

 **MINISTERO
DELL'INTERNO**



**DIPARTIMENTO DEI VIGILI DEL
FUOCO, DEL SOCCORSO
PUBBLICO E DELLA DIFESA
CIVILE**

**CORPO MILITARE DELLA
CROCE ROSSA ITALIANA**



**1° WORKSHOP
DI
RADIOPROTEZIONE SANITARIA**

**19 dicembre 2011
Istituto Superiore Antincendio
ROMA**

ELEMENTI DI RADIOBIOLOGIA

***Interazioni con la materia,
effetti sulle macromolecole,
sulle cellule, sull'uomo***

Gabriele Campurra



CENTRO RICERCHE FRASCATI

AGENZIA NAZIONALE PER LE NUOVE TECNOLOGIE, L'ENERGIA E LO SVILUPPO ECONOMICO SOSTENIBILE



**Medicina del Lavoro
Radioprotezione Medica**



RADIOBIOLOGIA

La radiobiologia studia le **interazioni tra le radiazioni ionizzanti e la materia vivente**, dagli effetti sulle **macromolecole** (in particolare sul **DNA**) agli effetti sulle **cellule**, sui **tessuti**, sugli **organismi**.

I recenti progressi nel campo della radiofisica, della biologia molecolare, della cinetica cellulare, hanno consentito alla radiobiologia di definire alcuni tra i principali meccanismi che sono alla base dei fenomeni della **radiosensibilità**, contribuendo efficacemente allo sviluppo della radioterapia e della radioprotezione.





IONIZZAZIONE

Diretta (a)

particelle
cariche, elettroni,
protoni, α , ioni
pesanti

$W \approx 10 \text{ eV}$

tempi infinitesimi
(10^{-15} sec)

Indiretta (b)

particelle non
cariche, fotoni
(x, γ), neutroni

a

b

elettroni
secondari
(raggi δ)





Scala
indicativa
dei tempi

10^{-24} s

10^{-14} s

10^{-12} s

10^{-9} s

10^{-7} s

10^{-3} s

ore / settimane

anni / secoli

$\alpha, \beta, \gamma, p, n, \dots$

interazione con elettrone o con campo nucleare

radiazione diffusa

fotoelettrone
elettrone Compton
coppia $e^+ e^-$

annichilazione

Bremsstrahlung

perdita di energia
durante il
percorso

interazione
neutronica

ionizzazione eccitazione rottura legami chimici vibrazioni molecolari

Nuova interazione
con elettrone o con
campo nucleare

formazione di radicali liberi

alterazioni chimiche

alterazioni biochimiche

alterazioni biologiche precoci

alterazioni biologiche tardive



LA RADIOLISI DELL'ACQUA

- Accanto agli **eventi fisici primari**, legati essenzialmente alle **"collisioni" di elettroni** che provocano **l'assorbimento di energia** nella materia attraversata dalla radiazione, gli effetti biologici risultano per larga parte dovuti alla **radiolisi dell'acqua**.
- In questo processo fisico-chimico si formano, sempre lungo le traiettorie delle particelle incidenti, speciali entità dette **"radicali liberi"** che sono dotate di **estrema aggressività** verso le molecole circostanti. I radicali liberi diffondono nei liquidi cellulari e producono reazioni biochimiche che **danneggiano** in particolare le macromolecole del **DNA**, per cui si parla di **EFFETTO INDIRETTO (o MEDIATO)** delle radiazioni ionizzanti sulle molecole interessate.
- Questo effetto è praticamente simultaneo **al danneggiamento provocato sulle stesse molecole dai fenomeni fisici** legati agli squilibri energetici indotti negli atomi e nelle molecole "colpite" dalla radiazione, cioè al cosiddetto **EFFETTO DIRETTO**.



Formazione di radicali liberi



$R : S$ é la molecola di partenza

$R^{\bullet} + S^{\bullet}$ sono i due radicali che si formano e il punto rappresenta un elettrone spaiato



Radiolisi dell'acqua





Formazione di radicali liberi

I radicali prodotti possono interagire tra loro :

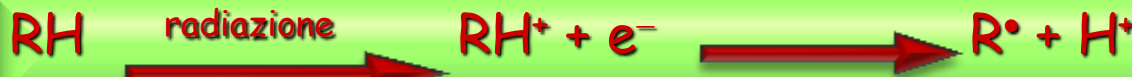


Reazioni tra i radicali liberi e le molecole organiche (RH):



La formazione di radicali liberi di molecole organiche, tramite l'azione sulle molecole di acqua, viene definita **azione indiretta (MEDIATA)** delle radiazioni ionizzanti

L'**azione diretta** delle radiazioni ionizzanti si verifica con la semplice interazione tra radiazione e molecola biologica:





Effetto Ossigeno

Interagendo con l'ossigeno presente formano i **radicali perossidi (ROS)** che possono essere notevolmente dannosi:

Esistono anche gli **RNS**, cioè le specie reattive derivate dall'azoto; di maggior interesse sono l'ossido nitrico (NO) ed il perossinitrito (ONOO⁻)

tramite la produzione di altri radicali liberi:

I radicali liberi possono determinare mutazioni o danneggiare macroscopicamente lo stesso DNA e alterare la struttura chimica delle basi azotate formandone di nuove come **8-ossiguanina** o **5-idrossimetiluracile**. Tramite questo tipo di danno sono concausa dell'invecchiamento cellulare e promuovono il cancro.



- RADICALI LIBERI -

Cro

Dama
mem

Free
radio



TUTTA COLPA DEI
RADICALI LIBERI!



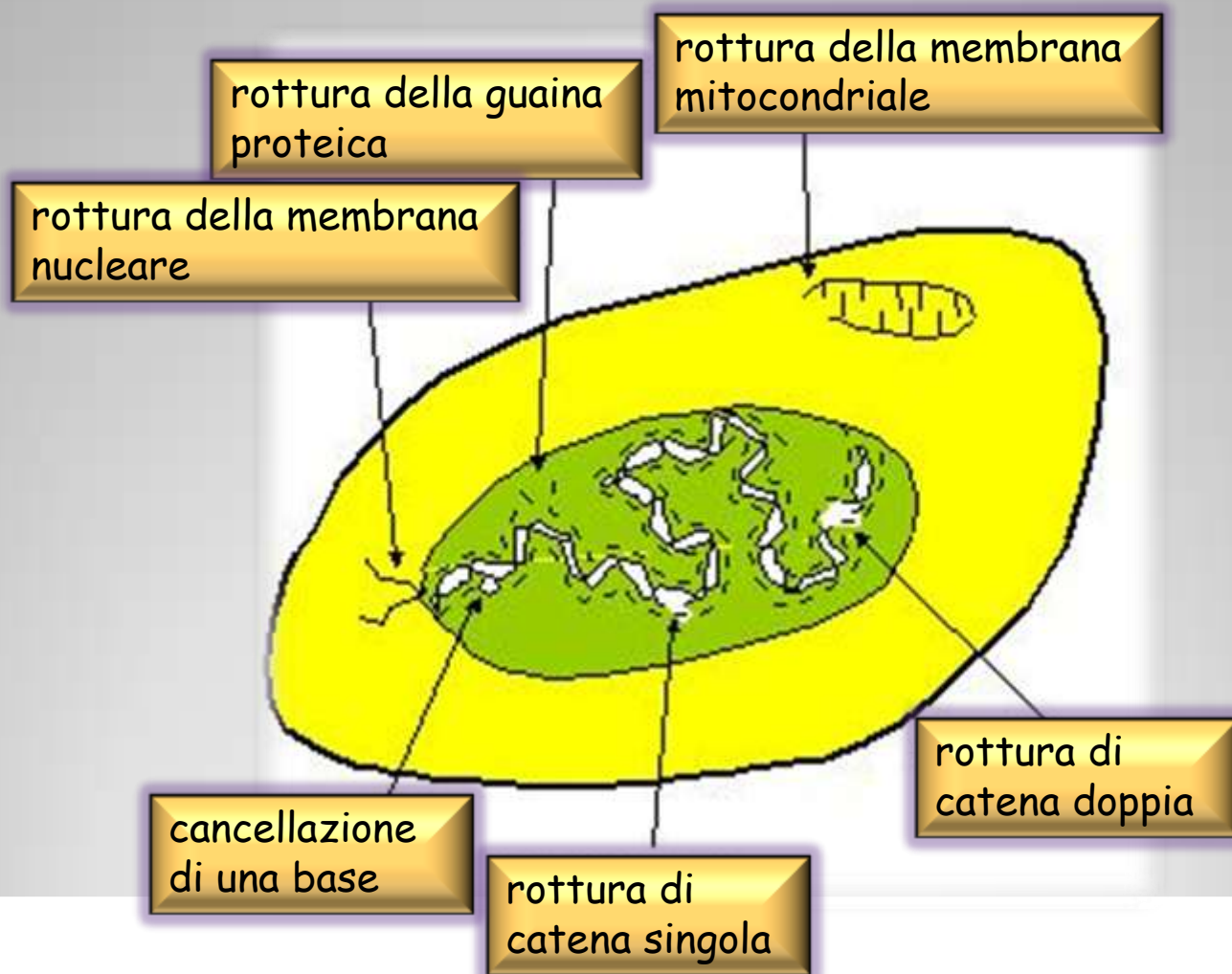
Pillinini*

EN





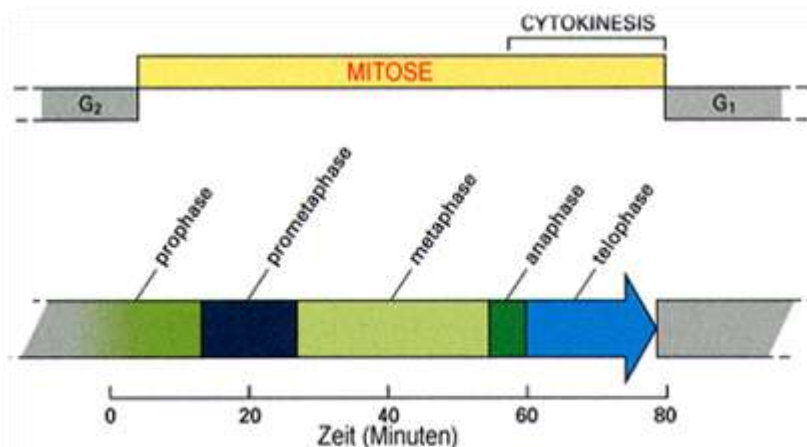
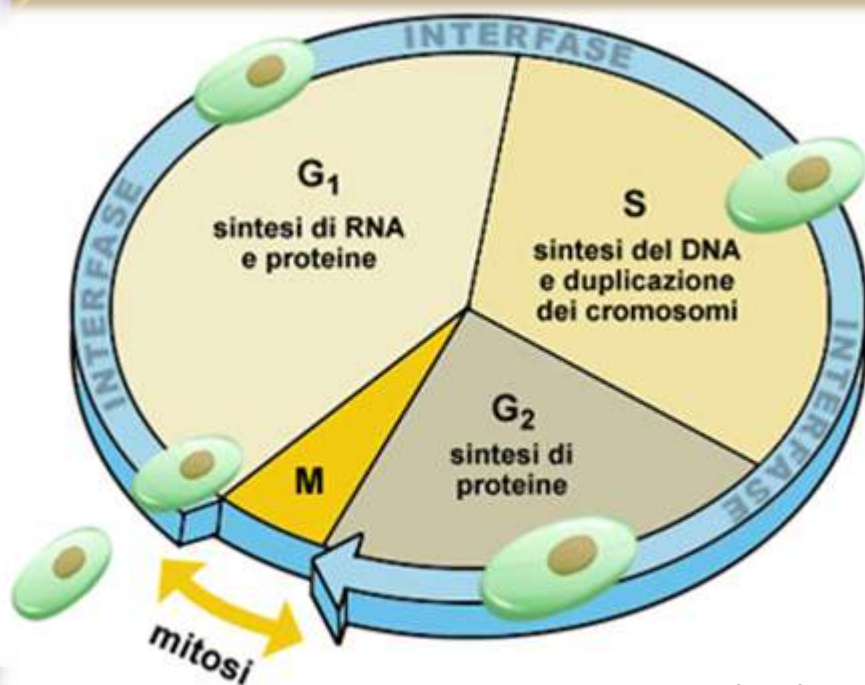
Danni fondamentali alle strutture cellulari - Teoria del bersaglio





- **M**: mitosi o cariocinesi (meno di 1h, visibile al microscopio)
- **G1**: preparazione (da 10 a 24 h)
- **S**: sintesi del DNA (circa 8 h, durata specifica per ogni tipo di cellula)
- **G2**: pre-mitotica (breve durata, rapidissima alla fine: duplicazione DNA)

La **radiosensibilità** è **massima** nella fase **M**, la **radioresistenza** è **massima** nella fase **S**



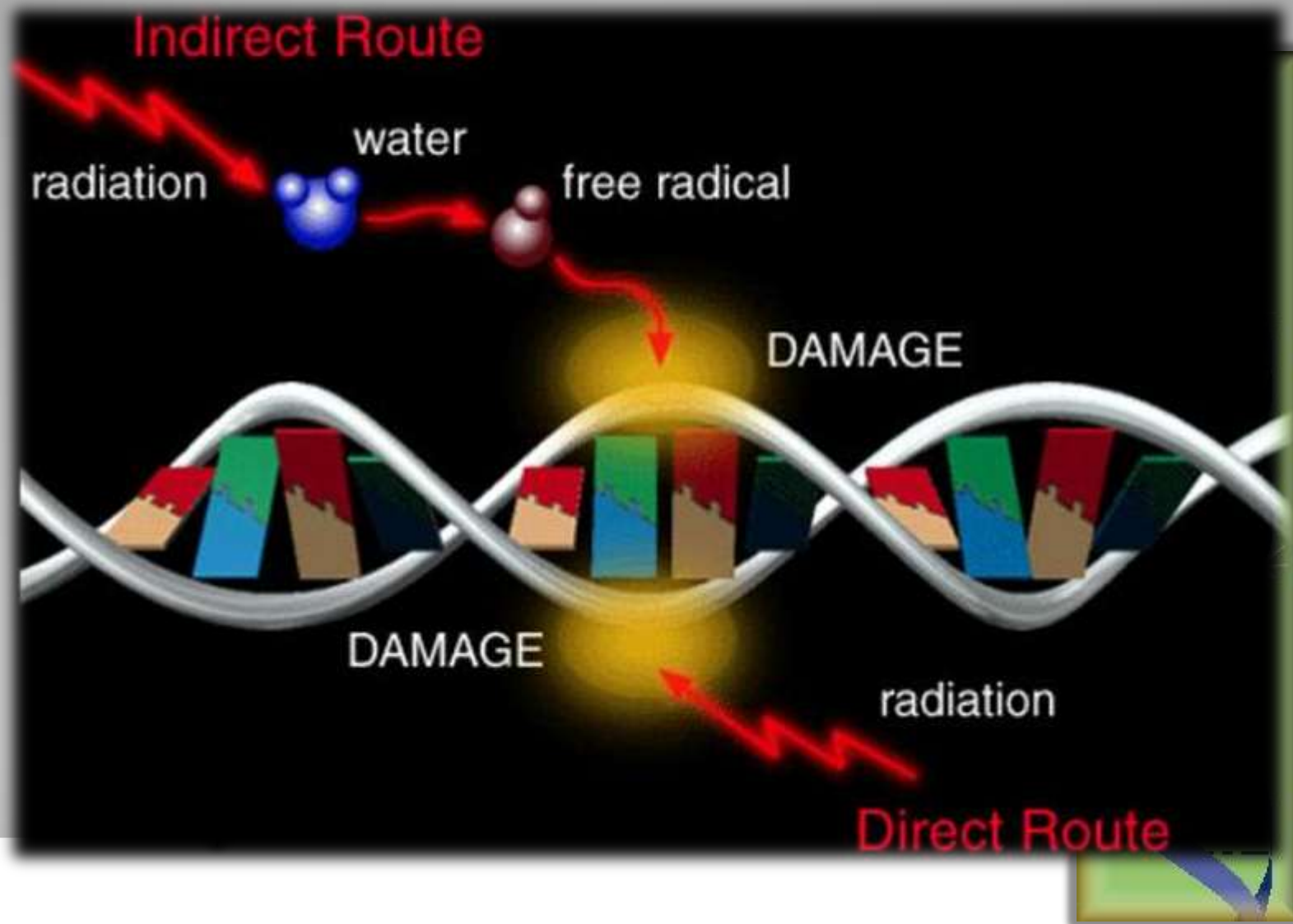
Zeitraumen der Mitose

From The Art of HBC® © 1995 Garland Publishing, Inc.





Danni al DNA



Tipi di mutazioni

Le mutazioni si dividono in due categorie:

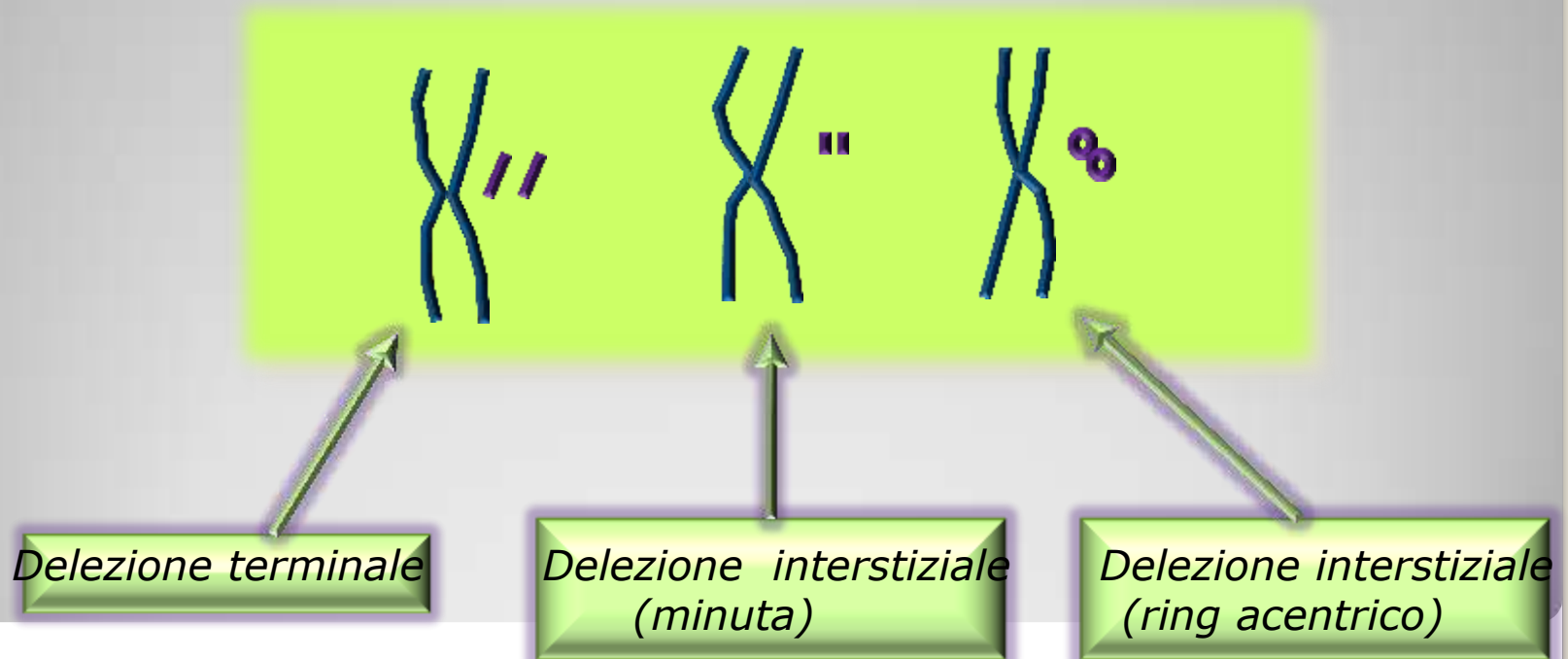
Mutazioni geniche o puntiformi, che provocano unicamente modificazioni di un singolo gene (in un solo punto di un cromosoma) e sono invisibili con le comuni tecniche.

Mutazioni cromosomiche (dette anche **aberrazioni**) che comportano alterazioni in ampie porzioni del cromosoma, se non addirittura la perdita o l'aggiunta di cromosomi interi; sono ben visibili con le normali tecniche citogenetiche.



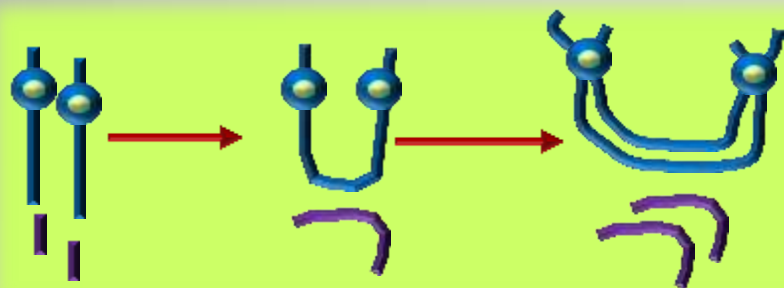
Alcune aberrazioni cromosomiche

Delezioni terminali e interstiziali: è l'unica aberrazione cromosomica che può essere prodotta da una sola rottura.

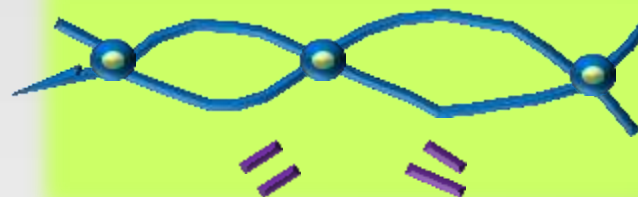


Alcune aberrazioni cromosomiche

Interscambi asimmetrici fra cromosomi diversi; cromosomi dicentrici, o più raramente tricentrici, quadricentrici, ecc., con frammenti associati.



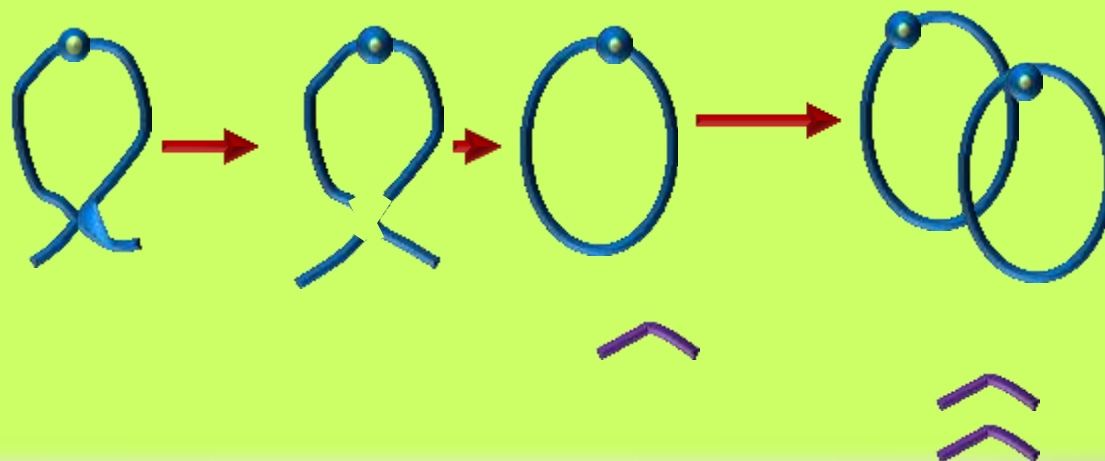
*Dicentrico + frammento
acentrico*



*Tricentrico + 2 frammenti
acentrici*

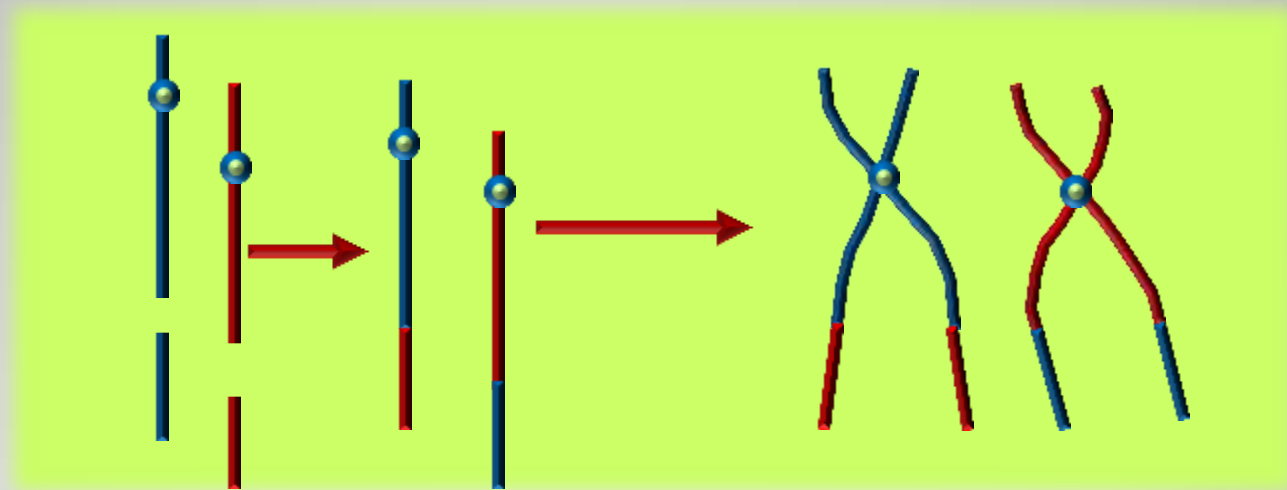
Alcune aberrazioni cromosomiche

Intrascambi asimmetrici nello stesso cromosoma:
come appare evidente un anello centrico è
accompagnato da un frammento acentrico

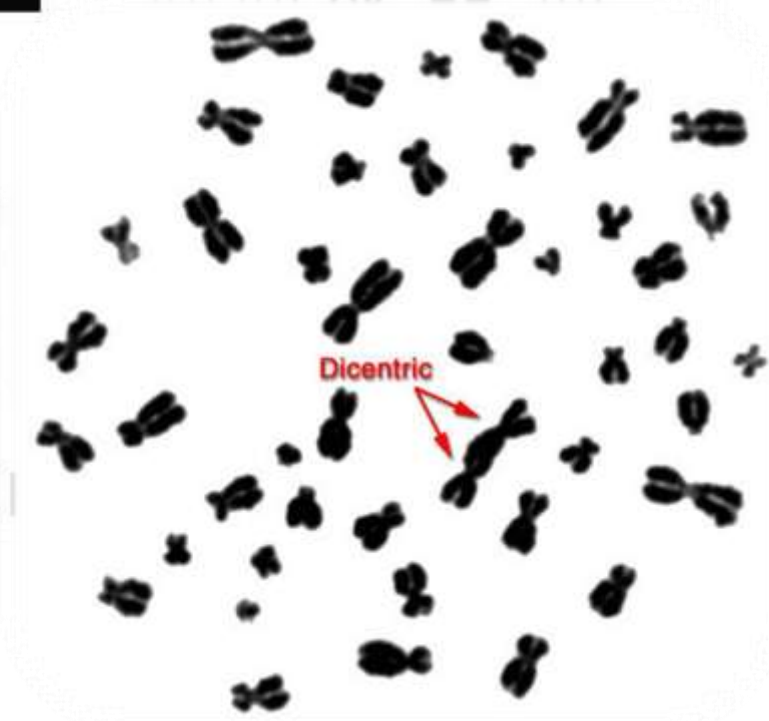
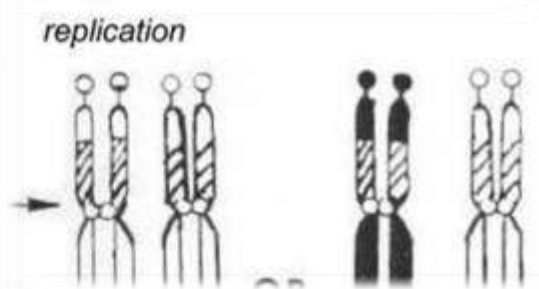
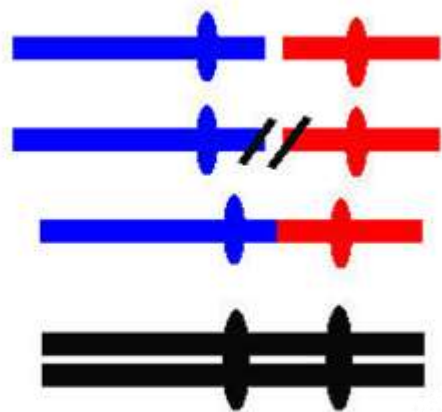


Alcune aberrazioni cromosomiche

Interscambi simmetrici Noti anche
come traslocazioni reciproche

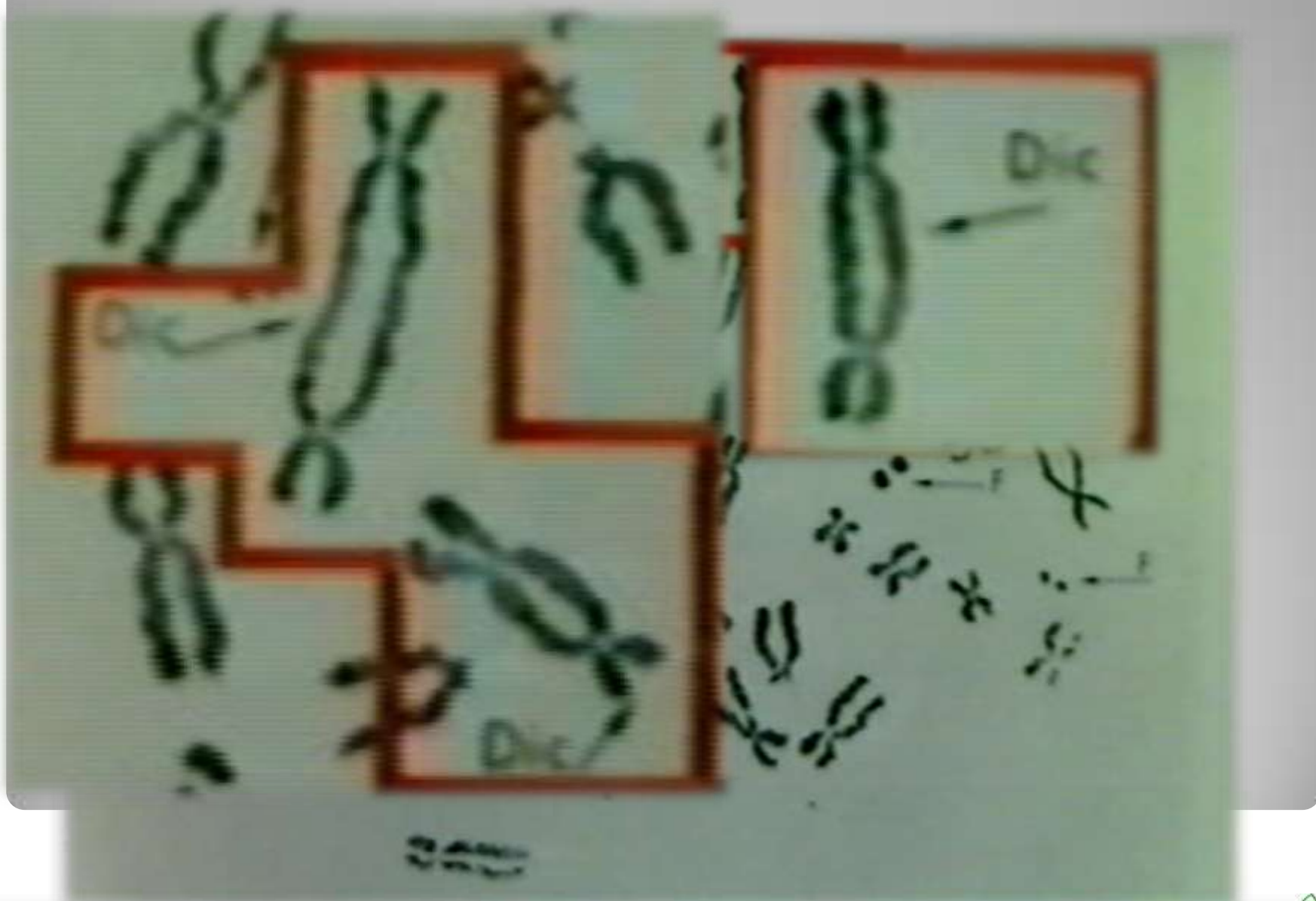


Dicentrici



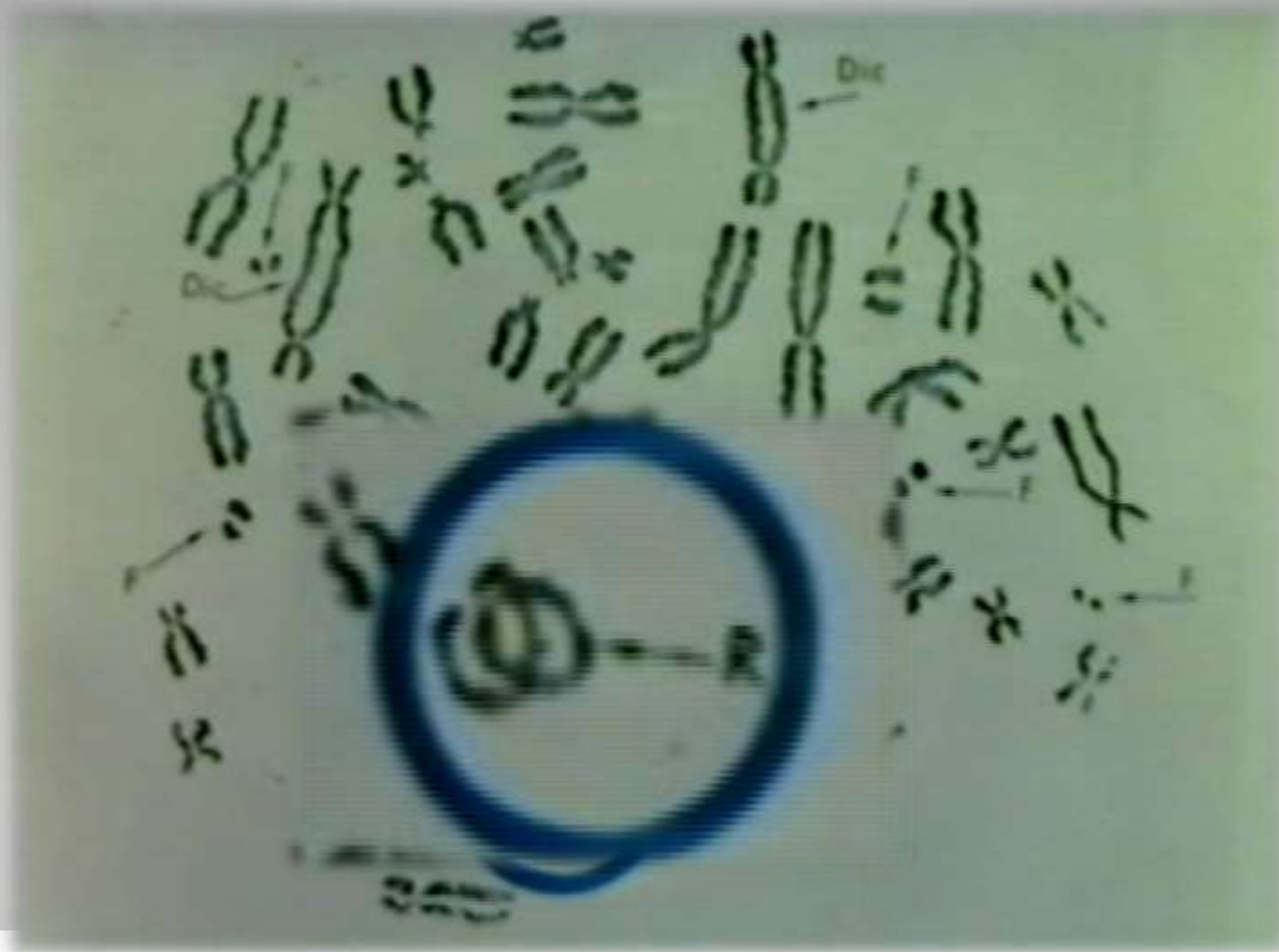


Dicentrici

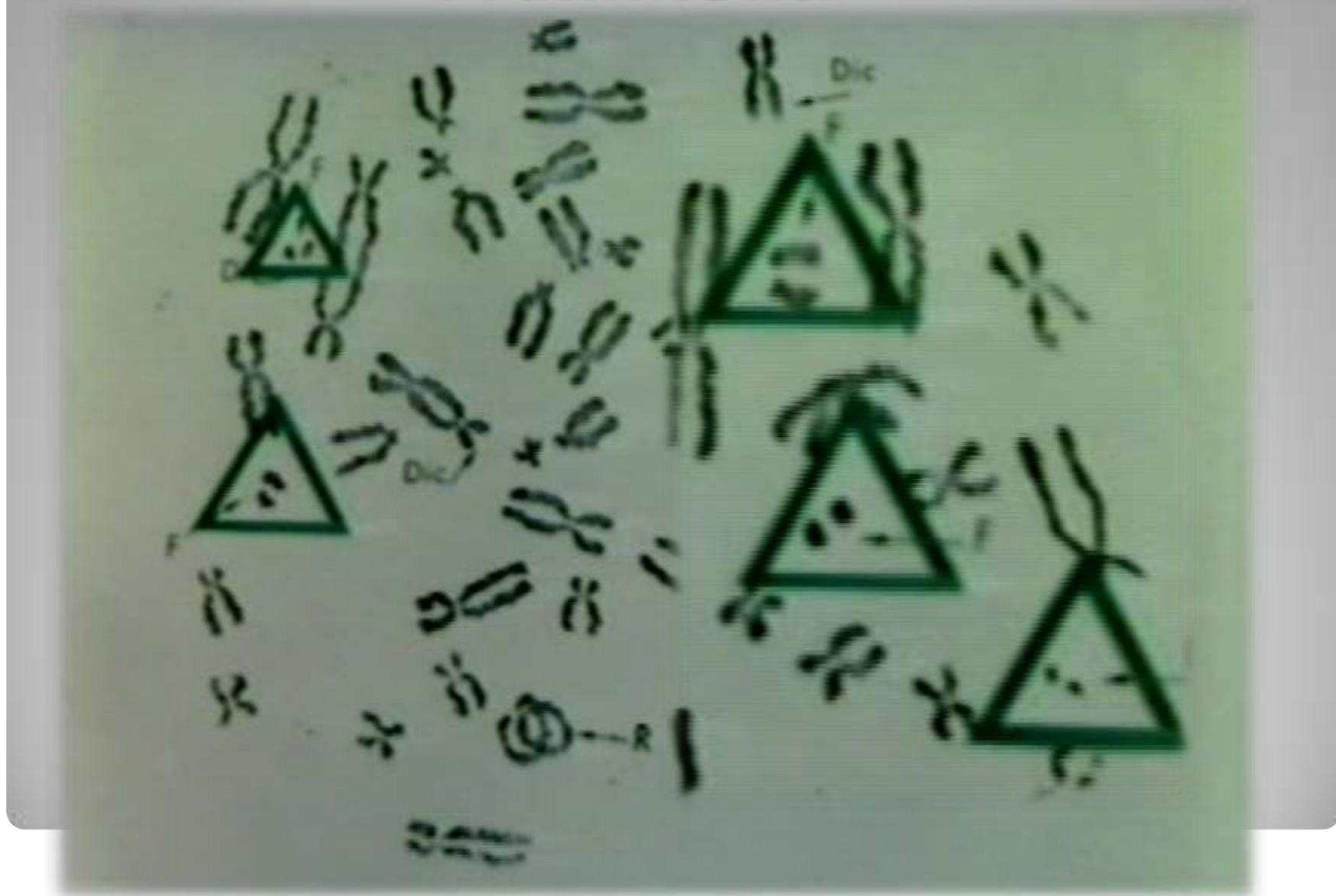




Ring

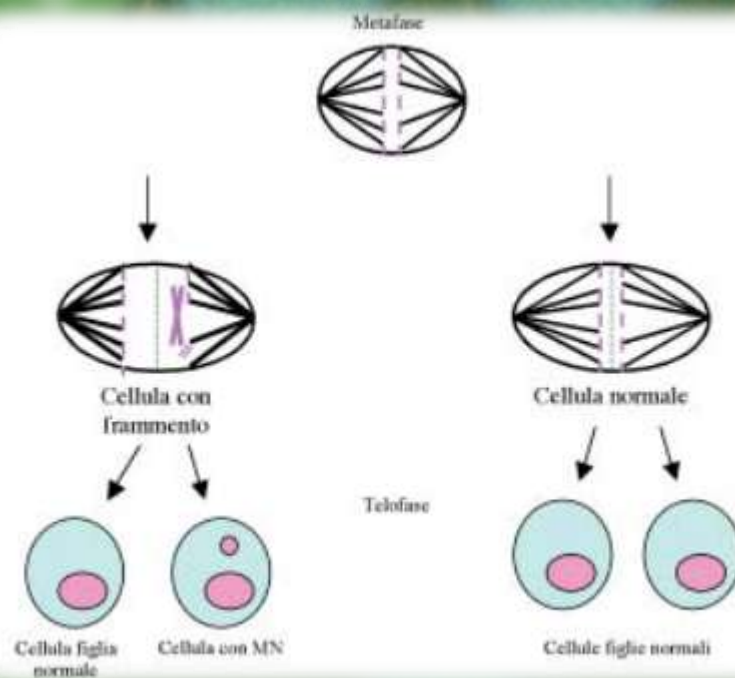


Frammenti





Micronuclei



cell



EFFETTI SULLE CELLULE

Le alterazioni del DNA si ripercuotono sulla vita della cellula e sulla sua riproduzione, a meno che non intervengano fenomeni riparativi nell'ambito: della cellula stessa, delle cellule circostanti e del tessuto specifico, dell'intero organismo ed in particolare del sistema immunitario.





EFFETTI SULLE CELLULE

Morte cellulare

- **immediata** (*morte in intercinesi*)
- **differita** *perdita irreversibile delle capacità di proliferazione (ritardo, arresto: indice mitotico)*

Fenomeni riparativi cellulari

- **"DNA repair"** (*escissione-resintesi, etc.*)
- **Riparazione completa**
- **Riparazione incompleta** (*frazione riparabile, frazione non riparabile del danno*)





Trasferimento lineare di energia (LET)

Per tenere conto della "qualità" della radiazione incidente è stata introdotta un'apposita grandezza denominata **"LET"** (*Linear Energy Transfer*) che si esprime in **keV/μ**

radiazioni a "basso LET": raggi X, gamma, elettroni veloci

radiazioni ad "alto LET": alfa, beta, protoni, neutroni, nuclei pesanti





EFFICACIA BIOLOGICA RELATIVA

Concetto

A dose assorbita uguale (dose fisica, Gy) **l'effetto biologico** preso a riferimento può **variare** in **funzione** della **qualità** della radiazione (in pratica del suo LET).

Definizione

L'efficacia biologica relativa (EBR) di una radiazione rispetto ad un'altra è il rapporto inverso tra le dosi assorbite che producono il medesimo grado di un ben definito effetto biologico.



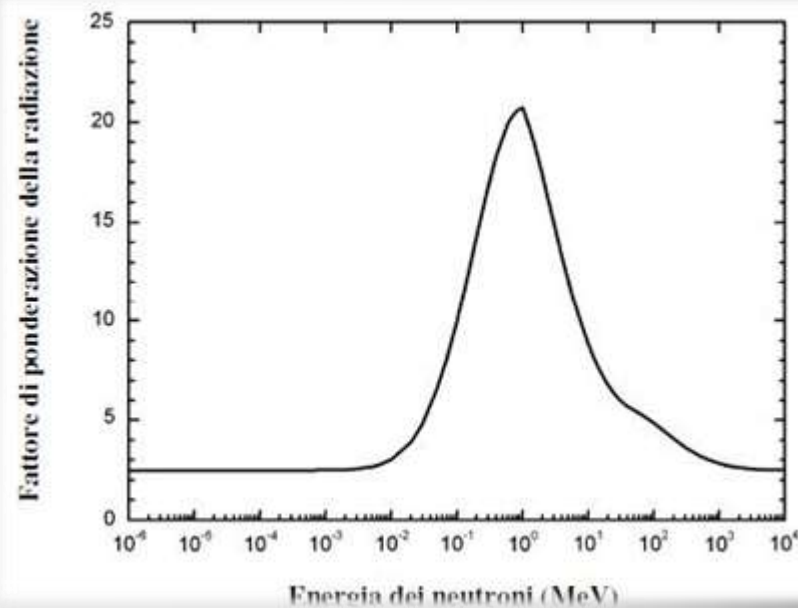


EFFICACIA BIOLOGICA RELATIVA

Simbologia: $Gy \times W_R = Sv$

W_R : fattore di ponderazione correlato con LET della radiazione

Tipo di radiazione	Fattore di ponderazione W_R
Fotoni	1
Elettroni e muoni	1
Protoni e pioni carichi	2
Particelle α , frammenti di fissione, ioni pesanti	20
Neutroni	Funzione continua dell'energia del neutrone





Fattori che regolano l'effetto biologico

Inerenti alla radiazione

- **dose** assorbita (Gy)
- **fattore tempo**: rateo di dose, frazionamento, iterazione
- **qualità** della radiazione (LET)

Inerenti al sistema biologico

- **fase** del ciclo cellulare
- **radiosensibilità** tissutale (legge di Bergonié e Tribondeau)
- **condizioni** del microambiente tissutale (effetto ossigeno)
- **effetto "bystander"**
- **risposta adattativa**
- **altri** fattori omeostatici (immunologici, ormonali, ecc.)





NOZIONE DI DOSE ASSORBITA

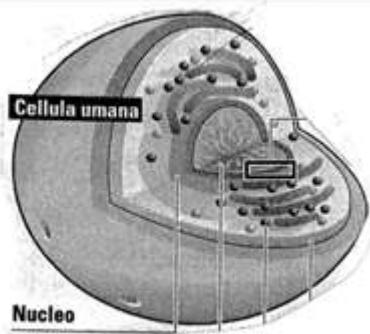
Il trasferimento di energia da parte della radiazione incidente avviene in modo discontinuo, cioè per quantità discrete, in occasione delle «collisioni» aleatorie tra le particelle cariche veicolate o prodotte dalla radiazione stessa (ionizzazione diretta o indiretta) e gli elettroni del mezzo attraversato.

La dose assorbita in un dato volume (dose fisica, espressa in **Gy**) è quindi una grandezza statistica che viene riferita al **valore globale di energia** ceduta, in quel dato volume, dall'insieme delle ionizzazioni avvenute nel volume stesso.

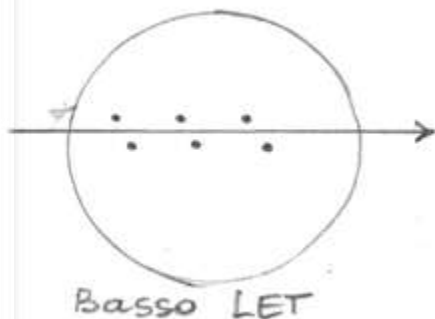
Si può dire pertanto che *la dose assorbita in un dato organo è l'energia depositata divisa per la massa dell'organo stesso.*

Su scala microscopica, a parità di dose, l'effetto biologico dipende dalla natura e dall'energia delle particelle ionizzanti.





Nucleo cellulare : $\varnothing$ 5 μ (massa $10^{-10}g$)
dose assorbita: 1 Gy = 21.000 ionizzazioni

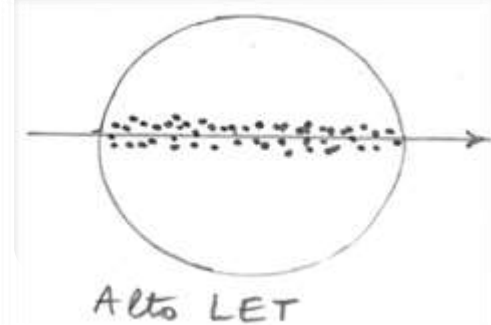


**La stessa dose di 1 Gy nel nucleo cellulare
può essere data da:**

700 elettroni veloci (1 MeV)

LET: 0,2 keV/ μ = 6 ion/ μ

oppure da



14 protoni veloci (4 MeV)

LET: 10 keV/ μ = 300 ion/ μ

*evidentemente con una distribuzione diversa
delle ionizzazioni all'interno del nucleo stesso*



Radiosensibilità di tessuto

A seguito di ricerche sperimentali sulla capacità proliferativa delle cellule dopo irradiazione, nel 1906 **Bergonié e Tribondeau** formularono una “legge” che si può tuttora considerare sufficientemente indicativa ai fini clinici.

La “legge” stabilisce che sono **radiosensibili** le **cellule** ad **elevato ritmo mitotico**, morfologicamente e funzionalmente **indifferenziate**, mentre sono radioresistenti le cellule mature, specializzate, con scarsa probabilità di andare incontro a divisioni cellulari. Pertanto la **radiosensibilità** di un tessuto è **direttamente proporzionale all'attività mitotica** ed inversamente proporzionale al grado di differenziazione delle sue cellule.

Esistono però due importanti eccezioni: gli **oociti** ed i **piccoli linfociti**, che non si dividono e tuttavia sono altamente radiosensibili.





Effetto ossigeno

L'ossigeno è un potente **radiosensibilizzatore**: se presente al momento della irradiazione, ne aumenta sensibilmente l'effetto. Si può ritenere che ciò avvenga perché l'ossigeno contribuisce a fissare radiolesioni che altrimenti sarebbero riparabili.

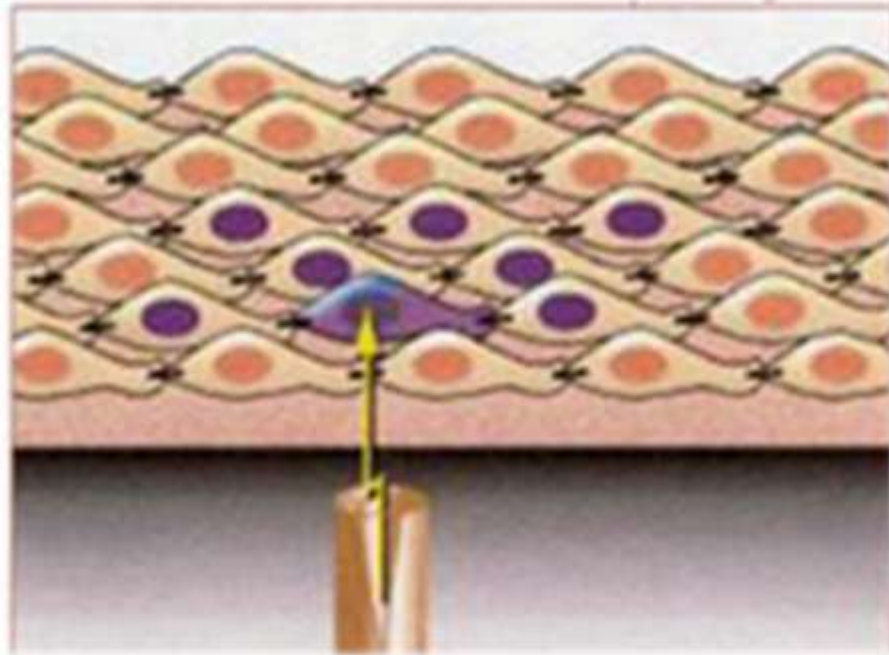
Viene indicato come **OER** (*Oxygen Enhancement Ratio*) il rapporto tra le dosi necessarie per ottenere un dato effetto radiobiologico a seconda del fatto che il sistema sia irradiato in anossia oppure in condizioni di ossigenazione.

Il fattore **OER** dipende dal **LET**, nel senso che per le radiazioni a basso LET occorre moltiplicare la dose per un fattore da 2,5 a 3 se il tessuto irradiato si trova in condizioni di anossia per ottenere lo stesso effetto biologico osservabile in condizioni di buona ossigenazione tissutale.



EFFETTO "BY-STANDER"

Negli anni più recenti si sono accumulate alcune evidenze sperimentali (in vitro e in vivo) e talune osservazioni cliniche che depongono per l'esistenza di un fenomeno radiobiologico denominato **"effetto by-stander"** dal termine inglese **"spettatore, astante"** che riguarda **cellule** situate **in prossimità** del campo di radiazioni, anche a seguito di basse dosi.



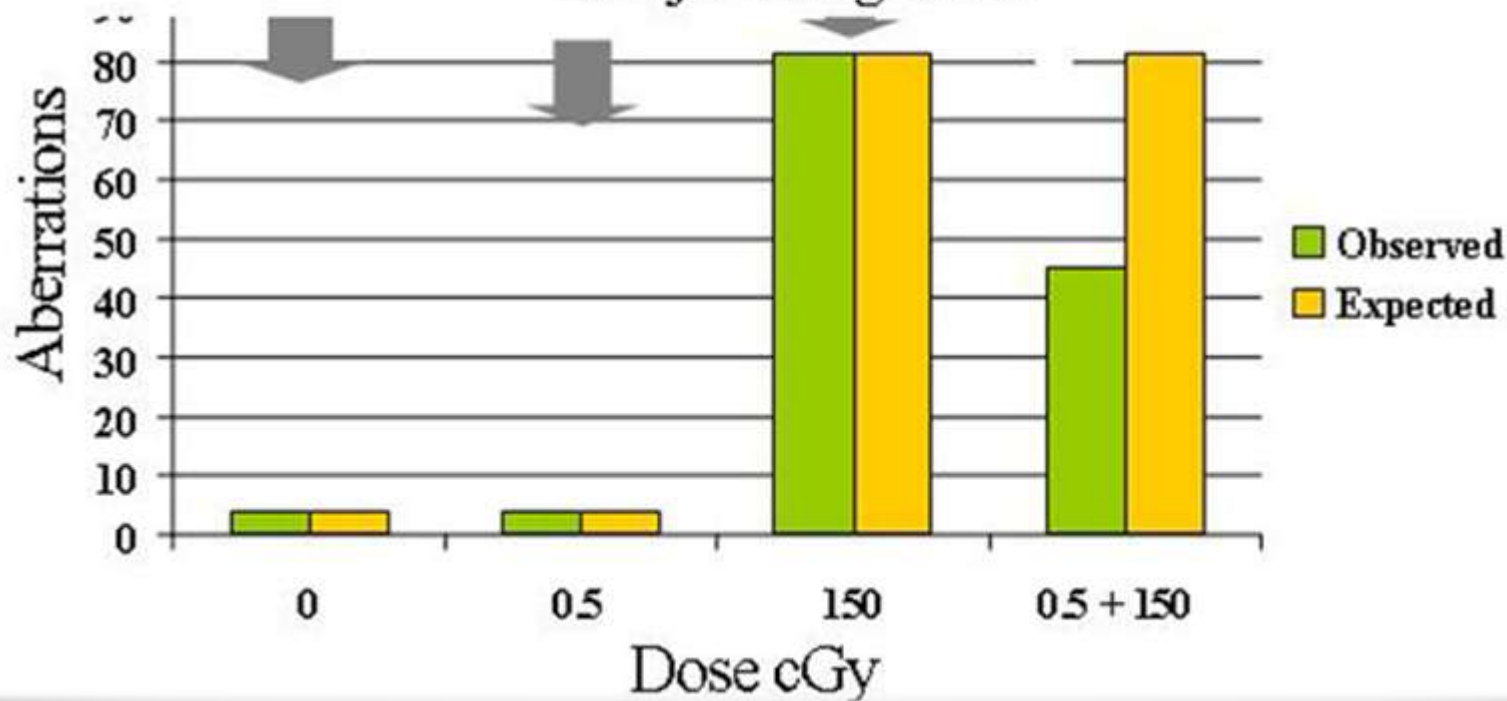
Gli effetti osservati riguardano alterazioni di varia natura citogenetica: instabilità cromosomica, aumento della frequenza di micronuclei, riduzione della sopravvivenza cellulare, induzione di apoptosi, e altre.

Si ipotizza che **dalle cellule direttamente attraversate** dalla radiazione ionizzante possano **partire "segnali"** (mediante composti diffusibili o altri mezzi di comunicazione intercellulare) che vengono captati dalle cellule circostanti.



RISPOSTA ADATTATIVA

When a small dose of radiation is given before a larger one, it would be expected there would be more chromosome aberrations than when just the large dose was given. But that is not what happens. With a small “tickle” dose before the larger dose, there were only about half as many aberrations than with just a large dose!





La dose in radioprotezione : dal Gray (Gy) al Sievert (Sv)

Dose equivalente

Si esprime in **Sievert (Sv)**.

Si ottiene **moltiplicando** la **dose assorbita** (espressa in **Gy**) per un **fattore** di **ponderazione** che dipende dalla **EBR** della radiazione considerata ed in particolare dal suo **LET**. Questo fattore ha valore **1** (cioè $\text{Gy} = \text{Sv}$) per tutte le radiazioni a **basso LET**, inclusi i raggi X e gamma di ogni energia, mentre ha **valori diversi** (da 5 a 20, ricavati sperimentalmente) per protoni, alfa, neutroni.

Secondo la definizione data da ICRP, la EBR di una radiazione rispetto ad un'altra è il rapporto inverso tra le dosi assorbite che producono il medesimo grado di un ben definito effetto biologico.





La dose in radioprotezione : dal Gray (Gy) al Sievert (Sv)

Dose efficace

Si esprime in **Sievert (Sv)**.

Si è accertato che la relazione tra **probabilità di effetti stocastici** e dose equivalente **dipende** anche **dall'organo o tessuto irradiato**. Ai fini della radioprotezione occorre quindi definire un'altra grandezza, derivata dalla dose equivalente, per indicare la **combinazione di diverse dosi ai diversi tessuti**, in modo che tale grandezza si possa **correlare** adeguatamente con il **totale degli effetti stocastici**, in particolare tumorali.

La dose efficace rappresenta la somma della dose equivalente media nei diversi organi o tessuti moltiplicata per un particolare fattore di ponderazione (W_T), di valore diverso per ciascun tessuto secondo un'apposita tabella ICRP, al fine di indicare soprattutto la probabilità di induzione di un tumore letale a seguito di una determinata irradiazione.





La dose in radioprotezione : dal Gray (Gy) al Sievert (Sv)

Tipo di tessuto	Fattore di ponderazione W_T
Gonadi	0,08
Midollo osseo (rosso)	0,12
Colon	0,12
Polmone (vie respiratorie toraciche)	0,12
Stomaco	0,12
Vescica	0,04
Mammella	0,12
Fegato	0,04
Esofago	0,04
Tiroide	0,04
Pelle	0,01
Superficie ossea	0,01
Cervello	0,01
Ghiandole salivari	0,01
Rimanenti organi o tessuti	0,12





Effetti sull'uomo

Somatici

(sull'individuo irradiato)

Stocastici

(probabilistici, casuali, statistici, differiti)

Tumori solidi

Leucemie

Deterministici

(stretta correlazione dose-effetto, graduati)

Radiodermite

Infertilità

Cataratta

Sindrome acuta da irradiazione

Genetici

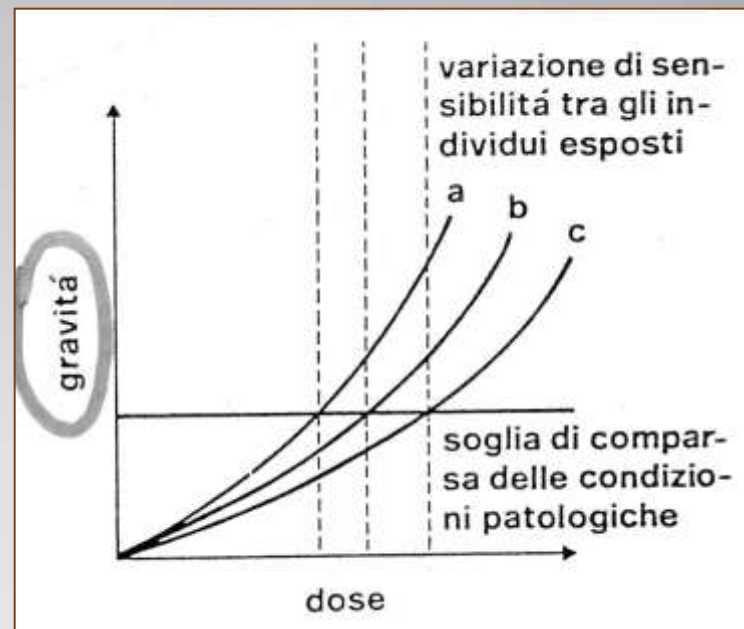
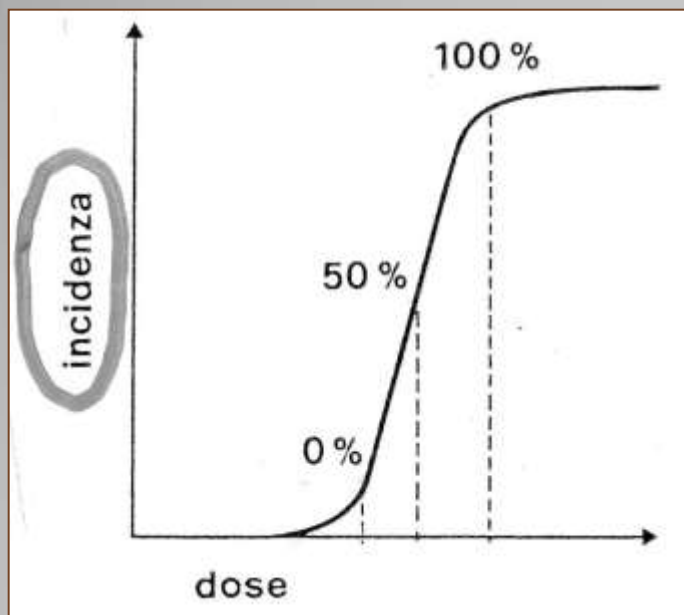
(sulla progenie)

Stocastici

Mutazioni geniche

Aberrazioni cromosomiche

EFFETTI DETERMINISTICI



- **Dose soglia**, al disotto della quale non si verificano
- **Gravità aumenta** con la dose (andamento a S)
- **Latenza breve** (durata inversamente proporzionale alla dose)
- **Probabilità 100 %** (colpiscono tutti gli individui)

DOSI SOGLIA PER ESPOSIZIONE ACUTA

- **cataratta** **2.000 mSv**
- **eritema semplice** **3.000 mSv**
- **eritema bolloso** **6.000 mSv**
- **dermatite ulcerosa** **12.000 mSv**
- **dermatite necrotica** **32.000 mSv**

DOSI SOGLIA PER ESPOSIZIONE CRONICA

- **radiodermite cronica** **40.000 mSv**
- **cataratta** **8.000 mSv**



ERRORI NELLA RIPRODUZIONE DEL DNA

Nella riproduzione del DNA (trascrizione del codice genetico) possono avvenire errori di vario tipo: **un nucleotide può mancare**, o trovarsi di fronte ad **uno non complementare**, ecc. La massima parte di questi errori viene riparata da appositi enzimi esistenti nella cellula; quelli non riparati danno origine a **mutazioni geniche** o ad **aberrazioni cromosomiche**.

Le cause di questi errori di riproduzione del DNA, che avvengono continuamente nell'organismo, sono molteplici: spontanee (invecchiamento, adattamento della specie), radiazioni ionizzanti, UV, agenti chimici, virus, ecc.

I cromosomi (visibili al microscopio) sono i contenitori dei "geni" costituiti da molecole di DNA. Gli organismi hanno miliardi di geni, di cui solo ci sono conosciuti alcuni. Questi ultimi si conoscono anche come **oncogeni**, in continuo equilibrio con **oncosoppressori**. Alcune mutazioni possono portare all'attivazione di specifici oncogeni, che possono causare il cancro. In condizioni normali, i geni sono in equilibrio, mantenendo sotto controllo l'attività cellulare. I geni sono **multifattori** e **basici**.



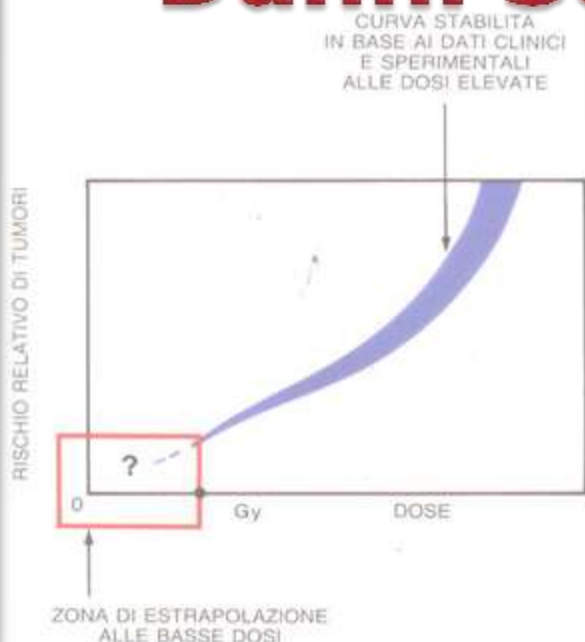
Numero dei geni codificanti



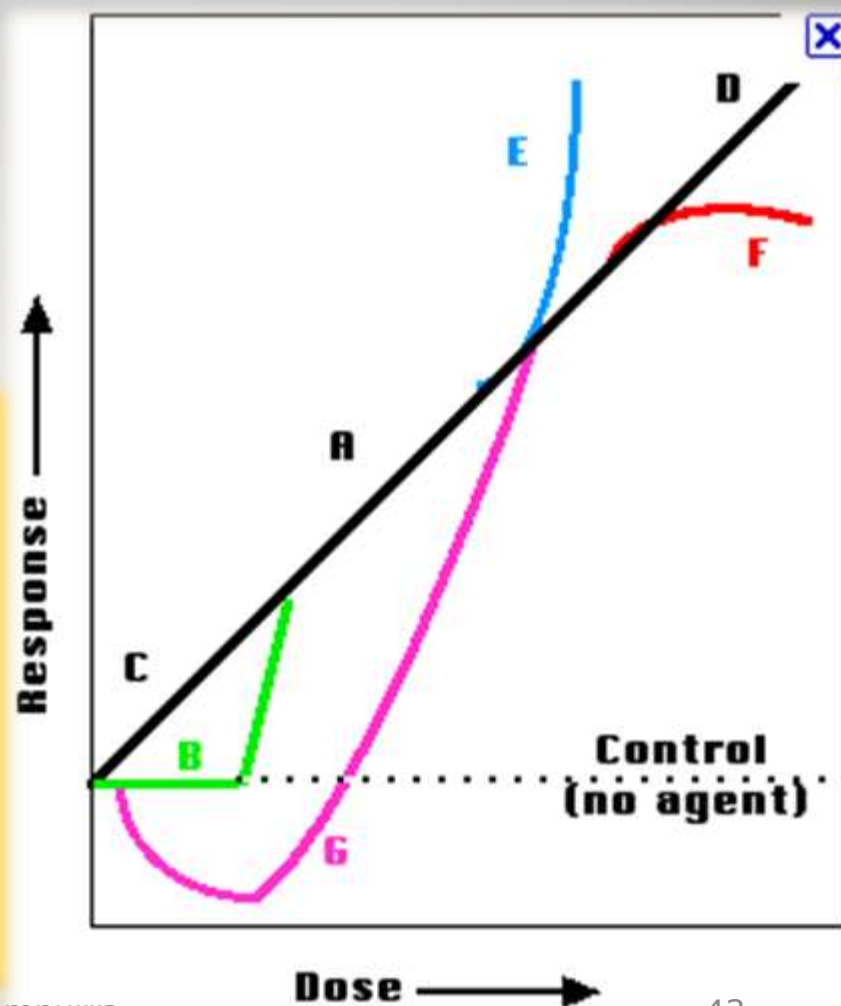


Danni Somatici stocastici

Comprendono le **leucemie** e i **tumori solidi**.



Soltanto la **probabilità d'accadimento**, e non la gravità, è in **funzione** della **dose** ed è cautelativamente esclusa l'esistenza di una dose-soglia. Presentano un lungo **periodo di latenza (anni)**





Effetti stocastici o probabilistici

Gli effetti considerati sono **leucemie e tumori** (osservati nell'uomo) e possibili **effetti genetici** (osservati nella sperimentazione animale). Per potere essere evidenziati essi richiedono opportune indagini epidemiologiche su analoghe popolazioni a confronto (esposti/non esposti) di dimensioni tanto più grandi quanto più piccola è la dose ricevuta nel suo insieme dalla popolazione in esame.

Il **modello lineare senza soglia** è stato ipotizzato dagli organismi internazionali ai soli fini della radioprotezione, cioè per definire con largo margine di sicurezza livelli di riferimento per le esposizioni lavorative. Su questi livelli sono fondati i limiti di dose fissati dalla legge, che non possono quindi essere utilizzati per ricavarne previsioni in termini di morbidità o di letalità.

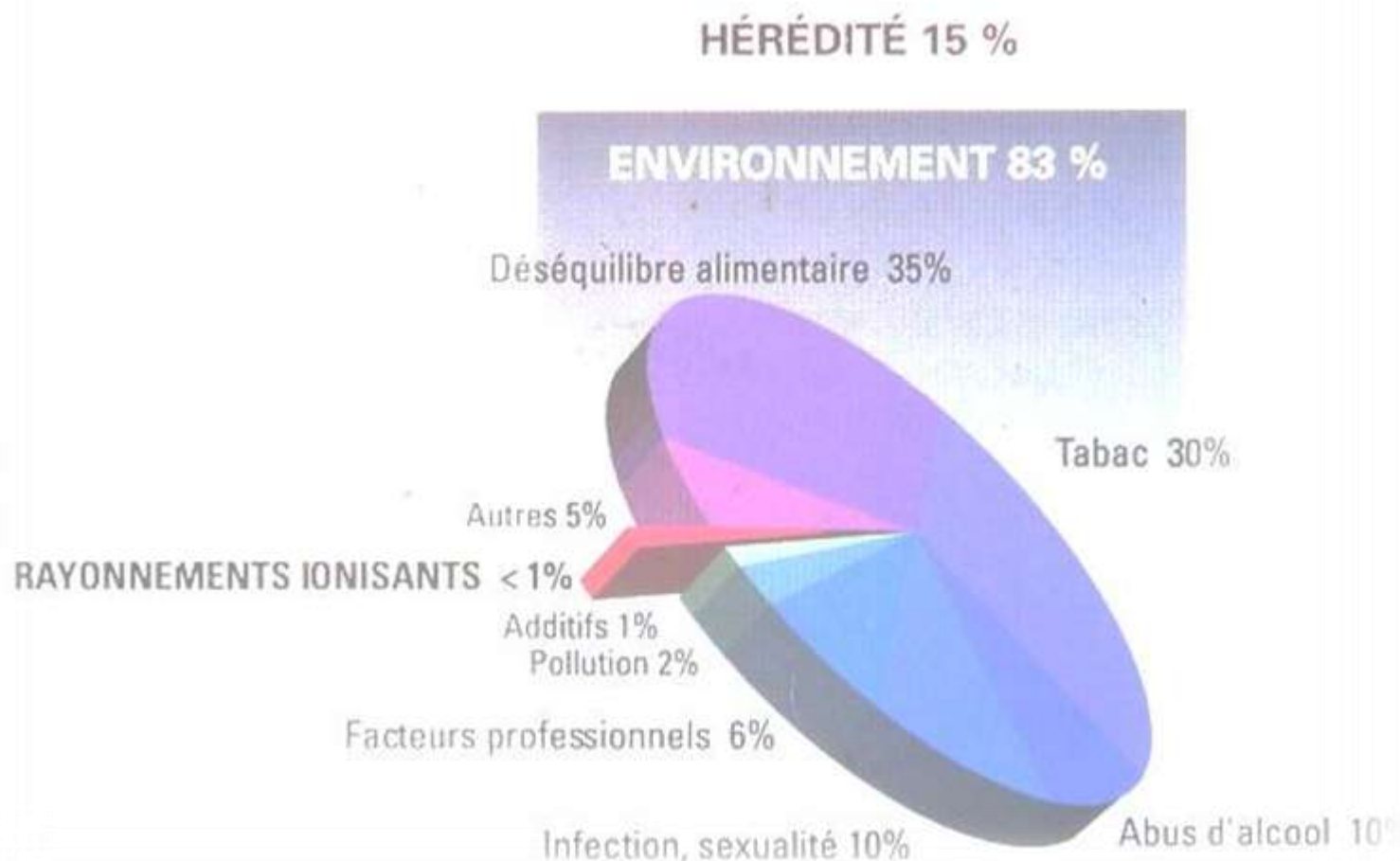
Sotto il profilo scientifico, per quanto riguarda gli effetti oncogeni, esistono sempre maggiori evidenze per una più **probabile esistenza di una "soglia pratica"** diversa da tumore a tumore, stimabile a circa **100 - 200 mSv**.





Principali fattori oncogeni

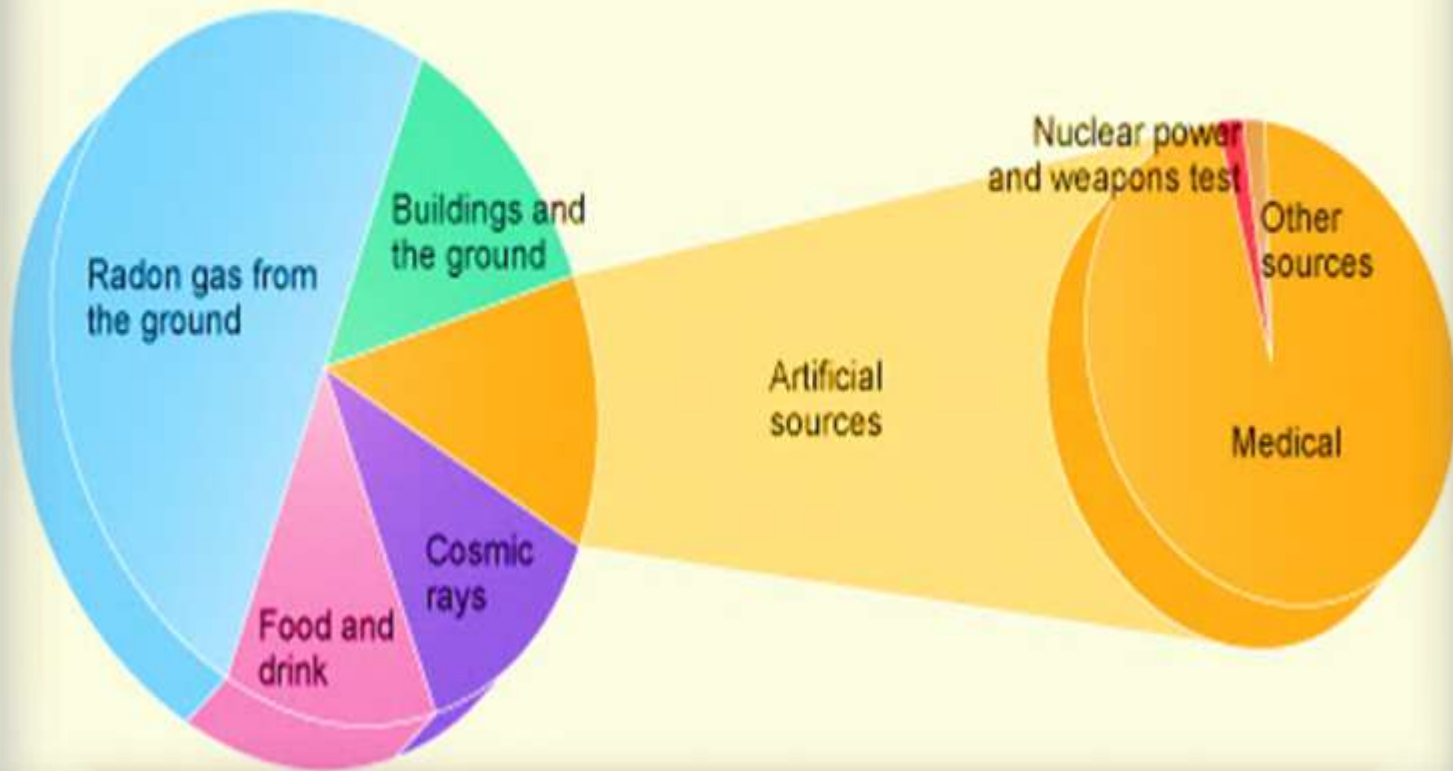
Causes des cancers

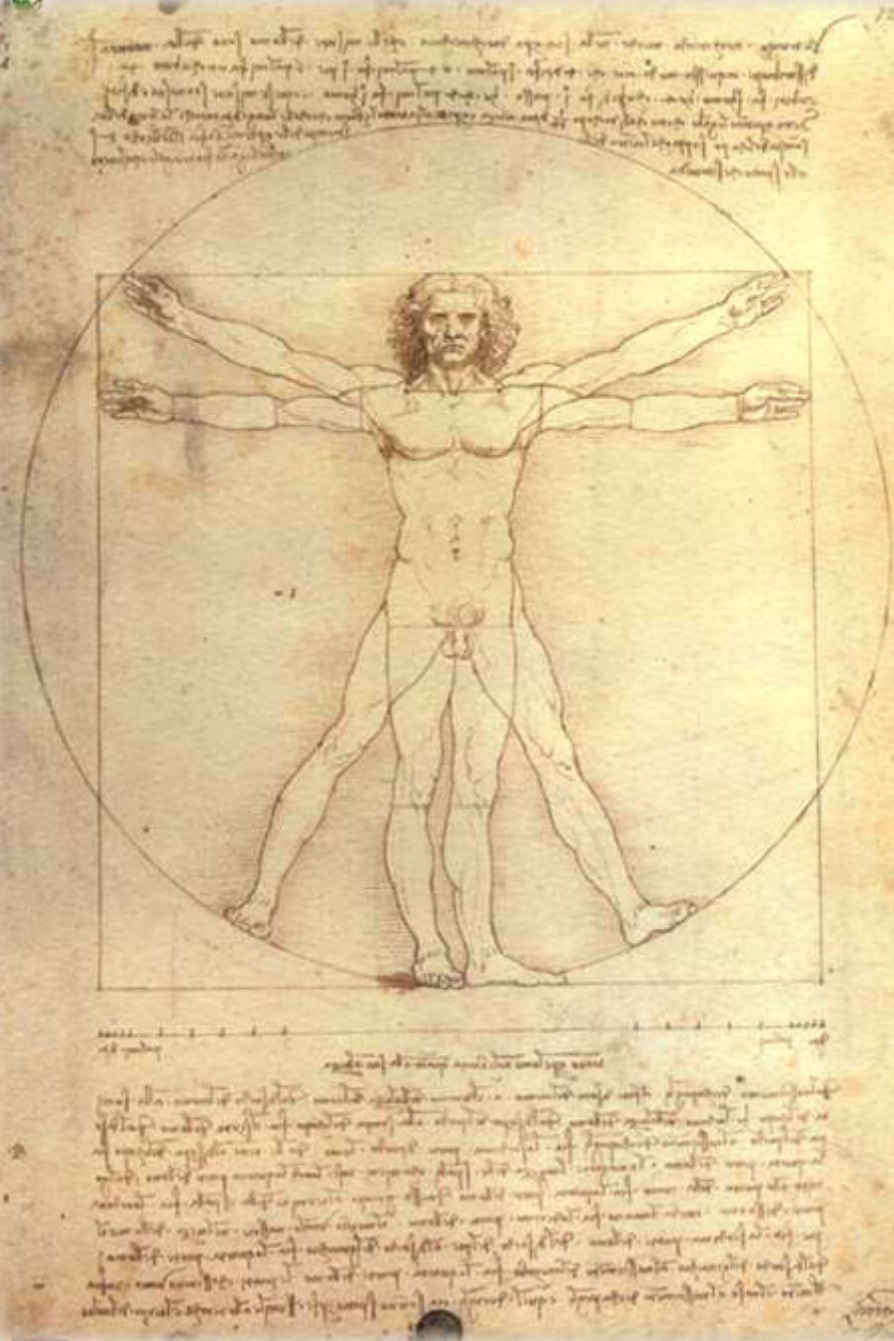




Fondo di RI

Background Radiation





*"Studia prima la scienza,
e pci seguita la pratica,
nata da essa scienza.*

*Quelli che s'innamcran di
pratica senza scienza sen
come 'l nocchier ch'entra in
navisic senza timone e
bussola, che mai ha
certezza dove si vada"*
Leonardo da Vinci

e