



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΕΡΕΥΝΑΣ
ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ»

ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΠΥΡΗΝΙΚΩΝ & ΡΑΔΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ, ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ & ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΥΣΙΚΗΣ

Αξιολόγηση πειραματικής διάταξης ραδιενεργού πηγής σωματίων α ^{234}U για ραδιοβιολογικά πειράματα

Καισαρίδη Σοφία | Αθήνα, Ιούνιος 2021

Υπεύθυνος ΕΜΠ: Αλέξανδρος Γεωργακίλας, Αν. Καθηγητής ΕΜΠ

Υπεύθυνη ΕΚΕΦΕ «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ»: Γεωργία Ι. Τερζούδη, Α' Ερευνήτρια ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»

Πίνακας περιεχομένων

Ευχαριστίες	3
Περίληψη	4
1. Ιοντίζουσα ακτινοβολία	5
1.1 Μονάδες μέτρησης ιοντιζουσών ακτινοβολιών	6
1.2 Αλληλεπίδραση με την ύλη	8
1.3 Εξασθένιση δέσμης φωτονίων	8
1.4 Μηχανισμοί σκέδασης	9
1.5 Μηχανισμοί απορρόφησης	11
1.6 Ραδιενέργεια	14
1.6.1 Ενεργότητα	15
1.6.2 Νόμος ραδιενεργών διασπάσεων	15
2. Επιδράσεις ακτινοβολίας και βιολογικά αποτελέσματα στο κύτταρο	17
2.1 Αλληλεπίδραση ακτινοβολίας και βιολογικής ύλης	20
2.2 Ερμηνεία της βιολογικής βλάβης	23
2.3 Βιολογικές επιδράσεις της ακτινοβολίας	24
2.3.1 Επίδραση σε κυτταρικό επίπεδο	24
2.3.2 Επίδραση στο DNA	25
2.3.3 Επίδραση στα χρωμοσώματα[6]–[8], [10]–[35]	26
2.4 Κατάταξη χρωμοσωμικών ανωμαλιών	29
2.5 Παράγοντες που επιδρούν στο βιολογικό αποτέλεσμα της ακτινοβόλησης	29
2.5.1 Φυσικοί τροποποιητικοί μηχανισμοί	29
2.5.2 Χημικοί τροποποιητικοί μηχανισμοί	31
2.5.3 Βιολογικοί τροποποιητικοί μηχανισμοί	32
2.6 Καμπύλες επιβίωσης των κυττάρων	33
2.7 Ακτινοβόληση στη G ₀ φάση του κυτταρικού κύκλου - Χρωμοσωμικές αλλοιώσεις ...	35
2.8 Κυτταρικός θάνατος	38
2.9 Αλληλεπίδραση σωματιδίων α με την ύλη[38]	39
3. Το μικροσκόπιο	43
3.1 Τα μέρη του μικροσκοπίου	43
3.2 Σημαντικά μεγέθη	45
4. Η πειραματική διαδικασία	48

4.1 Η συσκευή ακτινοβολήσης σωματιδίων α [38]	48
4.2 Κυτταρική σειρά CHO	50
4.3 Πρωτόκολλο πειράματος	50
5. Αποτελέσματα	55
5.1 Ομοιογένεια ακτινοβολήσης	55
5.2 Δικεντρικά χρωμοσώματα στη βιοδοσιμετρία	57
5.3 Πειραματικά δεδομένα κι επεξεργασία	58
6. Συμπεράσματα	62
Βιβλιογραφία	64

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τη Δρ. Γεωργία Τερζούδη, Α' Ερευνήτρια του Ινστιτούτου Υγιοφυσικής & Περιβαλλοντικής Υγιεινής ΙΠΤ-Α, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος» για την καθοδήγηση, τη βοήθεια, τις γνώσεις και τις συμβουλές στη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής εργασίας, καθώς στο εργαστήριο αυτό εκπαιδεύτηκα τόσο στο εργαστηριακό κομμάτι όσο και στην ανάλυση των αποτελεσμάτων. Επίσης, ευχαριστώ πολύ τον επιβλέποντα καθηγητή, Δρ. Αλέξανδρο Γεωργακίλα, Καθηγητή ΣΕΜΦΕ ΕΜΠ, για τη βοήθεια και τις πολύτιμες συμβουλές του από την αρχή της συνεργασίας μας στη ΣΕΜΦΕ έως και τώρα. Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στη Ζαχαρένια Νικητάκη, PhD για τη συνεργασία και την καθοριστική βοήθειά της σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας. Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω τον Δρ. Μιχάλη Κόκκορη, Καθηγητή ΣΕΜΦΕ ΕΜΠ, για τη βοήθεια που παρείχε στο κομμάτι της Πυρηνικής Φυσικής και των προσομοιώσεων που ήταν αναγκαία για την εκπόνηση της παρούσας εργασίας, αλλά και την Εύα Χουλιλίτσα που στα πλαίσια της διπλωματικής της εργασίας στη ΣΕΜΦΕ ΕΜΠ κατασκεύασε τη συσκευή με την οποία έγιναν τα πειράματα και ήταν πάντα πρόθυμη να επικοινωνούμε σχετικά με την πρόοδο της διαδικασίας.

Περίληψη

Η παρούσα εργασία αποτελεί μια προσπάθεια επιβεβαίωσης της πειραματικής επιβεβαίωσης λειτουργίας της πειραματικής διάταξης πηγής ακτινοβολίας α ^{234}U που κατασκευάστηκε από την Ευαγγελία Χουλιλίτσα με σκοπό την *in situ* ακτινοβόληση βιολογικού υλικού. Έγινε για τα πειράματα χρήση της συσκευής αυτής, που βρίσκεται στο κτίριο Φυσικής του ΕΜΠ στο εργαστήριο του Δρ. Γεωργακίλα, για ακτινοβόληση κυττάρων CHO με δόση 1Gy. Σύμφωνα με τους υπολογισμούς που πραγματοποιήθηκαν από την Ευαγγελία Χουλιλίτσα στα πλαίσια της διπλωματικής της εργασίας, για τη συσκευή αυτή, δόση 1Gy ισοδυναμεί με παραμονή του βιολογικού υλικού κάτω από την πηγή για χρόνο 13' 26".

Τα σωματία α είναι πυρήνες ^4_2He , άρα θετικά φορτισμένα σωματίδια, που εκπέμπονται από ραδιενεργά υλικά. Έχουν εξαιρετικό ενδιαφέρον στη μελέτη τους, καθώς λόγω και του μεγέθους τους είναι ικανά να σκοτώσουν ένα κύτταρο διασχίζοντας τον πυρήνα τους, αλλά ταυτόχρονα είναι δύσκολο να μελετηθούν σε βιολογικά πειράματα λόγω της μικρής διεισδυτικότητάς τους. Εξαιτίας της μεγάλης τιμής της γραμμικής εναπόθεσης ενέργειας (LET) που έχουν συγκριτικά με τις πιο μελετημένες ακτίνες X ή γάμα, οι ραδιοβιολογικές συνέπειες των άλφα προσέλκυσαν μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον. Τα σωματία άλφα έχουν ενέργειες από 4 έως 9 MeV και χαρακτηρίζονται από τιμή LET της τάξης του 100 keV ανά μm που είναι υπεύθυνη για την σοβαρή βλάβη που προκαλεί η άλφα ακτινοβολία τόσο σε υγιή και κακοήγη κύτταρα, αλλά και για την εμβέλειά τους σε βιολογικό υλικό που είναι μικρότερη από 0.1 mm.

Αυτό που ξεχωρίζει την άλφα ακτινοβολία από τις ακτινοβολίες με χαμηλή τιμή LET είναι ότι η επίδραση των άλφα είναι σχεδόν ανεξάρτητη της δόσης και η βιολογική τους αποτελεσματικότητα καθορίζεται λιγότερο από το στάδιο του κυτταρικού κύκλου στο οποίο βρίσκεται το κύτταρο. Επιπλέον, οι βλάβες που προκαλεί η άλφα ακτινοβολία στο DNA είναι λιγότερο ευαίσθητες στους αντίστοιχους μηχανισμούς επιδιόρθωσης.

1. Ιοντίζουσα ακτινοβολία

Ιοντίζουσα ακτινοβολία ονομάζουμε την ακτινοβολία που μεταφέρει αρκετή ενέργεια, ώστε στην αλληλεπίδρασή της με την ύλη να προκαλεί ιονισμό των ατόμων αυτής. Ιοντίζουσες ακτινοβολίες για παράδειγμα θεωρούνται η γ και η X , πυρήνες He, β , νετρόνια. [1]

- **Ακτινοβολία α**

Ένα σωματίο α αποτελείται από δύο πρωτόνια και δύο νετρόνια, δηλαδή είναι ο πυρήνας του ατόμου του ηλίου ${}^4_2\text{He}$. Όταν ένα σωματίο α διασχίζει την ύλη, χάνει ενέργεια διεγείροντας και κυρίως ιονίζοντας τα άτομα μέσα στο υλικό, έως ότου χάσει όλη του την κινητική ενέργεια. Ως εμβέλεια R ονομάζουμε μάλιστα το μέγιστο μήκος της διαδρομής του σωματίου α μέσα στο υλικό. Η ακτινοβολία α χαρακτηρίζεται από μικρή διεισδυτικότητα και αποκόπτεται εύκολα με ένα φύλλο χαρτί. Προέρχεται είτε από διάσπαση α είτε από τριμερή σχάση. Αν δεν απορροφηθεί από τον αέρα ή το εξωτερικό στρώμα νεκρών δερματικών κυττάρων είναι ικανή να προκαλέσει σοβαρές βλάβες σε ζωντανούς ιστούς. Είναι δύσκολα ανιχνεύσιμη και έχει τυπική ενέργεια ακτινοβολίας της τάξης των 3-7 MeV.

- **Ακτινοβολία β**

Η ακτινοβολία β προέρχεται από σωματίδια β τα οποία είναι είτε ηλεκτρόνια είτε ποζιτρόνια. Η εμβέλεια των σωματιδίων β είναι μεγαλύτερη από εκείνη των α και μπορεί να έχει μήκος αρκετά μέτρα. Αποκόπτεται εύκολα από λεπτά φύλλα πλαστικού ή μεταλλικά φύλλα. Ο βαθμός διεισδυτικότητας καθορίζεται από την ενέργεια και την ταχύτητα των σωματιδίων β αλλά είναι περιορισμένη σε ό,τι αφορά βαθύτερους ιστούς και όργανα του σώματος. Αποτελεί όμως κίνδυνο εξωτερικής έκθεσης ματιών. Χαρακτηρίζεται από τυπική ενέργεια ακτινοβολίας της τάξης των 0.2-3 MeV.

- **Ακτινοβολία φωτονίων**

Η ακτινοβολία φωτονίων διακρίνεται σε δύο υποκατηγορίες: την ακτινοβολία γ και την ακτινοβολία X . Η πρώτη προέρχεται από αντιδράσεις εντός του πυρήνα, ενώ η δεύτερη από αντιδράσεις εκτός του πυρήνα. Και οι δύο αυτές ακτινοβολίες είναι ηλεκτρομαγνητικές, με την γ ακτινοβολία να τοποθετείται πιο πάνω στο φάσμα από την X . Αν και οι ακτίνες X είναι της τάξης των eV, οι νέες τεχνολογίες μας επιτρέπουν την παραγωγή ακτίνων X στην ίδια τάξη με τις ακτίνες γ , δηλαδή σε keV. Είναι πολύ πιο εύκολα ανιχνεύσιμες από τις ακτινοβολίες α και β αλλά και πολύ πιο διεισδυτικές, ικανές για εξωτερικό και εσωτερικό

κίνδυνο. Για τον λόγο αυτό, για την θωράκισή τους χρειάζεται χάλυβας, μόλυβδος και σκυρόδεμα ή ακόμα και ένας πιθανός συνδυασμός των παραπάνω.

- **Ακτινοβολία νετρονίων**

Η ακτινοβολία νετρονίων εμπίπτει στην κατηγορία της ακτινοβολίας μέσω έμμεσου ιονισμού των ατόμων της ύλης. Η ακτινοβολία αυτή αποτελείται από ελεύθερα νετρόνια και δεν αλληλεπιδρά με την ύλη όπως τα πρωτόνια ή τα ηλεκτρόνια και αυτό γιατί τα νετρόνια έχουν ουδέτερο φορτίο. Τα ταχέα αυτά σωματίδια αλληλεπιδρούν με τα πρωτόνια του υδρογόνου προκαλώντας έτσι τον ιονισμό της ύλης. Επειδή δεν έχουν φορτίο, η ακτινοβολία νετρονίων είναι πολύ πιο διεισδυτική από την α και την β ακτινοβολία και σε πολλές περιπτώσεις ακόμα και από την γ. Για την θωράκισή τους απαιτούνται ελαφροί πυρήνες και άρα υλικά πλούσια σε υδρογόνο είναι τα κατάλληλα, αφού μέσω ελαστικών σκεδάσεων τα νετρόνια επιβραδύνονται. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί στο γεγονός ότι είναι πολύ πιθανό να υπάρχει εκπομπή γ ακτινοβολίας κάνοντας αναγκαία την επιπλέον θωράκιση. Η πιο ευρέως διαδεδομένη μέθοδος ακτινοθεραπείας με νετρόνια είναι η Boron Neutron Capture Theory (BNCT).

1.1 Μονάδες μέτρησης ιοντιζουσών ακτινοβολιών

- Σαν **ενέργεια** ακτινοβολίας R ορίζεται η ενέργεια των σωματιδίων που εκπέμπονται, μεταφέρονται ή προσλαμβάνονται. Η ενέργεια των εν λόγω ακτινοβολιών μετρείται σε μονάδες ηλεκτρονιοβόλτ (eV), που ορίζεται ως η ενέργεια που προσλαμβάνει ένα ηλεκτρόνιο όταν επιταχυνθεί μέσω διαφοράς δυναμικού 1V.

$$1 \text{ eV} = 1.602 \times 10^{-19} \text{ J}$$

- Η **ενεργότητα** μιας ραδιενεργού πηγής ορίζεται από τον αριθμό των αποδιεγέρσεων (διασπάσεων)/sec. Μονάδα μέτρησης είναι το 1 Ci (Curie).

$$1 \text{ Ci} = 3.7 \times 10^{10} \text{ διασπάσεις/s}$$

- Η **δόση ιοντισμού** D_i δίνεται από τη σχέση του φορτίου Q που απελευθερώνεται λόγω της ακτινοβολίας στον αέρα με πυκνότητα ρ_a .

$$D_i = dQ/\rho_{AD}V$$

Μονάδα μέτρησης είναι το Roentgen (R): $1 R = 2.58 \times 10^{-4} C/(kg \text{ αέρα})$

- **Ενεργειακή δόση** ακτινοβολίας ορίζεται ως η ενέργεια ακτινοβολίας W^D που απορροφάται από όγκο ύλης V και πυκνότητας ρ .

$$D = dW^D/\rho dV$$

Μονάδα μέτρησης της δόσης είναι: $1 rad = 100 \text{ erg/gr} = 10^{-2} J/kg$ και $1 gr = 1 J/kg$

- **Ισοδύναμη δόση** D_q είναι το μέτρο της επίδρασης των ιοντιζουσών ακτινοβολιών επάνω στο ανθρώπινο σώμα. Ορίζεται από τη σχέση:

$$D_q = qD$$

όπου q είναι ο ποιοτικός παράγοντας της βιολογικής επίδρασης των διαφορετικών τύπων των ιοντιζουσών ακτινοβολιών επάνω στο βιολογικό σύστημα. Η μονάδα μέτρησης είναι το rem

$$1 \text{ rem} = q \cdot 1 \text{ rad} \text{ και } 1 \text{ Sv} = 100 \text{ rem}$$

Ο ποιοτικός παράγοντας έχει τις ίδιες περίπου τιμές $q = 1$ για ακτίνες γ και ηλεκτρόνια, $q = 10$ για σωματίδια α , πρωτόνια και δευτέρια, $q = 20$ για βαρείς πυρήνες και $2 < q < 10$ για νετρόνια, ανάλογα με την κινητική τους ενέργεια[2].

Φυσική Ποσότητα	S.I. μονάδα	Ευρέως χρησιμοποιούμενη μονάδα	Σχέσεις
Ενεργότητα	Becquerel (Bq) $1 \text{ Bq} = 1$ διάσπαση/sec	Curie (Ci)	$1 \text{ Bq} = 27 \text{ pCi}$ $1 \text{ Ci} = 37 \text{ GBq}$
Ενεργειακή δόση	Gray (Gy) $1 \text{ gr} = 1 \text{ J/kg}$	Rad	$1 \text{ Gy} = 100 \text{ rads}$ $1 \text{ rad} = 0.01 \text{ Gy}$
Ισοδύναμη δόση	Sievert (Sv) $1 \text{ Sv} = 1 \text{ J/kg}$	Rem	$1 \text{ Sv} = 100 \text{ rems}$ $1 \text{ rem} = 0.01 \text{ Sv}$
Δόση Ιοντισμού (έκθεση)	Coulomb/ kg αέρα (Cb/kg)	Roentgen (R)	$1 \text{ Cb/kg} = 3.76 \text{ R}$ $1 \text{ R} = 2.58 \times 10^4 \text{ Cb/kg}$

Πίνακας 1.1.1: Συνοπτικά οι μονάδες μέτρησης ιοντιζουσών ακτινοβολιών

Ακτινοβολία	Μάζα (amu)	Φορτίο	Προστατευτικό μέσο
α	4	+2	Χαρτί, δέρμα, ρούχα
β	1/1840	± 1	Πλαστικό, ελαφρά μέταλλα
γ	0	0	Πυκνά μέσα, μπετόν, γη
Νετρόνια	1	0	Νερό, μπετόν, λάδι, πολυαιθυλένιο

Πίνακας 1.1.2: Διείσδυση ιοντιζουσών ακτινοβολιών μέσα στην

1.2 Αλληλεπίδραση με την ύλη

Σχετικά με την αλληλεπίδραση φωτονίων (γ , X) με την ύλη υπάρχουν δύο περιπτώσεις: η απορρόφησή του φωτονίου ή η σκέδασή του, η απόκλιση, δηλαδή, της αρχικής τους πορείας. Ανεξαρτήτως από τον τρόπο αλληλεπίδρασης, το αρχικό φωτόνιο χάνει μέρος της ενέργειας που είχε, άρα έχουμε εξασθένιση της δέσμης φωτονίων. [1]

1.3 Εξασθένιση δέσμης φωτονίων

Σημαντικό παράγοντα για το φαινόμενο της εξασθένισης αποτελεί η ενεργός διατομή, γι' αυτό και την ορίζουμε. Θεωρούμε ενεργό επιφάνεια του στόχου (λεπτού υμενίου) με αριθμό ατόμων a ανά μονάδα όγκου με πάχος dx . Τότε η εξασθένιση της δέσμης που διέρχεται από την ύλη είναι:

$$\frac{dN}{N} = -\sigma a dx$$

όπου N ο αριθμός των φωτονίων της αρχικής δέσμης, $a dx$ ο αριθμός των ατόμων ανά μονάδα επιφάνειας και σ η ενεργός διατομή της εξασθένισης των φωτονίων. Μονάδα μέτρησης της ενεργού διατομής είναι το $Barn$ ($10^{-28} m^2$). Για να πάρουμε τη σχέση για όλο το πάχος της ύλης ολοκληρώνουμε από μηδέν έως x (το πάχος της ύλης) και έχουμε:

$$\int_0^x \frac{dN}{N} = - \int_0^x \sigma_a dx \Rightarrow N = N_0 e^{-\sigma_a x}$$

η οποία αποτελεί την χαρακτηριστική σχέση εκθετικής εξασθένησης των ακτίνων από παράλληλη δέσμη που εισέρχεται μέσα σε λεπτό φύλλο. Η ποσότητα $\Sigma = \sigma_a$ αποτελεί την μακροσκοπική ενεργό διατομή που είναι το άθροισμα των επιμέρους ενεργών διατομών των διαφόρων μηχανισμών απορρόφησης και σκέδασης.

Η εξασθένηση της δέσμης φωτονίων μπορεί, επίσης, να δοθεί και από τη σχέση:

$$I = I_0 e^{-\mu x}$$

που δίνει την ένταση της αρχικής δέσμης I_0 μετά τη διέλευσή της από υλικό πάχους x και συντελεστή γραμμικής εξασθένησης μ .

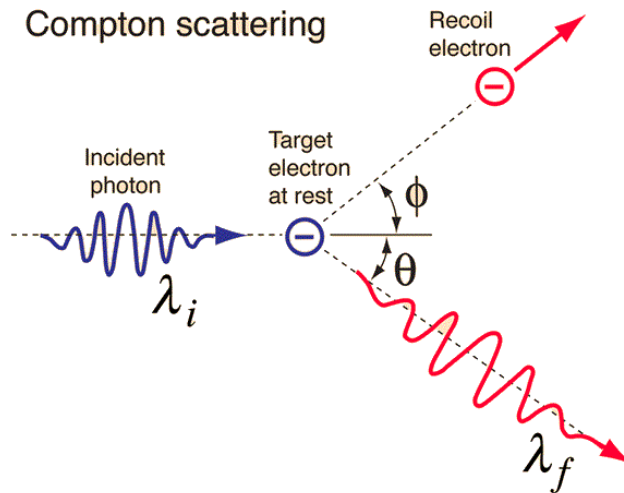
Η παράμετρος που χρησιμοποιείται συνήθως στις εφαρμογές για τον προσδιορισμό της ικανότητας εξασθένησης από ένα υλικό μιας δέσμης φωτονίων καθορισμένης ενέργειας, ονομάζεται πάχος υποδιπλασιασμού HVL και ορίζεται ως το πάχος του υλικού από το οποίο διέρχεται η δέσμη υψωμένο στο $1/2$ της αρχικής του τιμής. Μεταξύ αυτού και του συντελεστή γραμμικής εξασθένησης ισχύει η σχέση:

$$\mu = \frac{0,693}{HVL}$$

1.4 Μηχανισμοί σκέδασης

- **Φαινόμενο Compton**

Η σκέδαση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας μικρού μήκους κύματος λ (πχ ακτίνες X) πάνω σε ελεύθερα ή ασθενώς δέσμια ηλεκτρόνια, που συνοδεύεται από αύξηση του μήκους κύματος της, ονομάζεται σκέδαση Compton. Όσο μεγαλύτερη είναι η γωνία σκέδασης θ , τόσο μεγαλύτερη είναι η αύξηση του μήκους κύματος. [2], [3]



Εικόνα 1.4.1 Σκέδαση Compton

Το φωτόνιο με αρχική ενέργεια hf χάνει ενέργεια όταν συγκρούεται με το ηλεκτρόνιο στόχο και έχουμε παραγωγή ενός δευτερογενούς φωτονίου ενέργειας hf' που σκεδάζεται υπό γωνία θ και το εκτρεπόμενο ηλεκτρόνιο υπό γωνία ϕ που αποκτά κινητική ενέργεια $hf - hf'$. Η θ ονομάζεται γωνία σκέδασης Compton.

Από τις αρχές διατήρησης της ενέργειας και της ορμής για το σύστημα αυτό υπολογίζουμε την ενέργεια του δευτερογενούς φωτονίου ως:

$$hf' = \frac{hf}{1 + \frac{hf}{m_0c^2}(1 - \sin \theta)}$$

Για τις γωνίες ισχύει:

$$\tan \frac{\theta}{2} = \frac{\cos \phi}{1 - \frac{hf}{m_0c^2}}$$

Από τη σχέση αυτή και την $\lambda = c/f$ προκύπτει η διαφορά στο μήκος κύματος $\Delta\lambda$ μεταξύ του αρχικού και του δευτερογενούς φωτονίου:

$$\Delta\lambda = \lambda' - \lambda = \frac{h}{m_0c^2}(1 - \cos \theta) = \lambda_0(1 - \cos \theta)$$

Το λ_0 είναι το $\frac{h}{m_0c}$ και είναι ίσο με $0,0242 \text{ \AA}$ που ονομάζεται μήκος κύματος Compton και παριστά τη μεταβολή στο μήκος κύματος του φωτονίου για γωνία σκέδασης $\theta = 90^\circ$. Η

μέγιστη μεταβολή στο μήκος κύματος αντιστοιχεί στην ελάχιστη ενέργεια φωτονίου και είναι ίση με $2\lambda_0$, συμβαίνει για γωνία $\theta=180^\circ$ και ονομάζεται οπισθοσκέδαση. [2], [3]

- **Σκέδαση Thomson και Rayleigh[2], [3]**

Στην κλασική έννοια του φωτονίου στο οποίο αυτό φαίνεται να χάνει τη σωματιδιακή του υπόσταση, το ηλεκτρόνιο του ατόμου με το οποίο αλληλεπιδρά, πάλλεται σα δίπολο επανεκπομπής της ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας του φωτονίου, χωρίς μεταβολή της συχνότητας. Σ' αυτήν την περίπτωση η σκέδαση ονομάζεται σκέδαση Thomson και η ολική ενεργός διατομή έχει σταθερή τιμή

$$\sigma_{Th} = 0.665 \text{ barn}$$

Στις χαμηλές ενέργειες των φωτονίων, τα ηλεκτρόνια συμπεριφέρονται σα δίπολα όλα μαζί, δηλαδή εκπέμπουν την ηλεκτρομαγνητική ενέργεια εν συμφωνία, χωρίς απώλεια ενέργειας, αλλά με μεταβολή της κατεύθυνσης του φωτονίου, δηλαδή σκέδαση κατά μια μικρή γωνία. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται σκέδαση Rayleigh. Για επαρκώς μικρές ενέργειες φωτονίων η ενεργός διατομή έχει σταθερή τιμή:

$$\sigma_{coh} = Z^2 \sigma_{Th}$$

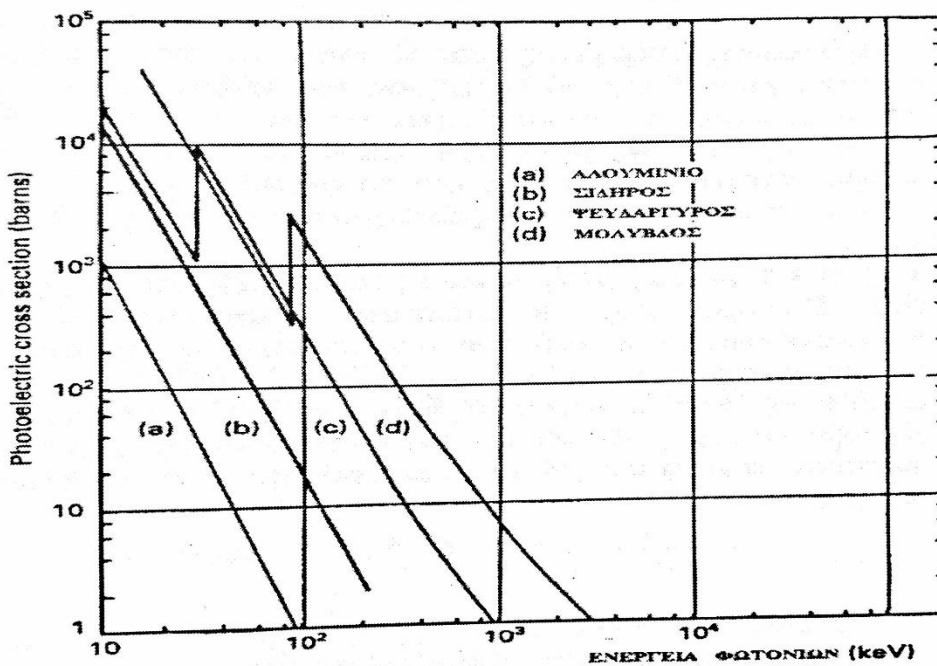
Σε υψηλότερες ενέργειες

$$\sigma_{coh} \propto \frac{1}{(h\nu)^2}$$

1.5 Μηχανισμοί απορρόφησης

- **Φωτοηλεκτρικό φαινόμενο**

Φωτοηλεκτρικό ονομάζεται το φαινόμενο κατά το οποίο από την πρόσπτωση ορατής ή υπεριώδους ακτινοβολίας στην επιφάνεια ενός μετάλλου, εκπέμπεται ηλεκτρόνιο. Το φαινόμενο δύναται να συμβεί αν η ενέργεια του εισερχόμενου φωτονίου είναι αρκετή ώστε να υπερνικήσει την ενέργεια σύνδεσης του ηλεκτρονίου. Η απαραίτητη αυτή προϋπόθεση προκαλεί στο γράφημα της ενεργού διατομής σε συνάρτηση της ενέργειας των φωτονίων βυθίσματα απορρόφησης.



Εικόνα 1.5.1 Διάγραμμα ενεργούς διατομής συναρτήσει της ενέργειας φωτονίων
 Πηγή: «Ιοντίζουσες Ακτινοβολίες, Εφαρμογές στη Βιολογία και Ιατρική» Ε. Ν. Γαζής, Αθήνα 2002

Τα βυθίσματα αυτά ερμηνεύονται με την εισαγωγή της έννοιας της ισχύος του ταλαντωτή που εξαρτάται από την ενέργεια φωτονίου E_γ και τον ατομικό αριθμό Z και εκφράζεται από τη σχέση

$$\tau \propto Z^\alpha E_\gamma^{-\beta}, \quad 4 < \alpha < 5, \quad \beta \approx 3$$

Παρατηρείται έντονη εξάρτηση από τον ατομικό αριθμό, γεγονός το οποίο συνεπάγεται αύξηση της ισχύος του ταλαντωτή για δεδομένη συχνότητα ταλάντωσης καθώς αυξάνεται το Z και αντίστροφη εξάρτηση της ενέργειας του φωτονίου.

Η ανωτέρω φωτοηλεκτρική διαδικασία σχετίζεται με τη σκέδαση ακτίνων γ , των οποίων η σκέδαση οφείλεται στους ταλαντωτές και η σκεδαζόμενη ακτινοβολία είναι σύμφωνη με την ακτινοβολία Rayleigh. Καθώς η ακτινοβολία διέρχεται από την ύλη και σκεδάζεται, η φάση της μεταβάλλεται από μηδέν έως π ακτίνια, εισάγοντας μια ανωμαλία στο πλάτος της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας ακριβώς στην έναρξη του βυθίσματος απορρόφησης.

Τα βυθίσματα απορρόφησης παρατηρούνται στις τιμές της ενέργειας των φωτονίων που συμπίπτουν με την ενέργεια σύνδεσης των ηλεκτρονίων στους αντίστοιχους ενεργειακούς φλοιούς.

Η ενεργός διατομή του φωτοηλεκτρικού φαινομένου αποδίδεται κατά προσέγγιση για χαμηλές ενέργειες φωτονίων από την αναλογία

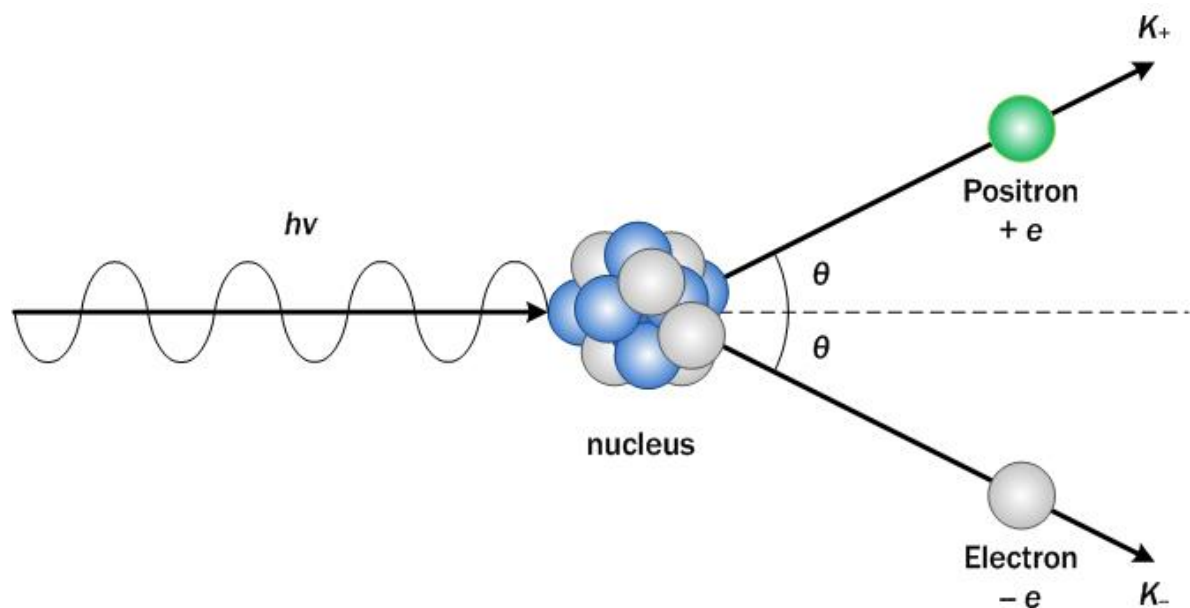
$$\sigma_{pe} \propto \frac{Z^4}{(h\nu)^3}$$

Το κενό στον ηλεκτρονικό φλοιό που δημιουργείται από την έξοδο του ηλεκτρονίου από το άτομο συμπληρώνεται από το ηλεκτρόνιο εσωτερικού φλοιού και συνοδεύεται από εκπομπή ακτινοβολίας φθορισμού ή εκπομπή ηλεκτρονίου Auger.[2], [3]

- **Δίδυμη γένεση**

Στην περίπτωση που η ενέργεια των φωτονίων υπερβαίνει κάποια δεδομένη τιμή, είναι δυνατόν να συμβούν και άλλα φαινόμενα πέραν των προηγούμενων. Συγκεκριμένα, για ενέργειες φωτονίων που ξεπερνούν την τιμή των 1.02 MeV (διπλάσια της μάζας ηρεμίας του ηλεκτρονίου) εμφανίζεται το φαινόμενο της δίδυμης γένεσης, κατά την οποία όλη η ενέργεια του φωτονίου υλοποιείται στο πεδίο του πυρήνα και δημιουργεί ένα θετικό (ποζιτρόνιο) και ένα αρνητικό ηλεκτρόνιο. Το πλεόνασμα ενέργειας που εμφανίζεται μοιράζεται σαν κινητική ενέργεια μεταξύ των δύο σωματιδίων οποιοδήποτε σε ποσοστό μεταξύ τους.

$$h\nu = 1.02 + KE^+ + KE^-$$



Πηγή: <http://electrons.wikidot.com/pair-production-and-annihilation>

Για τη διατήρηση της ορμής των δύο σωματιδίων απαιτείται η παρουσία ενός πρόσθετου σώματος που δεν είναι άλλο από τον πυρήνα. Για το λόγο αυτό η ενεργός διατομή αυξάνεται ανάλογα με τον ατομικό αριθμό του πυρήνα. Συγκεκριμένα ισχύει:

$$\sigma_{pp} \propto \ln(h\nu) Z^2, \text{ για μικρό } Z$$

$$\sigma_{pp} \propto \ln(h\nu) Z^2, \text{ για μεγάλο } Z$$

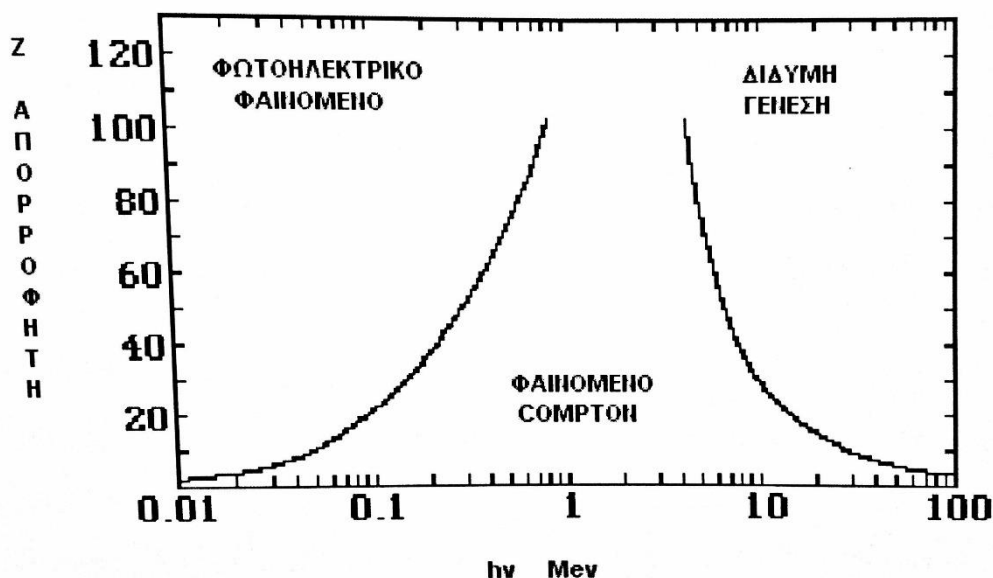
Οι νόμοι που διέπουν τις κατευθύνσεις και την ενέργεια των σωματιδίων μετά τη δημιουργία τους είναι συνοπτικά:

A. Η κινητική ενέργεια κατανέμεται μεταξύ των δύο σωματιδίων εκθετικά

B. Και τα δύο σωματίδια εκπέμπονται προς την κατεύθυνση που είχε το αρχικό φωτόνιο. Η κατανομή των γωνιών φ^- και φ^+ ακολουθεί εκθετικό νόμο.

Γ. Δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των γωνιών σκεδάσεως των δύο σωματιδίων. Μετά την παραγωγή τους τα σωματίδια οδεύουν μέσα στην ύλη χάνοντας την κινητική τους ενέργεια με ιονισμούς.

Η σχετική συνεισφορά μεταξύ των τριών σημαντικότερων διαδικασιών αλληλεπίδρασης των ακτίνων γ και X με την ύλη, της φωτοηλεκτρικής διαδικασίας, του φαινομένου Compton και της δίδυμης γένεσης παρουσιάζονται χαρακτηριστικά στην επόμενη εικόνα. [2], [3]



Εικόνα 1.5.2 Σχετική συνεισφορά μεταξύ των τριών σημαντικότερων διαδικασιών αλληλεπίδρασης των ακτίνων γ και X με την ύλη, της φωτοηλεκτρικής διαδικασίας, του φαινομένου Compton και της δίδυμης γένεσης

Πηγή: «Ιοντίζουσες Ακτινοβολίες, Εφαρμογές στη Βιολογία και Ιατρική» Ε. Ν. Γαζής, Αθήνα 2002

1.6 Ραδιενέργεια

Ραδιενέργεια είναι η ιδιότητα ορισμένων πυρήνων να διασπώνται αυθόρμητα με παράλληλη εκπομπή ακτινοβολίας. Ακτινοβολία, γενικά, καλείται η διάδοση οποιασδήποτε

μορφής ενέργειας. Στην περίπτωση των ραδιενεργών πυρήνων η ενέργεια που εκπέμπεται έχει τη μορφή υπο-ατομικών σωματιδίων ή φωτονίων με ενέργεια ικανή να προκαλέσει ιονισμό στην ύλη (ιονίζουσα ακτινοβολία).

1.6.1 Ενεργότητα

Κάποιοι πυρήνες είναι ραδιενεργοί και διασπώνται σε θυγατρικούς με ταυτόχρονη εκπομπή ακτινοβολίας σωματιδίων ή φωτονίων. Πιο συγκεκριμένα, ένας πυρήνας παραμένει αμετάβλητος μέχρι την στιγμή της μετάπτωσης σε ένα σταθερότερο πυρήνα 2, με πιθανότητα ανεξάρτητη του χρονικού διαστήματος Δt . Με άλλα λόγια η πιθανότητα -σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή- να αποδιεγερθεί ένας πυρήνας μέσα στο επόμενο χρονικό διάστημα Δt είναι η ίδια. Δεν είναι εφικτό για έναν πυρήνα να γίνει πρόβλεψη του πότε θα μεταπέσει σε μία άλλη κατάσταση. Αυτό που μπορούμε να μελετήσουμε είναι ένα στατιστικό σύνολο όμοιων ασταθών πυρήνων όπου ο κάθε ένας πυρήνας έχει πιθανότητα λ να αποδιεγερθεί μέσα στην αμέσως επόμενη μονάδα του χρόνου. Αν ορίσουμε N τον συνολικό αριθμό πυρήνων του στατιστικού συνόλου, τότε ο ρυθμός αποδιέγερσης dN/dt θα είναι κατά μέσο όρο ίσος με λN , δηλαδή:

$$-\frac{dN}{dt} = \lambda N$$

Το αρνητικό πρόσημο στην παραπάνω σχέση εκφράζει την μείωση του αριθμού N με την πάροδο του χρόνου. Η σταθερά λ καλείται σταθερά αποδιέγερσης και η ποσότητα λN ενεργότητα. Ως βασική μονάδα ενεργότητας έχει καθιερωθεί το *Becquerel* (Bq) και ορίζεται ως μία αποδιέγερση ανά δευτερόλεπτο. Άλλη μονάδα μέτρησης ενεργότητας είναι το 1 *Curie* (Ci) και ισχύει η σχέση

$$1 Ci = 3.7 \cdot 10^{10} Bq.$$

Ο αριθμός των ραδιενεργών πυρήνων όμως ελαττώνεται με την πάροδο του χρόνου καθώς αυτοί διασπώνται και μεταπίπτουν στους θυγατρικούς τους. Ο νόμος που ακολουθεί αυτή η ελάττωση του αριθμού των πυρήνων ή αντίστοιχα της ενεργότητας ενός υλικού συζητείται στην επόμενη παράγραφο.

1.6.2 Νόμος ραδιενεργών διασπάσεων

Αν σε χρόνο t υπάρχουν N_0 αρχικοί πυρήνες στο ραδιενεργό δείγμα, τότε, με ολοκλήρωση της σχέσης $-dN/dt = \lambda N$ έχουμε ότι ο αριθμός των ραδιενεργών πυρήνων που παραμένουν μετά από πάροδο του χρόνου t είναι:

$$N(t) = N_0 e^{-\lambda t}$$

Η παραπάνω μαθηματική σχέση αποτελεί τον νόμο των ραδιενεργών διασπάσεων, με λ σταθερά διάσπασης κάθε πυρήνα. Ο μέσος χρόνος ζωής ενός ασταθούς πυρήνα ορίζεται ως

$$\tau = \frac{1}{\lambda}$$

Εύκολα παρατηρεί κανείς ότι για $t = \tau$ οι διεγερμένοι πυρήνες που έχουν παραμείνει στο δείγμα είναι

$$N(\tau) = \frac{N_0}{e} = 0.368N_0.$$

Μέσα δηλαδή στο πρώτο χρονικό διάστημα -ίσο προς ένα χρόνο ζωής- τα 63.2% των πυρήνων του αρχικού δείγματος έχουν αποδιεγερθεί. Εναλλακτικά, μπορούμε να ορίσουμε τον χρόνο ημιζωής ή χρόνο υποδιπλασιασμού, τον χρόνο δηλαδή που απαιτείται για να αποδιεγερθούν οι μισοί πυρήνες από αυτούς που είχε αρχικά το δείγμα. Από τις παραπάνω εξισώσεις προκύπτει ότι ο χρόνος ημιζωής $\tau_{1/2}$ δίνεται από την σχέση

$$\frac{1}{2}N_0 = N_0 e^{-\frac{\tau_{1/2}}{\tau}}$$

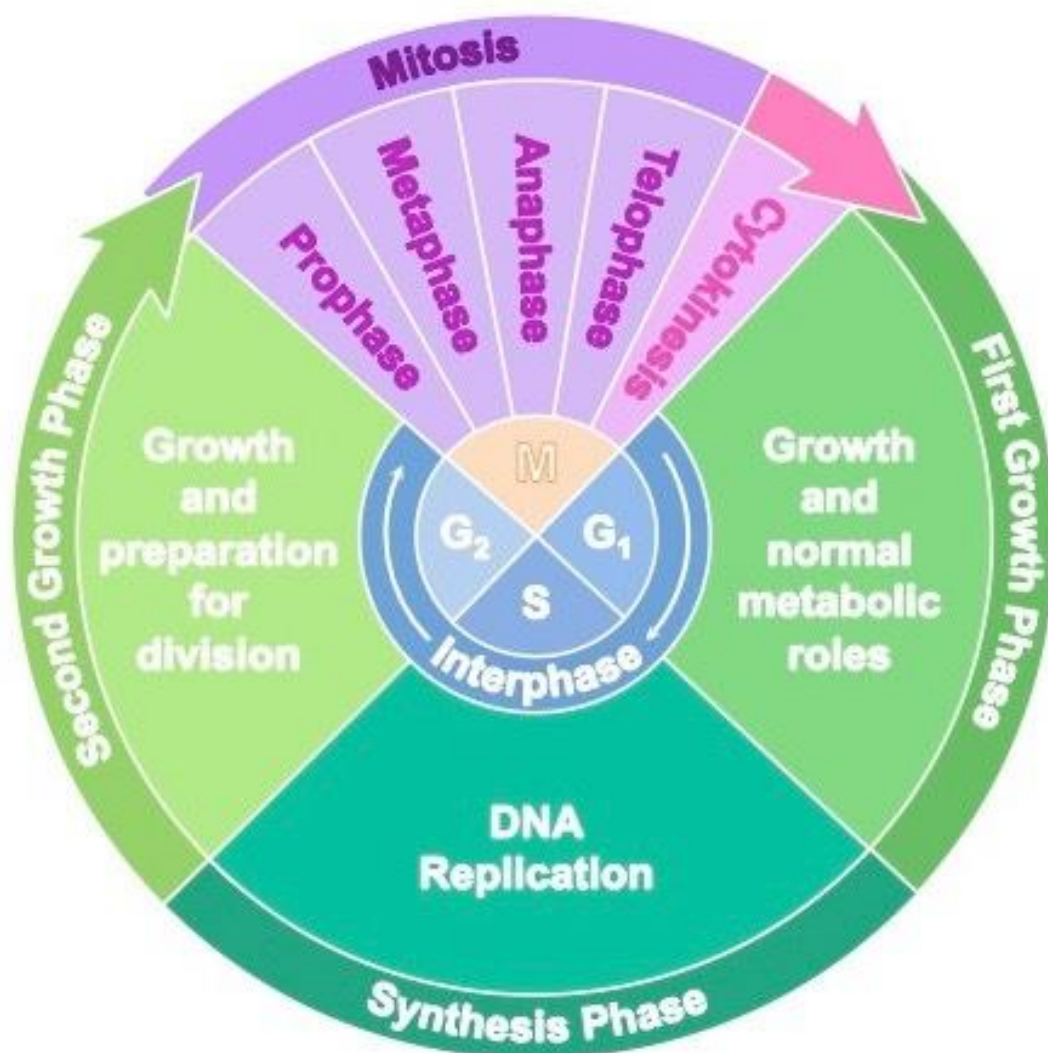
και καταλήγουμε:

$$\tau_{1/2} = (\ln 2)\tau = 0.693\tau$$

Οι χρόνοι ημιζωής είναι χαρακτηριστικοί για κάθε ραδιενεργό πυρήνα και κυμαίνονται από λίγα δευτερόλεπτα μέχρι εκατομμύρια χρόνια.

2. Επιδράσεις ακτινοβολίας και βιολογικά αποτελέσματα στο κύτταρο

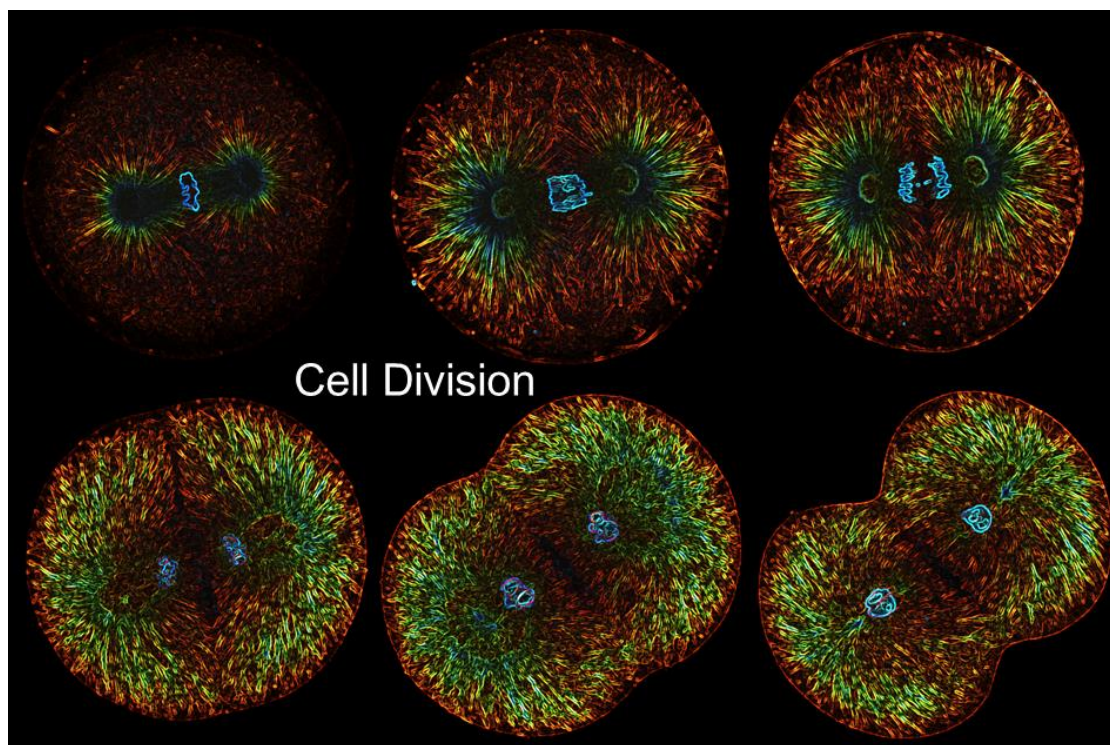
Κάθε κύτταρο έχει έναν κύκλο ζωής, ο οποίος ονομάζεται κυτταρικός κύκλος και ορίζεται ως το χρονικό διάστημα από τη δημιουργία ενός κυττάρου έως τη στιγμή που θα διαιρεθεί και θα δημιουργήσει απογόνους.



Εικόνα 2.1 Ο κυτταρικός κύκλος
Πηγή: Βιονinja

Ο κυτταρικός κύκλος έχει δύο φάσεις: τη μεσόφαση και τη μίτωση. Η μεσόφαση αποτελεί περίπου το 90-95% της ζωής του κυττάρου και αποτελεί διάστημα προετοιμασίας για τη διαίρεση που επίκειται και διάστημα διόγκωσης. Στην G₁ φάση, την πρώτη της μεσόφασης,

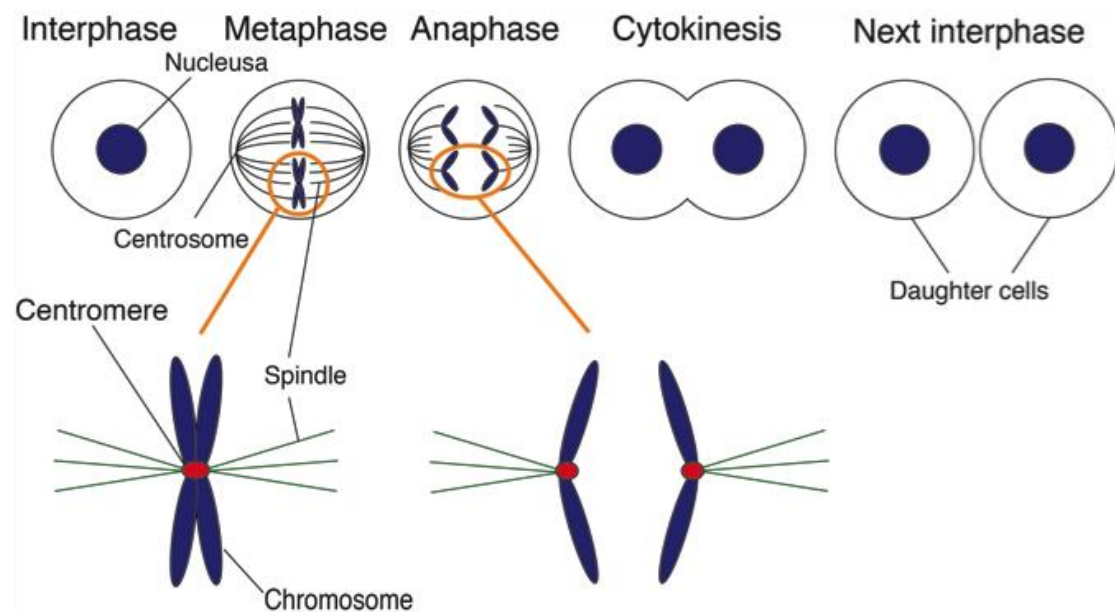
μεγαλώνει ο πυρήνας και το κύτταρο συνθέτει RNA και πρωτεΐνες, προετοιμαζόμενο για τη μιτωτική φάση, ενώ παράλληλα τελει και τις απαραίτητες λειτουργίες αναλόγως τον τύπο του (νευρικό κύτταρο, μυϊκό, οστικό κτλ). Στο στάδιο αυτό τα χρωμοσώματα είναι μονονηματικά, αποτελούνται από μια διπλή έλικα DNA, λεπτά κι ανακατωμένα στον πυρήνα (σα μπλεγμένα νήματα). Έπειτα ακολουθεί η S φάση, στην οποία γίνεται ο διπλασιασμός του DNA με τη διαδικασία της αντιγραφής. Εν συνεχεία, η μεταβατική φάση G₂ του κυτταρικού κύκλου, πριν την έναρξη της μίτωσης, είναι αυτή στην οποία οργανίδια όπως τα μιτοχόνδρια και κεντροσώματα διαιρούνται, προετοιμάζοντας το κύτταρο για τη διαδικασία της μίτωσης. Στον άνθρωπο, όπως και σε άλλα σπονδυλωτά, η G₂ φάση έχει το G₂-checkpoint/σημείο ελέγχου βλάβης της G₂, ώστε να διακόπτεται ο κυτταρικός κύκλος πριν την εισαγωγή του κυττάρου που έχει βλάβη στη μιτωτική φάση. Γι' αυτό η G₂ φάση παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον προς μελέτη, καθώς έχει παρατηρηθεί πως κάποιοι τύποι καρκίνου προσπερνούν τη φάση αυτή και από το διπλασιασμό του DNA περνά, το καρκινικό κύτταρο, κατευθείαν στη μίτωση. Τελική φάση είναι η μιτωτική (M), την οποία χωρίζουμε στην πρόφαση, τη μετάφαση, την ανάφαση και την τελόφαση.



Εικόνα 2.2 Μιτωτική διαίρεση ενός κυττάρου
Πηγή: Creativebiomart

Στην πρόφαση τα ινίδια της χρωματίνης συσπειρώνονται και παίρνουν μορφή χρωμοσωμάτων. Κάθε χρωμόσωμα αποτελείται από δύο αδελφές χρωματίδες ενωμένες στο κεντρομερίδιο, όπου η κάθε μια αποτελείται από ένα δίκλωνο μόριο DNA και είναι γενετικά πανομοιότυπες. Στην πρόφαση εξαφανίζεται η πυρηνική μεμβράνη και οι πυρηνίσκοι και

σχηματίζεται η άτρακτος με τη βοήθεια των κεντροσωμάτων που έχουν διπλασιαστεί στη μεσόφαση. Στη μετάφαση τα χρωμοσώματα, που έχουν σκορπίσει τυχαία στο κύτταρο, αρχίζουν να κατευθύνονται στο ισημερινό του επίπεδο, ώστε στην ανάφαση με τη βοήθεια της ατράκτου, που «δένεται» στα κεντρομερίδια και αρχίζει να συσπειρώνεται, να διαιρεθούν και κάθε αδελφή χρωματίδη να γίνει ένα ανεξάρτητο χρωμόσωμα. Στο τελευταίο στάδιο, στην τελόφαση, η άτρακτος αποδιοργανώνεται και εμφανίζονται πυρηνικοί φάκελοι. Δημιουργούνται κατά συνέπεια δύο θυγατρικοί πυρήνες των οποίων τα χρωμοσώματα επανέρχονται σε μορφή κουβαριού χρωματίνης.



Εικόνα 2.3 Κατάσταση του DNA αναλόγως της φάσης του κυτταρικού κύκλου
 Πηγή: An evolutionary breakpoint in cell division, July 31, 2017, Osaka University

Μετά τη διαίρεση ενός κυττάρου αυτό μπορεί να:

- A. Εισέλθει στη G₁ φάση και να ακολουθήσει νέα μιτωτική διαίρεση
- B. Διαφοροποιηθεί και να παραμείνει σε μια νέα φάση ηρεμίας, εκτός κυτταρικού κύκλου, χάνοντας την ικανότητα για περαιτέρω διαιρέσεις. Η φάση αυτή χαρακτηρίζεται ως G₀ φάση, στην οποία τα κύτταρα διακρίνονται από έλλειψη αναπαραγωγικών δραστηριοτήτων.

Τα διάφορα στάδια του κυτταρικού κύκλου διαφέρουν ως προς την ευαισθησία στην δράση της ακτινοβολίας, ενώ ο τύπος των χρωμοσωμικών ανωμαλιών που επάγονται ποικίλει εξαρτώμενος από το στάδιο στο οποίο βρίσκεται το κύτταρο κατά την ακτινοβόληση. Οι χρωμοσωμικές αλλοιώσεις είναι ορατές κατά την περίοδο της μιτωτικής διαίρεσης του κυττάρου, όπου διαλύεται η πυρηνική μεμβράνη και τα χρωμοσώματα είναι ορατά.

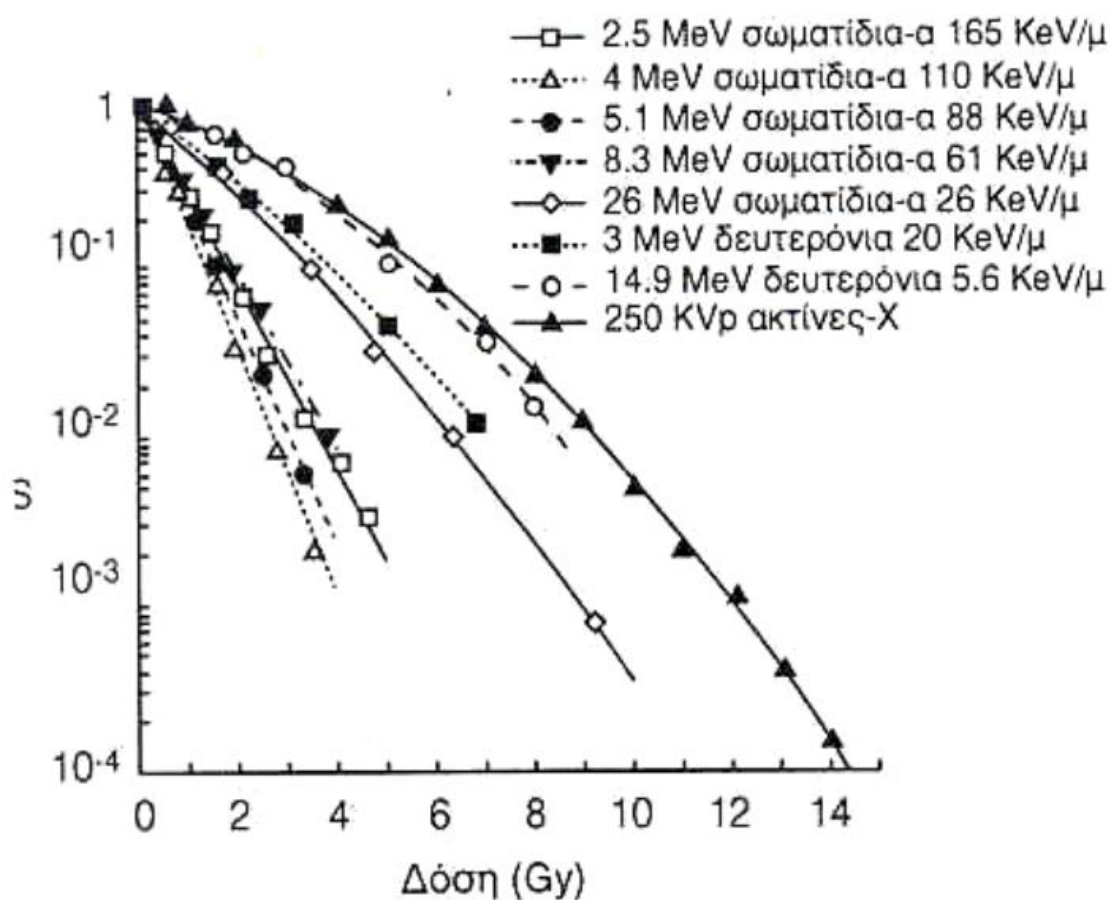
2.1 Αλληλεπίδραση ακτινοβολίας και βιολογικής ύλης

Η ακτινοβόληση οποιουδήποτε βιολογικού υλικού προκαλεί μια αλληλουχία διαδικασιών με μεγάλες διαφορές στην κλίμακα του χρόνου εμφανίσεώς τους. Γενικά, όμως, η αλληλεπίδραση του βιολογικού υλικού με ιοντίζουσα ακτινοβολία χωρίζεται σε τρία στάδια: το φυσικό, το χημικό και το βιολογικό.

- **Το φυσικό στάδιο**

Πρόκειται για το στάδιο κατά το οποίο η ιοντίζουσα ακτινοβολία διερχόμενη από την ύλη (ιστό) αποδίδει ενέργεια μέσω ιονισμών και αποδιεγέρσεων. Η μεταφορά ενέργειας γίνεται σε χρόνο μικρότερο των 10^{-18} s, αλλά η κατανομή της στο χώρο εξαρτάται από το είδος της ενέργειας της ακτινοβολίας.

Αν η τιμή της LET (Linear Energy Transfer- $LET = dE/dx$) είναι χαμηλή τότε η ακτινοβολία (π.χ. φωτόνια ή ηλεκτρόνια ηλεκτρόνια) προκαλεί μικρό αριθμό ιονισμών και διεγέρσεων ανά μm διαδρομής. Αντιθέτως για ακτινοβολίες με υψηλή LET (σωματίδια α, πρωτόνια ή βαρέα ιόντα) παρατηρούνται πυκνοί ιονισμοί ανά μm διαδρομής. Η ενέργεια που μεταφέρεται σε ένα μικρού όγκου βιολογικό υλικό, δεν είναι η ίδια για όλους τους στόχους και τα μόρια που το αποτελούν. Η μέση τιμή της ενέργειας που μεταφέρεται στο βιολογικό υλικό είναι η απορροφούμενη δόση. Το αποτέλεσμα που θα προκληθεί στο στόχο εξαρτάται από το μέγεθος της απορροφούμενης δόσης και από την κατανομή της.[4]



Εικόνα 2.4: Επίδραση LET στην καμπύλη επιβίωσης των κυττάρων

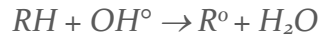
- Το χημικό στάδιο

Στο στάδιο αυτό που ακολουθεί το φυσικό, κατά το οποίο τα άτομα του βιολογικού υλικού ακτινοβολήθηκαν, τα συστατικά των κυττάρων αντιδρούν με ταχείες χημικές αντιδράσεις. Η απορρόφηση της ιοντίζουσας ακτινοβολίας από τα βιολογικά υλικά δημιουργεί ιοντισμούς και διεγέρσεις με αποτέλεσμα τη δημιουργία ορισμένων σχηματισμών που ονομάζονται ελεύθερες ρίζες. Οι ελεύθερες ρίζες είναι άτομα ή μόρια ηλεκτρικά ουδέτερα, με ίσους αριθμούς πρωτονίων και ηλεκτρονίων, αλλά ένα ηλεκτρόνιο της εξωτερικής στιβάδας δεν σχηματίζει ζεύγος (ασύζευκτο ηλεκτρόνιο ηλεκτρόνιο), με αποτέλεσμα οι ελεύθερες ρίζες να είναι εξαιρετικά χημικώς δραστικές. Επειδή το μόριο που κυριαρχεί ποσοτικά στα βιολογικά υλικά είναι αυτό του ύδατος, είναι αυτό που κυρίως δέχεται την επίδραση της ακτινοβολίας. Η επίδραση της ακτινοβολίας με το νερό είναι μια διαδικασία γνωστή ως ραδιόλυση και τα τρία βασικά της προϊόντα είναι το υδρογονομένο ηλεκτρόνιο, το OH και το H.

Συνοπτικά, η ραδιόλυση του ύδατος περιγράφεται από την εξίσωση:



Οι ελεύθερες ρίζες OH° , είναι ασταθείς και εξαιρετικά δραστικές, γι' αυτό και η εμβέλεια τους είναι μικρότερη από 100 Angstrom. Εάν ένα οργανικό μόριο, RH (π.χ. DNA), βρεθεί μέσα στην τροχιά των ελευθέρων ριζών, θα συμβούν αντιδράσεις της μορφής:



θα παραχθούν, δηλαδή, οργανικές ρίζες R° , που ως ασταθείς και με υψηλό ενεργειακό περιεχόμενο, θα μετασηματιστούν γρήγορα προκαλώντας μεταβολή-βλάβη στη δομή του οργανικού μορίου.

Οι βλάβες των κυττάρων που οφείλονται σε απευθείας ιονισμό των ατόμων, τα οποία και υφίστανται χημική μεταβολή, ονομάζονται «άμεσος δράση», ενώ οι βλάβες που οφείλονται στη δράση των ελευθέρων ριζών αναφέρονται ως «έμμεσος δράση». [4]

• Το βιολογικό στάδιο

Αμέσως μετά το χημικό στάδιο αρχίζει η εμφάνιση ενζυμικών μηχανισμών που δρουν επιδιορθωτικά στους μοριακούς σχηματισμούς που υπέστησαν βλάβη. Βλάβες στο DNA μπορεί να είναι γενικά:

- «Τυπογραφικά» λάθη της πολυμεράσης κατά την αντιγραφή (προσθήκη ή απάλειψη 1-4 βάσεων ή εισδοχή μη συμπληρωματικής βάσης)
- Αλλοιώσεις βάσεων (οξειδώσεις, μεθυλιώσεις, αποπυρηνώσεις, απομινάσεις)
- Θραύση μιας αλυσίδας του DNA (ssb)
- Προσθήκη ογκωδών χημικών μορίων
- Θραύση και των δύο αλυσίδων του DNA (dsb)

Η ιοντίζουσα ακτινοβολία αποτελεί μεταλλαξογόνο παράγοντα. Οι βλάβες βάσεων και οι SSB επιδιορθώνονται στο μεγαλύτερο ποσοστό τους. Σε περίπτωση ανεπιτυχούς επιδιόρθωσης όμως μπορούν να οδηγήσουν σε αλλαγή στην αλληλουχία των βάσεων του γενετικού υλικού και συνεπώς. Οι DSB επιδιορθώνονται δυσκολότερα. Μη επιδιορθωμένες DSB, εκτός από χρωμοσωμικές ανωμαλίες, μπορούν να οδηγήσουν επίσης σε μετάλλαξη λόγω ελλείμματος βάσεων εάν τμήμα του DNA δεν επανασυνδεθεί και παραμένει ελεύθερο.

Το αποτέλεσμα των μεταλλάξεων ως γνωστόν ποικίλει και μπορεί να οδηγήσει στην έκφραση μιας τροποποιημένης πρωτεΐνης και την αύξηση ή μείωση των επιπέδων μιας φυσιολογικής πρωτεΐνης. Τα στοχαστικά αποτελέσματα της ακτινοβολίας οφείλονται σε μεταλλάξεις. Η συχνότητα εμφάνισης των μεταλλάξεων αυξάνει με τη δόση ακτινοβολίας

αν και σε μεγάλες δόσεις κυριαρχεί ο κυτταρικός θάνατος, οπότε ο αριθμός των μεταλλαγμένων κυττάρων μειώνεται.

Πέραν των μεταλλάξεων, μη επιτυχώς επιδιορθωμένες DSB λόγω της έκθεσης σε ιονίζουσα ακτινοβολία, μπορεί να οδηγήσουν σε χρωμοσωμικές ανωμαλίες που θα καταστούν εμφανείς στην επόμενη διαίρεση του κυττάρου, στη φάση της μετάφασης. Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες περιλαμβάνουν μια ποικιλία ανταλλαγών των θραυσμάτων του DNA μεταξύ διαφορετικών χρωμοσωμάτων, μεταξύ των χρωματίδων του ίδιου χρωμοσώματος ή ακόμα και μεταξύ περιοχών της ίδιας χρωματίδας. Διακρίνονται σε χρωμοσωμικές ανωμαλίες και χρωματιδικές ανωμαλίες ανάλογα με το εάν η βλάβη συνέβη κατά τη G₁ φάση ή τη G₂ φάση, αντίστοιχα (βλάβη κατά την S φάση ή τη μίτωση μπορεί να οδηγήσει και στα δύο είδη). Η εμφάνιση άτυπων χρωμοσωμάτων σε κύτταρα που πολλαπλασιάζονται μπορεί να οδηγήσει στον κυτταρικό θάνατο.

Η ποσοτικοποίηση των χρωμοσωμικών ανωμαλιών σε λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος στην πρώτη μετάφαση μετά την ακτινοβόληση αποτελεί μέθοδο βιολογικής δοσομετρίας. Η ποσοτικοποίηση των χρωματιδικών θραυσμάτων στην πρώτη μετάφαση μετά από *in vitro* ακτινοβόληση λεμφοκυττάρων στη G₂ φάση του κυτταρικού κύκλου, χρησιμοποιείται ως μέθοδος ανίχνευσης αυξημένης ακτινοευαισθησίας σε άτομα του πληθυσμού.[1], [5]–[9]

Οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί αναγνωρίζουν τις βλάβες και τις επιδιορθώνουν χρησιμοποιώντας ως «καλούπι» τη συμπληρωματική αλυσίδα του DNA. Τύποι επιδιορθώσεων είναι:

- ✓ Mismatch repair (MMR): διόρθωση σφαλμάτων κατά την αντιγραφή που οδηγούν σε εισαγωγή μιας ή λίγων (2-4) βάσεων λανθασμένα
- ✓ Base excision repair (BER): διόρθωση αλλοιώσεων μιας μόνο βάσης και ssb
- ✓ Nucleotide excision repair (NER): διόρθωση αλλοιώσεων που εκτείνονται σε δύο ή περισσότερα νουκλεοτίδια και προσθήκης ογκωδών μορίων

Η διαδικασία της επιδιόρθωσης διαρκεί κατά το κύριο μέρος της από 15min-3h και ολοκληρώνεται σε 24-48 περίπου ώρες. Στην περίπτωση όπου η βλάβη είναι αδύνατον να επιδιορθωθεί, τα κύτταρα οδηγούνται σε είτε στη δημιουργία μεταλλάξεων ή/και κυτταρικό θάνατο μέσω απόπτωσης (apoptosis).[10]

2.2 Ερμηνεία της βιολογικής βλάβης

- Θεωρία της άμεσης δράσης της ακτινοβολίας

Σύμφωνα με αυτήν τη θεωρία, η ακτινοβολία του βιολογικού υλικού προκαλεί απευθείας ιονισμό σε βιολογικά μόρια και προκαλεί την καταστροφή τους. Η θεωρία αυτή οδήγησε στη διατύπωση της θεωρίας του στόχου.

- Θεωρία της **έμμεσης δράσης** της ακτινοβολίας (Θεωρία ελεύθερων ριζών)

Κατά τη θεωρία αυτήν, η ακτινοβολία του βιολογικού υλικού (αποτελούμενο κατά 70% από νερό) επάγει το σχηματισμό ελευθέρων ριζών, οι οποίες προκαλούν βλάβες στα βιολογικά μόρια.

- Θεωρία του στόχου (**Target theory**)

Σύμφωνα με τη δεδομένη θεωρία, ένα απλό γεγονός («πλήξη») καταστροφής ενός ευαίσθητου στόχου στο κύτταρο επιφέρει θάνατο του κυττάρου (άμεση δράση). Ως «στόχος» ορίζεται ένα μόριο και ως «πλήξη» η πρόκληση ιονισμού στο μόριο-στόχο ή σε μια περιοχή γύρω από αυτόν, απ' όπου η ενέργεια ιονισμού μπορεί να μεταφερθεί σε αυτόν. Η θεωρία των στόχων δέχεται και άλλες δύο αρχές, αυτήν των πολλαπλών στόχων (*multitarget*) και την αρχή των πολλαπλών πλήξεων (*multi-hit*), σύμφωνα με τις οποίες για να υποστεί βλάβη μια κυτταρική λειτουργία απαιτείται αδρανοποίηση πολλών στόχων και για να αδρανοποιηθεί ένας στόχος απαιτούνται πολλές, πλήξεις αντίστοιχα.

2.3 Βιολογικές επιδράσεις της ακτινοβολίας

2.3.1 Επίδραση σε κυτταρικό επίπεδο

Σκοπός της μελέτης των βιολογικών επιδράσεων της ακτινοβολίας είναι ο εντοπισμός θέσεων ή οργανιδίων στο κύτταρο, η βλάβη των οποίων μπορεί να εξηγήσει τις παρατηρούμενες επιδράσεις της ιονίζουσας ακτινοβολίας. Ο πυρήνας, κέντρο ελέγχου και συντονισμού των κυτταρικών λειτουργιών, θεωρείται πιο ευαίσθητος στην επίδραση της ακτινοβολίας συγκριτικά με το κυτταρόπλασμα και τα άλλα όργανα του κυττάρου.

Οι μορφολογικές αλλοιώσεις που παρατηρούνται στους πυρήνες ακτινοβολημένων κυττάρων είναι οι εξής:

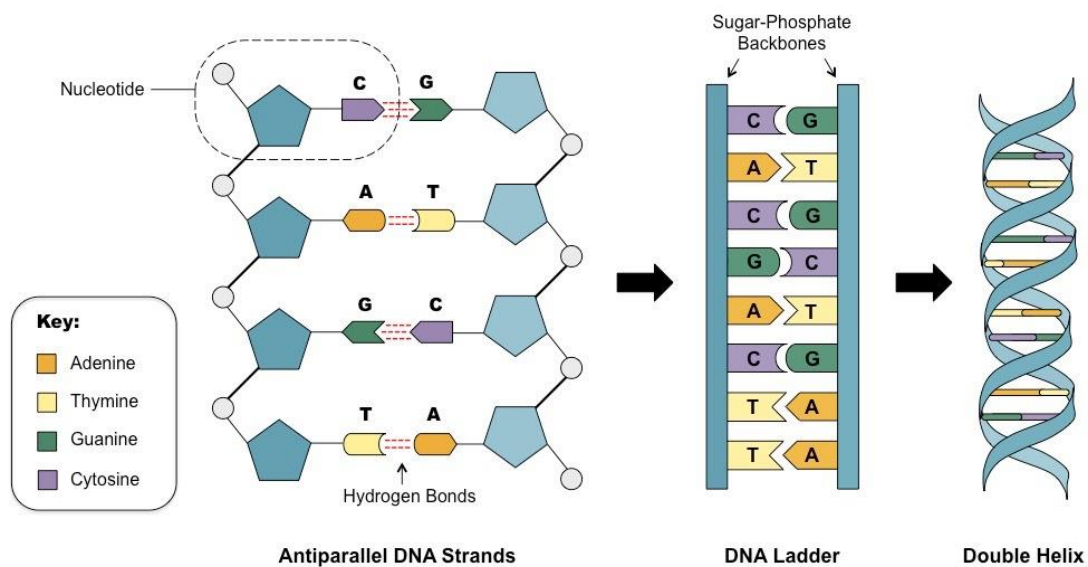
A) Πύκνωση του πυρήνα, οπότε παίρνει σφαιρικό σχήμα, το μέγεθός του ελαττώνεται, η χρωματίνη συμπυκνώνεται και διαλύεται τοπικά σε μερικές περιοχές.

Β) Καρρυορυξία, κατά την οποία παρατηρείται διάσπαση του πυρήνα σε μεγάλο αριθμό ενδοκυτταρικών τεμαχιδίων.

Γ) Καρυόλυση, όπου ο πυρήνας και η χρωματίνη χάνουν την ιδιότητα να βράφονται με ειδικές χρωστικές και δεν είναι ορατά πλέον με το μικροσκοπικό παρασκεύασμα. Η καρυόλυση ακολουθεί την πύκνωση του πυρήνα.

2.3.2 Επίδραση στο DNA

Το DNA βρίσκεται στον πυρήνα του κυττάρου με τη μορφή διπλής έλικας και αποτελεί το πλέον ακτινοευαίσθητο συστατικό των κυττάρων. Σύμφωνα με το μοντέλο των Watson και Crick το DNA αποτελείται από δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες αντίθετων κατευθύνσεων, οι οποίες συγκροτούνται μεταξύ τους με ζεύγη βάσεων. Η διπλή, δεξιόστροφη έλικα έχει έναν σταθερό σκελετό από επαναλαμβανόμενα μόρια φωσφορικών ομάδων-σακχάρων που ενώνονται μεταξύ τους με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς. Οι αζωτούχες βάσεις της μιας αλυσίδας συνδέονται με αυτές της άλλης με δεσμούς υδρογόνου και με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας, δηλαδή η αδενίνη (A) συνδέεται μόνο με θυμίνη (T) και η γουανίνη (G) συνδέεται μόνο με κυτοσίνη (C) και αντιστρόφως.



Εικόνα 2.3.2.1 Αριστερά: Ακολουθία νουκλεοτιδίων σε αντιπαράλληλες αλυσίδες αποτελούμενα το καθένα από πεντόζη, φωσφορική ομάδα και τη βάση. Με διακεκομμένες γραμμές μεταξύ των βάσεων σημειώνονται οι δεσμοί υδρογόνου.

Κέντρο: Η «σκάλα» DNA

Αριστερά: Διπλή έλικα DNA

Πηγή: Bioninja

Κάθε αλλαγή στο DNA, άρα και στο γενετικό κώδικα μπορεί να ερμηνεύσει τη βιολογική επίδραση των ακτινοβολιών.

Οι πιθανές βλάβες του DNA που προέρχονται από ακτινοβολήση με ιονίζουσα ακτινοβολία είναι:

1. Σπάσιμο ενός κλώνου της αλυσίδας (SSB)
2. Διπλό σπάσιμο της αλυσίδας (DSB), δηλαδή και των δύο κλώνων. Εάν η ακτινοβολία προσβάλει και τους δύο κλώνους ταυτόχρονα και μάλιστα στην ίδια θέση, τότε οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης του κυττάρου δεν μπορούν να λειτουργήσουν με ακρίβεια. Τέτοιου είδους θραύσεις και ακολουθούμενες με λανθασμένη αντικατάσταση βάσεων μπορούν να οδηγήσουν με μεταλλαγές που μεταφέρονται στους απογόνους (αν γίνονται σε γενετικά κύτταρα) ή προκαλούν καρκινογένεση στο ίδιο το άτομο (αν γίνονται σε σωματικά κύτταρα).
3. Αλλοίωση μιας βάσης (οξειδώσεις, μεθυλιώσεις, αποπυρηνώσεις, απομινώσεις)
4. Απώλεια μιας βάσης (αβασικά σημεία-AP sites)
5. Σπάσιμο δεσμού υδρογόνου μεταξύ των δύο αλυσίδων
6. Εγκάρσιες συνδέσεις μεταξύ των ελίκων (crosslinks)

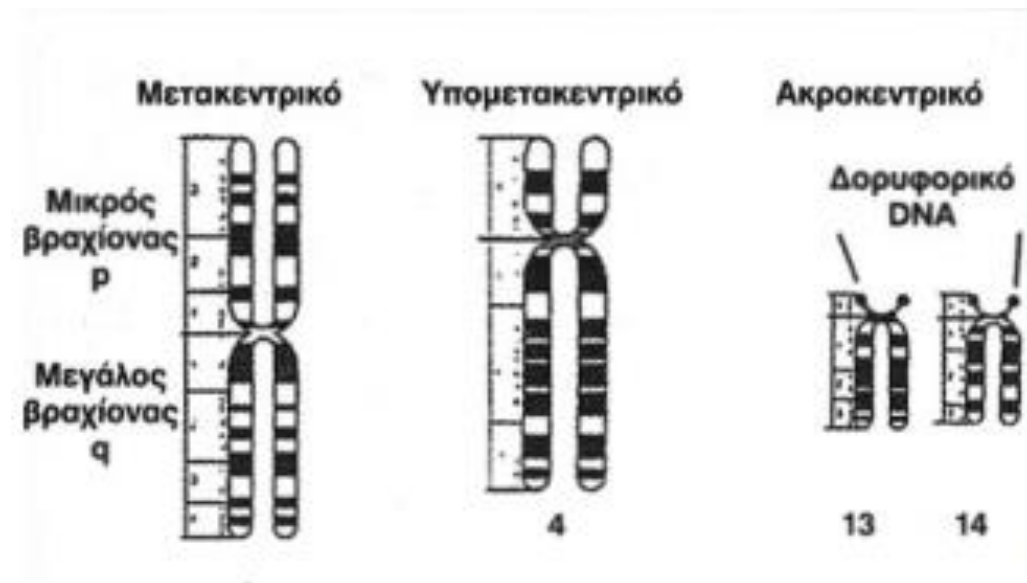
DNA lesions	Pyrimidine dimers	DNA adducts DNA crosslinks	Base oxidation Base hydrolysis Base damage	Single strand breaks	Double strand breaks	Replication error
Common cause	UV	carcinogens	ROS, UV, high temperature	ionizing radiation	ionizing radiation ROS stalled replication forks	inherent in replication
Mechanisms of repair	NER	NER	BER	BER	HR NHEJ	MMR
Germline defect associated with cancer predisposition	XPC skin basal and squamous cell carcinoma		MUTYH colorectal cancer		HR: BRCA1/BRCA2 breast and ovarian cancer	MSH2, MLH1 colorectal and endometrial carcinoma

Εικόνα 2.3.2.2 Πιθανές βλάβες στο DNA λόγω ακτινοβολήσης με ιονίζουσα ακτινοβολία
 Πηγή: Mechanisms of DNA damage repair in adult stem cells and implications for cancer formation, Clare E. WeedenMarie-Liesse, Asselin-Labat

2.3.3 Επίδραση στα χρωμοσώματα[6]–[8], [10]–[35]

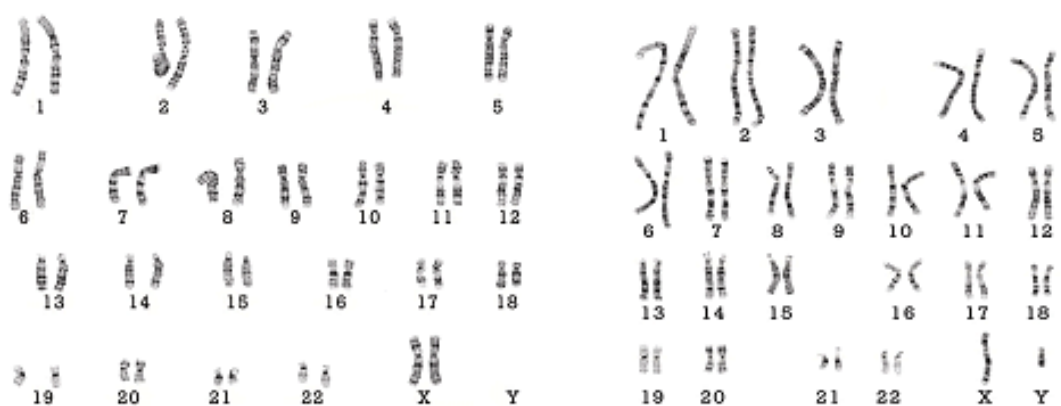
Μορφολογία ανθρωπίνων χρωμοσωμάτων

Κάθε ανθρώπινο χρωμόσωμα είναι ένα μεγάλο γραμμικό μόριο DNA και αποτελείται από σύμπλοκο χρωματίνης που έχει συμπυκνωθεί και φωσφοριωλυθεί στη μετάφραση. Κάθε μεταφασικό χρωμόσωμα αποτελείται από αδερφές χρωματίδες ενωμένες στο κεντρομερίδιο, το οποίο διαιρεί κάθε χρωματίδα σε δύο βραχίονες, έναν μικρό κι έναν μεγάλο. Τα μεταφασικά χρωμοσώματα διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το μέγεθος και τη θέση του κεντρομεριδίου. Όταν το κεντρομερίδιο βρίσκεται στη μέση του χρωμοσώματος, αυτό ονομάζεται μετακεντρικό. Όταν βρίσκεται εκτός του μέσου ονομάζεται υπομετακεντρικό και όταν βρίσκεται κοντά στο άκρο του ονομάζεται ακροκεντρικό.



Εικόνα 2.3.3.1 Χαρακτηρισμός χρωμοσωμάτων με βάση τη θέση του κεντρομεριδίου
Πηγή: Βιολογία Θετικής Κατεύθυνσης Γ' Λυκείου, ΟΕΔΒ, ebooks.edu.gr

Η ταξινόμηση των χρωμοσωμάτων ανά ζεύγη και κατά ελαττούμενο μέγεθος ονομάζεται καρυότυπος. Κάθε φυσιολογικό άτομο έχει 23 ζεύγη ομολόγων χρωμοσωμάτων στον πυρήνα των σωματικών του κυττάρων. Εξάριση από την ομοιομορφία των ομολόγων χρωμοσωμάτων αποτελούν τα φυλετικά (23^ο ζεύγος). Τα κύτταρα των θηλυκών ατόμων του ανθρώπου έχουν δύο ομοιόμορφα φυλετικά χρωμοσώματα (XX), ενώ τα κύτταρα των αρσενικών ατόμων δύο ανόμοια φυλετικά χρωμοσώματα (XY).



Εικόνα 2.3.3.2 Καρυότυπος γυναίκας (αριστερά) και άνδρα (δεξιά)
 Πηγή: Cells & Heredity

Σημαντικές πληροφορίες σχετικές με τα αποτελέσματα των μεταλλαγών που επάγονται από την ακτινοβόληση μπορούν να ληφθούν από την εξέταση των χρωμοσωμάτων τη στιγμή που ολοκληρώνουν την κυτταρική διαίρεση. Τα διάφορα στάδια του κυτταρικού κύκλου ποικίλουν ως προς την ευαισθησία στη δράση της ακτινοβολίας, ενώ ο τύπος των χρωμοσωμικών ανωμαλιών που επάγονται ποικίλει ανάλογα το στάδιο στο οποίο βρισκόταν το κύτταρο κατά την ακτινοβόληση. Γι' αυτό καθίσταται σημαντική η ανάλυση των φάσεων από τις οποίες περνά ένα κύτταρο από τη στιγμή που δημιουργείται.

2.4 Κατάταξη χρωμοσωμικών ανωμαλιών

Τα χρωμοσώματα, μετά την ακτινοβόλησή τους, εμφανίζουν μεταβολές στη φυσικοχημική τους κατάσταση. Η σπουδαιότερη δράση της ακτινοβολίας στα χρωμοσώματα αποτελεί η διάσπασή τους, η οποία επιφέρει ποικιλία μορφολογικών αλλοιώσεων, η επαγωγή των οποίων βασίζεται στους εξής μηχανισμούς:

1. Το κεντρικό τεμαχίδιο του χρωμοσώματος, δηλαδή αυτό που περιέχει το κεντρομερίδιο, διατηρείται και μετά την ολοκλήρωση του κυτταρικού κύκλου μεταφέρεται στα θυγατρικά κύτταρα. Το παραγόμενο χρωμόσωμα φέρει μια έλλειψη γενετικού υλικού, μικροσκοπικά ορατή, που χαρακτηρίζεται ως διαγραφή (deletion). Το περιφερειακό τεμαχίδιο του διασπασμένου χρωμοσώματος, το οποίο δε διαθέτει κεντρομερίδιο, δεν μπορεί να χωριστεί κατά τη μίτωση, με αποτέλεσμα είτε να χαθεί στη μίτωση, είτε να μεταβιβαστεί σε ένα από τα δύο θυγατρικά κύτταρα.
2. Τα τεμαχίδια στα οποία διασπάστηκε το χρωμόσωμα μπορούν να συνενωθούν μεταξύ τους ή με άλλα χρωμοσώματα, ώστε να δημιουργηθούν ανώμαλες μορφές χρωμοσωμάτων.[36]

2.5 Παράγοντες που επιδρούν στο βιολογικό αποτέλεσμα της ακτινοβόλησης

Οι βιολογικές επιδράσεις της ακτινοβολίας διαφέρουν και εξαρτώνται από παράγοντες που αναφέρονται ως τροποποιητικοί μηχανισμοί.[37]

2.5.1 Φυσικοί τροποποιητικοί μηχανισμοί

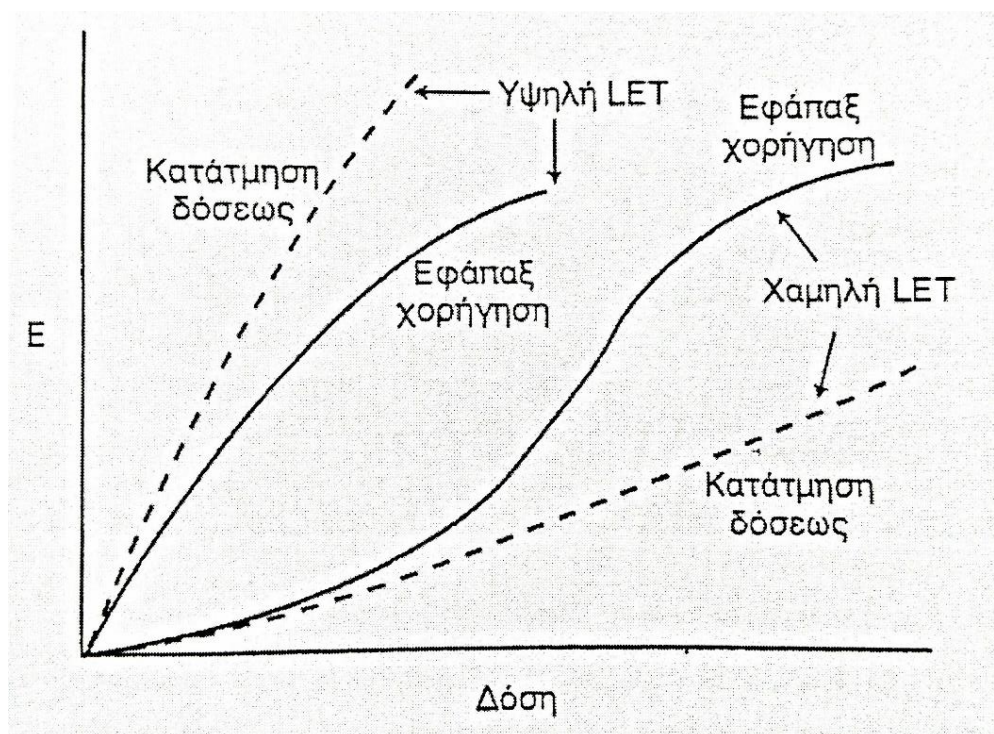
- **Ευθύγραμμη μετάδοση ενέργειας (LET) και σχετική βιολογική δραστικότητα (RBE)**

Στους φυσικούς τροποποιητικούς μηχανισμούς ανήκει η απώλεια ενέργειας ανά μονάδα μήκους διαδρομής, που είναι γνωστή σαν ευθύγραμμη μετάδοση ενέργειας (Linear Energy Transfer-LET). Ακτινοβολίες με μεγάλη LET έχουν και μεγάλη σχετική βιολογική δραστικότητα (RBE), λόγω μεγάλου συντελεστή ποιότητας Q. Η σχετική βιολογική δραστικότητα ορίζεται ως ο λόγος της απορροφούμενης δόσης αναφοράς

χαμηλής LET προς τη δόση της υπό εξέτασης ακτινοβολίας R που προκαλεί βιολογικά αποτελέσματα. Η τιμή της σχετικής βιολογικής δραστηριότητας εξαρτάται από το είδος, την ενέργεια της ακτινοβολίας και από το ακτινοβολούμενο υλικό.

- **Κατάτμηση δόσης**

Στην κατηγορία των φυσικών τροποποιητικών μηχανισμών ανήκει και ο παράγοντας της κατάτμησης της δόσης. Αν μια δόση ακτινοβολίας D χαμηλής LET χορηγηθεί px σε δύο κλάσματα $D/2+D/2$ με διαφορά χρόνου λίγων ωρών, τότε το βιολογικό αποτέλεσμα είναι μικρότερο από αυτό που περιμέναμε αν δίναμε εφάπαξ δόση. Αυτό οφείλεται στο ότι δίδεται χρόνος για την ανάπτυξη επιδιορθωτικών μηχανισμών που θα ελαττώσουν το αποτέλεσμα της ακτινοβολήσης. Στην περίπτωση ακτινοβολίας υψηλής LET η εφάπαξ χορήγηση είναι αποτελεσματικότερη σε συνέπεια του ότι ελαχιστοποιείται η διαφοροποίηση της ακτινοευαισθησίας μεταξύ διαφόρων κυττάρων ή μεταξύ των αυτών κυττάρων, αλλά σε διαφορετική φάση του κυτταρικού κύκλου. [36]



Εικόνα 2.5.1.1 Γραφική αναπαράσταση του αποτελέσματος της κατάτμησης δόσης E είναι διαφορετικό μεταξύ χαμηλής και υψηλής LET
Πηγή: «Ιατρική Φυσική» Π. Ψαρράκος, 2005

- **Ρυθμός χορήγησης της δόσης**

Το αποτέλεσμα της ακτινοβολήσης καθορίζεται, επίσης, από το ρυθμό χορήγησης της δόσης. Η ακτινοβολήση με χαμηλό ρυθμό δόσης είναι αποδοτικότερη από την ακτινοβολήση με υψηλό ρυθμό δόσης, γιατί κατά τη χορήγηση ακτινοβολήσης χαμηλού ρυθμού απαιτείται περισσότερος χρόνος κι έτσι τα κύτταρα έχουν πιο πολύ χρόνο για την πλήρη ανάνηψη των ιστών από ακτινική βλάβη.

Στην ακτινοθεραπεία η κατάτμηση της δόσης, ώστε η θεραπεία να γίνει σε περισσότερες εβδομάδες από το να δίνεται όλη η δόση σε μια θεραπεία, είναι ασφαλέστερη. Για την επίτευξη του επιθυμητού βιολογικού αποτελέσματος, η συνολική δόση όταν η θεραπεία γίνεται σε δόσεις, πρέπει να είναι πολύ μεγαλύτερη από ότι αν η δόση δινόταν σε μια θεραπεία. Η βάση που στηρίζεται η θεωρία αυτή είναι ο κανόνας των 5 Rs. Τα 5 Rs της ακτινοθεραπείας είναι:

1. *Radiosensitivity* - Ακτινοευαισθησία
2. *Repair* - Επιδιόρθωση
3. *Repopulation* – Τα κύτταρα πολλαπλασιάζονται όταν λαμβάνουν κατατμημένη δόση
4. *Redistribution* – Ανακατανομή στα κύτταρα που διαφοροποιούνται καθ' όλη τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου αυξάνει τα κύτταρα που σκοτώνονται στις κατατμημένες θεραπείες παρά με την εφάπαξ δόση.
5. *Reoxygenation* – Η επαναοξυγόνωση των υποξικών κυττάρων συμβαίνει κατά τη διάρκεια μιας κατατμημένης θεραπείας κάνοντας τα κύτταρα πιο ευαίσθητα στην επερχόμενη ακτινοβολία.

2.5.2 Χημικοί τροποποιητικοί μηχανισμοί

- **Τάση οξυγόνου στους ιστούς**

Η απόκριση των κυττάρων στην ιοντίζουσα ακτινοβολία εξαρτάται ισχυρά από την οξυγόνωση των κυττάρων. Η τάση του οξυγόνου στους φυσιολογικούς ιστούς αποτελεί ένα χημικό τροποποιητικό μηχανισμό και κυμαίνεται μεταξύ 10-50mmHg με εξαίρεση τον πνεύμονα. Στις νεοπλασίες παρατηρείται μειωμένη τάση οξυγόνου. Η ελάττωση της τάσης οξυγόνου προστατεύει τα κύτταρα από τις βιολογικές επιδράσεις της ακτινοβολίας, λόγω της συμβολής του οξυγόνου στη δημιουργία περεταίρω ελευθέρων ριζών. Ιδιαίτερα για ακτινοβολίες χαμηλού LET, όσο μεγαλύτερη είναι η οξυγόνωση του κυττάρου, τόσο μεγαλύτερο είναι το βιολογικό αποτέλεσμα μέχρι να έρθει ο κορεσμός από το αποτέλεσμα που φέρνει η οξυγόνωση. Ο λόγος των δόσεων σε ένα βιολογικό σύστημα για την εμφάνιση

ενός ακτινοπρόκλητου φαινομένου σε μια συνήθη τάση οξυγόνου ως προς αυτήν απουσία οξυγόνου, ονομάζεται λόγος επαυξήσεως της ακτινοευαισθησίας – oxygen enhancement ratio (OER).

$$OER = \frac{\text{Η δόση ακτινοβολίας χωρίς οξυγόνο}}{\text{Η δόση ακτινοβολίας με οξυγόνο}}$$

- **Χημειοευαισθητοποίηση**

Επιπρόσθετα, υπάρχουν διάφορες χημικές ουσίες που μπορούν να αυξήσουν ή να μειώσουν την ακτινοευαισθησία. Είναι δραστικές μόνο όταν είναι παρούσες κατά τη στιγμή της ακτινοβόλησης, όπως για παράδειγμα η καφεΐνη αυξάνει την ακτινοευαισθησία των ατόμων. [36]

2.5.3 Βιολογικοί τροποποιητικοί μηχανισμοί

Το είδος του κυττάρου και η φάση του κυτταρικού κύκλου (βιολογικοί τροποποιητικοί μηχανισμοί), στην οποία αυτό βρίσκεται, παρουσιάζουν διακυμάνσεις ως προς τα αποτελέσματα που επάγει η ιοντίζουσα ακτινοβολία.

- **Το είδος του κυττάρου**

Τα κύτταρα ενδογενώς παρουσιάζουν διαφορά στην ακτινοευαισθησία τους. Σύμφωνα με το νόμο των Bergonie και Tribondeau, η ακτινοευαισθησία των κυττάρων είναι ανάλογη της μεταβολικής δραστηριότητας τους (ανάλογη της μιτωτικής τους δραστηριότητας και αντιστρόφως ανάλογη της διαφοροποίησης τους). Σε επίπεδο ιστών, η ακτινοευαισθησία είναι ανάλογη με το ρυθμό πολλαπλασιασμού των κυττάρων του και το ρυθμό ανάπτυξής τους.

- **Η φάση του κυτταρικού κύκλου**

Η ακτινοευαισθησία είναι αντιστρόφως ανάλογη με τη διαφοροποίηση των κυττάρων. Για παράδειγμα τα νευρικά κύτταρα που έχουν υψηλή διαφοροποίηση είναι λιγότερο ακτινοευαίσθητα. Επίσης, η ακτινοευαισθησία των κυττάρων παρουσιάζει σημαντικές μεταβολές στις διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Η μεσόφαση (G₀, G₁, S, G₂) διαρκεί 24-48h, ενώ η μίτωση περίπου 2h. Πιο ευαίσθητες φάσεις, γενικά, είναι η μίτωση και η G₂, ενώ υπάρχει μια τάση από τα κύτταρα κατά τη φάση S και ειδικά προς το τέλος της να παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην ακτινοβολία. Η αυξημένη αντίσταση

σχετίζεται με τη σύνθεση του DNA, ενώ η μικρή αντίσταση στη G₂ οφείλεται μάλλον στη μικρή διάρκεια της φάσης, που δεν επιτρέπει πλήρη δράση των επιδιορθωτικών μηχανισμών.[36]

2.6 Καμπύλες επιβίωσης των κυττάρων

Οι καμπύλες επιβίωσης των κυττάρων περιγράφουν τον πληθυσμό των κυττάρων που επιβίωσε μετά από έκθεση σε ιοντίζουσα ακτινοβολία και της απορροφούμενης δόσης. Ο όρος «επιβιώνουν» αναφέρεται στη διατήρηση της ικανότητας των κυττάρων να πολλαπλασιάζονται με το συνήθη τρόπο.

Σύμφωνα με τη θεωρία του στόχου, μια μόνο πλήξη σε δύο ή περισσότερους στόχους συνήθως είναι αρκετή για να προκληθεί θάνατος του κυττάρου. Μια εκθετική καμπύλη επιβίωσης μπορεί να περιγραφεί με την εξίσωση της μορφής $N = N_0 e^{-\frac{D}{D_0}}$, όπου N_0 ο αρχικός αριθμός κυττάρων, N ο αριθμός των κυττάρων που επιβιώνει μετά την ακτινοβολία, D η δόση ακτινοβολίας και D_0 η απαιτούμενη δόση, κατά μέσο όρο, η οποία όταν χορηγηθεί μπορεί να μειώσει το κλάσμα των κυττάρων που επιβιώνουν στο 37%. Η τιμή της D_0 για ακτινοβολίες χαμηλού LET είναι συνήθως 1-2 Gy. Ο αριθμός N μας δείχνει το βαθμό ακτινοευαισθησίας των κυττάρων και είναι αντιστρόφως ανάλογος με αυτήν.

Άλλο σημαντικό μέγεθος είναι το D_q , που ορίζεται ως η δόση σε Gy και αντιστοιχεί στο εκθετικό τμήμα της καμπύλης, η οποία τέμνει τον άξονα επιβίωσης, σε κλάσμα κυττάρων ίσο με τη μονάδα, όταν δηλαδή η επιβίωση είναι 100%.

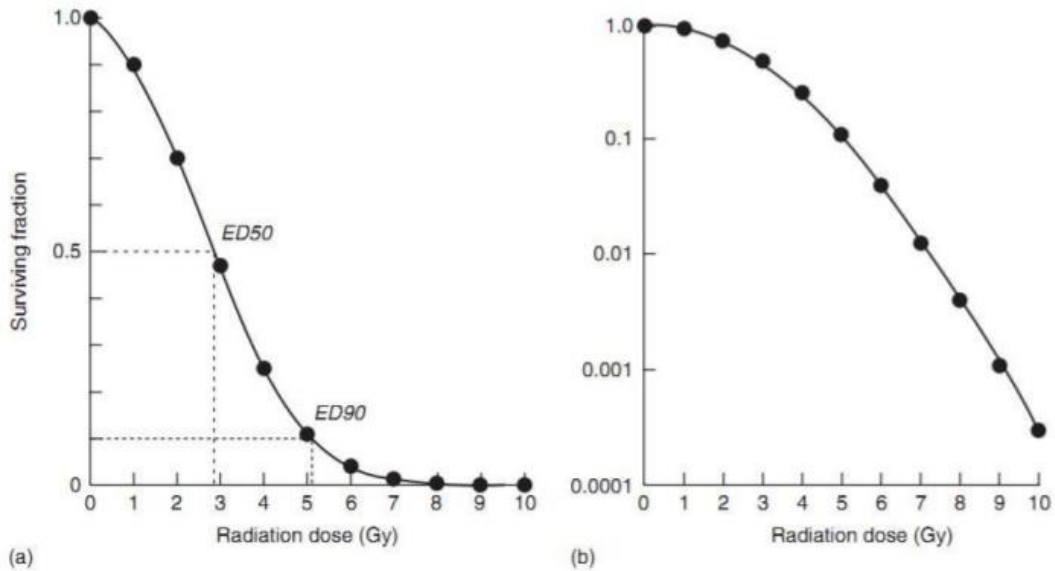
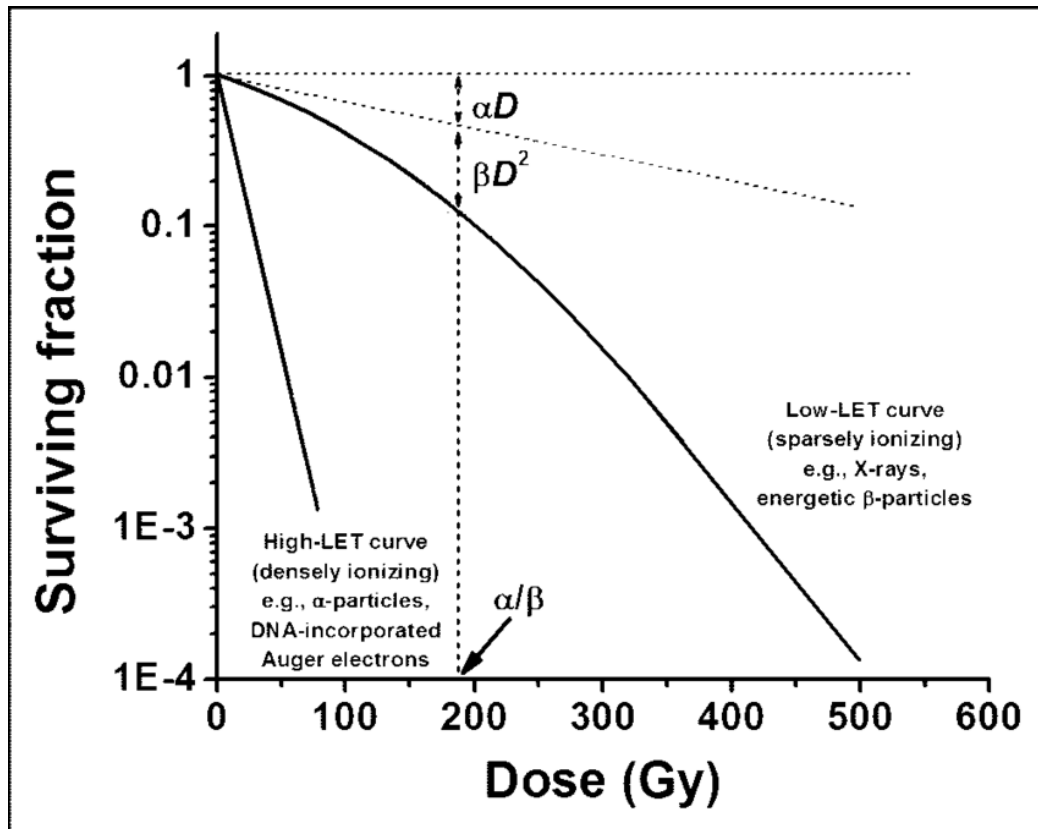


Figure 4.3 A typical cell survival curve for cells irradiated in tissue culture, plotted (a) on a linear survival scale. (b) The same data plotted on a logarithmic scale.

Εικόνα 2.6.1 Καμπύλες επιβίωσης κυττάρων

Πηγή: Cell Survival Curve presentation, Abish Adhikari, Radiation Oncologist 2012.01.126

Για τον καθορισμό της καμπύλης επιβίωσης χρησιμοποιούνται διάφορα μαθηματικά μοντέλα, τα οποία βασίζονται στην τυχαία φύση της εναπόθεσης ενέργειας της ακτινοβολίας. Το μοντέλο που χρησιμοποιείται πιο συχνά για την περιγραφή της επιβίωσης κυττάρων θηλαστικών μετά από ακτινοβολή χαμηλού LET είναι αυτό που δίνεται από τη σχέση $S(D) = e^{-aD - bD^2}$, όπου S είναι το κλάσμα του πληθυσμού που επιβίωσε, D η δόση της ακτινοβολίας και a , b σταθερές. Ο όρος a είναι ανάλογος της δόσης και μέτρο της ενδογενούς ακτινοευαισθησίας του συγκεκριμένου είδους ακτινοβλούμενων κυττάρων για πρόκληση βλάβης που δεν μπορεί να επιδιορθωθεί, ενώ ο όρος b , που είναι ανάλογος με το τετράγωνο της δόσης, αντιστοιχεί στις βλάβες που πρέπει να συσσωρευθούν πριν γίνουν θανατηφόρες.



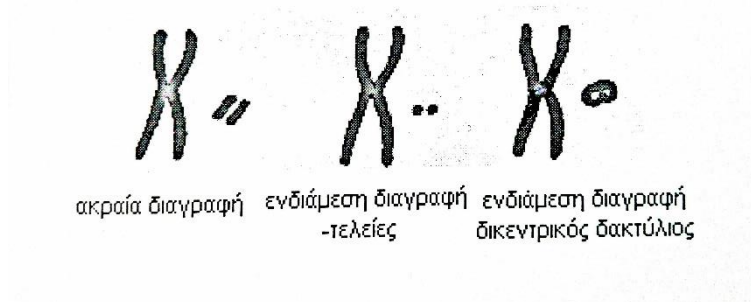
Εικόνα 2.6.2 Καμπύλη επιβίωσης

Πηγή: Radiobiologic principles in radionuclide therapy, Journal of Nuclear Medicine 46(Suppl 1):4S-12S · January 2005

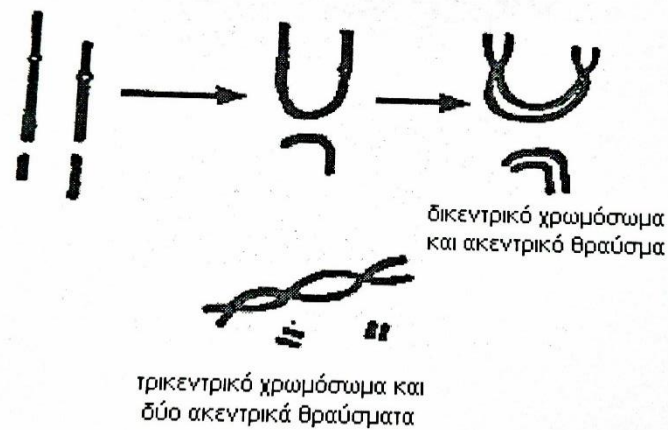
2.7 Ακτινοβόληση στη G₀ φάση του κυτταρικού κύκλου - Χρωμοσωμικές αλλοιώσεις

Οι χρωμοσωμικές αλλοιώσεις που επάγονται από την επίδραση ιοντίζουσας ακτινοβολίας κατά τη G₀ φάση του κυτταρικού κύκλου, που δεν έχει διπλασιαστεί ακόμα το DNA, χαρακτηρίζονται ως αλλοιώσεις χρωμοσωμικού τύπου. Στην περίπτωση αυτή τα χρωμοσώματα συμπεριφέρονται ως ενιαία κατά τη διάσπασή τους και η βλάβη είναι ορατή και στις δύο χρωματίδες. Οι ανωμαλίες χρωμοσωμικού τύπου μπορούν να ταξινομηθούν στις εξής κατηγορίες:

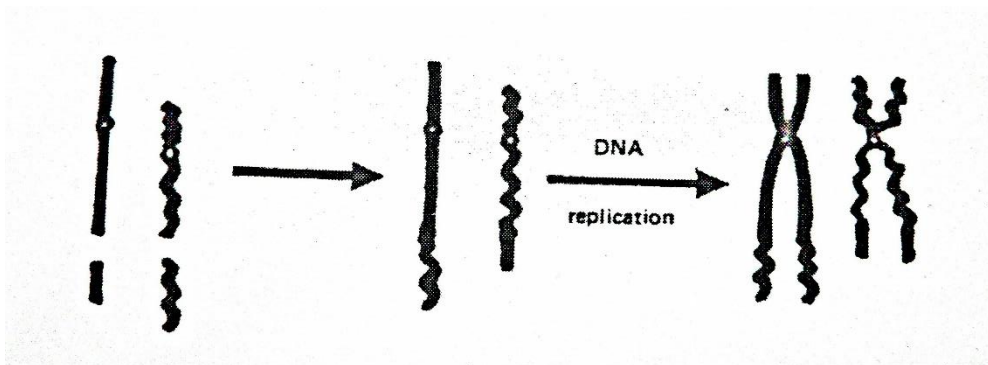
- ❖ Ακραίες και ενδιάμεσες διαγραφές (terminal and interstitial deletion)



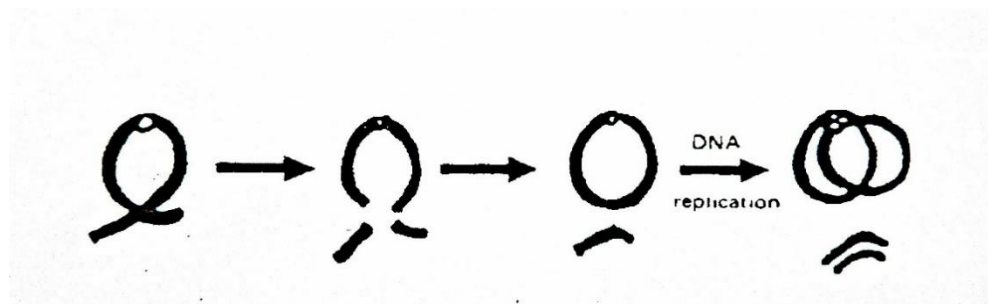
- ❖ Ασύμμετρες ανταλλαγές μεταξύ δύο χρωμοσωμάτων (asymmetrical interchanges)
- ❖ Ασύμμετρες εσωτερικές ανταλλαγές (asymmetrical interchanges)



- ❖ Συμμετρικές ανταλλαγές μεταξύ των δύο χρωμοσωμάτων (symmetrical

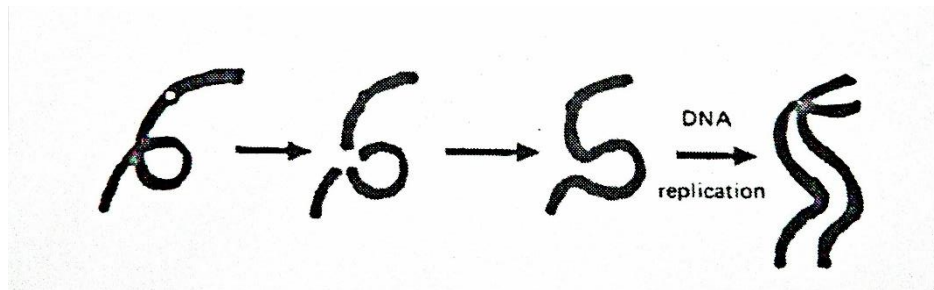
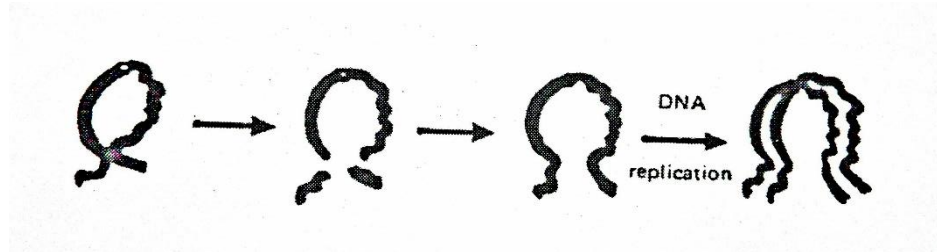


interchanges)



❖ Συμμετρικές εσωτερικές ανταλλαγές (symmetrical interchanges)

- Περικεντρικές αναστροφές: συμβαίνουν γύρω από το κεντρομερίδιο
- Περικεντρικές αναστροφές: συμβαίνουν από τη μια πλευρά του κεντρομεριδίου



Οι χρωμοσωμικές αλλοιώσεις που εμφανίζονται πιο συχνά κατά την ακτινοβόληση στη G₀ φάση το κυτταρικού κύκλου είναι:

- ✓ Τα δικεντρικά χρωμοσώματα που είναι χρωμοσώματα τα οποία έχουν δύο κεντρομερίδια. Κατά την ακτινοβόληση δύο ξεχωριστών χρωμοσωμάτων προκαλείται σπάσιμο στο χρωμόσωμα. Οι δύο σπασμένες άκρες είναι δυνατόν να ενωθούν λανθασμένα και δυο θραύσματα με κεντρομερίδιο να ενωθούν μεταξύ τους. Μετά από διπλασιασμό του DNA εμφανίζεται ένα δικεντρικό χρωμόσωμα κι ένα ή δύο άκεντρα θραύσματα. Τρικεντρικά χρωμοσώματα που είναι δυνατόν να εμφανιστούν αντιστοιχούν σε δύο δικεντρικά χρωμοσώματα και συνοδεύονται από δύο άκεντρικά θραύσματα.
- ✓ Οι κεντρικοί δακτύλιοι που προκύπτουν από σπάσιμο και των δύο τμημάτων του χρωμοσώματος. Οι άκρες συνδέονται ώστε να σχηματίζεται ένα κεντρικό δακτυλίδι κι ένα άκεντρικό θραύσμα.
- ✓ Τα άκεντρικά θραύσματα, τα οποία είναι χρωμοσώματα χωρίς κεντρομερίδιο, προκύπτουν ανεξάρτητα από τις αλλοιώσεις που περιγράφονται παραπάνω. [1], [36]

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

Ανάλογα τη φάση του κυτταρικού κύκλου στην οποία βρισκόταν το εκάστοτε κύτταρο κατά τη στιγμή που δέχτηκε ακτινοβολία, παρατηρούνται διαφορετικές αλλοιώσεις.

Χρωμοσωμικού τύπου αλλοιώσεις (δικεντρικά χρωμοσώματα, δακτυλίους) παρατηρούμε όταν το κύτταρο κατά την ακτινοβόληση βρισκόταν στην G₁ ή πρώιμη S φάση του κυτταρικού του κύκλου. Τη στιγμή εκείνη δεν έχει γίνει διπλασιασμός του DNA επομένως η όποια βλάβη προκύψει και δεν επιδιορθωθεί, θα αντιγραφεί κατά το διπλασιασμό.

Αν η ακτινοβόληση του κυττάρου έγινε κατά την ύστερη S ή G₂, τότε βλέπουμε χρωματιδικού τύπου αλλοιώσεις (breaks).

2.8 Κυτταρικός θάνατος

Γενικά, με τον όρο κυτταρικό θάνατο αναφερόμαστε στην κατάσταση που ένα κύτταρο έχει χάσει πλήρως την αναπαραγωγική του ικανότητα. Διάφορα γνωστά είδη κυτταρικού θανάτου είναι:

- **Απόπτωση:** προγραμματισμένη διαδικασία κυτταρικού θανάτου. Ενεργοποιείται από διάφορους παράγοντες όπως ιοντίζουσα ακτινοβολία και ακτινοβολία με UV και όταν συμβαίνει σε φυσιολογικό βαθμό έχει θετικές επιπτώσεις στον οργανισμό με την αποφυγή μεταλλάξεων και καρκινογένεσης

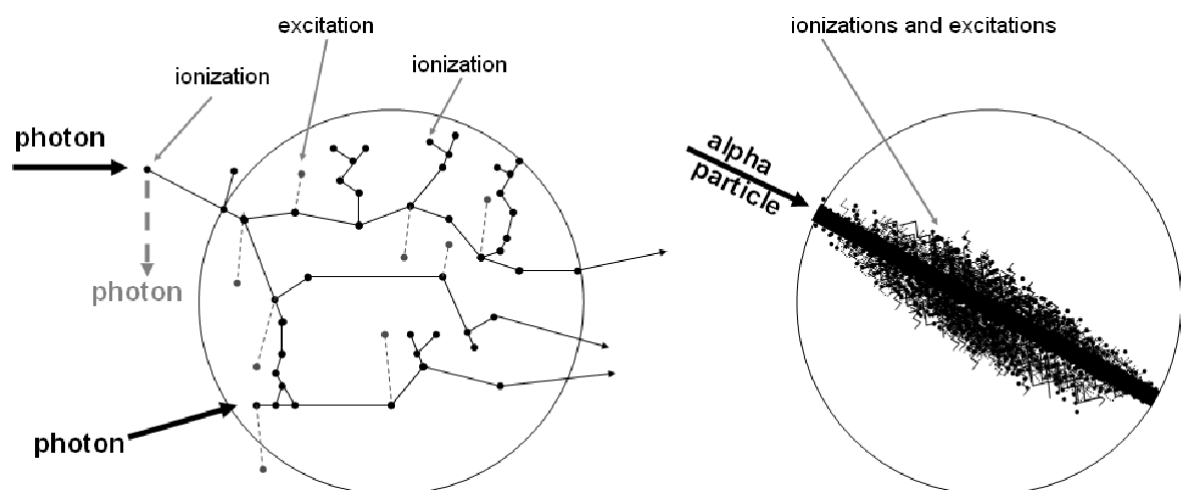
- **Νέκρωση:** μη-ελεγχόμενη διαδικασία πρόωρου κυτταρικού θανάτου. Επέρχεται ως επί τω πλείστο μετά την ακτινοβολία με ιοντίζουσα ακτινοβολία υψηλών δόσεων, προκαλώντας γενικευμένες βλάβες με επιβλαβείς συνέπειες για τους ιστούς και τον οργανισμό.

- **Μιτωτική καταστροφή:** Συμβαίνει μετά από μερικές κυτταρικές διαιρέσεις αν υπάρξει βλάβη στο κύτταρο που δεν μπορεί να επιδιορθωθεί και έτσι το κύτταρο οδηγείται σε θάνατο.

2.9 Αλληλεπίδραση σωματιδίων α με την ύλη[38]

Η α είναι σωματιδιακή ακτινοβολία. Εκπέμπεται από ραδιενεργούς πυρήνες και μπορεί να παραχθεί σε επιταχυντές σωματιδίων. Το σωματίο α είναι σχετικά βαρύ σωματίο με μάζα ηρεμίας ίση με $6.64424 \cdot 10^{-27} \text{ kg}$ ή $3.7273 \cdot 10^9 \text{ eV}$. Αποτελείται από δύο πρωτόνια και δύο νετρόνια, είναι δηλαδή πυρήνας του ${}^4_2\text{He}$, τέσσερις φορές βαρύτερος του πυρήνα του υδρογόνου, και μεταφέρει σχετικά μεγάλο ηλεκτρικό φορτίο (+2). Η ενέργειά ενός σωματιδίου-α παρουσιάζει ένα εύρος 3-9 MeV. Οι υψηλότερες ενέργειες παρατηρούνται σε σωματία α που προέρχονται από βαρύτερους πυρήνες.

Όταν τα σωματία α εισέλθουν στην ύλη, επιβραδύνονται έντονα, διότι αλληλεπιδρούν με τα ισχυρά ηλεκτρομαγνητικά πεδία που περιβάλλουν τα άτομα. Αυτό έχει σαν συνέπεια την άμεση απορρόφησή τους στα πρώτα κίολας ελάχιστα πάχη του υλικού που συναντούν. Η μικρή τους εμβέλεια είναι υπεύθυνη για την πολύ μεγάλη πυκνότητα ιονισμού στις μικρές αυτές διαστάσεις, όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα.



Εικόνα 2.9.1 Σχηματική αναπαράσταση της τροχιάς σωματιδίων μέσα σε κύτταρο. αριστερά: ενός πρωτονίου και δεξιά: ενός σωματίου α.

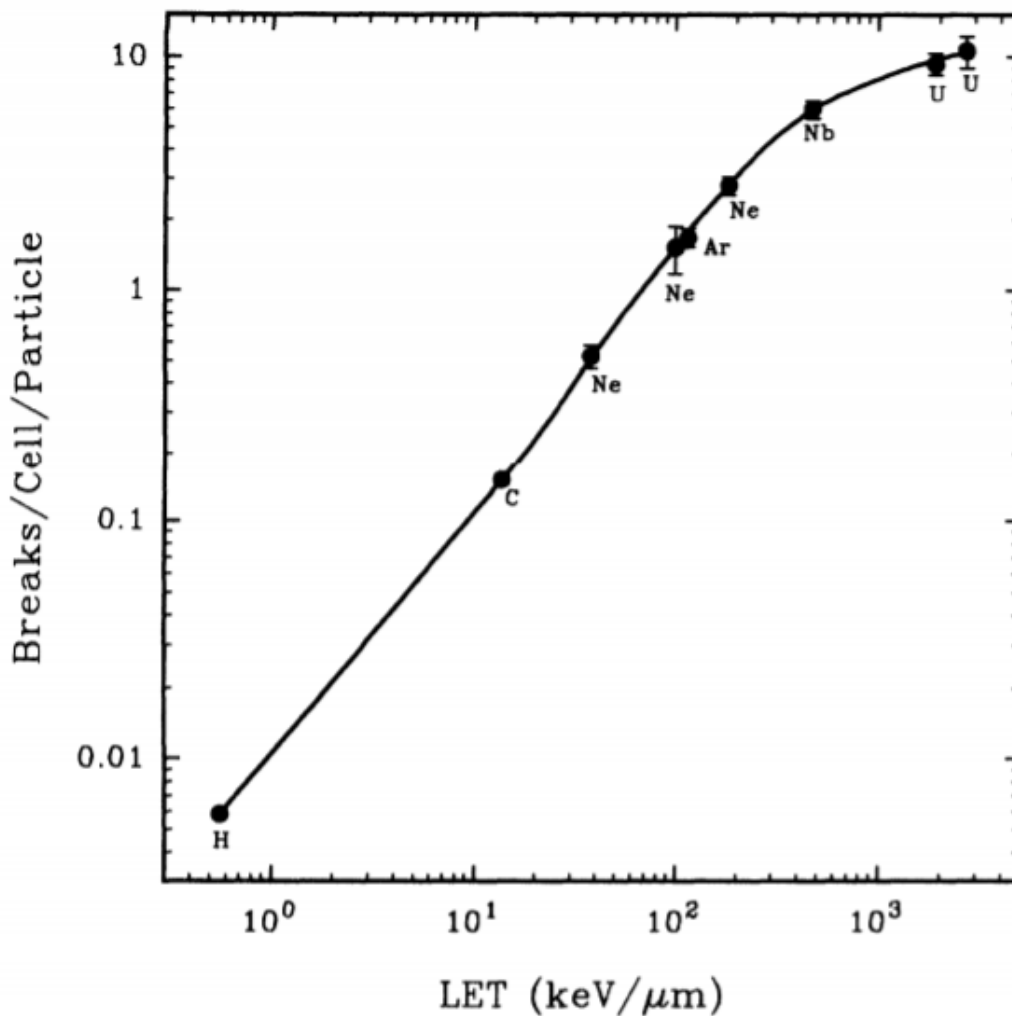


FIG. 3. The average yield of chromatin breakage from single particle traversals of the cell nucleus.

Εικόνα 2.9.2 Μέσος αριθμός θραυσμάτων από ένα σωματίδιο σε πυρήνα κυττάρου συναρτήσει του LET [39]

Η αλληλεπίδραση Coulomb μεταξύ των σωματιδίων άλφα και των δέσμιων ηλεκτρονίων του υλικού είναι ο βασικός μηχανισμός υπεύθυνος για την απώλεια ενέργειας των α. Η απόκλιση των σωματιδίων από την αρχική τους κατεύθυνση είναι σχεδόν αμελητέα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η μάζα του α είναι πολύ μεγαλύτερη από την μάζα του ηλεκτρονίου. Εκτός της αλληλεπίδρασης Coulomb, υπάρχουν και πιθανές πυρηνικές αντιδράσεις που είναι υπεύθυνες για την απώλεια της ενέργειας των άλφα σωματιδίων. Η απώλεια ενέργειας ανά μονάδα μήκους από ένα σωματίο ενέργειας E που περνάει μέσα από ένα υλικό εξαρτάται από την ενέργεια του σωματίου και από το υλικό και δίνεται από την σχέση Bethe-Bloch:

$$-\frac{dE}{dx} = N_A \frac{Z}{A} \frac{4\pi a^2 (\hbar c)^2 Z_i^2}{m_e c^2 \beta} \left(\ln \frac{2m_e c^2 \gamma^2 \beta^2}{I} - \beta^2 - \delta \right)$$

Για μεγάλο αριθμό προσπιπτόντων σωματίων α οι εμβέλειες κυμαίνονται γύρω από την τιμή R_0 , η οποία αποτελεί την μέση εμβέλεια. Για την μέση εμβέλεια R_0 σε cm μέσα στον αέρα και για κανονικές συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας, ισχύει η εμπειρική σχέση $R_0 = 0.32E^{3/2}$ όπου E η ενέργεια των α σωματίων σε MeV.

Το πάχος στο οποίο όλα τα σωματάρια έχουν απορροφηθεί, δηλαδή το πάχος στο οποίο η καμπύλη έχει φτάσει στο επίπεδο του υποστρώματος, αντιστοιχεί στην εμβέλεια R_{ex} . Ο κανόνας Bragg-Kleeman μας επιτρέπει, γνωρίζοντας την εμβέλεια R_{ex} στον αέρα, να βρούμε την εμβέλεια των σωματίων α σε οποιοδήποτε άλλο υλικό.

$$\frac{R_{material}}{R_{ex,air}} = \frac{\rho_{air}}{\rho_{material}} \frac{\sqrt{A_{material}}}{\sqrt{A_{air}}}$$

όπου ρ είναι οι πυκνότητες και A το μέσο μοριακό βάρος.

Η ακτινοβολία α χαρακτηρίζεται από υψηλό LET και είναι δυνατόν να αποκοπεί πλήρως από ένα και μόνο λεπτό φύλλο χαρτιού. Τα σωματάρια α δεν μπορούν να διαπεράσουν το στρώμα των κυττάρων του δέρματος, αφού μπορούν να φτάσουν μόνο μέχρι 40 μm βάθος σε αυτή την περίπτωση. Μπορούν να προκαλέσουν όμως βλάβες στα μάτια και είναι πολύ επικίνδυνα σε περιπτώσεις κατάποσης και εισπνοής. Επίσης, έχει υπολογιστεί ότι η ακτινοβολία α προκαλεί από 10 μέχρι 1000 φορές μεγαλύτερη βλάβη στα χρωμοσώματα, από ότι η αντίστοιχη ακτινοβολία γ και β .

Σε ό,τι αφορά τις σύνθετες βλάβες, μελέτες έχουν δείξει πως όσο αυξάνεται η τιμή της LET, τόσο περισσότερο αυξάνεται και ο αριθμός τους. Ενδεικτικά αναφέρουμε πως για ακτινοβολία γ με ^{60}Co ($LET = 0.24 keV$) η μέση τιμή όλων των βλαβών ανά σύμπλεγμα είναι ίση με 1.4. Αντίθετα, για α σωματάρια με ενέργεια 3.5 MeV και $LET = 114.8 keV/\mu m$, η μέση τιμή είναι 3.6 βλάβες ανά ομάδα. [39]

Τα κύτταρα που ακτινοβολούνται με σωματάρια α υπόκεινται σε σημαντικές βιολογικές βλάβες. Η κύρια βλάβη που μπορούν να προκαλέσουν είναι ο μεγάλος αριθμός δίκλωνων θραύσεων στο γενετικό υλικό (DSBs). Στην πραγματικότητα, μόλις λίγα σωματάρια α είναι αρκετά για να αδρανοποιήσουν το κύτταρο. Η άλφα ακτινοβολία, όπως και οι υπόλοιπες high-LET, δεν απαιτεί υψηλή συγκέντρωση των κυττάρων σε οξυγόνο, αφού η βιολογική τους σημασία δεν είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με τις ελεύθερες ρίζες. Για τον λόγο αυτό, τα τελευταία χρόνια γίνονται πολλές μελέτες στην χρήση τους για την θεραπεία του καρκίνου, αφού τα καρκινικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από χαμηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου (υποξία). Τα κύτταρα που σχηματίζουν τον καρκίνο είναι το ίδιο ευαίσθητα στην άλφα ακτινοβολία με εκείνα με κανονικά επίπεδα οξυγόνου. Για ακτινοβολίες low-LET (ηλεκτρόνια και φωτόνια), η δόση που χρειάζεται για να προκαλέσουν τις ίδιες βιολογικές

βλάβες σε υποξικά κύτταρα, συγκριτικά με κύτταρα με κανονικά επίπεδα οξυγόνου, αυξάνεται κατά έναν παράγοντα της τάξης του 2 ή 3. Επίσης, κατά την ακτινοβόληση κυττάρων με σωμάτια α, η φάση που θα βρίσκονται τα κύτταρα στον κυτταρικό κύκλο δεν είναι τόσο βαρύνουσας σημασίας, όπως συμβαίνει στις low-LET ακτινοβολίες. Τέλος, οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί του κυττάρου δεν δρουν το ίδιο αποτελεσματικά μετά από ακτινοβόληση με α σωμάτια, αφού οι DSBs βλάβες σε συνδυασμό με τις σύνθετες βλάβες που επάγονται κυρίως από high-LET είναι πιο επιβλαβείς για το κύτταρο. [40, p.]

3. Το μικροσκόπιο



Εικόνα 3.1.1 Οπτικό μικροσκόπιο

Το μικροσκόπιο αποτέλεσε ένα από τα μεγαλύτερα επιτεύγματα της επιστήμης (εφεύρεση μικροσκοπίου: Leeuwenhoek 1670), καθώς επιτρέπει την μετατροπή ενός αντικειμένου σε είδωλο πολύ μεγαλύτερο του αρχικού αντικειμένου, δηλαδή τη μεγέθυνση. Ειδικά σε τομείς της ιατρικής αποτέλεσε καταλύτη σε μελέτες ποικίλων τομέων.

Το οπτικό (ή κοινό) μικροσκόπιο χρησιμοποιεί για τη δημιουργία του ειδώλου ορατό φως. Η μεγέθυνση που μπορεί να επιτευχθεί περιορίζεται από το μήκος κύματος του ορατού φάσματος (~400-700nm), το μικρότερο δηλαδή αντικείμενο που μπορεί να δει κανείς με ένα οπτικό μικροσκόπιο είναι διαμέτρου περίπου 1μm. Τα κύτταρα είναι περίπου 5-50μm διαμέτρου, οπότε μπορούν να μελετηθούν με ένα τέτοιο μικροσκόπιο.

3.1 Τα μέρη του μικροσκοπίου

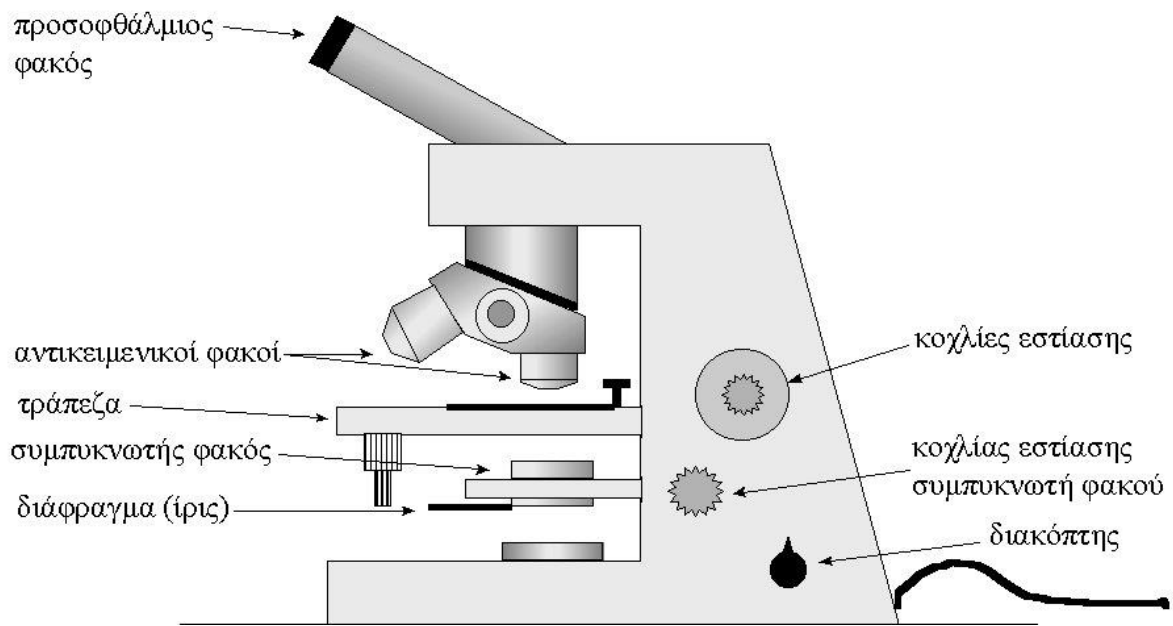
Το οπτικό μικροσκόπιο αποτελείται από τρεις συγκλίνοντες φακούς: το συλλέκτη, τον αντικειμενικό και τον προσοφθάλμιο.

Ο συλλέκτης χρησιμοποιείται για να συγκεντρώνει το φως που εκπέμπει η πηγή πάνω στο αντικείμενο, δηλαδή να το φωτίζει.

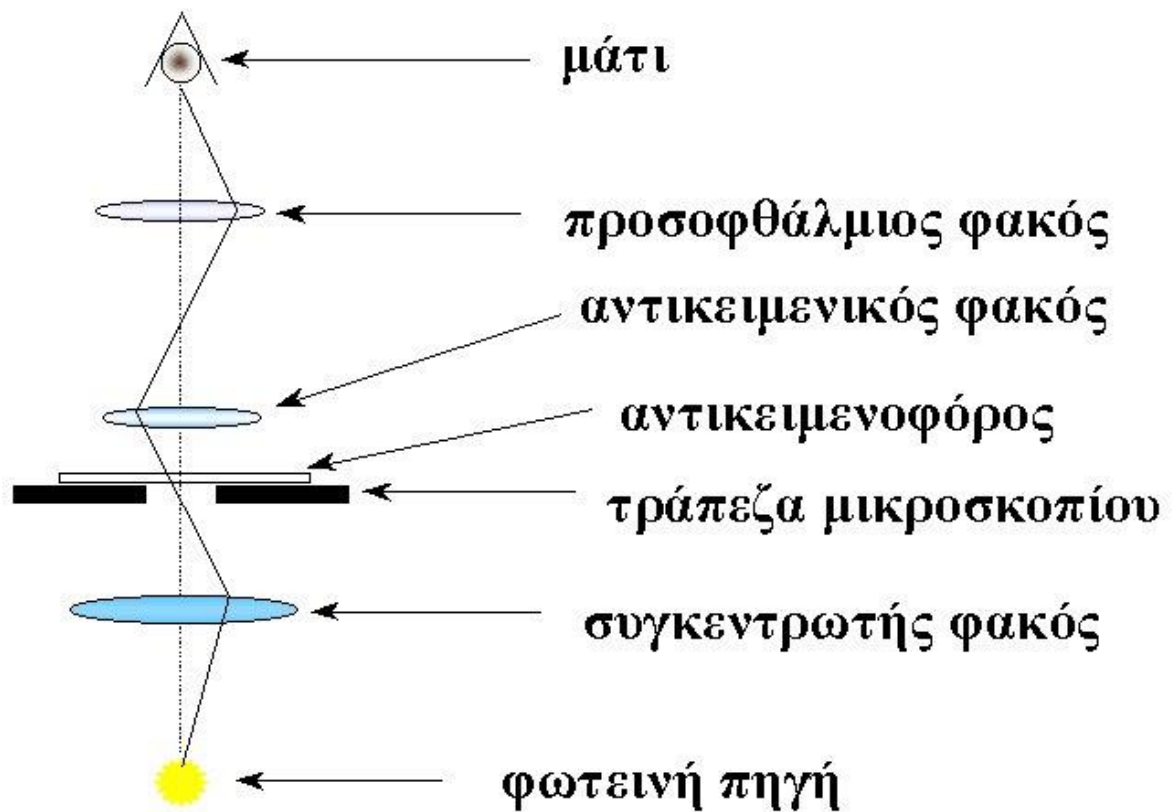
Ο αντικειμενικός δημιουργεί το πρώτο είδωλο. Σχηματίζει ανεστραμμένο το είδωλο $A'B'$ του αντικειμένου AB με μεγέθυνση $m_1 = \frac{A'B'}{AB}$.

Ο προσοφθάλμιος μεγεθύνει το είδωλο που έχει δημιουργήσει ο αντικειμενικός. Σχηματίζει το ανεστραμμένο είδωλο $A''B''$ του ειδώλου $A'B'$ με μεγέθυνση $m_2 = \frac{A''B''}{A'B'}$.

Άρα το τελικό είδωλο $A''B''$ δεν είναι ανεστραμμένο και έχει μεγεθυνθεί σε σχέση με το αρχικό αντικείμενο AB κατά συνολική μεγέθυνση $m = m_1 \times m_2 = \frac{A''B''}{AB}$. [37]



Εικόνα 3.1.2 Οπτικό μικροσκόπιο, Πηγή: www.aua.gr



Εικόνα 3.1.3 Οπτικό μικροσκόπιο, Πηγή: www.aua.gr

3.2 Σημαντικά μεγέθη

Ένα μέγεθος που μας ενδιαφέρει ιδιαίτερα να μελετάμε στο μικροσκόπιο είναι η μεγέθυνση N του μικροσκοπίου και δίνεται από τη σχέση:

$$N = P \cdot \delta = \frac{I \cdot \delta}{\varphi_{\pi} \cdot \varphi_{\alpha}}$$

όπου I είναι η απόσταση μεταξύ των δύο φακών, φ_{π} η εστιακή απόσταση του προσοφθάλμιου φακού, φ_{α} η εστιακή απόσταση του αντικειμενικού φακού και δ η απόσταση ευκρινούς όρασης, που είναι συνήθως ίση με 25cm.

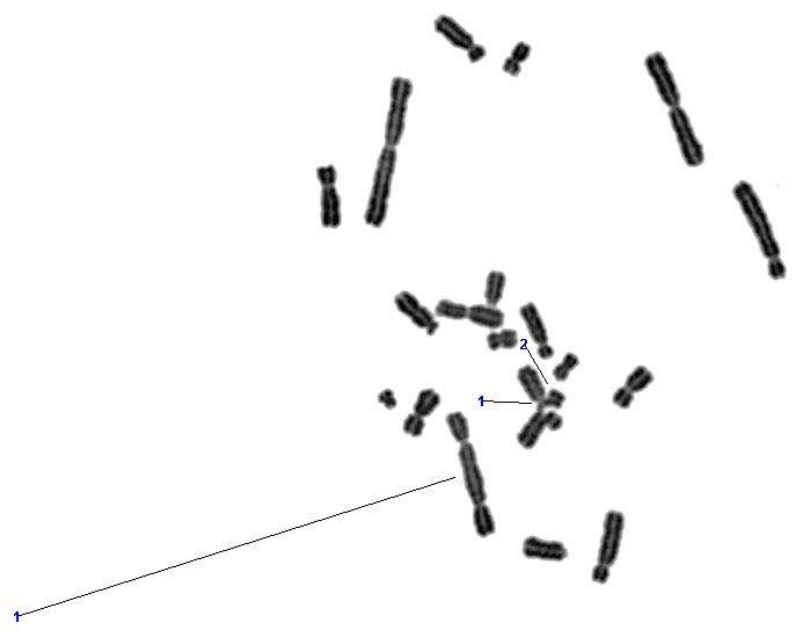
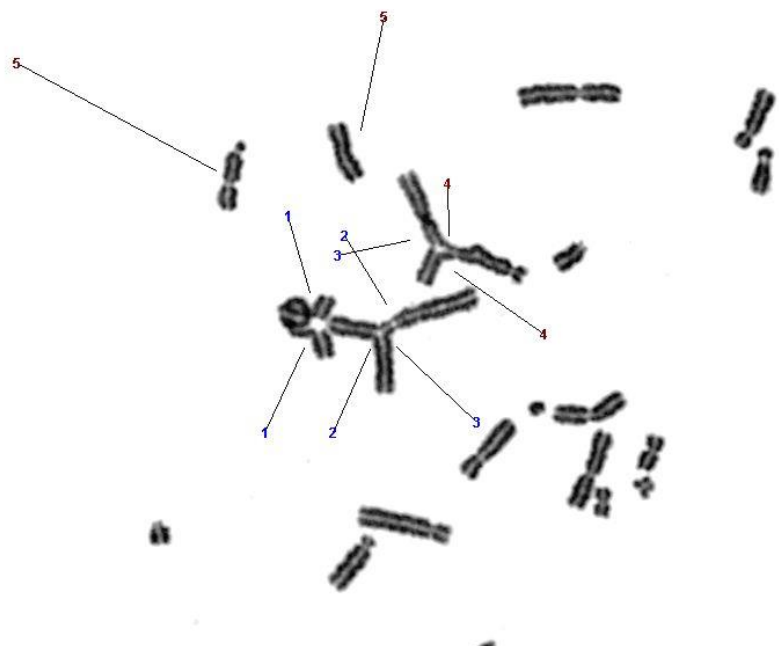
Ένα άλλο ενδιαφέρον μέγεθος είναι το διακριτικό όριο, που δίνεται από τη σχέση:

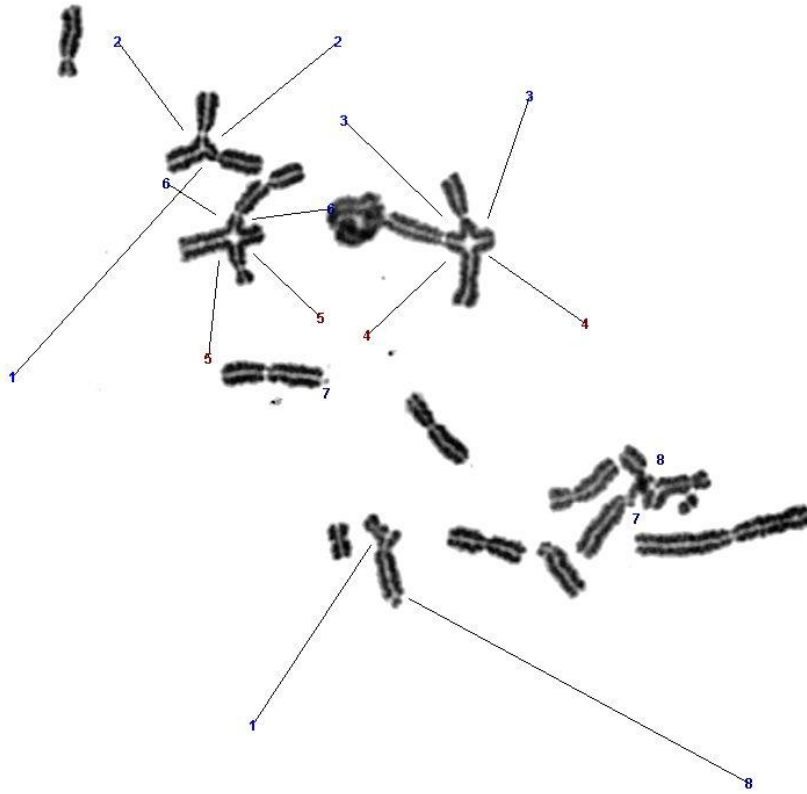
$$R = 0.61 \frac{\lambda}{A}$$

όπου λ είναι το μήκος κύματος του χρησιμοποιούμενου φωτός στο κενό και A το αριθμητικό άνοιγμα του φακού.

Για να πετύχουμε ικανοποιητικό διακριτικό όριο χρησιμοποιήσαμε καταδυτικό φακό και κοδρέλαιο (υλικό με δείκτη διάθλασης 1,5). Τα αντικείμενα που μπορούν να παρατηρηθούν με το οπτικό μικροσκόπιο μπορούν να είναι διαμέτρου 1-60μm περίπου, έτσι ώστε να είναι δυνατός ο φωτισμός τους. Επειδή τα πιο πολλά κύτταρα είναι διαφανή στο φως, δε διακρίνονται, οπότε γι αυτό χρωματίζονται.

Η ανάλυση των χρωμοσωμικών παρασκευασμάτων γίνεται σε μικροσκόπιο Nikon Microphot - FXA. Χρησιμοποιήσαμε το σύστημα IKAROS (Metasystems), έτσι ώστε να αναλυθούν, να αποθηκευτούν και να ταξινομηθούν τα αποτελέσματα που αφορούν αλλοιώσεις τύπου χρωματίδης. [1]





Εικόνα 3.2 Χρωματιδικές αλλοιώσεις σε κύτταρα CHO μετά από ακτινοβόληση με 1 Gy με ασωματίδια 24h μετά την ακτινοβόληση.

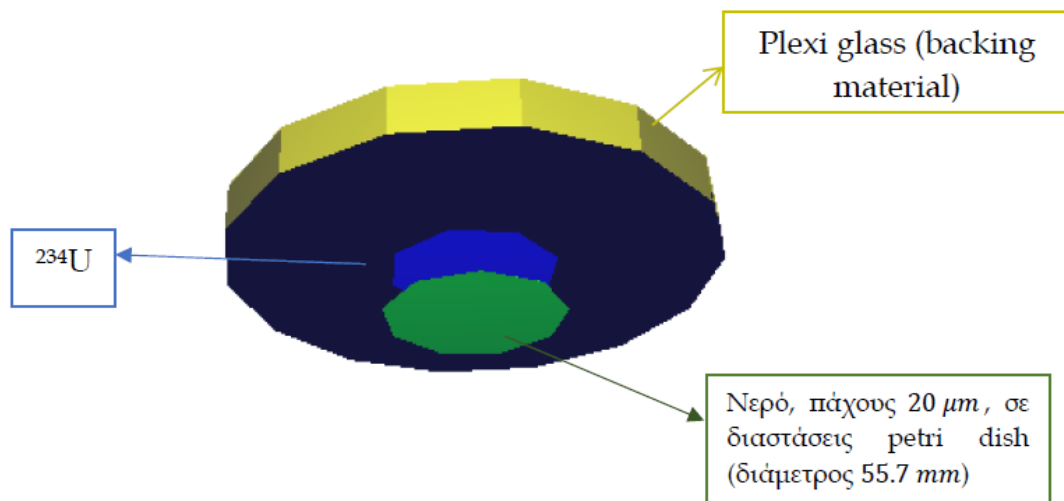
4. Η πειραματική διαδικασία

4.1 Η συσκευή ακτινοβόλησης σωματιδίων α [38]

Η πηγή που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διάταξη της παρούσας εργασίας είναι μία ραδιενεργός πηγή ^{234}U άλφα σωματίων. Είναι στην μορφή λεπτού δίσκου, διαμέτρου 5.2 cm πάνω σε 100 μm υποστρώματος αλουμινίου (backing material). Παράχθηκε μέσω τεχνικής χρώσης στο Institute of Physics and Power Engineering (IPPE) στο Obninsk της Ρωσίας και στο Joint Institute of Nuclear Research (JINR) στην Dubna, περιοχή κοντά στην Μόσχα της Ρωσίας. Η πηγή μπορεί να ακτινοβολεί και από τις δύο πλευρές τις (2a, 2b). Η πλευρά που χρησιμοποιήθηκε ήταν η 2b αφού εκεί παρατηρείται η μεγαλύτερη τιμή ενεργότητας της τάξης των $0.77 \pm 0.03 \text{ MBq}$, έναντι $0.69 \pm 0.31 \text{ MBq}$ της 2a πλευράς. Τα άλφα σωματίδια που εκπέμπονται από την πηγή έχουν μέση ενέργεια 4.9 MeV. Η πηγή είναι στην μορφή του οξειδίου U_3O_8 , με χρόνο ημιζωής τα $2.455 \cdot 10^5$ χρόνια και μέση επιφανειακή πυκνότητα ατόμων $390 \pm 50 \text{ atoms/cm}^2$. Συνολικά, τα χαρακτηριστικά της πηγής περιγράφονται στον παρακάτω πίνακα

	^{234}U
Οξείδιο	U_3O_8
Διάμετρος (cm)	5.2
Χρόνος ημιζωής (yr)	$2.455 \cdot 10^5$
Ολική ενεργότητα (Bq)	765146 ± 34839
Μέση επιφανειακή πυκνότητα ατόμων (atoms/cm^2)	390 ± 50
Μάζα (mg)	2.87 ± 0.06

Η πειραματική διάταξη αποτελείται από τρία κομμάτια plexi glass διαμέτρου 150 mm και πάχους 14.7 mm το καθένα. Συνολικά τα κομμάτια αυτά δημιουργούν μια κυλινδρική διάταξη ύψους 44.1 mm. Το πάνω κομμάτι λειτουργεί σαν «καπάκι» και είναι στην μορφή δίσκου, με τις προαναφερθείσες διαστάσεις. Το δεύτερο κομμάτι plexi glass είναι κυλινδρικής μορφής, με εξωτερική διάμετρο 150 mm και εσωτερική 120 mm. Η πηγή είναι στερεωμένη ανάμεσα στο πάνω κομμάτι και στο δεύτερο με τρεις βίδες. Στο μεσαίο κυλινδρικό κομμάτι plexi glass δημιουργήθηκε ένα άνοιγμα 77.5 mm έτσι ώστε να εισάγεται το τρυβλίο με τα κύτταρα για τις ακτινοβολήσεις. Τέλος, στο τρίτο κομμάτι plexi glass, που αποτελεί την βάση της πειραματικής διάταξης, δημιουργήθηκε μία βάση βάθους 1.5 mm και διαμέτρου 55.7 mm για να στερεώνεται το τρυβλίο ακριβώς κάθετα στην πηγή.



Εικόνα 4.1.1: Σχηματική απεικόνιση της διάταξης μέσω Visual Editor



Εικόνα 4.1.2: Φωτογραφία της πειραματικής διάταξης

Έτσι, σύμφωνα με τα παραπάνω, στις προσομοιώσεις, το νερό τοποθετήθηκε σε απόσταση 14.8 mm από την πηγή, με ίδιο πάχος (20 μm). Η απόσταση πηγής και νερού είναι 14.8 mm αφού έχουμε: 1.4 mm το μέσο πάχος του πάτου ενός τρυβλίου σε βάση βάθους 1.5 mm και άρα 0.1 mm + 14.7 mm = 14.8 mm η συνολική απόσταση.

Απόσταση νερού-πηγής (cm)	Εναπόθεση ενέργειας (MeV/gram)	Δόση (Gy/particle)	Δόση (Gy/sec)	Secs of radiation	Mins of radiation
1.48	10.1	$1.62 \cdot 10^{-9}$	0.0013	806	13.4

Πίνακας 4.1.1: Υπολογισμός της ενέργειας που εναποτίθεται σε νερό 20 μm σε απόσταση 1.48 cm από την πηγή καθώς και του απαιτούμενου χρόνου ακτινοβολήσης για δόση 1 Gy.

4.2 Κυτταρική σειρά CHO

Για τα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν κυτταρικές σειρές CHO (Chinese Hamster Ovary). Τα CHO κύτταρα προέρχονται από το επιθήλιο Κινεζικών Χάμστερ και χρησιμοποιούνται συχνά για βιολογικά και ιατρικά πειράματα από τις αρχές του 20^{ου} αιώνα. Από το 1957 χρησιμοποιούνται ως κυτταρική σειρά, με διάφορες τροποποιήσεις, λόγω της άμεσης ανάπτυξης και υψηλής παραγωγής πρωτεΐνης που παρουσιάζουν.

4.3 Πρωτόκολλο πειράματος

Διεξήχθησαν πειράματα ακτινοβολήσης κυτταρικών σειρών CHO με σκοπό την ανίχνευση βλαβών στο DNA 5h και 24h μετά από την ακτινοβολήση με σωματίδια α. Η ακτινοβολήση πραγματοποιήθηκε στο κτίριο Φυσικής του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου στο εργαστήριο που βρίσκεται η συσκευή σωματιδίων α και η καλλιέργεια και ανάλυση έγινε στο Ινστιτούτο Υγειοφυσικής του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος».

Κάθε τρυβλίο με κύτταρα CHO παρέμεινε στη συσκευή για 13,4min, ώστε, σύμφωνα και με τον πίνακα 4.1.1, να λάβει 1Gy. Η συσκευή απολυμάνθηκε και τοποθετήθηκε μέσα στον κλίβανο σταθερών συνθηκών θερμοκρασίας, υγρασίας, συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα. Πριν την ακτινοβολήση κάθε τρυβλίου, αφαιρέθηκε το θρεπτικό υλικό, ώστε να ακτινοβοληθούν τα κύτταρα, καθώς η ακτινοβολία α δεν είναι διεισδυτική. Έπειτα από την ακτινοβολήση, προστέθηκε νέο θρεπτικό υλικό. Σημειώνουμε, ότι και από τα τρυβλία control, αυτά δηλαδή που δεν ακτινοβολήθηκαν, αφαιρέθηκε το θρεπτικό υλικό στον κλίβανο για χρόνο ίσο με αυτόν που ακτινοβολήθηκαν τα υπόλοιπα τρυβλία (13,4min).

Μετά την ακτινοβολήση, στο εργαστήριο Υγειοφυσικής, απομακρύνεται το θρεπτικό υλικό. Προστίθενται 5ml νέο θρεπτικό υλικό Mc Coy's medium που περιέχει 10% εμβρυϊκό ορό μόσχου (F.C.S.), 1% γλουταμίνη (Glu), 1% αντιβιοτικά (P.S.) και 50ml colcemid και τα τρυβλία τοποθετούνται σε κλίβανο συνθηκών 37°C θερμοκρασία, 95% αέρα, 5% CO₂, 100% υγρασία και για 5h. Η συγκεκριμένη θερμοκρασία είναι απαραίτητη για την επιτάχυνση των κυττάρων στον κυτταρικό τους κύκλο, ενώ το 5% CO₂ στον αέρα απαιτείται για τη διατήρηση του pH μεταξύ 6,8 και 7,2 ώστε να είναι εφικτή η ανάπτυξη των κυττάρων. Τα αντιβιοτικά, όπως η πενικιλίνη, η στρεπτομυκίνη, δρουν ανασταλτικά στις τυχόν μολύνσεις, ενώ η γλουταμίνη ως αμινοξύ δρα σαν βοηθητικός παράγοντας για τις διάφορες κυτταρικές διεργασίες.

Μετά τις 5h, με πιπέτα παίρνουμε το υπερκείμενο από το κάθε τρυβλίο και το βάζουμε σε σωλήνα στον οποίο έχει σημειωθεί ποίου τρυβλίου τα κύτταρα φέρει. Στο τρυβλίο τοποθετούμε τρυψίνη κι ανακινούμε. Βάζουμε κι αυτήν την τρυψίνη στο σωλήνα. Ξαναβάζουμε τρυψίνη στο τρυβλίο και το αφήνουμε στον κλίβανο λίγα λεπτά προκειμένου να ξεκολλήσουν τα κύτταρα από τον πάτο. Βάζουμε με πιπέτα λίγο υλικό από το σωλήνα στο δισκίο κι ανακινώ πριν το ξαναβάλουμε πίσω στο σωλήνα.

Οι σωλήνες τοποθετούνται στη φυγόκεντρο για 10min στις 1200 στροφές.

Μετά τη φυγοκέντρωση, απομακρύνουμε το υπερκείμενο και προσθέτουμε σταδιακά υπότονο διάλυμα KCl 0.075M. Αυτό συμβαίνει γιατί το διάλυμα που βάζουμε, ως υπότονο, έχει χαμηλότερη τιμή ωσμωτικής πίεσης σε σχέση με το εσωτερικό του κυττάρου. Για να επιτευχθεί η εξίσωση των πιέσεων εντός κι εκτός κυττάρου, αυτό λαμβάνει νερό με τη βοήθεια της ημιπερατής μεμβράνης και το κύτταρο διογκώνεται χωρίς να διαρραγεί η μεμβράνη του και ταυτόχρονα τα χρωμοσώματά του απλώνονται και γίνονται ορατά σχεδόν χωρίς το ένα να επικαλύπτει το άλλο. Επαναλαμβάνεται η διαδικασία φυγοκέντρωσης.

Αποχύνουμε το υπερκείμενο διάλυμα και αφήνουμε περίπου 0,5ml, στα οποία επαναιωρούνται τα κύτταρα. Ακολουθεί η διαδικασία μονιμοποίησης, η οποία είναι απαραίτητη για να σταθεροποιηθούν τα διογκωμένα κύτταρα, Ο μονιμοποιητής (fixative) αποτελείται από μεθανόλη και οξικό οξύ με αναλογία 3:1 v/v. Στα κύτταρα που έχουν απομείνει στο αιώρημα προσθέτουμε 100ml μονιμοποιητή, στην αρχή σταγόνα-σταγόνα και αναδεύοντας με ελαφρές κινήσεις το σωλήνακαλλιέργειας και μετά με μεγαλύτερες ποσότητες και αναδεύοντας.

Τα μονιμοποιημένα κύτταρα τοποθετούνται για φυγοκέντρωση (1200 στροφές/min) για 10min. Αποχύνουμε πάλι το υπερκείμενο αφήνοντας περίπου 0,5ml και ακολουθεί η διαδικασία μονιμοποίησης για ακόμα δύο φορές. Συνολικά εκτελούμε τη διαδικασία μονιμοποίησης τρεις φορές. Μετά από την τελευταία φορά, και αφού αποχύσουμε το υπερκείμενο, «πλένουμε» τα κύτταρα με 6ml φρέσκο μονιμοποιητή και τέλος επαναιωρούνται σε διάλυμα 0,3-0,6ml.

Εν συνεχεία, τα κύτταρα στρώνονται σε αντικειμενοφόρες πλάκες. Αν υπάρχει χρόνος, αφήνουμε τα κύτταρα 24h με τον μονιμοποιητή πριν τα στρώσουμε. Με τη βοήθεια μιας πιπέτας παίρνουμε τα κύτταρα από τους σωλήνες καλλιέργειας στάλα-στάλα, τα τοποθετούμε πάνω στις αντικειμενοφόρες πλάκες, στις οποίες πριν έχουμε δημιουργήσει με τη βοήθεια μιας υγρής χαρτοπετσέτας ένα λεπτό στρώμα (φιλμ) νερού. Αναγράφεται η ημερομηνία παρασκευής τους και ο κωδικός καλλιέργειας στην οποία αντιστοιχούν πάνω στις πλάκες.

Η ποιότητα των παρασκευασμάτων ελέγχεται με φωτεινό μικροσκόπιο αντίθετης φάση και στη συνέχεια οι πλάκες βάζονται. Σε δοχείο χρώσης ειδικής κατασκευής με υποδοχές για να τοποθετούνται οι πλάκες προστίθενται 2ml χρωστικής Giemsa σε περίπου 50ml

ρυθμιστικού διαλύματος Sorensen. Για να φτιάξουμε το ρυθμιστικό Sorensen's phosphate buffer με pH=6,8 στους 20°C αναμιγνύουμε 50ml Na₂HPO₄ συγκέντρωσης 1:15 M=0,06M και 50ml KH₂PO₄ συγκέντρωσης 1:15 M=0,06M. Για το βάψιμο των πλακών τοποθετούμε αυτές μέσα στο ειδικό δοχείο και περιμένουμε 10min για να βαφτούν. Κατόπιν τις πλένουμε σε νερό βρύσης και τις αφήνουμε να στεγνώσουν σε συνθήκες δωματίου.

Για να προστατεύσουμε τα παρασκευάσματα επικολλάμε καλυπτρίδες. Τις επικολλάμε πάνω στις πλάκες με Entelan medium, έτσι ώστε όταν έρθει σε επαφή η πλάκα με το φακό του μικροσκοπίου, να μην καταστραφούν τα κύτταρα που υπάρχουν πάνω στην πλάκα.

Οι μετρήσεις που έγιναν αφορούν το πλήθος των θραυσμάτων κλώνου DNA, των δικεντρικών χρωμοσωμάτων, των ακεντρικών θραυσμάτων και των triradials σε κάθε μετάφραση που ανιχνεύεται.

Induction of Chromosome Aberrations in CHO-K1 Cells

Radiation	Dose (Gy)	Cells counted	Dicentrics	Centric rings	Acentric rings	Terminal deletions
Gamma rays	0	100	0	0	0	0
Gamma rays	2	100	0.19	0.02	0.23	0.04
Gamma rays	4	100	0.44	0.03	0.47	0.02
Gamma rays	6	100	0.85	0.06	1.87	0.14
Alpha particles	0	100	0	0	0	0
Alpha particles	0.5	100	0.30	0.08	0.24	0.03
Alpha particles	1	100	0.40	0.07	0.55	0.12

Πίνακας 4.3.1 : Επαγωγή χρωμοσωμικών αλλοιώσεων σε κύτταρα CHO-K1 [41]

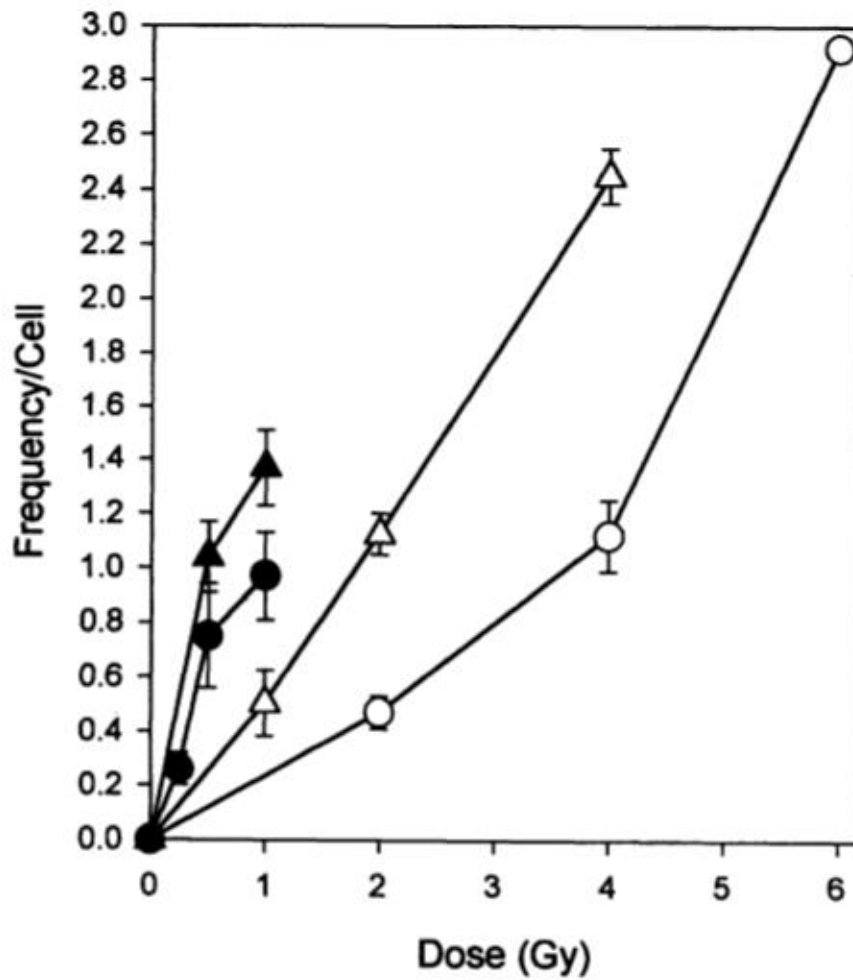


FIG. 1. Induction of chromosome aberrations by γ rays (\circ , Δ) or α particles (\bullet , \blacktriangle) in CHO-K1 (\circ , \blacktriangle) and xrs-5 (Δ , \bullet) cells exposed in G_1 phase.

Γράφημα 4.3.1: Επαγωγή χρωμοσωμικών θραυσμάτων από γ ακτινοβολία και α -σωματίδια σε κύτταρα CHO-K1 και xrs-5 που εκτέθηκαν κατά την G_1 φάση. [41]

Table 1
Induction of chromosomal aberrations by alpha radiation in wild-type CHO cells^a

Dose (cGy)	Total number of cells scored	Number of aberrations scored	Chromatid-type		Chromosome-type		Aberrations per cell		
			Number of breaks	Number of exchanges	Number of breaks	Number of rings and dicentrics	Chromatid-type	Chromosome-Type	Total type
0	265	5	5	0	0	0	0.019	0	0.019
0.17	53	2	2	0	0	0	0.038	0	0.038
0.33	53	4	3	0	1	0	0.057	0.019	0.076
0.5	53	4	1	1	1	1	0.038	0.038	0.076
0.83	53	5	2	1	2	0	0.057	0.038	0.095
1.7	212	30	13	0	9	8	0.061	0.080	0.14
2.5	53	10	5	0	3	2	0.094	0.094	0.19
5	212	55	13	7	22	13	0.094	0.17	0.26
7.5	53	13	4	2	5	2	0.11	0.13	0.24
10	212	72	15	4	25	28	0.090	0.25	0.34
20	212	85	21	4	28	32	0.12	0.28	0.40
30	212	131	30	4	53	44	0.16	0.46	0.62
50	159	134	24	5	56	49	0.18	0.66	0.84
100	159	181	40	1	70	70	0.26	0.88	1.1
200	159	321	78	14	132	97	0.58	1.4	2.0

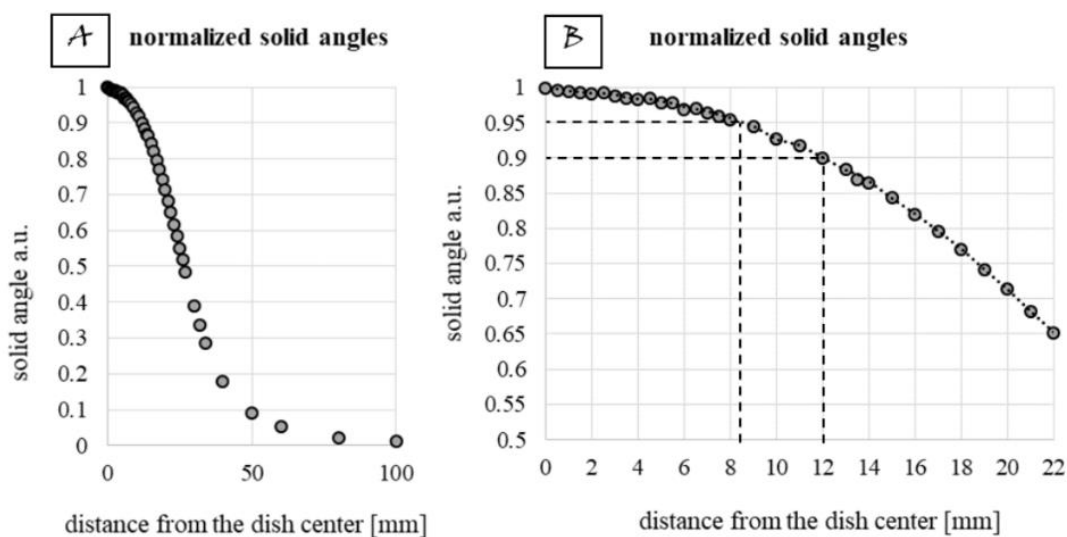
^a Data pooled from 1 to 5 separate experiments.

Πίνακας 4.3.2: Επαγωγή χρωματιδικών αλλοιώσεων από α-σωματίδια σε CHO κύτταρα. [42]

5. Αποτελέσματα

5.1 Ομοιογένεια ακτινοβολήσης

Η ομοιογένεια της ακτινοβολήσης μελετήθηκε με *fast Monte Carlo Simulations* χρησιμοποιώντας το *Sacalc3v1.4 open source software developed by R. Witcher*. Για τη δεδομένη γεωμετρία της πηγής και τη θέση και το μέγεθος του ανιχνευτή δόθηκε μια προσέγγιση της στερεάς γωνίας που υπόκειται το δείγμα κατά την ακτινοβολήση σε κενό. Προσομοιώσεις έγιναν για διάφορες αποστάσεις, συμπεριλαμβανομένης της περιοχής πέρα των τοιχών του δισκίου *petri*, μέχρι η *effective angle* να φτάσει τη μέγιστη τιμή.



Γράφημα 5.1.1: Α) Κανονικοποιημένη στερεά γωνία για τη γεωμετρία του συστήματός μας τοποθετώντας τον ανιχνευτή σε διάφορες αποστάσεις από το κέντρο της ακτινοβολούμενης περιοχής
Β) Το ίδιο γράφημα, που κατασκευάστηκε η γραφική μόνο για την πραγματικά ακτινοβολούμενη περιοχή

Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί πως το πραγματικό μήκος διαδρομής των ασωματιδίων είναι 14,8mm σε ξηρό αέρα.

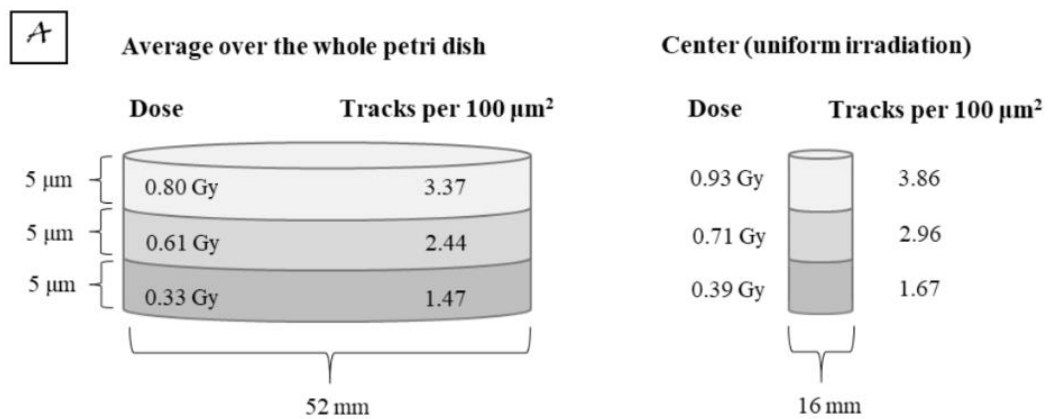
Όπως φαίνεται στο γράφημα, εμφανίζεται σφάλμα 5% στο 8° mm από το κέντρο και 10% στο 12° mm. Με αριθμητική ανάλυση δόθηκε η σχέση μεταξύ δόσης στο κέντρο, d_c , και μέσης δόσης, \bar{d} , για δισκίο petri διαμέτρου 54mm.

$$d_c = 1.169\bar{d}$$

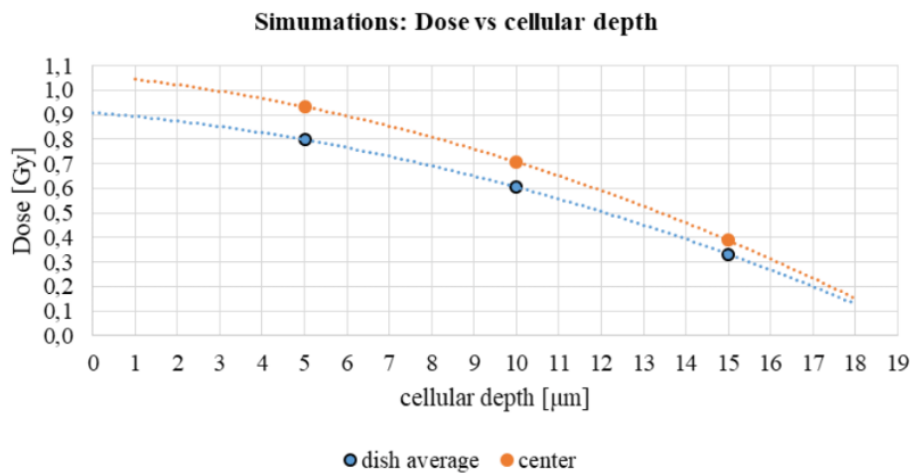
Στο ακόλουθο γράφημα απεικονίζεται η εξάρτηση της δόσης για χρόνο ακτινοβόλησης 13'26" από το βάθος του νερού.

Στο νερό υπολογίζεται το υπολοιπόμενο στο δισκίο υλικό της καλλιέργειας και το κυτταρικό υγρό.

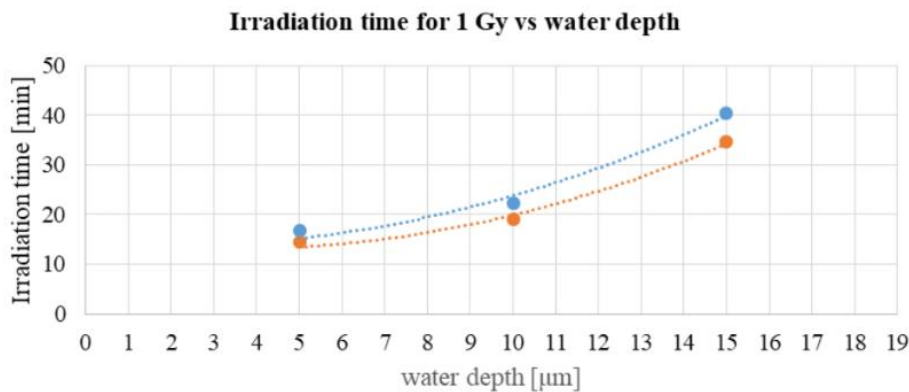
Προσομοιώσεις MCNP έγιναν για όλη την επιφάνεια του δισκίου. Τα αποτελέσματα αυτά ανάγονται για την περιοχή του κέντρου, που η ακτινοβόληση είναι ομοιογενής.



β



γ



Γράφημα 5.1.2: Εξάρτηση δόσης από το βάθος του νερού (για χρόνο ακτινοβολήσης 13'26"). Το νερό προσομοιάζει και το παραμένον υλικό της καλλιέργειας και το κυτταρικό υλικό.

A) Απεικόνιση του δισκίου πετρί (αριστερά) και της καλυπτρίδας (δεξιά).

B) Δόση συναρτήσεως του βάθους (κύτταρο ή νερό).

Γ) Χρόνος ακτινοβολήσεως που απαιτήθηκε για να επιτευχθεί δόση 1Gy συναρτήσεως του βάθους σε νερό.

5.2 Δικεντρικά χρωμοσώματα στη βιοδοσιμετρία

Τα δικεντρικά χρωμοσώματα είναι ο τύπος αλλοιώσεων που χρησιμοποιείται πιο συχνά στη βιοδοσιμετρία. Δικεντρικό ονομάζεται το αλλοιωμένο χρωμόσωμα που φέρει δύο κεντρομερή που προέρχονται από λανθασμένη διόρθωση σπασμένων χρωμοσωμάτων (IAEA 2011). Ο ISO το 2014 δέχτηκε τη DCA (Dicentric Chromosome Analysis) ως παγκόσμια σταθερά για εργαστήρια που κάνουν ραδιοβιολογική δοσιμετρία.

Η τεχνική DCA είναι πολύ χρήσιμη όταν πρόκειται για εκτίμηση περιπτώσεων πιθανής ή επιβεβαιωμένης έκθεσης σε ακτινοβολία, όπως κι εκτίμηση δόσης απουσία φυσικού

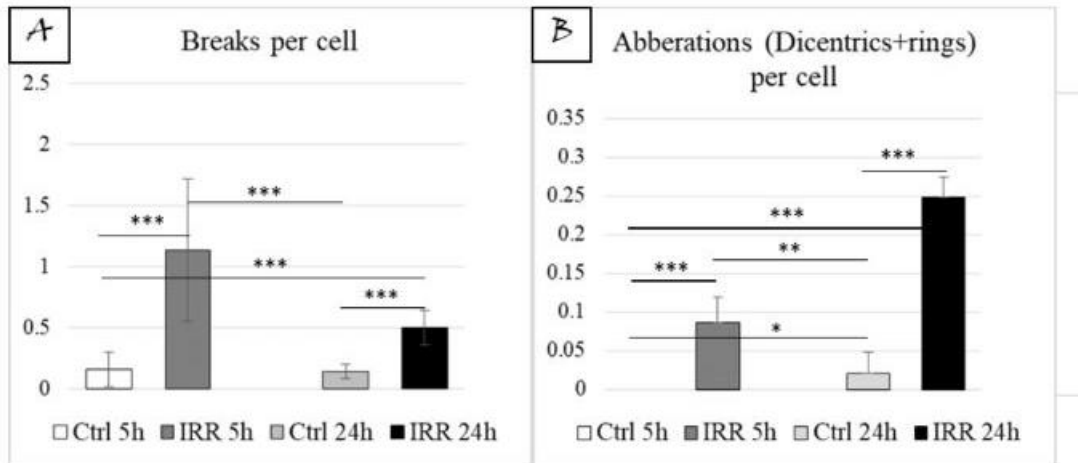
δοσιμέτρου. Παρόλο που η ακτινοβολία προκαλεί πολλών τύπων χρωμοσωμικές αλλαγές, πέρα από τα δικεντρικά χρωμοσώματα, η ανάλυση δικεντρικών θεωρείται η καλύτερη για την αξιολόγηση της δόσης ακτινοβολίας. Τέλος, αυτή η ανάλυση είναι ταυτόχρονα ακριβής και ευαίσθητη ακόμα και για έκθεση σε χαμηλές δόσεις.

5.3 Πειραματικά δεδομένα κι επεξεργασία

Συνοπτικά, από τα πειράματα βρέθηκε πως ο αριθμός χρωμοσωμικών θραύσεων είναι μεγαλύτερος 5h μετά την ακτινοβολήση απ' ό τι μετά από 24h, επιβεβαιώνοντας έτσι πως αυτού του τύπου οι βλάβες προέρχονται από την ύστερη S ή G₂ φάση του κυτταρικού κύκλου, όταν, δηλαδή, τα κύτταρα έχουν ήδη διπλασιαστεί. Εφόσον το time point των 24h αφορά κυρίως κύτταρα που ακτινοβολήθηκαν στην G₁ ή πρώιμη S φάση, όταν, δηλαδή, δεν έχει προηγηθεί διπλασιασμός, τα ευρήματά μας σχετικά με χρωμοσωμικού τύπου αλλοιώσεις είναι συμβατά με τη θεωρία και προηγούμενες παρατηρήσεις (Nagasawa 2002)[41].

	control 5h				1Gy 5h			
	breaks	dicentrics/rings	fragments	triradials	breaks	dicentrics/rings	fragments	triradials
average	0,160	0,000	0,000	0,000	1,097	0,090	0,180	0,337
error (1/N)	0,010				0,006			
sum	16,000	0,000	0,000	0,000	393,000	30,000	61,000	132,000
st dev	0,418	0,000	0,000	0,000	2,391	0,353	0,509	1,103

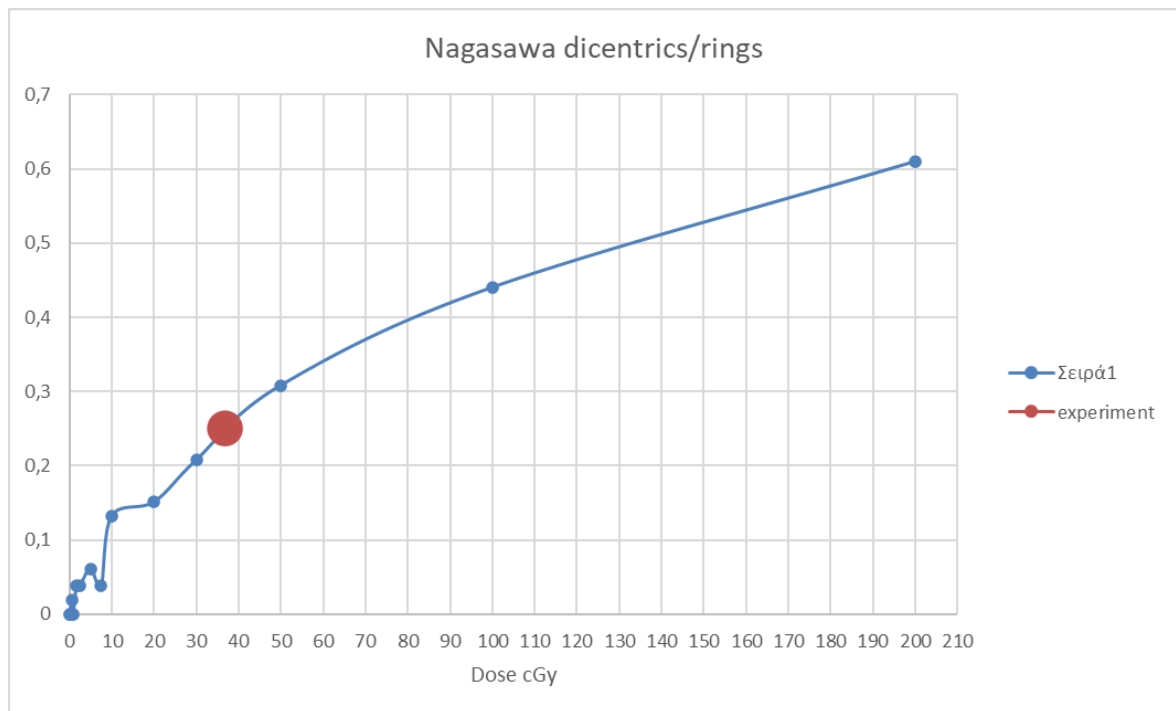
	control 24h				1Gy 24h			
	breaks	dicentrics/rings	fragments	triradials	breaks	dicentrics/rings	fragments	triradials
average	0,140	0,020	0,020	0,230	0,590	0,258	0,783	1,324
error (1/N)	0,010				0,004			
sum	14,000	2,000	2,000	23,000	290,000	130,000	382,000	600,000
st dev	0,375	0,140	0,140	1,612	0,998	0,527	1,315	2,731



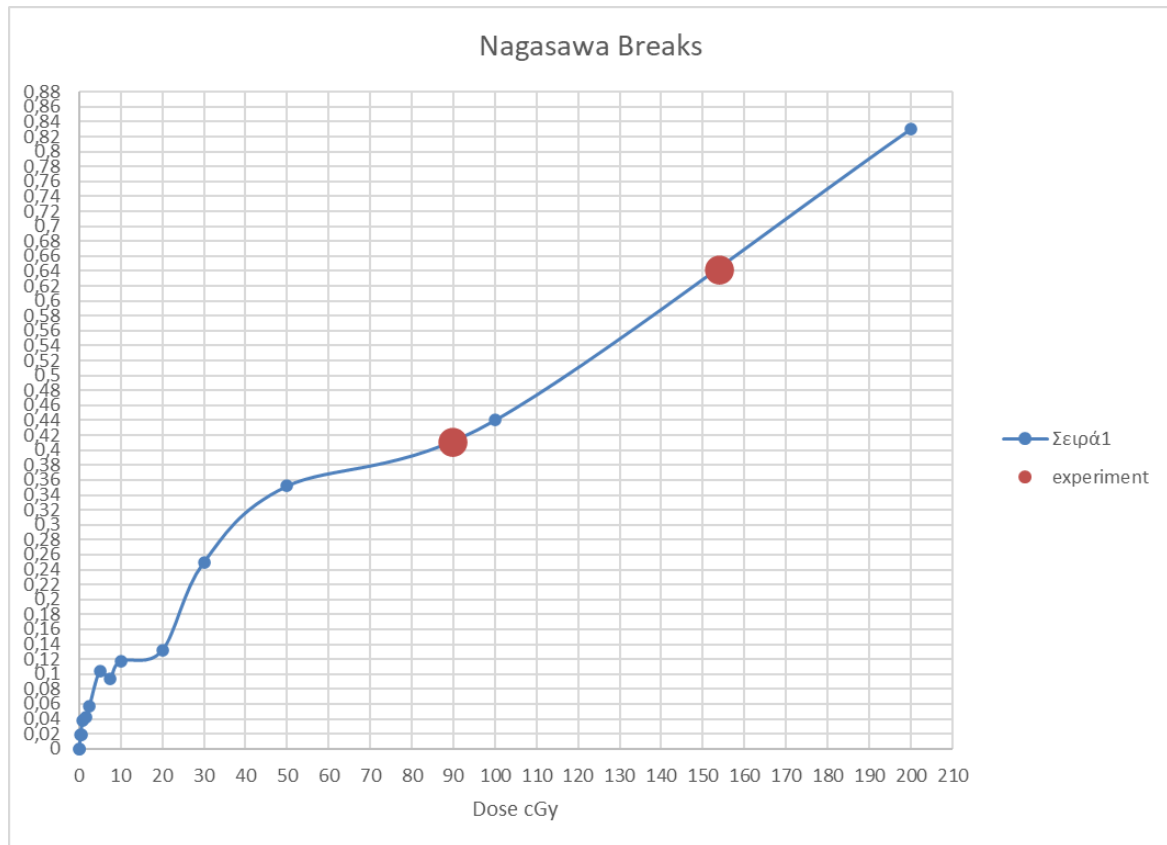
Γράφημα 5.3.1: Γραφική αναπαράσταση χρωμοσωμικών αλλοιώσεων που μετρήθηκαν στα time-points 5h και 24h μετά την ακτινοβόληση με α-σωματίδια για 13'26".

A. Χρωμοσωμικά θραύσματα, B. Αλλοιώσεις (Δικεντρικά χρωμοσώματα και δακτύλιοι), C: Χρωμοσωμικές ανταλλαγές

Τα p-values συμβολίζονται ως: * για $p < 0.5$, ** για $p < 0.01$, *** για $p < 0.001$ και **** για $p < 0.0001$



Γράφημα 5.3.2: Γραφική αναπαράσταση δεδομένων από Nagasawa [41] και πειραματικό σημείο από τα δικά μας δεδομένα πάνω στην καμπύλη για δικεντρικά χρωμοσώματα/δακτύλιους.



Γράφημα 5.3.3: Γραφική αναπαράσταση δεδομένων από Nagasawa [41] και πειραματικό σημείο από τα δικά μας δεδομένα πάνω στην καμπύλη για χρωμοσωμικές θραύσεις.

Στα δεδομένα που παρουσιάζονται εφαρμόστηκε *student's t-test* ώστε να διαπιστωθεί αν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των *control* και των *time points* 5h και 24h, όπου όλα τα δείγματα θεωρήθηκαν *one-tailed* κατανομές.

Σε ό,τι αφορά τα *breaks*, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά τόσο ανάμεσα στις 5 ώρες και στο *control* ($p < 0.0001$) όσο και ανάμεσα στις 24 ώρες και στο *control* (< 0.001). Για τον αριθμό των δικεντρικών χρωμοσωμάτων, υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις 24 ώρες και στο *control*. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο παρακάτω γράφημα.

Το γράφημα αφορά τα πειραματικά αποτελέσματα. Οι χρωμοσωμικές αλλοιώσεις (δικεντρικά χρωμοσώματα και δακτύλιοι) για 24h μετά την ακτινοβόληση βρέθηκαν $0,25 \pm 0,03$ per cell. Στη βιβλιογραφία (Nagasawa et al 2002) βρέθηκε για 1Gy ακτινοβολίας $\sim 0,44$ αλλοιώσεις per cell, που στην περίπτωσή μας αντιστοιχεί σε 0,57Gy. Από το γράφημα του 5.1 βλέπουμε πως τα 0,57Gy τα λαμβάνει όγκος που βρίσκεται σε βάθος 10μm, δηλαδή ότι τα κύτταρα έχουν εναπομείναν υγρό καλλιέργειας κατά την ακτινοβόληση πάχους περίπου 7-8μm (θεωρούμε πάχος κυττάρων CHO περί τα 3μm).

6. Συμπεράσματα

Δεδομένου πως η βραχυθεραπεία είναι ένας πολύ σημαντικός κλάδος στην θεραπεία του καρκίνου, από την πλευρά της φυσικής είναι σημαντικό κι εμφανίζει ενδιαφέρον να υπάρξει περεταίρω μελέτη πάνω στα α -σωματίδια και στη συμπεριφορά κυττάρων έπειτα από ακτινοβολήση με αυτά, που είναι δύσκολο λόγω της μικρής διεισδυτικότητας που εμφανίζουν.

Παρά τη δυσκολία αυτή, όμως, η ικανότητά τους να σκοτώνουν τα κύτταρα διασχίζοντας τον πυρήνα τους, λόγω του μεγέθους τους, τα καθιστά εξαιρετικά αποδοτικά για θεραπευτικούς σκοπούς. Κάτι που πρέπει να τονιστεί για τη θεραπεία με α -σωματίδια και είναι και η μεγάλη τους διαφορά σε σχέση με θεραπεία με ακτίνες γ , είναι πως η βιολογική τους αποτελεσματικότητα δεν καθορίζεται τόσο έντονα από το στάδιο του κυτταρικού κύκλου στο οποίο βρέθηκε το κύτταρο που δέχτηκε την ακτινοβολία α . Τη διαφορά που υπάρχει ανάλογα τη φάση του κυτταρικού κύκλου στην οποία βρέθηκε το κύτταρο κατά την ακτινοβολήση την επιβεβαιώσαμε στα αποτελέσματά μας, εφόσον στο πρώτο *time-point* των 5h μετά την ακτινοβολήση βρέθηκαν περισσότερα χρωμοσωμικά θραύσματα σε σχέση με το *time-point* των 24h, επιβεβαιώνοντας πως αφορά βλάβες στην ύστερη S ή G₂ φάση, όταν δηλαδή το DNA έχει ήδη διπλασιαστεί. Αυτό συμβαίνει επειδή τότε υπάρχουν και τα δύο αντίγραφα κάθε χρωματίδας τα οποία και αποτελούν πιθανό στόχο των σωματίων α ώστε να προκληθεί θραύση. Κάποιο μικρό ποσοστό των κυττάρων, έφτασε στη μίτωση από την S-φάση στις 5 ώρες μετά την ακτινοβολήση κι εκεί οφείλονται οι ανταλλαγές χρωμοσωμικού υλικού μεταξύ των διαφορετικών χρωμοσωμάτων της S-φάσης (*triradials*). Στο *time-point* 24h έχουμε κυρίως κύτταρα που ακτινοβολήθηκαν κατά την G₁ ή πρώιμη S φάση και παρατηρήσαμε περισσότερα δικεντρικά χρωμοσώματα και δακτυλίους. Τα δικεντρικά χρωμοσώματα ήταν περισσότερα σε αριθμό στα κύτταρα που έφτασαν και αναλύθηκαν στη μετάφαση 24 ώρες μετά την ακτινοβολήση, όπως ήταν αναμενόμενο. Αυτό συμβαίνει γιατί ο σχηματισμός των δικεντρικών οφείλεται σε ανταλλαγές γενετικού υλικού μεταξύ δύο χρωμοσωμάτων όταν αυτά είναι μονοχρωματιδικά, όπως στη G₁ φάση.

Η ιοντίζουσα ακτινοβολία προκαλεί χρωμοσωμικές βλάβες όπως δικεντρικά χρωμοσώματα (*dicentric*s), αναστροφές και δακτυλιοειδή χρωμοσώματα (*rings*) στις φάσεις G₀ και G₁ (πριν τον πολλαπλασιασμό), ενώ βλάβες στις χρωματίδες, όπως σπασίματα (*breaks*) και κενά (*gaps*) παρουσιάζονται κυρίως στη φάση G₂, ενώ στην S-φάση συναντούμε όλα τα είδη των αλλοιώσεων, σε μία ή και στις δύο χρωματίδες ανάλογα με το αν η συγκεκριμένη περιοχή του γονιδιώματος είχε αναδιπλασιαστεί ή όχι. Στην παρούσα εργασία οι χρωμοσωμικές αλλοιώσεις ήταν περισσότερες όταν εξετάστηκαν κύτταρα που ακτινοβολήθηκαν στην G₁ φάση του κυτταρικού κύκλου (στο δεύτερο σημείο ελέγχου των 24 ωρών), όπως προβλέπει η θεωρία.

Τα αποτελέσματα αυτά είναι σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, όπου σε μία μόνο μετάφραση μπορούν να παρατηρηθούν ταυτόχρονα πολλές και διαφορετικές βλάβες (βλάβες στο DNA όπως DSBs, clustered DNA lesions, complex lesions) που προκαλούν ποικίλες και πολύπλοκες χρωμοσωμικές ανακατατάξεις και αλλοιώσεις, αποτελώντας την "υπογραφή" της δράσης των ακτινοβολιών υψηλού LET γενικότερα και άρα και άλφα ακτινοβολίας. Αξίζει να σημειωθεί πως σε προηγούμενες δημοσιεύσεις όπου συγκρίνονται η άλφα και η X ακτινοβολία, βρέθηκε πως η μέση συχνότητα εμφάνισης χρωμοσωμικών αλλοιώσεων σε κύτταρα ήταν 1.87 για την X και 2.3 για την άλφα, ενώ παράλληλα επιβεβαιώνεται το γεγονός ότι όχι μόνο παρατηρήθηκε μεγαλύτερη συχνότητα βλαβών, αλλά ταυτόχρονα παρατηρήθηκε και μεγαλύτερος αριθμός βλαβών ανά μετάφραση. Συγκρίνοντας, τέλος, την άλφα ακτινοβολία με την γάμα, σε ακτινοβόληση CHO-Κι κυττάρων με 2 Gy από πηγή ^{60}Co , η μέση τιμή των δικεντρικών ήταν 0.17 ± 0.37 , τιμή μικρότερη από την αντίστοιχη της παρούσας εργασίας (0.25 ± 0.5), επιβεβαιώνοντας το γεγονός ότι η άλφα ακτινοβολία προκαλεί περισσότερες και πυκνότερες βλάβες στο γενετικό υλικό. [38], [41]

Τέλος, έχει σημασία να επισημάνουμε στα συμπεράσματα πως, όπως ήταν αναμενόμενο, η δόση που έλαβαν τα κύτταρα στο κέντρο του τρυβλίου που βρίσκεται στο κέντρο της πηγής διέφερε πολύ σε σχέση με τη δόση κοντά στα τοιχώματα. Σκεπτόμενοι πως το τρυβλίο είναι 5,5cm διαμέτρου, συμπεραίνουμε ότι θα πρέπει πριν τη θεραπεία με σωματίδια α να γίνεται πολύ προσεκτικός σχεδιασμός ως προς το μέγεθος και το σημείο τοποθέτησης της πηγής, ώστε να δοθεί ορθά η επιθυμητή δόση στον στόχο και να μην έχουμε απώλειες λόγω απόστασης.

Η δημιουργία πειραματικής διάταξης ^{234}U για ραδιοβιολογικά πειράματα ανοίγει το δρόμο για διενέργεια νέων πειραμάτων και μελετών σχετικά με την επίδραση της ακτινοβολίας α στο γενετικό υλικό. Γι' αυτό και προχωρώντας τη λογική της παρούσας εργασίας, θα ήταν σημαντικό σε επόμενο βήμα να γίνει επανάληψη του πειράματος για μια καλύτερη στατιστική και προσέγγιση μεγεθών όπως της δόσης στο κέντρο του τρυβλίου, την ομοιογένεια της στην επιφάνειά του, αλλά και την κατανομή της ακτινικά, όπως και να δοθούν πιθανές λύσεις σε προβλήματα που αντιμετωπίστηκαν, όπως για παράδειγμα το υλικό καλλιέργειας που παραμένει στο τρυβλίο και «κόβει» μέρος από την τελική δόση που λαμβάνουν τα κύτταρα. Δεδομένου του ότι βιολογικά είχαμε τα αναμενόμενα αποτελέσματα, αλλά από πλευράς φυσικής υπήρχε απόκλιση στη δόση που δώσαμε, τη δόση που υπολογιστικά θα έπρεπε να λάβουν τα κύτταρα και στη δόση που πειραματικά βρέθηκε ότι έλαβαν, θα ήταν δόκιμο να πραγματοποιηθεί σε συνεργασία με την ΕΕΑΕ ένα πείραμα βαθμονόμησης, κατά το οποίο θα τοποθετηθούν TLD δοσίμετρα σε συγκεκριμένες συντεταγμένες του τρυβλίου, ώστε να μετρηθεί με αυτά η δόση κάθε θέσης κι έτσι να προκύψει η κατανομή της δόσης στο τρυβλίο από την πηγή της συσκευής.

Βιβλιογραφία

- [1] Κ. Ψαρράκος, *Ιατρική Φυσική (Πρώτος Τόμος)*. Accessed: Mar. 30, 2021. [Online]. Available: <https://www.politeianet.gr/books/9789601214207-psarrakos-kuriakos-university-studio-press-iatriki-fusiki-protos-tomos-70806>
- [2] Τραχανάς, “KBANTOMHXANIKH I,” *Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης*, Mar. 23, 2012. <https://www.cup.gr/book/kvantomichaniki-i/> (accessed Mar. 30, 2021).
- [3] “Κυτταρογενετικός έλεγχος έκθεσης και υπερευαισθησίας στις ιοντίζουσες ακτινοβολίες, Παντελιάς Γ., Τερζούδη Γ., Εργαστήριο Υγαιοφυσικής & Περιβαλλοντικής Υγιεινής ΙΠΤ-Α, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος».”
- [4] Α. Γεωργακίλας, “Διάλεξη στο μάθημα ‘Εφαρμογές των Ιοντιζουσών Ακτινοβολιών στην Ιατρική και τη Βιολογία’, ΣΕΜΦΕ.”
- [5] “ICRP 107.” https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/ANIB_37_2-4 (accessed Mar. 30, 2021).
- [6] C. E. Weeden and M.-L. Asselin-Labat, “Mechanisms of DNA damage repair in adult stem cells and implications for cancer formation,” *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis.*, vol. 1864, no. 1, pp. 89–101, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.bbadis.2017.10.015.
- [7] E. Schmid, H. Zitzelsberger, H. Braselmann, J. W. Gray, and M. Bauchinger, “Radiation-induced Chromosome Aberrations Analysed by Fluorescence *in Situ* Hybridization with a Triple Combination of Composite Whole Chromosome-specific DNA Probes,” *Int. J. Radiat. Biol.*, vol. 62, no. 6, pp. 673–678, Jan. 1992, doi: 10.1080/09553009214552621.
- [8] N. G. Burnet, J. Nyman, I. Turesson, R. Wurm, J. R. Yarnold, and J. H. Peacock, “The relationship between cellular radiation sensitivity and tissue response may provide the basis for individualising radiotherapy schedules,” *Radiother. Oncol.*, vol. 33, no. 3, pp. 228–238, Dec. 1994, doi: 10.1016/0167-8140(94)90358-1.
- [9] “Ιατρική Φυσική – Gutenberg.” <https://www.dardanosnet.gr/product/iatriki-fysiki/> (accessed Mar. 30, 2021).
- [10] M. Tsabar *et al.*, “Caffeine impairs resection during DNA break repair by reducing the levels of nucleases Sae2 and Dna2,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 43, no. 14, pp. 6889–6901, Aug. 2015, doi: 10.1093/nar/gkv520.
- [11] G. E. Pantelias and G. I. Terzoudi, “A standardized G₂-assay for the prediction of individual radiosensitivity,” *Radiother. Oncol.*, vol. 101, no. 1, pp. 28–34, Oct. 2011, doi: 10.1016/j.radonc.2011.09.021.
- [12] J. Valentin, Ed., *Avoidance of radiation injuries from medical interventional procedures*. Oxford: Pergamon Pr, 2000.
- [13] “Biological Dosimetry: Chromosomal Aberration Analysis for Dose Assessment,” Feb. 28, 2019. <https://www.iaea.org/publications/1362/biological-dosimetry-chromosomal-aberration-analysis-for-dose-assessment> (accessed Mar. 30, 2021).
- [14] G. I. Terzoudi, K. N. Manola, G. E. Pantelias, and G. Iliakis, “Checkpoint Abrogation in G₂ Compromises Repair of Chromosomal Breaks in Ataxia Telangiectasia Cells,” *Cancer Res.*, vol. 65, no. 24, pp. 11292–11296, Dec. 2005, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2148.

- [15] V. Smart, "Chromosomal radiosensitivity: a study of the chromosomal G₂ assay in human blood lymphocytes indicating significant inter-individual variability," *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.*, vol. 528, no. 1-2, pp. 105-110, Jul. 2003, doi: 10.1016/S0027-5107(03)00076-9.
- [16] "Comparison of RBE values of high LET." <https://mail.google.com/mail/u/1/?zx=i5par632gi52#search/alexg/FMfcgxwLsJzmbXdvgKvcMLzRgDPPgftB?projector=1&messagePartId=0.1> (accessed Mar. 30, 2021).
- [17] I. Mavragani *et al.*, "Complex DNA Damage: A Route to Radiation-Induced Genomic Instability and Carcinogenesis," *Cancers*, vol. 9, no. 12, p. 91, Jul. 2017, doi: 10.3390/cancers9070091.
- [18] L. Barrios *et al.*, "Cytogenetic effects of radiotherapy breakpoint distribution in induced chromosome aberrations," *Cancer Genet. Cytogenet.*, vol. 41, no. 1, pp. 61-70, Aug. 1989, doi: 10.1016/0165-4608(89)90108-8.
- [19] G. I. Terzoudi and G. E. Pantelias, "Cytogenetic methods for biodosimetry and risk individualisation after exposure to ionising radiation," *Radiat. Prot. Dosimetry*, vol. 122, no. 1-4, pp. 513-520, Dec. 2006, doi: 10.1093/rpd/ncl509.
- [20] A. Schipler and G. Iliakis, "DNA double-strand-break complexity levels and their possible contributions to the probability for error-prone processing and repair pathway choice," *Nucleic Acids Res.*, vol. 41, no. 16, pp. 7589-7605, Sep. 2013, doi: 10.1093/nar/gkt556.
- [21] J. F. Barquinero S. Knehr H. Braselman, "DNA-proportional distribution of radiation-induced chromosome aberrations analysed by fluorescence in situ hybridization painting of all chromosomes of a human female karyotype," *Int. J. Radiat. Biol.*, vol. 74, no. 3, pp. 315-323, Jan. 1998, doi: 10.1080/095530098141456.
- [22] R. D. Stewart, V. K. Yu, A. G. Georgakilas, C. Koumenis, J. H. Park, and D. J. Carlson, "Effects of Radiation Quality and Oxygen on Clustered DNA Lesions and Cell Death," *Radiat. Res.*, vol. 176, no. 5, pp. 587-602, Nov. 2011, doi: 10.1667/RR2663.1.
- [23] K. S. Haveles, A. G. Georgakilas, E. G., "Effects of radical scavengers on radiation-induced DNA double strand breaks," *Int. J. Radiat. Biol.*, vol. 76, no. 1, pp. 51-59, Jan. 2000, doi: 10.1080/095530000139005.
- [24] A. Pavlopoulou, P. G. Bagos, V. Koutsandrea, and A. G. Georgakilas, "Molecular determinants of radiosensitivity in normal and tumor tissue: A bioinformatic approach," *Cancer Lett.*, vol. 403, pp. 37-47, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.canlet.2017.05.023.
- [25] X. Jiang, L. Y. Lim, J. W. Daly, A. H. Li, K. A. Jacobson, and M. Roberge, "Structure-activity relationships for G₂ checkpoint inhibition by caffeine analogs.," *Int. J. Oncol.*, May 2000, doi: 10.3892/ij0.16.5.971.
- [26] O. A. Martin, C. E. Redon, A. J. Nakamura, J. S. Dickey, A. G. Georgakilas, and W. M. Bonner, "Systemic DNA Damage Related to Cancer: Figure 1.," *Cancer Res.*, vol. 71, no. 10, pp. 3437-3441, May 2011, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4579.
- [27] J. A. Sorenson, "The Physics of Radiology: H. E. Johns, J. R. Cunningham. Springfield, Illinois, Charles C Thomas, 1983, 796 pp, \$49.50," *J. Nucl. Med.*, vol. 25, no. 5, pp. 635-636, May 1984.
- [28] G. E. Pantelias and H. D. Maillie, "The use of peripheral blood mononuclear cell prematurely condensed chromosomes for biological dosimetry," *Radiat. Res.*, vol. 99, no. 1, pp. 140-150, Jul. 1984.

- [29] R. D. Knight, R. Parshad, F. M. Price, R. E. Tarone, and K. K. Sanford, "X-ray-induced chromatid damage in relation to dna repair and cancer incidence in family members," *Int. J. Cancer*, vol. 54, no. 4, pp. 589–593, 1993, doi: <https://doi.org/10.1002/ijc.2910540412>.
- [30] S. Schumann *et al.*, "α-Particle-induced DNA damage tracks in peripheral blood mononuclear cells of [223Ra]RaCl₂-treated prostate cancer patients," *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, Feb. 2021, doi: 10.1007/s00259-020-05170-6.
- [31] Α. Μαγγέλης, "Ανίχνευση σύνθετων βλαβών DNA σε καρκινικά και υγιή κύτταρα έπειτα από έκθεση σε χαμηλές δόσεις ακτινοβολίας γ." <http://www.physics.ntua.gr/gr/dpms/diplomatikes/maggelis.pdf> (accessed Mar. 30, 2021).
- [32] Γ. Τερζούδη, "ΒΙΟΔΟΣΙΜΕΤΡΙΑ ΙΟΝΤΙΖΟΥΣΩΝ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΩΝ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΑΚΤΙΝΟΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΟΥΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ," Doctoral Dissertation, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ). Σχολή Θετικών Επιστημών. Τμήμα Βιολογίας. Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, 1998. doi: 10.12681/eadd/11167.
- [33] Δ. Καρδαμάκης, "Δράση Ιοντίζουσας Ακτινοβολίας στο Κύτταρο," <https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/MED857/%CE%A5%CE%9B%CE%99%CE%9A%CE%9F%20%CE%91%CE%9D%CE%9F%CE%99%CE%9A%CE%A4%CE%A9%CE%9D%20%CE%9C%CE%91%CE%98%CE%97%CE%9C%CE%91%CE%A4%CE%A9%CE%9D/%CE%95%CE%9D%CE%9F%CE%A4%CE%97%CE%A4%CE%91%202-%20%CE%94%CE%A1%CE%91%CE%A3%CE%97%20%CE%A4%CE%97%CE%A3%20%CE%99%CE%9F%CE%9D%CE%A4%CE%99%CE%96%CE%9F%CE%A5%CE%A3%CE%91%CE%A3%20%CE%91%CE%9A%CE%A4%CE%99%CE%9D%CE%9F%CE%92%CE%9F%CE%9B%CE%99%CE%91%CE%A3%20%CE%A3%CE%A4%CE%9F%20%CE%9A%CE%A5%CE%A4%CE%A4%CE%91%CE%A1%CE%9F.pdf>. <https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/MED857/%CE%A5%CE%9B%CE%99%CE%9A%CE%9F%20%CE%91%CE%9D%CE%9F%CE%99%CE%9A%CE%A4%CE%A9%CE%9D%20%CE%9C%CE%91%CE%98%CE%97%CE%9C%CE%91%CE%A4%CE%A9%CE%9D/%CE%95%CE%9D%CE%9F%CE%A4%CE%97%CE%A4%CE%91%202-%20%CE%94%CE%A1%CE%91%CE%A3%CE%97%20%CE%A4%CE%97%CE%A3%20%CE%99%CE%9F%CE%9D%CE%A4%CE%99%CE%96%CE%9F%CE%A5%CE%A3%CE%91%CE%A3%20%CE%91%CE%9A%CE%A4%CE%99%CE%9D%CE%9F%CE%92%CE%9F%CE%9B%CE%99%CE%91%CE%A3%20%CE%A3%CE%A4%CE%9F%20%CE%9A%CE%A5%CE%A4%CE%A4%CE%91%CE%A1%CE%9F.pdf> (accessed Mar. 30, 2021).
- [34] "Μελέτη επαγωγής σύνθετων βλαβών DNA με μεθόδους προσομοίωσης στην ακτινοθεραπεία καρκίνου του προστάτη.pdf." <https://dspace.lib.ntua.gr/xmlui/bitstream/handle/123456789/48144/%CE%9C%CE%B5%CE%BB%CE%AD%CF%84%CE%B7%20%CE%B5%CF%80%CE%B1%CE%B3%CF%89%CE%B3%CE%AE%CF%82%20%CF%83%CF%8D%CE%BD%CE%B8%CE%B5%CF%84%CF%89%CE%BD%20%CE%B2%CE%BB%CE%B1%CE%B2%CF%8E%CE%BD%20DNA%20%CE%BC%CE%B5%20%CE%BC%CE%B5%CE%B8%CF%8C%CE%B4%CE%BF%CF%85%CF%82%20%CF%80%CF%81%CE%BF%CF%83%CE%BF%CE%BC%CE%BF%CE%AF%CF%89%CF%83%CE%B7%CF%82%20%CF%83%CF%84%CE%B7%CE%BD%20%CE%B1%CE%BA%CF%84%CE%B9%CE%BD%CE%BF%CE%B8%CE%B5%CF%81%CE%B1%CF%80%CE%B5%CE%AF%CE%B1%20%CE%BA%CE%B1%CF%81%CE%BA%CE%AF%CE%BD%CE%BF%CF%85%20%CF%84%CE%BF%CF%85%20%CF%80%CF%81>

- [%CE%BF%CF%83%CF%84%CE%AC%CF%84%CE%B7.pdf?sequence=1&isAllowed=y](#) (accessed Mar. 30, 2021).
- [35] G. I. Terzoudi, "A new cytogenetic approach for the evaluation of mutagenic potential of chemicals that induce cell cycle arrest in the G₂ phase," *Mutagenesis*, vol. 18, no. 6, pp. 539–543, Nov. 2003, doi: 10.1093/mutage/geg034.
- [36] Σ. Χαμόδρακας, "Θέματα μοριακής βιοφυσικής." <https://www.simmetria.gr/p/3009/themata-moriakis-biofysikis.html> (accessed Mar. 30, 2021).
- [37] "The DNA-Damage Response to Ionizing Radiation in Human Lymphocytes," *Google Docs*. https://docs.google.com/document/u/1/d/1opfzeh-YoyIEToCpTkRGdri_xw4MM5HBd-sOYHNgW1M/edit?usp=drive_web&ouid=103609971536776541657&usp=embed_facebook (accessed Apr. 04, 2021).
- [38] E. Choulilitsa, "Κατασκευή πειραματικής διάταξης ραδιενεργού πηγής σωματίων α 234U για ραδιοβιολογικά πειράματα," p. 94.
- [39] A. G. Georgakilas, P. O'Neill, and R. D. Stewart, "Induction and repair of clustered DNA lesions: what do we know so far?," *Radiat. Res.*, vol. 180, no. 1, pp. 100–109, Jul. 2013, doi: 10.1667/RR3041.1.
- [40] "Alpha-Particle Emitter Dosimetry MIRD Pamphlet No. 22 - Radiobiology and Dosimetry of Alpha Particle Emitters for Targeted Radionuclide Therapy," *Google Docs*. https://docs.google.com/document/u/1/d/1L5bw5ab_59xjhknULoN_Vt7zR6JMojoMMS_c_UyCk9WY/edit?usp=drive_web&ouid=103609971536776541657&usp=embed_facebook (accessed Apr. 04, 2021).
- [41] H. Nagasawa and J. B. Little, "Bystander effect for chromosomal aberrations induced in wild-type and repair deficient CHO cells by low fluences of alpha particles," *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.*, vol. 508, no. 1–2, pp. 121–129, Oct. 2002, doi: 10.1016/S0027-5107(02)00193-8.
- [42] J. L. Schwartz and A. W. Hsie, "Genetic and Cytogenetic Markers of Exposure to High-Linear Energy Transfer Radiation," *Radiat. Res.*, vol. 148, no. 5, p. S87, Nov. 1997, doi: 10.2307/3579721.