

Radiazioni Ricerca e Applicazioni

Periodico della Società Italiana per le Ricerche sulle Radiazioni

**III WORKSHOP
INTERDISCIPLINARE FIR**

**EFFETTI “NON CANCER”
DELLE
RADIAZIONI IONIZZANTI**

ENEA Centro Ricerche Casaccia
Rome, 14 novembre 2012

SOMMARIO

Radiazioni Ricerca e Applicazioni
Periodico della Società Italiana
per le Ricerche sulle Radiazioni
Publicazione Periodica
Quadrimestrale
Aprile/Agosto 2012 - Vol. XV n. 1-2

Direttore Responsabile
Francesca Ballarini
 Dipartimento di Fisica Nucleare e Teorica
 Università di Pavia
 e-mail: francesca.ballarini@pv.infn.it

Direttore Editoriale
Raffaele De Vita
 Unità Biologica delle Radiazioni e
 Salute dell'Uomo
 ENEA Centro Ricerche Casaccia, Roma
 e-mail: devita@enea.it

Capo Redattore
Lorenzo Manti
 Dipartimento di Fisica
 Università Federico II, Napoli
 e-mail: lorenzo.manti@na.infn.it

Comitato di Redazione
Francesca Antonelli
 Dipartimento Tecnologia e Salute
 Istituto Superiore di Sanità, Roma
 e-mail: francesca.antonelli@iss.it

Mauro Bonardi
 Università degli Studi di Milano
 e-mail: mauro.bonardi@mi.infn.it

Giorgio Leter
 Unità Biologica delle Radiazioni e
 Salute dell'Uomo
 ENEA Centro Ricerche Casaccia, Roma
 e-mail: giorgio.leter@enea.it

Marco Schwarz
 Agenzia Provinciale per la Protonterapia
 Trento
 e-mail: schwarz@atrep.it

Cristiana Vidali
 S.C. di Radioterapia
 Azienda Ospedaliero-Universitaria di Trieste
 e-mail: cristiana.vidali@aots.sanita.fvg.it

Per Informazioni e Corrispondenza
Francesca Ballarini
 Tel. 0382 987949
 e-mail: francesca.ballarini@pv.infn.it

Editrice: Società Italiana
 per le Ricerche sulle Radiazioni

Registrazione del Tribunale di Roma
 n. 406 del 6 Agosto 1998

Grafica: Renato Cafieri

Stampa: **CSP-STAMPA PIGNANI**
 Pubblicità: **Zona Industriale Settevene - Nepi (VT)**
 csp.stampa@virgilio.it

PROGRAMMA WORKSHOP 3

STATO DELL'ARTE DELLA RICERCA
INTERNAZIONALE SUGLI EFFETTI "NON CANCER"
DELLE RADIAZIONI IONIZZANTI 5
Donatella Tirindelli Danesi

MECCANISMI BIOLOGICI COINVOLTI
NELL'INDUZIONE DI CATARATTA 7
Anna Giovanetti

VALUTAZIONI EPIDEMIOLOGICHE ED
IMPLICAZIONI PER LA RADIOPROTEZIONE 8
Roberto Moccaldi

PREDIZIONE DELLE TOSSICITÀ IN RADIOTERAPIA
(QUANTEC): ASPETTI MODELLISTICI 12
Claudio Fiorino

QUANTEC (QUANTITATIVE ANALYSIS OF
NORMAL TISSUE EFFECTS IN THE CLINIC):
ASPETTI CLINICI 15
Alessio G. Morganti, Francesco Deodato, Cinzia Digesù,
Gabriella Macchia, Mariangela Massaccesi,
Samantha Mignogna, Savino Cilla

RADIOTOSSICITÀ RENALE NELLA TERAPIA
RECETTORIALE RADIONUCLIDICA 17
Marco Chianelli

LA SENESCENZA CELLULARE PREMATURA
COME EFFETTO SUBLETALE DELLA
RADIAZIONE IONIZZANTE 18
Lorenzo Manti

EFFETTI SUL SISTEMA CARDIOVASCOLARE 22
Andrea Magistrelli, Francesco Schillirò



Redazione Editoriale
 Società Italiana per le Ricerche sulle Radiazioni
 Unità Biologica delle Radiazioni e Salute dell'Uomo
 ENEA Centro Ricerche Casaccia, s.p. 016
 Via Anguillarese, 301 - 00123 ROMA
 Tel. 06/30484671 Fax 06/30484891
 e-mail: devita@enea.it
 http://www.sirr.unina.it

Segreteria S.I.R.R.
 Unità Biologica delle Radiazioni e Salute dell'Uomo
 ENEA Centro Ricerche Casaccia, s.p. 016
 Via Anguillarese, 301 - 00123 Roma
 Tel. 06/30486654 Fax 06/30483644
 e-mail: antonella.testa@enea.it

FEDERAZIONE ITALIANA RICERCHE SULLE RADIAZIONI



**III WORKSHOP
INTERDISCIPLINARE FIRR**

**EFFETTI “NON CANCER”
DELLE RADIAZIONI IONIZZANTI**

ENEA Centro Ricerche Casaccia
Roma 14 novembre 2012

Programma

- 8.30 Registrazione
- 8.45 **Introduzione ai Lavori del Workshop**
Raffaele De Vita (*Segretario FIRR- Roma*),
Donatella Tirindelli Danesi (*Presidente FIRR-Roma*)
- 9.00 **Saluto Commissario ENEA**
Ing. Giovanni Lelli

Moderatori: *Carmela Marino (Roma), Sandro Sandri (Roma)*
- 9.15 **Relazione introduttiva: stato dell'arte della ricerca internazionale
sugli effetti "non cancer" delle radiazioni ionizzanti**
Donatella Tirindelli Danesi (*Presidente FIRR-Roma*)
- 10.00 -11.00 **La cataratta da radiazioni ionizzanti: nuove acquisizioni e
prospettive in radioprotezione**
- 10.00 **Meccanismi biologici coinvolti nell'induzione di cataratta**
Anna Giovanetti (*ENEA-Roma*) (*AIRP*)
- 10.30 **Valutazioni epidemiologiche ed implicazioni per la radioprotezione**
Roberto Moccaldi (*CNR-Roma*) (*AIRM*)
- 11.00 discussione

Moderatori: *Luisa Begnozzi (Roma), Luca Brunese (Campobasso)*
- 11.30-12.30 **QUANTEC (quantitative analysis of normal tissue effects in the clinic)**
- 11.30 **Aspetti Modellistici**
Claudio Fiorino (*San Raffaele-Milano*) (*AIFM*)
- 12.00 **Aspetti Clinici**
Alessio Morganti (*Campobasso*) (*AIRB*)
- 12.30 discussione
- 13.00 Colazione

- Moderatori: *Luigi Pirtoli (Siena), Massimo Salvatori (Roma)*
- 14.00 **Radiotossicità renale nella terapia recettoriale radionuclidica**
 Marco Chianelli (*Osp. Reg. Apostolorum Albano RM*) (*AIMN*)
- 14.30 discussione
- 15.00 **La senescenza cellulare prematura come effetto subletale della radiazione ionizzante**
 Lorenzo Manti (*Univ. Federico II- Napoli*) (*SIRR*)
- 15.30 discussione
- Moderatori: *Francesco Schillirò (Napoli), M. Antonella Tabocchini (Roma)*
- 16.00 **Effetti sul sistema cardiovascolare**
 Andrea Magistrelli (*Bambino Gesù-Roma*), (*SIRM*)
 Francesco Schillirò (*A.O. II Università di Napoli*) (*SIRM*)
- 16.30 discussione
- 17.00 **Effetti neurologici e neurocomportamentali**
 Gemma Calamandrei (*ISS- Roma*)
- 17.30 discussione conclusiva
- 18.00 test E.C.M.

Con il Patrocinio di



Presidenza del Consiglio dei Ministri



ENEA Agenzia nazionale per le nuove tecnologie, l'energia e lo sviluppo economico sostenibile



Consiglio Nazionale delle Ricerche



Istituto Superiore di Sanità



INFN Istituto Nazionale di Fisica Nucleare

Consiglio Direttivo FIRR

D. Tirindelli Danesi (Presidente)

R. De Vita (Segretario/Tesoriere)

L. Begnozzi (AIFM), A. Lazzari (AIFM), G. Lucignani (AIMN), M. Chianelli (AIMN),
 L. Pirtoli (AIRB), A. Morganti (AIRB), G. Trenta (AIRM), R. Moccaldi (AIRM), S. Sandri (AIRP),
 A. Giovanetti (AIRP), F. Schillirò (SIRM), L. Brunese (SIRM), M. A. Tabocchini (SIRR)

Comitato Organizzativo FIRR

R. De Vita (Roma), M. Pacilio (Roma), M. Chianelli (Roma),
 A. Morganti (Campobasso), R. Moccaldi (Roma), A. Stanga (Roma),
 A. Giovanetti (Roma), A. Magistrelli (Roma), A. Testa (Roma)

Segreteria FIRR

c/o Unità Biologia delle Radiazioni e Salute dell'Uomo
 ENEA - Centro Ricerche Casaccia s.p. 016 - Via Anguillarese 301 - 00123 Roma
 Tel.: 06 30484671 – Fax: 06 30484891
 e-mail: devita@enea.it - <http://biotec.casaccia.enea.it/firr/>

Il Workshop è accreditato dall'AIFM (Provider Nazionale n. 416)
 Crediti formativi ECM: Fisico, Medico, Tecnico Sanitario di Radiologia Medica

Con la collaborazione di Wilma Melchiori
 ENEA C.R. Casaccia Coordinamento Relazioni Esterne e Comunicazione
 uff. 06-30486351 fax 06-30484062 wilma.melchiori@enea.it

STATO DELL'ARTE DELLA RICERCA INTERNAZIONALE SUGLI EFFETTI "NON CANCER" DELLE RADIAZIONI IONIZZANTI

Donatella Tirindelli Danesi

Presidente FIRR-Roma

e-mail: donatella.tirindelli@gmail.com

Diversi studi epidemiologici hanno suggerito l'esistenza di una correlazione tra dosi basse-moderate di radiazioni e l'insorgenza di patologie a carico di diversi organi e tessuti.

E' stato infatti osservato nei sopravvissuti alla bomba atomica in Giappone e in altri gruppi professionalmente esposti un eccesso di rischio per vari tipi di malattie non neoplastiche, soprattutto a carico dell'apparato cardio-vascolare, del sistema nervoso centrale, dell'apparato digerente, dell'occhio e della cute.

Anche se le metaanalisi degli studi epidemiologici disponibili suggeriscono un'associazione positiva, l'eterogeneità degli studi e i fattori di confondimento rendono complicata l'interpretazione di causa-effetto. Ad esempio, nel caso delle malattie cardiovascolari, i rischi per unità di dose variano nei diversi studi almeno di due ordini di grandezza probabilmente a causa di fattori di confondimento importanti come fumo di sigarette, diabete, obesità, ipertensione, alti livelli ematici di lipoproteine a bassa densità, stato socio-economico e infezioni.

In assenza di una convincente spiegazione meccanicistica delle evidenze epidemiologiche, che sono al momento poco persuasive, una interpretazione causale delle riportate associazioni statistiche è tutta da dimostrare, ma non può essere esclusa.

Per tali motivi ulteriori ricerche di base ed epidemiologiche sono necessarie per definire il reale rischio di malattie non neoplastiche alle basse dosi e le possibili ricadute sui sistemi di radioprotezione.

Nel 2009, infatti anche l'UNSCEAR (United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation) raccomandava di porre attenzione alle patologie non neoplastiche e incoraggiava studi epidemiologici e ricerca di biomarcatori. Nel rapporto UNSCEAR su Chernobyl (2011, par 85) viene riconosciuta una associazione tra aumentata incidenza di malattie cerebrovascolari e l'esposizione alle radiazioni ionizzanti nei liquidatori di Chernobyl, che avevano lavorato durante i primi sei mesi dall'incidente e avevano accumulato

una dose superiore a 150 mSv, concludendo che i risultati vanno considerati preliminari e che occorre ottenere ulteriori evidenze in merito.

In considerazione delle incertezze presenti nel settore degli effetti non-cancer e degli effetti non-targeted delle radiazioni ionizzanti, la UE ha finanziato una serie di progetti integrati di ricerca, tra i quali NOTE(FP6), a cui partecipa per l'Italia l'Istituto Superiore di Sanità, sugli effetti non targeted delle radiazioni ionizzanti e CARDIORISK (FP7) finalizzato alla migliore comprensione dei meccanismi implicati nel rischio cardio-vascolare dopo basse, medie e alte dosi di radiazioni. Inoltre, come previsto dal documento programmatico del gruppo di esperti (HLEG), che nel 2008 ha proposto una strategia a breve, medio e lungo termine sugli effetti delle basse e protratte dosi di radiazioni, sono in corso numerosi progetti integrati europei nelle 5 principali aree di ricerca identificate dagli esperti, tra cui gli effetti non cancer, in particolare cataratta, malattie cardio e cerebro vascolari e deficit cognitivi, principalmente nell'ambito della iniziativa europea, denominata MELODI (Multidisciplinary European Low Dose Initiative).

L'Italia partecipa ampiamente a questi progetti con i principali Enti di ricerca coinvolti e il contributo di molti ricercatori delle Associazioni scientifiche aderenti alla FIRR.

L'Unità di radiobiologia e salute umana dell'ENEA partecipa nell'ambito del FP7 al progetto sugli effetti cognitivi e cerebrovascolari (CEREBRAD), a quello sui rischi cardiovascolari (PROCARDIO), alla realizzazione di una rete europea di Biodosimetria (RENEB), cui partecipa anche l'ISS, ad uno studio di coorte di bambini serbi esposti alle radiazioni per determinare il contributo del genoma non coding alla suscettibilità alle basse dosi (DARK.RISK).

ENEA per la dosimetria computazionale e ISS per la dosimetria retrospettiva partecipano al network EURADOS (European Radiation Dosimetry), una rete di più di 50 istituzioni europee.

Il Dipartimento di tecnologie e salute dell'ISS è coinvolto nel progetto DOREMI (task 7.3) in uno studio di fattibilità mediante un approccio system biology sulla risposta dell'endotelio alle radiazioni e nello sviluppo di un sistema di irraggiamento gamma per esposizioni a basso rateo di dose in studi biologici in vitro, nel progetto SOLO (FP7) per migliorare le stime di rischio sugli effetti a lungo termine associati alle esposizioni protratte esterne e interne su popolazioni esposte nel Sud degli Urali. Anche un progetto INFN svolto presso l'Università Federico II di Napoli studia il legame tra la senescenza prematura radioindotta e il danno a lungo termine, con le conseguenze patologiche che ne possono scaturire. Di interesse rilevante, soprattutto a fini radio protezionistici, sono infine gli studi sulla cataratta indotta da radiazioni ionizzanti anche a dosi più basse di quelle precedentemente riportate. Lo studio O'CLOC, svolto in Francia dall'IRSN su un grup-

po di cardiologi interventisti, ha evidenziato che le opacità sottocapsulari posteriori erano significativamente più frequenti nel gruppo in esame rispetto ai controlli. Su questo argomento all'ENEA è in corso uno studio per investigare i meccanismi responsabili dello sviluppo della cataratta su un modello sperimentale murino.

BIBLIOGRAFUA

1. M.P. Little. Cancer and non-cancer effects in Japanese atomic bomb survivors. *J. Radiol. Prot.* 29 (2009) A43–A59
2. M.P. Little. Do non-targeted effects increase or decrease low dose risk in relation to the linear-non-threshold (LNT) model. *Mutat Res*, 687(2010) 17–27.
3. G. Hildebrandt. Non-cancer diseases and non-targeted effects. *Mutat Res*, 687 (2010) 73–77.
4. Eugenio Picano, et al. Cancer and non-cancer brain and eye effects of chronic low-dose ionizing radiation exposure. *BMC Cancer* 2012, 12:157.

MECCANISMI BIOLOGICI COINVOLTI NELL'INDUZIONE DI CATARATTA

Anna Giovanetti

ENEA UTBIORAD - CR Casaccia, Roma

e-mail: anna.giovanetti@enea.it

La cataratta, ovvero l'opacità del cristallino dell'occhio, costituisce la principale causa di cecità nel mondo. Nella maggior parte dei casi si tratta di un fenomeno legato all'invecchiamento (ARC).

La lente dell'occhio, costituita prevalentemente da acqua e proteine, è suddivisa in tre zone principali: la capsula, la corteccia, il nucleo. Nel corso del tempo, le proteine possono precipitare, accumulandosi in una di queste tre zone, producendo opacità e ostacolando di conseguenza la diffusione della luce attraverso l'occhio. Questo rende la vista offuscata o sfuocata (Bath 2001, Clark 2004).

Normalmente, la regione anteriore centrale della lente è ricoperta da cellule nucleate e amitotiche, le cellule epiteliali fibre lenticolari (LEC). Lateralmente a questo strato, si trova un anello di LEC mitotiche, migranti verso l'equatore alla superficie della lente, che si allungano ed entrano nella corteccia esterna dove continuano il differenziamento in fibre lenticolari (caratteristiche dell'età adulta). Il differenziamento comprende la degradazione e la rimozione delle organelli cellulari e l'espressione di cristalline (l'80-90% delle proteine solubili totali) e di altre proteine caratteristiche della lente. Questo processo porta alla formazione nel cristallino di una zona trasparente o OFZ (organelle free zone).

Molti fattori possono interferire con lo sviluppo di questa struttura portando alla formazione della cataratta, anche se non è ancora chiaro qual sia la causa specifica. Nei roditori la ARC è accompagnata dalla diminuzione della densità delle LEC superficiali. Successivamente diminuisce la degradazione dei nuclei nelle fibre lenticolari secondarie, con accumulo di nuclei non degradati nella regione laterale della lente (Pendergrass et al 2005). In queste aree corticali di LEC con nuclei anomali è stata osservata un'augmentata produzione di specie attive dell'ossigeno ROS (Berthoud and Beyer 2009).

Il cristallino è costantemente sottoposto a stress ossidativo, in particolare per le radiazioni. La lente possiede vari meccanismi di difesa per mantenere il suo equilibrio redox, tra cui molecole e enzimi antiossidanti e alte concentrazioni di ascorbato e glutazione ridotto (Berthoud and Beyer 2009). L'accumulo di ROS e la diminuzione dell'efficacia delle difese antiossidanti, dovuti

all'invecchiamento e all'esposizione alle radiazioni può portare all'opacità. Il mantenimento della trasparenza e l'omeostasi della parte vascolare della lente, dipende dall'esteso network di gap junction. La comunicazione tramite i canali delle gap junction permette il passaggio intercellulare di molecole (fino a 1 KDa) comprese quelle antiossidanti (Mathias et al 1997). Anche le gap junction e le proteine che le costituiscono, le connesine, sono soggette allo stress ossidativo, che può quindi alterare la comunicazione intercellulare contribuendo alla formazione della cataratta.

Finora la cataratta è stata classificata dall'ICRP tra gli effetti deterministici con una soglia di 2 Gy per l'esposizione acuta, 4 Gy per dosi frazionate e valori ancora più elevati per esposizioni a lungo termine. La lente dell'occhio sembra essere però più radio-sensibile di quanto previsto, negli ultimi anni infatti è stata osservata la formazione di cataratta anche in soggetti esposti a basse dosi di radiazioni (es. radiologia interventista). Il periodo di latenza e la severità degli effetti sono stati dimostrati essere inversamente proporzionali alla dose. Sulla base dei recenti studi sperimentali e epidemiologici l'ICRP ha raccomandato dei valori soglia inferiori ai valori precedenti (ICRP), ma l'induzione di cataratta potrebbe essere un fenomeno deterministico tardivo descritto più accuratamente da un modello dose-risposta lineare, senza soglia.

Bibliografia

- Berthoud VM, Beyer EC. Oxidative stress, lens gap junctions, and cataracts. *Antioxid Redox Signal.* 2009; 11:339-53
- Bhat SP. The ocular lens epithelium. *Biosci Rep.* 2001; 21:537-63.
- Clark JI. Order and disorder in the transparent media of the eye. *Exp Eye Res.* 2004; 78:427-32
- ICRP. The 2007 Recommendations of the International Commission for Radiation Protection. 2008, Vol 103
- Mathias RT, Rae JL, Baldo GJ. Physiological properties of the normal lens. *Physiol Rev.* 1997;77:21-50
- Pendergrass W, Penn P, Possin D, Wolf N. Accumulation of DNA, nuclear and mitochondrial debris, and ROS at sites of age-related cortical cataract in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005; 46:4661-70.

VALUTAZIONI EPIDEMIOLOGICHE ED IMPLICAZIONI PER LA RADIOPROTEZIONE

Roberto Moccaldi

(CNR-Roma) (AIRM)

e-mail: roberto.moccaldi@cnr.it

Introduzione

La recentissima Pubblicazione 118/2012 dell'ICRP (International Commission on Radiological Protection), dal titolo "Statement on Tissue Reactions / Early and Late Effects of Radiation in Normal Tissues and Organs – Threshold Doses for Tissue Reactions in a Radiation Protection Context", ha preso in considerazione, aggiornandoli, i dati relativi ai dati biologico-clinici ed alle soglie di induzioni degli effetti deterministici (reazioni tissutali), a pochi anni dalla pubblicazione delle ultime Raccomandazioni (103/07), che contenevano già una parte dedicata a tali argomenti.

La Commissione, dopo la pubblicazione 103/2007 ha infatti proseguito e completato la revisione delle informazioni scientifiche disponibili sugli effetti tissutali delle radiazioni, prestando particolare attenzione agli effetti sul cristallino e sul sistema cardiovascolare, poiché le più recenti osservazioni relative alla esposizione di questi sistemi hanno evidenziato effetti per dosi più basse di quelle precedentemente riportate.

Per gli effetti sul cristallino (cataratta), le nuove evidenze derivano sostanzialmente dalla prosecuzione e rivalutazione di studi precedenti, come ad esempio nei sopravvissuti giapponesi, in pazienti sottoposti a radioterapia, nei liquidatori di Chernobyl, in lavoratori esposti.

Massimo rilievo è stato dato al periodo di follow-up, poiché negli studi considerati è stato evidenziato che l'aumento del periodo di osservazione corrispondeva in più casi ad un aumento dell'incidenza di cataratta; tale allungamento di osservazione determinava cioè la evidenza di opacità anche in soggetti esposti a dosi più basse e precedentemente considerati "sani".

Un altro aspetto importante è stato quello di cercare una uniformità di valutazione clinica delle opacità del cristallino, altrimenti di difficile comparazione. I sistemi di valutazione utilizzati nel tempo sono stati diversi, come ad esempio l'esame con lampada a fessura, la tecnica Merriam-Focht (utilizzata nello studio sui liquidatori di Chernobyl), il Focal Lens Defects (FLD) (applicato in studi residenziali). Il sistema attualmente più utilizzato è il "Sistema di classificazione delle opacità del cristallino" (LOCS) arrivato attualmente alla versione III,

impiegato in particolare negli studi sui sopravvissuti giapponesi ed in studi su lavoratori esposti.

Poiché alle basse dosi la correlazione epidemiologica tra esposizione ed alterazioni della trasparenza del cristallino è stata dimostrata considerando anche le opacità a stadi precoci o molto precoci, gli interrogativi maggiori riguardano, oltre alla latenza ed al metodo diagnostico, il problema della modalità di progressione dalle iniziali anomalie verso la formazione di una cataratta, ma soprattutto ci si pone la domanda se tali precoci alterazioni della trasparenza del cristallino, correlati a basse dosi di radiazioni, siano sufficienti per definire nuove stime di rischio per la catarattogenesi e quindi nuovi standard normativi.

Studi epidemiologici

Sopravvissuti giapponesi (alla bomba atomica)

Gli studi più significativi sono stati pubblicati negli ultimi anni (Neriishi et al., 2007), con l'evidenza di cataratta (intervento chirurgico) molti anni dopo l'esposizione a basse dosi, con un incremento dose-risposta statisticamente significativo ed un OR a 1 Gy (OR1Gy) di 1,39 (95% CI: 1,24- 1,55). L'analisi per la dose soglia ha mostrato una massima stima a 0,1 Gy (95% CI: <0 – 0.8 Gy), dopo aggiustamento per età, sesso, diabete e altri potenziali fattori di confondimento. Viene sottolineato che ulteriori casi chirurgici potranno verificarsi nei prossimi anni. Gli autori hanno notato che i loro dati erano incompatibili con una dose soglia superiore a 0,8 Gy.

È importante sottolineare che questi risultati sono paragonabili ed a supporto di precedenti studi sulla opacizzazione del cristallino in sopravvissuti giapponesi che non erano stati sottoposti ad intervento per cataratta (Otake e Schull, 1982). In particolare, Minamoto e colleghi (2004) hanno riportato la valutazione di 913 sopravvissuti, la maggior parte dei quali più giovani di 13 anni al momento dei bombardamenti. Su tali soggetti, compresi tra i 54-94 anni di età, è stato evidenziato (con il sistema LOCS II) un significativo aumento della cataratta subcapsulare corticale e posteriore correlato con le dosi di radiazioni. Successivamente

(Nakashima et al, 2006) è stata riportata una stima della dose soglia pari a 0,6 Gy (90% CI: <0-1.2) per la cataratta corticale e 0,7 Gy (90% CI: <0-2.8) per la PSC. Si deve notare, tuttavia, che gli studi sui sopravvissuti alla bomba atomica forniscono il supporto epidemiologico per una dose soglia bassa o pari a zero nella esposizione acuta, ma non forniscono i dati per le popolazioni esposte cronicamente.

Liquidatori di Chernobyl

L'esame dei soggetti esposti a seguito dell'incidente di Chernobyl hanno invece fornito importanti dati epidemiologici per esposizione protratta a basse dosi, di entità simile a quella ricevuta dai sopravvissuti giapponesi. I risultati dello studio longitudinale UACOS (Worgul et al., 2007) su 8607 "liquidatori" di età media di 33 anni all'esposizione, forniscono sostegno per una più bassa soglia di induzione della cataratta. Questo studio ha utilizzato la biomicroscopia convenzionale con lampada a fessura. Al primo esame, 12 anni dopo l'esposizione e ad un'età media di 45 anni, è stata osservata una prevalenza del 30% di modificazioni pre-ataratta, con una prevalenza del 20% di opacità allo stadio 1. Tali ultime opacità hanno dimostrato una relazione dose-risposta sia per opacità PSC (OR1Gy= 1.4, 95% CI: 1.0-2.0) sia per le opacità corticali (OR1Gy = 1.5, 95% CI: 1.1 - 2.1), con stime della dose soglia a circa 350 mGy ed intervalli di confidenza che hanno escluso valori maggiori di 700 mGy. I dati per opacità più avanzate (stadi 2-5) sono stati indicativi di un rischio elevato (OR1Gy = 1.8, 95% CI: 0.9-3.7), ma non erano statisticamente significativi, forse a causa del numero relativamente piccolo di individui che era progredito a questi stadi. Questo studio è in fase di prosecuzione del follow-up.

Studi del Techa river e di altre analoghe installazioni nella ex URSS

Gli studi sono diversi ma di difficile sintesi, a causa della disomogeneità dei dati di esposizione e di classificazione dei reparti clinici. In generale, comunque, gli studi dell'ex-URSS mostrano che mentre la cataratta da radiazioni è stata osservata in individui esposti in modo acuto a radiazioni di varie qualità superiori a 2 Gy, nessuno dei risultati pubblicati suggerisce che la esposizione cronica o a basse dosi sia associata a disabilità visiva e/o cataratta da radiazioni. E' però necessario sottolineare che le definizioni, gli approcci diagnostici e la diagnosi finale di cataratta da radiazione e di disabilità visiva possono essere anche significativamente differenti da quelli utilizzati più recentemente in "occidente".

Popolazioni pediatriche

I risultati UACOS sono supportati anche dai risultati di uno studio (follow-up in corso) sulle alterazioni del cristallino in una popolazione pediatrica (circa 1.000 bambini, controlli circa 800) esposta a seguito dell'inciden-

te di Chernobyl (Day et al., 1995), con dose variabili tra 29-86 mSv, stimate però solo sulla base dei livelli di esposizione ambientale registrati. E' stato osservato un aumento modesto ma statisticamente significativo nell'incidenza di alterazioni sub-cliniche subcapsulari posteriori del cristallino (3,6%), maggiore tra i maschi tra 12 e 17 anni al momento dell'esame. Tra i confondenti ci sono anche fattori legati al campionamento dei soggetti, alla valutazione diagnostica, alla migrazione delle popolazioni interessate. D'altra parte, però, la presenza di difetti subcapsulari posteriori coerenti e caratteristici della esposizione alle radiazioni ionizzanti, e normalmente non osservati in una popolazione pediatrica, è suggestivo di una relazione causa-effetto.

Un altro studio (Hall et al., 1999), ha mostrato la prevalenza di opacità del cristallino (LOCS II) in 484 adulti, che erano stati trattati nell'infanzia (<18 mesi di età) con raggi X o con radioterapia per il trattamento di emangiomi del viso, testa o collo. La latenza di osservazione è stata tra i 35 e 54 anni e la dose media cumulativa era di 0,4 Gy (mediana 0,2 Gy, massimo 8,4 Gy). Opacità del cristallino di qualsiasi tipo sono stati trovate nel 37% dei soggetti esposti rispetto al 20% dei controlli, con un OR1 Gy di 1.50 (IC 95% 1.15-1.95) per le opacità corticale e 1.49 (95% CI, 1.07-2.08) per PSC. Al contrario, nessuna correlazione dose-risposta è stata rilevata per le alterazioni nucleari del cristallino.

Un altro studio condotto su una popolazione pediatrica accidentalmente esposta poiché viveva in un'abitazione contaminata da ⁶⁰Co (Chen et al., 2001), e con esposizione media di 170 mGy (> 5mGy/anno) ha evidenziato un OR1 Gy di 1,18 per alterazioni del cristallino non-cliniche. In particolare le modificazioni del cristallino, misurate come difetti focali sub-clinici (FLD), hanno continuato a crescere negli anni di osservazione in dimensioni e numero anche dopo anni dal trasferimento dal sito contaminato (Hsieh et al., 2010). Tali osservazioni evidenziano la natura progressiva di tali alterazioni e dimostra che tali cambiamenti possono persistere e progredire con il tempo.

Pazienti trattati per Tinea Capitis

Su tali soggetti, compresi in numerose coorti, sono stati condotti studi di vario tipo (Shore et al., 2003, Ron et al, 1991, Shore et al., 2003). Per quanto riguarda il cristallino, ad iniziare da circa 15 anni dopo il trattamento, è stato osservato nei soggetti trattati, esaminati con lampada a fessura, un aumento dell'incidenza di precoci modificazioni posteriore del cristallino, (Albert et al., 1968, Shore e Worgul, 1999). Mentre la gravità complessiva di tali cambiamenti è stata minore, gli autori hanno notato un "aumento pronunciato" di opalescenze capsulari o lucide così come un accumulo di punti luminosi o micro-opacità, probabilmente corrispondente allo

stadio Merriam-Focht tra 0.5 e 1.0. Tredici casi di "opacità posteriore sottocorticali" sono stati osservati in soggetti esposti rispetto ai 2 casi nei controlli non irradiati, con un OR di 5,9 (Shore e Worgul, 1999).

Medici e radiologi interventisti

E' già noto che il personale di gruppi interventistici può sviluppare la cataratta quando la protezione dalle radiazioni fornita è inadeguata (Vano et al., 1998). Diversi studi in analoghi gruppi di soggetti professionalmente esposti offrono supporto a questa ipotesi. In particolare uno studio pilota su radiologi interventisti di 29-62 anni, con stima della dose annuale al cristallino (ricostruita) variabile tra 450 e 900 mSv ha evidenziato una associazione tra la prevalenza e la gravità della cataratta subcapsulare posteriore con l'età e gli anni di attività (Junk et al., 2004).

Un recente studio dell'Agenzia internazionale per l'energia atomica (IAEA) (Kleiman et al, 2009; Vano et al, 2010) su 116 cardiologi e personale infermieristico interventista ha evidenziato (lampada a fessura) una

infermieri (5/11 - 45%, P <0,05) rispetto ai controlli non esposti. Il rischio relativo per opacizzazione del cristallino è stato pari a 5,7 (IC 95% 1.5-22) per i cardiologi e 5,0 (95% CI 1.2-21) per gli infermieri.

Un recentissimo studio francese (Jacob et al., 2012) denominato O'CLOC e condotto su 106 cardiologi interventisti ed altrettanti controlli, la cui esposizione è stata valutata però sulla base della stima del numero di procedure effettuate, ha evidenziato un aumento delle opacità subcapsulari posteriori (valutate con LOCS III) negli esposti, con un OR di 3.9 (CI 1.3-11.4), con una associazione non significativa con il carico di lavoro ma un rischio inferiore per gli utilizzatori regolari di lenti di protezione.

Implicazioni per la radioprotezione

Le osservazioni epidemiologiche più importanti derivano dalle coorti giapponesi e dai liquidatori di Chernobyl (vedi tabella 4.3, da ICRP 118/2012).

Table 4.3. Recent epidemiological studies of cataract formation where formal estimates of threshold doses were made.

Study	Cataract type	Threshold dose	Confidence intervals	Reference
Atomic bomb survivors (acute exposure)	Cortical cataract	0.6 Sv	90%: <0-1.2 Sv	Nakashima et al. (2006)
	Posterior subcapsular opacity	0.7 Sv	90%: <0-2.8 Sv	
Atomic bomb survivors (acute exposure)	Postoperative cataract	0.1 Gy	95%: <0-0.8 Gy	Neriishi et al. (2007)
Chernobyl clean-up workers (fractionated protracted exposure)	Stage 1-5 cataract	0.50 Gy	95%: 0.17-0.65 Gy	Worgul et al. (2007)
	Stage 1 cataract	0.34 Gy	95%: 0.19-0.68 Gy	
	Stage 1 non-nuclear cataract	0.50 Gy	95%: 0.17-0.69 Gy	
	Stage 1 superficial cortical cataract	0.34 Gy	95%: 0.18-0.51 Gy	
	Stage 1 posterior subcapsular cataract	0.35 Gy	95%: 0.19-0.66 Gy	

Da ICRP
Pubbl.118/2012

opacità subcapsulare posteriore (non clinicamente rilevante) nel 38% dei cardiologi e nel 21% del personale interventista non medico, rispetto al 12% dei controlli. Il rischio relativo di opacità subcapsulare posteriore nei cardiologi interventisti rispetto ai controlli era di 3,2 (95% CI 1.7-6.1, P <0,005). La dose media al cristallino (non protetto) è stata stimata pari a 6,0 Sv per i cardiologi e 1,5 Sv per il restante personale.

Uno studio simile in una coorte malese di cardiologi interventisti (Ciraj-Bjelac et al., 2010) ha registrato una forte correlazione dose-risposta tra esposizione e alterazioni rilevabili del cristallino posteriore. La dose media accumulata stimata al cristallino era 3,7 Gy per i cardiologi (range 0,02-43 Gy) e 1,8 Gy per gli infermieri (range 0,01-8,5 Gy). Una differenza significativa nella prevalenza di opacità posteriori è stata osservata sia nei cardiologi (29/56 - 52%, P <0,001) che negli

La ICRP ha ritenuto tali evidenze sufficienti per stimare una più bassa dose soglia di induzione dell'effetto e conseguentemente per proporre un nuovo limite di esposizione per il cristallino, ai fini della maggiore protezione di questo organo sia nelle esposizioni professionali che in quelle terapeutiche. Da tali proposte scaturiscono certamente delle importanti conseguenze in campo radioprotezionistico. Infatti, all'epoca della pubblicazione dello "Statement on Tissue Reaction" dell'ICRP nell'aprile 2011 (ICRP ref 4825-3093-1464), nel quale venivano anticipati la nuova soglia di dose (0.5 Gy) ed i nuovi limiti professionali raccomandati per il cristallino (20 mSv/anno mediati su un periodo di 5 anni, con divieto di superare 50 mSv in un singolo anno) era in discussione, presso gli organismi comunitari, la bozza della nuova Direttiva sulle norme fondamentali di sicurezza per la protezione contro i pericoli derivanti

dall'esposizione alle radiazioni ionizzanti. Tale bozza, pubblicata nel settembre successivo (disponibile su internet Doc. 14450/11 ATO 112 SOC 791 SAN 183), fa propri i valori ed inserisce per le esposizioni professionali (programmate) il nuovo valore di 20 mSv/anno in dose equivalente per il cristallino.

Una volta emanata, la Direttiva sarà oggetto di recepimento nella nostra normativa nazionale, che quindi farà propri questi valori, modificando l'attuale limite di 150 mSv/anno. Tale processo avrà non poche conseguenze sulle attività lavorative, in particolare quelle ospedaliere interventistiche, nelle quali, come emerge dalla letteratura e dalla comune esperienza dei medici autorizzati alla radioprotezione, non è infrequente osservare il superamento del valore di 20 mSv/anno al cristallino. In questi casi dovranno certamente essere implementati nuovi modelli operativi ed utilizzati correttamente e continuamente adeguati dispositivi di protezione individuale necessari per abbattere la dose a questo specifico organo.

Ma forse la conseguenza maggiore si osserverà sul versante medico-legale, poiché è facilmente ipotizzabile un aumento delle richieste di indennizzo per cataratta (evento altamente probabile ricordando che una opacizzazione del cristallino è fenomeno quasi certo in tarda età) da parte di lavoratori esposti a dosi significative al cristallino misurate o solamente stimate.

A questo proposito è opportuno segnalare, ai fini del riconoscimento del danno biologico, che nella criteriologia valutativa dell'INAIL la perdita anatomica non è più equiparata alla perdita funzionale. Ciò comporta, ai fini del riconoscimento del grado di menomazione causato dalla malattia professionale, una valutazione percentuale inferiore, rispetto al passato, riguardo, ad esempio, alla afachia o alla pseudoafachia da rimozione del cristallino ed impianto di protesi.

Bibliografia

1. Chen, W.L., Hwang, J.S., Hu, T.H., et al., 2001b. Lenticular opacities in populations exposed to chronic low-dose-rate gamma radiation from radiocontaminated buildings in Taiwan. *Radiat. Res.* 156, 71–77.
2. Ciraj-Bjelac, O., Rehani, M.M., Sim, K.H., Liew, H.B., Van' o', E., Kleiman, N.J., 2010. Risk for radiation induced cataract for staff in interventional cardiology: is there reason for concern? *Catheter. Cardiovasc. Interv.* 76, 826–834.
3. Day, R., Gorin, M.B., Eller, A.W., 1995. Prevalence of lens changes in Ukrainian children residing around Chernobyl. *Health Phys.* 68, 632–642.
4. Hall, P., Granath, F., Lundell, M., et al., 1999. Lenticular opacities in individuals exposed to ionizing radiation in infancy. *Radiat. Res.* 152, 190–195.
5. Hsieh, W.A., Lin, I.F., Chang, W.P., et al., 2010. Lens opacities in young individuals long after exposure to protracted low-dose-rate gamma radiation in ⁶⁰Co-contaminated buildings in Taiwan. *Radiat. Res.* 173, 197–204.
6. Jacob S., Boveda S., Bar O., et al., 2012. Interventional cardiologists and risk of radiation-induced cataract: Results of a French multi center observational study. *Int J Cardiol*(2012), doi:10.1016/j.ijcard.2012.04.124
7. Junk, A.K., Haskal, Z., Worgul, B.V., 2004. Cataract in interventional radiology – an occupational hazard? *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 45 (Suppl. S2005), 388.
8. Kleiman, N.J., Cabrera, M., Duran, G., Ramirez, R., Duran, A., Van' o', E., 2009. Occupational risk of radiation cataract in interventional cardiology. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 49, Presentation abstract 511/D656.
9. Minamoto, A., Taniguchi, H., Yoshitani, N., et al., 2004. Cataract in atomic bomb survivors. *Int. J. Radiat. Biol.* 80, 339–345.
10. Nakashima, E., Neriishi, K., Minamoto, A., 2006. A reanalysis of atomic-bomb cataract data, 2000–2002: a threshold analysis. *Health Phys.* 90, 154–160.
11. Neriishi, K., Nakashima, E., Minamoto, A., et al., 2007. Postoperative cataract cases among atomic bomb survivors: radiation dose response and threshold. *Radiat. Res.* 168, 404–408.
12. Otake, M., Schull, W.J., 1982. The relationship of gamma and neutron radiation to posterior lenticular opacities among atomic bomb survivors in Hiroshima and Nagasaki. *Radiat. Res.* 92, 574–595.
13. Ron, E., Modan, B., Preston, D., et al., 1991. Radiation-induced skin carcinomas of the head and neck. *Radiat. Res.* 125, 318–325.
14. Shore, R.E., Worgul, B.V., 1999. Overview of the epidemiology of radiation cataracts. In: Junk, A.J., Kundiev, Y., Vitte, P., Worgul, B.V. (Eds.), *Ocular Radiation Risk Assessment in Populations Exposed to Environmental Radiation Contamination*. Kluwer, The Hague, pp. 183–189.
15. Shore, R.E., Moseson, M., Harley, N., et al., 2003. Tumors and other diseases following childhood X-ray treatment for ringworm of the scalp (*Tinea capitis*). *Health Phys.* 85, 404–408.
16. Vano', E., Gonzalez, L., Beneytez, F., et al., 1998. Lens injuries induced by occupational exposure in non optimized interventional radiology laboratories. *Br. J. Radiol.* 71, 728–733.
17. Vano', E., Kleiman, N.J., Duran, A., et al., 2010. Radiation cataract risk in interventional cardiology personnel. *Radiat. Res.* 174, 490–495.
18. Worgul, B.V., Kundiyeu, Y.I., Sergiyenko, N.M., et al., 2007. Cataracts among Chernobyl clean-up workers: implications regarding permissible eye exposures. *Radiat. Res.* 167, 233–243.

PREDIZIONE DELLE TOSSICITÀ IN RADIOTERAPIA (QUANTEC): ASPETTI MODELLISTICI

Claudio Fiorino

Fisica Sanitaria, Ospedale San Raffaele, Milano
e-mail: fiorino.claudio@hsr.it

Modelli NTCP e QUANTEC

Una crescente quantità di dati riguardanti le relazioni dose-volume di molti organi/tessuti viene raccolta con il preciso obiettivo di creare modelli previsionali del danno radio-indotto. I modelli predittivi dovrebbero offrire la possibilità di stimare la probabilità di effetti collaterali (normal tissue complication probability, NTCP) a partire dalla distribuzione di dose o dal semplice DVH della struttura considerata.

Idealmente, la modellistica radiobiologica dovrebbe coniugare una corretta stima di NTCP con una formulazione che possa avere una consistenza radiobiologica. Concretamente, i modelli attualmente utilizzati hanno generalmente “poco” di biologico ma offrono tuttavia la possibilità di operare in molte situazioni stime abbastanza corrette dell’outcome di un trattamento radioterapico. D’altra parte la loro semplicità non può tenere conto della complessità dei fenomeni radio-indotti che generano una certa tossicità.

In questo contesto, il gruppo di lavoro QUANTEC ha compiuto un prezioso lavoro di raccolta “critica” delle conoscenze riguardanti la quantificazione e la modellizzazione degli effetti dose-volume in terapia, pubblicato come Supplemento del giornale rosso (Vol 76(3), 2010). Dal punto di vista delle raccomandazioni, a differenza del lavoro pionieristico condotto più di venti anni fa dal lavoro di Emami et al (1), QUANTEC ha attuato un atteggiamento molto più prudente, spesso evitando di dare chiare raccomandazioni nel caso esistano risultati contrastanti (ad esempio, cuore e vescica). In questi senso il documento cerca di suggerire linee di ricerca per gli anni a seguire che stanno già influenzando, a due anni dalla pubblicazione, i ricercatori coinvolti in questo tipo di studi così impegnativi.

Riguardo alla parte di modelli NTCP, è chiaro come non vi siano stati grandi progressi rispetto all’originale modello LKB (2); probabilmente un punto importante di novità successivo ad Emami è stato l’ingresso del concetto di dose uniforme equivalente (EUD, 3), del resto già implicitamente presente nel concetto di “riduzione” dell’istogramma dose volume del modello LKB.

D’altra parte, sono numerosi gli esempi che riportano la medesima capacità di diversi modelli di rappresentare adeguatamente dati clinici sufficientemente ampi con incertezze simili nei parametri (si veda ad esempio 4). Come detto prima, questo riflette la scarsa componente radiobiologica dei modelli NTCP che appaiono essenzialmente come strumenti matematici di “fit” di dati clinici e di traduttori del DVH di un organo in una probabilità di rischio.

L’approccio essenzialmente empirico di questi modelli non ne riduce l’importanza e la loro versatilità nell’uso clinico sia in fase di valutazione che di ottimizzazione del trattamento. Ad oggi numerosi sistemi di piani di trattamento permettono di utilizzare modelli NTCP (e TCP) nella fase di ottimizzazione col risultato di guidare spesso più efficientemente e rapidamente l’ottimizzazione ad ottenere la distribuzione di dose voluta.

Cosa c’è di nuovo nel campo della predizione delle tossicità?

Al di là dei modelli NTCP, la ricerca attuale riguardo alla modellizzazione e più in generale alla predizione degli effetti tossici dopo radioterapia si sta muovendo molto dinamicamente su diversi fronti, alcuni dei quali sono stati ben delineati nei cosiddetti “vision papers” del documento QUANTEC.

1- La necessità di raccogliere informazioni sulle tossicità/sintomi, riportati direttamente dal paziente in maniera prospettica (score specifici e “globali”, quality-of-life,...): Qualsiasi modello venga applicato, non può prescindere dalla qualità del dato clinico a disposizione. Seppure ovvia, tale affermazione trova grande difficoltà di applicazione in quanto sottolinea la necessità di creare consorzi di centri che raccolgano prospetticamente dati di tossicità utilizzando il medesimo linguaggio, includendo auto-valutazioni del paziente e/o score oggettivamente misurabili. Questo significa la creazione di una “pooling culture” (5) all’interno di una visione dell’importanza di tali argomenti per la radioterapia. Ad oggi l’impellente necessità di avviare studi di questo tipo su larga scala è evidente tanto che nel docu-

mento ESTRO di visione recentemente pubblicato sul giornale verde (6) uno degli obiettivi strategici risulta proprio "...The development of validated predictive models of treatment outcome based on complex databases comprising clinical, biologic, genetic, imaging, dosimetric and population data". La discussione ulteriore di questo punto esula in gran parte gli scopi del presente lavoro ma è probabilmente la più importante componente nello sviluppo dei modelli predittivi di tossicità in radioterapia nei prossimi anni.

2- La possibilità di includere variabili cliniche (e genetiche) nella modellistica del rischio di effetti collaterali. Applicare/sviluppare tecniche avanzate di selezione delle variabili più predittive (modelli logistici multivariati, tecniche di bootstrap, reti neurali) ed offrire strumenti di valutazione del rischio su singolo paziente. E' sempre più evidente che il rischio di avere una certa tossicità non è solo legato alla distribuzione di dose erogata ma tale effetto è modulato da numerose variabili paziente-dipendente. La definizione di sottogruppi di pazienti "a rischio" è essenziale nella radioterapia di questi anni, tendente alla personalizzazione del trattamento. In primis, variabili cliniche facilmente conoscibili a livello individuale possono pesantemente modulare il rischio di tossicità; in particolare l'utilizzo di tecniche di erogazione che consentono la conformazione delle distribuzioni di dose a volumi sempre più piccoli ed altamente conformate (ad es: IMRT, IGRT, protonterapia) riduce drasticamente il rischio di tossicità, spesso rendendo maggiormente visibile l'impatto di specifiche variabili cliniche rispetto al passato. Un esempio eclatante è quello della tossicità rettale (sia sanguinamento che incontinenza fecale) in cui il chiaro impatto di variabili cliniche è stato riportato essere paragonabile o maggiore dell'impatto della distribuzione di dose ricevuta dal retto (7). I modelli NTCP esistenti sono stati facilmente generalizzati da permettere l'inclusione di (poche) variabili cliniche nel modello stesso, ad esempio fissando alcuni parametri e modificandone altri per sottogruppi più sensibili (ad esempio la TD50%, dose corrispondente al 50% di probabilità del danno). Tuttavia, la disponibilità crescente di molte variabili cliniche potenzialmente correlate ad un aumento della tossicità ha spinto molti ricercatori a sviluppare ed utilizzare tecniche più sofisticate di selezione delle variabili, ad esempio in regressioni logistiche multi-variate, con l'utilizzo di strumenti come il bootstrap o con strumenti statistici avanzati che cercano di analizzare tutte le possibili inter-correlazioni non-lineari tra le variabili stesse (8), incluso sistemi di reti neurali o metodi di selezione delle variabili tipo "random forest" (9). Tali strumenti potranno aiutare a rendere più "rigorosa" la selezione delle

variabili di modelli predittivi. In particolare, tali strumenti sembrano indispensabili nella identificazione di geni corresponsabili della sensibilità individuale dei pazienti alle radiazioni, sebbene l'impatto genetico sembra ad oggi relativamente meno importante rispetto a quello della dose e delle variabili cliniche. Tale impatto inizia ad evidenziarsi nei casi in cui la conoscenza dei predittori di tossicità affina le tecniche e riduce drasticamente gli eventi, evidenziando così all'interno di questi eventi residui l'impatto della componente genetica individuale (10).

3 – Introdurre le prassi di valutazione della robustezza e della affidabilità dei modelli, oltre che del loro valore predittivo. Attivare validazioni indipendenti e prospettiche dei modelli in studi clinici controllati (ad esempio con lo scopo di ridurre le tossicità). Questo punto rappresenta una delle sfide più importanti della modellizzazione degli effetti collaterali di questi anni. E' sicuramente importante non solo quantificare la significatività del modello ma anche la sua robustezza (in particolare quando si considerano popolazioni con un numero di eventi limitato) oltre che il valore predittivo, ad esempio attraverso strumenti relativamente semplici come le curve ROC. Procedure statistiche (bootstrap, leave-out,...) devono necessariamente essere implementate al fine di validare internamente la robustezza dei modelli. Ancora più importante è la possibilità di effettuare validazioni indipendenti (cross-validation) sia utilizzando popolazioni già disponibili (dati di studi prospettici condotti in paesi diversi, ad esempio) che in maniera completamente prospettica. Nel primo caso, il vantaggio è che si può avere velocemente il risultato disponibile a spese delle incertezze/carenze di dati derivanti dall'utilizzo di scale di tossicità diverse e/o dalla diversa tipologia di variabili considerate; nel secondo caso, lo svantaggio è che si deve aspettare la conclusione di uno studio completamente nuovo, il che può richiedere in certe situazioni molti anni.

4 – Valutare l'informazione spaziale della distribuzione di dose (non solo il DVH) al fine di sviluppare modelli più accurati che possano permettere di identificare sotto-strutture/regioni più sensibili all'interno di un determinato organo: introdurre tecniche avanzate di correlazione (voxel-by-voxel) che considerino le caratteristiche spaziali della distribuzione di dose 3D negli organi ed eventuali inter-dipendenze. La combinazione di tecniche di registrazione elastica (e di dose warping) unitamente alle tecniche SPM (statistical parametric models) rende realistico pensare allo sviluppo di modelli che possano tenere conto in toto della distribuzione di dose mediante la quantificazione delle correlazioni tra distribuzioni di dose ricevute da pazienti con e

senza tossicità. Questo campo, seppure nella sua infanzia, potrà avere importanti sviluppi non solo nella generazione di modelli predittivi ma anche nella eziologia e radiobiologia dello sviluppo di specifici sintomi.

5 – Includere nei modelli le modifiche nella erogazione della distribuzione di dose dovute a deformazioni anatomiche

6 – Utilizzare misure oggettive/prospettiche delle modificazioni visualizzate su immagini durante e dopo il trattamento come scores di tossicità; validare prospetticamente modelli previsionali del riconoscimento precoce di tossicità mediante approcci adattivi.

Bibliografia

1. Emami, B., Lyman, J., Brown, A., Coia, L., Goitein, M., Munzenrider, J.E., Shank, B., Solin, L.J., Wesson, M. Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation (1991) *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 21 (1), pp. 109-122.
2. Burman, C., Kutcher, G.J., Emami, B., Goitein, M. Fitting of normal tissue tolerance data to an analytic function (1991) *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 21 (1), pp. 123-135.
3. Kutcher, G.J., Burman, C. Calculation of complication probability factors for non-uniform normal tissue irradiation: The effective volume method (1989) *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 16 (6), pp. 1623-1630.
4. Niemierko, A. Reporting and analyzing dose distributions: A concept of equivalent uniform dose (1997) *Medical Physics*, 24 (1), pp. 103-110.

QUANTEC (QUANTITATIVE ANALYSIS OF NORMAL TISSUE EFFECTS IN THE CLINIC): ASPETTI CLINICI

Alessio G. Morganti^(1,2,4), Francesco Deodato⁽¹⁾, Cinzia Digesù⁽¹⁾, Gabriella Macchia⁽¹⁾, Mariangela Massaccesi⁽¹⁾, Samantha Mignogna⁽²⁾, Savino Cilla⁽³⁾

U.O. Radioterapia ⁽¹⁾, U.O. Oncologia Generale ⁽²⁾, U.O. Fisica Sanitaria ⁽³⁾,
Fondazione di Ricerca e Cura “Giovanni Paolo II”, Campobasso;
Cattedra di Radioterapia ⁽⁴⁾, Università Cattolica del S. Cuore, Roma.
e-mail: amorganti@rm.unicatt.it

Introduzione

L'introduzione in radioterapia delle tecniche conformazionali si è basata sulla pianificazione tridimensionale dei piani di trattamento. Gli istogrammi Dose-Volume (DVH) sono un importante aspetto della radioterapia 3D. Si tratta infatti di grafici che consentono di determinare “quanta parte di un organo riceve quale dose di radiazioni”. La valutazione di un piano di trattamento è quindi facilitata dall'uso dei DVH che consentono una rapida analisi quantitativa dell'irradiazione degli organi sani e del tumore (bersaglio).

L'accettabilità di un piano si basa su una stima del rischio degli effetti collaterali. Questa stima può essere realizzata grazie all'analisi dei DVH facendo riferimento a limiti (constraints) di dose di radiazioni che può essere somministrata a variabili percentuali di volume degli organi sani. In alcuni casi sono stati proposti ulteriori indici, elaborati come sintesi di un DVH, che consentono di predire il rischio di tossicità (Prabhakar 2011).

La classificazione QUANTEC, che fa seguito allo “storico” lavoro di Emami e coll. (Emami 1991), rappresenta la più moderna sintesi dei constraints da utilizzare nella pratica clinica (Bentzen 2010, Jackson 2010, Marks 2010). Una serie di studi si è proposta lo scopo di una validazione indipendente dei constraints QUANTEC (Moiseenko 2012), in alcuni casi confermandone la validità ed in altri indicandone invece i limiti (Liu 2010, Herbert 2012).

Problematiche cliniche nell'applicazione dei constraints QUANTEC

Gli stessi autori delle pubblicazioni che hanno introdotto il sistema QUANTEC hanno segnalato (Marks 2010) una serie di limitazioni delle stesse:

1. I constraints indicati dal QUANTEC derivano da informazioni ottenute in genere dai DVH; i DVH, tuttavia, rappresentano solo una sintesi della distribuzione tridimensionale della dose. Questa sintesi è ottenuta perdendo tutte le informazioni spaziali sulla distri-

buzione della dose stessa e quindi non tengono conto della diversa importanza funzionale delle sottosedie dei diversi organi.

2. Nell'elaborazione del QUANTEC si è tenuto conto dei diversi frazionamenti attraverso un calcolo delle dosi equivalenti basato sul modello lineare-quadratico, applicando il rapporto alfa/beta. Restano tuttavia importanti incertezze da questo punto di vista dal momento che il valore del rapporto alfa/beta non è noto con certezza per tutti gli organi e perché lo stesso modello lineare-quadratico potrebbe non essere valido in caso di frazionamenti “estremi”.

3. I constraints QUANTEC non tengono conto dei trattamenti sistemici laddove è noto che nella maggior parte delle neoplasie sono oggi indicate terapie integrate che prevedono l'impiego di chemioterapia concomitante e/o sequenziale. I limiti di dose-volume proposti, pertanto, potrebbero non essere validi in tutti i casi in cui si associno alla radioterapia altri trattamenti antineoplastici in grado di modificare la tolleranza alle radiazioni.

4. I constraints QUANTEC non tengono conto di una serie di fattori individuali che potrebbero influenzare la tolleranza al trattamento, quali comorbidità rappresentate da patologie concomitanti acute o croniche, fattori genetici e abitudini voluttuarie o stili di vita.

5. L'impiego dei constraints QUANTEC è lungi dal favorire scelte cliniche semplici ed univoche. Il clinico, infatti, deve frequentemente affrontare la necessità di bilanciare il rischio di tossicità su diversi organi, e di dover quindi “violare” un limite su un organo critico piuttosto che un altro limite relativo ad un altro organo sano. Questo tipo di decisione richiede una conoscenza delle caratteristiche del paziente, della sua storia clinica ed una stima delle diverse conseguenze sulla qualità della vita derivanti dalle diverse possibili tossicità.

6. La stima della tossicità tardiva indicata dal sistema QUANTEC è stato condizionato dalla durata del follow-up. In particolare, il rischio di tossicità tardiva potrebbe essere stato sottostimato nelle categorie di

pazienti con prognosi peggiore. Di questo aspetto occorrerebbe tenere conto nella applicazione dei constraints nella pratica clinica. Più in generale l'applicazione dei constraints dovrebbe tener conto della prognosi dei pazienti ed in particolare del reale rischio di assistere alla tossicità tardiva. Nello specifico, può essere accettabile superare (o del tutto ignorare) i limiti dose-volume nel caso di trattamenti palliativi urgenti ed utili al miglioramento della qualità della vita nei pazienti a breve prognosi.

7. Il rispetto dei limiti di dose-volume deve sempre essere "pesato" nei confronti della probabilità di curare il tumore. Alcuni studi recentissimi sottolineano la difficoltà nel rispettare i constraints QUANTEC senza rischiare una irradiazione sub-ottimale del target (Malone 2012). Le conseguenze di un'irradiazione non ottimale del target, infatti, sono in genere peggiori per il paziente del rischio di tossicità radio-indotta. Anche in questo caso la valutazione dei constraints deve tener conto delle caratteristiche del paziente e della finalità del trattamento (esclusivo, adiuvante, palliativo).

8. I constraints QUANTEC sono stati ottenuti in base alle informazioni derivanti da casistiche di pazienti adulti; la loro applicazione ai pazienti pediatrici richiede pertanto una particolare cautela.

9. La valutazione dei piani di trattamento basati su singole soglie di volume irradiato richiede ulteriore cautela da parte del clinico. Occorre infatti essere consapevoli del fatto che ad uno stesso valore di una soglia (es: V20Gy per l'irradiazione del polmone) possono corrispondere infinite e diverse distribuzioni spaziali della dose nell'organo a rischio. Queste diverse distribuzioni, nonostante lo stesso valore della "soglia", possono essere correlate a probabilità molto diverse di tossicità.

10. Un ulteriore problema emergente è infine rappresentato dalla dipendenza dei constraints dalla tecnica impiegata. Nel tempo, infatti, è stato osservato che gli stessi constraints non sono validi cambiando tecnica di trattamento (Herbert 2012). Inoltre, è stato osservato che usando tecniche diverse possono essere definiti nuovi constraints, in precedenza non efficaci. Da tutto questo deriva il fatto che, parallelamente all'evoluzione delle tecniche di trattamento, esiste una evoluzione dei constraints. Tutto questo suggerisce la necessità di una particolare cautela nell'impiego dei constraints QUANTEC, specie in caso di utilizzo di tecniche radioterapiche innovative.

automatico dei constraints, specie in caso di frazionamenti non convenzionali, comorbidità di rilievo, età pediatrica, impiego di trattamenti sistemici ed uso di nuove tecnologie radioterapiche.

Una serie di raccomandazioni proposte dagli stessi autori del QUANTEC (Jackson 2010), insieme a nuovi studi in questo campo (Bentzen 2010), consentiranno in futuro una più accurata ed omogenea raccolta di dati utili alla valutazione dei rapporti tra DVH e tossicità.

References

1. Bentzen SM, Constine LS, Deasy JO, Eisbruch A, Jackson A, Marks LB, Ten Haken RK, Yorke ED. Quantitative Analyses of Normal Tissue Effects in the Clinic (QUANTEC): an introduction to the scientific issues. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 76(3 Suppl):S3-9.
2. Emami B, Lyman J, Brown A, Coia L, Goitein M, Munzenrider JE, Shank B, Solin LJ, Wesson M. Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991; 21:109-22.
3. Herbert C, Moiseenko V, McKenzie M, Redekop G, Hsu F, Gete E, Gill B, Lee R, Luchka K, Haw C, Lee A, Toyota B, Martin M. Factors predictive of symptomatic radiation injury after linear accelerator-based stereotactic radiosurgery for intracerebral arteriovenous malformations. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012; 83:872-7.
4. Jackson A, Marks LB, Bentzen SM, Eisbruch A, Yorke ED, Ten Haken RK, Constine LS, Deasy JO. The lessons of QUANTEC: recommendations for reporting and gathering data on dose-volume dependencies of treatment outcome. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 76(3 Suppl):S155-60.
5. Liu M, Moiseenko V, Agranovich A, Karvat A, Kwan W, Saleh ZH, Apte AA, Deasy JO. Normal Tissue Complication Probability (NTCP) modeling of late rectal bleeding following external beam radiotherapy for prostate cancer: A Test of the QUANTEC-recommended NTCP model. *Acta Oncol* 2010; 49:1040-4.
6. Malone S, Croke J, Roustan-Delatour N, Belanger E, Avruch L, Malone C, Morash C, Kayser C, Underhill K, Li Y, Malone K, Nyiri B, Spaans J. Postoperative Radiotherapy for Prostate Cancer: A Comparison of Four Consensus Guidelines and Dosimetric Evaluation of 3D-CRT Versus Tomotherapy IMRT. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012; 84:725-32.
7. Marks LB, Yorke ED, Jackson A, Ten Haken RK, Constine LS, Eisbruch A, Bentzen SM, Nam J, Deasy JO. Use of normal tissue complication probability models in the clinic. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 76(3 Suppl):S10-9.
8. Moiseenko V, Wu J, Hovan A, Saleh Z, Apte A, Deasy JO, Harrow S, Rabuka C, Muggli A, Thompson A. Treatment planning constraints to avoid xerostomia in head-and-neck radiotherapy: an independent test of QUANTEC criteria using a prospectively collected dataset. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012; 82:1108-14.
9. Prabhakar R, Rath GK. A simple plan evaluation index based on the dose to critical structures in radiotherapy. *J Med Phys* 2011; 36:192-7.

Conclusioni

L'applicazione clinica dei constraints QUANTEC richiede una conoscenza delle modalità con cui questi constraints sono stati elaborati e quindi dei loro relativi limiti. Richiede quindi un impiego critico e non

RADIOTOSSICITÀ RENALE NELLA TERAPIA RECETTORIALE RADIONUCLIDICA

Marco Chianelli, MD, PhD

Ospedale Regina Apostolorum, Albano Roma

e-mail: marcochianelli@libero.it

La terapia radiorecettoriale basata su peptidi quali l'octreotide (PRRT), è una terapia efficace contro i tumori neuroendocrini. E' stato subito chiaro, tuttavia, che un limite all'efficacia di questo tipo di terapia era rappresentato dalla elevata dose di radiazioni assorbita dai reni: fin dai primi studi di biodistribuzione degli analoghi della somatostatina radiomarcata è stato evidente che i reni rappresentano l'organo critico nella terapia radiorecettoriale a causa della elevata ritenzione renale dei radiopeptidi. La maggior parte di questi peptidi viene eliminata attraverso l'emuntorio renale e riassorbita, e in parte ritenuta, dal tubulo prossimale in seguito a una endocitosi recettore mediata, causando una tossicità dose-dipendente.

Un aspetto critico per una corretta gestione della PRRT è il calcolo della dose assorbita dai reni. In numerosi studi è stato posto un limite di dose ai reni pari 26 Gy nel corso di un tipico trattamento da 5 cicli di 177Lu-DOTA-TOC da 8 GBq. Applicando un calcolo personalizzato della dose renale per ogni paziente è stato possibile in alcuni casi somministrare un ciclo addizionale di terapia per non aver superato il limite di dose, in altri pazienti non è stato possibile completare il ciclo terapeutico. Il calcolo della dose assorbita dai reni, quindi, è cruciale in quanto può garantire una dose maggiore e più efficace di peptide radiomarcato, ma, se non calcolato accuratamente, può determinare una insufficienza renale. Deve essere, quindi, calcolato individualmente e non estrapolato dalla dose media.

Sono state sviluppate strategie per la riduzione della nefrotossicità nella PRRT: la modifica delle dimensioni, della carica elettrica e della struttura può modificare la filtrazione glomerulare e il riassorbimento tubulare. Anche la coiniezione di inibitori competitivi del riassorbimento e di aminoacidi, l'uso di radioprotettori, il frazionamento della dose possono ridurre la nefrotossicità e quindi consentire la somministrazione di attività maggiori associate a una migliore risposta da parte del tumore.

L'impiego di attività maggiori può essere associato a iniziale tossicità al midollo osseo anche se, al momento attuale questo non è ancora un problema che si incontra nella pratica clinica. Sono stati sperimentati protocolli che impiegavano la combinazione di più tecniche simultaneamente per la riduzione della ritenzione renale ma a tutt'oggi non è possibile abolire completamente la dose assorbita dai reni.

L'uso di radioprotettori quale l'amifostina, o di agenti inibenti il riassorbimento renale, spirironolattone, l'infusione di aminoacidi e il frazionamento della dose si sono tutti dimostrati efficaci. Anche l'uso di peptidi marcati con 177Lu, rispetto a quelli marcati con 90Y, è risultato in una minore nefrotossicità, verosimilmente a causa della minore energia dei raggi beta del 177Lu che, in ragione di un tragitto più breve nei tessuti determina un minore irraggiamento del glomerulo, particolarmente radiotossico.

E' stato, inoltre, verificato che la presenza di altri fattori di rischio per la funzione renale, quali diabete e ipertensione, svolgono un ruolo molto importante nella insorgenza di nefrotossicità

Molti dei protocolli per la riduzione della nefrotossicità non sono stati sperimentati nell'uomo, ma probabilmente dall'impiego combinato di differenti strategie (per esempio: radioprotettori e riduzione della ritenzione renale di radiopeptide) emergeranno buoni risultati. Quanto mai critico è, in questo settore, il contributo della ricerca.

Bibliografia essenziale

1. E Vegt, M de Jong, JFM Wetzels, R Masereeuw, M Melis, WJG Oyen, M Gotthardt and OC Boerman. Renal toxicity of radiolabeled peptides and antibody fragments: mechanisms, impact on radionuclide therapy, and strategies for prevention. *J Nucl Med* 2010; 51:1049-1058
2. M Cremonesi, M Ferrari, A Di Dia, F Botta, C De Cicco, L Bodei, G Paganelli. Recent issues on dosimetry and radiobiology for peptide receptor radionuclide therapy. *QJ Nucl Med Mol Imaging* 2011 55:155-67.
3. Bodei L, Cremonesi M, Ferrari M, Pacifici M, Grana CM, Bartolomei M, Baio SM, Sansovini M, Paganelli G. Long-term evaluation of renal toxicity after peptide receptor radionuclide therapy with 90Y-DOTATOC and 177Lu-DOTATATE: the role of associated risk factors. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008 35:1847-56.
4. Rolleman EJ, Forrer F, Bernard B, Bijster M, Vermeij M, Valkema R, Krenning EP, de Jong M. Amifostine protects rat kidneys during peptide receptor radionuclide therapy with [177Lu DOTA0,Tyr3]octreotate. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2007 May;34(5):763-71.
5. Bernard BF, Krenning EP, Breeman WA, Rolleman EJ, Bakker WH, Visser TJ, Mäcke H, de Jong M. D-lysine reduction of indium-111 octreotide and yttrium-90 octreotide renal uptake. *J Nucl Med*. 1997 Dec;38(12):1929-33.
6. Barone R, Borson-Chazot F, Valkema R, Walrand S, Chauvin F, Gogou L, Kvols LK, Krenning EP, Jamar F, Pauwels S. Patient-specific dosimetry in predicting renal toxicity with (90)Y-DOTATOC: relevance of kidney volume and dose rate in finding a dose-effect relationship. *J Nucl Med*. 2005 Jan;46 Suppl 1:99S-106S.

LA SENESCENZA CELLULARE PREMATURA COME EFFETTO SUBLETALE DELLA RADIAZIONE IONIZZANTE

Lorenzo Manti

Dipartimento di Scienze Fisiche, Università Federico II di Napoli & INFN, Sez. di Napoli
e-mail: manti@na.infn.it

Introduzione

Il fenomeno della senescenza replicativa nelle cellule somatiche è noto da tempo e fu per la prima volta osservato in colture di cellule umane normali. Esso consiste nell'esaurimento del loro potenziale proliferativo. Il progressivo accorciamento delle sequenze telomeriche insito nella duplicazione del DNA è un meccanismo associato a questo processo. Il ruolo della senescenza cellulare nell'omeostasi cellulare in vivo, di contro, non è chiaro, anche se esistono indizi circostanziati su un legame causale tra l'invecchiamento dell'organismo tout court e la perdita irreversibile della capacità di duplicarsi della singola cellula. E' stato recentemente dimostrato che un fenotipo simile a quello esibito da cellule "fisiologicamente" senescenti può essere indotto da stress subletali di varia natura. In particolare, la radiazione ionizzante può generare la cosiddetta Stress-Induced Premature Senescence (SIPS), i cui meccanismi molecolari e la cui dipendenza dalla qualità della radiazione (LET) restano da chiarire. Da diversi anni, nel nostro laboratorio studiamo l'insorgenza in vitro della senescenza cellulare prematura, utilizzando radiazioni di varia qualità (raggi x e particelle accelerate). I principali risultati di questi esperimenti saranno brevemente illustrati insieme ad una sintetica panoramica sulla SIPS e le sue potenziali ripercussioni in radioterapia

La senescenza cellulare e il suo ruolo di barriera anti-tumorale

A differenza delle cellule tumorali, le cellule normali umane in vitro non proliferano indefinitamente ma entrano in uno stato metabolicamente attivo di arresto irreversibile della crescita, definito senescenza replicativa, tipicamente dopo 60÷80 cicli di duplicazione (population doublings). Le osservazioni di Hayflick e Moorhead [1] condotte su colture di fibroblasti fetali umani portarono al superamento del dogma secondo cui tutte le cellule, date ottimali condizioni di crescita, fossero in grado di dividersi all'infinito, e a postulare che i cambiamenti che in seguito furono riconosciuti come preludio della perdita di tale capacità fossero espressione di un processo di invecchiamento cellulare, che traeva origine da meccanismi intracellulari e quin-

di espressione di una finita e predeterminata longevità. In particolare, queste osservazioni furono cruciali nell'identificare la senescenza come il fato cui ogni cellula fisiologicamente va incontro e che solo le cellule tumorali sono in grado di eludere. Studi successivi hanno chiarito la complicata serie di eventi che innesca la senescenza cellulare e come questa, di fatto, rappresenti un naturale meccanismo di soppressione tumorigenica rimuovendo dal pool di cellule proliferanti quelle che diventano danneggiate per effetto non solo di fattori esterni, ma anche dall'accumulo di mutazioni endogene quali quelle intrinsecamente correlate con la duplicazione del DNA e l'ubiquitario stress ossidativo [2,3]. Infatti, l'insorgenza della senescenza appare mediata da tipici pathway oncosoppressori imperniati su p53 e p16INK4A/pRb [4,5], che, a loro volta, inibiscono le chinasi da cui dipende la progressione attraverso il ciclo cellulare [6]. Il quadro emerso negli ultimi anni è quello secondo cui una cellula mitoticamente competente può diventare senescente in risposta ad una varietà di fattori (stressors): telomeri disfunzionali, danno al DNA, eccessivi segnali mitogeni, compresi quelli prodotti da oncogeni, stress non genotossici quali fenomeni perturbativi dell'organizzazione cromatinica ed altri che restano da definire. Tali cambiamenti comportano un fenotipo peculiare (vedi sotto), i cui tratti salienti sono l'arresto permanente della proliferazione, un'espressione genica alterata ed, in alcuni casi, una resistenza all'apoptosi [7].

Senescenza replicativa

Altri tratti distintivi del fenotipo senescente sono alterazioni morfologiche (appiattimento ed aumento del volume cellulare), senescence-associated DNA foci, senescence-associated heterochromatin foci e la presenza specifica dell'enzima idrolitico β -galattosidasi, quest'ultima ampiamente sfruttata come efficiente marker di riconoscimento di cellule senescenti in vitro [7]. E' generalmente accettato che la senescenza replicativa fisiologica è strettamente correlata con la progressiva riduzione dei telomeri [9,10], che si verifica ad ogni ciclo replicativo del DNA, così che quando i telomeri raggiungono una lunghezza critica (< 5 kb) i pathway

incentrati su Rb e p53 innescano l'arresto della proliferazione [11]. Ulteriore supporto a questo scenario viene dall'osservazione che linee tumorali immortali e cellule germinali sfuggono all'azione dell'accorciamento telomerico mediante l'espressione della telomerase [12].

Senescenza cellulare prematura in risposta a stress subletali

Il fenomeno della senescenza cellulare prematura (Stress-Induced Premature Senescence o SIPS) fu per la prima volta descritto da Serrano et al. [13] nel 1997, quando dimostrarono l'arresto permanente in G1 di cellule primarie umane e di roditore in seguito all'espres-

H2AX, 53BP1 E p53, importanti sensori ed effettori del DDR, che portano all'inibizione, attraverso p21, dell'attività di CDK2, risultando nell'arresto del ciclo in G1 [17]. Tuttavia, nella SIPS, a differenza della senescenza replicativa, elevati livelli della famiglia di proteine onco-soppressori P16INK4 sono necessari [18]. Ne consegue che i pathway di DDR, apoptosi e senescenza hanno diversi mediatori molecolari in comune attraverso p53 e p21, mentre resta da capire cosa diriga una cellula danneggiata a "scegliere" tra apoptosi e senescenza, anche se la natura dello stress, la sua dose e le modifiche post-traslazionali subite da p53 possono influenzare tale destino [18,19].

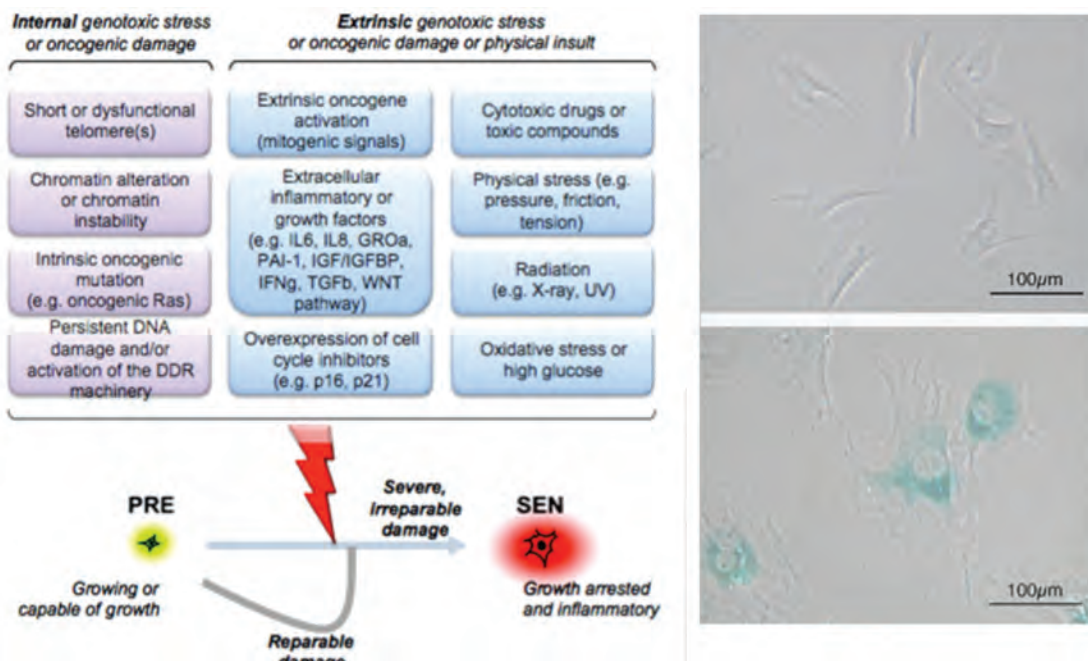


Fig. 1: A sinistra: schema dei segnali pro-senescenza, da [22]; a destra, una tipica immagine di cellule umane normali (in alto) e senescenti, come mostrato dall'attività della β-galattosidasi.

sione dell'oncogene ras. Da allora, è stato mostrato che stress cito- e genotossici di varia natura (danno al DNA, radiazione ionizzante e non ionizzante, stress ossidativo, attivazione oncogenica, etc.) e di entità sub-letale possono provocare la rapida insorgenza della senescenza il cui fenotipo è molto simile a quello della senescenza replicativa, ma i cui trigger molecolari non sono stati ancora determinati con certezza [14], anche se sembra certo non dipendere dall'accorciamento telomerico come evidenziato dall'impossibilità di abrogare la SIPS in cellule in cui la subunità catalitica della telomerasi hTERT era stata espressa [15]. Ciò che è diventato sempre più chiaro nel tempo è che il riconoscimento del danno al DNA e la conseguente attivazione del DNA damage response (DDR) pathway sono gli eventi iniziali sia della senescenza replicativa che della SIPS [16]. In tale processo, ATM fosforila, tra gli altri,

Senescenza cellulare radioindotta e sua rilevanza clinica

Il ruolo della senescenza cellulare radio indotta in vivo, particolarmente come effetto sub-letale dell'esposizione alla radiazione ionizzante, resta indeterminato [20,21]. E' stato dimostrato come la radiazione ionizzante possa indurre SIPS in un ampio range di dosi, il che pone il quesito di se e quale ruolo ciò possa avere per il rischio di tumori secondari post-radioterapia, soprattutto alla luce dell'esistenza di un fenotipo associato alla senescenza prematura, che è caratterizzato dalla secrezione di fattori inibenti o promuoventi la progressione tumorale, denominato Senescence -Associated Secretory Phenotype (SAPS), e che può portare alla stimolazione di cellule pre-neoplastiche [22]. D'altro canto, la capacità della radiazione ionizzante di indurre SIPS anche a dosi basse, soprattutto nel caso di

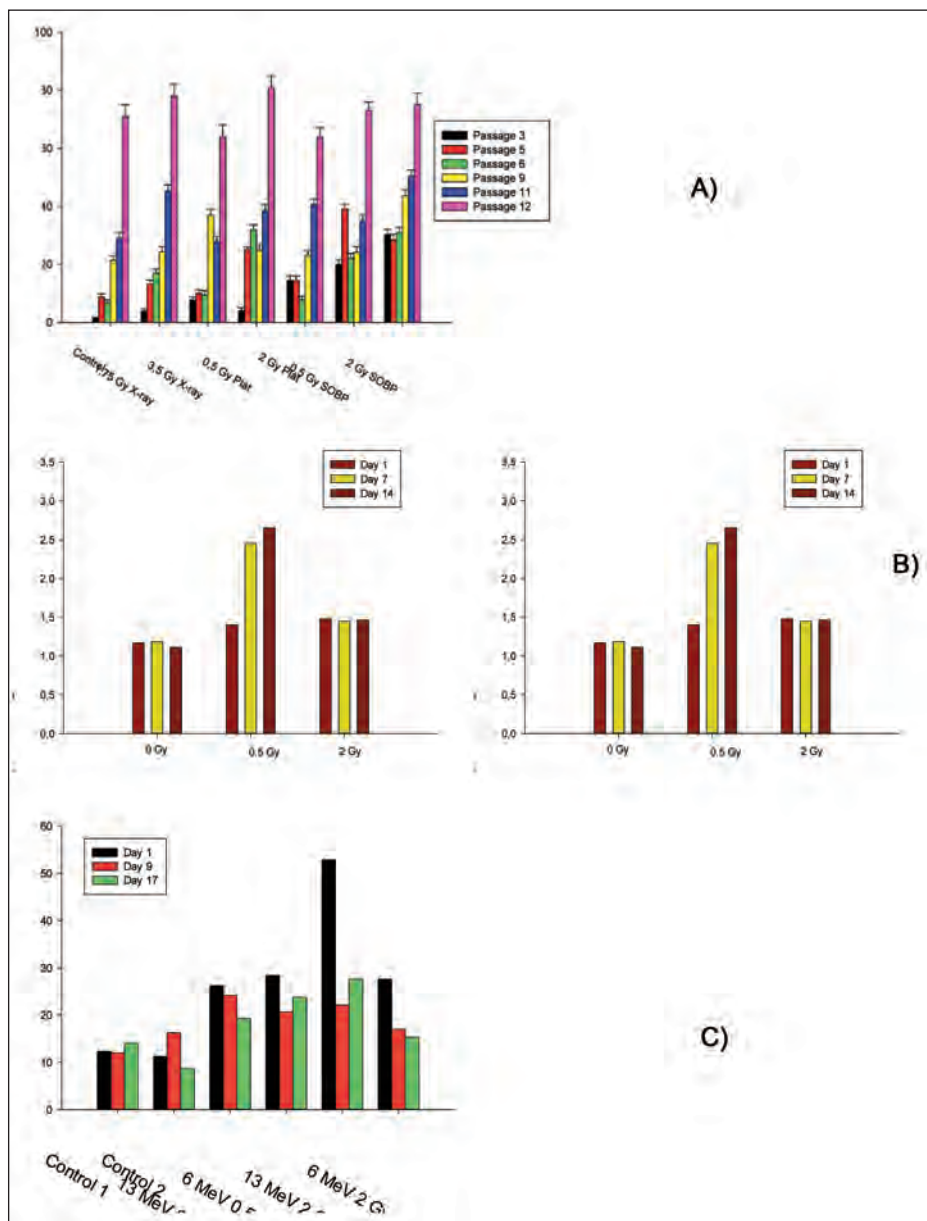


Fig. 2: Andamento della frazione di cellule HUVEC senescenti per varie dosi e tempi post-esposizione per vari tipi di radiazione: A) raggi x e un fascio terapeutico di ioni carbonio, all’ingresso (Plateau e al centro del SOBP); B) protoni da 0.8 MeV e 0.6 MeV (sinistra e destra, rispettivamente); C) ioni carbonio da 5 e 13 MeV; i dati mostrati in B) e C) si riferiscono a fasci monocromatici ioni in prossimità del picco di Bragg .

radiazione ad alto LET, pone interrogativi di tipo radioprotezionistico (esposizione a fini diagnostici), ma anche per il rischio di degenerazione tissutale come effetto a lungo termine nel caso della radioterapia con ioni accelerati (adroterapia).

In conclusione, a fronte di un ben definito ruolo della senescenza nella prevenzione della trasmissione alla progenie di una popolazione cellulare di danni potenzialmente tumorigenici, i recenti dati sul potenziale infiammatorio delle cellule senescenti e sulla capacità che queste possiedono di danneggiare l’architettura tissutale pongono interrogativi sul contributo della SIPS al rischio di cancro radioindotto, particolarmente nel

caso dell’esposizione a basse dosi e a diversi tipi di radiazione (basso vs. alto LET) nonché sul legame tra la senescenza prematura radioindotta e il danno a lungo termine, con le conseguenze patologiche che ne possono scaturire.

Bibliografia

1. L. Hayflick and P.S. Moorhead (1961), The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.*, 25, 585-621.
2. R. Sager (1991) Senescence as a mode of tumour suppression. *Environ. Health Perspect.* 93, 59-62
3. J. Campisi (2001), Cellular senescence as a tumour-suppressor mechanism. *Trends Cell Biol.* 11, 27-31
4. K. S. Kulju and J. M. Lehman (1995), Increased p53 pro-

- tein associated with aging in human diploid fibroblasts. *Exp. Cell Res.* 217, 336-345.
5. M. Narita, S. Nunez, E. Heard, M. Narita, A. W. Lin, S.A. Hearn and D. L. Spector, G. J. Hannon and S. W. Lowe (2003), Rb-mediated heterochromatin formation and silencing of E2F target genes during cellular senescence. *Cell* 113, 703-716.
 6. I.S. Mehta IS, M. Figgitt, C. S. Clements, I.R. Kill and J.M. Bridger (2007), Alterations to nuclear architecture and genome behaviour in senescent cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci* 1100, 250-263.
 7. J. Campisi and F. d'Adda di Fagagna (2007), Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 8, 729-740.
 8. G. P. Dimri (1995), A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in ageing skin in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995, 92, 9363-9367.
 9. C.B. Harley, A.B. Futcher and C.W. Greider (1990), Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 345, 458-460.
 10. R. Hastings, M. Qureshi, R. Verma, P. S. Lacy and B. Williams (2004), Telomere attrition and accumulation of senescent cells in cultured human endothelial cells. *Cell Prolif.* 37, 317-324
 11. U. Herbig, W.A. Jobling, B.P.C. Chen, D.J. Chen and J. M. Sedivy (2004) Telomere shortening triggers senescence of human cells through a pathway involving ATM, p53, and p21CIP1, but not p16INK4a. *Mol. Cell* 14, 501-513.
 12. E. Pazolli and S.A. Stewart (2008), Senescence: the good the bad and the dysfunctional. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 18, 42-47.
 13. M. Serrano, A.W. Lin, M.E. McCurrach, D. Beach, and S.W. Lowe (1997), Oncogenic ras provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INK4a. *Cell* 88, 593-602.
 14. M. Serrano and M. Blasco (2001), Putting the stress on senescence. *Curr. Opin. Cell Biol.* 13, 748-753.
 15. O. Toussaint, E.E. Medrano and T. von Zglinickic (2000), Cellular and molecular mechanisms of stress-induced premature senescence (SIPS) of human diploid fibroblasts and melanocytes *Exp. Gerontol.* 35, 927-945.
 16. A.J. Nakamura, Y.J. Chiang, K.S. Hathcock, I. Horikawa, O.A. Sedelnikova OA, R.J. Hodes and W.M. Bonner (2008), Both telomeric and non-telomeric DNA damage are determinants of mammalian cellular senescence. *Epigenetics Chromatin* 2008, 1, 1-12.
 17. R. J. Sabin and R. M. Anderson (2011) Cellular Senescence - its role in cancer and the response to ionizing radiation. *Genome Integrity* 2, 7-16.
 18. T. Finkel, M. Serrano and M.A. Blasco (2007), The common biology of cancer and ageing. *Nature* 448, 767-774.
 19. K. Webley, J. A. Bond, C.J. Jones, J.P. Blaydes, A. Craig, T. Hupp, and D. Wynford-Thomas D (2000) Posttranslational modifications of p53 in replicative senescence overlapping but distinct from those induced by DNA damage. *Mol. Cell. Biol.* 20, 2803-2808.
 20. M. Suzuki and D.A. Boothman (2008) Stress-induced premature senescence (SIPS) -influence of SIPS on radiotherapy. *J. Radiat. Res.* 48, 105-112.
 21. K.K.Tsai, J. Stuart, Y.Y. Chuang, J.B. Little, Z. M. Yuan (2009) Low-dose radiation induced senescent stromal fibroblasts render nearby breast cancer cells radioresistant. *Radiat. Res.* 172, 306-313.
 22. A. R. Davalos, J.-P. Coppe, J. Campisi and P.-Y. Desprez (2010), Senescent cells as a source of inflammatory factors for tumor progression. *Cancer Metastasis Rev.* 29, 273-283

EFFETTI SUL SISTEMA CARDIOVASCOLARE

Andrea Magistrelli¹, Francesco Schillirò²

¹Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, ²AO II Università di Napoli
e-mail: amagistrel@sirm.org - francesco.schilliro@tin.it

Le patologie cardio-vascolari sono la principale causa di morte e disabilità della popolazione occidentale, rappresentando da sole il 30-50% di tutte le morti nei paesi sviluppati. Le patologie coronariche e cerebrovascolari non sono altro che manifestazioni tardive di modificazioni aterosclerotiche delle arterie che riconoscono un'eziologia multi-fattoriale (fumo, dieta, stile di vita e fattori individuali predisponenti). Gli effetti dannosi delle radiazioni ionizzanti (RI) sul sistema cardio-vascolare sono noti sin dalla metà del secolo scorso, quando diversi studi su Pazienti trattati con radioterapia per linfoma di Hodgkin o cancro della mammella hanno dimostrato un aumento della mortalità per patologie "non-cancer" in soggetti esposti a dosi > 40 Gy.

Da allora sono stati pubblicati in letteratura numerosi studi relativi agli effetti delle RI sul sistema cardio-vascolare con risultati spesso contrastanti probabilmente dovuti al fatto che la stima del rischio da patologie cardio-vascolari radio-indotte è un campo ricco d'incertezze, soprattutto quando si parla di basso livello di rischio (o di basse dosi).

Le "incertezze" sono relative ad esempio alla difficoltà di identificare il volume cardiaco irradiato, l'omogeneità della dose, la scarsa conoscenza della radio-sensibilità delle diverse strutture del cuore oppure agli effetti delle irradiazioni acute, frazionate o croniche.

Alcuni studi sperimentali su cavie hanno recentemente dimostrato che il danno radio-indotto sul sistema cardio-vascolare si basa sia sul danno microvascolare al miocardio, che comporta una sua degenerazione focale ed evoluzione in fibrosi, sia macrovascolare accelerando il processo aterosclerotico nei principali vasi, forse con un processo monoclonale. Tuttavia allo stato attuale non esistono dati autoptici che dimostrino un nesso causale tra decessi per accidenti cardio-vascolari ed esposizione a radiazioni ionizzanti.

Per stimare il rischio delle basse dosi sono inoltre necessari studi con ampia casistica per rilevare differenze significative tra la popolazione in studio e i "casi controllo", a cui si aggiunge, come ricordato, l'alto tasso naturale di patologie cardio-vascolari.

I dati epidemiologici sulle patologie cardio-vascolari associate a esposizioni a radiazioni ionizzanti, specie a basse dosi, richiedono pertanto una attenta valutazione per distinguere tra una relazione causale RI/patologia e fattori confondenti. Questo è particolarmente importante quando si parla di basse dosi (< 5 Gy) in quanto, dai pochi dati a disposizione, risulta che gli effetti dannosi delle RI sul sistema cardio-vascolare sono minori se confrontati con quelli di altri fattori di rischio noti (occupazionali, individuali e legati allo stile di vita).

Purtroppo la maggior parte degli studi epidemiologici pubblicati in letteratura spesso non tiene conto di altri fattori di rischio e comunque riporta risultati contrastanti anche se con periodi "osservazionali" diversi.

Ad esempio i dati derivanti dal Life Span Study (LSS) dei sopravvissuti alla bomba atomica mostrano un rischio aumentato di mortalità per patologie vascolari, con un eccesso di rischio relativo (basato sul modello lineare) di 0.14 per Gy per patologie cardiache e di 0.09 Gy per patologie cerebrovascolari; tuttavia esistono considerevoli incertezze sul modello di risposta a dosi < 0.5 Gy. Inoltre, nonostante gli errori di classificazione nei certificati di morte dei sottotipi di patologie cardiache, in questa coorte vi è una maggior associazione con cardiopatie ipertensive e reumatiche e di insufficienza cardiaca piuttosto che con cardiopatie ischemiche che sono invece il "focus" in altri studi analoghi.

Un eccesso di rischio per patologie cardio-vascolari è stato riportato anche in altri studi epidemiologici su popolazioni con esposizione "whole-body" occupazionale od accidentale, tuttavia con risultati eterogenei circa l'associazione tra esposizione a RI e patologie vascolari; come ad esempio negli studi epidemiologici recenti su Radiologi americani ed inglesi che riportano risultati contrastanti (Berrington, 2001; Matanoski, 1984).

In base a quanto emerso da alcuni studi con follow-up a lungo termine (10-20 anni) si deve considerare l'esistenza di un rischio aumentato di patologie cardiache in tutti quei Pazienti sottoposti a radioterapia e che ricevono una dose media stimata al cuore di circa 1-2 Gy (singola dose equivalente). Inoltre dai dati della lettera-

tura a disposizione sembrerebbe che il rischio delle reazioni tardive continui ad aumentare con l'aumentare del tempo di osservazione. Questo se confermato dovrebbe comportare una riduzione del valore delle "dosi soglia" usate in radioterapia. Nell'ambito degli effetti "non-cancer" delle RI sull'apparato cardio-vascolare possiamo dire che una delle poche certezze è l'esistenza di una relazione tra le alte dosi utilizzate in radioterapia e lo sviluppo di patologie cardiovascolari, sebbene i mec-

canismi patogenetici di danno non siano ancora stati chiariti. Quando invece parliamo di basse dosi i dati epidemiologici che troviamo in letteratura, non ci forniscono informazioni univoche. Dobbiamo tuttavia considerare, nella pratica quotidiana della radiodiagnostica, l'esistenza di un "rischio" da basse dosi e cercare di ottimizzare quanto più possibile la tecnica d'esame in base al Paziente ed al quesito clinico.

