



UNIwersytet
Warszawski

Wydział Fizyki
Instytut Fizyki Doświadczalnej
Zakład Fizyki Biomedycznej

Rozprawa doktorska

Wielkości nanodozymetryczne
w analizie skutków napromieniania
komórek V79 lekkimi jonami

Monika Alicja Mietelska

Promotor: dr hab. Beata Brzozowska
Promotor pomocniczy: dr Marcin Pietrzak

Dyscyplina: nauki fizyczne

Warszawa, sierpień 2024

Streszczenie

Rozprawa doktorska podejmuje temat analizy możliwości powiązania nanodozymetrycznych wielkości charakteryzujących strukturę toru cząstki jonizującej z biologicznym opisem odpowiedzi komórek linii V79. Celem jest weryfikacja możliwości zastosowania parametrów opisujących stochastyczne oddziaływania w nanoskali do określenia skuteczności lekkich jonów w radioterapii.

W badaniach nanodozymetrycznych wykorzystuje się liczniki gazowe działające na zasadzie zliczania jonów wytworzonych przez przejście pojedynczej cząstki pierwotnej w objętości czulej. Ta objętość jest modelem obiektu (targetu) biologicznego o rozmiarach porównywalnych z pojedynczym segmentem DNA. Procesy te są dobrze odtwarzane przez symulacje Monte Carlo i to je wykorzystano do określenia wielkości nanodozymetrycznych w modelowanym fragmencie helisy DNA. Zastosowano modele fizyki Geant4-DNA zwalidowane w oparciu o wyniki eksperymentalne z użyciem nanodozymetru Jet Counter.

Dane biologiczne pochodzą z bazy danych radiobiologicznych PIDE, która zestawia wyniki badań przeżywalności napromienianych komórek przeprowadzonych przez wiele grup badawczych na przestrzeni dekad. Do analizy wybrano linię komórkową V79 fibroblastów płuc chomika chińskiego, która jest powszechnie używana w badaniach uszkodzeń DNA i procesów naprawczych.

Wielkości nanodozymetryczne i biologiczne zostały zestawione w celu sprawdzenia zasadności zastosowania ważonego prawdopodobieństwa otrzymania co najmniej dwóch jonizacji w objętości nanometrowej jako deskryptora odpowiedzi komórkowej. Zweryfikowano potencjalne korzyści wykorzystania wartości średniego rozmiaru klastra jako alternatywę dla liniowego przekazu energii. Rozpatrzono hipotezę o związku między wielkościami nanodozymetrycznymi a opisem radiobiologicznym dla standardowego targetu jako modelu podstawowej jednostki DNA czulej na promieniowanie jonizujące.

Celem tych badań było wskazanie możliwości alternatywnego opisu oddziaływania promieniowania jonizującego z materiałem komórkowym w oparciu o wielkości mierzone w nanoskali. Daje to szansę na wykorzystanie wielkości nanodozymetrycznych w ocenie biologicznej skuteczności lekkich jonów.

Słowa kluczowe

nanodozymetria, struktura toru cząstki, prawdopodobieństwo R_2 , radiobiologia, test przeżywalności, model liniowo-kwadratowy, przekrój czynny na inaktywację, linia komórkowa V79

Abstract

The doctoral dissertation addresses the topic of the possibility of analyzing the relationship between nanodosimetric quantities characterizing the track structure of the ionizing particle and the biological response of V79 cell line. The aim is to verify the applicability of parameters describing stochastic interactions at the nanoscale in determining the effectiveness of light ions in radiotherapy.

In nanodosimetric studies, gas-based counters are used, operating on the principle of counting ions produced by the passage of a single primary particle in a sensitive volume. This volume models a biological target with dimensions comparable to a single DNA segment. These processes are well-reproduced by Monte Carlo simulations, which were used to determine the nanodosimetric quantities in the modeled fragment of the DNA helix. The Geant4-DNA physics models, validated against experimental results using the Jet Counter nanodosimeter, were applied.

The biological data is derived from the PIDE radiobiological database, which compiles the results from studies on the survival of irradiated cells conducted by various research groups over decades. For the analysis, the V79 cell line of Chinese hamster lung fibroblasts was chosen, as it is commonly used in studies of DNA damage and repair processes.

Nanodosimetric and biological quantities were compared to verify the validity of applying the weighted probability of obtaining at least two ionizations in a nanometric volume as a cellular response descriptor. The potential benefits of using the mean cluster size as an alternative to linear energy transfer were examined. The hypothesis of a relationship between nanodosimetric quantities and the radiobiological description for the standard target as a model of the basic DNA unit sensitive to ionizing radiation was considered.

This study aimed to demonstrate the possibilities of an alternative description of ionizing radiation interactions with cellular material based on quantities measured at the nanoscale. It provides an opportunity to use nanodosimetric quantities in the assessment of the biological effectiveness of light ions.

Keywords

nanodosimetry, particle track structure, probability R_2 , radiobiology, clonogenic assay, linear-quadratic model, inactivation cross section, V79 cell line

Badania zostały częściowo sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Badań Jądrowych wspierających działalność naukowo-badawczą naukowców na wczesnym etapie kariery oraz z ogólnopolskiego programu Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego realizowanego na Uniwersytecie Warszawskim.

Dziękuję **Beacie Brzozowskiej** i **Marcinowi Pietrzakowi**, którzy byli obok od początku mojej przygody z fizyką medyczną i są po dziś dzień. Wasz entuzjazm, zaangażowanie i wiedza wniosły wiele do tej pracy i mojego rozwoju.

Zygmuntowi Szeflińskiemu dziękuję za dzielenie się bezgraniczną pasją, nie-
mierzalnym doświadczeniem oraz umiejętnością ciągłego poszukiwania odpowiedzi.

Pracownikom Zakładu H2 Narodowego Centrum Badań Jądrowych, za-
równo byłym, jak i obecnym, składam podziękowania za stworzenie przyjaznej
atmosfery w środowisku zawodowym oraz owocne dyskusje.

Zespołowi z pokoju 4.58 na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego:
Adriannie Tartas, **Mateuszowi Filipkowi** i **Beacie Pszczółkowskiej-Kępie**
dziękuję za zapewnianie przestrzeni na niezwykle wyważoną mieszankę narzekania
i humoru, która każde spotkanie czyniła udanym.

Aleksandrze Jankowskiej, mojej przyjaciółce, dziękuję za dostrzeżenie mnie
na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego i trwającą do dziś rozmowę, która
pokrzepia, koi, wzrusza, bawi, rozjaśnia i nadaje sens.

Pani **Joannie Przygodzie**, mojej niezastąpionej nauczycielce, absolwentce
fizyki medycznej Uniwersytetu Śląskiego, wyrażam wdzięczność za poświęcony czas
i uwagę, a szczególnie za rozpalenie w nastoletniej mnie zainteresowania fizyką.

Moim **Najukochańszym Rodzicom** i **Siostrzyczkom** dziękuję za bezgra-
niczne wspieranie w moich wyborach, wiarę w moje możliwości, poświęcenie oraz
ich otwarte serca i umysły. Niezmiennie cenię to, że mimo odległości, zawsze jeste-
ście blisko i nieustannie mogę na Was wszystkich i każdym z osobna polegać.

Jarku, Tobie dziękuję za napełnianie mojego życia uśmiechem i miłością. Po-
dziwiam Twoją determinację i niezłomność, które są dla mnie wzorem zarówno
w życiu naukowym, jak i prywatnym. Doceniam, że swoją nieustępliwość potrafisz
połączyć z nieskończoną otwartością na mnie, moje opinie i moje wybory.

Pracę dedykuję Rodzicom

Spis treści

Streszczenie i słowa kluczowe	III
Spis treści	XI
Spis tabel	XV
Spis rysunków	XVII
Skróty i akronimy	XIX
Symbole i jednostki	XXI
1 Wstęp	1
1.1 Tło badań i motywacja	1
1.2 Zakres i cel badań	3
1.3 Układ pracy	4
1.4 Publikacje	5
2 Podłoże badań	7
2.1 Oddziaływanie lekkich jonów z materią	7
2.1.1 Stadia oddziaływań z żywą materią	9
2.1.2 Uszkodzenia DNA	15
2.2 Opis makroskopowy	17
2.2.1 Dawka pochłonięta	17
2.2.2 Liniowy przekaz energii	18
2.2.3 Względna skuteczność biologiczna	20
2.3 Opis statystyczny w nanoskali	23
2.3.1 Definicje	24
2.3.2 Nanodozymetria eksperymentalna	29
2.3.3 Symulacje Monte Carlo	32
2.4 Badania radiobiologiczne	33
2.4.1 Test klonogeny	33

2.4.2	Model liniowo-kwadratowy	36
2.4.3	Wielkości pochodne parametrów modelu LQ	41
2.5	Powiązanie wielkości biologicznych i nanodozymetrycznych	44
3	Dane nanodozymetryczne	49
3.1	Materiały i metody	49
3.2	Dane do walidacji kodów MC	50
3.2.1	Eksperymenty nanodozymetryczne	50
3.2.2	Symulacje układu eksperymentalnego	50
3.3	Dane dla lekkich jonów	53
3.3.1	Symulacje dla jonów z wyłączeniem ^{20}Ne	53
3.3.2	Dane dla ^{20}Ne	54
3.4	Dane do zestawienia z parametrami radiobiologicznymi	56
3.4.1	LET lekkich jonów	56
3.4.2	Parametry nanodozymetryczne	56
4	Dane radiobiologiczne	59
4.1	Linia komórkowa V79	59
4.2	Baza danych radiobiologicznych PIDE	60
4.3	Wybrane dane radiobiologiczne	61
4.4	Parametry modelu LQ wybranych danych	63
4.4.1	Korekta wartości parametrów	63
4.4.2	Zestawienie parametrów LQ dla lekkich jonów	64
4.4.3	Zestawienie parametrów modelu LQ dla promieniowania fo- tonowego	66
5	Wyniki i dyskusja	69
5.1	Walidacja symulacji Monte Carlo (MC)	69
5.1.1	Porównanie symulacji ICSD z wynikami eksperymentalnymi	69
5.1.2	Zakres użyteczności	70
5.2	Przekrój czynny na inaktywację	72
5.2.1	Weryfikacja doboru danych i źródeł rozrzutu	72
5.2.2	Nanodozymetryczna alternatywa LET	75
5.3	Minimalizacja parametrów modelu R_2	77
5.3.1	Porównanie modelu R_2 z danymi radiobiologicznymi	81
5.3.2	Porównanie modelu R_2 z F_k	84
5.4	Przekroje biologiczne a rozmiar jądra komórkowego	88
5.5	Reprezentacja RBE	89
5.6	Dyskusja	92
6	Podsumowanie i perspektywy	95

Spis treści	XIII
Bibliografia	101
A Wybrane dane nanodozymetryczne	119
B Wybrane dane biologiczne	125

Spis tabel

2.1	Etapy oddziaływania promieniowania jonizującego.	12
4.1	Jony i infrastruktura do napromieniania.	62
5.1	Parametry dopasowania $\sigma_{5\%}$ do R_2 lub F_k	87
5.2	Parametry dopasowania rozkładu wartości resztowych.	88
A.1	Zestawienie wybranych wielkości nanodozymetrycznych.	119
B.1	Zestawienie wybranych wielkości radiobiologicznych.	125

Spis rysunków

2.1	Zdolność hamowania protonów i jonów węgla.	8
2.2	Przykładowe krzywe Bragga.	10
2.3	SOBP i jego składowe.	10
2.4	Rycina modelu DNA.	11
2.5	Poziomy organizacji DNA.	11
2.6	Ślady cząstek w mikrometrowej objętości wody.	13
2.7	Dyfuzja produktów radiolizy wody.	14
2.8	Schemat powstawania SSB i DSB.	16
2.9	Krzywe dawka-głębokość.	18
2.10	Gęstość jonizacji w komórce.	19
2.11	Przeżywalność dla promieniowania testowego i referencyjnego. . . .	21
2.12	Krzywe RBE(LET) dla wybranych frakcji przeżywających.	22
2.13	Graficzna interpretacja maksymalnego RBE.	22
2.14	Uproszczony schemat działania nanodozymetru.	24
2.15	Wagi F_k i R_2 z przykładowymi ICSD.	29
2.16	Porównanie modeli DNA.	33
2.17	Schemat przebiegu testu klonogennego.	35
2.18	Przebieg SF w funkcji dawki dla różnych LET.	36
2.19	Przykładowe krzywe przeżywalności ze styczną i α/β	39
2.20	Przeżywalność komórek w zależności od fazy cyklu komórkowego. .	40
2.21	Przeżywalność komórek w zależności od rozrzutu rozmiaru jądra. .	41
2.22	Przekroje czynne na inaktywację w funkcji energii.	43
2.23	Korelacja σ_{SF} i F_k	45
2.24	Rozkłady wielkości nanodozymetrycznych i rozkłady dawki.	46
2.25	Korelacja σ_{SF} i kombinacji liniowej F_k	47
3.1	Geometria symulacji JC.	51
3.2	Geometria symulacji.	54
4.1	Zdjęcie mikroskopowe komórek linii V79.	60
4.2	Krzywe przeżywalności przed i po korekcje.	64
4.3	Histogram liczebności krzywych przeżywalności.	65

4.4	Zależność między α i β	65
4.5	Histogram liczebności $\alpha_{\text{ref}}/\beta_{\text{ref}}$	66
4.6	Zależność między α_{ref} i β_{ref}	67
4.7	Krzywe przeżywalności komórek V79 dla promieniowania fotonowego. 68	
5.1	Zestawienie ICSD eksperymentalnych i symulacyjnych.	70
5.2	LET w funkcji energii.	71
5.3	M_1 w funkcji energii.	71
5.4	LET w funkcji M_1	72
5.5	Przekrój czynny na inaktywację z podziałem na jony.	73
5.6	Przekrój czynny na inaktywację z przykładowymi niepewnościami. . 74	
5.7	Przekrój czynny na inaktywację z podziałem na podtypy V79. . . . 74	
5.8	Przekrój czynny na inaktywację z podziałem na grupy badawcze. . 75	
5.9	Przekrój czynny na inaktywację w funkcji LET i M_1	76
5.10	Przekrój czynny na inaktywację w funkcji LET i M_1 – zbliżenie. . . 77	
5.11	Mapa dopasowania między $\sigma_{5\%}$ i R_2	78
5.12	Mapa dopasowania między $\sigma_{5\%}$ i R_2 z uzasadnieniem wyboru K . . . 79	
5.13	Mapy dopasowania między $\sigma_{5\%}$ i R_2 lub F_k	80
5.14	Krzywa $K \cdot R_2$ z danymi biologicznymi.	82
5.15	$\sigma_{5\%}$ w funkcji R_2 z wartościami resztowymi.	82
5.16	Względne wartości resztowe dopasowania $K \cdot R_2$	83
5.17	Histogram liczebności wartości resztowych.	84
5.18	Porównanie wybranych F_k i R_2	84
5.19	Porównanie wybranych F_k i R_2 z danymi biologicznymi.	85
5.20	$\sigma_{5\%}$ w funkcji F_5 z wartościami resztowymi.	86
5.21	$\sigma_{5\%}$ w funkcji F_2 z wartościami resztowymi.	86
5.22	RBE dla SF = 5% z podziałem na typ promieniowania referencyjnego. 89	
5.23	Histogram dawek dla promieniowania referencyjnego i SF = 5%. . . 90	
5.24	RBE dla SF = 5% z podziałem na kategorie cząstek.	91
5.25	Stosunek R_2 do M_1	92

Skróty i akronimy

Skrótowiec	Objaśnienie
BNCT	terapia boronowo-neutronowa (z ang. <i>Boron Neutron Capture Therapy</i>)
CCB	Centrum Cyklotronowe Bronowice
DNA	kwask deoksyrybonukleinowy
DSB	podwójnoniciowe uszkodzenie DNA (z ang. <i>double-strand break</i>)
GPD	uogólniony rozkład Poissona (z ang. <i>Generalised Poisson Distribution</i>)
GSI	GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH
IAEA	Międzynarodowa Agencja Energii Atomowej (z ang. <i>International Atomic Energy Agency</i>)
IC	Ion Counter
ICRU	Międzynarodowa Komisja ds. Jednostek Promieniowania i Pomiarów (z ang. <i>International Commission on Radiation Units & Measurements</i>)
ICSD	rozkład rozmiaru klastra jonizacyjnego (z ang. <i>Ionisation Cluster Size Distribution</i>)
INFN	Istituto Nazionale di Fisica Nucleare
IV	objętość oddziaływań (z ang. <i>Interaction Volume</i>)
JC	Jet Counter
LET	liniowy przekaz energii (z ang. <i>Linear Energy Transfer</i>)
LLU	Loma Linda University
LNL	Legnaro National Laboratories
LQ	model liniowo-kwadratowy (z ang. <i>Linear-Quadratic model</i>)
MC	Monte Carlo
MIT	terapia wielojonowa (z ang. <i>Multi-Ion Therapy</i>)
NCBJ	Narodowe Centrum Badań Jądrowych
NIST	National Institute of Standards and Technology
OER	współczynnik wzmożenia tlenowego (z ang. <i>Oxygen Enhancement Ratio</i>)

Skrótowiec	Objaśnienie
PE	wydajność klonowania (z ang. <i>Plating Efficiency</i>)
PIDE	baza danych radiobiologicznych (z ang. <i>Particle Irradiation Data Ensemble</i>)
PTB	Physikalisch-Technische Bundesanstalt
RBE	względna skuteczność biologiczna (z ang. <i>Relative Biological Effectiveness</i>)
ROS	reaktywne formy tlenu (z ang. <i>Reactive Oxygen Species</i>)
SC	StarTrack Counter
SF	frakcja przeżywająca (z ang. <i>Surviving Fraction</i>)
SOBP	poszerzony pik Bragga (z ang. <i>Spread Out Bragg Peak</i>)
SRIM	oprogramowanie SRIM (z ang. <i>Stopping and Range of Ions in Matter</i>)
SSB	pojedynczoniciowe uszkodzenie DNA (z ang. <i>single-strand break</i>)
SV	objętość czuła (z ang. <i>Sensitive Volume</i>)
ŚLCJ	Środowiskowe Laboratorium Ciężkich Jonów Uniwersytetu Warszawskiego
TD	detektor wyzwajający (z ang. <i>Trigger Detector</i>)
TIC	Track Ion Counter
V79	fibroblasty płuc chomika chińskiego
WIS	Weizmann Institute of Science

Symbole i jednostki

Symbol	Opis	Jednostka
c	prędkość światła w próżni	m/s
v	prędkość	m/s
γ	czynniki Lorentza	1
E	energia	MeV, MeV/u
S_{el}	liniowa elektronowa zdolność hamowania	MeV/cm
$\frac{S}{\rho}$	masowa zdolność hamowania	MeVcm ² /g
$\frac{S_{\text{el}}}{\rho}$	masowa elektronowa zdolność hamowania	MeVcm ² /g
$\frac{S_{\text{rad}}}{\rho}$	masowa radiacyjna zdolność hamowania	MeVcm ² /g
$\frac{S_{\text{nuc}}}{\rho}$	masowa jądrowa zdolność hamowania	MeVcm ² /g
A	liczba masowa	1
Z	liczba atomowa	1
N_A	stała Avogadro	1/mol
m_e	masa elektronu	MeV/c ²
r_e	klasyczny promień elektronu	m
z_p	ładunek cząstki w jednostkach ładunku elementarnego	e
I	średni potencjał jonizacyjny	eV
λ	średnia droga swobodna	m
ρ	gęstość ośrodka	g/cm ³
$2R$	średnica SV	mm
H	wysokość SV	mm
d	rozmiar targetu	nm, nm ²
η	wydajność detekcji jonów	1, %
ν	rozmiar klastra jonizacyjnego, tj. liczba jonizacji w SV	1
P_ν	prawdopodobieństwo powstania klastra o rozmiarze ν	1
M_1	średni rozmiar klastra (z ang. <i>mean cluster size</i>)	1
F_k	skumulowane prawdopodobieństwo $\nu \geq k$	1
R_2	ważone skumulowane prawdopodobieństwo $\nu \geq 2$	1

Symbol	Opis	Jednostka
p	prawdopodobieństwo uszkodzenia o charakterze potencjalnie letalnym	1
$\mathcal{B}$	rozkład dwumianowy	1
$\mathcal{P}$	rozkład Poissona	1
$\mathcal{G}$	uogólniony rozkład Poissona (GPD)	1
μ_p	parametr skalujący $\mathcal{G}$	1
μ_s	parametr kształtu $\mathcal{G}$	1
D	dawka pochłonięta	Gy
σ_{SF}	przekrój czynny na inaktywację (z ang. <i>inactivation cross section</i>)	μm^2
α	liniowy parametr modelu liniowo-kwadratowego	Gy^{-1}
β	kwadratowy parametr modelu liniowo-kwadratowego	Gy^{-2}
K	współczynnik skalujący modelu R_2	μm^2

Rozdział 1

Wstęp

1.1 Tło badań i motywacja

W świecie wyzwań związanych z zachorowalnością na nowotwory, rozwój technik i metod terapeutycznych daje nadzieję na ograniczenie śmiertelności u pacjentów cierpiących na choroby onkologiczne. Mimo upływu lat radioterapia wykorzystująca różne rodzaje promieniowania jonizującego pozostaje leczeniem z wyboru lub elementem leczenia skojarzonego przy licznych diagnozach. Wyjątkowe właściwości fizyczne i biologiczne ciężkich cząstek naładowanych uzasadniają rosnącą popularność radioterapii z ich użyciem (hadronoterapii). Jedną z tych właściwości jest wysoka skuteczność tych cząstek także w warunkach obniżonej koncentracji tlenu w komórkach nowotworowych, która w przypadku promieniowania fotonowego jest obecnie uznawana za główny czynnik progresji nowotworu złośliwego, oporności na terapię i złego rokowania (Höckel i Vaupel, 2001). Sukces hadronoterapii nie jest jednak możliwy bez rozwoju technik metrologicznych ze względu na zasadnicze różnice w oddziaływaniu ciężkich cząstek naładowanych z materią względem fotonów.

W hadronoterapii wyzwaniem okazuje się być stosowanie wielkości makroskopowych, takich jak dawka pochłonięta, liniowy przekaz energii czy względna skuteczność biologiczna, do precyzyjnego scharakteryzowania ilości i jakości promieniowania jonizującego w całej napromienianej objętości oraz w opisie konsekwencji biologicznych (Ebner et al., 2021). Dla ciężkich cząstek naładowanych jednorodny rozkład dawki w obszarze terapeutycznym nie jest tożsamy równomiernemu uszkodzeniu komórek nowotworowych na skutek stochastycznego charakteru oddziaływań wzdłuż toru cząstki jonizującej. Międzynarodowa Komisja ds. Jednostek Promieniowania i Pomiarów wskazywała ograniczenia stosowania liniowego przekazu energii jako parametru jakości promieniowania już w 1970 roku (ICRU, 1970). Podstawą zastrzeżeń był sposób oddziaływania tych cząstek z materią i fakt, że często podawany uśredniony liniowy przekaz energii nie może zastąpić pełnego roz-

kładu tej wielkości i rzadko daje satysfakcjonujące rezultaty. Wątpliwości związane z ryzykiem przygotowania nieprecyzyjnego efektywnego rozkładu dawki w napromienianej objętości, szczególnie w jego części dystalnej, niezależnie od wysiłków włożonych w walidację dotyczą też stosowania względnej skuteczności biologicznej. Dyskusyjne jest stosowanie zarówno jej stałej wartości w protonoterapii, jak i wykorzystanie różnorodnych modeli biomatematycznych do opisu skuteczności biologicznej w terapii z użyciem jonów węgla (Karger i Peschke, 2017). Równoległym wyzwaniem jest kwestia wielkości stosowanych w ochronie radiologicznej w opisie skutków stochastycznych. Te trudno zestawiać czy wiązać z omawianymi tu parametrami w analizie konsekwencji deterministycznych. Rozpatrywanie skutków w nanoskali powinno uwzględniać przestrzenną charakterystykę oddziaływania cząstki w obrębie podwójnej helisy DNA, której uszkodzenie może być dla komórki śmiertelne (Goodhead, 1994). To prowadzi do głównego wyzwania współczesnej metrologii promieniowania jonizującego, którym jest wprowadzenie wielkości fizycznych mających szansę precyzyjnie charakteryzować biologiczną skuteczność promieniowania w nanoskali zarówno pod względem ilościowym, jak i jakościowym, a równolegle opracowanie technik pomiarowych do oceny tych wielkości w warunkach klinicznych.

Metodą, której narzędzia można wykorzystać do zaproponowania nowych wielkości w opisie jakości i ilości promieniowania jonizującego, jest nanodozymetria. To technika pomiarowa pozwalająca na eksperymentalną analizę interakcji promieniowania jonizującego z materią reprezentującą system biologiczny w postaci segmentu DNA. Obecnie stosowane metody nanodozymetrii ograniczają się do określania liczby jonizacji wywołanych przez przejście pojedynczej cząstki pierwotnej w danej, nanometrowej objętości symulowanej przez milimetrową objętość silnie rozrzedzonego gazu, którą można przyrównać do systemu biologicznego dzięki procedurze skalowania. Uniwersalność metod nanodozymetrycznych oparta jest na niezależności od typu jonu i wydaje się być szansą także dla terapii borowo-neutronowej (Hopewell et al., 2012), litowo-neutronowej (Morris et al., 2024), protonowo-borowej (Cirrone et al., 2018) czy w ogólności terapii wielojonowych (Kopp et al., 2020; Ebner et al., 2021), w których energia deponowana jest przez cząstki o różnej skuteczności biologicznej. Dotychczasowo proponowano pewne wielkości nanodozymetryczne uwzględniające informacje o strukturze toru cząstki i korelujące z uszkodzeniami DNA (Grosswendt et al., 2007; Conte et al., 2017; Ramos-Méndez et al., 2018; Mieltska et al., 2024). Wątpliwości budzi jednak kwestia uwzględniania zdarzeń związanych z wystąpieniem na przykład kilku i kilkunastu jonizacji w objętości czułej, jako równie skutecznych w powodowaniu śmierci komórki. Motywacją do badań była chęć wskazania potencjalnych korzyści z zastosowania w charakterystyce biologicznych skutków oddziaływania ciężkich cząstek naładowanych z żywą materią nową, nanodozymetrycznej wielko-

ści uwzględniającej prawdopodobieństwo, że dana jonizacja spowoduje uszkodzenie DNA. Jest to narzędzie do mierzalnego wyrażenia stochastycznej natury oddziaływania promieniowania jonizującego, zwłaszcza na poziomie subkomórkowym, a być może i krok w kierunku precyzyjnego opisu odpowiedzi komórkowej w radioterapii z użyciem wiązek jonowych.

1.2 Zakres i cel badań

W kwestii ogólnych konceptów w toku pracy zastosowane zostało pojęcie ciężkich cząstek naładowanych, uwzględniające cząstki obdarzone ładunkiem o liczbie masowej A o wartości co najmniej 1. Określenie „lekkie jony”, które pojawia się w tytule i które służy do opisu rodzajów promieniowania wykorzystanych w analizie danych, pochodzi z międzynarodowych rekomendacji organizacji ICRU oraz IAEA (ICRU, 2016). Obejmuje wszystkie jony o liczbie atomowej Z od 1 do 10 włącznie, czyli do neonu, i uwzględnia także protony (Wambersie et al., 2004). Dla jonów o liczbie atomowej $Z > 10$ stosowane jest pojęcie „ciężkie jony”.

Rozprawa doktorska podejmuje temat powiązania nanodozymetrycznej wielkości R_2 z biologiczną charakterystyką oddziaływania lekkich jonów z komórkami linii V79. R_2 wyraża ważone skumulowane prawdopodobieństwo otrzymania co najmniej dwóch jonizacji w objętości porównywalnej z rozmiarem segmentu DNA i uwzględnia fakt, że nie każda jonizacja doprowadzi do trwałego uszkodzenia materiału genetycznego. R_2 zostanie zestawiona z innymi wielkościami nanodozymetrycznymi, dyskutowanymi w środowisku naukowym (Conte et al., 2017, 2018; Selva et al., 2019; Rucinski et al., 2021; Faddegón et al., 2023; Conte et al., 2023). Podejście z zaproponowanym systemem wag eliminuje kwestię wyboru właściwej do opisu skutków biologicznych minimalnej liczby jonizacji, która miałaby z całą pewnością spowodować letalne, podwójnoniciowe uszkodzenie DNA i na którą coraz częściej proponowano wartości stojące w sprzeczności z faktem, że już dwie jonizacje mogą okazać się wystarczające do wywołania takiego uszkodzenia. Arbitralne ustalenie najmniejszej liczby jonizacji w rozważanej, subkomórkowej objętości wiązało się z ryzykiem niedoszacowania radiacyjnych efektów w przypadku niższej gęstości jonizacji oraz przeszacowania skuteczności dla wyższych wartości tej wielkości. Jednym z celów rozprawy jest analiza zasadności zastosowania wielkości R_2 w ocenie skuteczności biologicznej lekkich jonów.

W pracy wykorzystano dane nanodozymetryczne przygotowane w oparciu o symulacje Monte Carlo z użyciem kodów Geant4-DNA. Zestawiono je z wielkościami biologicznymi otrzymanymi na podstawie wyników licznych testów przeżywalności linii komórkowej fibroblastów płuc chomika chińskiego i zebranymi w bazie danych radiobiologicznych. Podejście to daje szansę na powiązanie mierzalnych

parametrów w nanoskali z wielkościami charakteryzującymi rzeczywisty system biologiczny.

Oprócz weryfikacji zasadności wdrożenia wielkości R_2 opartej na rozkładzie dwumianowym, praca wskazuje potencjalne korzyści wykorzystania wartości średniego rozmiaru klastra M_1 jako alternatywę dla liniowego przekazu energii. Rozpatruje hipotezę o powiązaniu między wielkościami nanodozymetrycznymi a opisem radiobiologicznym dla standardowego targetu o wymiarach $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ jako odpowiednika podstawowej jednostki czulej na promieniowanie jonizujące w postaci fragmentu cząsteczki DNA o długości około 3,4 nm (odpowiadającej 10 parom zasad). Celem jest wskazanie możliwości alternatywnego uwzględnienia wkładu od różnoefektywnych zdarzeń po przejściu jonizującej cząstki pierwotnej prowadzących do uszkodzenia materiału genetycznego, aby wykorzystać szansę na zastosowanie wielkości nanodozymetrycznych w ocenie skuteczności biologicznej promieniowania jonizującego.

1.3 Układ pracy

Rozprawa składa się z sześciu rozdziałów. W pierwszym zawarto kontekst badań i ich motywację, wskazano zakres pracy i cel naukowy, a także przedstawiono układ rozprawy oraz zestawiono dorobek naukowy autorki.

Drugi rozdział to opis teoretycznego podłoża badań z przedstawieniem pojęć niezbędnych do zrozumienia rezultatów pracy. W tym rozdziale uwzględniono fizyczne, chemiczne i biologiczne aspekty oddziaływania promieniowania jonizującego z żywą materią. Przedstawiono stosowane klinicznie wielkości służące ocenie ilości i jakości promieniowania jonizującego wykorzystywanego w radioterapii. Wskazanie ich ograniczeń prowadzi do statystycznego opisu oddziaływań stochastycznych w nanoskali, a wprowadzona w ten sposób tematyka nanodozymetrii obejmuje prezentację podstawowych jej pojęć i aktualnych możliwości technicznych. W przedostatniej części podjęto się charakterystyki podstawowych radiobiologicznych metod eksperymentalnych. Na końcu rozdziału uwzględniony został przegląd badań wskazujących na powiązanie między wielkościami nanodozymetrycznymi, a radiobiologicznymi.

Rozdział trzeci skupia się na danych nanodozymetrycznych wykorzystanych w tej pracy. Rozpoczyna się od krótkiego opisu materiałów i metod. Dalej uwzględniono informacje o eksperymentach z użyciem nanodozymetru Jet Counter i symulacjach Monte Carlo, które wykorzystano do walidacji używanych modeli fizycznych. Uwzględniono ich krótką charakterystykę. Zasadnicza część rozdziału to opis symulacji, które posłużyły uzyskaniu danych nanodozymetrycznych wykorzystanych do zestawienia z parametrami radiobiologicznymi. Scharakteryzowano geometrię, uwzględnione procesy fizyczne i metody otrzymania danych dla jonu,

dla którego niedostępne były przekroje czynne. W ostatniej części wskazano wielkości, które obliczono i które zostały poddane analizie.

W rozdziale czwartym skupiono się na danych radiobiologicznych, a część tę rozpoczęto od charakterystyki linii komórkowej V79 oraz bazy radiobiologicznej PIDE. Dalej uwzględniono kryteria wyboru danych oraz zestawiono źródła promieniowania. Rozdział obejmuje także przegląd otrzymanych danych, który miał na celu wskazanie źródeł rozbieżności i ewentualnych ograniczeń parametrów pochodzących z bazy danych.

Właściwy dla wyników rozdział piąty stanowi część pracy, w której najpierw zwalidowano dane i wskazano zakresy ich stosowalności, a następnie dokonano zestawienia wielkości nanodozymetrycznych i radiobiologicznych. Wskazano możliwości wynikające z wielkości opisujących zjawiska stochastyczne w nanoskali, w szczególności w aspekcie wielkości R_2 , jako alternatywy dla parametru F_k . Wskazano, jak nowo proponowana wielkość odtwarza obserwowane makroskopowo trendy. Uwzględniono tu dyskusję wyników, nawiązano do poprzednich badań i wskazano korzyści płynące z alternatywnej charakterystyki nanodozymetrycznej.

Ostatni rozdział to wnioski płynące z badań, które podsumowują otrzymane rezultaty. W tej części dokonano także opisu możliwości rozszerzenia badań czy zastosowania wyników w dalszej perspektywie.

Na końcu pracy załączono dodatki z wybranymi danymi nanodozymetrycznymi i radiobiologicznymi wykorzystanymi w pracy.

1.4 Publikacje

Wyniki prezentowane w pracy zostały przedstawione w następujących artykułach:

- **Mietelska, M.**; Pietrzak, M.; Bancer, A.; Ruciński, A.; Szepliński, Z.; Brzozowska, B.: Ionization Detail Parameters for DNA Damage Evaluation in Charged Particle Radiotherapy: Simulation Study Based on Cell Survival Database. *International Journal of Molecular Sciences* 25(10), 2024.
<https://doi.org/10.3390/ijms25105094>
- Pietrzak, M.; **Mietelska, M.**; Bancer, A.; Rucinski, A.; Brzozowska, B.: Geant4-DNA Modeling of Nanodosimetric Quantities in the Jet Counter for Alpha Particles. *Physics in Medicine & Biology* 66(22), 2021.
<https://doi.org/10.1088/1361-6560/ac33eb>
- Bancer, A.; Pietrzak, M.; **Mietelska, M.**: Particle Track Structure Measurements from 0.5 to 18 nm in Nitrogen Using the Jet Counter Nanodosimeter. *Radiation Physics and Chemistry* 172, 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2020.108805>

Ponadto autorka brała udział w pracach z zakresu radioterapii, które zaowocowały poniższą publikacją:

- Kukołowicz, P.; **Mietelska, M.**; Kiprian, D.: Effectiveness of the No action level protocol for head and neck patients – Time considerations. *Reports of Practical Oncology and Radiotherapy* 25(5), 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.rpor.2020.04.005>

Rozdział 2

Podłoże badań

Rozdział jest zwięzłym przeglądem podstaw teoretycznych zagadnień poruszanych w ramach tej pracy. Rozpoczyna się od *stricte* fizycznych aspektów oddziaływania lekkich jonów z materią. Następnie skupiono się na biologicznych konsekwencjach oddziaływania cząstek jonizujących, poczynając od etapów tych oddziaływań, a na opisie i skutkach uszkodzeń w obrębie DNA komórki kończąc. Kolejną część rozdziału poświęcono makroskopowym wielkościom wykorzystywanym do charakteryzowania jakości i ilości promieniowania, które są podstawą w zastosowaniach klinicznych. Wskazano także ograniczenia tych wielkości prowadzące do potrzeby uwzględnienia stochastycznej natury oddziaływania promieniowania z materią. W tym celu przedstawiono statystyczny opis oparty o koncepcje nanodozymetryczne, biorąc pod uwagę wielkości i założenia, a także nakreślając możliwości eksperymentalne i symulacyjne. Przedostatnia część rozdziału uwzględnia podstawowe metody i wielkości radiobiologiczne wykorzystane w pracy. Na końcu wskazano na obecny stan wiedzy w zakresie powiązania między wielkościami biologicznymi i nanodozymetrycznymi.

2.1 Oddziaływanie lekkich jonów z materią

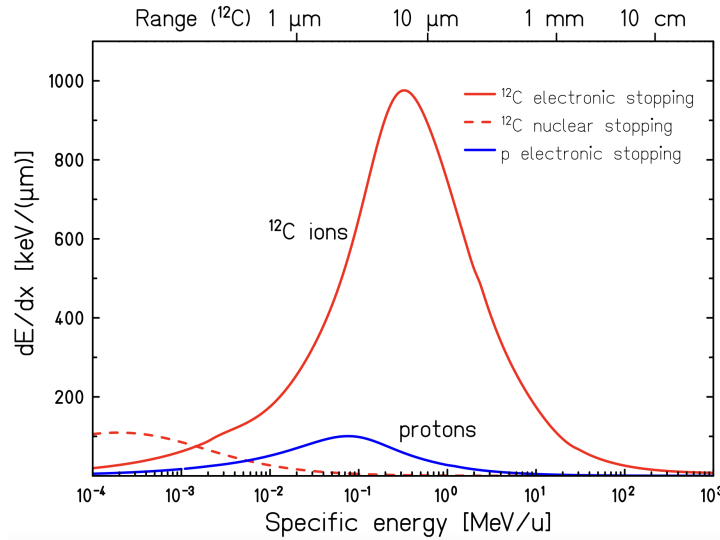
W 1946 roku, zaledwie 27 lat po odkryciu protonu przez Ernesta Rutherforda (Rutherford, 1919), fizyk Robert Wilson jako pierwszy zaproponował leczenie nowotworów złośliwych za pomocą lekkich jonów (Wilson, 1946), co miało związek z wyjątkowymi właściwościami ciężkich cząstek naładowanych. Te, przechodząc przez materię, wytracają energię na drodze oddziaływań kulombowskich z elektronami ośrodka, rozpraszania na jądrach atomowych ośrodka oraz reakcji jądrowych. Średnia strata energii dE tych cząstek podczas pokonywania odległości dx w materiale o gęstości ρ wyrażana jest przez masową zdolność hamowania $\frac{S}{\rho}$ będącą

sumą masowych zdolności hamowania na dany proces (ICRU, 2011):

$$\frac{S}{\rho} = \frac{1}{\rho} \left(\frac{dE}{dx} \right)_{\text{el}} + \frac{1}{\rho} \left(\frac{dE}{dx} \right)_{\text{rad}} + \frac{1}{\rho} \left(\frac{dE}{dx} \right)_{\text{nuc}} = \frac{S_{\text{el}}}{\rho} + \frac{S_{\text{rad}}}{\rho} + \frac{S_{\text{nuc}}}{\rho}, \quad (2.1)$$

gdzie $\frac{S_{\text{el}}}{\rho}$ to masowa elektronowa¹ zdolność hamowania (z ang. *electronic*), $\frac{S_{\text{rad}}}{\rho}$ to masowa radiacyjna zdolność hamowania (z ang. *radiative*), a $\frac{S_{\text{nuc}}}{\rho}$ a to masowa jądrowa zdolność hamowania (z ang. *nuclear*).

W zakresie energii istotnych z punktu widzenia radioterapii i ochrony radiologicznej, masowa elektronowa zdolność hamowania ma charakter dominujący. Tym samym dla lekkich jonów dominującymi procesami będą jonizacje od cząstek pierwotnych i wtórnych (w tym elektronów δ) oraz wzbudzenia atomów. Na rysunku 2.1 przedstawiono poszczególne wkłady do całkowitej zdolności hamowania dla protonów i jonów węgla, co wskazuje, że w zakresie energii istotnym z punktu widzenia tej pracy kluczowa będzie masowa elektronowa zdolność hamowania.



Rysunek 2.1. Zdolność hamowania protonów i jonów węgla. Na górnej osi zaznaczono zasięg jonów węgla. Źródło: Schardt et al. (2010).

Dla lekkich jonów o energii rzędu megaelektronowoltów energia tracona w pojedynczym akcie jonizacji stanowi mały ułamek energii kinetycznej cząstki. Do wytracenia całej energii i jednocześnie zatrzymania cząstki konieczna jest duża liczba aktów jonizacji. Straty energii mają quasi-ciągły charakter. Średnie straty energii dE na jednostce drogi dx w ośrodku o gęstości ρ określa wzór 2.2, znany jako równanie Bethgo-Blocha (Bethe, 1930; Bloch, 1933):

$$-\frac{1}{\rho} \frac{dE}{dx} = 4\pi N_A r_e^2 m_e c^2 z_p^2 \frac{Z}{A} \frac{1}{\left(\frac{v}{c}\right)^2} \left[\ln \left(\frac{2m_e c^2 \gamma^2 \left(\frac{v}{c}\right)^2}{I} \right) - \left(\frac{v}{c}\right)^2 \right], \quad (2.2)$$

¹Dawniej kolizyjna (z ang. *collision*) (ICRU, 2011).

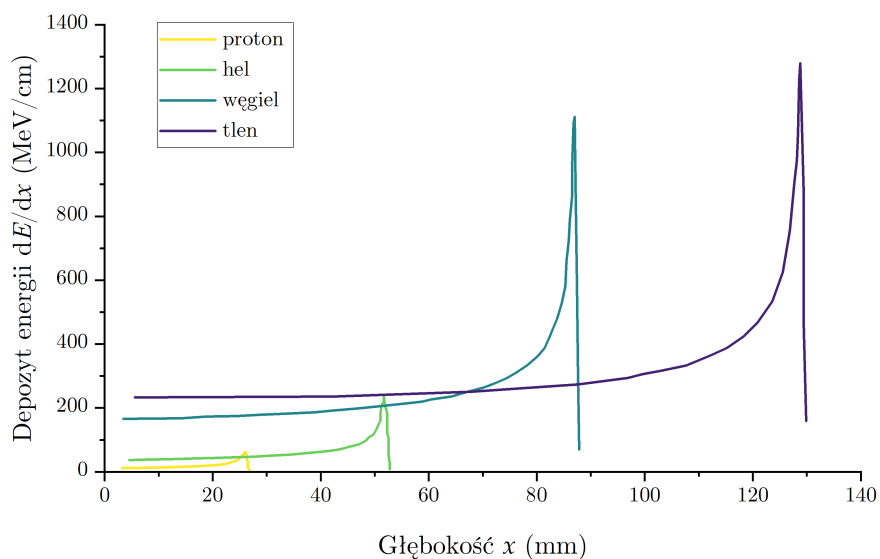
gdzie: N_A – stała Avogadro, r_e – klasyczny promień elektronu, m_e – masa elektronu, A – liczba masowa ośrodka, Z – liczba atomowa ośrodka, z_p – ładunek cząstki w jednostkach ładunku elementarnego, v – prędkość cząstki, c – prędkość światła w próżni, γ – czynnik Lorentza, I – średni potencjał jonizacji ośrodka. Dla uzyskania poprawnych rezultatów wprowadza się czynniki korygujące np. ze względu na korekcję powłokową (z ang. *shell correction*) czy gęstościową (z ang. *density-effect correction*), a walidacja z wykorzystaniem dużych zbiorów wyników eksperymentalnych pozwoliła na uzyskanie satysfakcjonujących wyników dla szerokiego zakresu cząstek, energii i materiałów (Ziegler, 1999; Ziegler et al., 2010). Największe niepewności notowane są w zakresie energii znacznie poniżej 1 MeV ze względu na trudności zarówno natury eksperymentalnej, jak i teoretycznej.

Przebieg strat energii wraz z głębokością w ośrodku dla wiązki ciężkich cząstek naładowanych wykazuje maksimum depozycji na końcu drogi cząstki. Obrazuje to charakterystyczna krzywa nazywana krzywą Bragga. Ten przebieg strat energii jest jednocześnie najbardziej istotnym wyróżnikiem korzyści w napromienianiu nowotworów względem wiązek fotonów stosowanych w klasycznej teleradioterapii, dla których maksymalna depozycja notowana jest na głębokości zaledwie kilku centymetrów, a następnie stopniowo maleje, nie mając jasno określonego zasięgu. Zdolność hamowania wszystkich cząstek naładowanych zmienia się wraz z ich prędkością, gwałtownie rosnąc wraz z jej spadkiem w pobliżu końca toru i powoli rosnąc wraz z jej wzrostem przy relatywistycznych energiach ICRU (2023). Zależność strat energii od głębokości dla protonów o energii początkowej 54 MeV/u, jonów helu 80 MeV/u, jonów węgla 200 MeV/u i jonów tlenu 300 MeV/u przedstawiono na rysunku 2.2. Wykres nie uwzględnia depozytów energii za pikiem Bragga pochodzących od dalekozasięgowych, lżejszych od pierwotnego jonu cząstek i powstałych w wyniku jego fragmentacji. Zostały zachowane proporcje pomiędzy krzywymi.

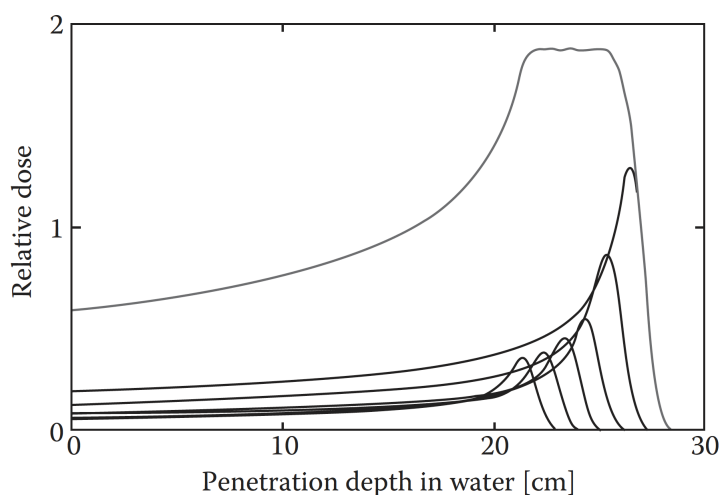
W zastosowaniach klinicznych wykorzystuje się poszerzony pik Bragga (SOBP, z ang. *Spread Out Bragg Peak*) (Koehler i Preston, 1972) dla zapewnienia *plateau* dawki promieniowania w całej napromienianej objętości guza. Uzyskiwany jest on przez superpozycję wielu pików Bragga o różnym zasięgu. SOBP wraz z jego składowymi został zaprezentowany na rysunku 2.3.

2.1.1 Stadia oddziaływań z żywą materią

W kontekście rozważania biologicznych skutków oddziaływania promieniowania jonizującego z żywą materią konieczne jest przyjrzenie się procesom na poziomie subkomórkowym. Kwas deoksyrybonukleinowy (DNA) jako nośnik informacji genetycznej jest strukturą, której uszkodzenie prowadzi do ograniczenia zdolności reprodukcyjnych komórki będącej markerem śmierci komórkowej w badaniach radiobiologicznych. Dlatego rozważania te przeprowadzono z punktu widzenia od-



Rysunek 2.2. Przykładowe krzywe Bragga dla protonów o energii 54 MeV/u, jonów helu 80 MeV/u, jonów węgla 200 MeV/u i jonów tlenu 300 MeV/u. Opracowanie własne na podstawie wyników Battistoni et al. (2016). Autorzy wykorzystali kody FLUKA.

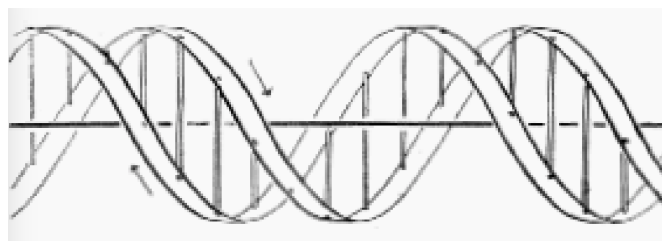


Rysunek 2.3. SOBP i jego składowe piki Bragga. Źródło: Ma i Lomax (2012).

działywania z DNA, choć mogą one dotyczyć wszystkich poziomów organizacji biologicznej, od poziomu DNA poczynając, a na organizmie kończąc.

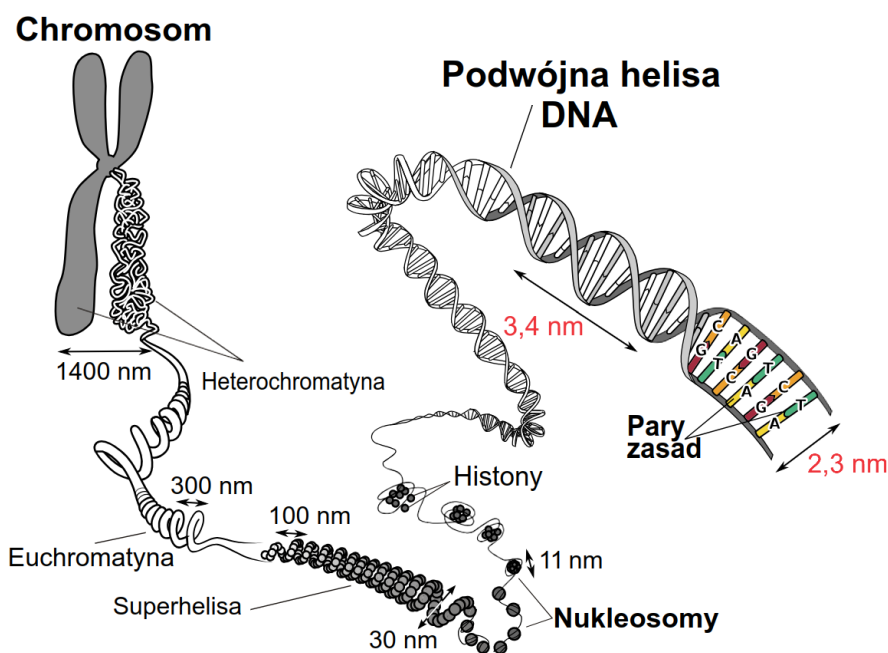
Model przestrzenny DNA został zaproponowany w 1953 roku i do dziś jest uznany za standard. Rysunek 2.4 przedstawia rycinę podwójnej helisy DNA z oryginalnej publikacji (Watson i Crick, 1953). Struktura ta ma dwie spiralne nici, z których każda jest zwinięta wokół tej samej osi. Obie spirale połączone są prostopadłymi do osi nici wiązaniami między komplementarnymi zasadami azotowymi. Te zaś są rozmieszczone co $3,4 \text{ \AA}$ na każdej prawoskrętnej helisie, co odpowiada

0,34 nm. Kąt między sąsiednimi zasadami na danej nici wynosi 36° . Geometria struktury powtarza się po 10 sparowanych zasadach, czyli po 34 Å (3,4 nm).



Rysunek 2.4. Rycina modelu DNA zaproponowana przez Watsona i Cricka. Źródło: Watson i Crick (1953).

Podwójna helisa DNA stanowi podstawowy poziom organizacji materiału genetycznego w jądrze komórkowym. Kolejne poziomy, aż do chromosomu, ujęto na rysunku 2.5, uwzględniając orientacyjne wymiary poszczególnych struktur.



Rysunek 2.5. Poziomy organizacji DNA w jądrze komórkowym od chromosomu poczynając, a na podwójnej helisie DNA kończąc. Opracowanie własne na podstawie Giancarlo et al. (2019).

DNA może zostać uszkodzone bezpośrednio przez pierwotną cząstkę jonizującą i jej cząstki wtórne lub pośrednio przez aktywne chemicznie produkty radiolizy wody, np. reaktywne formy tlenu (ROS, z ang. *Reactive Oxygen Species*). Po etapie oddziaływań bezpośrednich i pośrednich inicjowana jest kaskada biochemicznej sygnalizacji i rozpoczynają się procesy naprawy uszkodzeń. Wszystkie wymienione mechanizmy zachodzą w różnych skalach czasowych. Orientacyjne ramy czasowe poszczególnych etapów oraz najważniejsze procesy uwzględnionych stadiów przedstawiono w tabeli 2.1.

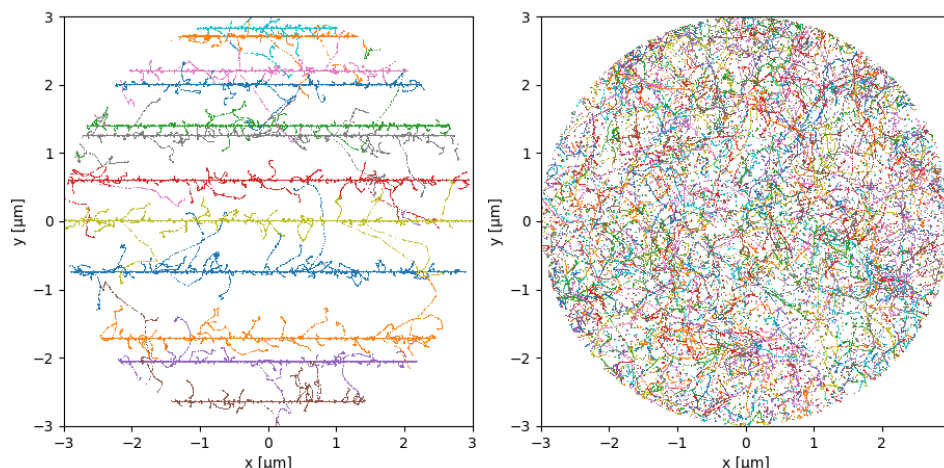
Tabela 2.1. Etapy oddziaływania promieniowania jonizującego z żywą materią z uwzględnieniem skali czasowej i głównych procesów. Na podstawie Mozumder i Hatano (2003).

Etap	Skala czasowa	Główne procesy
fizyczny	$10^{-18} - 10^{-12}$ s	działanie bezpośrednie: jonizacje, wzbudzenia
chemiczny	$10^{-14} - 10^0$ s	działanie pośrednie reaktywnych form tlenu
biologiczny	sekundy – lata	uszkodzenia i naprawa DNA, śmierć komórki
		efekty późne: kancerogeneza, niestabilność genomu

Etap fizyczny

Pierwszy etap, etap fizyczny, obejmuje bezpośrednie oddziaływanie cząstek pierwotnych lub wtórnych z atomami DNA. Główną rolę odgrywają tu procesy jonizacji i wzbudzenia atomów, stanowiąc pierwsze ogniwo łańcucha przemian prowadzących do biologicznego efektu działania promieniowania. Przestrzenny rozkład oddziaływań silnie zależy od właściwości cząstki pierwotnej. Na poziomie pojedynczych nanometrów, czyli poziomie porównywalnym z rozmiarami DNA, każda różnica w strukturze toru odgrywa bardzo istotną rolę. Dla lekkich jonów gęstość oddziaływań szybko spada wraz z odległością od toru cząstki, który jest niemal prosty. Nieznaczące odchylenia wynikają z interakcji z elektronami ośrodka. Czasami zdarzają się gwałtowne zmiany kierunku przy rozpraszaniu na jądrach atomowych, jednak przekrój czynny na takie rozpraszanie jest rzędu wielkości mniejszy niż na oddziaływanie z elektronami ośrodka. Dla protonów o energii 1 MeV różnica ta wynosi trzy rzędy wielkości (Uehara et al., 2001). Dla fotonów i lżejszych elektronów przestrzenny rozkład oddziaływań jest dużo bardziej równomierny, co wynika z wysoce prawdopodobnych procesów rozpraszania. Różnice te przedstawiono na rysunku 2.6, gdzie autor zasymulował niemal identyczną liczbę jonizacji w mikrometrowej objętości dla jonów węgla o energii 120 MeV i promieniowania γ ze źródła ^{137}Cs (Pietrzak, 2023). Dla dostarczenia tej samej dawki konieczne było wykorzystanie zaledwie 12 jonów węgla i aż $6 \cdot 10^6$ fotonów promieniowania γ , z których około 8000 (0,13%) oddziaływało z objętością. Najbardziej prawdopodobną drogą prowadzącą do śmierci komórki jest uszkodzenie obu nici DNA w bliskiej odległości, czego szanse są najwyższe w pobliżu toru cząstki gęsto jonizującej (Goodhead, 1994). To stanowi zaś główną przyczynę wyższej skuteczności biologicznej gęsto jonizujących ciężkich cząstek naładowanych względem fotonów.

Promieniowanie jonizujące może bezpośrednio oddziaływać także z atomami ośrodka, w którym znajduje się DNA, wywołując radiolizę cząsteczek wody w jądrze komórkowym. Wytwarzane w tym procesie ROS i ich produkty molekularne



Rysunek 2.6. Ślady cząstek w mikrometrowej objętości wody (walec o średnicy i wysokości równych $6\ \mu\text{m}$) po przejściu jonów węgla o energii 120 MeV (panel lewy) i promieniowania γ ze źródła ^{137}Cs (panel prawy). Liczba jonizacji w obu przypadkach różni się mniej niż 1%. Różne kolory zastosowano dla rozróżnienia kolejnych cząstek pierwotnych. Walec otoczono wodą, ale obrazek nie uwzględnia jonizacji poza granicami walca. Rzut poprzeczny. Źródło: Pietrzak (2023).

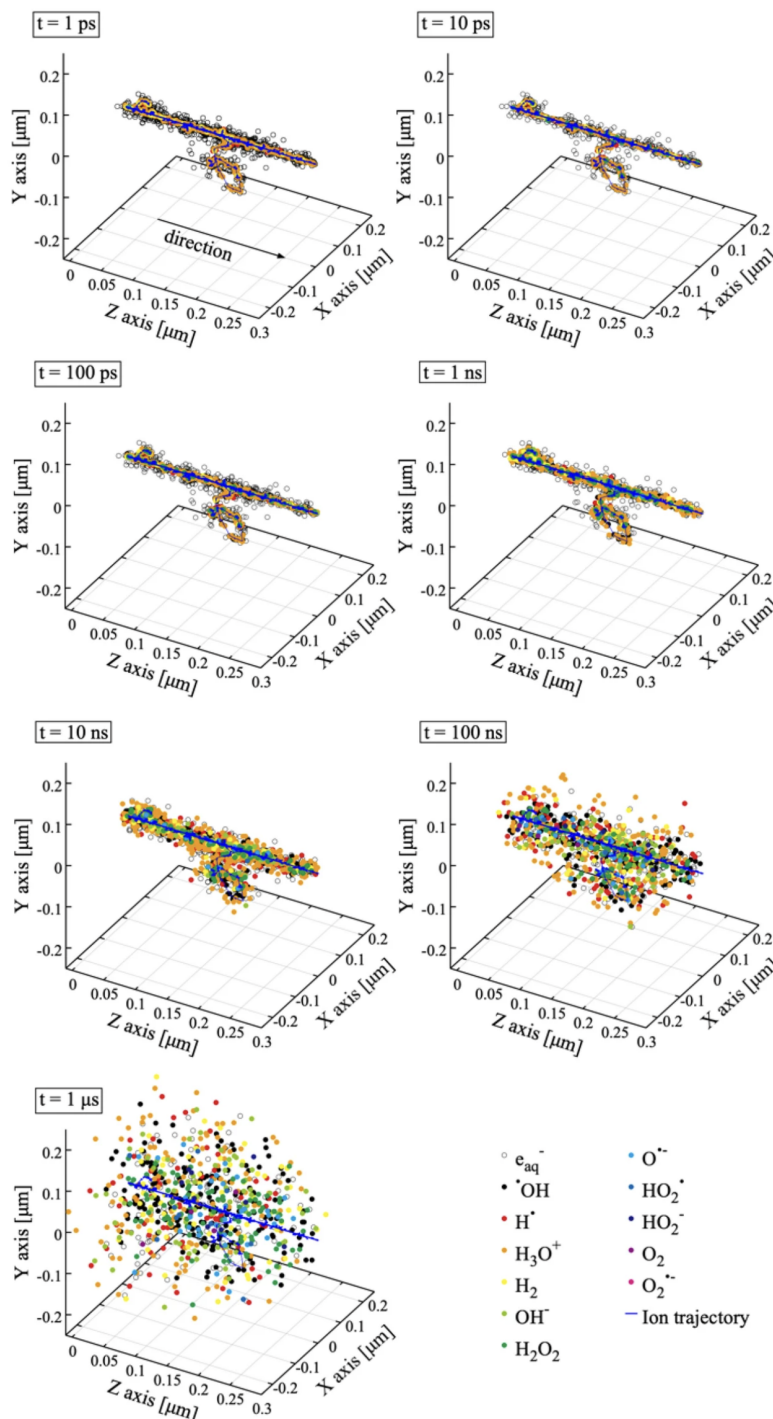
mogą oddziaływać z DNA, powodując efekt pośredni oddziaływania promieniowania jonizującego z żywą materią.

Etap chemiczny

Drugi etap oddziaływania to etap chemiczny. Dochodzi w nim do reakcji chemicznych, także kaskadowych, pomiędzy produktami radiolizy wody, a atomami DNA lub wzbudzonymi cząsteczkami wody. Część produktów radiolizy wody stanowią ROS obejmujące rodzinę krótkożyciowych cząsteczek, takich jak: rodnik hydroksylowy $\bullet\text{OH}$, anionorodnik tlenkowy $\text{O}_2^{\bullet-}$, nadutlenek wodoru H_2O_2 czy tlen singletowy $^1\text{O}_2$. Pierwsza detekcja tych związków w preparatach roślinnych i zwierzęcych miała miejsce już w 1954, choć metody pomiarowe pozwalały na rejestrację wszystkich związków z niesparowanym elektronem, nie tylko ROS (Commoner et al., 1954). Produkty radiolizy wody bez obecności donorów elektronów, takich jak przeciwutleniacze lub enzymy, dyfundują i mogą powodować oksydacyjne uszkodzenia DNA na drodze parowania wolnego elektronu z atomami ośrodka. W badaniach z wykorzystaniem fibroblastów chomika chińskiego (linia V79) wykazano, że rodnik hydroksylowy $\bullet\text{OH}$ w temperaturze 0°C powoduje pęknięcia jednej z nici helisy DNA, natomiast jest nieskuteczny w wytwarzaniu pęknięć podwójnoniciowych w warunkach *in vivo* (Ward, 1988).

Wysoka reaktywność środowiska komórkowego pozwala na submikrometrowe odległości dyfuzji dla reaktywnych produktów radiolizy wody po przejściu lekkich jonów. W przypadku promieniowania X odległości te oszacowano na pojedyncze nanometry (Roots i Okada, 1975). Przykład ewolucji przestrzennej i czasowej pro-

duktów radiolizy wody dla wysokoenergetycznego jonu węgla zaprezentowano na rysunku 2.7 (Baba et al., 2021). Rysunek jest wynikiem symulacji środowiska wodnego z użyciem kodów Geant4-DNA i obejmuje zakres czasowy od 1 ps do 1 μ s.



Rysunek 2.7. Dyfuzja produktów radiolizy wody dla jonu węgla o energii 400 MeV/u w wodzie w czasie od 1 ps do 1 μ s. Na podstawie symulacji z użyciem kodów Geant4-DNA. Niebieską linią oznaczono trajektorię jonu. Kolory punktów zastosowano w zależności od rodzaju produktu radiolizy wody. Źródło: Baba et al. (2021).

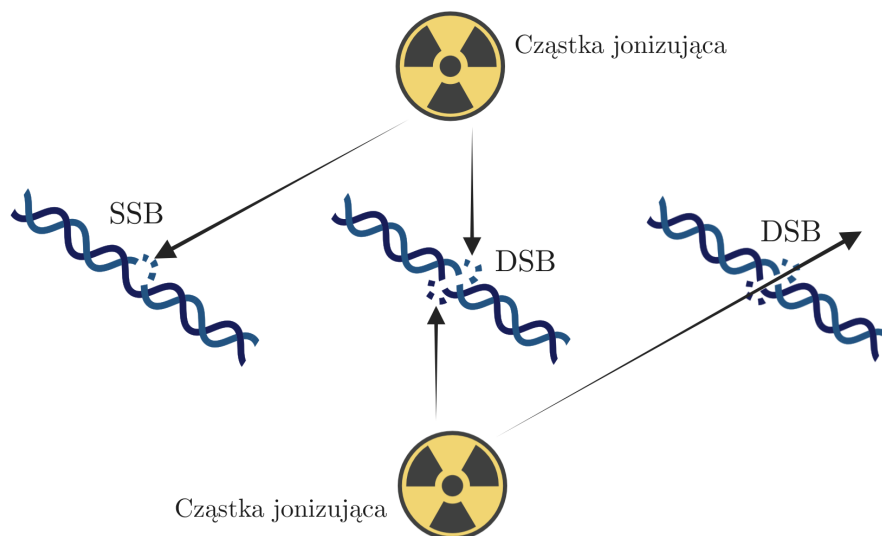
Dla początkowych punktów czasowych trajektoria jonu węgla jest wyraźnie zarysowana, a produkty radiolizy wody są widoczne głównie wzdłuż toru ruchu jonów węgla. Występują gęściej niż te wzdłuż trajektorii elektronów wtórnych. Z upływem czasu produkty radiolityczne równomiernie dyfundują, zacierając pierwotnie widoczną strukturę toru wiązki.

Etap biologiczny

W etapie biologicznym wyróżnić można procesy wczesne i późne. We wczesnym stadium poprzez szereg molekularnych szlaków sygnałowych dochodzi do rozpoznawania uszkodzeń, wstrzymania podziału komórkowego i rozpoczęcia naprawy uszkodzeń DNA. Tak jak wyróżnić można liczne rodzaje uszkodzeń DNA, tak liczne są mechanizmy ich detekcji i naprawy. Nie zawsze jednak naprawa jest skuteczna, co może prowadzić do niestabilności genomu zwiększającej szybkość powstawania mutacji i innych zmian genetycznych. Zmiany te mogą się ujawnić w komórkach potomnych po licznych replikacjach (Little, 2000). To zaś otwiera drzwi do efektów późnych, w tym kancerogenezy. Nieskuteczna naprawa nie musi jednak wywoływać dalekosiężnych skutków ze względu na możliwość apoptozy, czyli zaprogramowanej śmierci komórki, która chroni przed przekazywaniem nieprawidłowości genetycznych kolejnym pokoleniom (Pistritto et al., 2016).

2.1.2 Uszkodzenia DNA

Biologiczne konsekwencje promieniowania jonizującego są determinowane przez ich właściwości tworzenia kompleksowych uszkodzeń na poziomie helisy DNA, co w symulacjach uwzględniających zarówno oddziaływania bezpośrednie, jak i pośrednie wykazał Nikjoo et al. (1999). Proste uszkodzenia, takie jak uszkodzenie zasady azotowej czy pojedynczoniciowe uszkodzenie DNA (SSB, z ang. *single-strand break*), które stanowią większość uszkodzeń zarówno dla promieniowania X, jak i cząstek alfa (Nikjoo et al., 1998; Brzozowska et al., 2020), słabo korelują z efektywnością biologiczną. Pomimo, że wydajność tworzenia tego rodzaju uszkodzeń dla pojedynczej komórki to około 1000 SSB na dawkę 1 Gy dla promieniowania o niskim przekazie energii, to dawka taka prowadzi średnio do 1 uszkodzenia letalnego (Goodehead, 1994). Ma to związek z wysoką skutecznością naprawy takich uszkodzeń w związku z komplementarną budową nici DNA. Może się zdarzyć, że dwa uszkodzenia pojedynczoniciowe spowodują podwójnoniciowe uszkodzenie DNA (DSB, z ang. *double-strand break*), bo DSB jest zdefiniowane jako przerwanie obu nici DNA w obrębie 10 par zasad, a więc w odległości nie większej niż 3,4 nm. Znacznie częściej takie zjawisko będzie wywołane przez przejście pojedynczego jonu. Omówione aspekty schematycznie prezentuje rysunek 2.8. Należy mieć na uwadze, że procesy naprawcze dotyczą także DSB, choć wiąże się to z wysokim ryzykiem



Rysunek 2.8. Schemat powstawania SSB i DSB. Uwzględniono DSB powstałe w wyniku oddziaływania pojedynczej cząstki (wewnątrztorowe, z ang. *intratrack*) i dwóch cząstek (międzytorowe, z ang. *intertrack*). Przygotowano za pomocą narzędzia BioRender (BioRender, 2024).

niepowodzenia. Z tego powodu utworzenie DSB jest zwykle uważane za wymóg progowy zjawiska śmierci komórki w modelowaniu odpowiedzi na promieniowanie jonizujące. Wszelkie bardziej złożone uszkodzenia obejmują DSB, a ich złożoność tylko zwiększa prawdopodobieństwo apoptozy.

Wpływ hipoksji

Oporność na działanie promieniowania jonizującego jest związana z niedostatecznym poziomem tlenu cząsteczkowego w objętości komórki (hipoksja) (Wang et al., 2019). Zjawisko takie może występować w obrębie silnie proliferujących komórek nowotworowych, gdzie otaczające naczynia krwionośne nie tworzą wystarczająco rozbudowanej sieci dla zapewnienia wystarczającego natlenienia. Komórki nowotworowe zaadaptowały się do takich warunków, a co więcej potrafią się w nich namnażać, dlatego niedotlenienie guza jest obecnie uznawane za główny aspekt progresji nowotworu złośliwego, złego rokowania i oporności na terapię (Höckel i Vaupel, 2001).

Wielkością, która odzwierciedla wpływ tlenu na biologiczną skuteczność promieniowania jest współczynnik wzmożenia tlenowego (OER, z ang. *Oxygen Enhancement Ratio*). Jest zdefiniowany jako stosunek dawki promieniowania koniecznej do spowodowania konkretnego efektu biologicznego, np. zadanego poziomu przeżywalności w normalnych warunkach tlenowych, do wartości dawki potrzebnej do wywołania takiego samego efektu w warunkach beztlenowych. Określa tym samym, ile razy skuteczniejsze jest promieniowanie w przypadku komórek bogatych w tlen względem komórek hipoksycznych. Wartość OER zależy między innymi

od rodzaju promieniowania i maleje wraz z rosnącym liniowym przekazem energii (wielkość tę opisano w sekcji 2.2.2). W przypadku promieniowania fotonowego, gdzie istotną rolę odgrywają uszkodzenia pośrednie, OER osiąga wartość około 3 (Chang et al., 2014). Dla promieniowania gęsto jonizującego, gdzie kluczowe jest oddziaływanie bezpośrednie OER wynosi około 1. Międzynarodowa Agencja Energii Atomowej (IAEA, z ang. *International Atomic Energy Agency*) podaje, że już dla cząstek α o energiach 4 i 2,5 MeV, co odpowiada liniowym przekazom energii o wartościach 110 i 160 keV/ μm , OER spada do wartości odpowiednio 1,3 i 1,0. To oznacza, że efekt hipoksji dla komórek nowotworowych nie ma takiego znaczenia w przypadku promieniowania o wysokim liniowym przekazie energii (IAEA, 2008), co jest korzyścią wynikającą z zastosowania ciężkich cząstek naładowanych w leczeniu radioopornych nowotworów (Pompos et al., 2016).

2.2 Opis makroskopowy

Obecnie stosowana także w praktyce klinicznej ilościowa i jakościowa charakterystyka promieniowania jonizującego opiera się na pojęciach znanych w fizyce medycznej od dziesięcioleci. Międzynarodowa Komisja ds. Jednostek Promieniowania i Pomiarów (ICRU, z ang. *International Commission on Radiation Units & Measurements*) w wydawanych raportach ujednolica, systematyzuje i upowszechnia pojęcia i zasady związane z promieniowaniem i radioaktywnością. Ostatnim raportem poświęconym podstawowym wielkościom i jednostkom promieniowania jonizującego był Raport 85 (ICRU, 2011). To kolejne wydanie raportu podejmującego tę tematykę, z których pierwszy wydano w 1963 roku (ICRU, 1963). Wielkości opisywane w tej sekcji uwzględnił także ostatnio wydany Raport 98 (ICRU, 2023) traktujący o mikrodozymetrii.

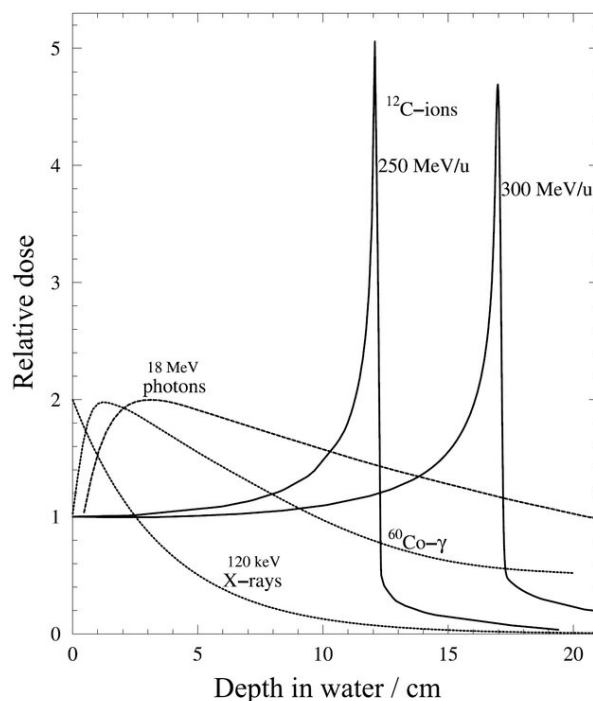
2.2.1 Dawka pochłonięta

Raport 85 ICRU definiuje dawkę pochłoniętą jako:

$$D = \frac{d\bar{\epsilon}}{dm}, \quad (2.3)$$

gdzie $d\bar{\epsilon}$ jest uśrednioną wartością energii przekazanej materii o masie dm . Wielkość ta wyrażana jest w Gy (J/kg). Energią przekazaną danej objętości materii nazywamy sumę wszystkich depozytów energii w zadanej objętości. Raport wskazuje, że dawka, w przeciwieństwie do energii przekazanej, nie jest wielkością stochastyczną. Dawka pochłonięta nie uwzględnia losowego charakteru oddziaływania promieniowania i rozkładu energii na poziomie subkomórkowym, co jest szczególnym ograniczeniem rozważania efektów wywołanych przez lekkie jony, które mają

wysoki liniowy przekaz energii (IAEA, 2008). Dawka pochłonięta jest uważana za wielkość punktową (ICRU, 2011), ale procesy fizyczne nie pozwalają dm na zbliżenie się do zera w sensie matematycznym. Wielkość ta nie uwzględnia wpływu rodzaju promieniowania, jest niespecyficzna, czyli ta sama jej wartość może oznaczać różne skutki biologiczne (Kane i Gelman, 2020). Charakterystyka oddziaływania poszczególnych rodzajów promieniowania przekłada się na profil głębokościowy dawki, który dla fotonów, promieniowania X, promieniowania γ oraz jonów węgla zestawia rysunek 2.9.



Rysunek 2.9. Krzywe dawka-głębokość dla wybranych rodzajów promieniowania: fotonów (18 MeV), promieniowania X (120 keV), promieniowania γ z ^{60}Co oraz jonów węgla (250 i 300 MeV/u). Źródło: Kraft (2000).

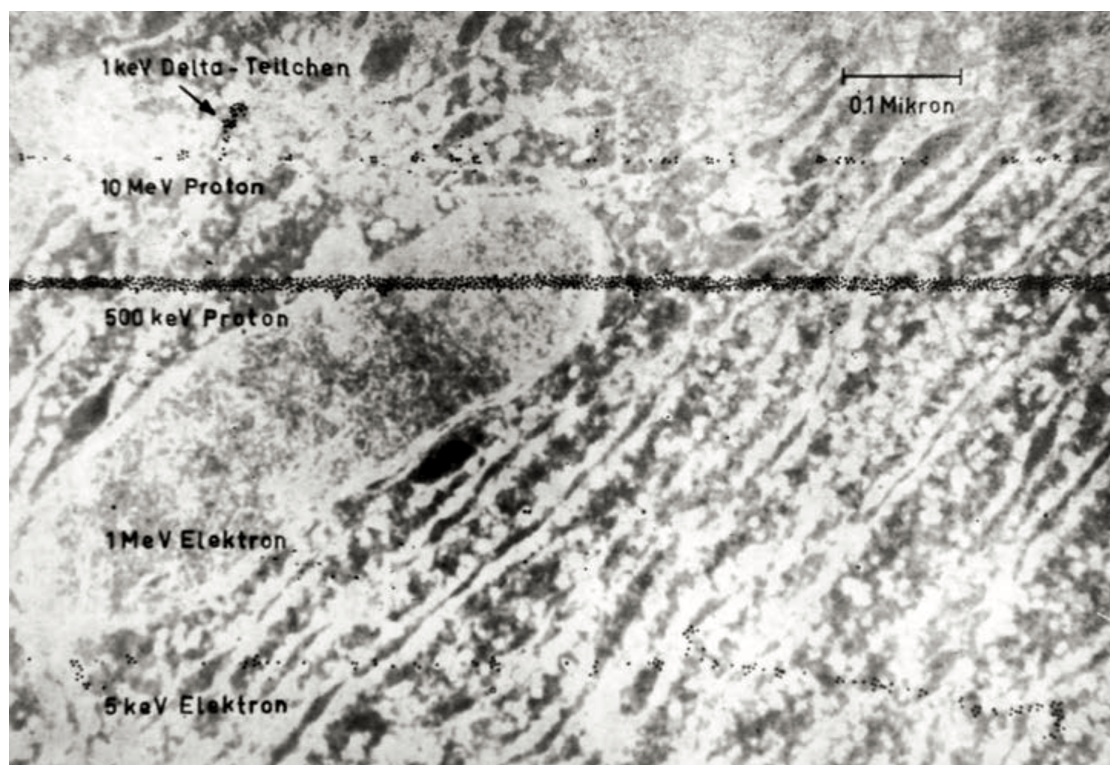
2.2.2 Liniowy przekaz energii

Kolejną podstawową, makroskopową wielkością o uśrednionym charakterze jest liniowy przekaz energii (LET, z ang. *Linear Energy Transfer*). Odpowiada ograniczonej liniowej elektronowej zdolności hamowania dla zadanego rodzaju promieniowania, materiału i energii. LET wyraża zależność:

$$\text{LET} = \frac{dE_{\Delta}}{dl}, \quad (2.4)$$

gdzie dE_{Δ} jest średnią wartością energii deponowaną przez promieniowanie jonizujące w wyniku oddziaływań z elektronami ośrodka podczas pokonywania odległości

dl , pomniejszoną o średnią sumę energii kinetycznych większych niż Δ wszystkich uwolnionych elektronów. LET zazwyczaj wyrażany jest jako nieograniczony, czyli dla $\Delta \rightarrow \infty$. Tory cząstek o różnym LET naniesione na tło komórki ludzkiej zobrazonej przy użyciu mikroskopii elektronowej prezentuje rysunek 2.10. Różnice w gęstościach jonizacji są związane z różnymi rodzajami promieniowania. Czarne kropki to symulowane komputerowo akty jonizacji wywołane przez oddziaływania protonów i elektronów. Zaprezentowano proton o energii 10 MeV, typowy dla protonów odrzutu wytwarzanych przez wysokoenergetyczne neutrony wraz z wtórnym elektronem δ o energii 1 keV. W tych przypadkach jonizacje nie są tak gęsto rozlokowane, jak dla protonu o energii 500 keV, gdzie jonizacje tworzą gęstą kolumnę wzdłuż toru cząstki. Elektron o energii 1 MeV, emitowany na przykład przez ^{60}Co , jonizuje słabiej niż elektron o energii 5 keV, typowy dla elektronów wtórnych wytwarzanych przez promieniowanie X z aparatów diagnostycznych.



Rysunek 2.10. Gęstość jonizacji w komórce ludzkiej zobrazonej przy użyciu mikroskopii elektronowej. Od góry: elektron δ o energii 1 keV, protony 10 MeV oraz 500 keV, a także elektrony 1 MeV oraz 5 keV. W górnym prawym rogu skala. Kolory w negatywie. Źródło: Hall i Willson (2012).

Ważony LET

Dla raportowania pojedynczej wartości LET w zastosowaniach ciężkich cząstek naładowanych konieczne jest dokonanie pewnego uśrednienia. Może się to odbywać

poprzez uśrednianie po dawce dla otrzymania LET_d (z ang. *dose averaged*) lub po fluencji LET_t (równoznaczne z uśrednianiem po torze, z ang. *track averaged* lub *fluence averaged*) (Kalholm et al., 2021). LET uśredniany po dawce wyraża formuła:

$$LET_d = \frac{\sum_i d_i LET_i}{\sum_i d_i}, \quad (2.5)$$

gdzie d_i to dawka pochłonięta w infitezymalnie małej objętości, w której miały miejsce oddziaływania związane z przejściem cząstki naładowanej o konkretnej wartości energii, ładunku i liniowej elektronowej zdolności hamowania. LET uśredniany po fluencji określa wzór:

$$LET_t = \frac{\sum_i \Phi_i LET_i}{\sum_i \Phi_i}, \quad (2.6)$$

gdzie Φ_i to fluencja i -tej cząstki naładowanej o konkretnej wartości energii, ładunku i liniowej elektronowej zdolności hamowania.

LET_d można wyrazić, biorąc pod uwagę LET_t oraz widmo liniowego przekazu energii $f(LET)$, jako:

$$LET_d = \frac{\int_0^\infty LET^2 f(LET) dLET}{LET_t}. \quad (2.7)$$

Uśredniony LET jest wykorzystywany do porównywania wyników radiobiologicznych. Jest także ważnym ogniwnem planowania leczenia z użyciem wiązki jonów, gdzie celem jest oszacowanie rozkładu dawki ważonej względną skutecznością biologiczną, którą zdefiniowano w sekcji 2.2.3. Z przeglądowej analizy sposobów raportowania wartości LET wynika, że brakuje w tym aspekcie konsensusu. Rodzi to błędy polegające na opieraniu nowych modeli względnej skuteczności biologicznej o wyniki radiobiologiczne uwzględniające różnie uśredniany LET, a więc *de facto* różne wielkości (Kalholm et al., 2021).

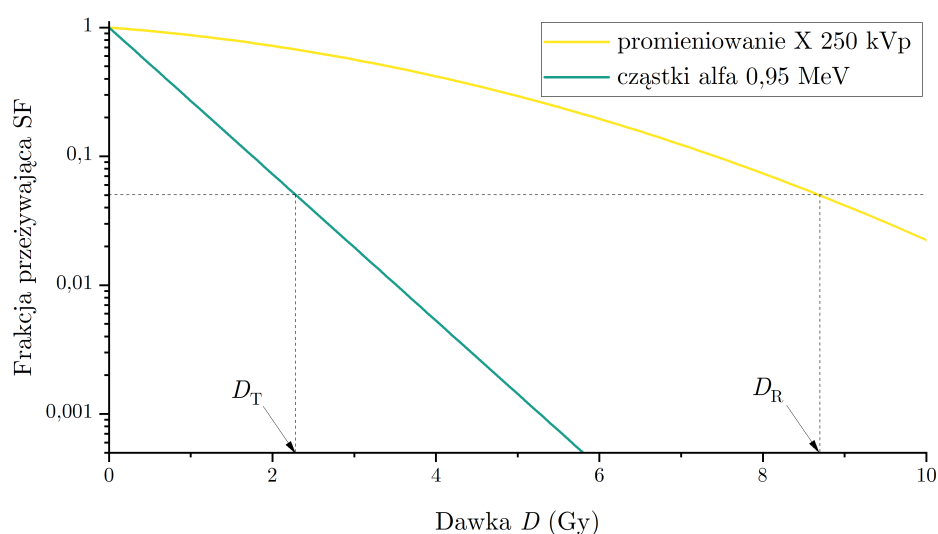
2.2.3 Względna skuteczność biologiczna

Względna skuteczność biologiczna (RBE, z ang. *Relative Biological Effectiveness*) zgodnie z definicją ICRU (ICRU, 2023) to wyznaczana doświadczalnie, bezwymiarowa wielkość zdefiniowana jako stosunek dawki D_R pochodzącej od promieniowania referencyjnego o niskim LET do dawki D_T promieniowania testowego:

$$RBE = \frac{D_R}{D_T}. \quad (2.8)$$

RBE jest obliczane dla wybranego, konkretnego efektu biologicznego, np. przeżywalności na zadanym poziomie.

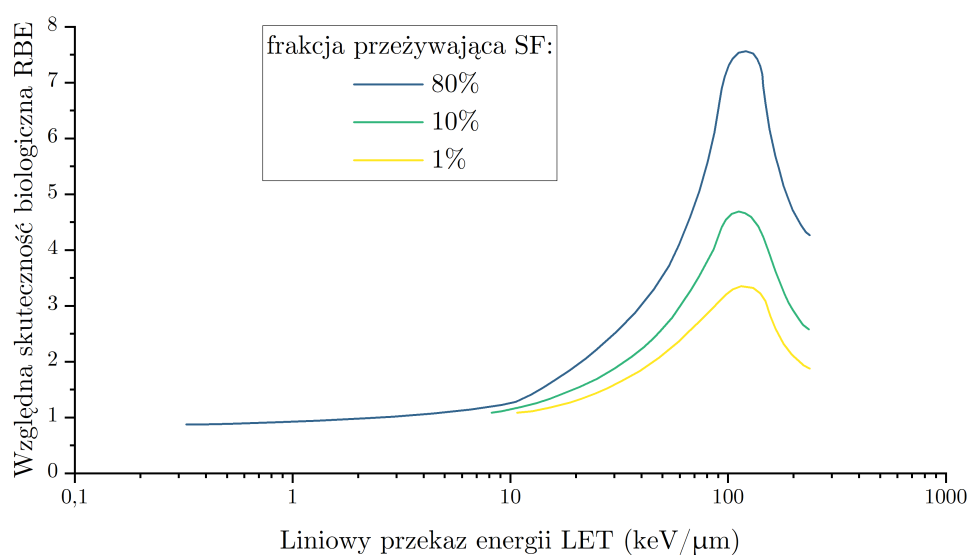
Ideę RBE zaprezentowano na rysunku 2.11, który przedstawia frakcję przeżywającą w funkcji dawki dla promieniowania X, jako promieniowania referencyjnego oraz cząstek alfa, jako promieniowania testowego. Frakcja przeżywająca (SF, z ang. *Surviving Fraction*) to wielkość określająca ułamek lub procent komórek zachowujących zdolność proliferacji po poddaniu działaniu np. promieniowania jonizującego, o czym więcej w sekcji 2.4.1. Dawki D_R i D_T , które wywołują dany efekt biologiczny powinny być dostarczone w tych samych warunkach. RBE, nadal powszechnie używana w praktyce klinicznej, po raz pierwszy została zaproponowana w 1931 roku w kontekście porównania efektywności promieniowania X i γ (Failla i Henshaw, 1931).



Rysunek 2.11. Przebieg krzywych przeżywalności dla promieniowania testowego od cząstek alfa o energii 0,95 MeV oraz promieniowania referencyjnego reprezentowanego przez promieniowanie X z lampy o napięciu nominalnym 250 kVp. Wskazano dawki D_T i D_R dla wybranego poziomu przeżywalności 5%. Parametry krzywych z publikacji Folkard et al. (1989).

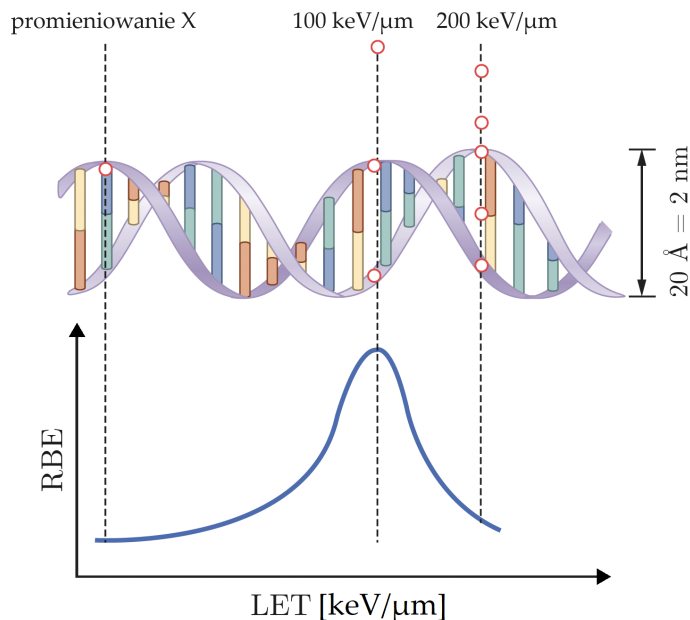
Niezależnie od wybranego efektu biologicznego, dla którego RBE jest obliczane, charakter krzywej RBE(LET) wskazuje na osiąganie maksymalnego RBE dla promieniowania o wartości LET wynoszącej około $100 \text{ keV}/\mu\text{m}$, co prezentuje rysunek 2.12. Mamy więc do czynienia z efektem wysycania. Powyżej tej wartości liniowego przekazu energii RBE spada.

Wyjaśnienie tego fenomenu zostało graficznie ujęte na rysunku 2.13. Inaczej mówiąc, jest to optymalny LET dla otrzymania wystarczającej liczby jonizacji do powstania DSB. Promieniowanie tej jakości najprawdopodobniej spowoduje uszkodzenie podwójnoniciowe przy przejściu pojedynczej cząstki jonizującej dla danej dawki pochłoniętej. Powyżej wartości $100 \text{ keV}/\mu\text{m}$ mamy do czynienia ze zjawiskiem *overkill*, a więc depozycją znacznie większej ilości energii niż jest to



Rysunek 2.12. Przykładowy przebieg krzywych RBE(LET) dla wybranych frakcji przeżywających (SF). Opracowanie własne na podstawie Barendsen et al. (1963) oraz Hall i Willson (2012).

konieczne do uśmiercenia komórki. W takim wypadku liczba zabitych komórek nie zwiększa się mimo rosnącej dawki (Chang et al., 2014).



Rysunek 2.13. Graficzna interpretacja osiągnięcia maksymalnej wartości RBE dla $\text{LET} = 100 \text{ keV}/\mu\text{m}$ w kontekście radiacyjnego uszkodzenia podwójnej helisy DNA. Punkty oznaczają jonizacje. Źródło: Hall i Willson (2012).

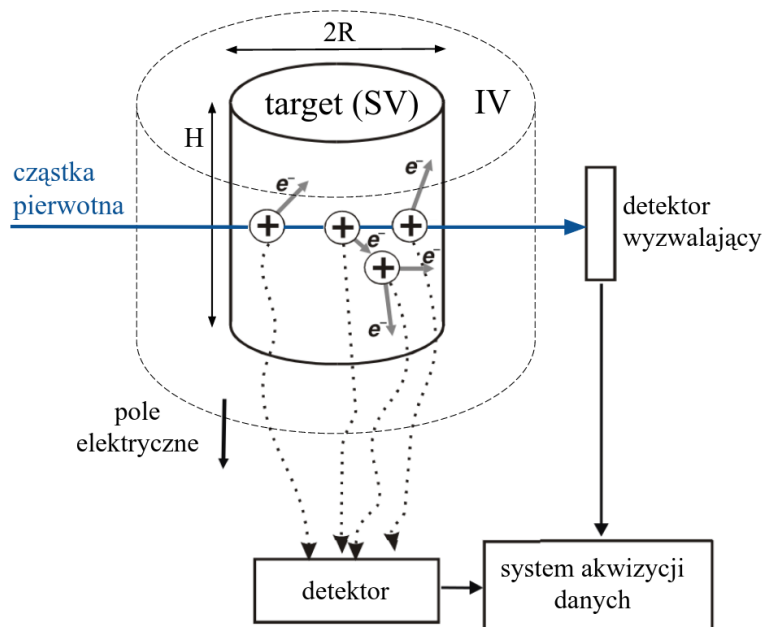
RBE w protonoterapii

Wyznaczenie rozkładu dawki w ciele pacjenta w radioterapii z użyciem innych lekkich jonów jest wyzwaniem. W przypadku protonoterapii stosuje się ważenie wartością RBE ze względu na zwiększoną skuteczność biologiczną protonów względem fotonów. Raport 78 ICRU wskazał, że w terapii z użyciem protonów należy w tym celu stosować stałą wartość RBE równą 1,1 (ICRU, 2007). Wartość ta do dziś jest wykorzystywana w praktyce klinicznej w wielu ośrodkach. Wskazywano, że RBE określone dla zakresu 65–250 MeV w badaniach *in vitro* osiąga średnią wartość $1,22 \pm 0,02$, a w warunkach *in vivo* $1,10 \pm 0,01$ przy mniejszej, ale statystycznie istotnej zależności RBE od dawki (Paganetti et al., 2002). Autorzy zwracali jednak uwagę, że otrzymane wyniki wskazują wzrost wartości RBE wraz z głębokością w SOBP. Obserwowane efekty wyraźnego wzrostu dawki efektywnej w obszarze dystalnym SOBP i kilkumilimetrowy wzrost głębokości rozkładu dawki efektywnej wymagają uwzględnienia w fizycznym rozkładzie dawki. To szczególnie istotne w kontekście wyższych wartości RBE dla późno reagujących prawidłowych tkanek niż dla komórek nowotworowych (Paganetti, 2015). Te argumenty przyczyniły się do głosów o konieczności wprowadzenia zmiennego RBE do systemów planowania leczenia (Jones, 2016; Willers et al., 2018). Powstało wiele propozycji modeli wykorzystujących tę koncepcję (McNamara et al., 2020), a przykładem jest model McNamara et al. (2015). Ze względu na zależność RBE od wielu czynników, potencjalną toksyczność leczenia czy ryzyko nawrotów choroby, rewizja obecnej strategii zastosowania stałego RBE wymaga dalszych badań. Wybitny specjalista w zakresie protonoterapii, Paganetti (2015), dodaje, że zasadnicze różnice między terapeutycznymi skutkami promieniowania fotonowego i protonowego na poziomie molekularnym, komórkowym i tkankowym, a także w zakresie specyficznego dla protonów wpływu na ekspresję genów, sygnalizację, zaburzenia cyklu komórkowego i angiogenezę powodują, że naiwnością jest zakładanie, że można je znormalizować za pomocą tak prostej koncepcji jak RBE.

2.3 Opis statystyczny w nanoskali

Nanodozymetria jest sposobem na ilościowe określenie właściwości promieniowania na poziomie istotnym dla jego interakcji z materiałem genetycznym, tj. z obiektem o rozmiarach kilku nanometrów. Głównym celem w tej dziedzinie jest znalezienie zestawu wielkości fizycznych, które będą precyzyjnie parametryzowały czynniki odpowiedzialne za różnice w wartości RBE dla zadanego systemu biologicznego oraz umożliwią opis w przypadku wykorzystania różnych lekkich jonów, co zapewnia np. terapia boronowo-neutronowa (BNCT, z ang. *Boron Neutron Capture Therapy*) (Mao et al., 2024) czy terapia wielojonowa (MIT, z ang. *Multi-Ion Therapy*) (Rucinski et al., 2021). Obecne metody eksperymentalne wykorzystują rozbudo-

wane detektory gazowe do określenia liczby jonizacji wywołanych przez pojedynczą cząstkę jonizującą w danej objętości nanometrowej, która jest symulowana przez rozrzedzony gaz w objętości rzędu milimetrów. Te liczniki gazowe są wrażliwe na poszczególne produkty jonizacji (jony lub elektrony). Uproszczony schemat działania takiego licznika prezentuje rysunek 2.14.



Rysunek 2.14. Uproszczony schemat działania nanodozymetru. Nie zachowano skali. $2R$ to średnica targetu, a H to jego wysokość. Pojęcia SV i IV wyjaśniono w sekcji 2.3.1.

W podejściu nanodozymetrycznym transfer energii jest uważany za wielkość bez znaczenia, a do szerszego omówienia konieczne jest wprowadzenie kilku pojęć.

2.3.1 Definicje

Pojęcia podstawowe

Target to objętość czuła (SV, z ang. *Sensitive Volume*) zdefiniowana dla danego eksperymentu. Stanowi odrębną strukturę objętościową badanego ośrodka w systemie detekcyjnym, a jonizacje są zliczane tylko wtedy, gdy w niej wystąpią. Reprezentuje nanometrową objętość celu biologicznego, np. krótki odcinek DNA.

Objętość oddziaływań (IV, z ang. *Interaction Volume*) otacza i zawiera objętość czułą i składa się z tego samego materiału. Poza SV jest nieaktywna z punktu widzenia zliczania jonizacji, ale jest bardzo ważna z punktu widzenia oddziaływań, ponieważ elektrony wtórne wytwarzane wewnątrz IV mogą dostać się do SV, a z drugiej strony elektrony wytworzone wewnątrz SV mogą także opuścić

SV, a następnie wrócić. Gdyby target był odizolowany, nie mógłby być prawidłową reprezentacją środowiska komórkowego, w którym poszczególne targety nie są od siebie odizolowane.

Tor cząstki jonizującej jest rozumiany jako zbiór punktów w przestrzeni, w których nastąpiły akty jonizacji. Z punktu widzenia analizy uszkodzeń DNA należałoby uwzględnić wszystkie oddziaływania nieelastyczne, w tym wzbudzenia. Jednak nanodozymetria ogranicza się do jonizacji, ponieważ inne rodzaje oddziaływań nie są mierzalne we współczesnych eksperymentach, o których więcej w sekcji 2.3.2. Jonizacja może być wywołana bezpośrednio przez pierwotną cząstkę jonizującą lub cząstkę wtórną i oba te typy aktów są uwzględniane. W przypadku lekkich jonów jonizacje wywołane bezpośrednio przez cząstkę pierwotną mają dominujący charakter.

Klaster jonizacyjny jest zdefiniowany jako zbiór aktów jonizacji, które wystąpiły w SV na skutek przejścia pojedynczej cząstki pierwotnej. Jonizacje mogą, ale nie muszą zostać wytworzone przez tę samą cząstkę jonizującą, mogą pochodzić od cząstek wtórnych. Istotne jest ich współistnienie w przestrzeni (wewnątrz tego samego targetu) i czasie (natychmiastowe z chemicznego punktu widzenia).

Rozmiar klastra jonizacyjnego ν to liczba aktów jonizacji, z których składa się klaster. Przejście cząstki przez target i brak bezpośrednich lub pośrednich jonizacji oznacza brak rejestracji powstałych jonów, czyli klaster o zerowym rozmiarze. Możliwe jest uwzględnianie wyłącznie klastrów o rozmiarze niezerowym, ale metody nanodozymetryczne mogą także szacować prawdopodobieństwo klastrów o rozmiarze zerowym, co odróżnia je od metod mikrodozymetrycznych.

Rozkład rozmiaru klastra jonizacyjnego (ICSD, z ang. *Ionisation Cluster Size Distribution*) oznaczany jako P_ν jest rozkładem prawdopodobieństwa powstania klastra jonizacyjnego o danym rozmiarze. Z perspektywy eksperymentalnej czy numerycznej ICSD to w rzeczywistości rozkład częstotliwości zmierzonego rozmiaru klastra. Jeśli oznaczymy liczbę klastrów o rozmiarze ν jako n_ν , największy zmierzony klaster jako $\nu_{\max}$, a liczbę wszystkich zmierzonych klastrów jako N , to ICSD jest estymowany jako:

$$P_\nu = \frac{n_\nu}{N}, \quad \text{gdzie} \quad N = \sum_{\nu=0}^{\nu_{\max}} n_\nu. \quad (2.9)$$

Pojęcia pochodne

Rozwój metod nanodozymetrycznych wprowadził i upowszechnił kilka wielkości pochodnych wyznaczanych w oparciu o ICSD, które służą chociażby do porównywania wyników badań eksperymentalnych i symulacyjnych. Niektóre z tych wielkości zostały zaproponowane jako nowe deskryptory jakości promieniowania (Grosswendt et al., 2007).

Średni rozmiar klastra M_1 jest pierwszym momentem rozkładu ICSD i oznacza średnią liczbę jonizacji wywołaną w SV przez pojedynczą cząstkę jonizującą:

$$M_1 = \sum_{\nu=0}^{\infty} \nu P_{\nu}, \quad (2.10)$$

gdzie ν to rozmiar klastra. M_1 charakteryzuje średnią wydajność jonizacji na cząstkę pierwotną w danym targacie, ale sam nie może jednoznacznie opisywać jakości promieniowania, ponieważ jest niespecyficzny – różne ICSD mogą mieć tę samą wartość M_1 . M_1 jest konceptem podobnym do LET_{Δ} , jednak zdeponowana energia nie ma tutaj znaczenia, a jedynie sama liczba interakcji. W danych warunkach (typ cząstek, ośrodek, kształt i rozmiar targetu, granica energii Δ), M_1 i LET_{Δ} są liniowo skorelowane z energią cząstki pierwotnej. Jednak nie tylko zmiana warunków wpływa na nie w różny sposób, ale także liniowość jest ograniczona do energii wyższych niż ~ 1 MeV/u.

Skumulowane prawdopodobieństwo F_k wyraża prawdopodobieństwo utworzenia klastra o rozmiarze $\nu \geq k$:

$$F_k = \sum_{\nu=k}^{\infty} P_{\nu}. \quad (2.11)$$

Wielkość ta jest związana z prawdopodobieństwem powstania istotnych uszkodzeń DNA. Zakłada się, że dwie jonizacje w tym samym targacie są wystarczające do utworzenia DSB, a większa liczba może prowadzić do bardziej złożonego uszkodzenia. Należy tu zauważyć, że klastry o i -tym rozmiarze, począwszy od k -tego, są uwzględniane przy obliczaniu F_k z równym wkładem. Tym samym wielkość ta nie uwzględnia różnicy w wywoływaniu skutków letalnych w przypadku wystąpienia k lub $k + n$ jonizacji w targacie, gdzie n jest dowolną liczbą naturalną.

F_2 , czyli prawdopodobieństwo utworzenia co najmniej dwóch jonizacji, wykazuje podobną zależność od energii i od LET, jak wydajność indukcji SSB i DSB w badaniach radiobiologicznych (Grosswendt, 2005; Grosswendt et al., 2007). Zarówno F_2 , jak i F_3 korelują z radiobiologicznymi przekrojami wyznaczonymi dla różnych poziomów przeżywalności komórek prawidłowych, a w przypadku komó-

rek z upośledzoną zdolnością naprawczą to parametr F_1 wydaje się być bardziej odpowiedni (Conte et al., 2017, 2018). W kolejnych pracach wskazywano też korelację przekrojów radiobiologicznych z kombinacją liniową F_2 i F_3 (Conte et al., 2023). W kontekście powiązania wielkości nanodozymetrycznych z odpowiedzią biologiczną rozważane są też parametry F_3 , F_4 i F_5 (Ramos-Méndez et al., 2018; Rucinski et al., 2021; Faddegon et al., 2023). Temat ten zostanie podjęty w sekcji 2.5 oraz w rozdziale 6.

Ważone skumulowane prawdopodobieństwo R_2

Ograniczeniem wielkości F_k jest uwzględnianie równych wag wkładów do wartości F_k od poszczególnych rozmiarów klastra ν . Pietrzak (2023) wskazuje na możliwość zaproponowania innych funkcji wagowych, w szczególności opartej o rozkład dwumianowy $\mathcal{B}$.

Jeżeli określimy funkcję $C[P_\nu]$ jako uogólnioną ważoną sumę P_ν :

$$C[P_\nu] = \sum_{\nu=0}^{\infty} W_\nu P_\nu, \quad (2.12)$$

gdzie W_ν jest funkcją wagową, to F_k jest przypadkiem $C[P_\nu]$ postaci:

$$W_\nu = W_\nu(k) = \begin{cases} 0 & \text{dla } \nu < k, \\ 1 & \text{dla } \nu \geq k. \end{cases} \quad (2.13)$$

Powyższa schodkowa funkcja wagowa wyznacza bardzo silną granicę pomiędzy klastrami, które będą uwzględniane oraz tymi, których nie będzie się brało pod uwagę przy określaniu prawdopodobieństwa związanego z uszkodzeniem letalnym. Co więcej, k , jako zmienna dyskretna, powoduje, że różnica pomiędzy F_k a F_{k+1} jest istotna zarówno pod względem wartości, jak i interpretacji.

Początkowe propozycje uznania wielkości F_2 jako deskryptora jakości promieniowania były poparte faktem, że już dwie jonizacje w wystarczająco bliskiej odległości w obrębie DNA mogą wywołać potencjalnie letalne uszkodzenie podwójnoniciowe. Uwzględnienie procesów naprawczych czy losowości oddziaływań prowadzi jednak do uznania, że mamy do czynienia z pewnym podstawowym prawdopodobieństwem p określającym szanse, że dana jonizacja wywoła uszkodzenie nici DNA, i że dwie takie jonizacje będą odpowiedzialne za wywołanie efektu letalnego. Prowadzi to do propozycji funkcji wagowej w oparciu o rozkład dwumianowy $\mathcal{B}$ (Pietrzak, 2023):

$$W_\nu = W_\nu(p) = \sum_{k=2}^{\nu} \mathcal{B}_k(\nu, p). \quad (2.14)$$

Nowo proponowany parametr R_2 dla $\nu \geq 2$ bazujący na tej funkcji wagowej przyjmuje postać:

$$R_2(p) = \sum_{\nu=2}^{\infty} P_{\nu} \sum_{k=2}^{\nu} \mathcal{B}_k(\nu, p). \quad (2.15)$$

Dla $p = 1$ zachodzi równość postaci $F_2 = R_2(p = 1)$. Zaletą tego podejścia jest oparcie na ciągłym parametrze p , który może przyjmować różne wartości dla różnych systemów biologicznych i którego wartość może zostać otrzymana na podstawie analizy zgodności z danymi empirycznymi z eksperymentów radiobiologicznych. Odejście od schodkowej funkcji wagowej z arbitralnie ustalonym progiem daje szansę na uwzględnienie wkładu od małych i dużych klastrów w sposób pragmatyczny. Uwzględnienie prawdopodobieństwa p jest też odejściem od oceny prawdopodobieństwa np. co najmniej dwóch jonizacji w przypadku F_2 , w kierunku oceny prawdopodobieństwa co najmniej dwóch uszkodzeń DNA przez wielkość R_2 .

Możliwe jest pójście o krok dalej i zaproponowanie funkcji wagowej, która uwzględni konieczność uszkodzenia obu nici DNA, a nie zaistnienia dwóch uszkodzeń w dowolnej lokalizacji targetu. Taka funkcja wagowa przyjmie postać:

$$W_{\nu} = \sum_{k=2}^{\nu} \mathcal{B}_k(\nu, p) \sum_{j=1}^{k-1} \mathcal{B}_j(k, 50\%) = 1 - \mathcal{B}_1(k, 50\%) - \mathcal{B}_{k-1}(k, 50\%) = 1 - 2k0,5^k,$$

gdzie założono równe prawdopodobieństwo (50%) wystąpienia każdego z uszkodzeń na danej nici DNA. Korzystając z powyższego wzoru, można zaproponować wielkość nanodozymetryczną $R_{1|1}$ uwzględniającą konieczność uszkodzenia obu nici i jednocześnie biorącą pod uwagę prawdopodobieństwo p . Przyjmuje ona postać:

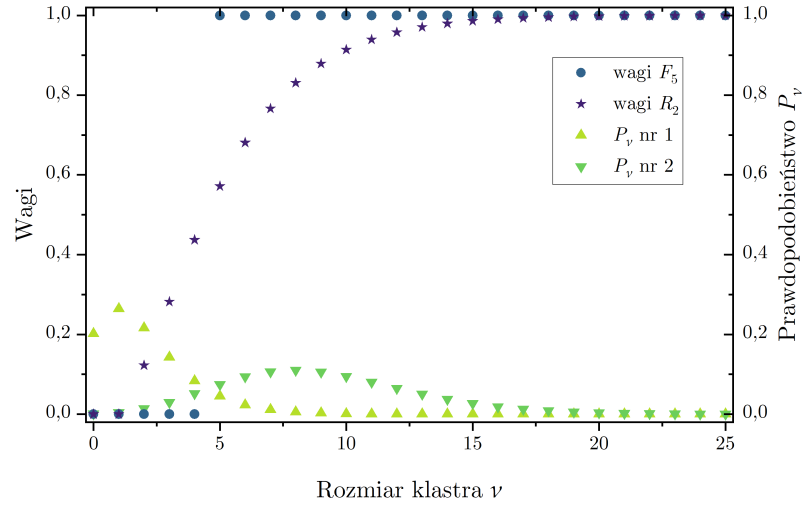
$$R_{1|1} = \sum_{\nu=2}^{\infty} P_{\nu} \sum_{k=2}^{\nu} \mathcal{B}_k(\nu, p)(1 - 2k0,5^k). \quad (2.16)$$

W przeciwieństwie do R_2 , $R_{1|1}$ nie jest możliwe do zmierzenia za pomocą nanodozymetru. Pietrzak (2023) wskazał, że wartości wag R_2 i $R_{1|1}$ są porównywalne, choć związane z różnymi wartościami p .

Zastosowanie parametru R_2 do oceny uszkodzeń DNA w komórkach poddanych działaniu promieniowania jonizującego po raz pierwszy zaprezentowała Mietelska et al. (2024), a szerzej temat ujmuje niniejsza rozprawa.

Porównanie funkcji wagowych F_k i R_2

Porównanie funkcji wagowych zestawiono na rysunku 2.15 dla F_5 i R_2 wraz z przykładami dwóch ICSD charakteryzującymi dwa scenariusze napromieniania, aby zilustrować, jakie konsekwencje rodzi wybór R_2 lub F_5 w obu przypadkach. ICSD dla przypadku nr 1 składa się głównie z małych klastrów jonizacyjnych, a więc repre-



Rysunek 2.15. Wagi F_k i R_2 z przykładowymi ICSD. Przykład nr 1 dla niższego LET, a przykład nr 2 dla wyższego LET.

zentyje promieniowanie o niższym LET. Tu wartości R_2 i F_5 wyniosły odpowiednio 0,16 i 0,09, a znacznie mniejsza wartość F_5 wynika z całkowitego pominięcia klastrów o ν równym 2, 3 i 4. Istnieje ryzyko niedoszacowania efektów biologicznych, które mogą zostać wywołane przez klastry o takim rozmiarze. W scenariuszu nr 2 obserwuje się zwiększone prawdopodobieństwo zarejestrowania dużych klastrów jonizacyjnych, co odpowiada promieniowaniu o wysokim LET. Tu R_2 i F_5 wyniosły odpowiednio 0,8 i 0,9 i choć względna różnica nie jest tak radykalna, to w tym wypadku F_5 może prowadzić do przeszacowania prawdopodobieństwa poważnych efektów biologicznych. Charakter F_k powoduje, że wybór mniejszego k w celu skompensowania niedoszacowania w przypadku niskiego LET może zwiększać przeszacowanie w przypadku wysokiego LET. Na przykładzie protonoterapii oznacza to niedoszacowanie efektu radiobiologicznego w zdrowej tkance i proksymalnej części guza (protony o niższym LET) oraz przeszacowanie efektu w dystalnej części guza i często położonych tuż za guzem narządach krytycznych (protony o wyższym LET).

Obliczone wartości R_2 zestawiono w pracy z wielkościami charakteryzującymi biologiczną odpowiedź komórki na promieniowanie jonizujące w celu wskazania korzyści i możliwości zastosowania wielkości nanodozymetrycznych w kontekście opisu uszkodzeń radiacyjnych.

2.3.2 Nanodozymetria eksperymentalna

Nanodozymetria opiera się na pomiarach z wykorzystaniem gazowych systemów detekcyjnych stosowanych w celu analizy struktury toru cząstek jonizujących. Dotąd na świecie udało się zbudować kilka takich systemów, nie każdy pozwalał na

uzyskanie satysfakcjonujących wyników. Pionierski Track Ion Counter (TIC) datowany jest na lata 70. XX w. i został już wycofany z użytku (Pszona, 1973, 1976). Obecnie na świecie działają trzy w pełni funkcjonalne systemy nanodozymetryczne skonstruowane w podobnym okresie: StarTrack Counter (SC) z włoskiego Legnaro National Laboratories (LNL), Ion Counter (IC) zbudowany w izraelskim Weizmann Institute of Science (WIS) we współpracy z amerykańskim Loma Linda University (LLU), a obecnie działający w niemieckim Physikalisch-Technische Bundesanstalt (PTB), a także Jet Counter (JC) skonstruowany i rozwijany w Narodowym Centrum Badań Jądrowych (NCBJ).

W ogólności pomiary nanodozymetryczne opierają się na zliczaniu indywidualnych aktów jonizacji w gazach, takich jak azot czy propan. Pierwotna cząstka jonizująca przechodzi przez objętość czułą (SV), część większej objętości oddziaływań (IV) urządzenia. Następnie jest rejestrowana przez detektor wyzwalający (TD, z ang. *Trigger Detector*) system akwizycji. Produkty jonizacji, dodatnie jony lub elektrony, są wydobywane z SV i nakierowywane przy użyciu pola elektrycznego do powielacza elektronowego, który wytwarza impuls dla każdej rejestrowanej cząstki. Nanometrowe rozmiary są zapewniane przez ciśnienie rzędu mbar w milimetrowej SV, co wyjaśnia opisana w kolejnym paragrafie procedura skalowania. Przy założeniu 100% wydajności η zliczania jonów, która uwzględnia wydajność ekstrakcji, prowadzenia i detekcji, liczba powstałych jonów jest rozmiarem klastra ν . Przegląd postępów w technikach eksperymentalnych nanodozymetrii prezentuje Bantsar et al. (2018).

Procedura skalowania

Wyniki uzyskane przy użyciu dowolnego systemu nanodozymetrycznego w oparciu o pomiary w środowisku gazowym wymagają przeliczenia na nanometrowe objętości wody za pomocą procedury skalowania, którą zaproponował Grosswendt et al. (2004), a eksperymentalnie zweryfikował Hilgers (2010). Procedura opiera się na wykorzystaniu wzoru:

$$(2R\rho)_{\text{H}_2\text{O}} = \eta \frac{(\lambda\rho)_{\text{H}_2\text{O}}}{(\lambda\rho)_{\text{gaz}}} (2R\rho)_{\text{gaz}} K_e, \quad (2.17)$$

gdzie $(2R\rho)_{\text{H}_2\text{O}}$ i $(2R\rho)_{\text{gaz}}$ to gęstość powierzchniowa targetu odpowiednio w wodzie i gazie, η to wydajność nanodozymetru, $(\lambda\rho)_{\text{H}_2\text{O}}$ i $(\lambda\rho)_{\text{gaz}}$ to średnia droga swobodna cząstki pierwotnej w odpowiednio wodzie i gazie wyrażona w jednostkach masy przypadającej na objętość, a K_e to czynnik korygujący, wynikający z różnic w produkcji i interakcjach elektronów wtórnych.

Wzór 2.17 wynika z próby uzyskania tej samej gęstości powierzchniowej targetu gazowego i wody reprezentującej strukturę biologiczną, co miałyby zapewnić tę samą ilość materii, z którą cząstka pierwotna może oddziaływać. Jednak ta-

kie uproszczenie nie daje zadowalającej zgodności ze względu na znaczne różnice w przekrojach czynnych na jonizację dla azotu, propanu i wody. Aby skompensować tę różnicę uwzględnia się stosunek średniej drogi swobodnej $\frac{(\lambda\rho)_{\text{H}_2\text{O}}}{(\lambda\rho)_{\text{gaz}}}$.

Odrębną kwestią jest uwzględnienie wydajności detekcji jonów, ponieważ η zmniejsza efektywny rozmiar targetu. Wynika to z proporcjonalności pomiędzy liczbą jonizacji w targecie, a jego rozmiarem liniowym. Dla przykładu zmierzony sygnał jest z dobrym przybliżeniem taki sam dla 2 nm i 50% wydajności, jak dla 1 nm i $\eta = 100\%$.

Różnica w produkcji i interakcji elektronów wtórnych jest uwzględniona we wzorze 2.17 przez czynnik K_e będący funkcją energii cząstki jonizującej i rozmiaru targetu. Dla azotu, propanu i wody różnica ta jest zaniedbywalna, więc czynnik K_e przyjmuje wartość 1 (Grosswendt et al., 2014).

Jet Counter

JC to skonstruowany i wykorzystywany w Narodowym Centrum Badań Jądrowych w pełni funkcjonalny system nanodozymetryczny. Jego IV jest zdefiniowania przez ściankę z Mylaru, która ogranicza strumień gazu wstrzykniętego do próżni przez zawór piezoelektryczny. IV jest otwartym cylindrem, więc wszystkie jony mogą zostać wyprowadzone do sekcji zliczającej. JC działa stabilnie w zakresie średnic i wysokości wodnego ekwiwalentu SV do 10 nm (Bancer et al., 2020). Obecne szacunki wskazują na wydajność zliczania jonów na poziomie aż 60% (Pietrzak et al., 2021). JC wykorzystano w kampaniach pomiarowych z użyciem elektronów (Bantsar et al., 2009; Bantsar, 2010), cząstek α (Bantsar, 2010), jonów węgla (Bantsar et al., 2014, 2015; Pietrzak et al., 2018; Pietrzak, 2023), a w ostatnim czasie także na wiązce protonów w Centrum Cyklotronowym Bronowice (CCB) (publikacja w przygotowaniu).

Nowe technologie w nanodozymetrii

Na ten moment nanodozymetryczne systemy pomiarowe są zbyt duże i skomplikowane, by móc rozważać wprowadzenie ich w przyszłości do praktyki klinicznej, stąd pierwsze próby budowy małego, przenośnego nanodozymetru. Pionierskie rozwiązanie w technologii thick-GEM (z ang. *Gas Electron Multipliers*) wykazało istotne problemy z wydajnością detekcji jonów (Casiraghi et al., 2014). W drugim podejściu udało się zwiększyć ten parametr nawet do poziomu $\sim 50\%$, ale tylko dla pojedynczych jonów ze względu na stosunkowo długi czas martwy detektora (Vasi et al., 2016). Ostatnia opublikowana próba dotyczyła detektora FIRE (z ang. *Frequency of Ion REgistration*) (Vasi i Schneider, 2021; Vasi et al., 2021). Zastosowanie nowych materiałów skracających czas martwy detektora pozwoliło na rzetelne odtworzenie ICSD do $\nu = 10$. Niestety zaobserwowano szybkie starze-

nie detektora, a tym samym spadek wydajności detekcji jonów w czasie, dlatego konieczne są kolejne próby w celu optymalizacji wszystkich wspomnianych aspektów. Należy jednak przyznać, że stworzenie pierwszego kompaktowego nanodozymetru umożliwiającego wykonywanie pomiarów ICSD w warunkach klinicznych jest niezwykle obiecujące. Równoległy rozwój urządzeń, takich jak JC, jest nadal niezmiernie istotny, chociażby jako detektorów referencyjnych. Zapewniając doskonałą wydajność w dobrze kontrolowanym środowisku laboratoryjnym, urządzenia te dają szansę na walidację pomiarów z użyciem miniaturowych systemów oraz symulacji Monte Carlo (MC).

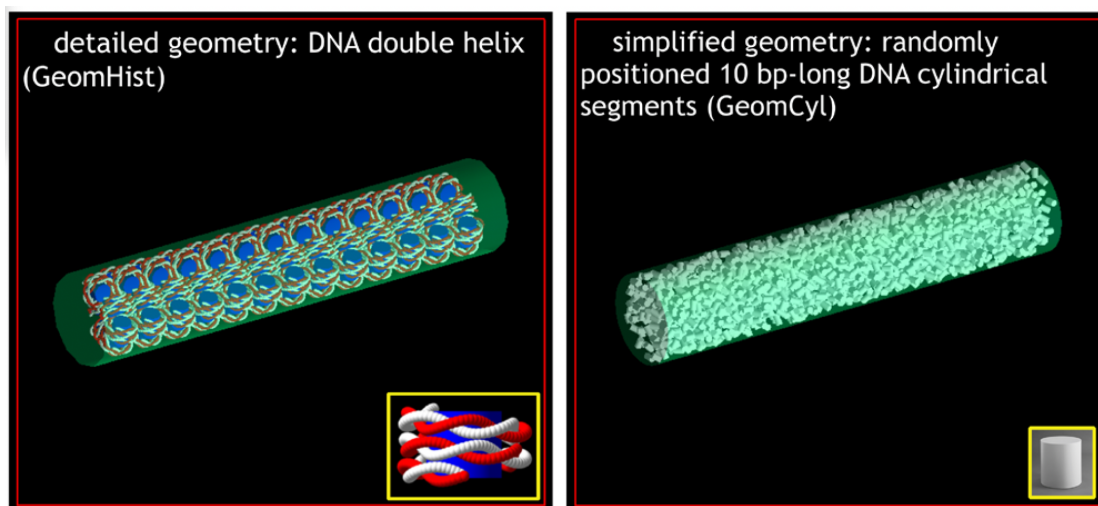
2.3.3 Symulacje Monte Carlo

Oddziaływanie cząstek jonizujących w skali nanometrowej można badać eksperymentalnie za pomocą nanodozymetrów lub symulować z pomocą kodów MC. Jednym z takich kodów jest Geant4 (Agostinelli et al., 2003) z rozszerzeniem Geant4-DNA (Incerti et al., 2018; Bernal et al., 2015; Incerti et al., 2010b,a). To jedyny ogólnodostępny zestaw narzędzi szerokiego przeznaczenia pozwalający na transport promieniowania w zakresie niskich energii aż do progu jonizacji (10 eV), a nawet poniżej, co zapewnia potencjał wykorzystania go w nanodozymetrii. Stosowane modele pozwalają symulować oddziaływania elektronów w wodzie do kilku eV poprzez śledzenie pojedynczych zdarzeń rozpraszania metodą krok po kroku. Porównanie eksperymentów nanodozymetrycznych z ich numerycznymi odpowiednikami jest powszechną praktyką i daje wartościową informację zwrotną. Zgodność sugeruje, że wyniki obu podejść odzwierciedlają rzeczywiste zjawiska fizyczne, a niezgodność wskazuje, że albo stosowane modele teoretyczne są niedokładne, albo pomiar jest obciążony błędem grubym. Skuteczna walidacja wyników pozwala na wykorzystanie kodów do symulacji bardziej złożonych układów. Wymagana jest wystarczająca precyzja modeli fizycznych aż do progu jonizacji. Tylko wtedy można powiązać parametry fizyczne dla nanoskali uzyskane na drodze symulacji z parametrami biologicznymi, czego próba zostanie podjęta w rozdziale 5.

Nanodozymetryczna reprezentacja DNA

Najczęściej stosowanym modelem podstawowej jednostki DNA czułej z punktu widzenia oddziaływań z promieniowaniem jonizującym jest jednorodna, cylindryczna objętość o średnicy 2,3 nm i wysokości 3,4 nm, która reprezentuje target nanometrowy (Rabus i Nettelbeck, 2011). Średnica modelowego cylindra wynika ze średnicy rzeczywistej helisy DNA, a wysokość odpowiada długości 10 par zasad, w obrębie których rozważa się powstanie DSB. Uproszczenie to zostało poddane weryfikacji na drodze symulacji MC z użyciem kodów Geant4-DNA (Bueno et al., 2015), a porównane geometrie zostały zaprezentowane na rysunku 2.16. Autorzy

podkreślają, że szczegóły geometryczne wpływają na otrzymane ICSD. Największe różnice zanotowano dla M_1 w funkcji LET dla wysokich wartości LET. Jednak zależność np. między M_1 a F_k była zgodna dla obu geometrii w ramach fluktuacji statystycznych, co wskazuje, że przynajmniej dla monoenergetycznych wiązek protonów i cząstek alfa, które uwzględniano, zależności między wielkościami nanodometrycznymi są niewrażliwe na szczegóły geometryczne prezentowanych modeli DNA.



Rysunek 2.16. Porównanie modeli DNA. Po lewej szczegółowa geometria podwójnej helisy złożonej z białej i czerwonej nici, które nawinięto na nukleosomy reprezentowane przez niebieskie dyski. Po prawej uproszczona geometria z cylindrami o średnicy 2,3 nm i wysokości 3,4 nm umieszczonymi w większym cylindrze w losowych pozycjach i orientacjach. W żółtych ramkach podstawowe jednostki obu modeli. Oba modele reprezentują odcinek DNA zawierający 18 tysięcy par zasad. Źródło: Bueno et al. (2015).

2.4 Badania radiobiologiczne

Radiobiologia jest gałęzią nauki obejmującą badania mechanizmów i skutków oddziaływania promieniowania jonizującego na żywą materię. Uwzględnia zarówno bezpośrednie, jak i pośrednie efekty działania promieniowania. Za pomocą testów radiobiologicznych możliwa jest jakościowa i ilościowa ocena skutków działania promieniowania na komórki (*in vitro*) oraz organizmy żywe (*in vivo*). Jednym z takich testów jest klonogeny test przeżywalności.

2.4.1 Test klonogeny

Test klonogeny, znany także jako test przeżywalności, to złoty standard badań radiobiologicznych. Pozwala na ocenę zdolności komórek do proliferacji i tworze-

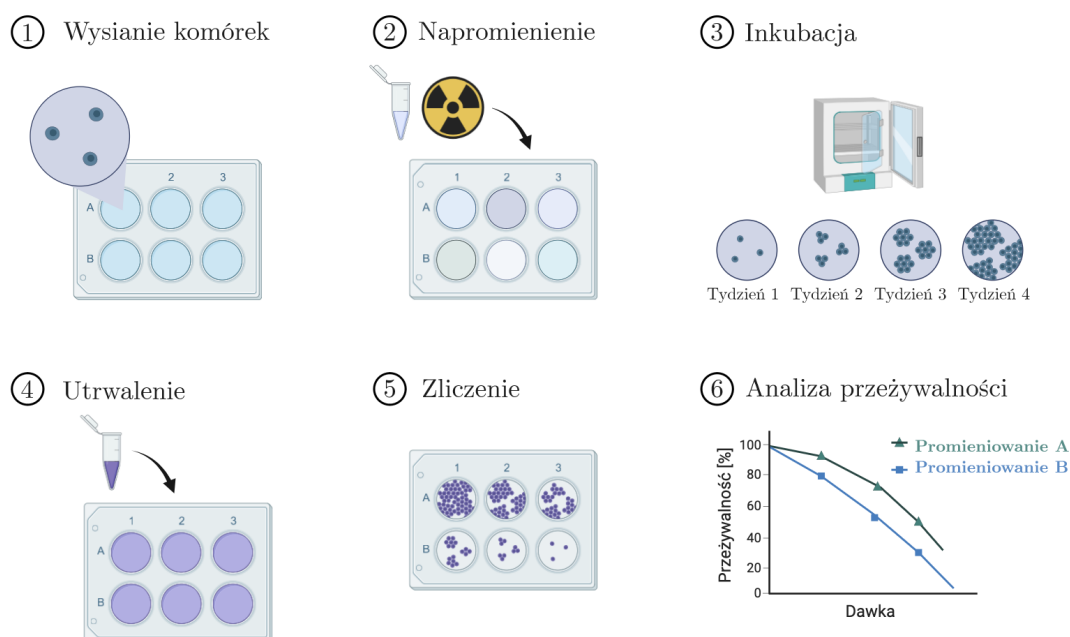
nia kolonii, czyli skupisk co najmniej 50 komórek powstałych w wyniku namnażania pojedynczej komórki, która przeżyła działanie badanego czynnika (tu: promieniowania jonizującego). Test charakteryzuje się wykrywalnością przeżywalności wszystkich badanych komórek, niezależnie od powodu śmierci reprodukcyjnej, co ma szczególne znaczenie w kontekście leczenia pacjentów onkologicznych. Test klonogeny jest obecnie jedną z najczęściej stosowanych metod oceny przeżywalności komórek w warunkach *in vitro* (Joiner i van der Kogel, 2018).

Historia testu sięga lat 50. XX w. kiedy to Puck i Marcus opublikowali przełomowy artykuł opisujący technikę hodowli *in vitro* do oceny zdolności tworzenia kolonii przez pojedyncze komórki ssaków umieszczone w naczyniach hodowlanych z odpowiednią pożywką (Puck i Marcus, 1956). Przeprowadzone eksperymenty pozwoliły na uzyskanie pierwszej krzywej przeżywalności dla linii HeLa (ludzkich komórek raka szyjki macicy). Komórki te zostały poddane działaniu promieniowania X. Autorzy wykazali, że były znacznie bardziej wrażliwe na promieniowanie niż wcześniej zakładano, a średnie dawki śmiertelne mieściły się w zakresie 1–2 Gy. Badania te zapoczątkowały kolejne dziesięciolecia prac na licznych liniach uwzględniające różne jakości promieniowania, poziom natlenienia czy sekwencje napromieniania, które miały pozwolić na głębsze zrozumienie mechanizmów odpowiedzi komórkowej (Hall i Willson, 2012).

Przeżywalność badano także w warunkach *in vivo*. Już w 1959 r. uzyskano pierwsze krzywe przeżywalności dla atypowych białych krwinek w przebiegu samostnej białaczki limfatycznej u myszy (Hewitt i Wilson, 1959). Niewiele później, bo w 1961 roku wykazano, że komórki macierzyste szpiku kostnego myszy zachowują zdolność proliferacji w śledzionach silnie napromienionych mysich biorców zgodnie z trendami obserwowanymi w teście przeżywalności w warunkach *in vitro* (Till i McCulloch, 1961). Chociaż zakresy dawek w warunkach *in vivo* podlegają ograniczeniom, wyniki uzyskane z wykorzystaniem promieniowania rentgenowskiego są w dobrej zgodności z rezultatami otrzymanymi w warunkach *in vitro* (Franken et al., 2006; Hall i Willson, 2012).

Liczne badania pozwoliły na określenie protokołów opisujących procedurę przeprowadzenia testu przeżywalności, czego przykład prezentuje Franken et al. (2006). Test klonogeny to wieloetapowy proces wymagający zapewnienia odpowiednich warunków, odczynników, infrastruktury i staranności, których część opisano poniżej. Przebieg testu schematycznie prezentuje rysunek 2.17.

Pierwszym etapem procedury jest wysianie komórek do naczyń, np. szalek Petriego. Konieczna jest dokładna ocena liczby komórek na każdej szalce. Drugim etapem jest podanie czynnika mającego wpływ na proliferację, tu: promieniowania jonizującego. Ważne jest prawidłowe określenie podanej dawki oraz uwzględnienie komórek, którym promieniowania nie podano i które będą charakteryzowały warunki kontrolne. Trzeci etap to inkubacja w odpowiednich warunkach dostoso-



Rysunek 2.17. Uproszczony schemat przebiegu testu klonogenego przygotowany za pomocą narzędzia BioRender (BioRender, 2024).

wanych do wymagań pożywki wzrostowej, mowa w szczególności o temperaturze, wilgotności i stężeniu CO_2 . Szalki pozostawia się w inkubatorze, aż komórki w naczyniach kontrolnych utworzą wystarczająco liczne kolonie, co zależy od tempa klonowania badanej linii komórkowej. Kolejny krok to utrwalenie i wybarwienie komórek na szalkach, niezbędne do precyzyjnego zliczenia na końcowym etapie. Ostatnią fazę stanowi przeprowadzenie ilościowej analizy przeżywalności.

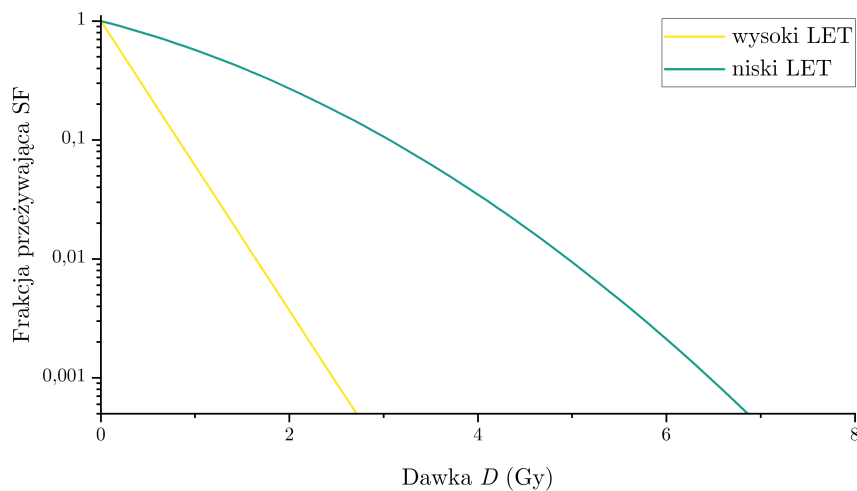
Na podstawie testu przeżywalności wyznaczana jest frakcja przeżywająca (SF, z ang. *Surviving Fraction*), inaczej poziom przeżywalności. Jej obliczenie wymaga znajomości zdolności komórek do proliferacji w warunkach kontrolnych. W tym celu określana jest wydajność klonowania (PE, z ang. *Plating Efficiency*), czyli stosunek liczby utworzonych kolonii do liczby wysianych komórek bez udziału badanego czynnika wykazującego wpływ na proliferację, tu promieniowania jonizującego. PE wyraża się wzorem:

$$PE = \frac{\text{Liczba powstałych kolonii}}{\text{Liczba wysianych komórek}}. \quad (2.18)$$

W przypadku linii komórkowej V79 literatura wskazuje, że wydajność ta wynosi między 70% a 100% (Franken et al., 2006). Frakcja przeżywająca wskazuje zdolność komórek do proliferacji po zastosowaniu określonej dawki promieniowania jonizującego:

$$SF = \frac{\text{Liczba powstałych kolonii}}{\text{Liczba wysianych komórek} \cdot PE}. \quad (2.19)$$

Wykreślenie SF w zależności od dawki prowadzi do otrzymania charakterystycznych krzywych przeżywalności, których przykłady ilustruje rysunek 2.18. W skali półlogarytmicznej dla promieniowania o niskim liniowym przekazie energii (np. 0,2 keV/ μm dla promieniowania γ ze źródła ^{60}Co czy 2 keV/ μm dla promieniowania X z lampy rentgenowskiej napięciu nominalnym 250 kVp) nachylenie stycznej do krzywej przeżywalności rośnie co do wartości bezwzględnej wraz z rosnącą dawką, ale osiąga niższe wartości w wybranym punkcie niż dla promieniowania o wysokim LET. Dla wysokiego LET nachylenie stycznej do krzywej przeżywalności może być stałe w całym zakresie dawek.



Rysunek 2.18. Przykładowy przebieg frakcji przeżywającej w funkcji dawki dla promieniowania o niskim i wysokim liniowym przekazie energii LET.

2.4.2 Model liniowo-kwadratowy

Do wyrażenia krzywych przeżywalności w formie matematycznej wykorzystuje się model liniowo-kwadratowy (LQ, z ang. *Linear-Quadratic model*). Wyraża zależność między frakcją przeżywającą komórek, a dostarczoną dawką D i opiera się na dwóch parametrach dopasowania:

$$\text{SF} = e^{-\alpha D - \beta D^2}, \quad (2.20)$$

gdzie dla dawki wyrażonej w Gy parametry α i β podawane są odpowiednio w jednostkach Gy^{-1} i Gy^{-2} .

Pomimo współczesnego znaczenia modelu LQ, jego początki nie sposób przypisać do jednego źródła. Genezę powstania z uwzględnieniem licznych, niezależnych propozycji przybliża McMahon (2018). Szerokie spektrum źródeł modelu, od empirycznego dopasowania do szczegółowych opisów naprawy DNA, w oparciu zarówno

o analizę przeżywalności komórek *in vitro*, jak i badania nad izoeffektem tkankowym, stanowić może uzasadnienie jego uniwersalności.

Ze względu na charakter tej pracy poniżej opisano model molekularny, który zaproponowali Chadwick i Leenhouts (1973). Model ten opiera się na pięciu postulatach:

- w komórce istnieją pewne krytyczne cząsteczki, których integralność decyduje o zdolności komórki do reprodukcji,
- za te cząsteczki uznaje się podwójną helisę DNA, a za krytyczne uszkodzenie uważa się DSB,
- pierwotnym działaniem promieniowania na komórkę jest powodowanie zerwania wiązań molekularnych w niciach DNA, a jakakolwiek modyfikacja tego uszkodzenia uważana jest za działanie naprawcze,
- różne efekty radiobiologiczne obserwowane w komórkach w różnych warunkach napromienienia odzwierciedlają różne stopnie naprawy,
- za procesy naprawcze uważa się procesy fizyczne, chemiczne i biochemiczne.

Model jest próbą znalezienia powiązania między wynikami pomiarów fizycznych i efektami fizykochemicznymi, biochemicznymi oraz biologicznymi, które wpływają na odpowiedź komórkową.

Niech N_0 będzie liczbą wiązań na jednostkę masy, których uszkodzenie prowadzi do SSB, N to liczba wiązań, które nie zostały uszkodzone po podaniu dawki D , a K to prawdopodobieństwo zerwania pojedynczego wiązania na jednostkę dawki:

$$\frac{dN}{dD} = -KN, \quad (2.21)$$

$$N = N_0 e^{-KD}, \quad (2.22)$$

z czego wynika, że liczba zerwanych wiązań na jednostkę masy wynosi:

$$N_0 - N = N_0(1 - e^{-KD}). \quad (2.23)$$

Jeśli r to ułamek wyrażający naprawioną część uszkodzonych wiązań, to wielkość $f = 1 - r$ jest ułamkiem wyrażającym nienaprawioną część zerwanych wiązań. Daje to średnią liczbę SSB, która wynosi $fN_0(1 - e^{-KD})$.

Zgodnie z tym modelem podwójna helisa DNA może zostać zerwana przez promieniowanie w dwojaki sposób:

- obie nici zostaną uszkodzone w wyniku działania jednej cząstki,
- każda z nici zostanie uszkodzona w wyniku niezależnego oddziaływania dwóch cząstek.

Dla przypadku (ii) niech n_1 i n_2 wyrażają liczbę wiązań na odpowiednio nici nr 1 i 2, które mogą prowadzić do SSB, k oznacza prawdopodobieństwo zerwania pojedynczego wiązania na jednostkę dawki, a f_1 i f_2 określają ułamek nienaprawionych wiązań dla odpowiedniej nici. Jeśli dodatkowo Δ wyraża zależny od LET ułamek dawki, któremu odpowiada promieniowanie oddziałujące na drodze (i), a $1 - \Delta$ pochodzi od promieniowania na drodze (ii), to liczba zerwanych i nienaprawionych wiązań na nici nr 1 wynosi $f_1 n_1 (1 - e^{-kD(1-\Delta)})$, a na nici nr 2 $f_2 n_2 (1 - e^{-kD(1-\Delta)})$. Biorąc ε za prawdopodobieństwo nienaprawionych wiązań na odpowiednich niciach do utworzenia DSB, średnia liczba DSB na komórkę wynosi $\varepsilon n_1 n_2 f_1 f_2 (1 - e^{-kD(1-\Delta)})^2$. Dla powstania DSB, dwa pojedyncze pęknięcia powinny być związane w czasie i przestrzeni, co wyraża parametr ε , który będzie przyjmował wartość bliższą jedności dla dwóch pęknięć położonych naprzeciwko lub w bliskiej odległości i wartość bliższą zeru dla uszkodzeń odległych.

Dla przypadku (i) niech n_0 oznacza liczbę zdarzeń, gdzie $n_0 \leq n_1$ oraz $n_0 \leq n_2$, a k_0 wskazuje prawdopodobieństwo dla zdarzenia na jednostkę dawki, że doszło do DSB, wtedy średnia liczba DSB powstałych wskutek (i) wynosi $n_0 (1 - e^{-k_0 \Delta D})$.

Tak więc liczba DSB na komórkę po podaniu dawki D na drodze (i) i (ii) wynosi $n_0 (1 - e^{-k_0 \Delta D}) + \varepsilon n_1 n_2 f_1 f_2 (1 - e^{-kD(1-\Delta)})^2$.

Dla f_0 wyrażającego ułamek nienaprawionych DSB i q wskazującego współczynnik proporcjonalności między liczbą DSB a śmiercią komórki, użycie statystyki Poissona i uproszczenia wynikającego z bardzo małych wartości k i k_0 pozwala na otrzymanie zależności na frakcję przeżywającą od dawki D postaci:

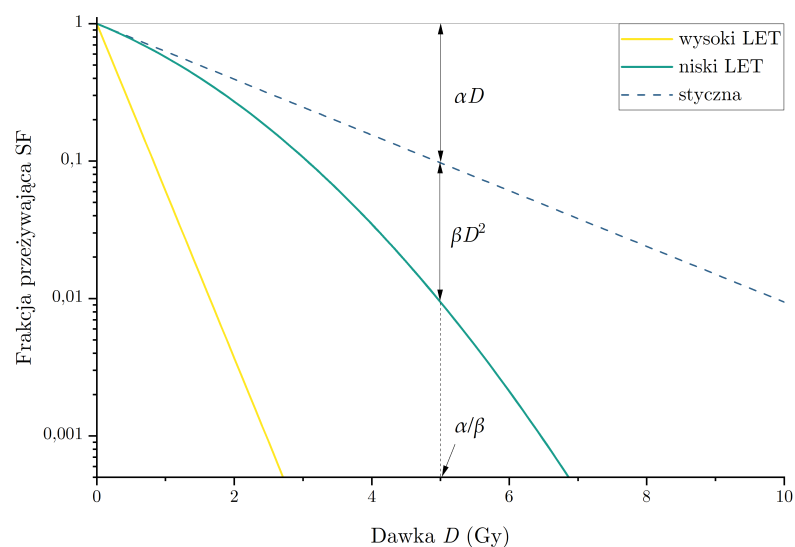
$$SF = e^{(-qf_0 n_0 k_0 \Delta D - qf_0 \varepsilon n_1 n_2 f_1 f_2 k^2 (1-\Delta)^2 D^2)}, \quad (2.24)$$

co sprowadza się do wzoru 2.20, gdy $\alpha = qf_0 n_0 k_0 \Delta$, a $\beta = qf_0 \varepsilon n_1 n_2 f_1 f_2 k^2 (1-\Delta)^2$. Autorzy wskazali potrzebę ostatecznego udowodnienia, że to DNA jest kluczową strukturą z punktu widzenia oddziaływania promieniowania z żywą materią, co przyniosły kolejne lata badań (Goodhead, 1994).

Już sama identyfikacja DSB jako głównego czynnika odpowiedzialnego za biologiczne skutki promieniowania mogłaby być silnym argumentem za przytoczonym tu wyprowadzeniem modelu LQ. Chadwick i Leenhouts (1973) postulowali jednak liniowo-kwadratową zależność między liczbą DSB i dawką, a Rothkamm i Löbrich (2003) wykazali, że dla komórek ssaków po podaniu promieniowania X w dawce od 1 mGy aż do 100 Gy relacja ta jest liniowa. W rezultacie, liniowo-kwadratowa zależność $SF(D)$ musi uwzględniać odpowiedź komórki na te uszkodzenia, w szczególności procesy naprawcze, a nie wynika z niezależnego uszkodzenia tego samego fragmentu DNA przez dwie różne cząstki.

Nie umniejsza to znaczenia modelu liniowo-kwadratowego, a raczej podkreśla adekwatność i możliwości interpretacji parametrów α i β , czego próbę prezentuje rysunek 2.19. Ramię krzywej w początkowym przebiegu jest zdominowane

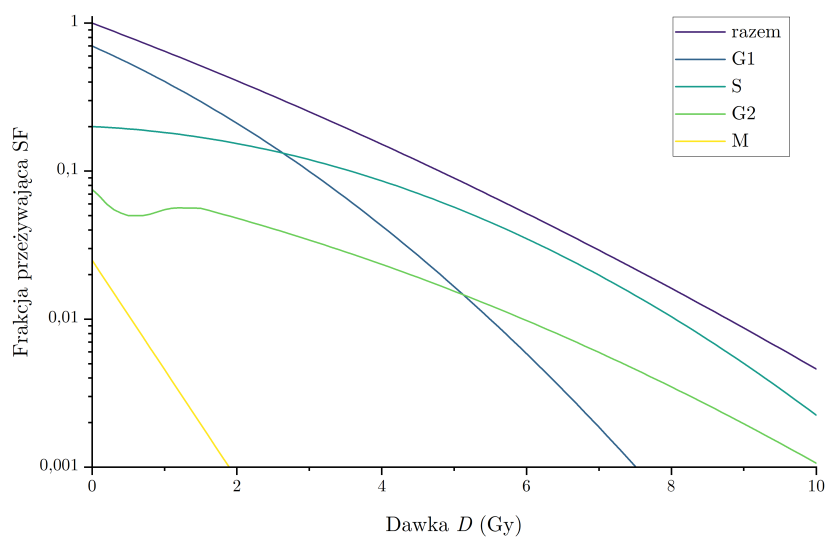
przez wpływ liniowego charakteru α , a dla wyższych dawek rośnie znaczenie kwadratowego charakteru β . Stopień zakrzywienia można scharakteryzować wartością stosunku α/β wyrażanego w Gy, który jednocześnie wskazuje dawkę, dla której wpływ charakteru liniowego i kwadratowego są sobie równe. Jednocześnie α/β wskazuje promieniowrażliwość komórek. Duża wartość rzędu nawet kilkunastu Gy jest typowa dla komórek o małej zdolności naprawczej, podczas gdy wartości do 5 Gy będą charakterystyczne dla komórek o wysokiej zdolności naprawy, w tym także późno reagujących tkanek prawidłowych (Wiatrowska et al., 2012). Wysoka wartość α/β odpowiada za względnie stałe tempo utraty zdolności proliferacyjnych komórek, a niska za zakrzywienie i wzrost tego tempa wraz z rosnącą dawką.



Rysunek 2.19. Przykładowe krzywe przeżywalności dla wysokiego i niskiego LET ze styczną do krzywej dla niskiego LET i z określeniem stosunku α/β .

Fazy cyklu komórkowego

Odnoszenie się do stosunku α/β wymaga jeszcze jednego uzupełnienia: dana linia charakteryzuje się konkretną wartością α/β . Będzie miało to uzasadnienie dla heterogenicznych populacji komórek w różnych fazach cyklu komórkowego. Jak pokazuje rysunek 2.20, odpowiedź rozsynchronizowanej w cyklu linii komórkowej jest kombinacją odpowiedzi w szerokim zakresie promieniowrażliwości charakterystycznych dla poszczególnych faz cyklu, pomimo prezentowania razem jednej krzywej. Na rysunku 2.20 komórki w fazie G1 wykazują większą promieniowrażliwość niż w fazach S i G2. Dla fazy G2 wskazano pewien rodzaj nadwrażliwości na niskie dawki. Komórki w fazie M, a więc podczas podziału komórkowego, wykazują wysoką wrażliwość na promieniowanie. W zasadzie zbiorcza odpowiedź linii komórkowej może nie przypominać żadnej z krzywych charakterystycznych dla faz i może niejako

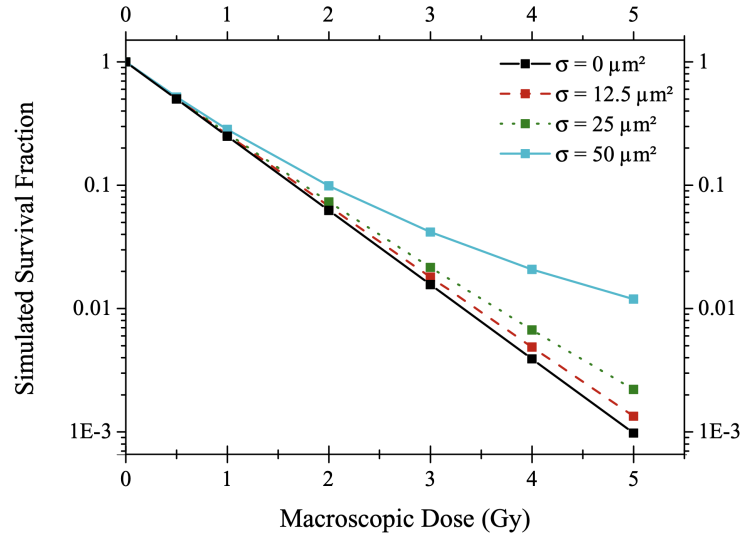


Rysunek 2.20. Zależność krzywej przeżywalności komórek od fazy cyklu komórkowego na podstawie McMahon (2018). Uwzględniono odsetek komórek w poszczególnych fazach cyklu w warunkach kontrolnych dla typowej heterogenicznej hodowli *in vitro* (70% komórek w fazie G1, 20% w S, 7,5% w G2 oraz 2,5% w fazie M).

przysłać kluczowe elementy odpowiedzi na promieniowanie w poszczególnych fazach. W rezultacie, chociaż krzywe przeżywalności uzyskane dla asynchronicznej populacji komórek są przydatne, to ważne jest, aby pamiętać o warunkach, w których uzyskano określoną krzywą. Zmiany w rozkładzie faz cyklu komórkowego lub warunkach napromieniania mogą wystarczyć, by zmienić przebieg krzywych z typowych dla wysokiego α/β na niski α/β lub poddać w wątpliwość adekwatność modelu liniowo-kwadratowego, pomimo jego dokładności dla dobrze zdefiniowanych populacji.

Powierzchnia jądra komórkowego

Wpływ na przeżywalność spróbowano też zbadać, biorąc pod uwagę czynnik różnicujący w postaci odchylenia standardowego σ powierzchni jądra komórkowego (Wéra et al., 2014), co zostało pokazane na rysunku 2.21. Przeprowadzono symulacje dla komórek o średniej powierzchni jądra równej $150 \mu\text{m}^2$. Parametry modelu liniowo kwadratowego dla przypadku o zerowym odchyleniu standardowym powierzchni wyniosły: $\alpha = 1,5 \text{ Gy}^{-1}$ i $\beta = 0 \text{ Gy}^{-2}$. Na rysunku 2.21 zaprezentowano krzywe dla różnych wartości odchylenia standardowego powierzchni jądra komórkowego. Autorzy wskazują, że można zaobserwować mniejszą promieniowrażliwość przy wysokich dawkach dla najszerszego rozkładu powierzchni jądra komórkowego. Ma to wynikać głównie ze wzmożonego udziału mniejszych jąder komórkowych, dla których średnia liczba trafień, a więc szansa na uszkodzenie letalne, jest niższa.



Rysunek 2.21. Krzywe przeżywalności komórek w zależności od odchylenia standardowego rozmiaru jądra przy średniej powierzchni wynoszącej $150 \mu\text{m}^2$. Dla $\sigma = 0 \mu\text{m}^2$ określono $\alpha = 1,5 \text{ Gy}^{-1}$ i $\beta = 0 \text{ Gy}^{-2}$. Źródło: Wéra et al. (2014).

Z naszej współczesnej wiedzy na temat radiobiologii wiemy, że model LQ jest w najlepszym razie przybliżeniem skumulowanych skutków szeregu procesów biologicznych, które zależą od warunków środowiskowych i których wpływ może być dodatkowo rozmyty przez niejednorodny charakter populacji komórek. Ma on też wiele mocnych stron: prostota, umożliwienie porównania schematów frakcjonowania, a także rozróżnianie tkanek na wcześnie/późno reagujące. Dzięki temu model LQ nadal okazuje się skutecznym narzędziem w radiobiologii i radioterapii.

2.4.3 Wielkości pochodne parametrów modelu LQ

Przekrój czynny na inaktywację

Przekrój czynny na inaktywację σ_{SF} określony dla wybranego SF to wielkość obliczana na podstawie parametrów α i β modelu LQ. Bez względu na rodzaj lekkiego jonu zastosowanego do napromieniania komórek zależność σ_{SF} od LET jest taka sama. Właściwość ta została wykazana dla linii V79 napromienianej monoenergetycznymi wiązkami ^1H , ^4He , ^{12}C , ^{16}O oraz ^{20}Ne (Belloni et al., 2002). Autorzy wyprowadzili wzór na σ_{SF} , korzystając z nachylenia krzywej przeżywalności oraz fluencji cząstek i dawki odpowiadających wybranemu SF:

$$\sigma_{\text{SF}} \Phi_{\text{SF}} = - \left. \frac{d \ln(\text{SF}(D))}{dD} \right|_{D=D_{\text{SF}}} \cdot D_{\text{SF}}. \quad (2.25)$$

Nachylenie krzywej przeżywalności w skali półlogarytmicznej dla $D = D_{\text{SF}}$ jest równe pochodnej funkcji $\text{SF}(D)$ opisanej modelem LQ, co prowadzi do wyrażenia:

$$\sigma_{\text{SF}} = \frac{\alpha + 2\beta D_{\text{SF}}}{\Phi_{\text{SF}}} D_{\text{SF}}. \quad (2.26)$$

Dawkę można powiązać z fluencją poprzez masową elektronową zdolność hamowania $\frac{S_{\text{el}}}{\rho}$ (Paganetti, 2012):

$$D = \Phi \frac{S_{\text{el}}}{\rho} = \Phi \frac{\text{LET}}{\rho}. \quad (2.27)$$

Dla cięższych cząstek naładowanych (np. protonów, cząstek alfa czy jonów węgla) wartość liniowej zdolności hamowania S_{el} jest w przybliżeniu równa LET, w przeciwieństwie do lekkich cząstek (np. elektronów), gdzie straty energii na wytworzenie promieniowania hamowania czy elektronów δ nie są zanedbywalne (Rydgier et al., 2022). Należy mieć na uwadze, że wielkości te różnią się koncepcyjnie, bo S_{el} jest własnością cząstki przechodzącej przez ośrodek, która opisuje jej stratę energii na jednostkowej drodze, podczas gdy LET to energia przekazana do ośrodka na jednostkowej drodze wzdłuż tej drogi. W analizowanym zakresie pozwala nam to jednak zapisać, po drobnych przekształceniach, wyrażenie:

$$\sigma_{\text{SF}} = \frac{\text{LET}}{\rho} (\alpha + 2\beta D_{\text{SF}}). \quad (2.28)$$

Pozostaje kwestia wartości dawki D_{SF} dla poziomu przeżywalności SF, którą można otrzymać rozwiązując równanie kwadratowe na dawkę $\beta D_{\text{SF}}^2 + \alpha D_{\text{SF}} + \ln \text{SF} = 0$ pochodzące z modelu LQ przy warunku $D_{\text{SF}} \geq 0$:

$$D_{\text{SF}} = \frac{-\alpha + \sqrt{\alpha^2 - 4\beta \ln \text{SF}}}{2\beta}. \quad (2.29)$$

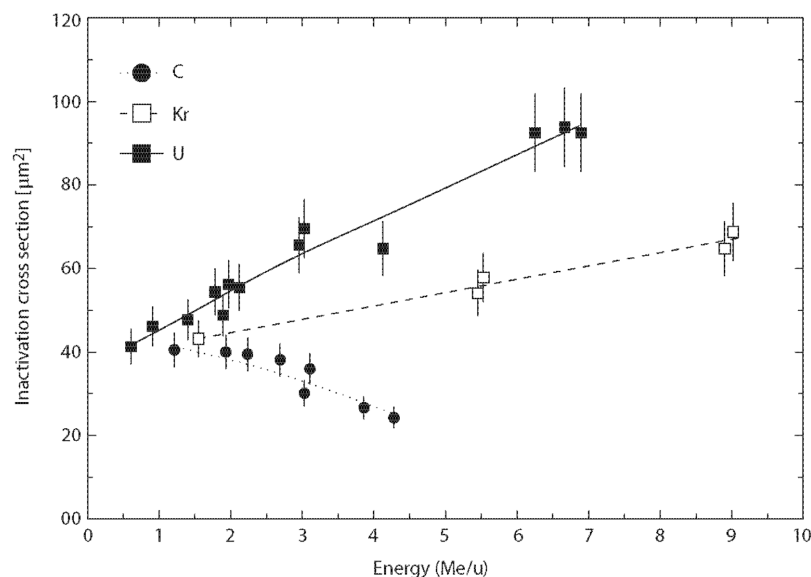
Zastosowanie zależności 2.29 do wzoru 2.28 daje zależność na przekrój czynny na inaktywację dla poziomu przeżywalności SF, często przedstawianą jako (Belloni et al., 2002; Conte et al., 2017; Paganetti, 2012):

$$\sigma_{\text{SF}} = 0,1602 \frac{\text{LET}}{\rho} \sqrt{\alpha^2 - 4\beta \ln \text{SF}}. \quad (2.30)$$

Czynnik o wartości 0,1602 wynika z zamiany jednostki J na eV dla LET wyrażonego w keV/ μm , a ρ to gęstość ośrodka w g/cm³, która w analizie struktur biologicznych przyjmuje wartość 1 g/cm³. W tej pracy SF zostanie ustalony na 5% za Belloni et al. (2002).

Belloni et al. (2002) ograniczyli się do lekkich jonów nie bez powodu. Dla bardzo szerokiego zakresu jonów i LET zachowanie przekrojów czynnych na inaktywację w funkcji liniowego przekazu energii dla linii V79 ma odmienny charakter (Kraft,

1987; Scholz, 2003). Rysunek 2.22 wskazuje zależność σ_{SF} w funkcji energii na nukleon. Dla jonów węgla σ_{SF} wyraźnie maleje wraz z rosnącą energią na nukleon. W przypadku jonów uranu relacja $\sigma_{SF}(E)$ ma rosnący charakter. Autorzy podkreślają, że dla lżejszych jonów wzrost energii jest związany z malejącymi wartościami LET. Tym samym dla jonów węgla σ_{SF} rośnie wraz z rosnącym LET, ale tendencja ta nie jest zachowana dla kryptonu (LET rzędu kilku tysięcy keV/ μm) i uranu (LET rzędu kilkunastu tysięcy keV/ μm).



Rysunek 2.22. Przekroje czynne na inaktywację w funkcji energii przypadającej na nukleon dla jonów węgla (C) oraz jonów ciężkich kryptonu (Kr) i uranu (U). Źródło: Kraft (1987) oraz Scholz (2003).

Autorzy wskazują, że σ_{SF} dla różnych jonów jest zbliżona do wartości rzędu $40 \mu\text{m}^2$. Choć tu należy zwrócić uwagę na ograniczoną próbę badań radiobiologicznych i raczej polemizować z tą wartością, wskazując na wartość kilkudziesięciu μm^2 . Sam z resztą Scholz i Kraft (2004) w kolejnej publikacji podają już wartość $50 \mu\text{m}^2$. Niemniej to struktura toru cząstki jest kluczem do zrozumienia prezentowanych trendów $\sigma_{SF}(E)$. Dla niskich energii, a więc wysokich wartości LET, jonizacje są gęsto ułożone wzdłuż toru cząstki i to bezpośrednie oddziaływanie cząstek, dla których prawdopodobieństwo określone jest przez przekrój czynny, odgrywają kluczową rolę. Przy dostatecznie wysokiej wartości LET każde indywidualne przejście cząstki prowadzi do uszkodzenia letalnego, a prawdopodobieństwo takiego zdarzenia zależy tylko od prawdopodobieństwa trafienia, nie zaś od konkretnego LET. Dlatego przekroje czynne na inaktywację są podobne dla różnych cząstek. W przypadku ciężkich cząstek autorzy wskazują większe wartości przekrojów czynnych w związku z wysokim depozytem energii także na granicy toru cząstki i możliwość pośredniego uszkodzenia letalnego. Choć szerokość toru

dla jonów węgla będzie taka sama, to depozyty energii na granicy tego toru będą znacznie niższe.

Obliczanie RBE na podstawie parametrów LQ

Wartość RBE jest możliwa do określenia na podstawie parametrów α i β modelu liniowo kwadratowego. W przypadku $\beta > 0$ na podstawie wzoru 2.29 dawka od promieniowania referencyjnego D_R dla poziomu przeżywalności SF wynosi:

$$D_R = \frac{-\alpha_{\text{ref}} + \sqrt{\alpha_{\text{ref}}^2 - 4\beta_{\text{ref}} \ln \text{SF}}}{2\beta_{\text{ref}}}, \quad (2.31)$$

a dla promieniowania testowego dawka D_T przyjmuje postać:

$$D_T = \frac{-\alpha + \sqrt{\alpha^2 - 4\beta \ln \text{SF}}}{2\beta}. \quad (2.32)$$

W przypadku $\beta = 0$ dawka od promieniowania testowego D_T dla poziomu przeżywalności SF wynosi:

$$D_T = -\frac{\ln \text{SF}}{\alpha}. \quad (2.33)$$

Stosunek tych wielkości, a więc RBE dla zadanego efektu biologicznego SF w przypadku $\beta > 0$ to:

$$\text{RBE} = \frac{\beta}{\beta_{\text{ref}}} \cdot \frac{(-\alpha_{\text{ref}} + \sqrt{\alpha_{\text{ref}}^2 - 4\beta_{\text{ref}} \ln \text{SF}})}{(-\alpha + \sqrt{\alpha^2 - 4\beta \ln \text{SF}})}. \quad (2.34)$$

W przypadku $\beta = 0$ wartość RBE można otrzymać z zależności:

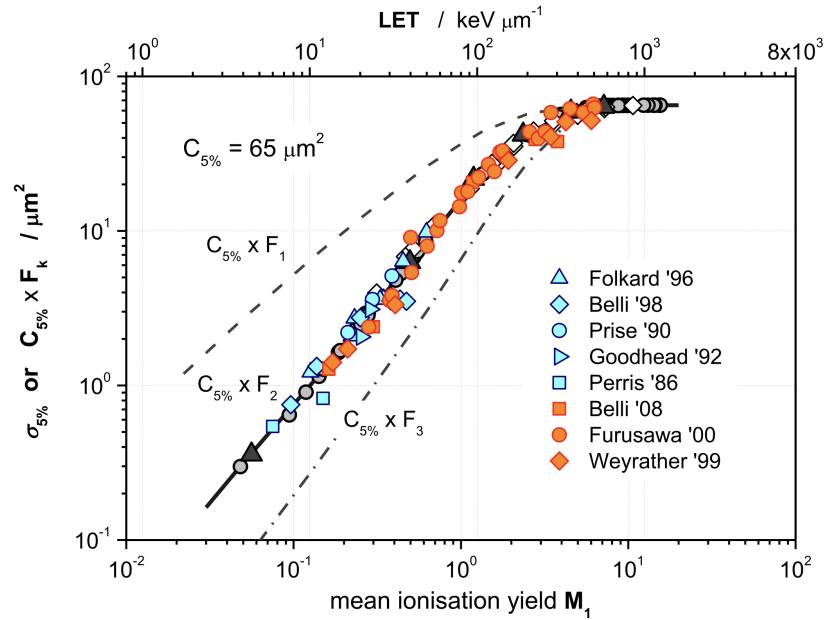
$$\text{RBE} = -\frac{\alpha}{2\beta_{\text{ref}} \ln \text{SF}} (-\alpha_{\text{ref}} + \sqrt{\alpha_{\text{ref}}^2 - 4\beta_{\text{ref}} \ln \text{SF}}). \quad (2.35)$$

W analizie zostanie zastosowany poziom przeżywalności SF wynoszący 5%, dla którego obliczano przekroje czynne na inaktywację.

2.5 Powiązanie wielkości biologicznych i nanodozymetrycznych

W dotychczasowych próbach zaproponowano kilka wielkości obliczanych na podstawie ICSD mogących służyć jako deskryptory jakości promieniowania. Pierwsze propozycje naturalnie wynikały z warunku koniecznego, chociaż niewystarczającego, do utworzenia DSB, a więc otrzymania co najmniej dwóch jonizacji w objętości czulej, jako fizycznego odpowiednika biologicznej jednostki wrażliwej na pro-

mieniowanie jonizujące. Stąd propozycja zastosowania parametru F_2 otrzymania co najmniej dwóch jonizacji w targecie opisanego wzorem 2.11 (Grosswendt et al., 2007), choć Schulte et al. (2001) w analizie dłuższych targetów zakładał, że naprawialne uszkodzenie jest powodowane przez 2–5 jonizacji, a nieodwracalne przez 6–10 jonizacji, dzieląc zdarzenia na dwie klasy. Analiza przekrojów biologicznych σ_{SF} omówionych w sekcji 2.4.3 wykazała liniową zależność z nanodozymetrycznym parametrem F_2 dla powszechnie wykorzystywanych w badaniach radiobiologicznych linii komórkowych V79 i CHO, a dla komórek XRS5 cechujących się silną promieniowrażliwością korelacja występowała dla wielkości F_1 (Conte et al., 2017, 2018; Selva et al., 2019). Dla linii komórkowej V79 wyniki te prezentuje rysunek 2.23 zapożyczony od Conte et al. (2017). Wspomniany rezultat otrzymano dla cylindrycznego targetu o średnicy i wysokości równych 1 nm, co w porównaniu do odległości między obiema niciami DNA i definicją DSB, jako uszkodzeniach obu nici w odległości do 10 par zasad (3,4 nm), wydaje się być małą wartością.

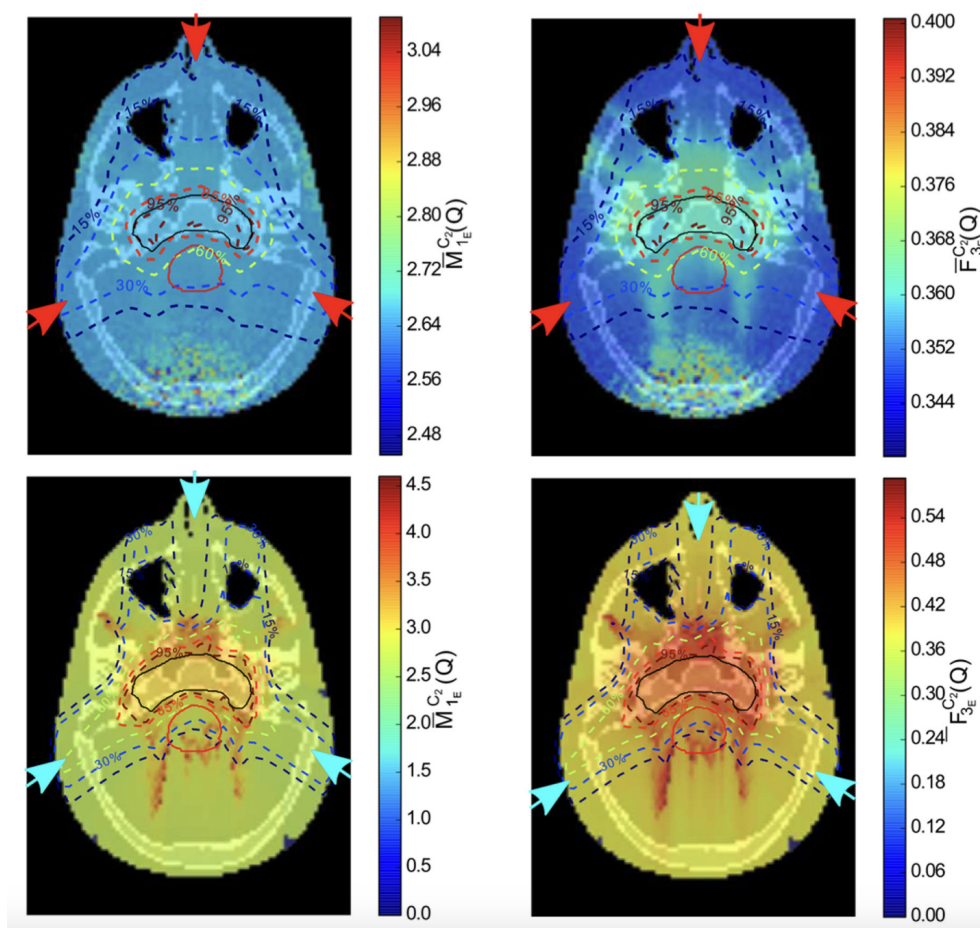


Rysunek 2.23. Korelacja σ_{SF} i F_k dla linii komórkowej V79. Najlepsza zgodność wystąpiła dla F_2 . Przyjęty target to cylinder o średnicy i wysokości równych 1 nm. Źródło: Conte et al. (2017).

Z definicji (wzór 2.11) F_k jest prostą sumą prawdopodobieństw związanych z wystąpieniem klastrów o bardzo różnych rozmiarach ν od k do nieskończoności. Jeśli weźmiemy pod uwagę na przykład omawiany tu parametr F_2 , to uwzględnia on prawdopodobieństwo związane zarówno z rozmiarem klastra $\nu = 2$, jak i $\nu = 20$. Faktem jest, że zdarzenia na poziomie $\nu = 20$ są równoznaczne poważnej ingerencji w DNA i dla nich prawdopodobieństwo uszkodzenia letalnego jest bardzo bliskie jedności. Jednak obliczając F_k , bierze się pod uwagę z równymi wagami również znacznie mniejsze klastry, np. dla wspomnianego $\nu = 2$. Takie podejście jest bar-

dzo trudne do poparcia, biorąc pod uwagę naszą wiedzę na temat powstawania letalnych uszkodzeń DNA oraz uwzględniając aspekt probabilistyki. Dotąd jednak badacze proponowali podejścia z analizą F_k dla $k > 2$, chcąc niejako skompensować fakt, że nie każde dwie jonizacje będą odpowiadały za powstanie DSB (Goodhead, 1994).

Jedną z takich prób była propozycja uwzględniania klastrów o rozmiarze $\nu = 3$ i większych, która była wynikiem uproszczonych symulacji wielkości nanodozymetrycznych w oparciu o makroskopowe parametry jonizacji (Ramos-Méndez et al., 2018). Wielkości nanodozymetryczne ważono depozytem energii, a następnie przygotowano rozkład tych wielkości na przekroju poprzecznym mózgu z naniesionymi izodozami planu terapeutycznego, co dla wiązki protonów i jonów węgla prezentuje rysunek 2.24.

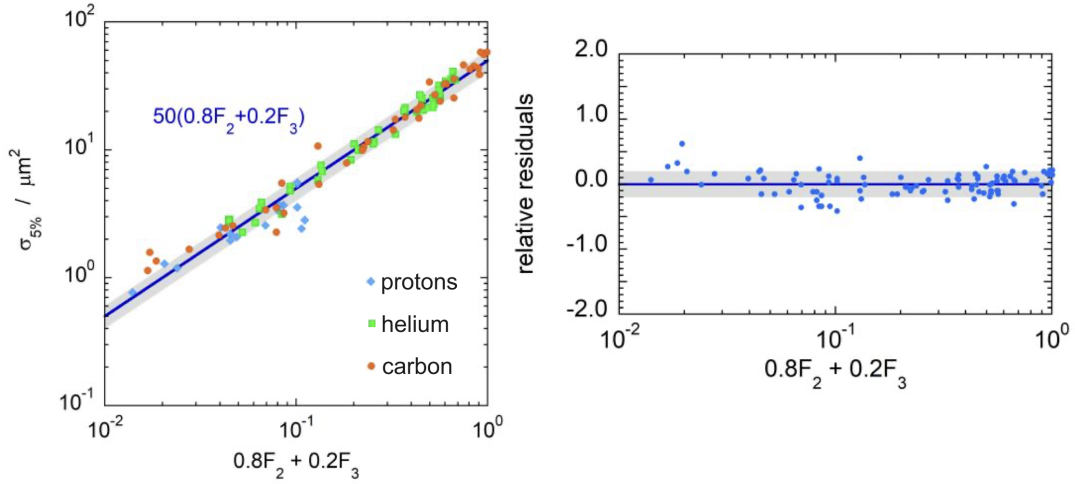


Rysunek 2.24. Rozkłady wielkości nanodozymetrycznych porównane z izodozami rozkładu dawki. Uwzględniono protony (u góry) i jony węgla (na dole). Notacja z Hilgers et al. (2017). Źródło: Ramos-Méndez et al. (2018).

Wykorzystana w ten sposób wielkość F_3 mogłaby kompensować kwestię równych wag przy obliczaniu parametru F_k . Kolejne prace owocowały jednak wnioskami o konieczności zastosowania F_4 (Rucinski et al., 2021), a nawet F_5 (Faddegon

et al., 2023) dla uzyskania precyzyjnej zgodności parametrów fizycznych z efektami obserwowanymi na poziomie komórkowym. Biorąc pod uwagę mnogość propozycji, nie trudno zauważyć, że uwzględnianie równych wag dla kolejnych rozmiarów klastrów ν i wybór związanego z tym właściwego k , który poprzez wielkość F_k najlepiej odda losowy charakter oddziaływania promieniowania jonizującego na poziomie DNA jest nietrywialny.

Naprzeciw temu zaproponowano zastosowanie kombinacji liniowej parametrów F_k i F_{k+1} (Conte et al., 2023). Zaobserwowano silną korelację pomiędzy przekrojami biologicznymi (analogiczne do rysunku 2.23), a kombinacją liniową parametrów F_k postaci $0,8F_2 + 0,2F_3$. Rezultaty otrzymano dla linii komórkowej V79, co wraz z wartościami resztowymi dopasowania prezentuje rysunek 2.25. Zastosowanie innego kształtu targetu w postaci kuli o średnicy 1 nm utrudnia bezpośrednie porównanie z rezultatami dla cylindrycznych SV.



Rysunek 2.25. Korelacja σ_{SF} i kombinacji liniowej F_k . Rezultaty dla linii komórkowej V79. Najlepsza zgodność wystąpiła dla $0,8F_2 + 0,2F_3$. Przyjęty target to kula o średnicy 1 nm. Źródło: Conte et al. (2023).

Mimo braku dotychczasowego konsensusu, istnieje tu przestrzeń do rozwoju, ponieważ parametr F_k można postrzegać jako szczególny przypadek sumy wag ICSD, co przedstawiono w sekcji 2.3.1. W związku z tym koncepcję tę można uogólnić i zaproponować inne, bardziej rozsądne i użyteczne funkcje wagowe ICSD, co zaproponował Pietrzak (2023), wprowadzając wielkość R_2 . Weryfikacja zastosowania jej do oceny radiacyjnych uszkodzeń DNA stanowi główny wynik niniejszej rozprawy.

Rozdział 3

Dane nanodozymetryczne

W rozdziale ujęto opis materiałów i metod wykorzystanych do otrzymania zestawu danych nanodozymetrycznych. Ze względu na wymagającą obliczeniowo analizę rozdział rozpoczyna się od krótkiej charakterystyki aparatury, sprzętu komputerowego i oprogramowania. Następnie omówiono eksperymenty z wykorzystaniem Jet Countera (JC) oraz symulacje MC wykorzystane do walidacji. W dalszej części opisano symulacje MC, dzięki którym uzyskano ICSD dla szerokiego spektrum lekkich jonów i ich energii. Uwzględniono opis sposobu interpolacji rezultatów dla ^{20}Ne oraz model charakteryzujący przebieg ICSD.

3.1 Materiały i metody

Do pozyskania danych nanodozymetrycznych wykorzystano nanodozymetr JC oraz symulacje MC. Pomiarów wykonano na wiązkach protonów, cząstek alfa i jonów węgla. Obliczenia przeprowadzono w NCBJ w Zakładzie Metrologii Radiologicznej i Fizyki Biomedycznej (H2), w Dziale Fizyki Medycznej i Nanodozymetrii, na komputerze stacjonarnym z systemem Linux Mint 20.3, procesor Intel®Core™ i7-8700 CPU 3,2 GHz $\times$ 6. Do przygotowania i obsługi kodów wykorzystano oprogramowanie CLion (obecnie v2024.1.4, licencja studencka) (Jet Brains Corporation, 2024) z interpreterem języka Python v3.8 (Python Software Foundation, 2019). Do określenia wartości LET zastosowano oprogramowanie SRIM-2013 (Ziegler J., 2013). Do analizy porównawczej, statystycznej i wizualizacji zasadniczej części danych wykorzystano komputer przenośny z oprogramowaniem Origin 2023 v.10.0.0.154 (OriginLab Corporation, 2023), dzięki licencji udostępnionej przez Wydział Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego.

3.2 Dane do walidacji kodów MC

3.2.1 Eksperymenty nanodozymetryczne

Do walidacji kodów MC wykorzystano dane eksperymentalne uzyskane za pomocą nanodozymetru JC z NCBJ w ramach niezależnych prac badawczych. W nanodozymetrze JC cylindryczne objętości IV i SV są tożsame, a ich średnica i wysokość to 10 mm. Ogranicza je ściana boczna cylindra zbudowana z folii Mylar o grubości 1 mg/cm². Target tworzony jest przez azot wstrzyknięty przez zawór piezoelektryczny, a wyniki przeliczane są dla ekwiwalentnego targetu wodnego za pomocą procedury skalowania. Wiązka, niezależnie od wybranego jonu, jest odpowiednio skolimowana za pomocą mosiężnego kolimatora. Układ pomiarowy szczegółowo opisują Bantsar (2010) i Pietrzak (2023).

Jony węgla

ICSD dla jonów węgla o energii 82 MeV otrzymano w wyniku eksperymentów przeprowadzonych na wiązce z cyklotronu w Środowiskowym Laboratorium Ciężkich Jonów Uniwersytetu Warszawskiego (ŚLCJ) (Bantsar et al., 2014, 2015; Pietrzak, 2023).

Cząstki alfa

Do uzyskania ICSD dla cząstek alfa wykorzystano źródło ²⁴¹Am (typ AMM2, Amersham) emitujące cząstki alfa o energii 4,6 MeV (Bantsar, 2010; Bancer et al., 2020).

Protony

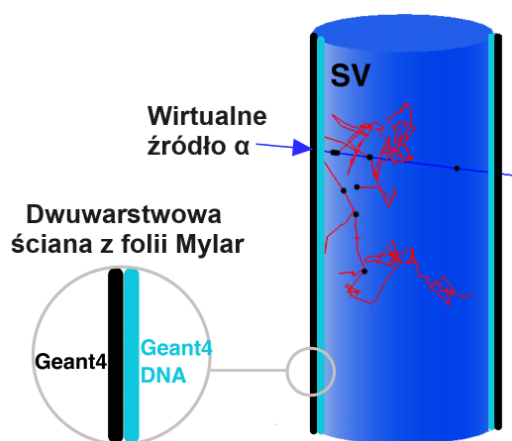
Kampania pomiarowa z użyciem wiązki protonów została przeprowadzona w CCB w 2023 roku. Wykorzystano stanowisko terapii oka z wiązką protonów o energii 60 MeV produkowaną w cyklotronie AIC-144 (publikacja w przygotowaniu).

3.2.2 Symulacje układu eksperymentalnego

Symulacje przeprowadzono w oparciu o Geant4 (Agostinelli et al., 2003) v.4.11.0.0 z rozszerzeniem Geant4-DNA (Incerti et al., 2010a,b; Bernal et al., 2015; Incerti et al., 2018) i miały na celu odtworzenie warunków z opisywanych w sekcji 3.2.1 eksperymentów nanodozymetrycznych.

Geometria

Objętość świata była bliska warunków próżni, a znajdujące się w środku molekuly wody zapewniały gęstość $0,15 \text{ mg/m}^3$ związaną z ciśnieniem $1,5 \cdot 10^{-4} \text{ Tr}$ w temperaturze 20°C . Uproszczoną, cylindryczną SV umieszczono w środku sześcienną objętości świata i wypełniono materiałem G4_WATER o różnych gęstościach, związanych z danym rozmiarem targetu. Materiał G4_WATER został zdefiniowany na podstawie standardów amerykańskiego National Institute of Standards and Technology (NIST), a średni potencjał jonizacyjny I określono na 78 eV . W celu uwzględnienia w symulacjach niskoenergetycznych elektronów wtórnych produkowanych w folii Mylar, ścianę o grubości $7 \mu\text{m}$ zdefiniowano jako dwuwarstwową, co obrazowo przedstawia rysunek 3.1. Dla każdej z warstw zastosowano inne modele, których szczegóły opisano w kolejnej sekcji. Zewnętrzną warstwę stanowił Mylar, a procesy w jej objętości symulowano przy użyciu standardowych modeli fizycznych Geant4. Wewnętrzną warstwę symulowano przy użyciu predefiniowanego materiału G4_WATER o gęstości Mylaru oraz kodów Geant4-DNA. Wybór ten był podyktowany brakiem przekrojów czynnych dla Mylaru w przypadku kodów Geant4-DNA, które pozwalają na symulowanie niskoenergetycznych elektronów. Z drugiej strony standardowe modele Geant4, dla których przekroje czynne dla Mylaru są dostępne, uwzględniają dolny próg symulowania elektronów na poziomie 250 eV . Pominięcie niskoenergetycznej części widma spowodowałoby niedoszacowanie wydajności jonizacji w SV oraz wpłynęłoby na ICSD i jego parametry. Grubość wewnętrznej warstwy wynoszącą $0,14 \mu\text{m}$ dobrano na podstawie zasięgu elektronów o energii 250 eV . Sprawdzone, że zwiększenie grubości nie wpływa istotnie na rezultaty.



Rysunek 3.1. Geometria symulacji JC z uwzględnieniem źródła cząstek alfa, trajektorii elektronów (kolor czerwony) i punktów jonizacji (kolor czarny). Nie zachowano proporcji. Uwidoczniono dwuwarstwową ścianę z folii Mylar i zestawy modeli użyte do poszczególnych warstw. Identyczne rozwiązanie wykorzystano dla protonów i jonów węgla.

Procesy fizyczne

Symulacje MC prowadzono z wykorzystaniem konstruktora fizyki G4EmDNAPhysics_option4 – tak zwaną opcję 4 modeli fizycznych – symulującego interakcje krok po kroku do poziomu 10 eV (Bernal et al., 2015; Kyriakou et al., 2016; Arce et al., 2021). Zastosowano go wewnątrz objętości czulej oraz w wewnętrznej warstwie ścianki. Dla pozostałej objętości świata wykorzystano konstruktor G4EmLivermorePhysics, dla którego zaleca się dolny próg śledzenia cząstek na poziomie 250 eV, choć jest ono możliwe dla elektronów do 100 eV z ograniczoną dokładnością. Miało to na celu znaczną redukcję czasu trwania symulacji. Obie listy uwzględniają modele rozpraszania sprężystego, wzbudzeń i jonizacji w wodzie dla wszystkich symulowanych cząstek.

Lista fizyki Livermore Geant4 służy do symulowania oddziaływań elektromagnetycznych. Modele konstruktora G4EmLivermorePhysics pozwalają na symulowanie oddziaływań elektronów i fotonów z materią w zakresie od 250 eV do 100 GeV. Wykorzystują modele teoretyczne i interpolowane dane oparte na bibliotekach *Evaluated Atomic Data Library* (EADL), *Evaluated Electrons Data Library* (EEDL) oraz *Evaluated Photons Data Library* (EPDL97). Modele uwzględniają pierwiastki o Z w zakresie od 1 do 100. Pozostałe procesy, w szczególności oddziaływanie jonów, są tożsame ze standardowym konstruktorem G4EmStandardPhysics_option4. Pełny opis wykorzystanych modeli dostępny jest w dokumentacji kodów Geant4 (Geant4, 2024).

Opcja 4 konstruktora fizyki Geant4-DNA uwzględnia dyskretne oddziaływania elektromagnetyczne fotonów, elektronów, protonów, wodoru, cząstek alfa i ich stanów naładowanych oraz wybranych jonów, w tym jonów węgla. G4EmDNAPhysics_option4 umożliwia symulowanie następujących oddziaływań fizycznych dla elektronów: jonizacja, wzbudzenie elektronowe oraz rozpraszanie sprężyste. Modele opisujące te zjawiska różnią poszczególne opcje fizyki konstruktora Geant4-DNA. Dla opcji 4 wykorzystano model dielektryczny zaproponowany przez Emfietzoglou i Kyriakou dla procesów jonizacji i wzbudzenia, a dla oddziaływań elastycznych stosowany jest ekranowany model Rutherforda od Uehara (Incerti et al., 2018). Fizyczne oddziaływania fotonów, protonów, wodoru, cząstek alfa i innych wybranych cięższych jonów są obsługiwane identycznie niezależnie od opcji konstruktora Geant4-DNA. Uwzględniono procesy rozpraszania jądrowego, wzbudzenia elektronowego, jonizację, wychwyt lub utratę elektronu. W przypadku jonów cięższych niż cząstki alfa dostępny jest tylko proces jonizacji. Ocena i szczegółowa charakterystyka zastosowanych modeli została ujęta w cytowanych publikacjach i wychodzi poza zakres tej pracy.

3.3 Dane dla lekkich jonów

3.3.1 Symulacje dla jonów z wyłączeniem ^{20}Ne

Symulacje przeprowadzono w oparciu o kody Geant4 (Agostinelli et al., 2003) v.4.11.0.0 z rozszerzeniem Geant4-DNA (Incerti et al., 2010a,b; Bernal et al., 2015; Incerti et al., 2018) i miały na celu uzyskanie parametrów nanodozymetrycznych dla szerszego spektrum jonów, także dla takich, dla których nie prowadzono eksperymentów z wykorzystaniem nanodozymetru.

Geometria

Symulacje MC przeprowadzono dla cylindrycznych targetów modelujących podstawową jednostkę DNA wrażliwą na promieniowanie jonizujące o dwóch konfiguracjach:

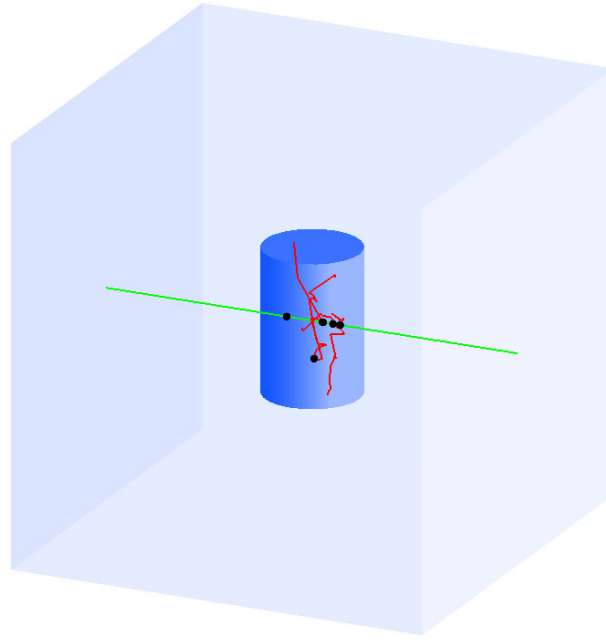
- średnice równe wysokościami i wynoszące kolejno: 0,8; 1,0; 1,3; 1,5; 1,8; 2,0; 2,3 oraz 2,5 nm,
- średnice o wartościach kolejno: 1,0; 2,0 oraz 2,3 nm, a wysokości stanowiące 1,48 wartości wysokości.

Stosunek wysokości do średnicy o wartości 1,48 wynika z rozmiaru standardowego targetu nanodozymetrycznego $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$. Rozmiar targetu jest oznaczany jako d i wyrażany w postaci $2R \times H$, gdzie $2R$ oznacza średnicę targetu, a H to jego wysokość.

Cylindry reprezentujące objętości czułe zbudowano z predefiniowanego materiału G4_WATER. Bryły te umieszczono w świecie w kształcie sześcianu o wymiarach $10 \times 10 \times 10 \text{ nm}^3$, który również wypełniono wodą, co miało odtwarzać warunki w komórce, gdzie fragmenty DNA nie są zawieszone w próżni. Źródłem promieniowania jonizującego była ołówkowa, prostopadła do osi cylindra wiązka jonów, kolejno: ^1H , ^4He , ^7Li , ^{11}B , ^{12}C , ^{14}N , ^{16}O oraz ^{28}Si , aby zapewnić różne jakości promieniowania i spójność z danymi radiobiologicznymi. Na rysunku 3.2 przedstawiono schemat symulacji dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$. Zwizualizowano przejście cząstki alfa o energii 4,6 MeV wraz z trajektorią elektronów i punktami jonizacji.

Procesy fizyczne

Dla każdego rozmiaru targetu i każdej wiązki zasymulowano po 100 000 pierwotnych cząstek kolejno dla około 40 wartości energii w zakresie od 0,2 MeV/u do 100 MeV/u dla ^1H i ^4He oraz w zakresie od 0,6 MeV/u do 1000 MeV/u dla pozostałych jonów, aby równomiernie pokryć cały niezbędny zakres energii w skali



Rysunek 3.2. Geometria symulacji dla wybranego targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ z uwzględnieniem toru cząstki alfa o energii 4,6 MeV (kolor zielony), trajektorii elektronów (kolor czerwony) i punktów jonizacji (kolor czarny).

logarytmicznej. Symulacje MC prowadzono z wykorzystaniem dwóch konstruktorów: opcji 4 konstruktora fizyki DNA wyłącznie wewnątrz objętości czułej oraz G4EmLivermorePhysics dla pozostałej objętości świata. Górny limit stosowalności konstruktora G4EmDNAPhysics_option4 dla procesu jonizacji to 1 MeV dla elektronów, 300 MeV dla protonów, a dla cięższych jonów 1 GeV/u. Powyżej tego progu stosowany jest standardowy konstruktor. Zastosowana lista fizyki może być stosowana do symulowania procesów dla wszystkich jonów, które wykorzystano. Wybór opcji 4 był podyktowany chęcią zapewnienia najlepszej zgodności z wynikami eksperymentalnymi (Pietrzak et al., 2021).

Wyniki symulacji pozwoliły na otrzymanie ICSD dla zadanych jonów i ich energii, co pozwoliło na obliczenie wielkości charakteryzujących ICSD, czyli M_1 , F_k i R_2 dla zadanych energii.

3.3.2 Dane dla ^{20}Ne

Ponieważ wykorzystane kody Geant4-DNA mogą symulować tylko jonizacje wywołane przez jony dominujące w widmie kosmicznym (dla A większych niż 4 to ^7Li , ^9Be , ^{11}B , ^{12}C , ^{14}N , ^{16}O , ^{28}Si oraz ^{56}Fe), bezpośrednie wyniki dla ^{20}Ne nie były dostępne i dla nich przeprowadzono interpolację po uzyskaniu ICSD dla pozostałych lekkich jonów. Opierano się na wynikach uzyskanych dla ^{12}C , ^{14}N , ^{16}O i ^{28}Si . Interpolację przetestowano dla ^{16}O przy użyciu ^{12}C , ^{14}N i ^{28}Si , uzyskując bardzo dobrą zgodność z wynikami bezpośredniej symulacji dla ^{16}O .

Należy wspomnieć, że od wersji 11.2 Geant4, która została udostępniona po zakończeniu badań prezentowanych w pracy, możliwe są symulacje szerszego spektrum jonów, w tym ^{20}Ne , z wykorzystaniem konstruktora fizyki Geant4-DNA. Wprawdzie nadal nie są dostępne przekroje czynne dla ^{20}Ne , ale zaimplementowano metodę opartą na skalowaniu przekrojów czynnych protonów. Dlatego poprzestano na metodzie opisanej poniżej.

Interpolacja

W przypadku interpolacji prostszej wielkości, jaką jest średni rozmiar klastra M_1 , bezpośredniej interpolacji dokonano przy użyciu wielomianu drugiego stopnia, którym scharakteryzowano M_1 w funkcji Z dla poszczególnych energii. Na drodze tej interpolacji otrzymano krzywą $M_1(E)$ dla ^{20}Ne . Parametry F_k i R_2 dla ^{20}Ne przy takiej metodzie nie prowadziły do zadowalających rezultatów, ich przebieg nie był zgodny z obserwowanymi dla pozostałych jonów trendami. Dlatego wykonano krok pośredni, jakim była interpolacja parametrów, do której wykorzystano uogólniony rozkład Poissona (GPD, z ang. *Generalised Poisson Distribution*).

Model GPD

Pietrzak (2023) zaproponował GPD (Consul i Jain, 1973) jako model charakteryzujący przebieg ICSD uzyskany na drodze pomiarów lub symulacji. Rozkład $\mathcal{G}$ opisany jest dwoma parametrami, z których każdy ma fizyczną interpretację w kontekście tworzenia klastrow, co opisano poniżej. Do wyznaczenia tych parametrów wykorzystuje się wyłącznie średnią M_1 i odchylenie standardowe σ rozmiaru klastrow. Adekwatność rozkładu $\mathcal{G}$ względem ICSD wynika z faktu, że liczba jonizacji wytworzonych bezpośrednio przez cząstkę pierwotną może być opisana przez rozkład Poissona $\mathcal{P}$, a także z tego, że każda kolejna jonizacja jest źródłem elektronów wtórnych, które również mogą wywoływać jonizację czy nawet kaskadę jonizacji. Postać $\mathcal{G}$ wykorzystana do modelowania ICSD opisana jest zależnością:

$$\mathcal{G}_n(\mu_p, \mu_s) = \frac{\mu_p (\mu_p + \mu_s n)^{n-1} e^{-(\mu_p + \mu_s n)}}{n!}, \quad (3.1)$$

gdzie:

$$\mu_s = 1 - \sqrt{\frac{M_1}{\sigma^2}}, \quad \mu_p = M_1(1 - \mu_s) = \sqrt{\frac{M_1^3}{\sigma^2}}. \quad (3.2)$$

Rozkład $\mathcal{G}$ zapewnia doskonały model dla wszystkich testowanych ICSD, zarówno eksperymentalnych, jak i numerycznych. Parametr μ_p jest proporcjonalny do liczby jonizacji wytworzonych przez cząstki pierwotne, a μ_s wyraża, ile jonizacji jest średnio wytwarzanych przez każdy elektron wtórny. Oznacza to, że jeśli liczba cząstek pierwotnych wzrośnie n -krotnie, to μ_p również wzrośnie n -krotnie. Parametr μ_s

jest niewrażliwy na liczbę cząstek pierwotnych, zaś silnie zależy od właściwości promieniowania, rozmiaru poprzecznego targetu i η , co wskazuje, że może niejako charakteryzować jakość promieniowania.

Parametry rozkładu $\mathcal{G}$ charakteryzujące dany ICSD posłużyły do interpolowania wartości parametrów F_k i R_2 obliczanych na podstawie ICSD. Parametry μ_p i μ_s rozkładów ICSD interpolowano za pomocą wielomianu drugiego stopnia w funkcji Z dla poszczególnych energii. To pozwoliło na otrzymanie tych parametrów dla zadanych energii ^{20}Ne , a tym samym rozkładów ICSD dla tych energii. Następnie obliczono odpowiednie F_k i R_2 na podstawie tak otrzymanych ICSD.

3.4 Dane do zestawienia z parametrami radiobiologicznymi

3.4.1 LET lekkich jonów

Liniowy przekaz energii (LET) nie był obliczany na drodze symulacji, a dla każdej energii i cząstki wykorzystanych w symulacjach do jego określenia wykorzystano oprogramowanie SRIM (SRIM, z ang. *Stopping and Range of Ions in Matter*) (Ziegler et al., 2010). W programie wybrano jon i ośrodek, z którym ten oddziałuje. W omawianym przypadku ośrodkiem była woda. Za pomocą SRIM dla każdego jonu wygenerowano tabelę w formacie tekstowym z szeregiem wartości energii i odpowiadającym im wartościom zdolności hamowania, czyli wielkości tożsamej LET w wykorzystywanym w symulacjach zakresie energii. Następnie zastosowano skrypt napisany w języku Python, który za pomocą liniowej interpolacji w oparciu o dane $\text{LET}(E)$ ze SRIM zwrócił wartość LET dla E wykorzystanej w symulacjach.

3.4.2 Parametry nanodozymetryczne

Do zestawienia z parametrami radiobiologicznymi konieczne było otrzymanie wielkości nanodozymetrycznych dla konkretnych 152 kombinacji jonów i energii opisanych w rozdziale 4. W tym celu również dokonywano interpolacji, wykorzystując dane z sekcji 3.3. Przeprowadzenie symulacji tylko dla 152 przypadków znacznie ograniczyłoby możliwość weryfikacji zakresu stosowalności modeli. Ponadto nie ma konieczności powtarzania symulacji w przypadku chęci otrzymania wyników dla energii spoza początkowo określonego zestawu – wystarczy dokonać interpolacji, co pozwoliło na szybkie uzupełnienie wyników po aktualizacji bazy danych radiobiologicznych, o czym więcej w rozdziale 4.

Dla każdej kombinacji jonu i jego energii wykorzystanej w badaniach radiobiologicznych liniowo interpolowano wartość M_1 , F_k i R_2 na podstawie odpowiednio krzywych $M_1(E)$, $F_k(E)$ oraz $R_2(E)$. Wartości parametrów F_k otrzymano

dla $k \in \langle 3; 7 \rangle$, a parametry R_2 dla p od 0,2 do 1,0 z krokiem 0,01. LET dla tych energii określono na podstawie SRIM. Tym samym otrzymano zestaw wielkości nanodozymetrycznych dla 152 przypadków, dla których parametry biologiczne pochodzą z radiobiologicznej bazy danych opisanej w rozdziale 4.

Wykorzystane dane nanodozymetryczne przedstawiono w formie tabelarycznej w dodatku A.

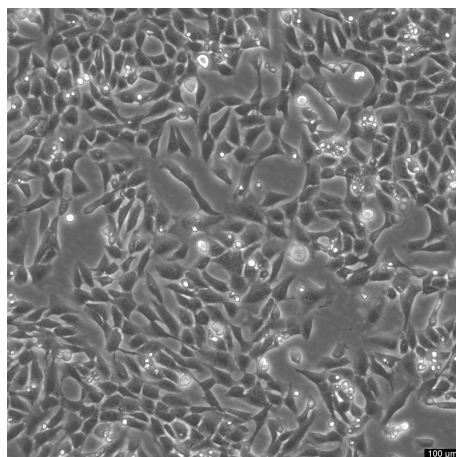
Rozdział 4

Dane radiobiologiczne

Rozdział ten zawiera opis materiałów i metod wiodących do uzyskania danych radiobiologicznych prezentowanych w niniejszej pracy. Rozpoczyna się od charakterystyki wybranej do analizy linii komórkowej V79. Następnie uwzględniono informacje o wykorzystanej bazie danych radiobiologicznych PIDE, zaprezentowano kryteria doboru danych radiobiologicznych i dokonano przeglądu źródeł promieniowania. W dalszej części rozdział prezentuje zestawienie parametrów krzywych przeżywalności, tak właściwych dla promieniowania testowego, jak i referencyjnego, co ma prowadzić do zrozumienia źródeł rozbieżności i wskazać ograniczenia otrzymanego zestawu danych.

4.1 Linia komórkowa V79

Fibroblasty płuc chomika chińskiego (V79) to szeroko poznana i stosowana w badaniach biologicznych linia komórkowa, szczególnie w dziedzinie uszkodzeń DNA i procesów ich naprawy. Została wyizolowana po spontanicznej transformacji normalnych fibroblastów z płuc samca chomika chińskiego. Opracowana przez Forda i Yerganiana w roku 1958 i pierwotnie oznaczona jako szczep V, swoją nazwę zawdzięcza Elkindowi, który zmienił ją na V79 jeszcze w tym samym roku. Pomimo tego, że linię otrzymano ponad 60 lat temu i pozwoliła na przeprowadzenie ponad 4000 badań, V79 są nadal intensywnie wykorzystywane. Zdjęcie mikroskopowe komórek tej linii prezentuje rysunek 4.1. Jedną z kluczowych zalet tych komórek jest stabilność kariotypu i morfologii, co czyni je odpowiednimi do testów genotoksyczności z niskim poziomem aberracji tła. Jej czas podwojenia wynosi około 16–20 godzin. Ta właściwość, wraz z ich nieśmiertelną naturą, skróconym cyklem komórkowym i adhezyjnością, uczyniła komórki V79 łatwymi w hodowli komórkowej. Niezwykła użyteczność komórek rodzi również pytania o możliwość uogólnienia wyników. Jedną z charakterystycznych cech komórek V79 jest to, że nie posiadają one normalnego białka p53 i nie wykazują indukcji odpowiedzi produktu genu *mdm2* na uszkodzenie DNA (Chaung et al., 1997). Ta cecha skłoniła



Rysunek 4.1. Zdjęcie mikroskopowe komórek linii V79. W prawym dolnym rogu skala. Źródło: Bank komórek Cytion (2024).

niektórych badaczy do zastanowienia się, na ile wnioski z badań nad komórkami V79 można ekstrapolować na inne typy komórek czy organizmy. Pomimo tych obaw, komórki V79 były i są szeroko stosowane w badaniach nad uszkodzeniami DNA indukowanymi nie tylko przez promieniowanie jonizujące, dla którego wykazują wrażliwość na zmiany jakości promieniowania (Belli et al., 2008), co dostarcza kluczowych danych do oceny ryzyka i bezpieczeństwa. Z linii wyizolowano liczne komórki potomne, m.in. V79-4, V79-379A, V79-753B oraz V79-S171.

4.2 Baza danych radiobiologicznych PIDE

Baza danych radiobiologicznych (PIDE, z ang. *Particle Irradiation Data Ensemble*) to wciąż rozwijany projekt biofizyków z GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH (GSI), czyli Instytutu Badań Ciężkich Jonów w Darmstadt (Friedrich et al., 2013, 2021). PIDE zestawia jakościową i ilościową charakterystykę licznych serii eksperymentów przeżywalności komórek po napromienieniu fotonami i jonami w warunkach *in vitro*. Baza ta stanowi kompilację 1219 zestawów danych ze 131 publikacji z lat 1972–2022. Dane są prezentowane w postaci tabel w dwóch powszechnie używanych formatach plików: plik arkusza kalkulacyjnego .xlsx ze specyfikacją eksperymentu i parametrami charakteryzującymi przeżywalność komórek oraz tabele ASCII w formacie .dat z surowymi danymi. PIDE jest bezpłatnie dostępna dla społeczności naukowej po zarejestrowaniu się na stronie internetowej projektu (PIDE Project, 2024). Jedną z pierwszych motywacji do jej powstania było umożliwienie systematycznych porównań modeli biofizycznych RBE z danymi eksperymentalnymi. PIDE zawiera specyfikacje eksperymentów radiobiologicznych, w tym badane linie komórkowe, autorów prac, zastosowane jakości promieniowania i sposoby napromieniania. Ilościowa charakterystyka przeżywalności

zaprezentowana jest w formie parametrów dopasowania krzywych przeżywalności pochodzących z komórkowych testów klonogennych.

Z bazy danych PIDE w wersji 3.4 wykorzystano liniowe (α i α_{ref} odpowiednio dla promieniowania testowego i referencyjnego) oraz kwadratowe (analogicznie β i β_{ref}) parametry dopasowania krzywych przeżywalności uzyskane przez autorów bazy dla rozsynchronizowanych w cyklu komórek linii V79 i otrzymane na podstawie licznych publikacji wymienionych w sekcji 4.3 wraz z wartością energii wiązki, którą napromieniano komórki. Nie korzystano z wartości LET pochodzących z PIDE a więc od autorów poszczególnych publikacji, ze względu na różne sposoby określania LET. Zamiast tego LET obliczono na podstawie energii wiązki lub cząstek ze źródła zgodnie z założeniami z sekcji 3.4.1.

Pierwotna analiza opierała się na wersji 3.2 PIDE. Po opublikowaniu wersji 3.4 dokonano analizy porównawczej i zidentyfikowano następujące zmiany:

- dokonano korekty dopasowanych wartości parametrów α_{ref} i β_{ref} dla eksperymentów z dwóch publikacji (Weyrather et al., 1999; Scholz, 2003),
- dodano do bazy informacje o jednej krzywej przeżywalności dla cząstek alfa (Schlag i Lücke-Huhle, 1981),
- dodano do bazy informacje o dwóch krzywych przeżywalności dla jonów węgla (Furusawa et al., 2017).

Wykonawszy niezbędne dodatkowe obliczenia, powyższe dane włączono do analizy, która w związku z tym opiera się na aktualnej wersji 3.4.

4.3 Wybrane dane radiobiologiczne

Dane ograniczono do eksperymentów radiobiologicznych przeprowadzonych w konfiguracjach spełniających łącznie następujące kryteria:

- rozsynchronizowane w cyklu fibroblasty płuc chomika chińskiego (linia V79), niezależnie od podtypu,
- wiązka jonów o liczbie masowej A nieprzekraczającej wartości 20, a więc zakres cząstek od protonów do neonu,
- wiązka oznaczona jako monoenergetyczna,
- LET w zakresie od 6 do 528 keV/ μm .

Taki zestaw kryteriów spełniły 152 krzywe przeżywalności pochodzące z 30 publikacji z lat 1972–2017. Publikacje te zestawiono w tabeli 4.1 wraz z informacjami o wykorzystanych do napromieniania jonach i infrastrukturze. Część jonów pochodziła ze źródeł promieniotwórczych, część była przyspieszana z użyciem akceleratora, wystąpił także przypadek przyspieszania z użyciem lasera femtosekundowego.

Tabela 4.1. Wykorzystane jony i zastosowana infrastruktura do napromieniania przyporządkowana do oryginalnych publikacji w porządku alfabetycznym względem pierwszego autora. Dla jonów podano wyłącznie liczbę masową.

Jony	Infrastruktura	Publikacja
^{12}C	synchrotron	Aoki et al. (2000)
^1H	akcelerator liniowy	Belli et al. (1998)
^{12}C	synchrotron, cyklotron, akcelerator liniowy	Belli et al. (2008)
^4He , ^7Li , ^{11}B , ^{12}C	akcelerator liniowy	Bird i Burki (1975)
^{12}C	akcelerator liniowy, synchrotron	Böhrnsen et al. (2002)
^4He	źródło ^{211}At	Claesson et al. (2011)
^4He	cyklotron, akcelerator liniowy	Cox et al. (1977)
^1H	laser femtosekundowy	Doria et al. (2012)
^1H , ^4He	akcelerator liniowy, źródło ^{238}Pu	Folkard et al. (1989)
^1H , ^2H , ^3He	akcelerator liniowy	Folkard et al. (1996)
^3He , ^{12}C , ^{20}Ne	cyklotron	Furusawa et al. (2000)
^{12}C	synchrotron	Furusawa et al. (2017)
^4He	źródło $^{220}\text{Rn}^1$	Hall et al. (1972)
^4He	źródło ^{238}Pu	Hill et al. (2004)
^{12}C	synchrotron	Hirayama et al. (2009)
^4He	źródło ^{238}Pu	Jenner et al. (1993)
^1H , ^4He	akcelerator van de Graaffa typu tandem	Jeynes et al. (2013)
^1H	akcelerator liniowy	Perris et al. (1986)
^1H , ^4He	akcelerator liniowy, źródło ^{238}Pu	Prise et al. (1990)
^4He	źródło ^{238}Pu	Raju et al. (1991)
^4He	źródło ^{241}Am	Schlag i Lücke-Huhle (1981)
^{12}C	akcelerator liniowy	Scholz (2003)
^{12}C	synchrotron	Staab et al. (2004)
^{14}N	cyklotron	Stenerlöv et al. (1995)
^4He , ^{11}B , ^{14}N	akcelerator liniowy, cyklotron	Thacker et al. (1979)
^4He , ^{14}N	synchrotron	Tilly et al. (1999)
^4He	źródło ^{238}Pu	Tracy et al. (2015)
^{16}O , ^{20}Ne	akcelerator liniowy	Weber i Flentje (1993)
^{12}C	akcelerator liniowy, synchrotron	Weyrather et al. (1999)
^{12}C	synchrotron	Zhou et al. (2006)

W toku pracy nazewnictwo jonów zostało uproszczone i pochodzi od atomu, dla którego jon wykazuje tę samą liczbę protonów, np. kategoria „wodór” obejmuje zarówno proton, jak i deuter, a kategoria „hel” uwzględnia różne jony helu ($^3\text{He}^{2+}$ i $^4\text{He}^{2+}$) oraz cząstki alfa.

¹Autorzy wykorzystali historyczne oznaczenie ^{220}Em .

Analizę danych radiobiologicznych przeprowadzono za pomocą oprogramowania Origin 2023 v.10.0.0.154 (OriginLab Corporation, 2023).

Wykorzystane dane radiobiologiczne przedstawiono w formie tabelarycznej w dodatku B.

4.4 Parametry modelu LQ wybranych danych

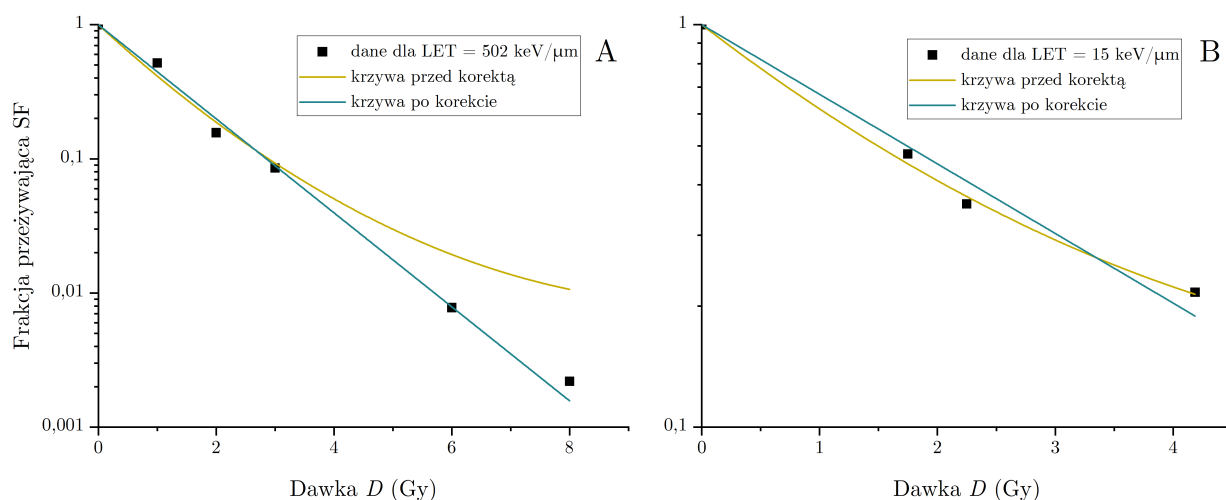
4.4.1 Korekta wartości parametrów

Większość z wybranych krzywych przeżywalności w przytoczonych publikacjach była przedstawiona w formie wykresów. Dla nich autorzy PIDE stworzyli oprogramowanie, które pozwoliło na odczytanie wartości dawek i odpowiadającym im przeżywalności z krzywych. Dla pozostałych (Furusawa et al., 2000) autorzy PIDE otrzymali surowe dane od autorów badań. W obu przypadkach do otrzymanych danych dopasowali wielomiany drugiego stopnia wynikające z modelu liniowo-kwadratowego standardową metodą χ^2 , co pozwoliło na uzyskanie parametrów dopasowania α (Gy^{-1}) i β (Gy^{-2}). Autorzy PIDE opisują dodatkowe kroki, które poczynili dla urealnienia wyników, np. dodanie do surowych danych punktu o przeżywalności 100% dla dawki 0 Gy, jeśli takiego nie było w oryginalnych publikacjach albo ustawienie jednego z parametrów dopasowania na 0, jeśli charakter krzywej miał być czysto liniowy. Miało to pozwolić na uniknięcie sytuacji, w której otrzymane parametry dopasowania są ujemne, co autorzy tłumaczą fluktuacjami statystycznymi lub systematycznymi odchyleniami. Mimo to zanotowano 18 przypadków, w których $\beta < 0$. Zastosowano dla nich formalizm przytoczony przez autorów PIDE, który zakłada obniżenie wartości parametru α o $\Delta\alpha$, aby zrekomensować zmianę wartości β na 0 o $\Delta\beta$ i otrzymanie czysto liniowego przebiegu krzywej przeżywalności w skali logarytmicznej:

$$\Delta\alpha = \frac{3}{4}\beta D_{\max}, \quad (4.1)$$

gdzie $D_{\max}$ to największa wartość dawki, dla której określona jest przeżywalność komórek z zestawu surowych danych wybranego testu przeżywalności.

Dla przedstawienia wpływu tej korekty na jakość dopasowania wybrano dwa zestawy surowych danych: dla najwyższego i najniższego LET (odpowiednio wartości 502 i 15 keV/ μm z oryginalnych publikacji), dla których zaistniała potrzeba zastosowania korekty i zaprezentowano je na rysunku 4.2. W przedstawionych przypadkach korekta pozwoliła na otrzymanie spodziewanego i uzasadnionego przebiegu krzywej dopasowania. Nie zawsze zmiany są znaczące, ale ich konieczność jest naturalną konsekwencją charakteru parametru β . Ten może wprawdzie osiągać wartości ujemne przy próbie dopasowania krzywej zgodnej z modelem LQ dla



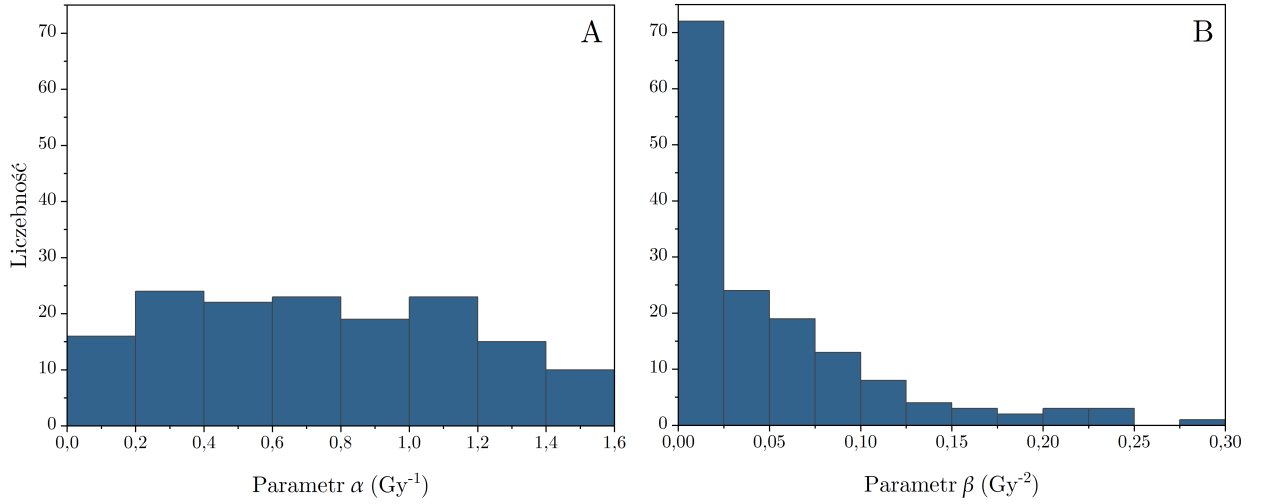
Rysunek 4.2. Surowe dane krzywych przeżywalności z naniesionymi krzywymi otrzymanymi na podstawie parametrów dopasowania przed (żółte) i po korekcie (zielone) dla wybranych najwyższej (panel A) i najniższej (panel B) wartości LET podanej w PIDE, dla których istniała potrzeba dokonania korekty.

heterogenicznych komórek z subpopulacjami o różnej promieniowrażliwości. Przykładem tego są komórki mięsaka limfatycznego myszy 6C3HED (Powers i Tolmach, 1963), w których rozsądniejszym byłoby rozróżnienie dwóch wartości parametru β dla poszczególnych subpopulacji. Ta sytuacja nie dotyczy jednak linii V79.

W każdym przypadku, w którym w pracy posłużono się oznaczeniami α i β będzie mowa o skorygowanych wartościach. Parametry α_{ref} i β_{ref} pochodzą z dopasowania wykonanego przez autorów PIDE dla krzywych referencyjnego promieniowania fotonowego. Nie korzystano z wartości podanych w wybranych oryginalnych publikacjach, aby zapewnić spójność metodologii.

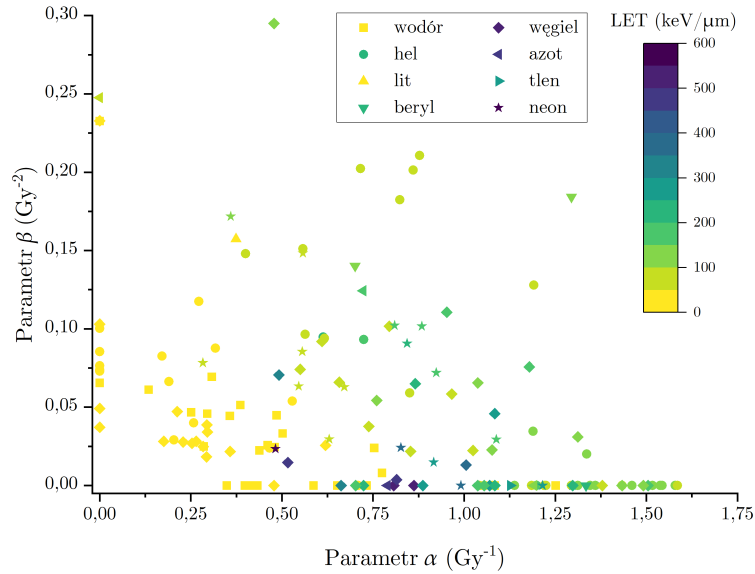
4.4.2 Zestawienie parametrów LQ dla lekkich jonów

Dla danych z bazy PIDE spełniających kryteria, o których mowa w sekcji 4.3, przygotowano histogramy liczebności parametrów α i β , co prezentuje rysunek 4.3. Współczynnik α wielomianu wyrażającego model LQ wybranych krzywych przeżywalności można opisać rozkładem płaskim, co ujęto na rysunku 4.3A. Mamy tu do czynienia z nieujemnymi wartościami $\alpha \in \langle 0 \text{ Gy}^{-1}; 1,6 \text{ Gy}^{-1} \rangle$. W każdym z przedziałów o szerokości $0,2 \text{ Gy}^{-1}$ zanotowano od 10 do 24 przypadków. Otrzymany charakter rozkładu wynika z doboru eksperymentów o szerokim spektrum jakości promieniowania. Występują liczne przypadki zarówno promieniowania o niskim, średnim, jak i wysokim LET, dla których charakterystyczne będą odpowiednio stosunkowo niższe, wyższe i średnie wartości parametru α . Ta nieliniowa odpowiedniość wynika z tego, że wzrost α wraz ze wzrostem LET nie następuje w ca-



Rysunek 4.3. Histogram liczebności krzywych przeżywalności z wartością parametru α (panel A) oraz β (panel B) w zadanych przedziałach histogramowania.

łym badanym zakresie LET. Osiągane jest maksimum około $100 \text{ keV}/\mu\text{m}$, dla którego charakterystyczne będą najwyższe wartości α , co jest widoczne także na rysunku 4.4. Rozkład parametru β modelu LQ zaprezentowany na rysunku 4.3B ma zdecydowanie inny charakter. Zanotowano wartości $\beta \in \langle 0 \text{ Gy}^{-2}; 0,3 \text{ Gy}^{-2} \rangle$ i przy szerokości przedziału histogramowania wynoszącym $0,025 \text{ Gy}^{-2}$ liczebność maleje w kolejnych przedziałach. Najliczniej występują wartości najniższe. Silnie oddaje to charakter współczynnika β , który dla promieniowania o wysokim liniowym przekazie energii przyjmuje wartość bliską lub równą 0.

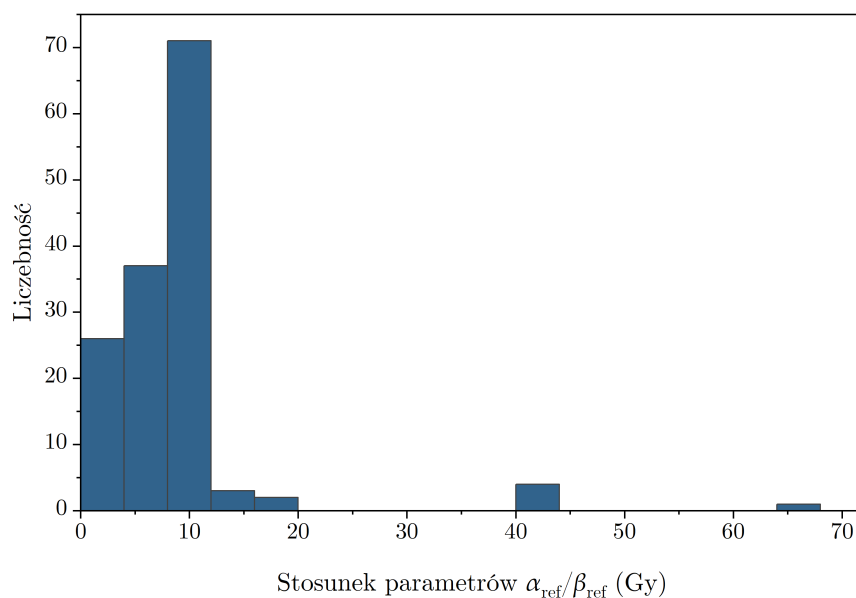


Rysunek 4.4. Zależność między parametrami α i β danych wybranych do analizy z podziałem na rodzaj jonu i ze wskazaniem wartości LET w danym eksperymencie.

Rysunek 4.4 prezentuje zmienność parametrów α i β dopasowania krzywych przeżywalności w zależności od zastosowanego jonu (kształt punktu) i liniowego przekazu energii (kolor punktu). Dla najniższych wartości LET osiągane są raczej niższe wartości α , ale w dość szerokim zakresie β . W średnim zakresie LET charakterystyczne są wyższe wartości α i ponownie dość szerokie spektrum wartości β . W przypadku najwyższych wartości LET osiągane są średnie wartości α i bliskie lub równe 0 wartości β .

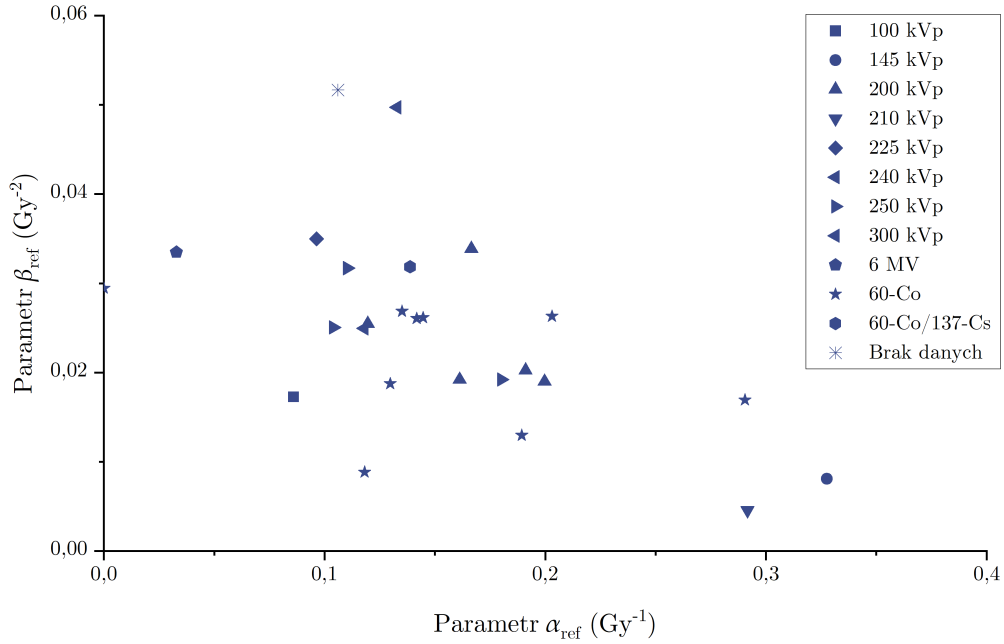
4.4.3 Zestawienie parametrów modelu LQ dla promieniowania fotonowego

W przypadku promieniowania referencyjnego nie mamy do czynienia z szerokim zakresem jakości promieniowania. Histogram liczebności wartości stosunku $\alpha_{\text{ref}}/\beta_{\text{ref}}$ parametrów dopasowania modelu LQ zaprezentowano na rysunku 4.5. Stosunek ten dla konkretnej linii komórkowej i dla danej jakości promieniowania oczekiwany jest jako względnie stała liczba (tu o wartości kilku Gy) charakteryzująca zdolności komórek do naprawy uszkodzenia DNA. Histogram wskazuje na występowanie dla kilku krzywych przeżywalności z PIDE bardzo dużych wartości $\alpha_{\text{ref}}/\beta_{\text{ref}}$. Wielkość ta jest wrażliwa na zmiany parametru β_{ref} , który obarczony jest dużymi niepewnościami. Możliwe odstępstwa mogą też wynikać z nierównomiernych udziałów subpopulacji w odpowiednich fazach cyklu komórkowego, co omówiono w sekcji 2.4.2.



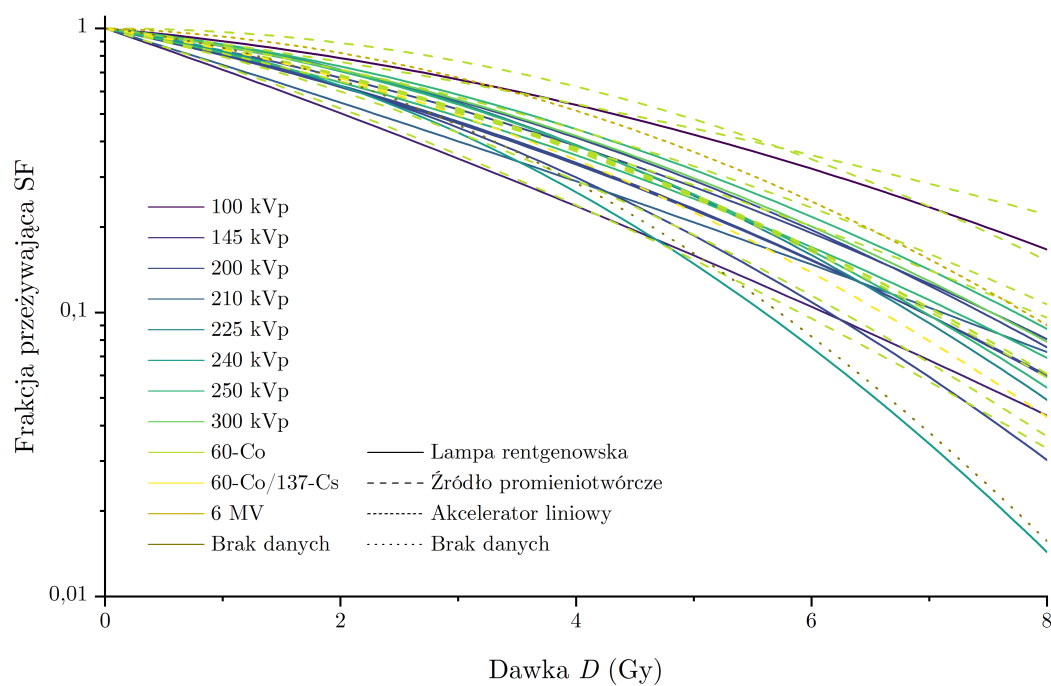
Rysunek 4.5. Histogram liczebności wartości stosunku $\alpha_{\text{ref}}/\beta_{\text{ref}}$ parametrów dopasowania modelu liniowo kwadratowego dla promieniowania referencyjnego.

Rysunek 4.6, analogiczny do rysunku 4.4, prezentuje zależność β_{ref} od α_{ref} z podziałem na typ promieniowania referencyjnego. W tym wypadku kształt punktu zależy od rodzaju promieniowania referencyjnego. Dla wielu eksperymentów autorzy powoływali się na tożsame wyniki dotyczące promieniowania referencyjnego, stąd mniejsza liczba danych. Parametr β_{ref} w żadnym przypadku nie osiąga wartości 0, co wynika z nieliniowej zależności $SF(D)$ w skali półlogarytmicznej dla promieniowania o niższym LET.



Rysunek 4.6. Zależność między parametrami α_{ref} i β_{ref} danych wybranych do analizy z podziałem na rodzaj promieniowania referencyjnego w eksperymencie.

Na rysunku 4.7 zaprezentowano krzywe przeżywalności komórek V79 poddanych działaniu promieniowania fotonowego. Krzywe mają przebieg charakterystyczny dla promieniowania charakteryzującego się niskim LET, który mieści się w zakresie 0,2–2 keV/ μm (Murshed, 2019). Obserwowane różnice mogą wskazywać na umiarkowaną powtarzalność eksperymentów biologicznych oraz różnice wynikające z różnych geometrii napromieniania i sposobów kolimacji wiązki. Dla przykładowego poziomu przeżywalności 10% w jednym z eksperymentów ze źródłem ^{60}Co dawka wyniosła około 6 Gy, a w innym sporo powyżej 8 Gy. Mimo różnic, wszystkie zaprezentowane tu dane uwzględniono w dalszej analizie.



Rysunek 4.7. Dopasowane do surowych danych dla promieniowania fotonowego krzywe przeżywalności komórek V79 z podziałem na rodzaj promieniowania referencyjnego (kolor linii) oraz aparaturę wykorzystaną do jego wytworzenia (styl linii).

Rozdział 5

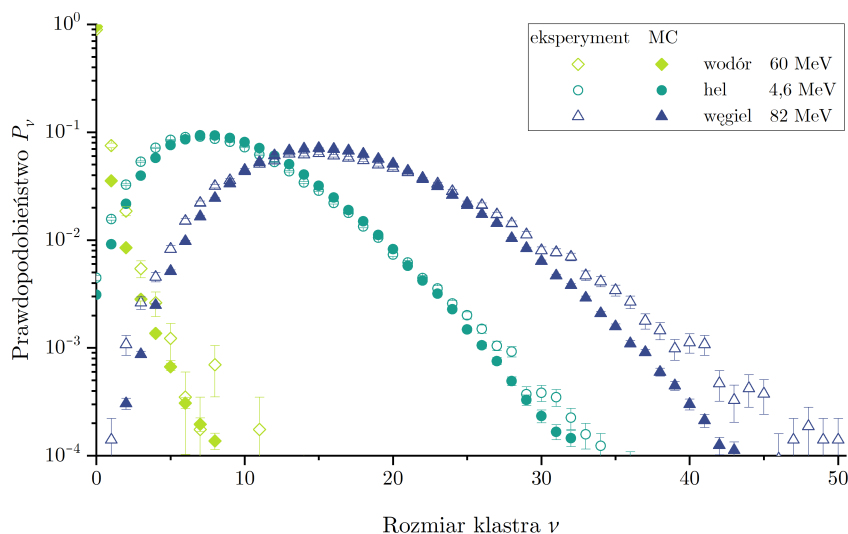
Wyniki i dyskusja

W rozdziale przedstawiono zastosowanie parametru R_2 i towarzyszących wielkości nanodozymetrycznych w ocenie odpowiedzi komórkowej linii V79 (Mietelska et al., 2024). Rozdział rozpoczyna się od walidacji kodów MC w oparciu o dane eksperymentalne oraz weryfikacji zakresu użyteczności wyników symulacji. Następnie zweryfikowano dobór danych radiobiologicznych poprzez analizę radiobiologicznego przekroju czynnego, by w kolejnym kroku dokonać analizy tej wielkości w funkcji zarówno LET, jak i M_1 . W analizie danych skupiono się na dwóch rozmiarach targetów, co prowadzi do wyboru targetu do reprezentowania podstawowej, z punktu oddziaływania cząstek naładowanych z materią, jednostki biologicznej. Następnie przedstawiono wyniki dotyczące jakości dopasowania między $\sigma_{5\%}$ i R_2 lub F_k , co pozwoliło na wskazanie adekwatności podejścia opartego na R_2 , a otrzymany współczynnik K modelu R_2 zestawiono z rozmiarem jądra komórkowego linii V79. Wreszcie wskazano możliwość zastosowania wielkości nanodozymetrycznych do obserwacji znanych trendów z krzywej RBE(LET) z zaznaczeniem potencjalnych korzyści takiego podejścia. Ostatnia część rozdziału zawiera dyskusję.

5.1 Walidacja symulacji MC

5.1.1 Porównanie symulacji ICSD z wynikami eksperymentalnymi

Dane eksperymentalne uzyskane za pomocą nanodozymetru JC dla protonów, cząstek alfa i jonów węgla pozwoliły na zestawienie z rezultatami symulacji MC odwzorowujących geometrię JC, co prezentuje rysunek 5.1. Rozbieżność między danymi eksperymentalnymi a symulacjami w największym stopniu dotyczy ogonów rozkładów ICSD. Prawdopodobieństwo P_ν związane z wystąpieniem tych rozmiarów klastrów jest stosunkowo niskie, dlatego efekt ten nie powoduje znaczących różnic przy określaniu wartości F_k i R_2 . Przewidywanie przebiegu ICSD i jego pa-



Rysunek 5.1. Zestawienie ICSD eksperymentalnych (symbole puste) i symulacyjnych (symbole pełne). Wiązka protonów oznaczona jako „wodór”, cząstki alfa jako „hel”, a wiązka jonów węgla jako „węgiel”.

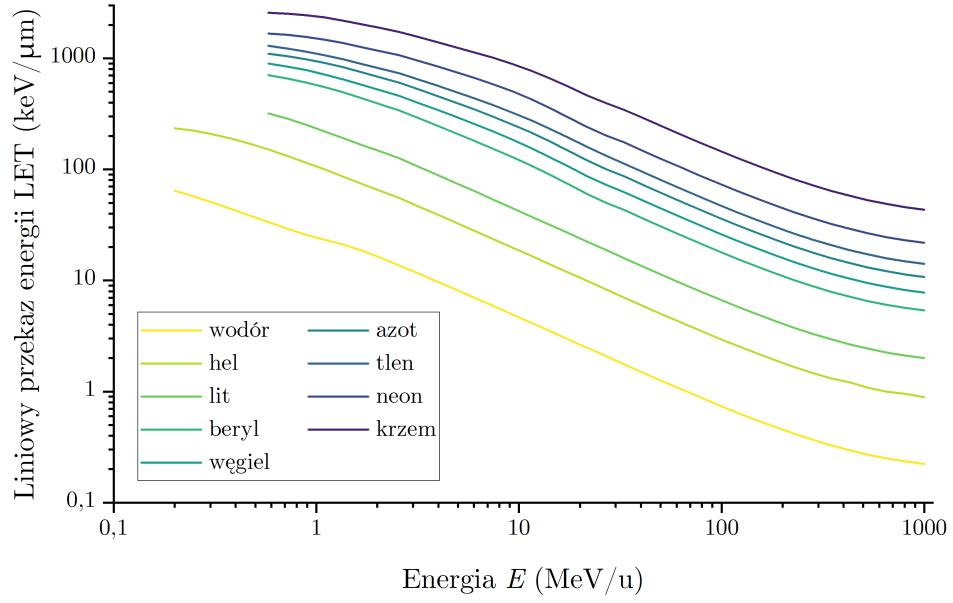
rametrów na podstawie symulacji Geant4-DNA daje satysfakcjonujące rezultaty i na tyle dokładne, aby móc opisać dane eksperymentalne zebrane za pomocą JC dla różnych cząstek naładowanych w szerokim zakresie energii. To otwiera możliwość zastosowania symulacji w celu określenia wielkości nanodozymetrycznych dla innych lekkich jonów, co jest przedmiotem tej pracy.

5.1.2 Zakres użyteczności

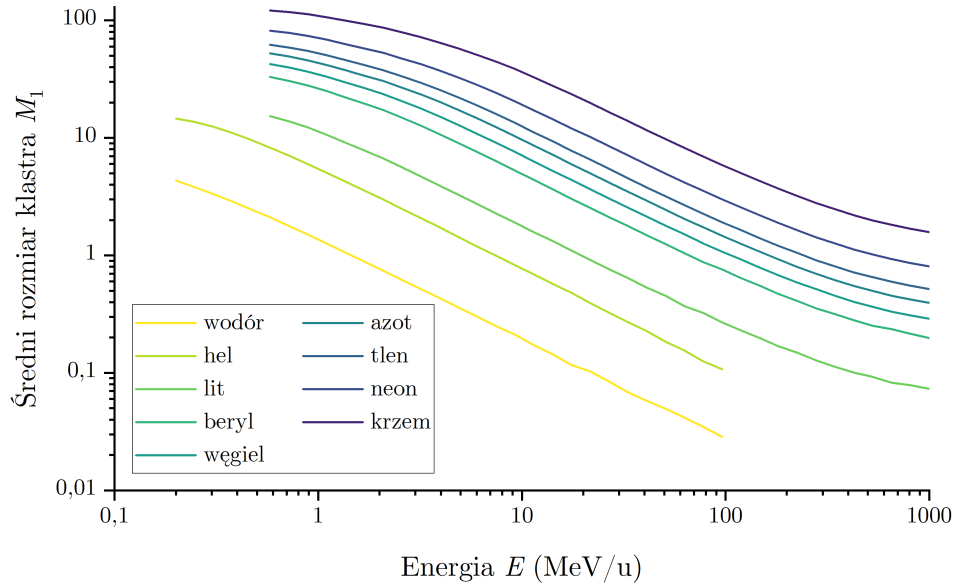
Aby zweryfikować granice stosowalności wykorzystanych modeli oraz interpolację przeprowadzoną dla ^{20}Ne , przygotowano wykresy zależności LET, E i M_1 przedstawione na rysunkach 5.2–5.4. Kolory wskazują wykorzystany jon. Uwzględniono osiem lekkich jonów, dla których wyniki symulowano bezpośrednio oraz jeden jon (^{20}Ne), dla którego wartości parametrów interpolowano (sekcja 3.3.2).

W pełnym przedstawionym zakresie E na rysunku 5.2 i dla wszystkich jonów zależność LET od energii na nukleon jest funkcją malejącą. Obserwowane trendy są podobne dla wszystkich lekkich jonów. Największe odstępstwa mogą być zauważalne dla najniższych energii protonów – tu nie notuje się subtelного przegięcia.

Rysunek 5.3 przedstawia przebieg średniego rozmiaru klastra w funkcji energii wiązki. Zależność ta również ma charakter malejący, podobnie jak $\text{LET}(E)$. Dla protonów i cząstek alfa symulacje ograniczono do 100 MeV/u, gdyż największa wykorzystana w tej pracy energia dla tych jonów wynosi 39 MeV/u. Stosowalność niektórych modeli Geant4-DNA powyżej 100 MeV/u dla tych cząstek nie jest potwierdzona. Podobnie wygląda kwestia modeli dla $Z \geq 3$ i energii $E < 0,5$ MeV/u.



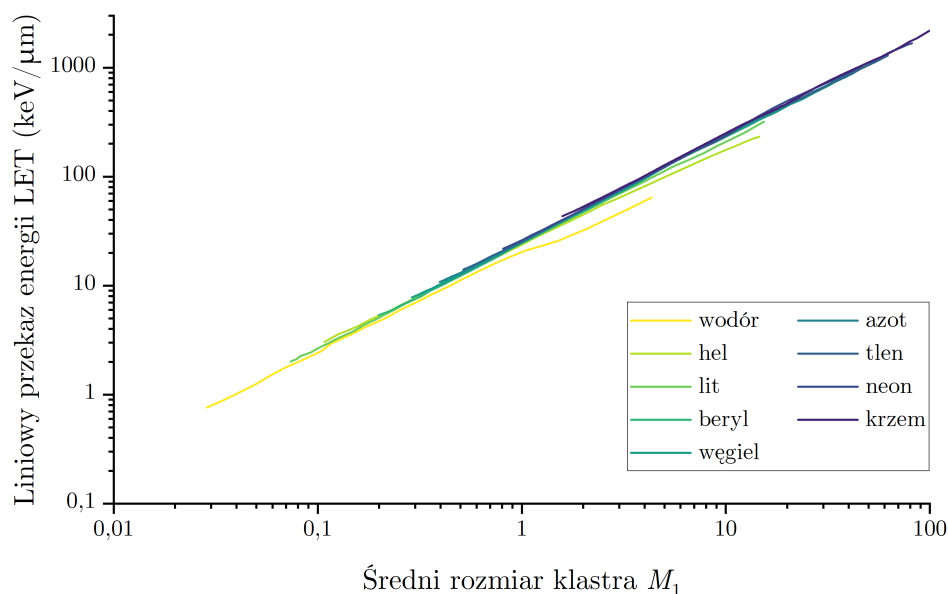
Rysunek 5.2. Przebieg liniowego przekazu energii w funkcji energii na nukleon wykorzystanych jonów dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$.



Rysunek 5.3. Średni rozmiar klastra w funkcji energii na nukleon wykorzystanych jonów dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$.

Na rysunku 5.4, który przedstawia liniowy przekaz energii w funkcji średniego rozmiaru klastra widoczny jest efekt w postaci odstępstw od obserwowanych trendów dla wyższych rozmiarów klastrów. Przebieg $LET(M_1)$ nie pokrywa się całkowicie dla wszystkich jonów. Najbardziej widocznym przykładem są protony dla M_1 większych niż 1 oraz cząstki alfa dla M_1 większych niż 3. Różnice te mogą wynikać z oddziaływań możliwych do symulowania przez konstruktor Geant4-DNA, która

dla protonów i cząstek alfa obejmuje szeroki zakres procesów, nie tylko jonizację, jak w przypadku cięższych jonów.



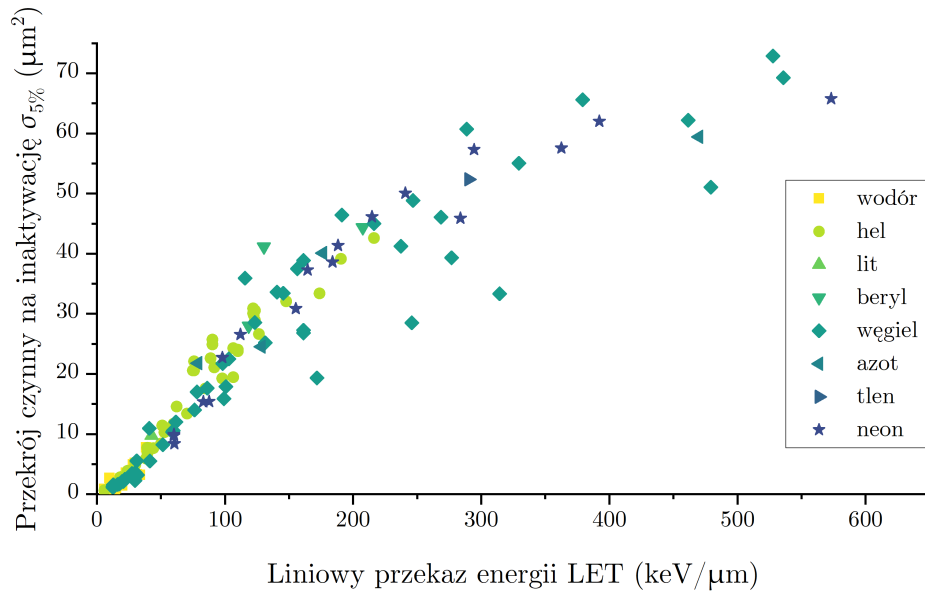
Rysunek 5.4. Liniowy przekaz energii w funkcji średniego rozmiaru klastra dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ i wykorzystanych jonów.

5.2 Przekrój czynny na inaktywację

5.2.1 Weryfikacja doboru danych i źródeł rozrzutu

Dane radiobiologiczne zestawiono, biorąc pod uwagę przekrój czynny na inaktywację $\sigma_{5\%}$ w funkcji LET z podziałem na różne kryteria. Zgodnie z tezami Belloni et al. (2002) $\sigma_{5\%}$ miała wykazywać spójną zależność od LET niezależnie od jonu wykorzystanego do napromieniania komórek. Otrzymane wartości $\sigma_{5\%}$ w funkcji LET z podziałem na jony użyte do napromieniania komórek prezentuje rysunek 5.5. Widoczny jest spójny trend niezależnie od zastosowanej wiązki, ale nietrudno wskazać kilka punktów, które dość silnie od niego odstają. Dlatego do zbadania, jakie czynniki mogły mieć wpływ na rozrzut danych wykorzystano: szacunkowe niepewności parametrów modelu LQ, podtyp komórek V79 oraz lokalizację laboratorium grupy badawczej przeprowadzającej test przeżywalności.

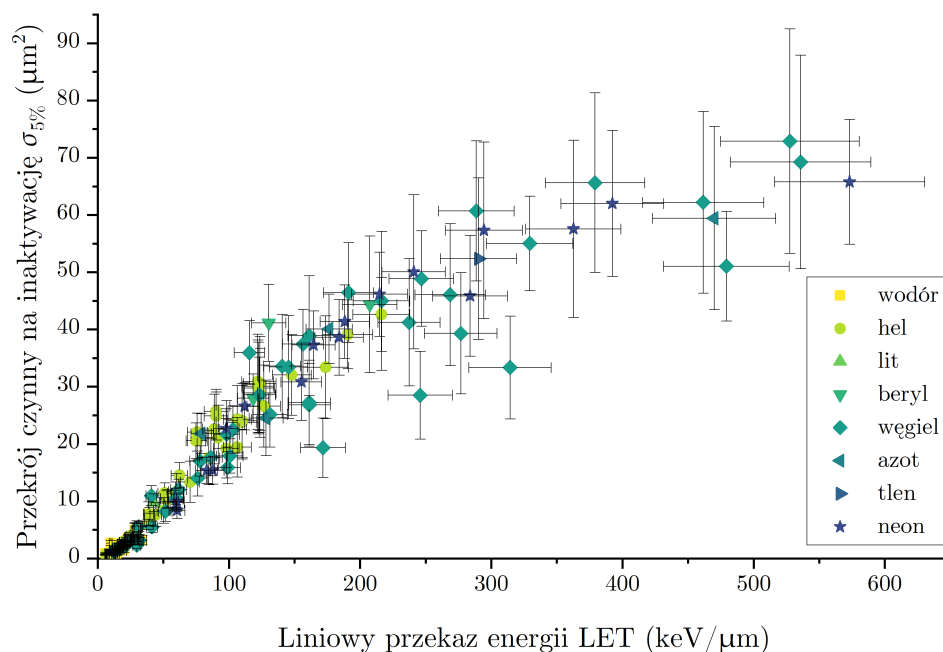
Ze względu na ograniczenia bazy PIDE niemożliwe jest określenie niepewności wyników biologicznych w sposób konsekwentny, który weźmie pod uwagę zarówno błędy systematyczne, jak i przypadkowe. Ujęcie kwestii wyłącznie od strony statystycznej może zaniżyć ocenę wpływu i prowadzić do niepełnych wniosków. W oryginalnych publikacjach często brakuje wyczerpujących informacji o niepewnościach



Rysunek 5.5. Przekrój czynny na inaktywację w funkcji liniowego przekazu energii z podziałem na jony wykorzystane do napromienienia komórek. Kategoria „wodór” uwzględnia zarówno protony, jak i deutery, podczas gdy „hel” obejmuje jony ${}^3\text{He}^{2+}$, ${}^4\text{He}^{2+}$, a także cząstki alfa.

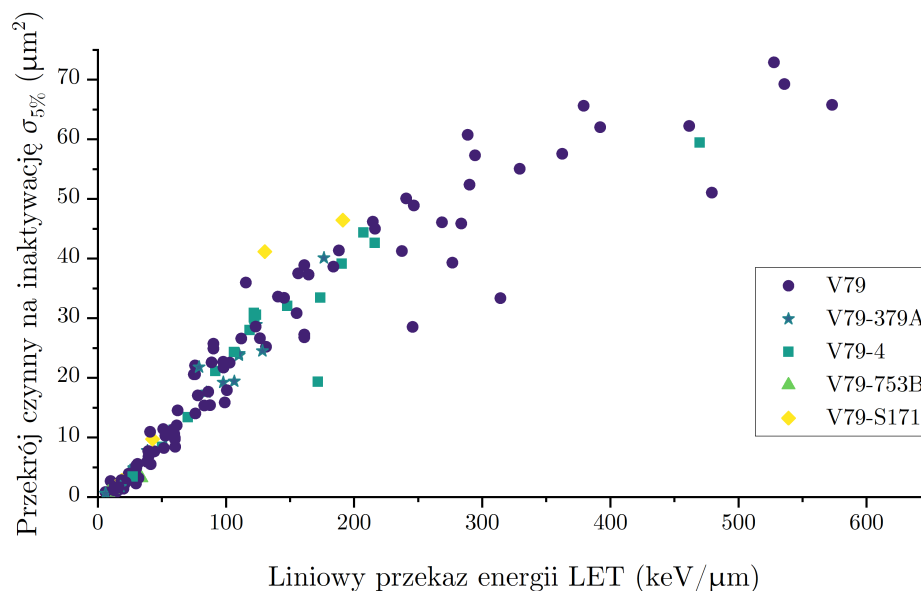
zarówno dotyczących parametrów modelu LQ, jak i precyzyjnego określenia wartości LET. Krytykę wykorzystywania LET z oryginalnych publikacji prezentujących wyniki testów przeżywalności podjął Kalholm et al. (2021), wskazując, że autorzy podają jako LET wartości LET_d lub LET_t , często nie informując o sposobie uśredniania, co uniemożliwia porównania.

Korzystając z metody propagacji małych błędów, oszacowano niepewności określenia wartości σ_{SF} i zaprezentowano na rysunku 5.6. Niepewności względne parametrów α i β na poziomie 25%, a także 10% dla LET wybrano na podstawie przeglądu zakresu niepewności względnych podawanych przez autorów oryginalnych publikacji. Trzeba jasno zaznaczyć, że są to niemałe niepewności względne, ale niestety nierzadko osiąganego. Tu nieco wyraźniej widać, jak wyróżniają się wyniki dla trzech eksperymentów z jonami węgla (LET o wartościach 171,81; 245,87 oraz 314,37 keV/μm), dla których nawet zakres niepewności odstaje względem innych eksperymentów. Dla tych trzech punktów obserwowano zerową wartość parametru β , natomiast parametr α miał wartość rzędu $0,7 \text{ Gy}^{-1}$, podczas gdy niemal dla wszystkich innych eksperymentów z porównywalnym warunkami napromieniania parametr α wynosił powyżej 1 Gy^{-1} . Dla tych trzech eksperymentów obserwowana jest więc nietypowa promieniowrażliwość komórek V79 dla wyższych dawek.



Rysunek 5.6. Przekrój czynny na inaktywację z przykładowymi niepewnościami, wynikającymi z niepewności względnych parametru α i β równych 25%, a dla LET 10%.

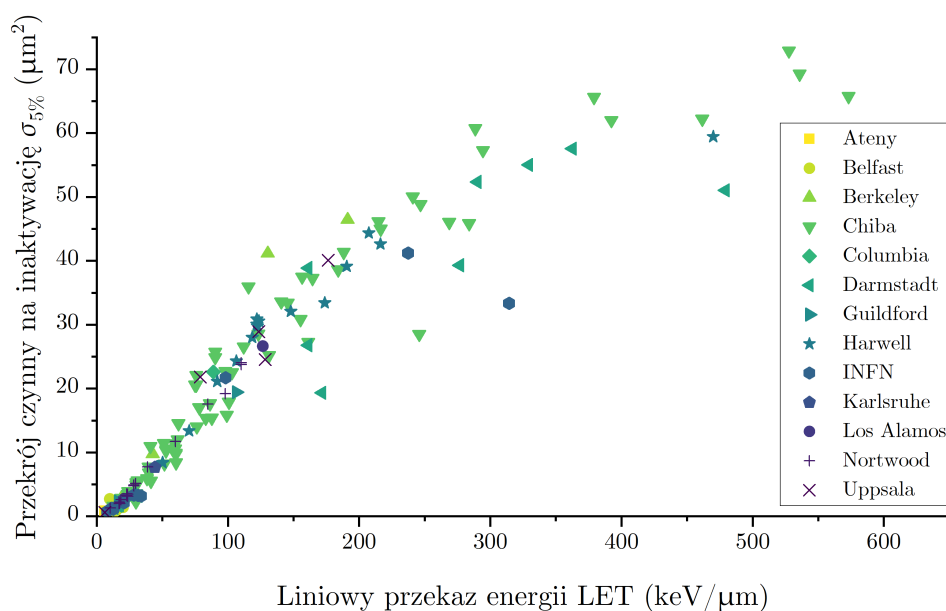
Kolejnym źródłem rozrzutu wyników może być rodzaj komórek V79. Rysunek 5.7 prezentuje zależność $\sigma_{5\%}$ od LET dla różnych podtypów linii komórkowej V79. Oznaczenie podtypu opierało się o treść pierwotnej publikacji, bowiem



Rysunek 5.7. Przekrój czynny na inaktywację w funkcji liniowego przekazu energii z podziałem na podtyp linii komórkowej V79, o ile oznaczony w pierwotnej publikacji dotyczącej przeżywalności komórek V79.

w PIDE wyróżniano wyłącznie typy V79 i V79-4. Zdarzały się też przypadki, w których autorzy pierwotnej publikacji wskazywali podtyp V79-4, a autorzy PIDE oznaczali dany eksperyment typem V79. W tym przypadku trudno wskazać, aby wyniki dla wybranego podtypu znacząco odstawały od pozostałych. Takie wrażenie można odnieść dla dwóch eksperymentów z użyciem podtypu V79-S171 z LET w zakresie 100–200 keV/ μm , ale pozostałe dwa eksperymenty, które dla wskazanego podtypu zachowują się zgodnie z trendem, wskazując na brak zależności.

Ostatnim czynnikiem, który zweryfikowano, był wpływ sposobu przeprowadzenia eksperymentu w danym laboratorium przez daną grupę badawczą, co prezentuje rysunek 5.8. Dla kilku grup wystąpiły pojedyncze krzywe przeżywalności, dla których $\sigma_{5\%}$ różni się pozostałych. Przykładem jest wartość $\sigma_{5\%}$ dla LET wynoszącego 245,87 keV/ μm otrzymana przez zespół z Darmstadt lub dla LET równego 314,37 keV/ μm grupy z Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (INFN) we Włoszech. Nie jest jednak widoczna systematyczna różnica dla konkretnej grupy, która mogłaby być uzasadnieniem niewłączenia tych danych do analizy prezentowanej w pracy.

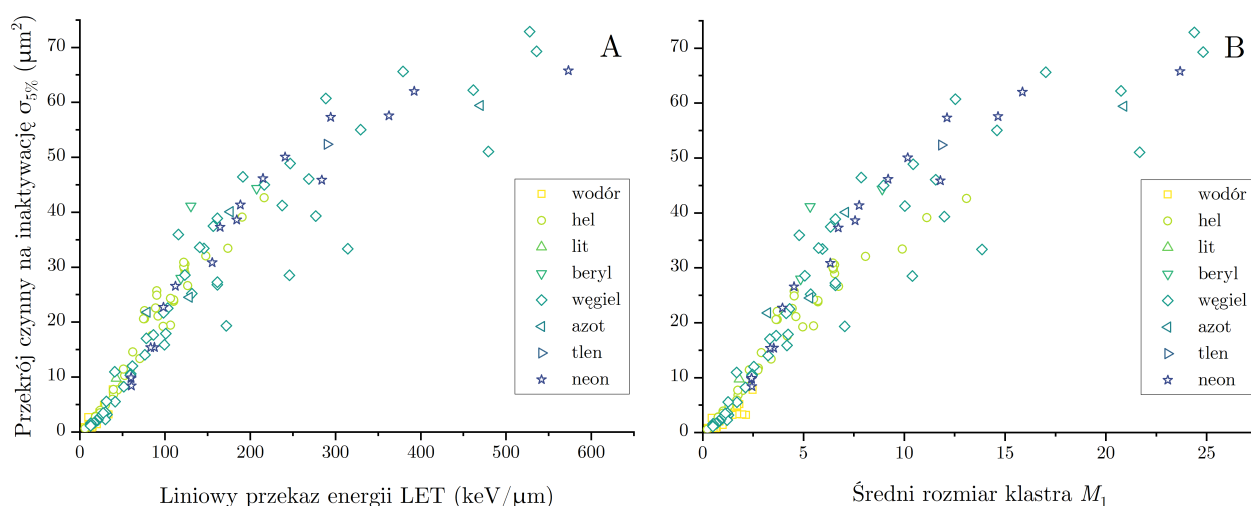


Rysunek 5.8. Przekrój czynny na inaktywację w funkcji liniowego przekazu energii z podziałem na lokalizację laboratorium danej grupy badawczej wykonującej badania przeżywalności komórek V79.

5.2.2 Nanodozymetryczna alternatywa LET

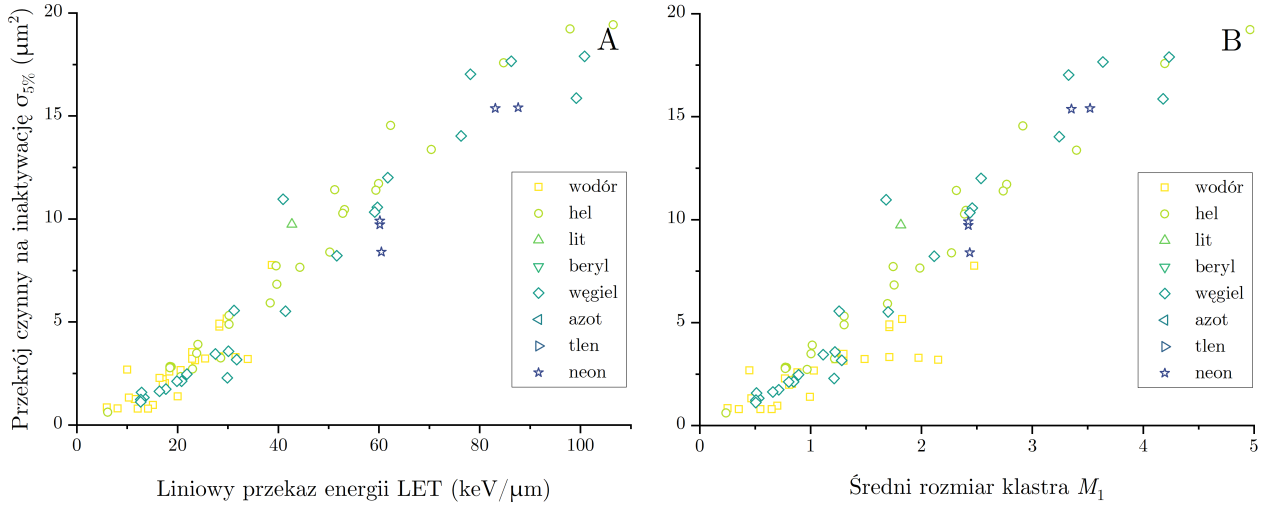
Mając na uwadze nie tylko uwzględnione w pracy ograniczenia LET w charakteryzowaniu jakości promieniowania i wywieranych przez nie skutków biologicznych, zbadano potencjał wielkości nanodozymetrycznych, jako narzędzia w alternatyw-

nym podejściu. Na rysunku 5.9A przedstawiono przebieg $\sigma_{5\%}$ w zależności od LET, a na rysunku 5.9B w funkcji średniego rozmiaru klastra M_1 . Uzyskano zależności o sigmoidalnym charakterze. Wartość $\sigma_{5\%}$ wzrasta stosunkowo proporcjonalnie w zakresie niższych LET i M_1 . Przebieg zmienia się przy LET i M_1 wynoszących odpowiednio około 150 keV/ μm i 7, aż do stopniowego nasycania dla większych wartości LET i M_1 . Może to mieć związek z tylko jednokrotną możliwością zarejestrowania śmierci konkretnej komórki nawet przy dalszych oddziaływaniach promieniowania jonizującego (z ang. *overkill effect*). Prezentowanie wartości $\sigma_{5\%}$ w funkcji M_1 zamiast LET nie wpływa na radykalną zmianę trendu. Dla jonów helu i węgla w zakresie średnich wartości M_1 nieco liczniej obserwowane są odstępstwa od trendu. W przeciwieństwie do tej obserwacji w zakresie niskich M_1 (na przykład dla helu) oraz niskich i wysokich M_1 (dla węgla czy neonu) odstępstwa są mniejsze.



Rysunek 5.9. Przekrój czynny na inaktywację w funkcji LET (panel A) i symulowanego M_1 (panel B) dla cylindrycznego targetu o rozmiarze $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$. Kształty i kolory punktów wskazują jon użyty do napromienienia. Kategoria „wodór” obejmuje protony i deuterony, „hel” uwzględnia jony $^3\text{He}^{2+}$, $^4\text{He}^{2+}$ oraz cząstki alfa.

Ponieważ w niskim zakresie LET i M_1 zagęszczenie punktów jest najwyższe, przygotowano rysunek 5.10, który prezentuje te same dane, co rysunek 5.9, ale w zakresie wyłącznie najniższych wartości LET do 110 keV/ μm i M_1 do 5. W prezentowanym zakresie, gdzie spodziewany jest trend liniowy, zmiana z LET na M_1 zachowuje liniowy charakter zależności przebiegu $\sigma_{5\%}$. Ponownie notowane są pojedyncze większe odstępstwa (np. dla helu), ale także pojedyncze korzystne przesunięcia (np. dla azotu). Niemniej jednak przy obserwowanej liczbie próby i uwzględnieniu różnorodnych eksperymentów radiobiologicznych, co prezentowała sekcja 5.2.1, zastosowanie średniego rozmiaru klastra jako alternatywy dla LET ma swoje uzasadnienie.



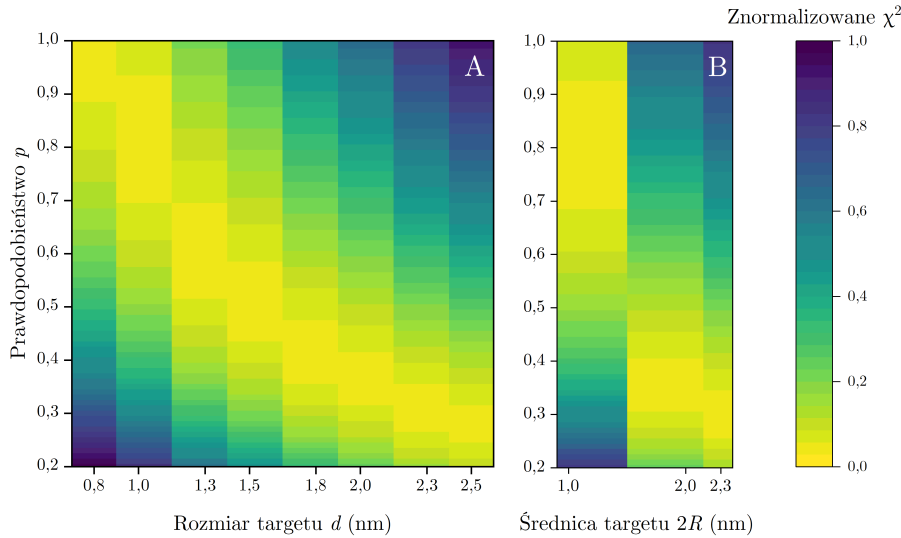
Rysunek 5.10. Przekrój czynny na inaktywację w funkcji LET (panel A) i symulowanego M_1 (panel B) dla cylindrycznego targetu o rozmiarze $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ w zakresie wyłącznie najniższych wartości LET i M_1 . Kształty i kolory punktów wskazują jon użyty do napromienienia. Kategoria „wodór” obejmuje protony i deuterony, „hel” uwzględnia jony $^3\text{He}^{2+}$, $^4\text{He}^{2+}$ oraz cząstki alfa.

5.3 Minimalizacja parametrów modelu R_2

Jako że w pracach (Conte et al., 2017, 2018) wskazywano na prostą proporcjonalność między $\sigma_{5\%}$ a F_2 dla cylindrycznego targetu $1 \times 1 \text{ nm}^2$, a w kolejnych badaniach (Conte et al., 2023) efekt ten zauważono dla kombinacji liniowej F_2 i F_3 i kulistego targetu o średnicy 1 nm, postanowiono sprawdzić tę zależność dla R_2 .

W badaniach prostej proporcjonalności między $\sigma_{5\%}$ i R_2 postaci $\sigma_{5\%} = K \cdot R_2$ poszukiwane są wartości czynnika K , prawdopodobieństwa p i rozmiaru targetu d , dla których suma kwadratów różnic pomiędzy $\sigma_{5\%}$ a $K \cdot R_2$ dla każdego punktu określona jako zmodyfikowane χ^2 będzie najmniejsza. Ze względu na ograniczenia bazy PIDE niemożliwe było określenie niepewności wyników biologicznych w sposób konsekwentny, uwzględniający zarówno błędy systematyczne, jak i przypadkowe, co tym samym uniemożliwiało bezpośrednie użycie metody najmniejszych kwadratów. Przetestowano wprowadzenie wag kwadratów różnic wynoszących $1/y_i^2$, gdzie y_i to i -ta wartość $\sigma_{5\%}$ dla i -tej wartości M_1 , mając na uwadze, że rozrzut wyników rośnie w przybliżeniu liniowo z wartością $\sigma_{5\%}$. Ponieważ jednak przetestowane wagi nie zaowocowały różnicą wniosków płynących z pierwotnego podejścia z zastosowaniem zmodyfikowanego χ^2 porzeczano na pierwszym prezentowanym wyborze. Poszukując najmniejszej wartości zmodyfikowanego χ^2 za pomocą skryptu w języku Python, testowano wartości czynnika K z krokiem o wartości 1 μm^2 , prawdopodobieństwo p z krokiem 0,01 oraz wszystkie rozmiary targetu d , dla których przeprowadzono symulacje.

Najmniejsze, porównywalne wartości χ^2 przypadają różnym zestawom trójek (K, p, d) , ale cechą wspólną była stała wartość K rzędu $59 \mu\text{m}^2$. Dlatego dla wybranego K przygotowano mapę wartości $\chi^2(d, p)$ znormalizowanego do maksymalnej wartości zmodyfikowanego χ^2 występującego w prezentowanym zakresie. Na rysunku 5.11A ujęto rezultaty dla targetów symetrycznych o średnicach równym wysokościom, a na osi X zastosowano uproszczony zapis rozmiaru targetu. Rysunek 5.11B dotyczy targetów niesymetrycznych, dla których wysokość stanowi 1,48 wartości średnicy, a na osi X oznaczono wyłącznie średnicę targetu. Obszar najlepszego dopasowania obserwowany jest dla najniższych wartości znormalizowanego χ^2 przez kolor żółty. W całym zakresie zastosowano 35 odcieni, a więc każdy konkretny odpowiada za niecałe 3% maksymalnej wartości. Mamy do czynienia nie tyle z konkretną parą (d, p) , ale całym korytarzem par (d, p) , dla których otrzymano bardzo zbliżone wartości znormalizowanego χ^2 zobrazowane za pomocą jednego odcienia. Dla przykładowych, wspominanych w pracy targetów $1 \times 1 \text{ nm}^2$ oraz $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ najlepsze dopasowanie osiągnięto dla p wynoszącego odpowiednio 0,8 oraz 0,3.

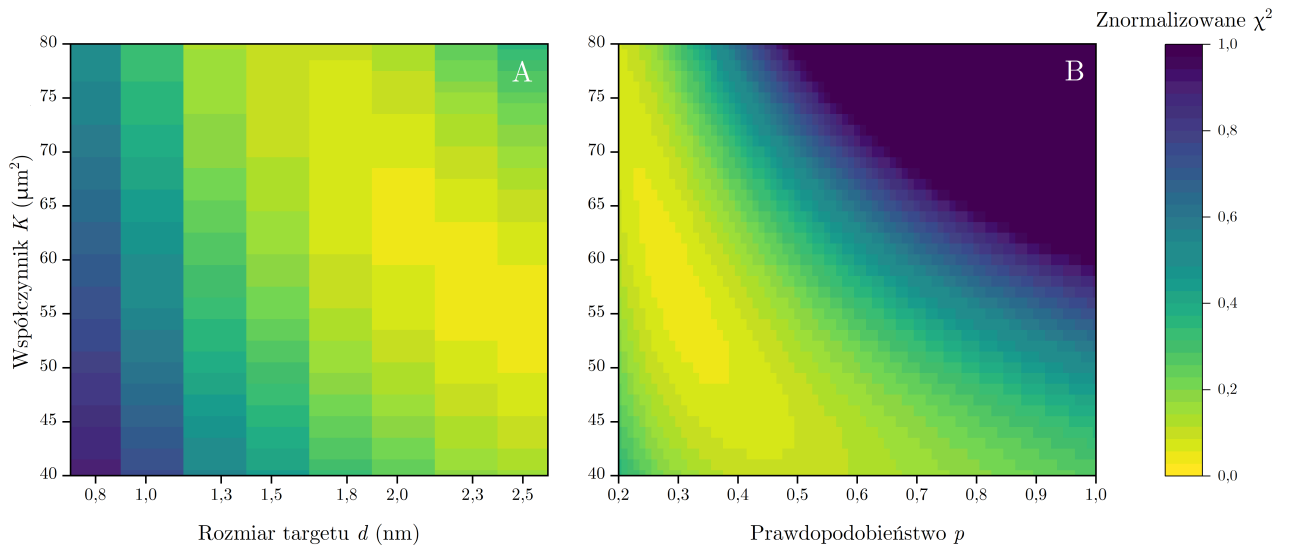


Rysunek 5.11. Mapa wpływu prawdopodobieństwa p i rozmiaru targetu d na jakość dopasowania między $\sigma_{5\%}$ i R_2 z K o wartości rzędu $59 \mu\text{m}^2$ dla targetów symetrycznych (panel A) i niesymetrycznych (panel B). Dla targetów symetrycznych uwzględniono uproszczony zapis rozmiaru targetu, a dla targetów niesymetrycznych wyłącznie wartość średnicy SV. χ^2 znormalizowane do najwyższej wartości zmodyfikowanego χ^2 uzyskanego w prezentowanym zakresie.

Wartość 0,8 odbiega od $p = 1$ dla parametru F_2 prezentowanej przez Conte et al. (2017), podobnie zresztą jak wartość K . Należy na tym etapie podkreślić, że porównanie z cytowanymi pracami Conte et al. (2017, 2018, 2023) nie może odbywać się bezpośrednio, ponieważ w ramach prezentowanych tu wyników wzięto pod uwagę znacznie szerszy przekrój eksperymentów radiobiologicznych.

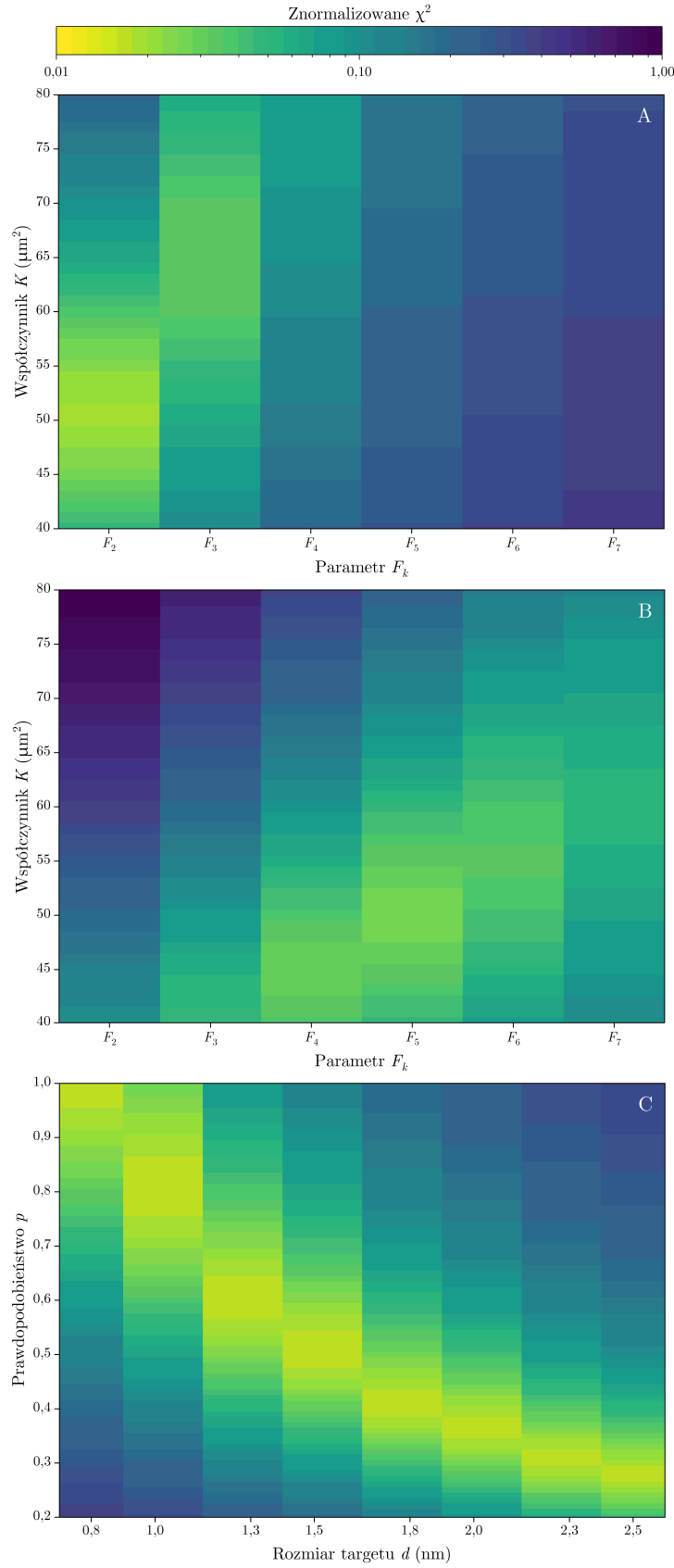
Uwzględniono liczne wyniki, dla których obserwowano odstępstwa od spodziewanego trendu, a w szczególności części punktów obserwowanych poniżej głównego ramienia krzywej $\sigma_{5\%}(M_1)$.

Rysunek 5.12A przedstawia mapę wartości $\chi^2(K, d)$ dla p wynoszącego 0,3, a rysunek 5.12B mapę wartości $\chi^2(K, p)$ dla wybranego targetu o średnicy i wysokości równej $2,3 \text{ nm}^2$. W obu przypadkach występujące wartości znormalizowano do maksymalnej wartości zmodyfikowanego χ^2 występującego na rysunku 5.12, co ma ułatwić porównania. Mapy wskazują występowanie minimum znormalizowanego χ^2 dla K o wartości rzędu $59 \mu\text{m}^2$, co miało miejsce także dla innych rozmiarów targetów i odpowiadającym im wartościom p .



Rysunek 5.12. Mapa wpływu współczynnika K i rozmiaru targetu d przy prawdopodobieństwie $p = 0,3$ (panel A) oraz współczynnika K i prawdopodobieństwa p przy rozmiarze targetu $2,3 \times 2,3 \text{ nm}^2$ na jakość dopasowania między $\sigma_{5\%}$ i R_2 . Uwzględniono uproszczony zapis rozmiaru targetu. χ^2 znormalizowane do najwyższej wartości zmodyfikowanego χ^2 uzyskanego na rysunku 5.12. Dla najwyższych wartości K i p wartości poza skalą.

Przygotowane tu mapy dla R_2 nie mogą jednak stanowić samodzielnie o zasadności użycia R_2 , konieczne jest zestawienie z F_k dla różnych wartości k . Wynika to z licznych prac, które proponują zastosowanie F_k w ocenie radiacyjnych uszkodzeń DNA i które postulują potrzebę zastosowania wyższej wartości k niż 2 (Ramos-Méndez et al., 2018; Rucinski et al., 2021; Faddegon et al., 2023). W tym celu przygotowano mapy na rysunku 5.13, które w podobny sposób co na rysunku 5.11 oceniają dopasowanie między $\sigma_{5\%}$, a F_k lub R_2 .



Rysunek 5.13. Mapy porównawcze wpływu parametrów na jakość dopasowania między $\sigma_{5\%}$ i F_k (panele A i B) i R_2 (panel C). Panele A i B odpowiednio dla targetów $1 \times 1 \text{ nm}^2$ i $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ w zależności od K i wybranego F_k . Panel C w zależności od p i d dla K o wartości rzędu $59 \mu\text{m}^2$. χ^2 znormalizowane do najwyższej wartości zmodyfikowanego χ^2 zaprezentowano w skali logarytmicznej.

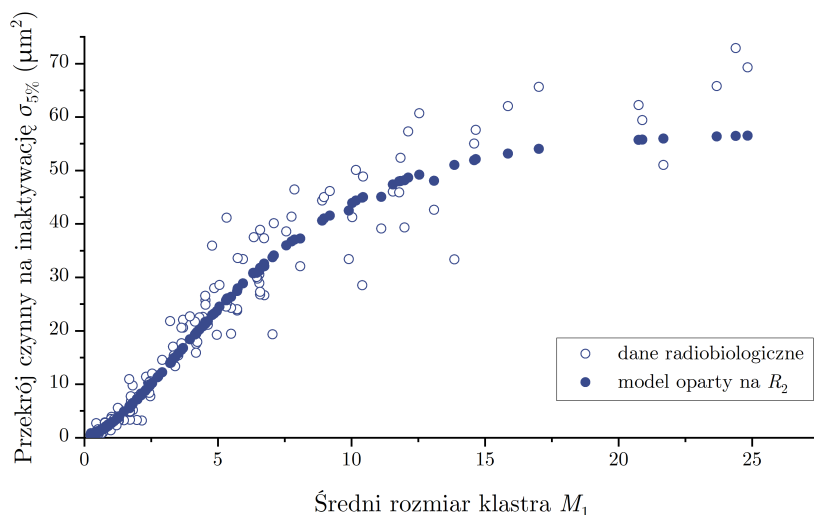
Zaprezentowano ocenę dopasowania dla różnych czynników K i indeksów k wielkości F_k odpowiednio dla targetu $1 \times 1 \text{ nm}^2$ (rysunek 5.13A) oraz $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ (rysunek 5.13B). Na rysunku 5.13C przedstawiono mapę znaną z rysunku 5.11A – różnicą jest normalizacja wartości zmodyfikowanego χ^2 do maksymalnej wartości otrzymanej na wszystkich trzech mapach w panelach A–C. Co istotne, na rysunku 5.13 przygotowano mapę kolorów w skali logarytmicznej, co pozwala na lepsze zobrazowanie różnic.

Najjaśniejszy widoczny na wykresach kolor odpowiada przedziałowi prawostronnie domkniętemu od 1,58% do 1,77% i występuje wyłącznie na rysunku 5.13C. W przypadku targetu $1 \times 1 \text{ nm}^2$ na rysunku 5.13A widać, że najlepsze dopasowanie występuje dla F_2 i K wynoszącego około $50 \mu\text{m}^2$. Rysunek 5.13B wskazuje, że dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ najlepsze dopasowanie obserwowane jest dla tego samego K oraz parametru F_5 , gdzie wartość k pokrywa się z tezami z literatury przedmiotu. Trzeba jednak zaznaczyć, że w obu tych przypadkach mówimy o dopasowaniu gorszej jakości, niż w całym żółtozielonym korytarzu wartości par (d, p) na rysunku 5.13C przy dopasowaniu wielkości R_2 .

Prezentowane na rysunkach 5.11 i 5.13 mapy wskazują, że dla wybranego zestawu danych biologicznych uzyskiwane jest lepsze dopasowanie dla parametru R_2 , niż dla parametru F_k . Otrzymane wyniki nie przesądzają jednak o parze wartości d i p , z których d byłoby najlepszą reprezentacją rozmiaru biologicznego targetu służącego ocenie skutków oddziaływania lekkich jonów z komórką, a p byłoby określeniem prawdopodobieństwa, że dana jonizacja będzie miała charakter potencjalnie letalny, co może być związane z procesami naprawczymi lub aranżacją materiału genetycznego w jądrze komórkowym danej linii. Na potrzeby dalszej analizy zdecydowano się oprzeć na wynikającym z budowy DNA i uznanym w nanodozymetrii rozmiarze targetu, czyli cylindrze o średnicy 2,3 nm i wysokości 3,4 nm. Odpowiada on fragmentowi łańcucha DNA o długości około 10 par zasad, w obrębie którego dwa występujące SSB uznawane są za DSB.

5.3.1 Porównanie modelu R_2 z danymi radiobiologicznymi

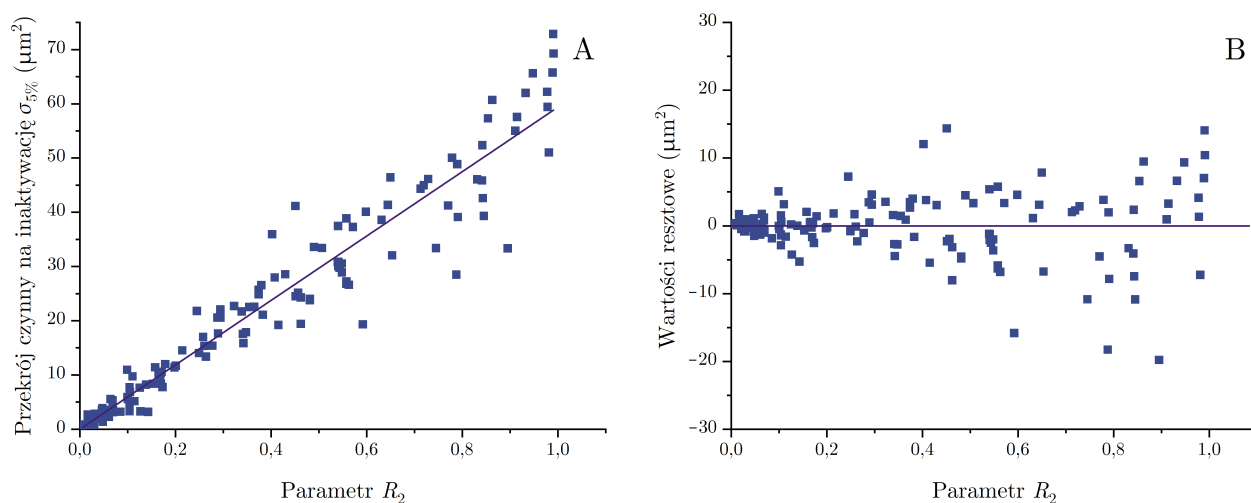
Prezentowaną tu analizę przeprowadzono dla targetu o rozmiarze $1 \times 1 \text{ nm}^2$, który stanowi odniesienie do literatury oraz targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ jako reprezentacji uznanego w nanodozymetrii modelu podstawowej jednostki DNA. Nie znajdując podstaw do odrzucenia hipotezy o tym, że standardowy target nanodozymetryczny $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ jest adekwatnym modelem fragmentu DNA z punktu oceny oddziaływania z lekkimi jonami, przygotowano rysunek 5.14. Przedstawia on przekrój czynny na inaktywację w funkcji średniego rozmiaru klastra, jako reprezentację danych radiobiologicznych. Uwzględniono także krzywą $K \cdot R_2$ zapewniającą najlepsze dopasowanie do danych radiobiologicznych dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ dla $K = (58,88 \pm 0,84) \mu\text{m}^2$, jako model oparty na R_2 . Niewątpliwą przewagą modelu



Rysunek 5.14. Zależność $\sigma_{5\%}$ oraz $K \cdot R_2$ dla $K = (58,88 \pm 0,84) \mu\text{m}^2$ i $p = 0,3$ w funkcji M_1 dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$.

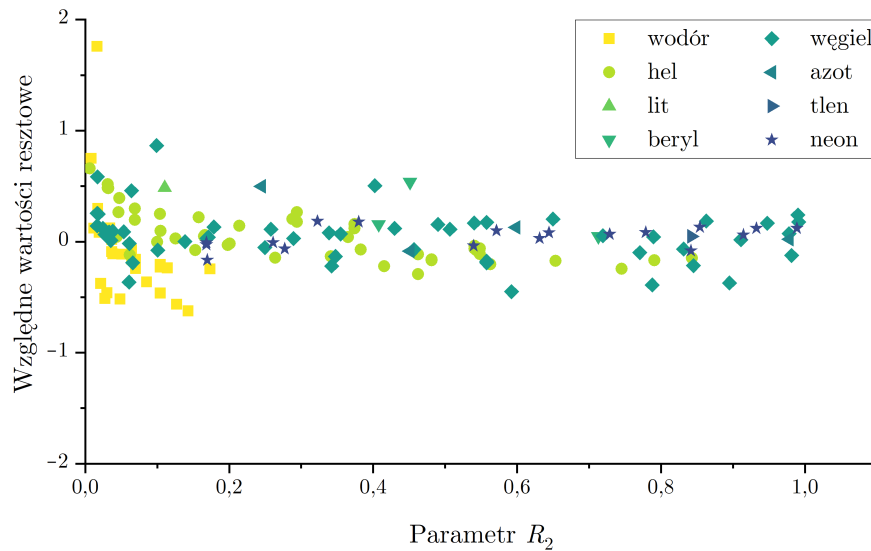
R_2 dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ względem targetu $1 \times 1 \text{ nm}^2$ są wartości prawdopodobieństwa. Wartość $p = 0,3$, dla której otrzymano najlepsze dopasowanie, wydaje się lepiej charakteryzować prawdopodobieństwo, że dana jonizacja ma charakter potencjalnie letalny niż wartość 0,8 otrzymana dla targetu $1 \times 1 \text{ nm}^2$. Co więcej, wartość 0,3 została już uprzednio wskazana jako parametr opisujący wydajność konwersji jonizacji na pęknięcia nici DNA (Garty et al., 2006).

Rysunek 5.15A przedstawia zależność między $\sigma_{5\%}$ i R_2 dla standardowego targetu, a rysunek 5.15B prezentuje różnice między $\sigma_{5\%}$, a wartościami $K \cdot R_2$ w funkcji R_2 , czyli wartości resztowe (z ang. *regular residuals*) dopasowania z rysunku 5.15A. Wartość współczynnika kierunkowego dopasowanej prostej postaci $\sigma_{5\%} = K \cdot R_2$,



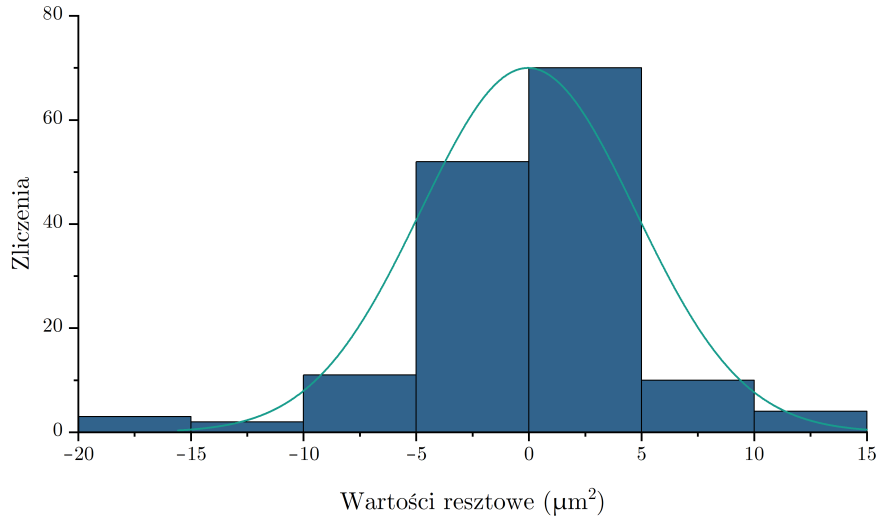
Rysunek 5.15. Zależność liniowa między $\sigma_{5\%}$ i R_2 dla standardowego targetu i $p = 0,3$ (panel A) oraz wartości resztowe w funkcji zmiennej R_2 (panel B).

widocznej na rysunku 5.15A, wyniosła $(58,88 \pm 0,84) \mu\text{m}^2$. Współczynnik korelacji r -Pearsona wyniósł 0,985, a wynikający z tego współczynnik determinacji r^2 to 0,970. Wartości resztowe wydają się być względnie równomiernie rozłożone powyżej i poniżej prostej $\sigma_{5\%} = 0$ na rysunku 5.15B. Dla niższych wartości R_2 różnice te są mniejsze niż dla wyższych R_2 , a zależność przypomina liniową, dlatego przygotowano także rysunek 5.16 dla zweryfikowania tej obserwacji. Prezentuje on względne wartości resztowe (z ang. *relative residuals*), a więc omówione wyżej różnice podzielone przez wartość $K \cdot R_2$ wynikającą z modelu dla danego R_2 . Uwzględniono podział na rodzaj lekkiego jonu wykorzystanego do napromienienia komórek w danym eksperymencie radiobiologicznym. W tym wypadku widać, że dla większych prawdopodobieństw R_2 , gdzie liczniej obserwowano silniej odstające od trendu punkty, największe wartości względne nie są obserwowane. Te występują szczególnie dla najniższych wartości R_2 i niemal wszystkie dotyczą danych z użyciem protonów i deuteronów. To może wynikać z różnic w kodach MC dla tych cząstek, a więc uwzględniania szerszej listy symulowanych procesów.



Rysunek 5.16. Względne wartości resztowe w funkcji zmiennej niezależnej R_2 z uwzględnieniem jonu wykorzystanego do napromieniania.

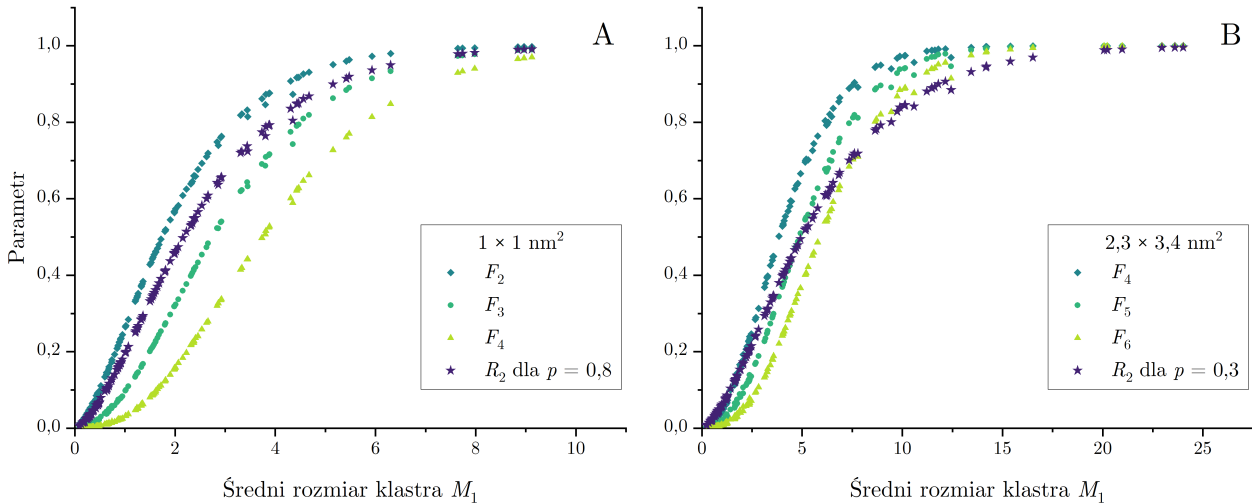
Rysunek 5.17 przedstawia histogram liczebności wartości resztowych dopasowania $\sigma_{5\%}(R_2)$ wraz z dopasowanym rozkładem normalnym. Dopasowaną krzywą Gaussa charakteryzuje wartość oczekiwana wynosząca $(-0,04 \pm 0,39) \mu\text{m}^2$ oraz dyspersja równa $4,78 \mu\text{m}^2$. Przeprowadzony test Kołmogorowa-Smirnowa dla oszacowanych parametrów rozkładu wskazuje, że na poziomie istotności wynoszącym 0,05 nie można odrzucić hipotezy o normalności rozkładu wartości resztowych.



Rysunek 5.17. Histogram liczebności wartości resztowych wraz z dopasowaną krzywą normalną o wartości oczekiwanej $(-0,04 \pm 0,39) \mu\text{m}^2$ i dyspersji $4,78 \mu\text{m}^2$.

5.3.2 Porównanie modelu R_2 z F_k

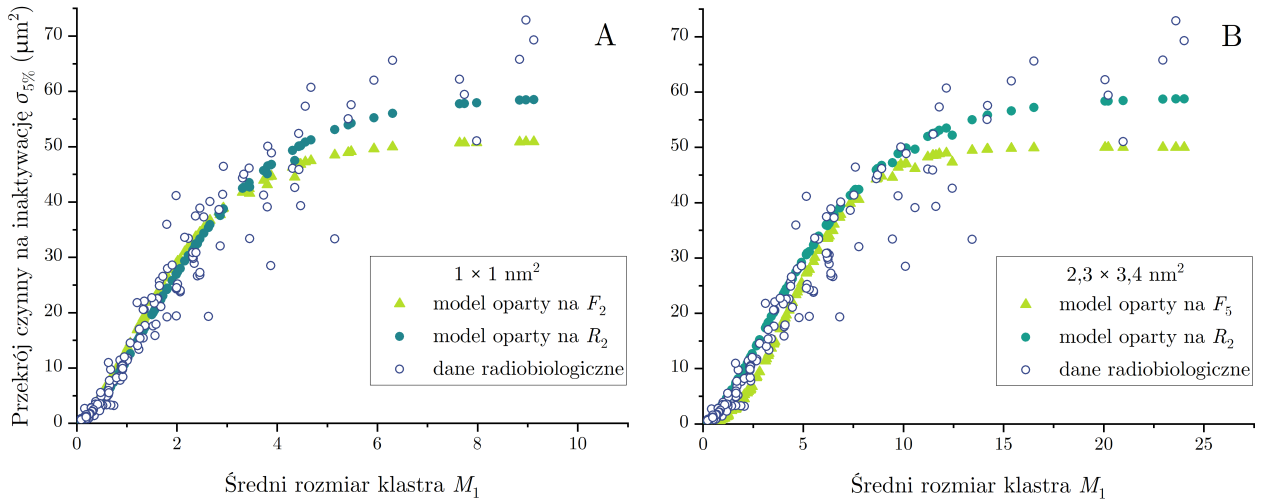
Rysunek 5.18A przedstawia przebieg parametru R_2 i trzech wybranych parametrów F_k w funkcji średniego rozmiaru klastra M_1 dla targetu $1 \times 1 \text{ nm}^2$, a rysunek 5.18B te same wielkości dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$. Na indeksy k parametrów F_k wybrano trzy kolejne wartości k , dla których otrzymano najlepsze dopasowanie do danych biologicznych na wykresie $\sigma_{5\%}(M_1)$. Z rysunku 5.13 wynika, że dla rozmiaru $1 \times 1 \text{ nm}^2$ są to F_2 , F_3 i F_4 , podczas gdy dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ to parametry F_4 , F_5 i F_6 . Z wykresu wynika, że parametry F_k zapewniają skokową zmianę



Rysunek 5.18. Przebieg parametrów F_2 , F_3 i F_4 dla targetu $1 \times 1 \text{ nm}^2$ (panel A) oraz F_4 , F_5 i F_6 dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ (panel B) wraz z parametrem R_2 zapewniającym najlepsze dopasowanie do $\sigma_{5\%}(M_1)$.

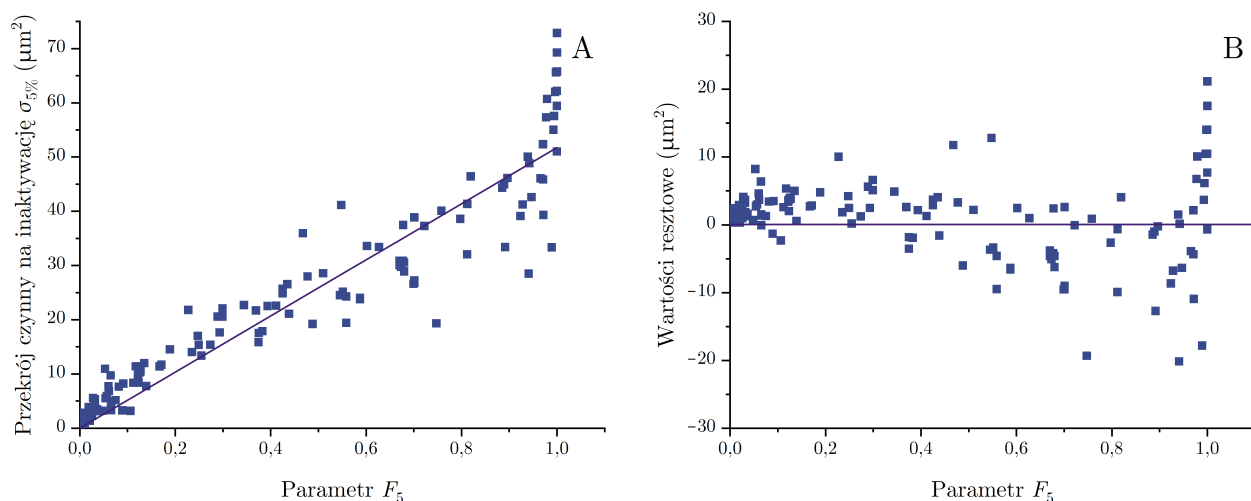
w funkcji M_1 niezależnie od targetu wraz ze zmianą indeksu k , który przyjmuje wyłącznie dyskretne wartości. Zmiana na parametr p , opisany rozkładem ciągłym, umożliwia uzyskanie przebiegu pomiędzy krzywymi F_k i F_{k+1} (rysunek 5.18A) lub przebiegu przecinającego krzywe (rysunek 5.18B), a więc o mocno różniącym się nachyleniu, co jest uzasadnieniem lepszego dopasowania do danych biologicznych.

Minimalizacja zmodyfikowanego χ^2 pozwoliła na określenie wartości K , czyli czynnika proporcjonalności między $\sigma_{5\%}$, a R_2 lub F_k . Na rysunkach 5.19A i 5.19B zaprezentowano zestawienie przekroju czynnego na inaktywację wraz z krzywymi postaci $K \cdot R_2$ i $K \cdot F_k$ dla K zapewniającego najlepsze dopasowanie odpowiednio dla targetów $1 \times 1 \text{ nm}^2$ oraz $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$. W obu przypadkach krzywe $K \cdot R_2$ i $K \cdot F_k$ wykreślono dla p i K zapewniających najlepsze dopasowanie. Dla wielkości R_2 współczynnik K wyniósł $(59,35 \pm 0,82) \mu\text{m}^2$ dla targetu $1 \times 1 \text{ nm}^2$, a dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ to $(58,88 \pm 0,84) \mu\text{m}^2$. Dla wielkości F_k współczynnik K wyniósł $(52,43 \pm 0,84) \mu\text{m}^2$ dla targetu $1 \times 1 \text{ nm}^2$ (parametr F_2), a dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ to $(51,72 \pm 0,91) \mu\text{m}^2$ (parametr F_5). Przebieg obu krzywych F_k może być zaskakujący, bowiem na pierwszy rzut oka wydaje się, że większa wartość czynnika K gwarantowałaby lepsze dopasowanie. Niewątpliwie taki efekt byłby możliwy do uzyskania dla dużych średnich klastrów, ale odbyłoby się kosztem rozbieżności pomiędzy $\sigma_{5\%}$ i F_k dla klastrów średnich, dla których zanotowano kilka punktów poniżej trendu. Na zadaną wartość K wpływ wywarły także punkty obserwowane dla małych średnich klastrów, których jest stosunkowo dużo.



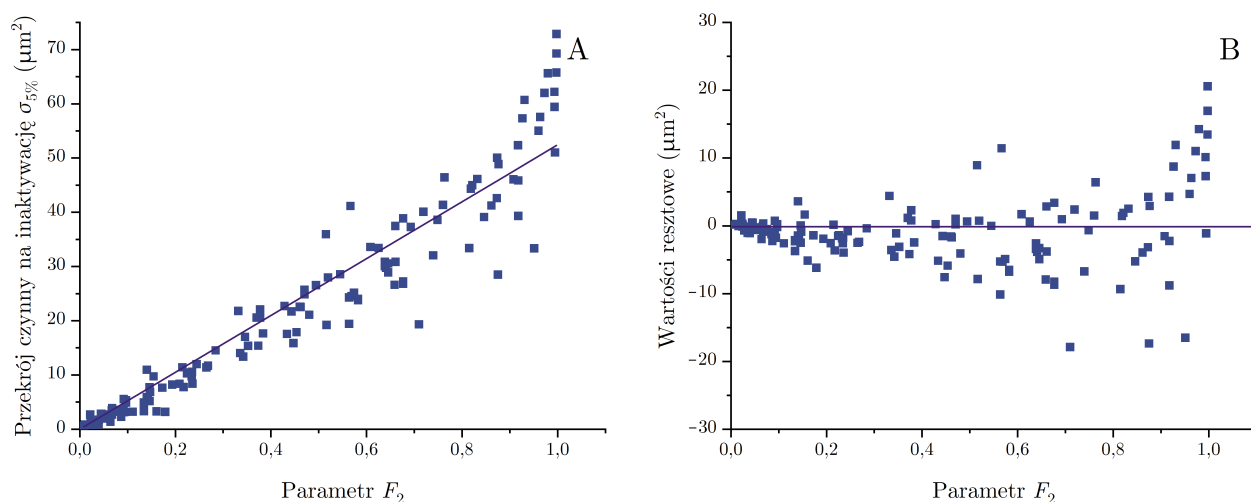
Rysunek 5.19. Porównanie krzywych R_2 i F_k zapewniających najlepsze dopasowanie do $\sigma_{5\%}$ dla targetów $1 \times 1 \text{ nm}^2$ (panel A) oraz $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ (panel B). Panel A prezentuje F_2 i R_2 dla $p = 0,8$, a panel B przedstawia F_5 i R_2 dla $p = 0,3$. W obu przypadkach R_2 zapewnia lepsze dopasowanie niż F_k .

Rysunek 5.20A zestawia zależność $\sigma_{5\%}$ i F_5 dla targetu standardowego z dopasowaniem liniowym, a rysunek 5.20B przedstawia wartości resztowe takiego dopasowania w funkcji F_5 . W tym przypadku obserwowany jest mniej równomierny rozrzut punktów wokół dopasowanej prostej. W zakresie niższych wartości F_5 większość punktów leży nad prostą, w przeciwieństwie do punktów dla średnich i wyższych wartości F_5 . Trend ponownie odwraca się dla $F_5 = 1$.



Rysunek 5.20. Zależność między $\sigma_{5\%}$ i F_5 dla standardowego targetu (panel A) z dopasowaną prostą o współczynniku kierunkowym $(51,72 \pm 0,91) \mu\text{m}^2$ oraz wartości resztowe tego dopasowania w funkcji F_5 (panel B).

Rysunek 5.21A uwzględnia zależność $\sigma_{5\%}$ i F_2 dla targetu $1 \times 1 \text{ nm}^2$ z dopasowaniem liniowym, a rysunek 5.21B wartości resztowe w funkcji F_2 . Rozrzut



Rysunek 5.21. Zależność między $\sigma_{5\%}$ i F_2 dla targetu $1 \times 1 \text{ nm}^2$ z dopasowaną prostą o współczynniku kierunkowym $(52,43 \pm 0,84) \mu\text{m}^2$ (panel A) oraz wartości resztowe tego dopasowania w funkcji F_2 (panel B).

punktów wokół dopasowanej prostej dla F_2 i targetu $1 \times 1 \text{ nm}^2$ na rysunku 5.21A nie jest równomierny. W zakresie niższych i średnich wartości F_2 większość punktów leży pod prostą, w przeciwieństwie do punktów dla najwyższych wartości F_2 , co uwzględnia także rysunek 5.21B.

W tabeli 5.1 zaprezentowano dopasowane parametry rozkładów normalnych wartości resztowych dopasowań liniowych dla targetów $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ i $1 \times 1 \text{ nm}^2$. Wartości przedstawione w tabeli potwierdzają, że R_2 zapewnia lepsze dopasowanie do $\sigma_{5\%}$ niż parametr F_k , co oddaje wartość współczynnika korelacji r -Pearsona i wynikający z niego współczynnik determinacji r^2 . Dodatkowo wartość oczekiwana μ rozkładu wartości resztowych przyjmuje wartość bliską 0, a dyspersja σ osiąga mniejsze wartości niż w przypadku F_k , co jest obserwowane niezależnie od wybranego rozmiaru targetu.

Tabela 5.1. Współczynnik korelacji r -Pearsona, współczynnik determinacji r^2 , wartość oczekiwana μ rozkładu wartości resztowych oraz dyspersja σ rozkładu reszt dla wybranych targetów i prawdopodobieństw w dopasowaniu liniowym między $\sigma_{5\%}$ i R_2 lub F_k .

$d \text{ (nm}^2\text{)}$	Model	r -Pearsona	r^2	$\mu \text{ (}\mu\text{m}^2\text{)}$	$\sigma \text{ (}\mu\text{m}^2\text{)}$	p -wartość
$2,3 \times 3,4$	R_2	0,985	0,971	$0,02 \pm 0,38$	4,74	0,14
$2,3 \times 3,4$	F_5	0,977	0,955	$1,02 \pm 0,47$	5,77	0,00026
1×1	R_2	0,986	0,972	$0,03 \pm 0,37$	4,61	0,0029
1×1	F_2	0,981	0,963	$-0,73 \pm 0,43$	5,26	0,00029

Pozostaje jeszcze kwestia zbliżonych rezultatów dopasowania modelu R_2 dla obu prezentowanych targetów. Rozkład reszt tylko dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ spełnił test normalności na poziomie istotności wynoszącym 0,05. Normalność rozkładu reszt oznacza, że są one rozłożone symetrycznie wokół zera, bez nadmiernej skośności i kurtozy wyrażanej przez współczynnik ekscesu (nadmierna kurtoza). Model oddaje główne wzorce i źródła zmienności w danych radiobiologicznych, a wartości odstające mają charakter losowy. W przypadku targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ otrzymano niższą wartość mediany, współczynnika ekscesu i współczynnika skośności, co mogło przesądzać o wyniku testu Kołmogorowa-Smirnowa. W oparciu o wartości zestawione w tabeli 5.2 można wnioskować, że dobór targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ jest właściwy, choć trzeba zaznaczyć, że p -wartość testu Kołmogorowa-Smirnowa nie jest wysoka, osiągając wartość 0,14. Z drugiej zaś strony przy uwzględnieniu tak licznych wartości skrajnych w zestawie danych biologicznych wynik testu normalności wartości resztowych daje podstawy do stwierdzenia, że model liniowy dobrze opisuje dane doświadczalne.

Tabela 5.2. Wartość mediany, współczynnika ekscesu i współczynnika skośności rozkładu wartości resztowych dla wybranych targetów w dopasowaniu liniowym postaci $\sigma_{5\%} = K \cdot R_2$.

d (nm ²)	Mediana (μm ²)	Współczynnik ekscesu	Współczynnik skośności
2,3×3,4	0,102	3,960	-0,612
1×1	0,197	5,038	-0,803

5.4 Przekroje biologiczne a rozmiar jądra komórkowego

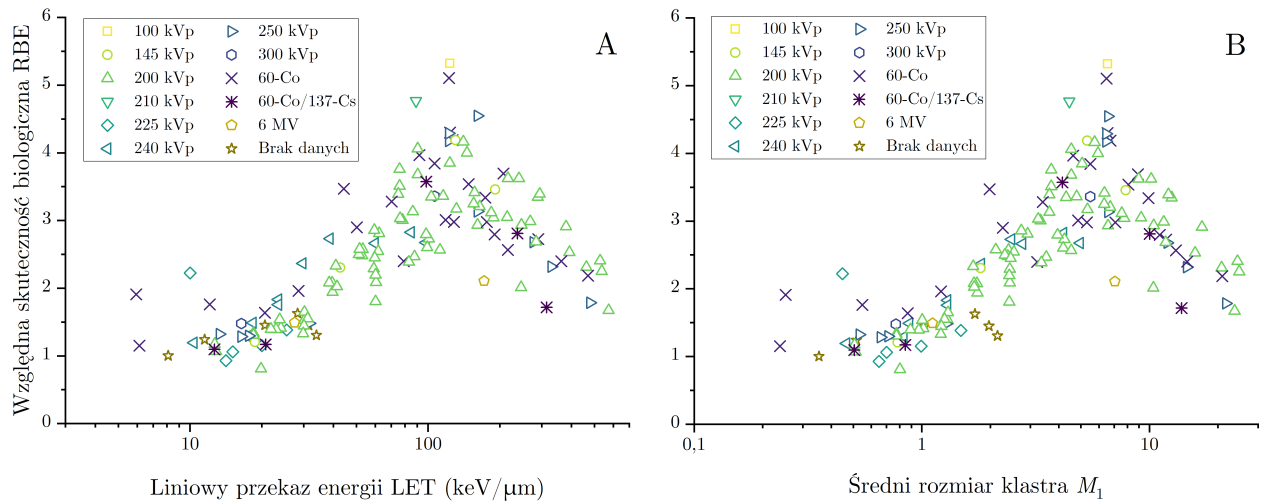
Otrzymana wartość parametru K wynosząca $(58,88 \pm 0,84) \mu\text{m}^2$ dla standardowego targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ i określająca maksymalny przekrój czynny na inaktywację dla lekkich jonów umożliwia porównanie jej z rozmiarem jądra komórkowego linii V79.

Powierzchnia jądra określona przez Raju et al. (1991) na drodze analizy zdjęć wykonanych za pomocą mikroskopu fluorescencyjnego to $(77 \pm 25) \mu\text{m}^2$. W ramach innych badań, przeprowadzonych z wykorzystaniem cytometrii z analizą obrazu wideo da Silva Melo et al. (2000) podają wartość $(84,9 \pm 17,9) \mu\text{m}^2$. Weyrather et al. (1999) powołują się na wartość $(87,8 \pm 11,1) \mu\text{m}^2$ z innej pracy (Scholz, 1992), nie wskazując na metodę, zaś do oryginalnej rozprawy doktorskiej nie udało się dotrzeć. Niech oceną rozmiaru jądra komórek V79 będzie ważona średnia arytmetyczna podanych wartości, która wynosi $(85,7 \pm 8,8) \mu\text{m}^2$ po uwzględnieniu niepewności wewnętrznej. W przypadku komórek ssaków przekroje czynne na inaktywację są zawsze mniejsze niż obszar jądra komórkowego, co wskazuje, że prawdopodobieństwo doprowadzenia do śmierci komórki przez przejście pojedynczej cząstki pierwotnej jest mniejsze od jedności (Rosendahl et al., 2005). Ten rezultat tu osiągnięto.

Być może między rozmiarem jądra komórkowego, a przekrojami czynnymi na inaktywację wyodrębnionymi z zestawienia z wielkościami nanodozymetrycznymi istnieje pewna relacja, ale jej wskazanie wymaga rozważnego wyboru komórek o możliwie podobnej charakterystyce. Niewykluczone, że w zależności od linii komórkowej zmienny jest także parametr p , który może być powiązany z procesami naprawy uszkodzeń DNA, ale i aspektami organizacji materiału genetycznego w jądrze komórkowym. Jednak ta hipoteza wymaga dalszych, szeroko zakrojonych badań.

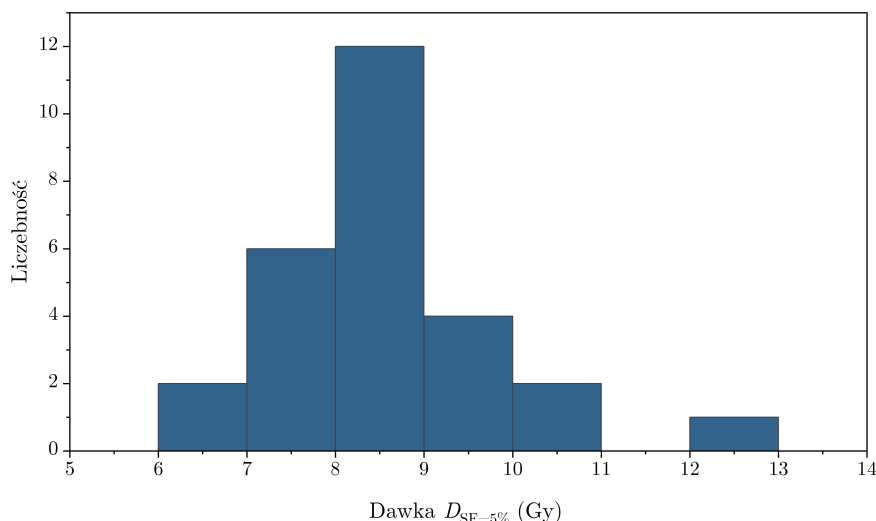
5.5 Reprezentacja RBE

Na podstawie wzorów 2.34 oraz 2.35 obliczono wartość RBE dla 5% poziomu przeżywalności i wielkość tę przedstawiono na rysunku 5.22A w funkcji LET, a na rysunku 5.22B w zależności od M_1 . Wartości M_1 dotyczą targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$. Punkty zróżnicowano za pomocą kolorów i kształtów dla wyróżnienia zastosowanego typu promieniowania referencyjnego. Widoczny na rysunku 5.22 rozrzut punktów może być spowodowany zastosowaniem różnych rodzajów promieniowania referencyjnego ze zróżnicowaną wartością dawki zapewniającą $SF = 5\%$.



Rysunek 5.22. RBE dla $SF = 5\%$ w funkcji LET (panel A) i M_1 (panel B). Kolory i kształty w zależności od rodzaju promieniowania referencyjnego. Nie uwzględniono wyników dla 8 eksperymentów ze względu na brak informacji o promieniowaniu referencyjnym.

Na rysunku 5.23 przedstawiono histogram liczebności dawek promieniowania referencyjnego dla poziomu przeżywalności $SF = 5\%$. Dla ujętych w analizie typów promieniowania referencyjnego różnice wartości $D_{SF=5\%}$ nie powinny być radykalne, ale dawki zapewniające $SF = 5\%$ mieszczą się w zakresie od 6 Gy do 13 Gy. Krzywe przeżywalności nawet dla konkretnego typu promieniowania fotonowego osiągały bardzo różne przebiegi. Przykładem są rezultaty dla tego samego referencyjnego źródła ^{60}Co i eksperymentów z LET jonu wynoszącym około $6 \text{ keV}/\mu\text{m}$ i nieco ponad $10 \text{ keV}/\mu\text{m}$, dla których RBE jest prawie dwukrotnie wyższe niż ogólny trend. W oryginalnym artykule autorzy wskazali, że stosunek α/β dla tych punktów był około pięć razy wyższy niż wartość notowana przez innych autorów dla komórek V79. Biorąc pod uwagę, że stosunek ten może być specyficzny dla konkretnej linii komórkowej i konkretnej jakości promieniowania, stanowi to podstawę do wykluczenia tych punktów. W analizie mowa bowiem o konkretnej linii komórkowej V79 i konkretnej jakości promieniowania referencyjnego. Za inne wyróżniające się

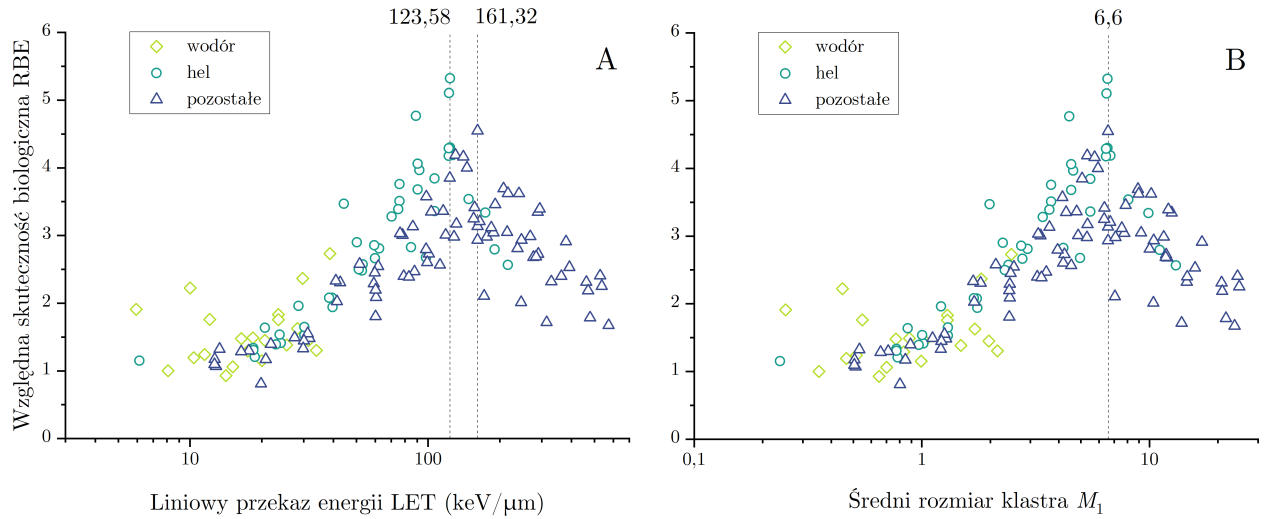


Rysunek 5.23. Histogram liczebności dawek dla promieniowania referencyjnego i wybranego $SF = 5\%$.

punkty na rysunku 5.22 względem widocznego trendu można uznać punkt o współrzędnych (123,58 keV/ μm ; 5,32) dla promieniowania rentgenowskiego o napięciu nominalnym 100 kVp czy punkt (171,81 keV/ μm ; 2,11) dla akceleratora liniowego o potencjale przyspieszającym 6 MV.

Z aspektów biologicznych należy mieć na uwadze, że możliwe są różnice w proporcjach komórek w poszczególnych fazach cyklu w eksperymentach radiobiologicznych, co może wpływać na przeżywalność w związku ze zróżnicowaną wrażliwością na promieniowanie jonizujące w różnych fazach cyklu komórkowego. Jak pokazuje ten przykład, analiza dyspersji wymagałaby analiz radykalnie wykraczających poza zasoby bazy PIDE. Nie mając wystarczających danych do wykluczenia wszystkich punktów, które mogłyby nie realizować kryterium jednolitej próby, rysunek 5.22 jest wizualizacją pewnego trendu na potrzeby dalszej analizy.

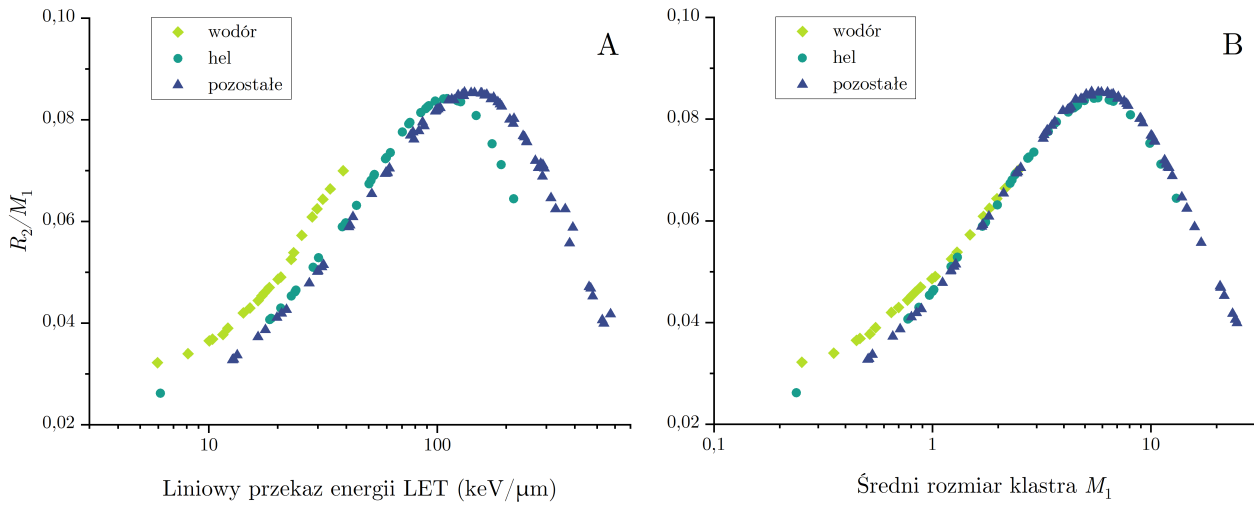
Rysunek 5.24 przedstawia te same dane, co rysunek 5.22, ale z podziałem na kategorie cząstek użytych do napromienienia komórek. Dokonany podział na trzy kategorie uwzględnia protony i deuterony (kategoria wodór), jony $^3\text{He}^{2+}$, $^4\text{He}^{2+}$ oraz cząstki alfa (hel), a także pozostałe jony (pozostałe) wykorzystane w eksperymentach radiobiologicznych. Wartość RBE obliczona na podstawie parametrów dopasowania krzywych przeżywalności zachowuje charakterystyczny przebieg w funkcji LET. Widoczny jest pik dla wartości około 100 keV/ μm , a następnie coraz mniejsze wartości RBE, co związane jest ze zjawiskiem *overkill*. Trend w funkcji M_1 jest bardzo podobny. Na rysunku 5.24B zauważalna jest jednak różnica w postaci przesunięcia lżejszych cząstek względem pozostałych w kierunku wyższych wartości średniego klastra. Na rysunku 5.24A najwyższe wartości RBE w kategorii „hel” i „pozostałe” uzyskano dla LET wynoszącego odpowiednio 123,58 i 161,32 keV/ μm , podczas gdy na rysunku 5.24B maksima te są widoczne dla niemal tej samej war-



Rysunek 5.24. RBE dla poziomu przeżywalności 5% w funkcji LET (panel A) i M_1 (panel B). Kolory i kształty w zależności od typu cząstki. Kategoria „wodór” uwzględnia protony i deuterony, a „hel” zawiera jony $^3\text{He}^{2+}$, $^4\text{He}^{2+}$ oraz cząstki alfa. Nie uwzględniono wyników dla 8 eksperymentów ze względu na brak informacji o promieniowaniu referencyjnym. Pionowe, przerywane proste zastosowano do oznaczenia wybranych wartości LET i M_1 , do których odniesiono się w tekście.

tości M_1 wynoszącej około 6,6. Względna skuteczność biologiczna zastosowanego promieniowania może być wyższa dla lżejszych jonów, nawet jeśli są one opisane tą samą wartością LET. Biorąc pod uwagę różne cząstki o tym samym RBE, można oczekiwać różnicy w wartości LET. Jednak te same dwie cząstki o tym samym RBE będą opisane tym samym M_1 . W tym kontekście M_1 jednoznacznie charakteryzuje jakość promieniowania jonizującego w przeciwieństwie do wielkości LET.

Wielkością nanodozymetryczną, która odtwarza charakterystyczny przebieg RBE jest stosunek parametru R_2 do średniego rozmiaru klastra M_1 zaprezentowany dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$ na rysunku 5.25A w funkcji LET, a na rysunku 5.25B w funkcji M_1 . Stosunek R_2/M_1 w funkcji LET wskazuje przesunięcie pików w kierunku niższych wartości LET wraz z malejącą masą cząstki pierwotnej. Efekt ten nie jest zauważalny w funkcji M_1 . Co więcej, maksymalna wartość R_2/M_1 występuje przy wartościach LET i M_1 , dla których obserwowano maksymalną skuteczność biologiczną, czyli LET około 100 keV/μm (rysunek 5.24A) i M_1 wynoszące około 6 (rysunek 5.24B) dla standardowego targetu nanodozymetrycznego. Wynik ten jest zgodny z raportowanym uprzednio dla krzywej $F_2/M_1(M_1)$ (EURADOS, 2016). Tym samym wielkości nanodozymetryczne mają potencjał w reprezentowaniu trendów RBE(LET), wykazując nawet dodatkowe, opisane powyżej korzyści.



Rysunek 5.25. Stosunek R_2 do M_1 w zależności od LET (panel A) i M_1 (panel B). Wartości M_1 dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$. Kolory i kształty w zależności od rodzaju cząstki. Kategoria „wodór” obejmuje protony i deuterony, „hel” uwzględnia jony $^3\text{He}^{2+}$, $^4\text{He}^{2+}$ i cząstki alfa, a „pozostałe” wszystkie inne wykorzystane jony.

5.6 Dyskusja

Możliwość zastosowania parametrów opisujących strukturę toru cząstki do opisu odpowiedzi komórkowej po napromienieniu lekkimi jonami jest poparta danymi eksperymentalnymi dotyczącymi przeżywalności komórek z bazy PIDE. Średni rozmiar klastra M_1 ma potencjał w zastąpieniu LET i może być wykorzystany do scharakteryzowania wpływu na efekt biologiczny niezależnie od typu jonu użytego do napromienienia, ale nie jako samodzielna wielkość. Przekroje czynne na inaktywację dobrze korelują z parametrem R_2 opartym na nanometrowej strukturze toru, a towarzysząca temu wartość parametru p wynosząca 0,3 jest bliższa rzeczywistości zjawisk jonizacji i ekscytacji na poziomie DNA względem $p = 1$ w podejściu opartym na F_k . Wartość ta była wskazywana jako parametr opisujący wydajność konwersji jonizacji na pęknięcia nici DNA (Garty et al., 2006). Otrzymany współczynnik proporcjonalności między przekrojem czynnym na inaktywację a R_2 dobrze oddaje spodziewaną maksymalną wartość przekrojów, o której mowa w sekcji 2.4.3. Wielkości nanodozymetryczne trafnie opisują procesy wpływające na znany przebieg krzywej RBE(LET), a dodatkowo opis ten nie zależy od zastosowanego lekkiego jonu. Przedstawione podejście do opisanie stochastycznej natury promieniowania i jego skutków na poziomie subkomórkowym, a tym samym zrozumienia odpowiedzi komórkowej na działanie promieniowania jonizującego w kontekście uszkodzeń DNA wskazuje potencjał do dalszego badania.

W poprzednich badaniach (Conte et al., 2017, 2018), w których analizowano korelację między wielkością F_k , a przekrojem czynnym na inaktywację najlepsze

dopasowanie uzyskano dla wielkości F_2 , cylindrycznego targetu $1 \times 1 \text{ nm}^2$ oraz współczynnika K równego $65 \text{ } \mu\text{m}^2$, co kontrastuje z wskazywaną tu wartością rzędu $59 \text{ } \mu\text{m}^2$, ale ma niewątpliwie podłoże w doborze danych radiobiologicznych, który u Conte et al. (2017) był ograniczony. W niniejszej rozprawie uwzględniono wszystkie wartości spełniające kryteria, także te odstające od trendu, które leżały poniżej krzywej $\sigma_{5\%}(\text{LET})$ i wpływały na obniżenie wartości K . Skupiono się też na szerszym spektrum lekkich jonów, jakości promieniowania i uwzględniono wszystkie warianty linii V79 zgromadzone w bazie PIDE. W ostatnich pracach Conte et al. (2023) zaproponowali liniową kombinację F_2 i F_3 dla kulistej objętości o średnicy 1 nm jako najlepszą reprezentację, a wartość K w tym przypadku wyniosła $50 \text{ } \mu\text{m}^2$. Tu Conte et al. (2023) ponownie wykorzystali wybrane dane radiobiologiczne, ale porównanie jest trudne ze względu na inną geometrię rozważanego targetu. Z tego powodu szerzej omawiane jest dopasowanie z F_2 dla cylindrycznej objętości czułej, gdzie F_2 jest reprezentacją R_2 z parametrem p równym 1. Postuluje się, że korelacja danych biologicznych z F_2 dla rozmiaru targetu $1 \times 1 \text{ nm}^2$ jest prostą konsekwencją procedury skalowania zaprezentowanej w pracy. Podobnie jak dobre dopasowanie dla różnych par p i d w prezentowanej tu korelacji danych biologicznych z R_2 . Dlatego znalezienie właściwej reprezentacji d i odpowiadającego temu prawdopodobieństwu p wymaga szerszego kontekstu na temat właściwego modelu podstawowej jednostki DNA czułej na oddziaływanie z promieniowaniem jonizującym i adekwatnej do efektu klastrowania na poziomie DNA. Stąd reprezentacja w postaci cylindrycznej objętości o wymiarach $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$. Podejście oparte na parametrze R_2 nie jest też sprzeczne z innymi prezentowanymi podejściami w pracy, w tym z metodą analizy szczegółów jonizacji (Ramos-Méndez et al., 2018; Faddegon et al., 2023). Daje możliwość udoskonalenia tego spojrzenia przy użyciu proponowanego R_2 jako uniwersalnego deskryptora.

Nie można w tym miejscu pominąć ograniczeń zestawu danych biologicznych pochodzących z PIDE. Dlatego też w ramach tej pracy dołożono starań, by zredukować ryzyko wyciągnięcia wniosków nie mających pokrycia w rzeczywistości. Kalholm et al. (2021) zwrócili uwagę, że wyniki eksperymentów *in vitro*, choć powszechnie używane do walidacji modeli RBE, wykazują niespójności w określaniu uśrednionego liniowego przekazu energii, który w ramach rozprawy był wykorzystany do określenia przekroju czynnego na inaktywację. Autorzy podkreślają potrzebę standaryzacji uśredniania LET w celu jednolitego raportowania. Wskazują też, że różnice w obliczeniach LET prowadzą do błędów także w artykułach przeglądowych, które rozprzestrzeniają się na fenomenologiczne modele RBE, także te stosowane klinicznie. Ten wpływ nie jest radykalny, chyba że uwzględnia się cięższe cząstki wtórne (fragmenty jąder). Dlatego w niniejszej pracy wykorzystano ujednolicony sposób określenia wartości LET. Uwzględnienie komórek rozsynchronizowanych w cyklu komórkowym bez sprecyzowanego poziomu natlenienia oraz

kilku podtypów mógł utrudniać analizę, ale był odpowiedzią na potrzebę odzwierciedlenia możliwie skomplikowanego systemu biologicznego podlegającego wariacji na licznych poziomach, jakim jest także guz nowotworowy. Skupienie się na przeżywalności komórek w obliczu wielu możliwości, jakie daje radiobiologia, było podyktowane chęcią analizy ograniczenia reprodukcji jako celu terapii. Nie każda korelacja wynika z przyczynowości, stąd potrzeba wskazania ograniczeń metod i modeli uwzględnionych w poprzednich rozdziałach nadających niezbędny kontekst, którego istotę podkreślał Box (1979) w publikacji znanej z cytatu „*All models are wrong, but some are useful*”. Z innej zaś strony potrzeba solidnych metod wydaje się być ściśle powiązana z potrzebą prostych modeli, stąd być może to świadomość ograniczeń powinna być kołem zamachowym rozwoju, w tym dalszej walidacji proponowanego podejścia wykorzystującego wielkość R_2 .

Rozdział 6

Podsumowanie i perspektywy

Nanodozymetryczna analiza struktury toru cząstki daje narzędzia do charakterystyki radiacyjnych uszkodzeń DNA. Kluczowym wyzwaniem pozostaje wypełnienie luki między obserwowaną odpowiedzią biologiczną a podstawowymi interakcjami fizycznymi w skali nanometrowej. Wyzwanie to od dawna motywuje do proponowania i weryfikowania nowych, wymiernych miar uwzględniających oba aspekty. Trzy dekady temu postulowano, że zwiększona skuteczność promieniowania gęsto jonizującego oparta jest na złożoności i klastrowaniu uszkodzeń na poziomie DNA, a dodatkowo zmniejszonej podatności na czynniki chemiczne, biochemiczne czy komórkowe w takich warunkach (Goodhead, 1994). Zarówno Brenner i Ward (1992), jak i Michalik (1993) wykazali, że występowanie klastrow jonizacyjnych o rozmiarach 2–5 w obrębie targetów o średnicach od 1 do 4 nm koreluje z tworzeniem zwielokrotnionych uszkodzeń, w tym z powstawaniem uszkodzeń podwójnoniciowych w obrębie DNA. Nikjoo et al. (2001) zwrócili też uwagę, że skupiska uszkodzeń ograniczone są do odległości poniżej 10 par zasad łańcucha DNA (3,4 nm) i powstają prawie wyłącznie na skutek przejścia pojedynczych cząstek, tj. prawdopodobieństwo nakładania się oddzielnych torów na tych małych wymiarach jest znikome nawet przy bardzo wysokich dawkach terapeutycznych (Goodhead, 2006). Rabus i Nettelbeck (2011) podkreślali, że obserwowana maksymalna względna skuteczność biologiczna występuje dla LET o wartości około 100 keV/μm pokrywa się z ~2 nm średniej długości drogi swobodnej na jonizację. Przytoczona argumentacja przemawia za modelem podstawowej jednostki DNA wrażliwej na oddziaływanie promieniowania w postaci cylindrycznej objętości o średnicy 2,3 nm i wysokości 3,4 nm. Stanowi to zachętę do zgłębiania analizy rozkładów rozmiaru klastrow jonizacyjnych w omawianych objętościach nanometrowych i badania użyteczności wielkości pochodnych jako potencjalnych parametrów charakteryzujących jakość promieniowania na poziomie DNA.

W ramach tej pracy podjęto się zbadania zagadnienia stosowalności parametru R_2 w opisie biologicznych konsekwencji oddziaływania lekkich jonów z komórkami V79. Wybór linii komórkowej podyktowany był szeroką stosowalnością i gruntow-

nym poznaniem, szczególnie w kontekście wrażliwości na zmianę jakości promieniowania, badania uszkodzeń DNA i w konsekwencji procesów naprawczych. Na przestrzeni lat przeprowadzono liczne badania przeżywalności z wykorzystaniem komórek V79, w dużej mierze zgromadzone w bazie danych radiobiologicznych PIDE, a w ramach tej pracy wykorzystano je jako reprezentację charakterystyki odpowiedzi systemu biologicznego na działanie wiązek lekkich jonów o zróżnicowanej jakości promieniowania.

Zastosowanie wielkości R_2 w zestawieniu z przekrojem czynnym na inaktywację wyrażającym prawdopodobieństwo uśmiercenia komórek wykazuje wymierne korzyści względem proponowanego uprzednio skumulowanego prawdopodobieństwa F_k otrzymania k jonizacji w objętości czułej, niezależnie od obranej wartości parametru k . Tym samym niniejsza praca, opierając się na wielkościach pochodnych ICSD, proponuje R_2 jako nową metrykę charakteryzującą prawdopodobieństwo związane z uszkodzeniem DNA, korzystając z wag wynikających z rozkładu dwumianowego. Indeks tej wielkości wskazujący na co najmniej dwie jonizacje w targecie został wybrany jako warunek konieczny, acz niewystarczający, co wyraża prawdopodobieństwo p otrzymania uszkodzenia letalnego. W przeciwieństwie do dyskretnego parametru k w postulowanej uprzednio wielkości F_k , R_2 wykorzystuje ciągły parametr p , który może mieć potencjalny związek z procesami naprawczymi oraz geometrycznym rozmieszczeniem materiału genetycznego w jądrze i być cechą charakterystyczną danej linii komórkowej. Proponowane podejście ma na celu zakończyć dyskusję o właściwym wyborze indeksu k w F_k , który w każdym wypadku był obciążony ryzykiem niedoszacowania efektów w analizie skutków zastosowania promieniowania o niższej wartości LET oraz przeszacowania efektywności dla wyższego LET ze względu na traktowanie małych i dużych klastrów jako równie skutecznych w prowadzeniu do letalnych uszkodzeń.

Dla wielkości R_2 , jako zależnej od wybranego p i rozmiaru targetu, poszukiwano takich wartości zmiennych, które pozwolą na osiągnięcie najlepszego dopasowania w formie prostej proporcjonalności $K \cdot R_2$ do przekrojów czynnych na inaktywację. Ze względu na znaczącą wariancję w analizowanych testach przeżywalności nie możliwe było jednoznaczne określenie takiego zestawu wielkości p , d i K , dlatego skupiono się na reprezentatywnej jednostce DNA, postulowanej w ramach licznych badań, w formie cylindra o średnicy 2,3 nm i wysokości równej 3,4 nm, odpowiadającemu jednostce DNA o długości 10 par zasad uwzględniającej jeden pełny skręt helisy, co jest zgodne z modelem DNA, który proponowali Watson i Crick (1953). Należy nadmienić, że rozmiar ten jest postulowany jako maksymalna odległość, dla której dwa SSB tworzą DSB. Obszar najlepszego dopasowania uwzględniał wszystkie targety przy zróżnicowanej wartości p i ustaloną wartością K . Przebiegał od większych objętości czułych przy niższym p do coraz mniejszych targetów i wyższych wartości prawdopodobieństwa. Zmiana nie miała charakteru liniowego.

Dla wybranej reprezentacji geometrycznej prawdopodobieństwo p wyniosło 0,3, co dokładnie odpowiada wartości określonej w innych badaniach jako czynnik wyrażający nieefektywność jonizacji w powodowaniu przerwania nici (Garty et al., 2006).

Z punktu widzenia potencjalnego wykorzystania klinicznego zaletą R_2 jest możliwość bezpośredniego mierzenia za pomocą nanodozymetru. Wymagałoby to dostrajania wydajności η systemu pomiarowego do właściwego prawdopodobieństwa p . Wynika to z równoważności pomiędzy obliczeniem F_2 na podstawie ICSD za pomocą urządzenia charakteryzującego się wydajnością $\eta = p$, a obliczeniem $R_2(p)$ rzeczywistego widma. Zbieżność tę można dostrzec także w przypadku traktowania segmentu DNA o wymiarach właściwego targetu jako nanodozymetru w wydajnością wykrywania jonów równą p . W obu systemach, tj. w rzeczywistym segmencie DNA oraz w nanodozymetrycznym systemie pomiarowym, przy przejściu lekkiego jonu występuje pewna liczba jonizacji i obecny jest system detekcyjny, który rejestruje zdarzenie. W przypadku systemu biologicznego mowa o rejestracji uszkodzenia, a dla systemu pomiarowego mowa o rejestracji sygnałów elektrycznych. Jeśli ich wydajność wykrywania jest taka sama, to rozkład prawdopodobieństwa liczby uszkodzeń DNA w objętości czułej jest taki sam jak zmierzony ICSD. Ta możliwość bezpośredniego pomiaru właściwych biologicznie parametrów nanodozymetrycznych napędza prace rozwojowe nad budową małego urządzenia, które mogłoby być łatwo i rutynowo stosowane w środowisku klinicznym. Ostatnie postępy w technologii sugerują, że takie urządzenie może zostać zaproponowane w ciągu kilku lat (Vasi et al., 2021; Vasi i Schneider, 2021). Aspektem, którego R_2 nie uwzględnia jest zapewnienie co najmniej jednego uszkodzenia każdej z nici, a nie w ogólności co najmniej dwóch uszkodzeń. Odpowiedni pomiar nanodozymetryczny wymagałby zastosowaniu dwóch sąsiadujących targetów i choć taka konfiguracja eksperymentalna została niedawno zaproponowana (Pietrzak et al., 2018; Hilgers i Rabus, 2020; Hilgers et al., 2022; Pietrzak, 2023), to jej poziom komplikacji na razie uniemożliwia zastosowanie w środowisku klinicznym. Tym samym R_2 jest koncepcją, która ma szansę zaistnienia w takich warunkach, a oparcie na prawdopodobieństwie p wynikającego z właściwości systemu biologicznego i dobre skorelowanie z przekrojem czynnym na inaktywację jako biologiczną oceną prawdopodobieństwa uśmiercenia komórki uzasadnia adekwatność koncepcji.

Potencjał wielkości nanodozymetrycznych w charakteryzowaniu jakości promieniowania nie ogranicza się dyskutowanej proporcjonalności między R_2 i $\sigma_{5\%}$. W oparciu o wyniki symulacji Monte Carlo i rezultaty eksperymentów przeżywalności komórek wskazano, że średni rozmiar klastra może być wykorzystany do charakteryzowania jakości promieniowania i wpływu na efekt biologiczny jako alternatywa LET niezależnie od wybranego jonu do napromienienia, choć nie jako samodzielna wielkość fizyczna. M_1 może trafniej wyrazić stochastyczną naturę skutków

oddziaływania jonów z materią, zwłaszcza na poziomie subkomórkowym, a tym samym umożliwia zrozumienie odpowiedzi komórkowej na promieniowanie jonizujące w kontekście uszkodzeń DNA. Liczba aktów jonizacji w objętości poszczególnych nukleotydów DNA jest głównym czynnikiem determinującym RBE promieniowania jonizującego. Obliczenia oparte na przestrzennym rozkładzie aktów jonizacji mogą odtworzyć zależność między względną skutecznością biologiczną, a liniowym przekazem energii lub odpowiednio średnim rozmiarem klastra. Wyraża to charakter krzywej R_2/M_1 w funkcji M_1 , która przyjmuje przebieg charakterystyczny dla krzywej RBE(LET) z maksymalną wartością dla średniego rozmiaru klastra wynoszącą około 6 dla targetu $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$, co odpowiada LET o wartości rzędu $100 \text{ keV}/\mu\text{m}$. Najistotniejsza różnica polega na maksimum osiąganym dla różnych wartości LET dla poszczególnych jonów, podczas gdy wykreślenie stosunku R_2/M_1 w zależności od M_1 prowadzi do obserwowania maksimum dla tego samego średniego rozmiaru klastra niezależnie od jonu wykorzystanego do napromieniania. Tym samym wielkości charakteryzujące strukturę toru cząstki dają szansę na zastosowanie dla różnych jonów o różnych jakościach promieniowania, co umożliwia także proste porównania i zapewnia uniwersalność, której obecnie stosowanym metodom klinicznym brakuje.

Niedawno zaproponowany został ogólny formalizm wypełniający lukę między parametrami w nanoskali a wielkościami skojarzonymi z wokselami planu terapeutycznego, który wydawał się nadzieją dla praktyki klinicznej (Faddegon et al., 2023), ale także był obarczony kwestią uproszczonego systemu równych wag dla uwzględnianych rozmiarów klastrów. Proponowane podejście jest udoskonaleniem popartym przez dane radiobiologiczne i stanowi ważny krok w kierunku akceptowalnego konsensusu przez wszystkie zainteresowane środowiska, co być może samo w sobie być największym wyzwaniem. Ze względu na ograniczoną możliwość spójnej, statystycznej oceny wyników eksperymentów biologicznych konieczne są jednak dalsze badania walidacyjne, w tym eksperymenty *in vitro* i *in vivo* uwzględniające także inne systemy biologiczne.

Ta niezbędna, choć kręta droga do ostatecznego określenia możliwości zastosowania podejścia nanoskalowego do planowania leczenia radioterapeutycznego i ochrony radiologicznej jest warta wysiłków ze względu na jedną wyjątkową cechę. Piękno podejścia nanodozymetrycznego, wykorzystującego wielkości oparte na opisie stochastycznej struktury toru cząstki polega na tym, że omawiana tu charakterystyka pola promieniowania jest niezależna od rodzaju zastosowanego jonu. Innymi słowy, skład cząstek pierwotnych w polu promieniowania nie ma istotnego wpływu na przewidywania modelu opartego o ICSD czy R_2 . To w zasadzie otwiera drogę do znacznie łatwiejszego, bardziej precyzyjnego, ale przede wszystkim uniwersalnego planowania leczenia radioterapeutycznego także w potencjalnej terapii wielojonowej, która może być odpowiedzią na korzyści i kompromisy wy-

nikające z zastosowania konkretnego jonu (Kopp et al., 2020). I nie jest tu mowa wyłącznie o protonach czy jonach węgla, których wykorzystanie już teraz wiąże się z licznymi wyzwaniem metrologicznymi. Nie sposób nie wspomnieć tu o terapii borowo-neutronowej (Hopewell et al., 2012), litowo-neutronowej (Morris et al., 2024), protonowo-borowej (Cirrone et al., 2018) czy w ogólności terapii wielojonowych (Kopp et al., 2020; Ebner et al., 2021). Co więcej, po dziesiątkach lat wraca zainteresowanie terapeutycznym potencjałem jonów helu (Krämer et al., 2016; Knäusl et al., 2016). Może to jeszcze bardziej skomplikować metodologię charakteryzowania planu terapeutycznego, która, jak dla jonów węgla, jest mocno zróżnicowana między klinikami europejskimi i japońskimi, utrudniając systemowe porównania. Tym samym potencjał wielkości nanodozymetrycznych tkwi także w szansie na ujednolicenie systemu wielkości fizycznych w opisie oddziaływania lekkich jonów na poziomie biologicznym.

Naturalny kierunek rozszerzenia prezentowanych wyników uwzględnia ponownie dwa aspekty: nanodozymetryczny i biologiczny. Wydaje się, że w pierwszym ciekawe byłoby rozważenie wpływu losowego ułożenia targetów względem wiązki jonów, choć wiąże się to z trudnością określenia wkładu klastrow o zerowym rozmiarze. Badania mają szansę zyskać wraz z kolejnymi udoskonaleniami przekrojów czynnych zaimplementowanych w modelach Geant4-DNA. W biologicznym kontekście rozszerzenia badań najbardziej podstawowe wydaje się uwzględnienie analogicznej analizy dla kilku różnych, dobrze poznanych linii komórkowych. Zawięzenie analizy do wyników, w których autorzy przeprowadzili pełny rachunek błędów niesie ryzyko znaczącego ograniczenia danych, ujęcia wyników o niespójnej metodologii i dużych niepewnościach względnych, także przeszacowanych, ale daje szansę na pełną analizę statystyczną. Ciekawym wydaje się powiązanie z parametrami nanodozymetrycznymi dla prób uwzględniających zsynchronizowanie w danej fazie cyklu komórkowego czy określone warunki natlenienia, choć te elementy nie mają tak istotnego znaczenia dla rozszerzenia analizy, jak wzięcie pod uwagę rezultatów innych testów radiobiologicznych. W szerszym kontekście wartościowym byłoby uwzględnienie wielkości R_2 w formalizmie łączącym parametry w nanoskali z wielkościami skojarzonymi z wokselami planu terapeutycznego. Niezbędne są także prace rozwojowe w zakresie budowy małego, przenośnego nanodozymetru, które budzą nadzieje w kontekście możliwości zastosowania nanodozymetrii w praktyce klinicznej. Wszystko to, niezależnie od kolejnych doniesień naukowych, wymaga dodatkowo szerokiej konsolidacji w środowisku naukowców i klinicystów związanych z metrologią i wykorzystaniem promieniowania jonizującego w terapii.

Bibliografia

- [Agostinelli et al. 2003] AGOSTINELLI, S.; ALLISON, J.; AMAKO, K.; APOSTOLAKIS, J.; ARAUJO, H. et al.: Geant4 - a Simulation Toolkit. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* 506(3), 2003, str. 250–303. [https://doi.org/10.1016/S0168-9002\(03\)01368-8](https://doi.org/10.1016/S0168-9002(03)01368-8)
- [Aoki et al. 2000] AOKI, M.; FURUSAWA, Y.; YAMADA, T.: LET Dependency of Heavy-Ion Induced Apoptosis in V79 Cells. *Journal of Radiation Research* 41(2), 2000, str. 163–175. <https://doi.org/10.1269/jrr.41.163>
- [Arce et al. 2021] ARCE, P.; BOLST, D.; BORDAGE, M.-C.; BROWN, J. M. C.; CIRRONE, P. et al.: Report on G4-Med, a Geant4 Benchmarking System for Medical Physics Applications Developed by the Geant4 Medical Simulation Benchmarking Group. *Medical Physics* 48(1), 2021, str. 19–56. <https://doi.org/10.1002/mp.14226>
- [Baba et al. 2021] BABA, K.; KUSUMOTO, T.; OKADA, S.; OGAWARA, R.; KODAIRA, S. et al.: Quantitative Estimation of Track Segment Yields of Water Radiolysis Species under Heavy Ions around Bragg Peak Energies Using Geant4-DNA. *Scientific Reports* 11(1), 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81215-6>
- [Bancer et al. 2020] BANCER, A.; PIETRZAK, M.; MIETELSKA, M.: Particle Track Structure Measurements from 0.5 to 18 nm in Nitrogen Using the Jet Counter Nanodosimeter. *Radiation Physics and Chemistry* 172, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2020.108805>
- [Bank komórek Cytion 2024] BANK KOMÓREK CYTION: *Strona internetowa banku komórek Cytion*. <https://www.cytion.com/pl/>. [Dostęp: 5.07.2024]
- [Bantsar 2010] BANTSAR, A.: *Ionization Cluster Size Distributions Created by Low Energy Electrons and Alpha Particles in Nanometric Track Segment in Gases*, Instytut Problemów Jądrowych im. Andrzeja Sołtana, Rozprawa doktorska, 2010. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1207.6893>
- [Bantsar et al. 2018] BANTSAR, A.; COLAUTTI, P.; CONTE, V.; HILGERS, G.; PIETRZAK, M. et al.: State of the Art of Instrumentation in Experimental Nanodosimetry. *Radiation Protection Dosimetry* 180(1-4), 2018, str. 177–181. <https://doi.org/10.1093/RPD/NCX263>

- [Bantsar et al. 2009] BANTSAR, A.; GROSSWENDT, B.; PSZONA, S.; KULA, J.: Single Track Nanodosimetry of Low Energy Electrons. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* 599(2-3), 2009, str. 270–274. <https://doi.org/10.1016/j.nima.2008.11.021>
- [Bantsar et al. 2015] BANTSAR, A.; HILGERS, G.; PSZONA, S.; RABUS, H.; SZEFLINSKI, Z.: Experimental Investigation of Ionisation Track Structure of Carbon Ions at HIL Warsaw. *Radiation Protection Dosimetry* 166(1-4), 2015, str. 253–256. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncv191>
- [Bantsar et al. 2014] BANTSAR, A.; PIETRZAK, M.; JASKÓŁA, M.; KORMAN, A.; PSZONA, S.; SZEFLIŃSKI, Z.: Status Report: Nanodosimetry of Carbon Ion Beam at HIL. *Reports of Practical Oncology and Radiotherapy* 19(S), 2014, str. S42–S46. <https://doi.org/10.1016/j.rpor.2014.04.017>
- [Barendsen et al. 1963] BARENDSEN, G. W.; WALTER, H. M. D.; FOWLER, J. F.; BEWLEY, D. K.: Effects of Different Ionizing Radiations on Human Cells in Tissue Culture: III. Experiments with Cyclotron-Accelerated Alpha-Particles and Deuterons. *Radiation Research* 18(1), 1963, str. 106–119. <https://doi.org/10.2307/3571430>
- [Battistoni et al. 2016] BATTISTONI, G.; BAUER, J.; BOEHLEN, T. T.; CERUTTI, F.; CHIN, M. P. W. et al.: The FLUKA Code: An Accurate Simulation Tool for Particle Therapy. *Frontiers in Oncology* 6, 2016. <https://doi.org/10.3389/fonc.2016.00116>
- [Belli et al. 2008] BELLI, M.; BETTEGA, D.; CALZOLARI, P.; CHERUBINI, R.; CUTTONE, G. et al.: Effectiveness of Monoenergetic and Spread-out Bragg Peak Carbon-Ions for Inactivation of Various Normal and Tumour Human Cell Lines. *Journal of Radiation Research* 49(6), 2008, str. 597–607. <https://doi.org/10.1269/jrr.08052>
- [Belli et al. 1998] BELLI, M.; CERA, F.; CHERUBINI, R.; DALLA VECCHIA, M.; HAQJUE, A. M. I. et al.: RBE-LET Relationships for Cell Inactivation and Mutation Induced by Low Energy Protons in V79 Cells: Further Results at the LNL Facility. *International Journal of Radiation Biology* 74(4), 1998, str. 501–509. <https://doi.org/10.1080/095530098141375>
- [Belloni et al. 2002] BELLONI, F.; BETTEGA, D.; CALZOLARI, P.; CHERUBINI, R.; MASSARIELLO, P.; TALLONE, L.: Inactivation Cross Sections for Mammalian Cells Exposed to Charged Particles: A Phenomenological Approach. *Radiation Protection Dosimetry* 99(1-4), 2002, str. 199–202. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a006761>
- [Bernal et al. 2015] BERNAL, M. A.; BORDAGE, M. C.; BROWN, J. M. C.; DAVÍDKOVÁ, M.; DELAGE, E. et al.: Track Structure Modeling in Liquid Water: A Review of the Geant4-DNA Very Low Energy Extension of the Geant4 Monte Carlo Simulation Toolkit. *Physica Medica: European Journal of Medical Physics* 31(8), 2015, str. 861–874. <https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2015.10.087>

- [Bethe 1930] BETHE, H.: Zur Theorie Des Durchgangs Schneller Korpuskularstrahlen Durch Materie. *Annalen der Physik* 397, 1930, str. 325–400. <https://doi.org/10.1002/andp.19303970303>
- [BioRender 2024] BIORENDER: *Strona internetowa narzędzia BioRender*. <https://www.biorender.com>. [Dostęp: 12.06.2024]
- [Bird i Burki 1975] BIRD, R. P.; BURKI, H. J.: Survival of Synchronized Chinese Hamster Cells Exposed to Radiation of Different Linear-Energy Transfer. *International Journal of Radiation Biology* 27(2), 1975, str. 105–120. <https://doi.org/10.1080/09553007514550121>
- [Bloch 1933] BLOCH, F.: Zur Bremsung Rasch Bewegter Teilchen Beim Durchgang Durch Materie. *Annalen der Physik* 408(3), 1933, str. 285–320. <https://doi.org/10.1002/andp.19334080303>
- [Böhrnsen et al. 2002] BÖHRNSEN, G.; WEBER, K. J.; SCHOLZ, M.: Measurement of Biological Effects of High-Energy Carbon Ions at Low Doses Using a Semi-Automated Cell Detection System. *International Journal of Radiation Biology* 78(4), 2002, str. 259–266. <https://doi.org/10.1080/09553000110110293>
- [Box 1979] BOX, G. E. P.: Robustness in the Strategy of Scientific Model Building. Wydanie: styczeń 1979. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-438150-6.50018-2>. W: LAUNER, R. L. (Red.); WILKINSON, G. N. (Red.): *Robustness in Statistics*. Academic Press, styczeń 1979. – ISBN 978-0-12-438150-6, str. 201–236
- [Brenner i Ward 1992] BRENNER, D.J.; WARD, J.F.: Constraints on Energy Deposition and Target Size of Multiply Damaged Sites Associated with DNA Double-Strand Breaks. *International journal of radiation biology* 61(6), 1992, str. 737–748. <https://doi.org/10.1080/09553009214551591>
- [Brzozowska et al. 2020] BRZozowska, B.; TARTAS, A.; WOJCIK, A.: Monte Carlo Modeling of DNA Lesions and Chromosomal Aberrations Induced by Mixed Beams of Alpha Particles and X-Rays. *Frontiers in Physics* 8, 2020. <https://doi.org/10.3389/fphy.2020.567864>
- [Bueno et al. 2015] BUENO, M.; SCHULTE, R.; MEYLAN, S.; VILLAGRASA, C.: Influence of the Geometrical Detail in the Description of DNA and the Scoring Method of Ionization Clustering on Nanodosimetric Parameters of Track Structure: A Monte Carlo Study Using Geant4-DNA. *Physics in Medicine and Biology* 60(21), 2015, str. 8583–8599. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/60/21/8583>
- [Casiraghi et al. 2014] CASIRAGHI, M.; BASHKIROV, V.; HURLEY, F.; SCHULTE, R.: A Novel Approach to Study Radiation Track Structure with Nanometer-Equivalent Resolution. *European Physical Journal D* 68(5), 2014. <https://doi.org/10.1140/epjd/e2014-40841-0>

- [Chadwick i Leenhouts 1973] CHADWICK, K. H.; LEENHOUTS, H. P.: A Molecular Theory of Cell Survival. *Physics in Medicine & Biology* 18(1), 1973, str. 78–87. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/18/1/007>
- [Chang et al. 2014] CHANG, D. S.; LASLEY, F. D.; DAS, I. J.; MENDONCA, M. S.; DYNLACHT, J. R.: *Basic Radiotherapy Physics and Biology*. Springer International Publishing, 2014. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-06841-1>. – ISBN 978-3-319-06841-1
- [Chaung et al. 1997] CHAUNG, W.; MI, L. J.; BOORSTEIN, R. J.: The P53 Status of Chinese Hamster V79 Cells Frequently Used for Studies on DNA Damage and DNA Repair. *Nucleic Acids Research* 25(5), 1997, str. 992–994. <https://doi.org/10.1093/nar/25.5.992>
- [Cirrone et al. 2018] CIRRONE, G. A. P.; MANTI, L.; MARGARONE, D.; PETRINGA, G.; GIUFFRIDA, L. et al.: First experimental proof of Proton Boron Capture Therapy (PBCT) to enhance protontherapy effectiveness. *Scientific Reports* 8(1), 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19258-5>
- [Claesson et al. 2011] CLAESSION, K.; MAGNANDER, K.; KAHU, H.; LINDEGREN, S.; HULTBORN, R.; ELMROTH, K.: RBE of alpha-Particles from ²¹¹At for Complex DNA Damage and Cell Survival in Relation to Cell Cycle Position. *International Journal of Radiation Biology* 87(4), 2011, str. 372–384. <https://doi.org/10.3109/09553002.2011.538127>
- [Commoner et al. 1954] COMMONER, B.; TOWNSEND, J.; PAKE, G. E.: Free Radicals in Biological Materials. *Nature* 174(4432), 1954, str. 689–691. <https://doi.org/10.1038/174689a0>
- [Consul i Jain 1973] CONSUL, P. C.; JAIN, G. C.: A Generalization of the Poisson Distribution. *Technometrics* 15(4), 1973, str. 791–799. <https://doi.org/10.1080/00401706.1973.10489112>
- [Conte et al. 2023] CONTE, V.; BIANCHI, A.; SELVA, A.: Track Structure of Light Ions: The Link to Radiobiology. *International Journal of Molecular Sciences* 24(6), 2023. <https://doi.org/10.3390/ijms24065826>
- [Conte et al. 2017] CONTE, V.; SELVA, A.; COLAUTTI, P.; HILGERS, G.; RABUS, H.: Track Structure Characterization and Its Link to Radiobiology. *Radiation Measurements* 106, 2017, str. 506–511. <https://doi.org/10.1016/j.radmeas.2017.06.010>
- [Conte et al. 2018] CONTE, V.; SELVA, A.; COLAUTTI, P.; HILGERS, G.; RABUS, H. et al.: Nanodosimetry: Towards a New Concept of Radiation Quality. *Radiation Protection Dosimetry* 180(1-4), 2018, str. 150–156. <https://doi.org/10.1093/RPD/NCX175>
- [Cox et al. 1977] COX, R.; THACKER, J.; GOODHEAD, D. T.; MASSON, W. K.; WILKINSON, R. E.: Inactivation and Mutation of Cultured Mammalian Cells by Aluminium

- Characteristic Ultrasoft X-Rays: II. Dose-responses of Chinese Hamster and Human Diploid Cells to Aluminium x-Rays and Radiations of Different LET. *International Journal of Radiation Biology* 31(6), 1977, str. 561–576. <https://doi.org/10.1080/09553007714550661>
- [da Silva Melo et al. 2000] DA SILVA MELO, P.; MARIA, S. S.; VIDAL, B. de C.; HAUN, M.; DURÁN, N.: Violacein Cytotoxicity and Induction of Apoptosis in V79 Cells. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal* 36(8), 2000, str. 539–543. [https://doi.org/10.1290/1071-2690\(2000\)036<0539:VCAI0A>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1290/1071-2690(2000)036<0539:VCAI0A>2.0.CO;2)
- [Doria et al. 2012] DORIA, D.; KAKOLEE, K. F.; KAR, S.; LITT, S. K.; FIORINI, F. et al.: Biological Effectiveness on Live Cells of Laser Driven Protons at Dose Rates Exceeding 109 Gy/s. *AIP Advances* 2(1), 2012. <https://doi.org/10.1063/1.3699063>
- [Ebner et al. 2021] EBNER, D. K.; FRANK, S. J.; INANIWA, T.; YAMADA, S.; SHIRAI, T.: The Emerging Potential of Multi-Ion Radiotherapy. *Frontiers in Oncology* 11, 2021. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.624786>
- [EURADOS 2016] EURADOS: Challenges in Micro- and Nanodosimetry for Ion Beam Cancer Therapy (MIND-IBCT). *Report on an International Workshop co-organised by EURADOS*, 2016. <https://doi.org/10.12768/4dr9-fr57>
- [Faddegon et al. 2023] FADDEGON, B.; BLAKELY, E. A.; BURIGO, L.; CENSOR, Y.; DOKIC, I. et al.: Ionization Detail Parameters and Cluster Dose: A Mathematical Model for Selection of Nanodosimetric Quantities for Use in Treatment Planning in Charged Particle Radiotherapy. *Physics in Medicine and Biology* 68(17), 2023. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/acea16>
- [Failla i Henshaw 1931] FAILLA, G.; HENSHAW, P. S.: The Relative Biological Effectiveness of X-rays and Gamma Rays. *Radiology* 17(1), 1931, str. 1–43. <https://doi.org/10.1148/17.1.1>
- [Folkard et al. 1989] FOLKARD, M.; PRISE, K. M.; VOJNOVIC, B.; DAVIES, S.; ROPER, M. J.; MICHAEL, B. D.: The Irradiation of V79 Mammalian Cells by Protons with Energies below 2 MeV: Part I: Experimental Arrangement and Measurements of Cell Survival. *International Journal of Radiation Biology* 56(3), 1989, str. 221–237. <https://doi.org/10.1080/09553008914551401>
- [Folkard et al. 1996] FOLKARD, M.; PRISE, K. M.; VOJNOVIC, B.; NEWMAN, H. C.; ROPER, M. J.; MICHAEL, B. D.: Inactivation of V79 Cells by Low-Energy Protons, Deuterons and Helium-3 Ions. *International Journal of Radiation Biology* 69(6), 1996, str. 729–738. <https://doi.org/10.1080/095530096145472>
- [Franken et al. 2006] FRANKEN, N. A.; RODERMOND, H. M.; STAP, J.; HAVEMAN, J.; VAN BREE, C.: Clonogenic Assay of Cells in Vitro. *Nature Protocols* 1(5), 2006, str. 2315–2319. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.339>

- [Friedrich et al. 2021] FRIEDRICH, T.; PFUHL, T.; SCHOLZ, M.: Update of the Particle Irradiation Data Ensemble (PIDE) for Cell Survival. *Journal of Radiation Research* 62(4), 2021, str. 645–655. <https://doi.org/10.1093/jrr/rrab034>
- [Friedrich et al. 2013] FRIEDRICH, T.; SCHOLZ, U.; ELSÄSSER, T.; DURANTE, M.; SCHOLZ, M.: Systematic Analysis of RBE and Related Quantities Using a Database of Cell Survival Experiments with Ion Beam Irradiation. *Journal of Radiation Research* 54(3), 2013, str. 494–514. <https://doi.org/10.1093/jrr/rrs114>
- [Furusawa et al. 2000] FURUSAWA, Y.; FUKUTSU, K.; AOKI, M.; ITSUKAICHI, H.; EGUCHI-KASAI, K. et al.: Inactivation of Aerobic and Hypoxic Cells from Three Different Cell Lines by Accelerated ^3He -, ^{12}C - and ^{20}Ne -Ion Beams. *Radiation Research* 154(5), 2000, str. 485–496. [https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2000\)154](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2000)154)
- [Furusawa et al. 2017] FURUSAWA, Y.; NAKANO-AOKI, M.; MATSUMOTO, Y.; HIRAYAMA, R.; KOBAYASHI, A.; KONISHI, T.: Equivalency of the Quality of Sublethal Lesions after Photons and High-Linear Energy Transfer Ion Beams. *Journal of Radiation Research* 58(6), 2017, str. 803–808. <https://doi.org/10.1093/jrr/rrx030>
- [Garty et al. 2006] GARTY, G.; SCHULTE, R.; SHCHEMELININ, S.; GROSSWENDT, B.; LELOUP, C. et al.: First Attempts at Prediction of DNA Strand-Break Yields Using Nanodosimetric Data. *Radiation Protection Dosimetry* 122(1-4), 2006, str. 451–454. <https://doi.org/10.1093/rpd/nc1515>
- [Geant4 2024] GEANT4: *Dokumentacja Geant4*. <https://geant4.web.cern.ch/docs/>. [Dostęp: 28.06.2024]
- [Giancarlo et al. 2019] GIANCARLO, R.; ROMBO, S. E.; UTRO, F.: DNA Combinatorial Messages and Epigenomics: The Case of Chromatin Organization and Nucleosome Occupancy in Eukaryotic Genomes. *Theoretical Computer Science* 792, 2019, str. 117–130. <https://doi.org/10.1016/j.tcs.2018.06.047>
- [Goodhead 1994] GOODHEAD, D. T.: Initial Events in the Cellular Effects of Ionizing Radiations: Clustered Damage in DNA. *International Journal of Radiation Biology* 65(1), 1994, str. 7–17. <https://doi.org/10.1080/09553009414550021>
- [Goodhead 2006] GOODHEAD, D. T.: Energy Deposition Stochastics and Track Structure: What about the Target? *Radiation Protection Dosimetry* 122(1-4), 2006, str. 3–15. <https://doi.org/10.1093/rpd/nc1498>
- [Grosswendt 2005] GROSSWENDT, B.: Nanodosimetry, from Radiation Physics to Radiation Biology. *Radiation Protection Dosimetry* 115(1-4), 2005, str. 1–9. <https://doi.org/10.1093/rpd/nci152>
- [Grosswendt et al. 2014] GROSSWENDT, B.; CONTE, V.; COLAUTTI, P.: An Upgraded Track Structure Model: Experimental Validation. *Radiation Protection Dosimetry* 161(1-4), 2014, str. 464–468. <https://doi.org/10.1093/rpd/nct322>

- [Grosswendt et al. 2004] GROSSWENDT, B.; DE NARDO, L.; COLAUTTI, P.; PSZONA, S.; CONTE, V.; TORNIELLI, G.: Experimental Equivalent Cluster-Size Distributions in Nanometric Volumes of Liquid Water. *Radiation Protection Dosimetry* 110(1-4), 2004, str. 851–857. <https://doi.org/10.1093/rpd/nch203>
- [Grosswendt et al. 2007] GROSSWENDT, B.; PSZONA, S.; BANTSAR, A.: New Descriptors of Radiation Quality Based on Nanodosimetry, a First Approach. *Radiation Protection Dosimetry* 126(1-4), 2007, str. 432–444. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncm088>
- [Hall et al. 1972] HALL, E. J.; GROSS, W.; DVORAK, R. F.; KELLERER, A. M.; ROSSI, H. H.: Survival Curves and Age Response Functions for Chinese Hamster Cells Exposed to X-Rays or High LET Alpha-Particles. *Radiation Research* 52(1), 1972, str. 88–98. <https://doi.org/10.2307/3573591>
- [Hall i Willson 2012] HALL, E. J.; WILLSON, S.: *Radiobiology for the Radiologist*. Lippincott Williams & Wilkins, 2012. – ISBN 978–1–60831–193–4
- [Hewitt i Wilson 1959] HEWITT, H. B.; WILSON, C. W.: A Survival Curve for Mammalian Leukaemia Cells Irradiated 'in Vivo' (Implications for the Treatment of Mouse Leukaemia by Whole-Body Irradiation). *British Journal of Cancer* 13(1), 1959, str. 69–75. <https://doi.org/10.1038/bjc.1959.9>
- [Hilgers 2010] HILGERS, G.: Check of the Scaling Procedure of Track Structures of Ionizing Radiation in Nanometric Volumes. *Radiation Measurements* 45(10), 2010, str. 1228–1232. <https://doi.org/10.1016/j.radmeas.2010.06.039>
- [Hilgers et al. 2022] HILGERS, G.; BRAUNROTH, T.; RABUS, H.: Correlated Ionisations in Two Spatially Separated Nanometric Volumes within the Track Structure of ^{241}Am Alpha Particles: Comparison with Monte Carlo Simulations. *Radiation Physics and Chemistry* 201, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2022.110488>
- [Hilgers et al. 2017] HILGERS, G.; BUG, M. U.; RABUS, H.: Measurement of Track Structure Parameters of Low and Medium Energy Helium and Carbon Ions in Nanometric Volumes. *Physics in Medicine and Biology* 62(19), 2017, str. 7569–7597. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/aa86e8>
- [Hilgers i Rabus 2020] HILGERS, G.; RABUS, H.: Correlated Ionisations in Two Spatially Separated Nanometric Volumes in the Track Structure of ^{241}Am Alpha Particles: Measurements with the PTB Ion Counter. *Radiation Physics and Chemistry* 176, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2020.109025>
- [Hill et al. 2004] HILL, M. A.; HERDMAN, M. T.; STEVENS, D. L.; JONES, N. J.; THACKER, J.; GOODHEAD, D. T.: Relative Sensitivities of Repair-Deficient Mammalian Cells for Clonogenic Survival after α -Particle Irradiation. *Radiation Research* 162(6), 2004, str. 667–676. <https://doi.org/10.1667/RR3265>

- [Hirayama et al. 2009] HIRAYAMA, R.; ITO, A.; TOMITA, M.; TSUKADA, T.; YATAGAI, F. et al.: Contributions of Direct and Indirect Actions in Cell Killing by High-LET Radiations. *Radiation Research* 171(2), 2009, str. 212–218. <https://doi.org/10.1667/RR1490.1>
- [Höckel i Vaupel 2001] HÖCKEL, M.; VAUPEL, P.: Tumor Hypoxia: Definitions and Current Clinical, Biologic, and Molecular Aspects. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 93(4), 2001, str. 266–276. <https://doi.org/10.1093/jnci/93.4.266>
- [Hopewell et al. 2012] HOPEWELL, J. W.; MORRIS, G. M.; SCHWINT, A. E.; CODERRE, J. A.: Boron Neutron Capture Therapy: Application of Radiobiological Principles. Wydanie: 2012. https://doi.org/10.1007/978-3-642-31334-9_17. W: SAUERWEIN, W. (Red.); WITTIG, A. (Red.); MOSS, R. (Red.); NAKAGAWA, Y. (Red.): *Neutron Capture Therapy: Principles and Applications*. Springer, 2012. – ISBN 978-3-642-31334-9, str. 329–358
- [IAEA 2008] IAEA (Red.): *Relative Biological Effectiveness in Ion Beam Therapy*. Vienna : International Atomic Energy Agency, 2008 (Technical Reports Series / International Atomic Energy Agency 461). – ISBN 978-92-0-107807-0
- [ICRU 1963] ICRU: Report 10a. Radiation Quantities and Units. *Journal of the Atomic Energy Society of Japan / Atomic Energy Society of Japan* 5(5), 1963, str. 412–419. <https://doi.org/10.3327/jaesj.5.412>
- [ICRU 1970] ICRU: Report 16. Linear Energy Transfer. *Journal of the International Commission on Radiation Units and Measurements* os9(1), 1970. <https://doi.org/10.1093/jicru/os9.1.Report16>
- [ICRU 2007] ICRU: Report 78. Prescribing, Recording, and Reporting Proton-Beam Therapy. *Journal of the International Commission on Radiation Units and Measurements* 7(2), 2007. https://doi.org/10.1093/jicru_ndm021
- [ICRU 2011] ICRU: Report 85. Fundamental Quantities and Units for Ionizing Radiation. *Journal of the International Commission on Radiation Units and Measurements* 11(1), 2011. <https://doi.org/10.1093/jicru/ndr011>
- [ICRU 2016] ICRU: Report 93. Prescribing, Recording, and Reporting Light Ion Beam Therapy. *Journal of the International Commission on Radiation Units and Measurements* 16(1-2), 2016. https://doi.org/10.1093/jicru_ndy025
- [ICRU 2023] ICRU: Report 98. Stochastic Nature of Radiation Interactions: Microdosimetry. *Journal of the ICRU* 23(1), 2023. <https://doi.org/10.1177/14736691231211380>

- [Incerti et al. 2010a] INCERTI, S.; BALDACCHINO, G.; BERNAL, M.; CAPRA, R.; CHAMPION, C. et al.: The Geant4-DNA Project. *International Journal of Modeling, Simulation, and Scientific Computing* 1(2), 2010, str. 157–178. <https://doi.org/10.1142/S1793962310000122>
- [Incerti et al. 2010b] INCERTI, S.; IVANCHENKO, A.; KARAMITROS, M.; MANTERO, A.; MORETTO, P. et al.: Comparison of GEANT4 Very Low Energy Cross Section Models with Experimental Data in Water. *Medical Physics* 37(9), 2010, str. 4692–4708. <https://doi.org/10.1118/1.3476457>
- [Incerti et al. 2018] INCERTI, S.; KYRIAKOU, I.; BERNAL, M. A.; BORDAGE, M. C.; FRANCIS, Z. et al.: Geant4-DNA Example Applications for Track Structure Simulations in Liquid Water: A Report from the Geant4-DNA Project. *Medical Physics* 45(8), 2018, str. e722–e739. <https://doi.org/10.1002/mp.13048>
- [Jenner et al. 1993] JENNER, T. J.; DELARA, C. M.; O'NEILL, P.; STEVENS, D. L.: Induction and Rejoining of DNA Double-Strand Breaks in V79-4 Mammalian Cells Following γ and α irradiation. *International Journal of Radiation Biology* 64(3), 1993, str. 265–273. <https://doi.org/10.1080/09553009314551421>
- [Jet Brains Corporation 2024] JET BRAINS CORPORATION: *Strona internetowa oprogramowania CLion*. <https://www.jetbrains.com/clion/>. [Dostęp: 28.06.2024]
- [Jeynes et al. 2013] JEYNES, J. C.; MERCHANT, M. J.; BARAZZUOL, L.; BARRY, M.; GUEST, D. et al.: 'Broadbeam' Irradiation of Mammalian Cells Using a Vertical Microbeam Facility. *Radiation and Environmental Biophysics* 52(4), 2013, str. 513–521. <https://doi.org/10.1007/s00411-013-0487-4>
- [Joiner i van der Kogel 2018] JOINER, M. C.; KOGEL, A. J. d.: *Basic Clinical Radiobiology*. CRC Press, 2018. – ISBN 978-0-429-95540-2
- [Jones 2016] JONES, B.: Why RBE Must Be a Variable and Not a Constant in Proton Therapy. *British Journal of Radiology* 89(1063), 2016. <https://doi.org/10.1259/bjr.20160116>
- [Kalholm et al. 2021] KALHOLM, F.; GRZANKA, L.; TRANEUS, E.; BASSLER, N.: A Systematic Review on the Usage of Averaged LET in Radiation Biology for Particle Therapy. *Radiotherapy and Oncology* 161, 2021, str. 211–221. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2021.04.007>
- [Kane i Gelman 2020] KANE, S. A.; GELMAN, B. A.: *Introduction to Physics in Modern Medicine*. CRC Press, 2020. – ISBN 978-1-351-86700-9
- [Karger i Peschke 2017] KARGER, C. P.; PESCHKE, P.: RBE and Related Modeling in Carbon-Ion Therapy. *Physics in Medicine & Biology* 63(1), 2017. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/aa9102>

- [Knäusl et al. 2016] KNÄUSL, B.; FUCHS, H.; DIECKMANN, K.; GEORG, D.: Can Particle Beam Therapy Be Improved Using Helium Ions? – a Planning Study Focusing on Pediatric Patients. *Acta Oncologica* 55(6), 2016, str. 751–759. <https://doi.org/10.3109/0284186X.2015.1125016>
- [Koehler i Preston 1972] KOEHLER, A. M.; PRESTON, W. M.: Protons in Radiation Therapy. *Radiology*, 1972. <https://doi.org/10.1148/104.1.191>
- [Kopp et al. 2020] KOPP, B.; MEIN, S.; DOKIC, I.; HARRABI, S.; BÖHLEN, T. T. et al.: Development and Validation of Single Field Multi-Ion Particle Therapy Treatments. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 106(1), 2020, str. 194–205. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2019.10.008>
- [Kraft 1987] KRAFT, G.: Radiobiological Effects of Very Heavy Ions: Inactivation, Induction of Chromosome Aberrations and Strand Breaks. *Nucl Sci Appl, Sect A* 3(1), 1987, str. 1–28
- [Kraft 2000] KRAFT, G.: Tumor Therapy with Heavy Charged Particles. *Progress in Particle and Nuclear Physics* 45, 2000, str. S473–S544. [https://doi.org/10.1016/S0146-6410\(00\)00112-5](https://doi.org/10.1016/S0146-6410(00)00112-5)
- [Krämer et al. 2016] KRÄMER, M.; SCIFONI, E.; SCHUY, C.; ROVITUSO, M.; TINGANELLI, W. et al.: Helium Ions for Radiotherapy? Physical and Biological Verifications of a Novel Treatment Modality. *Medical Physics* 43(4), 2016, str. 1995–2004. <https://doi.org/10.1118/1.4944593>
- [Kyriakou et al. 2016] KYRIAKOU, I.; ŠEFL, M.; NOURRY, V.; INCERTI, S.: The Impact of New Geant4-DNA Cross Section Models on Electron Track Structure Simulations in Liquid Water. *Journal of Applied Physics* 119, 2016. <https://doi.org/10.1063/1.4950808>
- [Little 2000] LITTLE, J. B.: Radiation Carcinogenesis. *Carcinogenesis* 21(3), 2000, str. 397–404. <https://doi.org/10.1093/carcin/21.3.397>
- [Ma i Lomax 2012] MA, C.-M. C. (Red.); LOMAX, T. (Red.): *Proton and Carbon Ion Therapy*. Boca Raton : CRC Press, 2012. <https://doi.org/10.1201/b13070>. – ISBN 978-0-429-19290-6
- [Mao et al. 2024] MAO, H.; ZHANG, H.; LUO, Y.; YANG, J.; LIU, Y. et al.: Primary Study of the Relative and Compound Biological Effectiveness Model for Boron Neutron Capture Therapy Based on Nanodosimetry. *Medical Physics* 51(4), 2024, str. 3076–3092. <https://doi.org/10.1002/mp.16998>
- [McMahon 2018] MCMAHON, S. J.: The Linear Quadratic Model: Usage, Interpretation and Challenges. *Physics in Medicine & Biology* 64(1), 2018. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/aaf26a>

- [McNamara et al. 2020] MCNAMARA, A.; WILLERS, H.; PAGANETTI, H.: Modelling Variable Proton Relative Biological Effectiveness for Treatment Planning. *The British Journal of Radiology* 93(1107), 2020. <https://doi.org/10.1259/bjr.20190334>
- [McNamara et al. 2015] MCNAMARA, A. L.; SCHUEMANN, J.; PAGANETTI, H.: A Phenomenological Relative Biological Effectiveness (RBE) Model for Proton Therapy Based on All Published in Vitro Cell Survival Data. *Physics in Medicine & Biology* 60(21), 2015, str. 8399–8416. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/60/21/8399>
- [Michalik 1993] MICHALIK, V.: Energy Deposition Clusters in Nanometer Regions of Charged-Particle Tracks. *Radiation Research* 134(3), 1993, str. 265–270. <https://doi.org/10.2307/3578185>
- [Mietelska et al. 2024] MIETELSKA, M.; PIETRZAK, M.; BANCER, A.; RUCIŃSKI, A.; SZEFLIŃSKI, Z.; BRZOWSKA, B.: Ionization Detail Parameters for DNA Damage Evaluation in Charged Particle Radiotherapy: Simulation Study Based on Cell Survival Database. *International Journal of Molecular Sciences* 25(10), 2024. <https://doi.org/10.3390/ijms25105094>
- [Morris et al. 2024] MORRIS, A. A.; LV, J.; LU, Y.: Advancing Lithium Neutron Capture Therapy: 6Li-loaded Nanoparticles and Laser-Driven Neutron Sources. *Applied Physics Letters* 124(4), 2024. <https://doi.org/10.1063/5.0185189>
- [Mozumder i Hatano 2003] MOZUMDER, A. (Red.); HATANO, Y. (Red.): *Charged Particle and Photon Interactions with Matter: Chemical, Physicochemical, and Biological Consequences with Applications*. CRC Press, 2003. <https://doi.org/10.1201/9780203913284>. – ISBN 978–0–429–22374–7
- [Murshed 2019] MURSHED, H.: Radiation Biology. Wydanie: III, styczeń 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814128-1.01001-1>. W: *Fundamentals of Radiation Oncology: Physical, Biological, and Clinical Aspects*. III. Academic Press, styczeń 2019. – ISBN 978–0–12–814128–1, str. 57–87
- [Nikjoo et al. 1999] NIKJOO, H.; O’NEILL, P.; TERRISSOL, M.; GOODHEAD, D. T.: Quantitative Modelling of DNA Damage Using Monte Carlo Track Structure Method. *Radiation and Environmental Biophysics* 38(1), 1999, str. 31–38. <https://doi.org/10.1007/s004110050135>
- [Nikjoo et al. 2001] NIKJOO, H.; O’NEILL, P.; WILSON, W. E.; GOODHEAD, D. T.: Computational Approach for Determining the Spectrum of DNA Damage Induced by Ionizing Radiation. *Radiation Research* 156(5), 2001, str. 577–583. [https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2001\)156\[0577:CAFDTs\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2001)156[0577:CAFDTs]2.0.CO;2)
- [Nikjoo et al. 1998] NIKJOO, S.; UEHARA, W. E.; WILSON, M.; HOSHI, D. T.; GOODHEAD, H.: Track Structure in Radiation Biology: Theory and Applications. *International Journal of Radiation Biology* 73(4), 1998, str. 355–364. <https://doi.org/10.1080/095530098142176>

- [OriginLab Corporation 2023] ORIGINLAB CORPORATION: *Strona internetowa oprogramowania Origin*. <https://www.originlab.com>. [Dostęp: 28.06.2024]
- [Paganetti 2012] PAGANETTI, H.: *Proton Therapy Physics*. CRC Press, 2012. – ISBN 978-1-4398-3644-6
- [Paganetti 2015] PAGANETTI, H.: Relating Proton Treatments to Photon Treatments via the Relative Biological Effectiveness–Should We Revise Current Clinical Practice? *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 91(5), 2015, str. 892–894. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2014.11.021>
- [Paganetti et al. 2002] PAGANETTI, H.; NIEMIERKO, A.; ANCUKIEWICZ, M.; GERWECK, L. E.; GOITEIN, M. et al.: Relative Biological Effectiveness (RBE) Values for Proton Beam Therapy. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 53(2), 2002, str. 407–421. [https://doi.org/10.1016/S0360-3016\(02\)02754-2](https://doi.org/10.1016/S0360-3016(02)02754-2)
- [Perris et al. 1986] PERRIS, A.; PIALOGLU, P.; KATSANOS, A. A.; SIDERIS, E. G.: Biological Effectiveness of Low Energy Protons. I. Survival of Chinese Hamster Cells. *International Journal of Radiation Biology* 50(6), 1986, str. 1093–1101. <https://doi.org/10.1080/09553008614551481>
- [PIDE Project 2024] PIDE PROJECT: *Strona internetowa PIDE*. https://www.gsi.de/work/forschung/biophysik/forschungsfelder/radiobiological_modelling/pide_project. [Dostęp: 5.07.2024]
- [Pietrzak 2023] PIETRZAK, M.: *Nanodosimetric Characteristic of Carbon Ion Beam - Experiments and Monte Carlo Simulations*, Wydział Fizyki, Uniwersytet Warszawski, Rozprawa doktorska, 2023
- [Pietrzak et al. 2021] PIETRZAK, M.; MIETELSKA, M.; BANCER, A.; RUCINSKI, A.; BRZOWSKA, B.: Geant4-DNA Modeling of Nanodosimetric Quantities in the Jet Counter for Alpha Particles. *Physics in Medicine & Biology* 66(22), 2021. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/ac33eb>
- [Pietrzak et al. 2018] PIETRZAK, M.; PSZONA, S.; BANTSAR, A.: Measurements of Spatial Correlations of Ionisation Clusters in the Track of Carbon Ions-First Results. *Radiation Protection Dosimetry* 180(1-4), 2018, str. 162–167. <https://doi.org/10.1093/RPD/NCY079>
- [Pistritto et al. 2016] PISTRITTO, G.; TRISCIUOGGIO, D.; CECI, C.; GARUFI, A.; D’ORAZI, G.: Apoptosis as Anticancer Mechanism: Function and Dysfunction of Its Modulators and Targeted Therapeutic Strategies. *Aging (Albany NY)* 8(4), 2016, str. 603–619. <https://doi.org/10.18632/aging.100934>
- [Pompos et al. 2016] POMPOS, A.; DURANTE, M.; CHOY, H.: Heavy Ions in Cancer Therapy. *JAMA oncology* 2(12), 2016, str. 1539–1540. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.2646>

- [Powers i Tolmach 1963] POWERS, W. E.; TOLMACH, L. J.: A Multicomponent X-ray Survival Curve for Mouse Lymphosarcoma Cells Irradiated in Vivo. *Nature* 197(4868), 1963, str. 710–711. <https://doi.org/10.1038/197710b0>
- [Prise et al. 1990] PRISE, K. M.; FOLKARD, M.; DAVIES, S.; MICHAEL, B. D.: The Irradiation of V79 Mammalian Cells by Protons with Energies below 2 MeV. Part II. Measurement of Oxygen Enhancement Ratios and DNA Damage. *International Journal of Radiation Biology* 58(2), 1990, str. 261–277. <https://doi.org/10.1080/09553009014551611>
- [Pszona 1973] PSZONA, S.: Studies for Nanometer Microdosimetry / USAEC. Washington D.C., 1973. – Technical Report. PM-5
- [Pszona 1976] PSZONA, S.: A Track Ion Counter. W: *Proceedings of Fifth Symposium on Microdosimetry* Bd. 5452 d-e-f, Commission of the European Communities, 1976, str. 1107–1122
- [Puck i Marcus 1956] PUCK, T. T.; MARCUS, P. I.: Action of X-Rays on Mammalian Cells. *The Journal of experimental medicine* 103(5), 1956, str. 653–666. <https://doi.org/10.1084/jem.103.5.653>
- [Python Software Foundation 2019] PYTHON SOFTWARE FOUNDATION: *Strona internetowa języka programowania Python*. <https://www.python.org>. [Dostęp: 28.06.2024]
- [Rabus i Nettelbeck 2011] RABUS, H.; NETTELBECK, H.: Nanodosimetry: Bridging the Gap to Radiation Biophysics. *Radiation Measurements* 46(12), 2011, str. 1522–1528. <https://doi.org/10.1016/j.radmeas.2011.02.009>
- [Raju et al. 1991] RAJU, M. R.; EISEN, Y.; CARPENTER, S.; INKRET, W. C.: Radiobiology of α Particles. III. Cell Inactivation by α -Particle Traversals of the Cell Nucleus. *Radiation Research* 128(2), 1991, str. 204–209. <https://doi.org/10.2307/3578139>
- [Ramos-Méndez et al. 2018] RAMOS-MÉNDEZ, J.; BURIGO, L. N.; SCHULTE, R.; CHUANG, C.; FADDEGON, B.: Fast Calculation of Nanodosimetric Quantities in Treatment Planning of Proton and Ion Therapy. *Physics in Medicine & Biology* 63(23), 2018. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/aabee>
- [Roots i Okada 1975] ROOTS, R.; OKADA, S.: Estimation of Life Times and Diffusion Distances of Radicals Involved in X-Ray-Induced DNA Strand Breaks or Killing of Mammalian Cells. *Radiation Research* 64(2), 1975, str. 306–320. <https://doi.org/10.2307/3574267>
- [Rosendahl et al. 2005] ROSENDAHL, I. M.; BAUMSTARK-KHAN, C.; RINK, H.: Mutation Induction in Mammalian Cells by Accelerated Heavy Ions. *Advances in Space Research* 36(9), 2005, str. 1701–1709. <https://doi.org/10.1016/j.asr.2005.03.067>

- [Rothkamm i Löbrich 2003] ROTHKAMM, K.; LÖBRICH, M.: Evidence for a Lack of DNA Double-Strand Break Repair in Human Cells Exposed to Very Low x-Ray Doses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100(9), 2003, str. 5057–5062. <https://doi.org/10.1073/pnas.0830918100>
- [Rucinski et al. 2021] RUCINSKI, A.; BIERNACKA, A.; SCHULTE, R.: Applications of Nanodosimetry in Particle Therapy Planning and Beyond. *Physics in Medicine & Biology* 66(24), 2021. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/ac35f1>
- [Rutherford 1919] RUTHERFORD, E.: LIV. Collision of α Particles with Light Atoms. IV. An Anomalous Effect in Nitrogen. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* 37(222), 1919, str. 581–587. <https://doi.org/10.1080/14786440608635919>
- [Rydgier et al. 2022] RYDGIER, M.; BAŁAMUT, M.; CZERSKA, K.; JABŁOŃSKI, H.; KOMENDA, W. et al.: Radioterapia Protonowa Cz. 1: Podstawy Fizyczne. *Inżynier i Fizyk Medyczny* 11(1), 2022, str. 69–74
- [Schardt et al. 2010] SCHARDT, D.; ELSÄSSER, T.; SCHULZ-ERTNER, D.: Heavy-Ion Tumor Therapy: Physical and Radiobiological Benefits. *Reviews of Modern Physics* 82(1), 2010, str. 383–425. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.82.383>
- [Schlag i Lücke-Huhle 1981] SCHLAG, H.; LÜCKE-HUHLE, C.: The Influence of Ionization Density on the DNA Synthetic Phase and Survival of Irradiated Mammalian Cells. *International Journal of Radiation Biology and Related Studies in Physics, Chemistry and Medicine* 40(1), 1981, str. 75–85. <https://doi.org/10.1080/RAB.40.1.75.85>
- [Scholz 1992] SCHOLZ, M.: *Zellzyklusverzögerungen synchroner Zellpopulationen nach Schwerionenbestrahlung*. Darmstadt, Gesellschaft für Schwerionenforschung, Rozprawa doktorska, 1992
- [Scholz 2003] SCHOLZ, M.: Effects of Ion Radiation on Cells and Tissues. Wydanie: 2003. https://doi.org/10.1007/3-540-45668-6_4. W: *Advances in Polymer Science* Bd. 162. Springer, Berlin, Heidelberg, 2003. – ISSN 00653195, str. 95–155
- [Scholz i Kraft 2004] SCHOLZ, M.; KRAFT, G.: The Physical and Radiobiological Basis of the Local Effect Model: A Response to the Commentary by R. Katz. *Radiation Research* 161(5), 2004, str. 612–620
- [Schulte et al. 2001] SCHULTE, R.; BASHKIROV, V.; SHCHEMELININ, S.; GARTY, G.; CHECHIK, R.; BRESKIN, A.: Modeling of Radiation Action Based on Nanodosimetric Event Spectra. *Physica Medica* 17(Supp. 1), 2001, str. 177–180
- [Selva et al. 2019] SELVA, A.; DE NADAL, V.; CHERUBINI, R.; COLAUTTI, P.; CONTE, V.: Towards the Use of Nanodosimetry to Predict Cell Survival. *Radiation Protection Dosimetry* 183(1-2), 2019, str. 192–196. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncy274>

- [Staab et al. 2004] STAAB, A.; ZUKOWSKI, D.; WALENTA, S.; SCHOLZ, M.; MUELLER-KLIESER, W.: Response of Chinese Hamster V79 Multicellular Spheroids Exposed to High-Energy Carbon Ions. *Radiation Research* 161(2), 2004, str. 219–227. <https://doi.org/10.1667/RR3113>
- [Stenerl w et al. 1995] STENERL W, B.; PETTERSSON, O. A.; ESSAND, M.; BLUMQUIST, E.; CARLSSON, J.: Irregular Variations in Radiation Sensitivity When the Linear Energy Transfer Is Increased. *Radiotherapy and Oncology* 36(2), 1995, str. 133–142. [https://doi.org/10.1016/0167-8140\(95\)01591-4](https://doi.org/10.1016/0167-8140(95)01591-4)
- [Thacker et al. 1979] THACKER, J.; STRETCH, A.; STEPHENS, M. A.: Mutation and Inactivation of Cultured Mammalian Cells Exposed to Beams of Accelerated Heavy Ions. II. Chinese Hamster V79 Cells. *International Journal of Radiation Biology and Related Studies in Physics, Chemistry, and Medicine* 36(2), 1979, str. 137–148. <https://doi.org/10.1080/09553007914550891>
- [Till i McCulloch 1961] TILL, J. E.; MCCULLOCH, E. A.: A Direct Measurement of the Radiation Sensitivity of Normal Mouse Bone Marrow Cells. *Radiation Research* 14, 1961, str. 213–222
- [Tilly et al. 1999] TILLY, N.; BRAHME, A.; CARLSSON, J.; GLIMELIUS, B.: Comparison of Cell Survival Models for Mixed LET Radiation. *International Journal of Radiation Biology* 75(2), 1999, str. 233–243. <https://doi.org/10.1080/095530099140690>
- [Tracy et al. 2015] TRACY, B. L.; STEVENS, D. L.; GOODHEAD, D. T.; HILL, M. A.: Variation in RBE for Survival of V79-4 Cells as a Function of Alpha-Particle (Helium Ion) Energy. *Radiation Research* 184(1), 2015, str. 33–45. <https://doi.org/10.1667/RR13835.1>
- [Uehara et al. 2001] UEHARA, S.; TOBUREN, L. H.; NIKJOO, H.: Development of a Monte Carlo Track Structure Code for Low-Energy Protons in Water. *International Journal of Radiation Biology* 77(2), 2001, str. 139–154. <https://doi.org/10.1080/09553000010012536>
- [Vasi et al. 2016] VASI, F.; CASIRAGHI, M.; BASHKIROV, V.; GIESEN, U.; SCHULTE, R. W.: Development of a Single Ion Detector for Radiation Track Structure Studies. *Journal of Instrumentation* 11(09), 2016. <https://doi.org/10.1088/1748-0221/11/09/c09021>
- [Vasi et al. 2021] VASI, F.; KEMPF, I.; BESSERER, J.; SCHNEIDER, U.: FIRE: A Compact Nanodosimeter Detector Based on Ion Amplification in Gas. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* 999, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.nima.2021.165116>
- [Vasi i Schneider 2021] VASI, F.; SCHNEIDER, U.: First Measurements of Ionization Cluster-Size Distributions with a Compact Nanodosimeter. *Medical Physics* 48(5), 2021, str. 2566–2571. <https://doi.org/10.1002/mp.14738>

- [Wambersie et al. 2004] WAMBERSIE, A.; DELUCA, P. M.; ANDREO, P.; HENDRY, J. H.: 'Light' or 'Heavy' Ions : A Debate of Terminology? *Radiotherapy and Oncology* 73(Supp. 2), 2004, str. iii. [https://doi.org/10.1016/S0167-8140\(04\)80003-3](https://doi.org/10.1016/S0167-8140(04)80003-3)
- [Wang et al. 2019] WANG, H.; JIANG, H.; VAN DE GUCHT, M.; DE RIDDER, M.: Hypoxic Radioresistance: Can ROS Be the Key to Overcome It? *Cancers* 11(1), 2019. <https://doi.org/10.3390/cancers11010112>
- [Ward 1988] WARD, J. F.: DNA Damage Produced by Ionizing Radiation in Mammalian Cells: Identities, Mechanisms of Formation, and Reparability. Wydanie: styczeń 1988. [https://doi.org/10.1016/S0079-6603\(08\)60611-X](https://doi.org/10.1016/S0079-6603(08)60611-X). W: COHN, Waldo E. (Red.); MOLDAVE, Kivie (Red.): *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* Bd. 35. Academic Press, styczeń 1988, str. 95–125
- [Watson i Crick 1953] WATSON, J. D.; CRICK, F. H.: Molecular Structure of Nucleic Acids; a Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature* 171(4356), 1953, str. 737–738. <https://doi.org/10.1038/171737a0>
- [Weber i Flentje 1993] WEBER, K. J.; FLENTJE, M.: Lethality of Heavy Ion-Induced DNA Double-Strand Breaks in Mammalian Cells. *International Journal of Radiation Biology* 64(2), 1993, str. 169–178. <https://doi.org/10.1080/09553009314551261>
- [Wéra et al. 2014] WÉRA, A. C.; BARAZZUOL, L.; JEYNES, J. C. G.; MERCHANT, M. J.; SUZUKI, M.; KIRKBY, K. J.: Influence of the Nucleus Area Distribution on the Survival Fraction after Charged Particles Broad Beam Irradiation. *Physics in Medicine & Biology* 59(15), 2014. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/59/15/4197>
- [Weyrather et al. 1999] WEYRATHER, W. K.; RITTER, S.; SCHOLZ, M.; KRAFT, G.: RBE for Carbon Track-Segment Irradiation in Cell Lines of Differing Repair Capacity. *International Journal of Radiation Biology* 75(11), 1999, str. 1357–1364. <https://doi.org/10.1080/095530099139232>
- [Wiatrowska et al. 2012] WIATROWSKA, I.; KABACIŃSKA, R.; LASOTA, J.; MAKAREWICZ, R.: Radiobiology in the Hypofractional Radiotherapy. *Oncology and radiotherapy* 21(3), 2012, str. 35–39
- [Willers et al. 2018] WILLERS, H.; ALLEN, A.; GROSSHANS, D.; MCMAHON, S. J.; VON NEUBECK, C. et al.: Toward A Variable RBE for Proton Beam Therapy. *Radiotherapy and Oncology* 128(1), 2018, str. 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2018.05.019>
- [Wilson 1946] WILSON, R. R.: Radiological Use of Fast Protons. *Radiology* 47(5), 1946, str. 487–491. <https://doi.org/10.1148/47.5.487>
- [Zhou et al. 2006] ZHOU, G.; KAWATA, T.; FURUSAWA, Y.; AOKI, M.; HIRAYAMA, R. et al.: Protective Effects of Melatonin against Low- and High-LET Irradiation. *Journal of Radiation Research* 47(2), 2006, str. 175–181. <https://doi.org/10.1269/jrr.47.175>

- [Ziegler 1999] ZIEGLER, J. F.: Stopping of Energetic Light Ions in Elemental Matter. *Journal of Applied Physics* 85(3), 1999, str. 1249–1272. <https://doi.org/10.1063/1.369844>
- [Ziegler et al. 2010] ZIEGLER, J. F.; ZIEGLER, M. D.; BIRSACK, J. P.: SRIM - The Stopping and Range of Ions in Matter (2010). *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 268(11), 2010, str. 1818–1823. <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2010.02.091>
- [Ziegler J. 2013] ZIEGLER J.: *Strona internetowa oprogramowania SRIM*. <http://srim.org>. [Dostęp: 28.06.2024]

Dodatek A

Wybrane dane nanodozymetryczne

Poniższa tabela A.1 zestawia wybrane dane nanodozymetryczne dla wszystkich wykorzystanych kombinacji rodzaju jonu i jego energii E , dla których dostępne były dane biologiczne w PIDE. Uwzględniono wartości dla wybranego targetu o rozmiarze $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$. Oprócz uproszczonego oznaczenia jonu i wartości E zaokrąglonej zgodnie z danymi źródłowymi, tabela A.1 zawiera informacje o wartości LET, $M_1 R_2$ dla $p = 0,3$ oraz wartości parametrów F_k dla $k \in \langle 2; 5 \rangle$.

Tabela A.1. Zestawienie wybranych wielkości nanodozymetrycznych dla targetu o rozmiarze $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$. Energia w MeV/u, LET w $\text{keV}/\mu\text{m}$, R_2 dla $p = 0,3$. Uporządkowanie zgodne z uporządkowaniem danych biologicznych w tabeli B.1.

Lp.	Jon	E	LET	M_1	R_2	F_2	F_3	F_4	F_5
1	^2H	0,465	38,71484	2,37799	0,20698	0,60472	0,39386	0,23928	0,13916
2	^1H	0,57	33,96298	2,06146	0,17231	0,53480	0,33021	0,19223	0,10623
3	^1H	0,64	31,51705	1,89093	0,15356	0,49550	0,29553	0,16588	0,08909
4	^2H	0,7	29,75911	1,75001	0,13805	0,46281	0,26681	0,14390	0,07495
5	^1H	0,76	28,33115	1,64163	0,12647	0,43541	0,24459	0,12841	0,06541
6	^1H	0,76	28,33115	1,64163	0,12647	0,43541	0,24459	0,12841	0,06541
7	^1H	0,76	28,33115	1,64163	0,12647	0,43541	0,24459	0,12841	0,06541
8	^1H	0,9	25,50923	1,42727	0,10408	0,37811	0,20051	0,09976	0,04839
9	^2H	1,07	23,50129	1,24445	0,08575	0,32637	0,16347	0,07797	0,03635
10	^1H	1,07	23,50129	1,24445	0,08575	0,32637	0,16347	0,07797	0,03635
11	^1H	1,15	22,92931	1,17435	0,07898	0,30663	0,14964	0,07012	0,03214
12	^1H	1,15	22,92931	1,17435	0,07898	0,30663	0,14964	0,07012	0,03214
13	^1H	1,41	20,63638	0,98901	0,06188	0,25425	0,11462	0,05096	0,02226

dalsza część na kolejnej stronie

Lp.	Jon	E	LET	M_1	R_2	F_2	F_3	F_4	F_5
14	^1H	1,48	20,05540	0,95345	0,05887	0,24371	0,10879	0,04789	0,02086
15	^2H	1,7	18,37945	0,84449	0,04968	0,21152	0,09095	0,03853	0,01660
16	^1H	1,83	17,50047	0,79879	0,04599	0,19867	0,08355	0,03484	0,01482
17	^1H	1,9	17,05949	0,77418	0,04401	0,19176	0,07957	0,03286	0,01386
18	^1H	1,9	17,05949	0,77418	0,04401	0,19176	0,07957	0,03286	0,01386
19	^1H	2	16,42951	0,73902	0,04117	0,18187	0,07388	0,03002	0,01248
20	^1H	2,24	15,12395	0,67440	0,03629	0,16320	0,06434	0,02575	0,01043
21	^1H	2,45	14,14958	0,62668	0,03286	0,14910	0,05783	0,02314	0,00918
22	^1H	3	12,09964	0,52850	0,02598	0,12134	0,04482	0,01729	0,00656
23	^1H	3,2	11,52365	0,49641	0,02376	0,11245	0,04064	0,01533	0,00571
24	^1H	3,66	10,37489	0,44529	0,02051	0,09902	0,03466	0,01258	0,00467
25	^1H	3,82	10,03054	0,42751	0,01937	0,09435	0,03258	0,01163	0,00431
26	^1H	5,01	8,10194	0,34158	0,01430	0,07188	0,02314	0,00794	0,00297
27	^1H	7,4	5,95442	0,24179	0,00931	0,04745	0,01467	0,00515	0,00190
28	^4He	0,275	216,29351	12,43695	0,88464	0,99379	0,98462	0,96949	0,94658
29	^4He	0,375	190,59428	10,57921	0,84167	0,99105	0,97832	0,95681	0,92352
30	^4He	0,45	173,89478	9,44990	0,80065	0,98851	0,97137	0,94006	0,89136
31	^4He	0,6	147,95556	7,77725	0,71833	0,98063	0,94769	0,89175	0,81167
32	^4He	0,77	126,64820	6,47952	0,62909	0,96391	0,90517	0,81473	0,69915
33	^4He	0,8	123,57629	6,30168	0,61482	0,95991	0,89614	0,79994	0,67980
34	^4He	0,8	123,57629	6,30168	0,61482	0,95991	0,89614	0,79994	0,67980
35	^4He	0,81	122,55232	6,24240	0,61006	0,95858	0,89313	0,79501	0,67334
36	^4He	0,815	122,06434	6,21276	0,60768	0,95792	0,89163	0,79255	0,67012
37	^4He	0,815	122,06434	6,21276	0,60768	0,95792	0,89163	0,79255	0,67012
38	^4He	0,95	110,25669	5,51602	0,54818	0,93770	0,84896	0,72626	0,58735
39	^4He	0,95	110,25669	5,51602	0,54818	0,93770	0,84896	0,72626	0,58735
40	^4He	1	106,49681	5,30312	0,52821	0,92924	0,83228	0,70181	0,55859
41	^4He	1	106,49681	5,30312	0,52821	0,92924	0,83228	0,70181	0,55859
42	^3He	1,13	97,95946	4,79087	0,47908	0,90656	0,78852	0,64013	0,48776
43	^4He	1,24	91,85244	4,46903	0,44509	0,88555	0,75049	0,59299	0,43852
44	^3He	1,27	90,34849	4,38125	0,43582	0,87983	0,74012	0,58014	0,42509
45	^3He	1,27	90,34849	4,38125	0,43582	0,87983	0,74012	0,58014	0,42509
46	^4He	1,3	88,92533	4,29347	0,42655	0,87410	0,72975	0,56728	0,41166
47	^3He	1,39	84,75						

dalsza część na kolejnej stronie

Lp.	Jon	E	LET	M_1	R_2	F_2	F_3	F_4	F_5
88	^{12}C	6,37	246,73660	10,14227	0,84530	0,99781	0,99116	0,97485	0,94194
89	^{12}C	6,4	245,87262	10,10592	0,84377	0,99774	0,99089	0,97421	0,94069
90	^{12}C	6,7	237,40088	9,74248	0,82840	0,99700	0,98823	0,96777	0,92815
91	^{12}C	7,6	216,37751	8,70435	0,78268	0,99445	0,97946	0,94700	0,88908
92	^{12}C	8,93	191,28386	7,61110	0,71831	0,98791	0,95994	0,90393	0,81917
93	^{12}C	10,2	171,80685	6,82409	0,66205	0,97788	0,93305	0,85417	0,74727
94	^{12}C	11	161,31516	6,38015	0,62766	0,97081	0,91445	0,82108	0,70093
95	^{12}C	11	161,31516	6,38015	0,62766	0,97081	0,91445	0,82108	0,70093
96	^{12}C	11	161,31516	6,38015	0,62766	0,97081	0,91445	0,82108	0,70093
97	^{12}C	11,4	156,56330	6,15818	0,61047	0,96728	0,90515	0,80454	0,67777
98	^{12}C	12,4	145,56363	5,77127	0,57544	0,95532	0,87912	0,76416	0,62708
99	^{12}C	12,9	140,60778	5,58042	0,55805	0,94930	0,86606	0,74399	0,60185
100	^{12}C	13,9	131,43206	5,19871	0,52326	0,93725	0,83994	0,70364	0,55139
101	^{12}C	14,9	123,28830	4,91600	0,49484	0,92237	0,81229	0,66605	0,50997
102	^{12}C	16	115,65653	4,63978	0,46582	0,90500	0,78133	0,62567	0,46758
103	^{12}C	18,1	103,04043	4,16309	0,41488	0,87233	0,72441	0,55376	0,39357
104	^{12}C	18,5	100,79218	4,09630	0,40730	0,86632	0,71459	0,54251	0,38275
105	^{12}C	18,8	99,16311	4,04620	0,40161	0,86182	0,70723	0,53408	0,37463
106	^{12}C	19	98,26745	4,01281	0,39782	0,85882	0,70232	0,52845	0,36923
107	^{12}C	21,9	86,24813	3,54207	0,34423	0,81527	0,63218	0,44863	0,29316
108	^{12}C	24,5	78,14886	3,24859	0,30935	0,77596	0,57889	0,39334	0,24747
109	^{12}C	25,2	76,29803	3,16958	0,29996	0,76537	0,56454	0,37845	0,23517
110	^{12}C	33,5	61,73055	2,46192	0,21491	0,64499	0,41866	0,24642	0,13517
111	^{12}C	35	59,68221	2,38649	0,20610	0,62838	0,40186	0,23367	0,12685
112	^{12}C	35,4	59,13599	2,36637	0,20376	0,62396	0,39738	0,23027	0,12463
113	^{12}C	41,7	51,61765	2,05968	0,16805	0,55566	0,32895	0,17866	0,09118
114	^{12}C	54,8	41,42396	1,64583	0,12193	0,44875	0,23630	0,11534	0,05415
115	^{12}C	55,6	40,96317	1,62774	0,12002	0,44367	0,23243	0,11295	0,05286
116	^{12}C	76,9	31,73221	1,24902	0,08117	0,33217	0,15241	0,06660	0,02889
117	^{12}C	78,6	31,21610	1,22741	0,07907	0,32553	0,14812	0,06431	0,02775
118	^{12}C	82,3	30,09282	1,18858	0,07548	0,31348	0,14093	0,06065	0,02591
119	^{12}C	83	29,88030	1,18123	0,07480	0,31120	0,13957	0,05996	0,02556
120	^{12}C	92,5	27,50317	1,08153	0,06558	0,28025	0,12111	0,050	

Tabela A.1 – Kontynuacja

Lp.	Jon	E	LET	M_1	R_2	F_2	F_3	F_4	F_5
125	^{12}C	190,7	16,41055	0,64225	0,03013	0,14545	0,05099	0,01833	0,00696
126	^{12}C	266,4	13,31579	0,51227	0,02148	0,10798	0,03467	0,01207	0,00445
127	^{12}C	283	12,85841	0,49157	0,02024	0,10229	0,03241	0,01124	0,00411
128	^{12}C	289	12,70002	0,48691	0,01999	0,10115	0,03198	0,01105	0,00405
129	^{12}C	290	12,67362	0,48613	0,01995	0,10096	0,03191	0,01102	0,00404
130	^{14}N	3,8	469,93390	20,22831	0,98914	1,00000	1,00000	0,99995	0,99982
131	^{14}N	14,4	176,44271	6,87405	0,66853	0,97997	0,93808	0,86415	0,75782
132	^{14}N	20,3	128,44255	5,15686	0,51849	0,93325	0,83310	0,69585	0,54502
133	^{14}N	37	78,99883	3,11964	0,29380	0,75833	0,55338	0,36875	0,22733
134	^{16}O	10,8	290,23529	11,48283	0,88898	0,99917	0,99620	0,98809	0,97084
135	^{20}Ne	7,71	573,16080	22,95636	0,99493	1,00000	1,00000	0,99999	0,99996
136	^{20}Ne	12,8	392,28023	15,38690	0,95894	0,99994	0,99967	0,99873	0,99618
137	^{20}Ne	14	362,62912	14,20306	0,94647	0,99990	0,99946	0,99795	0,99395
138	^{20}Ne	17,5	294,39117	11,79078	0,89992	0,99943	0,99729	0,99110	0,97719
139	^{20}Ne	18,2	283,86348	11,46519	0,88979	0,99914	0,99617	0,98811	0,97092
140	^{20}Ne	21,7	240,86877	9,87301	0,83895	0,99765	0,99043	0,97274	0,93884
141	^{20}Ne	24,7	214,78156	8,92022	0,79234	0,99455	0,98023	0,94927	0,89641
142	^{20}Ne	30,2	188,33435	7,53718	0,71301	0,98618	0,95557	0,89797	0,81191
143	^{20}Ne	31,1	184,01448	7,34858	0,70066	0,98454	0,95092	0,88871	0,79738
144	^{20}Ne	35,7	164,58706	6,54351	0,64182	0,97332	0,92224	0,83665	0,72204
145	^{20}Ne	38,4	155,29934	6,14914	0,60938	0,96535	0,90302	0,80375	0,67729
146	^{20}Ne	57,5	112,09664	4,41850	0,44319	0,89077	0,75636	0,59449	0,43500
147	^{20}Ne	68,1	98,03826	3,84805	0,38002	0,84409	0,67958	0,50206	0,34402
148	^{20}Ne	78,6	87,63777	3,41531	0,32948	0,79898	0,61102	0,42543	0,27369
149	^{20}Ne	84,2	83,08791	3,25372	0,31023	0,77632	0,58078	0,39546	0,24909
150	^{20}Ne	129	60,48619	2,35977	0,20314	0,62500	0,39894	0,23037	0,12325
151	^{20}Ne	130	60,15820	2,34696	0,20169	0,62218	0,39614	0,22825	0,12190
152	^{20}Ne	130	60,15820	2,34696	0,20169	0,62218	0,39614	0,22825	0,12190

Dodatek B

Wybrane dane biologiczne

Tabela B.1. Zestawienie wybranych wielkości biologicznych. Uproszczone oznaczenie jonu. Energia E wyrażona w MeV/u i zaokrąglona zgodnie z danymi źródłowymi, liniowe parametry dopasowania α w Gy⁻¹, kwadratowe parametry dopasowania β w Gy⁻², $\sigma_{5\%}$ wyrażona w μm^2 . Uporządkowanie zgodne z liczbą protonów, następnie wartością energii, a następnie wartością skorygowanego parametru liniowego. Dla części publikacji nie były dostępne dane o promieniowaniu referencyjnym (b.d.). Uwzględniono numer publikacji (Pub.), z której pochodzą dane i którego objaśnienie załączono pod tabelą.

Lp.	Jon	E	α_{ref}	β_{ref}	α	β	$\sigma_{5\%}$	RBE _{5%}	Pub.
1	^2H	0,465	0,13292	0,04972	1,25099	0,00000	7,75878	2,73092	13
2	^1H	0,57	0,10610	0,05168	0,58687	0,00000	3,19306	1,30390	14
3	^1H	0,64	0,10610	0,05168	0,65222	0,00000	3,29307	1,44910	14
4	^2H	0,7	0,13292	0,04972	1,08388	0,00000	5,16732	2,36613	13
5	^1H	0,76	0,10610	0,05168	0,73235	0,00000	3,32387	1,62713	14
6	^1H	0,76	b.d.	b.d.	1,05169	0,00000	4,77325	b.d.	7
7	^1H	0,76	b.d.	b.d.	1,08181	0,00000	4,90995	b.d.	8
8	^1H	0,9	0,09641	0,03499	0,25083	0,04671	3,22455	1,38452	27
9	^2H	1,07	0,13292	0,04972	0,75341	0,02396	3,48071	1,83146	13
10	^1H	1,07	0,13292	0,04972	0,77460	0,00806	3,14220	1,75645	13
11	^1H	1,15	b.d.	b.d.	0,30762	0,06934	3,53376	b.d.	7

dalsza część na kolejnej stronie

Lp.	Jon	E	α_{ref}	β_{ref}	α	β	$\sigma_{5\%}$	RBE _{5%}	Pub.
12	^1H	1,15	b.d.	b.d.	0,38607	0,05139	3,21243	b.d.	8
13	^1H	1,41	0,10610	0,05168	0,50182	0,03319	2,66444	1,45281	14
14	^1H	1,48	0,09641	0,03499	0,43243	0,00000	1,38934	1,15148	27
15	^2H	1,7	0,13292	0,04972	0,48520	0,04482	2,58794	1,48896	13
16	^1H	1,83	0,13292	0,04972	0,46106	0,02573	2,02337	1,29100	13
17	^1H	1,9	b.d.	b.d.	0,35705	0,04445	2,22045	b.d.	8
18	^1H	1,9	b.d.	b.d.	0,48020	0,02451	1,97878	b.d.	7
19	^1H	2	0,11802	0,02494	0,13443	0,06115	2,28061	1,47778	28
20	^1H	2,24	0,09641	0,03499	0,39810	0,00000	0,96454	1,06008	27
21	^1H	2,45	0,09641	0,03499	0,34850	0,00000	0,78996	0,92799	27
22	^1H	3	0,11813	0,00883	0,40879	0,00000	0,79239	1,76138	6
23	^1H	3,2	0,10610	0,05168	0,43833	0,02242	1,25308	1,24099	14
24	^1H	3,66	0,13292	0,04972	0,29515	0,04586	1,32620	1,19309	13
25	^1H	3,82	0,09641	0,03499	0,00000	0,23268	2,68314	2,22316	27
26	^1H	5,01	0,10610	0,05168	0,28554	0,02488	0,79981	1,00176	14
27	^1H	7,4	0,11813	0,00883	0,00000	0,06549	0,84501	1,90845	6
28	^4He	0,275	0,14173	0,02605	0,61315	0,09483	42,61190	2,56633	29
29	^4He	0,375	0,14173	0,02605	0,72483	0,09313	39,11710	2,79336	29
30	^4He	0,45	0,14173	0,02605	1,19901	0,00000	33,40200	3,33933	29
31	^4He	0,6	0,14173	0,02605	1,18909	0,03466	32,05730	3,53923	29
32	^4He	0,77	0,18937	0,01296	1,31208	0,00000	26,62090	4,18782	9
33	^4He	0,8	0,08595	0,01727	1,46074	0,00000	28,91820	5,32228	26
34	^4He	0,8	0,14173	0,02605	1,54343	0,00000	30,55520	4,29856	29
35	^4He	0,81	0,00000	0,02944	1,51652	0,00000	29,77360	5,10612	10
36	^4He	0,815	0,11028	0,03170	1,53757	0,00000	30,06680	4,17596	21
37	^4He	0,815	0,11028	0,03170	1,57893	0,00000	30,87560	4,28829	21
38	^4He	0,95	b.d.	b.d.	1,34603	0,00000	23,77510	b.d.	7
39	^4He	0,95	b.d.	b.d.	1,36040	0,00000	24,02900	b.d.	8
40	^4He	1	0,11802	0,02494	1,13826	0,00000	19,41970	3,36110	28
41	^4He	1	0,14173	0,02605	1,33667	0,02012	24,29440	3,84430	29
42	^3He	1,13	0,13292	0,04972	1,22476	0,00000	19,22030	2,67366	13
43	^4He	1,24	0,14466	0,02614	1,43365	0,00000	21,09590	3,96722	4
44	^3He	1,27	0,19970	0,01898	0,86052	0,20136	25,70220	3,67842	18
45	^3He	1,27	0,19970	0,01898	1,19158	0,12796	24,87290	4,06040	18
46	^4He	1,3	0,29165	0,00454	1,58521	0,00000	22,58270	4,76668	1
47	^3He	1,39	0,13292	0,04972	1,29435	0,00000	17,57340		

Lp.	Jon	E	α_{ref}	β_{ref}	α	β	$\sigma_{5\%}$	RBE _{5%}	Pub.
49	^3He	1,62	0,19970	0,01898	0,87762	0,21069	22,07360	3,75729	18
50	^3He	1,65	0,19970	0,01898	0,71598	0,20231	20,57230	3,39017	18
51	^4He	1,8	0,14466	0,02614	1,18512	0,00000	13,36890	3,27947	4
52	^3He	2,16	0,19970	0,01898	0,55743	0,15111	14,54360	2,81010	18
53	^3He	2,3	0,13292	0,04972	1,21985	0,00000	11,70960	2,66295	13
54	^3He	2,33	0,19970	0,01898	0,85070	0,05913	11,38680	2,85680	18
55	^3He	2,7	0,19970	0,01898	0,61649	0,09403	10,45080	2,57295	18
56	^3He	2,72	0,19970	0,01898	0,56367	0,09648	10,27240	2,48041	18
57	^3He	2,83	0,19970	0,01898	0,40059	0,14797	11,40970	2,49918	18
58	^4He	2,9	0,14173	0,02605	1,04154	0,00000	8,38389	2,90077	3
59	^4He	3,4	0,12973	0,01874	1,07763	0,00000	7,64652	3,47030	5
60	^3He	3,9	0,19970	0,01898	0,31768	0,08762	6,82716	1,94012	18
61	^3He	3,92	0,19970	0,01898	0,27198	0,11748	7,71477	2,07795	18
62	^3He	4,07	0,19970	0,01898	0,52863	0,05390	5,91718	2,07984	18
63	^3He	5,5	0,19970	0,01898	0,00000	0,10029	5,30945	1,52958	18
64	^3He	5,5	0,19970	0,01898	0,17136	0,08260	4,88939	1,64767	18
65	^4He	5,9	0,14466	0,02614	0,70878	0,00000	3,24616	1,96135	4
66	^3He	7,3	0,19970	0,01898	0,00000	0,08542	3,90067	1,41167	18
67	^3He	7,39	0,19970	0,01898	0,19004	0,06633	3,47840	1,53702	18
68	^3He	7,73	0,19970	0,01898	0,25823	0,03994	2,71823	1,39063	18
69	^4He	8,8	0,14173	0,02605	0,46650	0,02379	2,34778	1,63699	3
70	^4He	9,93	0,32761	0,00809	0,00000	0,07375	2,82239	1,20591	2
71	^3He	10,1	0,19970	0,01898	0,00000	0,07636	2,83392	1,33473	18
72	^3He	10,1	0,19970	0,01898	0,00000	0,07302	2,77125	1,30522	18
73	^4He	39	0,13513	0,02688	0,20349	0,02911	0,61457	1,15266	15
74	^7Li	9,85	0,32761	0,00809	0,37403	0,15738	9,74054	2,30565	2
75	^{11}B	5	0,14466	0,02614	1,33425	0,00000	44,35120	3,69215	4
76	^{11}B	9,17	0,32761	0,00809	1,29465	0,18422	41,14980	4,18880	2
77	^{11}B	10,3	0,14466	0,02614	0,70062	0,14014	27,98730	3,00762	4
78	^{12}C	1,92	0,19970	0,01898	0,80689	0,00000	69,26870	2,25171	18
79	^{12}C	1,98	0,19970	0,01898	0,86206	0,00000	72,87920	2,40566	18
80	^{12}C	2,4	0,10395	0,02506	0,51634	0,01463	51,03470	1,78481	16
81	^{12}C	2,55	0,19970	0,01898	0,81458	0,00369	62,20670	2,31045	18
82	^{12}C	3,42	0,19970	0,01898	1,00531	0,01306	65,62180	2,91015	18
83	^{12}C	4,2	0,10395	0,02506	0,49171	0,07057	55,03110	2,31890	16

dalsza część na kolejnej stronie

Lp.	Jon	E	α_{ref}	β_{ref}	α	β	$\sigma_{5\%}$	RBE _{5%}	Pub.
86	^{12}C	5,4	0,10395	0,02506	0,88657	0,00000	39,31760	2,67954	16
87	^{12}C	5,64	0,19970	0,01898	1,07006	0,00000	46,05930	2,98610	18
88	^{12}C	6,37	0,19970	0,01898	0,86599	0,06496	48,86600	2,93327	18
89	^{12}C	6,4	0,19107	0,02025	0,72375	0,00000	28,50780	2,01195	17
90	^{12}C	6,7	0,13877	0,03186	1,08427	0,00000	41,23660	2,80893	24
91	^{12}C	7,6	0,19970	0,01898	1,29795	0,00000	44,99160	3,62205	18
92	^{12}C	8,93	0,32761	0,00809	1,17878	0,07572	46,44180	3,45631	2
93	^{12}C	10,2	0,03287	0,03348	0,70255	0,00000	19,33650	2,10623	2
94	^{12}C	11	0,10395	0,02506	1,03714	0,00000	26,80250	3,13461	16
95	^{12}C	11	0,19107	0,02025	1,05483	0,00000	27,25960	2,93230	17
96	^{12}C	11	0,10395	0,02506	1,50438	0,00000	38,87730	4,54678	20
97	^{12}C	11,4	0,19970	0,01898	0,95243	0,11062	37,47690	3,41380	18
98	^{12}C	12,4	0,19970	0,01898	1,43317	0,00000	33,42040	3,99940	18
99	^{12}C	12,9	0,19970	0,01898	1,49169	0,00000	33,60090	4,16271	18
100	^{12}C	13,9	0,19970	0,01898	1,07643	0,02268	25,18280	3,17076	18
101	^{12}C	14,9	0,19970	0,01898	1,31170	0,03102	28,56880	3,84848	18
102	^{12}C	16	0,19107	0,02025	0,47836	0,29492	35,94120	3,36112	17
103	^{12}C	18,1	0,19970	0,01898	1,03741	0,06549	22,51860	3,35094	18
104	^{12}C	18,5	0,11958	0,02546	0,76012	0,05428	17,89470	2,72869	23
105	^{12}C	18,8	0,16122	0,01920	0,73818	0,03772	15,86130	2,60270	30
106	^{12}C	19	0,13877	0,03186	1,37911	0,00000	21,71060	3,57275	24
107	^{12}C	21,9	0,19970	0,01898	0,96593	0,05842	17,65720	3,13088	18
108	^{12}C	24,5	0,19970	0,01898	0,79460	0,10163	17,02460	3,00612	18
109	^{12}C	25,2	0,19970	0,01898	1,02436	0,02232	14,02570	3,03039	18
110	^{12}C	33,5	0,19970	0,01898	0,60977	0,09198	12,00630	2,54483	18
111	^{12}C	35	0,19107	0,02025	0,65713	0,06588	10,56610	2,44943	17
112	^{12}C	35,4	0,19970	0,01898	0,55008	0,07408	10,33560	2,28979	18
113	^{12}C	41,7	0,19970	0,01898	0,85302	0,02173	8,21969	2,57718	18
114	^{12}C	54,8	0,19970	0,01898	0,61968	0,02565	5,51796	2,02484	18
115	^{12}C	55,6	0,19970	0,01898	0,00000	0,23283	10,96110	2,33060	18
116	^{12}C	76,9	0,10395	0,02506	0,35796	0,02171	3,16772	1,48262	16
117	^{12}C	78,6	0,19970	0,01898	0,00000	0,10303	5,55662	1,55038	18
118	^{12}C	82,3	0,19970	0,01898	0,29391	0,03867	3,57445	1,44464	18
119	^{12}C	83	0,19107	0,02025	0,47834	0,00000	2,28974	1,32974	17
120	^{12}C	92,5	0,03287						

Tabela B.1 – Kontynuacja

Lp.	Jon	E	α_{ref}	β_{ref}	α	β	$\sigma_{5\%}$	RBE _{5%}	Pub.
123	^{12}C	144	0,16654	0,03386	0,00000	0,03714	2,12423	0,80872	25
124	^{12}C	171	0,18012	0,01921	0,28394	0,02482	1,73982	1,29758	22
125	^{12}C	190,7	0,10395	0,02506	0,22897	0,02776	1,63150	1,28383	16
126	^{12}C	266,4	0,10395	0,02506	0,25293	0,02700	1,32791	1,32293	16
127	^{12}C	283	0,19107	0,02025	0,00000	0,04920	1,58159	1,06719	17
128	^{12}C	289	0,16122	0,01920	0,17577	0,02818	1,23517	1,17329	30
129	^{12}C	290	0,13877	0,03186	0,29308	0,01828	1,12121	1,09495	24
130	^{14}N	3,8	0,14466	0,02614	0,78938	0,00000	59,42720	2,18438	4
131	^{14}N	14,4	0,13513	0,02688	0,72272	0,12435	40,09770	2,98030	15
132	^{14}N	20,3	0,20305	0,02631	1,19187	0,00000	24,52460	2,97931	12
133	^{14}N	37	0,13513	0,02688	0,00000	0,24757	21,79780	2,39725	15
134	^{16}O	10,8	0,29052	0,01691	1,12618	0,00000	52,36260	2,72590	11
135	^{20}Ne	7,71	0,19970	0,01898	0,48225	0,02340	65,76020	1,67217	18
136	^{20}Ne	12,8	0,19970	0,01898	0,82659	0,02423	62,00800	2,53010	18
137	^{20}Ne	14	0,29052	0,01691	0,99089	0,00000	57,56420	2,39844	11
138	^{20}Ne	17,5	0,19970	0,01898	1,21519	0,00000	57,31030	3,39112	18
139	^{20}Ne	18,2	0,19970	0,01898	0,91635	0,01483	45,86840	2,68597	18
140	^{20}Ne	21,7	0,19970	0,01898	1,29738	0,00000	50,06220	3,62047	18
141	^{20}Ne	24,7	0,19970	0,01898	0,84353	0,09070	46,14250	3,04813	18
142	^{20}Ne	30,2	0,19970	0,01898	0,80926	0,10213	41,35430	3,04164	18
143	^{20}Ne	31,1	0,19970	0,01898	0,92338	0,07198	38,60770	3,11577	18
144	^{20}Ne	35,7	0,19970	0,01898	0,88387	0,10166	37,28240	3,20621	18
145	^{20}Ne	38,4	0,19970	0,01898	1,08845	0,02946	30,85100	3,24895	18
146	^{20}Ne	57,5	0,19970	0,01898	0,35944	0,17176	26,55930	2,56514	18
147	^{20}Ne	68,1	0,19970	0,01898	0,55752	0,14837	22,69850	2,79445	18
148	^{20}Ne	78,6	0,19970	0,01898	0,67102	0,06288	15,40340	2,46712	18
149	^{20}Ne	84,2	0,19970	0,01898	0,55598	0,08546	15,36880	2,38681	18
150	^{20}Ne	129	0,19970	0,01898	0,62983	0,02959	8,39899	2,08822	18
151	^{20}Ne	130	0,19970	0,01898	0,28332	0,07829	9,72569	1,80341	18
152	^{20}Ne	130	0,19970	0,01898	0,54597	0,06334	9,90832	2,19633	18

Poniżej załączono chronologiczną numerację publikacji (Pub.), z których pochodzą dane radiobiologiczne zawarte w tabeli B.1:

- | | |
|--------------------------------|-----------------------------|
| 1. Hall et al. (1972) | 16. Weyrather et al. (1999) |
| 2. Bird i Burki (1975) | 17. Aoki et al. (2000) |
| 3. Cox et al. (1977) | 18. Furusawa et al. (2000) |
| 4. Thacker et al. (1979) | 19. Böhrnsen et al. (2002) |
| 5. Schlag i Lücke-Huhle (1981) | 20. Scholz (2003) |
| 6. Perris et al. (1986) | 21. Hill et al. (2004) |
| 7. Folkard et al. (1989) | 22. Staab et al. (2004) |
| 8. Prise et al. (1990) | 23. Zhou et al. (2006) |
| 9. Raju et al. (1991) | 24. Belli et al. (2008) |
| 10. Jenner et al. (1993) | 25. Hirayama et al. (2009) |
| 11. Weber i Flentje (1993) | 26. Claesson et al. (2011) |
| 12. Stenerlöv et al. (1995) | 27. Doria et al. (2012) |
| 13. Folkard et al. (1996) | 28. Jeynes et al. (2013) |
| 14. Belli et al. (1998) | 29. Tracy et al. (2015) |
| 15. Tilly et al. (1999) | 30. Furusawa et al. (2017) |