

Radiazioni

Ricerca e Applicazioni

Periodico della Società Italiana per le Ricerche sulle Radiazioni

***RIPARO DEL DANNO OSSIDATIVO
AL DNA***

***CALIBRAZIONE DI PELLICOLE
RADIOCROMICHE USATE PER LA
DOSIMETRIA DI CONTROLLO
IN PROTONTERAPIA***

***39° Meeting Annuale European Radiation
Research, Vietri sul Mare 15-19 ottobre 2012***



ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

La rivista pubblica articoli scientifici, sia originali sia di rassegna, e *reports* di congressi inerenti alle radiazioni (ionizzanti e non), dal punto di vista sia fisico-chimico, sia medico-biologico. I contributi, redatti in Times 12 interlinea singola, devono avere lunghezza pari a circa 3 pagine, incluse eventuali tabelle e/o figure. Le tabelle vanno inserite nello stesso documento Word contenente il testo, mentre ciascuna figura va sottomessa come singolo file jpg ad alta risoluzione.

Al titolo, scritto in grassetto maiuscolo, devono seguire i nomi degli autori (in grassetto), le loro affiliazioni e l'indirizzo di posta elettronica dell'autore principale. Il testo va organizzato in paragrafi *non* numerati, con titolo in grassetto. Le referenze, elencate alla fine in ordine di citazione, vanno incluse nel testo mediante numeri progressivi inseriti tra parentesi quadre come nell'esempio riportato sotto [1]. Onde evitare eccessivo lavoro alla redazione, si raccomanda di fare uso del correttore ortografico; si accettano anche contributi in inglese. La sottomissione iniziale va effettuata mediante posta elettronica a Francesca Ballarini (francesca.ballarini@pv.infn.it) ed eventualmente anche agli altri componenti della redazione, i quali riceveranno comunque il manoscritto successivamente per commenti e/o correzioni.

2

1. A. Aaaaaa, B.bbbbb and C.ccccc (2006), *Titolo*. Nome della rivista abbreviato Vol, 123-456.

SOMMARIO

Radiazioni Ricerca e Applicazioni
Periodico della Società Italiana
per le Ricerche sulle Radiazioni
Pubblicazione Periodica
Quadrimestrale
Agosto 2011 - Vol. XIV 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:

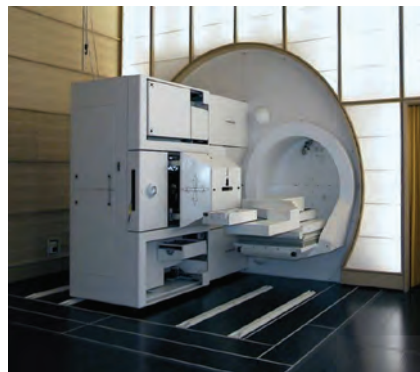


Pubblicità:

RIPARO DEL DANNO OSSIDATIVO AL DNA 4
Guido Frosina

CALIBRAZIONE DI PELLICOLE
RADIOCROMICHE USATE PER LA
DOSIMETRIA DI CONTROLLO 8
IN PROTONTERAPIA
Stefano Lorentini

39° MEETING ANNUALE EUROPEAN RADIATION
RESEARCH 13
Vietri sul Mare 15-19 ottobre 2012



In copertina: Il Gantry 1 del centro di protonterapia del PSI (Villigen - CH).



Redazione Editoriale
Società Italiana per le Ricerche sulle Radiazioni
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://www.sirr.unina.it

Segreteria S.I.R.R.
Unità Biologia 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

RIPARO DEL DANNO OSSIDATIVO AL DNA

Guido Frosina

Mutagenesi Molecolare e Riparazione del DNA, Istituto Nazionale Ricerca Cancro,
 Largo Rosanna Benzi n. 10, 16132 Genova, Italy.
 e-mail: guido.frosina@istge.it

Abstract

Le cellule umane riparano il danno ossidativo con efficienza minore rispetto ad organismi meno evoluti. Per esempio l'enzima umano 8-oxoguanina DNA glicosilasi (OGG1) ripara la base ossidata mutagena 8-oxoguanina (8-oxoG) 80 volte più lentamente del suo corrispondente batterico formamidopirimidina DNA glicosilasi (FPG). L'espressione della proteina FPG rende le cellule umane resistenti all'azione di molteplici agenti mutageni. L'espressione della proteina FPG o di altre proteine eterologhe della riparazione del DNA potrebbe quindi avere stabile effetto antimutageno su tessuti normali di individui a rischio. Parte di questi studi hanno interessato cellule prelevate da pazienti affetti da sindrome di Cockayne (CS). CS è una rara malattia autosomica recessiva caratterizzata da alterazioni nello sviluppo pre- o post-natale, che determinano la comparsa di nanismo cachettico e da progressiva disfunzione neurologica. Studi recenti indicano che tale fenotipo può essere determinato da difettosa capacità di riparare il danno ossidativo al DNA. La proteina FPG di E.coli corregge completamente il difetto di riparazione sia delle purine (8-oxoG) sia delle pirimidine (5-OHC) ossidate in ambedue i gruppi di complementazione di CS. FPG rappresenta un possibile strumento per la protezione stabile di tessuti umani dai rischi di degenerazione indotta dal danno ossidativo al DNA.

Introduzione

Il danno ossidativo spontaneo può essere causa rilevante di danneggiamento del genoma umano e come tale può contribuire alla carcinogenesi (Frosina, 2004). La riparazione per escissione di basi (BER) è il meccanismo principale di riparazione del danno endogeno nei mammiferi. Il BER è un meccanismo in cui vie alternative si attivano a seconda del tipo di lesione (Fig. 1).



Figura 1. BER in cellule di mammifero. Basi alterate sono rimosse da glicosilasi monofunzionali (via biochimica sinistra) o bifunzionali (via destra). Le monofunzionali si limitano a staccare la base lasciando un sito abasico (AP) naturale. Quest'ultimo viene inciso dalla principale AP endonucleasi di mammifero (APE) che lascia un terminale OH in 3' pronto per l'aggancio della polimerasi beta e un desossiribosiofosfato (dRP) in 5'. La polimerasi beta inserisce per lo più un singolo nucleotide (short patch BER) e rimuove poi il 5' dRP con la sua attività dRPaasica. p53 interagisce sia con APE/HAP1 che con pol beta, stabilizzando quest'ultima sul templatato. L'interruzione è saldata dalla ligasi III o dalla ligasi I. Alcuni tratti di resintesi sono più lunghi (2-10 nucleotidi - via inferiore sinistra - long patch BER) e richiedono l'intervento del Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA). Questa sintesi di nucleotidi multipli può essere operata sia da pol beta sia da pol delta o epsilon. Il tratto di 2 – 10 nucleotidi alzato dalla polimerasi viene tagliato via dalla DNAasi IV. La ligasi

I è la principale attività di legame in questa via a resintesi lunga. Le glicosilasi bifunzionali (via destra), oltre a staccare la base incidono anche il sito AP per beta-eliminazione. Il frammento in 3' è rimosso inefficacemente dalla debole attività diesterasica di APE o dal complesso PNK-XRCC1. La sintesi del mononucleotide (short patch BER) è operata da pol beta e il tutto è richiuso dalle stesse ligasi, che saldano i tratti di riparazione iniziati dalle glicosilasi monofunzionali. La proteina S3 di *Drosophila* rimuove efficacemente sia i dRP in 5' sia i frammenti in 3'.

Alcune lesioni (ad es. l'uracile (U)-, Fig. 1, via sinistra) sono riparate da glicosilasi monofunzionali che si limitano al loro distacco, senza incidere il risultante sito AP. Altre lesioni (ad es. il glicole di timina) sono invece riparate da glicosilasi bifunzionali (Fig. 1 - via destra) le quali, oltre a rimuovere la base alterata, incidono anche il sito AP risultante tramite una attività AP liasica. Queste due vie costituiscono insieme il cosiddetto "short patch BER", in cui la fase di resintesi avviene tramite l'inserimento di un solo nucleotide. Nel caso di glicosilasi monofunzionali, alcuni eventi riparativi comportano una sintesi di 2-8 nucleotidi che è dipendente da PCNA ed avviene in alternativa alla sintesi di un singolo nucleotide (Fig. 1 - via inferiore sinistra). Questa via viene spesso denominata "long-patch BER". È stato dimostrato che gli enzimi del BER coinvolti nella via PCNA-dipendente sono specificamente attivi durante la fase S del ciclo e che tale tipo di riparazione svolge un ruolo nell'assicurare la fedeltà della replicazione.

Fra le lesioni ossidate del DNA, è particolarmente pericolosa la guanina ossidata in posizione 8 [8-oxoguanina (8-oxoG)], che presenta spiccate caratteristiche di mutagenicità e si forma con abbondanza sotto condizioni fisiologiche (~ 1000 lesioni /giorno/cellula). Studi recenti eseguiti nel nostro ed in altri laboratori hanno mostrato che la pericolosità di questa lesione è ulteriormente accentuata dalla scarsa efficienza con cui essa viene riparata in cellule umane. Studi comparativi hanno mostrato che la 8-oxoG viene riparata 5 volte meno efficientemente dell'uracile (U) e 30 volte meno del sito abasico (AP), due altre lesioni spontanee che si formano con abbondanza in cellule umane sotto condizioni fisiologiche (Cappelli et al., 2000). È probabile pertanto che parte del carico mutazionale spontaneo dell'uomo sia legato alle caratteristiche di mutagenicità e persistenza della 8-oxoG. Uno scopo delle nostre ricerche è migliorare l'efficienza di riparazione dell'8-oxoG in cellule umane e verificare se questo possa ridurre la mutagenicità dovuta al danno ossidativo. Sappiamo che la lentezza della riparazione dell'8-oxoG è dovuta alla scarsa efficienza con cui la 8-oxoG

DNA glicosilasi umana (hOGG1) riconosce e rimuove la base ossidata (Frosina, 2007b). Esistono proteine in organismi meno evoluti dell'uomo che svolgono con efficienza la rimozione di questa base. In particolare, la proteina formamidopirimidina DNA glicosilasi (FPG) di *Escherichia coli* ha capacità glicolitica (di rimozione della base) ed AP liasica (incisione del risultante sito AP) molto elevate. Abbiamo trovato che questa proteina può essere espressa in cellule umane, che accelera la riparazione del danno ossidativo e conferisce resistenza ad esso. In particolare, FPG è stata espressa in cellule umane (linea T24), utilizzando un vettore plasmidico che ne consente la fusione con la proteina fluorescente EGFP (Ropolo et al., 2006). L'espressione della proteina di fusione (EGFP-FPG) è stata quantificata tramite analisi in microscopia a fluorescenza, fluorescence activated cell sorting e western blotting. Esperimenti in vitro hanno mostrato che l'espressione di EGFP-FPG causava un'accelerazione della riparazione delle lesioni mutagene 8-oxoG e sito AP. In particolare, veniva accelerata la via ad inserimento di singolo nucleotide del BER. L'accelerazione della riparazione dell'8-oxoG veniva confermata in cellule viventi tramite analisi in HPLC/Electrochemical Detection. Le cellule con riparazione accelerata risultavano protette dalle mutazioni indotte dal danno ossidativo: l'abbattimento della frequenza di mutazione indotta dall'agente ossidante potassio bromato era di circa 10 volte.

Diversi tessuti potrebbero essere protetti dalla degenerazione dovuta all'accumulo di danno ossidativo, tramite espressione di FPG. Per esempio, il polmone pare essere un organo ad elevato rischio di trasformazione neoplastica indotta dal danno ossidativo in parte per la sua elevata esposizione all'ossigeno (Frosina, 2006). Questi studi potrebbero pertanto essere estesi a linee cellulari di polmone e, in più lunga prospettiva, a tessuti polmonari normali, allo scopo di aumentarne la protezione dal danno ossidativo. FPG potrebbe rappresentare un fattore protettivo anche per il cervello a rischio di degenerazione a causa del danno ossidativo, come esemplificato dalla sindrome di Cockayne.

Correzione del difetto molecolare nella sindrome di Cockayne, una malattia rara della trascrizione e riparazione del DNA

La sindrome di Cockayne (CS) è una rara malattia autosomica recessiva caratterizzata da alterazioni nello sviluppo pre- o post-natale, che determinano la comparsa di nanismo cachettico, e da progressiva disfunzione neurologica (Frosina, 2007a) (Fig. 2).



Figura 2. Paziente con sindrome di Cockayne

La malattia è clinicamente eterogenea e presenta un ampio spettro di sintomi che possono avere gravità diversa. Caratteristiche cliniche ricorrenti sono disturbi di postura, retinopatia pigmentaria progressiva ed altre alterazioni oculari, quali cataratta ed atrofia del disco ottico, perdita dell'udito ed una grave e progressiva neurodegenerazione. Circa la metà dei pazienti con quadro clinico diagnostico per CS, mostra a livello cellulare ipersensibilità alla luce UV e incapacità di recuperare normali livelli di sintesi di RNA a tempi tardivi dall'irradiazione con UV. Sono stati sinora identificati due geni, CSA e CSB, la cui alterazione è responsabile del difetto di riparazione in CS. I corrispondenti prodotti hanno un ruolo fondamentale nel subpathway della riparazione per escissione di nucleotidi (NER), definito riparazione accoppiata alla trascrizione (TC-NER), che è deputato alla rimozione dei danni indotti da UV sul filamento trascritto dei geni attivi (Tornaletti, 2009).

Le caratteristiche cliniche di CS, che sono difficilmente ricollegabili alla mancata rimozione dei danni indotti da UV, la presenza di sintomi diversi e di gravità variabile e l'assenza di chiare relazioni genotipo-fenotipo, già da tempo avevano portato ad avanzare l'ipotesi che le proteine CS potessero essere anche coinvolte in processi diversi dal TC-NER. A supporto di tale ipotesi, è stato recentemente dimostrato che le cellule CS-A e CS-B sono ipersensibili agli agenti ossidanti ed accumulano purine ossidate, ossia un tipo di danno che

è rimosso dal BER (D'Errico et al., 2007) Ropolo et al., 2007). Studi recenti su pazienti con mutazioni diverse nel gene CSA indicano che la persistenza di danni indotti da UV determina la comparsa unicamente di sintomi cutanei lievi mentre l'accumulo di lesioni ossidative è associato alla presenza delle anomalie neurologiche tipiche di CS (Nardo et al., 2009). L'analisi della retinopatia nei modelli di topo CS ha fornito un'ulteriore conferma del ruolo delle lesioni ossidative nel determinare i sintomi neurodegenerativi tipici di CS. In generale queste osservazioni sono a favore dell'ipotesi che l'accumulo di lesioni di tipo ossidativo alteri l'omeostasi cellulare causando una accelerata morte neuronale. Noi in particolare abbiamo studiato il ruolo delle proteine CSA e CSB nella riparazione del danno ossidativo al DNA. Questo studio è stato eseguito tramite saggi in vitro ed in vivo ed utilizzando fibroblasti derivati da pazienti CS e relativi controlli. Sono stati utilizzati due agenti ossidanti modello: uno chimico (il potassio bromato) ed uno fisico (radiazioni ionizzanti). La risposta di CS al danno ossidativo è stata studiata analizzando:

- la induzione e riparazione di purine e pirimidine ossidate (8oxoG; 5-OHdC) in cellule integre tramite HPLC/ED;
- la induzione e riparazione di rotture a singola elica (SSB) in cellule integre tramite il saggio delle comete;
- la induzione e riparazione di rotture a doppio filamento (DSB) e forche replicative bloccate in cellule integre tramite l'analisi dei foci gamma-H2AX;
- l'efficienza di riparazione in cellule lisate incubate con substrati oligonucleotidici contenenti una singola lesione (8oxoG; 5-OH-C).

La riparazione di tutte queste lesioni è risultata alterata in CS.

La terapia attualmente praticata per CS è sintomatologica e si prefigge di favorire lo sviluppo fisico e mentale e assicurare la miglior qualità di vita possibile ai pazienti, ottimizzandone le capacità neurologiche e neurosensoriali. L'acquisizione di nuove conoscenze sulle lesioni responsabili della neurodegenerazione e l'esplorazione della possibilità di correggere i difetti molecolari in CS suggeriscono nuovi possibili bersagli terapeutici. Abbiamo identificato proteine di riparazione eterologhe la cui espressione può correggere il difetto di riparazione del danno ossidativo in CS in vitro, mostrando che la proteina FPG di E.coli corregge completamente il difetto di riparazione della 8-oxoG e della 5-OHC in ambedue i gruppi di complementazione della malattia (Ropolo et al., 2007)(Foresta et al., 2010). L'espressione di una sola proteina etero-

loga (FPG) consente quindi di correggere completamente il difetto di riparazione di gran parte delle basi ossidate, siano esse purine o pirimidine. Abbiamo anche osservato recentemente che cellule di CS sono difettive nella riparazione delle rotture a doppio filamento (DSB), identificate come foci dell'istone fosforilato H2AX (Ropolo et al., 2011). In questo caso, l'espressione di FPG non è però di alcun aiuto, non essendo l'enzima in grado di riparare i DSB. E' possibile che l'espressione di proteine di riparazione eterologhe possa attenuare la neurodegenerazione del sistema nervoso centrale dei pazienti CS. Come primo passo in questa direzione, se la ricerca verrà finanziata vorremmo esprimere FPG in cellule staminali neurali. In particolare utilizzeremo precursori degli oligodendrociti. La degenerazione degli oligodendrociti potrebbe essere importante nell'instaurarsi del fenotipo CS, essendo gli oligodendrociti le cellule produttrici di mielina. Transferremo il vettore per FPG in queste cellule e valuteremo l'effetto dell'espressione di FPG sulla vitalità cellulare, il ciclo cellulare, l'apoptosi e la resistenza al danno ossidativo.

Ringraziamenti

Queste ricerche sono in parte finanziate dalla Compagnia di S. Paolo di Torino (Programma Oncologia e Grant 2009.1174).

Riferimenti bibliografici

- Cappelli E, Degan P, Frosina G. 2000. Comparative repair of the endogenous lesions 8-oxo-7, 8-dihydroguanine (8-oxoG), uracil and abasic site by mammalian cell extracts: 8-oxoG is poorly repaired by human cell extracts. *Carcinogenesis* 21:1135-1141.
- D'Errico M, Parlanti E, Teson M, Degan P, Lemma T, Calcagnile A, Iavarone I, Jaruga P, Ropolo M, Pedrini AM, Orioli D, Frosina G, Zambruno G, Dizdaroglu M, Stefanini M, Dogliotti E. 2007. The role of CSA in the response to oxidative DNA damage in human cells. *Oncogene* 26:4336-4343.
- Foresta M, Ropolo M, Degan P, Pettinati I, Kow YW, Damonte G, Poggi A, Frosina G. 2010. Defective repair of 5-hydroxy-2'-deoxycytidine in cockayne syndrome cells and its complementation by escherichia coli formamidopyrimidine DNA glycosylase and endonuclease III. *Free Radic Biol Med* 48:681-690.
- Frosina G. 2004. Commentary: DNA base excision repair defects in human pathologies. *Free Radic Res* 38:1037-1054.
- Frosina G. 2006. Prophylaxis of oxidative DNA damage by formamidopyrimidine-DNA glycosylase. *Int J Cancer* 119:1-7.
- Frosina G. 2007a. The current evidence for defective repair of oxidatively damaged DNA in cockayne syndrome. *Free Radic Biol Med* 43:165-177.
- Frosina G. 2007b. Gene prophylaxis by a DNA repair function. *Mol Aspects Med* 28:323-344.
- Nardo T, Oneda R, Spivak G, Vaz B, Mortier L, Thomas P, Orioli D, Laugel V, Stary A, Hanawalt PC, Sarasin A, Stefanini M. 2009. A UV-sensitive syndrome patient with a specific CSA mutation reveals separable roles for CSA in response to UV and oxidative DNA damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:6209-6214.
- Ropolo M, Cappelli E, Foresta M, Poggi A, Proietti-Desantis L, Frosina G. 2011. Defective resolution of pH2AX foci and enhanced DNA breakage in ionizing radiation-treated cockayne syndrome B cells. *IUBMB Life* 63:272-276.
- Ropolo M, Degan P, Foresta M, D'Errico M, Lasiglie D, Dogliotti E, Casartelli G, Zupo S, Poggi A, Frosina G. 2007. Complementation of the oxidatively damaged DNA repair defect in cockayne syndrome A and B cells by escherichia coli formamidopyrimidine DNA glycosylase. *Free Radic Biol Med* 42:1807-1817.
- Ropolo M, Geroldi A, Degan P, Andreotti V, Zupo S, Poggi A, Reed A, Kelley MR, Frosina G. 2006. Accelerated repair and reduced mutagenicity of oxidative DNA damage in human bladder cells expressing the E. coli FPG protein. *Int J Cancer* 118:1628-1634.
- Tornaletti S. 2009. DNA repair in mammalian cells: Transcription-coupled DNA repair: Directing your effort where it's most needed. *Cell Mol Life Sci* 66:1010-1020.

CALIBRAZIONE DI PELLICOLE RADIOCROMICHE USATE PER LA DOSIMETRIA DI CONTROLLO IN PROTONTERAPIA

Stefano Lorentini

Agenzia Provinciale per la Protonterapia (ATreP), Trento

e-mail: lorentini@atrep.it

La dosimetria in radioterapia

La dosimetria di controllo in radioterapia riveste un ruolo fondamentale nel percorso di assicurazione della qualità di un trattamento radioterapico. Il processo di garanzia della qualità, infatti, è un percorso a fasi, che prevede l'intervento della dosimetria a più livelli: nell'ambito del controllo delle prestazioni delle macchine di trattamento e in quello della verifica di attendibilità dei sistemi usati nell'ottimizzazione e nel calcolo della dose erogata.

In particolare, una volta realizzato il piano di trattamento se ne rende necessario il controllo dosimetrico allo scopo di verificare che quanto pianificato coincida, entro certe tolleranze stabilite, con quanto erogato dalla macchina. Per fare ciò ci si avvale di differenti tipologie di dosimetri (i.e.: camere a ionizzazione, rivelatori filmici, scintillatori, rivelatori a diamante, diodi, rivelatori a gel, MOSFET...) e di materiale di supporto (i.e.: fantocci *ad hoc*) in grado di consentire la misura della dose in diverse geometrie e in diverse condizioni ambientali.

Il motivo per cui il panorama dei rivelatori a disposizione per la dosimetria è così vasto è riconducibile anche al fatto che ognuno di questi dosimetri possiede caratteristiche intrinseche che lo rendono più adatto a certi tipi di indagine e meno ad altri. In questo senso i diversi rivelatori non possono essere considerati in tutto e per tutto intercambiabili tra loro. Se ad esempio esistono dosimetri che forniscono risposte molto accurate in termini di risoluzione spaziale, è possibile che siano magari affetti da una scarsa stabilità di risposta o da una forte dipendenza energetica, o ancora i tempi di disponibilità della risposta siano molto lunghi.

Di contro esistono dosimetri la cui uniformità di risposta è elevata ma risultano poco adatti ad essere combinati in geometrie di acquisizione particolari, a scapito dell'accuratezza spaziale, oppure sono difficilmente impiegabili nella routine clinica a causa dell'elevato costo.

Nella scelta del rivelatore entrano quindi in gioco una serie di considerazioni per cui di volta in volta è necessario valutare quale sia il dosimetro più idoneo per la specifica indagine dosimetrica.

Nello specifico di questa comunicazione i dosimetri su cui si è focalizzata l'attenzione sono le pellicole radiocromiche (in particolare il modello Gafchromic® EBT2 prodotte dalla statunitense ISP™ Corporation, Wayne – NJ [10]), che sono riconducibili alla grande famiglia dei rivelatori filmici [1].

Per ciò che concerne la dosimetria di controllo nell'ambito di applicazioni di protonterapia, i passaggi da effettuare per il monitoraggio e la verifica di un trattamento sono del tutto analoghi a quelli previsti per la radioterapia convenzionale con fotoni o elettroni. Il tipo di tecnica impiegata per il rilascio del fascio di protoni può influenzare, come vedremo in seguito, la risposta del dosimetro principalmente in termini di uniformità e soprattutto in condizioni di misura non standard.

Caratteristiche dei film radiocromici e procedure di impiego

L'utilizzo delle pellicole radiocromiche offre la possibilità di effettuare misure bidimensionali delle distribuzioni di dose con un'alta risoluzione spaziale (circa 0.5 mm). In trattamenti complessi in cui sono spesso

presenti ripidi gradienti di dose si rende necessario avere rivelatori in grado di “seguire” le variazioni (sia in termini spaziali che di intensità) delle distribuzioni in maniera molto accurata.

Questa tipologia di dosimetri è caratterizzata da una debole dipendenza dall’energia in un ampio range di differenti qualità del fascio [5,6,7] e quindi risulta particolarmente adatta per applicazioni in radioterapia, in cui le dosi sono spesso rilasciate da radiazioni aventi un ampio spettro che può peraltro variare con i parametri del trattamento. Inoltre la composizione tessuto-equivalente e la loro resistenza in acqua li rende molto “attraenti” anche per dosimetria in ‘vivo’. Rispetto ai rivelatori filmici classici (i.e.: pellicole radiografiche), i film radiocromici presentano un doppio vantaggio per quanto ne concerne la manipolazione e lo sviluppo. Infatti essendo poco sensibili alla luce visibile la loro manipolazione può essere effettuata senza particolari precauzioni (non serve una camera oscura); in aggiunta, essendo auto-sviluppanti, non richiedono processi chimici per lo sviluppo.

Quando la radiazione incide sullo strato sensibile della pellicola (composto da costituenti monometrici), si innesca un processo di polimerizzazione che si accompagna ad un cambiamento della colorazione del film: l’annerimento risulta essere proporzionale all’energia rilasciata sullo strato attivo del rivelatore.

Nella pratica, una volta che il film è stato irraggiato ed ha raggiunto un completo sviluppo (8 -12 ore dopo l’esposizione), si rende necessario digitalizzare l’informazione ottenuta dall’annerimento. Per fare ciò si utilizza un strumento in grado di fare densitometria ottica (tipicamente uno scanner), che consente di ottenere un’immagine gestibile come una qualunque immagine in formato elettronico. Durante questa fase sono necessarie alcune accortezze onde evitare possibili distorsioni nell’immagine, dovute principalmente alla posizione del film sul piatto dello scanner e alla non omogenea distribuzione della luce (non monocromatica) prodotta dalla lampada [8].

Lo svantaggio di questa classe di rivelatori è rappresentato dalla non eccellente uniformità di risposta (variabile anche del 2-3%), riconducibile principalmente alla costituzione intrinseca dello strato attivo [3,4].

Le principali dipendenze da caratterizzare

All’atto pratico la procedura di verifica di un piano mediante l’uso di pellicole radiocromiche consta di due parti: la prima è quella concernente la calibra-

zione di una pellicola (utile per la linearizzazione della risposta e per stabilire la corrispondenza dose/livelli di grigio), la seconda è la misura effettiva della distribuzione di dose che dovrà essere poi confrontata con il dato calcolato.

Nel caso di piani di trattamento con protoni ci si interroga sulla necessità di caratterizzare alcune dipendenze (energetiche e geometriche), al fine di ottenere curve di calibrazione ‘utili’ da applicare per la verifica del piano.

Di seguito si riportano alcuni esempi di misure effettuate utilizzando il fascio di protoni del gantry 1 (fig. 1) del Paul Scherrer Institut di Villigen (CH), volte alla caratterizzazione delle differenti dipendenze da cui possono essere affette le differenti curve di calibrazione. Nello specifico sono stati investigati:

- la dipendenza energetica (differenti energie iniziali del fascio di protoni)
- la dipendenza dall’estensione del picco di Bragg allargato (SOBP)
- la dipendenza dalla posizione della pellicola lungo la curva SOBP.

Per la determinazione delle differenti curve di calibrazione ogni film è stato irraggiato con 8 quadrati di area 3x3 cm², ognuno ad un diverso livello di dose (da 0.2 a 4 Gy al picco). Per ogni irraggiamento sono state impilate, avvalendosi di un fantoccio costituito da alcune lastre di plexiglass, 5 diverse pellicole in modo da campionare la curva di Bragg a più profondità (fig. 2). Questa procedura è stata eseguita per fasci con energia iniziale diversa (138 e 177 MeV). In figura 3



Figura 1: Il Gantry 1 del centro di protonterapia del PSI (Villigen - CH).

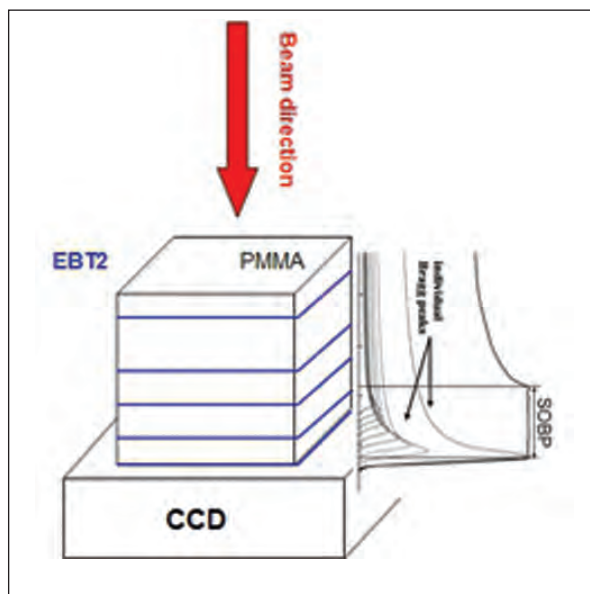


Figura 2: Schematizzazione del setup sperimentale utilizzato durante le misure.

sono mostrati due esempi di pellicole irradiate: la prima all’inizio della curva di Bragg (area di plateau) e la seconda nel mezzo del SOBP.

La finalità ultima del lavoro era quella di capire quale fosse la curva sensitometrica (esempio in fig. 4) di volta in volta più adatta da applicare in base alle caratteristiche del piano sotto verifica.

Le curve di calibrazione

Le curve di calibrazione ottenute all’interno di ogni singolo fantoccio sono tra loro ben sovrapponibili e mostrano discrepanze in dose comprese tra l’1% e il 3% lungo tutto il range di dose analizzato. Confrontando invece curve sensitometriche ottenute da pellicole irradiate con la stessa energia iniziale ma diverse dimensioni del SOBP si hanno differenze in dose comprese tra 2.7% e 3.9% nella regione di dose di 1 Gy. Le differenze aumentano (fino al 6.5%) quando si confrontano curve ottenute dall’irraggiamento di pellicole esposte a fasci di protoni con energie iniziali differenti. In figura 5 è possibile osservare il confronto tra tutte le curve di calibrazione ottenute nelle differenti condizioni sperimentali (il grafico è riferito al range di dose 0÷2 Gy, che è quello tipico per applicazioni radioterapiche).

Conclusioni e Prospettive

L’analisi eseguita mostra come le differenti curve di calibrazione siano sostanzialmente indipendenti dalla posizione della pellicola lungo il SOBP e

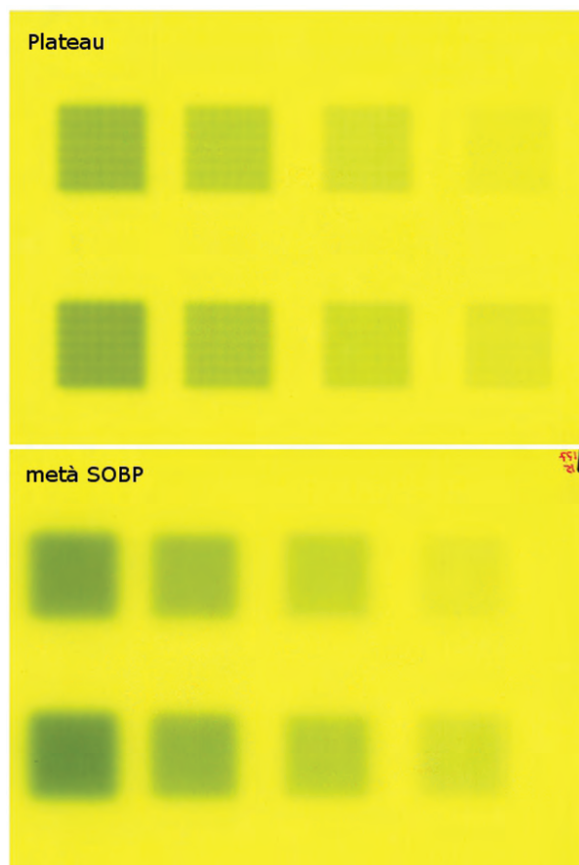


Figura 3: Film radiocromici irraggiati in posizioni diverse della curva di Bragg allargata (all’inizio, sopra, e a metà dello SOBP sotto). Si può notare nella prima pellicola la griglia di collocamento degli spot. In questo senso differenti tecniche di rilascio del fascio (attiva tipo spot scanning o passiva tipo scattering) forniscono risultati diversi in termini di omogeneità.

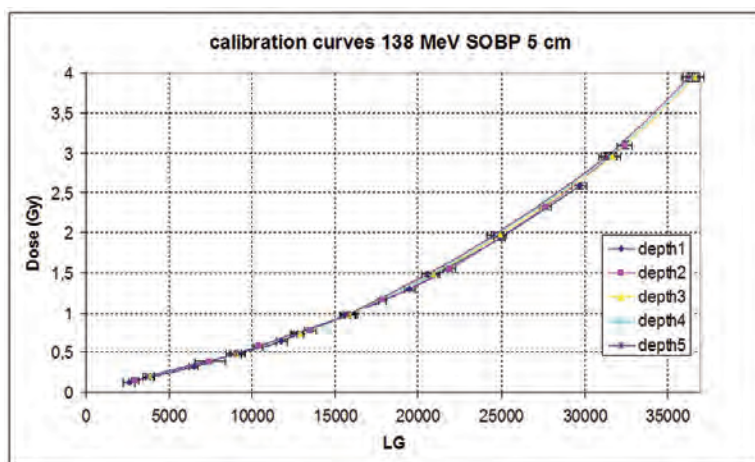


Figura 4: Esempio di curva sensitometrica (livelli di grigio vs. dose) per una delle pellicole irradiate.

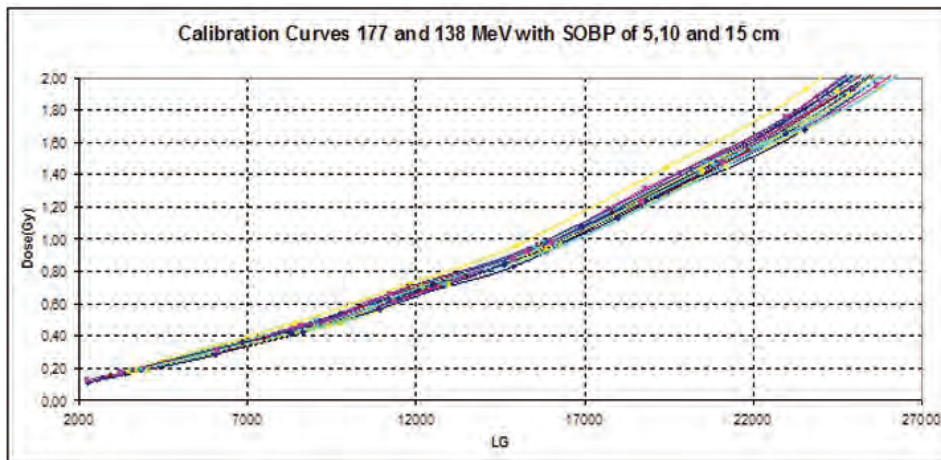


Figura 5: Sovrapposizione di tutte le curve di calibrazione ottenute nelle differenti condizioni sperimentali (diversa energia, dimensione e posizione lungo il SOBP).

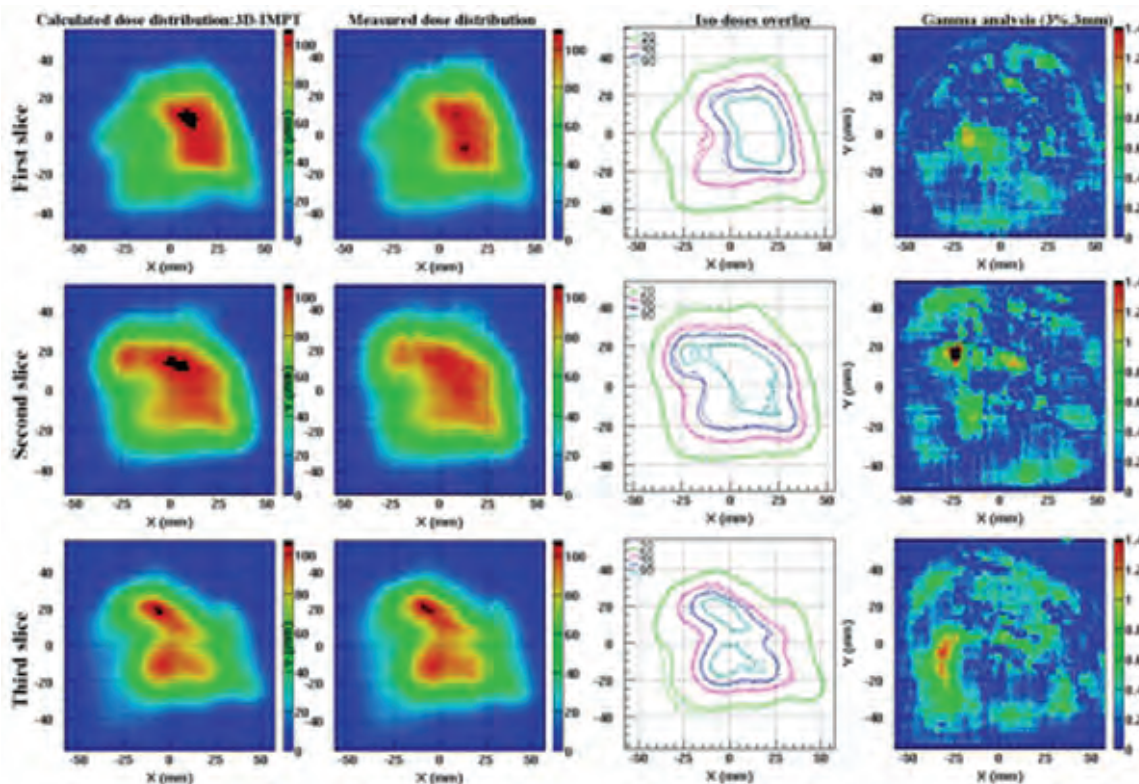


Figura 6: Confronto tra mappe di dose calcolate e misurate sia in termini di sovrapposizione delle curve di isodose che di analisi gamma (confronto in relativo con normalizzazione al massimo)[9].

dall'estensione del SOBP stesso; sussiste tuttavia una dipendenza dall'energia. E' auspicabile quindi eseguire una calibrazione per ogni energia impiegata ogni qual volta si utilizzino pellicole radiocromiche per applicazioni cliniche, al fine di preservare l'accuratezza della valutazione. Le differenze evidenziate tra le varie curve sensitometriche sono probabilmente riconducibili sia ad effetti di *quenching* (tipici di questa

categoria di dosimetri quando esposti a radiazioni ad alto LET [2]) sia alle caratteristiche intrinseche delle pellicole, in primis la non eccellente omogeneità. In tal senso, come auspicato da più parti [1], la possibilità di superare le problematiche relative all'omogeneità potrebbe aumentare le prospettive di impiego delle pellicole radiocromiche. Sul fronte del *quenching* invece, si eseguiranno valuta-

zioni sugli effetti di questo fenomeno al fine di quantificare in che misura possano incidere sulle differenze rilevate.

A conclusione del percorso descritto, in figura 6 è mostrata un'applicazione pratica del confronto tra la mappa di dose calcolata dal sistema di piani di trattamento e la distribuzione di dose misurata con le pellicola opportunamente calibrata [9]: come si può notare, in questo caso sussiste un buon accordo tra le due.

Referenze

1. Devic S. (2011), *Radiochromic film dosimetry: Past, present, and future*. Physica Medica 27, 122-34.
2. Zhao L. (2010), *Gafchromic EBT film dosimetry in proton beams*. Phys. Med. Biol. 55, N291-N301.
3. Hartmann B. et al. (2010), *Technical Note: Homogeneity of Gafchromic® EBT2 film*. Med. Phys. 37(4), 1753-56.
4. Martinsikova M. et al. (2010), *Dosimetric properties of Gafchromic_R EBT films in monoenergetic medical ion beams*. Phys. Med. Biol. 55, 3741-51.
5. Butson MJ. Et al. (2006), *Weak energy dependence of EBT GafChromic film dose response in the 50 kVp-10 MVp X-ray range*. Appl. Rad. Isotop. 64-60e2.
6. Arjomandy B. et al. (2010), *Energy dependence and dose response of Gafchromic EBT2 film over a wide range of photon, electron, and proton beam energies*. Med. Phys. 37(5), 1942- 47.
7. Chiu-Tsao ST. et al. (2005), *Energy dependence of response of new high sensitivity radiochromic films for megavoltage and kilovoltage radiation energies*. Med. Phys. 32(11), 3350-54.
8. Lynch BD. et al. (2006), *Important considerations for radiochromic film dosimetry with flatbed CCD scanners and EBT GAFCHROMIC (R) film*. Med. Phys. 33, 4551e6.
9. Albertini F. et al. (2011), *Experimental verification of IMPT treatment plans in an anthropomorphic phantom in the presence of delivery uncertainties*. Phys. Med. Biol. 56, 4415-31.
10. <http://www.gafchromic.com/>.

QUOTA ASSOCIATIVA S.I.R.R. 2012... E QUELLE ARRETRATE!

Carissimo Socio,
come sai, la quota sociale, oltre ad essere la principale fonte di finanziamento per il funzionamento della nostra Società, è anche un segno annuale di adesione e partecipazione.

La quota sociale, attualmente ad un livello minimo, è un dovere che ogni Socio deve assolvere **entro il 31 marzo** di ogni anno, onde evitare che la gestione delle quote con relativi solleciti e verifiche abbia un costo superiore alla stessa quota.

La quota per il 2012 è di € 30,00 e potrà essere versata tramite assegno circolare o bancario, non trasferibile, intestato a S.I.R.R. oppure tramite versamento in contanti alla Segreteria oppure mediante bonifico bancario: c/c n. 14688 c/o Banca Nazionale del Lavoro 6385 Roma Casaccia Via Anguillarese 301 - 00123 Roma.

Coordinate bancarie IBAN: IT 19T0100503385000000014688

Con l'intento di favorire i cosiddetti "non strutturati" (studenti, borsisti, etc.) la quota sociale è ridotta a € 15,00, chi si trova in questa condizione dovrà esplicitamente dichiararlo mediante autocertificazione contestualmente all'invio della quota annuale.

Fiduciosi della tua collaborazione e partecipazione, cogliamo l'occasione per inviarti i nostri più cari saluti.

LA SEGRETERIA

39° Meeting Annuale

EUROPEAN RADIATION RESEARCH 2012

Vietri sul Mare 15-19 ottobre 2012

Tra il 15 e il 19 ottobre 2012 a Vietri sul mare (SA), circa 50 chilometri a sud di Napoli, si terrà il 39mo meeting annuale della European Radiation Research Society (ERRS, ex European Society of Radiation Biology), che la SIRR ha l'onore e l'onere di organizzare (<http://www.iss.infn.it/err2012/>).

L'ERRS (<http://www.errs.eu/>) nacque nel 1959, quando fu fondata l'associazione dei radiobiologi dei paesi dell'EURATOM a Bruxelles. Dei fondatori facevano parte il belga Zénon-Marcel Bacq, che insieme a Peter Alexander scrisse il testo *Fundamentals of Radiobiology*, e il milanese Adriano Buzzati Traverso, fratello dello scrittore Dino Buzzati. Buzzati Traverso, uno dei primi professori di genetica in Italia (presso l'Università di Pavia), fu direttore della neonata Divisione Biologica del Comitato Nazionale per le Ricerche Nucleari, istituita allo scopo di studiare gli effetti delle radiazioni, e fondatore del Laboratorio Internazionale di Genetica e Biofisica a Napoli; a lui è dedicato il Dipartimento di genetica e microbiologia dell'Università di Pavia.

In seguito a un'assemblea generale straordinaria tenutasi a Zurigo, nel 1964 l'Associazione cambiò il proprio nome in "European Society for Radiation Biology" (ESRB), che a sua volta, in

vista del crescente carattere multidisciplinare della ricerca sulle radiazioni, nel 2005 prese il nome attuale di "European Radiation Research Society".

Non è la prima volta che il meeting si tiene in Italia: precedentemente si era svolto a Cortina d'Ampezzo (1959 e 1966), Col de Voza (1964), Roma (1972), Pisa (1986) e Capri (1998).

Il meeting sarà articolato in 16 sessioni che copriranno diverse tematiche relative alla ricerca sulle radiazioni, dagli aspetti fisico-chimici dell'interazione radiazione-materia fino alla carcinogenesi, passando per il danno al DNA e le sue conseguenze. Particolare attenzione



Lloyd's Baia Hotel, sede del Convegno

sarà prestata agli effetti delle basse dosi, inclusi l'effetto bystander e la risposta adattativa, e al ruolo giocato dalle stem cells. All'adroterapia sarà dedicata una sessione specifica, così come alla radiazione spaziale. Si parlerà anche di dosimetria biologica, radioecologia e radiazioni non ionizzanti. Il comitato scientifico è costituito dal board ERRS, presieduto dallo svedese Wojcik.

Si tratterà di otto coppie di sessioni parallele; ogni singola sessione, della durata di due ore, prevede due relazioni su invito da 30 minuti ciascuna e tre presentazioni orali da 20 minuti.

Eccettuato il primo giorno, ciascuna giornata si aprirà con una sessione plenaria durante la quale un personaggio di spicco del mondo della ricerca sulle radiazioni terrà una "keynote lecture". Due ulteriori sessioni plenarie saranno dedicate alla "Bacq & Alexander Lecture", che aprirà il convegno e sarà tenuta dallo svedese Mats Harms-Ringdahl, attualmente presidente onorario della Società, e alle presentazioni dei vincitori dei Travel Awards.

Le quattro keynote lectures riguarderanno la modellizzazione del rischio (Frank Cucinotta, NASA, USA), i biomarkers (Michael Rosemann, HMGU, Germania), gli effetti tardivi sul cuore (Klauss Trott, University College London, UK) e le stem cells del cancro (Ruggero De Maria, IFO-IRE, Italia). Tra i relatori su invito ci saranno, tra gli altri, W. Friedland (HMGU, Germania), A. Wojcik (Stockholm University, Svezia), K. Prise (Queen's University of Belfast, UK), W. Morgan

(Pacific Northwest National Laboratory, USA), G. Schettino (Queen's University of Belfast, UK), S. Pazzaglia (ENEA, Italia), R. Orecchia (IEO/CNAO, Italia), L. Narici (Università Tor Vergata, Italia) e B. Rabin (University of Maryland, USA).

Sono previste tre sessioni poster da un'ora, che si svolgeranno nelle tre giornate centrali; i vincitori dei poster awards saranno premiati nel corso della cena sociale, che avrà luogo la sera di giovedì 18. La chiusura del convegno è prevista per venerdì 19 alle 12.30.

Vietri, nota per la tradizionale produzione di ceramiche artistiche, conta circa 8000 abitanti e si trova all'inizio della costiera Amalfitana, che nel 1997 è stata dichiarata patrimonio dell'umanità dall'UNESCO. Si tratta di uno dei principali centri del Salernitano; la vista è dominata dalla cupola della chiesa di S. Giovanni Battista. A circa tre minuti dal centro si trova il Lloyd's Baia Hotel, che ospiterà la conferenza e la maggior parte dei partecipanti. Vietri è raggiungibile in soli 15 minuti di autobus dalla stazione ferroviaria di Salerno.

Il convegno sarà seguito, come "satellite meeting", dal 10th International Symposium on Chromosomal Aberrations (ISCA10), organizzato principalmente da Marco Durante, che si terrà ad Amalfi dal 19 al 21 ottobre (<http://www.iss.infn.it/err2012/>). Si tratta della decima edizione di una serie di meetings periodici sulle aberrazioni cromosomiche, fondata nel 1989 da A. T. Natarajan e G. Obe.



Gloria Campos Venuti

ci ha lasciato il 4 giugno 2012.

Gloria è stata uno dei soci fondatori della SIRR (l'atto costitutivo porta la data del 4 marzo 1983), assieme a Giorgio Arcangeli, Marcello Benassi, Carissimo Biagini, Mario Coppola, Marcello Quintiliani e Giovanni Silini.

Ricercatrice appassionata e affermata, in fisica nucleare prima e nel campo della radioattività ambientale poi, è stata Direttore del Laboratorio delle Radiazioni (poi Laboratorio di Fisica) dell'Istituto Superiore di Sanità negli anni '70. Membro, con nomina personale, del Gruppo di esperti ex art. 31 del Trattato Euratom per moltissimi anni è stata uno dei protagonisti nel mondo della radioprotezione italiana, nominata socio onorario dall'Associazione Italiana di Radioprotezione. Aveva poi lasciato il mondo della ricerca e della radioprotezione nel 1995 con il suo pensionamento.

Tentare di delineare la personalità di Gloria e il ruolo fondamentale che ha avuto per l'Istituto Superiore di Sanità e per molti altri ambienti nazionali e internazionali da lei frequentati, ove ha lasciato vivo ricordo della sua personalità, sarebbe opera ardua. E' d'obbligo però ricordare almeno due tematiche che negli ultimi anni della sua attività professionale l'avevano vista in prima fila: l'emergenza seguita all'incidente alla Centrale nucleare di Chernobyl, quando il Laboratorio di Fisica si attivò tempestivamente nel suo ruolo di consulente sui temi della salute pubblica impegnandosi anche ad una corretta informazione della popolazione, e l'*Indagine Nazionale sulla radioattività naturale nelle abitazioni* di cui fu ideatrice e coordinatrice assieme a Silvana Piermattei. Ai colleghi, agli amici ha lasciato un vuoto incolmabile.



FOTO DI GRUPPO IL GIORNO DELLA PRESENTAZIONE DEL RAPPORTO FINALE DELLA CAMPAGNA NAZIONALE (ISS-ANPA) SULLA RADIOATTIVITÀ NATURALE NELLE ABITAZIONI (UNIVERSITÀ ROMA TRE- 8 GIUGNO 1994)



EUROPEAN RADIATION RESEARCH 2012

39th Annual Meeting of the European Radiation Research Society



Vietri sul Mare, Italy, October 15 -19, 2012

TOPICS

Radiation physics, Radiation chemistry, DNA damage and repair, Low dose/dose-rate effects, Genomic instability, Bystander effect and radio-adaptation, Non-cancer effects, Radiation sensitizers, Stem cells, Radiation carcinogenesis, Biological dosimetry, Radiation protection, Accidents and consequence management, Non-ionising radiation, Radioecology, Pharmacological modulation of radiation damage, Radiation oncology, Normal tissue damage, Hadrontherapy, Space radiation

web site: <http://www.iss.infn.it/err2012>