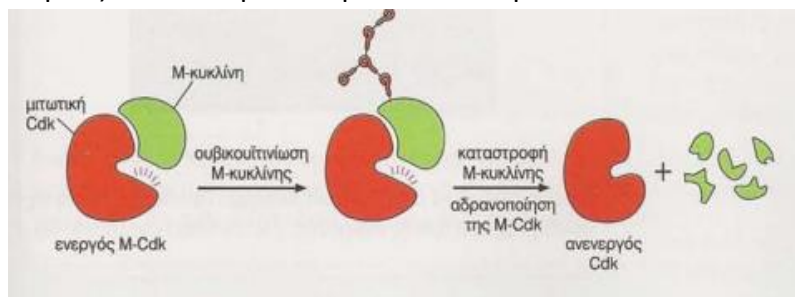


1.10 Εικόνα: Οι φάσεις του κυτταρικού κύκλου με σκοπό τη διαίρεση ενός κυττάρου.^[8]

Για το αν θα εξελιχθεί σωστά ή όχι ο κυτταρικός κύκλος διασφαλίζεται από τη ρύθμιση κάποιων σχετικών μοριακών «εξαρτημάτων» από το κεντρικό σύστημα ελέγχου του κυτταρικού κύκλου. Ο τρόπος, λοιπόν, που το σύστημα ελέγχου καθορίζει τα μοριακά «εξαρτήματα» είναι διαμέσου της κυκλικής ενεργοποίησης ή της απενεργοποίησης πρωτεϊνικών κινάσων. Οι κινάσες ρυθμίζουν το διπλασιασμό του DNA, τη μίτωση, αλλά ακόμα και την κυτταροκίνηση. Οι πρωτεϊνικές κινάσες είναι ένζυμα στα οποία

πραγματοποιούνται οι αντιδράσεις της φωσφορυλίωσης. Η φωσφορυλίωση και η αποφωσφορυλίωση είναι δύο συχνοί μηχανισμοί, μέσω των οποίων τα κύτταρα μεταβάλλουν την δραστικότητα μίας πρωτεΐνης. Οι κινάσες καταλύουν τη μεταφορά μίας φωσφορικής ομάδας ATP στην πλευρική αλυσίδα ενός συγκεκριμένου αμινοξέος της πρωτεΐνης-στόχου.

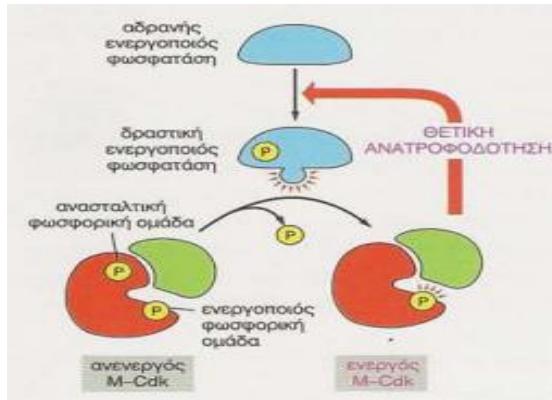
Οι πρωτεϊνικές κινάσες είναι παρούσες σε όλες τις φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Όμως, ενεργοποιούνται μόνο σε κατάλληλες χρονικές στιγμές και αμέσως μετά απενεργοποιούνται. Αυτό έχει ως συνέπεια, η ενεργότητα κάθε μίας από τις κινάσες να αυξάνεται και να μειώνεται με κυκλικό τρόπο. Το πως ενεργοποιείται ή απενεργοποιείται η ενζυμική δράση των κινασών σε διάφορες φάσεις εξαρτάται από μία άλλη ομάδα πρωτεϊνών που ονομάζονται κυκλίνες. Οι κυκλίνες δεν διαθέτουν κάποια ενζυμική ενεργότητα, αλλά είναι απολύτως απαραίτητες για την ενεργοποίηση των κινασών, όταν προσδεθούν σ' αυτές. Γι' αυτό και οι κινάσες του συστήματος ελέγχου του κυτταρικού κύκλου καλούνται ως πρωτεϊνικές κινάσες εξαρτώμενες από κυκλίνες (Cdk-cyclin dependent protein kinases). Έτσι, το ενεργό σύμπλοκο, το οποίο δημιουργείται φωσφορυλιώνει σημαντικές πρωτεΐνες για την έναρξη μίας φάσης του κυτταρικού κύκλου, όπως την είσοδο του κυττάρου στη μίτωση ή στη φάση S. Επομένως, η ρύθμιση των κυκλινών παίζει ξεχωριστό ρόλο στο χρονικό προγραμματισμό των διαδοχικών φάσεων του κυτταρικού κύκλου. Για να προωθηθούν τα κύτταρα στη φάση της μίτωσης, η κυκλίνη που είναι υπεύθυνη ονομάζεται M-κυκλίνη και το αντίστοιχο ενεργό σύμπλοκο λέγεται M-Cdk. Η M-κυκλίνη συνθέτεται ακριβώς μετά από τη διαίρεση του κυττάρου και διαρκεί σταθερά στη μεσόφαση. Καθ' όλη τη διάρκεια αυτή η M-κυκλίνη συσσωρεύεται με αποτέλεσμα η συγκέντρωση της αυξάνεται. Αυτό βοηθάει στο να προγραμματιστεί σωστά το κύτταρο πριν τη μίτωση. Η ταχεία ελάττωση της συγκέντρωσης της συγκεκριμένης κυκλίνης πυροδοτεί την έξοδο από τη μίτωση. Ο λόγος που η συγκέντρωση της κυκλίνης πέφτει στη διάρκεια της μίτωσης οφείλεται στην ταχύτατη αποδόμηση από το πρωτεολυτικό σύστημα που εξαρτάται από την ουβικουΐτινη. Τα μόρια M-κυκλίνης συνδέονται με ομοιοπολικούς δεσμούς με μόρια ουβικουΐτινης με αποτέλεσμα να οδηγούνται για αποδόμηση στα πρωτεοσωμάτια, τα οποία είναι πρωτεϊνικά συμπλέγματα και βρίσκονται κυρίως στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου.



1.11 Εικόνα: Η δραστικότητα των Cdk κινασών ρυθμίζεται από την αποδόμηση των κυκλινών.^[8]

Για να μπορέσει να ενεργοποιηθεί το σύμπλοκο M-Cdk δεν είναι αρκετή η συσσώρευση της κυκλίνης. Για να έχει τη δυνατότητα μία κινάση να εκδηλώσει την ενζυμική της δράση πρέπει να φωσφορυλιωθεί σε μία ή περισσότερες θέσεις και να αποφωσφορυλιωθεί σε

διαφορετικές θέσεις. Πραγματοποιείται λοιπόν, μία αφαίρεση των ανασταλτικών φωσφορικών ομάδων από την φωσφατάση, μία ειδική πρωτεΐνη που επιτρέπει έτσι στο σύμπλοκο M-Cdk να ενεργοποιηθεί κατά τη διάρκεια της μεσόφασης. Όταν το σύμπλοκο M-Cdk γίνει ενεργό τότε μπορούν να ενεργοποιηθούν ανάλογα σύμπλοκα. Έτσι, δημιουργείται μία εκρηκτική αύξηση της ενεργότητας του συμπλόκου, μέσω μίας θετικής ανατροφοδότησης που προωθεί το κύτταρο στη μίτωση.



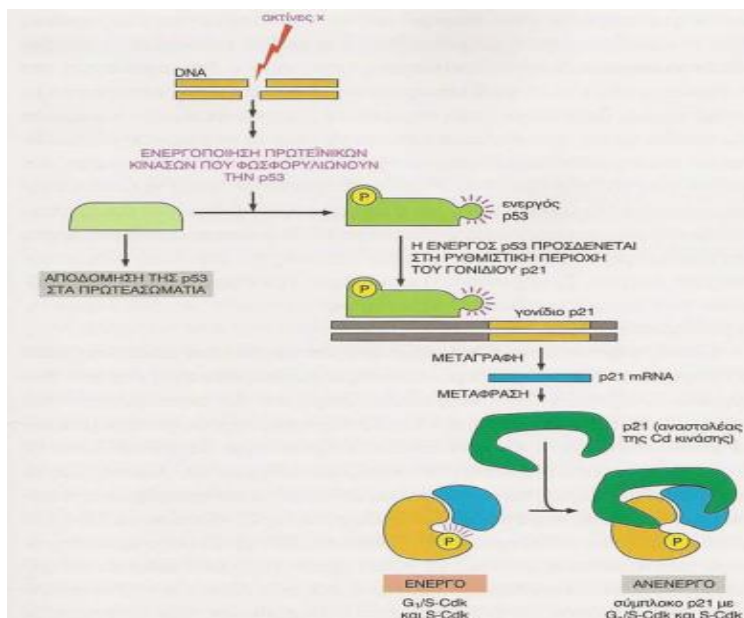
1.12 Εικόνα: Σχηματική αναπαράσταση της θετικής ανατροφοδότησης, όπου η ενεργοποιημένη M-Cdk, ενεργοποιεί έμμεσα περισσότερη M-Cdk.^[8]

Μόλις ενεργοποιηθεί η M-Cdk φωσφορυλιώνει με αποτέλεσμα να ενεργοποιεί περισσότερα μόρια φωσφατάσης, η οποία μπορεί να ενεργοποιήσει περισσότερα σύμπλοκα M-Cdk.

Προηγουμένως, αναφέρθηκε το σύμπλοκο M-Cdk, προφανώς υπάρχουν και άλλα σύμπλοκα κυκλίνης-Cd κινάσης που προωθούν το κύτταρο σε διαφορετικά στάδια του κυτταρικού κύκλου. Συγκεκριμένα, το σύμπλοκο της M-Cdk δρα στη φάση G₂ και πυροδοτεί την είσοδο στη φάση της μίτωσης. Αντίστοιχα, για να εισαχθεί το κύτταρο στη φάση της σύνθεσης S υπεύθυνες είναι οι κυκλίνες S και οι κυκλίνες G₁/S, οι οποίες προσδένονται σε μόρια Cd κινασών προς το τέλος της φάσης G₁ της μεσόφασης. Το σύμπλοκο S-Cdk πυροδοτεί την αντιγραφή του DNA και διασφαλίζει ότι η διαδικασία της αντιγραφής θα πραγματοποιηθεί μόνο μία φορά κατά τη διάρκεια ενός κυτταρικού κύκλου. Επίσης, υπάρχουν οι κυκλίνες γνωστές ως κυκλίνες της φάσης G₁, όπου η δράση τους παρατηρείται νωρίτερα στη φάση G₁.

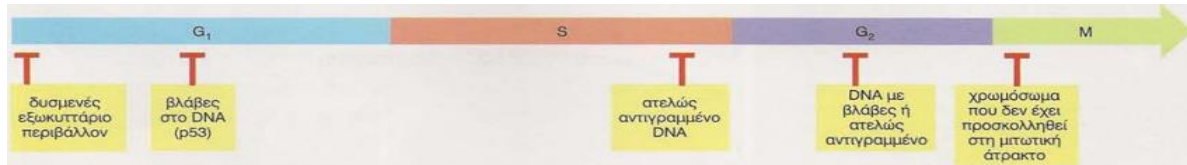
Κατά το μεγαλύτερο μέρος της φάσης G₁ οι κινάσες παραμένουν αδρανείς, ώστε να μπορούν τα θυγατρικά κύτταρα που έχουν προκύψει από το αρχικό να μουν το καθένα σε ένα καινούργιο κυτταρικό κύκλο. Δηλαδή οι S-Cdk, λόγω της αποδόμησης της S-κυκλίνης παραμένουν αδρανείς στο τέλος της φάσης S και αντίστοιχα οι M-Cdk γίνονται αδρανείς εξαιτίας της αποδόμησης της M-κυκλίνης στο τέλος της μίτωσης. Οι βασικοί μηχανισμοί, οι οποίοι διατηρούν αδρανείς τις Cdk στη μεγαλύτερη διάρκεια της G₁ είναι οι αναστολείς των κινασών. Αυτοί οι μηχανισμοί έχουν την ιδιότητα να καθυστερήσουν το κύτταρο στη G₁ ώστε να αυξηθεί και αναπτυχθεί σωστά πριν εισέλθει στη φάση S. Ο τρόπος με τον οποίο απομπλέκεται η κατάσταση αναστολής είναι μέσω της συσσώρευσης των G₁-κυκλινών, η οποία στα ευκαρυωτικά κύτταρα διεγείρεται μέσω σημάτων που προωθούν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό.

Επομένως, το κεντρικό σύστημα ελέγχου μπορεί να διακόψει το κυτταρικό κύκλο σε κάποια ειδικά σημεία (που αναφέρθηκαν και νωρίτερα στα πλαίσια αυτής της υποενότητας), δηλαδή τα σημεία ελέγχου. Για τη διακοπή της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου, λοιπόν, υπάρχουν οι αναστολείς της ενεργότητας της κινάσης (Cdk-αναστολείς ή Cdk-Inhibitors), οι οποίοι έχουν τη δυνατότητα να αναστείλουν είτε τη σύνθεση είτε τη δράση ενός ή και περισσότερων συμπλόκων κυκλίνης-Cd κινάσης. Σε περίπτωση που το DNA για οποιοδήποτε λόγω υποστεί βλάβη τότε σταματάει στη φάση G_1 , ώστε να μην γίνει διπλασιασμός ελαττωματικού γενετικού υλικού και έχει ως αποτέλεσμα να προκαλέσει αρνητικές συνέπειες σε έναν οργανισμό. Οι βλάβες του DNA οδηγούν στην αύξηση της συγκέντρωσης, αλλά και της δραστηριότητας μίας ρυθμιστικής πρωτεΐνης που ονομάζεται **p53**. Όταν αυτή πρωτεΐνη ενεργοποιηθεί προκαλεί διέγερση της μεταγραφής ενός γονιδίου, το οποίο κωδικοποιεί μία άλλη πρωτεΐνη που λέγεται **p21** και λειτουργεί σαν ανασταλτική πρωτεΐνη των Cd κινάσεων. Η πρωτεΐνη p21 προσδένεται στα σύμπλοκα G_1/S -Cdk και S-Cdk που έχουν σκοπό να προωθήσουν το κύτταρο στη φάση S και προκαλεί αναστολή της δράσης τους. Με αυτό τον τρόπο, δίνεται στο κύτταρο η δυνατότητα να επιδιορθώσει τις βλάβες του όπου υπάρχουν μέσω των επιδιορθωτικών μηχανισμών (θα αναλυθούν στο Κεφάλαιο 3), πριν συμβεί ο διπλασιασμός του. Στην αντίθετη περίπτωση που η p53 ήταν απύσχα ή ελαττωματική θα γινόταν διπλασιασμός του DNA που θα συνοδευόταν από πληθώρα μεταλλάξεων και θα οδηγούσε ακόμα και σε καρκινογένεση. Ειδικά, σε έναν ανθρώπινο οργανισμό η δυσλειτουργία της p53 οδηγεί στην εμφάνιση πολλών ειδών καρκίνου. Ένα άλλο σημαντικό σημείο ελέγχου είναι στην μίτωση και αφορά το αν τα χρωμοσώματα ενός κυττάρου προσδένονται με το σωστό τρόπο στη λεγόμενη μιτωτική άτρακτο. Η μιτωτική άτρακτος είναι ένα «συστατικό» του κυτταροσκελετού που συμβάλλει στο διαχωρισμό των ήδη διπλασιασμένων χρωμοσωμάτων και τα μοιράζει εξίσου στα δύο νέα θυγατρικά κύτταρα που θα προκύψουν στο τέλος της μίτωσης. Αν η παραπάνω κατάσταση δεν πραγματοποιηθεί με το σωστό τρόπο ενδέχεται σε κάποια κύτταρα να υπάρξει επιπλέον αριθμός χρωμοσωμάτων και σε άλλα να υπάρχει έλλειψη, δηλαδή να παρατηρηθούν κάποιες χρωμοσωμικές ανωμαλίες.



1.13 Εικόνα: Σχηματική παρουσίαση, όπου απεικονίζεται πως η πρωτεΐνη p53 σταματά το κυτταρικό κύκλο στη φάση G_1 στη περίπτωση που το DNA εμφανίσει βλάβες π.χ. από ακτίνες-X και γενικά Ι.Α. (Ιοντίζουσες ακτινοβολίες).^[8]

Επομένως, συνοψίζοντας κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου έχουμε διάφορα σημεία ελέγχου που περνάει ένα κύτταρο ώστε να καταλήξει στη διαίρεση και στη δημιουργία δύο πανομοιότυπων θυγατρικών κυττάρων. Τα βασικότερα σημεία ελέγχου παρουσιάζονται στη παρακάτω εικόνα.



1.14 Εικόνα: Τα σημεία ελέγχου (checkpoints) του κυτταρικού κύκλου.^[8]

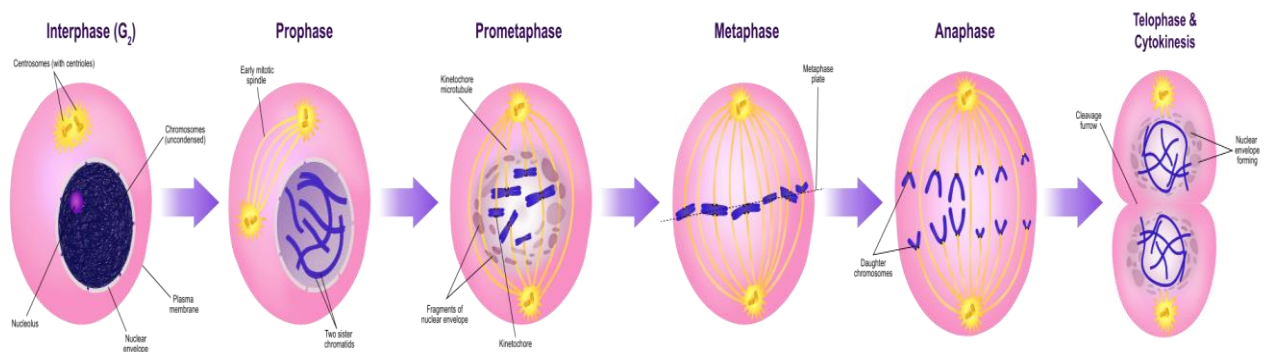
Τέλος, κλείνοντας αυτή την υποενότητα θα αναφερθούμε στη χρονική διάρκεια κατά μέσο όρο του κυτταρικού κύκλου σε ένα ανθρώπινο κύτταρο. Η φάση G₁ διαρκεί περίπου 5-7 ώρες, η φάση S 14 ώρες, ενώ η φάση G₂ έχει διάρκεια 3-4 ώρες. Το στάδιο της μίτωσης και της κυτταροκίνησης διαρκεί περίπου 30 λεπτά με 1 ώρα.

1.5 ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΔΙΑΙΡΕΣΗ

Όπως αναφέρθηκε και στη προηγούμενη υποενότητα η μίτωση αποτελεί το ένα από τα βασικά στάδια του κυτταρικού κύκλου. Η μίτωση προέρχεται από την λέξη «μίτος» που σημαίνει νήμα και πρώτη φορά χρησιμοποιήθηκε το 1870 από το Flemming που είχε σκοπό να περιγράψει τα νηματοειδή χρωμοσώματα που παρατηρούνται λίγο πριν τη διαίρεση ενός κυττάρου. Ο ορισμός της μίτωσης αναφέρεται στη διαδικασία της πυρηνικής διαίρεσης, όπου τα διπλασιασμένα χρωμοσώματα διαχωρίζονται το ένα από το άλλο και τοποθετούνται σε δύο πυρήνες καθένας από τους οποίους λαμβάνει ένα πλήρες αντίγραφο του γονιδιώματος. Η μίτωση διαχωρίζεται σε 5 φάσεις, οι οποίες είναι η πρόφαση, η προμετάφαση, η μετάφαση, η ανάφαση και η τελόφαση. Στο τέλος της τελόφασης λαμβάνει χώρα η κυτταροκίνηση.

Η πρώτη φάση της μίτωσης, η **πρόφαση** είναι η φάση κατά την οποία το χρωμοσωμικό υλικό συμπυκνώνεται με σκοπό να δημιουργηθούν συμπαγή μιτωτικά χρωμοσώματα. Τα χρωμοσώματα αποτελούνται από δύο αδελφές χρωματίδες (πανομοιότυπα αντίγραφα DNA που διπλασιάστηκαν κατά την φάση S του κυτταρικού κύκλου), που παραμένουν ενωμένες μεταξύ τους μέσω του κεντρομεριδίου. Το κεντρομερίδιο είναι ένα ειδικό σημείο σύσφιξης που αποτελείται από επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες DNA, όπου σ' αυτές βρίσκονται προσδεμένες κάποιες πρωτεΐνες. Κατά την πρόφαση επίσης συγκροτείται η μιτωτική άτρακτος και εξαλείφεται ο κυτταροσκελετός και η πυρηνική μεμβράνη, ενώ το σύστημα μεμβρανών, δηλαδή το αδρό και λείο ενδοπλασματικό δίκτυο, καθώς και το σύμπλεγμα Golgi καταστρέφονται δομικά. Στην επόμενη φάση, που είναι η **προμετάφαση** οι μικροσωληνίσκοι των χρωμοσωμάτων προσδένονται στους κινητόχωρους (κινητόχωρος είναι μία δομή που βρίσκεται εξωτερικά της επιφάνειας του κεντρομεριδίου) των χρωμοσωμάτων και τα χρωμοσώματα αρχίζουν να κατευθύνονται προς τον ισημερινό της μιτωτικής ατράκτου. Η τρίτη φάση της μίτωσης ονομάζεται

μετάφαση κατά την οποία γίνεται η ευθυγράμμιση των χρωμοσωμάτων στον ισημερινό της ατράκτου. Ειδικότερα, η μία χρωματίδη «κοιτάζει» προς τον ένα πόλο και η άλλη «κοιτάζει» προς τον απέναντι πόλο. Το επίπεδο στο οποίο ευθυγραμμίζονται τα χρωμοσώματα λέγεται μεταφασική πλάκα. Η προτελευταία φάση είναι η **ανάφαση**, όπου πλέον τα κεντρομερίδια σπάνε και οι αδελφές χρωματίδες οδηγούνται σε διαχωρισμό. Τα χρωμοσώματα, πλέον κατευθύνονται προς τους αντίθετους πόλους της ατράκτου και οι πόλοι με τη σειρά τους απομακρύνονται ακόμα περισσότερο. Τέλος, καθώς τα χρωμοσώματα καταλήγουν στα δύο άκρα συγκεντρώνονται σε ένα σημείο. Αυτό το σημείο είναι ενδεικτικό ότι πλέον έχει ξεκινήσει η τελευταία φάση της μίτωσης που είναι η **τελόφαση**. Στη τελόφαση, επανασχηματίζονται ο πυρηνικός φάκελος και διάφορα κυτταρικά οργανίδια και κυστίδια που περιβάλλουν τα επιμέρους χρωμοσώματα. Άρα, τα χρωμοσώματα ακολουθούν μία ομαδοποίηση στους αντίθετους πόλους της μιτωτικής ατράκτου και αποσυμπυκνώνονται, ενώ επαναδημιουργείται πάλι το ενδοπλασματικό δίκτυο και το σύμπλεγμα Golgi καθώς συντήκονται οι διάφορες μεμβράνες. Πλέον, αφού έχει εξασφαλιστεί ότι το κύτταρο έχει διαχωρίσει τις αδελφές χρωματίδες, επάγεται η διαίρεση του σε δύο πανομοιότυπα θυγατρικά κύτταρα, μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται κυτταροκίνηση. Στη κυτταροκίνηση, το κυτταρόπλασμα διαιρείται στα δύο μέσω της βοήθειας ενός συστατικού δακτυλίου ακτίνης και μυοσίνης που προκαλεί περίσφιξη του κυττάρου και το ωθεί στη δημιουργία των δύο νέων θυγατρικών, όπου το καθένα θα διαθέτει το δικό τους πυρήνα. Στη παρακάτω εικόνα παρουσιάζονται και σχηματικά οι διαφορετικές φάσεις της διαδικασίας της μίτωσης (αλλά και πως βρίσκεται το κύτταρο στη μεσόφαση, όπου υπάρχει πυρηνικός φάκελος). [6],[8]



1.15 Εικόνα: Οι φάσεις της μίτωσης.^[7]

1.6 ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Ο καρκίνος είναι μία ασθένεια, η οποία χαρακτηρίζεται από την αλλοίωση του ανθρώπινου γονιδιώματος και την ανεξέλεγκτη κυτταρική διαίρεση που οδηγεί σε ασταμάτητο πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Παραμένει βασική αιτία θανάτου στις περισσότερες χώρες του κόσμου σύμφωνα με τη Διεθνή Υπηρεσία Έρευνας για τον καρκίνο (IARC) και την Αμερικανική εταιρία καρκίνου. Το 2020 διαγνώστηκαν 19.3

εκατομμύρια νέα περιστατικά καρκίνου παγκοσμίως και παράλληλα υπήρξαν περίπου 10 εκατομμύρια θάνατοι. Στη πρώτη θέση όσο αφορά τις νέες διαγνώσεις βρίσκεται ο καρκίνος του μαστού με περίπου 2.3 εκατομμύρια διαγνώσεις, δηλαδή σε ποσοστό 11.7% επί του συνόλου των διαφορετικών ειδών καρκίνου. Ακολουθούν ο καρκίνος του πνεύμονα σε ποσοστό 11.4%, του παχέος εντέρου σε ποσοστό 10%, του προστάτη σε ποσοστό 7.3% και του στομάχου σε ποσοστό 5.6%. Σ' αυτή τη παράγραφο θα αναλυθεί το πώς δημιουργείται ο καρκίνος, αλλά και ποιοι είναι οι παράγοντες που προκαλούν την εμφάνιση του.

Η βασική ανωμαλία που οδηγεί στην ανάπτυξη του καρκίνου είναι ο συνεχής και ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός κυττάρων, τα οποία δεν αποκρίνονται αποτελεσματικά στα σήματα που ελέγχουν τη συμπεριφορά των φυσιολογικών κυττάρων. Γι' αυτό τα καρκινικά κύτταρα εξαπλώνονται τελικά σε όλο το σώμα, προσβάλλοντας φυσιολογικούς ιστούς και όργανα. Η πλήρης έλλειψη μηχανισμών ελέγχου του πολλαπλασιασμού στα καρκινικά κύτταρα είναι αποτέλεσμα συσσώρευσης βλαβών στα διάφορα ρυθμιστικά συστήματα των κυττάρων και καθορίζει τα χαρακτηριστικά, τα οποία διακρίνουν τα καρκινικά κύτταρα από τα αντίστοιχα φυσιολογικά. Ο καρκίνος μπορεί να προκληθεί από ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό οποιουδήποτε είδους κυττάρου του σώματος. Επομένως, υπάρχουν περισσότεροι από 100 διαφορετικοί τύποι καρκίνου, όπου ο καθένας διαφέρει από τον άλλο ως προς την συμπεριφορά τους και την απόκριση τους στις θεραπείες. Ο καρκίνος μπορεί να διακριθεί σε δύο βασικές κατηγορίες, στους καλοήθεις και κακοήθεις όγκους. Όγκος ονομάζεται μία μάζα κυττάρων που έχει προκύψει από το μη φυσιολογικό κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Ο καλοήθης όγκος περιορίζεται στην αρχική του θέση, χωρίς να εισέρχεται σε γειτονικούς φυσιολογικούς ιστούς ή να εξαπλώνεται σε άλλες θέσεις του σώματος. Μερικά παραδείγματα καλοθών όγκων είναι μία κοινή κρεατοελιά και κάποιοι είδη όγκων στον εγκέφαλο. Οι καλοήθεις όγκοι δεν είναι καρκίνοι και υπάρχει η δυνατότητα να αφαιρεθούν χειρουργικά. Αντίθετα, οι κακοήθεις όγκοι αναφέρονται ως καρκίνοι. Ειδικότερα, ένας κακοήθης όγκος μπορεί να εισβάλλει στους γειτονικούς του ιστούς και να εξαπλώνεται στο σώμα μέσω του κυκλοφορικού ή του λεμφικού συστήματος, αυτό το φαινόμενο ονομάζεται μετάσταση. Άρα, ένας κακοήθης όγκος λόγω της εξάπλωσης του σε άλλες περιοχές του σώματος είναι δύσκολο να θεραπευτεί τοπικά και χρειάζονται εξειδικευμένες θεραπείες αν δεν διαγνωστεί εγκαίρως. ^[9]

Οι καλοήθεις και οι κακοήθεις όγκοι διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες, ανάλογα με τον τύπο κυττάρων από τα οποία προέρχονται. Οι κατηγορίες αυτές είναι οι εξής:

- Τα *καρκινώματα* στα οποία περιέχονται το 90% περίπου των καρκίνων του ανθρώπου και είναι ουσιαστικά κακοήθεις όγκοι στα επιθηλιακά κύτταρα.
- Τα *σαρκώματα*, που είναι συμπαγείς όγκοι συνδετικού ιστού των μυών, των οστών, των χόνδρων και των ινωδών ιστών. Αποτελούν το 2% των κακοθών όγκων στον άνθρωπο.
- Οι *λευχαιμίες* και τα *λεμφώματα*, που προέρχονται από τα κύτταρα του αίματος και του ανοσοποιητικού συστήματος αντίστοιχα, αποτελούν το 8% των κακοθών όγκων.

Στο κυτταρικό επίπεδο, η ανάπτυξη του καρκίνου θεωρείται ότι είναι μια διαδικασία πολλών σταδίων που βασίζεται στη μεταλλαγή και στην επιλογή των κυττάρων με

σταδιακά αυξανόμενη ικανότητα πολλαπλασιασμού, επιβίωσης, εισχώρησης σε ιστούς και τελικά μετάστασης. Το πρώτο στάδιο της διαδικασίας αυτής ονομάζεται *έναρξη της ογκογένεσης*. Η έναρξη της ογκογένεσης θεωρείται ότι είναι αποτέλεσμα γενετικών αλλαγών που επιφέρουν τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό ενός κυττάρου και τον σχηματισμό ενός κλώνου θυγατρικών μεταλλαγμένων κυττάρων. Το επόμενο στάδιο είναι η *εξέλιξη της ογκογένεσης*, όπου συνεχίζουν να γίνονται επιπρόσθετες μεταλλαγές στα κύτταρα του κλώνου. Κάποιες από αυτές τις μεταλλάξεις δίνουν στο κύτταρο συγκριτικό πλεονέκτημα επιλογής, όπως για παράδειγμα πιο ραγδαίο ρυθμό πολλαπλασιασμού. Επομένως, αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι απόγονοι ενός κυττάρου που φέρει μία τέτοια μετάλλαξη να κυριαρχούν μέσα στον πληθυσμό των ογκοκυττάρων. Αυτή, η διαδικασία καλείται επιλογή κλώνου, αφού ένας νέος κλώνος κυττάρων εξελίσσεται και επικρατεί έχοντας πλέον αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού ή άλλες ιδιότητες, όπως η επιβίωση ή η μετάσταση, οι οποίες παρέχουν συγκριτικό πλεονέκτημα επιλογής. Η επιλογή κλώνου συνεχίζεται κατά την ανάπτυξη του όγκου, με αποτέλεσμα οι όγκοι να συνεχίζουν να εξελίσσονται πιο γρήγορα και να γίνονται ολοένα και πιο κακοήθεις.

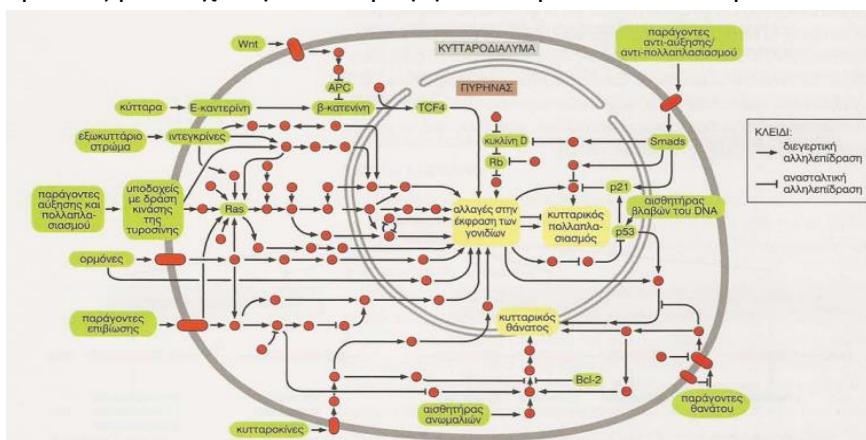
Σε πιο θεμελιώδες επίπεδο, δηλαδή στο γονιδιακό επίπεδο (τα γονίδια είναι αλληλουχίες βάσεων και αποτελούν τμήματα του DNA, όπως προαναφέρθηκε και σε προηγούμενη ενότητα) οι περιπτώσεις καρκίνου προέρχονται από μεταλλάξεις γονιδίων σωματικών κυττάρων. Υπάρχουν δύο τύποι γονιδίων που σχετίζονται με την καρκινογένεση. Είναι τα ογκογονίδια και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια. Ο καρκίνος, λοιπόν, σε γενετικό επίπεδο είναι αποτέλεσμα της μετατροπής των πρωτο-ογκογονιδίων σε ογκογονίδια, της απουσίας λειτουργικότητας ογκοκατασταλτικών γονιδίων, αλλά και της αδρανοποίησης των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA. Συγκεκριμένα, τα ογκογονίδια προέρχονται από γονίδια που υπάρχουν φυσιολογικά στο ανθρώπινο γονιδίωμα και ονομάζονται πρωτο-ογκογονίδια. Τα πρωτο-ογκογονίδια έχουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική λειτουργία του κυττάρου, ενεργοποιώντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, μόνο όμως σε περιπτώσεις που είναι απαραίτητος για παράδειγμα στην επούλωση τραυμάτων. Όμως διάφορα είδη μεταλλάξεων, που μπορεί να προκληθούν από μεταλλαξογόνους παράγοντες, έχουν ως αποτέλεσμα την μετατροπή των πρωτο-ογκογονιδίων σε ογκογονίδια, τα οποία υπερλειτουργούν και οδηγούν το κύτταρο σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και δημιουργία καρκίνου. Η μετατροπή ενός πρωτο-ογκογονιδίου σε ογκογονίδιο είναι αποτέλεσμα μίας γονιδιακής μετάλλαξης ή μίας χρωμοσωμικής ανωμαλίας (αλλαγή του αριθμού χρωμοσωμάτων στο ανθρώπινο γονιδίωμα). Επιπλέον, τα ογκοκατασταλτικά γονίδια είναι γονίδια που ο βασικός τους ρόλος είναι ο έλεγχος της κυτταρικής διαίρεσης, καταστέλλοντας την όταν χρειαστεί. Αν αυτά τα γονίδια μεταλλαχθούν τότε αναστέλλεται η δράση τους και έτσι προκύπτει καρκινογένεση, διότι πλέον το κύτταρο δεν έχει την δυνατότητα ελέγχου του πολλαπλασιασμού του. Τέλος, βλάβες στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA έχουν ως αποτέλεσμα την αυξημένη συχνότητα εμφάνισης διάφορων ειδών καρκίνου. ^[9] Οι βλάβες και οι αντίστοιχοι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί θα αναλυθούν εκτενώς στο Κεφάλαιο 3 της παρούσας εργασίας.

Οι παράγοντες που προκαλούν την εμφάνιση του καρκίνου ονομάζονται μεταλλαξογόνοι παράγοντες. Οι μεταλλαξογόνοι παράγοντες μπορούν να διαχωριστούν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες τις χημικές ουσίες, τις ακτινοβολίες και τους ιούς. Τα περισσότερα μεταλλαξογόνα πρέπει να μεταβολισθούν μετατρέπόμενα σε κάποιο δραστικό συστατικό. Προς την κατεύθυνση αυτή βοηθά το σύστημα αποτοξίνωσης του κυττάρου σε συνδυασμό με τα ενζυμικά συστήματα του ενδοπλασματικού δικτύου, όπου το κύτταρο προσπαθώντας να εξουδετερώσει επικίνδυνες ουσίες (προκαρκινογόνα) τις μετατρέπει σε δραστικά μόρια με καρκινογόνες ιδιότητες.

Ως χημικά μεταλλαξογόνα ορίζονται εκείνες οι χημικές ενώσεις που αυξάνουν την συχνότητα ορισμένων τύπων μεταλλάξεων. Το δυναμικό τους ποικίλλει ανάλογα με το πόσο εύκολα μπορούν να διεισδύσουν μέσα στο κύτταρο, την τοξικότητα τους και αν αντιδρούν και πόσο με το DNA. Ορισμένα μεταλλαξογόνα αντιδρούν έμμεσα δηλαδή δεν επιφέρουν βλάβες άμεσα στο DNA, ενώ άλλα ευνοούν το σχηματισμό τοξικών προϊόντων που είναι απολύτως καταστροφικά για το κύτταρο και το γενετικό υλικό. Άλλα χημικά μεταλλαξογόνα που αποτελούν και την πλειοψηφία προκαλούν άμεσα καρκίνο. Χημικά μεταλλαξογόνα είναι οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, οι οποίοι ανήκουν στην κατηγορία των πλέον μελετημένων καρκινογόνων. Ο πιο γνωστός είναι το βενζοπυρένιο, το 3-μεθυλοχολανθρένιο και το διβεζανθρακένιο. Οι ουσίες αυτές έχουν ευρύ φάσμα οργάνων-στόχων και προκαλούν άμεσα καρκίνο στο σημείο εφαρμογής τους. Επίσης, άλλες χημικές ουσίες είναι οι αρωματικές αμίνες και αζωχρωστικές που σε αντίθεση με τους πολυκυκλικούς υδρογονάνθρακες δεν προκαλούν άμεσα καρκίνο στο σημείο εφαρμογής αλλά έμμεσα μέσω της τροφής και συνήθως επιφέρουν καρκίνο της ουροδόχου κύστεως και του ήπατος. Ακόμα, άλλες ουσίες είναι οι νιτροζαμίνες, που είναι καρκινογόνες ουσίες που προκαλούν κακοήθεις όγκους στον πεπτικό σωλήνα. Η απλούστερη νιτροζαμίνη είναι η διμεθυλ-νιτροζαμίνη, η οποία προκαλεί όγκους στους νεφρούς και στον οισοφάγο. Η αιτία για τη δημιουργία νιτροζαμινών είναι τα νιτρώδη άλατα που προστίθενται στα τρόφιμα ως συντηρητικά και τα οποία διασπώνται κατά την πέψη σε νιτροζαμίνες. Οι τελευταίες ενεργοποιούνται με υδροξυλίωση που την ακολουθεί ο σχηματισμός δραστικού αλκυλοκαρβουνικού ιόντος. Τέλος, υπάρχουν και χημικές ουσίες που ονομάζονται «ανάλογα βάσεων» που μοιάζουν με τις βάσεις του DNA και «μπερδεύουν» το μηχανισμό του διπλασιασμού. Ειδικότερα, σχηματίζουν ζεύγη με δύο διαφορετικά είδη βάσεων (πουρίνες-πυριμιδίνες) και έτσι καταστρέφουν τη συμπληρωματικότητα των βάσεων (αδενίνη-θυμίνη,κυτοσίνη-γουανίνη) που υπάρχει σε ένα μόριο DNA. Για να δράσουν θα πρέπει να ενσωματωθούν στο μόριο του DNA πριν από τον αναδιπλασιασμό του. Ένα παράδειγμα ενός τέτοιου μεταλλαξογόνου είναι η 5-βρωμοδεοξυ-ουριδίνη, η οποία μπορεί να υπάρχει σε δύο ταυτομερείς μορφές, δηλαδή είτε κανονικά έχοντας κετονική μορφή (μιμείται την θυμίνη) και ζευγαρώνει με την αδενίνη, αλλά μπορεί να έχει και ενολική μορφή οπότε μιμείται την κυτοσίνη και ζευγαρώνει με τη γουανίνη. Είναι προφανές ότι αν δεν επιδιορθωθεί αμέσως το λανθασμένο ζευγάρι και ακολουθήσει αντιγραφή και διπλασιασμός του DNA, τότε η τροποποιημένη αλληλουχία στο δίκλωνο μόριο του γενετικού υλικού καθιερώνεται σε μόνιμη βάση και

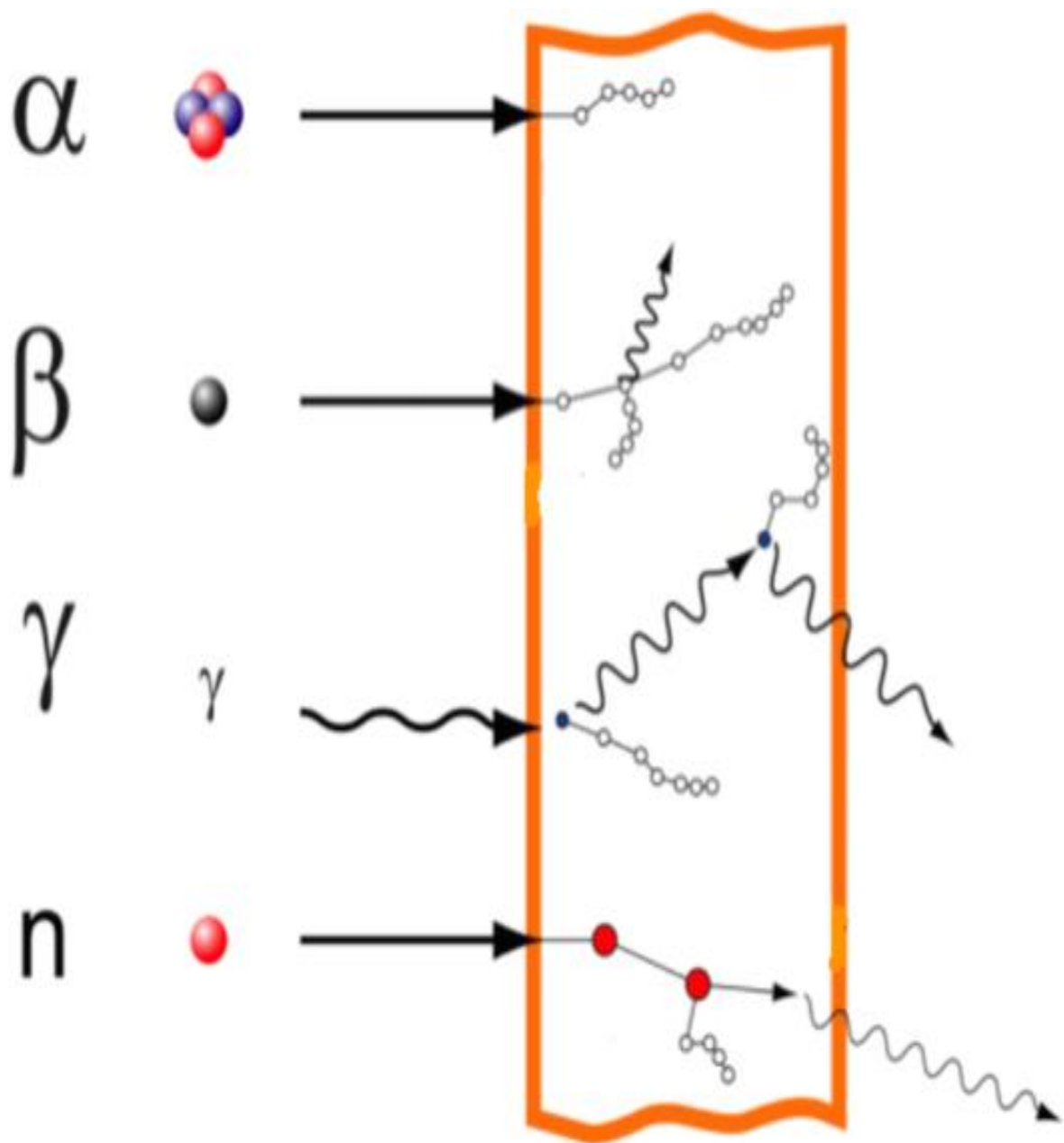
πέραν στους απογόνους με καταστροφικές συνέπειες. ^[1] Μία άλλη σημαντική κατηγορία μεταλλαξογόνων είναι οι ακτινοβολίες. Οι ακτινοβολίες που έχουν το χαρακτηριστικό να μεταφέρουν ενέργεια που είναι ικανή για να εισχωρήσει στην ύλη, να προκαλέσουν ιοντισμό των ατόμων, να διασπάσουν βίαια χημικούς δεσμούς και να προκαλέσουν βιολογικές βλάβες στον ανθρώπινο οργανισμό ονομάζονται ιοντίζουσες ακτινοβολίες. Ο ιοντισμός ενός ουδέτερου ατόμου είναι η βίαιη απομάκρυνση ενός ηλεκτρονίου από τις στοιβάδες του, λόγω εξωτερικού αιτίου, με αποτέλεσμα την παραγωγή δύο αντίθετα φορτισμένων ιόντων, του θετικού ατόμου και του αρνητικού ηλεκτρονίου. Οι πιο γνωστές ιοντίζουσες ακτινοβολίες είναι οι ακτίνες Χ που χρησιμοποιούνται ευρέως στην ιατρική, καθώς και οι ακτινοβολίες α, β, και γ που εκπέμπονται από τους ασταθείς πυρήνες ατόμων. Η ιοντίζουσα ακτινοβολία έχει βιολογικά αποτελέσματα σε μοριακό και κυτταρικό επίπεδο, τα οποία θα μελετηθούν αναλυτικά στο 3^ο Κεφάλαιο της εργασίας. Τέλος, η τρίτη βασική κατηγορία μεταλλαξογόνων είναι οι ιοί. Οι ιοί που επάγουν την καρκινογένεση ονομάζονται ογκοϊοί ή ογκογόνοι ιοί. Κάποιοι ογκογόνοι ιοί είναι ο ιός της ηπατίτιδας που προκαλεί καρκίνο του ήπατος, ο ιός ανθρώπινων θηλωμάτων που δημιουργεί καρκίνο του τραχήλου, ο ιός Epstein-Barr που προκαλεί καρκίνο του ρινοφάρυγγα κ.α.

Κλείνοντας αυτή την υποενότητα, αλλά και το Κεφάλαιο 1, είναι σημαντικό να τονιστεί ότι ο καρκίνος παρουσιάζει μία γενετική ποικιλομορφία και αυτό έχει ως βασική συνέπεια ο κάθε καρκίνος είναι τόσο μοναδικός όσο μοναδικός είναι και ο άνθρωπος που τον φέρει, αλλά συνάμα και η καρκινογένεση είναι μία διαδικασία εξαιρετικά πολύπλοκη που αντίστοιχα και η θεραπεία χρειάζεται την ανάλογη μελέτη και τα απαραίτητα στοιχεία και εργαλεία ώστε να επιτευχθεί το επιθυμητό αποτέλεσμα. Για να αναλογιστεί κανείς αυτή τη πολυπλοκότητα αξίζει απλά να παρατηρήσει την Εικόνα 1.16, που παρουσιάζονται τα πόσα γονίδια έχουν κρίσιμο ρόλο στη διαδικασία εμφάνισης ενός καρκινικού όγκου. Γι' αυτό σε αρκετές περιπτώσεις είναι δύσκολη η εύρεση αποτελεσματικής θεραπείας, με αποτέλεσμα να χρειάζεται είτε η κατάλληλη θεραπεία, είτε ένας συνδυασμός μεθόδων, όπως είναι η χημειοθεραπεία, η ανοσοθεραπεία και φυσικά η ακτινοθεραπεία, δηλαδή η χρήση ακτινοβολίας με στόχο τη καταστροφή των καρκινικών κυττάρων.



1.16 Εικόνα: Τα είδη γονιδίων που έχουν κρίσιμο ρόλο στη διαδικασία της καρκινογένεσης. ^[8]

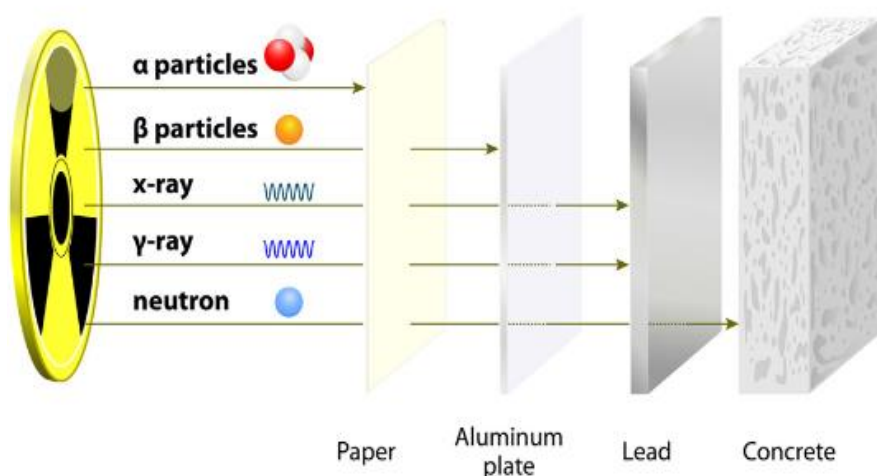
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΦΥΣΙΚΗ ΤΩΝ ΙΟΝΤΙΖΟΥΣΩΝ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΩΝ



Τα είδη της ακτινοβολίας και η αλληλεπίδραση τους με την ύλη.

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Με τον όρο Ιοντίζουσες ακτινοβολίες εννοούμε τις ακτινοβολίες εκείνες, οι οποίες διαθέτουν την ικανότητα να μεταφέρουν ικανή ενέργεια ώστε κατά την αλληλεπίδραση τους με την ύλη να προκαλέσουν στα άτομα της ιονισμό και έχουν ενέργειες πάνω από 10 eV. Υπάρχουν δύο βασικές κατηγορίες ιοντίζουσών ακτινοβολιών οι ηλεκτρομαγνητικές και οι σωματιδιακές. Στη κατηγορία των ηλεκτρομαγνητικών περιλαμβάνονται οι ακτίνες-γ και οι ακτίνες-Χ, όπου η βασική τους διαφορά είναι ότι οι ακτίνες-γ παράγονται από την αποσύνθεση ραδιενεργών πυρήνων των ατόμων, ενώ αντίθετα οι ακτίνες-Χ παράγονται με ηλεκτρόνια. Η άλλη κατηγορία των Ι.Α. είναι σωματιδιακές, όπου κατατάσσονται τα πρωτόνια, σωματίια-α (πυρήνες He), η β-ακτινοβολία (ηλεκτρόνια, ποζιτρόνια), τα νετρόνια και τα ιόντα άνθρακα. Όλες αυτές οι σωματιδιακές ακτινοβολίες είτε παράγονται μέσω των φυσικών διασπάσεων, είτε τεχνητά, είτε αποτελούν σωματίδια που προέρχονται από τη κοσμική ακτινοβολία. ^[10] Μία άλλη κατηγοριοποίηση των Ι.Α. είναι εάν χαρακτηρίζονται έμμεσες ή άμεσες ακτινοβολίες. Συγκεκριμένα, η ιοντίζουσα ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία θεωρείται έμμεση ιοντίζουσα ακτινοβολία, διότι παράγει δευτερογενή φορτισμένα σωματίδια (π.χ. ηλεκτρόνια), τα οποία μεταφέρουν ενέργεια στην ύλη μέσω περαιτέρω ιονισμών και διεγέρσεων όταν αλληλεπιδρούν με την ύλη. Έμμεση Ι.Α. θεωρούνται και τα νετρόνια που αλληλεπιδρούν κυρίως με τους πυρήνες και το αποτέλεσμα της σκέδασής τους είναι η δημιουργία πρωτονίων και άλλων βαρύτερων πυρήνων, οι οποίοι με τη σειρά τους προκαλούν ιονισμούς. Τα νετρόνια παράγονται κατά κύριο λόγο στους πυρηνικούς αντιδραστήρες και συγκεκριμένα από τεχνητά ραδιοϊσότοπα που παρουσιάζουν μεγάλο πλεόνασμα νετρονίων διασπώνται με αυθόρμητη σχάση. Τώρα, όσο αφορά τα φορτισμένα σωματίδια, δηλαδή πρωτόνια, ηλεκτρόνια, ποζιτρόνια, σωματίια-α, βαρύτερα ιόντα έχουν επαρκή ενέργεια ώστε να θεωρούνται άμεση ιοντίζουσα ακτινοβολία, λόγω του ότι αλληλεπιδρούν μέσω του φορτίου τους διαμέσου ηλεκτρομαγνητικών δυνάμεων με τους υποατομικούς φορείς φορτίου προκαλώντας και διεγέρσεις και ιονισμούς.



2.1 Εικόνα: Τα είδη των ακτινοβολιών.

(www.nuklearesicherheit.de/en/science/physics/ionising-radiation/types-of-ionising-radiation/)

2.2 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΜΕ ΤΗΝ ΥΛΗ

Τα φωτόνια καθώς εισχωρούν στην ύλη, αλληλεπιδρούν με τα άτομα του υλικού. Η πιθανότητα αλληλεπίδρασης των φωτονίων με την ύλη περιγράφεται μέσω δύο συντελεστών, όπου ονομάζονται **γραμμικός συντελεστής εξασθένισης μ** και ο **γραμμικός συντελεστής απορρόφησης μ_a** . Η τιμή τις εξαρτάται από την ενέργεια του προσπίπτοντος φωτονίου και τη φύση του υλικού, δηλαδή τον ατομικό αριθμό και την πυκνότητα του υλικού. Υπάρχει και ο **μαζικός συντελεστής εξασθένισης και απορρόφησης**, όπου είναι ανεξαρτητοποιημένος από την πυκνότητα του υλικού. Ο μαζικός συντελεστής εκφράζει την επιφανειακή πυκνότητα του υλικού.

Ο γραμμικός συντελεστής εξασθένισης, μ , του υλικού εκφράζει την πιθανότητα αλληλεπίδρασης του φωτονίου, ανά μονάδα μήκους που διανύει στο υλικό. Οι γραμμικοί συντελεστές εκφράζονται σε μονάδες cm^{-1} . Άρα, η πιθανότητα $P(x)$ που έχει ένα φωτόνιο να περάσει από ένα υλικό με πάχος x χωρίς να αλληλεπιδράσει με το υλικό, δίνεται από την παρακάτω σχέση:

$$P(x) = e^{-\mu \cdot x}$$

Τώρα, αν υποθέσουμε ότι υπάρχει μία λεπτή δέσμη φωτονίων με αρχική ένταση I_0 προσπέσει σε ένα υλικό με πάχος x , η ένταση των εξερχόμενων φωτονίων I_x δίνεται από:

$$I_x = I_0 * e^{-\mu \cdot x}$$

Αντίστοιχα, ακριβώς το ίδιο προκύπτει αν αντί για ένταση, είχαμε την μέτρηση των σωματιδίων που διαπερνούν ένα υλικό πάχους x . Δηλαδή, έστω ότι έχουμε μία αρχική δέσμη φωτονίων με αριθμό N_0 φωτόνια και καθώς εισέρχεται σε ένα υλικό με πάχος x , εξέρχονται N φωτόνια. Τότε θα ισχύει η παρακάτω σχέση:

$$N = N_0 * e^{-\mu \cdot x}$$

Τα απορροφώμενα φωτόνια θα ήταν διαφορά των εισερχόμενων μείον τα εξερχόμενα, δηλαδή $N_0 - N$.

Ο γραμμικός συντελεστής απορρόφησης μ_a εκφράζει το κατά μέσο ποσοστό τις αρχικής ενέργειας του φωτονίου E που θα μεταφερθεί σε ένα ηλεκτρόνιο κατά την αλληλεπίδραση του φωτονίου με ένα άτομο του υλικού με βάση τη παρακάτω σχέση:

$$\langle E_e \rangle = E * \frac{\mu_a}{\mu}$$

Υπάρχουν πέντε βασικοί μηχανισμοί αλληλεπίδρασης μεταξύ φωτονίων και ύλης, το φωτοηλεκτρικό φαινόμενο, η σκέδαση Thomson, η σκέδαση Rayleigh (ή σύμφωνη σκέδαση), το φαινόμενο Compton (ή ασύμφωνη σκέδαση) και η δίδυμη γένεση.

Το **φωτοηλεκτρικό φαινόμενο** είναι ένας μηχανισμός αλληλεπίδρασης που επικρατεί για χαμηλές ενέργειες των φωτονίων. Το φωτοηλεκτρικό φαινόμενο είναι μία κβαντική διεργασία που όταν η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία προσπέσει με μία συγκεκριμένη συχνότητα στην επιφάνεια του μετάλλου, τότε απελευθερώνονται ηλεκτρόνια από την επιφάνεια του. Η συχνότητα που χρειάζεται ώστε τα ηλεκτρόνια να καταφέρουν να υπερπηδήσουν το φράγμα δυναμικής ενέργειας που τα συγκρατεί στην επιφάνεια αυτή

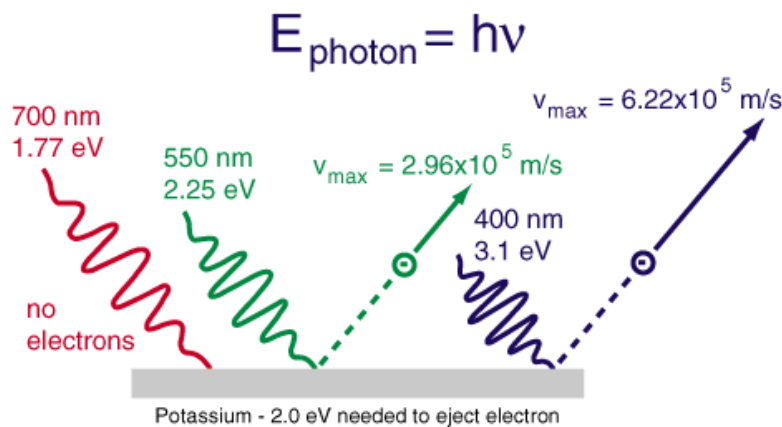
ονομάζεται συχνότητα αποκοπής. Αμέσως μετά, το ηλεκτρόνιο στο οποίο θα μεταφερθεί από το φωτόνιο η ενέργεια E θα απομακρυνθεί από το άτομο με κινητική ενέργεια T_e και θα ισχύει ότι:

$$T_e = E - E_{shell}$$

Όπου το E_{shell} είναι η ενέργεια σύνδεσης του ηλεκτρονίου στο άτομο. Η παραπάνω σχέση δείχνει ότι το φωτοηλεκτρικό φαινόμενο μπορεί να πραγματοποιηθεί μόνο για τις τιμές ενέργειας του φωτονίου που είναι μεγαλύτερες από την ενέργεια σύνδεσης του ηλεκτρονίου στο άτομο. Όσο αφορά το γραμμικό συντελεστή εξασθένησης για το φωτοηλεκτρικό φαινόμενο, παρουσιάζει την εξής εξάρτηση:

$$\mu_{\phi} \propto \rho * \frac{Z^3}{E^3}$$

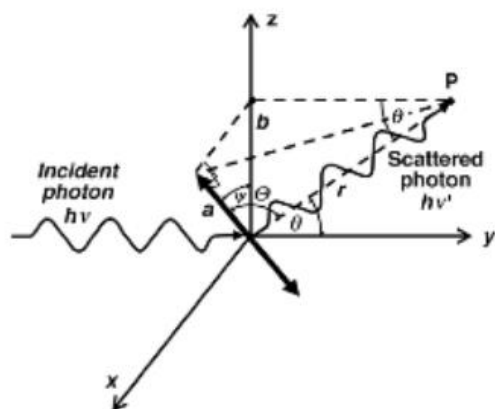
Όπου Z είναι ο ατομικός αριθμός του υλικού, προφανώς E η ενέργεια του φωτονίων και ρ η πυκνότητα του υλικού.



Photoelectric effect

2.2 Εικόνα: Σχηματική αναπαράσταση φωτοηλεκτρικού φαινομένου, όπου παρατηρείται ότι για ενέργειες κάτω των 2eV δεν είναι εφικτό να εξαχθούν ηλεκτρόνια από το μέταλλο. Ενώ όσο μεγαλύτερη των 2eV είναι η ενέργεια των φωτονίων που προσπέφτει στο μέταλλο, τόσο μεγαλύτερη είναι η ταχύτητα του ηλεκτρονίου που απελευθερώνεται από τη μεταλλική επιφάνεια.^[12]

Ο δεύτερος μηχανισμός αλληλεπίδρασης είναι η **σκέδαση Thomson**. Η σκέδαση Thomson αναφέρεται στη σκέδαση φωτονίου (που έχει μικρή ενέργεια σε σχέση με την ενέργεια ιοντισμού του ατόμου) με ελεύθερο ηλεκτρόνιο. Ειδικότερα, το φαινόμενο Thomson εξηγείται κλασσικά διότι η ενέργεια του φωτονίου που προσπίπτει έχει ενέργεια κάτω των 511 keV, άρα το φωτόνιο θεωρείται ως Η/Μ κύμα, όπου όταν προσπέσει σε ένα ελεύθερο ηλεκτρόνιο, το ηλεκτρικό πεδίο του Η/Μ κύματος εξαναγκάζει το ηλεκτρόνιο να εκτελέσει μία συντονισμένη ταλάντωση. Το ηλεκτρόνιο που ταλαντώνεται, λοιπόν, εκπέμπει ηλεκτρομαγνητικό κύμα με ίδια συχνότητα, δηλαδή και ίδια ενέργεια σε μία διαφορετική διεύθυνση, με αποτέλεσμα εκπομπή να γίνεται σε διαφορετική γωνία. Αυτό που πρέπει να τονιστεί είναι ότι στη σκέδαση Thomson το σκεδαζόμενο φωτόνιο έχει ακριβώς την ίδια ενέργεια με το προσπίπτον. Γι' αυτό δεν έχουμε μεταφορά ενέργειας και η σκέδαση χαρακτηρίζεται ως ελαστική.^[15]



2.3 Εικόνα: Σχηματική αναπαράσταση φαινομένου σκέδασης Thomson, όπου παρατηρείται το προσπίπτον φωτόνιο με ενέργεια $h\nu$ και το σκεδαζόμενο φωτόνιο σε γωνία θ σε σχέση με την αρχική και με ενέργεια $h\nu'=h\nu$, διότι έχουμε ελαστική σκέδαση.^[15]

Η σκέδαση Thomson αν διερευνηθεί η διαφορική ενεργός διατομή της, η οποία είναι:

$$\frac{d\sigma_{Th}}{d\Omega} = \frac{r_e}{2} * (1 + \cos^2 \theta), r_e = 2.82 \text{ fm ακτίνα του ηλεκτρονίου}$$

Μπορεί να προκύψει το ασφαλές συμπέρασμα ότι η σκέδαση Thomson είναι ανεξάρτητη της ενέργειας του προσπίπτοντος φωτονίου, αλλά είναι εξαρτώμενη από τη γωνία σκέδασης. Επομένως, υπολογίζοντας το ολοκλήρωμα της διαφορικής ενεργούς διατομής σε γωνίες από 0° έως 180° θα προκύψει η συνολική ενεργός διατομή σκέδασης, όπου η τιμή από τη βιβλιογραφία είναι η παρακάτω και ουσιαστικά μας περιγράφει τη συνολική πιθανότητα σκέδασης από ελεύθερο ηλεκτρόνιο:

$$\sigma_{Th} = 66.525 * 10^{-30} \text{ m}^2$$

Ο τρίτος μηχανισμός αλληλεπίδρασης είναι η **σκέδαση Rayleigh**. Η σκέδαση Rayleigh συμβαίνει με κάποια πιθανότητα και για ενέργειες φωτονίων της τάξης πάνω από 1keV. Σ' αυτές τις περιοχές όμως παρότι είναι πιθανή υπερσχύει το φωτοηλεκτρικό φαινόμενο. Η σύμφωνη σκέδαση, όπως αλλιώς ονομάζεται αφορά τη σκέδαση μεταξύ φωτονίου και ατόμου. Ενώ, όπως και στη σκέδαση Thomson η ενέργεια του προσπίπτοντος φωτονίου είναι ίση με την ενέργεια του σκεδαζόμενου φωτονίου. Αναφερόμαστε, λοιπόν, σε μία ελαστική σκέδαση, όπου δεν παρατηρείται μεταφορά ενέργειας στα ηλεκτρόνια του υλικού. Μετά τη σκέδαση, το αποτέλεσμα είναι η αλλαγή διεύθυνσης των φωτονίων κατά μικρές γωνίες της τάξης 0.5 με 1° . Επίσης, η σκέδαση Rayleigh εξαρτάται από τον ατομικό αριθμό Z , όσο μεγαλύτερος είναι τόσο αυξάνονται οι πιθανότητες να πραγματοποιηθεί η συγκεκριμένη σκέδαση.^[15]

Ο τέταρτος μηχανισμός αλληλεπίδρασης είναι το **φαινόμενο Compton**. Το φαινόμενο Compton είναι μία σκέδαση, όπου ένα φωτόνιο δεν απορροφάται μετά την σύγκρουση του με ένα ελεύθερο και σε ηρεμία ηλεκτρόνιο, αλλά σκεδάζεται με ενέργεια μικρότερη από την αρχική και σε διαφορετική διεύθυνση, μεταφέροντας παράλληλα ένα μέρος μόνο της ενέργειας του στο ηλεκτρόνιο. Η ενέργεια που θα έχει το φωτόνιο μετά την σκέδαση E_{sc} σε γωνία θ δίνεται από την παρακάτω σχέση, με E την αρχική ενέργεια του φωτονίου και $m_e c^2$ την ενέργεια ηρεμίας του ηλεκτρονίου:

$$E_{sc} = E * \frac{1}{1 + (\frac{E}{m_e c^2})(1 - \cos \theta)}$$

Επιπλέον, η κινητική ενέργεια T_e που θα μεταφερθεί στο ηλεκτρόνιο είναι:

$$T_e = E - E_{sc} = E * \frac{(\frac{E}{m_e c^2})(1 - \cos \theta)}{1 + (\frac{E}{m_e c^2})(1 - \cos \theta)}$$

Από τις παραπάνω δύο σχέσεις παρατηρείται ότι και η σκεδαζόμενη ενέργεια φωτονίου E_{sc} και η ενέργεια που μεταφέρεται στο ηλεκτρόνιο T_e έχουν εξάρτηση και από την γωνία θ , αλλά και από την αρχική ενέργεια του φωτονίου E . Όταν το φωτόνιο οπισθοσκεδάζεται ($\theta=180^\circ$) τότε έχουμε την μέγιστη μεταφοράς ενέργειας. Άρα οι σχέσεις σ' αυτή την περίπτωση γράφονται ως:

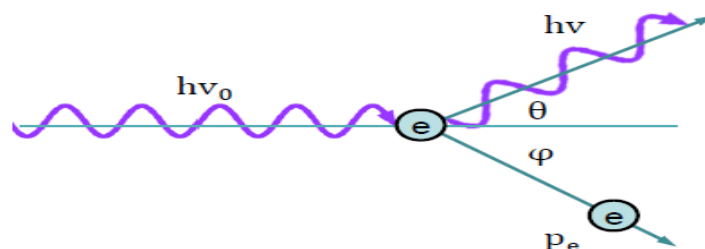
$$E_{sc} = \frac{E}{1 + (\frac{2E}{m_e c^2})}$$

$$T_e = E - E_{sc} = \frac{E}{1 + (\frac{m_e c^2}{2E})}$$

Το φαινόμενο Compton επικρατεί συνήθως για ενδιάμεσες ενέργειες των φωτονίων. Ο γραμμικός συντελεστής εξασθένισης για το φαινόμενο Compton έχει την εξής εξάρτηση:

$$\mu_{Compton} \propto \frac{\rho}{E}$$

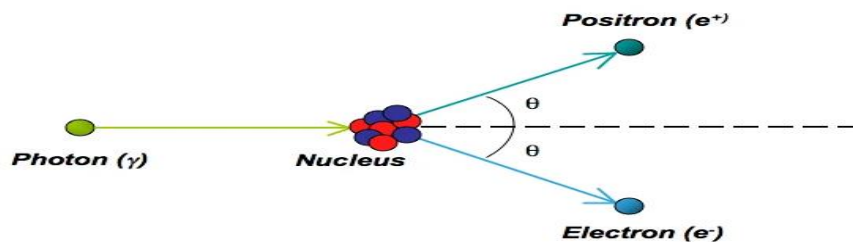
Με βάση και τη παραπάνω εξάρτηση προκύπτει ότι το φαινόμενο Compton δεν εξαρτάται από τον ατομικό αριθμό Z (πλην του H), αλλά είναι αντιστρόφως ανάλογο της ενέργειας που είχε αρχικά το φωτόνιο. ^[12]



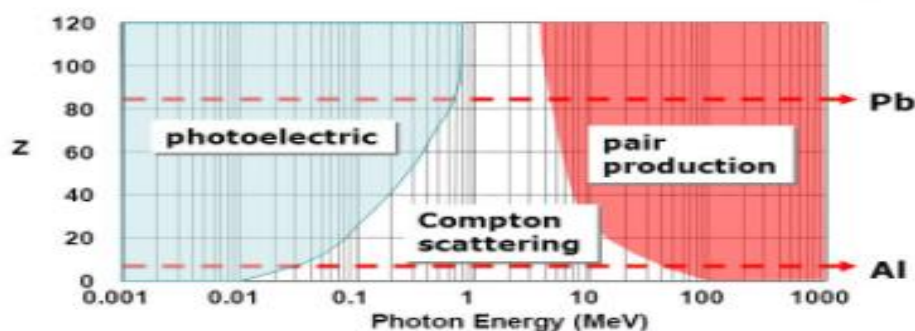
Εικόνα 2.4: Σχηματική αναπαράσταση σκέδασης Compton. ^[12]

Ο τελευταίος μηχανισμός αλληλεπίδρασης είναι το φαινόμενο της δίδυμης γένεσης. Η δίδυμη γένεση είναι μία διεργασία κατά την οποία ένα φωτόνιο αλληλεπιδρά με το ηλεκτρομαγνητικό πεδίο του πυρήνα και παράγεται ένα ζεύγος ηλεκτρονίου (e^-)-ποζιτρονίου (e^+), που είναι το αντισωματίδιο του ηλεκτρονίου. Αυτή η διαδικασία για να πραγματοποιηθεί χρειάζεται ένα ενεργειακό κατώφλι που είναι τα 1.022 MeV, δηλαδή δύο μάζες ηλεκτρονίου. Πρακτικά έχει αμελητέα πιθανότητα να πραγματοποιηθεί για ενέργειες μικρότερες των 10 MeV, οπότε και επικρατεί για μεγαλύτερες ενέργειες φωτονίων σε σχέση με το φωτοηλεκτρικό και το φαινόμενο Compton. Η εξάρτηση του συντελεστή εξασθένισης για τη δίδυμη γένεση έχει την παρακάτω εξάρτηση:

$$\mu_{Pair\ production} \propto \rho * \frac{Z}{E}$$



Εικόνα 2.5: Σχηματική αναπαράσταση της δίδυμης γένεσης.^[16]



Εικόνα 2.6: Τα τρία διαφορετικά είδη αλληλεπίδρασης της ακτινοβολίας γ με την ύλη συναρτήσει της ενέργειας των φωτονίων και του ατομικού αριθμού του υλικού με το οποίο αλληλεπιδρούν.^[12]

Στην παραπάνω εικόνα που μας παρουσιάζει τον μαζικό αριθμό σε συνάρτηση της ενέργειας των φωτονίων παρατηρείται ότι το φωτοηλεκτρικό φαινόμενο επικρατεί για χαμηλές ενέργειες, το φαινόμενο Compton για ενδιάμεσες, ενώ η δίδυμη γένεση είναι ο κυρίαρχος μηχανισμός για τις υψηλές ενέργειες. Η Ιατρική φυσική ασχολείται κυρίως με τις ενέργειες στην περιοχή του φαινομένου Compton, δηλαδή για ενέργειες φωτονίων μέχρι τα 10 MeV.

2.3 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΩΜΑΤΙΔΙΑΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΜΕ ΤΗΝ ΥΛΗ

Η σωματιδιακή ακτινοβολία χωρίζεται σε ακτινοβολία φορτισμένων και ακτινοβολία αφόρτιστων σωματιδίων. Τα ηλεκτρόνια, ποζιτρόνια, σωματΙΑ-α και βαρέα ιόντα είναι φορτισμένα σωματίδια, διότι έχουν ηλεκτρικό φορτίο, ενώ τα αφόρτιστα σωματίδια είναι τα νετρόνια, που έχουν ουδέτερο ηλεκτρικό φορτίο. Τα νετρόνια με βάση την ενέργεια που έχουν χωρίζονται σε θερμικά (για ενέργειες περίπου 0.025eV), σε επιθερμικά (1eV – 1keV), σε ενδιάμεσα (έως 0.1MeV) και ταχέα (>0.1MeV). Οι μηχανισμοί με τους οποίους αλληλεπιδρούν τα νετρόνια με την ύλη είναι:

- Η ελαστική σκέδαση νετρονίου με πυρήνα, όπου το νετρόνιο χάνει μέρος της κινητικής του ενέργειας που μεταφέρεται ως ενέργεια ανάκρουσης στον πυρήνα.
- Η ανελαστική σκέδαση νετρονίου και πυρήνα, στη συγκεκριμένη διεργασία το νετρόνιο συλλαμβάνεται προσωρινά από το πυρήνα και τον εγκαταλείπει όταν βρεθεί σε διεγερμένη ενεργειακά κατάσταση με αποτέλεσμα στη συνέχεια να παρατηρείται εκπομπή γ-ακτινοβολίας.

-Μη ελαστική σκέδαση, όπου λαμβάνουν χώρα πυρηνικές αντιδράσεις όπως η προηγούμενη περίπτωση της ανελαστικής σκέδασης, όμως δεν απελευθερώνεται νετρόνιο αλλά ένα άλλο σωματίδιο π.χ. σωματίδιο α.

-Η σύλληψη νετρονίου, η οποία είναι ιδιαίτερα συχνή όταν τα νετρόνια αλληλεπιδρούν με βιολογικούς ιστούς και αφορά τα θερμικά νετρόνια. Η σύλληψη νετρονίου δεν είναι τίποτε άλλο παρά μία πυρηνική αντίδραση του τύπου (n,p) ή (n,γ) και πραγματοποιείται όταν ένας πυρήνας βομβαρδίζεται από θερμικά νετρόνια.

-Η αποσύνθεση πυρήνων, κατά την οποία το νετρόνιο οδηγεί τον πυρήνα να θρυμματιστεί με ταυτόχρονη απελευθέρωση υποατομικών σωματιδίων και θραυσμάτων του πυρήνα. ^[1]

Τώρα, θα αναλυθεί το πως αλληλεπιδρούν τα φορτισμένα σωματίδια με την ύλη και ακόμα ειδικότερα τα σωμάτια-α, τα οποία αφορούν και το αντικείμενο μελέτης της συγκεκριμένης εργασίας και ανήκουν στη κατηγορία των βαριών φορτισμένων σωματιδίων. Τα φορτισμένα σωματίδια καθώς εισέρχονται στην ύλη σκεδάζονται με αποτέλεσμα να χάνουν ενέργεια κατά τη διάρκεια της αλληλεπίδρασης τους με τους πυρήνες και τα ηλεκτρόνια του υλικού. Συγκεκριμένα, η φυσική ποσότητα που χρησιμοποιείται για να περιγράψει το πως ένα φορτισμένο σωματίδιο χάνει ενέργεια ΔΕ σε ένα διάστημα Δx, καθώς εισέρχεται σε ένα υλικό (ή αλλιώς απορροφητή) ονομάζεται **γραμμική ανασχετική ισχύς (Linear Stopping Power)**. Η γραμμική ανασχετική ισχύς ορίζεται ως εξής:

$$S = -\frac{dE}{dx} \quad (1)$$

Το S εξαρτάται από τρεις παράγοντες, που είναι από την ενέργεια E και τον ατομικό αριθμό z του εισερχόμενου σωματιδίου και από τον ατομικό αριθμό Z του υλικού ή αλλιώς απορροφητή στόχου. Η γραμμική ανασχετική ισχύς σε βαριά φορτισμένα σωματίδια και ηλεκτρόνια εκφράζεται μέσω του τύπου του Bethe-Block, ο οποίος είναι ο εξής:

$$S = -\frac{dE}{dx} = 4\pi * \frac{e^4 Z^2}{m_e v^2} * N * B \quad (2)$$

Όπου, m_e : η μάζα του ηλεκτρονίου

z: ατομικός αριθμός του εισερχόμενου σωματιδίου στο υλικό

v: ταχύτητα του εισερχόμενου σωματιδίου

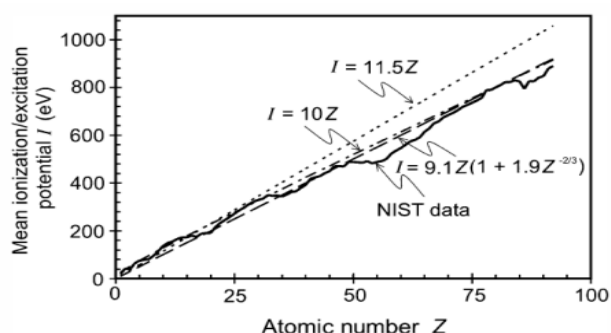
Z: ατομικός αριθμός του υλικού απορροφητή

N: αριθμός ατόμων ανά μονάδα όγκου του υλικού στόχου

$$B = Z * \left[\ln \frac{2m_e v^2}{I} - \ln \left(1 - \frac{v^2}{c^2} \right) - \frac{v^2}{c^2} \right] \quad (3)$$

Στη παραπάνω σχέση εμφανίζεται και το I που ονομάζεται μέσο δυναμικό διέγερσης και ιονισμού, το οποίο εκφράζει τη μέση απαιτούμενη ενέργεια για τον ιονισμό ενός ατόμου στο υλικό-στόχο. Το δυναμικό I είναι περίπου ίσο με $10 * Z$ για μεγάλους ατομικούς αριθμούς ^[12], ενώ ο ακριβής του προσδιορισμός γίνεται μέσω της παρακάτω σχέσης:

$$I (eV) = 9.1 * Z * \left(1 + 1.9 * Z^{-\frac{2}{3}} \right) \quad (4)$$



Εικόνα 2.7: Διάγραμμα μέσου δυναμικού διέγερσης/ιονισμού συναρτήσει του ατομικού αριθμού (Z) του απορροφητή. ^[15]

Element	H	C	Al	Cu	Ag	W	Pb	Ra	U	Cf
Z	1	6	13	29	47	74	82	88	92	98
I (eV)	19.2	78	167	322	470	727	823	826	890	966

Εικόνα 2.8: Πίνακας μέσου δυναμικού διέγερσης/ιονισμού συναρτήσει του ατομικού αριθμού (Z) χημικών στοιχείων από την ICRU Report 53.

Αυτό το οποίο είναι όμως, ιδιαίτερα σημαντικό είναι ο υπολογισμός του μέσου δυναμικού διέγερσης/ιονισμού σε χημικές ενώσεις, όπως για παράδειγμα το νερό, που αποτελεί περίπου το 70% του ανθρώπου και επομένως όταν αναφερόμαστε στην αλληλεπίδραση των φορτισμένων σωματιδίων με έναν άνθρωπο ή/και ταυτόχρονα ασθενή, είναι αρκετά χρήσιμο να υπάρχει η απαραίτητη πληροφορία σχετικά με το I διάφορων βιολογικών ιστών. Επομένως, το μέσο δυναμικό διέγερσης/ιονισμού υπολογίζεται μέσω του κανόνα του Bragg ^[17] ως:

$$n \ln I = \sum_i N_i Z_i * \ln I_i \quad (5)$$

Όπου, N_i : $\frac{\text{άτομα}}{\text{cm}^3}$, του κάθε χημικού στοιχείου, δηλαδή η ατομική πυκνότητα

Z_i : ο ατομικός αριθμός του κάθε χημικού στοιχείου

$$n = \sum_i N_i Z_i$$

Παρακάτω, παρουσιάζεται ο αντίστοιχος πίνακας του μέσου δυναμικού διέγερσης/ιονισμού με τον ατομικό αριθμό (Z) διάφορων χημικών ενώσεων.

Compound	I (eV)	Compound	I (eV)
Air (dry)	85.7	Lithium fluoride	94
Water (liquid)	75	Photographic emulsion	331
Water (vapor)	71.6	Sodium iodide	452
Muscle (skeletal)	75.3	Polystyrene	68.7
Bone (compact)	91.9	A-150 plastic	65.1

Εικόνα 2.9: Πίνακας μέσου δυναμικού διέγερσης/ιονισμού συναρτήσει του ατομικού αριθμού (Z) χημικών ενώσεων από την ICRU Report 53.

Επίσης, να αναφερθεί ότι στην ICRU 90 το μέσο δυναμικό διέγερσης/ιονισμού για το νερό είναι $I_{water} = 78 \text{ eV}$.

Επιστρέφοντας στη γραμμική ανασχετική ισχύς, η σχέση (2) μπορεί να γραφεί και ως εξής ^[12]:

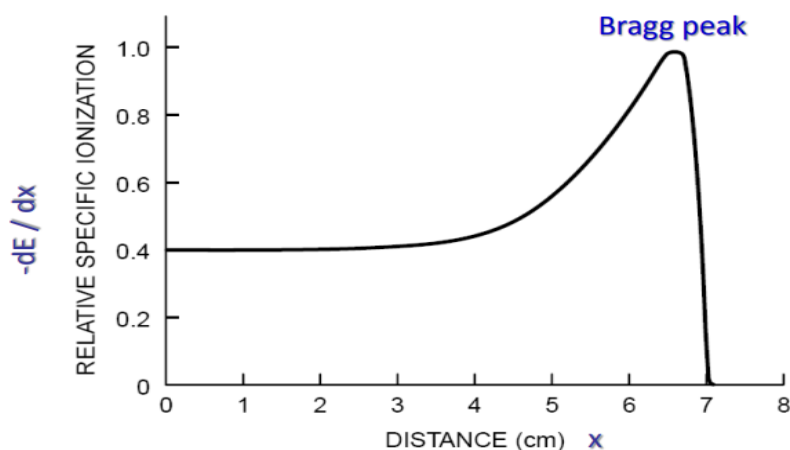
$$S = -\frac{dE}{dx} = 4\pi * \frac{e^2 Q^2}{m_e \beta^2 c^2} * N * B \quad (6)$$

Όπου, το Q είναι το φορτίο του σωματιδίου και B είναι:

$$B = Z * \left[\ln \left(\frac{2m_e \beta^2 c^2}{I} \gamma^2 \right) - \beta^2 \right] \quad (7)$$

Προφανώς, το $\beta = v/c$ και το $\gamma = \frac{1}{\sqrt{1-\beta^2}}$, όπως έχουν οριστεί από την σχετικότητα.

Τώρα, η καμπύλη που συσχετίζει τη γραμμική ανασχετική ισχύς με τη διαδρομή x που διανύει ένα φορτισμένο σωματίδιο καθώς εισέρχεται στον απορροφητή, ονομάζεται καμπύλη Bragg. Προφανώς, καθώς εισέρχεται το φορτισμένο σωματίδιο στο υλικό η ενέργεια του ελαττώνεται κατά μήκος της διαδρομής του. Άρα αυτό έχει ως άμεση συνέπεια η γραμμική ανασχετική ισχύς να αυξάνεται μέχρι το σωματίδιο να απορροφηθεί πλήρως από το υλικό. Στο τέλος αυτής της καμπύλης παρατηρείται μία κορυφή που λέγεται, Bragg Peak και αντιστοιχεί στη μεγαλύτερη εναπόθεση ενέργειας του σωματιδίου στον απορροφητή, όπου το σωματίδιο διαθέτει την ελάχιστη ενέργεια (ταχύτητα). Το εμβαδόν που περικλείεται κάτω από τη καμπύλη Bragg peak αντιστοιχεί στην αρχική ενέργεια του φορτισμένου σωματιδίου. Η καμπύλη Bragg είναι ιδιαίτερα σημαντική στην ακτινοθεραπεία με φορτισμένα σωματίδια. Αν ρυθμιστεί κατάλληλα η κινητική ενέργεια των βαριών φορτισμένων σωματιδίων μπορεί με αρκετά σημαντική ακρίβεια να δοθεί η απαραίτητη ποσότητα δόσης σε συγκεκριμένο βάθος του ασθενή με στόχο να εξουδετερώσει τα καρκινικά κύτταρα, ενώ παράλληλα θα εναποθέσει λιγότερη δόση στους γειτονικούς υγιείς ιστούς, που βρίσκονται εκτός της κορυφής Bragg, οι οποίοι θα ακτινοβολούνται με μικρότερη ενέργεια.



Εικόνα 2.10: Καμπύλη Bragg σωματιδίων α με ενέργεια 7.7 MeV στον αέρα. Στο τέλος της καμπύλης εμφανίζεται η κορυφή Bragg, όπου η ενέργεια των σωματιδίων τείνει να μηδενισθεί και παρουσιάζεται η μέγιστη απορρόφηση. ^[12]

Όσο αφορά τη μεταφορά ενέργειας για τα βαριά φορτισμένα σωματίδια στα ηλεκτρόνια του υλικού απορροφητή, είναι ελάχιστη όταν ισούται με το μέσο δυναμικό διέγερσης/ιονισμού και μέγιστη όταν είναι ίση με $2m_e v^2$, όπου v είναι η ταχύτητα του εισερχόμενου σωματιδίου.

Βέβαια τα όσα περιγράφονται σχετικά με την γραμμική ανασχετική ισχύς στις ισοδύναμες σχέσεις (2) και (6) μέσω του κβαντομηχανικού μη σχετικιστικού τύπου των Bethe-Block, αν λάβουμε υπόψη και τη σχετικότητα η παραπάνω σχέσεις θα πρέπει να συμπεριλάβουν και έναν παράγοντα shell correction, εξαιτίας του ότι τα εσωτερικά ηλεκτρόνια του ατόμου του απορροφητή δεν συμμετέχουν στην απώλεια ενέργειας. Η συγκεκριμένη διόρθωση οφείλεται στο ότι η προσέγγιση του Bethe έχει ως βασική θεώρηση ότι η ταχύτητα του φορτισμένου σωματιδίου είναι αρκετά μεγαλύτερη από την αντίστοιχη ταχύτητα που διαθέτουν τα τροχιακά ηλεκτρόνια του ατόμου-στόχου. Οι σχέσεις, λοιπόν, (2) και (6) ισχύουν στη περίπτωση που τα φορτισμένα σωματίδια χαρακτηρίζονται από μεγάλες κινητικές ενέργειες. Αντίθετα, σε χαμηλές κινητικές ενέργειες δεν ισχύει η προσέγγιση αυτή, όπου τα εσωτερικά ηλεκτρόνια του ατόμου και ειδικότερα συνήθως αυτά που ανήκουν στη στοιβάδα K του απορροφητή δεν λαμβάνονται πλέον υπόψιν στον υπολογισμό του I , δηλαδή του μέσου δυναμικού διέγερσης/ιονισμού.

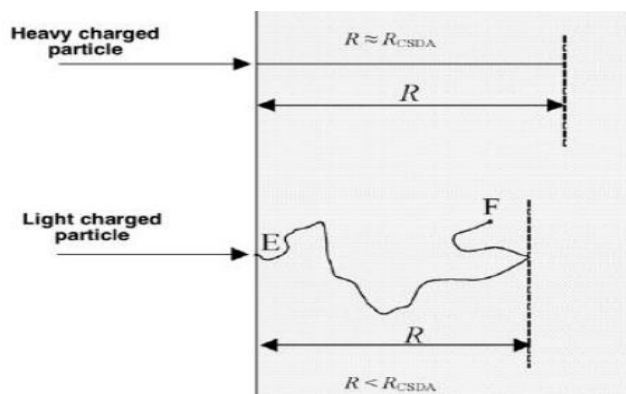
Τέλος, όσο αφορά τα βαριά φορτισμένα σωματίδια, όπως είναι και τα α-σωμάτια, η ενέργεια που εκπέμπει το καθένα στη μονάδα του χρόνου περιγράφεται μέσω της παρακάτω σχέσης ^[17]:

$$P = \frac{1}{6\pi\epsilon_0} * \frac{q^2 a^2}{c^3} \quad (8)$$

Όπου, το $q=ze$ είναι το φορτίο του φορτισμένου σωματιδίου και a είναι η επιτάχυνσή που έχει το σωματίδιο.

Τα βαριά φορτισμένα σωματίδια, λοιπόν, καθώς εισέρχονται σε ένα υλικό απορροφητή χάνουν ενέργεια μέσω πάρα πολλών σκεδάσεων (soft collisions) με αποτέλεσμα κάθε φορά να αποδίδουν ένα μικρό μέρος της ενέργειάς τους στα ηλεκτρόνια των ατόμων του απορροφητή μέσω ιονισμών και διεγέρσεων. Επομένως, σε κάθε κρούση λόγω και του μικρού μέρους της ενέργειάς τους που χάνουν δεν εκτρέπονται και από την αρχική τους διεύθυνση που κινούνταν αρχικά. Αντιθέτως, όταν αναφερόμαστε στην αλληλεπίδραση των ηλεκτρονίων και των ποζιτρονίων με την ύλη αυτά χάνουν ενέργεια και μέσω ιονισμών και διεγέρσεων αλλά και λόγω της ακτινοβολίας πέδησης (bremsstrahlung) που είναι αρκετά πιο έντονη σ' αυτή τη κατηγορία των σωματιδίων. Συγκεκριμένα, όταν υπάρχουν σκεδάσεις με πυρήνες των ατόμων του απορροφητή αυτό έχει ως συνέπεια την απώλεια ενέργειας υπό μορφή ακτινοβολίας πέδησης, δηλαδή τα ηλεκτρόνια επιβραδύνονται και εκπέμπονται φωτόνια. Η πιθανότητα να εμφανιστεί εκπομπή φωτονίων λόγω ακτινοβολίας πέδησης ανά άτομο είναι ανάλογη του τετραγώνου του ατομικού αριθμού Z του υλικού πρόσπτωσης των ηλεκτρονίων. Επιπροσθέτως, η ακτινοβολία πέδησης είναι αντιστρόφως ανάλογη του τετραγώνου της μάζας των σωματιδίων. Δηλαδή, αν συγκρίνουμε τις ακτινοβολίες που παράγονται από ηλεκτρόνια

και πρωτόνια που έχουν την ίδια αρχική κινητική ενέργεια θα προκύψει ότι η ακτινοβολία πέδησης στα πρωτόνια θα είναι 10^6 φορές μικρότερη από την αντίστοιχη από εκείνη που θα παραχθεί από το «φρενάρισμα» των ηλεκτρονίων. Έτσι τα ηλεκτρόνια, υπάρχει περίπτωση να χάσουν ένα μεγάλο ποσό ενέργειας κατά τη διάρκεια μίας κρούσης και να εκτραπούν από την αρχική τους διεύθυνση. Επιπλέον η ανασχετική ισχύς των ηλεκτρονίων διαφέρει από εκείνη των βαριών φορτισμένων σωματιδίων, όπου η σχετικιστική προσέγγιση είναι σημαντική και στη περιοχή των χαμηλών κινητικών ενεργειών. Ακόμα, στα ηλεκτρόνια η ανασχετική ισχύς περιλαμβάνει και έναν όρο που ονομάζεται παράγοντας διόρθωσης density (ή polarization). Αυτός ο παράγοντας διόρθωσης προκύπτει από το γεγονός ότι το ηλεκτρικό πεδίο του φορτισμένου σωματιδίου έχει την ικανότητα να πολώνει τα άτομα του απορροφητή με αποτέλεσμα να μειώνεται η ανασχετική ισχύς σε σύγκριση με την αντίστοιχη ανασχετική ισχύς όταν ο απορροφητής είναι σε αέρια κατάσταση (σε αυτή τη περίπτωση έχει μηδενικό density factor).



Εικόνα 2.11: Οι τροχιές των βαριών φορτισμένων σωματιδίων και των ηλεκτρονίων, όπου στη 1^η δεν υπάρχει εκτροπή της διεύθυνσης τους και στη 2^η περίπτωση παρατηρείται συνεχώς να αλλάζει η διεύθυνση τους σε κάθε κρούση.^[15]

Ένα ακόμα φυσικό μέγεθος που είναι χρήσιμο στη μελέτη της αλληλεπίδρασης των φορτισμένων σωματιδίων από την ύλη είναι η εμβέλεια. Σε αντίθεση με τα φωτόνια, τα ηλεκτρόνια και τα υπόλοιπα φορτισμένα σωματίδια έχουν εμβέλεια, δηλαδή καθώς εισέρχονται σε ένα υλικό ικανών διαστάσεων πολλές φορές δεν καταφέρνουν να το διαπεράσουν και σταματούν τη διαδρομή τους μέσα σ' αυτό. Η **εμβέλεια (Range)** ορίζεται ως εξής^[12]:

$$R = \int_0^R dx = \int_{E_0}^0 \frac{dx}{dE} dE = \int_{E_0}^0 \frac{1}{\frac{dE}{dx}} dE = \int_0^{E_0} \frac{1}{-\frac{dE}{dx}} dE \Rightarrow$$

$$R = \int_0^{E_0} \frac{dE}{S(E)} \quad (9)$$

Τώρα, θα γίνει μία συσχέτιση μεταξύ της εμβέλειας R με την ενέργεια E και τον ατομικό αριθμό z του σωματιδίου. Από τη σχέση του Bethe-Block για την ανασχετική ισχύς των σωματιδίων κάνοντας την παρακάτω προσέγγιση προκύπτει ότι:

$$S(E) = -\frac{dE}{dx} \approx \frac{z^2}{v^2} \approx \frac{z^2 * m}{v^2 * m} \approx \frac{z^2 m}{E} \quad (10)$$

Όποτε κάνοντας την ολοκλήρωση στη σχέση (9) με τη βοήθεια της σχέσης(10) προκύπτει ότι:

$$R = \int_0^{E_0} \frac{E}{z^2 m} dE \Rightarrow R = \frac{E_0^2}{z^2 m} = \frac{E_0^2}{z^2 A} \quad (11)$$

Από την παραπάνω σχέση παρατηρούμε ότι η εμβέλεια εξαρτάται από την αρχική ενέργεια, τον ατομικό αριθμό καθώς και τη μάζα (περίπου ίση κατά προσέγγιση με τον μαζικό αριθμό) του εισερχόμενου σωματιδίου. Επομένως, εάν για παράδειγμα είχαμε δύο διαφορετικούς τύπους σωματιδίων που έχουν έστω ίδια αρχική ενέργεια θα ισχύει ότι ^[12]:

$$\frac{R_1}{R_2} = \frac{E_0^2}{z_1^2 A_1} : \frac{E_0^2}{z_2^2 A_2} \approx \frac{z_1^2}{z_2^2} * \left(\frac{A_1}{A_2} \right) \quad (12)$$

Πέρα από τα όσα περιγράφηκαν παραπάνω είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι όταν μελετάται η επίδραση των ιοντιζουσών ακτινοβολιών με την ύλη εκτός από το ποσό της ενέργειας που χάνουν τα φορτισμένα σωματίδια, είναι εξίσου σημαντικό το πως κατανέμεται αυτή ενέργεια στο υλικό στόχο. Καθώς, σκεδάζονται τα φορτισμένα σωματίδια με τα ηλεκτρόνια του υλικού, κάποια από αυτά τα ηλεκτρόνια έχουν τη δυνατότητα εάν έχουν επαρκή ενέργεια να δημιουργήσουν περαιτέρω ιονισμούς. Αυτά τα ηλεκτρόνια, λοιπόν, ονομάζονται ακτίνες-δ και η απορρόφηση της ενέργειάς τους πραγματοποιείται προφανώς εκτός της τροχιάς του αρχικού φορτισμένου σωματιδίου που προσπίπτει στο υλικό. ^[1] Άρα η απορρόφηση ενέργειας σε ένα τοπικό σημείο προσδιορίζεται αν υπολογιστεί η απώλεια ενέργειας ανά μονάδα διαδρομής ενός φορτισμένου σωματιδίου με την μόνη εξαίρεση τις ακτίνες-δ ή αλλιώς αν εξαιρεθούν μεταφορές ενέργειας μεγαλύτερες από ένα κατώφλι-όριο ενέργειας Δ.

$$L_\Delta = \frac{dE}{dx} \quad (13)$$

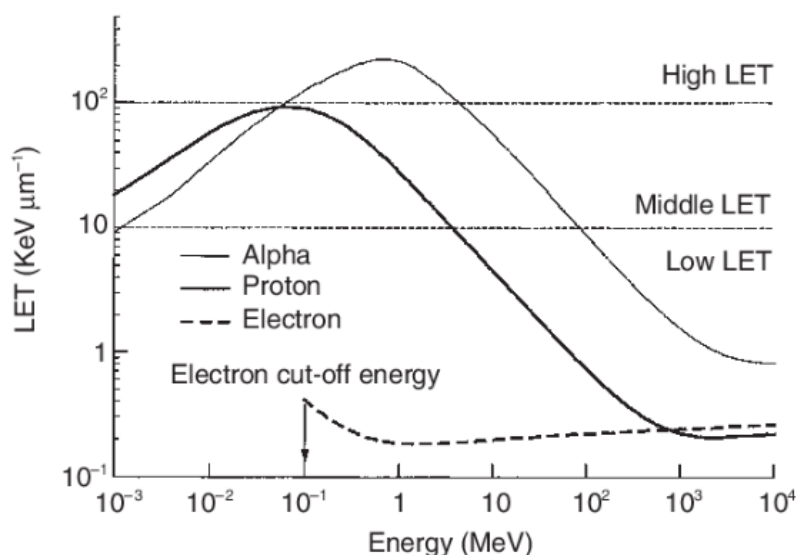
Επομένως, για την ακτινοβιολογία και παράλληλα και για την ακτινοθεραπεία και την ακτινοπροστασία χρησιμοποιείται ένα άλλο φυσικό μέγεθος που ονομάζεται **γραμμική ενέργεια μεταφοράς (LET: Linear Transfer Energy)** που εκφράζεται σε μονάδες keV/μm σε αντίθεση με την γραμμική ανασχετική ισχύς που εκφράζεται σε μονάδες MeV/cm και σύμφωνα και με τον ορισμό της ICRU, LET των φορτισμένων σωματιδίων σε ένα υλικό μέσο: ονομάζεται η ποσότητα dE/dx, όπου το dE είναι η μέση ενέργεια που εναποτίθεται τοπικά σε ένα μέσο από το φορτισμένο σωματίδιο που έχει διανύσει ένα μήκος διαδρομής dx.

Στα φωτόνια και στα ηλεκτρόνια παρατηρείται ότι η τιμή της LET είναι χαμηλή, κάτι το οποίο σημαίνει ότι η συγκεκριμένη ακτινοβολία προκαλεί μικρό αριθμό ιονισμών και διεγέρσεων ανά μm διαδρομής. Αντίθετα, όταν έχουμε ακτινοβολίες υψηλού LET, όπως είναι εκείνες των πρωτονίων, των σωματιδίων-α και των βαρέων ιόντων συνεπάγονται πυκνοί ιοντισμοί ανά μm διαδρομής. Βέβαια, είναι προφανές ότι η ενέργεια που μεταφέρεται σε ένα μικρό όγκο βιολογικού υλικού, π.χ. ένα κύτταρο δεν είναι ίδια για όλους τους στόχους και τα μόρια που το αποτελούν. Όποτε χρησιμοποιείται η μέση ενέργεια μεταφοράς στο βιολογικό υλικό που αντιστοιχεί στην απορροφούμενη δόση.

Ακολουθεί ένας πίνακας με τις τιμές LET των διαφορετικών ειδών ακτινοβολίας, που χρήζουν και εφαρμογή στο τομέα της ακτινοθεραπείας.

Ακτινοβολία	LET (keV/μm)
Cobalt 60-γ rays	0.2-0.3
100-250 kVp x-rays	2.0
protons	1-50
Neutrons	1-50
a-particles	100-200
Heavy ions	500-1000
1MeV electrons	0.25
1 keV electrons	12.3
10 keV electrons	2.3

Πίνακας 2.1: Τα είδη της ακτινοβολίας και η γραμμική μεταφορά ενέργειας (LET) για καθεμία από αυτές. ^[17]



Εικόνα 2.12: Διάγραμμα LET σε σχέση με την ενέργεια του φορτισμένου σωματιδίου. ^[28]

Στη παραπάνω εικόνα παρατηρείται ότι το LET π.χ. για ενέργεια $E=1\text{MeV}$ είναι μεγαλύτερο στη περίπτωση των σωματιδίων-α από ότι των πρωτονίων που χαρακτηρίζονται από Middle LET και τα ηλεκτρόνια που αντιστοιχούν σε Low LET. Ακόμα, φαίνεται ότι πάνω από μία συγκεκριμένη τιμή το LET π.χ. των σωματίων-α μειώνεται καθώς αυξάνεται η ενέργεια. Δηλαδή αν το $LET = 100\text{ keV}/\mu\text{m}$ για $E=10\text{ MeV}$, αν η ενέργεια αυξηθεί στα 100 MeV, είναι εμφανές ότι το $LET = 10\text{ keV}/\mu\text{m}$.

Τέλος, πέρα από το LET, υπάρχει και ένα άλλο μέγεθος που ονομάζεται **RBE (Relative Biological Effectiveness)**, που εκφράζει το λόγο των δόσεων ακτινοβολίας αναφοράς συνήθως τα 250keV από ακτίνες-X και της ακτινοβολίας υπό μελέτη για το ίδιο βιολογικό αποτέλεσμα.

$$RBE = \frac{D(\text{standard radiaton})}{D(\text{test radiaton})} \quad (14)$$

2.4 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΟΣΙΜΕΤΡΙΑΣ

Η δοσιμετρία των Ι.Α. έχει ως κύρια ασχολία τις μετρήσεις των ιοντιζουσών ακτινοβολιών έχοντας ως απώτερο στόχο τη ποσοτική έκφραση της σχέσης μεταξύ των χαρακτηριστικών ενός πεδίου ακτινοβολίας και του αποτελέσματος από την ακτινοβόληση ενός συστήματος. Ειδικότερα, η δοσιμετρία ασχολείται με το προσδιορισμό και τη μέτρηση της απορροφούμενης δόσης, καθώς και άλλων μεγεθών, όπως είναι το *kerma* και η έκθεση. Τα μεγέθη αυτά είναι ιδιαίτερα σημαντικά σε όλα τα παρακλάδια της Ιατρικής Φυσικής, δηλαδή είτε στην Ακτινολογία, είτε στη Πυρηνική Ιατρική, είτε στην Ακτινοθεραπεία, ή στην Ακτινοπροστασία και προφανώς και στη Ακτινοβιολογία. Πριν αναφερθεί ο ορισμός της απορροφούμενης δόσης, θα αναφερθούν κάποιες στοχαστικές ποσότητες.

Αρχικά, έχουμε την προσδιόδμενη ενέργεια (ϵ_i) από μία αλληλεπίδραση που είναι η εξής ποσότητα:

$$\epsilon_i = T_{in} - T_{out} + Q_{\Delta m} \quad (15)$$

Όπου, T_{in} είναι η συνολική ενέργεια του σωματιδίου πριν από την αλληλεπίδραση. Το T_{out} είναι το άθροισμα των ενεργειών των σωματιδίων που προκύπτουν μετά την αλληλεπίδραση και μπορούν να ιονίσουν την ύλη. Επίσης, $Q_{\Delta m}$ αντιστοιχεί στο άθροισμα όλων των αλλαγών των ενεργειών μάζας ηρεμίας όλων των πυρήνων και των σωματιδίων που συμμετέχουν στην αλληλεπίδραση. ^[1]

Στη συνέχεια, έχουμε μία άλλη στοχαστική ποσότητα που λέγεται εναποτιθέμενη ενέργεια (ϵ) από ιοντίζουσα ακτινοβολία στην ύλη, η οποία βρίσκεται σε έναν όγκο V και αποτελεί ουσιαστικά το άθροισμα όλων των ενεργειών που εναποτίθενται στον όγκο από μεμονωμένα γεγονότα, δηλαδή αλληλεπιδράσεις. Επιπλέον, ορίζεται ένα άλλο μέγεθος που ονομάζεται γραμμώδης ενέργεια (y) και εκφράζεται ως το πηλίκο της εναποτιθέμενης ενέργειας στην ύλη που καταλαμβάνει ο όγκος V προς το μέσο μήκος χορδής στο συγκεκριμένο όγκο $\langle l \rangle$. Η μέση χορδή $\langle l \rangle$ αφορά τη μέση τιμή μήκους από χορδές με τυχαία διεύθυνση στον όγκο και για κυρτά σώματα (π.χ. ένα κύτταρο) είναι ίσο με $4V/A$, όπου V ο όγκος και A το εμβαδόν της επιφάνειας του όγκου. Άρα η γραμμώδης ενέργεια ορίζεται ως:

$$y = \frac{\epsilon}{\langle l \rangle} \quad (16)$$

Ακόμα, μία άλλη στοχαστική ποσότητα η οποία συνδέεται άρρηκτα και με την απορροφούμενη δόση είναι η ειδική εναποτιθέμενη ενέργεια (z). Η ειδική εναποτιθέμενη σε ένα όγκο ορίζεται ως το πηλίκο της εναποτιθέμενης ενέργειας στον όγκο V προς τη μάζα m . Δηλαδή, ορίζεται ως:

$$z = \frac{\epsilon}{m} \quad (17)$$

Η ειδική εναποτιθέμενη ενέργεια λόγω του ότι και η εκπομπή ακτινοβολίας από πηγές αλλά και η αλληλεπίδραση των σωματιδίων με την ύλη διαθέτουν ένα στατιστικό χαρακτήρα δεν έχει σταθερή τιμή και χαρακτηρίζεται από στατιστικές διακυμάνσεις. ^[29]

Όμως, πέρα από τις στοχαστικές ποσότητες που περιγράφηκαν παραπάνω, υπάρχουν και μη στοχαστικές ή αλλιώς προσδιορίσιμες ποσότητες, όπως η απορροφούμενη δόση, ο ρυθμός δόσης, το kerma και η έκθεση. Η **απορροφούμενη δόση D** σε ένα σημείο λέγεται το όριο της αναμενόμενης τιμής της ειδικής εναποτιθέμενης ενέργειας $\langle z \rangle$ σε ένα όγκο, καθώς η μάζα τείνει στο μηδέν ^[29]. Δηλαδή, ισχύει ότι:

$$D = \lim_{m \rightarrow 0} \langle z \rangle \quad (18)$$

Εναλλακτικά, η απορροφούμενη δόση ορίζεται ως το παρακάτω κλάσμα, της μέσης εναποτιθέμενης ενέργειας ως προς την μάζα m. Η μονάδα μέτρησης της δόσης είναι το 1Gy (1Gray), που ορίζεται ως 1J/kg.

$$D = \frac{d\bar{\epsilon}}{dm} \quad (19)$$

Μία ακόμα σημαντική ποσότητα είναι ο ρυθμός απορροφούμενης δόσης, που είναι η παράγωγος της δόσης dD προς το αντίστοιχο χρονικό διάστημα dt:

$$\dot{D} = \frac{dD}{dt} \quad (20)$$

Η μονάδα μέτρησης του ρυθμού δόσης είναι το 1Gy/s (1Gray/second). Τώρα μία άλλη φυσική ποσότητα είναι η έκθεση, X, όπου ορίζεται ως το πηλίκο dQ/dm, όπου dQ είναι η απόλυτη τιμή του συνολικού φορτίου όλων των σωματιδίων που παράγονται σε μία μάζα αέρα dm, όταν τα ηλεκτρόνια και τα ποζιτρόνια σταματούν στον αέρα μετά την ακτινοβολήση με φωτόνια. Επομένως, η έκθεση αναφέρεται μόνο σε ένα υλικό μέσο που είναι ο αέρας και μόνο για ένα είδος ακτινοβολίας που είναι τα φωτόνια και όχι τα φορτισμένα σωματίδια. Άρα, στη παρούσα εργασία που μελετάμε φορτισμένα σωματίδια δεν θα μας απασχολήσει η έννοια της έκθεσης. Τέλος, ένα ακόμη μέγεθος είναι το KERMA (Kinetic Energy Released in Matter) που χρησιμοποιείται στη περίπτωση των έμμεσα ιοντιζουσών ακτινοβολιών, όπου αρχικά τα φωτόνια ή τα νετρόνια μεταφέρουν κινητική ενέργεια σε φορτισμένα σωματίδια και στη συνέχεια τα τελευταία μεταδίδουν την ενέργεια τους στο υλικό. Άρα, το KERMA ορίζεται ως το άθροισμα των κινητικών ενεργειών που είχαν αρχικά όλα τα φορτισμένα που ελευθερώνονται κατά την αλληλεπίδραση της έμμεσης ακτινοβολίας με το υλικό προς τη μάζα του υλικού. Η δόση και το KERMA σε συνθήκες ηλεκτρονικής ισορροπίας έχουν περίπου ίσες τιμές. Δηλαδή ορίζεται ως εξής ^[1]:

$$K = \frac{dE_{tr}}{dm} \quad (21)$$

Τώρα πέρα από την δόση, υπάρχουν και κάποιες άλλες χρήσιμες ποσότητες που χρησιμοποιούνται στην ακτινοπροστασία κατά κύριο λόγο, διότι μας ενδιαφέρει η μέση απορροφούμενη δόση στα όργανα και τους ιστούς του ανθρωπίνου σώματος. Επομένως, ορίζεται η Ισοδύναμη δόση οργάνου ή ιστού που συμβολίζεται με H_T και μετριέται σε 1Sv (1Sievert). Η ισοδύναμη δόση υπολογίζεται μέσω του παρακάτω τύπου^[1]:

$$H_T = D * W_R \quad (22)$$

Όπου ο όρος W_R ονομάζεται συντελεστής στάθμισης ακτινοβολίας και παίρνει διαφορετικές τιμές για κάθε είδος ακτινοβολίας. Στο παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται αυτές οι τιμές.

Είδος ακτινοβολίας	Συντελεστής στάθμισης ακτινοβολίας W_R
Φωτόνια (ακτίνες-Χ κα -γ)	1
Ηλεκτρόνια	1
Πρωτόνια	2
Σωματία-α, βαρέα ιόντα, θραύσματα σχάσης	20
Νετρόνια	Ενεργειακή εξάρτηση

Πίνακας 2.2: Τα είδη της ακτινοβολίας και ο συντελεστής στάθμισης ακτινοβολίας για τον υπολογισμό της ισοδύναμης δόσης (ICRP 103/2007).

Για μια δεδομένη ισοδύναμη δόση H_T ακτινοβολίας, ο κάθε ιστός του ανθρώπου συμβάλλει με διαφορετικό βάρος στο συνολικό κίνδυνο ή και όφελος αν πρόκειται για θεραπεία από την ακτινοβολήσή του. Άρα, υπάρχει ένας ακόμα παράγοντας στάθμισης που λέγεται συντελεστής στάθμισης W_T και είναι διαφορετικός για κάθε ιστό στον ανθρώπινο οργανισμό. Το συνολικό W_T από όλα τα όργανα και τους ιστούς έχει άθροισμα 1.

Tissue	Tissue weighting factor w_T	Σw_T
Bone-marrow (red), colon, lung, stomach, breast, remaining tissues(*)	0.12	0.72
Gonads	0.08	0.08
Bladder, Oesophagus, Liver, Thyroid	0.04	0.16
Bone surface, Brain, Salivary glands, Skin	0.01	0.04
Total		1.00

(*) Remaining tissues: Adrenals, extrathoracic region, gall bladder, heart, kidneys, lymphatic nodes, muscle, oral mucosa, pancreas, prostate (♂), small intestine, spleen, thymus, uterus/cervix (♀)

Πίνακας 2.3: Τα είδη της ακτινοβολίας και ο συντελεστής στάθμισης W_T για τα διάφορα όργανα και ιστούς (ICRP 103/2007).

Με βάση τα παραπάνω, προκύπτει ότι χρησιμοποιώντας τους παράγοντες στάθμισης της ακτινοβολίας, δηλαδή τους W_R και W_T , μπορεί να υπολογιστεί γνωρίζοντας βέβαια και την απορροφούμενη δόση, ένα άλλο μέγεθος που λέγεται ενεργός δόση, μέσω της παρακάτω μαθηματικής σχέσης (23) που είναι η εξής^[1]:

$$E_{eff} = D * W_R * W_T \quad (23)$$

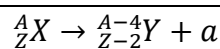
Η ενεργός δόση που η μονάδα μέτρησης είναι το 1Sv (1Sievert=1Gray), χρησιμοποιείται ευρέως στην ακτινοπροστασία και στη θέσπιση των ορίων δόσεων, όπως παρουσιάζονται και στο παρακάτω πίνακα. Είναι άξιο να αναφερθεί ότι τα όρια δόσεων εφαρμόζονται μόνο στις περιπτώσεις των εργαζομένων και του κοινού και όχι στους ασθενείς, διότι το κλινικό όφελος είναι πολύ σημαντικότερο από την πιθανότητα εμφάνισης στοχαστικών ή καθορισμένων αποτελεσμάτων (θα αναφερθούν στο Κεφάλαιο 3^ο της εργασίας). Ακολουθεί ο πίνακας με τα όρια δόσεις.

Είδος ορίου	Εργαζόμενοι	Κοινός πληθ.
Ετήσια ενεργός δόση	20 mSv	1 mSv
Φακός οφθαλμού	150 mSv	50 mSv
Δέρμα	500 mSv	150 mSv
Άκρα	500 mSv	150 mSv

Πίνακας 2.4: Τα όρια δόσεων για τους επαγγελματικά εκτιθέμενους και το κοινό πληθυσμό. (ΕΕΑΕ)

2.5 ΜΕΛΕΤΗ α-ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ

Ολοκληρώνοντας, το 2^ο κεφάλαιο της εργασίας, θα αναφερθούμε σε κάποια γενικά στοιχεία που αφορούν τα α-σωμάτια που αποτελούν το κύριο μέρος της συλλογής και ανάλυσης των ραδιοβιολογικών μας δεδομένων. Αρχικά, θα μελετήσουμε την α-διάσπαση, στη συνέχεια θα αναφερθούμε στην αλληλεπίδραση τους με την ύλη και τέλος θα παρουσιάσουμε κάποιες κλινικές εφαρμογές στο τομέα της ακτινοθεραπείας. Αρχικά, όσο αφορά για την παραγωγή των α-σωματίων αυτά προκύπτουν από τη διαδικασία διάσπασης α των ραδιενεργών πυρήνων. Η διάσπαση είναι μία διαδικασία κατά την οποία ένας αρχικός πυρήνας διασπάται σε ένα θυγατρικό και ένα α-σωμάτιο, όπου το α-σωμάτιο είναι ένας πυρήνας ηλίου (He) και παράλληλα απελευθερώνεται και ένα ποσό ενέργειας.



Τέτοιες διασπάσεις είναι εφικτές μόνο σε βαρείς πυρήνες που έχουν $A > 140$ και το ποσό ενέργειας που ελευθερώνεται υπολογίζεται από τη διαφορά της μάζας του αρχικού πυρήνα, που διασπάται και των αντίστοιχων μαζών του θυγατρικού πυρήνα και του πυρήνα Ηλίου. Άρα, η ενέργεια που απελευθερώνεται θα διαχωριστεί ισόποσα σε κινητική ενέργεια του θυγατρικού πυρήνα και του α-σωματίου.

$$Q = K_Y + K_A \quad (24)$$

Τώρα, εάν εφαρμοστεί και η διατήρηση της ορμής θεωρώντας ότι ο μητρικός πυρήνας βρίσκεται αρχικά σε ηρεμία, δηλαδή:

$$\vec{p}_X = 0 = \vec{p}_Y + \vec{p}_\alpha \quad (25)$$

Έτσι, χρησιμοποιώντας και από την κλασσική φυσική ότι η ορμή είναι ίση με $2m \cdot K$, όπου K η κινητική ενέργεια, προκύπτει το εξής:

$$\frac{K_\alpha}{K_Y} = \frac{m_Y}{m_\alpha} \approx \frac{A-4}{4} \quad (26)$$

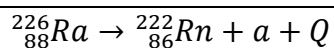
Άρα οι κινητικές ενέργειες του α-σωματίου και του θυγατρικού πυρήνα είναι:

$$K_\alpha = Q * \left(1 - \frac{4}{A}\right) \text{ και } K_Y = Q * \frac{4}{A} \quad (27)$$

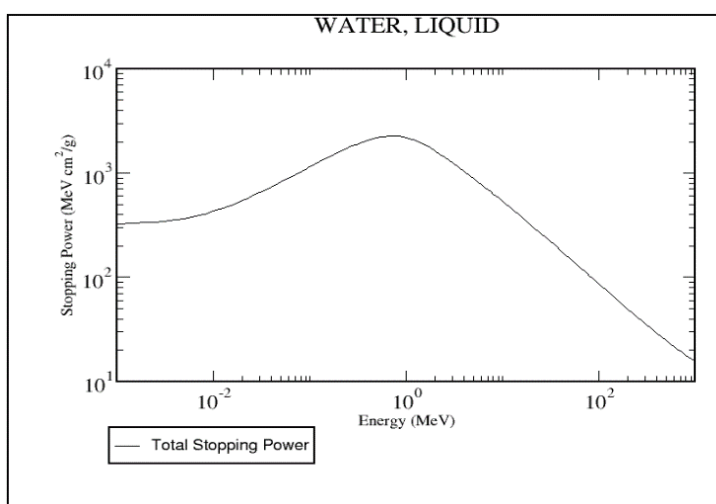
Η ενέργεια που θα έχουν τα σωμάτια-α κυμαίνεται τις περισσότερες περιπτώσεις μεταξύ των τιμών 4 έως 9 MeV ^[23] και το πόσο θα είναι εξαρτάται κατά κύριο λόγο από τη διαφορά ενεργειακής των ενεργειακών καταστάσεων μεταξύ του αρχικού και του

θυγατρικού πυρήνα. Αν πραγματοποιείται μία μετάπτωση από τη βασική κατάσταση του αρχικού στη βασική κατάσταση του πυρήνα που προκύπτει μετά τη διάσπαση, τότε σ' αυτή τη περίπτωση όλα τα σωμάτια-α θα έχουν την ίδια ενέργεια. Αυτό συμβαίνει στους περισσότερους πυρήνες που πραγματοποιείται η α-διάσπαση, και κάθε ραδιενεργός πυρήνας έχει χαρακτηριστικές τιμές ενέργειας που λαμβάνουν τα α-σωμάτια. Αντίθετα, υπάρχουν και κάποιες περιπτώσεις όπου η μετάπτωση από τη βασική στάθμη του μητρικού πυρήνα γίνεται σε διαφορετικές ενεργειακές καταστάσεις του θυγατρικού με άμεση συνέπεια να παρατηρείται μία εκπομπή α-σωματιδίων κατά ομάδες, όπου κάθε ομάδα λαμβάνει διαφορετικές τιμές ενέργειας.

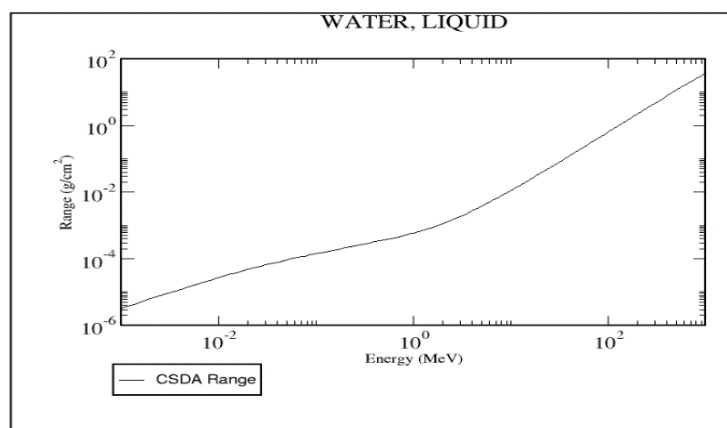
Μίας από τις πιο γνωστές διασπάσεις α είναι η διάσπαση του ραδιενεργού ραδίου (^{226}Ra) σε ραδόνιο (^{222}Rn) με παράλληλη παραγωγή ενός α-σωματίου και έκλυση ενέργειας Q . Το Rn αποτελεί το 47% της έκθεσης του κοινού και επιβαρύνει το κοινό με 1.7 mSv/year (μέση τιμή). Η διάσπαση του είναι η εξής:



Όσο αφορά την αλληλεπίδραση των α-σωματιδίων με την ύλη, όπως περιεγράφηκε και στην ενότητα 2.3, τα α-σωμάτια όταν εισέρχονται σε ένα υλικό χάνουν ενέργεια μέσω πολλών σκεδάσεων (soft collisions) με αποτέλεσμα κάθε φορά να αποδίδουν ένα μικρό μέρος της ενέργειάς τους στα ηλεκτρόνια των ατόμων του απορροφητή μέσω ιονισμών και διεγέρσεων. Εξαιτίας, του μικρού ποσοστού ενέργειας που χάνουν σε κρούση έχει ως συνέπεια να μην εκτρέπονται και από την αρχική τους διεύθυνση που κινούνταν αρχικά. Η γραμμική ανασχετική τους ισχύς προφανώς δίνεται μέσω της σχέσης Bethe-Block που αναφέρθηκε προηγουμένως. Παρακάτω με βάση τα δεδομένα του NIST (National Institute of Standards and Technology) παρουσιάζονται τα διαγράμματα της ανασχετικής ισχύς των α-σωματιδίων στο νερό καθώς και της εμβέλειας τους, μίας και το 70% του ανθρώπου αποτελείται από νερό και με μία προσέγγιση μπορούμε να θεωρήσουμε ότι τα ανθρώπινα κύτταρα έχουν έντονη περιεκτικότητα σε νερό.



Εικόνα 2.13: Διάγραμμα ανασχετικής ισχύς α-σωματιδίων σε συνάρτηση της ενέργειας τους στο νερό. (πηγή: NIST)



Εικόνα 2.14: Διάγραμμα εμβέλειας (Range) α-σωματίων σε συνάρτηση της ενέργειας τους στο νερό. (πηγή: NIST)

Κλείνοντας, τη συγκεκριμένη ενότητα θα αναφερθούμε περιληπτικά και στις κλινικές εφαρμογές, οι οποίες έχουν ως «εργαλείο» τα α-σωμάτια. Λόγω του ότι τα α-σωμάτια θα χαρακτηρίζονται από μικρή εμβέλεια και ως ακτινοβολία υψηλού LET έχουν κυτοτοξική δράση με αποτέλεσμα να χρησιμοποιούνται στη θεραπεία με στόχο τη καταστροφή καρκινικών κυττάρων/ιστών, αφού είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση βλαβών στο DNA, μέσω των DSBs (Double Strands Breaks, θα αναλυθούν στο 3^ο κεφάλαιο της εργασίας) και έτσι η επιδιόρθωση των καρκινικών κυττάρων είναι εξαιρετικά δύσκολη και τα οδηγεί στο κυτταρικό θάνατο. Μία κλινική εφαρμογή είναι η αντιμετώπιση του μεταστατικού καρκίνου στα οστά και του καρκίνου του προστάτη, μέσω του ²²³Ra και του ²¹³Bi. Ακόμα, στη καταπολέμηση της λευχαιμίας χρησιμοποιείται το ²²⁵Ac και το ²¹³Bi. Επιπλέον, οι ραδιενεργοί πυρήνες που εκπέμπουν α-σωμάτια έχουν εφαρμογή και στην ανοσοθεραπεία με τη βοήθεια του ²¹³Bi, ²²⁵Ac και του ²²¹At. Τα κυριότερα ραδιονουκλίδια που χρησιμοποιούνται για θεραπευτικούς λόγους περιγράφονται στο παρακάτω πίνακα, όπου περιλαμβάνονται οι χρόνοι ημιζωής, η ενέργεια των α-σωματίων που εκπέμπεται από το κάθε ραδιονουκλίδιο και τέλος η εμβέλεια τους.

Nuclide	T _{1/2}	E _α (MeV)	Range (μm)
²²⁵ Ac	9.92 day	5.8–8.4	50–90
²¹¹ At	7.2 h	5.9/7.5	55–80
²¹² Bi	60.6 min	6.1/7.8	40–100
²¹² Pb	10.6 h	6.1/7.8	40–100
²¹³ Bi	45.6 min	5.9/8.4	50–90
²²³ Ra	11.4 day	5.7–7.4	50–70
¹⁴⁹ Tb	4.1 h	4.0	28
²²⁶ Th	30.7 min	6.3–7.7	50–90
²²⁷ Th	18.7 day	5.7–7.4	50–70

Πίνακας 2.5: Οι εκπομπείς που χρησιμοποιούνται για στοχευμένη (targeted) θεραπεία.
(Πηγή :Seidl C. Radioimmunotherapy with α-particle-emitting radionuclides. Immunotherapy. 2014)

Σ' αυτό το σημείο να αναφέρουμε ότι τα ραδιονουκλίδια δεν χορηγούνται έτσι στον ασθενή, αλλά κάθε ραδιοϊσότοπο επισημαίνεται σε μία φαρμακευτική ουσία, και

προκύπτει το ραδιοφάρμακο, το οποίο είναι εκείνο που θα χορηγηθεί στον ασθενή και με κάποιους μηχανισμούς καθήλωσης θα καταλήξει στα διάφορα όργανα του ασθενούς.

Πέρα από την Πυρηνική Ιατρική, τα α-σωμάτια χρησιμοποιούνται και στην ακτινοθεραπεία για διάφορους τύπους καρκίνου, όπως του μελανώματος του χοριοειδούς χιτώνα στον οφθαλμό. Τέλος, τα α-σωμάτια με βάση και τη καμπύλη του Bragg έχουν το πλεονέκτημα σε αντίθεση με τα φωτόνια να εστιάζονται σε ένα συγκεκριμένο βάθος ώστε να είναι πιο αποτελεσματικά στον όγκο-στόχο και παράλληλα να επιβαρύνουν με μικρότερη δόση τα γειτονικά κύτταρα του ασθενή.

~~~~~

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΚΤΙΝΟΒΙΟΛΟΓΙΑ



*Η ιοντίζουσα ακτινοβολία και η αλληλεπίδραση της με τη δίκλωνη αλυσίδα του DNA, προκαλεί βλάβες.*

### **3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Η Ακτινοβιολογία είναι ένα πεδίο των επιστημών υγείας που μελετά τη δράση των ιοντιζουσών ακτινοβολιών στους ζώντες οργανισμούς, όπως ο άνθρωπος, και ασχολείται και με τις βιολογικές επιπτώσεις των ακτινοβολιών στην υγεία του ανθρώπου. Η Ακτινοβιολογία (ή και ραδιοβιολογία) είναι απαραίτητη στο κλάδο της Ιατρικής Φυσικής και ακόμα περισσότερο στο κομμάτι της Ακτινοθεραπείας και της Ακτινοπροστασίας, με σκοπό τόσο το μεγαλύτερο κλινικό όφελος για τη θεραπεία ενός καρκίνου σε έναν ασθενή, αλλά και την καλύτερη ακτινοπροστασία του πληθυσμού στην έκθεση από ακτινοβολίες που προκαλούν διεγέρσεις και ιονισμούς στους βιολογικούς ιστούς, ώστε έτσι να αποφευχθούν οι βαρύτερες επιπτώσεις που προκαλούν σε έναν οργανισμό. Άρα, λοιπόν, η Ακτινοβιολογία είναι ένας κλάδος που συνδυάζει τις γνώσεις και τα «εργαλεία» της Ακτινοφυσικής και της Βιολογίας. Σ' αυτό το κεφάλαιο, θα παρουσιαστούν τα στάδια αλληλεπίδρασης των ιοντιζουσών ακτινοβολιών με τη βιολογική ύλη και στη συνέχεια η άμεση και έμμεση δράση της ακτινοβολίας με το μόριο της «ζωής», δηλαδή το DNA. Ακόμα, θα μελετηθεί ο ρόλος του οξυγόνου, μέσω του λόγου επαύξησης του οξυγόνου O.E.R., καθώς και τα είδη των βλαβών που προκαλεί η ακτινοβολία στο μόριο του DNA, αλλά και οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί, που όπως αναφέρονται και ονομαστικά έχουν ως στόχο την επιδιόρθωση των διαφόρων βλαβών με σκοπό την κυτταρική επιβίωση.

### **3.2 ΣΤΑΔΙΑ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ Ι.Α. ΜΕ ΤΟΥΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ**

Όταν οι ιοντίζουσες ακτινοβολίες αλληλεπιδρούν με τους βιολογικούς ιστούς και ειδικότερα με τα κύτταρα συμβαίνουν κάποιες διαδικασίες, οι οποίες διαχωρίζονται σε κάποια βασικά στάδια. Αυτά τα στάδια αλληλεπίδρασης είναι κατά κύριο λόγο τρία: το φυσικό, το χημικό και το βιολογικό στάδιο.

Το πρώτο στάδιο είναι το **φυσικό**, όπου ουσιαστικά αντιστοιχεί στη πρώτη «επαφή» των ακτινοβολιών με τα άτομα/μόρια του κυττάρου και διαρκεί διάστημα μικρότερο από  $10^{-18}$  με  $10^{-15} \text{ sec}$ . Σ' αυτό το στάδιο γίνεται η απορρόφηση της ενέργειας από τα κύτταρα και η ακτινοβολία αλληλεπιδρά με τα κύτταρα μέσω των μηχανισμών που περιγράφηκαν στο 2<sup>ο</sup> κεφάλαιο, δηλαδή δημιουργούνται ιονισμοί και διεγέρσεις, που είναι είτε πιο πυκνοί είτε πιο αραιοί ανάλογα με την ενέργεια και το είδος της ακτινοβολίας που εκτίθενται αυτά, ανάλογα επομένως με τη τιμή LET. Το επόμενο στάδιο είναι το **χημικό**, όπου τα άτομα/μόρια των κυττάρων, τα οποία ακτινοβολήθηκαν, δηλαδή τα συστατικά των κυττάρων αντιδρούν μέσω χημικών αντιδράσεων. Σ' αυτό το στάδιο, λοιπόν, παρατηρείται μία αναδιάταξη στα μόρια των κυττάρων που έχουν υποστεί διεγέρσεις/ιονισμούς, αλλά και ο σχηματισμός δραστικών ελευθέρων ριζών κυρίως μέσω της ραδιόλυσης του νερού, που θα περιγραφεί και στην επόμενη παράγραφο 3.3 του συγκεκριμένου κεφαλαίου σχετικά με την έμμεση δράση της ακτινοβολίας. Στη συνέχεια, δημιουργείται παραγωγή άτυπων μορίων και βιολογικά δραστικών ελεύθερων ριζών που έχουν ως συνέπεια την εμφάνιση βλαβών σε διάφορα βιολογικά μόρια, όπως της

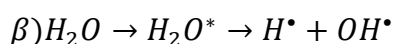
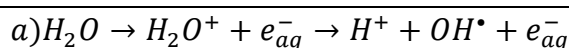
πρωτεΐνες. Το χημικό στάδιο διαρκεί στο διάστημα από  $10^{-15}$  με  $10^{-3} \text{ sec}$ . Το τελευταίο στάδιο είναι το **βιολογικό** στάδιο, όπου εμφανίζονται οι ενζυμικοί μηχανισμοί με στόχο την επιδιόρθωση των βλαβών που δημιουργήθηκαν στα μόρια του κάθε του κυττάρου. [1],[10] Η διαδικασία της επιδιόρθωσης διαρκεί από 15min έως 3 ώρες και ολοκληρώνεται σε διάρκεια το πολύ 2 ημερών. Εάν σε μία βλάβη δεν καταστεί δυνατή η επιδιόρθωση, τότε δημιουργούνται είτε μεταλλάξεις/ αλλοιώσεις, είτε τα κύτταρα οδηγούνται στο κυτταρικό θάνατο. Επιπλέον, σε περίπτωση μη επιδιόρθωσης μπορεί σε μοριακό επίπεδο να ανασταλεί η διαδικασία της πρωτεϊνσύνθεσης και σε κυτταρικό επίπεδο να μην καθίσταται δυνατή η κυτταρική διαίρεση. Όταν αυτές οι βλάβες, μάλιστα είναι αρκετά εκτεταμένες και σε μεγάλο πλήθος, αυτό θα είχε βαρύτερες συνέπειες σε έναν οργανισμό με την εμφάνιση είτε καθορισμένων αποτελεσμάτων (σε περίπτωση έμμεσου ή άμεσου κυτταρικού θανάτου), όπως είναι κάποιες ορμονικές και ανοσολογικές αντιδράσεις, κάποιες βλάβες αγγείων, αντιδράσεις ιστών, όπως το ερύθημα ή εξέλκωση στο δέρμα ή ακόμα και νέκρωση του. Τα καθορισμένα αποτελέσματα έχουν ένα κατώφλι δόσης, δηλαδή εμφανίζονται πάνω από μία ορισμένη τιμή δόσης περίπου στα 0.5Gy και πάνω και η σοβαρότητα τους αυξάνεται καθώς αυξάνεται και η δόση. Τα καθορισμένα αποτελέσματα εμφανίζονται σε διάστημα λίγων ωρών έως μερικών εβδομάδων. Πέρα από τα καθορισμένα αποτελέσματα, όταν οι βλάβες που έχουν υποστεί κάποια κύτταρα είναι ατελής ή μερικές τότε αυτά μεταλλάσσονται με αποτέλεσμα εάν πρόκειται για σωματικά κύτταρα να εμφανιστεί καρκινογένεση ή λευχαιμία, ενώ εάν είναι γαμετικά κύτταρα να εμφανιστούν κληρονομήσιμες βλάβες. Η εξάρτηση της πιθανότητας να εμφανιστούν στοχαστικά αποτελέσματα είναι ανάλογη της δόσης ακτινοβολίας που θα δεχθεί ένα κύτταρο, δηλαδή η πιθανότητα σε σχέση με τη δόση ακολουθεί το γραμμικό μοντέλο χωρίς κατώφλι μοντέλο (LNT-Linear Non-Threshold Model). Επίσης, η σοβαρότητα των στοχαστικών αποτελεσμάτων είναι ανεξάρτητη της δόσης ακτινοβολίας, δηλαδή είτε είναι μικρή η δόση που λαμβάνει ένας οργανισμός π.χ. 100mGy είτε 1Gy η καρκινογένεση θα έχει την ίδια προοπτική εξέλιξης. Στην εικόνα 3.1 παρουσιάζονται συνοπτικά τα βιολογικά αποτελέσματα των ιοντιζουσών ακτινοβολιών στο μόριο του DNA, μέσω των «σεναρίων» της πλήρους ή της ατελούς επιδιόρθωσης και του κυτταρικού θανάτου.



Εικόνα 3.1: Βιολογικά αποτελέσματα (καθορισμένα ή στοχαστικά) των Ι.Α. ακτινοβολιών.<sup>[1]</sup>

### 3.3 ΑΜΕΣΗ ΚΑΙ ΕΜΜΕΣΗ ΔΡΑΣΗ Ι.Α.

Σε μοριακό επίπεδο, λοιπόν, η δράση των Ι.Α. είναι δύο ειδών, η άμεση και η έμμεση δράση. Ο όρος άμεση δράση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας αναφέρεται σε αλληλεπιδράσεις της με άτομα σημαντικών οργανικών πολυμερών μορίων του κυττάρου, όπως ενζυμικές και δομικές πρωτεΐνες, το RNA, και κυρίως το DNA. Ως αποτέλεσμα της θραύσης χημικών δεσμών, παράγονται άτυπα (δεν υπάρχουν σε ένα οργανισμό) ή μη λειτουργικά (καταστροφή λειτουργικότητας δομής μιας πρωτεΐνης) μόρια με διαφορετικές φυσικές και χημικές ιδιότητες από τα αντίστοιχα αρχικά. Αντίθετα, στην έμμεση δράση η ιοντίζουσα ακτινοβολία δεν αλληλεπιδρά για παράδειγμα με το DNA, αλλά εκείνο υφίσταται χημικές μεταβολές και γενικότερα βλάβες μέσω δευτερογενών αντιδράσεων. Συγκεκριμένα, δημιουργούνται βλάβες μέσω της χημικής αντίδρασης σημαντικών οργανικών μορίων του κυττάρου με δραστικές ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται κατά τη ραδιόλυση του νερού, την αλληλεπίδραση δηλαδή της ακτινοβολίας με άτομα μορίων του νερού, το οποίο βρίσκεται σε υψηλή περιεκτικότητα στα βιολογικά συστήματα. Ο όρος «ελεύθερη ρίζα» άπτεται σε ένα ελεύθερο άτομο, μόριο ή συγκρότημα ατόμων, το οποίο φέρει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο και επομένως χαρακτηρίζεται από αυξημένη δραστικότητα ανεξαρτήτως εάν είναι ηλεκτρικά ουδέτερο ή φορτισμένο. Από την αλληλεπίδραση ιοντίζουσας ακτινοβολίας με τα μόρια του νερού παράγονται ιονισμένα ( $H_2O^+$ ) και διεγερμένα ( $H_2O^*$ ) μόρια νερού, καθώς και ελεύθερα ηλεκτρόνια ( $e^-$ ). Τα ελεύθερα ηλεκτρόνια έχουν την ιδιότητα να έλκουν μόρια νερού λόγω της πολικότητας των τελευταίων, που λέγονται ενυδατωμένα ηλεκτρόνια ( $e_{aq}^-$ ). Τα ιονισμένα μόρια του νερού ( $H_2O^+$ ) διασπώνται άμεσα με αποτέλεσμα να παράγεται ένα κατιόν υδρογόνου ( $H^+$ ) και μία ελεύθερη ρίζα υδροξυλίου ( $OH^\bullet$ ), ενώ τα διεγερμένα μόρια ( $H_2O^*$ ) μπορεί αντί να αποδιεγερθούν να διασπαστούν σε μία ελεύθερη ρίζα υδρογόνου ( $H^\bullet$ ) και μία ελεύθερη ρίζα υδροξυλίου ( $OH^\bullet$ ). Αυτά που περιγράφηκαν παραπάνω συνοψίζονται στις δύο παρακάτω χημικές αντιδράσεις.



Τα προϊόντα που προκύπτουν από τη ραδιόλυση του νερού μπορούν έπειτα μέσω της διάχυσης τους να λάβουν μέρος σε δεκάδες αντιδράσεις και μεταξύ τους ή και με άλλα μόρια του συστήματος. Συνοπτικά από αυτή την μακρά σειρά χημικών αντιδράσεων, οι σημαντικότερες είναι οι εξής:

- Η «αδρανοποίηση» ελεύθερων ριζών κατά την αντίδραση ριζών υδρογόνου μεταξύ τους, ή την αντίδραση ρίζας υδρογόνου και ρίζας υδροξυλίου, ή την αντίδραση κατιόντος υδρογόνου και ρίζας υδροξυλίου. Όλες αυτές οι αντιδράσεις δεν οδηγούν σε μεταλλάξεις αφού δεν προκύπτουν ελεύθερες ρίζες.
- Η αντίδραση δύο ριζών υδροξυλίου κατά την οποία παράγεται υπεροξείδιο του υδρογόνου:  $OH^\bullet + OH^\bullet \rightarrow H_2O_2$ . Το υπεροξείδιο του υδρογόνου αποτελεί ισχυρό

οξειδωτικό και μπορεί αντιδρώντας με ρίζα υδροξυλίου να οδηγήσει στο σχηματισμό μιας νέας δραστικής ελεύθερης ρίζας υπεροξυλίου, δηλαδή  $OH^\bullet + H_2O_2 \rightarrow HO_2^\bullet$ .

• Η αντίδραση ρίζας υδρογόνου με μοριακό οξυγόνο, όπου και πάλι προκύπτει ρίζα υπεροξυλίου, δηλαδή  $H^\bullet + O_2 \rightarrow HO_2^\bullet$ .

Η ρίζα υδρογόνου ( $H^\bullet$ ) διαθέτει αναγωγικό χαρακτήρα σε αντίθεση με την ρίζα του υδροξυλίου ( $OH^\bullet$ ) που χαρακτηρίζεται ως οξειδωτικός χαρακτήρας. Όμως, ενώ η αντίδραση ριζών υδρογόνου έχει ως συνέπεια το σχηματισμό μοριακού υδρογόνου, το υπεροξείδιο του υδρογόνου, όπως σημειώθηκε, έχει οξειδωτικό χαρακτήρα καθώς και η ρίζα του υπεροξυλίου. Έτσι, υπερτερεί ο οξειδωτικός χαρακτήρας και η συνέπεια της ραδιόλυσης του νερού είναι η οξείδωση διαφόρων μικρομορίων και μακρομορίων του κυττάρου, με μεγαλύτερης σημασίας αυτή του DNA, που καταλήγει σε θραύση των χημικών δεσμών. Επομένως, λοιπόν, οι οξειδωτικοί παράγοντες από τη ραδιόλυση του νερού διαχέονται και αντιδρούν με οργανικά μόρια του κυττάρου με αποτέλεσμα τη θραύση χημικών δεσμών. Έτσι ενισχύεται έμμεσα η δράση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας και μεγαλώνει η πιθανότητα να πληγεί ο όποιος κρίσιμος ενδοκυτταρικός στόχος. <sup>[1],[8],[17]</sup>

### **3.4 ΒΛΑΒΕΣ DNA ΚΑΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ**

Συχνά προκαλούνται βλάβες στο DNA ενός κυττάρου, οι οποίες μπορεί να είναι διάφορων ειδών, είτε λόγω ενδογενών παραγόντων, όπως είναι λάθη κατά την αντιγραφή του DNA και ο κυτταρικός μεταβολισμός, το οξειδωτικό στρες (oxidative stress), αλλά και εξωγενών παραγόντων, όπως είναι η επίδραση των Ι.Α., αλλά και διάφορων χημικών μεταλλαξογών. Οι διάφοροι τύποι βλαβών είναι οι εξής <sup>[8],[30]</sup>:

α) Αλλοίωση μίας βάσης, δηλαδή μπορεί μία αζωτούχος βάση να οξειδωθεί ή να μεθυλιωθεί, ή είναι πιθανό να δημιουργηθεί μία απαμίνωση ή αποπουρίνωση.

β) Απώλεια μίας βάσης, δηλαδή αβασικά σημεία AP-sites, τα οποία δεν μεταγράφονται και αυτό έχει ως αποτέλεσμα να επηρεάζεται και η διαδικασία της σύνθεσης των πρωτεϊνών ή να δημιουργείται και ο κυτταρικός θάνατος. Κάθε ημέρα σε έναν οργανισμό εμφανίζονται 10000 AP sites.

γ) Σπάσιμο στους δεσμούς υδρογόνων μεταξύ των δύο συμπληρωματικών αλυσίδων του DNA (Κεφάλαιο 1°).

δ) Ενδοκλωνικές και διακλωνικές διασυνδέσεις μεταξύ των δύο ελίκων (intrastand-interstand crosslinks)

ε) Αναντιστοιχία βάσεων (mismatch), παραβιάζοντας την συμπληρωματικότητα των δύο κλώνων της έλικας.

στ) Θραύση του ενός κλώνου του δίκλωνου μορίου DNA, που ονομάζεται SSB (Single Strand Break).

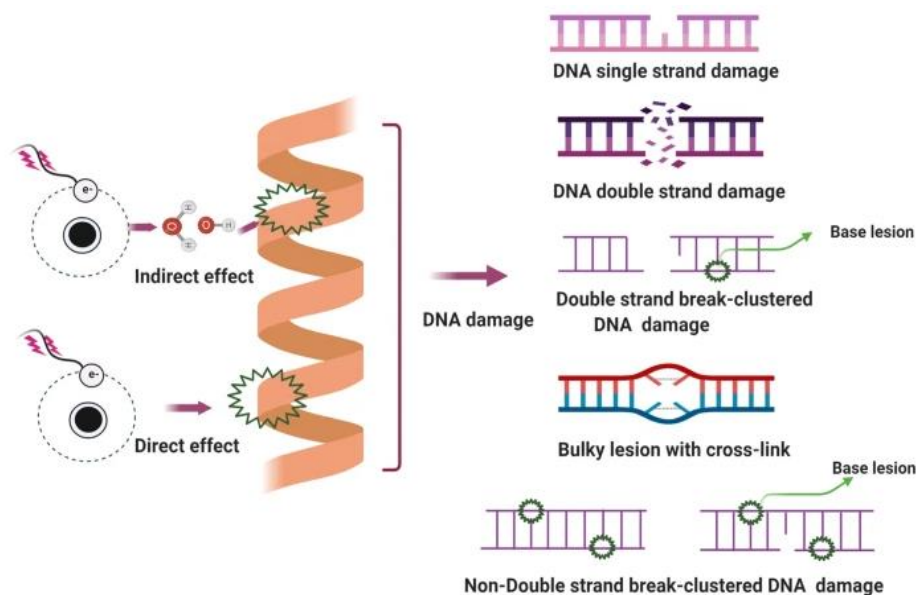
ζ) Θραύση και στους δύο κλώνους του μορίου του DNA, που ονομάζεται DSB (Double Strand Break). Η συγκεκριμένη βλάβη είναι και η πιο σύνθετη σε σχέση με τις προηγούμενες μιας και είναι εξαιρετικά δύσκολο για τους επιδιορθωτικούς μηχανισμούς η ακριβής επιδιόρθωση, λόγω του η ακτινοβολία επιδρά παράλληλα στην ίδια θέση σε

κάθε κλώνο. Έτσι αν πραγματοποιηθεί στη συνέχεια και λανθασμένη επανατοποθέτηση των αζωτούχων βάσεων μπορεί να οδηγήσει σε μεταλλαγές στο γονιδίωμα με αποτέλεσμα την έναρξη της καρκινογένεσης εάν πρόκειται για σωματικό κύτταρο ή σε κληρονομήσιμες βλάβες στη περίπτωση των γαμετικών κυττάρων.

η) Επιπλέον, υπάρχουν και ομαδοποιημένες-σύνθετες βλάβες, που ονομάζονται clustered-complex DNA lesions, στη περίπτωση που παρουσιαστούν 2,3 ή και περισσότερες βλάβες τοπικά σε ένα σημείο της διπλής έλικας του DNA, δηλαδή σε ένα μήκος της τάξης των 1-10 βάσεων. Αυτό το είδος βλαβών διαχωρίζεται σε DSB-Clustered DNA Damage, όταν εμφανίζονται π.χ. DSBs μαζί με απώλεια μίας βάσης και nonDSB-Clusters DNA Damage, όταν δεν υπάρχουν DSBs βλάβες, αλλά π.χ. SSB και απώλειες βάσεων.

θ) Τέλος, υπάρχουν και βλάβες που έχουν ως κύριο αποτέλεσμα την παραμόρφωση του σχήματος της διπλής έλικας του DNA (bulk lesions), οι οποίες είναι η δημιουργία διμερών πυριμιδινών και η ομοιοπολική πρόσδεση ογκωδών χημικών ομάδων.

Στην εικόνα 3.2 παρουσιάζονται η άμεση και έμμεση δράση των Ι.Α. καθώς και κύριες βλάβες στο DNA, λόγω της επίδρασης τους.

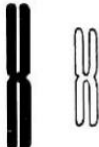
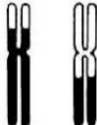


Εικόνα 3.2: Κύριοι τύποι βλαβών DNA (δεξιά) και σχηματική αναπαράσταση άμεσης και έμμεσης δράσης των Ι.Α. στη δίκλωνη αλυσίδα του DNA (αριστερά). <sup>[30]</sup>

Τώρα, όσο αφορά την διάκριση του αριθμού των βλαβών που μπορούν να εμφανιστούν με βάση το αν έχει επιδράσει φωτόνιο ή α-σωμάτιο οφείλεται στη διαφορά της τιμής LET, αλλά και του τρόπου δράσης της σωματιδιακής και ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Τα α-σωμάτια που προφανώς χαρακτηρίζονται ως σωματιδιακή ακτινοβολία δρουν κυρίως άμεσα με το μόριο του DNA, σε σχέση με τα φωτόνια τα οποία δρουν έμμεσα μέσω της ραδιόλυσης του ύδατος. Άρα τα α-σωμάτια εναποθέτουν άμεσα την ενέργειά τους στο πυρήνα του κυττάρου με αποτέλεσμα να δημιουργούν κατά κύριο λόγο σοβαρότερες και πιο εκτεταμένες βλάβες σε σχέση με τα φωτόνια. Δηλαδή, τα α-σωμάτια προκαλούν SSBs και DSBs, ενώ τα φωτόνια που χαρακτηρίζονται ως low LET και μέσω των δευτερογενών

ηλεκτρονίων προκαλούν κυρίως αλλοιώσεις βάσεων ή καταστροφές βάσεων ή του σακχάρου (δεσοξυριβόζη) π.χ. στο 1Gy εμφανίζονται περίπου 1000-2000 καταστροφές βάσεων και 800-1600 καταστροφές σακχάρου, ενώ προκαλούν περίπου μόνο 50 DSBs.

Έτσι με όλες τις παραπάνω βλάβες που αναφέρθηκαν, οι Ι.Α. μπορούν να προκαλέσουν μεταλλάξεις στα χρωμοσώματα, που μπορεί να είναι είτε γονιδιακές μεταλλάξεις, που είναι ουσιαστικά αλλαγές στο γενετικό κώδικα και μπορεί αυτές οι μεταλλάξεις να κληρονομηθούν από τους απογόνους ή να επιφέρουν το θάνατο του κυττάρου, ενώ ανιχνεύονται και στη φαινοτυπική μεταβολή των απογόνων, ενώ υπάρχουν και οι ποσοτικές μεταβολές του DNA από χρωμόσωμα σε χρωμόσωμα με αποτέλεσμα την εμφάνιση πολυπλοειδικών γιγαντοκυττάρων. Επίσης, από όλες αυτές τις βλάβες προκύπτουν αρκετές φορές διαφορές στη μορφολογία των χρωμοσωμάτων. Δηλαδή, λόγω της επίδρασης των Ι.Α. μπορεί να προκύψουν ασταθείς αλλοιώσεις όπως, δικεντρικά χρωμοσώματα, δακτύλιοι ή και θραύσματα, αλλά και σταθερές χρωμοσωματικές αλλοιώσεις, όπως αντιμεταθέσεις, ενθέσεις και αναστροφές.

| ΤΥΠΟΙ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΩΝ ΒΛΑΒΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ |                                                                                     |                                                                                    |                                                                                     |                                                                                    |                                                                                       |                                                                                      |
|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Σε ένα χρωμόσωμα                              | Φυσιολογικό                                                                         | Τελικό τμήμα                                                                       | Ενδιάμεσο τμήμα                                                                     | Δακτύλιος με κεντρόμερο                                                            | Χωρίς κεντρόμερο                                                                      | Ανάστροφη επικάλυψη                                                                  |
|                                               |   |  |   |  |     |  |
| Μεταξύ χρωμοσωμάτων                           | Φυσιολογικά                                                                         |                                                                                    | Δικεντρικό χρωμ. + τμήμα                                                            |                                                                                    | Συμμετρική ανταλλαγή                                                                  |                                                                                      |
|                                               |  |                                                                                    |  |                                                                                    |  |                                                                                      |

*Εικόνα 3.3: Τύποι χρωμοσωμικών βλαβών, λόγω της επίδρασης των Ι.Α.* <sup>[11]</sup>

Τώρα, όσο αφορά τους επιδιορθωτικούς μηχανισμούς, όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα αυτοί ενεργοποιούνται κατά το βιολογικό στάδιο της αλληλεπίδρασης των ακτινοβολιών με τους βιολογικούς ιστούς και αυτή η διαδικασία της επιδιόρθωσης ονομάζεται DDR (DNA Damage Response). Οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί, όπως αναφέρει και η ονομασία τους έχουν το κρίσιμο ρόλο επιδιόρθωσης των βλαβών στο DNA. Καταρχάς, όταν δημιουργηθεί μία βλάβη αναγνωρίζεται από κάποιες πρωτεΐνες που δρουν σαν αισθητήρες και ενεργοποιούν τις κινάσες (έχει γίνει ιδιαίτερη αναφορά στο 1<sup>ο</sup> κεφάλαιο). Οι κινάσες είναι οι μεταγωγοί σήματος μεταφέρουν δηλαδή το σήμα κινδύνου σε μία άλλη κατηγορία κινασών, που ονομάζονται ανάντη τελεστές και εκείνες με τη σειρά τους φωσφορυλιώνουν τους κατάντη τελεστές. Η συγκεκριμένη κατηγορία κινασών επιστρατεύει ανάλογα με, το ποια είναι η βλάβη, το κατάλληλο μόριο επιδιόρθωσης. Για την επακριβής ρύθμιση στο θέμα της απόκρισης στις βλάβες πραγματοποιείται μέσω των μεσολαβητών, οι οποίοι έχουν και το ρόλο του ρυθμιστή στους μεταγωγείς και στις

κινάσες τελεστές. Η επιδιόρθωση μπορεί να περιλαμβάνει ένα μηχανισμό επιδιόρθωσης είτε συνδυασμό κάποιων μηχανισμών, ανάλογα με την επέκταση της βλάβης στο μόριο του DNA. Ο χρόνος που χρειάζεται για να γίνει μια επιδιόρθωση καθορίζεται από τα διάφορα σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου (Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup>), τα οποία αναστέλλουν τα σύμπλοκα κυκλινοεξαρτώμενης κινάσης (cyclin-CDK) με αποτέλεσμα την καθυστέρηση της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου και προφανώς και της κυτταρικής διαίρεσης. Εάν οι βλάβες είναι εξαιρετικά σοβαρές και εκτεταμένες μπορεί το κύτταρο να οδηγηθεί σε απόπτωση ή γήρανση ή να εμφανιστούν οι αλλοιώσεις στα χρωμοσώματα, που περιγράφηκαν νωρίτερα και οδηγούν στην αλλοίωση του γονιδιώματος, είτε στην εμφάνιση της καρκινογένεσης.

Οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί είναι οι εξής [8],[31]:

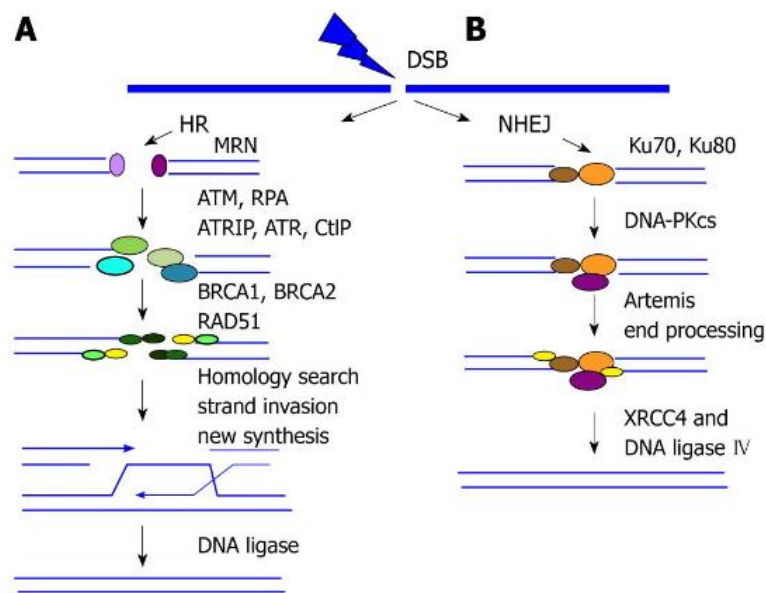
- Mismatch Repair (MMR), δηλαδή επιδιόρθωση αναντιστοιχιών βάσεων. Ο συγκεκριμένος μηχανισμός επιδιορθώνει λάθη, τα οποία έχουν συμβεί από την πολυμεράση κατά την αντιγραφή του DNA. Η πολυμεράση είναι ένα ένζυμο, το οποίο έχει ως ρόλο την επιμήκυνση της νέας αλυσίδας του DNA κατά την αντιγραφή. Ειδικότερα, ο MMR επιδιορθώνει μικρό αριθμό λανθασμένων και όχι αλλοιωμένων βάσεων, π.χ. αν υπάρχει κάποια έλλειψη ή ένθεση ή και αναντιστοιχίες βάσεων, δηλαδή όταν παραβιάζεται η συμπληρωματικότητα μεταξύ A-T και C-G.
- Base excision repair (BER), δηλαδή επιδιόρθωση με εκτομή βάσης. Ο συγκεκριμένος μηχανισμός, έχει ως ρόλο την επιδιόρθωση αλλοιώσεων μίας βάσεις, όπως οξειδώσεις, μεθυλιώσεις και απαμινώσεις, αλλά και την περίπτωση στην οποία παρατηρούνται απουσίες βάσεων. Επιπλέον, ο BER είναι ο κύριος μηχανισμός επιδιόρθωσης των SSBs βλαβών, ειδικά για την επίδραση των I.A. και για χαμηλές δόσεις μικρότερες του 1Gy.
- Nucleotide excision repair (NER), που σημαίνει επιδιόρθωση με εκτομή νουκλεοτιδίων. Ο μηχανισμός NER, έχει σκοπό τη διόρθωση βλαβών, οι οποίες παραμορφώνουν το σχήμα της διπλής έλικας (bulk lesions), όπως είναι η δημιουργία διμερών πυριμιδινών, αλλά συντελεί και στη διόρθωση βλαβών που έχουν προέλθει από τη πρόσδεση ογκωδών ομάδων στο DNA.

Τώρα, όσο αφορά τις βλάβες των θραύσεων διπλής έλικας, δηλαδή τις DSBs βλάβες είναι εξαιρετικά δύσκολο να επιδιορθωθούν, με αποτέλεσμα να χρειάζονται δύο ανεξάρτητοι, αλλά όχι αλληλοαποκλειόμενοι μηχανισμοί, οι οποίοι είναι οι εξής:

- Nonhomologous End-Joining (NHEJ), δηλαδή μη ομόλογη ένωση άκρων. Ο μηχανισμός αυτός είναι ενεργός κατά την φάση G<sub>1</sub> και G<sub>2</sub>. Αυτό που συμβαίνει σ' αυτό το μηχανισμό είναι ότι στο σημείο που εμφανίζεται βλάβη προσδένεται ένα ετεροδιμερές πρωτεϊνών Ku70/Ku80. Μέσω αυτής της πρόσδεσης ενεργοποιούνται οι κινάσες DNA-Pkcs και ξεκινάει το στάδιο της επιδιόρθωσης. Οι κινάσες DNA-Pkcs σταθεροποιούν τα άκρα στα σημεία των DSBs, ενώ αποφεύγουν και την πιθανότητα εκτομής τους, μέσω διάφορων φωσφορυλιώσεων. Μετά την πρόσδεση οι κινάσες DNA-Pkcs αυτο-φωσφορυλιώνονται, προκαλώντας αποσταθεροποίηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ των κινασών και των άκρων του DNA με σκοπό να δίνεται η δυνατότητα σε διάφορα ένζυμα να κάνουν την απαραίτητη επεξεργασία στις αλυσίδες του DNA, όπως π.χ. το ARTEMIS. Το τελευταίο

στάδιο του επιδιορθωτικού μηχανισμού NHEJ είναι η συμμετοχή του συμπλόκου Λιγάσης IV/XRCC4, όπου ουσιαστικά κλείνει τα «ρήγματα» στις δύο αλυσίδες του μορίου του DNA.

- Homologous Recombination (HR), δηλαδή ο ομόλογος ανασυνδυασμός, ο οποίος είναι ενεργός κυρίως κατά τις φάσεις S και G<sub>2</sub> του κυτταρικού κύκλου και χρησιμοποιεί τη σωστή πληροφορία που περιλαμβάνεται στις αδελφές χρωματίδες. Σ' αυτό το μηχανισμό όταν αναγνωριστεί μία βλάβη DSB προσδένεται το σύμπλοκο MRN, με τη βοήθεια μιας πρωτεΐνης που λέγεται PARP. Το σύμπλοκο MRN αποτελείται από τρεις πρωτεΐνες, οι οποίες είναι οι MRE11, RAD50 και NBS1 και προωθεί την ενεργοποίηση των ATM κινασών καθώς και τον ομόλογο ανασυνδυασμό του DNA. Η ATM κινάσες ρυθμίζουν την εκτομή στα άκρα του DNA μέσω μίας πρωτεΐνης που ονομάζεται CtIP, η οποία επικοινωνεί με τα σύμπλοκα MRN και BRCA1. Επιπλέον, σ' αυτό το μηχανισμό συμμετέχει και ένα σύμπλοκο που λέγεται RPA που είναι περιτυλιγμένο γύρω από τα άκρα του DNA και στη συνέχεια συναρμολογείται το νήμα της νουκλεοπρωτεΐνης RAD51, το οποίο αντικαθιστά το επικαλυμμένο DNA με RPA, πραγματοποιώντας την αναζήτηση ομόλογης αλληλουχίας. Στο τέλος, του μηχανισμού συμμετέχει η Λιγάση, όπου ενώνει τα άκρα συμπληρώνοντας τα κενά των δύο αλυσίδων.



Εικόνα 3.4: Οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί των DSBs. <sup>[31]</sup>

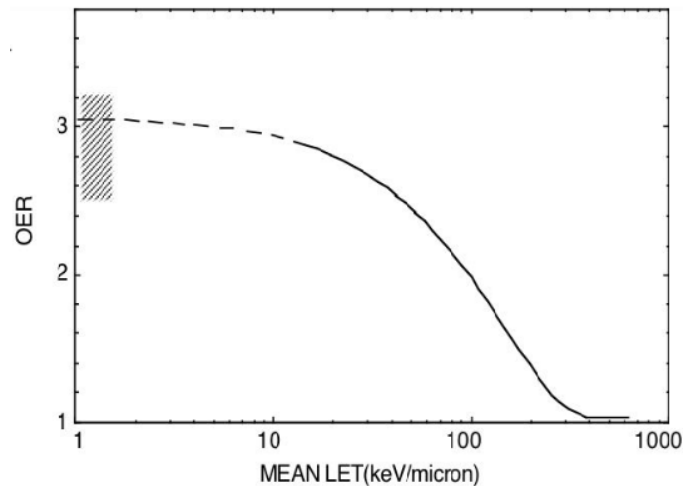
Από τους δύο παραπάνω επιδιορθωτικούς μηχανισμούς, ο HR έχει μεγαλύτερη ακρίβεια από τον NHEJ, ενώ ο χρόνος που χρειάζεται για να κάνει την επιδιόρθωση ο πρώτος μηχανισμός είναι μεγαλύτερος σε σχέση με το δεύτερο με αποτέλεσμα ο HR να είναι πιο αποτελεσματικός, ενώ ο NHEJ να έχει σαφώς αυξημένη πιθανότητα να κάνει περισσότερα λάθη με αποτέλεσμα να διορθωθούν μερικώς οι βλάβες και το κύτταρο να μεταλλαχθεί, οδηγώντας τον οργανισμό σε συσσώρευση των μεταλλάξεων σε κυτταρικό επίπεδο και μετέπειτα στην ανάπτυξη διάφορων καρκινικών όγκων.

### **3.5 ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ Ι.Α. - ΚΑΜΠΥΛΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ - LQ MODEL**

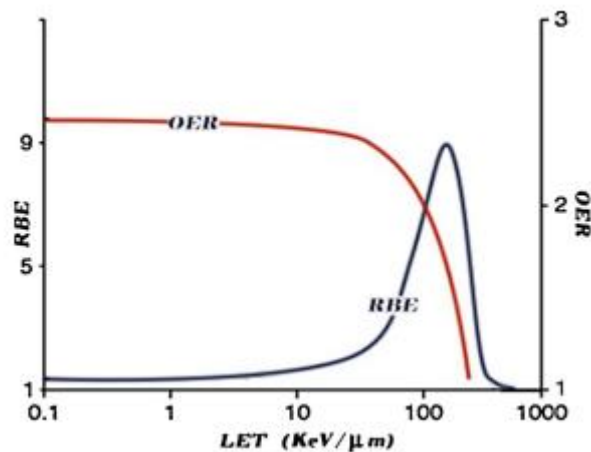
Οι τροποποιητικοί παράγοντες της δράσης των Ι.Α. διαχωρίζονται σε φυσικούς, χημικούς και βιολογικούς.

Αρχικά, οι φυσικοί τροποποιητικοί παράγοντες προφανώς εμπεριέχουν το είδος της ακτινοβολίας, την δόση και την κατάτμηση της δόσης που λαμβάνει ένας ιστός ή κύτταρο, καθώς και τον ρυθμό δόσης στον/στο οποίο εκτίθεται. Το είδος ακτινοβολίας αποδίδεται στη τιμή του LET, που έχει αναλυθεί στο 2ο Κεφάλαιο και το συμπέρασμα είναι ότι όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή της LET, όπως π.χ. στα α-σωμάτια τόσο μεγαλύτερες είναι οι πιθανότητες να εμφανιστούν περισσότερες βλάβες DSBs στο δίκλωνο μόριο του DNA. Επιπροσθέτως, σημαντικό ρόλο διαδραματίζει το πως χορηγείται σε ένα ασθενή η δόση που θα λάβει, δηλαδή η κατάτμηση της δόσης. Σ' αυτή τη περίπτωση υπάρχει και η παράμετρος των επιδιορθωτικών μηχανισμών, δηλαδή όταν μία δόση κλασματοποιείται οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί έχουν χρόνο να δράσουν στο DNA, ενώ όταν κάποιος ακτινοβολείται με εφάπαξ δόση το κλάσμα επιβίωσης των κυττάρων του θα είναι σημαντικά μικρότερο. Τέλος, ο παράγοντας του ρυθμού δόσης έχει άμεση σύνδεση με τους επιδιορθωτικούς μηχανισμούς, διότι αν ο ρυθμός δόσης είναι αυξημένος τότε η πιθανότητα εμφάνισης DSBs μεγαλώνει αρκετά, λόγω του ότι εμφανίζονται ιονισμοί κατά μήκος της τροχιάς δύο διαφορετικών φορτισμένων σωματιδίων π.χ. 2 α-σωματίων.

Τώρα, όσο αφορά τους χημικούς τροποποιητικούς παράγοντες, οι κυριότεροι είναι το μοριακό οξυγόνο ( $O_2$ ) καθώς και οι αδρανοποιητές των ελευθέρων ριζών, όπως είναι οι θειόλες. Μια σημαντική παράμετρος, λοιπόν, και για την κυτταρική επιβίωση και ταυτόχρονα και για την εμφάνιση βλαβών, όπως DSBs και clustered lesions είναι το  $O_2$ , όπου στη περίπτωση αυξημένης συγκέντρωσης συνεπάγεται αύξηση του βιολογικού αποτελέσματος, το οποίο εκφράζεται μέσω του **λόγου επαύξησης οξυγόνου (OER- Oxygen Enhancement Ratio)** και ο οποίος ορίζεται ως λόγος της δόσης ακτινοβολίας σε υποξικές συνθήκες προς τη δόση της ίδιας ακτινοβολίας για το ίδιο βιολογικό αποτέλεσμα σε συνθήκες επαρκούς οξυγόνου. Η αύξηση, λοιπόν, της βιολογικής βλάβης που προκαλούν οι Ι.Α. αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του οξυγόνου, μέσω της έμμεσης δράσης, δηλαδή μέσω της ραδιόλυσης, όπου σχηματίζονται δραστικές ελεύθερες ρίζες, όπως το υπεροξύλιο και οι οργανικές ρίζες υπεροξειδίου. Επομένως, το οξυγόνο είναι ένας από τους κυριότερους παράγοντες ακτινοευαισθησίας. Ο  $OER=1$  σε συνθήκες πλήρους ανοξίας, ενώ αυτός ο λόγος επαύξησης οξυγόνου αυξάνεται καθώς παρατηρείται αύξηση στη μερική τάση του  $O_2$  και προφανώς μεγαλώνει και η ακτινοευαισθησία. Επίσης, ο λόγος OER εξαρτάται και από το είδος ακτινοβολίας, δηλαδή το LET, για high-LET ακτινοβολίες, όπως τα α-σωμάτια ο  $OER=1$ , ενώ για ακτινοβολίες low-LET ο  $OER=3$ , γιατί π.χ. τα φωτόνια δρουν κατά 85% έμμεσα στο μόριο του DNA, σε αντίθεση με τα α-σωμάτια, τα οποία δρουν κυρίως άμεσα. Το ότι ο  $OER=3$  για τα φωτόνια, σημαίνει ότι τα υποξικά κύτταρα απαιτούν τρεις φορές μεγαλύτερη δόση σε σχέση με τα φυσιολογικά σε επίπεδα οξυγόνου κύτταρα ώστε να επιτευχθεί το ίδιο βιολογικό αποτέλεσμα.



Εικόνα 3.5: Εξάρτηση του Λόγου Επαύξεσης Οξυγόνου (OER) σε συνάρτηση με το LET.<sup>[8]</sup>

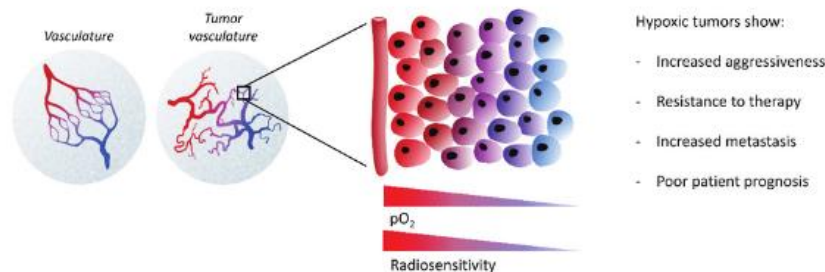


Εικόνα 3.6: Εξάρτηση του Λόγου Επαύξεσης Οξυγόνου (OER) και του RBE σε συνάρτηση με το LET.<sup>[32]</sup>

Στη παραπάνω εικόνα, παρουσιάζεται η σχέση RBE και OER με το LET. Παρατηρούμε ότι καθώς αυξάνεται ο OER, το RBE ελαττώνεται για τιμές LET περίπου μέχρι τα 150 keV/μm. Για τα α-σωμάτια, δηλαδή όπου το LET, κυμαίνεται μεταξύ 100-200 keV/μm, ο OER=1 και το RBE παίρνει τη μέγιστη τιμή περίπου 9.

Ακόμα, θα πρέπει να γίνει μία αναφορά σχετικά με την υποξία στους όγκους. Καθώς αυξάνεται το μέγεθος του όγκου χρειάζεται και η κατάλληλη αύξηση τροφοδοσίας με αίμα. Για να επιτευχθεί αυτό δημιουργούνται νεόπλαστα αγγεία, μέσω μιας διαδικασίας που λέγεται αγγειογένεση. Αυτά τα νεόπλαστα, όμως, αγγεία παρουσιάζουν μία σημαντική διαφορά σε σχέση με τα κανονικά αγγεία, δηλαδή είναι ατελή μορφολογικά και λειτουργικά έχοντας ως συνέπεια το να μην τροφοδοτούνται επαρκώς όλες οι περιοχές του όγκου με οξυγόνο και άλλα θρεπτικά συστατικά. Κύτταρα, τα οποία βρίσκονται σε μία απόσταση 100-200 μm από ένα αγγείο έχουν τη δυνατότητα να προσλάβουν οξυγόνο μέσω της διάχυσης. Όμως, τα κύτταρα, τα οποία βρίσκονται σε μεγαλύτερη απόσταση από 200 μm δεν αναπνέουν με αποτέλεσμα να καταστρέφονται και να εμφανίζονται περιοχές νεκρώσεως στον όγκο. Στα όρια περιοχών, όπου

εμφανίζονται νεκρώσεις, υπάρχουν και ζωντανά κύτταρα, τα οποία είναι υποξικά και άρα και ακτινοάντοχα. <sup>[13]</sup> Επιπλέον, ο άλλος βασικός χημικός τροποποιητικός παράγοντας είναι οι θειόλες που προστατεύουν το κύτταρο, διότι δεσμεύουν και αδρανοποιούν τις ελεύθερες ρίζες, αλλά και το  $O_2$ , περιορίζοντας έτσι την έμμεση δράση των Ι.Α. στο κύτταρο.



Εικόνα 3.7: Συγκέντρωση  $O_2$  σε περίπτωση υποξίας σε όγκο, όπου όσο μειώνεται, παρατηρείται και χαμηλότερη ραδιοευαισθησία. <sup>[33]</sup>

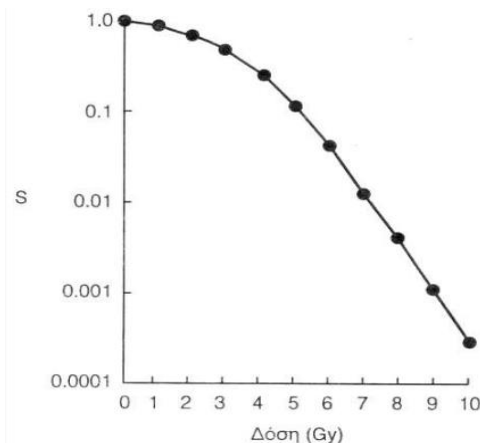
Τέλος, όσο αφορά τους τροποποιητικούς βιολογικούς παράγοντες, είναι κυρίως η φάση του κυτταρικού κύκλου καθώς και το είδος του κυττάρου. Ειδικότερα, όσο αφορά τη φάση του κυτταρικού κύκλου τα κύτταρα είναι περισσότερο ακτινοευαίσθητα στη φάση  $G_2$  και κατά τη διάρκεια της μίτωσης, ενώ τη μεγαλύτερη αντοχή έναντι της ακτινοβολίας παρουσιάζουν κατά τη φάση της σύνθεσης  $S$ . Επίσης, χρειάζεται να αναφερθεί ότι οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί παρουσιάζουν μεγαλύτερη απόδοση κατά τη φάση  $S$ , σε σχέση με την φάση  $G_2$ . Όσο, αφορά το είδος του κυττάρου και το πόσο ακτινοευαίσθητα είναι καθορίζεται από το νόμο των ραδιοβιολόγων Bergonie και Tribondeau το 1906, όπου ακτινοευαισθησία ενός κυττάρου είναι ανάλογη της μιτωτικής του δραστηριότητας και αντιστρόφως ανάλογη του βαθμού διαφοροποίησης του. Από το νόμο αυτό εξαιρούνται τα ώριμα ωκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα <sup>[1]</sup>. Επομένως, είναι λογικό η ακτινοευαισθησία να εξαρτάται και από την ηλικία ενός ασθενούς. Δηλαδή, τα παιδιά είναι περισσότερο ακτινοευαίσθητα από τους υπερήλικες, διότι τα κύτταρα τους χαρακτηρίζονται από συχνότερη μιτωτική δραστηριότητα. Στην επόμενη εικόνα παρουσιάζεται ένας πίνακας με τη σχετική ευαισθησία των κυττάρων του ανθρώπου ενάντια στις ιοντίζουσες ακτινοβολίες.

|         |                                                                                    |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Ομάδα 1 | Ωριμα ωκύτταρα, λεμφοκύτταρα, ερυθροβλάστες, σπερματογόνια κύτταρα                 |
| Ομάδα 2 | Μυελοκύτταρα, κοκκιώδη κύτταρα, εντερικά κύτταρα, βλαστικά κύτταρα της επιδερμίδας |
| Ομάδα 3 | Γαστρικοί αδένες, ενδοθηλιακά κύτταρα, λεπτών αγγείων του αίματος                  |
| Ομάδα 4 | Οστεοβλάστες, χονδροβλάστες, σπερματοκύτταρα και σπερματίδες                       |
| Ομάδα 5 | Πολυμορφοπύρρηνα λευκά αιμοσφαίρια, οστεοκύτταρα                                   |
| Ομάδα 6 | Παρεγχυματικά κύτταρα, ινοβλάστες                                                  |
| Ομάδα 7 | Κύτταρα του συνδετικού ιστού, ινοκύτταρα, χονδροκύτταρα, φαγοκύτταρα               |
| Ομάδα 8 | Μυϊκά και νευρικά κύτταρα                                                          |

Εικόνα 3.8: Ακτινοευαισθησία κατά φθίνουσα σειρά των κυττάρων του ανθρώπου. <sup>[1]</sup>

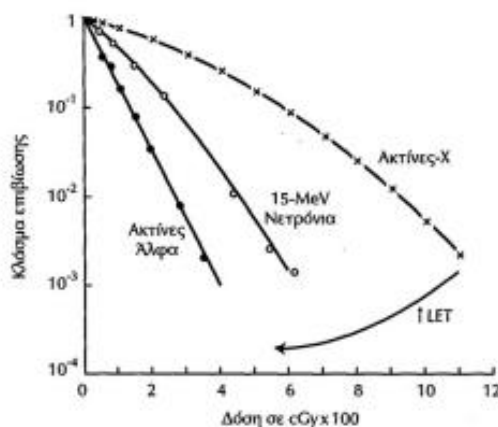
### **ΚΑΜΠΥΛΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ – LQ MODEL**

Για να μελετηθούν τα βιολογικά αποτελέσματα από την επίδραση των Ι.Α. σε κυτταρικό επίπεδο in-vitro χρησιμοποιούνται κυτταρικές καλλιέργειες, στις οποίες ένας κυτταρικός πληθυσμός επιβιώνει μέσω κατάλληλων θρεπτικών ουσιών που του επιτρέπει να πολλαπλασιάζεται ανάλογα με την κυτταρική σειρά στην οποία ανήκει. Τώρα, το πως αποκρίνονται αυτοί οι κυτταρικοί πληθυσμοί στις Ι.Α. γίνεται μέσω της κατασκευής καμπυλών επιβίωσης κυττάρων. Ο ορισμός της καμπύλης επιβίωσης, είναι το κλάσμα επιβίωσης ( $S$  - Survival ratio) σε συνάρτηση με τη δόση ακτινοβολίας ( $D$  - Dose), όπως παρουσιάζεται και στο παρακάτω σχήμα.



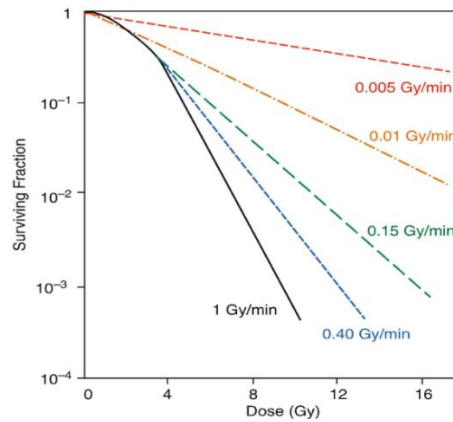
*Εικόνα 3.9: Χαρακτηριστική καμπύλη επιβίωσης κυττάρων. <sup>[1]</sup>*

Η καμπύλη επιβίωσης, προφανώς εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τους τροποποιητικούς μηχανισμούς της ακτινοβολίας <sup>[1]</sup>, που συζητήθηκαν παραπάνω. Συγκεκριμένα, εξαρτάται προφανώς από το είδος της ακτινοβολίας, δηλαδή από το LET της ακτινοβολίας. Όσο μεγαλύτερο είναι το LET, τόσο λιγότερο κυρτή είναι η καμπύλη επιβίωσης, δηλαδή αν συγκρίνουμε την ακτινοβολία από φωτόνια με εκείνη με σωματίδια-α θα προκύψει ότι όσο αυξάνεται η δόση, το κλάσμα επιβίωσης για μία συγκεκριμένη τιμή για τα α-σωμάτια θα είναι πολύ μικρότερο από εκείνο για φωτόνια και η καμπύλη μεταπίπτει σε ευθεία σχεδόν σταθερής κλίσης.



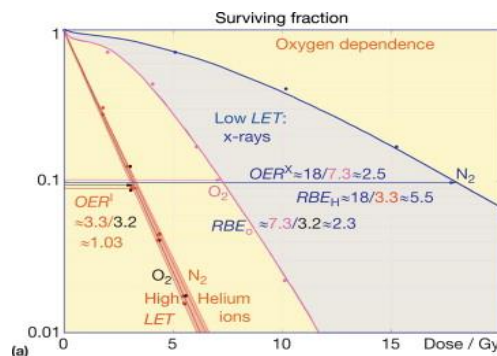
*Εικόνα 3.10: Χαρακτηριστικές καμπύλες επιβίωσης κυττάρων για διάφορες ακτινοβολίες. <sup>[1]</sup>*

Ένας άλλος από τους φυσικούς τροποποιητικούς μηχανισμούς της ακτινοβολίας, που αναφέρθηκε είναι ο ρυθμός δόσης, που προφανώς όσο περισσότερο αυξάνεται τόσο μικρότερη είναι και η κυτταρική επιβίωση, διότι δε προλαβαίνουν να δράσουν οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί.



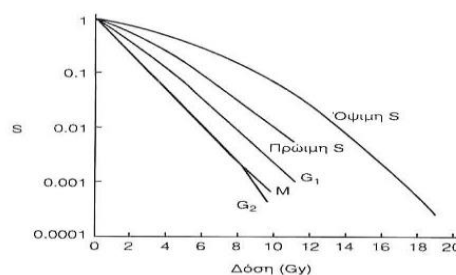
Εικόνα 3.11: Χαρακτηριστικές καμπύλες επιβίωσης κυττάρων για διαφορετικούς ρυθμούς δόσης. <sup>[34]</sup>

Τώρα, όσο αφορά την επίδραση του οξυγόνου στην καμπύλη επιβίωσης, είναι λογικό καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του να μειώνεται το κλάσμα επιβίωσης, λόγω του ότι αυξάνεται η έμμεση επίδραση των Ι.Α., κάτι το οποίο είναι περισσότερα έντονα στις Low LET ακτινοβολίες.



Εικόνα 3.12: Χαρακτηριστικές καμπύλες επιβίωσης κυττάρων για διάφορες ακτινοβολίες και η επίδραση του OER. (πηγή: A. Brahme, in Comprehensive Biomedical Physics, in 2014).

Επίσης, όσο αφορά τους βιολογικούς παράγοντες, προαναφέρθηκαν το είδος του κυττάρου και η φάση του κυτταρικού κύκλου, όπου η G<sub>2</sub> φάση είναι μεγαλύτερης ακτινοευαισθησίας.



Εικόνα 3.13: Χαρακτηριστικές καμπύλες επιβίωσης κυττάρων για τις διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου. <sup>[11]</sup>

Με βάση τα πειραματικά δεδομένα, χρησιμοποιήθηκαν διάφορα μαθηματικά μοντέλα για να περιγράψουν το κλάσμα επιβίωσης των κυτταρικών πληθυσμών ύστερα από ακτινοβολία με το επικρατέστερο στην κλινική και πειραματική πράξη το **γραμμικό-τετραγωνικό μοντέλο (LQ – Linear Quadratic Model)**. Το μοντέλο αυτό εισήχθη με στόχο να περιγράψει καλύτερα τις δόσεις στη περιοχή της κερματισμένης ακτινοθεραπείας, υποτέθηκε ότι μέσα στο κύτταρο υπάρχουν πολλές θέσεις-στόχοι, όπου εάν έστω μία προσβληθεί τότε το κύτταρο οδηγείται σε καταστροφή. Οι στόχοι αυτοί είναι διπλοί, δηλαδή ο καθένας αποτελείται από ένα ζεύγος θέσεων, όπως παρατηρείται και στις αντικριστές θέσεις, όπως στη διπλή έλικα του DNA. Στο LQ Model έχουμε δύο ειδών (τύπους) βλάβες, οι οποίες είναι οι εξής:

1<sup>η</sup>) Η βλάβη που προκαλείται από ένα ακτινικό πλήγμα όπου καταστρέφει και τις δύο θέσεις του στόχου.

2<sup>η</sup>) Η βλάβη που προκαλείται από ξεχωριστό πλήγμα σε κάθε θέση του στόχου και στη συνέχεια να υπάρξει αλληλεπίδραση μεταξύ τους ώστε να προκύψει θανατηφόρος βλάβη.

Βέβαια, στη περίπτωση όπου υπάρξει πλήγμα μόνο στη μία θέση του στόχου, ή δεν υπάρξει και καθόλου πλήγμα στις θέσεις-στόχους, τότε δεν υπάρχει θανατηφόρος βλάβη και μέσω των επιδιορθωτικών μηχανισμών θα επιδιορθωθεί. Η βλάβη του πρώτου τύπου είναι γραμμικά ανάλογη της δόσης και ισούται με  $e^{-\alpha D}$ , όπου  $\alpha$  είναι ένας συντελεστής που είναι πάντα θετικός και έχει μονάδες  $Gy^{-1}$ , και αναφέρεται στη πιθανότητα DSB και γενικότερα σε complex DNA-damages ανά μονάδα δόσης εξαιτίας των διάφορων ιονισμών που δημιουργούνται κατά μήκος της τροχιάς ενός σωματιδίου, που είναι ανεξάρτητη με το ρυθμό δόσης.<sup>[1]</sup> Δηλαδή, το  $\alpha$  αναφέρεται σε lethal damage, διότι οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί είναι εξαιρετικά δύσκολο να επιδιορθώσουν τέτοιου είδους βλάβες.<sup>[35]</sup> Αντίθετα, η βλάβη του δεύτερου τύπου είναι ανάλογη του τετραγώνου της δόσης και ισούται με  $e^{-\beta D^2}$ , όπου το  $\beta$  είναι ένας συντελεστής που έχει μονάδες  $Gy^{-2}$  και περιγράφει τη πιθανότητα εμφάνισης βλάβης ανά μονάδα δόσης εξαιτίας των ιονισμών κατά μήκος της τροχιάς δύο διαφορετικών σωματιδίων ακτινοβολίας, όπου αυξάνει με το ρυθμό δόσης.<sup>[1]</sup> Η παράμετρος  $\beta$  αντιπροσωπεύει τις sub-lethal βλάβες (που ουσιαστικά είναι non-lethal), δηλαδή τις βλάβες που από μόνες τους δεν μπορούν να επιφέρουν κυτταρικό θάνατο, αλλά χρειάζεται να αλληλεπιδράσουν μεταξύ τους με συνέπεια να γίνονται θανατηφόρες.

Με βάση αυτό το μοντέλο, λοιπόν, το κλάσμα επιβίωσης περιγράφεται από τη παρακάτω σχέση:

$$S = \frac{N}{N_0} \Rightarrow S = e^{-\alpha D + \beta D^2}$$

Όπου  $N_0$  είναι ο αρχικός κυτταρικός πληθυσμός και  $N$  ο κυτταρικός πληθυσμός μετά την ακτινοβολία. Τα  $\alpha$  και  $\beta$  είναι παράγοντες που καθορίζουν την ακτινοευαισθησία του κυττάρου και περιγράφηκαν μόλις προηγουμένως.

Τώρα, όσο αφορά το λόγο  $\alpha/\beta$  έχει μονάδες σε Gy και είναι χαρακτηριστικός για κάθε κυτταρική σειρά. Ο λόγος  $\alpha/\beta$  ισοδυναμεί με τη περίπτωση στην οποία η βλάβη τύπου 1

είναι ίση με τη βλάβη τύπου 2. Η βιολογική σημασία του λόγου  $\alpha/\beta$  αναφέρεται στο ότι αν ο λόγος  $\alpha/\beta$  είναι υψηλός π.χ. για τιμές  $\geq 10$  οι ιστοί πολλαπλασιάζονται με ταχύ ρυθμό, όπως είναι για παράδειγμα τα κύτταρα του βλεννογόνου και οι υψηλής κακοήθειας καρκινικοί όγκοι, ενώ λαμβάνει μικρές τιμές  $\leq 5$  για βραδέως πολλαπλασιαζόμενους ιστούς, όπως είναι τα νευρικά κύτταρα και η χαμηλής κακοήθειας όγκοι.<sup>[13]</sup> Τώρα, αν συσχετιστεί ο λόγος  $\alpha/\beta$  με τη κυρτότητα της καμπύλης επιβίωσης, αυτό που θα προκύψει είναι ότι όσο μικρότερος είναι ο λόγος αυτός τόσο μεγαλύτερη κυρτότητα παρατηρείται. Αυτή η παρατήρηση είναι ιδιαίτερα σημαντική στη κλινική πράξη, αφού αποτελεί το βιολογικό θεμέλιο με το οποίο αντιδρούν οι διάφοροι ιστοί του ανθρώπινου οργανισμού στη κερματισμένη ακτινοθεραπεία, δηλαδή την ακτινοθεραπεία που χορηγείται σε κλάσματα δόσης (συνεδρίες). Οι φυσιολογικοί ιστοί διαχωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες στους ιεραρχικού τύπου-H, όταν η ανανέωση τους, αλλά και η λειτουργία τους στηρίζεται σε διαφορετικούς κυτταρικούς πληθυσμούς, όπως είναι οι επιθηλιακοί ιστοί (δέρμα, βλεννογόνος του εντέρου), αιμοποιητικός ιστός κ.α. και σε ευέλικτου τύπου-F, διότι εμφανίζουν μία ευελιξία στη βιολογική τους συμπεριφορά, δηλαδή επιτελούν από μόνοι τους και την ανανέωση τους και τη λειτουργία τους, όπως είναι οι πνεύμονες, οι νεφροί, το ήπαρ, η καρδιά κ.α. Οι ιστοί τύπου H, επειδή ο χρόνος ζωής τους είναι της τάξης μερικών ημερών ή εβδομάδων κατά τη διάρκεια ενός θεραπευτικού σχήματος εμφανίζονται οξείες αντιδράσεις κατά τη διάρκεια της αγωγής. Γι' αυτό το λόγο οι ιστοί τύπου H, αποκαλούνται και Οξέως Αντιδρώντες Ιστοί (ΟΞ.Α.Ι.). Αντιθέτως, στους ιστούς τύπου F, που η κυτταρική ανανέωση διαρκεί μεγαλύτερο διάστημα από μερικές εβδομάδες, η βλάβη από την επίδραση των Ι.Α. εμφανίζεται μετά από ένα μακρό χρονικό διάστημα, δηλαδή η πιθανότητα να εμφανιστεί είναι δυνατή και μετά τη πάροδο ετών. Οι αντιδράσεις αυτές λέγονται όψιμες, με αποτέλεσμα οι ιστοί τύπου F να ονομάζονται και Όψιμοι Αντιδρώντες Ιστοί (ΟΨ.Α.Ι.) και συνήθως αναφέρονται σε αντιδράσεις της τάξης του ενός τριμήνου ή εξαμήνου μετά την θεραπεία. Ο κύριος λόγος για τον οποίο μία θεραπεία στέφεται με επιτυχία ισοδυναμεί με την αποφυγή όψιμων αντιδράσεων για μήνες μετά από μία κλινική πρακτική, διότι αυτές συνεπάγοντες βαρύτερες συνέπειες σε ζωτικά όργανα, αλλά ακόμα και της ζωής του ασθενούς.

~~~~~

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: **ΣΥΛΛΟΓΗ ΡΑΔΙΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ**



PublMed

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΕΞΟΡΥΞΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ (DATA MINING)

Σ' αυτό το κεφάλαιο θα αναλύσουμε τη διαδικασία συλλογής ραδιοβιολογικών δεδομένων, που προέκυψαν από την έκθεση ανθρώπων (συνήθως ασθενών) σε Ι.Α. ακτινοβολίες και ειδικότερα σε ανθρώπινα κύτταρα που ακτινοβολήθηκαν με α-σωμάτια. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε ονομάζεται εξόρυξη δεδομένων ή όπως ονομάζεται στη διεθνή βιβλιογραφία Data mining. Ο ορισμός της εξόρυξης δεδομένων είναι ο εξής:

“Εξόρυξη δεδομένων λέγεται η διαδικασία κατά την οποία εξάγεται ένα πλήθος πολύτιμων πληροφοριών από μεγάλα σύνολα δεδομένων. Δηλαδή, η εξόρυξη δεδομένων είναι η ανακάλυψη γνώσης από δεδομένα (knowledge discovery in data (KDD)).”

Την τελευταία δεκαετία η εξόρυξη δεδομένων είναι χρήσιμη σε πολλούς τομείς της επιστήμης, όπως της Φυσικής, της Ιατρικής, της Βιολογίας κλπ., διότι ο τεράστιος όγκος πληροφοριών που συσσωρεύεται στις πολυάριθμες βάσεις δεδομένων δεν μπορεί να αξιοποιηθεί με το σωστό τρόπο. Επομένως, χρειάζεται ένας τρόπος με τον οποίο θα γίνει η ανάλυση ενός μεγάλου όγκου δεδομένων που έχει σχέση με ένα πρόβλημα π.χ. επιστημονικού ενδιαφέροντος με στόχο τη παραγωγή ενός προτύπου (pattern). Τα πρότυπα που προκύπτουν έχουν διάφορες μορφές, όπως συσχετίσεις, συστάδες, κλάσεις και είναι δομές, οι οποίες διακρίνονται σε δεδομένα και έχουν ιδιαίτερη σημαντικότητα από στατιστικής άποψης. Τα πρότυπα, ονομάζονται αλλιώς και μοντέλα, που ανιχνεύονται μέσω της χρήσης μετρήσιμων χαρακτηριστικών ιδιοτήτων ή γνωρισμάτων, τα οποία έχουν προκύψει από την εξαγωγή απαραίτητων δεδομένων. Η δημιουργία, λοιπόν, των πρότυπων/μοντέλων έχει βασικό μέλημα να δημιουργήσει κατανοητές δομές ως προς τον άνθρωπο ώστε να παρθούν αργότερα οι κατάλληλες αποφάσεις. Η διαδικασία με σκοπό την εύρεση μίας γνώσης από μεγάλες βάσεις δεδομένων έχει τα εξής βήματα^[36]:

- 1) Συλλογή και αποθήκευση των απαραίτητων δεδομένων.
- 2) Προεπεξεργασία των δεδομένων.
- 3) Μετασχηματισμός των δεδομένων.
- 4) Εξόρυξη δεδομένων, όπου είναι και το σημαντικό βήμα για την παραγωγή ενός προτύπου/μοντέλου.
- 5) Αξιολόγηση και επεξήγηση/ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Σ' αυτή την διπλωματική εργασία, λοιπόν, γίνεται μία σημαντική προσπάθεια συλλογής και εξόρυξης δεδομένων ώστε αργότερα να αναπτυχθεί μία αξιολογη βάση ραδιοβιολογικών δεδομένων, που αφορούν την επιβίωση διάφορων ανθρώπινων κυττάρων ύστερα από έκθεση σε σωματιδιακή ακτινοβολία-α. Επίσης, είναι άξιο να αναφερθεί ότι γίνεται προσπάθεια ανάπτυξης μίας βάσης ραδιοβιολογικών δεδομένων σχετικά με την επιβίωση των ανθρώπινων κυττάρων ύστερα από την έκθεση όλων των ειδών ιοντίζουσας ακτινοβολίας.

Η διαδικασία συλλογής των απαραίτητων ραδιοβιολογικών δεδομένων πραγματοποιήθηκε μέσω της ιστοσελίδας ελεύθερης αναζήτησης PubMed που

περιλαμβάνει εκατομμύρια δημοσιεύσεις που αφορούν το κλάδο της Ιατρικής με σύδεσμο: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

Η αναζήτηση έγινε μέσω των λέξεων-κλειδιά: alpha particles radiation human cells, δηλαδή αφορά την ακτινοβολήση ανθρώπινων κυττάρων με α-σωμάτια. Το χρονικό εύρος της συλλογής των δεδομένων, αφορούσε μελέτες από το 2008 έως και το 2022, όπου εμφανίστηκαν 502 μελέτες. Από αυτές τις μελέτες χρήσιμα δεδομένα εξήχθησαν 50 πειράματα.

Αρχικά, αυτό στο οποίο εστιάσαμε ήταν μελέτες που αφορούσαν ανθρώπινα κύτταρα τα οποία είχαν υποστεί βλάβες από την έκθεση σε α-σωμάτια, και όχι κύτταρα τα οποία είχαν υποστεί αλλαγές, λόγω bystander effects. Δυστυχώς, αρκετά μεγάλο ποσοστό των μελετών αφορούσε είτε τα bystander effect είτε έκθεση με α-σωμάτια σε κύτταρα πειραματόζων, τα οποία δεν συμπεριλήφθηκαν στη βάση δεδομένων μας. Στη συνέχεια, αυτό που καταγράφηκε είναι αν τα κύτταρα που μελετάμε είναι φυσιολογικά ή καρκινικά, σε ποιο ανθρώπινο ιστό ανήκουν, το σημείο του κυτταρικού κύκλου στο οποίο βρίσκονται καθώς και σε ποια κυτταρική σειρά υπάγονται. Ακόμα, σημειώθηκε ο ρυθμός δόσης ανά λεπτό που ακτινοβολήθηκαν τα κύτταρα σε κάθε πείραμα, αλλά και η ενέργεια των σωματιδίων της πηγής ακτινοβολήσης στο εκάστοτε πείραμα. Επίσης, καταγράφηκαν ο αριθμός των δίκλωνων θραύσεων του DNA, δηλαδή τα DSBs και τις ομαδοποιημένες βλάβες που δεν περιλαμβάνουν DSBs, δηλαδή τα non-DSBs clusters. Τα DSBs στις μελέτες αναφέρονταν συνήθως ως αριθμός των γH2AX foci per nucleus, που είναι μία από τις μεθόδους ανίχνευσης DSBs στους πυρήνες των κυττάρων. Η Ιστόνη H2AX είναι ένα μέλος της H2A οικογένειας ιστονών και στους οργανισμούς των θηλαστικών αποτελεί το 10% της H2A. Η φωσφορυλίωση μέσω κινασών σε μία πρωτεΐνη που λέγεται σερίνη 139 έχει ως τελικό αποτέλεσμα την τροποποίηση της πρωτεΐνης αυτής (H2AX), η οποία είναι γνωστή ως γ-H2AX. Έτσι, η γ-H2AX είναι το αποτέλεσμα της απόκρισης του κυττάρου στην ύπαρξη βλάβης DSB, αλλά και του αποπτωτικού μηχανισμού.^[10] Επειδή, τα δεδομένα που αφορούν τα DSBs και τα nonDSBs clusters είναι λιγοστά χρειάζεται να γίνουν προσομοιώσεις με Monte Carlo (θα αναφερθούμε εκτενέστερα στο 5^ο Κεφάλαιο της εργασίας). Επιπλέον, αξιοποιώντας της καμπύλες επιβίωσης, δηλαδή τα διαγράμματα των κλασμάτων επιβίωσης των διάφορων κυτταρικών πληθυσμών σε σχέση με τη δόση και μέσω της βοήθειας του LQ Model είτε καταγράψαμε απευθείας τις τιμές α και β, που αναφέρονταν μέσα στις μελέτες, είτε στη περίπτωση που δεν αναφέρονταν τις εξάγαμε με τη βοήθεια ενός online tool, που λέγεται WebPlotDigitizer και ενός κώδικα Python, όπου θα περιγραφούν εκτενέστερα στην επόμενη ενότητα του Κεφαλαίου.

Για τη συμπλήρωση και τη καταγραφή όλων των παραπάνω δεδομένων, δημιουργήσαμε ένα αρχείο Excel, με σκοπό την καλύτερη επεξεργασία και την μετέπειτα αξιολόγηση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων μας, το οποίο περιλαμβάνει τις εξής στήλες:

A) #ExpID	Αύξοντας αριθμός που δηλώνει την καταχώριση στη βάση δεδομένων
B) PMID	Μοναδικός αναγνωριστικός αριθμός που χρησιμοποιείται στο PubMed για κάθε μελέτη

C) #Exp	Αριθμός πειραμάτων στην κάθε μελέτη (Paper)
D) Human cells	Κυτταρική σειρά ανθρώπινων κυττάρων
E) Tissue	Ιστός στον οποίο ανήκουν τα συγκεκριμένα κύτταρα
F) Cell class n or t	Φυσιολογικά (normal) ή καρκινικά (tumor) κύτταρα
G) Cell cycle (S/G1/G2/a)	Φάση του κυτταρικού κύκλου ή αν είναι ασύγχρονα ("α")
H) Source of radiation	Πηγή ακτινοβολίας
I) Energy (MeV)	Ενέργεια σε MeV
J) LET (keV/μm)	Γραμμική μεταφορά ενέργειας (keV/μm)
K) RBE	Σχετική Βιολογική Δραστηριότητα
L) Dose Rate (Gy/min)	Ρυθμός Δόσης (Gy/min)
M) α_i fit	Από το LQ Model ο γραμμικός συντελεστής ραδιοευαισθησίας
N) β_i fit	Από το LQ Model ο τετραγωνικός συντελεστής ραδιοευαισθησίας
O) DSBs/(Gy*Gbp) 0.15h-0.30h	Αριθμός των βλαβών διπλής έλικας
P) nonDSBclusters/(Gy*Gbp)	Αριθμός ομαδοποιημένων βλαβών (δεν περιλαμβάνονται οι διπλόκλωνες θραύσεις)

Πίνακας 4.1: Οι στήλες στο αρχείο του EXCEL, από τα δεδομένα που συλλέχθηκαν από τις μελέτες, μέσω της διαδικασίας του Data Mining.

Λεπτομερώς, όσο αφορά τη κυτταρική σειρά, τα ανθρώπινα (φυσιολογικά ή καρκινικά) κύτταρα, τα οποία καταγράψαμε είναι τα εξής ^[37]:

- **MGH-U1**, είναι μία κυτταρική σειρά που εντοπίζεται στην ουροδόχο κύστη και αφορά καρκινικά κύτταρα (καρκίνος της ουροδόχου κύστης - bladder carcinoma).
- **HF19**, είναι μία κυτταρική σειρά, φυσιολογικών κυττάρων που ανήκουν στο επιθήλιο των πνευμόνων.
- **AGO1522 και 48BR**, είναι φυσιολογικά κύτταρα που βρίσκονται στον επιθηλιακό ιστό του δέρματος.
- **SW-1573**, είναι μία κυτταρική σειρά που αφορά καρκινικούς όγκους που εμφανίζονται στο πνεύμονα.
- **FaDu**, είναι μία κατηγορία καρκινικών κυττάρων που προκαλεί τη νόσο του υποφαρυγγικού ακανθοκυτταρικού καρκίνου.
- **Capan-1, Panc1, BON**, είναι κυτταρικές σειρές, καρκινικών κυττάρων που οδηγούν στην εμφάνιση Ca του παγκρέατος.
- **NCIH520**, καρκινικά κύτταρα που προκαλούν Ca πνεύμονα.
- **HL60**, σειρά καρκινικών κυττάρων που είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση οξείας μυελώδους λευχαιμίας.
- **A549**, σειρά καρκινικών κυττάρων στο πνεύμονα, που προκαλεί αδеноκαρκίνωμα στο όργανο αυτό (Ca πνεύμονα).
- **EAhy926**, κυτταρική σειρά φυσιολογικών κυττάρων, που βρίσκεται στο φλεβικό σύστημα.
- **NHBE, BEAS-2b, Nuli-1**, κυτταρική σειρά φυσιολογικών κυττάρων που εντοπίζονται στο πνεύμονα.
- **MDA-MB-231**, καρκινικοί όγκοι που οδηγούν σε Ca μαστού.
- **LNCaP, DU145, PC3**, που αφορούν κυτταρικές σειρές καρκινικών κυττάρων για Ca προστάτη.
- **TK6**, κυτταρική σειρά μεταλλαγμένων κυττάρων στο σπλήνα, που είναι υπεύθυνη για την εμφάνιση κληρονομικής σφαιροκύτωσης.

- **A431**, καρκινική κυτταρική σειρά, που εμφανίζεται καρκίνος στο δέρμα.
- **U87, LN229, LN18**, κυτταρικές σειρές, καρκινικών κυττάρων που προκαλούν Ca εγκεφάλου.
- **U2OS**, κυτταρική σειρά, καρκινικών κυττάρων που οδηγεί στην εμφάνιση του οστεοσαρκώματος (Ca οστών).
- **RPE-1**, κυτταρική σειρά, φυσιολογικών κυττάρων της ανθρώπινης χρωστικής του αμφιβληστροειδούς του επιθηλίου στο μάτι.
- **HCT116**, κυτταρική σειρά, καρκινικών όγκων στο επιθήλιο του εντέρου (Ca εντέρου).
- **HEK293**, κυτταρική σειρά, φυσιολογικά κύτταρα εμβρύου που εντοπίζονται στους νεφρούς.
- **CGL1**, κυτταρική σειρά υβριδικών κυττάρων, τα οποία έχουν προκύψει από τη σύντηξη των καρκινικών κυττάρων HeLa και των φυσιολογικών επιθηλιακών κυττάρων του ανθρώπινου δέρματος.

Τώρα, όσο αφορά τις πηγές ακτινοβολίας, οι πηγές που εκπέμπουν α-σωμάτια, όπως αναφέρθηκε και στο 2^ο κεφάλαιο, είναι οι ραδιενεργοί πυρήνες. Οι πηγές, λοιπόν, ακτινοβολίας, οι οποίες καταγράφηκαν είναι οι εξής:

$^{241}\text{Am}, ^{238}\text{Pu}, ^{223}\text{Ra}, ^{213}\text{Bi}, ^{228}\text{Th}, ^2\text{He}$
--

Όπου παρατηρούμε, ότι στις περισσότερες μελέτες τα κύτταρα είχαν εκτεθεί στο ^{241}Am (περίπου το 50% των πειραμάτων).

4.2 ΕΞΑΓΩΓΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ α και β του LQ MODEL

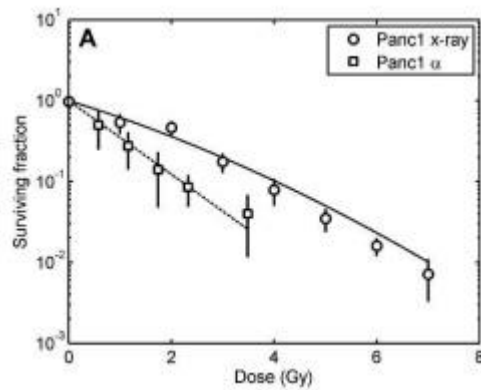
Επειδή, στις περισσότερες μελέτες παρουσιάζονταν μόνο οι καμπύλες επιβίωσης των κυτταρικών πληθυσμών, δηλαδή της εκθετικής μείωσης του κλάσματος επιβίωσης με τη δόση ακτινοβολίας, ήταν απαραίτητο να χρησιμοποιηθούν τα εργαλεία WebPlotDigitizer και η γλώσσα προγραμματισμού Python.

Το **WebPlotDigitizer** είναι ένα πρόγραμμα, μέσω του οποίου μπορούν να εξαχθούν δεδομένα από γραφικές παραστάσεις που έχουν μεταμορφωθεί αρχικά σε μορφή PNG ή JPEG. Ουσιαστικά, το συγκεκριμένο πρόγραμμα έχει ως σκοπό την εξαγωγή αριθμητικών δεδομένων από οπτικά μέσα/δεδομένα, όπως είναι τα γραφήματα. Το βασικό πλεονέκτημα του WebPlotDigitizer οφείλεται στο ότι πέρα από τις πολλές επιλογές γραφημάτων στις οποίες μπορεί να λειτουργήσει, είναι ένα online και ελεύθερης πρόσβασης πρόγραμμα. Επίσης, διαθέτει έναν ικανοποιητικούς αλγόριθμους αυτόματης εξαγωγής, που δίνει τη δυνατότητα εξαγωγής αριθμητικών δεδομένων από ένα πολυάριθμο αριθμό σημείων και χρησιμοποιείται από εκατοντάδες δημοσιεύσεις ανά το κόσμο. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε, ώστε να εξαχθούν οι παράμετροι ραδιοευαισθησίας α και β του LQ Model ήταν οι εξής:

1. Αρχικά, από κάθε μελέτη (paper) πραγματοποιήσαμε print-screen με τα απαραίτητα διαγράμματα του κλάσματος επιβίωσης σε συνάρτηση με τη δόση.
2. Στη συνέχεια, μορφοποιήσαμε την εικόνα σε μορφή JPEG.
3. Έπειτα, ανεβάσαμε την εικόνα στο WebPlotDigitizer (upload) μέσω της επιλογής "Load Image".
4. Αμέσως, μετά βαθμονομήσαμε τους άξονες x, y της καμπύλης, όπου στον άξονα των y επιλέξαμε λογαριθμική κλίμακα, διότι το κλάσμα επιβίωσης συνήθως σε όλα τα διαγράμματα είναι σε λογαριθμική κλίμακα.

5. Επομένως, στη συνέχεια επιλέγουμε τρία σημεία από την αρχή, το μέσο και το τέλος της καμπύλης τα οποία έχουν συντεταγμένες (x,y) και έτσι στην ένδειξη “acquired data” το πρόγραμμα μας εμφανίζει τις ακριβείς συντεταγμένες των τριών σημείων.

Ακολουθεί, ένα παράδειγμα σε μία καμπύλη επιβίωσης για την κυτταρική σειρά Panc1 καρκινικών κυττάρων στο πάγκρεας σε συνάρτηση με τη δόση.



4.1 Εικόνα: Διάγραμμα Surviving Fraction-Dose(Gy) για την κυτταρική σειρά Panc1, που αφορά καρκινικά κύτταρα στο πάγκρεας. (PMID: 22077335 στο PubMed).

Οπότε, ανεβάσαμε σε αρχείο JPEG την παραπάνω καμπύλη επιβίωσης, βαθμονομήσαμε τους άξονες και τοποθετήσαμε τρία σημεία για την καμπύλη που αφορά τα α-σωμάτια (όχι αυτή των X-rays).

Load Image File(s)

X and Y Axes Calibration

Enter X-values of the two points clicked on X-axis and Y-values of the two points clicked on Y-axes

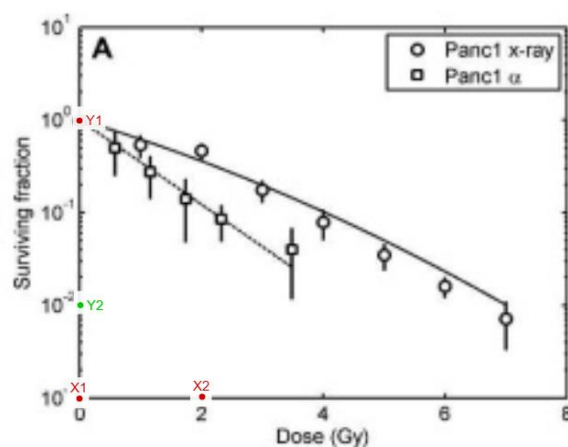
	Point 1	Point 2	Log Scale
X-Axis:	0	2	☐
Y-Axis:	1	0.01	☒

☐ Assume axes are perfectly aligned with image coordinates (skip rotation correction)

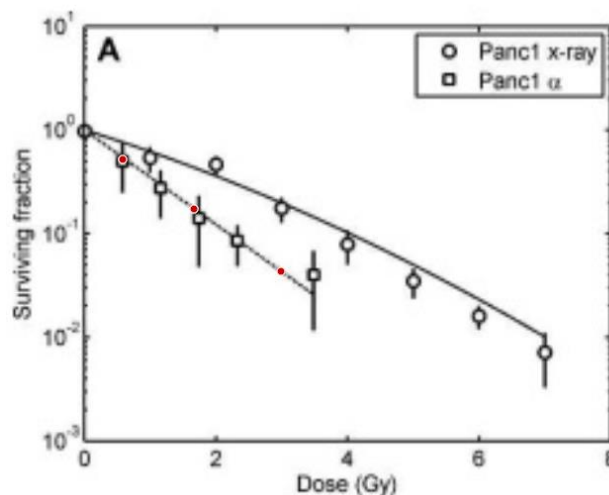
*For dates, use yyyy/mm/dd hh:mm:ss format, where hh denotes minutes (e.g. 2013/10/23 or 2013/10 or 2013/10/23 10:15 or just 10:15). For exponents, enter values as 1e-3 for 10^-3.

Load
Cancel

OK

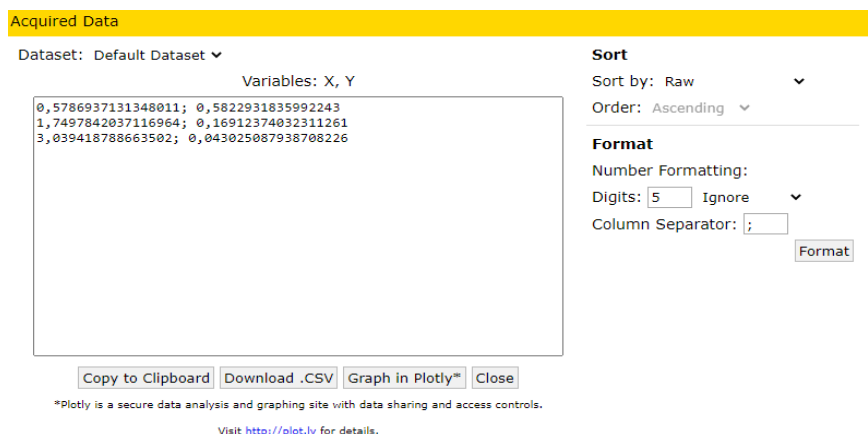


4.2 Εικόνα: Διαδικασία ανεβάσματος αρχείου JPEG (αριστερά) και διαδικασία βαθμονόμησης των αξόνων x και y, όπου το y να είναι σε λογαριθμική κλίμακα (log scale) (δεξιά και κάτω).



4.2 Εικόνα: Διαδικασία επιλογής τριών σημείων από την αρχή, τη μέση και το τέλος της καμπύλης επιβίωσης σε συνάρτηση με τη δόση, ώστε να προκύψουν τα ζευγάρια τιμών.

Από το παραπάνω διάγραμμα για την κυτταρική σειρά Panc1, προφανώς τα σημεία που επιλέχθηκαν αφορούν τη περίπτωση έκθεσης σε α-σωμάτια και όχι σε ακτίνες-Χ.



4.4 Εικόνα: Συντεταγμένες (x,y) των τριών σημείων που επιλέξαμε, από την αρχή, τη μέση και το τέλος της καμπύλης επιβίωσης της κυτταρικής σειράς Panc1.

Αυτά, λοιπόν, τα τρία ζεύγη που εξάχθηκαν μέσω του WebPlotDigitizer θα τα εισάγουμε σε ένα αλγόριθμο στο προγραμματιστικό περιβάλλον της **Python**, που είναι μία γλώσσα προγραμματισμού γενικού σκοπού και "υψηλού επιπέδου". Το κύριο πλεονέκτημα της Python είναι ότι έχει ως κύριο σκοπό την αναγνωσιμότητα του κώδικά της και να παρέχει μία ευκολότερη χρήση στους χρήστες σε σχέση με άλλες γλώσσες προγραμματισμού, όπως η C++. Ειδικότερα, η Python διαθέτει ένα συντακτικό που δίνει τη δυνατότητα και σε έμπειρους, αλλά και σε αρχάριους χρήστες να εκφράσουν έννοιες σε πολύ λιγότερες γραμμές κώδικα σε αντίθεση με άλλες γλώσσες προγραμματισμού. Επίσης, διαθέτει μία πληθώρα βιβλιοθηκών που έχει ως αποτέλεσμα την διευκόλυνση πολλών από τις συνηθισμένες εργασίες, αλλά και διευκολύνει και τους αρχάριους χρήστες στη ταχύτητα εκμάθησής της. Ακόμα, ένα πλεονέκτημα της συγκεκριμένης γλώσσας είναι ότι είναι ελεύθερα διαθέσιμη και αναπτύσσεται ως ελεύθερο λογισμικό. Τέλος, να αναφερθεί ότι για να πραγματοποιηθεί η εκτέλεση μεμονωμένων εντολών ή ολοκληρωμένων

προγραμμάτων είναι άκρως αναγκαία η εγκατάσταση του διερμηνευτή της, ο οποίος είναι ελεύθερος για κατέβασμα στην ιστοσελίδα (www.python.org).

Άρα, τώρα επιστρέφοντας στο παράδειγμα μας για να προκύψουν οι παράμετροι ραδιοευαισθησίας α και β του LQ Model, θα εισάγουμε τα τρία ζευγάρια που προέκυψαν και περιέχονται στην εικόνα 4.3 στο παρακάτω κώδικα της Python, που τον δημιουργήσαμε μέσω του google colab, που βρίσκεται στη παρακάτω διεύθυνση: https://colab.research.google.com/drive/1nbWWxvPLAOLJq2c8algXmkwFlbV_H8C#scrollTo=P8NEd3QrTEko

```
import numpy as np
from scipy.optimize import curve_fit

points= np.array([(0.578,0.582),(1.749,0.169),(3.039,0.043)])
xdata= points[:,0]
ydata = points[:,1]

def f(x,a,b):
    return np.exp(-a*x-b*(x**2))

popt, pcov = curve_fit(f, xdata, ydata, p0=[0.1, 1e-3])
print(popt)
```

[0.91098739 0.05318351]

4.5 Εικόνα: Κώδικας Python και τα αποτελέσματα για τις παραμέτρους α και β .

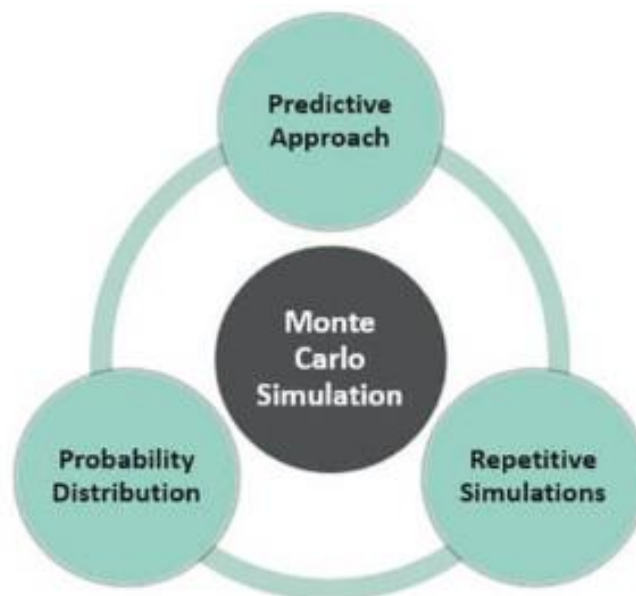
Από το παραπάνω κώδικα έχουμε μία function που ουσιαστικά ο σκοπός της είναι να επιστρέφει τιμές α και β από την εκθετική συνάρτηση του κλάσματος επιβίωσης $S = e^{-\alpha D - \beta D^2}$, αφού έχουμε εισάγει αρχικά τα τρία ζευγάρια τιμών (x,y). Από τα αποτελέσματα του παραπάνω κώδικα, προκύπτει ότι το $\alpha = 0.911 \text{ Gy}^{-1}$ και το $\beta = 0.053 \text{ Gy}^{-2}$. Αυτές, οι τιμές που προέκυψαν τις καταχωρούμε στο αρχείο EXCEL. Την ίδια διαδικασία εκτελέσαμε, για όλες τις μελέτες/πειράματα που περιέχονται στο αρχείο του EXCEL. Στη παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται ένα μικρός μέρος του αρχείου (όλο το αρχείο βρίσκεται στο παράρτημα 1).

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1	#ExpID	PMID	#ExpHuman Cells	Tissue	CellClass	CellCycle	Energy	σε MeV	LET(keV/μm)	RBE	Dose Rate (Gy/min)	ai_fit	bi_fit	DSBs/(Gy*Gbp)	0.15-0.30h	nonDSBClusters/(Gy*Gbp)
2	1	18494542	1	MGH-U1	Bladder	t	a	²⁴¹ Am	N/A	112.5	N/A	N/A	1,539	0.829	N/A	N/A
3	2	19828717	1	CGL1	Skin fibroblasts x HeLa	n	a	²⁴¹ Am	3.4	124	7.5	1.32	1,304	0.036	N/A	N/A
4	3	20681786	1	HF19	Lung fibroblasts	n	a	N/A	N/A	130	4.4	1.5	4,878	(-),1,087	N/A	N/A
5	4	21183544	1	HF19	Lung fibroblasts	n	a	N/A	3.3	129	N/A	N/A	N/A	N/A	6.95	N/A
6	5	21388278	1	AGO1522	Skin fibroblasts	n	a	²⁴¹ Am	3.2	122	5	0.002	1,198	0.210	N/A	N/A
7	6	21651780	1	SW-1573	Lung	t	a	²⁴¹ Am	4	130	14.7	0.2	2,2	0.580	25	N/A

4.6 Εικόνα: Μέρος του αρχείου EXCEL, όπου καταχωρήθηκαν όλα τα δεδομένα που προέκυψαν από την εξόρυξη δεδομένων και από τα εργαλεία WebPlotDigitizer και της γλώσσας προγραμματισμού της Python.

~~~~~

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5:** **ΑΝΑΛΥΣΗ ΡΑΔΙΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ**



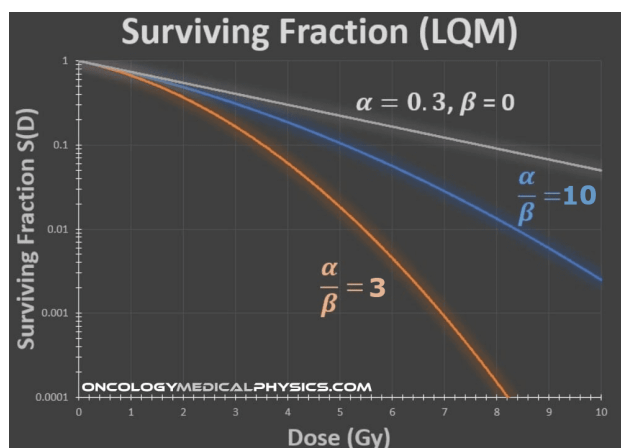
**W** UNIVERSITY of WASHINGTON  
**Monte Carlo Damage Simulation (MCDS) Software**

## 5.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στο τελευταίο Κεφάλαιο της παρούσας διπλωματικής εργασίας, θα αναλύσουμε τα δεδομένα που αφορούν τις παραμέτρους  $\alpha$  και  $\beta$  του LQ Model, μέσω του λόγου  $\alpha/\beta$  και τη σχέση του με την ακτινοθεραπεία και στη συνέχεια θα χρησιμοποιήσουμε ένα πρόγραμμα προσομοιώσεων (αλλάζοντας διάφορες παραμέτρους) των βλαβών σε ένα τυπικό ανθρώπινο κύτταρο ύστερα από έκθεση σε σωματιδιακή ακτινοβολία- $\alpha$ . Έπειτα, θα συγκρίνουμε τα αποτελέσματα αυτά με Low LET ιοντίζουσες ακτινοβολίες και στο τέλος θα εξάγουμε και θα παρουσιάσουμε τα απαραίτητα συμπεράσματα σχετικά με την ακτινοβολία των  $\alpha$ -σωματίων.

## 5.2 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ $\alpha$ ΚΑΙ $\beta$ ΤΟΥ LQ MODEL

Όπως, προαναφέρθηκε και στο 3<sup>ο</sup> Κεφάλαιο η παράμετρος  $\alpha$  αναφέρεται σε lethal damages, σε αντίθεση με το  $\beta$  που αναφέρεται σε sub-lethal damages, και οι μονάδες τους είναι σε  $Gy^{-1}$  και  $Gy^{-2}$ , αντίστοιχα. Ο λόγος  $\alpha/\beta$  έχει μονάδες Gy και όπως είπαμε στο 3<sup>ο</sup> Κεφάλαιο αναφέρεται στη περίπτωση που η 1<sup>ου</sup> είδους βλάβη γίνεται ίση με την 2<sup>ου</sup> είδους βλάβη. Αυτό, ο λόγος είναι σημαντικός γιατί ουσιαστικά καθορίζει των “ώμο” της καμπύλης επιβίωσης των κυττάρων στη περιοχή χαμηλών δόσεων ακτινοβολίας, δηλαδή όσο μεγαλύτερος είναι ο λόγος  $\alpha/\beta$  τόσο λιγότερη είναι η κυρτότητα της καμπύλης.



5.1 Εικόνα: Η επίδραση του λόγου  $\alpha/\beta$  στη καμπυλότητα της καμπύλης επιβίωσης στο LQ-Model.

[14]

Τώρα, με βάση τα δεδομένα που συλλέξαμε παρατηρήσαμε ότι το  $\alpha$  λαμβάνει πάντα θετικές τιμές (σε περίπτωση που υπήρχαν αρνητικές τιμές αυτές θα έπρεπε να απορριφθούν λόγω μηχανιστικής σκέψης), ενώ η παράμετρος  $\beta$  λαμβάνει είτε πολύ μικρές τιμές (τιμές κοντά στο μηδέν ή δύο-τρεις τάξεις μεγέθους μικρότερες από τις τιμές της παραμέτρου  $\alpha$ ) είτε και αρνητικές τιμές, κάτι το οποίο πρακτικά δεν μπορεί να υφίσταται. Οι λόγοι, οι οποίοι οδηγούν σε αρνητικές ή πολύ μικρές τιμές του  $\beta$  μπορεί να οφείλονται είτε σε στατιστικές διακυμάνσεις, είτε σε πειράματα που έχουν διεξαχθεί σε ετερογενείς καρκινικούς κυτταρικούς πληθυσμούς με αποτέλεσμα να υπάρχει μία «ελαφριά» κάμψη της καμπύλης επιβίωσης (για αρνητικές τιμές), λόγω του ότι μπορεί κάποια κύτταρα να εμφανίζουν μεγαλύτερη ακτινο-αντοχή από άλλα. Δηλαδή, σε κάποια δόση τα ακτινοευαίσθητα κύτταρα θα αρχίσουν να επηρεάζονται και θα θανατώνονται από την Ι.Α. σε σχέση με άλλα που να παραμείνουν ανεπηρέαστα. Αυτό είναι ένα βασικό

χαρακτηριστικό που μπορεί συχνά να εμφανιστεί λόγω της φύσης πολλών καρκινικών όγκων που παρουσιάζουν ετερογένεια έχοντας έτσι ένα ευρύ φάσμα ευαισθησίας στην ακτινοβολία, όπως είναι η γενετική τους αστάθεια, οι διαβαθμίσεις τους σε επάρκεια οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών, αλλά και της κλωνικής τους κατανομής (clonal distribution).<sup>[5]</sup> Επιπλέον, ένας ακόμη λόγος εμφάνισης αρνητικών τιμών στη τιμή της παραμέτρου  $\beta$  είναι η συνύπαρξη διαφορετικών κυτταρικών υποπληθυσμών με διαφορετική ραδιοευαισθησία εντός μίας κυτταρικής καλλιέργειας. Έτσι τα ανθεκτικά στην ακτινοβολία κύτταρα αποκτούν σε υψηλές δόσεις αυξημένη πιθανότητα επιβίωσης, με αποτέλεσμα τις αρνητικές τιμές στο  $\beta$ . Οι αρνητικές τιμές εμφανίζονται τις περισσότερες φορές για υψηλές τιμές  $\alpha$ . Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι π.χ. σε έναν ακτινο-άντοχο υποπληθυσμό (όπως κύτταρα στη φάση S, όπου η επιδιόρθωση των βλαβών είναι σε ικανοποιητικά επίπεδα) έχει την πιθανότητα να επιβιώσει σε ενδιάμεσες δόσεις, όταν τα πιο ευαίσθητα κύτταρα είναι ήδη απενεργοποιημένα εξαιτίας της μεγάλης τιμής του  $\alpha$ .<sup>[2]</sup> Επίσης, στα δεδομένα που συλλέξαμε στη πλειονότητα των περιπτώσεων τα κύτταρα είναι ασύγχρονα, κάτι το οποίο σημαίνει ότι τα κύτταρα ενός κυτταρικού πληθυσμού βρίσκονται σε διαφορετικές φάσεις του κυτταρικού κύκλου με συνέπεια εκείνα που βρίσκονται στη φάση  $G_2$  να είναι πιο ακτινοευαίσθητα σε σχέση με εκείνα που βρίσκονται στις φάσεις S,  $G_1/G_0$ .

Με βάση, λοιπόν, τα  $\alpha$  και  $\beta$  που προέκυψαν από την ανάλυση των δεδομένων, υπολογίστηκε και ο λόγος  $\alpha/\beta$ . Ο λόγος  $\alpha/\beta$  από κλινικής άποψης είναι ιδιαίτερα σημαντικός, διότι με βάση αυτό βγάζουμε ένα συμπέρασμα για το τι είδους θεραπευτικό σχήμα πρέπει να ακολουθήσουμε με σκοπό την εξάλειψη όσο το δυνατόν αποτελεσματικότερα των καρκινικών κυττάρων, ενός οργανισμού. Σύμφωνα, με τη βιβλιογραφία (από μελέτες παλαιότερων ετών) η τιμή του λόγου  $\alpha/\beta$  μπορεί να παίρνει τιμές πολύ μικρές  $\approx 1$  Gy, αλλά μπορεί να λαμβάνει και τιμές κοντά στα 45-50 Gy, είτε για υπερβολικά ταχέως αναπτυσσόμενους ιστούς είτε κυρίως για διάφορες μορφές καρκίνων.<sup>[3]</sup> Ακολουθεί ένα απόσπασμα των πειραματικών μας δεδομένων.

| Human Cells | Tissue                  | CellClass | CellCycle | ai_fit | bi_fit   | $\alpha/\beta$ (Gy) |
|-------------|-------------------------|-----------|-----------|--------|----------|---------------------|
| MGH-U1      | Bladder                 | t         | a         | 1,539  | 0,829    | 1,86                |
| CGL1        | Skin fibroblasts x He n | a         | a         | 1,304  | 0,036    | 36,22               |
| HF19        | Lung fibroblasts        | n         | a         | 4,878  | (-)1,087 | 4,49                |
| TK6         | Spleen                  | n         | a         | 3,51   | (-)2,077 | 1,69                |
| RPE-1       | Retina eye              | n         | a         | 9,787  | (-)3,534 | 2,77                |
| LNCaP       | Prostate                | t         | a         | 1,365  | 0,387    | 3,53                |
| Panc1       | Pancreas                | t         | a         | 1,291  | (-)0,095 | 13,59               |
| MDA-MB-231  | Breast                  | t         | a         | 4,489  | (-)1,113 | 4,03                |

Πίνακας 5.1: Οι τιμές  $\alpha$  και  $\beta$  καθώς και ο λόγος  $\alpha/\beta$  για διάφορες κυτταρικές σειρές.

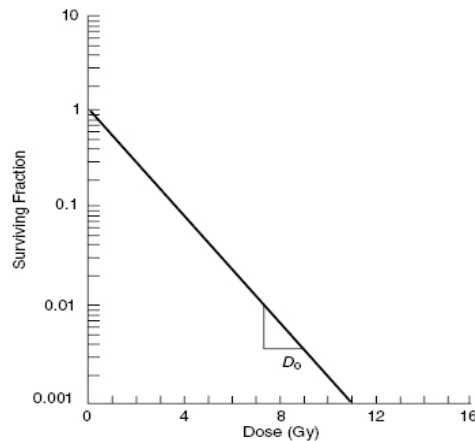
Από το παραπάνω πίνακα, προκύπτει ότι π.χ. για τη κυτταρική σειρά CGL1, όπου μιλάμε για τη σύντηξη κυττάρων από τα καρκινικά κύτταρα HeLa και των φυσιολογικών επιθηλιακών κυττάρων του ανθρώπινου δέρματος, παρατηρούμε ότι ο λόγος  $\alpha/\beta$  είναι υψηλός  $\approx 36$  Gy, ενώ από τη βιβλιογραφία οι τιμές είναι αρκετά ψηλές τις τάξης των 26 Gy<sup>[3]</sup>. Αυτό οφείλεται στο ότι και τα επιθηλιακά κύτταρα του δέρματος και τα καρκινικά κύτταρα είναι ταχέως αναπτυσσόμενα. Επίσης, για την κυτταρική σειρά Fadu που αφορά καρκινικά κύτταρα στο φάρυγγα είναι  $\approx 12$  Gy, διότι η πλειονότητα των καρκίνων λαμβάνει

τιμές κοντά στο 8-10 Gy<sup>[49]</sup>. Βέβαια υπάρχουν και Ca για παράδειγμα του πνεύμονα και του προστάτη που σε αρκετές περιπτώσεις εμφανίζουν χαμηλές τιμές, όπως για παράδειγμα από 1-5 Gy.<sup>[48]</sup> Επίσης, όσο αφορά το Ca breast ο λόγος α/β=4.03 κάτι το οποίο έρχεται σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία.<sup>[4]</sup> Ακόμα, βλέπουμε για παράδειγμα ότι η κυτταρική σειρά TK6, που πρόκειται για φυσιολογικό ιστό της σπλήνας έχει χαμηλό λόγο α/β, κάτι το οποίο επιβεβαιώνεται, διότι ο ιστός της σπλήνας είναι ένας βραδέως αναπτυσσόμενος ιστός.

Γενικά, από τα πειραματικά μας δεδομένα, οι περισσότεροι λόγοι α/β για καρκινικούς όγκους που προέκυψαν για τιμές από 6-25 Gy (με εξαιρέσεις το Ca breast, Ca Lung και κάποιες τιμές του Ca prostate), συμφωνούν με τις τιμές από τη βιβλιογραφία <sup>[18]</sup>. Βέβαια υπήρξαν και τιμές περίπου 30-40 Gy για καρκινικούς όγκους, κάτι το οποίο οφείλεται κυρίως στη μικρή τιμή της παραμέτρου β. Αυτό οφείλεται είτε στο ότι οι μελέτες προέκυψαν από έκθεση των κυττάρων σε σωματιδιακή ακτινοβολία-α που είναι High-LET radiation με αποτέλεσμα η παράμετρος α να είναι πολύ μεγαλύτερη από το β, και δίνει σχετικά μεγάλους λόγους, είτε γιατί θα μπορούσε ορισμένες τιμές του β, να περιέχουν συστηματικά σφάλματα από τη διαδικασία με το πρόγραμμα WebPlotDigitizer (σφάλματα στη βαθμονόμηση των αξόνων, στις συντεταγμένες των σημείων κλπ.). Επίσης, ένα ακόμη λόγος, ο οποίος θα μπορούσε να οφείλεται είτε στις πολύ μικρές ή στις αρνητικές τιμές του παράγοντα ραδιοευαισθησίας β είναι ότι σε κάθε κυτταρική σειρά μπορεί τα πειραματικά μας δεδομένα να μην επαληθεύονται από το LQ Model. Άλλα μοντέλα, τα οποία αφορούν πειραματικά δεδομένα είναι το μοντέλο του στόχου, όπου αναφέρει ότι το να επιβιώσει ένα κύτταρο έχει εξάρτηση από τη πιθανότητα να πληγεί μία συγκεκριμένη περιοχή του κυττάρου, η οποία είναι απολύτως σημαντική για την αναπαραγωγική του ικανότητα. Έτσι η πιθανότητα αυτή ακολουθεί μία κατανομή Poisson, όπου η πιθανότητα αντιστοιχεί στο κλάσμα επιβίωσης είναι ίση με:

$$P = \frac{N}{N_0} = e^{-D/D_0} \Rightarrow SF = e^{-D/D_0} \quad (1)$$

Όπου το D<sub>0</sub> είναι η δόση στην οποία θανατώνεται το 63% του αρχικού πληθυσμού N<sub>0</sub>. Στο συγκεκριμένο μοντέλο οι καμπύλες επιβίωσης είναι πάντα ευθείες γραμμές με το άξονα του κλάσματος επιβίωσης να είναι λογαριθμικός. Το μοντέλο του στόχου είναι συμβατό για τις περιπτώσεις ιών και βακτηρίων, αλλά έχει και εφαρμογές που αφορούν τα ανθρώπινα κύτταρα που είναι ιδιαίτερα ακτινοευαίσθητα, αλλά και σε περιπτώσεις όπως χαμηλούς ρυθμούς δόσεις ή ακτινοβολίες High-LET, όπως τα α-σωμάτια που μελετάμε<sup>[1]</sup>. Οπότε αν ακολουθούσαμε αυτό το μοντέλο ίσως οι τιμές της παραμέτρου β και μετέπειτα του λόγου α/β για κάποιες συγκεκριμένες κυτταρικές σειρές να μας έδιναν πιο ικανοποιητικά αποτελέσματα. Για παράδειγμα σύμφωνα και με την εικόνα 3.8 που παρουσιάζει την ακτινοευαισθησία των κυττάρων στον άνθρωπο, παρατηρούμε ότι τα σπερματογόνα κύτταρα είναι ιδιαίτερα ακτινοευαίσθητα, οπότε γι' αυτό και στα δεδομένα που έχουμε αρκετές φορές οι λόγοι α/β δεν είναι αυτοί που περιμένουμε με βάση τη βιβλιογραφία για το Ca προστάτη. (Σ' αυτό το σημείο να επισημάνουμε ότι για αρνητικές τιμές του β, βρήκαμε την απόλυτη τιμή του λόγου α/β). Στην επόμενη σελίδα, παρουσιάζεται η καμπύλη του μοντέλου της θεωρίας του στόχου.



5.2 Εικόνα: Το μοντέλο της θεωρίας του στόχου ("Single Target/Single Hit Model").  
(Πηγή: radiology.key.com)

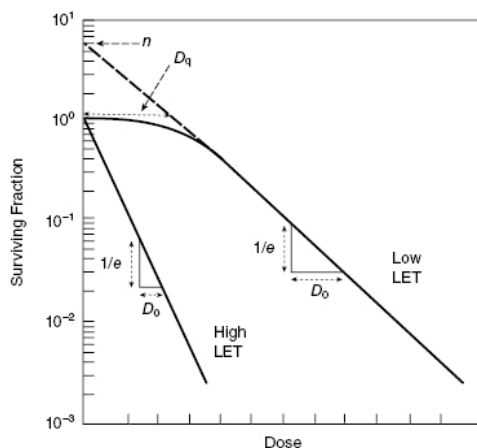
Επίσης, πέρα από αυτό το μοντέλο υπάρχει και το μοντέλο των πολλαπλών στόχων ("Multi Target Model") που σε αναλογία με το τύπο (1), της προηγούμενης σελίδας, η πιθανότητα να «χτυπηθεί» ένας από τους  $n$  στόχους <sup>[1]</sup>:

$$P(\text{πληγεί ένας στόχος}) = 1 - e^{-\frac{D}{D_0}} \quad (2)$$

$$P(\text{πληγούν όλοι οι στόχοι}) = \left[1 - e^{-\frac{D}{D_0}}\right]^n \quad (3)$$

Επομένως, το κλάσμα επιβίωσης σ' αυτή τη περίπτωση είναι:

$$SF = \left[1 - e^{-\frac{D}{D_0}}\right]^n \quad (4)$$



5.3 Εικόνα: Το μοντέλο της θεωρίας πολλαπλών στόχων ("Multi Target Model").  
(Πηγή: radiology.key.com)

Το μοντέλο πολλαπλών στόχων χρησιμοποιείται και για Low-LET και για High-LET ακτινοβολίες. Στις περισσότερες κυτταρικές σειρές στη περιοχή μικρών δόσεων εμφανίζεται ένας "ώμος", δηλαδή έχουμε περιορισμένη μείωση όσο αφορά την επιβίωση τους, λόγω της δράσης των επιδιορθωτικών μηχανισμών. Ενώ, σε υψηλές δόσεις η καμπύλη επιβίωσης λαμβάνει μία εκθετικά φθίνουσα μορφή, διότι ο ρυθμός με τον οποίο συσσωρεύονται οι ακτινικές βλάβες είναι μεγαλύτερη από τον ρυθμό επιδιόρθωσης, είτε έχουμε ελλιπή επιδιόρθωση, είτε ακόμα και γιατί και κάποια ενζυμικά συστήματα επιδιόρθωσης είναι ακτινοευαίσθητα. <sup>[1],[13]</sup>

### **5.3 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΛΟΓΟΥ $\alpha/\beta$ ΜΕ ΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ**

Ένας από τους λόγους που υπολογίσαμε το λόγο  $\alpha/\beta$  είναι πέρα από τις συγκρίσεις με τη θεωρητικά δεδομένα, να κάνουμε και μία αναφορά σχετικά με την θεραπεία των καρκινικών κυττάρων.

Πλέον, ο τρόπος θανάτωσης καρκινικών κυττάρων γίνεται μέσω της κλασματοποίησης της δόσης (ή αλλιώς κερματισμό) ανά συνεδρίες. Ο κερματισμός της δόσης βοηθάει στο να κατανοηθεί καλύτερα η διαφορά μεταξύ των ιστών που έχουν υψηλό  $\alpha/\beta$  και χαμηλό  $\alpha/\beta$ , δηλαδή αν αναφερόμαστε σε Οξέως Αντιδρώντες και Όψιμους αντιδρώντες ιστούς, αντίστοιχα.

Ο κλασσικός κερματισμός δόσης, αφορά μία συνεδρία την ημέρα, όπου δίνεται δόση της τάξης του 1.8-2 Gy, για πέντε μέρες την εβδομάδα (από Δευτέρα έως Παρασκευή). Όμως, συχνά προτιμώνται άλλες θεραπείες, όπως ο υπερκερματισμός της δόσης (**hyperfractionation**), που αναφέρεται στο κερματισμό της δόσης όπου τα κλάσματα δόσης που χορηγούνται σε κάθε συνεδρία είναι μικρότερα του 1.8-2 Gy. Τα κλάσματα που χορηγούνται είναι περίπου 1.1-1.3 Gy, ενώ η συνολική δόση που δέχεται ο όγκος στόχος είναι περίπου 10% παραπάνω σε σχέση με το κλασσικό κερματισμό. Σ' αυτή τη περίπτωση συνήθως πραγματοποιούνται 2 συνεδρίες με ενδιάμεσο κενό τις 6 ώρες, έτσι ώστε η μη θανατηφόρες βλάβες που έχουν δεχθεί οι ΟΨ.Α.Ι να έχουν επιδιορθωθεί από τα ενζυμικά συστήματα. Επιπλέον, υπάρχει ο υποκερματισμός (**hypofractionation**), όπου η δόση είναι μεγαλύτερη των 2.2 Gy, έτσι μειώνονται οι επιδράσεις στους Ο.Ξ.Α.Ι και παράλληλα έχουμε λιγότερες συνεδρίες.

Εκτός, από τα παραπάνω σχήματα, εφαρμόζονται και τα σχήματα επιταχυνόμενου κερματισμού, όπου χορηγούνται ίδια κλάσματα με το κλασσικό κερματισμό, αλλά αντί για 1 συνεδρία την ημέρα, πραγματοποιούνται 2-3 συνεδρίες. Ο συνολικός χρόνος θεραπείας στον επιταχυνόμενο κερματισμό είναι μικρότερος του κλασσικού, ενώ η συνολική δόση που χορηγείται είναι περίπου ίδια. Το βασικό μειονέκτημα των σχημάτων του επιταχυνόμενου κερματισμού είναι οι οξείες αντιδράσεις των φυσιολογικών ιστών, κάτι το οποίο αντιμετωπίζεται είτε με διακοπή της θεραπείας για λίγες ημέρες, είτε μέσω χρήσης μικρών πεδίων ακτινοβολίας.<sup>[13]</sup>

Επομένως, συσχετίζοντας τα σχήματα θεραπείας με το λόγο  $\alpha/\beta$ , όταν ο λόγος είναι μεγαλύτερος από 10 Gy, προτιμάται το σχήμα του υπερκερματισμού ή του επιταχυνόμενου υπερκερματισμού, ενώ τα σχήματα επιταχυνόμενου (ή απλά) υποκερματισμού χρησιμοποιούνται για κακοήθειες που εμφανίζουν μικρό λόγο  $\alpha/\beta$ , όπως είναι ο Ca προστάτη.

Για το σχήμα που θα ακολουθηθεί στη θεραπεία ενός ασθενούς, είναι απαραίτητο να λάβουμε υπόψη μας τα 5'R της Ακτινοθεραπείας. Τα οποία είναι τα εξής:

- **Repair (Επιδιόρθωση):** Η επιδιόρθωση των μη θανατηφόρων βλαβών στα κύτταρα (είτε στους όγκους, είτε στους φυσιολογικούς ιστούς) ξεκινάει περίπου 1 ώρα μετά την ακτινοβολήση και διαρκεί για μερικές ώρες ( $\approx 4$  h), γι' αυτό και είναι σημαντικό να υπάρχει ένα μεσοδιάστημα μεταξύ των συνεδριών.

• Repopulation (Επαναποικισμός): Τα κύτταρα μετά την ακτινοβολήση αντικαθίστανται από κάποιους μηχανισμούς ομοιόστασης του οργανισμού, είτε ελαττώνοντας το χρόνο του κυτταρικού κύκλου επομένως η μίτωση λαμβάνει χώρα γρηγορότερα, είτε με αύξηση του κλάσματος υπό αναπαραγωγή (Growth Fraction).

• Reoxygenation (Επανοξυγόνωση): Η συγκέντρωση οξυγόνου διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ακτινοευαισθησία των κυττάρων, όπως περιεγράφηκε και στο 3<sup>ο</sup> Κεφάλαιο. Ο κερματισμός της δόσης δίνει τη δυνατότητα καλύτερης οξυγόνωσης στους καρκινικούς όγκους, λόγω της μείωσης των διατροφικών αναγκών των καρκινικών κυττάρων, εξαιτίας της μείωσης του κυτταρικού πληθυσμού. Βέβαια, η παρουσία οξυγόνου μπορεί να επιδρά θετικά, διότι οι όγκοι γίνονται περισσότερο ακτινοευαίσθητοι, αλλά παράλληλα αυξάνει την αναπαραγωγική τους ικανότητα.

• Redistribution (Ανακατανομή): Αφορά την ακτινοευαισθησία στις διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου, όπως έχουμε αναφέρει αρκετές φορές στη παρούσα εργασία τα κύτταρα αποκτούν τη μέγιστη ακτινοευαισθησία στη φάση G<sub>2</sub> και τη φάση της μίτωσης M. Στη συνέχεια ακολουθούν η φάση G<sub>1</sub> και S. (Εικόνα 3.13). Κατά την ακτινοβολήση, λοιπόν, καταστρέφονται επιλεκτικά τα κύτταρα που βρίσκονται στις πιο ακτινοευαίσθητες φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Τα ακτινοβολημένα κύτταρα συσσωρεύονται στη φάση της μίτωσης και ο απώτερος σκοπός είναι το επόμενο κλάσμα της δόσης που θα χορηγηθεί να "πετύχει" όσο το δυνατόν περισσότερα κύτταρα να βρίσκονται συγχρονισμένα στη φάση της μίτωσης.

• Radiosensitivity (Ακτινοευαισθησία): Το πόσο ακτινοευαίσθητος ή ακτινοάντοχος είναι ένας όγκος, όπως π.χ. το οστεοσάρκωμα, το μελάνωμα και ο Ca νεφρού είναι περισσότερο ακτινοάντοχοι σε σχέση με το νευροβλάστωμα ή το λέμφωμα.<sup>[19]</sup>

Κλείνοντας, αυτή τη παράγραφο είναι σημαντικό να αναφέρουμε σε ποιο μέρος της κλινικής θεραπείας χρησιμοποιείται ο λόγος α/β. Με βάση το μοντέλο LQ Model το κλάσμα επιβίωσης δίδεται από τη σχέση:

$$S = e^{-\alpha D + \beta D^2} \quad (5)$$

Το βιολογικό αποτέλεσμα E προκύπτει μέσω του φυσικού λογάριθμου του κλάσματος επιβίωσης.

$$E = -\ln S = \alpha D + \beta D^2 \quad (6)$$

Αν διαιρέσουμε τη παραπάνω εξίσωση με τη παράμετρο α, θα προκύψει η βιολογικά δραστική δόση BED, που χρησιμοποιείται στη κλασματοποιημένη ΑΚΘ.

$$BED = D * \left[ 1 + \frac{D}{\left(\frac{\alpha}{\beta}\right)} \right] \quad (7)$$

Όπου στο κερματισμό δόσης για n συνεδρίες και ημερήσια δόση d, όπου D=nd, προκύπτει ότι το BED δίνεται μέσω της παρακάτω σχέσης:

$$BED = nd * \left[ 1 + \frac{nd}{\left(\frac{\alpha}{\beta}\right)} \right] \quad (8)$$

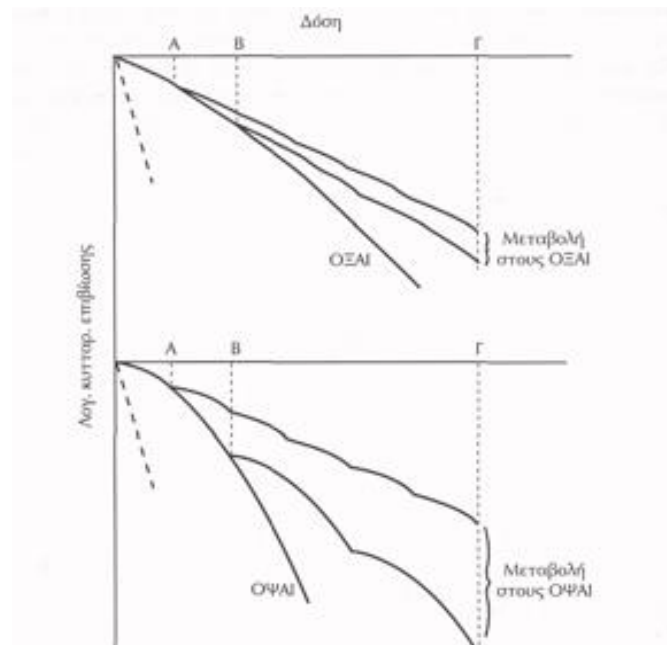
Ενώ, αν λάβουμε υπόψιν και το χρόνο επαναποικισμού, η βιολογική ενεργός δόσης, δίνεται από τη παρακάτω σχέση<sup>[15],[20]</sup>:

$$BED = nd * \left[ 1 + \frac{nd}{\left(\frac{\alpha}{\beta}\right)} \right] - \frac{\ln 2 * (T - Tk)}{a * T_{pot}} \quad (9)$$

$$BED = nd * \left[ 1 + \frac{nd}{\left(\frac{\alpha}{\beta}\right)} \right] - kT \quad (10)$$

Όπου T είναι ο χρόνος θεραπείας, Tk τότε ξεκινάει το έναυσμα για τη διαδικασία του επαναποικισμού και Tpot είναι ο χρόνος διπλασιασμού των κυττάρων μίας κυτταρικής σειράς. Στη σχέση (10) το k εκφράζει το ημερήσιο ισοδύναμο BED του επαναποικισμού και έχει μονάδες Gy/day και προφανώς το T περιγράφει το συνολικό χρόνο της θεραπείας<sup>[20]</sup>.

Συμπερασματικά, λοιπόν, ο λόγος α/β είναι εξαιρετικά σημαντικός, διότι είναι εκείνος που καθορίζει πιο ακτινοθεραπευτικό σχήμα θα χρησιμοποιηθεί. Ειδικότερα, όταν ο λόγος α/β είναι μικρός, δηλαδή στους ΟΨ.Α.Ι. (ή σε καρκίνους όπως του προστάτη, που είναι μικρότερης κακοήθειας) η ευαισθησία στο κερματισμό της δόσης είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τους ΟΞ.Α.Ι. ιστούς και τους περισσότερους καρκινικούς όγκους που έχουν συνήθως υψηλές τιμές του λόγου α/β. Για παράδειγμα αν σε ένα ακτινοθεραπευτικό σχήμα αυξηθεί η δόση από μία τιμή Α σε μία τιμή Β ανά συνεδρία θα παρουσιαστούν περισσότερες βλάβες στους ΟΨ.Α.Ι. Γι' αυτό και στο Ca του προστάτη ακολουθείται υποκερματισμό δόσης, δηλαδή αύξηση της δόσης ανά συνεδρία >2.2. Gy.



5.4 Εικόνα: Το κλάσμα επιβίωσης για ΟΞ.Α.Ι (α/β>10 Gy) και στους ΟΨ.Α.Ι (α/β<5 Gy).<sup>[13]</sup>

## 5.4 ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ ΜΕ ΤΟ MCDS

### 5.4.1 Γενικά χαρακτηριστικά του MCDS

Στη συνέχεια, της παρούσας εργασίας θα ασχοληθούμε με τις προσομοιώσεις των βλαβών στο DNA. Ο λόγος, που χρησιμοποιούνται οι προσομοιώσεις για τις βλάβες στο DNA, ώστε να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα, οφείλεται στο γεγονός ότι οι βλάβες είναι πολύ δύσκολο να καταμετρηθούν *in situ* μία προς μία. Οι προσομοιώσεις μας δίνουν μια γενικότερη εικόνα των βλαβών σε τάξη μεγέθους  $\mu\text{m}$  και  $\text{nm}$ , όπου μπορεί να εντοπιστεί μία σύνθετη (ομαδοποιημένη) βλάβη.<sup>[10]</sup> Οι πιο πολυχρησιμοποιούμενες παγκοσμίως μέθοδοι προσομοίωσης αφορούν τις μεθόδους Monte Carlo, που πέρα από τη Ακτινοβιολογία, χρησιμοποιείται και σε πολλούς τομείς της επιστήμης και πολλούς κλάδους της Φυσικής, όπως στη Φυσική Υψηλών Ενεργειών. Στη τομέα της Ακτινοβιολογίας και κατ' επέκταση στην Ιατρική Φυσική χρησιμοποιούνται για να μελετηθούν με εξαιρετική ακρίβεια οι αλληλεπιδράσεις των ιόντων, αλλά και το δευτερογενών ηλεκτρονίων που παράγονται κατά τους ιονισμούς/διεγέρσεις με το κύριο συστατικό των κυττάρων, δηλαδή το νερό, αλλά και το γενετικό υλικό (DNA).

Στη παρούσα διπλωματική, χρησιμοποιήσαμε το κώδικα προσομοίωσης MCDS. Ο κώδικας **Monte Carlo Damage Simulation (MCDS)** αναπτύχθηκε από τους Seremenko και Stewart. Ο κώδικας MCDS χρησιμοποιείται για την προσομοίωση βλαβών στο DNA, όπως είναι οι βλάβες DSBs, SSBs, οι βλάβες σε βάσεις και οι ομαδοποιημένες βλάβες (DNA cluster lesions). Είναι ένας αλγόριθμος fast Monte Carlo σε σχέση με τους υπόλοιπους κώδικες track-structure, όπου η προσομοίωση διαρκεί δευτερόλεπτα έως μερικά λεπτά. Το MCDS χρησιμοποιεί μονοενεργειακά ηλεκτρόνια, πρωτόνια,  $\alpha$ -σωμάτια (πυρήνες Ηλίου) και άλλα βαρέα ιόντα, όπως ιόντα άνθρακα με τα πιο βαριά φορτισμένα σωματίδια που υπάρχουν στο πρόγραμμα να είναι τα ιόντα εκείνα, που έχουν ατομικό αριθμό  $Z=26$ , δηλαδή τα ιόντα  $^{56}\text{Fe}$ , με ενέργειες από μερικά eV έως της τάξης των μερικών GeV. Ο συγκεκριμένος κώδικας έχει και τη δυνατότητα να παράγει τον αριθμό των βλαβών στο DNA και από ένα "μείγμα" Ιοντιζουσών ακτινοβολιών. Ωστόσο, ο κώδικας δεν έχει τη δυνατότητα να παράγει απευθείας αποτελέσματα σε έκθεση κυττάρων από φωτόνια και νετρόνια, αλλά μέσω της κατανομής των δευτερογενών ηλεκτρονίων που παράγονται μέσω της αλληλεπίδρασης τους με το γενετικό υλικό του κυττάρου. Επίσης, λαμβάνοντας υπόψιν το φάσμα των ενεργειών για κάθε τύπο σωματιδίου που εμπεριέχεται στο MCDS, το πρόγραμμα δέχεται ένα συγκεκριμένο όριο ενεργειών στο input ώστε να ξεκινήσει η διαδικασία της προσομοίωσης. Δηλαδή, για τα ηλεκτρόνια το επιτρεπόμενο όριο ξεκινάει από μερικά eV, ενώ όσο αυξάνει ο ατομικός αριθμός του σωματιδίου τόσο αυξάνει και το ελάχιστο επιτρεπόμενο όριο που μπορεί να λάβει η τιμή της ενέργειας, ώστε να ξεκινήσει κανονικά η προσομοίωση των βλαβών στο DNA.

Πέρα από της ενέργειες και το τύπο σωματιδίου, ο κώδικας του MCDS παρέχει τη δυνατότητα να πραγματοποιηθούν προσομοιώσεις, που αφορούν διαφορετικές συγκεντρώσεις οξυγόνου στα κύτταρα. Έτσι, μπορεί να μελετηθεί εκτενώς η επίδραση της αυξημένης παρουσίας του οξυγόνου στην επαγωγή σύνθετων ομαδοποιημένων βλαβών στο DNA. Λόγω του γεγονότος ότι το MCDS παρέχει προσομοιώσεις τόσο για άμεσους όσο και για έμμεσους μηχανισμούς βλάβης του DNA, χρησιμοποιεί έναν εξωγενή scavenger ελεύθερων ριζών (DMSO) και έτσι λαμβάνει υπόψιν του τις μειώσεις στο συνολικό ποσό των θραύσεων της μίας έλικας ή των δύο ελίκων του DNA ή των βλαβών

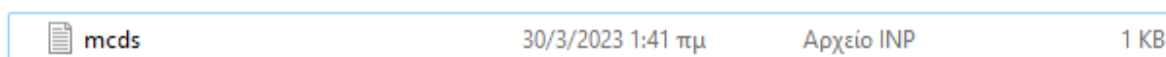
της βάσης λόγω της παρουσίας του scavenger. <sup>[21]</sup> Ο scavenger είναι μία χημική ουσία που αντιδρά και “αφαιρεί” μόρια ή ομάδες μορίων, όπως για παράδειγμα ελεύθερες ρίζες που, όπως περιγράφηκε και στο 3<sup>ο</sup> Κεφάλαιο της εργασίας είναι υπεύθυνες για τη δημιουργία βλαβών από την έμμεση δράση της ακτινοβολίας. Τέλος, είναι σημαντικό να τονιστεί ότι τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων αναφέρονται στον αριθμό των βλαβών, πριν την δράση των επιδιορθωτικών οργανισμών.

Εκτός, από τις βλάβες στο DNA, που προκαλούνται από την έκθεση ενός συγκεκριμένου τύπου σωματιδίου με συγκεκριμένη ενέργεια, το MCDS αναφέρει πληροφορίες όπως η ανασχετική ισχύς των σωματιδίων στο νερό (stopping power), την εμβέλεια τους (Range CSDA), την απορροφούμενη δόση, την ενέργεια μετάδοσης ανά συμβάν ακτινοβολίας (Energy imparted per radiation event), αλλά και τη γραμμική μεταφορά ενέργειας (LET).

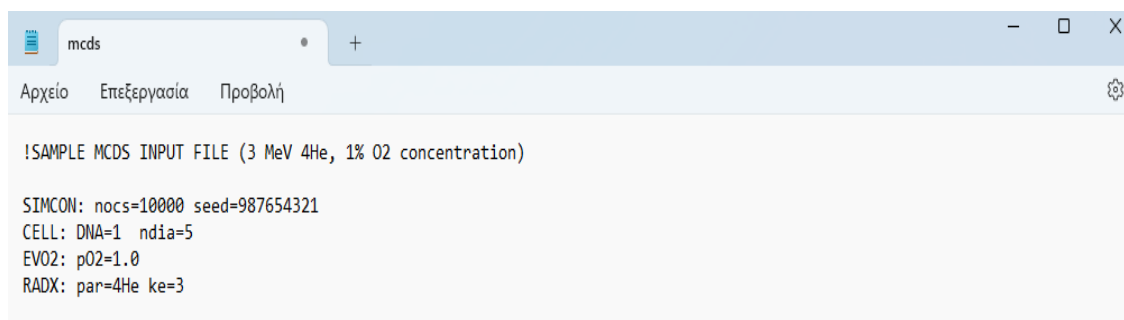
Τώρα, όσο αφορά το διαδικαστικό κομμάτι, το MCDS διαβάζει τις απαραίτητες πληροφορίες που έχει εισάγει ο χρήστης, π.χ. το τύπο του σωματιδίου, την ενέργεια, την απορροφούμενη δόση κλπ. από ένα αρχείο εισόδου τύπου ASCII και στη συνέχεια, αφού πρώτα εκτελεστεί η προσομοίωση εγγράφει τα αποτελέσματα σε ένα άλλο αρχείο τύπου ASCII, που ονομάζεται αρχείο εξόδου. <sup>[22]</sup>

Η διαδικασία, λοιπόν, που ακολουθήσαμε σε κάθε προσομοίωση για να εξαχθούν τα αποτελέσματα ήταν η εξής:

Αρχικά, έχουμε ένα αρχείο εισόδου σε μορφή σημειωματάριου, όπως φαίνεται και στη παρακάτω εικόνα:



5.5 Εικόνα: Αρχείο εισόδου, που όταν το ανοίξουμε θα εισάγουμε τα απαραίτητα δεδομένα ώστε να “τρέξει” ο κώδικας.



5.6 Εικόνα: Αρχείο εισόδου, που εισάγαμε κάποιες παραμέτρους, όπως το τύπο τους σωματιδίου, την ενέργεια και τη συγκέντρωση οξυγόνου σε ένα κύτταρο διαμέτρου 5  $\mu\text{m}$  (διάμετρος ενός πυρήνα τυπικού ευκαρυωτικού κυττάρου).

Στο αρχείο εισόδου, λοιπόν, το πρόγραμμα MCDS περιλαμβάνει τις εξής παραμέτρους:

- **CELL: Χαρακτηριστικά και παράμετροι του κυττάρου**

- DNA = Ο αριθμός των νουκλεοτιδίων της διπλής έλικας του DNA, σε ζεύγη βάσεων (σε Gbp=Giga base pair)
- NDIA = Διάμετρος του πυρήνα του κυττάρου (σε  $\mu\text{m}$ )
- CDIA = Διάμετρος του κυττάρου, που δεν θα πρέπει να υπερβαίνει το NDIA.
- WEM = Απόσταση που πρέπει να ταξιδέψει το σωματίδιο για να φτάσει στην επιφάνεια του κυττάρου σε ισοδύναμο νερού (Water-equivalent) ( σε  $\text{mg}/\text{cm}^2$ )

- **SIMCON: "simulation control" parameters, δηλαδή παράμετροι προσομοίωσης**
  - seed = seed για την γεννήτρια παραγωγής ψευδοτυχαίων τυχαίων αριθμών (default = 987654321)
  - nocs = αριθμός προσομοιώσεων MC, η κάθε προσομοίωση αναπαριστά τη βλάβη σε ένα κύτταρο

- **RADX: Παράμετροι για την έκθεση ακτινοβολίας**
  - FN = όνομα δευτερεύοντος αρχείου, που αφορά πολυενεργειακά ή mixed πεδία έκθεσης από διάφορους τύπους σωματιδίων.
  - PAR = τύπος σωματιδίου (π.χ. , e, p, 1H, 2H, 4He, 12C, 56Fe, ...}
  - KE = Κινητική ενέργεια σωματιδίου (σε MeV)
  - MeV/A = Κινητική ενέργεια που περιγράφεται σε MeV ανά νουκλεόνιο του πυρήνα (χρησιμοποιείται συχνά για βαρέα ιόντα)
  - AD = απορροφούμενη δόση που λαμβάνει ο πυρήνας (σε Gy)

- **EVO2: Περιβαλλοντική Συγκέντρωση O<sub>2</sub> ("oxygen effect")**
  - pO<sub>2</sub> = Συγκέντρωση του οξυγόνου % (0 έως 100%)
  - mmHg = εναλλακτική μέθοδος καθορισμού της συγκέντρωσης του O<sub>2</sub> σε στήλες υδραργύρου (760 mmHg = 100%)
  - m0 = κατά προσέγγιση μέγιστο OER για επαγωγή SSB (m0\*m0 = κατά προσέγγιση μέγιστο OER για επαγωγή DSB)
  - k = συγκέντρωση στην οποία εμφανίζεται το μισό του μεγίστου OER
  - q = Παράμετρος που σχετίζεται με τη διόρθωση σε σχέση με το είδος της ακτινοβολίας
  - r = Παράμετρος που σχετίζεται με τη διόρθωση σε σχέση με το είδος της ακτινοβολίας

- **EMSO: Παράμετροι που σχετίζονται με τις επιπτώσεις του DMSO**
  - CONC = Συγκέντρωση DMSO (σε mol dm<sup>-3</sup>)
  - FNSD = κλάσμα των non-scavengable DNA damage
  - CHMX = Συγκέντρωση στο μισό (mol dm<sup>-3</sup>)

Όταν οριστούν οι παράμετροι και οι αντίστοιχες τιμές κάθε παραμέτρου, πλέον ο κώδικας είναι έτοιμος να εκτελεστεί. Στη παρακάτω εικόνα φαίνεται το executable αρχείο.

```

MCDS Version 3.10A 05-DEC-2011
=====
10000      number of cells (nocs)
0.0000E+00 water-equivalent material (WEM) thickness (mg/cm^2)
1.0000E+00 Desired dose to the cell nucleus (Gy)
1.0000E+00 DNA content (Gbp)

TARGET (cell) DEFINITION (4V/S = mean chord length)
=====
          DIAMETER      4V/S      Volume      Mass
          (um)           (um)      (um^3)      (ng)
-----
DNA          ---          ---      1.021E+00  1.021E-03
NUCLEUS      5.000E+00  3.333E+00  6.545E+01  6.545E-02
CYTOPLASM    ---          ---      0.000E+00  0.000E+00
CELL         5.000E+00  3.333E+00  6.545E+01  6.545E-02
=====
NOTE: In human DNA, 1 Gbp=0.979 ng (not including bound
H2O). DNA volume computed using a density of 1 g/cm^3.

DAMAGE FORMATION AND CLUSTERING (normoxic conditions)
38552      segment length, nseg (bp per cell per Gy)
1300       number of strand breaks, sigSb (per cell per Gy)
3900       number of base damages, sigBd (per cell per Gy)
3.0        base damage to strand break ratio, f
9          minimum distance between clusters, Nmin (bp)
10         maximum distance between two Sb to compose a DSB, Ndsb (bp)
0.0        fraction Bl/Bd
  
```

```

OXYGEN SIMULATION (M0=1.740, K=0.3372, q=946.10, r=2.15)
1.0000E+00 % O2 concentration (=7.60 mmHg)
2.3868E-02 chemical repair probability (pcr)
9.7613E-01 O2 fixation probability (1-pcr)
1.0245E+00 Approx. HRF for SSB induction [=1/(1-pcr)]
1.0495E+00 Approx. HRF for DSB induction [=1/(1-pcr)]^2

INCIDENT PARTICLE: 4He (mass = 4.00260E+00 u = 3.72738E+03 MeV/c^2)
3.0000E+00 MeV >= 1.0000E-06 MeV
7.5000E-01 MeV/A >= 2.5000E-07 MeV/A)
1.49577E+02 MeV (p*c = momentum x speed of light)
8.2905E-03 pm (de Broglie wavelength)
1.00080E+00 = T/m0c2+1 (Lorentz factor) >= 1
1.91493E+00 ABS(effective charge); Barkas 1963
4.00970E-02 beta = (v/c) <= 1
2.28078E+03 (zeff/beta)^2 <= 2.000E+05
1.26643E+02 keV/um (total stopping power in H2O)
1.26531E+02 keV/um ( 99.911% electronic)
1.12670E-01 keV/um ( 0.089% nuclear)
9 minimum distance between clusters, Nmin (bp)
10 maximum distance between two Sb to compose a DSB, Ndsb (bp)
TIME (min) ----- clusters/(Gy-Gbp) -----
Elapsed Remaining DSB SSB TOTAL nsim sim/s
2.9E-02 2.3E-01 2.362E+01 1.061E+02 2.401E+02 1.09E+03 6.35E+02
5.4E-02 2.0E-01 2.358E+01 1.062E+02 2.401E+02 2.08E+03 6.47E+02
7.6E-02 1.7E-01 2.357E+01 1.062E+02 2.401E+02 3.07E+03 6.71E+02
1.0E-01 1.5E-01 2.358E+01 1.062E+02 2.402E+02 4.06E+03 6.45E+02

```

5.7 Εικόνα: Εκτελέσιμο (executable) αρχείο, όπου πραγματοποιείται η προσομοίωση.

mcds 4/4/2023 1:30 μμ Αρχείο OUT 38 KB

5.8 Εικόνα: Αρχείο εξόδου, που όταν το ανοίξουμε, όπου βρίσκονται καταχωρημένα τα δεδομένα που προέκυψαν από την προσομοίωση.

| TABLE 2. Number of clusters per cell (DNA=1.000 Gbp, AD=1.000 Gy). |             |             |             |             |             |             |              |             |  |
|--------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|--|
| Number of lesions                                                  | DSB         |             | SSB         |             | OTHER       |             | ALL CLUSTERS |             |  |
|                                                                    | Average     | SEM         | Average     | SEM         | Average     | SEM         | Average      | SEM         |  |
| 1                                                                  | ---         | ---         | 1.70210E+01 | 1.60894E-02 | 5.10936E+01 | 2.63059E-02 | 6.81146E+01  | 2.98889E-02 |  |
| 2                                                                  | 1.60437E+00 | 5.10887E-03 | 1.97888E+01 | 1.73623E-02 | 2.74951E+01 | 2.02246E-02 | 4.88883E+01  | 2.68502E-02 |  |
| 3                                                                  | 2.69102E+00 | 6.50204E-03 | 1.75268E+01 | 1.65727E-02 | 1.47228E+01 | 1.48198E-02 | 3.49407E+01  | 2.28920E-02 |  |
| 4                                                                  | 3.06922E+00 | 7.06124E-03 | 1.40763E+01 | 1.47420E-02 | 7.92823E+00 | 1.09624E-02 | 2.50738E+01  | 1.94638E-02 |  |
| 5                                                                  | 2.95823E+00 | 6.83859E-03 | 1.07326E+01 | 1.31528E-02 | 4.25795E+00 | 8.10427E-03 | 1.79488E+01  | 1.66608E-02 |  |
| 6                                                                  | 2.64815E+00 | 6.46677E-03 | 7.90762E+00 | 1.13267E-02 | 2.28532E+00 | 6.01286E-03 | 1.28411E+01  | 1.41245E-02 |  |
| 7                                                                  | 2.26350E+00 | 5.97209E-03 | 5.72248E+00 | 9.51458E-03 | 1.22165E+00 | 4.39424E-03 | 9.20763E+00  | 1.18886E-02 |  |
| 8                                                                  | 1.86108E+00 | 5.39517E-03 | 4.06888E+00 | 7.93357E-03 | 6.59917E-01 | 3.22457E-03 | 6.58988E+00  | 9.88745E-03 |  |
| 9                                                                  | 1.48985E+00 | 4.87022E-03 | 2.87960E+00 | 6.84272E-03 | 3.50017E-01 | 2.38402E-03 | 4.71947E+00  | 8.56704E-03 |  |
| 10                                                                 | 1.18630E+00 | 4.33538E-03 | 2.00718E+00 | 5.73135E-03 | 1.89900E-01 | 1.77598E-03 | 3.38338E+00  | 7.29053E-03 |  |
| 11                                                                 | 9.26033E-01 | 3.91109E-03 | 1.38967E+00 | 4.73127E-03 | 1.00983E-01 | 1.29898E-03 | 2.41668E+00  | 6.12648E-03 |  |
| 12                                                                 | 7.09900E-01 | 3.41098E-03 | 9.62700E-01 | 3.95203E-03 | 5.46000E-02 | 9.54392E-04 | 1.72720E+00  | 5.22363E-03 |  |
| 13                                                                 | 5.45650E-01 | 2.97919E-03 | 6.63267E-01 | 3.26614E-03 | 2.89667E-02 | 6.94844E-04 | 1.23788E+00  | 4.40524E-03 |  |
| 14                                                                 | 4.17333E-01 | 2.62320E-03 | 4.56317E-01 | 2.72625E-03 | 1.54500E-02 | 5.05294E-04 | 8.89100E-01  | 3.79406E-03 |  |
| 15                                                                 | 3.12050E-01 | 2.25683E-03 | 3.13233E-01 | 2.27134E-03 | 8.08333E-03 | 3.69507E-04 | 6.33367E-01  | 3.19681E-03 |  |
| 16                                                                 | 2.36550E-01 | 1.95890E-03 | 2.09733E-01 | 1.85064E-03 | 4.61667E-03 | 2.77566E-04 | 4.50900E-01  | 2.69344E-03 |  |

5.9 Εικόνα: Ένα απόσπασμα του αρχείου εξόδου.

Στο αρχείο εξόδου, λοιπόν, εμφανίζονται πόσες βλάβες επάγονται από την έκθεση τυπικού μεγέθους ευκαρυωτικών κυττάρων στην σωματιδιακή ακτινοβολία-α και γενικότερα στις Ι.Α., όπου αυτό το επιλέγει, όπως είπαμε και νωρίτερα ο χρήστης στο αρχείο εισόδου. Ειδικότερα, στο αρχείο εξόδου υπάρχει ο πίνακας 1, που παρουσιάζει το ποσοστό των βλαβών ανάλογα με τον τύπο και τη πολυπλοκότητα της βλάβης (π.χ. BD = Base Damage, SSB = Simple Strand Break, DSB = Double Strand Break κλπ.). Στο πίνακα 2 παρουσιάζονται, ο αριθμός των βλαβών ανά κύτταρο, δηλαδή τα DSBs, τα SSBs, και τα OTHER = nonDSBclusters, δηλαδή οι ομαδοποιημένες βλάβες, που δεν περιλαμβάνουν βλάβες DSBs, καθώς και το άθροισμα όλων των παραπάνω βλαβών. Όσο, αφορά τον πίνακα 3, αυτός περιλαμβάνει τον αριθμό των βλαβών ανά κύτταρο και ανά τροχιά σωματιδίου. (π.χ. DSB/cell/track). Στους πίνακες 4,5 και 6 παρουσιάζονται το μήκος των βλαβών εκφρασμένο σε ζεύγη βασικών, η πυκνότητα βλαβών που σχηματίζουν μία ομαδοποιημένη βλάβη, σύνθεση ομαδοποιημένης βλάβης (σε %SSB) , αντίστοιχα. Υποσημείωση: Ολόκληρο, το αρχείο εξόδου βρίσκεται στο Παράρτημα 2 της εργασίας.

### 5.4.2 Προσομοιώσεις MCDS για α-σωμάτια

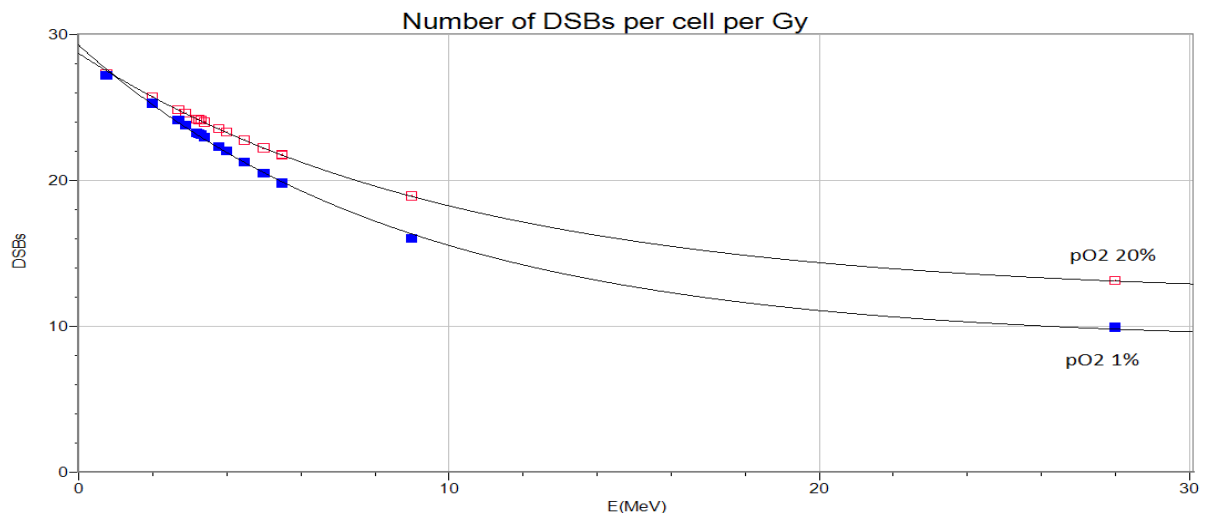
Αρχικά, θα κάνουμε κάποιες προσομοιώσεις, που αφορούν τη σχέση της ενέργειας ενός α-σωματίου με τον αριθμό των βλαβών που εμφανίζονται ανά κύτταρο, καθώς και ποια είναι η εξάρτηση των βλαβών από τη συγκέντρωση οξυγόνου. Συγκεκριμένα, οι ενέργειες που θα χρησιμοποιήσουμε, είναι εκείνες που προέκυψαν από τη συλλογή δεδομένων μας. Οι ενέργειες αυτές ξεκινούν από τα 0.75 MeV έως 5.5 MeV με τις περισσότερες μελέτες να αφορούν ενέργειες 3-5 MeV, κάτι το οποίο ισχύει σύμφωνα και με τη θεωρία<sup>[23]</sup>. Υπάρχει μία τιμή, η οποία αποτελεί εξαίρεση στα 28 MeV και αφορά τη αθροιστική συνολική ενέργεια 4 α-σωματίων, τα οποία έχουν εκπεμφθεί από ραδιενεργό πυρήνα <sup>223</sup>Ra, για την έκθεση καρκινικών κυττάρων σε επιθηλιακούς ιστούς.<sup>[24]</sup>

Επομένως, εκτελούμε προσομοιώσεις για τις συγκεκριμένες ενέργειες και παράλληλα μεταβάλλουμε τη συγκέντρωση οξυγόνου των κυττάρων λαμβάνοντας τιμές για  $pO_2=1\%$  (υποξικά κύτταρα) και  $pO_2=20\%$ . Στο παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τις διαφορετικές ενέργειες και ο αριθμός των SSBs, DSBs και OTHER=nonDSB clusters ανά κύτταρο και ανά Gy (θεωρούμε ότι το 1Gy εναποτίθεται στο πυρήνα). Επίσης, σημειώσαμε και τις τιμές του LET για κάθε τιμή ενέργειας. Επιπλέον να αναφέρουμε ότι οι προσομοιώσεις εκτελούνται για διάμετρο πυρήνα κυττάρου τα 5μm και περιεχόμενο του DNA, το 1Gb.

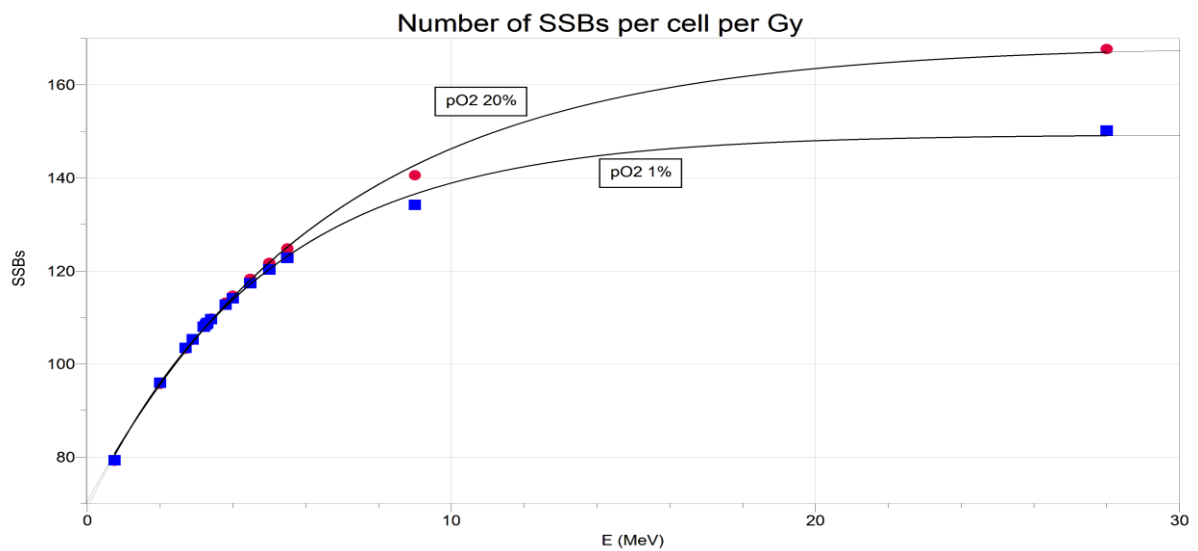
| Energy (MeV) | LET (keV/μm) | DSBs/cell/Gy at 20% O <sub>2</sub> | SSBs/cell/Gy at 20% O <sub>2</sub> | nonDSB clusters/cell/Gy at 20% O <sub>2</sub> | DSBs/cell/Gy at 1% O <sub>2</sub> | SSBs/cell/Gy at 1% O <sub>2</sub> | nonDSB clusters/cell/Gy at 1% O <sub>2</sub> |
|--------------|--------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------|
| 0.75         | 225.80       | 27.272                             | 79.164                             | 61.998                                        | 27.158                            | 79.289                            | 62.327                                       |
| 2            | 160.22       | 25.689                             | 95.714                             | 89.492                                        | 25.249                            | 95.943                            | 88.135                                       |
| 2.7          | 134.99       | 24.789                             | 103.281                            | 102.055                                       | 24.081                            | 103.420                           | 104.201                                      |
| 2.9          | 129.22       | 24.555                             | 105.210                            | 105.980                                       | 23.756                            | 105.284                           | 108.367                                      |
| 3.2          | 121.49       | 24.161                             | 108.076                            | 111.715                                       | 23.223                            | 108.009                           | 114.512                                      |
| 3.26         | 120.53       | 24.131                             | 108.541                            | 112.818                                       | 23.164                            | 108.452                           | 115.695                                      |
| 3.3          | 119.12       | 24.089                             | 108.904                            | 113.636                                       | 23.104                            | 108.771                           | 116.571                                      |
| 3.4          | 116.85       | 23.954                             | 109.759                            | 115.596                                       | 22.924                            | 109.609                           | 118.595                                      |
| 3.8          | 108.63       | 23.490                             | 113.144                            | 122.943                                       | 22.265                            | 112.736                           | 126.456                                      |
| 4            | 104.96       | 23.283                             | 114.675                            | 126.484                                       | 21.985                            | 114.124                           | 130.218                                      |
| 4.48         | 97.16        | 22.717                             | 118.304                            | 135.016                                       | 21.200                            | 117.360                           | 139.225                                      |
| 5            | 90.01        | 22.186                             | 121.709                            | 143.904                                       | 20.459                            | 120.316                           | 148.468                                      |
| 5.49         | 84.24        | 21.728                             | 124.771                            | 151.664                                       | 19.782                            | 122.812                           | 156.599                                      |
| 5.5          | 84.13        | 21.704                             | 124.801                            | 151.874                                       | 19.756                            | 122.842                           | 156.812                                      |
| 9            | 58.46        | 18.892                             | 140.570                            | 199.146                                       | 15.986                            | 134.211                           | 203.453                                      |
| 28           | 23.99        | 13.081                             | 167.715                            | 311.770                                       | 9.881                             | 150.127                           | 298.422                                      |

Πίνακας 5.2: Οι τιμές DSBs, SSBs, nonDSB clusters ανά κύτταρο για δόση D=1Gy για διαφορετικές ενέργειες και διαφορετικές συγκεντρώσεις O<sub>2</sub>, καθώς και η τιμή LET για κάθε ενέργεια.

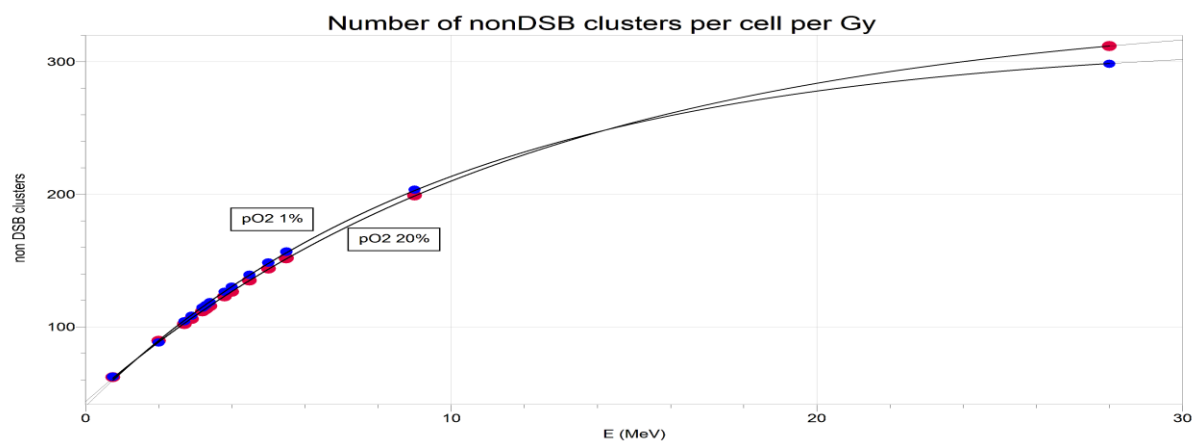
Τώρα, με βάση τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα, κατασκευάσαμε τα διαγράμματα DSBs/cell/Gy, SSBs/cell/Gy, nonDSB clusters/cell/Gy σε σχέση με την ενέργεια των α-σωματίων που προσπίπτουν σε κύτταρα διαμέτρου πυρήνα 5μm.



5.10 Εικόνα: Διάγραμμα DSBs ανά κύτταρο/ανά Gy σε συνάρτηση με τις ενέργειες των α-σωματίων για δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις  $O_2$ .



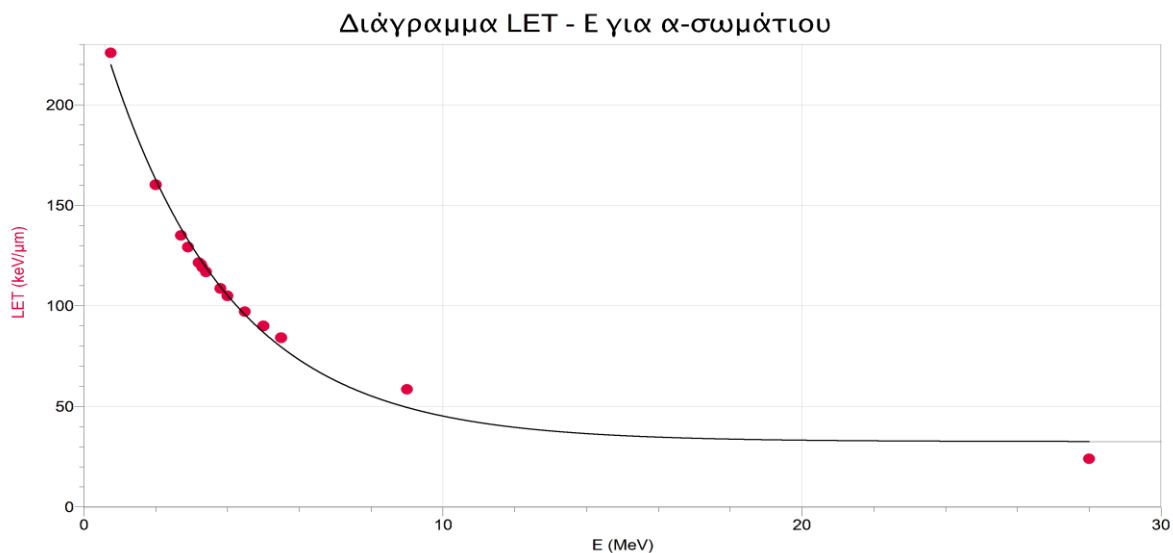
5.11 Εικόνα: Διάγραμμα SSBs ανά κύτταρο/ανά Gy σε συνάρτηση με τις ενέργειες των α-σωματίων για δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις  $O_2$ .



5.12 Εικόνα: Διάγραμμα nonDSB clusters ανά κύτταρο/ανά Gy σε συνάρτηση με τις ενέργειες των α-σωματίων για δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις  $O_2$ .

Τα τρία παραπάνω διαγράμματα έρχονται σε πλήρη συμφωνία με τις δημοσιευμένες μελέτες από τους Seremenko και Stewart. [25]

Αρχικά, όσο αφορά τα DSBs/cell/Gy με την ενέργεια παρατηρούμε στο διάγραμμα της εικόνας 5.10, ότι στη περίπτωση που το οξυγόνο στο περιβάλλον του κυττάρου είναι σε φυσιολογικά επίπεδα ( $pO_2=20\%$ ), θα προκληθούν περισσότερες βλάβες DSBs σε σχέση με όταν τα κύτταρα βρίσκονται σε συνθήκες υποξίας ( $pO_2=1\%$ ). Ο λόγος για τον οποίο συμβαίνει αυτό οφείλεται στο ότι για παρουσία οξυγόνου εμφανίζεται και έμμεση δράση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας, που γίνεται μέσω του μηχανισμού ραδιόλυσης του νερού. Βέβαια, οι δύο καμπύλες του διαγράμματος (και γενικά οι τιμές) δεν παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές, ειδικά στις μικρές ενέργειες διότι τα  $\alpha$ -σωμάτια δρουν κυρίως άμεσα στο μόριο του DNA (direct effect), λόγω του όταν αλληλεπιδρούν με τη βιολογική ύλη προκαλούν πυκνούς ιονισμούς και διεγέρσεις, δηλαδή είναι High-LET ακτινοβολία. Μία άλλη παρατήρηση στο συγκεκριμένο διάγραμμα είναι ότι καθώς αυξάνεται η ενέργεια ο αριθμός των DSBs ελαττώνεται και μετά από μία τιμή ενέργειας (πάνω από 15 MeV) αρχίζει και σταθεροποιείται. Ο λόγος για τον οποίο συμβαίνει αυτό οφείλεται στο ότι για ενέργειες περίπου πάνω από το 1MeV, το LET των  $\alpha$ -σωματίων φθίνει (Εικόνα 2.12 2<sup>ο</sup> Κεφ.). Όσο πηγαίνουμε σε μεγαλύτερες ενέργειες των  $\alpha$ -σωματίων παρατηρείται όλο και μικρότερος ρυθμός μείωσης του LET, κάτι το οποίο προκύπτει και από τη κατασκευή του παρακάτω διαγράμματος, που προέκυψε από τις προσομοιώσεις που εκτελέσαμε για τις διάφορες ενέργειες των  $\alpha$ -σωματιδίων.



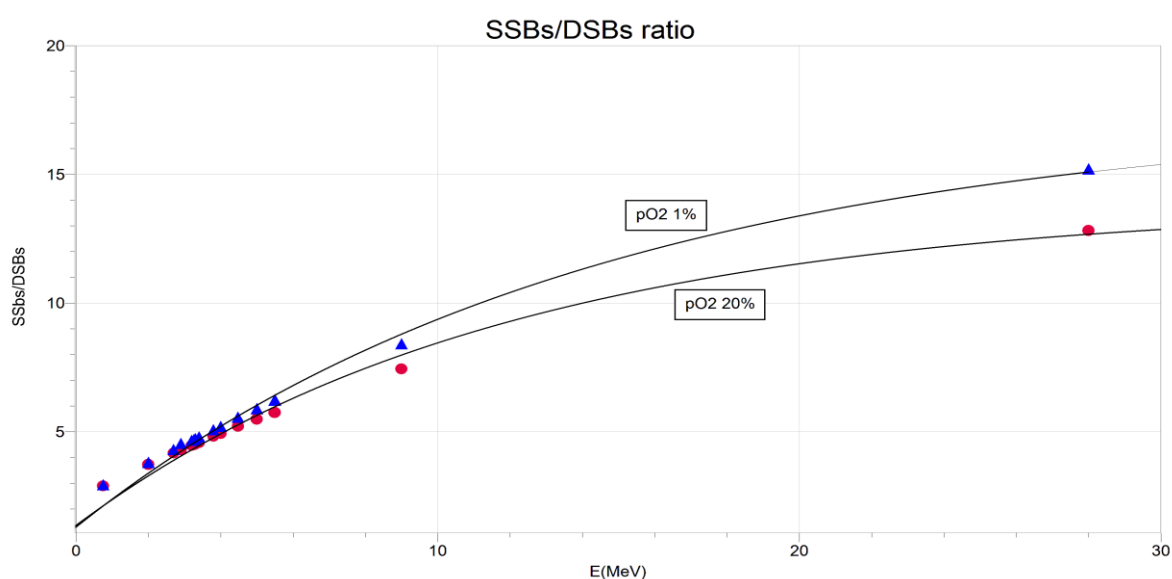
5.13 Εικόνα: Διάγραμμα LET σε συνάρτηση με την ενέργεια του  $\alpha$ -σωματιδίων.

Τώρα όσο αφορά, το διάγραμμα της εικόνας 5.11 για τον αριθμό των SSBs/cell/Gy, προκύπτει ότι για φυσιολογικά επίπεδα οξυγόνου ο αριθμός των SSBs είναι ελαφρώς αυξημένος σε σχέση με την περίπτωση υποξίας. Αυτό οφείλεται πάλι στο γεγονός ότι έχουμε High-LET ακτινοβολία, που δρα άμεσα με το DNA στο πυρήνα του κυττάρου, όποτε δεν υπάρχουν μεγάλες διαφορές μεταξύ υποξικών και φυσιολογικών συνθηκών. Επιπλέον, πάλι σε μεγάλες ενέργειες παρατηρείται σταθεροποίηση στον αριθμό των SSBs,

εξαιτίας της μείωσης του LET σε μεγάλες ενέργειες. Τέλος, όσο αφορά το διάγραμμα της εικόνας 5.12 για τον αριθμό των nonDSB clusters/cell/Gy παρατηρούμε ότι και σε αυτή τη περίπτωση αυξάνονται μέχρι μία συγκεκριμένη τιμή ενέργειας. Αυτή η παρατήρηση είναι αναμενόμενη καθώς μία ομαδοποιημένη βλάβη (cluster) πρέπει, να είναι είτε DSB είτε non-DSB. Εφόσον, εμείς μελετάμε τα non-DSBs είναι προφανές ότι θα αυξάνονται, διότι αυξάνονται και τα SSBs και οι άλλες είδους βλάβες μέχρι μία τιμή ενέργειας, δηλαδή μεγαλώνει και η πιθανότητα για μια τυχαία διαμόρφωση αλλοιώσεων, όπου παράγεται ένα ζεύγος αντιτιθέμενων θραύσεων κλώνων. Επίσης, το ότι στη περίπτωση φυσιολογικών επιπέδων οξυγόνου τα nonDSB clusters για ενέργειες έως τα 9 MeV είναι περισσότερα σε αντίθεση με εκείνα στη περίπτωση φυσιολογικών επιπέδων οξυγόνου οφείλεται στο ότι στη δεύτερη περίπτωση έχουμε παραπάνω DSBs, οπότε βάσει των πιθανοτήτων είναι λογικό να έχουμε περισσότερες ομαδοποιημένες βλάβες χωρίς να περιλαμβάνονται DSBs σε συνθήκες υποξίας. Στη συνέχεια, υπολογίσαμε το λόγο SSBs/DSBs σε συνάρτηση με την ενέργεια των α-σωματιδίων.

| Energy (MeV) | SSBs/DSBs ratio at 20% O <sub>2</sub> | SSBs/DSBs ratio at 1% O <sub>2</sub> |
|--------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
| 0.75         | 2.9                                   | 2.92                                 |
| 2            | 3.73                                  | 3.79                                 |
| 2.7          | 4.17                                  | 4.29                                 |
| 2.9          | 4.29                                  | 4.53                                 |
| 3.2          | 4.47                                  | 4.65                                 |
| 3.26         | 4.5                                   | 4.68                                 |
| 3.3          | 4.52                                  | 4.71                                 |
| 3.4          | 4.58                                  | 4.78                                 |
| 3.8          | 4.82                                  | 5.06                                 |
| 4            | 4.93                                  | 5.19                                 |
| 4.48         | 5.21                                  | 5.54                                 |
| 5            | 5.49                                  | 5.88                                 |
| 5.49         | 5.74                                  | 6.21                                 |
| 5.5          | 5.75                                  | 6.22                                 |
| 9            | 7.44                                  | 8.4                                  |
| 28           | 12.82                                 | 15.19                                |

Πίνακας 5.3: Οι τιμές SSBs/DSBs ratio για διαφορετικές ενέργειες και σε 2 διαφορετικές συγκεντρώσεις O<sub>2</sub>



5.14 Εικόνα: Διάγραμμα λόγου SSBs/DSBs σε συνάρτηση με την ενέργεια του α-σωματιδίων.

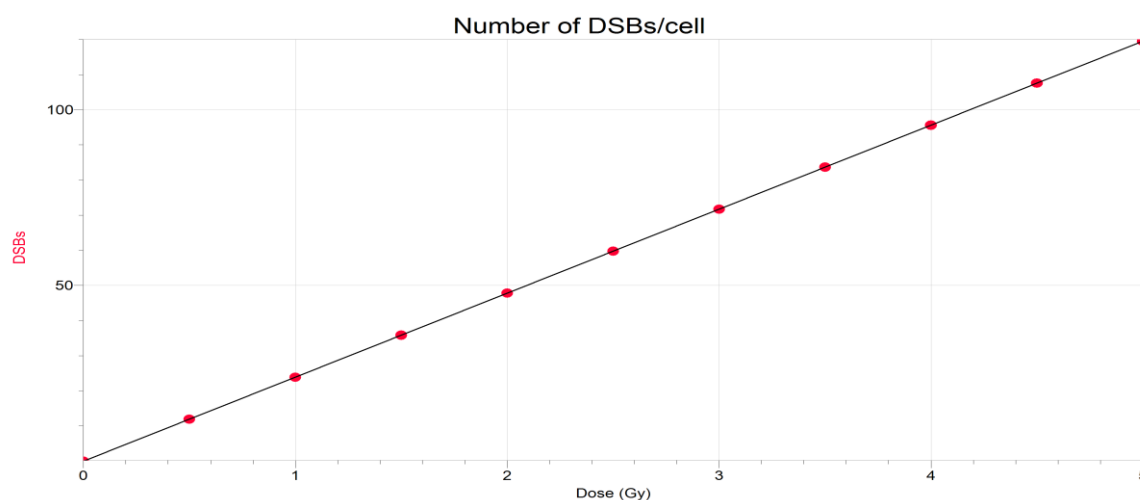
Ο λόγος SSBs/DSBs παρατηρώντας το προηγούμενο διάγραμμα, προκύπτει ότι κυμαίνεται μεταξύ των τιμών 4-6 για ενέργειες 2-5.5 MeV. Ο λόγος αυτός προφανώς δείχνει ότι τα SSBs αυξάνονται σε σχέση με τα DSBs καθώς μεγαλώνει η ενέργεια, κάτι το οποίο επαληθεύεται από το γεγονός ότι η θραύση σε ένα κλώνο είναι στατιστικά πιθανότερη να συμβεί σε σχέση με τη δίκλωνη θραύση, διότι και η εμβέλεια των α-σωματίων είναι μικρή και επομένως είναι μεγαλύτερη η πιθανότητα να διαπερνούν μόνο των ένα κλώνο του DNA. Η αύξηση του λόγου SSBs/DSBs σε υποξικές συνθήκες σε σύγκριση με αερόβιες συνθήκες αντιστοιχεί σε μείωση του μέσου αριθμού βλαβών ανά cluster, που βέβαια στα α-σωμάτια παρατηρούμε ότι οι τιμές του λόγου δεν παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές. [26]

Στις επόμενες προσομοιώσεις, κρατάμε σταθερή την ενέργεια των α-σωματίων π.χ. στα 4MeV καθώς και τη συγκεντρωση οξυγόνου σε φυσιολογικά επίπεδα της τάξης του 20% και αυξάνουμε την δόση που θα εναποτεθεί στο πυρήνα, για τιμές από 0.5Gy έως 5Gy με βήμα 0.5Gy.

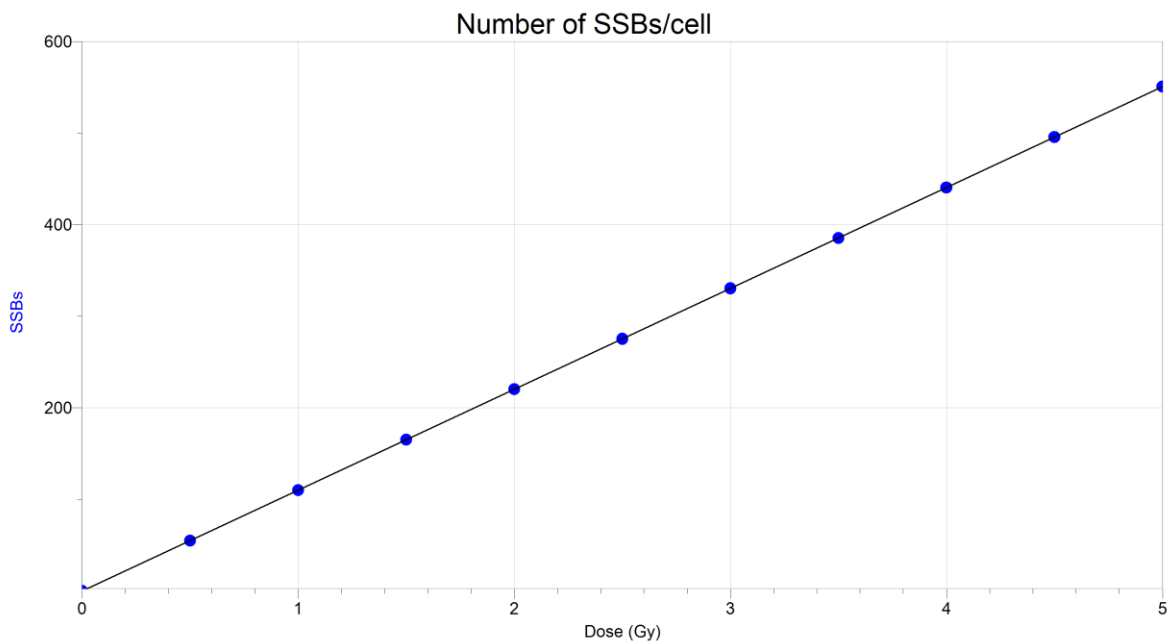
| D (Gy) | DSBs/cell | SSBs/cell | non DSB clusters/cell |
|--------|-----------|-----------|-----------------------|
| 0.5    | 11.95     | 55.06     | 58.17                 |
| 1      | 23.89     | 110.13    | 116.35                |
| 1.5    | 35.85     | 165.19    | 174.52                |
| 2      | 47.8      | 220.26    | 232.69                |
| 2.5    | 59.74     | 275.32    | 290.87                |
| 3      | 71.69     | 330.39    | 349.04                |
| 3.5    | 83.64     | 385.45    | 407.21                |
| 4      | 95.59     | 440.51    | 465.38                |
| 4.5    | 107.54    | 495.58    | 523.56                |
| 5      | 119.49    | 550.64    | 581.73                |

Πίνακας 5.4: Οι τιμές DSBs, SSBs και nonDSBs για διαφορετικές δόσεις εναποθέσεις στο πυρήνα ενός κυττάρου και με συγκεντρώση 20% O<sub>2</sub> και ενέργεια 4 MeV.

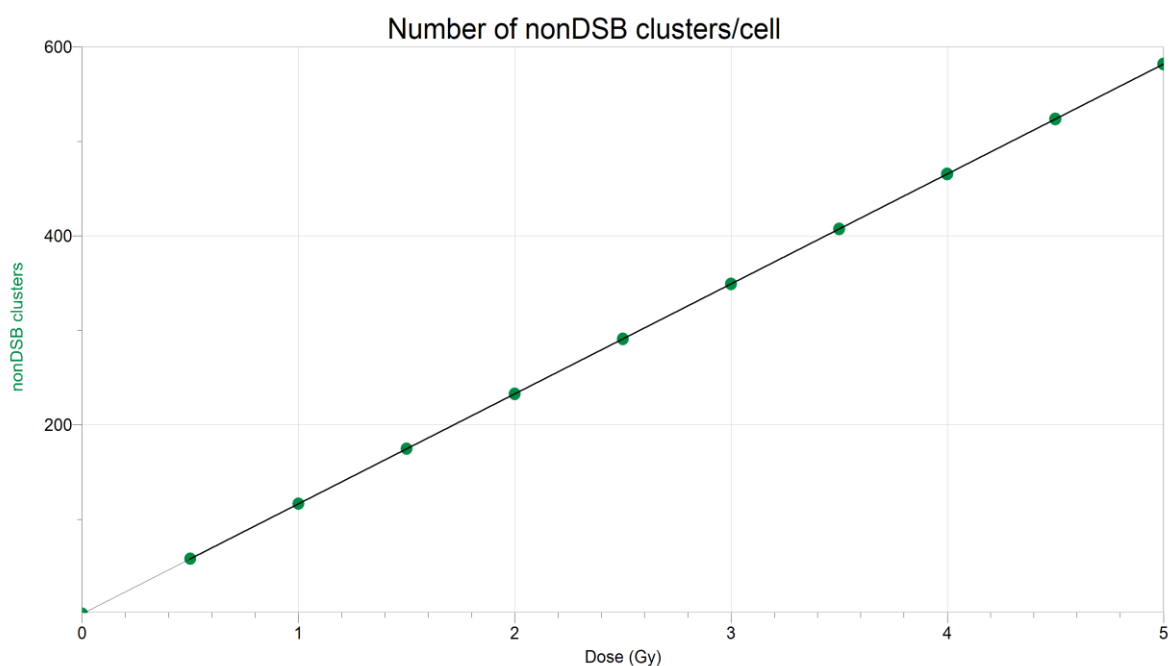
Παρακάτω, παρουσιάζονται τα τρία διαγράμματα που αφορούν τον αριθμό των DSBs, SSBs και nonDSB clusters σε σχέση με τη Δόση που εναποτίθεται στο πυρήνα καρκινικών κυττάρων του προστάτη διαμέτρου 15.1μm με πυρήνα τα 5μm.



5.15 Εικόνα: Διάγραμμα DSBs/cell σε συνάρτηση με τη Δόση που εναποτίθεται στο πυρήνα.



5.16 Εικόνα: Διάγραμμα SSBs/cell σε συνάρτηση με τη Δόση που εναποτίθεται στο πυρήνα.



5.17 Εικόνα: Διάγραμμα nonDSB clusters/cell σε συνάρτηση με τη Δόση που εναποτίθεται στο πυρήνα.

Αυτό που παρατηρούμε, λοιπόν, στα παραπάνω 3 διαγράμματα είναι ότι καθώς αυξάνεται η δόση που εναποτίθεται στο πυρήνα του κυττάρου, τόσο αυξάνεται και ο αριθμός των DSBs, SSBs και nonDSB clusters. Η αύξηση αυτή ακολουθεί γραμμικό τρόπο, δηλαδή και στις τρεις περιπτώσεις παρατηρείται μία γραμμική αύξηση των βλαβών σε σχέση με την δόση. Βέβαια αριθμητικά οι διπλόκλωνες βλάβες DSBs είναι στατιστικά λιγότερο πιθανές και γι' αυτό και ο αριθμός τους είναι περίπου το  $\frac{1}{4}$  σε σχέση με των αριθμό των SSBs και των nonDSB clusters.

### 5.4.3 Σύγκριση α-σωματίων με γ και β-ακτινοβολία

Σ' αυτή την ενότητα, θα συγκρίνουμε την έκθεση των καρκινικών κυττάρων προσάτη (PC3 cell line) υπό ακτινοβολία-α σε σχέση με την έκθεση ακτινοβολίας-γ σε συγκεκριμένες τιμές ενεργειών για δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις οξυγόνου 0% (ανοξικές συνθήκες) και 100% (πλήρη επίπεδα οξυγόνου), και θα εξάγουμε των αριθμό των DSBs και SSBs. Αρχικά, θεωρούμε ότι η διάμετρος ενός καρκινικού κυττάρου της σειράς PC3 είναι της τάξης των  $15.1 \pm 2.6 \mu\text{m}$ <sup>[17]</sup>. Επομένως, στο αρχείο εισόδου θα εισάγουμε τη παράμετρο  $cdia=15.1$  και τη διάμετρο του πυρήνα του κυττάρου τη θεωρούμε περίπου  $5\mu\text{m}$ , οπότε τη παράμετρο στο αρχείο εισόδου που αφορά τη διάμετρο του πυρήνα θα τη θεωρήσουμε  $ndia=5$ . Οι παρακάτω προσομοιώσεις θα γίνουν λαμβάνοντας ως δεδομένο ότι η δόση που θα εναποτεθεί στο πυρήνα θα είναι το 1Gy. Οι ενέργειες των α-σωματιδίων και των ηλεκτρονίων θα είναι για 4 MeV και 0.6 MeV. Ο λόγος για τον οποίο χρησιμοποιήθηκαν στις προσομοιώσεις ηλεκτρόνια, οφείλεται στο γεγονός ότι το MCDS δεν μπορεί να προσομοιώσει βλάβες που έχουν προκύψει από αλληλεπίδραση φωτονίων με τη βιολογική ύλη. Η συγκεκριμένη ενέργεια που χρησιμοποιήθηκε για τα ηλεκτρόνια αντιστοιχεί σε μέση ενέργεια των δευτερογενών ηλεκτρονίων από το φάσμα του  $^{60}\text{Co}$ , που εκπέμπει φωτόνιο με μέση ενέργεια 1.25 MeV. Ακολουθούν τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων στους παρακάτω πίνακες, όπου το  $\text{LET}=0.2 \text{ keV}/\mu\text{m}$  για τα  $e^-$  και για τις δύο διαφορετικές ενέργειες, ενώ το  $\text{LET}=221 \text{ keV}/\mu\text{m}$  για τα α-σωμάτια για  $E=0.6 \text{ MeV}$  και  $\text{LET}=104.96 \text{ keV}/\mu\text{m}$  για  $E=4 \text{ MeV}$ , δηλαδή τέσσερις τάξεις μεγέθους μεγαλύτερο, λόγω του ότι τα α-σωμάτια είναι High-LET ακτινοβολία.

| E=0.6 MeV | pO2 % | a-particles | electrons |
|-----------|-------|-------------|-----------|
| DSBs      | 0%    | 28.1        | 2.84      |
| DSBs      | 20%   | 28.12       | 8.11      |
| DSBs      | 100%  | 28.12       | 8.27      |
| SSBs      | 0%    | 63.6        | 115.59    |
| SSBs      | 20%   | 63.58       | 187.33    |
| SSBs      | 100%  | 63.58       | 188.94    |

Πίνακας 5.5: Οι τιμές DSBs/cell/Gy, SSBs/cell/Gy με συγκεντρώση 0%, 20% και 100% O<sub>2</sub> για ενέργεια 0.6 MeV, για έκθεση καρκινικών κυττάρων προσάτη από α-σωμάτια και ηλεκτρόνια.

| E=4 MeV | pO2 % | a-particles | electrons |
|---------|-------|-------------|-----------|
| DSBs    | 0%    | 19.48       | 2.84      |
| DSBs    | 20%   | 23.69       | 8.11      |
| DSBs    | 100%  | 23.76       | 8.26      |
| SSBs    | 0%    | 109.57      | 115.59    |
| SSBs    | 20%   | 111.59      | 187.33    |
| SSBs    | 100%  | 111.6       | 188.95    |

Πίνακας 5.6: Οι τιμές DSBs/cell/Gy, SSBs/cell/Gy με συγκεντρώση 0%, 20% και 100% O<sub>2</sub> για ενέργεια 4 MeV, για έκθεση καρκινικών κυττάρων προσάτη από α-σωμάτια και ηλεκτρόνια.

Από τους παραπάνω πίνακες, αρχικά συμπεραίνουμε ότι ανεξαρτήτως ενέργειας των  $e^-$  για ίδια συγκέντρωση οξυγόνου επάγονται οι ίδιες ποσοτικά βλάβες στο DNA των κυττάρων, λόγω του ότι το LET των ηλεκτρονίων είναι σταθερό, όποτε και οι ιονισμοί που προκαλούν στο μόριο του DNA, δεν αλλάζουν. Το δεύτερο συμπέρασμα, που προκύπτει είναι ότι τα α-σωμάτια δεν έχουν ιδιαίτερη εξάρτηση από την συγκέντρωση του οξυγόνου στα κύτταρα λόγω του ότι είναι High-LET ακτινοβολία και δρουν άμεσα στο DNA. Ειδικά για την ενέργεια των 0.6 MeV που το LET=221 keV/μm οι τιμές των DSBs και SSBs είναι ανεξάρτητες του  $O_2$  ενώ στην περίπτωση της ενέργειας των 4 MeV το LET=104.96 keV/μm τα DSBs μειώνονται κατά 15-20 % σε σχέση με την ενέργεια των 0.6 MeV, λόγω του ότι ελαττώνονται και οι ιονισμοί ανά μήκος τροχιάς των σωματιδίων. Ακόμα, από ανοξικές συνθήκες σε συνθήκες πλήρους οξυγόνωσης, παρατηρείται μία αύξηση των DSBs της τάξης του 20%, διότι εμφανίζεται και η έμμεση δράση μέσω της ραδιόλυσης του νερού, ενώ στα SSBs η αύξηση είναι μόλις 2%.

Αντίθετα, στη β-ακτινοβολία η εξάρτηση της συγκέντρωσης του  $O_2$  είναι εμφανής, διότι τα DSBs από ανοξικές συνθήκες, σε συνθήκες πλήρους  $O_2$  αυξάνονται κατά 190%, ενώ τα SSBs αυξήθηκαν κατά 63%, κάτι το οποίο αποδεικνύει ότι τα ηλεκτρόνια ως Low-LET ακτινοβολία δρουν κυρίως έμμεσα στο μόριο του DNA, μέσω της ραδιόλυσης του ύδατος.

Επιπλέον, συγκρίνοντας τα DSBs των α-σωματίων σε σχέση με εκείνα, εξαιτίας της β-ακτινοβολίας αυτό που παρατηρείται είναι ότι στη πρώτη περίπτωση τα DSBs είναι πολύ περισσότερα ανεξαρτήτως του  $O_2$  σε σχέση με τα ηλεκτρόνια, κάτι το οποίο είναι σημαντικό ειδικά σε περιοχές πλήρους ανοξίας που ουσιαστικά τα ηλεκτρόνια είναι αναποτελεσματικά αναδεικνύοντας έτσι τη σημαντικότητα των α-σωματίων στη κλινική πράξη. Όσο αφορά τα SSBs, τα ηλεκτρόνια επάγουν περισσότερα σε σχέση με τα α-σωμάτια, διότι δρουν μέσω της έμμεσης δράσης και έτσι προκαλούν περισσότερες sub-lethal βλάβες από τι τα α-σωμάτια που δρουν άμεσα.

Τέλος, υπολογίζοντας το:

$$RBE_{Damage}(pO_2 = 0\%) = \frac{DSBs_{\alpha-particles}}{DSBs_{\gamma-rays}} = 6.85$$

$$RBE_{Damage}(pO_2 = 100\%) = \frac{DSBs_{\alpha-particles}}{DSBs_{\gamma-rays}} = 2.87$$

Αυτό σημαίνει ότι η πρέπει περίπου να επταπλασιαστεί η δόση που εναποτίθεται στο πυρήνα των κυττάρων στη περίπτωση των  $e^-$ , ώστε να επιτευχθεί το ίδιο βιολογικό αποτέλεσμα σε σχέση με τα α-σωμάτια σε συνθήκες πλήρους ανοξίας. Ενώ, σε συνθήκες πλήρους οξυγόνωσης να τριπλασιαστεί η δόση. Έτσι θα αυξηθεί και ο κίνδυνος να πληγούν περισσότερο οι γειτονικές φυσιολογικές περιοχές κυττάρων κοντά στο καρκινικό όγκο, λόγω του ότι η εμβέλεια των ηλεκτρονίων είναι μεγαλύτερη από εκείνη των α-σωματίων, δηλαδή είναι της τάξης των 2000 μm έναντι μόλις 27 μm, αντίστοιχα.

Στη συνέχεια, θα μελετήσουμε την επίδραση ενός άλλου παράγοντα κρατώντας σταθερή τη δόση στο 1Gy, την ενέργεια των α-σωματίων και των ηλεκτρονίων στα 4 MeV και 0.5 MeV (ενέργεια που αντιστοιχεί σε εκπομπή 177-Lu στη Πυρηνική Ιατρική) αντίστοιχα, και τα επίπεδα οξυγόνου στο 20%. Θα μελετήσουμε, λοιπόν, την επίδραση του

παράγοντα που λέγεται DMSO, που είναι το δι-μεθυλ-σουλφοξείδιο, το οποίο έχει την ικανότητα της προστασίας των κυττάρων από την επίδραση των Ι.Α. Το DMSO εάν χορηγηθεί στον ασθενή πριν την ακτινοβολήση μπορεί να “προστατέψει” τα φυσιολογικά κύτταρα από την επίδραση των Ι.Α. μειώνοντας τόσο τις βλάβες βάσεων, όσο και τις βλάβες στο κλώνο του DNA. Οι βλάβες μονής έλικας (SSBs), περιγράφονται από την παρακάτω σχέση<sup>[25]</sup>:

$$h([S]) = \frac{\varphi[S] + K}{[S] + K}$$

Όπου, h: η συνάρτηση που αφορά τον αριθμό των SSBs

[S]: η συγκέντρωση του DMSO

φ: το κλάσμα των non-scavengeable βλαβών

K: Η συγκέντρωση στην οποία ο παραπάνω τύπος λαμβάνει την μισή τιμή, δηλαδή  $(\phi+1)/2$

Για μηδενική συγκέντρωση του παράγοντα DMSO, η παραπάνω σχέση λαμβάνει την τιμή,  $h=1$ , ενώ για πολύ μεγάλες τιμές συγκέντρωσης το  $h \rightarrow \phi$ .

Επομένως, πλέον εκτελέσαμε προσομοιώσεις, αυξάνοντας την συγκέντρωση του DMSO για τα α-σωμάτια και τα ηλεκτρόνια, θεωρώντας όμως  $\phi=0.75$  και  $0.52$ , αντίστοιχα, διότι το ποσοστό των βλαβών που προκαλούνται από την άμεση δράση είναι  $75\%$  και  $52\%$  αντίστοιχα<sup>[38]</sup>, όποτε θεωρούμε ότι αυτές είναι δύσκολα ή μη-επιδιορθώσιμες βλάβες (non-scavengeable damages). Επίσης, η σύγκεντρωση έτσι ώστε η παραπάνω σχέση να λαμβάνει τη μισή τιμή, είναι  $K=0.14 \text{ mol/dm}^3$  για τα α-σωμάτια και  $K=0.21 \text{ mol/dm}^3$  για τα ηλεκτρόνια, σύμφωνα και με τη βιβλιογραφία<sup>[25]</sup>. Άρα, τα αρχεία εισόδου είχαν την εξής μορφή για α-σωμάτια και ηλεκτρόνια αντίστοιχα:

SIMCON: nocs=10000 seed=987654321

CELL: DNA=1 ndia=5 cdia=15.1

EVO2: pO2=20.0

RADX: par=4He ke=4

DMSO: CONC=1 FNSD=0.75 CHMX=0.14

SIMCON: nocs=10000 seed=987654321

CELL: DNA=1 ndia=5 cdia=15.1

EVO2: pO2=20.0

RADX: par=e ke=0.5

DMSO: CONC=1 FNSD=0.52 CHMX=0.21

Επομένως, εκτελώντας προσομοιώσεις για διαφορετικές συγκεντρώσεις του παράγοντα DMSO, να λαμβάνει δηλαδή τιμές από  $0$  έως και  $1 \text{ mol/dm}^3$ , με βήμα  $0.2$ , προέκυψαν οι εξής τιμές, που παρουσιάζονται παρακάτω:

| a-particles                  | DMSO (mol/dm <sup>-3</sup> ) | DSBs/cell/Gy | SSBs/cell/Gy |
|------------------------------|------------------------------|--------------|--------------|
| E = 4MeV                     | 0                            | 23.89        | 110.13       |
| φ = 0.75                     | 0.2                          | 18.38        | 107.44       |
| K = 0.14 mol/dm <sup>3</sup> | 0.4                          | 17.05        | 106.02       |
| pO <sub>2</sub> = 20%        | 0.6                          | 16.41        | 105.26       |
|                              | 0.8                          | 16.04        | 104.84       |
|                              | 1                            | 15.83        | 104.44       |

Πίνακας 5.7: Οι τιμές DSBs/cell/Gy, SSBs/cell/Gy με συγκεντρώση 20% O<sub>2</sub> για ενέργεια 4 MeV, σε έκθεση καρκινικών κυττάρων προστάτη από α-σωμάτια για διαφορετικές συγκεντρώσεις του παράγοντα DMSO.

| electrons                    | DMSO (mol/dm <sup>-3</sup> ) | DSBs/cell/Gy | SSBs/cell/Gy |
|------------------------------|------------------------------|--------------|--------------|
| E = 0.5 MeV                  | 0                            | 8.11         | 187.33       |
| φ = 0.52                     | 0.2                          | 4.85         | 148.29       |
| K = 0.21 mol/dm <sup>3</sup> | 0.4                          | 3.90         | 134.10       |
| pO <sub>2</sub> = 20%        | 0.6                          | 3.47         | 126.89       |
|                              | 0.8                          | 3.20         | 122.40       |
|                              | 1                            | 3.04         | 119.43       |

Πίνακας 5.8: Οι τιμές DSBs/cell/Gy, SSBs/cell/Gy με συγκεντρώση 20% O<sub>2</sub> για ενέργεια 0.5 MeV, σε έκθεση καρκινικών κυττάρων προστάτη από ηλεκτρόνια για διαφορετικές συγκεντρώσεις του παράγοντα DMSO.

Στη συνέχεια, υπολογίζουμε το σχετικό ποσοστό των βλαβών DSBs και SSBs, ως εξής:

$$Relative\ DSB\ yield\ (\%) = \frac{DSBs_{DMSO=x}}{DSBs_{DMSO=0}} * 100$$

$$Relative\ SSB\ yield\ (\%) = \frac{SSBs_{DMSO=x}}{SSBs_{DMSO=0}} * 100$$

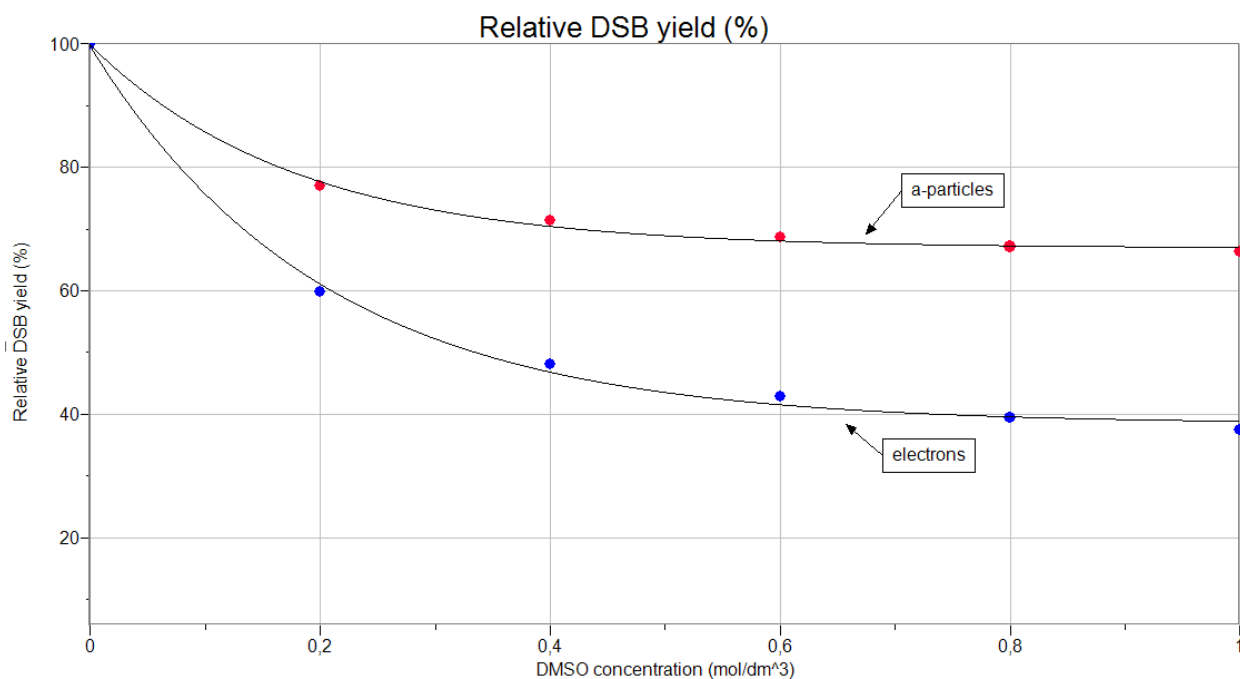
Όπου, αυτοί οι λόγοι αντιστοιχούν στις εκάστοτε βλάβες για μία συγκεκριμένη συγκέντρωση του παράγοντα DMSO προς τις βλάβες για μηδενική συγκέντρωση DMSO. Αμέσως μετά, κατασκευάστηκαν οι αντίστοιχοι πίνακες και τα αντίστοιχα διαγράμματα, για τα α-σωμάτια και για τα ηλεκτρόνια.

| DMSO (mol/dm <sup>3</sup> ) | Relative DSBs yields (%) | DSBs x/DSBs o | Relative SSBs yields (%) | SSBs x/SSBs o |
|-----------------------------|--------------------------|---------------|--------------------------|---------------|
| 0                           | 100                      | 1             | 100                      | 1             |
| 0.2                         | 76.94                    | 0.7694        | 97.56                    | 0.9756        |
| 0.4                         | 71.37                    | 0.7137        | 96.27                    | 0.9627        |
| 0.6                         | 68.69                    | 0.6869        | 95.58                    | 0.9558        |
| 0.8                         | 67.14                    | 0.6714        | 95.20                    | 0.9520        |
| 1                           | 66.26                    | 0.6626        | 94.83                    | 0.9483        |

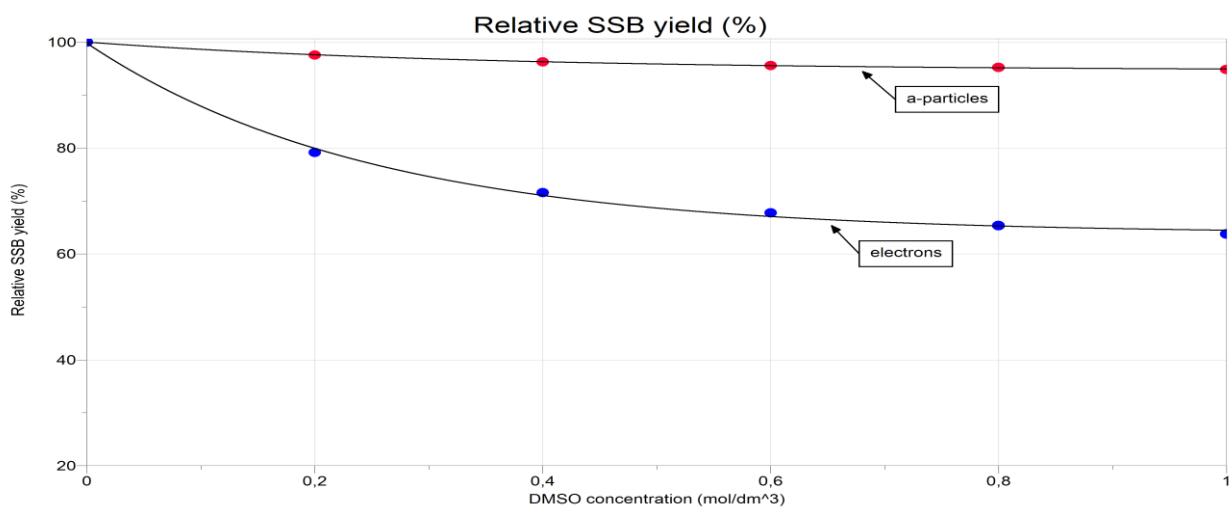
Πίνακας 5.9: Οι τιμές των λόγων και τα ποσοστά των DSBs και SSBs με συγκεντρώση 20% O<sub>2</sub> για ενέργεια 4 MeV, σε έκθεση καρκινικών κυττάρων προστάτη από α-σωμάτια για διαφορετικές συγκεντρώσεις του παράγοντα DMSO.

| DMSO<br>(mol/dm <sup>-3</sup> ) | Relative DSBs<br>yields (%) | DSBs x/DSBs o | Relative SSBs<br>yields (%) | SSBs x/SSBs o |
|---------------------------------|-----------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|
| 0                               | 100                         | 1             | 100                         | 1             |
| 0.2                             | 59.80                       | 0.5980        | 79.16                       | 0.7916        |
| 0.4                             | 48.09                       | 0.4809        | 71.58                       | 0.7158        |
| 0.6                             | 42.79                       | 0.4279        | 67.74                       | 0.6774        |
| 0.8                             | 39.46                       | 0.3946        | 65.34                       | 0.6534        |
| 1                               | 37.48                       | 0.3748        | 63.75                       | 0.6375        |

Πίνακας 5.10: Οι τιμές των λόγων και τα αντίστοιχα ποσοστά των DSBs και SSBs με συγκεντρώση 20% O<sub>2</sub> για ενέργεια 0.5 MeV, σε έκθεση καρκινικών κυττάρων προστάτη από ηλεκτρόνια για διαφορετικές συγκεντρώσεις του παράγοντα DMSO.



5.18 Εικόνα: Διάγραμμα DSB yield (%) για διαφορετικές συγκεντρώσεις DMSO για τα α-σωμάτια και τα e<sup>-</sup>.



5.19 Εικόνα: Διάγραμμα SSB yield (%) για διαφορετικές συγκεντρώσεις DMSO για τα α-σωμάτια και τα e<sup>-</sup>.

Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν, αλλά και με βάση τα διαγράμματα, συμπεραίνουμε ότι καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του DMSO οι βλάβες είτε είναι DSBs, είτε είναι SSBs μειώνονται (με βάση και τους πίνακες 5.7 και 5.8). Τώρα, όσο αφορά το σχετικό ποσοστό των DSBs παρατηρείται μία εκθετική μείωση, όπου μετά από μία συγκεκριμένη τιμή συγκέντρωσης του παράγοντα DMSO σταθεροποιείται, ειδικά στη περίπτωση των α-σωματίων που είναι High-LET ακτινοβολία. Στα ηλεκτρόνια ως Low-LET ακτινοβολία παρατηρείται μία πολύ μεγαλύτερη σχετική μείωση των DSBs σε σχέση με τη συγκέντρωση του DMSO, κάτι το οποίο προφανώς οφείλεται στο γεγονός ότι τα ηλεκτρόνια αλληλεπιδρούν κυρίως έμμεσα με το μόριο DNA, σε αντίθεση με τα α-σωμάτια. Επιπλέον, όσο αφορά το σχετικό ποσοστό των SSBs, για τα α-σωμάτια φαίνεται να μην επηρεάζεται και τόσο από τη συγκέντρωση του scavenger, κάτι το οποίο με βάση και τη βιβλιογραφία οφείλεται στο παράγοντα  $\phi=0.75$ , δηλαδή το κλάσμα των μονόκλωνων βλαβών είναι κατά ένα πολύ μεγάλο ποσοστό non-scavengable. Αντίθετα, στα ηλεκτρόνια βλέπουμε ότι παρατηρείται μία εκθετική μείωση του ποσοστού, διότι λόγω και πάλι της έμμεσης δράσης στο μόριο του DNA, προκαλούν κυρίως sub-lethal damages, όπως είναι οι SSBs και οι βλάβες βάσεων. Άρα, ως τελικό συμπέρασμα προκύπτει ότι η χορήγηση DMSO σε έναν ασθενή πριν από μία ακτινοθεραπευτική πράξη έχει θετικά αποτελέσματα στην έκθεση κυρίως από ηλεκτρόνια, κάτι το οποίο είναι σημαντικό μιας και λόγω της μεγαλύτερης εμβέλειας που διαθέτουν σε σχέση με τα α-σωμάτια, είναι επικίνδυνο να προκαλέσουν βλάβες σε γειτονικούς φυσιολογικούς ιστούς και κύτταρα. Βέβαια να αναφέρουμε ότι το DMSO πρέπει να χορηγείται σε μικρές ποσότητες, λόγω του ότι μπορεί να προκαλέσει και παρενέργειες στον ασθενή, όπως δύσπνοια ή καρδιαγγειακές αντιδράσεις κ.α. [39]

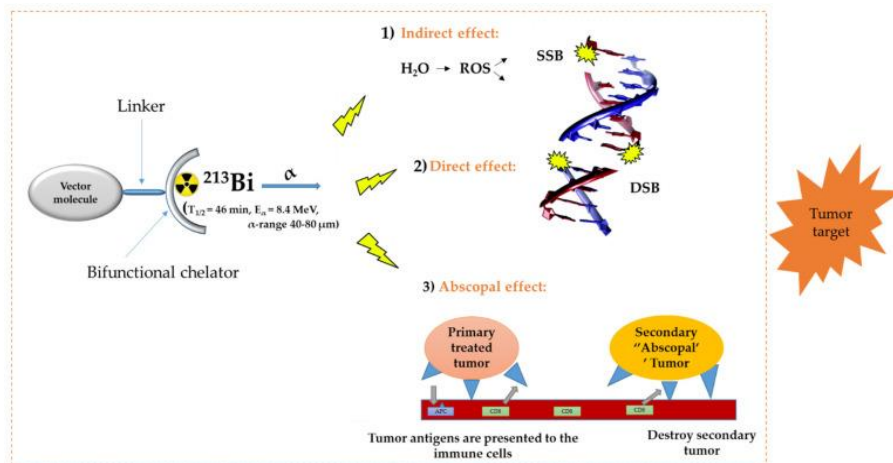
#### 5.4.4 Ανάλυση Κλινικών Εφαρμογών

Τα α-σωμάτια χρησιμοποιούνται κυρίως μέσω της θεραπείας που ονομάζεται Targeted Alpha Therapy (TAT). Όπως, περιεγράφηκε περιληπτικά και στο 2<sup>ο</sup> Κεφάλαιο της παρούσας εργασίας (ενότητα 2.5) τα α-σωμάτια λόγω του ότι είναι High-LET ακτινοβολία και διαθέτουν σχετικά μικρή εμβέλεια σε σχέση με άλλου είδους ακτινοβολίες, έχουν την ικανότητα να καταστρέφουν καρκινικούς όγκους, χωρίς να επηρεάζουν τους γειτονικούς υγιείς ιστούς. Σ' αυτή τη παράγραφο, μέσω του MCDS θα προσομοιώσουμε κάποιες από τις κλινικές εφαρμογές που έχουν ως στόχο την αντιμετώπιση του καρκίνου και θα τις συγκρίνουμε με άλλες μεθόδους θεραπείας, που αναφέρονται σε άλλα είδη ακτινοβολίας.

Ειδικότερα, η πρώτη κλινική περιγραφή που θα περιγράψουμε αναφέρεται στο ραδιενεργό ισότοπο του  $^{213}\text{Bi}$  που χρησιμοποιείται για τη **θεραπεία του καρκίνου του προστάτη (TAT)** και θα συγκρίνουμε τα αποτελέσματα με μία θεραπεία που αφορά το ραδιενεργό ισότοπο  $^{177}\text{Lu}$ . Το  $^{213}\text{Bi}$  εκπέμπει α-σωμάτια ενέργειας 8.4 MeV και η εμβέλεια τους 40-80  $\mu\text{m}$  [40], ενώ ο χρόνος ημιζωής είναι  $T_{1/2}=46.5\text{ min}$ . Το  $^{177}\text{Lu}$  εκπέμπει ηλεκτρόνια μέγιστης ενέργειας 497 keV με μέγιστη εμβέλεια περίπου 1.5-2 mm, χρόνο ημιζωής  $T_{1/2}=6.7\text{ days}$ . [41]

Προφανώς, οι ραδιενεργοί πυρήνες δεν μπορούν να χορηγηθούν έτσι στον ασθενή, αλλά ως ραδιοφάρμακα. Δηλαδή, τα ραδιοφάρμακα είναι οργανικά ή ανόργανα φαρμακευτικά προϊόντα, επισημασμένα με ραδιοϊσότοπα ή ραδιοϊσότοπα αυτά καθ'

αυτά, τα οποία χορηγούνται στον οργανισμό με στόχο τη θεραπεία ασθενειών (ή και διάγνωση). Επίσης τα ραδιοϊσότοπα, παράγονται συνήθως μέσω γεννητριών ραδιονουκλιδίων, όπου για παράδειγμα το  $^{213}\text{Bi}$ , παράγεται από τη γεννήτρια  $^{225}\text{Ac}/^{213}\text{Bi}$ , είτε μέσω βομβαρδισμών πυρήνων με νετρόνια ή άλλων ειδών σωματίδια.



5.20 Εικόνα: Παρουσίαση της Targeted Alpha Therapy (TAT) με στόχο τη καταστροφή καρκινικών όγκων. [40]

Εκτελούμε, λοιπόν, τις προσομοιώσεις στο MCDS και τα αποτελέσματα αυτών παρουσιάζονται στο παρακάτω πίνακα:

| Radioisotope      | Energy  | DSBs/cell/Gy at 20% O <sub>2</sub> | SSBs/cell/Gy at 20% O <sub>2</sub> | DSBs/cell/Gy at 1% O <sub>2</sub> | SSBs/cell/Gy at 1% O <sub>2</sub> |
|-------------------|---------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| $^{177}\text{Lu}$ | 497 keV | 8.12                               | 187.28                             | 6.00                              | 163.29                            |
| $^{213}\text{Bi}$ | 8.4 MeV | 19.54                              | 137.21                             | 16.80                             | 131.99                            |

Πίνακας 5.11: Οι τιμές των DSBs και SSBs για τις ενέργειες του  $^{177}\text{Lu}$  και  $^{213}\text{Bi}$  για φυσιολογικά επίπεδα O<sub>2</sub> και για υποξικές συνθήκες.

Επομένως, αυτό που συμπεραίνουμε είναι ότι η θεραπεία (TAT) σε σχέση με εκείνη με εκπομπή β-ακτινοβολίας από τη ραδιενεργό διάσπαση του  $^{177}\text{Lu}$ , είναι σαφώς πιο αποτελεσματική, διότι είναι πρώτον σχεδόν ανεξάρτητη από τη συγκέντρωση του O<sub>2</sub>, κάτι το οποίο σημαίνει ότι και σε περιοχές υποξικών κυττάρων το ραδιοφάρμακο  $^{213}\text{Bi}$ -DMSA θα δράσει αποτελεσματικά εξοντώνοντας τα καρκινικά κύτταρα, ενώ δεύτερον λόγω της μικρής εμβέλειας των α-σωματίων δεν θα προκαλέσει βλάβες στους γειτονικούς ιστούς του προστάτη. Τρίτον, λόγω της φύσης της α-ακτινοβολίας που δρα κυρίως άμεσα με το πλέον κρίσιμο κυτταρικό στόχο, που δεν είναι άλλος από το μόριο του DNA, προκαλεί περισσότερα DSBs καθιστώντας πιθανότερο να επιτύχει η θεραπεία. Όμως, υπάρχει και ένα αρνητικό στη χρήση του συγκεκριμένου ραδιοφαρμάκου σε σχέση με τη χρήση του ραδιοφαρμάκου  $^{177}\text{Lu}$ -PMSA, που αφορά το χρόνο ημιζωής του ραδιονουκλιδίου. Συγκεκριμένα, το  $^{213}\text{Bi}$  έχει χρόνο ημιζωής μόλις 45 min, κάτι το οποίο απαιτεί από το χώρο του νοσοκομείου (τμήματος Πυρηνικής Ιατρικής) να διαθέτει κάποιο σύστημα παραγωγής, όπως μία γεννήτρια  $^{225}\text{Ac}/^{213}\text{Bi}$ , κάτι το οποίο καταλαμβάνει χώρο και επιφέρει οικονομικό κόστος, ενώ επιπλέον μέσα σε μία ημέρα π.χ. 8ώρου, δεν θα μπορούν να πραγματοποιηθεί μεγάλος αριθμός εξετάσεων. Αντίθετα το  $^{177}\text{Lu}$  έχει χρόνο ημιζωής μία εβδομάδα περίπου με αποτέλεσμα να μπορεί να θεωρηθεί πιο χρήσιμο στη

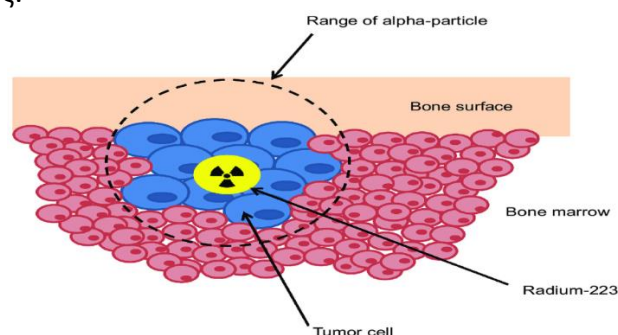
καθημερινή πρακτική, ενώ ο τρόπος παραγωγής είναι μέσω της ακτινοβόλησης του φυσικού ραδιοϊσοτόπου  $^{176}\text{Lu}$  με νετρόνια.

Μία ακόμα, κλινική εφαρμογή της Πυρηνικής Ιατρικής, αφορά η **θεραπεία της μετάστασης του καρκίνου σε οστά** ύστερα από εμφάνιση για παράδειγμα Ca προστάτη ή μαστού, όπου μπορεί να περιοριστεί με τη χρήση του ραδιοϊσοτόπου  $^{223}\text{Ra}$  που τα α-σωμάτια που εκπέμπει έχουν ενέργειες από 5.7-7.4 MeV, οπότε οι εμβέλεις κυμαίνονται μεταξύ των τιμών 50-70  $\mu\text{m}$ . Ο λόγος που χρησιμοποιείται το ράδιο, οφείλεται στο γεγονός ότι παρουσιάζει ίδια χημική συμπεριφορά με το ασβέστιο με αποτέλεσμα να απορροφάται από τα οστά. Το ραδιοφάρμακο έχει την εμπορική ονομασία Xofigo. Ειδικότερα, το  $^{223}\text{RaCl}_2$  χορηγείται στον ασθενή συνήθως σε ένα πρόγραμμα έξι θεραπειών και η συνολική δόση που απορροφάται στα οστά είναι της τάξης των 16 Gy. Ο χρόνος ημιζωής του  $^{223}\text{Ra}$  είναι  $T_{1/2} = 11.4$  days και η μέση ενέργεια είναι  $E_\alpha = 6.5$  MeV. Θα συγκρίνουμε το συγκεκριμένο ραδιοφάρμακο, με ένα ραδιοφάρμακο που περιλαμβάνει το  $^{153}\text{Sm}$ , που έχει χρόνο ημιζωής  $T_{1/2} = 1.9$  days και μέση ενέργεια εκπομπής  $\beta$  σωματιδίου  $E_\beta = 0.22$  MeV, υπολογίζοντας το RBE damage. Εκτελούμε, λοιπόν, προσομοιώσεις και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο παρακάτω πίνακα.

| $p\text{O}_2 = 3\%$ | Radioisotope      | Energy (MeV) | LET (keV/ $\mu\text{m}$ ) | Range ( $\mu\text{m}$ ) | DSB/cell/Gy |
|---------------------|-------------------|--------------|---------------------------|-------------------------|-------------|
| cdia = 4            | $^{223}\text{Ra}$ | 6.5          | 74.54                     | 55.84                   | 20.72       |
| ndia = 15           | $^{153}\text{Sm}$ | 0.22         | 0.27                      | 517.92                  | 7.26        |

Πίνακας 5.12: Αποτελέσματα προσομοιώσεων, όπου παρουσιάζονται το LET, Range και ο αριθμός των DSBs/cell/Gy.

Αρχικά, να αναφερθεί ότι θεωρήσαμε υποξικά επίπεδα  $\text{O}_2$ , λαμβάνοντας μία μέση τιμή από τη βιβλιογραφία. <sup>[45]</sup> Βλέπουμε πως, η εμβέλεια των α-σωματίων που εκπέμπει το  $^{223}\text{Ra}$  είναι σημαντικά μικρότερη από εκείνη του  $^{153}\text{Sm}$ , ενώ εάν υπολογίσουμε τη σχετική βιολογική δραστηριότητα που αφορά τα DSBs προκύπτει ότι  $\text{RBE}_{\text{damage}} \approx 3$ , κάτι το οποίο σημαίνει ότι για να πετύχουμε το ίδιο βιολογικό αποτέλεσμα που προκύπτει από την εκπομπή  $\beta$ -σωματιδίων από  $^{153}\text{Sm}$ , θα πρέπει να αυξήσουμε τρεις φορές παραπάνω τη δόση. Αυτή η αύξηση στη δόση, που προφανώς θα σχετίζεται με την αύξηση της ποσότητας ραδιοφαρμάκου που θα χορηγείται στον ασθενή (MBq/kg), έχει ως άμεση συνέπεια να υπάρχει σημαντικός κίνδυνος αύξησης της απορροφούμενης δόσης στους γειτονικούς υγιείς ιστούς και να επιβαρύνει ακτινικά το μυελό των οστών. Η αύξηση της απορροφούμενης δόσης στον ερυθρό μυελό των οστών, μπορεί να οδηγήσει ακόμα και σε θάνατο έναν ασθενή, ενώ οι sub-lethal βλάβες οδηγούν σε καταστολή του μυελού των οστών, με συνέπεια την ανοσοκαταστολή του, λόγω του μειωμένου αριθμού λειτουργικών κυττάρων του αίματος. <sup>[46]</sup>



5.21 Εικόνα: Παρουσίαση της Targeted Alpha Therapy (TAT) με στόχο τη καταστροφή μεταστατικού καρκίνου στα οστά με το  $^{223}\text{Ra}$ . <sup>[47]</sup>

Μία τρίτη υποθετική κλινική εφαρμογή θα μπορούσε να αφορά την **ακτινοθεραπεία σε παιδιατρικούς καρκίνους, αλλά και σε καρκίνους του μαστού, του προστάτη, του πνεύμονα κ.α.** λόγω της μικρής εμβέλειας των α-σωματίων, (ή και των πρωτονίων) σε αντίθεση με τα ηλεκτρόνια. Επίσης με βάση την καμπύλη Bragg τα α-σωμάτια (και τα πρωτόνια, βαρέα ιόντα) εναποθέτουν τη δόση τους σε βάθος 15 cm-20 cm μέσα στον ιστό, ανάλογα βέβαια και με την αρχική τους ενέργεια (σε MeV/A), αυξάνοντας έτσι την επιτυχία μίας θεραπείας που δεν είναι κάτι άλλο πέρα από την καταστροφή των κρίσιμων καρκινικών όγκων και παράλληλα λιγότερη ακτινική επιβάρυνση των υγιών ιστών, κάτι το οποίο συνεπάγεται και ελάττωση των παρενεργειών μετά από μία ακτινοθεραπευτική πράξη.

Θα μελετήσουμε τη περίπτωση που υπάρχει ένας καρκινικός όγκος στο πνεύμονα, ο οποίος βρίσκεται με βάση τη βιβλιογραφία 10-20 mm, κάτω από την επιφάνεια του δέρματος.<sup>[42]</sup> Επιπλέον, υποθέτουμε ότι η διάμετρος ενός καρκινικού κυττάρου στο πνεύμονα έχει διάμετρο 18μm και ο πυρήνας του 7μm.<sup>[43]</sup> Οπότε, θα εκτελέσουμε προσομοιώσεις στο MCDS που το αρχείο εισόδου θα έχει την εξής μορφή:

SIMCON: nocs=10000 seed=987654321  
CELL: DNA=1 ndia=7 cdia=18 WEM=1500  
EVO2: pO2=20.0  
RADX: par=4He ke=100 AD=2

Προφανώς, η ενέργεια είναι υψηλή ώστε να εναποτεθεί η δόση στο βάθος του ιστού, χωρίς να επηρεαστεί το δέρμα και άλλοι γειτονικοί ιστοί κοντά στο πνεύμονα. Οπότε σ' αυτή τη κλινική εφαρμογή θα μελετήσουμε ποια είναι η κατάλληλη ενέργεια των εισερχόμενων α-σωματίων που θα προσπέσουν στον ασθενή, ώστε το μεγαλύτερο μέρος της δόσης να εναποτεθεί στο πνεύμονα, ώστε να καταστραφεί ένας πιθανός καρκινικός όγκος που βρίσκεται εκεί. Εκτελούμε, λοιπόν, προσομοιώσεις αυξάνοντας συνεχώς την ενέργεια και ξεκινώντας από τα 150 MeV έως τα 250 MeV, με βήμα 25. Τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων παρουσιάζονται στο παρακάτω πίνακα, όπου σημειώθηκαν η εμβέλεια των α-σωματίων, το LET καθώς και ο αριθμός των βλαβών που προκαλούν ανά κύτταρο σε μία δόση της τάξης των 2Gy, που αφορά την υπερκερματισμένη ακτινοθεραπεία, που αφορά κακοήθεις όγκους, όπως ο Ca πνεύμονα.

| a-particles           | Energy (MeV) | Energy (MeV/A) | LET (keV/μm) | Range (mm) | DSBs/cell |
|-----------------------|--------------|----------------|--------------|------------|-----------|
| pO <sub>2</sub> = 20% | 150          | 37.5           | 6.19         | 13.42      | 22.30     |
| D = 2Gy               | 175          | 43.75          | 5.48         | 17.72      | 21.29     |
|                       | 200          | 50             | 4.92         | 22.54      | 19.25     |
|                       | 225          | 56.25          | 4.49         | 27.85      | 18.55     |
|                       | 250          | 62.5           | 4.13         | 33.67      | 18.14     |

Πίνακας 5.13: Οι τιμές του LET, Range και του αριθμού των DSBs/κύτταρο σε δόση D=2Gy και σε φυσιολογικά επίπεδα οξυγόνου.

Επομένως, με βάση και το παραπάνω πίνακα προκύπτει ότι η ιδανική ενέργεια που θα πρέπει να έχουν τα α-σωμάτια θα είναι περίπου τα 175 MeV που αντιστοιχεί σε MeV/A = 43.75 MeV, ώστε με βάση και τη καμπύλη του Bragg, να εναποθέσουν το μέγιστο ποσοστό

της δόσης (Bragg peak) προς το τέλος διαδρομής στους στον ιστό, δηλαδή στο σημείο, που βρίσκεται στα 15-20 mm, από την εξωτερική επιφάνεια της δερματικής κοιλότητας. Προφανώς, για να επιτευχθούν τέτοιες ενέργειες χρειάζονται κατάλληλοι επιταχυντές, που σε ένα ακτινοθεραπευτικό τμήμα ενός νοσοκομείου, θα καταλαμβάνει επιπλέον χώρο (ο επιταχυντής θα είχε διαστάσεις γηπέδου τένις!!) και το ανάλογο οικονομικό κόστος. Αυτή το διάστημα γίνονται σε προ-κλινικό στάδιο δοκιμές με το σύστημα HIT (Heidelberg Ion-Beam Therapy Center)<sup>[50]</sup>. Όμως, παρά αυτά τα προβλήματα είναι αναγκαίο να εισαχθούν στη καθημερινή κλινική πράξη, διότι πρωτόνια, τα α-σωμάτια, τα ιόντα C κ.α. έχουν τη δυνατότητα να εναποθέτουν το μεγαλύτερο ποσοστό της δόσης του στο καρκινικό όγκο ελαχιστοποιώντας έτσι την ακτινοβόληση των φυσιολογικών-υγιών ιστών κοντά στη περιοχή του όγκου. Επίσης, λόγω της μικρής τους εμβέλειας μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την καλύτερη εστίαση της δέσμης. Τέλος, καθώς αυξάνεται ο ατομικός αριθμός, εν προκειμένω συγκρίνοντας τα πρωτόνια με τα α-σωμάτια, τα δεύτερα παρουσιάζουν λιγότερη διάχυση, κάτι το οποίο αποδεικνύεται από το γεγονός ότι η κορυφή Bragg, παρουσιάζει μικρότερο εύρος και εστιάζει με μεγαλύτερη ακρίβεια στον όγκο-στόχο.

#### **5.4.5 Τελικά συμπεράσματα-παρατηρήσεις**

Η παρούσα διπλωματική εργασία, είχε ως στόχο τη δημιουργία μίας βάσης δεδομένων, που αφορά την έκθεση των ανθρωπίνων κυττάρων σε σωματιδιακή ακτινοβολία-α. Αυτή η συλλογή και καταγραφή των δεδομένων αποτελεί ένα μέρος του σκοπού δημιουργίας μίας βάσης δεδομένων, από όλα τα είδη Ιοντιζουσών Ακτινοβολιών που εκτίθενται τα ανθρώπινα κύτταρα (είτε από φυσικές πηγές, είτε κατά τις κλινικές πρακτικές) και πραγματοποιείται στο Εργαστήριο Βλαβών του ΕΜΠ, υπό την καθοδήγηση του κ.Γεωργακίλα. Στη συγκεκριμένη εργασία, λοιπόν, έγινε η καταγραφή των ραδιοβιολογικών δεδομένων, όπως το LET, το RBE, ο ρυθμός δόσης, ο τύπος του κυττάρου και σε ποιο ιστό ανήκει, η φάση του κυτταρικού κύκλου, καθώς και η εξαγωγή των παραμέτρων ακτινοευαισθησίας α και β του LQ-Model, μέσω των καμπύλων επιβίωσης από μελέτες που ήταν δημοσιευμένες στη βάση δεδομένων του PubMed.

Ο δεύτερος στόχος της εργασίας ήταν η ανάλυση αυτών δεδομένων και ειδικά των παραμέτρων α και β, αλλά και η εύρεση των βλαβών που επάγονται από την έκθεση ανθρωπίνων κυττάρων σε α-σωμάτια. Ο αριθμός των βλαβών που επάγουν τα α-σωμάτια υπολογίστηκε μέσω του προγράμματος MCDS (Monte Carlo Damage Simulation), λόγω του ότι οι βλάβες είναι δύσκολο να εντοπιστούν in situ.

Στη συνέχεια, πέρα από την ανάλυση των ραδιοβιολογικών δεδομένων, μελετήθηκαν διάφοροι παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την επαγωγή των βλαβών, όπως η συγκέντρωση του O<sub>2</sub>, η ενέργεια του α-σωματιδίου, ο παράγοντας DMSO, που λειτουργεί ως scavenger των βλαβών, αλλά και το είδος της ακτινοβολίας. Από όλη την παραπάνω ανάλυση, προέκυψε ότι καθώς αυξάνεται το LET, αυξάνονται τα DSBs, ενώ μειώνονται τα SSBs για την περίπτωση των α-σωματίων. Επίσης, από τις συγκρίσεις των α-σωματίων με τα σωματίδια της β-ακτινοβολίας (δευτερογενή ηλεκτρόνια από γ-ακτινοβολία), δηλαδή τα ηλεκτρόνια, προέκυψε ότι τα πρώτα είναι σχεδόν ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση O<sub>2</sub>, σε αντίθεση με τα δεύτερα που παρουσιάζουν μία σημαντική εξάρτηση. Αυτό σημαίνει ότι η α-ακτινοβολία εξακολουθεί να είναι αποτελεσματική ακόμα και σε συνθήκες πλήρους

ανοξίας. Επίσης, συγκρίνοντας τα δύο αυτά είδη ακτινοβολίας «υπό το πρίσμα» του παράγοντα DMSO, παρατηρήθηκε ότι ο συγκεκριμένος παράγοντας δρα περισσότερο θετικά στη «προστασία» των φυσιολογικών κυττάρων στη περίπτωση των ηλεκτρονίων, που είναι Low-LET ακτινοβολία και δρα έμμεσα στο μόριο του DNA. Στο τέλος, παρουσιάστηκαν κάποιες κλινικές εφαρμογές, οι οποίες αφορούσαν τη θεραπεία Ca προστάτη, της μετάστασης των οστών, αλλά και μίας υποθετικής εφαρμογής των α-σωματίων στην Ακτινοθεραπεία. Με τη βοήθεια και των προσομοιώσεων, αναδεικνύεται η σημαντικότητα των α-σωματίων τόσο στην Πυρηνική Ιατρική, διότι έχουν μικρή εμβέλεια σε σχέση με άλλα είδη ακτινοβολίας κάτι το οποίο έχει ως αποτέλεσμα να προκληθούν λιγότερες βλάβες σε υγιή γειτονικά κύτταρα, γύρω από τη περιοχή των καρκινικών όγκων, αλλά και στην Ακτινοθεραπεία όπου λόγω και της καμπύλης Bragg, έχουν την ιδιότητα να εναποθέτουν με σημαντική ακρίβεια τη δόση σε έναν ιστό προς το τέλος της διαδρομής τους. Αυτό βέβαια, που θα χρειαστεί είναι επιτάχυνση των α-σωματίων σε μεγάλες ενέργειες με τις απαραίτητες επιταχυντικές διατάξεις (π.χ. κύκλοτρο).

Επομένως, το τελικό συμπέρασμα είναι ότι τα α-σωμάτια, είναι απαραίτητο να αρχίσουν να χρησιμοποιούνται περισσότερο στη κλινική πρακτική, διότι μέσω των ιδιοτήτων που έχουν μπορούν να θεραπεύσουν παιδιατρικούς καρκίνους, καρκινικούς όγκους με μικρή σχετικά διάμετρο, το καρκίνο του προστάτη κ.α. δρώντας άμεσα στο DNA, και εντός των ορίων της περιοχής που εντοπίζεται ένας όγκος, αυξάνοντας έτσι τις πιθανότητες μίας επιτυχημένης θεραπείας.

~~~~~

Βιβλιογραφία

- [1] Ευάγγελος Γεωργίου, Ιατρική Φυσική “Διαγνωστικές και θεραπευτικές εφαρμογές” 2^η έκδοση, Broken Hill Publishers Ltd, 2014.
- [2] Friedrich T, Pfuhl T, Scholz M. Update of the particle irradiation data ensemble (PIDE) for cell survival. J Radiat Res. 2021 Jul 10;62(4):645-655.
- [3] Van Leeuwen CM, Oei AL, Crezee J, Bel A, Franken NAP, Stalpers LJA, Kok HP “The alfa and beta of tumors: a review of parameters of the linear-quadratic model, derived from clinical radiotherapy studies”. Radiat Oncol. 2018 May 16;13(1):96.
- [4] Qi XS, White J, Li XA “Is α/β for breast cancer really low?” Radiother Oncol. 2011 Aug;100(2):282-8.
- [5] Anders Brahme, Accurate Description of Heterogeneous Tumors by Their Effective Radiation-Sensitive and -Resistant Cell Compartments, Comprehensive Biomedical Physics, Elsevier, 2014, Pages 191-203.
- [6] Λ.Χ. Μαργαρίτης, Βιολογία Κυττάρου, Ανανεωμένη Έκδοση, Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας, 2015.
- [7] Jane B. Reece & Steven A. Wasserman, Campbell Biology (10th Edition).
- [8] Bruce Alberts, Βασικές αρχές Κυτταρικής Βιολογίας: Εισαγωγή στη Μοριακή Βιολογία Κυττάρου, 2^η έκδοση, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ.Πασχαλίδης, 2010.
- [9] Cooper M.Geoffrey, Hausman E.Robert, Το κύτταρο: Μία μοριακή προσέγγιση, Ακαδημαϊκές εκδόσεις, 2018.
- [10] Α. Γεωργακίλας Μαθήματα “Ιοντιζουσών Ακτινοβολιών”, βλάβες DNA, επιπτώσεις, επιδιορθωτικοί μηχανισμοί, Διαλέξεις ΔΠΜΣ “Ιατρικής-Φυσικής”, 2022.
- [11] Γ. Τερζούδη, Διαφάνειες μαθήματος “Βιολογικές επιδράσεις Ι.Α. 2022”
- [12] Ε. Στυλιάρης, Διαφάνειες διαλέξεων μαθήματος “Ιατρικής Φυσικής”, 2020.
- [13] Β. Κουλουλίας, Διαλέξεις μαθήματος “Ακτινοθεραπείας”, 2022
- [14] <https://oncologymedicalphysics.com/statistical-radiobiology/>
- [15] Johns H.E. and Cunningham J.R., The Physics of Radiology, Springfield Illinois: C.C. Thomas, 1984.
- [16] Tornga, Shawn, “A prototype Compton imager : simulations, measurements and algorithm development”, 2010.
- [17] Podgorsak E.B. Radiation Physics for Medical Physicists, 2006.
- [18] B. Emami, G. Woloschak, William Small “Beyond the linear quadratic model: intraoperative radiotherapy and normal tissue tolerance”, Translational Cancer Research, 2015.

- [19] <https://surgeryreference.aofoundation.org/spine/tumors/metastatic-tumors/further-reading/classification-of-tumor-radiosensitivity>
- [20] Jones B, Hopewell JW. Alternative models for estimating the radiotherapy retreatment dose for the spinal cord. *Int J Radiat Biol* 2014; 90: 731–41.
- [21] Chatzipapas KP, Papadimitroulas P, Emfietzoglou D, Kalospyros SA, Hada M, Georgakilas AG, Kagadis GC. Ionizing Radiation and Complex DNA Damage: Quantifying the Radiobiological Damage Using Monte Carlo Simulations. *Cancers (Basel)*. 2020 Mar 26;12(4):799.
- [22] <http://faculty.washington.edu/trawets/mcds/>
- [23] Nikitaki Z, Choulilitsa E, Kalospyros SA, Kaisaridi S, Terzoudi GI, Kokkoris M, Georgakilas AG. Construction and evaluation of an α -particle-irradiation exposure apparatus. *Int J Radiat Biol*. 2021;97(10):1404-1416, 2021 Aug 17.
- [24] Runge, R., Oehme, L., Kotzerke, J., Freudenberg, R., & Maucksch, U. (2018). Radiotoxicity of alpha particles versus high and low energy electrons in hypoxic cancer cells. *Nuklearmedizin*, 57(02), 56–63. doi:10.3413/nukmed-0950-17-12.
- [25] Semenenko, V. A., & Stewart, R. D. (2006). Fast Monte Carlo simulation of DNA damage formed by electrons and light ions. *Physics in Medicine and Biology*, 51(7), 1693–1706.
- [26] Georgakilas, A. G., O'Neill, P., & Stewart, R. D. (2013). Induction and Repair of Clustered DNA Lesions: What Do We Know So Far? *Radiation Research*, 180(1), 100–109.
- [27] Park S, Ang RR, Duffy SP, Bazov J, Chi KN, Black PC, Ma H. Morphological differences between circulating tumor cells from prostate cancer patients and cultured prostate cancer cells. *PLoS One*. 2014 Jan 8;9(1):e85264.
- [28] https://www.researchgate.net/publication/8978794_Analysis_of_dose-LET_distribution_in_the_human_body_irradiated_by_high_energy_hadrons
- [29] Τζων Καλέφ-Εζρά, “Σημειώσεις Δοσιμετρίας”, Ιωάννινα 2003
- [30] Huang R, Zhou PK. DNA damage repair: historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy. *Signal Transduct Target Ther*. 2021 Jul 9;6(1):254.
- [31] Peng G, Lin SY. Exploiting the homologous recombination DNA repair network for targeted cancer therapy. *World J Clin Oncol* 2011; 2(2): 73-79
- [32]] J.M. Brian, *Biological Effects of Ionizing Radiation*, Nuclear Medicine Radiation Dosimetry Advanced Theoretical, SpringerVerlag, London, 2010.
- [33] Ramachandran S, Ient J, Göttgens EL, Krieg AJ, Hammond EM. Epigenetic Therapy for Solid Tumors: Highlighting the Impact of Tumor Hypoxia. *Genes (Basel)*. 2015 Sep 25;6(4):935-56.

- [34] Chang, D.S., Lasley, F.D., Das, I.J., Mendonca, M.S., Dynlacht, J.R. (2021). Radiation Survival Models, SLD, PLD, and Dose Rate. In: Basic Radiotherapy Physics and Biology. Springer, Cham.
- [35] Jones B, Dale RG. The evolution of practical radiobiological modelling. Br J Radiol. 2019 Jan;92(1093):20180097. Epub 2018 Mar 20.
- [36] Βερύκιος, Β., Καγκλής, Β., & Σταυρόπουλος, Η. (2015). *Εισαγωγή στην Εξόρυξη Δεδομένων* [Κεφάλαιο]. Στο Βερύκιος, Β., Καγκλής, Β., & Σταυρόπουλος, Η. 2015. *Η επιστήμη των δεδομένων μέσα από τη γλώσσα R* [Προπτυχιακό εγχειρίδιο]. Κάλλιπος, Ανοικτές Ακαδημαϊκές Εκδόσεις.
- [37] <https://www.cellosaurus.org/>
- [38] Roots R, Chatterjee A, Chang P, Lommel L, Blakely EA. Characterization of hydroxyl radical-induced damage after sparsely and densely ionizing irradiation. Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med. 1985 Feb;47(2):157-66.
- [39] Kollerup Madsen B, Hilscher M, Zetner D, Rosenberg J. Adverse reactions of dimethyl sulfoxide in humans: a systematic review. F1000Res. 2018 Nov 5;7:1746.
- [40] Ahenkorah S, Cassells I, Deroose CM, Cardinaels T, Burgoyne AR, Bormans G, Ooms M, Cleeren F. Bismuth-213 for Targeted Radionuclide Therapy: From Atom to Bedside. Pharmaceutics. 2021 Apr 21;13(5):599.
- [41] Emmett L, Willowson K, Violet J, Shin J, Blanksby A, Lee J. Lutetium ¹⁷⁷ PSMA radionuclide therapy for men with prostate cancer: a review of the current literature and discussion of practical aspects of therapy. J Med Radiat Sci. 2017 Mar;64(1):52-60.
- [42] Hsiao-Neng Chen, Chau-Yi Chang, Lian-Zen Chen, Yu-Jun Chang, Jaung-Geng Lin, Using Ultrasonography Measurements to Determine the Depth of the GB 21 Acupoint to Prevent Pneumothorax, Journal of Acupuncture and Meridian Studies, Volume 11, Issue 6, 2018, Pages 355-360, ISSN 2005-2901
- [43] Hosokawa M, Kenmotsu H, Koh Y, Yoshino T, Yoshikawa T, Naito T, Takahashi T, Murakami H, Nakamura Y, Tsuya A, Shukuya T, Ono A, Akamatsu H, Watanabe R, Ono S, Mori K, Kanbara H, Yamaguchi K, Tanaka T, Matsunaga T, Yamamoto N. Size-based isolation of circulating tumor cells in lung cancer patients using a microcavity array system. PLoS One. 2013 Jun 28;8(6):e67466.
- [44] Cheetham Philippa J., Petrylak Daniel P. Alpha Particles as Radiopharmaceuticals in the Treatment of Bone Metastases: Mechanism of Action of Radium-223 Chloride (Alpharadin) and Radiation. April 15, 2012. Oncology, ONCOLOGY Vol 26 No 4, Volume 26, Issue 4.
- [45] Johnson RW, Sowder ME, Giaccia AJ. Hypoxia and Bone Metastatic Disease. Curr Osteoporos Rep. 2017 Aug;15(4):231-238.

[46] Green DE, Rubin CT. Consequences of irradiation on bone and marrow phenotypes, and its relation to disruption of hematopoietic precursors. *Bone*. 2014 Jun;63:87-94.

[47] Mukherji, Deborah & Dika, Imane & Temraz, Sally & Haidar, Mohammed & Shamseddine, Ali. (2014). Evolving treatment approaches for the management of metastatic castration-resistant prostate cancer - Role of radium-223. *Therapeutics and clinical risk management*. 10. 373-380. 10.2147/TCRM.S45667.

[48] Cui, M., Gao, XS., Li, X. *et al*. Variability of α/β ratios for prostate cancer with the fractionation schedule: caution against using the linear-quadratic model for hypofractionated radiotherapy. *Radiat Oncol* **17**, 54 (2022).

[49] Mara E, Clausen M, Khachonkham S, Deycmar S, Pessy C, Dörr W, Kuess P, Georg D, Gruber S. Investigating the impact of alpha/beta and LET_d on relative biological effectiveness in scanned proton beams: An in vitro study based on human cell lines. *Med Phys*. 2020 Aug;47(8):3691-3702. doi: 10.1002/mp.14212. Epub 2020 May 15.

[50] Andrea Mairani, Stewart Mein, Eleanor Blakely, Jürgen Debus, Marco Durante, Alfredo Ferrari, Hermann Fuchs. Roadmap: helium ion therapy, *Physics in Medicine & Biology* Roadmap: helium ion therapy, Aug 2022.

[51] Y Hsiao and R.D. Stewart, Monte Carlo Simulation of DNA Damage Induction by X-rays and Selected Radioisotopes. *Phys. Med. Biol.* 53, 233-244 (2008).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1

1. Αρχείο Excel συλλογής ραδιοβιολογικών δεδομένων

#Exp	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
	Human Cells	Tissue	CellClass	CellCycle	Energy	σε MeV	LET(keV/μm)	RBE	Dose Rate (Gy/min)	ai_fit	bi_fit	DSBs/(Gy*Gbp)	0.15-0.30h	nonDSBClusters/(Gy*Gbp)
1	MGH-U1	Bladder	t	a	²⁴¹ Am	N/A	112.5	N/A	N/A	1,539	0,829	N/A		N/A
3	1	CGL1	Skin fibroblasts x HeLa	n	a	²⁴¹ Am	3.4	124	7.5	1,304	0,036	N/A		N/A
4	1	HF19	Lung fibroblasts	n	a	N/A	N/A	130	4.4	4,878	(-)1,087	N/A		N/A
5	1	HF19	Lung fibroblasts	n	a	N/A	3.3	129	N/A	N/A	N/A	6.95		N/A
6	1	AGO1522	Skin fibroblasts	n	a	²⁴¹ Am	3.2	122	5	0.002	1,198	0,210	N/A	N/A
7	1	SW-1573	Lung	t	a	²⁴¹ Am	4	130	14.7	2,2	0,580	25		N/A
8	1	FaDu	Pharynx	t	a	²²⁶ Th	3.8	155	2.7	0.5 (με D=0.68)	1,621	(-)0,133	N/A	N/A
9	2	FaDu	Pharynx	t	a	²²⁶ Th	3.8	155	2.7	0.5 (με D=0.7)	1,928	(-)0,262	N/A	N/A
10	3	Panc1	Pancreas	t	a	²²⁶ Th	3.8	155	1.95	0.5	0,910	0,053	N/A	N/A
11	4	Panc1	Pancreas	t	a	²²⁶ Th	3.8	155	1.95	0.5	1,291	(-)0,095	N/A	N/A
12	5	NCIH520	Lung	t	a	²²⁶ Th	3.8	155	N/A	0.5	0,566	0,024	N/A	N/A
13	6	NCIH520	Lung	t	a	²²⁶ Th	3.8	155	N/A	0.5	0,870	(-)0,090	N/A	N/A
14	1	SW-1573	Lung	t	a	²⁴¹ Am	4	130	14.7	0.2	2,200	(-)0,26	25±8.2	N/A
15	1	HL60	Blood	t	a	²⁴¹ Am	2.9	132	N/A	N/A	1,334	0,086	N/A	N/A
16	1	A549	Lung	t	a	²¹ He	2 MV	100	5.5	1	2,368	0,053	N/A	N/A
17	2	EAhy926	Umbilical vein	n	a	²¹ He	2 MV	100	4.6	1	1,900	0,237	N/A	N/A
18	1	NHBE	Lung	n	a	²³⁸ Pu	3.26	121	N/A	N/A	2,220	(-)0,583	N/A	N/A
19	1	MDA-MB-231	Breast	t	a	²¹³ Bi	N/A	N/A	5.5	N/A	1,447	(-)0,121	N/A	N/A
20	1	AG01522	Foreskin fibroblast	n	G0/G1	²⁴¹ Am	0.75	125.2	2.98	0.08	2,430	(-)0,138	22	N/A
21	1	LNCaP	Prostate	t	a	²⁴¹ Am	3.2	124.3	7.9	1.05	1,365	0,387	N/A	N/A
22	2	DU145	Prostate	t	a	²⁴¹ Am	3.2	124.3	8	1.05	1,864	0,217	N/A	N/A
23	3	PC3	Prostate	t	a	²⁴¹ Am	3.2	124.3	7	1.05	1,820	0,269	N/A	N/A
24	4	Capan-1	Pancreas	t	a	²⁴¹ Am	3.2	124.3	12.5	1.05	2,968	1,269	N/A	N/A
25	5	Panc-1	Pancreas	t	a	²⁴¹ Am	3.2	124.3	9.4	1.05	2,006	1,006	N/A	N/A
26	6	BxPC-3	Pancreas	t	a	²⁴¹ Am	3.2	124.3	6.2	1.05	1,627	0,428	N/A	N/A
27	1	LNCaP	Prostate	t	a	²⁴¹ Am	N/A	N/A	N/A	1.05	1,256	0,165	N/A	N/A
28	2	DU145	Prostate	t	a	²⁴¹ Am	N/A	N/A	N/A	1.05	2,157	(-)0,169	N/A	N/A
29	3	PC3	Prostate	t	a	²⁴¹ Am	N/A	N/A	N/A	1.05	1,224	0,519	N/A	N/A
30	1	Nuli-1	Lung	n	a	²⁴¹ Am	5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	10.75	N/A
31	1	TK6	Spleen	n	a	N/A	N/A	136	N/A	0.27	3,510	(-)2,077	N/A	N/A
32	1	BON	Pancreas	t	a	²¹³ Bi	N/A	N/A	1.8	N/A	0,87	0,040	N/A	N/A
33	2	BON	Pancreas	t	a	²¹³ Bi	N/A	N/A	1.7	N/A	0,91	0,319	N/A	N/A
34	1	A431	Skin	t	a	²²³ Ra	28	155	N/A	N/A	3,82	0,221	N/A	N/A
35	1	U87	Brain	t	a	²⁴¹ Am	N/A	129	N/A	0.25	2,56	(-)1,106	N/A	N/A
36	1	LN229	Brain	t	a	²⁴¹ Am	2.7	146	N/A	0.12	1,601	(-)0,225	N/A	N/A
37	2	LN18	Brain	t	a	²⁴¹ Am	2.7	146	N/A	0.12	1,355	(-)0,159	N/A	N/A
38	1	BEAS-2B	Lung	n	a	²⁴¹ Am	5.5	N/A	N/A	0.08	N/A	N/A	12	N/A
39	2	Nuli-1	Lung	n	a	²⁴¹ Am	5.5	N/A	N/A	0.08	N/A	N/A	8.5	N/A
40	3	BEAS-2B	Lung	n	a	²⁴¹ Am	5.5	N/A	N/A	0.48	0,791	(-)0,125	N/A	N/A
41	1	NHEK	Skin	n	a	²⁴¹ Am	4.48	153	N/A	8.2	2,113	(-)0,236	8.3	N/A
42	1	MDA-MB-231	Breast	t	a	²⁴¹ Am	N/A	91	N/A	0.22	4,489	(-)1,113	2.5	N/A
43	1	U2OS	Bone	t	a	²⁴¹ Am	N/A	115	N/A	N/A	N/A	N/A	10±5	N/A
44	1	48BR	Skin fibroblasts	n	a	²⁴¹ Am	5.49	164	N/A	0.35	N/A	N/A	25	N/A
45	2	RPE-1	Retina eye	n	a	²⁴¹ Am	5.49	164	N/A	0.35	9,787	(-)3,534	N/A	N/A
46	1	A549	Lung	t	a	²⁴¹ Am	3.4	124	N/A	1.32	1,720	(-)0,140	N/A	N/A
47	2	HCT116	Colon	t	a	²⁴¹ Am	3.4	124	N/A	1.32	1,634	(-)0,120	N/A	N/A
48	1	H460	Lung	t	a	²²³ Ra	N/A	N/A	N/A	N/A	0,124	(-)0,003	N/A	N/A
49	2	HCT116	Colon	t	a	²²³ Ra	N/A	N/A	N/A	N/A	0,258	(-)0,008	N/A	N/A
50	3	A549	Lung	t	a	²²³ Ra	N/A	N/A	N/A	N/A	0,225	(-)0,007	N/A	N/A
51	4	HEK293	Embryonic kidney	n	a	²²³ Ra	N/A	N/A	N/A	N/A	0,258	(-)0,008	N/A	N/A

2. Πίνακας εξαγωγής του λόγου α/β, μέσω των παραμέτρων α και β του LQ-Model

Human Cells	Tissue	CellClass	CellCycle	ai_fit	bi_fit	α/β (Gy)
MGH-U1	Bladder	t	a	1,539	0,829	1,86
CGL1	Skin fibroblasts x HeLa	n	a	1,304	0,036	36,22
HF19	Lung fibroblasts	n	a	4,878	(-)1,087	4,49
HF19	Lung fibroblasts	n	a	N/A	N/A	-
AGO1522	Skin fibroblasts	n	a	1,198	0,210	5,70
SW-1573	Lung	t	a	2,2	0,580	3,79
FaDu	Pharynx	t	a	1,621	(-)0,133	12,19
FaDu	Pharynx	t	a	1,928	(-)0,262	7,36
Panc1	Pancreas	t	a	0,910	0,053	17,17

Panc1	Pancreas	t	a	1,291	(-)0,095	13,59
NCIH520	Lung	t	a	0,566	0,024	23,58
NCIH520	Lung	t	a	0,870	(-)0,090	9,67
SW-1573	Lung	t	a	2,200	(-)0,26	8,46
HL60	Blood	t	a	1.334	0,086	15,51
A549	Lung	t	a	2,368	0,053	44,68
EAhy926	Umbilical vein	n	a	1,900	0,237	8,02
NHBE	Lung	n	a	2,220	(-)0,583	3,81
MDA-MB-231	Breast	t	a	1,447	(-)0,121	11,96
AG01522	Foreskin fibroblast	n	G0/G1	2,430	(-)0,138	17,61
LNCaP	Prostate	t	a	1,365	0,387	3,53
DU145	Prostate	t	a	1,864	0,217	8,59
PC3	Prostate	t	a	1,820	0,269	6,77
Capan-1	Pancreas	t	a	2,968	1.269	2,34
Panc-1	Pancreas	t	a	2,006	1.006	1,99
BxPC-3	Pancreas	t	a	1,627	0,428	3,80
LNCaP	Prostate	t	a	1,256	0,165	7,61
DU145	Prostate	t	a	2,157	(-)0,169	12,76
PC3	Prostate	t	a	1,224	0,519	2,36
Nuli-1	Lung	n	a	N/A	N/A	-
TK6	Spleen	n	a	3,510	(-)2,077	1,69
BON	Pancreas	t	a	0,87	0,040	21,75
BON	Pancreas	t	a	0,91	0,319	2,85
A431	Skin	t	a	3,82	0,221	17,29
U87	Brain	t	a	2,56	(-)1,106	2,31
LN229	Brain	t	a	1,601	(-)0,225	7,12
LN18	Brain	t	a	1,355	(-)0,159	8,52
BEAS-2B	Lung	n	a	N/A	N/A	-
Nuli-1	Lung	n	a	N/A	N/A	-
BEAS-2B	Lung	n	a	0,791	(-)0,125	6,33
NHEK	Skin	n	a	2,113	(-)0,236	8,95
MDA-MB-231	Breast	t	a	4,489	(-)1,113	4,03
U2OS	Bone	t	a	N/A	N/A	-
48BR	Skin fibroblasts	n	a	N/A	N/A	-
RPE-1	Retina eye	n	a	9,787	(-)3,534	2,77
A549	Lung	t	a	1,720	(-)0,140	12,29
HCT116	Colon	t	a	1,634	(-)0,120	13,62
H460	Lung	t	a	0,124	(-)0,003	41,33
HCT116	Colon	t	a	0,258	(-)0,008	32,25
A549	Lung	t	a	0,225	(-)0,007	32,14
HEK293	Embryonic kidney	n	a	0,258	(-)0,008	32,25

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2

Αρχείο εισόδου και εξόδου του MCDS (Monte Carlo Damage Simulation)

!SAMPLE MCDS INPUT FILE (4 MeV 4He, 20% O2 concentration)

SIMCON: nocs=10000 seed=987654321
CELL: DNA=1 ndia=5 cdia=15.1
EV02: p02=20.0
RADX: par=4He ke=4

Αρχείο εισόδου, που όταν το ανοίξουμε θα εισάγουμε τα απαραίτητα δεδομένα ώστε να “τρέξει” ο κώδικας.

```
=====
MCDS Version 3.10A 05-DEC-2011
=====
      0.296      running time (min)
    987654321    random number seed
      10000      number of cells (nocs)
    0.0000E+00   water-equivalent material (WEM) thickness (mg/cm^2)
    1.0000E+00   Desired dose to the cell nucleus (Gy)
    1.0000E+00   DNA content (Gbp)

TARGET (cell) DEFINITION (4V/S = mean chord length)
=====
      DIAMETER      4V/S      Volume      Mass
      (um)          (um)      (um^3)     (ng)
-----
DNA      ---          ---      1.021E+00  1.021E-03
NUCLEUS  5.000E+00  3.333E+00  6.545E+01  6.545E-02
CYTOPLASM ---          ---      1.737E+03  1.737E+00
CELL     1.510E+01  1.007E+01  1.803E+03  1.803E+00
=====
NOTE: In human DNA, 1 Gbp=0.979 ng (not including bound
H2O). DNA volume computed using a density of 1 g/cm^3.

INCIDENT PARTICLE: 4He (mass = 4.00260E+00 u = 3.72738E+03 MeV/c^2)
  4.00000E+00 MeV >= 1.00000E-06 MeV
  1.00000E+00 MeV/A >= 2.50000E-07 MeV/A)
  1.72728E+02 MeV (p*c = momentum x speed of light)
  7.17891E-03 pm (de Broglie wavelength)
  1.00107E+00 = T/m0c2+1 (Lorentz factor) >= 1
  1.94777E+00 ABS(effective charge); Barkas 1963
  4.62907E-02 beta = (v/c) <= 1
  1.77046E+03 (zeff/beta)^2 <= 2.000E+05
  1.05048E+02 keV/um (total stopping power in H2O)
  1.04960E+02 keV/um ( 99.917% electronic)

  8.73389E-02 keV/um ( 0.083% nuclear)
  2.71295E-03 CSDA range of particle (cm) in H2O

PARTICLE TRANSPORT - Beam of radiation incident on bottom of cell culture dish
(WEM=0.00 um, cell=15.10 um, nucleus=5.00 um; total distance traveled to
reach nucleus=5.050 um of H2O).
=====
              ----- Cell ----- ----- Nucleus -----
              Incident      Entry      Exit      Entry      Exit
=====
      KE (MeV)  4.0000E+00  4.0000E+00  2.1076E+00  3.4434E+00  2.8275E+00
      (Zeff/beta)^2  1.7705E+03  1.7705E+03  3.0561E+03  2.0232E+03  2.3991E+03
      LET (keV/um)  1.0505E+02  1.0505E+02  1.5589E+02  1.1599E+02  1.3137E+02
      Res. Range (um)  2.7130E+01  2.7130E+01  1.2030E+01  2.2080E+01  1.7080E+01
      DPUF1 (nGy-cm^2)  1.6829E+02  1.6829E+02  2.4973E+02  1.8582E+02  2.1046E+02
      DPUF2 (nGy-cm^2)  ---      1.9062E+02  ---      1.9423E+02  ---
      Edep (keV)  ---      1.1978E+03  ---      4.0415E+02  ---
      YF (keV/um)  ---      1.1899E+02  ---      1.2125E+02  ---
      ZF (Gy)  ---      1.0644E-01  ---      9.8923E-01  ---
=====
LET=(Stot-Srad); absorbed dose per unit fluence (DPUF1) = 1.602*LET/rho
Avg. absorbed dose within target (i.e., DPUF2) = 2.5*pi*d*d*zf
Edep = 0.1602*ZF*PI*d*d*d/6; yf = edep/lbar = 0.25*edep*{area}/{volume}

DAMAGE FORMATION AND CLUSTERING (normoxic conditions)
  37978 segment length, nseg (bp per cell per Gy)
  1300 number of strand breaks, sig5b (per cell per Gy)
  3900 number of base damages, sig8d (per cell per Gy)
  3.0 base damage to strand break ratio, f
  9 minimum distance between clusters, Nmin (bp)
  10 maximum distance between two Sb to compose a DSB, Ndsb (bp)
  0.0 fraction B1/Bd
```

OXYGEN SIMULATION (M0=1.740, K=0.3372, q=946.10, r=2.15)
 2.0000E+01 % O2 concentration (=152.00 mmHg)
 1.4597E-03 chemical repair probability (pcr)
 9.9854E-01 O2 fixation probability (1-pcr)
 1.0015E+00 Approx. HRF for SSB induction [=1/(1-pcr)]
 1.0029E+00 Approx. HRF for DSB induction [1/(1-pcr)]^2

DMSO SIMULATION
 5.0000E-01 fraction of non-scavengeable DNA damage (fnsd)
 5.0000E-01 concentration (mol dm⁻³) at half-level (chmx)
 0.0000E+00 DMSO concentration (mol dm⁻³)

TABLE 1. Percent (%) cluster yields by complexity, as classified using the scheme of Nikjoo et al. (IJRB 71, 467-483 1997 and and Radiat. Res. 156, 577-583 2001).

46.470	BD	- one or more Bd (no Sb)
33.173	SSB	- Sb (no auxiliary damage)
7.596	SSB+	- two Sb on the same strand
3.218	2SSB	- two or more Sb on opposite strands separated by at least 10 bp
4.459	DSB	- two Sb on opposite strands with a separation <= 10 bp
2.795	DSB+	- DSB accompanied by one (or more) additional Sb within 10 bp separation
2.289	DSB++	- more than one DSB whether within the 10 bp separation or further apart
24.584	SSBc	- fraction of complex damage (SSB+ and 2SSB) among SSBs
83.581	SSBcb	- fraction of complex damage (SSB+ and 2SSB) among SSBs; base damage included
53.274	DSBc	- fraction of complex damage (DSB+ and DSB++) among DSBs
92.945	DSBcb	- fraction of complex damage (DSB+ and DSB++) among DSBs; base damage included

TABLE 2. Number of clusters per cell (DNA=1.000 Gbp, AD=1.000 Gy).

Number of lesions	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM
1	---	---	1.81103E+01	1.63895E-02	5.42916E+01	2.74281E-02	7.24020E+01	3.13307E-02
2	1.68643E+00	5.19190E-03	2.08698E+01	1.76322E-02	2.90023E+01	2.09902E-02	5.15585E+01	2.74809E-02
3	2.81743E+00	6.79259E-03	1.83560E+01	1.68557E-02	1.54441E+01	1.53273E-02	3.66175E+01	2.34318E-02
4	3.16825E+00	7.12621E-03	1.45741E+01	1.49868E-02	8.23250E+00	1.13937E-02	2.59748E+01	1.95582E-02
5	3.04385E+00	6.97751E-03	1.10479E+01	1.32181E-02	4.37872E+00	8.28543E-03	1.84704E+01	1.67360E-02
6	2.69625E+00	6.50784E-03	8.11043E+00	1.13395E-02	2.33923E+00	6.11049E-03	1.31459E+01	1.40895E-02
7	2.28195E+00	6.04202E-03	5.79892E+00	9.72529E-03	1.24485E+00	4.40982E-03	9.32572E+00	1.19379E-02
8	1.87363E+00	5.47941E-03	4.09647E+00	8.05542E-03	6.58667E-01	3.25375E-03	6.62877E+00	9.96963E-03
9	1.48388E+00	4.89127E-03	2.87218E+00	6.67028E-03	3.51467E-01	2.41832E-03	4.70753E+00	8.44677E-03
10	1.17540E+00	4.32336E-03	1.98205E+00	5.67956E-03	1.89200E-01	1.75707E-03	3.34665E+00	7.27179E-03
11	9.08700E-01	3.82668E-03	1.36705E+00	4.66898E-03	1.00367E-01	1.27999E-03	2.37612E+00	6.14364E-03
12	6.92683E-01	3.32488E-03	9.39600E-01	3.88816E-03	5.16667E-02	9.17015E-04	1.68395E+00	5.11699E-03
13	5.27917E-01	2.90227E-03	6.41133E-01	3.21598E-03	2.86667E-02	6.90879E-04	1.19772E+00	4.37737E-03
14	4.00867E-01	2.52413E-03	4.40600E-01	2.71275E-03	1.49500E-02	5.06247E-04	8.56417E-01	3.67076E-03
15	3.00700E-01	2.21813E-03	2.97317E-01	2.22397E-03	8.55000E-03	3.78129E-04	6.06567E-01	3.14189E-03
16	2.21933E-01	1.92005E-03	2.03633E-01	1.83146E-03	4.15000E-03	2.61844E-04	4.29717E-01	2.64938E-03
17	1.62983E-01	1.63869E-03	1.37217E-01	1.51581E-03	2.61667E-03	2.07197E-04	3.02817E-01	2.21356E-03
18	1.21450E-01	1.41556E-03	9.03833E-02	1.21663E-03	9.83333E-04	1.27647E-04	2.12817E-01	1.85244E-03
19	8.81500E-02	1.20740E-03	6.19333E-02	1.01181E-03	5.83333E-04	1.01216E-04	1.50667E-01	1.57451E-03
20	6.53333E-02	1.04107E-03	4.30500E-02	8.34010E-04	3.50000E-04	7.62998E-05	1.08733E-01	1.34272E-03
21	4.93333E-02	9.01870E-04	2.88833E-02	6.85736E-04	2.16667E-04	6.00565E-05	7.84333E-02	1.12569E-03
22	3.64833E-02	7.87410E-04	2.02667E-02	5.84108E-04	1.00000E-04	4.08146E-05	5.68500E-02	9.74373E-04
23	2.61000E-02	6.63099E-04	1.26833E-02	4.59215E-04	3.33333E-05	2.35690E-05	3.88167E-02	8.07398E-04
24	1.83667E-02	5.52939E-04	8.03333E-03	3.67732E-04	---	---	2.64000E-02	6.63587E-04
25	1.32000E-02	4.71214E-04	5.96667E-03	3.17639E-04	3.33333E-05	2.35690E-05	1.92000E-02	5.62090E-04
26	1.03333E-02	4.14200E-04	3.96667E-03	2.55146E-04	---	---	1.43000E-02	4.86618E-04
27	7.33333E-03	3.48283E-04	2.73333E-03	2.12999E-04	---	---	1.00667E-02	4.07424E-04
28	5.43333E-03	2.99724E-04	1.90000E-03	1.76943E-04	---	---	7.33333E-03	3.45802E-04
29	3.71667E-03	2.47234E-04	1.46667E-03	1.55666E-04	---	---	5.18333E-03	2.91242E-04
30	2.81667E-03	2.17410E-04	9.16667E-04	1.25503E-04	---	---	3.73333E-03	2.51111E-04
31	1.81667E-03	1.74661E-04	4.83333E-04	8.96270E-05	---	---	2.30000E-03	1.95867E-04
32	1.26667E-03	1.46657E-04	3.66667E-04	7.80915E-05	---	---	1.63333E-03	1.65873E-04
33	1.18333E-03	1.39943E-04	2.00000E-04	5.77033E-05	---	---	1.38333E-03	1.51217E-04
34	9.00000E-04	1.22149E-04	2.50000E-04	6.45045E-05	---	---	1.15000E-03	1.37972E-04
35	5.00000E-04	9.11546E-05	8.33333E-05	3.72603E-05	---	---	5.83333E-04	9.84335E-05
36	4.00000E-04	8.15557E-05	1.33333E-04	4.71239E-05	---	---	5.33333E-04	9.41346E-05
37	2.16667E-04	6.00565E-05	3.33333E-05	2.35690E-05	---	---	2.50000E-04	6.45045E-05
38	1.33333E-04	4.71239E-05	1.66667E-05	1.66667E-05	---	---	1.50000E-04	4.99800E-05
39	1.00000E-04	4.08146E-05	1.66667E-05	1.66667E-05	---	---	1.16667E-04	4.40826E-05
40	8.33333E-05	3.72603E-05	3.33333E-05	2.35690E-05	---	---	1.16667E-04	4.40826E-05
41	5.00000E-05	2.88646E-05	---	---	---	---	5.00000E-05	2.88646E-05
42	---	---	1.66667E-05	1.66667E-05	---	---	1.66667E-05	1.66667E-05
43	1.66667E-05	1.66667E-05	1.66667E-05	1.66667E-05	---	---	3.33333E-05	2.35690E-05
44	---	---	---	---	---	---	---	---
45	1.66667E-05	1.66667E-05	---	---	---	---	1.66667E-05	1.66667E-05
46	1.66667E-05	1.66667E-05	---	---	---	---	1.66667E-05	1.66667E-05
47	1.66667E-05	1.66667E-05	1.66667E-05	1.66667E-05	---	---	3.33333E-05	2.35690E-05
48	---	---	---	---	---	---	---	---
49	---	---	---	---	---	---	---	---
50	1.66667E-05	1.66667E-05	---	---	---	---	1.66667E-05	1.66667E-05
Total	2.38976E+01	1.50316E-02	1.10128E+02	3.15408E-02	1.16346E+02	3.21493E-02	2.50372E+02	3.32977E-02

NOTE: The category "OTHER" includes all classes of individual and clustered DNA lesion, except for SSB and DSB.
 SEM = standard error of the mean.

TABLE 3. Number of clusters per cell per track (DNA=1.000 Gbp, ZF=0.98923 Gy).

Number of lesions	DSB		SSB		OTHER		ALL CLUSTERS	
	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM
1	---	---	1.79153E+01	1.62130E-02	5.37068E+01	2.71326E-02	7.16221E+01	3.09932E-02
2	1.66827E+00	5.13598E-03	2.06450E+01	1.74423E-02	2.86899E+01	2.07641E-02	5.10031E+01	2.71849E-02
3	2.78708E+00	6.71943E-03	1.81582E+01	1.66741E-02	1.52778E+01	1.51622E-02	3.62231E+01	2.31794E-02
4	3.13412E+00	7.04945E-03	1.44171E+01	1.48253E-02	8.14382E+00	1.12710E-02	2.56950E+01	1.93475E-02
5	3.01106E+00	6.90235E-03	1.09289E+01	1.30757E-02	4.33155E+00	8.19619E-03	1.82715E+01	1.65558E-02
6	2.66721E+00	6.43774E-03	8.02307E+00	1.12174E-02	2.31404E+00	6.04467E-03	1.30043E+01	1.39377E-02
7	2.25737E+00	5.97694E-03	5.73645E+00	9.62053E-03	1.23144E+00	4.36232E-03	9.22526E+00	1.18093E-02
8	1.85345E+00	5.42039E-03	4.05234E+00	7.96865E-03	6.51572E-01	3.21870E-03	6.55736E+00	9.86224E-03
9	1.46790E+00	4.83858E-03	2.84125E+00	6.59843E-03	3.47681E-01	2.39227E-03	4.65683E+00	8.35578E-03
10	1.16274E+00	4.27679E-03	1.96070E+00	5.61838E-03	1.87162E-01	1.73815E-03	3.31060E+00	7.19346E-03
11	8.98912E-01	3.78546E-03	1.35232E+00	4.61868E-03	9.92856E-02	1.26620E-03	2.35052E+00	6.07747E-03
12	6.85222E-01	3.28906E-03	9.29479E-01	3.84628E-03	5.11101E-02	9.07138E-04	1.66581E+00	5.06187E-03
13	5.22230E-01	2.87101E-03	6.34227E-01	3.18134E-03	2.83579E-02	6.83438E-04	1.18482E+00	4.33022E-03
14	3.96549E-01	2.49694E-03	4.35854E-01	2.68353E-03	1.47890E-02	5.00794E-04	8.47192E-01	3.63122E-03
15	2.97461E-01	2.19424E-03	2.94114E-01	2.20002E-03	8.45790E-03	3.74056E-04	6.00033E-01	3.18004E-03
16	2.19543E-01	1.89937E-03	2.01440E-01	1.81173E-03	4.10530E-03	2.59024E-04	4.25088E-01	2.62084E-03
17	1.61228E-01	1.62104E-03	1.35739E-01	1.49948E-03	2.58848E-03	2.04965E-04	2.99555E-01	2.18972E-03
18	1.20142E-01	1.40031E-03	8.94098E-02	1.20352E-03	9.72741E-04	1.26272E-04	2.10524E-01	1.83248E-03
19	8.72005E-02	1.19440E-03	6.12662E-02	1.00091E-03	5.77050E-04	1.00126E-04	1.49044E-01	1.55755E-03
20	6.46296E-02	1.02985E-03	4.25863E-02	8.25026E-04	3.46230E-04	7.54780E-05	1.07562E-01	1.32825E-03
21	4.88019E-02	8.92156E-04	2.85722E-02	6.78349E-04	2.14333E-04	5.94095E-05	7.75885E-02	1.11356E-03
22	3.60903E-02	7.78928E-04	2.00484E-02	5.77817E-04	9.89228E-05	4.03750E-05	5.62376E-02	9.63877E-04
23	2.58189E-02	6.55957E-04	1.25467E-02	4.54269E-04	3.29743E-05	2.33152E-05	3.83985E-02	7.98701E-04
24	1.81688E-02	5.46983E-04	7.94680E-03	3.63771E-04	---	---	2.61156E-02	6.56439E-04
25	1.30578E-02	4.66138E-04	5.90240E-03	3.14217E-04	3.29743E-05	2.33152E-05	1.89932E-02	5.56036E-04
26	1.02220E-02	4.09738E-04	3.92394E-03	2.52398E-04	---	---	1.41460E-02	4.81376E-04
27	7.25434E-03	3.44531E-04	2.70389E-03	2.10705E-04	---	---	9.95823E-03	4.03035E-04
28	5.37481E-03	2.96496E-04	1.87953E-03	1.75037E-04	---	---	7.25434E-03	3.42156E-04
29	3.67663E-03	2.44571E-04	1.45087E-03	1.53989E-04	---	---	5.12750E-03	2.88105E-04
30	2.78633E-03	2.15068E-04	9.06793E-04	1.24151E-04	---	---	3.69312E-03	2.48407E-04
31	1.79710E-03	1.72779E-04	4.78127E-04	8.86616E-05	---	---	2.27523E-03	1.93757E-04
32	1.25302E-03	1.45078E-04	3.62717E-04	7.72503E-05	---	---	1.61574E-03	1.64086E-04
33	1.17059E-03	1.38436E-04	1.97846E-04	5.70817E-05	---	---	1.36843E-03	1.49588E-04
34	8.90305E-04	1.20834E-04	2.47307E-04	6.38097E-05	---	---	1.13761E-03	1.36486E-04
35	4.94614E-04	9.01727E-05	8.24357E-05	3.68590E-05	---	---	5.77050E-04	9.73733E-05
36	3.95691E-04	8.06772E-05	1.31897E-04	4.66163E-05	---	---	5.27588E-04	9.31207E-05
37	2.14333E-04	5.94095E-05	3.29743E-05	2.33152E-05	---	---	2.47307E-04	6.38097E-05
38	1.31897E-04	4.66163E-05	1.64871E-05	0.00000E+00	---	---	1.48384E-04	4.94416E-05
39	9.89228E-05	4.03750E-05	1.64871E-05	0.00000E+00	---	---	1.15410E-04	4.36078E-05
40	8.24357E-05	3.68590E-05	3.29743E-05	2.33152E-05	---	---	1.15410E-04	4.36078E-05
41	4.94614E-05	2.85537E-05	---	---	---	---	4.94614E-05	2.85537E-05
42	---	---	1.64871E-05	0.00000E+00	---	---	1.64871E-05	0.00000E+00
43	1.64871E-05	0.00000E+00	1.64871E-05	0.00000E+00	---	---	3.29743E-05	2.33152E-05
44	---	---	---	---	---	---	---	---
45	1.64871E-05	0.00000E+00	---	---	---	---	1.64871E-05	0.00000E+00
46	1.64871E-05	0.00000E+00	---	---	---	---	1.64871E-05	0.00000E+00
47	1.64871E-05	0.00000E+00	1.64871E-05	0.00000E+00	---	---	3.29743E-05	2.33152E-05
48	---	---	---	---	---	---	---	---
49	---	---	---	---	---	---	---	---
50	1.64871E-05	0.00000E+00	---	---	---	---	1.64871E-05	0.00000E+00
Total	2.36402E+01	1.48696E-02	1.08942E+02	3.12011E-02	1.15093E+02	3.18030E-02	2.47675E+02	3.29390E-02

TABLE 4. Cluster Length (in base pair)

Number of lesions	DSB		SSB		OTHER		ALL CLUSTERS	
	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM
1	---	---	1.66667E-01	0.00000E+00	1.66667E-01	0.00000E+00	1.66667E-01	0.00000E+00
2	7.86838E-01	1.48727E-03	8.23899E-01	3.85268E-04	8.20962E-01	3.26570E-04	8.21067E-01	2.45512E-04
3	1.38798E+00	1.47839E-03	1.49154E+00	5.77439E-04	1.47882E+00	6.34910E-04	1.47820E+00	5.04891E-04
4	2.00460E+00	1.73310E-03	2.16445E+00	7.96557E-04	2.13583E+00	1.06504E-03	2.13596E+00	5.92837E-04
5	2.63987E+00	2.04335E-03	2.83589E+00	1.05203E-03	2.79334E+00	1.68149E-03	2.79346E+00	8.06036E-04
6	3.28548E+00	2.41661E-03	3.50585E+00	1.36806E-03	3.45024E+00	2.60960E-03	3.45076E+00	1.06769E-03
7	3.94670E+00	2.92388E-03	4.17139E+00	1.78699E-03	4.10653E+00	4.19280E-03	4.10779E+00	1.40463E-03
8	4.59773E+00	3.55703E-03	4.83997E+00	2.32359E-03	4.75895E+00	6.58530E-03	4.76414E+00	1.81975E-03
9	5.26136E+00	4.27683E-03	5.50689E+00	2.97512E-03	5.42706E+00	9.68440E-03	5.42306E+00	2.30831E-03
10	5.91214E+00	5.15933E-03	6.17787E+00	3.84767E-03	6.10017E+00	1.31885E-02	6.08062E+00	2.89400E-03
11	6.57367E+00	6.53320E-03	6.83755E+00	5.01811E-03	6.74435E+00	1.86357E-02	6.73270E+00	3.67441E-03
12	7.23201E+00	7.94599E-03	7.50590E+00	6.76351E-03	7.42504E+00	2.63142E-02	7.39120E+00	4.77545E-03
13	7.90153E+00	9.57556E-03	8.17373E+00	8.72227E-03	8.05554E+00	3.58209E-02	8.05662E+00	6.02431E-03
14	8.54655E+00	1.14830E-02	8.85944E+00	1.09949E-02	8.81631E+00	5.46284E-02	8.70816E+00	7.59800E-03
15	9.22408E+00	1.34041E-02	9.54038E+00	1.35475E-02	9.31496E+00	7.19421E-02	9.37021E+00	9.64775E-03
16	9.87211E+00	1.59113E-02	1.01807E+01	1.66457E-02	1.01316E+01	1.13307E-01	1.00207E+01	1.19104E-02
17	1.05041E+01	1.88716E-02	1.08821E+01	2.05436E-02	1.07282E+01	1.26729E-01	1.06780E+01	1.45217E-02
18	1.12298E+01	2.24965E-02	1.15114E+01	2.49343E-02	1.16299E+01	2.52402E-01	1.13529E+01	1.75129E-02
19	1.18880E+01	2.64531E-02	1.22032E+01	3.12798E-02	1.20858E+01	2.61507E-01	1.20156E+01	2.09571E-02
20	1.25091E+01	3.11722E-02	1.29028E+01	3.73940E-02	1.23889E+01	2.96214E-01	1.26645E+01	2.48463E-02
21	1.31770E+01	3.67777E-02	1.35784E+01	4.69585E-02	1.31154E+01	4.25916E-01	1.33170E+01	2.96798E-02
22	1.39024E+01	4.29976E-02	1.41968E+01	5.69588E-02	1.50278E+01	6.10732E-01	1.40122E+01	3.49220E-02
23	1.45039E+01	5.17576E-02	1.49399E+01	7.39516E-02	1.24167E+01	1.75000E+00	1.46399E+01	4.32867E-02
24	1.51964E+01	6.35496E-02	1.54469E+01	9.42479E-02	---	---	1.52775E+01	5.31373E-02
25	1.59316E+01	7.48818E-02	1.61674E+01	1.05635E-01	1.52500E+01	2.50000E-01	1.60008E+01	6.14731E-02
26	1.64142E+01	8.69118E-02	1.68052E+01	1.32547E-01	---	---	1.65284E+01	7.32723E-02
27	1.69923E+01	1.01660E-01	1.73078E+01	1.64325E-01	---	---	1.70642E+01	8.69279E-02
28	1.79508E+01	1.29815E-01	1.80673E+01	2.15373E-01	---	---	1.79854E+01	1.11158E-01
29	1.82508E+01	1.52933E-01	1.87178E+01	2.47232E-01	---	---	1.83800E+01	1.30593E-01

30	1.94042E+01	1.83178E-01	1.94244E+01	2.36978E-01	---	---	1.94072E+01	1.49910E-01
31	1.97029E+01	2.44636E-01	1.95517E+01	4.69594E-01	---	---	1.96709E+01	2.16233E-01
32	2.08122E+01	2.49013E-01	2.06591E+01	5.49550E-01	---	---	2.07775E+01	2.27998E-01
33	2.13005E+01	2.83234E-01	2.05833E+01	7.83752E-01	---	---	2.11968E+01	2.66964E-01
34	2.22994E+01	3.61424E-01	2.17556E+01	6.45470E-01	---	---	2.21812E+01	3.14748E-01
35	2.26778E+01	5.11735E-01	2.18000E+01	1.41166E+00	---	---	2.25524E+01	4.77201E-01
36	2.31736E+01	4.98536E-01	2.41667E+01	7.47350E-01	---	---	2.34219E+01	4.19278E-01
37	2.44103E+01	6.72415E-01	2.45000E+01	3.16667E+00	---	---	2.44222E+01	6.56846E-01
38	2.43542E+01	7.00367E-01	1.95000E+01	0.00000E+00	---	---	2.38148E+01	8.20007E-01
39	2.45556E+01	6.49311E-01	2.63333E+01	0.00000E+00	---	---	2.48095E+01	6.04687E-01
40	2.53000E+01	1.38584E+00	2.75000E+01	0.00000E+00	---	---	2.59286E+01	1.03883E+00
41	2.57778E+01	1.16402E+00	---	---	---	---	2.57778E+01	1.16402E+00
42	---	---	2.81667E+01	0.00000E+00	---	---	2.81667E+01	0.00000E+00
43	2.98333E+01	0.00000E+00	2.76667E+01	0.00000E+00	---	---	2.87500E+01	1.08333E+00
44	---	---	---	---	---	---	---	---
45	2.83333E+01	0.00000E+00	---	---	---	---	2.83333E+01	0.00000E+00
46	3.45000E+01	0.00000E+00	---	---	---	---	3.45000E+01	0.00000E+00
47	3.28333E+01	0.00000E+00	2.80000E+01	0.00000E+00	---	---	3.04167E+01	2.41667E+00
48	---	---	---	---	---	---	---	---
49	---	---	---	---	---	---	---	---
50	3.18333E+01	0.00000E+00	---	---	---	---	3.18333E+01	0.00000E+00
Average	3.85390E+00	2.19028E-03	2.23985E+00	7.10157E-04	9.15581E-01	3.99108E-04	1.77848E+00	3.96383E-04

TABLE 5. Density of lesions forming a cluster (in units of lesions per nucleotide).

Number of lesions	DSB		SSB		OTHER		ALL CLUSTERS	
	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM
1	---	---	8.33333E-02	0.00000E+00	8.33333E-02	0.00000E+00	8.33333E-02	0.00000E+00
2	5.41865E-02	1.40414E-04	4.79920E-02	3.06604E-05	4.84586E-02	2.63096E-05	4.84551E-02	1.97212E-05
3	3.75993E-02	5.44206E-05	3.47277E-02	1.88134E-05	3.50926E-02	2.10511E-05	3.51020E-02	1.34487E-05
4	3.24176E-02	3.66559E-05	2.97725E-02	1.50806E-05	3.02296E-02	2.04059E-05	3.02377E-02	1.14760E-05
5	2.96609E-02	2.88192E-05	2.73343E-02	1.30522E-05	2.78403E-02	2.17366E-05	2.78383E-02	1.03767E-05
6	2.78988E-02	2.48707E-05	2.59115E-02	1.23124E-05	2.64114E-02	2.44515E-05	2.64099E-02	9.93235E-06
7	2.66529E-02	2.34757E-05	2.50203E-02	1.27026E-05	2.55005E-02	3.07182E-05	2.54838E-02	1.03114E-05
8	2.58498E-02	2.33880E-05	2.43917E-02	1.35648E-05	2.48701E-02	3.93610E-05	2.48469E-02	1.10385E-05
9	2.51682E-02	2.34099E-05	2.39231E-02	1.46918E-05	2.43352E-02	4.94704E-05	2.43493E-02	1.18943E-05
10	2.47077E-02	2.44154E-05	2.35590E-02	1.63895E-05	2.38760E-02	5.81401E-05	2.39777E-02	1.27887E-05
11	2.43160E-02	2.65516E-05	2.32987E-02	1.89845E-05	2.36715E-02	7.31060E-05	2.37019E-02	1.43665E-05
12	2.40113E-02	2.87879E-05	2.30781E-02	2.27943E-05	2.33443E-02	9.08951E-05	2.34693E-02	1.65966E-05
13	2.37101E-02	3.13339E-05	2.28704E-02	2.64419E-05	2.32276E-02	1.14340E-04	2.32325E-02	1.87710E-05
14	2.35361E-02	3.38318E-05	2.26546E-02	3.01445E-05	2.28371E-02	1.50957E-04	2.30780E-02	2.15948E-05
15	2.33073E-02	3.68807E-05	2.24809E-02	3.43147E-05	2.30624E-02	1.84144E-04	2.29262E-02	2.55219E-05
16	2.31710E-02	3.99690E-05	2.24319E-02	3.92246E-05	2.26497E-02	2.67327E-04	2.28168E-02	2.91831E-05
17	2.31084E-02	4.45648E-05	2.22713E-02	4.48621E-05	2.25045E-02	2.73382E-04	2.27203E-02	3.30983E-05
18	2.28474E-02	4.85527E-05	2.22363E-02	5.10978E-05	2.20958E-02	4.85624E-04	2.25809E-02	3.70101E-05
19	2.27439E-02	5.30516E-05	2.21344E-02	5.99373E-05	2.22122E-02	5.39555E-04	2.24958E-02	4.13669E-05
20	2.27312E-02	5.97219E-05	2.19973E-02	6.73264E-05	2.26919E-02	5.70026E-04	2.24388E-02	4.62411E-05
21	2.26362E-02	6.64043E-05	2.19334E-02	7.95435E-05	2.25332E-02	7.63748E-04	2.23919E-02	5.26020E-05
22	2.24303E-02	7.19709E-05	2.19488E-02	9.18524E-05	2.04978E-02	8.15064E-04	2.22511E-02	5.77610E-05
23	2.24673E-02	8.29641E-05	2.17967E-02	1.15035E-04	2.62485E-02	3.69945E-03	2.22612E-02	6.88763E-05
24	2.23660E-02	9.75368E-05	2.19789E-02	1.41687E-04	---	---	2.22399E-02	8.09558E-05
25	2.21775E-02	1.06492E-04	2.18224E-02	1.53748E-04	2.27748E-02	3.73357E-04	2.20735E-02	8.81344E-05
26	2.23932E-02	1.23724E-04	2.18171E-02	1.79764E-04	---	---	2.22253E-02	1.02957E-04
27	2.24243E-02	1.39007E-04	2.19871E-02	2.10573E-04	---	---	2.23234E-02	1.17034E-04
28	2.20499E-02	1.67347E-04	2.18677E-02	2.57769E-04	---	---	2.19971E-02	1.40714E-04
29	2.24207E-02	1.92704E-04	2.18439E-02	2.86789E-04	---	---	2.22614E-02	1.60933E-04
30	2.17991E-02	2.10758E-04	2.16232E-02	2.67372E-04	---	---	2.17585E-02	1.72147E-04
31	2.22438E-02	3.00924E-04	2.24136E-02	5.91471E-04	---	---	2.22798E-02	2.67294E-04
32	2.15864E-02	2.62429E-04	2.18309E-02	5.72893E-04	---	---	2.16419E-02	2.39664E-04
33	2.17936E-02	2.99181E-04	2.26219E-02	8.53600E-04	---	---	2.19133E-02	2.83777E-04
34	2.14826E-02	3.61335E-04	2.19501E-02	5.94850E-04	---	---	2.15842E-02	3.09878E-04
35	2.17786E-02	5.31587E-04	2.26452E-02	1.34127E-03	---	---	2.19024E-02	4.89424E-04
36	2.18135E-02	4.86068E-04	2.08424E-02	7.07646E-04	---	---	2.15707E-02	4.06745E-04
37	2.12415E-02	5.75848E-04	2.13314E-02	2.75712E-03	---	---	2.12535E-02	5.64621E-04
38	2.18034E-02	6.62454E-04	2.70655E-02	0.00000E+00	---	---	2.23881E-02	8.26542E-04
39	2.21330E-02	5.61661E-04	2.05696E-02	0.00000E+00	---	---	2.19096E-02	5.24603E-04
40	2.22046E-02	1.12809E-03	2.02020E-02	0.00000E+00	---	---	2.16325E-02	8.61631E-04
41	2.21845E-02	1.04092E-03	---	---	---	---	2.21845E-02	1.04092E-03
42	---	---	2.07101E-02	0.00000E+00	---	---	2.07101E-02	0.00000E+00
43	2.00186E-02	0.00000E+00	2.15863E-02	0.00000E+00	---	---	2.08025E-02	7.83862E-04
44	---	---	---	---	---	---	---	---
45	2.20588E-02	0.00000E+00	---	---	---	---	2.20588E-02	0.00000E+00
46	1.85185E-02	0.00000E+00	---	---	---	---	1.85185E-02	0.00000E+00
47	1.98816E-02	0.00000E+00	2.33135E-02	0.00000E+00	---	---	2.15975E-02	1.71597E-03
48	---	---	---	---	---	---	---	---
49	---	---	---	---	---	---	---	---
50	2.18150E-02	0.00000E+00	---	---	---	---	2.18150E-02	0.00000E+00
Average	3.04547E-02	1.47841E-05	4.13420E-02	1.03001E-05	5.99072E-02	1.10579E-05	4.89297E-02	7.16743E-06

NOTE: Lesion density computed as the number of lesions per cluster divided by twice the cluster length.

TABLE 6. Cluster composition (% Sb per cluster)

Number of lesions	DSB		SSB		OTHER		ALL CLUSTERS	
	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM
1	---	---	1.66667E+01	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16884E+00	3.30101E-03
2	1.66667E+01	0.00000E+00	8.94837E+00	1.93773E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16736E+00	2.71590E-03
3	1.19735E+01	5.03620E-03	6.47103E+00	2.05210E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16479E+00	2.64866E-03
4	9.74498E+00	5.19968E-03	5.30194E+00	2.19744E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16355E+00	2.77537E-03
5	8.44495E+00	5.35156E-03	4.64042E+00	2.41099E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16734E+00	2.88804E-03
6	7.60600E+00	5.48754E-03	4.21802E+00	2.71421E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16239E+00	3.18550E-03

7	7.02533E+00	5.78296E-03	3.93686E+00	3.07457E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16654E+00	3.52131E-03
8	6.58412E+00	6.20487E-03	3.73218E+00	3.58628E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16598E+00	3.98981E-03
9	6.26004E+00	6.80132E-03	3.58882E+00	4.16182E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16199E+00	4.53859E-03
10	6.00705E+00	7.61859E-03	3.48385E+00	4.94143E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	4.17314E+00	5.14636E-03
11	5.77373E+00	8.75492E-03	3.40468E+00	5.87523E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16561E+00	5.93483E-03
12	5.58858E+00	9.65682E-03	3.34787E+00	7.26637E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16880E+00	6.87717E-03
13	5.45143E+00	1.07962E-02	3.28166E+00	8.74550E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	4.15967E+00	8.09323E-03
14	5.32773E+00	1.23955E-02	3.23717E+00	1.02891E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16361E+00	9.47946E-03
15	5.23584E+00	1.35613E-02	3.22582E+00	1.21835E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	4.17162E+00	1.13360E-02
16	5.14426E+00	1.51328E-02	3.19769E+00	1.39746E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	4.17170E+00	1.31217E-02
17	5.02302E+00	1.66406E-02	3.17869E+00	1.61852E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	4.14768E+00	1.47794E-02
18	4.96207E+00	1.90634E-02	3.13031E+00	1.88787E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	4.15578E+00	1.69437E-02
19	4.90462E+00	2.12466E-02	3.16755E+00	2.20180E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16821E+00	1.89037E-02
20	4.87711E+00	2.40050E-02	3.14508E+00	2.51252E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16483E+00	2.13985E-02
21	4.77858E+00	2.67029E-02	3.16050E+00	3.01583E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16013E+00	2.40654E-02
22	4.75124E+00	2.96537E-02	3.06365E+00	3.50841E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	4.14074E+00	2.73546E-02
23	4.76978E+00	3.49710E-02	3.00828E+00	4.25061E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	4.18936E+00	3.29270E-02
24	4.64885E+00	3.98750E-02	3.16671E+00	5.09933E-02	---	---	4.20042E+00	3.63361E-02
25	4.61469E+00	4.62868E-02	3.08214E+00	6.00592E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	4.12494E+00	4.29823E-02
26	4.57130E+00	5.19324E-02	2.99686E+00	7.27288E-02	---	---	4.13827E+00	4.91891E-02
27	4.51389E+00	5.98754E-02	3.14322E+00	8.16161E-02	---	---	4.14020E+00	5.49526E-02
28	4.62326E+00	7.16829E-02	2.99185E+00	9.54028E-02	---	---	4.19745E+00	6.79687E-02
29	4.72067E+00	8.26258E-02	3.01071E+00	1.04265E-01	---	---	4.23967E+00	7.92638E-02
30	4.46440E+00	1.00505E-01	3.32305E+00	1.41240E-01	---	---	4.18687E+00	8.99207E-02
31	4.56491E+00	1.19089E-01	3.13311E+00	2.15234E-01	---	---	4.26183E+00	1.15458E-01
32	4.78819E+00	1.36184E-01	3.26705E+00	2.27779E-01	---	---	4.44319E+00	1.33621E-01
33	4.58102E+00	1.41595E-01	3.24074E+00	2.28065E-01	---	---	4.38725E+00	1.35495E-01
34	4.11220E+00	1.45698E-01	3.07190E+00	2.59681E-01	---	---	3.88605E+00	1.36654E-01
35	4.28571E+00	2.20180E-01	3.04762E+00	1.90476E-01	---	---	4.10884E+00	2.03895E-01
36	4.37886E+00	2.80032E-01	3.06713E+00	4.70650E-01	---	---	4.05093E+00	2.57968E-01
37	4.46985E+00	2.99411E-01	2.70270E+00	0.00000E+00	---	---	4.23423E+00	3.03925E-01
38	4.44079E+00	3.36050E-01	3.07018E+00	0.00000E+00	---	---	4.28850E+00	3.33206E-01
39	4.13105E+00	3.05522E-01	4.27350E+00	0.00000E+00	---	---	4.15140E+00	2.59013E-01
40	4.25000E+00	3.33333E-01	3.33333E+00	0.00000E+00	---	---	3.98810E+00	2.85466E-01
41	3.79404E+00	2.71003E-01	---	---	---	---	3.79404E+00	2.71003E-01
42	---	---	2.38095E+00	0.00000E+00	---	---	2.38095E+00	0.00000E+00
43	3.10078E+00	0.00000E+00	2.32558E+00	0.00000E+00	---	---	2.71318E+00	3.87597E-01
44	---	---	---	---	---	---	---	---
45	2.96296E+00	0.00000E+00	---	---	---	---	2.96296E+00	0.00000E+00
46	3.98551E+00	0.00000E+00	---	---	---	---	3.98551E+00	0.00000E+00
47	4.96454E+00	0.00000E+00	3.19149E+00	0.00000E+00	---	---	4.07801E+00	8.86525E-01
48	---	---	---	---	---	---	---	---
49	---	---	---	---	---	---	---	---
50	4.33333E+00	0.00000E+00	---	---	---	---	4.33333E+00	0.00000E+00
Average	8.51456E+00	2.85311E-03	7.62461E+00	1.58904E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	4.16657E+00	8.60445E-04

NOTES: (% Sb) is the percentage of lesions that are strand breaks. The number of Sb is [(% Sb)/100]*(# lesions).
The number of Bd is (1-(% Sb)/100)*(# lesions).

Το αρχείο εξόδου του προγράμματος MCDS, όπου παρουσιάζονται όλοι οι παράμετροι που είχε εισάγει ο χρήστης στο αρχείο εισόδου, καθώς και 6 πίνακες με τα αποτελέσματα που αφορούν τις βλάβες στο DNA, ύστερα από έκθεση κυττάρων σε α-σωμάτια.

