

Università degli Studi di Napoli “Federico II”

Scuola Politecnica e delle Scienze di Base
Area Didattica di Scienze Matematiche Fisiche e
Naturali

Dipartimento di Fisica



Laurea Magistrale in Fisica

**Caratterizzazione dosimetrica e biofisica
della struttura di traccia di ioni di pari LET
in acqua liquida mediante il toolkit Geant4**

*(Dosimetric and biophysical characterization of
equal-LET ion track structures in liquid water
using Geant4 toolkit)*

Relatori:

Dott. Lorenzo Manti
Dott. Gianfranca De Rosa

Candidato:

Fortuna De Martino
Matricola N94/134

A.A. 2012/2013

Indice

<i>Introduzione</i>	5
<i>Capitolo 1: Interazione tra radiazione ionizzante e materiale biologico</i>	8
<i>1.1 Deposizione energetica delle particelle cariche</i>	9
<i>1.1.1 Stopping power di particelle pesanti</i>	9
<i>1.1.2 Stopping power di elettroni e positroni</i>	12
<i>1.1.3 Il Range</i>	14
<i>1.1.4 La curva di Bragg e le sue applicazioni in adroterapia</i>	16
<i>1.1.5 Scattering coulombiano multiplo</i>	17
<i>1.1.6 Frammentazione nucleare</i>	18
<i>1.2 Grandezze dosimetriche di interesse radiobiologico</i>	19
<i>1.2.1 Il LET</i>	19
<i>1.2.2 La dose assorbita</i>	20
<i>1.2.3 L'efficacia biologica relativa, RBE</i>	22
<i>1.3 Cenni sugli effetti biologici delle radiazioni</i>	23
<i>1.3.1 Il DNA</i>	23
<i>1.3.2 La radiolisi dell'acqua</i>	24
<i>1.3.3 Danni da radiazione al DNA</i>	25
<i>1.3.4 Cenni sulle aberrazioni cromosomiche</i>	26
<i>1.4 Incongruenze della teoria radiobiologica classica</i>	28
<i>1.4.1 Simulazioni di traccia ed effetti biologici</i>	28
<i>Capitolo 2: Struttura e caratteristiche del toolkit Geant4</i>	31
<i>2.1 Sviluppo del progetto Geant4</i>	31
<i>2.1.1 Cenni sull'Object Oriented Programming</i>	32
<i>2.1.2 Struttura generale del software</i>	33

2.1.3 Architettura	34
2.2 Estensione Geant4-DNA	38
2.2.1 Modelli implementati in Geant4-DNA	39
Capitolo 3: Modelli fisici e validazioni	44
3.1 Processi elettromagnetici in Geant4	44
3.1.1 La simulazione dei processi fisici in Geant4	46
3.1.2 Principali modelli in Standard EM	46
3.1.3 Principali modelli in Low Energy EM	47
3.2 Modelli in EmDNAPhysics	48
3.2.1 Cenni sulla teoria di Born per gli urti inelastici	48
3.2.2 Sezioni d'urto efficaci per elettroni in acqua liquida	50
3.2.3 Sezioni d'urto efficaci per protoni in acqua liquida	52
3.2.4 Sezioni d'urto efficaci per ioni in acqua liquida	55
3.3 Validazioni e confronti	55
3.3.1 Calcolo di stopping power e range di elettroni, protoni e particelle alfa in acqua liquida	56
3.3.2 Calcolo di stopping power e range di ioni in acqua liquida	60
Capitolo 4: Caratterizzazione della struttura di traccia di ioni in acqua	66
4.1 Diversità nella tracce di ioni di pari LET _∞	67
4.1.1 Teoria della struttura di traccia	68
4.1.2 Profilo radiale di dose	70
4.2 Struttura del codice e simulazioni	71
4.2.1 Cenni sulla struttura del codice	72
4.2.2 Risultati delle simulazioni	75
4.3 Spettri di elettroni secondari emessi da ioni in acqua	79
4.3.1 Cenni sulla struttura del codice	80
4.3.2 Spettri di emissione di elettroni secondari di ioni in acqua	82
Capitolo 5: Computo delle lesioni indotte da tracce di singoli ioni in cellule umane	86
5.1 Simulazioni Monte Carlo e DSB	87

<i>5.1.1 Relazione DSB-LET</i>	87
<i>5.1.2 Modello nucleare e lesioni al DNA in Geant4</i>	88
<i>5.1.3 Geometria del target biologico</i>	89
<i>5.1.4 Simulazione di irraggiamento con protoni</i>	90
<i>5.1.5 Lesioni potenzialmente indotte: SSB, DSB e cluster</i>	91
<i>5.2 Struttura del codice e simulazioni</i>	91
<i>5.2.1 Cenni sulla struttura del codice</i>	92
<i>5.2.2 Risultati delle simulazioni di alcuni danni biologicamente rilevanti di ioni pesanti</i>	93
<i>5.2.3 Discussione</i>	95
<i>Conclusioni e sviluppi futuri</i>	99
<i>Appendice A</i>	101
<i>Appendice B</i>	102
<i>Bibliografia</i>	107
<i>Ringraziamenti</i>	111

Introduzione

L'esposizione umana alla radiazione ionizzante è inevitabile. In particolare, il contributo alla dose collettiva assorbita dovuto alle particelle cariche non è trascurabile e pone una serie di questioni per le loro conseguenze biologiche. Ad esempio, l'utilizzo di ioni carbonio per il trattamento di alcuni tipi di tumore, in particolar modo quelli radioresistenti, o situati a ridosso di organi molto radiosensibili, sta diventando sempre più diffuso, grazie alle proprietà fisiche e radiobiologiche che caratterizzano queste particelle: un rilascio energetico che cresce con la profondità attraversata (*inverse-depth dose profile*) e raggiunge un massimo particolarmente localizzato a fine range unito ad una maggiore efficacia biologica nell'induzione di una serie di effetti biologici di questo tipo di radiazione rispetto ai fotoni o ai fasci di elettroni utilizzati nella radioterapia "convenzionale". Nel corso di missioni spaziali, inoltre, si è esposti a campi di radiazione mista che constano non solo di protoni e di particelle alfa altamente energetiche, ma anche di ioni pesanti: nello spazio extraterrestre mentre il contributo in fluensa è rappresentato per la maggior parte da protoni, quello in dose è fortemente condizionato da ioni altamente energetici ad elevato numero atomico (*HZE* or *High Energy and Z Ions*). Infine, parte del fondo di radioattività ambientale è dovuto all'inalazione del gas Radon indoor, la cui progenie radioattiva è costituita da emettitori di particelle alfa densamente ionizzanti, cioè radiazione ad alto *LET* (*Linear Energy Transfer*) e corto range.

Nell'attraversare la materia biologica, gli ioni pesanti presentano una struttura di traccia completamente differente dalle altre particelle quali elettroni o protoni a causa dell'elevata densità di ionizzazione e di *clustering*. Inoltre, gli ioni producono elettroni secondari molto energetici, il che può dare luogo ad un trasporto di energia ad una distanza dal *core* della traccia fino a diversi μm . Ciò comporta una particolare conformazione del campo di dose assorbita nel mezzo, nella regione adiacente la traccia della particella primaria. Gli effetti biologici della radiazione ionizzante dipendono fortemente dalla dose assorbita e dalle lesioni delle macromolecole che tale processo comporta e, nel caso dell'esposizione a particelle cariche, un ruolo fondamentale è quindi rivestito dalla distribuzione spazio-temporale degli eventi di cessione energetica.

L'andamento e l'estensione laterale del profilo di dose sono caratteristiche dipendenti dal tipo e dall'energia dello ione considerato, oltre che dalla natura del mezzo attraversato. Nei tessuti esse sono intimamente legate alla distribuzione spaziale degli eventi di ionizzazione ed eccitazione delle molecole del mezzo, e quindi alla distribuzione dei danni *diretti* potenzialmente indotti a target biologici come il *DNA*. Inoltre, la concentrazione locale di specie altamente reattive quali i radicali H° e OH° , dunque di potenziali danni *indiretti* a carico del *DNA*, dipende dalla possibilità

di interazione e ricombinazione tra tracce adiacenti e in ultima analisi dall'estensione spaziale della traccia del singolo ione.

E' evidente, dunque, quanto una caratterizzazione fisica, chimica e radiobiologica dettagliata della struttura di traccia di ioni nel tessuto biologico sia fondamentale per migliorare la comprensione della correlazione fra effetti biologici osservati e le proprietà fisiche della radiazione che, a sua volta, porta ad una più accurata predizione dell'efficacia del trattamento radioterapico nonché a più precise stime di rischio in radioprotezione.

In tal senso, i parametri radiobiologici tradizionali, come la dose assorbita D , il LET e l' RBE (*Relative Biological Effectiveness*) da soli non risultano sufficientemente adeguati alla descrizione completa di tale correlazione. In particolare, numerose evidenze sperimentali mostrano l'inadeguatezza del solo parametro LET , intorno a cui buona parte della radiobiologia delle particelle cariche è stata derivata, nella caratterizzazione micro dosimetrica e biofisica di radiazione particolata. Soprattutto alle basse energie, l'esposizione di cellule a fasci di ioni di LET simile ma di Z differente ha mostrato infatti notevoli discrepanze nell'efficacia biologica rispetto ai modelli basati unicamente sul LET .

La ricerca di parametri fisici alternativi al LET , che descrivano quantitativamente le caratteristiche della struttura di traccia dello ione, e ne consentano la correlazione con gli effetti biologici indotti, rappresenta una necessità, cui è difficile sopperire unicamente mediante studi sperimentali, sia a causa dell'elevato costo e delle difficoltà di gestione degli acceleratori di particelle, che per i limiti intrinseci posti dalle dimensioni caratteristiche dei processi coinvolti.

I moderni software di simulazione, come *PARTRAC*, *PENELOPE*, *FLUKA* e *Geant4*, consentono di rappresentare in dettaglio numerose strutture biologiche e di simulare in generale processi tipici dell'interazione tra radiazione e materiale biologico: essi costituiscono un'importante strumento coadiuvante allo studio diretto dell'effetto biologico delle radiazioni.

Il software utilizzato in questo lavoro di tesi per simulare tracce di ioni in acqua liquida è *Geant4*, un codice *open source* e *general-purpose*, dunque fruibile gratuitamente e potenzialmente adattabile a qualunque tipo di configurazione desiderata dall'utente: per queste ragioni è stato scelto come strumento per lo studio e la caratterizzazione di strutture di traccia e per la ricerca di parametri fisici alternativi al LET , che costituisce l'oggetto del presente lavoro.

Nel primo capitolo verranno brevemente richiamati alcuni concetti fisici e radiobiologici fondamentali, allo scopo di effettuare una sintetica descrizione generale dei processi e delle grandezze caratteristiche dell'interazione della radiazione con i tessuti biologici.

Nella prima parte del secondo capitolo verrà presentato il toolkit *Geant4*, illustrandone architettura e principali funzionalità. Nella seconda parte, invece, verranno approfonditi i recenti sviluppi nell'ambito del progetto *Geant4-DNA*.

Nel terzo capitolo verranno elencati i modelli fisici presenti nei pacchetti *StandardEM*, *LowEnergyEM* ed *EmDNAPhysics*. Attraverso una comparazione dei valori di range e stopping power è stata verificata statisticamente la compatibilità dei dati ottenuti mediante simulazione e quelli scelti come riferimento, ossia i dati *NIST* ed *ICRU*. In questo modo si è potuto scegliere, di volta in volta, il pacchetto più adatto, in termini di accuratezza e tempo di computazione, alla particolare simulazione da svolgere.

Nel quarto capitolo verranno riportate le modifiche apportate ad alcuni codici *advanced Geant4* e presentati gli esiti delle simulazioni svolte con essi: verranno illustrati gli andamenti ottenuti del profilo radiale di dose di ioni di diverso Z e stesso LET_{∞} in acqua liquida, e a partire da essi verrà stimato il raggio di traccia. Verranno inoltre presentati gli spettri di emissione di elettroni secondari, e le proiezioni bidimensionali di alcune tracce di ioni in acqua liquida, realizzati modificando opportunamente l'estensione *Geant4-DNA*, in maniera da evidenziare eventuali discrepanze tra ioni di pari LET_{∞} .

Nell'ultimo capitolo verranno presentati i risultati ottenuti utilizzando per le simulazioni l'estensione *DNA-Geometry* di *Geant4*. Rielaborando gli output con un programma esterno è stato ricavato il numero medio di potenziali rotture della singola e doppia elica di *DNA* (*SSB* e *DSB*) indotte su un modello di nucleo di fibroblasto umano da ioni C ed O allo stesso LET_{∞} . Nelle conclusioni, infine, verranno riassunti e commentati i risultati ottenuti.

Capitolo 1

Interazione tra radiazione ionizzante e materiale biologico

Un fascio di particelle che attraversa la materia, interagisce con essa perdendo energia secondo modalità ed attraverso processi che dipendono della natura e dalle caratteristiche intrinseche delle particelle che lo costituiscono.

Dal punto di vista radiobiologico, è utile classificare le particelle in base alle loro modalità di interazione con la materia, e in termini di deposizione energetica in quanto tali aspetti sono tradizionalmente più facilmente correlabili all'efficacia biologica della radiazione.

Un aspetto di rilevante importanza radiobiologica, che tuttavia non è mai stato adeguatamente modellizzato, è la correlazione tra la *struttura di traccia* della particella e il relativo effetto biologico. Dal particolare pattern di eccitazioni e ionizzazioni prodotto dalla radiazione primaria e dallo spettro energetico della radiazione secondaria prodotta, dipende, infatti, la severità del danno biologico indotto.

A causa dei differenti meccanismi di interazione, si è soliti distinguere tra *particelle neutre*, come raggi X, raggi γ e neutroni e *particelle cariche* come elettroni, particelle alfa, protoni e ioni più pesanti.

Un singolo fotone o un neutrone, incidente su uno strato di materiale, potrebbe in linea di principio attraversarlo senza subire alcuna interazione, e, di conseguenza, senza perdere energia.

Al contrario, le particelle cariche, a causa del campo Coulombiano che le circonda, interagiscono sempre con gli elettroni e con i nuclei del mezzo.

Inoltre, la maggior parte degli eventi di interazione subiti dalla singola particella carica, danno luogo ad una perdita di energia molto piccola se comparata con l'energia cinetica iniziale della particella stessa. Si è soliti, quindi, approssimare il processo di perdita di energia ad un graduale e continuo rallentamento, detto *CSDA*, ovvero *continuous slowing down approximation*.

A causa della differente struttura di traccia e della modalità di deposizione energetica le particelle cariche a loro volta vengono distinte in *particelle cariche leggere*, come elettroni e positroni e *particelle cariche pesanti* come protoni, particelle alfa, muoni, e ioni.

Le particelle cariche pesanti interagiscono con la materia dando luogo principalmente a processi di eccitazione e ionizzazione.

Il processo di eccitazione ha luogo quando la *particella carica primaria* interagisce con un elettrone appartenente ad un atomo del materiale irraggiato cedendogli un'energia inferiore all'energia di legame della shell a cui esso appartiene. L'atomo passa quindi dallo stato fondamentale ad uno stato eccitato, per poi decadere emettendo fotoni detti *raggi X-caratteristici*. Nei processi di ionizzazione, invece, l'energia ceduta dalla radiazione agli elettroni supera quella di legame. Gli elettroni vengono espulsi dall'atomo di appartenenza e, se posseggono un'energia cinetica sufficiente a dare luogo ad altri eventi di ionizzazione, vengono denominati *raggi δ* . Particelle cariche leggere che attraversano un materiale, a differenza delle particelle pesanti, sono soggette anche a perdite radiative non trascurabili. Il *rate* medio di emissione di energia per *bremmsstrahlung* è infatti inversamente proporzionale al quadrato della massa della particella.

1.1 Deposizione energetica delle particelle cariche

Si consideri una popolazione di particelle cariche identiche che attraversano un mezzo di numero atomico Z , numero di massa A , e densità ρ .

Ciascuna di esse interagirà con il mezzo in maniera peculiare, dando luogo ad una sequenza differente di interazioni.

E' possibile tuttavia caratterizzare la perdita di energia dell'intera popolazione facendo riferimento a grandezze medie come lo *Stopping power* e il *Range*.

Allo scopo di fornire una panoramica dei principali processi fisici di interazione tra particelle cariche e materia, nel corso di questo paragrafo verranno introdotti i seguenti concetti:

- Stopping power di particelle pesanti.
- Stopping power di elettroni e positroni.
- Range.
- Curva di Bragg.

Saranno inoltre brevemente descritti i processi di multiplo scattering e frammentazione nucleare.

1.1.1 Stopping power di particelle pesanti

Si definisce *stopping power* S per una particella carica, il rapporto tra l'energia media depositata nel materiale dE e la lunghezza di traccia dx .

$$S = -\frac{dE}{dx} \quad (1.1)$$

Se la lunghezza di traccia è espressa in g/cm^2 allora il rapporto è detto *mass stopping power* S_m e per particelle cariche pesanti, è espresso dalla formula di **Bethe-Bloch** [7]:

$$S_m - \frac{dE}{dx} = Kz^2 \frac{Z}{A} \frac{1}{\beta^2} \left[\frac{1}{2} \ln \frac{2m_e c^2 \beta^2 \gamma^2 T^{MAX}}{I^2} - \beta^2 - \delta \left(\frac{\beta\gamma}{2} \right) - \frac{C}{Z} \right] \quad (1.2)$$

con:

$$K = 4\pi N_A r_e^2 m_e c^2 \quad (1.3)$$

Dove z è la carica efficace della particella, β la sua velocità in unità di c , $\gamma = \sqrt{\frac{1}{1-\beta^2}}$.

N_A è il numero di Avogadro, r_e il raggio classico dell'elettrone, m_e la massa dell'elettrone, $T^{MAX} = m_e c^2 \beta\gamma$ è la massima energia cinetica trasferibile ad un elettrone libero in una singola collisione ed $I = I_0 Z$ è il potenziale di eccitazione medio del mezzo con $I_0 = 10eV$.

Il termine $\delta(\beta\gamma/2)$ costituisce la correzione legata all'effetto-densità, mentre C/Z è la correzione di shell.

L'unità di misura generalmente utilizzata per il mass stopping power è il $MeV \cdot cm^2/g$, tuttavia in radiobiologia ed in dosimetria è molto più comune l'utilizzo del $keV/\mu m$.

A parità di carica S_m , è indipendente dalla massa della particella, ma è una funzione dalla sua velocità, o meglio di $\beta\gamma$. Quindi, particelle con velocità simili hanno un rate medio di perdita di energia confrontabile.

La figura 1.1 illustra l'andamento del mass stopping power in funzione del $\beta\gamma$ della particella incidente in materiali diversi. Nel primo tratto, cioè fino ai circa $3\beta\gamma$, S_m decresce all'aumentare della velocità, poiché maggiore è la velocità della particella incidente minore è il tempo in cui essa si troverà in prossimità degli elettroni atomici, interagendo quindi in misura minore e, di conseguenza, perdendo meno energia.

In corrispondenza di un valore di $\beta\gamma$ compreso tra i 3,0 e i 3,5 tutte le curve presentano un minimo detto *minimo di ionizzazione*, che rappresenta il più basso valore possibile di S_m .

$$[S_m]_{mip} \approx z^2 \cdot \frac{2MeV}{g/cm^2} \quad (1.3)$$

Successivamente, S_m aumenta logicamente al crescere di $\beta\gamma$ (*risalita relativistica*).

Il mass stopping power mostra, inoltre, una forte dipendenza dal materiale, in particolare risulta proporzionale al rapporto Z/A . Per materiali leggeri tale rapporto vale circa 0,5; tuttavia, esso diminuisce all'aumentare di Z e così il valore dello stopping power.

La figura 1.2 illustra, invece, l'andamento dello stopping power in funzione dell'energia per diverse particelle in acqua. A parità di energia, maggiore è lo z della particella, più alto sarà il

valore di dE/dx ad esso corrispondente, in quanto uno z più alto corrisponde ad un campo coulombiano più intenso e quindi ad un maggior rate di interazione.

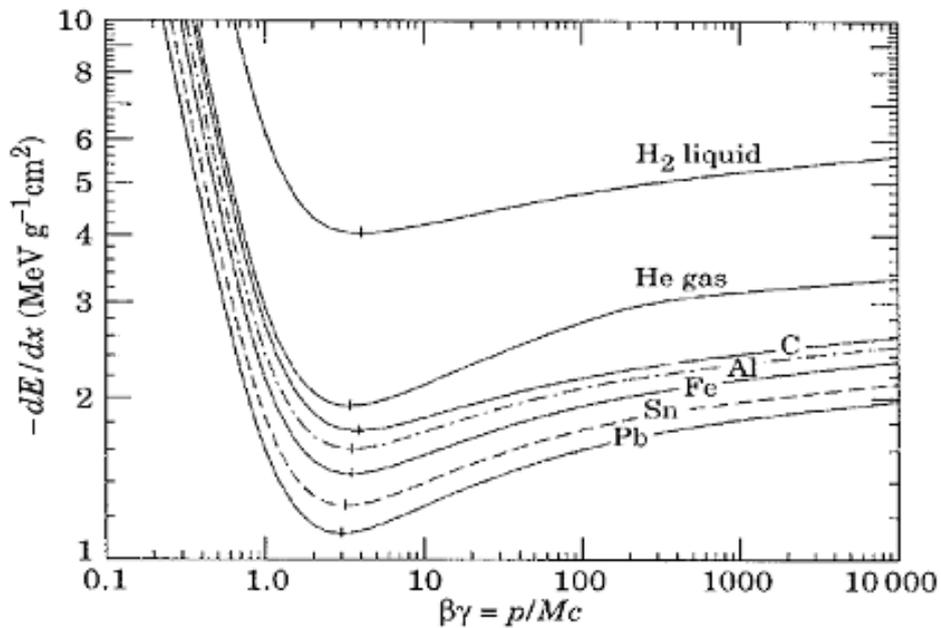


Figura 1.1 Mass stopping power S_m di una generica particella di carica $z=e$, in funzione del prodotto $\beta\gamma$ in vari materiali. All'aumentare del numero atomico Z del materiale attraversato, S_m mostra una generale diminuzione su tutto l'intervallo rappresentato.

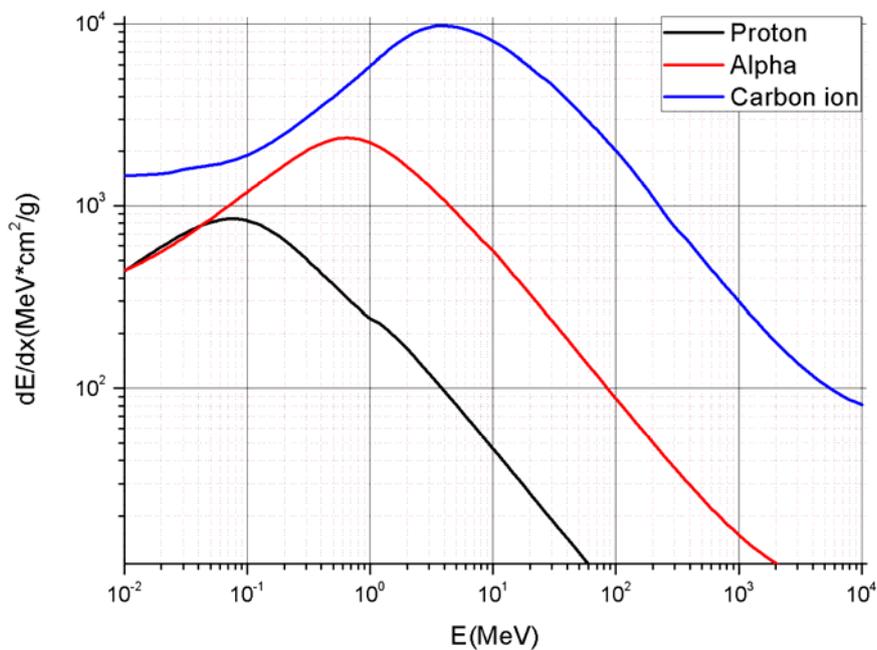


Figura 1.2 Mass stopping power S_m in acqua di particelle di diverse in funzione della loro energia cinetica in MeV. Come si nota dai grafici in figura, S_m aumenta all'aumentare della carica z della particella.

1.1.2 Stopping power di elettroni e positroni

Poiché dal punto di vista degli effetti radiobiologici, il principale contributo è dato dalle ionizzazioni delle molecole ed atomi del materiale attraversato, e poiché alla fine tutte le interazioni rilevanti si riducono a quelle degli elettroni emessi durante le ionizzazioni, è utile soffermarsi sullo stopping power degli elettroni stessi (e dei positroni per completezza di trattazione).

L'espressione dello stopping power assume una forma particolare nel caso le particelle in esame siano elettroni o positroni.

Come già anticipato, le particelle leggere sono soggette ad importanti perdite per bremsstrahlung, poiché la potenza irraggiata a seguito di interazioni coulombiane è proporzionale all'accelerazione quadratica media della particella, secondo la relazione:

$$W_{em} = \frac{2e^2}{3c^3} \langle a^2 \rangle \quad (1.4)$$

Con:

$$a = \frac{F_c}{m} = k \frac{q_1 q_2}{\epsilon_r r^2} \cdot \frac{1}{m} \quad (1.5)$$

Dove F_c è la forza di coulomb tra la particella di massa m e gli elettroni e i nuclei del mezzo.

E' ovvio che nel caso di particelle leggere questo termine assume particolare rilevanza.

Lo stopping power totale per elettroni e positroni è dato quindi dalla somma di un termine collisionale e di un termine radiativo.

$$\left(-\frac{dE}{dx} \right)_{tot} = \left(-\frac{dE}{dx} \right)_{coll} + \left(-\frac{dE}{dx} \right)_{rad} \quad (1.6)$$

Lo stopping power collisionale è dato dalla formula di Bethe Bloch per gli elettroni e positroni [1]:

$$\left(-\frac{dE}{dx} \right)_{coll} = K\rho \frac{Z}{A} \frac{1}{\beta^2} \left[\ln \left(\frac{\tau^2(\tau+2)}{2(I/m_e c^2)} \right) + F^\pm(\tau) - \delta - \frac{2C}{Z} \right] \quad (1.7)$$

Dove per gli elettroni:

$$F^-(\tau) = 1 - \beta^2 + \frac{\tau^2/8 - (2\tau+1)\ln 2}{(\tau+1)^2} \quad (1.8)$$

Mentre per i positroni:

$$F^+(\tau) = 2 \ln 2 - \frac{\beta^2}{12} \left[23 + \frac{14}{\tau + 2} + \frac{10}{(\tau + 2)^2} + \frac{4}{(\tau + 2)^3} \right] \quad (1.9)$$

La variabile τ rappresenta l'energia cinetica della particella in $m_e c^2$, i termini δ e $2C/Z$ sono rispettivamente le correzioni per l'effetto densità e l'effetto di shell.

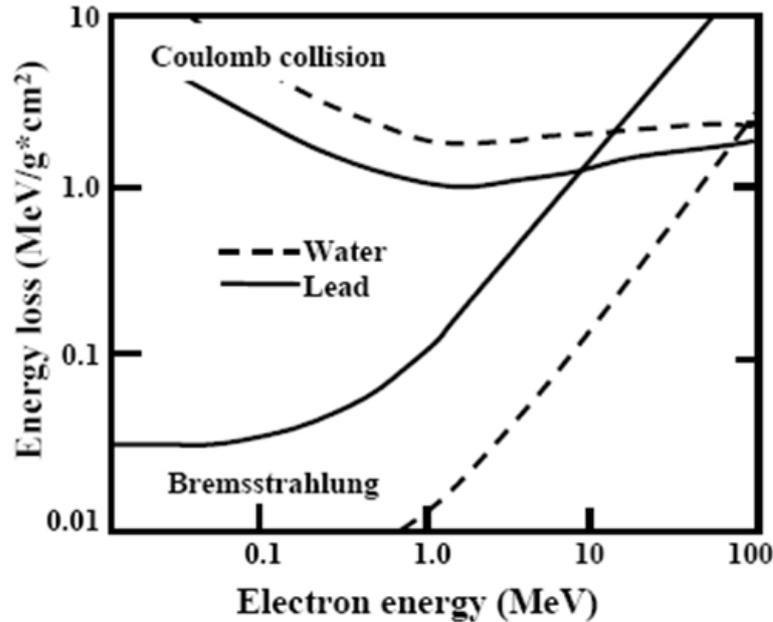


Figura 1.3 Stopping power di elettroni in funzione dell'energia cinetica in acqua (linea tratteggiata) e piombo (linea continua). Gli andamenti rappresentati nella parte superiore della figura indicano i contributi collisionali allo stopping power totale, mentre quelle in basso i contributi radiativi, ovvero le perdite per bremsstrahlung.

Il contributo radiativo allo stopping power è invece espresso dal seguente termine:

$$\left(-\frac{dE}{dx} \right)_{rad} = \frac{E}{X_0} \quad (1.9)$$

Dove X_0 è la *lunghezza di radiazione*, cioè lo spessore di materiale attraversato che riduce l'energia media della particella di un fattore e .

La perdita di energia per bremsstrahlung è infatti descritta dalla seguente equazione [6]:

$$\langle E \rangle = E_0 e^{-\frac{x}{X_0}} \quad (1.10)$$

Dove :

$$X_0 (g \cdot cm^{-2}) \approx \frac{716,4 \cdot A}{Z(Z+1) \ln(287/\sqrt{Z})} \quad (1.11)$$

Il valore di energia in corrispondenza del quale le perdite collisionali eguagliano quelle radiative è detto *energia critica* ed è una quantità che dipende dal materiale attraversato e dal tipo di particella.

Per elettroni e positroni l'energia critica può essere calcolata utilizzando le seguenti approssimazioni [6]:

$$E_c(\text{MeV}) \approx \frac{610}{Z + 1,24} \quad \text{solidi, liquidi} \qquad E_c(\text{MeV}) \approx \frac{710}{Z + 0,92} \quad \text{gas} \qquad (1.12)$$

Il valore dell'energia critica per elettroni e positroni in acqua liquida è di circa 70 MeV , mentre per il piombo circa 10 volte inferiore.

1.1.3 Il Range

Sebbene sia impossibile predire con esattezza dove una singola particella carica si arresterà nel materiale che sta attraversando, se si considera una popolazione di particelle identiche, è possibile definire due grandezze che quantificano rispettivamente la lunghezza di traccia e la profondità di penetrazione media, ossia il range R ed il range proiettato R_t .

Il range R di una particella carica in un mezzo è il valore atteso della lunghezza di traccia p .

Il range proiettato R_t è definito invece come il valore atteso della profondità di penetrazione t .

La figura 1.4a illustra la differenza tra lunghezza di traccia e profondità di penetrazione.

Le particelle cariche pesanti sono caratterizzate da tracce particolarmente nitide, pressoché rettilinee, di conseguenza risulta $R \approx R_t$.

Al contrario particelle leggere come elettroni e positroni subiscono continuamente forti deflessioni di traiettoria e hanno tracce molto articolate e tortuose, dunque $R \gg R_t$.

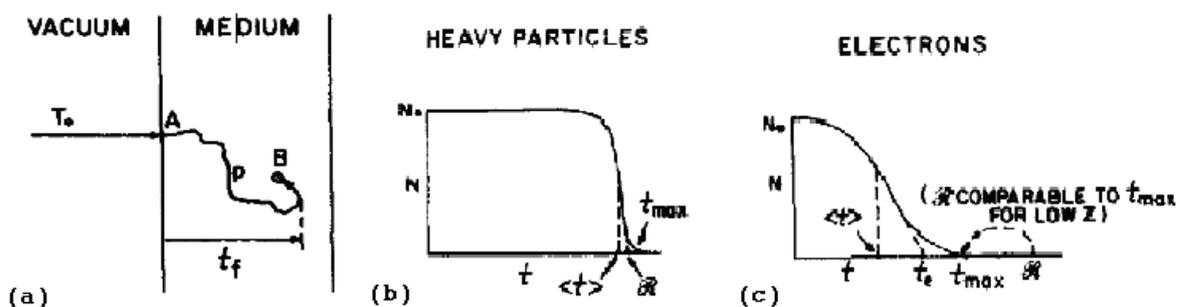


Figura 1.4a[1]: Differenza tra profondità di penetrazione t_f e lunghezza di traccia p . Per particelle leggere le due quantità differiscono in maniera significativa a causa della complessità della struttura di traccia primaria. Figura 1.4b[1]: Numero di particelle trasmesse N , in funzione dello spessore di materiale attraversato t . L'andamento ottenuto è utilizzato per stimare il valor medio di $R_t = \langle t \rangle$ ed il valore estrapolato $R_t^{ex} = t_e$. Tali valori sono numericamente vicini al range R .

Figura 1.4c[1] Nel caso di particelle leggere, come gli elettroni, $\langle t \rangle$ e t_e differiscono significativamente dal range R , il cui valore risulta invece comparabile con la massima profondità di penetrazione t_{MAX} .

Nell'approssimazione di rallentamento continuo (CSDA) è possibile calcolare il range di una particella utilizzando la formula di Bethe-Bloch:

$$R_{CSDA}(E_0) = \int_0^{E_0} \left(\frac{dE}{dx} \right)^{-1} dE \quad (1.13)$$

dove E_0 è l'energia cinetica iniziale della particella e $-dE/dx$ l'espressione del mass stopping power.

Il range R_{CSDA} così calcolato costituisce ovviamente un'approssimazione di R , tuttavia per gli scopi pratici si può assumere $R \approx R_{CSDA}$.

Il range proiettato R_t è una variabile gaussiana e il suo valor medio può essere stimato sperimentalmente indirizzando un fascio di particelle di energia nota su uno spessore di materiale variabile e misurando di volta in volta il rapporto tra particelle trasmesse e particelle incidenti.

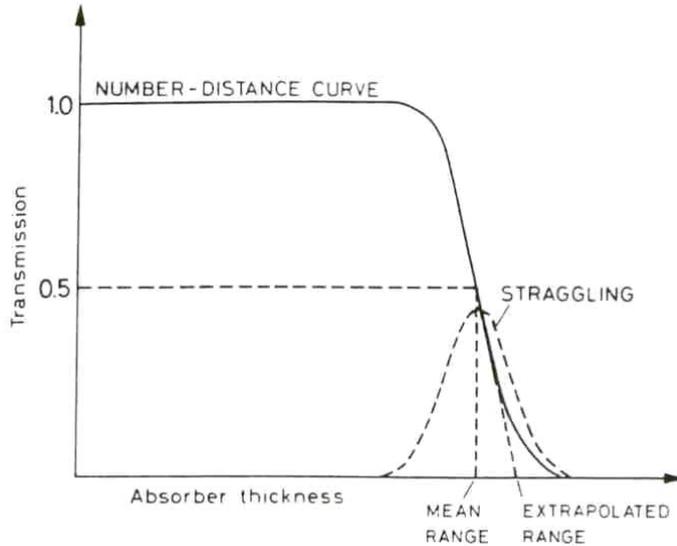


Figura 1.5: Grafico del rapporto di trasmissione $T = N/N_0$ in funzione della profondità di penetrazione t .

Il range proiettato R_t , è una variabile gaussiana, ed è caratterizzato da un valore medio \bar{R}_t e da una indeterminazione legata alla larghezza della distribuzione (straggling).

Quando lo spessore di materiale si avvicina al valore medio del range proiettato \bar{R}_t il numero di particelle trasmesse diminuisce bruscamente (Vedi fig. 1.4b, 1.4c e 1.5).

Il Range medio proiettato \bar{R}_t è pari allo spessore di materiale attraversato in corrispondenza del quale il rapporto di trasmissione vale 0,5.

Il Range estrapolato R_t^{ex} si ottiene invece dall'intersezione della tangente alla curva nel suo punto di flesso con l'asse delle ascisse (Fig. 1.5).

1.1.4 La curva di Bragg e le sue applicazioni in adroterapia

Se si grafica il mass stopping power S_m espresso dalla formula di Bethe-Bloch in funzione della profondità di penetrazione delle particelle, si ottiene una curva detta *Curva di Bragg*.

Per le particelle cariche tale curva assume un particolare andamento caratterizzato da una regione in cui S_m è pressoché costante (regione di *plateau*) seguito da un repentino incremento nella zona di fine-range (picco di Bragg).

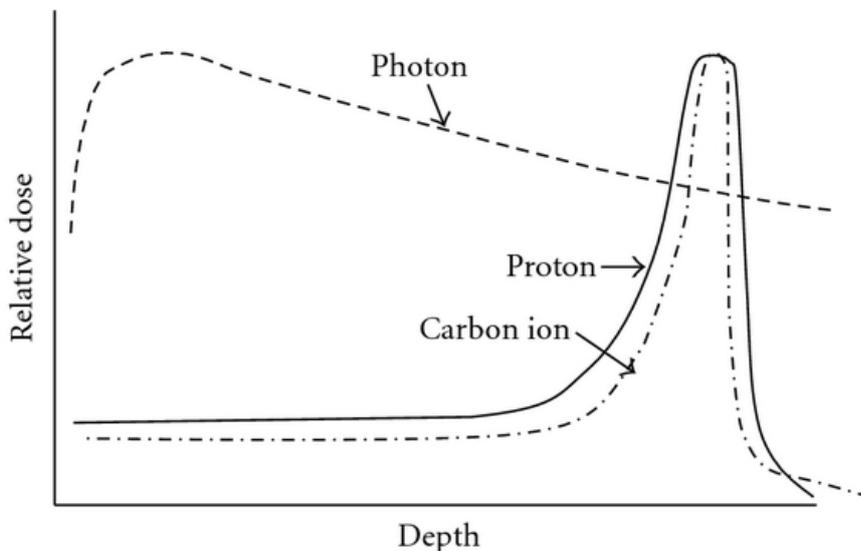


Figura 1.6: Curva di Bragg per fotoni, protoni e ioni carbonio. La dose relativa riportata sull'asse delle ordinate è una dose normalizzata rispetto alla dose assorbita dal materiale lungo l'intera profondità di penetrazione.

L'andamento del rate medio di deposizione di energia con la profondità di penetrazione appena descritto è la principale ragione di utilizzo delle particelle cariche nel trattamento radioterapico di alcuni tipi di tumori (*adroterapia*).

Come si evince dal grafico in figura 1.6 i fotoni depositano la maggior parte dell'energia che trasportano entro pochi cm di tessuto. Sono quindi particolarmente efficaci per il trattamento di tumori superficiali come quelli della pelle.

Al contrario, le particelle cariche come i protoni e gli ioni depositano la maggior parte della loro energia a fine range ed entro una zona estremamente localizzata. Tale caratteristica rende l'adroterapia particolarmente adatta al trattamento di tumori situati in profondità e/o a ridosso di organi sensibili. Questi ultimi possono essere risparmiati dall'irraggiamento, grazie alla migliore precisione balistica dei fasci di particelle cariche, modulando la cui energia si riesce a conformare la dose al tumore. Inoltre, il rapporto tra le altezze di *picco* e *plateau* dimostra come anche il tessuto sano riceva una dose sensibilmente più bassa rispetto a quella rilasciata sul tumore.

L'obiettivo principale delle procedure radioterapiche infatti è di massimizzare il danno al tessuto tumorale riducendo il più possibile il danno al tessuto sano.

1.1.5 Scattering coulombiano multiplo

Quando una particella carica attraversa un mezzo, oltre a perdere energia attraverso i processi descritti nei paragrafi precedenti, è soggetta ad una serie di deflessioni dovute alla diffusione elastica nel campo coulombiano dei nuclei.

Tale fenomeno è descritto dalla formula di Rutherford per la sezione d'urto differenziale [7]:

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \left(\frac{zZr_e m_e c^2}{pv} \right)^2 \cdot \frac{1}{4 \text{sen}^4\left(\frac{\theta}{2}\right)} \quad (1.14)$$

I parametri p e v sono rispettivamente l'impulso e la velocità della particella e θ è l'angolo di deflessione dovuto al singolo evento di *scattering*.

Dalla dipendenza della sezione d'urto dall'angolo di deflessione si evince che urti che comportano piccole deflessioni sono quelli più probabili.

Lungo la sua traiettoria una particella carica è dunque soggetta ad una serie di piccole deviazioni indipendenti l'una dall'altra, il cui effetto cumulativo è una deflessione netta dalla direzione originaria.

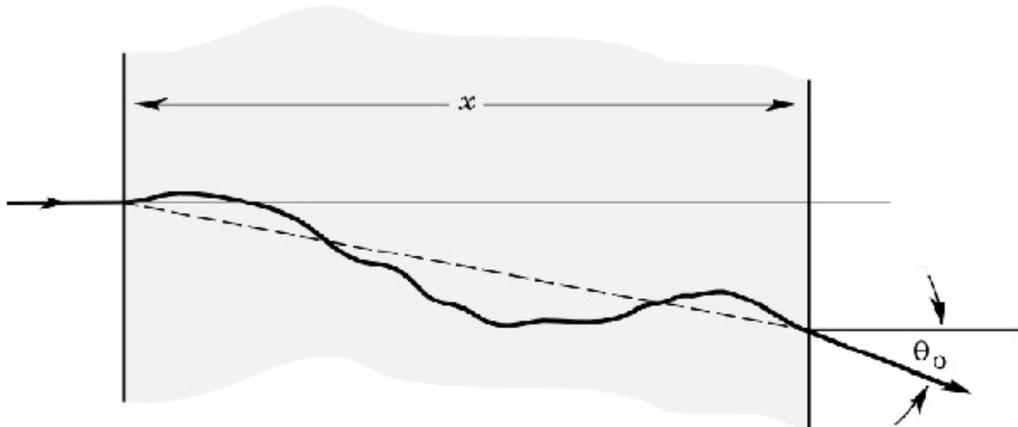


Figura 1.7: Traccia di una particella soggetta a scattering coulombiano multiplo. Le numerose piccole deflessioni cui la particella è soggetta comportano una deflessione finale netta θ_0 .

L'angolo netto di deflessione è una grandezza gaussiana che si distribuisce intorno al valore zero, la sua media quadratica $\theta_{rms} = \sqrt{\langle \theta^2 \rangle}$ è l'angolo di multiplo scattering θ_0 .

Un'espressione di θ_0 in funzione della lunghezza di traccia x e della lunghezza di radiazione del materiale attraversato è la seguente [7]:

$$\theta_0 = \frac{13,6 \text{MeV}}{\beta c p} z \sqrt{x / X_0} [1 + 0,038 \ln(x / X_0)] \quad (1.15)$$

1.1.6 Frammentazione nucleare

Un fenomeno tipico dell'interazione tra particelle e un materiale assorbitore, è la frammentazione nucleare, dovuta agli urti e alle reazioni nucleari che avvengono tra gli ioni del fascio e i nuclei del mezzo attraversato. Tale fenomeno produce particelle più leggere di quelle presenti nel fascio originario, la cui presenza è estremamente rilevante ad esempio nella pianificazione di un trattamento adroterapico. I frammenti prodotti, essendo più leggeri delle particelle originarie, mostrano un percorso nella materia sensibilmente diverso da queste ultime, sia longitudinalmente che trasversalmente.

Il range di ciascun frammento è legato a quello della particella originaria dalla seguente

relazione:
$$R_f = \left(\frac{Z_p}{Z_f} \right)^2 \cdot \frac{M_f}{M_p} \cdot R_p \quad (1.16)$$

Dove R_p ed R_f indicano rispettivamente il range della particella proiettile e del frammento, M_p ed M_f ne indicano la massa e Z_p e Z_f il numero atomico.

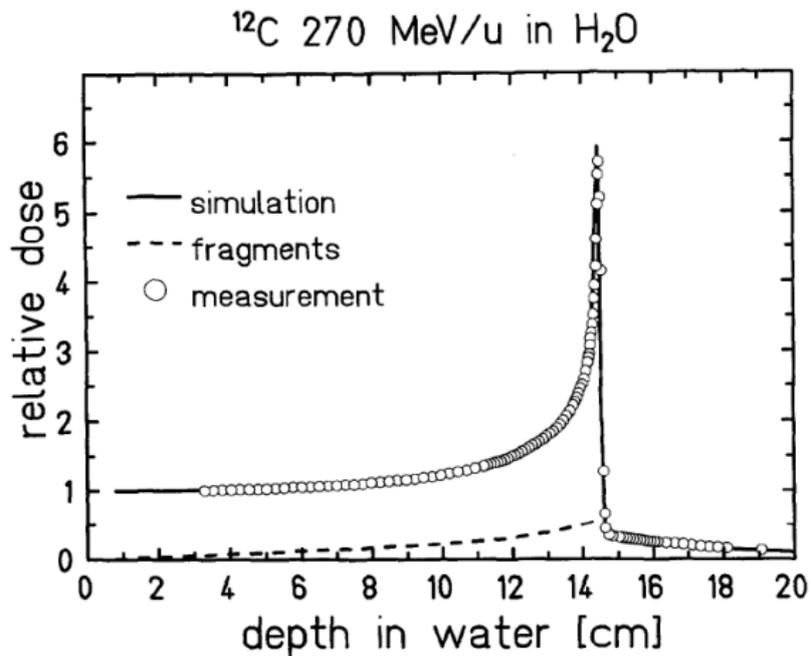


Figura 1.8: Curva di Bragg in acqua di ioni carbonio con un'energia iniziale di 270 MeV a nucleone.

L'aumento del range che si osserva nei frammenti leggeri comporta un'incertezza sul range complessivo del fascio radiante, che, non essendo formato da ioni di un unico elemento, non è univocamente determinato ma è influenzato dalla natura aleatoria del fenomeno della frammentazione nucleare. Tale incertezza sul range si traduce, in un'incertezza sulla profondità alla quale le particelle rilasciano la maggior dose relativa. Nelle parte finale delle curve di Bragg (oltre il picco), infatti, si osserva una coda nella deposizione di dose dovuta appunto al contributo dei frammenti leggeri.

Ciò comporta una serie di complicazioni, in quanto tali frammenti saranno caratterizzati da valori diversi di parametri quali il *LET* (vedi sezione successiva) da cui dipendono molti effetti biologici, contribuendo, quindi, ad un'indeterminazione nella valutazione complessiva degli effetti biologici e rilasciando dose anche nel tessuto sano posto successivamente al tumore.

1.2 Grandezze dosimetriche di interesse radiobiologico

Dopo aver brevemente fornito una panoramica dei principali processi fisici di interazione tra particelle cariche e materia, è opportuno soffermarsi su alcune grandezze di interesse radiobiologico, legate ad i processi di cui sopra, quali:

- Il *LET*, *Linear Energy Transfer*.
- La dose assorbita e la dose equivalente.
- L' *RBE*, *Relative Biological Effectiveness*.

1.2.1 Il LET

Il *Linear Energy Transfer LET* di una particella carica è una grandezza fisica definita come il rapporto tra l'energia trasferita *localmente* al mezzo e la lunghezza di traccia percorsa [4].

$$LET_{\Delta} = \frac{dE_{\Delta}}{dx} \quad (1.17)$$

L'unità di misura comunemente utilizzata per il LET_{Δ} è il $keV/\mu m$.

Il termine "localmente" nella definizione di *LET* è di estrema importanza, poiché stabilisce che nel computo dell'energia venga inclusa solo quella frazione depositata in prossimità della traccia della radiazione primaria. L'energia cinetica delle particelle secondarie che si allontanano dal sito di interazione viene invece esclusa.

La dimensione del sito di interazione viene fissata attraverso il parametro Δ detto energia di cut-off.

Il LET_{100} , largamente utilizzato in radiobiologia, tiene conto unicamente dei secondari con un'energia iniziale non superiore ai 100 eV. Tale energia corrisponde ad un valore del range degli elettroni in acqua o in materiale tessuto-equivalente pari a circa 5 nm, dimensione trasversale tipica delle principali macromolecole di interesse radiobiologico quali il DNA.

Una definizione alternativa di *LET* prevede la limitazione *locale* del deposito di energia attraverso l'introduzione di un parametro spaziale.

Si consideri un cilindro di raggio r , coassiale alla traccia della particella primaria e di altezza infinitesima dL . Si definisce L_r il rapporto tra l'energia dE depositata all'interno del cilindro e l'altezza dL del cilindro stesso [4].

$$L_r = \frac{dE_r}{dL} \quad (1.18)$$

Il *LET-infinito* L_∞ (*unrestricted LET*) è definito come il rapporto tra l'energia dE depositata nel mezzo e la lunghezza di traccia percorsa dx , senza alcuna limitazione sulle dimensioni del sito di interazione né sull'energia dei secondari prodotti (ICRU 1980), e coincide numericamente con lo stopping power¹.

$$L_\infty = \frac{dE}{dx} \quad (1.19)$$

Poiché l'energia trasferita per unità di percorso dalla radiazione primaria al materiale varia lungo la traccia a causa del rallentamento della particella stessa, fissata l'energia iniziale della particella, L non avrà un singolo valore, ma descriverà una certa distribuzione.

Se $f(L)dL$ è la probabilità di trovare un *LET* nell'intervallo $L \dots L + dL$, si definisce *LET* mediato sulla traccia o *track average LET* la seguente quantità [5]:

$$\bar{L}_T = \int L \cdot f(L)dL \quad (1.20)$$

Per alcune applicazioni dosimetriche è più appropriato l'utilizzo dell' *energy average LET*, \bar{L}_E .

Se $E(L)dL = \frac{L \cdot f(L)dL}{\int Lf(L)dL}$ è la frazione di energia rilasciata nell'intervallo $L \dots L + dL$, allora:

$$\bar{L}_E = \frac{\int L^2 \cdot f(L)dL}{\int Lf(L)dL} \quad (1.21)$$

1.2.2 La dose assorbita

Si consideri un campione infinitesimo di una determinata sostanza, di massa dm .

Se il campione viene irraggiato, la radiazione interagisce con la materia e deposita in esso una certa quantità di energia dE . La dose assorbita è una grandezza fisica definita come il rapporto tra l'energia depositata e la massa del campione.

$$D = \frac{dE}{dm} \quad (1.22)$$

Nel SI la sua unità di misura è il *Gray* (*Gy*).

$$1\text{Gy} = \frac{1\text{J}}{1\text{kg}}$$

¹Ci sono tuttavia delle differenze concettuali tra stopping power e L_∞ : mentre il primo riguarda l'energia persa dalla particella, L_∞ mette a fuoco l'energia depositata nel mezzo.

In radioprotezione tuttavia è molto più comune l'utilizzo della *dose equivalente* H , una grandezza fisica che quantifica l'efficacia biologica di una specifica radiazione attraverso un fattore di peso della radiazione ω_R che dipende dal *LET* della radiazione stessa [1].

$$H = D \cdot \omega_R \quad (1.23)$$

L'unità di misura della dose equivalente è il *Sievert* (Sv).

$$1Sv = \frac{1J}{1kg}$$

La dipendenza di ω_R dal *LET* in acqua è stata stabilita dall'*International Commission on Radiological Protection (ICRP)* nel 1971 ed è illustrata in figura 1.9 [1].

Come si evince dall'andamento della curva rappresentata in figura, convenzionalmente il fattore di peso ω_R della radiazione è assunto indipendente dallo stopping power collisionale per valori superiori ai circa 110 keV/ μ m.

In altre parole secondo questo modello due radiazioni di diversa natura, caratterizzate dallo stesso valore di L_{∞} , avrebbero il medesimo effetto biologico.

Tuttavia, come verrà approfondito nel seguito, numerosi sono i risultati sperimentali che sembrano confutare tale assunto. Ciò rappresenta un chiaro esempio dell'inadeguatezza del *LET* come solo parametro radiobiofisico.

Il valore del fattore di peso ω_R di una radiazione, corrisponde in pratica ad un'importante grandezza radiobiologica, l'efficacia biologica relativa (*RBE*).

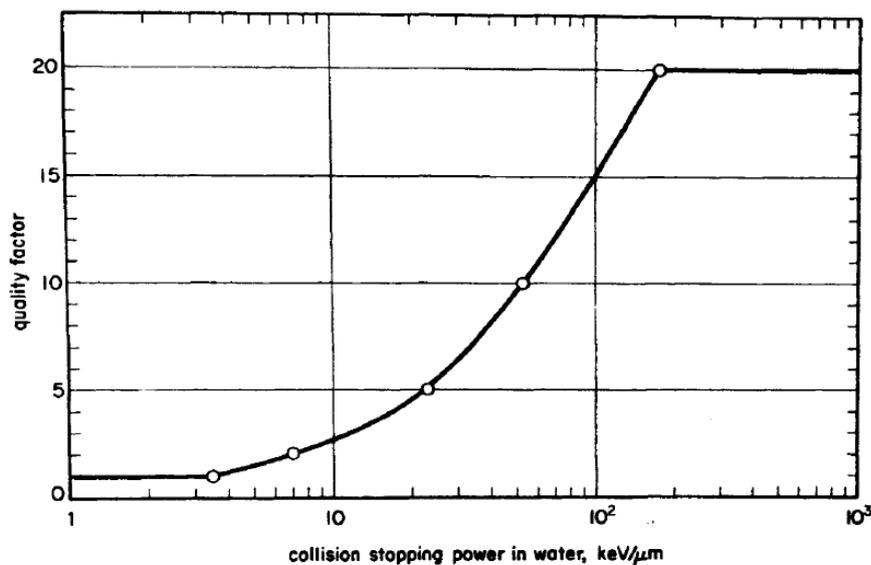


Figura 1.9: Andamento del fattore di qualità Q (fattore di peso della radiazione ω_R) in funzione dello stopping power collisionale in acqua della radiazione, pubblicato nell'ICRP del 1971.

1.2.3 L'efficacia biologica relativa, RBE

L'efficacia biologica relativa, *relative biological effectiveness* RBE , di una radiazione, ovvero l'effetto su un target biologico rispetto ad una radiazione di riferimento, per quello stesso effetto, è definita come:

$$RBE = \frac{D_{X-ray}}{D_R} \quad (1.24)$$

Dove D_R è la dose di radiazione che si intende testare R e D_X è la dose di radiazione di riferimento assorbita, ovvero raggi X di 250 keV, che comportano lo stesso livello di effetto biologico.

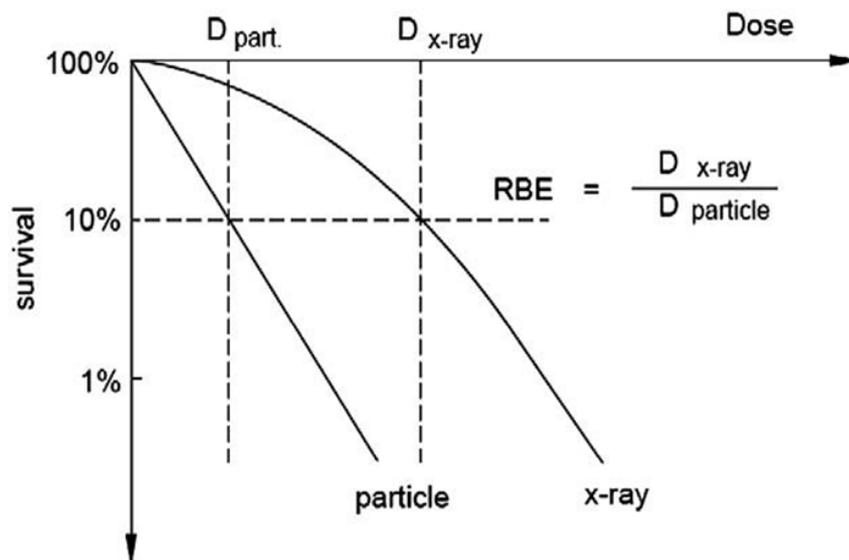


Figura 1.10: Grafico della frazione di sopravvivenza cellulare FS in funzione della dose assorbita D , relativo a due diverse tipologie di radiazione. X-ray è la radiazione di riferimento, mentre Particle è la radiazione di cui si intende valutare l'efficacia biologica.

In altre parole, l' RBE dà un'indicazione di quanto la radiazione R è più efficace rispetto a quella di riferimento, per l'induzione dello stesso effetto e per un particolare livello di tele effetto.

L' RBE di una determinata radiazione dipende, infatti, dal particolare effetto biologico considerato e dal livello di riferimento scelto.

In figura 1.10, ad esempio il parametro biologico considerato è la sopravvivenza cellulare ed il livello di riferimento scelto è il 10% di sopravvivenza, ossia l' RBE è calcolato come il rapporto delle dosi delle due radiazioni per cui si ottenga lo stesso livello di sopravvivenza (10%).

L' RBE di una radiazione, fissato l'effetto biologico e livello di riferimento, mostra una forte dipendenza dal LET della radiazione.

Come illustrato in figura 1.11, l' RBE presenta un picco in corrispondenza di un LET di circa 100-120 keV/ μm . Tale andamento è stato tradizionalmente spiegato come dovuto al fatto che, in corrispondenza di questo particolare valore del LET , la distanza media tra due eventi di ionizzazione ha un valore molto simile alla distanza dei due filamenti nella doppia elica di DNA, cioè circa 2 nm.

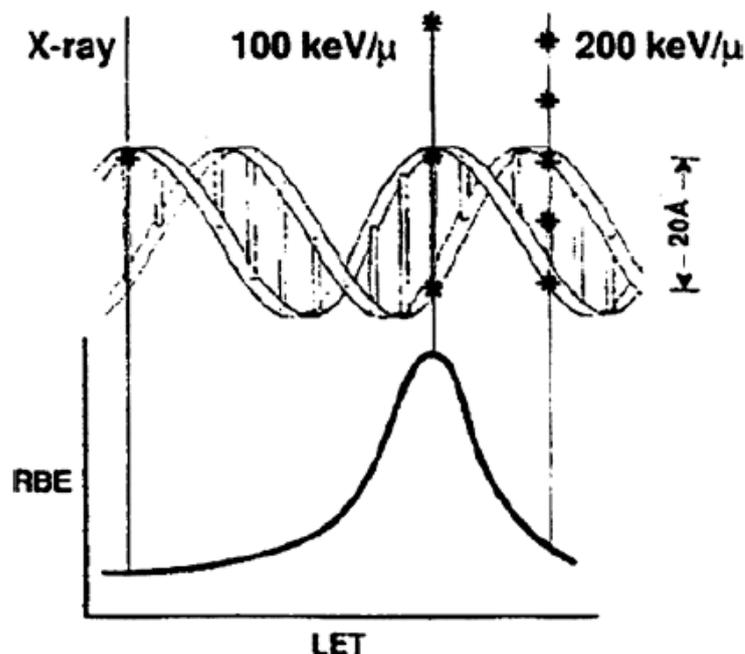


Figura 1.11[2] In alto è rappresentata graficamente la densità lineare di ionizzazione tipica della radiazione, per diversi valori del LET. Il grafico in basso mostra l'andamento dei corrispondenti valori di RBE.

Un ulteriore aumento nel numero di ionizzazioni per unità di lunghezza di traccia non comporta alcun aumento dell'efficacia biologica che ha già raggiunto il suo valore massimo, al contempo la dose assorbita aumenta. Il risultato è una graduale diminuzione dell'*RBE* detto *effetto overkill*.

1.3 Cenni sugli effetti biologici delle radiazioni

1.3.1 Il DNA

Numerose sono le evidenze sperimentali che mostrano che il *DNA* è il target principale per gli effetti biologici delle radiazioni. E' opportuno quindi descrivere brevemente la struttura della molecola di *DNA* e le principali tipologie di danni indotti dalle tracce di particelle cariche e dalla specie chimiche da esse prodotte.

Il *DNA*, *acido deossiribonucleico* è una grossa molecola organica con una struttura a *doppia elica*. Esso è formato da due filamenti uniti insieme da ponti a idrogeno.

Lo scheletro di ciascun filamento consiste in una struttura costituita dall'alternarsi di molecole di deossiribosio $C_5H_{10}O_4$ e gruppi fosfato PO_4^{2-} .

Legate a questo scheletro si possono trovare quattro diverse basi azotate: *adenina*, *timina*, *guanina* e *citosina*. La sequenza di basi lungo il singolo filamento specifica il codice genetico.

Se delle cellule vengono irraggiate con un fascio di radiazione ionizzante, le molecole di *DNA* subiranno dei danni per *azione diretta*, a causa delle ionizzazioni causate direttamente sul target

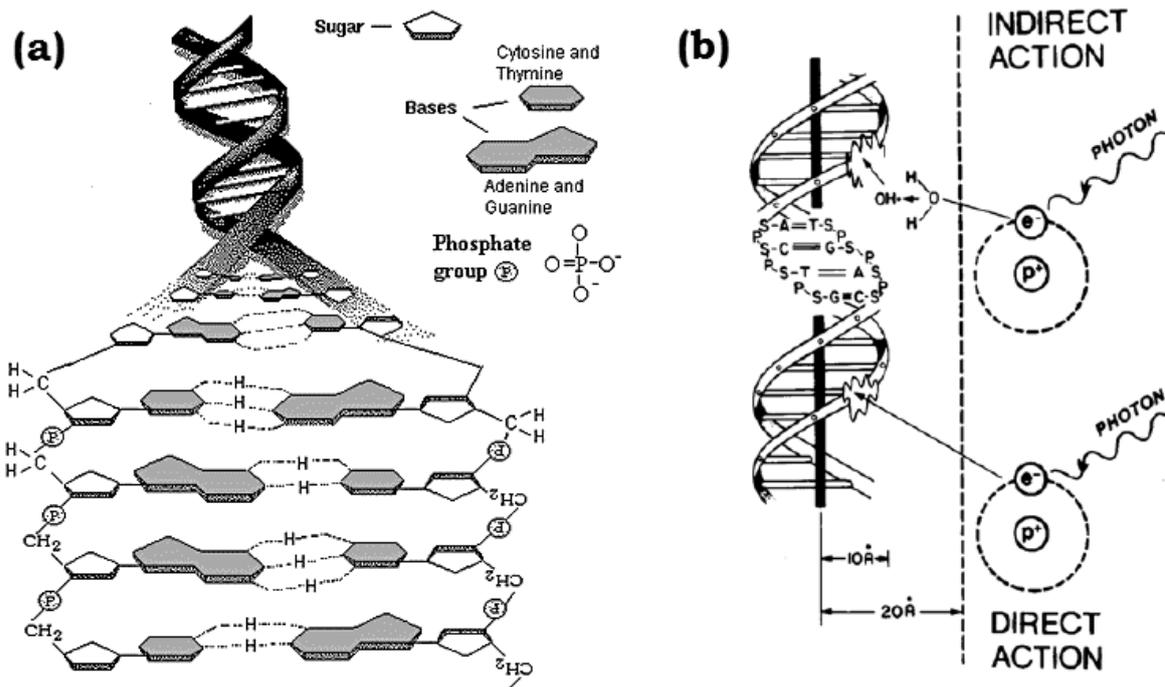


Figura 1.12a: Struttura dettagliata della doppia elica di DNA. Figura 1.12b: Rappresentazione dei danni indotti per azione diretta, cioè da ioni ed elettroni, e per azione indiretta dai radicali.

dalle particelle primarie e secondarie e dai danni per *azione indiretta* a causati dall'azione dei radicali liberi prodotti dalla radiolisi dell'acqua (Fig. 1.12b).

La struttura originaria della molecola di DNA può essere ripristinata nel caso l'entità e il numero delle modificazioni indotte lo consentano.

La riparazione del DNA è infatti un processo che opera costantemente nelle cellule e protegge il genoma da eventuali modificazioni indesiderate. Tuttavia nel caso in cui il danno al DNA non possa essere riparato, o non venga riparato nella maniera corretta possono verificarsi delle *mutazioni* che possono condurre alla morte cellulare o alla trasformazione neoplastica (*carcinogenesi*).

1.3.2 La radiolisi dell'acqua

Le modificazioni indotte dalle radiazioni ionizzanti sulle molecole d'acqua sono schematizzate da una serie di reazioni, i cui prodotti primari includono delle specie chimiche particolarmente reattive, i radicali liberi. Il fenomeno iniziale è l'eccitazione o la ionizzazione di una molecola d'acqua.

Reazione di eccitazione :



Le specie radicali $H \bullet$ e $OH \bullet$ vengono prodotte direttamente in seguito al decadimento di una molecola d'acqua eccitata H_2O^* .

Reazione di ionizzazione:

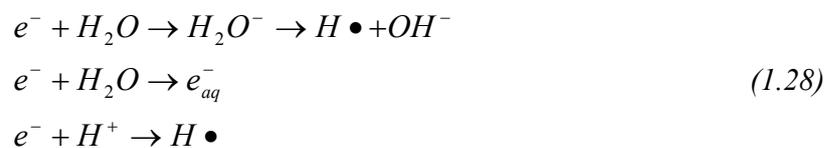


Lo ione H_2O^+ prodotto nella (1.26) interagirà a sua volta secondo la reazione:

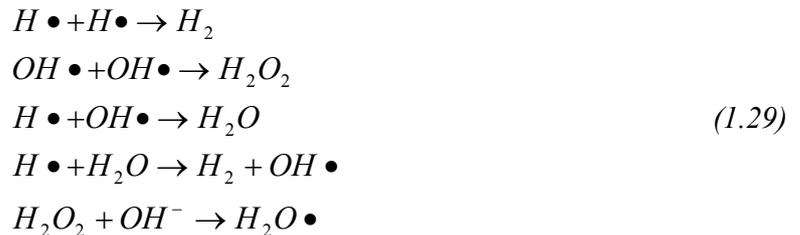


Producendo uno ione idronio H_3O^+ ed il radicale ossidrilico $OH \bullet$.

Gli elettroni interagiranno invece attraverso le seguenti reazioni:



I radicali $H \bullet$ e $OH \bullet$ possono inoltre ricombinarsi tra loro dando origine ai prodotti secondari H_2 e H_2O_2 , che sono invece molecole non reattive, attraverso le seguenti reazioni:



Le specie $H \bullet$ e $OH \bullet$, come tutti i radicali, presentano un elettrone spaiato. Tale configurazione rende il radicale estremamente reattivo ed in grado di legarsi ad altri radicali o di sottrarre un elettrone alle molecole vicine. Il radicale ossidrilico è tra le due, ed in generale tra tutti i ROS, *reactive oxygen species* (specie reattive dell'ossigeno), la specie più reattiva. Esso può interagire con il *DNA* alterandone la struttura chimica.

1.3.3 Danni da radiazione al *DNA*

In seguito all'esposizione a radiazione ionizzante le molecole di *DNA* possono subire numerose alterazioni sia dello scheletro zuccherio-fosfato che delle basi azotate.

A causa dell'azione dei radicali $OH \bullet$ le basi possono essere soggette allo spaiamento di un elettrone divenendo estremamente reattive, oppure staccarsi dallo scheletro dando luogo ad una *delezione*.

Le rotture di singolo filamento dette *single strand break SSB*, avvengono invece in seguito all'idrolisi del legame fosfodiesterico che unisce il deossiribosio al gruppo fosfato.

Se considerate singolarmente esse costituiscono un tipo di danno di scarsa gravità perché facilmente riparabile.

Tuttavia se entrambi i filamenti sono interessati da una *SSB*, e le due rotture sono distanti meno di una dozzina di coppie di basi, ciò comporta una rottura di doppio filamento detta *double strand break*, *DSB*.

Le rotture da doppio filamento sono una delle più importanti tipologie di lesioni prodotte dalla radiazione e possono causare *cross link* e legami covalenti tra *DNA* e proteine.

Quando due o più lesioni si concentrano in una regione di pochi *nm* di diametro il danno indotto è particolarmente difficile da riparare a causa della frammentazione della doppia elica.

Tali eventi dovuti ad una elevata concentrazione di deposizione di energia sono detti *danni multipli* o *cluster*.

Questi tipi di danno sono particolarmente frequenti nel caso di irraggiamento con radiazione ad alto *LET*, come conseguenza della vicinanza degli eventi di ionizzazione lungo la traccia della radiazione. A tale tipologia di danno è stato tradizionalmente attribuito il maggior *RBE*, dunque la maggior efficacia delle particelle pesanti nell'induzione di vari effetti radiobiologici quali *morte cellulare*, *mutazioni*, *aberrazioni cromosomiche*, etc.

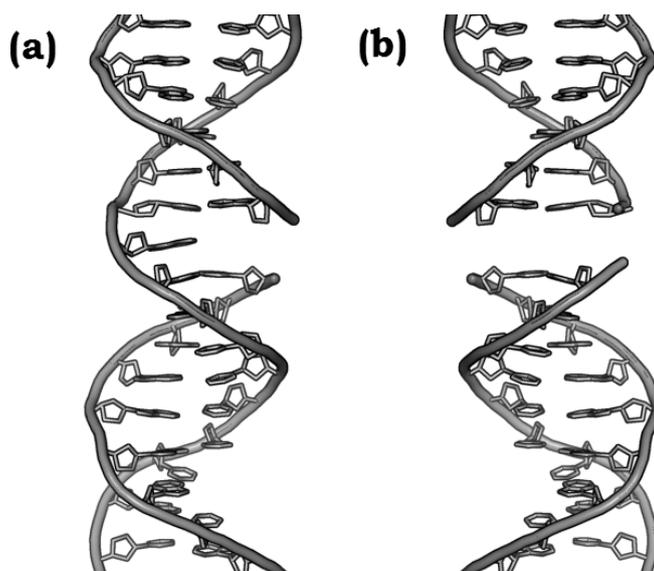


Figura 1.13 Rappresentazione di una porzione di DNA che presenta una rottura di singola elica o *single strand break* (a) e una rottura di doppia elica o *double strand break* (b).

1.3.4 Cenni sulle aberrazioni cromosomiche

Le aberrazioni cromosomiche rappresentano una delle manifestazioni di danno radio indotto più importante per una serie di conseguenze cui possono dar luogo, e meglio studiato sperimentalmente.

Il cromosoma è l'unità strutturale in cui il *DNA* associato a specifiche proteine si organizza all'interno delle cellule.

Il *DNA* si presenta infatti sottoforma di una fibra detta *cromatina* in cui la doppia elica è avvolta intorno a delle specifiche proteine, gli *istoni*.

A sua volta cromatina ed istoni sono organizzati in strutture dette *nucleosomi*.

Durante la metafase la fibra ottenuta dall'impacchettamento di più nucleosomi a sua volta si avvolge ripiegandosi più e più volte su sé stessa, descrivendo delle *anse* ed originando la struttura tridimensionale dei cromosomi condensati.

Lo scopo di tale grado di impacchettamento è l'efficiente trasmissione del corredo genetico durante la divisione cellulare.

I cromosomi metafasici, o condensati, sono costituiti da due cromatidi identici uniti attraverso una struttura detta *centromero*, ed hanno dimensioni di alcune decine di μm .

Una delle principali conseguenze delle rotture del doppio filamento del *DNA*, non o mal riparate, sono le aberrazioni cromosomiche, ovvero le alterazioni nella struttura o nel contenuto genetico di uno o più cromosomi.

Quando due porzioni di *DNA* sufficientemente vicine (a distanze dell'ordine dei μm) subiscono entrambe delle rotture, i vari segmenti possono essere ricongiunti correttamente dal sistema di riparazione oppure dare luogo ad aberrazioni. Tali aberrazioni diventano poi visibili, durante la metafase, cioè nella fase del ciclo cellulare in cui il *DNA* si organizza in cromosomi visibili al microscopio.

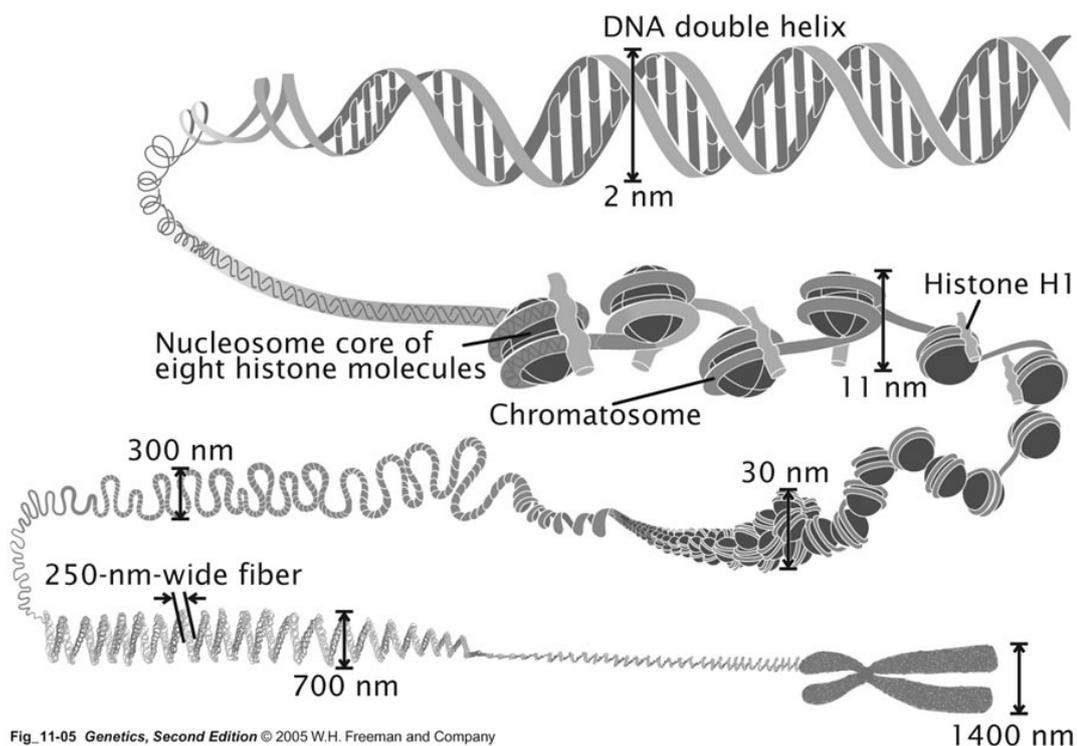


Figura 1.14: Vari livelli di ripiegamento della cromatina all'interno di un cromosoma metafasico.

Si è soliti distinguere in aberrazioni in *letali* e *non letali* a seconda che la cellula possa o meno potenzialmente sopravvivere in seguito al danno subito.

Le piccole *delezioni* e le *traslocazioni* simmetriche sono aberrazioni non letali, mentre i *ring*, i *dicentrici* e i *ponti in anafase* risultano letali [2].

1.4 Incongruenze della teoria radiobiologica classica

Come illustrato nei paragrafi precedenti, la teoria radiobiologica tradizionale prevede che l'efficacia biologica relativa della radiazione (*RBE*) sia caratterizzata da un massimo in corrispondenza di valori di *LET* intorno ai 100-120 keV/ μm , e da un successivo calo all'aumentare del *LET* dovuto all'effetto *overkill* [2]. Tipicamente, per alti valori di *LET*, l'*RBE* si attesta intorno al valore 1, che corrisponde ad una pari efficacia biologica della radiazione in esame rispetto a quella di riferimento.

Tale assunzione è stata per lungo tempo considerata valida a prescindere dal particolare effetto biologico e dalla natura della radiazione considerata.

Il crescente interesse nello studio degli effetti biologici indotti dall'esposizione a fasci di ioni, unito ai recenti progressi nell'ambito delle tecniche biomolecolari per le misure sperimentali dei danni indotti al *DNA* e allo sviluppo di sofisticati software di simulazione per lo studio dei meccanismi di deposizione energetica della radiazione nei target biologici, hanno permesso di evidenziare alcune discrepanze rispetto agli andamenti di *RBE* tradizionalmente riscontrati per esposizione di cellule a ioni di alto *LET*.

Tali risultati mettono in discussione l'adeguatezza del *LET* come unico parametro fisico, atto a classificare dal punto di vista dosimetrico una determinata radiazione.

Nell'attraversare il tessuto biologico, gli ioni producono un pattern di deposizione energetica estremamente complesso, a causa della produzione di elettroni secondari a lungo range che danno luogo a tracce assai ramificate. Il parametro di *LET*, inteso come energia depositata nel mezzo per unità di percorso lungo la traccia, non fornisce alcuna informazione riguardo alla distribuzione microscopica degli eventi di deposizione energetica, che tuttavia è strettamente correlata alla complessità del danno potenzialmente indotto al *DNA*, dunque all'effetto biologico. Inoltre, il *LET* stesso varia con la profondità di penetrazione dello ione: nell'adroterapia con ioni carbonio o con protoni, ad esempio, l'assunzione che la dose "biologicamente efficace" sia costante lungo il picco di Bragg allargato (Spread-Out Bragg Peak) è fallace, in quanto tale SOBP è ottenuto dalla sovrapposizione di vari fasci, modulandone l'energia, e quindi di molteplici curve di Bragg lungo ciascuna delle quali il *LET* e la struttura di traccia degli ioni incidenti varia, comportando una complessa variazione dell'*RBE*.

Da qui l'esigenza di approfondire le modalità di deposizione energetica, le caratteristiche della struttura di traccia degli ioni in acqua e i meccanismi di induzione del danno biologico, che costituiscono gli argomenti del presente lavoro.

1.4.1 Simulazioni di traccia ed effetti biologici

Come anticipato, gli ioni più pesanti dell'elio sono caratterizzati da tracce in generale più complesse ed articolate, oltre che più estese, di quelle generate da particelle più leggere come protoni ed alfa. La ragione di tale differenza risiede nella diversa quantità e qualità della radiazione secondaria, ovvero nello spettro energetico degli elettroni- δ prodotti. Ciò si traduce in

una dispersione spaziale dei siti di deposizione energetica completamente differente a seconda del tipo e dell'energia dello ione considerato (vedi figura 1.15).

I moderni software di simulazione permettono di ricostruire con grande accuratezza l'interazione della radiazione con la materia e la produzione ed il trasporto dei secondari prodotti, rappresentando uno strumento largamente utilizzato per lo studio della perdita di energia delle particelle che attraversano un mezzo materiale. In particolare, per quanto riguarda le applicazioni radiobiologiche, alcuni toolkit permettono di simulare con accuratezza anche i processi di deposizione energetica aventi luogo in *target* di dimensioni nanometriche, rappresentativi di strutture sub-cellulari e sub-nucleari.

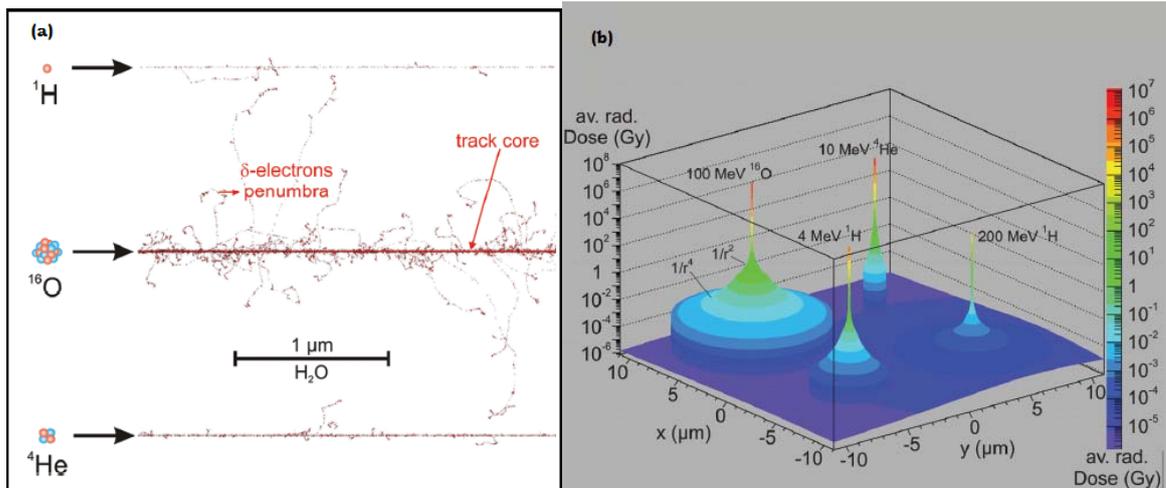


Figura 1.15: Struttura di traccia di ioni H, O ed He di energia pari a $5.26\ \text{MeV}/u$, (a) e ricostruzione del profilo radiale di dose per ioni di diversa natura ed energia (b) realizzati mediante il software di simulazione PARTRAC [52].

Avvalendosi di questi strumenti è possibile approfondire lo studio dei meccanismi fisici e chimico-fisici che regolano il processo di induzione del danno biologico. A tale scopo è utile caratterizzare dal punto di vista dosimetrico le tracce generate da particelle che attraversano il tessuto biologico.

La caratterizzazione dosimetrica della traccia di una particella nei tessuti può essere effettuata, approssimando il materiale biologico con un *target* di acqua liquida: esso è infatti costituito per più del 70% da acqua, e presenta valori di densità e di Z_{eff} simili ad essa. Di conseguenza, per quanto riguarda i processi di interazione tra radiazione-materia, i due mezzi risultano praticamente equivalenti.

Data la natura stocastica dei singoli eventi di deposizione energetica, per ottenere informazioni significative sulla struttura di traccia, è necessario ricostruire la *traccia amorfa* della particella, ovvero calcolare la deposizione energetica media prodotta nel mezzo da n tracce simulate nelle medesime condizioni iniziali [52]. In questa maniera è possibile ricavare l'andamento della distribuzione di energia, dunque la dose radiale media, intorno alla traccia della particella primaria. Ciò permette di quantificare e comparare dal punto di vista microdosimetrico la struttura di traccia di particelle diverse, obiettivo costituente la prima parte del presente lavoro (capitolo 4). Tuttavia, volendo investigare i complessi meccanismi che presiedono all'induzione del danno biologico, è necessario spingersi oltre la mera caratterizzazione dosimetrica della radiazione.

Il *DNA*, universalmente riconosciuto come il target radiobiologico per eccellenza, occupa appena l'1% circa del volume nucleare cellulare. Un semplice *target* omogeneo, utile per modellizzare l'andamento della deposizione energetica nei tessuti, non è perciò adatto alla simulazione degli effetti su scala subnucleare. Quindi, è necessario l'utilizzo di *target* che riproducano in dettaglio la struttura e l'organizzazione spaziale del *DNA* all'interno del nucleo cellulare. In questa maniera è possibile simulare l'induzione di eventi di ionizzazione ed eccitazione a danno delle basi e dello scheletro zucchero fosfato.

In alcuni tool come Geant4, la ricostruzione dettagliata della struttura tridimensionale del *DNA* e della sua organizzazione in cromatina e nucleosomi, permette di calcolare il numero e l'entità dei danni biologici potenzialmente indotti in termini di rotture singole, doppie e multiple del doppio filamento. In questa maniera è possibile ricostruire il grado di frammentazione prodotto nel *DNA* dalla radiazione incidente e cercare di metterlo in relazione con le sue caratteristiche fisiche e con i risultati sperimentali. Tale argomento verrà opportunamente approfondito nella seconda parte del presente lavoro (capitolo 5).

Capitolo 2

Struttura e caratteristiche del toolkit Geant4

La comprensione completa e dettagliata degli effetti della radiazione ionizzante, su scala cellulare e subcellulare, specialmente per quanto attiene all'esposizione a particelle cariche, rappresenta uno dei principali obiettivi della radiobiologia moderna. Poiché essi discendono dagli eventi di deposizione energetica lungo ed intorno le tracce di particelle cariche, tool di simulazione, che siano in grado di riprodurre i processi tipici dell'interazione tra radiazione e materiale biologico, costituiscono uno strumento potentissimo per lo studio dei meccanismi di induzione del danno biologico.

Nel corso degli ultimi venti anni, sono stati sviluppati diversi software in grado simulare l'interazione radiazione-materia, come *Fluka*, *PARTRAC*, *PENELOPE* e *Geant4*.

Quest'ultimo, data la sua duttilità e relativa semplicità di utilizzo, è stato scelto per effettuare lo studio di strutture di traccia di particelle cariche in acqua liquida, nel corso del presente lavoro di tesi.

2.1 Sviluppo del progetto Geant4

Geant4, *GEometry ANd Tracking*, è un codice Monte Carlo *open source*, dunque fruibile gratuitamente, sviluppato da una collaborazione internazionale di cui fa parte anche il *CERN*, a partire dal 1998.

Le numerose implementazioni e modifiche succedutesi nel corso degli anni, hanno reso *Geant4* un software *general-purpose*, potenzialmente adattabile a qualunque tipo di configurazione desiderata dall'utente.

La prima versione del software era stata pensata per la fisica delle alte Energie, ma successivamente fu sviluppato e validato il modello *Low Energy Electromagnetic*, adatto alla simulazione di processi ad energie comprese tra 250 *eV* ed 100 *GeV*.

In seguito all'interesse dell'*ESA, European Space Agency*, nella simulazione degli effetti biologici della radiazione sugli astronauti, è nata l'estensione *Geant4-DNA*.

La caratteristica peculiare di *Geant4-DNA* è la possibilità di effettuare simulazioni di deposizione energetica e struttura di traccia alle basse energie ($E \sim eV$) e nei piccoli volumi di target tipici dei processi radiobiologici ($\sim 10 \text{ nm}$).

Alcuni recenti sviluppi, inoltre, permetteranno di simulare, oltre alla cosiddetta *fase fisica* della deposizione di energia, anche i processi chimici e chimico-fisici che hanno luogo subito dopo l'irraggiamento e dai quali larga parte del danno al DNA deriva per effetto della produzione di radicali ed altre specie altamente reattive

Geant4, nella sua estensione *DNA*, rappresenta quindi uno strumento estremamente accessibile e, al contempo, all'avanguardia per applicazioni radiobiologiche e dosimetriche.

2.1.1 Cenni sull'Object Oriented Programming

Il software *Geant4* è un toolkit, basato sulla programmazione orientata agli oggetti, *Object Oriented Programming (OOP)*, in linguaggio *C++*, una tecnica molto più versatile dell'approccio strutturato e particolarmente adatta allo sviluppo di un software soggetto a continue modifiche ed aggiornamenti quale si è rivelato poi essere *Geant4*.

La programmazione orientata agli oggetti è un paradigma di programmazione che prevede di raggruppare in zone circoscritte del codice (*classi*) le dichiarazioni delle strutture dati e delle procedure che operano su di esse.

I concetti fondamentali su cui si basa la OOP sono: *l'oggetto, la classe, l'incapsulamento, l'ereditarietà e il polimorfismo*.

Un oggetto è pensato come un blocco di codice a sé stante, strutturato in modo da compiere un determinato compito nella maniera più semplice possibile. Ogni oggetto è indipendente dagli altri e possiede delle variabili proprie non condivise con l'esterno: in questo modo non si rischia di alterarne le proprietà lavorando su altre parti del codice.

Una classe rappresenta una struttura astratta, cioè una definizione generica per una famiglia di oggetti simili. Gli oggetti sono istanze di una classe.

L'incapsulamento è il principio in base al quale una classe può celare il suo contenuto, impedendo agli altri oggetti di accedere ai suoi dati o di richiamare i suoi metodi che non siano pubblici; ciò protegge l'oggetto da eventuali manipolazioni indesiderate.

L'ereditarietà è il meccanismo che permette di far ereditare alle *classi derivate* la struttura e le caratteristiche delle *classi madri*. In questa maniera modificando una caratteristica nelle classi madri, il cambiamento verrà ereditato automaticamente dalle classi figlie.

Il polimorfismo è, infine, la possibilità di originare comportamenti e risultati diversi impiegando i medesimi metodi a carico di oggetti differenti.

2.1.2 Struttura generale del software

Grazie alla sua struttura costituita da librerie C++, Geant4 consente la gestione di molteplici aspetti della simulazione, come la geometria del rivelatore, la tipologia ed il posizionamento delle sorgenti di radiazione, i materiali utilizzati, le particelle coinvolte, i processi fisici da considerare, etc.

In Geant4 sono definite una serie di *classi*, ciascuna delle quali gestisce un particolare aspetto della simulazione e contiene determinate tipologie di *attributi e metodi*.

Durante la simulazione, le varie classi interagiscono tra loro secondo un preciso ordine gerarchico, costruendo la configurazione, sviluppando la simulazione, e fornendo gli output richiesti dall'utente.

La struttura generale di un codice completo prevede:

- Una directory *include*, in cui sono contenuti tutti i file di intestazione, gli *header file*, in ciascuno dei quali vengono definiti le classi e gli oggetti con i loro attributi e metodi.
- Una directory *src* che contiene tutti i file sorgente, i *source file*, in cui vengono implementati gli attributi e i metodi degli oggetti definiti in *include*.
- Un *main*, un file cioè il cui nome è lo stesso dell'eseguibile, e che serve per dichiarare gli oggetti che verranno utilizzati nel corso della simulazione.

Per sviluppare un'applicazione in Geant4, è necessario derivare ed implementare classi concrete a partire dalle classi astratte fornite dal *kernel* del toolkit.

Sono due i tipi di classi che l'utente deve derivare: le classi obbligatorie, *mandatory user classes*, e quelle opzionali, *optional user classes*.

Le *mandatory user classes* sono tre: di esse due sono *user initialization classes*, utilizzate per l'inizializzazione dell'applicazione, l'altra è una *user action class*, utilizzata per l'inizializzazione dell'esecuzione.

Le classi astratte da cui derivare le classi concrete sono:

- ***G4VUserDetectorConstruction***, *user initialisation class* nella cui classe derivata è necessario definire la geometria degli elementi presenti nella simulazione, i materiali e le aree sensibili.
- ***G4VUserPhysicsList***, *user initialisation class* nella cui classe derivata è necessario definire i processi fisici coinvolti nella simulazione.
- ***G4VUserPrimaryGeneratorAction***, *user action class* nella cui classe derivata è necessario definire il modo in cui devono essere generate le particelle primarie.

Le *optional user classes*, sono tutte *user action classes*, e vengono derivate dalle seguenti classi astratte:

- **G4UserRunAction**, nella cui classe derivata vengono definite le grandezze inizializzate e le azioni svolte, all'inizio e alla fine di ciascun *run*, attraverso i metodi *BeginOfRun ()* e *EndOfRun ()*.
- **G4UserEventAction**, nella cui classe derivata vengono definite le azioni da svolgere prima dell'inizio e dopo il termine di ciascun evento, attraverso i metodi *BeginofEvent()* e *EndOfEvent()*.
- **G4UserSteppingAction**, nella cui classe derivata vengono definite le azioni da svolgere prima e dopo ciascuno *step*, e vengono invocati i metodi che consentono di accedere a quantità di interesse fisico, come verrà illustrato con maggior dettaglio nella sezione successiva.
- **G4UserTrackingAction** e **G4UserStackingAction**, le cui classi derivate danno accesso ad aspetti che riguardano traccia e particelle.

2.1.3 Architettura

L'insieme di tutte le classi di Geant4 che si occupano dello stesso aspetto della simulazione è detto *categoria*. Ciascuna categoria è responsabile di una funzione particolare, ed è legata ad altre categorie addette a funzionalità connesse a quella da essa svolta.

Tale struttura gerarchica ed interconnessa tra categorie definisce l'*architettura* di Geant4, che può essere rappresentata schematicamente come illustrato in figura 2.1.

Le categorie più a destra sono quelle che svolgono le funzioni fondamentali nel software. Come si può osservare in figura, una data categoria è connessa con freccia a quelle con cui è in relazione, ossia con quelle che utilizza.

Le categorie principali sono:

- **Run ad Event**

In Geant4, un *evento* rappresenta la più piccola unità di simulazione completa, e corrisponde ad un singolo evento di interazione tra particelle e materia.

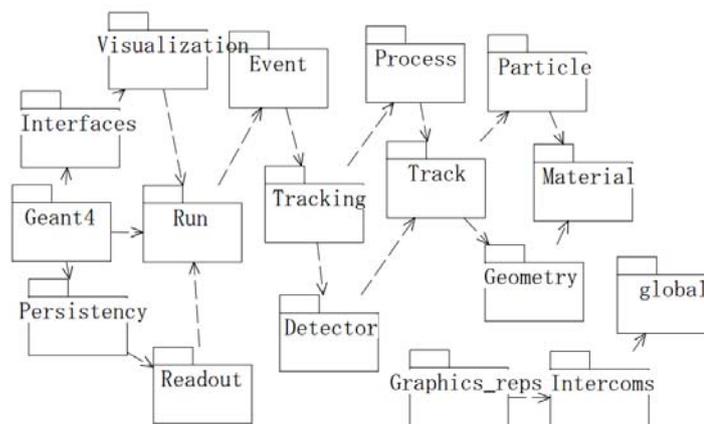


Figura 2.1: Diagramma delle categorie in Geant4; le frecce indicano la struttura gerarchica delle categorie. Ad esempio Geant4 utilizza la categoria Run, che a sua volta utilizza la categoria Event che a sua volta si serve della categoria Tracking, e così via.

Per questioni di statistica esso non viene mai considerato singolarmente. Al contrario, generalmente, nel corso di un *run* vengono simulati n eventi. Il run è dunque una sequenza di eventi fisici, e costituisce un'unità di simulazione più ampia. Esso è rappresentato da un oggetto della classe *G4Run*, così come ciascun evento è rappresentato da un oggetto della classe *G4Event*. Quest'ultima contiene informazioni sulle particelle primarie generate e sui loro vertici di interazione. *G4Event* registra, infatti, tutte le traiettorie e gli *hits*, che sono poi memorizzati rispettivamente nelle classi *G4TrajectoryContainer* e *G4HCofThisEvent* ed accessibili attraverso dei puntatori.

L'inizio di ciascun run è determinato dall'invocazione del metodo *beamOn()*, della classe *G4RunManager*. *RunManager* è la classe responsabile della gestione del susseguirsi degli eventi entro un run e controlla lo scorrimento del programma. Esso è, inoltre, preposto all'inizializzazione di alcune particolari classi all'interno del *main* del programma; attraverso tali procedure, il *RunManager* fornisce tutte le informazioni necessarie a costruire e far progredire la simulazione.

- **Tracking, Track e Step**

In Geant4 la traiettoria di una particella è simulata per *step*, cioè per piccoli intervalli di simulazione successivi. Ciascuno *step* è rappresentato da un oggetto della classe *G4Step*, ed in esso sono memorizzate temporaneamente tutte le informazioni ad esso relative. Gli oggetti *PreStepPoint* e *PostStepPoint*, accessibili tramite un metodo del tipo *Get()*, registrano le coordinate dei punti iniziali e terminali dello step. Attraverso i metodi *GetStepLength()* e *GetTotalEnergyDeposit()*, si ottengono rispettivamente la lunghezza di ciascuno step e l'energia totale depositata all'interno del volume sensibile. *G4Step* memorizza, inoltre, anche informazioni riguardanti le variazioni di momento, energia e tempo, per ciascuna particella tra i punti *PreStep* e *PostStep*. Tutte le quantità fisiche appena elencate, sono aggiornate ad ogni transizione tra uno step e quello successivo.

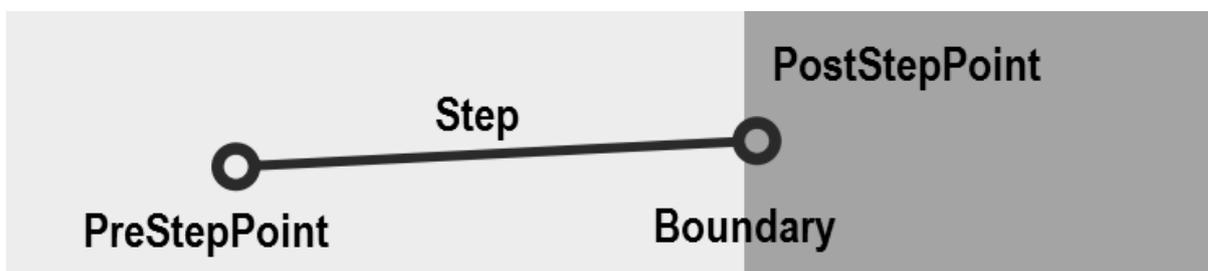


Figura 2.2: Lo step rappresenta un intervallo "infinitesimo" di simulazione, delimitato da punti *PreStep* e *PostStep*. In caso di discontinuità per evitare step divisi tra due volumi A e B, il *PostStepPoint* dell'ultimo step di A verrà automaticamente posto appena oltre la frontiera, all'interno del volume B.

La traiettoria completa di ciascuna particella, sia essa primaria o secondaria, è ottenuta considerando l'insieme di tutti gli step. Essa viene registrata in un oggetto dalla classe *G4Track*. A ciascuna traccia viene assegnato automaticamente un *TrackID*, accessibile mediante un metodo del tipo *Get()* e modificabile dall'utente mediante un metodo del tipo *Set()*. Infine, la classe *G4TrackingManager* gestisce le transizioni tra le categorie *step*, *evento* e *traccia* e *tracciamento*.

- **Hits e Digitation**

Un *Hit* è un'istantanea dell'interazione fisica di una traccia nella regione sensibile di un rivelatore, detta *Sensitive Detector*. In essa sono memorizzate le informazioni associate agli oggetti di *G4Step*, quali posizione, energia, momento, etc...

Attraverso i metodi *Draw()* e *Print()* possono essere disegnati e stampati a schermo gli hit di interesse dell'utente. Un *Hit* è creato nel *SensitiveDetector* quando uno step lo attraversa, per cui è connesso ad un determinato volume e alla struttura del rivelatore. Esso, essenzialmente, rappresenta il segnale generato all'interno del rivelatore in conseguenza dell'interazione della particella. Invece, un *digit* è creato a partire da un hit, modificando questo secondo la risoluzione del rivelatore.

- **Particles e Material**

La classe *G4ParticleDefinition* contiene tutte le informazioni relative ad una vasta gamma di particelle. A partire da essa, è possibile derivare una classe per ciascun tipo di particella, come ad esempio *G4Electron*, *G4Positron* e *G4Gamma*. In queste ultime sono contenute tutte le proprietà della particella disponibili sul *Particle Data Book*, come massa, carica, spin e parità.

In Geant4, gli elementi, gli isotopi e i materiali sono rappresentati rispettivamente da oggetti della classe *G4Element*, *G4Isotope* e *G4Material*. Essi possono essere derivati o combinati tra loro, usufruendo del database del *NIST, National Institute of Standards and Technology*, attraverso i metodi *FindOrBuildElement/Material()* della classe *G4NistManager*, oppure essere costruiti *ex novo*.

Agli oggetti del tipo *Element* e *Isotope* vengono associate proprietà microscopiche che descrivano le caratteristiche del singolo atomo, come il numero atomico Z , il numero di nucleoni A , la massa di una mole e le energie di shell.

Agli oggetti del tipo *Material*, che rappresentano sia specie molecolari che composti e miscugli, vengono associate proprietà macroscopiche come temperatura, pressione, stato di aggregazione, densità, lunghezza di radiazione e lunghezza di assorbimento.

Gli isotopi vengono poi assemblati in elementi, specificandone l'abbondanza percentuale attraverso il metodo *AddIsotope()* della classe *G4Element*.

Alla stessa maniera è possibile costruire un materiale, utilizzando il metodo *AddElement()* della classe *G4Material*.

- **Geometry**

I rivelatori, o in genere i target in cui si è interessati a simulare l'interazione delle particelle, possono essere disegnati in dettaglio, combinando opportunamente una serie di volumi elementari rappresentati ciascuno da una classe specifica.

Tutti i volumi creati dall'utente vengono collocati all'interno di un volume più grande, il *World Volume* che riproduce l'*universo* in cui verrà effettuata la simulazione.

I solidi elementari sono rappresentati da oggetti di classi come *G4Box*, *G4Tubs*, *G4Sphere*, *G4Orb* e possono essere specificati indicandone la tipologia, le dimensioni ed eventuali parametri. Volumi elementari possono essere combinati tra di loro attraverso operazioni booleane, al fine di

ottenere volumi di forma più complessa. Ai solidi così ottenuti vengono poi associati, i materiali che li compongono e la collocazione specifica all'interno del volume genitore, attraverso le classi *G4LogicalVolume* e *G4PhysicalVolume*.

Nella costruzione della geometria del sistema è fondamentale mantenere una struttura *a matryoska* dei volumi creati, evitando di uscire dal *WorldVolume* ed assicurandosi di non aver causato sovrapposizioni di più volumi.

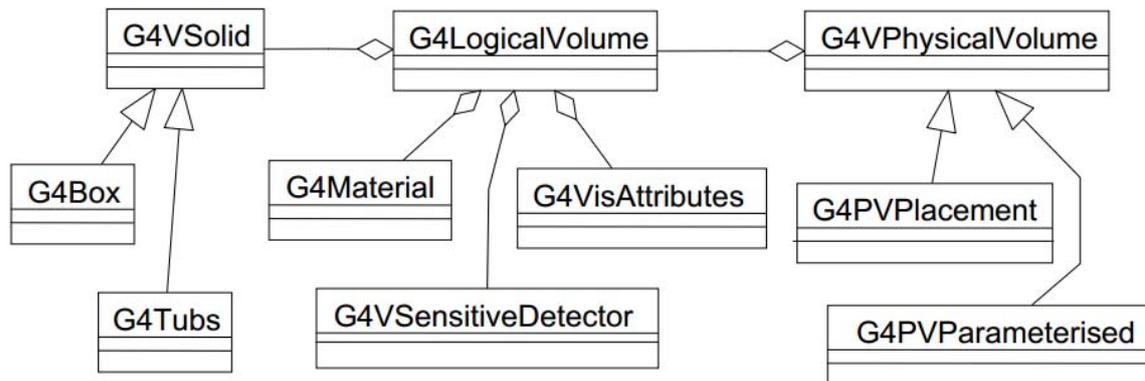


Figura 2.3: Relazioni di dipendenza tra le principali classi necessarie alla definizione della geometria. Le classi *G4Box* e *G4Tubs* derivano dalla classe *G4VSolid*; allo stesso modo *G4PVPlacement* deriva da *G4Physical Volume*. L'utilizzo delle classi *G4Material*, *G4SensitiveDetector* e *G4VisAttributes* è invece strettamente legato alla classe *G4LogicalVolume*.

- **Physics[9]**

La categoria *processi fisici* descrive i modi in cui le particelle possono interagire con la materia. I processi possono, inoltre, essere classificati in: *processi a riposo*, *processi continui* e *processi discreti*. Nei processi a riposo le particelle non variano la loro posizione spaziale come nel caso del decadimento. Nei processi continui, le interazioni sono trattate come se fossero distribuite in maniera continua nello spazio e nel tempo, come accade ad esempio per la perdita di energia per ionizzazione di una particella carica. I processi discreti sono, invece, quelli che vanno considerati *puntuali* nello spazio e nel tempo, come ad esempio l'effetto Compton o quello fotoelettrico.

In base alla loro natura, i processi in Geant4 vengono distinti in due grandi categorie di fisica:

- *Fisica elettromagnetica*
- *Fisica adronica*

Per i processi elettromagnetici, sono disponibili due modelli alternativi, raccolti in due *packages*: *Standard* e *Low Energy Electromagnetic*.

Rispetto ai processi *Standard*, i cui modelli sono validi fino a 1 keV, i processi *Low Energy* estendono l'implementazione dei processi fisici alle basse energie, fino a 250 eV per elettroni, positroni e fotoni, e fino all'energia corrispondente al potenziale di ionizzazione per ciascun elemento, per adroni e ioni, attraverso i modelli *Livermore* e *PENELOPE* (*PENetration and Energy LOss for Positron ad Electrton*).

I processi implementati in entrambi i package sono, per i fotoni, l'effetto fotoelettrico, la diffusione Compton, la produzione di coppie, mentre per le particelle cariche, la perdita di energia per ionizzazione e per bremsstrahlung.

Oltre ai processi appena elencati, in *Low Energy* sono implementati lo scattering Rayleigh, la fluorescenza legata ai processi di diseccitazione atomica, e lo scattering multiplo per tutte le particelle cariche.

Per i processi adronici, invece, sono previsti diversi modelli, in un intervallo di energie che va da quella dei neutroni termici fino ai *PeV*. Ogni modello è legato al tipo di processo fisico, all'energia e alle particelle che si vogliono simulare. L'utente può scegliere quali di questi modelli attivare ed in quale range di energie, in funzione del grado di precisione richiesto e del tipo di processo simulato.

- **Visualisation**

In Geant4 è possibile visualizzare la geometria del sistema, le tracce delle particelle primarie e secondarie e gli eventuali hit che hanno luogo all'interno del rivelatore.

Il toolkit risulta, infatti, compatibile con driver di diversi sistemi di grafica, come *OPENGL*, *OPAC* e *DAWN* che permettono di controllare l'implementazione della geometria attraverso un'interfaccia utente. La recente introduzione del *Qt visualisation driver*, dà inoltre la possibilità di visualizzare in maniera tridimensionale ed interattiva la geometria dettagliata del sistema, e pertanto costituisce un utile strumento di *debugging* del codice.

2.2 Estensione Geant4-DNA

Come anticipato nella precedente sezione, in Geant4 sono disponibili due set di modelli elettromagnetici, uno dei quali, *Low Energy Electromagnetic*, valido tra 250 eV e 100 GeV , è stato sviluppato per applicazioni mediche e radioprotezionistiche.

Allo scopo di realizzare simulazioni di apparati di interesse biofisico e micro-dosimetrico, il package *Low-Energy EM* è stato recentemente esteso con l'introduzione di una nuova componente, il pacchetto *G4EmDNAPhysics*. Esso consta di una serie di modelli che consentono la simulazione di processi fino ad energie di pochi eV , anche su target di piccole dimensioni (come singole cellule e volumi subcellulari), in acqua liquida, il principale componente dei sistemi biologici.

Le particelle interagenti, di cui sono stati modellizzati i processi, sono quelle di maggiore interesse radiobiologico, ovvero elettroni, idrogeno ed elio in tutti i rispettivi stati di carica: H^0 , H^+ , He^0 , He^+ , He^{2+} .

Inoltre, per energie superiori ad 1 MeV/u , è modellizzata l'interazione in acqua liquida anche dei cationi C^{6+} , N^{7+} , O^{8+} , Si^{14+} , Fe^{26+} .

2.2.1 Modelli implementati in Geant4-DNA[8]

- **Elettroni**

Come mostrato in tabella 2.1, nell'estensione Geant4-DNA sono disponibili, per gli elettroni in acqua i processi di scattering elastico, eccitazione e ionizzazione.

La simulazione dello scattering elastico comprende due diversi modelli alternativi: il primo, detto *Screened Rutherford Model*, è stato sviluppato per la fase di vapore acqueo e poi esteso alla fase liquida, secondo una procedura già adottata in altri codici di simulazione in acqua. Il secondo è stato invece sviluppato recentemente da *Champion et al.*, specificamente per la fase liquida.

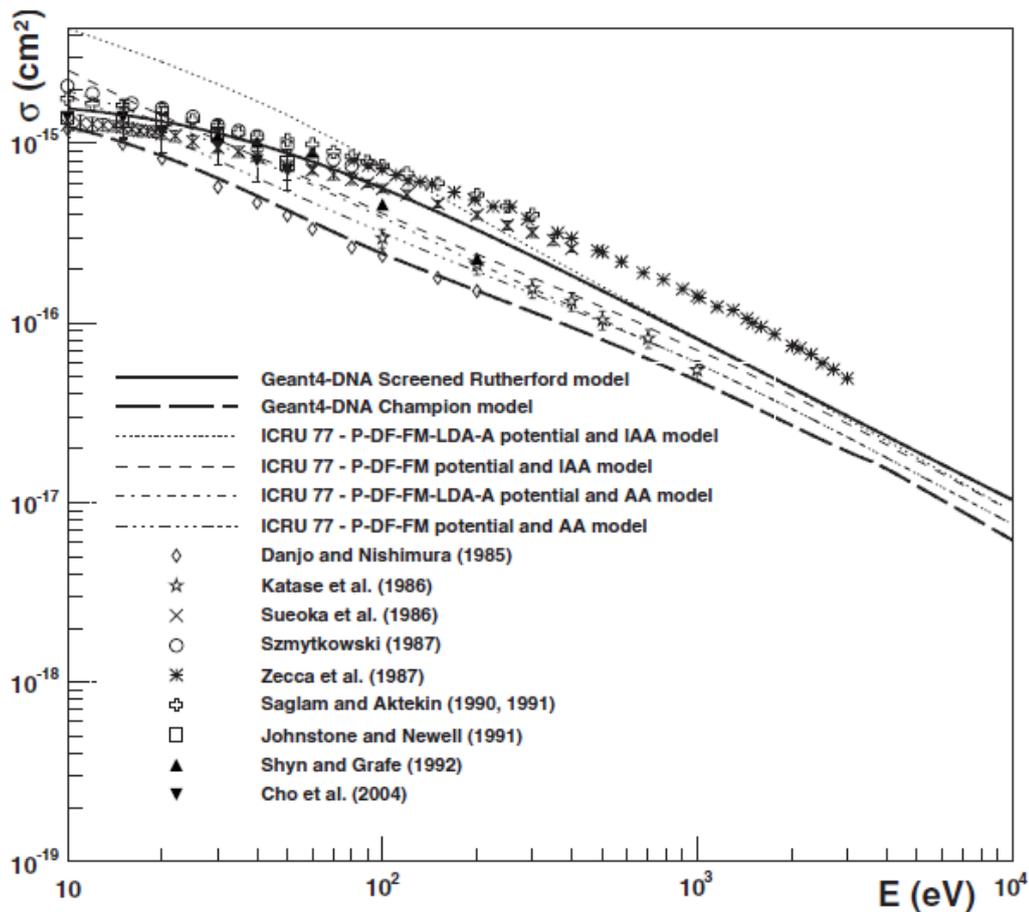


Figura 2.4: Sezione d'urto totale di scattering per elettroni in acqua liquida, tra i 10 eV e i 10 keV, in funzione dell'energia incidente. I due modelli disponibili in Geant4-DNA, Screened Rutherford e Champion, sono comparati ai set di dati sperimentali in acqua allo stato gassoso di Danjo e Nishimura, Katase et al., Sueoka et al., Szmytkowski, Zecca et al., Saglam e Aktekin, Johnstone e Newell, Shyn e Grafe, Cho et al. Sono inoltre mostrate le raccomandazioni dell'ICRU Report No. 77, calcolate utilizzando la static exchange approximation (P-DF-FM-potential) e la full optical model potential (P-DF-FM-LDA-A)

La figura 2.4 riporta un confronto tra le sezioni d'urto di scattering elastico per elettroni in acqua liquida, relative ai due modelli sopracitati, e diversi set di dati sperimentali derivanti da misure effettuate in acqua gassosa.

In generale, si osserva un buon accordo, in termini di sezione d'urto totale, ad eccezione di quanto accade per il modello Screened Rutherford e i dati sperimentali di *Sueoka et al.* e *Szmytkowski*. In aggiunta sono inoltre riportate quattro *recommendations* fornite dall' *ICRU Reference Report No.77*, che corrispondono a calcoli della sezione d'urto effettuati secondo quattro diverse approssimazioni. La comparazione statistica completa delle distribuzioni in figura è stata effettuata da *Incerti et al.*

Il modello di eccitazione è basato sulla *prima approssimazione di Born (First Born Approximation o FBA)* a cui sono state apportate opportune correzioni semiempiriche per il range di bassa energia.

Teoricamente, la sezione d'urto calcolata con questo modello è valida fino ad un'energia di 0 eV , tuttavia, nel caso reale un elettrone con un'energia inferiore agli $8,23\text{ eV}$ (primo livello eccitato di una molecola d'acqua), non può descrivere l'eccitazione elettronica in acqua.

Anche la sezione d'urto di ionizzazione è calcolata utilizzando la *FBA*, fino ad un limite energetico inferiore di $12,61\text{ eV}$, energia di prima ionizzazione della molecola d'acqua. In figura 2.5 sono riportati i confronti tra le sezioni d'urto di eccitazione e ionizzazione per elettroni in acqua liquida, ottenute applicando la *FBA* in Geant4-DNA, ed alcuni set di dati sperimentali riferiti, invece, alla fase gassosa.

Le sezioni d'urto per la fase liquida risultano essere di circa un ordine di grandezza più piccole di quelle relative alle misure in fase gassosa. A causa della mancanza di ulteriori dati sperimentali è, tuttavia, difficile stabilire se tale discrepanza sia causata da un effetto di fase.

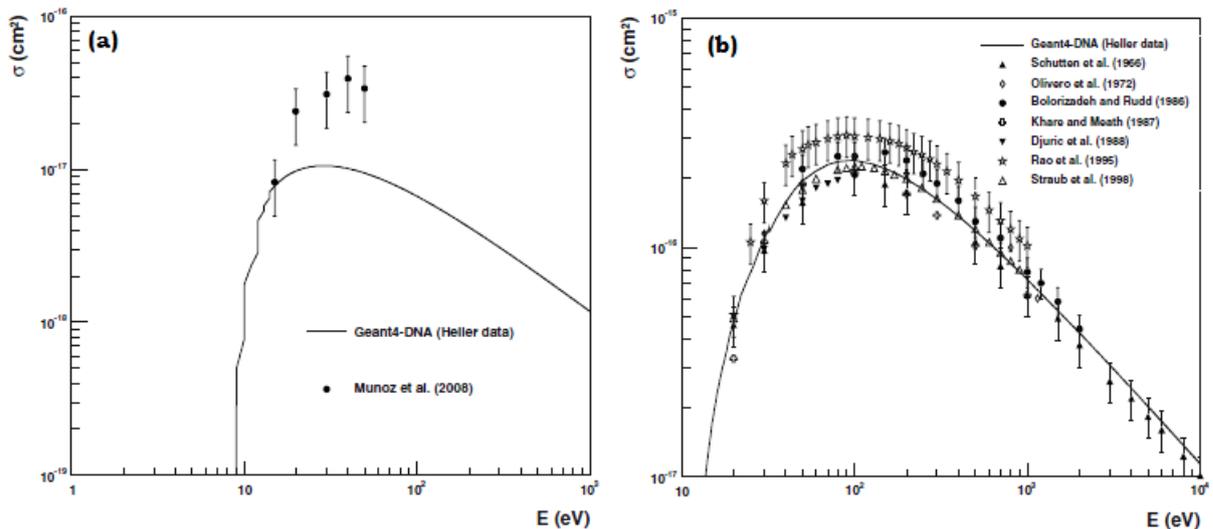


Figura 2.5a: Comparazione della sezione d'urto totale di eccitazione per elettroni, in acqua liquida, calcolata con Geant4-DNA, e i dati sperimentali di Munoz et al. in vapore acqueo. Figura 2.5b: Sezione d'urto totale di ionizzazione per elettroni in acqua liquida ottenuta dal Born Model, confrontata con i dati sperimentali in vapore acqueo di Shuttan et al., Oliviero et al., Bolorizadeh e Rudd, Khare e Maeth, Djuric et al., Rao et al., Straub et al.

- **Protoni ed idrogeno**

Per i protoni i processi disponibili in Geant4-DNA sono eccitazione, ionizzazione e cattura elettronica, mentre per l'idrogeno neutro, perdita elettronica e ionizzazione.

Per i processi di ionizzazione sono utilizzati due modelli complementari: il *Rudd ionisation model* e il *Born ionisation Model*.

Il modello di Rudd, applicabile sia ai protoni che all'idrogeno neutro, è basato su un approccio semiempirico, sviluppato per la fase di vapore acqueo, e opportunamente riadattato alla fase liquida. Il modello di Born è invece applicabile ai protoni veloci ed è basato sulle teorie di Born e Bethe e sul formalismo dielettrico per l'acqua liquida.

La figura 2.6a illustra un confronto tra la sezione d'urto totale di ionizzazione, per protoni e idrogeno neutro, ed alcuni set di dati sperimentali ottenuti da misure effettuate in acqua gassosa. I valori relativi alle simulazioni effettuate con Geant4-DNA, risultano qualitativamente in accordo con i dati sperimentali. Tuttavia, la discrepanza evidenziata nella zona di bassa energia, e la mancanza di ulteriori dati relativi alla fase liquida, rendono difficile stabilire se le differenze tra modelli e dati sperimentali, siano imputabili solo a effetti di fase.

Le sezioni d'urto di cattura e perdita elettronica (*charge decrease/increase*), sono ottenute applicando il modello di *Dingfelder*, derivato da una parametrizzazione analitica basata sui dati sperimentali.

Il confronto riportato nel grafico in figura 2.6b mostra un ottimo accordo tra le sezioni d'urto relative al modello Dingfelder e i dati sperimentali.

Infine, il meccanismo di eccitazione per i protoni è descritto dai due modelli complementari: *Miller and Green*, valido alle basse energie, e derivante dall'applicazione di procedura di *speed scaling* sulla sezione d'urto degli elettroni, e *Born Excitation Model*, basato sulla teoria di Born e Bethe, e valido tra i 500 keV e i 10 MeV.

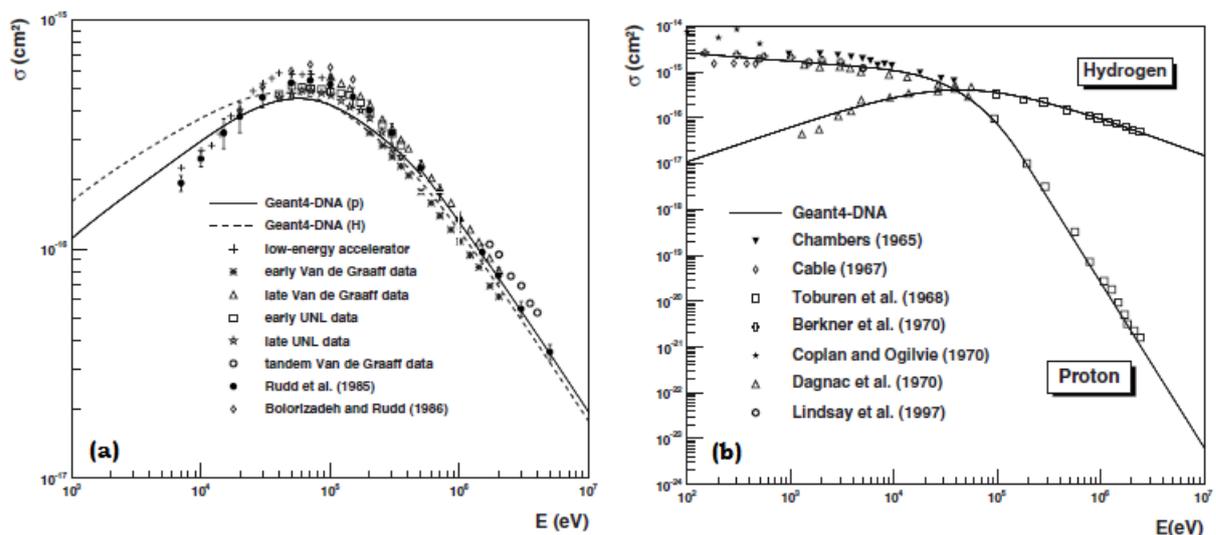


Figura 2.6a: Sezione d'urto totale di ionizzazione per protoni e idrogeno neutro, in acqua liquida, in funzione dell'energia della particella incidente, ottenuta dai modelli complementari di ionizzazione disponibili in Geant4-DNA. La comparazione è effettuata con i dati sperimentali in vapore acqueo di Rudd et al., Bolorizadeh e Rudd, Università del Nebraska Lincoln e Incerti et al. (Van de Graaf data e low energy accelerator). Figura 2.6b: Sezione d'urto totale di charge change, ottenuta dal modello Dingfelder di Geant4-DNA, comparata con i dati sperimentali in vapore acqueo di Chambers, Cable, Touburen et al., Berkner et al., Coplan and Ogilvie, Dagnac et al, e Lindsay et al.

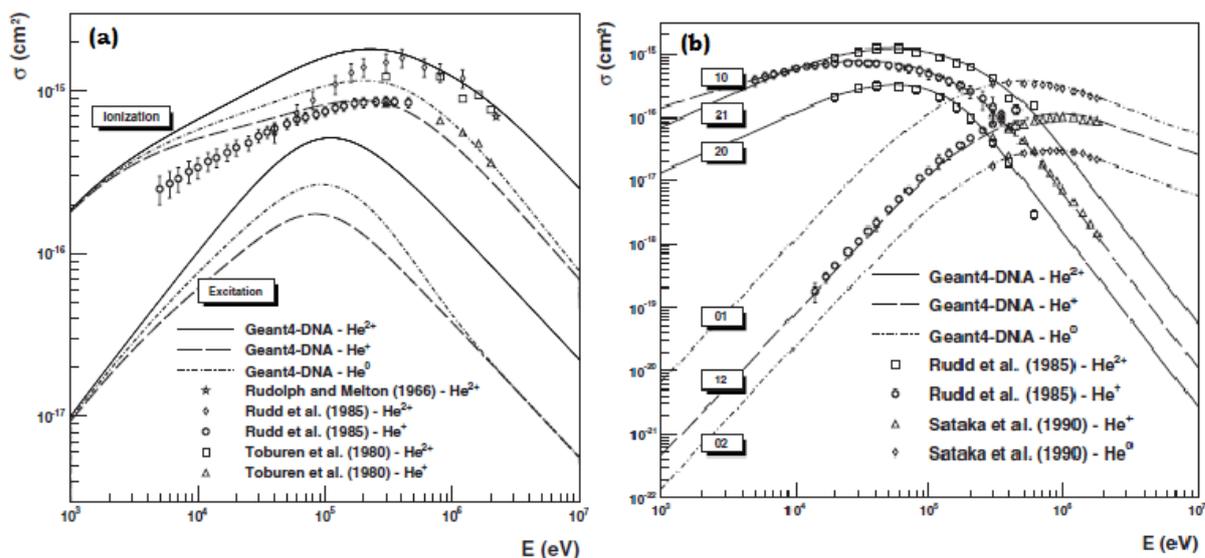


Figura 2.7a: Sezione d'urto totale di eccitazione e ionizzazione per He^0, He^+, He^{2+} in acqua liquida, in funzione dell'energia della particella incidente, ottenuta dai modelli disponibili in Geant4-DNA. La sezione d'urto simulata è comparata ai dati sperimentali in acqua gassosa di Rudolph e Melton, Toburen et al, Rudd et al.

Figura 2.7b: Sezione d'urto totale di charge change, per He^0, He^+, He^{2+} in acqua liquida, ottenuta dal modello di Dingfelder, comparata con i dati sperimentali in acqua gassosa di Rudd et al. e Sataka et al.

Le coppie di numeri, raffigurate in corrispondenza di ciascuna curva, rappresentano lo stato iniziale e lo stato finale di carica della particella soggetta al processo.

- **Elio e relativi stati di carica**

Nel caso di He^0, He^+ e He^{2+} , l'eccitazione e la ionizzazione delle molecole d'acqua sono simulate rispettivamente attraverso i modelli *Miller and Green* e *Rudd*, ottenuti applicando un processo di speed scaling ai corrispondenti modelli per i protoni.

Inoltre, come nel caso dell'idrogeno, il modello di *Dingfelder* per il *charge decrease/increase*, è derivato attraverso un fit di dati sperimentali.

In figura 2.7 sono riportati dei confronti tra le varie sezioni d'urto calcolate con Geant4-DNA ed alcuni set di dati sperimentali. L'accordo migliore con i dati sperimentali si osserva nel caso del modello di *Dingfelder*.

- **Ioni $C^{6+}, N^{7+}, O^{8+}, Si^{14+}$ e Fe^{26+}**

Per ioni più pesanti dell'elio, un nuovo strumento è stato recentemente aggiunto al package Geant4-DNA. Si tratta della classe *G4DNRuddIonisationExtendedModel*, che permette all'utente di simulare il processo di ionizzazione in acqua per ioni carbonio, azoto, ossigeno, silicio e ferro.

Tuttavia, dato che attualmente per questo gruppo di ioni, la ionizzazione è l'unico processo modellizzato, mentre non vengono prese in considerazione i processi di eccitazione, scattering elastico e frammentazione nucleare, l'utilizzo della classe sopracitata è limitato ad energie superiori ad $1 MeV/amu$, poiché al di sotto di questa soglia energetica, il trasferimento di energia dovuto al processo di eccitazione ed allo scattering elastico dei nuclei diviene dominante.

La figura 2.9 mostra un confronto tra lo stopping power in acqua per alcuni ioni, simulato con Geant4-DNA, l'andamento teorico e i dati *ICRU*.

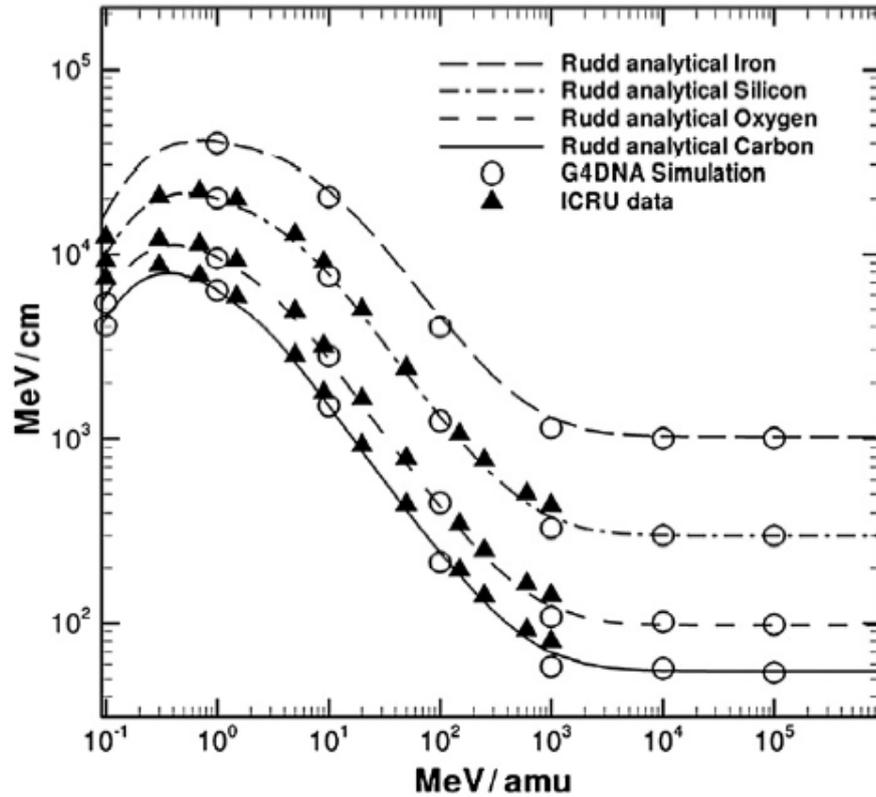


Figura 2.9[10]: Stopping power totale, di ioni in acqua liquida in funzione dell'energia della particella incidente. Sono comparati i dati ottenuti da simulazioni effettuate con Geant4-DNA, l'andamento della sezione d'urto analitica del modello di Rudd, e i dati dell'ICRU report No. 73.

Process	Model	Low energy limit	High energy limit
Electrons			
Elastic scattering	Screened Rutherford Champion (alternative)	8.23 eV 8.23 eV	10 MeV 10 MeV
Excitation	Emfietzoglou	8.23 eV	10 MeV
Ionisation	Born	12.61 eV	30 keV
Proton			
Excitation	Miller and Green Born	10 eV 500 keV	500 keV 10 MeV
Ionisation	Rudd Born	100 eV 500 keV	500 keV 10 MeV
Charge decrease	Dingfelder	1 keV	10 MeV
Hydrogen			
Ionisation	Rudd	100 eV	100 MeV
Charge increase	Dingfelder	1 keV	10 MeV
He²⁺			
Excitation	Miller and Green	1 keV	10 MeV
Ionisation	Rudd	1 keV	10 MeV
Charge decrease	Dingfelder	1 keV	10 MeV
He⁺			
Excitation	Miller and Green	1 keV	10 MeV
Ionisation	Rudd	1 keV	10 MeV
Charge increase	Dingfelder	1 keV	10 MeV
Charge decrease	Dingfelder	1 keV	10 MeV
He (neutral helium)			
Excitation	Miller and Green	1 keV	10 MeV
Ionisation	Rudd	1 keV	10 MeV
Charge increase	Dingfelder	1 keV	10 MeV

Tabella 2.8: Elenco dei modelli e dei range energetici relativi, inclusi nel package G4EmDNAPhysics .

Capitolo 3

Modelli fisici e validazioni

Come illustrato nei precedenti capitoli, lo studio della deposizione energetica su scala cellulare e subcellulare richiede di prendere in considerazione nell'ambito della simulazione, molteplici processi fisici, in un range energetico abbastanza ampio, che si estende dalle poche decine di eV alle centinaia di MeV .

In Geant4, all'interno di questo dominio, sono disponibili tre diversi gruppi di modelli fisici, utilizzabili per la simulazione di processi elettromagnetici: *Standard EM*, *Low Energy EM* ed *EM DNA-Physics*.

Per comprenderne le profonde differenze strutturali, nel corso del presente capitolo verranno brevemente illustrati i principali processi fisici modellizzati all'interno di essi, con particolare attenzione a quelli recentemente implementati nell'ambito del progetto Geant4-DNA.

Infine, verrà presentata una comparazione effettuata tra i tre pacchetti in questione, in termini di Stopping Power e Range di particelle diverse in acqua liquida, allo scopo di verificare il funzionamento di ciascun codice implementato, e al contempo di stabilire quale sia il più adatto per effettuare simulazioni nel dominio energetico di interesse radiobiologico.

3.1 Processi elettromagnetici in Geant4

In Geant4, come menzionato nel capitolo precedente, per la simulazione di processi elettromagnetici a basse energie, in base al tempo di computazione e all'accuratezza desiderata, è possibile scegliere tra diverse configurazioni alternative da utilizzare nella costruzione della propria *PhysicsLists*.

Ciascun package disponibile è caratterizzato da uno specifico valore dell'energia di soglia T_{cut} , che rappresenta il limite inferiore di applicabilità dei modelli fisici in esso contenuti.

Il package *Standard EM* consente la simulazione delle interazioni elettromagnetiche per particelle di energia compresa tra 1 keV e 10 PeV . Esso presenta tuttavia un'energia di soglia troppo elevata per poter essere utilizzato con successo nelle simulazioni a basse energie.

L'EM DNA-Physics, al contrario, presenta una soglia energetica pari a zero eV: in Geant4DNA tutti i processi fisici vengono infatti simulati in maniera discreta, aumentando in questo modo la qualità della simulazione, a scapito del tempo di computazione.

Il LowEnergy EM, infine, è caratterizzato da una soglia energetica intermedia T_{cut} pari a 250 eV, costituendo quindi un discreto compromesso tra rapidità di esecuzione ed accuratezza dei risultati per bassi valori dell'energia. Esso può avvalersi di due diversi sottogruppi di modelli fisici, ovvero i modelli Livermore, basati sulle data tables del LLNL (Lawrence Livermore Nationale Laboratory) e i modelli Penelope, desunti dal codice Monte Carlo omonimo (PENetration and Energy Loss of Positrons and Electrons) e sviluppati da F.Salvat et al.

Come si evince dal contenuto della tabella 3.I, i sottogruppi Livermore e Penelope includono, tranne qualche eccezione, i medesimi processi fisici, pur essendo i modelli ad essi associati differenti.

	Physics Process	Process Class	Model Class	Low Energy Limit	High Energy Limit
Livermore	Gammas				
	Compton	G4ComptonScattering	G4LivermoreComptonModel	250 eV	100 GeV
	Polarized Compton	G4ComptonScattering	G4LivermorePolarizedComptonModel	250 eV	100 GeV
	Rayleigh	G4RayleighScattering	G4LivermoreRayleighModel	250 eV	100 GeV
	Polarized Rayleigh	G4RayleighScattering	G4LivermorePolarizedRayleighModel	250 eV	100 GeV
	Conversion	G4GammaConversion	G4LivermoreGammaConversionModel	1.022 MeV	100 GeV
	Polarized Conversion	G4GammaConversion	G4LivermorePolarizedGammaConversionModel	1.022 MeV	100 GeV
	Photo-electric	G4PhotoElectricEffect	G4LivermorePhotoElectricModel	250 eV	100 GeV
	Polarized Photo-electric	G4PhotoElectricEffect	G4LivermorePolarizedPhotoElectricModel	250 eV	100 GeV
	Electrons				
Ionization	G4eIonisation	G4LivermoreIonisationModel	250 eV	100 GeV	
Bremsstrahlung	G4eBremsstrahlung	G4LivermoreBremsstrahlungModel	250 eV	100 GeV	
Penelope	Gammas				
	Compton	G4ComptonScattering	G4PenelopeComptonModel	250 eV	1 GeV
	Rayleigh	G4RayleighScattering	G4PenelopeRayleighModel	250 eV	1 GeV
	Conversion	G4GammaConversion	G4PenelopeGammaConversionModel	1.022 MeV	1 GeV
	Photo-electric	G4PhotoElectricEffect	G4PenelopePhotoElectricModel	250 eV	1 GeV
	Electrons/Positrons				
	Ionization	G4eIonisation	G4PenelopeIonisationModel	250 eV	1 GeV
	Bremsstrahlung	G4eBremsstrahlung	G4PenelopeBremsstrahlungModel	250 eV	1 GeV
	Positrons				
	Annihilation	G4eplusAnnihilation	G4PenelopeAnnihilationModel	250 eV	1 GeV

Tabella 3.I: Processi fisici per gamma ed elettroni implementati nei sub package Livermore e Penelope, e relativi modelli e limiti energetici.

3.1.1 La simulazione dei processi fisici in Geant4 [9]

Tutti i modelli presenti in Geant4 che descrivono processi di interazione tra particelle cariche e materia sono caratterizzati da una sezione d'urto σ , che dipende dall'energia E della particella e dalle caratteristiche del mezzo attraversato. Per una particella carica di energia E , interagente con un mezzo di numero atomico Z , la sezione d'urto differenziale per l'emissione di una particella secondaria avente energia cinetica T è:

$$\frac{d\sigma(Z, E, T)}{dT}$$

Se l'energia cinetica delle particelle secondarie è minore di quella di soglia T_{cut} , l'energia persa da esse è simulata come persa direttamente dalla particella primaria, attraverso un processo di rallentamento continuo, caratterizzato dal seguente *rate medio* di perdita di energia:

$$\frac{dE_{soft}(E, T_{cut})}{dx} = N \int_0^{T_{cut}} \frac{d\sigma(Z, E, T)}{dT} T dT \quad (3.1)$$

Dove N è il numero di atomi per unità di volume del mezzo attraversato.

La sezione d'urto per l'emissione di una particella secondaria di energia cinetica $T > T_{cut}$ è invece data da:

$$\sigma(Z, E, T_{cut}) = \int_{T_{cut}}^{T_{max}} \frac{d\sigma(Z, E, T)}{dT} dT \quad (3.2)$$

Con T_{max} massima energia trasferibile ad una particella secondaria.

3.1.2 Principali modelli in Standard EM

Nel modello *Standard EM* la perdita di energia di ioni carichi positivamente è calcolata in base alla formula di Bethe-Bloch:

$$\frac{dE}{dx} = 2\pi r_e^2 mc^2 N_e \frac{z^2}{\beta^2} \left[\ln \left(\frac{2mc^2 \beta^2 \gamma^2 T_{up}}{I^2} \right) - \beta^2 \left(1 + \frac{T_{up}}{T_{max}} \right) - \delta - 2 \frac{C_e}{Z} + F \right] \quad (3.3)$$

Dove N_e ed I sono rispettivamente la densità elettronica ed il potenziale medio di ionizzazione del mezzo, T_{max} la massima energia trasferibile ad un elettrone, T_{up} un parametro con le dimensioni di un'energia e δ , $2C_e/Z$ ed F dei termini correttivi.

Il processo di ionizzazione indotto da un elettrone di energia E è simulato facendo riferimento alla sezione d'urto differenziale dello scattering di Moller:

$$\sigma(Z, x) = \frac{2\pi r_e Z}{\beta^2 (\gamma - 1)} \left[\frac{(\gamma - 1)^2}{\gamma^2} \left(\frac{1}{2} - x \right) + x - \frac{1}{1 - x} - \frac{2\gamma - 1}{\gamma^2} \ln \frac{1 - x}{x} \right] \quad (3.4)$$

Dove Z è il numero atomico del mezzo, r_e il raggio classico dell'elettrone, β la velocità dell'elettrone incidente in unità di c , γ è il fattore di Lorentz ed $x = T_{cut} / (E - mc^2)$

La sezione d'urto di bremsstrahlung è data invece dalla seguente parametrizzazione:

$$\sigma(Z, T, k_c) = Z(Z + \xi_\sigma) (1 - cZ^{1/4}) \left[\ln \frac{T}{k_c} \right]^\alpha \cdot \frac{f_s}{N_a} \quad (3.5)$$

Con N_a numero di Avogadro, f_s termine dipendente dall'energia cinetica dell'elettrone T , e ξ_σ , c , k_c ed α parametri adimensionali.

3.1.3 Principali modelli in Low Energy EM

Nel modello *Livermore* la probabilità di emissione di un elettrone di energia cinetica t , proveniente da una shell s di energia di legame B_s , come risultato dell'interazione di un elettrone di energia cinetica T con il mezzo, è data da:

$$\frac{d\sigma}{dt} = \frac{P(x)}{x^2} \quad \text{con } x = \frac{t + B_s}{T + B_s} \quad (3.6)$$

Dove $P(x)$ è una funzione polinomiale di x , ricavata da un fit su dati dell' *EEDL* (*Evaluated Electron Data Library*).

Analogamente, la probabilità di emissione di un fotone di energia ω , da parte di un elettrone di energia cinetica T è data da:

$$\frac{d\sigma}{d\omega} = \frac{F(x)}{x} \quad \text{con } x = \frac{\omega}{T} \quad (3.7)$$

dove $F(x)$ è anch'essa una funzione polinomiale ricavata da un fit sui dati *EEDL*.

Nel modello *Penelope* la sezione d'urto totale σ^- per collisioni inelastiche di elettroni di energia E è data dal modello *GOS* (*General Oscillation Strenght*):

$$\sigma^-(E) = \frac{2\pi e^4}{m_e v^2} \sum_s \frac{f_s}{W_s} [F_s^{dl}(E) + F_s^{dt}(E) + F_s^c(E)] \quad (3.8)$$

Dove s è l'indice di shell, f_s è il numero di elettroni presenti in ciascuna shell, W_s l'energia di risonanza della shell s e F_s^i funzioni dell'energia dell'elettrone incidente.

La sezione d'urto di bremsstrahlung ha, invece, la stessa struttura del modello Livermore, ma la forma della funzione $F(x)$ è ricavata in questo caso da un fit sui dati di *Berger and Seltzer (1986)*.

3.2 Modelli in EmDNAPhysics [13]

Molti dei processi fisici di rilevanza radiobiologica sono caratterizzati da energie molto basse, fino a poche decine di eV .

La teoria di Born per gli urti inelastici, è tuttavia applicabile nel limite in cui la velocità della particella incidente sia molto maggiore della velocità degli elettroni orbitali del mezzo attraversato. Per basse velocità, a causa della mancanza di una teoria adeguata, si è soliti adottare modelli semiempirici alternativi.

Il package EmDNAPhysics, è basato su modelli di interazione di elettroni, protoni e particelle alfa in acqua in un range energetico che si estende dagli 8.23 eV , energia del primo livello eccitato della molecola d'acqua, fino ai 10 MeV .

I modelli introdotti sono relativi ai processi di scattering elastico ed inelastico per gli elettroni, e scattering inelastico e scambio di carica per protoni e idrogeno neutro.

I modelli applicati alle particelle alfa e agli ioni più pesanti dell'elio, sono invece derivati, attraverso una legge di scala sulle velocità, da quelli introdotti per i protoni.

3.2.1 Cenni sulla teoria di Born per gli urti inelastici

La teoria di Born è utilizzata per il calcolo della perdita di energia di particelle cariche che attraversano un generico mezzo. La perdita di energia avviene attraverso urti inelastici, ovvero mediante processi successivi di eccitazione e ionizzazione delle molecole del mezzo.

Il dominio energetico di validità della teoria di Born dipende dalla natura della particella considerata. Il limite energetico inferiore di applicabilità è di circa 50 eV per gli elettroni e 300 keV per i protoni.

La probabilità di interazione inelastica è espressa in termini della sezione d'urto efficace macroscopica Σ , definita come la distanza media tra due collisioni successive.

Essa è legata alla sezione d'urto microscopica σ dalla seguente relazione:

$$\Sigma = \rho \frac{N_a}{A} \sigma \quad (3.9)$$

Dove ρ è la densità del mezzo attraversato, A il suo numero di massa e N_a il numero di Avogadro. Il fattore $\rho N_a/A$ rappresenta il numero di molecole per unità di volume del mezzo.

La sezione d'urto efficace differenziale, rispetto all'energia E ed al momento trasferito K , è legata alla funzione di risposta dielettrica del mezzo $\eta_2(E, K)$, nella maniera seguente:

$$\frac{d^2\Sigma}{dEdK} = \frac{1}{\pi a_0 T} \cdot \frac{1}{K} \cdot \eta_2(E, K) \quad (3.10)$$

Dove a_0 è il raggio di Bohr e T è l'energia cinetica di un elettrone con la stessa velocità della particella incidente. La sezione efficace, differenziale rispetto all'energia trasferita, è ottenuta come:

$$\frac{d\Sigma}{dE} = \int_{K_{Min}}^{K_{Max}} \frac{d^2\Sigma}{dEdK} \cdot dK \quad (3.11)$$

Gli estremi di integrazione rappresentano il massimo ed il minimo valore di momento trasferibile, e dipendono dall'energia, dalla velocità e dalla massa della particella incidente:

$$\begin{aligned} K_{Min} &= \frac{\sqrt{2M}}{\hbar} (\sqrt{\tau} - \sqrt{\tau - E}) \\ K_{Max} &= \frac{\sqrt{2M}}{\hbar} (\sqrt{\tau} + \sqrt{\tau - E}) \end{aligned} \quad (3.12)$$

Dove M è la massa e τ l'energia cinetica della particella incidente.

La sezione efficace totale, infine, si ottiene integrando $d\Sigma/dE$ rispetto all'energia trasferita:

$$\Sigma = \int_0^{E_{Mac}} \frac{d\Sigma}{dE} \cdot dE \quad (3.13)$$

Dove E_{Max} è la massima energia trasferibile attraverso un singolo urto inelastico.

La funzione di risposta dielettrica del mezzo $\eta_2(E, K)$ è legata alla parte immaginaria della funzione dielettrica del mezzo dalla seguente relazione:

$$\eta_2(E, K) = \text{Im} \left[\frac{-1}{\varepsilon(E, K)} \right] \quad (3.14)$$

Nel limite ottico, ovvero per $K = 0$, la funzione $\varepsilon(E, 0)$ dell'acqua può essere calcolata a partire da un modello semiempirico basato sulle misure di *Heller et al.*[15] in acqua liquida, secondo il quale:

$$\varepsilon(E, 0) = 1 + E_p^2 \cdot \sum_j f_j \frac{1}{E_j^2 - E^2 - i\gamma_j E} \quad (3.15)$$

con j indice del livello energetico della singola molecola, e f_j, E_j, γ_j parametri dipendenti dalla natura del mezzo. E_p è invece una quantità detta *energia nominale del plasmone*, da cui dipendono le caratteristiche ottiche del materiale.

Nel caso generico, $K \neq 0$, per calcolare $\varepsilon(E, K)$ viene usato un modello, detto *di dispersione*, come il *Drude Extended*, che prevede la sostituzione di f_j, E_j e γ_j con dei termini dipendenti da K . Per la molecola d'acqua, vengono solitamente considerati cinque stati di eccitazione e cinque di ionizzazione. La superficie descritta dalla funzione $\eta_2(E, K)$ così ottenuta, è detta *superficie di Bethe* ed è caratteristica del mezzo considerato (vedi *figura 3.1*). Il suo calcolo è indispensabile per ottenere la sezione d'urto efficace totale per urti inelastici, nell'approssimazione di Born.

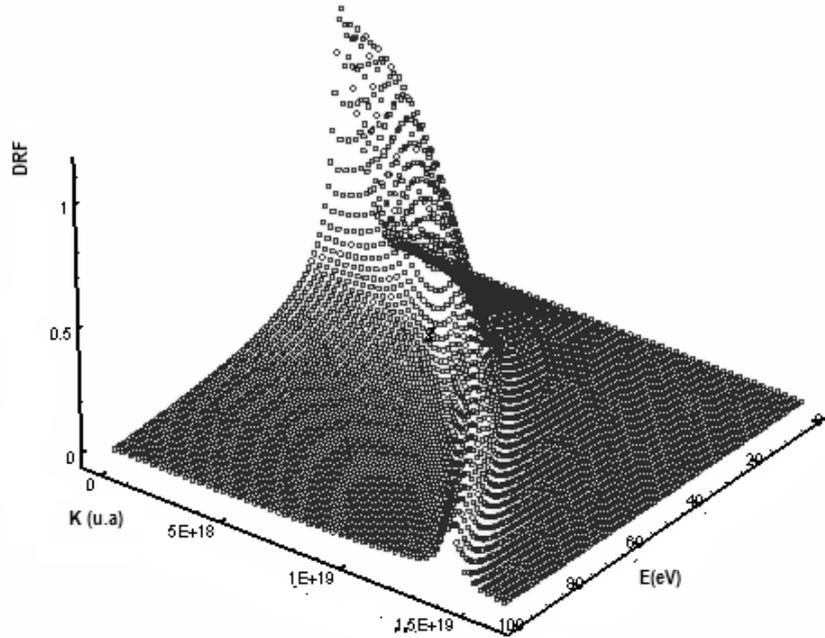


Figura 3.1: Grafico della superficie di Bethe per l'acqua liquida, ovvero della funzione di risposta dielettrica rispetto all'energia E , espressa in elettronvolt, ed al momento trasferito K espresso in unità arbitraria.

3.2.2 Sezioni d'urto efficaci per elettroni in acqua liquida

In Geant4-DNA la descrizione dettagliata dei meccanismi di perdita di energia degli elettroni alle basse energie è di fondamentale importanza per la simulazione degli effetti delle radiazioni sui sistemi biologici. Gli elettroni secondari, prodotti a seguito dell'interazione della radiazione primaria con il materiale biologico, infatti, costituiscono il principale mezzo di deposizione energetica a livello cellulare.

Un elettrone di bassa energia, che attraversa un volume d'acqua, perde energia principalmente attraverso tre processi: la diffusione elastica, che rappresenta il processo dominante fino a circa 1 keV , e i processi inelastici di eccitazione e ionizzazione.

Per il calcolo della sezione d'urto per collisioni elastiche, viene utilizzato il modello di *Rutherford*, secondo cui la sezione d'urto differenziale è data da:

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} \propto \frac{R(T)}{[1 + 2n(T) - \cos\theta]^2} \quad (3.16)$$

Con:

$$n(T) = \frac{(a_1 + a_2 \cdot \ln(T)) \cdot KZ^{2/3}}{(T/mc^2)(2 + T/mc^2)} \quad (3.17)$$

$$R(T) = \frac{Z(Z+1)e^4}{4T^2} \quad (3.18)$$

T è l'energia cinetica dell'elettrone incidente, m la massa, θ l'angolo di diffusione e a_1, a_2 e K parametri adimensionali.

Per il calcolo della sezione d'urto differenziale di scattering inelastico, si applica, come anticipato, la (3.13). Tuttavia, al di sotto dei 100 eV, la sezione d'urto di Born si discosta fortemente dai valori sperimentali.

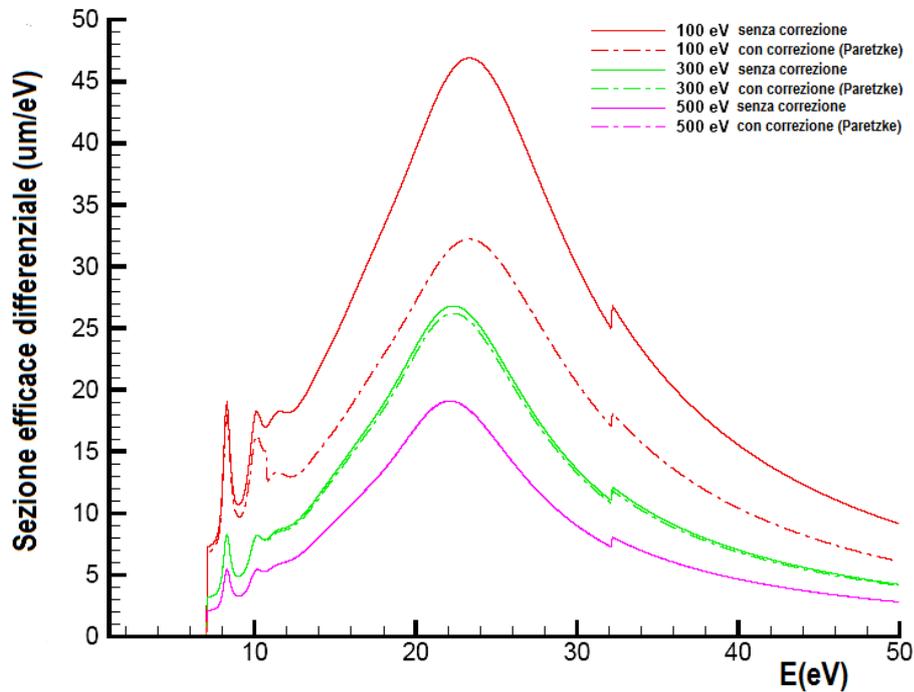


Figura 3.2 Sezione efficace (macroscopica) differenziale, per scattering inelastico di elettroni in acqua liquida per diverse energie dell'elettrone incidente. Le curve continue rappresentano gli andamenti delle sezioni d'urto calcolate con il modello di Born, mentre quelle tratteggiate gli andamenti corretti secondo Paretzke.

Al modello viene quindi applicata una correzione semiempirica, basata su dati sperimentali raccolti da Paretzke [16]. La sezione d'urto differenziale diviene allora:

$$\frac{d\Sigma}{dE} = \sum_j \Phi_j(T) \frac{d\Sigma_j}{dE} \quad (3.19)$$

$$\begin{cases} T < E_j \Rightarrow \Phi_j = 0 \\ T \geq E_j \Rightarrow \Phi_j = 1 - e^{-d_j \left(\frac{T}{E_j - 1} \right)} \end{cases}$$

Con d_j ed E_j parametri dipendenti dalla natura del mezzo e Φ_j fattore di peso del j-simo livello energetico.

La teoria di Born è, in principio, applicabile ad entrambi i processi inelastici: tuttavia, per descrivere il processo di eccitazione, ad essa viene preferito il modello semiempirico di *Emifietzoglou* [17], per i vantaggi che il suo utilizzo comporta in termini di tempi di computazione. La sezione d'urto di *Emifietzoglou* è espressa nella maniera seguente:

$$\Sigma_j = \frac{A_j}{2\pi\alpha_0} \cdot \frac{B_j}{T} \ln\left(\frac{C_j T}{R}\right) \cdot \left(1 - \frac{B_j}{T}\right)^{P_j} \quad (3.20)$$

Dove R è la costante di *Rydeberg*, B_j l'energia del j-simo livello di eccitazione e A_j, C_j e P_j parametri dipendenti dalla natura del mezzo.

3.2.3 Sezioni d'urto efficaci per protoni in acqua liquida

In Geant4-DNA vengono simulate, facendo riferimento a modelli fisici diversi, due categorie energetiche di protoni:

- Protoni lenti, di energia inferiore ai 500 keV
- Protoni rapidi non relativistici, di energia compresa tra i 500 keV e i 10 MeV

La sezione efficace differenziale di ionizzazione e di eccitazione, per i protoni rapidi non relativistici, è ottenuta applicando l'approssimazione di Born, come nel caso degli elettroni.

Per i protoni lenti la sezione efficace di ionizzazione è invece calcolata servendosi del modello di *Rudd* [18], secondo cui la distribuzione energetica degli elettroni prodotti per ionizzazione nel j-simo livello energetico è data da:

$$\frac{d\sigma^j}{dw} = \frac{S}{B_j} \cdot \frac{F_1(v) + wF_2(v)}{(1+w)^3 \left\{ 1 + \exp\left[\frac{\alpha(w-w_c)}{v}\right] \right\}} \quad (3.21)$$

$$\begin{cases} F_1(v) = L_1(v) + H_1(v) \\ F_2(v) = \frac{L_2(v)H_2(v)}{L_2(v) + H_2(v)} \end{cases} \quad \begin{cases} L_1(v) = \frac{c_1 v^{D_1}}{1 + E_1 v^{D_1+4}} \\ L_2(v) = c_2 v^{D_2} \end{cases} \quad \begin{cases} H_1(v) = \frac{A \ln(1+v^2)}{v^2 + B/v^2} \\ H_2(v) = A_2/v^2 + B_2/v^4 \end{cases}$$

Con $S = 4\pi\alpha_0^2 N_j \left(\frac{R}{B_j} \right)^2$ dove N_j è il numero di elettroni presenti nel j -simo livello energetico,

$w = \frac{W}{B_j}$ dove W è l'energia cinetica dell'elettrone secondario prodotto, $v^2 = \frac{m_e \tau}{MB_j}$ dove τ ed M

sono l'energia cinetica e la massa del protone ed m_e la massa dell'elettrone, infine

$$w_c = 4v^2 - 2v - \frac{R}{4B_j}.$$

I termini $A, A_2, B, B_2, c, c_1, c_2, D_1, D_2$, ed E_1 sono parametri numerici dipendenti dalle caratteristiche del materiale. Lo spettro totale degli elettroni prodotti per ionizzazione in acqua liquida è ottenuto facendo la somma dei contributi dei singoli livelli energetici, opportunamente pesati attraverso dei fattori G_j [12]:

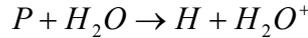
$$\frac{d\sigma}{dE} = \sum_j G_j \frac{d\sigma^j}{dW_j} \quad (3.22)$$

La sezione efficace di eccitazione del j -simo livello elettronico, per i protoni lenti, è derivata invece dal seguente modello semiempirico di *Miller and Green* [19]:

$$\sigma_{exc}^j(\tau) = \frac{\sigma_0 (Za)^\Omega (\tau - E_j)^\nu}{J^{\Omega+\nu} + \tau^{\Omega+\nu}} \quad (3.23)$$

Dove $\sigma_0 = 10^{16} \text{ cm}^2$, $Z = 10$ è il numero di elettroni della molecola d'acqua, E_j è l'energia del j -simo livello di eccitazione e a, J sono parametri con le dimensioni di un'energia, e Ω e ν sono dei parametri adimensionali.

Oltre ad ionizzare ed eccitare il mezzo attraversato, un protone può neutralizzarsi catturando un elettrone secondo la seguente reazione:



La sezione efficace del processo, secondo il modello semiempirico proposto da *Dinfelder* [20] è data dalla seguente espressione:

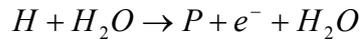
$$\sigma_{10}(\tau) = 10^{Y(X)} \quad (3.24)$$

Dove $X = \text{Log}_{10}(\tau)$, τ è l'energia cinetica del protone in eV e, infine:

$$Y(X) = [a_0 X + b_0 - c_0 (X - x_0)^{d_0} \cdot \theta(X - x_0)] \cdot \theta(x_1 - X) + (a_1 X + b_1) \cdot \theta(X - x_1) \quad (3.25)$$

Con $a_{0,1}, b_{0,1}, c_0, d_0, x_{0,1}$ parametri determinati facendo riferimento a dati sperimentali di interazione di protoni in acqua gassosa.

Un atomo di idrogeno neutro a sua volta può ionizzarsi, perdendo il suo unico elettrone nell'interazione con il mezzo, secondo la reazione:



La formula di *Miller and Green* è utilizzabile per il calcolo della sezione d'urto del processo, a patto che si utilizzino opportuni valori per i parametri a , J , Ω e ν .

Infine, la sezione d'urto del processo di ionizzazione prodotta da un atomo di idrogeno neutro, è ottenuta moltiplicando la corrispondente sezione d'urto del protone per un fattore correttivo:

$$\left(\frac{d\sigma}{dE}\right)_{Hyd} = g(\tau) \cdot \left(\frac{d\sigma}{dE}\right)_P \quad (3.26)$$

Dove:

$$g(\tau) \approx 0.8 \cdot \left[1 + e^{\left(\frac{\ln(\tau) \cdot 4.2}{0.5}\right)} \right]^{-1} + 0.9$$

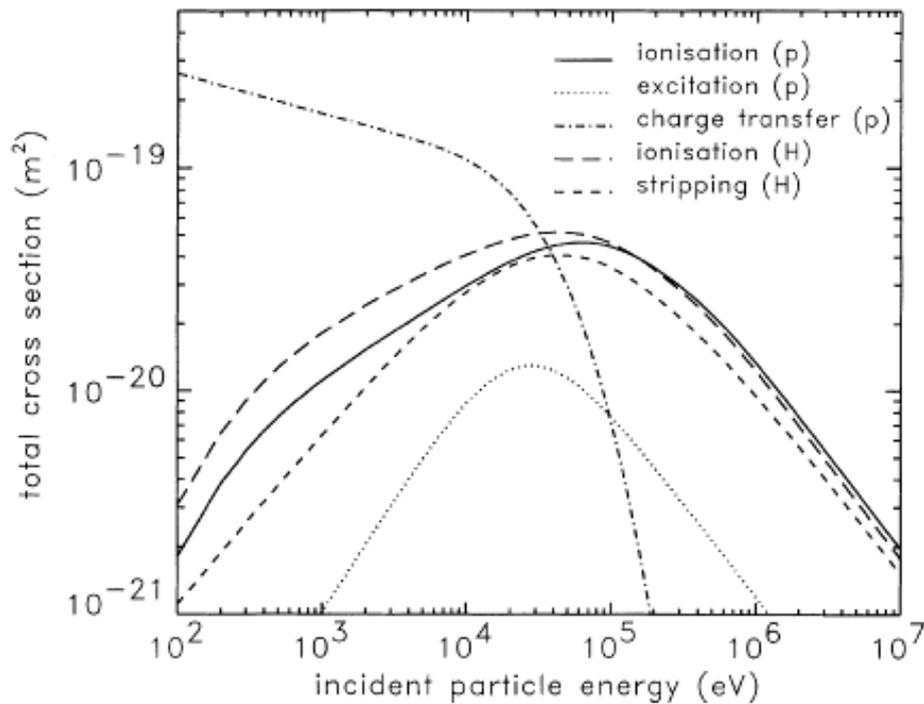


Figura 3.3 Sezione d'urto totale in funzione dell'energia per protoni e idrogeno neutro in acqua liquida, per i processi di ionizzazione, eccitazione e charge change.

La figura 3.3 riassume gli andamenti delle sezioni d'urto relative ai vari processi discussi nel corso del paragrafo.

3.2.4 Sezioni d'urto efficaci per ioni in acqua liquida

Le sezioni d'urto relative ad i processi di eccitazione e ionizzazione per l'elio e tutti i suoi stati di carica, sono ottenute applicando una procedura di *speed scaling* alle sezioni d'urto di *Miller and Green* e *Rudd* per i protoni, discusse nel paragrafo precedente.

Per alcuni ioni più pesanti dell'elio è possibile attuare una procedura simile, limitatamente al modello di *Rudd*. La sezione d'urto differenziale è ricavata dalla seguente relazione [11]:

$$\frac{d\sigma_{ion}}{dE}(\nu) = Z_{eff}^2 \frac{d\sigma_{proton}}{dE}(\nu) \quad (3.27)$$

Dove ν è la velocità della particella, E l'energia trasferita durante la collisione e Z_{eff} è la carica efficace dello ione. Quest'ultima dipende a sua volta dalla velocità dello ione e dalla natura del mezzo, e tiene conto dell'effetto di schermo prodotto dagli elettroni di shell dello ione stesso.

Il valore di Z_{eff} è calcolato grazie alla seguente formula di *Booth e Grant* (1956):

$$\frac{Z_{eff}}{Z} \approx 1 - \exp[-1.316x + 0.112x^2 - 0.0650x^3] \quad (3.28)$$

Dove Z è la carica dello ione completamente *strippato* e $x = 100\beta Z^{-2/3}$, con β velocità dello ione in unità di c . Per gli stati di carica dell'elio, la sezione d'urto del processo di *charge change* è calcolata in maniera del tutto analoga al caso dei protoni, ovvero utilizzando la formula di *Dingfelder* (3.24) per tutte le possibili variazioni di stato di carica.

3.3 Validazioni e confronti

Il processo di validazione della fisica di un codice Geant4, costituisce un presupposto essenziale all'utilizzo dello stesso, per qualunque applicazione pratica.

Prima di effettuare la simulazione vera e propria, è infatti necessario scegliere alcune grandezze significative, rispetto ai processi fisici che hanno luogo durante la simulazione, e comparare i dati ottenuti con quelli disponibili in letteratura, allo scopo di testare il corretto funzionamento del codice. Nel nostro caso, le grandezze scelte per il processo di validazione, sono state lo stopping power ed il range di particelle cariche in acqua liquida, che verranno comparate con i dati forniti dal database del *NIST* e dall'*ICRU* report 73.

La compatibilità tra i campioni viene determinata effettuando il test di *Kolmogorov-Smirnov* [14], il quale permette di stabilire se essi appartengano o meno alla stessa popolazione.

Per le misure riguardanti elettroni, protoni e particelle alfa in acqua, sono stati utilizzati i package *StandardEM* e *LowEnergy* nel range 10^{-3} - 10^3 MeV, e *EmDNAPhysics* nel range 10^{-3} - 10^{-1} MeV, in maniera da non eccedere nei tempi di computazione.

Per le misure riguardanti i cationi C^{+6} , O^{+8} , F^{+9} , Ne^{+10} sono stati utilizzati i package *StandardEM* e *LowEnergy* nell'intervallo 10^{-2} - 10^3 MeV/amu ed *Em DNAPhysics* limitatamente alle misure di stopping power per C^{+6} e O^{+8} nell'intervallo 10^1 - 10^4 MeV.

Nel calcolo dello stopping power si è scelto come target, una lastra di acqua liquida di spessore d variabile. I valori da assegnare a d sono stati scelti in maniera tale che la perdita di energia della particella si mantenesse sempre intorno all' 1% del valore dell'energia iniziale.

Nel calcolo del range è stato invece utilizzato un cubo di acqua liquida, di dimensioni sufficienti ad arrestare completamente la particella.

3.3.1 Calcolo di stopping power e range di elettroni, protoni e particelle alfa in acqua liquida

Come si evince dai grafici riportati nelle figure seguenti, gli andamenti sia dello stopping power che del range in funzione dell'energia, per tutti i package utilizzati, risultano in ottimo accordo con i dati forniti dal database del *NIST*. Gli scostamenti più marcati si verificano nella regione di bassa energia, per il range e lo stopping power delle particelle alfa.

La comparazione statistica tra i dati ottenuti mediante simulazione e i quelli del *NIST* è stata effettuata indipendentemente in due diversi domini energetici, i risultati ottenuti sono riportati nelle tabelle 3.II e 3.III. Avendo scelto come livello di significatività il 5%, l'esito dei test di *Kolmogorov-Smirnov*, condotto utilizzando il software *SPSS IBM*, mostra che tutti i valori ottenuti dell'indice statistico D sono inferiori al valore critico corrispondente (vedi tabelle 3.II e 3.III).

Ciò permette di concludere che, in ciascun intervallo energetico, e per entrambe le grandezze considerate, i dati analizzati appartengono alla stessa popolazione con una significatività del test del 5%.

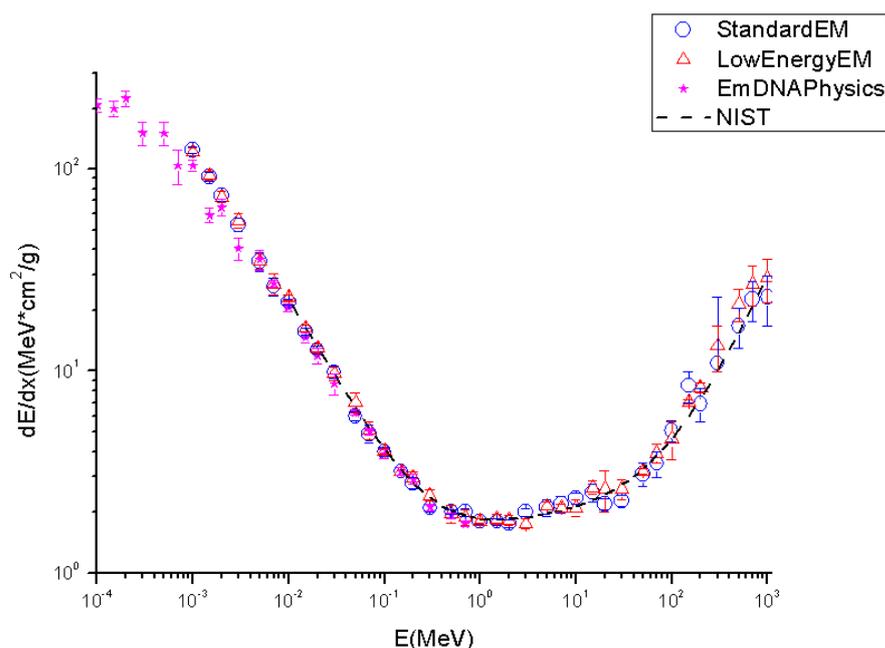


Figura 3.4: Stopping power di elettroni in acqua liquida in funzione dell'energia della particella incidente. Gli indicatori colorati corrispondono ai dati ottenuti mediante simulazione Geant4, mentre la linea nera tratteggiata ai dati forniti da estar del NIST.

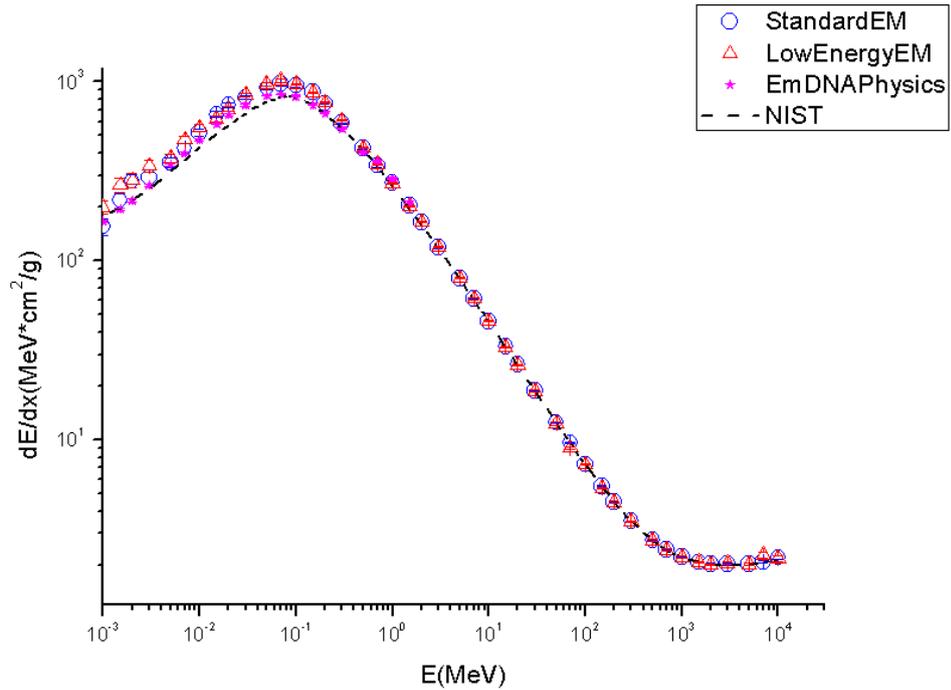


Figura 3.5: Stopping power di protoni in acqua liquida in funzione dell'energia della particella incidente. Gli indicatori colorati corrispondono ai dati ottenuti mediante simulazione Geant4, mentre la linea nera tratteggiata ai dati forniti da pstar del NIST.

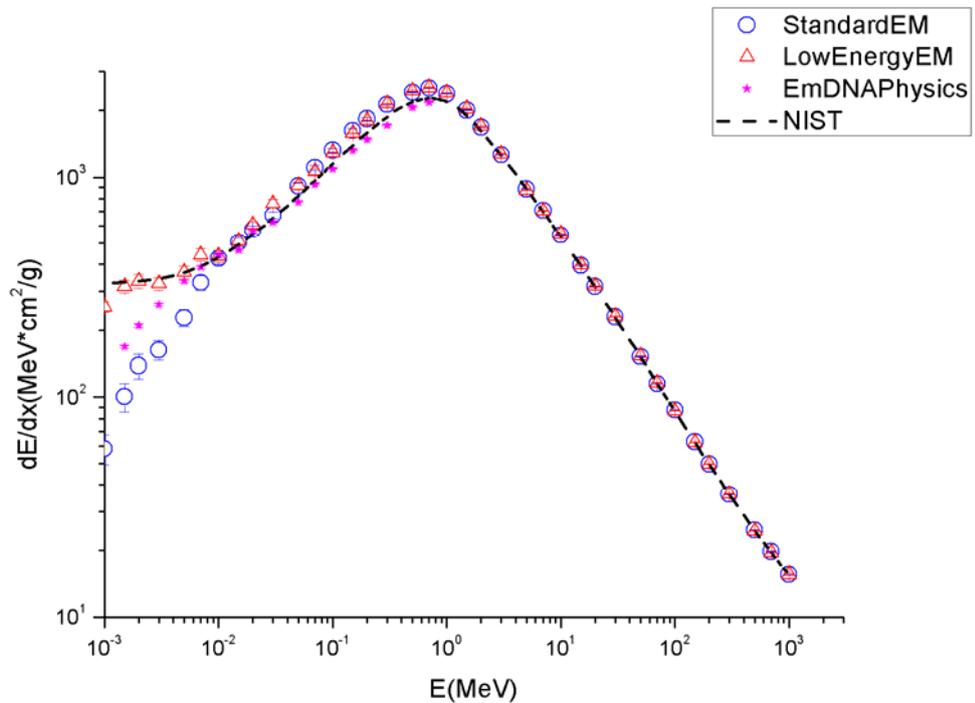


Figura 3.6: Stopping power di particelle alfa in acqua liquida in funzione dell'energia della particella incidente. Gli indicatori colorati corrispondono ai dati ottenuti mediante simulazione Geant4, mentre la linea nera tratteggiata ai dati forniti da astar del NIST

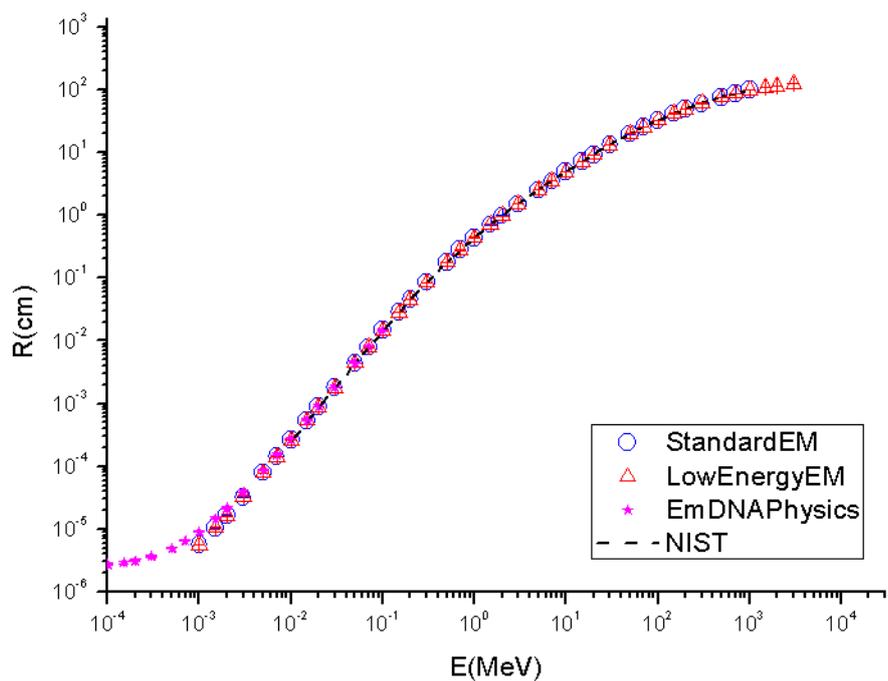


Figura 3.7: Range di elettroni in acqua liquida in funzione dell'energia iniziale della particella incidente. Gli indicatori colorati corrispondono ai dati ottenuti mediante simulazione Geant4, mentre la linea nera tratteggiata ai dati forniti da *estar* del NIST

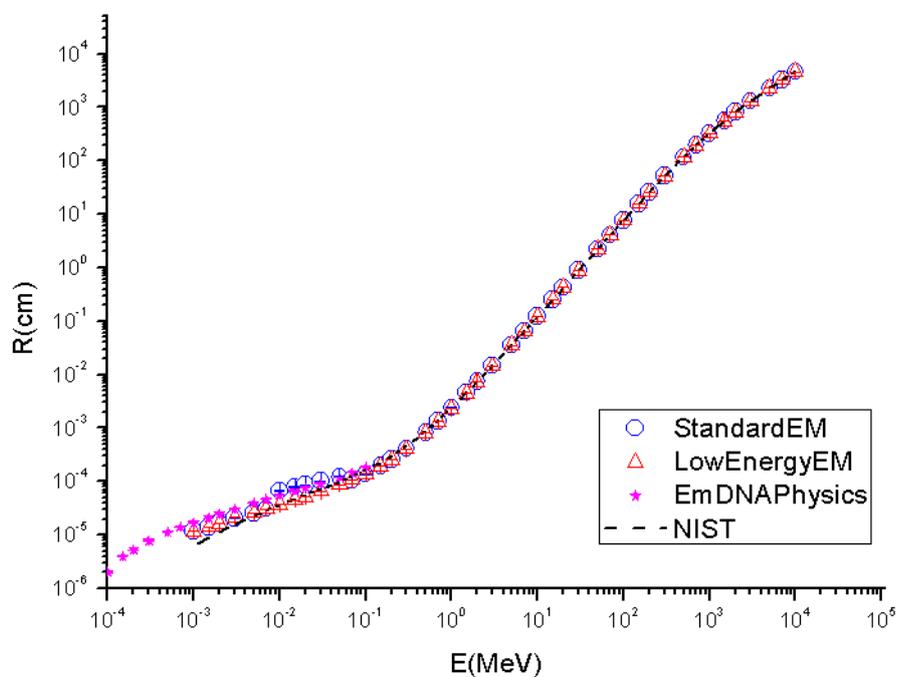


Figura 3.8: Range di protoni in acqua liquida in funzione dell'energia iniziale della particella incidente. Gli indicatori colorati corrispondono ai dati ottenuti mediante simulazione Geant4, mentre la linea nera tratteggiata ai dati forniti da *pstar* del NIST.

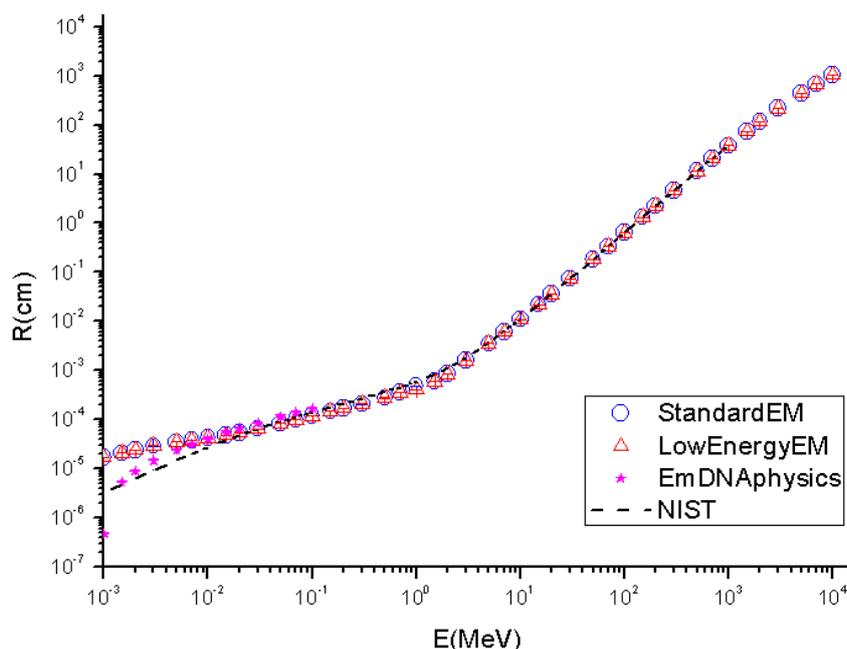


Figura 3.9: Range di particelle alfa in acqua liquida in funzione dell'energia iniziale della particella incidente. Gli indicatori colorati corrispondono ai dati ottenuti mediante simulazione Geant4, mentre la linea nera tratteggiata ai dati forniti da astar del NIST.

Stopping power elettroni

Package	Regione A		Regione B	
	D	D _{critical}	D	D _{critical}
StandardEM	0.15	0.3	0.11	0.3
LowEnergyEM	0.15	0.3	0.11	0.3
EmDNAPhysics	0.17	0.3	ND	ND

Stopping power protoni

Package	Regione A		Regione B	
	D	D _{critical}	D	D _{critical}
StandardEM	0.26	0.28	0.04	0.2
LowEnergyEM	0.26	0.28	0.08	0.2
EmDNAPhysics	0.16	0.28	ND	ND

Stopping power alfa

Package	Regione A		Regione B	
	D	D _{critical}	D	D _{critical}
StandardEM	0.26	0.28	0.06	0.28
LowEnergyEM	0.16	0.28	0.06	0.28
EmDNAPhysics	0.17	0.28	ND	ND

Tabella 3.II: Valori dell'indice statistico D^2 relativo al test di Kolmogorov-Smirnov per Stopping Power di elettroni, protoni e particelle alfa in acqua liquida. I domini energetici considerati, sono: 10^2 - 10^0 MeV per la Regione A degli elettroni, 10^3 - 10^0 MeV per la Regione A di protoni ed alfa, 10^0 - 10^3 MeV per la Regione B di elettroni ed alfa e 10^0 - 10^4 MeV per la Regione B dei protoni.

² L'indice statistico D è legato alla massima distanza assoluta tra le due distribuzioni che si intende confrontare. Il valore critico di D rappresenta la massima distanza tollerabile, fissato il livello di significatività e la numerosità dei campioni. Se il valore calcolato di D risulta minore del valore critico, viene accettata l'ipotesi secondo cui i due campioni appartengono alla stessa popolazione.

Range elettroni

Package	Regione A		Regione B	
	D	D _{critical}	D	D _{critical}
StandardEM	0.14	0.4	0.04	0.2
LowEnergyEM	0.14	0.4	0.04	0.2
EmDNAPhysics	0.14	0.4	ND	ND

Range protoni

Package	Regione A		Regione B	
	D	D _{critical}	D	D _{critical}
StandardEM	0.23	0.3	0.07	0.18
LowEnergyEM	0.23	0.3	0.07	0.18
EmDNAPhysics	0.31	0.33	ND	ND

Range alfa

Package	Regione A		Regione B	
	D	D _{critical}	D	D _{critical}
StandardEM	0.4	0.3	0.08	0.2
LowEnergyEM	0.4	0.3	0.08	0.2
EmDNAPhysics	0.15	0.3	ND	ND

Tabella 3.III: Valori dell'indice statistico D relativo al test di Kolmogorov-Smirnov per Range di elettroni, protoni e particelle alfa in acqua liquida. I domini energetici considerati, sono: 10^2 - 10^1 MeV per la Regione A degli elettroni, 10^3 - 10^2 MeV per la Regione A di protoni ed alfa, 10^1 - 10^3 MeV per la Regione B di elettroni ed alfa e 10^1 - 10^4 MeV per la Regione B dei protoni.

3.3.2 Calcolo di stopping power e range di ioni in acqua liquida

Anche nel caso degli ioni carbonio, ossigeno, fluoro e neon, gli andamenti sia dello stopping power che del range in funzione dell'energia, sembrano in buon accordo con i dati di riferimento (ICRU 73).

Riguardo lo stopping power, alle basse energie i dati ottenuti utilizzando il package *LowEnergy EM* sembrano adattarsi meglio alla curva *ICRU* rispetto a quelli ottenuti con *Standard EM*, mentre dopo i 10 MeV tutti gli andamenti rappresentati sono praticamente sovrapponibili³, ad eccezione di quanto accade per *EmDNAPhysics* nella regione di alta energia, per cui si verifica un lieve disaccordo con gli altri set di dati.

Le discrepanze maggiori si osservano per i valori del range calcolati alle basse energie, dove sia con *LowEnergy EM* che con *Standard EM* si ottengono valori alquanto lontani dalla curva *ICRU*, mentre per energie superiori a circa 1 MeV/amu i tre set di dati sembrano essere in ottimo accordo tra loro.

La comparazione statistica dei dati ottenuti è realizzata effettuando il test di *Kolmogorov-Smirnov*, i cui risultati sono riassunti in tabella 3.IV. Di nuovo, l'esito dei test di *Kolmogorov-Smirnov* mostra valori dell'indice statistico D inferiori al valore critico. Di conseguenza sia per lo stopping

³I valori di stopping power ricavati mediante *EmDNAPhysics* sono limitati agli ioni C^{+6} ed O^{+8} nell'intervallo 10- 10^4 MeV, a causa dei limiti di validità dei modelli in esso implementati, come illustrato nella prima parte del capitolo. Le simulazioni relative al calcolo del range sono state tralasciate per non eccedere nei tempi di computazione.

power che per il range, i dati ottenuti mediante simulazione e quelli riportati nell' *ICRU* report appartengono alla stessa popolazione, con una significatività del test del 5%.

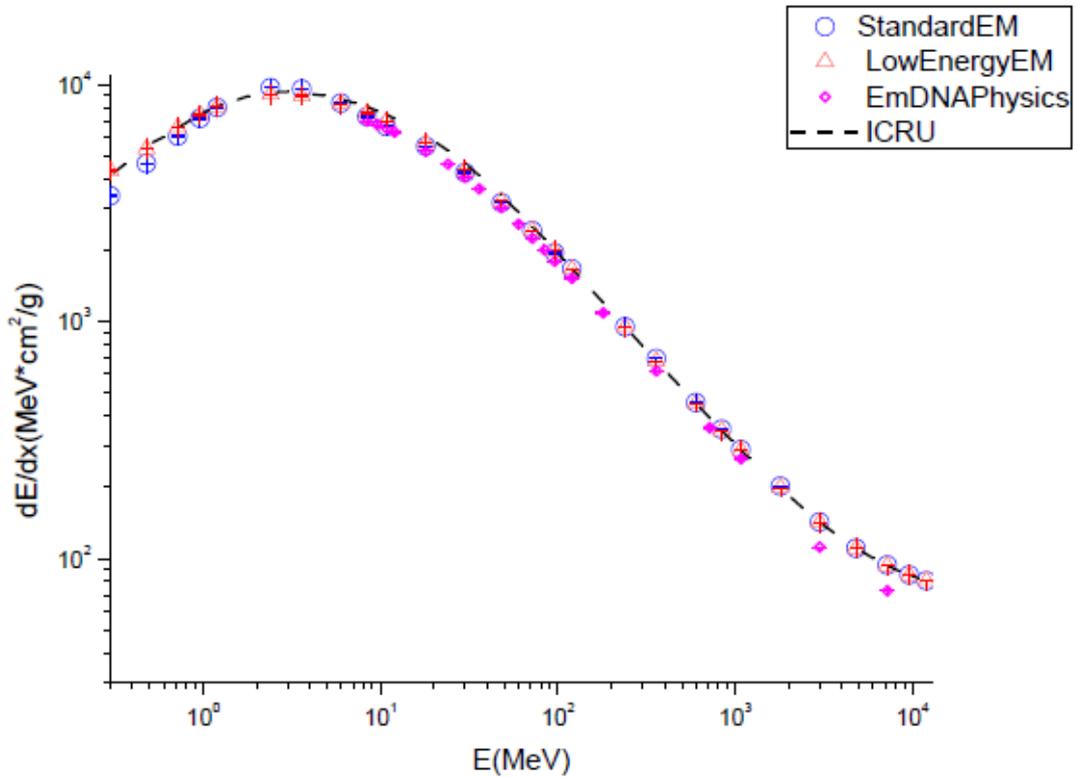


Figura 3.10: Stopping power di ioni carbonio in acqua liquida in funzione dell'energia. Gli indicatori colorati corrispondono ai dati ottenuti mediante simulazioni Geant4, mentre la linea nera tratteggiata ai dati forniti dall'ICRU report 73 del 2005.

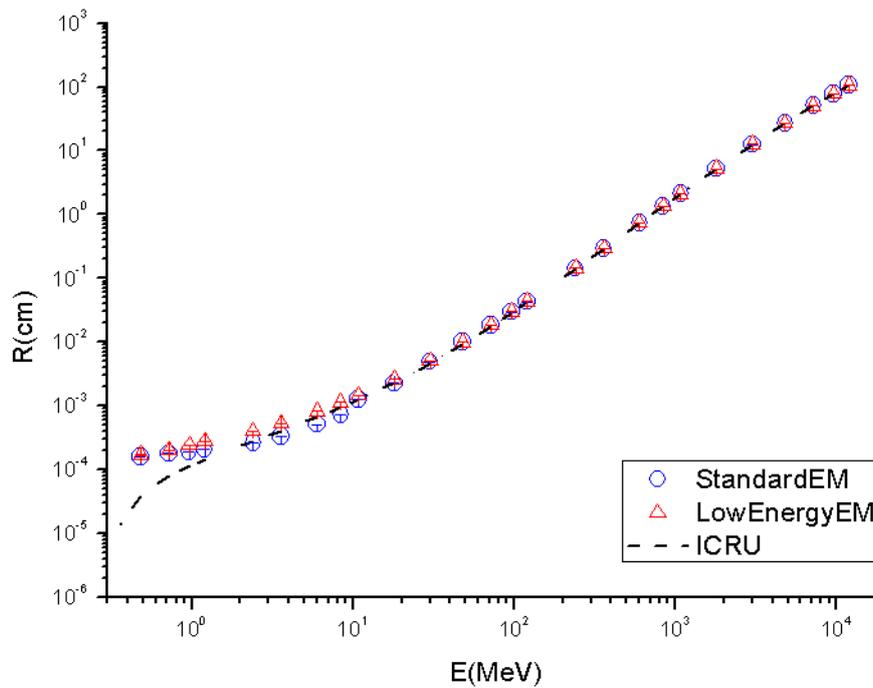


Figura 3.11: Range di ioni carbonio in acqua liquida in funzione dell'energia. Gli indicatori colorati corrispondono ai dati ottenuti mediante simulazioni Geant4, mentre la linea nera tratteggiata ai dati forniti dall'ICRU report 73 del 2005.

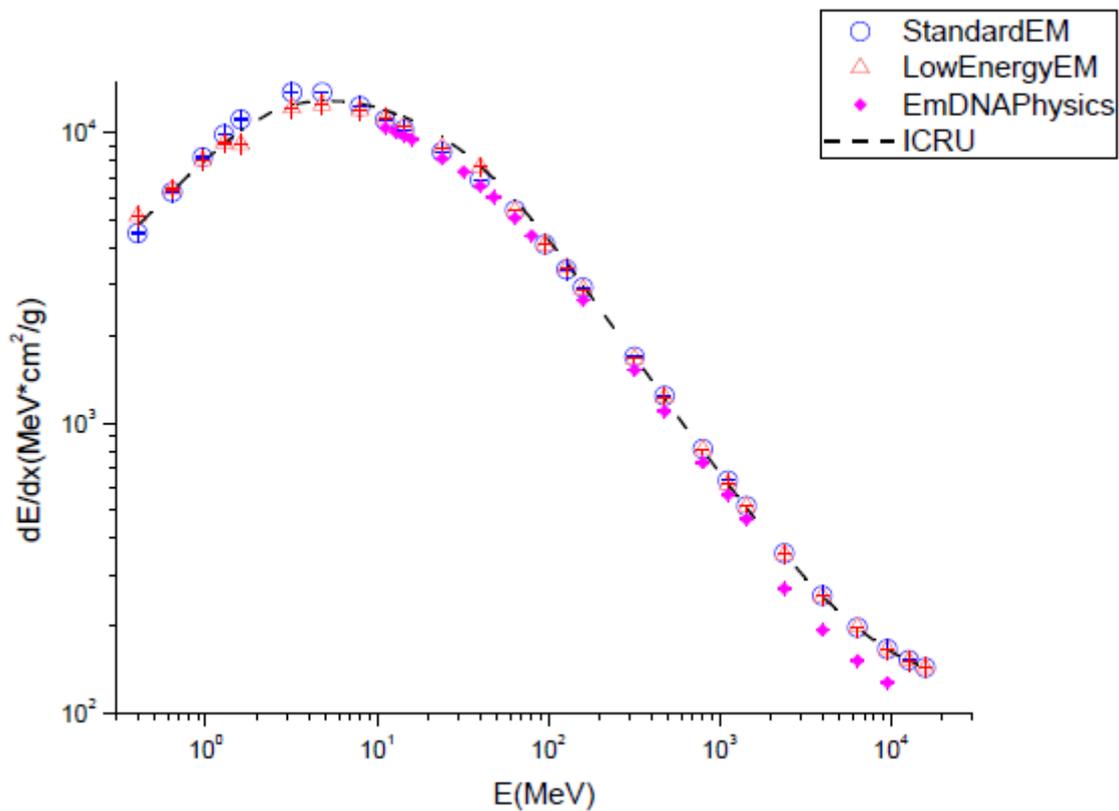


Figura 3.12: Stopping power di ioni ossigeno in acqua liquida in funzione dell'energia. Gli indicatori colorati corrispondono ai dati ottenuti mediante simulazioni Geant4, mentre la linea nera tratteggiata ai dati forniti dall'ICRU report 73 del 2005

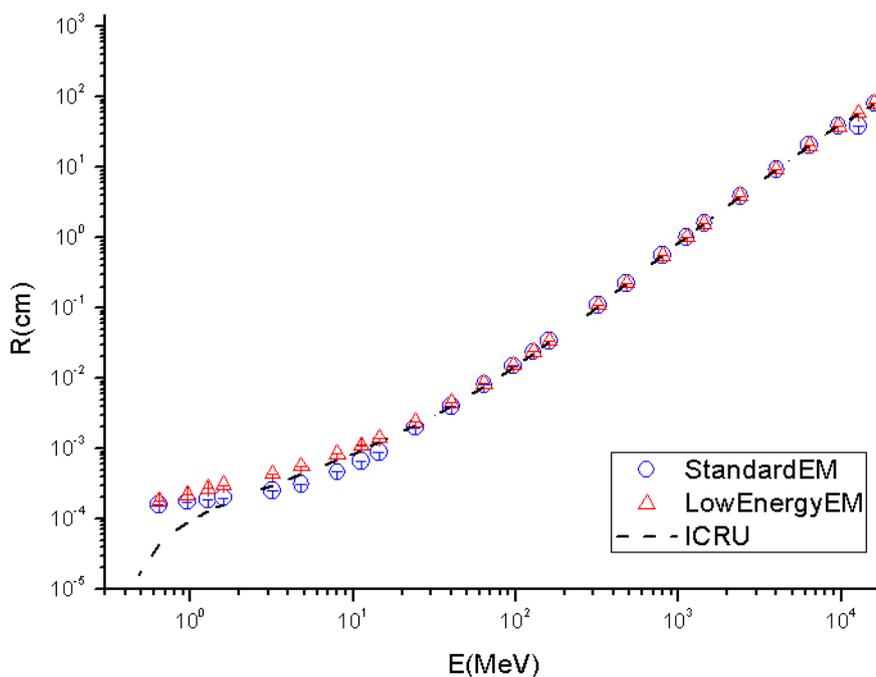


Figura 3.13: Range di ioni ossigeno in acqua liquida in funzione dell'energia. Gli indicatori colorati corrispondono ai dati ottenuti mediante simulazioni Geant4, mentre la linea nera tratteggiata ai dati forniti dall'ICRU report 73 del 2005.

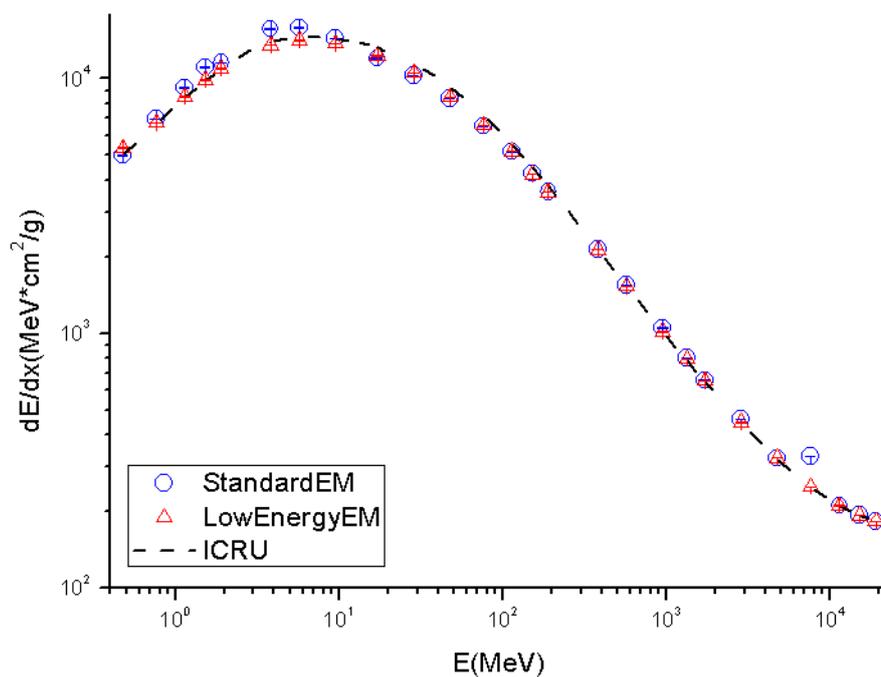


Figura 3.14: Stopping power di ioni fluoro in acqua liquida in funzione dell'energia. Gli indicatori colorati corrispondono ai dati ottenuti mediante simulazioni Geant4, mentre la linea nera tratteggiata ai dati forniti dall'ICRU report 73 del 2005

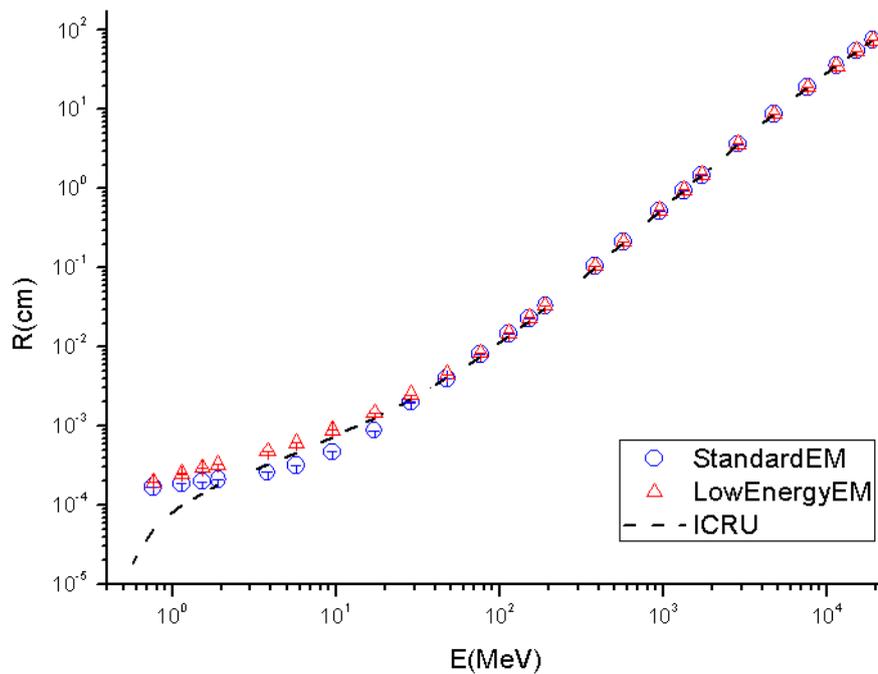


Figura 3.15: Range di ioni fluoro in acqua liquida in funzione dell'energia. Gli indicatori colorati corrispondono ai dati ottenuti mediante simulazioni Geant4, mentre la linea nera tratteggiata ai dati forniti dall'ICRU report 73 del 2005

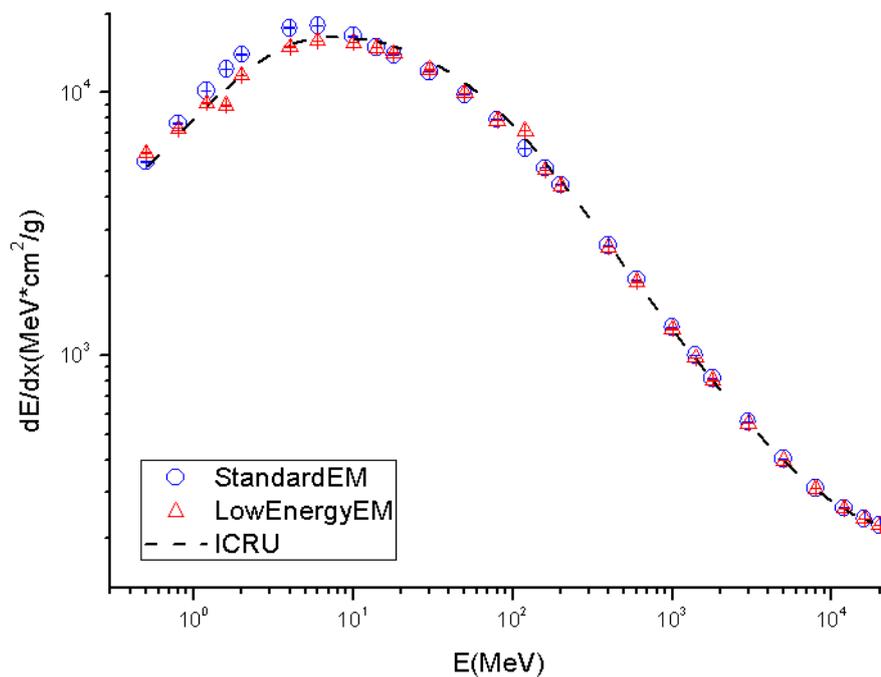


Figura 3.16: Stopping power di ioni neon in acqua liquida in funzione dell'energia. Gli indicatori colorati corrispondono ai dati ottenuti mediante simulazioni Geant4, mentre la linea nera tratteggiata ai dati forniti dall'ICRU report 73 del 2005

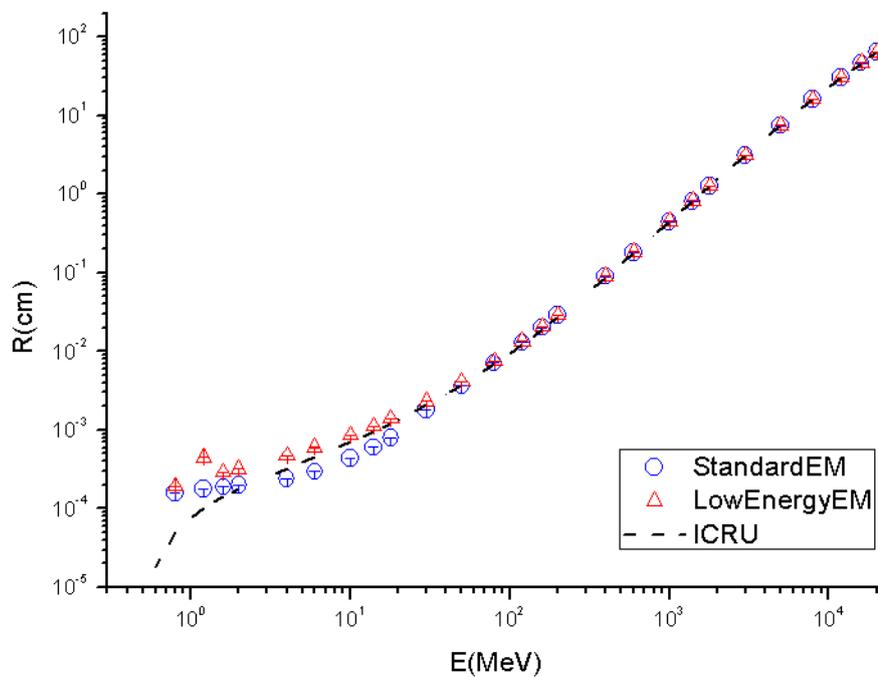


Figura 3.17: Range di ioni neon in acqua liquida in funzione dell'energia. Gli indicatori colorati corrispondono ai dati ottenuti mediante simulazioni Geant4, mentre la linea nera tratteggiata ai dati forniti dall'ICRU report 73 del 2005

IONE	Stopping Power		Range	
	D	D _{critical}	D	D _{critical}
CARBONIO				
StandardEM	0.11	0.23	0.15	0.23
LowEnergyEM	0.07	0.23	0.15	0.23
EmDNAPhysics	0.20	0.26		
OSSIGENO				
StandardEM	0.07	0.23	0.12	0.23
LowEnergyEM	0.07	0.23	0.15	0.23
EmDNAPhysics	0.20	0.26		
FLUORO				
StandardEM	0.08	0.23	0.12	0.23
LowEnergyEM	0.08	0.23	0.16	0.23
NEON				
StandardEM	0.11	0.23	0.12	0.23
LowEnergyEM	0.11	0.23	0.15	0.23

Tabella 3.IV: Valori dell'indice statistico D , relativo al test di Kolmogorov-Smirnov per Range e Stopping Power di ioni C^{+6} , O^{+8} , F^{+9} , Ne^{+10} , in acqua liquida. Il dominio energetico considerato nel test è 10^2 - 10^3 MeV/amu.

In conclusione, tutti i package di modelli sottoposti a validazione si sono rivelati sufficientemente accurati nella simulazione dell'interazione tra elettroni e ioni di diverso Z con il mezzo "acqua" nei range energetici di interesse, ovvero 10^{-3} - 10^2 per gli elettroni e 10 - 10^3 MeV/amu per i vari cationi. Inoltre, dall'osservazione dei grafici si evince che i package *EmDNAPhysics* e *LowEnergyEm* sono generalmente più accurati rispetto a *StandardEm*, dunque ad esso preferibili. *LowEnergyEm* può essere utilizzato per simulare interazioni di particelle con target molto densi e/o voluminosi senza eccedere troppo nei tempi di computazione, ma a causa dell'elevato valore di *cut-off energy* è adatto solo a simulazioni che non necessitino del tracciamento completo degli elettroni secondari. Al contrario *EmDNAPhysics* avendo una *cut-off Energy* pari a zero eV, è in principio adatto a qualunque tipo di simulazione, in quanto simula in maniera discreta ogni processo e traccia tutti gli elettroni secondari fino al completo arresto, tuttavia a causa dell'enorme tempo di computazione richiesto è preferibile utilizzarlo solo per simulare interazioni di particelle con target poco densi e/o voluminosi.

Capitolo 4

Caratterizzazione della struttura di traccia di ioni in acqua

Il pattern di deposizione energetica di ioni veloci che attraversano i tessuti biologici è caratterizzato da una dispersione laterale che varia dai pochi micron alle frazioni di centimetro. L'estensione radiale della traccia del singolo ione dipende principalmente dalla massima energia trasferibile agli elettroni secondari, e quindi dall'energia iniziale della particella primaria.

Il concetto di *LET*, inteso come energia impartita al mezzo per unità di lunghezza di traccia, non fornisce alcuna informazione riguardo alla specifica distribuzione spaziale di energia nella regione di traccia, e risulta un parametro insufficiente per effettuare caratterizzazioni dosimetriche complete.

Dal punto di vista radiobiologico, la dipendenza dell'*RBE* da un singolo parametro come il *LET*, è stato storicamente oggetto di numerosi dibattiti e controversie [24].

Già dalle prime immagini provenienti dalle camere a bolle, e dai rivelatori ad emulsioni nucleari era evidente che le tracce delle particelle avessero una estensione laterale ed una distribuzione di dose non omogenea, di cui non si tiene affatto conto nella definizione di *LET*.

Nel corso degli anni, diversi studi radiobiologici hanno, inoltre, fornito evidenze sperimentali che il *LET* da solo, non costituisca un parametro appropriato per la descrizione completa degli effetti biologici legati all'esposizione a radiazioni corpuscolari [25][26] [27].

La ricerca di parametri fisici alternativi al *LET*, che descrivano quantitativamente le caratteristiche della struttura di traccia dello ione, costituisce, dunque, un passo necessario in funzione del perfezionamento della caratterizzazione micro-dosimetrica [28] e della comprensione della sua correlazione con gli effetti biofisici osservati a livello cellulare [29].

4.1 Diversità nella tracce di ioni di pari LET_{∞}

Come si può osservare nelle immagini in figura 4.1, ioni dello stesso LET_{∞} (per la definizione vedi par.1.2.1) sono caratterizzati da tracce di struttura e forma sostanzialmente differenti.

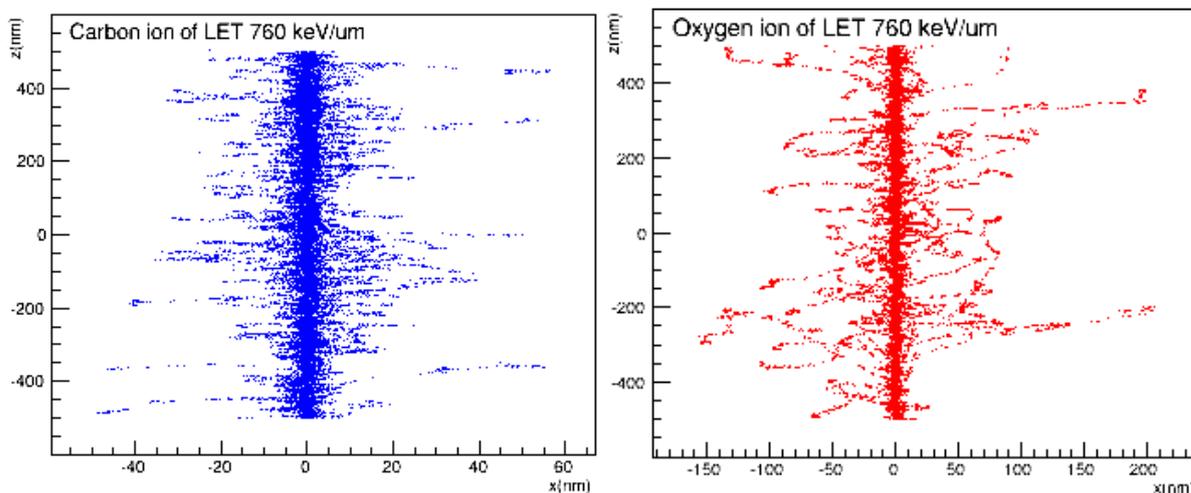


Figura 4.1: Tracce di ioni carbonio e ossigeno di LET_{∞} 760 keV/um in acqua, realizzate mediante il toolkit di simulazione Geant4 nella sua estensione DNA. In figura sono rappresentati i siti di ionizzazione.

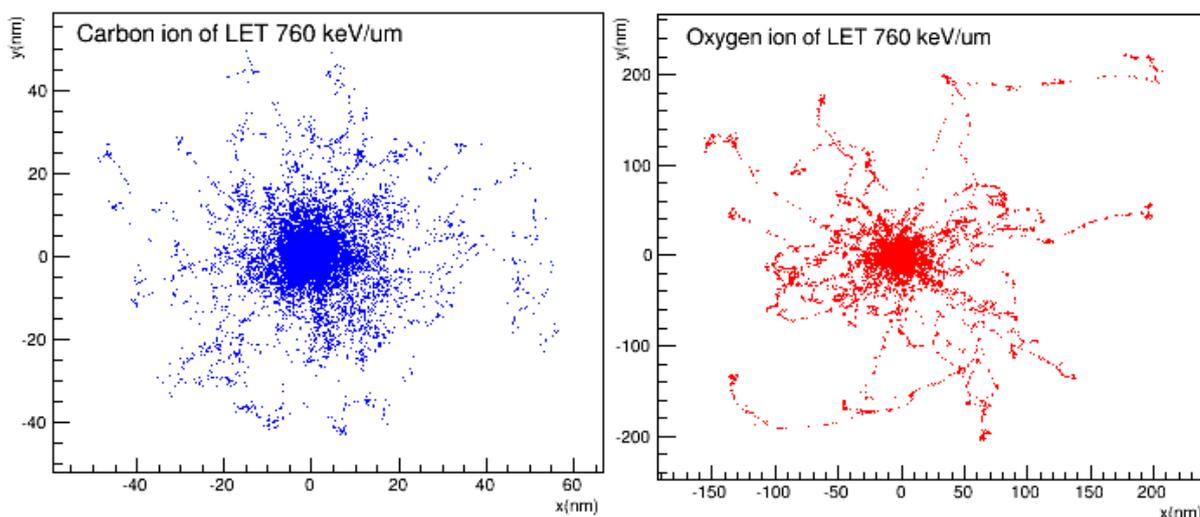


Figura 4.2 : Sezione della traccia di ioni carbonio e ossigeno di LET_{∞} 760 keV/um in acqua, realizzate mediante il toolkit di simulazione Geant4 nella sua estensione DNA. In figura sono rappresentati i siti di ionizzazione.

Lo ione carbonio presenta una traccia piuttosto simmetrica, caratterizzata da una regione centrale densamente ionizzante e da una regione esterna, di più bassa densità.

Anche la traccia dello ione ossigeno presenta due regioni di diversa densità di ionizzazione: tuttavia, la sua struttura è più irregolare e ramificata, oltre ad avere un'estensione radiale massima assai maggiore rispetto a quella del carbonio.

La sezione trasversale delle tracce rappresentata in figura 4.2 conferma la minore densità della traccia dell'ossigeno nella regione esterna, ravvisata già in figura 4.1.

E' inoltre evidente la maggiore estensione nella traccia dello ione ossigeno sia della regione centrale che di quella periferica.

Le ragioni di tali discrepanze risiedono nella diversa velocità dei due ioni: ciò comporta una diversa probabilità di interazione con le molecole del mezzo e una differente composizione dello spettro di elettroni secondari emessi in seguito alla ionizzazione.

Per meglio comprendere ciò, si consideri un generico ione che perde energia nell'attraversare un mezzo: maggiore è la sua velocità, maggiore sarà la massima energia T_{max} trasferita agli elettroni secondari prodotti.

Elettroni molto energetici hanno una bassa sezione d'urto di interazione, dunque un cammino libero medio più elevato, e producono una distribuzione di energia trasferita molto più "sparsa" rispetto agli elettroni di bassa energia.

Nel caso di ioni di diversa natura (numero atomico Z), a parità di LET_{∞} ioni più pesanti possiedono velocità più elevate a causa della relazione:

$$LET_{\infty} \propto \left(\frac{Z}{v}\right)^2$$

Essi sono caratterizzati quindi da una produzione di secondari che risultano essere mediamente più energetici e più sparsamente ionizzanti.

E' per questa ragione che, nel caso dello ione carbonio, l'energia è comunicata al mezzo solo mediante elettroni di bassa energia, e il trasferimento di energia è localizzato in misura maggiore in prossimità della traccia della particella primaria.

Le diversità nella distribuzione spaziale degli eventi di ionizzazione delle molecole del mezzo si traducono in una diversa distribuzione dei danni potenzialmente indotti all'interno dei target biologici, come ad esempio il *DNA*.

La qualità del danno, ovvero l'entità e la complessità della lesione indotta al *DNA*, dipendono fortemente dalla prossimità spaziale e temporale dei vari eventi di ionizzazione.

Lesioni multiple ravvicinate possono produrre *DSB* o *Cluster*, che rappresentano alterazioni della doppia elica più complesse e difficili da riparare rispetto a lesioni isolate come i *SSB* [30][31].

Inoltre, l'andamento temporale della concentrazione di specie radicali quali H° e OH° , i processi di diffusione e ricombinazione ad esse correlati, dipendono fortemente dalla possibilità di interazione tra tracce adiacenti, e in ultima analisi dall'estensione e dalle caratteristiche del pattern di deposizione energetica del singolo ione.

Per questi motivi nei prossimi paragrafi si illustreranno i risultati dello studio delle caratteristiche delle tracce di ioni *H*, *He*, *C*, *O*, *F* e *Ne* di diverse energie in acqua, su cui ci si è soffermati su alcuni aspetti di interesse radiobiologico.

4.1.1 Teoria della struttura di traccia

La teoria della struttura di traccia, elaborata da *Chatterjee e Schaefer* nel 1976, consente di descrivere le caratteristiche della traccia di uno ione, in termini dell'andamento radiale della dose

assorbita e delle sue dimensioni. Essa ipotizza l'esistenza di due regioni distinte: il *core*, una stretta regione cilindrica centrale dell'estensione radiale massima di circa 1 micron, e la *penumbra*, una zona periferica molto più ampia che lo avvolge.

La traccia di uno ione si presenta come un microscopico nucleo cilindrico, caratterizzato da un'elevatissima densità di energia e circondato da un'ampia e sparsa nube energetica, la cui densità decresce rapidamente con la distanza dalla traccia della particella primaria.

L'effetto biologico connesso all'esposizione a un fascio di ioni è intimamente correlato all'estensione spaziale di queste due regioni nella traccia del singolo ione e allo specifico andamento radiale della dose assorbita nel mezzo [32][33].

Il fenomeno di trasferimento di energia per collisioni tra uno ione e gli elettroni del mezzo attraversato rispetta, come ogni urto, la conservazione del momento. La quantità di energia trasferita per collisione dipende fortemente dal parametro d'urto, e descrive una distribuzione continua che si estende da valori prossimi allo zero per le collisioni *a distanza*, fino al massimo valore di energia trasferibile, che si realizza con un urto perfettamente centrale.

Nel caso di collisioni tra ioni ed elettroni del mezzo, a causa della notevole disparità di massa tra particella proiettile e *target*, la massima energia trasferibile nell'urto rappresenta solo una piccola frazione dell'energia iniziale dello ione, così che per produrre un rallentamento consistente dello ione sono necessarie un gran numero di collisioni.

Secondo la teoria, le collisioni *a distanza* dette *glancing collisions*, sono le più frequenti. Durante queste ultime, l'energia viene depositata per mezzo di eccitazioni o oscillazioni elettroniche collettive del mezzo. Questi processi prevalgono nella regione centrale della traccia, il *core*, la cui estensione laterale è generalmente dell'ordine delle decine di nanometri, e dipende, in un range abbastanza ampio, dalla velocità della particella incidente.

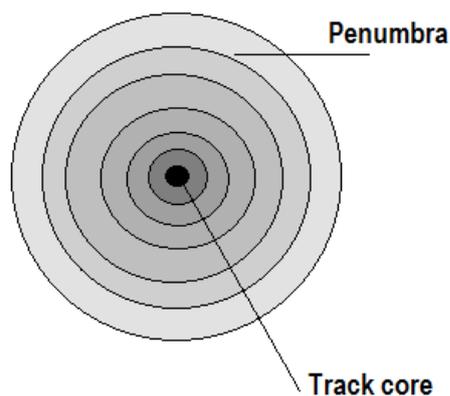


Figura 4.3 Rappresentazione della struttura di traccia di uno ione proposta da Chatterjee e Schaefer[21].

Il *core* è circondato dalla *penumbra*, in cui gli elettroni secondari, prodotti dalla particella primaria sono i principali strumenti di deposizione energetica. Essi vengono prodotti in seguito ad interazioni a basso parametro d'urto, dette *near collisions*.

E' possibile ricavare sperimentalmente una stima dell'estensione trasversale della traccia, misurando la dose depositata nei tessuti in funzione della distanza dall'asse di traccia r .

Il valore di r in corrispondenza del quale la dose assorbita tende a zero, costituirà una stima del raggio di *penumbra*, ovvero dell'estensione trasversale della traccia dello ione. A causa delle dimensioni nanometriche del *core*, è invece praticamente impossibile misurarne sperimentalmente l'estensione.

4.1.2 Profilo radiale di dose

L'andamento della dose in funzione della distanza dall'asse di traccia è detto *profilo radiale di dose*, e ricalca la suddivisione della traccia in un nucleo centrale densamente energetico e una zona periferica in cui la dose cala rapidamente a zero.

Nel corso degli anni, diversi modelli teorici o semiempirici sono stati proposti al fine di riprodurre in maniera soddisfacente l'andamento radiale della dose assorbita nella regione adiacente la traccia principale di uno ione.

Secondo *Fain et al.* [22], la distribuzione di densità di energia intorno all'asse di traccia è descritta dalla seguente espressione analitica:

$$D(r) = \frac{K}{\beta^2 r^n} \quad (4.1)$$

dove D è la dose in acqua espressa in Gy , r è il raggio di traccia, β la velocità della particella in unità di c ed n e K costanti dipendenti dalla natura del mezzo e della particella.

Similmente, secondo il modello di *Waligorski* [23]:

$$D(r) = \frac{AZ_{eff}^2}{\beta^2 r} \left[\frac{1}{r + \theta} \cdot \left(1 - \frac{r + \theta}{r_{Max} + \theta} \right)^\alpha \right] \quad (4.2)$$

dove $Z_{eff} \approx Z \cdot [1 - \exp(-125\beta Z^{-2/3})]$ è la carica efficace dello ione, r_{Max} il range massimo degli elettroni secondari prodotti, con A , θ , ed α parametri dipendenti dalle caratteristiche del mezzo e della particella.

In entrambi i modelli l'andamento della dose dipende da una potenza di $1/r$, oltre che dalla velocità iniziale dello ione e dal suo numero atomico.

A causa della dipendenza della dose da β^2 , il raggio di *penumbra* aumenta al crescere della velocità iniziale della particella primaria. A parità di β^2 , invece, a particelle con uno Z più elevato è associato un raggio di *penumbra* maggiore.

In figura 4.4 sono riportati gli andamenti di dose radiale in acqua per alcuni ioni a diverse energie. Alcuni set di dati sperimentali sono sovrapposti agli andamenti teorici proposti da *Zhang et al.*, e *Waligorski et al* [23].

Ioni di Z elevato ed alta energia come il *Ne* rappresentato in figura, hanno un raggio di *penumbra* dell'ordine del centimetro, mentre le tracce di ioni leggeri e di basse energie come *H* ed *He* hanno estensioni laterali dell'ordine del centinaio di nanometri.

L'estensione della traccia del singolo ione è strettamente correlata alle caratteristiche del *pattern* di deposizione energetica e, nel caso di fasci di ioni, influisce sull'entità di eventuali interazioni intertraccia.

E' chiaro, dunque, come le dimensioni trasversali della traccia costituiscano un parametro da tenere in considerazione nello studio degli effetti indotti da esposizioni a radiazioni particolate, e da affiancare al *LET* per una più dettagliata caratterizzazione radiobiologica degli effetti della radiazione. Nel prosieguo del capitolo verrà descritta la procedura utilizzata per stimare l'estensione laterale della traccia di ioni in acqua a partire dal profilo radiale di dose.

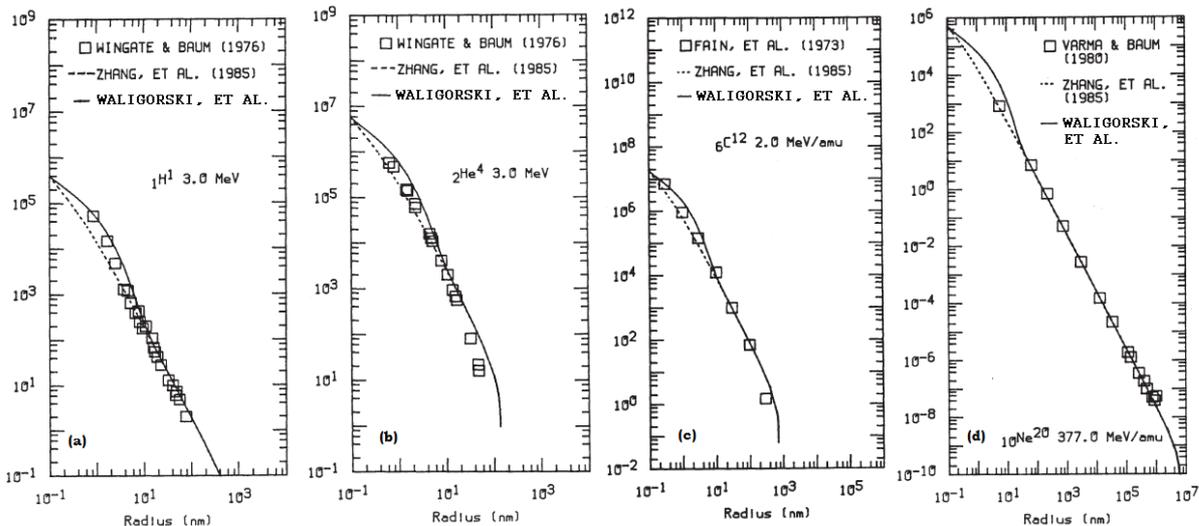


Figura 4.4: Andamento della dose assorbita in acqua, espressa in Gy, in funzione della distanza radiale dall'asse di traccia in nm, per protoni di energia 3.0 MeV (a), particelle alfa di energia 3.0 MeV (b), ioni carbonio di energia 2 MeV/amu (c) e ioni neon di energia 377 MeV/amu (d). Le linee continua e tratteggiata rappresentano rispettivamente gli andamenti del modello di Waligorski e Zhang, mentre gli indicatori ad esse sovrapposti rappresentano dei dati sperimentali raccolti da diversi autori.

4.2 Struttura del codice e simulazioni

Allo scopo di effettuare uno studio della differenze nella deposizione radiale di energia in acqua liquida per ioni di diversa natura allo stesso LET_{∞} , è stato sviluppato un codice Geant4 che permettesse di calcolare l'energia depositata nel mezzo in funzione della distanza radiale della traccia della particella primaria.

Sui dati ricavati dalle simulazioni sono stati poi eseguiti dei fit, mediante il *tool* di analisi ROOT versione 5.34/00, che hanno permesso di ricavare delle stime del raggio di *penumbra*, ovvero dell'estensione laterale della traccia.

Il *package* che si è scelto di utilizzare in questa fase è stato *LowEnergy EM*, che, come discusso nel capitolo precedente, nel range energetico di interesse fornisce risultati discretamente accurati nel calcolo della deposizione di energia, con un tempo di computazione relativamente breve.

Nel corso del seguente paragrafo verranno riportati e commentati alcuni brevi stralci del codice, al fine di illustrarne, a grandi linee, il funzionamento.

4.2.1 Cenni sulla struttura del codice

Come riportato nelle righe di codice seguenti, nel file *DetectorConstruction.cc* è stato costruito all'interno del volume *World*, una struttura in acqua costituita da 450 cilindri coassiali, di altezza $h = 1 \mu\text{m}$ e di spessore opportunamente variabile con la distanza dall'asse di traccia r .

```
...
G4double R1=0*um;
G4double R2=0*um;
G4double h_shell=1*um;
G4double phi1_shell=0;
G4double phi2_shell=360.0*deg;
G4ThreeVector position_shell(0,0,h_shell-0.0001*um);

for(G4int ind=1; ind<=450; ++ ind)
  { if(ind <=25)
    {R1=(ind-1)*0.02*um;
     R2=ind*0.02*um;}
    if(ind>25)
    {if(ind<=75)
     {R1=0.5*um+ (ind-26)*0.05*um;
      R2=0.5*um +(ind-25)*0.05*um;}}
     if(ind>75)
    {if(ind<=100){
     R1=3*um+(ind-76)*0.1*um;
     R2=3*um+(ind-75)*0.1*um;}}
     if(ind>100)
    {R1=5.5*um+(ind-101)*0.3*um;
     R2=5.5*um+(ind-100)*0.3*um;}

    shell[ind]= new G4Tubs("shell",          //nome del solido
                          R1,              //raggio interno
                          R2,              //raggio esterno
                          h_shell,         //altezza
                          phi1_shell,      //angolo iniziale
                          phi2_shell);     // angolo finale

    Logicshell[ind]= new G4LogicalVolume(
                          shell[ind],      //solido
                          SupCrescitaMaterial, //materiale
                          "Logicshell");  //vol.logico

    new G4PVPlacement(
                          0,                //rotazione
                          position_shell,  //posizione
                          Logicshell[ind], //volume logico
                          "Physishell",   //vol.fisico
                          logicSupCrescita, //volume genitore
                          false,           //operazioni booleane
                          ind);            //numero di copia

// attributi di visualizzazione
```

```
G4VisAttributes* shellAttributes = new G4VisAttributes(G4Colour(0.0,1.0,1.0));
shellAttributes->SetVisibility(true);
shellAttributes->SetForceWireframe(true);
Logicshell[ind]->SetVisAttributes(shellAttributes);}
...

```

Durante ciascun *run*, un congruo numero di ioni vengono emessi in successione dalla sorgente nella direzione dell'asse del solido.

In ogni shell cilindrica verrà depositata un'energia media dipendente dalla sua distanza dall'asse di traccia e dal volume della shell stessa.

Lo spessore di shell viene incrementato al crescere di r per cercare di ridurre le fluttuazioni nell'energia media depositata nella regioni più esterne della traccia.

Il computo delle quantità di interesse fisico è codificato nei file *SteppingAction.cc*, *EventAction.cc* e *RunAction.cc*.

In *Stepping.Action.cc* vengono esaminati uno alla volta i volumi di interesse, ossia le shell, e l'energia depositata in ciascuna di esse viene accumulata, step per step, nel vettore *edep_evt*.

```
...
void SteppingAction::UserSteppingAction(const G4Step* aStep)
{
    // selection of target volumes

    const G4VTouchable *touchable= aStep->GetPreStepPoint()->GetTouchable();
    G4int volCopyNum= touchable->GetVolume()->GetCopyNo();

    for(G4int in=1; in<=450; ++in)
    {
if ( touchable->GetVolume()->GetCopyNo() == in){
eventaction->edep_evt[in]+=aStep->GetTotalEnergyDeposit();
        }
    }
}
...

```

In *EventAction.cc* vengono accumulate, evento per evento, quantità necessarie al calcolo dell'energia media per shell e della varianza.

```
...
void EventAction::EndOfEventAction(const G4Event* evt)
{
    //accumulates statistic

    for(G4int indice=1; indice<=450;++indice)
    {
        runAct->edep_run[indice]+= edep_evt[indice];
        G4double edep_evt2=edep_evt[indice]*edep_evt[indice];
        runAct->sigma_shell[indice]+= edep_evt2;
    }
}
...

```

In *RunAction.cc*, infine, vengono calcolate e introdotte in un file di output, l'energia media, la dose media e la percentuale media di LET_{∞} , depositate in ciascuna shell.

```
...
void RunAction::EndOfRunAction(const G4Run* aRun)

```

```

{
  G4int NbOfEvents = aRun->GetNumberOfEvent();
  if (NbOfEvents == 0) return;

  // ENERGIA NELLE SHELL CILINDRICHE
  G4double Rint, Rext;
  G4double altezza=1;
  G4double pigr = 3.14;
  G4double const_convers= 0.16;

  shell_energy.open("shell_energy.out");
  dose_profile.open("dose_profile.out");
  energy_cum.open("energia_cumulata.out");

  energy_c[1]=edep_run[1]/NbOfEvents;

  for(G4int ii=1; ii<=450;++ii)
  {
    G4double rE;
    G4double E_dep_med= edep_run[ii]/NbOfEvents;

    sigma_shell[ii]/= NbOfEvents;
    G4double E_dep_med2=E_dep_med*E_dep_med;
    sigma_shell[ii]=std::sqrt(sigma_shell[ii]-E_dep_med2);
    sigma_shell[ii]=sigma_shell[ii]/(std::sqrt(NbOfEvents));

    //calcolo dose assorbita nelle shell
    if(ii<=25)
      {Rint=(ii-1)*0.02;
       Rext=ii*0.02;}
    if(ii>25)
      {if(ii<=75)
       {Rint=0.5+(ii-26)*0.05;
        Rext=0.5+(ii-25)*0.05;}}
    if(ii>75)
      {if(ii<=100)
       {Rint=3+(ii-76)*0.1;
        Rext=3+(ii-75)*0.1;}}
    if(ii>100)
      {Rint=5.5+(ii-101)*0.3;
       Rext=5.5+(ii-100)*0.3;}
    rE=Rint+((Rext-Rint)/2)
    G4double Vol= (Rext*Rext-Rint*Rint)*altezza*pigr;
    Dose_ass[ii]= (E_dep_med/keV)*const_convers/Vol;
    G4double sigma_dose= (sigma_shell[ii]/keV)*const_convers/Vol;

    //calcolo LET-inf cumulato
    energy_c[ii+1]=energy_c[ii]+edep_run[ii+1]/NbOfEvents;

    if( E_dep_med != 0)
      if(ii>1){
//scrittura in output

```

```
{shell_energy<<rE<<" "<<E_dep_med/keV<<" "<<((Rext-Rint)/2)<<" "<<
sigma_shell[ii]/keV<<G4endl;
dose_profile<<rE<<" "<<Dose_ass[ii]<<" "<<((Rext-Rint)/2)<<"
"<<sigma_dose<<G4endl;}}}
```

...

	LET(keV/μm)			
E(MeV/u)	60	110	415	760
E_{Ne}	130	59	10.5	4.19
E_F	100	45.5	8.07	3.00
E_O	73.7	33.6	5.9	2.11
E_C	34.7	16.6	2.6	0.69
E_{He}	2.17	0.92		
E_H	0.35			

Tabella 4.1: Valori di energia cinetica in MeV per nucleone nel caso di ioni di LET_{∞} pari a 60, 110, 415, 760, keV/μm.

I valori di energia da assegnare agli ioni sono stati individuati procedendo per tentativi, partendo da un valore di riferimento per l'energia iniziale dello ione desunto dai dati *ICRU*, e valutando di volta in volta lo stopping power come il rapporto tra l'energia depositata e la lunghezza di percorso lungo la traccia dello ione.

I valori di energia in MeV/u, assegnati a ciascuno ione per ottenere LET_{∞} confrontabili sono riassunti in tabella 4.1.

4.2.2 Risultati delle simulazioni

Nei grafici seguenti vengono riportati gli andamenti della dose media assorbita in funzione della distanza dall'asse di traccia, per alcuni ioni aventi stesso LET_{∞} .

Il calcolo della dose assorbita e del relativo errore è stato eseguito a partire dall'energia media, come descritto nel paragrafo precedente.

I dati ottenuti mostrano un andamento del tipo $D(r) \propto \frac{1}{r^n}$ per piccoli valori di r , così come proposto dai modelli di *Fain* [22] e *Waligorski* [23].

Nella parte periferica della traccia, la dose assorbita ha invece un andamento diverso, che dipende dal tipo ed energia dello ione considerato.

I fit sono stati eseguiti mediante il *tool* di analisi ROOT, e le funzioni utilizzate, elencate di seguito, sono in parte congruenti con gli andamenti proposti dai modelli sopracitati:

$$D_A(r) = \frac{p_0}{1 + \left(\frac{r}{p_1}\right)^{p_2}} + p_3 \quad D_B(r) = \frac{p_0 e^{-p_1 r}}{1 + \left(\frac{r}{p_2}\right)^2} + p_3 \quad D_C(r) = \frac{p_0 + p_1 r}{p_2 r^2 + p_3 r}$$

La funzione $D_A(r)$ è utilizzata per la maggior parte dei fit di profili di dose, ovvero per gli ioni Ne , F , O e C di LET_∞ 110 $keV/\mu m$ e 415 $keV/\mu m$, e per gli ioni Ne , F e O di LET_∞ 760 $keV/\mu m$.

La funzione $D_B(r)$ è, invece, stata utilizzata per effettuare i fit dei profili di dose di tutti gli ioni di LET_∞ 60 $keV/\mu m$, ad eccezione di H . Infine, la funzione $D_C(r)$ è stata utilizzata per gli ioni C di LET_∞ 760 $keV/\mu m$, He di LET_∞ 110 $keV/\mu m$ e H di LET_∞ 60 $keV/\mu m$.

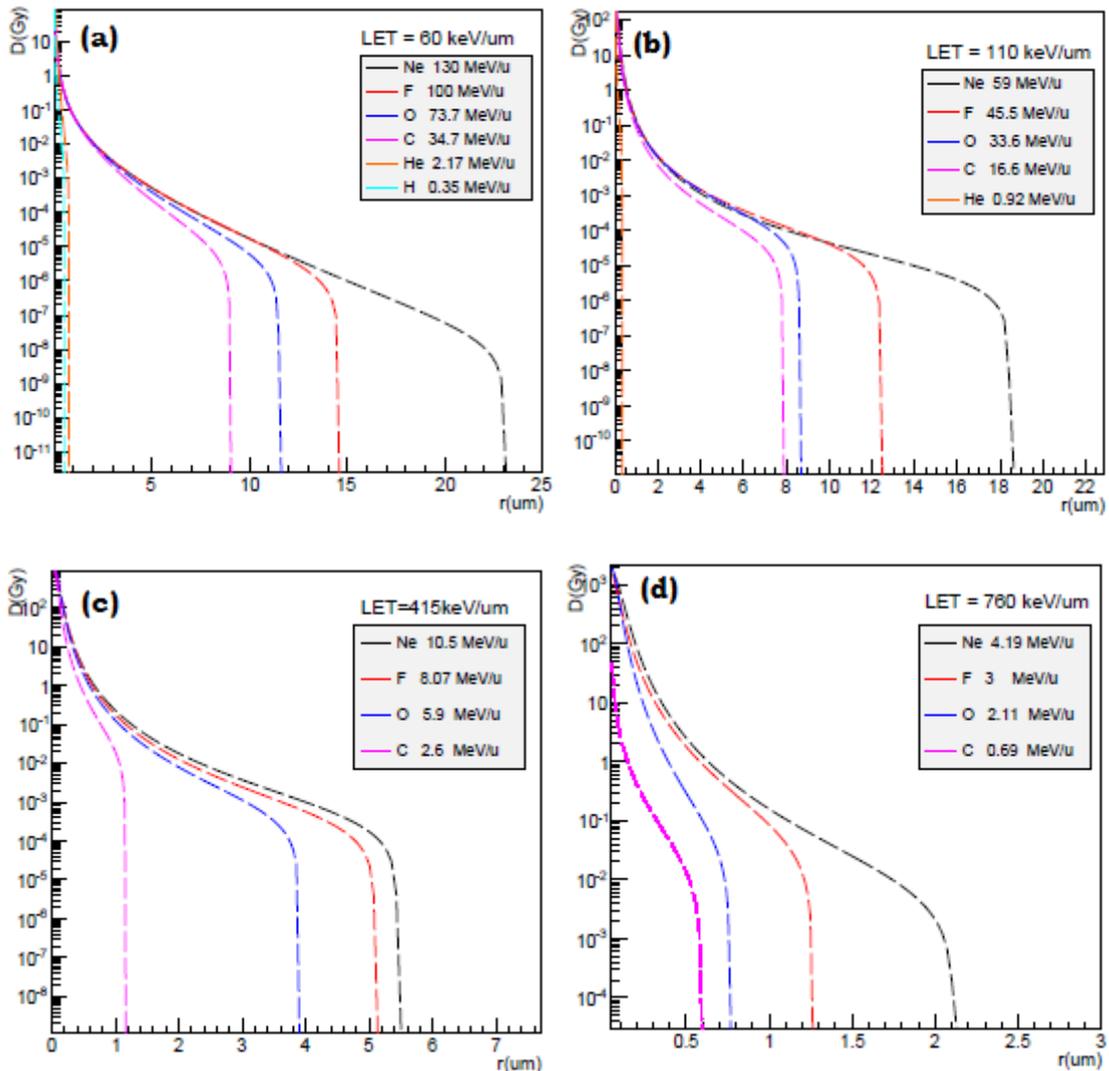


Figura 4.5 Profili di dose di ioni di LET_∞ pari a 60, 110, 415, 760, $keV/\mu m$. in acqua. Gli andamenti mostrati sono ottenuti attraverso simulazioni effettuate con il toolkit Geant4, opportunamente rielaborati mediante il tool di analisi dati ROOT.

Dall'analisi dei grafici si evince che, a parità di LET_∞ , ioni di diversa natura sono caratterizzati da differenti profili di dose assorbita, e che le discrepanze maggiori si osservano nella regione periferica della traccia. Come era lecito attendersi, l'estensione radiale della traccia aumenta al crescere del numero atomico Z dello ione, e quindi della sua energia cinetica iniziale.

Se, invece, si considerano i profili di dose di un singolo tipo di ione, a LET_∞ differenti, appare evidente che l'estensione laterale della traccia si riduce al crescere del LET_∞ , cioè al diminuire dell'energia cinetica dello ione.

Ciò accade perché più alta è l'energia cinetica iniziale dello ione, maggiore sarà la massima energia trasferibile agli elettroni secondari prodotti nel mezzo, i quali si allontaneranno maggiormente dai siti di ionizzazione, posti in prossimità dell'asse di traccia.

Attraverso delle estrapolazioni sugli andamenti di dose riportati in figura 4.5, sono state effettuate delle stime dei raggi di *penumbra*, ovvero delle estensioni radiali delle tracce degli ioni in acqua.

I valori ottenuti sono riassunti nella tabella 4.II e riportati nel grafico in figura 4.6.

Le differenze tra i valori del raggio di *penumbra* per ioni dello stesso LET_{∞} , sono più marcate per bassi valori del LET_{∞} . Inoltre, i valori ottenuti per gli ioni *He* e *H* si discostano fortemente da quelli ottenuti per gli altri ioni, a causa della notevole differenza di velocità con le particelle più pesanti (vedi figura 4.4).

LET_{∞} (keV/ μ m)	60		110		415		760	
	r(μ m)	Δ_r (μ m)	r(μ m)	Δ_r (μ m)	r(μ m)	Δ_r (μ m)	r(μ m)	Δ_r (μ m)
Ne	23.04	0.01	18	1	5.4	0.7	2.0	0.2
F	14.5	0.5	12.4	0.5	5.2	0.2	1.26	0.06
O	11.50	0.08	8.6	0.5	3.9	0.2	0.76	0.03
C	9.0	0.1	8.0	0.5	1.15	0.06	0.67	0.07
He	0.74	0.02	0.31	0.03				
H	0.50	0.06						

Tabella 4.II: Stime del raggio di *penumbra* per ioni di LET_{∞} pari a 60, 110, 415, 760, keV/ μ m in acqua.

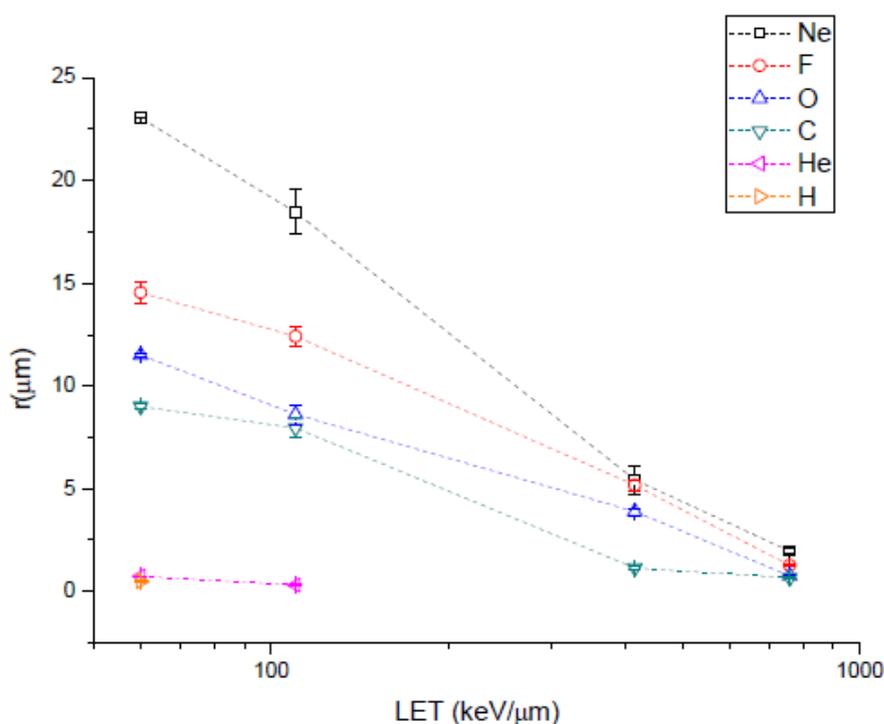


Figura 4.6: Andamento del raggio di *penumbra* di ioni in acqua in funzione del LET_{∞} .

Gli andamenti delle estensioni radiali delle tracce sembrano convergere all'aumentare del LET_{∞} delle particelle, ma tale convergenza è solo apparente, in quanto determinata dal progressivo ridursi dell'energia media e dei range degli elettroni secondari prodotti all'aumentare del LET_{∞} .

Per una più completa interpretazione dei dati ottenuti dalle simulazioni, oltre al profilo di dose, si è scelto di rappresentare anche l'andamento radiale della percentuale di LET_{∞} depositata nel mezzo (vedi *figure 4.7-4.8*). Ciò permette di apprezzare direttamente la frazione di energia iniziale, per unità di lunghezza di percorso, depositata dalle particelle nelle varie regioni della traccia, e comparare i vari andamenti.

Se si considerano i grafici ottenuti per LET_{∞} 60 e 110 $keV/\mu m$ rappresentati in *figura 4.5*, per valori di r inferiori al μm , gli andamenti della percentuale di LET_{∞} per gli ioni C , F , O e Ne sono praticamente sovrapponibili. Ciò suggerisce che, a basso LET_{∞} , per ioni più pesanti dell'elio, l'andamento radiale della deposizione energetica, nella parte centrale della traccia, è indipendente dalla natura dello ione considerato, così come postulato dalle teorie radiobiologiche tradizionali. Per valori di r superiori al μm , invece, l'andamento associato allo ione carbonio si discosta leggermente dagli altri.

Gli ioni H ed He , infine, presentano un profilo di LET_{∞} completamente differente dalle altre particelle. Se si considera il grafico in *figura 4.7a*, ad una distanza dall'asse centrale di $10^{-1} \mu m$, i protoni depositano mediamente la totalità del LET_{∞} e le particelle alfa circa il 98% contro l'87% depositato dai restanti ioni.

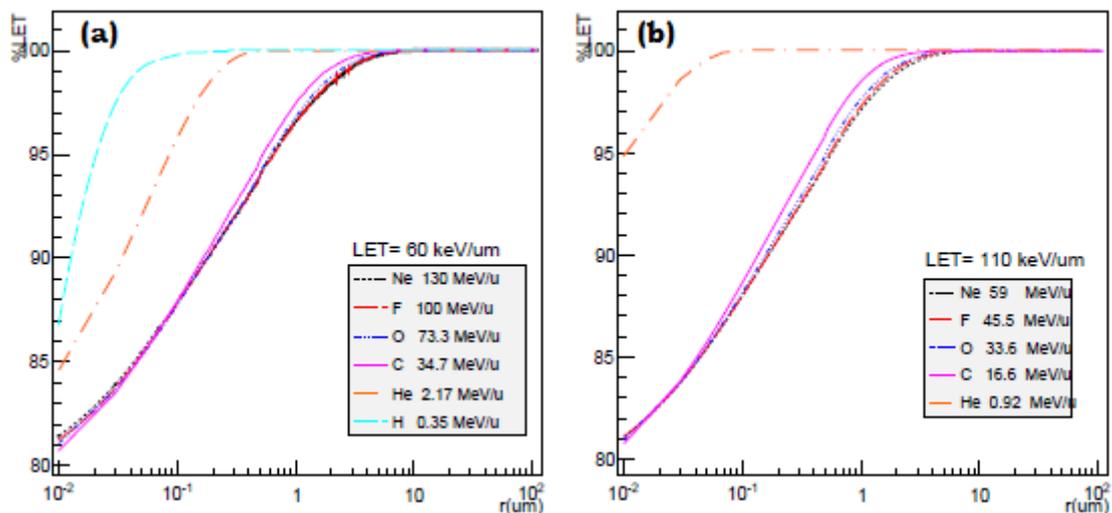


Figura 4.7: Andamento della percentuale di LET_{∞} depositata nel mezzo in funzione della distanza radiale dall'asse centrale di traccia, per ioni di LET_{∞} pari a 60 e 110 $keV/\mu m$.

La discrepanza osservata è da imputare, come anticipato, al fatto che le velocità per cui queste particelle assumono i valori di LET_{∞} considerati sono estremamente basse se confrontate con quelle degli ioni più pesanti. Dunque, a parità di LET_{∞} , protoni e particelle alfa produrranno elettroni secondari mediamente meno energetici degli ioni più pesanti. Ciò comporta una ridotta estensione radiale della traccia.

Tale argomento verrà opportunamente approfondito nel prosieguo del capitolo.

In *figura 4.8* sono riportati gli andamenti della frazione di LET_{∞} depositato per ioni C , O , F ed Ne di 450 e 760 $keV/\mu m$.

A LET_{∞} 450 $keV/\mu m$ si osserva una leggera differenza tra l'andamento relativo allo ione carbonio e quello degli altri ioni, mentre a 760 $keV/\mu m$, tale differenza diviene eclatante. Dal grafico si evince che lo ione carbonio tende a depositare la maggior parte della sua energia cinetica nella

parte più interna della traccia: infatti, circa il 98% dell'energia iniziale viene depositata entro una distanza dall'asse centrale pari a $10^{-2} \mu\text{m}$, a fronte dell' 81% dello ione neon, dell' 82% dello ione fluoro e dell' 85% dello ione ossigeno.

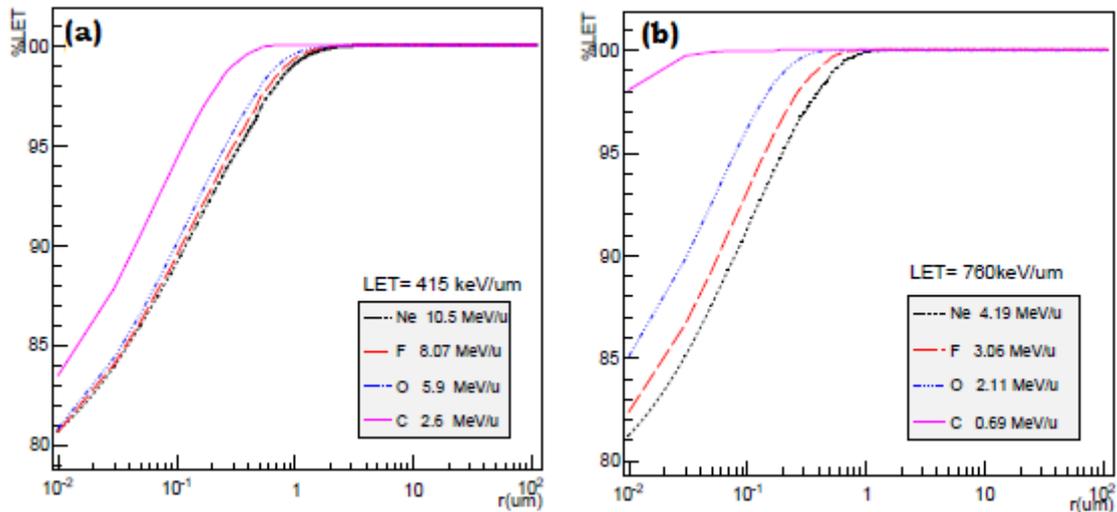


Figura 4.8: Andamento della percentuale di LET_{∞} depositata nel mezzo in funzione della distanza radiale dall'asse centrale di traccia, per ioni di LET_{∞} pari a 415 e 760 $\text{keV}/\mu\text{m}$.

Così come nel caso degli ioni H ed He di $60 \text{ keV}/\mu\text{m}$, la notevole discrepanza osservata negli andamenti è dovuta alla diversità dello spettro energetico di elettroni secondari prodotti dallo ione carbonio. Al fine di approfondire tale aspetto, nel paragrafo seguente saranno presentati ed analizzati alcuni spettri energetici di elettroni secondari emessi da ioni in acqua, realizzati con il toolkit Geant4 nella sua estensione *DNA*.

4.3 Spettri di elettroni secondari emessi da ioni in acqua

L'accurata conoscenza della distribuzione di energia degli elettroni prodotti come risultato della ionizzazione delle molecole d'acqua da parte di ioni veloci incidenti rappresenta uno strumento di fondamentale importanza per numerose applicazioni di carattere sia radiobiologico che dosimetrico.

In particolare, da quanto emerso anche dalle simulazioni presentate nel precedente paragrafo, ioni dello stesso LET_{∞} , ma di diversa natura, a cui tradizionalmente è associato il medesimo effetto biologico, presentano tracce e profili di dose completamente differenti. Anche gli andamenti della percentuale di LET_{∞} depositato suggeriscono una differente distribuzione energetica all'interno del volume traccia.

Tali differenze possono essere giustificate e quantificate, facendo riferimento agli spettri di emissione di elettroni secondari prodotti degli ioni in acqua.

Secondo il modello esteso di *Rudd* [11], introdotto nel precedente capitolo, la sezione d'urto differenziale per la produzione di un elettrone secondario di energia cinetica W da parte di una particella di energia T e carica efficace Z_{eff} è:

$$\frac{d\sigma}{dW} = Z_{eff}^2 \sum_j G_j \left(\frac{d\sigma}{dW} \right)_j$$

con $\left(\frac{d\sigma}{dW} \right)_j$ funzioni decrescenti della velocità della particella v .

Se da un lato la sezione d'urto aumenta al crescere della carica dello ione, dall'altro diminuisce al crescere della velocità v , che a parità di LET_∞ è più elevata per gli ioni più pesanti.

Allo scopo di analizzare la composizione spettrale degli elettroni secondari prodotti, il codice *dnaphysics* basato sui modelli *EmDNAPhysics* discussi nel corso del capitolo 3, è stato opportunamente adattato e modificato, in maniera da fornire in output gli spettri energetici completi degli elettroni secondari prodotti da ioni *H*, *He*, *C* ed *O* nell'unità di percorso lungo la traccia. Come già discusso, l'utilità dei modelli *EmDNAPhysics* risiede nel fatto che essi consentono di effettuare simulazioni senza alcun *cut-off* energetico, al contrario di quanto accade con i modelli *LowEnergy EM* che sono applicabili solo per energie superiori ai 250 *eV*. In altre parole nei codici Geant4 basati sui modelli *LowEnergy EM*, gli elettroni secondari con energia inferiore a 250 *eV* non vengono generati, ma la loro energia cinetica viene simulata come depositata all'interno del volume sensibile direttamente dalla particella primaria. Utilizzare i modelli *LowEnergy EM* nella realizzazione degli spettri energetici avrebbe, quindi, comportato la perdita di una porzione importante di dati, soprattutto considerando che per ioni appartenenti al range energetico di interesse (10-10⁴ *MeV*), la maggior parte degli elettroni secondari prodotti hanno energie al di sotto del *keV*.

4.3.1 Cenni sulla struttura del codice

Il volume sensibile in cui avvengono le interazioni è realizzato disegnando all'interno del *World volume* una *Box* di acqua di 1 μm di spessore e di dimensioni laterali 20 $\mu m \times 20 \mu m$.

```
...
void DetectorConstruction::DefineMaterials()
{
  G4NistManager * man = G4NistManager::Instance();
  vacuum = man->FindOrBuildMaterial("G4_Galactic");
  Acqua= man->FindOrBuildMaterial("G4_WATER");

  G4cout << *(G4Material::GetMaterialTable()) << G4endl;
}

G4VPhysicalVolume* DetectorConstruction::ConstructDetector()
{
  targetSizeX= 0.5*um;
  targetSizeYZ= 10*um;

  //Target

  solidVolume = new G4Box("Volume", //name
                          targetSizeX ,targetSizeYZ,targetSizeYZ); //size
```

```

logicVolume = new G4LogicalVolume(solidVolume,           //solid
                                  Acqua,                 //material
                                  "Volume");             //name

physiVolume = new G4PVPlacement(0,                      //no rotation
                                  G4ThreeVector(),       //at (0,0,0)
                                  logicVolume,          //logical volume
                                  "Volume",             //name
                                  logicWorld,           //mother volume
                                  false,                //no boolean op.
                                  0);                  //copy number

G4VisAttributes* VolVisAtt= new G4VisAttributes(G4Colour(1.0,0.,1.0));
VolVisAtt->SetVisibility(true);
logicVolume->SetVisAttributes(VolVisAtt);
...

```

Per ridurre al minimo il numero di interazioni al di fuori del volume sensibile, riducendo così il tempo di computazione, è stato impostato il vuoto (*vacuum*) come materiale costituente il *World*. In *SteppingAction.cc* è stato introdotto il puntatore *fpSteppingManager* che consente di accedere alle informazioni che riguardano i secondari prodotti durante ciascuno step della simulazione. L'energia e la posizione iniziale dei secondari prodotti vengono copiate all'interno dei file di output: *spettro.out*, *track.out* e *track2d.out*.

```

...
SteppingAction::SteppingAction(RunAction* run,EventAction*
evt,DetectorConstruction* det,PrimaryGeneratorAction* pri, HistoManager* his)
:Run(run),Event(evt),Detector(det),Primary(pri),Histo(his)
{
ofs_spettro.open("spettro.out");
ofs_track.open("track.out");
ofs_track2d.open("track2d.out");
}
SteppingAction::~SteppingAction()
{}
void SteppingAction::UserSteppingAction(const G4Step* step)
{
G4VPhysicalVolume* volume = step->GetPreStepPoint()->GetTouchableHandle()-
>GetVolume();

const G4TrackVector* secondary = fpSteppingManager->GetSecondary();

G4int NsecondariesTotStep =
fpSteppingManager->GetfN2ndariesAtRestDoIt()
+fpSteppingManager->GetfN2ndariesAlongStepDoIt()
+fpSteppingManager->GetfN2ndariesPostStepDoIt();

tN2ndariesTot=(*secondary).size();

```

```

    if (volume == Detector->GetphysiVolume())
    {for (size_t lp=((*secondary).size()-NsecondariesTotStep); lp<(*secondary).size();
    lp++)
    {if ((*secondary)[lp]->GetDefinition()==G4Electron::Electron())
    {
        G4double Esec= (*secondary)[lp]->GetKineticEnergy();
        {
            ofs_spettro<< Esec/eV<< G4endl;
        }
    }

const G4ThreeVector& posSec = (*secondary)[lp]->GetPosition();

ofs_track<<posSec[0]/nm<<" "<<posSec[1]/nm<<" "<<posSec[2]/nm <<G4endl;//traccia 3d
ofs_track2d << posSec[0]/nm<<" "<<posSec[1]/nm<<G4endl; //traccia2d
}}
...

```

I file di output ottenuti sono stati poi utilizzati come file di input del software di analisi ROOT.

4.3.2 Spettri di emissione di elettroni secondari di ioni in acqua

Nelle figure seguenti sono rappresentati alcuni spettri di emissione di elettroni secondari in acqua liquida da parte di ioni *H*, *He*, *C* ed *O* alle energie scelte per lo studio dei profili di dose presentati nel paragrafo precedente.

Gli andamenti osservati negli istogrammi ottenuti descrivono una distribuzione fortemente asimmetrica, caratterizzata da un picco molto stretto alle bassissime energie ed una coda che si estende fino ad energie elevate.

La maggior parte dei secondari prodotti a seguito dell'interazione con le molecole del mezzo sono, quindi, elettroni di bassa energia, mentre molto più rari sono i secondari energetici da cui dipende l'estensione radiale della traccia.

Ciò spiega i bassissimi valori di dose assorbita nelle shell più esterne ottenuti dalle simulazioni discusse nel paragrafo 4.2.

Nelle distribuzioni osservate, a causa della marcata asimmetria, il valor medio non coincide con il valore più probabile, essendo il primo più elevato a causa della presenza di eventi ad alta energia con probabilità non nulla. E' lecito, tuttavia, utilizzare il valor medio come strumento di caratterizzazione e confronto tra le varie distribuzioni ottenute (*tabella 4.III*).

A bassi valori di LET_{∞} gli ioni *C* ed *O* presentano uno spettro piuttosto simile: in particolare, nel caso di LET_{∞} pari a $60 \text{ keV}/\mu\text{m}$ le distribuzioni appaiono praticamente sovrapponibili, in accordo con gli andamenti rappresentati in figura 4.5 e 4.7.

Gli spettri associati agli ioni *H* ed *He*, così come quelli relativi agli altri ioni, presentano un picco alle basse energie: tuttavia, essi sono completamente privi di code, a conferma del fatto che il pattern di deposizione energetica generato da queste particelle in acqua è estremamente compatto e di ridotte dimensioni. Ad alti valori di LET_{∞} gli andamenti delle distribuzioni relative agli ioni *C* ed *O* appaiono sostanzialmente differenti: in particolare, a LET_{∞} pari a $760 \text{ keV}/\mu\text{m}$, lo ione ossigeno presenta una coda molto più nutrita ed estesa.

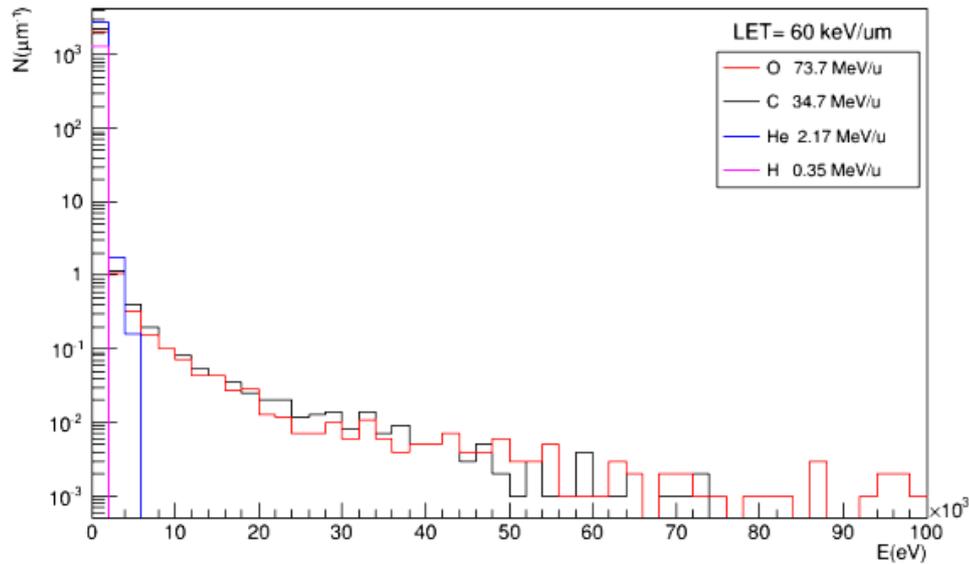


Figura 4.9: Spettro energetico degli elettroni secondari prodotti in acqua a seguito dell'interazione di ioni H, He, C ed O di LET_{∞} pari a $60 \text{ keV}/\mu\text{m}$. Il numero di secondari è normalizzato rispetto al numero di eventi simulati ed al percorso della particella primaria.

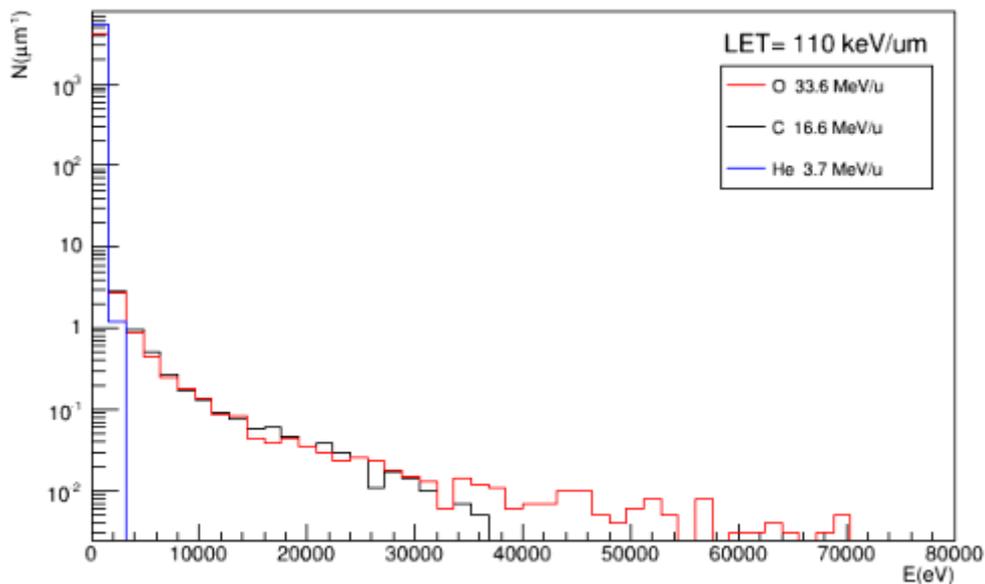


Figura 4.10: Spettro energetico degli elettroni secondari prodotti in acqua a seguito dell'interazione di ioni He, C ed O di LET_{∞} pari a $110 \text{ keV}/\mu\text{m}$. Il numero di secondari è normalizzato rispetto al numero di eventi simulati ed al percorso della particella primaria.

Ciò spiega la maggiore dispersione laterale della traccia e la più elevata dose assorbita nella sua regione periferica rispetto alla traccia dello ione carbonio riscontrate nelle simulazioni di traccia e nello studio dei profili di dose dei paragrafi precedenti.

La figura 4.13 mostra l'andamento dell'energia massima trasferita agli elettroni secondari prodotti T_{Max} in funzione del LET_{∞} della particella primaria. Per tutti i LET_{∞} considerati, lo ione ossigeno presenta valori di T_{Max} più elevati rispetto al carbonio, i protoni e le particelle alfa sono caratterizzati invece da energie massime trasferite notevolmente più basse degli altri ioni, come già osservato negli spettri delle figure precedenti.

In conclusione, da quanto emerso dagli studi effettuati, a parità di LET_{∞} ioni di differente numero atomico Z presentano tracce dalle caratteristiche di deposizione energetica ed estensione media tanto diversa quanto maggiore è il valore di LET_{∞} considerato.

Tali discrepanze sono causate, in ultima analisi, dalla diversità dello spettro energetico degli elettroni secondari prodotti in seguito all'interazione con il mezzo, e si traducono in un diverso effetto biologico della radiazione, come testimoniato dai risultati di esperimenti radiobiologici come Mimo-Bragg (vedi capitolo 5).

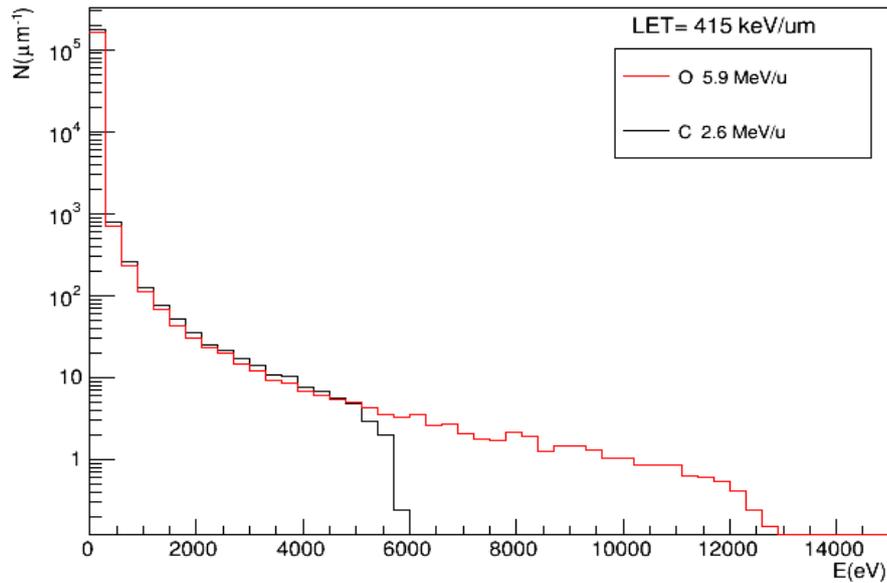


Figura 4.11: Spettro energetico degli elettroni secondari prodotti in acqua a seguito dell'interazione di ioni C ed O di LET_{∞} pari a $415 \text{ keV}/\mu\text{m}$. Il numero di secondari è normalizzato rispetto al numero di eventi simulati ed al percorso delle particella primaria.

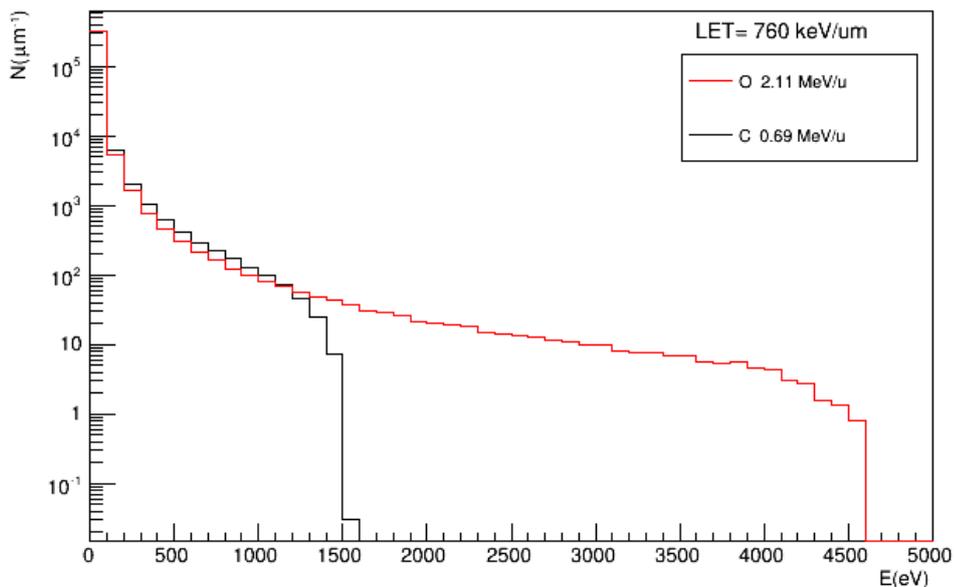


Figura 4.12: Spettro energetico degli elettroni secondari prodotti in acqua a seguito dell'interazione di ioni C ed O di LET_{∞} pari a $760 \text{ keV}/\mu\text{m}$. Il numero di secondari è normalizzato rispetto al numero di eventi simulati ed al percorso delle particella primaria.

	$LET_{\infty} = 60 \text{ keV}/\mu\text{m}$				$LET_{\infty} = 110 \text{ keV}/\mu\text{m}$			$LET_{\infty} = 415 \text{ keV}/\mu\text{m}$		$LET_{\infty} = 760 \text{ keV}/\mu\text{m}$	
<i>Ione</i>	<i>O</i>	<i>C</i>	<i>He</i>	<i>H</i>	<i>O</i>	<i>C</i>	<i>He</i>	<i>O</i>	<i>C</i>	<i>O</i>	<i>C</i>
N_{evt}	2114	2245	2752	1323	4099	4241	5456	5499	5802	10795	11090
<i>Mean</i>	25.28	25.38	21.78	20.14	25.52	24.38	21.06	23.07	22.02	21.72	20.61
<i>RMS</i>	431.8	368.1	106.0	49.45	387	266.6	74.7	165.5	116.4	105.1	64.98

Tabella 4.III: Valori dei parametri relativi agli istogrammi in figura 4.9, 4.10, 4.11, 4.12. Il termine N_{evt} indica il numero medio di elettroni secondari prodotti per unità di lunghezza percorsa dalla particella primaria, i termini *Mean* e *RMS* indicano invece il valor medio e lo scarto quadratico medio della distribuzione.

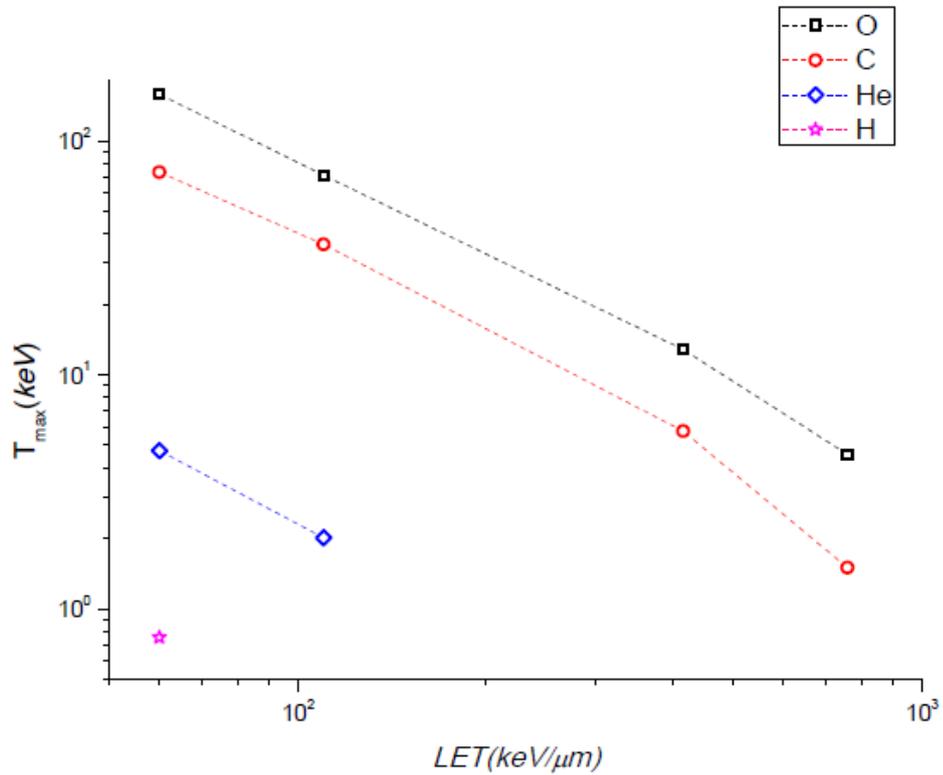


Figura 4.13: Andamento della massima energia cinetica trasferita ai secondari prodotti a seguito dell'interazione con il mezzo, in funzione del LET_{∞} della particella primaria.

Capitolo 5

Computo delle lesioni indotte da tracce di singoli ioni in cellule umane

Nel capitolo precedente è stata illustrata una procedura finalizzata alla caratterizzazione della struttura di traccia di ioni in acqua, attraverso la determinazione del profilo radiale di dose e della dispersione laterale media del pattern di deposizione energetica. Tale procedura implica l'utilizzo di *tracce amorfe* (vedi paragrafo 1.4 e capitolo 4), ovvero della media statistica delle tracce generabili dalla singola tipologia di ione incidente. Ciò consente di ricavare informazioni sulle caratteristiche della traccia media, tralasciando tuttavia la struttura discreta di deposizione di energia, che, come anticipato, è strettamente legata alla localizzazione spaziale di eventi di eccitazione e ionizzazione del mezzo e quindi di potenziali danni indotti al principale target biologico, il *DNA*.

Inoltre nelle simulazioni discusse nel capitolo precedente, è stato utilizzato come *target* una sorta di calorimetro omogeneo segmentato, cioè una struttura composta in cui tutto il volume irraggiato è sensibile alla radiazione, il che consente di visualizzare in maniera pressoché continua l'andamento radiale della perdita di energia e di estrapolarne le quantità fisiche di interesse, ma che non è ovviamente adatto alla simulazione dettagliata degli effetti biologici delle radiazioni.

Se si considera come *target* biologico il *DNA*, e come effetto le rotture di singola e doppia elica⁴ (*SSB* e *DSB*), che costituiscono le lesioni caratteristiche indotte dall'esposizione a radiazione ionizzante [34][35], bisogna tener conto del fatto che non tutti gli eventi di deposizione energetica saranno degli *hit*, ovvero eventi che effettivamente produrranno una rottura di filamento, ma devono essere considerati tali solamente gli eventi localizzati sullo scheletro *zucchero-fosfato*.

A tale scopo, è indispensabile utilizzare nella simulazione un *target* che riproduca in maniera fedele le dimensioni tipiche, la struttura, l'organizzazione e la densità del *DNA* all'interno nel nucleo cellulare. Per questa ragione si è scelto di utilizzare come *target* il modello di nucleo di

⁴ E' necessario sottolineare che i *DSB* rappresentano, tra le lesioni indotte al *DNA*, quelle di maggior rilevanza biologica, in quanto costituiscono la lesione letale per eccellenza nel caso siano mal o non riparate. E' per questo motivo che, insieme alle *SSB*, sono state scelte come oggetto di studio del presente lavoro.

fibroblasto umano introdotto nell'estensione *DNAGeometry* di *Geant4*, allo scopo di determinare il numero di potenziali lesioni indotte dalle tracce di singoli ioni.

5.1 Simulazioni Monte Carlo e *DSB*

Le lesioni al *DNA* sono considerate i principali eventi di induzione di danno con conseguenze a lungo termine per organi e tessuti, a seguito dell'esposizione a radiazione ionizzante. In particolare, le rotture di doppia elica (*double strand break* o *DSB*) sono considerate le lesioni per eccellenza nell'induzione di danni letali [35] e l'iniziazione dei processi neoplastici nelle singole cellule [36].

Il calcolo della frequenza di tali lesioni attraverso simulazioni Monte Carlo rappresenta un valido strumento di indagine dei meccanismi di induzione del danno biologico.

Storicamente, il calcolo di rotture mostra un aumento nella frequenza di *DSB* al decrescere dell'energia dei fotoni incidenti, e nel caso di particelle al crescere del *LET* della radiazione [37].

Tuttavia tale incremento non è stato riscontrato nella maggior parte dei risultati sperimentali a causa della differente metodologia di calcolo e del valore di *cut-off* utilizzato per la dimensione dei frammenti di *DNA* prodotti.

5.1.1 Relazione *DSB-LET*

Il codice *PARTRAC*, ampiamente utilizzato per la simulazione e lo studio degli effetti biologici delle radiazioni, è stato recentemente adattato al calcolo dell'induzione di rotture dirette ed indirette al *DNA* su un *target* cilindrico di dimensioni micrometriche che modella un fibroblasto umano [28].

Alcune simulazioni riguardo l'induzione di *DSB* sono state effettuate con *PARTRAC* da *Friedland et al* [37], utilizzando ioni di diversa natura in un intervallo di LET_{∞} che si estende dai 10 ai 1000 $keV/\mu m$ circa. Per gli ioni più pesanti dell'elio i risultati, mostrati in figura 5.1a, mostrano un generale aumento della frequenza di *DSB* per unità di dose, all'aumentare del LET_{∞} fino ad un valore di circa 200 $keV/\mu m$, per cui si raggiunge una sorta di saturazione.

Tale andamento è apparentemente in disaccordo con i dati sperimentali, che mostrano invece un picco nella frequenza di induzione di *DSB* intorno ai 100 $keV/\mu m$.

Il motivo di tale discrepanza è costituito molto probabilmente dai limiti sperimentali per la risoluzione di più *DSB* estremamente ravvicinati e/o dalle metodologie tradizionalmente impiegate nelle procedure di conteggio dei frammenti, che non tengono conto dei frammenti di dimensione estremamente ridotte. Infatti, considerando nel computo relativo alla simulazione solo i frammenti di *DNA* di estensione maggiore di 5 *kbp* si ottiene un andamento compatibile con i dati sperimentali.

La figura 5.1b illustra i risultati ottenuti utilizzando ancora *PARTRAC*, da *Allonni et al.*[38] per la frequenza di induzione di *DSB* (per cellula e per unità di dose) in funzione del LET_{∞} , in fibroblasti umani irraggiati con fasci di ioni azoto di diversa energia.

Il conteggio del numero di rotture è comparato con i risultati sperimentali ottenuti da da *Hoglund et al.* [39] e, come nel caso precedente, il confronto evidenzia una netta discrepanza tra i due andamenti.

L'apparente disaccordo è anche in questo caso da imputare alla diversa procedura adottata per la stima della lunghezza media dei frammenti di *DNA* prodotti.

I risultati sperimentali, opportunamente corretti in maniera da tenere conto anche dei frammenti di *DNA* di minore estensione, risultano sufficientemente in accordo con quelli derivati dalla simulazione.

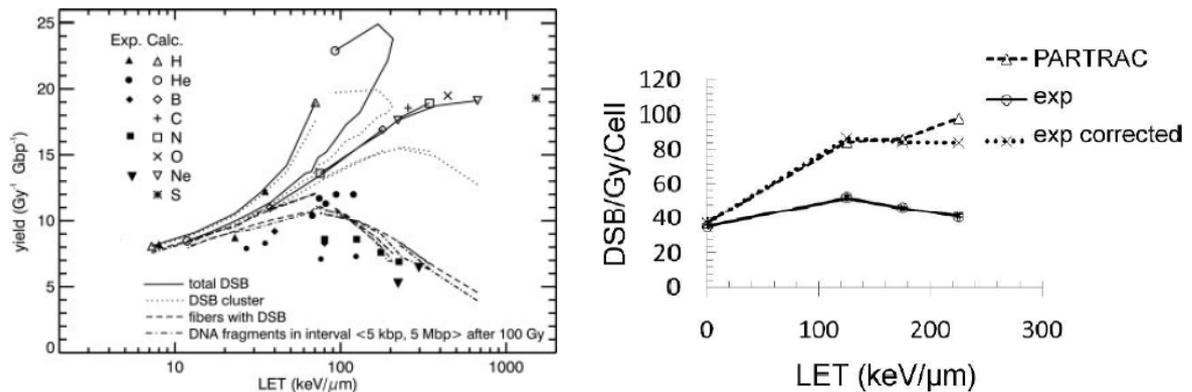


Figura 5.1: Andamenti della frequenza di induzione di DSB per unità di dose per ioni di H, He, B, C, N, O, Ne ed S realizzate con il software di simulazione PARTRAC e comparati con alcuni dati sperimentali (a) [37]. Andamento della frequenza di induzione di DSB per unità di dose realizzati con software di simulazione PARTRAC e comparati con i dati sperimentali di Hoglund et al [(b)].

In conclusione, da quanto emerge dalla combinazione di dati sperimentali e risultati delle simulazioni, la frequenza di induzione di DSB per unità di dose in seguito all'esposizione a ioni più pesanti dell'elio, aumenta linearmente con il LET_{∞} fino a circa $200 \text{ keV}/\mu\text{m}$, per poi descrivere una sorta di plateau per valori di LET_{∞} più elevati.

5.1.2 Modello nucleare e lesioni al DNA in Geant4

Le simulazioni eseguite utilizzando *Geant4-DNA Geometry*, i cui risultati verranno discussi nel prosieguo del capitolo, sono finalizzate alla determinazione del numero medio di lesioni *potenziali* per unità di percorso, indotte da ioni di diversa natura ed energia su un nucleo di fibroblasto umano.

Il termine “potenziale” indica che le lesioni al *DNA* vengono conteggiate al termine dello *stage fisico* del processo di induzione del danno, cioè prima dello *stage chimico*, durante il quale le specie radicali inducono danni *indiretti*, e dello *stage biologico*, durante il quale ha luogo il processo di riparazione del danno. Le rotture di filamento prodotte al termine delle simulazioni non rappresentano dunque la totalità delle lesioni indotte al *DNA*, né quelle che verrebbero rilevate sperimentalmente (in seguito allo stage biologico), bensì la totalità delle lesioni potenzialmente indotte attraverso i processi fisici di eccitazione e ionizzazione delle molecole costituenti la catena *zucchero-fosfato*. Rappresentano, tuttavia, una porzione altamente

significativa del danno che poi si traduce in effetti osservabili a livello della singola cellula e/o dell'intero organismo.

Nel corso del presente capitolo verrà brevemente illustrata la modellizzazione della doppia elica e l'organizzazione del filamento di *DNA* in nucleosomi, cromatina e cromosomi inclusa nell'estensione *DNA Geometry*. Verranno, poi, discussi e comparati i risultati di alcune simulazioni effettuate utilizzando ioni carbonio ed ossigeno di pari LET_{∞} , allo scopo di completare, attraverso lo studio degli effetti biologici potenzialmente indotti, la caratterizzazione della struttura di traccia iniziata nel capitolo precedente.

5.1.3 Geometria del target biologico

Ciascun nucleo cellulare è schematizzato come un ellissoide contenente $6 \cdot 10^9$ *bp* (*base pairs* o coppie di basi); le dimensioni dei semiassi, elencate di seguito, sono state ricavate da un'analisi morfologica di un campione di cellule, condotto dai radiobiologi dell'*IRSN (Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire)*:

$$a = 9,85 \mu\text{m}, b = 7,1 \mu\text{m}, c = 2,5 \mu\text{m}.$$

La struttura nucleare è articolata in cinque livelli di organizzazione del *DNA* (vedi capitolo 1):

- La doppia elica di *DNA*
- I nucleosomi
- Le fibre di cromatina
- Le anse cromatiniche
- I domini cromosomici

La doppia elica è composta da due filamenti contenenti ciascuno 200 coppie di basi.

Le basi azotate ed i gruppi zucchero-fosfato sono rappresentate da sfere adiacenti, di diametro rispettivamente pari a $0,34 \text{ nm}$ e $0,96 \text{ nm}$.

Il filamento così ottenuto ha un diametro di $2,6 \text{ nm}$ ed è utilizzato nella realizzazione della successiva struttura nucleare, il nucleosoma.

Ciascun nucleosoma è costituito da una proteina istonica, rappresentata da un cilindro di raggio pari a $3,25 \text{ nm}$ e altezza $5,7 \text{ nm}$, circondato da due avvolgimenti di *DNA*.

La singola fibra di cromatina è invece realizzata componendo 90 nucleosomi in maniera da formare una struttura a spirale di 31 nm di diametro e 161 nm di lunghezza. Essa è utilizzata per realizzare il livello superiore nell'organizzazione del *DNA*: le fibre di cromatina sono disposte in maniera da formare unità strutturali fittizie dette *diamond* e *flower*, che riproducono la densità di avvolgimento tipico delle anse cromatiniche. Tali unità vengono utilizzate, infine, per il riempimento dei 46 domini cromosomici, individuati da settori di volume proporzionale al numero di coppie di basi in esso contenute.

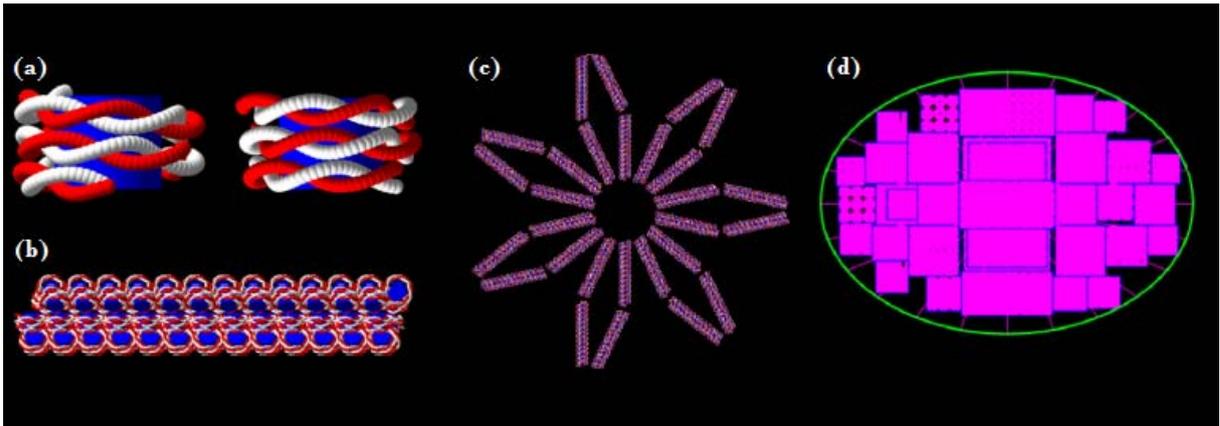


Figura 5.2: Livelli di organizzazione del DNA, nei nuclei cellulari di fibroblasti umani implementati nell'estensione DNAGeometry del toolkit Geant4. I nucleosomi sono realizzati riproducendo gli avvolgimenti di doppia elica intorno agli istoni (a), mentre le fibre di cromatina sono costituite da più nucleosomi disposti a formare una struttura a spirale (b). Le singole fibre di cromatina sono arrangiate in strutture a rombo che a loro volta formano strutture a fiore, detti flower (c). Più flower vengono inseriti all'interno di ciascun dominio cromosomico (d), fino a raggiungere il numero di coppie di basi appropriato.

5.1.4 Simulazione di irraggiamento con protoni

Una simulazione di irraggiamento con fasci di protoni, di diversa energia e LET_{∞} , del nucleo di fibroblasto umano modellizzato in DNAGeometry, è stato effettuato per la prima volta da Dos Santos et al [40]. (2013).

Nella simulazione ciascun protone è stato emesso parallelamente all'asse z del nucleo cellulare (perpendicolarmente rispetto alla direzione dell'ipotetico piano di adesione della cellula) ed in corrispondenza del suo centro. Le coordinate x ed y sono scelte, invece, utilizzando la funzione $G4Rand()$ di Geant4 in maniera da distribuire equamente le particelle incidenti su tutta la superficie nucleare.

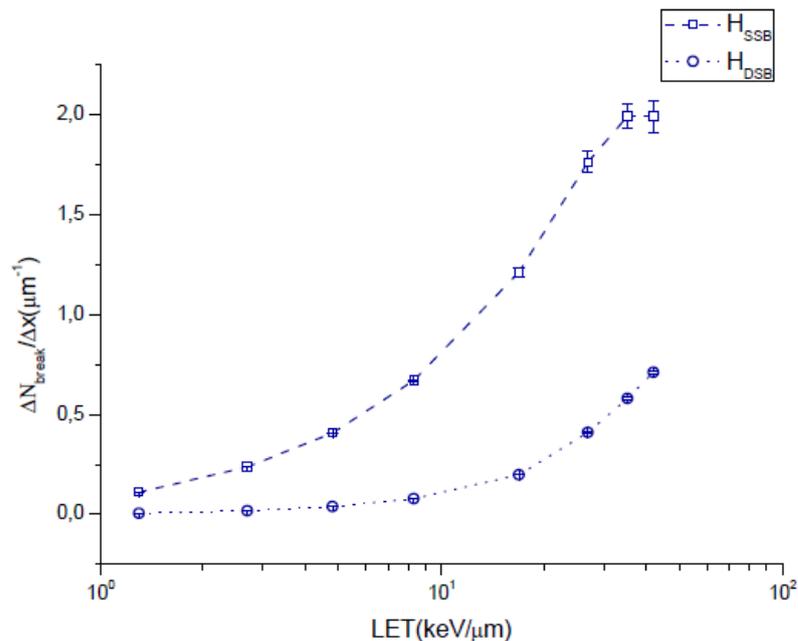


Figura 5.3: Andamento della frequenza di induzione di SSB e DSB per unità di percorso e per protone incidente, realizzato da Villagrasa et al. utilizzando l'estensione DNAGeometry di Geant4.

La produzione di elettroni secondari, in seguito all'interazione della radiazione con il target ed il successivo trasporto, sono simulate utilizzando la *PhysicsList EM DNAPhysics*.

I dati ottenuti, sono stati rielaborati attraverso un codice basato sull'algoritmo di clustering *DBSCAN*, opportunamente adattato da *Z. Francis* [41].

I risultati ottenuti da *Dos Santos et al.* in termini di rotture potenziali, singole e multiple, per unità di percorso e di particella incidente, sono riportati nel in figura 5.3.

5.1.5 Lesioni potenzialmente indotte: SSB, DSB e cluster

Utilizzando una procedura simile a quella descritta nel paragrafo precedente sono state effettuate simulazioni finalizzate al calcolo delle rotture indotte da tracce di ioni carbonio ed ossigeno di pari LET_{∞} su un nucleo di fibroblasto umano, utilizzando l'estensione *DNAGeometry* di Geant4.

Per riuscire ad analizzare i dati ottenuti dalle simulazioni attraverso un codice esterno, è stato necessario “tradurre” le definizioni di *SSB*, *DSB* e *cluster* in una serie di condizioni di carattere fisico e geometrico:

- I soli eventi di deposizione energetica, rilevanti per il processo di induzione del danno, sono quelli che hanno luogo in corrispondenza del target *zuccherofosfato*.
- Affinché un evento possa essere considerato valido, l'energia depositata nel target deve risultare non inferiore ai 8,23 eV (energia di prima eccitazione della molecola d'acqua).
- La distanza di 10 coppie di basi tra due lesioni, utilizzata comunemente nella definizione di *DSB* e *cluster*, è equivalente ad una distanza spaziale di 3,2 nm.
- Si definisce *SSB* una lesione tale che, considerata una sfera centrata nel sito di lesione e di raggio pari a 3,2 nm, al suo interno non cade alcuna lesione localizzata sul filamento opposto.
- Si definisce *DSB*, l'insieme di due lesioni singole localizzate su filamenti diversi e distanti meno di 3,2 nm.
- Si definisce *cluster* un agglomerato di più lesioni che costituiscano uno o più *DSB*, ed in cui la distanza tra ciascuna coppia di lesioni membro risulti inferiore ai 3,2 nm.

5.2 Struttura del codice e simulazioni

Allo scopo di ottenere informazioni sulla localizzazione spaziale dei singoli eventi di deposizione energetica è stata opportunamente modificata la classe *SteppingAction.cc* del codice *dnageometry* di *Geant4-DNA*, in maniera che fornisca in output due file “*sugar1.out*” e “*sugar2.out*”.

In ciascuno di essi vengono riportati le coordinate dei siti di deposizione energetica, localizzati rispettivamente sullo scheletro *zuccherofosfato* del *filamento 1* e del *filamento 2* della doppia elica di *DNA*, per ogni evento simulato.

Durante ciascun *run* vengono simulati 200 eventi. Gli ioni vengono emessi in corrispondenza del centro del nucleo cellulare, in maniera da contenere interamente le dimensioni laterali della traccia

(vedi capitolo 4) e nella direzione del semiasse minore in modo da avere una configurazione simile a quella comunemente adottata durante gli irraggiamenti di cellule in monostrato.

I dati ottenuti sono stati poi rielaborati attraverso un codice sviluppato *ad hoc* e riportato in appendice B, che consente di calcolare il numero di *SSB*, *DSB* e *cluster* potenziali, per unità di lunghezza di traccia, indotti nel target.

5.2.1 Cenni sulla struttura del codice

Come anticipato, la classe *SteppingAction.cc* è stata modificata al fine di selezionare solo gli eventi di deposizione energetica rilevanti ai fini dell'induzione del danno e trascrivere le coordinate (x, y, z) dei siti di interazione e l'*ID* dell'evento, all'interno dei file di output "sugar1.out" e "sugar2.out".

```

...
SteppingAction::SteppingAction(RunAction* run,DetectorConstruction*
det,PrimaryGeneratorAction* pri, HistoManager* his)
:Run(run),Detector(det),Primary(pri),Histo(his)
{
    sugar1_evt.open("sugar1.out");
    sugar2_evt.open("sugar2.out");
}
...
...
void SteppingAction::UserSteppingAction(const G4Step* step)
{
...
...
G4int NumberOfEvent=G4RunManager::GetRunManager()->
GetCurrentEvent()->GetEventID();

    dE=step->GetTotalEnergyDeposit()/eV;

    // eventi sul filamento 1

if (step->GetTrack()->GetDynamicParticle()->GetDefinition()->GetParticleName()==
"carbon"||
step->GetTrack()->GetDynamicParticle()->GetDefinition()->GetParticleName()==
"oxygen"||
step->GetTrack()->GetDynamicParticle()->GetDefinition()->GetParticleName()=="e-")

{if (step->GetPreStepPoint()->GetPhysicalVolume()->GetName()=="physi sugar 4")
{if (dE>8.23*eV)
{
    sugar1_evt<<step->GetPostStepPoint()->GetPosition().x()/nanometer<<
    " "<<step->GetPostStepPoint()->GetPosition().y()/nanometer<<" "<<
    step->GetPostStepPoint()->GetPosition().z()/nanometer<<" "<<NumberOfEvent<<G4endl;
    }}}

    // eventi sul filamento 2

if (step->GetTrack()->GetDynamicParticle()->GetDefinition()->GetParticleName()==
"carbon"||
step->GetTrack()->GetDynamicParticle()->GetDefinition()->GetParticleName()==
"oxygen"||
step->GetTrack()->GetDynamicParticle()->GetDefinition()->GetParticleName()=="e-")

    {if(step->GetPreStepPoint()->GetPhysicalVolume()->GetName()=="physi sugar 2")
    {if(dE>8.23*eV)

{sugar2_evt<<step->GetPostStepPoint()->GetPosition().x()/nanometer<<" "<<
step->GetPostStepPoint()->GetPosition().y()/nanometer<<" "<<

```

```

step->GetPostStepPoint()->GetPosition().z()/nanometer<<" "<< NumberOfEvent<<G4endl;
}}
...

```

La *Dynamic Particles* incluse nella simulazione sono gli ioni carbonio ed ossigeno che rappresentano la particelle primarie e gli elettroni che costituiscono, invece, la componente secondaria della radiazione.

I file di output ottenuti vengono utilizzati come file di input di un codice esterno, riportato in appendice B. Le coordinate dei siti di deposizione energetica vengono copiati all'interno di due *array* distinti a seconda del filamento di appartenenza. I valori della distanza tra tutte le possibili coppie di lesioni viene calcolata e trascritta all'interno di una matrice, rielaborando la quale è possibile risalire al numero medio di *SSB*, *DSB* e *cluster* indotti dalla radiazione.

5.2.2 Risultati delle simulazioni di alcuni danni biologicamente rilevanti di ioni pesanti

Nelle figure seguenti sono riportati il numero di rotture singole *SSB*, doppie *DSB* al *DNA* e di *cluster* per unità di percorso, indotte da ioni carbonio e ossigeno che attraversano il modello di nucleo cellulare descritto nei paragrafi precedenti, alle energie e , quindi, per i valori di LET_{∞} scelti per lo studio dei profili di dose e degli spettri di emissione di elettroni secondari.

Come si evince dall'osservazione dei grafici, per gli ioni *O* e *C* i vari andamenti rappresentati sono praticamente sovrapponibili per bassi valori di LET_{∞} , in accordo con le teorie radiobiologiche tradizionali e con i risultati discussi nel precedente capitolo, ossia con una (debole) dipendenza dal LET_{∞} della radiazione, ma sostanziale indipendenza dalla specie atomica. Si noti poi come i *SSB* siano indotti in maniera sistematicamente maggiore dei *DSB*, il che è anche in accordo con quanto atteso e riscontrato sperimentalmente in letteratura [42]: solo a LET_{∞} molto elevati, la quantità di *SSB* indotti dal carbonio diventa confrontabile con l'ammontare di *DSB* potenzialmente prodotti dall'ossigeno. In altre parole, visti anche dei risultati derivanti dalla caratterizzazione dosimetrica delle tracce discussi nel capitolo 4, per le alte energie le differenze nel pattern di deposizione energetica prodotto all'interno del nucleo cellulare da ioni di pari LET_{∞} e di diverso Z sono da considerarsi minime sia in termini dosimetrici che per quanto riguarda la densità di lesioni indotte.

Al contrario, la frequenza di induzione del danno cresce rapidamente per alti valori di LET_{∞} , e si evidenziano differenze nell'andamento di tali lesioni a seconda del tipo di ione esaminato. Specificatamente, a parità della tipologia di danno (*SSB* o *DSB*), ad elevati valori del LET_{∞} (basse energie), lo ione con maggiore Z risulta anche quello più efficace nella produzione di tali lesioni. Anche nell'induzione di *cluster*, le lesioni peculiari per eccellenza della radiazione ionizzante e particolarmente di quella ad alto LET_{∞} [43], i due ioni studiati risultano indistinguibili fino a valori del LET_{∞} elevati: dai 400 $keV/\mu m$ circa, l'ossigeno sembra essere più efficace nell'induzione di questo tipo di danno complesso.

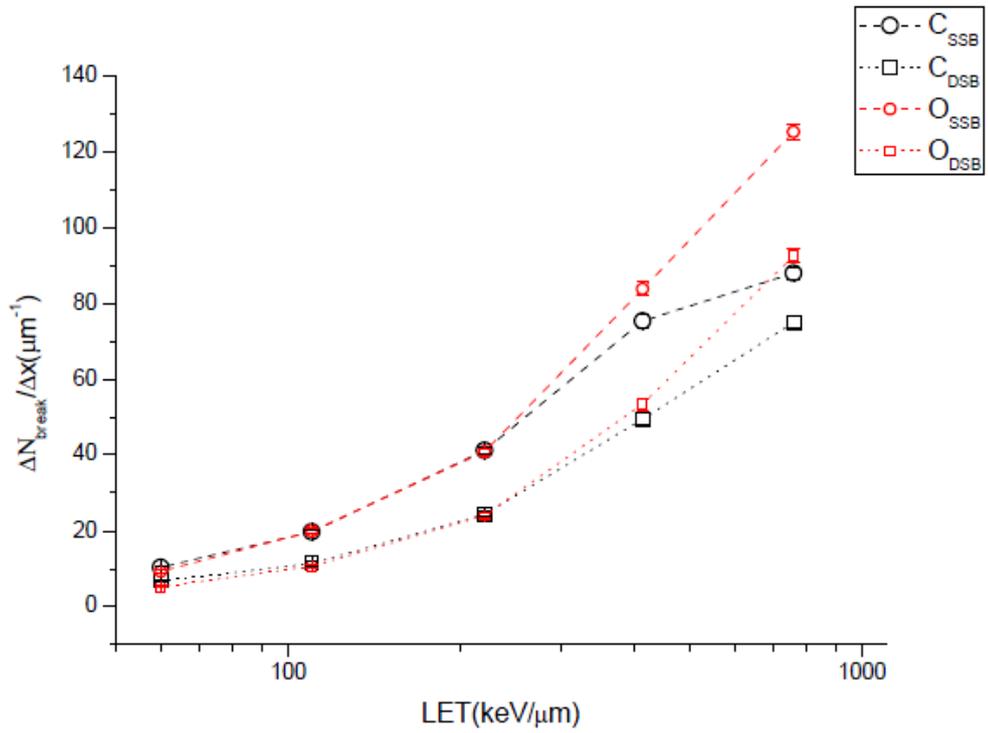


Figura 5.4: Andamento del numero di potenziali SSB e DSB per unità di percorso, indotti dalle tracce di ioni O e C di pari LET_{∞} nel modello di nucleo di fibroblasto umano presente nel codice dnageometry di Geant4-DNA

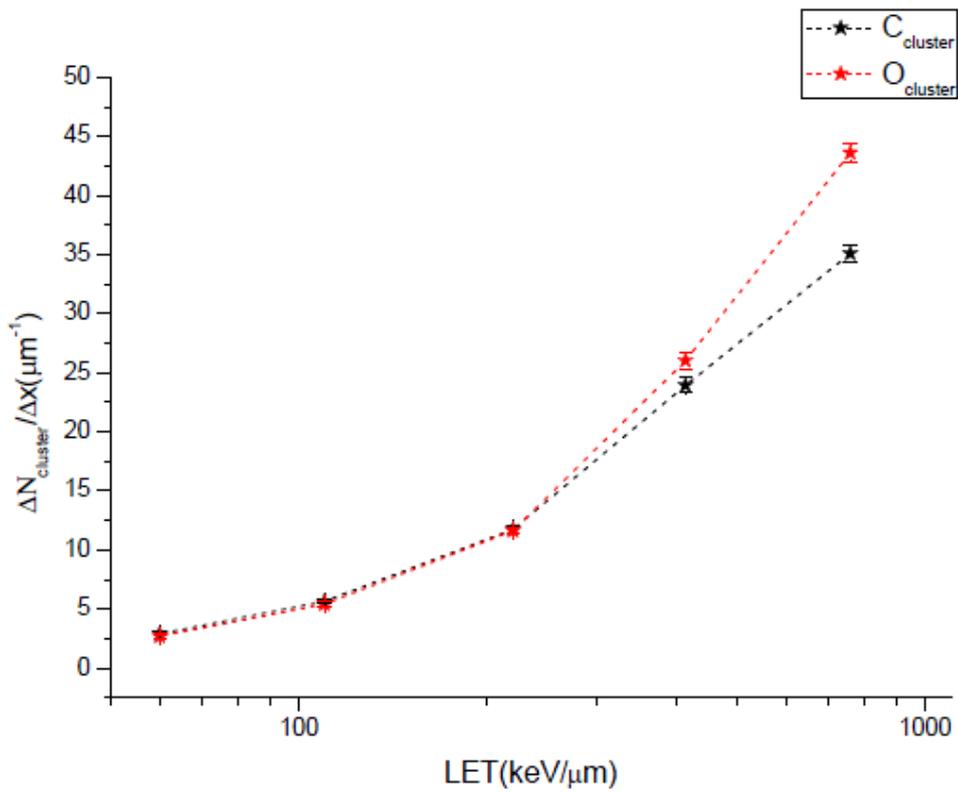


Figura 5.5: Andamento del numero di potenziali cluster per unità di percorso indotti dalle tracce di ioni O, C ed He di pari LET_{∞} nel modello di nucleo di fibroblasto umano presente nel codice dnageometry di Geant4-DNA

Il fatto che alle basse energie, lo ione ossigeno risulti essere più efficace del carbonio nell'induzione di *SSB*, *DSB* e *cluster* può essere spiegato sulla base di considerazioni sulla struttura di traccia, anche alla luce dei risultati discussi nel capitolo precedente: alle alte energie, ovvero per bassi valori di LET_{∞} , la struttura estremamente compatta e densa della traccia dello ione carbonio compensa, in termini di induzione del danno, la produzione di secondari mediamente più energetici da parte dello ione ossigeno. Gli elettroni di bassa energia hanno, infatti, una duplice caratteristica: da un lato sono più densamente ionizzanti di quelli più energetici, ma dall'altro produrranno un numero totale di ionizzazioni minore rispetto ad essi. Per alti valori di LET_{∞} , nello spettro di emissione di secondari dello ione ossigeno, il contributo degli elettroni veloci assume maggiore rilevanza, e la maggiore densità della traccia del carbonio non risulta più sufficiente a bilanciarne l'effetto, in termini di lesioni indotte al *DNA*.

5.2.3 Discussione

Il danno al *DNA* ha rivestito un ruolo centrale nei modelli degli effetti delle radiazioni per molti anni. Le interazioni della radiazione con il *DNA* sono complesse in termini della resa iniziale, varietà e distribuzione spazio-temporale delle lesioni prodotte. Queste premesse hanno portato ad un'intensa sinergia fra studi sperimentali ed approcci modellistici per migliorare la comprensione di questi effetti e di come essi portino a conseguenze rilevanti in radioprotezione e nelle applicazioni medico-diagnostiche della radiazione ionizzante. Le rotture della doppia elica del *DNA* (*double-strand breaks* o *DSB*), in particolare, sono state da sempre considerate la lesione radiobiologicamente più importanti sia nell'induzione di morte cellulare che per la formazione di aberrazioni cromosomiche, le quali, a loro volta, hanno un profondo impatto sulla stabilità del genoma e conseguente rischio di trasformazione neoplastica. La dipendenza di tali *DSB* dalla qualità della radiazione è stato per anni un argomento estremamente controverso, essenzialmente perché, mentre era noto che l'efficienza della radiazione nell'induzione della morte cellulare e delle aberrazioni cromosomiche cresceva con il *LET*, l'induzione di rotture presentava un *RBE* praticamente unitario [44]. Ciò poteva essere causato da un'indipendenza dei meccanismi che portano alla loro formazione dal pattern di deposizione energetica o da una tendenza alla sottostima della loro formazione da parte delle tecniche sperimentali impiegate per rilevarle: studi più recenti e lo sviluppo di modelli biofisici che tengono conto della struttura di traccia della radiazione hanno confermato che limitazioni tecniche (modesta sensibilità, mancanza di riproducibilità, sistematica difficoltà nella rivelazione di frammenti tipicamente maggioritari nel caso di radiazioni ad alto *LET*, etc) siano state alla base dell'apparente contraddizione di cui sopra, e che un ruolo fondamentale è rivestito dai cosiddetti *cluster* di danno [45][51]. Ovviamente, a rendere più complicato lo studio della diretta correlazione fra *DSB*, *LET* e conseguenze biologiche dell'esposizione alla radiazione è la fondamentale presenza dei meccanismi di riparo e la loro dipendenza dal *make up* genetico individuale [46].

Per questi motivi, una semplice discussione dei risultati presentati nel paragrafo precedente (figure 5.4 e 5.5) non è immediata. Un recente lavoro pubblicato da *Stewart et al.* [47], tuttavia, mostra una tendenza simile a quella riportata in questo lavoro di tesi relativamente all'incremento

delle rotture con l'aumentare dello Z_{eff}/β^2 della radiazione: gli autori hanno sviluppato un originale modello basato su simulazioni Monte-Carlo, che tiene conto anche del livello di ossigenazione e di altri parametri essenziali nello stadio chimico-fisico di induzione del danno, con cui hanno efficacemente modellato lo spettro di lesioni inducibili dalla radiazione ionizzante [48]

Nell'ambito del progetto MIMO-Bragg, finanziato dalla CSN V dell'INFN, il gruppo di Biofisica delle Radiazioni ha studiato le proprietà radiobiologiche di vari ioni accelerati (carbonio, ossigeno e neon) sia al Tandem del Dipartimento di Fisica che al Ciclotrone Superconduttore del Laboratori Nazionali del Sud di Catania (INFN-LNS): sono state studiate l'induzione di morte cellulare, di aberrazioni cromosomiche e di senescenza cellulare prematura.

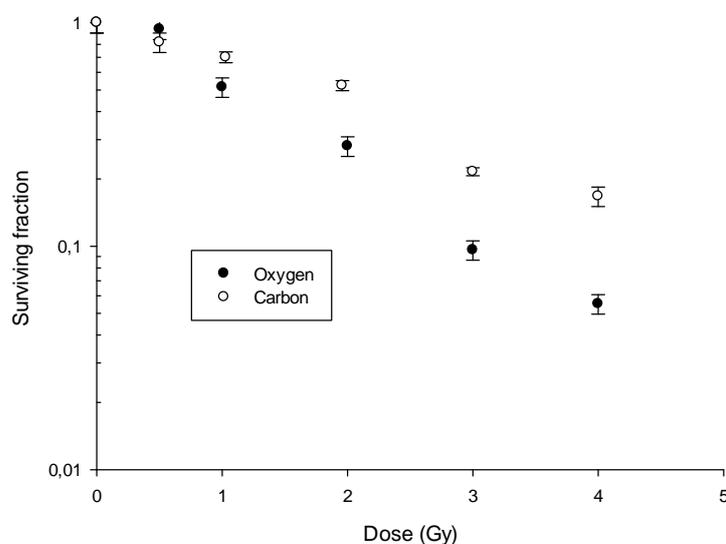


Figura 5.6: Andamento in funzione della dose della diminuzione della frazione di sopravvissuti in cellule umane normali (MCF-10) esposte a fasci di ioni ossigeno e carbonio a LET di circa $800 \text{ keV}/\mu\text{m}$.

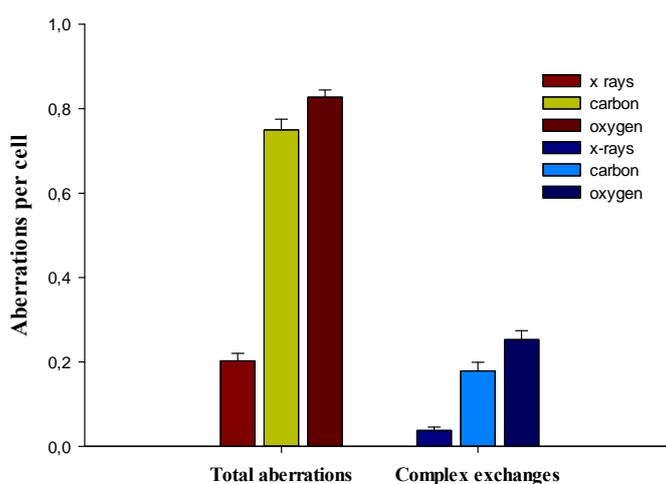
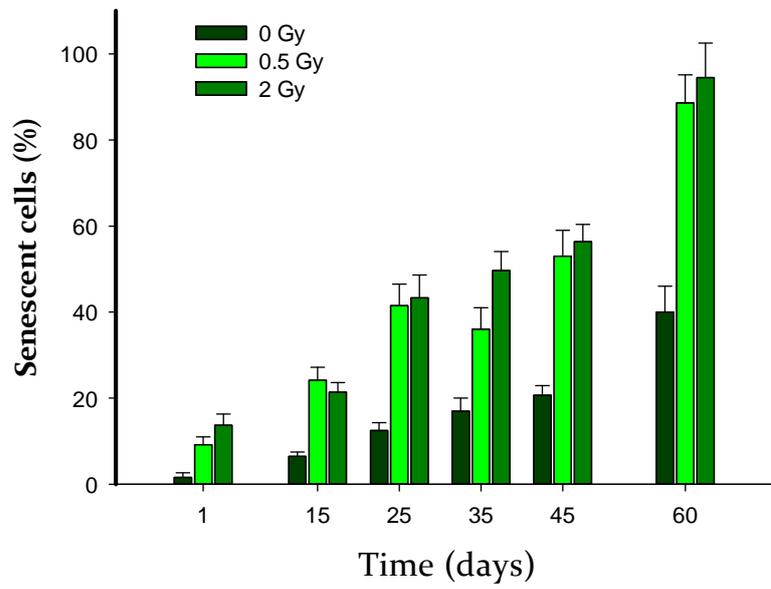


Figura 5.7: Frequenza di aberrazioni radioindotte per vari tipi di radiazione: total aberrations si riferisce a tutti i tipi di scambi cromosomici, mentre i complex exchanges sono quelli che coinvolgono almeno due cromosomi e derivano da almeno tre rotture della doppia elica del DNA. I dati si riferiscono a una dose di 2 Gy. Carbonio ed ossigeno hanno un LET di circa $800 \text{ keV}/\mu\text{m}$.

In figura 5.6, il fascio di ioni ossigeno mostra una maggiore efficacia nell'induzione di morte cellulare rispetto a quello di ioni carbonio: i fasci sono stati studiati quasi a fine range, quindi in condizioni di bassa energia, confrontabili con i punti ad alto *LET* della fig. 5.4. Assumendo che i *DSB* indotti e non riparati siano la principale causa di morte cellulare, i dati ottenuti dalle nostre simulazioni sono quindi in buon accordo qualitativo con questi dati sperimentali.

In fig. 5.7 sono riportati i dati ottenuti sempre nell'ambito del progetto MIMO Bragg per l'induzione di aberrazioni cromosomiche, sia per quanto riguarda la quantità totale di aberrazioni che per gli scambi complessi, che sono principalmente indotti da particelle ad altissimo *LET*. Si noti come: a) la quantità del danno sia sempre maggiore nel caso degli ioni rispetto ai raggi x (in contrasto con l'andamento classico *RBE-LET*); b) la quantità di aberrazioni totali e di scambi complessi sia maggiore per l'ossigeno rispetto al carbonio. I dati di fig. 5.4 e 5.5 sono in ottimo accordo con questi dati dal momento che le aberrazioni discendono da *DSB* mal riparati e che gli scambi complessi riflettono l'induzione di cluster [49]. Il fatto, tuttavia, che a parità di ione, la quantità di aberrazioni decresca lungo la curva di Bragg (dati non mostrati), contrariamente a quanto potrebbe indurre a pensare la simulazione di fig. 5.4 potrebbe riflettere il maggiore grado di complessità che il modello esposto in questa tesi dovrà implementare per tener conto di altri fattori, prettamente biologici come sopra accennato. E', infine, interessante notare come anche la maggiore efficacia da parte di ioni ossigeno rispetto a ioni carbonio di pari *LET* nel causare senescenza cellulare (fig. 5.8) sia riconciliabile qualitativamente con la crescente induzione di danno al *DNA* ottenuta dalle simulazioni del paragrafo precedente: si noti come la maggiore efficacia dello ione a *Z* più alto sia evidente fin dai primi tempi post irraggiamento e per entrambe le dosi esaminate, per poi annullarsi solo dopo oltre un mese dall'esposizione. La senescenza è un effetto che sta attirando crescente attenzione per il possibile impatto per pazienti di adroterapia [50] ed è quindi desiderabile che se ne riescano ad approfondire i meccanismi sia sperimentalmente che teoricamente.

Oxygen



Carbon

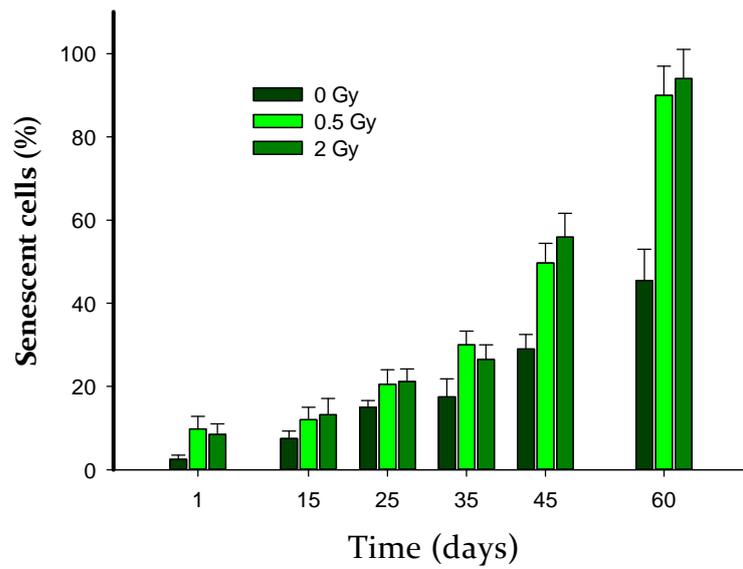


Figura 5.8: Insorgenza della senescenza cellulare prematura in cellule endoteliali HUVEC esposte a fasci di ioni ossigeno e carbonio a bassa energia

Conclusioni e sviluppi futuri

La radiobiologia delle particelle cariche, intesa sia come comprensione degli effetti biologici a lungo termine e, quindi, di rilevanza per la salute umana sia come modellizzazione delle interazioni a livello nanometrico, presenta ancora numerose incongruenze ed indeterminazioni, che riguardano da un lato la mancanza di dati sperimentali lungo la curva di Bragg a vari Z e dall'altro l'individuazione di parametri fisici cui relazionare tali dati.

L'incompletezza dei modelli biofisici tradizionali, basati principalmente sul dogma della centralità del danno al *DNA* quale principale responsabile delle conseguenze biologiche e su una non meglio specificata dipendenza dalla maggiore "complessità" delle lesioni radioindotte da parte di particelle cariche rispetto ai fotoni, si manifesta soprattutto nella loro inadeguatezza a predire con accuratezza l'efficacia biologica della radiazione particolare. Ciò si riflette in maniera preoccupante campi quali l'adroterapia e la radioprotezione.

Il principale motivo di tale inadeguatezza risiede nel fatto che le grandezze biofisiche "classiche" (dose, *LET* e *RBE*) non sono sufficientemente accurate dal momento che non tengono conto dell'intima correlazione esistente tra struttura di traccia della radiazione e danno radioindotto. In particolare, nonostante notevoli progressi siano stati compiuti sul piano della modellizzazione, manca ancora una soddisfacente descrizione degli stadi fisico-chimici iniziati dagli eventi di deposizione energetica e di come questi si traducano in effetti osservabili al livello della singola cellula. Pertanto, lo scopo di questo lavoro di tesi è consistito nello studiare degli approcci basati su metodi di simulazione Monte Carlo per migliorare la comprensione dei meccanismi che presiedono all'induzione del danno biologico e metterli in relazione con recenti risultati sperimentali, che appaiono in controtendenza con quanto tradizionalmente riscontrato per l'efficacia biologica della radiazione ad alto *LET*. A tale scopo, sono stati utilizzati il toolkit Geant4 e le sue estensioni recentemente sviluppate per applicazioni radiobiologiche (*Geant4-DNA* e *DNA-Geometry*). In primo luogo, sono state indagate le differenze, in termini dosimetrici delle tracce generate in acqua liquida da ioni di pari *LET*, che secondo la teoria radiobiologica tradizionale dovrebbero comportare il medesimo effetto biologico: è stato effettuato uno studio delle caratteristiche di deposizione energetica degli ioni, in particolare di O^{+8} e C^{+6} , allo scopo di valutarne e confrontarne la struttura di traccia in termini del profilo di dose e di estensione radiale. Dalle simulazioni effettuate è emerso che ioni di Z diverso, per bassi valori di *LET*, presentano profili di deposizione energetica piuttosto simili, in accordo con le teorie radiobiologiche tradizionali che prevedono una sostanziale indipendenza dell'*RBE* della radiazione dal numero atomico dello ione. Al contrario, per alti valori di *LET* si riscontrano andamenti del profilo radiale di dose molto differenti tra loro: minore è lo Z , più densa e collimata si presenta la traccia

generata dallo ione. Ioni di Z più elevato sono, viceversa, caratterizzati da una traccia più sparsa ed estesa. Il motivo di tale discrepanza verosimilmente risiede nella diversa struttura dello spettro energetico degli elettroni secondari prodotti a seguito dall'interazione degli ioni con le molecole del mezzo. Dalle simulazioni effettuate emerge, infatti, che per alti valori di LET lo spettro generato dallo ione O^{+8} presenta una coda molto più estesa alle alte energie rispetto allo ione C^{+6} : ciò giustifica la maggior estensione laterale della sua traccia e la più sparsa modalità di deposizione di energia.

Le differenze riscontrate nella struttura di traccia e nell'andamento della dose radiale assorbita in acqua liquida suggeriscono, inoltre, una diversa distribuzione spaziale degli eventi di induzione del danno al *DNA*, qualora il *target* considerato fosse il nucleo cellulare. Come sopra accennato, è noto che la quantità e la qualità di lesioni indotte al *DNA* dipendono fortemente dalla specifica distribuzione spaziale e temporale degli eventi di eccitazione e ionizzazione prodotte nelle molecole costituenti la doppia elica. Allo scopo di verificare tale ipotesi, e al contempo approfondire i legami tra le caratteristiche fisiche della radiazione e l'entità del danno radiobiologico potenzialmente indotto, è stato quindi utilizzato il modello di nucleo cellulare umano presente nell'estensione *DNA-Geometry* di Geant4 per simulare l'induzione di rotture di singola elica *SSB*, doppia elica *DSB* e *cluster* a carico del *DNA*, in seguito all'esposizione a ioni di O^{+8} e C^{+6} di pari LET . L'analisi dei dati ottenuti ha evidenziato una frequenza di induzione di danno praticamente identica per i due ioni, per tutti i tipi di lesione considerati, fino a circa $400 \text{ keV}/\mu\text{m}$, ma una maggiore efficacia dello ione ossigeno rispetto al carbonio per valori di LET più elevati. Tale andamento, oltre ad essere consistente con i risultati derivanti dalla suddetta caratterizzazione dosimetrica delle tracce dei vari ioni, è qualitativamente in accordo con alcuni recenti risultati sperimentali, tra cui quelli ottenuti molto recentemente dal gruppo di Biofisica delle Radiazioni nell'ambito del progetto INFN MIMO-Bragg. Tali dati mostrano, per valori di LET prossimi a $800 \text{ keV}/\mu\text{m}$, che i fasci di ioni ossigeno risultano, infatti, più efficaci rispetto ai fasci di ioni carbonio, nell'induzione di vari effetti biologici quali la morte cellulare, l'induzione di aberrazioni cromosomiche e l'insorgenza di senescenza prematura.

In conclusione, le simulazioni svolte nel corso del presente lavoro di tesi mostrano che il LET da solo non è un parametro biofisico sufficientemente accurato e sono in accordo con dati sperimentali secondo i quali il danno radioindotto dipende dallo Z , ossia dalla specie dello ione considerato, almeno alle basse energie. Dati sperimentali sempre ottenuti nell'ambito di MIMO-Bragg con un terzo ione (^{20}Ne) a LET comparabili con quelli degli ioni simulati in questo lavoro sono disponibili per i succitati *endpoint* radiobiologici. Sarebbe, dunque, utile poter estendere le simulazioni a ioni più pesanti. Data la cruciale dipendenza della fissazione del danno radioindotto dalla produzione e ricombinazione delle specie radicali specie altamente reattive derivanti dalla radiolisi dell'acqua sarebbe, inoltre, molto interessante approfondire lo studio dei meccanismi che regolano l'induzione del danno biologico in seguito all'esposizione a ioni di alto LET , includendo nelle simulazioni dell'induzione di *SSB*, *DSB* e *cluster* anche la sequenza spazio-temporale di tali processi chimico-fisici, infatti, la loro implementazione è a breve prevista nell'estensione *Geant4-DNA*.

Appendice A

Nelle tabelle seguenti sono riportati i valori dei parametri stimati attraverso i fit eseguiti sui profili radiali di dose riportati in figura 4.5.

LET₀ = 760 keV/μm

ione	p ₀	σ	p ₁	σ	p ₂	σ	p ₃	σ
Ne	1940	30	0.094	0.001	3.98	0.02	-0.0068	3E-04
F	2200	120	0.072	0.003	3.63	0.08	-0.064	0.007
O	2420	70	0.073	0.002	4.59	0.08	-0.049	0.006
C	0.4	0.13	-0.6	0.2	30	10	-1	0.3

LET₀ = 415 keV/μm

ione	p ₀	σ	p ₁	σ	p ₂	σ	p ₃	σ
Ne	840	12	0.105	0.001	3.64	0.01	-5E-04	1E-05
F	45000	2000	0.0533	7E-04	4.2	0.02	-2E-04	1E-05
O	960	12	0.1013	9E-04	3.9	0.01	-6E-04	2E-05
C	1240	60	0.071	0.003	3.86	0.08	-0.026	0.003

LET₀ = 110 keV/μm

ione	p ₀	σ	p ₁	σ	p ₂	σ	p ₃	σ
Ne	170	2	0.1195	9E-04	3.398	0.008	-6E-06	2E-07
F	181	6	0.097	0.002	3.153	0.014	-4E-05	1E-06
O	200	10	0.084	0.002	3.054	0.016	-1E-04	5E-06
C	206	4	0.103	0.001	3.47	0.013	-6E-05	2E-06
He	0.13	0.04	-0.4	0.12	12	3	-0.39	0.12

LET₀ = 60 keV/μm

ione	p ₀	σ	p ₁	σ	p ₂	σ	p ₃	σ
Ne	130	40	0.405	0.005	0.03	0.005	-2E-08	3E-08
F	140	50	0.396	0.006	0.03	0.005	-1.4E-06	2E-07
O	176	3	0.469	0.007	0.02	3.5E-04	-4E-06	1E-06
C	160	60	0.602	0.009	0.03	0.005	-7E-06	2E-06
He	110	14	19.0	0.2	412	3750	3E-05	5E-05
H	0.02	0.005	-0.04	0.01	3.1	0.7	-0.10	0.02

Appendice B

```
/*Calcolo roture*/

#include<stdlib.h>
#include<stdio.h>
#include <math.h>
#include <iostream>
#include<fstream>
#include<cstdlib>
using namespace std;

/* funzione che scambia tra loro due righe di una matrice */

void swap_rows(double **d, int row1, int row2, int col)
{
    int i;
    for(i=0; i<col; i++)
    {
        double temp=d[row1][i];
        d[row1][i]=d[row2][i];
        d[row2][i]=temp;
    }
}

/* funziona che calcola il rango di una matrice */

int rank(double **d, int N,int M)
{
    int r, c,i, rango;
    rango=0;

    if(M==1)
    {for(r=0; r<N; r++)
    {rango+=d[r][1];}
    }

    if(rango!=0)
    {rango=1;}

else{
    for(r=0;r<M; r++)
    {
        if(d[r][r])
        {for(c=0;c<N; c++)
        if(c!=r)
        {
            double ratio=d[c][r]/d[r][r];
            for(i=0;i<M;i++)
            d[c][i]-=ratio*d[r][i];
        }
        }
        else
        {for(c=r+1;c<N;c++)
        if(d[c][r])
        {swap_rows(d,r,c,M);
        break;}

            if(c==N)
            {--M;
            for(c=0;c<N;c++)
            d[c][r]=d[c][M];
            }
            --r;
        }
    }
}
rango=M;
cout<<rango<<endl;
}
```

```

/* funzione che calcola la matrice delle distanze */
double **distance_matrix(double **a, double **b, double **d, int N, int M)
{
    int s,k;

    for(k=0; k<=N-1; k++)
        {for(s=0; s<=M-1; s++)
            { d[k][s]= sqrt((a[k][1]- b[s][1])*(a[k][1]- b[s][1])+(a[k][2]-
b[s][2])*(a[k][2]- b[s][2])+(a[k][3]- b[s][3])*(a[k][3]- b[s][3]));
                // cout<<d[k][s]<<" ";
            }
            // cout<<"\n";
        }
    return d;
}

/*funzione che trasforma la matrice delle distanze */
double **transform(double **d, int N, int M)
{
    int s,k;

    for(k=0; k<=N-1; k++)
        {for(s=0; s<=M-1; s++)
            { if(d[k][s]<=3.2)
                {d[k][s]=1;}
                else if(d[k][s]>3.2)
                {d[k][s]=0;}
                // cout<<d[k][s]<<" ";
            }
            // cout<<"\n";
        }
    return d;
}

/* funzione che conteggia il numero di SSB e DSB per evento */
double analyse(double **d, int N, int M, int n_SSB, int n_DSB)
{
    int s,k;
    int DSB1, DSB2;

    double *SUM_righe;
    SUM_righe=(double*)malloc(N*sizeof(double));

    double *SUM_colonne;
    SUM_colonne=(double*)malloc(M*sizeof(double));

    for(k=0; k<=N-1; k++)
        {for(s=0; s<=M-1; s++)
            { if(d[k][s]<=3.2)
                {d[k][s]=1;}
                else if(d[k][s]>3.2)
                {d[k][s]=0;}
                // cout<<d[k][s]<<" ";
            }
            // cout<<"\n";
        }

    for(k=0; k<=N-1; k++)
        {for(s=0; s<=M-1; s++)
            { SUM_righe[k]+=d[k][s];
                SUM_colonne[s]+=d[k][s];
            }
        }

    for(k=0; k<=N-1; k++)
        {
            if (SUM_righe[k]==0)
                {n_SSB+=1;}
            else if(SUM_righe[k]>0)
                {n_DSB+=1;}
        }
}

```

```

    }
    DSB1= N-n_SSB;

for(s=0; s<=M-1; s++)
    {if (SUM_colonne[s]==0)
        {n_SSB+=1;}
    }

DSB2= M-n_SSB-DSB1+N;

cout<<n_SSB<<endl;

if(DSB1<=DSB2)
    {cout<<DSB1<<endl;}
else if(DSB1>DSB2)
    {cout<<DSB2<<endl;}

free(SUM_righe);
free(SUM_colonne);
SUM_righe=NULL;
SUM_colonne=NULL;
return n_SSB;
return n_DSB;
}

int main() {

    int i;
    int k;
    int s;
    FILE *fd1;
    FILE *fd2;

    //***** NUMERO EVENTI *****//
    int n_evt=200;

    double vett[n_evt];
    int dimensioni[n_evt][2];

    for(i=0; i<n_evt; i++)
        {vett[i]=i;}

    //apre il file
    fd1=fopen("sugar1.out", "r");
    fd2=fopen("sugar2.out", "r");

    //*****//
    //calcolo il numero di righe dei file di input

    int n=0;
    int m=0;

    char numeri[100];
    char numeri2[100];
    ifstream file2;
    ifstream file;

    file.open("sugar1.out");
    if (!file){
        cerr<<"file non trovato\n";
        system ("pause");
        return -1;
    }
    while(!file.eof()){
        file.getline(numeri,100);
        file>>numeri;
        n=n+1;
    }

    file2.close();

```

```

file2.open("sugar2.out");
if (!file2){
    cerr<<"file non trovato\n";
    system ("pause");
    return -1;
}
while(!file2.eof()){
    file2.getline(neri2,100);
    file2>>neri2;
    m=m+1;
}

file2.close();

//*****//

double **A;
A=(double**)malloc(n*sizeof(double*));
for(i=0; i<n; i++)
{A[i]=(double*)malloc(4*sizeof(double));}

double **B;
B=(double**)malloc(m*sizeof(double*));
for(i=0; i<m; i++)
{B[i]=(double*)malloc(4*sizeof(double));}

int evt;

/* copio il contenuto dei file di input all'interno di due array */

for(k=0; k<=n-1; k++)
{fscanf(fd1, "%lf %lf %lf %lf", &A[k][1], &A[k][2], &A[k][3],&A[k][4]);
//cout<< A[k][1]<<" "<<A[k][2]<<" "<< A[k][3]<<" "<< A[k][4]<<endl;
}

//dimensioni eventi

for(k=0; k<=n-1; k++)
{
    for(i=0;i<n_evt;i++)
        if(A[k][4]==vett[i])
            {dimensioni[i][1]+=1;}
}

for(s=0; s<=m-1; s++)
{fscanf(fd2, "%lf %lf %lf %lf", &B[s][1], &B[s][2], &B[s][3],&B[s][4]);
//cout<< B[s][1]<<" "<<B[s][2]<<" "<< B[s][3]<<B[s][4]<<endl;
}

//dimensioni eventi

for(s=0; s<=m-1; s++)
{for(i=0;i<n_evt;i++)
    if(B[s][4]==vett[i])
        {dimensioni[i][2]+=1;}}
fclose(fd1);
fclose(fd2);

int n_step=1;
int m_step=1;

for(i=0;i<n_evt;i++)
{
    int N, M;
    int j,q;

    N=dimensioni[i][1];
    M=dimensioni[i][2];

    double **a;
    double **b;
    double **d;
    double **d_tras;

```

```

a=(double**)malloc(1000*sizeof(double*));
for(j=0; j<=N-1; j++)
{a[j]=(double*)malloc(4*sizeof(double));}

b=(double**)malloc(1000*sizeof(double*));
for(j=0; j<=M-1; j++)
{b[j]=(double*)malloc(4*sizeof(double));}

d=(double**)malloc(N*sizeof(double*));
for(j=0; j<=N-1; j++)
{d[j]=(double*)malloc(M*sizeof(double));}

d_tras=(double**)malloc(M*sizeof(double*));
for(j=0; j<=M-1; j++)
{d_tras[j]=(double*)malloc(N*sizeof(double));}

for(q=0;q<=N-1; q++)
{
a[q][1]=A[n_step+q-1][1];
a[q][2]=A[n_step+q-1][2];
a[q][3]=A[n_step+q-1][3];
}

for(q=0;q<=M-1; q++)
{
b[q][1]=B[m_step+q-1][1];
b[q][2]=B[m_step+q-1][2];
b[q][3]=B[m_step+q-1][3];
}

n_step=n_step+N;
m_step=m_step+M;

//calcolo numero di cluster

if(M<=N)
{distance_matrix(a,b,d,N,M);
transform(d,N,M);
rank(d,N,M);}

else if (M>N)
{distance_matrix(b,a,d_tras,M,N);
transform(d_tras,M,N);
rank(d_tras,M,N);}

// calcolo roture singole e doppie

distance_matrix(a,b,d,N,M);
analyse(d,N,M,n_SSB,n_DSB);

// libero la memoria

free(a);
free(b);
free(d);
free(d_tras);
a=NULL;
b=NULL;
d=NULL;
d_tras=NULL;

}

free(A);
free(B);
A=NULL;
B=NULL;
return 0;
}

```

Bibliografia

- [1] F.H. ATTIX, *Introduction to Radiobiological Physics and Radiation Dosimetry* (1986).
- [2] E.J.HALL, *Radiobiology for the Radiologist* (1993).
- [3] U. AMALDI, G. KRAFT, *Radiotherapy with Beams of Carbon Ions*, Report on progress in Physics, Vol. 68,pp 1861-1882 (2005).
- [4] INTERNATIONAL COMMITTEE OF RADIATION UNITS AND MEASUREMENT: *Linear Energy Transfer*, ICRU report 16 (1970).
- [5] JURGEN KIEFER, *Biological radiation effects* (1990)
- [6] CLAUD GRUPEL, *Physics of particle detection*
- [7] PARTICLE DATA GROUP, *Passage of Particles through matter*. (2006)
- [8] S.INCERTI, A. IVANCHENKO, M. KARAMITROS, A. MANTERO, P. MORETTO, H. N. TRAN, B. MASCIALINO, C. CHAMPION, V. N. IVANCHENKO, M. A. BERNAL, Z. FRANCIS, C.VILLAGRASA, G. BALDACCHINO, P.GUEYE, R. CAPRA, P. NIEMINEN, C. ZACHARATOU, *Comparison of GEANT4 very low energy cross section models with experimental data in water*, Medical Physics 37, 4692 (2010).
- [9] GEANT4 COLLABORATION, *Physics Reference Manual*.
- [10] Z. FRANCIS, S. INCERTI, V. IVANCHENKO, C. CHAMPION, M. KARAMITROS, M. A. BERNAL, Z. EL BITAR, *Monte Carlo simulation of energy-deposit clustering for ions of the same LET in liquid water*, Phys.Med.Biol.57(2012) 209-224.
- [11] Z.FRANCIS, S. INCERTI, M.KARAMITROS, H.N.TRAN, C. VILLAGRASA, *Stopping power and ranges of electrons, protons and alpha particles in liquid water using the Geant4-DNA package*, NIMB B 269 (2011) 2307-2311.
- [12] C. VILLAGRASA, Z.FRANCIS, S.INCERTI, *Physical models implemented in the Geant4-DNA Extension of the Geant4 toolkit for calculating initial radiation damage at molecular level*. Radiation Protection Dosimetry (2010) pp 1-5.
- [13] Z.FRANCIS, *Simulations Monte-Carlo et étude microdosimétrique pour des irradiations cellulaires à faibles doses en neutrons de 14 MeV*, tesi di dottorato.

- [14] S. GUALATELLI, B. MASCIALINO, A. PFEIFFER, M. G. PIA, A. RIBON, P. VIARENGO, *Application of statistical methods for the comparison of data distributions*, IEE Nuclear Science Symposium 2006, San Diego, CA.
- [15] HELLER, HAMM, BIRKHOFF, PAINTER: *Collective oscillation in liquid water*, J. Chem. Phys. 60, 3483-3486, (1974).
- [16] H.G. PARETZKE, *Simulation von Elektronenspuren im Energiebereich 0.01-10 KeV in wasserdampf*. GSF-Bericht 24/88. GSF Neuherberg (1988).
- [17] D. EMFIETZOGLU, *Inelastic cross-sections for electron transport in liquid water: A comparison of dielectric models*. Rad. Phys. Chem. 66, 373-385 (2003).
- [18] M.E.RUDD, *User-Friendly model for the energy distribution of electrons from protons or electron collisions*. Nucl. Tracks Radiat. Meas. Vol 16 No 2/3 pp 219-218. (1988).
- [19] J.H. MILLER, A.E.S. GREEN, *Proton energy degradation in water vapor*. Radiat. Res. 54, 343-363, (1973).
- [20] M. DINGFELDER, M. INOKUTI, H.G. PARETZKE, *Inelastic-collision cross section of liquid water for interactions of energetic protons*. Rad Phys and Chem 59, 255-275, (2000).
- [21] A. CHATTERJEE, H. J. SCHAEFER, *Microdosimetric structure of heavy ions tracks in tissue*. Rad. End Environm. Biophys. 13, 215-227, (1976).
- [22] J. FAIN, M. MONNIN, M. MONTRET, *Spatial Energy Distribution around Heavy-Ion Path*, Radiation Research, Vol. 57, pp. 379-389 (1974).
- [23] M.P.R. WALIGORSKY, R.N. HAMM, R. KATZ: *The radial distribution of dose around the path of heavy ion in liquid water*. Robert Katz Publications, paper 100, (1986).
- [24] GOODHEAD D.T., *Initial Events in the Cellular Effects of Ionizing Radiations: Clustered Damage in DNA*, Int. J. Radiat. Biol. 65 (1994) 7-17.
- [25] DESAI N., DAVIS E., O'NEILL P., DURANTE M., CUCINOTTA F.A., Wu H., *Immunofluorescence Detection of Clustered γ -H2AX Foci Induced by HZE-Particle Radiation*, Radiat. Res. 164 (2005) 518-522.
- [26] NIKJOO H., UEHARA S, WILSON WE, HOSHI M, GOODHEAD DT, *Track structure in radiation biology: theory and applications*, Int. J. Radiat. Biol. 73 (1998) 355-364

- [27] CUCINOTTA FA, WILSON JW, SHAVERS M.R., KATZ R., *Effects of track structure and cell inactivation on the calculation of heavy ion mutation rates in mammalian cells*, Int. J. Radiat. Biol. 69 (1996) 593-600.
- [28] ALLONI D, CAMPA A, FRIEDLAND W, MARIOTTI L, OTTOLENGHI A, *Track structure, radiation quality and initial radiobiological events: considerations based on the PARTRAC code experience*, Int J Radiat Biol. 2012 Jan;88(1-2):77-86.
- [29] HILL MA, *Radiation damage to DNA: the importance of track structure*, Radiat Meas. 1999 Jun;31(1-6):15-23
- [30] GEORGAKILAS AG, O'NEILL P, STEWART RD, *Induction and repair of clustered DNA lesions: What do we know so far?*, Radiat Res. 2013 Jul;180(1):100-9.
- [31] RYDBERG B, LOBRICH M, COOPER PK, *Repair of clustered DNA damage caused by high LET radiation in human fibroblasts*, Phys Med. 1998 Jul;14 Suppl 1:24-8.
- [32] GEORGE KA, HADA M, CHAPPELL L, CUCINOTTA FA, *Biological effectiveness of accelerated particles for the induction of chromosome damage: track structure effects*, Radiat Res. 2013 Jul;180(1):25-33
- [33] KATZ R, CUCINOTTA FA, *Tracks to therapy*. Radiat Meas. 1999 Jun;31(1-6):379-88.
- [34] WARD JF, *The yield of DNA double-strand breaks produced intracellularly by ionizing radiation: a review*. Int. J. Radiat. Biol. 57: 1141–1150 (1990).
- [35] ILIAKIS, G., *The role of DNA double strand breaks in ionizing radiation-induced killing of eukaryotic cells*. Bioessays. 13: 641–648 (1991).
- [36] ROTHKAMM K, LÖBRICH M, *Misrepair of radiation-induced DNA double-strand breaks and its relevance for tumorigenesis and cancer treatment (review)*, Int.J.Oncol. 2002 Aug; 21(2):433-40.
- [37] WERNER FRIEDLAND, PETER JACOB, HERWIG G. PARETZKE, ANDREA OTTOLENGHI, FRANCESCA BALLARINI AND MARCO LIOTTA, *Simulation of light ion induced DNA damage patterns*, Radiation Protection Dosimetry Advance Access published December 13, 2006.
- [38] D. ALLONI, A. CAMPA, W. FRIEDLAND, L. MARIOTTI AND A. OTTOLENGHI, *Integration of Monte Carlo Simulations with PFGE Experimental Data Yields Constant RBE of 2.3 for DNA Double-Strand Break Induction by Nitrogen Ions between 125 and 225 keV/lm LET*, Radiation Research 179, 690–697 (2013).
- [39] HO^oGLUND ET AL., Radiat Res 155,818–825, 2001 and Int J Radiat Biol 76, 539–547, 2000.
- [40] M. DOS SANTOS, C. VILLAGRASA, I. CLARINAND, S. INCERTI, *Influence of the DNA density on the number of clistere damages created by protons of different energies*, NIMB B 298 (2013) 47-54.

- [41] Z. FRANCIS, C. VILLAGRASA, I. CLAIRAND, *Simulation of DNA damage clustering after proton irradiation using an adapted DBSCAN algorithm*, Computer methods and programs in biomedicine 101 (2011) 265–270.
- [42] ROOTS R, HOLLEY W, CHATTERJEE A, RACHAL E, KRAFT G, *The influence of radiation quality on the formation of DNA breaks*, Adv Space Res. 1989;9(10):45-55.
- [43] NAOYA SHIKAZONO, MIHO NOGUCHI, KENTARO FUJII, AYUMI URUSHIBARA AND AKINARI YOKOYA, *The Yield, Processing, and Biological Consequences of Clustered DNA Damage Induced by Ionizing Radiation*, J. Radiat. Res., 50, 27–36 (2009).
- [44] TAUCHER-SCHOLZ G, HEILMANN J, KRAFT G, *Induction and rejoining of DNA double-strand breaks in CHO cells after heavy ion irradiation*, Adv Space Res 1996;18: 83–92.
- [45] H. NIKJOO, P. O'NEILL, M. TERRISSOL AND D. T. GOODHEAD, *Quantitative modelling of DNA damage using Monte Carlo track structure method*, Radiat. Environ. Biophys. 38, 31–38 (1999).
- [46] OKAYASU R., *Repair of DNA damage induced by accelerated heavy ions--a mini review*. Int J Cancer. 2012 Mar 1;130(5):991-1000 2011 Oct 23.
- [47] ROBERT D. STEWART, VICTOR K. YU, ALEXANDROS G. GEORGAKILAS, CONSTANTINOS KOUMENIS, JOO HAN PARK AND DAVID J. CARLSON, *Effects of Radiation Quality and Oxygen on Clustered DNA Lesions and Cell Death*, Radiation Research 176, 587–602 (2011).
- [48] SEMENENKO VA, STEWART RD, *Fast Monte Carlo simulation of DNA damage formed by electrons and light ions*, Phys Med Biol 2006; 51:1693–706.
- [49] GEORGE K, DURANTE M, WILLINGHAM V, WU H, YANG TC, CUCINOTTA FA, *Biological effectiveness of accelerated particles for the induction of chromosome damage measured in metaphase and interphase human lymphocytes*, Radiat Res. 2003 Oct;160(4):425-35.
- [50] M. SUZUKI AND D.A. BOOTHMAN, *Stress-induced premature senescence (SIPS)-Influence of SIPS on radiotherapy*, J. Radiat Res., 49, 105-112, (2008).
- [51] K. M. PRISE, M. PINTO, H. C. NEWMAN AND B. D. MICHAEL, *A Review of Studies of Ionizing Radiation-Induced Double-Strand Break Clustering*, radiation research 156, 572–576 (2001).
- [52] A. HAUPTNER, W. FRIEDLAND, S. DIETZEL, G.A. DREXLER, C. GREUBEL, V. HABLE, H. STRICKFADEN, T. CREMER, A.A. FRIEDL, R. KRÜCKEN, H.G. PARETZKE AND G. DOLLINGER, *Spatial Distribution of DNA Double-Strand Breaks from Ion Tracks Ion Beam Science: Solved and Unsolved Problems*, Matematiskfysiske Meddelelser 52, Royal Danish Academy of Sciences and Letters, Copenhagen (2006) p. 59-85.

Ringraziamenti

Ringrazio i miei relatori, il Dott. Lorenzo Manti e la Dott. Gianfranca De Rosa per il tempo e l'attenzione che mi hanno dedicato. Lo spazio e la libertà concessimi mi hanno permesso di sviluppare autonomia di pensiero e di migliorare la mia capacità di critica.

Ringrazio poi il Dott. Francesco Romano dei LNS per la disponibilità dimostrata, l'aiuto materiale ed i preziosi suggerimenti, e la Dott. Adele Lauria per le critiche costruttive e le utili indicazioni.

Ringrazio i miei genitori per il sostegno morale ed economico di questi anni.

Ringrazio Michele per tutta la pazienza, l'amore ed il sostegno che è riuscito a darmi in particolar modo in questi ultimi mesi. So di essere una gran rompiscatole, grazie per avermi sopportato!

Infine ringrazio Vincenzo per il supporto tecnico e per avermi dato utilissime indicazioni su come programmare, Nello, Fabrizia e Nunzia per le varie "consulenze", ed in generale tutti i colleghi e gli amici con cui ho condiviso il percorso di questi anni.

Grazie a tutti!