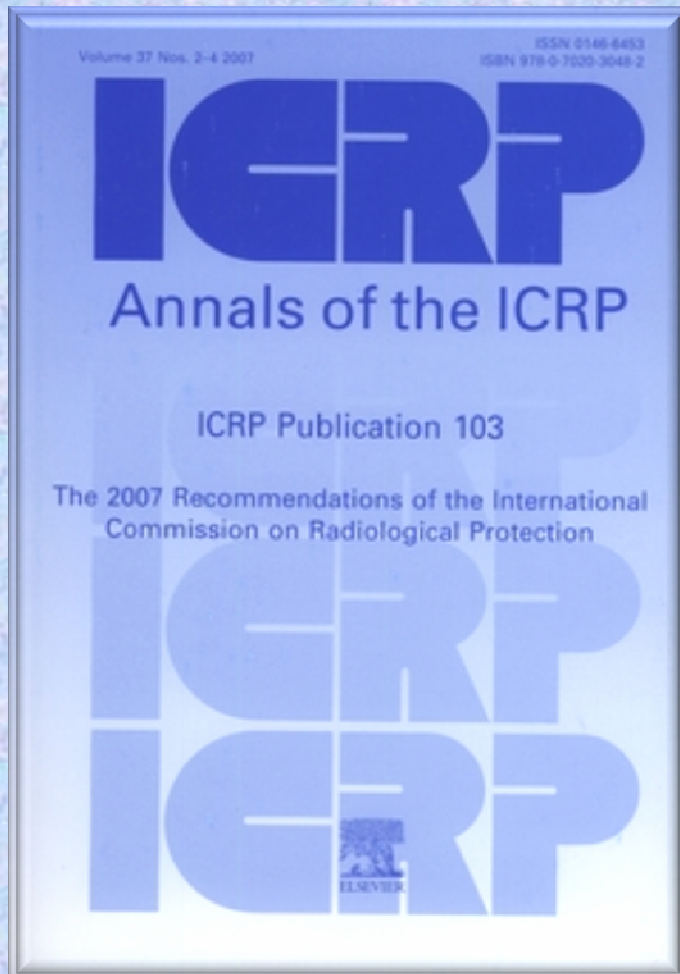


LE RACCOMANDAZIONI 2007 DELL'ICRP : esame ed applicazione

27 giugno 2008

Aula A - Università degli Studi di Milano



Le basi biologiche degli effetti delle radiazioni

Roberto Moccaldi
CNR - Roma

ICRP - Pubblicazione 103

INTERAZIONE DELLE RADIAZIONI CON CELLULE E TESSUTI

La comprensione degli **iniziali processi biofisici** nelle cellule e nei tessuti a seguito dell'irradiazione è migliorata in modo sostanziale dalla *Pubblicazione 60* e la loro conoscenza rappresenta senza dubbio il **cambiamento più profondo** nella nostra comprensione della radiobiologia.

La conoscenza sulla struttura fine della **deposizione di energia dalle tracce della radiazione nel DNA** è cresciuta, soprattutto attraverso l'ulteriore sviluppo dei codici Monte Carlo per la struttura della traccia che, associati con le informazioni radiobiologiche, hanno avuto un peso rilevante nella conoscenza del danno al DNA biologicamente critico.

Esistono chiare evidenze che indicano nel DNA cromosomico il principale bersaglio cellulare per gli effetti biologici:

- maggiore efficacia radiobiologica di radionuclidi incorporati nel DNA del nucleo cellulare rispetto a quella dei radionuclidi legati alle proteine cellulari in generale.
- conferma della radiosensibilità del nucleo cellulare attraverso l'utilizzo di impianti d'irradiazione a microbeam capaci di impartire una dose definita alle diverse parti della cellula
- studi su mutazioni genetiche associate ad un difetto dei meccanismi di risposta al danno del DNA che aumentano la frequenza di patologie radioindotte (neoplasie)
- evidenza che determinate forme di danno al DNA sono critiche ai fini degli effetti radiobiologici (danno complesso al DNA, caratteristiche delle mutazioni geniche e cromosomiche indotte dalle radiazioni)

- E' stato riconosciuto che una **elevata** quota di **danno** indotto da radiazioni al DNA è rappresentata da un insieme complesso di alterazioni chimiche localizzate (*cluster*).
- Le **rotture del doppio** o del singolo **filamento** (DSB e SSB) nella struttura portante del DNA, insieme ai **danno diretto alle basi**, possono combinarsi insieme in *cluster*, con una elevata frazione del danno totale concentrata in spazi ridotti.
- C'è inoltre evidenza che sia la **frequenza** che la **complessità** del *cluster* di danno **dipenda dal trasferimento lineare di energia** (LET) della radiazione.
- Le lesioni al DNA che insorgono spontaneamente attraverso l'attacco ossidativo da parte dei radicali chimici reattivi sono distribuite a caso e semplici nella loro struttura chimica.

DANNI ELEMENTARI AL DNA

1 Gy produce all'incirca:

>1000 danni alle basi azotate

~1000 rotture singole

~40 rotture doppie

**L'insieme è definito
"clustered damage"**

Il danno complesso in forma di *cluster* può costituire tra il 60% ed il 90% del danno totale al DNA dopo irradiazione rispettivamente a basso ed alto LET.

Risposta al danno del DNA

Risposta al danno del DNA

Riparazione

La **fedeltà di riparazione** dopo irradiazione del DNA è un determinante critico nella risposta alle basse dosi.

- per quanto riguarda le **lesioni chimicamente complesse del doppio filamento del DNA**, che sono caratteristiche dell'azione delle radiazioni, il processo di riparazione è, per sua natura, **soggetto ad errori**.
- la riparazione del DNA **soggetta ad errori per dosi decrescenti** fino ad alcune decine di mGy:
 - è coerente con la **linearità approssimativa della risposta cellulare alla dose per le mutazioni geniche/cromosomiche**
 - implica una **proporzionalità semplice** tra la dose ed il **rischio di cancro connesso con tali mutazioni**.

Risposta al danno del DNA

Il ruolo determinante del danno al DNA per gli effetti radiobiologici, compresa l'induzione del cancro, è stato sottolineato da un gran numero di studi con cellule e animali **portatori di mutazioni genetiche associate ad un difetto dei meccanismi di risposta al danno del DNA** – molti di questi specifici deficit genetici aumentano la frequenza degli effetti radiobiologici

La predisposizione all'errore nel riparo delle rotture chimicamente complesse del doppio filamento del DNA **spiega bene le risposte radiobiologiche cellulari** note da molti anni, cioè: l'induzione di aberrazioni cromosomiche, di mutazione geniche e di morte cellulare.

Risposta al danno del DNA

Morte cellulare programmata (Apoptosi)

In termini di effetto protettivo, l'eliminazione apoptotica di cellule danneggiate dalla radiazione può essere intesa come **un'alternativa alla riparazione**, poiché la morte cellulare programmata riduce la frequenza di cellule vitali con mutazioni.

Punti di controllo del ciclo cellulare

L'imposizione di punti di controllo del ciclo cellulare (cell-cycle checkpoints) nelle cellule irradiate può servire a **massimizzare le opportunità per la riparazione** oppure come punti dove la cellula, sulla base dell'equilibrio biochimico, **decide il suo destino** (vita o morte). La evidenza di ciò è, tuttavia, limitata.

Risposta cellulare al danno (da IR)

- Riparazione del DNA
- Cell-cycle checkpoints
- Apoptosi



Riparo
(sopravvivenza
della cellula)



**Arresto dello sviluppo e
morte cellulare**
(sopravvivenza dell'organismo)

Risposta al danno del DNA

L'alterazione della risposta/riparo al danno del DNA e dei meccanismi di controllo del ciclo cellulare e dell'apoptosi sono spesso strettamente associati con lo sviluppo del cancro.

Questo concetto accresce la convinzione che questi meccanismi sono parte integrante delle difese cellulari finalizzate a contrastare lo sviluppo tumorale dopo irradiazione.

Ciò a sua volta significa che le caratteristiche di questi processi cellulari rappresentano elementi importanti nella elaborazione delle valutazioni in radioprotezione.

Risposta adattativa

Incertezze sui meccanismi e sul significato

- La risposta adattativa non è una caratteristica universale delle cellule in vitro o in vivo.
- Anche nel sistema cellulare maggiormente studiato (risposta citogenetica dei linfociti umani) :
 - a)non c'è **nessuna prova che la risposta adattativa possa essere provocata da dosi di alcune decine di milligray;**
 - b)esiste una **considerevole variazione legata al donatore** nell'espressione della risposta.
- Sebbene alcuni studi sostengano un'associazione con i meccanismi più generali della risposta da stress, lo scavenging chimico dei radicali e/o la più efficiente riparazione del DNA, la **conoscenza** dei meccanismi di risposta adattativa rimane **frammentaria**.
- Sebbene ci siano alcuni risultati positivi, gli studi condotti sull'induzione del tumore (e sulla risposta immunitaria) sugli **animali** **non forniscono una prova consistente che la risposta adattativa determini una riduzione degli effetti negativi sulla salute.**

Reazioni epigenetiche

Reazioni epigenetiche

- Risposta cellulare dopo irradiazione che sembra risultare in una modificazione genomica e/o in un effetto cellulare senza la ovvia evidenza di un danno direttamente indotto al DNA
- Si contrappongono al concetto radiobiologico che il DNA sia il bersaglio diretto delle tracce di radiazioni ionizzanti

1. Instabilità genomica
2. Effetto bystander

INSTABILITA' GENOMICA

La risposta **convenzionale** di danno al DNA si manifesta nell'espressione del danno genomico **nel primo o secondo ciclo cellulare dopo l'irradiazione**, il termine "instabilità genomica indotta" descrive invece in modo generale una serie di fenomeni con cui il danno genomico e le sue conseguenze cellulari sono espressi persistentemente dopo irradiazione su molti cicli cellulari

Quest'instabilità, come evidenziato in cellule in coltura, si manifesta sottoforma di frequenze accresciute di aberrazioni cromosomiche, di mutazioni geniche ed apoptosi/morte cellulare; sono state riportate anche altre manifestazioni.

INSTABILITA' GENOMICA

Gli studi analizzati evidenziano la possibilità che l'instabilità genomica sia espressa preferenzialmente nelle cellule anormali o geneticamente modificate, e ciò potrebbe risultare coerente con le **difficoltà** chiaramente evidenziate **nella dimostrazione del fenomeno in vivo**. Tuttavia ci sono alcuni risultati positivi in determinati ceppi di topo ed in cellule normali, ed ulteriori ricerche sono necessarie.

Le basi biologiche dell'instabilità genomica indotta, nelle sue diverse forme, **non sono ancora ben chiarite**. Alcuni dati biochimici suggeriscono il coinvolgimento dello **stress cellulare e dei processi ossidativi**; altri studi citogenetici implicano segmenti di DNA potenzialmente instabili che codificano per sequenze ripetute di DNA.

EFFETTO BYSTANDER

Il termine si riferisce alla espressione di:

- morte cellulare/apoptosi
- mutazioni geniche/cromosomiche (puntiformi)
- instabilità genomica
- modificazioni nella distribuzione della quantità di proteine

in cellule **non direttamente irradiate**, meccanismo quindi mediato da molecole di segnalazione che attraverso gap junction o mezzo di coltura **può essere trasmesso da cellule irradiate a quelle non irradiate circostanti,**

EFFETTO BYSTANDER

I **meccanismi biologici** coinvolti nella trasduzione del segnale per effetto bystander sono probabilmente diversi e debbono essere ancora adeguatamente chiariti. Alcuni dati suggeriscono il ruolo dell'induzione di stress ossidativo e della modulazione delle vie di risposta al danno del DNA.

Nel caso degli effetti mediati attraverso il terreno di coltura, esistono alcune evidenze circa il rilascio di fattori (clastogenici) di danno cromosomico dalle cellule irradiate e circa la mobilizzazione di calcio intracellulare insieme all'aumento di specie reattive dell'ossigeno nelle cellule riceventi.

Reazioni epigenetiche

- E' necessaria una migliore comprensione dei meccanismi di questi fenomeni che sono attivi in vivo (ma sono stati studiati in vitro) e di come siano intercorrelati, prima di una loro valutazione come fattori da includere nella stima del potenziale rischio, per la popolazione umana, della esposizione a bassi livelli di RI (ICRP 99).

ICRP - Pubblicazione 103

**REAZIONI TISSUTALI
(Effetti deterministici)**

•EFFETTI DELLE RADIAZIONI IONIZZANTI

- Deposizione di energia (processo casuale)
- In un volume critico all'interno di una cellula
- Sufficiente per produrre alterazioni cellulari o addirittura la sua morte.

Deterministici

“determinato causalmente da eventi precedenti”

L'uccisione di una o di poche cellule, nella maggior parte dei casi, non avrà alcuna conseguenza per i tessuti.

A dosi più elevate l'uccisione di una determinata quantità di cellule (e le relative conseguenze stromali) saranno sufficienti per dar luogo a reazioni riscontrabili dei tessuti = soglia (clinica) specifica

Stocastici

Le modifiche in cellule singole, come modificazioni genetiche o trasformazioni che esitano in malignità, possono avere gravi conseguenze

Esiste la probabilità finita che gli eventi stocastici si verifichino anche a dosi molto piccole e pertanto, a meno che tutti questi eventi siano riparati fino a un qualche livello di dose, non vi sarà nessuna soglia

Ora si riconosce che le reazioni tissutali (precoci e tardive) **non sono necessariamente predeterminate, ed esse possono essere modificate dopo l'irradiazione dall'intervento di diversi modificatori della risposta biologica.** Quindi si considera più appropriato fare riferimento a questi effetti come **reazioni** (precoci o tardive) del tessuto o dell'organo.

Reazioni TISSUTALI

(alternativo ad *Effetti DETERMINISTICI*)

Tabella A.3.2. Fattori modificatori della dose (DMF) riportati in topi o altre specie dove indicato. Aggiornati da Hendry (1994).

Organo	Agente	DMF ^a
<i>Midollo Osseo:</i>		
Reazioni precoci	Antibiotici Fattori stimolanti colonie di Granulociti-macrofagi	1,2 – 1,8 (roditori e scimmie)
<i>Intestino:</i>		
Reazioni precoci	Antibiotici Interleuchina-1 Fattori di crescita angiogenici Interleuchina-11 fattori di crescita di trasformazione β 3	1,1 – 1,4 (ratti) 1,1 1,1 (topo) ^b > 1
Reazioni tardive	Dieta a basso peso molecolare Antiaggregante piastrinico Clopidogrel	> 1 (ratti) > 1 (ratti) ^c
<i>Cute:</i>		
Alopecia	Prostaglandina E2	1,2 – 1,5
Reazioni precoci	Acido γ -linoleico	1,1 – 1,2 maiali
Reazioni tardive	Acido γ -linoleico Modificatori dei globuli rossi Cu/Zn/Mn-SOD	1,1 – 1,2 maiali 1,4 > 1,0 (maiali) ^d
<i>Mucosa orale:</i>		
Reazioni precoci	fattori di crescita dei cheratinociti	Circa 2,0
<i>Polmoni:</i>		
Polmonite	Interleuchina-1 Fattore- α di necrosi tumorale	> 1,0 > 1,0
<i>Reni:</i>		
Reazioni tardive	Captopril, bloccanti dell'angiotensina II	> 1,0 (ratti)

^aDMF = rapporto delle dosi di radiazione che provocano lo stesso effetto, con e senza agente protettivo.

> 1,0 indica che la protezione osservata non ha potuto essere quantificata in termini di DMF, perché non erano disponibili le relazioni dose-risposta. Le reazioni sono state valutate meno gravi per radiazione e agente combinati.

^bOkunieff et al. (1998).

^cWang et al. (2002).

^dLefaix et al. (1996).

Reazioni tissutali (effetti deterministici)

Precoci (da alcune ore ad alcune settimane)

- reazioni di tipo *infiammatorio* (variazioni della permeabilità delle cellule e di rilascio di istamina, es. l'eritema)
- reazioni conseguenti alla *perdita di cellule* (es. mucositi, desquamazione nei tessuti epiteliali, depressione sistema emopoietico ecc).

Tardive (mesi o anni)

- *generiche* (a seguito di una **lesione indotta direttamente** nel tessuto bersaglio, per esempio, occlusioni vascolari che provocano la necrosi profonda di un tessuto a seguito di un'irradiazione cronica;
- "*conseguenziali*" se avvengono come **esiti** di reazioni precoci, es. la necrosi cutanea a seguito di grave ulcerazione della cute e di infezione cronica, oppure occlusioni intestinali causate da ulcerazione grave della mucosa.

Tabella A.3.3. Intervalli di dosi associate con sindromi specifiche radio-indotte e con la morte in persone esposte a radiazioni acute, uniformi, a basso LET.

Dose assorbita ^a al corpo intero (Gy)	Effetto principale causa di morte	Intervallo trascorso tra l'esposizione e il decesso (giorni)
3-5	Danni al midollo osseo (LD _{50/60})	30 -60
5 - 15	Danni al tratto gastrointestinale	7 -20
5 - 15	Danni al polmone e ai reni	60 - 150
> 15	Danni al sistema nervoso	< 5 dipendenza dalla dose

a) Qualche valore degli intervalli di dose comprende valutazioni da risultati di irradiazioni parziali del corpo.

- Nel rene e nel polmone, le subunità funzionali del tessuto (FSU - nefroni ed alveoli) sono sistemate in parallelo e quindi un deficit funzionale sarà evidente solo quando si raggiungerà un numero critico di FSU inattivate.

Tabella A.3.1. Stime delle soglie per effetti tissutali su testicoli, ovaie, cristallino, e midollo osseo in individui umani adulti (da ICRP 1984, pubblicazione 41¹).

Tessuto ed effetto	Soglia		
	Dose totale ricevuta in una singola esposizione acuta (Gy)	Dose totale ricevuta in esposizioni fortemente frazionate o protratte nel tempo (Gy)	Rateo di dose annua se ricevuta annualmente in esposizioni fortemente frazionate o croniche per molti anni (Gy anno ⁻¹)
Testicoli			
Sterilità temporanea	0,15	NA ²	0,4
Sterilità permanente	3,5 – 6 ³	NA	2,0
Ovaie			
Sterilità	2,5 - 6	6,0	> 0,2
Cristallino			
Opacità visibili	0,5 – 2,0 ⁴	5	> 0,1
Riduzione del visus (cataratta)	5,0 ⁵	> 8	> 0,15
Midollo osseo			
Depressione dell'ematopoiesi	0,5	NA	> 0,4

Si veda la tabella A.3.4 e la sezione A.3.1.7 per il riesame delle valutazioni.

¹ Per approfondimenti si veda la *Pubblicazione 41* (ICRP 1984).

² NA significa non applicabile, poiché la soglia dipende più dal rateo di dose che dalla dose totale.

³ Si veda UNSCEAR (1988).

⁴ Si veda inoltre Otake e Schull (1990).

⁵ Soglia nell'intervallo tra 2 –10 Sv (NCRP 1989) nel caso di irradiazione acuta.

Tabella A.3.4. Stime proiettate della soglia di dose assorbita acuta per incidenze dell'1% di morbidità e di mortalità relative ad organi e tessuti di individui adulti per esposizioni di tutto il corpo a radiazioni gamma.

Effetto	Organo/tessuto	Tempo per lo sviluppo dell'effetto	Dose assorbita (Gy) ^e
<i>Morbilità:</i>			<i>Incidenza dell'1%</i>
Sterilità temporanea	Testicoli	3 –9 settimane	~0,1 ^{a,b}
Sterilità permanente	Testicoli	3 settimane	~ 6 ^{a,b}
Sterilità permanente	Ovaie	< 1 settimana	~ 3 ^{a,b}
Depressione dell'ematopoiesi	Midollo osseo	3 –7 giorni	~0,5 ^{a,b}
Fase principale dell'eritema	Pelle (aree estese)	1 –4 settimane	< 3-6 ^b
Ustioni della pelle	Pelle (aree estese)	2 –3 settimane	5-10 ^b
Alopecia temporanea	Pelle	2 –3 settimane	~4 ^b
Cataratta (riduzione del visus)	Occhio	Diversi anni	~1,5 ^{a,c}
<i>Mortalità:</i>			
Sindrome emopoietica			
– senza trattamento medico	Midollo osseo	30 –60 giorni	~ 1 ^b
– con buon trattamento medico	Midollo osseo	30 –60 giorni	2-3 ^{b,d}
Sindrome gastroenterica			
– senza trattamento medico	Intestino tenue	6 –9 giorni	~6 ^d
– con buon trattamento medico	Intestino tenue	6 –9 giorni	> 6 ^{b,c,d}
Polmonite	Polmone	1 –7 mesi	6 ^{b,c,d}

^a ICRP (1984).

^b UNSCEAR (1988).

^c Edwards e Lloyd (1996).

^d Scott ed Hahn (1989), Scott (1993).

^e la maggior parte dei valori sono arrotondati al Gy più vicino; gli intervalli di dose indicano la dipendenza dall'estensione per la pelle e dalla varietà dei trattamenti medici per il midollo osseo.

Tabella A.3.4. Stime proiettate della soglia di dose assorbita acuta per incidenze dell'1% di morbidità e di mortalità relative ad organi e tessuti di individui adulti per esposizioni di tutto il corpo a radiazioni gamma.

Effetto	Organo/tessuto	Tempo per lo sviluppo dell'effetto	Dose assorbita (Gy) ^e
<i>Morbilità:</i>			<i>Incidenza dell'1%</i>
Sterilità temporanea	Testicoli	3 –9 settimane	~0,1 ^{a,b}
Sterilità permanente	Testicoli	3 settimane	~ 6 ^{a,b}
Sterilità permanente	Ovaie	< 1 settimana	~ 3 ^{a,b}
Depressione dell'ematopoiesi	Midollo osseo	3 –7 giorni	~0,5 ^{a,b}
Fase principale dell'eritema	Pelle (aree estese)	1 –4 settimane	< 3-6 ^b
Ustioni della pelle	Pelle (aree estese)	2 –3 settimane	5-10 ^b
Alopecia temporanea	Pelle	2 –3 settimane	~4 ^b
Cataratta (riduzione del visus)	Occhio	Diversi anni	~1,5 ^{a,c}
<i>Mortalità:</i>			
Sindrome emopoietica			
– senza trattamento medico	Midollo osseo	30 –60 giorni	~ 1 ^b
– con buon trattamento medico	Midollo osseo	30 –60 giorni	2-3 ^{b,d}
Sindrome gastroenterica			
– senza trattamento medico	Intestino tenue	6 –9 giorni	~6 ^d
– con buon trattamento medico	Intestino tenue	6 –9 giorni	> 6 ^{b,c,d}
Polmonite	Polmone	1 –7 mesi	6 ^{b,c,d}

^a ICRP (1984).

^b UNSCEAR (1988).

^c Edwards e Lloyd (1996).

^d Scott ed Hahn (1989), Scott (1993).

^e la maggior parte dei valori sono arrotondati al Gy più vicino; gli intervalli di dose indicano la dipendenza dall'estensione per la pelle e dalla varietà dei trattamenti medici per il midollo osseo.

Cristallino

- Sia fra i sopravvissuti ai bombardamenti atomici (Minamoto et al, 2004) che fra un gruppo di bambini trattato per emangioma della pelle (Hall et al, 1999), è stato evidenziato un eccesso di cataratta sia corticale che sottocapsulare posteriore a **dosi un po' più basse** di quanto ci si aspettasse.
- Nell'assegnare una dose soglia per la cataratta, si è riconosciuto che ci sono delle **incertezze** sia sui **meccanismi di sviluppo** della cataratta, e anche sulla **relazione** tra l'individuazione di **opacità** del cristallino e la manifestazione di una **lesione del visus**.
- **I dati recenti e le incertezze sui meccanismi sopra notati, mettono in evidenza la necessità di una rivalutazione dettagliata della radiosensibilità del cristallino e questa questione sarà studiata da un gruppo di lavoro creato dal Comitato 1 dell'ICRP.**

ICRP - Pubblicazione 103

MALATTIE DIVERSE DAL CANCRO

INDUZIONE DI EFFETTI DIVERSI DAL CANCRO (MORBILITÀ-MORTALITÀ)

Associazione con la dose, a dosi dell'ordine del 1 Sv, dal LSS (Preston et al, 2003) per:

- *patologia cardiaca*
- *ictus*
- *disordini digestivi*
- *patologia respiratoria.*

- **Incertezze** sul modello dose-risposta alle basse dosi. I dati del LSS sono coerenti sia con l'assenza di una soglia di dose che con una soglia di circa 0,5 Sv.

- Non è chiaro quali **forme di meccanismi** cellulari/tissutali potrebbero essere alla base di tale differenti disturbi

- E' possibile qualche associazione con **l'infiammazione subclinica.**

Gli studi su pazienti trattati per linfoma di Hodgkin e per cancro del seno (Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group 2000) hanno mostrato un incremento dei rischi di mortalità per malattia cardiovascolare connessi con dosi di diverse decine di Gy. La situazione a dosi più basse è meno chiara.

Un esame dei dati epidemiologici pubblicati su gruppi con esposizioni mediche o professionali che ha paragonato i tassi di malattia vascolare negli individui irradiati e non irradiati appartenenti alla stessa popolazione, ha concluso che non c'era chiara prova di un aumento di rischio nella maggior parte di studi nell'intervallo di dose 0 – 4 Sv (McGale e Darby 2005). L'interpretazione di molti studi, tuttavia, è stata complicata dai dati dose-risposta disponibili molto limitati e dalla mancanza di informazioni sugli eventuali fattori di confondimento, come il fumo.

Sebbene riconosca l'importanza potenziale di queste osservazioni circa le malattie diverse dal cancro, la Commissione valuta che i dati disponibili non permettono la loro inclusione nella valutazione del detrimento a seguito di dosi di radiazioni nell'intervallo fino a circa 100 mSv. Ciò è in accordo con la conclusione di UNSCEAR (2008), che ha trovato una limitata evidenza per qualsiasi eccesso rischio al di sotto di 0,5 Sv.