

# **RADIOBIOLOGIA (AA 2010-2011)**

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CAGLIARI  
Facoltà di Medicina e Chirurgia  
SCUOLA DI SPECIALIZZAZIONE IN FISICA MEDICA**

***Prof. Mauro Belli***

***mauro.belli@iss.it   mauro.belli@iss.infn.it***

***mau.belli1@gmail.com***

**Parte 12.  
Modelli dell'azione biologica delle radiazioni  
ionizzanti**

# Modelli dell'azione biologica delle radiazioni ionizzanti

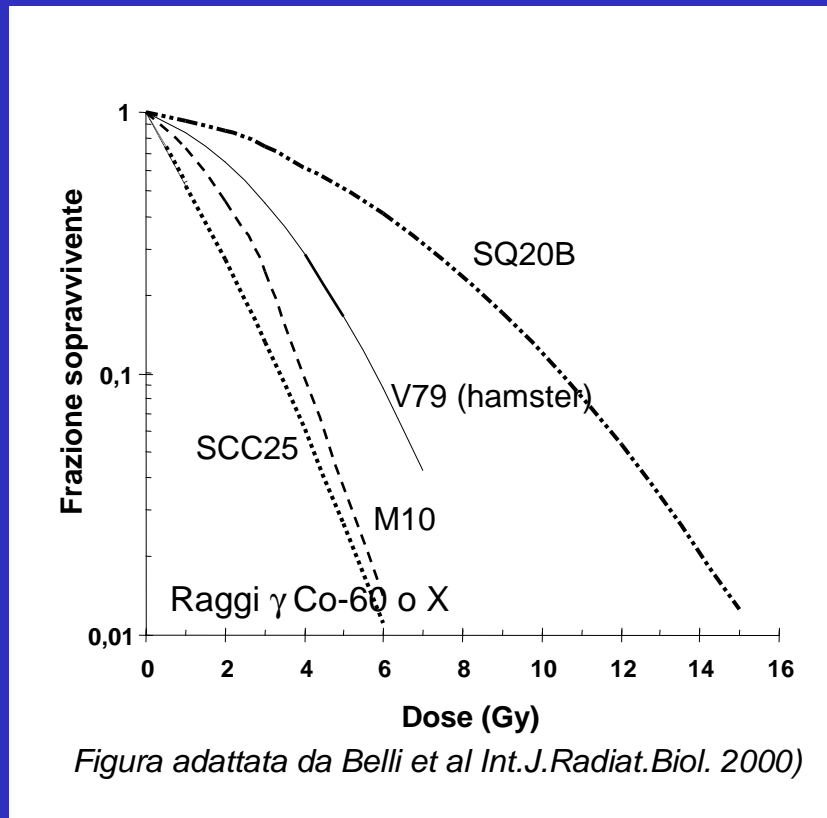
Lo sviluppo di buoni modelli non ha solo valore speculativo, ma riveste importanti implicazioni pratiche in radioterapia e in radioprotezione per le loro capacità predittive.

Lo scopo di un modello è essenzialmente quello d'interpretare i fenomeni osservati per mezzo di opportune ipotesi semplificative.

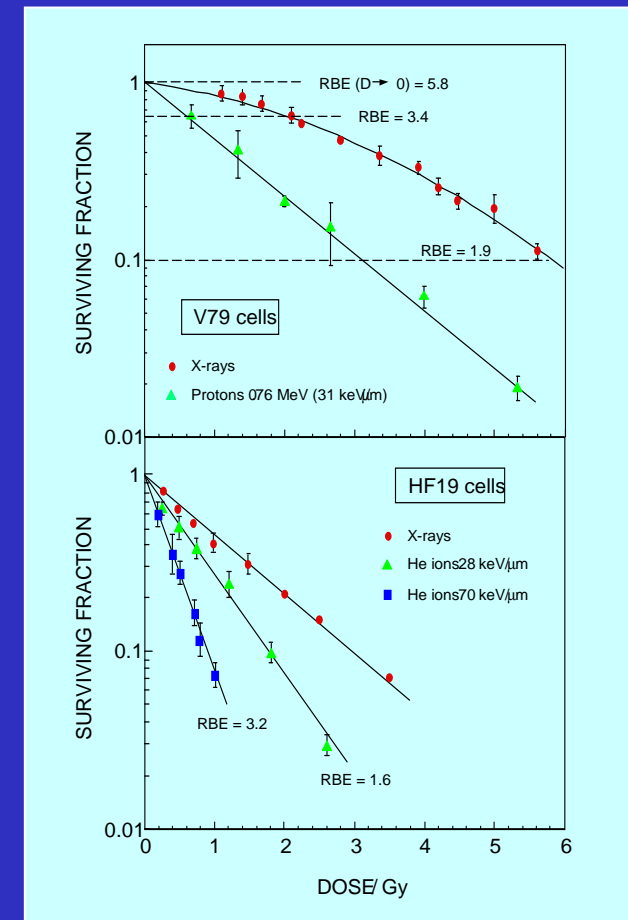
Per la radiobiologia cellulare appaiono rilevanti i modelli mirati all'interpretazione di alcune importanti osservazioni sperimentali le più importanti delle quali sono:

- la forma delle curve dose-effetto, con la possibile presenza di una spalla, per radiazioni a basso LET;
- l'influenza della “qualità” della radiazione (ad esempio, la diminuzione o la scomparsa della spalla nelle curve dose-effetto per radiazioni ad alto LET).

# Curve di sopravvivenza

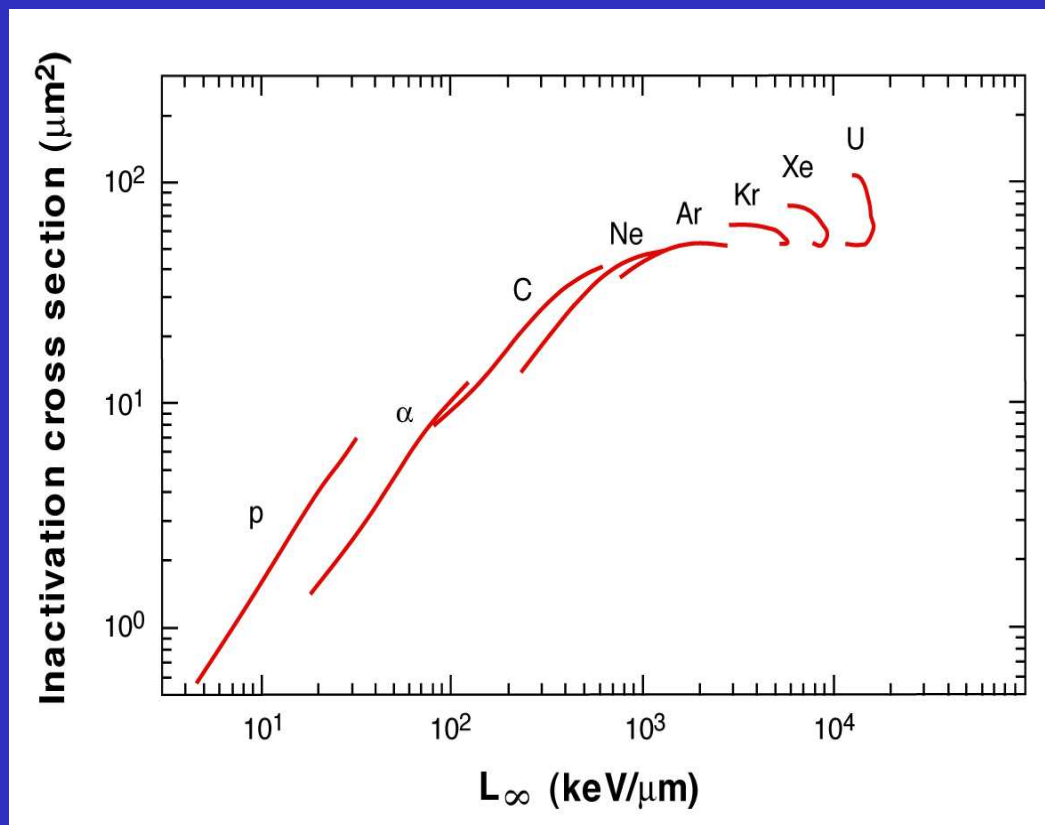


La forma delle curve di sopravvivenza può essere diversa a seconda del tipo di cellule, del tipo di radiazione e di altri fattori

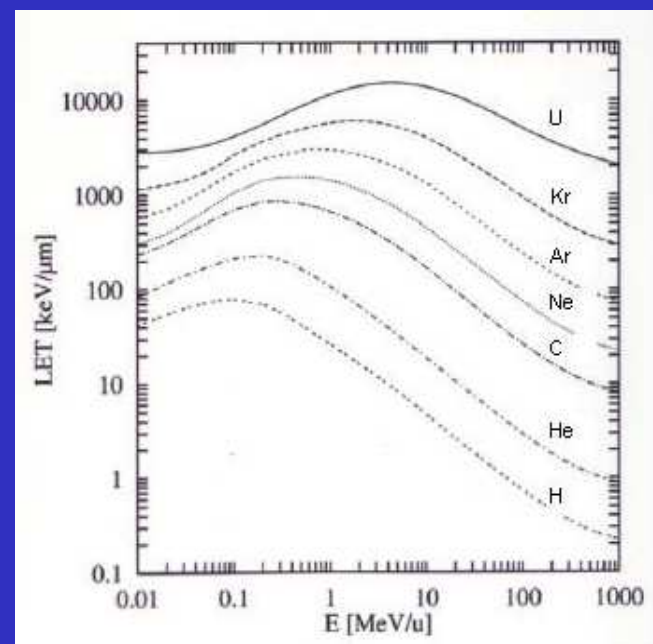


Per un determinato sistema biologico:  
 $S = \exp(-\alpha D - \beta D^2)$  con  $\alpha$  e  $\beta$  dipendenti dalla qualità della radiazione

# Relazione $\sigma$ -LET per l'inattivazione di cellule di hamster esposte a diversi ioni



Gli “hooks” osservati per gli ioni pesanti sono dovuti alle diverse strutture di traccia corrispondenti allo stesso LET



LET per varie particelle cariche calcolato in acqua in funzione dell'energia

# Dose, fluenza e sezione d'urto per inattivazione

Se  $F$  è la fluenza di particelle cariche sulle cellule, la dose  $D$  (all'equilibrio elettronico) è data da:

$$D = \Delta E / \Delta m = (F \cdot L \cdot \Delta V) / (\Delta V \cdot \rho) = F \cdot L / \rho$$

dove  $L$  = LET delle particelle

$\rho$  = densità delle cellule

Se, come accade nella pratica corrente, si usano unità non SI, si ha:

$$D[Gy] = 1.6 \cdot 10^{-9} \cdot LET \left[ \frac{keV}{\mu m} \right] \cdot F \left[ \frac{part}{cm^2} \right] \cdot \frac{1}{\rho} \left[ \frac{cm^3}{g} \right]$$

$\sigma$  = Sezione d'urto per inattivazione =  $dn_{let}/dF$

Poiché è  $F = D \cdot \rho / L$

$$\sigma = (L / \rho) \cdot dn_{let} / dD$$

Il valore di  $\sigma$  dipende dal livello di effetto considerato.

Alle basse dosi (parte iniziale della curva) la sezione d'urto è data da:

$$\sigma = dn_{let}/dF (D \rightarrow 0) = (L / \rho) \alpha \approx L \cdot \alpha$$

NB. Correntemente si usa l'approssimazione  $\rho = 1 \text{ g/cm}^3$

# Modelli dell'azione biologica delle radiazioni ionizzanti

- Modelli “**fenomenologici**”: individuazione di regole (spesso espresse da leggi matematiche) adatte ad interpolare i dati osservati, ma incapaci di fornire previsioni al di là delle condizioni considerate.
- Modelli “**meccanicistici**”: individuazione dei meccanismi (biologici, biofisici) alla base del fenomeno, in maniera tale da consentire, a partire dai dati di base, previsioni più generali.

# Modelli fenomenologici: teorie dell'urto e del bersaglio

Hit and target theories (Lea 1955)

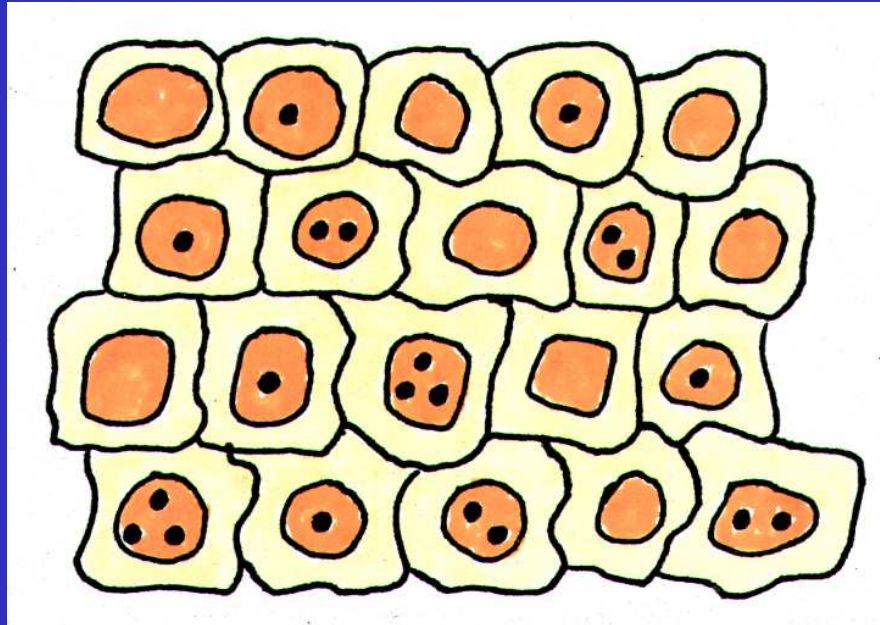
Formulazione fisico-matematica basata sulla natura discontinua e casuale degli eventi di assorbimento dell'energia

**Urto** = evento di assorbimento d'energia biologicamente rilevante

**Bersaglio** = struttura biologica sensibile all'interno della cellula

Probabilità dell'effetto derivata dalla distribuzione statistica degli urti nel bersaglio o nei bersagli, una volta definite le condizioni della distribuzione per il verificarsi dell'effetto (è questo l'unico punto di contatto con la biologia del sistema)

# Teorie dell'urto e del bersaglio



$n = n.$  di urti

$\langle n \rangle = n.$  medio di urti per nucleo cellulare

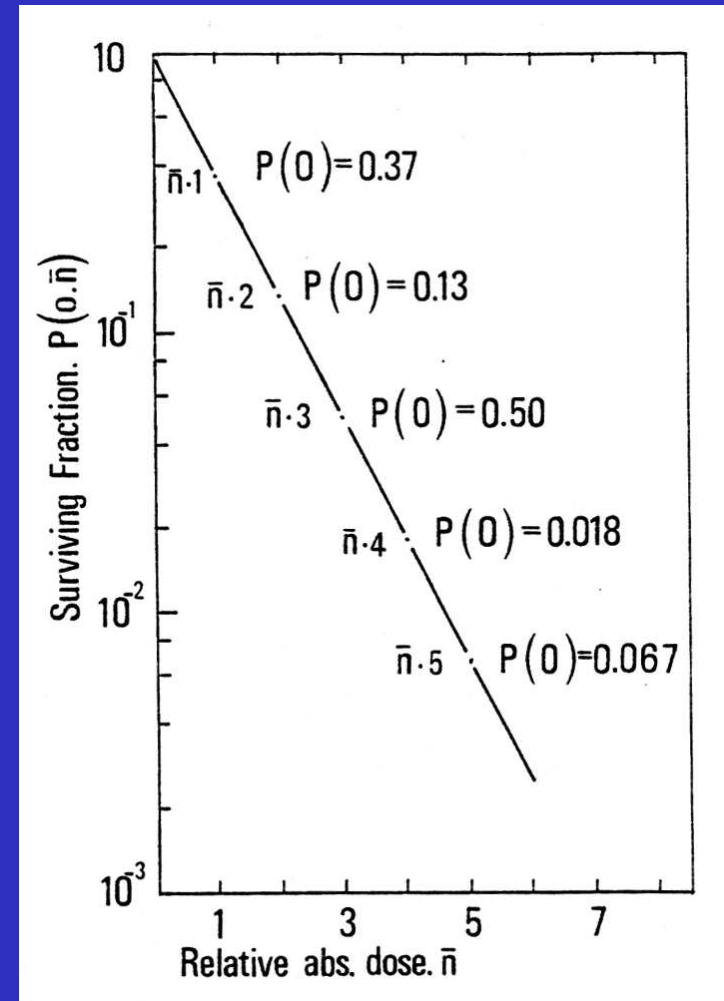
$P(n, \langle n \rangle) = e^{-\langle n \rangle} \cdot \langle n \rangle^n / n!$  (distr. Poisson)

Se  $n \geq 1 \Rightarrow$  morte cellulare

probabilità di sopravvivenza:

$P(0, \langle n \rangle) = e^{-\langle n \rangle} = e^{-w \cdot D} = e^{-D/D_0}$

$D_0$  = dose letale media





# Teorie dell'urto e del bersaglio

## Modello “Multi-target/single-hit”

Hp : ogni cellula contiene n bersagli, **ciascuno** dei quali deve essere colpito almeno una volta perché la cellula sia inattivata.

Posto: Probabilità di non colpire un determinato bersaglio alla dose D:

$$P(0, D) = e^{-D/D_0}$$

Probabilità di colpire **un determinato** bersaglio alla dose D:

$$1 - P(0, D) = 1 - e^{-D/D_0}$$

Si ha: Probabilità di colpire **tutti** i bersagli alla dose D:

$$(1 - e^{-D/D_0})^n$$

Probabilità di sopravvivenza alla dose D:

$$S = 1 - (1 - e^{-D/D_0})^n$$

# Teorie dell'urto e del bersaglio

## Modello "Multi-target/single-hit"

$n$  = numero d'estrapolazione

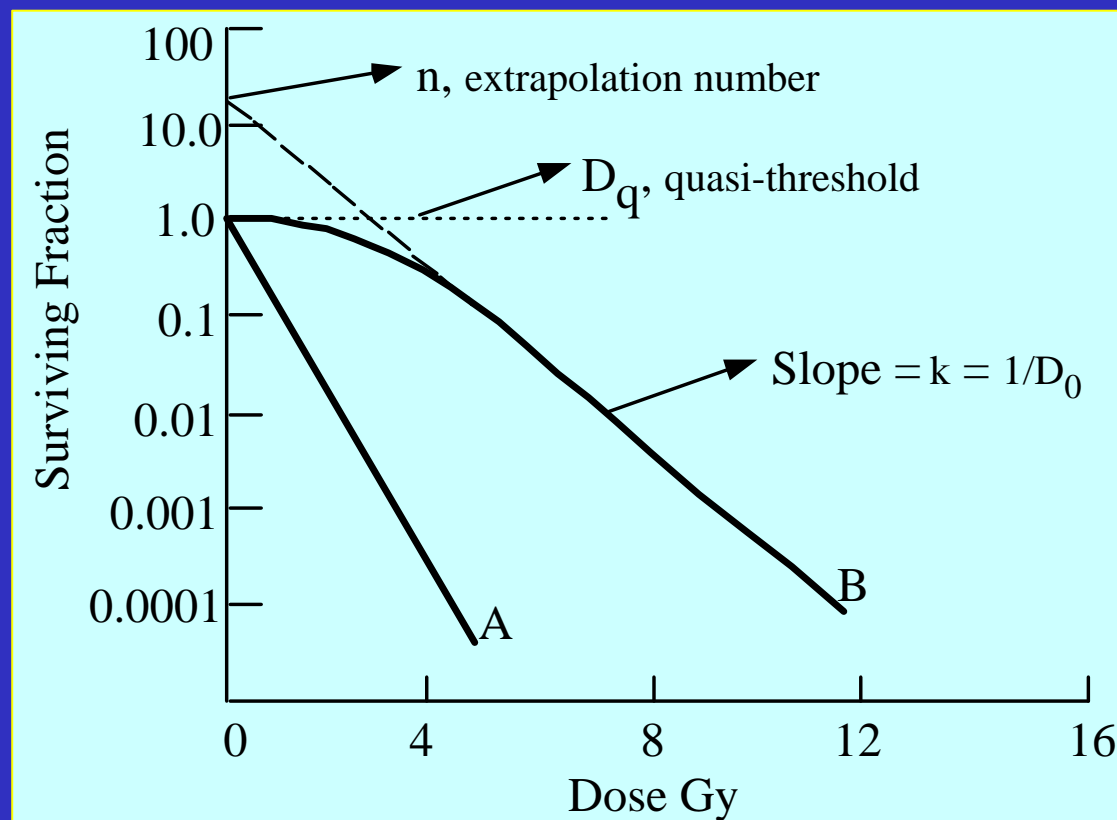
$D_q = D_0 \ln n$  (quasi-threshold dose)

Il riparo è rappresentato dalla spalla della curva di sopravvivenza

La larghezza della spalla è rappresentata da  $n$  o da  $D_q$  survival curve

La radioresistenza è rappresentata da  $D_0$

● **Pendenza iniziale nulla:**  
effetto  $\rightarrow 0$  per  $D \rightarrow 0$



# Teorie dell'urto e del bersaglio

Modello “Single-target/single hit, multi-target/single hit”.

Hp : ogni cellula contiene **n** bersagli e, perché la cellula sia inattivata, ciascuno di essi deve essere colpito almeno una volta, oppure deve essere colpito almeno una volta **un particolare** bersaglio.

Posto: Probabilità di non colpire **un particolare** bersaglio alla dose D:

$$P_1(D) = e^{-D/D_{01}}$$

Probabilità di non colpire **tutti** i bersagli alla dose D:

$$P_n(D) = e^{-D/D_{0n}}$$

Si ha: Probabilità di sopravvivenza alla dose D:

$$S = e^{-D/D_{01}} [1 - (1 - e^{-D/D_{0n}})^n]$$

● Pendenza iniziale non nulla ( $-1/D_{01}$ )

# Teoria della doppia azione

## TDRA = Theory of Dual Radiation Action

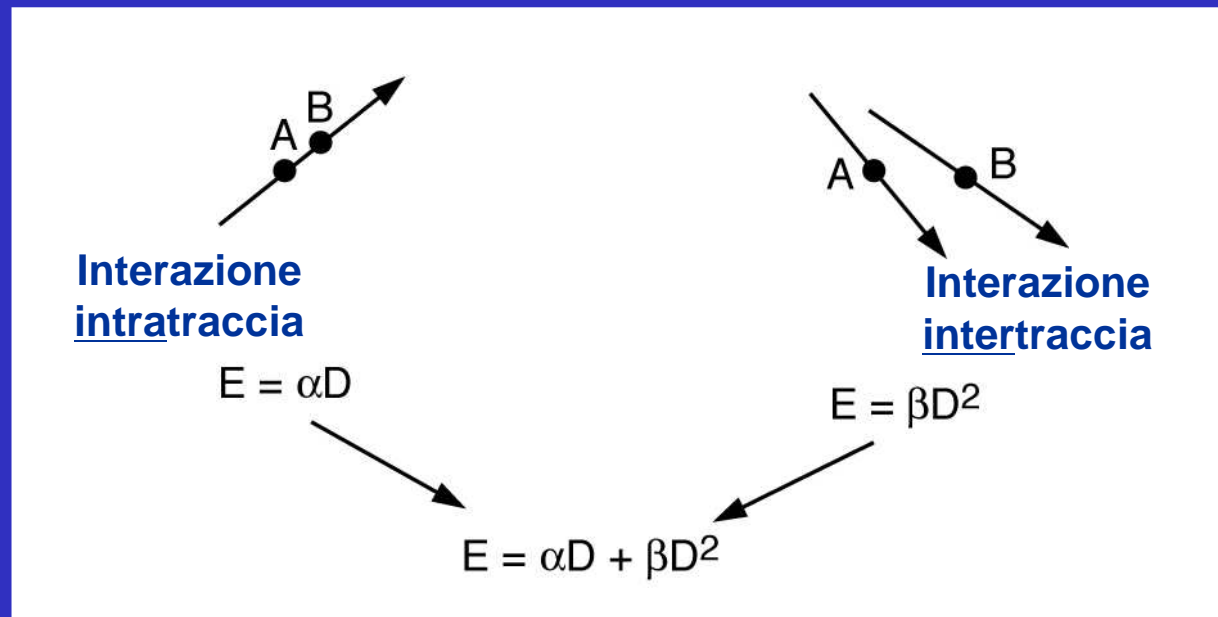
Il modello della doppia azione (“dual radiation action theory” TDRA), suggerito dal lavoro di Lea nel 1955 (Lea, 1955) è stato poi sviluppato e perfezionato da Kellerer e Rossi negli anni ‘70 (Kellerer and Rossi, 1972, 1978), essenzialmente per spiegare l’efficacia biologica dei neutroni nell’induzione di aberrazioni cromosomiche.

Esso si basa sulle seguenti assunzioni:

- a) la radiazione produce delle “sottolesioni” nelle cellule colpite in numero proporzionale all’energia impartita;
- b) una lesione biologica trae origine dalla combinazione di due sottolesioni;
- c) tutte le coppie di sottolesioni hanno una definita probabilità di combinarsi, purchè prodotte entro un volume molto piccolo, con diametro dell’ordine di 1  $\mu\text{m}$ ;
- d) ciascuna lesione ha una certa probabilità di dar luogo ad un effetto biologico osservabile che è indipendente dal LET o dalla dose.

# Teoria della doppia azione

Risultato della TDRA = Theory of Dual Radiation Action



A, B = sottolesioni  
E = effetto biologico

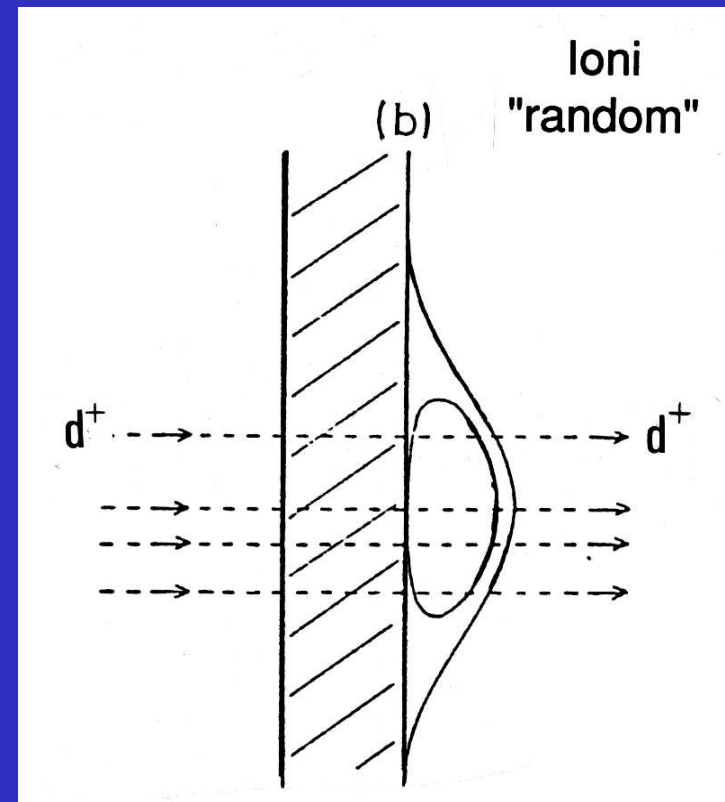
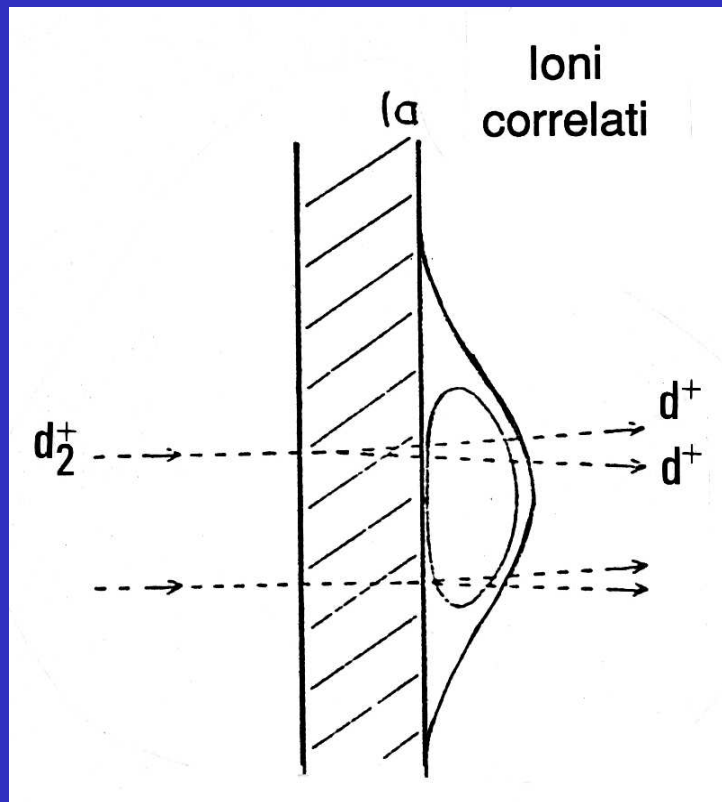
# Teoria della doppia azione: limitazioni

**Modello generico, in quanto la natura delle lesioni e sottolesioni non è specificata, anche se implicitamente esse si fanno corrispondere a modificazioni del materiale genetico.**

**Modello ancora semplicistico, in quanto non prende in considerazione i processi riparativi esistenti all'interno della cellula, l'efficienza dei quali può dipendere dal tipo di radiazione che ha prodotto le lesioni (Goodhead, 1987).**

**Alcune assunzioni contraddette da osservazioni sperimentali successive: in particolare, le dimensioni del sito critico (assunte essere confrontabili con quelle del nucleo cellulare) sono inconsistenti con i risultati di esperimenti con ioni spazialmente correlati, con quelli con raggi X ultramolli e con le differenze nelle curve RBE-LET osservate con diversi ioni.**

# Esperimento degli ioni correlati

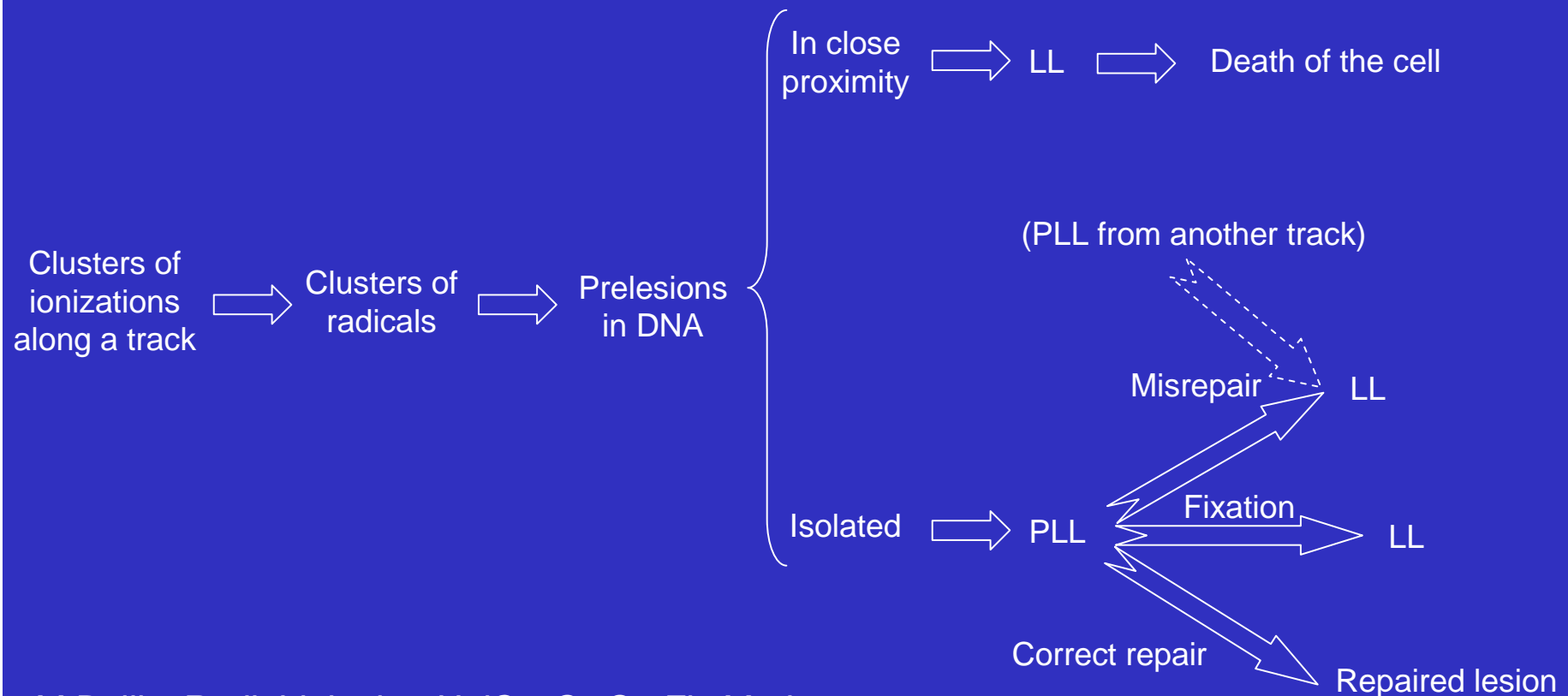


# Lethal and Potentially Lethal lesions (LPL) model

*Curtis, Radiation Research 106, 252-270 (1986)*

Combines the idea of lesions caused by ionising radiation with the idea of lesions repair

- Irreparable lesions → Lethal Lesions (LL)
  - Reparable lesions → Potentially Lethal Lesions (PLL)
- } DNA double strand breaks of different severity






# Lethal and Potentially Lethal lesions (LPL) model

1. The potentially lethal lesions can be correctly repaired at an average rate constant  $\varepsilon_{PL}$  per unit time following first-order kinetics. These lesions may also be misrepaired at a rate constant  $\varepsilon_{2PL}$  per unit time following second-order kinetics.
2. The mean numbers of both kinds of lesions are formed at rates proportional to the absorbed dose rate.

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dN_{PL}}{dt} = \eta_{PL} \dot{D} - \varepsilon_{PL} N_{PL} - \varepsilon_{2PL} (N_{PL})^2 \\ \frac{dN_L}{dt} = \eta_L \dot{D} + \varepsilon_{2PL} (N_{PL})^2 \end{array} \right.$$

$\eta_{PL}$   
and  $\eta_L$   rates of production per unit dose rate of the two kinds of lesions

$$\varepsilon_{PL} = 0.5 \text{ h}^{-1}$$

$$\varepsilon_{2PL} = 0.0556 \text{ h}^{-1}$$

$$\eta_{PL} = 0.6 \text{ Gy}^{-1}$$

$$\eta_L = 0.1366 \text{ Gy}^{-1}$$

# Lethal and Potentially Lethal lesions (LPL) model

## Expression of cell survival - Assumptions :

● after the available repair time ( $t_r$ ) (after which no more repair can occur) the total mean number of lethal lesions per cell is the sum of the lethal and potentially lethal lesions per cell (all potentially lethal lesions still present at the end of the available repair time are fixed i.e. made lethal)

● the distribution of the number of lethal lesions per cell after the available repair time ( $t_r$ ) is a Poisson distribution

$$N_{PL}(t_r) + N_L(t_r) = \bar{N}_L$$

$$P_k = [(\bar{N}_L)^k / k!] \exp(-\bar{N}_L) \longrightarrow \text{Probability that a cell has (k) lethal lesions}$$

For  $k = 0 \longrightarrow$  Survival (S)

$$S = P_0 = \exp(-\bar{N}_L) \longrightarrow \text{Probability that a cell has no lethal lesion}$$

The LPL model formalism can be transformed into a linear-quadratic form.

In the region of low doses ( $D < 10$  Gy) using an expansion in a power series into  $(\ln S)$  stopped at the second order (terms involving  $D$  and  $D^2$ )

$$\left\{ \begin{array}{l} S = \exp [-(\alpha D + \beta D^2)] \\ \text{with} \\ \alpha = \eta_L + \eta_{PL} \exp(-\varepsilon_{PL} t_r) \\ \beta = (\eta_{PL})^2 (\varepsilon_{2PL} / 2 \varepsilon_{PL}) [1 - \exp(-\varepsilon_{PL} t_r)]^2 \end{array} \right.$$

# Modelli meccanicistici

Considerazione maggiore del ruolo della biologia nella risposta alle radiazioni, in particolare del ruolo della riparazione delle lesioni al DNA.

Si rivolgono ai meccanismi d'azione. Richiedono approcci multidisciplinari con conoscenza e metodologia della Fisica, della Biofisica, della Biologia e della Radiobiologia.

Partono dalla descrizione dei depositi energetici da parte dei vari tipi di radiazione per prevederne gli effetti ai vari livelli (DNA, strutture a più elevato ordine di organizzazione, cromosomi, nucleo cellulare, ect.).

# Teoria molecolare

Sviluppata da Chadwick e Leenhouts tra il 1973 e il 1978

Assume che:

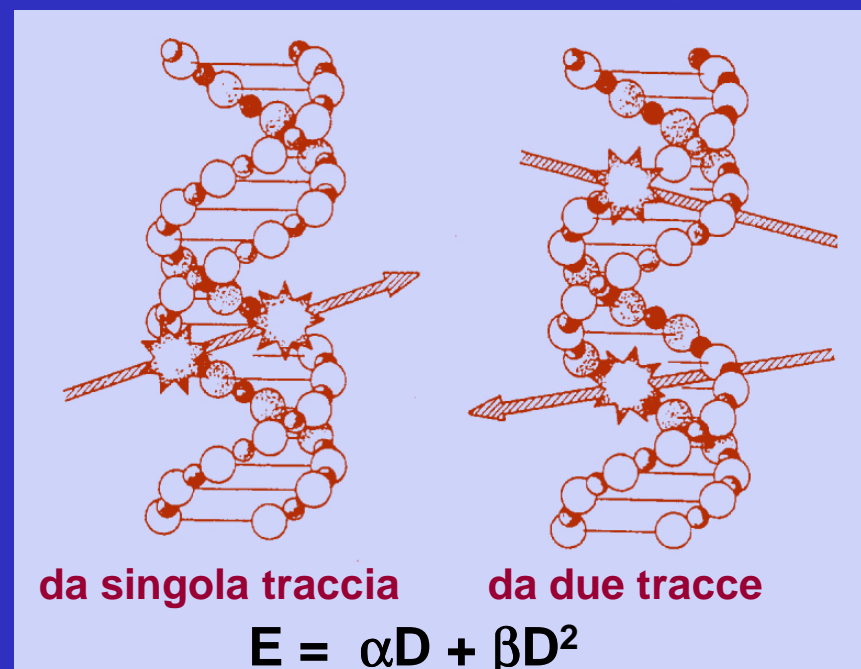
tutti gli effetti cellulari siano causati da doppie rotture, non riparate, nel DNA;

la probabilità di induzione delle DSB dipende dalla qualità della radiazione e dalla dose, mentre la probabilità di riparazione non dipende né dalla qualità della radiazione né dalla dose.

Tuttavia:

- non vi sono evidenze sperimentali della curvatura nella produzione di DSB vs D richiesta dal modello per spiegare le curve di sopravvivenza
- evidenze sperimentali indicano che la riparabilità delle DSB dipende dalla qualità della radiazione

Chadwick and Leenhouts, 1981



# Modelli e risposta L-Q

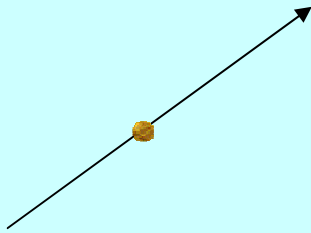
L'uso diffuso di equazioni di risposta L-Q deve essere considerato come empirico.

Esso non corrisponde necessariamente ad assumere un modello (ad es. la TDRA) come più credibile di altri, in quanto un'equazione L-Q può essere considerata come un'approssimazione al secondo ordine di una funzione più complicata della dose.

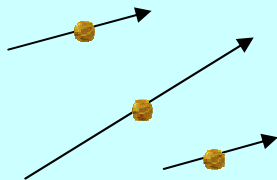
# Modello TERS

Threshold Energy, Repair Saturation  
Soglia d'energia, saturazione della riparazione

**One-track**  
 $E = kD$



**Multi-track**  
 $E = k D^n$



**Sottolesioni:** non richieste

**Lesioni:**

Natura: danni complessi al DNA (+ proteine associate ?)

Dovute a: cluster di ionizzazione dalla stessa traccia (meccanismo intratraccia) in due volumi tipici

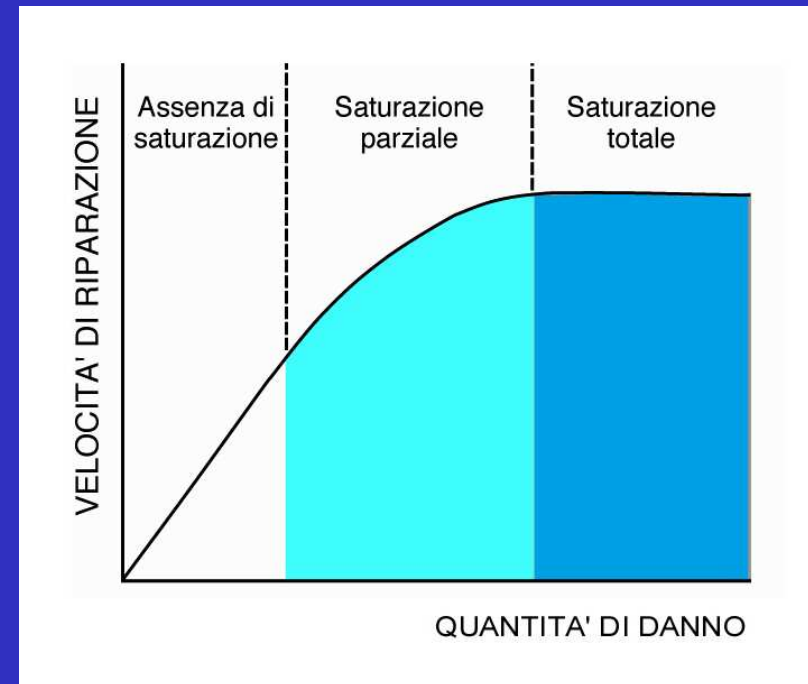
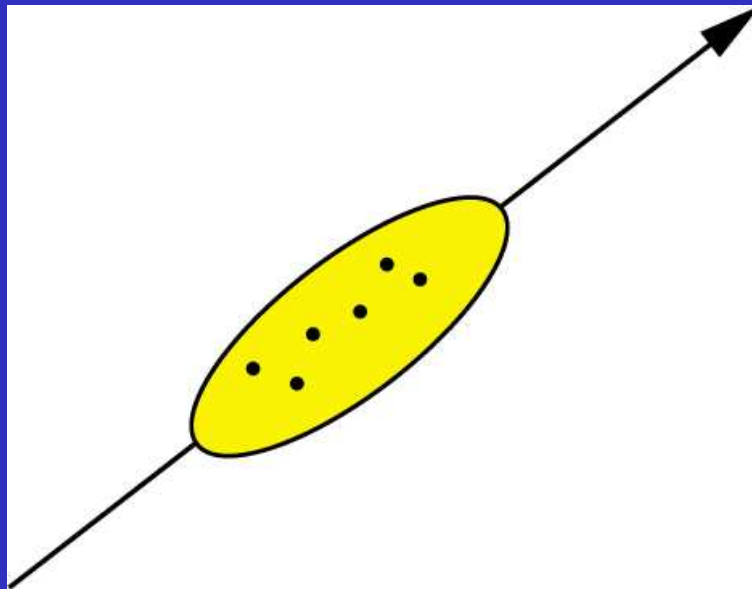
- 1)  $>\approx 100$  eV in 2-3 nm (segmenti di DNA)
- 2)  $>\approx 300$  eV in 5-10 nm (nucleosomi)

**Riparazione:**

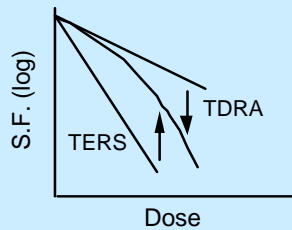
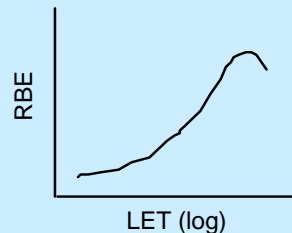
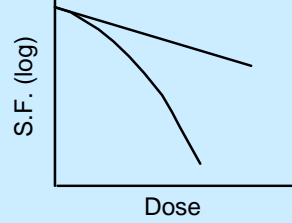
- 1) sì, parzialmente saturabile
- 2) non possibile

Modello concettuale, formalismo non ancora sviluppato.

# Modello TERS



# Confronto tra TDRA e TERS

OSSERVAZIONE		INTERPRETAZIONE	
		TDRA	TERS
Relazione curvilinea effetto-dose		Interazione di sottolesioni  Più interazioni a singola traccia  Riparazione delle sottolesioni durante l'irradiazione	Saturazione della capacità riparativa
Aumento dell'RBE con il LET			Lesioni meno riparabili ad alto LET
Minore efficacia a basso rateo di dose			Sistemi riparativi non saturati



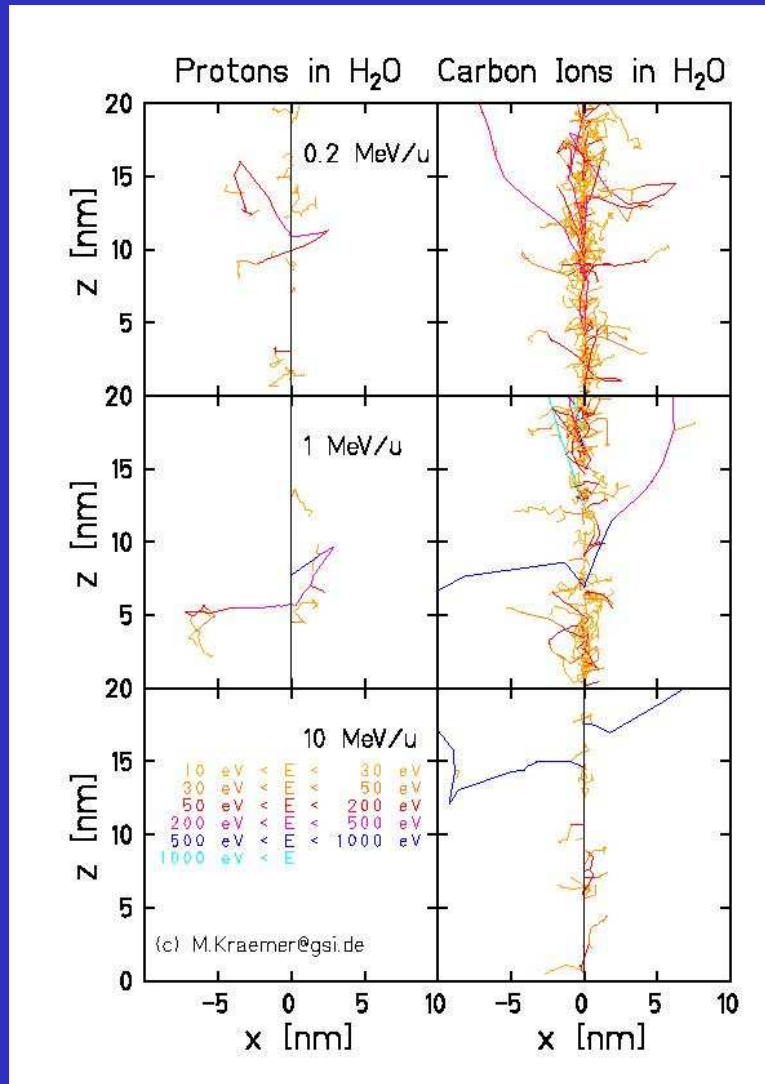
# Modelli basati sulla struttura di traccia: il modello di Katz

Struttura di traccia radiale (Katz *et al.*, 1971) o “amorfa”.

Questo modello considera due modalità di inattivazione cellulare. Una per radiazioni di basso LET (“ $\gamma$ -kill”) e l’altra caratteristica di radiazioni di alto LET (“ion-kill”). La prima modalità è in parte comune alle radiazioni di alto LET.

Katz tratta le tracce degli ioni pesanti come distribuzioni radiali continue della dose intorno alla traiettoria dello ione, che rappresentano la media, lungo l’asse della traccia, della dose rilasciata dalla particella primaria e dagli elettroni secondari nel campione irradiato. Il volume totale, nel quale è depositata la dose, è diviso in tanti volumi elementari nei quali è valutato l’effetto biologico ottenuto dalle curve dose-risposta per radiazione di basso LET, alla dose corrispondente a quella del volume considerato. L’effetto biologico totale è poi ottenuto integrando gli effetti biologici elementari corrispondenti ai vari elementi di volume.

# Struttura di traccia

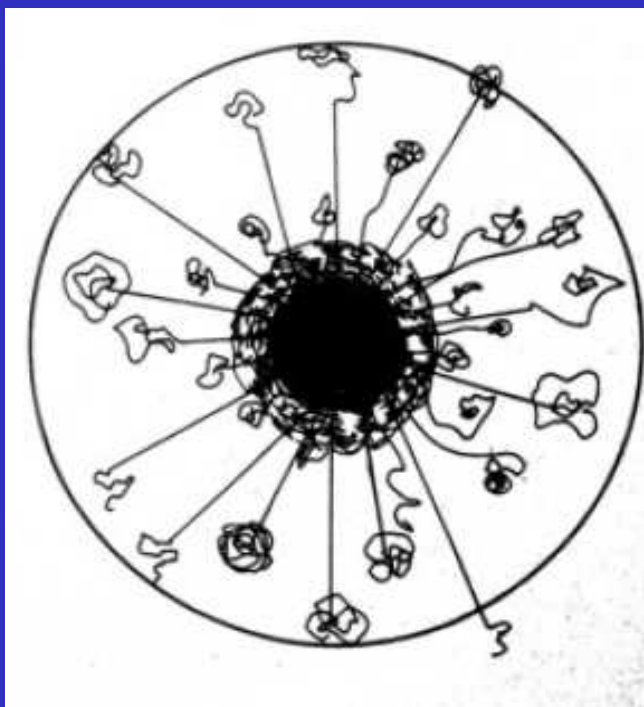


La struttura di traccia dipende da  $z$ ,  $\beta$ ,  $E$  della particella e dal mezzo attraversato

Simulazione di tracce di varie particelle con codice di Montecarlo (GSI)

# Struttura di traccia: profilo radiale

## Profilo radiale di dose



-Zona ad alta densità di ionizzazione prodotta dalle particelle primarie (core). Il raggio del core è dell'ordine di 1-10 nm, e dipende dal LET (in pratica da  $z^2/\beta^2$ ) dalla particella. La dose è assunta uniforme.

- Zona di ionizzazioni prodotte dagli elettroni secondari (penombra). Si estende fino alla massima distanza data dalla massima energia degli elettroni delta, che dipende dal  $\beta$  della particella. La dose decresce come  $1/r^2$ .

# Struttura di traccia: raggio della penombra

Approccio di Katz (Butts and Katz, Radiat.Res. 1967):

- trattazione semplificata della distribuzione energetica e spaziale degli elettroni secondari;
- relazione empirica tra il range e l'energia massima  $E_{\max}$  degli elettroni secondari

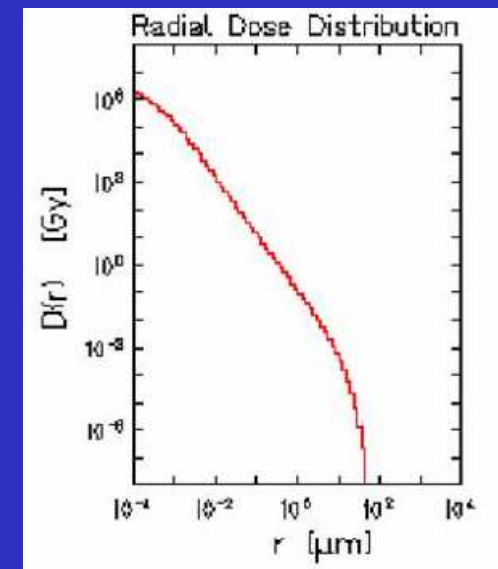
$$D(r, \beta, Z_{\text{eff}}) = \frac{CZ_{\text{eff}}^2}{2\pi\beta^2 r} \left( \frac{1}{r} - \frac{1}{r_{\max}} \right),$$

$$C = \frac{4\pi e^4}{mc^2}, \quad r_{\max} = kE_{\max}, \quad k = 10 \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2 \text{keV}}$$

Successivamente modificata (Waligorski, Hamm and Katz, 1986) in:

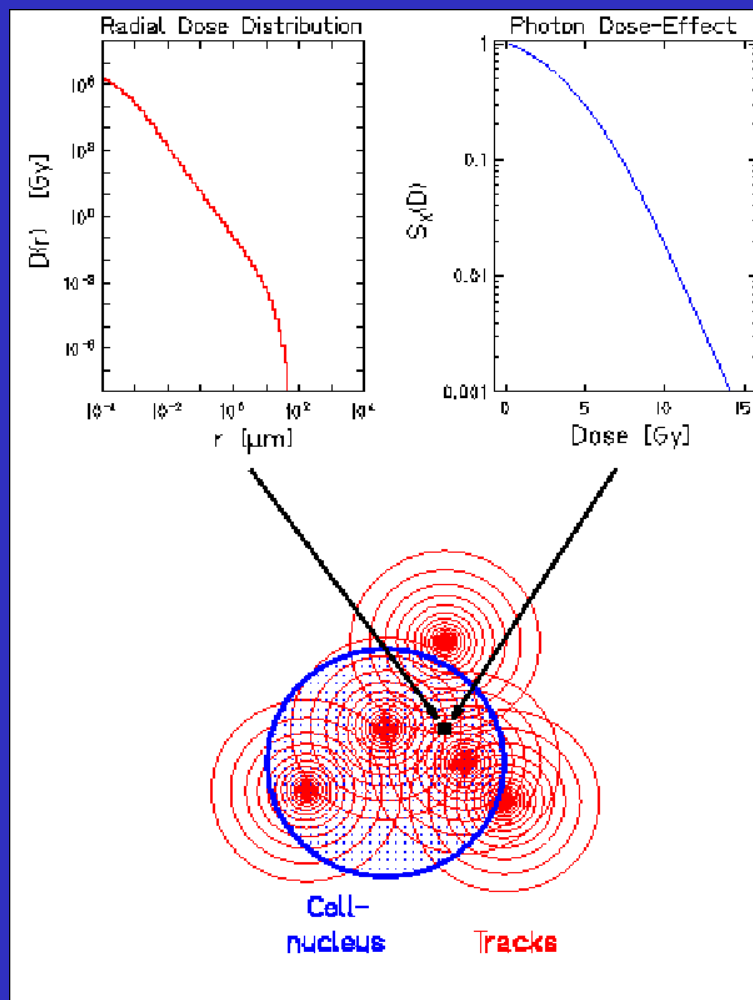
$$r_{\max} = k E_{\max}^{\alpha}$$

con  $k = 6 \times 10^{-6} \text{ g cm}^{-2} \text{ keV}^{-\alpha}$   
 e  $\alpha$  dipendente dalla velocità  $\beta$  dello ione:  
 per  $\beta < 0.03$ ,  $\alpha = 1.079$  e  
 per  $\beta > 0.03$ ,  $\alpha = 1.667$ .



# Modelli basati sulla struttura radiale di traccia: il modello LEM (1)

Local Effect Model (LEM) (Kraft and Scholz).



**Predizione degli effetti di particelle cariche.**

**Applicazione agli ioni carbonio usati in adroterapia**

Viene calcolato il profilo radiale di ciascuna traccia d'interesse.

Viene schematizzato il nucleo cellulare, considerato come sito sensibile.

Il nucleo è coperto dalle tracce delle particelle e in ogni pixel viene calcolato il contributo alla dose da parte di ciascuna traccia.

Per ciascun pixel tali contributi sono sommati e viene calcolata la probabilità d'inattivazione sulla base della curva di sopravvivenza misurata con raggi X.

La probabilità d'inattivazione totale è calcolata per integrazione sul nucleo delle probabilità nei singoli pixel.

# Modelli basati sulla struttura radiale di traccia: il modello LEM (2)

## Local Effect Model (LEM) (Kraft and Scholz).

La probabilità di sopravvivenza per una singola cellula è legata al numero di eventi letali  $N_{let}$ :

$$S_{lon} = e^{-N_{let}}$$

con

$$N_{let} = \int_x \int_y \int_z \frac{-\ln S_x(D(x,y,z))}{V} \cdot dx dy dz$$

$D(x,y,z)$  indica la reale dose locale depositata nella posizione  $(x,y,z)$  definita dalla somma delle dosi locali provenienti da tutte le tracce che contribuiscono a questa posizione specifica, e  $V$  è il volume del bersaglio critico, il nucleo cellulare.

Metodi Monte Carlo sono usati per simulare la distribuzione spaziale degli attraversamenti delle particelle, e la sopravvivenza di una popolazione è determinata come la probabilità di sopravvivenza media delle singole cellule

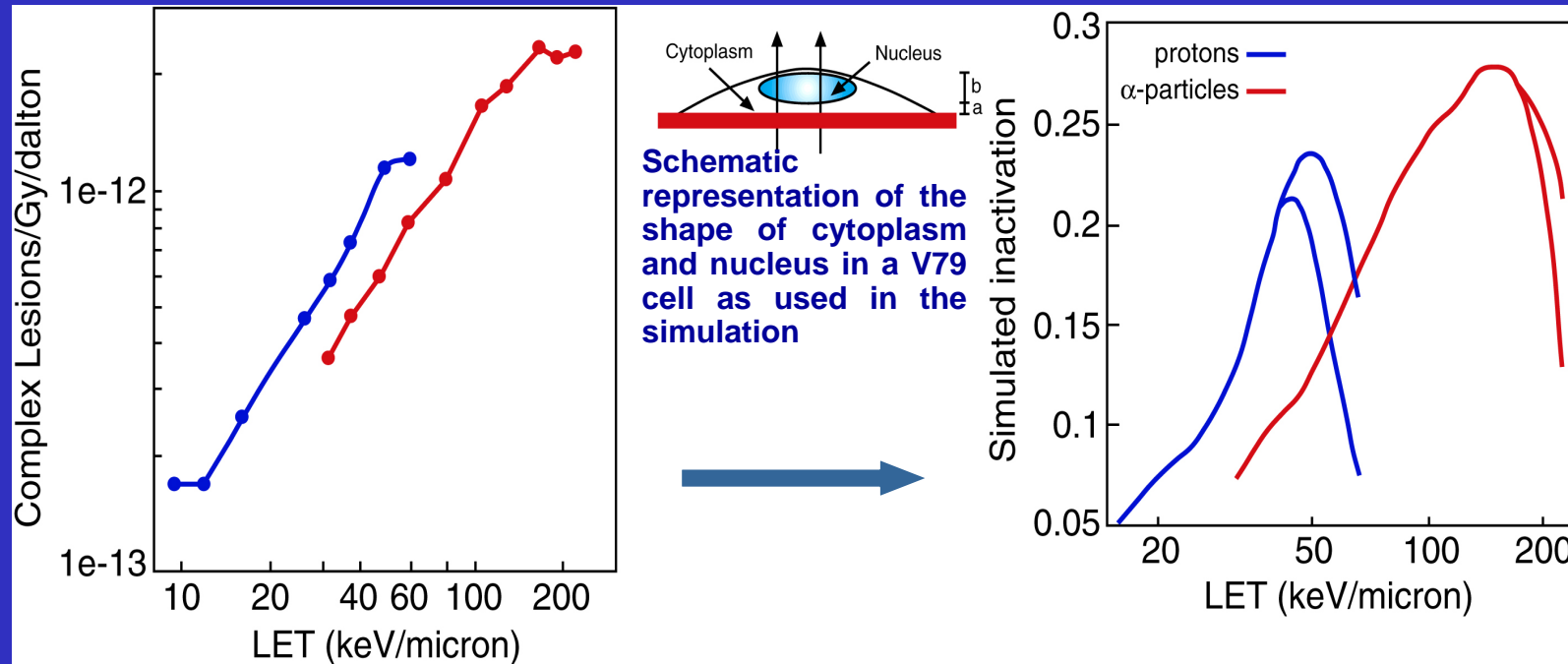
# Modelli basati sulla struttura di traccia: distribuzione microscopica degli eventi

## ATTUALI LINEE DI SVILUPPO

- determinazione della struttura di traccia **tridimensionale** e a livello **microscopico** (distribuzione microscopica dei depositi energetici) mediante simulazione con codici MC appropriati
- sviluppo di modelli **del DNA e della cromatina** con i diversi livelli di organizzazione
- considerazione sia dei **depositi energetici** “diretti” che di quelli “indiretti” (mediati da specie chimiche diffusibili, in particolare radicali liberi prodotti nella radiolisi dell’acqua) e delle relative reazioni chimiche
- valutazione della frequenza e della distribuzione delle **varie lesioni al DNA** (rottura legami covalenti dei filamenti, danni alle basi, etc.)
- identificazione e quantificazione del danno rilevante ai fini degli effetti biologici (ad es. lesioni **complesse** dovute a “**clusters**” di ionizzazioni)

# From DNA damage to cell inactivation

Stochastics aspects determining LET and particle type dependence of radiation induced cell damage (*Ottolenghi et al IJRB, 72/5, 1997*)



Calculated yield of Complex lesions per Gy and dalton induced by protons and  $\alpha$ -particles, as a function of LET

Calculated inactivation of V79 cells after a dose of 0.1 Gy of protons, deuterons, and  $\alpha$ -particles as a function of radiation LET (evaluated after traversal of 3 mm in the protoplasm). After normalization to reference radiation, these curves would represent RBE-LET relationships.



# Utilità dei modelli d'azione delle radiazioni

Malgrado i numerosi studi sugli effetti biologici delle radiazioni ionizzanti, non si è ancora riusciti a sviluppare una teoria generale in grado di fornire un'interpretazione soddisfacente di tutti gli aspetti dell'azione delle radiazioni ionizzanti.

I modelli costituiscono un importante contributo all'interpretazione dei meccanismi dell'azione biologica delle radiazioni ionizzanti, mettendo in luce le correlazioni esistenti tra la qualità della radiazione, i danni radioindotti sul DNA, in particolare le DSB, e i conseguenti effetti cellulari.

Alcuni di essi si sono rivelati utili per predire gli effetti biologici di campi misti di radiazione, ciò che è particolarmente importante in adroterapia, dove la qualità della radiazione cambia significativamente con lo spessore attraversato.