

Metodi fisici e biologici per un approccio multiparametrico alla valutazione della dose individuale negli incidenti radiologici

Breve panoramica sui metodi di tipo fisico e biologico che possono essere utilizzati in caso di incidente radiologico per valutare l'esposizione individuale, utile per selezionare le persone più colpite e scegliere la terapia medica più adeguata

DOI 10.12910/EAI2017-053

di **Emanuela Bortolin**, Istituto Superiore di Sanità e **Antonella Testa**, ENEA

L'uso diffuso di sorgenti radioattive e raggi X per scopi medici, industriali, militari e nel settore dell'agricoltura e della produzione alimentare ha aumentato il rischio di sovraesposizione alle radiazioni a seguito di incidenti nei luoghi di lavoro. A questo si è aggiunto, negli ultimi tempi, il rischio di uso malevolo delle radiazioni per scopi terroristici (abbandono di sorgenti in luoghi pubblici, attacco con bombe 'sporche' contenenti materiale radioattivo, attacco a impianti nucleari). Le radiazio-

ni di cui parliamo sono indicate come ionizzanti perché trasportano e rilasciano energia sufficiente a strappare elettroni da atomi e molecole neutri trasformandoli in ioni carichi. Tali processi di ionizzazione sono all'origine di danni consistenti nella struttura del mezzo attraversato dalla radiazione, danni che, nel caso di materiali biologici come cellule o tessuti, possono avere conseguenze anche molto gravi, nell'immediato e a lungo termine, per la salute degli individui colpiti.

Dopo un incidente radiologico la

stima dell'esposizione individuale può rappresentare un valido aiuto per stabilire la gravità della situazione, selezionare le persone più colpite e scegliere la terapia medica più adeguata. I metodi che possono essere utilizzati sono di tipo diverso, biologico o fisico. Si tratta in tutti i casi di procedure di analisi che consentono di valutare il livello di esposizione sulla base della stima dei danni indotti dalla radiazione in materiali di vario tipo, DNA delle cellule del sangue, tessuti biologici o materiali inerti. L'entità del danno radioindotto è,



infatti, proporzionale alla quantità di energia o 'dose' rilasciata dalla radiazione ionizzante nei vari materiali che diventano così dei dosimetri, ossia sistemi in grado di fornire una stima dell'energia assorbita, parametro fondamentale per stabilire la gravità degli effetti sulla salute.

Tecniche di dosimetria fisica

La dosimetria fisica convenzionale include una serie di procedure standardizzate per la valutazione della dose basate sull'applicazione di tecniche fisiche a materiali con caratteristiche strutturali particolari, generalmente realizzati *ad hoc*. Esiste una grande varietà di sistemi dosimetrici impiegati per scopi diversi, dal monitoraggio ambientale, alla verifica dei piani di trattamento in radioterapia, al controllo degli impianti industriali per l'irraggiamento a scopo conservativo degli alimenti o la sterilizzazione di dispositivi/presidi

medici, alla sorveglianza dei lavoratori professionalmente esposti a sorgenti di radiazioni. Tali sistemi, anche se numerosi, non sono, tuttavia, disponibili nel caso di un incidente radiologico che coinvolga civili che, a differenza dei lavoratori professionalmente esposti, sono sprovvisti di dosimetri convenzionali. In questi casi si può ricorrere alla dosimetria fortuita [1] che fa uso di tecniche di tipo fisico applicate ad alcuni tessuti umani, come denti e unghie, o a materiali inerti presenti in oggetti personali come cellulari, carte elettroniche, caramelle, medicinali, sigarette, gioielli ecc. Negli ultimi anni sono stati condotti molti studi su una grande varietà di materiali utilizzando soprattutto le tecniche fisiche basate sulla luminescenza otticamente (*Optically Stimulated Luminescence*, OSL) o termicamente (*Thermoluminescence*, TL) stimolata e sulla risonanza paramagnetica elettronica (*Electron Paramagne-*

tic Resonance, EPR), che rivelano e misurano i difetti radioindotti nella struttura dei solidi. In particolare, risultati incoraggianti sono stati ottenuti recentemente, nel corso del lavoro condotto nell'ambito di progetti europei, con la tecnica OSL applicata ai componenti elettronici (resistori) delle schede dei cellulari e con la tecnica EPR sul vetro dei display degli stessi telefoni cellulari (Figura 1). Con la tecnica EPR è possibile anche misurare il danno radio-indotto in tessuti umani poveri di acqua come denti e unghie. Queste ultime in particolare si prestano bene a situazioni di emergenza per la facilità di prelievo del campione.

Tecniche di dosimetria biologica

La dosimetria biologica, basata sull'analisi di specifiche aberrazioni cromosomiche nei linfociti circolanti di sangue periferico (dosimetria citogenetica), è utilizzata per la valutazione della sovraespo-

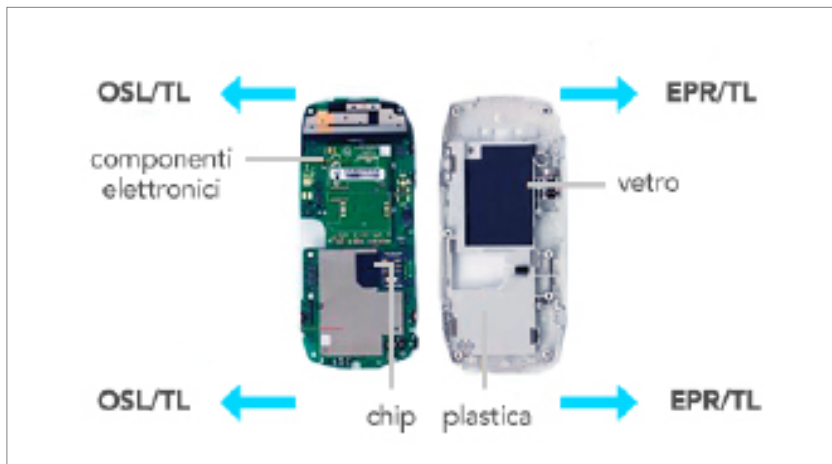


Fig. 1 Materiali provenienti da telefoni cellulari testati come dosimetri fortuiti nel corso di studi condotti in ambito europeo

sizione accidentale alle radiazioni ionizzanti a partire dagli anni 60, in particolare nei casi in cui la dosimetria fisica si riveli incerta o addirittura assente. La tipica aberrazione che rappresenta ancora oggi il *gold standard* della dosimetria biologica è il ‘*cromosoma dicentrico*’ che, insieme all’anello centrico, è specificamente indotto dall’esposizione a radiazioni ioniz-

zanti. Il dicentrico deriva da uno scambio asimmetrico tra due cromosomi non ancora replicati (nella fase G0/G1 del ciclo cellulare), che si trovano ad una determinata distanza, detta *rejoining distance*, stimata essere di circa 1 µm di diametro (Figura 2).

I linfociti di sangue periferico (e precisamente i linfociti T che rappresentano circa il 70% della popo-

lazione linfocitaria) vengono considerati “*dosimetri circolanti*” grazie ad alcune particolarità che li contraddistinguono rispetto ad altri sistemi cellulari. Infatti, essi possiedono un background spontaneo di dicentrici così basso da essere considerato trascurabile, sono caratterizzati da una emivita piuttosto lunga (da 22 settimane a circa 3 anni) ed inoltre sono bloccati nella fase di interfase del ciclo cellulare ma possono essere stimolati a dividersi *in vitro*. Questa ultima caratteristica rende queste cellule in grado di raccogliere e ‘registrare’, passando attraverso ogni distretto corporeo, i danni al DNA causati dall’esposizione a radiazioni, danni che possono essere visualizzati attraverso l’analisi di aberrazioni cromosomiche nelle cellule in metafase. La dose ottenuta dall’analisi dei dicentrici rappresenta la dose media assorbita a corpo intero e la dose minima valutabile per questa tecnica è circa 0,1/0,2 Gy. Il limite principale di questa metodica dipende dal fatto che, essendo i dicentrici aberrazioni instabili, cioè alterazioni morfologiche tali da essere selettivamente eliminate nelle successive divisioni della cellula, la valutazione della dose è considerata attendibile solamente se l’analisi avviene in tempi rapidi rispetto alla esposizione a radiazioni ionizzanti.

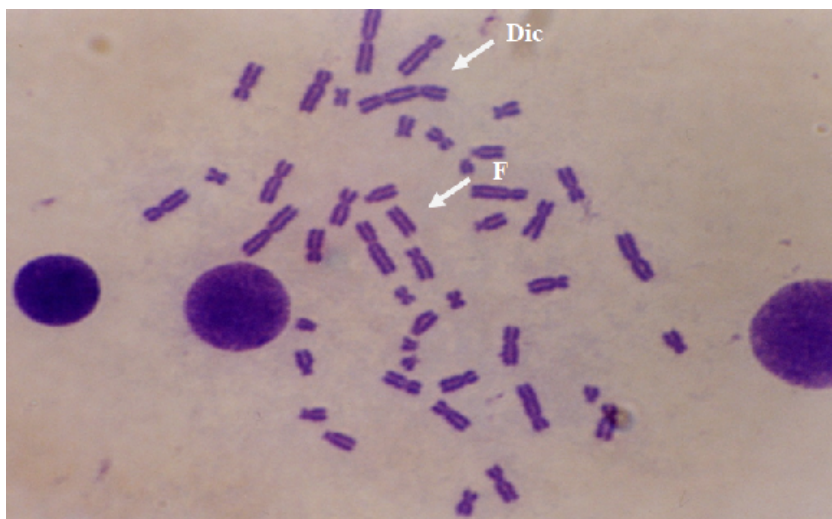


Fig. 2 Cromosoma dicentrico (Dic) e frammento acentrico associato (F)
Fonte: foto ENEA

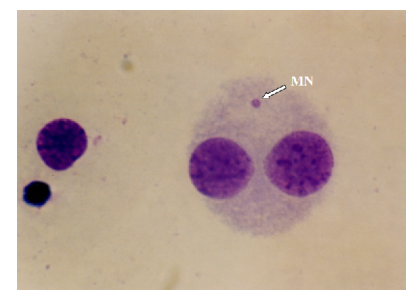


Fig. 3 Linfocita binucleato contenente un micronucleo (MN)
Fonte: foto ENEA



Accanto al saggio dei dicentrici nell'ambito della dosimetria biologica, esistono altre metodiche ampiamente standardizzate come il test dei micronuclei (MN) e le traslocazioni reciproche visualizzate attraverso la tecnica di ibridazione *in situ* fluorescente (FISH) [2].

Il saggio dei 'micronuclei' nelle cellule linfocitarie binucleate (CBMN), proposto nell'ultimo decennio in dosimetria biologica come test alternativo al saggio dei dicentrici, presenta alcuni vantaggi rispetto a quest'ultimo: è molto più rapido e l'osservazione al microscopio è molto più semplice ma non è specifico per esposizione a radiazioni ionizzanti ed inoltre è influenzato dall'età e dal genere determinando una risoluzione più bassa nella stima di dose ($>0,2/0,3$ Gy) (Figura 3). L'unica tecnica di dosimetria biologica in grado di effettuare una ricostruzione retrospettiva della dose a 'lungo termine', cioè anni o decenni dopo l'avvenuta sovraesposizione, utilizza l'analisi delle *traslocazioni reciproche*, aberrazioni stabili, cioè alterazioni che vengono ereditate inalterate dalle cellule figlie ad ogni divisione cellulare.

La valutazione delle traslocazioni viene effettuata attraverso tecniche di ibridazione *in situ* fluorescente (FISH) con la quale si possono colorare selettivamente una o più coppie di cromosomi omologhi utilizzando sonde di DNA per interi cromosomi (sonde *paint*) marcate con diversi fluorocromi (Figura 4).

Con questa metodica, la dose che viene calcolata si riferisce alla dose media al midollo osseo attivo corrispondente al tessuto staminale precursore dei linfociti circolanti.

Questa tecnica, oltre che essere molto costosa, ha un limite determinato dalla porzione del genoma che vie-

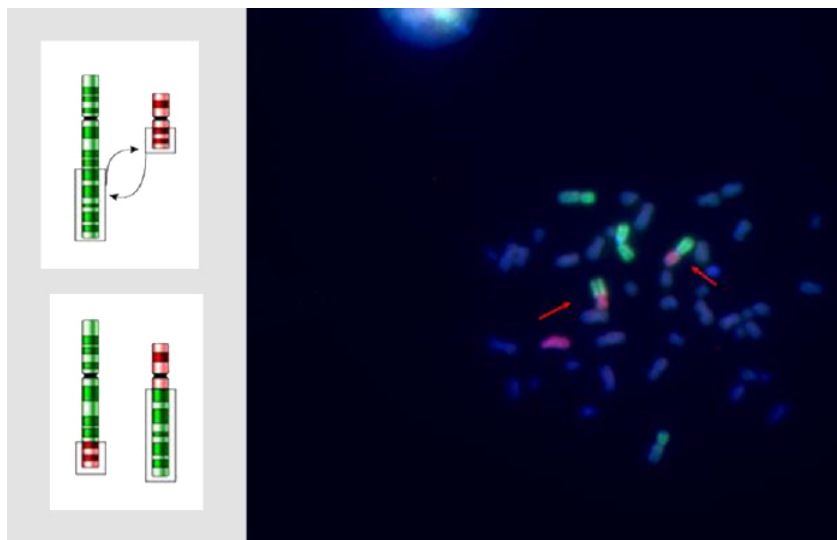


Fig. 4 Traslocazione reciproca in linfocita umano; ibridazione *in situ* con sonde fluorescenti per i cromosomi 1, 2 (verde) e 4 (rosso)

Fonte: foto ENEA

ne evidenziato, cioè dal numero dei cromosomi che vengono ibridati e da quanti differenti fluorocromi vengono impiegati.

Oltre a queste, diverse nuove tecniche sono state recentemente introdotte e sono in corso di validazione come ad esempio: la condensazione prematura dei cromosomi (PCC), i foci H2AX e l'analisi dell'espressione di specifici geni.

Approccio multiparametrico: reti europee e internazionali

Nella valutazione retrospettiva della dose assorbita è importante poter disporre di diversi sistemi dosimetrici perché ciascuno di essi, usato singolarmente, presenta limiti e vantaggi legati a parametri come la sensibilità alle radiazioni, la stabilità del danno indotto, la dipendenza dalle caratteristiche del singolo individuo come il genere o l'età nel caso di matrici biologiche, l'esposizione alla luce per gli oggetti personali e così via. Al contrario, un

approccio multiparametrico, che prenda in considerazione e confronti i dati provenienti da sistemi dosimetrici diversi, consente, in linea di principio, di avere una stima più accurata dell'esposizione anche attraverso l'acquisizione di una serie di informazioni complementari, quali ad esempio la geometria dell'irraggiamento (a corpo intero o parziale) o il tempo trascorso dall'esposizione, che possono essere ricavate proprio dal confronto dei risultati ottenuti con metodi diversi. Un approccio di questo tipo è quello che è stato proposto attraverso i progetti europei *MULTIBIODOSE* (*MULTI-disciplinary BIODOSimetric tools to manage high scale radiological casualties*, www.multibiodose.eu) [1] e *RENEB* (*Realizing the European Network of Biological Dosimetry*, <http://reneb.eu>) [3] che hanno coinvolto un numero elevato di istituzioni, incluse ENEA e Istituto Superiore di Sanità (ISS) già inserite nella rete europea di dosimetria *EURADOS*.

Attualmente questo approccio è portato avanti attraverso due reti europee, *RENEB* (*Running the European Network of Biological and Physical Retrospective Dosimetry*, nata dal progetto omonimo) [4] ed EURADOS (<http://www.eurados.org>), in grado di collaborare per lo sviluppo di nuove metodiche e il mantenimento di quelle consolidate allo scopo di far fronte alle emergenze legate a incidenti radiologici con un numero di potenziali vittime da

sottoporre a screening così elevato da superare la capacità di un singolo laboratorio.

A livello internazionale esiste inoltre anche *BIODOSENET* (<http://www.biodosenet.net>) [5], un consorzio di stati associati creato dall'Organizzazione Mondiale della Salute (OMS), al quale partecipano per l'Italia anche ENEA e ISS, che, a livello volontario, si rendono disponibili ad affrontare in maniera coordinata le emergenze nucleari.

Ringraziamenti

Gli Autori desiderano ringraziare tutte le persone che hanno attivamente collaborato alla realizzazione delle attività descritte nell'articolo. In particolare: Paola Fattibene, Cinzia De Angelis, Sara Della Monaca, Maria Cristina Quattrini dell'ISS e Clarice Patrono, Valentina Palma dell'ENEA.

BIBLIOGRAFIA

1. P. Fattibene and A. Wojcik (2009) "Biodosimetric tools for a fast triage of people accidentally exposed to ionising radiation", *Annali ISS*, 45, n. 3, Editore ISS, Roma
2. IAEA (2011) "Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies", Vienna, Austria
3. U. Kulka et al. (2012) "Realising the European Network of Biodosimetry (RENEB)", *Radiation Protection Dosimetry*, 151(4), 621-5, Oxford Academic
4. U. Kulka et al. (2017), "RENEB – Running the European Network of biological dosimetry and physical retrospective dosimetry: RENEB-Status quo", *International Journal of Radiation Biology*, 93, 2-14, Taylor & Francis
5. WHO (2007) "Consultation on the Development of global biodosimetry laboratories network for radiation emergencies: BioDoseNet"
- Meeting Report Ginevra, Svizzera