

## NASCITA E SVILUPPO DELLA RADIOPROTEZIONE

Il termine "radiazione" è usato in fisica per descrivere fenomeni apparentemente assai diversi tra loro come l'emissione di luce visibile da una lampada, radioonde da un circuito elettrico, raggi infrarossi da un corpo incandescente, raggi X da una macchina radiogena, ecc.

Caratteristica peculiare comune a tutti questi fenomeni è il trasferimento di energia da un punto ad un altro dello spazio, senza che vi sia movimento di corpi macroscopici, e senza il supporto di un mezzo materiale.

### Radiazione:

Fenomeno che implica:

- Trasferimento (senza bisogno di materia) di energia;
- Cessione (nell'interazione con la materia) di energia.

### Radiazioni ionizzanti (IR) e non ionizzanti (NIR):

**Ionizzare:** generare uno ione strappando un elettrone ad un atomo neutro, rendendolo chimicamente instabile.

#### IR:

$$\lambda < 1 \text{ nm}$$

$$\nu > 3 \cdot 10^{17} \text{ Hz}$$

$$E > 1.2 \text{ keV}$$

Raggi-X  
Raggi- $\gamma$

#### NIR:

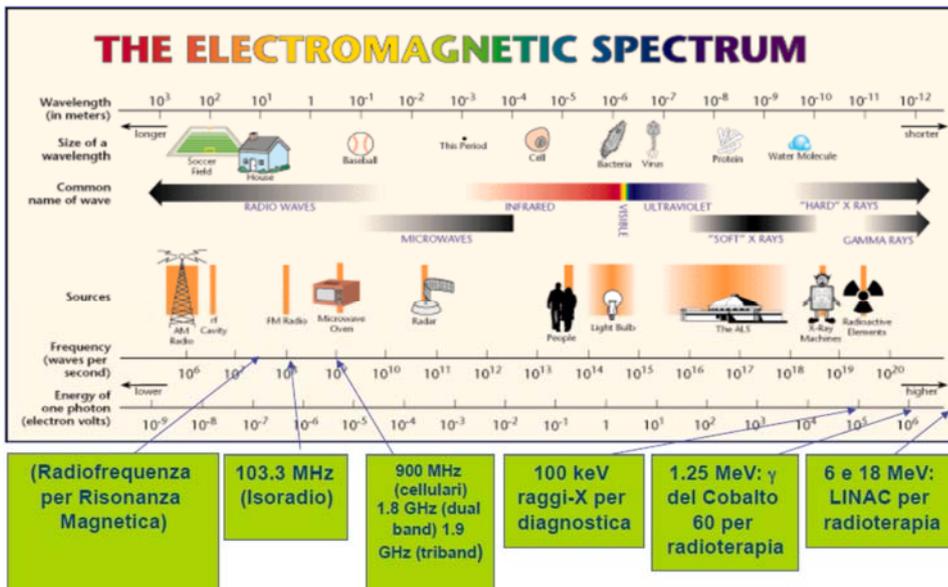
$$\lambda > 1 \text{ nm}$$

$$\nu < 3 \cdot 10^{17} \text{ Hz}$$

$$E < 1.2 \text{ keV}$$

Ultravioletti – Luce visibile –  
Infrarossi – Microonde –  
Radioonde (RM)

### Spettro elettromagnetico:



La materia è costituita di atomi, che sono le più piccole frazioni di essa che conservano le proprietà degli elementi che la compongono. Ciascun atomo è formato da un nucleo centrale contenente protoni, neutroni e circondato da una nube esterna di elettroni. In condizioni normali ogni atomo è elettricamente neutro e la carica positiva dei protoni è esattamente bilanciata dalla carica negativa degli elettroni. Il numero dei protoni (numero atomico) determina la specie chimica. Gli atomi di uno stesso elemento chimico che differiscono solo per il numero di neutroni contenuto nel nucleo si chiamano isotopi. Alcuni isotopi sono instabili (radioisotopi) e tendono a trasformarsi spontaneamente emettendo particelle alfa, beta e neutroni, generalmente accompagnate da radiazioni elettromagnetiche (raggi X e gamma).

Con il termine di radioattività si indicano quei cambiamenti spontanei negli stati dei nuclei atomici che avvengono con rilascio di energia sotto forma di particelle o di radiazione elettromagnetica. La radioattività è un fenomeno molto diffuso nell'ambiente, dal momento che moltissimi radioisotopi si trovano comunemente in natura.

A seguito di reazioni nucleari possono essere prodotti isotopi non presenti in natura (almeno in quantità apprezzabili). Questi isotopi, tutti radioattivi, sono indicati come radionuclidi artificiali. L'attività di un radionuclide rappresenta il numero medio di trasformazioni nucleari spontanee che avvengono in questo per unità di tempo. La sua unità di misura è il becquerel (Bq).

L'attività di un preparato radioattivo diminuisce nel tempo in modo esponenziale in relazione ad una costante di tempo specifica per ogni radionuclide.

**Sorgenti radioisotopiche:** naturali, artificiali, modificate dall'uomo.

**Macchine radiogene.**

**Sorgenti radioattive:** composti solidi, liquidi o gassosi che contengono isotopi radioattivi e che emettono continuamente particelle alfa (nuclei di elio) o beta (elettroni) o raggi-X o raggi- $\gamma$  o neutroni.

**Apparecchiature radiogene:** strumenti che, quando in funzione, producono raggi-X, o raggi- $\gamma$  o elettroni o neutroni (tubi a raggi-X, acceleratori, Cobalto-terapia, etc).

Le sorgenti di radiazioni oltre alle sostanze radioattive naturali e artificiali, comprendono tutte le apparecchiature in grado di accelerare particelle cariche con elevata energia e/o emettere radiazioni ionizzanti (macchine radiogene).

**Macchine radiogene:**

Quando sono "spente" non emettono radiazioni (salvo attivazione dei materiali).

Quando sono "accese" producono flussi di radiazioni molto intensi e in direzioni ben precise: non basta stare distanti... bisogna evitare di sostare nella direzione del flusso.

Possono dare solo irradiazione esterna.

**Radiazioni corpuscolari:**

A seconda della massa e della carica, possono essere raccolte in tre gruppi:

- Particelle leggere elettricamente cariche (elettroni e positroni);
- Particelle pesanti elettricamente cariche (protoni, particelle alfa);
- Particelle neutre: particelle prive di carica elettrica (neutroni).

## **Radiazioni elettromagnetiche:**

Si propagano nel vuoto con la velocità della luce e sono classificate in modo differente secondo la loro lunghezza d'onda o la loro energia (luce visibile, raggi ultravioletti, raggi X, raggi  $\gamma$ , ecc). Sono quelle ad energia più alta e sono in grado di ionizzare.

La ionizzazione è il processo mediante il quale gli atomi perdono o talvolta acquistano elettroni, diventando elettricamente carichi.

Si dice che una radiazione è ionizzante quando è in grado di produrre, direttamente o indirettamente, la ionizzazione degli atomi e delle molecole del mezzo attraversato.

Quando la materia vivente è esposta in un campo di radiazioni ionizzanti, diviene sede di una serie di processi, originati dal trasferimento di energia dalle particelle ionizzanti al mezzo, che si possono concludere con la manifestazione di un certo effetto.

- Pericolosità (hazard): insieme delle proprietà di una sostanza che, nelle condizioni di produzione, uso e smaltimento, rendono possibile l'induzione di eventi avversi, in dipendenza dal grado di esposizione.
- Rischio:
  - 1) Possibilità che si verifichi un evento dannoso in seguito ad esposizione ad un agente (chimico, fisico) in specifiche condizioni;
  - 2) Frequenza attesa (probabilità) di un evento avverso in seguito ad esposizione ad un agente (chimico, fisico) in specifiche condizioni.

La valutazione del rischio è la procedura di valutazione della rilevanza dei dati sperimentali ed epidemiologici al fine di derivare:

- Livelli 'sicuri' di esposizione nell'uomo (se esiste una dose soglia);
- Il rischio associato ad un determinato livello di esposizione (se non esiste una dose soglia).

La valutazione del rischio serve per indirizzare le decisioni per la tutela della salute dell'uomo e dell'ambiente:

- Inquinanti e contaminanti: livelli accettabili; limitazioni e precauzioni d'uso; bando; controlli.
- Sostanze chimiche industriali: autorizzazioni, revoche, livelli accettabili, limitazioni e precauzioni;
- Farmaci, pesticidi, additivi di cibi e acqua: rapporto rischio/beneficio, autorizzazione, livelli accettabili, precauzioni.

I criteri per la valutazione del rischio e le conseguenti decisioni variano da paese a paese ed anche in dipendenza dell'Autorità e dei suoi compiti (es: tutela dell'ambiente, della salute umana, igiene del lavoro).

Nel novembre 1895, mentre studia le scariche di corrente nei tubi a vuoto, Roentgen osserva che ogni volta che la corrente fluisce nel tubo sono emesse radiazioni invisibili che chiama raggi X. Entro breve tempo, nel febbraio 1896, ad opera di E. Frost, i raggi X sono utilizzati in medicina per la diagnosi radiografica. Il 1 marzo 1896 Becquerel scopre la radioattività naturale e nel 1899 Rutherford identifica due tipi di radiazione emessi che chiama raggi  $\alpha$  e raggi  $\beta$ . Nel 1900 Villard trova i raggi  $\gamma$ . Nel 1896 Edison riferisce di danni agli occhi causati dai raggi X. Tesla mette in guardia gli sperimentatori sulla necessità di evitare la permanenza in prossimità dei tubi a raggi X durante il loro funzionamento. Il dottor Gage pubblica un articolo nel quale descrive alcuni danni provocati dai raggi X: caduta dei capelli e lesioni cutanee. Nel dicembre 1898 i Curie,

riescono ad isolare e ad estrarre il radio. Bequerel ne riceve in dono una piccola quantità, che ripone in una tasca. In seguito si accorge di avere la pelle ustionata.

Nei primi anni Dieci i ciarlatani entrano nel "business" radioattivo. L'U.S. Patent Office rilascia un gran numero di brevetti per apparecchiature, sostanze e tecniche di cura "miracolose". Nel 1912 è brevettato il "Revigator", una pozione a base di minerali di radio. Nello stesso anno si registra il decesso di un paziente che per curare l'artrite si sottoponeva a iniezioni di radio-226.

Nel 1920, dopo la prima guerra mondiale l'uso di vernici fluorescenti (a base di sostanze radioattive) si estende all'industria civile dell'orologeria. Nel 1925 il fisiologo Martland rileva nei lavoratori coinvolti stati di anemia e patologie ossee. Nel 1925 inizia l'utilizzazione su larga scala della radioterapia e nel 1927 si fa uso per la prima volta di traccianti radioattivi per la diagnosi di stati patologici del cuore e dell'apparato cardiocircolatorio. Nel 1928 si tiene il primo congresso dell'International Committee on X-ray and Radium Protection, organismo dal quale trarrà successivamente origine l'International Commission for Radiological Protection (ICRP). Sono pubblicati i primi standard internazionali per la protezione dalle radiazioni.

**Istituzione dell'ICRP:** istituita al 2° Congresso Internazionale di Radiologia (Stoccolma 1928), come Commissione dell'ISR, con compiti di Radioprotezione Medica.

Attualmente l'ICRP è un organismo internazionale che si occupa di tutti gli aspetti che riguardano i rischi connessi con l'uso delle radiazioni ionizzanti.

Scopi e obiettivi dell'ICRP:

- Fornire a livello internazionale linee guida sui principi fondamentali della radioprotezione;
- Fornire consigli agli organismi di governo sul corretto uso delle radiazioni ionizzanti;
- Fornire un livello adeguato di protezione per l'uomo senza limitare eccessivamente le pratiche giustificate che comportano un aumento dell'esposizione.

## LA RADIOBIOLOGIA

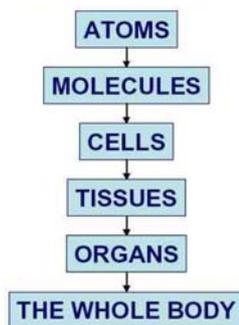
La radiobiologia è la disciplina della radiologia dedicata all'interazione tra le radiazioni ionizzanti e il tessuto umano. Nel campo radiobiologico dobbiamo tenere conto di quali sono le fonti di radiazioni naturali e le fonti di radiazioni artificiali, che arrivano dallo spazio oppure negli ospedali, a fini diagnostici o terapeutici. La radiologia è nata proprio sul campo clinico sperimentale e si è visto l'effetto radiobiologico cercando di ricostruire a posteriori quali potevano essere le fonti di radiazione. Le conoscenze più importanti, violente e temibili sulle radiazioni si sono avute con le esplosioni nucleari, grazie alle quali si è avuta tutta la visione possibile degli effetti delle radiazioni.

## Interazione delle radiazioni ionizzanti con il corpo umano

### Irradiation of Cells

- ❑ Biological effects are usually thought of as effects on CELLS.
- ❑ Ionizing Radiation interacts with ATOMS, by IONIZATION.
- ❑ The damage follows the sequence:
  - Physical Stage.
  - Physico-chemical
  - Chemical Stage.
  - Biological and Physiological Stage.
- ❑ The most important damage is done to the DNA molecule:
  - Direct: physical.
  - Indirect: physico-chemical.

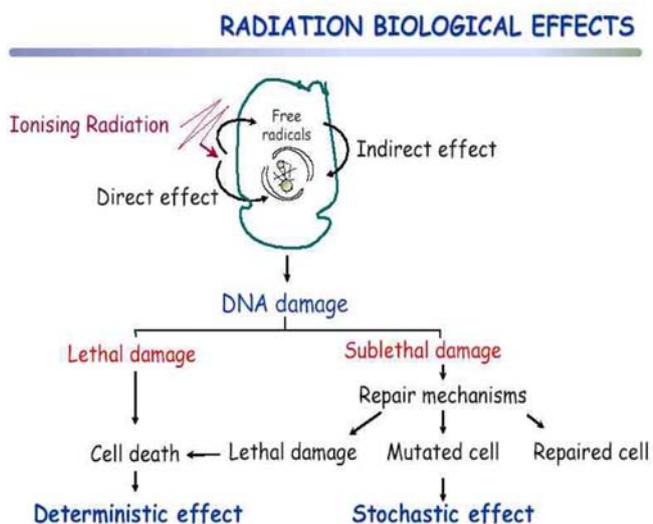
### Scales of Effects



### Radiazioni ionizzanti:

- Fase fisica (nano secondi) → eccitazione, ionizzazione;
- Fase chimica (secondi) → reazione dei radicali liberi;
- Fase biologica (ore/giorni/mesi/anni) → reazioni enzimatiche, processi di riparo, effetti acuti, effetti tardivi, carcinogenesi.

### Effetti delle radiazioni:

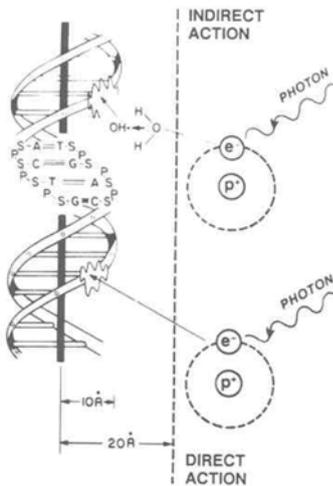


- Stocastici (o probabilistici): il contatto, anche unico, con delle radiazioni ionizzanti potrebbe essere la causa per creare una condizione di instabilità genomica e portare a delle modifiche biologiche, per esempio la formazione di un tumore;
- Deterministici: c'è una soglia che deve essere superata per avere un determinato effetto biologico;
- Ereditari (genetici): quando la dose di radiazione non è somministrata alle cellule somatiche dell'individuo ma alle cellule germinali, che raccolgono un danno da radiazione che si manifesterà nelle progenie (figli o nipoti).

## Il danno al DNA:

Può essere un danno più semplice, ossia la rottura di una singola elica del DNA, o un danno più devastante, come la rottura di tutte e due le eliche, che può facilmente portare a un danno letale.

Ci possono essere anche dei danni minori, come per esempio un danno ad una delle singole basi che compongono l'elica del DNA o una distorsione della doppia elica.



Il danno al DNA può essere diretto o indiretto.

Il danno è diretto quando il fotone arriva sull'atomo e provoca una ionizzazione. Questo elettrone ionizzato, a sua volta, va a distruggere una o due eliche del DNA.

Nel caso del danno indiretto, l'elettrone va a ionizzare l'acqua e sarà quest'acqua, ionizzata e che forma un radicale libero, che andrà a distruggere una singola elica o la doppia elica del DNA.

## Effetti del danno al DNA:

 <p><b>Gene Expression</b> A gene may respond to the radiation by changing its signal to produce protein. This may be protective or damaging.</p>	 <p><b>Gene Mutation</b> Sometimes a specific gene is changed so that it is unable to make its corresponding protein properly.</p>	 <p><b>Chromosome Aberrations</b> Sometimes the damage effects the entire chromosome, causing it to break or recombine in an abnormal way. Sometimes parts of two different chromosomes may be combined.</p>	 <p><b>Genomic Instability</b> Sometimes DNA damage produces later changes which may contribute to cancer.</p>	 <p><b>Cell Killing</b> Damaged DNA may trigger apoptosis, or programmed cell death. If only a few cells are affected, this prevents reproduction of damaged DNA and protects the tissue.</p>
--	---	---	---	---

Studies have shown that most radiation-induced DNA damage is normally repaired by the body

La situazione che appare pesante, ma ben compensata dal corpo umano, è la cell killing, ovvero l'uccisione della cellula.

Il Gray è l'unità di misura della dose di radiazioni. È stato riscontrato che 1 Gray somministrato su una cellula può portare a:

- 2000 ionizzazioni;
- 1000 rotture della singola elica del DNA;
- 40 rotture della doppia elica del DNA;
- 3000 basi del DNA danneggiate.

Gli enzimi coinvolti nella riparazione del DNA sono:

- DNA polimerasi;
- DNA ligasi;
- Glicosilati, che riconoscono il danno e lo riparano il più possibile;
- Endonucleasi, che fanno incisioni e rilasciano lo zucchero rimasto.

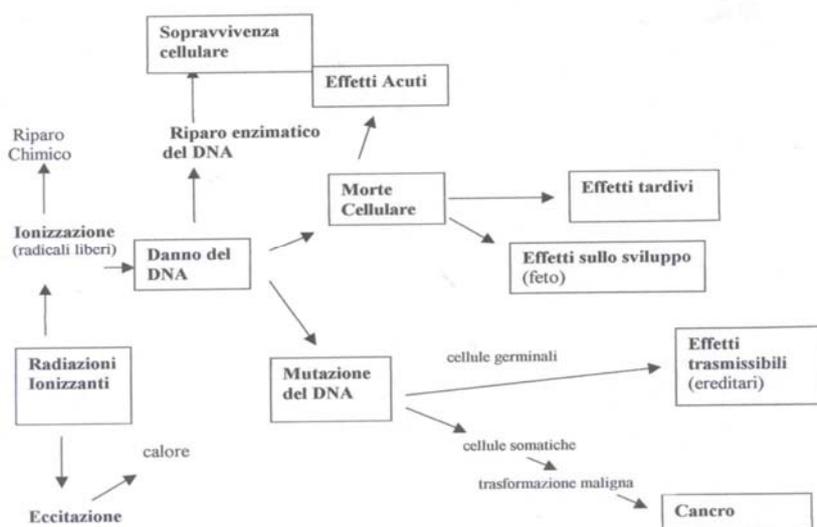
Radiazioni ionizzanti vanno ad attaccare:

- Nucleo: danno al DNA e RNA;
- Citoplasma: mitocondri ed enzimi;
- Membrana cellulare: alterazione dei recettori di membrana e interazione cellula-stroma.

Cosa succede quando un fascio di radiazioni interagisce in un tessuto con le cellule?

- No effect.**
- Division Delay.**
- Apoptosis:** cell death before it can divide.
- Reproductive Failure:** cell death when attempting MITOSIS.
- Genomic Instability:** delayed reproductive failure.
- Mutation:** cells contains mutation in genome.
- Transformation:** mutation leads to carcinogenesis.
- Bystander Effects:** damaged cell induces damage in surrounding ones.
- Adaptative Response:** increased resistance to radiation.

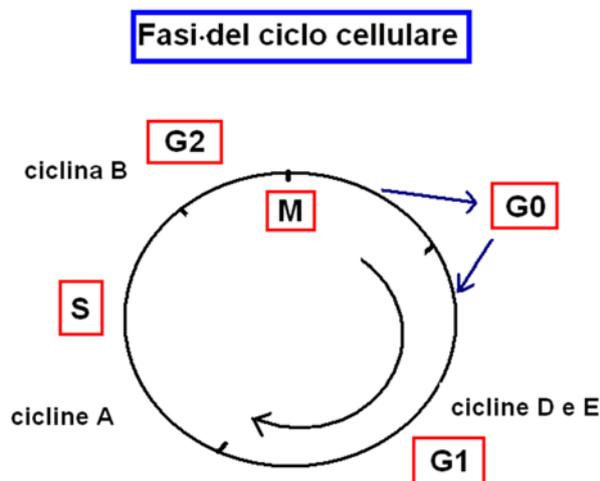
FIGURA 1. POTENZIALI EFFETTI DELLE RADIAZIONI IONIZZANTI SULLE CELLULE SANE



## Riparazione dei danni da radiazione:

- ❑ Cellular mechanisms are in place which can repair most if not all types of radiation injury to the DNA.
- ❑ Repair is a time sensitive process:
  - Repair of DNA injury of all types is essentially complete by 6 hours post irradiation.
  - External factors affecting cellular metabolic rate may delay or accelerate it
  - Foundation of modern radiotherapy
- ❑ Repair is a cell cycle dependent process:
  - Different phases have different repair capabilities
    - Mitosis has the least repair capability.
    - $G_2$ .
    - $G_1/G_0$ .
    - S phase has the most repair capability.
  - Capability varies in  $G_1$  and S.

A seconda di dove si troveranno nelle cellule (fase M, fase S), si potranno avere dei quadri diversi di radiosensibilità. La fase più radiosensibile è la fase M, mentre la fase più radioresistente è la fase S, dove la cellula sta raddoppiando il suo DNA e ha avviato il processo immediato di riparo di un eventuale danno. Le cellule in fase  $G_0$ ,  $G_1/S$ ,  $G_2/S$  sono ancora abbastanza resistenti.



## Concetti preliminari di radiogenomica

### Radiosensibilità:

- Genomica: sequenziamento del DNA;
- Proteomica: proteine espresse;
- Trascrittomica: espressione dei geni – RNA;
- Cellule tumorali staminali (stem cells);
- Microambiente/endotelio/angiogenesi;
- Varianti genetiche determinando la risposta dei tessuti sani.

Goal innovativo: l'imaging come surrogato dell'espressione genica individuale (radiofenotipi).

### **Radiogenomica:**

- Studio del DNA esposto a radiazioni ionizzanti per vedere la sua struttura e le mutazioni;
- Studio del DNA repair: fosforilazione dell'istone H2AX (metodo foci, per vedere dove e quanto è stato danneggiato);
- Studio della suscettibilità individuale: polimorfismi.

### **Riparo enzimatico del DNA:**

Il mancato riparo del 4% del danno alla doppia elica del DNA porta ad un crollo della sopravvivenza cellulare dall'80% al 30%.

I principali effetti tardivi radio-indotti (dermatiti-proctiti-fibrosi) sono correlati ad un 2-9% di mancato riparo enzimatico.

### **Strumenti tecnologici:**

- Immunofluorescenza (livello cellulare): metodo foci (studio del danno della doppia elica del DNA);
- Immunoistochimica (livello tissutale);
- Studio di ibridazione genomica comparativa;
- Studio dell'analisi dettagliata del polimorfismo a nucleotide singolo (SNP);
- Studio di promotori;
- Studio di interferenza dell'RNA;
- Matrice proteica;
- Studio microarray.

### **Immunofluorescenza istone H2AX:**

Misura del danno alla doppia elica:

- Range di misura: da mGy a 2 Gy;
- Utile per valutare il danno dopo esposizione a basse dosi in:
  - IMRT;
  - Protonoterapia;
  - Radiologia interventistica;
  - Radioprotezionistica.

### **Polimorfismo dei nucleotidi (SNP):**

Ad esempio nel DNA due basi C-T invece che T-T.

Nel genoma umano i SNPs sono circa 11 milioni, localizzabili con i micro-arrays. L'impatto dei SNPs sul fenotipo è generalmente debole.

## Sindromi genetiche associate alla radiosensibilità:

SYNDROMES	GÈNE MUTÉ	SF2
Ataxie télangiectasie (homoz. classiques)	ATM	1-5
Syndrome Ligase IV	LIG4	2-6
Syndrome de Nimègue	NBS1	5-9
Progeria (Hutchinson-Gilford)	Lamin A	8-19
Ataxie télangiectasie (homoz. variants)	ATM	10-15
Syndrome d'Usher	Gènes USH	15-20
Syndrome de Cockayne	Gènes CS	15-30
Xeroderma pigmentosum	Gènes XP	15-30
Syndrome ATLD	MRE11	15-40
Chorée de Huntington	IT15	18-30
Syndrome de Gardner	APC ?	20-30
Syndrome de Turcot	hMSH2 ?	20-30
Anémie de Fanconi et BRCA2	Gènes FANC	20-40
Syndrome BRCA1	BRCA1	20-40
Syndrome Artémis	Artémis	20-40
.	.	.
.	.	.
.	.	.
Témoins radiorésistants		60-80

× 80

## Micro-ambiente:

- Ossigenazione tissutale;
- Citochine;
- Cellule host (immunitarie, midollo osseo, endotelio, altre);
- Angiogenesi: la radioterapia è antiangiogenetica;
- Vasculogenesi: la radioterapia non è anti-vasculogenetica.

## Effetti deterministici ed effetti stocastici o probabilistici

### Effetti sull'uomo delle radiazioni ionizzanti:

I danni prodotti sull'uomo si distinguono in:

- Danni somatici deterministici;
- Danni somatici stocastici;
- Danni genetici stocastici.

Danni somatici: si manifestano sull'individuo irradiato (es: radioterapia).

Danni genetici: si manifestano sulla progenie dell'individuo irradiato.

### Danni somatici deterministici:

La frequenza e la gravità variano con la dose (si può individuare un valore di dose-soglia).

- Compaiono al superamento di una dose-soglia caratteristica di ogni effetto;
- Il superamento di detto valore comporta l'insorgenza dell'effetto in tutti gli irradiati; il valore della dose-soglia è anche in funzione della distribuzione temporale della dose;
- Il periodo di latenza è generalmente breve;
- La gravità delle manifestazioni cliniche aumenta con l'aumentare della dose.