



NARODOWE CENTRUM
BADAŃ JĄDROWYCH
ŚWIERK

Rozprawa doktorska

Modelowanie odpowiedzi komórkowej
na małe dawki promieniowania jonizującego

Joanna Reszczyńska

Promotor:

prof. dr hab. Ludwik Dobrzyński

Promotor pomocniczy:

dr inż. Krzysztof Fornalski

Warszawa 2019

Podziękowania

Składam serdecznie podziękowania mojemu promotorowi prof. dr hab. Ludwikowi Dobrzyńskiemu, za czas poświęcony na dyskusję, dzielenie się swoją wiedzą i za okazaną pomoc, bez których ta praca by nie powstała, za ogromną wyrozumiałość oraz zaufanie, którym obdarzył mnie kilka lat temu. Nigdy nie zapomnę tego, czego nauczyły mnie te wspólnie spędzone lata. Dziękuję również wszystkim tym, którzy wnieśli swój wkład w powstanie tej pracy, szczególnie promotorowi pomocniczemu dr Krzysztofowi Fornalskiemu, dzięki którego motywacji i pomysłowości udało się stworzyć przedstawiony w rozprawie doktorskiej model. Chciałabym uwzględnić moją wdzięczność dla wszystkich, którzy wspierali mnie i pomagali w drodze do ukończenia tej pracy, wszystkim współpracownikom z zespołu działu Edukacji i Szkoleń NCBJ, a także dr Sylwestrowi Sommerowi, dr Nicolasowi Foray, prof. Dorocie Słoninie, prof. Markowi Janiakowi, i wielu innym osobą, które napotkałam na swojej drodze. Przede wszystkim dziękuję rodzinie.

Pracę dedykuję wszystkim tym, którzy kierują się w życiu pasją.

“Nothing in this life is to be feared, it is only to be understood.

Now is the time to understand more, so that we may fear less.”

Marie Curie-Skłodowska

Streszczenie

Celem naukowym pracy doktorskiej jest przedstawienie zagadnienia wpływu niskich dawek promieniowania jonizującego na organizm człowieka oraz ocena prawdopodobieństwa rozwoju popromiennej choroby nowotworowej. W pierwszej części pracy znajduje się opis pojęć radiobiologicznych, analiza ryzyka nowotworowego na przykładzie zachorowalności i śmiertelności na nowotwory płuc w zależności od koncentracji radonu w budynkach mieszkalnych oraz wyniki, przeprowadzonego przez autorkę rozprawy, projektu dotyczącego indywidualnej wrażliwości na promieniowanie jonizujące oraz zjawiska nadwrażliwości na małe dawki promieniowania jonizującego. Przedstawiono różne metody służące do oceny ryzyka radiacyjnego pokazując przy tym trudności w ocenie zależności dawka – efekt w przedziale małych dawek promieniowania. Z tego względu, w drugiej części pracy, podjęto próbę połączenia wiedzy radiobiologicznej, epidemiologicznej z modelowaniem matematycznym. Z punktu widzenia fizyki organizm ludzki można potraktować jako fizyczny układ złożony, charakteryzującym się nieliniową odpowiedzią na dostarczane bodźce. Przedstawiono biofizyczny model, który opisuje ścieżkę transformacji nowotworowej od pojedynczego uszkodzenia materiału genetycznego, po rozwój łitego guza. Zaprezentowano biofizyczne podstawy krzywej Gompertza do opisu rozrostu guza w czasie oraz pokazano analogię opisu zjawiska perkolacji do procesu nowotworzenia we wczesnych fazach rozwoju guza nieunaczynionego.

Słowa kluczowe:

fizyka radiacyjna, niskie dawki promieniowania, modelowanie biofizyczne, popromienna transformacja nowotworowa, odpowiedź adaptacyjna, hormeza, ryzyko radiacyjne, indywidualna radiowrażliwość, zależność dawka – efekt.

Spis treści

<i>Rozdział 1 Wstęp</i>	1
1.1 CEL, TEZA I MOTYWACJA PRACY.....	1
1.2 PRZEWODNIK PO ROZDZIAŁACH I SPIS PUBLIKACJI AUTORA.....	4
<i>Rozdział 2 Ryzyko radiacyjne związane z ekspozycją na małe dawki promieniowania jonizującego</i>	7
2.1 RYZYKO RADIACYJNE.....	7
2.2.1 Ochrona radiologiczna i problem liniowości.....	8
2.2.2 Szacowanie Ryzyka Radiacyjnego.....	9
2.2 MAŁE DAWKI PROMIENIOWANIA.....	11
2.2.1 Definicje małych dawek promieniowania.....	11
2.2.2 Hormeza radiacyjna.....	12
2.2.3 Odpowiedź adaptacyjna.....	14
2.3 ŹRÓDŁA INFORMACJI O SKUTKACH NAPROMIENIANIA.....	14
2.3.1 Dane epidemiologiczne.....	15
2.3.2 Informacje o małych dawkach.....	15
2.3.3 Obserwacje hormezy radiacyjnej na przykładzie badań komórkowych i zwierzęcych.....	17
2.4 PODSUMOWANIE.....	19
<i>Rozdział 3 Oddziaływanie promieniowania na organizm człowieka</i>	21
3.1 ODDZIAŁYWANIE PROMIENIOWANIA Z MATERIAŁ.....	22
3.1.1 Mechanizmy oddziaływania fotonów z materią.....	22
3.1.2 Przekrój czynny.....	23
3.1.3 Zasięg i współczynnik absorpcji.....	24
3.1.4 Oddziaływanie neutronów z materią.....	24
3.1.5 Oddziaływanie jonów z materią.....	25
3.1.6 Współczynnik liniowego przekazu energii.....	26
3.2 WPŁYW PROMIENIOWANIA JONIZUJĄCEGO NA UKŁADY BIOLOGICZNE.....	28
3.2.1 Jonizacja pośrednia.....	28
3.2.2 Jonizacja bezpośrednia i uszkodzenia DNA.....	30
3.2.3 Naprawa i apoptoza.....	32
3.2.4 Mechanizm odpowiedzi adaptacyjnej.....	33
3.2.5 Mutacja kancerogenna.....	33
3.2.6 Oddziaływanie promieniowania na poziomie całego organizmu.....	34
3.3 KANCEROGENZA POPROMIENNA.....	35
3.3.1 Cechy nowotworu i etapy kancerogenezy.....	36
3.4 PODSUMOWANIE.....	38

<i>Rozdział 4 Indywidualna wrażliwość i podatność organizmu oraz zjawisko nadwrażliwości na małe dawki promieniowania jonizującego</i>	39
4.1 INDYWIDUALNA WRAŻLIWOŚĆ NA PROMIENIOWANIE JONIZUJĄCE	40
4.2 ZJAWISKO NADWRAŻLIWOŚCI NA MAŁE DAWKI PROMIENIOWANIA JONIZUJĄCEGO	41
4.2.1 Opis matematyczny zjawiska HRS/IRR	41
4.2.2 Opis biologiczny zjawiska HRS/IRR	43
4.2.3 Wpływ fazy cyklu komórkowego podczas napromieniania	45
4.3 ZJAWISKO HRS W ODNIESIENIU DO OGÓŁU POPULACJI JAKO PROBLEM BADAWCZY	48
4.3.1 Temat badań	48
4.3.2 Cel eksperymentu	48
4.3.3 Hipoteza badawcza	48
4.4 PRZEBIEG EKSPERYMENTU	48
4.4.1 Wybór ochotników	48
4.4.2 Pomiary dozymetryczne	49
4.4.3 Metodologia i przebieg doświadczenia	52
4.4.4 Przygotowanie doświadczenia	54
4.4.5 Napromienianie materiału biologicznego	55
4.5 WYNIKI DOŚWIADCZENIA	56
4.5.1 Wyniki dla poszczególnych uczestników	56
4.5.2 Indywidualna odpowiedź w przedziale małych dawek (G_0).....	57
4.5.3 Indywidualna odpowiedź w przedziale małych dawek (G_2).....	58
4.6 DOPASOWANIE MODELU INDUKOWANEJ NAPRAWY DO DANYCH	59
4.7 DOPASOWANIE ZALEŻNOŚCI DAWKA-EFEKT W PRZEDZIALE MAŁYCH DAWEK PROMIENIOWANIA.	62
4.7.1 Różnice w odpowiedzi komórek w fazie G_0 i G_2	63
4.7.2 Indeks mitotyczny.....	67
4.7.3 Test na aberracje chromosomowe	67
4.8 PODSUMOWANIE	69
<i>Rozdział 5 Badania epidemiologiczne związane z ryzykiem radonowym</i>	71
5.1 RADON I RYZYKO NOWOTWOROWE.....	72
5.1.1 Nowotwór płuc	72
5.1.2 Radon	73
5.1.3 Radon w przepisach OR.....	78
5.2 META-ANALIZA RADONOWYCH BADAŃ KLINICZNO-KONTROLNYCH.....	79
5.2.1 Zebranie danych	81
5.2.2 Opracowanie wyników	82
5.2.3 Analiza dopasowania wybranych modeli	84
5.2.4 Wnioskowanie bayesowskie	90
5.2.5 Wnioski	92

5.3 KONCENTRACJA RADONU I NOTOWANE W REJESTRACH PAŃSTWOWYCH PRZYPADKI NOWOTWORÓW PŁUC.....	93
5.3.1 Zbiór danych.....	94
5.3.2 Analiza pomiaru koncentracji radonu	96
5.3.3 Dalsza analiza	99
5.3.4 Wnioski.....	104
5.4 PODSUMOWANIE.....	105
<i>Rozdział 6 Modelowanie biofizyczne transformacji nowotworowej</i>	<i>107</i>
6.1 WYBRANE MODELE BIOFIZYCZNE TRANSFORMACJI NOWOTWOROWEJ.....	108
6.1.1 Przegląd istniejących modeli.....	109
6.1.2 Model „Whack-a-mole”	112
6.1.3 Model „RCM-RA”.....	114
6.1.4 Model „Gompertzowskiego rozrostu”.....	114
6.2 STOCHASTYCZNY MODEL KOMÓRKOWY I JEGO ROZWIŃCIE DETERMINISTYCZNE.....	116
6.2.1 Założenia i opis fenomenologiczny.....	116
6.3 OGÓLNY MODEL LTC.....	118
6.3.1 Założenia i struktura modelu	118
6.3.2 Procesy prowadzące do transformacji nowotworowej	120
6.3.3 Opis matematyczny modelu LTC.....	121
6.3.3.1 Depozycja energii i uderzenia w materiał tarczowy DNA	121
6.3.3.2 Uszkodzenie DNA	122
6.3.3.3 Naprawa uszkodzeń	125
6.3.3.4 Odpowiedź adaptacyjna	127
6.3.3.5 Nadmiarowe uszkodzenia DSB	129
6.3.3.6 Powstanie mutacji kancerogennych w DNA komórki.....	130
6.3.3.7 Powstanie kolejnych komórek potencjalnie nowotworowych.....	130
6.3.4 Wyniki i dopasowanie modelu do danych.....	133
6.4 ZASTOSOWANIE MODELU LTC W ALGORYTMIE NUMERYCZNYM.....	136
6.4.1 Algorytm	137
6.4.2 Parametry modelu	139
6.4.3 Wyniki i wnioski.....	140
6.5 ZJAWISKO PERKOLACJI W OPISIE ROZROSTU KOMÓREK NOWOTWOROWYCH.....	142
6.5.1 Pojęcie perkolacji	142
6.5.2 Zastosowanie zjawiska perkolacji w opisie rozrostu guza	146
6.6 PODSUMOWANIE.....	152
<i>Podsumowanie pracy.....</i>	<i>154</i>
<i>Spis Tabel</i>	<i>159</i>
<i>Spis Rysunków</i>	<i>160</i>
<i>Literatura.....</i>	<i>164</i>

<i>Uzupełnienie 1. Przepisy dotyczące ochrony radiologicznej</i>	197
<i>Uzupełnienie 2. Oddziaływanie fotonów z materią</i>	200
Efekt fotoelektryczny	200
Zjawisko Comptona	200
Produkcja par	202
<i>Uzupełnienie 3. Definicje podstawowych pojęć fizycznych, dozymetrycznych i statystycznych używanych w prezentowanej pracy</i>	203
Wielkości fizyczne	203
Wielkości radiologiczne	204
Wielkości dozymetryczne	205
<i>Uzupełnienie 4. Informacje związane z badaniem uczestników eksperymentu</i>	206
Część A	206
Część B	208
Część C	209
<i>Uzupełnienie 5. Test mikrojądrowy</i>	210
<i>Uzupełnienie 6. Wyniki analizy testu mikrojądrowego</i>	211
<i>Uzupełnienie 7. Zestawienie prac uwzględnionych w meta-analizie radonowej</i>	215
<i>Uzupełnienie 8. Dane z 34 prac uwzględnionych w meta-analizie radonowej</i>	220
<i>Uzupełnienie 9. Wyniki analizy klasycznej i bayesowskiej danych radonowych</i>	224
<i>Uzupełnienie 10 Krzywe sigmoidalne</i>	226
Funkcja sigmoidalna	226
Równanie Avramiego Johnsona-Mehla-Avramiego-Kołmogorova (JMAK)	226
Krzywa Gompertza.....	227
Zastosowanie krzywej sigmoidalnej do opisu ewolucji komórek nowotworowych w funkcji dawki i czasu	228
<i>Uzupełnienie 11. Kod źródłowy model numeryczny LTC</i>	231
<i>Uzupełnienie 12. Raport z pomiarów dozymetrycznych na stanowisku do napromieniania komórek w Zakładzie Radiobiologii i Dozymetrii Biologicznej IChTJ</i>	239

Rozdział 1

Wstęp

W niniejszej rozprawie podjęto kwestię problemu odpowiedzi organizmu człowieka na małe dawki promieniowania jonizującego (poniżej 100-200 mGy), w szczególności w kontekście indukowanej popromiennie choroby nowotworowej. Pomimo iż kwestia wpływu dużych dawek na zdrowie człowieka została dobrze poznana, wpływ małych dawek wciąż wywołuje wiele sprzeczności. Praca w sposób kompleksowy stara się znaleźć odpowiedź na pytanie – jak wygląda zależność ryzyka nowotworowego od dawki w obszarze niskich dawek promieniowania jonizującego.

1.1 Cel, teza i motywacja pracy

Celem pracy jest wyznaczenie zależności dawka-efekt poniżej wspomnianego zakresu dawek promieniowania jonizującego. Znaczenie uzyskanego wyniku polega na uzyskaniu wiarygodnej oceny prawdopodobieństwa popromiennej transformacji nowotworowej. Jest to szczególnie istotne, ponieważ małe dawki promieniowania są stale obecne w naszym środowisku (2-100 mSv) oraz regularnie wykorzystywane do diagnostyki medycznej (1-50 mSv). Wiedza dotycząca ryzyka radiacyjnego w obu wymienionych sytuacjach przyczyniłaby się do świadomej oceny ryzyka środowiskowego u osób zamieszkujących obszary o podwyższonym promieniowaniu tła, czy pracujących w warunkach narażenia na niskie dawki promieniowania, jak w przypadku załogi statków powietrznych. Ponadto pozwoliłaby na zrezygnowanie z dużej części ograniczeń wykonywanych badań przy użyciu promieniowania jonizującego, co wiązałoby się ze zwiększeniem trafności diagnostyki oraz wzrostem wykrywalności chorób, w tym chorób nowotworowych.

Z punktu widzenia fizyki organizm ludzki można potraktować jako fizyczny układ złożony, charakteryzującym się nieliniową odpowiedzią na dostarczane bodźce. Procesy, które zachodzą w komórkach eukariotycznych, mają więc naturę stochastyczną. Obecnie stosowanym modelem do oceny stochastycznych (późnych) skutków biologicznych promieniowania jest zwykle model liniowy, bezprogowy, oparty na liniowej ekstrapolacji danych dot. największej kohorty poddanej działaniu promieniowania jonizującego o szerokim

przedziale pochłoniętych dawek – ofiar bomb atomowych w Hiroszynie i Nagasaki. Założenie liniowości wynika z faktu, że w obszarze małych dawek, ze względu na duże wartości niepewności oraz niewystarczającą liczbę badanej populacji, trudno jest uzyskać dane, które będą wiarygodne statystycznie. Ocena efektów związanych z narażeniem na małe dawki promieniowania jest szczególnie istotną kwestią, ponieważ modele szacujące ryzyko radiacyjne są podstawą przy tworzeniu wytycznych dla ochrony radiologicznej. Określenie limitów ekspozycji w zakresie ochrony przed promieniowaniem jest zagadnieniem dużej wagi społecznej, gospodarczej czy politycznej.

W ostatnich latach liczba publikacji dotyczących różnych mechanizmów zachodzących w wyniku napromieniania komórek małymi dawkami stale rośnie. Tu wyróżnić można procesy takie jak: odpowiedź adaptacyjna, niestabilność genetyczna, zjawisko hormezy radiacyjnej, efekt widza, zjawisko nadwrażliwości, indywidualną wrażliwość i podatność organizmu na promieniowanie, supresja transformacji przez system immunologiczny.

Jest to temat, który wywołuje również sporo kontrowersji, ponieważ wiąże się ze zmianą funkcjonującego przez lata, klasycznego „paradygmatu” liniowości radiacyjnego ryzyka nowotworowego. Szczegółowe modele (mechanistyczne) mają na celu ilościowe zrozumienie podstawowych procesów, ich znaczenie i wzajemne powiązania. W połączeniu z fenomenologią, modele te znajdują zastosowania w radioterapii, analizie danych radiobiologicznych lub jako podstawa do oceny ryzyka radiacyjnego. Odpowiedni opis mechanizmów stojących za odpowiedzią organizmu na małe dawki promieniowania, może również przyczynić się do rozwoju nowego podejścia do leczenia chorób nowotworowych oraz zmiany publicznej percepcji ryzyka radiacyjnego, która z kolei wiąże się z szerszym dostępem do nowoczesnych technik diagnostyki obrazowej czy poparciem dla rozbudowy infrastruktury energetyki jądrowej.

Zgromadzone dane pokazują, że małe dawki promieniowania wykazują potencjał do stymulowania mechanizmów obronnych, które mogą zapobiec lub opóźnić transformację nowotworową komórek. Wybierając to zagadnienie jako myśl przewodnią pracy, w rozprawie przedstawiono model analityczny (nazwany LTC jako akronim słów Lesion To Cancer), który w oparciu o najnowszą wiedzę z zakresu radiobiologii przedstawia ścieżkę złożoną z podstawowych mechanizmów prowadzących do transformacji popromiennej – począwszy od uszkodzenia – kończąc na rozroście nowotworu łitego. Fenomenologia modelu wywodzi się z pracy autorstwa grupy Flecka oraz Schöllnbergera (model RCA-RA), uwzględniającej wpływ mocy dawki na otrzymaną zależność transformacji nowotworowych z dawką

promieniowania i czasem ekspozycji. Uwzględnienie mocy dawki pozwala opisać dwa scenariusze napromieniania, ekspozycję ciągłą w czasie i jednorazową. Część użytych funkcji gęstości prawdopodobieństwa (PDF, ang. *Probability Density Functions*) opublikowana została we wcześniejszych wersjach modelu, przez L. Dobrzyńskiego i K.W. Fornalskiego. Uzyskane przez nich wnioski pokazują sigmoidalną zależność liczby komórek nowotworowych od dawki promieniowania jonizującego oraz zależność tworzącej się liczby komórek nowotworowych w funkcji czasu opisaną krzywą Gomperta. Obie zależności opisano szczegółowo w uzupełnieniach do niniejszej rozprawy. Wyniki analityczne porównane zostały do opracowanego na poczet pracy algorytmu bazującego na drzewie prawdopodobieństw procesów uwzględnionych w modelu LTC oraz zmian metabolicznych jak również na modelu „Whack-a-Mole” (opracowanego przez grupę Y. Manabe). W celu opisania ostatniej fazy, rozrostu guza, wykorzystano model autorstwa grupy Y. Jianga, oparty na gompertzowskim wzroście objętości nieunaczynionego guza litego. Posłużono się danymi epidemiologicznymi bazując na meta-analizach zależności zapadalności na nowotwory płuc od koncentracji radonu w budynkach mieszkalnych. Istotną okazała się również indywidualna wrażliwość i podatność na promieniowanie jonizujące lub inne czynniki powodujące mutacje w materiale genetycznym, czemu poświęcony został odrębny rozdział. W pracy poruszone zostały zagadnienia związane z biologicznym działaniem promieniowania jonizującego na organizm człowieka, ochroną radiologiczną, indywidualną wrażliwością i podatnością na promieniowanie jonizujące. Przedstawiono wyniki przeprowadzonego przez autora rozprawy projektu związanego z oceną występowania zjawiska nadwrażliwości na małe dawki promieniowania jonizującego, ponadto umożliwiający porównanie indywidualnej odpowiedzi in vitro komórek pobranych od pracowników Narodowego Centrum Badań Jądrowych w Świerku. Całość pracy oparto na przekonaniu, że zależność dawka-efekt powinna być rozważana osobno dla dawek i mocy dawek określanych jako małe dawki i moce dawek oraz dawek powyżej górnej ich granicy.

1.2 Przewodnik po rozdziałach i spis publikacji autora

Niniejsza rozprawa doktorska składa się z 6 rozdziałów, z których każdy opatrzony jest krótkim streszczeniem. Praca została podzielona na następujące części:

Rozdział 1 przedstawia wstęp, w którym omówiono motywację, cel pracy oraz spis publikacji autora rozprawy.

Rozdział 2 przedstawia przegląd zagadnień związanych z ochroną radiologiczną oraz ryzykiem radiacyjnym związanym z małymi dawkami promieniowania, porusza również temat hormezy radiacyjnej. W rozdziale tym przedstawiono definicję małych dawek promieniowania, jak i omówiono niektóre dane doświadczalne i epidemiologiczne, na bazie których uzyskuje się informację o działaniu promieniowania jonizującego.

Rozdział 3 omawia zagadnienia teoretyczne związane z fizycznymi, chemicznymi oraz głównie biologicznymi skutkami działania promieniowania jonizującego na organizm człowieka, z wyodrębnieniem efektów deterministycznych (wczesnych) oraz stochastycznych (późnych), do których zaliczana jest popromienna transformacja nowotworowa. W rozdziale 3 opisano również transformację nowotworową, włączając w to obecną wiedzę dotyczącą samej choroby nowotworowej.

Rozdział 4 dotyczy tematyki indywidualnej wrażliwości i podatności organizmu na promieniowanie jonizujące, bazując na wynikach doświadczalnych projektu, wykonanego przy współpracy z laboratorium radiobiologicznym w ICHTJ, mającego na celu ewaluację występowania efektu nadwrażliwości na małe dawki promieniowania w komórkach krwi obwodowej (limfocyty B) u zdrowych osób z ogółu populacji oraz porównanie rozbieżności w przebiegu krzywych dawka-efekt dla poszczególnych uczestników badania.

Rozdział 5 dotyczy przeglądu badań epidemiologicznych, ich przydatności w ocenie ryzyka radiacyjnego pod kątem małych dawek promieniowania oraz analizy względnego ryzyka wystąpienia popromiennego nowotworu. W tym ostatnim zagadnieniu posłużono się przykładem korelacji koncentracji radonu w budynkach mieszkalnych i zapadalności oraz śmiertelności na nowotwory płuc, który przedstawiono w dwóch częściach – bazując na metaanalizie wyników 32 badań kliniczno-kontrolnych (ang. *case-control*) i 2 badań ekologicznych oraz analizie własnej danych dla populacji liczącej ponad 260 milionów osób (baza opublikowana w 2015 roku przez Simeonova i Himmelsteina).

Rozdział 6 opisuje koncepcję popromiennej i naturalnej transformacji nowotworowej i założenia zastosowane w celu zbudowania modelu, który przedstawia ścieżkę procesów prowadzących od punktowego uszkodzenia materiału genetycznego DNA do transformacji komórki w nowotwór. Zastosowany model (LTC – ang. *Lesion to Cancer*) prezentuje przestrzenny i czasowy rozwój populacji komórkowej bazując na funkcjach prawdopodobieństwa aktywowanych procesów. Zaprezentowane podejście porównano do istniejących modeli matematycznych, końcowe wyniki zostały dopasowane do danych pochodzących z doświadczeń prowadzonych na komórkach ludzkich.

Ostatnia część zawiera podsumowanie, w którym zawarto dyskusję nad poruszonym zagadnieniem oraz uzyskane na podstawie zaprezentowanej treści ogólne wnioski dotyczące oddziaływania małych dawek promieniowania jonizującego na organizm człowieka oraz perspektywy dalszej pracy nad zaprezentowanym zagadnieniem oraz samym modelem LTC.

Rozprawa doktorska została oparta na następujących publikacjach autora:

1. Dobrzyński L., Fornalski K.W., Reszczyńska J., Ryzyko zdrowotne związane z niskimi dawkami promieniowania jonizującego. Biuletyn Informacyjny Państwowej Agencji Atomistyki – Bezpieczeństwo Jądrowe i Ochrona Radiacyjna Nr 1 (103) 2016.
2. Fornalski K.W., Dobrzyński L., Reszczyńska J., Modelling of the radiation carcinogenesis – the analytic and stochastic approaches. Trends in Mathematics, Research Perspectives CRM Barcelona vol. 7 (Springer) 2017, str. 95 – 101.
3. Dobrzyński L., Fornalski K.W., Socol, Y., Reszczyńska J., Modelling of the irradiated cells' transformation: the time and dose – dependent effects.” Radiation Research (186) 2016.
4. Reszczyńska J., Dobrzyński L., Problemy zasad ochrony radiologicznej w obszarze małych dawek promieniowania. Biuletyn Informacyjny Państwowej Agencji Atomistyki – Bezpieczeństwo Jądrowe i Ochrona Radiacyjna Nr 1 (107) 2017.
5. Dobrzyński L., Fornalski K.W., Reszczyńska J., Meta-analysis of thirty- two case-control and two ecological radon studies of lung cancer. Journal of Radiation Research, Listopad 2018, str. 1–15.

6. Dobrzyński L., Fornalski K.W., Reszczyńska J., Janiak M.K., Modelling cell reactions to ionizing radiation – from a lesion to a cancer. *Dose Response* 17 (2) 2019
7. Reszczyńska J., Pylak M., Fornalski K.W., Mortazavi S.J., Dobrzyński L., Methodological Problems in Epidemiological Data: the Case of Correlation Between Radon Level and Lung Cancer, (wysłane do druku w *International Journal of Low Radiation*) 2019
8. Fornalski K.W., Reszczyńska J., Dobrzyński L., Wysocki P., Janiak M.K., Biophysical basis for the Gompertz law of proliferating cancer cells, (wysłane do druku w *Biophysical Reviews*) 2019

Rozdział 2

Ryzyko radiacyjne związane z ekspozycją na małe dawki promieniowania jonizującego

W niniejszym rozdziale przedstawiono problem małych dawek promieniowania w ujęciu ochrony radiologicznej, opierając się na aktualnych przepisach (Uzupełnienie 1) związanych z ryzykiem radiacyjnym. Omówiony został również sposób szacowania owego ryzyka oraz przedstawiono dane epidemiologiczne, na bazie których określono obecne normy ochrony radiologicznej. Podjęto kwestie metodologiczne związane z wyborem odpowiedniego modelu dawka-efekt oraz omówiono zjawisko hormezy radiacyjnej, jako alternatywy dla obecnie funkcjonującego w ochronie radiologicznej modelu linowego – bezprogowego. Zjawisko hormezy radiacyjnej polega na wzmożeniu działania systemów naprawczych i systemu immunologicznego w wyniku działania małych dawek promieniowania, w związku z tym powinno być obserwowane w sytuacjach chronicznego napromieniania, kilkukrotnej ekspozycji na promieniowanie bądź jako redukcja efektu indukowanego na innych drogach, w tym metabolicznej.

2.1 Ryzyko radiacyjne

Promieniowanie jonizujące zakwalifikowane jest do grupy czynników potencjalnie kancerogennych, czyli takich które mają potencjał do wywołania choroby nowotworowej. Ze względu na szerokie zastosowanie promieniowania w wielu gałęziach życia codziennego (zarówno w przemyśle jądrowym, radioterapii czy radiologii interwencyjnej) zdarzają się sytuacje określane jako wypadki radiacyjne, których efektami są zarówno odległe w czasie przypadki nowotworowe jak i charakterystyczne zmiany popromienne (Cerezo i in., 2011). Ryzyko radiacyjne (zdefiniowane szczegółowo w podrozdziale 2.1.2) odnosi się do oszacowanego, na podstawie konkretnego modelu, prawdopodobieństwa wystąpienia negatywnych skutków zdrowotnych w wyniku napromieniania. Z tego względu, narażenie na promieniowanie jonizujące podlega kontroli oraz optymalizacji wdrażanej w oparciu o przepisy ochrony radiologicznej (opisane w Uzupełnieniu 1).

2.2.1 Ochrona radiologiczna i problem liniowości

Według oficjalnej definicji ochrona radiologiczna (OR) polega na zapobieganiu przed narażeniem ludzi i skażeniem środowiska lub ograniczeniem skutków obu scenariuszy do poziomu tak niskiego, jak tylko jest to możliwe, uwzględniając przy tym czynniki ekonomiczne, społeczne i zdrowotne (tzw. zasada ALARA). Jest to istotne działanie w przypadku faktycznego ryzyka wystąpienia uszczerbku na zdrowiu. W przypadku efektów deterministycznych (utożsamianych ze skutkami wczesnymi), ryzyko jest bezpośrednio zależne od wartości pochłoniętej dawki promieniowania jonizującego. Efekty deterministyczne (związane z uszkodzeniem tkanek) występują w wyniku otrzymania stosunkowo dużych dawek promieniowania, powyżej 500 mGy. W związku z tym przyjęło się mówić, iż w ochronie radiologicznej postuluje się istnienie progu dawki na wystąpienie efektów deterministycznych. Inaczej jest jednak dla skutków stochastycznych (utożsamianych ze skutkami późnymi), dla których przyjęte standardy ochrony radiologicznej postulują brak wartości progowej a co za tym idzie – wymuszają stosowanie tzw. zasady optymalizacji. Optymalizacja ochrony przed promieniowaniem polega na takim jej zorganizowaniu, aby otrzymane dawki były tak małe, jak jest to rozsądnie osiągalne (wspomniana już w definicji ochrony radiologicznej tzw. zasada ALARA (ang. *As Low As Reasonably Achievable*). Na podstawie modelu liniowego, bez progu na efekt (LNT, ang. *Linear No-Threshold*), przyjęto, że ryzyko radiacyjne następstw stochastycznych wzrasta proporcjonalnie ($5,5 \cdot 10^{-2} \text{ Sv}^{-1}$) wraz z dawką promieniowania (Publikacja ICRP nr 103). W przedziale małych dawek (do 100 mGy dla promieniowania o niskim współczynniku LET) wprowadzono dodatkowy współczynnik efektywności (DDREF, ang. *Dose and Dose Rate Effectiveness Factor*) równy $\frac{1}{2}$ w stosunku do ryzyka indukcji nowotworów litych dla większych dawek (Publikacja ICRP nr 103). Oznacza to, że stosując LNT, zaleca się wykorzystanie dwóch osobnych krzywych – jednej o pewnym nachyleniu dla dawek powyżej 100 mSv i drugiej, dla przedziału poniżej podanej wartości dawki, o nachyleniu o połowę mniejszym. Pomimo iż nie rozwiązuje to problemu liniowości, podejście to sugeruje, że pod kątem kancerogenezy te dwa przedziały (poniżej i powyżej 100 mSv) powinny być opisywane osobno. Oznacza to również, że nawet najmniejsza dawka, bliska zerowej, zawsze przynosi szkodę w postaci hipotetycznego niezerowego ryzyka radiacyjnego. Ryzyko radiacyjne, według założeń OR, jest nieodłącznym elementem towarzyszącym wykorzystywaniu promieniowania jonizującego, chociaż zgodnie z opinią Komitetu Naukowego ONZ ds. Skutków Promieniowania Atomowego negatywne efekty zdrowotne nie występują u ludzi poniżej dawki skutecznej 100 mSv (Raport

UNSCEAR 2000). Pomimo kwestii związanych z odbiorem społecznym (radiofobia i towarzyszące jej kwestie związane z podejściem do energetyki jądrowej) warto wziąć pod uwagę procedury związane z wykorzystaniem promieniowania jonizującego, których koszty i uciążliwości związane z kolejnym zmniejszeniem narażenia do coraz niższych wartości na ogół rosną nieproporcjonalnie do korzyści wynikających z obniżania dopuszczalnej dawki granicznej¹. Działania te, w kontekście użyteczności społecznej, stają się coraz mniej uzasadnione.

2.1.2 Szacowanie Ryzyka Radiacyjnego

Ryzyko odnosi się do oceny prawdopodobieństwa wystąpienia danego zdarzenia, na podstawie częstości zdarzeń, które miały już miejsce – danych epidemiologicznych. Częstość przypadków szacowana jest w określonym przedziale czasu, często wyrażana jako liczba zdarzeń chorobowych występująca na 100,000 osób, w przeciągu roku (uśrednioną względem wieku oraz płci). Wielkość populacji niezbędna do uzyskania istotnych statystycznie wyników zależy od wielkości czynnika sprawczego. W przypadku dawek promieniowania rzędu 10 mGy, wynosi ona 5×10^4 (Bebelacqua, 2009). Natomiast niewielkie i odległe w czasie efekty popromienne w tak dużej kohorcie, często ulegają utajeniu poprzez inne czynniki (np. środowiskowe) (BEIR V), w związku z czym w odniesieniu do ryzyka radiacyjnego, dla małych dawek promieniowania od 2,5-100 mGy, populację tę szacuje się na 10^4 - 10^6 (Bebelacqua, 2009).

¹ w wypadku ogółu populacji i pracowników narażonych zawodowo – dawki graniczne promieniowania jonizującego, których przekroczenie potencjalnie może spowodować niekorzystne efekty dla zdrowia. Osoba z ogółu społeczeństwa nie powinna w przeciągu roku kalendarzowego otrzymać dodatkowej (tj. pochodzącej od źródeł sztucznych poza medycznych) dawki pochłoniętej (na całe ciało) powyżej wartości 1 mSv, pracownik zawodowo narażony na opisywany czynnik – 20 mSv – ponad nieuniknioną dawkę od promieniowania naturalnego (ok. 2,4 mSv) lub 100 mSv w ciągu 5 lat (Rozporządzenie Rady Ministrów z dnia 18 stycznia 2005 r. w sprawie dawek granicznych promieniowania jonizującego.).

Ryzyko radiacyjne opisywane jest przy pomocy pojęć:

1. Absolutne nadmiarowe ryzyko (EAR, ang. *Excess Absolute Risk*) – opisującego różnicę częstości przypadków lub śmiertelność w populacji narażonej i odpowiadającej tym zdarzeniom częstości w populacji nie wystawionej na dany czynnik.
2. Względne nadmiarowe ryzyko (ERR, ang. *Excess Relative Risk*) – określającego względne ryzyko (RR, ang. *Relative Risk*) jako stosunek częstości przypadków bądź śmiertelności w populacji narażonej do częstości odpowiadającej tym zdarzeniom w populacji nie wystawionej na dany czynnik, minus 1.
3. Iloraz szans (OR, ang. *Odds Ratio*) jest miarą tożsamą z ryzykiem względnym, w odniesieniu do badań „case-control”, określający stosunek liczby przypadków wystąpienia danego zdarzenia do liczby przypadków, w którym to zdarzenie nie wystąpiło.

Podstawowe modele ryzyka radiacyjnego:

- a) model liniowy, bezprogowy – liniowa zależność między dawką i skutkiem w całym zakresie dawek promieniowania, oparta na ekstrapolacji danych z obszaru dużych dawek, dla którego istnieją dane epidemiologiczne, do nieznanego zakresu zerowego,
- b) model progowy – zależność zakładająca wartość progową dawki promieniowania, poniżej której nie obserwuje się negatywnych dla zdrowia efektów popromiennych występujące przy dużych dawkach,
- c) model hormetyczny – model zakładający stymulację organizmu poprzez działanie małych dawek promieniowania, zależność dawka-efekt (Rys. 2.1) opisywana jest za pomocą krzywej z wyraźnym minimum w obszarze małych dawek.

2.2 Małe dawki promieniowania

Małe dawki i małe moce dawek promieniowania jonizującego zostały zdefiniowane przez UNSCEAR (2012, 2017) jako te poniżej 200 mSv oraz 0,1 mGy/min (uśrednioną w czasie 1 godziny) dla promieniowania o niskim współczynniku LET.

2.2.1 Definicje małych dawek promieniowania

Małe dawki promieniowania (lub moce dawek) często definiowane są w różny sposób, w zależności od kontekstu ich zastosowania (w radioterapii, dla przykładu, są one rzędu 2 Gy). Raport BEIR VII 2 (2006) podaje definicję małych dawek jako dawki (promieniowania o niskim współczynniku LET) – od wartości bliskich zera do 100 mSv. Jest to wartość podawana w odniesieniu do jednorazowego napromienienia jako poziomu poniżej, którego nie zaobserwowano efektów popromiennych. W odniesieniu do ekspozycji chronicznej, małe moce dawki szacuje się na te poniżej 10 μ Gy/godz. (Mothersill, 2019). Na podstawie analizy mikrodozymetrycznej, uwzględniając czas potrzebny na naprawę DNA, małe moce dawki określono na te poniżej 0,001 mGy/min., w przypadku chronicznego napromieniania w okresie długości życia (60 lat) – poniżej 10^{-8} mGy/min. (UNSCEAR, 2000 G). W niektórych źródłach można znaleźć odniesienie do wartości dawki skumulowanej 100 mSv, jednakże obecnie wiadomo, że uwzględniając mechanizmy naprawy DNA, definicja dawki kumulatywnej nie ma praktycznego zastosowania. W kontekście promieniowania gęsto jonizującego (alfa, neutrony) zakres ten szacowany jest na podstawie wskaźnika biologicznej skuteczności promieniowania (RBE, ang. *Relative Biological Effectiveness*) (r-nie (2.1)). Ze względu na różnice w rozkładzie przestrzennym depozycji energii, są to jedynie wartości szacunkowe. W odróżnieniu od promieniowania słabo jonizującego, w przypadku wysokich wartości LET rozkład ten jest niejednorodny (Scott, 2008), stąd obserwuje się znaczące różnice w dawce pochłoniętej w jądrze komórkowym, w zależności od miejsca, w którym nastąpiła bezpośrednia depozycja energii (Raport BEIR VII 2, 2006). W przypadku promieniowania alfa, w jądrze komórkowym, od pojedynczego aktu jonizacji, dawka pochłonięta może wynosić od dawek bliskich zeru do 1 Gy, podobnie w przypadku innych typów promieniowania (Raport UNSCEAR Aneks G, 2000). Współczynnik RBE, wyznaczony na podstawie badań komórkowych (liczby aberracji chromosomowych), w przypadku radonu, określono w granicach 16-38 (Meenakshi i Mohankumar, 2015). Względna skuteczność biologiczna (RBE) jest to czynnik empiryczny,

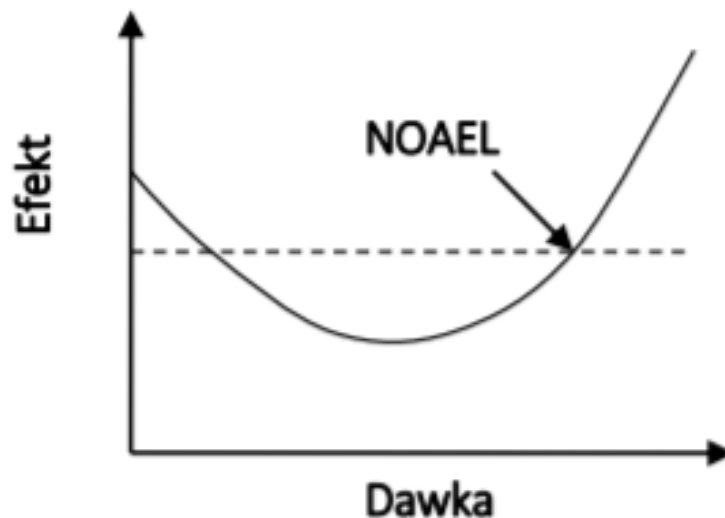
który określa skuteczność danego typu promieniowania, w stosunku do skuteczności promieniowania X:

$$RBE = \frac{D_X}{D_R} \quad (2.1)$$

gdzie: RBE – względna skuteczność biologiczna, D_X – wartość dawki referencyjnej, D_R – wartość dawki danego promieniowania (R), dla której obserwuje się taki sam efekt biologiczny.

2.2.2 Hormeza radiacyjna

Hormezę definiuje się jako dwoistą reakcję układu na bodziec, opartą na stymulacji organizmu poprzez małą ilość czynnika (np. promieniowania jonizującego) i hamowania jego funkcji życiowych w obszarze wysokich ilości tego czynnika (Calabrese i Baldwin, 2001). Hormeza radiacyjna polega na stymulacji organizmu poprzez działanie promieniowania jonizującego (Luckey, 1980). Pojęcie hormezy wywodzi się z takich dziedzin jak farmakologia czy toksykologia. Odpowiedź hormetyczna jest podstawowym pojęciem biologicznym, opisującym sposób, w jaki kolektywne efekty takie jak proliferacja, migracja komórek, wzrost, uczenie się, lęki, stres, zapamiętywanie, odpowiedź adaptacyjna, mogą być modyfikowane (pozytywnie bądź negatywnie) przez środki farmaceutyczne, chemiczne czy fizyczne (Calabrese, 2014). Paracelsus (1493-1541) pisał *"Co jest trucizną? Wszystko jest trucizną i nic nie jest trucizną."* Tylko dawka czyni, że coś jest trucizną" (Jaworowski, 1997). Istnienie zjawiska hormezy radiacyjnej omówiono szeroko w 1994 roku w raporcie UNSCEAR, w którym zamieszczono przegląd prac poruszających zagadnienie pozytywnego działania małych dawek promieniowania na organizm, który również kilka lat wcześniej opublikował T.D Luckey w pracy przeglądowej dotyczącej samego zjawiska hormezy radiacyjnej (Luckey, 1980). Obecnie liczba prac naukowych poruszająca tematykę omawianego zjawiska wynosi kilka tysięcy. Przykładowe badania kliniczne, epidemiologiczne i komórkowe, wskazujące na pozytywny wpływ promieniowania omówione zostały w książce „Radiobiology and Radiation Hormesis” (Sanders, 2017). Obecnie odejście od liniowego paradygmatu propaguje m.in. grupa naukowa SARI (ang. *Scientists for Accurate Radiation Information*).



Rysunek 2.1. Graficzna reprezentacja krzywej U – kształtnej przedstawiającej odpowiedź hormetyczną, z uwzględnieniem punktu NOAEL (brak obserwowanych efektów). Źródło: Dobrzyński 2006.

Hormetyczna odpowiedź organizmu ma przebieg paraboliczny – w kształcie litery U lub J, przy czym tzw. dołek hormetyczny, reprezentujący efekt pozytywny występujący w odniesieniu do efektu w grupie kontrolnej, nie poddanej działaniu danego czynnika. Punkt przecięcia opisanej krzywej z linią prostą występującą dla efektu progowego – oznacza poziom, poniżej którego nie obserwuje się negatywnych skutków działania wybranego czynnika (NOAEL, ang. *No Observed Adverse Effect Level*) (Dobrzyński, 2006). Jakościowy przebieg U–kształtnej krzywej hormetycznej zaprezentowano na Rys. 2.1, gdzie krzywą przerywaną zaznaczono poziom NOAEL. Odpowiedź komórki poddanej działaniu słabego czynnika wywołującego stres (bardzo niska dawka promieniowania jonizującego lub ultrafioletowego, obniżona temperatura, pole magnetyczne czy niedotlenienie), a następnie poddanie jej ekspozycji dawką promieniowania jonizującego może w efekcie zmniejszyć oczekiwaną liczbę uszkodzeń popromiennych DNA (częstość mutacji, liczbę mikrojąder czy aberracji chromosomowych bądź zwiększyć przeżywalność komórek). Przyjmuje się, że obniżony poziom uszkodzeń jest wynikiem pobudzenia procesów naprawy (Szumiel, 2012). Dawka wyzwalająca efekt nosi nazwę „*priming dose*” termin w tłumaczeniu na język polski można określić jako dawka wzmacniająca (gruntująca) układ naprawczy. Opisana sytuacja (w kontekście promieniowania jonizującego) jest określana jako odpowiedź adaptacyjna lub

efekt Yonezawy. Oba zjawiska są ze sobą ściśle powiązane, bowiem obserwowana hormeza pokazuje, że dla małych dawek promieniowania naprawa zachodzi wydajniej, co może tłumaczyć pobudzeniem naprawy małymi dawkami w procesie adaptacyjnym. Odpowiedź adaptacyjna uważana jest za podstawowy mechanizm tzw. potencjalnego działania hormetycznego. Zjawisko adaptacji szerzej omówione zostało w rozdziale 3.

2.2.3 Odpowiedź adaptacyjna

Obserwacje odpowiedzi adaptacyjnej mogą być wynikiem następujących mechanizmów (Shibamoto 2018, Guéguen i in., 2019):

- a) ochrony przed działaniem wolnych rodników (ROS, ang. *Reactive Oxygen Species*) przez antyoksydanty (Szumiel, 2012),
- b) pobudzeniem produkcji enzymów i białek biorących udział w naprawie uszkodzeń typu DSB (Averbeck i in., 2018),
- c) eliminacją komórek z defektami genetycznymi przez system immunologiczny oraz apoptozę (Feinendegen i in., 2005).

Mechanizmy starzenia się oraz rozwoju nowotworu związane są z uszkodzeniami oksydacyjnymi w następstwie stresu oksydacyjnego. ROS są uważane za główne czynniki inicjujące autofagię (rozpad niepotrzebnych związków komórkowych), który został powiązany zarówno z opóźnieniem procesów starzenia i hamowania kancerogenezy. Równowaga pomiędzy funkcjami sygnalizującymi oraz szkodliwymi efektami wolnych rodników ma zasadnicze znaczenie w ocenie losu komórek poddawanych działaniu czynników stresogennych takich jak promieniowanie jonizujące. Dokładny mechanizm utrzymywania równowagi oksydacyjnej nie został jeszcze poznany (Szumiel, 2012).

2.3 Źródła informacji o skutkach napromieniania

Badania dotyczące efektów zdrowotnych małych dawek promieniowania jonizującego można podzielić na biologiczne, kliniczne i epidemiologiczne. Ponieważ podstawą filozofii i polityki ochrony radiologicznej pozostaje podejście liniowe, podobnie jak w przypadku innych potencjalnie szkodliwych dla zdrowia czynników, badania dotyczące wpływu biologicznego promieniowania jonizującego na człowieka ograniczono do badań na

komórkach oraz badań populacji, która została niezależnie poddana działaniu promieniowania jonizującego.

2.3.1 Dane epidemiologiczne

Największą kohortą poddaną ekspozycji na promieniowanie jonizujące są osoby, które przeżyły wybuchy atomowe w Hiroszimie i Nagasaki. Populację obserwowano przez okres ponad 50 lat (Ozasa i in., 2012), z tego względu określa się ją akronimem LSS „Life Span Studies”. Ze względu na fakt, że promieniowanie jonizujące występuje w naszym środowisku naturalnym, badano również populacje zamieszkujące na terenach o podwyższonym promieniowaniu tła (HBRA, ang. *High Background Radiation Areas*) (Hendry i in., 2009), górników jak i mieszkańców narażonych na zwiększone koncentracje radonu (Vogeltanz-Holm i in., 2018) oraz załogi statków powietrznych wystawionych na zwiększony udział promieniowania kosmicznego (Pukkala i in., 2002). Dodatkowo monitorowano osoby poddawane medycznym procedurom diagnostycznym (Lin i in., 2010), ekspozycji zawodowej (Ko i in., 2017). Część badań epidemiologicznych, będących źródłem danych o wielkości popromiennego ryzyka nowotworowego, pochodzi z informacji otrzymanych w wyniku zajścia wypadków radiacyjnych (Zeeb i in., 2014), awarii jądrowych (Raport WHO², 2011) oraz testów próbnych broni nuklearnej (Raport NCI³, 2004).

2.3.2 Informacje o małych dawkach

Dane epidemiologiczne świadczące o pozytywnym wpływie promieniowania pochodzą z badań ludności, która przeżyła atak jądrowy (wspomniane wyżej LSS, ang. *Life Span Studies*), mieszkańców rejonów o wysokim poziomie "tła" naturalnego promieniowania oraz o wysokim stężeniu radonu w mieszkaniach, z badań osób poddanych procedurom medycznym z użyciem promieniowania, pracowników przemysłu jądrowego i mieszkańców skażonych rejonów. Okazuje się, że wśród dzieci ofiar ataku jądrowego stwierdzono 4% zmniejszenie śmiertelności w porównaniu z grupą kontrolną oraz dwudziesto-kilku procentowy spadek częstości zaburzeń w liczbie chromosomów (23%) i strukturze chromosomów (29%) i 30% zmniejszenie się liczby mutacji białek krwi (Jaworowski, 1997). W populacji LSS napromienianej małymi dawkami zaobserwowano spadek śmiertelności

² WHO (ang. *World Health Organization*) – Światowa Organizacja Zdrowia

³ NCI (ang. *National Cancer Institute*) – Narodowy Instytut Raka (podjednostka WHO)

z powodu białaczek, nowotworów litych oraz przedłużoną długość życia (Jaworowski, 1997). W populacji zamieszkującej prowincję Yangjiang w Chinach (10-79 lat) ogólna śmiertelność nowotworowa jest o 14.6% niższa w okręgu o podwyższonym promieniowaniu niż w okręgach, w których dawka roczna jest zbliżona do średnich wartości w kraju. Znotowano również 15% spadek śmiertelności z powodu białaczki u mężczyzn oraz 60% u kobiet (Jaworowski., 1997). Podobne wyniki uzyskano w przypadku analogicznych badań na pozostałych obszarach HBRA (Tapio i Jacob, 2007, Kumar i in., 2012). Radioaktywny gaz radon, powiązany z przypadkami chorób górników w kopalniach uranu (dawka roczna pochodząca od radonu, na podstawie rekomendacji dyrektywy 2013/59/EUROATOM, opartych na LNT, nie powinna przekraczać 300 Bq/m³) okazał się mieć lecznicze właściwości, wykorzystywane w tzw. gorących źródłach radonowych na całym świecie Jest to alternatywa dla terapii konwencjonalnych wielu schorzeń, w tym bólu reumatoidalnego, jednak badania wskazują na znaczącą poprawę zdrowia u osób, które poddają się procedurze inhalacji radonu (Erickson i in., 2006). Śmiertelność robotników pracujących przy konstrukcji łodzi o napędzie nuklearnym narażonych na promieniowanie rzędu 5 mSv była o 24% mniejsza niż u stoczniovców w tej grupie, nie narażonej zawodowo, a śmiertelność związana z białaczką o 58% niższa w grupie napromienionej. Podobny wynik uzyskano dla mieszkańców w pobliżu fabryki materiałów jądrowych w Uralu (Związek Socjalistycznych Republik Sowieckich), na terenie której doszło w 1957 roku do eksplozji chemicznej. W grupie badanych osób (10 000), które otrzymały dawki promieniowania niższe niż 500 mSv, 130 mSv i 40 mSv zaobserwowano kolejno 28%, 39% i 24% spadek śmiertelności na nowotwory (Jaworowski, 1997). W celu uzyskania wyników o odpowiedniej wiarygodności statystycznej, od kilku lat prowadzone są analizy nad populacją narażoną zawodowo na promieniowanie jonizujące (pochodzące z różnych źródeł) pod nazwą „badania nad milionową kohortą pracowników” (DOE, ang. *Milion Workers Study*). Dotyczą one 300 000 pracowników Departamentu Energii Stanów Zjednoczonych (U.S. DOE) związanych z projektem Manhattan, 330 000 pracowników przemysłu jądrowego z czasów jego rozwoju, 115 000 weteranów uczestniczących w testach atomowych (Nevada, wyspy Bikini), 200 000 radiologów oraz pracowników służby zdrowia, 55 000 pracowników związanych z radiografią przemysłową oraz pracowników naukowych (Boice i in., 2018). W ostatnich latach prowadzone są również analizy kohort MWC pracowników rosyjskiego ośrodka Mayak (26 000 osób), oraz grupy TRC – mieszkańców okolic rzeki Tiecza (300 000 osób). Obie grupy wystawione zostały na długotrwałe działanie małych mocy dawek plutonu (Preston

i in., 2016). Wyniki powyższych obserwacji wskazują na istnienie zjawiska hormezy radiacyjnej (Preston i in., 2016).

2.3.3 Obserwacje hormezy radiacyjnej na przykładzie badań komórkowych i zwierzęcych

W kontekście działania promieniowania jonizującego odpowiedź adaptacyjną obserwuje się porównując kumulatywne efekty działania małych i dużych dawek promieniowania rzędu kilku Gy, z efektami obserwowanymi jedynie po podaniu większej dawki. W wyniku zajścia odpowiedzi adaptacyjnej poziom powstających uszkodzeń jest średnio o 30% niższy w pierwszym scenariuszu (Szumiel, 2012). W literaturze znajduje się kilkaset badań na organizmach zwierząt na temat kancerogennego wpływu małych dawek promieniowania jonizującego. Ponad 250 prac grupy Crumpsa i współautorów z 2012 roku analizuje przypadki hormezy radiacyjnej. Przykładowe badania kliniczne, epidemiologiczne i komórkowe, wskazujące na pozytywny wpływ promieniowania, opisane zostały w książce „Radiobiology and Radiation Hormesis” (Sanders, 2017).

Na szczególne wyróżnienie zasługują następujące prace:

- a) Liang i in. (2011) – stymulacja podziału komórkowego w komórkach macierzystych zarodkowej tkanki łącznej szczurów poddanych działaniu 75 mGy promieniowania X,
- b) Bhattacharjee (1996) – spadek śmiertelności na nowotwory (białaczki) spowodowane dużą dawką promieniowania (2Gy) po wcześniejszym napromienianiu małą dawką promieniowania (1cGy) gamma, u myszy,
- c) Ren i in. (2006) – odpowiedź układu immunologicznego u myszy poddanych działaniu promieniowania X dzienną dawką 0.2 Gy przez 4 dni, pokazująca aktywację makrofagów,
- d) Wang i in. (2008) – wcześniejsza ekspozycja na małe dawki promieniowania myszy podatnych na cukrzycę poskutkowało zmniejszeniem odsetka zapadalności na tę chorobę oraz opóźnieniem rozwoju hiperglikemii,
- e) Zhang i in. (2006) – wcześniejsza ekspozycja myszy (samce typu B6C3F1) na małe dawki promieniowania jonów ^{12}C i ^{60}Co (50 mGy) zredukowała negatywne efekty (związane z płodnością) następujące po kolejnym napromienianiu dawką rzędu 2 Gy,

- f) Sharma i in. (2019) – napromienianie całego ciała myszy (samice) promieniowaniem X dawką 200 mGy wykazało stymulację produkcji związków antyoksydacyjnych oraz wzrost liczby limfocytów i eozynofilii, odpowiedzialnych za odpowiedź obronną systemu immunologicznego,
- g) Yonezawa i in. (2006) – redukcja popromiennego uszkodzenia szpiku kostnego u myszy (ICR oraz C57BL/6) po wcześniejszym napromienianiu małymi dawkami promieniowania X. Zakres dawek stymulujących odpowiedź adaptacyjną wynosił 0,05-0,1 Gy lub 0,3-0,5 Gy.

Jak zostało opisane wcześniej radiacyjna odpowiedź adaptacyjna (AR) jest podstawą zjawiska hormezy radiacyjnej. Efekt Yonezawy występuje w kontekście napromieniania jednorazowego, natomiast AR obserwowana jest również dla ekspozycji chronicznych. Kolejne doświadczenia na komórkach ludzkich potwierdzające występowanie zjawiska odpowiedzi adaptacyjnej, to m.in.:

- a) Broome i in. (2002) – redukcja częstości powstawania mikrojąder w ludzkich fibroblastach poddanych wcześniejszemu działaniu promieniowania gamma i beta (1-500 mGy) o mocy dawek 1-3 mGy/min., wynikających z napromieniania dawką 4 Gy,
- b) Wojewódzka i in. (1997) – odpowiedź adaptacyjna limfocytów ludzkich poddanych działaniu dawek 1 cGy i 1,5 Gy,
- c) Wyrobek (2011) – ludzkie komórki HL limfoblastoidalne napromienione dawkami rzędu 1-10cGy badano pod kątem ekspresji genów związanych z homeostazą,
- d) Huang i in. (2007) – komórki hybrydowe chomiczo-ludzkie wykazały obniżenie niestabilności genetycznej w komórkach poddanych działaniu małych dawek promieniowania w stosunku do dużych dawek,
- e) Wolff i in. (1998) – limfocyty poddane działaniu promieniowania 10 mGy, wykazano odpowiedź adaptacyjną,
- f) Sanderson i Morley (1986) – redukcja mutagenyzy w badaniach na limfocytach ludzkich poddanych działaniu promieniowania jonizującego,
- g) Sankaranarayanan i in. (1989) – odpowiedź adaptacyjna ludzkich limfocytów na niskie dawki promieniowania X izotopów promieniotwórczych.

Ponadto istnieje szereg badań dotyczących dodatkowych efektów małych dawek promieniowania takich jak efekt widza (Mothersill in., 2005), odpowiedź abskopalna (Raport USNCEAR cz. 2 Aneks C, 2006), niestabilność genetyczna (Little, 2003) oraz nadwrażliwość na małe dawki promieniowania (Słonina i in., 2007,2008), wpływ mocy dawki i fazy cyklu komórkowego na indukowane uszkodzenia (Matsuya i in., 2018), wpływ obecności promieniowania tła na rozwój bakterii i pierwotniaków (Castillo i in., 2017, Planel i in., 1987).

2.4 Podsumowanie

Dane epidemiologiczne nie dostarczają dowodów na występowanie szkodliwych efektów poniżej 100 mSv (Vaiserman, 2018). Problem leży w dokładnym określeniu wartości pochłoniętej dawki (Zeeb i in., 2014) oraz w tym, że poszukiwany efekt, jeśli istnieje może mieścić się w zakresie tzw. tła statystycznego, czyli liczby nowotworów litych, które występują w populacji z innych przyczyn (Sacks i in., 2016). Istnieje za to szereg badań komórkowych wskazujących na efekt hormetyczny, odpowiedź adaptacyjną, wzmożenie działania systemu immunologicznego (Shibamoto, 2018). Przeglądając literaturę związaną z oceną skutków biologicznych małych dawek można znaleźć zwolenników pozytywnych efektów działania małych dawek (Feinendegen (2002, 2005), Tubiana (2009), Jaworowski (2010), Vaiserman (2018)) jak i autorów sugerujących negatywny wpływ (Little i in.(2009), Goodhead (2010), Preston (2016)). Wyniki badań epidemiologicznych są dodatkowo obarczone dużym wpływem tzw. czynników zakłócających na ostateczny wynik analizy danych, co jest szczególnie istotne w przypadku poszukiwania niewielkiego efektu i wiąże się z koniecznością analizowania wyników dla dużych kohort. Problemy metodologiczne badań epidemiologicznych, w kontekście małych dawek, zostaną zaprezentowane na podstawie badań radonowych w rozdziale 5. Modele zwierzęce odzwierciedlają szacowaną odpowiedź jedynie z pewnym przybliżeniem, dużo bardziej złożonego organizmu ludzkiego, aczkolwiek zapewniają informację o odpowiedzi całego ciała. Doświadczenia na komórkach ludzkich pozwalają uzyskać konkretną odpowiedź o reakcjach zachodzących w grupie komórek człowieka, które mogą różnić się w zależności od typu komórki jak i od jej środowiska. Komórki w hodowlach, w warunkach laboratoryjnych mogą zachowywać się w inny sposób niż te będące częścią całego systemu komórkowego, tworzącego tkanki i cały organizm. Badania kliniczne wykonywane są głównie z udziałem pacjentów chorych nowotworowo,

u których obserwuje się reakcje osłabionego organizmu. Na chwilę obecną rozsądnym podejściem okazuje się wybór progowego modelu ryzyka. Brak możliwości wnioskowania z bezpośrednich danych o działaniu małych dawek na indywidualny organizm człowieka, pozostawia rozwiązanie w postaci poszukiwania uniwersalnej hipotezy, opartej na wiedzy biologicznej i wynikach opisanych wyżej badań. Narzędziem służącym do połączenia wszystkich dostępnych informacji jest modelowanie biofizyczne, opisane w ostatnim rozdziale rozprawy. Zgodnie z cytatem prof. Petera Alexandra „*zamiast napromieniać tysiące myszy niskimi dawkami i wyciągać niepewne wnioski z niejednoznacznych wyników – należy bardzo dobrze poznać mechanizmy komórkowe odpowiedzi na dawki promieniowania jonizującego, które wywołują wyraźne skutki*” (Szumiel, 2012). Cytat ten można również dobrze odnieść do wyników badań epidemiologicznych.

Rozdział 3

Oddziaływanie promieniowania na organizm człowieka

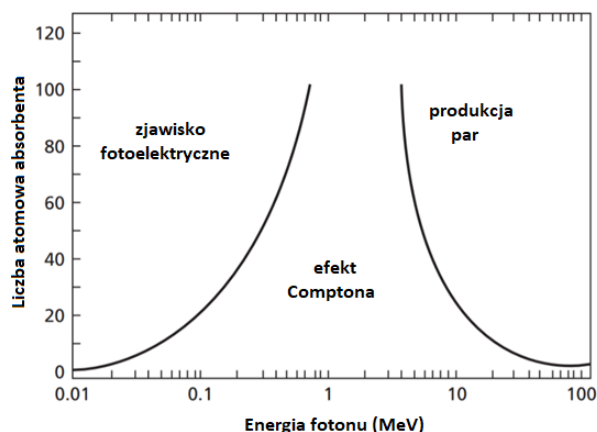
Promieniowanie jonizujące to promieniowanie elektromagnetyczne (promieniowanie X lub γ) lub korpuskularne (cząstki α , β , p, miony lub jonizujące pośrednio neutrony) posiadające energię wystarczającą do zainicjowania procesu jonizacji (formacji jonów) w materii, przez którą przenika. Proces ten przebiega w wyniku usunięcia elektronu z neutralnego elektrycznie atomu lub molekuly i średnio zachodzi dla energii powyżej 34 eV, (dla energii wiązania elektronu na powłoce lub też kreacji pary cząstka-antycząstka). W wyniku oddziaływania promieniowania z materiałem biologicznym, którym są złożone biopolimery, może dojść do rozerwania wiązań chemicznych pomiędzy atomami bądź molekułami tych cząstek, co może przyczynić się do zmian w ich strukturze. W przedziale małych dawek promieniowania nie obserwujemy efektów bezpośredniego uszkodzenia tkanek (wczesnych) ani efektów mutacji DNA (późnych). Niemniej jednak, jak opisano w poprzednim rozdziale zgodnie z LNT, ekspozycji na małe dawki promieniowania jest przypisywane pewne ryzyko nowotworowe, dlatego w tym rozdziale pokazano ścieżkę procesów zachodzących w komórkach, tkankach i organizmie poddanym napromienianiu, z uwzględnieniem faktu, że końcowa odpowiedź organizmu na promieniowanie nie jest liniowym nałożeniem się poszczególnych efektów, ponieważ w rozwoju transformacji nowotworowej duży udział ma supresja przez system immunologiczny.

3.1 Oddziaływanie promieniowania z materią

Fotony są zdolne do oddziaływania z materią poprzez różne mechanizmy. Charakter tych procesów zależy ściśle od energii fotonów oraz składu chemicznego materii, będącej absorbentem (lub ośrodkiem rozpraszającym promieniowanie).

3.1.1 Mechanizmy oddziaływania fotonów z materią

Wyróżnia się trzy główne mechanizmy prowadzące do straty energii przez fotony o energiach w zakresie MeV. Jest to efekt fotoelektryczny, rozpraszanie Comptona i produkcja par. Wszystkie te procesy prowadzą do całkowitego bądź częściowego przekazania energii fotonu na elektron w atomie absorbentu, wybicie elektronu orbitalnego z atomu (jonizacja) lub zmiana stanu atomu na wzbudzony, w związku z przeniesieniem elektronu orbitalnego ze stanu podstawowego na stan o wyższej energii. Elektrony po opuszczeniu atomu (lub ich kreacji) mogą dysponować wystarczającą energią kinetyczną, aby powodować wtórne jonizacje kolejnych atomów absorbentu, w których tworzą się tzw. elektrony δ lub elektrony wtórne. Mechanizmy oddziaływania charakteryzują różne progi energetyczne oraz zakresy przekrojów czynnych na zajście danego procesu w konkretnym materiale. Wszystkie wymienione wyżej efekty zostały szczegółowo opisane w Uzupełnieniu 2. Diagram prezentujący udział opisanych procesów w funkcji liczby atomowej (Z) absorbentu i energii fotonu pokazano na rysunku poniżej (Rys. 3.1). W oddziaływanie fotonów na tkankę ludzką, której przybliżona gęstość może być porównana do gęstości wody ($\rho \cong 997 \text{ kg/m}^3$, co odpowiada efektywnej liczbie atomowej $Z \sim 7,5$) widać, że dla energii wykorzystywanych w terapii dominuje efekt Comptona, w diagnostyce – efekt fotoelektryczny. W diagnostyce wykorzystywane są stosunkowo niskie energie, głównie promieniowanie X (10-100 keV), w procedurach terapeutycznych – wysokoenergetyczne promieniowanie X oraz gamma, rzędu kilku MeV (Podgoršak, 2006).



Rysunek 3.1. Obszary względnej dominacji trzech głównych mechanizmów oddziaływania fotonów z materią. Lewa krzywa reprezentuje miejsce, w którym przekroje czynne na zajście fotoefektu i rozpraszania Comptona są równe. Prawa krzywa reprezentuje miejsce, w którym efekt Comptona i produkcja par są równie prawdopodobne. Zaczerpnięte z Pawlicki 2016.

3.1.2 Przekrój czynny

Miarą efektywności oddziaływania promieniowania fotonowego w ośrodku jest całkowity przekrój czynny przypadający na pojedynczy atom w absorbencie. Jest to suma przekrojów czynnych na rozpraszanie, zjawisko fotoelektryczne i tworzenie par. Wielkość ta określa prawdopodobieństwo wystąpienia jonizacji, na różnych drogach, których wkład niejednakowo zależy od liczby atomowej Z ośrodka oraz początkowej energii fotonu (Rys.3.1). Przekrój czynny σ opisuje prawdopodobieństwo oddziaływania cząstki z pojedynczym atomem ośrodka, zależnie od rodzaju oraz energii promieniowania, jak i liczby atomowej absorbentu. Jest to liczba interakcji na jeden atom od cząstek inicjujących oddziaływanie na jednostkę powierzchni absorbentu. Wyrażany jest w jednostkach powierzchni, zazwyczaj w barnach: $1b = 10^{-24} \text{ cm}^2$. Prawdopodobieństwo zajścia konkretnego efektu nie jest stałe, zależy od różnych parametrów wiązki fotonów, które mają duży wpływ na przekrój czynny w przypadku rozpraszania na elektronach. Różniczkowy przekrój czynny opisuje prawdopodobieństwo zajścia konkretnego procesu w ramach jednostkowego przedziału energii lub kąta bryłowego. W przypadku rozpraszania całkowity przekrój czynny można przedstawić jako:

$$\sigma = \int_{4\pi} \frac{d\sigma(\theta, \phi)}{d\Omega} d\Omega \quad (3.1)$$

gdzie: θ – kąt biegunowy, Ω – kąt bryłowy pod którym emitowany jest foton, ϕ – kąt azymutalny

3.1.3 Zasięg i współczynnik absorpcji

W odróżnieniu od cząstek naładowanych do fotonów nie stosuje się pojęcia zasięgu a jedynie można mówić o osłabianiu natężenia wiązki. Natężenie wiązki fotonów przechodzących przez materiał o grubości x zależy wykładniczo od liniowego współczynnika absorpcji μ w danym materiale, który z kolei jest wprost proporcjonalny do całkowitego przekroju czynnego. Intensywność wiązki I opisuje równanie:

$$I = I_0 e^{-\mu x} \quad (3.2)$$

przy czym liniowy współczynnik μ opisuje zdolności absorpcyjne i zależy od energii fotonów jako kombinacja przekrojów czynnych na wszystkie mechanizmy oddziaływania fotonu.

3.1.4 Oddziaływanie neutronów z materią

Neutrony oddziałują z materią na drodze wielu mechanizmów, w większości są to reakcje jądrowe, Rodzaj oddziaływania silnie zależy od energii neutronu. Podobnie jak w przypadku fotonów, które są obojętne elektrycznie, dlatego powodują pośrednią jonizację w ośrodku. Ulegają rozproszeniu na lekkich jądrach takich jak wodór czy lit. W przypadku zderzeń elastycznych, energia rozproszonej cząstki wynosi:

$$E = E_0 \frac{M - m}{M + m} \quad (3.3)$$

gdzie: M – masa jądra, m – masa neutronu, E_0 – energia początkowa neutronu.

Neutrony prędkie ulegają też zderzeniom nieelastycznym (n, n'), w których cząstka (neutron) jest czasowo pochłaniana (wychwyt) przez jądro atomowe i emitowana. Istnieje również możliwość emisji innej cząstki (n, α) lub (n, p) w wyniku wychwytu neutronu. W przypadku neutronów o energiach większych niż 20 MeV, w procesie spalacji, może nastąpić rozpad jądra atomowego i emisja większej liczby cząstek. Najbardziej prawdopodobny jest jednak radiacyjny wychwyt neutronów (n, γ), w którym wtórne promieniowanie gamma podlega dalszym oddziaływaniom z otoczeniem, jak zostało opisane powyżej. Prawdopodobieństwo zajścia różnych procesów oddziaływania neutronów z materią zmienia się zasadniczo z energią cząstki. Problem oddziaływania neutronów z materią nie będzie rozpatrywany w dalszej części pracy.

3.1.5 Oddziaływanie jonów z materią

W zależności od prędkości początkowej, cząstki naładowane mogą przekazywać energię w materii na drodze następujących procesów: wzbudzenia bądź jonizacji atomów absorbentu, przekazu energii do jądra atomowego, zmiany stanu początkowego cząstki naładowanej oraz emisji promieniowania gamma lub X (tzw. promieniowanie hamowania). W rezultacie cząstki te tracą energię przechodząc przez absorbent zależnie od jej wartości początkowej, ładunku, masy cząstki inicjującej reakcję oraz składu chemicznego materii będącej absorbentem. Średnia utrata energii kinetycznej E na jednostkę drogi x jest definiowana jako zdolność hamowania cząstek (w danym materiale). Całkowita jej wartość jest sumą pochodzącą od składowych ze wszystkich opisanych procesów, według wzoru:

$$-\frac{dE}{dx} = \left(\frac{dE}{dx}\right)_{el} + \left(\frac{dE}{dx}\right)_{nuc} + \left(\frac{dE}{dx}\right)_{rad} \quad (3.4)$$

Zasadniczą wielkością, która charakteryzuje efektywność oddziaływania energetycznej cząstki naładowanej w konkretnym absorbencie, jest więc wielkość strat energii na jednostkę drogi. Straty energii jonów w wyniku zderzeń kulombowskich po raz pierwszy zostały opisane przez Hansa Bethego (1932). Formuła Bethego-Blocha opisuje (przybliżone wartości) straty energii na jednostkę drogi w ośrodku (stąd ujemny znak z lewej strony równania (3.4)):

$$-\frac{dE}{dx} = 4\pi N Z_{abs} m_e c^2 z^2 \frac{Z}{\beta^2} \left(\frac{e^2}{4\pi\epsilon_0}\right)^2 \left[\ln \frac{2m_e c^2 \gamma^2 \beta^2}{I} - \beta^2 \right] \quad (3.5)$$

gdzie:

Z_{abs} – liczba atomowa absorbentu

N – gęstość elektronowa absorbentu

Z – liczba atomowa cząstki inicjującej

m_e, e – masa spoczynkowa i ładunek elektronu

c – prędkość światła w próżni

ϵ_0 – przenikalność w próżni,

I – średni potencjał jonizacji ośrodka (eV)

β – relatywna prędkość cząstki inicjującej $\beta = v/c$.

γ – czynnik Lorentza $1/(1-\beta^2)^{-1}$

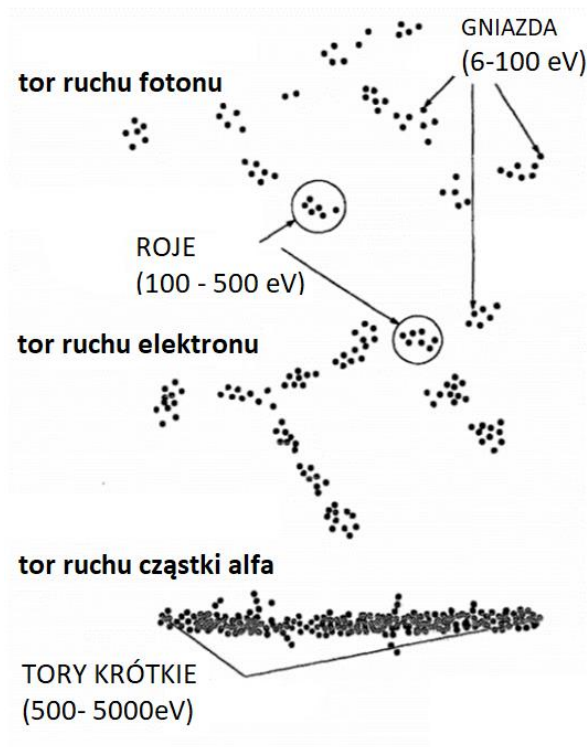
3.1.6 Współczynnik liniowego przekazu energii

Zależność zmiany strat energii na jednostkę drogi wzdłuż toru ruchu cząstki ma szerokie zastosowanie w radioterapii (krzywa Bragga). Wzór (3.4) nie sprawdza się jednak dobrze do opisu lekkich elektronów, co znajduje wytłumaczenie w stratach energii związanej z emisją promieniowania X (Bremsstrahlung, czyli wspomniane promieniowanie hamowania) przez elektrony oddziałujące z materią. Intensywność promieniowania emitowanego w wyniku spowalniania cząstek naładowanych w polu kulombowskim w ośrodku zawierającym elektrony, opisywana jest jako:

$$I \sim z^2 Z^2 / m_T^2 \quad (3.6)$$

gdzie: Z – liczba atomowa ośrodka, z i m_T – ładunek i masa cząstki (pocisku) inicjującej oddziaływanie

Koncepcją powiązaną ze stratami energii jest liniowy współczynnik przekazu energii (LET, ang. *Linear Energy Transfer*). Opisuje on gęstość jonizacji w ośrodku jako ilość przekazanej energii na jednostkę długości toru ruchu cząstki naładowanej, opisanej równaniem 3.5. W zależności od rodzaju promieniowania wartość współczynnika może się znacząco różnić. Dla bardziej przenikliwego promieniowania wartość ta będzie mniejsza, ponieważ ta sama ilość energii zostanie zdeponowana na dłuższej drodze. Przekaz następuje w sposób nieciągły, dla przykładu większość elektronów wtórnych lub fotoelektronów i elektronów komptonowskich ma stosunkowo małą energię kinetyczną < 100 eV, mogą one wywołać 2-3 jonizacje cząsteczek ośrodka w bezpośrednim sąsiedztwie jonu pierwotnego (D. Pogoćki, 2004). Schemat klastrow jonizacji znajduje się na Rysunku 3.2.



Rysunek 3.2. Schemat skupisk jonizacji wzdłuż toru cząstki; dla fotonu, elektronu i cząstki alfa.

Do opisu oddziaływania promieniowania z materią przyjęto w radiobiologii podział na promieniowanie o niskim i wysokim współczynniku LET. Promieniowanie o niskim współczynniku LET, poniżej $2 \text{ keV}/\mu\text{m}$, do którego zalicza się promieniowanie gamma, promieniowanie X, protony, powoduje słabą jonizację tkanek. Natomiast promieniowanie o wysokim współczynniku LET, powyżej $40 \text{ keV}/\mu\text{m}$, to cząstki α i wysokoenergetyczne ciężkie jony, które powodują wzmożoną jonizację. Typowe wartości współczynnika LET to m.in.: $2 \text{ keV}/\mu\text{m}$ (promieniowanie X –generowane przy napięciu 250 kVp), $0,3 \text{ keV}/\mu\text{m}$ (promieniowanie gamma od Cobaltu-60 jak i promieniowanie X o energii $E = 3 \text{ MeV}$), $0,25 \text{ keV}/\mu\text{m}$ (elektrony o energiach 1 MeV), inne: $12 \text{ keV}/\mu\text{m}$ (neutrony, $E = 14 \text{ MeV}$), zakres $100\text{-}200 \text{ keV}/\mu\text{m}$ (ciężkie jony), $12,3 \text{ keV}/\mu\text{m}$ (elektrony, $E = 1 \text{ keV}$), $2,3 \text{ keV}/\mu\text{m}$ (elektrony, $E = 10 \text{ keV}$).

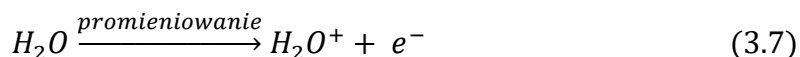
Średnia wartość energii zdeponowana w jednostce masy ośrodka zdefiniowana jest jako dawka, D , i wyrażana jest w grejach [Gy]. Definicja dawki pochłoniętej, równoważnej i efektywnej opisana została w Uzupełnieniu 3.

3.2 Wpływ promieniowania jonizującego na układy biologiczne

Efekty spowodowane promieniowaniem jonizującym mogą występować na każdym poziomie organizacji organizmów żywych, począwszy od pojedynczych molekuł, indywidualnych komórek, po tkankę lub cały organizm. Na poziomie molekularnym, mierzalne efekty oddziaływania na poszczególne cząsteczki, zależą od kilku czynników. Przede wszystkim jest to rola cząsteczki w komórce oraz liczba kopii zapasowych danej molekuly. W każdej komórce znajduje się tylko jedna (bądź dwie w przypadku komórek diploidalnych) kopia DNA, podstawowej cząsteczki biorącej udział w procesie replikacji. Zmiany w strukturze DNA mogą prowadzić do nieodwracalnych zmian w całej komórce w postaci transformacji nowotworowych lub śmierci komórki. Efekty te są następstwem oddziaływania na dwóch drogach: bezpośredniej oraz pośredniej.

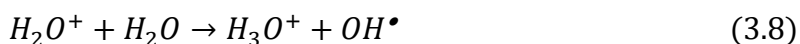
3.2.1 Jonizacja pośrednia

W tym przypadku następuje bezpośredni przekaz energii i jonizacja cząsteczek tworzących strukturę DNA. Częstszym procesem jest radioliza wody znajdującej się w komórce. Produktem tej reakcji są wolne rodniki, charakteryzujące się dużą reaktywnością chemiczną oraz zdolnością dyfuzji w pobliżu DNA, z którym mogą wtórnie oddziaływać. Wolne rodniki definiowane są jako reszty chemiczne (cząsteczki lub jony) posiadające na zewnętrznej orbicie (powłoce walencyjnej) reaktywnego atomu co najmniej jeden niesparowany, wolny elektron (oznaczany jako \bullet) (Zaremba i in., 2010). Pośrednie oddziaływanie przebiega następująco: Następuje jonizacja cząsteczek wody (H_2O) w pobliżu jądra komórkowego:



gdzie: H_2O^+ jest jonem wodorotlenowym.

Jony H_2O^+ mogą oddziaływać z cząsteczką wody, czego produktem są rodnik wodorotlenowy oraz jon hydroniowy:

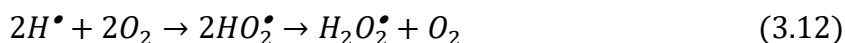


Wolne elektrony ulegają hydratacji lub w przypadku, gdy nie wydostaną się poza obszar oddziaływania elektrostatycznego macierzystego jonu, ulegają wychwytowi w wyniku czego może powstać wzbudzona cząsteczka wody, która rozpada się na rodnik wodorowy

i wodorotlenkowy. W rezultacie aktywne rodniki OH^\bullet , H^\bullet oraz cząsteczki H_2O_2 , H_2 , mogą oddziaływać z organicznymi komponentami R cząsteczki DNA:



oraz:



Oddziaływanie pośrednie przyczynia się w około 70 % do całkowitej liczby uszkodzeń DNA generowanych przez promieniowanie o niskim współczynniku LET, takie jak promieniowanie X. Zarówno czynniki endogenne, jak i egzogenne mogą powodować różnego typu uszkodzenia DNA, takie jak pojedyncze i podwójne pęknięcia nici DNA, uszkodzenia zasad oraz wiązania krzyżowe pomiędzy DNA a białkami. Promieniowanie jonizujące może oddziaływać na dwóch drogach: w sposób bezpośredni i poprzez produkowane w efekcie radiolizy wody wolne rodniki (ROS) i wolne elektrony. Średnio na 1 keV zdeponowanej energii powstaje ok. 25 ROS (Feinendegen i in., 2009). Wolne rodniki są związkami, które mają na zewnętrznej powłoce elektronowej jeden niesparowany, bardzo aktywny chemicznie elektron, stąd z łatwością utlenia białka, kwasy nukleinowe i lipidy błon komórkowych. Ponieważ dominują rodniki pochodzenia tlenowego ($\text{H}_2\text{O}_2^\bullet$, OH^\bullet , $\text{O}_2^{\bullet-}$), często nazywane są reaktywnymi formami tlenu, w skrócie ROS. Czas życia radiacyjnie generowanych cząsteczek wzbudzonych, szacowany jest na 10^{-15} - 10^{-12} s. ROS powstają nieustannie w procesach metabolicznych (w mitochondriach przy produkcji energii) (Sionkowska i in., 2013). Działanie ROS jest równoważone przez antyoksydanty (przeciwtleniacze) powodujące przekształcenie się tych związków w ich nieaktywne pochodne. Zaburzenie równowagi na skutek wzrostu wytwarzania wolnych rodników lub zmniejszenie ilości zmiataczy i enzymów regulujących równowagę określany jest jako stres oksydacyjny. W wyniku tego procesu mogą powstawać uszkodzenia DNA (Czajka, 2006). W przypadku uszkodzeń spowodowanych wolnymi rodnikami, w większości powstają pojedyncze uszkodzenia nici, pośrednio mogące prowadzić do pęknięć dwuniciowych, które są postrzegane jako krytyczne dla losu komórki, ponieważ mogą prowadzić do śmierci komórki

oraz kancerogenezy w przypadku błędnej naprawy (Hagiwara i in., 2019). Produkcja spontanicznych uszkodzeń zależy od aktywności metabolicznej, więc naturalnie różni się dla każdego organizmu. Tempo powstawania tego typu uszkodzeń wynosi ok. 10^{-7} - 10^{-6} dla genu na komórkę w ciągu roku (Steen, 2000). W ciągu całego życia człowieka, średnio w 1 komórce powstanie 0.5-5 DSBs (Milo, 2016), przy czym tempo kumulowania się uszkodzeń zależy od wieku organizmu (Augustyniak i Skrzydlewska, 2004). W świetle danych pokazujących odpowiedź adaptacyjną, stymulacja systemu naprawczego, w tym enzymów nadzorujących proces redukcji ROS, jest przyjmowana jako podstawowe wyjaśnienie obserwacji tego procesu (Feinendegen i in., 2004). Oprócz uszkodzeń metabolicznych, w DNA występują uszkodzenia powodowane powstawaniem błędów replikacyjnych, które również nieustannie podlegają procesom naprawy. U człowieka częstość mutacji wynosi ok. 0.1-1 w DNA w każdej generacji komórek⁴.

3.2.2 Jonizacja bezpośrednia i uszkodzenia DNA

Oddziaływanie bezpośrednie dominuje dla efektów popromiennych pochodzących od promieniowania o wysokim współczynniku LET, takiego jak cząstki alfa (Hall i Garccia, 2006). W rezultacie jonizacji w obrębie materiału genetycznego, na nici DNA powstają zasadniczo cztery podstawowe typy uszkodzeń, przy czym rodzaj uszkodzenia, ilość uszkodzeń oraz ich rozkład przestrzenny zależy od gęstości jonizacji w komórce. Są to:

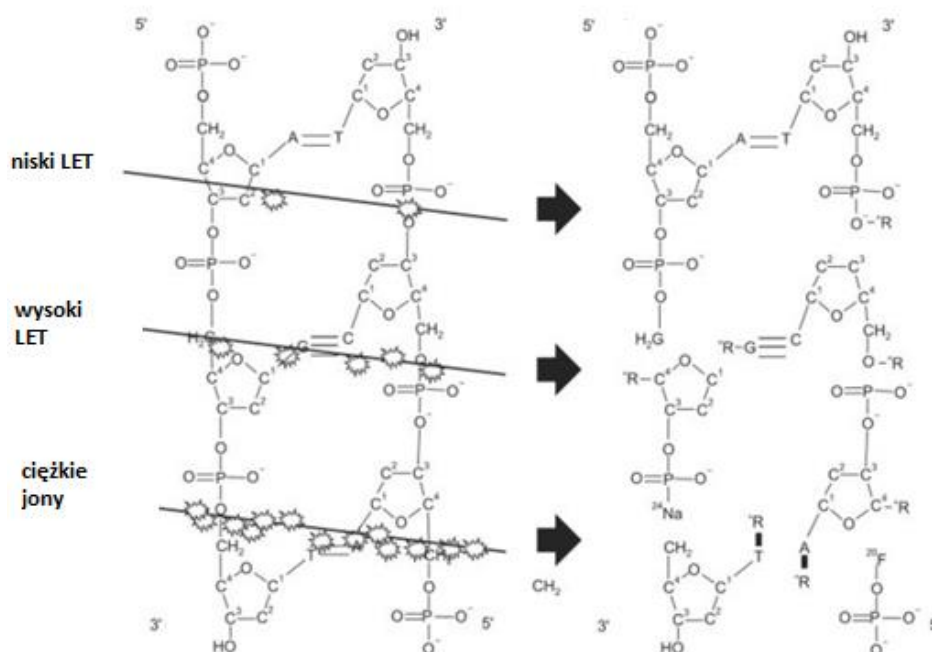
- a) modyfikacje i utrata par zasad łączących obie nici DNA (adenina z tyminą oraz guanina z cytozyną),
- b) uszkodzenie struktury chemicznej cukru (deoksyrybozy) tworzącego bazę nukleotydu,
- c) pęknięcie jednej nici (typu SSB, ang. *Single Strand Break*),
- d) pęknięcie obu nici (typu DSB, ang. *Double Strand Break*),
- e) krzyżowanie się nici DNA.

Schemat powstawania uszkodzeń DNA znajduje się na rysunku 3.3.

Uszkodzenia pojedynczej nici wiążą się, z biologicznego punktu widzenia, z najmniejszymi konsekwencjami ponieważ są naprawiane przy wykorzystaniu przeciwległej sekwencji z analogicznej nici. Uszkodzenie obu nici (typu DSB, ang. *Double Strand Break*) może

⁴ book.bionumbers.org

skutkować utratą integralności kodu genetycznego, która jest zasadniczym elementem niezbędnym do prawidłowego jej funkcjonowania. Skomplikowane uszkodzenia, takie jak DSB, mogą w efekcie podzielić chromatynę na dwie części. W efekcie część informacji będzie nieużyteczna, co prowadzi do śmierci komórki lub transformacji nowotworowej.



Rysunek 3.3. Schemat powstawania uszkodzeń DNA na drodze oddziaływania różnych rodzajów promieniowania (Źródło: Hyun Park, Seo i Oh Kang, Jin. (2011)).

Uszkodzenia popromienne w większości są szybko naprawiane przez naturalne systemy naprawcze. Liczba powstających uszkodzeń od dawki 1 Gy (promieniowania X) spowoduje powstanie ponad 1000 uszkodzeń par zasadowych, 1000 uszkodzeń typu SSB oraz 20-40 uszkodzeń typu DSB na komórkę, a konsekwentnie śmierć ok. 30% napromienionych komórek (Joiner, 2019). Z wyjątkiem DSB (10-50 w ciągu dnia (Cannan i Pederson, 2016)), ponad dwukrotnie więcej uszkodzeń SSB i pęknięć par zasadowych powstaje naturalnie w komórkach ssaków w ciągu godziny (Chatterjee i in., 2017).

W literaturze często pojawia się wniosek, że zdecydowana część uszkodzeń podwójno-niciowych może powstawać w wyniku sekwencyjnych uszkodzeń SSB (Fleck 1999, Kellerer i Rossi 1978, Cannan i Pederson, 2016). Przyjmując takie rozumowanie należy więc założyć, że zarówno popromienne jak i naturalnie powstające uszkodzenia typu DSB mogą być wywołane przez nałożenie dwóch pojedynczych uszkodzeń nici. Jest to szczególnie istotne

w przypadku niewielkich ilościowo efektów powodowanych przez dawki promieniowania poniżej 200 mGy. W tym przedziale dawek prawdopodobieństwo wystąpienie obserwowalnego efektu jest tak małe, że proces metabolicznej kancerogenezy jest zaniedbywany (Bodgi i in., 2016). W przypadku uszkodzeń metabolicznych ta wartość została oszacowana na 10^{-8} na jedną komórkę w ciągu dnia (Cannan i Pederson, 2016).

3.2.3 Naprawa i apoptoza

Jedną z podstawowych kwestii dotyczących prawidłowego funkcjonowania komórki jest zachowanie wspomnianej integralności materiału genetycznego. W komórce występuje szereg systemów naprawczych, w zależności od typu uszkodzenia aktywowane są różne szlaki naprawy DDR (ang. *DNA Damage Response*). Aktywacja szlaku DDR prowadzi do uruchomienia punktów kontroli cyklu komórkowego i zatrzymania podziałów (opisane w rozdziale 4). Uniemożliwia to przekazanie uszkodzonego DNA do komórek potomnych. Po naprawie następuje wznowienie cyklu komórkowego i podziałów, natomiast jeśli naprawa jest niemożliwa (np. w związku z dużą liczbą uszkodzeń) następuje eliminacja komórki w wyniku uruchomienia programowanej śmierci (apoptozy) lub rozpoczęcie procesu starzenia komórkowego, prowadzącego do naturalnej śmierci komórki. Apoptoza odgrywa ważną rolę również w procesie eliminacji uszkodzonych komórek. W odpowiedzi na uszkodzenia DNA zaangażowanych jest wiele białek, głównie kinazy ATR (ang. *Ataxia telangiectasia Rad 3-related*) i ATM (ang. *Ataxia telangiectasia mutated*). Główne mechanizmy naprawy to naprawa przez wycinanie zasad (BER, ang. *Base Excision Repair*), naprawa przez wycinanie nukleotydów (NER, ang. *Nucleotide Excision Repair*), naprawa niesparowanych zasad (MMR, ang. *Mismatch Repair*), rekombinacja homologiczna (HR, ang. *Homological Recombination*) oraz łączenie niehomologicznych zakończeń (NHEJ, ang. *Non-Homologous End Joining*). Dwa ostatnie mechanizmy dotyczą uszkodzeń DSB. HR zachodzi w fazach S i G₂ cyklu komórkowego, naprawa uszkodzeń na drodze NHEJ może zachodzić w każdej fazie cyklu komórkowego (ponad 90% dwuniciowych pęknięć ulega naprawie na drodze NHEJ)(Korwek i in., 2014).

3.2.4 Mechanizm odpowiedzi adaptacyjnej

Czynniki potencjalnie kancerogenne, w tym promieniowanie jonizujące – w małych koncentracjach (dawkach) mogą powodować zwiększenie koncentracji bądź wydajności enzymów naprawczych (antyoksydantów), a w konsekwencji stymulowaną naprawę zarówno uszkodzeń radiogennych jak i uszkodzeń spontanicznych (metabolicznych). W odniesieniu do napromieniania całego ciała małymi dawkami promieniowania, można oczekiwać zwiększonej wydajności procesów naprawy, a więc i oporności na powstawanie uszkodzeń (Wójcik i in., 2000). Standardowe badania nad odpowiedzią adaptacyjną (Wolff, 1988), opierają się na koncepcji małej dawki czynnika stresogenego, aktywującej dany proces związany z usuwaniem jego efektów, tzw. podkładowej (ang. *priming dose*), która wykorzystywana jest do regulowania odpowiedzi na znacznie większą dawkę tego czynnika, stanowiącą większe wyzwanie dla mechanizmów naprawczych (ang. *challenging dose*) (Scott 2014, 2017) (Yonezawa i in., 2006), dostarczaną przeważnie w krótkim czasie. W efekcie obserwuje się zmniejszenie liczby/częstości mutacji (a w efekcie przypadków nowotworowych bądź umieralności) w porównaniu do efektu uzyskiwanego jedynie przy wykorzystaniu większej wartości czynnika stresogenego (Zhao i in., 2015). Ten efekt może prowadzić do obniżenia obserwowanej liczby spontanicznych mutacji gromadzących się z czasem w organizmie (Ogura i in., 2009, Redpath i in., 2001). Opisane zjawisko nosi nazwę efektu poprzedzającej dawki (ang. *priming dose effect*), zwanego także efektem Yonezawy, i jest szczególnym przypadkiem zajścia zjawiska radiacyjnej odpowiedzi adaptacyjnej (ang. *radiation adaptive response*).

3.2.5 Mutacja kancerogenna

Koncepcyjnie macierzysta komórka nowotworowa powstaje w wyniku zaburzeń w rozwoju i kontroli cyklu komórkowego w następstwie mutacji w materiale genetycznym. Liczne badania nad genomem ludzkim potwierdziły, że trwałe zmiany dotyczące mutacji: aktywacji onkogenów oraz dezaktywacji genów supresorowych skutkują utratą kontroli nad cyklem komórkowym oraz, w efekcie, rozpoczęciem fazy transformacji nowotworowej (Zhu i in., 2015). W przypadku organizmu diploidalnego⁵, mutacje aktywujące (ang. *gain-of-function mutations*) są dominujące lub kodominujące, podczas gdy mutacje dezaktywujące

⁵ organizm o podwójnej liczbie chromosomów w jądrach komórek somatycznych (są to zwykle po dwa allele każdego genu)

gen (ang. *loss-of-function mutations*) są recesywne (Veitia i in., 2018). Może to mieć znaczenie w interpretacji modelu tarczy dla dwóch uderzeń. Ponieważ mechanizm aktywacji i dezaktywacji genów nowotworowych jest niezupełnie poznany, można mieć jedynie na uwadze fakt, że nawet jeśli powstanie mutacja w genie supresorowym, może być ona bilansowana przez aktywny gen na drugim chromosomie homologicznym. Spośród 25000 genów kodujących informację tworzonych przez około 3 miliardy par zasad, z procesem inicjacji transformacji nowotworowej powiązano 291 genów, co przekłada się na 1% całości materiału genetycznego (Futreal i in., 2004).

Nieprawidłowości w sekwencji DNA wykrywane są na bieżąco poprzez odpowiednie białka detektorowe, przekazujące informację generującą kaskadę procesów prowadzących do naprawy uszkodzonego łańcucha DNA. W momencie wykrycia uszkodzenia następuje ekspresja wielu białek uczestniczących w procesie naprawy. Poziom aktywacji białek naprawczych jest zależny od skomplikowania uszkodzenia i całkowitej liczby powstałych uszkodzeń (Kochan i in., 2017). Sam proces naprawy zachodzi nieustannie w związku z uszkodzeniami indukowanymi przez wolne rodniki produkowane w reakcjach metabolicznych (Feindendegen i in., 2003).

3.2.6 Oddziaływanie promieniowania na poziomie całego organizmu

Powyższe efekty są związane z opisem oddziaływania promieniowania na poziomie molekularnym. W kontekście całego organizmu wyróżnia się, jak już pisałam, skutki stochastyczne (późne) oraz deterministyczne (wczesne). Pierwsze odnoszą się głównie do możliwych konsekwencji powstawania mutacji w DNA komórki – transformacji nowotworowej lub chorób dziedzicznych, drugie natomiast do efektów związanych z destrukcją dużej liczby komórek za pomocą promieniowania jonizującego, są to efekty zależne od konkretnej dawki promieniowania. Są to takie efekty jak poparzenia skóry, martwica tkanek, utrata owłosienia, biegunki, mdłości, gorączka, dysfunkcje układów: pokarmowego, krwionośnego i nerwowego. Występują dla dawek powyżej progu 500 mGy, dlatego dokładny ich przebieg nie będzie dalej omawiany.

Definicja efektów stochastycznych implikuje, że wystąpienie danego objawu nie zależy od wartości dawki promieniowania, ale prawdopodobieństwo ich wystąpienia rośnie względem wartości dawki promieniowania jonizującego (Hrynkiewicz., 2001). Jak opisano w rozdziale 2, koncepcja ta bazuje na hipotezie liniowej.

3.3 Kancerogenza popromienna

Obecnie wiadomo (UNSCEAR 2010), że energia zdeponowana w komórce może powodować uszkodzenia wszystkich jej struktur, w tym materiału genetycznego (DNA), znajdującego się w chromosomach. Łańcuch DNA koduje ok. 25 000 różnych genów, które koordynują wszystkie funkcje każdej komórki. Jeśli uszkodzenie powstałe na poziomie DNA nie zostanie całkowicie naprawione - komórka może zostać wyeliminowana (umrzeć poprzez apoptozę czy śmierć mitotyczną). Alternatywnie, może ona przeżyć z modyfikacją genu w DNA (mutacją), powodującą nieprawidłowe wzorce funkcjonowania komórki. Jedynie mutacje w małej frakcji genów mogą w efekcie spowodować powstanie komórki nowotworowej. W celu zachowania integralności materiału genetycznego, organizm posiada kilka mechanizmów naprawy uszkodzeń DNA w zależności od formy powstałego uszkodzenia. Korygowane są zarówno uszkodzenia endogenne (metaboliczne bądź spontaniczne) jak i egzogenne (powstałe w wyniku zewnętrznych czynników kancerogennych).

Promieniowanie jonizujące indukuje pojedyncze pęknięcia nici oraz jednoczesne uszkodzenie obu nici łańcucha DNA, prowadzące do rozerwania całej helisy (i w efekcie powstania aberracji chromosomowych, jako najpoważniejszych form mutacji) oraz kompleksowych zmian chemicznych, które są potencjalnie trudniejsze do naprawy. Klasyczne podejście w radiobiologii i ochronie radiologicznej zakłada, że nawet dla małych dawek promieniowania istnieje niezerowe prawdopodobieństwo produkcji mutacji w DNA, które przekłada się na zwiększenie radiacyjnego ryzyka nowotworowego. Jednakże podejście to zakłada, że liczba mutacji jest wprost proporcjonalna do liczby bezpośrednich uszkodzeń DNA. Niektóre dane, eksperymentalne i epidemiologiczne (Sanders, 2017), wskazują na wzmożenie mechanizmów naprawczych powstałych uszkodzeń w obszarze małych dawek i mocy dawek, co mogłoby skutkować redukcją ryzyka nowotworowego, gdyż wspomniana proporcjonalność między uszkodzeniami a wyidukowanymi potem mutacjami zostaje zaburzona.

Podsumowując, akumulacja mutacji jest jednym z podstawowych mechanizmów generujących powstanie macierzystej komórki nowotworowej (CSC, ang. *cancer stem cell*). Dodatkowo prowadzone w tym obszarze badania wskazują na procesy poboczne (modyfikujące odpowiedź), takie jak adaptacja komórek i tkanek w wyniku działania małych dawek promieniowania jonizującego, które stają się bardziej odporne na transformację nowotworową poprzez wzmożenie procesów naprawczych (AR), czy stymulacja bądź inhibicja systemu immunologicznego (efekt immuno - supresji lub edytowania), którego komponenty rozpoznają i niszczą komórki patologiczne (Raport UNSCEAR Aneks D, 2006). Promieniowanie może powodować długotrwałe (dziedziczne) zmiany w strukturze DNA, prowadzące do niestabilności genetycznej (Raport UNSCEAR Aneks C, 2006), a także produkcję oraz propagację sygnałów z komórek uszkodzonych do komórek znajdujących się w otoczeniu, tzw. efekt widza, zwany też efektem sąsiada (ang. *bystander effect*) (Raport UNSCEAR Aneks C, 2006).

3.3.1 Cechy nowotworu i etapy kancerogenezy

Termin „nowotwór” definiowany jest jako nieprawidłowo rozwijająca się tkanka w organizmie. Opis nowotworzenia (kancerogenezy lub onkogenezy) dotyczy zaburzeń procesu funkcjonowania i rozwoju komórek tworzących tkanki. Komórki ludzkie w normalnych warunkach rozwijają się i dzielą w skoordynowany sposób, tworząc zróżnicowane komórki, pełniące konkretną rolę w tkance. Nieprawidłowości rozwoju oraz niekontrolowane podziały mogą prowadzić do powstania masy komórek, które w formie guza litego mogą wpływać na funkcjonowanie całego narządu bądź organizmu (Raport UNSCEAR, 2010). Znaczna część nowotworów powstaje z niewiadomych przyczyn. Istnieje natomiast udokumentowane powiązanie z wieloma czynnikami tzw. kancerogenami, które mogą prowadzić do powstania opisanych wyżej zaburzeń. Jednym z nich jest promieniowanie jonizujące. U ludzi po zainicjowaniu przez czynnik mutageny, proces ten zachodzi w czasie od kilku do kilkudziesięciu lat. Jest on zależny od inicjującego czynnika rakotwórczego i innych warunków, takich jak wiek organizmu. Wieloletnie badania nad rozwojem choroby nowotworowej pozwoliły zgromadzić materiał potwierdzający hipotezę, iż proces rozpoczyna się od trwałej zmiany jednego lub kilku genów w DNA (mutacji) w jednej z komórek w tkance organizmu – tzw. nowotworowej komórki macierzystej (CSC).

Rozwój nowotworu przebiega na drodze wieloetapowego procesu, w którym zachodzą dalsze mutacje oraz zmiany strukturalne grupy komórek potomnych. Rozwój nowotworu może być opisywany za pomocą różnych parametrów, zarówno w skali mikroskopowej jak i makroskopowej. W tym drugim przypadku choroba rozwija się w trybie 4 etapowym, począwszy od fazy 0, w której komórki nowotworowe nie rozrastają się na sąsiednie tkanki, co ma miejsce w fazie 1, w fazie 2 obserwuje się powstawanie przerzutów nowotworowych, zarodków które mogą stać się przyczyną powstania wtórnych guzów w odległych tkankach w organizmie (faza 3). Fazy te opisują takie mechanizmy jak inicjacja (przemiana normalnej komórki do nowotworowej wskutek mutacji), promocja (namnażanie się i selekcja komórek zainicjowanych, zmutowanych), progresja (ekspansja nowotworowej linii komórek poprzez inwazję miejscowych tkanek i metastazę na odległe organy). Przerzuty nowotworowe (metastaza) powstają w wyniku migracji zmutowanych nowotworowo komórek przez naczynia krwionośne. Z tego względu, aby możliwa była inicjacja kolejnych faz choroby, niezbędne jest unaczynienie powstałego pierwotnie nowotworu. Niniejsza praca skupiona jest na opisie dwóch pierwszych etapów: transformacji z komórki zdrowej, poprzez uszkodzoną do nowotworowej oraz rozwoju guza nowotworowego z pojedynczych komórek nowotworowych (Hanahan i in., 2000), na tym poziomie wyróżnia się dwa skrajne etapy: gdy nowotwór zawiera różne zgrupowane względem typu komórki i tkanka zmieniona chorobowo wygląda podobnie do tkanki zdrowej oraz gdy tkanka nowotworowa widocznie zróżnicowana względem komórek zdrowych (Wideli, 2006).

Podstawowe cechy komórek nowotworowych (Hanahan i Weinberg, 2000, 2011):

- a) nieograniczony potencjał replikacyjny,
- b) wytwarzanie własnych czynników wzrostowych,
- c) niewrażliwość na zewnętrzne czynniki wzrostowe,
- d) oporność na apoptozę,
- e) inwazyjność i powstawanie przerzutów,
- f) zdolność do tworzenia własnej sieci naczyń krwionośnych,
- g) ucieczka spod nadzoru immunologicznego,
- h) metaboliczne przeprogramowanie podczas hipoksji,
- i) indukowanie stanu zapalnego oraz genomowa niestabilność.

Ze wspomnianych wyżej cech charakterystycznych raka należy oczekiwać, że modelowanie procesu onkogenezy obejmuje szereg skal przestrzennych i czasowych (są to opisywane dalej etapy kancerogenezy). Pod względem skali czasowej większość modeli matematycznych guzów litych koncentruje się na trzech fazach wzrostu: beznaczyniowej, naczyniowej i przerzutowej. Początek fazy beznaczyniowej obejmuje nabywanie nieprawidłowości genetycznych lub epigenetycznych na poziomie pojedynczych komórek. Komórka lub grupa nieprawidłowych komórek będzie wówczas powoli (w skali lat) nabywać przewagę proliferacyjną w stosunku do otaczających normalnych komórek (na przykład poprzez wzmożone przekazywanie sygnałów międzykomórkowych (Aguda i Friedman., 2008). Transformacji nowotworowej towarzyszą skomplikowane procesy, w których biorą udział komórki nowotworowe oraz komórki układu odpornościowego. Relacje między tymi komórkami zachodzą poprzez międzykomórkowe oddziaływania, tworzą środowisko bez którego rozwój nowotworów byłby niemożliwy (Szala, 2011). Przykład modelu, który opisuje ten etap kancerogenezy to tzw. model macierzystych komórek nowotworowych CSCs (ang. *cancer stem cells model*) (Metzcar i in., 2019). Na podstawie modeli CSC, powstał szereg opisów matematycznych opisujących dynamikę transformacji nowotworowych (Cho i in., 2008, Monzani i in., 2007; Boiko i in., 2010; Roesch i in., 2010; La Porta i in., 2012).

3.4 Podsumowanie

Promieniowanie jonizujące posiada zdolność do depozycji energii w ośrodku, przez który przenika. W zależności od typu promieniowania i zdolności jonizacji ośrodka, straty energii na jednostkę drogi bądź masy będą miały inne wartości. W odniesieniu do efektów napromieniania istotną rolę odgrywa wartość współczynnika LET, określającego liniowy transfer energii. W organizmie człowieka najbardziej kluczową strukturą jest materiał genetyczny (DNA). W konsekwencji ekspozycji może dojść do rozerwania wiązań w strukturach DNA, które błędnie naprawione mogą doprowadzić do trwałych mutacji w materiale genetycznym, prowadzących do transformacji nowotworowej komórki. Alternatywnie, przy dużych ilościach uszkodzeń może nastąpić bezpośrednia śmierć (mechaniczna) dużej grupy komórek, w następstwie której pojawiają się efekty obserwowalne klinicznie, w krótkim czasie po ekspozycji. W odniesieniu do punktowych uszkodzeń DNA, pojedynczych lub podwójnych pęknięć nici, należy uwzględnić mechanizmy naprawcze, które w naturalny sposób nadzorują integralność kodu genetycznego.

Rozdział 4

Indywidualna wrażliwość i podatność organizmu oraz zjawisko nadwrażliwości na małe dawki promieniowania jonizującego

W niniejszym rozdziale omówiono zagadnienie indywidualnej wrażliwości i czułości organizmu na czynniki mutagenne, w tym głównie promieniowanie jonizujące. Termin radio-wrażliwość i radio-podatność funkcjonuje w literaturze w odniesieniu kolejno do efektów deterministycznych oraz efektów stochastycznych. W obu wypadkach jest to odniesienie do podatności organizmu ludzkiego na generowanie negatywnych efektów, której sprzyjają pewne wrodzone (płeć, rasa) i nabyte (sprawność fizyczna, metabolizm) cechy fizyczne. Są to pewne obciążenia genetyczne oraz cechy takie jak wiek, płeć, stan zdrowotny organizmu, na który wpływa dieta, aktywność fizyczna, używki, zanieczyszczenia środowiska, inne choroby. W ocenie efektów działania promieniowania powyższe czynniki można traktować dwójako – jako dodatkowe parametry przy ocenie zależności dawka-efekt dla całej populacji, lub jako tzw. czynniki zakłócające (w przypadku badań epidemiologicznych). Poza wrażliwością osobniczą należy zwrócić uwagę na różną wrażliwość samych tkanek, komórek czy komórek w różnych fazach cyklu komórkowego. Okazuje się, że u niektórych osób obserwuje się mieszany efekt nadwrażliwości na małe dawki promieniowania jonizującego (HRS, ang. *Low-Dose Hyper-Radiosensitivity*) z efektem zwiększonej oporności (IRR, ang. *Increased Radioresistance*) na dawki nieznacznie większe, powyżej 300 mGy. Odpowiedź ta obserwowana jest zazwyczaj u pacjentów leczonych na choroby nowotworowe, których system immunologiczny jest modulowany przez różne czynniki. Jak dotąd nie ustalono jaki procent ogólnej populacji mógłby wykazywać nadwrażliwość na małe dawki promieniowania jonizującego. W związku z tym zaproponowano i przeprowadzono projekt eksperymentalny, mający na celu ocenę występowania zjawiska ocena występowania efektu nadwrażliwości na niskie dawki promieniowania jonizującego w komórkach osób niediagnozowanych w kierunku choroby nowotworowej. Hipotezą badawczą było założenie, że obserwowany efekt HRS/IRR może być konsekwencją zwiększonej podatności na promieniowanie jonizującego u osób z obniżoną odpornością systemu immunologicznego i wydajnością systemów naprawczych. Badania te były objęte autorskim projektem wewnętrznym NCBJ. Wyniki opisano w niniejszym rozdziale.

4.1 Indywidualna wrażliwość na promieniowanie jonizujące

Odpowiedź na taką samą dawkę promieniowania jonizującego różni się pomiędzy osobnikami tej samej populacji, zarówno w odniesieniu do efektów deterministycznych jak i rozważanej w niniejszym rozdziale karcenogenezy popromiennej – efektu stochastycznego. Różnice te wynikają zarówno z predyspozycji genetycznych jak i stanu zdrowia naszego ciała (dieta, aktywność fizyczna, stan środowiska) (Foray i in., 2016). Mechanizmy dotyczące indywidualnej wrażliwości na promieniowanie jonizujące są nie w pełni poznane (Wójcik i in., 2018). Termin „radio-wrażliwość” stosowany jest do jakościowej oceny stopnia odpowiedzi organizmu na promieniowanie jonizujące, oficjalnie w odniesieniu do obu efektów.

Palenie papierosów jest zakwalifikowane do czynników, które w połączeniu z ekspozycją na promieniowanie jonizujące znacznie zwiększają ryzyko wystąpienia raka płuc. Podobnie, spożycie alkoholu oraz wystawienie na działanie niektórych substancji chemicznych, w połączeniu z działaniem promieniowania jonizującego, są również związane ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia konkretnych nowotworów. Jeśli rozważamy ryzyko związane z popromiennym rozwojem nowotworu, większość badań epidemiologicznych (Preston i in. 2003, Raport BEIR VII 2, 2006, Raporty UNSCEAR 2006 B i 2017 B) i komórkowych (Raport HPA-RCE, 2013) wskazuje na większą radiopodatność kobiet. Szacuje się średnio dwukrotnie większe ryzyko nadmiarowe (ERR) w przypadku kobiet. Może być to wynikiem różnic w gospodarce hormonalnej, niższej wartości średniej współczynnika BMI (ang. *Body Mass Index*), większej zawartości tkanki tłuszczowej oraz mniejszego przepływu krwi przez narządy wewnętrzne u kobiet. Ogólna tendencja wskazuje na wzrost ryzyka nowotworowego u osób starszych, co może mieć związek m.in. z niedotlenieniem tkanek i spadkiem wydajności procesów naprawy DNA. Dieta bogata w składniki odżywcze jest zaliczana do czynników redukujących ryzyko popromiennie indukowanych nowotworów. W przypadku poszczególnych tkanek i reakcji deterministycznych różnice we wrażliwości zależą od narządu. Z perspektywy oceny planu leczenia w radioterapii określa się, że rozbieżność obserwowanych efektów ubocznych (takich jak zmiany na skórze, czy nowotwory wtórne) pomiędzy poszczególnymi pacjentami osiąga wartości do 80% (Raport HPA – RCE, 2013).

4.2 Zjawisko nadwrażliwości na małe dawki promieniowania jonizującego

Efekt nadwrażliwości na małe dawki promieniowania (HRS, ang. *Hyper-RadioSensitivity*) po raz pierwszy udokumentowano ponad 20 lat temu (Marples in., 1993). Wyraża się on podwyższoną w stosunku do oczekiwanej śmiertelnością komórek w wyniku zwiększonej wrażliwości na promieniowanie jonizujące, dla dawek poniżej pewnego progu ~ 0.3 Gy (Marples i in., 2008). Powyżej tego progu komórki okazują się bardziej odporne na uszkodzenia indukowane promieniowaniem, co określone zostało jako efekt radiooporności (IRR, ang. *Induced Radioresistance*). Próg dawki na przewyciężenie efektu HRS zależy od rodzaju napromienianych komórek, dokładności w ocenie dawki pochłoniętej i czułości testu – oceny ilości uszkodzeń. Pomimo, iż samo zjawisko zaobserwowane zostało w 1993 roku, nadal trwają badania nad poznaniem mechanizmu odpowiedzialnego za regulację odpowiedzi nadwrażliwych komórek. Najnowsze dane sugerują występowanie efektu nadwrażliwości na małe dawki poniżej 10 cGy (Joiner, 2019).

4.2.1 Opis matematyczny zjawiska HRS/IRR

Matematyczny opis zjawiska HRS/IRR zaproponowany przez Joinera (1996) nosi nazwę modelu Indukowanej Naprawy (IR, ang. *Induced Repair*). Wykres przedstawiający frakcję przeżywalności komórek opisywaną ‘krzywą Joinera’ zaprezentowano na Rys. 4.1. Kształt krzywej IR opisuje równanie (4.1). Krzywa przeżywalności przyjmuje postać:

$$SF = e^{\left[-\alpha_r \left(1 + \frac{\alpha_s}{\alpha_r} - 1\right) e^{-d/d_c} d - \beta d^2\right]} \quad (4.1)$$

gdzie:

α_r – współczynnik nachylenia opisujący efekt powyżej dawki granicznej

α_s – współczynnik nachylenia opisujący efekt poniżej dawki granicznej

d_c – dawka graniczna na efekt, przejście z efektu HRR do IRR

SF – frakcja przeżywalności komórek (ang. *Survival Fraction*)

d – dawka pochłonięta w komórkach

β – współczynnik przy członie kwadratowym

Sytuacja, w której $\alpha_s > \alpha_r$ wskazuje efekt nadwrażliwości na małe dawki promieniowania (Słonina i in., 2017). Dla wartości $\frac{\alpha_s}{\alpha_r} = 1$ krzywa IR przechodzi w klasyczny model liniowo-kwadratowy.

$$SF = e^{-\alpha d - \beta d^2} \quad (4.2)$$

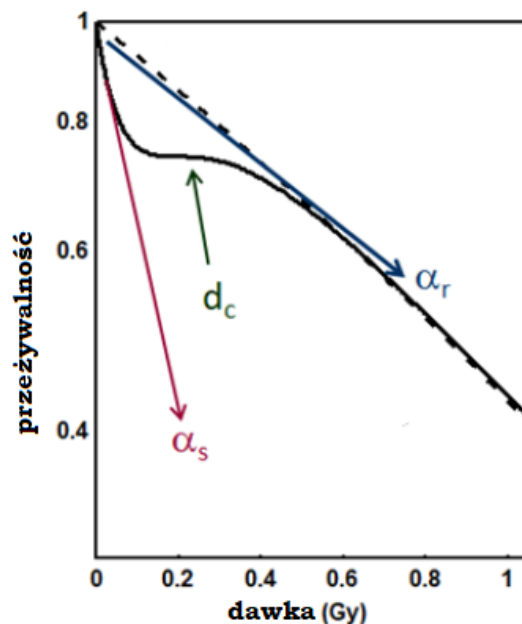
Krzywe przeżywalności mają zastosowanie w ocenie efektów powyżej 1 Gy, do oceny zależności dawka-efekt w przedziale małych dawek stosuje się zależność liczby uszkodzeń lub mutacji w funkcji dawki promieniowania.

Wartość argumentu w eksponencie (oznaczymy go jako Y) określa ilość patologicznych zmian w typowym materiale genetycznym, do których dochodzi w wyniku działania promieniowania jonizującego (McMahon i in., 2019), tj.:

$$Y = \alpha d + \beta d^2 \quad (4.3)$$

W modelu IR wartość Y zmienia się na:

$$Y = \alpha_r \left[1 + \left(\frac{\alpha_s}{\alpha_r} - 1 \right) e^{-\frac{d}{d_c}} \right] d - \beta d^2 \quad (4.4)$$



Rysunek 4.1. Zależność frakcji przeżywalności komórek od dawki pochłoniętej promieniowania jonizującego (Gy). Linia ciągła – modelowa krzywa obrazująca efekt HRS/IRR. Oznaczenia na rysunku pokazują kierunek przebiegu dwóch krzywych o współczynnikach nachylenia α_s oraz α_r , odpowiednio dla dawek poniżej i powyżej dawki progowej d_c . Na podstawie publikacji Joiner and Johns (1988).

Frację przeżywalności opisaną równaniem 4.1, można przedstawić jako:

$$SF = e^{(\alpha_s - \alpha_r)de^{-d/d_c}} e^{\alpha_r d + \beta d^2} \quad (4.5)$$

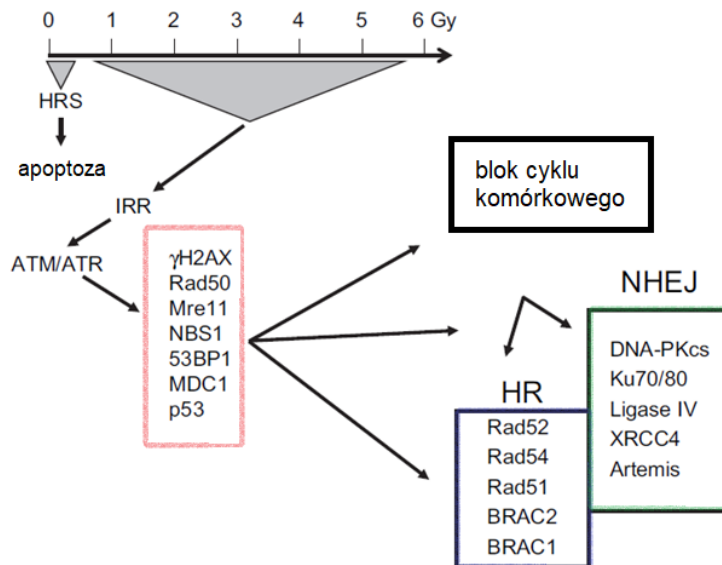
Biorąc pod uwagę, że typowy kształt krzywej Gompertza ma postać:

$$f(x) = e^{-a} e^{-\beta x} \quad (4.6)$$

można zauważyć, że typową modyfikacją w modelu Indukowanej Naprawy wprowadza mnożnik do przeżywalności w modelu liniowo-kwadratowym (r-nie (4.2)) w postaci funkcji Gompertza oraz dawki d (jak w przypadku wykładnika gompertzowskiego). Część gompertzowska opisuje zapewne tworzenie uszkodzeń, które jeszcze nie wywołują reakcji naprawczych organizmu, która włącza się dopiero po przekroczeniu pewnej liczby uszkodzeń komórkowych (Leblanc i in., 2019). Oznacza to, że przy małych dawkach będziemy obserwowali wzrost uszkodzeń, a następnie ich stopniowe zmniejszanie po przekroczeniu pewnej dawki. Wartość funkcji Gompertza $f(d)$ jest mniejsza od jedności, dawka w wykładniku związana jest z wygaszaniem efektu w momencie, gdy funkcja Joinera osiąga wartości bliskie d_c . Wykładnik d wskazuje na gaszenie ciągłego wzrostu uszkodzeń przez odpowiedź adaptacyjną. To gaszenie jest przy bardzo małych dawkach niewielkie, a w pobliżu d_c staje się istotne.

4.2.2 Opis biologiczny zjawiska HRS/IRR

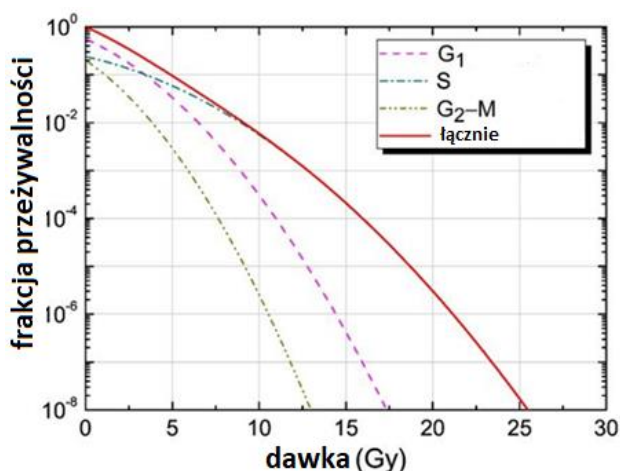
Istnieje kilka hipotez, które wyjaśniają oba zjawiska (HRS, IRR) i ich wzajemną relację (Marples 2004, 2008, Martin 2014). Najczęściej pojawiający się w literaturze opis mechanizmu HRS dotyczy braku aktywacji wczesnego punktu kontrolnego fazy G_2 cyklu komórkowego (Słonina i in., 2017), zależnego od koncentracji kinazy białkowej ATM (ang. *Ataxia Teleangiectasia Mutated*). W normalnych warunkach procesy aktywne w czasie bloku cyklu komórkowego, we wczesnym punkcie kontrolnym, zapobiegają przejściu uszkodzonych komórek w fazę podziału. W komórkach HRS-pozytywnych zakłada się, że istnieje pewien próg dawki na aktywację tego punktu kontrolnego (Kruger 2007, Przybyszewski 2008, Fernet 2010, Słonina 2017), a wartość dawki progowej – aktywacji punktu naprawy G_2/M – zależy od ilości indukowanych podwójnych uszkodzeń nici DNA (DSB), których liczba szacowana jest na 10 – 20 (Lobrich i in., 2007, Piotrowski i in., 2017).



Rysunek 4.2. Proponowane wyjaśnienie mechanizmu HRS/IRR. W czerwonej ramce znajdują się białka aktywowane (fosforylowane) przez serynowo-treoninową kinazę białkową ATM (ang. *Ataxia Telangiectasia Mutated*). Kolorem granatowym obramowane zostały geny i białka uczestniczące w homologicznym (rekombinacyjnym) szlaku naprawy DNA (HR, ang. *Homologous Recombination*) oraz zielonym – uczestniczące w naprawie przez scalanie niehomologicznych końców (NHEJ, ang. *Non-Homologous End Joining*). Na podstawie Marples i in., 2008.

Efekt nadwrażliwości obserwowany jest dla komórek napromienianych jedynie w fazie G₂ cyklu komórkowego, dla różnych typów komórek (keratynocyty, fibroblasty, limfocyty) oraz różnych typów promieniowania (promieniowanie X, gamma, neutrony). Zjawisko HRS/IRR obserwowane jest głównie w komórkach linii nowotworowych lub wyselekcjonowanych, zdrowych tkanek pochodzących od pacjentów leczonych onkologicznie, co wynika z wiodącego zastosowania tych badań w celach poprawy jakości radioterapii (Martin i in., 2014). Od dawna wiadomo, że jednym z czynników decydujących o radiowrażliwości komórek jest cykl komórkowy (Sinclair, Morton 1965). Różnice w przeżywalności komórek w zależności od fazy cyklu, w którym znalazły się w czasie napromieniania zaprezentowano na Rys.4.2. Największa podatność na uszkodzenia obserwowana jest w fazie mitozy M i późnej fazie G₂, co na rysunku pokazane jest jako linia G₂-M. Faza G₁ znajduje się w średnim przedziale wrażliwości, natomiast za najbardziej odporne na promieniowanie uważane są komórki w fazie S, tj. syntezy materiału genetycznego. Jest to zależne od kondensacji chromatyny w jądrze komórkowym, która ulega kondensacji w fazie M, oraz od mechanizmów naprawy podwójnych uszkodzeń w cyklu. Rekombinacja niehomologiczna (NHEJ, ang. *Non-Homologous End-Joining*) funkcjonuje podczas całego cyklu, dominuje

w fazach G₁/S. Preferowany proces, niepodatny na błędy, to rekombinacja homologiczna (HR, ang. *Homological Recombination*), która ze względu na dostęp do homologicznego, nieuszkodzonego odcinka DNA, na którym odbywa się transkrypcja DNA (IAEA, 2010), może odbywać się jedynie w fazach S lub G₂ cyklu komórkowego.



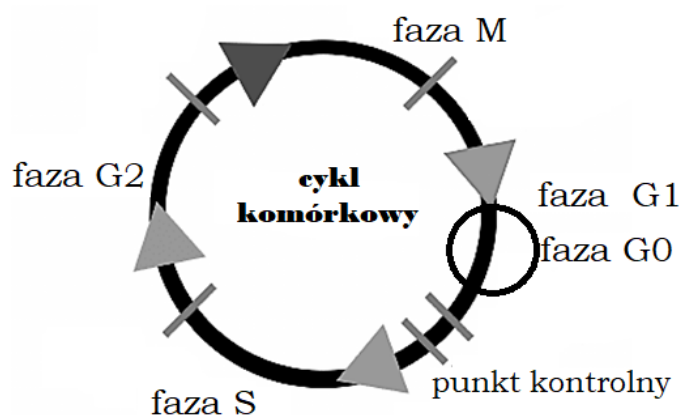
Rysunek 4.3. Przeżywalność komórek w funkcji dawki, dla różnych faz cyklu komórkowego. Obliczone wartości referencyjne, dla komórek w różnej fazie cyklu oraz obszar proliferacji komórek nowotworowych płuc (G₁: 56%, S: 24% i G₂-M: 20%; przy mocy dawki – 0.35 Gy⁻¹ dla 2 Gy na frakcję (Jeong i in., 2017)).

4.2.3 Wpływ fazy cyklu komórkowego podczas napromieniania

Podział to podstawowy proces życiowy komórki. Szacuje się, że komórki naszego ciała ulegają w ciągu życia średnio 50-70 podziałom (Limit Hayflick’a-Hayflick, 1985, 1994). Łączna liczba podziałów w ciele człowieka w czasie całego życia określana jest na 10¹⁶ (bionumbers.org). Podczas mitozy komórka powiela całą swoją zawartość (w tym materiał genetyczny) i dzieli się, tworząc dwie identyczne komórki potomne. Ponieważ proces ten jest tak krytyczny, przebieg cyklu komórkowego podlega ciągłemu nadzorowi, w którym informacja o stanie komórki i otoczenia decyduje o kontynuacji jej podziału. Weryfikowane są m.in. rozmiar komórki, dostęp do składników odżywczych, informacje o środowisku i uszkodzenia DNA. Jeśli któryś z powyższych warunków nie zostanie spełniony, komórka przechodzi w stan spoczynku (w kontekście podziału, faza G₀). Niektóre komórki znajdują się w fazie G₀ permanentnie, pełnią określoną funkcję w tkance, starzeją się i wymierają. Jeśli zostanie wykryta nieprawidłowość np. uszkodzenie DNA lub brak przestrzeni dla wzrostu komórki potomnej, następuje aktywacja ścieżki sygnałowej wewnątrz komórki, która

aktywuje lub dezaktywuje zestaw podstawowych białek nadzorujących cykl komórkowy, wykrywanie uszkodzeń DNA, i ich naprawę lub kieruje komórkę na ścieżkę apoptozy. Odbywa się to w fazach G₁ do S, środkowej części fazy S, oraz G₂ do M. Końcowy punkt kontrolny (w fazie M) dotyczy poprawności przyłączenia chromosomów do wrzecion kariotycznych⁶ (IAEA 2010).

Czas trwania cyklu, a więc szybkość odnowy komórek w różnych tkankach ludzkiego ciała, różni się znacząco w zależności od rodzaju komórki, zaczynając od kilku dni (komórki nabłonka jelit, białe krwinki, pęcherzyki płuc), tygodni (osteoklasty, komórki właściwe skóry, limfocyty B), miesięcy (macierzyste układu krwionośnego, osteoblasty, czerwone krwinki, komórki wątroby), lat (tłuszczowe)⁷. Średni czas trwania cyklu, nie uwzględniając fazy G₀ (spoczynkowej), dla komórek eukariotycznych, wynosi 24 godz., faza G₁ może trwać około 11 godzin, faza S około 8 godzin, G₂ około 4 godzin, a M około 1 godziny. (GM Cooper, 2000).



Rysunek 4.4. Cykl komórkowy oraz punkty kontrolne (opracowanie własne, na podstawie pozycji Basic Clinical Radiobiology Joiner 2019). Punkt kontrolny reprezentowany jest przez wąski prostokąt, natomiast przejście do kolejnej fazy jako trójkąt. Jak pokazano na rysunku faza G₀ jest częścią fazy G₁ (fazą spoczynkową pierwszego etapu cyklu komórkowego).

Rozkład komórek w poszczególnych fazach cyklu komórkowego, dla poszczególnych typów komórek, będzie wykazywał (w organizmie człowieka) zasadnicze różnice w zależności od tempa proliferacji danej tkanki. Dla przykładu, w normalnych warunkach (u osób zdrowych) ponad 98,5% limfocytów krwi obwodowej znajduje się w fazie G₀ (Tripathi i in, 2008).

⁶ „wrzeciono podziałowe, wrzeciono kariokinetyczne, genet. struktura plazmatyczna powstająca podczas podziału komórki (mitoza, mejoza), zbudowana z mikrotubul, układająca się w dwubiegunowe wrzeciono, umożliwiającą precyzyjny podział materiału genetycznego pomiędzy komórki potomne” – Słownik PWN

⁷ <http://book.bionumbers.org>

Te proporcje różnią się u pacjentów poddawanych chemioterapii ze względu na zwiększone tempo „odbudowy” zniszczonych limfocytów (Verma, 2016). Osoby poddawane radioterapii często odbywają wieloetapowe leczenie, w którym część planu terapeutycznego uwzględnia chemioterapię. Wzmoczona proliferacja komórek może być przyczyną obserwowania HRS u pacjentów onkologicznych, poddawanych w drugiej kolejności radioterapii. Komórki krwi wydają się optymalnym markerem ze względu na małą inwazyjność pobrania materiału od dawców w przypadku badania większej populacji osób. Wiedza oparta na wynikach badań dotyczących mechanizmów naprawczych w napromienianych komórkach ma istotne zastosowanie w rozwoju nowoczesnych technik radioterapii. Otwartym pozostaje pytanie o występowanie efektu HRS/IRR u osób zdrowych. Jest to istotne z punktu widzenia określenia zależności dawka-efekt w zakresie małych dawek promieniowania, szczególnie w kontekście tematu niniejszej rozprawy doktorskiej. Istnieje niewiele pozycji literaturowych, w których efekt badano dla komórek pobranych od zdrowych osób (Słonina i in., 2017, Seth i in., 2015). W związku z powyższym podjęto próbę oceny efektu HRS/IRR w limfocytach osób zdrowych, z ogółu populacji przy pomocy testu mikrojądrowego, który jest jedną z metod stosowanych w podobnych badaniach (Słonina i in. 1997, Boreham, 2000). Do badań wybrano osoby młode, ponieważ celowano w zdrową część populacji. Były to osoby wykształcone, o średnim statusie społecznym (pracownicy naukowcy), stąd niewielka próba jest jedynie częścią reprezentacji całej założonej populacji ogólnej. Niemniej jednak liczba uczestników jakkolwiek losowo wybrana nie odwzoruje różnorodności całej populacji, założono więc, że na poczet wstępnej fazy projektu uczestnicy będą dobrą grupą reprezentacyjną.

4.3 Zjawisko HRS w odniesieniu do ogółu populacji jako problem badawczy

4.3.1 Temat badań

Tematem przeprowadzonych badań eksperymentalnych była ocena występowania efektu nadwrażliwości na niskie dawki promieniowania jonizującego (HRS) w komórkach osób niediagnozowanych w kierunku choroby nowotworowej. Badania te były objęte projektem wewnętrznym NCBJ.

4.3.2 Cel eksperymentu

Projekt miał na celu przygotowanie metodyki badań dla weryfikacji hipotezy o występowaniu zjawiska nadwrażliwości na niskie dawki promieniowania, jako cechy osobniczej ogółu populacji oraz zbadanie różnic w indywidualnej odpowiedzi (IR) na małe dawki promieniowania u badanych osób, ocenę przydatności testu CBMN (testu mikrojądrowego z blokiem cytokinezy) do analizy indywidualnej radiowrażliwości oraz występowania efektu nadwrażliwości radiacyjnej (HRS/IRR) w komórkach krwi, pobranych od zdrowych dawców.

4.3.3 Hipoteza badawcza

Nadwrażliwość na małe dawki promieniowania obserwowana w komórkach pacjentów leczonych na choroby nowotworowe może wynikać ze spadku odporności organizmu w wyniku chemioterapii i radioterapii. W związku z tym, u osób zdrowych, z ogółu populacji taki efekt nie powinien występować albo być nieznaczająco mały.

4.4 Przebieg eksperymentu

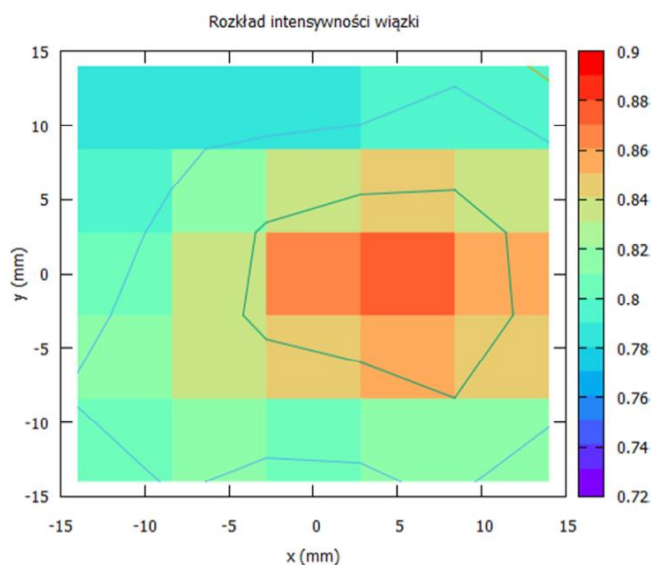
4.4.1 Wybór ochotników

Do eksperymentu wyznaczono 6 osób (2 kobiety oraz 4 mężczyzn w przedziale wieku 27-35 lat.), pracowników Narodowego Centrum Badań Jądrowych w Świerku, poddawanych stałej, monitorowanej dozymetrii indywidualnej. Osoby te były poddawane stałej kontroli

dozymetrycznej oraz regularnym badaniom lekarskim, co umyślnie potraktowano jako atut w tej grupie. Przeprowadzając badanie mieliśmy pewność, że grupa reprezentuje populację zdrową. U żadnego z młodych pracowników nie zarejestrowano przekroczenia dawki granicznej dla pracowników (kat B, ani A) narażenia. Wszystkie osoby zostały poinformowane o celu i przebiegu badania oraz podpisały zgodę na wykorzystanie ich krwi do badań oraz ankietę, w której poproszeni zostali o udzielenie dodatkowych informacji o swoim stanie zdrowia i historii medycznej. Wszystkie osoby określiły swój stan zdrowia jako dobry. U żadnej z badanych osób nie zdiagnozowano choroby nowotworowej, nikt z uczestników nie miał wykonywanych w czasie ostatnich 5 lat wielokrotnych badań diagnostycznych z użyciem promieniowania jonizującego. Założono, że pomimo małej liczby uczestników badania te mogą przyczynić się do stworzenia podwalin do eksperymentu na większą skalę, wskazując na możliwości wykrywania niewielkich efektów w przedziale małych i średnich dawek promieniowania, obarczonych dużymi niepewnościami oraz ograniczeniami związanymi z wybranym testem radiobiologicznym. W efekcie konsultacji nad projektem z dr. Nicolasem Forayem oraz prof. Dorotą Słoniną określono, że statystycznie wiarygodne wyniki w tym eksperymencie można uzyskać badając próbę liczącą minimum 30 osób, co planowane w dalszej ścieżce kariery naukowej autora rozprawy.

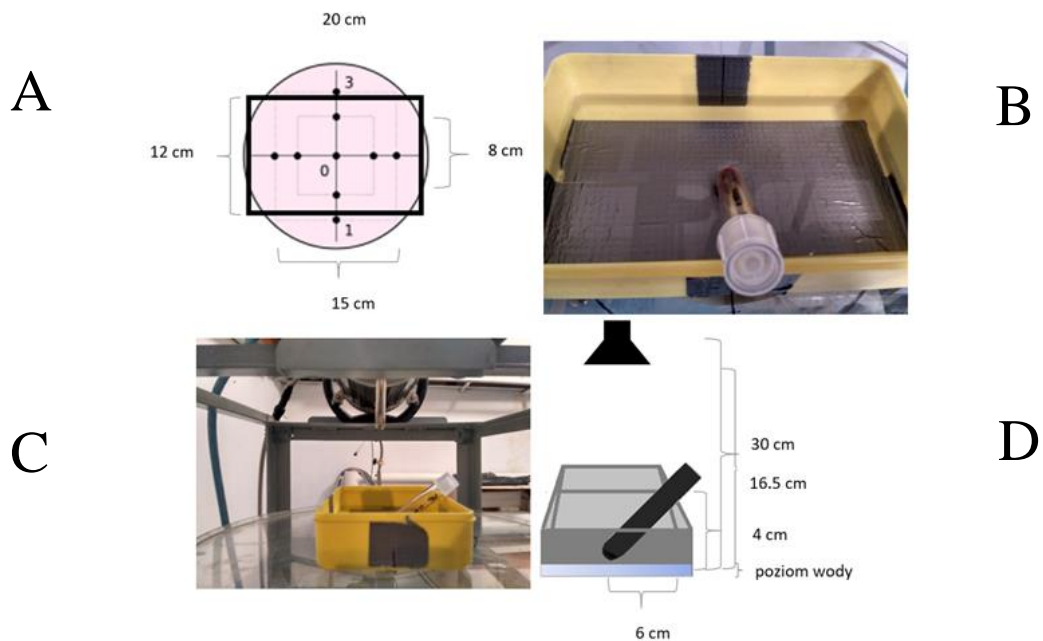
4.4.2 Pomiary dozymetryczne

Przed rozpoczęciem eksperymentu wykonano pomiary dozymetryczne wiązki promieniowania X na stanowisku do napromieniania komórek (w Instytucie Chemii i Technik Jądrowych w Warszawie, gdzie wykonano część doświadczalną eksperymentu), które potwierdziły stabilność wiązki promieniowania. Raport dozymetryczny (Szymon Domański 2017) dołączono do pracy (Uzupełnienie 12). Pomiary mocy dawki wykonano za pomocą elektrometru Keithley 6517B z komorą jonizacyjną typ KR-16 prod. NCBJ. Rozkład natężenia wiązki promieniowania (Rys. 4.5) zmierzono przy pomocy komory DW#5 prod. GUM oraz zestawu dawkomierzy termoluminescencyjnych MTS-100.



Rysunek. 4.5. Rozkład intensywności wiązki promieniowania X, na stanowisku do napromieniania materiału biologicznego. Dokładny opis rozkładu znajduje się w Uzupełnieniu 12.

Aparat RTG zamocowany jest na stalowym statywie, kierując wytwarzaną wiązkę promieniowania pionowo w kierunku podłoża (Rys. 4.6 D). W osi wiązki znajduje się stolik z tworzywa sztucznego (PMMA), umożliwiający ustawienie napromienianych próbek w żądanej odległości od ogniska lampy (którą ustalono na 30 cm – Rys. 4.6 C). Na blacie roboczym (stoliku) znajduje się tarcza z oznaczonymi punktami referencyjnymi (Rys. 4.6 A). Bok małego kwadratu wynosi około 8 cm, dużego około 15 cm. Prostokąt reprezentuje położenie pojemnika z wodą, w którym umieszczano próbki, w celu utrzymania stałej temperatury układu. Położenie próbki znajdowało się w centralnym punkcie układu. Całkowita szerokość napromienianej krwi nie przekraczała 0,5 cm. Próbówkę ustawiono pod kątem około 45° do podłoża (Rys. 4.6 B), a pojemnik wypełniono wodą, tak aby tafla wody nie przekraczała wysokości krwi w próbówce. Na podstawie wykonanych pomiarów dozymetrycznych stwierdzono jednorodny rozkład energetyczny wiązki promieniowania X padającego na komórki (Uzupełnienie 12), zakładając, że 1-2 mm warstwa komórek krwi nie powoduje zbyt dużych zaburzeń związanych ze zmianą charakterystyki wiązki przy przechodzeniu przez kolejne warstwy komórek lub rozproszeń.



Rysunek 4.6. (A, B, C, D). Geometria układu do napromieniania próbek biologicznych.

Do napromieniania użyto Defektoskopu rentgenowskiego YXLON SMART (200kV, 4,5 mA, 12 mm Pb) o mocy dawki 1,271 Gy/min. w odległości od źródła wynoszącej 30 cm. Czas pomiaru dostosowano do dokładności skali urządzenia wynoszącej 1 s. W doświadczeniu wyznaczono 7 wartości dawek pochłoniętych, które wypunktowano w Tabeli 4.1. Dawki pochłonięte dobrano w taki sposób, aby w przedziale do 1000 mGy otrzymać wystarczającą ilość punktów do obserwacji charakterystycznej odpowiedzi, dla obu zjawisk HRS oraz IRR, opisywanej krzywą Joinera.

Tabela 4.1. Dawka oszacowana i dawka zmierzona podczas pomiarów dozymetrycznych w eksperymencie komórkowym.

dawka oczekiwana [mGy]	dawka zmierzona [mGy]
50	42 ± 3
100	105 ± 7
150	147 ± 10
300	295 ± 21
500	506 ± 35
1000	991 ± 69
1500	1497 ± 105

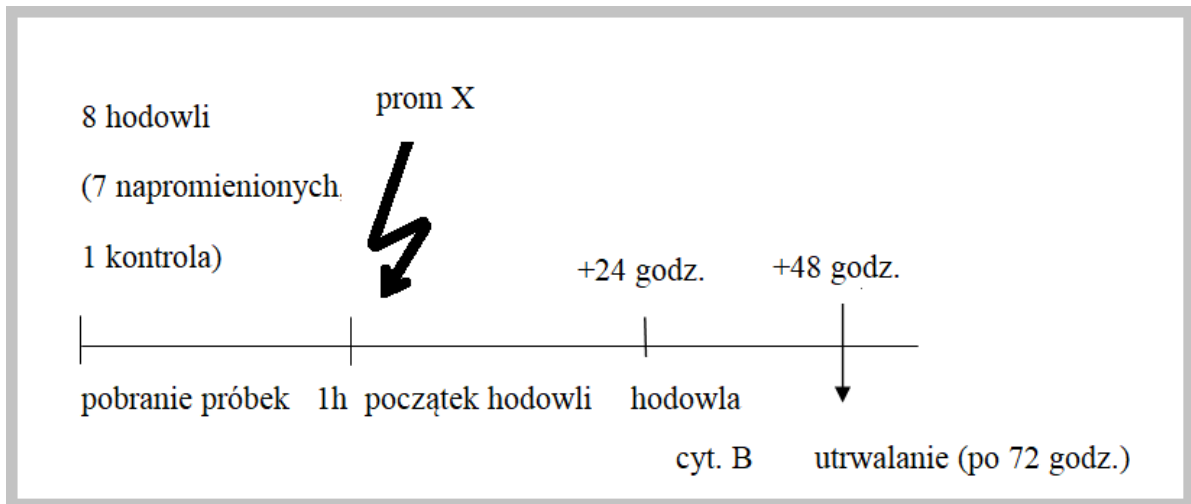
4.4.3 Metodologia i przebieg doświadczenia

Hodowla komórek oraz procedura wykonania testu mikrojądrowego z blokiem cytokinezy (CBMN) oparta została na standardowym protokole stosowanym w pracowni Dozymetrii Biologicznej i Radiobiologii ICHTJ, udostępnionym przez dr. Sylwestra Sommera i mgr Iwonę Buraczewską, nadzorujących poprawność wykonania poszczególnych etapów eksperymentu. Dr Sommer współuczestniczył w opracowaniu części doświadczalnej eksperymentu, mgr Iwona Buraczewska pomagała realizować radiobiologiczną część wykonawczą hodowli komórek oraz realizacji protokołu CBMN.

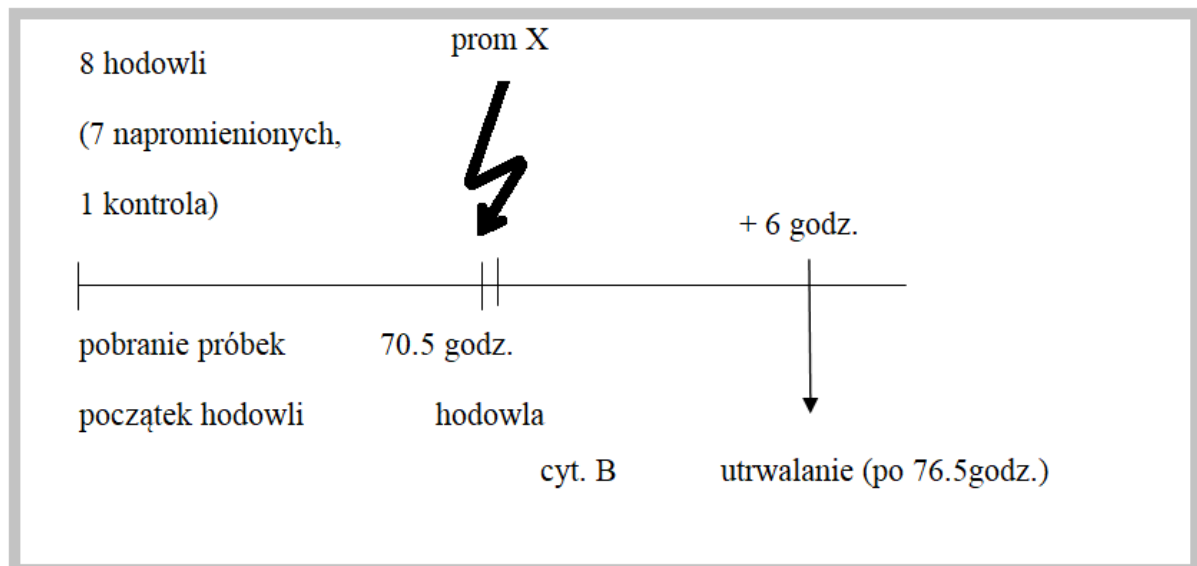
Do eksperymentu wybrano limfocyty krwi obwodowej pochodzące od wspomnianych wcześniej 6 zdrowych dawców, od każdego uczestnika pobrano ankietę z wywiadem medycznym (Uzupełnienie 4). Krew pobierano raz w tygodniu przez wykwalifikowany personel ambulatorium Narodowego Centrum Badań Jądrowych w Świerku. Od uczestników pobierano do strzykawki z heparyną 9 ml krwi obwodowej, następnie podczas ok. 1 godz. transportowano próbki do laboratorium w Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie. Na miejscu przed rozpoczęciem hodowli rozdzielano krew po 0,5 ml do 16 próbek, do każdej dodawano 4,5 ml pożywki RPMI 1640, z L-glutaminą, bez surowicy. Łącznie przygotowano 64 próbek do analizy.

Doświadczenie zaplanowano tak, aby uzyskać informację o zależności dawka-efekt napromienianych komórek w dwóch fazach cyklu komórkowego G_0 i G_2 . W pierwszym wypadku (Rys. 4.7) komórki napromieniano po 1godz. od pobrania krwi od dawcy i hodowano przez 24 godz. Po tym czasie, w celu utworzenia komórek dwujądrowych dodawano cytochalazyny B, po czym hodowano przez następne 48 godz., aż do utrwalenia preparatów. W drugiej części tę samą procedurę wykonano w innym czasie, tak aby zwiększyć procent komórek w późniejszej fazie cyklu komórkowego oraz ograniczyć liczbę komórek, które przejdą cały cykl, tylko do tych w końcowych jego fazach.

W tym celu, napromienianie komórek odbywało się po 70,5 godz., przy czym cytochalazyna B podawana była bezpośrednio po napromienieniu, po 6 godz. hodowli komórek wdrażano procedurę utrwalania. Szczegółowy opis każdego etapu znajduje się podrozdziale 4.4.5.



Rysunek 4.7. Schemat doświadczenia eksperymentu: „limfocyty w fazie G_0 ”.



Rysunek 4.8. Schemat doświadczenia eksperymentu: limfocyty w fazie G_2 ”.

Próbki umieszczane były w inkubatorze w 37°C na 72 godziny, czas hodowli różnił się w poszczególnych częściach eksperymentu, opis znajduje się na Rys. 4.7 i Rys. 4.8. Pierwsza grupa komórek w fazie G_0 została napromieniana bezpośrednio po transporcie i przygotowaniu próbek. Następnie rozpoczęto hodowlę. Po 24 h do napromienianych komórek dodano roztwór z cytochalazyną B ($4 \mu\text{l/ml}$), aby komórki napromieniane, które przeszły w fazę mitozy utworzyły komórki dwujądrowe. Całkowity czas hodowli wynosił 72h. Przygotowanie preparatów do analizy odbywało się za pomocą standardowego protokołu.

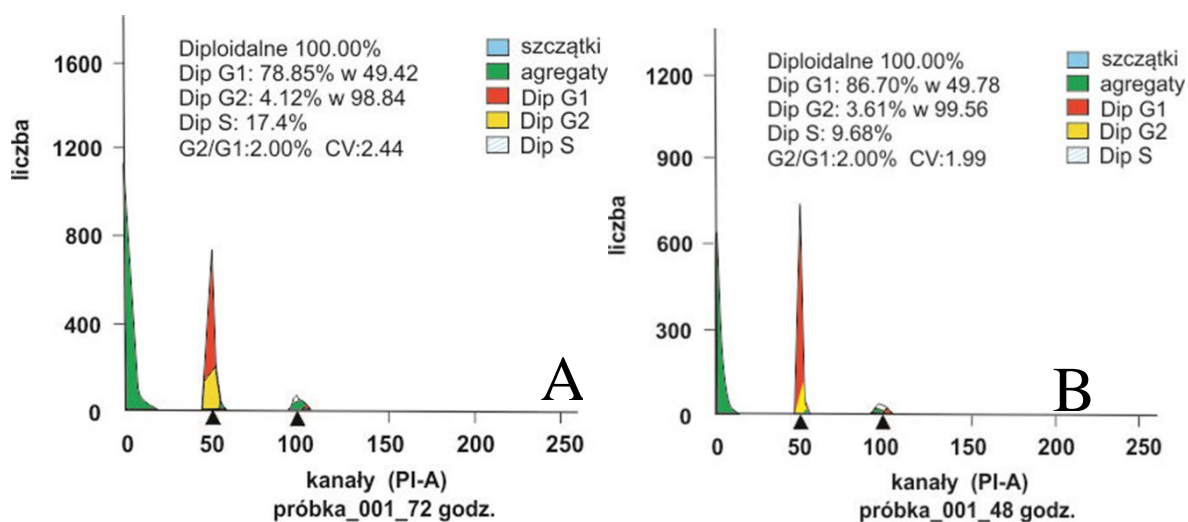
W wypadku drugiej grupy, większej frakcji komórek w fazie G₂, czekano 70,5 godz. od momentu pobrania materiału do napromieniania komórek. Ze względu na długość fazy G₂/M cytochalazyna B dodawana była od razu po napromienianiu. Komórki hodowane były przez następne 6 godz. (w tym czasie wszystkie znajdujące się w fazie G₂ przeszły podział (Rys. 4.8), po czym przygotowywano preparaty zgodnie z protokołem stosowanym w grupie pierwszej.

4.4.4 Przygotowanie doświadczenia

Do analizy przygotowano podwójny zestaw próbek krwi. W pierwszym znajdowały się tak zwane komórki asynchroniczne, w różnych fazach, z czego większość przechodziła przez fazę G₀ – cykl był wstrzymany). W drugim komórki były hodowane i stymulowane (odpowiednie warunki otoczenia) do wyjścia z fazy G₀ i przejścia przez cykl do fazy G₂ (w próbce zaobserwowano zwiększony procent populacji w fazie G₂). Wybrany czas hodowli komórek, w których potencjalnie występuje większy procent komórek w fazie G₂, ustalono na podstawie danych literaturowych (Tice i in., 2000). Ostatecznie wybrano 70,5 godz. (50% M₂, 25% M₃⁸). Aby zweryfikować procent komórek w poszczególnych fazach cyklu w wybranym czasie wykonano analizę cytometryczną, przy pomocy cyfrowego cytometru przepływowego BD LSR Fortessa, oraz cyfrowego sortera komórkowego BD FACS Aria III. Porównanie procentowej zawartości komórek u pierwszego uczestnika badania, po 48 godz. oraz 72 godz. od momentu założenia hodowli komórkowej, wskazało na niewiele większą zawartość komórek w późniejszych fazach cyklu po dłuższym czasie (Rys.4.9). Następnie komórki rozcieńczono w 7 ml. lodowatego⁹ KCl, który powoli dodawano podczas wirowania próbek i utrwalano w lodowatym metanolu: kwasie octowym, roztwór (3: 1), do uzyskania przezroczystej zawiesiny. Po utrwaleniu komórki przeniesiono na szkiełka, osuszono i barwiono DAPI (Vectrashield), analizowano przy użyciu specjalistycznego oprogramowania Metafer (MetaSystems) połączonego z automatycznym mikroskopem Zeiss.

⁸ M – komórki, które przeszły przez drugą(M₂) lub trzecią(M₃) mitozę

⁹ Określenie branżowe - schłodzony, o niższej temperaturze niż preparat docelowy



Rysunek 4.9. Wyniki analizy testu koncentracji komórek w poszczególnych fazach cyklu komórkowego, metodą cytometrii przepływowej, wykonane dla limfocytów z pierwszej próbki po 48 godz. (B) oraz 72 godz. (A) od założenia hodowli, w celu ustalenia czasu potrzebnego do wzbogacenia populacji o większą frakcję komórek w fazie G₂. Kolorem żółtym oznaczono koncentrację komórek w fazie G₂, czerwonym – G₁.

Dla każdej osoby częstotliwość mikrojąder (MN) była oceniana na 1000 komórek dwujądźrzastych (BN ang. *binuclei*). Do analizy wybrano średnią częstość MN z 3 szkiełek, w których naliczono ponad 1000 komórek dwujądźrzastych oraz obliczono indeks mitotyczny uwzględniając stosunek komórek, które przeszły podział do komórek jednojądźrzastych¹⁰. Analizę przydatności cytogenetycznego testu mikrojądrowego do oceny uszkodzeń komórki w fazie G₂ przeprowadzono wykorzystując dodatkowo test na częstość występowania aberracji chromosomowych (tzw. dicentryków).

4.4.5 Napromienianie materiału biologicznego

Komórki napromieniano w pojemniku wypełnionym wodą o temperaturze (ciała) ok. 37°C, po wcześniejszym umieszczeniu w łaźni wodnej z regulowaną temperaturą o takiej samej wartości. Pojemnik ustawiono w punkcie centralnym wiązki, oznaczonym na Rys. 4.8 A jako punkt 0. Zawiesina komórek, po odsączeniu surowicy, znajdowała się na dnie próbki. Zaprojektowany układ zapewniał powtarzalność geometrii napromieniania komórek.

¹⁰ Wszystkie komórki, które przeszły podział komórkowy utworzyły komórki dwujądźrzaste, ponieważ w czasie podziału dodana cytochalazyna B spowodowała zahamowanie rozerwania się włókien kariotycznych, które łączą komórki potomne w ostatniej fazie cyklu komórkowego. Schemat przedstawiono w uzupełnieniu X. Komórki dwujądźrzaste utworzyły się po napromienianiu.

Komórki nie znajdowały się dalej niż 0,5 cm od punktu centralnego wiązki, co pozwoliło założyć jednorodność otrzymanej dawki pochłoniętej. W celu minimalizacji promieniowania rozproszonego, tafla wody ograniczała się do wysokości pokrywającej objętość komórek. Po napromienieniu próbki zakodowano.

4.5 Wyniki doświadczenia

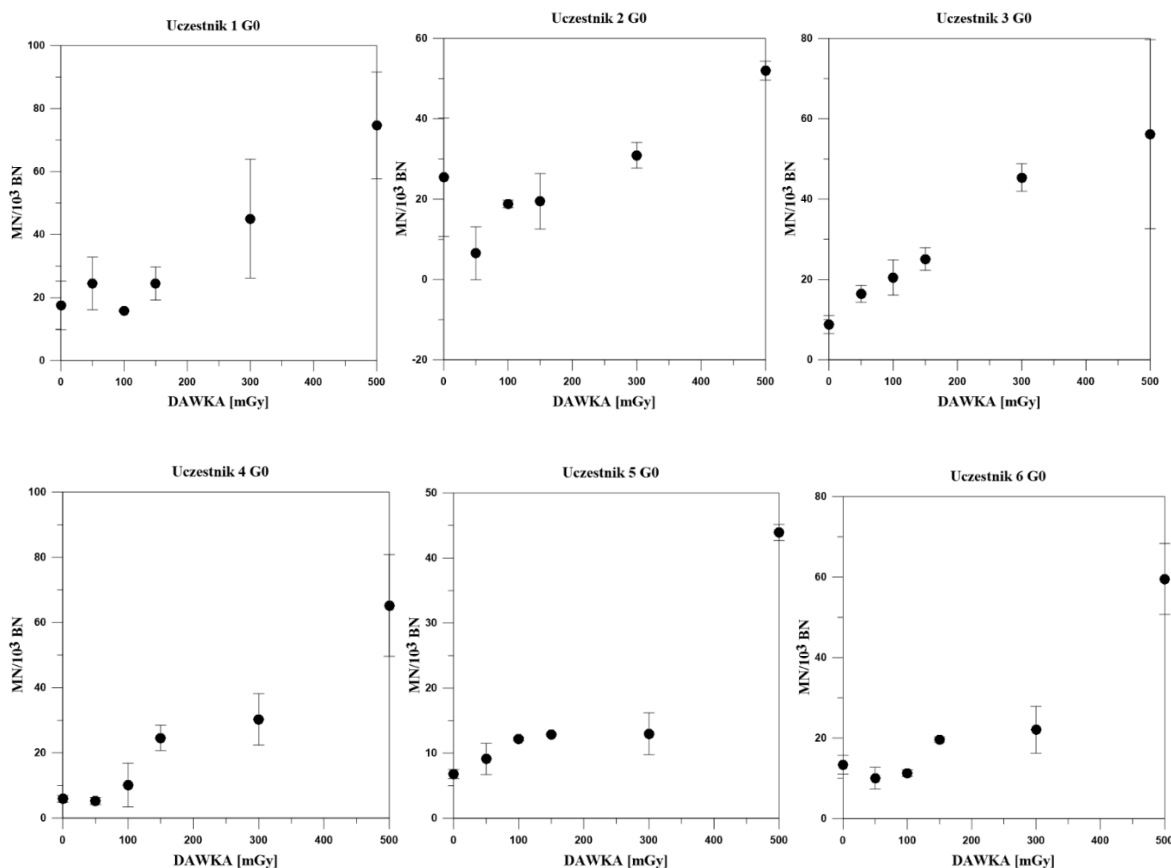
Wynik odzwierciedla średnią ważoną liczbę mikrojąder (MN) z 3 próbek, w których znajdowało się minimum 1000 komórek dwujądrowych (BN). Obliczono również odchylenie standardowe (SD), uwzględniając wagi poszczególnych próbek (analizowaną liczbę komórek na każdym szkiełku).

4.5.1 Wyniki dla poszczególnych uczestników

Wyniki analizy częstości powstawania mikrojąder w limfocytach krwi obwodowej poddanych napromienianiu (oszacowanymi) dawkami pochłoniętymi promieniowania X równymi kolejno: 50, 100, 150, 300, 500, 1000, 1500 mGy. Krew pobrano bezpośrednio od 6 pacjentów (w fazie G_0) oraz hodowano przez 70,5 godz. (w fazie G_2) umieszczone zostały w Uzupelnieniu 6.

Wyniki wskazują na różnicę odpowiedzi komórek będących w różnych fazach cyklu komórkowego. Częstość mikrojąder jest widocznie niższa dla komórek w fazie G_2 , co wydaje się sprzeczne z teorią dotyczącą radiowrażliwości i cyklu komórkowego. Geneza tych różnic została przeanalizowana w dalszej części. Zaprezentowano zależność dawka-efekt w przedziale dawek poniżej 100-200 mGy (Rys. 4.10 i 4.11), indywidualną odpowiedź badanych osób (limfocyty w fazie G_0) (Rys.10) oraz efekt nadwrażliwości na małe dawki promieniowania (limfocyty w fazie G_2) (Rys.11).

4.5.2 Indywidualna odpowiedź w przedziale małych dawek (G_0)

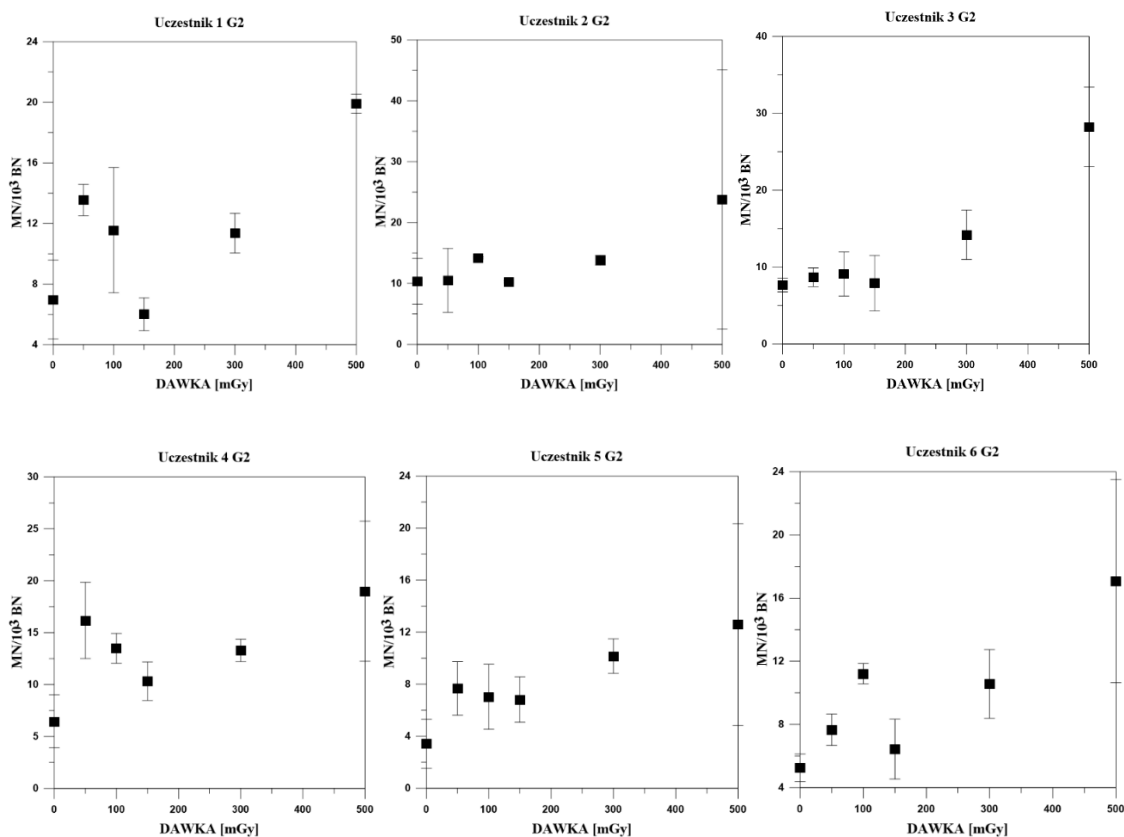


Rysunek 4.10. (wykresy 1-6) Zakres wartości dawki pochłoniętej poniżej 500 mGy. Zależność częstości powstawania mikrojąder w komórkach dwujądrowych od dawki pochłoniętej dla limfocytów krwi obwodowej, w fazie G_0 (dla poszczególnych uczestników badania). Na wykresie uwzględniono wartości odchylenia standardowego analizowanych preparatów.

Dane zaprezentowane na Rys. 4.10 wskazują na nieliniową odpowiedź w zakresie małych dawek pochłoniętych promieniowania rentgenowskiego. W przedziale niepewności pomiarowych, u każdej z badanych osób występują różnice w częstości generowanych uszkodzeń obserwowanych jako mikrojądra. Ze względu na niewystarczającą liczbę prób w populacji nie można jednoznacznie stwierdzić jaka krzywa najlepiej opisywałaby odpowiedź napromienionych komórek. Na podstawie powyższych zależności (na podstawie wartości liczbowych i wykresów) można postulować, że zależność dawka-efekt w przedziale małych dawek nie jest liniowa i powinna być opisywana innym równaniem. Jedynie w wypadku uczestnika nr 3 zależność od dawki wydaje się liniowa. W pozostałych przypadkach, w obszarze do 100 mGy, nie obserwuje się konkretnej zależności efektu od

dawki. Jest to dobrą motywacją do kontynuacji badań nad indywidualną odpowiedzią dotyczących większej liczby uczestników (osób z ogółu populacji).

4.5.3 Indywidualna odpowiedź w przedziale małych dawek (G2)



Rysunek 4.11 (wykres 1-6) Zakres wartości dawki pochłoniętej poniżej 500 mGy. Zależność częstości powstawania mikrojąder w komórkach dwujądrowych od dawki pochłoniętej dla limfocytów krwi obwodowej, w fazie G2 (dla poszczególnych uczestników badania). Na wykresie uwzględniono wartości odchylenia standardowego analizowanych preparatów.

Początkowy wzrost liczby uszkodzeń, a następnie ich spadek po przekroczeniu pewnej wartości dawki granicznej d_c jest obserwowany (choć ze słabą znamiennością statystyczną) w każdym z przypadków zależności na Rys.4.11. Efekt ten występuje z różną intensywnością w przedziale od 50 mGy do 200 mGy. Dane (w szczególności dla uczestników 1, 4, 6) wskazują na występowanie progu dawki na naprawę uszkodzeń indukowanych promieniowaniem jonizującym. Na podstawie obserwacji danych z eksperymentu oraz literatury (Joiner, 2019) założono wartość dawki granicznej wynoszącą 100 mGy. U uczestników 1, 4 i 6 zależność efektu od dawki odwzorowuje zachowanie krzywej IR

Joinera (równanie 4.1). W celu określenia "intensywności" efektu w dalszej części pracy wykonano odpowiednie obliczenia.

4.6 Dopasowanie modelu indukowanej naprawy do danych

Jak wspomniano we wstępie do niniejszego rozdziału, zjawisko HRS opisywane jest przy pomocy modelu indukowanej naprawy (IRR) Joinera (r-nie (4.1)). Jest to zmodyfikowany model LQ (liniowo-kwadratowy), w którym wprowadzone zostały dodatkowe współczynniki nachylenia dla efektów w dwóch przedziałach dawek, oddzielonych dawką graniczną na występowanie efektu (d_c). Punkt ten odpowiada przejściu ze zmniejszonej do zwiększonej radiooporności (co widoczne jest na rysunku 4.1). Wartość eksponentu odzwierciedla odwrotną sytuację do przeżywalności komórek, liczbę uszkodzeń (określaną również jako mutagenność), prowadzącą w konsekwencji do śmierci komórki.

Zależność parametru alfa od dawki:

$$\alpha(D, D_c) = \alpha_r + ((\alpha_s - \alpha_r)e^{-\frac{d}{d_c}}) \quad (4.7)$$

W celu uproszczenia obliczeń, w przypadku kiedy efekt HRR/IRR jest niewielki, można posłużyć się prostą zależnością współczynników nachylenia krzywych (liniowych) dla punktów leżących poniżej i powyżej progu d_c . Jeśli stosunek ten jest większy od jedności, można podejrzewać występowanie zjawiska nadwrażliwości na małe dawki promieniowania. Silny efekt obserwuje się dla wartości α_s/α_r z przedziału ok. 7 - 10 (Marples, 2004).

$$\alpha_s/\alpha_r > 1 \quad (4.8)$$

$$d_c > 0 \quad (4.9)$$

gdzie:

α_s – współczynnik nachylenia w przedziale dawek znacznie niższych od d_c

α_r – współczynnik nachylenia w przedziale dawek znacznie wyższych od d_c

d_c – dawka graniczna, dla której obserwuje się przejście od zjawiska HR do IRR.

Współczynnik α liniowej części równania liniowo-kwadratowego został zmodyfikowany poprzez wprowadzenie dwóch współczynników nachylenia dla liniowych zależności dopasowanych do przedziału danych dla dawek poniżej i powyżej punktu przejścia krzywej Joinera z efektu HRS do efektu IRR (d_c). Stosunek obu współczynników alfa określa intensywność występowania efektu. Większa wartość ilorazu odpowiadać będzie silniejszemu efektowi (r-nie 4.7).

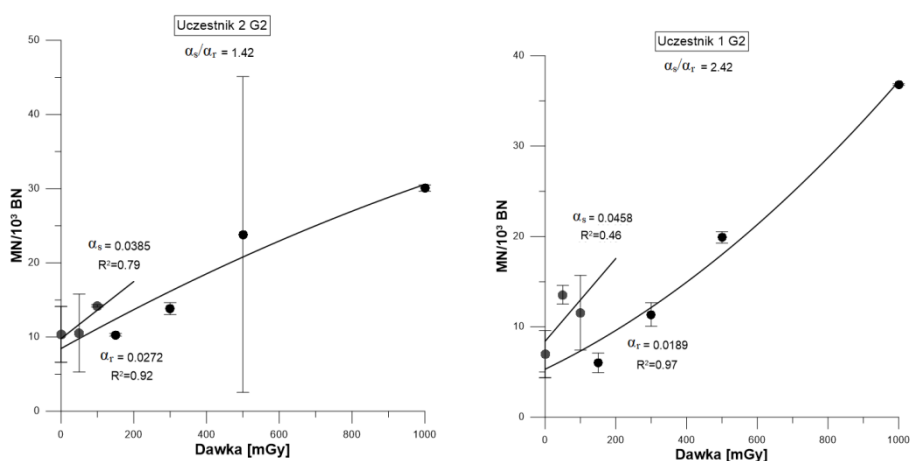
W tabeli 4.2 podano wartości stosunku współczynników nachylenia dla dawki = 150 mGy (minimum 3 punkty pomiarowe). Ze względu na zwiększoną śmiertelność komórek powyżej dawki 1 Gy. Ze względu na występowanie zjawiska jedynie dla komórek fazy G_2 cyklu komórkowego, nie analizowano stosunku współczynników nachylenia dla danych pochodzących z analizy komórek w fazie G_0 .

Tabela 4.2. Stosunek współczynników nachylenia, dla $d_c = 150$ mGy dla danych pochodzących od wszystkich uczestników (0 -1 Gy). Współczynniki nachylenia dopasowanych funkcji $ax+b$, z przedziałów poniżej i powyżej d_c .

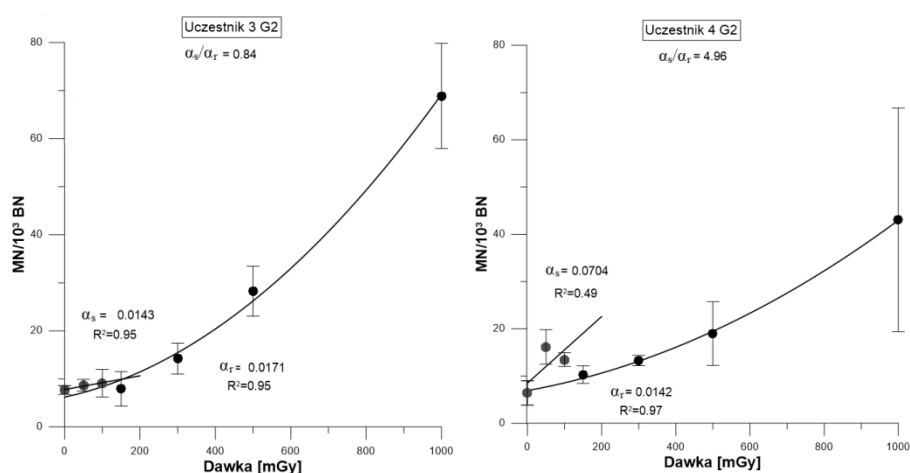
α_s/α_r	U1	U2	U3	U4	U5	U6
dla G_2	2.18±2.10	1.83±0.49	0.26±0.08	2.56±2.45	3.90±4.08	1.58±0.21

U pięciu na sześć badanych osób zdrowych, stosunek współczynników nachylenia był większy od 1. Analizując dane dla całego przedziału dawek z eksperymentu i wartość parametru α_s/α_r , nie można jednoznacznie wykazać, że zjawisko HRS/IRR występuje w fazie G_2 . Analiza zakresu dawek pochłoniętych 0 - 0,8 Gy różnice w nachyleniu krzywych dawka-efekt w zakresie dawek poniżej d_c i powyżej 150 mGy (G_2). Zgodnie z oczekiwaniami u uczestników nr 1, 2, 6 można podejrzewać występowanie efektu HRS/IRR, jako progę na aktywację mechanizmów naprawczych zachodzących w komórkach napromienianych w fazie G_2 . Efekt widoczny jest również u pozostałych 2 osób ($\alpha_s/\alpha_r > 1$), jednakże duże wartości niepewności nie pozwalają na uwzględnianie tych wyników (U4 i U5). Jeden uczestnik (U3) wykazuje w stosunku do reszty badanych osób większą oporność na indukowanie uszkodzeń w przedziale małych dawek, co omówione jest w dalszej części. Na Rysunkach 4.12 - 4.14 zaprezentowano dopasowanie dwóch krzywych odpowiedzi komórek na dawkę promieniowania (dla $d_c = 100$ mGy) do zakresu dawki rzędu 1 Gy, dla każdego z uczestników badania. Do dopasowania posłużono się pakietem R, w którym do znalezienia najlepszego

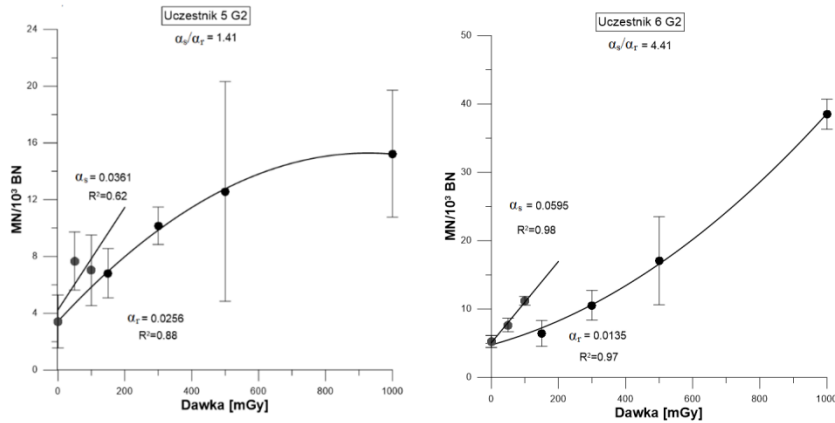
dopasowania użyto metody najmniejszych kwadratów. Odrzucono wartości dla dawki 1,5 Gy, ze względu na opisane poniżej różnice w liczebności analizowanych komórek, opisane dalej oraz widoczne na Rysunku 4.14 poniżej. Wykresy prezentują wcześniejsze podejście do szacowania względnego współczynnika $\alpha_w = \alpha_s/\alpha_r$, gdzie α_r oszacowano na podstawie współczynnika nachylenia funkcji kwadratowej. Jak widać na opisanych wykresach, podejście dobrze wskazuje na potencjalny efekt HRS, wartości $\alpha_w > 2$ (Uczestnik 1) oraz $\alpha_w > 4$ (Uczestnicy 4 i 6), choć nadal są to wyniki nieznamiennie statystycznie, służą jedynie wskazaniu pewnego trendu w indywidualnej wrażliwości na promieniowanie jonizujące.



Rysunek 4.12. Częstość powstawania mikrojąder w komórkach dwujądrowych w funkcji dawki pochłoniętej, dla limfocytów krwi obwodowej, w fazie G₂ (uczestnik 1 i 2). Analiza współczynników nachylenia modelu Joinera, dla dawki granicznej 100 mGy. Zakres dopasowania modelu: 1 Gy.



Rysunek 4.13. Częstość powstawania mikrojąder w komórkach dwujądrowych w funkcji dawki pochłoniętej, dla limfocytów krwi obwodowej, w fazie G₂ (uczestnik 3 i 4). Analiza współczynników nachylenia modelu Joinera, dla dawki granicznej 100 mGy. Zakres dopasowania modelu: 1 Gy.



Rysunek 4.14. Częstość powstawania mikrojąder w komórkach dwujądrowych w funkcji dawki pochłoniętej, dla limfocytów krwi obwodowej, w fazie G_2 (uczestnik 4 i 5). Analiza współczynników nachylenia modelu Joinera, dla dawki granicznej 100 mGy. Zakres dopasowania modelu: 1 Gy.

Pierwszy wykres od prawej strony na Rysunku 4.13 nie wskazuje na rzaden (negatywny bądź pozytywny) efekt w odniesieniu do dawek poniżej 200 mGy. Jest to ciekawe ponieważ wśród uczestników badania była tylko jedna osoba zakwalifikowana do narażenia zawodowego kategorii A, która w praktyce może otrzymać trochę większe (lecz nadal z zakresu bardzo małych) dawki bądź moce dawki (w ciągu roku pracy). Zjawisko związane z niwelowaniem potencjalnego efektu HRS (na przykładzie komórek nowotworowych T-47D) opisane zostało przez grupę prof. Edin (Edin, 2009) jako efekt analogiczny do odpowiedzi adaptacyjnej (AR), w którym dawka wyzwalająca „priming dose” wynosi 300 mGy i w zależności od mocy dawki, może powodować utrzymujące się zniesienie nadwrażliwości na małe dawki promieniowania w konkretnym przedziale czasu od 24h (40 Gy/h) do 14 miesięcy (0.3Gy/h). W odniesieniu do opisywanej sytuacji jest to dawka kilkadziesiąt razy większa niż, gdyby okazało się, że uczestnik 3 należy do kategorii A, niemniej jednak, możliwe jest że jego/jej obserwowana oporność związana jest po części z tym efektem.

4.7 Dopasowanie zależności dawka-efekt w przedziale małych dawek promieniowania.

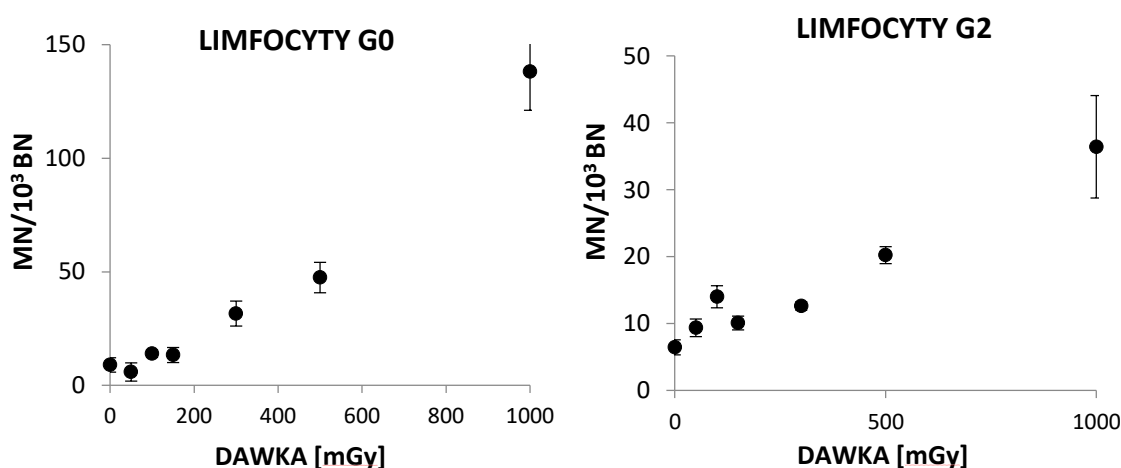
Ponieważ wiarygodność statystyczna poszczególnych punktów eksperymentalnych nie jest wystarczająca, w celu poprawy oceny działania modelu Joinera, obliczono średnią ważoną,

aby ustalić jaki jest typowy przebieg zależności dawka-efekt w obu fazach cyklu komórkowego.

Do otrzymanych danych dopasowano model liniowo-kwadratowy (LQ), w celu porównania zależności dawka-efekt z obu częściach eksperymentu (G_0 i G_2).

4.7.1 Różnice w odpowiedzi komórek w fazie G_0 i G_2

Rysunek 4.15 prezentuje średnią ważoną wszystkich wyników z częstości MN (mikrojader) w komórkach od dawki zaabsorbowanej dla obu faz cyklu komórkowego. Jak zaprezentowano powyżej, pomimo iż analiza graficzna danych dla poszczególnych uczestników badania pozwala wnioskować o słuszności wpływu indywidualnej radiowrażliwości/radiopodatności na efekt (szczególnie w przedziale małych dawek-dla niewielkich efektów, które mogą być obserwowane dla komórek napromienianych w bardziej wrażliwej fazie cyklu komórkowego G_2), dane nie pozwalają na wnioskowanie o ogólnym trendzie, dlatego przedstawiono średnią w celu potwierdzenia obserwacji różnic w kształcie zależności w przedziale małych dawek promieniowania. Jak pokazano na rysunku 4.15, średnia wartość uzyskana z wszystkich 192 próbek (szkiełek, na których obserwowano min. 1000 komórek BN) pokazuje jednoznaczny trend – w fazie G_0 , poniżej 100 mSv – lekki dołek hormetyczny, w fazie G_2 – niewielki efekt nadwrażliwości.



Rysunek 4.15: Zależność częstości powstawania mikrojader w komórkach dwujądrowych od dawki pochłoniętej dla limfocytów krwi obwodowej (średnia ważona wzgl. liczby analizowanych komórek BN) dla wszystkich osób) Na wykresie uwzględniono wartości odchylenia standardowego analizowanych preparatów. Kształt zależności w obszarze dawek poniżej 1000 mGy. Faza G_0 (lewa strona) i Faza G_2 (po prawej stronie).

Widać znaczące różnice w odpowiedzi komórek w obu fazach cyklu komórkowego. Zbieżność modelu z danymi doświadczalnymi analizowano przy pomocy skorygowanych współczynników determinacji R^2 (r-nie (4.8)).

$$R_{adj}^2 = 1 - \left[\frac{(1-R^2)(n-1)}{(n-k-1)} \right] \quad (4.10)$$

n – liczba danych

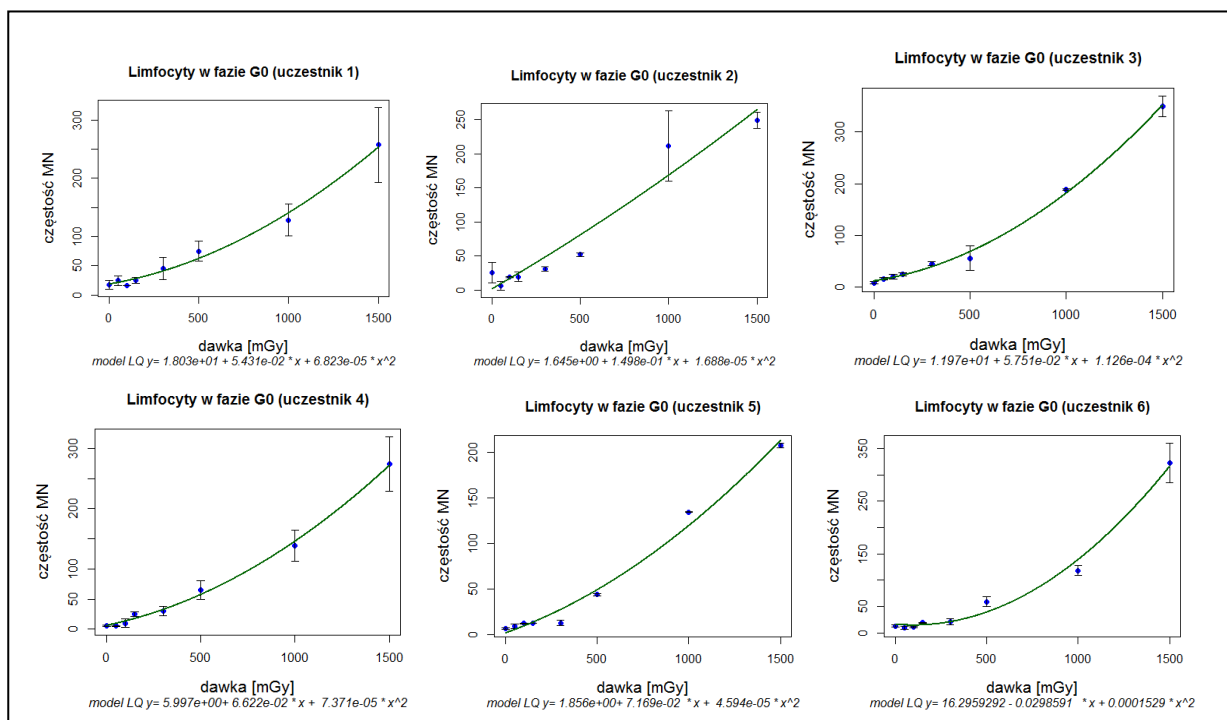
k – liczba zmiennych

Dopasowanie wielomianu 2-go stopnia jest tym lepsze, im wartość współczynnika R^2 jest bliższa jedności.

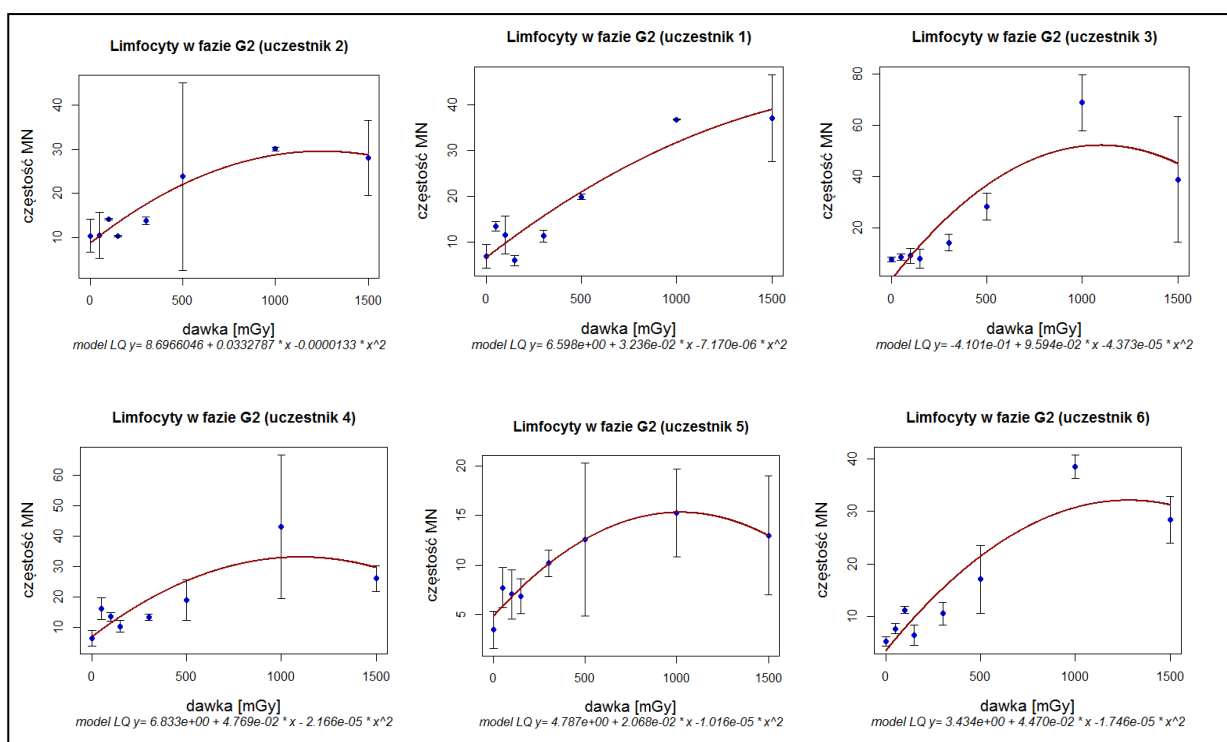
Tabela 4.3. Dopasowanie danych do modelu liniowo-kwadratowego: $y = ax^2 + xb$. Wartości skorygowanych współczynników determinacji R_{adj}^2 .

LQ	U1	U2	U3	U4	U5	U6
G ₀	0.991	0.941	0.997	0.996	0.987	0.988
G ₂	0.901	0.924	0.815	0.726	0.742	0.858

Wartości skorygowanych współczynników determinacji R^2 wskazują na dobre dopasowanie modelu LQ do otrzymanych wyników ($R_{adj,śr}^2 = 0.98$) dla danych z eksperymentu w fazie G₀, oraz ($R_{śr}^2 = 0.83$) dla danych z eksperymentu w fazie G₂. Jednakże na poniższych wykresach widać różnicę w przebiegu krzywej LQ dla danych dla komórek w różnych fazach cyklu; co ma związek ze spadkiem uszkodzeń powyżej wartości dawki 1 Gy, widoczny na wykresach zamieszczonych na rysunkach 4.15 i 4.16. Istotną różnicą pomiędzy otrzymanymi wynikami dla fazy G₀ oraz G₂, jest rząd wielkości liczby uszkodzeń. Modelowo komórka w fazie G₀ jest najbardziej radiooporna, a faza G₂ charakteryzuje się zwiększoną radiowrażliwością. Ponieważ powyższe wyniki wskazują zależność odwrotną, czego przyczyną może być występowanie dodatkowego mechanizmu, który powoduje redukcję liczby mikrojąder w drugim przypadku.

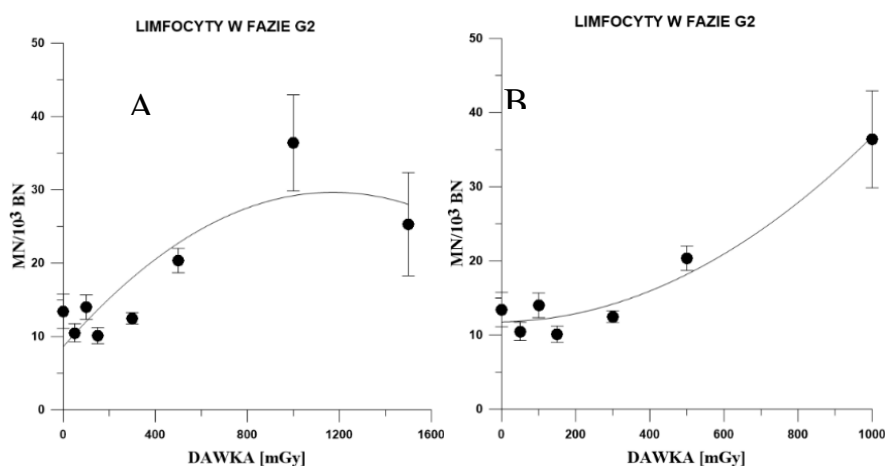


Rysunek 4.16. Model LQ dopasowany do danych doświadczalnych (6 osób) fazy G₀, za pomocą metody najmniejszych kwadratów przy użyciu pakietu R (wersja 3.4.2). Na wykresach uwzględnione zostały wartości współczynników oraz krzywa dopasowania.



Rysunek 4.17. Model LQ dopasowany do danych doświadczalnych (6 osób) fazy G₂, za pomocą metody najmniejszych kwadratów przy użyciu pakietu R (wersja 3.4.2). Na wykresach uwzględnione zostały wartości współczynników oraz krzywa dopasowania.

W przypadku ograniczenia danych do zakresu dawek pochłoniętych poniżej 1 Gy, otrzymano wyniki zgodne z oczekiwaniem. Standardowo stosowany model LQ nie opisuje dobrze zależności dawka-efekt komórek napromienionych w obu fazach cyklu: spoczynkowej (G_0) i przed podziałem (G_2), co widać na Rys. 4.18. Problem widoczny jest na pierwszym wykresie, gdzie występuje nieoczekiwany spadek liczby mikrojąder (uszkodzeń) dla dużych dawek rzędu 1,5 Gy, co nie powinno mieć miejsca. Z tego względu wykonano następane kroki, aby sprawdzić co jest powodem takiej sytuacji oraz, czy wpływa to na rzetelność danych poniżej 1 Gy. W całej analizie nie uwzględniano całego zakresu dawek doświadczalnych, jedynie te poniżej 1 Gy.



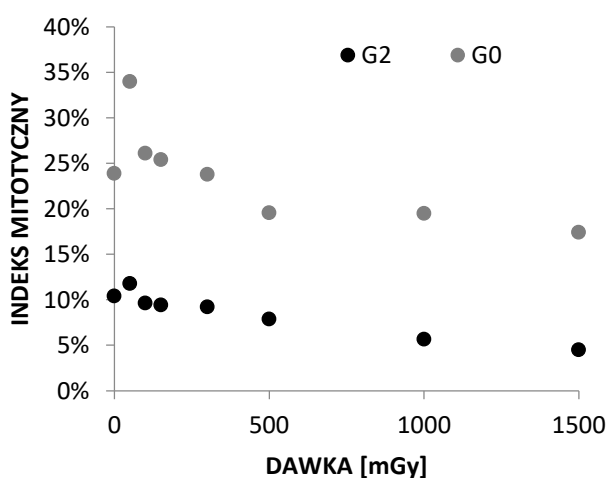
Rysunek 4.18. Dopasowanie modelu liniowo-kwadratowego dla średniej z wszystkich danych z fazy G_2 . Rysunki A i B prezentują różnice w kierunku przebiegu modelu LQ dla danych poniżej dawki 1,5 Gy oraz poniżej 1 Gy (należy dodać parametry dopasowania).

Spadek częstości liczby uszkodzeń przy dawkach promieniowania powyżej 1 Gy (występujący jedynie w fazie G_2) może być związany z liczbą komórek, które przeszły przez podział (BN) po napromienianiu. Może być to związane z śmiercią komórek po dawkach większych niż 1 Gy, których uszkodzenia nie zdążyły zostać naprawione bądź włączenie dużej frakcji komórek w blok komórkowy, w którym odbywają się procesy naprawy. W obu wypadkach nie możemy stosować tego samego równania na dopasowywaną krzywą. W celu ustalenia przyczyny spadku częstości mikrojąder w fazie G_2 , obliczono indeks mitotyczny badanych komórek.

4.7.2 Indeks mitotyczny

Występowanie bloku cyklu komórkowego (ilości komórek z wstrzymanym cyklem komórkowym, w celu naprawy DNA, przed podziałem)¹¹ wzrasta wraz z dawką promieniowania. Procent zatrzymanych komórek można obliczyć na podstawie indeksu mitotycznego ze wzoru:

$$MR = \frac{BN}{MN+BN} \times 100\% \quad (4.11)$$



Rysunek 4.19. Frakcja komórek dwujądrowych w funkcji dawki pochłoniętej, porównanie indeksów mitotycznych dla komórek w fazie G_0 i G_2 , na wykresie zobrazowano spadek liczby dzielących się komórek względem dawki promieniowania. Dla napromienianych komórek: w fazie G_0 (spadek liczby komórek = 27%), w fazie G_2 (spadek liczby komórek = 57%).

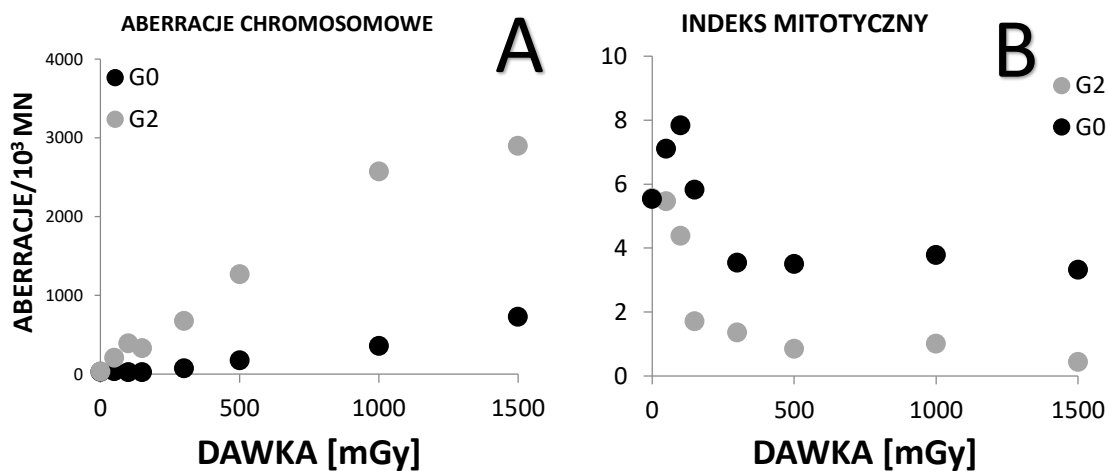
Analiza wszystkich danych z eksperymentu wskazuje, że komórki napromieniane w fazie G_2 wchodzi w blok komórkowy lub apoptozę i nie są analizowane w doświadczeniu, porównując tę informację z wynikami uzyskanymi z testu na aberracje chromosomowe, postanowiono odrzucić w analizie dopasowania modelu HRS punkt odpowiadający dawce 1500 mGy.

4.7.3 Test na aberracje chromosomowe

Funkcjonalność opracowanej metody testu mikrojądrowego do analizy hiperradiowrażliwości może być niska ze względu na zatrzymywanie komórek w bloku

¹¹ Komórki znajdujące się w „fazie” bloku cyklu komórkowego, nie będą analizowane w metodzie mikrojądrowej, pomimo iż powinny stanowić frakcję całej puli w ocenie uszkodzeń popromiennych

komórkowym (liczna MN dla dużych dawek nie pokrywała się z wartościami referencyjnymi testu CBMN). Ponieważ blokowanie zachodzi powyżej pewnej liczby uszkodzeń, a więc i dawki pochłoniętej, należało zobaczyć, czy obserwowany w teście CBMN efekt zachodzi dla całego przedziału dawek czy poniżej 300 mGy, oraz czy nie wpływa na otrzymywane wyniki sugerujące HRS. W tym celu została wykonana dodatkowa analiza (test na aberracje chromosomowe dla uczestnika nr 7) w Laboratorium Badań Dozymetrycznych i Radiobiologii ICHTJ, którą przeprowadzili dr Sylwester Sommer oraz mgr Iwona Buraczewska.



Rysunek 4.20 A. Zależność częstości powstawania aberracji chromosomowych od dawki pochłoniętej dla limfocytów krwi obwodowej u 1 osoby zdrowej dla komórek napromienianych w dwóch fazach cyklu komórkowego G₀ i G₂. B. Wartości indeksu mitotycznego w zależności od dawki pochłoniętej, dla testu na aberracje chromosomowe. Opracowanie własne.

Wyniki dodatkowej analizy pokazują oczekiwany stosunek uszkodzeń w poszczególnych fazach cyklu komórkowego. Również obserwowany jest spadek komórek, które przechodzą mitozę, z niemal dwukrotną różnicą w przypadku fazy G₂. Sugeruje to na występowanie bloku cyklu komórkowego, trwającego więcej niż 6 godzin. Potwierdza to wcześniejsze założenia o odrzuceniu punktu dla dawki 1500 mGy, jako błędu grubego wynikającego z różnic w ilości analizowanych komórek dwujądźrzastych. Różnice te występują również dla dawek z przedziału do 500, jednakże w niewielkim stopniu, co widać na rysunku 4.20B oraz 4.19.

4.8 Podsumowanie

W ostatnich latach, w szeregu publikacji związanych z odpowiedzią komórek ludzkich na promieniowanie jonizujące, coraz częściej pojawia się pojęcie nadwrażliwości na małe dawki promieniowania. HRS opublikowane zostało w szeregu prac Joinera, począwszy od roku 1988 oraz w następujących pracach: Marples i in., 2008, Kruger i in., 2010, Fernet i in., 2010, Słonina i in.: 2011, 2015, 2017, Martin i in., 2014, Seth i in., 2015. Biofizyczny opis tego efektu oparty jest na zmodyfikowanym modelu liniowo kwadratowym. W przedziale dawek 0-300 mGy występuje wzmocnienie efektu radiooporności lub zmniejszona śmiertelność komórek, następnie od 300-600 mGy możemy obserwować zwiększoną radiopodatność lub śmiertelność komórek, głównie obserwowanych w przypadku komórek pobranych od pacjentów leczonych na chorobę nowotworową (widoczny w fazie G₂). W przypadku wyników wstępnego doświadczenia mającego na celu ocenę wykrywalności zjawiska u zdrowych osób, nie zaobserwowano jednoznacznie tego efektu (w granicach niepewności statystycznej). Niemniej jednak graficzna reprezentacja danych wskazuje na różnice w odpowiedzi komórek napromienionych w fazie spoczynkowej i bardziej wrażliwej na efekty fazy G₂. U znacznej części osób z ogółu populacji, analizując zależność dawka-efekt, w fazie G₂, zaobserwowano kształt typowy dla efektu Joinera. Próba liczyła 6 osób, z tego względu wynik ten nie jest znaczący statystycznie. Eksperyment pokazał natomiast kilka istotnych zależności, dodatkowo pozwolił na porównanie trendów w odpowiedzi indywidualnych uczestników. Zależności odpowiedzi komórek na napromienianie, w zależności od fazy cyklu komórkowego, w której komórka została poddana działaniu promieniowania, różnią się zasadniczo. Jest to związane z mechanizmami biologicznymi naprawy oraz kontroli integralności DNA, regulowanymi przez inne białka w komórce, które zachodzą na różnych etapach prowadzących do podziału komórki. Istotnym wnioskiem z eksperymentu jest obserwacja dotycząca komórek w fazie G₀, a dokładnie asynchronicznych komórek, z których większość (powyżej 98%) znajduje się w fazie G₀ cyklu komórkowego, analizowanych bezpośrednio po pobraniu krwi. Dla tej populacji nie zaobserwowano nadwrażliwości na małe dawki promieniowania. Napromienianie tej populacji odwzorowuje sytuacje napromieniania ciała człowieka, w naturalnych warunkach. Można więc wnioskować, że w przedziale małych dawek nie należy oczekiwać efektu nadwrażliwości na małe dawki promieniowania (HRS/IRR). U pacjentów poddawanych radioterapii (oraz wcześniejszej chemioterapii), w wyniku działania obu czynników, proporcja

komórek we krwi w różnych fazach cyklu komórkowego może być zabużona. Większa frakcja komórek w fazie G_2 może spowodować inną reakcję niż spodziewana w czasie radioterapii. Na podstawie przedstawionych danych można zaobserwować istotną różnicę w odpowiedzi w fazie G_0 i G_2 dla każdej osoby. Najprawdopodobniej występowanie zjawiska nadwrażliwości na małe dawki promieniowania jest związane z progiem na aktywację procesów naprawczych dla komórek napromienianych w fazie G_2 cyklu komórkowego. Chociaż komórki nowotworowe przejawiają cechy dominacji nad komórkami zdrowymi w procesach przystosowawczych do warunków środowiska, pewne ich biochemiczne cechy mogą być wykorzystywane w nowoczesnych strategiach terapeutycznych w onkologii. Poznanie roli i mechanizmu procesów zachodzących w punktach kontrolnych cyklu komórkowego, które sterują naprawą popromiennych uszkodzeń DNA, może w przyszłości przyczynić się do chemicznej manipulacji zwiększonej apoptozy komórek nowotworowych np. poprzez zablokowanie wytwarzania kinazy ATM odpowiedzialnej za nadzorowanie procesów naprawy. W przypadku oceny zależności dawka-efekt, w tym zjawiska HRS dla komórek napromienianych w fazie G_2 , należy położyć nacisk na poznanie mechanizmów regulujących cykl komórkowy oraz powodujących zmniejszenie liczby komórek przechodzących mitozę. Na podstawie testu na aberracje chromosomowe uznano, że ten mechanizm nie dotyczy zakresu małych dawek.

Test CBMN wydaje się być dobrym narzędziem do oceny indywidualnej radiowrażliwości w przedziale małych dawek na podstawie badań napromienianych w fazie G_0 limfocytów krwi obwodowej, dla dawek poniżej 500 mGy. Opisane w niniejszym rozdziale badania, ze względu na ograniczenia finansowe oraz czasowe, były przeprowadzone na zbyt małej liczbie pacjentów, aby móc wysunąć jednoznaczne wnioski. Niemniej jednak badania te pokazały wyraźnie na co należy zwracać uwagę analizując omawiany efekt w populacji osób zdrowych. Badań na próbie obejmującej min. 30-50 osób przyczyniłyby się do otrzymania jednoznacznych wniosków dot. występowania efektu nadwrażliwości na małe dawki promieniowania w populacji osób zdrowych. Są to perspektywy dalszych badań naukowych autora dotyczące związku indywidualnej radiowrażliwości na kształt zależności dawka-efekt w przedziale małych dawek i wszystkich pobocznych efektów biologicznych związanych z określeniem uniwersalnej krzywej opisującej rzeczywiste ryzyko radiacyjne.

Rozdział 5

Badania epidemiologiczne związane z ryzykiem radonowym

W niniejszym rozdziale podjęto próbę przeanalizowania, na podstawie dostępnych danych literaturowych, wpływu koncentracji radonu w środowisku (w budynkach mieszkalnych) na zapadalność na nowotwory płuc. Zagadnienie to jest szczególnie ważne, ze względu na ciągłe poszukiwanie przyczyny wysokiej śmiertelności na raka płuc oraz w kontekście doniesień o ryzyku związanym z czynnikami pochodzenia naturalnego (w tym radonu). W części pierwszej przeanalizowano 32 badania kliniczno-kontrolne i 2 badania ekologiczne. Badania te obejmowały łączną liczbę ponad 28 000 przypadków nowotworów płuc i 900 000 osób z grupy kontrolnej. Jak pokazano, meta-analiza nie potwierdziła istnienia jednoznacznie dodatniej korelacji stężenia radonu (w zakresie występującym w budynkach mieszkalnych) z ryzykiem zachorowania raka płuc. Określono względny współczynnik zdrowia (RHF, ang. *Relative Health Factor*) wystąpienia raka płuc dla poszczególnych podgrup koncentracji radonu, który wskazywał na negatywną korelację. W ramach wnioskowania bayesowskiego, na podstawie zebranych danych, najbardziej prawdopodobna okazała się jednak hipoteza o braku zależności radonu z zapadalnością i śmiertelnością związaną z chorobą nowotworową płuc.

W drugiej części rozdziału przedstawiono analizę danych zgromadzonych w rejestrach państwowych (USA), w której pokazano także wagę stosowanej metodyki analizy na jej wynik końcowy. Do analizy zależności koncentracji radonu, wewnątrz pomieszczeń, od przypadków zapadalności na nowotwory płuc posłużono się bazą danych opublikowanych w pracy z 2015 roku przez grupę Simeonova i Himmelsteina (populacja 264 744 400 osób z USA). W analizie szczególną uwagę zwrócono na wpływ czynników obciążających: różnice w odsetku osób palących, płci, wysokości nad poziomem morza, czy poziomu promieniowania ultrafioletowego typu B. Nie zaobserwowano różnic statystycznych w występowaniu raka płuc w poszczególnych podgrupach. Uzyskano analogiczne wyniki, jak dla badań kliniczno-kontrolnych z I części.

Zarówno analiza klasyczna metodą najmniejszych kwadratów, jak i wnioskowanie bayesowskie przyniosły podobne wyniki, czego przyczyna związana jest najprawdopodobniej z dużym rozrzutem statystycznym analizowanych danych. Dla pogłębienia analizy danych radonowych zastosowano po raz pierwszy Metodę Maksymalnej Entropii, dzięki której

można było zobaczyć jednoczesny wpływ dwóch czynników (np. koncentracji radonu i wysokości nad poziomem morza) na nowotwory płuc.

5.1 Radon i ryzyko nowotworowe

Nowotwór złośliwy jest określany jako choroba cywilizacyjna, występująca w każdej populacji, w każdej grupie wiekowej, u kobiet, dzieci i mężczyzn, na całym świecie. Według najnowszych danych ryzyko względne związane z rozwojem nowotworu szacuje się na 20,2%, natomiast śmiertelność z tej przyczyny na 10,6 % (Raport WHO - IARC, 2019). Oznacza to, że jedna na 5 osób, w przeciągu całego swojego życia, najprawdopodobniej zachoruje na tę chorobę.

5.1.1 Nowotwór płuc

Pomimo rozwoju gospodarczo-ekonomicznego, w tym poprawy jakości służby zdrowia, przez wiele lat zachorowalność na nowotwory złośliwe na świecie stale wzrastała. Skuteczność terapii jest stosunkowo niska. W Polsce, w przeciągu ostatnich trzech dekad, zanotowano ponad dwukrotnie więcej przypadków chorób nowotworowych w porównaniu z wcześniejszymi obserwacjami (Wojciechowska i in., 2019). Jednym z najczęściej diagnozowanych nowotworów jest nowotwór płuc (oznaczany jako C33-C34), zarówno w Polsce jak i na świecie. Według danych Światowej Agencji Badań nad Rakiem (IARC, ang. *International Agency for Research on Cancer*), należącej do Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*), ten typ nowotworu jest najczęstszym powodem zgonów wśród mężczyzn i drugim wśród kobiet. W Polsce śmiertelność spowodowana tą chorobą szacowana jest na 4,3 %, zapadalność na 4,7 %. W 2018 roku, łącznie zanotowano 27 583 nowych przypadków nowotworów płuc (17 995 u mężczyzn, 10 588 u kobiet), z całkowitej populacji 38 104 833 mieszkańców Polski (IARC, 2019).

Nowotwory płuc powstają w wyniku mutacji komórek nabłonka oddechowego, wyściełających drogi oddechowe, w oskrzelach lub oskrzelikach (Wojciechowska i in., 2019). Zmiany te powstają głównie na skutek działania czynników rakotwórczych, które przedostały się do układu oddechowego. Za najczęstszą przyczynę nowotworu płuc uznawane jest palenie papierosów (90 % zgonów u mężczyzn i 79 % u kobiet). Dym tytoniowy zawiera kilka

tysięcy rakotwórczych związków chemicznych¹². Szacuje się, że ryzyko rozwoju nowotworu płuc jest 20 - 40 razy wyższe u palaczy, niż u osób niepalących (Ozlu i in., 2005). Wśród pozostałych czynników ryzyka nowotworu płuc znajdują się m.in.: zanieczyszczenia powietrza, w tym spaliny silnikowe Diesla (RR¹³ = 1,31), arsen (RR = 3,69), nikiel (RR = 1,56), chrom (RR = 2,78), kadm (RR = 1,49), beryl (RR = 1,49), azbest (RR = 2,0), radon i jego pochodne (RR = 1,16*) (Driscoll i in., WHO 2009).

Wiele źródeł podaje radon jako drugą po nałogu nikotynowym, a pierwszą u osób wolnych od tego nałogu, przyczynę nowotworów płuc (BEIR VI 1999, ICRP 2012, WHO 2009), wraz z informacją, że dla osób niepalących ryzyko to jest znacząco niższe (nawet 25-krotnie (Darby i in., 2005)). Ryzyko nowotworowe związane z obecnością naturalnie występującego w środowisku radonu szacowane jest z reguły przy założeniu prawdziwości hipotezy liniowej bezprogowej (LNT) Według stosowanego podejścia (m.in. BEIR VI, 1999) założono, że pojedyncza mutacja wystarczy, aby zainicjować powstanie nowotworu. Dziś wiadomo, że proces kancerogenezy jest bardziej złożony i powinien uwzględniać mechanizmy naprawcze (Scott i in., 2019). Ponadto, istnieje szereg dowodów na pozytywne działanie małych dawek promieniowania jonizującego (omówione w rozdziale 2), w tym dawek pochodzenia radonowego - głównie na podstawie efektów terapii radonowych (leczenie przeciwbólowe, choroby układu krążenia). Powód efektywności leczenia radonem wciąż nie jest jasny, ale zakłada się, że oparty jest na działaniu antyoksydacyjnym (Zdrojewicz i in., 2004).

5.1.2 Radon

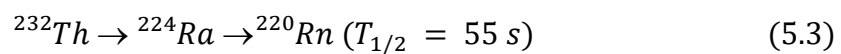
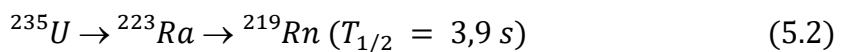
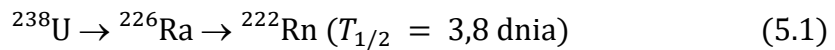
Narażenie na dawki promieniowania poniżej 100 mSv jest tematem konsekwentnie badanym od około 30 lat. Gaz radonowy jest najważniejszym źródłem promieniowania jonizującego wśród tych pochodzenia naturalnego. Stanowi on bowiem ponad 50% rocznej dawki skutecznej otrzymywanej z otoczenia (od źródeł naturalnych) dla ogółu populacji w większości krajów świata, w tym w Polsce. Średnia roczna dawka skuteczna na osobę wynikająca z obecności radonu w powietrzu szacowana jest na 1,15 mSv ²²²Rn z rud uranowych (²²⁶Ra), oraz 0,1 mSv ²²⁰Rn, pochodzącego z szeregu torowego (UNSCEAR 2000).

¹² onkologia.org

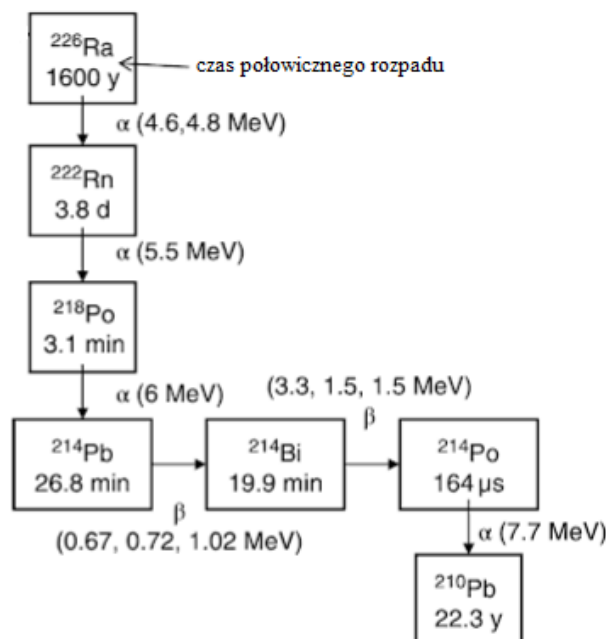
¹³ RR(ang. *relative risk*) opisuje ryzyko względne (zdefiniowane w rozdziale 2)

Radon (^{222}Rn) to gaz szlachetny powstały z radu (^{226}Ra), który jest produktem rozpadu uranu (^{238}U). Innymi naturalnymi izotopami radu są toron (^{220}Rn) oraz aktynon (^{219}Rn) Ich pochodzenie opisano w równaniach 5.1-5.3.

Schemat powstawania izotopów radonu w naturalnych szeregach promieniotwórczych jest następujący:



Zarówno uran, jak i rad naturalnie występują w glebie i skałach. Ze względu na czas działania na organizm, największe znaczenie biologiczne ma izotop ^{222}Rn , którego okres połowicznego zaniku wynosi 3,8 dnia.



Rysunek 5.1. Część szeregu promieniotwórczego uranowo-radowego wraz z uwolnioną energią produktów rozpadu. Na podstawie „Handbook of Enviromental Engineering p.547. Myer Kutz, Hoboken, NJ : John Wiley & Sons, Inc., 2018.

W wyniku jego rozpadu emitowane jest wysoko jonizujące promieniowanie alfa, niemniej jednak ze względu na to, że jest to gaz szlachetny, w czasie oddychania nie jest wychwytywany w płucach, w przeciwieństwie do krótkożyciowych produktów jego rozpadu

^{210}Po , ^{218}Pb i ^{214}Pb , które mogą gromadzić się na ściankach oskrzeli (emitują one cząstki alfa o energiach odpowiednio 6,0 i 7,7 MeV (Rys. 5.1)). Zasięg promieniowania alfa jest bardzo mały, w powietrzu wynosi ok. kilka cm, w wodzie kilkadziesiąt mikrometrów; w tkankach cząstka alfa pokonuje odległość około 20 mikrometrów dla standardowo rozpatrywanych energii (Zdrojewicz i in., 2004).

Na otwartej przestrzeni stężenie radonu jest zwykle bardzo niskie, średnie na świecie wynosi ok. 10 Bq/m^3 (Raport UNSCEAR, 2006). Ze względu na jego ekshalację z gruntu, zwiększona koncentracja występuje w kopalniach, terenach górskich, w piwnicach czy zwykłych niepodpiwniczonych domostwach, ponieważ gaz radonowy może łatwo przenikać przez nieszczelności w fundamentach i gromadzić się w budynkach (Publikacja ICRP nr 65). Średnia koncentracja radonu w budynkach mieszkalnych została oszacowana na 39 Bq/m^3 (Raport WHO „Handbook on Radon”, 2009). Stężenie radonu w pomieszczeniach zmienia się znacząco wraz z typem budynku oraz nawykami wentylacyjnymi, jak również zależy od miejsca zamieszkania. Stężenia te różnią się znacznie również w zależności od pory roku, z dnia na dzień, a nawet z godziny na godzinę, dlatego dokładne pomiary koncentracji radonu należą do podstawowych czynników w ocenie jego ewentualnego wpływu na raka płuc. Dozymetria radonu powinna być wykonywana przez okres min. 3 miesięcy, stosując standardowe protokoły (Raport IAEA, 2010), tak by sposób pomiaru nie wpływał na rozbieżność w wynikach poszczególnych analiz.

Większość indywidualnych badań charakteryzuje niska wiarygodność statystyczna ze względu na niewielką liczbę uczestników, dlatego w celu oceny korelacji radonu i przypadków nowotworowych płuc opracowuje się zbiorcze wyniki pochodzące z kilku badań kliniczno-kontrolnych, najczęściej z różnych rejonów. Oszacowanie dawki równoważnej na płuca jest fundamentem prowadzącym do rzetelnych wniosków dotyczących ryzyka radonowego.

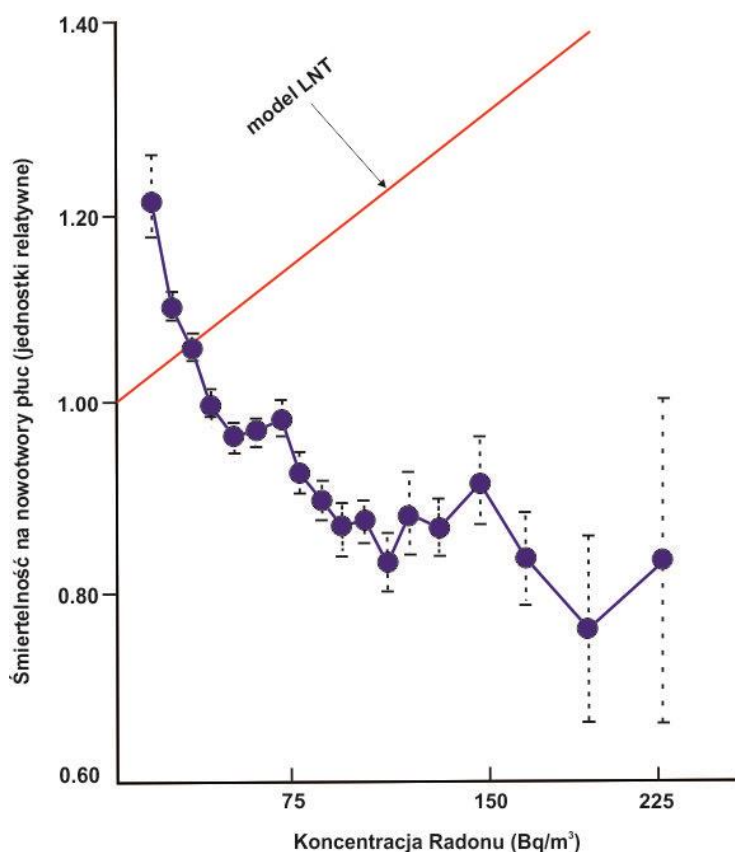
Literatura dotycząca istnienia korelacji pomiędzy koncentracją radonu a nowotworami przed 2000 rokiem, oparta była głównie na badaniach epidemiologicznych górników, którzy, poza radonem, narażeni są na rakotwórcze produkty węglowe, takie jak np. pył krzemionkowy i związki organiczne (Raport WHO, 2009). Także same warunki pracy w wysokich temperaturach i pomieszczeniach o obniżonej koncentracji tlenu, mogą prowadzić do złego stanu zdrowia osób pracujących w kopalniach. Ponadto (w przeszłości) była to grupa o niższym statusie ekonomicznym, niewykształcona, pracująca fizycznie i nałogowo paląca tytoń, co ma kluczowe znaczenie przy ocenie częstości występowania nowotworów płuc. Zła

dieta oraz wyjściowy stan zdrowia badanych osób mogły również mieć wpływ na końcowy wynik analizy. Z punktu widzenia prawidłowej interpretacji danych epidemiologicznych opisane czynniki są tzw. czynnikami obciążającymi (konfundującymi lub zakłócającymi). W przypadku osób narażonych na zwiększoną koncentrację radonu (np. w budynkach mieszkalnych) takie czynniki również muszą być brane pod uwagę.

Szczegółowy przegląd dostępnych badań został przeprowadzony przez Komitet ds. Biologicznych Skutków Promieniowania Jonizującego (Raport BEIR VI, 1999) i dotyczył głównie wpływu radonu na stan zdrowia górników. Rozważono 11 badań kohortowych, w tym 60 000 górników w Europie, Ameryce Północnej, Azji i Australii, wśród których wystąpiło 2 600 zgonów z powodu raka płuc. W raporcie założono liniową zależność ryzyka wystąpienia nowotworu płuc z koncentracją radonu. Dodatkowym wnioskiem była sugestia, że radon może być przyczyną raka płuc w populacji ogólnej ze względu na ekspozycję występującą w domach i innych budynkach, niemniej jednak w tym czasie nie zebrano wystarczającej ilości danych z badań kliniczno-kontrolnych. Ważniejsze publikacje dotyczące ryzyka radonowego podsumowano w Raportach UNSCEAR (2006 część 2 Aneks E).

W 1995 roku B. Cohen przeanalizował śmiertelność nowotworową (rak płuc) u ponad 90% populacji USA z 1729 regionów – hrabstw (Cohen, 1995, Henriksen i in., 2016). Tak liczna kohorta pozwala na otrzymanie stosunkowo niewielkich niepewności otrzymanych danych. W swej analizie danych uwzględnił ponad 50 czynników obciążających (Cohen, 1995). Wynik jego badań ekologicznych zaprezentowano na Rys.5.2., z zaskakującym wnioskiem - pomimo wszystkich możliwych korekt wydaje się niemożliwe dopasować linię prostą oczekiwaną na podstawie hipotezy LNT i powszechnie stosowaną do oceny ryzyka radiacyjnego w zależności od dawki, do danych Cohena. Jest to jedna z największych przebadanych dotychczas kohort, niestety zarzuca się tym badaniom (jak wszystkim badaniom ekologicznym) brak szczegółowych informacji dotyczących indywidualnych czynników obciążających, w tym szczegółowych danych nt. palenia papierosów. Zależność śmiertelności na nowotwory płuc z koncentracją radonu okazuje się niemal równoległa z liczbą palaczy w odpowiednich hrabstwach (Heath i in., 2004). Kolejnym argumentem przeciwników wniosków Cohena jest fakt, iż badania ekologiczne nie uwzględniają faktycznych wartości indywidualnych dawek pochłoniętych, ale czerpią informacje z danych statystycznych dotyczących średnich wyników pomiarów stężenia radonu w danych regionie. Jest to więc zarzut natury dozymetrycznej. Dane Cohena zostały niezależnie przeanalizowane przez Scotta (2011), który pokazał, że w granicach koncentracji poniżej 150 Bq/m³, nawet

wśród palaczy, nie obserwuje się wzrostu zapadalności na raka płuc. Spadek śmiertelności czy zapadalności na nowotwory płuc (Rys.5.2), był również obserwowany w kilku innych pracach (Sanders i in., 2010, Becker i in., 2003, Thompson i in., 2008). Jednakże istnieje cały szereg prac nie pokazujących istnienia odwrotnej zależności dawka-efekt w zakresie małych koncentracji radonu (Zhang i in., 2012, Barros-Dios i in., 2012, Torres-Duran i in., 2016).



Rysunek. 5.2. Wykres przedstawiający wyniki badań ekologicznych B. Cohena, opublikowanych w latach 1995 i 2000. Przetłumaczono na podstawie źródła: Henriksen i in., 2016.

Obecnie faworyzowanym typem badań epidemiologicznych w ocenie ryzyka radonowego są badania oparte na analizie przypadków, tzw. case-control studies (Field i in., 2002). Dwie prace z tej grupy posłużyły za podstawę do wyznaczenia standardów WHO dotyczących ryzyka związanego z inhalacją radonu w budynkach mieszkalnych. Prace składały się z 13 badań z 9 krajów (7148 przypadków klinicznych i 14208 kontrolnych) (Darby i in. 2005) oraz 7 badań prowadzonych na terenie USA (4420 przypadków klinicznych i 5707 kontrolnych) (Krewski i in., 2005). Obie te prace z góry zakładały liniową, bezprogową zależność dawka-efekt (Henriksen i in., 2016) i taki też model był domyślnie dopasowywany do danych eksperymentalnych. W badaniach prowadzonych przez grupę Darby i in. ryzyko

względne ekstrapolowane jest do koncentracji radonu wynoszącej 0 Bq/m³. Trudno o sytuację, w której taka wartość mogłaby być zmierzona, o ile w ogóle istnieje takie miejsce na świecie. Jednym z największych dotychczas przeprowadzonych studiów radonowych są tzw. badania łączone (ang. *pooled studies*) z 13 krajów Europy. W badaniach europejskich (Darby i in., 2005) oszacowano wzrost ryzyka względnego (ERR, ang. *Excess Relative Risk*) na 16% na 100 Bq/m³ dla ekspozycji w budynkach mieszkalnych, w amerykańskich zaś (Krewski i in., 2005) na poziomie 11% na 100 Bq/m³. Od czasu obu analiz opublikowano szereg badań dotyczących korelacji występowania nowotworów płuc oraz koncentracji radonu, których wyniki wskazywały na nieznamienną statystycznie zależność liniową lub brak zależności; w pojedynczych badaniach postulowano statystycznie znaczący wzrost ryzyka nowotworu płuc ze wzrostem koncentracji radonu (UNSCEAR Aneks E, 2006, na podstawie pracy Darby i in., 2005).

5.1.3 Radon w przepisach OR

W związku z nowymi zaleceniami Międzynarodowej Komisji Ochrony Radiologicznej (ICRP) (Raporty nr 103, 116, 119), w Dyrektywie 2013/59/EURATOM, z dnia 5 grudnia 2013 r., ustanawiającej podstawowe normy bezpieczeństwa w celu ochrony przed zagrożeniami wynikającymi z narażenia na działanie promieniowania jonizującego, wprowadzono poziomy referencyjne dotyczące koncentracji radonu w budynkach mieszkalnych i miejscach pracy. Ponieważ jest to dokument, który zobowiązuje wszystkie kraje członkowskie do wdrażania zaleceń w nim ujętych, polskie przepisy ochrony radiologicznej niedawno uległy zmianie według ujętych tam wytycznych, ustanawiając krajowy poziom referencyjny koncentracji radonu poniżej 300 Bq/m³. Wprowadzenie dozymetrii radonu w budynkach mieszkalnych uzasadniono występowaniem statystycznie istotnego wzrostu ryzyka zachorowania na nowotwór płuc w wyniku przedłużonego narażenia na radon (2013/59/EURATOM). Uzasadnienie naukowe tej zmiany jest dosyć wątpliwe, gdyż istnieje szereg prac dotyczących tego zagadnienia, których wyniki są ze sobą sprzeczne, a co najbardziej istotne – nie pokazują jednoznacznie liniowej korelacji dawka-efekt dla koncentracji radonu spotykanych w budynkach mieszkalnych.

Przegląd danych z badań kliniczno-kontrolnych dotyczących ryzyka nowotworowego dla osób narażonych na radon w budynkach mieszkalnych, pozwolił nam (Dobrzyński, Fornalski, Reszczyńska, 2017) na ocenę zależności koncentracji radonu i zapadalności lub śmiertelności

na nowotwory płuc, a więc zależności dawka-efekt w przedziale małych dawek promieniowania.

Analiza danych dotyczących poszczególnych przypadków (Reszczyńska, Dobrzyński, Fornalski, 2019) miała na celu przeprowadzenie dodatkowej oceny słuszności wcześniejszego wniosku (braku zależności zapadalności na nowotwory płuc z dawką od radonu) w kontekście badań opartych na pomiarach środowiskowych.

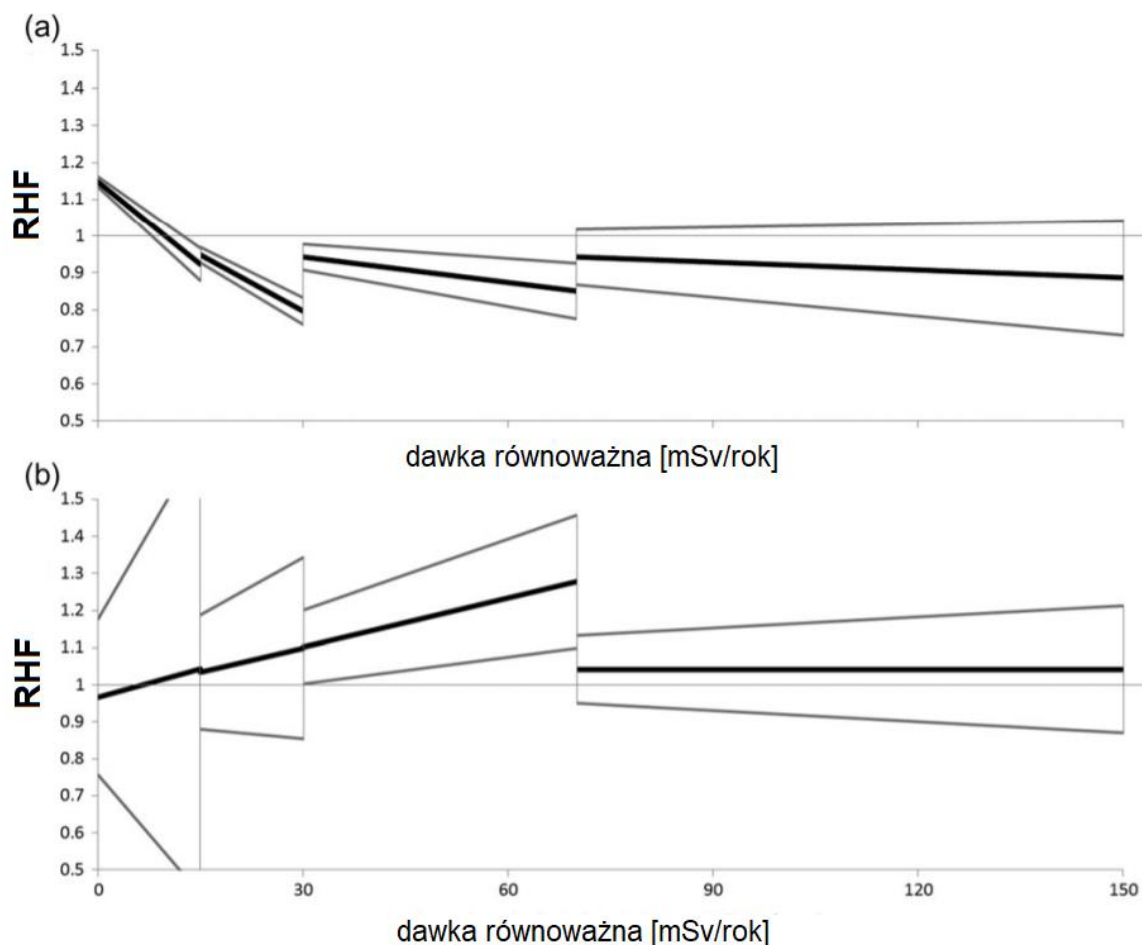
5.2 Meta-analiza radonowych badań kliniczno-kontrolnych

Analiza zbiorcza uwzględniała 32 badania kliniczno-kontrolne (ang. *case-control*) oraz 2 badania ekologiczne dotyczące wpływu promieniotwórczego radonu na ryzyko raka płuc dla osób narażonych na radon w budynkach mieszkalnych. Przetestowano trzy matematycznie najprostsze modele dawka-efekt: stały (zero efektu zdrowotnego), liniowy (w tym LNT) i paraboliczny (zależność liniowo-kwadratowa).

Skutki zdrowotne opisywane były ilorazem szans (OR, ang. *odds ratio*) bądź względnym współczynnikiem ryzyka (RR), zarówno w odniesieniu do zachorowalności, jak i śmiertelności na choroby nowotworowe płuc. Zestawienie prac znajduje się w tabeli U7.1 (w Uzupełnieniu 7). Ponieważ wyniki OR oraz RR nie różniły się ilościowo w granicach niepewności (95% CI), wprowadzono termin opisujący oba współczynniki, nazwany dalej względnym współczynnikiem zdrowia (RHF ang. *Relative Helath Factor*) dla płuc. Procedura ta pozwoliła na zbiorczą analizę wszystkich danych. Jednakże, jak pokazał Scott (2019) wyjściowo oszacowane współczynniki ryzyka odnoszą się do sytuacji, w której populacji nienarażonej przypisuje się $RR = 1$, co uwzględniając wagę czynników zakłócających na indukcję nowotworu płuc, może znacząco zwiększać zależność dawka-efekt w przypadku radonu i nowotworów płuc.

Łączna analiza współczynników ryzyka OR i RR pozwoliła uzyskać większą wiarygodność statystyczną wyników dla których przeprowadzono analizę klasyczną metodą najmniejszych kwadratów oraz metodą bayesowskiej analizy regresji dla wybranych podzakresów stężeń radonu. Zwrócono uwagę na różnice między metodyką stosowaną przez autorów badań kliniczno-kontrolnych i badań ekologicznych, analizując je również oddzielnie. W pracy z 2017 roku wykazano, iż łączna analiza badań, zawierająca badania ekologiczne, wpływa na wynik całej meta-analizy (Rys.5.3). Ogólny wniosek wskazywał na brak istotnej statystycznej

zależności pomiędzy stężeniem radonu w budynku mieszkalnym (dla koncentracji poniżej 838 Bq/m^3), a wzrostem zapadalności i umieralności na nowotwory płuc.



Rysunek 5. 3 Najlepsze dopasowanie danych, przy użyciu metody Bayesowskiej (w każdym z 4 przedziałów analizowanych danych- od zera) zależności dawki równoważnej na płuca (H) pochodzenia radonowego oraz współczynnika relatywnego ryzyka (RHF), dla a) danych pochodzących z 34 prac, b) dla danych z wyłączeniem prac ekologicznych.

Na rysunku 5.3 można zauważyć w jaki sposób zmienia się kierunek nachylenia krzywej dopasowania, jeśli z analizy wykluczymy część danych (ekologiczne). Sugeruje to jak duży wpływ na ogólny trend mają dane ekologiczne w tej analizie. Co ciekawe wpływ danych ekologicznych staje się nieistotny, gdy pod uwagę wzięty zostaje pełen przedział dawki na płuca (powyżej 0 do 150 mSv/rok), co obrazują trendy z prawej strony Rys.5.3.

5.2.1 Zebranie danych

Przegląd prac (Dobrzyński i in., 2017) uwzględniał wszystkie wiarygodne wyniki analiz dotyczących ilorazu szans (OR, ang. *odds ratio*) bądź względnego ryzyka (RR, ang. *relative risk*) nowotworów płuc u osób narażonych na radon w budynkach mieszkalnych, opublikowanych w czasopiśmie o międzynarodowym zasięgu w latach 1991 - 2014. Prace zostały przeanalizowane pod kątem typu badania oraz danych dla śmiertelności bądź zapadalności oraz regionu dla którego zostały wykonywane analizy (Tabela U7.1, Uzupełnienie 7), jak również metodyki pomiaru radonu, doboru i uwzględnienia wpływu czynników obciążających na wynik analizy oraz liczby analizowanych przypadków i grupy kontrolnej (Tabela U7.2, uzupełnienie 7). Łącznie meta-analiza dotyczyła 32 badań kliniczno-kontrolnych oraz 2 badań epidemiologicznych dla koncentracji radonu poniżej 838 Bq/m^3 , z których część została wcześniej opublikowana w analizie zbiorczej wykonanej w 2011 roku przez grupę prof. Dobrzyńskiego (Fornalski i in., 2011). Badania te obejmowały łączną liczbę ponad 28 000 przypadków i 900 000 kontroli. Spośród wybranych badań 26 dotyczyło zapadalności na raka płuc, natomiast 8 śmiertelności z tego powodu. W 12 badaniach jako miarę ryzyka podano ryzyko względne, w 22 analizach posłużono się ilorazem szans. W wypadku badań ekologicznych rozpatrywano zarówno śmiertelność (Cohen, 1995) oraz zapadalność (Hystad i in., 2014). Najczęściej analizowano dane z USA (9 badań), Niemiec (4 badania), Finlandii i Hiszpanii (po 3 badania), Włoch, Chin oraz Kanady (po 2 badania), badania wykonywano również w Austrii, Czechach, Anglii, Danii, Japonii, Francji. Na ogół analizowano łączne wyniki dla kobiety i mężczyzn, w 7 przypadkach badanie dotyczyło jedynie kobiet, 3 badania skupiały się na populacji płci męskiej. Większość danych uwzględniała palenie jako podstawowy czynnik obciążający, w 4 badaniach kohortą były osoby niepalące. Najczęściej uwzględniano 4 czynniki obciążające, w tym wiek, płeć i palenie tytoniu. Do pomiarów radonu najczęściej wykorzystywano śladowe detektory cząstek alfa. Okresy ekspozycji wahały się od 5 do 25 lat.

Podstawowe kryteria wyboru prac dotyczyły rzetelnego opisu opublikowanej analizy (Tabela U7.2, uzupełnienie 7), na podstawie 3 głównych założeń:

- a) dostępność historii zamieszkania,
- b) pomiary długo lub krótko okresowe (metoda dozymetryczna),
- c) uwzględnienie informacji dotyczących nawyków spożywania tytoniu, płci, wieku, innych czynników.

Natomiast problemem okazały się następujące różnice w metodyce poszczególnych analiz:

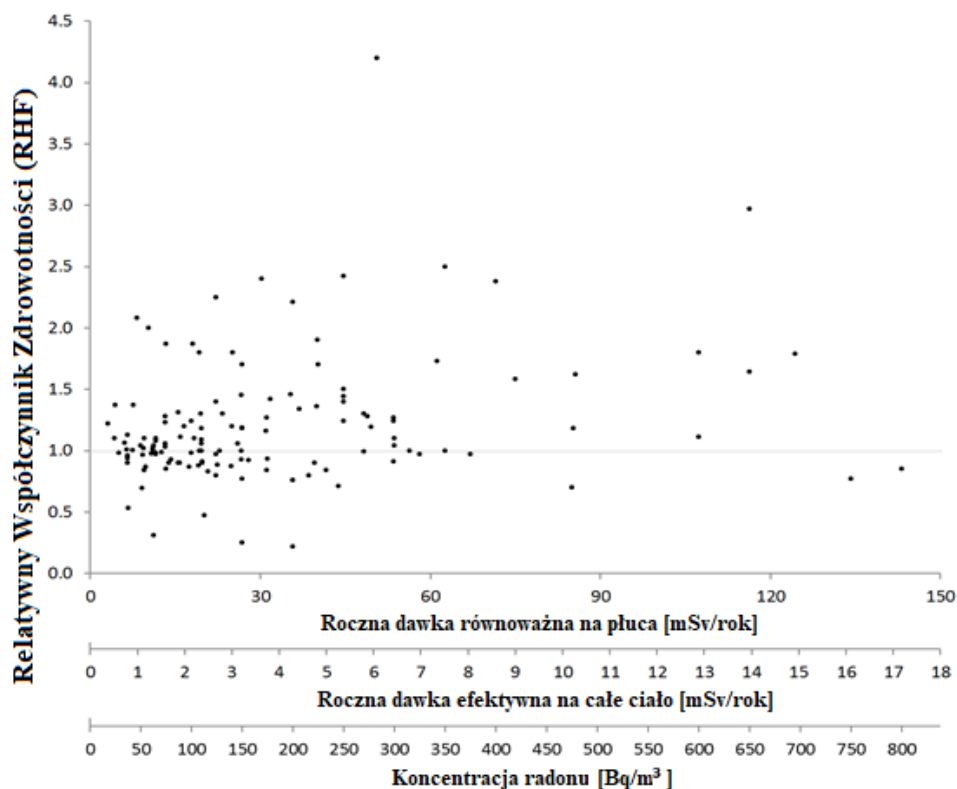
- a) dobór przedziałów koncentracji radonu, w których wybierano średnią,
- b) brak górnego limitu na koncentrację radonu (średnie wartości RHF z przedziałów zawierających górną granicę badanej koncentracji radonu odrzucano),
- c) liczba i dobór czynników obciążających, podawanych czasem w nazbyt skrótowy sposób,
- d) wykorzystanie do analizy programów z wbudowanymi pakietami statystycznymi, wykorzystującymi rozkład log-normalny bez sprawdzenia, czy rozkład ten jest spełniony na badanym obszarze,
- e) silnie asymetryczne wartości niepewności - brak ich krytycznej analizy.

Wymienione wyżej czynniki utrudniają postawienie jednoznacznych wniosków w oparciu o konkretne, pojedyncze prace. W związku z tym postanowiono dokonać meta-analizy wszystkich prac, aby móc na nie spojrzeć całościowo i dokonać ich wspólnej re-analizy. Takie podejście, choć ma swoje mankamenty, jest używane powszechnie przy tego typu badaniach. W podobny sposób dokonano meta-analizy danych radonowych w raporcie UNSCEAR z 2006 r. (rys. XV w raporcie).

5.2.2 Opracowanie wyników

Rysunek 5.4 prezentuje zbiór wszystkich punktów uwzględnionych w meta-analizie (Uzupełnienie 8). Każdy punkt odpowiada pojedynczemu punktowi z każdej z analizowanych prac. Można zaobserwować duży rozrzut danych względem koncentracji radonu, przy czym względny współczynnik zdrowia (RHF), na podstawie najlepszego dopasowania metodą

bayesowską opisywany jest funkcją stałą, gdzie $RHF = 1$ (dla koncentracji radonu poniżej 300 Bq/m^3). Dawka roczna pochodząca od inhalacji wszystkich izotopów pochodzących od radonu została obliczona na podstawie metodyki opisanej w raporcie UNSCEAR 2000- Aneks B (str.97), Do obliczeń dawek przelicznik ustalono na $0,022 \text{ mSv/Bqm}^3$ dla rocznej dawki efektywnej (na całe ciało) oraz $0,179 \text{ mSv/Bqm}^3$ dla rocznej dawki równoważnej na płuca (Fornalski i in., 2011). Rysunek 5.4 celowo nie zawiera niepewności w celu zachowania czytelności, niemniej jednak na każdym etapie analizy były one szczegółowo uwzględniane.



Rysunek. 5.4. Względny współczynnik zdrowia, w odniesieniu do płuc (RHF ang. relative health factor) reprezentujący analizowane wyniki (zarówno OR i RR) - śmiertelności i zapadalności na nowotwory płuc w funkcji dawki promieniowania jonizującego: rocznej dawki równoważnej na płuca (mSv/rok), rocznej dawki efektywnej, tj. na całe ciało (mSv/rok), koncentracji radonu w powietrzu (Bq/m^3).

W analizie wykorzystano oryginalne wartości niepewności pomiarowych, podane przez autorów, podawane na 95% poziomie ufności, na podstawie założenia o rozkładzie log-normalnym. Dla określenia średniej z podanych przedziałów koncentracji radonu założono jednorodny rozkład wartości tej koncentracji w każdym podanym przedziale stężeń. Wyniki, przedstawione szczegółowo w uzupełnieniu 6 (w Tabelach U6.1- U6.3). Różnią one się w zależności od metody dopasowania danych - w przypadku metody najmniejszych

kwadratów (MNK) dla niepewności symetrycznych (wziętych jako średnie wartości z niepewności górnej i dolnej) i niesymetrycznych, dla 95% poziomu ufności.

5.2.3 Analiza dopasowania wybranych modeli

Metoda najmniejszych kwadratów:

Analiza dopasowania funkcji do opisu danych doświadczalnych polega na wyznaczeniu oczekiwanej krzywej trendu (regresji) na podstawie estymacji parametrycznej. Najczęściej stosowaną metodą klasyczną jest tzw. metoda najmniejszych kwadratów (najmniejszej wartości χ^2), polegająca na minimalizacji gaussowskiej funkcji χ^2 :

$$\chi^2 = \frac{1}{n_p} \sum_i \frac{(E_i - T_i)^2}{\sigma_i^2} \quad (5.4)$$

gdzie:

T_i – zbiór punktów teoretycznych leżących na spodziewanej krzywej (analizowany model)

E_i – zbiór punktów eksperymentalnych

σ_i – zbiór niepewności punktów doświadczalnych

n_p – różnica w liczbie punktów i liczbie parametrów

Metoda Bayesa:

W przypadku rozbieżnych danych, w których niektóre punkty znacząco odstają od głównego trendu lub gdy trend nie jest jednoznacznie zaznaczony, analiza klasyczna może nie wykazać najlepszego dopasowania. Wybite punkty (ang. *outliers*) mogą istotnie wpłynąć na wynik minimalizacji funkcji χ^2 . W tym przypadku użyteczną metodą jest podejście bayesowskie (K.W. Fornalski, L. Dobrzyński, 2011). W przeciwieństwie do analizy klasycznej, w której przyjmuje się rozkład Gaussa jako funkcję wiarygodności przeprowadzonego eksperymentu z niepewnością σ_7 dla każdego punktu pomiarowego, w ramach analizy metodą bayesowską zakłada się, że każdy punkt eksperymentalny E_i , któremu przypisano pierwotną niepewność σ_{0i} może być w rzeczywistości opisany inną niepewnością σ_i , której prawdopodobieństwo opisane jest przez $p(\sigma_i)$.

$$p(\sigma_i) = \sigma_{0i} / \sigma_i^2 \quad (5.5)$$

Stosując powyższą funkcję aprioryczną do klasycznego rozkładu Gaussa jako funkcji wiarygodności (K. Fornalski, L. Dobrzyński, 2011), otrzymujemy ostatecznie rozkład prawdopodobieństwa aposteriorycznego:

$$P = \prod \frac{\sigma_{0i}}{(T_i - E_i)^2 \sqrt{2\pi}} \left[1 - \exp\left(\frac{-(T_i - E_i)^2}{2\sigma_{0i}^2}\right) \right] \quad (5.6)$$

Przyjmując, że dopasowane niepewności parametrów modelu $\{\lambda_i\}$ są małe w granicach (λ_{\min} , λ_{\max}) ze stałym prawdopodobieństwem, prior przyjmuje postać $p(\sigma_i) = \sigma_i / (\lambda_{\max} - \lambda_{\min})$, twz. prior Jeffreya. Wtedy w celu wyznaczenia parametrów dopasowania należy wyznaczyć maksimum prawdopodobieństwa (5.6).

Stosując analogiczne rozumowanie, zwane rozumowaniem bayesowskim, możemy otrzymać równanie określające wiarygodność jednego modelu T względem drugiego (Fornalski i Dobrzyński 2011) opierając wiedzę aprioryczną na postulacie Jeffreya.

Przy tym podejściu współczynnik wiarygodności (N_T) dla konkretnego ewaluowanego modelu (T):

$$N_T \equiv \sum_{i=1}^N P_i(\text{Model}_T) \times \prod_{\lambda=1}^n \frac{\sigma_\lambda \sqrt{2\pi}}{\lambda_{\max} - \lambda_{\min}} \quad (5.7)$$

Relatywna funkcja wiarygodności (W) dopasowania dwóch modeli (A i B), do danych doświadczalnych wynosi więc:

$$W = \frac{N_A}{N_B} = \frac{P(\text{Model}_A | \text{Dane})}{P(\text{Model}_B | \text{Dane})} \quad (5.8)$$

Ze względu na niesymetryczny rozrzut punktów (Rys.5.4) analizę przeprowadzono dla różnych zakresów rocznych dawek równoważnych na płuca: od zera do: 15 mSv/rok, do 30 mSv/rok, do 70 mSv/rok, oraz do 150 mSv/rok. Podział zaprezentowano na Rysunku 5.5.

Poniżej przedstawiono krótki opis podstaw metody Maksymalnej Entropii.

Entropia informacyjna jest wielkością, która pozwala na liczbowe wyrażenie ilości informacji i związanej z nią niepewności, wyrażaną przy pomocy prawdopodobieństw p_i . Jest to ciągła funkcja prawdopodobieństwa, więc niewielkie zmiany w wartościach p_i dla poszczególnych punktów doświadczalnych nie powinny powodować zasadniczych zmian entropii S .

Posiadając zbiór punktów węzłowych $\{r_i\}$ (w przestrzeni D-wymiarowej), w których wartość zmierzonej funkcji równa jest f_i przybliżenie w punkcie r interpolowana funkcja $g(r)$ ma postać:

$$g(r) = \sum_i s_i(r) \cdot f_i \quad (5.9)$$

gdzie: funkcje $s_i(r)$, dla danego wektora r pełni rolę wagi wartości f_i i definiuje funkcję regularyzacyjną (ang. *shape function*). Funkcja entropii może być zapisana w postaci (Arroyo and Ortiz (2006)):

$$S = - \sum_i s_i \log(s_i) \quad (5.10)$$

bądź alternatywnie, jeśli zdefiniujemy p_i jako opisane wcześniej prawdopodobieństwa jako N_i/N , wtedy (Dobrzyński (1996)):

$$S = - \sum_i p_i \log(p_i) \quad (5.11)$$

Uwzględniając warunek normalizacyjny w postaci:

$$\sum_{i=1}^N s_i(r) = 1 \quad \forall r \in ConvH \rightarrow \sum_{i=1}^N s_i(r) \cdot r_i = r \quad (5.12)$$

W powyższym wzorze ConvH opisuje podzbiór w przestrzeni liniowej węzłów r_i , dla którego funkcja jest wypukła. Lagrangian problemu zawiera dwa warunki (a więc dwie stałe Lagrange'a, λ_1 i λ_2) narzucane na poszukiwaną funkcję i ma postać:

$$L = - \sum_{i=1}^N s_i(r) \cdot \log(s_i(r)) - \lambda_1 \cdot \left(\sum_{i=1}^N s_i(r) - 1 \right) - \lambda_2 \cdot \left(\sum_{i=1}^N s_i(r) \cdot (r_i - r) - 1 \right) \quad (5.13)$$

gdzie: λ_2 jest wektorem o wymiarach wektora r .

Funkcja $s_i(r)$, po maksymalizacji Lagrangianu otrzymuje postać eksponencjalną:

$$s_i(r) = \frac{e^{-\lambda_2 \cdot (r_i - r)}}{Z(r)} \quad (5.14)$$

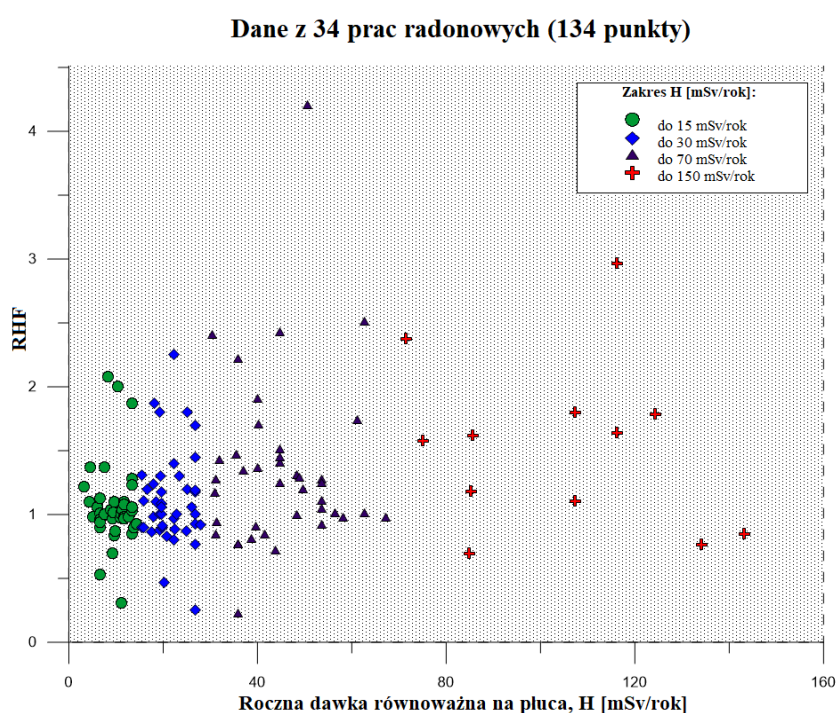
gdzie:

$$Z(r) = \sum_{i=1}^N e^{-\lambda_2 \cdot (r_i - r)} \quad (5.15)$$

Wektor mnożników Lagrange'a powinien być dobrany, w taki sposób, aby zminimalizować swobodną energię w punkcie r , niezależnie.

Wektor λ_2 umożliwia znalezienie funkcji s_i oraz przybliżenie wartości rozkładu i $g(r)$. (Metoda MEM została dokładnie opisana w pracy doktorskiej M. Pylak 2014 oraz w publikacji Dobrzyński 1996).

Metoda maksymalnej entropii jest użyteczna w przypadku trudności z określeniem wartości niepewności danych. Maksymalizowanie entropii minimalizuje ilość informacji wejściowej (a priori) o rozkładzie prawdopodobieństwa danych.



Rysunek 5.5. Zależność względnego współczynnika zdrowia (RHF) względem rocznej dawki równoważnej na płuca (H) (mSv/rok), z podziałem na 4 grupy, dla: $H < 15$ mSv/rok, $H < 30$ mSv/rok, $H < 70$ mSv/rok, $H < 150$ mSv/rok). Patrz analogiczny Rys. 5.3.

Z podanych w pracach przedziałów koncentracji radonu wybierano wartość średnią. W większości prac autorzy nie podali jednak górnej granicy koncentracji, więc te punkty nie zostały uwzględnione w meta-analizie (nie wzięto pod uwagę ostatnich średnich dla najwyższych stężeń radonu)

Otrzymano łącznie 71 punktów, a dane zostały podzielone na 4 podgrupy:

- OR śmiertelność (13 punktów). Średnia koncentracja radonu do 325 Bq/m³.
- OR zapadalność (38 punktów). Średnia koncentracja radonu do 299.5 Bq/m³.
- RR zapadalność (20 punktów). Średnia koncentracja radonu do 475 Bq/m³.
- Wszystkie punkty (RHF – względny współczynnik zdrowia).

Za pomocą klasycznej MNK dopasowano 3 najprostsze modele matematyczne, gdyż duży rozrzut danych nie wskazywał na potrzebę zwiększania liczby dopasowywanych funkcji. Wybrano modele: stałej (brak korelacji), liniowej oraz liniowej bezprogowej (LNT, tj. z wyrazem wolnym równym 1) zależności dawka-efekt; przy czym przez „efekt” rozumiano zależność OR lub RR od dawki promieniowania jonizującego, określanych zbiorczo jako RHF. Wyniki dopasowania modeli zaprezentowano w Tabelach U6(1-3).

Matematyczne postacie modeli były następujące:

Model 1: opisuje funkcję stałą, $y = a$ – brak korelacji, opisywany jako model stałej.

Model 2: opisuje funkcję $y = a + b x$ – liniowa zależność, opisywany jako model LNT w dwóch wariantach:

- 2A – wyraz wolny ustalony na $a = 1$,
- 2B – dopasowano wyraz wolny jako niezależną stałą a .

Analiza miała na celu również weryfikację wyboru współczynnika HRF do opisu zbiorczego punktów odpowiadających OR i RR.

Tabela 5.1. Model 1 ($y = a$) parametry dopasowania (otrzymane za pomocą metody najmniejszych kwadratów, dla 95% przedziału ufności), uwzględniając niesymetryczne wartości niepewności pomiarowych (AS), oraz symetryczne wartości niepewności pomiarowych (oznaczone jako SM).

σ	Dane 1	Dane 2	Dane 3	Dane 4
AS	$a = 1,04 \pm 0,05$ $\chi^2 = 0,63$	$a = 1,04 \pm 0,05$ $\chi^2 = 0,55$	$a = 1,04 \pm 0,05$ $\chi^2 = 0,29$	$a = 1,05 \pm 0,03$ $\chi^2 = 0,44$
SM	$a = 1,02 \pm 0,05$ $\chi^2 = 0,27$	$a = 0,99 \pm 0,06$ $\chi^2 = 0,53$	$a = 1,04 \pm 0,08$ $\chi^2 = 0,31$	$a = 1,01 \pm 0,03$ $\chi^2 = 0,42$

Tabela 5.2. Model 2A ($y = 1 + b x$) parametry dopasowania (otrzymane za pomocą metody najmniejszych kwadratów, dla 95% przedziału ufności), uwzględniając niesymetryczne wartości niepewności pomiarowych (AS), oraz symetryczne wartości niepewności pomiarowych (oznaczone jako SM).

σ	Dane 1	Dane 2	Dane 3	Dane 4
AS	$b = (4,36 \pm 4,51) \times 10^{-4}$ $\chi^2 = 0,67$	$b = (5,10 \pm 4,98) \times 10^{-4}$ $\chi^2 = 0,45$	$b = (6,99 \pm 6,40) \times 10^{-4}$ $\chi^2 = 0,35$	$b = (5,33 \pm 3,00) \times 10^{-4}$ $\chi^2 = 0,43$
SM	$b = (0,53 \pm 4,56) \times 10^{-4}$ $\chi^2 = 0,28$	$b = (1,84 \pm 5,09) \times 10^{-4}$ $\chi^2 = 0,53$	$b = (-1,09 \pm 5,84) \times 10^{-4}$ $\chi^2 = 0,33$	$b = (0,60 \pm 2,93) \times 10^{-4}$ $\chi^2 = 0,40$

Tabela 5.3. Model 2B ($y = a + b x$) parametry dopasowania (otrzymane za pomocą metody najmniejszych kwadratów, dla 95% przedziału ufności), , uwzględniając niesymetryczne wartości niepewności pomiarowych (AS), oraz symetryczne wartości niepewności pomiarowych (oznaczone jako SM).

σ	Dane 1	Dane 2	Dane 3	Dane 4
AS	$a = 1,05 \pm 0,08$ $b = (-1,81 \pm 7,11) \times 10^{-04}$ $\chi^2 = 1,02$	$a = 0,93 \pm 0,13$ $b = (1,34 \pm 1,44) \times 10^{-04}$ $\chi^2 = 1,38$	$a = 1,12 \pm 0,06$ $b = (-5,01 \pm 5,01) \times 10^{-04}$ $\chi^2 = 0,50$	$a = 1,04 \pm 0,05$ $b = (1,57 \pm 4,84) \times 10^{-04}$ $\chi^2 = 0,98$
SM	$a = 1,05 \pm 0,05$ $b = (-2,33 \pm 4,25) \times 10^{-04}$ $\chi^2 = 0,60$	$a = 0,90 \pm 0,05$ $b = (8,59 \pm 4,44) \times 10^{-04}$ $\chi^2 = 0,47$	$a = 1,11 \pm 0,04$ $b = (-6,59 \pm 3,17) \times 10^{-04}$ $\chi^2 = 0,35$	$a = 1,02 \pm 0,02$ $b = (-0,73 \pm 2,07) \times 10^{-04}$ $\chi^2 = 0,44$

W granicach niepewności parametrów dopasowania - wyniki są niezależne od wyboru danych z niesymetrycznymi lub symetrycznymi wartościami niepewności z oryginalnych prac. Analiza pokazuje również nieznaczące statystycznie różnice pomiędzy grupami OR dla zapadalności i umieralności oraz RR dla zapadalności, stąd wykorzystanie ujednoczonego współczynnika zdrowotności dla płuc (HRF) przyjmujemy jako zasadne.

W sytuacji dopasowania modelu liniowego (2B) otrzymuje się nieznaczący statystycznie współczynnik nachylenia prostej $b = 0,0002 \pm 0,0005$ (dla niepewności niesymetrycznych), dlatego pomimo najwyższej wiarygodności (wg wartości χ^2) nie wskazuje to na najlepsze

dopasowanie modelu liniowego. Wszystkie parametry dopasowania MNK wskazują na brak znaczącej statystycznie zależności liniowej faworyzując tym samym model stałej. Wyraz wolny a , dla wszystkich danych (zestaw 4), ma wartości:

1. model 1: $1,05 \pm 0,03$,
2. model 2B: $1,04 \pm 0,05$,
3. model 2A, z założenia wynosi 1.

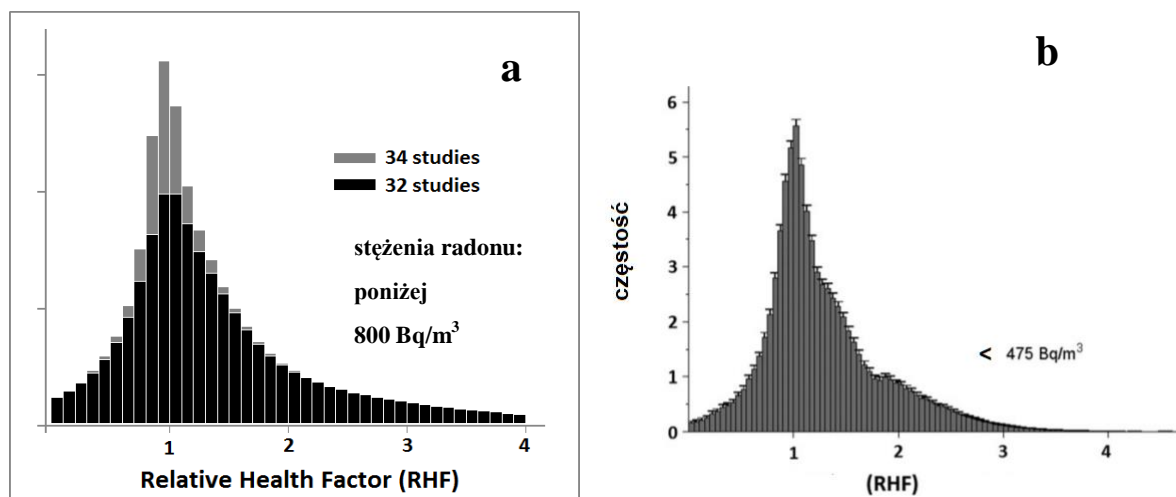
Na podstawie wartości współczynników wiarygodności N_w w Tabelach 5 (1-3) można wnioskować o tym, że model opisującego brak zależności wystąpienia nowotworów płuc od obecności radonu jest najbardziej prawdopodobny, jak również na podstawie umieszczonych w tabeli wartości współczynników χ^2 (dla wybranych średnich wartości przedziałów koncentracji radonu). Jednakże analiza klasyczna (MNK) jest bardzo czuła na wartości niepewności pomiarowych w związku z wspomnianym już dużym rozrzutem danych. Z tego względu użyto rozumowania bayesowskiego, które pozwoliło na pogłębioną analizę wyników.

5.2.4 Wnioskowanie bayesowskie

W celu znalezienia najbardziej wiarygodnego dopasowania zależności dawka-efekt użyto dodatkowo metody bayesowskiej, przeznaczonej do analizy danych posiadających znaczny rozrzut, w której szczególną rolę odgrywa osłabienie wpływu punktów wybitych na ostateczny wynik dopasowania funkcji. Podejście bayesowskie użyto także w celu oszacowania względnej wiarygodności każdego modelu. W szczególności, zgodnie z podejściem bayesowskim (r-nie (5.6)) dopasowano 3 modele: stały, liniowy oraz dodatkowo model zależności kwadratowej (który nie był używany w przypadku MNK). Obliczono współczynnik wiarygodności każdego modelu (r-nie (5.7)) oraz porównano ich względną wiarygodność. (prior Jeffreya (r-nie (5.8))). Metodologia tego podejścia opisana jest szczegółowo w pracy Fornalskiego i Dobrzyńskiego (2010).

Pierwszym krokiem było sprawdzenie rozkładu wartości względnego współczynnika zdrowia, zarówno dla danych z uwzględnieniem badań ekologicznych, jak osobnej grupy badań kliniczno-kontrolnych. Odpowiednie histogramy zaprezentowano na Rys. 5.6. Maksimum rozkładu RHF przypada w obszarze wartości $RHF \approx 1$, co biorąc pod uwagę szerokości rozkładów, dodatkowo potwierdza wcześniejszy wniosek o braku znamiennej statystycznie

pozytywnej korelacji pomiędzy występowaniem nowotworów płuc, a stężeniem radonu w środowisku.



Rysunek. 5.6 Rozkłady wartości RHF dla wszystkich danych, dla średnich oraz ich niepewności: a) symetrycznych, b) niesymetrycznych (Dobrzyński i in., 2017). Histogram a prezentuje względne prawdopodobieństwo (unormowane do 1).

Przyjmując model 1, a więc brak zależności zapadalności/śmiertelności na raka płuc w funkcji badanych stężeń radonu, dla różnych rozpatrywanych przedziałów koncentracji radonu, a więc i różnej rocznej dawki równoważnej na płuca, otrzymujemy następujące wartości czynnika RHF: do 15 mSv/rok: $RHF = 1,008 \pm 0,003$, do 30 mSv/rok: $RHF = 0,975 \pm 0,003$, do 70 mSv/rok: $RHF = 0,982 \pm 0,003$, do 150 mSv/rok: $RHF = 0,980 \pm 0,003$. Jak widać, zdecydowanie przeważają wartości mniejsze od jedności, co oznacza raczej zmniejszanie niż zwiększanie się zapadalności/śmiertelności wraz z obecnością radonu. Na podstawie otrzymanych parametrów dopasowania wszystkich 3 modeli podjęto się zweryfikowania ich wzajemnej wiarygodności. W tabeli 5.4 znajdują się wartości współczynników (stałego, liniowego i kwadratowego) dla każdego modelu (obliczone na podstawie prioru (r-nie (5.5)) oraz współczynniki wiarygodności (r-nie (5.8)). Współczynnik wiarygodności N_W dla modeli wartości stałej N_A ($y=a$), zależności liniowej N_B : ($y= ax+b$) i zależności kwadratowej N_C : ($y=ax+bx^2+c$), wynosi odpowiednio 0,3, 0,03 i 0,015. Na podstawie analizy bayesowskiej najbardziej prawdopodobnym modelem okazał się model stałej, niezależny od dawki. Według względnej funkcji wiarygodności $W = N_A/N_B$ (r-nie (5.8)), N_A jest dziesięciokrotnie bardziej wiarygodny niż LNT (Model 2B). Ponadto wartość funkcji wiarygodności N_A jest 20-krotnie wyższa dla Modelu 1 niż N_C dla modelu kwadratowego (3). Wynik jest powtarzalny,

niezależnie od liczby analizowanych prac, nie obserwuje się znaczących różnic w wynikach analizy klasycznej MN i bayesowskiej, co może być związane z dużą ilością wybitych danych (outlayers). Wszystkie uzyskane wartości parametrów podano na końcu pracy (Tabela 5.6).

5.2.5 Wnioski

Używając wnioskowania bayesowskiego trudno zaakceptować model liniowy bezprogowy, stosowany przez ICRP do sporządzania rekomendacji związanych z ograniczaniem dawek promieniowania pochodzenia środowiskowego, w budynkach mieszkalnych. Na podstawie zebranych danych okazuje się, że model, w którym ryzyko jest niezależne od mocy dawki, jest 10 razy bardziej wiarygodny niż zależność liniowa. Wyniki jednoznacznie sugerują, że model liniowy bądź kwadratowy nie powinien być wybierany a priori do dopasowania danych radonowych. Wszystkie wyniki prezentowane na wykresach wskazują (w granicach wiarygodności statystycznej), że ryzyko raka płuc nie zwiększa się wraz ze stężeniem radonu poniżej ok. 800 Bq/m³. Wnioski są zgodne z większością aktualnie publikowanych danych z zakresu małych dawek (opisanych w rozdziale 2), co sugeruje występowanie progu na zapoczątkowanie procesu kancerogenezy. Ponieważ są to ponad 2 krotnie większe wartości niż wprowadzane obecnie normy koncentracji radonu w budynkach mieszkalnych, wynoszące, w Polsce, 300 Bq/m³, istnieje ryzyko niepotrzebnej radiofobii spowodowanej nietrafnym przekazem informacji dotyczącej powodu wprowadzania zmian w systemie ochrony radiologicznej.

Analizy statystyczne wyników z 34 niezależnych źródeł jednoznacznie pokazują, że założenie a priori o liniowości zależności dawka-efekt ma istotny wpływ na końcowe wnioski i w zakresie małych dawek promieniowania jonizującego, gdzie zależność liniowa bezprogowa nie została potwierdzona, nie powinno być stosowane do opisu wpływu na zdrowie. Obecnie odbiega się od uwzględniania badań epidemiologicznych w ocenie ryzyka związanego z małymi dawkami promieniowania (UNSCEAR 2017). Jak zostało to podsumowane w pracy BR. Scotta, dotyczącej problematyki wiarygodności tego typu analiz w ocenie ryzyka radonowego, czynniki środowiskowe mające znacznie większy wpływ na rozwój nowotworów utrudniają interpretację wyników, co czyni zależność dawka-efekt niemożliwą do oceny.

Autor zwraca uwagę na tzw. szum statystyczny towarzyszący zwiększaniu liczby punktów, dodatkowo podając argument podkreślający, że w świetle wiedzy biologicznej dotyczącej

mechanizmów naprawczych DNA oraz odpowiedzi hormetycznej, autorzy badań epidemiologicznych, nie powinni implikować liniowości w samej analizie (Scott, 2019).

5.3 Koncentracja radonu i notowane w rejestrach państwowych przypadki nowotworów płuc

Z przedstawionego wyżej opisu wynika, że kwestia przyjętej metodologii w analizie danych jest sprawą kluczową w uzyskaniu wartościowych wyników. Niewątpliwie liczna grupa czynników zakłócających, począwszy od palenia tytoniu, a skończywszy na czynnikach socjologicznych, w także problemy związane z analizą statystyczną (Scott, 2019) wskazują na słabości analizy danych epidemiologicznych. Niemniej jednak, należy wziąć pod uwagę, że takie dane reprezentują zbiór najobszerniejszy z posiadanych informacji, które mogą służyć m.in. do opracowania norm dotyczących dopuszczalnych koncentracji radonu (niezależnie od ich zmienności w czasie). Z powyższych względów rzeczą celową jest pogłębianie danych zawartych w archiwach państwowych.

Mając na uwadze powyższe informacje, skupiono się na danych zebranych przez Simeonova i Himmelsteina (2015). Autorzy cytowanej pracy opublikowali obszerną bazę danych, zawierającą informacje o 1 302 495¹⁴ przypadkach nowotworów płuc, dla populacji 264 744 400 mieszkańców, z 2825 różnych lokalizacji w USA. Dodatkowo autorzy uwzględnili informacje o 20 cechach (czynnikach mieszających), które mogą mieć wpływ na otrzymaną korelację radonu i raka płuc, w tym płeć, dietę, inne choroby, status ekonomiczny, warunki geograficzne.

Dane pokazują wyraźną tendencję do spadku zachorowalności na raka płuc ze wzrostem poziomu stężenia radonu. Trend ten nie zależy od procentu osób palących w populacji, wysokości miejsca zamieszkania, płci ani poziomu promieniowania ultrafioletowego typu B - trzech głównych (wg Simeonova i Himmelsteina (2015)) skorelowanych parametrów. Okazuje się, że zachorowalność na raka w funkcji stężenia radonu spada wraz ze wzrostem koncentracji radonu szybciej, gdy procent osób palących jest większy (wśród rozważanych grup), co jest sprzeczne z oczekiwaniami. Jak pokażę, powyższe wyniki podtrzymywane są przez bayesowską analizę danych oraz metodę maksymalnej entropii. Ponieważ istotną rolę w

¹⁴ Dla każdej lokalizacji liczono częstość zachorowalności na raka płuc (dla kobiet, mężczyzn, ogółu populacji) liczoną na 100 tysięcy mieszkańców.

analizie danych może odegrać grupowanie wyników („binowanie”), w dalszej części omawiam także problem binowania danych i jego wpływu na wyniki końcowe.

5.3.1 Zbiór danych

Simeonov i Himmelstein (2015) wykorzystali dane z 11 różnych rejestrów w USA (dane pochodzą z lat 2005-2009). Przy tworzeniu bazy danych posłużyli się urzędowymi standardami przetwarzania informacji. Rejestr dostępny jest online.¹⁵ W pracy skoncentrowali się na zależności zachorowalności na raka płuc od wysokości nad poziomem morza dla miejsca zamieszkania. Hipoteza dotyczyła negatywnego wpływu utlenowania organizmu (w związku z niższą wartością ciśnienia atmosferycznego) na zachorowalność na nowotwory (wszystkie typy). Dodatkowo zwrócono uwagę na wpływ poziomu promieniowania ultrafioletowego typu B, który również zmienia się z wysokością. Niektóre źródła cytowane w tej pracy podają informację o potencjalnej supresji rozwoju nowotworu ze względu na zwiększoną produkcję witaminy D stymulującej układ odpornościowy, której wytwarzanie zależy od ilości promieniowania słonecznego (Hayes, 2010). Oznacza, to że efekt pozytywny mógłby tłumić potencjalną liczbę nowotworów innego pochodzenia, jak wnioskują autorzy – w tym przypadku indukowanych przez radon. W celu oszacowania potencjalnej korelacji, w niniejszej pracy, wpływu palenia papierosów oraz wpływu wysokości zamieszkiwania mieszkańca nad poziomem morza, wykonano następujące procedury: zbadano korelację pomiędzy wysokością zamieszkania a koncentracją radonu i wybrano taki przedział wysokości, w którym nie stwierdzono żadnej istotnej korelacji między wysokością a koncentracją radonu. W wybranym pasmie wysokości zaobserwowano niemal jednorodnie rozłożoną gęstość punktów w całym obszarze koncentracji radonu. Przy takim podejściu eliminuje się wpływ wysokości na raka płuc jako funkcję stężenia radonu.

Dane mówiące o procencie osób palących podzielono na 3 podgrupy: na poziom niski, średni i wysoki. Wartości dobrano na podstawie szerokości rozstępu danych dla każdej z grup (kobiet, mężczyzn oraz całej populacji), dla kwantyli rzędu 1/3. Każdy zestaw analizowano oddzielnie (Tabela 5.6). Wybrano tylko te dane, dla których dostępne były wszystkie informacje opisywane w pracy. Wykonano analizę dopasowania modelu liniowego do surowych danych przy pomocy klasycznej metody najmniejszych kwadratów (MNK) oraz bayesowskiej. Na podstawie danych analizowanych w poprzedniej pracy, opisanej

¹⁵ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4304851/bin/peerj-03-705-s003.txt>

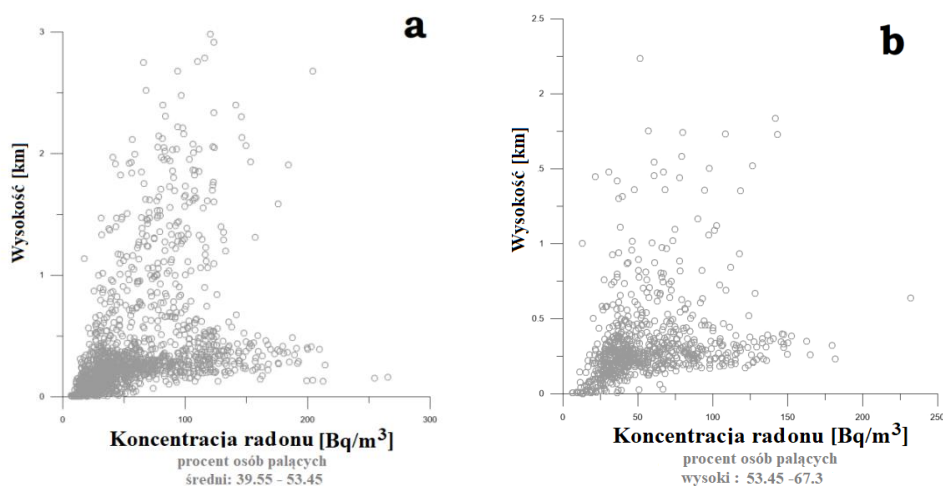
w pierwszej części tego rozdziału, pokazano również jak wpływa wybór metody binowania na ostateczny wynik nachylenia krzywej.

Tabela 5.4. Wybór danych z bazy Simeonova i Himmelsteina. N oznacza liczbę danych.

procent palaczy	niski (%)	N	średni (%)	N	wysoki (%)	N
Kobiety	13,07-28,85	22	28,85-44,62	244	44.62-60.40	235
Mężczyźni	34,90-48,12	57	48,12-61,33	248	61.33-74.55	226
Wszyscy	25,75-39,60	55	39,60-53,45	286	53.45-67.30	201
Wysokość	<500 m*		200-275 m			

*zbyt mała liczba danych w przedziale wysokości 200- 275m.

Okazuje się, że w badanych latach 2005-2009 częstość palenia tytoniu w USA była wysoka (o czym świadczy liczba osób w poszczególnych przedziałach palenia w Tabeli 5.4), w związku z czym w zbiorze danych dla zakresu „niskiego procentu osób palących” jest dużo mniej niż pozostałych. Z tego względu wzięto pod uwagę dwie pozostałe podgrupy, w których analiza ma większą wartość statystyczną (Rys.5.7).



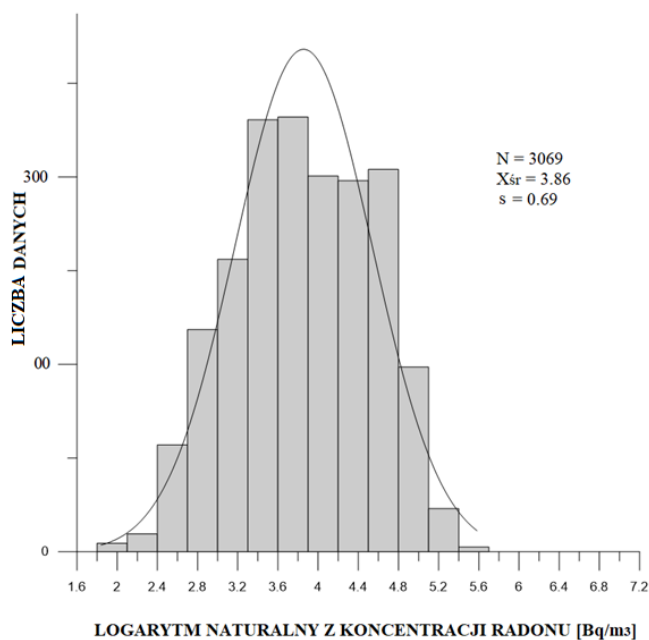
Rysunek. 5.7. Zależność koncentracji radonu (Bq/m^3) w funkcji wysokości nad poziomem morza (km) dla dwóch badanych grup (a – średni odsetek osób palących, b – wysoki odsetek osób palących).

Na podstawie analizy obu wykresów na Rys. 5.7 a i b, wybrano przedział wysokości 0,2-0,275 km, jako obszar, w którym koncentracja radonu jest w zasadzie równomiernie reprezentowana. Ze względu na stosunkowo dużą ilość, odrzucenie części pochodzącej od mieszkańców rejonów położonych na pozostałych wysokościach, nie obniża znacząco wartości statystycznej wyników.

5.3.2 Analiza pomiaru koncentracji radonu

Ze względu na szereg czynników związanych z pomiarem radonu w budynkach mieszkalnych, takich jak szczelność pomieszczenia bądź częstość otwierania okna, czy też piętro w budynku, zakłada się, że zmierzony poziom koncentracji radonu powinien być opisywany rozkładem log-normalnym. Takiego rozkładu można oczekiwać jeśli w zamieszkiwanych pomieszczeniach mamy stałą wymianę powietrza (Health Protection Agency, 2010). Wartości niepewności pomiarowych mogą znacznie wpłynąć na dopasowanie rozkładu, ponieważ są znacznie większe w obszarze małych dawek. Dopasowanie rozkładu log-normalnego do danych opartych na pomiarach laboratorium w Berkeley, z których korzystano podczas tworzenia bazy danych radonowych, miało na celu ocenę poprawności pomiarów koncentracji radonu. Jak zaprezentowano na histogramie (Rys. 5.8), oceniono, że dane dotyczące koncentracji radonu dobrze opisywane są rozkładem log-normalnym, więc dobrze odwzorowują oczekiwane wartości inhalowanej ilości promieniotwórczego radonu, a zatem otrzymywanych rocznie dawek równoważnych na płuca. Warto zwrócić uwagę, że dopasowanie to nie musi dotyczyć każdego z obszarów USA.

ROZKŁAD KONCENTRACJI RADONU

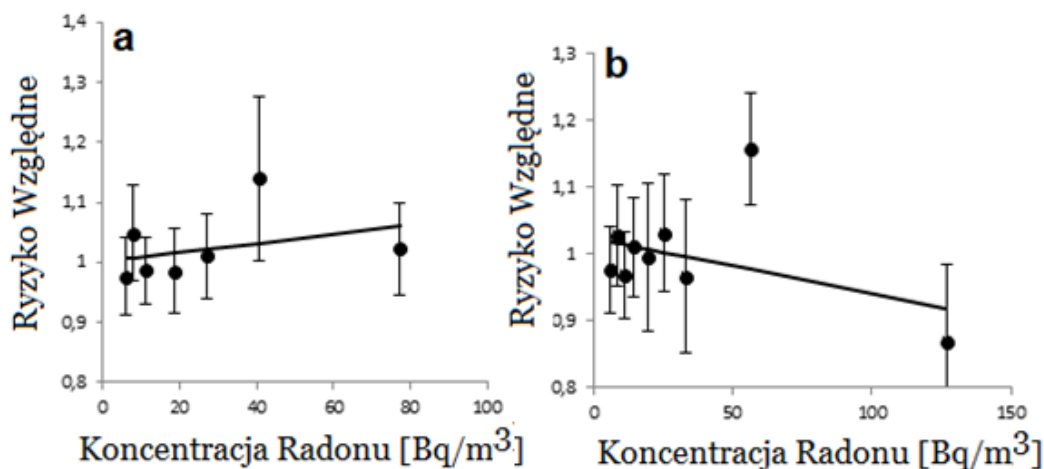


Rysunek 5.8. Rozkład log-normalny koncentracji radonu na podstawie danych z bazy Simeonova i Himmelsteina. Dopasowanie funkcji Gaussa do skali logarymicznej wskazuje na maksimum dla koncentracji równej 47.3 Bq/m^3 ; 68% CI (23,8-93,7) oraz 95% CI (12,0-185,9).

W świetle uzyskanych wcześniej wyników rozważano, czy kwestia uzyskania pozytywnej korelacji przez autorów niektórych z opisywanych prac, mogłaby być związana z czynnikiem zewnętrznym, czy też samą metodyką analizy. Ta kwestia zostaje poruszona w tym podrozdziale, na podstawie niedawno opublikowanych wyników pracy Malinowskiego i in. (2018). W omawianej pracy dane 140 OR z 31 badań kliniczno-kontrolnych (20,703 przypadków oraz 34,518 osoby z grupy kontrolnej), podzielone zostały na kilka zakresów dla wybranej koncentracji radonu, dla których obliczono średnie ilorazy szans. Sprawdzono więc jak dobór przedziałów mógł wpłynąć na wynik końcowy porównując wyniki Malinowskiego i współautorów z wynikami zamieszczonymi w tej części rozprawy.

W przypadku badań ekologicznych podawane są wartości średnie dla opisywanego obszaru, kraju bądź regionu, co wiąże się z wyżej już wspomnianymi dużymi zakresami niepewności danych dotyczących rzeczywistej koncentracji radonu. Dobór średniej wartości z takiego przedziału może być kolejnym parametrem wpływającym na otrzymany wynik analizy, co pokazały obliczenia (przy pomocy klasycznego dopasowania metodą najmniejszych kwadratów i podstawie podejścia bayesowskiego) umieszczone w Tabeli 5.5. Wybierając dwa różne sposoby podziału tych samych danych (binowanie) względem koncentracji radonu otrzymujemy dodatnie bądź ujemne nachylenia zależności ryzyka względnego nowotworu

płuc od koncentracji radonu. Efekt wpływu grupowania (danych dot. koncentracji radonu) na wynik całej analizy pokazano na rysunku 5.9.



Rysunek 5.9. Re-analiza 32 prac radonowych z części pierwszej (Dobrzyński i in. (2018)) w zależności od metody uśredniania danych w zakresach koncentracji radonu (binowanie) a) przykładowy zakres przedziałów: 0-37, 37-50, 50-75, 75-125, 125-175, 175-270 oraz 270-800 Bq/m³, b) inny przykładowy zakres: 0-37, 37-53,5, 53,5-65, 65-100, 100-124, 124-150,1, 150,1-200, 200-600 oraz 600-800 Bq/m³. W obu przypadkach dane wejściowe są identyczne.

Tabela 5.5. Wyniki dopasowania ($y=ax+b$) metodą klasyczną (MNK) i bayesowską względem doboru szerokości przedziałów koncentracji radonu. Wyniki w tabeli odwzorowane są na rysunku 5.9, dla sposobu I(a) i II (b) podziału danych.

Binowanie:	I	II
Metoda NK (χ^2)	$a = 0,0006 \pm 0,0007$ $b = 0,99 \pm 0,02$	$a = -0,0002 \pm 0,0008$ $b = 1,01 \pm 0,03$
Metoda Bayesa	$a = 0,0007 \pm 0,0009$ $b = 1,00 \pm 0,03$	$a = -0,0008 \pm 0,0006$ $b = 1,02 \pm 0,03$

W zależności od doboru przedziałów koncentracji radonu można uzyskać zależność liniową pozytywną (I sposób) lub ujemną (II sposób) (Patrz Rys.5.9), co wskazuje na silną korelację wyników analizy współczynników ryzyka (HRF) z doбором podzakresów dawek w pełnym zestawie danych radonowych. Dopiero uwzględniając wartości niepewności w obu przypadkach widać, że efekt jest nieznaczący statystycznie. Jest to bardzo istotny wynik, pokazuje bowiem w jaki sposób nieświadomie dokonuje się manipulacji wynikami badań

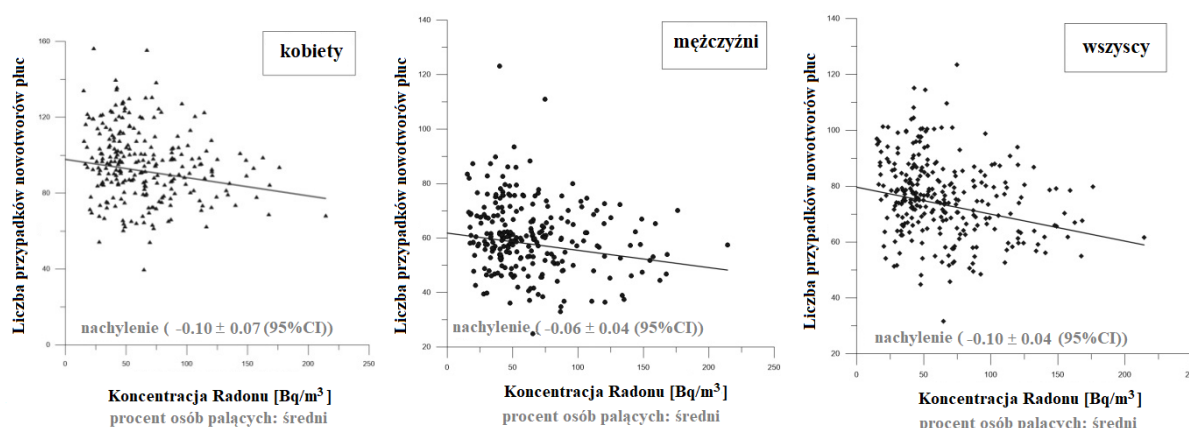
epidemiologicznych. Jest to druga po uwzględnieniu czynników konfundujących kwestia, która powinna być częścią uniwersalnego protokołu metody analizy danych w badaniach zbiorczych typu kliniczno-kontrolnego.

5.3.3 Dalsza analiza

Do zredukowanych danych względem wysokości (200-275 m. n.p.m), podzielonych na podgrupy względem częstości występowania osób palących oraz względem płci, dopasowano dwa modele: liniowy oraz model stałej (przy pomocy obu wcześniej wspomnianych metod).

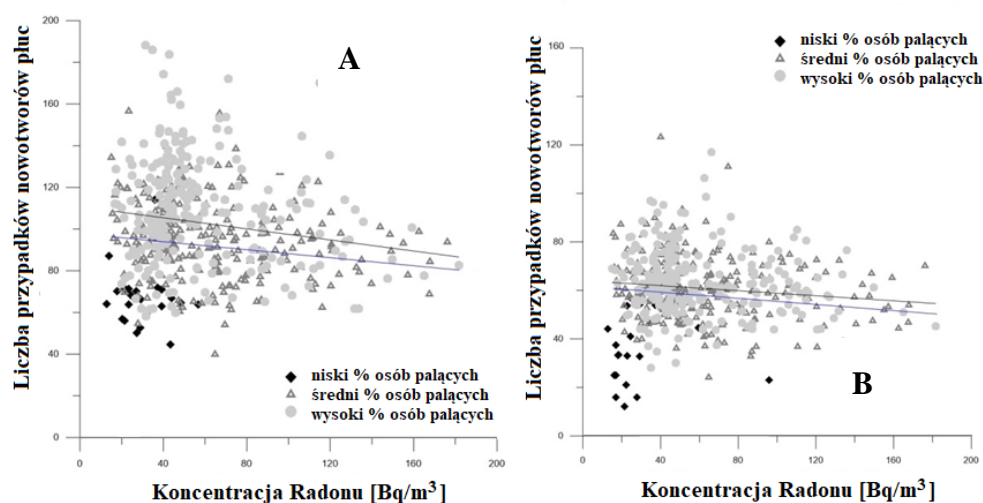
W świetle danych opublikowanych w bazie Simenova i Himmelsteina, na podstawie analizy zależności koncentracji radonu z zapadalnością na nowotwory płuc, wyłączając grupę z najmniejszą liczbą danych ze względu na wiarygodność wyników, obserwuje się negatywną korelację koncentracja radonu – zapadalność na nowotwory płuc (Tabele U9.1-U.9.6, w Uzupełnieniu 9).

Jak zaprezentowano na poniższych wykresach (Rys. 5.10) obserwuje się duży rozrzut danych, który stwarza pewne trudności w ocenie korelacji pomiędzy liczbą przypadków nowotworowych a koncentracją radonu. Duża liczba punktów sklasyfikowanych jako wybicia od głównego trendu, „outliers”, może znacząco wpłynąć na wynik minimalizacji funkcji χ^2 . Zastosowanie metody bayesowskiej pozwala na przypisanie mniejszej wagi w przypadku rozproszonych punktów wybitych. Metoda została dokładnie opisana w pracy Fornalskiego i in. (2010).



Rysunek 5.10. Zależność zapadalności na nowotwory płuc (na 100,000 przypadków) od koncentracji radonu (Bq/m³) z dopasowaniem zależności przy użyciu metody najmniejszych kwadratów, dla średniej grupy procentu osób palących: a-mężczyźni, b-kobiety i c-wszystkie dane. Dopasowane funkcji: $y = ax + b$ oraz $y = a$ dla wszystkich 9 grup znajduje się w Tabelach U9.1-U9.3, w uzupełnieniu 9.

Według Raportu UNSCEAR 2006 (Uzupełnienie E) występują istotne różnice w analizie korelacji nowotworów płuc i koncentracji radonu względem płci. Porównanie wszystkich podgrup wskazuje na wyższą zapadalność na nowotwory płuc w przypadku mężczyzn, niż u kobiet, co potwierdzają statystyki (Siegel i in., 2017). Niemniej jednak w obu grupach (Rys. 5.10) zaprezentowane wyniki wskazują na statystycznie istotny spadek zapadalności wraz z otrzymaną roczną dawką równoważną na płuca związaną z inhalacją radonu. Warto podkreślić, że pojemność płuc, nie wspominając o wydajności filtracji systemu oddechowego, może się różnić zależnie od płci, co warto mieć na uwadze rozważając ewentualne różnice w wynikach nachyleń na Rysunku 5.11.



Rysunek 5.11. Zależność zapadalności na nowotwory płuc (na 100,000 przypadków) od koncentracji radonu (Bq/m^3) dla wszystkich grup osób palących. Linie proste otrzymano z dopasowania metodą najmniejszych kwadratów dla grup z średnim (śr. -niebieska linia) i wysokim (wys. - czarna linia) odsetkiem osób palących: A – mężczyźni, B – kobiety. (wartości nachylenia krzywych wynoszą odpowiednio dla kobiet: ($a_{sr.} = -0,06 \pm 0,5$, $a_{wys.} = -0,05 \pm 0,06$), dla mężczyzn: ($a_{sr.} = -0,1 \pm 0,07$, $a_{wys.} = -0,13 \pm 0,10$)).

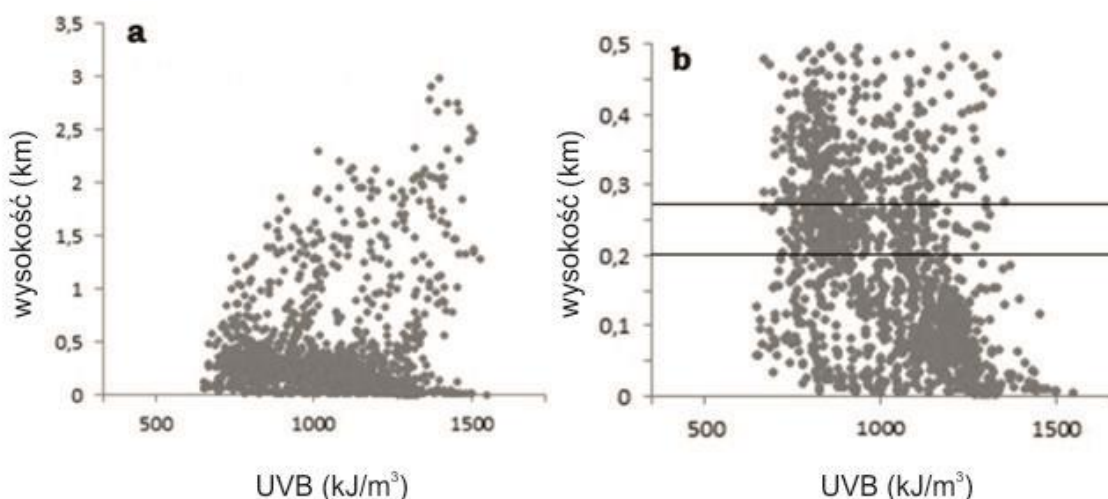
Jak wynika z powyższych wykresów, w każdym wypadku otrzymujemy spadek zapadalności na raka płuc ze wzrostem koncentracji radonu, choć niewielkie i w granicach błędu statystycznego.

W wyniku analizy bayesowskiej, zakładając zależność liniową, otrzymano następujące wyniki dla grupy o średnim i wysokim odsetku osób palących:

- a) dla kobiet: $(-0,05 \pm 0,03, -0,08 \pm 0,04)$,
- b) dla mężczyzn: $(-0,11 \pm 0,05, -0,19 \pm 0,07)$,
- c) dla całej populacji: $(-0,11 \pm 0,03, -0,14 \pm 0,02)$ (95%CI).

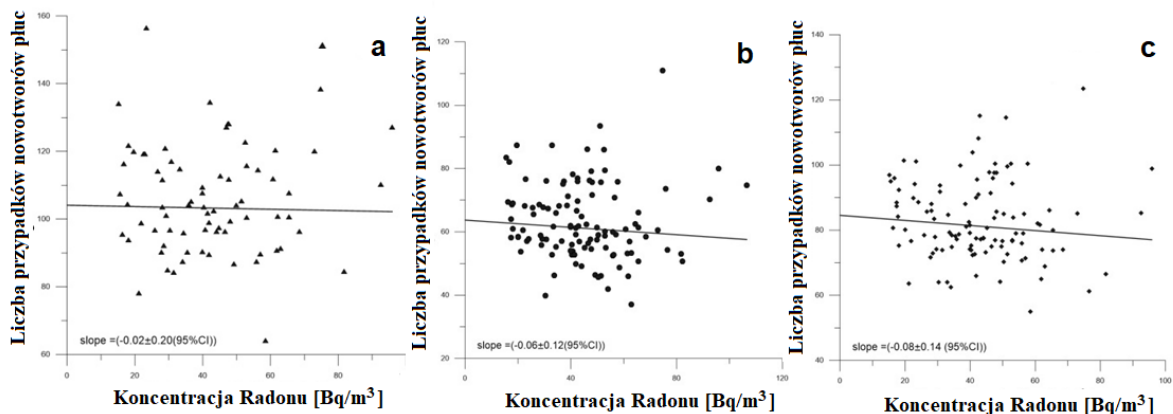
Zbliżone wyniki uzyskano metodą klasyczną (MNK).

W celu weryfikacji wpływu poziomu UVB [kJ/m^3] na zależność koncentracji radonu i zapadalności na nowotwory płuc, wybrano wąskie przedziały UVB: niski (644,67-945,46), średni: (945,46-1246,26), wysoki: (1246,26-1547,05) oraz porównano wyniki dopasowania dla poszczególnych grup w tych przedziałach (Rys 5.12, A i B).



Rysunek 5.12. Zależność poziomu promieniowania UVB (kJ/m^3) od wysokości nad poziomem morza, na podstawie danych z grupy o średnim odsetku osób palących. a – cały przedział wysokości, b – poniżej 500m, linie ciągłe wskazują na zakres wybranych wartości do dalszej analizy.

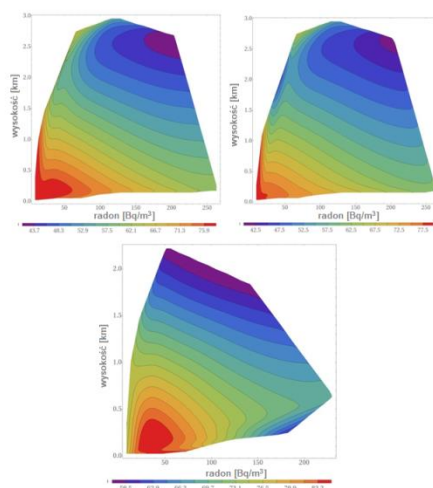
Nie stwierdzono korelacji poziomu UVB z otrzymanymi wynikami, niemniej jednak, w celu wyeliminowania potencjalnego wpływu tego czynnika na wynik, ograniczono zakres danych do pojedynczego, średniego przedziału promieniowania ultrafioletowego typu B (Rysunek 5.12 A i B).



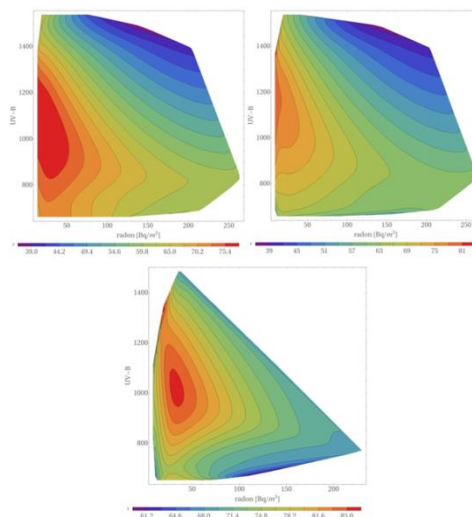
Rysunek 5.13. Zapadalność na nowotwory płuc (na 100,000 przypadków) w funkcji koncentracji radonu (Bq/m^3) w grupie o średnim odsetku osób palących, dla a-mężczyzn, b-kobiet oraz c-ogółu populacji, z uwzględnieniem ograniczenia danych ze względu na poziom promieniowania UVB.

Nachylenia po uwzględnieniu poziomu UVB (Rys. 5.13) nie różnią się, w granicach wartości niepewności, od zaprezentowanych w Tabelach U9(1-3), przed redukcją liczby punktów do wybranego zakresu UVB (Rys. 5.3). Porównując rysunki 5.10 i 5.13 widać, że nachylenie prostej po uwzględnieniu czynnika UVB wynosi odpowiednio: $(-0,06 \pm 0,12)$ dla kobiet, $(-0,02 \pm 0,20)$ dla mężczyzn, $(-0,08 \pm 0,14)$ dla wszystkich przypadków, w stosunku do wyników nie uwzględniających poziomu UVB: $(-0,06 \pm 0,04)$ dla kobiet, $(-0,10 \pm 0,07)$ dla mężczyzn, $(-0,10 \pm 0,04)$ dla wszystkich przypadków. Nie oznacza to, że hipoteza o wpływie promieniowania słonecznego na zahamowanie rozwoju nowotworów nie jest słuszna. Na podstawie powyższych danych jednak nie obserwuje się silnego efektu dla nowotworów płuc i jeśli rzeczony efekt występuje, to nie wpływa on na zależność dawka-efekt dla małego przedziału rocznych dawek równoważnych na płuca (poniżej wartości 50 mSv/rok). W granicach błędów statystycznych (przed ograniczeniem danych do konkretnego zakresu poziomów UVB, co spowodowało zwiększenie wartości błędów) nachylenia mają wartość ujemną (Rys. 5.10), co wskazuje na negatywną korelację koncentracji radonu z zapadalnością na nowotwory płuc.

Na rysunkach 5.14 i 5.15 zaprezentowano wyniki uzyskane przy pomocy Metody Maksymalnej Entropii (Reszczyńska i in., 2019) w postaci map konturowych, gdzie izodozy reprezentują liczbę przypadków nowotworowych w funkcjach wysokości i koncentracji radonu oraz poziomu promieniowania UVB oraz koncentracji radonu (dla całego zakresu wysokości). Ze względu na niską liczbę danych, nie uwzględniono grupy o niskim odsetku osób palących.



Rysunek 5.14. Wykresy konturowe zapadalności na nowotwory płuc w funkcji wysokości, dla całej populacji (pierwszy górny), grupy o średnim odsetku palaczy (drugi górny) oraz dla wysokiego odsetka palaczy (trzeci, dolny wykres). (autor dr Maciej Pylak, źródło: Reszczyńska i in., 2019).



Rysunek 5.15 Wykresy konturowe zapadalności na nowotwory płuc w funkcji poziomu promieniowania UVB, dla całej populacji (pierwszy górny), grupy o średnim odsetku palaczy (drugi górny) oraz dla wysokiego odsetka palaczy (trzeci, dolny wykres). (autor M. Pylak, źródło : Reszczyńska i in., 2019)

Na powyższych mapach można zauważyć wyraźny spadek zapadalności na nowotwory płuc wraz z koncentracją radonu, dla każdej wysokości zamieszkania. Jest to dodatkowa informacja, wynikająca z tej części analizy, która stawia wnioski uzyskane przez autorów bazy danych (Simeonova i Himmelsteina) w nowym świetle. W odniesieniu do zależności zaprezentowanej na rysunku 5.15, również obserwuje się spadek zapadalności na nowotwory płuc wraz z koncentracją radonu, jednakże, maksimum przypadków nowotworów płuc przypadająca w zakresie UVB na poziomie 1000 [kJ/m³], sugeruje występowanie nie analizowanej wcześniej dodatkowej zależności. Możliwe, jak w podejściu hormetycznym, że małe koncentracje promieniowania UVB, do pewnego progu – mają działanie stymulujące, jak sugerują autorzy, natomiast powyżej tego poziomu – wiążą się z pewnym dodatkowym ryzykiem w kontekście indukowania nowotworów płuc. Niemniej jednak, aby móc wysunąć tak daleko idący wniosek, należy dokładnie przeanalizować warunki (inne czynniki) związane z zawyżonym poziomem UVB. Możliwe bowiem, że efekt ten związany jest np. z gęstością powietrza, bądź innymi czynnikami nie wziętymi tutaj pod uwagę.

5.3.4 Wnioski

W wyniku przedstawionej analizy danych można stwierdzić, że dane dotyczące koncentracji radonu w budynkach oraz przypadków nowotworów płuc (na 100 tys. mieszkańców) pokazują, że istnieje widoczna negatywna korelacja zachorowalności na raka płuc wraz ze wzrostem stężenia radonu w zakresie małych dawek promieniowania (poniżej $E \approx 6,7$ mSv/rok, tj. koncentracji poniżej 300 Bq/m³). Nie jest to spowodowane wysokością nad poziomem morza, czy poziomem promieniowania UVB. W związku ze stosunkowo dużymi wartościami niepewności, można wnioskować jedynie o braku znaczącego świadectwa dla wzrostu zapadalności na nowotwór płuc ze wzrostem koncentracji radonu.

Duże rozproszenie danych wiąże się z małą mocą statystyczną otrzymanych wyników, za czym idzie dokładność oszacowanego nachylenia. Analiza bayesowska potwierdziła, że w badanym obszarze koncentracji radonu najbardziej wiarygodnym wnioskiem z danych jest brak wystarczająco mocnych danych, które pokazywałyby istotny wpływ radonu na zapadalność na nowotwory płuc. Metoda maksymalnej entropii pokazała dodatkowo, że analizowana zależność nie jest skorelowana z wysokością zamieszkania nad poziomem morza oraz że liczba przypadków nowotworów płuc nie rośnie, ale maleje wraz z koncentracją radonu w przedziale do 300 Bq/m³.

W niniejszym podrozdziale pokazano w jaki sposób dobór danych oraz uwzględnienie czynników obciążających (konfundujących) wpływa na wyniki analizy danych epidemiologicznych, na których opiera się wiedza dotycząca wpływu promieniowania jonizującego na człowieka, oraz wskazano na czułość wyników badań epidemiologicznych względem doboru metody grupowania danych.

5.4 Podsumowanie

W nawiązaniu do niedawnych zmian w przepisach ochrony radiologicznej dotyczących wprowadzenia poziomów referencyjnych stężeń radonu w budynkach mieszkalnych, istotną kwestią jest określenie faktycznego zagrożenia zachorowania na nowotwory płuc determinowanego przez niewielkie dawki promieniowania będące stałym składnikiem naszego środowiska. Na podstawie analizy statystycznej uwzględniającej 34 różne wyniki opublikowanych prac dotyczących wpływu radonu na raka płuc (Dobrzyński i in., 2017) dla ponad 28 000 przypadków nowotworów płuc i 900 000 osób z grupy kontrolnej, oraz analizy statystycznej surowych danych opublikowanych w bazie Simeonova i Himmelsteina (2015) dla populacji 264 744 400 mieszkańców Stanów Zjednoczonych, pokazano, że hipoteza progowa (która jest tożsama z modelem stałej w zakresie niskich koncentracji radonu) najlepiej opisuje zebrane dane. W obszarze małych dawek równoważnych na płuca (H) poniżej 150 mSv/rok pochodzących od inhalowanego radonu nie obserwuje się znaczącej statystycznie zmiany ryzyka nowotworowego dla płuc ($RR = 1$).

Jak opisano w poprzednich rozdziałach, informacje dotyczące radiacyjnego ryzyka nowotworowego pochodzą głównie z analiz przypadków lub śmiertelności osób, nazwanych mianem populacji LSS (ang. *Life Span Studies*), które przeżyły napromienianie podczas eksplozji bomb jądrowych w Hiroszynie i Nagasaki. Kolejną grupą są osoby narażone na promieniowanie zawodowo oraz pacjenci poddawani procedurom medycznym z użyciem promieniowania jonizującego. Dane zawierają również informacje dotyczące osób narażonych na źródła środowiskowe, sztucznie lub naturalnie występujące pierwiastki promieniotwórcze (jak w przypadku radonu kumulującego się w budynkach mieszkalnych) (UNSCEAR 2010). Zależność dawka-efekt w kontekście choroby nowotworowej dla małych dawek promieniowania wciąż nie jest jednoznacznie znana. Na przykładzie ryzyka radonowego pokazano problemy związane z metodyką analizowania danych z tego zakresu dawek. Wynik zaprezentowanych analiz pokazał, iż najbardziej prawdopodobnym modelem

w ocenie tegoż ryzyka jest model stały, pokazujący brak zależności w obszarze małych dawek. Ze względu na duże wartości niepewności w obszarze dawek poniżej 100 mGy dane epidemiologiczne nie mogą służyć za jedyny wyznacznik zależności dawka - efekt (UNSCEAR 2010, Scott 2019). Z tego względu kompleksowe podejście powinno uwzględniać (poza wymienionymi) dane eksperymentalne na komórkach ludzkich, organizmach zwierzęcych oraz modele biofizyczne oparte na aktualnej wiedzy z zakresu radiobiologii i biofizyki radiacyjnej.

Rozdział 6

Modelowanie biofizyczne transformacji nowotworowej

Niniejszy rozdział opisuje numeryczne oraz analityczne modelowanie odpowiedzi komórek na promieniowanie jonizujące, z uwzględnieniem podstawowych mechanizmów zachodzących na poziomie subkomórkowym w organizmie człowieka. Zaprezentowano nowy model nazwany LTC („*Lesion to Cancer*”) opisujący przejście od uszkodzenia materiału genetycznego DNA do transformacji komórki w komórkę nowotworową i uformowania się nieunaczynionego nowotworu litego. Zaprezentowano przestrzenny i czasowy rozwój populacji komórkowej bazujący na funkcjach prawdopodobieństwa aktywowanych stopniowo i zależnych od siebie procesów takich jak powstanie uszkodzenia, naprawa DNA, mutacja w obrębie genów związanych z procesem nowotworzenia i rozwój kolonii komórek nowotworowych. Jest to najważniejsza część pracy, ponieważ prezentuje koncepcję biofizycznego oddziaływania promieniowania jonizującego na poziomie całego organizmu, w zamyśle efektów związanych z małymi dawkami. Jest to jeden z nielicznych uniwersalnych modeli biofizycznych opisujący tę zależność. Rozważania uwzględniają zależność efektów od czasu, dla dwóch kategorii: krótkotrwałej (ostrej) i długotrwałej (chronicznej) ekspozycji. Ostatecznie liczba komórek nowotworowych w funkcji czasu opisana została funkcją Gomperta, która dobrze odwzorowuje dane doświadczalne rozrostu komórek nowotworowych w lity guz (nowotwór). Wyniki zostały dopasowane do danych pochodzących z doświadczeń prowadzonych na komórkach, w tym ludzkich. Zmieniająca się dynamika zachowania komórek nowotworowych wykazuje cechy opisywane w teorii przejść fazowych, których przykładem mogą być przejścia fazowe opisywane w magnetyzmie jako perkolacje.

6.1 Wybrane modele biofizyczne transformacji nowotworowej

Podstawą opisu efektów popromiennych w radiobiologii i biofizyce radiacyjnej jest teoria tarczy, która wyjaśnia destruktywny wpływ promieniowania jonizującego przy założeniu, że w komórce znajdują się części niezbędne dla jej przeżycia tzw. tarcze (cele). Pośrednie lub bezpośrednie uszkodzenie tych elementów („trafienie tarczy”) powoduje śmierć komórki (Lea 1946). Najwrażliwszą strukturą w organizmie jest materiał genetyczny (DNA – kwas deoksyrybonukleinowy). W DNA występują sekwencje, które odpowiadają za utrzymanie zdolności reprodukcyjnych komórek. Uszkodzenie promieniowaniem jonizującym tych specyficznych rejonów powoduje inaktywację komórki, czyli utratę klonogenności. Potwierdzono istnienie korelacji pomiędzy uszkodzeniami DNA, aberracjami chromosomowymi i przeżywalnością komórek. W klasycznym modelu liniowo-kwadratowym założono, że prawidłowa sekwencja DNA zostaje utracona, gdy nastąpi przerwanie łańcucha DNA, a więc uszkodzenie obu nici w bliskich punktach. Następuje wtedy śmierć komórki. W przypadku pojedynczego uszkodzenia możliwa jest naprawa DNA. Model LQ, stosowany do opisu odpowiedzi komórek w badaniach *in vitro* oraz *in vivo* (przeżywalność S), ma postać (Hall i in, 2010):

$$S = \exp(-\alpha D - \beta D^2) \quad (6.1)$$

W modelu tym założono występowanie dwóch stałych opisujących śmierć komórki na skutek działania określonej dawki. Parametry α i β są stałymi równania odpowiedzialnymi za uszkodzenia śmiertelne (α) i potencjalnie śmiertelne (β).

Model LQ w jego najbardziej aktualnej wersji opisuje śmiertelność komórek na skutek działania promieniowania jonizującego uwzględniając poniższe mechanizmy:

1. Promieniowanie jonizujące powoduje powstanie dwuniciowych pęknięć DNA (DSB, ang. *Double Stand Breaks*) proporcjonalnie do dawki.
2. DSB DNA mogą zostać naprawione ze stałą wydajnością λ ($\lambda = \ln 2/T_{1/2}$, gdzie $T_{1/2}$ jest połowicznym czasem naprawy). Model LQ może być rozszerzony do takich przypadków, gdzie w praktyce może wystąpić kilka typów DSB, które mogą być naprawiane z różną wydajnością.
3. W czasie naprawy DSB często występują błędy lub kolejne uszkodzenia wywołane inną ścieżką jonizacji (np. przez inny foton), co może powodować śmiertelne zmiany (najczęściej aberracje chromosomowe) proporcjonalnie do kwadratu dawki. Dwie

niezależne ścieżki jonizacji mogą się pojawić w różnym czasie w ciągu trwającej naprawy DNA (klastrowe). Jeśli czas pomiędzy niezależnymi uszkodzeniami będzie dłuższy - uszkodzenia nie nałożą się na siebie, co oznacza, że nie będzie można ich zsumować (co stosuje się przy założeniu dawki kumulacyjnej)

4. Ponadto pojedyncze ścieżki jonizacji (trafienia) mogą wywoływać śmiertelne zmiany w komórce.

Model liniowy (UNSCEAR 1986 Aneks B, Muller 1958) został opracowany na podstawie postulatu, w którym każda depozycja energii w tarczy (DNA w komórce) związana jest z prawdopodobieństwem powstania mutacji (nienaprawialnego lub nieprawidłowo naprawionego uszkodzenia), które w przypadku ciągłego napromieniania według założeń modelu powinno być addytywne. Model LQ i jego modyfikacje są stosowane do opisu przeżywalności komórek poddanych działaniu dawek promieniowania powyżej 1 Gy.

Na przełomie ostatnich kilkudziesięciu lat powstało wiele modeli mechanistycznych opisujących efekty popromienne, na różnych poziomach organizacji organizmu, bazując na stochastycznym procesie depozycji energii.

6.1.1 Przegląd istniejących modeli

Jednym z pierwszych stosowanych ogólnie modeli biofizycznych opisujących popromienny rozwój nowotworu były modele mechanistyczne, w których głównym celem było zrozumienie mechanizmów, stojących za transformacją nowotworową.

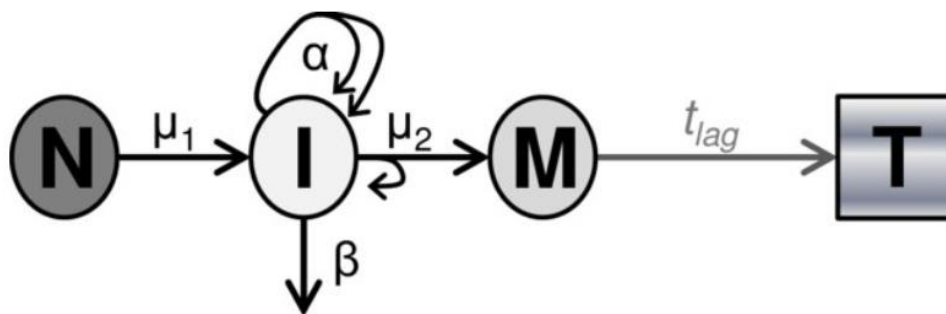
Są to:

1. model wieloetapowy Armitage'a-Doll'a (1954), opisujący kwestię transformacji nowotworowej w funkcji wieku w postaci nakładających się uszkodzeń powstających na drodze wielu etapów w czasie. Prawdopodobieństwo pierwszej zmiany (uszkodzenia), w komórce (dla jej wieku t) wynosi $\mu \cdot t$. Przy czym sugerowana przez autorów modelu liczba etapów transformacji nowotworowej (k) wynosi 4 - 6 (Frank 2004). Etapy te zachodzą w różnych momentach w czasie życia człowieka. Częstość transformacji (I) na podstawie założeń tego modelu można opisać za pomocą następującej funkcji (Ritter i in., 2003):

$$I = a \cdot t^{k-1} \quad (6.2)$$

gdzie: a jest iloczynem prawdopodobieństw powstania zmiany na każdym z etapów.

2. model dwuetapowy Armitage'a-Doll'a, w którym zredukowano liczbę etapów opisanych w pierwszym podejściu. koncepcja oparta jest na założeniu, że komórki (typu 0) ulegają mutacji z częstością μ_1 , przekształcając się w komórki z zapoczątkowanym procesem nowotworzenia (typu 1). Następnie, w czasie t rozrastają się eksponentalnie w tempie λ , z częstością mutacji μ_2 stając się komórkami złośliwymi (typu 2) (Lian 2018). Dalsze modyfikacje modelu przeprowadzili m.in. Chu i in. oraz Little i in. (Tan i in., 1998).
3. Uogólnione modele Moolgavkar'a-Venzon'a-Knudson'a (MVK), uwzględniają dalsze modyfikacje etapowych procesów opartych na powyższych założeniach. W tym modelu N zdrowych komórek przekształca się w tempie μ_1 w komórki zainicjonowane (I), które mogą ulec mitozie (symetryczny przyrost $I(+1)$ lub asymetrycznie: typ $I + M(+1)$, gdzie M to komórki złośliwe, z częstością α lub μ_2) lub umrzeć lub zróżnicować się z częstością β . Komórki typu M rozwijają się z czasem w nowotwór. W opisie matematycznym wprowadza się typowe parametry, gdzie: $n+1$ – liczba niezależnych kroków niezbędna do transformacji, μ – częstość transformacji na rok, t – liczba lat. Mutacje mogą być powodowane przez promieniowanie jonizujące bądź czynniki endogenne, dlatego parametr μ_1 powinien być przeskalowany niezależnie względem dawki czy mocy- dawki tak, aby opisywać liczbę SSB oraz DSB. Dla ułatwienia schemat modelu zaprezentowano na rysunku 6.1.



Rysunek 6.1. Schemat koncepcji modelu Moolgavkara, Venzona i Knudsona (model MVK). Bloki reprezentują stan komórki N – normalny, I – zainicjonowany (zmutowany), M – złośliwy, T – nowotwór. Strzałki pokazują kierunek przebiegu procesów zachodzących na ścieżce transformacji, gdzie $\mu_{1,2}$ – parametry opisujące częstość transformacji na rok t , t_{lag} to czas utajenia nowotowru (w latach), α , β – parametry związane z dynamiką cyklu komórkowego (Źródło: Rödel, Franz & Frey., 2012)

Modelowanie odpowiedzi komórek na promieniowanie jest zasadniczą częścią m.in. planowania radioterapii, z tego względu w literaturze większość modeli prezentujących

podejście do opisu tego zjawiska ujmowane jest w kontekście dużych dawek terapeutycznych (McMahon, 2017, Boldgi, 2016, Hawkins, 2017), w którym modelowana jest przeżywalność komórek po napromienianiu. Odmienne podejście, użyteczne w kontekście małych dawek promieniowania, to modele biofizyczne, w których szacowane jest prawdopodobieństwo powstania mutacji oraz w efekcie popromiennych transformacji nowotworowych (Schöllnberger 2001, Feinendegen, 2004; Scott i in., 2008; Little 2008, Manabe 2014). Złożoność procesów zachodzących na poziomie organizacji tkanki nakłada konieczność uwzględnienia procesów zachodzących pomiędzy składowymi (komórek), rozważanych poziomów organizacji oraz mechanizmów w nich zachodzących. Modele te są często zbyt złożone, aby otrzymać rozwiązania analityczne, z tego względu obecnie większość modeli w tej tematyce to modele numeryczne (Fischer i in., 2008). Uproszczenia zastosowane w modelu mają na celu redukcję dużej liczby parametrów stanowiącą ograniczenie stosowalności matematycznego opisu badanego zjawiska. W omawianym przypadku jest to szczególnie trudne ze względu na różnorodność i nieprecyzyjność danych eksperymentalnych. Klasyczne modele są to w większości podejścia deterministyczne, oparte na opisie ściśle analitycznym, wykorzystujące klasyczne równania różnicowe (dyskretne) oraz różniczkowe (ciągłe), dające dla takich samych wartości początkowych powtarzalne wyniki. Nie odwzorowują więc stochastycznego zachowania tak złożonego organizmu jak tkanka ludzka i z tego względu preferowane jest uzyskanie modelu stochastycznego, odzwierciedlającego fluktuacje w reakcjach grupy komórek (Fornalski i in., 2011). Rozwój nauki i technologii pozwolił w przeciągu ostatnich dekad na szersze zrozumienie procesów zachodzących podczas kancerogenezy. W związku z tym pojawił się szereg prac, w których autorzy analizowali stochastyczną zależność dawka-efekt w kontekście rozwoju popromiennych transformacji nowotworowych i małych dawek promieniowania. Zbiór prac jest bardzo obszerny i zawiera takie publikacje jak: Moolgavkar and Luebeck (1990); Crawford- Brown i Hofmann (1990, 1993); Chen i Tan (1998); Bond i in., (1995); Rossi i Zaider (1998); Becker (1995, 2005); Bogen (1998, 2011); Calabrese i Baldwin (1998, 1999); Calabrese i in. (1999); Kondo (1999), Fleck i in. (1999 2005), Pollycove i Feinendegen (1999, 2001); Brenner i in. (2001); Feinendegen i in. (2000, 2009); Schollnberger i in. (2001, 2002), Calabrese i Baldwin (2003); Scott i in. (2004, 2007, 2011, 2013); Shuryak i in. (2009); Leonard i in. (2008, 2011); Wodarz i in. (2014), Manabe i in. (2012, 2014). Większość modeli opisuje liczbę powstających mutacji nowotworowych w kolonii komórkowej poddanej działaniu promieniowania jonizującego w funkcji dawki promieniowania (Manabe i in.,

2014). Do opisu dynamiki systemów biologicznych najczęściej stosowane są modele logistyczne (Li i in., 2011), szczególnie w przypadku rozwoju komórek nowotworowych (Zhong i in., 2006). W ostatnich latach większą uwagę kieruje się w stronę roli sygnałów międzykomórkowych regulujących pracę całego środowiska komórkowego (Mothersill i in., 2017), zarówno w zdrowych tkankach jak i nowotworowych (Metzcar i in., 2019). Według niektórych teorii kooperacja pomiędzy komórkami nowotworowymi może prowadzić do zwiększenia tempa proliferacji złośliwych komórek i formacji nowotworowej (Liang i in., 2019). Tzw. modele Allee’go (Charlebois i in., 2019) opisują minimalną gęstość komórek inicjujących sygnały w przestrzeni tkankowej (Johnson i in., 2019), dla małej grupy populacji, zdolnych do lokalnych interakcji (Gastner i in., 2011). W literaturze istnieje szereg prac prezentujących powiązania zjawiska perkolacji z modelem Allee’go (Gastner i in., 2011, Liang i in., 2019), również w kontekście transformacji nowotworowej (Jiang i in., 2016, Johnson i in., 2019).

6.1.2 Model „Whack-a-mole”

Jednym z modeli uwzględniających zależność efektu od mocy dawki promieniowania jest japoński model WAM (Whack-a-Mole) (Manabe i in. 2014). Autorzy modelu w równaniach różniczkowych wzięli pod uwagę takie procesy jak proliferacja, naprawa i apoptoza komórek zdrowych i zmutowanych oraz parametry szybkości reakcji zależne bezpośrednio od mocy dawki. Wprowadzono również do opisu uniwersalne parametry w celu dopasowania modelu do różnych gatunków organizmów przy pomocy wyprowadzonej w pracach funkcji skalującej, co pokazano dla 5 gatunków w pracy z roku 2014, dla dawek z przedziału 0.1-10 Gy, z przewagą danych dla dawek promieniowania powyżej 1 Gy. W ich modelu częstość mutacji z dawką promieniowania opisana jest za pomocą dwóch członów:

$$F = \begin{cases} (a_1 - b_1 F_s) dt + F_s, & \tau = (b_0 b_1 d) t \leq 1 \\ \left(\frac{a_0 a_1 d}{b_0 b_1 d} \right), & \tau = (b_0 b_1 d) t \geq 1 \end{cases} \quad (6.3)$$

gdzie: τ – jest nową zmienną, skalującą czas przy pomocy funkcji parametrów $b_0 b_1 d = R_{nm}$, która opisuje powstawanie mutacji w komórkach zdrowych, a_0 , a_1 – parametry związane z mutacją komórki, natomiast parametry b_0 i b_1 – związane są z naprawą po napromienianiu bądź apoptozą komórek, pierwsze opisują odpowiedź względem czasu, drugie dawki, d – odnosi się do dawki promieniowania zdeponowanej w komórce (Wada i in., 2015).

F_s to liczba zmutowanych komórek przed naprawą, a_0, a_1, b_0, b_1 to parametry modelu dopasowane na podstawie danych doświadczalnych, dla myszy i muszek owocówek a_0 (1/h) = $3.2 \cdot 10^{-8}$ i $3.5 \cdot 10^{-5}$ a_1 (1/Gy) = $2 \cdot 10^{-5}$ i $3.2 \cdot 10^{-3}$, b_0 (1/h) i b_1 (1/Gy) $1 \cdot 10^{-3}$ i $1 \cdot 10^{-1}$ (dla myszy) lub $1 \cdot 10^{-2}$ i $1 \cdot 10^{-4}$ (dla muszek owocówek).

Najsilniejszym punktem modelu jest wynik, który wskazuje na nasycanie się liczby mutacji z czasem przy napromienianiu ciągłym, dla pewnej wartości czasu krytycznego t_c , odpowiadającego dawce krytycznej D_c .

$$t_c = (b_0 + b_1 d)^{-1}, D_c = d t_c = \frac{d}{b_0 + b_1 d} \quad (6.4)$$

gdzie: d jest mocą dawki, b_0 (1/godz.) i b_1 (1/Gy) to parametry modelu określone na podstawie danych eksperymentalnych odpowiednio na : $1 \cdot 10^{-3}$ i $1 \cdot 10^{-1}$ (dla myszy) lub $1 \cdot 10^{-2}$ i $1 \cdot 10^{-4}$ (dla muszek owocówek). Są parametry związane z czasem do momentu osiągnięcia maksymalnej wydajności systemu naprawy DNA w kontekście opisu matematycznego odpowiedzi adaptacyjnej.

6.1.3 Model „RCM-RA”

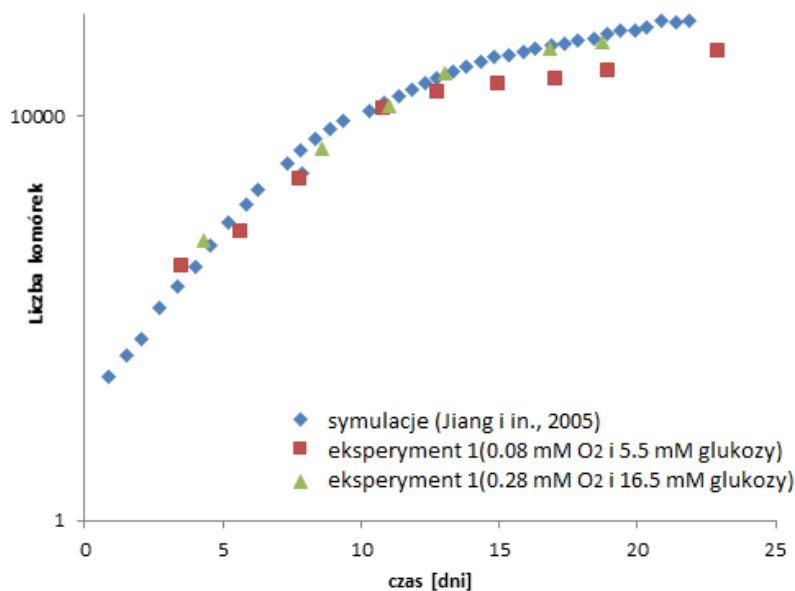
Zależność częstości powstawania mutacji nowotworowych od mocy dawki była analizowana w serii prac H. Schöllnbergera (2004, 2005), które koncentrują się na produkcji wolnych rodników tlenowych. Autor prezentuje rozwinięcie modelu RCM-RA (ang. *Random Coincidence Model – Radiation Adapted*), opublikowanego w pracy Flecka i in., (1999), którego również był współautorem. Model ten odnosi się do formowania się nowotworu w procesie wieloetapowym, jednakże w następstwie uszkodzeń tzw. genów krytycznych (dla rozwoju nowotworu). Są to onkogeny (geny nowotworowe powstające z protoonkogenów nadzorujących przebieg procesów w cyklu komórkowym np. tempo proliferacji komórki) i geny supresorowe (ograniczające procesy związane z cyklem komórkowym, np. rozrost komórki), oba typy genów zostały powiązane z procesem kancerogenezy. Uszkodzenie może powstać zarówno poprzez promieniowanie jonizujące, jak i naturalne procesy metaboliczne. W modelu założono negatywne działanie promieniowania jonizującego, niezależnie od dawki promieniowania, ale uwzględniono mechanizmy naprawcze DNA, co poskutkowało otrzymaniem przez autorów prognozy dawki/mocy dawki na indukcję transformacji nowotworowej. Nazwa modelu pochodzi od koincydencji powstających uszkodzeń pojedynczej nici DNA w czasie, w wyniku których powstają dodatkowe uszkodzenia obu nici DNA. Założono również, że poprzez nadmiarową produkcję antyutleniaczy możliwe jest zredukowanie uszkodzeń pochodzenia metabolicznego w wyniku napromieniania komórek. Ponieważ koncepcja koincydencji uszkodzeń w powstawaniu mutacji została w niniejszej rozprawie oparta na modelu RCM-RA, opis matematyczny tego modelu znajduje się w rozdziale opisującym model LTC.

6.1.4 Model „Gompertzowskiego rozrostu”

Opis dynamiki rozwoju komórek nowotworowych począwszy od pojedynczej komórki nowotworowej rozwijającej się w wielokomórkową sferoidę, można opisać przy użyciu modelu wzrostu guza w fazie nieunaczynionej (Jiang i in., 2005). Podejście wieloskalowe oparte jest na 3 zasadniczych poziomach. Na poziomie komórkowym autorzy wprowadzili modelowanie Monte Carlo dyskretnej sieci komórek proliferujących, wymierających wraz z czynnikami odpowiadającymi za adhezję¹⁶ sąsiednich komórek. Na poziomie

¹⁶adhezja [łac.], przyleganie, przyczepność, zjawisko przylegania powierzchniowych warstw 2 różnych (stałych lub ciekłych) faz (ciał) na podstawie definicji Encyklopedii PWN.

subkomórkowym użyto sieci boolowskiej do opisu ekspresji białek regulujących cykl komórkowy. Na poziomie tkanki wprowadzono szereg równań różniczkowych opisujących dyfuzję, konsumpcję oraz produkcję składników odżywczych, metabolitów, promotorów wzrostu, inhibitorów wzrostu (Jiang i in., 2005). Ważnym elementem modelu jest wpływ środowiska na stymulowanie bądź hamowanie progresji kancerogenezy. W modelu tym głównymi parametrami są objętość guza, liczba komórek, witalność i wielkość saturacji. Model ten, zgodnie z danymi eksperymentalnymi, przewiduje rozrost komórek nowotworowych, który również opisywany jest funkcją Gompertza i został porównany do danych pochodzących z dwóch eksperymentów na komórkach nowotworowych hodowanych w różnych warunkach środowiska (tlen i pożywienie). Na rysunku 6.2 przedstawiono wyniki autorów modelu opisującego rozrost nieunaczynionego guza (użyta na wykresie skala półlogarytmiczna nie odzwierciedla dobrze rozbieżności modelu z doświadczeniem).



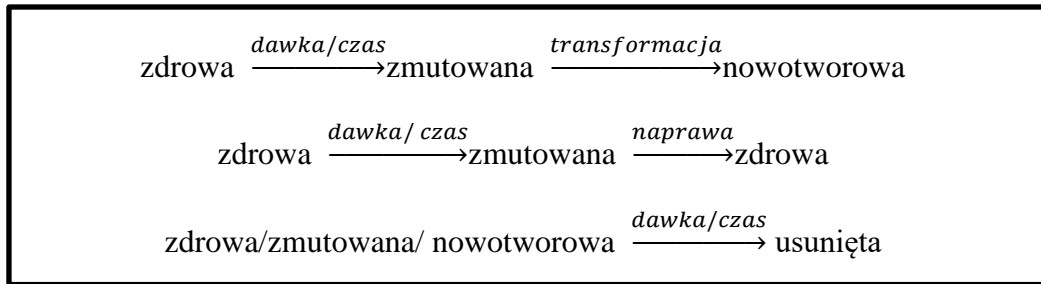
Rysunek. 6.2. Zależność liczby komórek nowotworowych w funkcji czasu (dni), prezentująca dynamikę rozrostu guza nowotworowego w fazie nieunaczynionej względem warunków środowiska. Kolorem niebieskim zaznaczono wyniki symulacji modelu dyfuzyjnego opartego o funkcję Gompertza w postaci $y = y_0 \exp(a(1 - \exp(-bt)))$, kolorem czerwonym i niebieskim punkty eksperymentalne z 2 eksperymentów, w których hodowla komórkowa prowadzona była w różnych warunkach natlenienia i zawartości pożywki (glukozy). Saturacja rozrostu następuje po czasie 28-30 dni. W doświadczeniu użyto komórek mysich EMT6/Ro. Opracowanie własne na podstawie Jiang i in., 2015.

6.2 Stochastyczny model komórkowy i jego rozwinięcie deterministyczne

Opis modelu transformacji nowotworowej opiera się na szeregu prac, w których opisano kilka mechanizmów zachodzących w układzie złożonym z grupy komórek w różnych stanach (opis stochastyczny) oraz funkcje prawdopodobieństwa poszczególnych mechanizmów (opis deterministyczny). Uwzględniono również odpowiedź względem dawki, czasu i mocy dawki. W dalszej części rozprawy posłużono się niektórymi funkcjami prawdopodobieństwa bazując na opisie stochastycznego drzewa prawdopodobieństw i analitycznego opisu ogólnej funkcji opisującej transformację nowotworową.

6.2.1 Założenia i opis fenomenologiczny

Stochastyczny model biofizyczny opracowany i opublikowany w szeregu prac (Fornalski i in., 2011a; 2011b, 2014a, 2014b) opisuje wirtualną kolonię komórek poddanych działaniu promieniowania jonizującego. Autorzy w podejściu stochastycznym wykorzystali metodę Monte Carlo opartą na łańcuchach Markowa z pamięcią. Opis przedstawia drzewo prawdopodobieństw (stałych) lub funkcji prawdopodobieństwa procesów zachodzących na poziomie komórki w zależności od jej stanu. Pokazano, że nałożenie się liniowych procesów prowadzi do nieliniowej odpowiedzi grupy komórek. W modelu uwzględniono zależność od czasu oraz dawki promieniowania, przypisując dawkę D na jeden krok czasowy. Opracowano algorytm, który pokazuje dynamikę modelowanego systemu w funkcji mocy dawki, przy napromienianiu ciągłym. W tym modelu zostały opisane 3 podstawowe stany komórek poddanych działaniu promieniowania jonizującego prowadzącego do zmiany jednego stanu w drugi. Uwzględniono również proces naprawy oraz eliminacji komórek poddanych działaniu wspomnianego stresora. Wyróżnione stany to: zdrowa – brak mutacji w DNA, zmutowana – powstały trwałe modyfikacje struktury DNA, nowotworowa – nabyte mutacje aktywowały proces transformacji nowotworowej (Rys.6.3).



Rysunek 6.3. Uproszczony schemat modelu transformacji komórek nowotworowych, oparty na podejściu stochastycznym opisanym w pracy (Fornalski i in., 2011, 2014). Opracowanie własne. Obecnie ten model został rozwinięty do 4 stanów (dodano stan II: uszkodzona), co zostało opisane w pracy magisterskiej mgr inż. Pawła Wysockiego (Wysocki, 2019).

Procesy, którym przypisano stałe wartości prawdopodobieństwa, to naturalna śmierć komórki nowotworowej oraz podział komórki zdrowej, zmutowanej i nowotworowej. Quasi-liniowe (osiągające asymptotycznie nasycenie) funkcje prawdopodobieństwa przypisano procesom: uderzenia w DNA, powstania następnych mutacji, śmierci zdrowej i nowotworowej komórki w wyniku napromieniania oraz efektowi sąsiedztwa. Sigmoidalne funkcje prawdopodobieństwa zostały wykorzystane w opisie transformacji komórki zmutowanej w nowotworową względem liczby nagromadzonych mutacji. Funkcja odwrotna została zastosowana do opisu prawdopodobieństwa naprawy względem czasu i wieku komórki. Przeskalowane funkcje sigmoidalne zostały użyte do opisu procesów zależnych jedynie od czasu: śmierci komórek zdrowych i zmutowanych z przyczyn naturalnych oraz powstawania mutacji spontanicznych również dla komórek zdrowych i zmutowanych. Natomiast opis odpowiedzi adaptacyjnej, uwzględniający zależność od czasu oraz dawki promieniowania, przedstawiono jako funkcję garbatą asymptotycznie zbieżną do zera (Fornalski 2014), co będzie szczegółowo opisane przy opisie odpowiedzi adaptacyjnej. Uwzględniając podstawowe mechanizmy wyprowadzono rozwijaną w dalszych pracach analityczną funkcję opisującą łączne prawdopodobieństwo transformacji nowotworowej w kontekście efektów popromiennych pochodzących od małych dawek promieniowania, która to funkcja z założenia może podlegać modyfikacji związanej z wprowadzeniem dodatkowych procesów takich jak efekt widza, czy stymulacja systemu immunologicznego (Fornalski i in., 2015). Model analityczny opisano w pracy Dobrzyński i in., 2016. Uwzględniając indukcję uszkodzeń, mutacji DNA, naprawę DNA oraz odpowiedź adaptacyjną uzyskano ogólny kształt krzywej dawka-efekt w postaci funkcji sigmoidalnej, który może być modyfikowany poprzez wprowadzanie dodatkowych członów związanych z takimi procesami jak np. efekt widza czy supresja układu odpornościowego, opisywana w modelu dodatkową funkcją.

W rezultacie funkcję dopasowano do danych zarówno epidemiologicznych jak i badań na komórkach. Dopasowanie pokazało zgodność opisu matematycznego z obserwacjami.

6.3 Ogólny model LTC

Opracowany analityczny model biofizyczny nazwany w niniejszej pracy LTC („*lesion to cancer*”), został opublikowany w pracy (Dobrzyński i in., 2019). Model, którego jestem współautorką, jest modyfikacją podejścia opisywanego we wcześniej cytowanych publikacjach grupy autorów: L. Dobrzyński, K.W. Fornalski, M. Janiak, Y. Socol, i czerpie także z modeli opisanych w drugim podrozdziale. Koncepcja opisana w pracy przedstawia opis wieloetapowej transformacji nowotworowej począwszy od depozycji energii w komórce po utworzenie w tkance guza litego. Na każdym z wymienionych niżej etapów wyprowadzono funkcje prawdopodobieństwa zajścia danego efektu względem czasu i dawki lub mocy dawki zdeponowanej w komórce ludzkiej. Ostatnim etapem modelowania jest przejście z układu pojedynczych komórek nowotworowych do nowotworu jako jednolitej struktury.

6.3.1 Założenia i struktura modelu

Na każdym etapie formowania się nowotworu zachodzą kluczowe, nieliniowe mechanizmy prowadzące do utworzenia uformowanej struktury z pojedynczych komórek uszkodzonych poprzez działanie promieniowania jonizującego. Model ten jest głównym tematem analizowanym w niniejszej pracy. Każdy z wiodących procesów (kolejnych transformacji) ma określony wkład w powstanie komórki nowotworowej.

W przypadku modelowania skutków biologicznych napromienianego organizmu, podstawowa koncepcja opiera się na dodatkowych założeniach:

1. Przekaz energii w materii opisywany jest rozkładem Poissona.
2. Nie rozróżnia się drogi (pośrednia, bezpośrednia) generowania uszkodzeń.
3. Efekty na poziomie komórkowym określane są względem znajdującego się we wnętrzu jądra komórkowego DNA, kodującego informację genetyczną o funkcjonowaniu i budowie innych elementów.

Najbardziej istotne są pęknięcia dwuniciowe (DSB), powstające w obrębie 10 par baz zasadowych (Friedland, 2014), których proces naprawy wymaga więcej czasu oraz którego przebieg względem innych uszkodzeń można uznać za bardziej złożony.

1. Nienaprawione uszkodzenia struktury DNA mogą prowadzić do powstania stałych zmian strukturalnych – mutacji.
2. Kumulacja mutacji (w kodującym fragmencie DNA) w genie supresorowym bądź onkogenie może prowadzić do powstania mutacji nowotworowej, w wyniku której komórka może przejść transformację w komórkę nowotworową.
3. Komórka nowotworowa, w wyniku niekontrolowanych podziałów tworzy nowotwór lity,
4. Proliferacja (podział) może być wstrzymywany przez środowisko komórkowe, w tym dużą rolę odgrywa system immunologiczny.

Model składa się z szeregu funkcji prawdopodobieństwa poszczególnych procesów nakładających się na ścieżkę transformacji nowotworowej, zaprezentowanej na rysunkach (6.3) i (6.4). Poszczególne funkcje prawdopodobieństwa oraz ich znaczenie podsumowano w Tabeli 6.1.

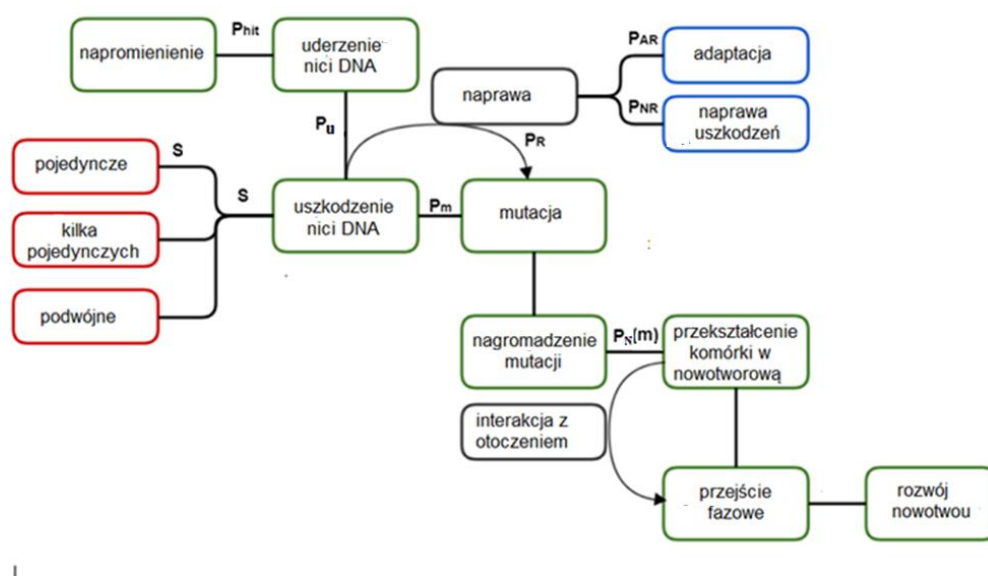
Tabela 6.1. Podsumowanie funkcji prawdopodobieństwa opisanych w modelu

<i>Funkcje prawdopodobieństwa</i>	<i>Opisywany proces</i>
P_{hit}	<i>uderzenie kwantu promieniowania/cząstki w DNA</i>
P_U	<i>utworzenie uszkodzenia w DNA</i>
S	<i>wystąpienie jednego z typów uszkodzeń w czasie</i>
P_M	<i>utworzenie stabilnej mutacji w czasie</i>
P_R	<i>proces naprawy, zredukowanie liczby uszkodzeń/mutacji w czasie</i>
P_{AR}	<i>aktywowany radiacyjnie mechanizm odpowiedzi adaptacyjnej</i>
P_{NR}	<i>naturalna naprawa uszkodzeń DNA w czasie</i>

6.3.2 Procesy prowadzące do transformacji nowotworowej

W modelu LTC zostały opisane 4 podstawowe etapy transformacji nowotworowej, przedstawione poglądowo na Rysunku 6.5. Są to:

- powstanie pojedynczego lub dwuniciowego uszkodzenia DNA,
- utrwalenie i nagromadzenie się mutacji w DNA,
- powstanie pojedynczej komórki nowotworowej,
- powstanie nowotworu złożonego z grupy połączonych komórek nowotworowych.



Rysunek 6.4. Schemat blokowy prezentujący ogólną koncepcję modelu, oparty na procesach zachodzących głównie na poziomie DNA, w komórce oraz tkance. W opisie zawarte są funkcje prawdopodobieństwa sterujące przebiegiem poszczególnych etapów.

Proces prowadzący do powstania uszkodzenia składa się z:

1. Depozycji energii w komórce, tkance lub narządzie.
2. Uderzenia w materiał tarczowy DNA.
3. Uszkodzenie równoległych obu nici łańcucha (lub dwóch pojedynczych).

Proces prowadzący do powstania mutacji kancerogennej składa się z:

4. Powstania uszkodzenia w obrębie onkogenu lub genu supresorowego
5. Utrwalenia uszkodzenia w wyniku braku lub błędnej naprawy DNA

Proces prowadzący do powstania nowotworu litego składa się z:

6. Nagromadzenia się mutacji kancerogennych w onkogenach lub genach supresorowych.
7. Transformacji komórki w komórkę nowotworową.
8. Rozrostu komórek nowotworowych w masę tworzącą nieunaczyniony nowotwór lity.

Ponieważ dynamika rozrostu guza unaczynionego musi uwzględniać równania dyfuzji elementów odżywczych oraz kwestie związane z nekrozą (nieutlenowanych komórek we wnętrzu guza) autorzy na tym etapie modelowania nie podjęli kwestii dalszych etapów rozrostu uformowanej już masy lity guza.

6.3.3 Opis matematyczny modelu LTC

W tej części opisano prawdopodobieństwa poszczególnych etapów transformacji nowotworowych zaprezentowanych na wyżej zaprezentowanym schemacie (Rys. 6.4).

6.3.3.1 Depozycja energii i uderzenia w materiał tarczowy DNA

Prawdopodobieństwo uderzenia obszaru tarczowego (DNA) $P \subset [0,1]$ można opisać za pomocą rozkładu Poissona (Nomiya i in., 2013). Prawdopodobieństwo zajścia dokładnie k razy danego wydarzenia, którego średnia występowania równa jest n , dla jednego celu wynosi więc:

$$P(x = k) = n^k e^{-n} / k! \quad (6.5)$$

Istnieje wiele modyfikacji modelu tarczy (Bodgi i in., 2016). Jedną z nich zakłada występowanie wielu tarcz w opisywanym obszarze, w postaci:

$$P(x = k) = (1 - e^{-kD})^n \quad (6.6)$$

gdzie: n reprezentuje liczbę tarcz (odpowiadającą liczbie uderzeń niezbędnej w celu uśmiercenia komórki), D - dawkę promieniowania na 1 uszkodzenie, k - liczbę uderzeń na komórkę.

Teoria tarczy oryginalnie opisuje prawdopodobieństwo przeżycia komórki, ale również jest stosowana do opisu powstawania uszkodzeń w komórce (Fornalski i in., 2019), analogicznie jak modele liniowy i liniowo-kwadratowy.

Zakładając, że uderzenia występują niezależnie, dla każdego uderzenia znormalizowana funkcja rozkładu prawdopodobieństwa przyjmie postać (Leonard i in., 2008, Fornalski i in., 2015):

$$P_{hit} = 1 - e^{-c_1 D} \quad (6.7)$$

gdzie: c_1 jest parametrem skalującym, D – dawką pochłoniętą promieniowania.

Dla małych wartości dawki D równanie (6.7) ma przebieg quasi-liniowy i asymptotycznie dąży do wartości równej 1 przy dużych wartościach dawki. Parametr c_1 może być związany z objętością zajmowaną przez DNA w komórce. W zależności od typu komórki, stosunek rozmiarów jądra komórkowego do rozmiarów komórki może być inny. Dane literaturowe wskazują średnią objętość jądra komórkowego na 1/3 objętości komórek ludzkich. Równanie (6.7) może być stosowane do opisu zarówno promieniowania o wysokim lub niskim współczynniku LET, niemniej jednak należy mieć na uwadze znaczące różnice w geometrii śladów jonizacji pochodzących od różnych cząstek, dla tej samej dawki. Dla promieniowania o niskim współczynniku LET, rozkład uderzeń w całej objętości komórki można przyjąć jako jednorodny (w przeciwieństwie do promieniowania o wysokim współczynniku LET). Zgodnie z probabilistycznym opisem układu, zakładamy, że wszystkie ślady cząstek przechodzą przez jądro komórkowe i nie można określić kierunku ich przebiegu.

6.3.3.2 Uszkodzenie DNA

Różnice w efektywności przekazu energii różnych rodzajów promieniowania w materiale tarczowym zostały uwzględnione w modelu za pomocą wprowadzenia przekroju czynnego σ na oddziaływanie promieniowania z materią. Szczegółowy opis oddziaływania promieniowania jonizującego z materią znajduje się w rozdziale 3.

Funkcja prawdopodobieństwa opisująca powstanie uszkodzenia w DNA, przyjmuje formę:

$$P_U = A\sigma P_{hit} \quad (6.8)$$

W równaniu (6.8) występuje stała normalizacyjna A (cm^{-2}) oraz przekrój czynny σ (b) na oddziaływanie promieniowania z materią $\sigma(R, E)$ (Hubbell i in., 1980), co dla promieniowania fotonowego przyjmuje postać:

$$\sigma(R, E) = \sigma_R + \sigma_{ph} + Z\sigma_c + \sigma_{pair} + Z\sigma_{triplet} \quad (6.9)$$

gdzie: Z – liczba masowa absorbentu, $\sigma_R, \sigma_{ph}, \sigma_c, \sigma_{pair}, \sigma_{triplet}$ – przekroje czynne na (odpowiednio): rozpraszanie Rayleigh'a, efekt fotoelektryczny, efekt Comptona, reakcję par

elektron-pozyton w polu jądra atomowego oraz analogiczną reakcję w polu elektronu (tzw. reakcja tripletu), R – rodzaj promieniowania, E – energia promieniowania.

Na obecnym etapie opisywane efekty dotyczą właśnie promieniowania fotonowego. Dla uproszczenia obliczeń można założyć, że materiałem, w którym zachodzi oddziaływanie jest woda. Przy tym założeniu w przedziale energii poniżej 1 MeV:

$$\sigma(R, E) = \sigma_{ph} + \sigma_{ck} + \sigma_{cnk} \quad (6.10)$$

gdzie: efekt fotoelektryczny: σ_{ph} , rozpraszanie koherentne (Rayleigha): σ_{ck} , rozpraszanie niekoherentne (Comptona): σ_{cnk} , gdyż reakcje par dla tych energii nie zachodzą.

Dla przykładu, podążając obranym schematem jednorodnego napromieniania, dla promieniowania X o energii 150 keV¹⁷:

$$\sigma_{ck} = 2.442 \cdot \frac{10^{-3} \text{cm}^2}{g}, \quad \sigma_{cnk} = 1.474 \cdot \frac{10^{-1} \text{cm}^2}{g}, \quad \sigma_{ph} = 7.308 \cdot 10^{-4} \text{cm}^2/g,$$

Powstawanie uszkodzeń metabolicznych

Produkcja spontanicznych uszkodzeń zależy od aktywności metabolicznej, więc naturalnie różni się dla każdego organizmu. Na tym poziomie modelowania można przyjąć, że tempo powstawania uszkodzeń naturalnych w funkcji czasu lub wieku organizmu jest stałe.

Ilość powstających uszkodzeń generowanych przez wolne rodniki pochodzenia metabolicznego, zależnie od średniej koncentracji wolnych rodników C będzie opisywana stałą wartością prawdopodobieństwa P_{UM} :

$$P_{UM} = \alpha \cdot C = \alpha_1 C_{SSB} + \alpha_2 C_{DSB} \quad (6.11)$$

gdzie: α - parametry skalujące, związane z aktywnością metaboliczną (wiekiem i aktywnością fizyczną organizmu), C_{SSB} – liczba powstających uszkodzeń typu SSB, C_{DSB} – liczba powstających uszkodzeń typu DSB.

Powstawanie uszkodzeń popromiennych

Częstość powstawania potencjalnie mutagennych uszkodzeń opisywana jest zależnością liniową w funkcji dawki promieniowania (Cannan i Pederson 2016), co dobrze opisuje wyniki eksperymentalne dla promieniowania o wysokim współczynniku LET, a dla promieniowania o niskim współczynniku LET kształt funkcji eksponencjalnej można zastąpić formą paraboliczną (Kellerer i Rossi 1978, Dobrzyński i in., 2016, 2019).

¹⁷ <https://physics.nist.gov/PhysRefData/Xcom/html/xcom1.html>

Zakładając wysycenie powstających uszkodzeń wraz z dawką promieniowania (Fornalski, 2014) można zastosować ogólny opis prawdopodobieństwa powstawania uszkodzeń w postaci:

$$P_U(D) = 1 - e^{-\sum_{i=0} \beta_i D^i} \quad (6.12)$$

gdzie: R – opisuje typ promieniowania względem LET. Dla wysokiego LET $i=1$, dla niskiego LET $i=2$, β_i parametry skalujące dla danego typu promieniowania.

W przypadku małych wartości D , postać równania (6.12) przyjmuje przybliżoną formę liniową bądź liniowo-kwadratową, co opisano w poprzednim akapicie. Równanie to w wersji liniowej można rozwinąć w przypadku mieszanego pola promieniowania na:

$$P_U(D) = \sum_R \sum_{i=0} \beta_{i,R} D_R^i \quad (6.13)$$

gdzie: R opisuje rodzaj promieniowania.

Można również założyć, że jeśli już nastąpi uderzenie, to prawdopodobieństwo powstania uszkodzenia (P_U) lub σ dla danego typu uszkodzenia można wyrazić jako sumę przekrojów czynnych na dany typ uszkodzenia, alternatywnie do równania (6.13). Funkcja gęstości prawdopodobieństwa opisująca powstawanie uszkodzeń SSB i DSB, może przyjąć formę:

$$P_U = A_3(\sigma_{SSB}P_{hit} + \sigma_{DSB}P_{hit}) \quad (6.14)$$

Równanie (6.14) jest rozwinięciem równań (6.8) i (6.11), w którym występuje stała normalizacyjna A_3 . W kontekście przekroju czynnego należy uwzględnić prawdopodobieństwo powstania uderzenia danego typu: (SSB lub DSB) w DNA, które zależy od strumienia cząstek oraz gęstość punktów na powierzchni ($1/\text{cm}^2$) – par zasad w jądrze komórkowym. Przekroje czynne σ na bezpośrednią produkcję uszkodzeń SSB i DSB zależne są od rodzaju cząstek inicjujących uszkodzenia, w niektórych przypadkach dane dostępne są w literaturze (Chen i in., 2016) (dla elektronów o energiach 5.6 eV: $\sigma_{SSB} = 2.4 \times 10^{14} \text{ cm}^2$, $\sigma_{DSB} = 4.1 \cdot 10^{15} \text{ cm}^2$). W każdym przypadku będą to inne wartości, dlatego nie jest to podejście użyteczne w uniwersalnym opisie.

6.3.3.3 Naprawa uszkodzeń

Zakładając, że istnieje równowaga oksydacyjna oraz unormowana wydajność systemów naprawczych DNA (BER¹⁸, NHEJ¹⁹, HR²⁰) liczba powstających uszkodzeń powinna być w idealnym przypadku równa liczbie naprawianych uszkodzeń $N_U P_{NR}$ (gdzie N_U to całkowita liczba powstających uszkodzeń). W związku z osłabieniem zdolności naprawczych z wiekiem organizmu zakładamy również, że istnieje pewna wartość maksymalna K^n (związana z wiekiem komórki K), po przekroczeniu której zdolność systemu naprawczego wykładniczo maleje, przy czym wykładnik n związany jest z szybkością zaniku zdolności reperacji wraz z wiekiem komórki. Oczekiwana zależność może być opisana odwrotną funkcją sigmoidalną lub logistyczną, mającą podłoże w modelach przeżywalności populacji z wiekiem (Dobrzyński i in., 2019).

Prawdopodobieństwo naturalnej naprawy uszkodzenia można zapisać jako:

$$P_{NR} = A_2 e^{-c_2 K^n} \quad (6.15)$$

gdzie: A_2 - stała normalizacyjna, c_2 – parametr skalujący, K – wiek komórki, n – parametr związany z rosnącą z wiekiem wrażliwością komórki, mówiący o tempie zaniku zdolności reperacji z wiekiem. Wzór (6.15) jest istotny w przypadku oceny naprawy zachodzącej w przedziale czasu rzędu minimalnego wieku danego typu komórki.

W równaniach (6.14), (6.15), nie uwzględniono średniego czasu naprawy uszkodzenia $\tau \ll K$. Generowanie uszkodzeń „metabolicznych” opisano jako proces ciągły, co nie jest prawdą. W przypadku uszkodzeń „popromiennych” należy uwzględnić czas naprawy, który wynosi: $\tau_{SSB} < 40$ min, i $\tau_{DSB} < 24$ h. Prawdopodobieństwo naprawy DSB jest proporcjonalne do koncentracji enzymów naprawczych w miejscu uszkodzenia. W momencie powstania uszkodzenia typu DSB, obserwuje się kumulację białek naprawczych C w czasie t w okolicy pęknięcia opisywaną zależnością (Kochan i in., 2017):

$$C \sim 1 - e^{-\frac{t}{\tau_{DSB}}} \quad (6.16)$$

gdzie: $t \ll K$, a τ – średni czas naprawy uszkodzenia DSB.

¹⁸ system naprawy DNA przez wycinanie zasad azotowych (BER - Base ExcisionRepair)

¹⁹ – szlak naprawy DNA w wyniku łączenia końców niehomologicznych (NHEJ - nonhomologous end joining)

²⁰ rekombinacja homologiczna (HR - homologous recombination)

Równanie (6.16) zostało opracowane na podstawie meta-analizy danych eksperymentalnych ponad 100 różnych badań uwzględniających oba mechanizmy naprawy uszkodzeń DSBs: HR i NHEJ (Kochan i in., 2017).

Maksimum koncentracji białek naprawczych zaobserwowano dla $t_{\max} = 15-20$ min (Kochan i in., 2017). Większość uszkodzeń typu SSB naprawianych jest w czasie od $\tau_{\text{SSB}} = 5-10$ min (Trzeciak i in., 2011). Równanie (6.16) można również analogicznie zastosować do opisu naprawy uszkodzeń typu SSB.

Bazując na analogii do koncepcji odwrotnego okresu połowicznego zaniku, prawdopodobieństwo naprawy uszkodzeń po czasie (t) od napromienienia można więc zapisać jako:

$$P_R(t) = 1 - be^{-\lambda t} \quad (6.17)$$

gdzie: $\lambda \sim 1/\tau$ opisuje tempo koncentracji enzymów/białek naprawczych w pobliżu uszkodzenia (przy założeniu, że koncentracja ta nie maleje z czasem w rozpatrywanej chwili, może być przybliżona równaniem 6.16).

Dla $t=0$; $P_R = 1-b$, więc wielkości niezależnej od napromieniania, tj. metabolicznej. Jest to funkcja quasi-liniowa i wysycza się dla pewnych wartości czasu t .

W przypadku napromieniania ciągłego w czasie $t \rightarrow \infty$ (maksimum funkcji (6.17)) uszkodzeń następujących sekwencyjnie w Δt , dla czasu pomiędzy powstającymi uszkodzeniami $\Delta t < t_{\max}$ można założyć, że w związku z nagromadzonymi już enzymami naprawczymi - czas naprawy każdego kolejnego uszkodzenia τ' będzie krótszy od poprzedniego τ . Jeśli tak, to liczba koincydencji uszkodzeń SSB w czasie τ będzie mniejsza, więc mniejsze całkowite prawdopodobieństwo powstania uszkodzenia DSB.

Średni czas naprawy uszkodzeń powinien maleć wraz ze wzrostem mocy dawki, ponieważ dla niewielkiej ilości uszkodzeń wzrasta (z czasem) koncentracja enzymów naprawczych w obrębie jądra komórkowego. W równaniu (6.17) można zauważyć, że im krótszy jest średni czas naprawy τ , (im większe jest λ) tym szybciej występuje nasycenie koncentracji białek naprawczych i dłużej obserwujemy maksymalną wydajność naprawy. Dla mocy dawki \dot{D}_{\max} ; można założyć, że średni czas naprawy uszkodzeń wyniesie:

$$\tau_{sr} = \tau_0 e^{-\lambda \dot{D}} \quad (6.18)$$

Łącząc prawdopodobieństwo powstawania uszkodzeń opisane wzorami (6.11) i (6.13), oraz średni czas naprawy uszkodzeń U (typu DSB lub SSB) (6.18), w przypadku napromienienia w czasie τ , mocą dawki \dot{D} , maksimum poniżej funkcji, opisującej prawdopodobieństwo powstawania uszkodzeń DSB w wyniku koincydencji uszkodzeń pojedynczej nici, opisanej równaniem:

$$S_t = (\alpha C + \beta \dot{D})^2 \tau_0 e^{-\lambda \dot{D}} \quad (6.19)$$

wynosi:

$$\dot{D}_{max} = \frac{2\beta_1 - \beta_1 \lambda_s C_S}{\lambda_s \beta_1} \quad (6.20)$$

dla: szybkości naprawy $\lambda_s < 2\beta_1/\alpha C_S$, a C_S – naturalnie powstające uszkodzenia typu S. W przypadku powstawania kolejnych uszkodzeń, dla napromieniania impulsowego lub chronicznego, należy uwzględnić zużywanie powstających białek/enzymów (6.17) na naprawę. Funkcja prawdopodobieństwa opisująca naprawę (6.17) w zależności od wydajności powstałych enzymów naprawczych, może przyjmować postać hiperboliczną (analogia do czasu połowicznego zaniku):

$$P_R(t) = (1 - b e^{-\lambda t}) e^{-\lambda t} \quad (6.21)$$

gdzie: parametr opisujący wydajność enzymów naprawczych $\lambda \sim 1/\tau < 1$, b i λ – parametry skalujące.

Opisując moc dawki jako dawkę zdeponowaną w n przedziałach czasowych $\Delta t < \tau$, równanie (6.17), a co za tym idzie także (6.21), można przybliżyć w formie kwasi-liniowej, gdzie dla niskich wartości t równanie (6.21) jest liniowe, a wraz z przyrostem czasu dąży asymptotycznie do wartości plateau (jeśli P jest unormowane to do 1), co można zapisać jako:

$$P_R(t) = (\sum_{n=0} \lambda_n t^n) e^{-\lambda t} \quad (6.22)$$

gdzie: λ_n - szybkość naprawy (jest proporcjonalna do tempa produkcji enzymów naprawczych: μ), n – parametr określający wzrost lub spadek wartości μ w stosunku do bazowej koncentracji enzymów naprawczych przed napromienianiem.

6.3.3.4 Odpowiedź adaptacyjna

Zjawisko odpowiedzi adaptacyjnej (poruszane w rozdziałach 2 i 3) dotyczy komórek, które zostały wcześniej napromienione, co skutkuje obniżeniem negatywnego efektu działania kolejnej, dużo większej dawki promieniowania lub uszkodzeń pochodzenia metabolicznego.

Postuluje się stumulację mechanizmów naprawczych, jako efekt nałożenia się obu funkcji prawdopodobieństw naprawy w obu sytuacjach, która ściśle zależy od dawki. Zależność tę można zapisać jako (Dobrzyński i in., 2016):

$$P_R(D) = (\sum_R \sum_{i=0} \beta_{i,R} D_R^i) e^{-\lambda D} \quad (6.23)$$

Rozkład prawdopodobieństwa dla odpowiedzi adaptacyjnej od pojedynczego uszkodzenia, można zapisać w prostej formie, analogicznej do równania 6.22:

$$P(D) = \alpha_1 D^n e^{-\alpha_2 D} \quad (6.24)$$

Im dłużej rozłożone w czasie są obie ekspozycje tym efekt będzie słabszy, dlatego należy również uwzględnić zależność od czasu. Odpowiedź adaptacyjna ma zastosowanie jedynie, gdy komórka zostanie ponownie uszkodzona, lub gdy proces generowania uszkodzeń jest ciągły w czasie, jak w przypadku uszkodzeń metabolicznych czy np. zwielokrotnionego promieniowania tła, więc po czasie K (gdzie K to krok czasowy, w przypadku dyskretnym):

$$P(K) = \alpha_4 K^m e^{-\alpha_3 K} \quad (6.25)$$

Powyższe równanie (6.25) jest dyskretną formą równania 6.22. Iloczyn rozkładów P(D) oraz maksimum P(K), pozwala opisać prawdopodobieństwo adaptacji w pojedynczym kroku czasowym, dla konkretnej dawki promieniowania D (Fornalski,2014) i ma postać:

$$P(D, K) = \frac{\alpha_1 \alpha_3^m D^n}{m} e^{m - \alpha_2 D - \alpha_3 K} \quad (6.26)$$

W każdym scenariuszu, gdzie szukamy efektów kilkukrotnej lub długotrwałej ekspozycji powinniśmy brać pod uwagę modyfikację funkcji prawdopodobieństwa naprawy DNA. Zakładając, że chcemy znaleźć funkcję prawdopodobieństwa zajścia adaptacji dla następnych uszkodzeń generowanych w kolejnym kroku czasowym k, sumując po każdym kroku czasowy (k od 0 do K), można zapisać ogólne równanie na prawdopodobieństwo zajścia odpowiedzi adaptacyjnej (w postaci dyskretniej) dla dawki D na krok czasowy (co efektywnie odpowiada mocy dawki), jako:

$$P_{AR} = C \sum_{k=0}^K D_k^n (K - k)^m e^{-\alpha_2 D - \alpha_3 (K - k)} \quad (6.27)$$

gdzie: C – stała normalizująca, K – wiek komórki w krokach czasowych k, k – liczba poprzednich kroków czasowych, w którym było narażenie, $k \leq K$. Parametry m, n – (dla uproszczenia obliczeń można przyjąć, że $n, m = 2$), $\alpha_{2,3}$ są parametrami skalującymi, $C =$

$$\frac{\alpha_1 \alpha_3^2}{2m}$$

Równanie (6.27) zostało wykorzystane w modelowaniu Monte Carlo, opisanym w pracach (Fornalski i in., 2011, Fornalski i in., 2014, Dobrzyński i in., 2016). W odniesieniu do ciągłego narażenia (ekspozycji chronicznej, uwzględniając moc dawki) formie ciągłej (Dobrzyński i in., 2019) równanie (6.27) można zapisać jako:

$$P_{AR} = C \int_{t=0}^T \dot{D}^n (T - t)^m e^{-\alpha_2 \dot{D} - \alpha_3 (T-t)} dt \quad (6.28)$$

Kształt funkcji (6.28) ewidentnie zależy od rozkładu dawek (lub mocy dawki) oraz doboru wartości porównywalnych ze średnią długością czasu naprawy uszkodzeń $k \sim \tau$.

6.3.3.5 Nadmiarowe uszkodzenia DSB

Pojedyncze i podwójno-niciowe uszkodzenia mają różną kinetykę naprawy. Może zdarzyć się sytuacja, w której w czasie naprawy (τ) SSB nastąpi indukcja drugiego uszkodzenia w okolicy 10 par zasad (bp) w pewnej odległości od pierwszego uszkodzenia (SSB').

Założmy (Fleck i in., 1999), że dla małych mocy dawek częstość powstawania uszkodzeń DSB i SSB jest liniowo zależna od mocy dawki i stała w czasie ekspozycji $T \gg \tau$, wtedy:

$$P_U(\dot{D}) = c_u \dot{D} = \sum_P \sum_{t=0}^{t=T} P_{U,Z}(\dot{D}) \quad (6.29)$$

gdzie: Z to droga powstawania uszkodzenia typu DSB:

Mogą one powstawać popromiennie lub metabolicznie: bezpośrednio oraz pośrednio (przez powstanie 2 uszkodzeń typu SSB w obrębie 10 par zasad).

Zakładając zależności opisane w równaniach (6.11), (6.18) i (6.19), oraz dodatkowo powstające uszkodzenia w czasie naprawy SSB τ_{sr} , otrzymujemy człon opisujący powstawanie dodatkowych uszkodzeń typu DSB'. W efekcie:

$$P_U(\dot{D}) = (\alpha_1 C_{SSB} + \beta_1 \dot{D})^2 \tau_0 e^{-\lambda \dot{D}} + \alpha_2 C_{DSB} + \beta_2 \dot{D} \quad (6.30)$$

W równaniu (6.30) pierwszy człon opisuje prawdopodobieństwo powstania podwójnego uszkodzenia typu SSB pochodzenia metabolicznego ($\alpha_1 C_{SSB}$) oraz radiacyjnego ($\beta_1 \dot{D}$), powstające w czasie $\tau_0 e^{-\lambda \dot{D}}$ krótszym niż średni czas naprawy tego typu uszkodzeń. Drugi człon opisuje powstające naraz metabolicznie uszkodzenia dwuniciowe ($\alpha_2 C_{DSB}$), gdzie α_2 jest parametrem skalującym, związanym z aktywnością metaboliczną, podobnie jak α_1 . Trzeci człon opisuje uszkodzenia typu DSB powstające poradiacyjnie ($\beta_2 \dot{D}$), parametry β_1 i β_2 , związane są z podatnością DNA na utworzenie uszkodzenia w wyniku napromieniania.

Uszkodzenie 2 pojedynczych nici w obrębie DNA (ok. 10 par zasad) powstające przed ukończeniem naprawy, w przypadku napromieniania ciągłego, opisane równaniem (6.19) oparte jest na założeniach pochodzących z modelu RCM-RA (Fleck i in., 1999). W prezentowanym opisie uwzględniono koncentrację białek i enzymów bezpośrednio regulujące naprawę DNA na liczbę indukowanych metabolicznie i popromiennie mutacji.

6.3.3.6 Powstanie mutacji kancerogennych w DNA komórki

Część komórek ulega śmierci w wyniku bezpośredniego uszkodzenia lub apoptozie w wyniku błędnej naprawy. Komórki te nie będą przyczyniały się do transformacji nowotworowej. Frakcja ta zależy od stopnia powstałych defektów, a więc mocy dawki.

Uszkodzenia pozostające w DNA po naprawie opisywane są jako mutacje genetyczne, których prawdopodobieństwo powstania jest zadane równaniem:

$$P_M(\dot{D}) = P_U(\dot{D})(1 - be^{-\lambda t}) \quad (6.31)$$

Uwzględniając dawkę promieniowania i czas od momentu przerwania ekspozycji oraz naprawę P_R , funkcja opisująca prawdopodobieństwo powstania trwałego uszkodzenia prowadzącego do powstania mutacji P_M (r-nie (6.32)) w DNA może zostać zapisana w ogólnej postaci:

$$P_M(D, t) = (1 - e^{-c_2 D - c_3 D^2})(1 - P_R)P_{hit} \quad (6.32)$$

gdzie: prawdopodobieństwo naprawy P_R jest sumą funkcji prawdopodobieństwa opisujących naturalną naprawę zależną od czasu oraz odpowiedź adaptacyjną zależną od dawki na jeden krok D (dla postaci dyskretnej) lub mocy dawki \dot{D} .

Równanie (6.32) dla małych dawek promieniowania na podstawie wcześniej opisanej zależności (6.12) ($i = 1, 2$), można zapisać jako:

$$P_M(D, t) = (c_2 D + c_3 D^2)(1 - P_R)P_{hit} \quad (6.33)$$

6.3.3.7 Powstanie kolejnych komórek potencjalnie nowotworowych

Podstawowe równanie na liczbę komórek dotkniętych pierwszą mutacją kancerogenną, w całym organizmie lub analizowanej kolonii komórkowej w jednostce czasu, w ramach modelu RCM-RA jest następujące (Fleck i in., 1999, Dobrzyński i in., 2019):

$$\frac{dM_1}{dt} = (B_0 M_0 - B_1 M_1)P_M \quad (6.34)$$

gdzie: $B_0 = B_1 = B_n = 0,01$ opisuje frakcję genów nowotworowych w DNA w jednej komórce, M_i – liczba komórek z i -tą liczbą mutacji, P_M – prawdopodobieństwo mutacji popromiennej w DNA. M_0 – liczba komórek niezmutowanych (ich liczbę szacuje się na $(3.7 \pm 0.8) \times 10^{13}$ (w 70 kg).²¹)

Rozwiązaniem równania (6.32) jest postać:

$$M_1 = M_0(1 - e^{-B_n P_m t}) \quad (6.35)$$

Liczba mutacji w komórkach potomnych do ukończenia transformacji nowotworowej określana jest na 4-6 (Hahn i in., 2001). Kolejne mutacje nie muszą być bezpośrednim efektem działania promieniowania (lub innych czynników mutagennych). Chcemy określić jakie jest p -two transformacji dla m mutacji. Nie rozróżniając która z nich jest tą jedną kancerogenną, możemy zapisać:

$$M_m = M_{n-1}(1 - e^{-B_n P_m t}) = M_0(1 - e^{-B_n P_m t})^m \quad (6.36)$$

Jeśli uwzględniając powyższe rozważania założymy, że prawdopodobieństwo powstania komórki nowotworowej P_N dla $m = 10$ będzie równe 1.

Prawdopodobieństwo transformacji N -tej komórki w zależności od liczby mutacji m , można zapisać jako:

$$P_N(m) = 1 - e^{-cm^k} \quad (6.37)$$

Dla $m = 5$ i $k=2$ funkcja prawdopodobieństwa (6.35) osiąga wartość $P_N = 0,5$ (przy wartości parametru c , oszacowanej na 0,0277) (Dobrzyński i in., 2019), powyżej której następuje szybkie wysycenie do wartości 1 wraz z liczbą mutacji.

Równanie Avrami'ego (6.37) pochodzi z teorii zarodkowania i dobrze opisuje dynamikę transformacji nowotworowej względem liczby mutacji, dla której przypisujemy pewną wartość wykładnika krytycznego, dla której funkcja dynamicznie zmienia swój przebieg (opis równania Avramiego w kontekście nowotworzenia został umieszczony w uzupełnieniu 10) .

Ogólne równanie opisujące liczbę komórek nowotworowych, po uwzględnieniu funkcji (6.37) i (6.36) przyjmuje postać:

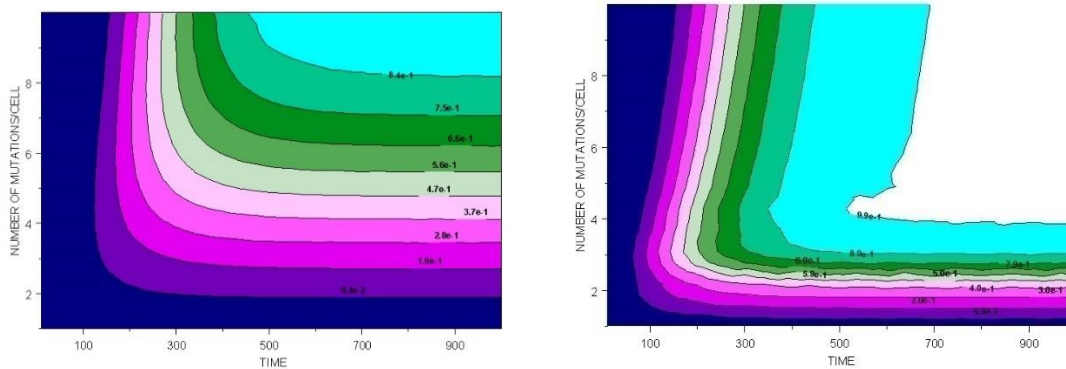
$$N_N(m, t) = M_0(1 - e^{-B_n P_m t})^m (1 - e^{-cm^k}) \quad (6.38)$$

²¹ book.bionumbers.org

Maksymalną liczbą komórek nowotworowych, w czasie życia organizmu K , zakładając że $K \gg t$, można zapisać jako:

$$N_{Nmax} = \lim_{t \rightarrow \infty} \sum_m N_N(m, t) = \sum_m M_0 (1 - e^{-cm^k}) \quad (6.39)$$

Przykładową zależność opisaną powyższym równaniem zaprezentowano na Rys. 6.4.



Rysunek. 6.5. Względna liczba komórek nowotworowych w czasie t w zależności od liczby mutacji na komórkę m (oparta na równaniu 6.30), dla $c = 0.0277$ i różnych wartości krytycznych; po prawej stronie: $k = 2$ i z lewej strony: $k = 4$. (Dobrzyński i in., 2019)

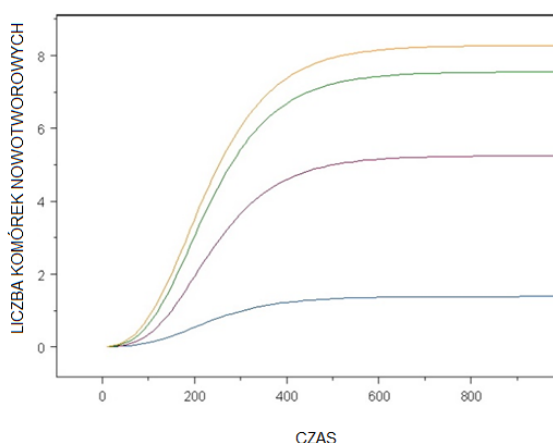
Całkowita liczba komórek (potencjalnie) nowotworowych (opisanych w rozdziale 3) w organizmie będzie równa sumie wszystkich komórek, które przeszły transformację nowotworową:

$$N_N(t) = \sum_m N_N(m, t) \quad (6.40)$$

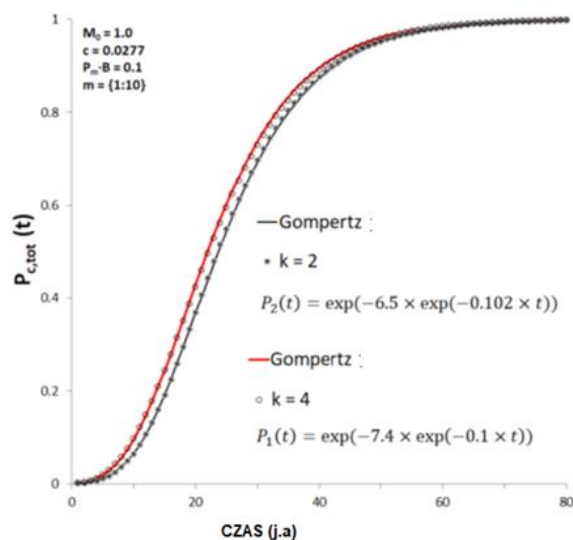
Na tym etapie nie uwzględniono podziału komórek (potencjalnie) nowotworowych. Są to więc pojedyncze komórki, które posiadają cechy komórek nowotworowych, w tym zdolność do niekontrolowanych podziałów. Z założenia pojawienie się komórki nowotworowej może nieść za sobą inicjację procesu nowotworzenia, jednak jak opisano w następnym podrozdziale, komórka ta w pewnych warunkach środowiska może pozostać nieaktywna. Zakłada się wstrzymanie rozrostu (prolifracji) komórek przez system immunologiczny organizmu.

6.3.4 Wyniki i dopasowanie modelu do danych

Na Rys. 6.6 i 6.7 zaprezentowano prawdopodobieństwo transformacji nowotworowej komórki na podstawie dwóch różnych podejść. W obu przypadkach wyniki zależą od wartości krytycznych parametru k , który determinuje wartość nachylenia krzywej, przy zachowaniu kształtu prezentowanej zależności, który zdeterminowany jest głównie przez drugi człon w równaniu (6.39) zależnym od czasu.

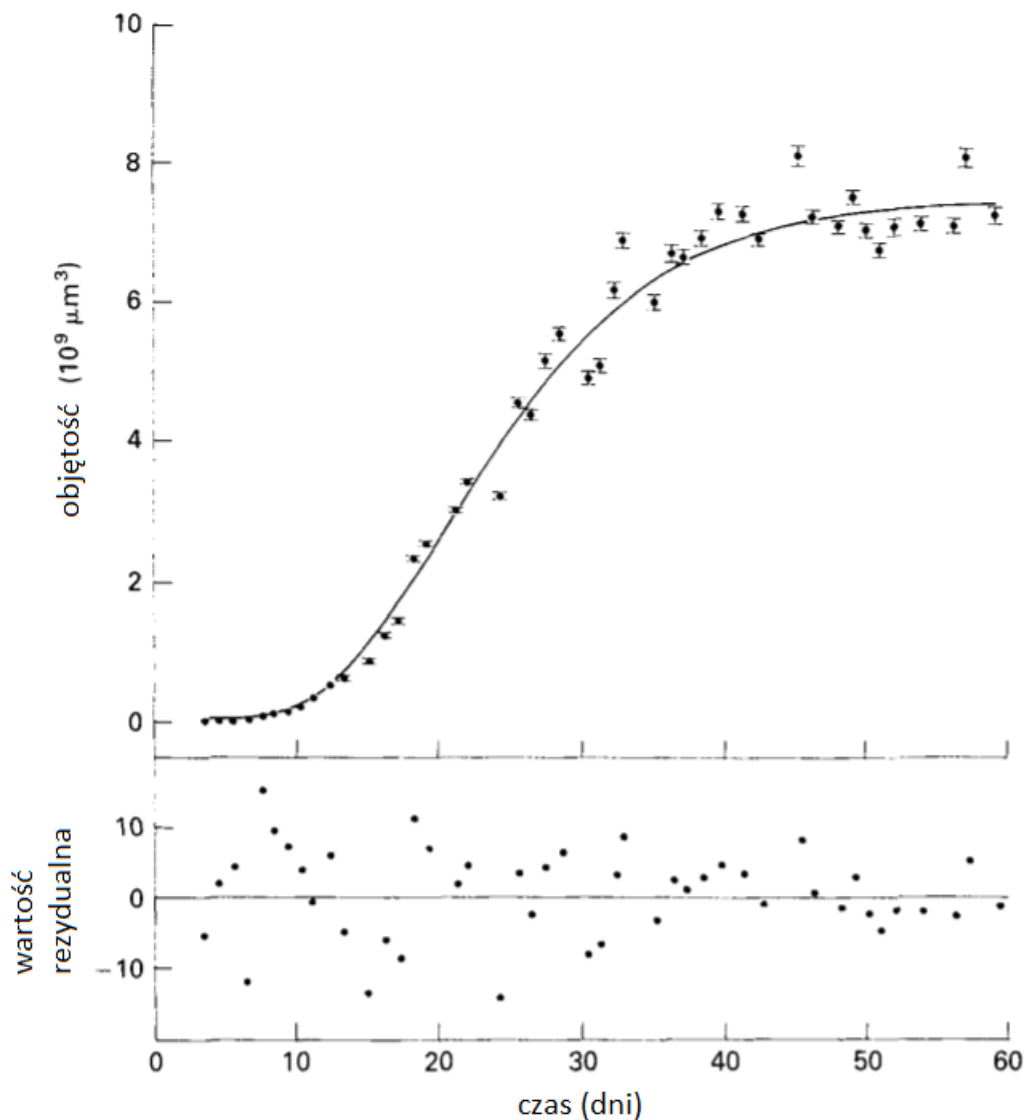


Rysunek . 6.6. Liczba komórek nowotworowych w funkcji czasu, dla $k = 1, 2, 3, 4$ oznaczone odpowiednio kolorem żółtym, zielonym, fioletowym i niebieskim, na podstawie równania 6.39, dla $B \cdot P_m = 0.01$ (Dobrzyński i in., 2019).



Rysunek 6.7. Całkowite sumaryczne prawdopodobieństwo transformacji nowotworowej w funkcji czasu dla $m = [1,10]$, opisane równaniem (6.40), dla dwóch wartości parametrów krytycznych $k = 2$: ($P(t)$ – punkty oznaczone \bullet) oraz $k = 4$: ($P(t)$ – punkty oznaczone \circ). Linie reprezentują dopasowanie funkcji znormalizowanej funkcji Gompertza (dla $k = 2$: ($P_1(t)$ – oznaczona kolorem czerwonym, $k = 4$: ($P_2(t)$ – oznaczona kolorem czarnym). Opracowanie własne (źródło: Fornalski i in., 2019).

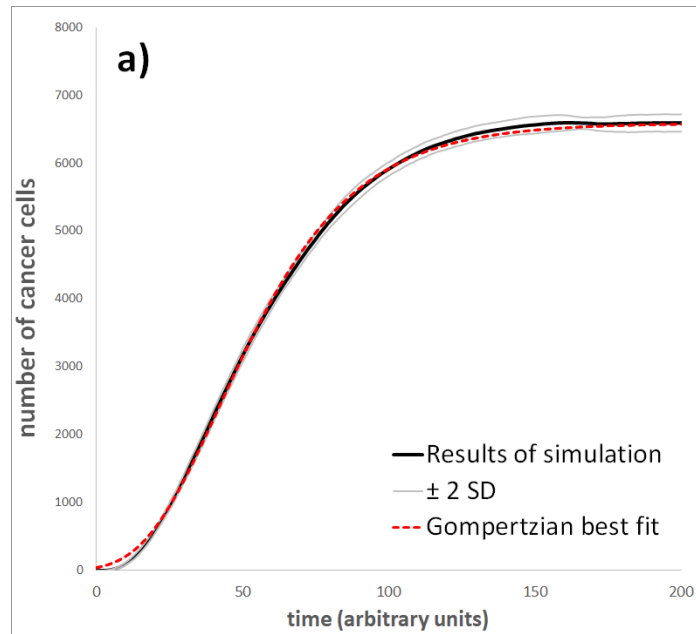
Krzywe pokazane na rys. (6.7) są krzywymi Gompertza. Taki wynik pokazują też dane pochodzące z 50 różnych linii komórkowych, głównie ludzkich (Rys.6.8).



Rysunek 6.8. Zależność objętości populacji komórek nowotworowych z funkcji czasu. Dopasowanie funkcji Gompertza do części danych pochodzących z 50 eksperymentów, na komórkach nowotworowych, głównie ludzkich (Marušić i in., 1994).

Funkcja Gompertza w opisie rozwoju nowotworu traktowana była zazwyczaj jako opis czysto matematyczny. W pracy Fornalski i in., 2019, pokazaliśmy jej pochodzenie w opisie transformacji nowotworowej oraz w jaki sposób można za pomocą tej właśnie funkcji opisać biofizyczne zachowanie formowania się komórek nowotworowych w guz, zarówno

wychodząc od rozważań czysto analitycznych, jak i porównując te wyniki z modelowaniem Monte Carlo (Rys. 6.9), opartego o stochastyczny model odpowiedzi komórek opisany w podrozdziale 6.4. W pracy pokazaliśmy w jaki sposób kształt krzywej Gompertza zależy od liczby nagromadzonych mutacji m . Zauważyliśmy również, że w bardzo wczesnej fazie formowania się kolonii komórek nowotworowych krzywa Gompertza nie jest najlepszym modelem do opisu ich rozrostu w czasie, który bardziej odpowiada zależności parabolicznej.



Rysunek 6.9. Przykładowe wyniki symulacji Monte Carlo dynamiki powstawania komórek nowotworowych w czasie oraz dopasowanie krzywej Gompertza (Fornalski i in., 2019)

Porównując człon zależny od czasu $g(t) = (1 - \exp(-\beta t))^m$, gdzie $\beta \equiv B_n \cdot P_M$. (w równaniu 6.36) z krzywą Gompertza $f(t)$, pokazaliśmy, że różniczkując obie funkcje, otrzymujemy:

$$\begin{cases} \frac{df}{dt} = f a \beta e^{-\beta t} \\ \frac{dg}{dt} = g \frac{m \beta e^{-\beta t}}{1 - e^{-\beta t}} \end{cases} \quad (6.41)$$

Gdy $\beta \cdot t \gg 1$, wtedy $e^{-\beta t} \ll 1$, co skutkuje tym, że obie różniczki opisuje tożsama funkcja. Zakładając limit dla obu funkcji:

$$f(t) = \begin{cases} e^{-a e^{-\beta t}} \approx (1 - e^{-\beta t})^a \cong 1 & \text{dla } \beta t \gg 1 \\ (1 + a \beta t) e^{-a} & \text{dla } \beta t \ll 1 \end{cases} \quad (6.42)$$

oraz

$$g(t) = \begin{cases} (1 - e^{-\beta t})^m \cong 1 & \text{dla } \beta t \gg 1 \\ (\beta t)^m & \text{dla } \beta t \ll 1 \end{cases} \quad (6.43)$$

W obu równaniach (6.42) i (6.42): $\lim_{t \rightarrow \infty} f(t) = \lim_{t \rightarrow \infty} g(t) = 1$, co odpowiada wartości granicznej obu sigmoid przy dużych wartościach t . Różnice w przebiegu obu funkcji występują w obszarze najniższych wartości argumentu, właściwie zmiennej - czasu ($\beta \cdot t$). Dla większości argumentów, obie funkcje pokrywają gdy parametry a i m są równe. Wykonując sumowanie po m (liczbie mutacji) (r-nie(6.37)) otrzymujemy:

$$\sum_{m=1}^{10} (\beta t)^m \approx \frac{1}{1 - \beta t} - 1 \approx \beta t \quad \text{dla } \beta t \ll 1 \quad (6.44)$$

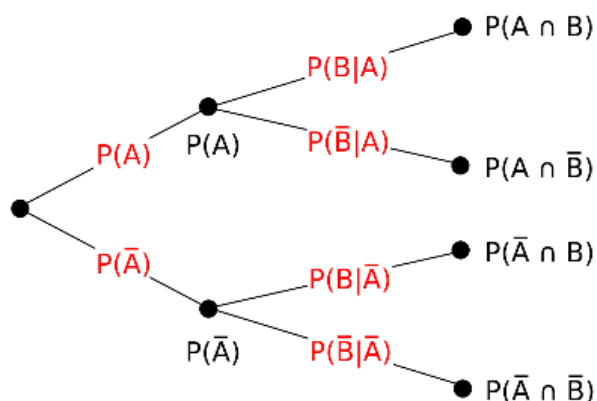
Równanie 6.44 pokazuje słabości w dopasowaniu Gompertzowskiej zależności do opisu biofizycznych zależności dla wartości czasu bliskich zeru (czyli wspomianej pierwszej fazie, nazywanej również zarodkowaniem). Oznacza to, że funkcja ta nie zaczyna się w zerze i nie powinna być używana do opisu rozwoju komórek nowotworowych w fazie zarodkowania. Jest ona zgodna z obserwacjami (Rys. 6.8) ponieważ nowotwór klinicznie obserwowalny zawiera odpowiednio dużą liczbę komórek (w okolicach 10000). To, w jaki sposób zachowuje się kolonia nowotworowa w bardzo wczesnej fazie zarodkowania może więc rządzić się oddzielnymi prawami. Jednym z podejść jest poszukiwanie modyfikacji równania Gompertza dla początkowych wartości czasu, drugim - kierując się chaotycznym zachowaniem pojedynczych komórek nowotworowych – zastosowanie modelu przejścia fazowego. Jednym z propozycji w opisie początku procesu transformacji ścieżki popromiennej transformacji nowotworowej jest zjawisko perkolacji, opisane pod koniec tego rozdziału.

6.4 Zastosowanie modelu LTC w algorytmie numerycznym

Schemat 1 (Rys.6.11) prezentuje rozbudowany model LTC („*Lesion to Cancer*”), opisany szczegółowo w poprzednich podrozdziałach, umożliwiającą na podstawie obranego rozumowania obliczyć prawdopodobieństwo transformacji komórki w komórkę nowotworową oraz jego redukcję w związku z wprowadzeniem odpowiedzi adaptacyjnej. Do algorytmu numerycznego, na obecnym etapie nie wprowadzono efektów związanych z czasem trwania poszczególnych etapów transformacji komórki w nowotworową.

6.4.1 Algorytm

Obliczenia zostały oparte o algorytm bazujący na opisanym wcześniej schemacie, opartym na prawdopodobieństwie warunkowym (zdarzeń zależnych) będącym iloczynem prawdopodobieństwa zajścia poszczególnych procesów na węzłach ścieżek prowadzących do szukanego efektu końcowego (Rys. 6.10) – transformacji nowotworowej.

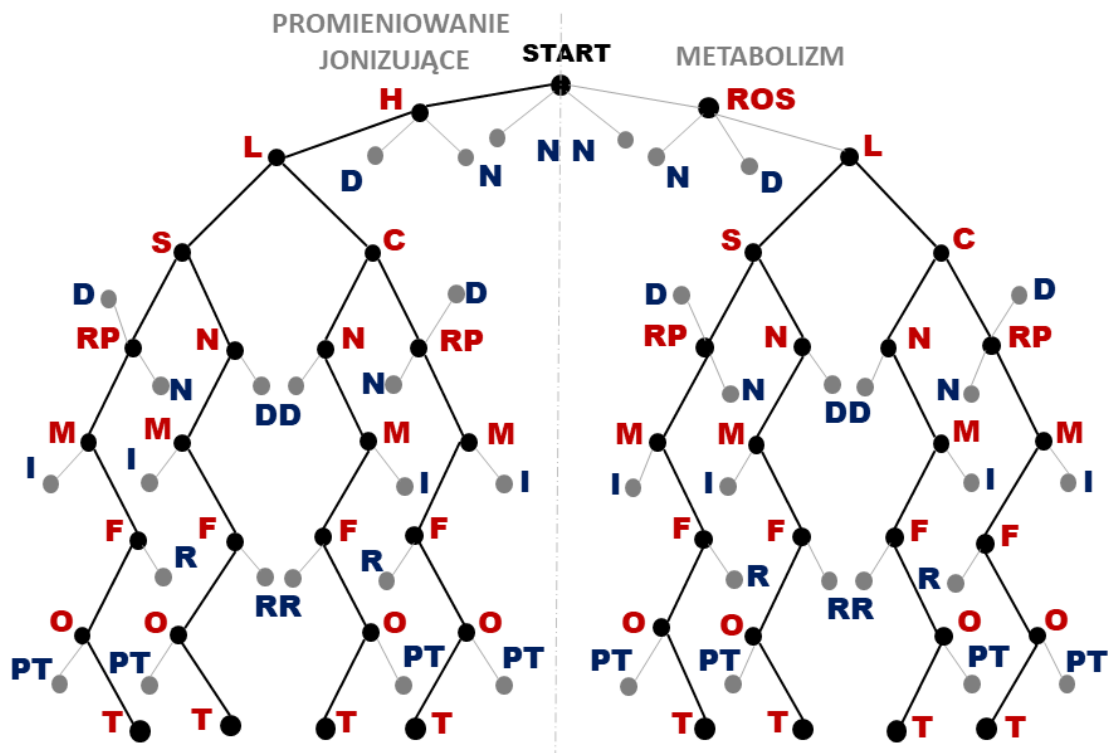


Rysunek 6.10. Schemat przedstawiający prawdopodobieństwa warunkowe procesów zależnych.

Dane ilościowe pochodzą głównie z platformy o nazwie „bionumbers”²². Jest to szeroka baza danych biologicznych, podawanych z odnośnikami do publikacji, z których zostały zaczerpnięte. Ponadto w kontekście powstawania uszkodzeń radiacyjnych oraz metabolicznych posłużono się informacjami opublikowanymi przez Feinendegena i współautorów (2003, 2007, 2018). Posłużono się wielkościami oszacowanymi dla organizmu człowieka (gatunek Homo Sapiens). Obliczenia odniesiono do procesów zachodzących w ciągu jednego dnia (program umożliwia zmianę skali czasowej) oraz dawki promieniowania X (o niskim współczynniku LET) o wartości 1 mGy (co również może zostać zmienione). Algorytm oraz model ścieżek procesów stochastycznych przedstawiają dwa analogiczne szeregi procesów prowadzących do powstania transformacji nowotworowej w jednej komórce (w organizmie). Po wprowadzeniu odpowiednich modyfikacji ilościowych model można będzie zastosować do grupy komórek znajdujących się w organizmie. Na rysunku 6.13 przedstawiono obie ścieżki – jeden proces w wyniku działania promieniowania

²² www.bionumbers.org lub <http://book.bionumbers.org>

jonizującego, o opisanej wyżej charakterystyce, drugi w wyniku procesów metabolicznych, jak łatwo zauważyć ścieżki są symetryczne względem siebie, z wyjątkiem początkowej drogi uderzenia DNA. Należy również podkreślić, że wielkości wartości poszczególnych parametrów oraz funkcji prawdopodobieństwa niektórych etapów ściśle zależą od założenia początkowego, którym jest nieliniowa odpowiedź komórek na małe dawki promieniowania. Jest to numeryczne zastosowanie zaprezentowanego modelu LTC.



Rysunek 6.11. Schemat drzewa prawdopodobieństw bazujący na modelu LTC, przedstawiający procesy prowadzące do transformacji nowotworowej komórki zarówno w wyniku działania promieniowania jonizującego jak i metabolizmu. Kolorem czerwonym zaznaczono szlak prowadzący do transformacji (czarne gałęzie), niebieskim te procesy, które nie zmieniają stanu komórki (szare gałęzie). Zastosowano następujące oznaczenia: N – brak zmian, H/ROS – uderzenie fotonu lub rodnika w DNA, D – śmierć komórki, L – powstanie uszkodzenia (typu DSB) w DNA, S/L – powstałe uszkodzenie jest uszkodzeniem punktowym lub klastrowym (2-5 DSB/10 bp), RP – naprawa DNA, M – mutacja, I – w części genów nie kodujących białek, F – w części genów funkcjonalnych (kodujących białka), O – w protonkogenach lub genach supresorowych, R – w reszcie DNA, T – transformacja, PT – brak transformacji (komórka z potencjałem do nowotworzenia)

6.4.2 Parametry modelu

W celu uzyskania wyników porównywalnych z danymi z eksperymentów biologicznych do modelu wprowadzono szereg wartości, które zostały znalezione w literaturze biologicznej oraz posłużono się kilkoma opisanymi w tym rozdziale funkcjami prawdopodobieństwa, w których wykorzystano niektóre z podanych niżej wartości.

Wartości liczbowe (biologia komórki¹):²³

- a) rozmiar genomu: 3.2 Gbp (bp – para zasad),
- b) geny kodujące białka: 21 000 (1,5%) ~ 30 Mbp,
- c) szacunkowa liczba wszystkich genów: 3 200 000,
- d) liczba chromosomów 46 (2n) – w każdym jądrze komórki haploidalnej materiał genetyczny jest podwojony i średnia liczba baz na chromosom wynosi 130 Mb,
- e) liczba komórek: $(3.7 \pm 0.8) \cdot 10^{13}$ (84% erytrocyty),
- f) liczba komórek w generacji: 50 (średnia liczba podziałów w ciągu życia 10^{16}),
- g) częstość mutacji/replikację²⁴ in vitro: 10^{-8} mutacji/bp/generację (100 generacji kom. potomnych) w całym genomie (10^9 bp) występuje od 0.1 - 1 mut/komórce/replikację,
- h) onkogeny i geny supresorowe – (2018 CGC) opisano 719 genów związanych z transformacją nowotworową “*cancer-driving genes*”,
- i) częstość błędów naprawy DNA: 10^{-5} ,
- j) długość przykładowych życia komórek: pęcherzyki płuc (w kontekście radonu): 8 dni, komórki tłuszczowe: 8 lat, czerwone krwinki: 4 miesiące, komórki kości (osteoklasty): 2 tygodnie, komórki skóry (naskórka): 10 -20 dni, komórki nerwowe: długość życia.

Wartości liczbowe (oszacowane wartości: Feinendegen i in. 2003, 2007, 2018):

- a) naturalnie występujące uszkodzenia DSB : 1/10 komórek na dzień,
- b) dawka 1 mGy (100 keV, prom. X) – 100-200 aktów jonizacji w komórce – 2 uszkodzenia na komórkę, w tym 1 zamiana baz zasadowych, 1 SSB oraz 4×10^{-2} DSB,

²³ baza danych: bionumbers.org

²⁴część cyklu komórkowego – podwajanie materiału

- c) częstość błędów w czasie replikacji (w cyklu komórkowym) 10^{-10} na parę zasad,
- d) produkcja ROS w komórce w ciągu dnia 10^{10} i stała liczba uszkodzeń oksydacyjnych (stałe naprawianych) w komórce na dzień 2.4×10^4 ,
- e) uszkodzenia DSB pochodzenia metabolicznego 0.1/kom./dzień,
- f) prawdopodobieństwo trwałego DSB: 10^{-5} , błąd naprawy DSB z założenia: 10^2 ,
- g) czynnik redukcyjny transformacji systemu immunologicznego 10^2 .

Funkcje matematyczne prawdopodobieństwa niektórych procesów:

- a) Prawdopodobieństwo śmierci z dawką promieniowania: model LQ (r-nie (6.1).
- b) Prawdopodobieństwo uderzenia fotonu oraz wytworzenia się uszkodzeń klastrowych: opisano zmodyfikowanym modelem tarczy (6.5)²⁵:

$$P = \left(1 - e^{-vad} \left[\sum_{i=1}^n \frac{(v \cdot a)^i}{i!} \right] \right)^n \quad (6.45)$$

6.4.3 Wyniki i wnioski

Na podstawie algorytmu napisanego w języku Python 3 (Załącznik 11), obliczono prawdopodobieństwo warunkowe transformacji nowotworowej (popromiennej oraz metabolicznej) w ciągu dnia, roku oraz całego życia człowieka. Prawdopodobieństwo transformacji popromiennej dla dawek pochłoniętych rzędu 1 (mGy) wynosi $2.71 \cdot 10^{-12}$. Prawdopodobieństwo transformacji metabolicznej w ciągu dnia, roku oraz całego życia zostało oszacowane na kolejno $6.80 \cdot 10^{-9}$ oraz $2.48 \cdot 10^{-6}$ i $1.70 \cdot 10^{-4}$.

W obliczeniach starano się nie uwzględniać zależności, które pochodzą z modelu liniowego LNT, stąd wynik obliczeń może być odmienny od standardowo przyjmowanych w ochronie radiologicznej założeń.

²⁵ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4585963/>

Tabela 6.2. Wyniki symulacji numerycznych prawdopodobieństwa transformacji P_T komórki w komórkę nowotworową.

PTransformacji	zakres	Wynik	PBrak zmian
popromiennej	1 mGy	2.71e-12	0.99
popromiennej	10 mGy	9.16e-10	0.99
metabolicznej	na dzień	6.80e-09	
metabolicznej	na rok	2.48e-06	
metabolicznej	na 70lat	1.7e-04	

Na podstawie modelu numerycznego oszacowano, że prawdopodobieństwo transformacji nowotworowej dla dawek rzędu 1-10 mGy, jest niższe niż prawdopodobieństwo powstania komórki nowotworowej na szlaku metabolicznym. Jest to prosty algorytm pozwalający oszacować skalę prawdopodobieństwa w odniesieniu do małych wartości stresora (promieniowania jonizującego bądź wolnych rodników pochodzenia tlenowego). Zaczęto również pracę nad wprowadzeniem sprzężenia zwrotnego dla dwóch gałęzi: radiacyjnej i metabolicznej, jednakże wyniki nie są na tyle zaawansowane, aby móc je zaprezentować w pracy.

6.5 Zjawisko perkolacji w opisie rozrostu komórek nowotworowych.

Teoria perkolacji jest dość uniwersalnym opisem wykorzystywanym poza obszarem fizyki (ciało stałe, magnetyzm, termodynamika, biofizyka) w takich dziedzinach jak ekonomia czy epidemiologia. Ponieważ wiadomo, iż komórki nowotworowe uczestniczą w przekazywaniu sygnałów do środowiska (Hanahan i in., 2011), więc można je potraktować jak sieć perkolacyjną, w której węzły aktywne będą tworzyły komórki z mutacją nowotworową, a nieaktywne – komórki zdrowe. Oddziaływania będą reprezentowane przez sygnały propagowane pomiędzy stanami obsadzonymi komórkami nowotworowymi. Dla uproszczenia wyprowadzeń równań opisujących model, w rozważaniach zastosowano kwadratowy model dwuwymiarowy. W ujęciu dynamiki oddziaływania komórek nowotworowych w procesie kancerogenezy, teoria perkolacji opisana została m.in. przez Moglia i in., 2013, Jiang i in., 2016, Stehlík i in., 2018. Niemniej jednak, w modelowaniu popromiennej kancerogenezy nie została wcześniej użyta.

6.5.1 Pojęcie perkolacji

Pojęcie perkolacji (łac. przesączanie się) zostało wprowadzone w 1957 r. przez Broadbenta i Hammerslaya przy badaniu przesączanie się gazów przez materiał porowaty (Żuber 2007) i opisuje modele dynamiczne przestrzennych procesów przypadkowych (Christensen, 2002). Teoria stosowana jest do opisu skutków zmiennego zasięgu wzajemnych oddziaływań w układach nieuporządkowanych. Chaos deterministyczny, charakteryzujący takie systemy, warunkuje brak regularności i porządku w zachowaniu takich układów, szczególnie wrażliwych na warunki początkowe (Wołoszyn, 2000). Zjawisko perkolacji powiązane z przepływem cieczy przez nieskończone, stabilne, porowate środowisko, gdzie przepływ jest uzależniony od liczby miejsc umożliwiających przepływ i tworzących dowolną sieć (Owald, 2003). Wykazano, że ciecz nie przepływa przez układ, gdy „stężenie” miejsc dostępnych dla przepływu jest mniejsze niż pewna niezerowa wartość progowa, po przekroczeniu której zbiór początkowo niezależnych obiektów nagle formuje większą strukturę poprzez interakcje. Przepływ (oddziaływanie) zachodzi przez węzły aktywne najbliższych sąsiadujących przestrzeni (Owald, 2003). W momencie, gdy następuje stopniowy wzrost koncentracji oddziaływań mikroskopowych następuje gwałtowna zmiana parametrów makroskopowych całego układu, co przejawia się jako ostre przejście fazowe, w którym pojawia się lub zanika dalekozasięgowa spójność układu (Żuber, 2007).

Podczas przejścia fazowego w danym ośrodku, pewne właściwości tego ośrodka ulegają zmianie, najczęściej skokowo, w rezultacie zmiany warunków zewnętrznych takich jak np. temperatura czy ciśnienie. Parametr krytyczny przy którym to następuje nazywany jest (w teorii perkolacji) progiem perkolacji, p_c . Wyróżnia się próg perkolacji wiązań/oddziaływań oraz próg perkolacji węzłów/stanów obsadzonych.

Idea modelu perkolacji zakłada opis sieci złożonej z równomiernie rozłożonych węzłów lub obszarów, którym przypisano w sposób przypadkowy jeden z dwóch możliwych stanów. W literaturze stany opisywane są jako obsadzone bądź aktywne (te które uczestniczą w oddziaływaniach) oraz stany puste, nazywane również nieaktywnymi, które pełnią w teorii perkolacji rolę bufora oddziaływań. Każdy element (punkt) sieci może być niezależnie zajęty (aktywny) z prawdopodobieństwem p , lub pusty(nieaktywny) z prawdopodobieństwem $1 - p$, niezależnie od statusu innych elementów w sieci. Węzły aktywne tworzą klastry, jeśli sąsiadują bezpośrednio ze sobą w taki sposób, że mogą między nimi zajść oddziaływania. Klaster tworzy grupa sąsiadów w stanie obsadzonym, ograniczona brzegowo miejscami nieobsadzonymi. Prawdopodobieństwo obsadzenia p definiowane jest przez całkowitą liczbę aktywnych węzłów do liczby wszystkich węzłów w sieci.

Na rysunku (Rys. 6.12) zaprezentowano 4 klastry w dwuwymiarowej sieci (o długości boku $L = 5$). Średnia liczba klastrow w d -wymiarowej sieci o wymiarach S (n_s - liczba punktów aktywnych) wynosi:

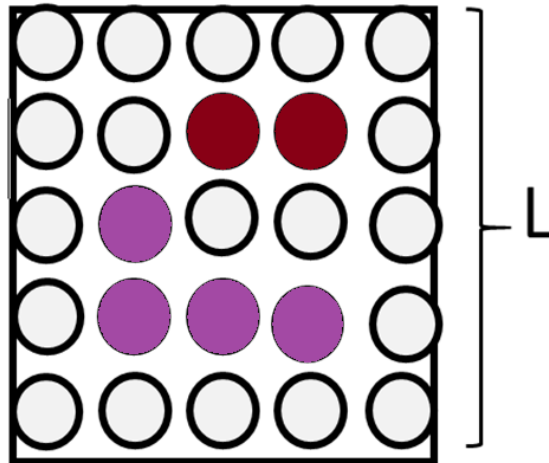
$$S = L^d n_s(p) \quad (6.46)$$

Jeśli przez $n(s)$, gdzie $s = 1, 2, 3, \dots$, oznaczymy prawdopodobieństwo istnienia klastra o rozmiarze s (dla sieci kwadratowej $n(s) = p, 4p^2, 18p^3, \dots$), zatem średni rozmiar klastra można opisać jako:

$$S = \frac{\sum_{s=1}^{\infty} s^2 \cdot n(s)}{\sum_{s=1}^{\infty} s \cdot n(s)} \quad (6.47)$$

Modele perkolacji dwuwymiarowej tworzy się na sieciach o różnej geometrii przestrzennej, przy czym wyprowadzenie rozwiązania analitycznego modelu możliwe jest dla sieci jednowymiarowej, bez konieczności wykorzystywania metod numerycznych (Christensen, 2002). Wartości liczbowe progu perkolacji zależą od typu perkolacji, przestrzennego rozmieszczenia i kształtu elementów przewodzących, symetrii sieci, liczby wiązań odchodzących od każdego z węzłów (s) oraz wymiaru przestrzeni.

Dla przestrzeni 2D (sieć kwadratowa, $z = 4$) perkolacja dla wiązań/oddziaływań $p_c = 0.5$ i węzłów/stanów zajętych $p_c = 0.5927$. Dla przypadku przestrzeni trójwymiarowej ($z = 6$) wynosi odpowiednio $p_c = 0.2488$ i $p_c = 0.3116$. Dla sieci jednowymiarowej ($z=2$) oba parametry są równe jedności (Christensen., 2002).



Rysunek 6.12. Sieć dwuwymiarowa o wymiarach $L^2 = 5 \times 5$, kolorem brązowym i fioletowym zaznaczono przykładowe stany obsadzone, białym przykładowe miejsca nieaktywne. Na schemacie pokazano dwa klastry o liczebności $s = 2$ (kolor brązowy) i $s = 4$ (kolor fioletowy). Opracowanie własne.

Klaster to grupa najbliższych punktów (sąsiadów) w przypadku zajętych (aktywnych) stanów. Teoria perkolacji opisuje liczbę oraz własności klastrów dla punktów (węzłów) sieci aktywnych z prawdopodobieństwem p . Sieć w odniesieniu do układu komórkowego składa się z komórek znajdujących się w bezpośrednim sąsiedztwie, reprezentowanych przez punkty bądź obszary o zadanej geometrii przestrzennej. Każdej z komórek można przypisać stan: zdrowa bądź zmutowana (aktywna). Każdy węzeł jest aktywny z pewnym prawdopodobieństwem p oraz nieaktywny z prawdopodobieństwem $1 - p$, gdzie $p \in [0;1]$. Prawdopodobieństwo, że dowolnie wybrany węzeł lub dowolnie wybrane wiązanie należy do ścieżki perkolacyjnej (nieskończenie rozciągniętego klastra) nazywane jest prawdopodobieństwem perkolacji $P(p)$. Wykładniki krytyczne są wielkościami charakterystycznymi dla zjawisk krytycznych np. krytycznego zjawiska transportu. Opisują one zachowanie układu w obszarze, określanym jako krytyczny, w pobliżu progu perkolacji. Poszczególne wykładniki krytyczne, związane z różnymi zjawiskami krytycznymi, przyjmują uniwersalne wartości.

Podsumowując próg perkolacji to najmniejsza koncentracja wypełnionych węzłów na sieci, przy której powstaje nieskończony klaster. Węzły są wypełnione (aktywne) jeśli przypisuje się im stan „komórka nowotworowa”, jeśli są nieaktywne (puste) w wypadku gdy komórka jest zdrowa. Próg perkolacji nie jest uniwersalny, w zależności od geometrii przestrzennej komórek w sieci i rodzaju perkolacji (strony, wiązania) ma różne wartości. Teoria perkolacji oparta jest na dwóch istotnych założeniach. Sieć połączeń powinna dotyczyć układu o nieskończonych wymiarach (wyznaczenie wartości p_c) oraz przypadkowość obsadzeni. Oznacza to że węzły mogą być przypadkowo wypełniane, co realizuje się poprzez wprowadzenie funkcji prawdopodobieństwa obsadzenia (stanem aktywnym) każdego z węzłów lub wiązań. Perkolacje opisują prosty model probabilistyczny przejścia fazowego reprezentowany przez punkty (węzły) na sieci, które niezależnie od siebie mogą być aktywne lub nie – mogą przekazywać bodźce, z prawdopodobieństwem p . Prawdopodobieństwo, że węzeł będzie nieaktywny wynosi $1 - p$. Podstawowym problemem w teorii perkolacji jest pytanie o prawdopodobieństwo tego, że istnieje „otwarta” ścieżka (ciąg połączonych ze sobą aktywnych węzłów) rozpoczynająca się od jednej krawędzi do przeciwległej np. dla sieci kwadratowej $S = [-n, n]^2$. Jeśli punkt początkowy oznaczymy jako 0 oraz wyznaczymy limit $n \rightarrow \infty$, można zapytać o wartość prawdopodobieństwa, że istnieje „otwarta” ścieżka od 0 do ∞ ? Jest to prawdopodobieństwo perkolacji i opisywane jest jako $\theta(p)$. Dla $p = 0$ i $\theta(0) = 0$ i dla $p = 1$ i $\theta(1) = 1$ (wszystkie węzły są aktywne ($p = 1$) albo żadne ($p = 0$)).

Można wskazać krytyczną wartość prawdopodobieństwa $p_c = \sup\{p: \theta(p)=0\}$; (gdzie \sup – \sup to górne ograniczenie zbioru $\{ \}$, najmniejsze z ograniczeń górnych danego zbioru). Dla $p_c > p$ i $\theta(p) > 0$, więc istnieje niezerowe prawdopodobieństwo, że klaster (zbiór punktów aktywnych) jest nieskończony. Podsumowując: globalne zachowanie systemu jest inne dla $p > p_c$ i $p < p_c$, ostre przejście dla jakiegoś parametru nazywamy przejściem fazowym bądź zachowaniem krytycznym. Wyróżniamy 2 typy perkolacji stron (*site*) i wiązań (*bond*). W opisywanym modelu są to perkolacje wiązań

6.5.2 Zastosowanie zjawiska perkolacji w opisie rozrostu guza

W modelu 3D można założyć, że komórki nie muszą znajdować się w bezpośrednim kontakcie, ale w zdefiniowanej w modelu objętości krytycznej V_c . Wspominany parametr krytyczny p_c , ma tę własność, że dla $p > p_c$, następuje połączenie przeciwległych węzłów w sieci w jeden klastery (Wołoszyn, 2006), a tym samym zmiana właściwości całego układu (transformacja). Dla układu 3D można zdefiniować krytyczną koncentrację stanów aktywnych, jako:

$$x_c = n/V_c \quad (6.48)$$

dla koncentracji:

$$x = n/V_{\max} \quad (6.49)$$

W równaniach (6.48), (6.49): x – gęstość liczbowa, n – liczba komórek nowotworowych, V_c – objętość krytyczna, V_{\max} objętość maksymalna - tkanka.

Prawdopodobieństwo perkolacji P_p - dowolnie wybrany obszar zawiera elementy połączone z elementami zawartymi w sąsiednich obszarach, tak że możliwe jest zjawisko propagacji oddziaływań przez całą sieć (Kesten, 2006) – można przedstawić za pomocą:

$$P(p) \sim (x - x_c)^\beta \quad (6.50)$$

gdzie: β – parametr krytyczny zależny wyłącznie od wymiarów sieci, x – koncentracja stanów obsadzonych, związana z liczbą komórek potencjalnie nowotworowych.

$P(p)$ definiowane jest jako parametr porządku i może być wyznaczone jako stosunek węzłów aktywnych w największym klastrze do liczby aktywnych węzłów sieci.

W wyniku powstania nieskończonego klastra tempo proliferacji komórek potomnych gwałtownie wzrasta. Nie musi to oznaczać, że wszystkie komórki w rozpatrywanej objętości są aktywne (nowotworowe), ale że istnieje szereg połączonych ze sobą oddziaływaniami komórek nowotworowych rozpoczynający i kończący się w granicach rozpatrywanej objętości V_c ($V_c \rightarrow \infty$). Przy sprzyjających warunkach proliferacja komórek nowotworowych następuje bardzo szybko w stosunku do średniej długości życia człowieka (dla komórek He-La czas podwojenia populacji wynosi 17- 21h (Hamada, 2006)).

Z uwagi na złośliwy charakter komórek nowotworowych, do opisu należałoby wprowadzić również komórki potomne komórek nowotworowych, których stan opisywany będzie prawdopodobieństwem proliferacji zależnym od liczby komórek (potencjalnie)

nowotworowych²⁶ w stosunku do liczby komórek zdrowych oraz wydajności systemu immunologicznego, zależnego m.in. od wieku całego organizmu. Jako początek procesu perkolacji wybrałam moment przekroczenia założonej objętości V_{\min} komórek dla modelowanej sieci komórkowej.

Na etapie beznaczyniowym guz najczęściej przybiera geometrię sferyczną (Feng i in., 2019). Opisany w niniejszej rozprawie model LTC dotyczy jedynie początkowego etapu rozwoju samego guza nowotworowego (zarodkowania), dlatego transformacja komórek potencjalnie nowotworowych, w nowotwór lity, nie uwzględnia sytuacji, w której tworzy się system naczyniowy (prowadzący do dalszego rozrostu utworzonego już guza). Dane literaturowe wskazują, że proces ten zachodzi powyżej pewnej objętości nowotworu, którą w modelu przyjęto jako objętość maksymalną $V_{\max} = 1 \text{ mm}^3$ (Watanabe, 2016). Oznacza to, że w tej objętości zmieści się średnio 2 mln. komórek o objętości. $500 \mu\text{m}^3$ każda. Dostarczanie składników odżywczych do unaczynionego systemu powoduje dużo szybszy rozrost guza (La Porta i in., 2012). Objętość V_{\max} oznacza maksymalną objętość jaką mogą zająć komórki nowotworowe przed zainicjowaniem wspomnianego procesu angiogenezy (unaczynienia). Zależna od dostępnego pożywienia i pojemności środowiska K .

Zaś V_{\min} (lub objętość krytyczna V_c) jest to przyjęta objętość minimalna, przy której obserwuje się uromowany zarodek nowotworu. W analogii do przejść fazowych po przekroczeniu V_{\min} . następuje gwałtowny wzrost objętości guza gwałtowny wzrost tempa proliferacji po przekroczeniu progu perkolacji, w granicach $[V_{\min}, V_{\max}]$. Opisana ścieżka perkolacyjna dotyczy połączenia skrajnych wierzchołków w sieci o wymiarach V_{\min} . Objętość minimalna została wybrana na podstawie danych literaturowych. Dynamika rozwoju objętości w fazie nieunaczynionej $[0, V_{\min}]$ zakładająca ciągły dostęp do składników odżywczych może być opisana równaniem (Foryś, 2005):

$$\dot{V} = \frac{kV}{\gamma} \left[1 - \left(\frac{V}{\vartheta}\right)\right]^\gamma \quad (6.51)$$

gdzie ϑ :

$$\frac{4\pi}{3} \left[\frac{15}{G} (c_z c_a)\right]^{3/2} \quad (6.52)$$

²⁶ CSC (opisane w rozdziale 3) – komórka posiadająca wystarczającą liczbę mutacji by być traktowana jak komórka nowotworowa, przed aktywacją niekontrolowanych podziałów komórkowych

W równaniach (6.52,6.51): $\gamma = 2/3$, $k = 2a(c_z - c_a)/3$, a – stała skalująca, c_z – koncentracja składników odżywczych, c_a – stała powiązana z frakcją komórek ulegających apoptozie, G – tempo zużywania składników odżywczych.

Równanie (6.52) nie uwzględnia opisanych wcześniej oddziaływań pomiędzy komórkami nowotworowymi a środowiskiem lub pomiędzy innymi komórkami nowotworowymi. Ogólna postać równania opisującego przestrzenny rozwój nowotworu w zależności od maksymalnej liczby komórek nowotworowych opisanej równaniem 6.36, oparta na funkcji Mehla-Avramiego, może być zapisana jako:

$$V = N_{cancmax}(1 - e^{-\gamma(t-t_{cr})^n}) \quad (6.53)$$

W równaniu (6.53) wartość parametru krytycznego n odpowiada wymiarom przestrzennym obiektu, w przypadku 3D, $n = 3$, γ - parametr skalujący, t – czas, t_{cr} – krytyczna wartość czasu.

Zastosowanie opisu zjawiska perkolacji ma na celu wprowadzenie opisanych wcześniej oddziaływań pomiędzy środowiskiem a pojedynczymi komórkami nowotworowymi, w którym liczba nowych komórek nowotworowych (oraz tempo proliferacji r) będzie zależna od proporcji komórek nowotworowych i zdrowych w środowisku oraz wydajności systemu immunologicznego (opisywanego przez parametr podatności γ i wpływającego na zasięg oddziaływań ξ). Do opisu zjawiska perkolacji stosuje się kilka parametrów: są to wspomniany próg perkolacji (p_c), wielkość maksymalnego klastra, która może być zastąpiona przez liczbę komórek nowotworowych (biorących czynny udział w perkolacji) do całości komórek w systemie. Wielkość ta przekłada się na prawdopodobieństwo, że losowo wybrana komórka należy do tzw. „węzła” w sieci komórek nowotworowych. W naszym modelu parametr określający proporcje komórek nowotworowych do całkowitej liczby komórek w układzie:

$$h = \frac{N_N}{N_N + M} \quad (6.54)$$

$$h(t) = r \cdot \frac{N_N}{N_N + M} \quad (6.55)$$

gdzie: N_N – liczba komórek nowotworowych (aktywnych), M – liczba komórek zdrowych (nieaktywnych), r - tempo proliferacji.

Powiązanie deterministycznego opisu z nieliniowym zachowaniem grupy komórek nowotworowych oprócz można na zależności przejścia perkolacyjnego pojedynczych

komórek nowotworowych względem ich liczebności w sieci komórkowej za pomocą zależności:

$$N_N \sim P_N = S(h - h_c)^{\kappa} \quad (6.56)$$

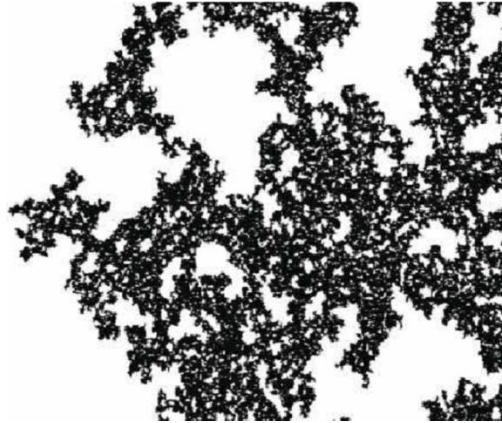
W najprostszym przypadku (prosta ścieżka perkolacyjna w minimalnej objętości guza, od jednego wierzchołka przestrzeni do drugiego przeciwległego), można założyć, że wartość h_c może być przybliżona za pomocą nierówności:

$$h_c \geq \frac{d\sqrt{V_{min}}}{V_{min}} = V_{min}^{\frac{1-d}{d}} \quad (6.57)$$

gdzie: V_{min} jest minimalną objętością guza ($V_{min} \ll V$) oraz $d=3$ wymiarów.

Dla małych wartości parametrów (średniej liczby komórek nowotworowych oraz prawdopodobieństwa aktywacji p) prawdopodobieństwo perkolacji P_p jest zanedbywalnie małe, do momentu przekroczenia progu krytycznego p_c , po którym następuje gwałtowne zachowanie systemu i nieodwracalna transformacja nowotworowa. Dodatkowo można wprowadzić maksymalną odległość l od węzłów (komórek) w klastrze, na której następują oddziaływania międzykomórkowe. Prawdopodobieństwo perkolacji zależy od odległości między elementami w klastrze i pomiędzy klastrami.

Dwie inne wcześniej zdefiniowane wielkości: średni rozmiar klastra S i średnica największego klastra I zachowują się osobliwie w pobliżu punktu krytycznego p_c . Obydwie funkcje przyjmują w punkcie $p = 0$ pewną skończoną wartość, następnie rosną monotonicznie wraz ze wzrostem p , gdy p zbliża się do p_c – S i $I \rightarrow \infty$. Są to nie związane ze sobą wielkości, gdyż złożoność klastrów (obiektów fraktalnych) (Rys. 6.13) nie można oczekiwać, że w pobliżu p_c , $s \sim I^d$ (gdzie d jest wymiarem przestrzeni). I stanowi skalę dla funkcji korelacji $g(r)$, która opisuje prawdopodobieństwo, że dwa węzły i i j odległe od siebie o długość $r = r_i - r_j$ należą do tego samego klastra. Dla $p \ll p_c$ (koncentracja węzłów aktywnych), wówczas $g(r \rightarrow \infty) = 0$, ponieważ wszystkie klastry mają skończone wymiary. Dla koncentracji bliskiej wartości p_c wówczas 2 węzły mogą być związane (jeśli należą do nieskończonego klastra), stąd $g(r \rightarrow \infty) = (P(p))^2$, przy czym $g(r)$ wzrasta wykładniczo do wartości granicznej (r/ξ) dla dużych wartości r . Kolejną osobliwą funkcją jest funkcja przewodnictwa sieci $\sigma(p)$, dla której obserwuje się powolny wzrost po przekroczeniu p_c (różnice w zachowaniu tych dwu funkcji są naturalną cechą zjawisk krytycznych występujących w obszarze $(p-p_c) \ll 1$, gdzie zachowanie układu regulowane jest przez wielkości zwane wykładnikami krytycznymi.



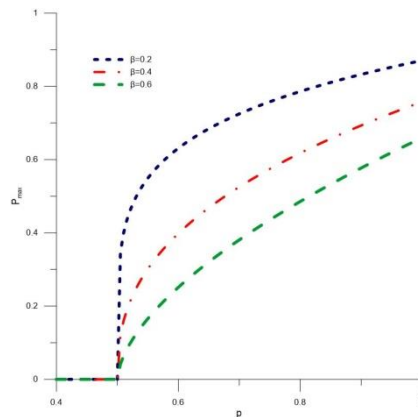
Rysunek 6.13. Przykładowy nieskończony klastery dla sieci 2D (Campari i in., 2011).

Ponieważ charakterystyczną cechą perkolacji jest twz. prawo potęgowe, które wiąże procesy zachodzące w pobliżu progu perkolacji z dodatkowymi parametrami krytycznymi układu (wykładniki krytyczne). W obszarze bliskim progu perkolacyjnego, dla $|p - p_c| \ll 1$, funkcje S , I , $P(p)$, σ zależą potęgowo od odległości od progu perkolacyjnego ($p - p_c$)

Wartość $P(p)$ można przybliżyć poprzez (analogicznie w r-niu (6.62)):

$$P_{max} \sim (p - p_c)^\beta \quad (6.58)$$

gdzie β jest wykładnikiem krytycznym zależnym od długości r (średnia odległość pomiędzy węzłami korelującymi). Zależność P_{max} od parametru beta przedstawiono na Rys. 6.14.



Rysunek 6.14. Zależność prawdopodobieństwa transformacji nowotworowej P_{max} od parametru krytycznego β . Przejście perkolacyjne po przekroczeniu wartości krytycznej $p_c = 0.5$, względem 3 wartości parametrów β : 0.2, 0.4 i 0.6.

Średnica największego klastra I może być opisana poprzez wielkość zasięg oddziaływań ξ , zależny od prawdopodobieństwa obsadzenia stanu (aktywacji), przed przekroczeniem punktu krytycznego, co można przybliżyć za pomocą funkcji potęgowej:

$$\xi \sim (p_c - p)^{-\nu} \quad (6.59)$$

Wykładnik ν dla sieci dwuwymiarowej wynosi $\nu = 4/3$. Jest to eksponent krytyczny zasięgu oddziaływań ξ . Średnia liczba komórek w klastrze jest opisywana za pomocą analogicznego równania:

$$S \sim (p_c - p)^{-\gamma} \quad (6.60)$$

Czwartą funkcją osobliwą jest funkcja przewodnictwa sieci $\sigma(p)$, dla której definiuje się relację analogiczną z równaniem 6.60.

$$\sigma(p) \sim (p_c - p)^t \quad (6.61)$$

W przypadku sieci dwu-wymiarowej parametry krytyczne, mają wartości: $\beta = 5/36$, $\nu=4/3$, $\gamma=43/18$, $t = 1.1$ (Stauffer, 1979).

Dla $d=3$ ($\beta = 0.4$, $\nu=0.85$, $\gamma=1.7$, $t = 1.65$ (Christensen, 2002))

Zakładając, że p określa prawdopodobieństwo, że komórka jest nowotworowa, można oszacować funkcje perkolacyjne, przy pomocy powyższych wartości wykładników krytycznych. Kwestią nietrywialną jest ich biofizyczne znaczenie, tak jak stosunkowo dobrze określone są w fizyce ciała stałego (Kauffmann, 1993), tak w tym przypadku nie znaleziono bezpośredniej zależności wartości tych wykładników z dynamiką rozwoju komórek nowotworowych, co planowane jest w przyszłości.

Zakładam, że zasięg oddziaływań ξ powinien być wprost proporcjonalny do funkcji χ , określającej podatność lub wrażliwość środowiska związaną z wydajnością systemu immunologicznego określoną parametrem α . Można założyć, że:

$$\chi \sim \alpha \cdot \xi \quad (6.62)$$

Jeśli założymy, że poniżej wartości h_{cr} , istnieje dodatkowe oddziaływanie środowiska hamujące propagację bodźców wysyłanych pomiędzy komórkami nowotworowymi, opisywane funkcją χ , oraz, że średnia liczba komórek nowotworowych opisywana jest równaniem 6.38. Liczbę komórek nowotworowych można opisać jako:

$$N_N = N_{N,0} + \chi N_N \quad (6.63)$$

dla: $N_{N,0}$ – liczba komórek nowotworowych w systemie, w którym brakuje sygnałów hamujących proliferację.

Przekształcając zależność w równaniu (6.68), otrzymamy:

$$N_N = \frac{N_{N,0}}{1-\chi} \quad (6.64)$$

Dla $\chi=1$ – zanika zdolność systemu immunologicznego do hamowania rozrostu i następuje wykładniczy wzrost proliferacji komórek potomnych.

Model wymaga dalszego rozwinięcia, jak i szczegółowej analizy parametrów krytycznych odpowiedzialnych za przejście fazowe związane z dynamiką rozrostu grupy komórek nowotworowych.

6.6 Podsumowanie

W obszarze małych dawek trudno jest uzyskać wiarygodne statystycznie dane pochodzące z bezpośrednich eksperymentów poszukujących zależności dawka-efekt. Z tego względu modelowanie biofizyczne, oparte na podejściu empirycznym (Preston i inni, 2003) bądź mechanistycznym (Little i inni, 2008) jest dobrym narzędziem, które może przyczynić się do oceny wiarygodności dowolnej hipotezy o działaniu promieniowania jonizującego na człowieka w zakresie małych dawek. Skutki promieniowania jonizującego następują, jak opisałam, w wyniku złożonych mechanizmów, które mogą obejmować wiele procesów uruchomionych w bardzo różnych skalach przestrzennych i czasowych. Pełen opis uwzględnia efekty fizyczne, chemiczne, biologiczne, a w dalszej kolejności także medyczne. Organizm ludzki, podobnie jak jego komórki elementarne, jest fizycznym układem złożonym, charakteryzującym się nieliniową odpowiedzią na dostarczane bodźce. Procesy, które zachodzą w komórkach eukariotycznych, mają więc naturę stochastyczną, mogą być opisywane z pewnym prawdopodobieństwem (lub jak w przypadku analitycznych modeli, przybliżonych, szacowanych wartości). Szczegółowe modele mechanistyczne mają na celu ilościowe i jakościowe zrozumienie podstawowych procesów, objaśnienie ich znaczenia i wzajemnych powiązań. Opisowe czy fenomenologiczne modele znajdują zastosowanie

w radioterapii, analizie danych eksperymentalnych oraz ochronie radiologicznej (Watanabe i in., 2016). Znalezienie dobrego modelu wymaga sprecyzowania ogólnych założeń początkowych, opartych na obecnej wiedzy radiobiologicznej.

Obecnie w literaturze istnieje wiele odmiennych podejść do modelowania procesu transformacji nowotworowej, zachodzącego na różnym etapie rozwoju nowotworu, również w kontekście popromiennej kancerogenezy. Przedstawione podejście do opisu transformacji nowotworowej miało na celu uwzględnienie osobnych etapów ewolucji wczesnej fazy nowotworu litego (nieunaczynionego), począwszy od czynnika inicjującego pierwsze mutacje komórkowe, jakim w modelu jest promieniowanie jonizujące. Zastosowano podejście oparte na modelu przypadkowej koincydecji RCM, który opisuje mutacje kancerogenne uwzględniając obecność w materiale genetycznym onkogenów i genów supresorowych, co wydaje się istotnym elementem wynikającym z obecnej wiedzy dotyczącej ludzkiego genomu. Wyprowadzenie deterministycznego prawdopodobieństwa transformacji nowotworowej opartego o model RCM porównano z dynamiką opisywaną funkcją Gomperta w pracy z 2016 (Dobrzyński i in., 2016, 2019). Niezależnie od podejścia, funkcja ta dobrze charakteryzuje dynamikę opisywanego systemu. W obu przypadkach występują wartości krytyczne, które nadzorują zachowanie się modelowanego systemu. Niezbędna jest również dalsza praca nad kompleksowym modelem w kontekście tematyki transformacji nowotworowej.

Podsumowanie pracy

W przedstawionej rozprawie doktorskiej podjęto problem oceny ryzyka nowotworowego w wyniku działania małych dawek promieniowania jonizującego. Dawki z tego zakresu, w przypadku ekspozycji jednorazowej definiowane są w zakresie poniżej 100 mGy, mocy dawki 6 mGy/godz. Przy ekspozycji chronicznej (ciągłej w czasie) są to dawki rzędu 10^{-4} mSv / min (ekspozycja zawodowa) (ICRP 2015) lub 5 mSv/rok (ekspozycja środowiskowa) (UNSCEAR 2017). Zakres ten w definicjach nie jest jednoznacznie określony, często zależy od kontekstu raportu, w którym definicja jest użyta. Zwrócono uwagę, że standardowy model LNT nie obejmuje zakresu omawianych w pracy dawek.

Niniejsza rozprawa została oparta na postulatcie nieliniowości w odpowiedzi organizmu na promieniowanie jonizujące, w przedziale małych dawek promieniowania. Zaproponowano wprowadzenie osobnej zależności dawka – efekt w opisie skutków biologicznych działania promieniowania jonizującego w przedziale małych dawek promieniowania. Na podstawie danych literaturowych wskazano, że najbardziej prawdopodobną zależnością wydaje się hormetyczna, która silnie związana jest z odpowiedzią adaptacyjną organizmu na niskie dawki promieniowania. Odpowiedź adaptacyjna (efekt Yonazawy) opisuje pobudzenie mechanizmów naprawczych DNA i wzmożenie systemu immunologicznego, co w efekcie powoduje redukcję następnych uszkodzeń lub mutacji. Może okazać się, że siła efektu zależy od indywidualnej wrażliwości lub podatności organizmu. Uwzględniając zebrane dane literaturowe oraz wyniki opisaną poniżej analizy zależności występowania raka płuc w funkcji koncentracji radonu - do oceny ryzyka wstępnie zaproponowano model progowy.

Obecnie nie można uzyskać wiarygodnej statystycznie informacji o ryzyku radiacyjnym dla omawianego przedziału małych dawek promieniowania, w podejściu do jego oceny należy połączyć wiedzę z zakresu epidemiologii, radiobiologii z modelowaniem biofizycznym. W poszczególnych rozdziałach zaprezentowano więc całokształt prac mających na celu kompleksowe ujęcie omawianego zagadnienia - oddziaływania małych dawek promieniowania jonizującego na człowieka. W rozdziale 1 opisano cel i motywację rozprawy doktorskiej oraz wymieniono spis publikacji autora. W rozdziale 2-3 oraz uzupełnieniach do pracy wyjaśniono pojęcia fizyczne, biologiczne, dozymetryczne, na których oparto założenia, wyprowadzenia analityczne oraz algorytmy numeryczne służące do modelowania popromiennych procesów komórkowych. Zaprezentowano poziom obecnej wiedzy w odniesieniu do podstawowych procesów zachodzących w organizmie człowieka w wyniku

napromieniania małymi dawkami promieniowania jonizującego, jak również aspekty związane z ochroną radiologiczną. W rozdziale 4 pokazano wyniki przeprowadzonego przez autora pracy eksperymentu dotyczącego oceny występowania zjawiska nadwrażliwości na małe dawki promieniowania (HRS, ang. *Hyper-radiosensitivity*) w populacji osób zdrowych jak i indywidualnej odpowiedzi komórek poddanych działaniu promieniowania jonizującego. Do oceny częstości mutacji w limfocytach krwi obwodowej pobranych od 6 zdrowych dawców, posłużono się testem mikrojądrowym z blokiem cytokinezy (CBMN). Komórki zostały napromienione dawkami pochłoniętymi z zakresu 0 – 1500 mGy, w dwóch fazach cyklu komórkowego G_0 i G_2 . Podjęto próbę wyznaczenia indywidualnych oraz średnich zależności dawka-efekt. Podstawowa analiza statystyczna nie pozwoliła określić występowania efektu HRS, jednakże wyniki wykazywały wspólny trend sugerujący występowanie progę na aktywację mechanizmów naprawczych w późnej fazie G_2 , czego nie obserwowano dla komórek napromienianych w fazie spoczynkowej G_0 (w której w większości występują w krwi obwodowej). Rozdział 5 obejmuje swoją treścią analizę badań epidemiologicznych w ujęciu ryzyka radiacyjnego związanego z naturalnie występującym radioaktywnym gazem, którym jest radon. Zagadnienie wybrano w związku z wprowadzoną niedawno zmianą krajowych przepisów redukującą dopuszczalne normy koncentracji radonu w budynkach mieszkalnych do 300 Bq/m³. Analizę danych wykonano wykorzystując takie metody jak klasyczna analiza najmniejszych kwadratów, analiza bayesowska czy metoda najmniejszej entropii. Zwrócono uwagę na problemy natury metodologicznej oraz wpływ czynników obciążających (konfundujących) Wskazano również na czułość wyników badań epidemiologicznych względem doboru metody grupowania danych. W pierwszej części zaprezentowano meta-analizę 32 prac radonowych typu kliniczno-kontrolnego i 2 prac ekologicznych, druga część oparta została na analizie danych zawartych w rejestrach amerykańskich państwowych, zebranych w bazie danych Himmelsteina i Simmeonova(2015), zawierająca informacje dotyczące ryzyka nowotworowego dla ponad 200 mln. osób. W obu częściach w obszarze małych dawek równoważnych na płuca (H) poniżej 150 mSv/rok pochodzących od inhalowanego radonu obserwuje się brak wpływu radonu na zachorowalność i umieralność na nowotwór płuc. W ostatnim rozdziale, będącym obok dwóch poprzednich główną i zasadniczą częścią pracy, zaprezentowano analityczny model transformacji nowotworowej komórek (LTC, ang. *Lesion to Cancer*) w wyniku napromieniania organizmu. Opracowany wcześniej model popromiennej kancerogenezy L. Dobrzyńskiego i K. Fornalskiego, M. K. Janiaka

i współautorów został rozszerzony, bazując na wyprowadzonych w pierwszej części pracy wnioskach. Uwzględniono w szczególności wagę protoonkogenów oraz genów supresorowych, systemu immunologicznego oraz indywidualnej radiowrażliwości w opisie prawdopodobieństwa popromiennej transformacji nowotworowej. Model oparty jest na szeregu podstawowych procesów zachodzących na różnym poziomie organizacji organizmu, które zachodzą kolejno po sobie w wyniku ekspozycji na promieniowanie jonizujące, w tym odpowiedzi adaptacyjnej. Wyniki zawarte w pracy stanowią podstawę do dalszych badań, które pozwolą wprowadzić do opisu - obecnie nie do końca poznane - mechanizmy takie jak efekt widza, senescencja komórek czy efekty abskopalne. Autor przyznaje, że w opisie brakuje roli apoptozy, która może w istotny sposób zredukować liczbę komórek zmutowanych oraz wpływu niestabilności genetycznej na aktywację genów nowotworowych w procesie transformacji komórki. Zaprezentowano również zastosowanie modelu LTC w modelowaniu numerycznym opisującym drzewo prawdopodobieństw na poziomie komórkowym (dla małych wartości dawek i procesów metabolicznych). Pokazano, że zarówno stochastyczne jak i deterministyczne podejście do opisu biofizycznego modelu są zbieżne.

Po pierwsze rozszerzony model pokazuje Gompertzowską zależność, którą odwzorowują dane eksperymentalne. Po drugie model pozwala połączyć opis fenomenologiczny z opisem matematycznym w odniesieniu do oceny prawdopodobieństwa kancerogenezy w wyniku promieniowania, które jak opisano w rozdziale 6, dla małych dawek przyjmuje wartości porównywalne do tych pochodzących od naturalnie występujących uszkodzeń metabolicznych. Pokazano w jaki sposób warunki środowiska komórkowego, a więc stan organizmu, wpływające na aktywność procesów naprawczych oraz aktywację systemu immunologicznego, wpływają na kształt wyjściowej zależności dawka – efekt. Model zawiera wagę przestrzennej lokalizacji powstałej mutacji w DNA, w odniesieniu do genów biorących udział w procesie nowotworzenia. Dotychczasowe modele pomijały zagadnienia związane z występowaniem genów krytycznych (onkogenów i genów supresorowych) jako struktury potencjalnie najbardziej radiowrażliwej. Model opisuje reakcję całego organizmu, w której procesy transformacji nowotworowej zachodzą poniżej skali mikrometrowej. Dopasowanie modelu do danych pochodzących z badań prowadzonych w warunkach laboratoryjnych, nie pozwoli na uwzględnienie roli środowiska komórkowego oraz indywidualnej wrażliwości organizmu, dlatego w pracy nie przedstawiono jednoznacznego dopasowania przedstawionego opisu biofizycznego do danych biologicznych opisujących formowanie się

guza w wyniku napromieniania tkanki. Model LTC wyraźnie pokazuje, że w obszarze małych dawek promieniowania wzrost ryzyka nowotworowego nie jest liniowy. Pokazano również genezę funkcji Gompertza opisującą dynamikę rozwoju nowotworu. Na podstawie rozważań analitycznych zauważono, że funkcja Gompertza, nie pozwala odzwierciedlić zachowania układu w zarodkowych fazach formowania się guza. Wczesna faza formowania się nieunaczynionego guza litego z pojedynczych komórek nowotworowych wykazuje charakterystykę systemu, opisywanego przez teorię przejść fazowych, w którym obserwuje się skokowe zmiany własności ośrodka przy zmianie parametrów tzw. krytycznych. Do opisu transformacji nowotworowej w ujęciu teorii przejść fazowych zaproponowano jedno z podstawowych podejść modeli – model perkolacji. Przedstawiono analogię oraz podstawowe równania, przy których możliwy byłby opis ostatniego etapu modelu LTC, uwzględniającego ścieżkę od uszkodzenia do uformowania się nowotworu litego w wyniku działania promieniowania jonizującego. Autor jest świadomy, że model w oparciu o zjawisko perkolacji, nie jest wystarczająco bogaty i względu na etapową konstrukcję, możliwa będzie dalsza praca nad jego rozwinięciem.

Rezygnacja z wielu procedur medycznych z użyciem promieniowania jonizującego skutkuje zmniejszoną wykrywalnością wielu chorób w tym choroby nowotworowej. Praca nad modelem może przyczynić się do zmodyfikowania obecnego podejścia do oceny ryzyka w ochronie radiologicznej bazując na wiedzy naukowej. W efekcie, wracając do początkowych rozważań, ryzyko nowotworowe będzie niższe – przy większej wykrywalności chorób nowotworowych można oczekiwać mniejszej śmiertelności.

Dalsze plany naukowe autora:

Przegląd literaturowy pozwolił na zwrócenie uwagi na kilka kwestii nie poruszanych w pracy, natomiast istotnych z punktu widzenia obranej tematyki badawczej. Pierwszą rzeczą jest ustalenie definicji małych dawek i mocy dawek promieniowania, oraz przegląd literaturowy w kierunku różnic oddziaływania promieniowania względem wartości współczynnika LET. Kolejną kwestią jest moc dawki, która wydaje się mieć zasadniczy wpływ na kształt zależności dawka – efekt. Przedział małych mocy dawek jest też często bagatelizowany w odniesieniu do ekspozycji chronicznej, czy środowiskowej. Następnym zagadnieniem jest problem indywidualnej radiowrażliwości osobniczej i ustalenie w jakim stopniu wpływa ona na odpowiedź organizmu na małe dawki promieniowania. Ze względu na to, iż aby uzyskać jednoznaczny wynik niezbędne jest zebranie dużej liczby uczestników badania (10^5) niemożliwością było wykonanie eksperymentu z udziałem większej liczby uczestników,

w krótkim przedziale czasu, bez rozpoczęcia dużego projektu. Autor pracy ma nadzieję, iż treść zawarta w rozprawie stworzy podwaliny do dalszej analizy efektów związanych z oddziaływaniem małych dawek promieniowania, szczególnie w kontekście indywidualnej radiowrażliwości. Doświadczenie zdobyte podczas realizacji eksperymentu opisanego w rozdziale 4, pozwoliło na zaplanowanie dalszych projektów, na większą skalę, dotyczących oceny istotnych z punktu widzenia modelu parametrów biofizycznych, które mogą zostać użyte do oceny wpływu indywidualnej wrażliwości na promieniowanie w dalszej pracy autora. Planowana jest dalsza praca nad rozwinięciem modelu LTC. Szczególnie ważnym, w ujęciu dynamiki transformacji nowotworowej na końcowym etapie modelu, okazało się zjawisko perkolacji. Niezmiernie istotne jest kontynuowanie pracy nad zastosowaniem teorii przejść fazowych do procesu formowania się guza nowotworowego.

Spis Tabel

Tabela 4.1. Dawka oszacowana i dawka zmierzona podczas pomiarów dozymetrycznych w eksperymencie komórkowym.....	51
Tabela 4.2. Stosunek współczynników nachylenia, dla $d_c = 150$ mGy dla danych pochodzących od wszystkich uczestników (0 -1 Gy). Współczynniki nachylenia dopasowanych funkcji $ax+b$, z przedziałów poniżej i powyżej d_c	60
Tabela 4.3. Dopasowanie danych do modelu liniowo-kwadratowego: $y = ax^2 + xb$. Wartości skorygowanych współczynników determinacji R^2_{adj}	64
Tabela 5.1. Model 1 ($y = a$) parametry dopasowania (otrzymane za pomocą metody najmniejszych kwadratów, dla 95% przedziału ufności), uwzględniając niesymetryczne wartości niepewności pomiarowych (AS), oraz symetryczne wartości niepewności pomiarowych (oznaczone jako SM).	88
Tabela 5.2. Model 2A ($y = 1 + b x$) parametry dopasowania (otrzymane za pomocą metody najmniejszych kwadratów, dla 95% przedziału ufności), uwzględniając niesymetryczne wartości niepewności pomiarowych (AS), oraz symetryczne wartości niepewności pomiarowych (oznaczone jako SM)._	89
Tabela 5.3. Model 2B ($y = a + b x$) parametry dopasowania (otrzymane za pomocą metody najmniejszych kwadratów, dla 95% przedziału ufności), , uwzględniając niesymetryczne wartości niepewności pomiarowych (AS), oraz symetryczne wartości niepewności pomiarowych (oznaczone jako SM)._	89
Tabela 5.4. Wybór danych z bazy Simeonova i Himmelsteina. N oznacza liczbę danych.....	95
Tabela 5.5. Wyniki dopasowania ($y=ax+b$) metodą klasyczną (MNK) i bayesowską względem doboru szerokości przedziałów koncentracji radonu. Wyniki w tabeli odwzorowane są na rysunku 5.9, dla sposobu I(a) i II (b)podziału danych.	98
Tabela 5.6. Parametry dopasowania dla modelu stałej, liniowej i kwadratowej zależności, dla 4 zakresów dawki równoważnej na płuca H oraz bayesowska współczynnik wiarygodności. Wszystkie niepewności podane są dla 95% CI.	195
Tabela 6.1. Podsumowanie funkcji prawdopodobieństwa opisanych w modelu	125
Tabela 6.2. Wyniki symulacji numerycznych prawdopodobieństwa transformacji P_T komórki w komórkę nowotworową.	147
Tabela U6.1. Wyniki analizy częstości mikrojąder(MN/1000). Uczestnik 1.....	211
Tabela U6.2. Wyniki analizy częstości mikrojąder(MN/1000). Uczestnik 2	212
Tabela U6.3. Wyniki analizy częstości mikrojąder(MN/1000). Uczestnik 3	212
Tabela U6.4. Wyniki analizy częstości mikrojąder(MN/1000). Uczestnik 4	213
Tabela U6.5. Wyniki analizy częstości mikrojąder(MN/1000). Uczestnik 5	213
Tabela U6.6. Wyniki analizy częstości mikrojąder(MN/1000). Uczestnik 6	214
Tabela U7.1. Zestawienie 34 prac dotyczących korelacji radonu i nowotworów płuc (Dobrzyński i in., 2017). Dane zaprezentowano na rysunku 5.4.	215

Tabela U7.2. Dane z 34 prac opisywane w meta-analizie. Podstawowe informacje: liczba uczestników, metodologia pomiarów, charakterystyka osób oraz liczba czynników obciążających (CF) uwzględniona w analizie źródłowej.....	217
Tabela U8.1. Iloraz szans – Śmiertelność na nowotwory płuc.	220
Tabela U8.2. Iloraz szans – zapadalność nowotwory płuc.....	220
Tab. U8.3. Względne ryzyko – nowotwory płuc.....	222
Tabela U9.1. Niski zakres osób palących ($N_w=22$, $N_m=57$, $N_{wszyscy}=55$).....	224
Tabela U9.2. Średni zakres osób palących ($N_w=244$, $N_m=248$, $N_{wszyscy}=286$).....	224
Tabela U9.3. Wysoki zakres osób palących ($N_w=235$, $N_m=226$, $N_{wszyscy}=201$).....	225

Spis Rysunków

Rysunek 2.1. Graficzna reprezentacja krzywej U – kształtnej przedstawiającej odpowiedź hormetyczną, z uwzględnieniem punktu NOAEL (brak obserwowanych efektów).	13
Rysunek 3.1. Obszary względnej przewagi (dominacji) trzech głównych mechanizmów oddziaływania fotonów z materią.	23
Rysunek 3.2. Schemat skupisk jonizacji wzdłuż toru cząstki; dla fotonu, elektronu i cząstki alfa.....	27
Rysunek 3.3. Schemat powstawania uszkodzeń DNA na drodze oddziaływania różnych rodzajów promieniowania	31
Rysunek 4.1. Zależność frakcji przeżywalności komórek od dawki pochłoniętej promieniowania jonizującego (Gy). Linia ciągła – modelowa krzywa obrazująca efekt HRS/IRR. Oznaczenia na rysunku pokazują kierunek przebiegu dwóch krzywych o współczynnikach nachylenia α_s oraz α_r , odpowiednio dla dawek poniżej i powyżej dawki progowej d_c	42
Rysunek 4.2. Proponowane wyjaśnienie mechanizmu HRS/IRR.	44
Rysunek 4.3. Przeżywalność komórek w funkcji dawki, dla różnych faz cyklu komórkowego. Obliczone wartości referencyjne, dla komórek w różnej fazie cyklu oraz obszar proliferacji komórek nowotworowych płuc	45
Rysunek 4.4. Cykl komórkowy oraz punkty kontrolne	46
Rysunek. 4.5. Rozkład intensywności wiązki promieniowania X, na stanowisku do napromieniania materiału biologicznego.	50
Rysunek 4.6. (A, B, C, D). Geometria układu do napromieniania próbek biologicznych w eksperymencie własnym.....	51
Rysunek 4.7. Schemat doświadczalny eksperymentu: „ limfocyty w fazie G_0 ”.....	13
Rysunek.4.8. Schemat doświadczalny eksperymentu: limfocyty w fazie G_2 ”	53
Rysunek 4.9. Wyniki analizy testu koncentracji komórek w poszczególnych fazach cyklu komórkowego, metodą cytometrii przepływowej, wykonane dla limfocytów z pierwszej próbki po 48 godz. (B) oraz 72 godz. (A) od założenia hodowli, w celu ustalenia czasu	

potrzebnego do wzbogacenia populacji o większą frakcję komórek w fazie G_2 . Kolorem żółtym oznaczono koncentrację komórek w fazie G_2 , czerwonym – G_1	55
Rysunek 4.10. (wykresy 1-6) Zakres wartości dawki pochłoniętej poniżej 500 mGy. Zależność częstości powstawania mikrojąder w komórkach dwujądrazstych od dawki pochłoniętej dla limfocytów krwi obwodowej, w fazie G_0 (dla poszczególnych uczestników badania).	57
Rysunek 4.11 (wykres 1-6) Zakres wartości dawki pochłoniętej poniżej 500 mGy. Zależność częstości powstawania mikrojąder w komórkach dwujądrazstych od dawki pochłoniętej dla limfocytów krwi obwodowej, w fazie G_2 (dla poszczególnych uczestników badania). ...	58
Rysunek 4.12. Częstość powstawania mikrojąder w komórkach dwujądrazstych w funkcji dawki pochłoniętej, dla limfocytów krwi obwodowej, w fazie G_2 (uczestnik 1 i 2). Analiza współczynników nachylenia modelu Joinera, dla dawki granicznej 100 mGy. Zakres dopasowania modelu: 1 Gy.	61
Rysunek 4.13. Częstość powstawania mikrojąder w komórkach dwujądrazstych w funkcji dawki pochłoniętej, dla limfocytów krwi obwodowej, w fazie G_2 (uczestnik 3 i 4). Analiza współczynników nachylenia modelu Joinera, dla dawki granicznej 100 mGy. Zakres dopasowania modelu: 1 Gy.	61
Rysunek 4.14. Częstość powstawania mikrojąder w komórkach dwujądrazstych w funkcji dawki pochłoniętej, dla limfocytów krwi obwodowej, w fazie G_2 (uczestnik 4 i 5). Analiza współczynników nachylenia modelu Joinera, dla dawki granicznej 100 mGy. Zakres dopasowania modelu: 1 Gy.	62
Rysunek 4.15: Zależność częstości powstawania mikrojąder w komórkach dwujądrazstych od dawki pochłoniętej dla limfocytów krwi obwodowej (średnia ważona wzgl. liczby analizowanych komórek BN) dla wszystkich osób) Na wykresie uwzględniono wartości odchylenia standardowego analizowanych preparatów. Kształt zależności w obszarze dawek poniżej 1000 mGy. Faza G_0 (lewa strona) i Faza G_2 (po prawej stronie).	63
Rysunek 4.16. Model LQ dopasowany do danych doświadczalnych (6 osób) fazy G_0 , za pomocą metody najmniejszych kwadratów przy użyciu pakietu R (wersja 3.4.2). Na wykresach uwzględnione zostały wartości współczynników oraz krzywa dopasowania.	65
Rysunek 4.17. Model LQ dopasowany do danych doświadczalnych (6 osób) fazy G_2 , za pomocą metody najmniejszych kwadratów przy użyciu pakietu R (wersja 3.4.2).....	65
Rysunek 4.18. Dopasowanie modelu liniowo-kwadratowego dla średniej z wszystkich danych z fazy G_2 . Rysunki A i B prezentują różnice w kierunku przebiegu modelu LQ dla danych poniżej dawki 1,5 Gy oraz poniżej 1 Gy.....	66
Rysunek 4.19. Frakcja komórek dwujądrazstych w funkcji dawki pochłoniętej, porównanie indeksów mitotycznych dla komórek w fazie G_0 i G_2 , na wykresie zobrazowano spadek liczby dzielących się komórek względem dawki promieniowania. Dla napromienianych komórek: w fazie G_0 (spadek liczby komórek = 27%), w fazie G_2 (spadek liczby komórek = 57%).....	67
Rysunek 4.20 A. Zależność częstości powstawania aberracji chromosomowych od dawki pochłoniętej dla limfocytów krwi obwodowej u 1 osoby zdrowej dla komórek napromienianych w dwóch fazach cyklu komórkowego G_0 i G_2 . B. Wartości indeksu mitotycznego w zależności od dawki pochłoniętej, dla testu na aberracje chromosomowe. Opracowanie własne.	68
Rysunek 5.1. Część szeregu promieniotwórczego uranowo-radowego wraz z uwolnioną energią produktów rozpadu..	74

Rysunek. 5.2. Wykres przedstawiający wyniki badań ekologicznych B. Cohena, opublikowanych w latach 1995 i 2000.	77
Rysunek 5. 3 Najlepsze dopasowanie danych, przy użyciu metody Bayesowskiej (w każdym z 4 przedziałów analizowanych danych- od zera) zależności dawki równoważnej na płuca (H) pochodzenia radonowego oraz współczynnika relatywnego ryzyka (RHF), dla a) danych pochodzących z 34 prac, b) dla danych z wyłączeniem prac ekologicznych.	80
Rysunek. 5.4. Względny współczynnik zdrowia, w odniesieniu do płuc (RHF ang. relative helath factor) reprezentujący analizowane wyniki (zarówno OR i RR) - śmiertelności i zapadalności na nowotwory płuc w funkcji dawki promieniowania jonizującego: rocznej dawki równoważnej na płuca (mSv/rok), rocznej dawki efektywnej, tj. na całe ciało (mSv/rok), koncentracji radonu w powietrzu (Bq/m ³).	83
Rysunek 5.5. Zależność względnego współczynnika zdrowia (RHF) względem rocznej dawki równoważnej na płuca (H) (mSv/rok), z podziałem na 4 grupy, dla: H<15 mSv/rok, H<30 mSv/rok, H<70 mSv/rok, H<150 mSv/rok).....	87
Rysunek. 5.6 Rozkłady wartości RHF dla wszystkich danych, dla średnich oraz ich niepewności: a) symetrycznych, b) niesymetrycznych (Dobrzyński i in., 2017). Histogram a prezentuje względne prawdopodobieństwo (unormowane do 1).....	91
Rysunek. 5.7. Zależność koncentracji radonu (Bq/m ³) w funkcji wysokości nad poziomem morza (km) dla dwóch badanych grup (a – średni odsetek osób palących, b – wysoki odsetek osób palących)._.....	95
Rysunek 5.8. Rozkład log-normalny koncentracji radonu na podstawie danych z bazy Simeonova i Himmelsteina. Dopasowanie funkcji Gaussa do skali logarymicznej wskazuje na maksimum dla koncentracji równej 47.3 Bq/m ³ ; 68% CI (23,8-93,7) oraz 95% CI (12,0-185,9)._.....	97
Rysunek 5.9. Re-analiza 32 prac radonowych z części pierwszej (Dobrzyński i in. (2018)) w zależności od metody uśredniania danych w zakresach koncentracji radonu (binowanie) a) przykładowy zakres przedziałów: 0-37, 37-50, 50-75, 75-125, 125-175, 175-270 oraz 270-800 Bq/m ³ , b) inny przykładowy zakres: 0-37, 37-53,5, 53,5-65, 65-100, 100-124, 124-150,1, 150,1-200, 200-600 oraz 600-800 Bq/m ³	98
Rysunek 5.10. Zależność zapadalności na nowotwory płuc (na 100,000 przypadków) od koncentracji radonu (Bq/m ³) z dopasowaniem zależności przy użyciu metody najmniejszych kwadratów, dla średniej grupy procentu osób palących: a-mężczyźni, b-kobiety i c-wszystkie dane.	99
Rysunek 5.11. Zależność zapadalności na nowotwory płuc (na 100,000 przypadków) od koncentracji radonu (Bq/m ³) dla wszystkich grup osób palących. Linie proste otrzymano z dopasowania metodą najmniejszych kwadratów dla grup z średnim (śr. -niebieska linia) i wysokim (wys. - czarna linia) odsetkiem osób palących:	100
Rysunek 5.12. Zależność poziomu promieniowania UVB (kJ/m ³) od wysokości nad poziomem morza, na podstawie danych z grupy o średnim odsetku osób palących. a – cały przedział wysokości, b – poniżej 500m.	101
Rysunek 5.13. Zapadalność na nowotwory płuc (na 100,000 przypadków) w funkcji koncentracji radonu (Bq/m ³) w grupie o średnim odsetku osób palących, dla a-mężczyzn, b-kobiet oraz c-ogółu populacji.....	102.
Rysunek 5.14. Wykresy konturowe zapadalności na nowotwory płuc w funkcji wysokości, dla całej populacji (pierwszy górny), grupy o średnim odsetku palaczy (drugi górny) oraz dla	

wysokiego odsetka palaczy (trzeci, dolny wykres). (autor dr Maciej Pylak, źródło: Reszczyńska i in., 2019).	103
Rysunek 5.15 Wykresy konturowe zapadalności na nowotwory płuc w funkcji poziomu promieniowania UVB, dla całej populacji (pierwszy górny), grupy o średnim odsetku palaczy (drugi górny) oraz dla wysokiego odsetka palaczy (trzeci, dolny wykres). (autor M. Pylak, źródło : Reszczyńska i in., 2019).	103
Rysunek 6.1. Schemat koncepcji modelu Moolgavkara, Venzona i Knudsona (model MVK). (Źródło: Rödel, Franz & Frey., 2012).	110
Rysunek. 6.2. Zależność liczby komórek nowotworowych w funkcji czasu (dni), prezentująca dynamikę rozrostu guza nowotworowego w fazie nieunaczynionej względem warunków środowiska. Opracowanie własne na podstawie Jiang i in., 2015.	115
Rysunek 6.3. Uproszczony schemat modelu transformacji komórek nowotworowych, oparty na podejściu stochastycznym opisanym w pracy (Fornalski i in., 2011, 2014). Opracowanie własne.	117
Rysunek 6.4. Schemat blokowy prezentujący ogólną koncepcję modelu, oparty na procesach zachodzących głównie na poziomie DNA, w komórce oraz tkance.	120
Rysunek 6.5. Względna liczba komórek nowotworowych w czasie t w zależności od liczby mutacji na komórkę m (oparta na równaniu 6.30), dla $c = 0.0277$ i różnych wartości krytycznych; po prawej stronie: $k = 2$ i z lewej strony: $k = 4$. (Dobrzyński i in., 2019).	132
Rysunek 6.6. Liczba komórek nowotworowych w funkcji czasu, dla $k = 1, 2, 3, 4$ oznaczone odpowiednio kolorem żółtym, zielonym, fioletowym i niebieskim, na podstawie równania 6.40, dla $B \cdot P_m = 0.01$ (Dobrzyński i in., 2019).	133
Rysunek 6.7. Całkowite sumaryczne prawdopodobieństwo transformacji nowotworowej w funkcji czasu dla $m = [1, 10]$, opisane równaniem (6.41), dla dwóch wartości parametrów krytycznych $k = 2$: ($P(t)$ – punkty oznaczone \oplus) oraz $k = 4$: ($P(t)$ – punkty oznaczone \circ). Linie reprezentują dopasowanie funkcji znormalizowanej funkcji Gomperta (dla $k = 2$: ($P_1(t)$ – oznaczona kolorem czerwonym, $k = 4$: ($P_2(t)$ – oznaczona kolorem czarnym). Opracowanie własne (źródło: Fornalski i in., 2019).	133
Rysunek 6.8. Zależność objętości populacji komórek nowotworowych z funkcji czasu. Dopasowanie funkcji Gomperta do części danych pochodzących z 50 eksperymentów, na komórkach nowotworowych, głównie ludzkich (Marušić i in., 1994).	134
Rysunek 6.9. Przykładowe wyniki symulacji Monte Carlo dynamiki powstawania komórek nowotworowych w czasie oraz dopasowanie krzywej Gomperta (Fornalski i in., 2019).	135
Rysunek 6.10. Schemat przedstawiający prawdopodobieństwa warunkowe procesów zależnych.	137
Rysunek.6.11. Schemat drzewa prawdopodobieństw bazujący na modelu LTC.	138
Rysunek 6.12. Sieć perkolacyjna o wymiarach $L^2 = 5 \times 5$.	144
Rysunek 6.13. Przykładowy nieskończony klaster dla sieci 2D (Campari i in., 2011).	150
Rysunek 6.14. Zależność prawdopodobieństwa transformacji nowotworowej P_{max} od parametru krytycznego β . Przejście perkolacyjne po przekroczeniu wartości krytycznej $p_c = 0.5$, względem 3 wartości parametrów β : 0.2, 0.4 i 0.6.	150

Literatura

- Aguda B.D., Friedman A. (2008). *Models of Cellular Regulation*. Oxford, England: Oxford University Press.
- Alavanja M.C., Lubin J.H., Mahaffey J.A., Brownson R.C. (1999). *Residential radon exposure and risk of lung cancer in Missouri*. American Journal of Public Health 89(7):1042-1048.
- Alavanja M.C.R., Brownson R.C., Lubin J.H., Berger E., Chang J., Boice J.D. (1994). *Residential Radon Exposure and Lung Cancer Among Nonsmoking Women*. Journal of the National Cancer Institute 86(24):1829-1837.
- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Morgan D., Raff M., Roberts K., Walter P. (2014). *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science. Wyd. 6. New York: Garland Science. ISBN: 0815344325
- Appleton J.D., Miles J.C.H. (2010) *A statistical evaluation of the geogenic controls on indoor radon concentrations and radon risk*. J Environ Radioact 101: 799–803.
- Armitage P. (1985). *Multistage models of carcinogenesis*. Environ Health Perspect. 1985;63:195–201. doi:10.1289/ehp.8563195
- Augustyniak A., Skrzydlewska E. (2004). *Zdolności antyoksydacyjne w starzejącym się organizmie*. Postępy Hig. Med. Dośw. 58, s. 194–201
- Auvinen A., Makelainen I., Hakama M., Castren O., Pukkala E., Reisbacka H., Rytomaa T.(1996). *Indoor radon exposure and risk of lung cancer: a nested case-control study in Finland*. J Natl Cancer Inst 88:966-972.
- Averbeck D., Salomaa S., Bouffler S., Ottolenghi A., Smyth V., Sabatier L. (2018). *Progress in low dose health risk research: Novel effects and new concepts in low dose radiobiology*. Mutation research, 776, 46-69 .
- Bajzer Ž., Vuk-Pavlovic S. (2000). *New dimensions in Gompertzian growth*. Computational and Mathematical Methods in Medicine 2:307–315.
- Barros-Dios J.M., Barreiro M.A., Ruano-Ravina A., Figueiras A. (2002). *Exposure to Residential Radon and Lung Cancer in Spain: A Population-based Case-Control Study*. American Journal of Epidemiology 156(6):548-555.

- Barros-Dios J.M., Ruano-Ravina A., Perez-Rios M., Castro-Bernardez M., Abal-Arca J., Tojo-Castro M. (2012). *Residential Radon Exposure, Histologic Types, and Lung Cancer Risk. A Case–Control Study in Galicia, Spain*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 21(6); 951–8.
- Bassukas I., Maurer-Schultze B.(1987). *The recursion formula of the Gompertz function: a simple method for the estimation and comparison of tumor growth curves*. *Growth, development, and aging*: GDA 52:113–122.
- Baumstark-Khan C., Facius R. (2002). *Life under Conditions of Ionizing Radiation*. *Astrobiology*, 261–284. doi:10.1007/978-3-642-59381-9_18F
- Baysson H., Tirmarche M., Tymeżczyźni G., Gouva S., Caillaud D., Artus J.C., i in. (2004) *Indoor radon and lung cancer in France*. *Epidemiology* 15(6):709-16.
- Bebelacqua J.J.(2009). *Contemporary Health Physics: Problems and Solutions* (Wyd. 2), Niemcy: Wiley-VCH. ISBN: 9783527408245, 352740824X
- Becker K. (1995). *A loss of innocence?* *Rad Prot Dosimetry* 59: 234-235.
- Becker K. (2003). *Health Effects of High Radon Environments in Central Europe: Another Test for the LNT Hypothesis?* *Nonlinearity Biol Toxicol Med* 1(1):3–35; 2003.
- Becker K. 1995 *A loss of innocence?* *Rad Protect Dosimetry*.;59:234–235.
- Becker, K. (2005). *Health effects of high radon environments in central Europe: Another test for the LNT hypothesis*. *Nonlinear Biol. Toxicol Med* 1:3–35.
- BEIR V (Biological Effects of Ionizing Radiation) (1990) *Health Effects of Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation*. National Academy Press, Washington, DC.
- BEIR VI (Biological Effects of Ionizing Radiation) (1999) Committee on Health Risks of Exposure to Radon. *Health effects of exposure to radon*. National Academy Press, Washington, DC.
- BEIR VII Phase 2 (Health Risks from Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation) (2006) *Health Effects of Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation*. National Academy Press, Washington, DC.
- Benzekry S., Lamont C., Beheshti A., Tracz A., Ebos J.M., Hlatky L., Hahnfeldt P. (2014). *Classical mathematical models for description and prediction of experimental tumor growth*. *PLoS Comput Biol* 10:e1003800.

- Billen D. (1990). *Spontaneous DNA Damage and Its Significance for the “Negligible Dose” Controversy in Radiation Protection*. Radiation Research, 124(2), 242. doi:10.2307/3577872
- Blot W.J., Xu Z.Y., Boice J.D., Zhao D.Z., Stone B.J., Sun J., i in. (1990). *Indoor radon and lung cancer in China*. J Natl Cancer Inst 82(12):1025-30.
- Bohicchio F., Forastiere F., Farchi S., Quarto M., Axelson O. (2005). *Residential radon exposure, diet and lung cancer: a case-control study in a Mediterranean region*. Int J Cancer 114:983-991.
- Bodgi L., Canet A., Pujo-Menjouet L., Lesne A., Victor J., Foray N. (2016). *Mathematical models of radiation action on living cells: From the target theory to the modern approaches. A historical and critical review*. J Theor Biol. 2016 Apr 7; 394: 93–101.
- Bogen KT. 1998. Mechanistic model predicts a u-shaped relation of radon exposure and lung
- Bogoljubov W.M. (1988). *Clinical aspects of radon therapy in the U.S.S.R.*, J Phys Med Balneol Med Klimatol 17: 59-70.
- Boice J.D. Jr., Ellis E., Golden A., Girardi D., Cohen S., Chen H., Mumma M., Shore R., Leggett R. (2018). *The past informs the future: an overview of the million worker study and the Mallinckrodt chemical works cohort*. Health Phys. 114 381–5
- Boice J.D., Jr., Mumma, M., Schweitzer, S., Blot, W.J. (2003). Cancer mortality in a Texas county with prior uranium mining and milling activities, 1950–2001. J. Radiol. Prot. 23: 247–62.
- Boiko A., Razorenova O., van de Rijn M., i in. (2010). Human melanoma-initiating cells express neural crest nerve growth factor receptor CD271. Nature 466, 133–137 doi:10.1038/nature09161
- Bond V.P., Benary V., Sondhaus C.A., Feinendegen L.E. (1995). *The meaning of linear dose-response relations, made evident by use of absorbed dose to the cell*. Health Phys. 1995;68:786–792.
- Boreham D.R., Dolling J-A., Maves S.R., i in. (2000). *Dose-Rate Effects and Micronucleus Formation in Gamma-Irradiated Human Lymphocytes*. Rad Res 153, 579-586
- Bräuner E.V., Andersen C.E., Sørensen M., Jovanovic Andersen Z., Gravesen P., Ulbak K., i in. (2012). *Residential radon and lung cancer incidence in a Danish cohort*. Environmental Research, vol. 118, str. 130–136.

- Brenner D.J., Little J.B., Sachs R.K.(2001). *The bystander effect in radiation oncogenesis: II A quantitative model*. Radiat Res. 2001;155:402–408
- Broome E.J., Brown D.L., Mitchel R. (2002). *Dose responses for adaption to low doses of (60)Co gamma rays and (3)H beta particles in normal human fibroblasts*. Radiation research. 158. 181-6. 10.1667/0033-7587(2002)158[0181:DRFATL]2.0.CO;2.
- Calabrese E. (2004). *Hormesis - Basic, Generalizable, Central to Toxicology and a Metod to improve the Risk-assesment Process*. Int. J. Occup. Environ. Health 10; 466-467
- Calabrese E.J. (2014). *Hormesis: a fundamental concept in biology*. Microbial Cell. 1. 145-149. 10.15698/mic2014.05.145.
- Calabrese E.J., Baldwin L.(2003). *Hormesis: The dose-response revolution. Annual review of pharmacology and toxicology*. 43. 175-97. 10.1146/annurev.pharmtox.43.100901.140223, 2003.
- Calabrese E.J., Baldwin L.A. (1998) *Hormesis as a biological hypothesis*. Environ Health Perspect. 106 (Suppl 1):357–362. doi:10.1289/ehp.98106s1357.
- Calabrese E.J., Baldwin L.A. (2001). *U-shaped dose responses in biology, toxicology, and public health*. Ann. Rev. Pub. Hlth., 22:15–33.
- Calabrese E.J., Baldwin L.A., Holland C.D. (1999). *Hormesis: a highly generalizable and reproducible phenomenon with important implications for risk assessment*. Risk Anal., 19:261–281.
- Campari R., Cassi D. (2011). *Statistics of reciprocal distances for random walks of three particles in one dimension*. Physical review. E, Statistical, nonlinear, and soft matter physics. 83. 041107. 10.1103/PhysRevE.83.041107.
- cancer risk. Hum Exp Toxicol 17:691-696
- Cannan W.J., Pederson D.S. (2016), *Mechanisms and Consequences of Double-Strand DNA Break Formation in Chromatin*. J. Cell. Physiol., 231: 3-14. doi:10.1002/jcp.25048
- Cantrell C.A. (2008). *Technical Note: Review of metods for linear-squares fitting of data and application to atmospheric chemistry problems*. Atoms. Chem. Phys. 8, 5477-5487.
- Castillo H., Smith Geoffrey B. (2017). *Below-Background Ionizing Radiation as an Environmental Cue for Bacteria*. Frontiers in Microbiology vol. 8, str. 177, DOI=10.3389/fmicb.2017.00177, ISSN=1664-302X.

- Cerezo L. (2011). *Radiation accidents and incidents. What do we know about the medical management of acute radiation syndrome?* Rep Pract Oncol Radiother. 16(4):119–122. Published 2011 Jul 6. doi:10.1016/j.rpor.2011.06.002
- Charlebois, D., Balázsi G. (2019). *Modeling cell population dynamics*. In *Silico Biology*. 13. 21-39. 10.3233/ISB-180470.
- Chatterjee N., Walker G.C. (2017). Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ. Mol. Mutagen.*, 58: 235-263. doi:10.1002/em.22087
- Chen W., Chen S., Dong Y., Cloutier P., Zheng Y., Sanche L. (2016). *Absolute cross sections for DNA strand breaks and crosslinks induced by low energy electrons*. *Phys Chem Chem Phys*. 2016;18(48): 32762-32771. doi: 10.1039/C6CP05201 K.
- Cho R., Wang X., Diehn M., Shedden K., Chen G., Sherlock G., Gurney A., Lewicki J., Clarke M. (2008). *Isolation and Molecular Characterization of Cancer Stem Cells in MMTV-Wnt-1 Murine Breast Tumors*. *Stem cells* (Dayton, Ohio). 26. 364-71. 10.1634/stemcells.2007-0440.
- Christensen K. (2002). *Percolation theory*. PhD thesis, Blackett Laboratory Imperial College London, United Kingdom.
- Cobb L., Watson B. (1980). *Statistical catastrophe theory: An overview*. *Mathematical Modelling*. 1(4), str. 311–317.
- Cohen B.L. (1995). *Test of the Linear No-Threshold Theory of radiation carcinogenesis for inhaled radon decay products*. *Health Phys* 68(2):157-174.
- Cohen B.L.(2008). *The linear no-threshold theory of radiation carcinogenesis should be rejected*. *J.Amer. Physicians and Surgeons* 13(3), 70-76.
- Cohen B.L., Colditz G.A. (1994). *Tests of the linear-no threshold theory for lung cancer induced by exposure to radon*. *Environmental Research* 64 (1): 65-89.
- Conrady J., Martin K.(1996). *Weniger Modelle – spezifischere analytische Studien zum Radonrisiko in Wohnungen sind notwendig*. *Bundesgesundheitsblatt*: 19:106–110.
- Conrady J., Martin K., Lembcke J., Martin H. (2002). *The true size of the lung cancer risk from indoor radon: hidden behind a smoke screen?*. *International Congress Series* (Elsevier) 1225:253– 258.

- Conrady J., Martin K., Poffijin A., Timarche M., Lembecke M., Thai D.M., Martin H. (1999) *High Residential Radon Health Effects in Saxony (Schneeberg Study)*. Report (Contract F 14P-CT95-0027), European Commission, DG XII, Nuclear Safety Program.
- Cooper G.M. (2000) *The Cell: A Molecular Approach*. Wyd. 2. Sunderland (MA): Sinauer Associates.
- Crawford-Brown D., Hofmann W. (1993). *Extension of a generalized state-vector model of radiation carcinogenesis to consideration of dose rate*. Mathematical biosciences. 115. 123-44. 10.1016/0025-5564(93)90069-M.
- Crump K.S., Duport P., H., Shilnikova N., Krewski D. , Zielinski J. (2012). *A meta-analysis of evidence for hormesis in animal radiation carcinogenesis, including a discussion of potential pitfalls in statistical analyses to detect hormesis*. Journal of toxicology and environmental health. Part B, Critical reviews 15 3 (2012): 210-31 .
- Cuttler J.M., Sanders C.L., *Threshold for Radon-Induced Lung Cancer From Inhaled Plutonium Data, Dose-Response* October-December 2015, 1-4
- Czajka A. (2006) *Wolne rodniki tlenowe a mechanizmy obronne organizmu*. Nowiny Lekarskie, 75, 6, 582–586
- D. Pogocki. (2004) *Wewnętrzcząsteczkowe przemiany rodnikowe z udziałem utlenionego centrum siarkowego w modelowych związkach tioeterowych o znaczeniu biologicznym*. Raporty IChTJ. Seria A nr 2, 5-87.
- Daraktchieva Z, Miles J. (2010). *Radon, the lognormal distribution and deviation from it*. 10th International Workshop on the Geological Aspects of Radon Risk Mapping 22 – 25 September, Prague, Czech Republic.
- Darby S., Hill D., Auvinen A., Barros-Dios J.M., Baysson H., Bochicchio F., i in. (2005) *Radon in homes and risk of lung cancer: collaborative analysis of individual data from 13 European case-control studies*. British Medical Journal 330(7485):223-226.
- Darby S., Whitley E., Silcocks P., Thakrar B., Green M., Lomas P., i in. (1998). *Risk of lung cancer associated with residential radon exposure in south-west England: a case-control study*. Br J Cancer 78(3):394–408.
- Deetjen P. (1998). *Biological and therapeutical properties of radon. Radon and Thoron in the Human Environment*. Katase A. and Shimo M (Eds.). World Scientific, Singapore, s. 515-522.

Dempsey S., Lyons N.(2018) *High radon areas and lung cancer prevalence: evidence from Ireland*. J Environ Radioact 182: 12-19.

Dickinson B.C., Chang C.J.(2011). *Chemistry and biology of reactive oxygen species in signaling or stress responses*. Nat Chem Biol. 2011;7(8):504–511. doi:10.1038/nchembio.607

Dobrzyński L, Fornalski KW, Reszcyńska J (2018) Meta-analysis of thirty two case-control and two ecological radon studies of lung cancer. J Radiat Res 59(2): 149-163.

Dobrzyński L, Fornalski KW, Reszcyńska J.(2017). *Meta-analysis of 32 case-control and 2 ecological radon studies of lung cancer*. Rad Res

Dobrzyński L, Fornalski KW, Socol Y, Reszcyńska J. (2016). *Modelling of Cell Transformation: Dose – and Time- dependent Effect*. Radiation Research 186, 396-406.

Dobrzyński L. (2006). *Hormeza zjawisko powszechne i powszechnie nieznanne*. Postępy Techniki Jądrowej, 2006, 49, z1, str. 9-15

Dobrzyński L.(1996). *Wnioskowanie bayesowskie i metoda maksymalnej entropii w naukach przyrodniczych*. Postępy Fizyki 47, 215-261

Doenecke D. (2017). *Chromatin Regulation and Dynamics, Chapter 5 - Chromatin Dynamics During the Cell Cycle*. Academic Press, str. 117-139, ISBN 9780128033951,

Domański S. (2017). *Raport z pomiarów dozymetrycznych wiązki promieniowania X na stanowisku do napromieniania komórek w Zakładzie Radiobiologii i Dozymetrii Biologicznej IChTJ*. Narodowe Centrum Badań Jądrowych. (w załączniku)

Doss M. (2018). *Radiation Hormesis and Radiation Protection*. Presentation at ANS-HPS Topical Meeting on Applicability of Radiation-Response Models to Low Dose Protection Standards, Pasco, WA, Oct 1-3.

Doss M.(2013). *Linear No-Threshold Model vs Radiation Hormesis*, Dose-Response 11, 480-497.

Driscoll T. i in.(2004). *Occupational carcinogens: assessing the environmental burden of disease at national and local levels*. Geneva, World Health Organization. (Environmental Burden of Disease Series, No. 6).

Dyess T.M., DeScisciolo S. (1994). *The US Environmental Protection Agency's National Strategy for Radon Remediation: US Environmental Protection Agency*. Air and Energy Engineering Research EPA/600/A-94/264 : 1-5

- Edin N.J. (2014). *The role of interleukin-13 in the removal of hyper-radiosensitivity by priming irradiation*. Radiat Res 2014, 55, 1066-1074.
- Elío J.A., Crowley Q., Scanlon R., Hodgson J., Zgaga L. (2018) *Estimation of residential radon exposure and definition of Radon Priority*. Environment International 114: 69–76.
- Erickson B.E. (2006). *The therapeutic use of radon: a biomedical treatment in Europe; an "alternative" remedy in the United States*. Dose Response 5(1):48–62. doi:10.2203/dose-response.06-007.Erickson
- Ericson B. (2007). *The Therapeutic use of radon: a biomedical treatment in Europe; An "Alternative" remedy in the United States*. Dose-Response 5: 48-69.
- Evans R.D. (1981). *Inception Of Standards For Internal Emitters. Radon and Radium*. Health Phys 41: 437-48.
- Falkenbach A., Kovacs J., Franke A., Jörgens K., Ammer K. (2005). *Radon therapy for the treatment of rheumatic diseases – review and meta-analysis of controlled clinical trials*. Rheumatol Int 25: 205-210.
- Feinendegen L.E. (2005). *Evidence for beneficial low level radiation effects and radiation hormesis*. The British journal of radiology, 78 925, 3-7 .
- Feinendegen L.E., Pollycove M., Neumann R.D.(2012). *Hormesis by low dose radiation effects: low-dose cancer risk modeling must recognize up-regulation of protection*. Radiat Oncol. doi: 10. 1007/174_2012_686. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Feinendegen L.E., Pollycove M., Sondhaus C.A. (2004). *Responses to Low Doses of Ionizing Radiation in Biological Systems*. Nonlinearity Biol Toxicol Med. Jul; 2(3): 143–171.
- Feinendegen L.E., Pollycove, M. (2001). *Biologic responses to low doses of ionizing radiation: detriment versus hormesis. Part 1. Dose responses of cells and tissues*. Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine, 42 7, 17N-27N .
- Feinendegen, L.E. (1999). *The role of adaptive responses following exposure to ionizing radiation*. Human & experimental toxicology, 18 7, 426-32 .
- Feinendegen, L.E. (2002). *Reactive oxygen species in cell responses to toxic agents*. Human & experimental toxicology, 21 2, 85-90 .

- Feinendegen, L.E., Pollycove, M., Neumann R.D. (2009). *Low-dose cancer risk modeling must recognize up-regulation of protection*. Dose-response : a publication of International Hormesis Society, 8(2), 227–252. doi:10.2203/dose-response.09-035.Feinendegen
- Feinendgen L., Cuttler J. (2018). *Biological Effects From Low Doses and Dose Rates of Ionizing Radiation: Science in the Service of Protecting Humans, a Synopsis*. DOI: 10.1097/HP.0000000000000833
- Feinendgen L., M.Pollycove, Neumann (2007). *Whole-body responses to low-level radiation exposure: New concepts in mammalian radiobiology*. DOI: 10.1016/j.exphem.2007.01.011
- Feng G.S. (2019). *Tumor immunology and immunotherapy: a journey I started from Hangzhou*. Journal of Zhejiang University. Science. B, 20(5), 373–380. doi:10.1631/jzus.B1900204
- Fernet M., Me'gnin-Chanet F., Hall J., i in.(2010). *Control of the G2/M checkpoints after exposure to low doses of ionizing radiation: implication for hyper-radiosensitivity*. DNA repair 2010;9:48-57.
- Field R.W. (2002) *The current status of residential radon epidemiology*.
- Field R.W., Steck D.J., Smith B.J., Brus C.P., Fisher E.L., Neuberger J.S., i in.(2000). *Residential Radon Gas Exposure and Lung Cancer. The Iowa Radon Lung Cancer Study*. American Journal of Epidemiology 151:1091-1102.
- Fischer H.P. (2008). *Mathematical modeling of complex biological systems: from parts lists to understanding systems behavior*. Alcohol research & health : the journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, 31(1), 49–59.
- Fleck C.M., Schollnberger H., Kottbauer M.M., Dockal T., Prufert U.. (1999). *Modeling radioprotective mechanisms in the dose effect relation at low doses rates of ionizing radiation*. Math Biosci. 1999;155(1):13-44.
- Foray N., Bourguignon M., Hamada N. (2016). *Individual response to ionizing radiation*. Mutation Research/Reviews in Mutation Research, vol. 770, cz. B, 2016, str. 369-386, ISSN 1383-5742, <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.09.001>.
- Fornalski K.W, Reszczyńska J., Dobrzyński L., Wysocki P., Janiak M.(2019). *Biophysical basis for the Gompertz law of proliferating cancer cells*. Physical Review E.(wysłane do druku)

- Fornalski K.W. (2014). *Mechanistic model of the cells irradiation using the stochastic biophysical input*. International Journal of Low Radiation, vol. 9, nr 5/6, 2014, str. 370-395
- Fornalski K.W. (2014). Stochastic biophysical modeling of irradiated cells. Cornell University Library, arXiv.org/abs/1412.6840 (dostęp z dn. 23 Luty 2015)
- Fornalski K.W. i Dobrzyński L.(2012). Response to Pawel and Puskin. Health Physics, vol. 102, nr 3, str. 352-353.
- Fornalski K.W., Adams R., Allison W., Corrice L.E., Cuttler J.M., Davey Ch., i in. (2015). *The assumption of radon-induced cancer risk*. Cancer Causes & Control (Springer), vol. 26, nr 10, 2015, str. 1517-1518.
- Fornalski K.W., Dobrzyński L. (2015). *The robust Bayesian approach to the model selection algorithm*. Research & Reviews: Journal of Statistics and Mathematical Sciences, vol. 1, no. 1, str. 8-12.
- Fornalski K.W., Dobrzyński L., Janiak M.K. (2011). *A Stochastic Markov Model of Cellular Response to Radiation*. DoseResponse, vol. 9, nr 4, 2011, str. 477-496.
- Fornalski K.W., Dobrzyński L., Janiak M.K. (2011). Stochastyczny model odpowiedzi komórek na promieniowanie, Postępy Techniki Jądrowej, vol. 54, nr 3, str. 23–37.
- Fornalski K.W., Dobrzyński L., Reszczyńska J.M. (2017). *Modelling of the radiation carcinogenesis: the analytic and stochastic approaches*. Extended Abstracts Fall 2015, series: Trends in Mathematics, vol. 7, subseries: Research Perspectives CRM Barcelona (Springer) doi: 10.1007/978-3-319-55639-0_16.
- Fornalski K.W., Parzych G., Pylak M., Satuła D., Dobrzyński L. (2010). *Application of Bayesian reasoning and the Maximum Entropy Method to some reconstruction problems*. Acta Physica Polonica A117 (6): 892-899
- Fornalski KW i Dobrzyński L. (2011) *Pooled Bayesian analysis of twenty-eight studies on radon induced lung cancers*. Health Physics, vol. 101, nr 3, str. 265-273.
- Foryś U. (2014). Prezentacja: *funkcja Gompertza w opisie guzów nowotworowych* <https://www.mimuw.edu.pl/~miekisz/BIOFIZMAT2014-Forys.pdf>
- Foryś U. *Mathematics in Biology* (In Polish). Warszawa, Poland: Wydawnictwa Naukowo-Techniczne; 2005.

- Frank S.A. (2004). *Commentary: Mathematical models of cancer progression and epidemiology in the age of high throughput genomics*, International Journal of Epidemiology, vol. 33, nr 6, str. 1179–1181, <https://doi.org/10.1093/ije/dyh222>
- Futreal P.A., Coin L., Marshall M., i in.(2004). *A census of human cancer genes*. Nat Rev Cancer. 2004;4(3):177-183.
- Gastner M.T., Oborny B., Ryabov A.B., Blasius B., Phys. Rev. Lett. 106, 128103 (2011).
- Gompertz B. (1825). *On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies*. Philosophical transactions of the Royal Society of London 115:513–583.
- González A.J., Akashi M., Boice J.D., i in. (2013). *Radiological protection issues arising during and after the Fukushima nuclear reactor accident*. J Radiol Prot. 2013;33:497–571. doi: 10.1088/0952-4746/33/3/497.
- Goodhead, D.T. (2010). *New radiobiological, radiation risk and radiation protection paradigms*. Mutation research, 687 1-2, 13-6 .
- Guéguen, Y., Bontemps, A., Ebrahimian, T.G. (2018). *Adaptive responses to low doses of radiation or chemicals: their cellular and molecular mechanisms*. Cellular and Molecular Life Sciences, 76, 1255-1273.
- Guirado D., Aranda M., Ortiz M., Mesa J.A., Zamora L.I., Amaya E, Villalobos M, Lallena A. (2012). *Low-dose radiation hyper-radiosensitivity in multicellular tumour spheroids*. The British journal of Radiology. 85. 1398-406. 10.1259/bjr/33201506.
- Gyllenberg M., Webb G. (1988). *Quiescence as an explanation of Gompertzian tumor growth*. Growth, development, and aging: GDA 53:25–33.
- Hagiwara Y., Oike T., Niimi A., Yamauchi M., Sato H., Limsirichaikul S., Held K.D., Nakano T., Shibata A.(2019). *Clustered DNA double-strand break formation and the repair pathway following heavy-ion irradiation*, Journal of Radiation Research, col. 60, nr 1, Styczeń 2019, str. 69–79, <https://doi.org/10.1093/jrr/rry096>
- Hahn W.C., Counter C.M., Lundberg A.S., Beijersbergen R.L., Brooks M.W., Weinberg R.A. (1999). *Creation of human tumour cells with defined genetic elements*. Nature: 400(6743):464-468.

- Hahn W.C., Weinberg R.A. (2002). *Rules for making human tumour cells*. N Engl J Med. 347(20):1593-1603.
- Hahnfeldt, P., Panigrahy D., Folkman J., Hlatky L. (1999). *Tumor development under angiogenic signaling a dynamical theory of tumor growth, treatment response, and postvascular dormancy*. Cancer research 59:4770–4775.
- Hall E.J, Giaccia A. J. (2005). *Radiobiology for the Radiologist*. Wydawnictwo Lippincott Williams & Wilkins 2005, wyd.6.
- Hanahan D., Weinberg R.A. (2011). *Hallmarks of cancer: the next generation*. Cell. 2011;144(5):646-674.
- Hanahan D., Weinberg R.A.(2000). *The hallmarks of cancer*. Cell. 2000; 100(1):57-70.
- Hart J. (2011). *On ecological studies: a short communication*. Dose-Response 9: 497-501.
- Hawkins R. (2017). *Biophysical Models, Microdosimetry and the Linear Quadratic Survival Relation*
- Hayes D.P. (2010). *Cancer protection related to solar ultraviolet radiation, altitude and vitamin D*. Medical Hypotheses 75(4): 378-382.
- Heath Jr. C.W. , Bond P.D., Hoel D.G., Meinhold C.B. (2004). Residential Radon Exposure and Lung Cancer Risk: Commentary on Cohen’s County-Based Study, Health Phys. 87, 647-655.
- Hendry J.H., Simon S.L., Wojcik A., i in. (2009). *Human exposure to high natural background radiation: what can it teach us about radiation risks?* J Radiol Prot.;29(2A):A29–A42. doi:10.1088/0952-4746/29/2A/S03
- Henriksen T. (2016). *Radon, lung cancer and the LNT model. Research and review BMF-group*, UiO. Internal report Department of Physics, The Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Oslo, www.mn.uio.no/fysikk/tjenester/kunnskap/straling/radon-and-lung-cancer.pdf
- Hofmann W., Nösterer M., Crawford-Brown D.J., Hutticher A. (1990). *Spatial Distribution Patterns of Energy Deposition and Cellular Radiation Effects in Lung Tissue Following Simulated Exposure to Alpha Particles*. Radiation Protection Dosimetry. 31. 413-420. 10.1093/rpd/31.1-4.413.

HPA (Health Protection Agency) 2010. RCE -15. This report (RCE-15) Radon: limitation of human exposure Guidance, Lipiec 2010

HPA (Health Protection Agency) RCE – Indywidual Radiosensitivity Report, 1 March 2013, Ref: ISBN 978-0-85951-740-9

Hryniewicz Z.. Człowiek i promieniowanie jonizujące. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa 2001, ISBN 830113495X

<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/radon-and-health> / dostęp z dn. 3 Marca 2019

Huang L., Kim P., Nickoloff J., Morgan W. (2007). *Targeted and Nontargeted Effects of Low-Dose Ionizing Radiation on Delayed Genomic Instability in Human Cells*. Cancer research. 67. 1099-104. 10.1158/0008-5472.CAN-06-3697.

Hystad P., Brauer M., Demers P.A., Johnson K.C., Setton E., Cervantes-Larios A., et al. Geographic variation in radon and associated lung cancer risk in Canada. Can J Public Health 105(1):e4-e10; 2014.

Hyun Park, Seo & Oh Kang, Jin. (2011). Basics of particle therapy I: physics. Radiation oncology journal. 29. 135-46. 10.3857/roj.2011.29.3.135.

ICRP, 1993. Protection Against Radon-222 at Home and at Work. ICRP Publication 65. Ann. ICRP 23 (2).

ICRP, 2007. The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP Publication 103. Ann. ICRP 37 (2-4)

ICRP, 2010. Conversion Coefficients for Radiological Protection Quantities for External Radiation Exposures. ICRP Publication 116, Ann. ICRP 40(2-5).

ICRP, 2012. Compendium of Dose Coefficients based on ICRP Publication 60. ICRP Publication 119. Ann. ICRP 41(Suppl.).

Jaworowski Z., „Dobroczynne promieniowanie” WIEDZA I ŻYCIE 1997/3 20-29

Torres-Durán M., Ruano-Ravina A., Parente-Lamelas I., Leiro-Fernandez V., Abal-Arca J., Montero-Martinez C., et al. Lung cancer in never-smokers: a case-control study in a radon-prone area (Galicia, Spain). Eur Respir J, 44: 994–1001; 2014. 41.

Jaworowski, Z. (2010). Radiation hormesis - A remedy for fear. Human & Experimental Toxicology, 29(4), 263–270. <https://doi.org/10.1177/0960327110363974>

- Jeho Jeong, Jung Hun Oh, Jan-Jakob Sonke, Jose Belderbos, Jeffrey D. Bradley, Andrew N. Fontanella, Shyam S. Rao and Joseph O. Deasy. Modeling the Cellular Response of Lung Cancer to Radiation Therapy for a Broad Range of Fractionation Schedules. *Clin Cancer Res* September 15 2017 (23) (18) 5469-5479; DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-3277
- Jiang C., Cui C., Zhong W., Li G., Li L., Shao, Y. (2016). *Tumor proliferation and diffusion on percolation clusters*. *Journal of biological physics*, 42(4), 637–658. doi:10.1007/s10867-016-9427-2
- Jiang, Y., Pjesivac-Grbovic, J., Cantrell, C., and Freyer, J. P. (2005) ‘A Multiscale Model for Avascular Tumor Growth’. *Biophysical Journal* 89, 3884–3894.
- Johnson KE, Howard G, Mo W, Strasser MK, Lima EABF, Huang S, et al. (2019) Cancer cell population growth kinetics at low densities deviate from the exponential growth model and suggest an Allee effect. *PLoS Biol* 17(8): e3000399. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000399>
- Joiner MC, Johns H. Renal Damage in the Mouse: The Response to Very Small Doses per Fraction. *Radiat Res* 114, 385-398 (1988)
- Joiner MC, Lambin P, Malaise EP, Robson T et al. Hypersensitivity to very-low single radiation doses: Its relationship to the adaptive response and induced radioresistance. *Elsevier Mutation Research* 358 (1996) 171-183.
- Joiner MC, Marples B, Lambin P et al. Low-dose hyper-radiosensitivity: current status and possible mechanisms. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 49: 379-389
- Joiner MD, van der Kogel A. Basic clinical radiobiology. Wyd. 5. CRC Press/Taylor & Francis Group.2019. ISBN 9781444179637
- Kauffman Stuart A. (1993). *The Origins of Order Self-Organization and Selection in Evolution*. Oxford University Press.
- Kellerer A.M., Rossi H.H. (1978). A generalized formulation of dual radiation action. *Radiation research*, 108 2, AV204-13 .
- Kendal W. (1985). Gompertzian growth as a consequence of tumor heterogeneity. *Mathematical Biosciences* 73:103–107.
- Kendall G.M., Smith T.J.(2002). Doses to organ and tissues from radon and its Decay products. *J Radiol. Prot.* 389-406

- Kesten H. (2006). *What Is Percolation?* Notices Amer. Math. Soc. 53, 572-573.
- Khan S.M., Krewski D., Gomes J., Deonandan R. (2018). Radon, an invisible killer in Canadian homes: perceptions of Ottawa-Gatineau residents, Can J Public Health.
- Ko S., Chung H.H., Cho S.B., i in. (2017) *Occupational radiation exposure and its health effects on interventional medical workers: study protocol for a prospective cohort study*. BMJ; 7(12):e018333. Published 2017 Dec 15. doi:10.1136/bmjopen-2017-018333
- Kochan (2017) Meta-analysis of DNA double-strand break response kinetics
- Kojima S., Cuttler J.M., Shimura N., Koga H., Murata A., Kawashima A. (2018). *Present and future prospects of radiation therapy using α -emitting nuclides*, Dose-Response January-March 2018: 1-8.
- Kojima S., Thukimoto M., Cuttler J.M., Inoguchi K., Ootaki T., Shimura N., Koga H., Murata A. (2018). *Recovery from Rheumatoid Arthritis following 15 months of therapy with low doses of ionizing radiation: a case report*, Dose-Response July-September 2018:1-7.
- Kondo S. (1999). *Evidence that there are threshold effects in risk of radiation*. J Nucl Sci Technol.;36:1-9.
- Korwek Z., Alster O. (2014). *Rola szlaku indukowanego uszkodzeniami DNA w apoptozie i starzeniu komórkowym*. Postępy Biochemii, 60(2), 248-262.
- Kreienbrock L., Kreuzer M., Gerken M., Dingerkus G., Wellmann J., Keller G., Wichmann H.E. (2001). *Case-Control Study on Lung Cancer and Residential Radon in Western Germany*. American Journal of Epidemiology 153(1):42-52.
- Krewski D. (2005). *Residential Radon and Risk of Lung Cancer*. Epidemiology vol..16, nr 2.
- Krueger S.A., Wilson G.D., Piasentin E., i in. (2010). *The effects of G2-phase enrichment and checkpoint abrogation on low-dose hyper-radiosensitivity*. Int J Radiat Oncol Biol Phys; 77:1509-1517.
- Kruger S.A., Joiner M.C., Weinfeld M. i in. (2007). *Role of apoptosis in low dose hyper-radiosensitivity*. Radiat Res 2007;167:260-267
- Kumar P.R., Cheriyan V.T., Seshadri M. (2011). *Evaluation of spontaneous DNA damage in lymphocytes of healthy adult individuals from high-level natural radiation areas of Kerala in India*. Radiation research, 177 5, 643-50 .
- Kutz M. (2018). *Handbook of Enviromental Engineering*, John Wiley & Sons, Inc., str. 547

- La Porta C., Zapperi S.(2017). *The Physics of Cancer*. Cambridge, England: Cambridge University Press.
- Lagarde F., Axelsson G., Damber L., Mellander H., Nyberg F., Pershagen G. (2001). *Residential Radon and Lung Cancer among Never-Smokers in Sweden*. *Epidemiology* 12:396-404.
- Lamond A.I., Sleeman, J.E. (2003). *Nuclear substructure and dynamics*. *Current Biology*, 13(21), R825–R828.doi:10.1016/j.cub.2003.10.012
- Lea D.E. (1995). *Actions of Radiations on Living Cells*. 2nd ed. New York, NY: Cambridge University Press.
- Leonard B. E., Thompson R. E., Beecher G. C. (2011). Human lung cancer risks from radon - part I - influence from bystander effects - a microdose analysis. Dose-response : a publication of International Hormesis Society, 9(2), 243–292. doi:10.2203/dose-response.09-057.Leonard
- Leonard B.E. (2008) *A Review: Development of a Microdose Model for Analysis of Adaptive Response and Bystander Dose Response Behavior*, *Dose-Response*. doi: 10.2203/dose-response.07-027.Leonard.
- Letourneau E.G., Krewski D., Choi N.W., Goddard M.J., McGregor R.G., Zielinski J.M., Du J. (1994). *Case-control study of residential radon and lung cancer in Winnipeg, Manitoba, Canada*. *Am J Epidemiol* 140:310-22.
- Li W., Wang K., Su H (2011). *Appl. Math. Comput.* 218, 157.
- Liang X., So Y.H. Cui J., Ma K., Xu X., Zhao Y., Cai L., & Li W. (2011). *The low-dose ionizing radiation stimulates cell proliferation via activation of the MAPK/ERK pathway in rat cultured mesenchymal stem cells*. *Journal of radiation research*, 52 3, 380-6 .
- Liang Y., Yang R., Guo Y., Jiang C., Liu L., Wan Y., Shao Y. (2019). *Spatiotemporal dynamics of different growth-diffusion systems on a percolation lattice*. *Physical review. E*, 99 4-1, 042401 .
- Lin E.C. (2010). *Radiation risk from medical imaging*. *Mayo Clinic proceedings*, 85(12), 1142–1146. doi:10.4065/mcp.2010.0260
- Lin E.C. (2010). *Radiation risk from medical imaging*. *Mayo Clin Proc.* 2010;85(12):1142–1146. doi:10.4065/mcp.2010.0260

Little M.P. (2003). *Risks associated with ionizing radiation*. British medical bulletin, 68, 259-75 .

Little M.P., Heidenreich W.F., Moolgavkar S.H., Schöllnberger H., Thomas D.C.(2008). *Systems biological and mechanistic modelling of radiation-induced cancer*. Radiat Environ Biophys. Feb; 47(1):39-47.

Little M.P., Wakeford R., Tawn E.J., Bouffler S.D., González A.B. (2009). *Risks associated with low doses and low dose rates of ionizing radiation: why linearity may be (almost) the best we can do*. Radiology, 251 1, 6-12 .

Lobrich M., Jeggo P.A. (2007). *The impact of a negligent G2/M checkpoint on genomic instability and cancer induction*. Nat Rev Cancer 2007; 7: 861-9.

López-Abente GNúñez O., Fernández-Navarro P., Barros-Dios J.M., Martín-Méndez I., Bel-Lan A., Locutura J., Quindós L., Sainz C., Ruano-Ravina A. (2018). *Residential radon and cancer mortality in Galicia, Spain*, Science of the Total Environment 610–611:1125–1132.

Lubin J.H., Boice J.D.(1997). *Lung Cancer Risk From Residential Radon: Meta-analysis of Eight Epidemiologic Studies*. J Natl Cancer Inst 89:49–57.

Lubin J.H., Wang Z.Y., Boice J.D., Xu Z.Y., Blot W.J., Wang L.D., Kleinerman R.A.(2004) *Risk of lung cancer and residential radon in China: pooled results of two studies*. Int J Cancer 109:132–137; 2004.

Luckey T.D. (1980) *Hormesis with Ionizing Radiation*. CRC Press, Boca Raton.

Lusiyant Y. (2013). *Dose-Response Curve of Chromosome Aberrations in Human Lymphocytes Induced by Gamma-Rays*, Atom Indonesia Vol. 39 No. 3 (2013) 124 -128

Malinovsky G., Yarmoshenko I., A.Vasilyev A. (2018). *Meta-analysis of case–control studies on the relationship between lung cancer and indoor radon exposure*. Radiation and Environmental Biophysics: 1-9.

Manabe Y., Bando M. (2013). *Radiation Exposure Theory Comparison of data on Mutation Frequencies of Mice*. <https://arxiv.org/abs/1305.0096>

Manabe Y., Ichikawa K., Bando M. (2012). *A Mathematical Model for Estimating Biological Damage Caused by Radiation*. Journal of the Physical Society of Japan. 81. 10.1143/JPSJ.81.104004.

Manabe Y., Wada T., Tsunoyama Y., Nakajima H., Nakamura I., Bando M. (2014). *Whack-A-Mole Model: Towards a Unified Description of Biological Effects Caused by Radiation Exposure*. Journal of the Physical Society of Japan. 84. 10.7566/JPSJ.84.044002.

Marples B., Collis S.J. (2008). *Low-dose hyper-radiosensitivity: Past, present, and future*. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2008;70:1310-1318.

Marples B., Wouters B.G., Collis S.J., i in. (2004) *Low dose hyperradiosensitivity: a consequence of ineffective cell cycle arrest of radiation-damaged G2-phase cells*. Radiat Res ; 161: 247-255.

Marples B., Wouters B.G., Joiner M.C.(2003). *An association between the radiation-induced arrest of G2-phase cells and low-dose hyperradiosensitivity: A plausible underlying mechanism?* Radiat Res; 160:38-45.

Marples, B.A., Joiner, M.C. (1993). *The response of Chinese hamster V79 cells to low radiation doses: evidence of enhanced sensitivity of the whole cell population*. Radiation research, 133 1, 41-51 .

Martin L.M., Marples B., Lunch T.H., i in. (2014). *Exposure to low doses ionizing radiation: Molecular and clinical consequences*. Cancer Lett 2014; 349:98 -106.

Marušić M., Bajzer f., Vuk-Pavlovic S., Freyer J.(1994). *Tumor growth in vivo and as multicellular spheroids compared by mathematical models*, Bulletin of Mathematical Biology, vol. 56, nr 4, str. 617-631, ISSN 0092-8240

Matsuya Y., McMahon S.J., Tsutsumi K., i in. (2018). *Investigation of dose-rate effects and cell-cycle distribution under protracted exposure to ionizing radiation for various dose-rates*. Sci Rep 8, 8287 (2018) doi:10.1038/s41598-018-26556-5

McMahon S.J. (2018). *The linear quadratic model: usage, interpretation and challenges*. Physics in medicine and biology, 64 1, 01TR01 .

McMahon S.J., McNamara A.L., Schuemann J., Paganetti H., Prise K.M. *A general mechanistic model enables predictions of the biological effectiveness of different qualities of radiation*. Sci. Rep. 2017;7:10790.

Meenakshi, C., Mohankumar M.N. (2015). *Relative biological effectiveness of radon: An in vitro study using chromosome aberrations as a biomarker*. International journal of radiation biology, 91 8, 681-5 .

Metzcar J., Wang Y., Heiland R., Macklin P.(2019). *A review of cell-based computational modeling in cancer biology*, JCO Clinical Cancer Informatics, no. 3, 1–13, PMID: 30715927.

Milo R., Phillips R. (2016). *Cell biology by the numbers*.

Monzani E., Facchetti F., Galmozzi E., i in. (2007). *Melanoma contains CD133 and ABCG2 positive cells with enhanced tumourigenic potential*. Eur. J. Cancer 43, 935–946.

Moolgavkar S.H., Luebeck G. (1990). *Two-Event Model for Carcinogenesis: Biological, Mathematical, and Statistical Considerations*. Risk Analysis, 10: 323-341. doi:10.1111/j.1539-6924.1990.tb01053.x

Mor A., Suliman S., Ben-Yishay R., Yunger S., Brody Y., Shav-Tal Y. (2010). *Dynamics of single mRNP nucleocytoplasmic transport and export through the nuclear pore in living cells*. Nat Cell Biol. 2010 Jun12(6):543-52 p. 546

Mortazavi S., Ghiassi-Nejad M., Rezaiean M., editors (2005) *Cancer risk due to exposure to high levels of natural radon in the inhabitants of Ramsar, Iran*. International Congress Series; Elsevier.

Mortazavi S.M.J., Doss M. (2018) *Comments on “High radon areas and lung cancer prevalence: evidence from Ireland”*. J Environ Radioact Dec 19: 709-710.

Mothersill C., Rusin A., Fernandez-Palomo C., Seymour C.(2017). *History of bystander effects research 1905-present; what is in a name?* International Journal of Radiation Biology 94 Str. 696-707 29 DOI:10.1080/09553002.2017.1398436

Mothersill C., Seymour C. (2005). *Radiation-induced Bystander Effects: Are They Good, Bad or Both?* Medicine Conflict and Survival, vol. 21, nr 2, str. 101-110

Mothersill C.; Rusin A.; Seymour C.(2019). *Relevance of Non-Targeted Effects for Radiotherapy and Diagnostic Radiology*, 2019060231 (doi: 10.20944/preprints201906.0231.v1)

Muller H.J. (1958). *Advances in radiation mutagenesis through studies on Drosophila*. p. 313-321 in: Proc. 2nd Int. Conf. Peaceful Uses of Atomic Energy. Vol. 22, Geneva.

National Cancer Institute (2004). *Estimation of the Baseline Number of Cancers Among Marshallese and the Number of Cancers Attributable to Exposure to Fallout from Nuclear Weapons Testing Conducted in the Marshall Islands*. http://dceg.cancer.gov/RMIdocs/9-28Response_appendix.pdf

- Neudecker H., Magnus J.R. (1988). *Matrix differential calculus with applications in statistics and econometrics*. New York: John Wiley & Sons.
- Oberaigner W., Kreienbrock L., Schaffrath Rosario A., Kreuzer M., Wellmann J., Keller G., i in. (2002). *Radon und Lungenkrebs im Bezirk Imst/Österreich. Fortschritte in der Umweltmedizin*, Landsberg am Lech: Ecomed Verlagsgesellschaft; 2002.
- Ogura K., Magae J., Kawakami Y., Koana T. (2009). *Reduction in Mutation Frequency by Very Low-Dose Gamma Irradiation of Drosophila melanogaster Germ Cells*. *Radiation Research* 171(1), 1-8. <https://doi.org/10.1667/RR1288.1>
- Olobatuyi O., de Vries G., T. Hillen T. (2018). *Effects of G2-checkpoint dynamics on low-dose hyper-radiosensitivity*. *Journal of Mathematical Biology*. 77. 10.1007/s00285-018-1236-8.
- Owald K. (2003). *Teoria Perkolacji w Chemi*. Toruń.
- Ozasa K., Shimizu= Y., Suyama A., Kasagi F., Soda M., Grant E.J., Sakata R., Sugiyama H., Kodama K. (2011). *Studies of the mortality of atomic bomb survivors, Report 14, 1950-2003: an overview of cancer and noncancer diseases*. *Radiation research*, 177 3, 229-43.
- Ozlu T., Bülbül Y.(2005). *Smoking and lung cancer*. *Tuberk Toraks*; 53(2):200-9
- Pavia M., Bianco A., Pileggi C., Angelillo I.F. (2003). *Meta-analysis of residential exposure to radon gas and lung cancer*. *Bulletin of the World Health Organization* 81:732-738.
- Pawlicki T., Scanderbeg D.J., Starkschall G. (2016). *Hendee's Radiation Therapy Physics*. Wyd. 4th. Wiley-Blackwell, ISBN: 978-1-118-57527-7
- Pershagen G., Akerblom G., Axelson O., Clavensjo B., Damber L., Desai G., i in. (1994) *Residential Radon Exposure and Lung Cancer in Sweden*. *The New England Journal of Medicine* 330(3):159-164; 1994.
- Pershagen G., Liang Z-H., Hrubec Z., Svensson C., Boice J.D. (1992). *Residential Radon Exposure and Lung Cancer in Swedish Women*. *Health Physics* 63:179-186.
- Piotrowski I., Kulcenty K., Suchorska W., Skrobała A., Skórska M., Kruszyna-Mochalska M., Kowalik A, Jackowiak W, Malicki J. (2017). *Carcinogenesis induced by low-dose radiation*, *Radiology and Oncology*, 51(4), 369-377.
- Pisa F.E., Barbone F., Betta A., Bonomi M., Alessandrini B., Bovenzi M. (2001). *Residential radon and risk of lung cancer in an Italian alpine area*. *Arch Environ Health* 56 (3):208-15.

- Planel H., Soleilhavoup J. P., Tizador R., Richoilley G., Conter A., Croute F., i in. (1987). *Influence on cell proliferation of background radiation or exposure to very low, chronic γ radiation*. Health Phys. 52, 571–578. doi: 10.1097/00004032-198705000-00007
- Podgrsak E.B. (2006). *Radiation Physics for Medical Physicists*. Berlin, Heidelberg : Springer. DOI: 10.1007/978-3-642-00875-7,
- Podgrsak E.B. (2010). *Radiation Physics for Medical Physicists*. Wyd. 2. Berlin, Heidelberg : Springer. ISBN-10: 3642008747
- Pollycove M., Feinendegen L. (2003). *Radiation-induced versus endogenous DNA damage: possible effect of inducible protective responses in mitigating endogenous damage* <https://doi.org/10.1191/0960327103ht365oa>
- Preston D., Sokolnikov M., Krestinina L., Stram D. (2016). *Estimates of Radiation Effects on Cancer Risks in the Mayak Worker, Techa River and Atomic Bomb Survivor Studies*. Radiation protection dosimetry. 173. 10.1093/rpd/ncw316.
- Preston D.L., Shimizu Y., Pierce D.A., Suyama A., Mabuchi K. (2003). *Studies of mortality of atomic bomb survivors*. Report 13: Solid cancer and noncancer disease mortality: 1950-1997. Radiation research, 160 4, 381-407 .
- Przybyszewski W.M., Wideł M., Szurko A., Maniakowski Z. (2008) *Wpływ mocy dawki na komórkowe, biochemiczne i molekularne efekty promieniowania jonizującego*. Postepy Hig Med Dosw. (online), 62: 468-477
- Przylibski T. (2016). *Radon: a radioactive therapeutic element*. Radon, Health and Natural Hazards. Gillmore GK, Perrier FE, Crockett RGM (Eds) Geological Society, London, Special Publications 451. <https://doi.org/10.1144/SP451.7>.
- Pukkala E., Aspholm R., Auvinen A., i in. (2002) *Incidence of cancer among Nordic airline pilots over five decades: occupational cohort study*. BMJ. 2002; 325(7364):567. doi:10.1136/bmj.325.7364.567
- Puskin J.S. (2003). *Smoking as a confounder in ecologic Dependency of cancer mortality rates with average county radon levels*. Health Phys 84:526–532.
- Redpath, J.L., Liang, D., Taylor, T., Christie, C.O., & Elmore, E. (2001). *The shape of the dose-response curve for radiation-induced neoplastic transformation in vitro: evidence for an adaptive response against neoplastic transformation at low doses of low-LET radiation*. Radiation research, 156 6, 700-7 .

- Ren H., Shen, J., Tomiyama-Miyaji C., Watanabe M., Kainuma E., Inoue M., Kuwano Y., Abo T. (2006). *Augmentation of the innate immunity by low-dose irradiation*. *Cell. Immunol.* 244: 50–6.
- Ribba B., Colin T., and Schnell S. (2006) *A multiscale mathematical model of cancer and its use in analyzing irradiation therapies*, *Theoretical Biology and Medical Modelling* 3, 7.
- Rödel F., Frey B., Gaipf U., Keilholz L., Fournier C., Manda K., Schöllnberger H., Hildebrandt G., Rödel C. (2012). *Modulation of Inflammatory Immune Reactions by Low-Dose Ionizing Radiation: Molecular Mechanisms and Clinical Application*. *Current medicinal chemistry*. 19. 1741-50. 10.2174/092986712800099866.
- Rodríguez-Martínez Á., Torres-Durán M., Barros-Dios J.M., Ruano-Ravina A. (2018). *Residential radon and small cell lung cancer. A systematic review*. *Cancer Letters* (2018).
- Roesch A., Fukunaga-Kalabis M., Schmid, E.C., Zabierowski S.E., Brafford P.A., Vultur A., Herlyn M. (2010). *A temporarily distinct subpopulation of slow-cycling melanoma cells is required for continuous tumor growth*. *Cell*, 141(4), 583–594. doi:10.1016/j.cell.2010.04.020
- Rossi H.H., Zaider M. (1997). *Radiogenic lung cancer: The effects of low doses of low linear energy transfer (LET) radiation*. *Radiat Environ Biophys*. 1997;56:85–88.
- Ruano-Ravina A., Pereyra M.F., Castro M.T., Pérez-Ríos M., Abal-Arca J., Barros-Dios J.M. (2014). *Genetic Susceptibility, Residential Radon, and Lung Cancer in a Radon Prone Area*, *Journal of Thoracic Oncology* 9 (8): 1073-1080.
- Rühm W. (2015). *ICRP: Dose Rate Effects in Radiation Biology and Radiation Protection*. Presentation at 3th International Symposium on the System of RP, Korea, October 2015. accessed via <http://www.icrp.org/docs/icrp2015/25%20Werner%20Ruhm%202015.pdf>
- Ruostenoja E. (1991). *Indoor radon and risk of lung cancer: an epidemiological study in Finland* (rozprawa doktorska). Department of Public Health, University of Tampere, Finnish Government Printing Centre, Helsinki.
- Ruostenoja E., Makelainen I., Rytomaa T., Hakulinen T., Hakama M. (1996). *Radon and Lung Cancer in Finland*. *Health Physics* 71:185-189.
- Rymuza K., Bombik A., Radzka E.(2018). *Application of selected non-linear functions to describe oriental goat's rue (Galega orientalis Lam.) growth*. *Acta Agroph.*;25(4):373-383. doi:10.31545/aagr/98992.

- Sacks B., Meyerson G., Siegel J.A. (2016). *Epidemiology Without Biology: False Paradigms, Unfounded Assumptions, and Specious Statistics in Radiation Science (with Commentaries by Inge Schmitz-Feuerhake and Christopher Busby and a Reply by the Authors)*. Biol Theory. 11:69–101. doi:10.1007/s13752-016-0244-4
- Sanders C.L. (2017). *Radiation Hormesis and the Linear-No-Threshold Assumption*. Springer, Heidelberg.
- Sanderson B.J.S., Morley A.A. (1986). *Exposure of human lymphocytes to ionizing radiation reduces mutagenesis by subsequent ionizing radiation*. Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects, vol. 164, nr 6, str. 347-351, ISSN 0165-1161, [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(86\)90027-0](https://doi.org/10.1016/0165-1161(86)90027-0).
- Sandler D.P., Weinberg C.R., Shore D.L., Archer V.E., Stone M.B., Lyon J.L., i in. (2006). *Indoor radon and lung cancer risk in Connecticut and Utah*. J Toxicol Environ Health A, 69, 633-54.
- Sankaranarayanan K., v. Duyn A., Loos M.J. Natarajan A.T. (1989). *Adaptive response of human lymphocytes to low-level radiation from radioisotopes or X-rays*, Mutation Res., 211, 7-12.
- Schoenberg J.B., Klotz J.B., Wilcox H.B., Nicholls G.P., Gil-del-Real M.T., Stemhagen A., Mason T.J.(1990). *Case-Control Study of Residential Radon and Lung Cancer among New Jersey Women*. Cancer Research 50:6520-6524.
- Schöllnberger H., Mebust M., Crawford-Brown D., Eckl P., Hofmann W. (2001). *Significance of cell-cycle delay, multiple initiation pathways, misrepair and replication errors in a model of radiobiological effects*, International Journal of Radiation Biology, 77:4, 519-527, DOI: 10.1080/09553000010029132
- Schöllnberger H., Ménache M., Hanson T. (2010). *A Biomathematical Modeling Approach to Explain the Phenomenon of Radiation Hormesis*. Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal, 7:4, 867-890, DOI: 10.1080/20018091094709
- Schöllnberger H., Mitchel R.E.J., Azzam E.I., Crawford-Brown D.J., Hofmann W. (2002). *Explanation of protective effects of low doses of γ -radiation with a mechanistic radiobiological model*. International Journal of Radiation Biology, 78:12, 1159-1173, DOI: 10.1080/0955300021000034693

- Scott B.R. (2011). *Residential radon appears to prevent lung cancer*. Dose-Response 9:444-64.
- Scott B.R. (2007). *Health Risk evaluations for ingestion exposure of humans to Polonium-210*. Dose-Response 5, 94-122.
- Scott B.R. (2014). *Radiation-hormesis phenotypes, the related mechanisms and implications for disease prevention and therapy*. J Cell Commun Signal. 8(4):341-352. doi: 10.1007/s12079-014-0250-x.
- Scott B.R. (2017). *Small radiation doses enhance natural barriers to cancer*. J Am Physicians Surg. 22(4):105-110.
- Scott B.R. (2019) *Epidemiologic studies cannot reveal the true shape of the Dose-Response relationship for radon-induced lung cancer*, Dose-Response January-March 2019: 1-5.
- Scott B.R., Belinsky S.A., Leng S., Lin Y., Wilder J.A., Damiani L.A. (2009). *Radiation-stimulated epigenetic reprogramming of adaptive response genes in the lung: an evolutionary gift for mounting adaptive protection against lung cancer*. Dose-Response. 7(2):104-131.
- Seiler F.A., Alvarez J.L. (2000). *Is the “ecological fallacy” a fallacy?* Human and Ecological Risk Assessment 6(6):921-941.
- Seth I., Joiner M.C., Tucker J.D. (2015). *Cytogenic Low-Dose Hyperradiosensitivity Is Observed in Human Peripheral Blood Lymphocytes*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, vol.91, nr 1, str. 82-90
- Sharma D., Czarnota G.J. (2019). *Role of acid sphingomyelinase-induced ceramide generation in response to radiation*. Oncotarget, 10(1), 6–7. doi:10.18632/oncotarget.26526
- Shen L., Shi Q., Wang W. (2018). *Double agents: genes with both oncogenic and tumor-suppressor functions*. Oncogenesis.7(3):25. Published 2018 Mar 13. doi:10.1038/s41389-018-0034-x
- Shibamoto Y., Nakamura H. (2018). *Overview of Biological, Epidemiological, and Clinical Evidence of Radiation Hormesis*. Int J Mol Sci. 2018;19(8):2387. doi:10.3390/ijms19082387
- Shuryak, I., Hahnfeldt, P., Hlatky, L., Sachs, R. K., & Brenner, D. J. (2009). *A new view of radiation-induced cancer: integrating short- and long-term processes. Part I: approach*. Radiation and environmental biophysics, 48(3), 263–274. doi:10.1007/s00411-009-0230-3

Siegel J.A., Pennington Ch.W., Sachs B., Welsh J.S. (2016). *Rectifying Radon's Record: An Open Challenge to the EPA*, Int. J. Radiol Imaging Technol, 2(2), 1-5.

Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. (2017). *Cancer statistics*, CA Cancer J Clin 67 (1): 7-30.

Simeonov K.P., Himmelstein D.S. (2015). *Lung cancer incidence decreases with elevation: evidence for oxygen as an inhaled carcinogen*. Peer J 3:e705. <https://doi.org/10.7717/peerj.705>

Sinclair W.K., Morton R.A.(1965). *X-Ray and ultraviolet sensitivity of synchronized Chinese hamster cells at various stages of the cell cycle*. Biophys J;5:1–25

Sionkowska, Kaczmarek. (2013). *Wolne rodniki w chemii, biologii i medycynie - Repozytorium UMK*

Sivia D. S., Skilling J.(2006). *Data Analysis - A Bayesian Tutorial*. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press.

Skov K.A. (1999). *Radioprotectiveness at low doses: Hyper-radiosensitivity and increased radioresistance in mammalian cells*. Mutat Res 1999; 430: 241 -253.

Słonina D., Biegasa B., Urbański K., Kojs Z. (2008). *Comparison of chromosomal radiosensitivity of normal cells with and without HRS-like response and normal tissue reaction in patients with cervix cancer*. Int Journal of Radiat Biology, 84:5, 421-428

Słonina D., Biesaga B., Janecka-Widła A., Kabat D., Bukowska-Strakova K., Gasinska A. (2014). *Low-Dose Hyper-Radiosensitivity Is Not a Common Effect in Normal Asynchronous and G2-Phase Fibroblasts of Cancer Patients*. International journal of radiation oncology, biology, physics. 88. 369-76. 10.1016/j.ijrobp.2013.10.031.

Słonina D., Biesaga B., Urbański K. (2007). *Low-dose radiation response of primary keratinocytes and fibroblasts from patients with cervix cancer*. Radiat Res 2007; 167:251-259.

Słonina D., Gasinska A. (1997). *Intrinsic radiosensitivity of healthy donors and cancer patients as determined by the lymphocyte micronucleus assay*. Int Journal of Radiation Biology. vol 72 no 6, 693-701

Słonina D., Gasińska A., Janecka -Widła A., Kabat D. (2015). *An association between low-dose hyper-radiosensitivity and the early G2-phase checkpoint in normal fibroblasts of cancer patients*. Elsevier DNA Repair

- Słonina D., Kowalczyk A., Janecka-Widła A. i in. (2017) *Low-Dose Hyperradiosensitive Response for residual pATM and γ H2AX Foci in Normal Fibroblasts of Cancer Patients*. Elsevier Int J Radiation Oncol Biol Phys, str. 1-11
- Sobue T., Lee V.S., Ye W., Tanooka H., Mifune M., Suyama A., i in. (2000). *Residential Radon Exposure and Lung Cancer Risk in Misasa, Japan: a Case-control Study*. Journal of Radiation Research 41(2):81-92.
- Sohrabi M. (2013). *World high background natural radiation areas: Need to protect public from radiation exposure*. Radiation Measurements. 50: 166-71.
- Sondka Z., Bamford S., Cole C., Ward S., Dunham I., Forbes S. (2018). *The COSMIC Cancer Gene Census: describing genetic dysfunction across all human cancers*. Nature Reviews Cancer. 18. 10.1038/s41568-018-0060-1.
- Stark M. (2012). *The sandpile model: optimal stress and hormesis*. Dose-Response 10(1), str. 66-74.
- Stauffer D. (1997). "Minireview: New results for old percolation," Physica A: Statistical Mechanics and its Applications, Elsevier, vol. 242(1), str. 1-7.
- Steen H. B. (2000) *The origin of oncogenic mutations: where is the primary damage?* Carcinogenesis 21(10):1773-1776. doi: 10.1093/carcin/21.10.1773.
- Szala S. (2009): *Angiogenesis and immune suppression: yin and yang of tumor progression?* Postępy Hig. Med. Dośw.; 63: 598–612
- Szumiel I. (2012). *Radiation hormesis: Autophagy and other cellular mechanisms*. International Journal of Radiation Biology 88(9), 619-628.
- Tan WY, Chen C.W. (1998). *Stochastic modeling of carcinogenesis: Some new insights*, Mathematical and Computer Modelling, vol. 28, nr 11, str. 49-71, ISSN 0895-7177, [https://doi.org/10.1016/S0895-7177\(98\)00164-2](https://doi.org/10.1016/S0895-7177(98)00164-2).
- Tapio S., Jacob V. (2007). *Radioadaptive response revisited*. Radiation and environmental biophysics. 46. 1-12. 10.1007/s00411-006-0078-8.
- Terashima S., Mariya Y., Nokamura T. (2017). *Impact of time interval and dose rate on cell survival following low-dose fractionated exposures*. Journal of Radiation Research 2017, str. 1-9

Thompson R. E., Nelson D.F., Popkin J.H., Popkin Z. (2008). *Case-control study of lung cancer risk from residential radon exposure in Worcester County, Massachusetts*. Health Physics 94(3):228–241;

Thompson R.E., Nelson D.F., Popkin J.H., Popkin Z. (2008). *Case-control study of lung cancer risk from residential radon exposure in Worcester County, Massachusetts*. Health Phys 94: 228-241.

Tice R., Agurell E., Anderson D., Burlinson B., Hartmann A., Kobayashi H., Miyamae Y., Rojas E., C Ryu J., Sasaki Yu. (2000). *Single cell gel/Comet assay: Guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing*. Environmental and molecular mutagenesis. 35. 206-21. 10.1002/(SICI)1098-2280(2000)35:33.0.CO;2-J.

Ting D.S. (2010). *WHO Handbook on Indoor Radon: A Public Health Perspective*.

Tomášek L., Kunz E., Muller T., Hulka J., Heribanova A., Matzner J., i in. (2001). *Radon exposure and lung cancer risk - Czech cohort study on residential radon*. The Science of the Total Environment (Elsevier) 272:43-51.

Tomášek L., Placek V., Muller T., Heribanova A., Matzner J., Burian I., Holecek J.(2003). *Czech studies of lung cancer risk from radon*. Int J of Niski Radiation 1(1):50-62.

Tomasetti C., Vogelstein B. (2015). *Cancer etiology. Variation in cancer risk among tissues can be explained by the number of stem cell divisions*. Science 347, 78–81.

Torres-Duran M., Fernandez-Villar A., Barros-Dios J.M., Ruano-Ravina A. (2016) *Residential Radon: The Neglected Risk Factor in Lung Cancer Risk Scores*, Journal of Thoracic Oncology 11(9): 1384-1386.

Tripathi A., Tripathi P., Kumar A., Ahmad R., Singh R., Balapure A., Vishwakermad A. (2008). *S-Phase fraction as a useful marker for prognosis and therapeutic response in patients with aplastic anemia*. Hematology/oncology and stem cell therapy. 1. 216-20. 10.1016/S1658-3876(08)50007-0.

Trzeciak A.R., Barnes J., Ejiogu N., i in. (2008). *Age, sex, and race influence single-strand break repair capacity in a human population*. Free Radic Biol Med. 2008;45(12):1631–1641. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2008.08.031.

Tubiana M., Aurengo A. (2005). *Dose-effect relationship and estimation of the carcinogenic effects of low doses of ionizing radiation*, IJLR 2 (2005) 134-151.

Tubiana M., Aurengo A. (2006). *Dose–effect relationship and estimation of the carcinogenic effects of low doses of ionising radiation: the Joint Report of the Academie des Sciences (Paris) and of the Academie Nationale de Medecine*. Int J Low Radiat. 2006;2:135–153.

Turner M.C., Krewski D., Chen Y., Pope A., Gapstur S., Thun M.J. Radon and Lung Cancer in the American Cancer Society Cohort. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 20(3); 438–48; 2011.

UNSCEAR (United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation) Report 2000, Report Vol. I Sources and Effects of Ionizing Radiation, Annexes A-E.

UNSCEAR (United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation) Report 2000, Report Vol. II Sources and Effects of Ionizing Radiation, Annexes F-J.

UNSCEAR (United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation) Report 1994, Report, Sources and Effects of Ionizing Radiation, Annexes A and B.

UNSCEAR (United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation) Report 2006. Vol. I, Report, Sources and Effects of Ionizing Radiation, Annex A-B.

UNSCEAR (United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation) Report 2006. Vol. II, Report, Sources and Effects of Ionizing Radiation, Annex C-E.

UNSCEAR (United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation) Report 2010, Report, Summary of Low-Dose Radiation Effects on Health

UNSCEAR (United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation) Report 2017, report. Sources, Effects and Risk of Ionizing Radiation, Annexes A and B.

UNSCEAR (United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation) Report 2012, report. Sources, Effects and Risk of Ionizing Radiation, Annexes A and B

Vaiserman A., Koliada A., Zabuga O., Socol Y.(2018). *Health Impacts of Low-Dose Ionizing Radiation: Current Scientific Debates and Regulatory Issues*. Dose Response. 2018;16(3):1559325818796331. Published 2018 Sep 19. doi:10.1177/1559325818796331.

Veitia, R.A., Caburet, S., Birchler, J.A. (2018). Mechanisms of Mendelian dominance. Clin Genet; 93: 419– 428. <https://doi.org/10.1111/cge.13107>

Veloso B., Nogueira J.R., Cardoso M.F. (2012). *Lung cancer and indoor radon exposure in the north of Portugal – An ecological study*. Cancer Epidemiology 36: e26–e32.

Verma R., Foster R.E., Horgan K. (2016). *Lymphocyte depletion and repopulation after chemotherapy for primary breast cancer*. Breast Cancer Res. 2016;18(1):10. Published 2016 Jan 26. doi:10.1186/s13058-015-0669-x.

Vogeltanz-Holm N., Schwartz G.(2018). *Radon and lung cancer: What does the public really know?* J Environ Radioact. 2018 Dec;192:26-31. doi: 10.1016/j.jenvrad.2018.05.017.

Vonderheid E.C., i in. (2002). *Update on erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma: report of the International Society for Cutaneous Lymphomas*. J Am Acad Dermatol. 2002 Jan;46(1):95-106. str.97.

Wada T., Manabe Y., Nakamura I., Tsunoyama Y., Nakajima H., Bando M. (2015). *Biological effects of long-term exposure to low dose-rate radiation - Comparisons of WAM model and LQ model*.

Wang G.J., Li X.K., Sakai K., Lu C. (2008). *Low-dose radiation and its clinical implications: diabetes*. Hum. Exp. Toxicol. 27: 135–42.

Wang Z., Lubin J.H., Wang L., Zhang S., Boice J.D., Cui H., i in (2002). *Residential Radon and Lung Cancer Risk in a High-exposure Area of Gansu Province, China*. Am J Epidemiol 155(6):554–564.

Watanabe Y., Dahlman E.L., Leder K., Hui S.K. (2016). *A mathematical model of tumor growth and its response to single irradiation*. Theoretical Biology and Medical Modelling, 13, 1-20.

WHO (2011). *Health Risk Assessment from the nuclear accident after the 2011 Great East Japan Earthquake and Tsunami based on a preliminary dose estimation*.

Wichmann H.E., Schaffrath Rosario A., Heid I.M., Kreuzer M., Heinrich J., Kreienbrock L. (2005). *Lung cancer risk due to radon in dwellings - evaluation of the epidemiological knowledge*. International Congress Series (Elsevier) 1276:54–57.

Wideli M.S., Wideli M. (2006). *Mechanizmy przerzutowania i molekularne markery progresji nowotworów złośliwych i rak jelita grubego*. Post Hig Med. Dosw. 2006;60:453-70.

Wilcox H.B., Al-Zoughool M., Garner M.J., Jiang H., Klotz J.B., Krewski D., i in. (2008). *Case control study of radon and lung cancer in New Jersey*. Radiat Prot Dosimetry, 128, 169-79.

- Wodarz D., Garg N., Komarova N. L., Benjamini O., Keating M.J., Wierda W.G., Burger J. A. (2014). *Kinetics of CLL cells in tissues and blood during therapy with the BTK inhibitor ibrutinib*. Blood, 123(26), 4132–4135. doi:10.1182/blood-2014-02-554220
- Wojciechowska U., Didkowska J. *Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce. Krajowy Rejestr Nowotworów*, Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej - Curie. Dostępne na stronie <http://onkologia.org.pl/raporty/> dostęp z dnia 17/05/2019
- Wójcik A., Bouffler S., Hauptmann M., Rajaraman P. (2018). *Considerations on the use of the terms radiosensitivity and radiosusceptibility*. Journal of radiological protection : official journal of the Society for Radiological Protection, 38 3, N25-N29 .
- Wójcik A., Wójcik J., Shadley J.D. (2000). *The current status of the adaptive response to ionizing radiation in mammalian cells*. DOI:10.1080/10807030009380063.
- Wojewodzka M. , Kruszewski M., Szumiel J. (1997) Effect of signal transduction inhibition in adapted lymphocytes: micronuclei frequency and DNA repair . Int. J. Radiat. Biol., 71 , 245-252 .
- Wolff S. (1998). *The adaptive response in radiobiology: evolving insights and implications*. Environ Health Perspect; 106 Suppl 1(Suppl 1):277–283. doi:10.1289/ehp.98106s1277.
- Wołoszyn J. (2000). *Elementy teorii chaosu deterministycznego w badaniach systemów ekonomicznych*, Zeszyty Naukowe AE w Krakowie, nr 551, Kraków.
- World Health Organization's International Agency for Research on Cancer, Cancer Today, Dostępne na stronie gco.iarc.fr/ dostęp z dn. 18/05.2019.
- Wyrobek A., Manohar C.F., Krishnan V., Nelson D., Furtado M., Bhattacharya M.S., Marchetti F., Coleman M. (2011). *Low dose radiation response curves, networks and pathways in human lymphoblastoid cells exposed from 1 to 10cGy of acute gamma radiation*. Mutation research. 722. 119-30. 10.1016/j.mrgentox.2011.03.002.
- Wysocki P. (2019). *Modelowanie Monte Carlo efektu sąsiedztwa dla grupy komórek narażonych na promieniowanie jonizujące*. Praca magisterska. Wydział Fizyki Politechnika Warszawska, Polska.
- Yang C.N. (2008). *The Klein-Nishina Formula & Quantum Electrodynamics*, Lect. Notes Phys. 746, 393–397. DOI 10.1007/978-4-431-77056-5 18.

Yanxiao G., Mei T., Gang G., Xiaochun W., Jianxiang L. (2019). *Changes of 8- OHdG and TrxR in the Residents Who Bathe in Radon Hot Springs. Dose-Response, January-March 2019: 1-5.* <https://doi.org/10.1177/1559325818820974>.

Yonezawa M. (2006). *Induction of radio-resistance by low dose X-irradiation.* Yakugaku zasshi : Journal of the Pharmaceutical Society of Japan, 126 10, 833-40 .

York D., Evensen N.M., López Martinez M., De Basabe Delgado J.(2004). *Unified equations for the slope, intercept, and standard errors of the best straight line,* Am. J.Phys. 72(3), 367-375.

Zaremba T., Oliński R. (2010): *Oksydacyjne uszkodzenia DNA - ich analiza oraz znaczenie kliniczne.* Postępy Biochem.; 56: 124-138.

Zdrojewicz Z.(2004). *Radon i promieniowanie jonizujące a organizm człowieka.* Postepy Hig Med Dosw (online); 58: 150-157

Zeeb H., Merzenich H., Wicke H., Blettner M. (2014). *Radiation Epidemiology, Handbook of Epidemiology.* Wyd. 2. Nowy Jork: Springer Science - Business Media, DOI 10.1007/978-0-387-09834-0 68.

Zhang H., Liu B., Zhou Q., Zhou G., Yuan Z., Li W., Duan X., Min F., Xie Y., Li X. (2006). *Alleviation of pre-exposure of mouse brain with low-dose $^{12}C^{6\beta}$ ion or ^{60}Co gamma-ray on male reproductive endocrine damages induced by subsequent high-dose irradiation.* Int. J. Androl. 29: 592–6.

Zhang Z.L., Sun J., Dong J.Y., Tian H.L., Xue L., Qin L.Q., Tong J.(2012). *Residential Radon and Lung Cancer Risk: An Updated Meta-analysis of Case-control Studies.* Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, Vol 13, str. 2459-2465.

Zhao Y., Zhong R., Sun L., Jia J., Ma S., Liu X. (2015). *Ionizing radiation-induced adaptive response in fibroblasts under both monolayer and 3-dimensional conditions.* PloS one, 10(3), e0121289. doi:10.1371/journal.pone.0121289

Zhong W-R., Shao Y-Z., He Z-H. (2006). Phys. Rev. E 74, 011916.

Zhu K., Liu Q., Zhou Y., i in.(2015). *Oncogenes and tumor suppressor genes: comparative genomics and network perspectives.* BMC Genomics. 2015;16 Suppl 7:S8. doi:10.1186/1471-2164-16-S7-S8.

Żuber K. (2007). *Fizyka Miękkiej Materii* prof. Wojciech Łużny. WFiIS AGH Kraków.

Tabela 5.6. Parametry dopasowania dla modelu stałej, liniowej i kwadratowej zależności, dla 4 zakresów dawki równoważnej na płuca H oraz bayesowska współczynnik wiarygodności. Wszystkie niepewności podane są dla 95% CI.

ilość prac	model	Roczna równoważna dawka na płuca								N_w
		poniżej 15 mSv/rok		poniżej 30 mSv/rok		poniżej 70 mSv/rok		poniżej 150 mSv/rok ^d		
		BAYES	MNK	BAYES	MNK	BAYES	MNK	BAYES	MNK	
34	M1 ^a	$a = 1,008 \pm 0,003$	$a = 1,014 \pm 0,013$	$a = 0,975 \pm 0,003$	$a = 0,972 \pm 0,010$	$a = 0,982 \pm 0,003$	$a = 0,973 \pm 0,010$	$a = 0,980 \pm 0,003$	$a = 0,972 \pm 0,010$	0,3
	M2 ^b	$a = -0,016 \pm 0,002$	$a = -0,016 \pm 0,003$	$a = -0,010 \pm 0,001$	$a = -0,011 \pm 0,001$	$a = -0,002 \pm 0,001$	$a = -0,006 \pm 0,001$	$a = -0,001 \pm 0,001$	$a = -0,002 \pm 0,001$	0,03
		$b = 1,148 \pm 0,014$	$b = 1,149 \pm 0,028$	$b = 1,100 \pm 0,006$	$b = 1,105 \pm 0,017$	$b = 1,012 \pm 0,005$	$b = 1,048 \pm 0,017$	$b = 0,992 \pm 0,005$	$b = 1,003 \pm 0,013$	
M3 ^c	$a = 0,002 \pm 0,001$	$a = 0,003 \pm 0,001$	$a = 0,001 \pm 0,001$	$a = 0,0008 \pm 0,002$	$a = 0,000 \pm 0,001$	$a = 0,004 \pm 0,001$	$a = 0,000 \pm 0,001$	$a = 0,0001 \pm 0,000$	0,015	
$b = -0,059 \pm 0,018$	$b = -0,059 \pm 0,017$	$b = -0,032 \pm 0,006$	$b = -0,033 \pm 0,005$	$b = -0,021 \pm 0,002$	$b = -0,022 \pm 0,002$	$b = -0,011 \pm 0,001$	$b = -0,008 \pm 0,001$			
$c = 1,318 \pm 0,083$	$c = 1,321 \pm 0,072$	$c = 1,222 \pm 0,035$	$c = 1,227 \pm 0,032$	$c = 1,164 \pm 0,011$	$c = 1,168 \pm 0,020$	$c = 1,087 \pm 0,006$	$c = 1,068 \pm 0,018$			
32	M1	$a = 1,016 \pm 0,027$	$a = 0,995 \pm 0,037$	$a = 1,025 \pm 0,023$	$a = 0,998 \pm 0,031$	$a = 1,049 \pm 0,017$	$a = 1,011 \pm 0,028$	$a = 1,046 \pm 0,016$	$a = 1,006 \pm 0,027$	1
	M2	$a = 0,005 \pm 0,027$	$a = 0,002 \pm 0,011$	$a = 0,004 \pm 0,006$	$a = 0,002 \pm 0,003$	$a = 0,004 \pm 0,002$	$a = 0,003 \pm 0,001$	$a = 0,000 \pm 0,001$	$a = 0,000 \pm 0,001$	0,05
		$b = 0,967 \pm 0,210$	$b = 0,979 \pm 0,104$	$b = 0,970 \pm 0,064$	$b = 0,973 \pm 0,045$	$b = 0,970 \pm 0,039$	$b = 0,963 \pm 0,029$	$b = 1,042 \pm 0,021$	$b = 1,015 \pm 0,022$	
M3	$a = 0,002 \pm 0,008$	$a = 0,003 \pm 0,005$	$a = 0,000 \pm 0,001$	$a = 0,003 \pm 0,005$	$a = 0,000 \pm 0,001$	$a = 0,000 \pm 0,001$	$a = 0,000 \pm 0,001$	$a = 0,000 \pm 0,000$	0,1	
$b = -0,040 \pm 0,134$	$b = -0,058 \pm 0,091$	$b = 0,002 \pm 0,022$	$b = -0,008 \pm 0,017$	$b = 0,002 \pm 0,007$	$b = -0,008 \pm 0,017$	$b = 0,006 \pm 0,002$	$b = 0,005 \pm 0,002$			
$c = 1,148 \pm 0,617$	$c = 1,239 \pm 0,408$	$c = 0,974 \pm 0,148$	$c = 1,037 \pm 0,113$	$c = 0,968 \pm 0,067$	$c = 0,971 \pm 0,054$	$c = 0,933 \pm 0,041$	$c = 0,939 \pm 0,033$			

2 ^d	M1	n,a,	n,a,	n,a,	n,a,	n,a,	n,a,	a = 0,954 ± 0,003	a = 0,967 ± 0,011	1,2
	M2	n,a,	n,a,	n,a,	n,a,	n,a,	n,a,	a = -0,011 ± 0,001 b = 1,111 ± 0,006	a = -0,012 ± 0,001 b = 1,112 ± 0,020	0,8
	M3	n,a,	n,a,	n,a,	n,a,	n,a,	n,a,	a = 0,001 ± 0,001 b = -0,026 ± 0,005 c = 1,200 ± 0,032	a = 0,001 ± 0,000 b = -0,026 ± 0,004 c = 1,199 ± 0,026	8,1

a) Względny współczynnik zdrowia, $RHF = a$

b) Względny współczynnik zdrowia, $RHF = a [\text{rok mSv}^{-1}] H [\text{mSv rok}^{-1}] + b$

c) Względny współczynnik zdrowia, $RHF = a [\text{rok}^2 \text{mSv}^{-2}] H^2 [\text{mSv}^2 \text{rok}^{-2}] + b [\text{rokmSv}^{-1}] H [\text{mSv rok}^{-1}] + c$

d) Pełen zakres: w badaniach ekologicznych - 42 mSv/rok (235 Bq/m³) zbyt mało punktów na podział punktów stosowany w pracy

e) Wartości N_M obliczone dla całego zakresu dawek równoważnych na płuca (do 150 mSv/rok, oraz do 42 mSv/rok w przypadku bad. ekologicznych)

Uzupełnienie 1. Przepisy dotyczące ochrony radiologicznej

Ochrona radiologiczna (OR) polega na zapobieganiu narażeniu ludzi i skażeniu środowiska lub ograniczeniu skutków takich sytuacji do poziomu tak niskiego, jak tylko jest to możliwe, uwzględniając przy tym czynniki ekonomiczne, społeczne i zdrowotne²⁷. Chociaż nie można ograniczyć wpływu promieniowania od takich źródeł jak np. promieniowanie kosmiczne, obecnie prowadzony jest monitoring radiologiczny (oparty na dozymetrii indywidualnej bądź środowiskowej) osób narażonych na nieznacznie zwiększony – ponad tło poziom promieniowania.

W Polsce urzędem dozoru jądrowego jest Państwowa Agencja Atomistyki (PAA), która poprzez działania regulacyjne i nadzorcze dąży do zapewnienia bezpiecznej dla pracowników, społeczeństwa i środowiska, działalności związanej z narażeniem na promieniowanie jonizujące. Krajowe przepisy dotyczące ochrony radiologicznej zawarte są w ustawie Rady Ministrów „Prawo atomowe” z dnia 29 listopada 2000 roku. Zostało ono ostatni raz znowelizowane 23 września 2019 roku w celu dostosowania do aktualnych europejskich i światowych standardów, w tym dyrektywy Rady 2013/59/Euratom z dnia 5 grudnia 2013 r. zawierającej m.in. regulacje prawne związane z narażeniem na radon oraz produkty jego rozpadu w budynkach mieszkalnych, miejscach pracy oraz pomieszczeniach użytkowych.

W zakresie ochrony radiologicznej funkcjonuje również zbiór kilkunastu aktów wykonawczych do ustawy Prawo Atomowe, których pełen spis znaleźć można na stronie internetowej PAA²⁸.

Przepisy krajowe powstają na bazie zaleceń oraz rekomendacji międzynarodowych komisji:

1. ICRP – Międzynarodowej Komisji Ochrony Radiologicznej (ang. *International Commission on Radiological Protection*)
2. IAEA - Międzynarodowa Agencja Energii Atomowej (ang. *International Atomic Energy Agency*)
3. UNSCEAR – Komitetu Naukowego ONZ ds. Skutków Promieniowania Atomowego (ang. *United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation*)
4. ICRU – Międzynarodowej Komisji ds. Jednostek Promieniowania i Pomiarów (ang., *International Commission on Radiation Units and Measurements*)

Zadaniem Międzynarodowej Komisji Ochrony Radiologicznej jest formułowanie ogólnych zaleceń, według których nie wolno dopuścić żadnej praktyki związanej z ekspozycją, dopóki nie przyniesie ona dostatecznej korzyści osobom eksponowanym lub społeczeństwu, przewyższając straty w postaci postulowanego hipotetycznego radiacyjnego uszczerbku na zdrowiu, związanego z tą praktyką. Powstały

²⁷ Definicja pochodzi z ustawy Prawo Atomowe

²⁸ www.paa.gov.pl

„uszczerbek na zdrowiu” jest zatem z założenia prawnego nieodłącznym elementem towarzyszącym wykorzystywaniu promieniowania jonizującego, choć w przedziale małych dawek (do 100 mSv) promieniowania słabo jonizującego (elektrony, fotony) wprowadzono dodatkowy współczynnik efektywności DDREF = 2 (ang. *Dose and Dose Rate Effectiveness Factor*) (ICRP (103) 2007) w stosunku do ryzyka indukcji nowotworów litych. Oznacza to, że stosując LNT, zaleca się wykorzystanie dwóch osobnych krzywych, jednej o pewnym nachyleniu dla dawek powyżej 100 mSv i drugiej o nachyleniu o połowę mniejszym dla przedziału poniżej podanej wartości.

Międzynarodowa Agencja Energii Atomowej stanowi wyspecjalizowaną jednostkę Organizacji Narodów Zjednoczonych, współpracującą m.in. z polskim Ministerstwem Energii, (obecnie Ministerstwem Aktów Państwowych) Ministerstwem Spraw Zagranicznych oraz Państwową Agencją Atomistyki, której celem jest dążenie do rozszerzenia wkładu energii jądrowej na rzecz zdrowia i dobrobytu ludzkości, oraz zapewnienie możliwie najszerszej jej kontroli. Pierwszy filar działalności agencji dotyczy energetyki jądrowej i związanych z nią technologii, drugi odnosi się do zastosowań promieniowania jonizującego w przemyśle, medycynie, rolnictwie, badaniach naukowych oraz rozwijania odpowiednich technologii jądrowych.

Zgodnie z opinią Komitetu Naukowego ONZ ds. Skutków Promieniowania Atomowego poniżej 100 mSv negatywne efekty zdrowotne nie występują u ludzi (wg raportu z roku 2000). Pomimo, iż nie rozwiązuje to problemu liniowości, podejście to sugeruje, że pod kątem kancerogenezy te dwa przedziały (poniżej i powyżej 100 mSv) powinny być opisywane osobno.

Obecnie przyjęty współczynnik ryzyka (dla osób dorosłych) wynosi $5,5 \cdot 10^{-2} \text{ Sv}^{-1}$ (ICRP (103)). Biorąc za przykład średnią dawkę przypadającą na badanie diagnostyczne około 1,2 mSv (Reszczyńska i in., 2017) szacunkowo badaniu rtg przypisać można ryzyko w wysokości $6 \cdot 10^{-5}$, co oznacza jednak, że 6 na 100 000 osób w wyniku napromieniania może, według założeń ICRP, teoretycznie zachorować na nowotwór.

W celu uniknięcia niepożądanych konsekwencji niekontrolowanych dawek promieniowania określono dawki referencyjnych dla pacjentów, a w wypadku ogółu populacji i pracowników narażonych zawodowo – dawki graniczne promieniowania jonizującego, których przekroczenie przewyższa hipotetyczne akceptowalne ryzyko i potencjalnie może spowodować niekorzystne efekty dla zdrowia. Wartości te określa Rozporządzenie Rady Ministrów z dnia 18 stycznia 2005 r. w sprawie dawek granicznych promieniowania jonizującego. Osoba z ogółu społeczeństwa w Polsce, nie powinna w przeciągu roku kalendarzowego otrzymać dodatkowej (tj. pochodzącej od źródeł sztucznych poza medycznych) dawki pochłoniętej (na całe ciało) powyżej wartości 1 mSv, pracownik zawodowo narażony na opisywany czynnik – 20 mSv – ponad nieuniknioną dawkę od promieniowania naturalnego (ok. 2,4 mSv) lub 100 mSv w ciągu 5 lat. Diagnostyczne poziomy referencyjne dla badań rentgenodiagnostycznych, badań

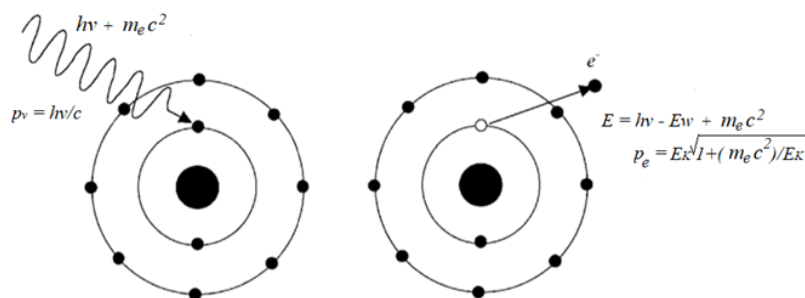
diagnostycznych z zakresu medycyny nuklearnej oraz z zakresu radiologii zabiegowej są aktualizowane (nie rzadziej niż co 5 lat) w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia⁷ z dnia 18 lutego 2011 r. w sprawie warunków bezpiecznego stosowania promieniowania jonizującego dla wszystkich rodzajów ekspozycji medycznej. ICRP podaje definicje dawek promieniowania i określa skutki ich działania, opierając swoje zalecenia o koncepcję liniowej i bezprogowej reakcji organizmu na dawkę promieniowania jonizującego.

Zasada LNT przyjmuje sumowanie się dawek, uzasadnia stosowanie dawki kolektywnej (sumowania dawek indywidualnych dla populacji) oraz dawki kumulatywnej (sumowania dawek indywidualnych otrzymanych w danym przedziale czasowym), co w wielu krajach jest nadal praktykowane. Przepisy OR jednoznacznie nie określają ryzyka związanego z konkretną czynnością bądź procedurą medyczną, o akceptacji narażenia decyduje lekarz bądź kierownik jednostki organizacyjnej. Są to osoby odpowiedzialne za bilans strat i korzyści wynikających z zastosowania promieniowania jonizującego. Ważne jest więc zapewnienie im właściwej, rzeczywistej informacji o działaniu promieniowania jonizującego na organizm człowieka.

Uzupełnienie 2. Oddziaływanie fotonów z materią

Efekt fotoelektryczny

Efekt fotoelektryczny polega na przekazaniu całej energii padającego fotonu elektronowi związanemu w atomie lub cząsteczce ośrodka pochłaniającego. W wyniku depozycji energii następuje jonizacja – wiązanie elektronu z atomem zostaje zerwane – oraz nadanie wolnemu elektronowi energii kinetycznej o wartości równej różnicy energii padającego fotonu i energii wiązania elektronu E_W na powłoce elektronowej (Rys. U2.1). Wolny elektron traci energię kinetyczną E_k w procesach wzbudzenia i jonizacji ośrodka. Stan pusty na wewnętrznej powłoce (K, L lub M) zostanie zapełniony przez elektron z wyższych poziomów energetycznych i nastąpi emisja promieniowania charakterystycznego X lub elektronu Auger'a. Prawdopodobieństwo zajścia fotoefektu maleje wraz z energią fotonu (w zakresie energii procedur radiologicznych) proporcjonalnie do $E^{-3.5}$, zależy też od liczby atomowej $\sim Z^4$. Spadek ten nie zawsze jest monotoniczny²⁹. Wraz ze wzrostem energii fotonu, foton może wybić coraz to głębiej osadzone energetycznie elektrony. Krawędź absorpcji równa jest energii wiązania na danej powłoce.



Rysunek U2.1. Schematyczny diagram efektu fotoelektrycznego. Foton o energii $h\nu$ oddziałuje z elektronem na powłoce K (przykładowo). Foton ulega całkowitej absorpcji i elektron jest wyrzucany poza obszar atomu z energią kinetyczną $E_k = h\nu - E_W$. Uwzględniono całkowitą energię E oraz pęd p , przed i po zdarzeniu. Opracowano na podstawie: Podgoršak, 2010.

Zjawisko Comptona

Efekt Comptona (rozpraszanie niekoherentne) opisuje efekt oddziaływania fotonu z wolnym (na tyle słabo związanym, że energia wiązania jest tu pomijana) elektronem orbitalnym. Energia fotonu $h\nu$ inicjującego interakcję jest częściowo przekazywana na jego wybicie i nadanie mu energii kinetycznej E_k . Pozostała część energii $h\nu'$ jest unoszona przez foton, a jej wartość zależy od kąta rozpraszania θ (względem kierunku pierwotnego). Stąd bilans energetyczny tego procesu można zapisać jako:

$$E = h\nu_0 - h\nu = m_e c^2 \frac{2(h\nu_0) \cos^2 \phi}{(h\nu_0 - m_e c^2)^2 - (h\nu_0)^2 \cos^2 \phi} \quad (\text{U2.1})$$

²⁹ <https://humanhealth.iaea.org/>

Schemat przebiegu opisanego efektu zaprezentowano na Rys. U2.2

Rozkład kątowy rozproszonych kwantów gamma w zależności od energii fotonów padających opisywany jest wzorem Kleina-Nishiny:

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \frac{\alpha^2 r_c^2 \left(\frac{E'_\gamma}{E_\gamma}\right)^2 \left[\frac{E'_\gamma + E_\gamma}{E'_\gamma E_\gamma} - 1 + \cos^2 \theta\right]}{2} (cm^2 sr^{-1} e^{-1}), \alpha = \frac{1}{137,04}, r_c = h/m_0 c^2 \quad (U2.2)$$

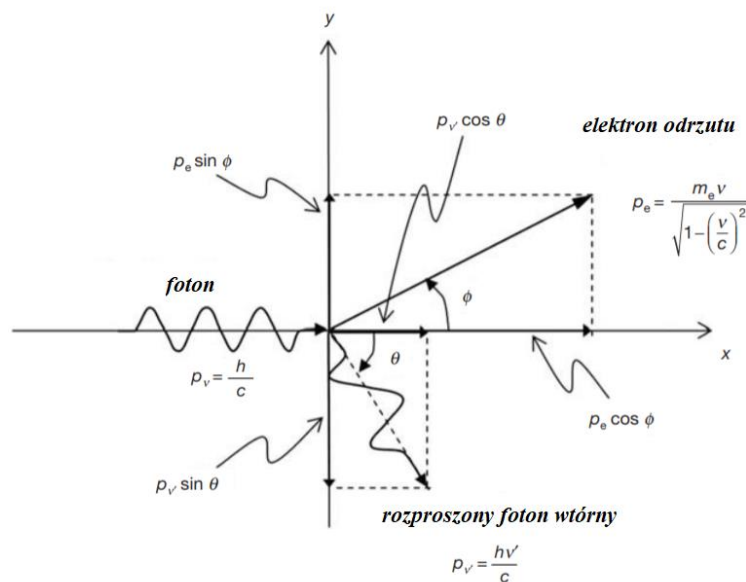
gdzie: α – stała struktury subtelnej, r_c – zredukowana komptonowska długość fali.

Po scałkowaniu po wszystkich kątach, otrzymujemy przekrój czynny Kleina – Nishiny, (Yang, 2017) w postaci:

$$\sigma_C^{KN} = 2\pi \frac{e^4}{c^4 m_e^2} \left(\frac{1+k}{k^2} \left[\frac{2(1+k)}{1+2k} - \frac{\ln(1+2k)}{k} \right] + \frac{\ln(1+2k)}{2k} - \frac{1+3k}{(1+2k)^2} \right) (cm^2 e^{-1}),$$

$$k = hv/m_e c^2 \quad (U2.3)$$

Przykładowo, foton o energii 1 MeV wytworzy w wyniku oddziaływania komptonowskiego, elektron odrzutu o energii 440 keV oraz foton o energii 560 keV, natomiast dla fotonu o energii 100 keV, wartości energii dla fotonu będą rozdzielone na 15 keV (elektron odrzutu) oraz 85 keV (foton rozproszony), wartości te jednak zależą od kąta rozproszenia. Obie cząstki będą wtórnie oddziaływać w ośrodku.

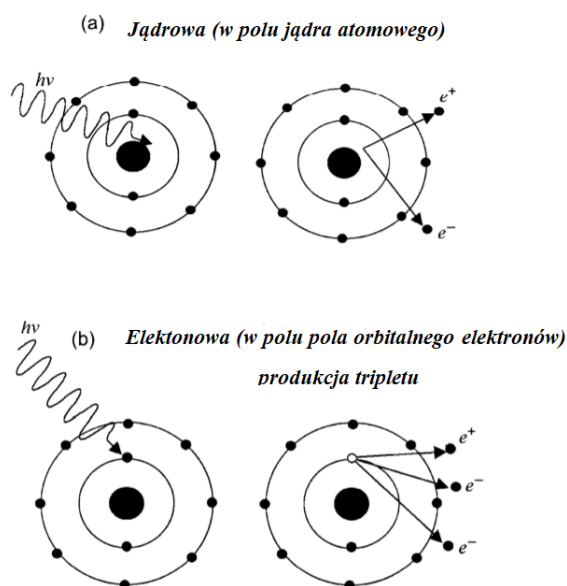


Rysunek U2.2. Schematyczny diagram efektu Comptona. Foton o energii $h\nu$ oddziałuje ze swobodnym (słabo związanym) elektronem w atomie, w wyniku czego następuje odrzut elektronu oraz przekazanie energii kinetycznej elektronowi E_k oraz emisja rozproszonego fotonu wtórnego o energii $h\nu' = h\nu - E_k$. Opracowano na podstawie: Basic Radiation Physics, IAEA, 2005.

Produkcja par

W efekcie kracji par następuje wytworzenie cząstek kosztem całkowitej konwersji energii fotonu w polu oddziaływania jądra atomowego lub elektronu w wyniku oddziaływania słabego. Energia progowa inicjująca proces równa jest dwukrotności energii spoczynkowych elektronu i pozytonu $2m_0c^2$ (m_0 – masa spoczynkowa elektronu), który jest antycząstką elektronu. W dalszej kolejności pozytony ulegają anihilacji z elektronami w ośrodku absorbentu, w wyniku czego powstają dwa wtórne fotony o energiach równych m_0c^2 , ale ich dalsze losy nie będą tutaj omawiane. Rozkład energii oraz kątów rozproszenia elektronów i pozytonów oddziaływania kracji par jest złożoną funkcją energii fotonu $h\nu$ oraz liczby atomowej absorbentu Z . Efektu kracji par „dla energii poniżej 10 MeV w obszarze $Z < 10$ „ przekrój czynny na reakcję jest dużo mniejszy niż dla wyżej opisanych procesów, dlatego w kontekście oddziaływania w ośrodkach biologicznych wkład tego efektu jest zanedbywalny. Schemat omawianego zjawiska zaprezentowano na Rysunku U2.3 a i b.

Z kolei kracja par elektron-pozyton w polu elektronu nosi nazwę kracji triplet, gdyż efektem końcowym są 3 cząstki: dwa elektrony (w tym wybity, który pierwotnie oddziaływał z fotonem) oraz pozyton. Nie można odróżnić, który z dwóch elektronów był tym wybitym, a który tym wykreowanym. Próg energetyczny na zajście kracji triplet wynosi $4m_0c^2$, zaś przekrój czynny jest zazwyczaj około rząd wielkości mniejszy od kracji par w polu jądra. Dlatego też kracja triplet jest w większości aplikacji biofizycznych po prostu zanedbywana.



Rysunek U.2.3. Schematyczny diagram efektu kracji par par a) w polu jądra atomowego, b) w polu elektronów. Foton o energii $h\nu$ w oddziaływania pola kulombowskiego konwertuje na parę elektron – pozyton i przekazuje energię w postaci energii kinetycznej powstałym cząstkom. Opracowano na podstawie: Podgoršak, 2010.

Uzupełnienie 3.

Definicje podstawowych pojęć fizycznych, dozymetrycznych i statystycznych używanych w prezentowanej pracy.

Wielkości fizyczne

Aktywność

Aktywność A opisuje liczbę rozpadów promieniotwórczych jąder atomowych N przypadających na jednostkę czasu t . Jednostką aktywności jest bekerel [Bq] równy jednemu rozpadowi na sekundę. Spotykaną w literaturze jest również miara aktywności podawana w kiurach $1 \text{ Ci} = 37 \text{ GBq}$.

$$A = \frac{dN}{dt} \left[\text{Bq} = \frac{1}{s} \right] \quad (\text{U1.1})$$

Aktywność właściwa

Pojęcie dotyczy aktywności przypadającej na jednostkę masy, objętości lub powierzchni emitującej promieniowanie. W odniesieniu do masy pierwiastka promieniotwórczego aktywność właściwą opisuje się jako stężenie.

Kerma (ang. Kinetic Energy Released in the Medium)

$$K_n = \frac{E_K}{m_n} \left[\frac{J}{kg} \right] \quad (\text{U1.2})$$

Wielkość określająca przekaz energii kinetycznej przez cząstki nieobdarzone ładunkiem elektrycznym (fotony i neutrony) cząstkom naładowanym (elektrony, protony) podczas oddziaływania promieniowania z materią. Miarą Kermy jest džul na kilogram masy, czyli grej [Gy].

Fluencja (Φ)

$$\Phi = \frac{N}{A} \quad (\text{U1.3})$$

Opisuje liczbę cząstek przechodzących przez daną powierzchnię. Z definicji jest to iloraz liczby cząstek N docierających do płaszczyzny sfery oraz przekroju tej powierzchni a . Jednostką Wartość wyrażana jest w jednostkach [m^{-2}].

Dawka

Dawka promieniowania jest pojęciem wprowadzonym w celu ilościowej oceny skutków działania promieniowania na ośrodek, w którym zachodzi oddziaływanie. Istnieje kilka pojęć (definicji) związanych z zagadnieniem dawki.

Dawka ekspozycyjna (X), zwana ekspozycją

Jest to całkowita suma jonów (jednego znaku) wytworzonych w wyniku aktów jonizacji w jednostce masy powietrza za pomocą promieniowania gamma i X. Miarą ekspozycji jest kulomb na kilogram masy. Do opisu dawki ekspozycyjnej stosowano również jednostkę zwaną rentgenem: $1R = 2.58 \cdot 10^{-4} C/kg$.

$$X = \frac{dQ}{dm} \left[\frac{C}{kg} \right] \quad (U1.4)$$

Dawka pochłonięta (D)

Określa ilość energii promieniowania pochłoniętą w jednostce masy materii dm , uśrednioną w tkance lub narządzie. Jednostką określającą dawkę pochłoniętą jest grej (układ SI). Spotykaną jednostką w przeszłości był również rad ($1rad = 10 mGy$). Dawka pochłonięta jest najbardziej podstawową i najbardziej fizyczną definicją dawki używaną wspólnie.

$$D = \frac{dE}{dm} [Gy] \quad (U1.5)$$

Wielkości radiologiczne

Dawka równoważna (H)

Opisuje średnią dawkę pochłoniętą w tkance lub narządzie, wyznaczoną z uwzględnieniem rodzaju i energii promieniowania jonizującego, poprzez uwzględnienie czynnika wagowego promieniowania, zależnego od wielkości LET. Jest to suma wszystkich dawek pochłoniętych w objętości konkretnego narządu lub tkanki, pochodząca od sumy dawek pochłoniętych dla wszystkich rodzajów promieniowania, o współczynnikach wagowych w_R . Jednostką dawki równoważnej jest siwert [Sv].

$$H_T = \sum_R w_R \times D_{T,R} [Sv] \quad (U1.6)$$

Dawka efektywna (E), zwana też skuteczną

Opisuje napromienianie całego ciała bądź kilku narządów czy tkanek. Obliczana jest jako suma dawek równoważnych w narządzie lub tkance, ważonych współczynnikami wagowymi tkanek w_T , pochodzących od narażenia wewnętrznego i zewnętrznego. To dawka pokazująca skuteczne narażenie na całe ciało człowieka przy uwzględnieniu zarówno skuteczności biologicznej różnych typów promieniowania, jak też wrażliwości różnych narządów. Oznacza to albo jednorodne narażenie całego ciała albo też obliczenie skutku dla całego organizmu jakie niesie naświetlenie wybranego narządu czy tkanki. Jednostką dawki efektywnej jest Sivert.

$$E = \sum_T w_T \sum_R w_R \times D_{T,R} [Sv] \quad (U1.7)$$

Moc Dawki (\dot{D})

$$\dot{D} = \frac{dD}{dt} [Gy/s] \quad (U1.8)$$

Moc dawki (pochłoniętej) określa wartość dawki (pochłoniętej) w jednostce czasu. Moc dawki wyrażana jest w Grejach na sekundę.

Wielkości dozymetryczne

Równoważnik dawki(H)

$$H = D \times Q \text{ [Sv]} \quad (\text{U1.9})$$

W ogólnym pojęciu określa iloczyn dawki pochłoniętej D w danym punkcie tkanki oraz współczynnika jakości promieniowania w tym punkcie Q . Współczynnik Q uwzględnia zależność, prawdopodobieństwa wystąpienia stochastycznych skutków biologicznych, od rodzaju i energii promieniowania, stosowany przy określeniu równoważnika dawki. Jest to wartość pomiarowa. Jednostką wielkości H jest $[\text{Jkg}^{-1}]$ oraz $[\text{Sv}]$. W odniesieniu do głębokości w tkance stosuje się również pojęcie przestrzennego równoważnika dawki $[\text{Jkg}^{-1}]$.

Uzupełnienie 4. Informacje związane z badaniem uczestników eksperymentu

Część A

Ankieta dla uczestników

Informacja dla osoby biorącej udział w eksperymencie badawczym
na podstawie badania materiału komórkowego in vitro.

„Ocena występowania efektu nadwrażliwości na niskie dawki promieniowania jonizującego (HRS) w komórkach osób niediagnozowanych w kierunku choroby nowotworowej.”

Została Pan/i zaproszony/a do wzięcia udziału w badaniu naukowym. Aby podjąć świadomą decyzję o wzięciu lub zaniechaniu udziału w badaniu lub rezygnacji z niego, należy zapoznać się z informacjami o ewentualnym ryzyku, korzyściach i alternatywach dla tego badania. Taką procedurę nazywa się wyrażeniem świadomej zgody.

Informacje o badaniu:

Eksperymentem badawczym, jest działanie mające na celu przede wszystkim **rozszerzenie wiedzy medycznej**. Może być on przeprowadzany zarówno na osobach chorych, jak i zdrowych. Przeprowadzenie eksperymentu badawczego jest dopuszczalne wówczas, gdy **uczestnictwo w nim nie jest związane z ryzykiem** albo też ryzyko jest niewielkie i nie pozostaje w dysproporcji do możliwych pozytywnych rezultatów takiego eksperymentu. Eksperyment badawczy ma wyłącznie doświadczalny charakter. *Podstawa prawna- art. 21 ust. 3 ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentystry (Dz. U. z 2011 r., nr 277, poz. 1634 j.t.).*

Cel badania:

Analiza danych pozwoli określić wydajność metody oraz słuszność rozwinięcia eksperymentu na większą liczbę uczestników w celu znalezienia odpowiedzi na pytanie – czy zwiększona wrażliwość na małe dawki promieniowania, występuje jedynie u niektórych pacjentów cierpiących na chorobę nowotworową i jest z nią w jakiś sposób związana czy możemy spodziewać się tego zjawiska również w przypadku ogółu populacji?

Procedura przebiegu eksperymentu:

Eksperyment składać się będzie z następujących etapów: pobranie krwi obwodowej po 5ml (możliwie dwie próbówki). Krew zostanie napromieniana wyznaczonymi wcześniej dawkami promieniowania jonizującego z zakresu małych oraz dawek frakcyjnych w radioterapii zgodnie z wartościami pozwalającymi określić kształt krzywej dawka-odpowiedź, używanymi w innym badaniach nad radio-wrażliwością i hiperradiowrażliwością. Komórki krwi (limfocyty) zostaną poddane analizie występowania mikrojąder metodą FISH, która pozwoli określić wydajność procesów naprawy DNA po powstałych, w wyniku napromieniania, uszkodzeniach. Analiza pozwoli określić indywidualną wrażliwość na promieniowanie jonizujące oraz może też wykazać występowanie zjawiska hiperradiowrażliwości.

Spodziewane korzyści dla badanych i nauk medycznych:

Zdefiniowanie czy zjawisko hiperradiowrażliwości może występować u osób nie będących pacjentami onkologicznymi.

Ryzyko związane z uczestnictwem w badaniu:

Brak. Efekty uboczne wynikające z pobrania krwi w ilościach do 10 ml: najczęściej nie odczuwa się żadnych skutków. Niewielki procent osób bezpośrednio po oddaniu krwi chwilowo może, ale nie musi, odczuwać lekkie uczucia osłabienia bądź spadek ciśnienia.

Sposób poinformowania uczestnika o wyniku badania:

Informacja o wyniku eksperymentu nie będzie udzielana pacjentowi, z wyjątkiem sytuacji wymienionych w formularzu świadomej zgody pacjenta.

Uczestnictwo w badaniu:

Udział w badaniu jest całkowicie dobrowolny. Uczestnik ma prawo do rezygnacji z uczestnictwa w eksperymencie bez podania przyczyny oraz jakichkolwiek konsekwencji, w każdym momencie przed pobraniem próbki materiału biologicznego. W czasie analizy pobranej krwi rezygnacja z badania nie jest rozpatrywana. Osoba odpowiedzialna za nadzór nad wszystkimi procedurami zapewnia poufność dokumentacji umożliwiającej identyfikację uczestnika oraz wykluczenie imiennych danych osobowych z jakiegokolwiek opisu badania. Osoby biorące udział powinny posiadać ubezpieczenie medyczne, choć w tej sytuacji nie występuje żadne ryzyko związane z uczestnictwem w eksperymencie. Uczestnik otrzyma egzemplarz informacji i może zadawać pytania, na które powinien otrzymać wystarczające odpowiedzi, osobą kontaktową jest osoba nadzorująca badanie.

Przeciwwskazania lub informacje, które należy przekazać osobie nadzorującej badanie:

Grupa osób wyznaczonych do udziału w eksperymencie zdefiniowana jest jako ogół populacji, są to osoby potencjalnie zdrowe, u których nie wykryto choroby nowotworowej w przeszłości. Jeśli natomiast w historii medycznej pacjenta znajduje się zwiększone ryzyko zachorowania na tę chorobę, związane z przypadkami nowotworów u członków najbliższej rodziny, osoba proszona jest o umieszczenie tej informacji na formularzu lub poinformowanie o takiej sytuacji osoby prowadzącej.

W celu zwiększonej ostrożności w kontakcie z hodowlą komórkową, uczestnik u którego stwierdzono choroby zakaźne, w tym HIV oraz WZW, powinien uwzględnić taką informację w formularzu oraz poinformować o tej kwestii osobę prowadzącą badanie oraz pielęgniarkę.

Wszystkie choroby, mogące mieć wpływ na stan komórek krwi (choroby układu naczyniowego, zaburzenia hormonalne, przyjmowane leki (w tym antykoncepcja) należy wymienić w formularzu informacyjnym, ponieważ mogą one istotnie wpłynąć na wynik badania oraz ze względu na małą statystykę populacji - na wynik całego eksperymentu.

Jeśli pewne kwestie związane z wywiadem medycznym będą przeszkodą w podjęciu udziału w eksperymencie, wywiad medyczny (formularz informacyjny) może zostać podpisany anonimowo lub należy poinformować osobę prowadzącą o rezygnacji na rzecz rzetelności przekazywanych informacji.

Przygotowanie do badania:

W przypadku standardowych pobrań krwi (450 ml) zaleca się być wyspanym i wypoczętym, zdrowym, zjeść lekki posiłek, wypić ok. 2 l płynów (w ciągu 24 godzin przed pobraniem). Przed oddaniem krwi należy także ograniczyć palenie papierosów i nie pić alkoholu, również w dniu poprzedzającym oddanie krwi. W przypadku ilości pobranej w czasie omawianego badania (10 ml) powyższe przygotowania nie jest niezbędne, natomiast dla zachowania pełnej sprawności fizyczno-umysłowej, zaleca się wykonanie niniejszych sugestii. Bezwzględnie sugerowane będzie spożycie ulubionej czekolady, wręczanej w formie rekompensaty za pomoc w zdobywaniu wiedzy medycznej. Uczestnik zobowiązany będzie do podania preferowanej marki oraz smaku na kilka dni przed zaplanowaną wizytą.

Część B
Formularz Świadomej Zgody
na wykonywanie badań komórkowych in vitro.

Projekt: „Ocena występowania efektu nadwrażliwości na niskie dawki promieniowania jonizującego (HRS) w komórkach osób niediagnozowanych w kierunku choroby nowotworowej.”

Uwaga: Czynność pobrania krwi, ze względu na naruszenie integralności cielesnej pacjenta, jest klasyfikowana jako zabieg lekarski. Konstatacja ta skutkuje koniecznością wyrażenia prawnie istotnej zgody tak, by uznać przeprowadzenie wskazanej interwencji za dopuszczalne świetle prawa.

Imię i nazwisko:.....

Pesel:.....

OŚWIADCZENIE

Otrzymałem /em/am i zapoznałem /em/am się z treścią informacji dla badanego. Przeprowadzając /y/a badanie udzieliłem /a mi wyczerpujących odpowiedzi na moje pytania. Jestem usatysfakcjonowany ilością udzielonej informacji dotyczącej eksperymentu badawczego, w którym biorę udział.

Świadomie i dobrowolnie wyrażam zgodę na pobranie i analizę krwi (obwodowej > 5 ml) w celach badań diagnostycznych i wiem, że mogę wycofać swoją zgodę w dowolnej chwili bez wpływu na opiekę lekarską jakiej będę potrzebować. Zgadzam się na przetwarzanie moich danych osobowych zgodnie z ustawą o ich ochronie.

Zostałem także poinformowany o tym, że:

1. Wyizolowane komórki będą przechowywane do czasu wykonania badań w odpowiednich warunkach, jednakże z przyczyn losowych może zajść potrzeba ponownego pobrania materiału. Sytuacje takie występują m.in. kiedy wynik badania jest nieczytelny lub niejednoznaczny.
2. Wyizolowane komórki mogą być przechowywane i anonimowo wykorzystane do cytogenetycznych badań naukowych, mających na celu rozszerzenie wiedzy na temat badanej oraz tematy pokrewne.

W przypadku braku zgody na przechowywanie DNA i jego anonimowe użycie do badań naukowych, proszę zaznaczyć: (w takim wypadku DNA zostanie zniszczone po zakończeniu badań diagnostycznych)

3. Jeśli wyniki badań naukowych prowadzonych w przyszłości mogłyby stanowić podstawę do rozpoznania choroby genetycznej lub zwiększonego ryzyka jej wystąpienia, wyrażam zgodę na przekazanie mi odpowiednich informacji.

W przypadku braku zgody proszę zaznaczyć

.....

Miejscowość, Data

.....

Czytelny podpis (imię i nazwisko) pacjenta

Pacjent został poinformowany o szczegółach dotyczących planowanych badań genetycznych oraz możliwych wynikach tych badań, które będą wymagały właściwej interpretacji.

.....

Podpis osoby nadzorującej badanie

Część C

Formularz informacyjny uczestnika badania komórkowego *in vitro*.

„Ocena występowania efektu nadwrażliwości na niskie dawki promieniowania jonizującego (HRS) w komórkach osób niediagnozowanych w kierunku choroby nowotworowej.”

Imię i Nazwisko:

Data urodzenia:

Płeć:

Wzrost i waga (potrzebne do obliczenia współczynnika BMI):

Jak Pan/Pani określił by/aby swój stan zdrowia:

Czy zdiagnozowano u Pana/ Pani w przeszłości jakiejkolwiek choroby zakaźne, jeśli tak proszę podać jakie:

.....

Czy zdiagnozowano u Pana/ Pani w przeszłości choroby układu krwionośnego bądź hormonalnego, jeśli tak proszę podać jakie:

Czy zażywa Pan/Pani narkotyki bądź inne używki mogące uszkodzić komórki krwi:

.....

Czy jest Pan/Pani w chwili obecnej bądź w przeciągu ostatnich kilku miesięcy na diecie, jeśli tak proszę określić jakiej:

Jak określił by/aby Pan/Pani swoje warunki środowiskowe (czystość powietrza, inne czynniki chemiczne, biologiczne lub fizyczne znajdujące się w codziennym otoczeniu):

.....

Czy odnotowano przypadki choroby nowotworowej w Pani/Pana rodzinie, jeśli tak proszę podać stopień pokrewieństwa:

Czy pracuje Pan/ Pani w warunkach narażenia na promieniowanie jonizujące, jeśli tak proszę podać kategorię narażenia lub/i stanowisko:

.....

Czy w przeciągu ostatnich 5 lat poddawany/a był/a Pan/Pani badaniom z zakresu diagnostyki obrazowej, jeśli tak proszę uwzględnić liczbę i rodzaj badań z użyciem promieniowania jonizującego:

.....

Inne istotne z punktu widzenia uczestnika informacje:

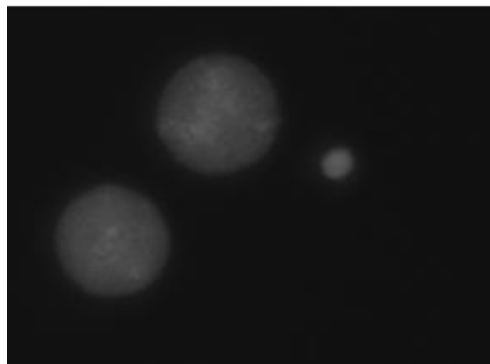
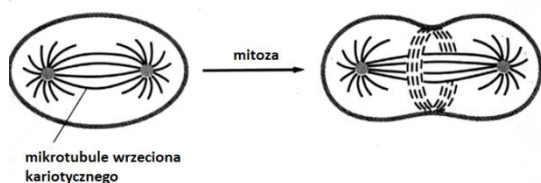
.....

Uzupełnienie 5. Test mikrojądrowy

Test mikrojądrowy z blokiem procesu cytokinezy (CBMN, ang. *Cytokinesis Block Micronucleus Assay*) polega na wprowadzeniu inhibitora podziału cytoplazmy w celu identyfikacji komórek, które przeszły jeden podział, identyfikowanych jako komórki dwujądrowe. Analiza mikrojąder jest uznawana za użyteczny marker oceny skutków narażenia organizmu na czynniki genotoksyczne (Słonina, 1997). Liczba mikrojąder jest proporcjonalna do dawki pochłoniętej promieniowania. Uszkodzony fragment DNA (część chromosomu), który podczas podziału komórki nie został wcielony do żadnego z jąder komórkowych, otoczony błoną komórkową tworzy mikrojądro, które ma kształt okrągły lub owalny i jest dobrze oddzielone od reszty jądra.

Większość mikrojąder ma objętość ok. kilku procent jądra właściwego. Istotne z punktu widzenia oceny uszkodzeń popromiennych jest fakt, że pod wpływem znaczników cytogenetycznych (np. DAPI), struktury te wybarwiają się w ten sam sposób co jądro komórkowe, co widoczne jest na obrazie poniżej.

A



Rysunek U5.1. A. Schemat formowania się komórek dwujądrowych. B. Obraz z mikroskopu Zeiss, pochodzący z opisanego doświadczenia. Na obrazie widać oba jądra wchodzące w skład komórki dwujądrowej oraz mikrojądro, kondensacja (gęstość) chromatyny we wszystkich obiektach jest podobna. A – opracowano na podstawie *Physical Basis of Cell Division*.³⁰

Test jest często stosowany do oceny toksyczności na limfocytach krwi obwodowej, a w dozymetrii biologicznej standardowo stosowany jest dla dawek powyżej 0,3 Gy. Jest to stosunkowo prosta metoda, pozwalająca na użycie pół-automatycznego systemu do analizy.

³⁰ fig.cox.miami.edu

Uzupełnienie 6. Wyniki analizy testu mikrojądrowego

W Tabelach U6.1-U6.6 znajdują się wyniki analizy częstości powstawania mikrojąder w limfocytach krwi obwodowej poddanych napromienianiu dawkami: 50, 100, 150, 300, 500, 1000, 1500 mGy, pobranych bezpośrednio od 6 pacjentów (w fazie G_0) oraz hodowanych przez 70.5h (w fazie G_2). Wynik odzwierciedla średnią ważoną z 3 próbek, w których znajdowało się min. 1000 komórek dwujądrowych (BN). Obliczono również odchylenie standardowe (SD), uwzględniając wagi poszczególnych próbek.

Tabela U6.1. Wyniki analizy częstości mikrojąder(MN/1000). Uczestnik 1

D [mGy]	MN G_0	SD	MN G_2	SD
0	17,53	7,72	6,98	2,60
50	24,47	8,34	13,55	1,03
100	15,82	0,31	11,56	4,13
150	24,49	5,25	6,01	1,08
300	45,06	18,82	11,36	1,31
500	74,62	16,95	19,90	0,63
1000	128,01	27,33	36,82	0,10
1500	257,11	63,98	37,09	9,52

Tabela U6.4. Wyniki analizy częstości mikrojąder(MN/1000). Uczestnik 2

D [mGy]	MN G₀	SD	MN G₂	SD
0	25,44	14,73	10,36	3,76
50	6,54	6,60	10,54	5,24
100	18,87	0,94	14,21	0,15
150	19,43	6,91	10,30	0,18
300	30,92	3,19	13,83	0,81
500	51,97	2,34	23,82	21,28
1000	211,41	51,47	30,07	0,41
1500	249,18	11,71	28,04	8,49

Tabela U6.5. Wyniki analizy częstości mikrojąder(MN/1000). Uczestnik 3

D [mGy]	MN G₀	SD	MN G₂	SD
0	8,79	2,25	7,67	0,90
50	16,41	2,10	8,68	1,21
100	20,47	4,39	9,10	2,86
150	25,09	2,84	7,91	3,60
300	45,38	3,42	14,20	3,21
500	56,16	23,52	28,24	5,17
1000	189,05	1,22	68,88	10,93
1500	349,70	20,28	38,90	24,51

Tabela U6.4. Wyniki analizy częstości mikrojąder(MN/1000). Uczestnik 4

D [mGy]	MN G₀	SD	MN G₂	SD
0	5,89	1,04	6,45	2,56
50	5,25	1,08	16,18	3,67
100	10,13	6,75	13,49	1,44
150	24,62	3,90	10,32	1,86
300	30,29	7,89	13,29	1,07
500	65,25	15,63	18,99	6,74
1000	138,47	25,42	43,07	23,66
1500	273,66	45,34	26,05	4,22

Tabela U6.5. Wyniki analizy częstości mikrojąder(MN/1000). Uczestnik 5

D [mGy]	MN G₀	SD	MN G₂	SD
0	6,80	0,70	3,42	1,88
50	9,11	2,40	7,68	2,05
100	12,17	0,29	7,03	2,49
150	12,87	0,09	6,82	1,74
300	12,99	3,22	10,16	1,32
500	43,94	1,25	12,58	7,74
1000	134,23	0,34	15,24	4,47
1500	207,37	2,38	12,98	6,02

Tabela U6.6. Wyniki analizy częstości mikrojąder(MN/1000) . Uczestnik 6

D [mGy]	MN G₀	SD	MN G₂	SD
0	13,41	2,37	5,26	0,87
50	10,05	2,69	7,66	0,99
100	11,30	0,81	11,21	0,64
150	19,66	0,63	6,44	1,89
300	22,09	5,81	10,56	2,17
500	59,54	8,80	17,07	6,43
1000	118,61	9,05	38,49	2,20
1500	322,43	37,45	28,42	4,46

Uzupełnienie 7. Zestawienie prac uwzględnionych w meta-analizie radonowej.

Tabela U7.1. Zestawienie 34 prac dotyczących korelacji radonu i nowotworów płuc (Dobrzyński i in., 2017). Dane zaprezentowano na rysunku 5.4. Oznaczenia: E – ekologiczne; C-C – kliniczno-kontrolne; RR – ryzyko względne; OR – iloraz szans; MB – zapadalność; MT – śmiertelność.

Kraj/region/groupa	Źródło	Typ danych	Typ badania
Austria	Oberaigner et al. 2002	RR - MB	C-C ^b
Kanada	Hystad et al. 2014	OR - MB	E
Kanada, Winnipeg	Letourneau et al. 1994	RR - MB	C-C ^a
Chiny, Gansu	Wang et al. 2002	OR - MB	C-C ^c
Chiny, Shenyang	Blot et al. 1990	RR - MB	C-C ^{a, c}
Republika Czech	Tomášek et al. 2001	RR - MT	C-C ^b
Dania	Bräuner et al. 2012	RR - MB	C-C
Anglia, południowy zachód	Darby et al. 1998	OR - MB	C-C ^b
Finlandia I	Auvinen et al. 1996	OR - MB	C-C ^{a, b}
Finlandia II	Ruosteenoja 1991	OR - MB	C-C ^a
Finlandia III	Ruosteenoja et al. 1996	RR - MB	C-C ^b
Francja	Baysson et al. 2004	RR - MB	C-C ^b
Niemcy	Wichmann et al. 2005	OR - MB	C-C ^b
Niemcy, Saksonia	Conrady & Martin 1996	OR - MT	C-C
Niemcy, Schneeberg	Conrady et al. 2002	OR - MT	C-C
Niemcy, zachód	Kreienbrock et al.	RR - MB	C-C ^b

	2001		
Włochy, Mediterranean	Bohicchio et al. 2005	OR - MB	C-C ^b
Włochy, Alps	Pisa et al. 2001	OR - MT	C-C
Japonia, Misasa	Sobue et al. 2000	OR - MT	C-C
Hiszpania	Barros-Dios et al. 2002	OR - MB	C-C ^b
Hiszpania, Galicja	Torres-Durán et al. 2014	OR - MT	C-C
Hiszpania, Galicja II	Barros-Dios et al. 2012	OR - MB	C-C
Szwecja I	Lagarde et al. 2001	RR - MB	C-C ^b
Szwecja II	Pershagen et al. 1992	RR - MB	C-C ^{a, b}
Szwecja III	Pershagen et al. 1994	RR - MB	C-C ^{a, b}
USA	Cohen 1995	OR - MT	E
USA II	Turner et al. 2011	OR - MT	C-C
USA, Connecticut and Utah	Sandler et al. 2006	RR - MB	C-C
USA, Iowa	Field et al. 2000	OR - MB	C-C
USA, Missouri I	Alavanja et al. 1994	OR - MB	C-C ^a
USA, Missouri II	Alavanja et al. 1999	OR - MB	C-C
USA, New Jersey	Schoenberg et al. 1990	OR - MB	C-C ^a
USA, New Jersey II	Wilcox et al. 2007	OR - MB	C-C

USA, Worcester	Thompson et al. 2008	OR - MB	C-C
----------------	----------------------	---------	-----

^a praca jest częścią zbiorczej analizy 8 badań (Lubin et al. 1997)

^b praca jest częścią zbiorczej analizy 13 europejskich badań (Darby et al. 2004)

^c praca jest częścią zbiorczej analizy chińskich badań (Lubin et al. 2004)

Tabela U7.2. Dane z 34 prac opisywane w meta-analizie. Podstawowe informacje: liczba uczestników, metodologia pomiarów, charakterystyka osób oraz liczba czynników obciążających (CF) uwzględniona w analizie źródłowej (jeśli wyszczególniono wiek, płeć, nawyk spożywania tytoniu: + tak, - nie).

1. autor	rok	przypadki	kontrola	pomiar	tytoń	wiek	płeć	CF ¹
Blot	1990	308	356	detektory radonowe	+	+	kobiety	4
Hystad	2014	2390	3507	mapowanie	+	+	+	19
Torres-Duran	2014	192	329	detektor śladowy alfa	nigdy	+	+	3
Bochicchino	2005	384	404	detektory radonowe	+	+	+	5
Sandler	2006	1474	1811	detektor śladowy alfa	+	+	+	brak
Wilcox	2007	561	740	monitorowanie ślądów alfa	+	+	+	6
Alavanja	1994	538	1183	detektor śladowy alfa	nie palący	+	kobiety	1
Alavanja	1999	512	546	CR-39 detektor cząstek alfa	+	+	kobiety	5
Barros-Dios	2002	163	241	detektor śladowy alfa	+	+	+	6
Barros-Dios	2012	349	513	detektor śladowy alfa (CR-39, Radosys)	+	+	+	3
Auvien	1996	517	517	pasywny detektor śladowy alfa	+	+	+	4

Brauner	2012	589	52692	predykcje oparte na modelu	+	+	+	10
Baysson	2004	486	984	2 Kodalpha LR 115 detektory	+	+	+	5
Conrady	2002	72	240	dozymetry ALTRAC	nie palący	+	kobiety	1
Darby	1998	484	1637	małe pasywne detektory radonu NRPB	+	+	+	5
Field	2000	413	614	Radtrak detektor śladowy alfa	+	+	+	4
Kreienbrock	2001	1449	2297	półprzewodnikowy detektor toru cząstek	+	+	+	2
Letourneau	1994	738	738	dozymetry z nasadką z polietylenu	+	+	+	2
Lagarde	2001	258	487	dozymetry alfa	nigdy	+	mężczyźni	-
Pershagen	1994	1360	2847	Półprzewodnikowy detektor toru cząstek	+	+	+	5
Pershagen	1992	210	408	detektor śladowy alfa	+	+	kobiety	3
Pisa	2001	138	291	dozymetry z dwoma wykrywaczami śladów LR115	+	+	+	3
Ruosteenoja	1991	238	434	Półprzewodnikowy detektor toru cząstek	+	+	mężczyźni	2
Ruosteenoja	1996	164	331	dozymetry radonu	+	+	mężczyźni	2
Tomasek	2001	173	3221	2 integralne detektory Kodak LR115	-	-	-	brak

Wichmann	2005	2963	4232	detektor śladowy alfa	+	+	+	6
Thompson	2008	200	397	etch- śladowy detektor alfa	+	+	+	5
Turner	2011	3493	811961	dane z różnych źródeł	+	+	+	19
Sobue	2000	28	36	detektor śladowy alfa	+	+	+	4
Wang	2002	768	1659	detektor śladowy alfa	+	+	+	5
Schoenberg	1990	433	402	detektor śladowy alfa	+	+	kobiety	5
Oberaigner	2002	-	-	-	-	-	+	-
Conrady & Martin	1996	2155	brak danych	pasywny detektor Kernspur	+	0-99	kobiety	tytoń
Cohen	1995	1601 data points (ecological)		dane z: PITT, EPA, STATE	+	+	+	56

* EPA SRRS, U.S. NRRS, LBL, Cohen.

¹czynniki obciążające CF (ang. confounding factors)

Uzupełnienie 8. Dane z 34 prac uwzględnionych w meta-analizie radonowej.

Tabela U8.1. Iloraz szans – Śmiertelność na nowotwory płuc.

Bq/m ³	szer.	RR	min	max
37,50	25	1,1300	0,8400	3,2700
37,50	25	1,0100	0,1100	0,1200
50,00	75	1,0408	0,0841	0,0841
58,00	36	2,0000	1,0000	1,9000
74,00	50	1,2300	1,0700	8,1600
108,00	62	1,8000	0,9000	1,9000
124,00	47	0,8000	0,3700	0,7000
125,00	50	1,1500	0,2000	0,2400
169,50	59	2,4000	1,5000	3,8000
173,00	51	1,1600	0,5200	0,9500
175,00	50	1,5300	0,4300	0,6000
175,00	150	0,9350	0,1345	0,1345
325,00	250	0,9682	0,2203	0,2203

Tabela U8.2. Iloraz szans – zapadalność na nowotwory płuc

Bq/m ³	szer	OR	min	max
36,50	15	1,0100	0,3100	0,3900
37,00	25	0,9	0,25	0,35
37,00	25	0,9400	0,1600	0,2000

37,50	25	0,5300	0,2900	0,6000
46,05	93	2,0800	1,0300	1,2600
53,50	18	0,8400	0,2400	0,4600
53,65	33	1,1000	0,3100	0,6000
55,00	36	0,8700	0,2700	0,4300
62,00	25	1,02	0,36	0,55
62,50	25	0,3100	0,1800	0,4200
65,00	29	0,9700	0,1200	0,1400
74,50	50	1,0600	0,2200	0,2800
74,50	50	1,2800	0,2600	0,3200
74,50	49	1,0300	0,1900	0,2300
75,00	50	1,87	0,66	1,01
77,50	29	0,9000	0,3000	0,4000
87,00	25	1,31	0,63	1,22
101,50	18	1,8700	0,5700	2,4900
103,00	46	1,1000	0,5500	1,1000
109,15	74	1,3000	0,6800	1,6000
110,00	59	1,0600	0,1900	0,2400
110,50	74	0,9100	0,4100	0,5900
112,50	75	0,4700	0,2700	0,6300
124,00	47	2,2500	0,9300	1,5900

124,50	50	1,400	0,76	1,69
128,00	49	1,0000	0,3000	0,5000
149,50	100	0,9300	0,2500	0,3500
149,50	100	1,4500	0,3700	0,5100
149,50	100	1,0000	0,2200	0,2900
150,00	46	1,7000	0,8300	1,8000
178,00	50	1,4200	0,4200	0,5800
200,00	50	1,3600	0,3600	0,5400
200,00	100	0,2200	0,1800	0,9100
224,00	100	1,9000	1,0000	1,7000
273,60	50	1,2800	0,4800	0,6200
299,50	200	1,2700	0,5500	0,9800
299,50	200	1,2400	0,4700	0,7700
299,50	200	0,9100	0,3000	0,4400

Tabela U8.3. Względne ryzyko – nowotwory płuc

Bq/m ³	szer.	RR	min	max
25	14	1,3700	0,3100	0,3100
29	22	0,9800	0,2000	0,2400
43	21	1,3700	0,3300	0,3300
53	26	1,0200	0,2500	0,3500

65	30	0,9800	0,1700	0,2200
65	30	1,0800	0,2900	0,3900
75	100	0,8500	0,2600	0,3700
93	30	1,2000	0,5000	0,2000
108	60	1,0000	0,4000	0,6000
110	60	1,0000	0,2000	0,3000
110	60	1,0900	0,2900	0,3900
111	75	0,9000	0,3000	0,4000
131	60	1,3000	0,6000	1,0000
141	90	1,8000	0,9000	1,7000
150	100	1,1900	0,3800	0,5800
216	120	0,8000	0,3000	0,6500
222	75	0,9000	0,4000	0,5000
225	260	1,7000	0,7000	0,7000
300	200	1,0400	0,4000	0,6300
475	127	0,7000	0,3000	0,6000

Uzupełnienie 9. Wyniki analizy klasycznej i bayesowskiej danych radonowych.

Tabela U9.1. Niski zakres osób palących ($N_w=22$, $N_m=57$, $N_{wszyscy}=55$):

Metoda	MNK			BAYES		
Model: Liniowy	Nachylenie (95% CI)	stała (95% CI)	χ^2	Nachylenie (95% CI)	stała (95% CI)	χ^2
kobiety	0,10(0,32)	27 (11)	14,26	0,50(0,36)	22(10)	2,23
mężczyźni	0,03(0,14)	64(7)	5,01	0,04(0,01)	64(5)	1,21
wszyscy	0,04(0,18)	52(8)	8,41	0,06(0,09)	50(5)	1,62

Model:	Stała (95% CI)			
Metoda	LSQ	χ^2	Bayes	χ^2
kobiety	30(2)	6,93	34(4)	1,27
mężczyźni	66(2)	2,47	66(2)	0,60
wszyscy	53(2)	4,15	53(2)	0,80

Tabela U9.2. Średni zakres osób palących ($N_w=244$, $N_m=248$, $N_{wszyscy}=286$):

Metoda	MNK			BAYES		
Model: Liniowy	nachylenie (95% CI)	stała (95% CI)	χ^2	nachylenie (95% CI)	stała (95% CI)	χ^2
kobiety	-0,06 (0,05)	62(3)	5,49	-0,05(0,03)	62(2)	1,40
mężczyźni	-0,10(0,07)	98(5)	7,54	-0,11(0,05)	100 (4)	1,65
wszyscy	-0,10(0,05)	80(3)	5,03	-0,11(0,03)	81 (3)	1,33

Model:	Stała (95% CI)

Metoda	LSQ	χ^2	Bayes	χ^2
kobiety	58(1)	2,82	59(2)	0,70
mężczyźni	91 (1)	3,88	93(2)	0,85
wszyscy	73 (1)	2,67	74 (1)	0,70

Tabela U9.3. Wysoki zakres osób palących ($N_w=235$, $N_m=226$, $N_{wszyscy}=201$):

Metoda	MNK			BAYES		
	nachylenie (95% CI)	stała (95% CI)	χ^2	Nachylenie (95% CI)	stała (95% CI)	χ^2
kobiety	-0,05(0,06)	64(4)	5,81	-0,08(0,04)	66(3)	1,42
mężczyźni	-0,13(0,10)	111(7)	12,60	-0,19(0,07)	117(5)	2,12
wszyscy	-0,10(0,08)	85(5)	7,40	-0,14(0,02)	88(1)	1,64

Model:	Stała (95% CI)			
Metoda	LSQ	χ^2	Bayes	χ^2
kobiety	61(1)	2,94	62(1)	0,73
mężczyźni	103(1)	6,46	106(2)	1,10
wszyscy	79(1)	3,82	80(2)	0,87

Uzupełnienie 10 Krzywe sigmoidalne

Funkcja sigmoidalna

Istnieje wiele przykładów w literaturze, w których zależność efektów od dawki promieniowania opisywana jest kształtem sigmoidalnym (Scott i in., 2007, Fornalski i in. 2019). Krzywa sigmoidalna charakteryzuje się monotonicznym wzrostem wartości, asymptotycznie dąży do pewnej stałej, dla której następuje nasycenie. Dla małych wartości, funkcja ma kształt paraboli, przy większych wartościach jest w przybliżeniu liniowa. Sigmoida, której specjalnym przypadkiem jest funkcja logistyczna, zdefiniowanej jako:

$$S(x) = \frac{e^x}{e^x - 1} \quad (\text{U10.1})$$

Funkcja ta znalazła zastosowanie przy opisie systemów dynamicznych, na podstawie takich teorii jak model ziarenka piasku (M. Stark i in., 2012) (krytyczna samoorganizacja), czy teoria katastrof (L. Cobb i in., 1980). Układy złożone (podobnie jak w przypadku organizmu) opisywane za pomocą tych równań, są poddawane kumulatywnemu działaniu pewnego czynnika zewnętrznego, co skutkuje w pojawieniu się gwałtownej, nieliniowej odpowiedzi na stresor po przekroczeniu pewnej wartości krytycznej. Samoorganizacja dotyczy spontanicznego powstawania globalnego porządku wynikającego z lokalnych oddziaływań. Analogicznie do układu opisywanego w teorii nukleacji (zarodkowania) i wzrostu, można potraktować transformację nowotworową jako nagły, nieliniowy wzrost, pojawiający się w okolicy zarzewia pewnego stanu.

Równanie Avramiego Johnsona-Mehla-Avramiego-Kołmogorova (JMAK)

Równanie po raz pierwszy zostało wyprowadzone przez Kołmogorowa w 1937 roku i spopularyzowane przez Melvina Avramiego w serii artykułów opublikowanych w latach 1939-1941. Opisuje ono kinetykę izotermicznej krystalizacji sferolitycznej, charakteryzuje zmianę w czasie ułamka wykrystalizowanej substancji w stosunku do całości, dla której funkcja transformacji jest sigmoidalna w kształcie.

Ogólne sformułowanie równania:

$$\chi(t) = e^{-ct^n} \quad (\text{U10.2})$$

W równaniu (U10.2):

$X(t)$ oznacza ułamek substancji, która wykrystalizowała do chwili t

c – stała zależna od parametrów krystalizacji

n – wymiar przestrzeni dostępnej do krystalizacji/ wykładnik krytyczny

t – czas liczony od momentu rozpoczęcia się procesu.

Krzywa Gompertza

Powszechnie wykorzystywanym do opisu czasu przeżycia nieliniowym modelem jest opis matematyczny zaproponowany w 1825 roku przez B. Gompertza. Punkty przegięcia występują odpowiednio: w połowie i jednej trzeciej wartości asymptotycznej. Funkcja dobrze odwzorowuje procesy wzrostu populacji, w tym krzywych rozrostu komórek nowotworowych i jest jedynym modelem matematycznym przyjętym przez środowisko medyczne (Kendal 1985, Forys 2005). Czas przeżycia oznaczony będzie symbolem T , wiek elementów x , punkt w czasie t . Krzywa ma charakterystyczny kształt S-owaty (sigmoidalny).

Postać funkcji stosowanej do opisu rozrostu populacji $N(t)$, ma ogólną postać (Kareva 2017):

$$N(t) = N(0) \cdot e^{c \cdot (1 - e^{-k \cdot t})} \quad (\text{U10.3})$$

gdzie:

$N(t)$ – liczebność populacji w czasie, $N(0)$ – początkowa liczebność populacji, c i k to stałe

Równanie Gompertza zapisywane jest również jako:

$$N(t) = N(0) \cdot e^{\frac{r_0}{b} \cdot (1 - e^{-b \cdot t})} \quad (\text{U10.4})$$

gdzie:

$N(0)$ – początkowa wielkość populacji, r_0 – maksymalny współczynnik wzrostu (proliferaacji),

b – stopień odchylenia krzywej od krzywej wykładniczej

Model wykładniczy zakłada stałe natężenie zgonów niezależnie od wieku lub czasu:

$$\mu(x) \equiv \mu \text{ dla } x \geq 0 \quad (\text{U10.5})$$

Model Gompertza zakłada, że intensywność zgonów rośnie wykładniczo wraz z wiekiem.

Powyższe równania są rozwiązaniem równania różniczkowego, w postaci:

$$\frac{dN}{dt} = k \cdot N(t) \ln \left(\frac{e^c N(0)}{N(t)} \right) \text{ gdy } c = \frac{r_0}{b} \text{ i } c = b \quad (\text{U10.6})$$

Parametry $N(0)$, r oraz b spełniają zależność:

$$\lim_{t \rightarrow \infty} N(t) \rightarrow N_0 e^{\frac{r_0}{b}} \quad (\text{U10.7})$$

Równanie (U10.7) określa tzw. pojemność środowiska.

Interpretacja podana w modelu Gompertza uwzględnia śmiertelność w wyniku działania dwóch przyczyn. Pierwszą jest choroba, gdzie śmiertelność niezależna od wieku i proporcjonalna jedynie do liczby populacji $N(t)$. Druga z przyczyn związana z wiekiem x , to spadek zdolności do przeciwstawiania się śmierci (oporność)

Zastosowanie krzywej sigmoidalnej do opisu ewolucji komórek nowotworowych w funkcji dawki i czasu

Zakładając, że w populacji komórkowej N_0 znajduje się już określona liczba komórek nowotworowych N , zmiana liczby komórek nowotworowych w czasie dN/dD będzie zależna od tempa transformacji μ :

$$\frac{dN}{dD} = (N_0 - N)\mu D^n \quad (\text{U10.8})$$

gdzie: μ – tempo transformacji, D – dawka promieniowania jonizującego, n - wykładnik opisujący siłę oddziaływania danego stresora (dawki) na układ (zależy od typu komórek nowotworowych i typu promieniowania), $(N_0 - N)$ – liczba komórek zdrowych/ potencjalnie mutagennych.

Rozwiązanie powyższego równania ma postać:

$$N = N_0(1 - e^{-\theta D^{n+1}}) + N_0^0 e^{-\theta D^{n+1}} \quad (\text{U10.9})$$

dla:

$$\theta = \mu/(1 + n) \quad (\text{U10.10})$$

gdzie: N_0^0 – liczba komórek nowotworowych przed napromienianiem.

Pierwsza część prawej strony tego równania ma postać sigmoidalną, opisaną jako funkcja Avramiego (lub równanie JMAK), opisującą transformację układu w teorii nukleacji i wzrostu. W efekcie, prawdopodobieństwo kolejnych transformacji można zapisać jako:

$$P_{CT} = \frac{N}{N_0} = \frac{N - N_0^0}{N_0 - N_0^0} \quad (10.11)$$

Po uwzględnieniu mechanizmu śmierci komórkowej (spowodowanej przez promieniowanie), liczba komórek w populacji zdrowej, które przeżyły opisywana jest, zgodnie z równaniem (U10.4), krzywą przeżywalności typu:

$$N_0 - N = (N_0 - N_0^0) \times e^{-\alpha D - \beta D^2} \quad (\text{U10.12})$$

W równaniu (10.12): $M_0^0 = (N_0 - N_0^0)$ – początkowa liczba zdrowych komórek oraz $M_0 = (N_0 - N)$ – liczba komórek, które przeżyły napromienianie. Powyższe równania (U10.4, U10.5) wynikają z równania, w którym występuje liniowa forma odpowiadająca powstawaniu uszkodzeń oraz pierwszy człon po prawej stronie równania, związany z ilością komórek :

$$\frac{dN}{dD} = (N_0 - N) \sum_i \mu_i D^{n_i} \quad (\text{U10.13})$$

Z rozwiązaniem:

$$N = N_0(1 - e^{-\sum_i \theta_i D^{n_i+1}}) + N_0^0 e^{-\sum_i \theta_i D^{n_i+1}} \quad (\text{U10.14})$$

analogicznie:

$$\theta_i = \mu_i / (1 + n_i) \quad (\text{U10.15})$$

Przekształcając formę powyższego równania oraz podstawiając $(N_0 - N_0^0) = M_0^0$, otrzymujemy zależność związaną z prawdopodobieństwem P_{CT} :

$$N = N_0 - M_0^0 e^{-\sum_i \theta_i D^{n_i+1}} \rightarrow M_0^0 e^{-\sum_i \theta_i D^{n_i+1}} = N_0 (1 - P_{CT}) \quad (\text{U10.9})$$

Dla $N_0^0 \rightarrow 0, M_0^0 \rightarrow N_0$, i równanie (6.47) otrzymuje postać:

$$P_{CT} = 1 - e^{-\sum_i \theta_i D^{n_i+1}} \quad (\text{U10.16})$$

Jest to czysto matematyczny opis zależności prawdopodobieństwa kolejnej transformacji nowotworowej w funkcji dawki, bez uwzględnienia czasu oraz komórkowych mechanizmów takich jak wspomniana wcześniej odpowiedź adaptacyjna.

Opis dynamiki rozwoju nowotworu w funkcji czasu oparto na asymptotycznej sigmoidalnej zależności gwałtownego wzrostu i powolnej stabilizacji populacji komórek nowotworowych w ograniczonej przestrzeni. Ponieważ literatura wskazuje na dobre dopasowanie do danych eksperymentalnych (Jiang i in., 2005, Marusic i in., 1994), do opisu rozrostu guza w funkcji czasu przyjmujemy, że właściwą zależność oddaje równanie Gompertza:

$$P(t) = m e^{-a e^{-bt}} \quad (\text{U10.17})$$

W równaniu (U.10.17): a, b - parametry dopasowania > 0 oraz m - wartość asymptoty.

Funkcja Gompertza ma szerokie zastosowanie w opisie dynamiki podobnych procesów; jej matematyczna forma dobrze odzwierciedla wykładniczą proliferację komórek ograniczoną przez czynnik opóźniający związany z wzrostem populacji.

Zakładając warunek początkowy w postaci $P(t=0)=0$, powyższe równanie należałoby zmodyfikować do postaci:

$$P(t) = (e^{-a(e^{-bt}-1)} - 1) m e^{-a} \quad (\text{U10.18})$$

Dynamikę rozwoju nowotworu w funkcji czasu można oprzeć też na teorii zarodkowania (nukleacji) i wzrostu, opisywaną przez równanie Avramiego (JMAK), a jego ogólna postać ma formę:

$$P(\xi) = 1 - e^{-a\xi^n} \quad (\text{U10.19})$$

dla: ξ – stresor (czas), a – stała dopasowania, n – indeks krytyczny.

Zgodnie z tą teorią, wykładnik odpowiada wymiarowości rozrastania się guza $n = d+1$, ($n=3$ dla przypadku rozrostu dwuwymiarowego, $d= 4$ dla rozrostu objętościowego).

Ostateczna forma prawdopodobieństwa transformacji nowotworowej, uwzględniająca zależność od dawki i zależność czasową Avramiego (ostatni czynnik w poniższym równaniu), ma postać:

$$P_N(D, t) \propto [N_0(1 - e^{-\sum_i \theta_i D^{n_i+1}}) + N_0^0(e^{-\sum_i \theta_i D^{n_i+1}})](1 - e^{-aet^n}) \quad (\text{U10.20})$$

Uzupełnienie 11. Kod źródłowy model numeryczny LTC

```
import numpy as np
import scipy, math

# Feinendegen 2018 DSBs: happens about once in every 10 cells per day
# Feinendegen 2003: 1mGy - 200 ionizations (in cell) (from 100 keV X rays), 1 mGy - 2 alternati
ons per cell per mGy
#:include roughlyone base change, one SSB, and 4 x10-2 DSB)
# other natural errors:The low error frequency of 10-(10)mistakes per base pair each replicati
on cycle - derived from 10-5
# for initial base pairing, 10-2for proofreading and 10-3 due to mismatch repair.
# Relatively few errors arise also by thermal instabilityof DNA yielding deamination of cytosin
e [102/cell/day(c/d)]
#& depurination (5x 103/c/d)
# the steady state number of2.4 x104 oxidadamages per cell per day
# Accordingly, the probability of a single DNA nucleotide out of a total of 6 x109 per cell b
eing endogenously
# damaged per day is taken here to be on averageabout 106/6 x109, i.e., 1.5 x10-4
# average production of 1010 cytoplasmic ROS percell per day.
# DSBE/cell/d:/0.1, ROS/cell/d:/10**9, OXE/cell/d:/10**6
# from 2.7 x10-3 mGy/d : BG DSBR/104cell/d:/1 and DSBE/104 cell/d:/1 /103 lub 10(-4)/cell an
d 0.1 oxidative hits/cell/day
# probability of persistent DSB : 10-5
# The estimated reduction factor of10-2 from imune system to transformation
# error rate repair 10-5 (bionumbers.org) times: SSB a few minutes: DSB >1 hour (bionumbers.o
rg)
# fraction of DSB that results in cross-overs (yeast, bionumbers.org): ~10 to 15 %
# Mutation/bp/generation 2.5E-08 (bionumbers.org)
# genome size: 3.08e+9 Base pairs
# number of cells in body (70 kg): 3.7 (e+ 13) Cells
# protein coding genes: ~20,500 that is fraction of the genome (approximately 1.5%)wikipedia
# Noncoding DNA is made up of all of those sequences (ca. 98%)
# Oncogenes - the 2018 CGC describes in detail the effect of 719 cancer-driving genes(Cosmic Ca
ncer Gene Census)
# Feinendegen 2003: Assumed repair error of DSB and other DNA alterations are 102 1 and 102 4,
respectively
# 1 Gy = 1000 trafień 100 000 jonizacji/kom (niski let), wysoki: 3-4 trafienia, 100 000 jonizac
ji
#1mGy/cell/day 1mGy - 1trafienie x=100 jonizacji
d = 10
n =1
a = 4.049999999999999/3.005
v = 10
#https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4585963/
H = (1-np.exp(-a*d)) * (np.sum(d*a/math.factorial(n)))**n
```

```

# brak uderzenia w DNA w wyniku napromieniania
NH = (1 - H)
# uderzenie fotonu -> śmierć mechaniczna - model LQ
C = 0.000000000013
e = 1.7327379513998635e-07
HD = 1 - np.exp(-(c*d+e*d**2))
#uderzenie fotonu -> uszkodzenie DSB: na 1 mGy, powstaje średnio 1 SSB i 4 x10-2 DSB
HL = d*0.0001
#uderzenie fotonu-> brak zmian
HN = 1-(HD+HL)
# uszkodzenie -> proces naprawy (założenie: następuje w 99% )
SRP = 0.99
CRP = 0.99
# uszkodzenie -> nie wykryte przez system naprawczy/zbyt skomplikowane do naprawy
SN = 1 - SRP
CN = 1 - CRP
# nic (brak naprawy) -> naturalna śmierć komórki
ND = 1/120
#nic (brak naprawy) -> mutacja
NM = 1 - ND
#naprawa -> mutacja (częstość błędnej naprawy = 10^-5)
RPM = 0.00001
# śmierć w wyniku błędnej naprawy (apoptoza) - założenie: następuje 1%
RPD = 0.01
# brak zmian w wyniku naprawy - komórka powraca do stanu wyjściowego
RPN = 1 - (RPM+RPD)
# mutacja -> klastrowa (2-10 na odcinku 10bp) w DNA (w następstwie DSB)
#M - liczba celów: 10 bp (1), i - ilość uderzeń (5 w obrębie jednego celu: 10pb)
def klaster(m) :
    M = 1
    d = 1
    a = 4.049999999999999/3.005 # objętość celu
    Q = np.exp(-a*d)
    mutacje = []
    mu = list(range(0, m+1))
#     print(mu)
    for i in range(2, len(mu)):
        Y = math.factorial(i)
#         print(mu, i, Y)
        mut = np.sum((d*a)**i/Y)
        mutacje.append(mut)

```



```

#         print(mut)
#         print(mutacje)
        return (0.00000001*(1-Q*np.sum(mutacje)**M)
klaster(5) # nie może być więcej niż 10
# łączne prawdopodobieństwo mutacji 2-10, biorąc pod uwagę 10 bp z 10^9
LC = C
# mutacja -> punktowa w DNA (w następstwie DSB) gdziekolwiek w DNA
LS = 1- klaster(10)
# mutacja punktowa DNA -> w obrębie genów kodujących białka
MF = 0.02
# mutacja punktowa DNA punktowe -> w obrębie genów nie kodujących białka
MI = 1 - SF
# mutacja klastrowa DNA -> w obrębie genów kodujących białka
# uszkodzenie DNA w obrębie genów kodujących białka -> uszkodzenie onkogenu
FO = 719/21000
# uszkodzenie DNA w obrębie genów kodujących białka -> uszkodzenie reszty genów
FR = 1 - FO
# uszkodzenie onkogenu -> transformacja ( hamowanie przez system immunologiczny)
OT = 0.01
# uszkodzenie onkogenu -> brak transformacji
OPT = 1 - OT
# promieniowanie - transformacja 0
T1 = H*HL*LS*SRP*RPM*MF*FO*OT
T3 = H*HL*LS*SN*NM*MF*FO*OT
T2 = H*HL*LC*CN*NM*MF*FO*OT
T4 = H*HL*LC*CRP*RPM*MF*FO*OT
# wszystkie gałęzi\n",
TR = np.array([T1,T2,T3,T4])
#suma wszystkich gałęzi
transf_rad = np.sum(TR)
#promieniowanie - brak transformacji, z uwzględnieniem pobocznych gałęzi 0
R0 = NH
R1 = H*HN                + H*HD
R2 = H*HL*LS*SRP*RPD      + H*HL*LC*CRP*RPN
R3 = H*HL*LS*SRP*RPM*MI   + H*HL*LC*CRP*RPM*MI
R4 = H*HL*LS*SRP*RPM*MF*FR + H*HL*LC*CRP*RPM*MF*FR
R5 = H*HL*LS*SRP*RPM*MF*FO*OPT + H*HL*LC*CRP*RPM*MF*FO*OPT
R6 = H*HL*LS*SN*ND
R7 = H*HL*LS*SN*NM*MI     + H*HL*LC*CN*NM*MI
R8 = H*HL*LS*SN*NM*MF*FR  + H*HL*LC*CN*NM*MF*FR
R9 = H*HL*LS*SN*NM*MF*FO*OPT + H*HL*LC*CN*NM*MF*FO*OPT

```

```

# wszystkie gałęzi
rr = np.array([R0,R1,R2,R3,R4,R5,R6,R7,R8,R9])
#suma wszystkich gałęzi
PT_rad = np.sum(rr)
print('prawdopodobieństwo transformacji popromiennej dla dawki', d,'(mGy):', transf_rad, 1- tra
nsf_rad )
# działanie wolnych rodników na DNA (ciągłe uderzenia)
ROS = 0.9999
# brak działania wolnych rodników na komórkę - blisko 0
NROS = (1-ROS)
#uderzenie ROS -> śmierć naturalna\n",
ROSD = 1/120
# uderzenie ROS -> uszkodzenie DSB\n",
ROSL = 0.1
# uderzenie ROS-> brak zmian
ROSN = 1-(ROSD+ROSL)
# uszkodzenie -> proces naprawy (założenie: następuje w 99% )
CRP = 0.99
SRP = 0.99
# uszkodzenie -> nie wykryte przez system naprawczy/zbyt skomplikowane do naprawy
SN = 1 - SRP
CN = 1 - CRP
# nic (brak naprawy) -> naturalna śmierć komórki
ND = 1/120
#nic (brak naprawy) -> mutacja
NM = 1 - ND
#naprawa -> mutacja (częstość błędnej naprawy = 10^-5)
RPM = 0.00001
# śmierć w wyniku błędnej naprawy (apoptoza) - założenie: następuje 1%
RPD = 0.01
# brak zmian w wyniku naprawy - komórka powraca do stanu wyjściowego
RPN = 1 - (RPD+RPM)
# mutacja -> klastrowa (2-10 na odcinku 10bp) w DNA (w następstwie DSB)
#M - liczba celów: 10 bp (1), i - ilość uderzeń (5 w obrębie jednego celu: 10pb)
def klaster(m):
    M = 1
    d = 1
    a = 4.049999999999999/3.005 # objętość celu
    Q = np.exp(-a*d)
    mutacje = []
    mu = list(range(0, m+1))
#     print(mu)

```

```

    for i in range(2, len(mu)):
        Y = math.factorial(i)
        # print(mu, i, Y)
        mut = np.sum((d*a)**i/Y)
        mutacje.append(mut)
        # print(mut)
    #     print(mutacje)
    return (0.00000001*(1-Q*np.sum(mutacje)**M)
klaster(5) # nie może być więcej niż 10
# łączne prawdopodobieństwo mutacji 2-10, biorąc pod uwagę 10 bp z 10^9
MC = C
# mutacja -> punktowa w DNA (w następstwie DSB) gdziekolwiek w DNA
MS = 1- klaster(10)
# mutacja punktowa DNA -> w obrębie genów kodujących białka
SF = 0.02
# mutacja punktowa DNA punktowe -> w obrębie genów nie kodujących białka
SI = 1 - SF
# mutacja klastrowa DNA -> w obrębie genów kodujących białka
CF = 0.02
# mutacja klastrowa -> w obrębie genów nie kodujących białka
CI = 1 - CF
# uszkodzenie DNA w obrębie genów kodujących białka -> uszkodzenie onkogenu
FO = 719/21000
# uszkodzenie DNA w obrębie genów kodujących białka -> uszkodzenie reszty genów
FR = 1 - FO
# uszkodzenie onkogenu -> transformacja ( hamowanie przez system immunologiczny)
OT = 0.01
# uszkodzenie onkogenu -> brak transformacji
OPT = 1 - OT
# metabolizm - transformacja O
T5 = ROS*ROSL*LS*SRP*RPM*MF*FO*OT
T6 = ROS*ROSL*LS*SN*NM*MF*FO*OT
T7 = ROS*ROSL*LC*CN*NM*MF*FO*OT
T8 = ROS*ROSL*LC*CRP*RPM*MF*FO*OT
# wszystkie gałęzi
TN = np.array([T5,T6,T7,T8])
#suma wszystkich gałęzi
transf_met = np.sum(TN)
# metabolizm - brak transformacji, z uwzględnieniem pobocznych gałęzi
M0 = NROS
M1 = ROS*ROSN + ROS*ROSD

```

```

M2 = ROS*ROSL*LS*SRP*RPN                + ROS*ROSL*LC*CRP*RPD
M3 = ROS*ROSL*LS*SRP*RPM*MI             + ROS*ROSL*LC*CRP*RPM*MI
M4 = ROS*ROSL*LS*SRP*RPM*MF*FR         + ROS*ROSL*LC*CRP*RPM*MF*FR
M5 = ROS*ROSL*LS*SRP*RPM*MF*FO*OPT     + ROS*ROSL*LC*CRP*RPM*MF*FO*OPT
M6 = ROS*ROSL*LS*SN*ND
M7 = ROS*ROSL*LS*SN*NM*MI              + ROS*ROSL*LC*CN*NM*MI
M8 = ROS*ROSL*LS*SN*NM*MF*FR          + ROS*ROSL*LC*CN*NM*MF*FR
M9 = ROS*ROSL*LS*SN*NM*MF*FO*OPT      + ROS*ROSL*LC*CN*NM*MF*FO*OPT

# wszystkie gałęzie
MM = np.array([M0,M1,M2,M3,M4,M5,M6,M7,M8,M9])

#suma wszystkich gałęzi
PT_met = np.sum(MM)

print('prawdopodobieństwo transformacji metabolicznej/dzień:', transf_met )
print('prawdopodobieństwo transformacji metabolicznej/rok:',365* transf_met )
print('prawdopodobieństwo transformacji metabolicznej/70 lat:',70 * 365* transf_met)

# odpowiedź adaptacyjna
d3 = 10
F=0.1
G=1
a = 0.1
d2 = 100.0
AD = G*(a*d3)**2 * np.exp(-F*(d3))
#naprawa - mutacja\n",
RPM = 0.00001
# naprawa po odpowiedzi adaptacyjnej od dawki d3 (10 mGy)
RPM2 = 0.00001 + 0.00001*AD
# prawdopodobieństwo śmierci w wyniku błędnej naprawy
RPD = 0.01
RPN = 1 - (ND+RPM)
RPN2 = 1-(ND+RPM2)

# promieniowanie transformacja + odpowiedź adaptacyjna 0
TAD1 = H*HL*LS*SN*NM*MF*FO*OT
TAD2 = H*HL*LS*SRP*RPM2*MF*FO*OT
TAD3 = H*HL*LC*CN*NM*MF*FO*OT
TAD4 = H*HL*LC*CRP*RPM2*MF*FO*OT

# SUMA WSZYTSKICH GAŁĘZI
TADTR = np.array([TAD1,TAD2,TAD3,TAD4])
transf_rad_ad = np.sum(TADTR)

# METABOLIZM TRANSFORMACJA + odpowiedź adaptacyjna
TAD5 = ROS*ROSL*LS*AD*SN*NM*MF*FO*OT
TAD6 = ROS*ROSL*LS*AD*SRP*RPM*AD*MF*FO*OT

```

```

TAD7 = ROS*ROSL*LC*AD*CN*NM*MF*FO*OT
TAD8 = ROS*ROSL*LC*AD*CRP*RPM*MF*FO*OT
TADN = np.array([TAD5,TAD6,TAD7,TAD8])
# SUMA WSZYTSKICH GAŁĘZI
transf_met_ad = np.sum(TADN)
# ODPOWIEDŹ ADAPTACYJNA - BRAK TRANSFORMACJI POPROMIENNEJ
RAD0 = NH
RAD1 = H*HN + H*HD
RAD2 = H*HL*LS*SRP*RPD + H*HL*LC*CRP*RPN2
RAD3 = H*HL*LS*SRP*RPM2*MI + H*HL*LC*CRP*RPM2*MI
RAD4 = H*HL*LS*SRP*RPM2*MF*FR + H*HL*LC*CRP*RPM2*MF*FR
RAD5 = H*HL*LS*SRP*RPM2*MF*FO*OPT + H*HL*LC*CRP*RPM2*MF*FO*OPT
RAD6=H*HL*LS*SN*ND + H*HL*LC*CN*ND
RAD7=H*HL*LS*SN*NM*MI +H*HL*LC*CN*NM*MI
RAD8=H*HL*LS*SN*NM*MF*FR +H*HL*LC*CN*NM*MF*FR
RAD9=H*HL*LS*SN*NM*MF*FO*OPT +H*HL*LC*CN*NM*MF*FO*OPT
# SUMA WSZYTSKICH GAŁĘZI
rrAD = np.array([RAD0,RAD1,RAD2,RAD3,RAD4,RAD5,RAD6,RAD7,RAD8,RAD9])
PT_rad_AD = np.sum(rrAD)
# ODPOWIEDŹ ADAPTACYJNA - BRAK TRANSFORMACJI METABOLICZNEJ O
MAD0 = NROS
MAD1 = ROS*ROSN + ROS*ROSD
MAD2 = ROS*ROSL*LS*SRP*RPN2 + ROS*ROSL*LC*CRP*RPD
MAD3 = ROS*ROSL*LS*SRP*RPM2*MI + ROS*ROSL*LC*CRP*RPM2*MI
MAD4 = ROS*ROSL*LS*SRP*RPM2*MF*FR + ROS*ROSL*LC*CRP*RPM2*MF*FR
MAD5 = ROS*ROSL*LS*SRP*RPM2*MF*FO*OPT + ROS*ROSL*LC*CRP*RPM2*MF*FO*OPT
MAD6 = ROS*ROSL*LS*SN*ND
MAD7 = ROS*ROSL*LS*SN*NM*MI + ROS*ROSL*LC*CN*NM*MI
MAD8 = ROS*ROSL*LS*SN*NM*MF*FR + ROS*ROSL*LC*CN*NM*MF*FR
MAD9 = ROS*ROSL*LS*SN*NM*MF*FO*OPT + ROS*ROSL*LC*CN*NM*MF*FO*OPT
# SUMA WSZYTSKICH GAŁĘZI
MMAD = np.array([MAD0,MAD1,MAD2,MAD3,MAD4,MAD5,MAD6,MAD7,MAD8,MAD9])
PT_met_AD = np.sum(MMAD)
#print('RPM2=RPM+RPM*AD:',RPM2,'RPM*AD:',RPM*AD, 'RPM:', RPM,'AD:', AD)
#print('prawdopodobieństwo transformacji popromiennej w wyniku dawki', d,'(mGy):, (adaptacja w
wyniku promieniowania, dawka', d2,'(mGy))', transf_rad_ad
print('prawdopodobieństwo transformacji metabolicznej/dzień (adaptacja w wyniku promieniowania,
dawka', d3,'(mGy)):',' transf_met_ad )
print('prawdopodobieństwo transformacji metabolicznej/rok (adaptacja w wyniku promieniowania, d
awka', d3,'(mGy)):','365* transf_met_ad )
print('prawdopodobieństwo transformacji metabolicznej/70 lat (adaptacja w wyniku promieniowania
, dawka', d3,'(mGy)):','70*365* transf_met_ad )

```

```
#print('prawdopodobieństwo, że komórka nie zmieni stanu, w wyniku napromieniania dawka', d, '(m Gy):', PT_rad)
#print('prawdopodobieństwo, że komórka nie zmieni stanu, w wyniku metabolizmu/dzień :', PT_met)
#print('prawdopodobieństwo, że komórka nie zmieni stanu, w wyniku napromieniania (AD) dawka', d, ':', PT_rad_AD)
#print('prawdopodobieństwo, że komórka nie zmieni stanu, w wyniku metabolizmu/dzień (AD) :', PT_met_AD)
```

Uzupełnienie 12

Raport z pomiarów dozymetrycznych na stanowisku do napromieniania komórek w Zakładzie Radiobiologii i Dozymetrii Biologicznej IChTJ



Raport z pomiarów

30 LISTOPADA 2017

Raport zawiera wyniki przeprowadzonych pomiarów dozymetrycznych wiązki promieniowania X na stanowisku do napromieniania komórek w Zakładzie Radiobiologii i Dozymetrii Biologicznej IChTJ.

Narodowe Centrum Badań Jądrowych

Tel. 22 273 11 04

Faks 22 273 12 00

ul. Andrzeja Sołtana 7

05-400 Otwock

www.lpd.ncbj.gov.pl

lpd@ncbj.gov.pl

Spis treści

Sprawozdanie z pomiarów	1
Pomiary mocy dawki	3
Dozymetria TLD	6
Podsumowanie	11

Sprawozdanie z pomiarów

Przedmiot badania

Parametry dozymetryczne wiązki promieniowania X defektoskopu SMART 300 W prod. YXLON International.

Miejsce pomiarów

Instytut Chemii i Techniki
Jądrowej 03-195 Warszawa,
ul Dorodna 16

Metoda pomiarów

Pomiary wiązki promieniowania X wykonano według „AAPM protocol for 40-300 kV x-ray beam dosimetry in radiotherapy and radiobiology” Med. Phys. 28 (6), June 2001.

Zgodna z TRS-277

Warunki środowiskowe

Temperatura: $(18,7 \div 22,2) ^\circ\text{C}$
Wilgotność: $(55,2 \div 64,1) \%$
Ciśnienie: $(1019,6 \div 1020,0) \text{ hPa}$

Data wykonania pomiarów

26 września 2017 r – pomiary mocy dawki, komory jonizacyjne,
4 października 2017 r – pomiary dawki, dawkomierze TLD.

Aparatura pomiarowa

Pomiary mocy dawki wykonano za pomocą elektrometru Keithley 6517B z komorą jonizacyjną typ KR-16 prod. NCBJ. Rozkład wiązki promieniowania określono komorą DW #5 prod. GUM oraz zestawem dawkomierzy termoluminescencyjnych MTS-100.

Spójność pomiarowa

Wyniki pomiarów mocy dawki zostały odniesione do wzorcowych pól promieniowania X w akredytowanym laboratorium wzorcującym, mieszczącym się w Centralnym Laboratorium Ochrony Radiologicznej. Pomiary termoluminescencyjne mają odniesienie do wzorcowych pól promieniowania gamma Cs-137 utrzymywanych w akredytowanym laboratorium wzorcującym, mieszczącym się w Narodowym Centrum Badań Jądrowych.

Niepewność pomiaru

Niepewność pomiaru została określona zgodnie z ISO/IEC Guide 98-3:2008. Jeśli nie zaznaczono inaczej to podane wartości niepewności stanowią niepewności rozszerzone przy poziomie ufności 95% i współczynniku rozszerzenia $k=2$.

Wyniki pomiarów

Poniżej prezentowane są wyznaczone wartości dawki pochłoniętej podczas napromieniowań próbek w odległości blatu stolika do ogniska lampy 30 cm.

Dawka oczekiwana	Czas (s)	Dawka zmierzona (mGy)
50 mGy	2	42 ± 3
100 mGy	5	105 ± 7
150 mGy	7	147 ± 10
300 mGy	14	295 ± 21
500 mGy	24	506 ± 35
1000 mGy	47	991 ± 69
1500 mGy	71	1497 ± 105

Wyznaczona moc dawki w odległości 30 cm od osi aparatu wyniosła 1265 ± 90 mGy/min.

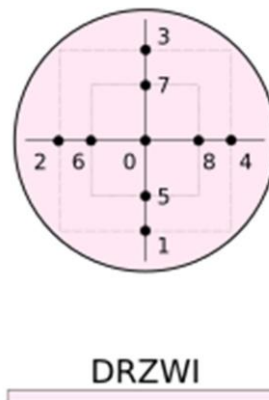
Szczegółowe wyniki pomiarów przedstawione są w dalszej części raportu.

mgr Szymon Domański
30 listopada 2017

Pomiary mocy dawki

Geometria pomiaru

Źródłem promieniowania X jest defektoskop SMART 300 W. Urządzenie to pracuje przy napięciu **200 kV**, natężeniu prądu na lampie **4,5 mA** oraz stosowany jest filtr **4mm Al**. Aparat zamocowany jest na stałe na stalowym statywie. Wytwarzana przez niego wiązka promieniowania skierowana jest pionowo w dół. W osi wiązki znajduje się blat umożliwiający ustawienie napromienianych próbek w żądanej odległości od ogniska lampy. Stolik wykonany jest z PMMA o grubości 10 mm. Jako punkt referencyjny rozumie punkt położony 0,5 cm ponad centrum stolika ustawionego na ustalonej wysokości (np. 30 cm). Na blacie narysowana jest tarcza z oznaczonymi punktami, w których umieszcza się sondę do pomiarów promieniowania emitowanego z lampy. Rozkład punktów na blacie roboczym prezentuje rysunek. Punkt referencyjny znajduje się 0,5 cm ponad punktem „0” stolika. Bok małego kwadratu wynosi około 8 cm, dużego około 15 cm.



Ze względu na znaczną grubość komory KR-16 stolik był opuszczony nieco ponad wartość nominalną tak aby środek czynny komory znajdował się w opomiarowanym punkcie referencyjnym wiązki. W przypadku pomiarów komorą DW #5 stolik pozycjonowany był normalnie.



KR-16 na
stanowisku
roboczym

Pomiar komorą KR-16

Podczas pomiarów komora była polaryzowana napięciem +300V. Czas stabilizacji sygnału komory wynosił około 3 min. Dla każdej z odległości stolika od lampy 30, 40, 50 i 60 cm

zarejestrowano 150 wskazań prądu komory w 2 sekundowych odstępach czasu. Bieg własny komory wynosił 24 ± 4 fA.

Dla zmierzonych wartości prądów zastosowano poprawkę na ciśnienie i temperaturę k_{Tp} . Wyniki pomiarów zestawem Keithley 6517B wraz z komorą KR-16 przedstawia tabela

Odległość	30 cm	40 cm	50 cm	60 cm
i_{netto} [A]	1,6600E-08	8,8744E-09	5,7044E-09	3,9608E-09
T_1 [*C]	19,7	21,2	20,7	20,9
T_2 [*C]	21,2	20,7	20,9	21,1
RH_1 [%]	61	58,1	59,4	59,1
RH_2 [%]	58,1	59,4	59	59
p_1 [hPa]	1019,9	1019,9	1019,8	1019,8
p_2 [hPa]	1019,9	1019,8	1019,8	1019,7
k_{Tp}	0,9950	0,9967	0,9963	0,9970
i_{corr} [A]	1,652E-08	8,846E-09	5,683E-09	3,949E-09
Δi_{corr} [A]	4,675E-12	1,696E-12	1,021E-12	7,684E-13

Otrzymane wartości prądów posłużyły do wyznaczenia wartości dawki pochłoniętej w wodzie. Podczas obliczeń uwzględniono:

- Czułość komory KR-16: $1,716 \times 10^{-2}$ pA μGy^{-1} min
- Względny współczynnik pochłaniania energii woda/powietrze: 1,095
- Rozpraszanie wstecznie (zal. od odległości komora-lampa) $1,201 \div 1,211$

Wyznaczone wartości mocy dawek prezentuje tabela

Odległość	30 cm	40 cm	50 cm	60 cm
K_{Air} [mGy/min]	963	515	331	230
D_w [mGy/min]	1266	681	438	305
ΔD_w [mGy/min]	89	48	31	21

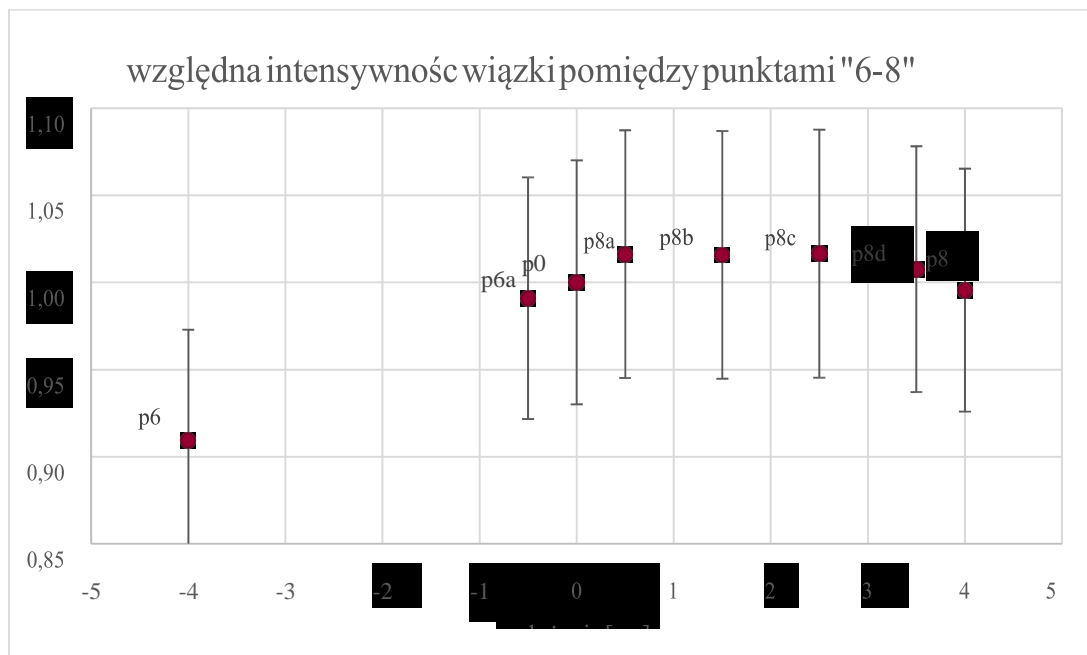
Wartości dawki pochłoniętej w wodzie wyznaczono z całkowitą niepewnością rozszerzoną nie większą niż 7%.

Niejednorodność wiązki

Do pomiarów niejednorodności posłużyła komora paluszkowa DW #5. Podczas pomiarów polaryzowana była napięciem +100V. Stolik ustawiony był w odległości 30 cm. Poza tym pomiar prowadzono tak jak w przypadku komory KR-16. Intensywność wiązki wzdłuż punktów 6-0-8 przedstawia wykres. Oznaczenia punktów pomiarowych odpowiadają punktom zaznaczonym na blacie stolika.



Komora DW #5
w punkcie p6a



Wartości liczbowe otrzymane podczas pomiarów przedstawiono w tabeli.

Punkt	p6a	p8	p7	p6	p5	p0	p8a	p8b	p8c	p8d
i_{netto} [A]	2,827E-10	2,837E-10	2,779E-10	2,589E-10	2,783E-10	2,846E-10	2,892E-10	2,891E-10	2,892E-10	2,865E-10
T_1 [°C]	20,3	20,5	20,8	20,9	21,1	21,1	21,1	21,2	21,2	21,4
T_2 [°C]	20,5	20,8	20,9	21,1	21,1	21,1	21,2	21,2	21,4	21,4
RH_1 [%]	61,2	60,2	59,2	58,8	58,1	58,7	58,7	58,5	58,4	58,1
RH_2 [%]	60,2	59,2	58,8	58,1	58,7	58,7	58,5	58,4	58,1	57,9
p_1 [hPa]	1019,6	1019,6	1019,7	1019,8	1019,8	1019,9	1020	1020,1	1020,1	1020,1
p_2 [hPa]	1019,6	1019,7	1019,8	1019,8	1019,9	1020	1020,1	1020,1	1020,1	1020,2
k_{Tp}	0,9951	0,9959	0,9965	0,9970	0,9973	0,9972	0,9972	0,9974	0,9977	0,9980
i_{corr} [A]	2,81E-10	2,83E-10	2,77E-10	2,58E-10	2,78E-10	2,84E-10	2,88E-10	2,88E-10	2,89E-10	2,86E-10
Δi_{corr} [A]	8,68E-14	7,35E-14	5,68E-14	6,33E-14	7,3E-14	7,88E-14	4,81E-14	5,16E-14	5,43E-14	5,7E-14

Dozymetria TLD

Materiały i metody

Detektory TLD typu *MTS-100* prod. RADCARD anilowano w piecu laboratoryjnym w temp. 400°C przez godzinę, a następnie w 100°C przez dwie godziny. Dawkomierze zabezpieczono przed zamoczeniem przez szczelne zapakowanie w foli. Dawkomierze podzielono na kilka grup zależnie od przeznaczenia:

- Kontrola powtarzalności naświetlań
- Pomiar dawki wewnątrz fantomu
- Pomiar niejednorodności wiązki
- Wzorcowanie w polu referencyjnym Cs-137

Po napromienieniu detektory zostały poddane anilacji poekspozycyjnej w 100°C przez 10 minut. Odczytu dokonano przy zastosowaniu czytnika TLD w trybie „Analyser”. Temperatur początkowa odczytu 100°C, końcowa 300°C, szybkość nagrzewania 2 °C/s.

Powtarzalność dawek

Pierwszym testem, który był wykonany była kontrola powtarzalności dostarczanych dawek Zebrane wyniki pomiarów przedstawia tabela.

Dawka mGy	Odczyt			Średnia	SD
	<Test 1>	<Test 2>	<Test 3>		
50	77102	76520	77429	77017	0,3%
100	185368	189184	183732	186095	0,9%
150	0	226178	234995	235873	1,6%
300	516655	506961	492413	505343	1,4%
500	829939	807558	848911	828803	1,4%
1000	1627247	1580471		1611655	1,2%
1500	2390961	2374484		2382722	0,3%

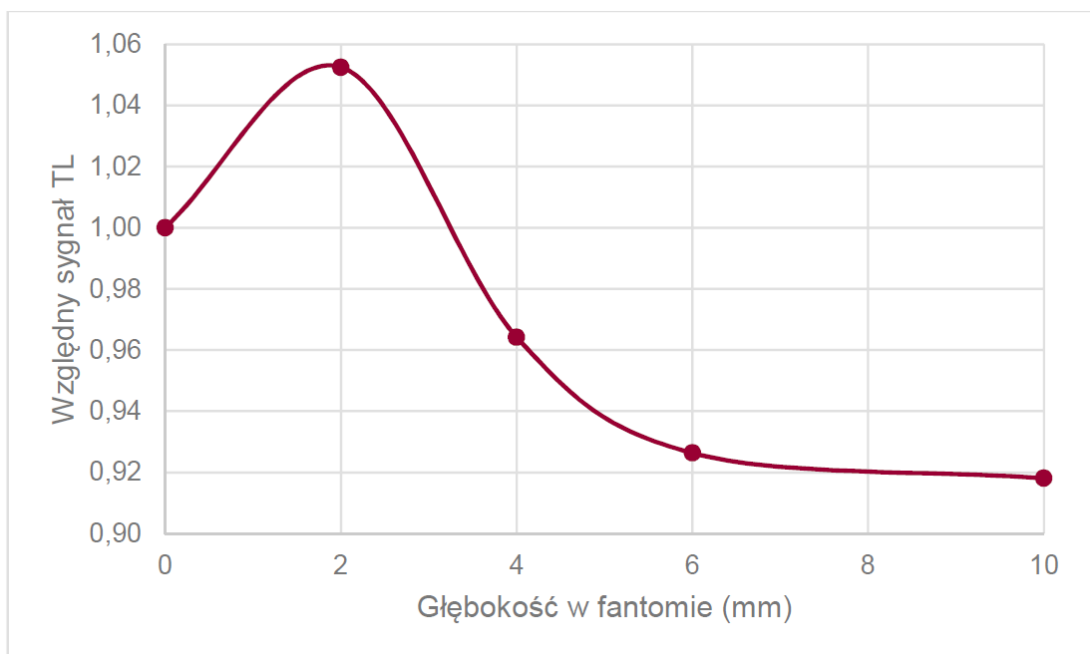


Czytnik TLD Ra'94

Standardowy rozrzut wśród sygnału detektorów TL może wynosić 2%. Dla tego nie ma podstaw aby wnioskować o niejednorodności aplikowanych dawek promieniowania.

Dawka w wodzie

Głębokość mm	Odczyt			Średni sygnał
	Test 1	Test 2	Test 3	
10	493927	452863	482248	476346
6	477235	477050	487557	480614
4	479136	520009	501670	500272
2	522907	569231	0	546069
0	480329	498943	577210	518827



Niejednorodność wiązki

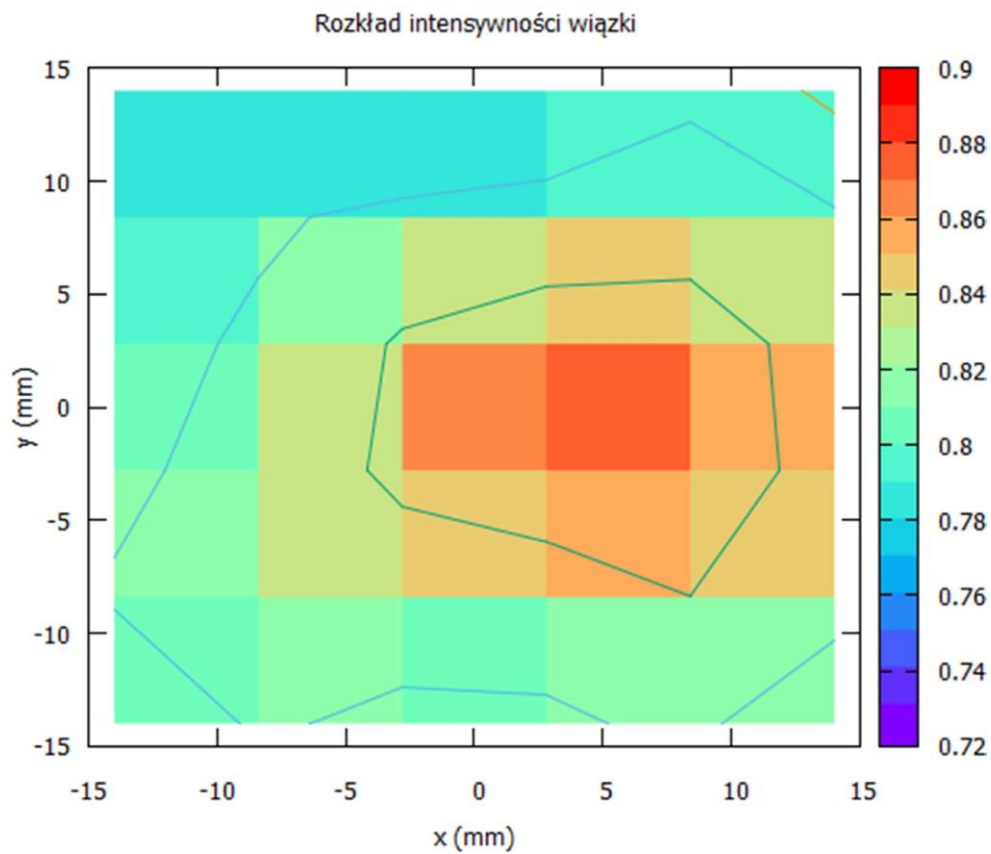
Ponumerowane detektory umieszczono w nast. układzie (odległość od poszczególnych pól 0,7 cm, a następnie napromieniono dawką 300 mGy.

15		16		17
	7	8	9	
14	6	1	2	10
	5	4	3	
13		12		11

Doświadczenie powtórzono napromieniając kolejną grupę detektorów dawką 150 mGy.
Zmierzona odpowiedź detektorów

ID	Zliczenia 300 mGy	Zliczenia 150 mGy
1	255654	521790
2	228615	515632
3	200515	485796
4	205074	0
5	191039	503838
6	170055	477367
7	164183	492084
8	186421	463867
9	183609	490640
10	184566	481535
11	172366	445331
12	180495	434617
13	175377	441002
14	188165	426125
15	166747	444519
16	163519	420659
17	172279	418866

Otrzymane w ten sposób wartości posłużyły do wykreślenia profilu wiązki

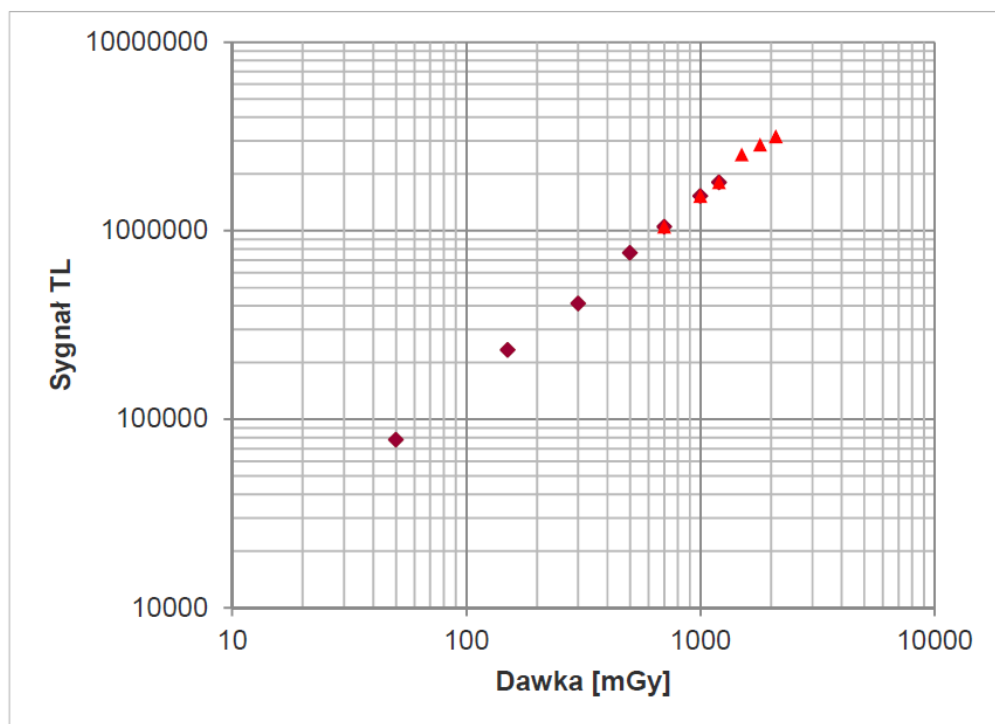


Wzorcowanie dawkomierzy TLD

Ostatnim etapem było wzorcowanie dawkomierzy. Dawkomierze napromieniono w polach wzorcowych Cs-137.

Dawka [mGy]	Odległość [m]	Czas [h:min:s]	ID-TLD	Sygnal (średnia)	SD
50	0,7	0,042951	1338-1342	77827	6336
150	0,7	0,128333	1333-1337	233481	19009
300	0,7	0,257083	1343-1347	411290	12168
500	0,7	0,428333	1348-1352	764891	47440
700	0,7	0,6	1353-1356	1048498	17555
1000	0,5	0,445637	1357-1360	1527204	63348
1200	0,5	0,534757	1369-1372	1806450	69995
1500	0,5	0,668449	1361-1364	2532272	224860
1800	0,7	1,558333	1365-1368	2866450	70550
2100	0,7	1,800417	1328-1332	3164620	129508
TŁO				197	19

Obserwując krzywa kalibracji można zaobserwować liniowość wskazań detektorów do zakresu około 1 Gy.



Podsumowanie

Wykonane wyniki pomiarów potwierdzają stabilność wiązki jaka emituje aparat RTG stosowany do napromienia próbek biologicznych, który zainstalowany jest w Instytucie Chemii i Techniki Jądrowych w Warszawie.

Wyniki uzyskane podczas przeprowadzonych pomiarów po przeprowadzonym porównaniu z wykazują zgodność (w granicach oszacowanych błędów) z wynikami wyników pomiarów przeprowadzonych przez Centralne Laboratorium Ochrony Radiologicznej - Sprawozdanie z pomiarów nr 9/2014 z 16 grudnia 2014.