

Faculdade de Ciências e Tecnologia  
da Universidade de Coimbra

# Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

Joana Rita Machado Marques

Dissertação no âmbito do Mestrado Integrado em Engenharia Física orientada pelo Professor Francisco José Santiago Fernandes Amado Caramelo e apresentada ao Departamento de Física da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade de Coimbra.

Novembro de 2021



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA









# Agradecimentos

---

Este projeto representa o final de mais uma fase, que teria sido impossível terminar sem a ajuda e o apoio de toda a equipa do Instituto de Biofísica da Faculdade de Medicina, agradeço a todos a ajuda que me foi dada e todo o apoio. Sem sombra de dúvidas aprendi muito no período que estive integrada na equipa e vou levar muitos ensinamentos para a vida.

Agradeço à Professora Doutora Maria Filomena Botelho, Professora Catedrática da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, por me ter dado a oportunidade de fazer a minha dissertação no Instituto de Biofísica, por me ter motivado e por me ter mostrado a área da biofísica, por todo o apoio e por toda a ajuda que me foi dada.

Agradeço ao Professor Doutor Francisco Caramelo, Professor Auxiliar da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, que me orientou durante a dissertação de Mestrado, por toda a ajuda que me deu, por toda a disponibilidade, por toda a simpatia, por toda a paciência e por me acalmar quando tudo parecia que ia correr mal. Um especial obrigada por toda ajuda que me foi dada na escrita do documento, na procura de bibliografia, por todos os ensinamentos e por toda a inspiração que me deu.

Agradeço ao Doutor Alexandre Lindote, do Laboratório de Instrumentação e Física Experimental de Partículas do Departamento de Física da Universidade de Coimbra, sem o professor este projeto não teria sido possível. Muito obrigada por toda ajuda, por me tirar todas as dúvidas mesmo quando não tinha que o fazer e acima de tudo obrigada por me ter ensinado tudo o que sei sobre o software Geant4.

Agradeço à Mestre Inês Marques por toda a ajuda indispensável que me foi dada ao longo deste projeto, por todas as oportunidades que me foram dadas, por me ter ensinado tudo o que sei sobre cultura celular, por estar sempre disponível para me tirar todas as dúvidas e acima de tudo por toda a paciência.

Agradeço à Professora Doutora Ana Salomé Pires, Professora Assistente da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, por toda a ajuda e disponibilidade, por todas as oportunidades que me foram dadas e por toda a paciência.

Agradeço à Mestre Catarina Guilherme, ao Mestre Ricardo Teixeira, à Mestre Beatriz Serambeque, à Professora Doutora Ana Margarida Abrantes, à Doutora Mafalda Laranjo e ao Mestre Miguel Marto, que directa ou indirectamente contribuíram para este projeto.

Agradeço a todos os que me acompanharam durante o meu percurso académico e que me ajudaram durante este percurso.

Agradeço ao Hugo Gaspar por todo o apoio que me deu durante todo o meu percurso académico, pela amizade e por ser uma inspiração!

Agradeço à Ana Pereira, por estar sempre comigo, por me apoiar e pela sua amizade.

Agradeço à Ana Dias, que sem este projeto eu não teria conhecido, por todo o apoio que me deu durante todo o processo, por me ter ajudado a passar por momentos mais difíceis, por todas as correções que me fez durante o projeto e pela paciência! Acima de tudo obrigada pela amizade, por estares sempre lá quando foi necessário e por toda a sinceridade.

Agradeço aos meus Tios e Tias, Sandro Machado, Helena Loureiro, Ana Pedrosa e Horácio Loureiro, por todo o apoio, por estarem disponíveis para me ajudar, por fazerem de mim a pessoa que sou hoje e por todo o carinho que sempre me foi dado!

Agradeço aos meus primos, Duarte Machado, Lurdes Loureiro, Marta Machado e Neuza Loureiro, por toda a inspiração que me deram, por me ajudarem sempre, por se preocuparem todos os dias e acima de tudo por todo o carinho!

Agradeço às minhas avós, Anunciação Gaspar e Maria da Luz, por toda a ajuda e força que me deram ao longo destes anos, por tomarem conta de mim todos os dias e por me tornarem quem sou hoje!

Agradeço ao Sven, o meu gato, por toda a paciência, pela companhia nas noitadas a escrever e por todo o carinho.

Agradeço ao Miguel de Almeida por todo o amor e carinho, por toda a dedicação, pela paciência e compreensão. Obrigada por estares lá todos os dias, por todo o apoio e por toda a força que me deste.

Agradeço à minha irmã, Rita Marques, por lá estar todos os dias desde sempre e para sempre, por me dar muito amor, por acreditar em mim mesmo quando eu não acreditava, por me ouvir sempre que precisava e acima de tudo por ser a minha maior fã.

Por último, mas o mais importante, um gigante obrigada aos meus pais, Miguel Marques e Susana Machado, por me darem muito amor, por me apoiarem todos os dias e por me terem ajudado sempre. Obrigado por me ensinarem tudo o que sei, por fazerem de mim

a pessoa que sou hoje e por me ajudarem e ensinarem todos os dias a perseguir os meus sonhos. Obrigada por me ouvirem e investirem sempre em mim.

A todos vós, um gigante bem-haja!



## Resumo

---

O cancro da próstata é o tipo de cancro mais comum nos homens, num estágio inicial há cura, no entanto quando se trata de cancro da próstata resistente à castração com metástases ósseas (mCRPCa) um dos poucos tratamentos disponíveis é o Xofigo ( $^{223}\text{RaCl}_2$ ).

Apesar de haver alguns estudos clínicos que demonstram a eficácia do  $^{223}\text{Ra}$  no tratamento do mCRPCa, pouco se sabe relativamente à sua microdosimetria e aos mecanismos envolvidos. Para estudar a microdosimetria do  $^{223}\text{Ra}$  realizaram-se 2 simulações em Geant4 e irradiaram-se células PC3 com  $^{223}\text{Ra}$ .

Na primeira simulação, simulou-se uma esfera/célula e realizou-se o decaimento de 1000 iões de  $^{223}\text{Ra}$  de pontos sucessivamente mais distantes. Na segunda simulação, desenvolveram-se cinco condições diferentes; considerou-se um volume constante, e aumentou-se gradualmente o número de esferas/células no volume da simulação e simulou-se o decaimento de 26 iões de  $^{223}\text{Ra}$ . Numa tentativa de comparar os resultados obtidos na segunda simulação irradiaram-se células PC3, em 4 condições diferentes, o mais idênticas possíveis às da segunda simulação. Para tal, usou-se um número sucessivamente maior de células por unidade de volume (mL) e manteve-se a atividade do  $^{223}\text{Ra}$ .

As simulações apontam para que i) a deposição de energia devido a interações com partículas  $\alpha$  é muito localizada e heterogénea, ii) as partículas  $\alpha$  têm um alcance máximo de 4 células e iii) a probabilidade de haver interação com o núcleo é menor do que para o citoplasma da célula.

Adicionalmente, os resultados experimentais sugerem que a deposição de energia não é homogénea e que os efeitos directos (quebra dupla do ADN) não são os principais responsáveis pelos efeitos observados. Consequentemente, os efeitos indirectos e os efeitos *Bystander* poderão representar um papel importante nos mecanismos de ação do  $^{223}\text{Ra}$ .

Por fim, observaram-se algumas limitações principalmente na segunda simulação e no protocolo usado para irradiar as células PC3 com  $^{223}\text{Ra}$ . É, portanto, necessário continuar a realizar projetos nesta área de forma a compreender realmente quais são os mecanismos de ação deste radiofármaco.

Palavras-chave: Geant4, mCRPCa, microdosimetria, PC3, Rádío-223

## Abstract

---

Prostate cancer is the second most common type of cancer in men, in an initial state there is a cure, however if it turns out to be a metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPCa) one of the few available treatments is Xofigo ( $^{223}\text{RaCl}_2$ ).

Even though there are some clinical trials that demonstrate the efficiency of  $^{223}\text{Ra}$  treating mCRPCa, both the microdosimetry and the mechanisms involved are not well known

In order to study the microdosimetry of  $^{223}\text{Ra}$ , two simulations were developed in Geant4 and one experimental trial for comparison.

In the first simulation, the conditions used were a sphere/cell and the decay of 1000 ions of  $^{223}\text{Ra}$  from points successively farther away from the cell. In the second simulation, five different conditions were simulated, considering the same volume, and an increasing number of spheres/cells. Furthermore, the decay of 26 ions of  $^{223}\text{Ra}$  were simulated. Lastly, in an attempt to compare the results obtained in the second simulation, PC3 cells were irradiated, in four different conditions, identical to those presented in the second simulation. A successively higher number of cells per volume unity (mL) was used for the same activity.

The simulations suggest that: i) the energy deposition due to interaction with  $\alpha$  particles is highly localized and heterogeneous, ii) the  $\alpha$  particles have a maximum range of 4 cells and iii) the probability of existing any interactions with the cell nucleus is lower than the cytoplasm.

Additionally, this project supports the need to understand all the mechanisms involved in T $\alpha$ T since the energy deposition is not homogeneous and the direct effects are not the main responsible for the observed effects. Consequently, the indirect effects and the Bystander effects might play an important role in T $\alpha$ T.

Finally, several limitations were observed mainly in the second simulation and in the protocol used to irradiate PC3 cells with  $^{223}\text{Ra}$ . Therefore, there is a need to continue to carry out projects in this field of study to fully understand which are the mechanisms of action of  $^{223}\text{Ra}$ .

Keywords: Geant4, mCRPCa, microdosimetry, PC3, Radium-223

# Índice

---

Agradecimentos.....	v
Resumo.....	ix
Abstract.....	xi
Índice.....	xiii
Índice de Figuras.....	xv
Lista de Símbolos e Abreviaturas.....	xix
1. Introdução.....	23
1.1. Cancro.....	23
1.2. Tratamentos.....	31
1.3. Radiação Ionizante.....	34
1.4. Efeitos biológicos da radiação ionizante.....	40
2. Contexto Teórico.....	43
2.1. Partículas $\alpha$ .....	44
2.2. $T\alpha T$ .....	46
2.3. Rádio-223.....	48
2.4. Microdosimetria de partículas $\alpha$ .....	50
3. Materiais e Métodos.....	57
3.1. Geant4.....	57
3.2. Simulação 1.....	58
3.3. Simulação 2.....	64
3.4. Irradiação de Células PC3 com $^{223}\text{Ra}$ .....	72
4. Resultados.....	77
4.1. Simulação 1.....	77
4.2. Simulação 2.....	90
4.3. Irradiação de Células PC3 com $^{223}\text{Ra}$ .....	101
5. Discussão.....	103
5.1. Simulação 1.....	103
5.2. Simulação 2.....	107

5.3. Irradiação de Células PC3 com $^{223}\text{Ra}$ .....	109
5.4. Considerações Finais .....	109
6. Conclusões.....	113
7. Referências .....	115
8. Anexos .....	119

# Índice de Figuras

---

<i>Figura 1 “10 Hallmarks of Cancer”. Os 10 hallmarks do cancro são definidos como capacidades funcionais que permitem às células neoplásicas sobreviver, proliferar e disseminar. ....</i>	<i>24</i>
<i>Figura 2 Tumores de cancro da próstata localizado.....</i>	<i>25</i>
<i>Figura 3 PET realizado com <sup>18</sup>F-Fluoride de um doente, com 82 anos, com cancro da próstata com metástases ósseas. ....</i>	<i>26</i>
<i>Figura 4 Estatísticas para o número de novos casos de cancro, em todo o mundo, em 2020 .....</i>	<i>27</i>
<i>Figura 5 Estatísticas para o número de mortes por cancro (letalidade), em todo o mundo, para 2020 .....</i>	<i>28</i>
<i>Figura 6 Estatísticas para o número de novos casos de cancro, em Portugal, em 2020 .....</i>	<i>29</i>
<i>Figura 7 Estatísticas para o número de mortes por cancro, em Portugal, em 2020 .....</i>	<i>29</i>
<i>Figura 8 Evolução do número de novos casos de cancro da próstata, desde 1993 até 2012, para Espanha....</i>	<i>30</i>
<i>Figura 9 Evolução do número de mortes devido a cancro da próstata, desde 1951 até 2016, para Espanha .....</i>	<i>31</i>
<i>Figura 10 Decaimento Radioativo .....</i>	<i>35</i>
<i>Figura 11 Poder de penetração de diferentes tipos de Radiação Ionizante, em diferentes materiais .....</i>	<i>36</i>
<i>Figura 12 Partícula <math>\alpha</math>, com massa <math>M</math>, a aproximar-se de uma partícula com massa <math>m</math>. ....</i>	<i>44</i>
<i>Figura 13 Curvas de Bragg para partículas <math>\alpha</math> com energias de 5,867 Mev e 8,375 MeV em água .....</i>	<i>46</i>
<i>Figura 14 Esquema de decaimento do <sup>223</sup>Ra. Retirado de (Pablo Mínguez et al., 2018). ....</i>	<i>48</i>
<i>Figura 15 Biodistribuição do <sup>223</sup>Ra no corpo de doentes, ao longo do tempo. ....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 16 Geometria usada por (Robert F Hobbs et al., 2012). ....</i>	<i>53</i>
<i>Figura 17 Resultados obtidos por Y Gholami et al., 2015 .....</i>	<i>54</i>
<i>Figura 18 Resultados obtidos por Y Gholami et al., 2015 .....</i>	<i>54</i>
<i>Figura 19 Esfera usada na Simulação 1. ....</i>	<i>59</i>
<i>Figura 20 Esfera usada na Simulação 1 .....</i>	<i>60</i>
<i>Figura 21 Lógica usada para guardar os dados das interações que ocorrem na célula .....</i>	<i>61</i>
<i>Figura 22 Lógica usada para guardar os dados das interações que ocorrem no Núcleo .....</i>	<i>62</i>
<i>Figura 23 Macro "Rad223_final.mac" usada para fazer o decaimento completo de 26 iões de <sup>223</sup>Ra, na simulação 2.....</i>	<i>66</i>
<i>Figura 24 Lógica usada para guardar os dados das interações que ocorrem no citoplasma1.....</i>	<i>67</i>
<i>Figura 25 Lógica usada para guardar os dados das interações que ocorrem no Núcleo 1. ....</i>	<i>68</i>
<i>Figura 26 Geometria usada na condição 1, da simulação 2.....</i>	<i>69</i>
<i>Figura 27 Geometria usada na condição 2, da simulação.....</i>	<i>69</i>
<i>Figura 28 Geometria usada na condição 3, da simulação 2.....</i>	<i>70</i>
<i>Figura 29 Geometria usada na condição 4, da simulação 2.....</i>	<i>70</i>
<i>Figura 30 Geometria usada na condição 5, da simulação 2.....</i>	<i>71</i>
<i>Figura 31 Esquema da placa de 48 poços, onde são irradiadas as células.....</i>	<i>73</i>

Figura 32 Esquema da placa final, de 24 poços.....	74
Figura 33 Gráfico da probabilidade de uma interação ocorrer na célula ( $N_{cell}/N_{total}$ ), para diferentes valores de $x$ , para a esfera com 7 $\mu\text{m}$ de diâmetro.....	77
Figura 34 Gráfico da probabilidade de uma interação ocorrer no núcleo da célula, ( $N_{nuc}/N_{total}$ ), para diferentes valores de $x$ , para a esfera com 7 $\mu\text{m}$ de diâmetro .....	78
Figura 35 Boxplots para cada um dos 6 pontos de emissão da (Energia depositada na célula, por run)/(Número de interações com a célula, por run), para a esfera de 7 $\mu\text{m}$ de diâmetro.....	79
Figura 36 Boxplots para cada um dos 6 pontos de emissão da (Energia depositada no núcleo, por run)/(Número de interações com o núcleo, por run), para a esfera com 7 $\mu\text{m}$ de diâmetro.....	79
Figura 37 Boxplots da fração do número de interações com a célula devido a partículas $\alpha$ , relativamente ao número de interações com a célula, para a esfera com 7 $\mu\text{m}$ de diâmetro .....	80
Figura 38 Boxplots da fração do número de interações com o núcleo devido a partículas $\alpha$ , relativamente ao número de interações com o núcleo, para a esfera com 7 $\mu\text{m}$ de diâmetro .....	81
Figura 39 Boxplots da fração da energia depositada na célula devido a partículas $\alpha$ , relativamente à energia total depositada na célula, para a esfera com 7 $\mu\text{m}$ de diâmetro.....	81
Figura 40 Boxplots da fração da energia depositada no núcleo devido a partículas $\alpha$ , relativamente à energia depositada no núcleo, para a esfera com 7 $\mu\text{m}$ de diâmetro .....	82
Figura 41 Gráfico da probabilidade de uma interação ocorrer na célula ( $N_{cell}/N_{total}$ ), para diferentes valores de $x$ , para a esfera com 15 $\mu\text{m}$ de diâmetro.....	83
Figura 42 Gráfico da probabilidade de uma interação ocorrer no núcleo da célula ( $N_{nuc}/N_{total}$ ), para diferentes valores de $x$ , para a esfera com 15 $\mu\text{m}$ de diâmetro .....	83
Figura 43 Boxplots para cada um dos 6 pontos de emissão da (Energia depositada na célula, por run)/(Número de interações com a célula, por run), para a esfera de 15 $\mu\text{m}$ de diâmetro.....	84
Figura 44 Boxplots para cada um dos 6 pontos de emissão da (Energia depositada no núcleo, por run)/(Número de interações com o núcleo, por run), para a esfera com 15 $\mu\text{m}$ de diâmetro.....	85
Figura 45 Boxplots da fração do número de interações com a célula devido a partículas $\alpha$ , relativamente ao número de interações com a célula, para a esfera com 15 $\mu\text{m}$ de diâmetro .....	86
Figura 46 Boxplots da fração do número de interações com o núcleo devido a partículas $\alpha$ , em relação ao número de interações com o núcleo, para a esfera com 15 $\mu\text{m}$ de diâmetro .....	86
Figura 47 Boxplots da fração da energia depositada na célula devido a partículas $\alpha$ , relativamente à energia total depositada na célula, para a esfera com 15 $\mu\text{m}$ de diâmetro.....	87
Figura 48 Boxplots da fração da energia depositada no núcleo devido a partículas $\alpha$ , relativamente à energia total depositada no núcleo, para a esfera com 15 $\mu\text{m}$ de diâmetro. ....	88
Figura 49 Probabilidade de haver pelo menos uma interação com a célula, devido ao decaimento de 1000 iões de $^{223}\text{Ra}$ .....	89
Figura 50 Probabilidade de haver pelo menos uma interação com o núcleo, devido ao decaimento de 1000 iões de $^{223}\text{Ra}$ .....	89
Figura 51 Boxplot do número de interações com o citoplasma da célula, para a condição 1.....	90
Figura 52 Boxplot do número de interações com o núcleo da célula, para a condição 1.....	91
Figura 53 Boxplot da energia depositada no citoplasma da célula, para a condição 1 .....	91

<i>Figura 54</i>	<i>Boxplot da energia depositada no núcleo da célula, para a condição 1</i>	<i>91</i>
<i>Figura 55</i>	<i>Boxplot do número de interações com os citoplasmas, para a condição 2</i>	<i>92</i>
<i>Figura 56</i>	<i>Boxplot do número de interações com os núcleos, para a condição 2</i>	<i>92</i>
<i>Figura 57</i>	<i>Boxplot da energia depositada nos citoplasmas, para a condição 2</i>	<i>93</i>
<i>Figura 58</i>	<i>Boxplot para a energia depositada nos núcleos das células, para a condição 2</i>	<i>93</i>
<i>Figura 59</i>	<i>Boxplot do número de interações com os citoplasmas das células, para a condição 3</i>	<i>94</i>
<i>Figura 60</i>	<i>Boxplot do número de interações com os núcleos, para a condição 3</i>	<i>94</i>
<i>Figura 61</i>	<i>Boxplot da energia depositada no citoplasma das células, para a condição 3</i>	<i>95</i>
<i>Figura 62</i>	<i>Boxplot da energia depositada no núcleo das células, para a condição 3</i>	<i>95</i>
<i>Figura 63</i>	<i>Boxplot do número de interações com o citoplasma das células, para a condição 4</i>	<i>96</i>
<i>Figura 64</i>	<i>Boxplot do número de interações com o núcleo das células, para a condição 4</i>	<i>96</i>
<i>Figura 65</i>	<i>Boxplot da energia depositada no citoplasma das células, na condição 4</i>	<i>97</i>
<i>Figura 66</i>	<i>Boxplot da energia depositada no núcleo das células, para a condição 4</i>	<i>97</i>
<i>Figura 67</i>	<i>Boxplot do número de interações com o citoplasma das células, para a condição 5</i>	<i>98</i>
<i>Figura 68</i>	<i>Boxplot do número de interações com o núcleo das células, para a condição 5</i>	<i>98</i>
<i>Figura 69</i>	<i>Boxplot da energia depositada no núcleo das células, para a condição 5</i>	<i>99</i>
<i>Figura 70</i>	<i>Boxplot da energia depositada no núcleo das células, para a condição 5</i>	<i>99</i>
<i>Figura 71</i>	<i>Probabilidade de haver pelo menos uma interação com o citoplasma de cada uma das células, para a simulação 2</i>	<i>100</i>
<i>Figura 72</i>	<i>Probabilidade de haver pelo menos uma interação com o núcleo de cada uma das células, para a simulação 2</i>	<i>100</i>
<i>Figura 73</i>	<i>Viabilidade Celular (%) em função do número de células por mL</i>	<i>101</i>
<i>Figura 74</i>	<i>Morte Celular (%) em função do número de células por mL</i>	<i>102</i>
<i>Figura 75</i>	<i>Curvas de Bragg para partículas <math>\alpha</math> com energias de 5,867 MeV e 8,375 MeV em água</i>	<i>105</i>
<i>Figura 76</i>	<i>Posição do pico de Bragg [<math>\mu\text{m}</math>] em função da energia das partículas <math>\alpha</math></i>	<i>106</i>
<i>Figura 77</i>	<i>Violinplots do número de interações com o citoplasma de cada uma das células, para a condição 2</i>	<i>119</i>
<i>Figura 78</i>	<i>Violinplots do número de interações com o núcleo de cada uma das células, para a condição 2</i>	<i>119</i>
<i>Figura 79</i>	<i>Violinplots da energia depositada no citoplasma de cada uma das células, para a condição 2</i>	<i>120</i>
<i>Figura 80</i>	<i>Violinplot para a energia depositada no núcleo de cada uma das células, para a condição 2</i>	<i>120</i>
<i>Figura 81</i>	<i>Violinplots do número de interações com o citoplasma de cada uma das células, para a condição 3</i>	<i>121</i>
<i>Figura 82</i>	<i>Violinplots do número de interações com o núcleo de cada uma das células, para a condição 3</i>	<i>121</i>
<i>Figura 83</i>	<i>Violinplots da energia depositada no citoplasma de cada uma das células, para a condição 3</i>	<i>122</i>
<i>Figura 84</i>	<i>Violinplots da energia depositada no núcleo de cada uma das células, para a condição 3</i>	<i>122</i>

<i>Figura 85 Violinplots do número de interações com o citoplasma de cada uma das células, para a condição 4</i> .....	123
<i>Figura 86 Violinplots do número de interações com o núcleo de cada uma das células, para a condição 4</i> .....	123
<i>Figura 87 Violinplots da energia depositada no citoplasma de cada uma das células, na condição 4</i> .....	124
<i>Figura 88 Violinplots da energia depositada no núcleo de cada uma das células, para a condição 4</i> .....	124
<i>Figura 89 Violinplots do número de interações com o citoplasma de cada uma das células, para a condição 5</i> .....	125
<i>Figura 90 Violinplots do número de interações com o núcleo de cada uma das células, para a condição 5</i> .....	125
<i>Figura 91 Violinplots da energia depositada no núcleo de cada uma das células, para a condição 5</i> .....	126
<i>Figura 92 Violinplots da energia depositada no núcleo de cada uma das células, para a condição 5</i> .....	126
<i>Figura 93 Probabilidade de haver pelo menos uma interação com o núcleo de cada uma das células, para a simulação 2</i> .....	127

## Lista de Símbolos e Abreviaturas

---

<sup>225</sup>Ac: Actínio-225

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ADT: Androgen Deprivation Therapy, em português: tratamento por supressão androgénica

<sup>221</sup>At: Ástano-211

<sup>212</sup>Bi: Bismuto-212

<sup>213</sup>Bi: Bismuto-213

Bq: Becquerel

<sup>11</sup>C: Carbono-11

CERN: Conseil européen por la recherche nucléaire, em português: Organização Europeia para a pesquisa nuclear

Ci: Curie

DSB: Double-Strand Break

Ecell: Energia total depositada na célula, por run

Ecell(alfa): Energia total depositada na célula devido a partículas alfa, por run

Enuc: Energia total depositada no núcleo, por run

Enuc(alfa): Energia total depositada no núcleo devido a partículas alfa, por run

FBS: Fetal Bovine Serum, em português: Soro Fetal Bovino

Gy: Gray

HIV: Human Immunodeficiency Virus, em português: Vírus da Imunodeficiência Humana

KEK: Organização de pesquisa do acelerador de alta energia do Japão

LET: Linear Energy Transference, em português: transferência linear de energia

OMS: Organização mundial da saúde

mCRPCa: metastatic castration-resistant prostate cancer, em português: cancro da próstata resistente à castração com metástases ósseas

<sup>23</sup>Mg: Magnésio-23

Ncell: Número de interações com a célula, por run

Ncell(alfa): Número de interações com a célula devido a partículas alfa, por run

Nnuc: Número de interações com o núcleo, por run

Nnuc(alfa): Número de interações com o núcleo devido a partículas alfa, por run

Ntotal: Número de interações com o World, por run

PBS: Phosphate-buffered saline

PC3: Linha celular humana de metástase óssea do cancro da próstata

<sup>223</sup>Ra: Rádio-223

$^{223}\text{RaCl}_2$ : Dicloreto de Rádío

RI: Radiação Ionizante

ROS: Reactive Oxygen Species, em português: espécies reactivas de oxigénio

RPMI: Roswell Park Memorial Serum

RT: Radioterapia

SO: Sobrevivência Observada

SRB: Sulforhodamine B

SSB: Single-Strand Break

SSE: Symptomatic Skeletal Events, em português: complicações ósseas sintomáticas

SV: Sievert

$^{227}\text{Th}$ : Tório-227

T $\alpha$ T: Targeted  $\alpha$  Therapy

$^{86}\text{Y}$ : Ítrio-86





## 1. Introdução

---

O cancro é uma das principais causas de morte, a nível mundial. Globalmente, só em 2020, mais de 19 milhões de pessoas foram diagnosticadas com esta doença. Cerca de 50% dos casos de cancro vêm a desenvolver metástases, sendo o local mais comum o osso. Infelizmente, a maioria dos doentes com metástases morre devido à doença. Adicionalmente, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), 1 em cada 6 mortes é devido a cancro, e em 2020 esta doença foi responsável por cerca de 9,96 milhões de mortes, em todo o mundo (1–3).

Nos homens, o cancro da próstata é o segundo tipo de cancro mais comum e só em 2020 foram diagnosticados 1,41 milhões de novos casos, o que equivale a 7,3% de todos os casos de cancro diagnosticados no mundo. Adicionalmente, o cancro da próstata foi responsável por 375304 mortes, o que equivale a 3,8% do total de mortes devido a cancro, em todo o mundo (2).

Apesar de, num estágio inicial, haver cura para o cancro da próstata, o mesmo não se passa quando se trata de cancro da próstata resistente à castração com metástases ósseas (mCRPCa - metastatic castration-resistant prostate cancer). Neste estágio avançado da doença não é conhecida qualquer cura até à data (4). Um dos poucos tratamentos de referência para o mCRPCa é o Xofigo, um tratamento paliativo, cujo componente ativo é o dicloreto de  $^{223}\text{Ra}$  ( $^{223}\text{RaCl}_2$ ) (5).

### 1.1. Cancro

O processo de tumorigénese é um processo complexo e com diversas etapas, que permite que uma célula normal se torne maligna (neoplásica) e posteriormente leva ao desenvolvimento de um tumor (6).

As células malignas têm alterações nos mecanismos de regulação, que tipicamente controlam a proliferação e homeostase das células normais (7). Num organismo normal, as células são renovadas de forma controlada, o que permite a reparação e o crescimento adequado dos tecidos. Contrariamente, o cancro é um processo complexo caracterizado pelo crescimento e divisão de células de forma descontrolada (3,8).

As células neoplásicas são caracterizadas pelos 10 *hallmarks* do cancro, que são definidos como capacidades funcionais que permitem a estas células sobreviver, proliferar e disseminar. Estas 10 características são: subsistência da sinalização

## Introdução

proliferativa, insensibilidade a sinais inibidores de crescimento, evitação da apoptose (morte celular programada), potencial replicativo ilimitado, angiogénese, invasão de tecidos e metastização, evitação da destruição pelo sistema imunitário, instabilidade genómica e mutações, desregulação do metabolismo celular e inflamação promotora de tumorigénese, que podemos ver na Figura 1 (6,7). É importante ter em consideração que todos os *hallmarks* têm implicações nas terapias contra o cancro.

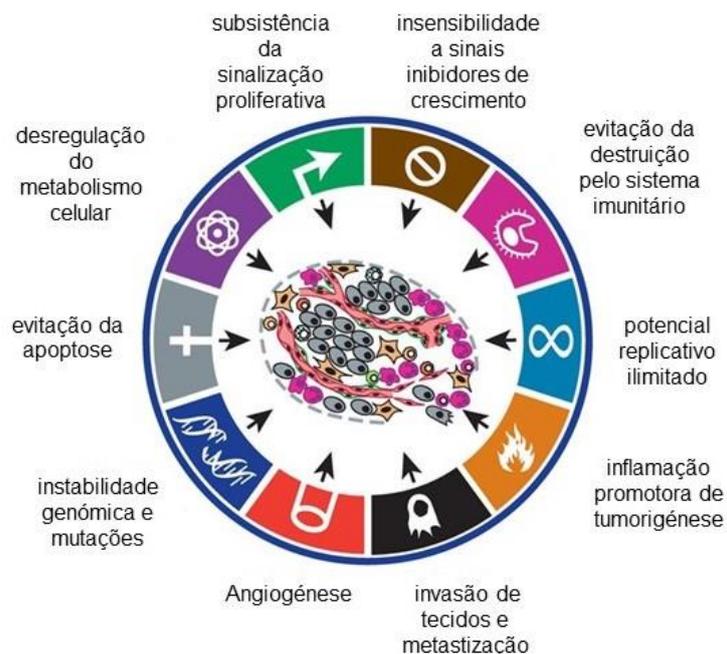
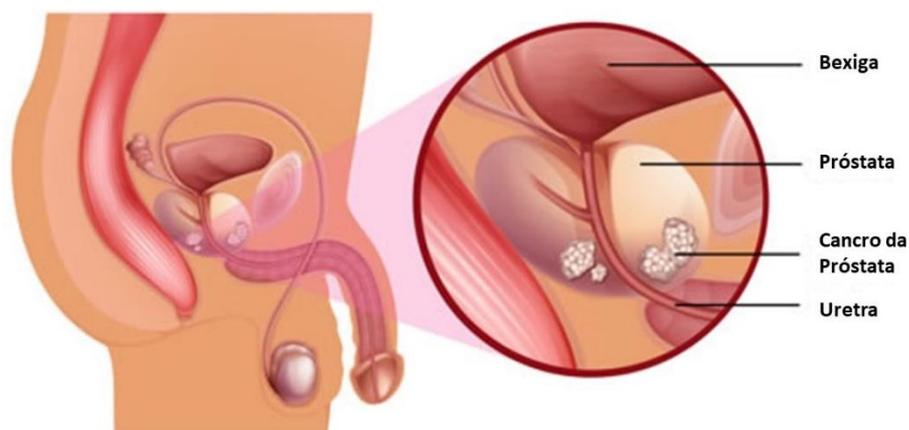


Figura 1 “10 Hallmarks of Cancer”. Os 10 hallmarks do cancro são definidos como capacidades funcionais que permitem às células neoplásicas sobreviver, proliferar e disseminar. Estas 10 características, representadas acima são: subsistência da sinalização proliferativa, insensibilidade a sinais inibidores de crescimento, evitação da apoptose, potencial replicativo ilimitado, angiogénese, invasão de tecidos e metastização, evitação da destruição pelo sistema imunitário, instabilidade genómica e mutações, desregulação do metabolismo celular e inflamação promotora de tumorigénese. Adaptado de (Hanahan & Weinberg, 2011) (6).

No que diz respeito ao tratamento do cancro, há várias terapias disponíveis, que variam consoante o tipo de tumor, o seu estágio, a sua localização, a idade do doente e o seu estado de saúde. Alguns dos tratamentos disponíveis são: cirurgia, radioterapia, quimioterapia, imunoterapia, entre outros (9).

## Cancro da próstata

O cancro da próstata é o tipo de cancro mais comum nos homens e é uma preocupação no que diz respeito à saúde pública (10). Tipicamente, 6 em cada 10 casos de cancro da próstata são em homens com mais de 65 anos e, em média, os homens com cancro da próstata localizado têm uma taxa de sobrevivência de 10 anos. No entanto, muitos podem ser tratados (4,11,12). Dado que a esperança média de vida tem vindo a aumentar, espera-se um aumento do número de casos de cancro da próstata, sendo por isso importante encontrar novas abordagens terapêuticas (11).



*Figura 2 Tumores de cancro da próstata localizado. Este tipo de cancro pode evoluir, desenvolver resistência ao tratamento e metastizar. No pior dos cenários, progride para cancro da próstata resistente à castração com metástases ósseas para o qual o único tipo de tratamento que existe destina-se a controlar os sintomas da doença. Adaptado de Brisbane Urology Clinic (13).*

O cancro da próstata é caracterizado pela divisão anormal de células na glândula prostática, resultando num crescimento anormal da mesma. Dos doentes que morrem de cancro da próstata, cerca de 90% têm metástases ósseas (11,12). Na Figura 2 pode-se ver um esquema representativo do cancro da próstata localizado.

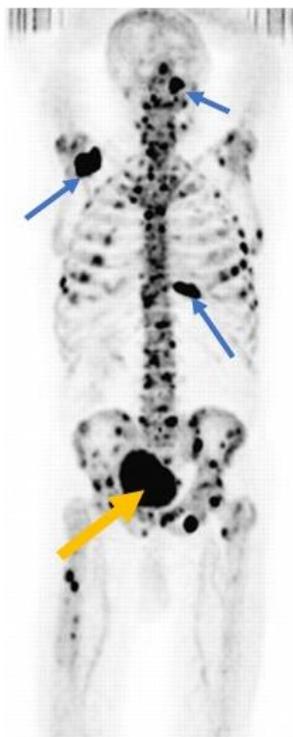
Atualmente, há diversos tratamentos para o cancro da próstata, que são administrados de acordo com a extensão da doença. Os tratamentos existentes são a cirurgia, a radioterapia, a terapia hormonal, a quimioterapia e a imunoterapia, entre outros (11).

Em doentes com um estágio avançado de cancro da Próstata, o tratamento por supressão androgénica (ADT - *Androgen Deprivation Therapy*) é o tratamento de primeira linha. Infelizmente, em alguns casos, as células malignas podem desenvolver resistência ao ADT, o que pode indicar uma progressão para mCRPCa. Cerca de 60% a 90% dos doentes com cancro da próstata resistente à castração desenvolvem metástases ósseas,

## Introdução

o que frequentemente resulta numa dor forte e complicações ósseas sintomáticas (SSE - *Symptomatic Skeletal Events*) (10,12).

Em muitos tipos de cancro, o osso é um local comum onde surgem metástases, principalmente no caso de cancro da próstata e da mama. Nestes casos, as células malignas escapam do tumor primário e estabelecem tumores secundários, metástases, na matriz óssea, como se pode observar na Figura 3 que representa um corte coronal de uma imagem de tomografia de positrões (PET) (1).



*Figura 3 PET realizado com  $^{18}\text{F}$ -Fluoride de um doente, com 82 anos, com cancro da próstata com metástases ósseas. Na imagem, o tumor primário na próstata encontra-se marcado pela seta amarela e inúmeras metástases ósseas espalhadas pelo esqueleto (pequenas manchas negras). As setas azuis apontam para algumas das muitas metástases ósseas espalhadas pelo esqueleto do doente. Adaptado de (Einat Even-Sapir et al., 2006) (14).*

O mCRPCa é uma doença que de momento não tem cura, com uma baixa taxa de sobrevivência; com terapia intensiva a mediana da Sobrevivência Observada (SO) é de 3 anos (4). Atualmente, o objectivo terapêutico para os doentes com mCRPCa procura aumentar a SO e geralmente inclui um cocktail de citotóxicos, anti-androgénicos de nova geração, imunoterapia e radiofármacos (12).

Um dos tratamentos de referência para o mCRPCa é o Xofigo (cujo componente ativo é  $^{223}\text{RaCl}_2$ ) que foi aprovado para uso médico no final de 2013 (5). O Xofigo foi o primeiro radiofármaco a demonstrar uma melhoria na SO dos doentes com mCRPCa com

metástases sintomáticas, apesar de apresentar efeitos secundários leves, devido à deposição de dose localizada (15). No entanto, o tratamento do mCRPCa com  $^{223}\text{Ra}$  é um tratamento paliativo direcionado para o tratamento das metástases ósseas sintomáticas e verifica-se que este prolonga a SO (4). Portanto, dado que é um tratamento paliativo, o Xofigo é um radiofármaco administrado apenas a doentes num estágio avançado da doença, que visa melhorar a qualidade de vida do doente e das suas famílias, prevenindo ou aliviando o sofrimento e prolongando o tempo de vida do doente (16).

## Epidemiologia do cancro da próstata

Em 2020, houve 19,29 milhões de novos casos de cancro (incidência), em todo o mundo (3). Na Figura 4 pode observar-se a incidência, para os 10 tipos de cancro mais comuns em ambos os sexos, em 2020. Como se pode ver na Figura 4, os 3 tipos de cancro com maior incidência em 2020 foram o cancro da mama, o cancro do pulmão e o cancro colorrectal. Apesar de o cancro da próstata ser uma doença que apenas pode afectar os homens, o cancro da próstata aparece em quarto lugar.

Nos homens, em 2020, os 3 tipos de cancro com mais incidência foram o cancro do pulmão (1,436 milhões), o cancro da próstata (1,414 milhões) e o cancro colorrectal (1,066 milhões).

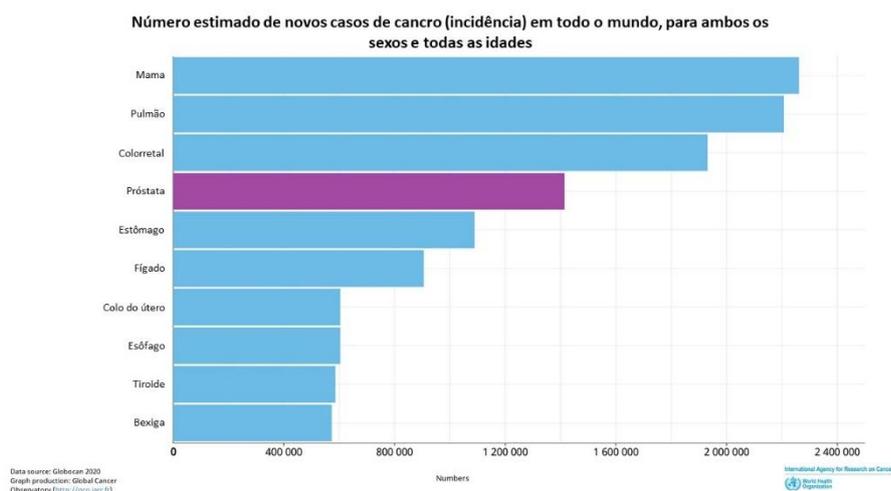


Figura 4 Estatísticas para o número de novos casos de cancro, em todo o mundo, em 2020. No gráfico acima estão representados apenas os 10 cancros com mais novos casos, para ambos os sexos. No total, estima-se que tenham surgido cerca de 19,29 milhões de novos casos, em 2020. A roxo está representado o cancro da próstata e no total houve 1,414 milhões de novos casos de cancro da próstata. Gráfico adaptado de "The Global Cancer Observatory" (3).

## Introdução

Quanto à mortalidade, em 2020, houve cerca de 10 milhões de mortes devido a cancro, em todo o mundo. Na Figura 5, pode-se observar o número de mortes por cancro (letalidade) para ambos os sexos, para os 10 tipos de cancro mais mortíferos. Como se pode observar na Figura 5, os 3 tipos de cancro que causaram mais mortes em 2020 foram o cancro do pulmão, o cancro colorrectal e o cancro do fígado. Apesar de ser apenas possível nos homens, o cancro da próstata aparece em oitavo lugar com 375 304 mortes associadas. Nos homens, os 3 tipos de cancro com mais mortes associadas foram o cancro do pulmão (1,189 milhões), cancro do fígado (577 522) e o cancro colorrectal (515 637). O cancro da próstata é o quinto tipo de cancro com mais mortalidade associada, nos homens.

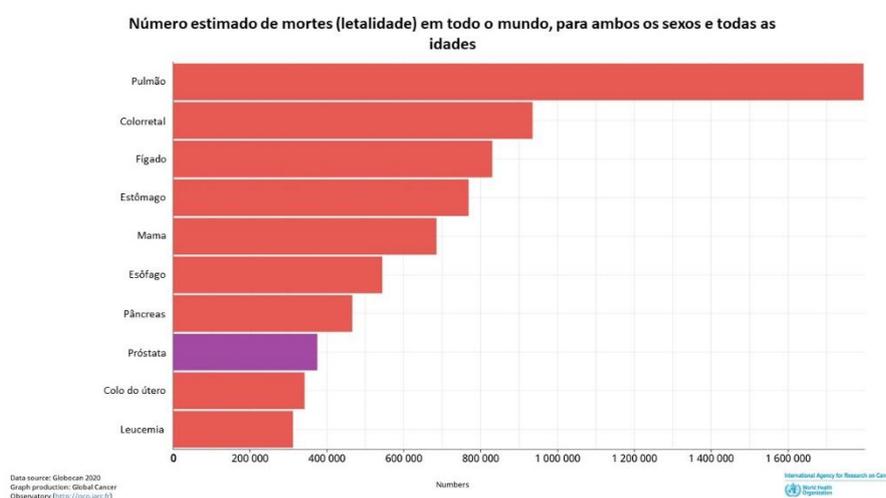


Figura 5 Estatísticas para o número de mortes por cancro (letalidade) para ambos os sexos, em todo o mundo, para 2020. No total, houve cerca de 9,958 milhões de mortes por cancro, em todo o mundo. A roxo está representado o cancro da próstata e no total houve 375 304 mortes devido a cancro da próstata em Portugal. Gráfico adaptado de “The Global Cancer Observatory” (3).

Em Portugal, em 2020, houve cerca de 60 mil novos casos de cancro. Na Figura 6, pode-se observar a incidência, para os 10 tipos de cancro mais comuns em 2020 para ambos os sexos, em Portugal. Como se pode ver na Figura 6, os 3 tipos de cancro com maior incidência foram o cancro colorrectal, o cancro da mama e em terceiro lugar o cancro da próstata. Em Portugal, para os homens, o cancro com maior incidência é o cancro da próstata (6 759 novos casos), seguido de perto pelo cancro colorrectal (6 418 novos casos) e em terceiro lugar o cancro do pulmão (3 933).

## Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

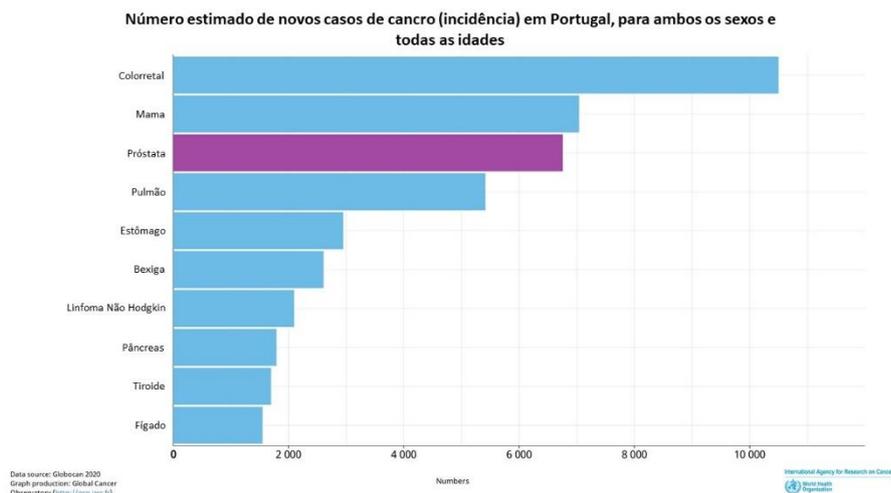


Figura 6 Estatísticas para o número de novos casos de cancro para ambos os sexos, em Portugal, em 2020. A roxo está representado o cancro da próstata e no total houve 6 759 mortes devido a cancro da próstata. Gráfico adaptado de "The Global Cancer Observatory" (3).

Em 2020, houve cerca de 30,2 mil mortes associadas ao cancro, em Portugal. Na Figura 7, pode-se observar o número de mortes associadas aos 10 tipos de cancro mais letais em 2020 para ambos os sexos, em Portugal. Como se pode ver na Figura 7, os 3 tipos de cancro com maior mortalidade associada foram o cancro do pulmão, o cancro colorrectal e o cancro do estômago. Apesar de ser possível apenas nos homens, o cancro da próstata aparece em quarto lugar. Em Portugal, para os homens, os cancros com maior mortalidade associada são o cancro do pulmão (3 620), o cancro colorrectal (2 561) e o cancro da próstata (1 917).

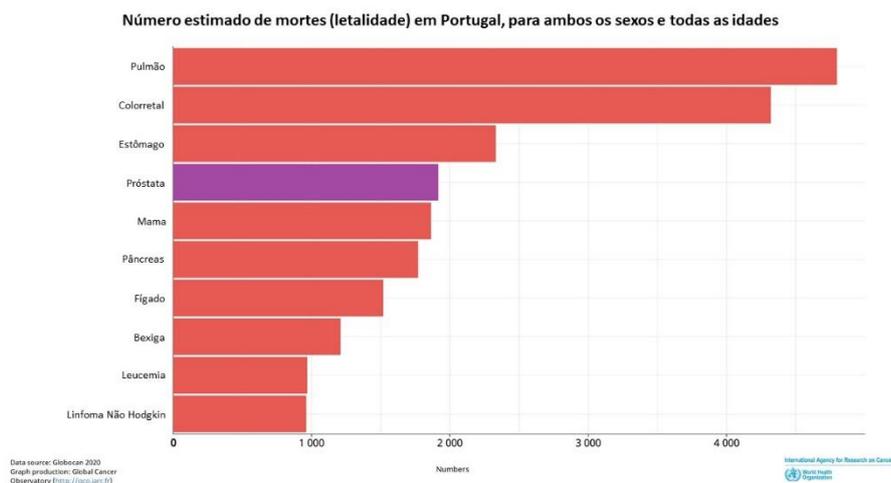


Figura 7 Estatísticas para o número de mortes por cancro para ambos os sexos, em Portugal, em 2020. A roxo está representado o cancro da próstata e no total houve 1 917 mortes devido a cancro da próstata em Portugal. Gráfico adaptado de "The Global Cancer Observatory" (3).

## Introdução

Como é possível observar nos dados apresentados acima, o cancro da próstata representa um problema, com tendência a piorar. Apesar de em todo o mundo, em 2020, os novos casos de cancro da próstata representarem 7,33% dos novos casos de cancro, em Portugal o cancro da próstata representa 11,27% dos novos casos.

Quanto à mortalidade, o cancro da próstata representa 3,75% das mortes associadas ao cancro, em todo o mundo, no entanto em Portugal representa 6,35% das mortes associadas ao cancro.

Portanto, apesar de o cancro da próstata estar associado a um número significativo de novos casos e mortes , percentualmente, este tipo de cancro representa uma fatia significativamente maior em Portugal do que a nível mundial.

Quanto à evolução do número de novos casos de cancro da próstata, ao longo dos anos, infelizmente não há dados sobre Portugal. Na Figura 8 pode-se ver a evolução do número de novos casos de cancro da próstata, em Espanha, e na Figura 9 pode-se ver a evolução do número de mortes associadas ao cancro da próstata, em Espanha.

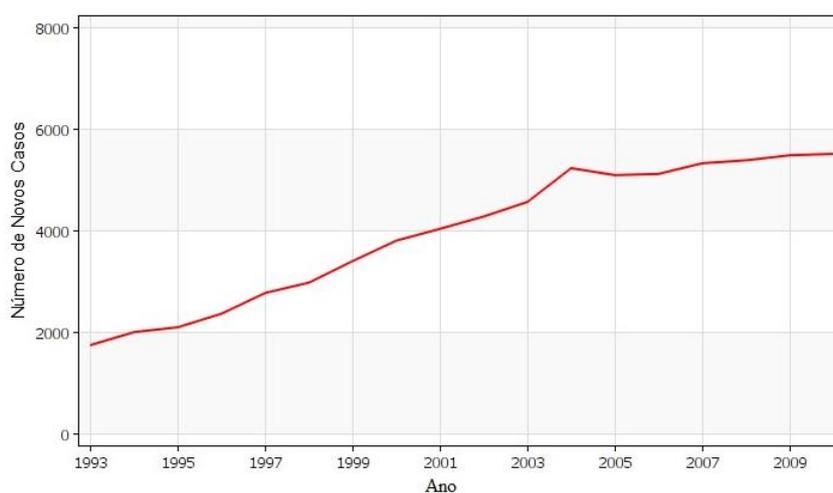


Figura 8 Evolução do número de novos casos de cancro da próstata, desde 1993 até 2012, para Espanha. Gráfico Adaptado de: CI5PLUS: CANCER INCIDENCE IN FIVE CONTINENTS TIME TRENDS (17).

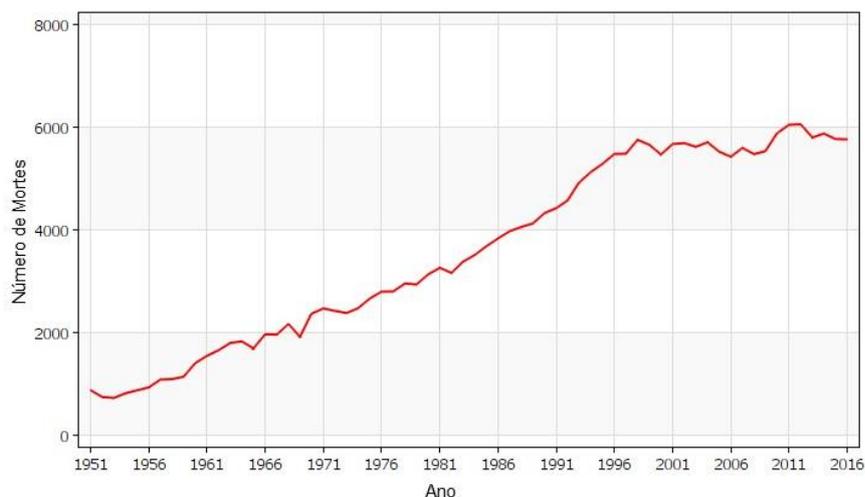


Figura 9 Evolução do número de mortes devido a cancro da próstata, desde 1951 até 2016, para Espanha. Gráfico adaptado de World Health Organization mortality database (17).

Em suma, é bastante claro que esta doença é realmente um problema de saúde pública com tendência para aumentar o número de novos casos e o número de mortes associadas, no entanto de acordo com a Figura 8 e Figura 9 há uma tendência para estabilizar.

## 1.2. Tratamentos

Atualmente, há diversos tipos de tratamentos para o cancro sendo estes a cirurgia, a radioterapia, a quimioterapia, a imunoterapia e a terapia hormonal. Para o cancro da próstata o cenário é idêntico sendo cada um dos tratamentos ou a sua combinação administrados de acordo com a extensão da doença (11).

Apesar de haver várias opções de tratamento para o cancro, cerca de 50% a 60% dos doentes fazem radioterapia (RT). A RT divide-se em 2 grupos distintos: a RT de fonte externa e a RT de fonte interna (também conhecida como braquiterapia) (18).

Atualmente, os efeitos biológicos à escala dos tecidos e dos órgãos, essencialmente determinísticos, da Radiação Ionizante (RI) são bem conhecidos. No entanto, à escala da célula os efeitos da RI e os seus mecanismos não são totalmente compreendidos.

O estudo dos efeitos biológicos da RI pode ser realizado experimentalmente, o que apresenta limitações devido à escala envolvida, ou através de simulações computacionais, que carecem de validação experimental. Apesar de por vezes não ser fácil realizar a validação experimental de simulações, dado que os ensaios experimentais

## Introdução

se tornam cada vez mais complexos e dispendiosos ou mesmo impossíveis, as simulações computacionais são uma ferramenta essencial (19).

## Radioterapia

A RT é uma terapia importante no tratamento do cancro e aproximadamente 50% dos doentes fazem tratamento com RT (20). A RT é tipicamente usada em tumores sólidos, consistindo na administração de altas doses de RI de forma a eliminar as células malignas e destruir o tecido do tumor. A RT pode ser administrada externa ou internamente, no local do tumor, no entanto esta também pode danificar as células saudáveis (21,22).

A RT pode ser usada com o intuito de curar os doentes, mas também como tratamento paliativo de forma a aliviar os sintomas causados pelo cancro. Pode também ser usada combinada com outras estratégias como a cirurgia, a quimioterapia e a imunoterapia (20).

A RT de fonte externa é administrada fora do corpo do doente, ao direcionar feixes de RI de alta energia para a localização do tumor. Já a RT de fonte interna, ou braquiterapia, é administrada dentro do corpo do doente, isto é, os radiofármacos são injetados na corrente sanguínea ou é colocada uma semente radioativa no local do tumor, tipicamente são usadas partículas carregadas de curto alcance, como por exemplo partículas  $\alpha$  (20). A dose prescrita depende de vários fatores como a idade da pessoa, o tipo de tumor, a localização do tumor e possíveis efeitos secundários da RI nos tecidos saudáveis. A RI danifica as células malignas ao danificar o seu ADN, direta ou indiretamente (21).

Ao administrar a RT, tenta-se minimizar os danos aos tecidos saudáveis e maximizar a dose administrada no tumor, para isso recorre-se, entre outros, ao fracionamento da dose ao longo de várias sessões, o que permite aos tecidos saudáveis recuperar entre as sessões (23).

Os efeitos da RT são influenciados por 5 fatores biológicos definidos como os 5 R's da radiobiologia: reparação, reoxigenação, redistribuição, repopulação e radiosensibilidade (8,22).

A radiosensibilidade é a sensibilidade das células à RI, tipicamente medida como a dose necessária para diminuir a sobrevivência de uma população celular para 50%. A radiosensibilidade dos tumores depende de vários fatores tais como a hipóxia, a cinética do tumor e o número de células malignas, mas também de fatores genéticos (24).

A morte celular por RI é baseada na produção de lesões irreparáveis no ADN como DSB (*Double-Strand Breaks*), o que está relacionado com a reparação celular. Apesar das lesões no ADN poderem ser reparadas, caso ocorram SSB (*Single-Strand Breaks*), as

células são submetidas a doses elevadas e acumulam-se lesões, o que contribui para a letalidade. A reparação destes danos é um aspeto importante na RT pois as células saudáveis, apesar de proliferarem mais devagar do que as células malignas, são capazes de reparar os danos da RI a uma velocidade superior do que as células malignas, daí o uso do fracionamento da dose de forma a potenciar a sobrevivência das células saudáveis (20,25).

A redistribuição refere-se ao facto de as células terem um nível diferente de radiosensibilidade, consoante a fase do ciclo celular em que se encontram. As células em mitose são mais sensíveis à RI (principalmente nas fases G2 e M) e as células na fase S tardia são mais radorresistentes, ou seja, quando há irradiação do tumor as células que estão nas fases G2 e M são mais fáceis de eliminar. Como as células que sobrevivem à irradiação continuam o seu ciclo celular, o fracionamento da dose permite uma redistribuição das células malignas que estavam numa fase mais radorresistente (fase S) para fases mais radiosensíveis (25).

A repopulação ocorre quando as células que sobrevivem à irradiação começam a proliferar, o que ocorre entre as frações do tratamento, contudo isto ocorre tanto nas células saudáveis como malignas. As células estaminais cancerígenas (que são cerca de 2% das células do tumor) são o principal alvo na RT, pois representam uma ameaça dupla dado que são mais resistentes à radiação, do que as restantes, mas também são capazes de restaurar o tumor (24,25). Para além disto, estas células são capazes de entrar num estado de dormência tumoral, pelo que podem permanecer no organismo durante anos ou mesmo décadas (6).

Tipicamente, os tumores têm regiões em hipóxia (pouco oxigenadas) e nestas zonas as células malignas são mais radorresistentes. Com o fracionamento da dose, ocorre a reoxigenação do tumor no intervalo entre as sessões, devido a diversos mecanismos biológicos. Consequentemente, as células tornam-se mais radiosensíveis e a eficácia do tratamento aumenta (25).

Há vários modelos macroscópicos radiobiológicos que nos permitem relacionar o nosso conhecimento de vários fatores como a dose total, o número de frações, o intervalo entre frações, a taxa de dose, o ciclo celular e o estado de hipóxia, com a morte celular (26).

O modelo mais usado é o modelo Linear Quadrático:

$$SF = \frac{\overline{NS}}{N_0} = e^{-\alpha*D - \beta*D^2} \quad (1)$$

## Introdução

Este modelo apresenta a fração sobrevivente (SF), em função da dose total administrada (D). Na equação 1,  $\alpha$  e  $\beta$  são respetivamente os coeficientes referente ao modelo “*single-hit*” e “*double-hit*” (24,26).

Quando a dose é fracionada em  $n$  frações, cada uma com uma dose  $d$ , a fração sobrevivente no final do tratamento é de (24,26):

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

### 1.3. Radiação Ionizante

Ao longo da nossa vida, todos somos expostos a pequenas doses de RI de fontes naturais ou gerada por meios humanos. Em média, a dose recebida por fontes naturais (e.g. radão, raios cósmicos, ...) é de 3 mSv, o que varia de região para região, mas não constitui um risco acrescido (23).

O decaimento radioativo é um processo físico através do qual um núcleo atómico instável passa de um nível de energia mais elevado para um nível de energia menor, por emissão espontânea de RI. Diz-se, neste caso, que decai para um estado mais estável. O decaimento radioativo é um processo estocástico, ou seja, o instante em que um átomo decai não pode ser pré-determinado, no entanto, um decaimento ocorre com uma probabilidade não nula (19).

Tal como o nome indica, a RI tem a capacidade de ionizar átomos (23,27,28). Há 2 tipos distintos de RI: radiação eletromagnética e radiação corpuscular. A radiação X e a radiação  $\gamma$  são exemplos de RI eletromagnética composta por fotões, já a RI corpuscular pode ser composta por partículas  $\alpha$ , partículas  $\beta^-$  (electrões), partículas  $\beta^+$  (positrões), protões e neutrões (23).

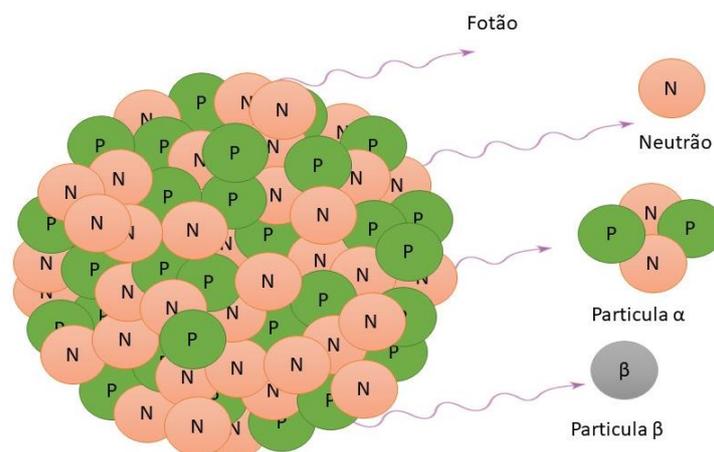


Figura 10 Decaimento Radioativo. Acima está o decaimento radioativo por emissão de raio-X ou radiação  $\gamma$  (fotões). Abaixo estão os 4 tipos de decaimento radioativo por emissão de RI corpuscular: neutrão, partícula  $\alpha$  e partícula  $\beta$  ( $\beta^-$  e  $\beta^+$ ).

Todos estes tipos de RI, exceto a radiação X, são emitidos pelo núcleo de átomos radioativos instáveis. Já a radiação X pode ser emitida por efeito de travagem (efeito de *Bremsstrahlung*) ou quando há reorganização dos electrões na nuvem eletrónica de um átomo. As partículas  $\alpha$  e  $\beta$  são emitidas como resultado do decaimento radioativo de átomos instáveis, os neutrões resultam de reações nucleares e os prótons de interações de neutrões com átomos. A RI corpuscular, ao interagir com a matéria, deposita a sua energia de forma estocástica e não-uniforme, à escala microscópica (23,29).

## Radiação X e $\gamma$

A radiação X e a radiação  $\gamma$  são fotões e são muito penetrantes, como ilustrado na Figura 11, apresentando uma baixa taxa de deposição de energia no seu percurso o que é tipicamente medido pelo coeficiente de transferência linear de energia (LET - *Linear Transfer Energy*)<sup>1</sup>. A radiação  $\gamma$  é geralmente mais energética do que a radiação X e tem maior poder de penetração. A radiação X e a radiação  $\gamma$  podem interagir com a matéria por 3 mecanismos diferentes: efeito fotoelétrico, efeito de Compton e produção de pares.

<sup>1</sup> O LET representa a energia depositada por unidade de comprimento, podendo ser expressa em keV por  $\mu\text{m}$ .

## Introdução

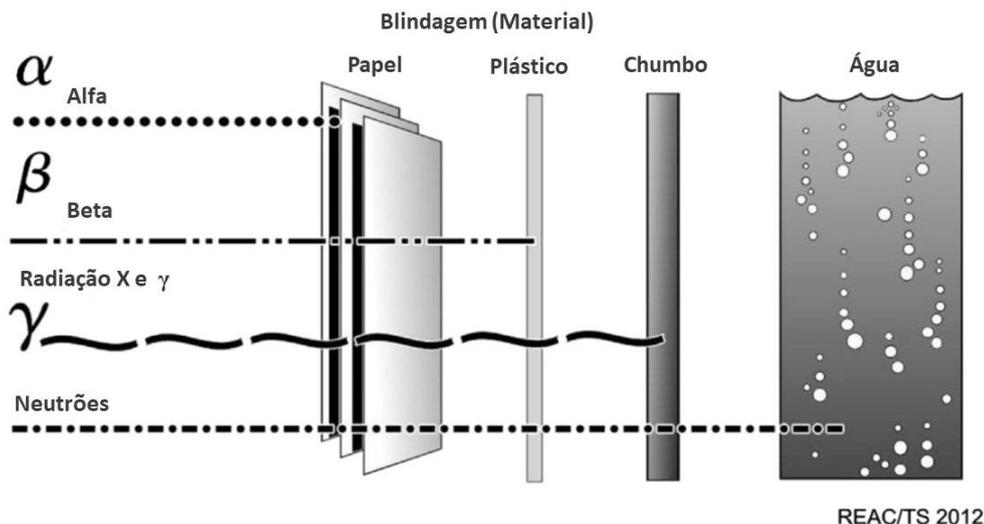


Figura 11 Poder de penetração de diferentes tipos de Radiação Ionizante, em diferentes materiais. Adaptado de (Christensen et al, 2014) (29).

No efeito fotoelétrico, o fóton transfere toda a sua energia para um electrão localizado numa das camadas electrónicas, tipicamente uma das exteriores. Se a energia transferida for superior à energia de ligação do electrão, há ejeção de um fotoelectrão, com uma energia cinética de:

$$E_{cinética} = E_{fotão} - E_{ligação} \quad (3)$$

Caso a energia do fóton não seja suficiente para ejetar um electrão, o átomo fica apenas num estado excitado.

No efeito de Compton, também há interação entre o fóton incidente e um electrão de uma das camadas electrónicas, tipicamente uma das exteriores. Tal como no efeito fotoelétrico, se a energia cedida for superior à energia de ligação do electrão, este é ejetado do átomo, caso contrário o átomo fica num estado excitado. No final, o fóton incidente é desviado da sua trajetória inicial, com uma energia menor do que a inicial.

Na produção de pares, um fóton com energia cinética elevada (superior a 1022 keV) interage com o núcleo de forma a que a sua energia seja convertida em matéria. A energia do fóton é convertida em 2 partículas: um electrão e um positrão, ambos com energia de 511 keV, o excesso de energia cinética é convertida em energia cinética das 2 partículas emitidas (28).

Quando há o rearranjo dos electrões nas orbitais, como resultado da ionização ou excitação de um átomo, pode haver emissão de radiação X característica, que tem valores discretos de energia característicos do átomo. A radioprotecção para a radiação

$\gamma$  ou para a radiação X requer material com um elevado número atômico como por exemplo chumbo, aço e betão. Como a radiação X e a  $\gamma$  são idênticas, os seus efeitos biológicos são também idênticos quando administradas de forma semelhante e avaliadas para a mesma dose (23,29).

### RI corpuscular

A RI corpuscular pode ser: partículas  $\alpha$ , partículas  $\beta$  ( $\beta^-$  e  $\beta^+$ ), prótons e neutrões.

As partículas  $\alpha$  são partículas bastante energéticas (4 a 9 MeV), são constituídas por 2 prótons e 2 neutrões e têm uma carga positiva de +2. As partículas  $\alpha$  são pesadas e lentas, a sua trajetória é linear e têm um curto alcance; por exemplo, nos tecidos podem percorrer entre 50 a 100  $\mu\text{m}$ , e têm um elevado LET que pode ir de 60 a 230  $\text{kev}/\mu\text{m}$  (8,15). As partículas  $\alpha$  não são capazes de atravessar a pele humana e, na radioterapia, são usadas apenas para radioterapia de fonte interna. Os emissores de partículas  $\alpha$  representam perigo para o ser humano. Fora do contexto clínico (quando emissores de partículas  $\alpha$  são injetados na corrente sanguínea) as partículas  $\alpha$  representam perigo para o ser humano apenas quando inalados, ingeridos ou em contacto com uma ferida aberta (29). As partículas  $\alpha$  resultam do decaimento radioativo de elementos pesados como o Rádio, Tório, Urânio e Plutónio (23).

As partículas  $\beta$  ( $\beta^+$  ou  $\beta^-$ ) resultam do decaimento nuclear de iões. Os positrões são partículas  $\beta^+$ , têm carga positiva e a mesma massa que um electrão, e são emitidas pelo núcleo de alguns iões radioativos como o Magnésio-23 ( $^{23}\text{Mg}$ ), Carbono-11 ( $^{11}\text{C}$ ) ou Ítrio-86 ( $^{86}\text{Y}$ ). A radioprotecção dos positrões requer materiais densos como chumbo, aço e betão (29).

As partículas  $\beta^-$  são equivalentes a electrões, têm uma grande capacidade de penetração, mas um potencial de ionização menor do que as partículas  $\alpha$ . No ar, o alcance das partículas  $\beta^-$  é de aproximadamente 4 cm por MeV, já na água é cerca de 0,5 cm por cada MeV. As partículas  $\beta^-$  representam um perigo tanto interna como externamente, dada a sua grande capacidade de penetração, no entanto uma folha de plástico é capaz de parar estas partículas (23,29).

Os neutrões têm uma massa de  $1,0087 \text{ u}^2$  e são emitidos por alguns iões radioativos, no entanto estes elementos são raros e a maioria dos neutrões são emitidos quando ocorre fissão nuclear. Como são partículas neutras, ionizam o meio indiretamente. Nos meios

---

<sup>2</sup> A unidade u (unidade de massa atômica) equivale a aproximadamente  $1,660 \times 10^{-27} \text{ kg}$ .

## Introdução

biológicos, os neutrões são capazes de ejetar prótons dos núcleos de átomos de hidrogénio por colisão nuclear, que por sua vez, são capazes de ionizar diretamente o material. Os neutrões podem ter uma ampla gama de energias e são capazes de percorrer longas distâncias no ar. A parafina e a água são excelentes escudos para os neutrões, dado que contêm um grande número de átomos de hidrogénio (23,29).

## Interação da RI corpuscular com a matéria

A interação da RI corpuscular com a matéria não é idêntica à observada na RI eletromagnética. O modo de interação predominante das partículas carregadas é a interação eletromagnética, já as partículas neutras interagem através da força forte (30,31).

Todas as partículas carregadas podem interagir com átomos do meio através de interações eletrônicas, nucleares ou gravitacionais, no entanto as interações gravitacionais são tão fracas que podem ser ignoradas, na maior parte das vezes. Portanto, o potencial de paragem,  $S$ , diz respeito apenas à soma do potencial de paragem devido a interações eletrônicas e nucleares:

$$S_{total} = - \frac{dE}{dx} = S_{electronica} + S_{nuclear} \quad (4)$$

No caso das partículas  $\beta$ , podemos também ignorar a componente nuclear, no entanto para partículas pesadas, como é o caso das partículas  $\alpha$  energéticas, isto não se verifica (31).

Para partículas carregadas pesadas, como as partículas  $\alpha$ , quando têm uma energia baixa ou moderada, temos que ter em conta a dispersão de Rutherford. Este fenómeno diz respeito a uma dispersão elástica das partículas  $\alpha$ , com o núcleo dos átomos. No entanto, também pode haver interações com os electrões do átomo, devido à força de Coulomb (31).

Os neutrões são partículas neutras com uma massa e tamanho idêntico ao dos prótons. Os neutrões interagem com a matéria devido à força forte e percorrem grandes distâncias na matéria sem interagir com a mesma, dado que a força forte tem um alcance pequeno de aproximadamente  $10^{-15}$  m, pelo que os neutrões apenas interagem com os átomos quando estão pelo menos a esta distância do núcleo atómico (32).

## Unidades e definições para a RI

Num ião radioativo, a atividade é o número de decaimentos que ocorrem por unidade de tempo. Uma desintegração por segundo é equivalente a 1 Becquerel (Bq), que é a unidade SI da atividade. No entanto, por razões históricas, é mais comum usar o Curie (Ci) <sup>3</sup>, que equivale a (23,29):

$$1\text{Ci} = 3,7 \times 10^{10}\text{Bq} \quad (5)$$

A capacidade de ionização da RI está relacionada com a sua LET. A LET [keV/μm] é a transferência média de energia, ao atravessar uma pequena espessura do meio de interesse e depende da energia da RI e das características do meio. Para a radiação X, o LET pode ir de 0,2 até 15 keV/μm, no caso de neutrões rápidos o LET pode ir de 8 até 40 keV/μm, já no caso de partículas α o seu LET é de 60 a 230 keV/μm. A eficácia com que cada tipo de RI é capaz de produzir efeitos biológicos depende do seu LET (23). Consequentemente, a RI de alto LET é capaz de provocar mais danos biológicos, em comparação com RI de baixo LET. No caso das partículas α, várias simulações e experiências mostram que são necessárias poucas partículas α para levar uma célula à sua morte, em comparação com partículas de baixo LET (15).

A dose absorvida é definida como o quociente entre a energia média depositada pela RI no meio e a massa:

$$D = \frac{E}{m} \quad (6)$$

Esta é uma medida da energia depositada no meio, no entanto esta aplica-se apenas a massas macroscópicas. A unidade SI da dose absorvida é o Gray (Gy), que equivale a J/kg, no entanto também é comum usar o rad (23,27,29):

$$1\text{Gy} = 100\text{rad} \quad (7)$$

Enquanto D é uma unidade de medida macroscópica, z é a dose microscópica. Para uma dose absorvida, D, num órgão ou tecido pode haver muitas doses microscópicas, z, nas

---

<sup>3</sup> Um Curie equivale à atividade emitida por 1 g de <sup>226</sup>Ra. Esta era a medida padrão usada por Marie e Pierre Curie para medir a atividade das fontes radioactivas.

## Introdução

células do órgão ou do tecido. Por exemplo, uma célula pode ter uma dose nula,  $z=0$ , enquanto uma célula no mesmo tecido tem uma dose muito superior. Todavia, quando fazemos a média de  $z$  na massa macroscópica,  $m$ , o valor obtido é idêntico à dose macroscópica absorvida ( $D$ ) (23).

### 1.4. Efeitos biológicos da radiação ionizante

Apesar de haver vários benefícios das aplicações médicas da RI, esta pode ser prejudicial para a saúde e é um carcinogénico para o ser humano (28). A resposta biológica à RI varia consoante os órgãos e tecidos, a idade da pessoa, o sexo, a dose total e o número de frações nas quais se divide o tratamento (27).

No que diz respeito às aplicações médicas, dado que a RI pode ionizar ou excitar as moléculas constituintes de sistemas biológicos vivos, algumas funções biológicas podem ficar comprometidas. No entanto, quando estas interações ocorrem no núcleo da célula considera-se que é mais provável que haja dano no ADN da célula e que a sua viabilidade tenha ficado comprometida, no entanto quando as interações ocorrem fora do núcleo considera-se que apenas ocorram efeitos indiretos (33).

A RI tem efeitos biológicos diretos e indiretos. Os efeitos diretos são mais comuns na RI de elevado LET, como as partículas  $\alpha$ ; contrariamente, os efeitos indiretos são mais associados à RI de baixo LET (29). Nos efeitos diretos, a energia da RI é administrada diretamente em estruturas celulares críticas como o ADN, causando quebras na cadeia (29,34). Nos efeitos indiretos há a formação de radicais livres altamente reativos no citosol da célula (34). Nos efeitos indiretos, a RI interage com moléculas de água, que constitui 70 a 80% da célula, ou outras moléculas orgânicas das células, induzindo radicais livres como espécies reativas de oxigénio (*Reactive oxygen species* – ROS):  $\bullet\text{OH}$ ,  $\bullet\text{H}$ ,  $\bullet\text{O}_2^-$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ . (23).

Estes radicais livres podem interagir com o ADN das células, provocando diversos danos, como *Single Strand Breaks* (SSB) ou *Double Strand Breaks* (DSB) (35). Quando a RI não provoca danos letais no ADN, esta também pode causar danos ou mutações num gene que compromete a viabilidade da célula ou uma combinação de mutações capaz de induzir a morte celular (8). Mesmo que a RI não interaja diretamente com o ADN, esta pode provocar danos, tais como alterações na expressão de genes e proteínas, ativação de oncogenes, inativação de genes supressores, aberrações cromossómicas, mutações, cancro e mesmo perda de tecidos ou órgãos (23). As células danificadas que sobrevivem podem mais tarde vir a verificar-se malignas ou ter outras anomalias (28).

A RI de elevado LET é capaz de gerar mais danos biológicos do que a RI de baixo LET. A RI de baixo LET é capaz de gerar o mesmo número de danos (radicais livres ou ionizações), no entanto, estes encontram-se mais dispersos do que os gerados pela RI de alto LET, que deposita toda a sua energia num pequeno volume, o que é mais difícil de reparar. No entanto, a RI de alto LET não é capaz de penetrar grandes distâncias nos tecidos biológicos (27).

Os danos no ADN provocados pela RI envolvem SSB, mas também DSB. As SSB são mais frequentes na RI de baixo LET e são mais rápidas de reparar do que as DSB. A indução de DSB é considerada a principal consequência provocada pela RI nas células e a morte celular induzida pela RI é atribuída a falhas na reparação do ADN, resultando em falhas mitóticas ou apoptose (27,34,36). A apoptose, também conhecida por morte celular programada, é um processo fisiológico que permite aos organismos eliminar células senescentes, células que têm um funcionamento anormal, células malignas ou células que estão predestinadas a ser eliminadas (29).

Os efeitos adversos da RI são agrupados em 2 categorias distintas: efeitos determinísticos e efeitos estocásticos. Os efeitos determinísticos são baseados na morte celular e têm um limite de dose abaixo do qual não há qualquer efeito clínico. Os efeitos estocásticos ocorrem por acaso, no entanto estes efeitos só ocorrem para doses muito acima das encontradas em ambiente natural, no trabalho ou em meios de diagnóstico (37).

Os efeitos estocásticos são efeitos que ocorrem aleatoriamente, de tal forma que à medida que a dose aumenta a probabilidade destes efeitos ocorrerem também aumenta. Um exemplo de um efeito estocástico é a carcinogénese. O risco de indução de cancro varia em função do sexo, da dose, taxa de dose e da qualidade da RI. Estudos epidemiológicos indicam que há um período de latência que pode ser de 4 a 8 anos para a leucemia e de mais de 15 anos para cancros sólidos (28,29,38).

Os efeitos determinísticos têm um limite abaixo do qual não ocorrem, a sua severidade aumenta com a dose administrada e estão associados a uma exposição crónica ao longo de vários anos, que é o caso de profissionais de saúde, ou uma exposição aguda em doses muito elevadas, que é o caso dos bombeiros que actuaram no acidente de Chernobyl. Os efeitos determinísticos incluem efeitos cardiovasculares, hipotireoidismo, queimaduras na pele, inibição temporária de produção de esperma nos homens, hipertensão e opacidades no cristalino do olho, mas também efeitos no sistema nervoso central e pode mesmo levar à morte devido a lesões em órgãos críticos como a medula óssea, pulmões ou intestino delgado (23,38).

## Introdução

A sensibilidade dos vários tipos de células à RI varia de forma significativa e como diferentes órgãos são constituídos por diferentes tipos de células, isto também se aplica aos órgãos (23,29).

Normalmente, considera-se que os efeitos biológicos da RI ocorrem apenas em células irradiadas, como consequência de danos no ADN da célula, no entanto este modelo tem sido contestado por diversas observações, que indicam que células não irradiadas exibem respostas biológicas idênticas às células irradiadas, este efeito tem o nome de efeito *Bystander* (28,36).

Os efeitos *Bystander* induzidos por RI são respostas observadas em células não irradiadas, que recebem sinais de células irradiadas. Várias respostas celulares foram associadas a este efeito como apoptose, mutação de genes, entre outros (36). Algumas experiências que utilizam feixes colimados de partículas  $\alpha$ , que permitem irradiar apenas uma célula e posteriormente analisar os efeitos biológicos nas células não-irradiadas mostram que estas também desenvolvem aberrações cromossômicas e mutações, tal como verificado nas células irradiadas (23).

## 2. Contexto Teórico

---

Apesar de haver um número considerável de estudos clínicos que demonstram a eficácia do  $^{223}\text{Ra}$  no tratamento do mCRPCa, até à data há poucos trabalhos que se debruçam sobre a microdosimetria deste radiofármaco (39).

Apesar de já haver bastante informação relativamente à macrodosimetria de radiofármacos usados na *Targeted  $\alpha$  Therapy* (T $\alpha$ T), como o  $^{223}\text{Ra}$ , no que diz respeito à microdosimetria ainda pouco se sabe, destacando-se a necessidade de compreender a distribuição da dose a nível celular e os seus mecanismos. Dadas as características das partículas  $\alpha$ , não é adequado investigar a eficácia terapêutica da T $\alpha$ T usando apenas a macrodosimetria (40).

Dada a natureza estocástica e complexa das interações das partículas  $\alpha$ , a sua dosimetria apresenta muitas dificuldades. Grande parte dos radionuclídeos emissores de partículas  $\alpha$  podem ser seguidos pela câmara gama, pois tipicamente há emissão de radiação  $\gamma$  no seu decaimento, no entanto, até ao momento nenhum dos tratamentos clínicos é acompanhado com esta técnica (15). Apesar de ser possível observar a distribuição dos radiofármacos, com auxílio à câmara gama, esta apenas nos permite fazer uma avaliação da macrodosimetria do radiofármaco, não nos permite avaliar a sua microdosimetria, pois a resolução das imagens obtidas é pobre (superior a 6 mm), os tempos de aquisição são muito longos e as imagens obtidas têm uma péssima relação de sinal-ruído (41).

É importante estudar a microdosimetria da T $\alpha$ T não só para determinar os mecanismos de funcionamento da mesma, mas também para compreender a sua resposta biológica; para testar diversas opções terapêuticas e avaliar corretamente a eficácia e toxicidade dos radionuclídeos; por fim, para modular a atividade administrada, de forma a obtermos um tratamento personalizado para cada doente (41).

Adicionalmente, até à data, no planeamento de tratamentos com T $\alpha$ T considera-se que há uma distribuição homogénea da dose no volume do tumor e que a eficácia observada nesta terapia se deve maioritariamente a efeitos diretos, dado que envolve RI de alto LET. No entanto, existem alguns estudos que mostram que estas considerações não representam as condições observadas no contexto clínico e que há necessidade de continuar a estudar os mecanismos envolvidos nesta terapia (10,39,42,43).

As simulações de Monte Carlo representam uma excelente abordagem para estudar a microdosimetria dos radiofármacos utilizados na T $\alpha$ T, sendo necessário fazer posteriormente a validação dos resultados obtidos. Softwares como o Geant4, Gate ou Penelope, são uma ferramenta muito poderosa para estudar a microdosimetria de

radiofármacos, através de simulações. O software Geant4, em particular, tem ferramentas direcionadas para simulações e cálculos de microdosimetria, e muito do código utilizado é *open-source* (44).

Como as partículas  $\alpha$  têm uma distribuição heterogénea da dose, há evidências que grande parte dos efeitos biológicos observados se devem não a efeitos diretos da RI mas sobretudo ao efeito *Bystander* (45).

## 2.1. Partículas $\alpha$

Para partículas carregadas pesadas, como as partículas  $\alpha$ , os processos relevantes são a dispersão de Rutherford, a ionização e a excitação dos átomos (31,44).

As partículas  $\alpha$  interagem com o meio, transferindo a sua energia para o mesmo e eventualmente dissipando toda a sua energia. No que diz respeito aos efeitos biológicos, os processos mais importantes de interação da RI com a matéria são a ionização e a excitação.



Figura 12 Partícula  $\alpha$ , com massa  $M$ , a aproximar-se de uma partícula com massa  $m$ .

A Figura 12, apresenta um esquema de uma partícula  $\alpha$  que se aproxima de uma partícula de massa  $m$ . Assumindo que a partícula  $\alpha$  tem uma velocidade inicial de  $v_{\alpha i}$  e uma velocidade após a colisão de  $v_{\alpha f}$  e que a partícula de massa  $m$  se encontrava em repouso e que adquire uma velocidade de  $v_{\alpha f}$  após a colisão, então a energia máxima que pode ser transferida na colisão é de:

$$Q_{max} = \frac{Mv_{\alpha i}^2}{2} - \frac{Mv_{\alpha f}^2}{2} = \frac{4mME}{(M + m)^2} \quad (8)$$

Como referido anteriormente, as 2 principais formas de interação entre o meio e as partículas  $\alpha$  são a ionização e a excitação do meio. No processo de ionização, um electrão de uma das camadas electrónicas mais afastadas do núcleo é removido do átomo e forma-se um par electrão-ião. No processo de excitação, um electrão do átomo absorve energia

e transita para outra orbital. Em ambos os casos, haverá uma reorganização do átomo podendo haver emissão de um fóton. Estes 2 mecanismos são os mecanismos mais importantes para a radiobiologia.

As partículas  $\alpha$  são as que têm um menor poder de penetração, no entanto importa referir que as mesmas não são paradas apenas devido a uma interação, mas sim devido uma sucessão de interações. Isto é, à medida que as partículas  $\alpha$  vão penetrando cada vez mais no meio, e interagem com os átomos, perdem energia cinética devido a várias interações.

Um termo importante, quando se trata de RI, é a ionização específica que consiste no número de pares ião-electrão formados por distância percorrida. Para as partículas  $\alpha$  o número de pares ião-electrão por cm é de 40000 a 80000. Outro termo importante é o potencial de paragem para as partículas  $\alpha$ ,  $\frac{dE}{dx}$ , que é dado por:

$$\frac{dE}{dx} = \frac{16\pi e^4 n (3 * 10^9)^4}{m_e v^2 * 1.6 * 10^{-6}} * \left[ \ln\left(\frac{2m_e v^2}{I}\right) - \ln\left(1 - \frac{v^2}{c^2}\right) - \frac{v^2}{c^2} \right] \left[ \frac{MeV}{cm} \right] \quad (9)$$

Onde  $e$  é a carga elementar do electrão ( $1,6 \times 10^{-19} C$ ),  $m_e$  é a massa do electrão ( $0,511 MeV/c^2$ ),  $c$  é a velocidade da luz,  $n$  é o número de electrões por unidade de volume do meio,  $v$  é a velocidade da partícula e  $I$  é o potencial efetivo de ionização dos átomos do meio ( $1,38 \times 10^{-10} erg^4$ , para o ar).

Tipicamente, apresenta-se a curva de Bragg para as partículas  $\alpha$ , em que se representa o potencial de paragem em função da distância percorrida, tal como podemos ver na Figura 13 (46).

---

<sup>4</sup> 1 erg =  $6,2415 \times 10^{11}$  eV.

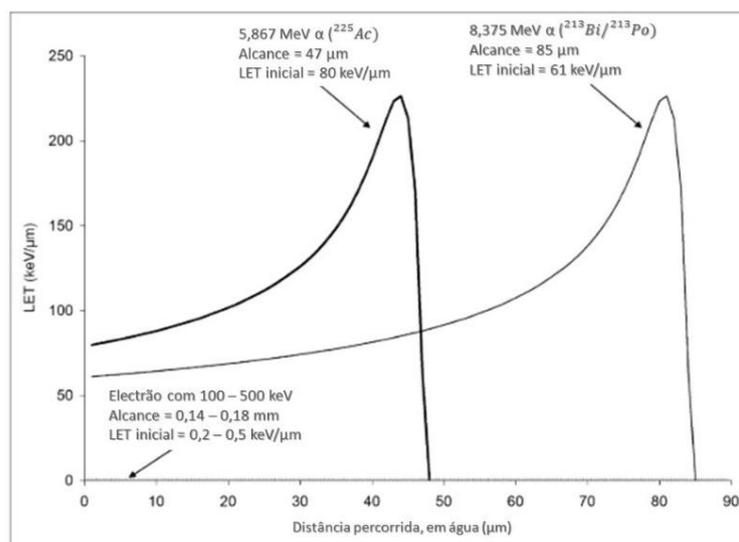


Figura 13 Curvas de Bragg para partículas  $\alpha$  com energias de 5,867 MeV e 8,375 MeV em água. Retirado de (Sgouros G et al., 2010) (47).

## 2.2. T $\alpha$ T

Com o avanço da RT, a T $\alpha$ T assumiu um papel importante e está a ganhar cada vez mais atenção à medida que novas aplicações e novos radionuclídeos emissores de partículas  $\alpha$  com aplicações terapêuticas são identificados. Apesar de já ter assumido um papel de grande importância na RT e dos fantásticos avanços na dosimetria e imagiologia da T $\alpha$ T, ainda não se explorou todo o seu potencial e os seus mecanismos de ação ainda não estão totalmente compreendidos ou caracterizados (8,15). Embora já estejam a ser implementadas, na T $\alpha$ T, pouco se sabe relativamente aos mecanismos de ação das partículas  $\alpha$ . Há, assim, uma necessidade de fazer avaliações precisas da dosimetria e dos mecanismos responsáveis pela sua eficácia (15).

A T $\alpha$ T é uma opção terapêutica particularmente atrativa para doentes com micrometástases, pois esta apresenta diversas vantagens como: a fácil administração, a possibilidade de tratar várias lesões simultaneamente e a possibilidade de ser combinada com outras terapêuticas. Tipicamente, a T $\alpha$ T é usada no tratamento do cancro, mas esta também é usada no tratamento de outras patologias como o HIV e infecções bacterianas ou fúngicas (15).

A T $\alpha$ T consiste na distribuição seletiva da RI no local do tumor, o que leva à eliminação das células malignas e, ao mesmo tempo, limita os efeitos nas células e tecidos saudáveis (8).

No que diz respeito à RI de alto LET, considera-se que os seus efeitos biológicos são independentes da taxa de dose absorvida, da concentração de oxigénio e fase do ciclo celular (42). Também se considera que os efeitos da RI de alto LET se devem apenas a efeitos diretos e que é necessário apenas uma interação eficaz (1 *hit*) para inviabilizar uma célula e produzir DSBs no seu ADN. No entanto, estas considerações podem estar incorrectas. Lloyd et al., 1979 concluíram que, no caso de partículas  $\alpha$  de 5,6 MeV, seriam necessárias entre 10 a 20 partículas  $\alpha$  para provocar lesões letais às células irradiadas. No entanto, se tivermos em consideração os efeitos indiretos ou efeitos *Bystander*, em ambos os casos, este valor baixaria consideravelmente (48). Charlton et al., 1989 concluíram que a produção de DSB não é um processo tão eficaz como se considera, pois no caso de partículas  $\alpha$  de 10 MeV apenas 1/8 produz DSBs ao interagir com as células (49).

Por último, as partículas  $\alpha$  percorrem uma pequena distância no meio e têm uma distribuição estocástica, conseqüentemente algumas células recebem vários *hits*, enquanto que outras não recebem nenhum, o que pode diminuir a eficácia dos tratamentos (15).

Existem mais de 100 radionuclídeos emissores de partículas  $\alpha$ , no entanto o número de isótopos com propriedades adequadas para serem integrados na T $\alpha$ T é limitado. Para serem integrados nesta terapia, os radionuclídeos têm que ter um tempo de meia-vida reduzido para limitar os seus efeitos tóxicos a longo prazo, mas, por outro lado, é necessário que tenham um tempo de meia-vida longo o suficiente para realizar a sua produção, preparação e administração (50).

É agora evidente dos dados pré-clínicos e clínicos, que os emissores de partículas  $\alpha$  são capazes de produzir efeitos em células não irradiadas, devido ao efeito *Bystander* e estimulam o sistema imunitário, estendendo os efeitos biológicos da T $\alpha$ T para além da interação da RI com as células (15).

O primeiro radionuclídeo aprovado para a T $\alpha$ T foi o  $^{223}\text{Ra}$ , no final de 2013, com o nome comercial de Xofigo (51). Para além do  $^{223}\text{Ra}$ , já foram propostos mais radionuclídeos para aplicações terapêuticas, alguns dos que estão sobre investigação clínica: Ástato-211 ( $^{221}\text{At}$ ), Bismuto-212 ( $^{212}\text{Bi}$ ), Bismuto-213 ( $^{213}\text{Bi}$ ), Actínio-225 ( $^{225}\text{Ac}$ ) e Tório-227 ( $^{227}\text{Th}$ ) (15).

### 2.3. Rádio-223

O  $^{223}\text{Ra}$  foi aprovado para uso médico no final de 2013, com o nome comercial de Xofigo, cujo composto ativo é o dicloreto de  $^{223}\text{Ra}$  ( $^{223}\text{RaCl}_2$ ) (51). O  $^{223}\text{Ra}$  é maioritariamente um emissor de partículas  $\alpha$  (95,3%), com um tempo de meia-vida de 11,42 dias, no entanto este também decai por emissão de partículas  $\beta$  (3,6%) e de radiação  $\gamma$  (1,1%), adicionalmente pode haver emissão de radiação X, como se pode ver na Figura 14 (5,42,51).

Devido à sua cadeia de decaimento, o  $^{223}\text{Ra}$  emite 4 partículas  $\alpha$ , num curto intervalo de tempo e a energia média das partículas  $\alpha$  emitidas é aproximadamente 6,72 MeV (42).

No tratamento de doentes com mCRPCa, verifica-se que o  $^{223}\text{Ra}$  tem um tempo médio de meia-vida efetivo de 8,2 dias (10).

Os tratamentos com Xofigo são feitos com 6 injeções intravenosas de 50 kBq/kg, o que corresponde a 21 MBq para um doente de 70 kg, no final a dose absorvida pelas células ósseas endosteais é de aproximadamente 16 Gy (39).

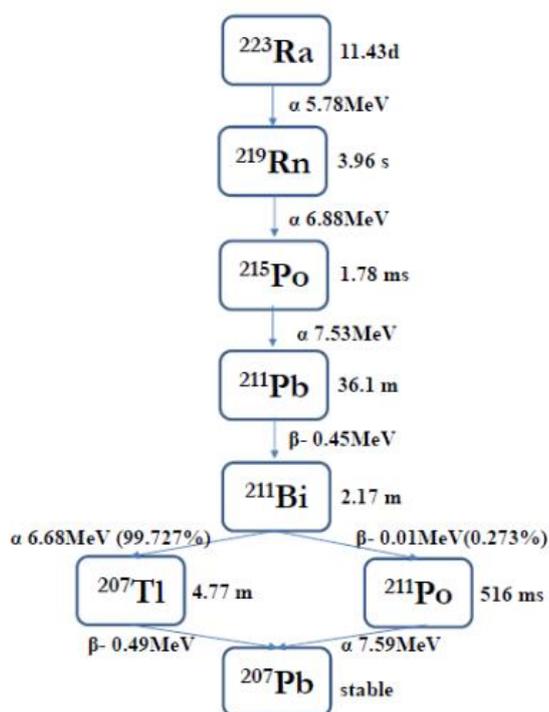


Figura 14 Esquema de decaimento do  $^{223}\text{Ra}$ . Retirado de (Pablo Mínguez et al., 2018) (42).

Como o  $^{223}\text{Ra}$  é majoritariamente um emissor  $\alpha$ , o Xofigo, os resíduos resultantes do seu manuseamento, e os doentes podem ser tratados com o mínimo de radioproteção necessário, pois as partículas  $\alpha$  têm um fraco poder de penetração e podem ser paradas por uma folha de papel (4,5).

O  $^{223}\text{Ra}$  mimetiza a ação do cálcio, pois ambos pertencem à família dos metais-alcalinos. Como o cálcio e o  $^{223}\text{Ra}$  têm características químicas idênticas, quando injetado na corrente sanguínea, o  $^{223}\text{Ra}$  não atravessa as membranas celulares, na verdade liga-se à hidroxiapatita de cálcio, na matriz óssea extracelular, acumulando-se preferencialmente em zonas de formação e renovação óssea, como por exemplo, metástases ósseas atingindo as células malignas das mesmas (4,39,43).

O tempo de meia-vida do  $^{223}\text{Ra}$  é ótimo para o tratamento de doentes com mCRPCa pois permite fazer a sua preparação, distribuição e administração com o tempo adequado. Por outro lado, o  $^{223}\text{Ra}$  tem baixa toxicidade, é rapidamente eliminado do sangue após a sua administração e o principal meio de excreção é pelo intestino delgado. No entanto, níveis não negligenciáveis de  $^{223}\text{RaCl}_2$  podem ser encontrados no baço, estômago e trato intestinal. Atualmente, o Xofigo é usado apenas para o tratamento de doentes com mCRPCa. No entanto, há estudos a decorrer que exploram a aplicabilidade do  $^{223}\text{Ra}$  a outros tumores sólidos com metástases ósseas, como o cancro da mama, cancro rectal e o osteossarcoma (8,15,39,52,53).

É possível obter imagens do percurso do  $^{223}\text{Ra}$ , utilizando uma câmara gama. No entanto, devido à baixa resolução de energia, apenas 3 dos picos de energia dos fotões são adequados para este propósito (82 keV, 154 keV e 270 keV). No geral, a imagiologia é possível, no entanto a quantificação das imagens pode ser difícil devido a limitações técnicas. Na Figura 15 pode observar-se a biodistribuição do  $^{223}\text{Ra}$  obtida por Yoshida et al., 2016 (54,55).

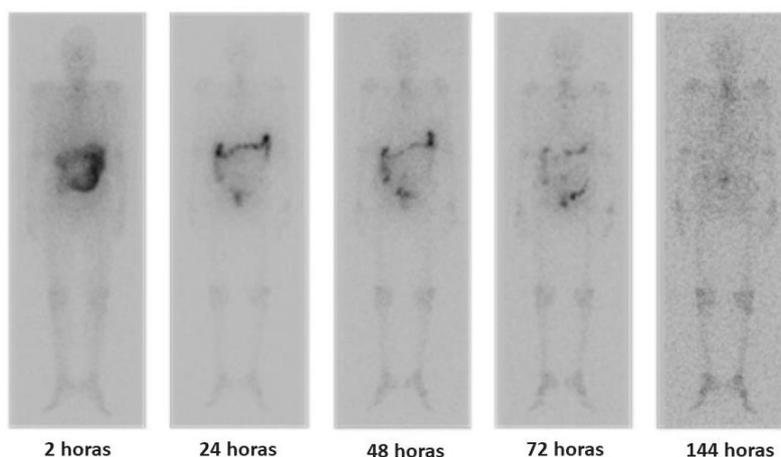


Figura 15 Biodistribuição do  $^{223}\text{Ra}$  no corpo de doentes, ao longo do tempo. Adaptado de (Yoshida et al., 2016) (55).

Atualmente, as terapêuticas usadas nos doentes com mCRPCa pretendem estender a SO e são usados citotóxicos, antiandrógenos, imunoterapêuticos e radiofármacos (12). O  $^{223}\text{Ra}$  mostrou uma melhoria na SO, um perfil de segurança favorável, um atraso no aparecimento de SSE e uma diminuição da dor associada a efeitos colaterais; em suma, permitiu uma melhoria na qualidade de vida dos doentes (8).

O ensaio clínico da ALSYMPCA foi o principal ensaio clínico para a aprovação do  $^{223}\text{Ra}$ . Neste estudo, entraram 921 doentes com mCRPCa que receberam um tratamento de 4 a 6 doses de Xofigo (50 kBq/kg) num intervalo de 4 semanas ou placebo, ambos combinados com o melhor tratamento. O Xofigo demonstrou a sua eficácia ao melhorar a SO de 11,3 meses para 14,9 meses e o aparecimento dos primeiros SSE passou de 9,8 meses para 15,6 meses. No entanto, o tratamento com  $^{223}\text{Ra}$  apresentou alguns efeitos adversos como diarreia, náuseas, vômitos e fadiga (12).

### 2.4. Microdosimetria de partículas $\alpha$

Há apenas um número muito limitado de estudos que tratam a microdosimetria de radionuclídeos emissores de partículas  $\alpha$  (41). A microdosimetria da T $\alpha$ T requer informação detalhada da geometria do alvo, de dados farmacocinéticos do radionuclídeo e do destino das partículas  $\alpha$  e dos radionuclídeos filhos (15). No caso particular do  $^{223}\text{Ra}$ , apesar de estar definido que este é eficaz no tratamento de doentes com mCRPCa, os seus mecanismos de ação ainda não são claros. E nas poucas abordagens que há, as conclusões diferem consideravelmente (10).

A dosimetria da T $\alpha$ T é diferente da realizada para os outros tipos de RI, como as partículas  $\beta$  ou a radiação X, pois as partículas  $\alpha$  têm um pequeno alcance, o seu percurso é retilíneo e a deposição de energia no núcleo celular é um processo estocástico. A microdosimetria das partículas  $\alpha$  é complexa pois, a escala envolvida é muito pequena, a distribuição da dose é heterogénea e pode haver emissão de partículas  $\alpha$  com energias diferentes. Também se tem que ter atenção à geometria das células, à configuração da fonte-alvo, à radiosensibilidade da célula e à existência de fatores biológicos. É necessário um conhecimento detalhado de cada um destes parâmetros para realizar corretamente a microdosimetria da T $\alpha$ T (56).

Devido à escala envolvida, o conceito tipicamente utilizado de dose absorvida deixa de fazer sentido pois esta é uma medida da dose média absorvida num tecido. À escala da célula, a distribuição de dose é estocástica, podendo algumas células receber uma dose muito superior do que as suas vizinhas, o que questiona se os efeitos diretos da RI são realmente os responsáveis pela maioria dos danos associados à RI de alto LET (57,58). Na microdosimetria, as duas quantidades estocásticas fundamentais que descrevem a distribuição da deposição de energia nos alvos são a energia específica,  $z$ , e a energia linear,  $y$ . Em analogia com a definição de dose absorvida,  $D$ , a energia específica  $z$  é definida pelo quociente de  $\varepsilon$  e  $m$ , onde  $\varepsilon$  é a energia transmitida pela RI para o meio de massa  $m$ , ou seja:

$$z = \frac{\varepsilon}{m} \quad (10)$$

A unidade da energia específica,  $z$ , é o Gray (Gy), ou seja, J/kg. Como  $z$  é uma quantidade estocástica, pode ser descrita pela função de distribuição  $F(z)$ .

A densidade de probabilidade,  $f(z)$ , é definida por:

$$f(z) = \frac{dF(z)}{dz} \quad (11)$$

O valor expectável para a energia específica é a energia específica média, calculada pelo integral:

$$\bar{z} = \int_0^{\infty} zf(z)dz \quad (12)$$

## Contexto Teórico

Para massas suficientemente grandes e múltiplos eventos, verifica-se que o valor médio da energia específica se aproxima da dose absorvida,  $D$ . Apesar desta aproximação, a dose absorvida,  $D$ , não é uma medida adequada da deposição de energia dadas as baixas doses envolvidas e a aleatoriedade da deposição de energia nos alvos.

Em analogia com a transferência linear de energia, LET, a energia linear,  $y$ , é o quociente de  $\epsilon$  por  $\bar{l}$ , onde  $\epsilon$  é a energia transmitida pelas partículas  $\alpha$  para um dado volume, devido a um evento único, e  $\bar{l}$  é a distância média entre o ponto em que a partícula é emitida e o ponto em que deposita toda a sua energia no alvo, tipicamente calculado por:

$$\bar{l} = \frac{4V}{S} \quad (13)$$

onde  $V$  é o volume e  $S$  é a área da superfície. Logo  $y$  é:

$$y = \epsilon / \bar{l} \quad (14)$$

A unidade da energia linear,  $y$ , é J/m, no entanto é mais comum usar keV/ $\mu$ m.

Tal como a energia específica,  $z$ , a energia linear,  $y$ , também é uma quantidade estocástica e pode ser caracterizada pela função distribuição  $F(y)$ . A densidade de probabilidade,  $f(y)$  é definida por:

$$f(y) = \frac{dF(y)}{dy} \quad (15)$$

Tal como para a energia específica,  $z$ , a energia linear,  $y$ , também se refere a um só evento (41).

A aleatoriedade dos eventos de deposição de energia no núcleo das células depende de vários fatores: 1) A probabilidade de atingir o alvo, devido ao alcance limitado das partículas  $\alpha$ ; 2) A intersecção aleatória das partículas  $\alpha$  com o núcleo das células; 3) A deposição aleatória da energia das partículas  $\alpha$  ao longo do seu percurso como resultado da variação do seu potencial de paragem (Curva de Bragg); 4) A frequência de *single* ou *multiple hits* como consequência da acumulação de radionuclídeos numa dada área (41).

Alguns autores já publicaram alguns artigos relativamente à microdosimetria de partículas  $\alpha$ , alguns especificamente sobre o  $^{223}\text{Ra}$ , alguns dos quais apresentados abaixo.

*Robert F Hobbs et al., 2012* usaram o Geant4 para estudar a microdosimetria do  $^{223}\text{Ra}$  na medula vermelha. Para estudar a microdosimetria do  $^{223}\text{Ra}$ , os autores posicionaram o radionuclídeo na superfície de uma esfera, que representa a cavidade medular e

simularam o seu decaimento. A esfera foi dividida em diversos voxels do tamanho de células e a energia depositada em cada um dos voxels foi registada, tal como representado na Figura 16. O valor da dose absorvida média e da fração de dose absorvida foram também calculados. Os autores concluíram que a deposição de dose é heterogénea e que se verifica predominantemente perto da superfície. Os resultados obtidos mostram que há a necessidade de realizar mais estudos relativamente à microdosimetria da TαT para perceber os mecanismos envolvidos nesta terapia e que a dose média absorvida, tipicamente usada para planear os tratamentos, não reflete corretamente o modo de ação deste tratamento (43).

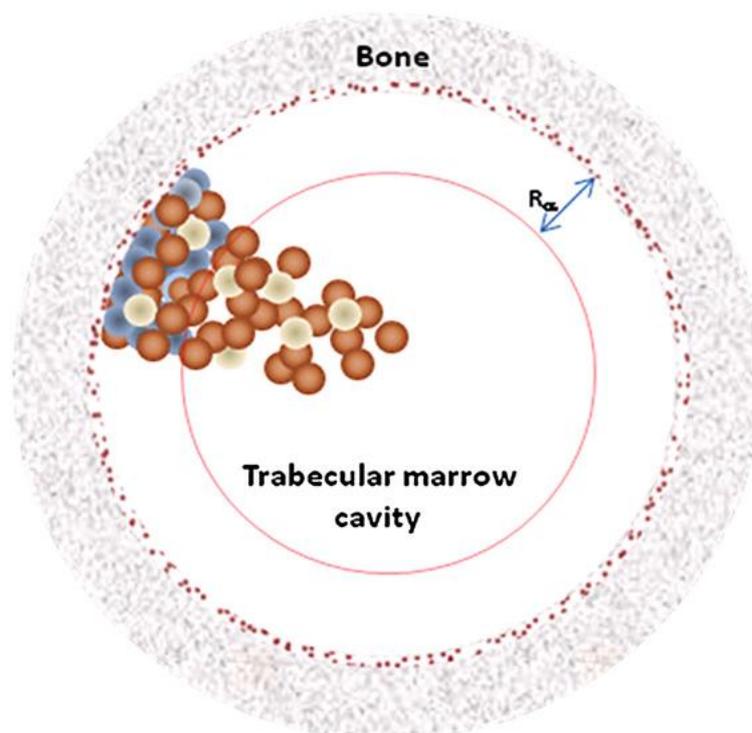


Figura 16 Geometria usada por (Robert F Hobbs et al., 2012) . Esta é uma representação do modelo da cavidade medular. A cavidade é representada por uma esfera de raio  $R_c$ .  $R_\alpha$  é o alcance típico das partículas  $\alpha$  provenientes do decaimento de iões de  $^{223}\text{Ra}$ . As esferas azuis representam células osteoprogenitoras; as esferas castanhas representam células-tronco hematopoiéticas e as esferas brancas representam células adiposas. Retirado de (Robert F Hobbs et al., 2012) (43).

Y Gholami et al., 2015 simularam a distribuição de *hits* num conjunto de 22 células, devido a múltiplas partículas  $\alpha$ , com uma energia de 5,7 Mev. Quando se referem a um *hit*, os autores não se referem à deposição de energia no meio, mas sim à intersecção do núcleo ou do citoplasma das células. Utilizando o Método de Monte Carlo os autores simularam a emissão de 17 148 partículas  $\alpha$ , correspondente a 16 Gy num doente de 70 kg, que é equivalente à dose tipicamente administrada nos doentes no tratamento de mCRPCa.

## Contexto Teórico

Os autores registraram o número de *hits* e a dose depositada, tanto no citoplasma como no núcleo de cada célula, assim como o seu percurso. Os autores usaram um modelo com um fantoma com 22 células, representadas por esferas, dispersas e são emitidas partículas  $\alpha$  com uma energia de 5,7 MeV em direções aleatórias de locais aleatórios, sempre fora das células. Foram feitas 5 simulações independentes, em que cada uma era administrada uma dose de 3,13 Gy. Os resultados estão representados na Figura 17 e na Figura 18.

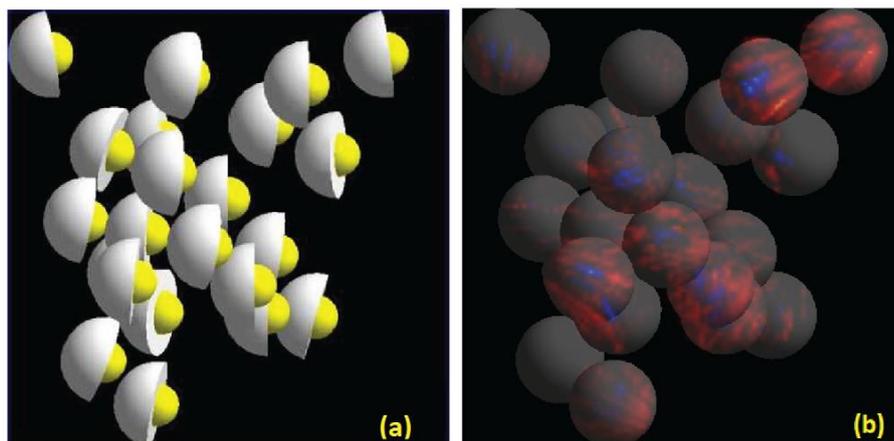


Figura 17 Resultados obtidos por Y Gholami et al., 2015. À esquerda (a) está a distribuição das 22 células no fantoma e à direita (b) o percurso das partículas  $\alpha$  nas células. A azul está representado o percurso no núcleo das células e a vermelho o percurso no citoplasma. Na imagem b) vê-se que há um número maior de interações para o citoplasma do que para o núcleo. Retirado de Y Gholami et al., 2015 (39).

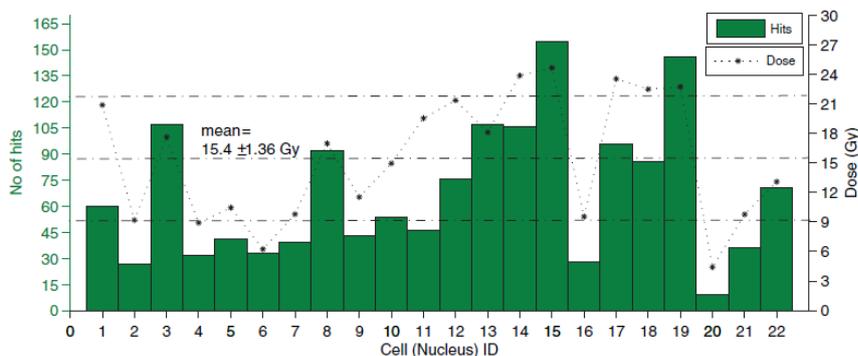


Figura 18 Resultados obtidos por Y Gholami et al., 2015. Número de interações e Dose administrada no núcleo de cada uma das 22 células, individualmente, para uma dose de 15,7 Gy. Há uma clara flutuação tanto na dose administrada em cada uma das células como no número de interações. Retirado de Y Gholami et al., 2015 (39).

Verificou-se que aproximadamente metade dos núcleos celulares recebem uma dose inferior ao valor médio, 4 células recebem menos de 9 Gy e 1 célula recebe apenas 4 Gy. Estes resultados têm algumas implicações, pois de acordo com estes resultados, a eficiência da TαT não depende apenas do efeito direto da RI, mas também devido a efeitos indiretos e há mesmo a possibilidade de existência de efeitos *Bystander* (34).

Hugo M.R. Moreira et al., 2019, investigaram 3 modelos matemáticos diferentes do crescimento do tumor e consideraram o efeito do  $^{223}\text{Ra}$  e compararam os resultados obtidos com dados clínicos publicados. Num primeiro modelo, os autores consideraram um efeito uniforme da RI no tumor, assumindo que todas as células são afectadas de forma idêntica pela RI. Em segundo lugar, os autores consideraram mais 2 modelos para a distribuição da RI, ambos assumem que apenas uma subpopulação do tumor é afectada. O primeiro cenário é um *outer-layer effect*, onde consideram que apenas a superfície do tumor é afectada pela RI. A segunda abordagem, considera que há uma exposição de um volume fixo, ou seja, de um número fixo de células.

Os autores concluíram que o terceiro modelo foi o que melhor previa os resultados observados nos doentes tratados com  $^{223}\text{Ra}$ . Isto significa que há apenas um número máximo de células,  $N_{max}$ , que é afectado pelo  $^{223}\text{Ra}$ , ou seja:

$$\text{Número de células afectadas} = \begin{cases} N_v, & \text{Caso } N_v < N_{max} \\ N_{max} & \text{caso } N_v > N_{max} \end{cases} \quad (16)$$

Onde  $N_v$  é o número de células no volume e  $N_{max}$  é o número máximo de células que o tratamento afecta. Os autores concluíram que a dose administrada ao tumor não é distribuída de forma uniforme pelo volume do tumor, o que é particularmente importante, pois esta suposição é tipicamente usada no planeamento dos tratamentos (10).

Pablo Mínguez et al., 2018, realizaram uma simulação de Monte Carlo de forma a determinar o número médio de interações necessárias, com o núcleo das células, para atingir uma *Tumor Control Probability* (TCP) de 0,90, considerando uma distribuição uniforme de átomos de  $^{223}\text{Ra}$ , para diferentes densidades de massa, radiosensibilidade, rádio do núcleo e volume das lesões. Os autores concluíram, que num tratamento em que são administradas 2 injeções de  $^{223}\text{Ra}$  com 110 kBq/kg, com um intervalo de 6 semanas, mesmo para as células mais radiosensíveis, cerca de 45% das lesões iriam receber doses abaixo da necessária para atingir um TCP de 0,9 (42).



### 3. Materiais e Métodos

---

Para realizar este projeto desenvolveram-se 2 simulações distintas. As simulações foram realizadas em Geant4 (versão 10.6) no Windows 10 e foi necessário instalar o Visual Studio 2019, o CMAKE, o OpenGL e o ROOT.

Adicionalmente, realizou-se a irradiação de uma linha celular humana de metástase óssea de cancro da próstata (PC3) com  $^{223}\text{Ra}$ .

#### 3.1. Geant4

O Geant4 simulation toolkit é um *Monte Carlo simulation programme toolkit* desenvolvido maioritariamente pela Organização Europeia para a Pesquisa Nuclear (CERN - *Conseil européen pour la recherche nucléaire*) e a organização de pesquisa do acelerador de alta energia do Japão (KEK). O Geant4 é um toolkit baseado em programação orientada por objetos, complexo e capaz de simular a passagem de partículas através da matéria (59). O Geant4 é baseado no Método de Monte Carlo, o que permite mimetizar as interações estocásticas das partículas com a matéria e consequentemente reproduzir experiências muito complexas (60).

O Geant4 é *open Source* e tem atualizações constantes, utiliza a linguagem C++ e é usado em diversas áreas como a física de partículas, física nuclear, desenho de aceleradores, engenharia aeroespacial, e física médica (60,61). Na física médica o Geant4 tem várias aplicações como por exemplo o cálculo da dose ocupacional, a radioproteção e a dosimetria a nível celular (62,63).

O Geant4 tem implementado vários tipos de processos físicos capazes de tratar uma grande variedade de partículas e materiais. Para além de nos ser permitido definir a geometria da simulação, também podemos escolher os processos físicos para cada uma das partículas, monitorizar as partículas e visualizar a simulação (59). Adicionalmente, até à data já foram realizadas várias experiências para validar as simulações de forma a tornar o Geant4 um software robusto e de elevada fiabilidade.

## 3.2. Simulação 1

Esta simulação foi desenvolvida para avaliar 2 factores distintos: a distância dos iões de  $^{223}\text{Ra}$  à célula e o diâmetro da célula.

Tal como já foi referido, esta simulação foi desenvolvida no Windows 10 e usou-se o Geant4 (versão 10.6), o Visual Studio 2019, o CMAKE, o ROOT e o OpenGL. Para desenvolver esta simulação usou-se um dos *extended examples* do Geant4: o Hadron06, no qual se fizeram algumas alterações.

A simulação é constituída por várias classes:

1. Hadr06.cc (main);
2. DetectorConstruction.cc, onde está definida a geometria do detector;
3. ElectromagneticPhysics.cc, onde está definida a física eletromagnética, que se aplica a cada uma das partículas;
4. SteppingAction.cc;
5. (...)

O modelo consiste em 1 célula constituída por água e que está também rodeada de água. Estas condições foram usadas dado que S. Incerti et al., 2009, concluíram que usar a água líquida como o constituinte da célula é uma boa aproximação às condições experimentais (64).

### Geometria

A geometria do detector está definida na classe DetectorConstruction.cc. Neste ficheiro está definido o *World* (a composição, formato e dimensões) e a esfera (a composição, formato e dimensões). O *World* é definido como um cubo composto por água e com 800  $\mu\text{m}$  de aresta, centrado no ponto (0, 0, 0).

Para as células, utilizaram-se 2 geometrias diferentes: uma esfera com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro e outra com 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro, em ambas as condições as células estão centradas no ponto (0, 0, 0). Foram usados estes valores para o diâmetro da célula dado que Park S et al., 2014, determinaram o diâmetro de vários tipos de células de cancro da próstata e concluíram que o mesmo pode ir de 7  $\mu\text{m}$  até 15  $\mu\text{m}$  (65). Adicionalmente, considerou-se que para a célula com diâmetro de 15  $\mu\text{m}$ , o seu núcleo tem um raio de de 3,5  $\mu\text{m}$ . E para a célula com 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro considerou-se que o núcleo tem 1,75  $\mu\text{m}$  de raio.

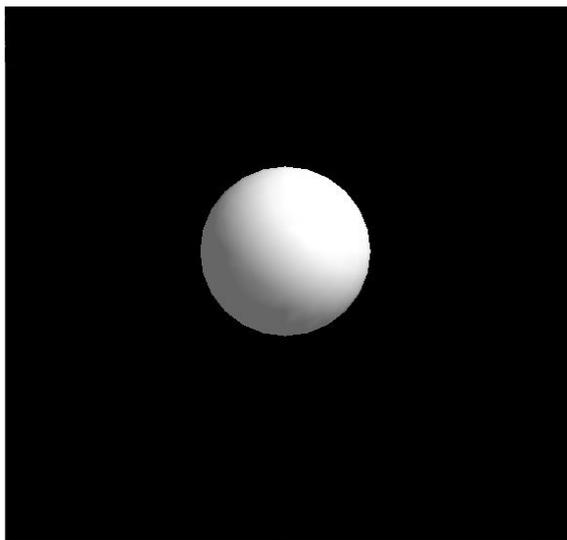


Figura 19 Esfera usada na Simulação 1.

## Física

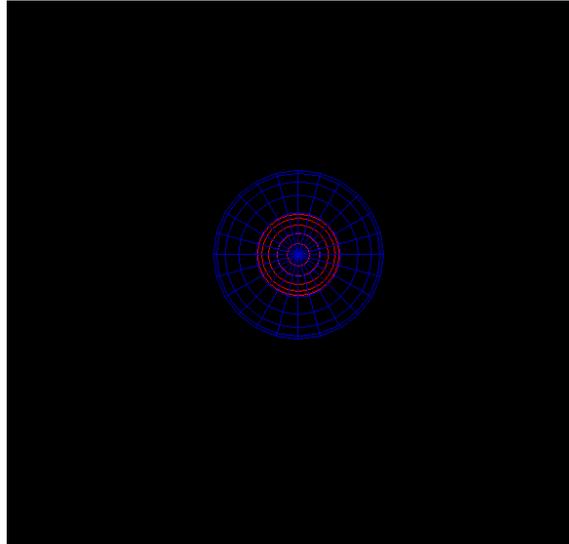
No ficheiro ElectromagneticPhysics.cc está definida a física que se aplica a cada uma das partículas individualmente, para as quais pode haver mais do que 1 processo físico, que competem entre si, aleatoriamente (61).

Os processos físicos que afectam cada uma das partículas são:

- Partículas alfa: *multiple Scattering, ionization e nuclear stopping;*
- Radiação gama: *photoelectric effect, Compton scattering e gamma conversion;*
- Electrões: *multiple scattering, ionization e Bremsstrahlung;*
- Positrões: *multiple scattering, ionization, Bremsstrahlung;*
- Iões: *multiple scattering, nuclear stopping e Ion Parameterized Loss Model.*

## Dados

Para exportar os dados obtidos na simulação foi necessário alterar a classe SteppingAction.cc. Nesta simulação consideram-se 2 volumes diferentes: a célula e o núcleo, ou seja considera-se uma esfera grande (7,5  $\mu\text{m}$  de raio ou 3,5  $\mu\text{m}$  de raio) e considera-se uma esfera mais pequena (3,5  $\mu\text{m}$  de raio ou 1,75  $\mu\text{m}$  de raio), localizada dentro da esfera grande. Podemos observar esta geometria na Figura 20.



*Figura 20 Esfera usada na Simulação 1. A azul pode-se ver o limite da célula (esfera grande) e a vermelho o núcleo da célula. A célula engloba todo o volume dentro da crosta a azul (que também engloba o núcleo) e o núcleo é apenas o volume dentro da crosta a vermelho.*

A energia depositada na célula, para cada interação, foi guardada num ficheiro de texto (CELULA.txt), assim como o tipo de partícula que deu origem à interação. Adicionalmente foi também registado num ficheiro de texto (CELULA\_alfa.txt) a energia depositada na célula devido a apenas partículas  $\alpha$ . Pode ver-se a lógica usada neste processo na Figura 21.

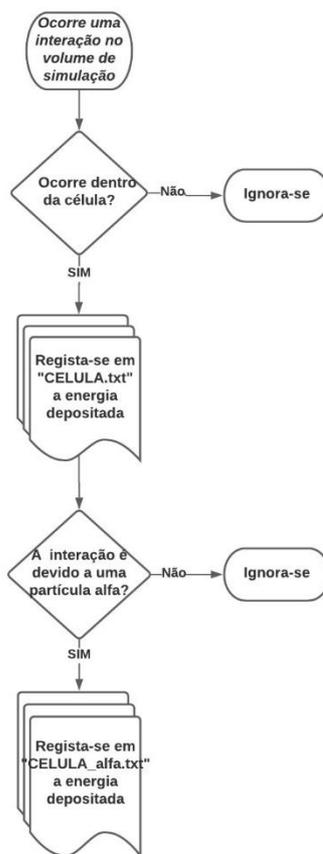


Figura 21 Lógica usada para guardar os dados das interações que ocorrem na célula. Este fluxograma procura explicar de forma simples o código usado para registar em 2 ficheiros de texto distintos a energia depositada em cada interação e a partícula responsável pela interação, com a célula.

Para exportar os dados obtidos na simulação, relativos ao núcleo, registou-se num ficheiro de texto (NUCLEO.txt) a energia depositada no núcleo por interação e o tipo de partícula que deu origem à mesma e, adicionalmente, registou-se noutro ficheiro de texto (NUCLEO\_alfa.txt) a energia depositada no núcleo, apenas se a interação for devido a uma partícula  $\alpha$ . Pode ver-se a lógica usada neste processo na Figura 22.



Figura 22 Lógica usada para guardar os dados das interações que ocorrem no Núcleo. Este fluxograma procura explicar de forma simples o código usado para registar em 2 ficheiros de texto distintos a energia depositada em cada interação e a partícula responsável pela interação, com o Núcleo.

## Análise de Dados

Os programas usados para realizar a análise de dados foram o *Microsoft Excel for Microsoft 365*, o *Rstudio* (versão 4.0.5) e o *Graphpad Prism 9*.

Para cada uma das células consideram-se 4 variáveis diferentes, para as quais se pretende avaliar a progressão, em função da distância dos iões à célula:

- **Probabilidade de uma interação ocorrer na célula** – para cada um dos *runs* recolheu-se o número de interações que ocorrem na célula e o número de interações que ocorrem no *World* e calculou-se:

$$\frac{N_{cell}}{N_{total}} \quad (17)$$

que representa a fração de interações que ocorrem na célula, por *run*.

- **Energia média por interação com a célula** – para cada *run* registou-se a energia total depositada na célula e o número total de interações que ocorrem com a célula e calculou-se:

$$\frac{E_{cell}}{N_{cell}} \quad (18)$$

que representa a energia média por interação com a célula, por *run*.

- **Probabilidade de uma interação ocorrer no núcleo da célula** – tal como para a célula, para cada um dos *runs* registou-se o número de interações com o núcleo e o número de interações que ocorrem no *World* e calculou-se:

$$\frac{N_{nuc}}{N_{total}} \quad (19)$$

que representa a fração de interações que ocorrem no núcleo, por *run*.

- **Energia média por interação com o núcleo** – tal como para a célula, registou-se para cada *run* a energia total depositada no núcleo e o número total de interações com o núcleo e calculou-se:

$$\frac{E_{nuc}}{N_{nuc}} \quad (20)$$

que representa a energia média por interação com o núcleo, por *run*.

Para avaliar qual a distribuição das interações das partículas  $\alpha$ , em função da distância dos íões às células, calculou-se:

- **Fração das interações com a célula devido a partículas alfa** – para todas as interações que ocorrem com a célula calculou-se a fração que é devido a apenas partículas  $\alpha$ :

$$\frac{N_{cell}(alfa)}{N_{cell}} \quad (21)$$

- **Fração da energia depositada na célula devido a interações com partículas alfa** – para cada *run*, calculou-se a fração da energia total depositada na célula devido a interações com partículas  $\alpha$ :

$$\frac{E_{cell}(alfa)}{E_{cell}} \quad (22)$$

- **Fração das interações com o núcleo devido a partículas alfa** – para cada *run*, calculou-se a fração das interações que ocorrem com o núcleo devido partículas  $\alpha$ :

$$\frac{Nnuc(alfa)}{Nnuc} \quad (23)$$

- **Fração da energia depositada no núcleo devido a partículas alfa** – para cada *run*, calculou-se a fração da energia total depositada no núcleo que é devido a interações com partículas  $\alpha$ :

$$\frac{E nuc(alfa)}{E nuc} \quad (24)$$

No caso das 4 frações apresentadas acima, apenas foram considerados os casos em que ocorre qualquer interação com a célula. No caso em que não há interação com a célula ou com o núcleo não se procede ao cálculo das frações apresentadas acima.

Por fim, calculou-se a **probabilidade de ocorrer pelo menos uma interação** com a célula ou com o núcleo, separadamente, devido ao decaimento de 1000 iões de  $^{223}\text{Ra}$ , para cada condição. Para tal considerou-se uma variável binária tal que caso ocorresse pelo menos 1 interação o valor seria 1 e caso não ocorresse nenhuma interação o valor seria 0. De forma a calcular a probabilidade de ocorrer pelo menos 1 interação com a célula ou o núcleo, separadamente, procedeu-se ao cálculo do valor médio e do erro padrão associado, no Rstudio, para cada uma das condições.

### 3.3. Simulação 2

Esta simulação foi desenvolvida com dois objectivos distintos: em primeiro lugar para avaliar qual a distribuição do número de interações nas células e como é distribuída a energia depositada nas células, em segundo lugar para comparar com os resultados da irradiação de células PC3 com  $^{223}\text{Ra}$ .

Tal como para a simulação 1, a simulação 2 foi desenvolvida no Windows 10 e foi usado o Geant4 (versão 10.6), o Visual Studio 2019, o CMAKE, o ROOT e o OpenGL.

De forma a aproximar as condições desta simulação às condições da irradiação das células PC3 foi necessário pensar nas condições da simulação, em função das condições experimentais.

## Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

Dado que na irradiação são usadas células PC3, na simulação considera-se apenas esferas com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro, dado que Park S *et al.*, 2014, concluíram que as células PC3 têm aproximadamente este diâmetro (65).

Na irradiação, as células são irradiadas em poços com 250  $\mu\text{L}$ , o que corresponde a um volume de  $2,5 \times 10^{11} \mu\text{m}^3$ . No entanto, na simulação considera-se que o *World* é igual para todas as condições, isto é considerou-se um *World* de  $8,0 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ , o que corresponde a um cubo com uma aresta de 200  $\mu\text{m}$ .

No que diz respeito ao decaimento do  $^{223}\text{Ra}$ , nas experiências a atividade usada é de 0,3  $\mu\text{Ci}$ , o que corresponde a  $1,11 \times 10^4$  decaimentos por segundo.

Para administrar uma dose de 4 mGy nas células é necessário irradiar as células, em poços com 250  $\mu\text{L}$ , durante 4 minutos e 42 segundos, o que corresponde a um total de  $3,102 \times 10^6$  decaimentos no volume do poço, logo para o volume do *World* há um total de 101 decaimentos.

Dado que o  $^{223}\text{Ra}$  tem uma cadeia de decaimento na qual há emissão de 6 partículas (4 partículas  $\alpha$  e 2 partículas  $\beta$ ) até chegar a um estado estável, se considerarmos apenas as partículas  $\alpha$  temos o equivalente ao decaimento completo de 26 iões de  $^{223}\text{Ra}$ .

Tabela 1 Resumo das condições da simulação.

Nº Iões	Nº partículas alfa emitidas	Nº Células no volume da simulação	Nº Células por mL	Volume da simulação
26	104	1	$0,125 \times 10^6$	$8 \times 10^6 \mu\text{m}^3$
		2	$0,25 \times 10^6$	
		4	$0,5 \times 10^6$	
		8	$1,0 \times 10^6$	
		16	$2,0 \times 10^6$	

De forma a mimetizar as condições experimentais, grande parte do código usado para a simulação 1 foi alterado. Dado que nesta simulação há 5 condições diferentes, nas quais há entre 1 e 16 células no *World*, utilizou-se um método capaz de registar as interações que ocorrem em cada uma das células, separadamente, para além disso dado que as células são irradiadas em suspensão e que se considera que o  $^{223}\text{Ra}$  está distribuído de forma homogénea pelo volume, não pode ser considerada uma fonte pontual.

## Materiais e Métodos

Em primeiro lugar, definiram-se as células, no DetectorConstruction.cc. As células são divididas em 2 partes diferentes: um citoplasma (com um raio interior de 3,75  $\mu\text{m}$  e raio exterior de 7,5  $\mu\text{m}$ ) e um núcleo (com um raio interior de 0  $\mu\text{m}$  e raio exterior de 3,75  $\mu\text{m}$ ). Em cada uma das simulações, à medida que há um incremento do número de células, ou seja de citoplasma e núcleos, é necessário defini-los a todos de forma separada e identificá-los com um nome diferente, para cada um, de forma a conseguir retirar as interações e a energia depositada, em cada um deles, separadamente

Dado que as células têm uma posição fixa ao longo das simulações, é necessário que o decaimento do  $^{223}\text{Ra}$  ocorra de posições aleatórias dentro do *World*. Para tal, foi necessário alterar o PrimaryGeneratorAction.cc de forma a usar o "G4GeneralParticleSource.hh" em vez do "G4ParticleGun.hh". Consequentemente, é necessário definir todas as propriedades iniciais das partículas numa Macro (representada na Figura 23).

```
/control/verbose 2
/run/verbose 2
/testhadr/det/setMat Water_ts
/run/initialize
/vis/geometry/set/visibility World 0 false
/process/list
/gps/particle ion
/gps/ion 88 223
/gps/pos/type Volume
/gps/pos/shape Para
/gps/pos/halfx 0.1 mm
/gps/pos/halfy 0.1 mm
/gps/pos/halfz 0.1 mm
/run/printProgress 5
/run/beamOn 26
```

Figura 23 Macro "Rad223\_final.mac" usada para fazer o decaimento completo de 26 iões de  $^{223}\text{Ra}$ , na simulação 2. A azul define-se que a fonte é um ião, neste caso o  $^{223}\text{Ra}$ . A laranja, define-se que o decaimento vai ocorrer, aleatoriamente, dentro de um paralelepípedo com 0,2 mm de lado. A verde define-se que vai dar-se o decaimento completo de 26 iões de  $^{223}\text{Ra}$ .

Adicionalmente, de forma a conseguir retirar os dados desta simulação foi necessário alterar a classe SteppingAction.cc, pois foi necessário retirar a energia depositada e o tipo de partícula que lhe dá origem, de forma separada.

Como em cada simulação há um número diferente de células (constituídas por um núcleo e um citoplasma), para cada célula é necessário repetir as expressões condicionais representados na Figura 24, para o citoplasma, e na Figura 25, para os núcleos, e guardar os dados em diferentes ficheiros de texto (CITOPLASMA.txt, CITOPLASMA2.txt, CITOPLASMA3.txt, ...) ou (NUCLEO.txt, NUCLEO2.txt, NUCLEO3.txt, ...).

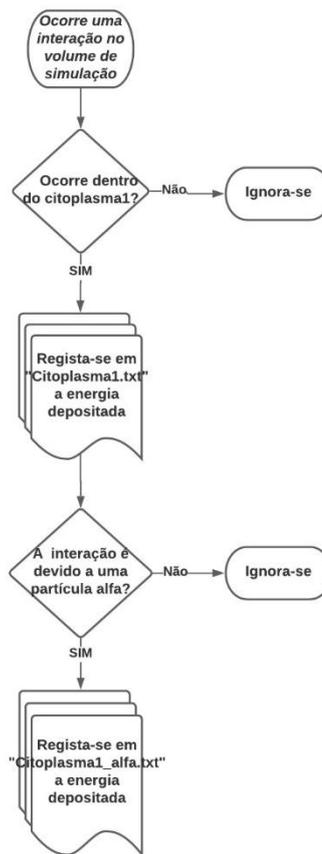


Figura 24 Lógica usada para guardar os dados das interações que ocorrem no citoplasma 1. Este processo é repetido para cada um dos citoplasmas, separadamente. Este fluxograma procura explicar de forma simples o código usado para registar em 2 ficheiros de texto distintos a energia depositada em cada interação e a partícula responsável pela interação, com o citoplasma 1.

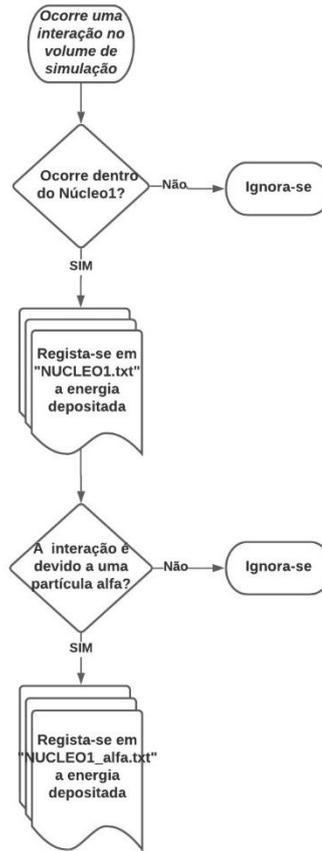


Figura 25 Lógica usada para guardar os dados das interações que ocorrem no Núcleo 1. Este processo é repetido para cada um dos Núcleos, separadamente. Este fluxograma procura explicar de forma simples o código usado para registar em 2 ficheiros de texto distintos a energia depositada em cada interação e a partícula responsável pela interação, com o Núcleo 1.

A lógica apresentada acima nas Figura 24 e Figura 25 é idêntica para todas as simulações, no entanto, para cada citoplasma e para cada núcleo é necessário ter uma condição separada, sendo necessário colocar uma quantidade cada vez maior de condições quando o número de células aumenta.

## Condição 1

Nesta condição considera-se que existe 1 célula no *World*, o que equivale a  $0,125 \times 10^6$  células por mL. A geometria usada está representada na Figura 26.

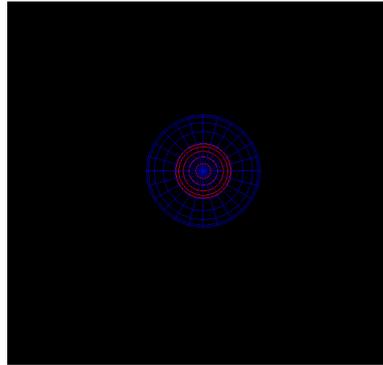


Figura 26 Geometria usada na condição 1, da simulação 2. A célula tem um diâmetro de  $15 \mu\text{m}$  e o núcleo tem  $7,5 \mu\text{m}$  de diâmetro. O citoplasma está representado a azul e o núcleo a vermelho. A célula está centrada no ponto  $(0, 0, 0) \mu\text{m}$ .

## Condição 2

Nesta condição considera-se que existem 2 células no *World*, o que equivale a  $0,25 \times 10^6$  células por mL. A geometria usada está representada na Figura 27.

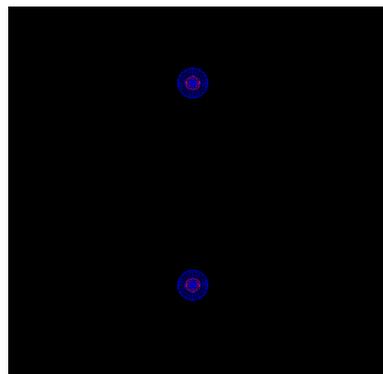


Figura 27 Geometria usada na condição 2, da simulação 2. Nesta simulação há 2 células no *World* e ambas têm um diâmetro de  $15 \mu\text{m}$  e o seu núcleo tem  $7,5 \mu\text{m}$  de diâmetro. O citoplasma está representado a azul e o núcleo a vermelho. As células estão centradas em  $(0, -50, 50) \mu\text{m}$  e  $(0, 50, -50) \mu\text{m}$ .

### Condição 3

Nesta condição considera-se que existem 4 células no *World*, o que equivale a  $0,5 \times 10^6$  células por mL. A geometria usada está representada na Figura 28.

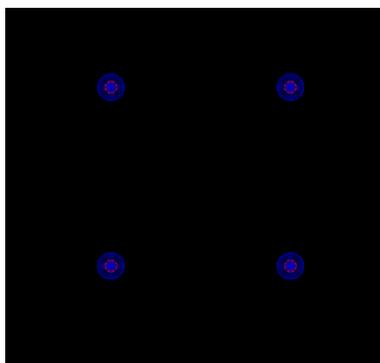


Figura 28 Geometria usada na condição 3, da simulação 2. Nesta simulação há 4 células no *World* e ambas têm um diâmetro de  $15 \mu\text{m}$  e o seu núcleo tem  $7,5 \mu\text{m}$  de diâmetro. O citoplasma está representado a azul e o núcleo a vermelho. As células estão centradas em  $(-50, -50, 50) \mu\text{m}$ ,  $(50, 50, 50) \mu\text{m}$ ,  $(-50, 50, -50) \mu\text{m}$  e  $(50, -50, -50) \mu\text{m}$ .

### Condição 4

Nesta condição considera-se que existem 8 células no *World*, o que equivale a  $1,0 \times 10^6$  células por mL. A geometria usada está representada na Figura 29.

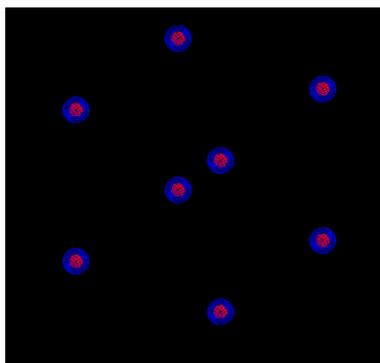


Figura 29 Geometria usada na condição 4, da simulação 2. Nesta simulação há 8 células no *World* e ambas têm um diâmetro de  $15 \mu\text{m}$  e o seu núcleo tem  $7,5 \mu\text{m}$  de diâmetro. O citoplasma está representado a azul e o núcleo a vermelho. As células estão centradas em  $(-50, -50, 50) \mu\text{m}$ ,  $(50, 50, 50) \mu\text{m}$ ,  $(50, -50, 50) \mu\text{m}$ ,  $(50, 50, 50) \mu\text{m}$ ,  $(-50, -50, -50) \mu\text{m}$ ,  $(-50, 50, -50) \mu\text{m}$ ,  $(50, 50, -50) \mu\text{m}$  e  $(50, -50, -50) \mu\text{m}$ .

## Condição 5

Nesta condição considera-se que existem 16 células no *World*, o que equivale a  $2,0 \times 10^6$  células por mL. A geometria usada está representada na Figura 30.

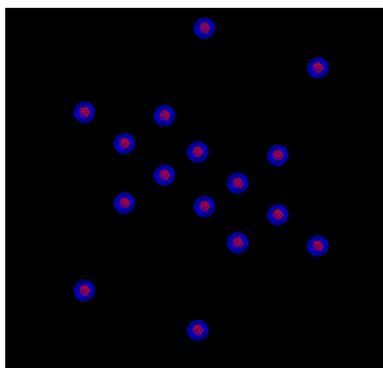


Figura 30 Geometria usada na condição 5, da simulação 2. Nesta simulação há 16 células no *World* e ambas têm um diâmetro de  $15 \mu\text{m}$  e o seu núcleo tem  $7,5 \mu\text{m}$  de diâmetro. O citoplasma está representado a azul e o núcleo a vermelho. As células estão centradas em  $(50, -25, 25) \mu\text{m}$ ,  $(-50, -25, 25) \mu\text{m}$ ,  $(50, -75, 75) \mu\text{m}$ ,  $(-50, -75, 75) \mu\text{m}$ ,  $(50, 25, 15) \mu\text{m}$ ,  $(-50, 25, 25) \mu\text{m}$ ,  $(50, 75, 75) \mu\text{m}$ ,  $(-50, 75, 75) \mu\text{m}$ ,  $(50, -25, -25) \mu\text{m}$ ,  $(-50, -25, -25) \mu\text{m}$ ,  $(50, -75, -75) \mu\text{m}$ ,  $(-50, -75, -75) \mu\text{m}$ ,  $(50, 25, -75) \mu\text{m}$ ,  $(-50, 25, -25) \mu\text{m}$ ,  $(50, 75, -75) \mu\text{m}$  e  $(-50, 75, -75) \mu\text{m}$ .

## Análise de Dados

Para realizar a análise de dados, para cada uma das condições representou-se um Boxplot das seguintes variáveis:

- Número de interações com o citoplasma;
- Número de interações com o núcleo;
- Energia depositada no citoplasma [MeV];
- Energia depositada no núcleo [MeV].

No caso de haver mais do que uma célula, fez-se o Boxplot de todas as amostras em simultâneo, ou seja não se fez distinção de células.

Para realizar os Boxplots utilizou-se o Matlab R2015b.

Adicionalmente, realizaram-se violinplots (apresentados em ANEXO), para cada uma das condições; neste caso fez-se distinção de células. Para construir os violinplots utilizou-se o *Rstudio* (versão 4.0.5).

Adicionalmente, representou-se a probabilidade de haver interação com o citoplasma e a probabilidade de haver interação com o núcleo. Para tal, para cada uma das condições, representou-se o valor médio da probabilidade de interação para cada uma das células,

e o erro padrão associado, e posteriormente realizou-se um ajuste não-linear. Para realizar a representação dos dados e o ajuste não-linear usou-se o *Graphpad Prism 9*. A análise de dados foi realizada com o *Rstudio* (versão 4.0.5), o *Matlab R2015b*, o *Graphpad Prism 9* e o *Microsoft Excel for Microsoft 365*.

### 3.4. Irradiação de Células PC3 com $^{223}\text{Ra}$

#### Linha celular

Para irradiar as células PC3 com  $^{223}\text{Ra}$ , utilizou-se a linha celular humana de cancro da próstata PC3 (ATCC<sup>®</sup> CRL-1435<sup>™</sup>), que são células aderentes, e foram mantidas, de acordo com as instruções do fornecedor, em monocamada, a 37°C, numa atmosfera húmida com 5% de CO<sub>2</sub> e numa incubadora Binder. O meio usado para fazer manutenção celular foi o meio RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*, sigma, R4130) suplementado com 5% de FBS (*Fetal Bovine Serum*, sigma, F7524). A linha celular utilizada foi obtida da American Type Culture Collection (ATCC<sup>®</sup>, Rockville, MD, E.U.A.) (66,67).

#### Protocolo

Começou-se por medir o volume de  $^{223}\text{Ra}$  disponível, quantificar a atividade ( $A_0$ ) do volume total de  $^{223}\text{Ra}$  e calcular o volume necessário de  $^{223}\text{Ra}$  para ter uma atividade de 0,3  $\mu\text{Ci}$ .

Na câmara de fluxo, destacaram-se as células do frasco de cultura e calculou-se o número de células por mL na suspensão celular resultante e, posteriormente, calculou-se o número total de células.

Calculou-se o volume de suspensão celular necessário para obter  $3 \times 10^6$  células, colocou-se o respetivo volume num falcon e centrifugou-se durante 5 minutos a 1000 rpm. Ao fim dos 5 minutos, ressuspendeu-se o pellet em 1,5 mL de meio e realizaram-se várias diluições sucessivas da seguinte forma:

1. Inicialmente, ressuspendeu-se o pellet em 1,5 mL de meio, retirou-se 0,75 mL da suspensão celular para um falcon e reservou-se. Esta suspensão tem  $2 \times 10^6$  células/mL.

## Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

2. De seguida, no restante volume de suspensão celular, adicionou-se 0,75 mL de meio, ressuspendeu-se e retirou-se 0,75 mL da suspensão para um falcon e reservou-se. Esta suspensão tem  $1 \times 10^6$  células/mL.

3. Adicionou-se, de novo, 0,75 mL de meio à suspensão celular, ressuspendeu-se e retirou-se 0,75 mL da suspensão celular para um falcon e reservou-se. Esta suspensão tem  $0,5 \times 10^6$  células/mL.

4. Por fim, adicionou-se 0,75 mL de meio à suspensão celular e ressuspendeu-se. Esta é a suspensão celular final que tem  $0,25 \times 10^6$  células/mL.

Numa placa de 48 poços, colocou-se 250  $\mu$ L de cada uma das 4 suspensões celulares, por poço, de acordo com o esquema da Figura 31.

Concentração de $2 \times 10^6$ células/mL	Ct	4 mGy					Ct	Ct	Concentração de $0,25 \times 10^6$ células/mL
							4mGy	4mGy	
Concentração de $1 \times 10^6$ células/mL	Ct	4mGy							
Concentração de $0,5 \times 10^6$ células/mL	Ct	4mGy							

Figura 31 Esquema da placa de 48 poços, onde são irradiadas as células. Na placa de 48 poços, coloca-se 250  $\mu$ L de suspensão celular em cada um dos poços, de acordo com a concentração necessária. Para cada concentração é necessário colocar tantos controlos como poços para irradiação.

Adicionou-se o volume necessário de  $^{223}\text{Ra}$ , para ter uma atividade de 0,3  $\mu$ Ci, a cada um dos poços a irradiar (representados como 4 mGy, na Figura 31) e aguardou-se 4 minutos e 42 segundos. Ao final dos 4 minutos e 42 segundos, numa placa de 24 poços, colocou-se 30 000 células, por poço, com 500  $\mu$ L de RPMI. A Tabela 2 representa os volumes de suspensão celular necessários de forma a obter 30000 células. Estes foram adicionados numa placa de 24 poços tal como apresentado na Figura 32.

Tabela 2 A tabela representa o volume de suspensão celular que é necessário colocar na placa de 24 poços, para obter 30000 células.

Número de células por mL	Volume de suspensão celular adicionado
$2 \times 10^6$ células/mL	15,0 $\mu$ L
$1 \times 10^6$ células/mL	30,0 $\mu$ L
$0,5 \times 10^6$ células/mL	60,0 $\mu$ L
$0,25 \times 10^6$ células/mL	120,0 $\mu$ L

## Materiais e Métodos

2 * 10 * 10 <sup>6</sup> células/mL durante a irradiação	Ct	Ct	Ct	4mGy	4mGy	4mGy
1 * 10 * 10 <sup>6</sup> células/mL durante a irradiação	Ct	Ct	Ct	4mGy	4mGy	4mGy
0,5 * 10 * 10 <sup>6</sup> células/mL durante a irradiação	Ct	Ct	Ct	4mGy	4mGy	4mGy
0,25 * 10 * 10 <sup>6</sup> células/mL durante a irradiação	Ct	Ct	Ct	4mGy	4mGy	4mGy

Figura 32 Esquema da placa final, de 24 poços.

No final de todo o procedimento, deixou-se a incubar a placa de 24 poços durante 8 dias, a 5% de CO<sub>2</sub> e 37°C.

Ao final de 8 dias, avaliou-se a viabilidade celular usando a técnica de Sulforhodamine B (SRB).

## Ensaio de SRB

O ensaio de SRB é muito usado desde que foi desenvolvido, em 1990. O protocolo divide-se em 3 partes distintas: fixação das células, corar as células com SRB e medir a absorbância (68). O ensaio de SRB é usado para determinar a densidade celular, baseando-se na medição do conteúdo proteico das células e permite-nos avaliar a citotoxicidade de compostos nas células (69).

No final, a quantidade de corante resultante é diretamente proporcional ao número de células presente no poço. Este ensaio tem sido largamente usado em testes de toxicidade de alguns tratamentos contra diferentes tipos de linhas celulares malignas e benignas (70).

Dado que a quantidade de corante é diretamente proporcional ao conteúdo proteico, a viabilidade celular da amostra é representada como uma percentagem da absorbância medida, em relação aos controlos, ou seja:

$$Viabilidade (\%) = \frac{m\u00e9dia[Abs_{540} - Abs_{690}] da amostra}{m\u00e9dia[Abs_{540} - Abs_{690}] dos controlos} * 100\% \quad (25)$$

## Procedimento

Ao final dos 8 dias de incubação, descarta-se o meio de todos os poços, lava-se com PBS (1x) e descarta-se o PBS. Para fixar as células, coloca-se 300  $\mu$ L de ácido acético (1%) em metanol, guardado no congelador, e coloca-se a placa no frigorífico durante cerca de 2 horas.

Descarta-se o ácido acético em metanol e deixa-se secar durante cerca de 10 minutos. Coloca-se 300  $\mu$ L de SRB 0,4% (em ácido acético 1%), em cada poço, e deixa-se a placa num local escuro à temperatura ambiente, durante 1 hora.

Descarta-se o SRB e lava-se em água corrente, até a placa não se encontrar tingida, deixa-se secar e adiciona-se 300  $\mu$ L de TrisNaOH 10 mM (pH=10), por poço, e deixa-se agitar durante cerca de 20 minutos para dissolver o SRB.

Por fim, mede-se a absorbância de cada poço. Esta é medida a 540 nm, usando como filtro de referência o comprimento de onda de 690 nm, no PerkinElmer Enspire Multimode Reader.

## Análise de Dados

No total realizou-se 4 vezes todo o procedimento, em dias diferentes, no entanto na análise de dados só se considerou 3 devido a incoerências e erro humano.

A análise de dados foi realizada com o *Graphpad Prism 9*.



## 4. Resultados

### 4.1. Simulação 1

Na simulação 1 pretendeu-se avaliar 2 factores: qual a influência na energia depositada na célula e no núcleo, considerando várias distâncias do ião  $^{223}\text{Ra}$  à célula e qual a fração da energia depositada que é devido a interações com partículas  $\alpha$ , mas também a influência do diâmetro da esfera.

Consideraram-se 2 esferas com diâmetros diferentes: uma esfera com 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro e outra com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro, conseqüentemente o diâmetro do núcleo também é diferente. Nas simulações, cada *run* consiste no decaimento completo de 1000 iões de  $^{223}\text{Ra}$  e repetiu-se esta experiência 1000 vezes para cada condição.

#### Esfera com 7 $\mu\text{m}$ de diâmetro

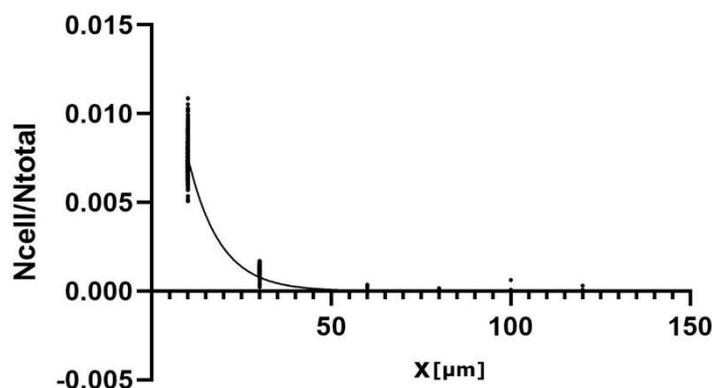


Figura 33 Gráfico da probabilidade de uma interação ocorrer na célula ( $N_{\text{cell}}/N_{\text{total}}$ ), para diferentes valores de  $x$ , para a esfera com 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Para cada valor de  $x$  (10, 30, 60, 80, 100, 120) há 1000 amostras e no total há 6000 amostras. Fazendo um ajuste a uma regressão não linear obtém-se a seguinte função:  $y=0,02360 \cdot e^{-0,1137 \cdot x}$ , com  $R^2=0,9782$ .

Na Figura 33 estão os resultados obtidos para a probabilidade de uma interação ocorrer na célula, ( $N_{\text{cell}}/N_{\text{total}}$ ), calculada pela fração do número de interações que ocorrem na célula com o número de interações que ocorrem no volume da simulação. Ao todo, para cada  $x$  (posição inicial dos iões de Rádio-223 [ $\mu\text{m}$ ]) há 1000 amostras.

## Resultados

A função,  $N_{cell}/N_{total}$ , é representada em função de  $x$  e pode ser traduzida por:

$$\frac{N_{cell}}{N_{total}} = 0,02360 * e^{-0,1137*x} \quad (26)$$

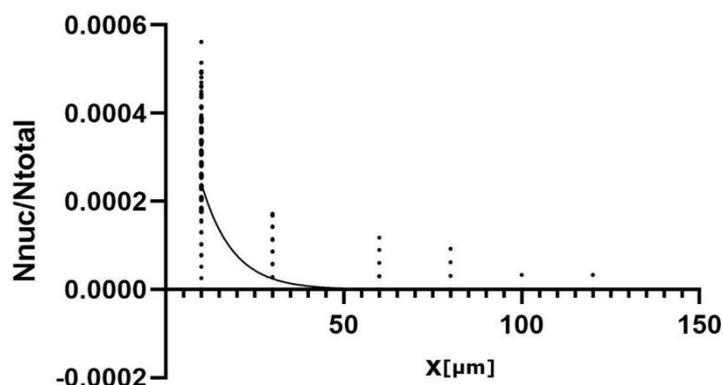


Figura 34 Gráfico da probabilidade de uma interação ocorrer no núcleo da célula, ( $N_{nuc}/N_{total}$ ), para diferentes valores de  $x$ , para a esfera com  $7 \mu\text{m}$  de diâmetro. Para cada valor de  $x$  (10, 30, 60, 80, 100, 120) há 1000 amostras e no total há 6000 amostras. Fazendo um ajuste a uma regressão não linear obtém-se a seguinte função:  $y=0,0007574 * e^{-0,1141*x}$ , com  $R^2=0,8214$ .

Na Figura 34 estão os resultados para a probabilidade de uma interação ocorrer no núcleo da célula, ( $N_{nuc}/N_{total}$ ), calculada pela fração do número de interações que ocorrem com o núcleo com o número de interações que ocorrem no volume da simulação. No total, para cada  $x$  (posição inicial dos íons de Rádio-223 [ $\mu\text{m}$ ]) há 1000 amostras.

A função,  $N_{nuc}/N_{total}$ , é representada em função de  $x$  segundo a equação:

$$\frac{N_{nuc}}{N_{total}} = 0,0007574 * e^{-0,1141*x} \quad (27)$$

## Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

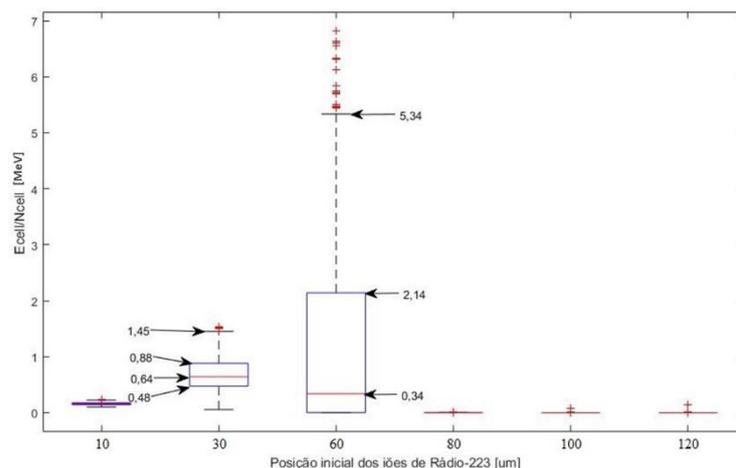


Figura 35 Boxplots para cada um dos 6 pontos de emissão da (Energia depositada na célula, por run)/(Número de interações com a célula, por run) [MeV], para a esfera de 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro. A fração (Ecell/Ncell) representa a energia média depositada na célula por interação, para cada run. Para cada x há 1000 amostras e no total considerou-se 6000 amostras.

Na Figura 35 estão os resultados para a energia média depositada na célula, por interação, (Ecell/Ncell), calculada pela divisão da energia total depositada na célula, por o número total de interações com a célula. No total, para cada x (posição inicial dos iões de Rádio-223 [ $\mu\text{m}$ ]) há 1000 amostras.

Na Figura 35 vê-se que os únicos pontos em que a energia média por interação é maior do que zero é em  $x=30 \mu\text{m}$  e  $x=60 \mu\text{m}$ . Em  $x=30 \mu\text{m}$  a mediana é igual a 0,64 e em  $x=60 \mu\text{m}$  a mediana é igual a 0,34, no entanto cerca de 25% da amostra para  $x=60 \mu\text{m}$  está situada acima do limite superior para  $x=30 \mu\text{m}$ . Adicionalmente, verifica-se que a amplitude interquartil é muito maior para  $x=60 \mu\text{m}$  e que a distribuição da amostra é assimétrica (50% da amostra está situada abaixo de 0,34).

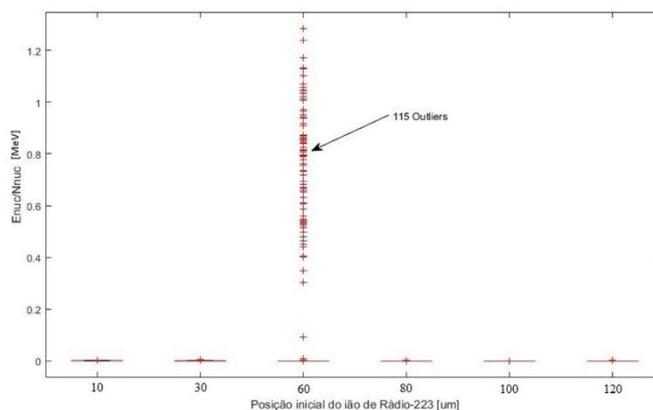


Figura 36 Boxplots para cada um dos 6 pontos de emissão da (Energia depositada no núcleo, por run)/(Número de interações com o núcleo, por run) [MeV], para a esfera com 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro. A fração (Enuc/Nnuc) representa a energia média depositada no núcleo em cada interação, para cada run.

## Resultados

Na Figura 36 estão os resultados para a energia média depositada no núcleo, por interação, ( $E_{nuc}/N_{nuc}$ ), calculada pela divisão da energia total depositada em todas as interações com o núcleo por o número total de interações com o núcleo. No total, para cada  $x$  (posição inicial dos iões de Rádio-223 [ $\mu\text{m}$ ]) há 1000 amostras. De acordo com este gráfico, para o núcleo, a energia média depositada por interação é maioritariamente igual a zero.

### Interações devido a partículas alfa

Para avaliar qual a fração de interações resultante de interações com partículas  $\alpha$ , considerou-se apenas os casos em que a posição inicial do ião de  $^{223}\text{Ra}$  é: 10  $\mu\text{m}$ , 30  $\mu\text{m}$ , 60  $\mu\text{m}$  e 80  $\mu\text{m}$ , dado que a partir de 80  $\mu\text{m}$  não há qualquer interação devido a partículas  $\alpha$ . Adicionalmente, para cada  $x$  (posição inicial dos iões de Rádio-223 [ $\mu\text{m}$ ]) há um número diferente de amostras, pois só se considera os casos em que há pelo menos uma interação com a célula ou com o núcleo.

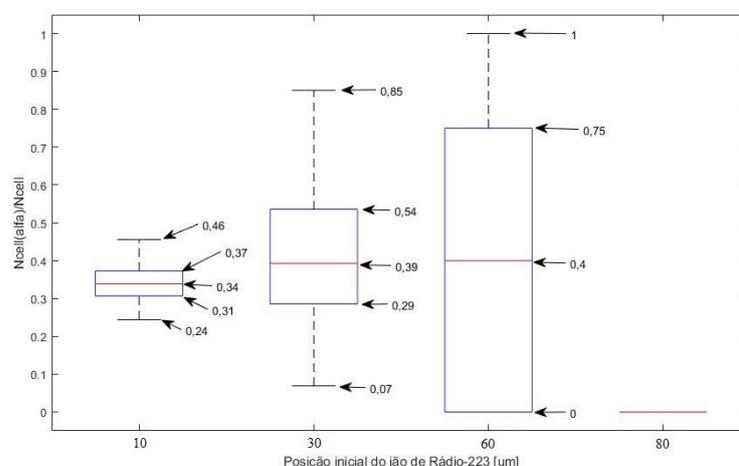


Figura 37 Boxplots da fração do número de interações com a célula devido a partículas  $\alpha$ , relativamente ao número de interações com a célula, para a esfera com 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Neste gráfico consideram-se apenas os runs em que há pelo menos uma interação com a célula, logo o número de amostras consideradas para cada  $x$  é diferente.

Na Figura 37 encontram-se os Boxplots para a fração de interações com a célula, que são devido a partículas  $\alpha$ , para cada valor de  $x$ . De acordo com a figura acima, em  $x=10$   $\mu\text{m}$  e  $x=30$   $\mu\text{m}$ , quando há pelo menos uma interação com a célula, há sempre pelo menos uma interação devido a partículas  $\alpha$ , no entanto em  $x=10$   $\mu\text{m}$  estas são responsáveis no máximo por 46% das interações e para  $x=30$   $\mu\text{m}$  este valor é de 85%. O

único ponto em que existe a possibilidade de 100% das interações serem devido a partículas  $\alpha$  é em  $x=60 \mu\text{m}$ .

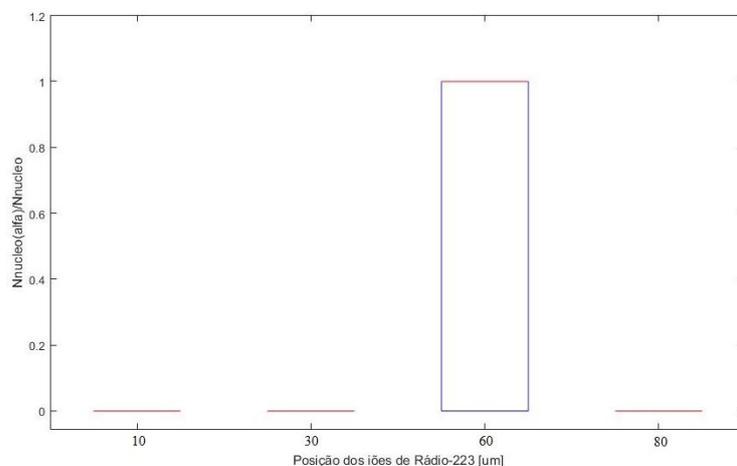


Figura 38 Boxplots da fração do número de interações com o núcleo devido a partículas  $\alpha$ , relativamente ao número de interações com o núcleo, para a esfera com  $7 \mu\text{m}$  de diâmetro. Neste gráfico consideram-se apenas os runs em que há pelo menos uma interação com o núcleo, logo o número de amostras consideradas para cada  $x$  é diferente.

Na Figura 38 observam-se os Boxplots para a fração do número de interações com o núcleo, que são devido a partículas  $\alpha$ , para cada valor de  $x$ . Para  $x=10 \mu\text{m}$ ,  $x=30 \mu\text{m}$  e  $x=80 \mu\text{m}$  não há interações devido a partículas  $\alpha$ . No entanto verifica-se que, quando há interações com o núcleo, em  $x=60 \mu\text{m}$  grande parte das interações são devido a partículas  $\alpha$ , sendo a mediana igual a 1.

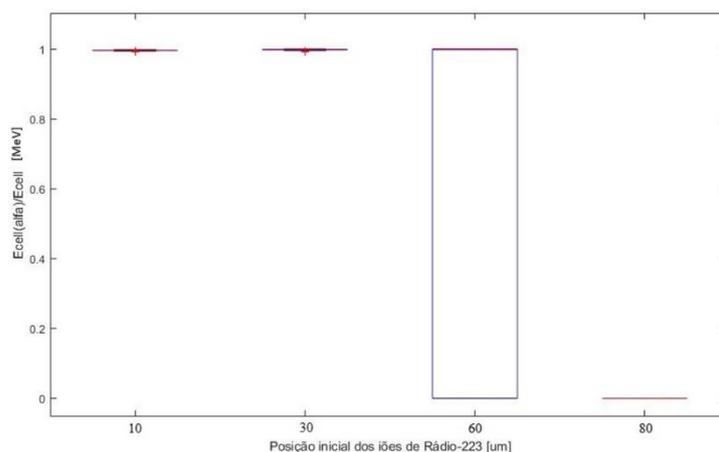


Figura 39 Boxplots da fração da energia depositada na célula devido a partículas  $\alpha$ , relativamente à energia total depositada na célula, para a esfera com  $7 \mu\text{m}$  de diâmetro. Neste gráfico consideram-se apenas os runs em que há pelo menos uma interação com a célula, logo o número de amostras consideradas para cada  $x$  é diferente.

## Resultados

Na Figura 39 estão os Boxplots para a fração da energia depositada na célula, que é devido a interações com partículas  $\alpha$ , para cada valor de  $x$ . Em  $x=80 \mu\text{m}$  não há interações devido a partículas  $\alpha$ . Em  $x=10 \mu\text{m}$  e em  $x=30 \mu\text{m}$  toda a energia depositada é devido a partículas  $\alpha$ . Para  $x=60 \mu\text{m}$  verifica-se que em grande parte dos runs a energia depositada na célula é devido a partícula  $\alpha$ , no entanto nem sempre é verdade.

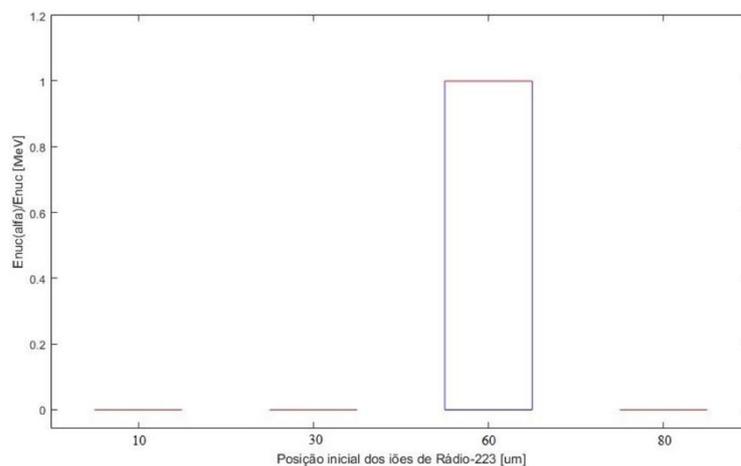


Figura 40 Boxplots da fração da energia depositada no núcleo devido a partículas  $\alpha$ , relativamente à energia depositada no núcleo, para a esfera com  $7 \mu\text{m}$  de diâmetro. Neste gráfico consideram-se apenas os runs em que há pelo menos uma interação com o núcleo, pelo que o número de amostras consideradas para cada  $x$  é diferente.

Na Figura 40 estão os Boxplots para a fração da energia depositada no núcleo, que é devido a interações com partículas  $\alpha$ , para cada valor de  $x$ . Para  $x=10 \mu\text{m}$ ,  $x=30 \mu\text{m}$  e  $x=80 \mu\text{m}$  não há deposição de energia devido a partículas  $\alpha$ . O único ponto em que há deposição de energia devido a partículas  $\alpha$  é em  $x=60 \mu\text{m}$  e em grande parte dos casos toda a energia depositada é devido a partículas  $\alpha$ , no entanto nem sempre isto é verdade.

Esfera com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro

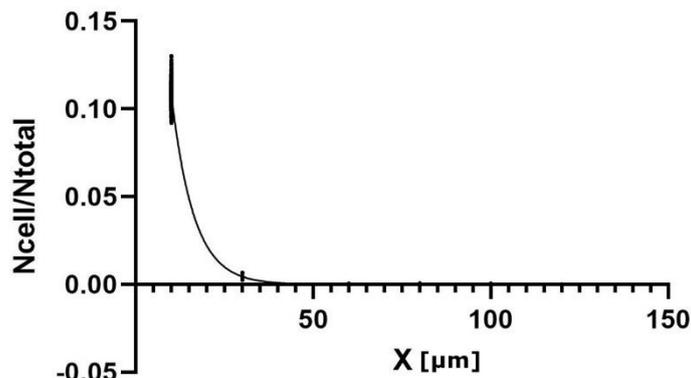


Figura 41 Gráfico da probabilidade de uma interação ocorrer na célula ( $N_{cell}/N_{total}$ ), para diferentes valores de  $x$ , para a esfera com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Para cada valor de  $x$  (10, 30, 60, 80, 100, 120) há 1000 amostras e no total há 6000 amostras. Fazendo um ajuste não linear obtém-se a seguinte função:  $y=0,5352 * e^{-0,1594 * x}$ , com um  $R^2=0,9953$ .

Na Figura 41 estão os resultados para a probabilidade de uma interação ocorrer na célula, ( $N_{cell}/N_{total}$ ), calculada pela fração do número de interações que ocorrem na célula com o número de interações que ocorrem no volume da simulação. No total, para cada  $x$  (posição inicial dos iões de Rádio-223 [ $\mu\text{m}$ ]) há 1000 amostras.

A função,  $N_{cell}/N_{total}$ , é representada em função de  $x$  segundo a equação:

$$\frac{N_{cell}}{N_{total}} = 0,5352 * e^{-0,1594 * x} \quad (28)$$

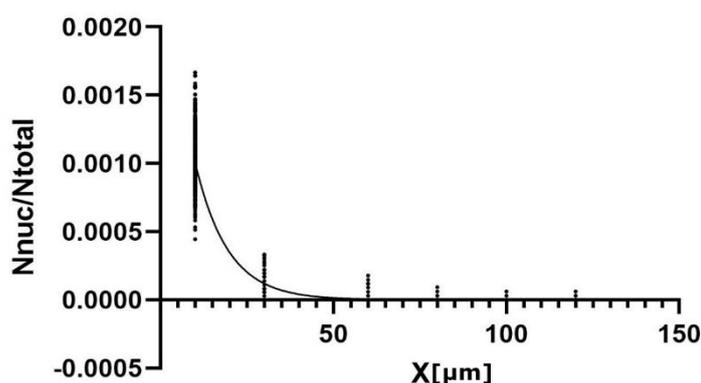


Figura 42 Gráfico da probabilidade de uma interação ocorrer no núcleo da célula ( $N_{nuc}/N_{total}$ ), para diferentes valores de  $x$ , para a esfera com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Para cada valor de  $x$  (10, 30, 60, 80, 100, 120) há 1000 amostras e no total há 6000 amostras. Fazendo um ajuste não linear obtém-se a seguinte função:  $y=0,002941 * e^{-0,1066 * x}$ , com um  $R^2=0,9383$ .

## Resultados

Na Figura 42 estão os resultados para a probabilidade de uma interação ocorrer no núcleo da célula, ( $N_{nuc}/N_{total}$ ), calculada pela divisão do número de interações que ocorrem com o núcleo pelo número total de interações que ocorrem no volume da simulação. No total, para cada  $x$  (posição inicial dos íons de Rádio-223 [ $\mu\text{m}$ ]) há 1000 amostras.

A função,  $N_{nuc}/N_{total}$ , é representada em função de  $x$ , que pode ser traduzida por:

$$\frac{N_{nuc}}{N_{total}} = 0,002941 * e^{-0,1066*x} \quad (29)$$

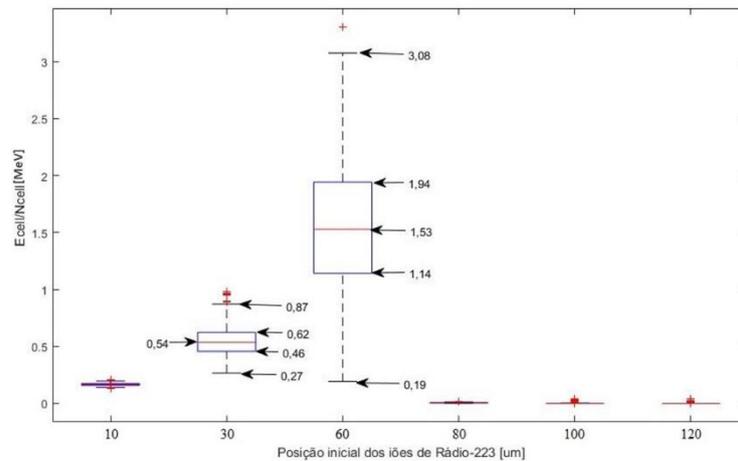


Figura 43 Boxplots para cada um dos 6 pontos de emissão da (Energia depositada na célula, por run)/(Número de interações com a célula, por run), para a esfera de 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro. A fração ( $E_{cell}/N_{cell}$ ) representa a energia média depositada na célula por interação, em cada run. Para cada  $x$  há 1000 amostras e no total foram consideradas 6000 amostras.

Na Figura 43 estão os resultados para a energia média depositada na célula, por interação, ( $E_{cell}/N_{cell}$ ), calculada pela divisão da energia total depositada na célula, pelo número total de interações com a célula. No total, para cada  $x$  (posição inicial dos íons de Rádio-223 [ $\mu\text{m}$ ]) há 1000 amostras.

Na Figura 43 observa-se que os únicos pontos em que a energia média por interação é maior do que zero é em  $x=10 \mu\text{m}$ ,  $x=30 \mu\text{m}$  e  $x=60 \mu\text{m}$ . Em  $x=30 \mu\text{m}$  a mediana é igual a 0,54 e em  $x=60 \mu\text{m}$  a mediana é igual a 1,53. Neste gráfico vê-se que, claramente, grande parte das interações em  $x=60 \mu\text{m}$  têm uma energia média maior do que para todos os outros pontos e um pico deste ponto. Adicionalmente, para  $x=30 \mu\text{m}$  a amplitude interquartil é muito menor do que para  $x=60 \mu\text{m}$ .

## Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

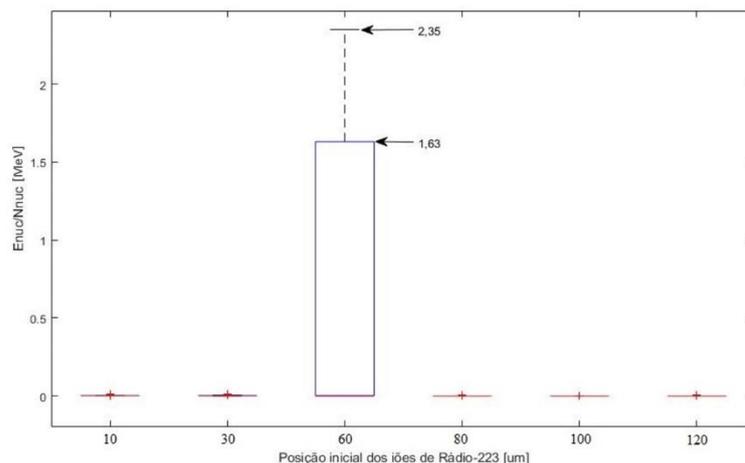


Figura 44 Boxplots para cada um dos 6 pontos de emissão da (Energia depositada no núcleo, por run)/(Número de interações com o núcleo, por run), para a esfera com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro. A fração ( $E_{nuc}/N_{nuc}$ ) representa a energia média depositada no núcleo em cada interação, por run. Para cada  $x$  há 1000 amostras e no total foram consideradas 6000 amostras.

Na Figura 44 encontram-se os resultados para a energia média depositada no núcleo, por interação, ( $E_{nuc}/N_{nuc}$ ), calculada pela divisão da energia total depositada em todas as interações com o núcleo por o número total de interações com o núcleo. No total, para cada  $x$  (posição inicial dos íões de Rádio-223 [ $\mu\text{m}$ ]) há 1000 amostras, que representam cada *run*.

Este gráfico é particularmente interessante, pois o único ponto em que a energia média por interação no núcleo é maior do que zero é em  $x=60 \mu\text{m}$ . Apesar de em  $x=60 \mu\text{m}$  a mediana ser nula há claramente um pico neste ponto.

### Interação devido a partículas alfa

Para as interações devido a partículas  $\alpha$ , considerou-se apenas os casos em que a posição inicial do íão de  $^{223}\text{Ra}$  é: 10  $\mu\text{m}$ , 30  $\mu\text{m}$ , 60  $\mu\text{m}$  e 80  $\mu\text{m}$ , pois a partir de 80  $\mu\text{m}$  não há interações devido a partículas  $\alpha$ . Adicionalmente, para cada  $x$  (posição inicial dos íões de Rádio-223 [ $\mu\text{m}$ ]) há um diferente número de amostras, pois só se considera os casos em que há pelo menos uma interação com a célula ou com o núcleo, caso contrário os resultados não teriam valor.

## Resultados

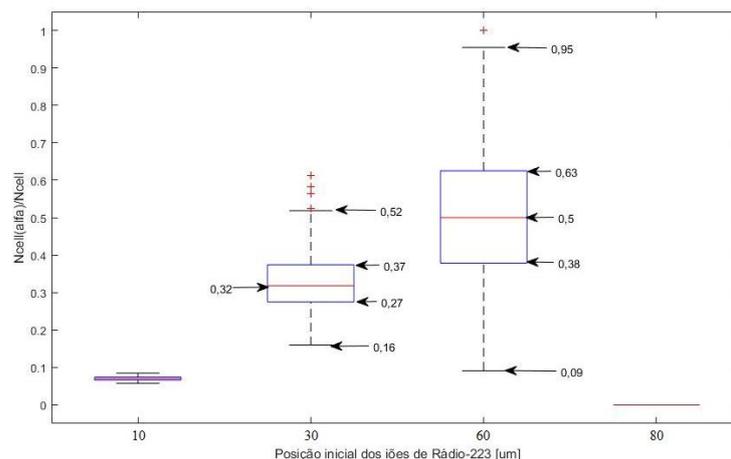


Figura 45 Boxplots da fração do número de interações com a célula devido a partículas  $\alpha$ , relativamente ao número de interações com a célula, para a esfera com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Neste gráfico consideram-se apenas os runs em que há pelo menos uma interação com a célula, logo o número de amostras consideradas para cada  $x$  é diferente.

Na Figura 45 podem observar-se os Boxplots para a fração de interações com a célula, que são devido a partículas  $\alpha$ , para cada valor de  $x$  (posição inicial dos íões de Rádio-223 [ $\mu\text{m}$ ]). Nesta figura verifica-se que, em  $x=10 \mu\text{m}$  uma pequena parte das interações são devido a partículas  $\alpha$ . No entanto, verifica-se que para  $x=30 \mu\text{m}$  e para  $x=60 \mu\text{m}$  há sempre pelo menos uma interação devido a partículas  $\alpha$  ( $\text{min} > 0$ ), sendo que para  $x=60 \mu\text{m}$  esta fração é maior em parte das amostras.

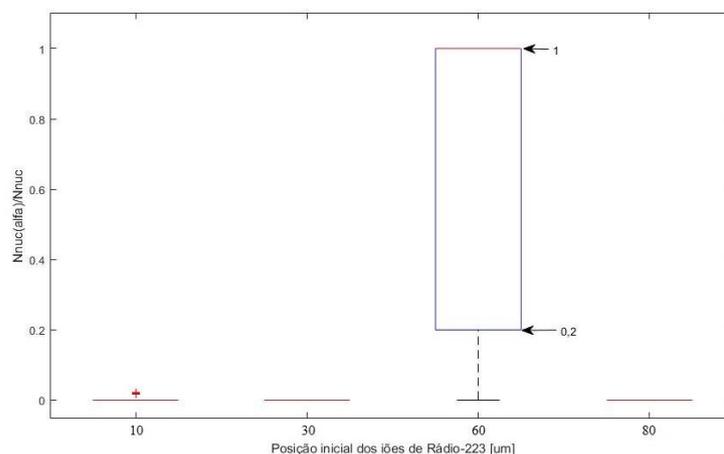


Figura 46 Boxplots da fração do número de interações com o núcleo devido a partículas  $\alpha$ , em relação ao número de interações com o núcleo, para a esfera com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Neste gráfico consideram-se apenas os runs em que há pelo menos uma interação com o núcleo, logo o número de amostras consideradas para cada  $x$  é diferente.

## Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

Na Figura 46 estão os Boxplots para a fração de interações com o núcleo da célula, que são devido a partículas  $\alpha$ , para cada valor de  $x$  (posição inicial dos iões de Rádio-223 [ $\mu\text{m}$ ]). Neste gráfico verifica-se que o único ponto em que há interações com o núcleo devido a partículas  $\alpha$  é em  $x=60 \mu\text{m}$  e que numa parte significativa das amostras, todas as interações são devido a partículas  $\alpha$ , sendo a mediana igual a 1.

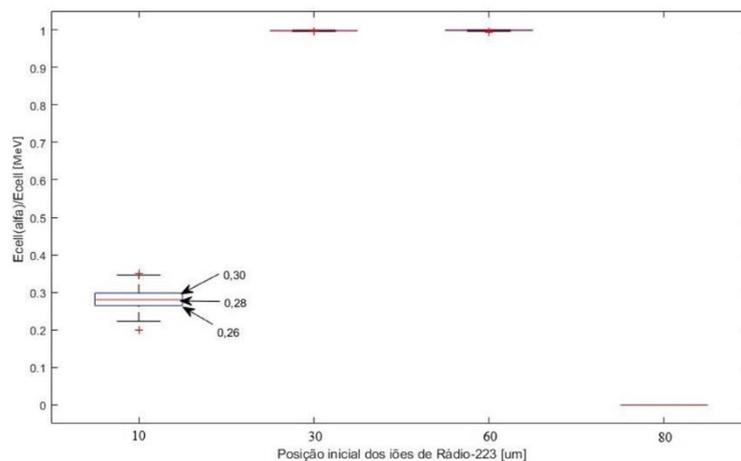


Figura 47 Boxplots da fração da energia depositada na célula devido a partículas  $\alpha$ , relativamente à energia total depositada na célula, para a esfera com  $15 \mu\text{m}$  de diâmetro. Neste gráfico consideram-se apenas os runs em que há pelo menos uma interação com a célula, logo o número de amostras consideradas para cada  $x$  é diferente.

Na Figura 47 estão os Boxplots para a fração da energia depositada na célula devido a partículas  $\alpha$ , para cada valor de  $x$  (posição inicial dos iões de Rádio-223 [ $\mu\text{m}$ ]). Neste gráfico verifica-se que em  $x=10 \mu\text{m}$  uma pequena parte da energia depositada na célula é devido a partículas  $\alpha$  (a mediana é igual a 0,28). Em  $x=30 \mu\text{m}$  e em  $x=60 \mu\text{m}$  100% da energia depositada na célula é devido a partículas  $\alpha$ .

## Resultados

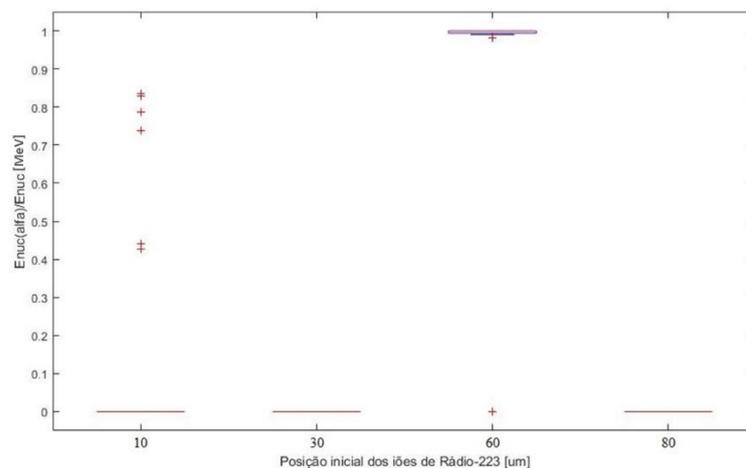


Figura 48 Boxplots da fração da energia depositada no núcleo devido a partículas  $\alpha$ , relativamente à energia total depositada no núcleo, para a esfera com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Neste gráfico consideram-se apenas os runs em que há pelo menos uma interação com o núcleo, logo o número de amostras consideradas para cada  $x$  é diferente.

Na Figura 48 estão os Boxplots para a fração da energia depositada no núcleo da célula devido a partículas  $\alpha$ , para cada valor de  $x$  (posição inicial dos íões de Rádio-223 [ $\mu\text{m}$ ]). Do gráfico acima verifica-se que apenas em  $x=60 \mu\text{m}$  há deposição de energia no núcleo devido a partículas  $\alpha$  e que quase 100% da energia depositada é devido a partículas  $\alpha$ .

## Probabilidade de interação devido ao decaimento de 1000 íões de Rádio-223:

À medida que a distância dos íões de  $^{223}\text{Ra}$  à célula aumenta há também uma diminuição da probabilidade de haver pelo menos uma interação com a célula, devido ao decaimento de 1000 íões de  $^{223}\text{Ra}$ . Na Figura 49 e na Figura 50 está representada a probabilidade de haver pelo menos uma interação com a célula, devido ao decaimento de 1000 íões de  $^{223}\text{Ra}$  e a probabilidade de haver pelo menos 1 interação com o núcleo, devido ao decaimento de 1000 íões de  $^{223}\text{Ra}$ , para as 2 geometrias usadas na simulação 1.

## Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

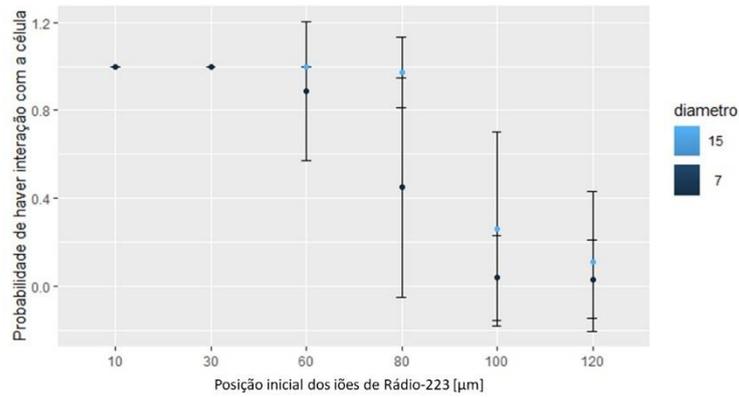


Figura 49 Probabilidade de haver pelo menos uma interação com a célula, devido ao decaimento de 1000 íons de  $^{223}\text{Ra}$ . A probabilidade de haver pelo menos uma interação com a célula foi calculada considerando que para cada um dos 1000 runs, caso houvesse pelo menos uma interação com a célula era-lhe associado o valor 1, caso não houvesse nenhuma interação seria equivalente a 0. Posteriormente calculou-se a média destes valores e o desvio padrão, para os 1000 runs, representados acima.

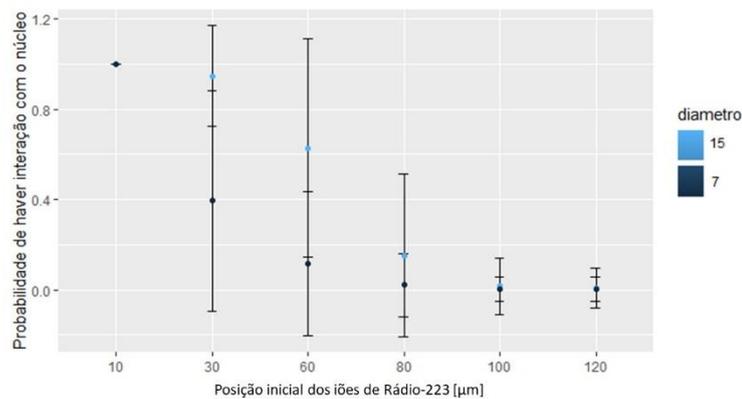


Figura 50 Probabilidade de haver pelo menos uma interação com o núcleo, devido ao decaimento de 1000 íons de  $^{223}\text{Ra}$ . A probabilidade de haver pelo menos uma interação com o núcleo foi calculada considerando que para cada um dos 1000 runs, caso houvesse pelo menos uma interação com o núcleo era-lhe associado o valor 1, caso contrário seria equivalente a 0. Posteriormente calculou-se a média destes valores e os desvios padrão, para os 1000 runs, representados acima.

## Resultados

### 4.2. Simulação 2

Na simulação 2 pretende-se avaliar qual o número de interações que ocorrem com cada uma das células e a energia depositada em cada uma das células, nas várias condições, devido ao decaimento de 26 iões de  $^{223}\text{Ra}$ . Repetiu-se este procedimento 1000 vezes. Para cada uma das condições, é representado um Boxplot para o número de interações com o citoplasma, o número de interações com o núcleo, a energia depositada no citoplasma e a energia depositada no núcleo. Estes Boxplots representam os dados relativos a todas as células.

#### Condição 1

Nesta condição considera-se que há 1 célula no *World*, o que equivale a  $0,125 \times 10^6$  células por mL.

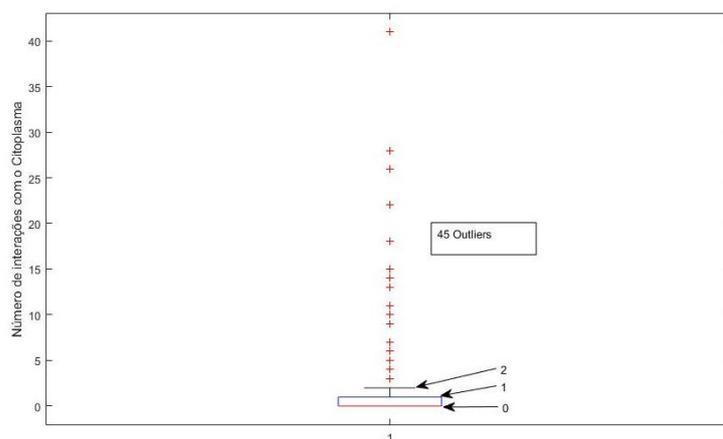


Figura 51 Boxplot do número de interações com o citoplasma da célula, para a condição 1. O número de interações com o citoplasma é maioritariamente igual a zero e verifica-se que há 45 Outliers. A amostra tem um  $N=1000$ .

## Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

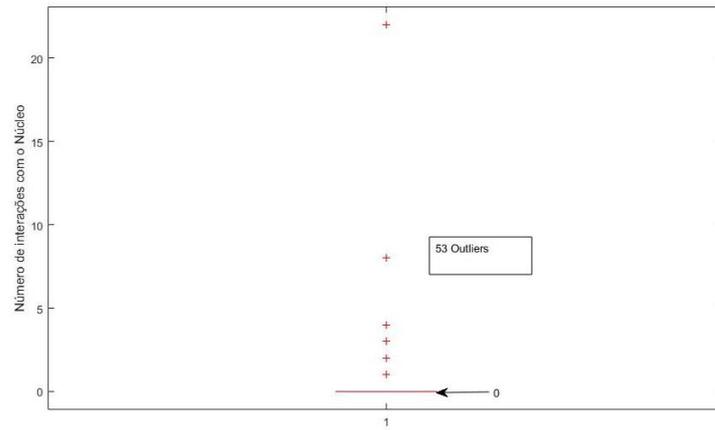


Figura 52 Boxplot do número de interações com o núcleo da célula, para a condição 1. O número de interações com o núcleo é maioritariamente igual a zero e verifica-se a existência de 53 Outliers. A amostra tem um  $N=1000$ .

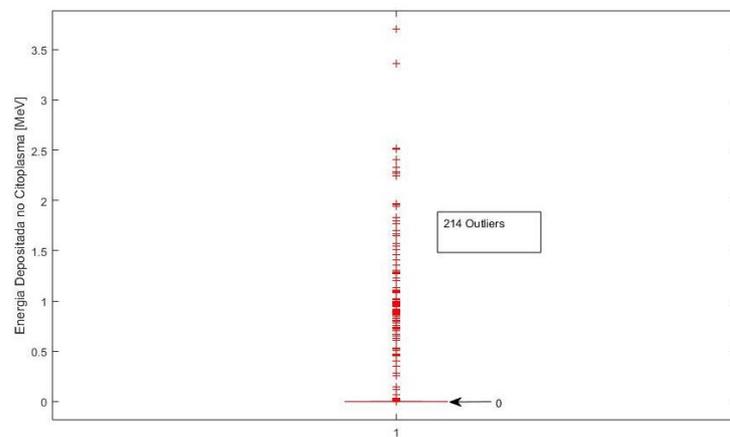


Figura 53 Boxplot da energia depositada no citoplasma da célula, para a condição 1. A energia depositada no citoplasma é maioritariamente igual a zero e há 214 Outliers. A amostra tem um  $N=1000$ .

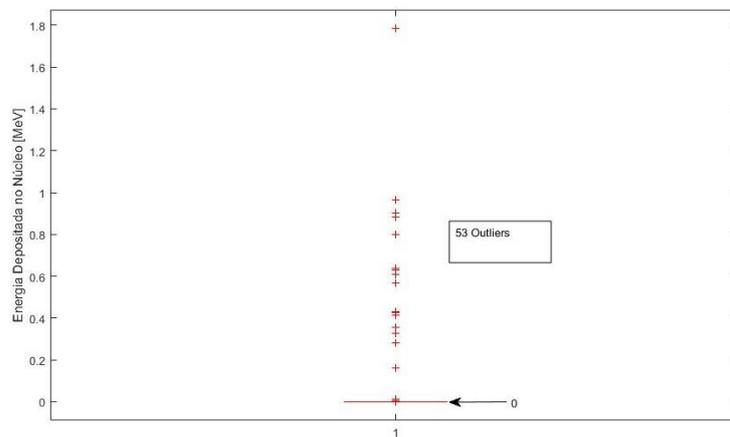


Figura 54 Boxplot da energia depositada no núcleo da célula, para a condição 1. A energia depositada no núcleo é maioritariamente igual a zero e existem 53 Outliers. A amostra tem um  $N=1000$ .

## Resultados

De acordo com os Boxplots apresentados acima apenas há interações com o citoplasma da célula e tanto para o citoplasma como para o núcleo a energia depositada é igual a zero. No entanto é importante referir que para todos os Boxplots há um número considerável de Outliers.

### Condição 2

Nesta condição considera-se que há 2 células no *World*, o que equivale a  $0,25 \times 10^6$  células por mL.

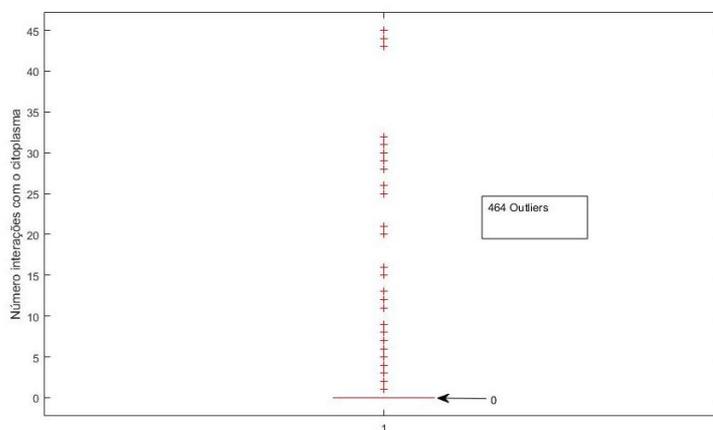


Figura 55 Boxplot do número de interações com os citoplasmas, para a condição 2. O número de interações com os citoplasmas é maioritariamente igual a zero e no total há 464 Outliers. A amostra tem um  $N=2000$ .

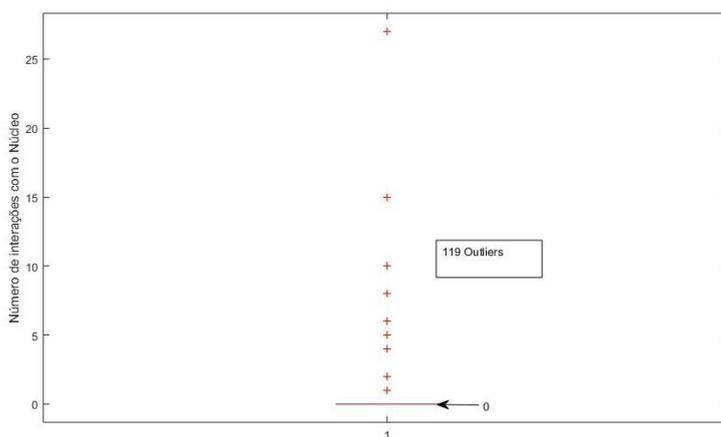


Figura 56 Boxplot do número de interações com os núcleos, para a condição 2. O número de interações com os núcleos é maioritariamente igual a zero e no total há 119 Outliers. A amostra tem um  $N=2000$ .

## Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

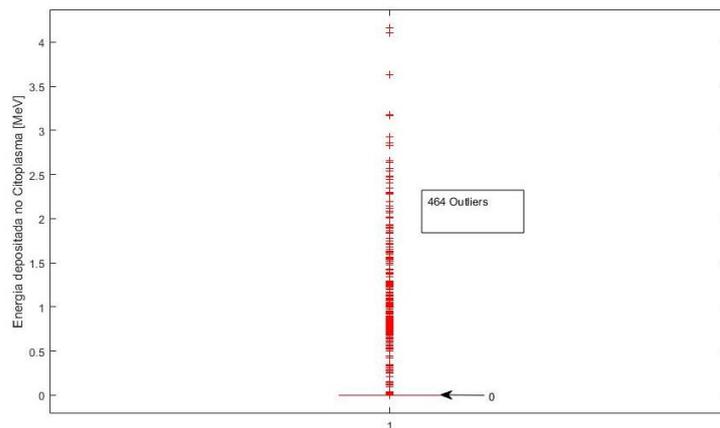


Figura 57 Boxplot da energia depositada nos citoplasmas, para a condição 2. A energia depositada nos citoplasmas é maioritariamente igual a zero e no total há 464 Outliers. A amostra tem um  $N=2000$ .

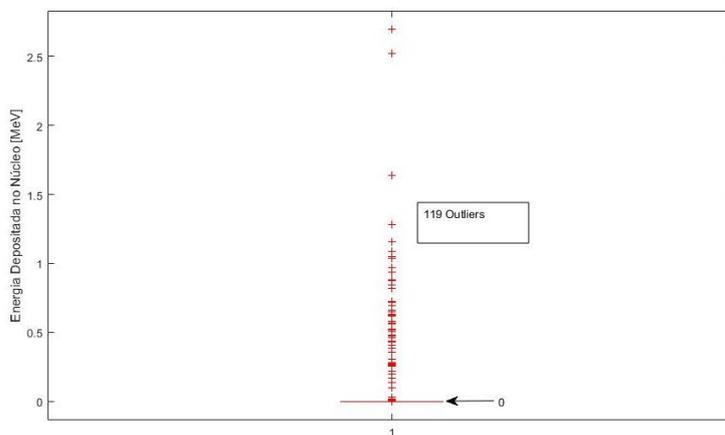


Figura 58 Boxplot para a energia depositada nos núcleos das células, para a condição 2. A energia depositada nos núcleos é maioritariamente igual a zero e no total existem 119 Outliers. A amostra tem um  $N=2000$ .

Nos Boxplots apresentados acima verifica-se que não há interações com o citoplasma e com o núcleo da célula e conseqüentemente a mediana da energia depositada é igual a zero. De novo, é importante referir que para todos os Boxplots há um número considerável de Outliers.

## Resultados

### Condição 3

Nesta condição considera-se que há 4 células no *World*, o que equivale a  $0,5 \times 10^6$  células por mL.

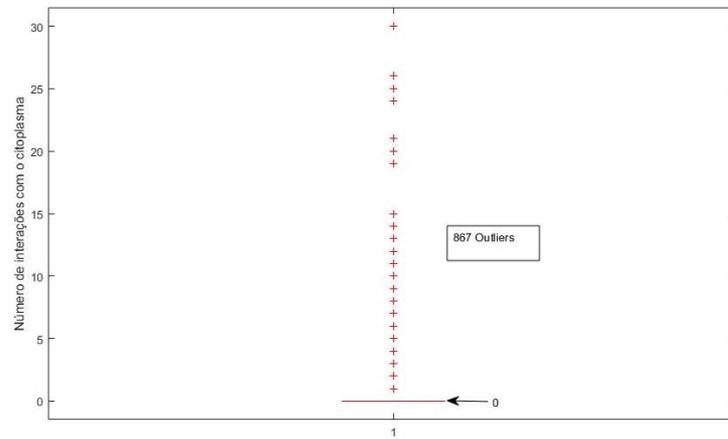


Figura 59 Boxplot do número de interações com os citoplasmas das células, para a condição 3. O número de interações com os citoplasmas é maioritariamente igual a zero e a amostra tem  $N=4000$ .

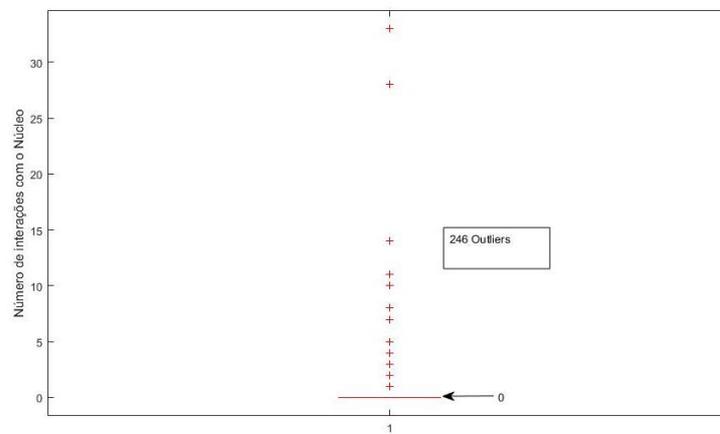


Figura 60 Boxplot do número de interações com os núcleos, para a condição 3. O número de interações com os núcleos é maioritariamente igual a zero e há 246 Outliers. A amostra tem  $N=4000$ .

## Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

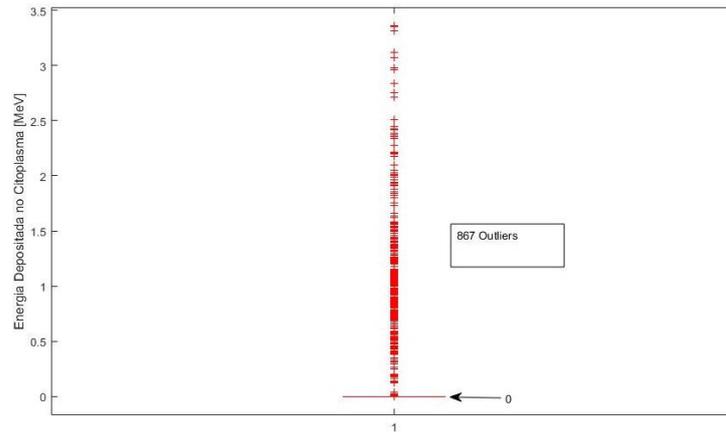


Figura 61 Boxplot da energia depositada no citoplasma das células, para a condição 3. A energia depositada nos citoplasmas é maioritariamente igual a zero e no total há 867 Outliers. A amostra tem  $N=4000$ .

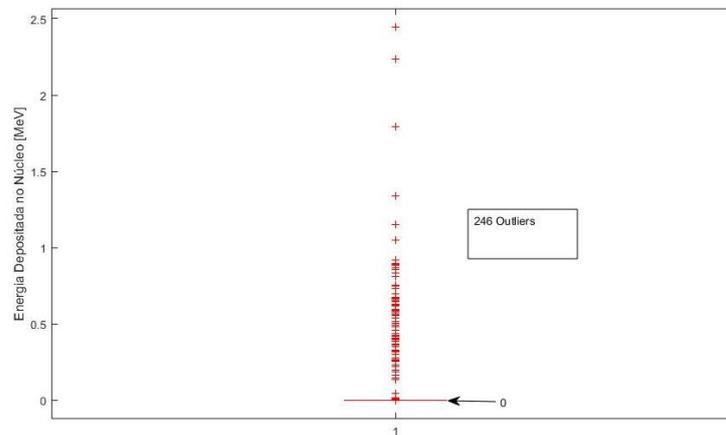


Figura 62 Boxplot da energia depositada no núcleo das células, para a condição 3. A energia depositada nos núcleos é maioritariamente igual a zero e no total há 246 Outliers. A amostra tem um  $N=4000$ .

Nos gráficos apresentados acima verifica-se que a mediana do número de interações com o citoplasma e com o núcleo da célula é igual a zero, isto também se verifica para a energia depositada. De novo, é importante referir que para todos os Boxplots há um número considerável de Outliers.

## Resultados

### Condição 4

Nesta condição considera-se que há 8 células no *World*, o que equivale a  $1 \times 10^6$  células por mL.

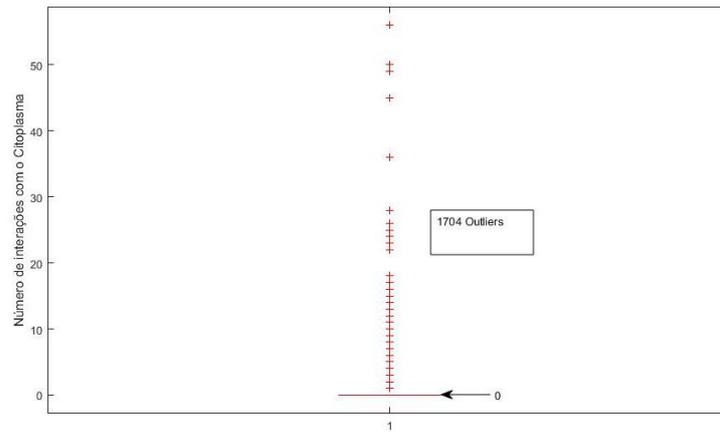


Figura 63 Boxplot do número de interações com o citoplasma das células, para a condição 4. O número de interações com os citoplasmas é maioritariamente igual a zero e no total há 1704 Outliers. A amostra tem um  $N=8000$ .

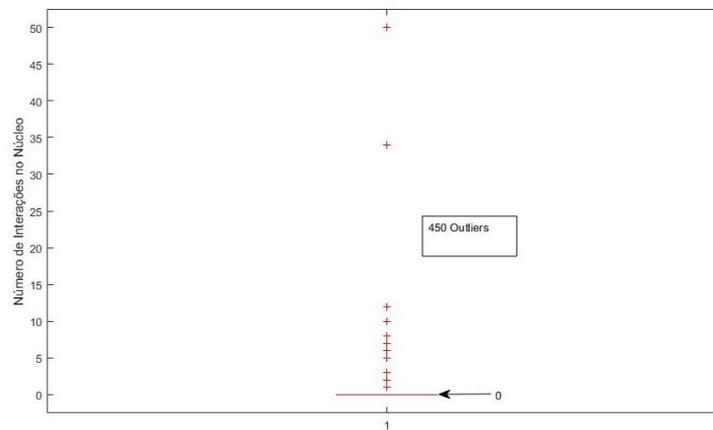


Figura 64 Boxplot do número de interações com o núcleo das células, para a condição 4. O número de interações com os núcleos é maioritariamente igual a zero e no total há 450 Outliers. A amostra tem um  $N=8000$ .

## Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

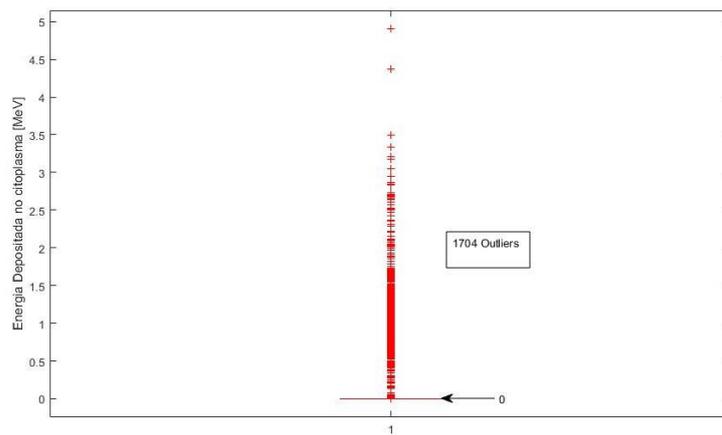


Figura 65 Boxplot da energia depositada no citoplasma das células, na condição 4. A energia depositada nos citoplasmas é maioritariamente igual a zero e no total há 1704 Outliers. A amostra tem um  $N=8000$ .

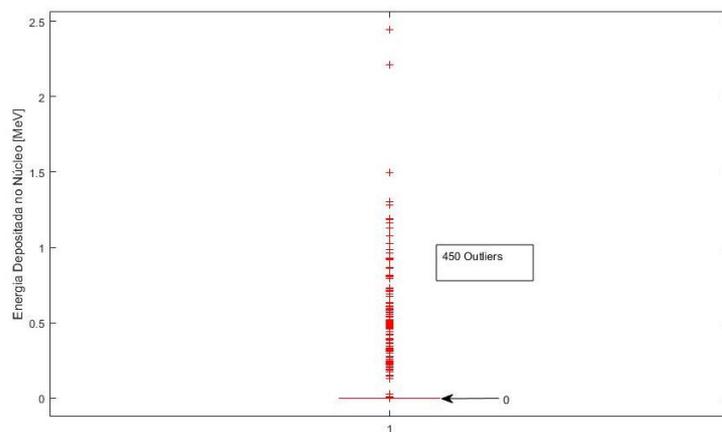


Figura 66 Boxplot da energia depositada no núcleo das células, para a condição 4. A energia depositada nos núcleos é maioritariamente igual a zero e no total existem 450 Outliers. A amostra tem um  $N=8000$ .

Nos gráficos apresentados acima observa-se que a mediana do número de interações com o citoplasma e com o núcleo da célula é igual a zero, e o mesmo se verifica para a energia depositada. De novo, é importante referir que em todos os gráficos há um número considerável de outliers.

## Resultados

### Condição 5

Nesta condição considera-se que há 16 células no *World*, o que equivale a  $2 \times 10^6$  células por mL.

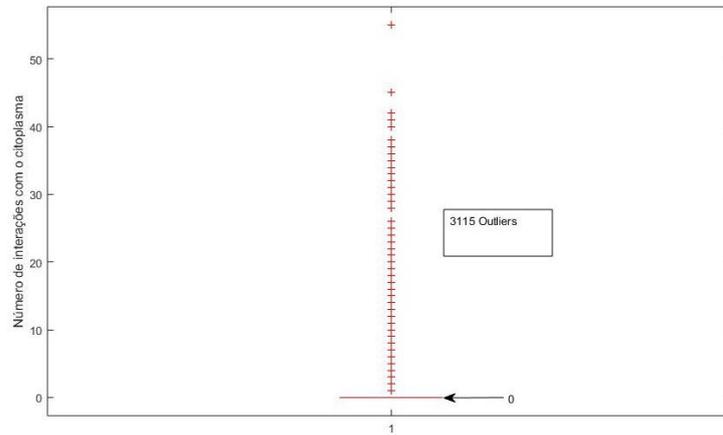


Figura 67 Boxplot do número de interações com o citoplasma das células, para a condição 5. O número de interações com os citoplasmas é maioritariamente igual a zero e no total há 3115 Outliers. A amostra tem um  $N=16000$ .

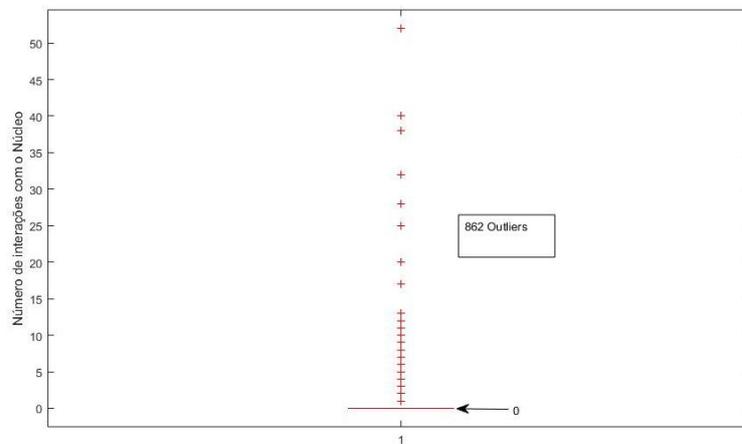


Figura 68 Boxplot do número de interações com o núcleo das células, para a condição 5. O número de interações com os núcleos é maioritariamente igual a zero e no total há 862 Outliers. A amostra tem um  $N=16000$ .

## Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

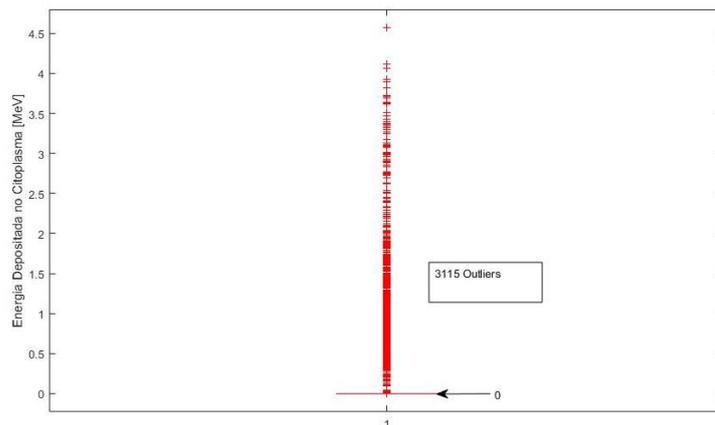


Figura 69 Boxplot da energia depositada no núcleo das células, para a condição 5. A energia depositada nos citoplasmas é maioritariamente igual a zero e no total há 3115 Outliers. A amostra tem um  $N=16000$ .

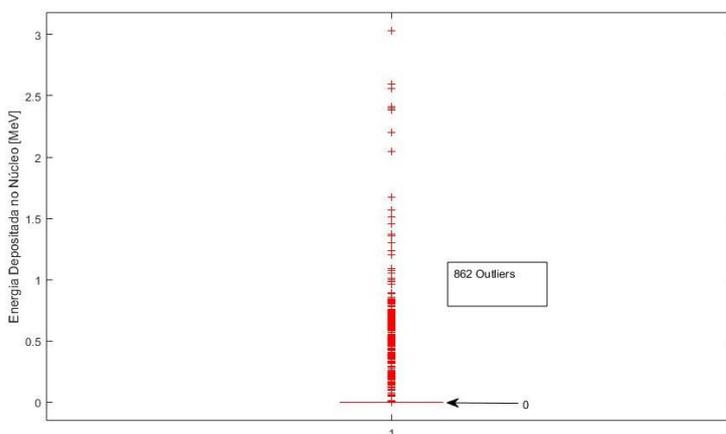


Figura 70 Boxplot da energia depositada no núcleo das células, para a condição 5. A energia depositada nos núcleo é maioritariamente igual a zero e no total há 862 Outliers. A amostra tem um  $N=16000$ .

Nos gráficos apresentados acima verifica-se que a mediana do número de interações com o citoplasma e com o núcleo da célula é igual a zero, e o mesmo se verifica para a energia depositada. De novo, é importante referir que há um número considerável de Outliers.

## Probabilidade média de Interação com a célula ou com o núcleo

De seguida, apresenta-se os resultados relativos à probabilidade de ocorrer pelo menos uma interação com o citoplasma e a probabilidade de ocorrer pelo menos uma interação com o núcleo, para a simulação 2.

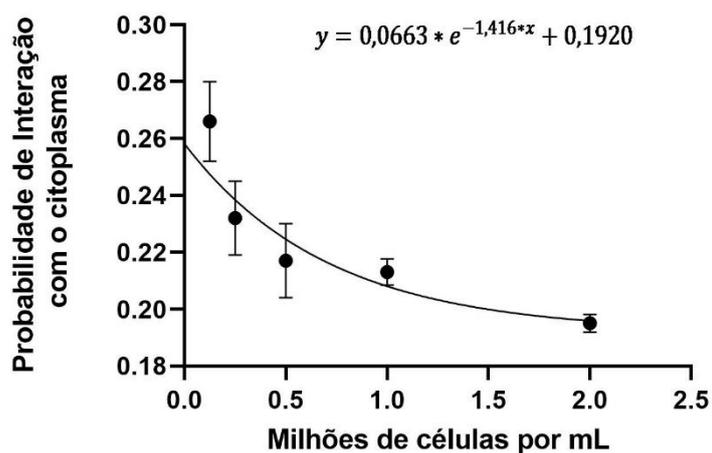


Figura 71 Probabilidade de haver pelo menos uma interação com o citoplasma de cada uma das células, para a simulação 2. O ajuste não linear tem um  $R^2=0,001$ .

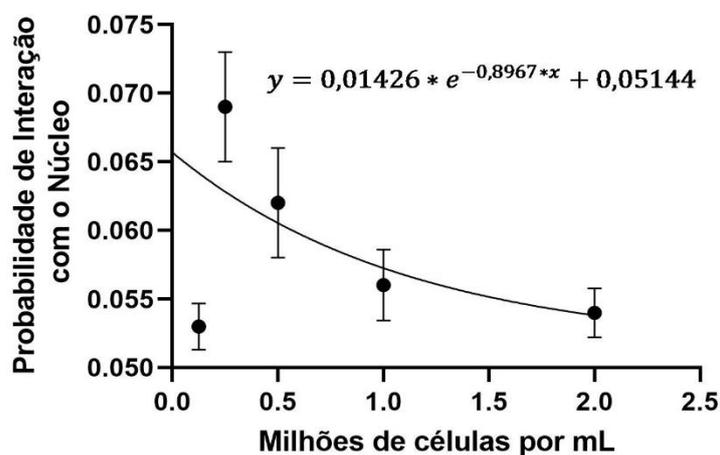


Figura 72 Probabilidade de haver pelo menos uma interação com o núcleo de cada uma das células, para a simulação 2. O ajuste não linear tem um  $R^2=0,40$ .

Para a probabilidade de pelo menos uma interação, à medida que o número de células por mL aumenta, observa-se uma diminuição da probabilidade de interação com o citoplasma e com o núcleo.

No entanto, para o Núcleo verifica-se que para 0,125 milhões de células por mL o valor da probabilidade de interação com o Núcleo tem um valor surpreendentemente baixo e parece deslocado. Em anexo está representado o Gráfico sem este ponto (Figura 93).

### 4.3. Irradiação de Células PC3 com $^{223}\text{Ra}$

De seguida, apresenta-se os resultados relativos ao conteúdo Proteico e à mortalidade celular, medidas com a técnica SRB.

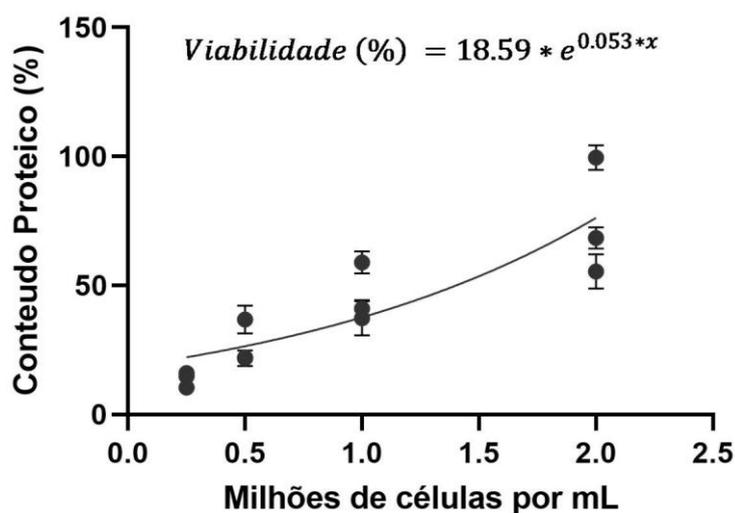


Figura 73 Conteúdo Proteico (%) em função do número de células por mL. A viabilidade foi medida com a técnica SRB. O ajuste não linear tem um  $R^2=0,7422$ .

## Resultados

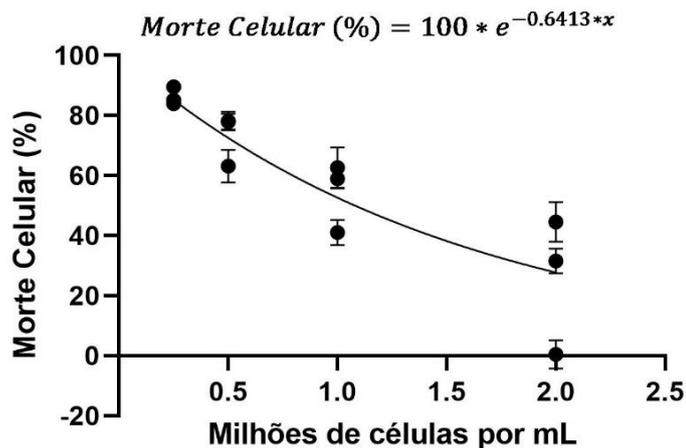


Figura 74 Morte Celular (%) em função do número de células por mL. A morte celular foi avaliada utilizando a técnica de SRB. O ajuste não linear tem um  $R^2=0,7927$ .

Para cada condição, há 3 amostras que representam o valor médio calculado para a viabilidade com o desvio padrão associado.

Verifica-se que há um aumento do conteúdo proteico, ou seja viabilidade celular, à medida que o número de células por mL aumenta.

No entanto, é importante ter em consideração que este efeito pode estar exagerado, o que será discutido no próximo capítulo. No protocolo, depois de passados os 4 minutos e 42 segundos de irradiação com o  $^{223}\text{Ra}$  pipetam-se 30000 células para uma placa de 24 poços, onde ficam a incubar durante 8 dias. No entanto, é importante ter em consideração que ao pipetar células estamos a pipetar também iões de  $^{223}\text{Ra}$ , que se considera desprezável. Consequentemente, à medida que o número de células por mL diminui é necessário pipetar volumes maiores de suspensão celular o que por seu turno leva a que se pipete um volume maior de  $^{223}\text{Ra}$ , o que influenciará os resultados dado que a dose depositada nas células, ao longo dos 8 dias, poderá não ser desprezável.

## 5. Discussão

---

### 5.1. Simulação 1

Para a célula com 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro, a probabilidade de uma interação ocorrer na célula, ( $N_{\text{cell}}/N_{\text{total}}$ ), pode ser ajustada a:

$$\frac{N_{\text{cell}}}{N_{\text{total}}} = 0,02360 * e^{-0,1137*x} \quad (30)$$

Para a célula com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro, a probabilidade de uma interação ocorrer na célula, ( $N_{\text{cell}}/N_{\text{total}}$ ), pode ser ajustada a:

$$\frac{N_{\text{cell}}}{N_{\text{total}}} = 0,5352 * e^{-0,1594*x} \quad (31)$$

Em ambos os casos as curvas podem ajustadas a uma função do tipo:

$$Y = Y_0 * e^{-k*x} \quad (32)$$

Comparando as 2 equações observa-se que para a esfera de 15  $\mu\text{m}$  há um alongamento vertical e dado que os valores de k são bastante idênticos haverá apenas um ligeiro alongamento horizontal na curva para a esfera de 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro.

Portanto, a probabilidade de uma interação ocorrer com a célula é maior para a célula com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro.

Para a célula de 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro, a probabilidade de uma interação ocorrer no núcleo da célula, ( $N_{\text{nuc}}/N_{\text{total}}$ ), pode ser ajustada a:

$$\frac{N_{\text{nuc}}}{N_{\text{total}}} = 0,0007574 * e^{-0,1141*X} \quad (33)$$

Para a célula de 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro, a probabilidade de uma interação ocorrer no núcleo da célula, ( $N_{\text{nuc}}/N_{\text{total}}$ ), pode ser ajustada a:

$$\frac{N_{\text{nuc}}}{N_{\text{total}}} = 0,002941 * e^{-0,1066*X} \quad (34)$$

## Discussão

Verifica-se de novo que, em ambos os casos, as curvas podem ajustadas a uma função do tipo:

$$Y = Y_0 * e^{-k*x} \quad (35)$$

Sendo que, de novo, para a esfera com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro há um alongamento vertical. Os valores de  $k$  são bastante idênticos e há um ligeiro alongamento horizontal na curva para a esfera com 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro.

Comparando as 2 funções infere-se, de novo, que a probabilidade de uma interação ocorrer com o núcleo é maior para a célula com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro.

Dado que as 2 variáveis acima apenas refletem a probabilidade de uma interação ocorrer com o núcleo ou com a célula, para cada um dos *runs*, avaliou-se também a probabilidade de haver, pelo menos, uma interação com a célula e com o núcleo nas 2 geometrias. Verificou-se que a probabilidade de ocorrer, pelo menos, uma interação com a célula ou com o núcleo, para a esfera com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro é sempre superior do que para a célula com 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro, o que era o esperado dado que a célula com 15  $\mu\text{m}$  tem um diâmetro maior e portanto a sua projeção ortogonal é também maior.

Logo, quanto maior o diâmetro da célula maior a probabilidade de haver pelo menos uma interação com a célula ou com o núcleo.

Quanto à energia média depositada por interação com a célula ( $E_{\text{cell}}/N_{\text{cell}}$ ) verifica-se que os resultados foram ligeiramente diferentes para os 2 diâmetros, no entanto, vem reforçar a ideia que a deposição de energia é heterogênea e muito localizada. Verifica-se que para a célula com 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro apenas há uma energia média por interação considerável para  $x=30 \mu\text{m}$  e para  $x=60 \mu\text{m}$ , que é idêntica. No entanto, para a célula com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro verifica-se de novo que apenas há interação para  $x=30 \mu\text{m}$  e  $x=60 \mu\text{m}$ , no entanto, neste caso podemos dizer que a energia média por interação com a célula é maior para  $x=60 \mu\text{m}$  do que para  $x=30 \mu\text{m}$ .

No que diz respeito ao núcleo, a energia média por interação ( $E_{\text{nuc}}/N_{\text{nuc}}$ ), é igual a zero para a célula com 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro, no entanto para a célula com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro não se verifica o mesmo. Por outro lado, a amplitude interquartil é de 1,63, o que aponta para um número considerável de amostras diferentes de zero.

Estas observações vêm reforçar que há heterogeneidade na deposição de energia devido a partículas  $\alpha$  e que esta é muito localizada, e que os resultados dependem da geometria do problema. Estes resultados são apoiados por dados já publicados, como é explicado de seguida.

Na Figura 75 representam-se as curvas de Bragg para partículas  $\alpha$  com energias de 5,865 MeV e 8,865 MeV, em água. Infelizmente, não foi possível encontrar as curvas de Bragg especificamente para o  $^{223}\text{Ra}$ , contudo pode-se extrapolar os valores para os picos através da Figura 75. Para partículas  $\alpha$  com energia igual a 5,865 MeV o pico da curva de Bragg é em 47  $\mu\text{m}$  e para partículas  $\alpha$  com 8,375 MeV o pico da curva é em 85  $\mu\text{m}$  (47).

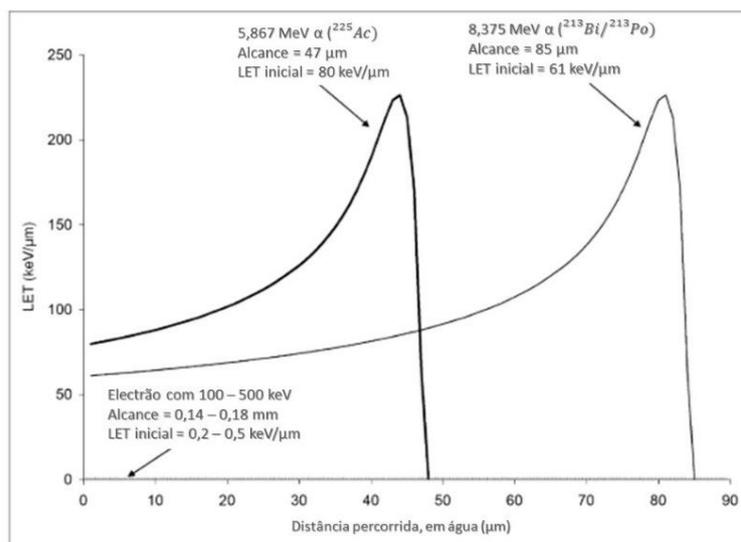


Figura 75 Curvas de Bragg para partículas  $\alpha$  com energias de 5,867 MeV e 8,375 MeV em água. Retirado de (Sgouros G et al., 2010) (46).

Fazendo uma regressão linear entre estes dois pontos podemos obter a posição aproximada do pico de Bragg para as partículas  $\alpha$  emitidas pelo  $^{223}\text{Ra}$ .

Na Figura 76 está a posição do pico de Bragg [ $\mu\text{m}$ ] em função da energia das partículas  $\alpha$  [MeV] e realizou-se a regressão linear entre os 2 pontos, que é definida por:

$$y = 15,139 * x - 41,793 \quad (36)$$

## Discussão

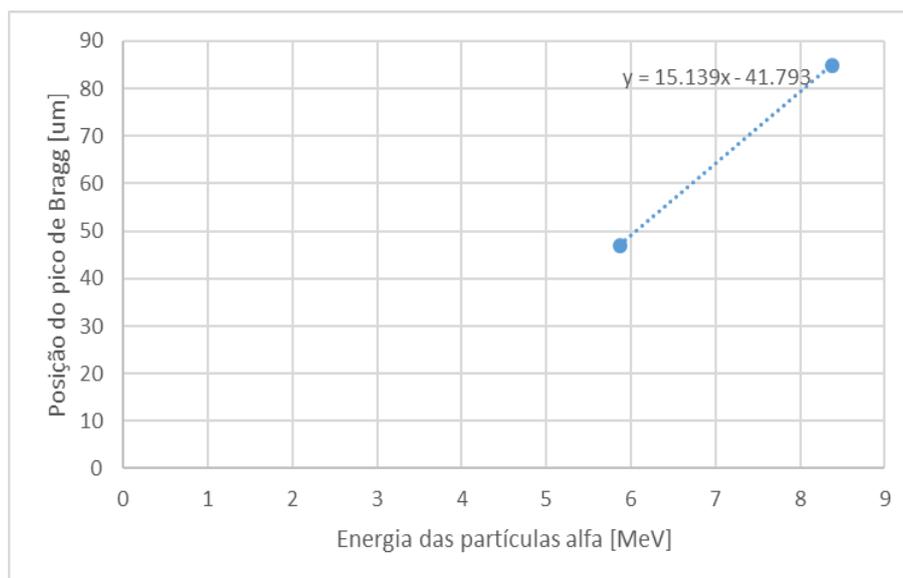


Figura 76 Posição do pico de Bragg [ $\mu\text{m}$ ] em função da energia das partículas  $\alpha$ . A regressão linear é definida pela função:  $y=15,139x-41,793$ .

Para a energia média das partículas  $\alpha$  emitidas pelo  $^{223}\text{Ra}$ , de acordo com a equação 36, o pico da curva de Bragg é em 59,94  $\mu\text{m}$ . Se considerarmos todas as partículas  $\alpha$  emitidas pelo ião de  $^{223}\text{Ra}$ , que podem ter entre 5,78 MeV e 7,59 MeV, então os picos de Bragg encontram-se entre 45,71  $\mu\text{m}$  e 73,11  $\mu\text{m}$ , o que está de acordo com os resultados obtidos para a simulação 1.

É também importante ter em consideração que os iões de  $^{223}\text{Ra}$ , usados nas simulações, tinham uma energia cinética inicial de 14 MeV, logo o decaimento não ocorre exactamente a 10  $\mu\text{m}$ , 30  $\mu\text{m}$ , 60  $\mu\text{m}$ , 80  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$  e 120  $\mu\text{m}$  do centro da esfera, o que explica em parte o pico observado em  $x=30 \mu\text{m}$  para a Figura 35 e para a Figura 43.

Assim, os valores para a energia média depositada por interação observados na simulação 1 estão de acordo com os dados já publicados, dado que o pico que se observa em  $x=60 \mu\text{m}$  na Figura 35, Figura 36, Figura 43 e Figura 44 é explicado pelas curvas de Bragg, ou seja, em  $x=60 \mu\text{m}$  o potencial de paragem [ $\text{keV}/\mu\text{m}$ ] para as partículas  $\alpha$  tem um pico.

Para a fração das interações devido a partículas  $\alpha$ , em primeiro lugar, conclui-se que em  $x=80 \mu\text{m}$  não há interações devido a partículas  $\alpha$ , em nenhuma das condições.

Para a fração de interações que são devido a partículas  $\alpha$  ( $N_{\text{cell}}(\text{alfa})/N_{\text{cell}}$ ) para a célula com 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro há interações com a célula em todos os pontos, excepto  $x=80 \mu\text{m}$ . No entanto, para a célula com 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro para  $x=10 \mu\text{m}$  apesar de haver algumas interações devido a partículas  $\alpha$  a fração é desprezável, já para  $x=30 \mu\text{m}$  e  $x=60 \mu\text{m}$  há

uma fração considerável de interações devido a partículas  $\alpha$ , no entanto aparenta haver um pico para  $x=60 \mu\text{m}$ .

No que diz respeito ao núcleo, em ambas as condições, apenas há interações devido a partículas  $\alpha$  em  $x=60 \mu\text{m}$ .

Para a energia depositada devido a partículas  $\alpha$ , na célula com um diâmetro de  $7 \mu\text{m}$ , em  $x=10 \mu\text{m}$  e  $x=30 \mu\text{m}$  a energia depositada na célula é totalmente devido a interações com partículas  $\alpha$  e em  $60 \mu\text{m}$  uma grande parte da energia depositada é devido a partículas  $\alpha$  (mediana=1) no entanto a amplitude interquartil também é igual a 1. Na célula com um diâmetro de  $15 \mu\text{m}$ , em  $x=10 \mu\text{m}$  uma pequena parte da energia depositada é devido a partículas  $\alpha$  (mediana=0,28) e  $x=30 \mu\text{m}$  e  $x=60 \mu\text{m}$  toda a energia depositada na célula é devido a interações com partículas  $\alpha$ .

No núcleo, uma grande parte da energia depositada é devido a partículas  $\alpha$  em  $x=60 \mu\text{m}$ , em ambas as condições (mediana=1).

De novo, todas estas considerações são apoiadas pelas curvas de Bragg, no entanto, é importante observar que há claramente uma grande diferença dos resultados observados, apenas devido à geometria das células.

Dado que se considera que as células PC3 têm um diâmetro de  $15 \mu\text{m}$  então o alcance máximo das partículas  $\alpha$  emitidas pelos iões de  $^{223}\text{Ra}$  é de 4 células ( $60 \mu\text{m}$ ), considerando que as células estão agregadas.

Em suma, 1) verifica-se que as partículas  $\alpha$  emitidas pelos iões de  $^{223}\text{Ra}$  têm uma deposição heterogénea, 2) os resultados dependem da geometria do alvo, 3) a deposição de energia é muito localizada, 4) a probabilidade de atingir o alvo depende da distância do ião ao alvo e a probabilidade de haver morte celular devido a deposição de energia, na célula ou no núcleo da célula, é limitada.

## 5.2. Simulação 2

Na simulação 2 verifica-se que, em todas as condições, a probabilidade de ocorrer deposição de energia ou interações com o citoplasma é sempre muito maior do que para o núcleo.

Para o citoplasma, em média, apenas ocorre pelo menos uma interação em  $24,45\% \pm 0,37\%$  dos *runs*. Para o núcleo, a probabilidade de ocorrer pelo menos uma interação é ainda menor, ou seja, em média, há uma probabilidade de apenas  $5,68\% \pm 0,16\%$  de ocorrer pelo menos uma interação com o núcleo.

## Discussão

Adicionalmente, nos casos em que há interação com o citoplasma,  $56,67\% \pm 0,75\%$  trata-se de 1 interação apenas e no caso do núcleo esta probabilidade é de  $83,52\% \pm 0,70\%$ . Portanto, para o citoplasma, caso haja pelo menos uma interação, a probabilidade média de ocorrer um *single hit* é de  $56,67\% \pm 0,75\%$  e para o núcleo é de  $83,52\% \pm 0,70\%$ .

Nos boxplots apresentados anteriormente, para a simulação 2, conclui-se que há zero interações com o núcleo e com o citoplasma, o único caso em que isto não se verifica é para a condição 1. Quanto à energia, também se conclui que a mediana da energia depositada no citoplasma e no núcleo é igual a zero. Apesar destas conclusões parecerem estranhas, é de notar que em todos os gráficos apresentados há um número considerável de Outliers, o que sugere que apesar de raro existe a possibilidade de haver deposição de energia

Nos violinplots apresentados para a simulação 2 (apresentados em ANEXO) verifica-se que há heterogeneidade no número de interações no núcleo e no citoplasma da célula. Também se verifica que a deposição de energia é estocástica (como seria de esperar). O mesmo pode ser extrapolado para o núcleo.

Por fim, como podemos observar nas Figura 71 e Figura 72, à medida que o número de células por mL aumenta há uma diminuição da probabilidade de interação com a célula e com o núcleo. Ou seja, havendo uma diminuição da probabilidade de interação com o núcleo haverá aumento da viabilidade celular dado que haverá uma menor probabilidade de haver interação com a célula, de haver deposição de energia na célula e de haver morte celular devido a interações com RI. Isto pode dever-se a vários factores: i) dado que há mais células no volume da simulação é possível que ocorra blindagem, ii) é possível que seja uma consequência da distribuição das células relativamente aos iões (que podem estar mais ou menos homoganeamente distribuídos no volume da simulação).

É também importante referir que na Figura 71 e na Figura 72 fez-se um ajuste não-linear com uma função do tipo:

$$y = y_0 * e^{-k*x} + C \quad (37)$$

A decisão de usar esta função foi empírica e verificou-se que era a que tinha o melhor ajuste. No entanto, é importante notar que os dados experimentais representam apenas um pequeno troço de um todo e, portanto, a função em causa apenas tem validade no domínio considerado e eventuais extrapolações carecem de cuidados acrescidos.

### 5.3. Irradiação de Células PC3 com $^{223}\text{Ra}$

Nos resultados para a irradiação de células PC3 com  $^{223}\text{Ra}$  observa-se que há um aumento da viabilidade celular à medida que o número de células por mL aumenta, e consequentemente há aumento da morte celular à medida que o número de células por mL diminui.

Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos para a simulação 2, pois na simulação 2 observa-se que à medida que o número de células por mL aumenta há uma diminuição da probabilidade de interação com a célula e com o núcleo, ou seja, há menos probabilidade de haver morte celular devido a interações com a RI.

No entanto, é importante ter em consideração que o efeito observado na experiência pode estar exagerado dado que à medida que o número de células por mL diminui, o volume de  $^{223}\text{Ra}$  colocado na placa de 24 poços aumenta significativamente e as células continuam a ser irradiadas após o tempo de irradiação considerado. O peso deste erro será tanto maior quanto o volume de suspensão celular adicionado às placas de 24 poços.

### 5.4. Considerações Finais

Com este projeto verifica-se que há necessidade de compreender melhor os mecanismos envolvidos na T $\alpha$ T, uma vez que não ocorre uma deposição de energia homogênea e, assim, os efeitos observados na terapia podem não corresponder a efeitos diretos, como é estipulado atualmente. Os efeitos diretos estão tipicamente interligados à necessidade de haver interações com macromoléculas (ADN) fundamentais para a célula, tipicamente localizadas no núcleo (8,15).

Para a Simulação 1 verifica-se que a probabilidade de uma interação ocorrer com a célula é diferente consoante o seu diâmetro, as partículas  $\alpha$  têm um alcance máximo de 4 células e a deposição de energia é claramente heterogênea e localizada. Dada a discussão realizada anteriormente, conclui-se que do ponto de vista físico esta simulação está de acordo com as condições experimentais e portanto cumpriu o seu propósito.

Os resultados da simulação 2 vêm mostrar que a deposição de energia é estocástica e que há células a receber um elevado número de interações, nas quais é depositada uma quantidade de energia considerável, ao contrário do que ocorre nas células adjacentes em que poderá não existir qualquer interação. No entanto, ao observar os Boxplots conclui-se que a probabilidade de interação com o citoplasma ou com o núcleo é quase nula, pois os casos referidos acima, em que há interações, são considerados outliers. Estes resultados, questionam, de novo, se os efeitos diretos são os principais responsáveis pelos resultados observados (57,58). Adicionalmente, tal como referido por

## Discussão

(Lloyd et al., 1979), para ocorrer algum tipo de dano celular, seria necessário ocorrerem interações de pelo menos 10 a 20 partículas  $\alpha$  com a célula. Dados os resultados para a simulação 2, só se observaria morte celular num número negligenciável de células (48). Adicionalmente, também se verificou que os resultados da simulação 2 estavam de acordo com a irradiação de células PC3 com  $^{223}\text{Ra}$ .

Por fim, para os resultados da irradiação de células com  $^{223}\text{Ra}$  verifica-se que à medida que o número de células por mL aumenta há também um aumento da viabilidade celular, o que está de acordo com os resultados observados para a simulação 2. Isto é, na simulação 2 observa-se que à medida que o número de esferas/células por mL aumenta há uma diminuição de probabilidade de interação com o citoplasma e o núcleo.

Portanto, os resultados obtidos neste projeto sugerem que os efeitos *Bystander* e os efeitos indirectos serão os principais responsáveis pela morte celular observada e será necessário continuar a realizar projetos nesta área de forma a compreender quais os mecanismos de ação envolvidos na T $\alpha$ T.

No entanto, de um ponto de vista mais crítico, é necessário ter em conta que para a simulação 1 e para a simulação 2 apenas se tem em conta os processos físicos, ou seja são deixados de parte os efeitos indirectos e os processos biológicos.

No entanto, considera-se que os resultados da simulação 1 foram muito promissores e que realmente satisfaz o propósito para o qual foi desenvolvida. Mesmo assim, propõe-se a realização de uma validação experimental para a mesma na qual sensores seriam colocados a distâncias estratégicas dos iões de  $^{223}\text{Ra}$  e posteriormente os resultados experimentais seriam comparados com os resultados da simulação.

Por outro lado, dado que a simulação 2 foi desenvolvida numa tentativa de simular a irradiação de células PC3 com  $^{223}\text{Ra}$  ficou muito por fazer e muitos aspectos não foram considerados.

Na irradiação das células é necessário ter em consideração que há mais processos envolvidos do que apenas os processos físicos e que na realidade os processos biológicos não são tão bem compreendidos como desejável.

Verifica-se que para as células, quando irradiadas, há influência nos resultados devido a uma possível reparação dos danos causados pela RI, há células em diferentes fases do ciclo celular, há a possibilidade de haver repopulação e por fim, apenas se considerou uma linha celular e, não se teve em conta a radiosensibilidade da mesma.

Portanto, verifica-se que a simulação 2 realmente satisfaz um dos propósitos para os quais foi desenvolvida, isto é, observar se há grandes oscilações no número interações com as células e na deposição de energia, no entanto ficaram muitos pontos por considerar do ponto de vista biológico e, apesar de se verificar que os resultados vão de encontro aos resultados obtidos para a irradiação, esta conclusão tem muitas falhas.

Por último, foi possível observar diferenças para as várias condições usadas na irradiação de células com  $^{223}\text{Ra}$ , no entanto esta experiência também tem uma falha importante, isto é, as condições não são as mesmas. O volume de  $^{223}\text{Ra}$  colocado com as células na placa de 24 poços aumenta à medida que o número de células por mL, no momento da irradiação, diminui. Logo, os resultados desta experiência foram influenciados pela quantidade de  $^{223}\text{Ra}$  colocada nos poços das placas de 24 poços. Para resolver este problema propõe-se colocar uma quantidade menor de  $^{223}\text{Ra}$  nas placas de 48 poços, para cada uma das condições, e realizando os cálculos necessários aumentar o tempo de irradiação. Com estas condições, a dose administrada nas células seria idêntica para cada uma das condições e no final, nas placas de 24 poços, a quantidade de  $^{223}\text{Ra}$  colocada seria idêntica.

Considera-se que este projeto é realmente um projeto importante do ponto de vista da microdosimetria, muito completo, que permite concluir como ocorrem as interações com as células, mas são deixados os processos biológicos, os efeitos indirectos e os possíveis efeitos Bystander de parte.

De forma a tentar aproximar a simulação 2 às condições experimentais, propõe-se realizar novas simulações usando o Geant4-DNA, que é considerada uma ferramenta poderosa para a radiobiologia.



## 6. Conclusões

---

Neste projeto, conclui-se que a deposição de energia devido a interações com partículas  $\alpha$  é muito localizada e heterogénea. Consequentemente, dado que as células PC3 têm um diâmetro de 15  $\mu\text{m}$ , o alcance máximo das partículas  $\alpha$  emitidas pelos iões de  $^{223}\text{Ra}$  é de 4 células (60  $\mu\text{m}$ ), considerando que as células estão agregadas.

Adicionalmente, verifica-se que há uma probabilidade maior de haver interações com o citoplasma do que com o núcleo. Por fim, com a irradiação das células PC3 com  $^{223}\text{Ra}$  é possível concluir que à medida que o número de células por mL aumenta há diminuição da morte celular, o que está de acordo com os resultados da simulação 2. No entanto, é importante ter em consideração que o efeito observado no ensaio experimental pode estar exagerado dado que à medida que o número de células por mL diminui, o volume de  $^{223}\text{Ra}$  colocado na placa de 24 poços aumenta significativamente.

Estes resultados apoiam a necessidade de compreender os mecanismos envolvidos na TdT, pois não há uma deposição de energia homogénea e, portanto, os efeitos observados na terapia não podem ser devido apenas a efeitos diretos.

Em suma, os efeitos *Bystander* e os efeitos indiretos deverão ser os principais responsáveis pela morte celular observada e será necessário continuar a realizar projetos nesta área de forma a perceber quais são os mecanismos de ação envolvidos na TdT.

Este projeto engloba uma componente de simulação e uma componente biológica para avaliar um problema de microdosimetria com repercussões clínicas imediatas e importantes. Destas duas componentes foi possível retirar conclusões claras, e comparar os resultados entre si, os quais vão de encontro ao que se conhece do tema. É ainda de notar, que este trabalho é um dos poucos que combina duas áreas muito distintas: a simulação computacional de partículas e a biologia celular.

## Conclusões

## 7. Referências

---

1. Coleman RE, Croucher PI, Padhani AR, Clézardin P, Chow E, Fallon M, et al. Bone metastases. *Nat Rev Dis Prim.* 2020;6.
2. World Health Organization. Cancer. 2021 [cited 2021 Aug 24]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
3. Global Cancer Observatory. [cited 2021 Aug 24]. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/home>
4. Logothetis C, Morris MJ, Den R, Coleman RE. Current perspectives on bone metastases in castrate-resistant prostate cancer. *Cancer Metastasis Rev. Cancer and Metastasis Reviews;* 2018;37:189–96.
5. Sánchez-Jiménez J, López-Montes A, Núñez-Martínez L, Villa-Abaunza A, Fraile LM, Sánchez-Tembleque V, et al. <sup>223</sup>Ra-dichloride spectrometric characterization: Searching for the presence of long-lived isotopes with radiological protection implications. *Phys Medica.* 2017;35:97–101.
6. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell Press. Elsevier Inc.;* 2011;144:646–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
7. Douglas Hanahan RAW. *The Hallmarks of Cancer.* Cell Press. 2000;
8. Marques IA, Neves AR, Abrantes AM, Pires AS, Tavares-da-silva E. Targeted alpha therapy using Radium-223 : From physics to biological effects. *Cancer Treat Rev. Elsevier;* 2018;68:47–54. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.05.011>
9. IPO. Tratamento. [cited 2020 Dec 21]. Available from: <https://www.ipolisboa.min-saude.pt/sobre-o-cancro/tratamento/#>
10. Moreira HMR, Liberal DCG, Sullivan JMO, Rcsi FRR, McMahon SJ, Prise KM. Mechanistic Modeling of Radium-223 Treatment of Bone Metastases. *Radiat Oncol Biol. Elsevier Inc.;* 2019;103:1221–30. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2018.12.015>
11. Schatten H. Brief overview of prostate cancer statistics, grading, diagnosis and treatment strategies. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1095:1–14.
12. Buroni FE, Persico MG, Pasi F, Lodola L, Nano R, Aprile C. Radium-223: Insight and perspectives in bone-metastatic castration-resistant prostate cancer. *Anticancer Res.* 2016;36:5719–30.
13. Brisbane Urology Clinic. Prostate Cancer. Prostate Cancer. [cited 2020 Dec 28]. Available from: <https://brisbaneurologyclinic.com.au/cancer-of-the-prostate/>
14. Einat Even-Sapir, MD, PhD1, 2; Ur Metser, MD1, 2; Eyal Mishani, PhD3; Gennady Lievshitz, MD1; Hedva Lerman M, and Ilan Leibovitch, MD2 4. The Detection of Bone Metastases in Patients with High-Risk Prostate Cancer : <sup>99m</sup>Tc-MDP Planar. *J Nucl Med.* 2006;47:287–97.
15. Guerra Liberal FDC, O’Sullivan JM, McMahon SJ, Prise KM. Targeted Alpha Therapy: Current Clinical Applications. *Cancer Biother Radiopharm.* 2020;35:404–17.
16. World Health Organization. Palliative Care. 2020 [cited 2021 Aug 24]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/palliative-care>
17. CI5PLUS: CANCER INCIDENCE IN FIVE CONTINENTS TIME TRENDS. CI5PLUS: CANCER INCIDENCE IN FIVE CONTINENTS TIME TRENDS [Internet]. [cited 2021 Aug 27]. Available from: <https://gco.iarc.fr/>
18. IPO. Radioterapia. [cited 2020 Dec 21]. Available from: <https://www.ipolisboa.min-saude.pt/sobre-o-cancro/tratamento/radioterapia/>
19. Hauf S, Kuster M, Batič M, Bell ZW, Hoffmann DHH, Lang PM, et al. Radioactive decays in Geant4. *IEEE Trans Nucl Sci.* 2013;60:2966–83.
20. Baskar R, Lee KA, Yeo R, Yeoh KW. Cancer and radiation therapy: Current advances and future directions. *Int J Med Sci.* 2012;9:193–9.
21. Wang JJ, Lei KF, Han F. Tumor microenvironment: Recent advances in various cancer

## Referências

- treatments. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018;22:3855–64.
22. Klement RJ. The influence of ketogenic therapy on the 5 R's of radiobiology. *Int J Radiat Biol.* Taylor & Francis; 2019;95:394–407. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/09553002.2017.1380330>
  23. Scott BR. Radiation Toxicology, Ionizing and Nonionizing. Third Edit. *Encycl. Toxicol.* Third Ed. Elsevier; 2014. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00057-9>
  24. Marcu L, Bezak E, Allen B. *Biomedical Physics in Radiotherapy for Cancer.* 2012.
  25. Pajonk F, Vlashi E MBW. Radiation Resistance of Cancer Stem Cells: The 4 R's of Radiobiology Revisited. *Stem Cells.* 2010;28:639–48.
  26. Nahum AE. The Radiobiology of Hypofractionation. *Clin Oncol.* Elsevier Ltd; 2015;27:260–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clon.2015.02.001>
  27. Ray K. Toxicity of radiation. *Reprod. Dev. Toxicol.* Elsevier Inc.; 2017. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-804239-7.00020-2>
  28. Desouky O, Ding N, Zhou G. Targeted and non-targeted effects of ionizing radiation. *J Radiat Res Appl Sci.* Elsevier Ltd; 2015;8:247–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jrras.2015.03.003>
  29. Christensen DM, Iddins CJ, Sugarman SL. Ionizing radiation injuries and illnesses. *Emerg Med Clin North Am.* Elsevier Inc; 2014;32:245–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.emc.2013.10.002>
  30. Turner JE. INTERACTION OF IONIZING RADIATION WITH MATTER. *Health Phys.* 2004;86:228–52.
  31. Nahum A. Interactions of charged particles with matter. *Handb Radiother Phys Theory Pract.* 2007;35–55.
  32. Easterday HT. Interaction of radiation with matter. *Basic Phys. Radiotracers.* 2017.
  33. Kuncic Z, Byrne HL, McNamara AL, Guatelli S, Domanova W, Incerti S. In silico nanodosimetry: New insights into nontargeted biological responses to radiation. *Comput Math Methods Med.* 2012;2012.
  34. Minniti G, Goldsmith C, Brada M. Radiotherapy. *Handb Clin Neurol.* 2012;104:215–28.
  35. Iyer R, Lehnert BE. Effects of ionizing radiation in targeted and nontargeted cells. *Arch Biochem Biophys.* 2000;376:14–25.
  36. Wright EG. Manifestations and mechanisms of non-targeted effects of ionizing radiation. *Mutat Res - Fundam Mol Mech Mutagen.* Elsevier B.V.; 2010;687:28–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2010.01.014>
  37. Kreuzer M, Bouffler S. Guest editorial: Non-cancer effects of ionizing radiation - clinical implications, epidemiological and mechanistic evidence and research gaps. *Environ Int.* Elsevier Ltd; 2020;106286. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106286>
  38. Morgan WF, Sowa MB. Non-targeted effects induced by ionizing radiation: Mechanisms and potential impact on radiation induced health effects. *Cancer Lett.* Elsevier Ireland Ltd; 2015. page 17–21.
  39. Gholami Y, Zhu X, Fulton R, Meikle S, El-Fakhri G, Kuncic Z. Stochastic simulation of radium-223 dichloride therapy at the sub-cellular level. *Phys Med Biol.* IOP Publishing; 2015;60:6087–96.
  40. Huang CY, Guatelli S, Oborn BM, Allen BJ. Microdosimetry for targeted alpha therapy of cancer. *Comput Math Methods Med.* 2012;2012.
  41. Hofmann W, Li WB, Friedland W, Miller BW, Madas B, Bardiès M, et al. Internal microdosimetry of alpha-emitting radionuclides. *Radiat. Environ. Biophys.* Springer Berlin Heidelberg; 2020. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00411-019-00826-w>
  42. Mínguez P, Roeske JC, Mínguez R, De Iturriaga AG, Rodeño E. Comparison of microdosimetry-based absorbed doses to control tumours and clinically obtained tumour absorbed doses in treatments with <sup>223</sup>Ra. *Phys Med Biol.* 2018;63.
  43. Hobbs RF, Song H, Watchman CJ, Bolch WE, Aksnes AK, Ramdahl T, et al. A bone marrow toxicity model for <sup>223</sup>Ra alpha-emitter radiopharmaceutical therapy. *Phys Med Biol.* 2012;57:3207–22.

44. Chauvie S, Francis Z, Guatelli S, Incerti S, Mascialino B, Moretto P, et al. Geant4 Physics Processes for Microdosimetry Simulation: Design Foundation and Implementation of the First Set of Models. *IEEE Trans Nucl Sci.* 2007;54:2619–28.
45. Diane E. Handy, Rita Castro JL. CHALLENGES AND PROGRESS IN PREDICTING BIOLOGICAL RESPONSES TO INCORPORATED RADIOACTIVITY. *Bone.* 2011;23:1–7.
46. Stabin MG, editor. *Interaction of Radiation with Matter.* Radiat Prot Dosim. New York, NY: Springer New York; 2007. page 43–66. Available from: [https://doi.org/10.1007/978-0-387-49983-3\\_4](https://doi.org/10.1007/978-0-387-49983-3_4)
47. Sgouros G, Roeske JC, McDevitt MR, Palm S, Allen BJ, Fisher DR, et al. MIRD pamphlet No. 22 (Abridged): Radiobiology and dosimetry of  $\alpha$ -particle emitters for targeted radionuclide therapy. *J Nucl Med.* 2010;51:311–28.
48. E. L. LLOYD, M. A. GEMMELL, C. B. HENNING DSG and B. JZ. Cell survival following multiple-track alpha particle irradiation. 1979;
49. Charlton DE, Nikjoo H, Humm JL. Calculation of initial yields of single- and double-Strand breaks in cell nuclei from electrons, protons and alpha particles. *Int J Radiat Biol.* 1989;56:1–19.
50. Parker C, Lewington V, Shore N, Kratochwil C, Levy M, Lindén O, et al. Targeted Alpha Therapy, an Emerging Class of Cancer Agents: A Review. *JAMA Oncol.* 2018;4:1765–72.
51. EMA. Xofigo : EPAR - Product Information. EMA. 2019.
52. AL Darwish R, Staudacher AH, Li Y, Brown MP, Bezak E. Development of a transmission alpha particle dosimetry technique using A549 cells and a Ra-223 source for targeted alpha therapy. *Med Phys.* 2016;43:6145–53.
53. EU Clinical Trials Register. Clinical trials for Xofigo. [cited 2021 Jan 14]. Available from: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=Xofigo>
54. Lassmann M, Eberlein U. Targeted alpha-particle therapy: imaging, dosimetry, and radiation protection. *Ann ICRP.* 2018;47:187–95.
55. Yoshida K, Kaneta T, Takano S, Sugiura M, Kawano T, Hino A, et al. Pharmacokinetics of single dose radium-223 dichloride (BAY 88-8223) in Japanese patients with castration-resistant prostate cancer and bone metastases. *Ann Nucl Med. Springer Japan;* 2016;30:453–60.
56. Allen B, Huang C-Y, Clarke R. Targeted alpha anticancer therapies: update and future prospects. *Biol Targets Ther.* 2014;255.
57. Lazarakis P, Bug MU, Gargioni E, Guatelli S, Rabus H, Rosenfeld AB. Comparison of nanodosimetric parameters of track structure calculated by the Monte Carlo codes Geant4-DNA and PTra. *Phys Med Biol.* 2012;57:1231–50.
58. Goodhead DT. Energy deposition stochastics and track structure: what about the target? *Radiat Prot Dosimetry.* 2007;122:3–15. Available from: <https://doi.org/10.1093/rpd/ncl498>
59. Amako K, Guatelli S, Ivanchenko V, Maire M, Mascialino B, Murakami K, et al. GEANT4 and its validation. *Nucl Phys B - Proc Suppl.* 2006;150:44–9.
60. Chen Z, Yang P, Lei Q, Wen Y, He D, Wu Z, et al. Comparison of Bnct Dosimetry Calculations Using Different Geant4 Physics Lists. *Radiat Prot Dosimetry.* 2019;187:88–97.
61. Allison J. Geant4—a simulation toolkit. *Int J Phytoremediation.* 2007;17:20–4.
62. Wang C. Monte carlo simulation. Second Edi. Springer Ser. Reliab. Eng. Elsevier; 2021. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-102295-5.10407-X>
63. Aichambault L, Beaulieu L, Carrier JF, Castrovillari F, Chauvie S, Foppiano F, et al. Overview of Geant4 applications in medical physics. *IEEE Nucl Sci Symp Conf Rec. IEEE;* 2003;3:1743–5.
64. Incerti S, Sez nec H, Simon M, Barberet P, Habchi C, Moretto P. Monte Carlo dosimetry for targeted irradiation of individual cells using a microbeam facility. *Radiat Prot Dosimetry.* 2009;133:2–11.
65. Park S, Ang RR, Duffy SP, Bazov J, Chi KN, Black PC, et al. Morphological differences between circulating tumor cells from prostate cancer patients and cultured prostate cancer

## Referências

- cells. PLoS One. 2014;9.
66. Kaighn ME, Narayan KS, Ohnuki Y, Lechner JF, Jones LW. Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3). Invest Urol. United States; 1979;17:16–23.
  67. atcc. CRL-1435. [cited 2021 Sep 3]. Available from: <https://www.atcc.org/products/crl-1435#detailed-product-information>
  68. Orellana E, Kasinski A. Sulforhodamine B (SRB) Assay in Cell Culture to Investigate Cell Proliferation. Bio-Protocol. 2016;6.
  69. Vajrabhaya L ongthong, Korsuwannawong S. Cytotoxicity evaluation of a Thai herb using tetrazolium (MTT) and sulforhodamine B (SRB) assays. J Anal Sci Technol. Journal of Analytical Science and Technology; 2018;9.
  70. Vichai V, Kirtikara K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. Nat Protoc. 2006;1:1112–6.

## 8. Anexos

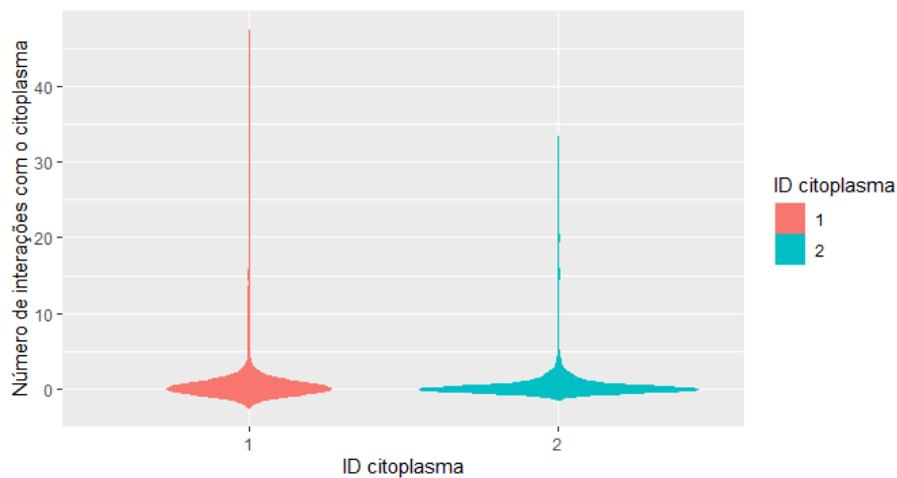


Figura 77 Violinplots do número de interações com o citoplasma de cada uma das células, para a condição 2. Nos 1000 runs, apenas há pelo menos uma interação com o citoplasma1 em 236 runs e com o citoplasma2 em 228 runs, ou seja ocorre pelo menos uma interação em  $23,2\% \pm 0,4\%$  dos runs. O número de interações com os citoplasmas é maioritariamente igual a zero, no entanto o número de interações com o citoplasma1 pode chegar a 45 e para o citoplasma2 a 32.

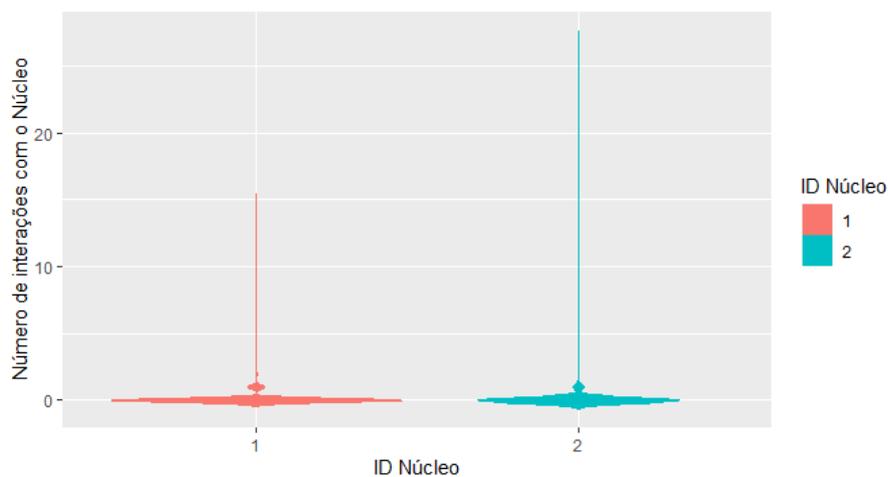


Figura 78 Violinplots do número de interações com o núcleo de cada uma das células, para a condição 2. Nos 1000 runs, apenas há pelo menos uma interação com o núcleo1 em 65 runs e com o núcleo2 em 54 runs, ou seja ocorre interação em  $6,0\% \pm 0,6\%$  dos runs. O número de interações com os núcleos é maioritariamente igual a zero, no entanto, o número de interações com o núcleo1 pode chegar a 15 e com o núcleo2 a 27.

## Anexos

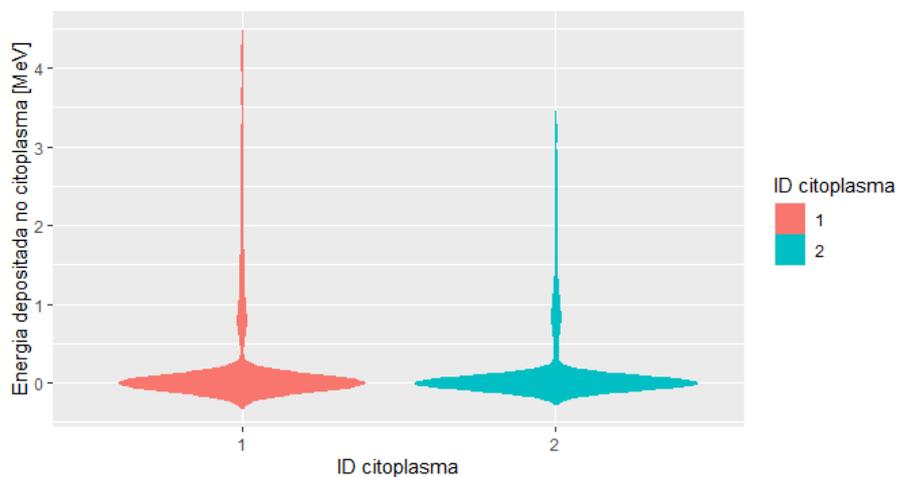


Figura 79 Violinplots da energia depositada no citoplasma de cada uma das células, para a condição 2. Nos 1000 runs, apenas há deposição de energia no citoplasma1 em 236 runs e com o citoplasma2 em 228 runs, ou seja ocorre deposição de energia em  $23,2\% \pm 0,4\%$  dos runs. A energia depositada nos citoplasmas é maioritariamente igual a zero, no entanto, a energia depositada no citoplasma1 pode chegar a 4,16 MeV e com o citoplasma2 a 3,17 MeV.

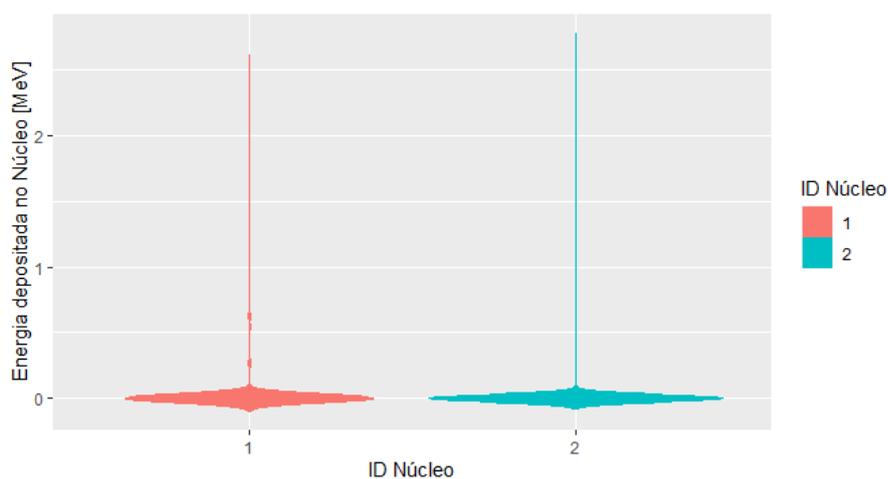


Figura 80 Violinplot para a energia depositada no núcleo de cada uma das células, para a condição 2. Nos 1000 runs, apenas há deposição de energia no núcleo1 em 65 runs e com o núcleo2 em 54 runs, ou seja ocorre deposição de energia em  $6,0\% \pm 0,6\%$  dos runs. A energia depositada nos núcleos é maioritariamente igual a zero, no entanto, a energia depositada no núcleo1 pode chegar a 2,52 MeV e com o núcleo2 pode chegar a 2,69 MeV.

## Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

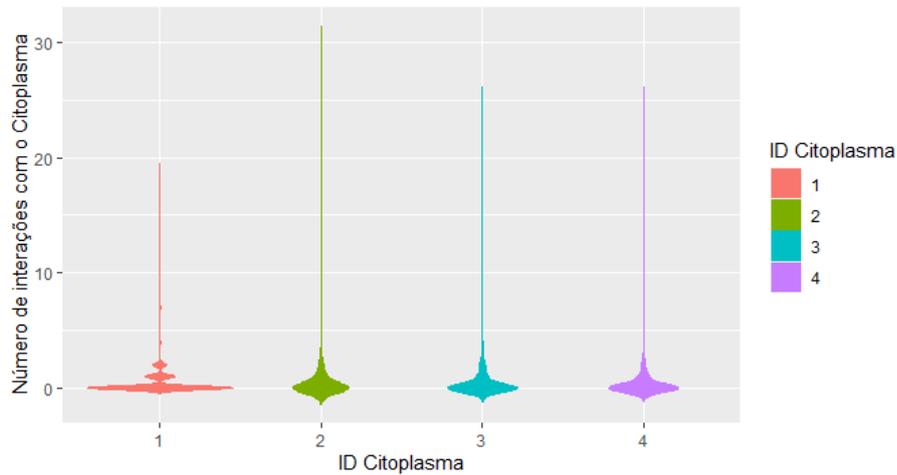


Figura 81 Violinplots do número de interações com o citoplasma de cada uma das células, para a condição 3. Nos 1000 runs, apenas há interação com cada um dos citoplasmas em  $21,7\% \pm 1,4\%$  dos runs. O número de interações com os citoplasmas é maioritariamente igual a zero, no entanto o número de interações com o citoplasma1 pode chegar a 19, com o citoplasma2 a 30, com o citoplasma3 a 25 e com o citoplasma4 a 25.

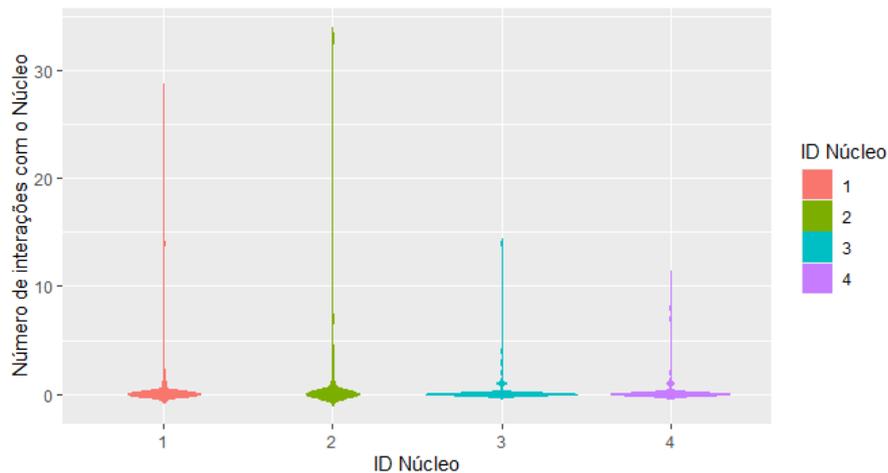


Figura 82 Violinplots do número de interações com o núcleo de cada uma das células, para a condição 3. Nos 1000 runs, apenas há interação com cada um dos núcleos em  $6,2\% \pm 0,3\%$  dos runs. O número de interações com os núcleos é maioritariamente igual a zero, no entanto o número de interações com o núcleo1 pode chegar a 28, com o núcleo2 a 33, com o núcleo3 a 14 e com o núcleo4 a 11.

## Anexos

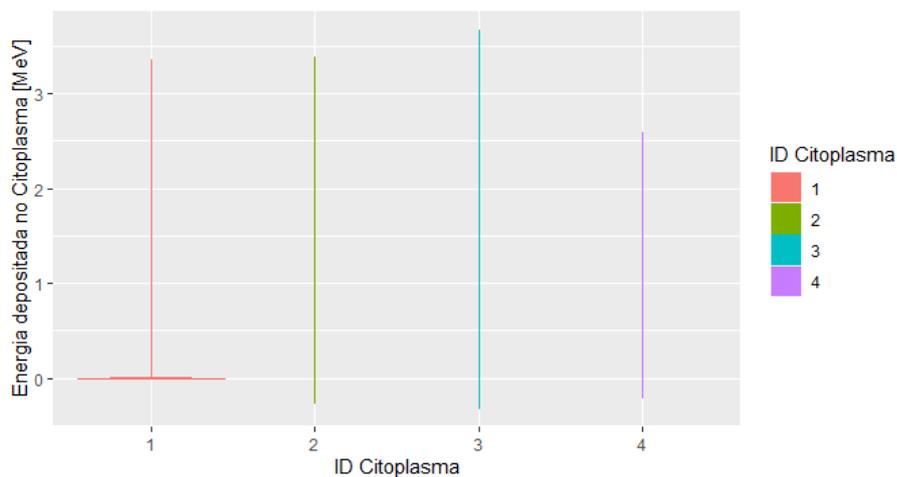


Figura 83 Violinplots da energia depositada no citoplasma de cada uma das células, para a condição 3. Nos 1000 runs, apenas há interação com cada um dos citoplasmas em  $21,7\% \pm 1,4\%$  dos runs. A energia depositada nos citoplasmas é maioritariamente igual a zero, no entanto a energia depositada no citoplasma1 pode chegar a 3,36 MeV, no citoplasma2 a 3,12 MeV, no citoplasma3 a 3,35 MeV e no citoplasma4 a 2,38 MeV.

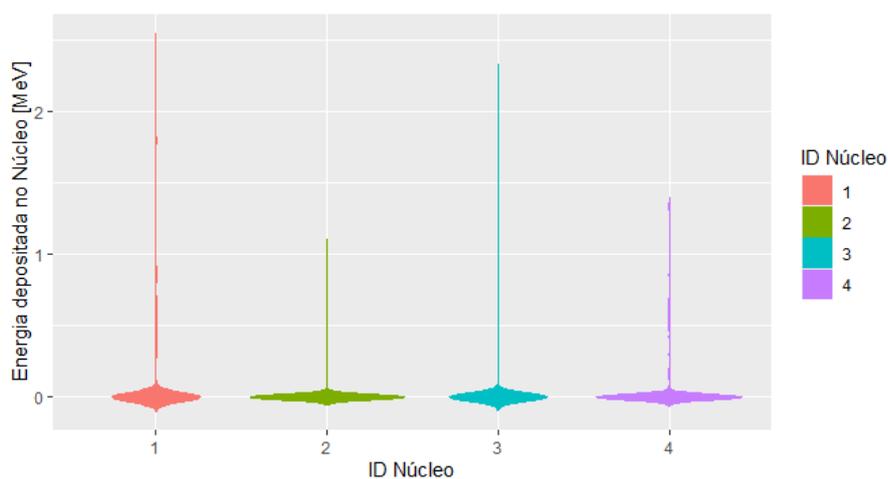


Figura 84 Violinplots da energia depositada no núcleo de cada uma das células, para a condição 3. Nos 1000 runs, apenas há interação com cada um dos núcleos em  $6,2\% \pm 0,3\%$  dos runs. A energia depositada nos núcleos é maioritariamente igual a zero, no entanto a energia depositada no núcleo1 pode chegar a 2,45 MeV, com o núcleo2 a 1,05 MeV, com o núcleo3 a 2,23 MeV e com o núcleo4 a 1,34 MeV.

## Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

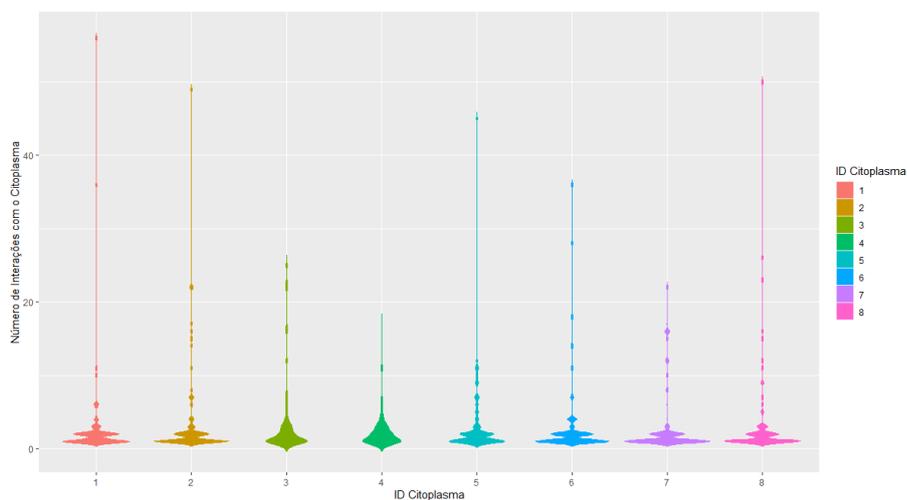


Figura 85 Violinplots do número de interações com o citoplasma de cada uma das células, para a condição 4. Nos 1000 runs, apenas há interação com cada um dos citoplasmas em  $21,3\% \pm 0,7\%$  dos runs. O número de interações com os citoplasmas é maioritariamente igual a zero, no entanto o número de interações com o citoplasma1 pode chegar a 56, com o citoplasma2 a 49, com o citoplasma3 a 25, no citoplasma4 a 17, no citoplasma5 a 45, no citoplasma6 a 36, no citoplasma7 a 22 e no citoplasma8 a 50.

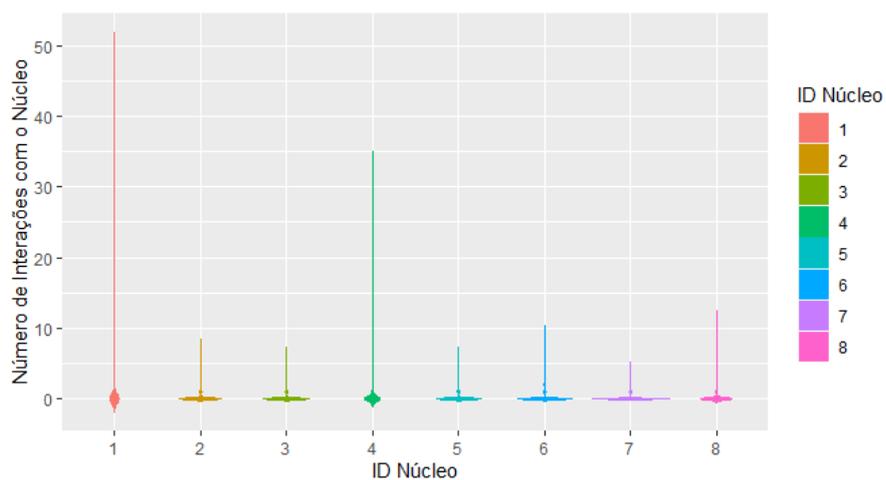


Figura 86 Violinplots do número de interações com o núcleo de cada uma das células, para a condição 4. Nos 1000 runs, apenas há interação com cada um dos núcleos em  $5,6\% \pm 0,5\%$  dos runs. O número de interações com os núcleos é maioritariamente igual a zero, no entanto o número de interações com o núcleo1 pode chegar a 50, com o núcleo2 a 8, com o núcleo3 a 7, com o núcleo4 a 32, com o núcleo5 a 7, com o núcleo6 a 10, com o núcleo7 a 5 e com o núcleo8 a 12.

## Anexos

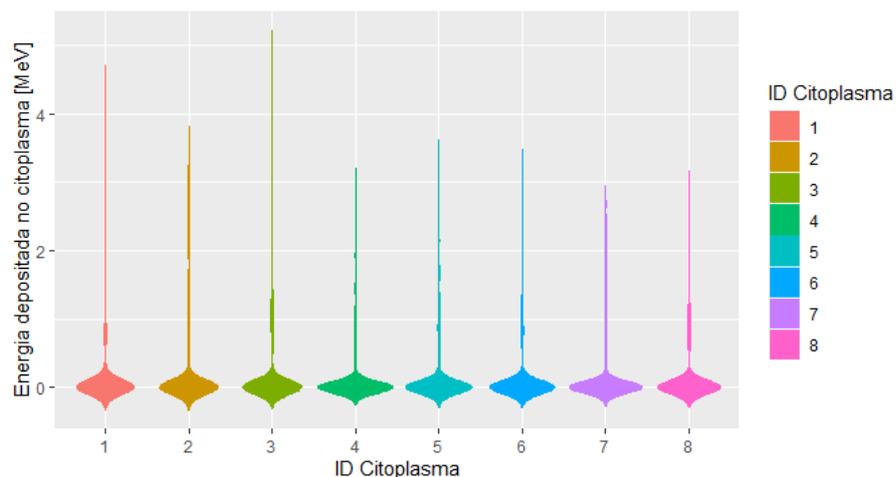


Figura 87 Violinplots da energia depositada no citoplasma de cada uma das células, na condição 4. Nos 1000 runs, apenas há interação com cada um dos citoplasmas em  $21,3\% \pm 0,7\%$  dos runs. A energia depositada nos citoplasmas é maioritariamente igual a zero, no entanto a energia depositada no citoplasma1 pode chegar a 4,38 MeV, no citoplasma2 a 3,49 MeV, no citoplasma3 a 4,9 MeV, no citoplasma4 a 2,94 MeV, no citoplasma5 a 3,34 MeV, no citoplasma6 a 3,18 MeV, no citoplasma7 a 2,69 MeV e no citoplasma8 a 2,87 MeV.

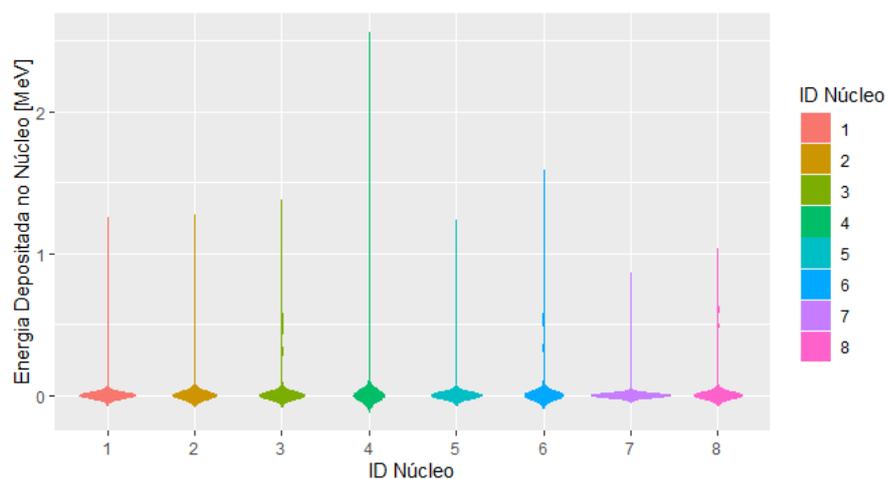


Figura 88 Violinplots da energia depositada no núcleo de cada uma das células, para a condição 4. Nos 1000 runs, apenas há pelo menos uma interação com cada um dos núcleos em  $5,6\% \pm 0,5\%$  dos runs. A energia depositada nos núcleos é maioritariamente igual a zero, no entanto a energia depositada no núcleo1 pode chegar a 1,18 MeV, no núcleo2 a 1,19 MeV, no núcleo3 a 1,30 MeV, no núcleo4 a 2,44 MeV, no núcleo5 a 1,16 MeV, no núcleo6 a 1,50 MeV, no núcleo7 a 0,81 MeV e no núcleo8 a 0,96 MeV.

## Microdosimetria do Rádio-223 por Método de Monte Carlo

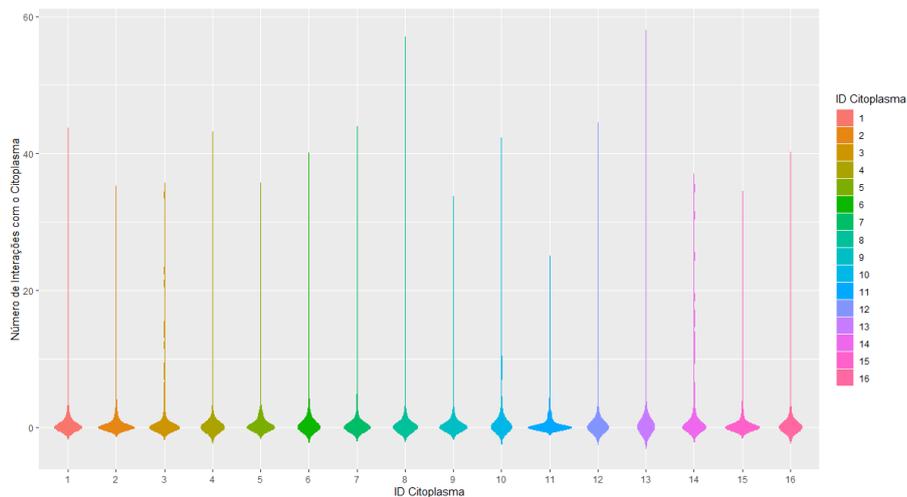


Figura 89 Violinplots do número de interações com o citoplasma de cada uma das células, para a condição 5. Nos 1000 runs, apenas há interação com cada um dos citoplasmas em  $19,5\% \pm 0,9\%$  dos runs. O número de interações com os citoplasmas é maioritariamente igual a zero, no entanto o número de interações com o citoplasma1 pode chegar a 42, com o citoplasma2 a 34, com o citoplasma3 a 34, no citoplasma4 a 41, com o citoplasma5 a 34, com o citoplasma6 a 38, com o citoplasma7 a 42, com o citoplasma8 a 55, com o citoplasma9 a 32, com o citoplasma10 a 40, com o citoplasma11 a 24, com o citoplasma12 a 42, com o citoplasma13 a 55, com o citoplasma14 a 35, com o citoplasma15 a 33 e com o citoplasma16 a 38.

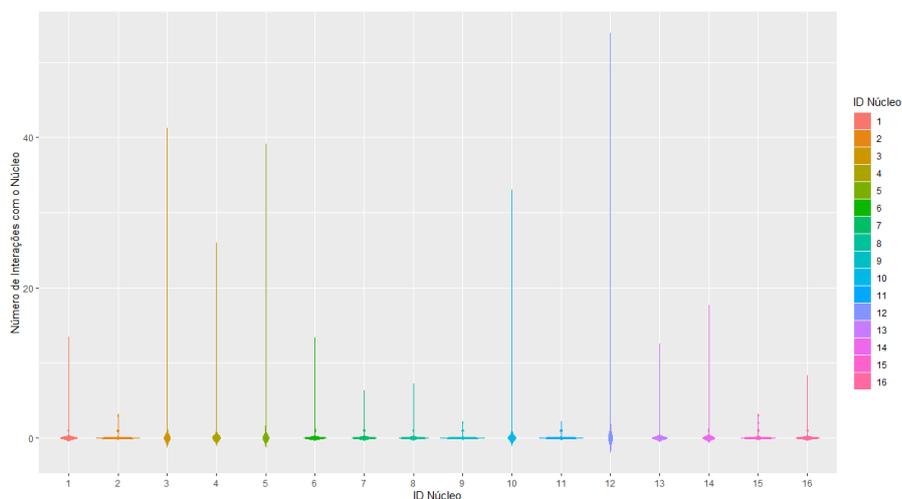


Figura 90 Violinplots do número de interações com o núcleo de cada uma das células, para a condição 5. Nos 1000 runs, apenas há interação com cada um dos núcleos em  $5,4\% \pm 2,5\%$  dos runs. O número de interações com os núcleos é maioritariamente igual a zero, no entanto o número de interações com o núcleo1 pode chegar a 13, com o núcleo2 a 3, com o núcleo3 a 40, com o núcleo4 a 25, com o núcleo5 a 38, com o núcleo6 a 13, com o núcleo7 a 6, com o núcleo8 a 7, com o núcleo9 a 2, com o núcleo10 a 32, com o núcleo11 a 2, com o núcleo12 a 52, com o núcleo13 a 12, com o núcleo14 a 17, com o núcleo15 a 3 e com o núcleo16 a 8.

## Anexos

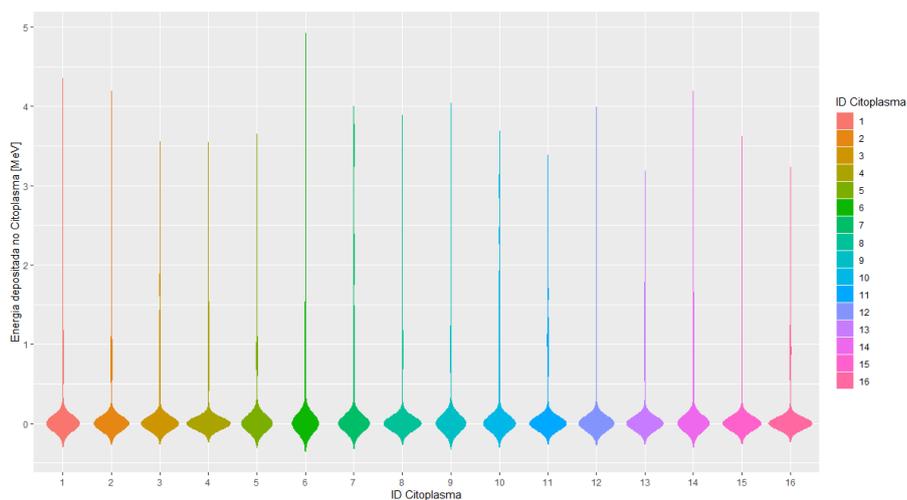


Figura 91 Violinplots da energia depositada no núcleo de cada uma das células, para a condição 5. Nos 1000 runs, apenas há interação com cada um dos citoplasmas em  $19,5\% \pm 0,9\%$  dos runs. A energia depositada nos citoplasmas é maioritariamente igual a zero, no entanto a energia depositada no citoplasma1 pode chegar a 4,06 MeV, no citoplasma2 a 3,92 MeV, no citoplasma3 a 3,29 MeV, no citoplasma4 a 3,32 MeV, no citoplasma5 a 3,34 MeV, no citoplasma6 a 4,57 MeV, no citoplasma 7 a 3,69 MeV, no citoplasma8 a 3,62 MeV, no citoplasma9 a 3,72 MeV, no citoplasma10 a 3,40 MeV, no citoplasma11 a 3,13 MeV, no citoplasma12 a 3,71 MeV, no citoplasma13 a 2,93 MeV, no citoplasma14 a 3,89 MeV, no citoplasma15 a 3,36 MeV e no citoplasma16 a 3,00 MeV.

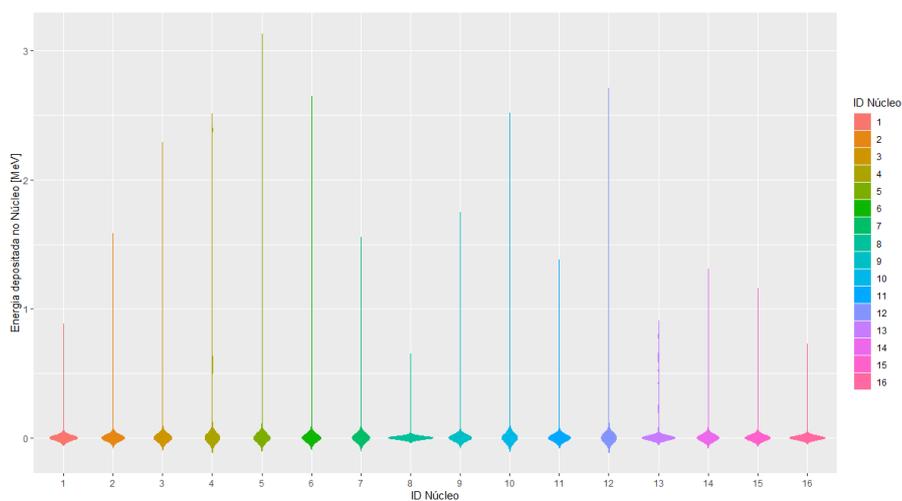


Figura 92 Violinplots da energia depositada no núcleo de cada uma das células, para a condição 5. Nos 1000 runs, apenas há interação com cada um dos núcleos em  $5,4\% \pm 2,5\%$  dos runs. A energia depositada nos núcleos é maioritariamente igual a zero, no entanto a energia depositada no núcleo1 pode chegar a 0,82 MeV, no núcleo2 a 1,51 MeV, no núcleo3 a 2,20 MeV, no núcleo4 a 2,40 MeV, no núcleo5 a 3,03 MeV, no núcleo6 a 2,56 MeV, no núcleo7 a 1,46 MeV, no núcleo8 a 0,61 MeV, no núcleo9 a 1,67 MeV, no núcleo10 a 2,41 MeV, no núcleo11 a 1,30 MeV, no núcleo12 a 2,60 MeV, no núcleo13 a 0,85, no núcleo14 a 1,23 MeV, no núcleo15 a 1,09 MeV e no núcleo16 a 0,68 MeV.

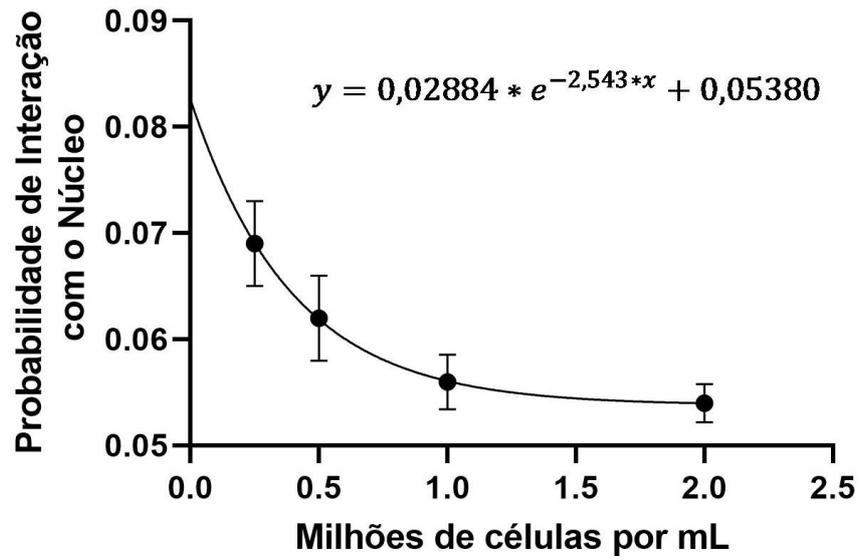


Figura 93 Probabilidade de haver pelo menos uma interação com o núcleo de cada uma das células, para a simulação 2. Neste gráfico ignora-se o ponto para 0,125 milhões de células para mL.



