



## Doctoral Thesis

# Low dose irradiation of individual cells with measured track positions

**Author(s):**

Heimgartner, Erwin

**Publication Date:**

1998

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-002003877> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH No. 12660

# Low Dose Irradiation of Individual Cells with Measured Track Positions

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH  
for the degree of  
**Doctor of Natural Sciences**

presented by  
Erwin Heimgartner  
dipl. phys., ETHZ  
born May 10, 1966  
citizen of Fislisbach AG, Switzerland

accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. P. Niederer, examiner  
Prof. Dr. J. Lang, co-examiner  
Dr. H.W. Reist, co-examiner

1998

## Abstract

In environmental and occupational exposure involving short-range particles (such as with radon and with neutrons), only a very small fraction of the cells at risk is actually traversed by a charged particle and virtually no cell ever receives more than one traversal during its lifetime. The risk that is associated with such exposures is therefore dominated by the cellular effects of single particle traversals. This situation cannot be simulated *in vitro* using "broad-field" irradiation because of the random distribution of tracks. The cellular effects of single particles are crucial for mechanistic models of radiation effect and for risk estimates at low doses. It is not clear how the biological effects of one and of a few particle traversals are connected.

Two different techniques for the study of single particle effects on individual cells are in use worldwide: microbeam irradiation with counted particles and measured particle track irradiation. A new irradiation technique has been developed at the Paul Scherrer Institute (PSI) which permits irradiation of isolated cells with particles from an accelerator (protons,  $\alpha$ -particles or heavier ions) such that the positions of the particle traversals through the cells can be measured. This enables the study of cellular effects depending on the number of particle traversals and of the energy deposited in the cell nucleus.

The technique includes a cell chamber with a very thin base membrane made of surface-coated polypropylene on which the cells adhere. The particle tracks are detected by means of a thin layer of nuclear emulsion placed immediately in front of the cells. The relative position of the track detector and the cell chamber at the time of irradiation is determined by light-projection of reference apertures onto the photographic emulsion. This permits the correction of possible lateral distortions of the detector due to processing. The accuracy of locating the particle tracks within the cells was determined to be around 1  $\mu\text{m}$ .

The cross section of the cell nuclei of the irradiated cells is made visible by weak fluorescent staining such that the cell growth is not impaired. The nuclear thickness under these conditions of growth is determined from well stained, non-irradiated cells

by means of a confocal laser-scanning microscope. A statistical model of the nuclear thickness as a function of the lateral distance from the 2-D contour is used to determine the track length of each particle in the cell nucleus and to calculate the total energy deposited in the nucleus.

The method was applied in a first study to the inactivation of V79 hamster fibroblast cells by 2.7 MeV  $\alpha$ -particles. The results show a sharp decline of the survival probability with the deposited energy as it is usually observed with densely ionizing radiation. At higher doses which correspond to 4-5 particle traversals, the survival curve tends to saturate. These findings could be due to the different radiosensitivities of older and younger cells in the cell cycle. The validity of this supposition could be tested by a better synchronization of the cells. The overall slope of the survival curve is in accordance with the results obtained in other laboratories where the track positions were not measured. To compare the results, however, a correction has to be applied which reflects the Poisson-distributed number of traversals.

When the method developed at PSI is compared to other systems, the particle positions can be very precisely located and the spatial accuracy achieved permits the study of the radiosensitivity throughout the cell (cytoplasm, cell nucleus). The unique feature of the method is the determination of the energy deposition in the cell nucleus. This allows to take into account different nuclear sizes and shapes properly. End-points at the cellular level which are being studied are cell inactivation, chromosomal aberrations and damage to DNA.

## Zusammenfassung

Bei der Strahlenexposition mit kurzreichweitigen geladenen Teilchen, wie sie zum Beispiel bei der Inhalation von Radon oder bei der Bestrahlung mit Neutronen auftreten, wird nur ein geringer Prozentsatz der Zellen von einem geladenen Teilchen durchquert und die Wahrscheinlichkeit, dass eine Zelle während ihrer Lebensspanne von mehr als einem Teilchen durchquert wird, ist verschwindend klein. Das Strahlenrisiko bei solchen Expositionen hängt deshalb wesentlich von den zellulären Effekten einzelner Durchgänge dichtionisierender Teilchen ab. Diese Situation kann wegen der zufälligen Verteilung der Teilchendurchgänge nicht durch konventionelle "Breitfeld"-Bestrahlung *in vitro* simuliert werden. Die Effekte einzelner Teilchen sind aber für das Aufspüren von grundlegenden Wirkungsmechanismen und für die Abschätzung des Strahlenrisikos bei kleinen Dosen entscheidend. Unklar ist nach wie vor, welcher Zusammenhang zwischen der biologischen Wirkung vieler und eines einzigen Teilchendurchgangs besteht.

Zwei verschiedene Techniken werden weltweit für die Untersuchung der Wirkung einzelner Teilchen auf individuelle Zellen angewandt: Mikrostrahl-Bestrahlung mit gezählten Teilchen sowie Bestrahlung mit gemessenen Spurpositionen. Am Paul Scherrer Institut (PSI) wurde eine neue Bestrahlungstechnik entwickelt, welche es erlaubt, isolierte Zellen mit geladenen Teilchen eines Beschleunigers (Protonen,  $\alpha$ -Teilchen od. schwerere Ionen) so zu bestrahlen, dass gleichzeitig der genaue Ort des Teilchendurchgangs durch die Zelle gemessen werden kann. Dies erlaubt es, die Strahlenwirkung auf die Zelle in Abhängigkeit von der Anzahl Treffer des Zellkerns und von der Energieabgabe an den Zellkern zu untersuchen.

Eigens für diese Technik wurde eine Zellkammer entwickelt, deren Boden aus einer dünnen beschichteten Polypropylen-Folie besteht, auf der sich die Zellen anheften. Die Teilchenspuren werden mittels einer dünnen Schicht Photoemulsion sichtbar gemacht, die unmittelbar vor den Zellen angebracht wird. Die relative Lage des Teilchendetektors und der Zellkammer zum Zeitpunkt der Bestrahlung wird durch Lichtprojektion von Referenzaperturen auf die Photoemulsion festgehalten. Damit können allfällige laterale Verzerrungen des Detektors durch die Entwicklung korrigiert werden. Mit dieser

Methode kann der Ort des Teilchendurchgangs durch die Zellen mit einer Genauigkeit von etwa 1  $\mu\text{m}$  gemessen werden.

Der Querschnitt des Zellkerns wird durch eine schwache Fluoreszenzfärbung sichtbar gemacht, so dass das Zellwachstum nicht beeinträchtigt wird. Die Dicke der Zellkerne in diesem Zustand wird von gut gefärbten, unbestrahlten Zellen mit Hilfe eines konfokalen Laser-Scanning Mikroskops bestimmt. Dabei wird die Dicke der Zellkerne als Funktion vom lateralen Abstand vom Umriss der Querschnittsfläche dargestellt. Aus den gemessenen Spurlängen aller Teilchendurchgänge ergibt sich schliesslich die Energieabgabe an den Zellkern.

Die Methode wurde in einer ersten Studie auf die Inaktivierung von V79 Hamster-Fibroblasten-Zellen durch 2.7 MeV  $\alpha$ -Teilchen angewandt. Die Resultate zeigen einen steilen Abfall der Überlebenswahrscheinlichkeit mit der im Zellkern deponierten Energie, wie er gewöhnlich bei dichtungisierender Strahlung zu beobachten ist. Bei Dosen, die dem Durchgang von 4 und 5 Teilchen entsprechen, strebt die Überlebenskurve einer Sättigung zu. Diese Ergebnisse könnten durch die geringere Strahlenempfindlichkeit der älteren Zellen im Zellzyklus (späte S-Phase) zustande kommen. Die Gültigkeit dieser Vermutung könnte durch weitere Studien, bei denen die Zellen noch besser synchronisiert sind, geprüft werden. Die Steigung der Überlebenskurve steht im Einklang mit den Ergebnissen aus anderen Laboratorien, wo die Spurpositionen nicht gemessen wurden, wenn eine Korrektur angebracht wird, die sich aus der Poisson-verteilter Trefferzahl ergibt.

Die entwickelte Methode ist im Vergleich zu anderen Systemen äusserst präzise und erlaubt es, die unterschiedliche Strahlenempfindlichkeit über die Zelle hinweg (Zytoplasma, Zellkern) zu untersuchen. Einzigartig an der Methode ist dabei die Bestimmung der Energieabgabe der Teilchen an den Zellkern, was die korrekte Berücksichtigung der Grösse und der Form des Zellkerns erlaubt. Zu den Effekten auf zellulärem Niveau, die untersucht werden sollen, gehören die Zellinaktivierung, Chromosomenaberrationen sowie Schäden der DNA.