

UNIWERSYTET
WARSZAWSKI

WYDZIAŁ
FIZYKI

Instytut Fizyki Doświadczalnej
Zakład Fizyki Biomedycznej

Rozprawa doktorska

Nanodozymetryczna sygnatura uszkodzeń komórkowych indukowanych cząstkami naładowanymi

Mateusz Filipek

Promotorzy:
dr hab. Beata Brzozowska prof. UW
dr hab. Zygmunt Szefliński (ŚLCJ UW)

Dyscyplina:
nauki fizyczne

Warszawa, lipiec 2026

Streszczenie

Celem niniejszej rozprawy było określenie zależności pomiędzy nanometrową strukturą toru promieniowania a odpowiedzią radiobiologiczną komórek prawidłowych i nowotworowych napromienianych protonami, cząstkami α oraz jonami węgla. Przeanalizowałem możliwość wykorzystania parametrów opisujących rozkłady wielkości klastrów jonizacyjnych jako deskryptorów jakości promieniowania, uzupełniających klasyczne wielkości, takie jak liniowy przekaz energii (LET) i względna skuteczność biologiczna (RBE). W części eksperymentalnej scharakteryzowałem źródło ^{241}Am oraz skonstruowałem układ do napromieniania komórek cząstkami α. Model źródła przygotowany w środowisku Geant4 zweryfikowałem za pomocą detektora krzemowego i filmów radiochromowych EBT3–Unlaminated. W opracowanym układzie napromieniłem komórki raka gruczołu krokowego PC3 i DU145, a ich odpowiedź oceniłem za pomocą testu klonogennego. Rozkłady wielkości klastrów jonizacyjnych wyznaczyłem na podstawie symulacji Geant4-DNA, zliczając jonizacje w cylindrach odpowiadających fragmentowi DNA obejmującemu około 10 par zasad. Na podstawie uzyskanych rozkładów obliczyłem średni rozmiar klastra M_1, skumulowane prawdopodobieństwa F_k oraz ważoną skumulowaną funkcję prawdopodobieństwa, nazywaną dalej parametrem R_2. Wyniki wykazują, że cząstki o zbliżonych wartościach LET mogą prowadzić do odmiennych rozkładów klastrów jonizacyjnych, co oznacza, że LET nie opisuje jednoznacznie lokalnego rozkładu jonizacji w skali DNA. Parametr R_2 był bardziej stabilnym deskryptorem niż pojedyncze parametry progowe F_k. Parametry nanodozymetryczne powiązałem z efektywnym przekrojem czynnym na inaktywację komórki $\sigma_{5\%}$, wyznaczanym między innymi na podstawie parametrów α i β modelu liniowo-kwadratowego. Dla prawidłowych linii komórkowych otrzymałem zależność $\sigma_{5\%} = KR_2 + B$, na podstawie której oszacowałem wartość parametru K, porównywalną z polem przekroju poprzecznego jądra komórkowego. Różnice w promieniowrażliwości linii nowotworowych opisałem za pomocą parametru p, określającego prawdopodobieństwo akumulacji uszkodzeń letalnych w modelu R_2. Parametr ten wykazywał odwrotną zależność od pola pod krzywą przeżywalności dla promieniowania referencyjnego, stosowanego jako miara promieniowrażliwości. Uzyskane wyniki wskazują, że parametry nanodozymetryczne dostarczają informacji niedostępnych w opisie opartym wyłącznie na LET i dawce. Połączenie parametru R_2, opisującego fizyczną strukturę toru, z parametrem p, powiązanym z indywidualną promieniowrażliwością komórek, może stanowić podstawę bardziej uniwersalnego opisu odpowiedzi biologicznej na promieniowanie cząstek naładowanych.

Słowa kluczowe:

nanodozymetria, struktura toru promieniowania, klastry jonizacyjne, ICSD, model R_2, prawdopodobieństwo uszkodzeń subletalnych, Geant4-DNA, przeżywalność komórek, liniowy przekaz energii, względna skuteczność biologiczna, model liniowo-kwadratowy

Abstract

The aim of this dissertation was to determine the relationship between the nanometre-scale structure of radiation tracks and the radiobiological response of normal and tumour cells irradiated with protons, α particles, and carbon ions. I investigated whether parameters describing ionization cluster size distributions could serve as radiation-quality descriptors complementary to conventional quantities such as linear energy transfer (LET) and relative biological effectiveness (RBE). In the experimental part, I characterized a ^{241}Am source and constructed a system for irradiating cells with α particles. The source model developed in Geant4 was validated using a silicon detector and EBT3–Unlaminated radiochromic films. Using the developed setup, I irradiated PC3 and DU145 prostate cancer cells and assessed their response with a clonogenic assay. Ionization cluster size distributions were determined from Geant4-DNA simulations by counting ionizations within cylindrical volumes corresponding to a DNA segment of approximately 10 base pairs. From the resulting distributions, I calculated the mean cluster size M_1, the cumulative probabilities F_k, and the weighted cumulative probability fraction, hereafter denoted as the R_2 parameter. The results showed that particles with similar LET values may produce different ionization cluster size distributions, indicating that LET does not uniquely describe the local spatial distribution of ionizations at the DNA scale. The R_2 parameter was a more stable descriptor than the individual threshold parameters F_k. I related the nanodosimetric parameters to the effective cell-inactivation cross section $\sigma_{5\%}$, determined, among other quantities, from the α and β parameters of the linear-quadratic model. For normal cell lines, I obtained the relationship $\sigma_{5\%} = KR_2 + B$, from which I estimated the value of the parameter K, comparable to the cross-sectional area of the cell nucleus. Differences in the radiosensitivity of tumour cell lines were described using the parameter p, representing the probability of lethal damage accumulation in the R_2 model. This parameter was inversely related to the area under the survival curve for reference radiation, commonly used as a measure of radiosensitivity. The results indicate that nanodosimetric parameters provide information unavailable from a description based solely on LET and dose. Combining the R_2 parameter, which describes the physical structure of the radiation track, with the parameter p, being associated with the individual radiosensitivity of cells, may provide a basis for a more universal description of the biological response to charged-particle radiation.

Keywords:

nanodosimetry, radiation track structure, ionisation clusters, ICSD, R_2 model, probability of sublethal damage, Geant4-DNA, cell survival, linear energy transfer, relative biological effectiveness, linear-quadratic model

Podziękowania

Na wstępie chciałbym wyrazić szczególną wdzięczność opiekunom naukowym tej pracy, bez których wiedzy, zaangażowania i wsparcia jej powstanie nie byłoby możliwe.

Zygmuntowi Szeflińskiemu dziękuję za to, że już podczas pierwszego wykładu z Fizyki I utwierdził mnie w przekonaniu, że znalazłem się na właściwych studiach i wybrałem odpowiednią drogę. Od piętnastu lat nieustannie dzielisz się ze mną swoją ogromną wiedzą, doświadczeniem i pasją do fizyki. Dziękuję Ci za wszystkie inspirujące rozmowy, życzliwość, cierpliwość oraz wsparcie udzielane zarówno w pracy naukowej, jak i na kolejnych etapach mojego rozwoju.

Beacie Brzozowskiej dziękuję za niewyczerpane pokłady motywacji, nieustanną wiarę we mnie oraz tysiące godzin poświęconych rozmowom, analizom, poprawkom i wspólnemu poszukiwaniu najlepszych rozwiązań. Dziękuję Ci za stworzenie grupy badawczej, z którą nie tylko wspaniale się pracuje, ale również po prostu dobrze jest być. Twoja otwartość, zaangażowanie i troska o rozwój każdego z nas miały ogromny wpływ zarówno na powstanie tej pracy, jak i na moje podejście do nauki i współpracy.

Marcinowi Pietrzakowi dziękuję za entuzjazm, z jakim wprowadzał mnie w tematykę prowadzonych badań, oraz za jasne i przystępne wyjaśnianie nawet najbardziej złożonych zagadnień. Jestem wdzięczny za wszystkie konsultacje, cenne uwagi i gotowość do dzielenia się specjalistyczną wiedzą. Twój profesjonalizm, doświadczenie oraz otwartość na dyskusję stanowią dla mnie nieocenione wsparcie na wielu etapach realizacji tej pracy.

Adriannie Tartas, Beacie Pszczółkowskiej-Kępie oraz **Monice Kopińskiej**, czyli wspaniałym towarzyszkom z pokoju 4.58, dziękuję za wspólne projekty, rozmowy, zakupy, niezliczone godziny narzekania i śmiechu, a przede wszystkim za codzienną obecność, wsparcie i atmosferę, dzięki której nawet trudniejsze chwile stawały się łatwiejsze.

Całemu zespołowi Zakładu Fizyki Biomedycznej dziękuję za cenne dyskusje prowadzone podczas czwartkowych spotkań przy kawie, życzliwą atmosferę, dzielenie się wiedzą i doświadczeniem oraz nieustanną gotowość do współpracy.

Rodzicom dziękuję za stworzenie mi możliwości rozwoju i bezwarunkowe wsparcie. Dziękuję za cierpliwość, wyrozumiałość i poczucie, że niezależnie od napotykanych trudności zawsze mogłem liczyć na Waszą obecność i pomoc.

Rodzinie i Przyjaciołom dziękuję za towarzyszenie mi na tej długiej drodze, za zainteresowanie moją pracą, choć jej tematyka nie zawsze była łatwa do wyjaśnienia, oraz za wszystkie rozmowy pozwalające na chwilę oderwać się od doktoratu.

Adamowi dziękuję za całą wspólnie przebytą drogę — zarówno tę naukową, jak i tę osobistą. Za wzajemne motywowanie się, bezgraniczne zaufanie, cierpliwość oraz obecność we wszystkich dobrych i trudnych momentach. Dziękuję za to, że zawsze mogłem liczyć na Twoje wsparcie, zrozumienie i wiarę we mnie, szczególnie w chwilach, gdy sam zaczynałem w siebie wątpić.

Victory belongs to the most tenacious

— Roland Garros

SPIS TREŚCI

Spis rysunków . . . XI
Spis tabel . . . XIII
Spis wybranych skrótów i akronimów . . . XV

1 Wprowadzenie **1**
1.1 Motywacja . . . 1
1.2 Cel pracy . . . 3
1.3 Struktura pracy . . . 4

2 Oddziaływanie promieniowania jonizującego z materią **7**
2.1 Promieniowanie jonizujące . . . 7
2.1.1 Promieniowanie korpuskularne . . . 8
2.1.2 Promieniowanie elektromagnetyczne . . . 12
2.1.3 Metody detekcji promieniowania . . . 14
2.2 Jądro komórkowe a efekty biologiczne promieniowania jonizującego . . . 16
2.2.1 Etapy oddziaływania promieniowania z materiałem biologicznym . 17
2.2.2 Uszkodzenia i mechanizmy naprawy DNA . . . 18
2.2.3 Sposoby pomiaru uszkodzeń DNA – eksperymenty radiobiologiczne 19
2.3 Parametry opisujące jakość i skuteczność promieniowania jonizującego . . 22
2.3.1 Parametry fizyczne – dawka i LET . . . 22
2.3.2 Parametry radiobiologiczne – RBE i σ . . . 25
2.3.3 Promieniowrażliwość komórek . . . 28
2.4 Nanodozymetria i parametry struktury toru promieniowania w nanoskali 29
2.4.1 Pojęcia podstawowe . . . 30
2.4.2 Parametry nanodozymetryczne . . . 31

3 Przygotowanie danych i metody analizy **35**
3.1 Dane radiobiologiczne . . . 35

3.1.1 Baza PIDE . . . 36
3.1.2 Eksperyment radiobiologiczny . . . 38
3.2 Estymacja parametrów modelu LQ . . . 47
3.3 Symulacje Monte Carlo . . . 50
3.3.1 Charakterystyka protonów, cząstek α i jonów węgla . . . 50
3.3.2 Modelowanie rozkładu dawki . . . 51
3.3.3 Symulacje struktury toru cząstek . . . 52
3.4 Modelowanie klastrów jonizacyjnych . . . 55
3.4.1 Wyznaczanie wartości LET z symulacji . . . 55
3.4.2 Zliczanie liczby jonizacji w cylindrze . . . 56
3.4.3 Procedura losowania cylindrów . . . 57
3.4.4 Szacowanie liczby klastrów zerowych . . . 59
3.5 Nanodozymetryczny opis odpowiedzi radiobiologicznej . . . 62
3.5.1 Wyznaczenie parametru K . . . 62
3.5.2 Analiza parametru p . . . 63
3.5.3 RBE a promieniowrażliwość komórkowa . . . 65

4 Wyniki i dyskusja **67**
4.1 Charakterystyka dozymetryczna i walidacja modelu źródła ^{241}Am . . . 67
4.1.1 Określenie budowy źródła ^{241}Am . . . 68
4.1.2 Dozymetria układu do napromieniania komórek . . . 71
4.1.3 Podsumowanie . . . 75
4.2 Test przeżywalności . . . 75
4.3 Porównanie parametrów LQ uzyskanych trzema metodami . . . 78
4.4 ICSD oraz parametry nanodozymetryczne . . . 81
4.4.1 Wyznaczenie wymiarów symulowanego obszaru . . . 81
4.4.2 Rozkłady wielkości klastrów jonizacyjnych . . . 82
4.4.3 Analiza parametrów ICSD i model R_2 . . . 86
4.4.4 R_2/M_1 jako RBE . . . 89
4.5 Efektywny przekrój czynny na inaktywacje komórek . . . 91
4.6 Względna skuteczność biologiczna . . . 96
4.7 Ograniczenia pracy badawczej . . . 99

5 Podsumowanie i perspektywy **103**

Bibliografia **107**

A Kalibracje **119**

B Wybrane dane biologiczne **123**

SPIS RYSUNKÓW

2.1 Zależność strat energii $\frac{\mathrm{d}E}{\mathrm{d}x}$ od energii cząstki. 9
2.2 Zależność dawki względnej w funkcji głębokości penetracji cząstki w wodzie. 11
2.3 Zdjęcie torów ruchów cząstek w komorze mgłowej. 13
2.4 Dominujące procesy odziaływania fotonów z materią. 13
2.5 Organizacja materiału genetycznego w komórce eukariotycznej. 17
2.6 Schemat powstania pęknięć nici DNA. 18
2.7 Krzywe przeżywalności komórek dla promieniowania o niskim i wysokim LET. 21
2.8 Przykładowe struktury torów cząstek na podstawie aktów jonizacji w jądrze komórkowym – symulacje MC. 24
2.9 Sposób wyznaczania RBE. 26
2.10 Zależność względnej skuteczności biologicznej RBE od LET. 26
2.11 Rozkład jonizacji indukowanych przez elektron i cząstkę α w DNA. . . . 30
2.12 Przykładowe ICSD dla dwóch rodzajów promieniowania na podstawie symulacji MC. 31

3.1 Zdjęcie źródła ^{241}Am. 39
3.2 Schemat rozpadu promieniotwórczego ^{241}Am. 39
3.3 Porównanie budowy filmów Gafchromic EBT3 oraz EBT3-Unlaminated. . 40
3.4 Schemat układu pomiarowego z detektorem półprzewodnikowym. 42
3.5 Obraz mikroskopowy komórek PC3 i DU145. 43
3.6 Schemat układu do napromieniania komórek źródłem ^{241}Am. 45
3.7 Schemat przeprowadzenia eksperymentu radiobiologicznego. 46
3.8 Przykłady kolonii komórkowych przed oraz po ich utrwaleniu. 47
3.9 Porównanie krzywych przeżywalności dla linii SQ20B i HF19 na podst. PIDE. 48
3.10 Wizualizacja geometrii symulacji w pakiecie Geant4-DNA. 54

3.11 Geometryczna ilustracja kryterium przynależności punktu jonizacji do cylindrycznej objętości czułej. 56
3.12 Sześcian z wylosowanymi cylindrami. 58

4.1 Widma energetyczne cząstek α emitowanych ze źródła ^{241}Am. 68
4.2 Wyznaczanie położenia warstwy aktywnej źródła ^{241}Am. 70
4.3 Widma energetyczne cząstek α emitowanych ze źródła ^{241}Am – porównanie z nowym modelem MC. 70
4.4 Skan filmu EBT3–Unlaminated napromienionego cząstkami α. 72
4.5 Porównanie rozkładu dawki uzyskanego z pomiaru i symulacji. 73
4.6 Skany filmów EBT3–Unlaminated napromienionych w celu wyznaczenia mocy dawki w układzie dozymetrycznym. 73
4.7 Widmo energii deponowanej przez cząstki α w warstwie komórek. 74
4.8 Zeskanowane szalki z utrwalonymi koloniami komórkowymi lini PC3 i DU145 76
4.9 Dopasowanie modelu LQ do danych przeżywalności dla komórek PC3 i DU145. 77
4.10 Porównanie krzywych przeżywalności uzyskanych na podstawie różnych parametrów α i β. 79
4.11 Porównanie zgodności krzywych przeżywalności. 80
4.12 Zależność maksymalnej energii oraz maksymalny zasięg elektronu δ w funkcji energii cząstki penetrującej. 81
4.13 Rozkłady wielkości klastrów jonizacyjnych uzyskane w symulacjach MC. . 82
4.14 Dopasowanie rozkładów Poissona do danych symulacyjnych. 84
4.15 ICSD odtworzony z wykorzystaniem modelu dwuskładnikowego GPD. . . 85
4.16 Zależność parametrów nanodozymetrycznych M_1 i R_2 od LET. 87
4.17 Zależność F_2, F_3, F_4, F_5 oraz R_2 od M_1. 88
4.18 Zależności R_2/M_1 od LET oraz od M_1. 89
4.19 Zależności $\sigma_{5\%}$ od LET i M_1. 91
4.20 Zależność $\sigma_{5\%}$, od R_2 dla komórek prawidłowych. 92
4.21 Zależność $\sigma_{5\%}$, od R_2 dla komórek nowotworowych. 94
4.22 Zależność $\mathrm{RBE_{SF}}$ od LET dla jonów węgla. 97
4.23 Zależności $\mathrm{RBE_{SF}}$ od LET i od M_1 z widocznym efektem *overkill*. 99

A.1 Widmo cząstek α zarejestrowane przez detektor półprzewodnikowy służące do kalibracji. 119
A.2 Kalibracja energetyczna detektora. 120
A.3 Filmy kalibracyjne napromienione w układzie z detektorem krzemowym. 121
A.4 Wykres kalibracyjny filmów EBT3-Unlaminated. 121

SPIS TABEL

3.1 Procentowy skład warstwy komórek gruczołu krokowego wykorzystany w symulacjach Geant4. 45

4.1 Parametry dopasowania funkcji Gaussa do widm energetycznych cząstek α zarejestrowanych przez detektor oraz pochodzących z symulacji MC. . 71
4.2 Porównanie zgodności krzywych przeżywalności wyznaczonych z trzech zestawów parametrów modelu LQ. 80
4.3 Porównanie par nowotworowych linii komórkowych o różnej promieniowrażliwości. 94
4.4 Parametry dopasowania liniowego RBE_{SF} w funkcji LET. 97

A.1 Parametry dopasowania funkcji kalibracyjnej filmów EBT3–Unlaminated. 121

B.1 Wybrane dane biologiczne. 124

SPIS WYBRANYCH SKRÓTÓW I AKRONIMÓW

Skrótowiec	**Rozwinięcie**
AUC	pole pod krzywą (ang. *Area Under the Curve*)
BER	naprawa przez wycinanie zasady (ang. *Base Excision Repair*)
DNA	kwas deoksyrybonukleinowy (ang. *Deoxyribonucleic Acid*)
DPI	liczba punktów na cal (ang. *Dots Per Inch*)
DSB	pęknięcie podwójnoniciowe (ang. *Double-Strand Break*)
FWHM	szerokość połówkowa (ang. *Full Width at Half Maximum*)
GPD	uogólniony rozkład Poissona (ang. *Generalized Poisson Distribution*)
HR	rekombinacja homologiczna (ang. *Homologous Recombination*)
ICRU	Międzynarodowa Komisja ds. Jednostek Promieniowania i Pomiarów (ang. *International Commission on Radiation Units and Measurements*)
ICSD	rozkład rozmiaru klastrów jonizacyjnych (ang. *Ionization Cluster Size Distribution*)
LET	liniowy przekaz energii (ang. *Linear Energy Transfer*)
LQ	model liniowo-kwadratowy (ang. *Linear-Quadratic Model*)
LRZFB	Laboratorium Radiobiologiczne Zakładu Fizyki Biomedycznej
MC	metoda Monte Carlo
MMR	naprawa niesparowanych zasad (ang. *Mismatch Repair*)
NER	naprawa przez wycięcie nukleotydu (ang. *Nucleotide Excision Repair*)
NIST	Narodowy Instytut Norm i Technologii (ang. *National Institute of Standards and Technology*)
NHEJ	łączenie niehomologicznych zakończeń (ang. *Non-Homologous End Joining*)
PE	wydajność klonowania (ang. *Plating Efficiency*)

Ciąg dalszy na następnej stronie

Skrótowiec	Rozwinięcie
PIDE	baza danych radiobiologicznych (ang. *Particle Irradiation Data Ensemble*)
PMF	funkcja masy prawdopodobieństwa (ang. *Probability Mass Function*)
qPRC	ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy (ang. *quantitative Polymerase Chain Reaction*)
RBE	względna skuteczność biologiczna (ang. *Relative Biological Effectiveness*)
RGB	skala barw (od ang. *Red, Green, Blue*)
RMSE	pierwiastek niepewności średniokwadratowej (ang. *Root Mean Square Error*)
ROS	reaktywne formy tlenu (ang. *Reactive Oxygen Species*)
RT-qPRC	ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy poprzedzona odwrotną transkrypcją (ang. *Reverse Transcription quantitative Polymerase Chain Reaction*)
SB	pojedyncze pęknięcie (ang. *Single Break*)
SF	frakcja przeżywająca (ang. *Surviving Fraction*)
SOBP	poszerzony pik Bragga (ang. *Spread-Out Bragg Peak*)
SSB	pęknięcie pojedynczoniciowe (ang. *Single-Strand Break*)
SV	objętość czuła (ang. *Sensitive Volume*)
ŚLCJ	Środowiskowe Laboratorium Ciężkich Jonów

ROZDZIAŁ 1

WPROWADZENIE

Promieniowanie jonizujące odgrywa istotną rolę zarówno w diagnostyce, terapii medycznej, jak i w badaniach podstawowych dotyczących oddziaływania promieniowania z materiałem biologicznym. Zrozumienie mechanizmów odpowiedzi komórkowej na promieniowanie ma kluczowe znaczenie dla rozwoju nowoczesnych metod radioterapii oraz poprawy skuteczności leczenia onkologicznego. Szczególnego znaczenia nabierają badania nad oddziaływaniem cząstek naładowanych, których właściwości fizyczne i skutki biologiczne różnią się istotnie od promieniowania fotonowego czy elektronowego. W niniejszym rozdziale przedstawiłem motywację podjęcia badań, cel pracy oraz jej strukturę.

1.1 Motywacja

Od odkrycia promieniowania rentgenowskiego przez Wilhelma Conrada Röntgena w 1895 roku oraz naturalnej promieniotwórczości przez Henri Becquerela w 1896 rozpoczął się intensywny rozwój badań nad oddziaływaniem promieniowania jonizującego z materiałem biologicznym. Już na początku XX wieku zauważono, że skutki biologiczne napromieniania zależą nie tylko od pochłoniętej dawki, ale również od rodzaju promieniowania oraz sposobu przekazywania energii w ośrodku. Obserwacje te doprowadziły do sformułowania pojęcia względnej skuteczności biologicznej (RBE, ang. *Relative Biological Effectiveness*), opisującej różnice w zdolności różnych rodzajów promieniowania do wywoływania określonego efektu biologicznego przy tej samej dawce fizycznej [1, 2].

W połowie XX wieku rozwój fizyki jądrowej i techniki akceleratorowej umożliwił wykorzystanie protonów oraz ciężkich jonów w radioterapii. Cząstki te charakteryzują się specyficznym rozkładem głębokościowym dawki: na początkowym odcinku toru deponują stosunkowo niewielką część energii, natomiast wraz ze spadkiem prędkości ich zdolność jonizacyjna rośnie, prowadząc do powstania maksimum dawki w końcowym obszarze zasięgu, określanego jako pik Bragga. Szczególne znaczenie miało przewidy-

wanie przez Roberta Wilsona w 1946 roku możliwości terapeutycznego wykorzystania tego zjawiska [3]. Dzięki charakterystycznemu rozkładowi depozycji energii, opisywanej tzw. krzywą Bragga, hadronoterapia pozwala na zwiększenie dawki w obrębie guza przy jednoczesnym ograniczeniu napromienienia zdrowych tkanek, które znajdują się na drodze wiązki lub w pobliżu zmiany nowotworowej. Jednocześnie jednak wzrost liniowego przekazu energii (LET, ang. *Linear Energy Transfer*) prowadzi do istotnych zmian jakościowych uszkodzeń biologicznych, w szczególności zwiększenia częstości kompleksowych uszkodzeń kwadu deoksyrybonukleinowego (DNA, ang. *Deoxyribonucleic Acid*), których naprawa jest utrudniona [4, 5], co jest pozytywnym zjawiskiem dla tkanek nowotworowych, negatywnym zaś dla zdrowych.

W celu ilościowego opisu jakości promieniowania i jego skuteczności biologicznej powszechnie stosuje się parametry takie jak LET oraz RBE. Choć wielkości te stanowią podstawę współczesnej radiobiologii i planowania leczenia hadronowego, ich zdolność do przewidywania odpowiedzi biologicznej komórek pozostaje ograniczona. W szczególności jednakowa wartość LET może odpowiadać różnym strukturom toru promieniowania, ponieważ LET opisuje jedynie średni przekaz energii na jednostkę długości, nie uwzględniając przestrzennego rozmieszczenia jonizacji w skali nanometrowej. Dlatego cząstki o podobnym LET, ale różnym rodzaju lub energii, mogą indukować odmienne uszkodzenia biologiczne [6, 7]. Problem ten staje się szczególnie istotny w przypadku promieniowania o wysokim LET, dla którego klasyczne parametry makroskopowe nie zawsze umożliwiają jednoznaczny opis odpowiedzi biologicznej.

Rozwój mikrodozymetrii, a następnie nanodozymetrii stanowił próbę powiązania efektu biologicznego z lokalną strukturą depozycji energii w skali porównywalnej z wymiarami cząsteczki DNA o budowie podwójnej helisy [8, 9]. Jednym z wcześniejszych przykładów takiego podejścia była analiza rozkładów liczby jonizacji indukowanych przez protony i cząstki α w kulistych objętościach o rozmiarach od nanometrów do mikrometrów [10]. Podejście nanodozymetryczne opiera się obecnie na analizie rozkładów klastrów jonizacji indukowanych przez promieniowanie w objętościach odpowiadających wymiarom fragmentów DNA. W licznych badaniach wykazano, że parametry opisujące strukturę toru promieniowania w nanoskali mogą korelować z przeżywalnością komórek, częstością podwójnych pęknięć DNA oraz względną skutecznością biologiczną [11, 12].

Motywacją podjęcia niniejszej pracy było zbadanie, czy parametry nanodozymetryczne opisujące strukturę toru cząstki promieniowania mogą stanowić bardziej uniwersalne predyktory odpowiedzi radiobiologicznej niż klasyczne wielkości makroskopowe, takie jak LET. W szczególności podjąłem próbę określenia zależności pomiędzy parametrami nanodozymetrycznymi a przeżywalnością komórek, w tym komórek o zróżnicowanej promieniowrażliwości.

1.2 Cel pracy

Głównym celem niniejszej pracy było określenie zależności pomiędzy parametrami nanodozymetrycznymi opisującymi strukturę toru cząstki w skali porównywalnej z wymiarami DNA a odpowiedzią radiobiologiczną komórek indukowaną przez cząstki naładowane, w szczególności protony, cząstki α oraz jony węgla. Szczególną uwagę poświęciłem ocenie możliwości wykorzystania parametrów nanodozymetrycznych jako predyktorów efektu biologicznego oraz analizie ich potencjalnej przewagi nad klasycznym parametrem jakości promieniowania, takim jak LET.

W celu realizacji założeń pracy opracowałem model symulacyjny umożliwiający wyznaczanie rozkładów wielkości klastrów jonizacyjnych (ICSD, ang. *Ionization Cluster Size Distribution*) dla protonów, cząstek α oraz jonów węgla z wykorzystaniem środowiska Geant4-DNA. Na podstawie przeprowadzonych symulacji wyznaczyłem parametry nanodozymetryczne opisujące strukturę toru cząstek w objętościach odpowiadających wymiarom DNA.

Istotnym elementem pracy było również przeprowadzenie eksperymentów radiobiologicznych z użyciem nowotworowych linii komórkowych gruczołu krokowego (DU145 i PC3) napromienianych cząstkami α. Eksperyment obejmował pełną charakterystykę i walidację dozymetryczną źródła promieniotwórczego z wykorzystaniem filmów radiochromowych oraz detektora półprzewodnikowego, a także ocenę przeżywalności komórek po napromienieniu. Analizę uzyskanych wyników rozszerzyłem o dane radiobiologiczne pochodzące z bazy danych radiobiologicznych oraz przeglądu literatury zawierające wyniki testów przeżywalności różnych rodzajów komórek nowotworowych i prawidłowych dla trzech wspomnianych wcześniej typów promieniowania.

Dla analizowanych danych radiobiologicznych zastosowałem procedurę dopasowania parametrów modelu liniowo-kwadratowego (LQ, ang. *Linear-Quadratic*), umożliwiającą ujednolicenie opisu odpowiedzi biologicznej komórek pomiędzy eksperymentami własnymi i pochodzącymi z różnych laboratoriów badawczych. Następnie przeprowadziłem analizę zależności pomiędzy parametrami nanodozymetrycznymi a radiobiologicznym przekrojem czynnym na inaktywację komórek oraz oceniłem możliwość wykorzystania tych parametrów jako uniwersalnych deskryptorów odpowiedzi biologicznej dla różnych typów promieniowania korpuskularnego.

W pracy przyjąłem hipotezę badawczą zakładającą, że parametry nanodozymetryczne wynikające z rozkładu wielkości klastrów jonizacyjnych w objętościach odpowiadających skali DNA wykazują istotny związek z odpowiedzią radiobiologiczną komórek i mogą stanowić nanodozymetryczną sygnaturę uszkodzeń komórkowych indukowanych przez cząstki naładowane. W szczególności założyłem, że parametry te mogą wykazywać silniejszą zależność z przeżywalnością komórek niż klasyczne parametry jakości promieniowania, takie jak LET.

1.3 Struktura pracy

Niniejsza praca została podzielona na pięć rozdziałów obejmujących zarówno podstawy teoretyczne, jak i część eksperymentalną, symulacyjną oraz analizę uzyskanych wyników.

W rozdziale drugim przedstawiłem podstawy teoretyczne dotyczące oddziaływania promieniowania jonizującego z materią biologiczną. Omówiłem charakterystykę promieniowania korpuskularnego i elektromagnetycznego, mechanizmy uszkodzeń materiału genetycznego oraz parametry opisujące jakość i skuteczność biologiczną promieniowania oraz modele przeżywalności komórek. Przedstawiłem również podstawowe zagadnienia nanodozymetryczne oraz relację pomiędzy strukturą toru promieniowania a odpowiedzią radiobiologiczną.

W rozdziale trzecim opisałem przygotowanie danych oraz zastosowaną metodologię badawczą. Zaprezentowałem źródła i kryteria selekcji danych radiobiologicznych, przebieg eksperymentu radiobiologicznego oraz jednolitą procedurę ponownego dopasowania parametrów modelu liniowo-kwadratowego. Następnie omówiłem wykorzystane symulacje Monte Carlo, w tym narzędzia, z których korzystałem (m.in. TRIM i Geant4), model komórki zastosowany w symulacjach oraz procedurę szacowania ICSD, na podstawie których wyznaczałem parametry nanodozymetryczne.

W rozdziale czwartym przedstawiłem wyniki badań oraz ich dyskusję. Zaprezentowałem charakterystykę dozymetryczną i walidację modelu źródła, wyniki testów przeżywalności komórek oraz analizę parametrów nanodozymetrycznych i ich związku z efektywnym przekrojem czynnym na inaktywację komórek. Omówiłem również zależność pomiędzy względną skutecznością biologiczną a liniowym przekazem energii.

W rozdziale piątym podsumowałem najważniejsze wyniki uzyskane w ramach niniejszej rozprawy. Przedstawiłem ich interpretację w kontekście aktualnego stanu wiedzy oraz omówiłem znaczenie uzyskanych rezultatów dla rozwoju nanodozymetrycznego opisu odpowiedzi radiobiologicznej. W końcowej części wskazałem również możliwe kierunki dalszych badań wynikające z przeprowadzonych analiz.

Uzupełnienie pracy stanowią dodatki. W dodatku A zamieściłem wyniki kalibracji detektora krzemowego oraz filmów radiochromowych, natomiast w dodatku B przedstawiłem obliczone dane biologiczne wykorzystane w analizie wykonanej w ramach niniejszej pracy. Pełne wyniki przeprowadzonych symulacji udostępniłem w repozytorium Danych Badawczych UW [13].

Wyniki prezentowane w niniejszej pracy zostały przedstawione w następujących artykułach:

Filipek, M., Szefliński, Z., Pietrzak, M., & Brzozowska, B. Nanodosimetric Insights into DNA-Scale Damage Induced by Charged Particles Using Cell Survival Data. *Physics in Medicine & Biology*, 2026 – manuskrypt w recenzji.

Filipek, M., Pszczółkowska-Kępa, B., Kociński, B., Senkowska, M., Szefliński, Z., & Brzozowska, B. From radiobiology to radiotherapy: dose homogeneity in cells after alpha irradiation in measurements and Monte Carlo simulations. *Polish Journal of Medical Physics and Engineering*,30(2), 79–89, 2024.

Tartas*, A., **Filipek*, M.**, Pietrzak, M., Wojcik, A., & Brzozowska, B. Modeling of dose and linear energy transfer homogeneity in cell nuclei exposed to alpha particles under various setup conditions. *International Journal of Radiation Biology*, 99(8), 1248–1256, 2023, (*równorzędny wkład dwóch pierwszych autorów).

Szefliński, Z., **Filipek, M.**, Gotlib, J., & Kaźmierczak, U. Radiobiological research and dosimetry using a flat alpha source. *RAP Conference Proceedings*, 2020.

Ponadto brałem udział w badaniach, których wyniki zostały zaprezentowane w artykułach:

Filipek, M., Bancer, A., Brzozowska, B., Szefliński, Z., & Pietrzak, M. Study of ion detection efficiency in Jet Counter nanodosimeter. *EPJ Techniques and Instrumentation*, 13(1), 2, 2026.

Spyra, A., Skwira-Chalot, I., Czystowska-Kuzmicz, M., **Filipek, M.**, Matulewicz, T., Półtorak, M., & Walecka, I. From Macroscopic Dose to Radical Yield: A Multiscale Simulation and Experimental Study of Exosome Irradiation, *Bio–Algorithms and Med–Systems*, 2026, praca w recenzji.

Pszczółkowska, B., Olejarz, W., **Filipek, M.**, Tartas, A., Kubiak-Tomaszewska, G., Żołnierzak, A., i in. Exosome secretion and cellular response of DU145 and PC3 after exposure to alpha radiation. *Radiation and Environmental Biophysics*, 61(4), 639–650, 2022.

Płódowska, M., Lopez-Riego, M., Akuwudike, P., Sobota, D., **Filipek, M.**, Kłosowski, M., i in. Small is beautiful: low activity alpha and gamma sources for small-scale radiation protection research experiments. *International Journal of Radiation Biology*, 97(4), 541–552, 2021.

ROZDZIAŁ 2

ODDZIAŁYWANIE PROMIENIOWANIA JONIZUJĄCEGO Z MATERIĄ

Rozdział ten przedstawia teoretyczne podstawy zagadnień omawianych w niniejszej pracy. Aby umożliwić sprawne poruszanie się w interdyscyplinarnym obszarze radiobiologii i nanodozymetrii, omówię kluczowe mechanizmy oddziaływania promieniowania jonizującego z materią oraz wynikające z nich efekty fizyczne, chemiczne i biologiczne. Następnie przybliżę metodologię prowadzenia eksperymentów radiobiologicznych wraz z parametrami opisującymi charakter oddziaływania promieniowania i rodzaje indukowanych uszkodzeń. Tak zarysowane podstawy pozwolą płynnie przejść do zagadnień nanodozymetrycznych, w których klasyczne pojęcia globalnej dawki i energii zdeponowanej muszą zostać rozszerzone o opis procesów zachodzących w skali nanometrowej – skali kluczowej dla zrozumienia mechanizmów indukowania uszkodzeń DNA.

2.1 Promieniowanie jonizujące

Pod pojęciem promieniowania rozumie się proces emisji energii oraz jej propagacji w przestrzeni w postaci strumienia cząstek lub fal elektromagnetycznych. Promieniowanie może rozchodzić się prostoliniowo w próżni bez utraty energii, natomiast podczas przechodzenia przez materię oddziałuje z elektronami i jądrami atomowymi ośrodka, w wyniku czego energia promieniowania może być deponowana w materii. W przypadku cząstek naładowanych transfer energii zachodzi głównie poprzez oddziaływania elektrostatyczne z elektronami ośrodka. Ponadto promieniowanie o odpowiednio wysokiej energii może inicjować reakcje jądrowe, prowadząc do powstawania nowych jąder oraz wtórnych cząstek naładowanych. Jednym z podstawowych skutków oddziaływania promieniowania z materią jest jonizacja, czyli proces, w którym z elektrycznie obojętnego atomu lub cząsteczki powstaje jon. Zjawisko to zachodzi wówczas, gdy przekazana energia przekra-

cza energię wiązania elektronu w atomie ośrodka. Usunięcie elektronu z powłoki atomu prowadzi do zmian w strukturze elektronowej cząsteczki, a w konsekwencji do modyfikacji jej właściwości chemicznych. Promieniowanie zdolne do wywoływania jonizacji określa się mianem promieniowania jonizującego. To właśnie oddziaływania tego typu promieniowania z materią biologiczną stanowią przedmiot niniejszej pracy.

Promieniowanie jonizujące, ze względu na mechanizm oddziaływania z materią, można podzielić na dwie kategorie: promieniowanie korpuskularne oraz elektromagnetyczne. Kryterium tego podziału stanowi sposób przekazywania energii i inicjowania procesów jonizacji w ośrodku. W dalszej części przedstawię charakterystykę obu typów promieniowania, ze szczególnym uwzględnieniem ich właściwości fizycznych oraz mechanizmów oddziaływania z materią.

2.1.1 Promieniowanie korpuskularne

Do promieniowania korpuskularnego zalicza się cząstki posiadające masę spoczynkową. Są nimi wszelkie cząstki naładowane oraz jony, jak również obojętne elektrycznie neutrony. Cząstki o masie znacznie większej od masy elektronu, takie jak protony, cząstki α czy ciężkie jony (np. $^{12}C^{6+}$, $^{16}O^{8+}$) przechodząc przez materię, oddziałują z elektronami ośrodka głównie poprzez pole elektryczne, powodując wzbudzenia i jonizacje atomów oraz stopniową utratę energii. Jeżeli energia kinetyczna cząstki jest mniejsza od energii bariery kulombowskiej jądra, dominującym mechanizmem oddziaływania są procesy elektromagnetyczne, a nie reakcje jądrowe. W przypadku cząstek naładowanych prowadzi to do ciągłej straty energii w wyniku jonizacji i wzbudzeń atomów ośrodka. Średnią stratę energii $\mathrm{d}E$ na jednostkę drogi $\mathrm{d}x$, wyrażoną w $\frac{\mathrm{g}}{\mathrm{cm}^2}$, (*ang. stopping power*) opisuje wzór wyprowadzony przez Bohra i następnie zmodyfikowany przez Bethego i Blocha:

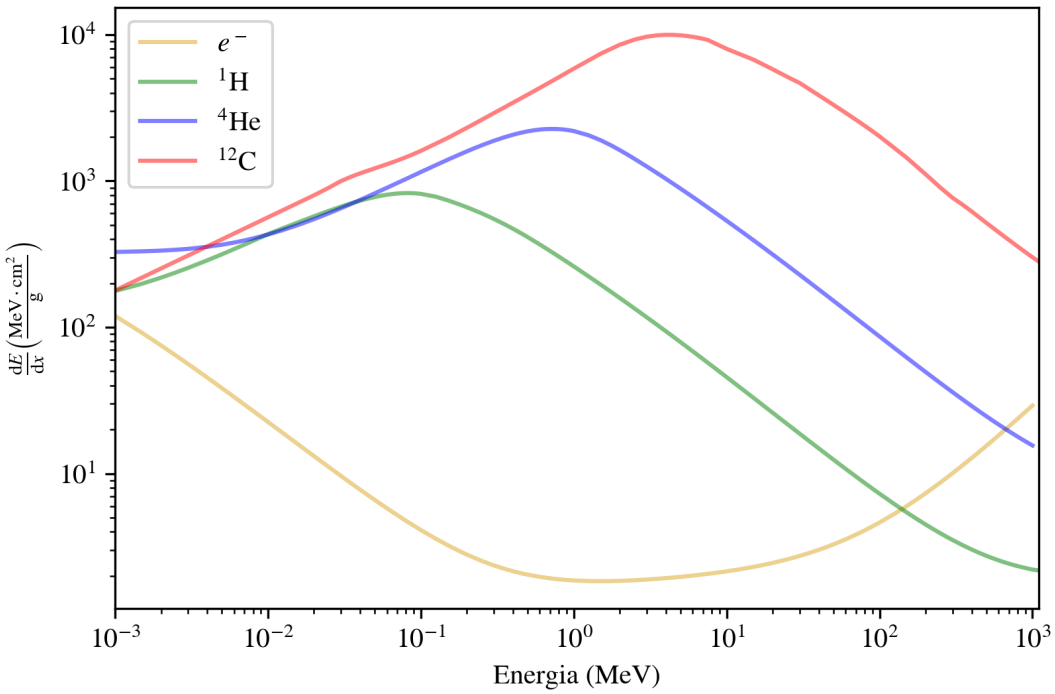
$$-\frac{\mathrm{d}E}{\mathrm{d}x} = 4\pi r_e^2 m_e N_\mathrm{A} c^2 z^2 \frac{Z}{A}\frac{1}{\beta^2}\left(\ln\frac{2m_e c^2\gamma^2\beta^2}{I} - \beta^2\right), \tag{2.1}$$

gdzie: m_e oznacza masę elektronu, z – ładunek cząstki jonizującej, Z i A liczbę atomową i masową ośrodka, N_A – liczbę Avogadra, β – prędkość cząstki v w porównaniu do prędkości światła c $\left(\beta = \frac{v}{c}\right)$, r_e – klasyczny promień elektronu $\left(r_e = \frac{e^2}{4\pi\varepsilon_0 m_e c^2}\right)$, gdzie e oznacza wartość ładunku elementarnego, ε_0 jest przenikalnością elektryczną próżni, γ – czynnik Lorentza $\left(\gamma = \frac{1}{\sqrt{1-\beta^2}}\right)$, I – stała jonizacji dla danego ośrodka wprost proporcjonalna do liczby atomowej Z ośrodka. W praktyce I jest wyznaczane eksperymentalnie lub przyjmowane z danych tabelarycznych, natomiast dla celów przybliżonych może zostać oszacowane na podstawie zależności empirycznej:

$$I = 9{,}1Z\left(1 + \frac{1{,}9}{Z^{\frac{2}{3}}}\right)\mathrm{eV}. \tag{2.2}$$

Należy podkreślić, że równanie (2.2) stanowi przybliżenie empiryczne i nie opisuje dokładnie wszystkich materiałów, szczególnie złożonych ośrodków biologicznych, dla których wartość I zwykle przyjmuje się na podstawie danych eksperymentalnych lub rekomendacji Międzynarodowej Komisji ds. Jednostek i Pomiarów Promieniowania (ICRU, ang. *International Commission on Radiation Units & Measurements*).

Na rysunku 2.1 przedstawiłem zależność strat energii $\frac{\mathrm{d}E}{\mathrm{d}x}$ w wodzie od energii cząstki dla elektronów, protonów, cząstek α oraz jonów węgla ^{12}C w zakresie energii od 10 keV do 1 GeV w wodzie. Wielkość $\frac{\mathrm{d}E}{\mathrm{d}x}$ opisuje średnią stratę energii na jednostkę drogi w materiale i stanowi podstawowy parametr charakteryzujący oddziaływanie promieniowania z materią. Na podstawie przedstawionych zależności można zauważyć istotne różnice w mechanizmie depozycji energii dla różnych typów promieniowania. Elektrony charakteryzują się relatywnie niskimi wartościami $\frac{\mathrm{d}E}{\mathrm{d}x}$ w szerokim zakresie energii, co wynika z ich małej masy a zatem dużej prędkości oraz rozpraszania wielokrotnego. Dla cząstek ciężkich, takich jak protony, cząstki α i jony węgla, wartości $\frac{\mathrm{d}E}{\mathrm{d}x}$ są znacząco wyższe, co odzwierciedla większą gęstość jonizacji wzdłuż toru cząstki.



Rysunek 2.1. Zależność strat energii $\frac{\mathrm{d}E}{\mathrm{d}x}$ w wodzie od energii cząstki dla elektronów, protonów, cząstek α oraz jonów węgla ^{12}C w zakresie energii od 1 keV do 1 GeV (na podstawie [14, 15, 16]). Należy zauważyć, że przedstawiona skala energii nie obejmuje elektronów o bardzo niskich energiach (poniżej 1 keV), które odgrywają kluczową rolę w kształtowaniu nanometrycznej struktury toru promieniowania, ponieważ to właśnie one odpowiadają za większość aktów jonizacji w bezpośrednim otoczeniu toru cząstki.

Przekaz pędu Δp elektronowi ośrodka można oszacować na podstawie impulsu siły F: $\Delta p = \int F \mathrm{d}t$. Jeżeli podczas rozpatrywanego oddziaływania siłę można w przybliżeniu uznać za stałą, wówczas $\Delta p \sim F\Delta t$. Dla cząstki poruszającej się z prędkością v, która w czasie Δt przebywa drogę Δs, zachodzi $\Delta t \sim \frac{\Delta s}{v}$. Przekaz pędu można zatem zapisać w przybliżeniu jako $\Delta p \sim F\frac{\Delta s}{v}$. Energia kinetyczna przekazana elektronowi o masie m_e wynosi w przybliżeniu

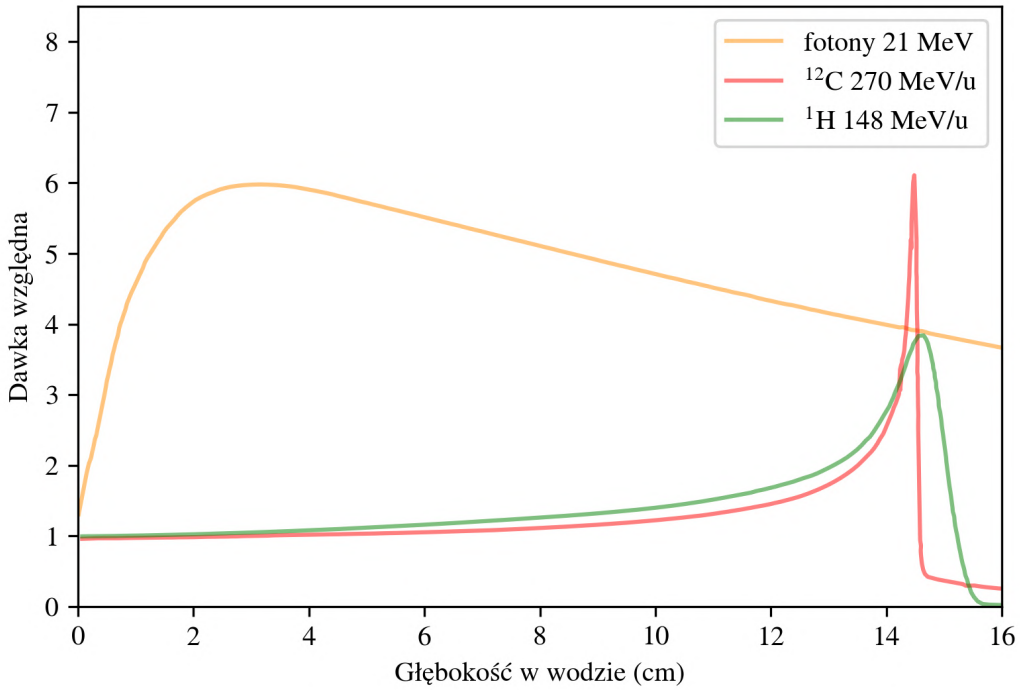
$$\Delta E_e \sim \frac{(\Delta p)^2}{2m_e} \sim \frac{1}{2m_e}\left(F\frac{\Delta s}{v}\right)^2. \tag{2.3}$$

W klasycznym opisie strat energii ciężkiej cząstki naładowanej w ośrodku uwzględnia się oddziaływania kulombowskie z elektronami zachodzące dla różnych parametrów zderzenia, a także wpływ ekranowania elektronowego. Zsumowanie wkładów pochodzących od zderzeń bliskich i odległych prowadzi do pojawienia się czynnika logarytmicznego we wzorze Bethego–Blocha przedstawionym w równaniu 2.1. W zakresie stosowalności tego przybliżenia zależność strat energii można zapisać jako $-\frac{\mathrm{d}E}{\mathrm{d}x} \propto \frac{z^2}{v^2}$, z dokładnością do czynnika logarytmicznego zależnego między innymi od prędkości cząstki. Parametr z jest ładunkiem cząstki wyrażonej w jednostkach e. Czynnik logarytmiczny wynika z uwzględnienia szerokiego zakresu energii przekazywanej elektronom podczas zderzeń i zmienia się z prędkością cząstki znacznie wolniej niż czynnik $\frac{1}{v^2}$. Dla ciężkiej cząstki nierelatywistycznej, której energia kinetyczna wynosi $E_k = \frac{1}{2}Mv^2$, otrzymuje się w przybliżeniu $-\frac{\mathrm{d}E}{\mathrm{d}x} \propto \frac{1}{E_k}$, przy założeniu stałego ładunku cząstki oraz pominięciu zmian czynnika logarytmicznego. Oznacza to, że wraz ze zmniejszaniem się prędkości ciężkiej cząstki naładowanej jej zdolność do jonizacji ośrodka początkowo wzrasta, co prowadzi do powstania maksimum strat energii w pobliżu końca jej toru. Przy bardzo małych energiach zależność ta przestaje jednak obowiązywać ze względu na zmiany efektywnego ładunku cząstki oraz rosnące znaczenie zderzeń z jądrami atomowymi.

Widoczne maksimum dla protonów, cząstek α oraz jonów ^{12}C odpowiada obszarowi zwiększonego hamowania cząstki wraz ze spadkiem jej energii, zgodnie z zależnością opisaną równaniem Bethego–Blocha. Szczególnie wysokie wartości $\frac{\mathrm{d}E}{\mathrm{d}x}$ osiągane przez jony węgla wskazują na ich zdolność do pozostawiania bardzo gęstych śladów jonizacji podczas ich przejścia przez ośrodek, co ma istotne znaczenie radiobiologiczne, ponieważ prowadzi do bardziej złożonych uszkodzeń DNA i zwiększonego RBE. Z kolei niższy przekaz energii elektronów wiąże się z bardziej rozproszonym charakterem depozycji energii i dominacją uszkodzeń łatwiejszych do naprawy przez mechanizmy komórkowe. Często zależność ta przedstawiana jest również w funkcji głębokości penetracji w absorberze, co pozwala uwidocznić zachowanie cząstek w końcowej fazie ich toru. W miarę zmniejszania prędkości cząstki rośnie gęstość jonizacji, co prowadzi do gwałtownego wzrostu $\frac{\mathrm{d}E}{\mathrm{d}x}$ tuż przed zatrzymaniem. Następnie obserwuje się szybki spadek depozycji energii, odpowiadający całkowitemu wyhamowaniu cząstki i utracie ładunku. Charakterystyczne

maksimum tej krzywej określa się jako pik Bragga, a spadek depozytu energii wiąże się z pochłanianiem fotonów.

Na rysunku 2.2 przedstawiłem zależność dawki – definiowanej jako energia zdeponowana w jednostce masy ośrodka – od głębokości w absorberze. W celu zobrazowania różnic w rozkładzie dawki dla różnych rodzajów promieniowania wykorzystałem dawkę względną. W przypadku rozkładów głębokościowych dawka względna umożliwia bezpośrednie porównanie przebiegu krzywych dawki. W przypadku fotonów dawka początkowo wzrasta w obszarze związanym z efektem build-up, a następnie stopniowo maleje wraz z głębokością w materiale. Efekt ten wynika z narastania liczby wtórnych elektronów, które odpowiadają za deponowanie energii w ośrodku. Protony oraz ciężkie jony zachowują się odmiennie: na początkowym odcinku toru deponują stosunkowo niewielką część energii, natomiast maksimum depozycji przypada w obszarze piku Bragga, gdzie cząstki ulegają gwałtownemu wyhamowaniu.



Rysunek 2.2. Zależność dawki względnej w funkcji głębokości penetracji cząstki w wodzie dla fotonów, protonów i jonów węgla (na podstawie [17]).

W celu uzyskania jednorodnego rozkładu dawki w obszarze o grubości większej niż szerokość pojedynczego piku Bragga stosuje się poszerzony pik Bragga (SOBP, *ang. Spread-Out Bragg Peak*). Powstaje on jako superpozycja wielu pików Bragga odpowiadających wiązkom o różnych energiach początkowych. SOBP umożliwia precyzyjne dopasowanie rozkładu dawki do geometrii guza, przy jednoczesnym ograniczeniu napromienienia zdrowych tkanek zlokalizowanych przed i za objętością docelową. Jest to jedna

z kluczowych zalet terapii protonowej i terapii jonami ciężkimi względem klasycznej radioterapii fotonowej.

Jonizacja ośrodka przez cząstkę naładowaną polega na odrywaniu elektronów od atomów materiału. Uwolnione w ten sposób elektrony mogą uzyskać energię wystarczającą do dalszej jonizacji ośrodka i są wówczas nazywane elektronami δ. Ich maksymalna energia zależy od masy M oraz energii E cząstki penetrującej i w przybliżeniu nierelatywistycznym wyraża się wzorem:

$$E_{\delta_{\max}} = 4E\frac{m_e \cdot M}{(m_e + M)^2}, \tag{2.4}$$

gdzie m_e jest masą elektronu ($m_e = 9{,}109 \cdot 10^{-31}$kg). Dla ciężkich cząstek naładowanych $M \gg m_e$, więc $m + M \approx M$, wtedy

$$E_{\delta_{\max}} = 4E\frac{m_e}{M}, \tag{2.5}$$

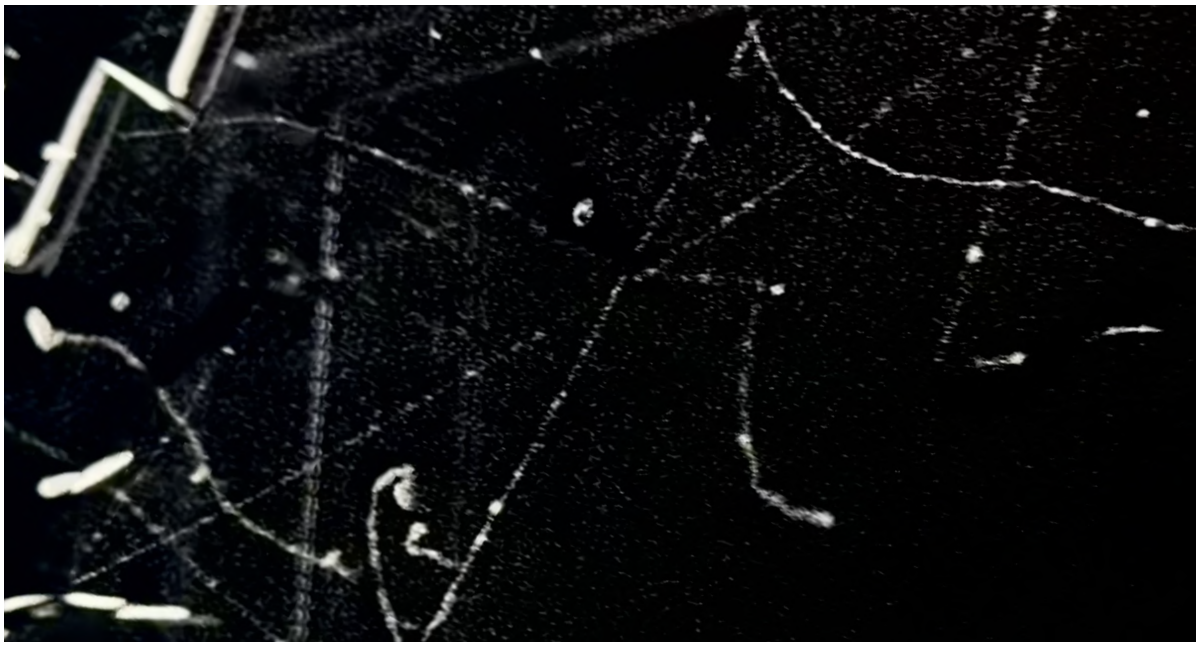
ale dla elektronów $M = m_e$ i wtedy zgodnie z kwantową zasadą nierozróżnialności cząstek:

$$E_{\delta_{\max}} = 4E\frac{{m_e}^2}{(2m_e)^2} = E. \tag{2.6}$$

W odpowiednich warunkach można zaobserwować ślad elektronów δ oraz cząstki naładowanej przechodzącej przez ośrodek w postaci par jonów. Na rysunku 2.3 przedstawione zostało zdjęcie, na którym można zaobserwować tory ruchów cząstek w komorze mgłowej. Wzdłuż trajektorii cząstki występują akty jonizacji, a powstałe jony stanowią centra kondensacji, na których następuje skraplanie przechłodzonych par alkoholu. W efekcie tworzy się widoczna smuga drobnych kropelek mgły, odwzorowująca trajektorię cząstki.

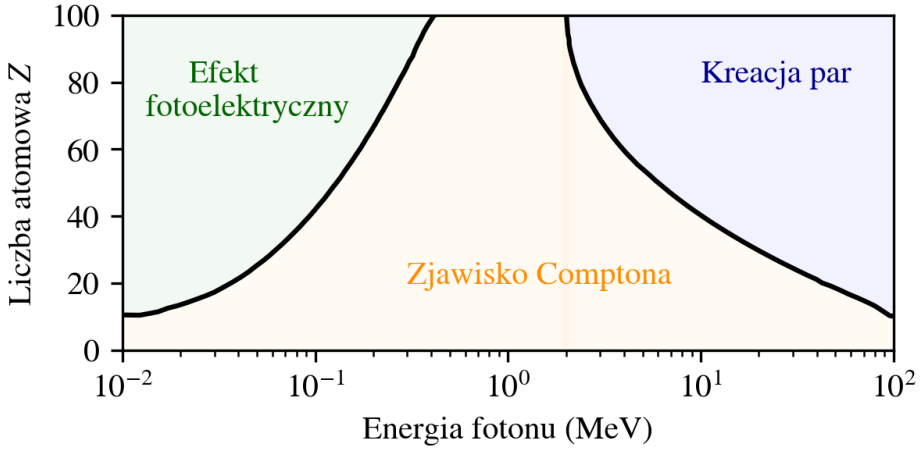
2.1.2 Promieniowanie elektromagnetyczne

Promieniowanie elektromagnetyczne stanowi rozchodzące się w przestrzeni zaburzenie pola elektrycznego i magnetycznego. Jego widmo obejmuje bardzo szeroki zakres energii – od około 10^{-9} eV, dla fal radiowych, do wartości rzędu GeV i wyższych, dla promieniowania γ. Fotony o energii przekraczającej energię wiązań elektronowych w atomach i cząsteczkach (np. dla cząsteczki wody energia wiązania to około 12,6 eV [14]) są zdolne do wywołania jonizacji ośrodka. Do tej grupy należą fotony skrajnego nadfioletu, promieniowanie rentgenowskie (X) oraz promieniowanie gamma (γ). Oddziaływanie promieniowania fotonowego z materią prowadzi do przekazania energii wtórnym cząstkom naładowanym, przede wszystkim elektronom, a dla energii przekraczających próg tworzenia par również pozytonom. Cząstki te tracą następnie energię w ośrodku głównie w procesach jonizacji i wzbudzenia. Do najważniejszych mechanizmów oddziaływania fotonów



Rysunek 2.3. Zdjęcie torów ruchów cząstek w komorze mgłowej. Grubsze linie po lewej stronie odpowiadają torom ruchu cząstek α, cieńsze elektronom bądź mionom (materiały własne).

prowadzących do przekazania energii materii należą efekt fotoelektryczny, rozpraszanie Comptona oraz tworzenie par elektron–pozyton. Względny udział tych procesów zależy od energii fotonu oraz liczby atomowej materiału – zależność ta została przedstawiona na rysunku 2.4.



Rysunek 2.4. Obszary zależności liczby atomowej Z absorbenta od energii fotonów, w których dominują poszczególne procesy odziaływania kwantów γ z materią. Czarne linie przedstawiają granice między obszarami, gdzie prawdopodobieństwa oddziaływań są równe (na podstawie [18]).

Efekt fotoelektryczny, dominujący przy niskich energiach fotonów (aż do dziesiątek keV) oraz w materiałach o wysokiej liczbie atomowej, polega na całkowitym pochłonięciu fotonu przez atom, w wyniku czego jeden z elektronów powłokowych zostaje

wybity z atomu. Jego energia jest równa różnicy między energią padającego fotonu a energią wiązania elektronu.

Zjawisko Comptona – dominujące przy średnich energiach – polega na sprężystym zderzeniu fotonu z quasi-swobodnym elektronem. W wyniku tego foton wybija elektron, przekazując mu część swojej energii, a sam zmienia kierunek ruchu. Efekt ten jest głównym mechanizmem odpowiedzialnym za depozycje energii przez fotony w materiale biologicznym zdominowanym przez atomy węgla, wodoru i tlenu.

Kiedy energia fotonu przekroczy wartość progową odpowiadającą podwójnej energii spoczynkowej elektronu (1,022 MeV), w obecności pola elektrycznego jądra może nastąpić **kreacja pary elektron–pozyton**. Wysokoenergetyczny foton konwertuje w parę elektron–pozyton, a jego nadwyżka energetyczna zamienia się w energię kinetyczną powstałych cząstek. Proces ten zaczyna pełnić istotną rolę przy energiach rzędu kilku MeV, a dominuje przy bardzo wysokich energiach.

2.1.3 Metody detekcji promieniowania

Detekcja promieniowania jonizującego może być realizowana zarówno z wykorzystaniem metod eksperymentalnych, jak i obliczeniowych. W zależności od celu pomiaru stosuje się detektory umożliwiające rejestrację pojedynczych cząstek, pomiar zdeponowanej energii lub wyznaczanie przestrzennego rozkładu dawki. W niniejszej pracy wykorzystałem zarówno metody eksperymentalne, obejmujące detektor półprzewodnikowy oraz filmy radiochromowe, jak również metody *in silico*, które pozwoliły na modelowanie transportu promieniowania i analizę wielkości, których bezpośredni pomiar nie jest możliwy.

Detektor półprzewodnikowy

Detektor półprzewodnikowy działa na zasadzie diody półprzewodnikowej typu p–n spolaryzowanej w kierunku zaporowym. Naładowana cząstka przechodząc przez detektor traci swoją energię, wzbudza elektrony i powoduje przeniesienie ich do pasma przewodnictwa, co powoduje powstanie wielu par elektron–dziura i krótki przepływ prądu między elektrodami. Rejestrowany impuls elektryczny jest proporcjonalny do wytworzonej liczby ładunków, która jest proporcjonalna do energii deponowanej cząstki. Zaletami detektora półprzewodnikowego dla rejestracji cząstek naładowanych są małe wymiary, co pozwala stosować je w niewielkich układach pomiarowych, wysoka czasowa zdolność rozdzielcza, oraz możliwość stosowania niskich napięć zasilających [19]. Czas martwy, czyli przedział czasu po zarejestrowaniu cząstki, w którym detektor pozostaje niezdolny do rejestracji kolejnych sygnałów, w przypadku detektorów półprzewodnikowych wynosi około 0,1 µs.

Filmy radiochromowe

Filmy radiochromowe są wykorzystywane do sprawdzania rozkładów dawki w radioterapii. Pod wpływem promieniowania jonizującego, warstwa aktywna samoczynnie ulega zaczernieniu bez konieczności wywoływania. Zmiana koloru filmów jest powodowana polimeryzacją monomerów dwuacetylenu pod wpływem promieniowania [20, 21]. Filmy radiochromowe charakteryzują się bardzo dobrym dwuwymiarowym pomiarem dawki, natomiast nie sprawdzają się w dozymetrii przestrzennej 3D [22]. Po napromienieniu filmy są skanowane. Na podstawie poziomu zaczernienia i krzywej kalibracji odczytywana jest dawka. Należy jednak uwzględnić zależność odpowiedzi filmów radiochromowych od wartości LET promieniowania. W obszarach o dużych wartościach LET, między innymi w pobliżu piku Bragga protonów oraz dla lekkich jonów, występuje efekt wygaszania sygnału (ang. *quenching*), prowadzący do niedoszacowania dawki przy zastosowaniu kalibracji wykonanej promieniowaniem o niskim LET [23, 24]. Korekcja tego efektu wymaga wyznaczenia odpowiedzi filmu w funkcji dawki i LET oraz znajomości lokalnego rozkładu LET, który zazwyczaj określa się na podstawie symulacji Monte Carlo [24].

Metody *in silico*

Metody *in silico* stanowią istotne uzupełnienie pomiarowych technik detekcji promieniowania, ponieważ umożliwiają szczegółową analizę transportu cząstek oraz procesów oddziaływania promieniowania z materią. Szczególne znaczenie mają tu metody Monte Carlo (MC), oparte na statystycznym modelowaniu kolejnych zdarzeń zachodzących podczas przejścia cząstki przez ośrodek. W symulacjach tego typu tor cząstki jest odtwarzany jako sekwencja losowo generowanych oddziaływań, których prawdopodobieństwa wynikają z odpowiednich przekrojów czynnych.

Początki metod MC sięgają lat 40. XX wieku w Los Alamos National Laboratory podczas prac nad projektem Manhattan. Ich koncepcja została zaproponowana przez Stanisława Ulama, a następnie rozwinięta we współpracy z Johnem von Neumannem oraz Nicholasem Metropolisem. Nazwa metody nawiązuje do kasyna w Monte Carlo i podkreśla wykorzystanie liczb losowych do modelowania procesów probabilistycznych [25].

W kontekście fizyki promieniowania metody MC pozwalają na symulację transportu fotonów, elektronów oraz cząstek naładowanych w zadanej geometrii materiałowej. Umożliwiają one wyznaczanie takich wielkości jak energia zdeponowana w materiale, rozkład dawki, zasięg cząstek, liniowy przekaz energii oraz struktura toru promieniowania. Z tego względu są szeroko stosowane zarówno w dozymetrii, radioterapii, ochronie radiologicznej, jak i w badaniach radiobiologicznych [26].

Niezwykle ważne jest wybranie odpowiedniej listy procesów fizycznych, która będzie opisywała procesy zachodzące w symulacji. W zależności od zastosowanej listy fi-

zycznej Geant4 pozwala na uwzględnienie różnych klas procesów fizycznych. W przypadku symulacji transportu promieniowania jonizującego szczególne znaczenie mają procesy elektromagnetyczne, takie jak jonizacja, wzbudzenie ośrodka, rozpraszanie oraz produkcja i transport elektronów wtórnych. Bardziej rozbudowane listy fizyczne mogą dodatkowo obejmować oddziaływania hadronowe i jądrowe, rozpady promieniotwórcze lub procesy optyczne, jednak zakres uwzględnianych procesów zależy od celu symulacji oraz wybranych modeli fizycznych. Wybór niewłaściwej listy spowodowałby wydłużenie symulacji bez wymiernych korzyści. Jednak pominięcie jakichś cząstek bądź procesów może fałszować wyniki symulacji, dlatego przy wyborze listy należy określić wymagania symulacji i wybrać istotne procesy fizyczne zachodzące w projekcie.

Zaletą metod *in silico* jest możliwość kontrolowania geometrii układu, składu materiałowego oraz parametrów wiązki promieniowania, a także powtarzania symulacji dla warunków trudnych lub niemożliwych do uzyskania eksperymentalnie. Należy jednak podkreślić, że wyniki takich obliczeń zależą od przyjętych modeli fizycznych, bibliotek przekrojów czynnych oraz dokładności odwzorowania geometrii układu. Dlatego symulacje MC powinny być traktowane jako narzędzie komplementarne wobec pomiarów eksperymentalnych, a ich wyniki wymagają weryfikacji lub walidacji względem danych pomiarowych, gdy jest to możliwe.

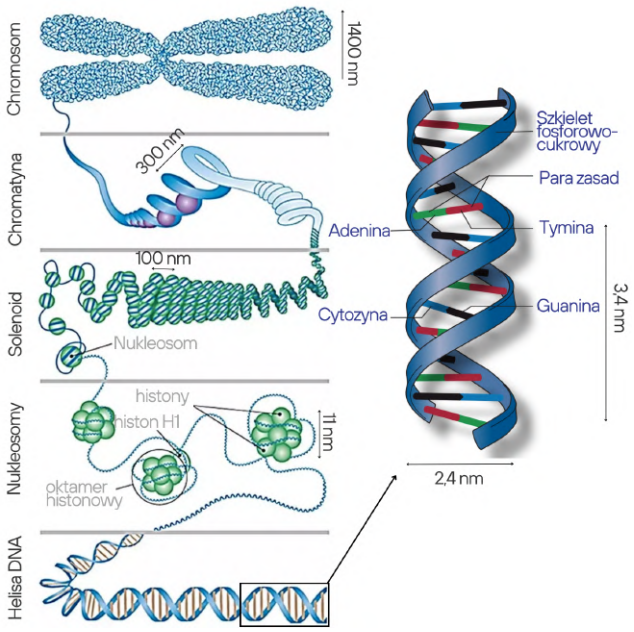
2.2 Jądro komórkowe a efekty biologiczne promieniowania jonizującego

Spośród wszystkich struktur komórki eukariotycznej jądro komórkowe odgrywa kluczową rolę w kontekście oddziaływania promieniowania jonizującego. To właśnie w jądrze zlokalizowany jest kwas deoksyrybonukleinowy, stanowiący nośnik informacji genetycznej oraz podstawę funkcjonowania i replikacji komórki.

Rysunek 2.5 przedstawia organizację materiału genetycznego w jądrze komórkowym – od struktury chromosomu do poziomu molekularnego. Chromosom zbudowany jest z chromatyny, której włókna tworzą pętle złożone ze struktur solenoidowych, powstające w wyniku uporządkowanego ułożenia nukleosomów. Podstawową jednostką strukturalną chromatyny jest nukleosom składający się z fragmentu DNA owiniętego wokół oktameru histonowego. Chromosom metafazowy o średnicy rzędu 1400 nm jest silnie skondensowaną formą chromatyny widoczną podczas podziału komórki.

Najniższy poziom organizacji materiału genetycznego stanowi podwójna, prawoskrętna helisa DNA o średnicy około 2,4 nm. Struktura ta zbudowana jest z komplementarnych par zasad azotowych, ułożonych wzdłuż osi helisy w odstępach około 0,34 nm. Kąt skrętu pomiędzy sąsiednimi parami zasad wynosi około 36°, co odpowiada obecności 10 par zasad w jednym pełnym obrocie helisy [27]. To właśnie w tej skali nanometrowej

zachodzą pierwotne procesy fizyczne – jonizacje i wzbudzenia – inicjujące powstawanie uszkodzeń DNA pod wpływem promieniowania jonizującego.



Rysunek 2.5. Organizacja materiału genetycznego w komórce eukariotycznej, od poziomu molekularnego do struktury chromosomu metafazowego, wraz z przybliżonymi wymiarami (rysunek na podstawie [28, 29]).

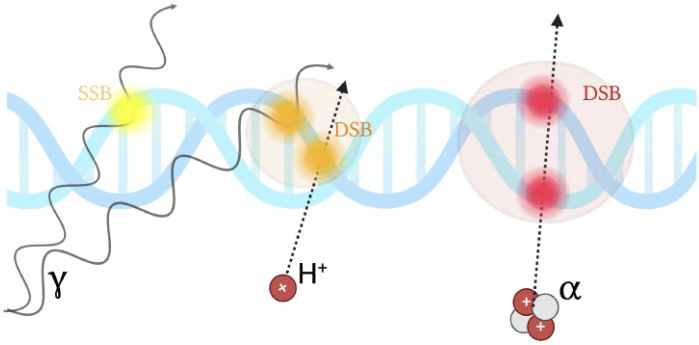
2.2.1 Etapy oddziaływania promieniowania z materiałem biologicznym

Promieniowanie jonizujące wywołuje w komórkach szereg reakcji zachodzących w określonej kolejności czasowej, od oddziaływań fizycznych z materią, po reakcje biologiczne. W **fazie fizycznej**, zachodzącej w skali femtosekund, następuje niemal natychmiastowa jonizacja atomów i transfer energii do elektronów. W wodnym środowisku komórki prowadzi to do powstania molekuł wody w stanie wzbudzonym (H_2O^*) oraz jonów H_2O^+, które są źródłem reaktywnych form tlenu (ROS, ang. *Reactive Oxygen Species*). W **fazie fizykochemicznej** (pikosekundy) powstałe molekuły wody ulegają dalszym reakcjom, tworząc m.in. rodniki hydroksylowe ($^\bullet$OH), wodorkowe ($^\bullet$H), tlen singletowy oraz nadtlenek wodoru (H_2O_2). Powstają też solwatyzowane elektrony e^-_{aq}, które uczestniczą w kolejnych reakcjach chemicznych, przyczyniając się do pośrednich uszkodzeń DNA i innych biomolekuł [30, 31]. W **fazie chemicznej** (trwającej do mikrosekundy) ROS powstałe lokalnie wzdłuż torów promieniowania dyfundują w ośrodku i uczestniczą w reakcjach chemicznych, obejmujących reakcje rodnik–rodnik, rodnik–molekuła oraz przemiany molekularne. Efektem tych procesów są tzw. uszkodzenia pośrednie DNA, białek i lipidów w komórce, a także wpływ na mikrośrodowisko nowotworowe poprzez ROS transportowane poza komórkę. W **fazie biochemicznej** (od mikrosekund do wielu pokoleń komórek) komórka aktywuje mechanizmy naprawy DNA, starając się skorygować modyfikacje zasad, pojedyncze i podwójne przerwania nici oraz złożone uszkodzenia DNA, co jest kluczowe dla zachowania integralności genomu. W końcowej **fazie biologicznej** kluczową rolę odgrywają reakcje komórkowe oraz szlaki zależne od białka p53, które w zależności od poziomu uszkodzeń aktywują mechanizmy naprawy DNA, chwilowo zatrzymują proces podziału komórkowego, całkowicie wyłączają, bądź prowadzą do eliminacji przez apoptozę ciężko uszkodzonych ko-

mórek [32, 33]. Faza ta ilustruje, jak promieniowanie wywołuje zarówno wczesne efekty biologiczne zachodzące bezpośrednio po ekspozycji, jak i długoterminową odpowiedź komórkową, obejmującą ochronę genomu oraz, w niektórych przypadkach, rozwój zmian patologicznych, w tym nowotworów.

2.2.2 Uszkodzenia i mechanizmy naprawy DNA

Promieniowanie jonizujące powoduje w DNA powstawanie różnego rodzaju uszkodzeń, z których najczęstsze to pęknięcia pojedynczoniciowe (SSB, ang. *Single-Strand Breaks*). Jeśli są one od siebie odległe, komórka zazwyczaj skutecznie je naprawia, wykorzystując komplementarną nić jako matrycę. SSB powstają również spontanicznie, bez udziału promieniowania, w liczbie sięgającej dziesiątek tysięcy na komórkę dziennie [34]. Zdecydowana większość SSB jest szybko i skutecznie naprawiana, dlatego ich utrwalenie w postaci mutacji lub innych trwałych zmian genetycznych zachodzi stosunkowo rzadko. Gdy SSB występują blisko siebie, w tym naprzeciwko siebie lub są oddalone o co najwyżej 10 par zasad, mogą współistnieć w obydwu niciach i prowadzić do powstania pęknięć podwójnoniciowych (DSB, ang. *Double-Strand Breaks*). Przecięcie chromatyny na dwie części uznawane jest za najbardziej biologicznie istotne uszkodzenie DNA. DSB mogą występować w formie prostej, obejmującej dwa pojedyncze pęknięcia oddalone od siebie o nie więcej niż 10 par zasad, lub złożonej, w której DSB towarzyszą dodatkowe uszkodzenia w obrębie 1–2 skrętów helisy, co znacznie utrudnia naprawę. Schemat powstawania i klasyfikacji pęknięć został przedstawiony na rysunku 2.6.



Rysunek 2.6. Schemat powstawania pęknięć nici DNA w wyniku oddziaływania promieniowania o różnej gęstości jonizacji. Żółtym punktem zaznaczyłem pęknięcie pojedynczej nici (SSB), pomarańczowymi punktami pęknięcie podwójnej nici (DSB) powstałe wskutek dwóch pęknięć przeciwległych nici zlokalizowanych w niewielkiej odległości, natomiast czerwonymi punktami złożone uszkodzenie DNA indukowane wzdłuż toru pojedynczej cząstki. Zarówno promieniowanie fotonowe, jak i cząstki naładowane mogą indukować SSB oraz DSB. Promieniowanie fotonowe o niskim LET prowadzi jednak zwykle do bardziej rozproszonych uszkodzeń, podczas gdy cząstki naładowane wytwarzają gęstsze klastry jonizacji, zwiększając prawdopodobieństwo powstawania złożonych DSB w wyniku przejścia pojedynczej cząstki.

Uszkodzenia DNA aktywują mechanizmy naprawcze komórki, które rozpoznają i eliminują nieprawidłowości w materiale genetycznym, przywracając integralność genomu [35, 36]. Uszkodzenia zasad azotowych oraz jednoniciowe pęknięcia DNA są naprawiane głównie przez mechanizm naprawy polegający na wycinaniu zasad (BER, ang. *Base Excision Repair*) [35]. Bardziej rozległe uszkodzenia helisy DNA mogą być usuwane drogą naprawy przez wycinanie nukleotydów (NER, ang. *Nucleotide Excision Repair*), natomiast błędy powstające podczas replikacji są korygowane przez system naprawy niesparowanych zasad (MMR, ang. *Mismatch Repair*) [36]. Szczególnie istotne w radiobiologicznym opisie działania promieniowania jonizującego są DSB, które mogą być naprawiane przez niehomologiczne łączenie końców (NHEJ, ang. *Non-Homologous End Joining*), albo przez rekombinację homologiczną (HR, ang. *Homologous Recombination*) [37, 38]. Wybór konkretnego szlaku zależy między innymi od rodzaju uszkodzenia, fazy cyklu komórkowego oraz lokalnej struktury chromatyny. NHEJ może zachodzić przez większość cyklu komórkowego i polega na bezpośrednim połączeniu końców pęknięcia, natomiast HR wymaga obecności siostrzanej chromatydy jako matrycy, dlatego jest ograniczona głównie do faz S i G2 [37, 39]. Nieprawidłowa lub niepełna naprawa DNA może prowadzić do mutacji, aberracji chromosomowych, zatrzymania cyklu komórkowego, apoptozy albo utraty zdolności komórki do dalszych podziałów.

2.2.3 Sposoby pomiaru uszkodzeń DNA – eksperymenty radiobiologiczne

W radiobiologii odpowiedź komórek na promieniowanie jonizujące analizuje się za pomocą metod obejmujących różne poziomy organizacji biologicznej – od przeżywalności pojedynczych komórek, przez zmiany chromosomalne, aż po uszkodzenia DNA i odpowiedź transkrypcyjną. Na poziomie komórkowym podstawowym narzędziem pozostaje test klonogenny, który pozwala określić, jaka część komórek zachowuje zdolność do nieograniczonej proliferacji i tworzenia kolonii po napromienieniu [40, 41]. Szczegółowo procedurę testu klonogennego opiszę poniżej. Uzupełnieniem takich pomiarów mogą być testy apoptozy, na przykład z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i barwienia aneksyną V oraz jodkiem propidyny, które pozwalają odróżnić komórki żywe, apoptotyczne i martwe [42, 43].

Skutki promieniowania można badać również na poziomie chromosomów. W tym celu stosuje się testy cytogenetyczne, umożliwiające ocenę częstości aberracji strukturalnych, takich jak chromosomy dicentryczne, translokacje czy mikrojądra [44, 45]. Analiza aberracji chromosomowych jest szczególnie istotna, ponieważ częstość wybranych zmian chromosomalnych może być powiązana z pochłoniętą dawką promieniowania [44].

Na poziomie molekularnym analizuje się bezpośrednio uszkodzenia DNA oraz kinetykę ich naprawy. Do najczęściej wykorzystywanych metod należy oznaczanie ognisk

γH2AX , czyli ufosforylowanej formy histonu H2AX, która powstaje w otoczeniu dwuniciowych pęknięć DNA i jest stosowana jako czuły marker uszkodzeń typu DSB [46, 47]. Bardziej szczegółową charakterystykę miejsc pęknięć w skali genomowej umożliwiają techniki oparte na sekwencjonowaniu nowej generacji, takie jak BLESS oraz jego rozwinięcie i-BLESS, pozwalające na bezpośrednie znakowanie dwuniciowych pęknięć DNA *in situ* i mapowanie ich położenia z wysoką rozdzielczością [48, 49]. Innym podejściem jest obrazowanie pojedynczych cząsteczek DNA z wykorzystaniem mikroskopii sił atomowych, które umożliwia bezpośrednią identyfikację uszkodzeń DNA powstałych po napromienieniu [50] oraz ilościową ocenę fragmentacji na podstawie rozkładu długości powstałych fragmentów [51, 52, 53].

Odpowiedź komórki na promieniowanie może być oceniana także na poziomie ekspresji genów. W takich badaniach analizuje się zmiany poziomu transkryptów genów związanych między innymi z naprawą DNA, kontrolą cyklu komórkowego, apoptozą i odpowiedzią na stres. Do ilościowej oceny zmian ekspresji genów najczęściej stosuje się ilościową reakcję łańcuchową polimerazy poprzedzoną odwrotną transkrypcją (RT-qPCR, ang. *Reverse Transcription quantitative Polymerase Chain Reaction*) [54, 55]. Sama ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy (qPCR, ang. *quantitative Polymerase Chain Reaction*), prowadzona w czasie rzeczywistym, służy natomiast do oznaczania ilości DNA [56]. Przykładowe prace pokazują, że po ekspozycji na promieniowanie jonizujące można obserwować zmiany ekspresji genów związanych z odpowiedzią na uszkodzenia DNA, takich jak CDKN1A, GADD45A, FDXR, MDM2 czy BBC3 [54, 57].

Test przeżywalności

W badaniach *in vitro* podstawową metodą oceny zdolności komórek do proliferacji po ekspozycji na promieniowanie jonizujące jest test klonogenny. Technika ta umożliwia ilościową ocenę przeżywalności komórkowej poprzez określenie zdolności pojedynczej komórki do utworzenia makroskopowo widocznej kolonii. W praktyce eksperymentalnej komórki po napromienieniu wysiewa się w odpowiedniej gęstości, a po okresie inkubacji zlicza się kolonie spełniające ustalone kryterium liczebności (najczęściej ≥ 50 komórek). Frakcję przeżywającą (SF, ang. *Surviving Fraction*) wyznacza się jako stosunek liczby kolonii powstałych po napromienieniu do liczby wysianych komórek, skorygowany o wydajność klonowania (PE, ang. *Plating Efficiency*) określoną dla próby kontrolnej (nienapromienionej). Matematycznie można to zapisać jako:

$$\mathrm{SF(D)} = \frac{\text{liczba zliczonych kolonii}}{\text{liczba wysianych komórek} \cdot \mathrm{PE}}, \tag{2.7}$$

gdzie:

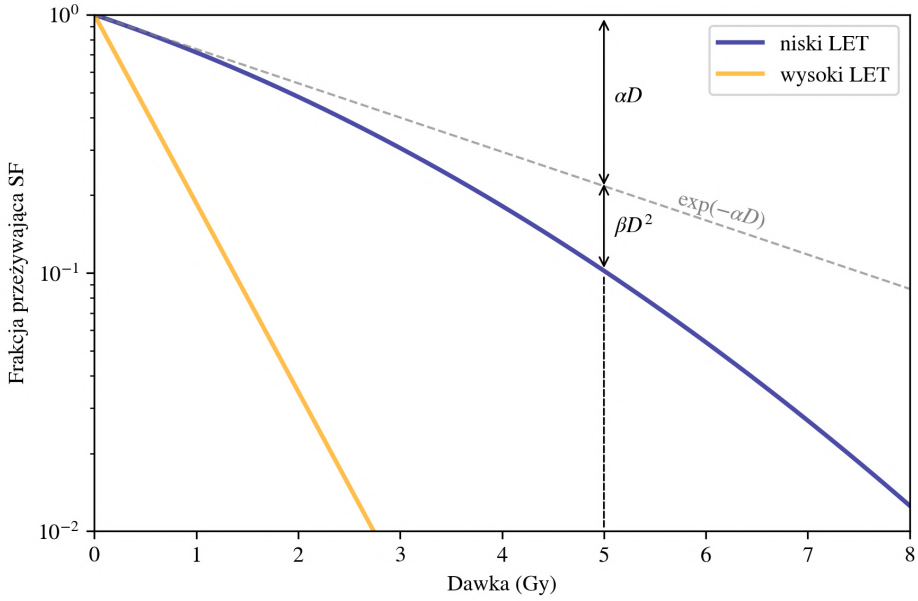
$$\mathrm{PE} = \frac{\text{liczba zliczonych kolonii}}{\text{liczba wysianych komórek}}. \tag{2.8}$$

Otrzymane wartości SF przedstawia się w funkcji dawki D, uzyskując krzywą przeżywalności komórek. W zakresie dawek stosowanych w radiobiologii krzywe przeżywalności komórek najczęściej opisuje się modelem LQ:

$$\mathrm{SF(D)} = \exp(-\alpha D - \beta D^2), \tag{2.9}$$

gdzie α i β są parametrami empirycznymi związanymi z promieniowrażliwością komórek.

Parametr α odpowiada za wykładniczy przebieg krzywej przeżywalności dla niskich dawek, natomiast parametr β opisuje składnik kwadratowy, którego znaczenie wzrasta wraz ze zwiększaniem dawki [58, 59]. Historycznie parametry te interpretowano odpowiednio jako konsekwencję pojedynczych zdarzeń prowadzących do śmierci komórki oraz interakcji pomiędzy subletalnymi uszkodzeniami DNA, jednak współcześnie model LQ traktowany jest przede wszystkim jako opis fenomenologiczny odpowiedzi komórkowej na promieniowanie, stanowi standardowy formalizm analizy krzywych przeżycia w radiobiologii eksperymentalnej oraz podstawę wielu modeli RBE. Przykładowe krzywe przeżywalności dla promieniowania o niskim i wysokim LET przedstawione zostały na rysunku 2.7.



Rysunek 2.7. Krzywe przeżywalności komórek dla promieniowania o niskim i wysokim LET opisane modelem LQ. Strzałki oznaczają wkład członu liniowego (αD) oraz kwadratowego (βD^2).

2.3 Parametry opisujące jakość i skuteczność promieniowania jonizującego

Skutki oddziaływania promieniowania jonizującego w materiale biologicznym zależą zarówno od ilościowej charakterystyki zdeponowanej energii (i tym samym wartości dawki pochłoniętej), jak i od jakości promieniowania determinującej przestrzenny sposób jego oddziaływania z atomami ośrodka. W niniejszym podrozdziale przedstawię podstawowe parametry dozymetryczne służące do opisu tych właściwości oraz ich znaczenie dla efektu biologicznego.

2.3.1 Parametry fizyczne – dawka i LET

Podstawową wielkością opisującą oddziaływanie promieniowania jonizującego jest dawka pochłonięta, definiowana jako stosunek energii E zdeponowanej w ośrodku do masy m tego ośrodka [60]. Wielkość ta jest bezpośrednio związana z objętością V oraz gęstością ρ materiału, w którym zachodzi depozycja energii. Zależność tę można zapisać w postaci:

$$D = \frac{E}{m} = \frac{E}{\rho V}. \tag{2.10}$$

Powszechnie stosowaną jednostką dawki pochłoniętej jest grej (Gy), odpowiadający depozycji energii równej 1 dżulowi w ośrodku o masie 1 kg, tj. 1 Gy $= 1\frac{\mathrm{J}}{\mathrm{kg}}$. Jednostka ta została oficjalnie przyjęta jako jednostka SI dawki pochłoniętej promieniowania jonizującego podczas 15. Generalnej Konferencji Miar i Wag w 1975 roku (Rezolucja 9), na podstawie rekomendacji ICRU [61]. W publikacjach sprzed tego okresu powszechnie stosowano jednostkę rad, przy czym 1 rad = 0,01 Gy, stąd nadal powszechne w użyciu m.in. w systemach planowania radioterapii są cGy.

Dawka pochłonięta ma charakter makroskopowy i nie zawiera informacji o przestrzennym rozkładzie depozycji energii w skali mikrometrowej ani o jakości promieniowania. Ta sama dawka pochłonięta nie musi prowadzić do takiego samego efektu biologicznego, ponieważ różne rodzaje promieniowania wytwarzają odmienną strukturę uszkodzeń DNA. Dla promieniowania fotonowego o niskim LET dawka rzędu 1 Gy indukuje w komórce tysiące uszkodzeń zasad i pęknięć jednoniciowych DNA oraz około kilkudziesięciu pęknięć dwuniciowych [62]. W przypadku promieniowania o wysokim LET istotna jest nie tylko liczba uszkodzeń, lecz przede wszystkim ich przestrzenne skupienie wzdłuż toru cząstki. Przejście pojedynczej cząstki α przez jądro komórkowe może prowadzić do powstania pasma złożonych uszkodzeń DNA, obejmującego typowo około 10–20 pęknięć dwuniciowych na 10 µm toru [63]. Taka koncentracja uszkodzeń prowadzi do powstawania złożonych, kompleksowych zmian w DNA, które są trudniejsze do naprawy i mogą skutkować większą skutecznością promieniowania w zabijaniu komórek nowotworowych mimo porównywalnej dawki pochłoniętej.

Aby uwzględnić różnice między rodzajami promieniowania, w ochronie radiologicznej wprowadza się dawkę równoważną H_T:

$$H_T = w_R \cdot D_{T,R}, \tag{2.11}$$

gdzie: w_R czynnik wagowy promieniowania R, a $D_{T,R}$ to średnia dawka pochłonięta promieniowania R przez tkankę T. Dla fotonów $w_R = 1$, natomiast dla cząstek α przyjmuje się $w_R = 20$, co odzwierciedla ich większą skuteczność biologiczną. Dodatkowo, różną promieniowrażliwość narządów uwzględnia dawka skuteczna E_H obliczana jako suma dawek równoważnych w poszczególnych tkankach pomnożonych przez odpowiednie czynniki wagowe tkanek w_T:

$$E_H = \sum_T w_T \cdot H_T. \tag{2.12}$$

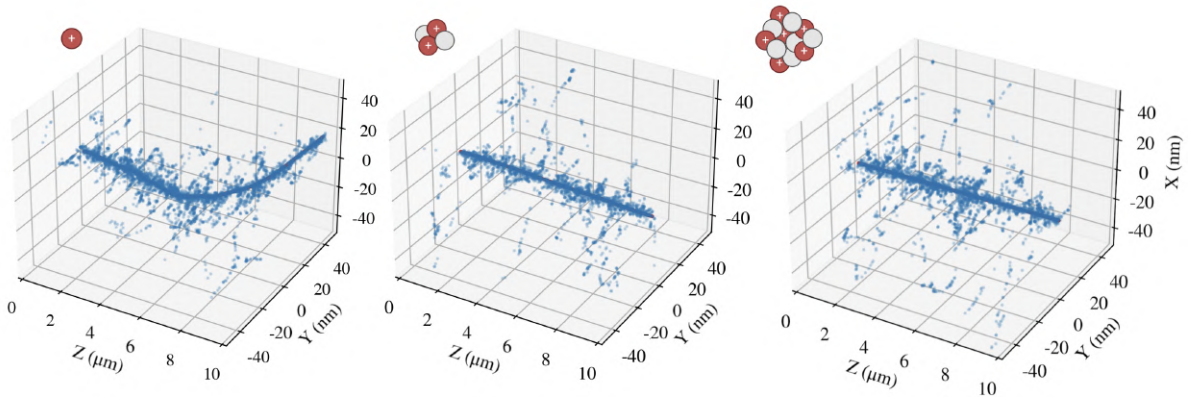
Przykładowo dla szpiku kostnego i płuc $w_T = 0{,}12$, dla gonad $w_T = 0{,}08$, a dla skóry i mózgu $w_T = 0{,}01$. Suma współczynników wagowych dla całego ciała jest równa 1 [64]. Wielkość ta służy do porównywania poziomu narażenia z uwzględnieniem ryzyka wystąpienia stochastycznych skutków zdrowotnych.

Konsekwencje biologiczne promieniowania jonizującego zależą nie tylko od wartości dawki pochłoniętej, która stanowi podstawowy parametr stosowany w dozymetrii, lecz nie opisuje w pełni jakościowych różnic pomiędzy rodzajami promieniowania. Istotną rolę odgrywa również przestrzenny rozkład depozycji energii wokół toru cząstki, kształtowany przez oddziaływania cząstki pierwotnej oraz elektronów wtórnych. Zależność tę opisuje LET, wprowadzony już w latach 40. XX wieku [65].

LET definiowany jest jako średnia energia $\mathrm{d}E$ deponowana przez cząstkę na jednostkę drogi $\mathrm{d}x$ w ośrodku na skutek oddziaływań elektromagnetycznych:

$$\mathrm{LET} = \frac{\mathrm{d}E}{\mathrm{d}x}. \tag{2.13}$$

Wartość LET najczęściej wyrażana jest w jednostkach $\frac{\mathrm{keV}}{\mu\mathrm{m}}$ lub równoważnie $\frac{\mathrm{MeV}}{\mathrm{mm}}$. Promieniowanie o wysokim LET charakteryzuje się większą gęstością jonizacji, co prowadzi do powstawania bardziej złożonych uszkodzeń cząsteczki DNA i, w konsekwencji, do silniejszego efektu biologicznego niż w przypadku promieniowania o niskim LET, nawet przy tej samej wartości dawki pochłoniętej. Na rysunku 2.8 przedstawiłem oddziaływania cząstki pierwotnej o LET zbliżonym do 20 $\frac{\mathrm{keV}}{\mu\mathrm{m}}$ w wodzie na drodze 10 μm, odpowiadającej średnicy typowego jądra komórkowego. Taka wartość LET jest charakterystyczna dla: niskoenergetycznych protonów (1,5 MeV), cząstek alfa o energii ok. 35 MeV, wysokoenergetycznych jonów węgla (1 GeV). Rysunek ilustruje typowy rozkład przestrzenny jonizacji w obrębie jądra komórkowego dla wymienionych cząstek, podkreślając gęstość i rozmieszczenie aktów oddziaływania w mikrośrodowisku biologicznym.



Rysunek 2.8. Przykładowe struktury torów jonizacji w jądrze komórkowym (o długości 10 μm) dla cząstek o LET około 20 $\frac{\text{keV}}{\mu\text{m}}$ w wodzie. Od lewej: niskoenergetyczny proton, cząstka alfa oraz wysokoenergetyczny jon węgla.

Pomimo szerokiego zastosowania parametru LET w radiobiologii i fizyce medycznej, jego zdolność do jednoznacznego opisu jakości promieniowania pozostaje ograniczona. LET jest wielkością uśrednioną i nie zawiera informacji o szczegółowym rozkładzie przestrzennym aktów jonizacji. Parametr ten nie opisuje radialnego rozkładu depozycji energii wokół osi toru ani gęstości jonizacji w jego rdzeniu. Dwie cząstki o tej samej wartości LET mogą różnić się istotnie charakterystyką fizyczną toru, w tym zasięgiem i energią elektronów δ oraz przestrzennym rozkładem depozycji energii w skali nanometrowej. Na rysunku 2.8 można zauważyć istotne różnice w zasięgu elektronów δ dla toru protonu i wysokoenergetycznego jonu węgla. W kontekście powstawania złożonych uszkodzeń DNA, to właśnie mikro- i nanostruktura toru cząstki ma kluczowe znaczenie, natomiast wartość średnia $\frac{\mathrm{d}E}{\mathrm{d}x}$ nie jest wystarczającym deskryptorem przestrzennego rozkładu aktów jonizacji. Dodatkowym ograniczeniem jest niejednoznaczność definicji parametru LET [9, 66, 67]. W literaturze stosowane są różne jej warianty, takie jak LET uśredniany po torze cząstki (*track-averaged* LET), LET ważony dawką (*dose-averaged* LET) czy LET ograniczony (*restricted* LET). Wartości te mogą znacząco się różnić, szczególnie w przypadku ciężkich jonów, gdzie wkład wysokoenergetycznych elektronów δ odgrywa istotną rolę w transporcie energii poza rdzeń toru. Brak jednolitego standardu raportowania prowadzi do trudności w bezpośrednim porównywaniu wyników uzyskanych w różnych eksperymentach i symulacjach z wykorzystamniem promieniowania jonizującego.

Istotnym aspektem jest również skala przestrzenna, w której definiowany jest parametr LET. Wielkość ta odnosi się do depozycji energii uśrednionej w skali mikrometrowej, podczas gdy krytyczne procesy biologiczne zachodzą w skali nanometrowej, odpowiadającej wymiarom cząsteczki DNA i struktur chromatyny. LET nie uwzględnia fluktuacji depozycji energii w małych objętościach ani statystycznego charakteru pojedynczych zdarzeń jonizacyjnych. Z tego względu rozwinięto bardziej zaawansowane podejścia, takie jak mikrodozymetria, nanodozymetria oraz modele oparte na szczegóło-

wej strukturze toru (*track-structure* Monte Carlo), które stanowią próbę przezwyciężenia ograniczeń klasycznego opisu opartego wyłącznie na parametrze LET.

W idealnym przypadku, gdy cały obszar napromienianych komórek otrzymuje jednakową dawkę dostarczoną przez cząstki o tej samej wartości LET, można oczekiwać podobnego efektu biologicznego w całej objętości napromienianej tkanki. W rzeczywistych warunkach uzyskanie takiej jednorodności jest jednak bardzo trudne. Często jednorodnemu rozkładowi dawki w obszarze napromienianym towarzyszy szerokie widmo LET. Związane jest to z deponowaniem energii przez cząstki lecące pod różnymi kątami, które przy przechodzeniu przez absorber mają w nim do przebycia różną drogę, wytracając przy tym znaczną część energii. Im niższa energia cząstki w momencie wejścia do badanego ośrodka (np. warstwy komórkowej), tym większa wartość LET. Chcąc uzyskać stałą wartość LET poprzez odrzucenie cząstek padających pod dużymi kątami, tracimy jednorodność rozkładu dawki [68]. W praktyce utrzymanie obu tych parametrów na stałym poziomie jest trudne, dlatego LET nie stanowi optymalnego wskaźnika do opisu oddziaływania promieniowania na materiał biologiczny.

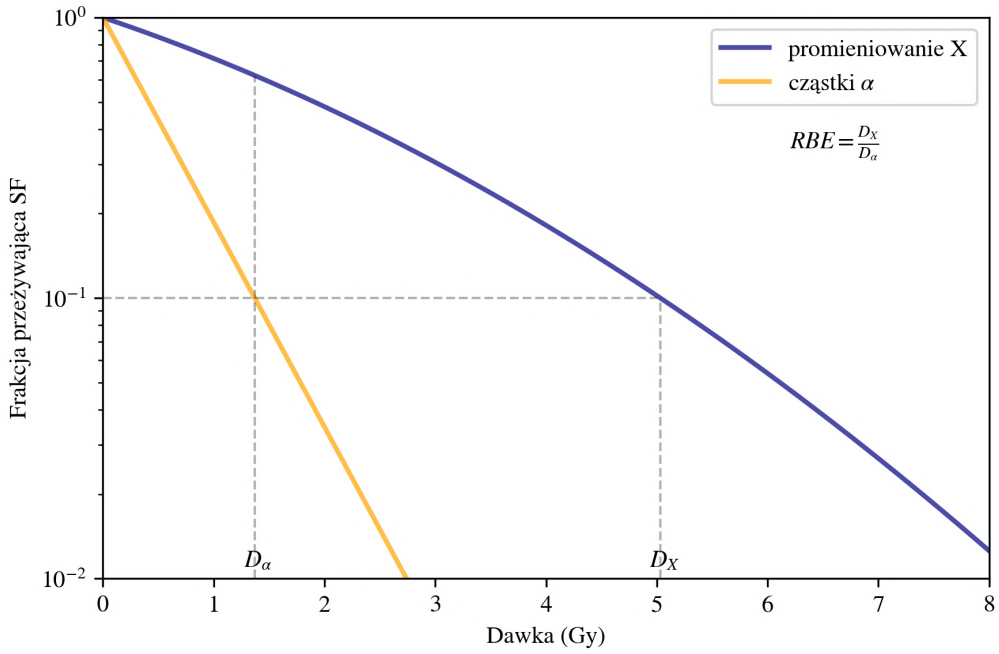
2.3.2 Parametry radiobiologiczne – RBE i σ

W celu ilościowego porównania skuteczności biologicznej różnych rodzajów promieniowania wprowadzono parametr względnej skuteczności biologicznej, zdefiniowany jako stosunek dawki promieniowania referencyjnego D_{ref} (promieniowanie o niskim LET, czyli najczęściej promieniowanie rentgenowskie w zakresie napięcia przyspieszającego elektrony o wartości 200-250 kVp lub promieniowanie γ ze źródeł ^{60}Co lub ^{137}Cs) do dawki badanego promieniowania D_{test} wywołującej ten sam efekt biologiczny:

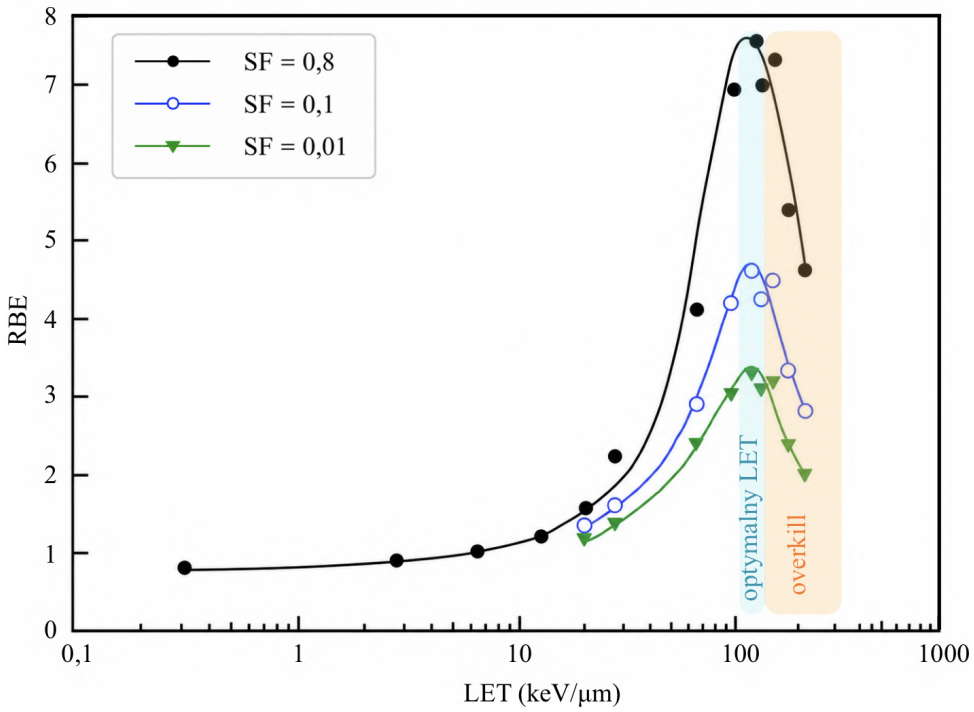
$$\mathrm{RBE} = \frac{D_{ref}}{D_{test}}. \tag{2.14}$$

Na rysunku 2.9 przedstawiłem schemat wyznaczania wartości RBE dla poziomu przeżycia komórek równego 10% (SF = 0,1). Należy podkreślić, że wyznaczona wartość RBE zależy od przyjętego punktu końcowego, w tym od wybranego poziomu frakcji przeżywającej — dla różnych wartości SF otrzymuje się różne wartości RBE.

Niemniej, analizując zależność RBE od LET, obserwuje się zbliżony jakościowo przebieg tej funkcji niezależnie od przyjętego poziomu SF. Zmianie ulega przede wszystkim bezwzględna wartość RBE, natomiast ogólny kształt zależności pozostaje podobny [71, 72, 73]. Zależność RBE od LET dla różnych poziomów SF przedstawiłem na rysunku 2.10. Choć obserwuje się ogólną tendencję wzrostu RBE wraz ze wzrostem LET, zależność ta nie ma charakteru liniowego. Wykazuje ona maksimum w zakresie około 100 $\frac{\mathrm{keV}}{\mu\mathrm{m}}$, po którym następuje spadek efektywności związany z efektem nadmiernej depozycji energii (ang. *overkill*), co oznacza dodatkową, zbędną porcję energii na uszkodzenie radiacyjne komórki już nieodwracalnie uszkodzonej. Sam parametr LET nie po-



Rysunek 2.9. Sposób wyznaczania RBE. Ze względu na użycie lampy rentgenowskiej i źródła ^{241}Am emitującego cząstki α, dawka referencyjna D_{ref} została oznaczona jako D_X, natomiast dawka badanego promieniowania D_{test} jako D_α. Krzywe przeżycia zostały narysowane dla parametrów α i β wyznaczonych dla komórek nowotworowych gruczołu krokowego w badaniach naszej grupy [69].



Rysunek 2.10. Zależność względnej skuteczności biologicznej RBE od LET dla różnych poziomów przeżywalności komórek: SF = 0,8, SF = 0,1 oraz SF = 0,01 wraz z zaznaczonymi obszarami optymalnego LET oraz występowania efektu *overkill* (na podstawie [1, 70]).

zwala zatem przewidzieć wartości RBE ani określić położenia maksimum tej zależności. Co więcej, efekt biologiczny zależy także od typu komórki, fazy cyklu komórkowego oraz sprawności mechanizmów naprawy DNA, co dodatkowo ogranicza użyteczność LET jako uniwersalnego wskaźnika jakości promieniowania.

Warto zauważyć, że zależność RBE od LET dla danej linii komórkowej można określić dla różnych typów promieniowania, co umożliwia porównanie ich skuteczności biologicznej przy tej samej wartości LET. Badania prowadzone na tej samej linii komórkowej wykazały, że różne rodzaje promieniowania mogą charakteryzować się odmiennymi wartościami RBE przy tej samej wartości LET [74, 75]. W praktyce oznacza to, że dla tej samej wartości LET dany rodzaj promieniowania może być bardziej lub mniej biologicznie efektywny w indukcji uszkodzeń DNA w zależności od energii wtórnych elektronów oraz rozkładu przestrzennego aktów jonizacji.

Przekrój czynny na inaktywację komórki σ, analogicznie do przekroju czynnego definiowanego w fizyce jądrowej, interpretuje się jako efektywną powierzchnię, w obrębie której depozycja energii prowadzi do powstania nieodwracalnych uszkodzeń biologicznych skutkujących utratą zdolności proliferacyjnych komórki. Parametr ten uwzględnia zarówno właściwości fizyczne promieniowania, charakteryzowane między innymi przez LET, jak i odpowiedź biologiczną napromienianego układu opisaną współczynnikami α i β modelu LQ [76]. Dzięki temu znajduje szerokie zastosowanie w analizie oraz porównywaniu skuteczności biologicznej różnych rodzajów i energii promieniowania jonizującego.

W zależności od przyjętej wartości frakcji przeżycia komórek SF możliwe jest wyznaczenie odpowiednich wartości przekroju czynnego. Przekrój na inaktywację wyznaczano zgodnie z zależnością

$$\sigma_{SF} = \frac{k}{\rho}\mathrm{LET}\sqrt{\alpha^2 - 4\beta\ln(\mathrm{SF})}, \tag{2.15}$$

gdzie α oraz β są współczynnikami modelu liniowo-kwadratowego opisującego przeżywalność komórek, parametr k przyjmuje wartość 0,1602 dla przypadku, gdy LET wyrażony jest w jednostkach $\frac{\mathrm{keV}}{\mu\mathrm{m}}$, natomiast symbol ρ oznacza gęstość napromienianego ośrodka. Dla wody przyjęto wartość $\rho = 1\ \mathrm{g}\cdot\mathrm{cm}^{-3}$.

Zależność ta wynika z połączenia modelu liniowo-kwadratowego ze związkiem między dawką pochłoniętą a fluencją cząstek. Dla monoenergetycznej wiązki cząstek dawkę można zapisać jako $D = \frac{k}{\rho}\mathrm{LET}\,\Phi$, gdzie Φ oznacza fluencję. Przekrój czynny na inaktywację definiuje się jako zmianę efektu radiobiologicznego -d ln(SF) przypadającą na jednostkową zmianę fluencji dΦ:

$$\sigma_{\mathrm{SF}} = -\frac{\mathrm{d}\ln(\mathrm{SF})}{\mathrm{d}\Phi} = \frac{k}{\rho}\mathrm{LET}\left(\alpha + 2\beta D_{\mathrm{SF}}\right). \tag{2.16}$$

Dawkę D_{SF} odpowiadającą przyjętej frakcji przeżycia wyznacza się z modelu liniowo-kwadratowego, rozwiązując równanie $\beta D_{\mathrm{SF}}^2 + \alpha D_{\mathrm{SF}} + \ln(\mathrm{SF}) = 0$. Po podstawieniu jego dodatniego rozwiązania $\left(D_{\mathrm{SF}} = \frac{-\alpha + \sqrt{\alpha^2 - 4\beta \ln(\mathrm{SF})}}{2\beta} \right)$ do powyższej zależności otrzymuje się równanie 2.15.

2.3.3 Promieniowrażliwość komórek

Promieniowrażliwość wewnętrzna oznacza naturalną podatność komórek na działanie promieniowania jonizującego, niezależną od czynników zewnętrznych. Jest ona związana przede wszystkim ze zdolnością komórki do rozpoznawania i naprawy uszkodzeń DNA oraz z aktywacją odpowiedzi na stres indukowany promieniowaniem. Nawet w populacji komórek tego samego typu, napromienianych w identycznych warunkach, obserwuje się jednak zróżnicowaną odpowiedź biologiczną. Wynika ona nie tylko ze statystycznego charakteru depozycji energii i losowego rozmieszczenia jonizacji w jądrze komórkowym, ale także z naturalnej zmienności międzykomórkowej, związanej między innymi z fluktuacjami ekspresji genów i poziomem białek uczestniczących w odpowiedzi na uszkodzenia DNA. W konsekwencji promieniowrażliwość nie jest jedną stałą cechą populacji komórek, lecz może wykazywać zmienność nawet między komórkami o podobnych właściwościach biologicznych [77].

Kluczową rolę w odpowiedzi komórkowej odgrywa aktywność proliferacyjna oraz sprawność mechanizmów naprawy DNA. Komórki intensywnie proliferujące, przechodzące przez kolejne fazy cyklu komórkowego, wykazują większą promieniowrażliwość niż komórki pozostające w fazie spoczynkowej G_0. Wrażliwość zmienia się również w zależności od fazy cyklu – najwyższa obserwowana jest w późnej fazie G_2 oraz podczas mitozy, natomiast względna promieniooporność występuje w fazie S, co wiąże się z aktywnością mechanizmów replikacyjnych i reorganizacją chromatyny. Zmienność ta znajduje odzwierciedlenie w wartościach parametrów α i β modelu LQ, które opisują promieniowrażliwość komórek i mogą różnić się w zależności od fazy cyklu komórkowego oraz efektywności mechanizmów naprawy DNA.

Istotnym parametrem opisującym zależność pomiędzy właściwościami fizycznymi promieniowania a odpowiedzią biologiczną komórki jest przekrój czynny na inaktywację komórki σ. Wielkość ta jest bezpośrednio związana z promieniowrażliwością komórek – wyższe wartości przekroju czynnego odpowiadają większemu prawdopodobieństwu inaktywacji komórki po napromienieniu, a tym samym większej promieniowrażliwości badanego układu biologicznego. Oznacza to, że komórki charakteryzujące się dużymi wartościami σ wymagają mniejszej dawki do osiągnięcia określonego poziomu przeżycia niż komórki bardziej promieniooporne.

Ponieważ parametr σ zależy zarówno od LET, jak i współczynników α oraz β modelu liniowo-kwadratowego, odzwierciedla on jednocześnie właściwości fizyczne pro-

mieniowania oraz biologiczną odpowiedź komórek. Wzrost wartości współczynnika α, związany ze zwiększoną częstością powstawania uszkodzeń letalnych, prowadzi do wzrostu wartości przekroju czynnego. Analogicznie promieniowanie o wysokim LET, powodujące gęstszą i bardziej złożoną strukturę jonizacji, zwykle skutkuje większymi wartościami σ niż promieniowanie o niskim LET. Dzięki temu przekrój czynny może być traktowany jako parametr opisujący skuteczność biologiczną promieniowania oraz stopień promieniowrażliwości komórek dla określonych warunków napromieniania.

Wśród czynników biologicznych istotne są: typ komórki (np. nowotworowa vs. prawidłowa, macierzysta vs. zróżnicowana), profil mutacyjny, poziom ekspresji białek zaangażowanych w naprawę DNA, a także stan epigenetyczny i organizacja chromatyny. Promieniowrażliwość jest wynikiem równowagi pomiędzy indukcją uszkodzeń – determinowaną przez parametry fizyczne promieniowania – a wydajnością procesów naprawczych. Zależność między molekularnymi zmianami w DNA a obserwowanym efektem biologicznym na poziomie przeżycia komórkowego stanowi podstawę interpretacji krzywych SF(D), analiz RBE(LET) oraz parametrów przekroju czynnego na inaktywację komórki.

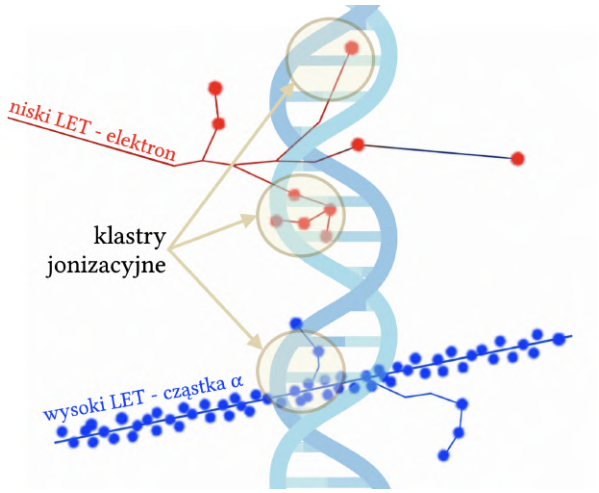
Zrozumienie tych mechanizmów ma kluczowe znaczenie zarówno dla optymalizacji terapii z wykorzystaniem cząstek naładowanych i modelowania RBE zależnego od LET, jak i dla oceny ryzyka radiacyjnego rozumianego jako prawdopodobieństwo wystąpienia niekorzystnych skutków zdrowotnych po ekspozycji na promieniowanie jonizujące.

2.4 Nanodozymetria i parametry struktury toru promieniowania w nanoskali

Dawka pochłonięta, LET, RBE oraz współczynniki modelu LQ należą do podstawowych wielkości wykorzystywanych do opisu oddziaływania promieniowania jonizującego z materiałem biologicznym. Mają one jednak charakter makroskopowy i opisują głównie uśrednioną odpowiedź układu, nie uwzględniając bezpośrednio przestrzennej struktury depozycji energii w skali DNA. Ponieważ pierwotne zdarzenia prowadzące do uszkodzeń biologicznych zachodzą w skali nanometrowej, konieczne jest zastosowanie podejścia pozwalającego analizować strukturę jonizacji w bardzo małych objętościach materii. Taką możliwość daje nanodozymetria, która umożliwia statystyczny opis zdarzeń jonizacyjnych w objętościach porównywalnych z wymiarami helisy DNA. W poniższym rozdziale wprowadzę podstawowe pojęcia nanodozymetryczne oraz omówię ich powiązanie z wielkościami radiobiologicznymi.

2.4.1 Pojęcia podstawowe

Skala nanometrowa odpowiada rozmiarom podstawowych struktur biologicznych, takich jak fragmenty cząsteczki DNA czy nukleosomy, dlatego opis procesów zachodzących na tym poziomie jest istotny dla zrozumienia mechanizmów powstawania uszkodzeń radiacyjnych. W przeciwieństwie do klasycznej dozymetrii, która operuje wielkościami uśrednionymi w makroskopowej objętości ośrodka, nanodozymetria koncentruje się na pojedynczych zdarzeniach jonizacji zachodzących w bardzo małych objętościach zwanych **objętościami czułymi** (SV, ang. *Sensitive Volume*). Analizowana jest liczba jonizacji powstałych w wyniku przejścia cząstki promieniowania przez SV lub jej wtórnych elektronów.



Rysunek 2.11. Rozkład jonizacji indukowanych przez elektron i cząstkę α w DNA, z zaznaczonymi klastrami jonizacyjnymi (na podstawie [78]).

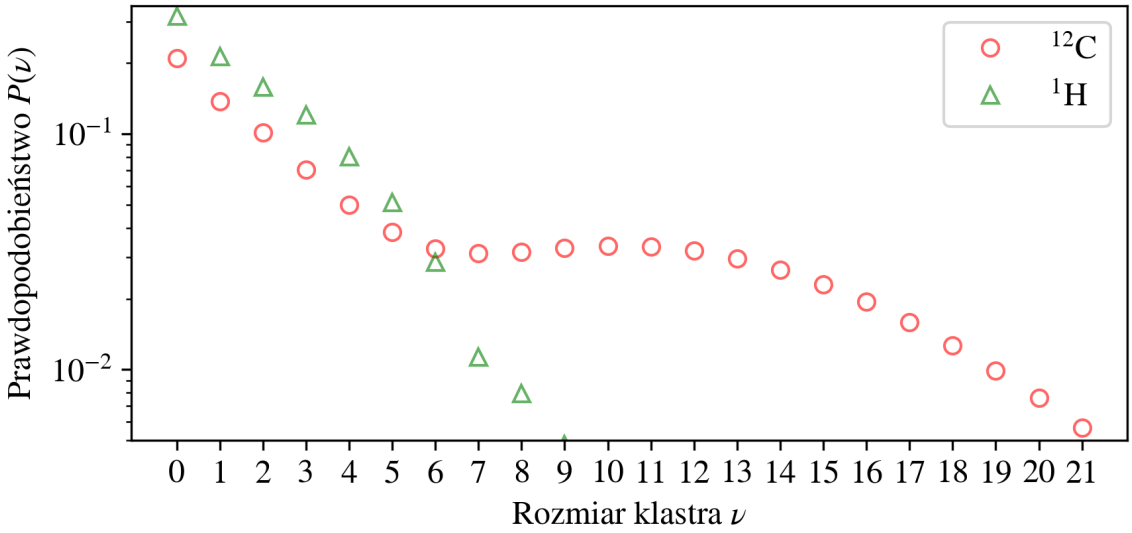
Na rysunku 2.11 przedstawiłem schematyczny rozkład zdarzeń jonizacyjnych indukowanych przez elektron oraz cząstkę α w DNA, z zaznaczonymi klastrami jonizacyjnymi. Elektron, reprezentujący promieniowanie o niskim LET, prowadzi do bardziej rozproszonego układu jonizacji, natomiast cząstka α jako promieniowanie o wysokim LET generuje znacznie gęstszy rozkład zdarzeń wzdłuż toru cząstki. Trajektorie zaznaczone na rysunku mają charakter poglądowy i ilustrują różnice w przestrzennej strukturze jonizacji. W rzeczywistości tor promieniowania powstaje w wyniku stochastycznych oddziaływań cząstek pierwotnych i wtórnych z materią, a lokalne zagęszczenie aktów jonizacji może prowadzić do powstawania złożonych uszkodzeń DNA.

Jedną z podstawowych wielkości opisujących strukturę toru promieniowania w tej skali jest liczba jonizacji powstałych w określonej SV. Wielkość ta określana jest jako **rozmiar klastra jonizacyjnego** ν. Klaster jonizacyjny definiuje się jako zbiór aktów jonizacji występujących w objętości czułej wskutek oddziaływania cząstki z wypełniającym ją materiałem. Jonizacje tworzące klaster nie muszą być generowane przez tę samą cząstkę jonizującą — mogą pochodzić również od elektronów wtórnych lub innych produktów oddziaływań. Kluczowe znaczenie ma ich współistnienie w tej samej ograniczonej objętości oraz w bardzo krótkim przedziale czasowym, praktycznie natychmiastowym z punktu widzenia procesów chemicznych.

Warto zauważyć, że przejście cząstki przez objętość czułą nie zawsze prowadzi do powstania jonizacji w jej wnętrzu. W takim przypadku w eksperymencie rejestro-

wany jest **klaster o rozmiarze zerowym** ($\nu = 0$). Możliwe jest analizowanie wyłącznie klastrów niezerowych, jednak metody nanodozymetryczne umożliwiają również wyznaczanie prawdopodobieństwa wystąpienia klastrów zerowych. Cecha ta stanowi jedną z istotnych różnic pomiędzy nanodozymetrią a mikrodozymetrią.

Rozkład rozmiaru klastrów jonizacyjnych P_ν (ICSD) opisuje prawdopodobieństwo powstania klastra o określonym rozmiarze ν. Rozkład ten stanowi jedno z podstawowych narzędzi charakteryzowania jakości promieniowania w nanoskali. Parametry wyznaczane na podstawie ICSD dostarczają informacji o lokalnej koncentracji depozycji energii i umożliwiają ocenę potencjalnej skuteczności biologicznej promieniowania, szczególnie w odniesieniu do struktur o wymiarach porównywalnych z fragmentami DNA czy nukleosomami. Przykładowe ICSD zostały zaprezentowane na rysunku 2.12.



Rysunek 2.12. Przykładowe ICSD dla dwóch rodzajów promieniowania na podstawie symulacji MC.

2.4.2 Parametry nanodozymetryczne

Analiza rozkładów ICSD pozwala na zdefiniowanie szeregu parametrów nanodozymetrycznych wykorzystywanych do opisu struktury toru promieniowania. Parametry te służą między innymi do walidacji modeli symulacyjnych oraz porównywania wyników eksperymentalnych, a wybrane z nich są rozważane jako nowe miary jakości promieniowania.

Jednym z podstawowych parametrów jest **średni rozmiar klastra jonizacyjnego** M_1, opisujący średnią liczbę aktów jonizacji przypadających na pojedynczy klaster. Wielkość ta stanowi pierwszy moment rozkładu ICSD i może być interpretowana jako miara lokalnej gęstości jonizacji w SV. Parametr M_1 definiowany jest zależnością

$$M_1 = \sum_{\nu=0}^{\infty} \nu P_\nu, \tag{2.17}$$

gdzie P_ν oznacza prawdopodobieństwo wystąpienia klastra o rozmiarze ν.

Poza średnim rozmiarem klastra analizie poddano również **skumulowane prawdopodobieństwo** F_k, opisujące prawdopodobieństwo wystąpienia klastra jonizacyjnego o rozmiarze równym lub większym niż zadana wartość progowa k. Parametr ten pozwala określić częstość zdarzeń charakteryzujących się wysoką lokalną koncentracją jonizacji, które mogą mieć istotne znaczenie biologiczne. Wielkość F_k definiowana jest jako skumulowana funkcja rozkładu ICSD:

$$F_k = \sum_{\nu=k}^{\infty} P_\nu, \tag{2.18}$$

gdzie P_ν oznacza prawdopodobieństwo wystąpienia klastra jonizacyjnego o rozmiarze ν, natomiast k stanowi próg liczby jonizacji w klastrze, dla którego liczone jest F_k. W praktyce szczególne znaczenie przypisuje się parametrom takim jak F_2, odnoszącym się do prawdopodobieństwa wystąpienia co najmniej dwóch jonizacji w SV, np. indukujących DSB, co może być interpretowane jako wskaźnik zwiększonego prawdopodobieństwa powstawania złożonych uszkodzeń biologicznych.

Kolejną analizowaną wielkością była **ważona skumulowana funkcja prawdopodobieństwa** R_2, uwzględniająca łączny efekt występowania więcej niż dwóch jonizacji w obrębie pojedynczego klastra. Parametr ten odnosi się do sytuacji, w której wiele subletalnych uszkodzeń powstałych wskutek kolejnych aktów jonizacji może prowadzić do powstania uszkodzenia letalnego. Wielkość R_2 definiowana jest następująco:

$$R_2(p) = \sum_{\nu=2}^{\infty} \sum_{k=2}^{\nu} P_\nu B_k(\nu, p), \tag{2.19}$$

gdzie P_ν jest rozkładem prawdopodobieństwa rozmiaru klastra jonizacyjnego ν, natomiast $B_k(\nu, p)$ oznacza prawdopodobieństwo, że spośród ν aktów jonizacji dokładnie k doprowadzi do powstania subletalnych uszkodzeń. Wielkość tę opisuje rozkład dwumianowy:

$$B_k(\nu, p) = \binom{\nu}{k} p^k (1-p)^{\nu-k}, \tag{2.20}$$

gdzie p oznacza prawdopodobieństwo sytuacji, gdy pojedynczy akt jonizacji doprowadzi do powstania subletalnego uszkodzenia biologicznego [79].

Takie probabilistyczne ujęcie jest zgodne z podejściem stosowanym w modelach nanodozymetrycznych uszkodzeń DNA. Przykładowo, w modelu Garty'ego prawdopodobieństwo przekształcenia pojedynczej jonizacji w pojedyncze pęknięcie (SB, ang. *Single*

Break) nici DNA przyjęto jako $p_{\mathrm{SB}} = 0{,}1$, natomiast całkowite prawdopodobieństwo powstania pojedynczego uszkodzenia DNA, obejmującego SB lub uszkodzenie zasady, wynosiło $p_{\mathrm{tot}} = 0{,}35$ [12]. W niniejszej pracy parametr p traktowałem jako parametr efektywny, opisujący prawdopodobieństwo, że lokalne zdarzenia jonizacyjne przyczynią się do powstania uszkodzeń istotnych z punktu widzenia inaktywacji komórki. Nie stanowił on zatem bezpośredniego odpowiednika ani p_{SB}, ani p_{tot}.

W przedstawionym ujęciu wyższe wartości parametru p odpowiadają większemu prawdopodobieństwu kumulacji uszkodzeń prowadzących do efektów letalnych. Parametr ten można zatem interpretować jako miarę zwiększonej promieniowrażliwości komórek. Wielkość R_2 stanowi więc istotny wskaźnik jakości promieniowania, ponieważ uwzględnia nie tylko liczbę jonizacji, ale również możliwość ich wspólnego oddziaływania biologicznego w obrębie nanometrowych struktur materiału biologicznego.

ROZDZIAŁ 3

PRZYGOTOWANIE DANYCH I METODY ANALIZY

W niniejszym rozdziale przedstawiłem metody przygotowania danych radiobiologicznych oraz procedury analizy wykorzystane w pracy. Opisałem źródła danych eksperymentalnych, kryteria doboru linii komórkowych oraz sposób ponownego wyznaczania parametrów modelu liniowo-kwadratowego. Następnie omówiłem zastosowane metody Monte Carlo oraz konfigurację symulacji przeprowadzonych z użyciem pakietów SRIM i Geant4. Szczególną uwagę poświęciłem procedurze wyznaczania rozkładów klastrów jonizacyjnych oraz metodom ich statystycznego opisu z wykorzystaniem klasycznego i uogólnionego rozkładu Poissona.

Analizę danych przeprowadziłem przy użyciu języka programowania Python z wykorzystaniem środowiska programistycznego Spyder IDE (ver. 5.4.2). Spyder, będący narzędziem służącym do analizy danych, zapewnia szeroki zakres funkcjonalności wspierających proces badawczy. Zintegrowany edytor kodu, konsola interaktywna IPython oraz eksplorator zmiennych umożliwiają bieżącą kontrolę nad przebiegiem obliczeń oraz bezpośrednią weryfikację rezultatów. Dzięki integracji ze środowiskiem NumPy, Pandas czy Matplotlib możliwe było nie tylko efektywne przetwarzanie danych, ale także ich wizualizacja w postaci wykresów. Ponadto dostępne w środowisku narzędzia weryfikacji i profilowania kodu pozwoliły na usprawnienie pracy badawczej poprzez identyfikację i eliminację potencjalnych błędów oraz optymalizację wydajności przygotowanych skryptów.

3.1 Dane radiobiologiczne

Dane radiobiologiczne pochodzą z bazy PIDE (ang. *Particle Irradiation Data Ensemble*) [80, 81, 82], dostępnych publikacji oraz eksperymentów radiobiologicznych przeprowadzonych w Laboratorium Radiobiologicznym Zakładu Fizyki Biomedycznej UW (LRZFB). W rozdziale szczegółowo opisuję dobór danych oraz metody ich analizy.

3.1.1 Baza PIDE

PIDE jest radiobiologiczną bazą danych obejmującą ponad 1200 eksperymentów dotyczących przeżywalności komórek *in vitro* po napromienianiu fotonami oraz cząstkami naładowanymi. Stanowi ona zestawienie wyników pochodzących ze 131 publikacji naukowych, dzięki czemu jest jednym z najbardziej kompleksowych źródeł danych do badań nad skutkami biologicznymi promieniowania jonizującego [81]. W bazie znajdują się szczegółowe informacje na temat przeprowadzonych badań, obejmujące typy badanych linii komórkowych, charakterystykę wiązek promieniowania oraz zastosowane techniki dostarczania dawki. Do parametryzacji krzywych przeżywalności w PIDE wykorzystywany jest model LQ, powszechnie stosowany w radiobiologii. Dane prezentowane są w formie tabel i udostępniane w łatwo dostępnych formatach: pliku Excel zawierającego opisy eksperymentów i parametry modelu LQ oraz tabelach ASCII obejmujących dane surowe. PIDE jest bezpłatnie dostępna dla społeczności naukowej po dokonaniu rejestracji na stronie projektu [83]. Podczas korzystania z bazy PIDE należy mieć świadomość, że mogą występować błędy, nieścisłości lub różnice wynikające zarówno z procesu gromadzenia danych, jak i zróżnicowanych metod stosowanych w oryginalnych eksperymentach. Twórcy bazy podkreślają, że mimo zachowania najwyższej staranności kopiowanie i przetwarzanie dużej liczby danych zawsze wiąże się z ryzykiem pomyłek. Dodatkowo, sama różnorodność podejść eksperymentalnych stosowanych w literaturze może prowadzić do pojawienia się niespójności. Z tego względu w ostatnich latach zaproponowano standardy raportowania informacji dozymetrycznych dla źródeł promieniowania stosowanych w badaniach radiobiologicznych [84]. Wartości energii i LET mogą się różnić między publikacjami ze względu na odmienne kody obliczeniowe, metody pomiarowe oraz specyfikę pól mieszanych. Monoenergetyczne wiązki cząstek w praktyce zawsze ulegają stragglingowi energetycznemu oraz rozpraszaniu podczas przechodzenia przez materię. W przypadku ciężkich jonów dodatkowo zachodzą procesy fragmentacji jądrowej. Dlatego LET ma charakter wartości uśrednionej, a sposób jego wyznaczenia nie zawsze jest jasno opisany. Poza zakresem stosowalności wzoru Bethego-Blocha dokładność opisu zdolności hamującej maleje, co może prowadzić do zwiększonych rozbieżności między wynikami eksperymentalnymi a przewidywaniami modeli teoretycznych. Parametry modelu LQ, α i β, mogą różnić się w zależności od przyjętej metody dopasowania, sposobu ustalania wydajności klonowania oraz rodzaju promieniowania referencyjnego. Część autorów wyznacza wydajność klonowania niezależnie, na podstawie próbek kontrolnych nienapromienionych, a następnie wykorzystuje ją do obliczenia frakcji przeżywających komórek. W bazie PIDE PE ten jest natomiast odtwarzany podczas dopasowania modelu LQ do krzywej przeżywalności, co może prowadzić do różnic między parametrami α i β raportowanymi w publikacjach a wartościami zamieszczonymi w bazie. W efekcie parametry modelu LQ w bazie mogą odbiegać od wartości z publikacji. Zakres i ja-

kość danych różnią się znacząco między badaniami: liczba punktów doświadczalnych, analiza błędów czy liczba powtórzeń często są niespójne. Estymacje niepewności nie są ujednolicone, a korelacja parametrów α i β dodatkowo komplikuje interpretację ich błędów. Krzywe przeżywalności dla promieniowania o wysokim LET zwykle są wykładnicze z dominującym parametrem liniowym i oparte na mniejszej liczbie danych, co utrudnia ich porównanie z pełnymi krzywymi fotonowymi. Wiele publikacji nie zawiera danych w postaci tabelarycznej, a autorom bazy PIDE nie zawsze udało się uzyskać je bezpośrednio od autorów prac. W takich przypadkach wyniki odczytywano z wykresów, co stanowi dodatkowe źródło niepewności i może obniżać dokładność zgromadzonych danych. Ze względu na liczne potencjalne niepewności związane z danymi zawartymi w PIDE, baza została potraktowana przede wszystkim jako uporządkowany wykaz publikacji dotyczących badanych linii komórkowych oraz zbiór parametrów umożliwiający szybkie zestawienie i wstępne porównanie wyników uzyskanych we własnych analizach.

Do analizy wybrałem ludzkie linie komórkowe, dla których dostępne były wyniki testów przeżywalności komórek po napromienianiu co najmniej dwoma z trzech rodzajów promieniowania: protonami ($^{1}H^{+}$), cząstkami α ($^{4}He^{2+}$) oraz jonami węgla ($^{12}C^{6+}$). Poniżej przedstawiłem analizowane w pracy linie komórkowe wraz z ich krótką charakterystyką.

Linie prawidłowe

Wybrane do analizy linie komórek prawidłowych – AG01522, HF19, HE, M10, NB1RGB oraz T1 – posiadają szereg cech, które czynią je odpowiednimi modelami do porównawczych badań radiobiologicznych. Wszystkie analizowane linie są pochodzenia ludzkiego. AG01522, HF19, M10 oraz NB1RGB pochodzą z ludzkich fibroblastów, HE to ludzkie embrionalne komórki fibroblastopodobne, a T1 to linia komórkowa nerki, wszystkie stosowane są jako modele referencyjne w badaniach radiobiologicznych. Wszystkie mają charakter nienowotworowy (nietransformowany), dzięki czemu zachowują prawidłowo funkcjonujące mechanizmy odpowiedzi na uszkodzenia DNA oraz względnie stabilny genom. Cecha ta ma szczególne znaczenie w badaniach zależności pomiędzy strukturą toru promieniowania a efektem biologicznym, ponieważ ogranicza wpływ dodatkowych zaburzeń genetycznych charakterystycznych dla komórek nowotworowych.

Istotnym aspektem jest również zbliżona promieniowrażliwość badanych linii komórkowych na promieniowanie referencyjne o niskim LET, co znajduje odzwierciedlenie w podobnych wartościach frakcji przeżywającej (SF) [85, 86, 87, 88]. Dzięki temu możliwe jest ograniczenie zmienności wynikającej z indywidualnych właściwości biologicznych komórek, niezwiązanych bezpośrednio z jakością promieniowania. Umożliwia to bardziej wiarygodną analizę wpływu parametrów fizycznych, takich jak LET czy rozkład przestrzenny klastrów jonizacyjnych, na obserwowany efekt radiobiologiczny.

Zastosowanie linii komórkowych o podobnej odpowiedzi na promieniowanie fo-

tonowe pozwala traktować uzyskane różnice w odpowiedzi na promieniowanie jonowe głównie jako konsekwencję różnic w mikro- i nanostrukturze toru jonizacji oraz sposobie depozycji energii. W rezultacie analizowane komórki stanowią odpowiedni zbiór referencyjny do badania zależności pomiędzy parametrami nanodozymetrycznymi a skutecznością biologiczną promieniowania.

Linie nowotworowe

Linie komórek nowotworowych zostały pogrupowane w pary o zbliżonym pochodzeniu morfologicznym: U87–U251, SQ20B–SCC25 oraz PC3–DU145. Linie U87 i U251 wywodzą się z glejaków mózgu, SQ20B i SCC25 reprezentują nowotwory płaskonabłonkowe głowy i szyi, natomiast PC3 oraz DU145 są liniami raka gruczołu krokowego. Taki dobór umożliwia porównanie odpowiedzi radiobiologicznej komórek o podobnym pochodzeniu tkankowym przy jednoczesnym zachowaniu różnic w ich promieniowrażliwości i właściwościach molekularnych.

Analizowane linie komórkowe mają rozmiary rzędu kilkunastu do kilkudziesięciu mikrometrów. Dla linii U87, SQ20B, PC3 i DU145 typowe średnice komórek wynoszą około 20 μm [89, 90, 91, 92], natomiast w przypadku silnie rozpłaszczonych komórek adherentnych, takich jak SCC25, średnica rzutu komórki może dochodzić do około 40 μm [93]. Rozmiary jąder komórkowych są zwykle mniejsze i najczęściej mieszczą się w zakresie około 10–20 μm.

Ponieważ rozmiary analizowanych jąder pozostają porównywalnego rzędu wielkości, wpływ efektów geometrycznych na statystykę oddziaływania promieniowania w objętości wrażliwej powinien być ograniczony. Jednocześnie należy pamiętać, że wartości te zależą od warunków hodowli, przygotowania próbek oraz sposobu definiowania rozmiaru komórki. Dzięki zastosowanemu kryterium wyboru komórek obserwowane różnice w odpowiedzi biologicznej mogą być w większym stopniu przypisane właściwościom struktury toru promieniowania oraz parametrom nanodozymetrycznym, a nie różnicom wynikającym z wielkości komórek czy jąder [2, 94].

Część analizowanych danych eksperymentalnych pochodziła z eksperymentów przeprowadzonych przeze mnie. W dalszej części rozdziału przedstawię przygotowanie oraz kolejne etapy realizacji eksperymentu radiobiologicznego.

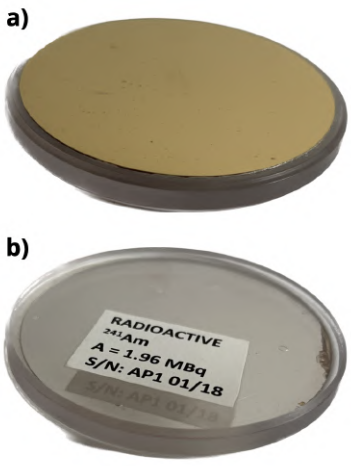
3.1.2 Eksperyment radiobiologiczny

W celu przeprowadzenia eksperymentu radiobiologicznego zaprojektowałem i zbudowałem układ do napromieniania komórek za pomocą źródła powierzchniowego ^{241}Am. Przeprowadziłem symulacje MC i pełną dozymetrię źródła z użyciem detektora półprzewodnikowego oraz całego układu z wykorzystaniem filmów radiochromowych.

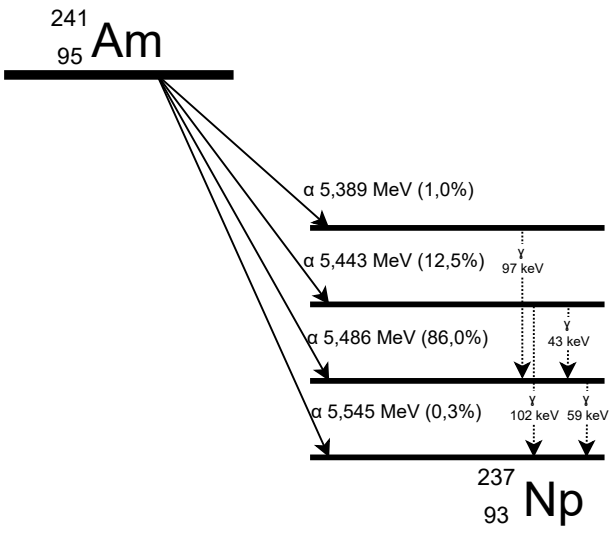
Źródło promieniowania i jego dozymetria

Jako emitera cząstek alfa użyłem źródła powierzchniowego ^{241}Am (model AM1AP1 0053U, produkcji Eckert & Ziegler) – rysunek 3.1. Aktywność źródła zgodnie z certyfikatem wynosiła 1,96 MBq. Czas półrozpadu ^{241}Am wynosi 432,2 lata [95]. Zgodnie z informacjami podanymi przez producenta, warstwa aktywna czyli tlenek ameryku, osadzona na szklanej podstawce, ma średnicę 50 mm i grubość 0,4 µm. Pokryta jest warstwą ochronną złota o grubości 1 µm. Zmierzona aktywność powierzchniowa wynosiła podczas badań 100 $\frac{\text{kBq}}{\text{cm}^2}$ [96].

^{241}Am rozpada się do długożyciowego jądra ^{237}Np, emitując monoenergetyczne cząstki α o energiach: 5,389 MeV (1,0%), 5,443 MeV (12,5%), 5,486 MeV (86,0%) i 5,545 MeV (0,3%). Podczas rozpadu ^{241}Am emitowane jest także niskoenergetyczne promieniowanie gamma, przy czym około 77% emitowanych fotonów posiada energie z zakresu 11,9–69,8 keV [97]. Ze względu na niewielką moc dawki pochodzącą od promieniowania fotonowego w warstwie komórek, którą na podstawie symulacji oszacowałem na wartość poniżej 50 $\frac{\text{mGy}}{\text{min}}$, oraz oczekiwany pomijalny efekt biologiczny, wkład tego promieniowania nie był uwzględniany w dalszych symulacjach ani w analizie wyników. Przyjęte oszacowanie jest zgodne z wynikami przedstawionymi przez Staaf et al. [98]. Schemat rozpadu ^{241}Am został przedstawiony na rysunku 3.2.



Rysunek 3.1. Zdjęcie źródła ^{241}Am; widok od góry z widoczną naniesioną warstwą złota (a), widok od dołu z etykietą (b).

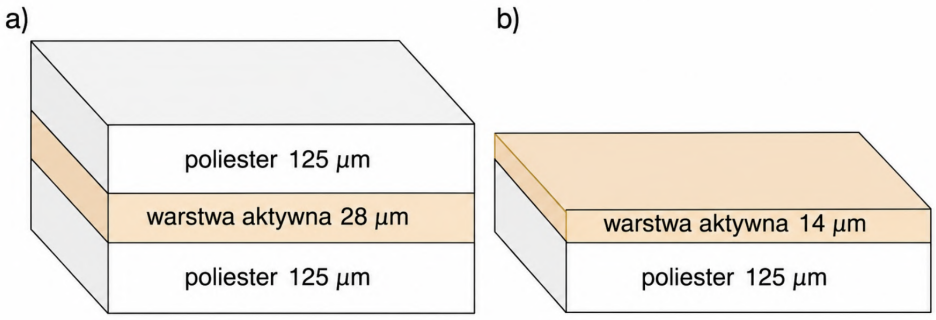


Rysunek 3.2. Schemat rozpadu promieniotwórczego ^{241}Am.

Źródło powierzchniowe ^{241}Am zostało wybrane do eksperymentu z powodu wysokiej aktywności na dużej powierzchni oraz wysokiej energii emitowanych cząstek α. Zakup izotopu o tak długim czasie półrozpadu daje możliwość korzystania ze źródła przez wiele lat.

Filmy radiochromowe

Ze względu na niewielki zasięg cząstek α o energii około 5 MeV, w dozymetrii źródła ^{241}Am zastosowałem filmy radiochromowe Gafchromic™ EBT3-Unlaminated (Ashland Inc., Bridgewater, NJ; 11022001P1), pozbawione z jednej strony ochronnej warstwy poliestrowej. Ponieważ zasięg takich cząstek w poliestrze nie przekracza 50 µm, obecność tej warstwy uniemożliwiałaby ich dotarcie do aktywnego ośrodka detekcyjnego. Zastosowane filmy umożliwiają zatem bezpośrednie oddziaływanie cząstek z warstwą aktywną o grubości 14 µm. Schematy budowy filmów EBT3 z dodatkową warstwą chroniącą warstwę aktywną (stosowane dla promieniowania fotonowego) i EBT3-Unlaminated przedstawiłem na rysunku 3.3. Filmy pozwalają na odczyt dawki w zakresie od 0,2 do 10 Gy przy energii deponowanej przez cząstki równej 100 keV.



Rysunek 3.3. Porównanie budowy filmów Gafchromic EBT3 (a) oraz EBT3-Unlaminated (b). Warstwa poliestru chroniąca warstwę aktywną zatrzymuje promieniowanie α.

Filmy radiochromowe zostały zeskanowane za pomocą skanera Epson Expression 12000XL, który jest zalecany do użycia przez producenta. Skany zostały wykonane przy 48-bitowej głębi koloru (16 bitów na kolor) i rozdzielczości 1200 DPI (ang. *Dots Per Inch* – liczba punktów przypadająca na cal). Korzystając z programu ImageJ (wersja 1.53k) skany rozdzielane są na 3 podstawowe kolory – czerwony (R), zielony (G) i niebieski (B), co umożliwiło odczytanie średniej wartości piksela w obszarze napromienionym. Dla każdego koloru wartości intensywności koloru uśredniane są oddzielnie. Do analizy dozymetrycznej wykorzystałem kanał czerwony skanu, dla którego gradient krzywej kalibracyjnej jest największy w analizowanym zakresie dawek.

Do wyznaczenia dawek dostarczonych do filmów w układzie eksperymentalnym niezbędne było uprzednie wyznaczenie krzywej kalibracyjnej, określającej zależność intensywności koloru I od dawki D. Do kalibracyjnych punktów pomiarowych zostaje dopasowana funkcja dana wzorem:

$$I(D) = a + \frac{b}{D - c}, \tag{3.1}$$

gdzie: *a, b, c* - współczynniki dopasowania krzywej, wyznaczane metodą najmniejszych kwadratów. Wartości dawki D dla krzywej kalibracyjnej obliczyłem na podstawie po-

miarów z wykorzystaniem detektora półprzewodnikowego, zaś intensywność koloru I odczytałem z napromienipnych filmów radiochromowych.

Wyznaczona w sposób opisany powyżej krzywa kalibracji posłużyła do wyznaczenia dawki w układzie do napromieniania komórek. Podczas analizy filmów radiochromowych napromienianych w różnych konfiguracjach układu, dowolna dawka D_i odczytywana jest na podstawie wzoru 3.1 przekształconego do postaci:

$$D_i = \frac{b}{I-a} + c. \tag{3.2}$$

Korzystając z propagacji małych błędów wzór opisujący niepewność dawki σ_{D_i} przyjmuje postać:

$$\sigma_{D_i} = \sqrt{\left(\frac{b}{(I-a)^2}\cdot\sigma_I\right)^2 + \left(\frac{b}{(I-a)^2}\cdot\sigma_a\right)^2 + \left(\frac{1}{(I-a)^2}\cdot\sigma_b\right)^2 + {\sigma_c}^2}, \tag{3.3}$$

gdzie: $\sigma_I, \sigma_a, \sigma_b, \sigma_c$ to niepewności intensywności koloru oraz współczynników kalibracyjnych.

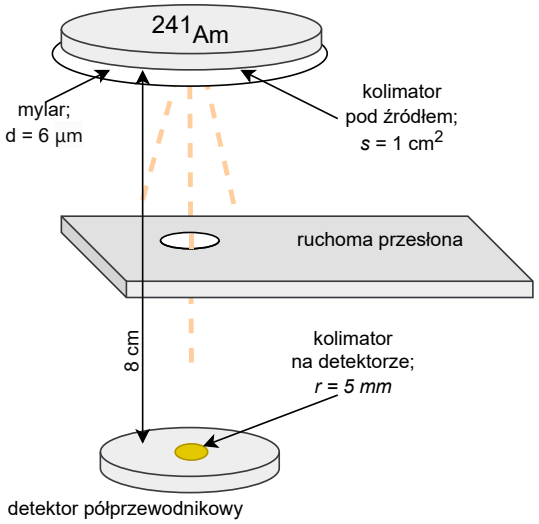
Filmy radiochromowe zastosowałem do pomiaru dawki w układzie do napromieniania komórek oraz do określenia jednorodności rozkładu dawki w obszarze napromieniania. W tym układzie cząstki α emitowane ze źródła przechodziły kolejno przez warstwę powietrza o grubości 5 mm oraz folię mylarową o grubości 6 μm, po czym docierały do warstwy aktywnej filmu. Film radiochromowy pełnił w tym układzie rolę detektora umożliwiającego wyznaczenie powierzchniowego rozkładu dawki. Dodanie kolejnych warstw pozwoliło zredukować lokalne różnice w rozkładzie dawki wynikające z niejednorodności źródła. Do porównania przestrzennych rozkładów dawki otrzymanych z pomiaru filmem radiochromowym przeprowadziłem symulacje MC (opisane w podrozdziale 3.3.2) i wykorzystałem analizę gamma, która łączy dwa kryteria zgodności: różnicę dawki oraz zgodność odległych od siebie punktów pomiarowych. Kryteria te podaje się zwykle w postaci $\frac{\delta D(\%)}{\delta r(\mathrm{mm})}$, gdzie δD oznacza dopuszczalną różnicę dawki pomiędzy rozkładem referencyjnym i porównywanym, natomiast δr określa maksymalną dopuszczalną odległość pomiędzy odpowiadającymi sobie punktami obu rozkładów [99]. Punkt uznaje się za zgodny, jeżeli wyznaczona dla niego wartość indeksu gamma spełnia warunek $\gamma \leq 1$.

Detektor półprzewodnikowy

Do pomiarów kalibracyjnych ze źródłem spektroskopowym źródła ^{241}Am i energii cząstek emitowanych z niego użyłem będącego na wyposażeniu Środowiskowego Laboratorium Ciężkich Jonów UW (ŚLCJ) krzemowego detektora półprzewodnikowego domieszkowanego borem (ORTEC; U-019-300-AS) o rozdzielczości energetycznej FWHM (ang. *Full Width at Half Maximum*) równej 19 keV. Detektor, o całkowitej powierzchni detekcji

równej 300 mm^2, znajdował się w komorze podłączonej do pompy próżniowej oraz próżniomierza (Unitra Unima; PWN100/ PN100), który pozwalał mierzyć ciśnienie wewnątrz komory do 10^{-3} mbar. Uzyskanie próżni jest niebędne ze względu na ograniczony zasięg cząstek α w powietrzu.

Schemat układu detekcji użyty przy napromienianiu detektora i filmów w celu wyznaczenia krzywej kalibracji dla filmów radiochromowych przedstawiłem na rysunku 3.4. Źródło ^{241}Am było umieszczone w odległości 8 cm od detektora. Pod źródłem oraz przed detektorem możliwe było położenie metalowego kolimatora z otworem w kształcie koła o wybranej średnicy.



Rysunek 3.4. Schemat układu pomiarowego z krzemowym detektorem półprzewodnikowym, na którym został położony stalowy kolimator z otworem o promieniu 5 mm. Źródło ^{241}Am znajduje się na górze układu, położone jest na stalowym kolimatorze z otworem o przekroju koła o polu powierzchni równym 1 cm^2 i folii mylar o grubości 6 µm.

Pod źródłem znajdowała się folia mylar o grubości 6 µm oraz kolimator z otworem o polu przekroju równym 1 cm^2, natomiast na detektorze umieszczano w części pomiarów film radiochromowy oraz zawsze drugi kolimator o promieniu 0,5 cm w celu eliminacji cząstek o trajektorii innej niż prostopadła do powierzchni detektora. Na drodze cząstek α została zamontowana ruchoma aluminiowa przesłona w celu ograniczenia czasu napromieniania filmu radiochromowego w momencie odsysania lub zasysania powietrza do układu pomiarowego. Podczas pomiaru w układzie panowało ciśnienie o wartości maksymalnej równej 10^{-1} mbar.

W celu napromienienia filmów kalibracyjnych wykonałem pomiary, w których z układu usunąłem ruchomą przesłonę oraz folię mylar, kolimator znajdujący się pod źródłem zmieniłem na mniejszy o średnicy 4,5 mm, natomiast nad detektorem położyłem kolimator o średnicy 3 mm. Odległość między źródłem i detektorem zmniejszyłem do 17 mm. Czas trwania pomiaru wynosił 1000 sekund.

Materiał biologiczny

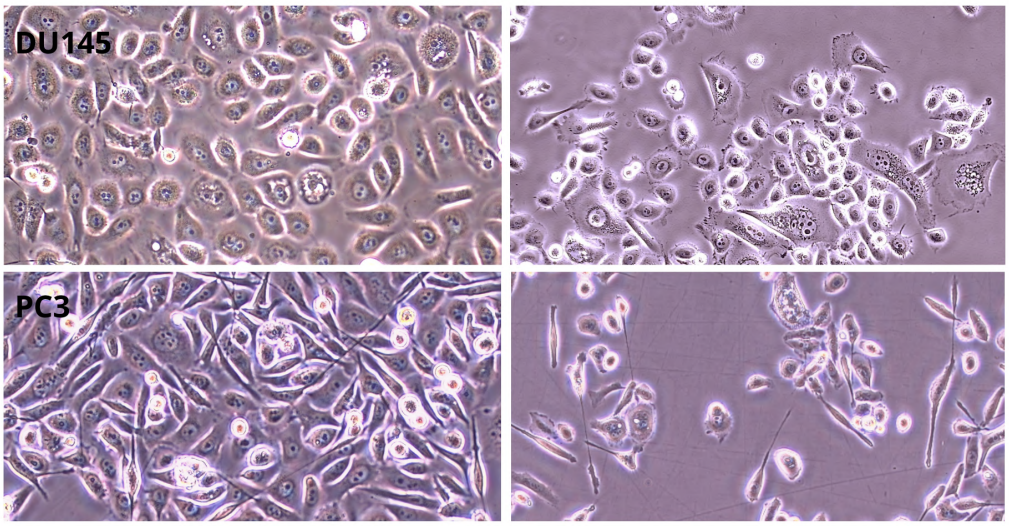
Wykorzystywane w eksperymencie linie komórkowe nowotworu gruczołu krokowego PC3 i DU145 są liniami komercyjnymi (ATCC: PC3–CVCL_0035; DU145–CVCL_0105).

Linia komórkowa DU145 została wyizolowana w 1975 roku z przerzutu raka gruczołu krokowego do ośrodkowego układu nerwowego u 69-letniego pacjenta rasy kauka-

skiej [100]. Komórki tej linii stanowią jeden z powszechnie stosowanych modeli eksperymentalnych w badaniach nad biologią nowotworów prostaty. Średnica jąder komórek nowotworowych gruczołu krokowego wynosi $(13{,}5 \pm 2{,}3)$ µm, a czas podziału komórkowego wynosi około $(35{,}2 \pm 7{,}1)$ h (wyniki eksperymentalne uzyskane w LRZFB [101]).

Linia komórkowa PC3 została wyizolowana w 1979 roku z przerzutu raka gruczołu krokowego do tkanki kostnej (kręgu lędźwiowego) u 62-letniego pacjenta [102]. Komórki tej linii stanowią jeden z najczęściej wykorzystywanych modeli eksperymentalnych w badaniach zaawansowanego, androgenoniezależnego raka prostaty, szczególnie w kontekście mechanizmów progresji nowotworu, inwazyjności oraz odpowiedzi na terapię. Średnica jąder komórek PC3 wynosi około $(12{,}8 \pm 2{,}0)$ µm, przy czym same komórki wykazują bardziej nieregularną morfologię i większy rozmiar w porównaniu z linią DU145 [103]. Czas podziału komórkowego wynosi $(31{,}5 \pm 4{,}6)$ h [101].

Obrazy mikroskopowe komórek przy różnym stopniu konfluencji wykonałem przy użyciu mikroskopu odwróconego OLYMPUS IX73 w trakcie prowadzonej hodowli komórkowej i zaprezentowałem na rysunku 3.5.



Rysunek 3.5. Obraz mikroskopowy komórek: dwa zdjęcia z górnego panelu to linia DU145 o konfluencjach ok. 95% i 50%, dwa zdjęcia z dolnego panelu to linia PC3 o konfluencjach ok. 95% i 20% – opracowanie własne.

.

Linie komórkowe DU145 i PC3 różnią się profilem promieniowrażliwości, co wynika między innymi z odmiennych mechanizmów naprawy uszkodzeń DNA oraz charakterystyki biologicznej komórek nowotworowych [104, 105]. Komórki PC3 są często opisywane jako bardziej promieniooporne niż DU145, wykazując większą zdolność przeżycia po ekspozycji na promieniowanie fotonowe oraz zwiększoną efektywność mechanizmów odpowiedzi na uszkodzenia DNA [105, 106]. Z kolei linia DU145 charakteryzuje się umiarkowanie wyższą promieniowrażliwością, co może być związane z różnicami w regulacji cyklu komórkowego i odpowiedzi apoptotycznej [105]. W przypadku promieniowania

o wysokim LET (np. cząstki alfa lub jony węgla) różnice te mogą ulegać zmniejszeniu, ponieważ silnie zlokalizowane uszkodzenia DNA, w tym złożone pęknięcia dwuniciowe, są trudniejsze do skutecznej naprawy niezależnie od fenotypu komórkowego [4, 107].

Warunki prowadzenia hodowli komórkowej

Wszystkie prace z hodowlami komórkowymi prowadziłem zgodnie z procedurami obowiązującymi w laboratorium radiobiologicznym. Komórki należy hodować w sterylnych, ściśle określonych warunkach. Wszelkie operacje z komórkami należy wykonywać z wykorzystaniem komory laminarnej. Powietrze w komorze jest oczyszczone z bakterii oraz zarodników grzybów, które powodują większość infekcji. Temperatura optymalna do rozwoju komórek zależy od rodzaju linii komórkowej. Większość komórek pochodzenia ludzkiego wymaga temperatury równej 37°C. Komórki są w stanie przeżyć nawet kilka dni w temperaturze niższej niż zalecana, natomiast przekroczenie tej temperatury może spowodować obumarcie linii w przeciągu kilku godzin. Optymalna wilgotność środowiska wzrostu w przypadku komórek ludzkich nowotworów powinna być utrzymywana na poziomie 95%, natomiast zachowanie właściwego stężenia CO_2 (5–10)% w inkubatorze przeznaczonym do hodowli komórek jest niezwykle istotne dla zapewnienia odpowiedniego pH pożywki hodowlanej. Większość komórek wymaga pH pożywki w granicach 7,2–7,4, co wiąże się z koniecznością zastosowania systemu buforującego. Obecnie najczęściej stosowany jest tzw. system „naturalny", gdzie pH utrzymywane jest dzięki równowadze pomiędzy gazowym CO_2 dostarczanym do inkubatora z zewnątrz, a jonami CO_3^{2-} i HCO_3^- pochodzącymi z soli wodorowęglanowej dodawanej do pożywki.

Komórki linii DU145 i PC3 hodowałem w pożywce Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM-F12, Biowest, nr kat. L0092-500) suplementowanej 10% płodowej surowicy bydlęcej (FBS, Biowest, nr kat. S1810-500) oraz 0,6% mieszaniny penicyliny i streptomycyny (AppliChem GmbH, nr kat. A8943).

Przygotowanie komórek

Komórki hodowałem w butelkach hodowlanych o powierzchni wzrostu 75 cm^2 w postaci monowarstwy. Po osiągnięciu konfluencji na poziomie 80–90% komórki pasażowałem – odrywałem je od podstawy butelki przy użyciu 2 ml roztworu trypsyny-EDTA o stężeniu 0,25% (Biowest, kat. nr X0930-100). Proces trypsynizacji zatrzymywałem poprzez dodanie 7 ml kompletnej pożywki hodowlanej do zawiesiny komórek poddanych działaniu trypsyny. Na trzy dni przed napromienianiem komórki wysiałem na szkiełka nakrywkowe, które następnie umieściłem w sześciodołkowych płytkach hodowlanych. Gęstość wysiewu wynosiła $1{,}6 \cdot 10^5$ komórek na dołek. Liczbę komórek określałem przy użyciu automatycznego licznika komórek EVE™ (NanoEnTek Inc.).

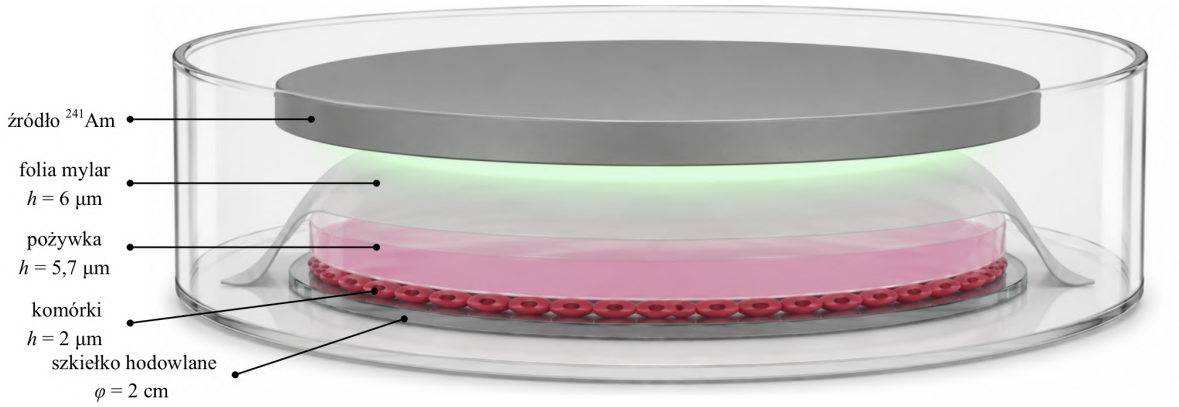
Napromienianie komórek

W celu realistycznego odwzorowania warunków napromieniania komórek w programie Geant4 zaprojektowałem geometrię odpowiadającą układowi eksperymentalnemu. Warstwę napromienianych komórek zdefiniowałem zgodnie ze składem chemicznym komórek prostaty dostępnym w programie SRIM. Model ten został przeniesiony z programu SRIM do środowiska Geant4 i wykorzystany w przeprowadzonych symulacjach. Został on przedstawiony w tabeli 3.1, gęstość warstwy komórek wynosiła 1,04 $\frac{\mathrm{g}}{\mathrm{cm}^3}$.

Tabela 3.1. Procentowy skład warstwy komórek gruczołu krokowego wykorzystany w symulacjach Geant4.

Pierwiastek	Zawartość (%)
H	10,5
C	8,9
N	2,5
O	77,4
Na	0,2
P	0,1
S	0,2
K	0,2

W modelu uwzględniłem warstwę mylaru o grubości 6 µm oddzielającą źródło od pożywki hodowlanej o grubości 5,7 µm, za którą znajdowała się warstwa komórek poddawanych napromienianiu. Tak zdefiniowana geometria pozwoliła na uwzględnienie strat energii cząstek α przed jej depozycją w materiale biologicznym. Geometrię układu eksperymentalnego przedstawiłem na rysunku 3.6.

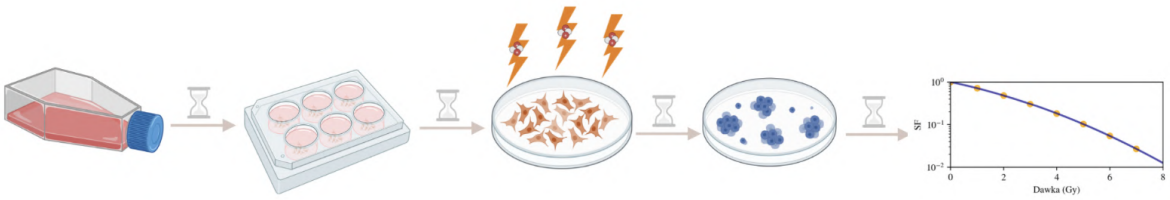


Rysunek 3.6. Schemat układu do napromieniania komórek źródłem ^{241}Am z zaznaczonymi wysokościami kolejnych warstw oraz średnicą szkiełka hodowlanego. Rysunek własny, nie zachowuje skali, zmodyfikowany graficznie z wykorzystaniem ChatGPT.

Wysiane na szkiełku komórki napromieniałem cząstkami α emitowanymi przez płaskie źródło ^{241}Am o mocy dawki 7,37 $\frac{\mathrm{mGy}}{\mathrm{s}}$, wyznaczonej na podstawie symulacji MC. Odpowiadało to dostarczeniu dawki 1 Gy w czasie 136 s. Szkiełko nakrywkowe o średnicy 30 mm umieszczałem w szalce Petriego o średnicy 93 mm, a następnie dodawałem na jego powierzchnię 4 µl pożywki hodowlanej, tworząc warstwę cieczy o grubości około 5,7 µm. Komórki przykrywałem folią mylarową o grubości 6 µm, na której bezpośrednio umieszczałem źródło promieniowania. Po zamknięciu szalki, próbki inkubowałem przez czas odpowiadający zadanej dawce. Komórki poddawałem działaniu promieniowania,

stosując dawki: 0,16 Gy, 0,32 Gy, 0,65 Gy, 1,31 Gy oraz 2 Gy. Próbę kontrolną stanowiły komórki nienapromieniane, odpowiadające dawce 0 Gy.

Po napromienianiu do komórek został dodany 1 ml trypsyny, co spowodowało odklejenie komórek od szkiełka nakrywkowego. Po dwóch minutach trypsyna była neutralizowana pożywką hodowlaną, dodawaną w stosunku 5:1, co zatrzymuje proces denaturacji białek. Z każdej napromienionej próbki pobrałem 0,5 ml zawiesiny, w celu policzenia stężenia komórek. Z każdej z nich pobrałem trzykrotnie 20 µl zawiesiny i wymieszałem z 20 µl błękitu trypanowego. Napełniłem 3 kasetki, które analizowałem w liczniku komórkowym. Uśrednione wyniki z trzech pomiarów stężenia komórek przeliczałem na liczby komórek, które powinny zostać wysiane dla zaplanowanej dawki promieniowania. Liczbę wysianych komórek oszacowałem na podstawie wyników testów przeżywalności dla linii komórkowych nowotworu prostaty [108] oraz przeskalowałem przez czynnik wydajności klonowania, który w poprzednich eksperymentach wykonanych w laboratorium wynosił około 10%. Komórki wysiewałem do szalek Petriego zawierających 10 ml pożywki hodowlanej. W próbkach kontrolnych komórki wysiewałem w liczbie 3000 sztuk na szalkę, natomiast w próbkach napromienionych od 5000 do 50000, w zależności od zastosowanej dawki. Dla każdej dawki wykonałem cztery replikanty techniczne, natomiast dla próbek kontrolnych – trzy w ramach jednego eksperymentu. Całą procedurę przeprowadziłem w dwóch niezależnych eksperymentach. Przebieg eksperymentu radiobiologicznego przedstawiłem na rysunku 3.7.

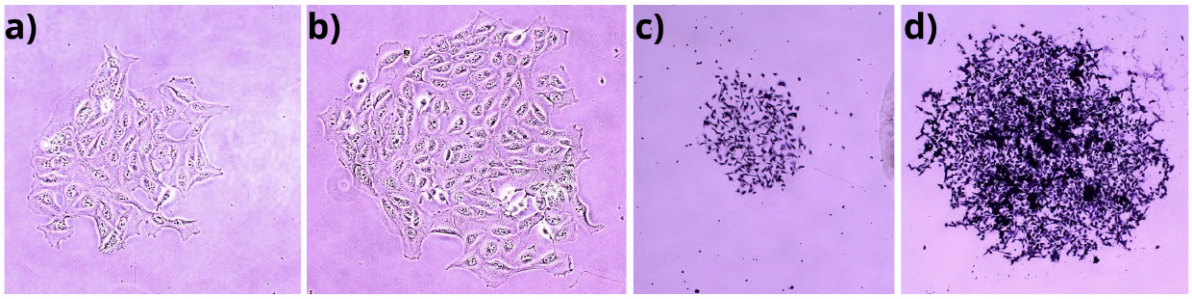


Rysunek 3.7. Schemat przeprowadzenia eksperymentu radiobiologicznego. Kolejne etapy przedstawione są jako hodowla komórek w butelkach, wysianie na szkiełka umieszczone w szalce sześciodołkowej, napromienianie komórek, inkubacja w szalkach, zabarwienie kolonii komórkowych oraz otrzymanie wyniku w postaci zależności SF(D). Rysunek przygotowałem z wykorzystaniem narzędzia BioRender [109].

Test przeżywalności

Po okresie inkubacji utrwaliłem komórki za pomocą 10% roztworu formaldehydu, następnie zabarwiłem roztworem Giemsy. Po wyschnięciu, szalki wraz z zabarwionymi koloniami komórkowymi zeskanowałem przy użyciu skanera EPSON Expression 12000XL. Dla wzmocnienia kontrastu podczas skanowania do szalek wsypałem skrobię ziemniaczaną. Skany zapisałem w formacie TIFF z rozdzielczością 600 DPI. Analizę zeskanowanych szalek z utrwalonymi koloniami komórkowymi przeprowadziłem z wykorzystaniem

programu CountPHICS [110]. Program ten służy do automatycznego zliczania kolonii komórkowych. Analiza może być prowadzona z wykorzystaniem predefiniowanych ustawień, jednak użytkownik ma możliwość modyfikacji parametrów, takich jak próg detekcji czy minimalny rozmiar kolonii. Po dobraniu optymalnych ustawień stosowałem je jednak bez dalszych zmian dla wszystkich analizowanych obrazów. Komórki inkubowałem przez 10 dni, co przy czasie podwojenia populacji wynoszącym średnio 33 h odpowiada ponad siedmiu cyklom podziałowym. Przy założeniu niezakłóconej proliferacji kolonia wywodząca się z pojedynczej komórki powinna więc zawierać ponad 100 komórek. Po umieszczeniu szalki Petriego z utrwalonymi komórkami pod mikroskopem wykonałem zdjęcia kilku kolonii komórkowych o różnych rozmiarach. Przykładowe zdjęcia mikroskopowe kolonii komórkowych umieściłem na rysunku 3.8.



Rysunek 3.8. Przykłady kolonii komórkowych przed oraz po ich utrwaleniu. Panele (a, b) przedstawiają żywe kolonie przed utrwaleniem, zobrazowane za pomocą mikroskopu przy powiększeniu $\times 20$, natomiast panele (c, d) odpowiadają koloniom po utrwaleniu i wybarwieniu, zobrazowane przy powiększeniu $\times 10$. Kolonia pokazana w panelu (b) jest tą samą kolonią, która została przedstawiona po utrwaleniu w panelu (c) i zawiera około 100 komórek; kolonia w panelu (a) około 50, natomiast kolonia w panelu (d) przekracza 10^3 komórek.

Na podstawie kilku wybranych zdjęć mikroskopowych liczbę komórek w poszczególnych koloniach określiłem ręcznie. Po zidentyfikowaniu kolonii spełniającej kryterium minimalnej liczby komórek zmierzyłem jej powierzchnię na skanie, a uzyskaną wartość przyjąłem jako minimalny próg detekcji w oknie startowym programu CountPHICS. Następnie przeprowadziłem analizę wszystkich skanów szalek, uzyskując liczbę kolonii dla każdej szalki, których było 60. W celu wykonania krzywych przeżywalności dla obu linii komórkowych zastosowałem procedurę opisaną w podrozdziale 2.2.3.

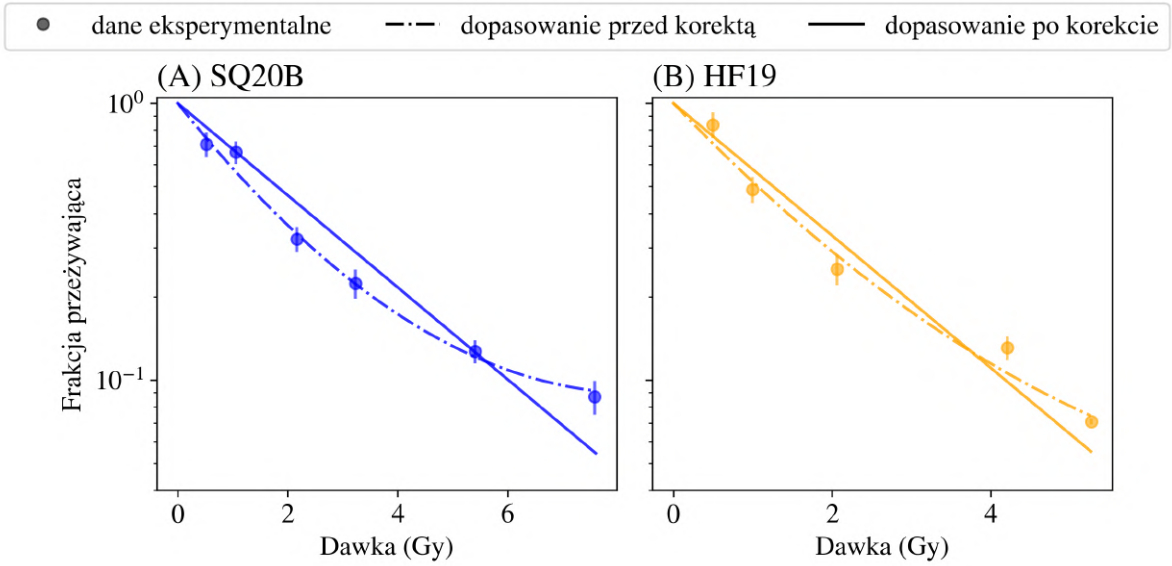
3.2 Estymacja parametrów modelu LQ

Ze względu na ujemny parametr β otrzymany dla 27 z analizowanych 152 eksperymentów, opracowanych w bazie PIDE, autorzy tej bazy wprowadzili poprawkę polegającą na przyjęciu wartości $\beta = 0$ oraz odpowiedniej korekcie parametru α. Korekta ta miała na celu zachowanie możliwie najlepszego opisu danych eksperymentalnych przy jednoczesnym uzyskaniu liniowego przebiegu krzywej przeżywalności w skali logarytmicznej.

Zmodyfikowaną wartość parametru α wyznaczyłem zgodnie z zależnością sugerowaną przez autorów PIDE:

$$\alpha_{new} = \alpha - \frac{3}{4}\beta D_{\max}, \tag{3.4}$$

gdzie $D_{\max}$ oznacza największą wartość dawki, dla której dostępne były dane przeżywalności komórek w analizowanym eksperymencie. Porównanie krzywych przeżywalności dla dwóch eksperymentów z bazy PIDE (dla linii SQ20B i linii HF19 [85]), wyznaczonych na podstawie parametrów oryginalnie podanych w bazie oraz parametrów po zastosowaniu korekty opisanej wzorem 3.4 przedstawiłem na rysunku 3.9.



Rysunek 3.9. Porównanie krzywych przeżywalności uzyskanych na podstawie dwóch różnych zestawów parametrów α i β dla dwóch linii komórkowych napromienianych protonami: panel (A) linia SQ20B o energii $E = 0{,}81$ MeV i LET $= 30$ $\frac{\text{keV}}{\mu\text{m}}$, panel (B) linia HF19 o energii $E = 0{,}86$ MeV i LET $= 29$ $\frac{\text{keV}}{\mu\text{m}}$.

Jednak zamiast stosować tę poprawkę, zważając na niepewności dopasowań opisane w podrozdziale 3.1.1, dla wszystkich analizowanych publikacji zawierających krzywe przeżywalności otrzymane po przeprowadzeniu testu klonogennego, wyznaczyłem parametry modelu LQ metodą bootstrapową a następnie porównałem z umieszczonymi w publikacji oraz w bazie PIDE. W większości publikacji nie były dostępne surowe dane liczbowe dotyczące wielkości frakcji przeżywającej dla danej dawki, lecz jedynie zależność SF(D) w formie wykresu. Przy pomocy darmowego oprogramowania dostępnego w formie online (WebPlotDigitizer) wczytałem wykresy, określiłem zakresy osi oraz ich skalę oraz zaznaczyłem punkty pomiarowe. W efekcie otrzymałem współrzędne zaznaczonych punktów w postaci listy, którą wczytałem do skryptu napisanego w języku Python. W celu ujednolicenia metody otrzymywania parametrów, zastosowałem metodę Bayesian bootstrap, będącą bayesowskim uogólnieniem klasycznej techniki bootstrapu [111].

Tradycyjne dopasowanie metodą najmniejszych kwadratów zwykle zaniża rzeczywistą niepewność i daje zbyt optymistyczne wartości niepewności średnich. Z tego względu zastosowałem podejście bootstrapowe, które pozwala uzyskać pełny rozkład możliwych wartości parametrów. W klasycznej metodzie bootstrapowej przed każdą iteracją losuje się nową próbkę danych ze zwracaniem, a następnie dopasowuje model. Rozrzut wyników dopasowania odzwierciedla niepewność parametrów. W podejściu bayesowskim losowanie danych zastępuje się losowaniem wag, które określają względny wkład każdego punktu pomiarowego w proces estymacji. Wagi te losowane są z rozkładu Dirichleta. Każdy zestaw wag reprezentuje jedną możliwą wersję „prawdziwej" struktury danych, zgodną z obserwacjami. Dla każdej próbki wag wykonywane jest niezależne dopasowanie modelu LQ, co prowadzi do uzyskania wielu realizacji parametrów α i β. Zbiór tych realizacji tworzy empiryczny rozkład niepewności dla każdego parametru. Metoda ta jest szczególnie użyteczna w sytuacji, gdy liczba punktów danych jest niewielka lub ich wariancja nie jest znana — obie sytuacje są typowe dla eksperymentów radiobiologicznych. Metoda bayesowskiego bootstrapu nie wymaga również założenia, że odchylenia danych eksperymentalnych od wartości przewidzianych przez model mają rozkład normalny, co czyni ją bardziej elastyczną w kontekście danych biologicznych. W niniejszej pracy dla każdego zestawu danych przeprowadziłem 10^4 iteracji bootstrapu bayesowskiego. Dla każdej iteracji generowałem nowy zestaw wag Dirichleta, a następnie wykonywałem dopasowanie parametrów modelu LQ. Analiza rozkładów α i β pozwoliła określić ich mediany oraz 95% przedziały ufności, które traktowane są jako miary niepewności estymacji.

Ponieważ parametry α i β są dopasowywane jednocześnie i wspólnie określają przebieg krzywej przeżywalności, ocenę zgodności metod przeprowadziłem na poziomie funkcji przeżywalności (wzór 2.9). Dla każdej pary metod obliczyłem wartości funkcji $\mathrm{SF}(D_j)$ na wspólnym zbiorze wartości dawek w zakresie od 0 do 6 Gy z krokiem 0,05 Gy. Następnie wyznaczyłem bezwzględną różnicę pomiędzy krzywymi:

$$|\Delta\mathrm{SF}(D_j)| = |\mathrm{SF}_{A,i}(D_j) - \mathrm{SF}_{B,i}(D_j)|, \tag{3.5}$$

gdzie $\mathrm{SF}_{A,i}(D_j)$ oraz $\mathrm{SF}_{B,i}(D_j)$ oznaczają wartości frakcji przeżywającej wyznaczone dla tego samego przypadku i i tej samej dawki j za pomocą dwóch porównywanych metod A i B. Dla każdej dawki obliczyłem średnią oraz medianę wartości $|\Delta\mathrm{SF}(D)|$ dla wszystkich scenariuszy szacowania wartości parametrów α i β. Dodatkowo, jako miarę zgodności pomiędzy porównywanymi krzywymi przeżywalności, wyznaczyłem pierwiastek średniej niepewności kwadratowej różnicy frakcji przeżywającej, oznaczony jako $\mathrm{RMSE}_{\Delta\mathrm{SF}}$. Dla każdego punktu dawki D_j wielkość tę obliczyłem zgodnie z zależnością:

$$\mathrm{RMSE}_{\Delta\mathrm{SF}(D_j)} = \sqrt{\frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}\left[\mathrm{SF}_{A,i}(D_j) - \mathrm{SF}_{B,i}(D_j)\right]^2}, \tag{3.6}$$

gdzie N jest liczbą analizowanych przypadków. W przeciwieństwie do średniej wartości bezwzględnej $|\Delta\mathrm{SF}(D_j)|$, parametr $\mathrm{RMSE}_{\Delta\mathrm{SF}}$ silniej uwzględnia przypadki, dla których różnice między krzywymi są większe, ponieważ odchylenia są podnoszone do kwadratu przed uśrednieniem. Niższa wartość $\mathrm{RMSE}_{\Delta\mathrm{SF}}$ oznacza zatem lepszą zgodność porównywanych metod opisu krzywych przeżywalności. Ponieważ frakcja przeżywająca jest wielkością bezwymiarową, również $\mathrm{RMSE}_{\Delta\mathrm{SF}}$ jest wielkością bezwymiarową.

Takie podejście pozwoliło ocenić łączny wpływ różnic w parametrach α i β na przewidywaną przeżywalność komórek bez konieczności analizowania obu parametrów niezależnie.

Z analizy ilościowej wykluczyłem przypadki, w których przynajmniej jedna z wartości parametrów α lub β była ujemna. Kryterium to zastosowałem, ponieważ ujemne wartości parametrów modelu LQ mogą prowadzić do niefizycznego przebiegu krzywych przeżywalności i utrudniać interpretację porównania.

3.3 Symulacje Monte Carlo

Do obliczeń wykonanych na potrzeby niniejszej pracy zostały wykorzystane dwa programy bazujące na metodach MC: TRIM oraz Geant4 i Geant4-DNA.

3.3.1 Charakterystyka protonów, cząstek α i jonów węgla

Program TRIM wykorzystuje metodę Monte Carlo do symulacji transportu jonów w materii poprzez statystyczne modelowanie kolejnych oddziaływań cząstek z ośrodkiem [15]. W programie TRIM zdefiniowałem rodzaj jonu oraz ośrodek oddziaływania, którym w analizowanym przypadku była woda. Należy jednak podkreślić, że nie jest to kod typu *track-structure Monte Carlo*, ponieważ nie opisuje szczegółowej przestrzennej struktury toru cząstki, rozumianej jako rozmieszczenie pojedynczych aktów jonizacji i wzbudzeń oraz transport elektronów wtórnych w skali nanometrowej.

Wyznaczanie strat energii cząstek α

Do zaprojektowania układu eksperymentalnego służącego do napromieniania komórek nowotworowych gruczołu krokowego cząstkami α wykorzystałem model obliczeniowy zaimplementowany w programie TRIM, który posłużył do oszacowania zmian energii cząstek podczas ich przejścia przez kolejne warstwy materiału tworzące układ napromieniania. Dzięki temu możliwe było określenie energii cząstek docierających do monowarstwy komórek oraz oszacowanie energii deponowanej w tej warstwie. Należy jednak podkreślić, że geometria w TRIM ma charakter uproszczony i warstwowy, dlatego program ten wykorzystałem głównie do oceny strat energii i zdolności hamowania, natomiast

bardziej szczegółowe modelowanie geometrii układu wymagało zastosowania kodu MC o większych możliwościach geometrycznych.

Wyznaczanie wartości LET i jej niepewności

W programie TRIM układ obliczeniowy zdefiniowałem jako warstwowy układ materiałowy, przez który przechodzą protony, cząstki α lub jony węgla o zadanej energii początkowej. Do wyznaczenia zależności LET(E), ośrodek oddziaływania stanowiła jednorodna warstwa wody, traktowana jako materiał referencyjny dla tkanki biologicznej. Na podstawie symulacji transportu cząstek w ośrodku z programu TRIM odczytywałem wartości strat energii, zasięgu jonów oraz zależności zdolności hamowania od energii.

Przy użyciu skryptu napisanego w języku Python, wyznaczyłem wartości LET odpowiadające energiom wykorzystanym w symulacjach metodą interpolacji liniowej:

$$\mathrm{LET}(E) = \mathrm{LET}(E_1) + \frac{\mathrm{LET}(E_2) - \mathrm{LET}(E_1)}{E_2 - E_1}(E - E_1), \tag{3.7}$$

gdzie E_1 oraz E_2 oznaczają energie sąsiadujących punktów tabelarycznych ograniczających interpolowany punkt E.

Niepewność interpolacji oszacowałem na podstawie drugiej pochodnej funkcji LET(E), wyznaczanej metodą różnic skończonych dla nierównomiernego kroku siatki energetycznej:

$$\mathrm{LET}''(E_i) \approx 2\left[\frac{\mathrm{LET}(E_{i-1})}{h_1(h_1+h_2)} - \frac{\mathrm{LET}(E_i)}{h_1 h_2} + \frac{\mathrm{LET}(E_{i+1})}{h_2(h_1+h_2)}\right], \tag{3.8}$$

gdzie:

$$h_1 = E_i - E_{i-1}, \qquad h_2 = E_{i+1} - E_i. \tag{3.9}$$

Maksymalny błąd interpolacji liniowej oszacowałem zgodnie z zależnością:

$$\Delta\mathrm{LET} \approx \frac{|\mathrm{LET}''(E)|\, h^2}{8}, \tag{3.10}$$

gdzie h oznacza szerokość przedziału interpolacji.

3.3.2 Modelowanie rozkładu dawki

Do modelowania rozkładu dawki wykorzystałem pakiet Geant4, który jest zaawansowanym narzędziem umożliwiającym modelowanie transportu promieniowania z wykorzystaniem metod MC. Program pozwala na śledzenie zarówno cząstek pierwotnych, jak i cząstek wtórnych powstających w wyniku oddziaływania promieniowania z materią. W zależności od zastosowanej listy fizycznej możliwe jest uwzględnienie takich procesów jak jonizacja, wzbudzenie ośrodka, rozpraszanie cząstek, produkcja elektronów wtórnych

oraz oddziaływania jądrowe. Na podstawie symulowanego transportu cząstek wyznaczyłem między innymi straty energii, energię zdeponowaną w materiale, zasięg cząstek α oraz przestrzenny rozkład dawki niezbędny do przeprowadzenia eksperymentów radiobiologciznych z wykorzystaniem źródła ^{241}Am.

W symulacjach transportu cząstek α zastosowałem referencyjną listę fizyki QGSP_INCLXX, łączącą standardowy opis oddziaływań elektromagnetycznych cząstek naładowanych z modelami procesów hadronowych [112, 113]. Za spowalnianie cząstek α oraz zasadniczą część energii deponowanej w materiałach układu odpowiadały procesy elektromagnetyczne, przede wszystkim straty jonizacyjne i rozpraszanie kulombowskie. Procesy te determinowały zasięg cząstek, zmiany kierunku ich ruchu oraz rozkład energii zdeponowanej w warstwie komórek. Część hadronowa zastosowanej listy fizyki obejmuje model intranuklearnej kaskady Liège INCL++, umożliwiający opis nieelastycznych reakcji jądrowych indukowanych między innymi przez lekkie jony, w tym cząstki α, oraz powstawania wtórnych nukleonów i lekkich fragmentów jądrowych [114, 115]. W analizowanym układzie, ze względu na energię cząstek α wynoszącą kilka MeV oraz mikrometrowe grubości poszczególnych warstw, dominujący wkład do dawki pochłoniętej pochodził jednak z oddziaływań elektromagnetycznych. Procesy jądrowe zostały uwzględnione w celu zapewnienia kompletnego opisu transportu cząstek i ewentualnego powstawania promieniowania wtórnego. Listę fizyki QGSP_INCLXX wykorzystałem do symulacji transportu cząstek α oraz wyznaczenia przestrzennego rozkładu dawki w makroskopowym modelu układu eksperymentalnego.

3.3.3 Symulacje struktury toru cząstek

Geometria układu eksperymentalnego

Geant4 pozwala na budowanie bardzo złożonych geometrii układów eksperymentalnych. Obiekty o różnych kształtach można ze sobą łączyć, powielać, czy umieszczać jedne wewnątrz drugich. Geant4 posiada również obszerną bibliotekę materiałów do tworzenia obiektów, pozwala też na definiowanie własnych.

W celu określenia rozmiarów obszaru, w którym śledziłem transport cząstek, na podstawie energii elektronów δ powstających podczas przejścia analizowanych jonów przez ośrodek wyznaczyłem ich zasięgi w wodzie, wykorzystując dane obliczone w przybliżeniu CSDA (ang. *Continuous Slowing Down Approximation*) dostępne w bazie ESTAR opracowanej przez National Institute of Standards and Technology (NIST) [16]. Dla elektronów δ o energiach, obliczonych ze wzorów 2.5 i 2.6, nieprzekraczających 200 keV zastosowałem przybliżenie funkcją potęgową dopasowaną do danych tabelarycznych dla wody:

$$Z_\delta = 0{,}0431 \cdot E^{1{,}77}, \tag{3.11}$$

gdzie: Z_δ oznacza zasięg elektronu δ wyrażony w μm, natomiast E – energię elektronu wyrażoną w keV. Wyznaczony zasięg wykorzystałem następnie jako przybliżenie maksymalnej radialnej odległości depozycji energii wokół toru cząstki pierwotnej.

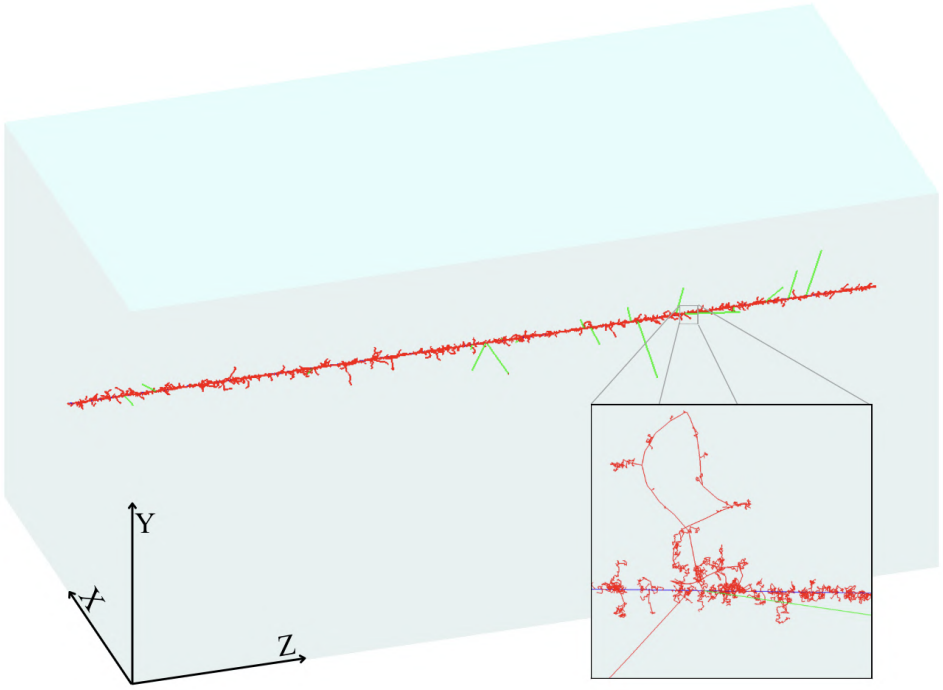
W symulacjach dotyczących obliczania rozkładów klastrów jonizacyjnych zdefiniowany został jedynie obszar w kształcie prostopadłościanu o wymiarach $100 \times 100 \times 200$ μm^3, wypełniony wodą. Wielkość obszaru została dobrana tak, aby elektrony δ wygenerowane przez przechodzącą cząstkę pierwotną nie wychodziły poza obszar objętości czułej.

Generacja jonów

W przypadku symulacji prowadzonych w skali nanometrowej zastosowałem środowisko Geant4-DNA i listę fizyczną G4EmDNAPhysics_option4. Pakiet Geant4-DNA został opracowany w celu umożliwienia modelowania oddziaływań promieniowania jonizującego z materią w bardzo małych objętościach, porównywalnych z wymiarami struktur biologicznych takich jak DNA czy chromosomy. Standardowe modele elektromagnetyczne Geant4 wykorzystują metodę historii skondensowanej, w której skutki wielu drobnych oddziaływań są ujmowane łącznie w obrębie jednego kroku cząstki. Modele Geant4-DNA opisują natomiast strukturę toru, symulując poszczególne oddziaływania w sposób dyskretny.

G4EmDNAPhysics_option4 obejmuje wszystkie podstawowe procesy zachodzące w materii biologicznej dla cząstek takich jak protony, elektrony, cząstki alfa oraz lekkie jony. Wśród uwzględnionych procesów znajdują się: jonizacja, wzbudzenie, rozpraszanie sprężyste, a dla elektronów dodatkowo przyłączanie ich do molekuł wody oraz dysocjacja molekuł wody. W porównaniu z innymi konfiguracjami, wariant Geant4–DNA option4 zapewnia najwyższą dokładność opisu oddziaływań cząstek o niskich energiach (poza zakresem wzoru Bethego–Blocha), co czyni ją odpowiednią do symulacji procesów w mikro- i nanoskali. Dzięki temu zestawowi procesów możliwe jest dokładne modelowanie oddziaływania jonizujących cząstek z wodą, uwzględniając zarówno straty energii cząstek pierwotnych, jak i generację elektronów wtórnych [116, 117, 118, 119, 120]. Powyższa lista fizyczna została wykorzystana do symulacji odziaływań w skali nanometrowej.

Pakiet Geant4-DNA posiada zdefiniowane cząstki, należy podać ich energię początkową, bądź widmo energetyczne oraz miejsce i kąt emisji. Protony, cząstki α oraz jony węgla generowałem na środku jednej z dwóch przeciwległych ścian prostopadłościanu o najmniejszej powierzchni. Energie początkowe cząstek znajdowały się w zakresie odpowiednio:
0,9–40 MeV dla protonów, 1,5–40 MeV dla cząstek α oraz 15–1050 MeV dla jonów węgla. Wektor prędkości został skierowany równolegle do płaszczyzn pozostałych boków prostopadłościanu, czyli wzdłuż osi Z. Schemat układu symulacyjnego został przedstawiony na rysunku 3.10.



Rysunek 3.10. Wizualizacja geometrii symulacji w pakiecie Geant4-DNA z oddziałującym jonem węgla o energii początkowej 200 MeV. Kolorem niebieskim został zaznaczony tor cząstki pierwotnej, czerwonym – trajektorie ruchu elektronów, a zielonym – fotonów.

Zapisywanie wyników symulacji

W trakcie symulacji zapisywałem współrzędne przestrzenne zachodzących oddziaływań, wartości strat energii w poszczególnych aktach oddziaływania oraz energie cząstek po ich zajściu. Poniżej przedstawiłem listę procesów generowanych w symulacjach oraz ich krótką charakterystykę.
Procesy jonizacji wody rozróżniłem na podstawie cząstki odpowiedzialnej za dane zdarzenie. Jonizacje wywołane przez cząstki pierwotne opisywane są w Geant4-DNA przez procesy *proton_G4DNAIonisation*, *alpha_G4DNAIonisation* oraz *GenericIon_G4DNAIonisation*, odpowiednio dla protonów, cząstek α i cięższych jonów. Jonizacje wtórne pochodzą natomiast głównie od elektronów powstałych w wyniku wcześniejszych oddziaływań. W symulacjach odpowiada im proces *e−_G4DNAIonisation*. Uwzględnienie tych zdarzeń pozwala opisać nie tylko jonizacje zachodzące w pobliżu toru cząstki pierwotnej, ale również wkład kaskady elektronów wtórnych w przestrzenny rozkład depozycji energii. Symulacja obejmuje również inne procesy fizyczne, takie jak:

- ekscytacje – wzbudzenie elektronów bez jonizacji, w powrocie ze stanu wzbudzonego elektron może uwolnić energię w postaci fotonu lub kaskady elektronów Augera,
- rozproszenia sprężyste – zmiana kierunku ruchu cząstki bez utraty energii,

- zmiana ładunku cząstki w wyniku interakcji z ośrodkiem, cząstka może tracić część swojego ładunku lub zmieniać stan jonowy, co wpływa na dalsze oddziaływania,
- solwatacji elektronów, która jest ostatnim procesem na torze ruchu elektronu, kiedy ten ma zbyt niską energię, aby ulec dalszym procesom zderzeń, zostaje otoczony przez cząsteczki wody i staje się wolnym elektronem w roztworze, w którym zachowuje się jak anion [121],
- oddziaływania fotonów, obejmujące efekt fotoelektryczny, rozpraszanie Comptona, rozpraszanie Rayleigha oraz, dla fotonów o energiach przekraczających próg energii 1,022 MeV, kreację par elektron–pozyton.

Choć symulacja zawiera informacje o wymienionych procesach zachodzących w układzie, w kolejnych etapach pracy analizie podlegają wyłącznie akty jonizacji.

3.4 Modelowanie klastrów jonizacyjnych

W poniższych podrozdziałach omówiłem procedurę wyznaczania liczebności klastrów jonizacyjnych oraz obliczania ICSD.

3.4.1 Wyznaczanie wartości LET z symulacji

W celu obliczenia wartości LET dla zadanej energii cząstki E_0 zastosowałem podejście segmentowe. Dane torów cząstek uzyskane z symulacji Geant4-DNA w formacie tekstowym wczytałem i opracowałem przy użyciu oprogramowania opartego na Pythonie. Każdy tor cząstki pierwotnej dzieliłem na segmenty o stałej długości $\Delta l = 0{,}5$ µm. Następnie do analizy wybierałem jedynie te segmenty, dla których energia kinetyczna cząstki E_i (czyli energia w i-tym segmencie) mieściła się w zadanym oknie energetycznym wokół analizowanej energii E_0:

$$E_0 - \Delta E \leq E_i \leq E_0 + \Delta E. \tag{3.12}$$

Wartość ΔE zależała od energii E_0 i wynosiła:

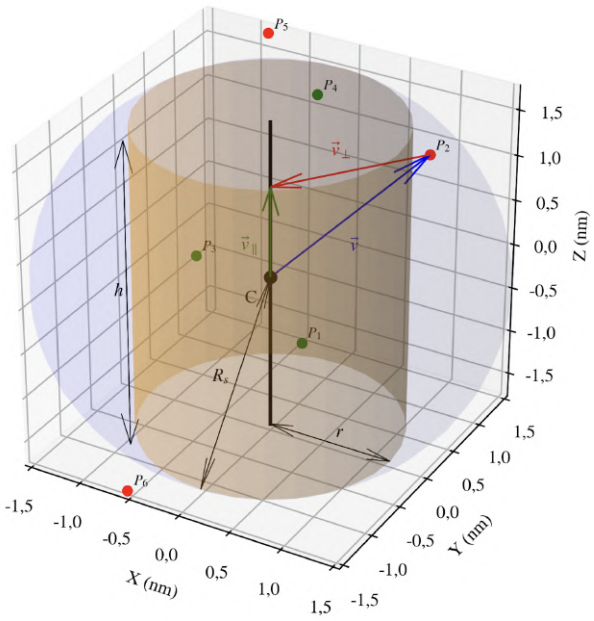
$$\Delta E = \begin{cases} 0{,}05 \text{ MeV} & \text{dla } E_0 < 2 \text{ MeV}, \\ 0{,}10 \text{ MeV} & \text{dla } E_0 \geq 2 \text{ MeV}. \end{cases} \tag{3.13}$$

Dla każdego wybranego segmentu sumowałem energię zdeponowaną $\mathrm{d}E_i$, a następnie obliczałem lokalną wartość LET jako stosunek zdeponowanej energii do długości segmentu:

$$LET_i = \frac{\mathrm{d}E_i}{\mathrm{d}l_i}. \tag{3.14}$$

Wartość LET dla zadanej energii E_0 wyznaczyłem jako średnią ze wszystkich segmentów spełniających kryterium energetyczne, natomiast niepewność oszacowałem za pomocą niepewności standardowej średniej.

3.4.2 Zliczanie liczby jonizacji w cylindrze odpowiadającym objętości DNA w komórce



Rysunek 3.11. Geometryczna ilustracja kryterium wykorzystywanego do określenia, czy dany akt jonizacji (punkt P_i) należy do objętości cylindra. Wektor $\overrightarrow{\mathbf{v}} = \overrightarrow{CP_2}$ rozkładany jest na składowe równoległą ($\overrightarrow{\mathbf{v}_\parallel}$) oraz prostopadłą ($\overrightarrow{\mathbf{v}_\perp}$) do osi cylindra $\mathbf{u}$. Na schemacie zaznaczono promień podstawy r, wysokość h oraz promień sfery opisanej na cylindrze R_s. Przykładowe punkty jonizacji P_i ($i \in \{1, 2, 3, 4, 5, 6\}$) przedstawiono w dwóch grupach: punkty zielone spełniają oba warunki, natomiast punkty czerwone leżą poza analizowaną objętością.

W symulowanym obszarze prostopadłościanu, zaznaczonym na rysunku 3.10, rozmieszczałem cylindry o promieniu $r = 1{,}2$ nm i wysokości $h = 3{,}4$ nm. Wymiary te odpowiadają lokalnemu fragmentowi DNA obejmującemu około 10 par zasad. Jonizacje zachodzące wewnątrz pojedynczego cylindra traktowałem jako należące do jednego klastra jonizacyjnego. Cylinder w przestrzeni trójwymiarowej można opisać za pomocą czterech parametrów: środka $C = (c_x, c_y, c_z)$, znormalizowanego wektora osi u, promienia r oraz wysokości h. Na rysunku 3.11 umieszczony został przykładowy cylinder w układzie kartezjańskim z wektorem osi u pokrywającym się z osią Z układu, który jest związany z cylindrem i niezależny od układu przedstawionego na rysunku 3.10. Sprawdzenie, czy dany punkt $P_i = (p_x, p_y, p_z)$, będący miejscem zajścia aktu jonizacji, leży wewnątrz tego cylindra, wymaga wykonania dwóch kroków. W pierwszym kroku obliczam wektor $\overrightarrow{v} = \overrightarrow{CP}$, który opisuje położenie punktu względem środka cylindra. Następnie rzutuję go na oś cylindra (zaznaczona na rysunku 3.11 na czarno). Otrzymana wartość $|\overrightarrow{v_\parallel}|$ (zaznaczona na zielono) oznacza odległość punktu P_i wzdłuż osi cylindra, czyli to, jak wysoko lub nisko punkt znajduje się względem środka. Jeżeli $|\overrightarrow{v_\parallel}| \leq \frac{h}{2}$, oznacza to, że punkt mieści się w zakresie wysokości walca; w przeciwnym razie leży powyżej górnej podstawy lub poniżej dolnej i nie należy do cylindra, czyli nie spełnia warunku osiowego. W drugim kroku analizuję odległość punktu P_i od osi cylindra. W tym celu obliczam długość składowej wektora $\overrightarrow{v}$ (zaznaczony na

czerwono), która jest prostopadła do osi cylindra: $|\overrightarrow{v_\perp}|$.

Wektor ten wskazuje dokładnie w stronę osi walca i reprezentuje przesunięcie punktu w kierunku radialnym. Odpowiada ona faktycznej odległości punktu od osi. Jeżeli $|\overrightarrow{v_\perp}| \leq r$, to punkt leży wewnątrz cylindra, a jeżeli $|\overrightarrow{v_\perp}| > r$, znajduje się na zewnątrz jego objętości. Ostatecznie punkt P_i należy do wnętrza cylindra wtedy i tylko wtedy, gdy oba warunki (dot. $|\overrightarrow{v_\parallel}|$ i $|\overrightarrow{v_\perp}|$) są spełnione jednocześnie. Dzięki temu prostemu testowi można w sposób jednoznaczny określić, czy dany punkt z chmury punktów znajduje się wewnątrz rozpatrywanego walca. Dla każdego walca zliczana jest liczba znajdujących się w nim punktów, czyli aktów jonizacji, i zwracana w postaci listy, na tej podstawie obliczane są rozmiary klastrów jonizacyjnych, które wykorzystuję do wyznaczenia ICSD. Lista nie uwzględnia cylindrów, w których nie zarejestrowano żadnych punktów. Uwzględnianie wszystkich cylindrów, dla których liczba zliczeń wynosi zero, prowadziłoby do błędnej interpretacji wyników. Ponieważ cylindry są rozmieszczane w całej analizowanej objętości, a nie jedynie wzdłuż trajektorii cząstki, liczba takich cylindrów byłaby bardzo duża i silnie zależna od badanej objętości.

3.4.3 Procedura losowania cylindrów imitujących położenie DNA w jądrze

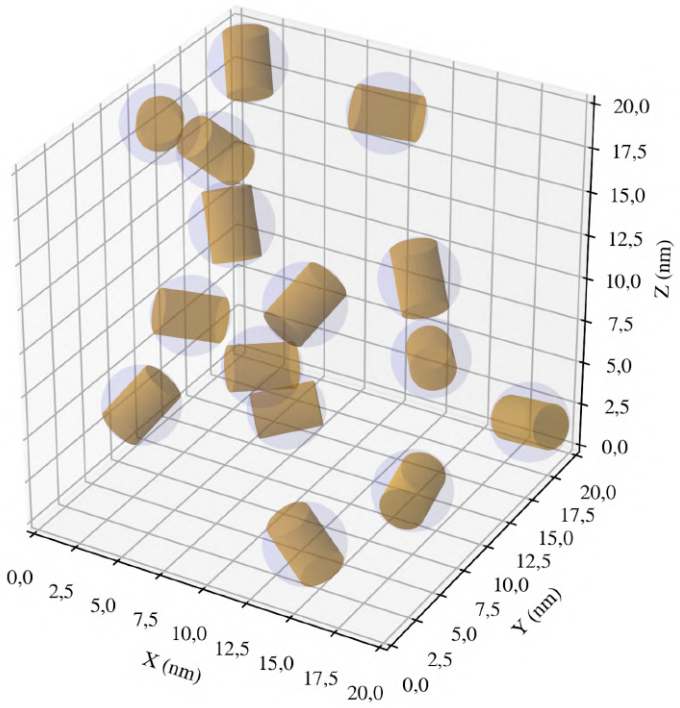
Liczba cylindrów zależy od całkowitej objętości przestrzeni oraz objętości pojedynczego cylindra. Na podstawie gęstości materiału genetycznego w komórce przyjąłem współczynnik wypełnienia równy 0,1 [122], co oznacza, że cylindry zajmują 10% całkowitej objętości obszaru. Współrzędne środków cylindrów są losowane w obrębie prostopadłościanu, a następnie przypisywany jest im wektor określający orientację w przestrzeni. Wprowadziłem również ograniczenia, które uniemożliwiają cylindrom wychodzenie poza granice prostopadłościanu (1) oraz nakładanie się (2). Pierwszy warunek dotyczył położenia cylindra względem granic symulowanego prostopadłościanu. Ponieważ każdy cylinder był opisywany za pomocą sfery o promieniu R_s, sprawdzałem, czy cała taka sfera mieści się wewnątrz analizowanej objętości. Oznacza to, że środek cylindra nie mógł znajdować się bliżej żadnej ze ścian prostopadłościanu niż odległość R_s. Dla prostopadłościanu ograniczonego współrzędnymi $x_{\min}$, $x_{\max}$, $y_{\min}$, $y_{\max}$, $z_{\min}$ oraz $z_{\max}$ warunek ten można zapisać jako:

$$\begin{cases} x_{\min} + R_s \leq x_c \leq x_{\max} - R_s, \\ y_{\min} + R_s \leq y_c \leq y_{\max} - R_s, \\ z_{\min} + R_s \leq z_c \leq z_{\max} - R_s, \end{cases} \tag{3.15}$$

gdzie (x_c, y_c, z_c) oznacza położenie środka cylindra. Do wypełnienia drugiego warunku przy generowaniu każdego kolejnego walca należało sprawdzić, czy nie następuje kolizja z każdym poprzednio umieszczonym w symulowanym obszarze. Każdy cylinder traktowałem jako sferę o promieniu równym połowie przekątnej przekroju osiowego cylindra.

Dla cylindra o promieniu r i wysokości h promień sfery R_s obejmującej cylinder wyraża się wzorem:

$$R_s = \sqrt{r^2 + \left(\frac{h}{2}\right)^2}. \tag{3.16}$$



Rysunek 3.12. Sześcian o boku 20 nm zawierający wygenerowane, nienakładające się cylindry o promieniu podstawy 1,2 nm oraz wysokości 3,4 nm. Każdy cylinder został dodatkowo umieszczony wewnątrz opisanej na nim sfery o promieniu R_s, całkowicie obejmującej objętość cylindra.

Dzięki temu procedura weryfikacji braku wzajemnego nakładania się cylindrów jest prosta: jeśli odległość między środkami dwóch cylindrów jest mniejsza od sumy promieni sfer, cylinder nie jest brany pod uwagę w analizie. Losowanie kończyło się przy osiągnięciu liczby cylindrów, których suma objętości zajmuje 10% analizowanego prostopadlościanu. Przykładowo wygenerowane cylindry przedstawiłem na rysunku 3.12.

W celu ograniczenia objętości, w której losowane były cylindry reprezentujące lokalne obszary zliczania jonizacji, najpierw wyznaczyłem przestrzenne granice obszarów zawierających akty jonizacji. Ponieważ jonizacje powstające w wyniku przejścia cząstki pierwotnej są rozmieszczone głównie wokół jej trajektorii, analizowany prostopadłościan umieszczony na rysunku 3.10 podzieliłem wzdłuż osi Z, zgodnej z początkowym kierunkiem ruchu cząstki, na 50 równych części o wymiarach $100 \times 100 \times 4$ μm^3. W każdym z tych segmentów odczytałem współrzędne punktów jonizacji i wyznaczyłem ich skrajne wartości w kierunkach X, Y oraz Z. Na tej podstawie dla każdego segmentu zawierającego co najmniej jeden akt jonizacji zdefiniowałem lokalny prostopadłościan obejmujący wszystkie jonizacje znajdujące się w danym fragmencie toru. Cylindry losowałem następnie wyłącznie wewnątrz tych lokalnych prostopadłościanów. Segmenty, w których nie zarejestrowano żadnych aktów jonizacji, były pomijane w dalszej procedurze. Takie podejście pozwoliło ograniczyć liczbę losowanych cylindrów w obszarach przestrzeni, w których nie występowały akty jonizacji, przy jednoczesnym zachowaniu lokalnej informacji o przestrzennym rozkładzie jonizacji wzdłuż toru cząstki.

3.4.4 Szacowanie liczby klastrów zerowych

Na podstawie wyników symulacji uzyskałem dane opisujące liczbę aktów jonizacji zarejestrowanych w losowo rozmieszczonych cylindrach. Dane te mają postać histogramu przedstawiającego liczbę cylindrów, w których zaobserwowano określoną liczbę aktów jonizacji, tj. $n = 1, 2, 3, \ldots$. Histogram nie zawiera jednak informacji o liczbie cylindrów, w których nie zarejestrowano żadnego aktu jonizacji ($n = 0$). Tego rodzaju niepełne dane są często spotykane w praktyce, zwłaszcza gdy system rejestracji uwzględnia wyłącznie zdarzenia, w których wystąpił co najmniej jeden akt jonizacji, natomiast przypadki odpowiadające zerowej liczbie zdarzeń nie są rejestrowane. W związku z tym zdecydowałem się na stworzenie modelu szacującego liczbę klastrów zerowych.

W oddziaływaniu promieniowania jonizującego z materią biologiczną podstawowym procesem jest jonizacja cząsteczek, w tym DNA i otaczającej wody. Liczba jonizacji w danym fragmencie komórki jest zmienną losową. Dla cząstek o wysokim LET energia deponowana jest wzdłuż krótkich i gęstych torów, a zdarzenia jonizacyjne grupują się w mikroskopowych objętościach porównywalnych z wymiarami struktur biologicznych [123]. Jonizacja może być traktowana jako zdarzenie losowe o bardzo małym prawdopodobieństwie wystąpienia w niewielkim elemencie objętości, ale zachodzące w dużej liczbie potencjalnych lokalizacji wzdłuż toru cząstki. W takim przypadku naturalnym modelem jest rozkład Poissona, który opisuje liczbę zdarzeń zachodzących w zadanej objętości, pod warunkiem że zdarzenia są od siebie niezależne. Prawdopodobieństwo wystąpienia pojedynczego aktu jonizacji w małym elemencie objętości jest proporcjonalne do rozmiaru tej objętości, natomiast prawdopodobieństwo wystąpienia więcej niż jednego aktu jonizacji w dostatecznie małym elemencie objętości jest zaniedbywalnie małe.

Załóżmy, że mamy objętość biologiczną V, w której może dojść do n niezależnych prób jonizacji. Każda próba kończy się jonizacją z prawdopodobieństwem p. Liczba jonizacji X ma rozkład dwumianowy:

$$P(X = k) = \binom{n}{k} p^k (1-p)^{n-k}. \tag{3.17}$$

Dla dużej liczby prób $n \to \infty$ i małego prawdopodobieństwa $p \to 0$ przy zachowaniu skończonej wartości oczekiwanej $\lambda = np$, otrzymujemy granicznie rozkład Poissona:

$$P(n) = \frac{\lambda^n}{n!} e^{-\lambda}, \tag{3.18}$$

gdzie $P(n)$ to prawdopodobieństwo utworzenia klastra zawierającego n jonizacji, λ odpowiada średniej liczbie jonizacji w danej objętości. W związku z powyższym zdecydowałem o szacowaniu liczby klastrów zerowych w oparciu o rozkład Poissona, dodatkowo uwzględniłem dwa warianty tego rozkładu: klasyczny i uogólniony

Klasyczny rozkład Poissona Funkcja masy prawdopodobieństwa (PMF, ang. *Probability Mass Function*) dla podejścia klasycznego opisana jest rozkładem Poissona, którego postać analityczna została podana równaniem 3.18. Model ten stanowi naturalny punkt wyjścia do opisu liczby aktów jonizacji w zadanej objętości biologicznej, przy założeniu, że zdarzenia te zachodzą niezależnie i z jednakową intensywnością p.

W niniejszej analizie zmienna losowa X oznaczała liczbę aktów jonizacji zarejestrowanych w pojedynczej objętości zliczania, czyli w cylindrze odpowiadającym lokalnemu fragmentowi DNA. Parametr λ rozkładu Poissona odpowiadał zatem wartości oczekiwanej liczby jonizacji w takiej objętości:

$$\lambda = \mathrm{E}(X). \tag{3.19}$$

Dla rozkładu Poissona zachodzi zależność pomiędzy prawdopodobieństwami wystąpienia kolejnych wartości zmiennej losowej. W szczególności:

$$\frac{P(X=2)}{P(X=1)} = \frac{\lambda}{2}. \tag{3.20}$$

Wartość parametru λ wyznaczyłem bezpośrednio na podstawie wyników symulacji Monte Carlo, wykorzystując liczby obserwacji n_1 oraz n_2, odpowiadające odpowiednio cylindrom, w których zarejestrowano jeden lub dwa akty jonizacji. Przyjmując, że stosunek liczby obserwacji n_2/n_1 stanowi estymator stosunku prawdopodobieństw $P(X=2)/P(X=1)$, parametr λ oszacowałem ze wzoru:

$$\lambda = \frac{2\,n_2}{n_1}. \tag{3.21}$$

Takie podejście pozwala oszacować średnią liczbę jonizacji w analizowanej objętości na podstawie obserwowanych klastrów niezerowych. Jest to istotne w sytuacji, gdy liczba przypadków odpowiadających $X = 0$, czyli objętości bez aktów jonizacji, nie jest bezpośrednio dostępna z danych symulacyjnych.

Po wyznaczeniu parametru λ obliczyłem teoretyczne prawdopodobieństwo wystąpienia zdarzenia zerowego poprzez podstawienie $n = 0$ do równania 3.18, co prowadzi do zależności

$$P(X=0) = e^{-\lambda}. \tag{3.22}$$

Ponieważ w analizowanych danych symulacyjnych nie rejestrowałem przypadków odpowiadających $X = 0$, konieczne było ich statystyczne odtworzenie w celu uzyskania kompletnego rozkładu liczby jonizacji. Liczbę brakujących zdarzeń zerowych oszacowałem na podstawie relacji pomiędzy liczbą obserwacji niezerowych a prawdopodobieństwem

wystąpienia klastra zerowego, zgodnie ze wzorem

$$N_0 = \frac{N_{\text{obs}}\, P(X=0)}{1 - P(X=0)}, \tag{3.23}$$

gdzie N_{obs} oznacza całkowitą liczbę zaobserwowanych przypadków dla $X \geq 1$.

Należy jednak podkreślić, że klasyczny rozkład Poissona opiera się na założeniu równości wartości średniej i wariancji rozkładu. W przypadku rozkładów rozmiaru klastrów jonizacyjnych założenie to jest często naruszone, ponieważ obecność procesów wtórnych prowadzi do silnych korelacji pomiędzy kolejnymi aktami jonizacji oraz do nadmiernej dyspersji danych. W takich warunkach estymator parametru λ staje się obciążony, a liczba rekonstruowanych zdarzeń zerowych może być istotnie zaniżona lub zawyżona. Ograniczenia klasycznego podejścia Poissona stanowią bezpośrednią motywację do zastosowania bardziej ogólnego opisu statystycznego.

Uogólniony rozkład Poissona Do opisu empirycznych rozkładów zastosowałem uogólniony rozkład Poissona (GPD, ang. *Generalized Poisson Distribution*), który stanowi rozszerzenie klasycznego rozkładu Poissona w którym parametr λ interpretowany jest jako średnia liczba jonizacji pierwotnych m_p, natomiast dodatkowy parametr m_s opisuje wkład jonizacji wtórnych i odpowiada za regulację dyspersji rozkładu. Takie sformułowanie modelu umożliwia spójne i fizycznie uzasadnione przejście od opisu jednoskładnikowego (λ) do analizy pełnego zakresu rozmiarów klastrów jonizacyjnych obserwowanych w symulacjach MC i umożliwia uwzględnienie efektów kaskadowych związanych z jonizacjami wtórnymi [124]. Prawdopodobieństwo utworzenia klastra zawierającego n jonizacji wyraża się wzorem

$$P(n; m_p, m_s) = \frac{m_p \left[m_p + n\, m_s\right]^{n-1} e^{-(m_p + n m_s)}}{n!}. \tag{3.24}$$

W kolejnym kroku zdefiniowałem funkcję opisującą oczekiwaną liczbę klastrów jonizacyjnych o rozmiarze n,

$$C(n) = N_{\text{tot}}\, P(n; m_p, m_s), \tag{3.25}$$

którą dopasowałem do rozkładów wyników symulacji metodą nieliniowych najmniejszych kwadratów przy użyciu procedury `curve_fit` z biblioteki SciPy. Proces dopasowania prowadziłem iteracyjnie, rozpoczynając od początkowych wartości parametrów oszacowanych na podstawie średniej liczby jonizacji obserwowanej w danych symulacyjnych. W trakcie optymalizacji parametry m_p oraz m_s ograniczyłem do wartości nieujemnych, co zapewniło zachowanie ich jednoznacznej interpretacji fizycznej.

Analiza wykazała, że w niektórych przypadkach pojedynczy uogólniony rozkład Poissona nie jest wystarczający do opisu obserwowanego rozkładu rozmiaru klastrów.

W związku z tym zastosowałem rozszerzony, dwuskładnikowy model GPD, w którym przyjąłem, że obserwowany rozkład jest superpozycją dwóch niezależnych procesów jonizacji, charakteryzujących się różnymi parametrami statystycznymi. W tym podejściu oczekiwana liczba klastrów jonizacyjnych o rozmiarze n dana jest zależnością

$$C_{\mathrm{dual}}(n) = N_1\, P(n; m_{p_1}, m_{s_1}) + N_2\, P(n; m_{p_2}, m_{s_2}), \tag{3.26}$$

gdzie

$$N_1 = w\, N_{\mathrm{tot}}, \qquad N_2 = (1-w)\, N_{\mathrm{tot}}, \tag{3.27}$$

a parametr $w \in [0,1]$ określa względny udział pierwszej składowej w całkowitej liczbie klastrów. Parametry m_{p_1}, m_{s_1}, m_{p_2}, m_{s_2} oraz w wyznaczałem jednocześnie w ramach jednego procesu dopasowania, co umożliwiło spójny i jednoznaczny rozdział wkładów obu mechanizmów jonizacji do obserwowanego ICSD.

W końcowym etapie analizy wykorzystałem własności uogólnionego rozkładu Poissona do oszacowania liczby klastrów zerowych, czyli takich objętości biologicznych, w których nie doszło do żadnego aktu jonizacji. Dla pojedynczego rozkładu GPD prawdopodobieństwo wystąpienia klastra zerowego wynosi $P(0) = \exp(-m_p)$. Na tej podstawie oczekiwaną liczbę klastrów zerowych w modelu dwuskładnikowym obliczyłem zgodnie ze wzorem

$$N_{0,\mathrm{dual}} = N_1\, e^{-m_{p_1}} + N_2\, e^{-m_{p_2}}. \tag{3.28}$$

Wielkość ta stanowi estymację liczby objętości biologicznych, w których nie wystąpiła depozycja energii cząstki jonizującej, i umożliwia pełniejszą charakterystykę statystyczną rozkładu jonizacji w analizowanym ośrodku.

3.5 Nanodozymetryczny opis odpowiedzi radiobiologicznej

Po uwzględnieniu klastrów zerowych w rozkładach ICSD wyznaczyłem parametry nanodozymetryczne opisujące strukturę toru cząstki w skali nanometrowej: średni rozmiar klastra M_1, skumulowane prawdopodobieństwa F_k oraz parametr $R_2(p)$, gdzie wartość p przyjąłem równą 0,3 zgodnie z opisem w podrozdziale 2.4.2. Następnie przeprowadziłem analizę zależności pomiędzy tymi parametrami a odpowiedzią radiobiologiczną komórek.

3.5.1 Wyznaczenie parametru K

Powiązanie pomiędzy parametrami nanodozymetrycznymi a odpowiedzią radiobiologiczną opisałem z wykorzystaniem przekroju czynnego na inaktywację komórki σ, interpretowanego jako efektywne pole przekroju odpowiadajace prawdopodobieństwu jej

inaktywacji podczas pojedynczego przejścia cząstki przez obszar wrażliwy. W niniejszej pracy analizowałem parametr $\sigma_{5\%}$ odpowiadający poziomowi przeżycia komórek równemu 5%, co zapewnia jednolity i biologicznie istotny punkt odniesienia dla różnych jakości promieniowania. Wyrażenie parametru $\sigma_{5\%}$ jako funkcji wielkości nanodozymetrycznych, takich jak R_2, umożliwia bezpośrednie powiązanie mikroskopowej struktury klastrów jonizacyjnych z makroskopowym efektem radiobiologicznym obserwowanym na poziomie przeżycia komórek. W tym celu do danych radiobiologicznych dopasowałem zależność liniową postaci:

$$\sigma_{5\%} = K \cdot R_2 + B, \tag{3.29}$$

gdzie K oraz B są współczynnikami dopasowania. Parametr K ma wymiar powierzchni, ponieważ łączy bezwymiarowy parametr nanodozymetryczny R_2 z przekrojem czynnym na inaktywację komórki $\sigma_{5\%}$. Można go zatem interpretować jako efektywną skalę geometryczną obszaru wrażliwego komórki, związaną przede wszystkim z przekrojem jądra komórkowego, w którym znajduje się materiał genetyczny. Nie jest to jednak bezpośredni pomiar powierzchni jądra, lecz parametr dopasowania określający, jaka efektywna powierzchnia odpowiada zmianie prawdopodobieństwa wystąpienia złożonych klastrów jonizacyjnych opisanych przez R_2. Przyjęcie parametru K jako stałego w dalszej analizie oznaczało założenie, że podstawowa skala geometryczna przeliczenia pomiędzy strukturą toru promieniowania a przekrojem czynnym inaktywacji pozostaje wspólna dla analizowanych komórek. Efektywne pole inaktywacji jest określone przez objętość materiału genetycznego w jądrze komórki, która to objętość jest stała niezależnie od różnych rozmiarów jąder.

Zależność pomiędzy $\sigma_{5\%}$ i modelem R_2 wyznaczyłem początkowo dla zbioru linii komórek prawidłowych, traktowanych jako układ referencyjny. Otrzymaną regresję liniową określiłem jako zależność referencyjną, natomiast odpowiadające jej dopasowanie jako dopasowanie referencyjne. Na podstawie tego zbioru danych wyznaczyłem parametr nachylenia K, który następnie traktowałem jako stały i wykorzystałem w dalszej analizie linii nowotworowych. Takie założenie oznacza, że podstawowa skala przeliczenia pomiędzy R_2 a efektywnym polem inaktywacji, pozostaje taka sama, natomiast zmienność odpowiedzi biologicznej komórek nowotworowych opisywałem przez dodatkowy parametr związany z ich promieniowrażliwością.

3.5.2 Analiza parametru p

W kolejnym etapie przeprowadziłem analizę sześciu linii nowotworowych, dobranych w trzy pary o podobnym pochodzeniu morfologicznym, jak zostało to opisane w rozdziale 3.1.1. Uwzględniłem linie, dla których dostępne były dane przeżywalności komórek po ekspozycji na promieniowanie jonami węgla oraz promieniowanie fotonowe. Dla każdej linii wyznaczyłem w sposób opisany poniżej wartość parametru p, interpretowanego jako

wielkość opisująca wewnętrzną promieniowrażliwość komórek. Wartości współczynnika p wyznaczałem poprzez dopasowanie modelu R_2 do sparowanych danych radiobiologicznych dla poszczególnych linii nowotworowych.

Przyjąłem, że zmiana wartości p wpływa na zgodność danych eksperymentalnych z zależnością referencyjną wyznaczoną dla komórek prawidłowych. Linię nowotworową uznałem za zgodną z zależnością referencyjną, jeżeli jednocześnie spełniała trzy kryteria. Po pierwsze, test t-Studenta zastosowany do reszt względem dopasowania referencyjnego nie pozwalał na odrzucenie hipotezy zerowej zakładającej zerową średnią reszt ($p_{t\text{-test}} > 0{,}05$). Po drugie, wszystkie punkty eksperymentalne musiały znajdować się wewnątrz 90% przedziału ufności regresji referencyjnej. Po trzecie, współczynnik determinacji R^2 osiągał maksimum dla analizowanej wartości parametru p. Tak sformułowane kryteria umożliwiały obiektywną ocenę zgodności badanej linii nowotworowej z odpowiedzią obserwowaną dla komórek prawidłowych.

Jako miarę jakości dopasowania zastosowałem RMSE. W celu ilościowej oceny poprawy jakości dopasowania względem modelu referencyjnego ($p = 0{,}3$) obliczyłem względną redukcję RMSE (δ_p) dla różnych wartości parametru p zgodnie z zależnością:

$$\delta_p = \frac{\mathrm{RMSE}_{p=0,3} - \mathrm{RMSE}_p}{\mathrm{RMSE}_{p=0,3}} \cdot 100\%. \tag{3.30}$$

Dodatnia wartość parametru δ_p oznacza poprawę jakości dopasowania względem zależności referencyjnej, natomiast wartości bliskie zeru wskazują na brak istotnych różnic pomiędzy analizowanym przypadkiem a modelem odniesienia.

W celu uzyskania globalnej miary promieniowrażliwości komórek wykorzystywałem również pole pod krzywą przeżywalności (AUC, ang. *Area Under Curve*). Wielkość ta uwzględnia całkowitą odpowiedź komórkową w szerokim zakresie dawek i pozwala jednocześnie opisać wpływ liniowej oraz kwadratowej składowej modelu LQ, które są odpowiedzialne za inaktywację komórek. Dla promieniowania fotonowego wartość AUC obliczałem poprzez numeryczne całkowanie funkcji przeżywalności komórek w funkcji dawki pochłoniętej D [125]:

$$\mathrm{AUC} = \int_0^\infty \exp\left(-\alpha_{\mathrm{bs}} D - \beta_{\mathrm{bs}} D^2\right) \mathrm{d}D, \tag{3.31}$$

gdzie α_{bs} i β_{bs} to parametry modelu LQ wyznaczone metodą bootstrapu.

Całkę wyznaczałem numerycznie metodą adaptacyjnej kwadratury, w której algorytm automatycznie dostosowuje podział przedziału całkowania do lokalnej zmienności funkcji, zapewniając wymaganą dokładność obliczeń przy ograniczeniu błędu numerycznego. Podejście to umożliwia precyzyjne wyznaczenie pola pod krzywą przeżywalności w pełnym zakresie dawek. Zastosowanie AUC umożliwiło porównanie promieniowrażliwości poszczególnych linii komórkowych niezależnie od pojedynczego punktu końcowego krzywej przeżycia.

3.5.3 RBE a promieniowrażliwość komórkowa

W niniejszej pracy RBE zdefiniowałem jako stosunek dawki referencyjnego promieniowania fotonowego do dawki promieniowania jonowego prowadzącej do uzyskania tego samego efektu biologicznego, odpowiadającego poziomowi przeżywalności komórek wynoszącemu 5% (SF = 5%). Wartości dawek wyznaczyłem poprzez rozwiązanie równania modelu liniowo-kwadratowego:

$$\alpha_{\mathrm{bs}} D + \beta_{\mathrm{bs}} D^2 = -\ln(0{,}05). \tag{3.32}$$

Na podstawie analizy empirycznej opisanej w podrozdziale 3.5.2 przyjąłem wartość progową $p = 0{,}25$ jako kryterium rozróżniające względnie promieniooporne i promieniowrażliwe linie komórkowe w analizowanym zbiorze danych. Dodatkowo dla zakresu LET $\lesssim 100$ keV/μm zastosowałem model regresji liniowej opisujący zależność RBE od LET w postaci

$$\mathrm{RBE}_{\mathrm{SF}} = a \cdot \mathrm{LET} + b, \tag{3.33}$$

gdzie współczynniki a i b wyznaczano oddzielnie dla różnych poziomów przeżywalności komórek ($\mathrm{SF} \in \{5\%, 10\%, 20\%\}$). Wszystkie analizowane dane dotyczyły napromieniania jonami węgla, co umożliwiło badanie wpływu zmian gęstości jonizacji wzdłuż toru cząstki przy zachowaniu jednorodnej jakości promieniowania [126].

ROZDZIAŁ 4

WYNIKI I DYSKUSJA

W niniejszym rozdziale przedstawiłem wyniki przeprowadzonych badań eksperymentalnych i symulacji oraz ich szczegółową analizę w kontekście odpowiedzi komórkowej na działanie cząstek naładowanych. W pierwszej kolejności omówiłem charakterystykę dozymetryczną oraz walidację modelu źródła promieniowania wykorzystanego w eksperymentach. Następnie zaprezentowałem wyniki testów przeżywalności komórek oraz parametry modelu liniowo-kwadratowego wyznaczone dla analizowanych danych radiobiologicznych. Szczególną uwagę poświęciłem analizie parametrów nanodozymetrycznych opisujących strukturę toru promieniowania w skali porównywalnej z wymiarami DNA oraz ich związku z odpowiedzią biologiczną komórek. Uzyskane wyniki zestawiłem z klasycznymi parametrami jakości promieniowania, takimi LET oraz RBE, w celu oceny potencjału parametrów nanodozymetrycznych jako wskaźników efektu biologicznego.

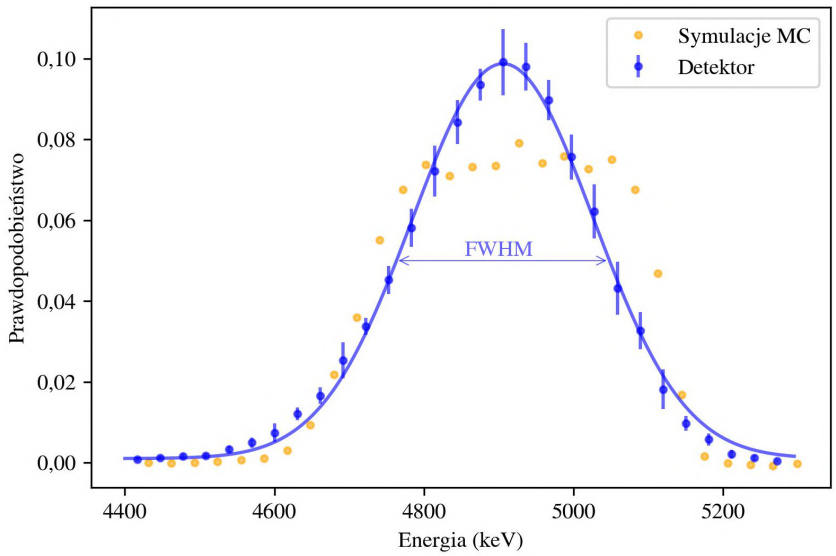
4.1 Charakterystyka dozymetryczna i walidacja modelu źródła ^{241}Am

Prawidłowe zaplanowanie eksperymentu radiobiologicznego wymaga wcześniejszego określenia podstawowych parametrów dozymetrycznych zastosowanego źródła promieniowania. Charakterystyka ta obejmuje wyznaczenie mocy dawki oraz analizę przestrzennego rozkładu depozycji energii w geometrii eksperymentalnej.

Uzyskane wyniki pomiarowe stanowią podstawę do weryfikacji modelu źródła zastosowanego w symulacjach MC, na podstawie których zostały zaplanowane schematy napromieniania komórek PC3 i DU145. Porównanie wyników symulacji z pomiarami dozymetrycznymi pozwala ocenić poprawność odwzorowania geometrii układu oraz parametrów źródła, a tym samym zapewnić wiarygodność dalszych analiz numerycznych.

4.1.1 Określenie budowy źródła ^{241}Am

Zmierzone widmo cząstek α emitowanych ze źródła powierzchniowego ^{241}Am zaprezentowałem na rysunku 4.1 kolorem niebieskim. Średnia energia piku cząstek α E_α emitowanych ze źródła, wyznaczona na podstawie dopasowania rozkładu Gaussa, wynosi $E_\alpha = (4905{,}5 \pm 1{,}6)$ keV. Należy zwrócić uwagę na fakt, że detektor ma skończoną zdolność rozdzielczą i nawet przy rejestracji widma cząstek monoenergetycznych otrzymany pik ma kształt dzwonowy. W obszarze FWHM rozdzielczość detektora wynosi około 15 keV [127]. Kalibracja detektora półprzewodnikowego, za pomocą którego zostały wykonane te pomiary, jest opisana w Dodatku A (rysunek A.2).



Rysunek 4.1. Widma energetyczne cząstek α emitowanych ze źródła powierzchniowego ^{241}Am: kolorem niebieskim zaznaczyłem widmo zarejestrowane detektorem krzemowym z niepewnościami prawdopodobieństwa wyznaczonych na podstawie statystyki Poissona liczby zliczeń, z uwzględnieniem normalizacji histogramu do całkowitej liczby zdarzeń z dopasowaną funkcją Gaussa oraz zaznaczoną FWHM, pomarańczowe punkty są wynikiem modelowania MC na podstawie informacji dostarczonych przez producenta źródła.

Na podstawie informacji na temat budowy źródła otrzymanych od producenta, które okazały się nieprecyzyjne, wykonałem w środowisku Geant4 symulacje MC widma energetycznego cząstek α docierających do detektora. Grubości warstwy aktywnej (0,4 µm) oraz warstwy złota (1 µm) ją ochraniającej podane zostały z dużym przybliżeniem. Otrzymane wyniki symulacji MC nie są zgodne z danymi pomiarowymi. Widoczne jest spłaszczenie widma w $\frac{3}{4}$ wysokości, widoczne na rysunku 4.1, którego nie obserwujemy w pomiarach na detektorze. Przyczyną obserwowanych różnic mogło być zastosowanie w symulacjach zbyt dużej grubości warstwy aktywnej. W celu określenia wpływu parametrów geometrycznych przeprowadziłem symulacje uwzględniające zmiany położenia środka oraz grubości warstwy aktywnej.

Pierwsza część symulacji polegała na przesuwaniu warstwy aktywnej o stałej grubości 0,4 µm względem powierzchni źródła. Zależność położenia wartości oczekiwanej rozkładu Gaussa E_α dopasowanego do widma energetycznego obliczonego na podstawie symulacji, czyli średniej energii cząstek α emitowanych ze źródła, w zależności od symulowanej głębokości położenia środka przedstawiłem na rysunku 4.2A. Do zaznaczonych punktów dopasowałem prostą o równaniu:

$$E = m \cdot x + n, \tag{4.1}$$

gdzie: x jest położeniem środka warstwy aktywnej, natomiast m i n to współczynniki kalibracyjne, które są równe:

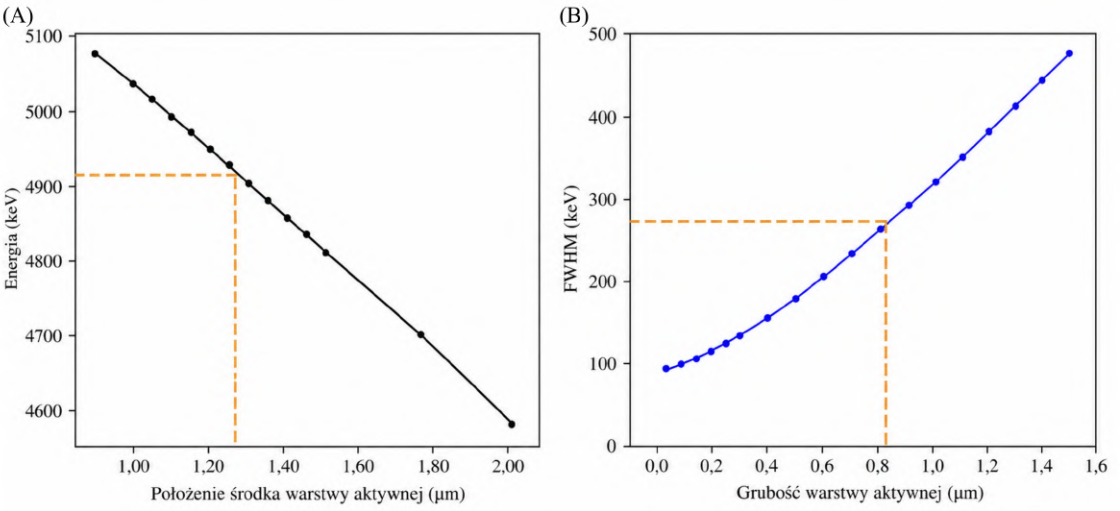
$$m = (-4629 \pm 15)\ \frac{\text{keV}}{\mu\text{m}},$$
$$n = (5502{,}1 \pm 2{,}0)\ \text{keV},$$

co daje położenie środka warstwy aktywnej na głębokości $x_\alpha = (1{,}289 \pm 0{,}006)$ µm. Otrzymana wartość odpowiada średniej energii piku równej $(4905{,}5 \pm 1{,}6)$ keV, wyznaczonej na podstawie widma zarejestrowanego detektorem krzemowym.

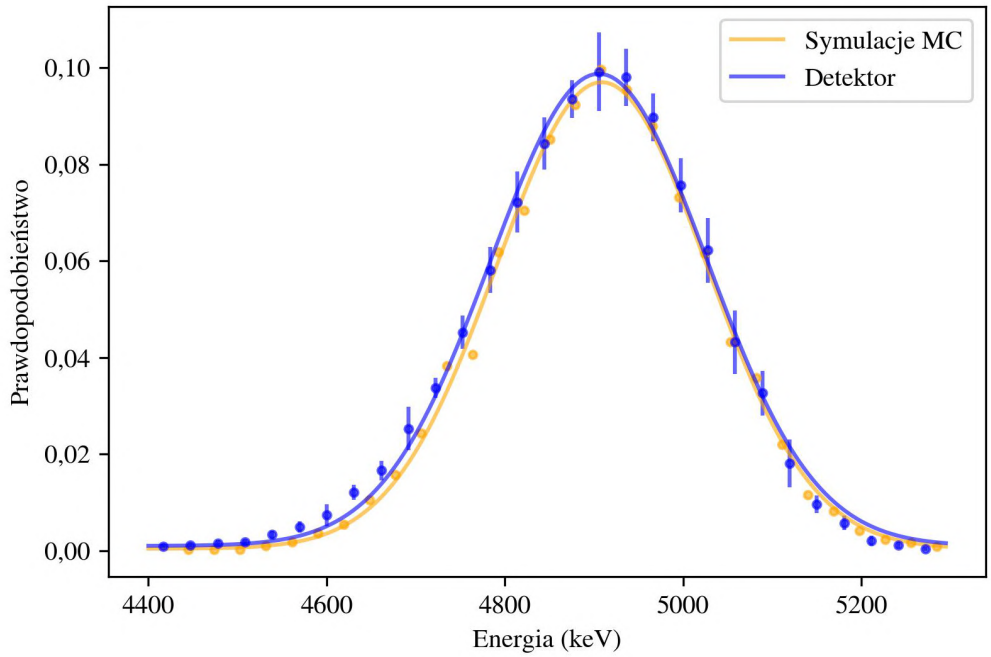
Następnie dla ustalonego położenia x_α jako zmienną wprowadziłem grubość d_α warstwy aktywnej. Oczekiwana wartość FWHM, odczytana z dopasowania z rysunku 4.1, jest równa (284 ± 5) keV. Na rysunku 4.2B umieściłem wykres zależności FWHM od d_α. Dla zmierzomnej wartości FWHM odczytana z rysunku 4.2B wartość d_α jest równa $(0{,}875 \pm 0{,}021)$ µm.

Na podstawie wyznaczonego położenia środka warstwy aktywnej zmodyfikowałem sposób generacji cząstek α. Zamiast jednorodnego rozkładu generacji w warstwie o grubości 0,4 µm, który prowadził do odchylenia od oczekiwanego rozkładu gaussowskiego, generowałem cząstki w materiale zgodnie z rozkładem normalnym o wartości średniej $x_\alpha = 1{,}29$ µm. Takie podejście uzasadniają widoczne na rysunku 4.4A pasmowe niejednorodności rozkładu dawki, które mogą wskazywać na lokalne różnice w grubości lub strukturze warstwy aktywnej źródła. Zastosowanie rozkładu normalnego pozwoliło w sposób uproszczony uwzględnić zmienność głębokości, z której emitowane były cząstki α. Wyznaczoną grubość warstwy aktywnej x_α przeliczyłem na odchylenie standardowe rozkładu normalnego o tej samej wariancji, otrzymując $\sigma_\alpha = (0{,}253 \pm 0{,}006)$ µm, co w symulacji zaokrągliłem do $\sigma_\alpha = 0{,}26$ µm. Generację ograniczyłem do zakresu ($\pm$ 3 σ_α).

Po uwzględnieniu zmodyfikowanego modelu generacji cząstek uzyskałem dobrą zgodność zarówno położenia maksimum piku, jak i jego kształtu. Na rysunku 4.3 zaprezentowałem porównanie widma energetycznego cząstek α zmierzonego za pomocą detektora krzemowego oraz obliczonego z wykorzystaniem zaproponowanego przeze mnie modelu źródła.



Rysunek 4.2. (A) Zależność położenia maksimum widma energetycznego cząstek α deponowanych w detektorze w zależności od położenia środka warstwy aktywnej z dopasowaną zależnością liniową; linią przerywaną zaznaczyłem wartość zmierzoną energii oraz odpowiadającą jej wartość położenia środka warstwy aktywnej. (B) Zależność FWHM od grubości warstwy aktywnej z dopasowaną zależnością; linią przerywaną zaznaczyłem wartość oczekiwaną FWHM oraz odpowiadającą jej wartość grubości warstwy aktywnej.



Rysunek 4.3. Widma energetyczne cząstek α emitowanych ze źródła powierzchniowego ^{241}Am: kolorem niebieskim zaznaczyłem widmo zarejestrowane detektorem krzemowym z niepewnościami wyznaczonymi na podstawie statystyki Poissona liczby zliczeń, z uwzględnieniem normalizacji histogramu do całkowitej liczby zdarzeń, pomarańczowe punkty są wynikiem modelowania MC. Do obu widm dopasowałem funkcje Gaussa.

Parametry dopasowań funkcji Gaussa przedstawiłem w tabeli 4.1.

Tabela 4.1. Parametry dopasowania funkcji Gaussa do widm energetycznych cząstek α zarejestrowanych przez detektor oraz pochodzących z symulacji MC.

Źródło danych	Średnia energia (keV)	FWHM (keV)
pomiar	$4905{,}5 \pm 1{,}6$	$284{,}7 \pm 5{,}0$
symulacja MC	$4908{,}7 \pm 1{,}4$	$277{,}2 \pm 4{,}5$

Różnice w wartościach średnich energii (3,2 keV) oraz FWHM (7,5 keV) są istotnie niższe od zdolności rozdzielczej detektora wynoszącej około 15 keV. W związku z tym z punktu widzenia eksperymentalnego uzyskane widma można uznać za zgodne.

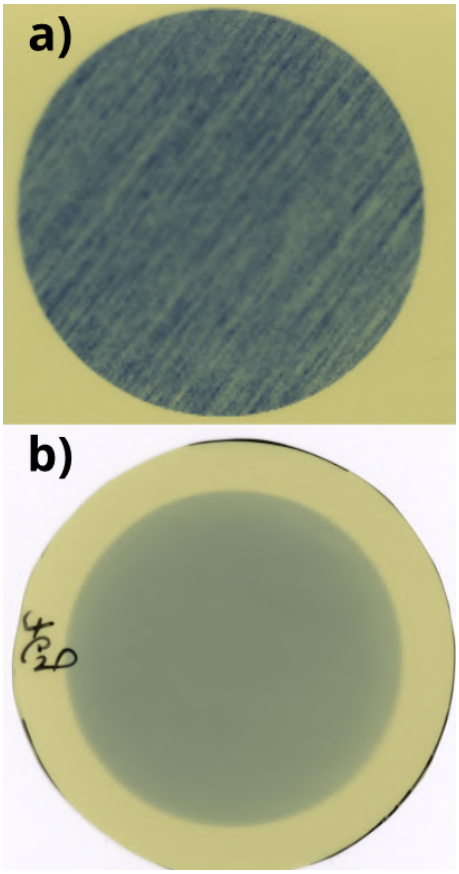
4.1.2 Dozymetria układu do napromieniania komórek

W celu przeprowadzenia eksperymentów radiobiologicznych z użyciem źródła ^{241}Am konieczne było określenie geometrii układu napromieniania oraz wyznaczenie mocy dawki w warstwie komórek. Ze względu na krótki zasięg cząstek α oraz silną zależność deponowanej energii od geometrii układu dozymetrię przeprowadziłem z wykorzystaniem filmów radiochromowych EBT3–Unlaminated oraz symulacji Monte Carlo wykonanych w pakiecie Geant4. Analiza obejmowała ocenę jednorodności powierzchniowego rozkładu dawki, weryfikację modelu symulacyjnego oraz wyznaczenie mocy dawki w docelowym układzie do napromieniania komórek.

Jednorodność rozkładu dawki

Pierwszym etapem projektowania układu była ocena jednorodności rozkładu dawki w obszarze odpowiadającym położeniu warstwy komórek. Wstępne pomiary wykonane z użyciem źródła ^{241}Am oraz filmów radiochromowych EBT3–Unlaminated wykazały, że bezpośrednie umieszczenie filmu lub szalki na powierzchni źródła prowadziło do wyraźnych lokalnych niejednorodności rozkładu dawki. Przykładowy skan filmu napromienionego w bezpośrednim kontakcie ze źródłem przedstawiłem na rysunku 4.4A. W celu ograniczenia wpływu lokalnych niejednorodności aktywności powierzchniowej źródła zwiększyłem odległość pomiędzy źródłem i filmem do 5 mm oraz umieściłem przed filmem folię mylarową o grubości 6 µm. Zastosowanie zmodyfikowanej geometrii pozwoliło uzyskać bardziej jednorodny rozkład dawki, przedstawiony na rysunku 4.4B.

Geometrię tę odwzorowałem następnie w symulacjach MC. W układzie dozymetrycznym cząstki α emitowane ze źródła przechodziły kolejno przez warstwę powietrza o grubości 5 mm oraz folię mylarową o grubości 6 µm, po czym docierały do warstwy aktywnej filmu EBT3–Unlaminated.



Rysunek 4.4. Skan filmu EBT3–Unlaminated napromienionego cząstkami α: (A) niejednorodności rozkładu dawki przy bezpośrednim kontakcie filmu ze źródłem oraz (B) poprawa jednorodności po zwiększeniu odległości pomiędzy źródłem i filmem. Zdjęcia nie zachowują skali.

W celu weryfikacji modelu symulacyjnego porównałem powierzchniowy rozkład dawki uzyskany z pomiaru filmem radiochromowym z rozkładem obliczonym w symulacji MC. Na podstawie intensywności zaczernienia filmu i wcześniej wyznaczonej krzywej kalibracyjnej (rysunek A.4) otrzymałem średnią dawkę pochłoniętą równą $(0{,}694 \pm 0{,}037)$ Gy, natomiast średnia dawka otrzymana w symulacji wynosiła $(0{,}699 \pm 0{,}041)$ Gy.

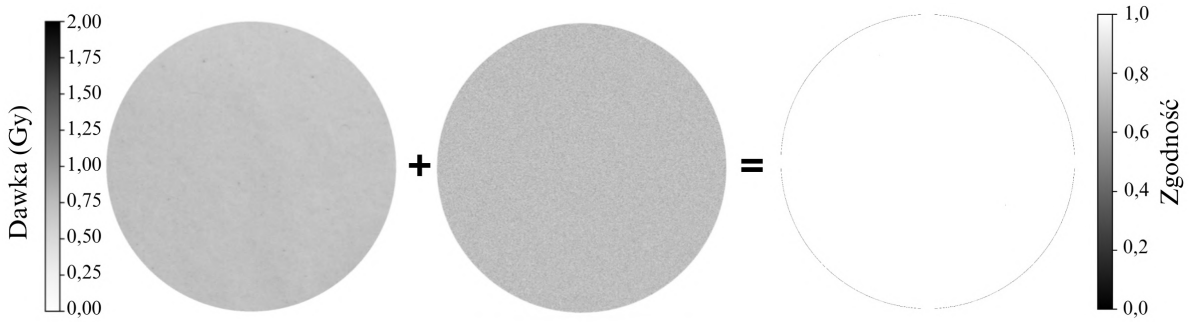
Dla obu zbiorów danych przeprowadziłem test Shapiro–Wilka. Jego wynik nie dawał podstaw do odrzucenia hipotezy o normalności rozkładów. Następnie zastosowałem test parametryczny, przyjmując jako hipotezę zerową brak istotnej różnicy pomiędzy średnimi wartościami dawki uzyskanymi z pomiaru i symulacji. Wynik testu nie pozwolił na odrzucenie hipotezy zerowej, co oznacza, że nie stwierdziłem istotnej statystycznie różnicy pomiędzy średnimi wartościami dawki.

Zgodność przestrzenną obu rozkładów oceniłem dodatkowo za pomocą analizy gamma dla kryterium 1%/1 mm, którą przedstaiwłem na rysunku 4.5. Odsetek punktów spełniających przyjęte kryterium wyniósł 99,82%. Nieliczne obszary niezgodności znajdowały się przede wszystkim na granicy obszaru napromieniania.

Różnice na obrzeżach wynikały z odmiennego sposobu reprezentacji granicy analizowanego obszaru w pomiarze i symulacji. W przypadku skanu filmu piksele graniczne zawierały sygnał pochodzący z napromienionej części filmu. W symulacji energia mogła być natomiast zdeponowana jedynie w części voksela należącej do napromienianego obszaru. Przeliczenie tej energii na dawkę z wykorzystaniem masy całego voksela prowadziło do lokalnego zaniżenia wartości dawki na jego granicy.

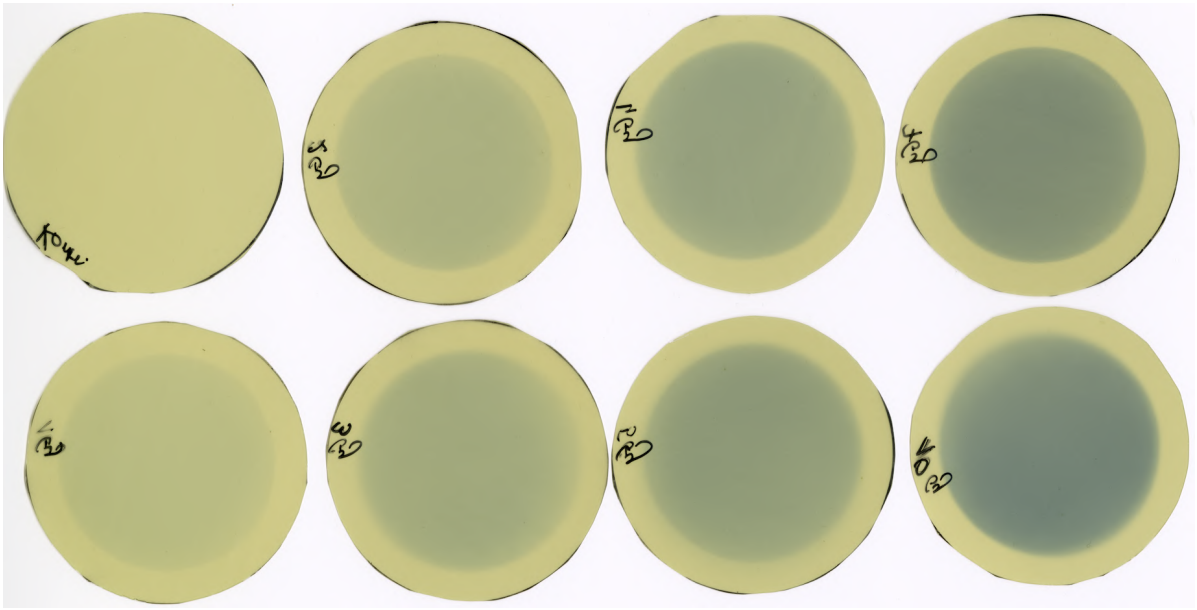
Wyznaczenie mocy dawki w układzie dozymetrycznym

Po potwierdzeniu zgodności przestrzennych rozkładów dawki wyznaczyłem moc dawki w układzie dozymetrycznym. W symulacji MC obliczona moc dawki w warstwie aktywnej filmu wynosiła $(7{,}69 \pm 0{,}61)$ mGy/s, co odpowiadało czasowi dostarczenia dawki 1 Gy równemu około 130 s.



Rysunek 4.5. Porównanie powierzchniowego rozkładu dawki uzyskanego z pomiaru filmem radiochromowym i symulacji Monte Carlo. Po lewej stronie przedstawiono rozkład dawki wyznaczony na podstawie skanu filmu, w środku wynik symulacji, natomiast po prawej stronie mapę indeksu gamma. Obszary spełniające kryterium 1%/1 mm oznaczono kolorem białym.

Niezależną wartość mocy dawki wyznaczyłem na podstawie pomiarów filmami radiochromowymi. Filmy napromieniłem w ustalonej geometrii, stosując czasy odpowiadające dawkom z zakresu od 0 do 10 Gy. Następnie filmy zeskanowałem, a zmiany intensywności obrazu przeliczyłem na dawkę pochłoniętą z wykorzystaniem krzywej kalibracyjnej przedstawionej w Dodatku A (rysunek A.4). Skany napromienionych filmów przedstawiłem na rysunku 4.6.



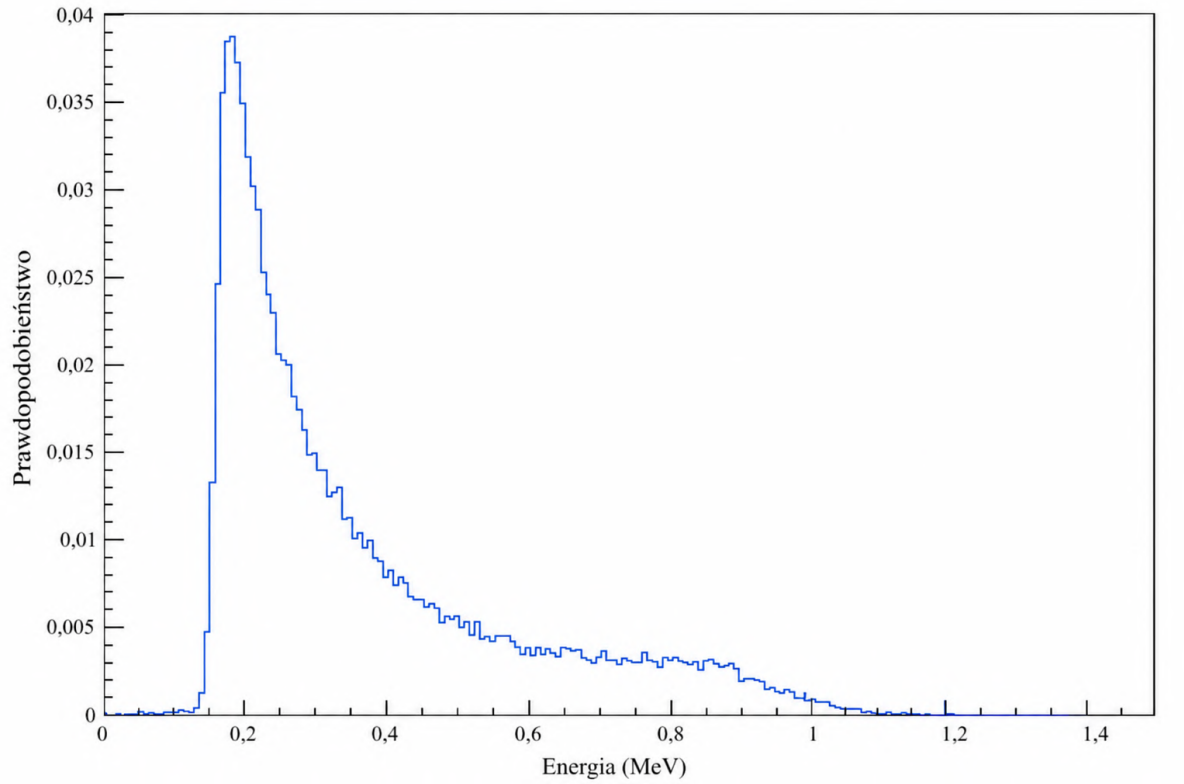
Rysunek 4.6. Skany filmów EBT3–Unlaminated napromienionych w celu wyznaczenia mocy dawki w układzie dozymetrycznym.

Na podstawie zależności dawki pochłoniętej od czasu napromieniania wyznaczyłem moc dawki równą (7,30±0,16) mGy/s. Wartość ta odpowiadała czasowi dostarczenia dawki 1 Gy równemu 137 s. Wyniki uzyskane z pomiaru filmem oraz z symulacji MC były zgodne w granicach niepewności, co potwierdziło poprawność opracowanego modelu i uzasadniało jego zastosowanie do wyznaczenia mocy dawki w warstwie komórek.

Moc dawki w układzie do napromieniania komórek

Po zwalidowaniu modelu symulacyjnego pomiarami z użyciem filmów radiochromowych przeprowadziłem symulację docelowego układu do napromieniania komórek, którego schemat został zaprezentowany na rysunku 3.6. Obliczona moc dawki w warstwie komórek wynosiła 7,37 mGy/s, co oznaczało, że dawka 1 Gy była dostarczana w czasie około 136 s. Wynik ten wykorzystałem do określenia czasów napromieniania stosowanych w eksperymentach radiobiologicznych przeprowadzonych dla linii komórkowych PC3 i DU145 w LRZFB.

Na podstawie symulacji wyznaczyłem również widmo energii deponowanej przez cząstki α w warstwie komórek, które zaprezentowałem na rysunku 4.7. Jego kształt wynikał z różnych długości dróg cząstek α w warstwach poprzedzających komórki, zależnych od kąta emisji względem powierzchni źródła.



Rysunek 4.7. Widmo energii deponowanej przez cząstki α w warstwie komórek - modelowanie z wykorzystaniem środowiska Geant4.

Dodatkowo dla cząstek emitowanych prostopadle do powierzchni źródła średnia energia deponowana w warstwie komórek o grubości 2 µm, wyznaczona na podstawie tych symulacji wykonanych w programie TRIM, wynosiła (183 ± 10) keV. Dla kątów emisji równych odpowiednio 60° i 30° względem powierzchni źródła droga cząstek w poszczególnych warstwach była większa, a średnia energia deponowana w warstwie komórek wynosiła odpowiednio (385 ± 11) keV i (557 ± 14) keV. Dla najmniejszych kątów emisji cząstki α nie docierały do warstwy komórek, ponieważ były zatrzymywane w war-

stwach poprzedzających, przede wszystkim w folii mylarowej. Cząstki α docierające do komórek miały energie z zakresu około 0,2–0,8 MeV. Zakres ten odpowiada końcowemu fragmentowi ich toru i wartościom LET wynoszącym około 120–220 keV/μm. Oznacza to, że komórki PC3 i DU145 były poddane działaniu promieniowania o wysokiej gęstości jonizacji.

4.1.3 Podsumowanie

Przeprowadzone pomiary dozymetryczne oraz symulacje Monte Carlo umożliwiły określenie szczegółowej charakterystyki samego źródła oraz układu do napromieniania komórek cząstkami α ze źródła ^{241}Am. Wyznaczyłem parametry geometryczne źródła oraz zweryfikowałem poprawność modelu zastosowanego w symulacjach Geant4. Uzyskałem dobrą zgodność pomiędzy widmami energii zmierzonym i symulowanym, zarówno pod względem położenia maksimum energetycznego, jak i szerokości rozkładu po uwzględnieniu rozdzielczości detektora. Analiza zmierzonego rozkładu dawki wykazała konieczność odpowiedniego odsunięcia warstwy komórek od źródła w celu ograniczenia niejednorodności przestrzennych wynikających z geometrii emisji cząstek α. Na podstawie symulacji MC określiłem wartości mocy dawki oraz charakterystykę depozycji energii w warstwie komórek, uwzględniając wpływ kąta emisji cząstek na rozkład energii deponowanej w materiale biologicznym. Końcowa weryfikacja dozymetryczna wykazała wysoką zgodność pomiędzy wynikami symulacji a pomiarami wykonanymi z użyciem filmów radiochromowych. Analiza parametru gamma potwierdziła poprawność odwzorowania przestrzennego rozkładu dawki przez model Monte Carlo, co stanowi podstawę do wykorzystania opracowanej geometrii i parametrów źródła w dalszych analizach radiobiologicznych.

4.2 Test przeżywalności

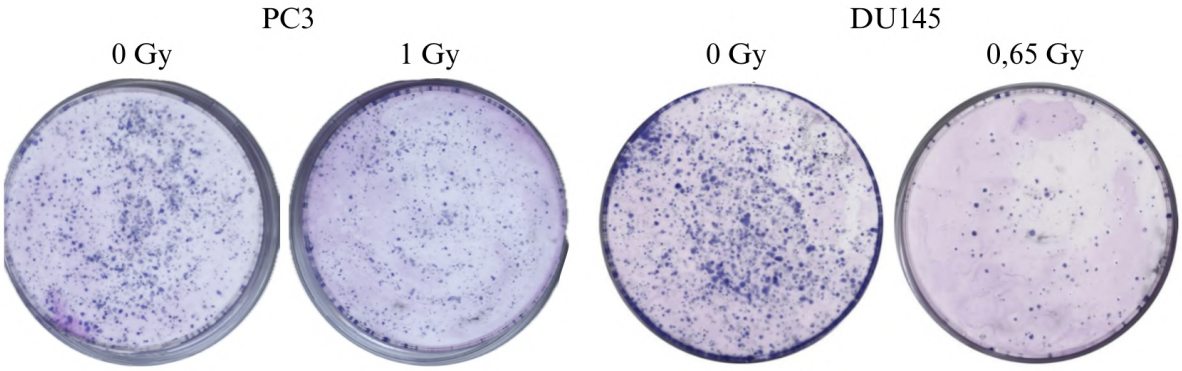
W celu wyznaczenia krzywych przeżywalności opisanych modelem LQ przeprowadziłem analizę wyników eksperymentów napromieniania komórek linii nowotworu gruczołu krokowego PC3 i DU145 cząstkami α ze źródła ^{241}Am. Dane eksperymentalne obejmowały po trzy powtórzenia (tzw. replikanty techniczne) wykonane w ramach dwóch niezależnych eksperymentów dla każdej linii komórkowej.

Średnią wydajność klonowania PE wyznaczyłem na podstawie komórek kontrolnych zgodnie z równaniem 2.8. Uzyskane wartości wynosiły odpowiednio:

$$\mathrm{PE}_{\mathrm{PC3}} = (7{,}17 \pm 0{,}50)\%, \qquad \mathrm{PE}_{\mathrm{DU145}} = (5{,}3 \pm 1{,}2)\%,$$

gdzie niepewność odpowiada odchyleniu standardowemu pomiędzy powtórzeniami eksperymentalnymi. Otrzymane wartości PE mieszczą się w zakresach obserwowanych dla niektórych subpopulacji i klonów komórek raka gruczołu krokowego. Przykładowo, Ware

i wsp. wykazali, że wybrane klony wyprowadzone z linii PC-3 i DU145 mogą charakteryzować się PE rzędu kilku procent [128]. W analizie przeżywalności wartości te wykorzystałem do obliczenia frakcji przeżywalności SF w funkcji dawki na podstawie policzonych kolonii dla komórek napromienionych. Na rysunku 4.8 przedstawiłem przykładowe skany szalek Petriego z utrwalonymi koloniami komórkowymi wykorzystane do analizy przeżywalności.



Rysunek 4.8. Zeskanowane szalki z utrwalonymi koloniami komórkowymi lini PC3 i DU145 po napromienieniu cząstkami α ze źródła ^{241}Am z podanymi dawkami.

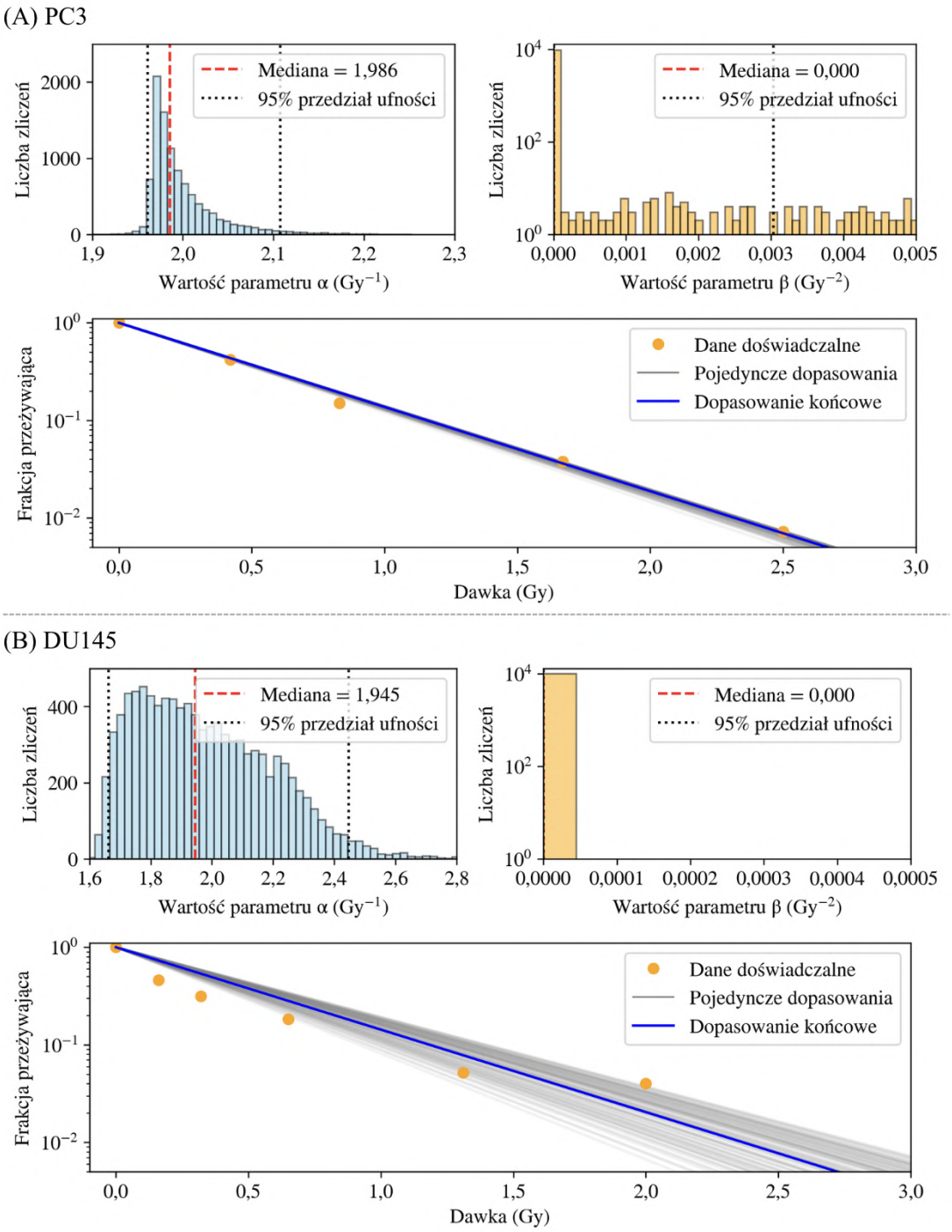
Parametry krzywych zależności frakcji przeżywającej od dawki, SF(D), wyznaczyłem zgodnie z procedurą bootstrapową opisaną w podrozdziale 3.2. Zmierzone wartości SF, otrzymane dopasowania oraz wartości parametrów α i β dopasowania przedstawiłem na rysunku 4.9.

Uzyskałem następujące wartości parametru α modelu LQ:

$$\alpha_{\mathrm{PC3}} = (1{,}986 \pm 0{,}050)\,\mathrm{Gy}^{-1}, \qquad \alpha_{\mathrm{DU145}} = (1{,}95 \pm 0{,}22)\,\mathrm{Gy}^{-1}.$$

Otrzymane wartości parametru α modelu LQ wskazują na wysoką skuteczność biologiczną cząstek alfa, emitowanych przez źródło ^{241}Am z obszaru piku Bragga, w indukowaniu śmierci komórek analizowanych linii nowotworu prostaty. Po uwzględnieniu niepewności wyznaczonych wartości parametru α różnica w wartościach tego parametru między obiema liniami komórek raka gruczołu krokowego nie jest istotna. W konsekwencji na podstawie uzyskanych wyników nie można jednoznacznie wnioskować o różnicach w promieniowrażliwości tych komórek podczas ekspozycji na promieniowanie o wysokim LET.

W obu przypadkach parametr β przyjmował wartość równą zero, co pozostaje zgodne z przewidywaniami radiobiologicznymi dla promieniowania o wysokiej skuteczności biologicznej. Wysokie wartości LET prowadzą do powstawania złożonych, przestrzennie skorelowanych uszkodzeń DNA, które są trudne do naprawy i często skutkują śmiercią komórki już po pojedynczym przejściu cząstki przez jądro komórkowe. W konsekwencji odpowiedź komórkowa ma charakter liniowy, a udział składnika kwadratowego



Rysunek 4.9. Dopasowanie modelu LQ do danych przeżywalności dla komórek PC3 (panel A) i DU145 (panel B) poddanych działaniu promieniowania α. Po lewej na górze przedstawiłem histogram wartości parametru α, natomiast w prawym górnym panelu – histogram wartości parametru β. Czerwone linie przerywane oznaczają wartości mediany parametrów, a czarne linie kropkowane odpowiadają 95% przedziałom ufności. Na dole pokazałem krzywe przeżycia komórek: niebieska linia odpowiada medianie dopasowania modelu LQ, pomarańczowe punkty przedstawiają dane eksperymentalne, natomiast szare linie reprezentują wszystkie dopasowania uzyskane w procedurze bootstrapowej (10 tys. powtórzeń), ilustrując niepewność predykcji modelu.

modelu LQ staje się pomijalny.

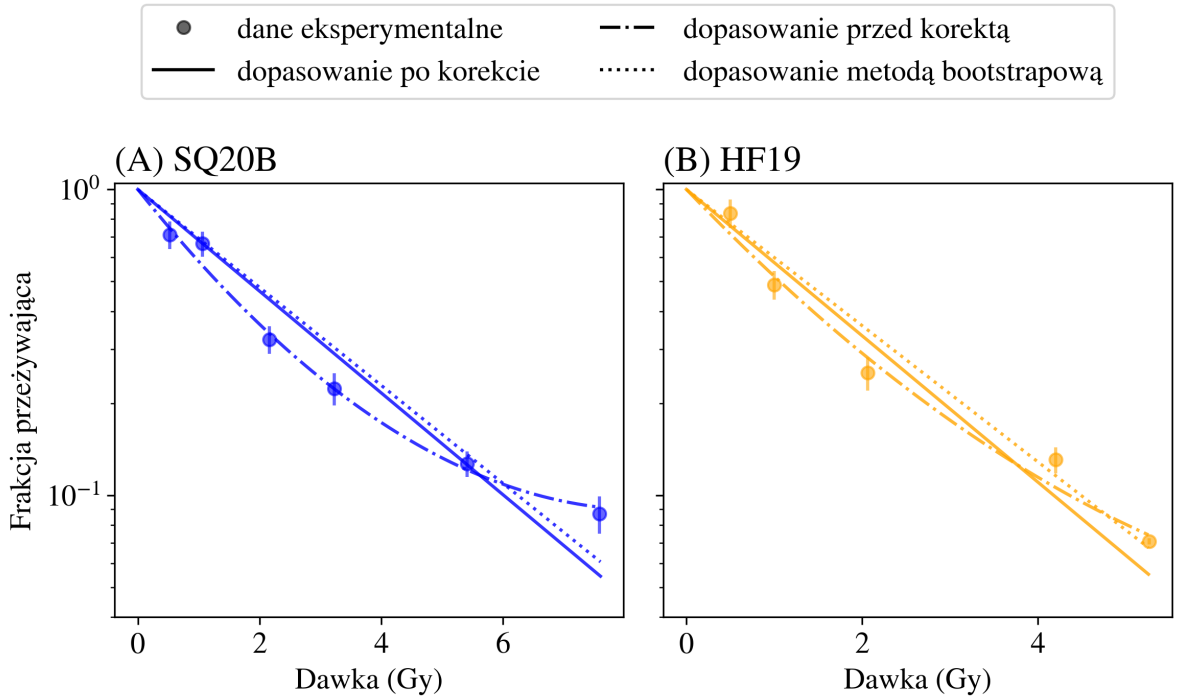
Uzyskane wyniki pozostają zgodne z wcześniejszymi badaniami dotyczącymi napromieniania linii PC3 i DU145 cząstkami alfa pochodzącymi ze źródła ^{241}Am. W swojej pracy Elgqvist [108] wykazał zbliżony charakter odpowiedzi obu linii komórkowych na promieniowanie alfa oraz podkreślił większą podatność linii DU145 na indukowane uszkodzenia w porównaniu z linią PC3. Obserwowana w niniejszej pracy niewielka różnica wartości parametru α pomiędzy badanymi liniami może być związana z odmienną wydajnością mechanizmów naprawy DNA oraz różnicami w odpowiedzi na złożone uszkodzenia indukowane przez promieniowanie o wysokiej gęstości jonizacji, co może być łatwiejsze do zaobserwowania podczas badania uszkodzeń na poziomie DNA (np. ogniska naprawcze) niż na poziomie SF.

4.3 Porównanie parametrów LQ uzyskanych trzema metodami

Przeprowadzenie serii eksperymentów dla obu linii komórkowych, opisanych w podrozdziałach 4.1 i 4.2, mimo że było czasochłonne i wymagające znacznych nakładów pracy, umożliwiło wyznaczenie jedynie dwóch zestawów parametrów modelu liniowo-kwadratowego: parametrów α_{PC3} i β_{PC3} dla linii PC3 oraz α_{DU145} i β_{DU145} dla linii DU145. Tymczasem celem niniejszej pracy jest identyfikacja zależności pomiędzy wielkościami nanodozymetrycznymi a parametrami radiobiologicznymi, co wymaga znacznie większego zbioru danych. W związku z tym wykorzystałem bazę danych PIDE, zawierającą wyniki eksperymentów radiobiologicznych przeprowadzonych dla różnych linii komórkowych oraz różnych rodzajów promieniowania. Procedurę dopasowania bootstrapowego, zastosowaną wcześniej do oszacowania parametrów α i β na podstawie eksperymentów wykonanych w LRZFB, wykorzystałem również do analizy 152 eksperymentów pochodzących z bazy PIDE oraz 36 dostępnych w literaturze. Otrzymane parametry dopasowań zamieściłem w Dodatku B (tabela B.1). Eksperymenty te obejmowały napromienianie różnymi rodzajami promieniowania o wysokim LET, w tym cząstkami α, protonami i jonami węgla, o różnych energiach.

Porównanie krzywych przeżywalności dla dwóch wybranych eksperymentów z bazy PIDE, wyznaczonych na podstawie parametrów oryginalnie podanych w bazie, parametrów po zastosowaniu korekty opisanej wzorem 3.4 oraz parametrów otrzymanych metodą bootstrapową przedstawiłem na rysunku 4.10.

Krzywa wyznaczona z wykorzystaniem nieskorygowanych współczynników odbiega od oczekiwanego przebiegu modelu liniowo-kwadratowego ze względu na ujemną wartość parametru β. W konsekwencji dla większych wartości dawki obserwowane byłyby wypłaszczenia, a następnie niefizyczny wzrost przeżywalności komórek, sprzeczny z ra-



Rysunek 4.10. Porównanie krzywych przeżywalności uzyskanych na podstawie trzech różnych zestawów parametrów α i β dla dwóch linii komórkowych napromienianych protonami: panel (A) – linia SQ20B – o energii $E = 0{,}81$ MeV i LET $= 30\ \frac{\text{keV}}{\mu\text{m}}$, panel (B) – linia HF19 – o energii $E = 0{,}86$ MeV i LET $= 29\ \frac{\text{keV}}{\mu\text{m}}$.

diobiologiczną interpretacją modelu LQ. Zastosowanie korekty polegającej na przyjęciu $\beta = 0$ oraz odpowiedniej modyfikacji parametru α prowadzi do uzyskania monotonicznego przebiegu krzywej przeżywalności i eliminuje wspomniane artefakty.

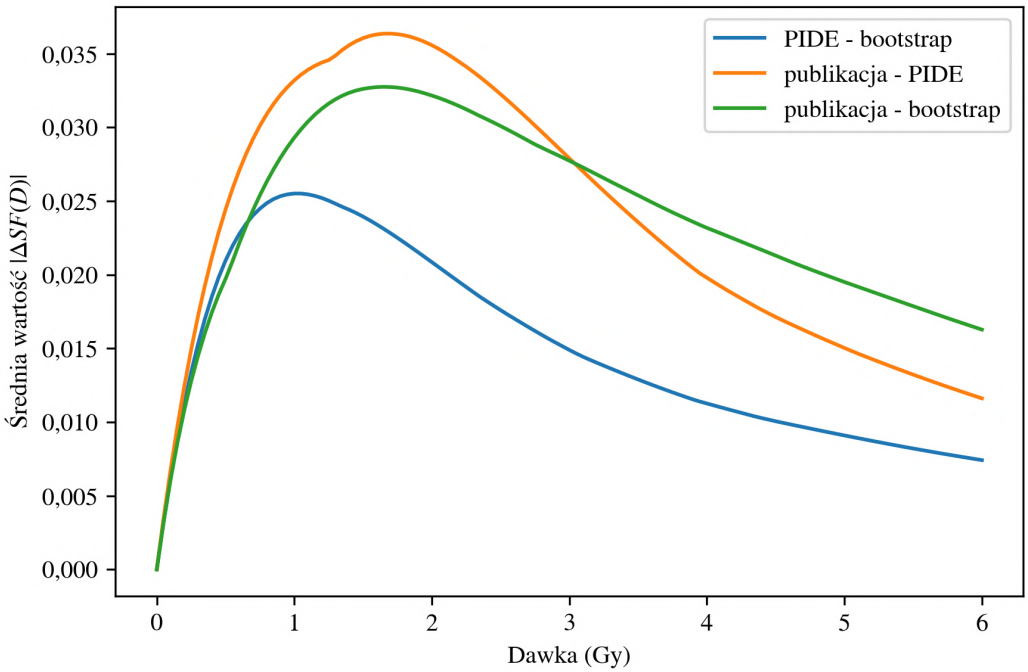
Dopasowania uzyskane metodą bootstrapową również prowadzą do fizycznie uzasadnionych przebiegów krzywych przeżywalności, zachowując jednocześnie zgodność z danymi eksperymentalnymi. W porównaniu z prostą korektą parametrów z bazy PIDE metoda bootstrapowa pozwala dodatkowo oszacować niepewności parametrów modelu oraz uwzględnić wpływ fluktuacji statystycznych danych wejściowych na wynik końcowego dopasowania.

Po odrzuceniu przypadków zawierających przynajmniej jedną ujemną wartość parametru α lub β, których w bazie PIDE było 27, do analizy wykorzystałem 125 kompletów parametrów. Ponieważ parametry α i β są dopasowywane jednocześnie i wspólnie determinują przebieg krzywej przeżywalności, nie analizowałem ich oddzielnie jako niezależnych wielkości. Zamiast tego porównałem bezpośrednio krzywe SF(D) wyznaczone na podstawie trzech zestawów parametrów: wartości podanych w publikacji, wartości dostępnych w bazie PIDE oraz wartości otrzymanych metodą bootstrapową. Zestawienie najważniejszych miar różnic pomiędzy krzywymi przeżywalności zamieściłem w tabeli 4.2.

Tabela 4.2. Porównanie zgodności krzywych przeżywalności wyznaczonych z trzech zestawów parametrów modelu LQ.

Porównanie	średnie $\lvert\Delta\mathrm{SF}\rvert$	mediana $\lvert\Delta\mathrm{SF}\rvert$	RMSE ΔSF
publikacja – PIDE	0,0238	0,0053	0,0607
publikacja – bootstrap	0,0240	0,0058	0,0664
PIDE – bootstrap	0,0151	0,0045	0,0402

Dla każdej pary metod obliczyłem wartości $\mathrm{SF}(D)$ w zakresie dawek od 0 do 6 Gy, a następnie wyznaczyłem bezwzględną różnicę $|\Delta\mathrm{SF}| = |\mathrm{SF}_A(D) - \mathrm{SF}_B(D)|$. Zależność średniej wartości tej różnicy od dawki dla wszystkich par metod przedstawiłem na rysunku 4.11.



Rysunek 4.11. Porównanie zgodności krzywych przeżywalności wyznaczonych z trzech zestawów parametrów modelu LQ na podstawie średniej różnicy SF.

Najlepszą zgodność krzywych uzyskałem dla porównania parametrów z bazy PIDE oraz parametrów bootstrapowych. Dla tego porównania średnia wartość $|\Delta\mathrm{SF}|$ w całym analizowanym zakresie dawek wyniosła 0,0151, natomiast mediana tej miary wyniosła 0,0045. Wartości te były mniejsze niż dla porównań obejmujących parametry literaturowe, dla których średnie wartości $|\Delta\mathrm{SF}|$ wyniosły 0,0238 dla porównania publikacja–PIDE oraz 0,0240 dla porównania publikacja–bootstrap. Oznacza to, że krzywe przeżywalności wyznaczone na podstawie parametrów z bazy PIDE i parametrów otrzymanych metodą bootstrapową były przeciętnie najbardziej zbliżone w analizowanym zakresie dawek. Różnice pomiędzy krzywymi początkowo zwiększały się wraz z dawką, osiągając maksimum w zakresie około 1,5–2 Gy, a następnie malały. Począt-

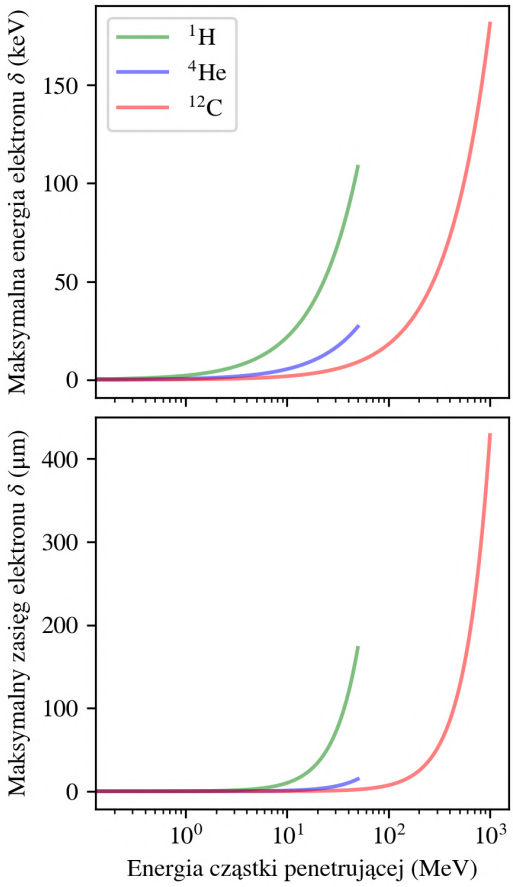
kowy wzrost wynikał z narastającego wpływu różnic pomiędzy parametrami α i β modelu LQ, natomiast przy większych dawkach wartości przeżywalności zbliżały się do zera, co prowadziło do zmniejszenia bezwzględnych różnic pomiędzy krzywymi. Jednocześnie wartości mediany $|\Delta SF|$ były znacznie mniejsze od wartości średnich, co wskazuje, że typowe różnice pomiędzy krzywymi były niewielkie, natomiast średnia była zwiększana przez pojedyncze przypadki o większych rozbieżnościach. Analiza na poziomie krzywych $SF(D)$ potwierdziła, że parametry otrzymane metodą bootstrapową prowadzą do przebiegów przeżywalności najbardziej zbliżonych do krzywych wyznaczonych z parametrów dostępnych w bazie PIDE. W porównaniu z prostą analizą samych parametrów podejście to jest bardziej adekwatne biologicznie, ponieważ uwzględnia łączny wpływ parametrów α i β na przewidywaną przeżywalność komórek. Na tej podstawie uznałem, że parametry otrzymane metodą bootstrapową mogą zostać wykorzystane w dalszych obliczeniach.

4.4 ICSD oraz parametry nanodozymetryczne

W niniejszej sekcji przedstawiłem wyniki symulacji uzyskane z wykorzystaniem zaproponowanego modelu nanodozymetrycznego, umożliwiającego rekonstrukcję rozkładów wielkości klastrów jonizacyjnych oraz wyznaczenie wybranych parametrów nanodozymetrycznych. Szczególną uwagę poświęciłem analizie ICSD oraz zależności parametrów rozkładu od jakości promieniowania opisanej za pomocą LET.

4.4.1 Wyznaczenie wymiarów symulowanego obszaru

Na rysunku 4.12 przedstawiłem maksymalne energie elektronów δ oraz odpowiadające im maksymalne zasięgi w funkcji rodzaju i energii cząstki pierwotnej przechodzącej przez absorber – dla protonu, cząstki α oraz jonu węgla, te dane umożliwiły mi wybranie rozmiaru objętości czułej, w której obliczyłem klastry jonizacyjne. Zakres energii dobrałem zgodnie



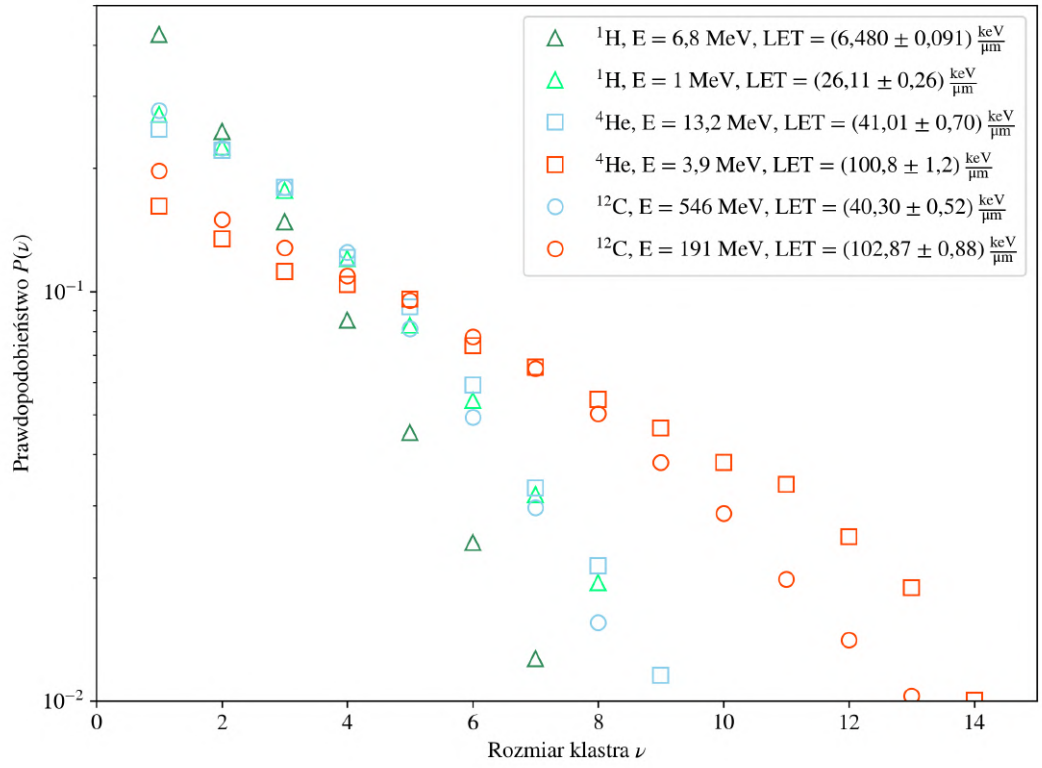
Rysunek 4.12. Zależność maksymalnej energii elektronu δ (panel górny) oraz maksymalny zasięg elektronu δ (panel dolny) w funcji energii cząstki przechodzącej przez ośrodek.

z przedziałem energii analizowanym w niniejszej pracy. Z wykresu wynika, że maksymalne energie generowanych elektronów δ dla jonów węgla o energii $E = 0,5$ GeV mogą przekraczać 100 keV.

Należy jednak podkreślić, że prawdopodobieństwo emisji elektronów o wysokiej energii maleje proporcjonalnie do odwrotności kwadratu ich energii, co prowadzi do silnie opadającego, potęgowego widma energetycznego (w przybliżeniu $\sim \frac{1}{E^2}$). W konsekwencji zdecydowana większość wytwarzanych elektronów δ ma niskie energie. To właśnie te niskoenergetyczne elektrony odpowiadają za intensywną, silnie zlokalizowaną jonizację w bezpośrednim sąsiedztwie toru cząstki pierwotnej, determinując mikrostrukturę depozycji energii w ośrodku. Bazując na powyższej analizie zdecydowałem się na stworzenie obszaru symulacyjnego w kształcie prostopadłościanu o wymiarach $100 \times 100 \times 200$ µm^3, niezależnie od typu promieniowania.

4.4.2 Rozkłady wielkości klastrów jonizacyjnych

Po przeprowadzeniu procedury losowania walców oraz zliczania aktów jonizacji w wylosowanej objętości, opisanych w podrozdziałach 3.4.3 i 3.4.2, otrzymałem rozkłady klastrów jonizacyjnych bez uwzględnienia klastrów zerowych. Przykładowe wyniki dla trzech typów cząstek zaprezentowałem na rysunku 4.13.



Rysunek 4.13. Rozkłady wielkości klastrów jonizacyjnych uzyskane w symulacjach MC dla protonów (^{1}H), cząstek alfa (^{4}He) oraz jonów węgla (^{12}C) przy różnych energiach i wartościach LET, przed uwzględnieniem wkładu zdarzeń zeroklastrowych ($\nu = 0$).

ICSD wykazują charakterystyczny monotoniczny spadek częstości występowania wraz ze wzrostem rozmiaru klastra ν. Dla wszystkich typów promieniowania największe prawdopodobieństwo obserwowane jest dla małych wartości ν, natomiast częstość występowania dużych klastrów maleje w przybliżeniu wykładniczo. Taki przebieg jest zgodny ze stochastycznym charakterem oddziaływań promieniowania jonizującego w nanometrowych objętościach odpowiadających rozmiarom struktur biologicznych, takich jak fragmenty DNA.

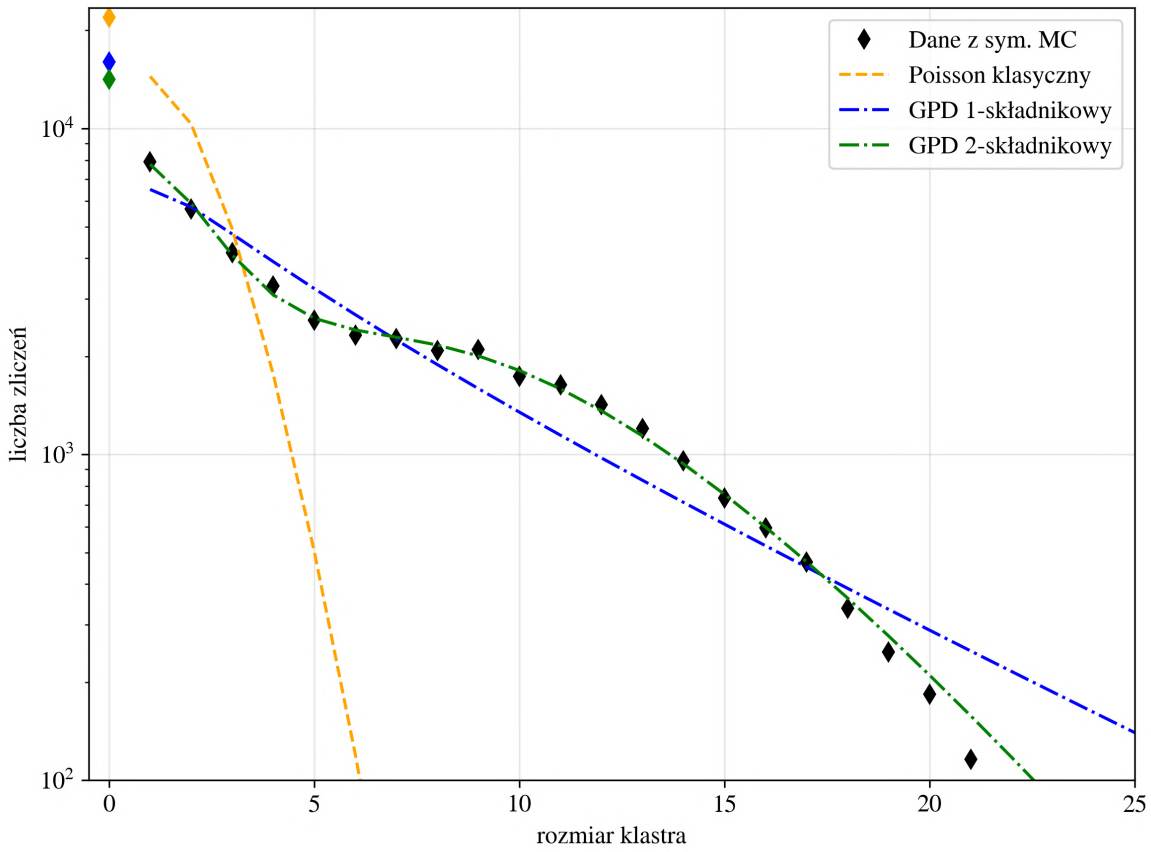
Porównanie przebiegów rozkładów wskazuje wyraźny wpływ rodzaju cząstki oraz wartości LET na strukturę jonizacji. Dla promieniowania o niższym LET, takich jak protony o energii 6,8 MeV oraz jony węgla o energii 546 MeV (LET $\approx$ 40 keV/µm), rozkłady charakteryzują się bardziej stromym spadkiem i ograniczonym udziałem dużych klastrów jonizacji. Oznacza to, że depozycja energii jest bardziej rozproszona, a występowanie silnie skupionych zdarzeń jonizacyjnych jest rzadsze.

Wraz ze wzrostem LET obserwowane jest systematyczne spłaszczenie rozkładów oraz wydłużenie ogona dla większych wartości ν. Szczególnie wyraźne jest to dla cząstek alfa o energii 3,9 MeV oraz jonów węgla o energii 191 MeV (LET $\approx 100\ \frac{\text{keV}}{\mu\text{m}}$), dla których prawdopodobieństwo występowania dużych klastrów pozostaje relatywnie wysokie nawet dla $\nu > 10$. Świadczy to o bardziej skoncentrowanej strukturze toru promieniowania i większej lokalnej gęstości jonizacji.

Interesującą obserwacją jest podobieństwo rozkładów uzyskanych dla różnych typów promieniowania przy zbliżonych wartościach LET. Cząstki α i jony węgla dla LET $\approx 40\ \frac{\text{keV}}{\mu\text{m}}$ wykazują zbliżony przebieg rozkładów, podobnie jak cząstki o LET $\approx 100\ \frac{\text{keV}}{\mu\text{m}}$. Należy jednak zauważyć, że zastosowanie skali logarytmicznej częściowo maskuje różnice pomiędzy rozkładami, które pozostają widoczne zwłaszcza dla większych rozmiarów klastrów. Wyniki te wskazują, że LET w znacznym stopniu determinuje ogólny kształt rozkładu wielkości klastrów jonizacji, lecz nie opisuje w pełni nanometrowej struktury toru. Pozostałe różnice mogą wynikać z odmiennego przebiegu torów poszczególnych cząstek oraz z różnic w widmach i zasięgach elektronów wtórnych.

Na rysunku 4.14 zaprezentowałem wykres przedstawiający dopasowanie trzech wersji rozkładu Poissona do danych uzyskanych z symulacji MC. Pomimo dyskretnego charakteru rozkładu Poissona, dopasowania modeli statystycznych przedstawiłem w postaci funkcji ciągłych w celu ułatwienia porównania z wynikami symulacji oraz czytelniejszej oceny zgodności modeli z obserwowanymi rozkładami rozmiaru klastrów jonizacji.

Wyższa wartość dopasowania jednoskładnikowego dla klastra zerowego w porównaniu z modelem dwuskładnikowym wynika z odmiennej struktury obu modeli oraz ich interpretacji fizycznej. W jednoskładnikowym uogólnionym rozkładzie Poissona (GPD) cały rozkład rozmiaru klastrów opisywany jest przez pojedynczy zestaw parametrów (m_p, m_s), estymowanych na podstawie obserwowanych klastrów o rozmiarach $n \geq 1$. Prawdopodobieństwo wystąpienia klastra zerowego w tym modelu ma postać daną wzo-

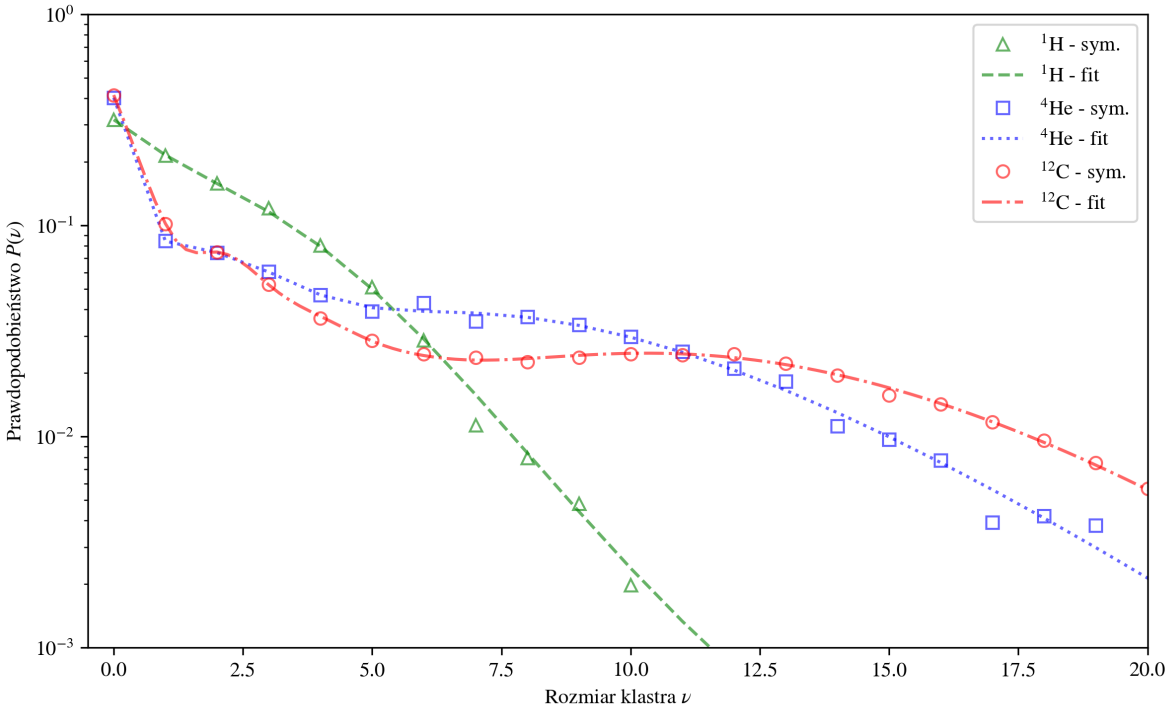


Rysunek 4.14. Dopasowanie rozkładów Poissona do danych symulacyjnych dla jonów ^{12}C o LET = 160 $\frac{\text{keV}}{\mu\text{m}}$. Pomarańczowa przerywana linia przedstawia dopasowanie standardowego rozkładu Poissona danego równaniem 3.18. Niebieska i zielona linia pokazują dopasowanie funkcji GPD odpowiednio jedno- (3.25) i dwuskładnikowej (3.26). Kolorowe romby odpowiadają obliczonej liczbie klastrów zerowych dla poszczególnych dopasowań.

rem 3.18, co oznacza, że liczba klastrów zerowych jest determinowana wyłącznie przez parametr m_p. Ponieważ model jednoskładnikowy musi jednocześnie opisać zarówno część rozkładu dla małych, jak i dużych wartości n, parametr ten przyjmuje wartość kompromisową, co prowadzi do zawyżonego oszacowania liczby klastrów zerowych.

Dodatkowa elastyczność modelu dwuskładnikowego umożliwia dokładniejsze odwzorowanie ogona rozkładu dla dużych rozmiarów klastrów bez konieczności kompensowania niedopasowań przez sztuczne zwiększanie liczby klastrów zerowych. W rezultacie część rozkładu prawdopodobieństwa zostaje przesunięta z klastra zerowego do klastrów o większej liczbie jonizacji, co skutkuje niższym oszacowaniem liczby klastrów zerowych w porównaniu z modelem jednoskładnikowym. W przypadku rozkładów bez widocznego ogona GPD jedno- i dwuskładnikowe dają te same rezultaty, z tego względu liczba klastrów zerowych była szacowana zawsze z użyciem GPD dwuskładnikowego.

Otrzymane ICSD, w oparciu o GPD dla trzech typów promieniowania wykorzystywanych w pracy, uwzględniające również wkład zdarzeń zerowych (N_0), przedstawiłem na rysunku 4.15.



Rysunek 4.15. ICSD odtworzony z wykorzystaniem modelu dwuskładnikowego GPD z uwzględnieniem wkładu zdarzeń zerowych ($\nu = 0$). Punkty oznaczają dane symulacyjne, a linia dopasowanie modelowe dla różnych rodzajów promieniowania.

Uwzględnienie składnika odpowiadającego zerowej liczbie jonizacji prowadzi do istotnego zwiększenia prawdopodobieństwa dla przypadku $\nu = 0$, co jednocześnie powoduje renormalizację całego rozkładu. W praktyce oznacza to zmianę względnych udziałów wszystkich wielkości klastrów, a nie wyłącznie obszaru odpowiadającego małym wartościom ν. Efekt ten ma szczególne znaczenie z punktu widzenia interpretacji procesów nanodozymetrycznych, ponieważ nieuwzględnienie zdarzeń zerowych może prowadzić do systematycznego przeszacowania prawdopodobieństw występowania większych klastrów jonizacyjnych.

Zrekonstruowane rozkłady wykazują charakterystyczny przebieg wynikający z superpozycji dwóch składowych procesu jonizacji. Obserwowany jest gwałtowny spadek prawdopodobieństwa dla małych rozmiarów klastrów, po którym następuje bardziej rozciągnięty ogon rozkładu odpowiadający rzadszym, lecz bardziej złożonym zdarzeniom wielokrotnej jonizacji. Taki charakter rozkładów wskazuje na obecność co najmniej dwóch dominujących mechanizmów odpowiedzialnych za tworzenie skupisk jonizacji w objętości nanometrowej.

Uzyskana zgodność pomiędzy wynikami symulacji a dopasowanym modelem wskazuje, że podejście oparte na dwuskładnikowym rozkładzie Poissona stanowi adekwatny opis stochastycznej natury procesów odpowiedzialnych za formowanie klastrów jonizacyjnych. Możliwą interpretacją dwóch składników modelu GDP jest niejednorodna struk-

tura torów promieniowania o wysokim LET. Jeden ze składników może opisywać duże klastry powstające w gęstym rdzeniu toru w wyniku jonizacji wywołanych bezpośrednio przez cząstkę pierwotną oraz elektrony wtórne o niskich energiach, natomiast drugi może odpowiadać liczniejszym, lecz mniejszym klastrom tworzonym w większej odległości od rdzenia przez wysokoenergetyczne elektrony δ. Dla promieniowania o niższym LET kontrast pomiędzy rdzeniem toru a obszarem oddziaływania elektronów wtórnych jest mniejszy, dlatego ICSD może być w takich przypadkach wystarczająco dobrze opisany modelem jednoskładnikowym. Co istotne, zastosowany model umożliwia również oszacowanie wcześniej niedostępnego wkładu zdarzeń zerowych, co zwiększa kompletność opisu badanego zjawiska i poprawia interpretację parametrów nanodozymetrycznych wyznaczanych na podstawie rekonstruowanych rozkładów. Ze względu na różnice w warunkach napromieniania nie było możliwe bezpośrednie porównanie wyników moich symulacji z dostępnymi danymi eksperymentalnymi. Należy jednak podkreślić, że zastosowana w niniejszej pracy lista fizyczna Geant4–DNA–opt4 była wcześniej weryfikowana w pracy Pietrzaka, który wykazał zgodność wyników symulacji z danymi doświadczalnymi uzyskanymi za pomocą nanodozymetru Jet Counter [129].

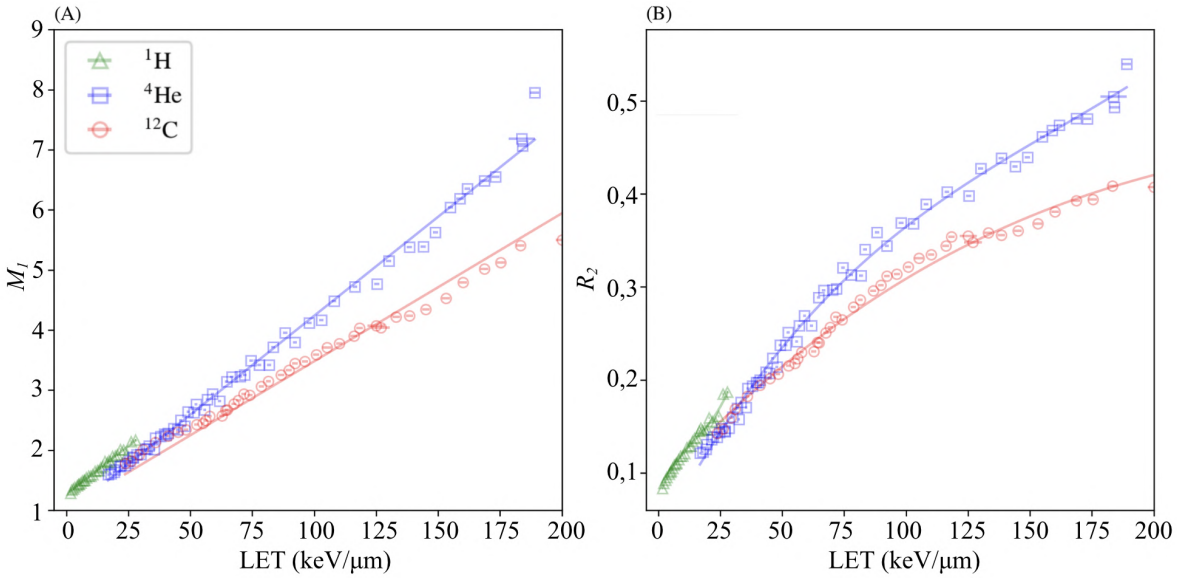
4.4.3 Analiza parametrów ICSD i model R_2

Na podstawie uzyskanych rozkładów wielkości klastrów jonizacyjnych wyznaczyłem parametry nanodozymetryczne M_1, F_k oraz skumulowane prawdopodobieństwa R_2. Analizę przeprowadziłem dla trzech rodzajów promieniowania: protonów (^{1}H), cząstek alfa (^{4}He) oraz jonów węgla (^{12}C). Parametry te potraktowałem jako wielkości opisujące różne aspekty struktury toru promieniowania: M_1 charakteryzuje średnią intensywność jonizacji w analizowanej objętości, natomiast F_k i R_2 pozwalają ocenić udział bardziej złożonych zdarzeń jonizacyjnych. Takie podejście jest zgodne z koncepcją nanodozymetrii, w której jakość promieniowania analizuje się nie tylko przez LET, ale również przez statystykę jonizacji w objętościach o rozmiarach porównywalnych ze strukturami DNA [11, 67, 130, 131].

Na rysunku 4.16 przedstawiłem zależność średniej wielkości klastra M_1 oraz parametru R_2 (wzór 2.19) od LET. Dla wszystkich analizowanych cząstek zaobserwowałem wzrost M_1 wraz ze wzrostem LET (rysunek 4.16A), co potwierdza, że większa gęstość przekazywanej energii prowadzi do zwiększenia średniej liczby jonizacji w objętości nanometrowej. Zależność ta nie jest jednak identyczna dla wszystkich typów promieniowania. W zakresie wspólnych wartości LET punkty dla poszczególnych cząstek nie tworzą jednej uniwersalnej zależności, lecz układają się w odrębne serie. Wskazuje to, że LET nie determinuje jednoznacznie średniej wielkości klastra, ponieważ na strukturę toru wpływa również rodzaj cząstki i związana z nim mikroskopowa geometria depozycji energii.

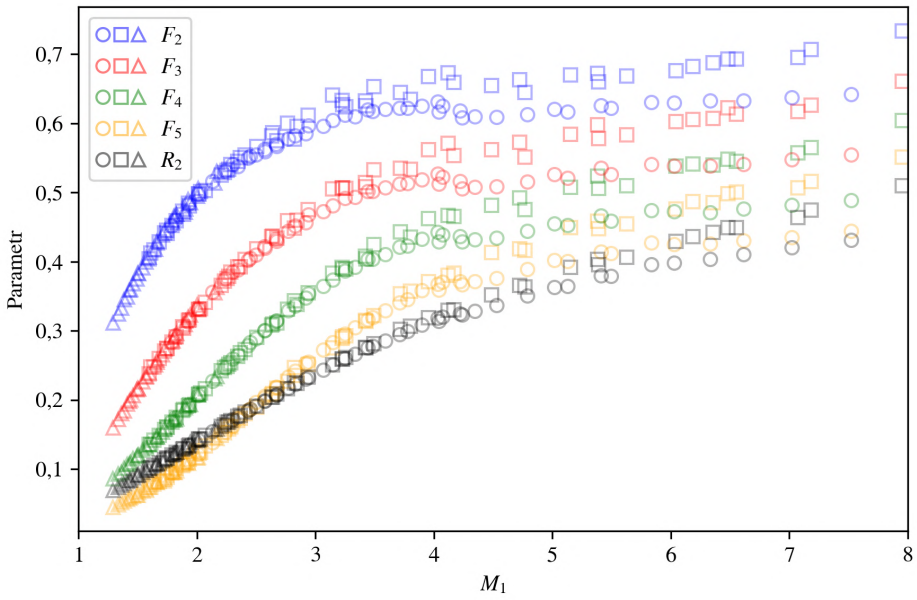
Największe wartości M_1 w zakresie wysokich LET uzyskałem dla cząstek alfa. Dla jonów węgla wartości M_1 również wzrastały wraz z LET, ale przy porównywalnych wartościach LET były niższe niż dla ^{4}He. Protony obejmowały głównie obszar niskiego LET, w którym M_1 zmieniało się w stosunkowo wąskim zakresie. Otrzymany wynik pokazuje, że M_1 jest użyteczną miarą średniej gęstości jonizacji, ale jednocześnie zachowuje informację o jakości promieniowania, której nie odzwierciedla sam parametr LET.

Podobny trend wzrostowy zaobserwowałem dla parametru R_2, przedstawionego na rysunku 4.16B. Wartości R_2 zwiększają się wraz z LET, co wskazuje na wzrost udziału zdarzeń wielojonizacyjnych, które mogą mieć większe znaczenie biologiczne. W zakresie niskich i pośrednich LET przebiegi dla protonów, cząstek alfa i jonów węgla są stosunkowo zbliżone. Różnice stają się wyraźniejsze przy wyższych wartościach LET, co widać dla ^{4}He i ^{12}C. Dla cząstek alfa R_2 rośnie niemal monotonicznie w całym analizowanym zakresie, natomiast dla jonów węgla przyrost R_2 przy dużych wartościach LET staje się wolniejszy. Sugeruje to, że wzrost gęstości jonizacji nie przekłada się wprost proporcjonalnie na wzrost parametru opisującego bardziej złożone zdarzenia.



Rysunek 4.16. Zależność parametrów nanodozymetrycznych od LET dla protonów (^{1}H), cząstek alfa (^{4}He) oraz jonów węgla (^{12}C). Panel A przedstawia zależność średniej wielkości klastra M_1 od LET, natomiast panel B pokazuje zależność parametru R_2 od LET.

Na rysunku 4.17 zestawiłem parametry F_2, F_3, F_4, F_5 oraz R_2 jako funkcje średniej wielkości klastra M_1. W tej części analizy szczególną uwagę zwróciłem na zakres wzrostu parametrów, obejmujący wartości do około $M_1 \approx 3{,}5$. Zakres ten jest istotny, ponieważ na dalszym etapie analizy, dla zależności R_2/M_1 od M_1, odpowiada on przejściu od szybkiego wzrostu do maksimum i początku nasycenia. W tym obszarze parametry nanodozymetryczne wykazują dużą czułość na zmiany kształtu ICSD, natomiast dla większych wartości M_1 ich zmienność stopniowo maleje ze względu na przejście w zakres nasycenia.



Rysunek 4.17. Zależność skumulowanych prawdopodobieństw F_2, F_3, F_4, F_5 oraz modelu R_2 od średniego rozmiaru klastra jonizacyjnego M_1. Kolory oznaczają analizowane parametry, natomiast symbole odpowiadają różnym rodzajom promieniowania (kłóka – jony węgla, kwadraty – cząstki α, trójkąty – protony).

Porównanie przebiegów $F_k(M_1)$ pokazuje, że wybór progu k istotnie wpływa na interpretację tego samego rozkładu ICSD. W zakresie $M_1 \lesssim 3{,}5$ parametry o niższych progach, szczególnie F_2, szybko osiągają wysokie wartości i zaczynają tracić zdolność do różnicowania dalszych zmian struktury klastra. Z kolei parametry o wyższych progach, takie jak F_4 i F_5, pozostają bardziej wrażliwe na pojawianie się większych klastrów jonizacyjnych. Nie traktuję więc kolejnych F_k jedynie jako prostych prawdopodobieństw przekroczenia progu, ale jako narzędzia pozwalające „sondować" różne fragmenty ICSD. Podobne podejście, polegające na poszukiwaniu parametrów nanodozymetrycznych najlepiej skorelowanych z efektami biologicznymi, było rozważane w pracach dotyczących parametrów szczegółowej struktury jonizacji, określanych jako *ionization detail*, oraz dawki klastrowej, czyli *cluster dose* [79, 132].

W analizowanym zakresie przed nasyceniem szczególnie ważne jest to, że punkty odpowiadające różnym typom promieniowania nie pokrywają się całkowicie dla tej samej wartości M_1. Oznacza to, że średni rozmiar klastra nie określa jednoznacznie udziału dużych klastrów jonizacyjnych. Dwa rozkłady mogą mieć podobną wartość M_1, ale różnić się ogonem rozkładu ICSD, a więc częstością zdarzeń o większej liczbie jonizacji. To właśnie ten efekt jest istotny z punktu widzenia interpretacji biologicznej, ponieważ większe klastry mogą być związane z bardziej złożonymi uszkodzeniami.

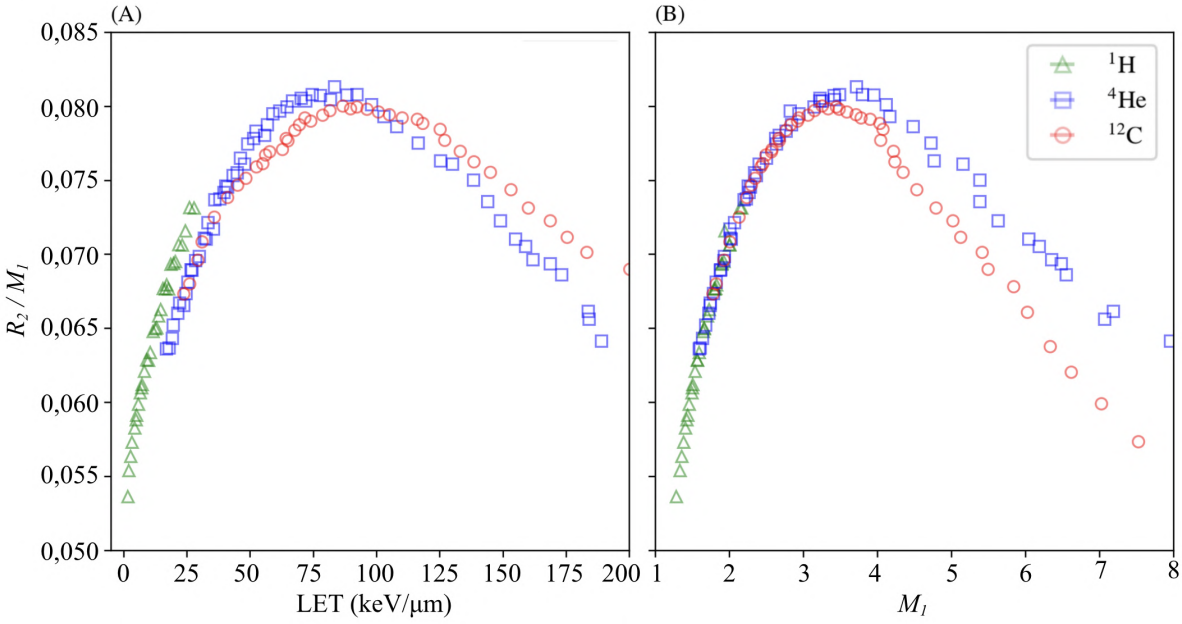
W przeciwieństwie do parametrów F_k, opartych na wartościach progowych, R_2 ma charakter ciągły i nie wymaga definiowania wartości progowej. Jego przebieg nie zależy od arbitralnego wyboru pojedynczego progu k, lecz uwzględnia stopniowy wzrost

znaczenia większych klastrów. W zakresie do około $M_1 \approx 3{,}5$ wartość R_2 rośnie razem ze wzrostem wartości parametrów opisujących bardziej złożone zdarzenia, ale nie wykazuje tak szybkiego przejścia w obszar nasycenia jak parametry F_k o niskim k. Z tego względu traktuję R_2 jako bardziej stabilny deskryptor zmian struktury ICSD w obszarze przejściowym między dominacją małych klastrów a pojawianiem się istotnego udziału większych zdarzeń jonizacyjnych.

Zestawienie F_k i R_2 pokazuje również ograniczenia stosowania pojedynczego parametru progowego. Zbyt niski próg może prowadzić do szybkiego wysycenia parametru i utraty czułości w zakresie wyższych gęstości jonizacji. Z kolei zbyt wysoki próg może pomijać część zdarzeń pośrednich, które nadal mogą mieć znaczenie biologiczne. Dlatego w dalszej interpretacji większe znaczenie przypisuję modelowi R_2, który nie zależy od wyboru pojedynczego progu k, lecz uwzględnia wkład różnych wielkości klastrów jonizacyjnych.

4.4.4 R_2/M_1 jako RBE

Aby ocenić, jak szybko parametr R_2 rośnie względem średniej liczby jonizacji w klastrze, przeanalizowałem iloraz R_2/M_1, a wyniki przedstawiłem na rysunku 4.18. Wielkość ta pozwala oddzielić sam wzrost liczby jonizacji od wzrostu udziału zdarzeń bardziej złożonych. Innymi słowy, sprawdzam tutaj, czy zwiększanie M_1 nadal prowadzi do proporcjonalnego wzrostu parametru R_2, czy też pojawia się zakres, w którym dodatkowe jonizacje przestają wnosić proporcjonalny wkład do analizowanego efektu.



Rysunek 4.18. Zależność ilorazu R_2/M_1 od LET (panel A) oraz od średniego rozmiaru klastra M_1 (panel B) dla protonów (^{1}H), cząstek alfa (^{4}He) oraz jonów węgla (^{12}C).

Na rysunku 4.18A widać, że dla niskich wartości LET stosunek R_2/M_1 rośnie. Jest to obszar, w którym wzrost LET prowadzi nie tylko do zwiększenia średniej liczby jonizacji, ale także do wzrostu względnego udziału zdarzeń opisywanych przez R_2. Dla protonów analizowany zakres kończy się właśnie w obszarze wzrostowym, natomiast dla cząstek alfa i jonów węgla widoczne jest przejście przez maksimum. Maksimum R_2/M_1 występuje dla wartości M_1 około 3,3 dla jonów węgla i 3,6 dla cząstek α, co dobrze koresponduje z zakresem, który wyróżniłem wcześniej przy analizie parametrów F_k i R_2 przedstawionych w funkcji M_1.

Po przekroczeniu obszaru wzrostu stosunek R_2/M_1 zaczyna maleć. Oznacza to, że chociaż średnia liczba jonizacji w klastrze nadal rośnie, to względny przyrost parametru R_2 staje się coraz mniejszy. Interpretuję to jako przejaw nasycenia odpowiedzi parametru R_2 na dalszy wzrost gęstości jonizacji. Dodatkowe akty jonizacji pojawiają się bowiem w warunkach, w których prawdopodobieństwo wystąpienia klastrów wielojonizacyjnych jest już wysokie. W rezultacie kolejne jonizacje prowadzą przede wszystkim do powiększania już dużych klastrów i wzrostu M_1, ale nie powodują proporcjonalnego wzrostu R_2.

Taki przebieg można powiązać z radiobiologiczną koncepcją efektu *overkill*, zgodnie z którą przy wysokich wartościach LET dalsze zwiększanie lokalnej depozycji energii nie prowadzi do proporcjonalnego wzrostu efektu biologicznego [133, 134, 135]. W analizowanych danych analogicznym przejawem nasycenia jest spadek ilorazu R_2/M_1 po przekroczeniu maksimum. W tym sensie maksimum R_2/M_1 można traktować jako granicę przejścia pomiędzy zakresem efektywnego wzrostu złożoności zdarzeń jonizacyjnych a zakresem, w którym dalsze zwiększanie liczby jonizacji ma coraz mniejszy względny wpływ na R_2.

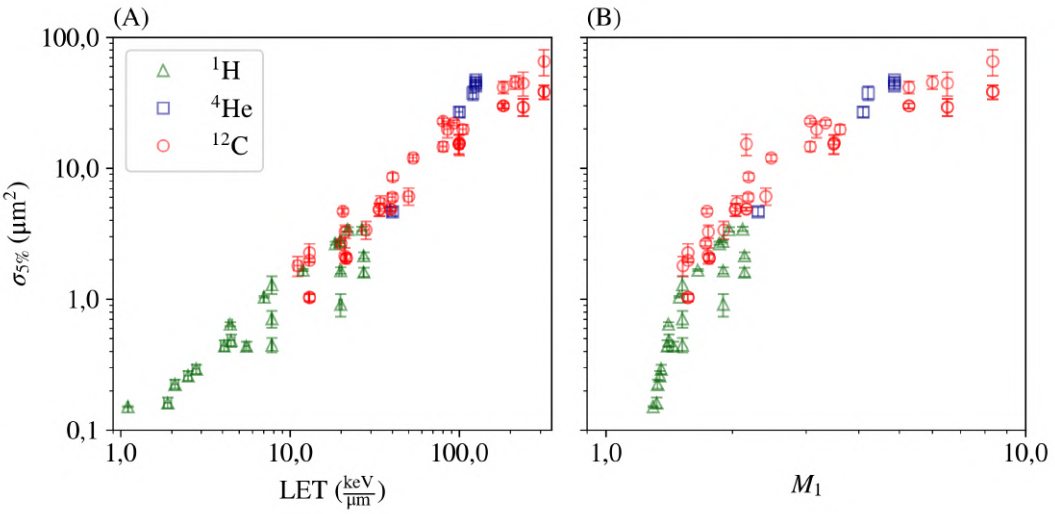
Zależność ta jest szczególnie dobrze widoczna na rysunku 4.18B, gdzie wyeliminowałem bezpośrednią zależność od LET i przedstawiłem R_2/M_1 jako funkcję samego M_1. Dla małych wartości M_1 punkty odpowiadające różnym cząstkom układają się blisko siebie, co wskazuje, że w tym zakresie średnia wielkość klastra dobrze opisuje analizowane dane. W pobliżu $M_1 \approx 3{,}5$ stosunek R_2/M_1 osiąga maksimum dla cząstek alfa i jonów węgla, po czym zaczyna maleć, przy czym efekt ten jest szczególnie wyraźny dla jonów węgla.

Wyniki te dobrze łączą się z analizą przedstawioną na rysunku 4.17. Zakres do około $M_1 \approx 3{,}5$ odpowiada obszarowi, w którym parametry F_k i R_2 najbardziej różnicują zmiany ICSD. Po przekroczeniu tego zakresu część parametrów wchodzi w obszar nasycenia, a stosunek R_2/M_1 zaczyna maleć. Oznacza to, że dalszy wzrost LET lub M_1 nie musi oznaczać proporcjonalnego wzrostu złożoności zdarzeń jonizacyjnych. Z tego powodu analiza R_2/M_1 stanowi istotne uzupełnienie opisu opartego na samym M_1 i pozwala wskazać zakres, w którym dodatkowe akty jonizacji najsilniej zmieniają wielkości nanodozymetryczne związane z występowaniem klastrów wielojonizacyjnych.

Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzam, że opis jakości promieniowania oparty wyłącznie na LET jest niewystarczający. LET dobrze opisuje makroskopową gęstość przekazywania energii, ale nie rozróżnia szczegółowej struktury jonizacji w nanometrowej objętości. Parametr M_1 stanowi krok w stronę opisu nanodozymetrycznego, ponieważ charakteryzuje średni rozmiar klastra, jednak również on nie zawiera pełnej informacji o kształcie ICSD. Dopiero łączna analiza F_k, R_2 oraz ilorazu R_2/M_1 pozwala uchwycić zarówno wzrost złożoności zdarzeń jonizacyjnych, jak i pojawienie się nasycenia przy większych wartościach M_1. Szczególnie zakres do około $M_1 \approx 3{,}5$ wydaje się najbardziej informacyjny, ponieważ obejmuje obszar wzrostu parametrów przed przejściem do reżimu, w którym dodatkowe zdarzenia jonizacyjne tracą na względnym znaczeniu.

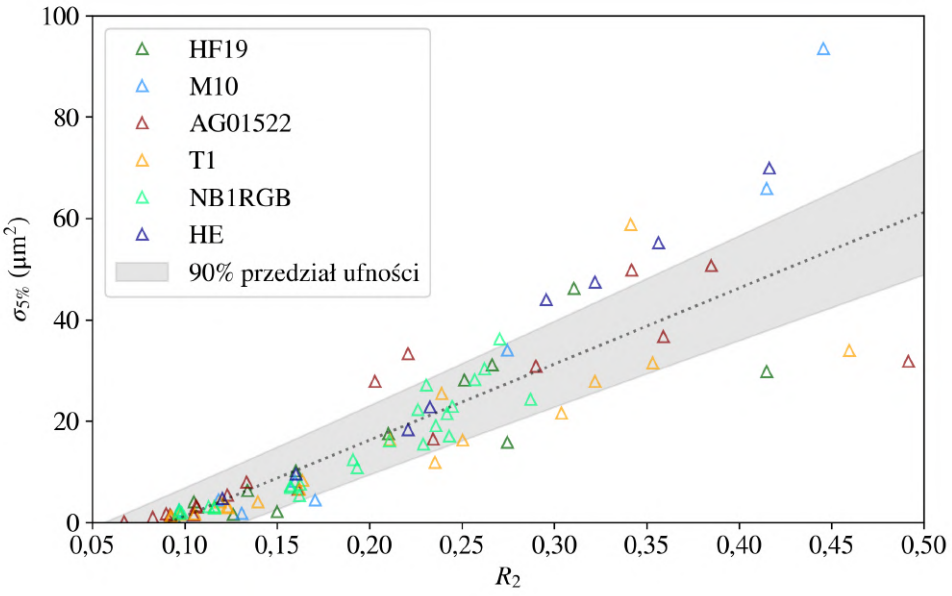
4.5 Efektywny przekrój czynny na inaktywacje komórek

W przedstawionej analizie parametr $\sigma_{5\%}$ pełni rolę pomostu pomiędzy symulacjami struktury toru promieniowania a eksperymentalnie obserwowaną przeżywalnością komórek, umożliwiając spójny opis wpływu jakości promieniowania dla różnych typów cząstek i wartości LET. Zależność tę przedstawiłem na rysunku 4.19A, gdzie zestawiłem wartości $\sigma_{5\%}$ w funkcji LET dla protonów, cząstek α oraz jonów węgla. Na rysunku 4.19B przedstawiłem natomiast zależność $\sigma_{5\%}$ od średniego rozmiaru klastra jonizacyjnego M_1, co umożliwiło porównanie opisu odpowiedzi biologicznej za pomocą klasycznego parametru LET oraz wielkości M_1 bezpośrednio charakteryzującej nanometryczną strukturę toru.



Rysunek 4.19. Zależności efektywnego przekroju czynnego inaktywacji komórki przy 5% przeżycia, $\sigma_{5\%}$, od LET (panel A) i M_1 (panel B) dla komórek nowotworowych i trzech wybranych typów promieniowania.

Widoczny jest ogólny wzrost efektywnego przekroju czynnego inaktywacji wraz ze wzrostem LET, co odzwierciedla rosnącą skuteczność promieniowania o większej gęstości jonizacji. Punkty odpowiadające różnym typom cząstek układają się jednak w częściowo odmiennych zakresach LET i $\sigma_{5\%}$, co wskazuje, że sam LET nie opisuje w pełni różnic wynikających z mikroskopowej struktury toru promieniowania. Wzrost średniego rozmiaru klastra jonizacyjnego oznacza zwiększenie liczby jonizacji powstających w pojedynczej objętości nanometrowej, a tym samym większe prawdopodobieństwo utworzenia złożonych, przestrzennie skorelowanych uszkodzeń DNA. Jednocześnie przy zbliżonych wartościach M_1 obserwuję rozrzut wartości $\sigma_{5\%}$. Może on wynikać zarówno ze zróżnicowanej promieniowrażliwości analizowanych linii komórkowych, jak i z faktu, że M_1, jako wartość średnia, nie uwzględnia pełnego kształtu ICSD. Różne struktury toru mogą zatem prowadzić do podobnych wartości M_1, pomimo odmiennego udziału klastrów wielojonizacyjnych. Z tego powodu w kolejnym kroku zestawiłem $\sigma_{5\%}$ z parametrem nanodozymetrycznym R_2, który opisuje prawdopodobieństwo powstawania klastrów wielojonizacyjnych w objętości odpowiadającej fragmentowi DNA. Na rysunku 4.20 przedstawiłem zależność efektywnego przekroju czynnego inaktywacji komórki przy 5% przeżycia $\sigma_{5\%}$ od parametru nanodozymetrycznego R_2 dla wybranych linii komórek prawidłowych. Przedział ufności dla dopasowanej regresji liniowej wyznaczonej dla komórek prawidłowych, traktowanej jako dopasowanie referencyjne, został zaznaczony bezpośrednio na wykresie.



Rysunek 4.20. Zależność efektywnego przekroju czynnego inaktywacji komórki przy 5% przeżycia, $\sigma_{5\%}$, od wielkości nanodozymetrycznej R_2 dla komórek prawidłowych ($R_2(p = 0.3)$) z dopasowaną funkcją daną wzorem 3.29 i zaznaczonym 95% przedziałem ufności.

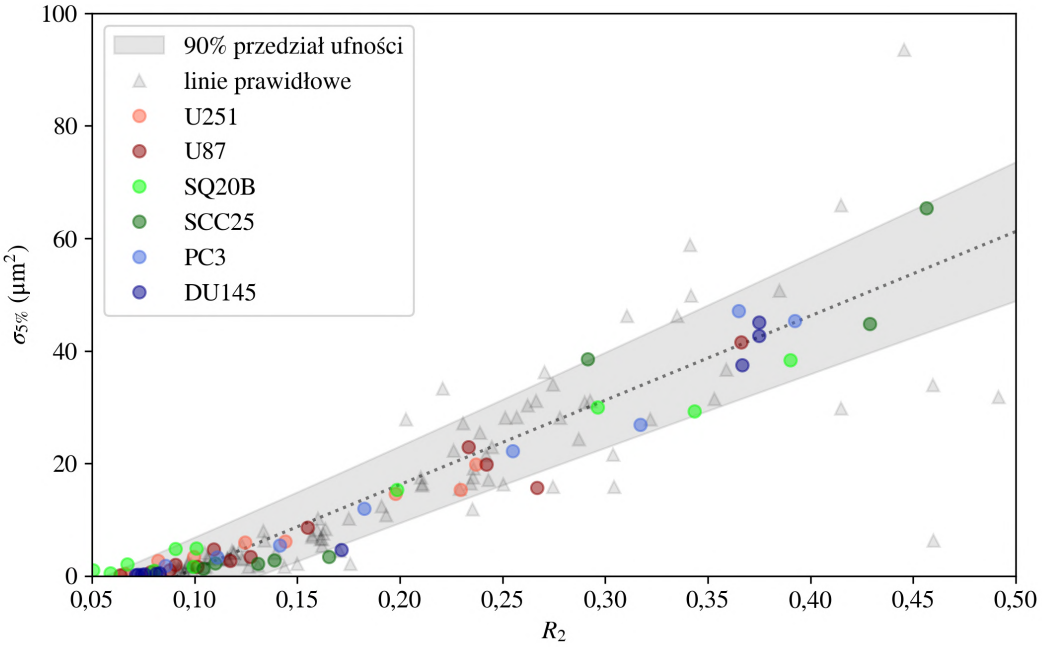
Zależność $\sigma_{5\%}$ od parametru nanodozymetrycznego R_2 różni się pomiędzy prawidłowymi liniami komórkowymi, aczkolwiek dla wszystkich komórek obserwuje się mono-

toniczny wzrost $\sigma_{5\%}$ wraz ze wzrostem wartości R_2, co potwierdza, że większe rozmiary klastrów przekładają się na większe prawdopodobieństwo powstawania letalnych uszkodzeń na poziomie komórkowym. Obserwacja ta pozostaje zgodna z interpretacją parametru R_2 jako wskaźnika struktury śladu promieniowania istotnego z punktu widzenia skuteczności biologicznej.

Parametry uzyskane w wyniku dopasowania do danych przedstawionych na rysunku 4.20 przy użyciu równania 3.29 wyniosły odpowiednio $K = (150 \pm 11)\,\mu\text{m}^2$ oraz $B = (-13{,}8 \pm 2{,}6)\,\mu\text{m}^2$. Współczynnik determinacji regresji liniowej, równy $R^2 = 0{,}643$, wskazuje, że około 64% zmienności wartości efektywnego przekroju czynnego na inaktywację $\sigma_{5\%}$ jest wyjaśniane przez liniową zależność od R_2. Pozostała część rozrzutu może wynikać między innymi ze zmienności biologicznej pomiędzy liniami komórkowymi oraz z niepewności danych eksperymentalnych i modelu.

Dopasowany parametr nachylenia K jest porównywalny z efektywnym polem przekroju materiału genetycznego w jądrze komórkowym. Typowe średnice jąder prawidłowych ludzkich fibroblastów mieszczą się w zakresie około 10–15 μm, co odpowiada polu przekroju rzędu 80–180 μm^2 [136, 137]. Zgodność co do rzędu wielkości wspiera interpretację parametru K jako wielkości fizycznie powiązanej z rozmiarem głównego celu biologicznego, którym jest materiał genetyczny znajdujący się w jądrze komórkowym. Ujemna wartość wyrazu wolnego B nie była interpretowana jako fizyczna wartość przekroju czynnego dla $R_2 = 0$, ponieważ $\sigma_{5\%}$ jako wielkość powierzchniowa nie może przyjmować wartości ujemnych. W niniejszej analizie wartość ta wskazuje na istnienie efektywnego progu odpowiedzi biologicznej, poniżej którego wzrost parametru R_2 nie prowadzi jeszcze do mierzalnego wzrostu $\sigma_{5\%}$. Taka interpretacja jest zgodna z nanodozymetrycznym opisem działania promieniowania, w którym znaczenie biologiczne przypisuje się nie pojedynczym aktom jonizacji, lecz prawdopodobieństwu powstawania klastrów jonizacji w objętościach porównywalnych z fragmentami DNA [11, 130, 131]. Dla otrzymanych parametrów dopasowania odpowiada to wartości $R_2 \approx 0{,}09$. Oznacza to, że zależność liniową traktowałem jako lokalny opis danych w analizowanym zakresie wartości R_2, a nie jako model przeznaczony do ekstrapolacji w kierunku $R_2 = 0$. Wymuszenie przejścia prostej przez początek układu współrzędnych usuwałoby ten efekt progowy, ale pogarszało jakość dopasowania w zakresie danych eksperymentalnych.

Na podstawie regresji liniowej wyznaczonej dla prawidłowych linii komórkowych skonstruowałem 90% przedział ufności w celu analizy promieniowrażliwości komórek nowotworowych. Założyłem, że wielkości jąder komórek prawidłowych i nowotworowych nie różnią się, co oznacza, że parametr K jest stały. Następnie dla każdej nowotworowej linii komórkowej zmieniłem parametr prawdopodobieństwa p w definicji modelu R_2, optymalizując zgodność z zależnością referencyjną, w wyniku czego otrzymałem rysunek 4.21.



Rysunek 4.21. Zależność efektywnego przekroju czynnego inaktywacji komórki przy 5% przeżycia, $\sigma_{5\%}$, od wielkości nanodozymetrycznej R_2. Szare trójkąty oznaczają prawidłowe ludzkie linie komórkowe ($R_2(p = 0.3)$), natomiast kolorowe okręgi odpowiadają wybranym nowotworowym liniom komórkowym ($R_2(p)$, gdzie parametr p przedstawiono w tabeli 4.3). Dla czytelności graficznej linie komórkowe pochodzące z tej samej lokalizacji anatomicznej oznaczono różnymi odcieniami tego samego koloru. Linia przerywana przedstawia dopasowanie liniowe wykonane wyłącznie dla danych odpowiadających prawidłowym liniom komórkowym.

Punkty odpowiadające nowotworowym liniom komórkowym, wyznaczone dla wartości R_2 obliczonych przy różnych dopasowanych wartościach parametru p zestawionych w tabeli 4.3, przedstawiłem również na rysunku 4.21. Punkty te rozmieszczone są w przybliżeniu symetrycznie po obu stronach linii regresji wyznaczonej dla komórek prawidłowych i w większości mieszczą się w wyznaczonym przedziale ufności.

Tabela 4.3. Porównanie par nowotworowych linii komórkowych o różnej promieniowrażliwości: wartości AUC dla promieniowania referencyjnego, dopasowane współczynniki p wyznaczone z modelu R_2 oraz parametr δ_p (wzór 3.30) dla napromieniania jonami węgla.

Linia komórkowa	Pochodzenie	AUC	p (model R_2)	δ_p (%)
U251	Glejak wielopostaciowy	3,54	0,25	55
U87		2,52	0,29	9
SQ20B	Rak płaskonabłonkowy	4,13	0,22	48
SCC25		1,61	0,32	3
PC3	Rak gruczołu krokowego	2,14	0,29	10
DU145		1,99	0,30	0

Symetryczne rozmieszczenie punktów względem linii regresji wskazuje na brak wyraźnego systematycznego odchylenia modelu w analizowanym zakresie danych. Wyniki sugerują, że parametr nachylenia K, wyznaczony dla komórek prawidłowych i interpretowany jako współczynnik skalujący związany z efektywną powierzchnią obszaru wrażliwego komórki, może być stosowany jako wspólna skala odniesienia także dla analizowanych linii nowotworowych. Założenie to jest uzasadnione tym, że punkty odpowiadające komórkom nowotworowym układają się w pobliżu zależności referencyjnej wyznaczonej dla komórek prawidłowych. Nie oznacza to jednak, że parametr K jest ściśle niezależny od typu komórki, ponieważ jego wartość może być związana z efektywnym polem przekroju obszaru wrażliwego.

Różnice pomiędzy liniami komórkowymi uwzględniłem natomiast poprzez parametr p w modelu $R_2(p)$. Dla komórek prawidłowych przyjąłem wartość $p = 0{,}3$, natomiast wartości dopasowane dla analizowanych linii nowotworowych mieściły się w zakresie od 0,22 do 0,32. Ponieważ parametr p określa prawdopodobieństwo, że pojedynczy akt jonizacji zostanie uwzględniony jako zdarzenie prowadzące do uszkodzenia subletalnego, jego zmienność może być interpretowana jako opis różnic w promieniowrażliwości komórek. W tym sensie p pełni rolę efektywnego parametru radiobiologicznego, który pozwala uwzględnić różnice odpowiedzi pomiędzy liniami komórkowymi przy zachowaniu wspólnej skali geometrycznej opisanej przez K.

W tabeli 4.3 zestawiłem analizowane pary nowotworowych linii komórkowych wraz z odpowiadającymi im wartościami pola pod krzywą (AUC) dla fotonowego promieniowania referencyjnego, dopasowanymi wartościami współczynnika p wynikającymi z modelu R_2 obliczonego dla napromieniania tych komórek jonami węgla oraz względną redukcją parametru δ_p. Wartości δ_p wskazują na znaczącą redukcję błędu RMSE dla wybranych linii komórkowych w porównaniu z przypadkiem referencyjnym ($p = 0{,}3$). W szczególności wyższe wartości δ_p odpowiadają sytuacjom, w których optymalizacja parametru p prowadzi do istotnej statystycznie poprawy zgodności z zależnością referencyjną, podkreślając czułość modelu na ten parametr.

Dla każdej analizowanej pary nowotworowych linii komórkowych linia charakteryzująca się niższą wartością AUC (obliczoną zgodnie z równaniem 3.31), interpretowaną tutaj jako większa promieniowrażliwość, wykazywała wyższą dopasowaną wartość parametru p. W ramach modelu R_2 parametr p reprezentuje prawdopodobieństwo śmierci komórki po wystąpieniu wielu zdarzeń jonizacyjnych w obrębie kilku sąsiadujących zasad DNA. Zaobserwowana zależność wskazuje zatem, że bardziej promieniowrażliwe linie komórkowe cechują się wyższym prawdopodobieństwem letalnego efektu związanego z lokalnie skupionymi zdarzeniami jonizacyjnymi.

Z biologicznego punktu widzenia zjawisko to może odzwierciedlać mniejszą efektywność mechanizmów odpowiedzi na uszkodzenia DNA i ich naprawy, a także różnice w organizacji chromatyny oraz przestrzennym rozmieszczeniu materiału genetycznego

w jądrze komórkowym. Analiza par nowotworowych linii komórkowych wskazuje również na wyraźną odwrotną zależność pomiędzy AUC a dopasowanym parametrem p dla wszystkich analizowanych linii komórkowych. Wyższe wartości AUC są systematycznie związane z niższymi wartościami p, co sugeruje monotoniczny charakter tej zależności.

Warto zauważyć, że mimo iż bezwzględna zmienność parametru p pozostaje stosunkowo niewielka (0,22-0,32), zakres ten odpowiada znacznym różnicom wartości AUC, co wskazuje, że nawet umiarkowane zmiany parametru p mogą przekładać się na wyraźne różnice w promieniowrażliwości. Obserwacje te wspierają interpretację, zgodnie z którą parametr K pełni rolę geometrycznie uwarunkowanego obszaru wrażliwego wspólnego dla komórek prawidłowych i nowotworowych, natomiast parametr p stanowi biologiczny modyfikator determinujący ich promieniowrażliwość.

4.6 Względna skuteczność biologiczna

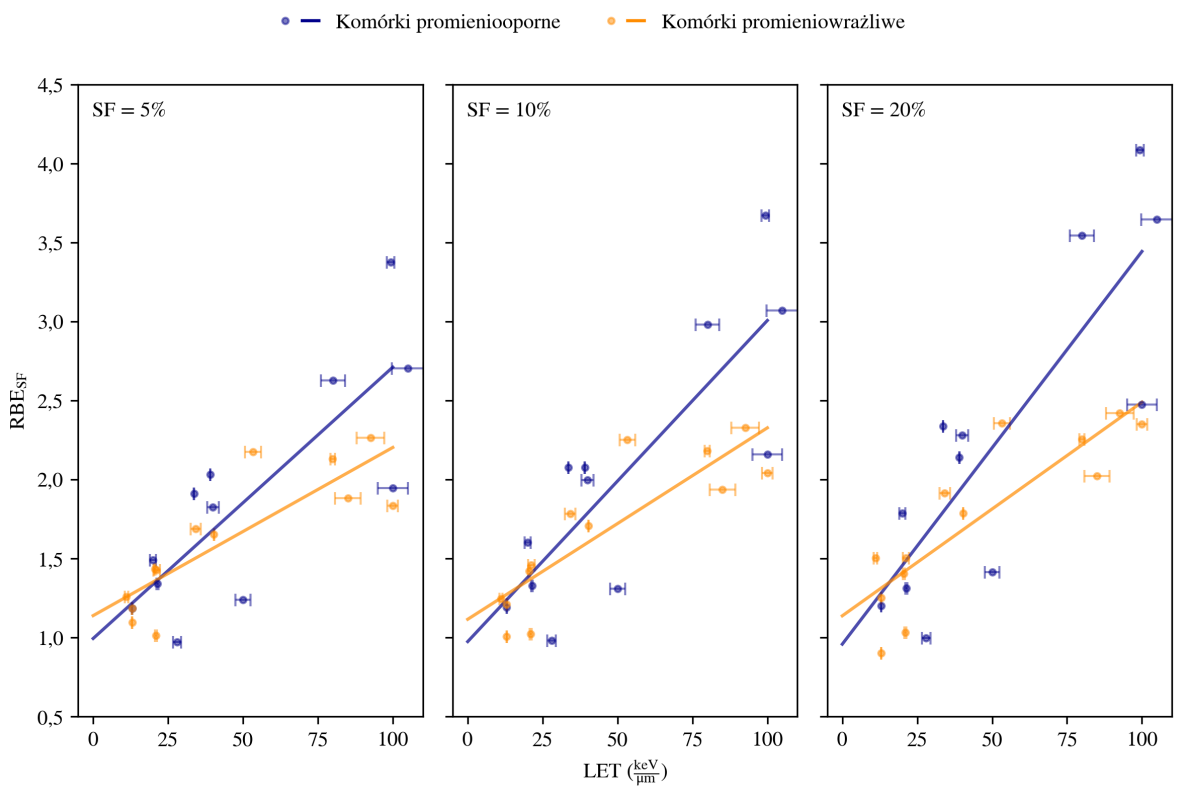
Zależność współczynnika względnej skuteczności biologicznej $\mathrm{RBE_{SF}}$ od liniowego przekazu energii LET przeanalizowałem dla dwóch grup linii komórkowych sklasyfikowanych jako promieniooporne ($p \leq 0{,}25$; linie: U251 oraz SQ20B) oraz promieniowrażliwe ($p > 0{,}25$; linie: U87, SCC25 i PC3). Wyniki przedstawiłem na rysunku 4.22. Warto zauważyć, że linia DU145, dla której uzyskałem wartość parametru $p = 0{,}30$, odpowiadającą wartości referencyjnej dla komórek prawidłowych, nie została uwzględniona w tym podziale ze względu na brak krzywych przeżywalności po napromienianiu jonami węgla.

Jak widać na rysunku 4.22, wartość RBE rośnie wraz ze wzrostem LET zarówno dla promieniooopornych, jak i promieniowrażliwych linii komórkowych oraz dla wszystkich analizowanych poziomów przeżycia komórek ($\mathrm{RBE_{5\%}}$, $\mathrm{RBE_{10\%}}$ oraz $\mathrm{RBE_{20\%}}$). Jest to zgodne z ogólnym zachowaniem radiobiologicznym promieniowania o wysokim LET [138, 139]. Obserwowana tendencja odzwierciedla wzrost gęstości jonizacji wzdłuż torów jonów węgla oraz związane z tym zwiększone prawdopodobieństwo powstawania złożonych i skupionych uszkodzeń DNA [4].

Parametry dopasowania liniowego (nachylenie a oraz wyraz wolny b) dla promieniooopornych i promieniowrażliwych linii komórkowych zestawiłem w tabeli 4.4.

Na podstawie wartości parametrów a i b można zauważyć systematyczne różnice pomiędzy analizowanymi grupami komórek. Linie promieniowrażliwe charakteryzują się nieznacznie wyższymi wartościami wyrazu wolnego dopasowania ($b \approx 1{,}1$ dla wszystkich analizowanych poziomów przeżycia) niż w przypadku komórek promieniooopornych, co wskazuje na większą skuteczność biologiczną promieniowania już w granicy niskiego LET.

W przeciwieństwie do wyrazu wolnego, nachylenie zależności RBE–LET jest konsekwentnie większe dla komórek promieniooopornych niż dla promieniowrażliwych. Dla



Rysunek 4.22. Zależność $\mathrm{RBE_{SF}}$ od LET dla napromieniania jonami węgla w promieniooopornych i promieniowrażliwych liniach komórkowych dla różnych poziomów przeżywalności: 5, 10 i 20%. Punkty przedstawiają dane eksperymentalne, natomiast linie odpowiadają dopasowaniom liniowym wykonanym dla zakresu LET $\lesssim 100\ \frac{\mathrm{keV}}{\mu\mathrm{m}}$.

Tabela 4.4. Parametry dopasowania liniowego $\mathrm{RBE_{SF}} = a \cdot \mathrm{LET} + b$ dla zakresu LET $\lesssim 100\ \frac{\mathrm{keV}}{\mu\mathrm{m}}$ dla promieniooopornych i promieniowrażliwych linii komórkowych. Niepewności odpowiadają jednemu odchyleniu standardowemu.

Grupa linii	$\mathrm{RBE_{SF}}$	$a\ \left(\frac{\mu\mathrm{m}}{\mathrm{keV}}\right)$	b
Promieniooporne	$\mathrm{RBE_{5\%}}$	0,0172 ± 0,0048	0,99 ± 0,27
	$\mathrm{RBE_{10\%}}$	0,0203 ± 0,0053	0,97 ± 0,30
	$\mathrm{RBE_{20\%}}$	0,0249 ± 0,0062	0,96 ± 0,35
Promieniowrażliwe	$\mathrm{RBE_{5\%}}$	0,0106 ± 0,0021	1,14 ± 0,12
	$\mathrm{RBE_{10\%}}$	0,0121 ± 0,0021	1,12 ± 0,12
	$\mathrm{RBE_{20\%}}$	0,0135 ± 0,0024	1,14 ± 0,13

$\mathrm{RBE_{5\%}}$, $\mathrm{RBE_{10\%}}$ oraz $\mathrm{RBE_{20\%}}$ wartości nachylenia są o około 50–80% większe w grupie promieniooopornych linii komórkowych, co wskazuje na silniejszą zależność skuteczności biologicznej od LET. Oznacza to, że wzrost LET wywołuje relatywnie większy przyrost efektu biologicznego właśnie w komórkach początkowo bardziej odpornych na promieniowanie.

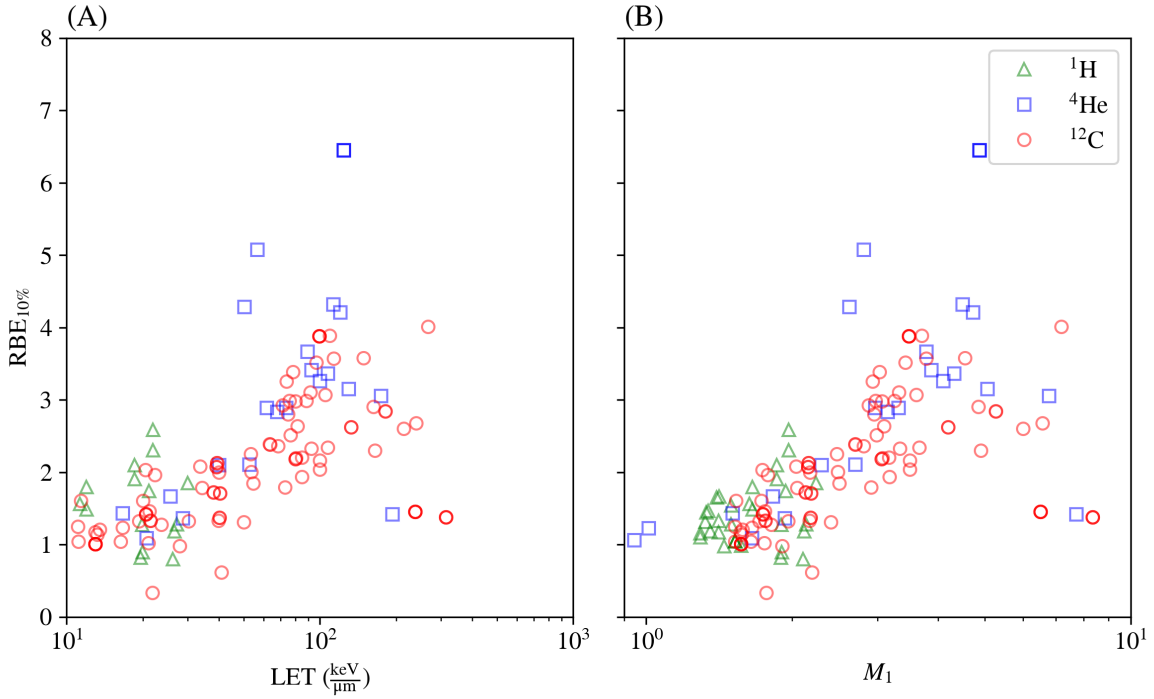
Dodatkowo dla obu grup obserwujemy wzrost nachylenia wraz ze wzrostem poziomu przeżywalności komórek (SF), co sugeruje, że zależność od LET staje się bardziej

wyraźna przy niższym stopniu eliminacji komórek. Podobne trendy obserwowano dla linii CHO-K1 oraz xrs5 różniących się zdolnością naprawy DNA, gdzie wzrost LET prowadził do ograniczenia skuteczności komórkowych mechanizmów naprawczych [140].

Wyższe wartości wyrazu wolnego dla komórek promieniowrażliwych są zgodne z ich większą podatnością na uszkodzenia indukowane promieniowaniem w warunkach niskiego LET. Natomiast komórki promieniooporne, mimo niższej początkowej skuteczności biologicznej, wykazują silniejszą zależność od LET, co można interpretować jako konsekwencję stopniowego osłabiania mechanizmów promieniooporności przez wzrost lokalnej gęstości jonizacji. Wraz ze wzrostem LET zwiększa się udział skupionych uszkodzeń DNA, szczególnie złożonych pęknięć dwuniciowych, których skuteczna naprawa staje się coraz trudniejsza. Wynik ten potwierdza hipotezę, że promieniowanie o wysokim LET może częściowo przezwyciężać promieniooporność komórkową, co stanowi jedną z głównych przewag radioterapii jonami węgla [139]. Należy jednak zauważyć, że w typowych planach napromieniania jonami węgla wartości LET przekraczające 100 keV/µm występują jedynie w niewielkiej części objętości tarczowej, a LET osiągany w pozostałym obszarze guza może być niewystarczający do pełnego zniesienia promieniooporności komórek w warunkach głębokiego niedotlenienia [141]. Z tego względu w przypadku silnie hipoksyjnych guzów rozważa się zastosowanie jonów tlenu, których wyższy LET może skuteczniej obniżać zależność odpowiedzi biologicznej od obecności tlenu. Badania eksperymentalne i obliczeniowe wskazują, że wiązki jonów tlenu mogą w wybranych warunkach zapewniać korzystniejszy efekt biologiczny niż wiązki jonów węgla, chociaż rozwiązanie to pozostaje przedmiotem badań i wymaga uwzględnienia zwiększonego oddziaływania na tkanki prawidłowe [142].

Przy wyższych wartościach LET (powyżej około 120–200 $\frac{\text{keV}}{\mu\text{m}}$) dane eksperymentalne dla komórek nowotworowych zaczynają odbiegać od trendu liniowego, a wartość RBE wykazuje tendencję do osiągania plateau lub nawet spadku, co przedstawiłem na rysunku 4.23A. Zachowanie to jest zgodne z efektem *overkill* [138, 143], w którym energia deponowana przez cząstki o bardzo wysokim LET przekracza poziom wymagany do indukcji letalnego uszkodzenia komórki, prowadząc do nasycenia odpowiedzi biologicznej. Takie samo zjawisko obserwuję dla zależności RBE od M_1. W przypadku zależności RBE od M_1, przedstawionej na rysunku 4.23B, obserwuję początkowy wzrost RBE wraz ze zwiększaniem się średniej wielkości klastra. W zakresie M_1 wynoszącym około 1–4 większe klastry jonizacyjne są związane ze wzrostem RBE, co można wiązać z rosnącą złożonością i przestrzenną koncentracją uszkodzeń DNA. Dla większych wartości M_1 zależność ta przestaje być jednak monotoniczna: wartości RBE wykazują większy rozrzut, a w części przypadków pozostają na zbliżonym poziomie lub maleją. Oznacza to, że dalszy wzrost liczby jonizacji w pojedynczym klastrze nie przekłada się proporcjonalnie na zwiększenie efektu biologicznego, ponieważ uszkodzenie komórki mogło już osiągnąć poziom letalny. Zależność RBE od M_1 odzwierciedla zatem efekt *overkill* podobnie jak

zależność od LET, przy czym M_1 opisuje go bezpośrednio w odniesieniu do nanometrycznej struktury toru promieniowania.



Rysunek 4.23. Zależności $\mathrm{RBE}_{10\%}$ od LET (panel A) i od M_1 (panel B) dla protonów, cząstek α i jonów węgla. Widoczne maksimum oraz spadek RBE przy wysokich wartościach LET wskazują na występowanie efektu *overkill*. Linią przerywaną zaznaczyłem wartość $\mathrm{RBE}_{10\%} = 1$, odpowiadającą jednakowej skuteczności promieniowania badanego i referencyjnego.

4.7 Ograniczenia pracy badawczej

Przedstawione wyniki należy interpretować z uwzględnieniem ograniczeń wynikających zarówno z zakresu przeprowadzonych eksperymentów, jak i przyjętych założeń symulacyjnych oraz sposobu opracowania danych radiobiologicznych. Ograniczenia te nie podważają zaobserwowanych zależności, lecz wyznaczają zakres ich stosowalności i wskazują elementy wymagające dalszej weryfikacji.

Eksperymenty radiobiologiczne przeprowadziłem w warunkach *in vitro*, w hodowlach dwuwymiarowych. Układ taki nie odtwarza przestrzennej organizacji tkanek, mikrośrodowiska nowotworowego, hipoksji, oddziaływań międzykomórkowych ani odpowiedzi immunologicznej. Czynniki te mogą istotnie modyfikować promieniowrażliwość komórek w warunkach *in vivo*. Dodatkowe źródło niepewności stanowiła niewielka wydajność klonowania komórek PC3 i DU145. Chociaż uzyskane wartości mieszczą się w zakresach obserwowanych dla niektórych subpopulacji tych linii, mała liczba kolonii zwiększa znaczenie fluktuacji statystycznych oraz wrażliwość wyniku na warunki hodowli, jakość wysiewu i przyjęte kryteria automatycznego zliczania kolonii. W pracy Kim

i wsp. wydajność klonowania komórek U2OS wynosiła $(48 \pm 18)\%$ [144]. Wartości uzyskane dla komórek PC3 oraz DU145 były zatem znacznie niższe, co ograniczało liczbę uzyskiwanych kolonii i zwiększało niepewność wyników testu klonogennego. Znaczna część danych radiobiologicznych wykorzystanych w dalszej analizie pochodziła z bazy PIDE oraz publikacji wykonanych w różnych laboratoriach. Poszczególne eksperymenty różniły się warunkami hodowli, sposobem napromieniania, rodzajem promieniowania referencyjnego, zakresem dawek, liczbą punktów pomiarowych, sposobem wyznaczania wydajności klonowania oraz metodą obliczania LET. W części publikacji dane liczbowe nie były dostępne i musiałem odtworzyć je z wykresów za pomocą programu WebPlotDigitizer. Proces ten może wprowadzać dodatkową niepewność związaną z rozdzielczością ilustracji, grubością symboli i linii oraz sposobem kalibracji osi. Zastosowanie wspólnej procedury bootstrapowej ograniczyło wpływ różnic wynikających z metod dopasowania modelu LQ, lecz nie mogło wyeliminować heterogeniczności samych danych wejściowych. Wykluczenie przypadków zawierających ujemne wartości parametrów α lub β zapewniło fizycznie uzasadniony przebieg analizowanych krzywych, ale jednocześnie mogło prowadzić do selekcji danych o lepszej jakości lub bardziej typowym zachowaniu. Ostateczny zbiór 87 eksperymentów nie stanowi więc losowej i w pełni reprezentatywnej próby wszystkich dostępnych wyników radiobiologicznych. Model liniowo-kwadratowy jest opisem fenomenologicznym. Parametry α i β są ze sobą skorelowane, a ich wartości mogą być słabo określone, szczególnie dla niewielkiej liczby punktów pomiarowych oraz krzywych o niemal liniowym przebiegu.

W **modelu nanodozymetrycznym** uwzględniłem wyłącznie akty jonizacji zachodzące w ciekłej wodzie. Nie analizowałem bezpośrednio wzbudzeń, procesów chemicznych, radiolizy wody, dyfuzji ROS ani pośrednich uszkodzeń DNA. Symulacja nie obejmowała także szczegółowego modelu nici DNA, nukleosomów, chromatyny ani przestrzennej organizacji genomu. Cylindry o stałych wymiarach, odpowiadające około 10 parom zasad DNA, były rozmieszczane losowo, z przyjętym współczynnikiem wypełnienia równym 0,1. Jest to uproszczony model geometryczny, który nie odwzorowuje niejednorodnej gęstości chromatyny, jej zmiennej dostępności ani różnic pomiędzy euchromatyną i heterochromatyną. Przyjęty warunek braku nakładania się cylindrów, realizowany za pomocą sfer opisanych na cylindrach, jest warunkiem bardziej restrykcyjnym niż dokładne sprawdzanie przecięcia dwóch dowolnie zorientowanych cylindrów. Może on wpływać na lokalne rozmieszczenie generowanych objętości oraz efektywną gęstość próbkowania. Liczbę klastrów zerowych odtworzyłem statystycznie z wykorzystaniem dwuskładnikowego uogólnionego rozkładu Poissona. Wartości parametrów M_1, F_k i R_2 zależą więc częściowo od poprawności przyjętego modelu rekonstrukcji zdarzeń zerowych. Chociaż zastosowanie modelu dwuskładnikowego pozwalało dobrze opisać nadmierną dyspersję rozkładów, podział na dwa procesy jonizacji ma charakter efektywny i nie stanowi jednoznacznej identyfikacji konkretnych mechanizmów fizycznych.

Zależność pomiędzy $\sigma_{5\%}$ i R_2 została wyznaczona dla ograniczonej liczby prawidłowych linii komórkowych. Współczynnik determinacji $R^2 = 0{,}643$ wskazuje na umiarkowaną, a nie pełną korelację. Pozostała część zmienności odpowiedzi może wynikać z różnic biologicznych, niepewności danych oraz uproszczeń modelu. Ujemny wyraz wolny dopasowania oznacza ponadto, że zależność liniową należy traktować jako lokalny opis danych i nie należy jej ekstrapolować do wartości R_2 bliskich zeru.

Interpretacja **parametru K** jako geometrycznej skali obszaru wrażliwego opiera się na zgodności jego wartości z typowym polem przekroju jądra komórkowego. W analizie założyłem jednak, że efektywna wielkość obszaru wrażliwego jest podobna dla prawidłowych i nowotworowych linii komórkowych. Założenie to nie zostało zweryfikowane na podstawie bezpośrednich pomiarów morfologicznych każdej analizowanej linii. Różnice wielkości jąder, zawartości DNA, organizacji chromatyny i rozkładu faz cyklu komórkowego mogą wpływać na wartości efektywnego przekroju czynnego niezależnie od parametru R_2.

Współczynnik p został wyznaczony poprzez optymalizację zgodności danych nowotworowych z zależnością referencyjną dla komórek prawidłowych. Jego interpretacja jako miary wewnętrznej promieniowrażliwości wymaga potwierdzenia na niezależnym zbiorze danych. Niewielka liczba analizowanych linii oraz brak niezależnej walidacji oznaczają, że obserwowaną odwrotną zależność pomiędzy p i AUC należy traktować jako przesłankę wymagającą dalszego sprawdzenia, a nie jako ostatecznie ustalone prawo. Podobnie wartość progowa $p = 0{,}25$, wykorzystana do podziału linii na promieniooporne i promieniowrażliwe, ma charakter empiryczny i odnosi się do analizowanego zbioru.

Analiza zależności RBE od LET została ograniczona do napromieniania jonami węgla, a regresję liniową zastosowałem jedynie dla LET $\lesssim 100$ keV/µm. Otrzymanych współczynników nie należy bezpośrednio stosować do innych jonów, pól mieszanych ani obszaru bardzo wysokiego LET, w którym występuje nasycenie i efekt *overkill*.

Wskazane ograniczenia pokazują, że zaproponowany opis należy obecnie traktować przede wszystkim jako model badawczy łączący strukturę toru w skali DNA z makroskopową przeżywalnością komórek. Jego wartością jest możliwość wyodrębnienia fizycznego składnika odpowiedzi, opisanego za pomocą parametrów ICSD, oraz biologicznego modyfikatora reprezentowanego przez parametr p. Pełne wykorzystanie modelu jako narzędzia predykcyjnego wymaga jednak dalszej walidacji eksperymentalnej i rozszerzenia zakresu analizowanych warunków.

ROZDZIAŁ 5

PODSUMOWANIE I PERSPEKTYWY

Głównym celem niniejszej pracy było określenie zależności pomiędzy strukturą toru cząstek naładowanych w skali porównywalnej z wymiarami DNA a odpowiedzią radiobiologiczną komórek. Analizowałem możliwość wykorzystania parametrów opisujących rozkłady wielkości klastrów jonizacyjnych jako deskryptorów jakości promieniowania, uzupełniających klasyczne wielkości, takie jak LET i RBE. Podejście to wpisuje się w rozwój nanodozymetrii, której celem jest powiązanie lokalnego rozkładu jonizacji z prawdopodobieństwem powstawania uszkodzeń DNA i końcowym efektem biologicznym [8, 9, 11, 12].

W pracy połączyłem badania eksperymentalne, symulacje Monte Carlo oraz analizę danych radiobiologicznych pochodzących z bazy PIDE, literatury i własnych eksperymentów. Przeprowadzenie eksperymentów w Laboratorium Zakładu Fizyki Biomedycznej wymagało wcześniejszego opracowania charakterystyki dozymetrycznej źródła ^{241}Am z wykorzystaniem metod pomiarowych oraz modelowania Monte Carlo, a także zaprojektowania układu do napromieniania komórek. Moc dawki wyznaczona metodą symulacyjną była zgodna z wartością uzyskaną z pomiarów filmami radiochromowymi, co potwierdziło poprawność modelu symulacyjnego i geometrii eksperymentalnej oraz umożliwiło wykorzystanie modelu do zaplanowania eksperymentów, w szczególności doboru geometrii układu i czasu napromieniania. Przeprowadzone testy klonogenne z wykorzystaniem linii komórkowych raka gruczołu krokowego PC3 i DU145 wykazały odpowiedź charakterystyczną dla promieniowania o wysokim LET oraz nie ujawniły istotnych różnic w promieniowrażliwości obu analizowanych linii komórkowych.

Dane własne uzupełniłem wynikami pochodzącymi z bazy PIDE oraz z literatury. Parametry modelu liniowo–kwadratowego wyznaczyłem ponownie z wykorzystaniem jednolitej procedury dopasowania opartej na bootstrapie bayesowskim, co umożliwiło określenie niepewności parametrów α i β oraz spójne wyznaczenie efektywnego przekroju czynnego na inaktywację komórki. Wielkość ta stanowiła kluczowe ogniwo w analizie zależności pomiędzy parametrami nanodozymetrycznymi opisującymi strukturę toru pro-

mieniowania a odpowiedzią radiobiologiczną komórek, umożliwiając próbę powiązania opisu fizycznego na poziomie nanometrowym z obserwowanym efektem biologicznym.

Podstawowym elementem części symulacyjnej było wyznaczenie rozkładów wielkości klastrów jonizacyjnych dla protonów, cząstek α i jonów węgla. Symulacje przeprowadziłem z wykorzystaniem środowiska Geant4-DNA, stosując modele transportu cząstek w wodzie jako przybliżeniu środowiska biologicznego. Akty jonizacji zostały zarejestrowane w nanometrowych objętościach odpowiadających fragmentom DNA, co umożliwiło analizę przestrzennego rozmieszczenia jonizacji w skali istotnej dla procesów radiobiologicznych. Na podstawie uzyskanych rozkładów ICSD wyznaczyłem średni rozmiar klastra M_1, skumulowane prawdopodobieństwa F_k oraz parametr R_2.

Wraz ze wzrostem LET zwiększała się średnia liczba jonizacji oraz udział klastrów wielojonizacyjnych. Zależności te nie były jednak jednakowe dla wszystkich rodzajów cząstek. Protony, cząstki α i jony węgla mogły generować odmienne rozkłady ICSD przy zbliżonych wartościach LET. Potwierdza to, że LET nie opisuje jednoznacznie przestrzennej struktury jonizacji w skali nanometrowej, co wskazywano również we wcześniejszych modelach struktury toru [6, 7].

Średni rozmiar klastra M_1 dostarczył informacji o lokalnym zagęszczeniu jonizacji, lecz nie określił pełnego kształtu rozkładu. Rozkłady o podobnym M_1 mogły różnić się udziałem dużych klastrów, a tym samym wartościami F_k i R_2. Parametry F_k były zależne od wyboru progu k: dla niskich progów szybko następowało nasycenie, natomiast wysokie progi pomijały część zdarzeń o pośredniej liczebności. Parametr R_2, uwzględniający klastry o różnych rozmiarach, okazał się bardziej stabilnym deskryptorem zmian struktury toru. Jest to zgodne z kierunkiem rozwoju nanodozymetrii polegającym na poszukiwaniu parametrów opisujących pełniejszą strukturę rozkładów jonizacji [79, 132].

Analiza wykazała, że parametr R_2/M_1 może stanowić potencjalny nanodozymetryczny odpowiednik względnej skuteczności biologicznej (RBE), ponieważ jego zależność od LET wykazuje jakościowo podobne zachowanie. Wraz ze wzrostem LET parametr ten początkowo wzrastał, osiągając maksimum, którego położenie zależało od rodzaju promieniowania, a następnie malał, co jest zgodne z charakterystycznym dla wysokich gęstości jonizacji efektem *overkill*. W przeciwieństwie do zależności od LET, przedstawienie parametru R_2/M_1 w funkcji średniej wielkości klastra M_1 wykazało uniwersalne położenie maksimum dla analizowanych rodzajów promieniowania. Dla mniejszych wartości M_1 wzrost liczby jonizacji prowadził do zwiększenia udziału zdarzeń wielojonizacyjnych, natomiast po przekroczeniu maksimum kolejne jonizacje przyczyniały się głównie do rozbudowy istniejących klastrów, bez proporcjonalnego wzrostu parametru R_2. Zachowanie to może stanowić nanodozymetryczny odpowiednik nasycenia skuteczności biologicznej i efektu *overkill*. Przy bardzo wysokiej lokalnej gęstości jonizacji dalsze zwiększanie energii zdeponowanej w silnie uszkodzonym obszarze nie musi prowadzić do proporcjonalnego wzrostu prawdopodobieństwa inaktywacji komórki [4, 5].

Porównanie modelu nanodozymetrycznego opartego na parametrze R_2 z efektywnym przekrojem czynnym na inaktywację komórek umożliwiło interpretację dwóch parametrów modelu. Parametr proporcjonalności K, którego wartość jest porównywalna z typowym polem przekroju jądra komórkowego, może być interpretowany jako skala geometryczna obszaru komórkowego wrażliwego na działanie promieniowania. Z kolei parametr p może odzwierciedlać prawdopodobieństwo przekształcenia lokalnie skupionych jonizacji w uszkodzenia prowadzące do utraty zdolności proliferacyjnej komórek. Linie komórkowe charakteryzujące się mniejszym polem pod krzywą przeżywalności dla promieniowania referencyjnego, a więc większą promieniowrażliwością, wykazywały większe wartości parametru p. Należy jednak podkreślić, że interpretacja obu parametrów ma obecnie charakter efektywny i wymaga dalszej weryfikacji na większym, niezależnym zbiorze danych, obejmującym komórki o zróżnicowanych rozmiarach jąder, różnej promieniowrażliwości oraz poddane działaniu różnych rodzajów promieniowania.

Analiza RBE dla jonów węgla wykazała wzrost skuteczności biologicznej wraz z LET w zakresie do około 100 keV/µm. Nachylenie zależności RBE–LET było większe dla linii promieniooopornych niż dla promieniowrażliwych. Oznacza to, że wzrost gęstości jonizacji powodował relatywnie większy wzrost skuteczności biologicznej w komórkach początkowo bardziej odpornych na promieniowanie. Podobne zależności obserwowano dla linii różniących się sprawnością mechanizmu naprawy DNA [140]. Promieniowanie o wysokim LET zwiększa udział złożonych, skupionych uszkodzeń DNA, których prawidłowa naprawa jest utrudniona, co może częściowo przełamywać promieniooporność komórek [4, 5, 139].

Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzam, że główna hipoteza pracy została potwierdzona w zakresie objętym badaniami. Parametry nanodozymetryczne wykazują związek z odpowiedzią radiobiologiczną i dostarczają informacji niedostępnych w opisie opartym wyłącznie na LET. Jednocześnie odpowiedź biologiczna nie może zostać opisana za pomocą jednego parametru fizycznego. Zależy ona zarówno od struktury toru promieniowania, jak i od właściwości komórek.

Perspektywy dalszych badań

Najważniejszym kierunkiem dalszych badań jest niezależna walidacja zależności pomiędzy $\sigma_{5\%}$ i R_2 dla większej liczby linii komórkowych. Szczególnie wartościowe byłoby wykorzystanie linii izogenicznych różniących się aktywnością wybranych szlaków naprawy DNA. Pozwoliłoby to określić, czy parametr p można powiązać z konkretnymi właściwościami biologicznymi, takimi jak sprawność naprawy pęknięć dwuniciowych z wykorzystaniem szlaków NHEJ lub HR.

Testy klonogenne powinny zostać uzupełnione bezpośrednimi pomiarami uszkodzeń DNA i kinetyki ich naprawy. Analiza ognisk γH2AX i 53BP1, aberracji chromosomowych oraz liczby uszkodzeń resztkowych umożliwiłaby prześledzenie przejścia od

klastra jonizacyjnego do trwałej inaktywacji komórki. Pozwoliłoby to sprawdzić, czy parametr R_2 jest silniej związany z początkową liczbą uszkodzeń, ich złożonością czy z frakcją uszkodzeń, które nie zostały prawidłowo naprawione.

Istotnym kierunkiem rozwoju modelu symulacyjnego jest uwzględnienie etapu fizykochemicznego i chemicznego oddziaływania promieniowania. Rozszerzenie symulacji Geant4-DNA o procesy radiolizy wody, dyfuzję rodników i ich reakcje z DNA umożliwiłoby analizę zarówno bezpośrednich, jak i pośrednich mechanizmów powstawania uszkodzeń.

Kolejnym etapem powinno być zastosowanie bardziej realistycznego modelu materiału genetycznego, uwzględniającego podwójną helisę DNA, nukleosomy i wyższe poziomy organizacji chromatyny. Pozwoliłoby to zbadać wpływ lokalnej gęstości i dostępności chromatyny na powstawanie oraz naprawę uszkodzeń.

Należy również przeprowadzić analizę czułości parametrów ICSD na wymiary objętości czułej, współczynnik wypełnienia, sposób rozmieszczania cylindrów, ich liczbę w analizowanej objętości oraz metodę odtwarzania klastrów zerowych. Porównanie różnych modeli fizycznych Geant4-DNA umożliwiłoby ponadto oszacowanie niepewności modelowej wyznaczanych parametrów.

Zakres analizowanych cząstek powinien zostać rozszerzony o inne jony stosowane lub rozważane w radioterapii, między innymi hel i tlen, oraz o pola mieszane powstające w wyniku fragmentacji ciężkich jonów. Szczególnie istotna byłaby analiza warunków występujących w poszerzonym piku Bragga, gdzie wraz z głębokością zmieniają się energia, LET oraz udział poszczególnych składowych promieniowania.

Wykorzystanie wielkości nanodozymetrycznych w planowaniu radioterapii cząstkami naładowanymi nie stanowi już wyłącznie koncepcji przyszłościowej. Facchiano i wsp. opracowali oraz zaimplementowali w środowisku matRad system umożliwiający szybkie obliczanie i bezpośrednią optymalizację dawki klastrowej na podstawie zależnych od rodzaju i energii cząstki parametrów struktury jonizacji, wyznaczonych wcześniej w symulacjach struktury toru [145]. Metodę zastosowano do planów napromieniania protonami, jonami helu i węgla oraz zweryfikowano za pomocą symulacji MC. Wyniki te potwierdzają możliwość przeniesienia informacji o strukturze jonizacji ze skali nanometrowej do skali planowania leczenia. Dalszy rozwój tej koncepcji mógłby obejmować wykorzystanie parametru R_2, wyznaczanego na podstawie lokalnego rozkładu rodzajów i energii cząstek w poszczególnych wokselach, oraz połączenie go z biologiczną charakterystyką guza w celu bardziej zindywidualizowanego przewidywania RBE i optymalizacji dawki biologicznej.

Wyniki niniejszej pracy wskazują, że opis oddziaływania promieniowania z materiałem biologicznym powinien uwzględniać nie tylko ilość zdeponowanej energii, lecz również jej przestrzenną depozycję w skali DNA. Zaproponowany formalizm nie zastępuje klasycznych wielkości, takich jak LET i RBE, ale uzupełnia je o informację dotyczącą

lokalnej klasteryzacji jonizacji. Połączenie fizycznego opisu struktury toru z miarą promieniowrażliwości komórek stanowi obiecujący kierunek rozwoju bardziej uniwersalnego opisu biologicznych skutków działania cząstek naładowanych.

BIBLIOGRAFIA

[1] M. Joiner and A. van der Kogel. *Basic Clinical Radiobiology*. CRC Press, 5 edition, 2019.

[2] E.J. Hall and A.J. Giaccia. *Radiobiology for the Radiologist*. Lippincott Williams & Wilkins, 8 edition, 2018.

[3] R.R. Wilson. Radiological use of fast protons. *Radiology*, 47(5):487–491, 1946.

[4] M. Durante and J.S. Loeffler. Charged particles in radiation oncology. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 7(1):37–43, 2010.

[5] G. Kraft. Tumor therapy with heavy charged particles. *Progress in Particle and Nuclear Physics*, 45:S473–S544, 2000.

[6] W. Friedland and P. Kundrát. Track structure based modeling of radiation effects in biological systems. *Radiation Protection Dosimetry*, 183(1-2):89–95, 2019.

[7] M. Scholz and T. Elsässer. Biophysical models in ion beam radiotherapy. *Advances in Space Research*, 38(4):846–852, 2006.

[8] H. Rabus, C. Villagrasa, and S. Meylan. Nanodosimetry: Bridging the gap to radiation biophysics. *Radiation Measurements*, 106:297–304, 2018.

[9] B. Grosswendt. Nanodosimetry, from radiation physics to radiation biology. *Radiation Protection Dosimetry*, 115(1-4):1–9, 2005.

[10] P. Olko and J. Booz. Energy deposition by protons and alpha particles in spherical sites of nanometer to micrometer diameter. *Radiation and environmental biophysics*, 29(1):1–17, 1990.

[11] V. Conte, A. Selva, P. Colautti, G. Hilgers, H. Rabus, and A. Bantsar et al. Nanodosimetry: towards a new concept of radiation quality. *Radiation protection dosimetry*, 180(1-4):150–156, 2018.

[12] G. Garty, R. Schulte, S. Shchemelinin, C. Leloup, G. Assaf, and A. Breskin et al. A nanodosimetric model of radiation-induced clustered DNA damage yields. *Physics in Medicine & Biology*, 55(3):761–781, 2010.

[13] M. Filipek. Nanodosimetric Insights into DNA-Scale Damage Induced by Charged Particles Using Cell Survival Data. Dane Badawcze UW, https://doi.org/10.58132/0VJJUO, 2026.

[14] National Institute of Standards and Technology. Nist chemistry webbook: Water (H_2O). `https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C7732185&Mask=20`, 2024. Strona internetowa, dostęp: 30.09.2025.

[15] J.F. Ziegler, M.D. Ziegler, and J.P. Biersack. 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):1818–1823, 2010. 19th International Conference on Ion Beam Analysis.

[16] National Institute of Standards and Technology. ESTAR: Stopping powers and ranges for electrons, 2024. Accessed: 2025-09-30.

[17] M. Krämer and M. Durante. Ion beam transport calculations and treatment plans in particle therapy. *The European Physical Journal D*, 60(1):195–202, 2010.

[18] N.M. Winch, S.A. Watson, and J.F. Hunter. Modeling blur in various detector geometries for MeV radiography. In *Medical Imaging 2017: Physics of Medical Imaging*, volume 10132, pages 981–996. SPIE, 2017.

[19] E. Skrzypczak and Z. Szefliński. *Wstęp do fizyki jądra atomowego i cząstek elementarnych*. PWN,

Warszawa, 2002.

[20] R.D.H. Chu, D.F. Lewis, K.P.J. O'Hara, B.W. Buckland, F. Dinelle, and G. Van Dyk. Gafchromic^{TM} dosimetry media: A new high dose, thin film routine dosimeter and dose mapping tool. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part C. Radiation Physics and Chemistry*, 35(4):767–773, 1990. Special Issue Radiation Processing: State of the Art.

[21] M.C. Saylor, T.T. Tamargo, W.L. McLaughlin, H.M. Khan, D.F. Lewis, and R.D. Schenfele. A thin film recording medium for use in food irradiation. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part C. Radiation Physics and Chemistry*, 31(4):529–536, 1988. Special Issue Progress in Radiation Processing.

[22] S. Devic, N. Tomic, and N. Lewis. Reference radiochromic film dosimetry: Review of technical aspects. *Physica Medica*, 32(4):541–556, 2016.

[23] V. Grilj and D.J. Brenner. LET dependent response of GafChromic films investigated with MeV ion beams. *Physics in Medicine & Biology*, 63(24):245021, 2018.

[24] A.F. Resch, P.D. Heyes, H. Fuchs, N. Bassler, D. Georg, and H. Palmans. Dose-rather than fluence-averaged LET should be used as a single-parameter descriptor of proton beam quality for radiochromic film dosimetry. *Medical Physics*, 47(5):2289–2299, 2020.

[25] N. Metropolis and S. Ulam. The Monte Carlo Method. *Journal of the American Statistical Association*, 44(247):335–341, 1949.

[26] J. Spanier and E.M. Gelbard. *Monte Carlo Principles and Neutron Transport Problems*. Addison-Wesley, 1969.

[27] J.D. Watson and F.H. Crick. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(4356):737–738, 1953.

[28] DNA w jądrze komórkowym. `https://powtorkazbiologii.pl/dna-w-jadrze-komorkowym/`. Strona internetowa, dostęp: 10.01.2026.

[29] Introduction to genomics. `https://www.genome.gov/About-Genomics/Introduction-to-Genomics`. Strona internetowa, dostęp: 10.01.2026.

[30] S. Le Caër. Water radiolysis: Influence of oxide surfaces on H_2 production under ionizing radiation. *Water*, 3(1):235–253, 2011.

[31] M.I. Bepari, J. Meesungnoen, and J.P. Jay-Gerin. Early and transient formation of highly acidic pH spikes in water radiolysis under the combined effect of high dose rate and high linear energy transfer. *Radiation*, 3(3):165–182, 2023.

[32] S. Elmore. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, 35(4):495–516, 2007.

[33] K. Bensaad and K.H. Vousden. P53: New roles in metabolism. *Trends in cell biology*, 17(6):286–291, 2007.

[34] D. Billen. Spontaneous DNA damage and its significance for the negligible dose controversy in radiation protection. *Radiation research*, 124(2):242–245, 1990.

[35] E. Rahimian, A. Amini, F. Alikarami, S.M.S. Pezeshki, N.N. Saki, and M. Safa. Dna repair pathways as guardians of the genome: Therapeutic potential and possible prognostic role in hematologic neoplasms. *DNA repair*, 96:102951, 2020.

[36] R. Huang and P. Zhou. DNA damage repair: historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy. *Signal transduction and targeted therapy*, 6(1):254, 2021.

[37] I. Brandsma and D.C. van Gent. Pathway choice in DNA double strand break repair: observations of a balancing act. *Genome integrity*, 3(1):9, 2012.

[38] B.M. Stinson and J.J. Loparo. Repair of DNA double-strand breaks by the nonhomologous end joining pathway. *Annual review of biochemistry*, 90(1):137–164, 2021.

[39] E. Sonoda, H. Hochegger, A. Saberi, Y. Taniguchi, and S. Takeda. Differential usage of non-homologous end-joining and homologous recombination in double strand break repair. *DNA repair*, 5(9-10):1021–1029, 2006.

[40] T.T. Puck and P.I. Marcus. Action of X-rays on mammalian cells. *The Journal of experimental medicine*, 103(5):653–666, 1956.

[41] N.A.P. Franken, H.M. Rodermond, J. Stap, J. Haveman, and C. van Bree. Clonogenic assay of cells in vitro. *Nature protocols*, 1(5):2315–2319, 2006.

[42] I. Vermes, C. Haanen, H. Steffens-Nakken, and C. Reutellingsperger. A novel assay for apoptosis flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using

fluorescein labelled Annexin V. *Journal of immunological methods*, 184(1):39–51, 1995.

[43] R.C. Wilkins, B.C. Kutzner, M. Truong, J. Sanchez-Dardon, and J.R.N. McLean. Analysis of radiation-induced apoptosis in human lymphocytes: Flow cytometry using Annexin V and propidium iodide versus the neutral comet assay. *Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 48(1):14–19, 2002.

[44] World Health Organization et al. Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Technical report, International Atomic Energy Agency, Department of Nuclear Safety and Security, 2011.

[45] G.M. Ludovici, M.G. Cascone, T. Huber, A. Chierici, P. Gaudio, and S.O. De Souza et al. Cytogenetic bio-dosimetry techniques in the detection of dicentric chromosomes induced by ionizing radiation: A review. *The European Physical Journal Plus*, 136(5):482, 2021.

[46] E.P. Rogakou, D.R. Pilch, A.H. Orr, V.S. Ivanova, and W.M. Bonner. DNA double-stranded breaks induce histone H2AX phosphorylation on serine 139. *Journal of biological chemistry*, 273(10):5858–5868, 1998.

[47] A.N. Ivashkevich, O.A. Martin, A.J. Smith, C.E. Redon, W.M. Bonner, and R.F. Martin et al. γH2AX foci as a measure of DNA damage: a computational approach to automatic analysis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 711(1-2):49–60, 2011.

[48] N. Crosetto, A. Mitra, M.J. Silva, M. Bienko, N. Dojer, and Q. Wang et al. Nucleotide-resolution DNA double-strand break mapping by next-generation sequencing. *Nature methods*, 10(4):361–365, 2013.

[49] A. Biernacka, Y. Zhu, M. Skrzypczak, R. Forey, B. Pardo, and M. Grzelak et al. i-BLESS is an ultra-sensitive method for detection of DNA double-strand breaks. *Communications biology*, 1(1):181, 2018.

[50] E. Lipiec, R. Sekine, J. Bielecki, W.M. Kwiatek, and B.R. Wood. Molecular characterization of DNA double strand breaks with tip-enhanced raman scattering. *Angewandte Chemie*, 126(1):173–176, 2014.

[51] K. Sofińska, M. Cieśla, J. Barbasz, N. Wilkosz, E. Lipiec, and M. Szymoński et al. Double-strand breaks quantification by statistical length analysis of DNA fragments imaged with afm. *Measurement*, 198:111362, 2022.

[52] D. Pang, J.E. Rodgers, B.L. Berman, S. Chasovskikh, and A. Dritschilo. Spatial distribution of radiation-induced double-strand breaks in plasmid DNA as resolved by atomic force microscopy. *Radiation research*, 164(6):755–765, 2005.

[53] X. Xu, T. Nakano, M. Tsuda, R. Kanamoto, R. Hirayama, and A. Uzawa et al. Direct observation of damage clustering in irradiated DNA with atomic force microscopy. *Nucleic acids research*, 48(3):e18–e18, 2020.

[54] S. Kabacik, A. Mackay, N. Tamber, G. Manning, P. Finnon, and F. Paillier et al. Gene expression following ionising radiation: identification of biomarkers for dose estimation and prediction of individual response. *International journal of radiation biology*, 87(2):115–129, 2011.

[55] M. Li, W. Wang, S. Chen, Q. Shen, and R. Min. Radiation dose effect of DNA repair-related gene expression in mouse white blood cells. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 17(10):BR290, 2011.

[56] S.A. Bustin. Real-time, fluorescence-based quantitative PCR: a snapshot of current procedures and preferences. *Expert review of molecular diagnostics*, 5(4):493–498, 2005.

[57] K. Brzóska and M. Kruszewski. Toward the development of transcriptional biodosimetry for the identification of irradiated individuals and assessment of absorbed radiation dose. *Radiation and environmental biophysics*, 54(3):353–363, 2015.

[58] K.H. Chadwick and H.P. Leenhouts. A molecular theory of cell survival. *Physics in Medicine & Biology*, 18(1):78–87, 1973.

[59] J.F. Fowler. The linear-quadratic formula and progress in fractionated radiotherapy. *The British journal of radiology*, 62(740):679–694, 1989.

[60] D.J. Thomas. ICRU report 85: fundamental quantities and units for ionizing radiation. *Radiation Protection Dosimetry*, 150(4):550–552, 2012.

[61] H.O. Wyckoff, A. Allisy, and K. Lidén. The new special names of SI units in the field of ionizing radiations. *The British Journal of Radiology*, 49(581):476–477, 1976.

[62] J.A. Nickoloff, N. Sharma, and L. Taylor. Clustered DNA double-strand breaks: biological effects and relevance to cancer radiotherapy. *Genes*, 11(1):99, 2020.

[63] J. Stap, P.M. Krawczyk, C.H. Van Oven, G.W. Barendsen, J. Essers, and R. Kanaar et al.

Induction of linear tracks of DNA double-strand breaks by α-particle irradiation of cells. *Nature methods*, 5(3):261–266, 2008.

[64] J.C. Nenot, J. Brenot, D. Laurier, A. Rannou, and D. Thierry et al. ICRP publication 103. the 2007 recommendations of the international commission on radiological protection. Technical report, Institut de Radioprotection et de Surete Nucleaire-IRSN, 31, 2009.

[65] J.S. Mitchell. Actions of radiations on living cells. *Nature*, 158(4018):601–602, 1946.

[66] H. Nikjoo, D. Emfietzoglou, T. Liamsuwan, R. Taleei, D. Liljequist, and S. Uehara. Radiation track, DNA damage and response—a review. *Reports on Progress in Physics*, 79(11):116601, 2016.

[67] A. Rucinski, A. Biernacka, and R. Schulte. Applications of nanodosimetry in particle therapy planning and beyond. *Physics in Medicine & Biology*, 66(24):24TR01, 2021.

[68] A. Tartas, M. Filipek, M. Pietrzak, A. Wojcik, and B. Brzozowska. Modeling of dose and linear energy transfer homogeneity in cell nuclei exposed to alpha particles under various setup conditions. *International Journal of Radiation Biology*, 99(8):1248–1256, 2023.

[69] B. Pszczółkowska-Kępa. *Wpływ egzosomów na promieniowrażliwość komórek nowotworowych gruczołu krokowego w kontekście efektu sąsiedztwa indukowanego promieniowaniem jonizującym*. PhD thesis, Universtity of Warsaw, 2025.

[70] G.W. Barendsen. Responses of cultured cells, tumours, and normal tissues to radiations of different linear energy transfer. Technical report, Health Research Organization TNO, Rijswijk, Netherlands, 1968.

[71] W. Wang, C. Li, R. Qiu, Y. Chen, Z. Wu, and H. Zhang et al. Modelling of cellular survival following radiation-induced DNA double-strand breaks. *Scientific reports*, 8(1):16202, 2018.

[72] W.K. Weyrather, S. Ritter, M. Scholz, and G. Kraft. RBE for carbon track-segment irradiation in cell lines of differing repair capacity. *International Journal of Radiation Biology*, 75(11):1357–1364, 1999.

[73] International Atomic Energy Agency. Relative biological effectiveness in ion beam therapy. Technical Report 461, International Atomic Energy Agency, Vienna, 2008.

[74] H. Li. Biological effectiveness and relative biological effectiveness of ion beams for in-vitro cell irradiation. *Cancer Science*, 113(8):2807–2813, 2022.

[75] K.D. Held, H. Kawamura, T. Kaminuma, A.E.S. Paz, Y. Yoshida, and Q. Liu et al. Effects of charged particles on human tumor cells. *Frontiers in Oncology*, 6:23, 2016.

[76] F. Belloni, D. Bettega, P. Calzolari, R. Cherubini, P. Massariello, and L. Tallone. Inactivation cross sections for mammalian cells exposed to charged particles: a phenomenological approach. *Radiation Protection Dosimetry*, 99(1-4):199–202, 2002.

[77] M. Płódowska, D. Drzazga, A. Węgierek-Ciuk, P. Szyc, B. Brzozowska, and P. Wołowiec et al. Assessing the variation of DNA damage response of individual human cells exposed to photon radiation. *Radiation and Environmental Biophysics*, pages 1–13, 2026.

[78] G. Iliakis, E. Mladenov, and V. Mladenova. Necessities in the processing of DNA double strand breaks and their effects on genomic instability and cancer. *Cancers*, 11(11):1671, 2019.

[79] M. Mietelska, M. Pietrzak, A. Bancer, A. Ruciński, Z. Szefliński, and B. Brzozowska. 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):5094, 2024.

[80] T. Friedrich, U. Scholz, T. Elsässer, M. Durante, and M. Scholz. Systematic analysis of RBE and related quantities using a database of cell survival experiments with ion beam irradiation. *Journal of radiation research*, 54(3):494–514, 2013.

[81] T. Friedrich, T. Pfuhl, and M. Scholz. Update of the particle irradiation data ensemble (PIDE) for cell survival. *Journal of Radiation Research*, 62(4):645–655, 2021.

[82] T. Pfuhl, T. Friedrich, and M. Scholz. Comprehensive comparison of local effect model IV predictions with the particle irradiation data ensemble. *Medical Physics*, 49(1):714–726, 2022.

[83] GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung. PIDE Project. `https://www.gsi.de/work/forschung/biophysik/forschungsfelder/radiobiological_modelling/pide_project`. Strona internetowa, dostęp: 01.04.2024.

[84] A. Wojcik, I. Thierry-Chef, A.A. Friedl, and W. Rühm. Minimum reporting standards about dosimetry of radiation sources used in radiation research studies. *Radiation and Environmental Biophysics*, 63(2):181–183, 2024.

[85] M. Belli, D. Bettega, P. Calzolari, F. Cera, R. Cherubini, and M. Dalla Vecchia et al. Inactivation of human normal and tumour cells irradiated with low energy protons. *International Journal of Radiation Biology*, 76(6):831–839, 2000.

[86] C. Tsuruoka, M. Suzuki, T. Kanai, and K. Fujitaka. LET and ion species dependence for cell killing in normal human skin fibroblasts. *Radiation research*, 163(5):494–500, 2005.

[87] Y. Furusawa, K. Fukutsu, M. Aoki, H. Itsukaichi, K. Eguchi-Kasai, and H. Ohara et al. Inactivation of aerobic and hypoxic cells from three different cell lines by Accelerated $^{3}He^{-}$,$^{12}C^{-}$ and $^{20}Ne^{-}$ ion beams. *Radiation research*, 154(5):485–496, 2000.

[88] N. Hamada, T. Funayama, S. Wada, T. Sakashita, T. Kakizaki, and M. Ni et al. LET-dependent survival of irradiated normal human fibroblasts and their descendents. *Radiation research*, 166(1 Pt 1):24–30, 2006.

[89] N. Liu, P. Du, X. Xiao, Y. Liu, Y. Peng, and C. Yang et al. Microfluidic-based mechanical phenotyping of androgen-sensitive and non-sensitive prostate cancer cells lines. *Micromachines*, 10(9):602, 2019.

[90] M.E. Oraiopoulou, E. Tzamali, G. Tzedakis, A. Vakis, J. Papamatheakis, and V. Sakkalis. In vitro/in silico study on the role of doubling time heterogeneity among primary glioblastoma cell lines. *BioMed research international*, 2017(1):8569328, 2017.

[91] A. Torsvik, D. Stieber, P. Ø. Enger, A. Golebiewska, A. Molven, and A. Svendsen et al. U-251 revisited: genetic drift and phenotypic consequences of long-term cultures of glioblastoma cells. *Cancer medicine*, 3(4):812–824, 2014.

[92] H. Yan, D. J. Carlson, R. Abolfath, and W. Liu. Microdosimetric investigation and a novel model of radiosensitization in the presence of metallic nanoparticles. *Pharmaceutics*, 13(12):2191, 2021.

[93] J.G. Ummadi, V.S. Joshi, P.R. Gupta, A.K. Indra, and D. Koley. Single-cell migration as studied by scanning electrochemical microscopy. *Analytical Methods*, 7(20):8826–8831, 2015.

[94] D. Suárez-García, M.A. Cortés-Giraldo, and A. Bertolet. A systematic analysis of the particle irradiation data ensemble in the key of the microdosimetric kinetic model: Should clonogenic data be used for clinical relative biological effectiveness? *Radiotherapy and Oncology*, 185(109730):109730, 2023.

[95] Y. Akovali. ^{241}Am decay from 1994–98 (NSR). *NDS*, 72:191, 1994.

[96] Z. Szefliński, M. Filipek, J. Gotlib, and U. Kaźmierczak. Radiobiological research and dosimetry using a flat alpha source. In *RAP conference proceedings*, volume 37392, 2020.

[97] M.R. Winberg and R.S. Garcia. National low-level waste management program radionuclide report series, Volume 14: Americium-241. Technical report, 1995.

[98] E. Staaf, K. Brehwens, S. Haghdoost, K. Pachnerová-Brabcová, and J. Czub et al. Characterisation of a setup for mixed beam exposures of cells to ^{241}Am alpha particles and X-rays. *Radiation protection dosimetry*, 151(3):570–579, 2012.

[99] D.A. Low, W.B. Harms, S. Mutic, and J.A. Purdy. A technique for the quantitative evaluation of dose distributions. *Medical Physics*, 25(5):656–661, 1998.

[100] K.R. Stone, D.D. Mickey, H. Wunderli, G.H. Mickey, and D.F. Paulson. Isolation of a human prostate carcinoma cell line DU 145. *International Journal of Cancer*, 21(3):274–281, 1978.

[101] A. Greszta, A. Nosorowska, M. Rychlik, and B. Kociński. Charakterystyka wzrostu i morfologii nowotworowych linii komórkowych PC3 i DU145 w warunkach hodowli *in vitro*. Raport ZPS, Wydział Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego, 2026.

[102] M.E. Kaighn, K.S. Narayan, Y. Ohnuki, J.F. Lechner, and L.W. Jones. Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line PC-3. *Investigative urology*, 17(1):16—23, 1979.

[103] S. Park, R.R. Ang, S.P. Duffy, J. Bazov, K.N. Chi, and P.C Black et al. Morphological differences between circulating tumor cells from prostate cancer patients and cultured prostate cancer cells. *PloS one*, 9(1):e85264, 2014.

[104] M.M. Webber, D. Bello, and S. Quader. Immortalized and tumorigenic adult human prostatic epithelial cell lines: characteristics and applications Part 2. Tumorigenic cell lines. *Prostate*, 30(1):58–64, 1997.

[105] S. Skvortsov, I.I. Skvortsova, D. G. Tang, and A. Dubrovska. Concise review: prostate cancer stem cells: current understanding. *Stem Cells*, 26(6):1457–1468, 2008.

[106] L. Chaiswing, W. Zhong, and T.D. Oberley. Distinct redox profiles of androgen-responsive and androgen-independent prostate cancer cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, 12(6):1070–1082, 2013.

[107] H. Nikjoo, P. O'Neill, D.T. Goodhead, and M. Terrissol. Computational modelling of low-energy electron-induced DNA damage by early physical and chemical events. *International Journal of Radiation Biology*, 77(3):241–264, 2001.

[108] J. Elgqvist, O. Vilhelmsson Timmermand, E. Larsson, and S.E. Strand. Radiosensitivity of Prostate Cancer Cell Lines for Irradiation from Beta Particle-emitting Radionuclide ^{177}Lu Compared to Alpha Particles and Gamma Rays. *Anticancer Research*, 36(1):103–109, 2016.

[109] BioRender. `https://www.biorender.com`. Strona internetowa, dostęp: 20.04.2026.

[110] B. Brzozowska, M. Gałecki, A. Tartas, J. Ginter, U. Kaźmierczak, and L. Lundholm. Freeware tool for analysing numbers and sizes of cell colonies. *Radiat. Environ. Biophys.*, 58(1):109–117, 2019. program do pobrania na stronie `https://www.fuw.edu.pl/~bbrzozow/FizMed/countPHICS.html`.

[111] M. Ahmed, S. Bicher, R.D. Stewart, S. Bartzsch, T.E. Schmid, and S.E. Combs et al. Dosimetric quantities and cell survival for spatially fractionated radiation therapy. *Frontiers in Physics*, 10, 2023.

[112] S. Agostinelli, J. Allison, and K. Amako et al. Geant4—a simulation toolkit. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A*, 506(3):250–303, 2003.

[113] J. Allison, K. Amako, J. Apostolakis, et al. Recent developments in Geant4. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A*, 835:186–225, 2016.

[114] J. Cugnon, C. Volant, and S. Vuillier. Improved intranuclear cascade model for nucleon-nucleus interactions. *Nuclear Physics A*, 620(3-4):475–509, 1997.

[115] D. Mancusi, A. Boudard, J. Cugnon, J.C. David, P. Kaitaniemi, and S. Leray. Extension of the Liège intranuclear-cascade model to reactions induced by light nuclei. *Physical Review C*, 90(5):054602, 2014.

[116] H.N. Tran, J. Archer, G. Baldacchino, J.M.C. Brown, F. Chappuis, and G.A.P. Cirrone et al. Review of chemical models and applications in Geant4-DNA: Report from the ESA BioRad III project. *Medical Physics*, 51(9):5873–5889, 2024.

[117] S. Incerti, I. Kyriakou, M.A. Bernal, M.C. Bordage, Z. Francis, and S. Guatelli et al. Geant4-DNA example applications for track structure simulations in liquid water: A report from the Geant4-DNA Project. *Medical Physics*, 45(8):e722–e739, 2018.

[118] M.A. Bernal, M.C. Bordage, J.M.C. Brown, M. Davídková, E. Delage, and Z. El Bitar 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. *Phys. Med.*, 31(8):861–874, 2015.

[119] S. Incerti, A. Ivanchenko, M. Karamitros, A. Mantero, P. Moretto, and H.N. Tran et al. Comparison of GEANT4 very low energy cross section models with experimental data in water. *Medical Physics*, 37(9):4692–4708, 2010.

[120] S. Incerti, G. Baldacchino, M. Bernal, R. Capra, C. Champion, and Z. Francis et al. The Geant4-DNA project. *International Journal of Modeling, Simulation, and Scientific Computing*, 01(02):157–178, 2010.

[121] J. L. Dye. Chemistry. Electrons as anions. *Science*, 301(5633):607–608, 2003.

[122] C.C. Fritsch and J. Langowski. Chromosome dynamics, molecular crowding, and diffusion in the interphase cell nucleus: a monte carlo lattice simulation study. *Chromosome Research*, 19(1):63–81, 2011.

[123] D.T. Goodhead. Initial events in the cellular effects of ionizing radiations: Clustered damage in DNA. *International Journal of Radiation Biology*, 65(1):7–17, 1994. PMID: 7905912.

[124] M. Pietrzak. *Nanodosimetric characteristic of carbon ion beam—experiments and Monte Carlo simulations*. PhD thesis, Universtity of Warsaw, 2023.

[125] B.D. Yard, D.J. Adams, E.K. Chie, P. Tamayo, J.S. Battaglia, and P. Gopal et al. A genetic basis for the variation in the vulnerability of cancer to DNA damage. *Nature communications*, 7(1):11428, 2016.

[126] N. Matsufuji. Selection of carbon beam therapy: biophysical models of carbon beam therapy. *Journal of radiation research*, 59(suppl_1):i58–i62, 2018.

[127] J. Gotlib. Badanie właściwości płaskiego źródła ^{241}Am służącego do badań radiobiologicznych. Praca licencjacka, Uniwersytet Warszawski, Warszawa, 2019.

[128] J.H. Ware, Z. Zhou, J. Guan, A.R. Kennedy, and L. Kopelovich. Establishment of human cancer cell clones with different characteristics: a model for screening chemopreventive agents. *Anticancer research*, 27(1A):1–16, 2007.

[129] M. Pietrzak, M. Mietelska, A. Bancer, A. Rucinski, and B. Brzozowska. Geant4-DNA modeling of nanodosimetric quantities in the Jet Counter for alpha particles. *Physics in Medicine & Biology*, 66(22):225008, 2021.

[130] B Grosswendt. Nanodosimetry, the metrological tool for connecting radiation physics with radia-

tion biology. *Radiation protection dosimetry*, 122(1-4):404–414, 2006.

[131] H. Rabus. Nanodosimetry - on the tracks of biological radiation effectiveness. *arXiv preprint arXiv:1903.06408*, 2019.

[132] B. Faddegon, E.A. Blakely, L. Burigo, Y. Censor, I. Dokic, and N. Domínguez Kondo 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 & Biology*, 68(17):175013, 2023.

[133] A. Verkhovtsev, E. Surdutovich, and A.V. Solov'yov. Phenomenon-based evaluation of relative biological effectiveness of ion beams by means of the multiscale approach. *Cancer Nanotechnology*, 10(1):4, 2019.

[134] A. Helm and C. Fournier. High-LET charged particles: radiobiology and application for new approaches in radiotherapy. *Strahlentherapie und Onkologie*, 199(12):1225–1241, 2023.

[135] P. Kundrát, W. Friedland, J. Becker, M. Eidemüller, A. Ottolenghi, and G. Baiocco. Analytical formulas representing track-structure simulations on DNA damage induced by protons and light ions at radiotherapy-relevant energies. *Scientific Reports*, 10(1):15775, 2020.

[136] S.C. Lee, P.M. Bemiller, J.N. Bemiller, and A.J. Pappelis. Nuclear area changes in senescing human diploid fibroblasts. *Mechanisms of Ageing and Development*, 7:417–424, 1978.

[137] L. Seaman, W. Meixner, J. Snyder, and I. Rajapakse. Periodicity of nuclear morphology in human fibroblasts. *Nucleus*, 6(5):408–416, 2015.

[138] H. Paganetti, A. Niemierko, M. Ancukiewicz, L.E. Gerweck, M. Goitein, and J.S. Loeffler et al. Relative biological effectiveness (RBE) values for proton beam therapy. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 53(2):407–421, 2002.

[139] W. Tinganelli and M. Durante. Carbon ion radiobiology. *Cancers*, 12(10):3022, 2020.

[140] W.K. Weyrather, S. Ritter, M. Scholz, and G. Kraft. RBE for carbon track-segment irradiation in cell lines of differing repair capacity. *International Journal of Radiation Biology*, 75(11):1357–1364, 1999.

[141] W. Tinganelli, M. Durante, R. Hirayama, M. Krämer, A. Maier, and W. Kraft-Weyrather et al. Kill-painting of hypoxic tumours in charged particle therapy. *Scientific reports*, 5(1):17016, 2015.

[142] O. Sokol, E. Scifoni, W. Tinganelli, W. Kraft-Weyrather, J. Wiedemann, and A. Maier et al. Oxygen beams for therapy: advanced biological treatment planning and experimental verification. *Physics in Medicine & Biology*, 62(19):7798–7813, 2017.

[143] M. Scholz and G Kraft. Track structure and the calculation of biological effects of heavy charged particles. *Advances in Space Research*, 18(1-2):5–14, 1996.

[144] E.H. Kim, M.S. Kim, K.H. Lee, S. Sai, Y.K. Jeong, and J.S. Koh et al. Effect of low-and high-linear energy transfer radiation on in vitro and orthotopic in vivo models of osteosarcoma by activation of caspase-3 and-9. *International journal of oncology*, 51(4):1124–1134, 2017.

[145] S. Facchiano, R. Ortiz, R. Cristoforetti, O. Jaekel, B. Faddegon, and N. Wahl et al. An ion treatment planning framework for inclusion of nanodosimetric ionization detail through cluster dose. *arXiv preprint arXiv:2505.09667*, 2025.

[146] F. Antonelli, A. Campa, G. Esposito, P. Giardullo, M. Belli, and V. Dini et al. Induction and repair of DNA DSB as revealed by H2AX phosphorylation foci in human fibroblasts exposed to low- and high-LET radiation: relationship with early and delayed reproductive cell death. *Radiation research*, 183(4):417–431, 2015.

[147] M.R. Raju, Y. Eisen, S. Carpenter, and W.C. Inkret. Radiobiology of α particles: III. cell inactivation by α-particle traversals of the cell nucleus. *Radiation research*, 128(2):204, 1991.

[148] C. Fournier, M. Scholz, W.K. Weyrather, H.P. Rodemann, and G. Kraft. Changes of fibrosis-related parameters after high- and low-LET irradiation of fibroblasts. *International Journal of Radiation Biology*, 77(6):713–722, 2001.

[149] P. Chaudhary, T.I. Marshall, F.M. Perozziello, L. Manti, F.J. Currell, and F. Hanton et al. Relative biological effectiveness variation along monoenergetic and modulated Bragg peaks of a 62-MeV therapeutic proton beam: a preclinical assessment. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 90(1):27–35, 2014.

[150] L. Manti, L. Campajola, F.M. Perozziello, J.N. Kavanagh, and G. Schettino. Development of a low-energy particle irradiation facility for the study of the biological effectiveness of the ion track end. *Journal of Physics: Conference Series*, 373:012019, 2012.

[151] M. Belli, D. Bettega, P. Calzolari, R. Cherubini, G. Cuttone, and M. Durante 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):597–607, 2008.

[152] R. Cox, J. Thacker, D. T. Goodhead, W.K. Masson, and R.E. Wilkinson. Inactivation and mutation of cultured mammalian cells by aluminium characteristic ultrasoft X-rays. *International Journal of Radiation Biology and Related Studies in Physics, Chemistry and Medicine*, 31(6):561–576, 1977.

[153] R. Cox and W.K. Masson. Mutation and inactivation of cultured mammalian cells exposed to beams of accelerated heavy ions. *International Journal of Radiation Biology and Related Studies in Physics, Chemistry and Medicine*, 36(2):149–160, 1979.

[154] R. Cox, J. Thacker, D.T. Goodhead, and R.J. Munson. Mutation and inactivation of mammalian cells by various ionising radiations. *Nature*, 267(5610):425–427, 1977.

[155] E.A. Blakely, C.A. Tobias, T.C. Yang, K.C. Smith, and J.T. Lyman. Inactivation of human kidney cells by high-energy monoenergetic heavy-ion beams. *Radiation research*, 80(1):122–160, 1979.

[156] M.R. Raju, E. Bain, S.G. Carpenter, R.A. Cox, and J.B. Robertson. A heavy particle comparative study. part II: cell survival versus depth. *The british journal of radiology*, 51(609):704–711, 1978.

[157] M. Wedenberg, B.K. Lind, I. Toma-Daşu, H. Rehbinder, and A. Brahme. Analytical description of the let dependence of cell survival using the repairable-conditionally repairable damage model. *Radiation research*, 174(4):517–525, 2010.

[158] M. Suzuki, M. Watanabe, T. Kanai, Y. Kase, F. Yatagai, and T. Kato et al. LET dependence of cell death, mutation induction and chromatin damage in human cells irradiated with accelerated carbon ions. *Advances in Space Research*, 18(1-2):127–136, 1996.

[159] K. Tsuboi, Y. Tsuchida, T. Nose, and K. Ando. Cytotoxic effect of accelerated carbon beams on glioblastoma cell lines with p53 mutation: clonogenic survival and cell-cycle analysis. *International Journal of Radiation Biology*, 74(1):71–79, 1998.

[160] M. Suzuki, Y. Kase, H. Yamaguchi, T. Kanai, and K. Ando. Relative biological effectiveness for cell-killing effect on various human cell lines irradiated with heavy-ion medical accelerator in Chiba (HIMAC) carbon-ion beams. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 48(1):241–250, 2000.

[161] T. Tsuboi, K.and Moritake, Y. Tsuchida, A. Tokuuye, K.and Matsumura, and K. Ando. Cell cycle checkpoint and apoptosis induction in glioblastoma cells and fibroblasts irradiated with carbon beam. *Journal of radiation research*, 48(4):317–325, 2007.

[162] M. Wada, M. Suzuki, C. Liu, Y. Kaneko, S. Fukuda, and K. Ando et al. Modeling the biological response of normal human cells, including repair processes, to fractionated carbon beam irradiation. *Journal of radiation research*, 54(5):798–807, 2013.

[163] M.T. Chew, D.A. Bradley, N. Suzuki, M.and Matsufuji, T. Murakami, and B. Jones et al. The radiobiological effects of He, C and Ne ions as a function of let on various glioblastoma cell lines. *Journal of radiation research*, 60(2):178–188, 2019.

[164] S.E. Combs, J. Bohl, T. Elsasser, D. Weber, K.J.and Schulz-Ertner, and J. Debus et al. Radiobiological evaluation and correlation with the local effect model (LEM) of carbon ion radiation therapy and temozolomide in glioblastoma cell lines. *International Journal of Radiation Biology*, 85(2):126–137, 2009.

[165] O. Zahradnicek, P. Kundrat, I. Danilova, P. Blaha, K. Pachnerova Brabcova, and A. Jelinek Michaelidesova et al. Variations among glioblastoma cell lines in boron-mediated enhancement of cell killing by proton beams. *Scientific Reports*, 15(1):29453, 2025.

[166] K. Tsuboi, Y. Tsuchida, T. Nose, and K. Ando. Cytotoxic effect of accelerated carbon beams on glioblastoma cell lines with p53 mutation: clonogenic survival and cell-cycle analysis. *International Journal of Radiation Biology*, 74(1):71–79, 1998.

[167] S. Valable, A.N. Gérault, G. Lambert, M.M. Leblond, C. Anfray, and J. Toutain et al. Impact of hypoxia on carbon ion therapy in glioblastoma cells: Modulation by let and hypoxia-dependent genes. *Cancers*, 12(8):2019, 2020.

[168] M. Beuve, G. Alphonse, M. Maalouf, A. Colliaux, P. Battiston-Montagne, and P. Jalade et al. Radiobiologic parameters and local effect model predictions for head-and-neck squamous cell carcinomas exposed to high linear energy transfer ions. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 71(2):635–642, 2008.

[169] Y. Wakisaka, K. Minami, N. Okada, T. Tsubouchi, N. Hamatani, and M Yagi et al. Treatment planning of carbon ion radiotherapy for prostate cancer based on cellular experiments with PC3 human prostate cancer cells. *Physica Medica*, 107(102537):102537, 2023.

[170] J. Nilsson, M.P. Bauden, J.M. Nilsson, S.E. Strand, and J. Elgqvist. Cancer cell radiobiological studies using in-house-developed α-particle irradiator. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceu-*

ticals, 30(9):386–394, 2015.

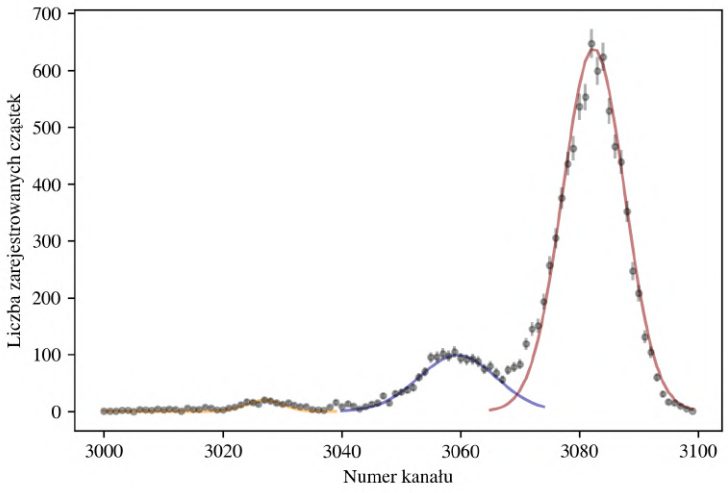
[171] E. Mara, M. Clausen, S. Khachonkham, S. Deycmar, C. Pessy, and W. Dörr et al. Investigating the impact of alpha/beta and LET_d on relative biological effectiveness in scanned proton beams: An in vitro study based on human cell lines. *Medical physics*, 47(8):3691–3702, 2020.

DODATEK A
KALIBRACJE

Kalibracja detektora

Pomiary wykonałem zgodnie z opisem zawartym w rozdziale 3.1.2 z zastosowaniem detektora krzemowego.

W pomiarach kalibracyjnych wykorzystałem źródło spektroskopowe ^{241}Am o aktywności równej 8,488 kBq emitujące cząstki α o energiach opisanych w rozdziale 3.1.2. Przed detektorem umieściłem aluminiowy okrągły kolimator o średnicy równej 1,5 mm. Otrzymane widmo energetyczne wraz z dopasowanymi krzywymi Gaussa przedstawiłem na rysunku A.1.



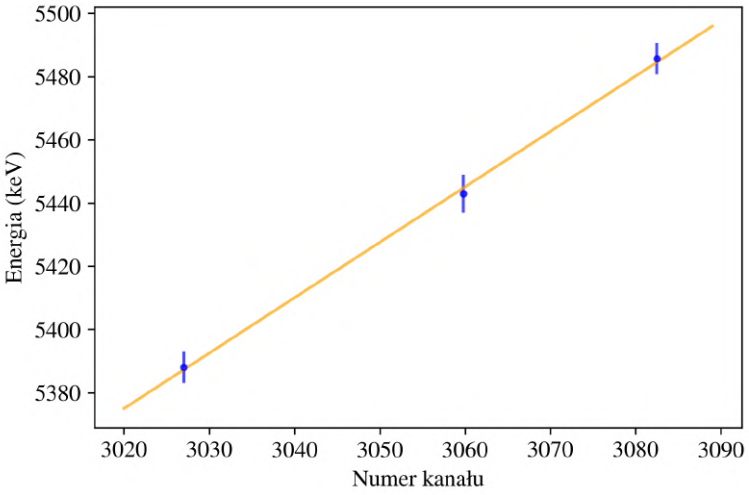
Rysunek A.1. Widmo cząstek α zarejestrowane przez detektor półprzewodnikowy w czasie 100 s z dopasowanymi krzywymi Gaussa. Kolorem szarym zaznaczyłem punkty pomiarowe, natomiast pomarańczowym, niebieskim i czerwonym funkcje Gaussa dopasowane do poszczególnych pików odpowiadających kolejno energiom: 5,389, 5,443 i 5,486 MeV zgodnym z rysunkiem 3.2.

Dopasowanie funkcji Gaussa do zarejestrowanych pików umożliwiło odczytanie położenie centrów, odpowiadających opisanym energiom emitowanych cząstek α. Dane te umożliwiły wyznaczenie prostej kalibracyjnej o równaniu:

$$E = ak + b, \tag{A.1}$$

gdzie: E - energia cząstek α, k - numer kanału, a i b - współczynniki kalibracyjne. Wykres kalibracyjny został przedstawiony na rysunku A.2. Otrzymane współczynniki kalibracyjne to:

$$a = (1{,}753 \pm 0{,}057)\ \frac{\text{keV}}{\text{kanał}},$$
$$b = (82 \pm 17)\ \text{keV}.$$



Rysunek A.2. Kalibracja energetyczna detektora. Kolorem niebieskim zaznaczono punkty pomiarowe, dopasowana funkcja kalibracyjna została zaznaczona pomarańczową linią.

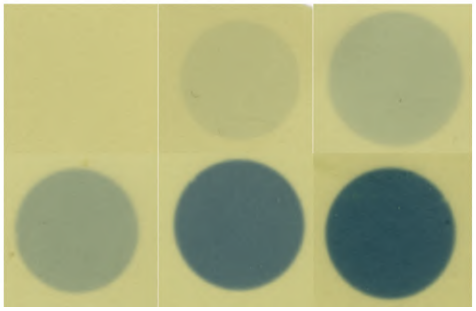
Kalibracja filmów radiochromowych

Średnia energia cząstek α emitowanych ze źródła ^{241}Am wynosi 4,92 MeV [96]. Na podstawie symulacji wykonanych w progrmaie TRIM wiemy, że po przejściu przez umieszczoną warstwę folii mylar o grubości 6 µm ich energia zostaje zredukowana do $(4{,}165 \pm 0{,}018)$ MeV, a zasięg cząstek o takiej energii w warstwie aktywnej filmów radiochromowych wynosi $(23{,}5 \pm 0{,}6)$ µm. Ze względu na grubość warstwy aktywnej filmu równą 14 µm, nie cała energia docierających tam cząstek α będzie w niej deponowana.

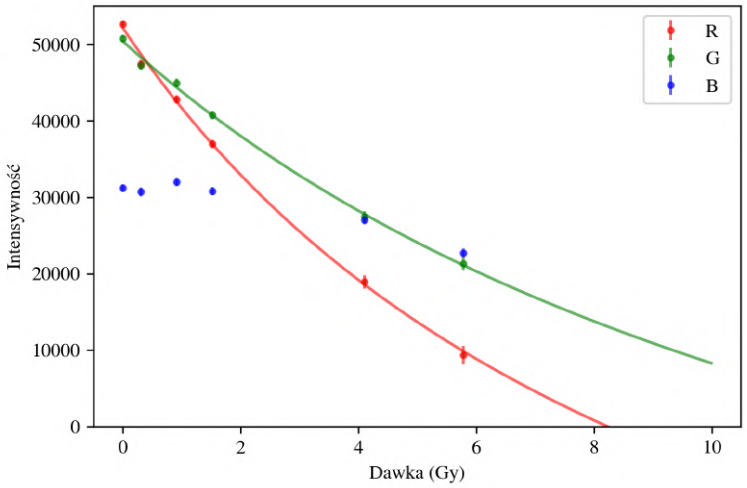
Bazując na symulacjach wykonanych w środowisku Geant4, wyznaczyłem średnią energię deponowaną przez pojedynczą cząstkę α w warstwie aktywnej filmu Gafchromic równą $(2{,}07 \pm 0{,}04)$ MeV. Na podstawie powyższych wyników oszacowałem moc dawki dla geometrii pomiarowej (rysunek 3.4). Wynosi ona 554 $\frac{\text{mGy}}{\text{h}}$, z czego wynika, że czas

potrzebny do dostarczenia w warstwie aktywnej dawki równej 1 Gy wynosi 108 minut.

Korzystając z układu przedstawionego na rysunku 3.4, napromieniłem filmy Gafchromic EBT3-Unlaminated. Dawki dostarczone do filmów, wynosiły 0,3, 0,9, 1,5, 4,1 i 5,8 Gy. Umieszczałem je pod kolimatorem znajdującym się na detektorze. Dzięki temu otrzymałem napromieniony obszar o średnicy 1 cm, z którego odczytałem poziom intensywności koloru. Zeskanowane filmy zaprezentowałem na rysynku A.3. Wykres kalibracyjny umieściłem na rysunku A.4. Parametry dopasowania funkcji danej wzorem 3.1 przedstawiłem w tabeli A.1.



Rysunek A.3. Zeskanowane filmy kalibracyjne napromienione w układzie z detektorem krzemowym.



Rysunek A.4. Wykres kalibracyjny filmów EBT3-Unlaminated. Do koloru zielonego i czerwonego dopasowałem funkcję kalibracyjną daną wzorem 3.1.

Tabela A.1. Parametry dopasowania funkcji kalibracyjnej 3.1 filmów EBT3–Unlaminated.

Parametr	R	G
a	$(-6{,}4 \pm 2{,}6) \cdot 10^4$	$(-5{,}48 \pm 0{,}35) \cdot 10^4$
b (Gy)	$(1{,}16 \pm 0{,}62) \cdot 10^6$	$(1{,}578 \pm 0{,}040) \cdot 10^6$
c (Gy)	$-10{,}1 \pm 3{,}2$	$-15{,}0 \pm 2{,}1$

Tak przygotowana krzywa umożliwiła pomiar dawki dostarczonej do komórek podczas przeprowadzenia testu przeżywalności dla komórek PC3 i DU145 w zakresie dawek od 0 do 2 Gy.

DODATEK B

WYBRANE DANE BIOLOGICZNE

W tabeli B.1 zestawiłem 151 eksperymentów radiobiologicznych pochodzących z 32 pozycji literaturowych i obejmujących 12 linii komórkowych. Analizowany zbiór zawiera 94 eksperymenty wykonane dla sześciu linii komórek prawidłowych: AG01522, M10, HF19, T1, HE i NB1RGB, oraz 57 eksperymentów dotyczących sześciu linii nowotworowych: U87, U251, SCC25, SQ20B, PC3 i DU145.

Zestawienie obejmuje 95 eksperymentów przeprowadzonych z wykorzystaniem jonów węgla, 32 eksperymenty protonowe oraz 24 eksperymenty z cząstkami α. Wartości LET analizowanego promieniowania mieszczą się w zakresie od 1,1 do 314,4 keV/µm. Jako promieniowanie referencyjne stosowano promieniowanie γ emitowane przez źródła ^{60}Co i ^{137}Cs, kilowoltowe promieniowanie rentgenowskie generowane przez lampy rentgenowskie oraz megawoltowe promieniowanie X z akceleratora liniowego o napięciu przyspieszającym 4 MV.

Dla każdego eksperymentu podałem współczynniki α i β modelu LQ wyznaczone dla badanego promieniowania oraz odpowiadające im współczynniki α_{ref} i β_{ref} dla promieniowania referencyjnego wyznaczone metodą bootstrapową. Na ich podstawie wyznaczyłem przekrój czynny na inaktywację komórek $\sigma_{5\%}$ oraz wartości względnej skuteczności biologicznej dla poziomów przeżycia równych 5%, 10% i 20%.

Spośród 151 zestawów danych w 56 przypadkach otrzymałem $\beta = 0$ dla badanego promieniowania, natomiast w 14 przypadkach $\beta_{\mathrm{ref}} = 0$ dla promieniowania referencyjnego. W 10 eksperymentach oba współczynniki były równe zeru, dlatego wyznaczona wartość RBE nie zależała w nich od przyjętego poziomu przeżycia.

Dodatkowe symbole umieszczone przy odnośnikach literaturowych opisują sposób pozyskania lub opracowania danych. Pustym kwadratem oznaczono 12 przypadków, w których w bazie PIDE występowała ujemna wartość β_{ref}, a pełnym kwadratem 24 przypadki z ujemną wartością β dla badanego promieniowania. Pusty trójkąt zastosowano dla 6 eksperymentów, których publikacje znajdowały się w bazie PIDE, lecz nie

zawierały dopasowanych parametrów modelu, natomiast pełny trójkąt wskazuje 28 zestawów danych pozyskanych z publikacji spoza bazy PIDE.

Tabela B.1. Wybrane dane biologiczne.

Ref.	Linia komórkowa	Promieniowanie referencyjne	Jon	LET (keV/µm)	α (Gy^{-1})	β (Gy^{-2})	α_{ref} (Gy^{-1})	β_{ref} (Gy^{-2})	$\sigma_{5\%}$ (μm^2)	$RBE_{5\%}$	$RBE_{10\%}$	$RBE_{20\%}$
□[88]	AG01522	^{60}Co	^{4}He	16,642 ± 0,034	0,649	0	0,453	0	1,731 ± 0,045	1,434	1,434	1,434
■[146]	AG01522	^{137}Cs	^{4}He	129,80 ± 0,48	2,438	0	0,773	0	50,7 ± 1,1	3,153	3,153	3,153
△[147]	AG01522	^{60}Co	^{4}He	50,2 ± 1,3	2,887	0,305	0,410	0,100	27,9 ± 2,4	4,028	4,289	4,657
△[147]	AG01522	^{60}Co	^{4}He	56,41000 ± 0,00050	3,685	0	0,410	0,100	33,30 ± 0,45	4,675	5,078	5,630
△[147]	AG01522	^{60}Co	^{4}He	107,20 ± 0,25	2,139	0,321	0,410	0,100	49,8 ± 7,1	3,198	3,365	3,603
△[147]	AG01522	^{60}Co	^{4}He	192,672 ± 0,039	1,032	0	0,410	0,100	31,8 ± 2,1	1,309	1,422	1,576
□[88]	AG01522	^{60}Co	^{12}C	75,77 ± 0,41	1,353	0	0,453	0	16,4 ± 1,2	2,990	2,990	2,990
□[88]	AG01522	^{60}Co	^{12}C	109,4 ± 1,3	1,760	0	0,453	0	30,9 ± 1,5	3,888	3,888	3,888
[146]	AG01522	^{137}Cs	^{12}C	39,758 ± 0,041	1,028	0	0,773	0	6,55 ± 0,82	1,329	1,329	1,329
△[148]	AG01522	250 kVp	^{12}C	165,1 ± 4,2	1,387	0	0,473	0,034	36,7 ± 2,4	2,191	2,302	2,438
△[148]	AG01522	250 kVp	^{12}C	16,63 ± 0,15	0,395	0,113	0,473	0,034	3,28 ± 0,17	1,284	1,237	1,174
[149]	AG01522	225 kVp	^{1}H	1,1070 ± 0,0016	0,771	0,110	0,661	0,083	0,2450 ± 0,0060	1,160	1,161	1,162
[149]	AG01522	225 kVp	^{1}H	4,45 ± 0,11	1,026	0,074	0,661	0,083	0,992 ± 0,060	1,301	1,333	1,374
[149]	AG01522	225 kVp	^{1}H	7,0200 ± 0,0098	1,360	0	0,661	0,083	1,5290 ± 0,0090	1,463	1,547	1,651
■[149]	AG01522	225 kVp	^{1}H	11,964 ± 0,047	1,581	0	0,661	0,083	3,03 ± 0,16	1,702	1,799	1,920
[149]	AG01522	225 kVp	^{1}H	18,50 ± 0,10	1,845	0	0,661	0,083	5,47 ± 0,13	1,986	2,100	2,241
■[149]	AG01522	225 kVp	^{1}H	21,94 ± 0,38	2,274	0	0,661	0,083	7,99 ± 0,56	2,448	2,588	2,762
■[150]	AG01522	225 kVp	^{1}H	11,284 ± 0,047	0,859	0	0,261	0,069	1,552 ± 0,090	1,425	1,564	1,761
□[85]	M/10	^{60}Co	^{1}H	9,177 ± 0,023	0,494	0	0,500	0	0,726 ± 0,051	0,986	0,986	0,986
□[85]	M/10	^{60}Co	^{1}H	21,12 ± 0,38	0,438	0,009	0,500	0	1,85 ± 0,43	0,985	0,961	0,937
□[85]	M/10	^{60}Co	^{1}H	30,036 ± 0,024	0,926	0	0,500	0	4,46 ± 0,17	1,851	1,851	1,851
[151]	M/10	^{60}Co/^{137}Cs	^{12}C	12,989 ± 0,048	0,589	0,075	0,191	0,080	2,32 ± 0,21	1,430	1,498	1,602
[151]	M/10	^{60}Co/^{137}Cs	^{12}C	21,43 ± 0,33	0,501	0,121	0,191	0,080	4,47 ± 0,16	1,515	1,556	1,620
[151]	M/10	^{60}Co/^{137}Cs	^{12}C	39,054 ± 0,034	0,984	0,061	0,191	0,080	8,17 ± 0,19	1,923	2,073	2,301
■[151]	M/10	^{60}Co/^{137}Cs	^{12}C	99,3 ± 1,3	2,139	0	0,191	0,080	34,0 ± 2,1	3,592	3,989	4,574
[151]	M/10	^{60}Co/^{137}Cs	^{12}C	237,38 ± 0,12	1,597	0,038	0,191	0,080	66 ± 11	2,796	3,076	3,494
[151]	M/10	^{60}Co/^{137}Cs	^{12}C	314,38 ± 0,41	1,857	0	0,191	0,080	93,5 ± 5,3	3,119	3,463	3,971
[85]	HF19	^{60}Co	^{1}H	7,830 ± 0,013	0,565	0	0,587	0,014	0,71 ± 0,11	0,867	0,886	0,906
[85]	HF19	^{60}Co	^{1}H	19,60 ± 0,10	0,525	0	0,587	0,014	1,648 ± 0,091	0,806	0,824	0,843
■[85]	HF19	^{60}Co	^{1}H	26,204 ± 0,013	0,512	0	0,587	0,014	2,15 ± 0,12	0,788	0,805	0,823
[151]	HF19	^{60}Co/^{137}Cs	^{12}C	39,238 ± 0,034	1,164	0,105	0,572	0,016	10,2 ± 1,7	2,149	2,130	2,107
■[151]	HF19	^{60}Co/^{137}Cs	^{12}C	99,3 ± 1,3	0,996	0	0,572	0,016	15,8 ± 1,4	1,539	1,578	1,621
[151]	HF19	^{60}Co/^{137}Cs	^{12}C	237,38 ± 0,12	0,785	0	0,572	0,016	29,8 ± 5,6	1,213	1,243	1,277
□[152]	HF19	250 kVp	^{4}He	28,73 ± 0,29	1,253	0,027	0,916	0	6,34 ± 0,66	1,368	1,368	1,368
□[152]	HF19	250 kVp	^{4}He	67,640 ± 0,089	2,596	0	0,916	0	28,1 ± 1,6	2,834	2,834	2,834
□[153]	HF19	250 kVp	^{4}He	20,675 ± 0,066	0,998	0,046	0,916	0	4,12 ± 0,61	1,090	1,090	1,090
□[153]	HF19	250 kVp	^{4}He	52,7 ± 1,3	1,928	0,049	0,916	0	17,52 ± 0,99	2,105	2,105	2,105
□[153]	HF19	250 kVp	^{4}He	92,29 ± 0,15	3,128	0	0,916	0	46,2 ± 1,3	3,414	3,414	3,414
□■[154]	HF19	250 kVp	^{4}He	73,448 ± 0,063	2,647	0	0,916	0	31,2 ± 2,5	2,890	2,890	2,890
[155]	T1	220 kVp	^{12}C	11,139 ± 0,018	0,305	0,024	0,242	0,031	1,094 ± 0,092	1,022	1,040	1,066
[155]	T1	220 kVp	^{12}C	13,195 ± 0,048	0,266	0,043	0,242	0,031	1,61 ± 0,10	1,145	1,142	1,137
[155]	T1	220 kVp	^{12}C	16,31 ± 0,15	0,262	0,032	0,242	0,031	1,75 ± 0,13	1,037	1,040	1,044
[155]	T1	220 kVp	^{12}C	23,66 ± 0,70	0,360	0,039	0,242	0,031	2,92 ± 0,37	1,259	1,276	1,301
[155]	T1	220 kVp	^{12}C	30,282 ± 0,013	0,343	0,049	0,242	0,031	4,09 ± 0,39	1,320	1,327	1,337
[155]	T1	220 kVp	^{12}C	40,156 ± 0,041	0,393	0,075	0,242	0,031	6,60 ± 0,27	1,581	1,584	1,588
[155]	T1	220 kVp	^{12}C	84,73 ± 0,81	0,714	0,078	0,242	0,031	16,3 ± 1,2	2,136	2,201	2,295
[155]	T1	220 kVp	^{12}C	132,5 ± 2,3	0,937	0,071	0,242	0,031	27,9 ± 2,9	2,505	2,622	2,788
[87]	T1	200 kVp	^{12}C	21,82 ± 0,33	0,130	0,115	0,034	0,059	4,13 ± 0,22	1,506	0,338	0,401
[87]	T1	200 kVp	^{12}C	40,895 ± 0,041	0,236	0,132	0,034	0,059	8,38 ± 0,36	1,738	0,614	0,727
[87]	T1	200 kVp	^{12}C	63,47 ± 0,15	0,406	0,203	0,034	0,059	16,37 ± 0,87	2,313	2,383	2,496
[87]	T1	200 kVp	^{12}C	78,34 ± 0,81	0,787	0,292	0,034	0,059	25,45 ± 0,50	3,229	3,389	3,650
[87]	T1	200 kVp	^{12}C	148,6 ± 4,2	0,568	0,483	0,034	0,059	58,8 ± 2,8	3,486	3,580	3,732
[87]	T1	200 kVp	^{12}C	266,68 ± 0,21	0,670	0,583	0,034	0,059	116,5 ± 9,0	3,895	4,009	4,194
[156]	T1	250 kVp	^{12}C	11,378 ± 0,022	0,489	0,015	0,164	0,027	1,187 ± 0,097	1,508	1,605	1,749
[156]	T1	250 kVp	^{12}C	20,45 ± 0,33	0,551	0,045	0,164	0,027	3,01 ± 0,49	1,943	2,029	2,159
[157]	T1	250 kVp	^{4}He	25,60 ± 0,16	0,606	0,017	0,241	0,027	3,11 ± 0,18	1,580	1,667	1,788
[157]	T1	250 kVp	^{4}He	61,66200 ± 0,00060	1,126	0,015	0,241	0,027	11,86 ± 0,37	2,695	2,892	3,158
[157]	T1	250 kVp	^{4}He	89,30 ± 0,12	1,437	0,017	0,241	0,027	21,57 ± 0,68	3,412	3,667	4,012

Ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela B.1. Wybrane dane biologiczne – ciąg dalszy.

Ref.	Linia komórkowa	Promieniowanie referencyjne	Jon	LET (keV/µm)	α (Gy^{-1})	β (Gy^{-2})	α_{ref} (Gy^{-1})	β_{ref} (Gy^{-2})	$\sigma_{5\%}$ (μm^2)	$RBE_{5\%}$	$RBE_{10\%}$	$RBE_{20\%}$
■[157]	T1	250 kVp	^{4}He	112,91 ± 0,25	1,717	0,007	0,241	0,027	31,52 ± 0,85	4,008	4,324	4,750
■[157]	T1	250 kVp	^{4}He	173,65 ± 0,74	1,219	0	0,241	0,027	33,92 ± 0,46	2,826	3,054	3,360
[156]	T1	250 kVp	^{4}He	1,8130 ± 0,0012	0,189	0,028	0,164	0,027	0,178 ± 0,031	1,060	1,064	1,071
[156]	T1	250 kVp	^{4}He	3,520 ± 0,016	0,190	0,043	0,164	0,027	0,419 ± 0,022	1,234	1,231	1,225
[158]	HE	^{137}Cs	^{12}C	22,31 ± 0,33	1,332	0	0,103	0,170	4,76 ± 0,16	1,737	1,961	2,308
[158]	HE	^{137}Cs	^{12}C	39,238 ± 0,034	1,529	0	0,103	0,170	9,61 ± 0,27	1,993	2,250	2,648
[158]	HE	^{137}Cs	^{12}C	68,47 ± 0,15	1,561	0,030	0,103	0,170	18,4 ± 4,6	2,108	2,362	2,758
[158]	HE	^{137}Cs	^{12}C	74,81 ± 0,41	1,903	0	0,103	0,170	22,81 ± 0,48	2,481	2,801	3,297
■[158]	HE	^{137}Cs	^{12}C	113,2 ± 2,3	2,426	0	0,103	0,170	44,0 ± 1,7	3,163	3,571	4,203
■[158]	HE	^{137}Cs	^{12}C	132,5 ± 2,3	2,237	0	0,103	0,170	47,5 ± 1,2	2,916	3,292	3,875
[158]	HE	^{137}Cs	^{12}C	162,3 ± 4,2	1,881	0,081	0,103	0,170	55 ± 10	2,610	2,908	3,374
■[158]	HE	^{137}Cs	^{12}C	240,02 ± 0,14	1,819	0	0,103	0,170	69,9 ± 3,7	2,371	2,677	3,151
[159]	NB1RGB	^{137}Cs	^{12}C	20,55 ± 0,33	0,720	0,019	0,361	0,063	2,84 ± 0,19	1,214	1,287	1,388
■[159]	NB1RGB	^{137}Cs	^{12}C	40,156 ± 0,041	0,826	0	0,361	0,063	5,31 ± 0,26	1,266	1,370	1,509
[159]	NB1RGB	^{137}Cs	^{12}C	80,58 ± 0,81	1,326	0	0,361	0,063	17,11 ± 0,48	2,032	2,197	2,421
■[159]	NB1RGB	^{137}Cs	^{12}C	107,4 ± 1,3	1,414	0	0,361	0,063	24,3 ± 1,5	2,167	2,344	2,582
[160]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	13,535 ± 0,048	0,643	0,034	0,430	0,051	1,96 ± 0,13	1,171	1,206	1,254
■[160]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	76,55 ± 0,41	1,557	0	0,430	0,051	19,09 ± 0,36	2,359	2,516	2,719
[86]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	37,946 ± 0,034	1,145	0	0,530	0,039	6,961 ± 0,082	1,641	1,721	1,818
[86]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	54,61 ± 0,12	1,222	0,004	0,530	0,039	10,84 ± 0,32	1,763	1,847	1,948
■[86]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	81,54 ± 0,81	1,756	0	0,530	0,039	22,9 ± 2,1	2,515	2,639	2,788
■[86]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	88,57 ± 0,81	1,986	0	0,530	0,039	28,2 ± 1,1	2,845	2,984	3,153
■[86]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	91,7 ± 1,3	2,063	0	0,530	0,039	30,3 ± 1,7	2,956	3,101	3,276
■[86]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	96,8 ± 1,3	2,340	0	0,530	0,039	36,3 ± 2,8	3,353	3,517	3,716
[86]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	12,960 ± 0,048	0,715	0,022	0,530	0,039	1,821 ± 0,095	1,140	1,170	1,207
[86]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	19,27 ± 0,33	0,795	0,032	0,530	0,039	3,12 ± 0,25	1,294	1,323	1,360
[86]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	37,946 ± 0,034	0,897	0,053	0,530	0,039	7,30 ± 0,93	1,503	1,529	1,562
[86]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	53,61 ± 0,12	1,261	0,042	0,530	0,039	12,4 ± 1,2	1,939	2,003	2,083
[86]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	63,30 ± 0,15	1,590	0	0,530	0,039	16,12 ± 0,59	2,278	2,390	2,525
■[86]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	71,32 ± 0,41	1,949	0	0,530	0,039	22,27 ± 0,44	2,792	2,929	3,094
■[86]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	73,84 ± 0,41	2,083	0,078	0,530	0,039	27,2 ± 2,1	3,138	3,255	3,400
[161]	NB1RGB	^{137}Cs	^{12}C	20,55 ± 0,33	0,585	0,045	0,355	0,052	3,10 ± 0,23	1,252	1,288	1,338
[161]	NB1RGB	^{137}Cs	^{12}C	40,326 ± 0,041	0,617	0,082	0,355	0,052	7,55 ± 0,15	1,465	1,488	1,521
[161]	NB1RGB	^{137}Cs	^{12}C	79,94 ± 0,81	1,020	0,147	0,355	0,052	21,46 ± 0,94	2,212	2,271	2,355
[162]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	12,989 ± 0,048	0,413	0,105	0,610	0,043	2,482 ± 0,082	1,035	0,994	0,941
■[162]	NB1RGB	200 kVp	^{12}C	72,87 ± 0,41	1,330	0	0,610	0,043	15,52 ± 0,90	1,715	1,791	1,880
[149]	U-87	225 kVp	^{1}H	1,1066 ± 0,0016	0,163	0,058	0,100	0,056	0,1504 ± 0,0017	1,094	1,105	1,122
[149]	U-87	225 kVp	^{1}H	4,45 ± 0,11	0,173	0,065	0,100	0,056	0,642 ± 0,022	1,162	1,174	1,192
[149]	U-87	225 kVp	^{1}H	7,0200 ± 0,0098	0,240	0,066	0,100	0,056	1,039 ± 0,014	1,259	1,284	1,323
[149]	U-87	225 kVp	^{1}H	11,964 ± 0,047	0,442	0,046	0,100	0,056	1,659 ± 0,023	1,415	1,493	1,616
[149]	U-87	225 kVp	^{1}H	18,50 ± 0,10	0,711	0,026	0,100	0,056	2,670 ± 0,072	1,745	1,907	2,161
[149]	U-87	225 kVp	^{1}H	21,94 ± 0,38	0,939	0,004	0,100	0,056	3,40 ± 0,13	2,063	2,306	2,675
▲[163]	U-87	200 kVp	^{12}C	12,989 ± 0,048	0,315	0,067	0,158	0,067	1,973 ± 0,059	1,185	1,212	1,253
▲[163]	U-87	200 kVp	^{12}C	85,0 ± 4,3	0,553	0,151	0,158	0,067	19,8 ± 2,8	1,882	1,937	2,022
▲[163]	U-87	200 kVp	^{12}C	100,0 ± 1,8	0,978	0	0,158	0,067	15,67 ± 0,61	1,834	2,042	2,350
[164]	U-87	250 kVp	^{12}C	181,5 ± 4,2	1,429	0	0,166	0,028	41,5 ± 4,3	3,728	4,091	4,606
[161]	U-87	^{137}Cs	^{12}C	20,55 ± 0,33	0,503	0,148	0,394	0,062	4,68 ± 0,22	1,435	1,423	1,405
[161]	U-87	^{137}Cs	^{12}C	40,326 ± 0,041	0,888	0,082	0,394	0,062	8,60 ± 0,58	1,654	1,709	1,787
[161]	U-87	^{137}Cs	^{12}C	79,94 ± 0,81	1,070	0,171	0,394	0,062	22,9 ± 1,1	2,130	2,183	2,256
▲[165]	U251	^{60}Co	^{1}H	5,55 ± 0,19	0,285	0,013	0,319	0,009	0,437 ± 0,036	0,993	0,979	0,962
▲[166]	U251	^{137}Cs	^{12}C	20,0 ± 1,0	0,448	0,041	0,010	0,060	2,66 ± 0,13	1,492	1,604	1,788
▲[166]	U251	^{137}Cs	^{12}C	40,0 ± 2,0	0,632	0,039	0,010	0,060	5,98 ± 0,39	1,825	1,998	2,281
▲[166]	U251	^{137}Cs	^{12}C	80,0 ± 4,0	1,111	0,006	0,010	0,060	14,6 ± 1,2	2,628	2,983	3,547
▲[166]	U251	^{137}Cs	^{12}C	105,0 ± 5,3	1,142	0,007	0,010	0,060	19,8 ± 1,6	2,705	3,070	3,649
▲[167]	U251	225 kVp	^{12}C	100,0 ± 5,0	0,956	0	0,160	0,054	15,3 ± 2,8	1,946	2,160	2,475
▲[167]	U251	225 kVp	^{12}C	50,0 ± 2,5	0,455	0,031	0,160	0,054	6,11 ± 0,92	1,240	1,309	1,417
▲[167]	U251	225 kVp	^{12}C	28,0 ± 1,4	0,201	0,044	0,160	0,054	3,39 ± 0,53	0,973	0,983	0,998
[85]	SCC25	^{60}Co	^{1}H	7,830 ± 0,013	0,500	0,067	0,563	0,035	1,29 ± 0,20	1,075	1,051	1,021
■[85]	SCC25	^{60}Co	^{1}H	19,81 ± 0,10	0,869	0	0,563	0,035	2,759 ± 0,058	1,224	1,276	1,339
[85]	SCC25	^{60}Co	^{1}H	26,578 ± 0,015	0,808	0	0,563	0,035	3,44 ± 0,13	1,137	1,186	1,244
[151]	SCC25	$^{60}Co/^{137}Cs$	^{12}C	12,989 ± 0,048	0,291	0,093	0,602	0,006	2,27 ± 0,36	1,097	1,009	0,904

Ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela B.1. Wybrane dane biologiczne – ciąg dalszy.

Ref.	Linia komórkowa	Promieniowanie referencyjne	Jon	LET (keV/µm)	α (Gy^{-1})	β (Gy^{-2})	α_{ref} (Gy^{-1})	β_{ref} (Gy^{-2})	$\sigma_{5\%}$ (μm^2)	$RBE_{5\%}$	$RBE_{10\%}$	$RBE_{20\%}$
[151]	SCC25	$^{60}Co/^{137}Cs$	^{12}C	21,01 ± 0,33	0,639	0	0,602	0,006	2,15 ± 0,30	1,013	1,023	1,034
[151]	SCC25	$^{60}Co/^{137}Cs$	^{12}C	99,3 ± 1,3	2,425	0	0,602	0,006	38,6 ± 4,0	3,844	3,883	3,924
[151]	SCC25	$^{60}Co/^{137}Cs$	^{12}C	237,38 ± 0,12	0,726	0,072	0,602	0,006	44,8 ± 9,3	1,509	1,454	1,392
[151]	SCC25	$^{60}Co/^{137}Cs$	^{12}C	314,38 ± 0,41	0,555	0,115	0,602	0,006	65 ± 14	1,468	1,380	1,277
[85]	SQ20B	^{60}Co	^{1}H	7,830 ± 0,012	0,163	0,008	0,101	0,023	0,445 ± 0,056	0,811	0,842	0,890
[85]	SQ20B	^{60}Co	^{1}H	19,88 ± 0,38	0,239	0,002	0,101	0,023	0,91 ± 0,18	0,823	0,896	1,007
[85]	SQ20B	^{60}Co	^{1}H	27,172 ± 0,015	0,369	0	0,101	0,023	1,61 ± 0,13	1,155	1,284	1,473
[151]	SQ20B	$^{60}Co/^{137}Cs$	^{12}C	12,989 ± 0,048	0,185	0,017	0,144	0,014	1,026 ± 0,067	1,187	1,193	1,203
[151]	SQ20B	$^{60}Co/^{137}Cs$	^{12}C	21,43 ± 0,33	0,165	0,028	0,144	0,014	2,07 ± 0,13	1,341	1,329	1,312
[151]	SQ20B	$^{60}Co/^{137}Cs$	^{12}C	39,054 ± 0,034	0,384	0,038	0,144	0,014	4,87 ± 0,13	2,032	2,076	2,141
[151]	SQ20B	$^{60}Co/^{137}Cs$	^{12}C	99,3 ± 1,3	0,965	0	0,144	0,014	15,4 ± 2,5	3,375	3,674	4,085
[151]	SQ20B	$^{60}Co/^{137}Cs$	^{12}C	237,38 ± 0,12	0,665	0,013	0,144	0,014	29,3 ± 4,4	2,511	2,689	2,939
[151]	SQ20B	$^{60}Co/^{137}Cs$	^{12}C	314,38 ± 0,41	0,659	0,012	0,144	0,014	38,3 ± 4,7	2,484	2,661	2,911
[168]	SQ20B	250 kVp	^{12}C	33,643 ± 0,019	0,659	0,031	0,085	0,044	4,82 ± 0,54	1,912	2,078	2,339
[168]	SQ20B	250 kVp	^{12}C	181,5 ± 4,2	1,030	0	0,085	0,044	29,9 ± 1,3	2,533	2,842	3,313
▲[169]	PC3	4 MV	^{12}C	214 ± 11	1,288	0,007	0,317	0,027	45,3 ± 5,3	2,423	2,601	2,838
▲[169]	PC3	4 MV	^{12}C	92,6 ± 4,6	0,942	0,113	0,317	0,027	22,2 ± 1,1	2,265	2,330	2,421
▲[169]	PC3	4 MV	^{12}C	53,3 ± 2,7	0,944	0,089	0,317	0,027	11,95 ± 0,70	2,177	2,252	2,357
▲[169]	PC3	4 MV	^{12}C	34,2 ± 1,7	0,832	0,023	0,317	0,027	5,40 ± 0,72	1,688	1,783	1,914
▲[169]	PC3	4 MV	^{12}C	21,2 ± 1,1	0,569	0,051	0,317	0,027	3,28 ± 0,37	1,426	1,459	1,506
▲[169]	PC3	4 MV	^{12}C	11,10 ± 0,56	0,341	0,076	0,317	0,027	1,80 ± 0,31	1,259	1,245	1,506
▲[108]	PC3	^{137}Cs	^{4}He	124,3 ± 6,2	1,583	0,259	0,159	0,032	47,1 ± 2,6	6,166	6,451	6,865
▲[69]	PC3	50 kVp	^{4}He	120,0 ± 6,0	1,681	0	0,306	0,030	26,9 ± 2,3	3,017	3,265	3,601
▲[69]	DU145	50 kVp	^{4}He	120,0 ± 6,0	1,950	0	0,257	0,046	37,5 ± 4,6	3,872	4,211	4,677
▲[108]	DU145	^{137}Cs	^{4}He	124,3 ± 6,2	1,701	0,142	0,113	0,039	42,7 ± 3,1	6,186	6,672	7,399
▲[170]	DU145	^{137}Cs	^{4}He	124,3 ± 6,2	1,604	0,213	0,116	0,037	45,1 ± 2,5	6,285	6,698	7,319
▲[171]	DU145	200 kVp	^{1}H	1,900 ± 0,095	0,397	0,010	0,131	0,012	0,161 ± 0,015	1,229	1,320	1,459
▲[171]	DU145	200 kVp	^{1}H	2,10 ± 0,11	0,378	0,025	0,132	0,014	0,224 ± 0,018	1,382	1,450	1,459
▲[171]	DU145	200 kVp	^{1}H	2,50 ± 0,13	0,403	0,022	0,132	0,014	0,260 ± 0,021	1,393	1,472	1,593
▲[171]	DU145	200 kVp	^{1}H	2,80 ± 0,14	0,404	0,022	0,132	0,014	0,292 ± 0,024	1,396	1,185	1,352
▲[171]	DU145	200 kVp	^{1}H	4,10 ± 0,21	0,491	0,017	0,132	0,014	0,441 ± 0,043	1,540	1,651	1,818
▲[171]	DU145	200 kVp	^{1}H	4,50 ± 0,23	0,502	0,016	0,132	0,014	0,482 ± 0,055	1,552	1,668	1,842

□ Ujemna wartość parametru β_{ref} w PIDE

■ Ujemna wartość parametru β_{fit} w PIDE

△ Brak dopasowanych parametrów do danego eksperymentu – publikacja w bazie PIDE

▲ Publikacja spoza bazy PIDE