



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ
ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ
ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΟΛΟΓΩΝ
ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΕΚΕΦΕ «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ»

ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΝΑΝΟΕΠΙΣΤΗΜΗΣ
ΚΑΙ ΝΑΝΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΠΥΡΗΝΙΚΗΣ ΚΑΙ
ΣΩΜΑΤΙΔΙΑΚΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ



Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

«Φυσική και Τεχνολογικές Εφαρμογές»

**Προσομοίωση επαγόμενων βλαβών DNA από
σωμάτια α με χρήση του κώδικα MCDS**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

της Βασιλικής-Μαρίας Παπαϊωάννου

Επιβλέπων: Αλέξανδρος Γεωργακίλας, καθηγητής ΕΜΠ

Μέλη τριμελούς επιτροπής: Αλέξανδρος Γεωργακίλας, καθηγητής ΕΜΠ

Μαρία Διακάκη, επίκουρη καθηγήτρια ΕΜΠ

Μιχάλης Κόκκορης, καθηγητής ΕΜΠ

Αθήνα, Φεβρουάριος, 2022

Ευχαριστίες

Θα ήθελα πρωταρχικά να ευχαριστήσω τον Δρ. Αλέξανδρο Γεωργακίλα, καθηγητή ΕΜΠ, για την ανάθεση του θέματος και την καθοδήγηση καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας εργασίας.

Τον Dr Robert Stewart , Associate Professor of Radiation Oncology University of Washington για την παραχώρηση του προγράμματός του (MCDS). Κατόπιν, τον υποψήφιο διδάκτορα Σπυρίδωνα Καλοσπύρο για τη συνεισφορά του στην περάτωση αυτής της εργασίας, την άψογη συνεργασία που είχαμε και την βοήθεια του. Την κα. Εύα Χουλιλίτσα για την παραχώρηση του κώδικά της για την προσομοίωση πηγής U μέσω του προγράμματος MCNP. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Αντιγόνη Καλαμαρά για την καθοδήγηση όσον αφορά το πρόγραμμα MCNP καθώς και την Δρ. Ζαχαρένια Νικητάκη για τις καίριες παρατηρήσεις και διορθώσεις της.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου που πάντοτε με στηρίζει ψυχοπνευματικά, καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών καθώς και τον σύντροφό μου, Αλέξανδρο Βουνάτσο, που δε παύει στιγμή να πιστεύει σε έμενα και να βρίσκεται δίπλα μου.

Περίληψη

Η εναπόθεση δόσης ακτινοβολίας σε υγιείς ιστούς, κατά τη διάρκεια της ακτινοθεραπείας, αποτέλεσε κίνητρο για τη μελέτη και την ανακάλυψη νέων θεραπειών του καρκίνου βασισμένων στη χρήση ακτινοβολίας φορτισμένων σωματιδίων, τη λεγόμενη αδρονική θεραπεία.

Η έρευνα για τις επαγόμενες βλάβες σε μοριακό επίπεδο ύστερα από έκθεση σε σωματιδιακή ακτινοβολία, συνεχίζεται χάριν σε κώδικες προσομοίωσης όπως το Monte Carlo.

Το λογισμικό προσομοίωσης Monte Carlo Damage Simulation (MCDS) είναι ένα χρήσιμο, εύκολο και γρήγορο εργαλείο για σύγχρονα πειράματα έρευνας και εργαστηρίου, επειδή παρέχει πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με τη χωρική διαμόρφωση των ζημιών μέσα σε μια ομάδα βλαβών και σε κυτταρικό επίπεδο. Σημαντικότερο χαρακτηριστικό αυτού του αλγορίθμου είναι το γεγονός ότι με τον προσδιορισμό μιας μόνο ρυθμιζόμενης παραμέτρου – η οποία εξαρτάται από το σωματίδιο LET – προσομοιώνεται ο σχηματισμός βλαβών στο DNA και γενικά των αποκαλούμενων συστάδων (clusters).

Στην παρούσα διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκαν ο ταχύς κώδικας προσομοίωσης MCDS (Monte Carlo Damage Simulation) για την προσομοίωση και μελέτη των επαγόμενων βλαβών από σωματίδια α.

Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με δεδομένα που αντλήθηκαν από τη βιβλιογραφία.

Abstract

The deposition of radiation on healthy tissues, during radiotherapy, was the kickstart for the study and discovery of new cancer therapies based on the use of charged particles radiation, the so-called Hadron Therapy.

The research for induced damage at a molecular level after exposure to particle radiation, continues thanks to simulation codes such as Monte Carlo.

The Monte Carlo Damage Simulation (MCDS) is a useful, easy and fast tool for modern research and laboratory experiments, as it provides additional information on the spatial configuration of damage within a complex of a damage and within the cellular environment. The most important feature of this algorithm is the fact that the determination of a single regulated parameter - which depends on the LET particle - simulates the formation of damage to DNA and generally the so-called clusters.

In the present diploma thesis work, the rapid simulation code MCDS (Monte Carlo Damage Simulation) was used to simulate and study the induced damages by α -particles.

The results were compared with data gathered from scientific literature reviews.

Πρόλογος

Τα σωματίδια παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον στη στοχευμένη θεραπεία λόγω της μικρής εμβέλειάς τους και της υψηλής γραμμικής ενέργειας μεταφοράς (LET). Η μικρή τους εμβέλεια παρέχει τη δυνατότητα στόχευσης επιλεγμένου κυτταρικού πληθυσμού με ελάχιστη επίδραση σε γειτονικά κύτταρα και η υψηλή γραμμική ενέργεια μεταφοράς (LET) οδηγεί σε υψηλή συχνότητα βλαβών στο DNA πολλές από τις οποίες είναι ανεπανόρθωτες.

Παρόλο που οι ραδιοβιολογικές επιπτώσεις των σωματίων α είναι γνωστές από τις αρχές των 1960, η χρήση τους στη στοχευμένη θεραπεία προστέθηκε σχετικά πρόσφατα. Η πρώτη κλινική δοκιμή καταγράφεται μόλις το 1997. [3]

Περιεχόμενα

Κεφάλαιο 1: Βιολογία κυττάρου και γενετικό υλικό	1
1.1 Το γενετικό υλικό	1
1.2 Η δομή και ο ρόλος του DNA	2
1.3 Ο κυτταρικός κύκλος	7
Κεφάλαιο 2: Ιοντίζουσες ακτινοβολίες και η αλληλεπίδρασή τους με τους βιολογικούς οργανισμούς.....	11
2.1 Εισαγωγή στις ιοντίζουσες ακτινοβολίες.....	11
2.2 Αλληλεπίδραση ακτινοβολίας βαρέων φορτισμένων σωματιδίων με την ύλη.	13
2.2.1 Απόθεση ενέργειας κατά τη διέλευση των βαρέων φορτισμένων σωματιδίων μέσα από την ύλη.....	14
2.2.2 Σχετική ισχύς πεδήσεως.....	18
2.2.3 Εμβέλεια σωματίων α	20
Κεφάλαιο 3: Αλληλεπίδραση της ακτινοβολίας με τους βιολογικούς ιστούς	22
3.1 Στάδια βιολογικής επίδρασης ακτινοβολίας και βιολογικής ύλης.	24
3.2 Άμεση και έμμεση δράση της ακτινοβολίας.....	26
3.3 Λόγος επαυξήσεως οξυγόνου OER (Oxygen Enhancement Ratio)	28
3.4 Είδη βλαβών και επιδιορθωτικοί μηχανισμοί DNA	30
3.5 Επιδιορθωτικοί μηχανισμοί	32
Κεφάλαιο 4: Προσομοίωση Monte Carlo.....	34
4.1 Εισαγωγή	34
4.2 Το Λογισμικό Προσομοίωσης MCDS	36
4.3 Αρχεία εισόδου-εξόδου του MCDS	41
4.3.1 Αρχείο εισόδου.....	41
4.3.2 Αρχεία Εξόδου	44
Κεφάλαιο 5: Εφαρμογή προσομοιώσεων και παρουσίαση αποτελεσμάτων.	60
5.1 Σκοπός και μεθοδολογία.....	60
5.2 Γραφικές παραστάσεις αποτελεσμάτων προσομοιώσεων με το λογισμικό MCDS.	61
5.3 Προσομοιώσεις που αφορούν τα φάσματα δευτερογενών ηλεκτρονίων	73
Βιβλιογραφία	77
Παράρτημα.....	i

Κεφάλαιο 1: Βιολογία κυττάρου και γενετικό υλικό

1.1 Το γενετικό υλικό

Το δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ DNA αποτελεί το γενετικό υλικό στους ανθρώπινους αλλά και σχεδόν σε όλους τους οργανισμούς. Σχεδόν κάθε κύτταρο στο σώμα ενός ατόμου έχει το ίδιο DNA. Το μεγαλύτερο μέρος του DNA εντοπίζεται στον πυρήνα των κυττάρων (πυρηνικό DNA), ωστόσο μια μικρή ποσότητα του DNA μπορεί να βρεθεί και στα μιτοχόνδρια.

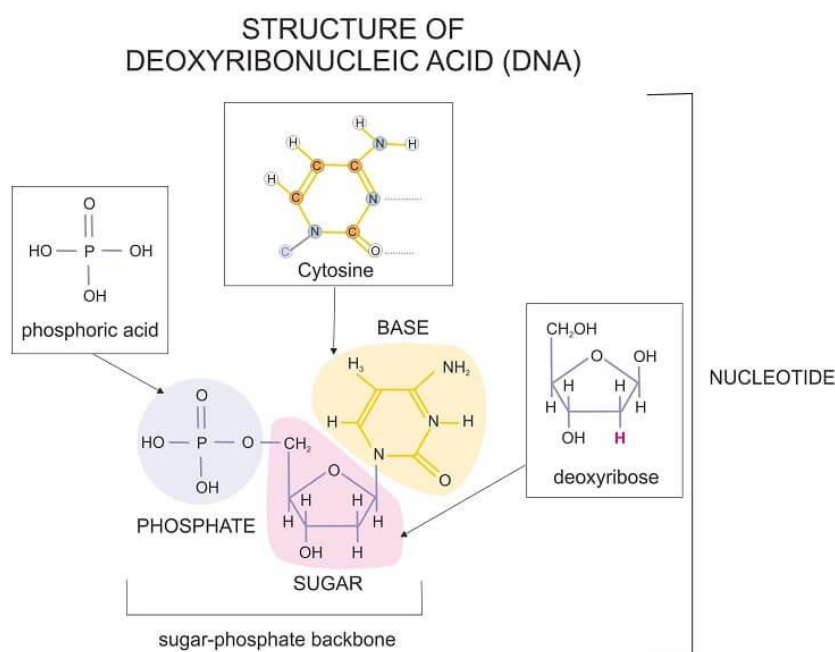
Η γενετική πληροφορία είναι αποθηκευμένη με τη μορφή κώδικα ο οποίος αποτελείται από συνδυασμό τεσσάρων αζωτούχων βάσεων: την αδενίνη (A), τη γουανίνη (G), την κυτοσίνη (C) και τη θυμίνη (T). Αυτή η ακολουθία των αζωτούχων βάσεων στο ανθρώπινο DNA καθορίζει τη διαθέσιμη πληροφορία για την κατασκευή και τη διατήρηση ενός οργανισμού όπως τα γράμματα του αλφάβητου εμφανίζονται σε συγκεκριμένη σειρά προς το σχηματισμό λέξεων και προτάσεων. [4]

Οι λειτουργίες του γενετικού υλικού είναι:

- Η αποθήκευση της γενετικής πληροφορίας. Στο DNA (ή στο RNA των RNA ιών) περιέχονται οι πληροφορίες που καθορίζουν όλα τα χαρακτηριστικά ενός οργανισμού και οι οποίες οργανώνονται σε λειτουργικές μονάδες, τα γονίδια.
- Η διατήρηση και η μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας από κύτταρο σε κύτταρο και από οργανισμό σε οργανισμό, που εξασφαλίζονται με τον αυτοδιπλασιασμό του DNA.
- Η έκφραση των γενετικών πληροφοριών, που επιτυγχάνεται με τον έλεγχο της σύνθεσης των πρωτεϊνών. [5]

1.2 Η δομή και ο ρόλος του DNA

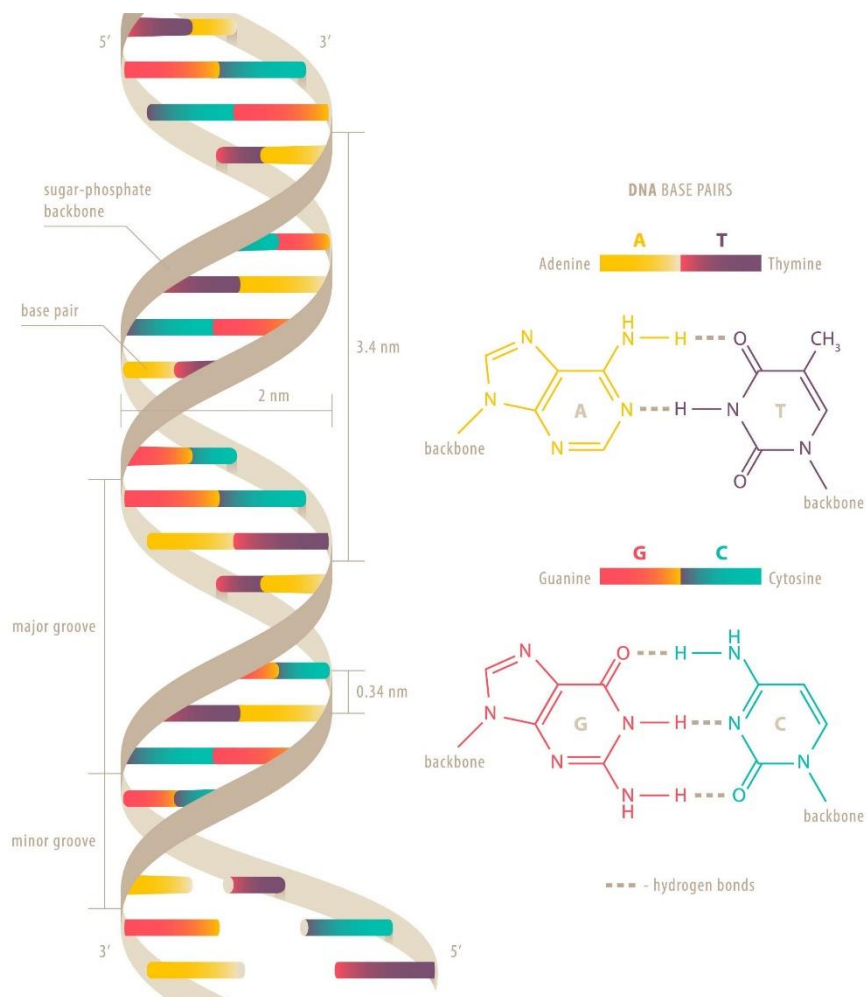
Τον Απρίλιο του 1953, σε επιστημονική τους δημοσίευση οι James Watson και Francis Crick παρουσιάζουν τη δομή της έλικας DNA, δομή που επιβεβαιώθηκε από πειραματικά δεδομένα κρυσταλλογραφίας ακτίνων-Χ των Rosalind Franklin και Maurice Wilkins μοιράστηκαν το Nobel Ιατρικής το 1962 «για τις ανακαλύψεις τους αναφορικά με τη μοριακή δομή των νουκλεϊκών οξέων και της σημασίας τους ως κέντρου μεταφοράς πληροφοριών σε ζωντανούς οργανισμούς». [6],[7]



Εικόνα 1 Η δομή του DNA νουκλεοτιδίου [8]

Το DNA, είναι ένα μακρομόριο, που αποτελείται από νουκλεοτίδια. Κάθε νουκλεοτίδιο αποτελείται από μια πεντόζη, τη δεοξυριβόζη, ενωμένη με μια φωσφορική ομάδα και μια αζωτούχα βάση. Στα νουκλεοτίδια του DNA η αζωτούχος βάση μπορεί να είναι μια από τις: αδενίνη (A), γουανίνη (G), κυτοσίνη (C) και θυμίνη (T). Σε κάθε νουκλεοτίδιο η αζωτούχος βάση συνδέεται με τον 1' άνθρακα της δεοξυριβόζης και η φωσφορική ομάδα με τον 5' άνθρακα. Μια

πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα σχηματίζεται από την ένωση πολλών νουκλεοτιδίων με ομοιοπολικό δεσμό. Ο δεσμός αυτός δημιουργείται μεταξύ του υδροξυλίου του 3' άνθρακα της πεντόζης του επόμενου νουκλεοτιδίου. Ο δεσμός αυτός ονομάζεται 3'-5' φωσφοδιεστερικός δεσμός. Με τον τρόπο αυτό η πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα που δημιουργείται έχει ένα σκελετό, που αποτελείται από επανάληψη των μορίων φωσφορική ομάδα-πεντόζη-φωσφορική ομάδα-πεντόζη. Ανεξάρτητα από τον αριθμό των νουκλεοτιδίων από τα οποία αποτελείται η πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα, το πρώτο της νουκλεοτίδιο έχει πάντα μια ελεύθερη φωσφορική ομάδα συνδεδεμένη στον 5' άνθρακα της πεντόζης του και το τελευταίο νουκλεοτίδιό της έχει ελεύθερο το υδροξύλιο του 3' άνθρακα της πεντόζης του. [5]



Εικόνα 2 Η δομή της διπλής έλικας του DNA [6]

Η διπλή έλικα συμπληρώνει μια πλήρη περιστροφή κάθε 3,4 nm και δεδομένου ότι η απόσταση μεταξύ δύο διαδοχικών βάσεων είναι 0,34 nm, υπάρχουν περίπου 10 ζεύγη ανά περιστροφή. [9]

Σύμφωνα με το μοντέλο της διπλής έλικας, το DNA αποτελείται από δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες που σχηματίζουν στο χώρο μια δεξιόστροφη διπλή έλικα. Η διπλή έλικα έχει ένα σταθερό σκελετό, που αποτελείται από επαναλαμβανόμενα μόρια φωσφορικής ομάδας-δεσοξυριβόζης ενωμένων με φωσφοδιεστερικό δεσμό. Ο σκελετός αυτός είναι υδρόφιλος και βρίσκεται στο εξωτερικό του μορίου. Προς το εσωτερικό του σταθερού αυτού σκελετού βρίσκονται οι αζωτούχες βάσεις που είναι υδρόφοβες. Οι αζωτούχες βάσεις της μιας αλυσίδας συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου με τις αζωτούχες βάσεις της απέναντι αλυσίδας με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας. Η αδενίνη συνδέεται μόνο με θυμίνη και αντίστροφα, ενώ η κυτισίνη μόνο με γουανίνη και αντίστροφα. Οι δεσμοί υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ των βάσεων σταθεροποιούν τη δευτεροταγή δομή του μορίου. Ανάμεσα στην αδενίνη και τη θυμίνη σχηματίζονται δύο δεσμοί υδρογόνου, ενώ ανάμεσα στη γουανίνη και την κυτοσίνη σχηματίζονται τρεις δεσμοί υδρογόνου. Οι δύο αλυσίδες ενός μορίου DNA είναι συμπληρωματικές και αυτό υποδηλώνει ότι η αλληλουχία της μιας καθορίζει την αλληλουχία της άλλης. Η συμπληρωματικότητα έχει τεράστια σημασία για τον αυτοδιπλασιασμό του DNA μια ιδιότητα που το καθιστά το καταλληλότερο μόριο για τη διατήρηση και τη μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας. Κάθε αλυσίδα DNA μπορεί να χρησιμεύει ως καλούπι για τη σύνθεση μιας συμπληρωματικής αλυσίδας, ώστε τελικά να σχηματίζονται δύο δίκλινα μόρια DNA πανομοιότυπα με το μητρικό μόριο. Οι δύο αλυσίδες είναι αντιπαράλληλες, δηλαδή το 3' άκρο της μίας είναι απέναντι από το 5' άκρο της άλλης.

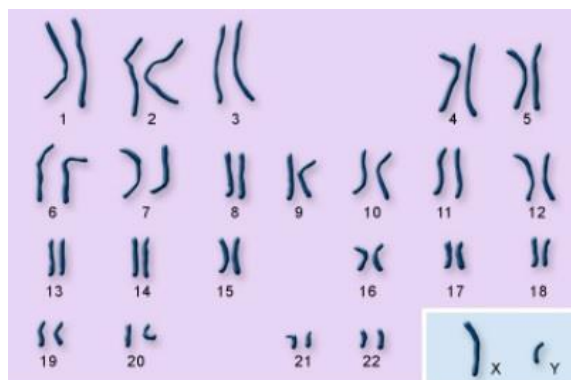
Το γενετικό υλικό ενός κυττάρου αποτελεί το γονιδίωμά του. Τα κύτταρα στα οποία υπάρχει το γονιδίωμα σε ένα μόνο αντίγραφο, όπως είναι τα προκαρυωτικά κύτταρα και οι γαμέτες των διπλοειδών οργανισμών, ονομάζονται απλοειδή. Τα κύτταρα στα οποία το γονιδίωμα υπάρχει σε δύο αντίγραφα, όπως είναι τα σωματικά κύτταρα των ανώτερων ευκαρυωτικών οργανισμών,

ονομάζονται διπλοειδή. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα το γενετικό υλικό κατανέμεται στον πυρήνα, στα μιτοχόνδρια και στους χλωροπλάστες. Συνήθως όμως ο όρος γονιδίωμα αναφέρεται στο γενετικό υλικό που βρίσκεται στον πυρήνα. Το γενετικό υλικό των ευκαρυωτικών κυττάρων έχει μεγαλύτερο μήκος από αυτό των προκαρυωτικών. Το συνολικό DNA που υπάρχει σε κάθε ευκαρυωτικό κύτταρο δεν είναι ενιαίο μόριο, αλλά αποτελείται από πολλά γραμμικά μόρια, ο αριθμός και το μήκος των οποίων είναι χαρακτηριστικά για τα διάφορα είδη οργανισμών. Τα μόρια του DNA πακετάρονται με πρωτεΐνες και σχηματίζουν τα ινίδια χρωματίνης. Το συνολικό DNA σε κάθε διπλοειδές κύτταρο του ανθρώπου έχει μήκος περίπου 2 m και συσπειρώνεται σε τέτοιο βαθμό, ώστε να χωράει στον πυρήνα, που έχει διάμετρο δέκα εκατομμυριοστά του μέτρου!

Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, ύστερα από ειδική επεξεργασία, τα ινίδια χρωματίνης μοιάζουν με κομπολόγια από χάντρες. Κάθε «χάντρα» ονομάζεται νουκλεόσωμα και αποτελεί τη βασική μονάδα οργάνωσης της χρωματίνης. Το νουκλεόσωμα αποτελείται από DNA μήκους 146 ζευγών βάσεων και από οκτώ μόρια πρωτεϊνών, που ονομάζονται ιστόνες. Το DNA είναι τυλιγμένο γύρω από το οκταμερές των ιστόνων. Τα νουκλεοσώματα αναδιπλώνονται με αποτέλεσμα το DNA να πακετάρει σε μεγαλύτερο βαθμό, σχηματίζοντας τελικά τα ινίδια της χρωματίνης. Στην αναδίπλωση συμμετέχουν και άλλα είδη πρωτεϊνών.

Το ανθρώπινο γονιδίωμα σε απλοειδές κύτταρο (γαμέτη) αποτελείται από περίπου 3×10^9 ζεύγη βάσεων DNA, που είναι οργανωμένα σε 23 χρωμοσώματα. Η μελέτη των χρωμοσωμάτων είναι δυνατή μόνο σε κύτταρα τα οποία διαιρούνται. Τα κύτταρα αυτά μπορεί να προέρχονται είτε από ιστούς που διαιρούνται φυσιολογικά είτε από κυτταροκαλλιέργειες, όπου γίνεται *in vitro* επαγωγή της διαίρεσης με ουσίες που έχουν μιτογόνο δράση. Τα χρωμοσώματα μελετώνται στο στάδιο της μετάφασης, όπου εμφανίζουν μεγαλύτερο αριθμό συσπείρωσης και είναι ευδιάκριτα. Επειδή σε ένα πληθυσμό διαιρούμενων κυττάρων το ποσοστό αυτών που βρίσκονται στη μετάφαση είναι μικρό, χρησιμοποιούνται ουσίες οι οποίες σταματούν την κυτταρική διαίρεση στη φάση αυτή. Στη συνέχεια τα κύτταρα επώάζονται σε υποτονικό διάλυμα, ώστε να

σπάσει η κυτταρική τους μεμβράνη και τα χρωμοσώματά τους απλώνονται σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Τέλος, χρωματίζονται με ειδικές χρωστικές ουσίες και παρατηρούνται στο μικροσκόπιο. Κάθε φυσιολογικό μεταφασικά χρωμόσωμα αποτελείται από δύο αδελφές χρωματίδες, οι οποίες συγκρατούνται στο κεντρομερίδιο. Το κεντρομερίδιο «διαιρεί» κάθε χρωματίδα σε δύο βραχίονες, ένα μεγάλο και ένα μικρό. Τα μεταφασικά χρωμοσώματα ενός κυττάρου διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το μέγεθος και ως προς τη θέση του κεντρομεριδίου. Τα χρωμοσώματα ταξινομούνται σε ζεύγη κατά ελαττούμενο μέγεθος. Η απεικόνιση αυτή αποτελεί τον καρυότυπο. Ο αριθμός και η μορφολογία των χρωμοσωμάτων είναι ιδιαίτερο χαρακτηριστικό κάθε είδους. Στον άνθρωπο τα φυσιολογικά αρσενικά και θηλυκά άτομα έχουν στον πυρήνα των σωματικών τους κυττάρων 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων. Το ένα χρωμόσωμα κάθε ζεύγους είναι πατρικής και το άλλο μητρικής προέλευσης και ελέγχουν τις ίδιες ιδιότητες. Από τα 23 ζεύγη τα 22 είναι μορφολογικά ίδια στα αρσενικά και τα θηλυκά άτομα και ονομάζονται αυτοσωμικά χρωμοσώματα. Το 23^ο ζεύγος στα θηλυκά άτομα αποτελείται από δύο Χ χρωμοσώματα, ενώ στα αρσενικά από ένα Χ και ένα Υ χρωμόσωμα. Το Υ χρωμόσωμα είναι μικρότερο σε μέγεθος από το Χ. τα χρωμοσώματα αυτά ονομάζονται φυλετικά και σε πολλούς οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπινου, καθορίζουν το φύλο. Στον άνθρωπο η παρουσία του Υ χρωμοσώματος καθορίζει το αρσενικό άτομο, ενώ η απουσία του το θηλυκό άτομο. Έτσι, ένα φυσιολογικό αρσενικό άτομο έχει 44 αυτοσωμικά χρωμοσώματα και ένα ζεύγος ΧΥ, ενώ ένα φυσιολογικό θηλυκό άτομο έχει 44 αυτοσωμικά χρωμοσώματα και ένα ζεύγος ΧΧ. [5]



Εικόνα 3 Τα ζεύγη χρωμοσωμάτων ενός ανθρώπου αρσενικού φύλου Credit: U.S. National Library of Medicine

1.3 Ο κυτταρικός κύκλος

Ο κυτταρικός κύκλος είναι μια πολύ καλά ελεγχόμενη διεργασία, με τελικό αποτέλεσμα τη διαίρεση του κυττάρου. Η χρονική περίοδος μεταξύ του τέλους της μίας κυτταρικής διαίρεσης μέχρι το τέλος της επόμενης καλείται κυτταρικός κύκλος. Ο κυτταρικός κύκλος περιλαμβάνει τη μεσόφαση και τη μίτωση.

Η μίτωση θεωρείται το επιστέγασμα όλων των διαδικασιών που γίνονται κατά τη μεσόφαση. Σκοπός της μίτωσης είναι ο ακριβής διαχωρισμός των χρωμοσωμάτων και ο σχηματισμός των δύο θυγατρικών κυττάρων. Το σημαντικότερο αποτέλεσμα που προκύπτει από τη μίτωση είναι ότι τα θυγατρικά κύτταρα διατηρούν το ίδιο γενετικό υλικό με το γονικό κύτταρο. Διακρίνεται σε πέντε φάσης, που αναφέρονται ως πρόφαση, προμετάφαση, μετάφαση, ανάφαση και τελόφαση.

Τη διάρκεια της δεκαετίας του '50 αποδείχθηκε με τη χρήση των ραδιενεργών ισοτόπων και της αυτοραδιογραφίας ότι η σύνθεση του DNA γίνεται στο στάδιο της μεσόφασης. Τη χρονική περίοδο σύνθεσης του DNA ονόμασαν φάση S. Κατά το τέλος της φάσης S, τα κύτταρα έχουν αντιγράψει όλο το γενετικό υλικό και έτσι έχουν διπλάσιο ποσό σε σχέση με το αρχικό διπλοειδές κύτταρο και φυσικά δύο διπλοειδείς σειρές γενετικής πληροφορίας. Η φάση S χρησιμεύει σαν σημάδι για τον καθορισμό των άλλων φάσεων της μεσόφασης. Συνήθως, από τη στιγμή που θα «γεννηθεί» το κύτταρο μέχρι να αρχίσει η αντιγραφή του, περνά ένα ορισμένο χρονικό διάστημα. Το μεσοδιάστημα αυτό ονομάζεται φάση G1. Από τη στιγμή που θα γίνει η αντιγραφή του DNA μέχρι να αρχίσει η διαίρεση του κυττάρου περνά ένα χρονικό διάστημα που καλείται φάση G2. Με το τέλος της G2 φάσης αρχίζει η περίοδος της κυτταρικής διαίρεσης, γνωστή ως φάση M (μίτωση).

Η διάρκεια των φάσεων του κυτταρικού κύκλου διαφέρει στα διάφορα είδη κυττάρων, ενώ οι διαφορές είναι ασήμαντες σε κύτταρα του ίδιου τύπου. Στα θηλαστικά η διάρκεια της σύνθεσης του DNA (φάση S) είναι 6-10 ώρες και της G2 περίπου 2-5 ώρες. Πρέπει να σημειωθεί ότι σε αντίθεση με τις άλλες

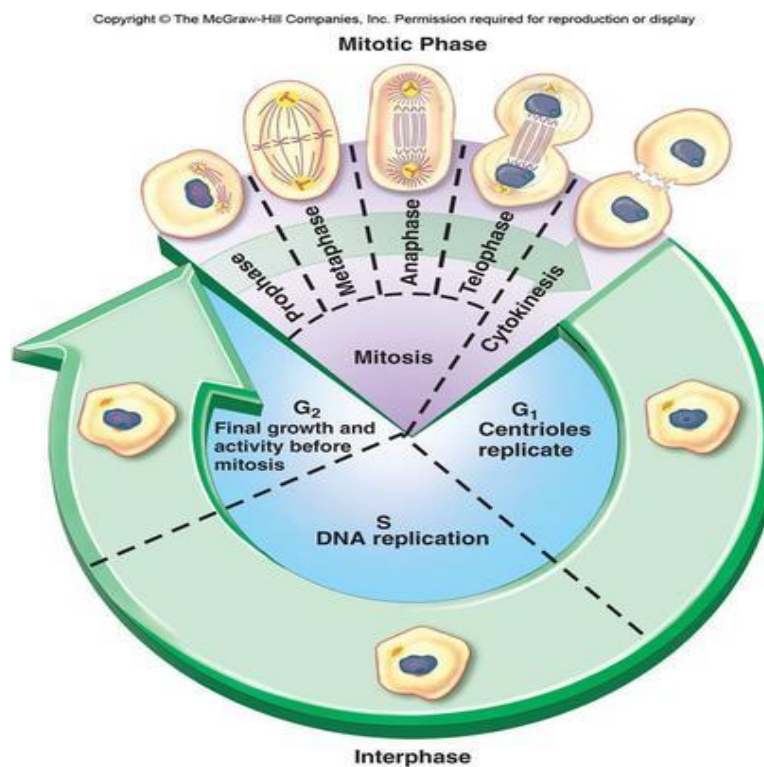
φάσεις, η διάρκεια της φάσης G1 επηρεάζεται από διάφορους φυσιολογικούς ή περιβαλλοντικούς παράγοντες. Ακόμη διαφέρει σημαντικά μεταξύ διαφόρων κυτταρικών τύπων, καθώς και μέσα στον ίδιο κυτταρικό πληθυσμό. Σε ορισμένες περιπτώσεις κύτταρα που βρίσκονται στη φάση G1, αντί να προετοιμάζονται για τη σύνθεση του DNA, εισέρχονται σε ένα στάδιο αναστολής γνωστό ως G0. Η διάρκεια αυτού του σταδίου κυμαίνεται από ημέρες, μήνες ή και χρόνια. Από την άλλη μεριά, μερικά κύτταρα που εισέρχονται στη φάση G0 δεν διαιρούνται ποτέ, όπως είναι τα νευρικά κύτταρα ή διαιρούνται περιστασιακά όπως τα ηπατικά, του παγκρέατος και των πνευμόνων. Υπάρχουν όμως και περιπτώσεις που η διάρκεια των φάσεων G1 και G2 μειώνεται δραστικά ή εξαφανίζεται τελείως και η φάση M είναι πολύ γρήγορη όπως κατά την αυλάκωση. Δηλαδή, κατά τις πρώτες κυτταρικές διαιρέσεις του ωαρίου μετά τη γονιμοποίησή του όπου το γιγαντιαίο ωάριο πρέπει να υποδιαιρεθεί γρήγορα σε πολλά μικρότερα κύτταρα.

[10]

Όπως περιεγράφηκε πιο πάνω, ο κυτταρικός κύκλος είναι μια πολύ καλά ελεγχόμενη διεργασία, με τελικό αποτέλεσμα τη διαίρεση του κυττάρου. Για να διασφαλιστεί η ακρίβεια της μιτωτικής διαίρεσης, το κύτταρο δεν προχωρά στην επόμενη φάση, αν δεν έχει προηγουμένως διασφαλισθεί ότι η προηγούμενη φάση έχει ολοκληρωθεί πλήρως και επιτυχώς. Δηλαδή, αν δεν έχει ολοκληρωθεί η αντιγραφή του DNA το κύτταρο δεν εισέρχεται στη μίτωση. Ακόμη το κύτταρο δεν εισέρχεται σε μιτωτική διαδικασία εάν η αντιγραφή του DNA δεν έχει γίνει ορθά και απαιτείται επιδιόρθωσή του. Συνεπώς, η ορθή ολοκλήρωση αυτής της διεργασίας είναι το διαβατήριο αλλά ταυτοχρόνως και το έναυσμα για το επόμενο βήμα του κυτταρικού κύκλου. Είναι, επομένως, ένα σημείο ελέγχου (check point) του κυτταρικού κύκλου.

Επειδή όμως, ο κυτταρικός κύκλος είναι ένα σύνολο σημαντικότερων επιμέρους κυτταρικών διεργασιών, είναι ευνόητο ότι το κύτταρο δε μπορεί να επαφίεται σε ένα μόνο σταθμό ελέγχου ορθής εκτέλεσης. Πράγματι, προτού εισέλθει στη φάση S το κύτταρο, ελέγχεται αν έχει διασφαλισθεί η σωστή αύξησή του και οι ευνοϊκές συνθήκες κατά τη διάρκεια της φάσης G1. Το σημείο ελέγχου πρωτοδιαπιστώθηκε στις ζύμες και χαρακτηρίζεται ως START.

Ανάλογο σημείο ελέγχου με το START υπάρχει και στα περισσότερα ζωικά κύτταρα με την εξής διαφορά στα ζωικά κύτταρα αυτό το σημείο ελέγχου ρυθμίζεται από κατάλληλους εξωκυτταρικούς παράγοντες αύξησης, που σηματοδοτούν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και όχι από τις συνθήκες του περιβάλλοντος. Αν για κάποιο λόγο δεν υπάρχουν οι παράγοντες αύξησης, τότε το κύτταρο εισέρχεται στο στάδιο ηρεμίας G₀ και παραμένει σε αυτό μέχρι να διεγερθεί από κάποιον παράγοντα για να πολλαπλασιαστεί. Στο στάδιο αυτό το κύτταρο είναι μεταβολικώς ενεργό, αλλά παρουσιάζει μειωμένη σύνθεση πρωτεϊνών και σταματά η αύξησή του. Έλεγχος υπάρχει ακόμη και στη φάση G₂. Τα ωκύτταρα στα σπονδυλωτά συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου παραμένουν για πολλά χρόνια στη φάση αυτή, μέχρι να διεγερθούν από την κατάλληλη ορμόνη και να εισέλθουν στη φάση M.



Εικόνα 4 Ο κυτταρικός κύκλος [1]

Τα πολλαπλά σημεία ελέγχου υποδηλώνουν ότι πρέπει να υπάρχει και ένα κεντρικό σύστημα ελέγχου του κυτταρικού κύκλου, που να διεγείρει τις κύριες διεργασίες του. Επειδή στους πολυκύτταρους οργανισμούς η διαίρεση

ενός κυττάρου δεν είναι μόνο δική του υπόθεση, αλλά έχει αντίκτυπο σε όλο τον οργανισμό και για αυτό, το κεντρικό σύστημα ελέγχου του κυτταρικού κύκλου επικοινωνεί με το περιβάλλον. Δέχεται, δηλαδή, αλλά και ρυθμίζεται από μηνυματοφόρα μόρια του περιβάλλοντος, όπως αυξητικούς παράγοντες, ορμόνες και άλλα, που διεγείρουν ή αναστέλλουν την κυτταρική διαίρεση. Αυτό είναι αυτονόητο στην περίπτωση της δημιουργίας των ιστών ή όταν κάποιος ιστός έχει υποστεί βλάβες και πρέπει να δημιουργηθούν νέα κύτταρα. Η εξάρτηση του κυτταρικού κύκλου από ένα κεντρικό σύστημα ελέγχου υποδηλώνει ότι οποιαδήποτε βλάβη του συστήματος θα έχει αντίκτυπο στην κυτταρική διαίρεση, η οποία θα είναι πλέον ανεξέλεγκτη και ίσως καταλήξει σε καρκινογένεση. Ακόμη, σχετίζεται με τον έλεγχο εάν ένα κύτταρο θα επιβιώσει ή θα καταστραφεί με μια διαδικασία γνωστή ως προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος ή απόπτωση. [11]

Κεφάλαιο 2: Ιοντίζουσες ακτινοβολίες και η αλληλεπίδρασή τους με τους βιολογικούς οργανισμούς

2.1 Εισαγωγή στις ιοντίζουσες ακτινοβολίες

Ιοντίζουσες ακτινοβολίες ονομάζονται οι ακτινοβολίες εκείνες οι οποίες έχουν ενέργεια αρκετή ώστε να αλληλεπιδρούν με την ύλη, προκαλώντας την απόσπαση ηλεκτρονίων των ατόμων της. Οι ιοντίζουσες ακτινοβολίες χωρίζονται σε δύο κατηγορίες ανάλογα με τη φύση τους: τις ηλεκτρομαγνητικές και τις σωματιδιακές ακτινοβολίες. Οι ηλεκτρομαγνητικές ακτινοβολίες αποτελούνται από άμαζα, ηλεκτρικώς ουδέτερα κβάντα ενέργειας, όπως οι ακτίνες-Χ και οι ακτίνες-γ, ενώ σωματιδιακές ακτινοβολίες αποτελούν η ακτινοβολία-α (πυρήνες He), η β-ακτινοβολία (ηλεκτρόνια), τα πρωτόνια και τα νετρόνια, καθώς και ακτινοβολίες βαρέων ιόντων (π.χ. ιόντων C). Όταν οι ιοντίζουσες ακτινοβολίες απορροφηθούν από βιολογικά υλικά εμφανίζονται ιοντισμοί και διεγέρσεις που έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ελεύθερων ριζών. Οι ελεύθερες ρίζες είναι άτομα ή μόρια ηλεκτρικά ουδέτερα, με ίσους αριθμούς πρωτονίων και ηλεκτρονίων, αλλά με ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο σθένους, με αποτέλεσμα οι ελεύθερες ρίζες να είναι εξαιρετικά χημικά δραστικές. Επειδή το μόριο που κυριαρχεί ποσοτικά στα βιολογικά υλικά είναι αυτό του ύδατος, είναι αυτό που κυρίως δέχεται την επίδραση της ακτινοβολίας.

Οι ιοντίζουσες ακτινοβολίες διαχωρίζονται ακόμη, ανάλογα με την ενέργεια που εναποθέτουν κατά την πορεία τους εντός ενός υλικού, σε:

- ακτινοβολίες υψηλής γραμμικής μεταφοράς ενέργειας (high linear energy transfer high-LET) και σε
- ακτινοβολίες χαμηλής γραμμικής μεταφοράς ενέργειας (low linear energy transfer low-LET)

Η Γραμμική Μεταφοράς Ενέργειας (Linear Energy Transfer) ή αλλιώς LET ($=dE/dx$) ορίζεται ως η εγκάρσια εναπόθεση ενέργειας μιας ιοντίζουσας ακτινοβολίας σε κάποιο υλικό. Εξαρτάται από τη φύση της ακτινοβολίας και από το υλικό. Αν η τιμή της LET της ακτινοβολίας είναι χαμηλή (ηλεκτρόνια και φωτόνια) προκαλεί μικρό αριθμό ιοντισμών και διεγέρσεων κατά μήκος της διαδρομής της. Αντιθέτως, για ακτινοβολίες με υψηλή LET (α -σωμάτια, πρωτόνια, βαρέα ιόντα) παρατηρούνται πυκνοί ιοντισμοί ανά μm διαδρομής.

Ως ενεργειακή δόση ορίζουμε την ενέργεια ιοντίζουσας ακτινοβολίας W^D που απορροφάται από όγκο ύλης V και πυκνότητας ρ

$$D = \frac{d W^D}{\rho dV}$$

Η μονάδα μέτρησης της δόσης στο SI είναι το $1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/kg}$. Άλλη μονάδα που χρησιμοποιείται είναι το $1 \text{ rad} = 100 \text{ erg/gr} = 10^{-2} \text{ J/kg}$. Η σχέση που συνδέει τις δύο αυτές μονάδες είναι $1 \text{ Gy} = 100 \text{ rad}$. [12], [13]

2.2 Αλληλεπίδραση ακτινοβολίας βαρέων φορτισμένων σωματιδίων με την ύλη.

Στην κατηγορία των βαρέων φορτισμένων σωματιδίων ανήκουν τα πρωτόνια (p , ${}^1\text{H}$), τα δευτερόνια (d , ${}^2\text{D}$, ${}^2\text{H}$), τα τριτόνια (t , ${}^3\text{T}$, ${}^3\text{H}$) και τα σωματίδια α (α , ${}^4\text{He}$), δηλαδή όλα εκείνα τα φορτισμένα σωματίδια που έχουν μάζα πολύ μεγαλύτερη από τη μάζα των ηλεκτρονίων m_0 . Το φορτίο των σωματιδίων αυτών είναι απολύτως ίσο ή διπλάσιο του στοιχειώδους ηλεκτρικού φορτίου, ενώ οι ταχύτητές τους δε διαφέρουν σημαντικά για την ίδια περιοχή ενέργειας. Για τους λόγους αυτούς είναι δυνατόν να συσχετιστούν, με ικανοποιητική ακρίβεια, οι ιδιότητες εξασθένησης των ακτινοβολιών αυτών.

Η εξασθένηση των ακτινοβολιών πρωτονίων και σωματιδίων- α , υπήρξε αντικείμενο εκτεταμένης μελέτης από την περίοδο 1920-1935. Για την έρευνα αυτή χρησιμοποιήθηκαν τα σωματίδια α που εκπέμπουν οι φυσικοί ραδιενεργοί πυρήνες. Μάλιστα, η χρήση των σωματιδίων α μεγάλης εμβέλειας, από πυρήνες ${}^{210}\text{Po}$ ($E_\alpha=8,8\text{MeV}$), έδωσε την ευχέρεια να πραγματοποιηθεί έρευνα στην περιοχή ταχυτήτων από $u=2,25 \times 10^9$ cm/sec ($u/c=0.08$) μέχρι του μηδενός, δηλαδή στην περιοχή ταχυτήτων για την οποία δεν ήταν ανάγκη να εφαρμοστούν τα συμπεράσματα της θεωρίας σχετικότητας. Οι επιταχυντικές διατάξεις που κατασκευάστηκαν τα τελευταία χρόνια έδωσαν τη δυνατότητα να επεκταθούν οι έρευνες και στην περιοχή των ταχυτήτων που είναι παραπλήσιες της ταχύτητας του φωτός στο κενό, δεδομένου ότι με αυτές μπορούν να παραχθούν μονοενεργειακές δέσμες. [14]

2.2.1 Απόθεση ενέργειας κατά τη διέλευση των βαρέων φορτισμένων σωματιδίων μέσα από την ύλη.

Όταν ένα βαρύ σωματίδιο διέλθει μέσα από κάποιο υλικό μέσο, ο κύριος μηχανισμός απώλειας ενέργειας είναι ο μηχανισμός της μη ελαστικής σκεδάσεως με τα περιφερειακά ηλεκτρόνια των ατόμων του. Η ενέργεια που χάνουν τα σωματάρια κατά τις μη ελαστικές σκεδάσεις μεταφέρεται σε ένα ή περισσότερα περιφερειακά ηλεκτρόνια με αποτέλεσμα να προκύπτουν φαινόμενα ιονισμών και διεγέρσεων. Επειδή κατά το μηχανισμό αυτό συμμετέχουν δύο σωματάρια με μεγάλη διαφορά μαζών ηρεμίας, η απόκλιση των σωματιών α από την αρχική τους πορεία είναι ασήμαντη και μπορούμε πρακτικά να θεωρήσουμε ότι διατηρούν την ευθύγραμμη πορεία τους κατά τη δίοδό τους μέσα από την ύλη. Κατά το μηχανισμό αυτόν, τα σωματάρια αποδίδουν την ενέργειά τους σταδιακά στο υλικό μέσο μέσα από το οποίο διέρχονται και η κινητική ενέργειά τους μετατρέπεται σε θερμότητα μέσα στο μέσο.

Όταν ένα σωματίδιο, της ομάδας των βαρέων σωματιδίων, με φορτίο Z^*e και ταχύτητα v , διατρέξει μια διαδρομή dx , εντός ενός υλικού, τότε η μείωση της κινητικής του ενέργειας dE κατά τις μη ελαστικές σκεδάσεις (διεγέρσεις, ιονισμούς) δίνεται από τη θεωρητική σχέση (Bethe-Bloch equation)

$$-\frac{dE}{dx} = \frac{4\pi e^4 Z^2}{m_0 v^2} N Z \left[\ln\left(\frac{2m_0 v^2}{I}\right) - \ln(1 - \beta^2) - \beta^2 \right]$$

όπου N η πυκνότητα ατόμων του απορροφητή (άτομα/cm³)

Z ο ατομικός αριθμός του απορροφητή

$\beta = v/c_0$

c_0 η ταχύτητα του φωτός στο κενό και

I η γεωμετρική μέση δυναμική ενέργεια διεγέρσεως και ιονισμού των ατόμων του απορροφητή.

Το μέγεθος $S = -\frac{dE}{dx}$ ονομάζεται ισχύς πεδήσεως (Stopping Power) και το αρνητικό πρόσημο στη σχέση υπολογισμού της υποδηλώνει ότι αυξανόμενου του βάθους διείσδυσης x , η ενέργεια E του σωματίου ελαττώνεται.

Η γεωμετρική μέση δυναμική ενέργεια διεγέρσεως και ιονισμών αποτελεί μέγεθος χαρακτηριστικό των ατόμων του απορροφητή και δεν είναι δυνατόν να

υπολογιστεί παρά μόνο θεωρητικά για το άτομο του υδρογόνου. Για τα υπόλοιπα υλικά απαιτείται πειραματικός προσδιορισμός για το καθένα ξεχωριστά. Ωστόσο, μια εκτίμηση του μεγέθους I δίνεται από τη σχέση:

$$I \approx k * Z$$

όπου k ένας σταθερός συντελεστής ο οποίος για στοιχεία μικρού ατομικού αριθμού λαμβάνει τιμή περίπου ίση 11,5 eV ενώ για στοιχεία με $Z > 15$ λαμβάνει τιμή περίπου ίση με 10 eV.

Η εξίσωση Bethe-Bloch εκφράζει τη μείωση της ενέργειας ανά μονάδα μήκους διαδρομής, υπό ορισμένες συνθήκες:

- (a) Το φορτίο z^*e του σωματιδίου δεν μεταβάλλεται με σύλληψη ή αποβολή ηλεκτρονίου
- (b) Τα φαινόμενα σκέδασης με πυρήνες και εκπομπής ακτινοβολίας πεδήσεως θεωρούνται αμελητέα.
- (c) Η ταχύτητα u των σωματιδίων της ακτινοβολίας είναι πολύ μεγαλύτερη από την τροχιακή ταχύτητα των ηλεκτρονίων της πρώτης στοιβάδας $v_K = \frac{c_0 Z}{137}$ και επομένως μεγαλύτερη της τροχιακής ταχύτητας οποιουδήποτε περιφερειακού ηλεκτρονίου του ατόμου.

Συνοπτικά η εξίσωση Bethe-Bloch μπορεί να γραφτεί:

$$-\frac{dE}{dx} = \frac{4\pi e^4 Z^2}{m_0 v^2} N B$$

όπου ο συντελεστής $B = Z \left[\ln\left(\frac{2m_0 v^2}{I}\right) - \ln(1 - \beta^2) - \beta^2 \right]$ ονομάζεται ατομικός συντελεστής πεδήσεως.

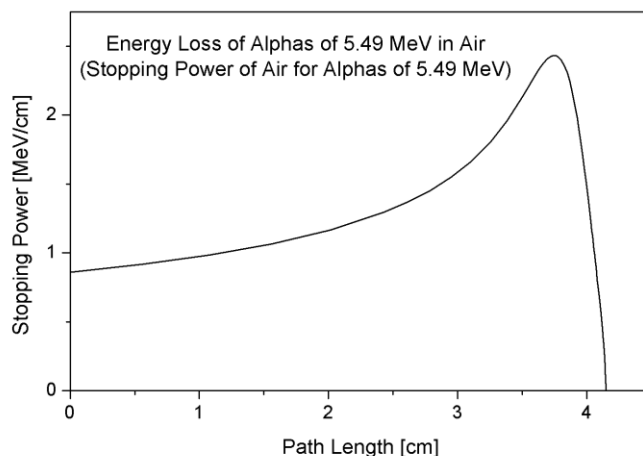
Για ταχύτητες σωματίων πολύ μικρότερες της ταχύτητας του φωτός στο κενό και τέτοιες ώστε να συμφωνούν με την προϋπόθεση (c), ο ατομικός συντελεστής πεδήσεως B αποτελεί κατά προσέγγιση λογαριθμική συνάρτηση της ταχύτητας u , δηλαδή $B = Z \ln\left(\frac{2m_0 v^2}{I}\right)$ οπότε η εξίσωση Bethe-Bloch γράφεται:

$$-\frac{dE}{dx} = \frac{4\pi e^4 z^2}{m_0 v^2} N Z \ln\left(\frac{2m_0 v^2}{I}\right)$$

Από την τελευταία σχέση είναι φανερό ότι η μείωση της ενέργειας ανά μονάδα μήκους διαδρομής (dE/dx) είναι συνάρτηση της ταχύτητας u του σωματίου και μπορούμε να πούμε ότι μεταβάλλεται αντιστρόφως ανάλογα με το τετράγωνο της ταχύτητας (δεδομένου ότι ο λογαριθμικός παράγοντας μεταβάλλεται πιο αργά).

Συνεπώς το μέγεθος dE/dx αυξάνεται όσο ελαττώνεται η ταχύτητα u , γεγονός αναμενόμενο, από φυσικής σκοπιάς, καθώς όσο αυξάνεται η χρονική διάρκεια προσεγγίσεως του φορτισμένου σωματίου σε περιφερειακό ηλεκτρόνιο, τόσο αυξάνεται και η πιθανότητα αλληλεπίδρασης, δηλαδή η πιθανότητα πραγματοποίησης διεγέρσεως ή ιονισμού, με ταυτόχρονη απώλεια ενέργειας.

Η εξασθένιση της ακτινοβολίας από φορτισμένα σωματία μπορεί να μελετηθεί πειραματικά με τη μέτρηση του πλήθους ζευγών ιόντων που παράγονται από τα φορτισμένα σωματία ανά μονάδα μήκους διαδρομής. Το μέγεθος αυτό ονομάζεται ειδικός ιονισμός (I_0) και εξαρτάται από την ενέργεια αλλά και το είδος του σωματίου αλλά και το είδος του μέσου. Οι γραφικές παραστάσεις του ειδικού ιονισμού συναρτήσει της εμβέλειας των σωματίων σε διάφορα μέσα ονομάζονται καμπύλες Bragg.



Εικόνα 5 Καμπύλη Bragg για σωματία α

Ο ειδικός ιονισμός αυξάνει βραδέως όταν μειώνεται η ενέργεια των σωματιδίων ή αυξάνεται το βάθος διείσδυσής τους στο μέσο, παίρνει μια μέγιστη τιμή λίγο πριν το τέλος της διαδρομής και στη συνέχεια πέφτει στο

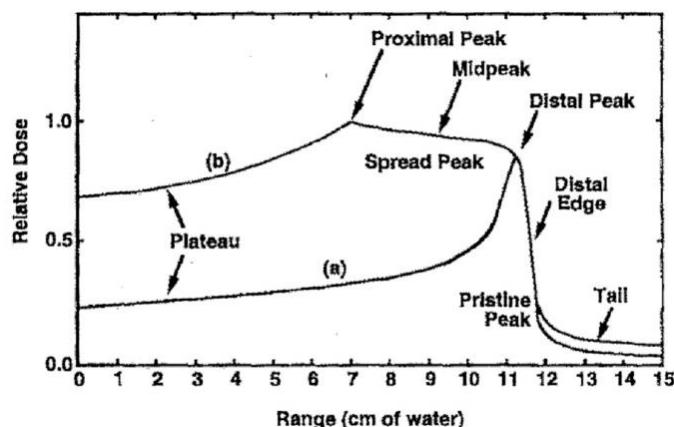
μηδέν. Η μορφή της καμπύλης Bragg απεικονίζει τα αποτελέσματα παρατήρησης ενός μεγάλου πλήθους σωματίων της ακτινοβολίας, των οποίων οι εμβέλεις κυμαίνονται γύρω από μια μέση τιμή. Η προέκταση στο τέλος της καμπύλης Bragg καθορίζει και την κατ' επέκταση εμβέλεια ιονισμού, R_i .

Ο λόγος των μεγεθών dE/dx και I_0

$$w = \frac{dE/dx}{I_0}$$

ονομάζεται μείωση της ενέργειας του σωματίου ανά ζεύγος παραγόμενων ιόντων. Εξαρτάται από τη φύση και την κατάσταση του απορροφητή αλλά και από το είδος και την ενέργεια του φορτισμένου σωματίου.

Η ανά ζεύγος παραγόμενων ιόντων μείωση της ενέργειας ενός σωματιδίου είναι σημαντικά μεγαλύτερη από την ενέργεια ιονισμού. Τα φορτισμένα σωματία υφίστανται μείωση της ενέργειάς τους, τόσο λόγω των ιονισμών που προκαλούν αλλά και λόγω της δαπάνης ενέργειας κατά την πρόκληση διεγέρσεων των ατόμων και των μορίων ή ακόμη και των αποσυνθέσεων των μορίων. Μπορούμε να πούμε ότι το μέγεθος w εκφράζει τη συνολική μείωση της ενέργειας του φορτισμένου σωματίου ανά δημιουργούμενο ζεύγος ιόντων. [14]



Εικόνα 6 Η εναπόθεση ενέργειας βαρέων ιόντων ως συνάρτηση του βάθους διείσδυσης (α) μιας πρωτογενούς δέσμης και (β) μιας διαμορφωμένης δέσμης με διευρυμένη περιοχή αναστολής (εξάπλωση κορυφών Bragg). [1]

2.2.2 Σχετική ισχύς πεδήσεως

Ως σχετική ισχύς πεδήσεως για ένα μέσο ορίζεται ο λόγος της τιμής του φυσικού μεγέθους που χαρακτηρίζει την επιβράδυνση σε ένα μέσο αναφοράς προς την τιμή του ίδιου φυσικού μεγέθους για το υπό μελέτη μέσο, υπό την προϋπόθεση ότι τα εν λόγω μεγέθη αντιστοιχούν στο ίδιο ποσό μείωσης της ενέργειας του σωματιδίου.

- Γραμμική, σχετική ισχύς πεδήσεως:

$$S_1 = \frac{dx_0}{dx_1} = \frac{N_1 B_1}{N_0 B_0}$$

Όπου οι δείκτες 0 και 1 αναφέρονται στο μέσο αναφοράς και το υπό μελέτη μέσο αντίστοιχα.

- Ανά άτομο, σχετική ισχύς πεδήσεως:

$$S_a = \frac{N_0 dx_0}{N_1 dx_1} = \frac{B_1}{B_0}$$

- Ανά ηλεκτρόνιο, σχετική ισχύς πεδήσεως:

$$S_e = \frac{N_0 Z_0 dx_0}{N_1 Z_1 dx_1} = \frac{Z_0 B_1}{Z_1 B_0}$$

- Μαζική, σχετική ισχύς πεδήσεως:

$$S_m = \frac{\rho_0 dx_0}{\rho_1 dx_1}$$

Η τελευταία σχέση, επειδή η πυκνότητα ρ του μέσου συνδέεται με τον αριθμό N_A του Avogadro και το ατομικό βάρος A των πυρήνων του μέσου, μπορεί να γραφεί:

$$S_m = \frac{N_0 A_0 dx_0}{N_1 A_1 dx_1} = S_e \frac{A_0 Z_1}{A_1 Z_0} = \frac{B_1 A_0}{B_0 A_1}$$

Για σωματία με μικρές ταχύτητες ($\beta \approx 0$) το μέγεθος S_e περιγράφεται από τη σχέση:

$$S_e = \frac{\ln\left(\frac{2m_0v^2}{I_1}\right)}{\ln\left(\frac{2m_1v^2}{I_0}\right)} = 1 - \frac{\ln\left(\frac{I_1}{I_0}\right)}{\ln\left(\frac{2m_0v^2}{I_0}\right)}$$

Από την τελευταία σχέση, λόγω της προσεγγιστικής αναλογίας $I \approx kZ$, προκύπτει ότι για $Z_1 < Z_0$ ο λογάριθμος του αριθμητή είναι αρνητικός και κατά συνέπεια όλα τα μέσα με ατομικό αριθμό μικρότερο από εκείνο του μέσου αναφοράς θα χαρακτηρίζονται από την ανά ηλεκτρόνιο ισχύ πεδήσεως $S_e > 1$. Αντίστροφα για $Z_1 > Z_0$ θα προκύπτει $S_e < 1$ και επομένως η αποτελεσματικότητα του μέσου ανά ηλεκτρόνιο ελαττώνεται αυξανόμενου του Z . Από φυσικής σκοπιάς τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης αποδίδονται στην αυξημένη δέσμευση των περιφερειακών ηλεκτρονίων με τους πυρήνες μεγάλου ατομικού αριθμού. [14],[15]

2.2.3 Εμβέλεια σωματίων α

Τα σωματάρια α της υφίστανται κατά τη διείσδυσή τους μέσα στην ύλη μείωση της ενέργειάς τους (λόγω σκεδάσεων και ιονισμών τους οποίους προκαλούν), μέχρις ότου σταματήσουν τελικά. Κατά τη διείσδυσή τους αυτή, δεν αποκλίνουν πρακτικά από την αρχική τους πορεία, κινούνται δηλαδή με μεγάλη προσέγγιση ευθύγραμμα.

Το μήκος της διαδρομής που πραγματοποιούν σωματάρια ορισμένου είδους, της ίδιας αρχικής ενέργειας, μέσα σε ορισμένο μέσο δεν είναι το ίδιο για καθένα από τα σωματάρια α και οφείλεται στη στατιστική φύση των γεγονότων κατά τα οποία πραγματοποιείται η μείωση της ενέργειας των σωματίων. Πράγματι, για την πλήρη ακινητοποίηση ενός σωματίου χρειάζεται η πραγματοποίηση ενός μεγάλου πλήθους αλληλεπιδράσεων του με τα άτομα της ύλης (γεγονότα), καθεμία από τις οποίες οδηγεί στη μείωση της ενέργειας του σωματιδίου με ρυθμό ο οποίος δεν είναι σταθερός. Έτσι λοιπόν, κατά τη διαδρομή του σωματίου μέσα στην ύλη ποικίλλουν, τόσο το πλήθος των αλληλεπιδράσεων του με το μέσο ανά μονάδα μήκους διαδρομής του, όσο και το ποσό της μείωσης της ενέργειάς του σε κάθε αλληλεπίδραση.

Η μέση εμβέλεια R_0 για τα σωματάρια α που διεισδύουν σε ορισμένο μέσο με αρχική ενέργεια E_0 , υπολογίζεται από τη σχέση:

$$R_0(E_0) = - \int_0^{E_0} \frac{dE}{dE/dx}$$

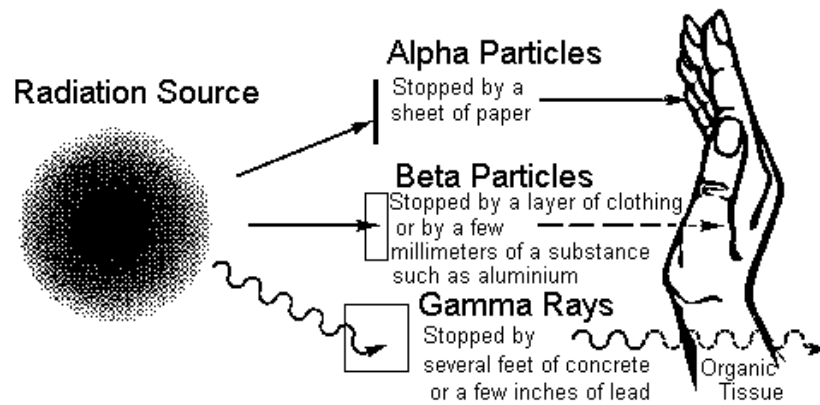
Η θεωρητική έκφραση dE/dx δεν ισχύει για ολόκληρη την περιοχή ενεργειών, από 0 έως E_0 , του επιβραδυνόμενου σωματίου και για αυτόν το λόγο γίνεται χρήση εμπειρικών σχέσεων υπολογισμού της μέσης εμβέλειας.

Για τα σωματάρια α προκύπτει ότι η μέση εμβέλειά τους μέσα στον αέρα σε κανονικές συνθήκες και για αρχική ενέργεια αυτών μεταξύ 4 και 15 MeV δίνεται από την ακόλουθη εμπειρική σχέση:

$$E_0(cm) = [0.005E + 0.285]E^{\frac{3}{2}}$$

για σωματΙΑ-α στον αέρα με $E: 4 \text{ MeV} \leq E \leq 15 \text{ MeV}$

Η παραπάνω σχέση αποδίδει τα πειραματικά αποτελέσματα με ακρίβεια καλύτερη του 1% για $E: 4 \text{ MeV} \leq E \leq 15 \text{ MeV}$. Για ενέργειες των σωματίων α μικρότερες των 4 MeV, η μέση εμβέλεια μεταβάλλεται, με καλή προσέγγιση, ανάλογα με την $E^{3/4}$, ενώ για ενέργειες μεγαλύτερες των 15 MeV, ανάλογα με την E^2 . [14],[15]



Εικόνα 7 Εμβέλεια σωματιδίων

Κεφάλαιο 3: Αλληλεπίδραση της ακτινοβολίας με τους βιολογικούς ιστούς

Οι ιοντίζουσες ακτινοβολίες εισχωρούν στους βιολογικούς ιστούς και προκαλούν ιοντισμούς των ατόμων των ιστών. Το βάθος στο οποίο εισχωρεί η ακτινοβολία μέσα στο βιολογικό ιστό εξαρτάται από το είδος και την ενέργεια της ακτινοβολίας. [13],[14]

Τα σημαντικότερα μεγέθη στη μελέτη της αλληλεπίδρασης της ακτινοβολίας με τους βιολογικούς ιστούς είναι τα εξής:

- Η ισοδύναμη δόση: Πρόκειται για την απορροφούμενη δόση στον ιστό ή το όργανο (D_T) σταθμισμένη ανάλογα με το είδος και την ποιότητα της ακτινοβολίας (W_R)

$$H_T = W_R D_T$$

Οι μονάδες μέτρησης που χρησιμοποιούνται στο SI είναι 1 Sievert (Sv) = 1J/kg=100 rem

- Η ενεργός δόση που αντιστοιχεί στο άθροισμα των ισοδύναμων δόσεων (H_T) στους διάφορους ιστούς και όργανα, καθιερώθηκε ως πολλαπλασιασμένη με τον κατάλληλο συντελεστή στάθμισης ιστού (W_T)

$$E = \sum W_T H_T$$

Όπου $H_T = W_R D_T$

Με μονάδα μέτρησης είναι το 1Sv.

Ιστός ή όργανο W_T	W_T
Γεννητικοί αδένες	0.20
Μυελός οστών	0.12
Κόλον	0.12
Πνεύμονας	0.12
Στόμαχος	0.12
Κύστη	0.05
Μαστός	0.05
Ήπαρ	0.05
Οισοφάγος	0.05
Θυρεοειδής	0.05
Δέρμα	0.01
Επιφάνεια οστού	0.01
Λοιπά	0.05

Εικόνα 8 Συντελεστής Στάθμισης Ιστού για ιστούς και όργανα

- Η Σχετική Βιολογική Αποτελεσματικότητα (Relative Biological Effectiveness) RBE ορίζεται ως ο λόγος της δόσης μιας ακτινοβολίας αναφοράς προς τη δόση της ακτινοβολίας υπό δοκιμή η οποία θα επάγει το ίδιο βιολογικό αποτέλεσμα.

$$RBE = \frac{D (\text{standard radiation})}{D (\text{radiation to be examined})}$$

3.1 Στάδια βιολογικής επίδρασης ακτινοβολίας και βιολογικής ύλης.

Η αλληλεπίδραση της ακτινοβολίας με τη βιολογική ύλη γίνεται σε 4 βασικά στάδια:

- Φυσικό στάδιο
- Φυσικοχημικό στάδιο
- Χημικό στάδιο
- Βιολογικό στάδιο

Στο Φυσικό στάδιο η μεταφορά ενέργειας πραγματοποιείται σε μικρότερο χρόνο από 10^{-18} s, αλλά η κατανομή της στο χώρο εξαρτάται από το είδος και την ενέργεια της ιοντίζουσας ακτινοβολίας.

Για χαμηλή τιμή της LET (Linear Energy Transfer- $LET=dE/dx$) προκαλεί μικρός αριθμός ιοντισμών και διεγέρσεων ανά μm διαδρομής. Αντίθετα, για ακτινοβολίες με υψηλή LET (σωμάτια α, πρωτόνια ή βαρέα ιόντα) παρατηρούνται πυκνοί ιοντισμοί ανά μm διαδρομής. Η ενέργεια που μεταφέρεται σε ένα μεικτού όγκου βιολογικό υλικό και δεν είναι ίδια για όλους τους στόχους και τα μόρια από τα οποία αυτό αποτελείται. Η μέση τιμή της ενέργειας που μεταφέρεται στο βιολογικό υλικό είναι η απορροφούμενη δόση.

Στο Φυσικοχημικό στάδιο, τα ιονισμένα-διεγερμένα μόρια μετέχουν σε δευτερογενείς αντιδράσεις και σχηματίζουν νέα μόρια (σταθερά ή ασταθή) ή ελεύθερες ρίζες. Η διάρκεια αυτού του σταδίου είναι 10^{-11} s.

Στο χημικό στάδιο οι κατά το φυσικοχημικό στάδιο παραγόμενες ελεύθερες ρίζες και τα ηλεκτρόνια διαχέονται στο σύστημα προς σχηματισμό είτε διμερών προϊόντων, είτε αντιδρούν με μόρια του συστήματος και η διάρκειά του είναι 10^{-8} s.[13], [16]

Αμέσως μετά το χημικό στάδιο εμφανίζονται ενζυμικοί μηχανισμοί που δρουν επιδιορθωτικά στους μοριακούς σχηματισμούς που έχουν υποστεί βλάβη. Η επιδιορθωτική διαδικασία διαρκεί από 15 λεπτά έως 3 ώρες και ολοκληρώνεται σε 24-48 περίπου ώρες. Όταν η βλάβη δε δύναται να

επιδιορθωθεί, οδηγούμαστε στη δημιουργία μεταλλάξεων ή και στον κυτταρικό θάνατο.

Το βιολογικό στάδιο χωρίζεται σε δύο μέρη:

- Το κυτταρικό, όπου παρατηρούνται ο κυτταρικός θάνατος, οι μεταλλάξεις, η αναστολή της διαίρεσης, οι βλάβες των ιστών και η αποκατάσταση των βλαβών των ιστών. Το συγκεκριμένο στάδιο μπορεί να διαρκέσει από μερικές ώρες μέχρι κάποιους μήνες.
- Το συστημικό, όπου παρατηρούνται ορμονικά αποτελέσματα, ανοσολογικές αντιδράσεις, βλάβες σε αγγεία, λειτουργικές βλάβες και καρκινογένεση. Το συγκεκριμένο στάδιο μπορεί να διαρκέσει ακόμη και έτη.

3.2 Άμεση και έμμεση δράση της ακτινοβολίας

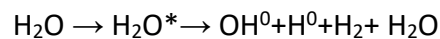
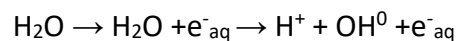
Ως άμεση χαρακτηρίζεται η δράση της ακτινοβολίας όταν η χημική μεταβολή υφίσταται στο μόριο το οποίο δέχτηκε την ακτινοβολή. Αναφέρεται σε αλληλεπιδράσεις ιοντιζουσών ακτινοβολιών με άτομα οργανικών πολυμερών του κυττάρου, όπως τις δομικές και ενζυμικές πρωτεΐνες, το RNA και ιδίως το DNA. Συνήθως, η άμεση δράση εκδηλώνεται μέσω θραύσεως των χημικών δεσμών που μπορούν να δώσουν άτομα ή μόρια με μονήρη ηλεκτρόνια, τα οποία όντας εξαιρετικά δραστικά και με μικρή διάρκεια ζωής, με αποτέλεσμα τη διάσπαση του μορίου ή τη χημική αλλοίωσή του. Η απώλεια ενός ατόμου υδρογόνου ή ενός μεθυλίου ($-CH_3$) έχει ως αποτέλεσμα είτε την παραγωγή ελευθέρων ριζών που μπορεί κατά τη διάχυσή τους να συνδεθούν μεταξύ τους, είτε τη διάσπαση του οργανικού μορίου σε δύο μικρότερα σταθερότερα μόρια. Τα μόρια που προκύπτουν έχουν διαφορετικές τόσο φυσικές όσο και χημικές ιδιότητες από τα αρχικά.

Ως έμμεση χαρακτηρίζεται η δράση της ακτινοβολίας όταν το μόριο το οποίο υφίσταται τη χημική μεταβολή δεν δέχεται άμεσα την ακτινοβολία, αλλά μέσω δευτερογενών αντιδράσεων ιδίως στην πρόκληση βιολογικών βλαβών εξαιτίας της χημικής αντίδρασης οργανικών μορίων του κυττάρου με δραστικές ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται κατά τη ραδιόλυση του ύδατος. Ο χρόνος ζωής των ριζών είναι εξαιρετικά μικρός (10^{-5} sec), επομένως η μεταβίβαση της ενέργειας στα μακρομόρια γίνεται εντός αυτού του χρονικού διαστήματος.

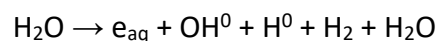
Αποτέλεσμα της άμεσης και έμμεσης δράσης της ακτινοβολίας είναι η δημιουργία πρωτογενών χημικών μεταβολών στα μακρομόρια.

Η κυρίαρχη χημική ένωση στα βιολογικά υλικά είναι το ύδωρ και γι' αυτό οι ιοντιζουσες ακτινοβολίες αντιδρούν κυρίως με αυτό. Με την αλληλεπίδραση αυτή, σχηματίζονται ιονισμένα μόρια ύδατος (H_2O^+), ιονισμένα μόρια ύδατος (H_2O^*) και υπο-διεγερμένα ηλεκτρόνια (e^-). Άμεσα, διασπώνται τα ιονισμένα άτομα νερού και παράγοντας ένα κατιόν υδρογόνου και μια ελεύθερη ρίζα υδροξυλίου (OH^0), ενώ τα διεγερμένα μόρια (H_2O^*) είτε διεγείρονται, είτε διασπώνται σε μια ελεύθερη ρίζα υδρογόνου (H^0) και μια ελεύθερη ρίζα

υδροξυλίου (OH^0). Οι χημικές εξισώσεις που αναπαριστούν τις παραπάνω μετατροπές είναι οι εξής:

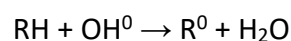


Πιο αναλυτικά, η διαδικασία της ραδιόλυσης του ύδατος περιγράφεται από την ακόλουθη χημική εξίσωση:



Οι ελεύθερες ρίζες OH^0 όντας ασταθείς και εξαιρετικά δραστικές έχουν μικρή εμβέλεια ($<100 \text{ \AA}$).

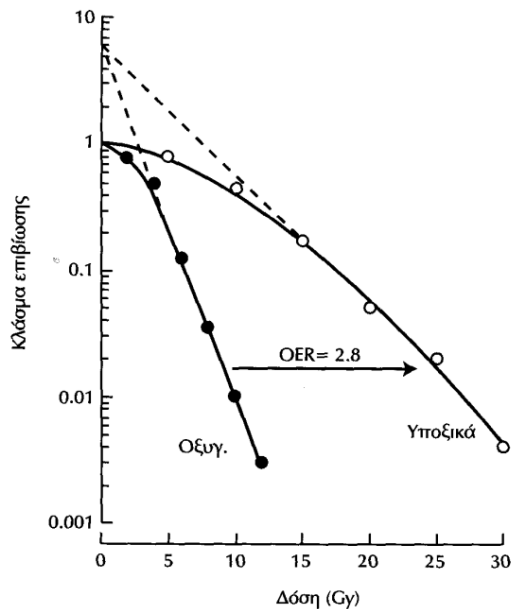
Τα οργανικά μόρια αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες παράγοντας οργανικές ρίζες με βάση τη χημική εξίσωση:



Οι οργανικές ρίζες R^0 είναι ασταθείς ενώσεις με υψηλό, όμως, ενεργειακό περιεχόμενο και μετασχηματίζονται γρήγορα προκαλώντας μεταβολές (βλάβες) στη δομή των οργανικών μορίων.

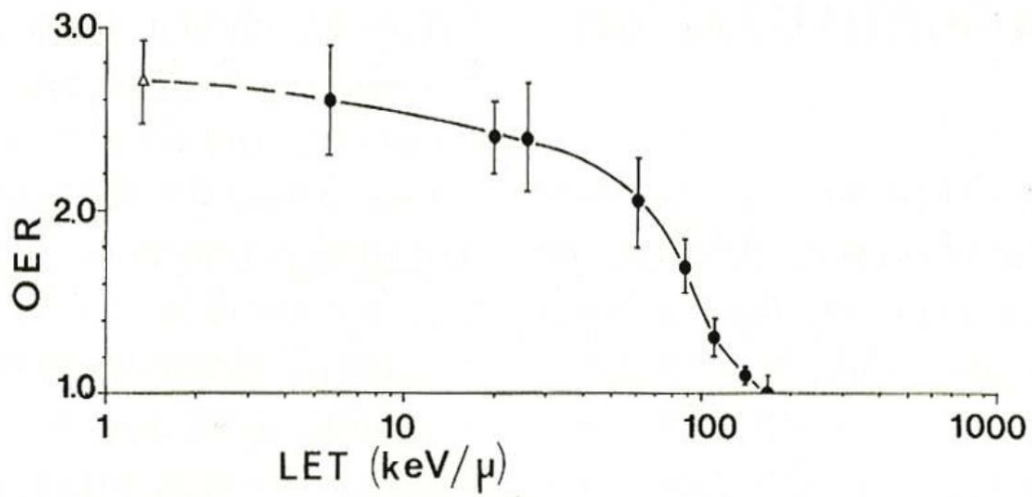
3.3 Λόγος επαυξήσεως οξυγόνου OER (Oxygen Enhancement Ratio)

Η εξάρτηση του βαθμού ευαισθητοποίησης από την τάση του οξυγόνου εμφανίζεται στο ακόλουθο σχήμα.



Εικόνα 9 Καμπύλη επιβίωσης [2]

Αύξηση της μερικής συγκέντρωσης οξυγόνου έχει παρατηρηθεί ότι επιφέρει οξεία αύξηση της ακτινοευαισθησίας άρα και της τιμής του λόγου επαυξήσεως οξυγόνου OER (Oxygen Enhancement Ratio). Ως λόγος επαυξήσεως οξυγόνου ορίζεται το πηλίκο της απαιτούμενης δόσης για κάποιο βιολογικό αποτέλεσμα (υπό υποξικές συνθήκες) προς την απαιτούμενη δόση για το ίδιο βιολογικό αποτέλεσμα υπό συνθήκες επαρκούς οξυγόνωσης. Το φαινόμενο αυτό προκαλείται κυρίως από ακτινοβολία που προκαλεί ελεύθερες ρίζες. Απουσία οξυγόνου τα περισσότερα μόρια/στόχοι ιονισμού επιδιορθώνονται μόνα τους. Παρουσία οξυγόνου προκαλείται αντίδραση με την ελεύθερη ρίζα R^* σε RO^*_2 που προκαλεί την ακτινοβλάβη. Για ακτινοβολία υψηλής LET το αποτέλεσμα είναι της άμεσης δράσης ενώ η συνεισφορά της έμμεσης δράσης από τις ελεύθερες ρίζες είναι πολλή μικρή. Η ευαισθησία ανάμεσα σε οξικά και υποξικά κύτταρα, αυξανόμενης της LET μειώνεται σταδιακά. [12] [2]



Εικόνα 10 Διάγραμμα OER συναρτήσει της LET [2]

Με μείωση του OER παρατηρείται αύξηση της RBE για τον μη επαρκώς οξυγονωμένο και ανθεκτικό στην ακτινοβολία ιστό.

3.4 Είδη βλαβών και επιδιορθωτικοί μηχανισμοί DNA

Το DNA αποτελεί ένα κρίσιμο στόχο για τις βιολογικές επιπτώσεις των οξειδωτικών διεργασιών που εξαρτώνται από φυσικούς και χημικούς παράγοντες (π.χ. ιοντίζουσες ακτινοβολίες και περιβαλλοντικά καρκινογόνα). [17]

Οι βλάβες που προκαλούνται στο DNA λόγω των ιοντιζουσών ακτινοβολιών διακρίνονται στις εξής κατηγορίες:

- Τις στοχευμένες, που προκύπτουν από την άμεση και απ' ευθείας έκθεση κυττάρων σε ακτινοβολία
- Και τις μη στοχευμένες, που προκύπτουν έμμεσα, μέσω διαφόρων παραγόντων που παράγονται και εκλύονται από τα γειτονικά κύτταρα.

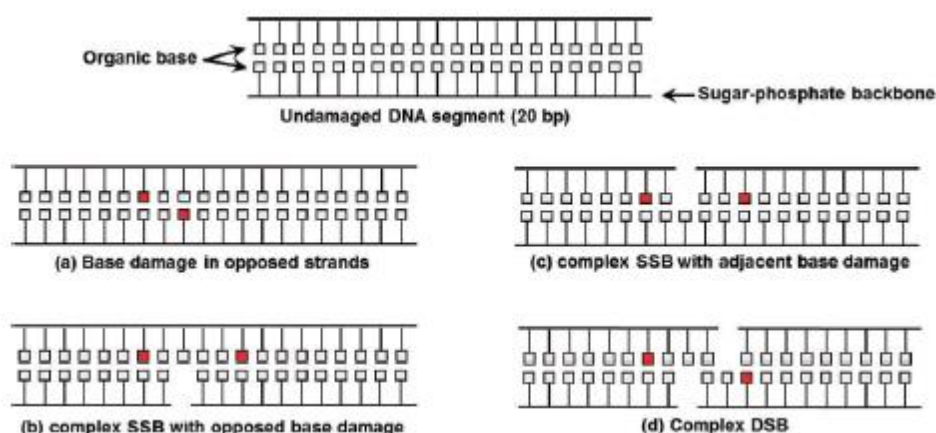
Οποιαδήποτε αλλαγή στη δομή του DNA και κατ' επέκταση στο γενετικό κώδικα, μπορεί ποιοτικά να ερμηνεύσει τη βιολογική επίδραση των ακτινοβολιών. [18],[19]

Οι πιθανότερες βλάβες του DNA που προέρχονται από την έκθεση σε ιοντίζουσα ακτινοβολία είναι οι εξής:

1. Τυπογραφικά λάθη της πολυμεράσης στη διαδικασία αντιγραφής του DNA.
2. Θραύση του ενός εκ των δύο κλώνων της νουκλεοτιδικής αλυσίδας (Single Strand Break-SSB)
3. Διπλή θραύση της νουκλεοτιδικής αλυσίδας (Double Strand Break-DSB). Εάν το σπάσιμο συμβεί και στους δύο κλώνους ταυτόχρονα και μάλιστα στην ίδια θέση τότε οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης του κυττάρου δεν επιτυγχάνουν πάντα με επιτυχία την επιδιόρθωση. Αυτές οι θραύσεις, εάν δεν επιδιορθωθούν επιτυχώς, είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε αλλαγή του γενετικού κώδικα και ως εκ τούτου στη δημιουργία μεταλλάξεων που μπορεί να μεταφερθούν στους απογόνους είτε στη δημιουργία καρκινικών κυττάρων στο ίδιο το άτομο που εκτίθεται σε ακτινοβολία.

4. Αλλοιώσεις βάσεων (οξειδώσεις, μεθυλιώσεις, αποπουρινώσεις και απαμινώσεις)
 5. Απώλεια βάσεων (δημιουργία αβασικών σημείων-AP sites)
 6. Θραύση δεσμών υδρογόνου μεταξύ των νουκλεοτιδικών αλυσίδων
 7. Εγκάρσιες συνδέσεις μεταξύ των ελίκων (διάδεσμοι-crosslinks)
- [20]

Οι βλάβες που παρουσιάζουν μεγαλύτερη συσχέτιση με τα αποτελέσματα των ιοντιζουσών ακτινοβολιών και ιδίως με τον κυτταρικό θάνατο, είναι οι δίκλωνες θραύσεις του DNA (DSBs). Ακόμη και για ακτινοβολίες που παρουσιάζουν χαμηλή LET, η αύξηση της απώλειας ενέργειας των δευτερογενών ηλεκτρονίων στο τέλος της διαδρομής τους μπορεί να οδηγήσει σε σύνθετες (ομαδοποιημένες) βλάβες DNA (clustered DNA damage) [21], οι οποίες περιλαμβάνουν μια ή και περισσότερες θραύσεις [22] καθώς και αρκετές μονόκλωνες θραύσεις αλλά και βλάβες βάσεων. Εστίες τέτοιων σύνθετων βλαβών αποτελούν το 50% έως και το 90% των συνολικών βλαβών του DNA κατά την ακτινοβολήση με ακτινοβολίες, τόσο χαμηλής όσο και υψηλής LET, και είναι ιδιαίτερα δύσκολο να επιδιορθωθούν σε σχέση με τις μεμονωμένες βλάβες. [18, 19, 23]. Ως γεγονός, υποδεικνύει μια σημαντική διαφορά μεταξύ των βλαβών DNA από ιοντίζουσες ακτινοβολίες και από άλλους παράγοντες (αυθόρμητες μεταλλάξεις, βιοχημικοί παράγοντες κλπ) δεδομένου ότι οι πρώτες είναι κυρίως σύνθετες και εστιασμένες, ενώ οι δεύτερες τυχαίες και σχετικά απλές. [22]



Εικόνα 11 Η σημαντικότερες επαγόμενες βλάβες DNA [17]

3.5 Επιδιορθωτικοί μηχανισμοί

Τα κύτταρα διαθέτουν μηχανισμούς επιδιόρθωσης των βλαβών DNA, οι οποίες σε περίπτωση μη επιδιόρθωσης θα ήταν θνησιγόνες για τα κύτταρα ή θα οδηγούσαν σε αλλαγή του DNA και κατ' επέκταση την πρόκληση μεταλλάξεων.

[9]

Οι πιο βασικοί επιδιορθωτικοί μηχανισμοί είναι οι ακόλουθοι:

- Mismatch Repair (MMR)
Επιδιορθώνει τα «τυπογραφικά» λάθη (λάθη νουκλεοτιδίων) που εμφανίζονται στη διαδικασία αντιγραφής του DNA.
- Base Excision Repair (BER)
Επιδιορθώνει κυρίως αλλοιώσεις μιας βάσης νουκλεοτιδίου (οξειδωση, Μεθυλίωση, αποπουρίνωση ή απαμίνωση) και μονόκλωνες θραύσεις (SSBs). Πρόκειται για τον κυριότερο μηχανισμό επιδιόρθωσης των βλαβών από ιοντίζουσες ακτινοβολίες για χαμηλές δόσεις (μικρότερες του 1Gy)
- Nucleotide Excision Repair (NER)
Επιδιορθώνει βλάβες που παρμορφώνουν (bulk lesion) το σχήμα της διπλής έλικας του DNA. Ακόμη, διορθώνει αλλοιώσεις που εκτείνονται σε δύο ή περισσότερα νουκλεοτίδια.
- Homologous Recombination (HR)
Ο ομόλογος ανασυνδυασμός (HR) αξιοποιεί την ύπαρξη ομόλογης (πανομοιότυπης) αλληλουχίας DNA ως εκμαγείο για την επιδιόρθωση μιας δίκλωνης θραύσης, υπό την προϋπόθεση η αλληλουχία αυτή να είναι διαθέσιμη στο κύτταρο.
Χρησιμοποιείται κατά κόρον από τα κύτταρα για την ακριβή επιδιόρθωση των δίκλωνων θραύσεων DNA (DSBs).
Παρόλο που οι ομόλογες συνδέσεις παρουσιάζουν αρκετές διαφορές στους διαφορετικούς οργανισμούς και τύπους κυττάρων, οι περισσότερες περιέχουν τα ίδια βασικά βήματα.
Μετά από μια DSB βλάβη, τμήματα του DNA γύρω από τις 5' άκρες της θραύσης, κόβονται μέσω μιας διαδικασίας που καλείται

εκτομή (resection). Αμέσως μετά, ένα παρόμοιο ή πανομοιότυπο άθραυστο μόριο DNA με το προεξέχων 3' άκρο του σπασμένου DNA παρεμβάλλεται. Έπειτα, η περαιτέρω ακολουθία μπορεί να ακολουθήσει δύο διαφορετικές επιλογές: είτε την DSBR (double-strand break repair) είτε την SDSA (synthesis-dependent strand annealing). Η ομόλογη επανασύνδεση, κατά τη διαδικασία επιδιόρθωσης του DNA τείνει να επιδιορθώσει τη βλάβη και να επαναφέρει το μόριο DNA στην προ-DSB κατάσταση. Ο παραπάνω επιδιορθωτικός μηχανισμός δρα κατά τις φάσεις S και G2 του κυτταρικού κύκλου, καθώς τότε μόνο είναι διαθέσιμη η ομόλογη αλληλουχία. [24]

➤ Non-Homologous End Joining (NHEJ)

Η Μη Ομόλογη Ένωση άκρων χρησιμοποιεί μικροομόλογα προκειμένου να επιτελέσει την επιδιόρθωση. Τα μικροομόλογα αυτά, συχνά εντοπίζονται σε τμήματα μονόκλωνων θραύσεων που προεξέχουν ή σε άκρες διπλόκλωνων θραύσεων. Στην περίπτωση που τα προεξέχοντα τμήματα είναι συμβατά, η επιδιόρθωση είναι ακριβής. Αντίθετα, όταν τα προεξέχοντα τμήματα δεν είναι συμβατά, έχουμε ανακριβή επιδιόρθωση και ως εκ τούτου απώλεια νουκλεοτιδίων. Ακατάλληλη επιδιόρθωση με τον παραπάνω μηχανισμό, ενδεχομένως να οδηγήσει σε μετατοπίσεις ή σύντηξη τελομερών και κατά συνέπεια δημιουργία καρκινικών κυττάρων. Πρόκειται για μηχανισμό που επιδιορθώνει ως επί το πλείστον δίκλωνες θραύσεις ιδίως στη φάση G1. [24]

Από τους προαναφερθέντες μηχανισμούς οι δύο τελευταίοι αποτελούν τους βασικούς επιδιορθωτικούς μηχανισμούς των δίκλωνων θραύσεων (DSBs). Αν και αργός, ο HR είναι ο πλέον ακριβής, ενώ πιο ταχύς είναι ο NHEJ με μεγαλύτερη όμως πιθανότητα εμφάνισης σφαλμάτων. Ανάλογα την φάση του κυτταρικού κύκλου στην οποία βρίσκεται το κύτταρο χρησιμοποιούνται είτε ο ένας είτε ο άλλος μηχανισμός για την επιδιόρθωση των DSB.[25]

Κεφάλαιο 4: Προσομοίωση Monte Carlo

4.1 Εισαγωγή

Για να μπορέσει να πραγματοποιηθεί μια αρκούντως ικανοποιητική προσομοίωση, επιλέχθηκε και χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Monte Carlo. Η μέθοδος όπως είναι εμφανές έχει το όνομα του δημοφιλέστατου τουριστικού θέρετρου στο Μονακό της Γαλλίας καθώς και του διασημότερου καζίνο της περιοχής. Ωστόσο πρώτη φορά παρουσιάζεται το 1949 στο περιοδικό *Journal of the American Statistics Association* από τους S. Ulam και N. Metropoli. Αξίζει να σημειωθεί πως η μέθοδος αναπτύχθηκε στα τέλη της ίδιας δεκαετίας κυρίως κατά την διάρκεια μελετών και δοκιμών πυρηνικών όπλων στο Los Alamos.

Οι κώδικες προσομοίωσης Monte Carlo είναι υπολογιστικοί αλγόριθμοι που βασίζονται σε τυχαία επαναλαμβανόμενη δειγματοληψία για την εξόρυξη αριθμητικών αποτελεσμάτων. Κεντρική τους ιδέα αποτελεί η χρήση της τυχειότητας για την επίλυση προβλημάτων τα όποια επί της αρχής θεωρούνται αιτιοκρατικά. Χρησιμοποιούνται κατά κόρον στην επίλυση προβλημάτων μαθηματικών και φυσικής και είναι ιδιαίτερα χρήσιμοι όταν είναι δύσκολη ή αδύνατη οποιαδήποτε άλλη προσέγγιση επίλυσης. Οι μέθοδοι Monte Carlo δύνανται να επιλύσουν οποιοδήποτε πρόβλημα έχει πιθανολογική ερμηνεία.

Στα προβλήματα φυσικής, οι μέθοδοι Monte Carlo, χρησιμοποιούνται για την προσομοίωση προβλημάτων που περιγράφονται από πολλούς βαθμούς ελευθερίας. Επίσης, χρησιμοποιούνται στην προσομοίωση φαινομένων σημαντικής αβεβαιότητας των δεδομένων εισαγωγής, όπως οι υπολογισμοί ορισμένων πολυδιάστατων ολοκληρωμάτων στα μαθηματικά και τα μοντέλα ρίσκου στην οικονομία.

Δεδομένου ότι οι μέθοδοι Monte Carlo απαιτούν μεγάλο αριθμό τυχαίων αριθμών, αναπτύχθηκαν γεννήτριες ψευδοτυχαίων αριθμών που είναι ιδιαίτερα γρήγορες συγκριτικά με τους πίνακες τυχαίων αριθμών που χρησιμοποιούνται στη στατιστική δειγματοληψία.

Αυτές οι γεννήτριες δεν παράγουν τυχαίους αριθμούς στην πραγματικότητα αλλά πρόκειται για αλγόριθμους που παράγουν ακολουθίες αριθμών, των οποίων οι ιδιότητες προσεγγίζουν σε ικανοποιητικό βαθμό τις ιδιότητες των τυχαίων αριθμών. Παρόλο που οι γεννήτριες αυτές βασίζονται σε αρχικές συνθήκες και δεν εξασφαλίζεται η τυχειότητα, είναι εξαιρετικά χρήσιμες στις προσομοιώσεις Monte Carlo λόγω της τυχειότητας και της επαναληψιμότητας που παρουσιάζουν.

Η προσωμοιωτική μέθοδος αυτή λειτουργεί βάσει τυχειότητας στις μεταβλητές X για την λύση ενός προβλήματος όπως προαναφέρθηκε. Η διαδικασία πραγματοποιείται σε τυχειές και ανεξάρτητες επαναλήψεις έως ότου υπάρξει ένας υπολογισμός της μέσης τιμής των αριθμών που χρησιμοποιήθηκαν ως εκτίμηση της μέσης τιμής της μεταβλητής X . Όσο περισσότερο επαναλαμβάνεται η διαδικασία των επαναλήψεων τόσο πιο ορθή τείνει να είναι η εκτίμηση μας εφόσον πλησιάζεται η πραγματική τιμή της $E(X)$.

Λόγω της σημασίας των λεπτομερειών γύρω από τη φύση της εκάστοτε βλάβης που μπορεί να προκληθεί από τη διάβαση ιοντίζουσας ακτινοβολίας από το DNA, κατασκευάστηκε ο αλγόριθμος Monte Carlo Damage Simulation (MCDS) ο οποίος δίνει τη δυνατότητα της πρόβλεψης του συνολικού φάσματος της βλάβης που μπορεί να προέλθει στο μόριο του DNA από ηλεκτρόνια, πρωτόνια, σωματίδια α και λοιπά ιόντα.

4.2 Το Λογισμικό Προσομοίωσης MCDS

Το λογισμικό MCDS είναι ένας «γρήγορος» σχεδόν-φαινομενολογικός αλγόριθμος προσομοίωσης Monte Carlo (“fast” Monte Carlo), ο οποίος προβλέπει βλάβες που προκαλούνται από ηλεκτρόνια, πρωτόνια, σωματία α με ενέργειες έως 1 GeV και άλλα ιόντα. [26]

Ο κώδικας αυτός υπολογίζει τον αριθμό βλαβών DNA ανά κύτταρο για συγκεκριμένη απορροφούμενη δόση, με τον ορισμό διαφόρων παραμέτρων όπως το μέγεθος του κυττάρου και του πυρήνα του, τη συγκέντρωση οξυγόνου στο υπό ακτινοβολία κύτταρο καθώς και άλλες παραμέτρους που αφορούν το ίδιο το κύτταρο.

Δέχεται ως αρχείο εισόδου ένα input file, το οποίο περιέχει πληροφορίες που αφορούν την απορροφούμενη δόση, τις πληροφορίες που αναφέρθηκαν προηγουμένως καθώς και άλλες. Η ακτινοβολία εισάγεται ως δευτερεύον αρχείο με τη βοήθεια ενός αρχείου δεδομένων (data file) που περιέχει την κατανομή των σωματιδίων καθώς και την ενέργειά τους (δεδομένου ότι το MCDS δέχεται μόνο ακτινοβολία σωματιδίων ως είσοδο), το οποίο περιέχεται στο κύριο αρχείο εισόδου.

Τα αποτελέσματα εμφανίζονται σε ένα αρχείο εξόδου που δημιουργείται από το MCDS (output file), το οποίο περιέχει τον αριθμό των δίκλωνων θραύσεων (DSBs), των μονόκλωνων θραύσεων (SSBs), άλλων clusters ανά Gbp καθώς επίσης και άλλες πληροφορίες. [27]

Το λογισμικό MCDS δημιουργήθηκε κατόπιν πολλών δεκαετιών έρευνας στη βιοφυσική. Μέχρι στιγμής, η μόνη διαθέσιμη μέθοδος για την πρόβλεψη του αριθμού και τη διαμόρφωση των βλαβών που θα σχηματίσει ένα σύμπλεγμα, είναι η μέθοδος Monte Carlo και αποτελεί ένα επιπρόσθετο εργαλείο στα πειράματα για τη βαθύτερη διερεύνηση των επιδράσεων του οξυγόνου και της ακτινοβολίας στον κυτταρικό θάνατο. Οι εκτιμήσεις του αριθμού των DSB βλαβών με χρήση προσομοιώσεων Monte Carlo μπορούν ακόμη να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με άλλα μοντέλα όπως για παράδειγμα το RMF

(repair-misrepair-fixation), για τον καθορισμό της σχετικής βιολογικής αποτελεσματικότητας (RBE-Relative Biological Effectiveness) για τον κυτταρικό θάνατο λόγω διαφόρων ειδών ακτινοβολίας. Η κατανόηση του RBE και της επίδρασης του οξυγόνου είναι απαραίτητη στη μελέτη του βιολογικού δυναμικού των σωματιδίων που χρησιμοποιούνται στην ακτινοθεραπεία και αδρονική θεραπεία, ιδίως όταν τα υψηλά επίπεδα υποξίας συμβάλλουν στην αποτυχία της θεραπείας.

Ο αρχικός κώδικας MCDS προσομοιώνει τις επαγόμενες και ομαδοποιημένες βλάβες DNA σε ορθοξικά κύτταρα (με συγκεντρώσεις οξυγόνου μεγαλύτερες του 21%) που έχουν ακτινοβοληθεί ομοιόμορφα από μονοενεργειακά ηλεκτρόνια, πρωτόνια και σωματίδια α με ενέργειες έως και 1 GeV. Οι επόμενες εκδόσεις του MCDS έχουν επεκταθεί και σε άλλους επιτρεπτούς τύπους σωματιδίων και περιλαμβάνοντας ιόντα μέχρι και το ^{56}Fe . Το εύρος ενεργειών των σωματιδίων πλέον έχει επεκταθεί και η επαγωγή βλαβών μπορεί να προσομοιωθεί και για μείγματα φορτισμένων σωματιδίων με τόσο με ίδια όσο και με διαφορετική κινητική ενέργεια. Ακόμη μπορούν να υπολογιστούν ομαδοποιημένες βλάβες για φωτόνια και άλλα ουδέτερα σωματίδια από την κατανομή των δευτερογενών φορτισμένων σωματιδίων που παράγονται σε κυτταρικές μονοστιβάδες ή άλλες γεωμετρίες. Το MCDS παρέχει επιπλέον πληροφορίες όπως η ανασχετική δύναμη του φορτισμένου σωματιδίου στο νερό, η ενέργεια μέσης συχνότητας η απορροφώμενη δόση ανά μονάδα ροής, η ενέργεια που μεταδίδεται ανά γεγονός ακτινοβολίας και η γραμμική ενέργεια.

Οι προσομοιώσεις των επαγόμενων βλαβών με τη χρήση του κώδικα MCDS εκτελούνται σε δύο βασικά στάδια. Πρώτα γίνεται η κατανομή του αναμενόμενου αριθμού βλαβών που παράγονται ανά κύτταρο ανά Gy ακτινοβολίας, παρουσία συγκεκριμένης ποσότητας οξυγόνου, τυχαία σε ένα τμήμα DNA. Έπειτα, γίνεται υποδιαίρεση των βλαβών του συγκεκριμένου τμήματος σε συμπλέγματα (clusters).

Ο αλγόριθμος του MCDS δέχεται τρεις παραμέτρους που είναι ανεξάρτητες από το είδος του φορτισμένου σωματιδίου και την κινητική του ενέργεια (σ_{sb} , f , N_{min}) και ακόμη μια παράμετρο η οποία εξαρτάται από το LET

του εκάστοτε σωματιδίου (N_{seg}). Οι προαναφερθείσες παράμετροι εκφράζουν τα εξής:

- Η παράμετρος N_{seg} εκφράζει το μήκος του τμήματος του DNA
- Η παράμετρος σ_{sb} το άθροισμα των θραύσεων κλώνων από το οποίο προκύπτει ο αριθμός των βλαβών προς την κατανομή εντός του τομέα.
- Η παράμετρος f είναι ο λόγος των βλαβών των βάσεων προς τις διασπάσεις των κλώνων
- Τέλος, η παράμετρος N_{min} προσδιορίζει την ομαδοποίηση των βλαβών σε συμπλέγματα και καθορίζει το ελάχιστο μήκος του μη κατεστραμμένου DNA μεταξύ γειτονικών βλαβών προκειμένου να θεωρείται ότι ανήκουν σε δύο ξεχωριστά συμπλέγματα.

Το μοντέλο που χρησιμοποιείται για την προσομοίωση των βλαβών μέσω του MCDS στηρίζεται στη σύμβαση οι ιοντίζουσες ακτινοβολίες προκαλούν βλάβες στο DNA μέσω του άμεσου ιονισμού ή διέγερσης του μορίου και μέσω έμμεσης δράσης υδροξυλίου και άλλων ριζών που σχηματίζονται κοντά στο DNA.

Το MCDS δε μπορεί να κάνει διάκριση στο αν οι βλάβες προέρχονται ή όχι από μικρής κλίμακας φυσικοχημικά φαινόμενα (5-10nm), ωστόσο οι συνολικές επιδράσεις από τους άμεσους και όλους τους έμμεσους μηχανισμούς βλαβών, ενσωματώνονται στις επιλεγμένες τιμές των παραμέτρων που αναφέρθηκαν προηγούμενος. Παρόλο που το MCDS διαχωρίζει τις βλάβες DNA που προέρχονται από άμεσους και έμμεσους μηχανισμούς μέσω των προσομοιώσεων επιδράσεων των αδρανοποιημένων ελεύθερων ριζών (radical scavengers), δεν έχει κάποιο τρόπο διαχωρισμού των βλαβών από εξωκυτταρικά σήματα προερχόμενα από έμμεσους υποκυτταρικούς μηχανισμούς. [27]

Κάθε σύμπλεγμα βλαβών θα ταξινομηθεί ως DSB εφόσον τουλάχιστον μια διάσπαση βρίσκεται σε κάθε κλώνο DNA εντός 10 ζευγών βάσεων. Όσα συμπλέγματα περιέχουν μια τουλάχιστον διάσπαση κλώνου και δεν ταξινομούνται ως DSBs, ταξινομούνται ως SSBs. Όλα τα υπολειπόμενα συμπλέγματα συγκαταλέγονται ως «καταστροφή βάσεων» (base damage).

Τα δεδομένα καταχωρούνται στο πρόγραμμα με ένα αρχείο εισόδου (input file) και τα αποτελέσματα εξάγονται από το πρόγραμμα με ένα αρχείο εξόδου (output file).

Η επιτυχία του αλγορίθμου αυτού στην αναπαραγωγή μετρήσεων και τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων κατασκευής ίχνους μπορούν να υποδείξουν ένα απλοποιημένο μα και συνάμα θεμελιώδες μοντέλο του τρόπου που σχηματίζονται τα συμπλέγματα των βλαβών του DNA σε μία νανομετρική κλίμακα. Η κατανομή των ξεχωριστών βλαβών που σχηματίζονται εντός μιας ή δύο στροφών του DNA κατευθύνεται από μία στοχαστική διαδικασία η οποία καθορίζεται ευρέως από τον αριθμό των βλαβών που σχηματίζονται ανά μονάδα μήκους του μορίου. [27]

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι για το σχέδιο που χρησιμοποιείται από τον αλγόριθμο αυτόν προκειμένου να θεωρείται ως κάτι περισσότερο από ένα εμπειρικό εργαλείο για την αναπαραγωγή των αποτελεσμάτων των προσομοιώσεων κατασκευής τροχιών, όλα τα νουκλεοτίδια εντός περίπου μιας ή δύο στροφών του DNA (~ 10–20 bp) θα πρέπει να μοιράζονται την ίδια πιθανότητα καταστροφής διαμέσου του άμεσου και του έμμεσου μηχανισμού δράσης της ιοντίζουσας ακτινοβολίας.

Όλες οι προσομοιώσεις του αλγορίθμου MCDS ισχύουν για ένα κατώτερο όριο 10000 κυττάρων (τυπικό σφάλμα $\leq 0.2\%$) και εκτελούνται για κύτταρα που ακτινοβολήθηκαν κάτω από φυσιολογικής συγκέντρωσης οξυγόνου (συγκέντρωση $O_2 \geq 8\%$) καθώς και για συνθήκες ανοξίας (0% O_2). Σημειώνουμε ότι οι επιδράσεις της συγκέντρωσης O_2 στην επαγωγή των βλαβών DSBs είναι αμελητέα πέραν της τιμής ~ 8%. Άλλωστε είναι γνωστό ότι το οξυγόνο είναι ένας ισχυρός ρυθμιστής της επαγωγής βλαβών στο DNA καθώς και στενώς συνδεδεμένων σημείων της κυτταρικής ζωής και λειτουργίας, όπως ο κλωνογονικός θάνατος και οι μεταλλάξεις. Αποδεικνύεται ότι πως τα μειωμένα επίπεδα του οξυγόνου κατά τη χρονική στιγμή της ακτινοβολήσης των κυττάρων μειώνουν τη συνθετικότητα των συμπλεγμάτων βλαβών και ελαττώνει τη γενικότερη παραγωγή συμπλεγμάτων βλαβών ανά κύτταρο και ανά μονάδα δόσης της ακτινοβολίας. [28]

Συνεπώς ο ρυθμός και η απόδοση της επιδιόρθωσης του εκάστοτε συμπλέγματος βλαβών αυξάνεται με τη μείωση της συνθετότητάς του. Αυτό αυξάνει εν τέλει και την επιβίωση του κυττάρου.

4.3 Αρχεία εισόδου-εξόδου του MCDS

4.3.1 Αρχείο εισόδου

Παρακάτω παρουσιάζεται ένα ενδεικτικό αρχείο εισόδου και ακολουθεί αναλυτική περιγραφή των παραμέτρων του.

```
!SAMPLE MCDS INPUT FILE (4.7 MeV 4helium, 5% O2 concentration)
```

```
SIMCON: nocs=10000 seed=987654321
```

```
CELL: DNA=2.79 ndia=7 cdia=12.7
```

```
EVO2: pO2=5.0
```

```
RADX: par=4He ke=4.722 AD=1
```

```
DMSO: CONC=200
```

Ένα γενικό αρχείο εισόδου έχει την ακόλουθη μορφή:

```
CELL: DNA={R8} NDIA={R8} CDIA={R8} WEM={R8}
```

```
SIMCON: seed={I} nocs={I}
```

```
RADX: FN={C240} PAR={C5} KE={R8} MeV/A={R8} AD={R8}
```

```
EVO2: pO2={R8} mmHg={R8} m0={R8} k={R8} q={R8} r={R8}
```

```
MCDS: fbl={r8}
```

```
DMSO: CONC={R8} FNSD={R8} CHMX={R8}
```

{I4} = ακέραιος

{R8} = αριθμός διπλής ακρίβειας

{C240} = όνομα αρχείου

{C5} = αλφαριθμητικό όνομα στοιχείου (e.g., 56Fe)

Οποιαδήποτε πληροφορία βρίσκεται δεξιά από θαυμαστικό (!) λαμβάνεται ως σχόλια και παραβλέπεται από το MCDS.

Περιγραφή παραμέτρων αρχείου εισόδου:

CELL: Χαρακτηριστικά και παράμετροι κυττάρου

DNA = περιεχόμενο DNA του πυρήνα του κυττάρου (σε Gbp)

NDIA = διάμετρος του πυρήνα του κυττάρου (σε μm) – χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό μικροδοσιμετρικών ποσοτήτων

CDIA = διάμετρος κυττάρου (σε μm) – πρέπει να είναι μικρότερη ή ίση του NDIA (default CDIA=NDIA)

WEM = ισοδύναμη σε νερό απόσταση που πρέπει να ταξιδέψει το σωματίδιο στην επιφάνεια του κυττάρου (mg/cm²)

SIMCON: παράμετροι «ελέγχου προσομοίωσης»

seed = αριθμός για γεννήτρια τυχαίων αριθμών (default = 987654321)

nocs = αριθμός προσομοιώσεων MC

RADX: παράμετροι «έκθεσης ακτινοβολίας»

FN = όνομα δευτερεύοντος αρχείου που ορίζει ένα πολυενεργειακό και ή ανάμεικτο πεδίο ακτινοβολίας

PAR = τύπος σωματιδίου (π.χ. e, p, 1H, 2H, 4He, 12C, 56Fe, ...)

KE = Κινητική Ενέργεια σωματιδίου (MeV)

MeV/A = Κινητική Ενέργεια σε MeV ανά νουκλεόνια (συχνά χρησιμοποιείται για βαριά ιόντα)

AD = απορροφόμενη δόση (Gy)

Αν έχει προσδιοριστεί όνομα αρχείου στο fn οι πληροφορίες PAR και KE αγνοούνται

EVO2: Συγκέντρωση οξυγόνου στο περιβάλλον του κυττάρου ("oxygen effect")

pO2 = % συγκέντρωση οξυγόνου (0 έως 100%)

mmHg = εναλλακτική μέθοδος προσδιορισμού της συγκέντρωσης οξυγόνου (760 mmHg= 100%)

m0 = προσεγγιστικά μέγιστο OER για επαγωγή SSB (m0*m0 = προσεγγιστικά μέγιστο OER για επαγωγή DSB)

k = συγκέντρωση στην οποία συμβαίνει το μισό του μέγιστου OER

q = παράμετρος που σχετίζεται με τη διόρθωση ανάλογα το είδος της εκάστοτε ακτινοβολίας

r = παράμετρος που σχετίζεται με τη διόρθωση ανάλογα με το είδος της εκάστοτε ακτινοβολίας

EMSO: Παράμετροι που σχετίζονται με την προσομοίωση του φαινομένου DMSO

CONC = συγκέντρωση DMSO (mol dm⁻³)

FNSD = κλάσμα (ποσοστό) των non-scavengable βλαβών DNA

CHMX = συγκέντρωση στο half-level (mol dm⁻³)

Το διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) χρησιμοποιείται συνήθως ως διαλύτης στην οργανική ηλεκτροχημεία και έχει μελετηθεί ως ανιχνευτής ρίζας υδροξυλίου. Ο μηχανισμός οξειδωσης του DMSO προσδιορίστηκε από τους Lee et al. [29]

Στην πραγματικότητα το DMSO οξειδώνεται πρώτα σε μεθανοσουλφονικό οξύ και ρίζα μεθυλίου και του τελευταίο με την σειρά του οξειδώνεται σε φορμαλδεΰδη. Το μεθανοσουλφονικό αντιδρά ταχέως με ρίζες υδροξυλίου και παράγεται σταθερό μεθανοσουλφονικό ενδιάμεσο.

Στην συνέχεια η ηλεκτρόλυση του μεθανοσουλφονικού οξέος και της φορμαλδεΰδη είναι ένας πιθανός τρόπος για την παρακολούθηση της συγκέντρωσης του υδροξυλίου. [30]

Το DMSO είναι ένας αποδοτικός scavenger ριζών υδροξυλίου, ο οποίος προσφέρει προστασία από τη θραύση και των δυο κλώνων και την βλάβη βάσεων. [31]

MCDS: Άλλες ρυθμιζόμενες παράμετροι προσομοίωσης

fbl = κλάσμα των συνολικών βλαβών βάσεων που τυγχάνει αβασικό σημείο (θέση απώλειας βάσεων)

4.3.2 Αρχεία Εξόδου

Παρακάτω παρουσιάζεται το αρχείο εξόδου που προκύπτει μέσω της εντολής run που μέσα σε ελάχιστα δευτερόλεπτα εμφανίζει τα αποτελέσματα της εκτέλεσης. [26], [32]

=====

MCDS Version 3.10A 05-DEC-2011

=====

0.887 running time (min)
987654321 random number seed
10000 number of cells (nocs)
0.0000E+00 water-equivalent material (WEM) thickness (mg/cm²)
1.0000E+00 Desired dose to the cell nucleus (Gy)
2.7900E+00 DNA content (Gbp)

TARGET (cell) DEFINITION (4V/S = mean chord length)

=====

DIAMETER	4V/S	Volume	Mass
(um)	(um)	(um ³)	(ng)

```

-----
DNA      ---    ---    2.847E+00 2.847E-03
NUCLEUS  7.000E+00 4.667E+00 1.796E+02 1.796E-01
CYTOPLASM ---    ---    8.929E+02 8.929E-01
CELL     1.270E+01 8.467E+00 1.073E+03 1.073E+00
=====

```

NOTE: In human DNA, 1 Gbp=0.979 ng (not including bound H2O). DNA volume computed using a density of 1 g/cm³.

INCIDENT PARTICLE: 4He (mass = 4.00260E+00 u = 3.72738E+03 MeV/c²)

4.72200E+00 MeV >= 1.00000E-06 MeV

1.18050E+00 MeV/A >= 2.50000E-07 MeV/A)

1.87680E+02 MeV (p*c = momentum x speed of light)

6.60700E-03 pm (de Broglie wavelength)

1.00127E+00 = T/m0c²+1 (Lorentz factor) >= 1

1.96187E+00 ABS(effective charge); Barkas 1963

5.02879E-02 beta = (v/c) <= 1

1.52199E+03 (z_{eff}/β)² ≤ 2.000E+05
 9.37611E+01 keV/μm (total stopping power in H₂O)
 9.36858E+01 keV/μm (99.920% electronic)
 7.53180E-02 keV/μm (0.080% nuclear)
 3.44184E-03 CSDA range of particle (cm) in H₂O

PARTICLE TRANSPORT - Beam of radiation incident on bottom of cell culture dish
 (WEM=0.00 μm, cell=12.70 μm, nucleus=7.00 μm; total distance traveled to
 reach nucleus=2.850 μm of H₂O).

```

=====
                ----- Cell -----   ----- Nucleus -----
            Incident  Entry  Exit  Entry  Exit
=====
    KE (MeV)  4.7220E+00  4.7220E+00  3.4013E+00  4.4493E+00  3.7246E+00
    (Zeff/β)2  1.5220E+03  1.5220E+03  2.0452E+03  1.6074E+03  1.8873E+03
    LET (keV/μm)  9.3761E+01  9.3761E+01  1.1692E+02  9.7703E+01  1.1017E+02
    Res. Range (μm)  3.4418E+01  3.4418E+01  2.1718E+01  3.1568E+01  2.4568E+01
  
```

DPUF1 (nGy-cm²) 1.5021E+02 1.5021E+02 1.8731E+02 1.5652E+02 1.7650E+02
 DPUF2 (nGy-cm²) --- 1.6193E+02 --- 1.6336E+02 ---
 Edep (keV) --- 8.5581E+02 --- 4.7587E+02 ---
 YF (keV/um) --- 1.0108E+02 --- 1.0197E+02 ---
 ZF (Gy) --- 1.2783E-01 --- 4.2448E-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)

- 40918 segment length, nseg (bp per cell per Gy)
- 651 number of strand breaks, sigSb (per cell per Gy)
- 1953 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)

5.0000E+00 % O2 concentration (=38.00 mmHg)

8.5621E-03 chemical repair probability (pcr)

9.9144E-01 O2 fixation probability (1-pcr)

1.0086E+00 Approx. HRF for SSB induction [=1/(1-pcr)]

1.0173E+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)

2.0000E+02 DMSO concentration (mol dm⁻³)

Ακολουθούν οι έξι πίνακες αποτελεσμάτων που αφορούν τις βλάβες του γενετικού υλικού.

Στον πρώτο πίνακα, εμφανίζεται το ποσοστό των yields των ομαδοποιημένων βλαβών σε σχέση με την πολυπλοκότητά τους.

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).

63.136	BD	- one or more Bd (no Sb)
31.058	SSB	- Sb (no auxiliary damage)
2.580	SSB+	- two Sb on the same strand
0.531	2SSB	- two or more Sb on opposite strands separated by at least 10 bp
2.063	DSB	- two Sb on opposite strands with a separation \leq 10 bp
0.513	DSB+	- DSB accompanied by one (or more) additional Sb within 10 bp separation
0.119	DSB++	- more than one DSB whether within the 10 bp separation or further apart
9.103	SSBc	- fraction of complex damage (SSB+ and 2SSB) among SSBs
58.104	SSBcb	- fraction of complex damage (SSB+ and 2SSB) among SSBs; base damage included
23.465	DSBc	- fraction of complex damage (DSB+ and DSB++) among DSBs
70.701	DSBcb	- fraction of complex damage (DSB+ and DSB++) among DSBs; base damage included

Ο δεύτερος πίνακας περιλαμβάνει τον αριθμό των ομαδοποιημένων βλαβών ανά κύτταρο. Συγκεκριμένα το μέσο αριθμό DSB, SSB, NON-DSB, τον συνολικό αριθμό βλαβών καθώς και τα σφάλματά τους.

TABLE 2. Number of clusters per cell (DNA=2.790 Gbp, AD=1.000 Gy).

Number of lesions	DSB		SSB		OTHER		ALL CLUSTERS	
	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM
1	---	---	9.78746E+01	5.64984E-02	2.93220E+02	1.00341E-01	3.91095E+02	1.17673E-01
2	5.41320E+00	1.53331E-02	6.79279E+01	5.11615E-02	9.43686E+01	5.86093E-02	1.67710E+02	7.87012E-02
3	5.31755E+00	1.55605E-02	3.61689E+01	3.79737E-02	3.03027E+01	3.43442E-02	7.17892E+01	5.15010E-02
4	3.55120E+00	1.24623E-02	1.75222E+01	2.70707E-02	9.72069E+00	1.99399E-02	3.07941E+01	3.44649E-02
5	2.04986E+00	9.58263E-03	8.01948E+00	1.87065E-02	3.12289E+00	1.17354E-02	1.31922E+01	2.32460E-02
6	1.08224E+00	6.95487E-03	3.56227E+00	1.28348E-02	9.98448E-01	6.63980E-03	5.64296E+00	1.57632E-02
7	5.50049E-01	5.03611E-03	1.52376E+00	8.34069E-03	3.17270E-01	3.82103E-03	2.39108E+00	1.03567E-02
8	2.73141E-01	3.54445E-03	6.59509E-01	5.46541E-03	9.93705E-02	2.14835E-03	1.03202E+00	6.83642E-03
9	1.28991E-01	2.45649E-03	2.75699E-01	3.53164E-03	3.12945E-02	1.18896E-03	4.35984E-01	4.47995E-03
10	6.14730E-02	1.69541E-03	1.16343E-01	2.32976E-03	1.23690E-02	7.62588E-04	1.90185E-01	2.97440E-03
11	2.98065E-02	1.17082E-03	4.59885E-02	1.45515E-03	3.58050E-03	4.06482E-04	7.93755E-02	1.90354E-03

12	1.43685E-02	8.23304E-04	2.09250E-02	9.81794E-04	1.02300E-03	2.17875E-04	3.63165E-02	1.28871E-03
13	6.51000E-03	5.54217E-04	7.90500E-03	6.11837E-04	5.11500E-04	1.54146E-04	1.49265E-02	8.43086E-04
14	3.20850E-03	3.84942E-04	3.48750E-03	4.06563E-04	4.65000E-05	4.65000E-05	6.74250E-03	5.63614E-04
15	1.30200E-03	2.45722E-04	1.81350E-03	2.89840E-04	---	---	3.11550E-03	3.79361E-04
16	8.83500E-04	2.02506E-04	5.11500E-04	1.54146E-04	---	---	1.39500E-03	2.62687E-04
17	1.86000E-04	9.29860E-05	1.86000E-04	9.29860E-05	---	---	3.72000E-04	1.31476E-04
18	9.30000E-05	6.57576E-05	9.30000E-05	6.57576E-05	---	---	1.86000E-04	9.29860E-05
19	4.65000E-05	4.65000E-05	---	---	---	---	4.65000E-05	4.65000E-05
20	4.65000E-05	4.65000E-05	---	---	---	---	4.65000E-05	4.65000E-05
21	---	---	---	---	---	---	---	---
[...]								
50	---	---	---	---	---	---	---	---
Total	1.84842E+01	2.55405E-02	2.33732E+02	5.78930E-02	4.32199E+02	8.55314E-02	6.84415E+02	8.93765E-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.

Ο τρίτος πίνακας περιλαμβάνει τον αριθμό των ομαδοποιημένων βλαβών ανά κύτταρο και ανά track (διαδρομή ακτινοβολίας).

TABLE 3. Number of clusters per cell per track (DNA=2.790 Gbp, ZF=0.42448 Gy).

	DSB		SSB		OTHER		ALL CLUSTERS	
	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM
1	---	---	4.15460E+01	2.39825E-02	1.24467E+02	4.25928E-02	1.66013E+02	4.99502E-02
2	2.29781E+00	6.50862E-03	2.88342E+01	2.17171E-02	4.00577E+01	2.48786E-02	7.11897E+01	3.34072E-02
3	2.25720E+00	6.60513E-03	1.53530E+01	1.61191E-02	1.28630E+01	1.45785E-02	3.04732E+01	2.18612E-02
4	1.50742E+00	5.29002E-03	7.43786E+00	1.14910E-02	4.12625E+00	8.46413E-03	1.30715E+01	1.46297E-02
5	8.70128E-01	4.06765E-03	3.40412E+00	7.94058E-03	1.32561E+00	4.98144E-03	5.59986E+00	9.86748E-03
6	4.59391E-01	2.95222E-03	1.51212E+00	5.44812E-03	4.23823E-01	2.81847E-03	2.39533E+00	6.69117E-03
7	2.33485E-01	2.13774E-03	6.46807E-01	3.54047E-03	1.34675E-01	1.62196E-03	1.01497E+00	4.39622E-03
8	1.15943E-01	1.50455E-03	2.79950E-01	2.31997E-03	4.21809E-02	9.11934E-04	4.38074E-01	2.90193E-03
9	5.47543E-02	1.04273E-03	1.17029E-01	1.49911E-03	1.32839E-02	5.04690E-04	1.85067E-01	1.90166E-03
10	2.60942E-02	7.19671E-04	4.93855E-02	9.88941E-04	5.25041E-03	3.23704E-04	8.07300E-02	1.26258E-03
11	1.26523E-02	4.96990E-04	1.95213E-02	6.17684E-04	1.51986E-03	1.72544E-04	3.36934E-02	8.08017E-04

12	6.09916E-03	3.49477E-04	8.88228E-03	4.16753E-04	4.34245E-04	9.24840E-05	1.54157E-02	5.47035E-04
13	2.76338E-03	2.35255E-04	3.35553E-03	2.59714E-04	2.17122E-04	6.54321E-05	6.33602E-03	3.57874E-04
14	1.36195E-03	1.63401E-04	1.48038E-03	1.72579E-04	1.97384E-05	0.00000E+00	2.86207E-03	2.39244E-04
15	5.52675E-04	1.04305E-04	7.69797E-04	1.23032E-04	---	---	1.32247E-03	1.61032E-04
16	3.75029E-04	8.59602E-05	2.17122E-04	6.54321E-05	---	---	5.92152E-04	1.11506E-04
17	7.89536E-05	3.94709E-05	7.89536E-05	3.94709E-05	---	---	1.57907E-04	5.58091E-05
18	3.94768E-05	2.79129E-05	3.94768E-05	2.79129E-05	---	---	7.89536E-05	3.94709E-05
19	1.97384E-05	0.00000E+00	---	---	---	---	1.97384E-05	0.00000E+00
20	1.97384E-05	0.00000E+00	---	---	---	---	1.97384E-05	0.00000E+00
21	---	---	---	---	---	---	---	---
[...]								
50	---	---	---	---	---	---	---	---
Total	7.84619E+00	1.08415E-02	9.92148E+01	2.45745E-02	1.83461E+02	3.63065E-02	2.90522E+02	3.79387E-02

Ο τέταρτος πίνακας περιλαμβάνει το μήκος της ομαδοποιημένης βλάβης (σε ζεύγη βάσης) για τις ίδιες βλάβες που αναφέρθηκαν προηγουμένως.

TABLE 4. Cluster Length (in base pair)

	DSB		SSB		OTHER		ALL CLUSTERS	
	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM
1	---	---	4.65000E-01	0.00000E+00	4.65000E-01	0.00000E+00	4.65000E-01	0.00000E+00
2	2.45213E+00	3.91141E-03	2.53103E+00	1.01624E-03	2.52506E+00	8.70163E-04	2.52510E+00	6.49763E-04
3	4.32860E+00	5.31719E-03	4.63038E+00	2.00049E-03	4.59040E+00	2.17157E-03	4.59099E+00	1.39260E-03
4	6.28858E+00	8.33818E-03	6.74220E+00	3.51553E-03	6.66542E+00	4.76616E-03	6.66532E+00	2.63654E-03
5	8.28954E+00	1.33587E-02	8.83277E+00	6.04192E-03	8.73441E+00	1.04707E-02	8.72235E+00	4.65688E-03
6	1.03727E+01	2.08647E-02	1.09334E+01	1.06801E-02	1.07855E+01	2.17383E-02	1.08022E+01	8.33345E-03
7	1.23702E+01	3.09183E-02	1.30521E+01	1.95476E-02	1.28557E+01	3.99358E-02	1.28680E+01	1.51800E-02
8	1.45671E+01	4.61386E-02	1.51370E+01	3.01902E-02	1.50487E+01	7.21433E-02	1.49749E+01	2.51975E-02
9	1.65825E+01	6.76859E-02	1.72944E+01	4.84302E-02	1.69376E+01	1.32000E-01	1.70593E+01	3.95165E-02
10	1.85040E+01	1.02150E-01	1.93508E+01	7.58907E-02	1.87470E+01	2.24887E-01	1.90448E+01	6.09053E-02
11	2.07894E+01	1.50703E-01	2.11474E+01	1.24457E-01	2.13900E+01	4.12626E-01	2.10299E+01	9.44046E-02

12	2.27080E+01	2.33150E-01	2.34925E+01	1.97245E-01	2.30598E+01	8.57559E-01	2.31727E+01	1.48695E-01
13	2.44462E+01	3.84331E-01	2.56961E+01	3.12949E-01	2.46450E+01	1.03408E+00	2.50929E+01	2.39652E-01
14	2.57772E+01	4.90417E-01	2.77649E+01	5.47906E-01	1.90650E+01	0.00000E+00	2.67115E+01	3.78754E-01
15	3.09723E+01	8.36528E-01	3.08688E+01	8.74471E-01	---	---	3.09121E+01	6.13155E-01
16	3.35534E+01	9.16484E-01	3.23809E+01	1.51558E+00	---	---	3.31353E+01	8.12696E-01
17	3.26663E+01	1.43793E+00	3.47587E+01	3.78423E+00	---	---	3.37125E+01	1.91523E+00
18	3.69675E+01	1.62750E+00	3.55725E+01	2.32500E-01	---	---	3.62700E+01	7.82712E-01
19	3.30150E+01	0.00000E+00	---	---	---	---	3.30150E+01	0.00000E+00
20	3.48750E+01	0.00000E+00	---	---	---	---	3.48750E+01	0.00000E+00
21	---	---	---	---	---	---	---	---
[...]								
50	---	---	---	---	---	---	---	---
Average	5.52756E+00	6.02942E-03	2.78841E+00	1.26331E-03	1.44208E+00	5.77882E-04	2.01223E+00	5.69362E-04

Ο πέμπτος πίνακας περιλαμβάνει την πυκνότητα βλαβών που σχηματίζουν μια ομαδοποιημένη βλάβη (σε μονάδες βλαβών ανά νουκλεοτίδιο) για βλάβες παρόμοιες με τις προαναφερθείσες.

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	---	---	2.32500E-01	0.00000E+00	2.32500E-01	0.00000E+00	2.32500E-01	0.00000E+00
2	1.32657E-01	3.32463E-04	1.19777E-01	7.18001E-05	1.20824E-01	6.21236E-05	1.20784E-01	4.65124E-05
3	9.21764E-02	1.61743E-04	8.51488E-02	5.51592E-05	8.60684E-02	6.06593E-05	8.60640E-02	3.90343E-05
4	7.92845E-02	1.41479E-04	7.28975E-02	5.33808E-05	7.39429E-02	7.34612E-05	7.39657E-02	4.06352E-05
5	7.24565E-02	1.51521E-04	6.71509E-02	5.97640E-05	6.81492E-02	1.05367E-04	6.82368E-02	4.74567E-05
6	6.78347E-02	1.64128E-04	6.38474E-02	7.79215E-05	6.49815E-02	1.65111E-04	6.47997E-02	6.19944E-05
7	6.54932E-02	1.95220E-04	6.16400E-02	1.10374E-04	6.28325E-02	2.36129E-04	6.26648E-02	8.87600E-05
8	6.29067E-02	2.30541E-04	6.00807E-02	1.39181E-04	6.05541E-02	3.28705E-04	6.08851E-02	1.18579E-04
9	6.15321E-02	2.83541E-04	5.88459E-02	1.89061E-04	6.01696E-02	5.43592E-04	5.97237E-02	1.57833E-04
10	6.10411E-02	3.96353E-04	5.80827E-02	2.49359E-04	5.99721E-02	7.63547E-04	5.91562E-02	2.12960E-04
11	5.92302E-02	4.56928E-04	5.83074E-02	3.80473E-04	5.72976E-02	1.18567E-03	5.85899E-02	2.86560E-04

12	5.90930E-02	6.52736E-04	5.70838E-02	5.17256E-04	5.78794E-02	2.12308E-03	5.78896E-02	4.00389E-04
13	5.96273E-02	1.02119E-03	5.61269E-02	7.24694E-04	5.80405E-02	2.45034E-03	5.77657E-02	6.02025E-04
14	6.02915E-02	1.25431E-03	5.61738E-02	1.18633E-03	7.93902E-02	0.00000E+00	5.83901E-02	8.84639E-04
15	5.34036E-02	1.44330E-03	5.41986E-02	1.61606E-03	---	---	5.38664E-02	1.11074E-03
16	5.22555E-02	1.44083E-03	5.47284E-02	2.88367E-03	---	---	5.31647E-02	1.41812E-03
17	5.66082E-02	2.61419E-03	5.45599E-02	5.18374E-03	---	---	5.55840E-02	2.71521E-03
18	5.27437E-02	2.32205E-03	5.47082E-02	3.57571E-04	---	---	5.37260E-02	1.11425E-03
19	6.22183E-02	0.00000E+00	---	---	---	---	6.22183E-02	0.00000E+00
20	6.20000E-02	0.00000E+00	---	---	---	---	6.20000E-02	0.00000E+00
21	---	---	---	---	---	---	---	---
[...]								
50	---	---	---	---	---	---	---	---
Average	9.63364E-02	1.16683E-04	1.54766E-01	3.64313E-05	1.92508E-01	2.29064E-05	1.77021E-01	1.92800E-05

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

Τέλος, ο έκτος πίνακας, περιλαμβάνει τη σύνθεση ομαδοποιημένης βλάβης σε % Sb ανά ομαδοποιημένη βλάβη που ουσιαστικά είναι το ποσοστό επί τοις εκατό των βλαβών που αποτελούν θραύσεις κλώνων.

TABLE 6. Cluster composition (% Sb per cluster)

	DSB		SSB		OTHER		ALL CLUSTERS	
	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM
1	---	---	4.65000E+01	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16369E+01	5.72778E-03
2	4.65000E+01	0.00000E+00	2.49798E+01	4.92664E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16178E+01	6.40229E-03
3	3.35495E+01	1.80834E-02	1.81467E+01	6.87969E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16258E+01	8.49585E-03
4	2.73135E+01	2.46223E-02	1.49082E+01	9.46277E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16290E+01	1.17281E-02
5	2.37521E+01	3.40932E-02	1.30824E+01	1.38711E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16430E+01	1.68390E-02
6	2.13845E+01	4.59659E-02	1.19338E+01	2.08460E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16329E+01	2.41099E-02
7	1.97972E+01	6.00582E-02	1.10878E+01	3.29761E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16242E+01	3.81540E-02
8	1.86275E+01	7.73585E-02	1.05833E+01	4.63586E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16741E+01	5.48923E-02
9	1.75990E+01	1.04999E-01	1.02057E+01	6.64390E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16584E+01	7.55245E-02
10	1.71528E+01	1.49195E-01	9.95055E+00	9.58379E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16786E+01	1.07380E-01
11	1.58895E+01	1.95439E-01	9.62431E+00	1.42266E-01	0.00000E+00	0.00000E+00	1.15456E+01	1.46742E-01

12	1.58015E+01	2.86359E-01	9.69627E+00	2.06863E-01	0.00000E+00	0.00000E+00	1.17903E+01	2.09105E-01
13	1.56037E+01	4.41386E-01	9.25288E+00	3.05326E-01	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16881E+01	3.31497E-01
14	1.49705E+01	5.42661E-01	8.86462E+00	5.44426E-01	0.00000E+00	0.00000E+00	1.17063E+01	4.67428E-01
15	1.38393E+01	7.39017E-01	9.45897E+00	7.10721E-01	---	---	1.12896E+01	5.77390E-01
16	1.46842E+01	1.07678E+00	1.00398E+01	9.88563E-01	---	---	1.28777E+01	8.88316E-01
17	1.57279E+01	1.72092E+00	8.88971E+00	3.59685E+00	---	---	1.23088E+01	2.25321E+00
18	1.55000E+01	5.16667E+00	7.75000E+00	2.58333E+00	---	---	1.16250E+01	3.25062E+00
19	1.22368E+01	0.00000E+00	---	---	---	---	1.22368E+01	0.00000E+00
20	1.62750E+01	0.00000E+00	---	---	---	---	1.62750E+01	0.00000E+00
21	---	---	---	---	---	---	---	---
[...]								
50	---	---	---	---	---	---	---	---
Average	3.34924E+01	1.68899E-02	3.14088E+01	5.59379E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16310E+01	2.19979E-03

NOTES: (% Sb) is the percentage of lesions that are strand breaks. The number of Sb is $[(\% \text{ Sb})/100] * (\# \text{ lesions})$.

The number of Bd is $(1 - (\% \text{ Sb})/100) * (\# \text{ lesions})$.

Κεφάλαιο 5: Εφαρμογή προσομοιώσεων και παρουσίαση αποτελεσμάτων.

5.1 Σκοπός και μεθοδολογία

Βασικός σκοπός της παρούσας διπλωματική εργασίας είναι η μελέτη των επαγόμενων βλαβών του DNA από σωματία α μέσω προσομοίωσης Monte Carlo με χρήση του κώδικα MCDS.

Σε πρώτη φάση έγινε αναζήτηση και συλλογή πειραματικών δεδομένων από βιβλιογραφία που επικεντρώνεται στην εκτίμηση επαγόμενων βλαβών DNA μετά από έκθεση σε ακτινοβολία σωματίων α.

Εν συνεχεία, έγινε προσομοίωση με κατάλληλες τιμές στις παραμέτρους του λογισμικού MCDS, ελέγχοντας κάθε φορά τις αντίστοιχες συνθήκες από τη βιβλιογραφία, όπως πχ η συγκέντρωση οξυγόνου, η ύπαρξη ή όχι συγκέντρωσης αδρανотоποιούς ουσίας (scavenging capacity), το μήκος του DNA καθώς και την ενέργεια σωματίου δέσμης. Οι προσομοιώσεις πραγματοποιήθηκαν για ενέργειες από 1 keV έως 8MeV και για απορροφώμενη δόση από 0 Gy έως 6 Gy.

Στις προσομοιώσεις που πραγματοποιήθηκαν οι ακόλουθοι παράμετροι:

Nucleus diameter 6-7 μ m (δεδομένου ότι το CHO έχει διάμετρο 13 μ m) [33]

Genome size 2.79 Gbp [34]

Oxygen conc=5-10%

DMSO 200 (μια μέση τιμή με βάση τη βιβλιογραφία)

Από τα αρχεία εξόδου του MCDS, λαμβάνοντας τις τιμές της LET (keV/ μ m) για την εκάστοτε ενέργεια, τα αποτελέσματα των πινάκων 2, 3, 5 και 6 του αλγόριθμου, από τα οποία παίρναμε τον μέσω αριθμό των DSBs και SSBs, κατασκευάσαμε μέσω του προγράμματος Origin τις γραφικές παραστάσεις προκειμένου να γίνει σύγκριση των αποτελεσμάτων των προσομοιώσεων με αυτά της βιβλιογραφίας.

Κατόπιν, παρουσιάζονται τα γραφήματα που προέκυψαν από τις προσομοιώσεις του MCDS.

5.2 Γραφικές παραστάσεις αποτελεσμάτων προσομοιώσεων με το λογισμικό MCDS.

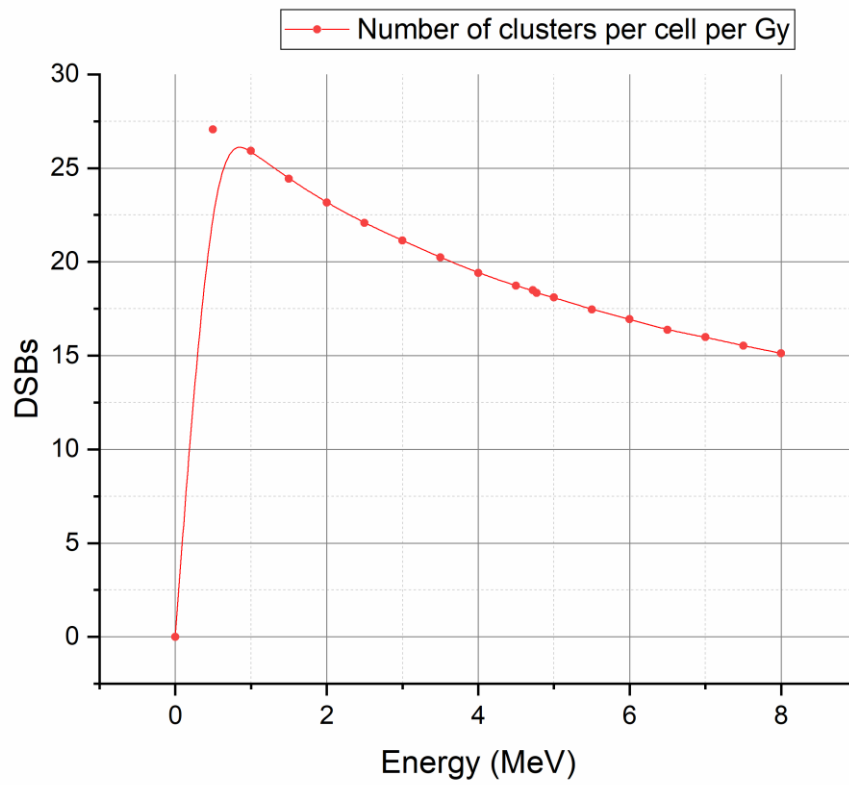
Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων για σωμάτια α.

Energy (Me	DSBs	SSBs	LET	DSBs	SSBs	DSBs	SSBs	DSBs	SSBs
	per cell	per cell		per track	per track	Density of I	Density of I	Cluster co	Cluster co
0,001	0	0	32,98	0	0	0	0	0	0
0,5	27,0544	195,128	222,34	1,06392	7,67343	0,08897	0,13028	28,0037	25,5388
1	25,9177	201,391	214,35	8,17611	63,5317	0,09008	0,13326	28,7594	26,3136
1,5	24,4305	208,598	184,84	17,3905	148,487	0,09127	0,13712	29,6984	27,2763
2	23,156	214,908	160,38	19,9007	184,696	0,09221	0,14065	30,5039	28,155
2,5	22,0696	219,714	141,46	16,4692	163,959	0,09332	0,14378	31,2089	28,9032
3	21,1434	223,734	126,64	13,3273	141,026	0,09404	0,14662	31,8119	29,5649
3,5	20,2432	227,283	114,77	11,1079	124,715	0,09486	0,14926	32,4046	30,1701
4	19,4128	229,991	105,05	9,48406	112,362	0,09547	0,15159	32,8793	30,7025
4,5	18,7211	232,58	96,944	8,27474	102,8	0,09624	0,1537	33,3541	31,1823
4,722	18,4842	233,732	93,761	7,84619	99,2148	0,09634	0,15477	33,4924	31,4088
4,7746	18,3349	234,13	93,04	7,71104	98,467	0,09655	0,15489	33,55	31,4444
5	18,1068	234,849	90,081	7,32768	95,0415	0,09681	0,15583	33,775	31,6466
5,5	17,4574	236,961	84,192	6,52869	88,6185	0,09748	0,15775	34,1374	32,0802
6	16,9339	238,722	79,081	5,8958	83,1149	0,09786	0,15942	34,4871	32,4439
6,5	16,3666	240,087	74,601	5,33734	78,2952	0,09827	0,16108	34,8019	32,7975
7	15,9872	241,33	70,641	4,90824	74,0911	0,09897	0,16265	35,1149	33,1271
7,5	15,5275	242,657	67,113	4,50738	70,4394	0,09926	0,16404	35,3475	33,4478
8	15,1243	243,789	63,95	4,16663	67,1621	0,09962	0,16539	35,6294	33,7308

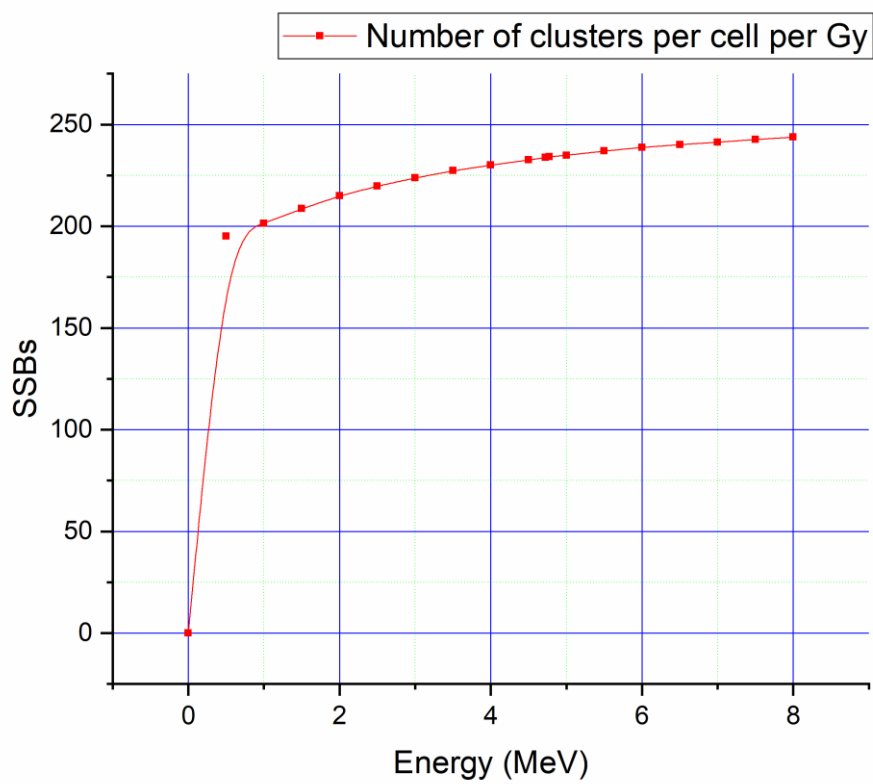
Εικόνα 12 Αποτελέσματα προσομοιώσεων

Ακολουθούν οι αντίστοιχες γραφικές παραστάσεις συναρτήσεως της ενέργειας.

A) Διάγραμμα DSB ανά κύτταρο ανά Gy συναρτήσει της Ενέργειας

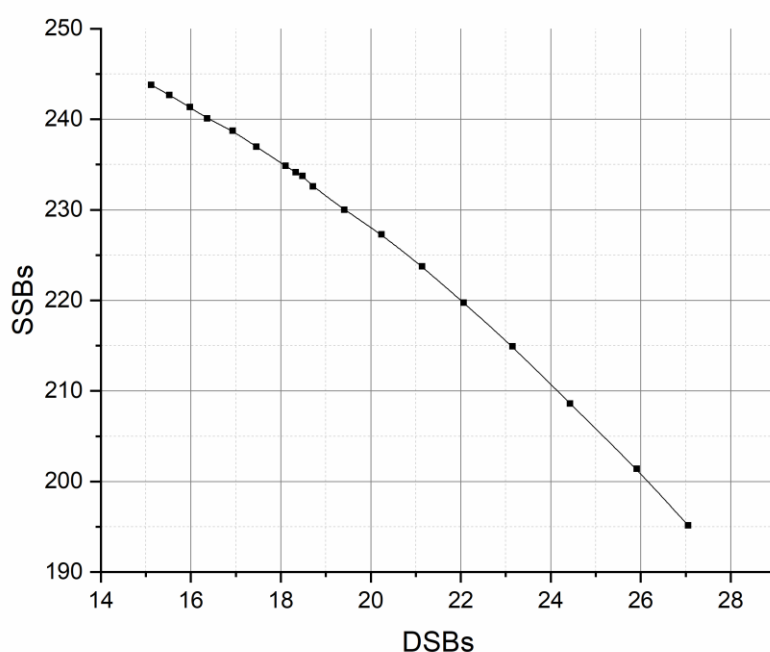


B) Διάγραμμα SSB ανά κύτταρο συναρτήσει της Ενέργειας



Από τα δύο προηγούμενα διαγράμματα διαπιστώνουμε ότι οι DSBs και SSBs βλάβες ότι καθώς οι SSBs ανά κύτταρο ανά Gy αυξάνονται οι DSBs ανά κύτταρο ανά Gy φθίνουν (οι μηδενικές βλάβες για τιμές ενέργειας πολύ κοντινές στα 0 MeV είναι προφανής). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν έρχονται σε πλήρη συμφωνία με τα αντίστοιχα της βιβλιογραφίας και ειδικά του paper των V. Semenko και R. Stewart. [26]

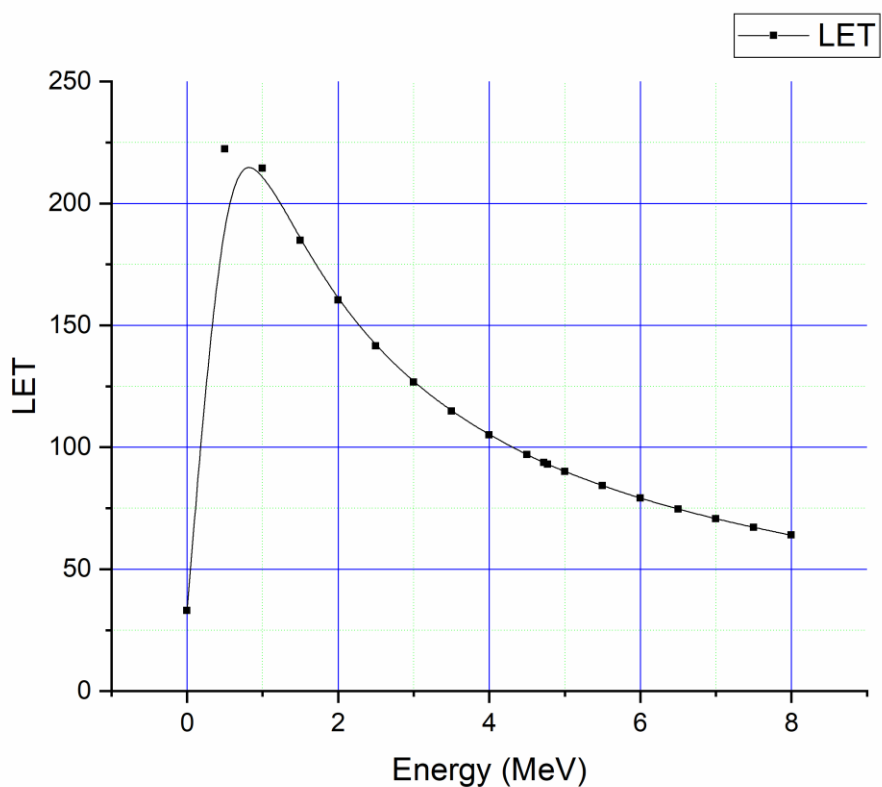
Αυτό φαίνεται και στο συγκριτικό διάγραμμα που ακολουθεί.



Εικόνα 13 Γραφική αναπαράσταση των SSB βλαβών συναρτήσει των DSB

Το γεγονός ότι οι DSBs ανά κύτταρο ανά Gy μειώνονται ενώ οι SSBs ανά κύτταρο ανά Gy αυξάνουν γεγονός αναμενόμενο καθώς οι μονόκλωνες θραύσεις είναι πιο πιθανές στατιστικά και πιο εύκολο να συμβούν ενώ οι δίκλωνες θραύσεις είναι πιο δύσκολο να προκύψουν το μεγαλύτερο μέρος της ενέργειας εναποτίθεται στην θραύση του ενός κλώνου. Επειδή τα σωματία α έχουν μικρή εμβέλεια (μικρότερη των 0.1nm εντός βιολογικού υλικού), είναι πιθανό λόγω της μικρής τους εμβέλειας να διαπερνούν σε μεγαλύτερο ποσοστό μόνο τον ένα κλώνο και έτσι να προκύπτουν πολύ περισσότερες μονόκλωνες θραύσεις, συγκριτικά με τις δίκλωνες.

Γ) Διάγραμμα LET συναρτήσει της Ενέργειας

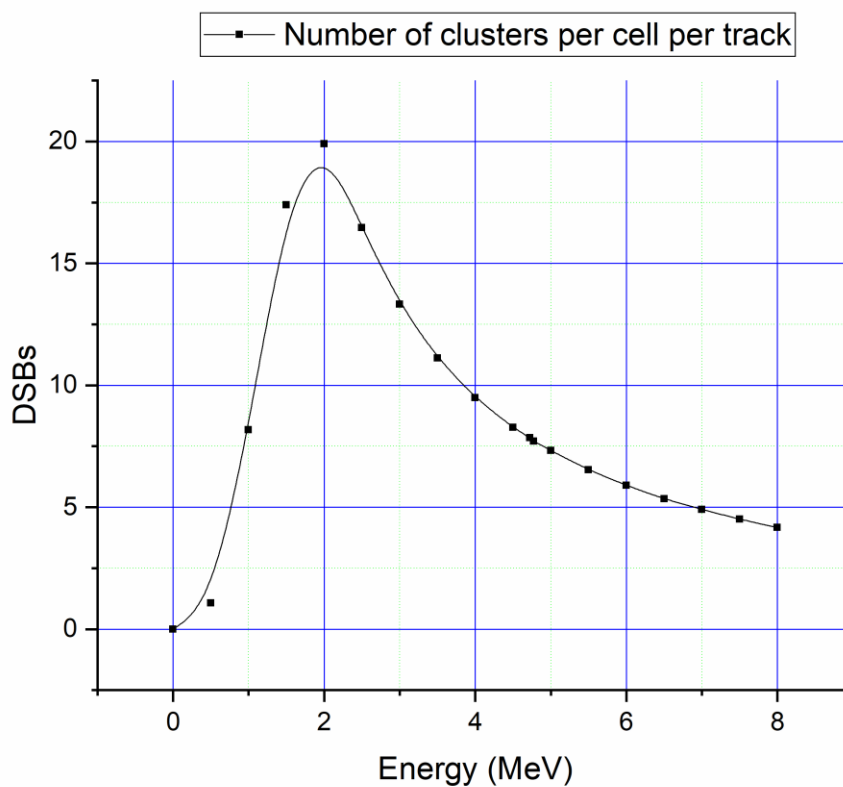


Η γραφική παράσταση της LET σε συνάρτηση με την ενέργεια έρχεται σε πλήρη συμφωνία με τα πειραματικά αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο γράφημα 6 του paper των Z. Nikitaki et al. [35]

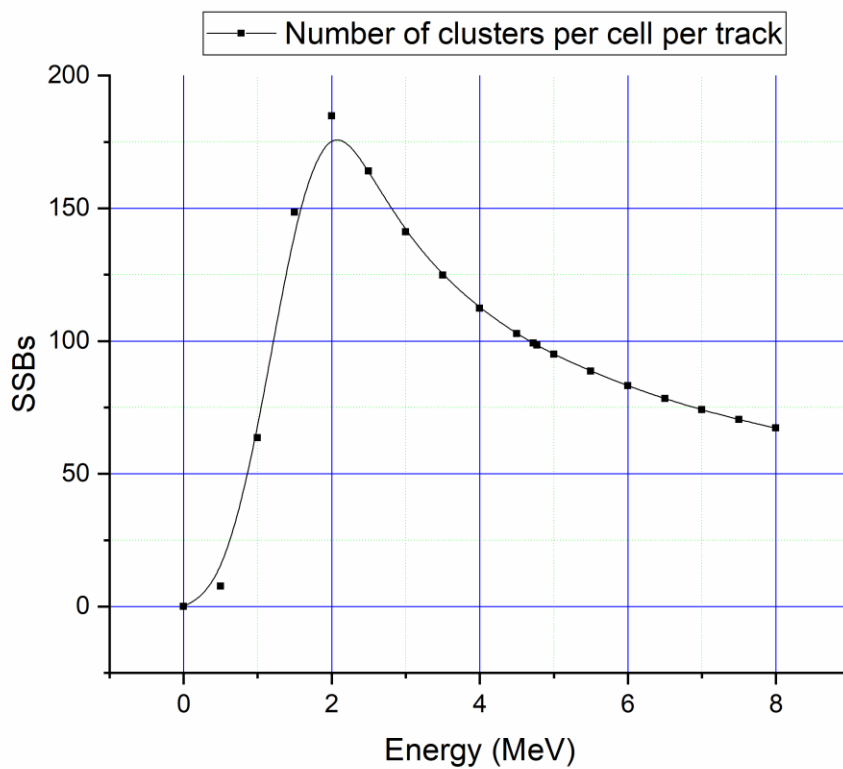
Στον πίνακα και τα διαγράμματα έχουν συμπεριληφθεί οι χαρακτηριστικές ενέργειες για σωματία α της πηγής U-234.

Παρατηρούμε ότι οι καμπύλες που προκύπτουν από δεδομένα των προσομοιώσεων ακολουθούν την θεωρητική-αναμενόμενη καμπύλη Bragg. Ακόμη οι χαρακτηριστικές ενέργειες της πηγής δίνουν αποτελέσματα τα οποία δεν αποκλίνουν από τις αναμενόμενες καμπύλες και συντρέχουν με αυτές.

Δ) Διάγραμμα DSB ανά τροχιά (ανά σωματίδιο) συναρτήσει της Ενέργειας



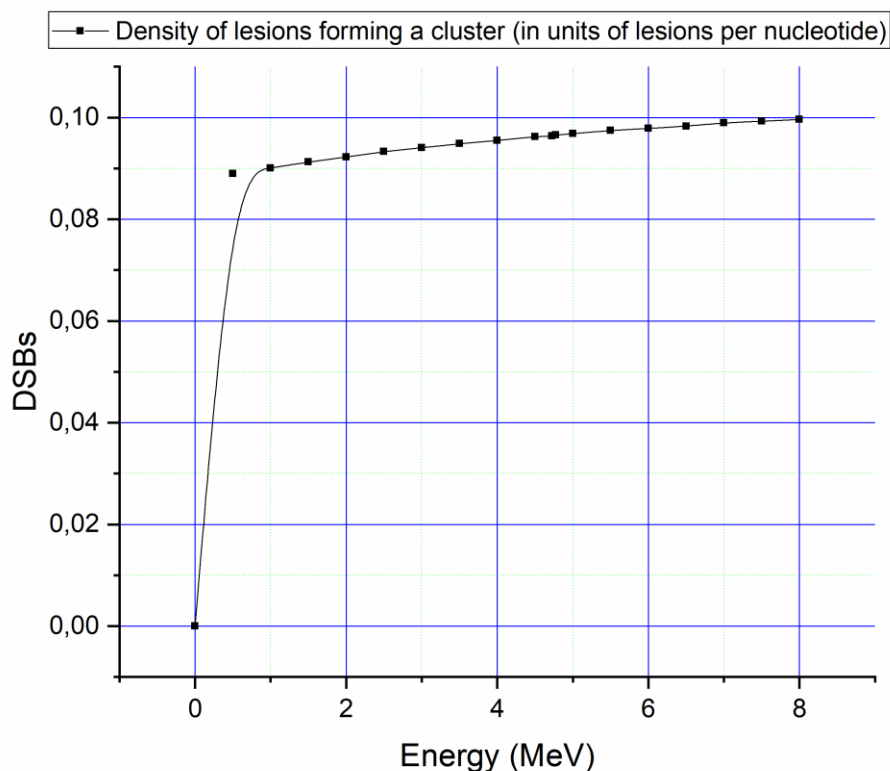
Ε) Διάγραμμα SSB ανά τροχιά (ανά σωματίδιο) συναρτήσει της Ενέργειας



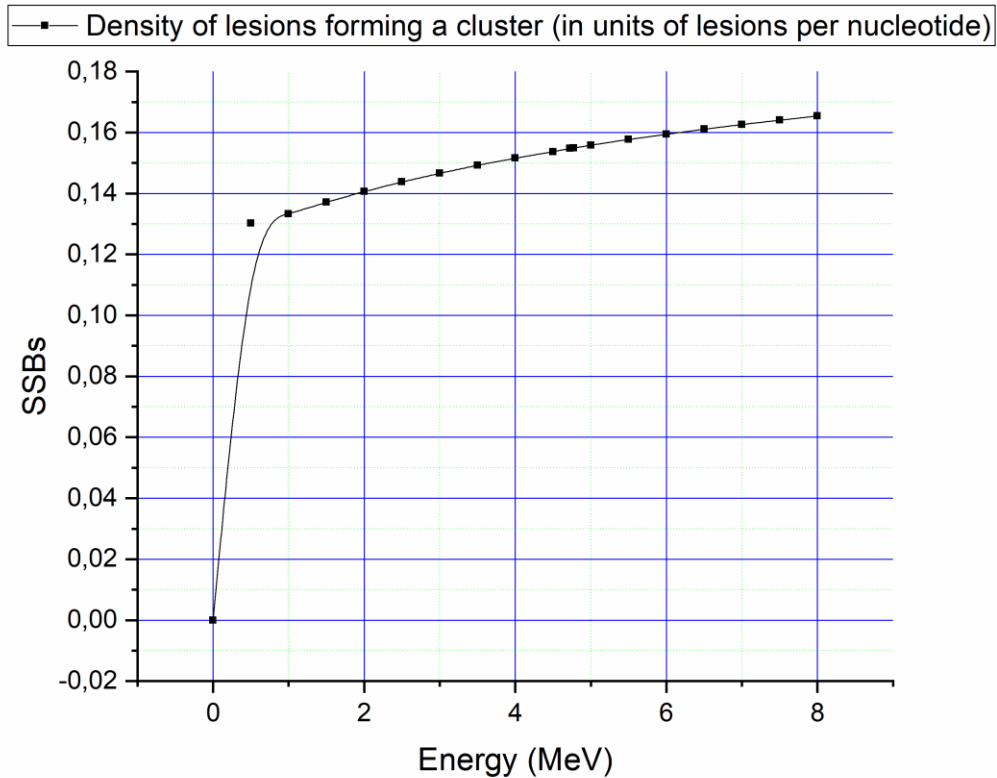
Οι DSBs βλάβες ανά τροχιά (ανά σωματίδιο) παρουσιάζουν μια απότομη αύξηση, φτάνουν σε μια μέγιστη τιμή για συγκεκριμένη ενέργεια και μετά φθίνουν. Όμοια και οι SSBs βλάβες ανά τροχιά (ανά σωματίδιο). Από την ενέργεια των 2 MeV και έπειτα η μείωση των βλαβών μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι όλη η ενέργεια εναποτίθεται εντός του κυττάρου, λόγω του συγκριτικά μικρότερου εύρους του σωματιδίου από το κύτταρο για αυτό και παρατηρείται αύξηση των θραύσεων συναρτήσει της ενέργειας. Για υψηλότερες ενέργειες, όσο μεγαλύτερο το εύρος (από το μέγεθος του κυττάρου) τόσο ένα μέρος της ενέργειας του σωματιδίου εναποτίθεται εκτός κυττάρου και για αυτό παρατηρείται μείωση των θραύσεων συναρτήσει της ενέργειας.

Τα επόμενα διαγράμματα παρουσιάζουν ομαδοποιημένες βλάβες. Ως ομαδοποιημένη βλάβη ορίζεται μια βλάβη που εντοπίζεται σε 20 base pairs (bp).

1) Πυκνότητα βλαβών που σχηματίζουν ομαδοποιημένη βλάβη (σε μονάδες βλαβών ανά νουκλεοτίδιο) για DSB συναρτήσει της Ενέργειας

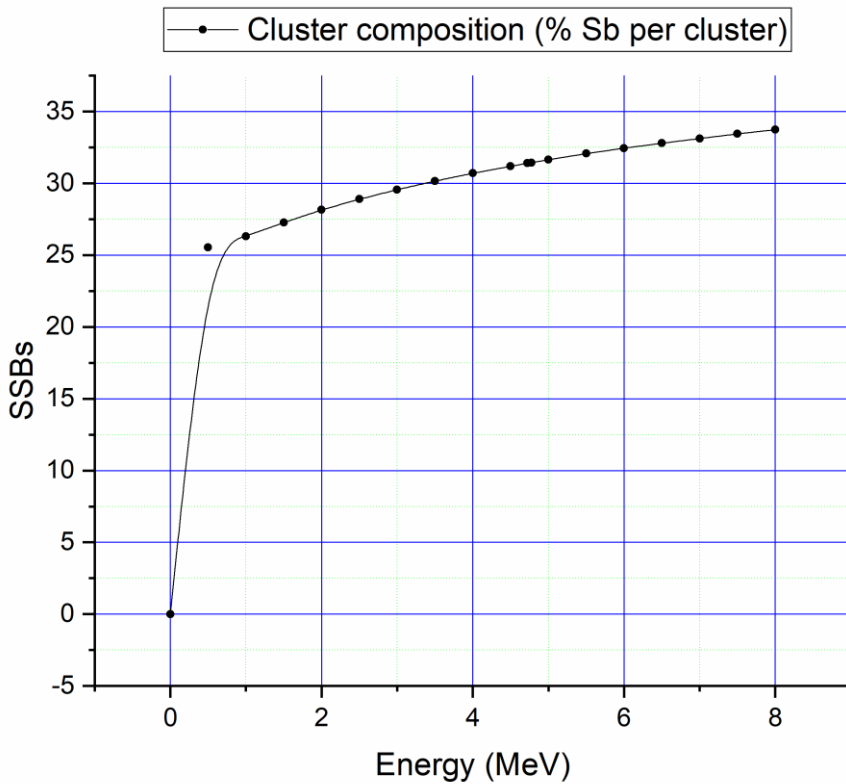
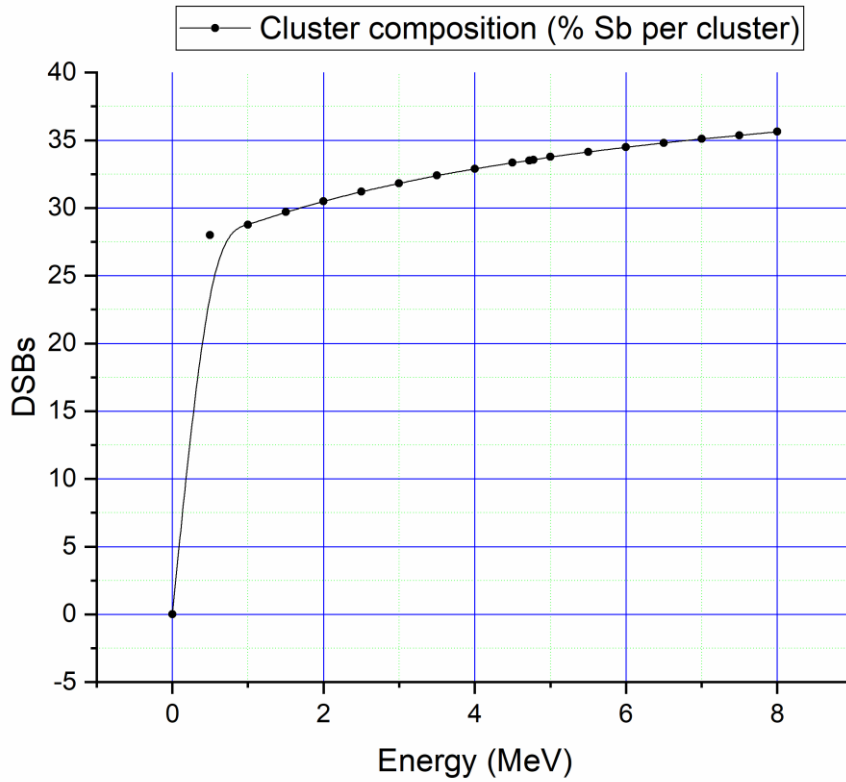


II) Πυκνότητα βλαβών που σχηματίζουν ομαδοποιημένη βλάβη (σε μονάδες βλαβών ανά νουκλεοτίδιο) για SSB συναρτήσει της Ενέργειας



Από τα παραπάνω γραφήματα παρατηρείται ότι περίπου στα 0.5 MeV, οι βλάβες λαμβάνουν μια τιμή, η οποία φαίνεται να διατηρείται περίπου σταθερή μέχρι και τις υψηλότερες τιμές ενέργειας. Επειδή ένα σύμπλεγμα πρέπει, εξ ορισμού, να είναι είτε DSBs είτε non-DSBs, η πιθανότητα μια τυχαία διαμόρφωση αλλοιώσεων να παράγει ένα ζεύγος αντιτιθέμενων θραύσεων κλώνων τείνει να αυξηθεί καθώς ο μέσος αριθμός βλαβών ανά συστάδα αυξάνεται. [20]

III) Σύνθεση ομαδοποιημένης βλάβης σε %Sb ανά ομαδοποιημένη βλάβη, το οποίο είναι επί τις εκατό ποσοστό των βλαβών που είναι θραύσεις κλώνων



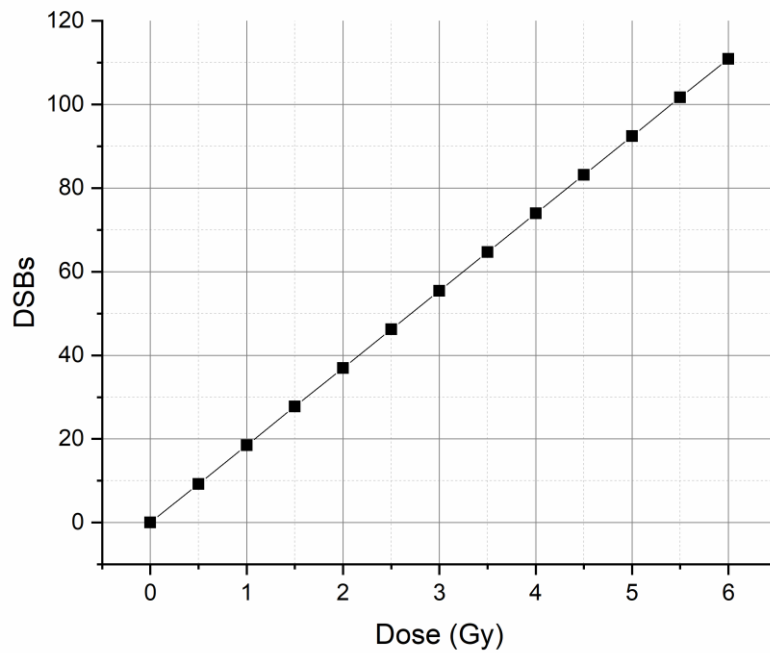
Τα δυο παραπάνω διαγράμματα (III) είναι αναμενόμενο να είναι όμοια καθώς «αποτυπώνουν» τη σύνθεση ομαδοποιημένων βλαβών σε %Sb ανά ομαδοποιημένη βλάβη, που είναι επί τις εκατό ποσοστό των βλαβών που είναι θραύσεις κλώνων. Όπως παρατηρήθηκε στα δυο διαγράμματα I και II, και σε αυτά το διαγράμματα παρατηρείται ότι από τα 0.5 MeV και έπειτα οι βλάβες λαμβάνουν μια περίπου σταθερή τιμή.

Από τις προσομοιώσεις με σταθερή ενέργεια και αυξανόμενη δόση προέκυψαν τα αποτελέσματα του ακόλουθου πίνακα:

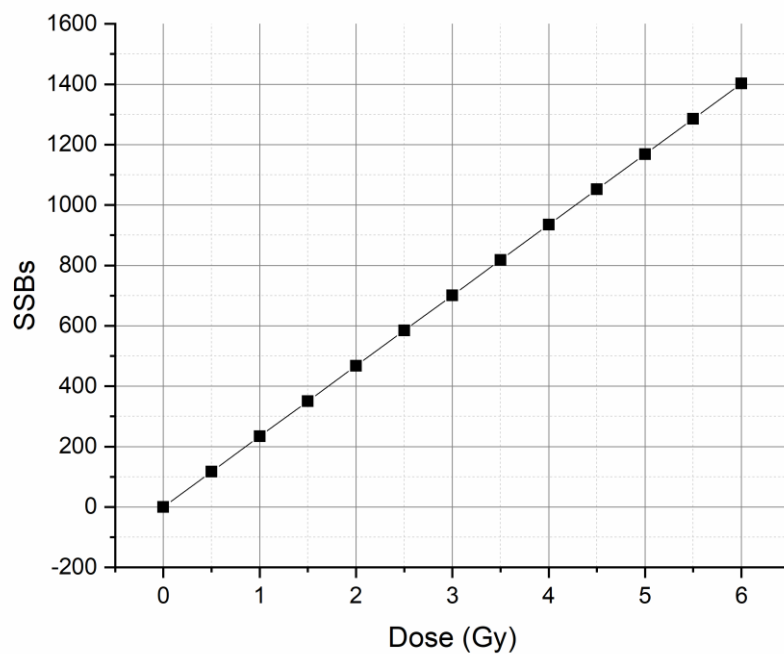
Dose (Gy)	DSBs	SSBs	LET
0,001	0,00185	0,02337	93,761
0,5	9,24208	116,866	93,761
1	18,4842	233,732	93,761
1,5	27,7263	350,597	93,761
2	36,9683	467,463	93,761
2,5	46,2104	584,329	93,761
3	55,4525	701,195	93,761
3,5	64,6946	818,061	93,761
4	73,9367	934,927	93,761
4,5	83,1788	1051,79	93,761
5	92,4208	1168,66	93,761
5,5	101,663	1285,52	93,761
6	110,905	1402,39	93,761

Εικόνα 14 Πίνακας αποτελεσμάτων προσομοιώσεων με σταθερή ενέργεια και αυξανόμενη δόση

1) Διάγραμμα DSB συναρτήσει της απορροφόμενης δόσης (AD)



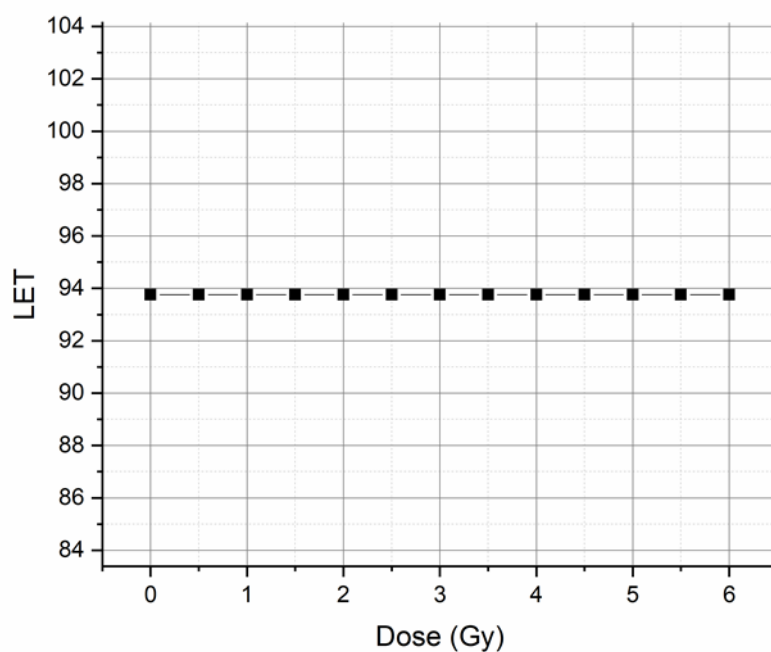
2) Διάγραμμα SSB συναρτήσει της απορροφόμενης δόσης (AD)



Από τα δύο προηγούμενα διαγράμματα παρατηρείται ότι αυξανόμενης της δόσης, αυξάνονται και οι βλάβες, γεγονός που αναμενόταν καθώς οι βλάβες έχουν άμεση συσχέτιση με την απορροφούμενη δόση.

Ακόμη είναι εμφανής η διαφορά στην κλίση των δύο αυτών ευθειών. Οι SSBs βλάβες παρουσιάζουν πολύ μεγαλύτερη κλίση σε σχέση με τις DSBs γεγονός που οφείλεται στο μεγαλύτερο πλήθος των πρώτων συγκριτικά με τις δεύτερες.

3) Διάγραμμα LET συναρτήσει της απορροφώμενης δόσης (AD)



Παρατηρείται ότι αυξανόμενης της δόσης αυξάνονται και οι βλάβες DSB και SSB, όπως αναμέναμε, ενώ η γραμμική ενέργεια μεταφοράς (LET) παραμένει σταθερή. Το γεγονός αυτό είναι αναμενόμενο καθώς η γραμμική ενέργεια μεταφοράς (LET) είναι μέγεθος που εξαρτάται από την ενέργεια των σωματιδίων.

5.3 Προσομοιώσεις που αφορούν τα φάσματα δευτερογενών ηλεκτρονίων

Πραγματοποιήθηκαν δυο προσομοιώσεις: η πρώτη με δεδομένο το φάσμα δευτερογενών ηλεκτρονίων που εμπεριέχεται στον κώδικα MCDS για το ^4He και η δεύτερη χρησιμοποιώντας το φάσμα των δευτερογενών ηλεκτρονίων για την πηγή ^{234}U που προέκυψε μέσω του κώδικα MCNP. [36]

Στα δυο input files χρησιμοποιήθηκαν ακριβώς τα ίδια χαρακτηριστικά που ορίζει το πρότυπο του κώδικα MCDS για το ^4He . Τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων καταχωρήθηκαν στον ακόλουθο πίνακα προκειμένου να γίνει η σύγκρισή τους. [35]

	^4He	^{234}U
DSB Number of clusters per cell per Gy	4.31846E+01	2.11997E+01
SSB Number of clusters per cell per Gy	4.00965E+02	5.08019E+02
DSB Number of clusters per cell per track	1.10312E+01	1.61414E-02
SSB Number of clusters per cell per track	5.24198E+01	3.86804E-01
DSB Density of lesions forming a cluster (in units of lesions per nucleotide)	9.48514E-02	1.04496E-01
SSB Density of lesions forming a cluster (in units of lesions per nucleotide)	1.48723E-01	1.81805E-01
DSB Cluster composition (% Sb per cluster)	3.11086E+01	3.85687E+01
SSB Cluster composition (% Sb per cluster)	2.91270E+01	3.70953E+01

Η διαφορά στα αποτελέσματα των προσομοιώσεων έγκειται στο γεγονός ότι τα δευτερογενή ηλεκτρόνια προέρχονται από σωμάτια α με διαφορετικές κινητικές ενέργειες. Ωστόσο, αξίζει να σημειώσουμε ότι και εδώ παρατηρείται σημαντική διαφορά στις μονόκλωνες θραύσεις συγκριτικά με τις δίκλωνες θραύσεις τόσο για τα δευτερογενή ηλεκτρόνια από το ^4He όσο και για τα δευτερογενή ηλεκτρόνια από το ^{234}U .

Κεφάλαιο 6: Σύνοψη και τελικά συμπεράσματα

Αδιαμφισβήτητα οι προσομοιώσεις των σύνθετων επαγόμενων βλαβών DNA που βασίζονται σε Monte Carlo αποτελούν ένα ισχυρό εργαλείο για τη διερεύνηση και την κατανόηση των βιολογικών επιδράσεων, σε μοριακό επίπεδο, των ιοντιζουσών ακτινοβολιών.

Ο κώδικας MCDS παρέχει ταχύτητα αποτελέσματα σύνθετων επαγόμενων βλαβών DNA μετά από έκθεση σε σωματιδιακή ακτινοβολία.

Σε συνδυασμό με τα δεδομένα που συλλέχθηκαν από την επιστημονική βιβλιογραφία καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι ο αριθμός των σύνθετων επαγόμενων βλαβών DNA εξαρτάται τόσο από την LET (Linear Energy Transfer) της ακτινοβολίας όσο και από την αρχική κινητική ενέργεια των σωματίων α.

Από τα γραφήματα των θραύσεων ανά κύτταρο ανά Gy συναρτήσεως της ενέργειας, που παρουσιάστηκαν προηγουμένως, καθίσταται εμφανές ότι οι μονόκλωνες θραύσεις υπερτερούν αριθμητικά σε σχέση με τις δίκλωνες θραύσεις. Ακόμη ο αριθμός των μονόκλωνων θραύσεων αυξάνεται καθώς αυξάνεται η ενέργεια των σωματίων, ενώ ο αριθμός των δίκλωνων θραύσεων μειώνεται καθώς αυξάνεται η ενέργεια. Το αποτέλεσμα των προσομοιώσεων έρχεται σε πλήρη συμφωνία με τα αποτελέσματα που είναι δημοσιευμένα από τους V. Semenko και R. Stewart. [26]

Συγχρόνως, από τα γραφήματα των clusters ανά τροχιά (ανά σωματίδιο) συναρτήσεως της ενέργειας, που παρουσιάστηκαν προηγουμένως, είναι εμφανές ότι ο αριθμός των θραύσεων αυξάνεται μέχρι την ενέργεια 2 MeV και έπειτα μειώνονται απότομα καθώς το ίδιο συμβαίνει και με την τιμή της LET. Η απώλεια ενέργειας των σωματιδίων μπορεί να μεταφραστεί ως δευτερογενή ηλεκτρόνια τα οποία σχηματίζουν ένα ίχνος γύρω από την τροχιά του σωματιδίου.

Τα διαγράμματα που αναπαριστούν την πυκνότητα βλαβών που σχηματίζουν ομαδοποιημένη βλάβη (σε μονάδες βλαβών ανά νουκλεοτίδιο)

συναρτήσει της ενέργειας λαμβάνουν μια μέγιστη τιμή για ενέργειες περίπου 0.5 MeV και μετά διατηρείται σχεδόν σταθερή τιμή. Το ίδιο παρατηρείται και για τα διαγράμματα που απεικονίζουν τη σύνθεση ομαδοποιημένης βλάβης σε %SB ανά ομαδοποιημένη βλάβη, το οποίο είναι επί τις εκατό ποσοστό των βλαβών που είναι θραύσεις κλώνων συναρτήσει της ενέργειας. Το γεγονός αυτό είναι αναμενόμενο καθώς ένα σύμπλεγμα πρέπει, εξ ορισμού, να είναι είτε DSB είτε non-DSB και η πιθανότητα μια τυχαία διαμόρφωση αλλοιώσεων να παράγει ένα ζεύγος αντιτιθέμενων θραύσεων κλώνων τείνει να αυξηθεί καθώς ο μέσος αριθμός βλαβών ανά συστάδα αυξάνεται.

Συνοψίζοντας, ενέργεια 2 MeV, φαίνεται να είναι κρίσιμη για τον συνολικό αριθμό των DSBs, SSBs αλλά και των υπόλοιπων θραύσεων που προκαλούνται. Το ίδιο συμπέρασμα διαπιστώνεται και στο paper των Ganjeh et al. Η ενέργεια κατά την οποία τα σωματία α, εναποθέτουν το μεγαλύτερο μέρος της ενέργειά τους είναι περίπου τα 1.5 MeV και έπειτα παρατηρείται μείωση. Για μικρότερες ενέργειες, όλη η ενέργεια εναποτίθεται εντός του κυττάρου, λόγω του συγκριτικά μικρότερου εύρους του σωματιδίου από το κύτταρο για αυτό και παρατηρείται αύξηση των θραύσεων συναρτήσει της ενέργειας. Για υψηλότερες ενέργειες, όσο μεγαλύτερο το εύρος (από το μέγεθος του κυττάρου) τόσο ένα μέρος της ενέργειας του σωματιδίου εναποτίθεται εκτός κυττάρου και για αυτό παρατηρείται μείωση των θραύσεων συναρτήσει της ενέργειας. [37]

Βιβλιογραφία

1. Song H., S.S., Hobbs R.F., Sgouros G., *Alpha Particle Emitter Radiolabeled Antibody for Metastatic Cancer: What Can We Learn from Heavy Ion Beam Radiobiology?*. Antibodies, 2012.
2. Γεωργακίλας, Α., *Ιοντίζουσες ακτινοβολίες. Βιολογικές επιπτώσεις, βλάβες DNA, επιδιορθωτικοί μηχανισμοί. Διαλέξεις Γαζής, Γεωργακίλας*, 2018.
3. Sgouros, G., *Alpha-particles for targeted therapy*. Elsevier, 2007. **Advanced Drug Delivery Reviews** **60**: p. 1402-1406.
4. Medicine, U.S.N.L.o. "What is DNA? - Genetics Home Reference.". Available from: ghr.nlm.nih.gov/primer/basics/dna.
5. *Βιολογία Κατεύθυνσης Γ' Τάξης Γενικού Λυκείου*.
6. Watson, J.D.a.F.H.C.C., *Molecular Structure of Nucleic Acids*. Nature, 1953. **171**: p. 737-738.
7. Franklin, R.E.a.R.G.G., *Evidence for 2-Chain Helix in Crystalline Structure of Sodium Deoxyribonucleate*. Nature, 1953. **172**: p. 156-157.
8. *Double Helix*. Available from: <https://biologydictionary.net/double-helix/>.
9. Alberts, B.e.a., *Essential cell Biology*. 2013: Garland Science.
10. Μαρμαράς Β., Λ.-Μ.Μ., *Βιολογία Κυττάρου- Μοριακή Προσέγγιση*. 2000: Τυποράμα.
11. G.M., C., *The Cell: A molecular Approach*. 2nd ed. 2000.
12. Γεωργακίλας, Α., *Διαλέξεις στις Βιολογικές επιπτώσεις-Βλάβες DNA και επιδιορθωτικοί μηχανισμοί*. 2014: ΕΜΠ.
13. Τσιπολίτης, Γ., *Σημειώσεις στις Ιοντίζουσες Ακτινοβολίες*. 2014.
14. Λεωνίδου, Δ., *Αλληλεπιδράσεις Ακτινοβολιών & Ύλης - Δοσιμετρία - Θωράκιση*. 1984: ΕΜΠ.
15. Evans, R.D., *The Atomic Nucleus*. 1955: McGraw-Hill, Inc.
16. Prasad, N., *Handbook of Radiology*. 1984: CRC Press, Inc.
17. Georgakilas, A.G., *Oxidated stress, DNA damage and repair in carcinogenesis: Have we established a connection?* Cancer Lett, 2012.
18. Nikjoo, H., et al., *Computational approach for determining the spectrum of DNA damage induced by ionizing radiation*. Radiat. Res., 2001: p. 577-583.
19. Georgakilas, A.G., *Processing of DNA damage clusters in human cells: current status of knowledge*. Molecular BioSystems, 2008. **4.1**.
20. Georgakilas, A.G., P. O'Neill, and R.D. Stewart, *Induction and repair of clustered DNA lesions: What do we know so far?* Rad Res, 2013. **180(1)**: p. 100-109.
21. Hada, M.a.A.G.G., *Formation of clustered DNA damage after high-LET irradiation: a review*. Journal of Radiation Research, 2012. **49.3 2008**: p. 203-210.
22. Shikazono N., e.a., *The Yield, Processing and Biological Consequences of Clustered DNA Damage Induced by Ionizing Radiation*. J. Radiant, 2009. **50**: p. 27-36.
23. al., S.B.e., *DNA damage clusters induced by ionizing radiation in isolated DNA and in human cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2000. **97**: p. 103-108.
24. al., T.M.e., *Homologous recombination and non-homologous end-joining pathways of DNA double-strand break repair have overlapping roles in the maintenance of chromosomal integrity in vertebrate cells*. EMBO, 1998. **17**: p. 1021-1029.
25. Jackson, S.P., *Sensing and repairing DNA double-strand breaks*. Carcinogenesis, 2002. **23.5**: p. 687*696.
26. Semenenko, V.A. and R.D. Stewart, *Fast Monte Carlo simulation of DNA damage formed by electrons and light ions*. Phys Med Biol, 2006. **51(7)**: p. 1693-706.
27. Stewart, R.D., et al., *Rapid MCNP simulation of DNA double strand break (DSB) relative biological effectiveness (RBE) for photons, neutrons, and light ions*. Phys Med Biol, 2015. **60(21)**: p. 8249-74.

28. Stewart, R.D., Yu, V. K., Georgakilas, A. G., Koumenis, C., Park, J. H. & Carlson D. J., *Effects of radiation quality and oxygen on clustered DNA lesions and cell death*. Radiat Res, 2011(176): p. 587-602.
29. Y. Lee, C.L., J. Yoon, *Kinetics and mechanism of DMSO (dimethylsulfoxide) degradation by UV/H₂O₂ process*. Water Res, 2004. **38**: p. 2579-2588.
30. M. Verheijen, M.L., Y. schrooders, O. Clayton, R. Nudischer, S. Boerno,, N.S. B. Timmermann, R. Schlapbach, H. Gmuender, S. Gotta, J. Geraedts,, and J.K.F.C. R. Herwig, *DMSO induces drastic changes in human cellular processes and epigenetic landscape in vitro*. Scientific Reports, 2019.
31. Stewart, R.D., *Fast Monte Carlo Simulation of DNA damage formed by electrons and light ions*. Physics in Medicine and Biology, May 2006. **51**: p. 1693-1706.
32. Stewart, P.D.R. *Monte Carlo Damage Simulation (MCDS) Software*.; Monte Carlo Damage Simulation (MCDS) Software]. Available from: <http://faculty.washington.edu/trawets/mcnds/>.
33. Andreas Maccani, W.E., Reingard Gradherr, *Whole Genome Sequencing Improves Estimation of Nuclear DNA Content of Chinese Hamster Ovary Cells*. Cytometry Part A, 2013.
34. E. Salimi, K.B., M. Butler, D. J. Thomson, G. E. Bridges, *Dielectric model for Chinese hamster ovary cells obtained by dielectrophoresis cytometry*. Biomicrofluidics, 2016 Jan.
35. Zacharenia Nikitaki, E.C., Spyridon A. Kalospyros, Sofia Kaiseridi, Georgia I. Terzoudi, and a.A.G.G. Mike Kokkoris, *Construction and evaluation of an a-particle-irradiation exposure apparatus*. International Journal of Radiation Biology, 2021.
36. Boston, D.A., *Introduction to MCNP-the monte carlo transport code*.
37. Zahra Ahmadi Ganjeh, M.E.-K., Mahdy, Ebrahimi Loushab, Ali Asghar Mowlavi, *Simulation of direct DNA damages caused by alpha particles versus protons*. <https://www.sciencedirect.com/science/journal/0168583X>, 2020. **Volume 473**: p. Pages 10-15.

Παράρτημα

Αρχείο εισόδου με φάσμα

SIMCON: nocs=10000 seed=987654321

CELL: DNA=2.79 ndia=7 cdia=12.7

RADX: fn=mcnp spectrum.dat

EVO2: pO2=5.0

Αρχείο εξόδου

=====

MCDS Version 3.10A 05-DEC-2011

=====

2.134 running time (min)
987654321 random number seed
10000 number of cells (nocs)
0.0000E+00 water-equivalent material (WEM) thickness (mg/cm²)
1.0000E+00 Desired dose to the cell nucleus (Gy)
2.7900E+00 DNA content (Gbp)

TARGET (cell) DEFINITION (4V/S = mean chord length)

=====

DIAMETER	4V/S	Volume	Mass
(um)	(um)	(um ³)	(ng)

DNA	---	---	2.847E+00	2.847E-03
NUCLEUS	7.000E+00	4.667E+00	1.796E+02	1.796E-01
CYTOPLASM	---	---	8.929E+02	8.929E-01
CELL	1.270E+01	8.467E+00	1.073E+03	1.073E+00

=====

NOTE: In human DNA, 1 Gbp=0.979 ng (not including bound H2O). DNA volume computed using a density of 1 g/cm³.

INCIDENT PARTICLE: e- (mass = 5.48580E-04 u = 5.10999E-01 MeV/c²)

1.00000E+00 MeV >= 1.27750E-06 MeV

1.82289E+03 MeV/u >= 2.32874E-03 MeV/u)

1.42197E+00 MeV (p*c = momentum x speed of light)

8.72030E-01 pm (de Broglie wavelength)
 2.95695E+00 = $\gamma = \frac{1}{\sqrt{1-\beta^2}}$ (Lorentz factor) ≥ 1
 1.00000E+00 ABS(effective charge); Barkas 1963
 9.41079E-01 $\beta = v/c \leq 1$
 1.12914E+00 $(Z_{eff}/\beta)^2 \leq 2.000E+05$
 1.84239E-01 keV/um (total stopping power in H2O)
 1.82896E-01 keV/um (99.271% collisional)
 1.34323E-03 keV/um (0.729% radiative)
 4.38804E-01 CSDA range of particle (cm) in H2O

PARTICLE TRANSPORT - Beam of radiation incident on bottom of cell culture dish
 (WEM=0.00 um, cell=12.70 um, nucleus=7.00 um; total distance traveled to
 reach nucleus=2.850 um of H2O).

```

=====
          ----- Cell -----   ----- Nucleus -----
          Incident  Entry  Exit  Entry  Exit
=====
KE (MeV) 1.0000E+00 1.0000E+00 9.9766E-01 9.9947E-01 9.9819E-01
  
```

(Zeff/beta)^2	1.1291E+00	1.1291E+00	1.1296E+00	1.1292E+00	1.1295E+00
LET (keV/um)	1.8290E-01	1.8290E-01	1.8293E-01	1.8290E-01	1.8292E-01
Res. Range (um)	4.3880E+03	4.3880E+03	4.3753E+03	4.3852E+03	4.3782E+03
DPUF1 (nGy-cm^2)	2.9300E-01	2.9300E-01	2.9305E-01	2.9301E-01	2.9304E-01
DPUF2 (nGy-cm^2)	---	2.9302E-01	---	2.9302E-01	---
Edep (keV)	---	1.5486E+00	---	8.5357E-01	---
YF (keV/um)	---	1.8291E-01	---	1.8291E-01	---
ZF (Gy)	---	2.3131E-04	---	7.6140E-04	---

=====

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)

- 148679 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 BI/Bd

OXYGEN SIMULATION (M0=1.740, K=0.3372, q=946.10, r=2.15)

- 5.0000E+00 % O2 concentration (=38.00 mmHg)
- 4.4664E-02 chemical repair probability (pcr)
- 9.5534E-01 O2 fixation probability (1-pcr)
- 1.0468E+00 Approx. HRF for SSB induction [=1/(1-pcr)]
- 1.0957E+00 Approx. HRF for DSB induction [1/(1-pcr)]²

DMSO SIMULATION

- 5.0000E-01 fraction of non-scavengable 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).

=====

68.715	BD	- one or more Bd (no Sb)
28.667	SSB	- Sb (no auxiliary damage)
1.219	SSB+	- two Sb on the same strand
0.145	2SSB	- two or more Sb on opposite strands separated by at least 10 bp
1.096	DSB	- two Sb on opposite strands with a separation \leq 10 bp
0.142	DSB+	- DSB accompanied by one (or more) additional Sb within 10 bp separation
0.016	DSB++	- more than one DSB whether within the 10 bp separation or further apart
4.544	SSBc	- fraction of complex damage (SSB+ and 2SSB) among SSBs
39.059	SSBcb	- fraction of complex damage (SSB+ and 2SSB) among SSBs; base damage included
12.587	DSBc	- fraction of complex damage (DSB+ and DSB++) among DSBs
49.719	DSBcb	- fraction of complex damage (DSB+ and DSB++) among DSBs; base damage included

=====

TABLE 2. Number of clusters per cell (DNA=2.790 Gbp, AD=1.000 Gy).

=====

Number of lesions	----- DSB -----		----- SSB -----		----- OTHER -----		----- ALL CLUSTERS -----	
	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM

=====

1	---	---	3.09573E+02	8.53730E-02	9.28869E+02	1.62176E-01	1.23844E+03	1.93978E-01
2	1.06799E+01	2.17418E-02	1.34581E+02	6.95604E-02	1.86601E+02	7.79217E-02	3.31862E+02	1.01259E-01
3	6.42686E+00	1.68692E-02	4.48680E+01	4.24589E-02	3.73865E+01	3.88591E-02	8.86814E+01	5.66330E-02
4	2.66682E+00	1.11226E-02	1.35916E+01	2.45328E-02	7.52277E+00	1.82973E-02	2.37812E+01	3.16189E-02
5	9.60644E-01	6.62549E-03	3.92651E+00	1.32380E-02	1.51111E+00	8.30682E-03	6.39826E+00	1.66520E-02
6	3.18014E-01	3.82785E-03	1.08299E+00	7.05451E-03	3.03273E-01	3.76822E-03	1.70427E+00	8.74533E-03
7	1.02672E-01	2.17841E-03	2.88300E-01	3.59364E-03	6.10545E-02	1.67318E-03	4.52026E-01	4.51174E-03
8	3.20385E-02	1.20146E-03	7.99800E-02	1.93651E-03	1.25085E-02	7.60940E-04	1.24527E-01	2.40774E-03
9	7.90500E-03	6.08292E-04	2.10180E-02	9.85991E-04	1.81350E-03	2.89840E-04	3.07365E-02	1.19041E-03
10	3.53400E-03	4.03854E-04	5.34750E-03	5.04454E-04	6.04500E-04	1.67557E-04	9.48600E-03	6.63923E-04
11	9.30000E-04	2.07757E-04	1.16250E-03	2.32221E-04	1.39500E-04	8.05323E-05	2.23200E-03	3.21403E-04
12	3.25500E-04	1.22991E-04	5.58000E-04	1.60992E-04	4.65000E-05	4.65000E-05	9.30000E-04	2.07757E-04
13	---	---	4.65000E-05	4.65000E-05	---	---	4.65000E-05	4.65000E-05
14	---	---	---	---	---	---	---	---
15	---	---	---	---	---	---	---	---
16	---	---	---	---	---	---	---	---
17	---	---	---	---	---	---	---	---

18	---	---	---	---	---	---	---	---
19	---	---	---	---	---	---	---	---
20	---	---	---	---	---	---	---	---
21	---	---	---	---	---	---	---	---
22	---	---	---	---	---	---	---	---
23	---	---	---	---	---	---	---	---
24	---	---	---	---	---	---	---	---
25	---	---	---	---	---	---	---	---
26	---	---	---	---	---	---	---	---
27	---	---	---	---	---	---	---	---
28	---	---	---	---	---	---	---	---
29	---	---	---	---	---	---	---	---
30	---	---	---	---	---	---	---	---
31	---	---	---	---	---	---	---	---
32	---	---	---	---	---	---	---	---
33	---	---	---	---	---	---	---	---
34	---	---	---	---	---	---	---	---
35	---	---	---	---	---	---	---	---

36	---	---	---	---	---	---	---	---
37	---	---	---	---	---	---	---	---
38	---	---	---	---	---	---	---	---
39	---	---	---	---	---	---	---	---
40	---	---	---	---	---	---	---	---
41	---	---	---	---	---	---	---	---
42	---	---	---	---	---	---	---	---
43	---	---	---	---	---	---	---	---
44	---	---	---	---	---	---	---	---
45	---	---	---	---	---	---	---	---
46	---	---	---	---	---	---	---	---
47	---	---	---	---	---	---	---	---
48	---	---	---	---	---	---	---	---
49	---	---	---	---	---	---	---	---
50	---	---	---	---	---	---	---	---

Total 2.11997E+01 2.92610E-02 5.08019E+02 6.58189E-02 1.16227E+03 1.20180E-01 1.69149E+03 1.24573E-01

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=2.790 Gbp, ZF=0.00076 Gy).

=====									
Number of ----- DSB ----- ----- SSB ----- ----- OTHER ----- ----- ALL CLUSTERS -----									
lesions	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM	SEM
=====									
1	---	---	2.35708E-01	6.50027E-05	7.07238E-01	1.23480E-04	9.42946E-01	1.47694E-04	
2	8.13167E-03	1.65541E-05	1.02469E-01	5.29631E-05	1.42078E-01	5.93293E-05	2.52679E-01	7.70981E-05	
3	4.89339E-03	1.28441E-05	3.41624E-02	3.23281E-05	2.84659E-02	2.95872E-05	6.75217E-02	4.31202E-05	
4	2.03051E-03	8.46874E-06	1.03486E-02	1.86792E-05	5.72781E-03	1.39315E-05	1.81069E-02	2.40745E-05	
5	7.31431E-04	5.04463E-06	2.98963E-03	1.00793E-05	1.15055E-03	6.32479E-06	4.87162E-03	1.26788E-05	
6	2.42135E-04	2.91452E-06	8.24581E-04	5.37128E-06	2.30911E-04	2.86911E-06	1.29763E-03	6.65867E-06	
7	7.81741E-05	1.65864E-06	2.19511E-04	2.73619E-06	4.64867E-05	1.27396E-06	3.44172E-04	3.43522E-06	
8	2.43940E-05	9.14788E-07	6.08965E-05	1.47445E-06	9.52393E-06	5.79378E-07	9.48145E-05	1.83325E-06	
9	6.01884E-06	4.63152E-07	1.60030E-05	7.50731E-07	1.38079E-06	2.20683E-07	2.34027E-05	9.06376E-07	
10	2.69078E-06	3.07494E-07	4.07157E-06	3.84090E-07	4.60264E-07	1.27578E-07	7.22261E-06	5.05509E-07	
11	7.08099E-07	1.58185E-07	8.85124E-07	1.76812E-07	1.06215E-07	6.13171E-08	1.69944E-06	2.44716E-07	

12	2.47835E-07	9.36446E-08	4.24860E-07	1.22579E-07	3.54050E-08	0.00000E+00	7.08099E-07	1.58185E-07
13	---	---	3.54050E-08	0.00000E+00	---	---	3.54050E-08	0.00000E+00
14	---	---	---	---	---	---	---	---
15	---	---	---	---	---	---	---	---
16	---	---	---	---	---	---	---	---
17	---	---	---	---	---	---	---	---
18	---	---	---	---	---	---	---	---
19	---	---	---	---	---	---	---	---
20	---	---	---	---	---	---	---	---
21	---	---	---	---	---	---	---	---
22	---	---	---	---	---	---	---	---
23	---	---	---	---	---	---	---	---
24	---	---	---	---	---	---	---	---
25	---	---	---	---	---	---	---	---
26	---	---	---	---	---	---	---	---
27	---	---	---	---	---	---	---	---
28	---	---	---	---	---	---	---	---
29	---	---	---	---	---	---	---	---

30	---	---	---	---	---	---	---	---
31	---	---	---	---	---	---	---	---
32	---	---	---	---	---	---	---	---
33	---	---	---	---	---	---	---	---
34	---	---	---	---	---	---	---	---
35	---	---	---	---	---	---	---	---
36	---	---	---	---	---	---	---	---
37	---	---	---	---	---	---	---	---
38	---	---	---	---	---	---	---	---
39	---	---	---	---	---	---	---	---
40	---	---	---	---	---	---	---	---
41	---	---	---	---	---	---	---	---
42	---	---	---	---	---	---	---	---
43	---	---	---	---	---	---	---	---
44	---	---	---	---	---	---	---	---
45	---	---	---	---	---	---	---	---
46	---	---	---	---	---	---	---	---
47	---	---	---	---	---	---	---	---

48	---	---	---	---	---	---	---	---	---
49	---	---	---	---	---	---	---	---	---
50	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Total	1.61414E-02	2.22792E-05	3.86804E-01	5.01143E-05	8.84949E-01	9.15048E-05	1.28789E+00	9.48494E-05	

TABLE 4. Cluster Length (in base pair)

Number of lesions	DSB		SSB		OTHER		ALL CLUSTERS	
	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM
1	---	---	4.65000E-01	0.00000E+00	4.65000E-01	0.00000E+00	4.65000E-01	0.00000E+00
2	2.54929E+00	2.71954E-03	2.61982E+00	7.21188E-04	2.61503E+00	6.15675E-04	2.61483E+00	4.58878E-04
3	4.48468E+00	4.89401E-03	4.80932E+00	1.80020E-03	4.77067E+00	1.95555E-03	4.76950E+00	1.26144E-03
4	6.52965E+00	1.01323E-02	6.99844E+00	3.98887E-03	6.92129E+00	5.48681E-03	6.92122E+00	3.06398E-03
5	8.65121E+00	2.03891E-02	9.18495E+00	9.17535E-03	9.08624E+00	1.61287E-02	9.08449E+00	6.99112E-03
6	1.07546E+01	3.60830E-02	1.14010E+01	2.07620E-02	1.12214E+01	3.69810E-02	1.12467E+01	1.67519E-02
7	1.28636E+01	6.61070E-02	1.35581E+01	4.07472E-02	1.33588E+01	8.46594E-02	1.33673E+01	3.38093E-02

8	1.51751E+01	1.25828E-01	1.56537E+01	8.02779E-02	1.53258E+01	2.01550E-01	1.54833E+01	6.54999E-02
9	1.72590E+01	2.64185E-01	1.78710E+01	1.71615E-01	1.85404E+01	5.86340E-01	1.77493E+01	1.40632E-01
10	1.96157E+01	3.91740E-01	1.98962E+01	3.45895E-01	1.88504E+01	1.04723E+00	1.97234E+01	2.51794E-01
11	2.20410E+01	8.69543E-01	2.27478E+01	6.95389E-01	2.34050E+01	4.34830E+00	2.24944E+01	5.56677E-01
12	2.49107E+01	2.22742E+00	2.43738E+01	6.33396E-01	2.13900E+01	0.00000E+00	2.44125E+01	8.46397E-01
13	---	---	2.41800E+01	0.00000E+00	---	---	2.41800E+01	0.00000E+00
14	---	---	---	---	---	---	---	---
15	---	---	---	---	---	---	---	---
16	---	---	---	---	---	---	---	---
17	---	---	---	---	---	---	---	---
18	---	---	---	---	---	---	---	---
19	---	---	---	---	---	---	---	---
20	---	---	---	---	---	---	---	---
21	---	---	---	---	---	---	---	---
22	---	---	---	---	---	---	---	---
23	---	---	---	---	---	---	---	---
24	---	---	---	---	---	---	---	---
25	---	---	---	---	---	---	---	---

26	---	---	---	---	---	---	---	---
27	---	---	---	---	---	---	---	---
28	---	---	---	---	---	---	---	---
29	---	---	---	---	---	---	---	---
30	---	---	---	---	---	---	---	---
31	---	---	---	---	---	---	---	---
32	---	---	---	---	---	---	---	---
33	---	---	---	---	---	---	---	---
34	---	---	---	---	---	---	---	---
35	---	---	---	---	---	---	---	---
36	---	---	---	---	---	---	---	---
37	---	---	---	---	---	---	---	---
38	---	---	---	---	---	---	---	---
39	---	---	---	---	---	---	---	---
40	---	---	---	---	---	---	---	---
41	---	---	---	---	---	---	---	---
42	---	---	---	---	---	---	---	---
43	---	---	---	---	---	---	---	---

44	---	---	---	---	---	---	---	---
45	---	---	---	---	---	---	---	---
46	---	---	---	---	---	---	---	---
47	---	---	---	---	---	---	---	---
48	---	---	---	---	---	---	---	---
49	---	---	---	---	---	---	---	---
50	---	---	---	---	---	---	---	---

Average 4.11456E+00 4.03283E-03 1.69598E+00 5.92357E-04 1.00553E+00 2.57297E-04 1.25188E+00 2.52068E-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	---	---	2.32500E-01	0.00000E+00	2.32500E-01	0.00000E+00	2.32500E-01	0.00000E+00
2	1.26332E-01	2.20457E-04	1.14849E-01	4.97773E-05	1.15599E-01	4.31845E-05	1.15642E-01	3.22148E-05
3	8.82450E-02	1.39479E-04	8.11703E-02	4.64940E-05	8.19701E-02	5.11932E-05	8.20195E-02	3.32000E-05

4	7.59145E-02	1.60309E-04	6.96374E-02	5.58769E-05	7.06393E-02	7.75324E-05	7.06678E-02	4.35326E-05
5	6.90958E-02	2.08358E-04	6.41804E-02	8.24025E-05	6.51645E-02	1.52265E-04	6.51132E-02	6.47109E-05
6	6.52042E-02	2.70316E-04	6.08279E-02	1.34317E-04	6.20641E-02	2.45548E-04	6.18733E-02	1.13804E-04
7	6.26975E-02	3.84880E-04	5.90023E-02	2.07838E-04	5.99802E-02	4.40815E-04	6.00137E-02	1.79141E-04
8	6.00892E-02	5.82618E-04	5.79006E-02	3.29631E-04	5.92229E-02	8.23023E-04	5.86698E-02	2.80490E-04
9	5.88021E-02	9.82238E-04	5.71798E-02	7.13427E-04	5.44661E-02	1.69837E-03	5.74528E-02	5.60948E-04
10	5.68216E-02	1.17313E-03	5.65495E-02	1.17511E-03	6.02014E-02	4.44571E-03	5.68869E-02	8.38703E-04
11	5.58308E-02	2.56641E-03	5.36314E-02	1.89478E-03	5.39652E-02	8.49557E-03	5.45687E-02	1.51015E-03
12	5.49703E-02	5.41326E-03	5.36215E-02	1.38302E-03	6.06522E-02	0.00000E+00	5.44451E-02	2.00776E-03
13	---	---	5.81250E-02	0.00000E+00	---	---	5.81250E-02	0.00000E+00
14	---	---	---	---	---	---	---	---
15	---	---	---	---	---	---	---	---
16	---	---	---	---	---	---	---	---
17	---	---	---	---	---	---	---	---
18	---	---	---	---	---	---	---	---
19	---	---	---	---	---	---	---	---
20	---	---	---	---	---	---	---	---
21	---	---	---	---	---	---	---	---

22	---	---	---	---	---	---	---	---
23	---	---	---	---	---	---	---	---
24	---	---	---	---	---	---	---	---
25	---	---	---	---	---	---	---	---
26	---	---	---	---	---	---	---	---
27	---	---	---	---	---	---	---	---
28	---	---	---	---	---	---	---	---
29	---	---	---	---	---	---	---	---
30	---	---	---	---	---	---	---	---
31	---	---	---	---	---	---	---	---
32	---	---	---	---	---	---	---	---
33	---	---	---	---	---	---	---	---
34	---	---	---	---	---	---	---	---
35	---	---	---	---	---	---	---	---
36	---	---	---	---	---	---	---	---
37	---	---	---	---	---	---	---	---
38	---	---	---	---	---	---	---	---
39	---	---	---	---	---	---	---	---

40	---	---	---	---	---	---	---	---
41	---	---	---	---	---	---	---	---
42	---	---	---	---	---	---	---	---
43	---	---	---	---	---	---	---	---
44	---	---	---	---	---	---	---	---
45	---	---	---	---	---	---	---	---
46	---	---	---	---	---	---	---	---
47	---	---	---	---	---	---	---	---
48	---	---	---	---	---	---	---	---
49	---	---	---	---	---	---	---	---
50	---	---	---	---	---	---	---	---

Average 1.04496E-01 1.24845E-04 1.81805E-01 2.27679E-05 2.07562E-01 1.18170E-05 1.98534E-01 1.06966E-05

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	----- DSB -----	----- SSB -----	----- OTHER -----	----- ALL CLUSTERS -----
-----------	-----------------	-----------------	-------------------	--------------------------

lesions	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM
1	---	---	4.65000E+01	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16236E+01	2.65244E-03
2	4.65000E+01	0.00000E+00	2.49846E+01	3.53345E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16280E+01	4.54193E-03
3	3.35347E+01	1.58711E-02	1.81781E+01	6.16763E-03	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16269E+01	7.96056E-03
4	2.73830E+01	2.91902E-02	1.49504E+01	1.09777E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16156E+01	1.39367E-02
5	2.37906E+01	5.07421E-02	1.31617E+01	2.07602E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16495E+01	2.53765E-02
6	2.14559E+01	7.84559E-02	1.19234E+01	4.07225E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	1.15624E+01	4.93602E-02
7	1.98449E+01	1.25263E-01	1.12340E+01	6.99401E-02	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16053E+01	8.48975E-02
8	1.87273E+01	2.16699E-01	1.05403E+01	1.21659E-01	0.00000E+00	0.00000E+00	1.16609E+01	1.43518E-01
9	1.78834E+01	4.27968E-01	1.06541E+01	2.35424E-01	0.00000E+00	0.00000E+00	1.18705E+01	2.59445E-01
10	1.74375E+01	6.46703E-01	1.05962E+01	4.46077E-01	0.00000E+00	0.00000E+00	1.24882E+01	4.75906E-01
11	1.69091E+01	1.22671E+00	9.63818E+00	9.61492E-01	0.00000E+00	0.00000E+00	1.20653E+01	9.82955E-01
12	1.55000E+01	2.23723E+00	8.71875E+00	1.18046E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	1.06562E+01	1.37362E+00
13	---	---	3.57692E+00	0.00000E+00	---	---	3.57692E+00	0.00000E+00
14	---	---	---	---	---	---	---	---
15	---	---	---	---	---	---	---	---
16	---	---	---	---	---	---	---	---

17	---	---	---	---	---	---	---	---
18	---	---	---	---	---	---	---	---
19	---	---	---	---	---	---	---	---
20	---	---	---	---	---	---	---	---
21	---	---	---	---	---	---	---	---
22	---	---	---	---	---	---	---	---
23	---	---	---	---	---	---	---	---
24	---	---	---	---	---	---	---	---
25	---	---	---	---	---	---	---	---
26	---	---	---	---	---	---	---	---
27	---	---	---	---	---	---	---	---
28	---	---	---	---	---	---	---	---
29	---	---	---	---	---	---	---	---
30	---	---	---	---	---	---	---	---
31	---	---	---	---	---	---	---	---
32	---	---	---	---	---	---	---	---
33	---	---	---	---	---	---	---	---
34	---	---	---	---	---	---	---	---

35	---	---	---	---	---	---	---	---
36	---	---	---	---	---	---	---	---
37	---	---	---	---	---	---	---	---
38	---	---	---	---	---	---	---	---
39	---	---	---	---	---	---	---	---
40	---	---	---	---	---	---	---	---
41	---	---	---	---	---	---	---	---
42	---	---	---	---	---	---	---	---
43	---	---	---	---	---	---	---	---
44	---	---	---	---	---	---	---	---
45	---	---	---	---	---	---	---	---
46	---	---	---	---	---	---	---	---
47	---	---	---	---	---	---	---	---
48	---	---	---	---	---	---	---	---
49	---	---	---	---	---	---	---	---
50	---	---	---	---	---	---	---	---

Average 3.85687E+01 1.42412E-02 3.70953E+01 3.53511E-03 0.00000E+00 0.00000E+00 1.16245E+01 1.15529E-03

NOTES: (% Sb) is the percentage of lesions that are strand breaks. The number of Sb is $[(\% \text{ Sb})/100] * (\# \text{ lesions})$.

The number of Bd is $(1 - (\% \text{ Sb})/100) * (\# \text{ lesions})$.