

Recenzja rozprawy doktorskiej pani mgr. Moniki Mietelskiej

zatytułowanej

Wielkości nanodozymetryczne w analizie skutków napromieniania komórek V79 lekkimi jonami

Wyjaśnienia mechanizmów działania promieniowania jonizującego na organizmy żywe stanowi przedmiot nieprzerwanego zainteresowania radiobiologii od ponad stu lat. W początkowym okresie metoda badań polegała często na próbie powiązania przeżywalności prostych obiektów biologicznych z dawką pochłoniętą oraz z parametrami charakteryzującymi gęstość jonizacji użytego promieniowania. Na bazie tych doświadczeń sformułowano liczne modele fenomenologiczne, z których największą popularność zyskał model liniowo-kwadratowy. Jedną z jego odmian był model Chadwicka i Leenhoutsa (1973), w którym założono, że odpowiedź komórki można wyjaśnić analizując uszkodzenia podwójnej spirali DNA. Pół wieku później tym samym tropem podążyła pani mgr Monika Mietelska, która podjęła się zadania skorelowania obszernych wyników badań przeżywalności komórek fibroblastów płuc chomika chińskiego, zebranych w bazie danych PIDE, z wielkością nanodozymetryczną R_2 , charakteryzującą prawdopodobieństwo otrzymania co najmniej dwóch jonizacji w pewnej założonej objętości segmentu DNA. Praca została wykonana pod opieką pani dr hab. Beaty Brzozowskiej, w Jej dynamicznie rozwijającym się zespole badawczym na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego.

Cele, zakres pracy i metoda

Rozprawa doktorska pani mgr Moniki Mietelskiej składa się z sześciu rozdziałów wraz z dodatkami, streszczeniami w języku polskim i angielskim, spisami tabel i rysunków. Całość mieści się na 130 stronach. Praca jest bardzo starannie wydana pod względem graficznym - dobór czcionki, wielkości równań oraz jakość użytych rysunków jest znakomita.

Celem rozprawy jest próba wykazania zalet w stosowaniu wielkości nanodozymetrycznej R_2 do oceny skuteczności biologicznej promieniowania, co może mieć szczególne znaczenie dla rozwijanej współcześnie radioterapii lekkimi jonami oraz w interpretacji ryzyka w ochronie radiologicznej. Potrzeba takiej analizy została uzasadniona wadami dotychczasowego podejścia, ustalającego arbitralnie najmniejszą liczbę jonizacji, mogących wywołać podwójnoniciowe uszkodzenie DNA. Dodatkową tezę pracy jest możliwość zastosowania średniego rozmiaru klastra M_1 jako metryki w ocenie gęstości jonizacji jonu w miejsce liniowego przekazu energii (ang. LET). Motywacją podjęcia tej tematyki badań Autorka uzasadniła ograniczeniami w stosowaniu LET do oceny skutków biologicznych po ekspozycji różnymi modalnościami promieniowania jonizującego.

Rozdział 2 stanowi bardzo solidne wprowadzenie do tematu pracy i użytej terminologii. Podoba mi się jak w rozdziale 2.2 Autorka w sposób pogłębiony przedstawiła złożoność decyzji dotyczącej wyboru wartości klinicznej RBE w radioterapii protonowej. Zalecana przez ICRU78 wartość 1,1 jest kompromisem między obserwacjami klinicznymi, a wynikami niezliczonych eksperymentów radiobiologicznych *in vitro*. Często w publikacjach pokazujących dla protonów RBE >1 wyciągane są dość pochopne wnioski, aby bezpośrednio uwzględnić te wartości w planowaniu leczenia. Ważnym z punktu widzenia zrozumienia rozprawy jest rozdział 2.3, w którym zdefiniowano wielkości nanodozymetryczne, w szczególności R_2 . Doceniam również wprowadzenie do modeli radiobiologicznych, w szczególności do modelu Chadwicka & Lenthouse, którzy to jako jedni z pierwszych postawili hipotezę o roli DNA w przeżywalności komórki po napromienieniu. Rozdział ten

może być dobrym wprowadzeniem do nanodozymetrii i do opartych na niej modelach radiobiologicznych.

Praca zasadniczo ma charakter obliczeniowy, choć pewną weryfikacją obliczeń stanowiły pomiary rozkładów nanodozymetrycznych rozwijane w Narodowym Centrum Badań Jądrowych na stanowisku Jet Counter. Pomiary te prowadziły połączone zespoły NCBJ i UW, choć szczegółowa rola pani mgr. Mietelskiej w tych pomiarach nie została w pracy określona. Wartości linowego przekazu energii LET wyliczono kodem SRIM, natomiast zasadnicze obliczenia rozkładów nanodozymetrycznych i wielkości R_2 dla licznych kombinacji energii i rodzaju lekkich jonów prowadzono kodem Geant4DNA. Parametr R_2 pojawił się już wcześniej w rozprawie doktorskiej Marcina Pietrzaka w 2023 roku.

Oryginalne dane radiobiologiczne dotyczące przeżywalności komórek V79 fibroblastów płuc chomika chińskiego V79 zostały pobrane z bazy danych PIDE i poddane przez Autorkę szczegółowej analizie, a niekiedy i potrzebnej korekcie. W rezultacie, w pracy wykorzystano oryginalne wartości współczynników α , β z bazy PIDE, przy czym samodzielnie wyznaczono wartości LET biorąc pod uwagę informacje dotyczące energii jonów. Realizacja pracy polegała na wyliczeniu metodą MC wartości wielkości nanodozymetrycznych dla 152 kombinacji rodzaju jonów i energii protonów w zakresach energii właściwych dla radioterapii lekkojonowej i zestawieniu ich z przepracowanymi danymi eksperymentalnymi z bazy PIDE.

Omówienia i ocena wyników pracy:

Wyniki rozprawy to pogłębiona analiza korelacji między obliczonymi wartościami wielkości nanodozymetrycznych, a starannie przefiltrowanymi wartościami α i β z bazy PIDE.

Pani mgr M. Mietelska zweryfikowała wyniki swoich symulacji rozmiaru klastra prowadzonymi kodem Geant4DNA po ekspozycji protonami 60 MeV, cząstkami α o energii 4,6 MeV oraz jonami węgla o energii 82 MeV z wynikami odpowiednich pomiarów licznikiem Jet Counter (JC). JC został skonstruowany i jest użyteczny przez zespół pracowników NCBJ, z którymi współpracuje grupa z UW. Pani mgr Mietelska jest współautorem publikacji z pomiarów licznikiem JC, ale z treści rozprawy nie wynika dokładnie jaka była jej rola w tych pomiarach. Walidacja kodu GEANT w stosunku do pomiarów system JC była opublikowana już wcześniej m.in. w pracy doktorskiej Marcina Pietrzaka tyle, że dla innego zestawu jonów.

Zestawienie średnich rozmiarów klastra M_1 , obliczonych kodem Geant4DNA, i LET, obliczonych kodem SRIM, w skali podwójnie logarytmicznej wydaje się sugerować wzajemną jednoznaczność LET i M_1 w szerokim zakresie energii. W rzeczywistości zależności dla poszczególnych jonów ulegają „rozszerzeniu”, w szczególności dla lekkich jonów. Jest to zrozumiałe ze względu na różne zasięgi delta elektronów dla jonów o tym samym LET, ale innej prędkości. Ten aspekt nie był dyskutowany w pracy, choć może nie był dla niej najważniejszy.

Istotną część wyników zajmuje wyznaczenie przekroju czynnego na inaktywację. Godne podkreślenia są próby pogłębionej analizy danych komórkowych uzyskanych z bazy PIDE mających wpływ na niepewność wyników w tym spojrzenie na podtyp linii komórkowej, próba eliminacji odstających danych komórkowych czy przegląd wyników poszczególnych laboratoriów. W pracy wybrano określenie przekroju czynnego na poziomie przeżywalności 5%. Autorka formułuje tezę, że dla skalowania przekroju czynnego na inaktywację można stosować M_1 zamiast LET, gdyż zamiana tych wielkości nie wpływa na zmianę trendu tej zależności. W dyskusji nie znalazłem jednak przekonującego uzasadnienia, jakie korzyści daje takie podejście. Zarówno LET jak i M_1 są w praktyce wielkościami

niemierzalnymi w normalnych warunkach klinicznych, choć przybliżony pomiar zdolności hamowania można prowadzić dość prostymi środkami. Możemy tą sprawę przedyskutować na publicznej obronie rozprawy doktorskiej.

Rozdział 5.3 nazwałbym raczej wyznaczeniem parametrów modelu $\sigma_{5\%} = K R_2$ gdzie poszukiwanymi parametrami są K , p i d . Przy tej analizie wydaje się użycie targetu kulistego zamiast cylindrycznego za bardziej użyteczne, choć byłoby to może przeciwko głęboko zakorzenionej wierze nanodozymetrii o wyższości targetu cylindrycznego nad kulistym. Target kulisty zmniejsza ilość wolnych parametrów, a szukanie minimum lokalnego przy 4 parametrach jest na ogół słabo zbieżne, co pokazał zresztą Rys. 5.11. Jako dygresję warto przypomnieć, że wprowadzenie targetu cylindrycznego przy modelowaniu to efekt rywalizacji między D. Goodheadem i A. Kellererem. W połowie lat 80-tych Goodhead polecił liczenie częstość jonizacji swojemu doktorantowi Nikjoo w cylindrach, aby odróżnić się od modelowania Kellerera prowadzonego w targetach kulistych. Ostatecznie w wyniku minimalizacji χ^2 Autorka rozprawy zaproponowała zestaw parametrów: $K = 59 \text{ mm}^2$ przy $p=0.3$ i $d=2,3 \text{ nm}$. W konkluzji, Autorka stwierdziła, że uzyskane w ten sposób dopasowanie parametrów modelu R_2 daje lepszą jego korelację z przekrojem czynnym na inaktywację w porównaniu do wielkości F_k .

W dalszej części analizy widać pewne wahania Autorki dotyczące wyboru rozmiarów targetu i ostateczny wybór „klasycznej” wielkości $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$. Dyskusja, traktująca o przewadze wartości parametru $p=0.3$ nad $p=0.8$, jest chyba zbyt jakościowa („...wydaje się lepiej charakteryzować prawdopodobieństwo..”). Dalej Autorka przeprowadziła staranną analizę statystyczną badając jak $\sigma_{5\%}$ zależy od R_2 i F_k wykazując finalnie zalety użycia parametru R_2 . Uzyskany maksymalny przekrój czynny na inaktywację $59 \text{ }\mu\text{m}^2$ jest porównywalny z wynikami znanymi z literatury oraz z pomiarami powierzchni przekroju poprzecznego jądra komórek V79. Finalnym wynikiem pracy jest wykazanie możliwości odtworzenia przebieg względnej skuteczności biologicznej, RBE, jako stosunku parametru R_2 do średniego rozmiaru klastra M_1 .

Rozprawa doktorska pani mgr Moniki Mietelskiej przedstawia dogłębną i wartościową analizę zależności między przeżywalnością komórek eksponowanych jonami i odpowiednimi wielkościami nanodozymetrycznymi. W trakcie czytania rozprawy nasunęło mi się szereg uwag i spostrzeżeń, zapisanych poniżej.

1) Terminologia i drobne uwagi stylistyczne

- a) Konieczność publikowania w języku angielskim spowalnia w naturalny sposób rozwój polskiej terminologii. Dlatego praca doktorska jest dobrą, ale jednocześnie trudną okazją do jej zaproponowania. W przypadku bieżącej rozprawy moje wątpliwości budzi użycie terminu „depozyt energii” w dwóch różnych znaczeniach. Z jednej strony, w definicji dawki pochłoniętej, Autorka prawidłowo używa terminu „energia przekazana” jako suma depozytów energii, gdzie depozyt energii jest rozumiany (ICRU 98) jako energia przekazana do targetu w pojedynczym oddziaływaniu. Z drugiej strony na rys. 2.2. oraz w tekście termin „depozyt energii” został użyty jako zdolność hamowania jonów (w stopce winno być raczej „zderzeniowa” zdolność hamowania zamiast „kolizyjna”). Warto dodać, że depozyt energii jest wielkością stochastyczną, stanowiącą punkt wyjścia w definicjach wielkości stochastycznych, takich jak energia liniowa czy energia właściwa.
- b) Zastanawia mnie też konwencja zaczerpnięta z literatury pisanie wymiarów targetu cylindrycznego jako np. $2,3 \times 3,4 \text{ nm}^2$. Skoro mowa o objętości (a nie przekroju targetu) to powinno być raczej $2,3 \text{ nm} \times 3,4 \text{ nm}^2$?
- c) Str. 9 Tytuł rozdziału 2.1.1 to „Stadia oddziaływań z żywą materią” natomiast w tekście jest mowa o „etapach”. W języku naukowym staramy się nie używać synonimów, język powinien być jednoznaczny, nawet jak będzie trochę chropawy.

- d) Str. 17. „Międzynarodowa Agencja Energii Atomowej (IAEA, z ang. International Atomic Energy Agency) podaje ...” - raczej jakiś raport IAEA podaje
- e) Str. 19: - Ważony LET” - mowa tu chyba o średniej (wartości LET-a) ważonej po dawce.
- f) Str. 19: „...Elektron o energii 1 MeV, emitowany na przykład przez ^{60}Co ...”: ^{60}Co nie emituje elektronu o energii 1 MeV, lecz podczas rozpadu elektrony o energii 0,31 MeV lub 1,48 MeV. Foton z ^{60}Co o energii 1,33 MeV może wyprodukować elektron Comptona o energii 1 MeV
- g) Str. 42 jest “Z resztą” winno być „zresztą”
- h) Str. 76 „z tylko jednokrotną możliwością” – winno być „możliwością”

2) Zagadnienia merytoryczne do dyskusji

- a) Na czym polega przewaga w stosowaniu M_1 zamiast LET?
- b) W modelu R_2 mamy do dyspozycji zasadniczo cztery parametry, tzn. K, p oraz dwa parametry charakteryzujące rozmiar targetu. Czy istnieją jakieś powody, aby przy zmianie rodzaju komórki biologicznej modyfikować rozmiary targetu? Czy pierwszorzędowa struktura DNA dla komórek biologicznych powinna być taka sama?
- c) Czy można zaproponować jakiś eksperyment, który wykaże błędność modelu/podejścia R_2 ?

Podsumowanie:

Rozprawa doktorska pana mgr Moniki Mietelskiej jest przykładem ciekawej analizy możliwości charakteryzowania zdolności jonizacji promieniowania oraz jego potencjalnej skuteczności biologicznej poprzez wielkości nanodozymetryczne. Przedmiotem rozprawy jest próba wykazania, że proponowana R_2 stanowi alternatywną metrykę charakteryzującą uszkodzenia radiacyjne DNA, co może znaleźć zastosowanie w modelowaniu biofizycznym, a w przyszłości w planowaniu leczenia. Rozprawa jest napisana w klarowny sposób i może stanowić wartościowy wstęp dla nowych adeptów modelowania nanodozymetrycznego. Sposób analizy danych i ich zastosowanie w interpretacji wyników świadczą o bardzo dobrym opanowaniu warsztatu naukowego i rozległej wiedzy Autorki w tej dziedzinie. Pani mgr M. Mietelska w pełni zrealizowała cele postawione w pracy, a wymienione w recenzji uwagi polemiczne w najmniejszym stopniu nie naruszają wyników pracy. W tej sytuacji moja ocena rozprawy jest pozytywna. Uważam, że recenzowana rozprawa spełnia całkowicie wymagania stawiane dysertacjom na stopień doktora nauk fizycznych i wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Fizyczne Uniwersytetu Warszawskiego o dopuszczenie pani magister Moniki Mietelskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego



Paweł Olko

Kraków, 15.11.2024