*dr hab. inż. Ewelina Lipiec, prof. UJ*
*Instytut Fizyki*
*Zakład Fizyki Nanostruktur i Nanotechnologii*
*ul. Łojasiewicza 11, 30-348 Kraków*
*Ewelina.Lipiec@uj.edu.pl*
*+48 12 664 45 85*

UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział
Fizyki
Astronomii
i Informatyki
Stosowanej

*Kraków 7 listopada 2026*

**Recenzja Pracy Doktorskiej**

# *Nanodozymetryczna sygnatura uszkodzeń komórkowych indukowanych cząstkami naładowanymi*

wykonanej przez mgr Mateusza Filipka

pod kierunkiem

dr hab. Beaty Brzozowskiej, prof. UW

Zakład Fizyki Biomedycznej Instytut Fizyki Doświadczalnej,
Wydział Fizyki, Uniwersytet Warszawski

oraz
dr hab. Zygmunta Szeflińskiego

Środowiskowe Laboratorium Ciężkich Jonów, Uniwersytet Warszawski

Liniowy przekaz energii (LET), podobnie jak inne powszechnie stosowane wielkości fizyczne wykorzystywane do ilościowego opisu jakości promieniowania jonizującego i jego skuteczności biologicznej, wykazują istotne ograniczenia w przewidywaniu odpowiedzi komórek na napromienianie. Różne rodzaje promieniowania, charakteryzujące się tą samą wartością LET, mogą bowiem generować odmienne struktury torów promieniowania. Wynika to z faktu, że LET opisuje jedynie uśredniony przekaz energii na jednostkę długości toru cząstki, nie uwzględniając przestrzennego rozkładu aktów jonizacji w skali nanometrycznej. Tymczasem to właśnie lokalna struktura i przestrzenne rozmieszczenie jonizacji mogą w istotny sposób determinować charakter uszkodzeń, a w konsekwencji prowadzić do zróżnicowanej odpowiedzi radiobiologicznej komórek.

ul. prof. Stanisława
Łojasiewicza 11
PL 30-348 Kraków
tel. +48(12) 664-48-90
fax +48(12) 664-49-05
e-mail:
wydzial.fais@uj.edu.pl

Pomimo wspomnianych ograniczeń, dotychczas stosowane wielkości fizyczne i radiobiologiczne stanowią fundament współczesnej radiobiologii oraz planowania terapii hadronowej. Z tego względu poszukiwanie nowych parametrów, pozwalających na bardziej precyzyjny opis oddziaływania promieniowania jonizującego z materią biologiczną, ma istotne znaczenie zarówno dla rozwoju badań podstawowych, jak i dla doskonalenia metod leczenia onkologicznego.

Rozprawa doktorska Pana mgr Mateusza Filipka wpisuje się w ten niezwykle istotny i aktualny nurt badań. Jej tematyka koncentruje się na analizie zależności pomiędzy wielkościami nanodozymetrycznymi, wykorzystywanymi do charakterystyki struktury torów cząstek jonizujących, a odpowiedzią biologiczną komórek na napromienianie. Doktorant podejmuje się realizacji trudnego i ambitnego celu naukowego, jakim jest określenie zależności pomiędzy nanometrową strukturą toru promieniowania a odpowiedzią radiobiologiczną komórek prawidłowych i nowotworowych poddanych napromienianiu protonami, cząstkami alfa oraz jonami węgla.

## OGÓLNA OCENA ROZPRAWY

Rozprawa doktorska Pana mgr Mateusza Filipka została podzielona na pięć części, które stanowią spójną całość: i) wprowadzenie, ii) podstawy teoretyczne odziaływania promieniowania z materią, iii) przygotowanie danych i metody analizy, iv) wyniki i dyskusja oraz v) podsumowanie i perspektywy.

Rozprawę rozpoczyna streszczenie, w którym na początku poznajemy przytoczony już w recenzji ambitny cel badań. Dalej we wprowadzeniu Autor formułuje hipotezę badawczą: „*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*”. Kolejną część stanowi dokładny, szczegółowy i systematyczny opis podstaw teoretycznych odziaływania promieniowania jonizującego na materię żywą. Dodatkowo scharakteryzowane są wielkości używane w dozymetrii i nanodozymetrii, które zostały zdefiniowane i są wyliczane w celu ilościowej i jakościowej charakterystyki promieniowania oraz odziaływania promieniowania na makromolekuły biologiczne. W tej części rozprawy Autor opisuje zarówno makroskopowe podejście do opisu efektów promieniowania, jak i ich statystyczną charakterystykę w skali nanometrycznej. Przedstawione są również najważniejsze pojęcia i definicje, stanowiące podstawę rozważań prowadzonych w kolejnych rozdziałach pracy. W mojej opinii jest to bardzo wartościowa część rozprawy, stanowiąca uporządkowane i przystępne

kompendium wiedzy. Zwięzły, a zarazem wyczerpujący sposób przedstawienia zagadnień świadczy o szerokiej wiedzy i dużym doświadczeniu Autora, a także o dogłębnym zrozumieniu omawianej problematyki badawczej.

Rozdział 3 rozprawy doktorskiej obejmuje opis przygotowania materiałów i metod analizy danych. Dokładnie opisane zostały wszystkie wykonane eksperymenty oraz obliczenia teoretyczne. Scharakteryzowano materiał badawczy i uzasadniono jego wybór, opisano badane rodzaje promieniowania oraz scharakteryzowano używane źródła, a także opisano dozymetrię. Za bardzo wartościowe osiągnięcie doktoranta uważam zaprojektowanie i zbudowanie układu do napromieniania komórek za pomocą źródła powierzchniowego 241Am. Autor przeprowadził symulacje MC i pełną dozymetrię źródła z użyciem detektora półprzewodnikowego oraz z wykorzystaniem filmów radiochromowych.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska stanowi bardzo wartościowy przykład wykorzystania danych zebranych przez innych badaczy. Analizowany zestaw danych eksperymentalnych zaczerpniętych z bazy PIDE jest bardzo obszerny zawiera bowiem wyniki 151 eksperymentów radiobiologicznych pochodzących z 32 pozycji literaturowych i obejmujących 12 linii komórkowych dokładnie sześć linii komórek prawidłowych: AG01522, M10, HF19,T1, HE i NB1RGB, oraz sześć linii nowotworowych: U87, U251, SCC25, SQ20B, PC3 i DU145.

Zaprezentowane podejście pozwala na analizę znacznie większej ilości danych eksperymentalnych, niż w przypadku kiedy eksperymenty byłyby prowadzone w ramach doktoratu, dodatkowo umożliwia wyeliminowanie czynników, które mogłyby mieć wpływ na wyniki gdyby eksperymenty radiobiologiczne były wykonywane tylko w jednym laboratorium (jak protokoły hodowli komórkowych, procedury laboratoryjne czy dostęp do ograniczonej liczby źródeł promieniowania). Analiza danych otrzymywanych przez innych badaczy wymaga jednak szczególnego podejścia, wnikliwej analizy i odpowiedniej selekcji danych, jakie zaprezentowano w ramach niniejszej dysertacji. Na uwagę zasługuje ekstrakcja danych liczbowych z zamieszczonych wykresów.

Rozdział czwarty obejmuje wyniki i ich dyskusję. Przedstawiona jest dokładna charakterystyka dozymetryczna oraz walidacja modelu źródła promieniowania wykorzystanego w eksperymentach radiobiologicznych. Zaprezentowane są wyniki testów przeżywalności komórek oraz wyznaczone parametry modelu liniowo-kwadratowego dla analizowanych danych radio-biologicznych. Bardzo wysoko oceniam wnikliwą analizę parametrów nanodozymetrycznych opisujących strukturę toru promieniowania w skali porównywalnej ze średnicą DNA oraz określenie ich związku z odpowiedzią biologiczną komórek. Otrzymane wyniki Autor porównał z klasycznymi parametrami jakości promieniowania: LET oraz RBE, aby ocenić znaczenie parametrów nanodozymetrycznych jako wskaźników efektu biologicznego.

Rozprawa doktorska Pana mgr Mateusza Filipka została napisana w języku polskim. Wszystkie rysunki są przejrzyste, czytelne, starannie przygotowane i wzbogacają lekturę pracy. Występują niewielkie błędy edytorskie (np. na Rys 2.6 na pomarańczowo zaznaczono pękniecie tej samej nici DNA a nie obu nici jak w opisie, na stronie 25 absorber zamiast absorbent), które nie przeszkadzają podczas czytania rozprawy.

Wyniki prac badawczych opisanych w rozprawie doktorskiej Pana mgr Mateusza Filipka zostały zaprezentowane w czterech artykułach naukowych z których jedna pierwszo-autorska praca została opublikowana w *Polish Journal of Medical Physics,* drugą pracę gdzie Doktorant jest jednym z dwóch pierwszych autorów opublikowano w *International Journal of Radiation Biology,* trzecia również pierwo-aszautoska praca jest w recenzji w czasopiśmie *Physics in Medicine & Biology*. Ponadto opublikowano jeszcze doniesienie pokonferencyjne w *RAP Conference Proceedings*, gdzie mgr Mateusz Filipek jest drugim autorem. Dodatkowo badania radiobiologiczne w jakich uczestniczył Doktorant zostały zaprezentowane w jeszcze czterech pracach, z których 3 zostały opublikowane a jedna jest w trakcie recenzji. W mojej opinii jest to adekwatny dorobek naukowy do ubiegania się o tytuł naukowy doktora.

## SZCZEGÓŁOWE UWAGI DO ROZPRAWY

Podczas czytania rozprawy nasuwają się pewne bardziej szczegółowe pytania oraz zagadnienia:

1) Jak wskazuje Autor, mała liczba uzyskanych kolonii komórek linii PC-3 i Du-145 zwiększa niepewność statystyczną i poddatność wyników na warunki eksperymentalne. Otrzymane wartości wydajności klonowania tych linii komórkowych są znacznie niższe niż większość danych literaturowych (np. Smith R, Liu M, Liby T, Bayani N, Bucher E, Chiotti K, Derrick D, Chauchereau A, Heiser L, Alumkal J, Feiler H, Carroll P, Korkola JE. Enzalutamide response in a panel of prostate cancer cell lines reveals a role for glucocorticoid receptor in enzalutamide resistant disease. Sci Rep. 2020 Dec 10;10(1):21750. doi: 10.1038/s41598-020-78798-x.; Gruber M, Handle F, Culig Z. The stem cell inhibitor salinomycin decreases colony formation potential and tumor-initiating population in docetaxel-sensitive and docetaxel-resistant prostate cancer cells. Prostate. 2020 Feb;80(3):267-273. doi: 10.1002/pros.23940. Epub 2019 Dec 13.). Co mogło mieć wpływ na te wyniki? Czy warunki hodowli, gęstość wysiewu i zastosowany protokół eksperymentalny mogły mieć tutaj znaczenie?

2) W niniejszej rozprawie odpowiedź biologiczna została oceniona przede wszystkim na podstawie testu klonogennego. Nie przeprowadzono bezpośredniej analizy uszkodzeń DNA ani kinetyki ich naprawy (Autor zwraca na to uwagę w części dysertacji zatytułowanej „ograniczenia pracy badawczej"). Jestem ciekawa opinii Autora w jakim stopniu monitorowanie procesów naprawy a dokładnie obecności białek naprawczych np. za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej wzbogaciłoby wyniki tej dysertacji? Jakie komplementarne eksperymenty można tu zaproponować by bezpośrednio porównać ich wyniki z rezultatami opisanymi w niniejszej pracy doktorskiej?

3) W części opisującej ograniczenia pracy badawczej Autor zwraca uwagę na to, iż przedstawione wyniki obliczeń uwzględniają jonizacje w wodzie, ale nie obejmują pełnego modelu DNA, chromatyny ani jej przestrzennej organizacji. Jestem ciekawa zdania Doktoranta czy zastosowanie modelu opartego na jonizacjach wody jest wystarczające do opisu uszkodzeń DNA, biorąc pod uwagę znaczenie różnych procesów chemicznych/różnych rodzajów uszkodzeń DNA?

4) Wysoko oceniam wykonaną przez Autora standaryzację procedury dopasowania modelu LQ do danych zebranych przez różne grupy badawcze. Zastosowana procedura nie eliminuje jednak różnic wynikających z warunków eksperymentalnych. Jak Autor ocenia wpływ niejednorodności danych literaturowych na wiarygodność uzyskanych korelacji?

5) Wartość parametru R2 wynika w dużej mierze z przyjętych założeń geometrycznych i statystycznych modelu ICSD czy zatem parametr R2 rzeczywiście możemy uznać za nowy, niezależny deskryptor jakości promieniowania?

6) Parametr p oraz zależność σ5%–R2 nie zostały zweryfikowane na niezależnych zbiorach danych. Czy zatem można uogólnić uzyskane zależności na różne linie komórkowe?

7) Jestem ciekawa zdania Autora odnośnie realnych możliwości wykorzystania parametru R2 w planowaniu radioterapii? Jakie dodatkowe eksperymenty i walidacje byłyby konieczne przed zastosowaniem klinicznym?

PODSUMOWANIE

Biorąc pod uwagę duże znaczenie podjętej tematyki badawczej, kompleksowe, dogłębne i systematyczne podejście do realizowanych prac

badawczych oraz analizę uzyskanych wyników i ich wnikliwą, miejscami krytyczną interpretację, rozprawę doktorską Pana mgr Mateusza Filipka oceniam bardzo wysoko.

Przedstawiona dysertacja podejmuje istotny i aktualny problem naukowy, dotyczący poszukiwania nowych parametrów fizycznych umożliwiających bardziej precyzyjny opis oddziaływania promieniowania jonizującego z materią biologiczną. Szczególne znaczenie ma tu próba powiązania nanometrycznej struktury torów cząstek jonizujących z obserwowaną odpowiedzią radiobiologiczną komórek. Podejście to wpisuje się w jeden z ważnych kierunków rozwoju współczesnej fizyki promieniowania, jakim jest przejście od makroskopowego opisu przekazu energii do analizy jego przestrzennego rozkładu w skali porównywalnej z wymiarami struktur biologicznych, w szczególności DNA. Uzyskane wyniki mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia fizycznych mechanizmów odpowiedzialnych za zróżnicowaną skuteczność biologiczną promieniowania oraz stanowić podstawę do dalszego rozwoju metod nanodozymetrycznych.

Na szczególne podkreślenie zasługuje szeroki zakres przeprowadzonych analiz, obejmujących zarówno obliczenia teoretyczne i symulacje Monte Carlo, jak i wnikliwą analizę obszernego zbioru danych eksperymentalnych pochodzących z wielu niezależnych badań radiobiologicznych. Umiejętne połączenie podejścia fizycznego do danych radiobiologicznych pozwoliło Doktorantowi na zbadanie zależności pomiędzy parametrami opisującymi nanostrukturę torów promieniowania a odpowiedzią komórek prawidłowych i nowotworowych. Jest to szczególnie wartościowe, ponieważ stwarza możliwość poszukiwania nowych deskryptorów jakości promieniowania, które w przyszłości mogłyby uzupełnić klasyczne wielkości dozymetryczne, takie jak LET i RBE.

W mojej opinii przedstawiona praca ma istotną wartość poznawczą dla dziedziny nauk fizycznych, a jej wyniki mogą stanowić punkt wyjścia do dalszych badań nad fizycznymi uwarunkowaniami efektów radiobiologicznych. Podjęta problematyka ma również potencjalne znaczenie aplikacyjne, szczególnie w kontekście rozwoju i doskonalenia metod planowania terapii hadronowej, w których coraz większą rolę odgrywa precyzyjne przewidywanie efektów biologicznych wywoływanych przez różne rodzaje promieniowania jonizującego.

Zrealizowane prace eksperymentalne, przeprowadzone obliczenia teoretyczne oraz wieloaspektowa analiza danych pozwoliły na osiągnięcie ambitnego celu rozprawy. Na uwagę zasługuje również umiejętność Doktoranta krytycznej analizy wyników, łączenia zagadnień z zakresu fizyki radiacyjnej, nanodozymetrii i radiobiologii oraz podejmowania problemów badawczych wymagających interdyscyplinarnego podejścia.

Podsumowując, uważam, że przedłożona rozprawa doktorska spełnia w pełni wymagania stawiane pracom doktorskim zgodnie z ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie

sztuki i wnioskuje o dopuszczenie Pana mgr Mateusza Filipka do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę duże znaczenie podjętej tematyki dla rozwoju nauk fizycznych, kompleksowy i dogłębny charakter przeprowadzonych badań, szeroki zakres wykorzystanych danych radiobiologicznych, ich wnikliwą i krytyczną analizę oraz uzyskane wyniki, które wnoszą istotny wkład w rozwój badań nad nanodozymetrycznym opisem oddziaływania promieniowania jonizującego z materią biologiczną, wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana mgr Mateusza Filipka.