

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Progetto
Sviluppo dell'uso di protoni
in terapia oncologica**

**Relazione sulle ricerche di biofisica, radiobiologia,
dosimetria e sviluppo dei piani di trattamento
e degli strumenti informatici**

A cura di
Mauro Belli, Barbara Caccia, Martino Grandolfo,
Sandro Onori e Maria Antonella Tabocchini

Dipartimento di Tecnologie e Salute

ISSN 1123-3117

**Rapporti ISTISAN
04/40**

Istituto Superiore di Sanità

Progetto. Sviluppo dell'uso di protoni in terapia oncologica. Relazione sulle ricerche di biofisica, radiobiologia, dosimetria e sviluppo dei piani di trattamento e degli strumenti informatici.

A cura di Mauro Belli, Barbara Caccia, Martino Grandolfo, Sandro Onori e Maria Antonella Tabocchini
2004, vi, 231 p. Rapporti ISTISAN 04/40

Nell'autunno del 1992, l'allora Laboratorio di Fisica dell'Istituto Superiore di Sanità decise di lanciare il programma "Sviluppo dell'uso di protoni in terapia oncologica", spesso indicato brevemente come Progetto TOP (Terapia Oncologica con Protoni). Un progetto così vasto, da realizzarsi nell'arco di numerosi anni, ha richiesto studi approfonditi in diversi settori della ricerca di base e applicata, unitamente ad un'analisi comparata delle possibili tecniche di accelerazione, alla realizzazione di prototipi e a studi approfonditi dell'efficacia clinica e delle tecniche di pianificazione dei trattamenti. Questo primo rapporto è stato realizzato per documentare il lavoro svolto negli anni 1993-2003 a fronte delle esigenze del Progetto TOP nelle aree interessate a programmi di ricerca e sviluppo nei campi della biofisica, della radiobiologia, della dosimetria e dello sviluppo dei piani di trattamento e degli strumenti informatici.

Parole chiave: Radioterapia, Protonterapia, Sanità pubblica

Istituto Superiore di Sanità

Project. Development of the use of protons in oncological therapy. Report on research activities in the fields of biophysics, radiobiology, dosimetry and development of software packages and treatment planning.

Edited by Mauro Belli, Barbara Caccia, Martino Grandolfo, Sandro Onori and Maria Antonella Tabocchini
2004, vi, 231 p. Rapporti ISTISAN 04/40 (in Italian)

In Fall 1992, the former Physics Laboratory of the Italian National Institute of Health enforced the programme *Development of the Use of Protons in Oncological Therapy*, often referred to as the TOP project (short for *Oncological Therapy with Protons* in Italian). Such a large project, to be developed over several years, required a deep insight into basic and applied research topics, together with the comparison of the various acceleration techniques, the construction of prototypes and a thorough study of the clinical effectiveness and of the treatment planning techniques. This first report has been written to document the work done in the years 1993-2003 to respond to the needs of the TOP Project in the areas covered by the R&D programmes in the fields of radiobiology, dosimetry, software packages and treatment planning.

Key words: Radiotherapy, Proton therapy, Public health

Ringraziamenti

Un progetto della portata di TOP non sarebbe potuto nascere e progredire senza la collaborazione, l'energia e l'intelligenza di numerose persone che, qui, si vogliono ringraziare: innanzi tutto Ugo Amaldi, per l'impulso dato al progetto e per l'entusiasmo e la grande competenza con cui ha sempre collaborato, unitamente alla Fondazione TERA, al suo sviluppo; e, per il loro fattivo apporto, tutti i componenti del Comitato Scientifico di Progetto, che a questo hanno dedicato competenza e tempo, contribuendo attivamente ad orientarne le scelte e a selezionare i progetti di ricerca e le necessarie convenzioni esterne. Si ringraziano, inoltre, i responsabili scientifici delle numerose convenzioni di ricerca esterne per l'alta qualità dei risultati ottenuti. Un ringraziamento particolare va anche agli Uffici Amministrativi dell'Istituto Superiore di Sanità che, costantemente, hanno fornito un prezioso contributo di competenze per superare i numerosi ostacoli incontrati nell'avvio organizzativo e nella corretta conduzione finanziaria. Il Progetto TOP non si sarebbe, comunque, potuto logisticamente sviluppare, né questo rapporto essere pubblicato, senza il generoso contributo di entusiasmo, intelligenza e competenza gestionale a questo dedicato, negli anni, da Alma Paoluzi, che qui vogliamo ringraziare con grande stima e affetto.

Per informazioni su questo documento scrivere a: martino.grandolfo@iss.it

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro, Sara Modigliani e Sandra Salinetti*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2004

INDICE

Prefazione	v
Introduzione generale al Progetto <i>Martino Grandolfo</i> (Responsabile scientifico del Progetto).....	1
Sottoprogetto DOSIMETRIA E MICRODOSIMETRIA	
Introduzione <i>Sandro Onori</i>	17
Calorimetro ad acqua realizzato per il progetto TOP <i>Antonio Stefano Guerra, Elisabetta Gargioni, Raffaele Fedele Laitano, Alessandra Petrocchi, Maurizio Quini, Paola Fattibene, Sandro Onori, Erminio Petetti</i>	20
Dosimetria ad alanina <i>Sandro Onori, Paola Fattibene, Cinzia De Angelis, Erminio Petetti, Francesco d'Errico, Emmanuel Egger, Igor Janovski, Roberto Cherubini, Giacomo Cuttone, Antonio Bartolotta, Andrzej Kacperek</i>	31
Diamanti naturali <i>Cinzia De Angelis, Sandro Onori, Massimiliano Pacilio, Erminio Petetti, Luigi Azario, Andrea Fidanzio, Roberto Miceli, Angelo Piermattei, Giuseppe Antonio Pablo Cirrone, Giacomo Cuttone, Luigi Raffaele, Marta Bucciolini, Sandra Mazzocchi, Andrzej Kacperek</i>	39
Diodi al silicio <i>Cinzia De Angelis, Sandro Onori, Massimiliano Pacilio, Erminio Petetti, Luigi Azario, Andrea Fidanzio, Roberto Miceli, Angelo Piermattei, Giuseppe Antonio Pablo Cirrone, Giacomo Cuttone, Luigi Raffaele, Andrzej Kacperek</i>	47
Dosimetria di fasci di protoni con film radiocromici <i>Angelo Piermattei, Andrea Fidanzio, Luigi Azario, Cinzia De Angelis, Massimiliano Pacilio, Sandro Onori</i>	54
Correzione della dipendenza dal LET della risposta di un rivelatore a stato solido per un fascio di protoni da 62 MeV <i>Angelo Piermattei, Andrea Fidanzio, Luigi Azario, Cinzia De Angelis, Massimiliano Pacilio, Sandro Onori, Andrzej Kacperek</i>	61
Dosimetria di fasci protonici con il sistema fricke-agarosio <i>Anna Maria Luciani, Massimiliano Pacilio, Piero Barone, Francesco de Pasquale, Francesco d'Errico, Stefano Di Capua, Laura Guidoni, Emmanuel Egger, Riccardo Manfredi, Angelo Piermattei, Antonella Rosi, Giovanni Sebastiani, Vincenza Viti</i>	68
Sistemi di monitoraggio <i>Sergio Belletti, Barbara Ghedi, Alfredo Fiume, Felicità Luraschi, Luca Marzoli, Roberto Cirio, Marco Donetti, Flavio Marchetto, Cristiana Peroni, Camino Sanz Freire</i>	77

Monitor di fascio per il TOP LINAC <i>Evaristo Cisbani, Stefano Colilli, Massimo Daniele, Salvatore Frullani, Fausto Giuliani, Massimo Gricia, Angelo Mostarda, Sergio Stucchi, Giuseppe Vacca</i>	87
--	----

Misura della qualità del fascio TOP con la tecnica della varianza-covarianza <i>Giulio Magrin, Paolo Colautti, Laura De Nardo</i>	99
---	----

Sottoprogetto BIOFISICA E RADIOBIOLOGIA DEI PROTONI

Introduzione <i>Mauro Belli</i>	109
---	-----

Studio radiobiologico del fascio di protoni da 65 MeV usato nella terapia dell'occhio presso il centro Lacassagne di Nizza <i>Daniela Bettega, Paola Calzolari, Pierre Chauvel, Adel Courdi, Lucia Tallone</i>	116
--	-----

Inattivazione di cellule umane esposte a fasci di protoni monoenergetici con dosi acute e frazionate <i>Francesca Antonelli, Mauro Belli, Daniela Bettega, Paola Calzolari, Franco Cera, Roberto Cherubini, Marta Dalla Vecchia, Marco Durante, Silvia Favaretto, Giancarlo Gialanella, Gianfranco Grossi, Renato Marchesini, Giuliano Moschini, Anna Piazzola, Gianluca Poli, Maria Gabriella Pugliese, Orazio Sapora, Paola Scampoli, Giustina Simone, Eugenio Sorrentino, Maria Antonella Tabocchini, Lucia Tallone, Paola Tiveron</i>	123
---	-----

Attività funzionale delle cellule natural killer umane a seguito di irradiazione <i>Carlo Ramoni, Francesca Spadaro, Mauro Belli, Giustina Simone, Eugenio Sorrentino, Maria Antonella Tabocchini</i>	129
---	-----

Modelli e simulazioni dei meccanismi di danno da radiazioni alle strutture biologiche: integrazione dei risultati nel codice FLUKA per studi di ottimizzazione della terapia con protoni <i>Andrea Ottolenghi, Francesca Ballarini, Marco Biaggi, Bruno Candoni, Alfredo Ferrari, Domenico Scannicchio</i>	137
--	-----

Studio EPR sulla radiolisi diretta del DNA: confronto del danno da radiazioni con protoni e con deutoni ed effetti della complessazione con Pt (II) <i>Antonio Faucitano, Armando Buttafava, Roberto Cherubini, Annalisa Dacò, Antonio Olianas</i>	145
--	-----

Fasci terapeutici: valutazione degli effetti biologici con codici Monte Carlo <i>Mauro Belli, Alessandro Campa, Ilaria Ermolli, Maurizio Rosetti</i>	154
--	-----

Valutazione della radiosensibilità cellulare attraverso l'analisi del danno al DNA <i>Mauro Belli, Franco Cera, Roberto Cherubini, Marta Dalla Vecchia, Valentina Dini, Giuseppe Esposito, Giuliano Moschini, Orazio Sapora, Giustina Simone, Eugenio Sorrentino, Maria Antonella Tabocchini, Paola Tiveron</i>	162
---	-----

Studi di 1H MRS delle modificazioni del metabolismo cellulare indotte dall'irraggiamento con fasci di protoni in cellule tumorali in coltura <i>Roberto Cherubini, Silvia Gerardi, Sveva Grande, Laura Guidoni, Anna Maria Luciani, Antonella Rosi, Vincenza Viti</i>	168
---	-----

Analisi delle aberrazioni cromatidiche indotte in tumori umani in fase G2 esposti a protoni o raggi X	
<i>Marco Durante, Giancarlo Gialanella, Gianfranco Grossi, Maria Gabriella Pugliese, Paola Scampoli</i>	173
Linee di fascio per radiobiologia del TOP LINAC	
<i>Mauro Belli, Giuseppe Esposito, Viviana Fanti, Luigi Picardi, Concetta Ronsivalle</i>	178
Progettazione e costruzione di un collimatore per l'irraggiamento di colture cellulari con fasci protonici	
<i>Laura Guidoni, Rolando Fratoni, Anna Maria Luciani, Angelo Mostarda</i>	185
Sottoprogetti RETE MULTIMEDIALE PER TERAPIA CON PROTONI PIANI DI TRATTAMENTO VALIDAZIONE CLINICA	
Introduzione	
<i>Barbara Caccia</i>	191
Sviluppo di metodi computazionali per la valutazione del piano di trattamento in radioterapia	
<i>Maurizio Mattia, Simona Marzi, Paolo Del Giudice, Barbara Caccia, Marcello Benassi</i>	196
Analisi e gestione in rete di immagini cliniche	
<i>Maurizio Mattia, Daniele Del Pinto, Andrea Marchi, Barbara Caccia</i>	207
Confronto tra tecniche conformazionali 3D in radioterapia con fasci di fotoni e di protoni	
<i>Simona Marzi</i>	217
Sviluppo di un algoritmo per il calcolo della distribuzione di dose in tessuto di un fascio di protoni da 62 MeV	
<i>Roberto Miceli, Marcello Benassi, Marco D'Andrea, Cinzia De Angelis, Sandro Onori, Massimiliano Pacilio, Luigi Azario, Andrea Fidanzi, Angelo Piermattei</i>	224

PREFAZIONE

Gli studi condotti nell'ambito del programma *Europa contro il cancro*, relativi all'analisi dello stato globale del problema "cancro" in Europa, hanno indicato le seguenti strategie per il miglioramento dei risultati:

- a) Rivelazione precoce e diagnosi approfondita, basate su uno screening ad ampio spettro e sull'educazione sanitaria, con lo scopo di ridurre il numero di diagnosi tardive;
- b) Superamento dell'attuale bassa efficacia di trattamento di tumori di difficile localizzazione e di tumori radioresistenti alla radioterapia convenzionale;
- c) Miglioramento dell'efficacia di terapie sistemiche e locali nel controllo della malattia metastatica.

In particolare, questi studi hanno indicato che il miglioramento dei trattamenti loco-regionali potrebbe aumentare, dall'attuale 45% a circa il 60%, la percentuale di pazienti curati, perché circa il 15% di tutti i pazienti muore a causa di recidiva del tumore primario senza una presenza di metastasi a distanza.

Metodiche radioterapiche avanzate permettono, quindi, di ridurre la quota di insuccessi nel controllo locale dei tumori primari se consentono di concentrare nei volumi tumorali la dose somministrata mantenendo, però, i valori delle dosi impartite ai tessuti normali circostanti sotto i livelli di tolleranza.

La radioterapia con fasci di protoni rappresenta la metodica in linea di principio ottimale per raggiungere i suddetti obiettivi, consentendo di soddisfare tutte le necessità cliniche.

La favorevole distribuzione di dose depositata da un fascio di protoni permette, infatti, di migliorare il risultato terapeutico di un trattamento attraverso due meccanismi alternativi: a) consentendo la somministrazione al focolaio tumorale di una dose più elevata senza aumentare la dose ai tessuti sani adiacenti (il vantaggio atteso è in questo caso un miglioramento del controllo tumorale senza incremento di effetti collaterali) e, b) riducendo la dose ai tessuti sani per una uguale dose al focolaio (il vantaggio atteso è in questo caso una minore incidenza di effetti collaterali a parità di controllo tumorale).

Per queste caratteristiche i protoni sono potenzialmente utili per il trattamento della gran parte delle neoplasie nelle quali è indicato l'uso della radioterapia. Le uniche eccezioni sono rappresentate dai tumori a elevata radiosensibilità, nei quali le basse dosi richieste rendono equivalente l'uso di qualsiasi fascio, e da tumori situati in sedi nelle quali la distribuzione di dose data dalle radiazioni convenzionali (fotoni e elettroni), essendo già ottimale, non può essere ulteriormente migliorata.

Negli ultimi anni queste modalità di confronto tra fasci di protoni e fasci convenzionali sono state rianalizzate in relazione ai risultati ottenuti con fasci di fotoni modulati in intensità (*Intensity Modulated Radiation Therapy*, IMRT). In questo quadro di riferimento, i risultati vengono oggi valutati anche considerando la copertura del bersaglio, la dose media agli Organi A Rischio (OAR), i punti caldi negli OAR, la percentuale di volume degli OAR che riceve una dose maggiore o uguale al 50% e al 70%. Su questa base, i protoni permettono di ottenere la dose integrale minore e dosi medie agli OAR ridotte mentre, se si considerano i "punti caldi" negli OAR, non sempre i protoni sono vantaggiosi rispetto alla IMRT.

È allora cruciale stabilire qual è il parametro di maggiore interesse, se cioè sia più importante non superare la dose di tolleranza (organi seriali) o sia fondamentale la percentuale di volume che riceve dosi anche medio-basse (organi paralleli): nel primo caso, protoni e fotoni ad intensità modulata sono in pratica ugualmente efficaci mentre, nel secondo caso, i protoni risultano più vantaggiosi. La scelta del tipo di fascio è, quindi, legata al comportamento degli

organi a rischio situati in prossimità del bersaglio tumorale, oppure alla necessità di non avere dose diffusa. Ad esempio, i tumori pediatrici potrebbero essere curati più efficacemente con i protoni, perché la radiazione diffusa al corpo intero è, in questo caso, più bassa rispetto a quanto non sia possibile ottenere con fasci convenzionali modulati in intensità.

I principi fisici e radiobiologici dell'adroterapia furono oggetto di un seminario, tenuto da Ugo Amaldi presso il Laboratorio di Fisica dell'Istituto Superiore di Sanità il 22 settembre 1992, cui storicamente può farsi risalire la matrice culturale che portò il Laboratorio stesso a focalizzare una gran parte delle proprie risorse umane su un progetto di protonterapia. Infatti, dopo lunghe discussioni volte ad analizzare tutti gli aspetti della problematica evidenziata nel seminario si giunse alle approvazioni, in successione, del Consiglio del Laboratorio di Fisica, del Consiglio dei Direttori di Laboratorio e del Comitato Scientifico che, alla fine del 1993, portarono l'Istituto Superiore di Sanità, nell'ambito dei progetti di ricerca relativi all'ex art. 12 del DL.vo 502/1992, modificato dall'art. 14 del DL.vo 517/1993, ad attivare il programma "Sviluppo dell'uso dei protoni in terapia oncologica" che, successivamente, ottenne anche l'approvazione della Commissione Oncologica Nazionale.

Dopo anni di intenso lavoro svolto con grande entusiasmo e energia intellettuale, che hanno portato allo sviluppo di numerose attività di ricerca nonché alla progettazione di un acceleratore lineare per protoni con energia fino a 250 MeV, si deve purtroppo prendere atto di un periodo di stagnazione nell'ottenimento dei finanziamenti necessari al completamento dell'opera e nella volontà politica in grado di creare le condizioni imprescindibili per la realizzazione di una così nuova e impegnativa opera.

In questa situazione si è sentita la necessità di documentare l'attività svolta e quanto ad oggi realizzato con i finanziamenti ottenuti. Per omogeneità di trattazione e sulla base della quantità dei contributi forniti, si è deciso di suddividere il materiale in due volumi. Questo primo Rapporto fornisce un'idea dei principali risultati ottenuti nell'ambito delle ricerche di base e applicative che è stato necessario sviluppare per il progetto, mentre il secondo, in preparazione, presenterà tutti i dati relativi alla progettazione della macchina acceleratrice e a quanto ad oggi già realizzato e disponibile.

L'intento iniziale era quello di fornire informazioni sull'intero Progetto e sull'attività svolta nell'ambito di quei Sottoprogetti più rivolti alle attività di ricerca di base e applicative, cioè i Sottoprogetti Dosimetria e microdosimetria, Biofisica e radiobiologia dei protoni, Rete multimediale per terapia con protoni, Efficacia pre-clinica, Piani di trattamento e Validazione clinica. In realtà, i forti ritardi che hanno caratterizzato lo sviluppo, nel tempo, del Progetto non hanno permesso, conseguentemente, un omogeneo sviluppo delle attività previste nell'ambito dei diversi Sottoprogetti. In particolare, è risultato fortemente condizionato lo svolgimento di attività che presupponevano necessariamente la disponibilità per uso clinico del fascio di protoni accelerato. Conseguenza di questa situazione è che il Sottoprogetto Efficacia pre-clinica ha potuto svolgere solo una piccola attività iniziale, relativa allo studio degli effetti differenziali fra fasci terapeutici convenzionali e fasci di protoni su linee cellulari neoplastiche, non descritta in questo Rapporto. Questa stessa situazione ha anche portato a trattare in maniera integrata le attività svolte nell'ambito dei tre Sottoprogetti Rete multimediale per terapia con protoni, Piani di trattamento e Validazione clinica.

Per completezza d'informazione, sembra utile menzionare che gran parte di quanto contenuto in questo rapporto, e nel secondo che seguirà, si rifà sostanzialmente ai contributi presentati e discussi durante un incontro scientifico svoltosi il 30 e il 31 gennaio 2002 presso l'Istituto Fisioterapico Ospitaliero, Polo Oncologico di Roma.

Martino Grandolfo
Responsabile scientifico del Progetto

INTRODUZIONE GENERALE AL PROGETTO

Martino Grandolfo

(Responsabile scientifico del Progetto)

Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Il *Pathologies and Treatments Committee* della Fondazione TERA (TERapia con Adroni) e l'Associazione Italiana di Radioterapia Oncologica (AIRO) hanno svolto, negli anni, numerosi studi volti a definire le indicazioni cliniche relative all'utilizzo dei protoni in radioterapia e le priorità sulla base dei vantaggi attesi, in modo da stimare il numero di potenziali pazienti in Italia.

I possibili casi eleggibili per la protonterapia sono stati suddivisi in quattro categorie, caratterizzate da priorità decrescenti:

- patologie caratterizzate dalla vicinanza a organi critici. Per la maggior parte di esse l'uso dei protoni rappresenta l'unico modo di somministrare una dose curativa radicale senza produrre inaccettabili effetti collaterali;
- tumori il cui controllo locale può, con alta probabilità, produrre una guarigione definitiva o una prolungata sopravvivenza. In questi casi i risultati già raggiunti con la radioterapia convenzionale possono essere migliorati mediante il rilascio di una dose più elevata;
- carcinomi per i quali i protoni potrebbero essere utilizzati per rilasciare una dose di boost (sovradosaggio) su un volume ristretto, dopo aver trattato con fotoni un'area più estesa;
- tumori localmente avanzati e con prognosi sfavorevole, ma che potrebbero permettere una sopravvivenza prolungata; in questi casi, con l'impiego dei protoni si può ottenere una palliazione più completa, protratta nel tempo e con minori effetti collaterali rispetto alla terapia convenzionale.

Successivamente, sulla base di ulteriori studi clinici e valutazioni epidemiologiche, la classificazione è stata riformulata in termini di due categorie: la Categoria A (priorità assoluta), comprendente le indicazioni elettive già validate da dati clinici e la Categoria B (priorità relativa), che include le patologie che verosimilmente possono trarre vantaggio dalla protonterapia, ma per la cui definitiva validazione sono necessari ulteriori studi clinici. Le due categorie sopra menzionate sono indicate in Tabella 1, ove sono specificate le diverse patologie trattabili e il numero di potenziali pazienti per anno in Italia (1, 2).

Nel complesso, è possibile stimare in più di 60000 nuovi casi per anno, in Categoria B, fra i quali individuare quelli che potrebbero trarre un importante vantaggio dall'impiego dei protoni, sia in termini di aumentato controllo locale che di ridotti effetti collaterali. Una stima attendibile può riferirsi a circa 10000 nuovi casi per anno, che si vanno ad aggiungere ai casi elettivi della Categoria A, per un totale complessivo di circa 11000 casi attesi per anno.

Questa valutazione rappresenta probabilmente una sottostima; per esempio, nel quadro del progetto europeo EULIMA (*EUropean Light Ion Medical Accelerator*) sono state dedotte percentuali molto più elevate e Gademann (3) ha stimato, per l'Europa, 282000 pazienti potenziali l'anno (per terapia con protoni o ioni), pari addirittura a un terzo di tutti i pazienti attualmente trattati con radioterapia convenzionale.

I fasci di protoni per terapia sono prodotti da acceleratori ed è necessario distinguere fra acceleratori che forniscono protoni di energia inferiore ai 60-70 MeV e quelli caratterizzati da energia superiore. I protoni della prima classe non penetrano per più di qualche centimetro (2,5-3 g/cm²) nel tessuto e, in pratica, sono utilizzabili soltanto per trattare i tumori dell'occhio. In Italia si registrano circa 200 casi l'anno di tali tumori; alcuni sono stati e vengono anche oggi trattati

all'estero, in particolare al *Paul Scherrer Institut* (PSI, Zurigo), presso l'ospedale di Clatterbridge (Gran Bretagna), a Orsay (Parigi) e a Nizza (Centro Lacassagne). È importante notare che, nel febbraio 2002, è diventato operativo a Catania, nell'ambito dei Laboratori Nazionali del Sud (LNS) dell'INFN (Istituto Nazionale di Fisica Nucleare), il progetto CATANA (Centro di AdroTerapia a Applicazioni Nucleari Avanzate) che, in grado di trattare con protoni i tumori dell'occhio, ha anche prodotto il primo fascio di protoni utilizzato in Italia a scopi medici (4).

Tabella 1. Indicazioni elettive e patologie che possono trarre vantaggio dalla protonterapia e numero di potenziali pazienti per anno in Italia

Categoria	Nuovi pazienti/anno	Pazienti trattabili con protoni	
A			
Melanoma uveale	370	370	100%
Cordoma della base cranica	30	30	100%
Condrosarcoma della base cranica	40	40	100%
Meningioma della base cranica	250	125	50%
Tumori paraspinali	140	140	100%
Schwannoma dei nervi cranici	300	45	15%
Tumori ipofisari	750	75	10%
Totale	1880	825	44%
B			
Tumori cerebrali neuroepiteliali	900	450	50%
Metastasi del cervello	1000	100	10%
Tumori della testa e del collo	3060	430	15%
Tumori indifferenziati della tiroide	65	30	50%
Tumori polmonari non microcitomi	19800	1980	10%
Timomi	45	5	10%
Tumori dell'esofago	1900	85	5%
Tumori del tratto biliare	2500	375	15%
Tumori del fegato	3850	385	10%
Tumori del pancreas	4500	900	20%
Tumori del retto	4800	1440	30%
Tumori del collo dell'utero	720	360	50%
Tumori della vescica	9000	900	10%
Tumore della prostata	8800	2640	30%
Recidive pelviche post chirurgiche	> 500	> 250	50%
Tumori solidi pediatrici	1400	140	10%
Patologie non neoplastiche			
MAV	130	40	30%
Degenerazione maculare retinica	?	?	?
Totale	> 62970	> 10510	17%

Le maggiori speranze riposte in questo nuovo tipo di terapia sono, però, oggi legate alla possibilità di trattare tumori anche profondi, con fasci di protoni da 200-250 MeV.

Inizialmente la protonterapia è stata attuata ricorrendo ad acceleratori utilizzati nei laboratori di fisica, come quello del *Lawrence Berkeley Laboratory*, quello di Dubna o quello di Harvard (*Harvard Cyclotron Lab*). Questi apparecchi avevano però vari inconvenienti; per esempio, disponevano solo di fasci fissi, mentre nella pratica medica è opportuno poter seguire la conformazione del tumore indirizzando il fascio, da diverse posizioni e angolazioni, mediante testate isocentriche rotanti.

Passando dalla fase sperimentale a quella di cura presso ospedali, da diversi anni funziona un centro di protonterapia presso l'ospedale di Loma Linda (San Diego, USA), che ha quattro sale di trattamento. Inoltre, da diversi anni è attivo un centro di protonterapia presso il *Massachusetts General Hospital* (Boston, USA), anch'esso dotato di diverse sale di trattamento. Sempre in ambito ospedaliero è localizzato il centro di terapia con ioni di Chiba (Tokyo). In Giappone questo non è l'unico centro funzionante perché, recentemente, se ne sono aggiunti altri, fra cui ricordiamo quelli degli ospedali di Kashiwa e di Kobe.

In Tabella 2 sono elencati i Centri di adroterapia attualmente funzionanti nel mondo e il numero di pazienti trattati (1, 2).

Tabella 2. Totale dei pazienti trattati in tutto il mondo con particelle cariche

Centro	Luogo	Tipo di fascio	Tipo di acceleratore	Periodo di attività	Pazienti trattati	Data di riferimento
Berkeley	CA. USA	p	Sincrotrone	1954 - 1957	30	
Berkeley	CA. USA	He	Sincrotrone	1957 - 1992	2054	Giu. '91
Uppsala	Svezia	p	Sincrociclotrone	1957 - 1976	73	
Harvard, Boston	MA. USA	p	Sincrociclotrone	1961 - 2002	9116	
JINR, Dubna	Russia	p	Sincrociclotrone	1967 - 1996	124	
ITEP, Mosca	Russia	p	Sincrotrone	1969 -	3663	Dic. '03
Los Alamos	NM. USA	π^-	LINAC per ioni	1974 - 1982	230	
S. Pietroburgo	Russia	p	Sincrociclotrone	1975 -	1029	Giu. '98
Berkeley	CA. USA	ioni	Sincrotrone	1975 - 1992	433	Giu. '91
NIRS, Chiba	Giappone	p	Ciclotrone	1979 -	145	Apr. '02
TRIUMF	Canada	π^-	Ciclotrone	1979 - 1994	367	Dic. '93
PSI (SIN)	Svizzera	π^-	Ciclotrone	1980 - 1993	503	
PMRC, Tsukuba	Giappone	p	Sincrotrone	1983 - 2000	700	Lug. '00
PSI (72 MeV)	Svizzera	p	Ciclotrone	1984 -	3712	Dic. '02
Dubna	Russia	p	Ciclotrone	1999 -	191	Nov. '03
Uppsala	Svezia	p	Ciclotrone	1989 -	311	Gen. '02
Clatterbridge	Inghilterra	p	Ciclotrone	1989 -	1287	Dic. '03
Loma Linda	CA. USA	p	Sincrotrone	1990 -	8626	Nov. '03
Louvain-la-Neuve	Belgio	p	Ciclotrone	1991 - 1993	21	
CAL, Nizza	Francia	p	Ciclotrone	1991 -	1951	Giu. '02
CPO, Orsay	Francia	p	Sincrociclotrone	1991 -	2157	Gen. '02
iThemba LABS	Sud Africa	p	Ciclotrone	1993 -	446	Dic. '03
MPRI	IN. USA	p	Ciclotrone	1993 -	34	Dic. '99
UCSF - CNL	CA. USA	p	Ciclotrone	1994 -	448	Lug. '02
HIMAC, Chiba	Giappone	ioni C	Sincrotrone	1994 -	1601	Ago. '03
TRIUMF	Canada	p	Ciclotrone	1995 -	77	Dic. '02
PSI (200 MeV)	Svizzera	p	Ciclotrone	1996 -	99	Dic. '01
GSI, Darmstadt	Germania	ioni C	Sincrotrone	1997 -	172	Giu. '03
HMI, Berlino	Germania	p	Ciclotrone	1998 -	437	Dic. '03
NCC, Kashiwa	Giappone	p	Ciclotrone	1998 -	230	Nov. '03
HIBMC, Hyogo	Giappone	p	Sincrotrone	2001 -	210	Dic. '03
PMRC, Tsukuba	Giappone	p	Sincrotrone	2001 -	327	Nov. '03
NPTC, MGH	MA. USA	p	Ciclotrone	2001 -	607	Dic. '03
HIBMC, Hyogo	Giappone	ioni C	Sincrotrone	2002 -	30	Dic. '02
INFN-LNS, Catania	Italia	p	Ciclotrone	2002 -	52	Lug. '03
Wakasa Bay	Giappone	p	Sincrotrone	2002 -	8	Ago. '03
Totale p					36111	
Totale π^-					1100	
Totale ioni C					4290	
Totale					41501	

LINAC: LINear ACcelerator

In termini di progettualità futura, numerose sono nel mondo le strutture proposte o in costruzione, come evidenziato in Tabella 3 (1, 2).

Tabella 3. Nuovi centri per l'adroterapia proposti o in costruzione

Centro	Luogo	Tipo di fascio	Tipo di acceleratore	Inizio attività (ipotizzato)
IMP, Lanzhou	Cina	ioni C e Ar	Sincrotrone	2004
Wanjie, Zibo	Cina	p	Ciclotrone	2004
PSI	Svizzera	p	Ciclotrone	2004
Shizouka Cancer Center	Giappone	p	Sincrotrone	2005
Rinecker, Monaco	Germania	p	Ciclotrone	2005
NCC, Seul	Corea	p	Ciclotrone	2005
Heidelberg/GSI	Germania	p e ioni	Sincrotrone	2005
iThemba LABS	Sud Africa	p	Ciclotrone	2006
FPTI, U. of Florida	FL, USA	p	Ciclotrone	2005
M.D. Anderson Cancer Center	TX, USA	p	Sincrotrone	2006
Pechino	Cina	p	Ciclotrone	2006
CGMH	Taiwan	p	Sincrotrone	?
Bratislava	Slovacchia	p e ioni	Ciclotrone	?
Erlangen	Germania	p		?
CNA, Pavia	Italia	p e ioni	Sincrotrone	2007-2008
Med-AUSTRON	Austria	p e ioni		2007?
Clatterbridge	Inghilterra	p	Ciclotrone 230 MeV	?
ISS-TOP, Roma	Italia	p	LINAC	?
Xi'an, Shanxi	Cina	p	Ciclotrone	?
Trento	Italia	p	Ciclotrone	2008?
Mosca, 3 progetti	Russia	p		?
Cracovia	Polonia	p		?
Proton Development N.A. Inc	IL, USA	p		?

I risultati già ottenuti con questa nuova terapia, nonché quelli ipotizzabili, e il livello di tecnologia raggiunto dall'Italia – in particolare dall'INFN e dall'Ente per le Nuove tecnologie, l'Energia e l'Ambiente (ENEA) – nel campo degli acceleratori portarono nel 1993 a giudicare maturi i tempi, anche per il nostro paese, di dotarsi di potenzialità di questo tipo. In quell'anno, infatti, con lo scopo di portare in Italia le più moderne tecniche radioterapiche facenti uso di fasci di protoni, un progetto (Progetto Adroterapia) fu lanciato nell'INFN da U. Amaldi e G. Tosi. Il progetto si proponeva, e ancora oggi si propone, di realizzare nell'ambito di un Centro Nazionale di Adroterapia un acceleratore per protoni e ioni leggeri dotato di diverse sale di trattamento (5).

La presenza, nei prossimi anni, di un centro a Roma di protonterapia consentirebbe di colmare, almeno parzialmente, le necessità attuali e favorirebbe la ricerca clinica sull'applicabilità dell'adroterapia ad un sempre più vasto numero di tumori. La potenzialità di trattamento di pazienti del particolare acceleratore previsto dal Progetto "Sviluppo dell'uso di protoni in terapia oncologica" lanciato dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) è stimata a regime intorno a 750 pazienti per anno, con trattamenti frazionati simili a quelli della radioterapia convenzionale.

L'esperienza già acquisita nel settore delle applicazioni terapeutiche di fasci protonici ha portato a considerare l'opportunità di studiare la realizzazione di acceleratori compatti di protoni che possano essere installati in superfici anche modeste presso grandi ospedali che, dotati di tutte le più moderne attrezzature di radioterapia con fotoni, non possano trovare lo spazio necessario per costruire un centro di protonterapia secondo la tecnologia convenzionale.

Il problema della realizzazione di un acceleratore compatto, con tutte le necessarie strumentazioni dosimetriche e di controllo dei fasci, non era stato nei primi anni '90 ancora risolto, in particolare per la necessità di mantenere il costo ad un livello relativamente contenuto e decisamente inferiore a quello necessario a realizzare un centro di protonterapia come quelli già installati attualmente nel mondo. Era tuttavia chiaro che solo la disponibilità di un simile acceleratore compatto avrebbe potuto rendere possibile la diffusione di queste tecnologie sul territorio nazionale, realizzando una rete di protonterapia nella quale un centro di grosse dimensioni, quale il previsto Centro Nazionale, e più centri dotati di acceleratori compatti e collegati tra loro con connessioni multimediali, fossero in grado di scambiarsi informazioni sui pazienti e sui piani di trattamento (6).

In effetti, nella sua riunione del 29 marzo 1994 la Commissione Oncologica Nazionale, presa conoscenza del progetto lanciato dall'Istituto Superiore di Sanità, espresse parere favorevole sull'utilizzo dell'adroterapia, auspicando contemporaneamente che nel progetto, come successivamente sarebbe stato fatto, fossero presenti anche competenze oncologiche "in quanto lo sviluppo del prototipo per le finalità terapeutiche annunciate necessita di sinergie di ricerca oncologica tra ISS e IRCCS per la ricaduta che la ricerca si propone sul piano assistenziale". Per completezza di informazione è doveroso anche ricordare che, nella sua stessa nota, la Commissione Oncologica Nazionale tenne inoltre a sottolineare la necessità di sforzi atti contemporaneamente a garantire una soddisfacente distribuzione sul territorio nazionale anche della radioterapia convenzionale.

È interessante anche notare come la Commissione Oncologica Nazionale abbia indirettamente espresso anche una seconda volta il proprio parere favorevole in relazione al progetto lanciato dall'ISS. In effetti, il Ministero della Sanità costituì nel marzo 1995 un Gruppo di Studio destinato ad esprimere un parere sul più vasto Progetto Adroterapia Oncologica, con particolare riferimento alla costituzione di un Centro Nazionale, da sottoporre alla Commissione Oncologica Nazionale. Il Gruppo di Studio, presieduto da Umberto Veronesi e costituito da Marcello Benassi, Giovanni Bernardo, Gianstefano Gardani, Martino Grandolfo, Alberto Scanni e Vito Vitale, preso atto:

- delle considerazioni emerse dal dibattito in merito alla validità scientifica del Progetto Adroterapia Oncologica;
- dell'interesse oncologico al rapido sviluppo di questa non convenzionale metodica di radioterapia;
- dell'approvazione e finanziamento del progetto "Sviluppo dell'uso dei protoni in terapia oncologica" da parte dell'ISS;
- dell'esperienza favorevole recentemente maturata in altri centri di radioterapia negli Stati Uniti e in Giappone;
- della ricaduta tecnico-professionale dell'iniziativa sul miglioramento della qualità della radioterapia nel nostro Paese anche nell'ambito dei trattamenti radianti convenzionali;

raccomandò alla Commissione Oncologica Nazionale del Ministero della Sanità di offrire ogni possibile sostegno alla realizzazione del Centro Nazionale di Adroterapia Oncologica, così fornendo un giudizio molto lusinghiero sulla metodica sottoposta al suo giudizio.

Il progetto "Sviluppo dell'uso di protoni in terapia oncologica", successivamente indicato per brevità con la sigla TOP (Terapia Oncologica con Protoni), si inquadra negli obiettivi del Piano Sanitario Nazionale di quegli anni, che poneva l'accento, fra l'altro, sulla prevenzione e la cura delle malattie oncologiche e si è coerentemente posto come obiettivo lo studio e la realizzazione delle tecnologie più idonee per l'introduzione in Italia della protonterapia, in particolare attraverso la realizzazione di un acceleratore compatto.

Un progetto di queste dimensioni, che evidentemente necessitava di uno sviluppo pluriennale, ha richiesto in parallelo l'approfondimento di temi di ricerca di base nel campo

della biofisica, della radiobiologia oncologica e della dosimetria e microdosimetria, nonché il confronto delle diverse tecniche di accelerazione, la realizzazione di prototipi e la valutazione approfondita dell'efficacia clinica e dei piani di trattamento.

A questi fini, il progetto fu inizialmente articolato nei seguenti Sottoprogetti:

1. Prototipo di acceleratore compatto (Responsabile: S. Frullani)
2. Prototipo di testata isocentrica (Responsabile: S. Frullani)
3. Dosimetria e microdosimetria (Responsabile: S. Onori)
4. Biofisica e radiobiologia dei protoni (Responsabile: M. Belli)
5. Rete multimediale per terapia con protoni (Responsabile: B. Caccia)
6. Efficacia clinica e piani di trattamento (Responsabile: C. Peschle)

Successivamente, sulla base degli sviluppi delle sue attività, si decise di articolare il progetto, solo per scopi organizzativi, nei seguenti 7 Sottoprogetti, ottenuti unificando i precedenti Sottoprogetti 1 e 2 e differenziando, al contrario, il vecchio Sottoprogetto 6 nei nuovi Sottoprogetti 5, 6 e 7:

1. Prototipo di acceleratore compatto e di testata isocentrica (Responsabile: S. Frullani)
2. Dosimetria e microdosimetria (Responsabile: S. Onori)
3. Biofisica e radiobiologia dei protoni (Responsabile: M. Belli)
4. Rete multimediale per terapia con protoni (Responsabile: B. Caccia)
5. Efficacia pre-clinica (Responsabile: C. Peschle)
6. Piani di trattamento (Responsabile: M. Benassi)
7. Validazione clinica (Responsabile: G. Arcangeli)

Gli obiettivi e le motivazioni di quest'ultima suddivisione sono chiaramente esplicitati nelle loro denominazioni, ma verranno comunque chiariti in esteso più avanti, nelle sezioni del presente rapporto espressamente dedicate alla descrizione delle principali attività svolte nell'ambito dei Sottoprogetti stessi.

Per coadiuvare l'ISS nelle scelte tecnico-scientifiche e nell'individuazione delle necessarie collaborazioni esterne fu, inoltre, costituito un Comitato Scientifico di progetto composto da:

- Direttore pro-tempore dell'ISS (Presidente)
- C. Biagini (Università di Roma "La Sapienza")
- U. Bizzari (ENEA)
- L. Cionini (Università di Firenze)
- R. Fieschi (Università di Parma)
- M. Grandolfo (ISS)
- C. Peschle (ISS)
- G. Sannazzari (Università di Torino)
- S. Tazzari (Università di Roma "Tor Vergata").

L'attività del Comitato Scientifico di progetto si concluse, sulla base delle stesse regole amministrative che avevano portato alla sua costituzione, nel maggio del 1998. Nel corso delle sue 6 riunioni fu però svolto il lavoro più critico e delicato perché furono fatte le scelte più importanti dal punto di vista del futuro del progetto, cioè il tipo di macchina da realizzare e i gruppi nazionali da coinvolgere nella progettazione della macchina stessa e nello svolgimento delle necessarie attività di ricerca al progetto correlate.

In relazione alla macchina acceleratrice, le possibili opzioni presenti nel 1995 in letteratura potevano essere raggruppate nelle seguenti tre classi:

- a) ciclotroni isocroni superconduttori, ad alto campo magnetico;
- b) sincrotroni non superconduttori pulsati, ad alto campo magnetico;
- c) acceleratori lineari per protoni ad alto gradiente.

Il confronto fu eseguito mediante uno studio di fattibilità comparativo di queste soluzioni, volto a mettere in risalto le prestazioni, le difficoltà tecniche realizzative, le scale dei tempi, i costi e l'interesse specifico dell'industria nazionale alla fase realizzativa.

La definizione del tipo di macchina acceleratrice ha costituito un momento fondamentale dell'attività svolta, poiché ha permesso di effettuare scelte tecnologiche avanzate e, al tempo stesso, progettare l'acceleratore in modo da ottenere il massimo grado di affidabilità, permettendo quindi un possibile futuro trasferimento all'industria di tutte le informazioni atte alla sua realizzazione e, in un secondo tempo, alla sua eventuale commercializzazione.

Dopo una prima approfondita analisi, l'attenzione venne focalizzata sull'acceleratore lineare e sul ciclotrone superconduttivo, avendo ritenuto non idonea agli scopi del Progetto TOP la scelta del sincrotrone.

Agli inizi del 1996, sulla base delle decisioni prese nell'ambito del Comitato Scientifico di progetto, la scelta cadde definitivamente sull'opzione acceleratore lineare.

L'analisi comparata dell'acceleratore lineare e del ciclotrone superconduttivo aveva portato, in effetti, alla convinzione che entrambe le macchine fossero caratterizzate da elevatissimi livelli nelle relative prestazioni e, quindi, da grande validità del loro potenziale uso in campo radioterapico. Ciò ha fatto sì che la scelta non sia stata effettuata, in definitiva, sulla base delle loro diverse caratteristiche tecniche, che avrebbero portato ad una situazione di sostanziale parità, quanto sulla reale possibilità di trovare, a livello nazionale, non solo le competenze ma anche la disponibilità a collaborare con l'ISS per la realizzazione del prototipo. Essendosi queste caratteristiche trovate solo in ambito ENEA, la scelta cadde di conseguenza sull'acceleratore lineare, di cui era l'ENEA a detenere il necessario e specifico *know-how* tecnologico (7).

Poiché la produzione di fasci di protoni per un acceleratore lineare comporta necessariamente la realizzazione di un iniettore di protoni di energia compresa tra 2 e 10 MeV, in linea di principio utilizzabile anche per la produzione di isotopi radioattivi di interesse biomedico, in particolare per la PET (*Positron Emission Tomography*), il Progetto TOP ha previsto esplicitamente questa opzione (Fluoro-18, FluoroDesossiGlucosio, FDG), motivata anche dalla considerazione che il fascio, primariamente a disposizione della radioterapia, può avere anche un utilizzo diverso nel tempo in cui esso non lavori per la protonterapia, in modo da ottimizzare l'impegno economico effettuato per costruire un acceleratore così complesso. Conseguenza importante sarebbe stata, quindi, anche la possibilità di fornire il bacino di utenza del Lazio di una importantissima ulteriore metodica per la ricerca e la diagnosi che ancora oggi, non essendo disponibile, obbliga alla migrazione sanitaria.

La natura del progetto, come già evidenziato dalla Commissione Oncologica Nazionale, ha poi naturalmente portato a riconoscere l'interesse per una stretta collaborazione con l'Istituto Regina Elena (IRE) che, in quanto Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS) per lo Studio e la Cura dei Tumori, ha un profondo interesse a valutare tanto l'efficacia clinica dell'uso di fasci di protoni, in confronto a fasci di radiazioni convenzionali, quanto il loro utilizzo per la ricerca e la produzione di isotopi radioattivi da utilizzare in diagnostica. Ciò ha portato, nel 1997, alla stipula di un accordo quadro nel quale è previsto che:

- l'ISS metta a disposizione dell'IRE, una volta realizzato, il prototipo di acceleratore compatto di protoni, con il relativo sistema di sicurezza e controllo, perché venga utilizzato in terapia oncologica, nella ricerca biomedica e per la diagnosi clinica con isotopi radioattivi;
- l'IRE metta a disposizione gli spazi necessari alla realizzazione della struttura, le attrezzature diagnostiche e le competenze idonee ad una radioterapia di alto livello qualitativo e si impegni altresì a selezionare i pazienti suscettibili di ottenere il migliore risultato operativo dall'uso di protoni e di curarne il follow-up.

Il sito inizialmente individuato per l'installazione coincideva, a Roma, con l'area dell'ISS contigua all'IRE, con lo scopo di permettere la gestione dell'apparato e l'uso diretto del fascio al personale dell'Istituto oncologico per la ricerca e l'applicazione clinica, con la possibilità di utilizzare lo stesso fascio sia per la ricerca dosimetrica e radiobiologica che per la produzione di radioisotopi. Ulteriori considerazioni tecniche e logistiche portarono, successivamente, a considerare la possibilità di localizzare l'acceleratore nell'area dell'Ospedale "Nuovo Sant'Andrea", dove sembrava in un certo momento doversi trasferire l'IRE. Sulla base delle decisioni finali prese sulla localizzazione definitiva dell'IRE e in termini della convenzione già in precedenza indicata, il sito logico dovrebbe oggi essere quello dell'attuale sede dell'Istituto Fisioterapico Ospitaliero (IFO) - Nuovo S. Raffaele - Polo Oncologico Romano, nel quartiere Mostacciano.

Quanto detto in precedenza ha stabilito in modo chiaro la natura di elevata progettualità tecnico-scientifica insita nel progetto, volto a realizzare una macchina mai in precedenza realizzata da nessun'altra istituzione nel mondo.

Questo profondo grado di innovazione e di ricerca e sviluppo ha però portato a ritenere impossibile il suo sviluppo integrale unicamente attraverso risorse umane e competenze presenti presso il Laboratorio di Fisica (oggi confluito nel Dipartimento di Tecnologie e Salute) dell'ISS e ciò spiega perché si sia ritenuta necessaria la collaborazione con le migliori competenze esistenti nella realtà nazionale, in alcuni casi anche con trasferimenti di risorse finanziarie discussi e approvati, all'inizio del 1997, nel Comitato Scientifico di progetto.

Per quanto riguarda la progettazione e la realizzazione dell'acceleratore lineare per protoni, come già detto in precedenza, ci si è avvalsi della collaborazione dell'ENEA-Frascati, che risulta detenere a livello nazionale il più elevato grado di conoscenze in questo settore di alta tecnologia.

Per tutti i problemi connessi alle tecniche dosimetriche e al controllo del fascio, sulla base delle competenze acquisite negli ultimi anni, si sono attivate collaborazioni con l'ENEA-Casaccia, i Laboratori Nazionali del Sud dell'INFN, l'Università Cattolica del Sacro Cuore, l'Università di Firenze e gli Spedali Civili di Brescia.

Le ricerche volte ad analizzare le basi biofisiche e radiobiologiche dell'utilizzo di protoni in terapia oncologica sono state svolte in collaborazione con l'Università di Milano, attraverso il Consorzio Milano Ricerche con cui l'Università è consociata, l'Università di Pavia, l'Università di Napoli e l'ENEA di Bologna, sulla base delle competenze e professionalità nel settore che caratterizzano da tempo questi gruppi di ricerca. Fruttuose collaborazioni, che però non hanno dato luogo a specifiche convenzioni, si sono avute anche con gruppi di ricerca dei Laboratori Nazionali di Legnaro dell'INFN.

Le competenze necessarie a sviluppare i programmi nel settore delle reti multimediali sono risultate presenti presso il Dipartimento di Fisica dell'Università di Genova.

Momento essenziale dell'utilizzo di un acceleratore per radioterapia è quello della realizzazione e validazione dei piani di trattamento. Collaboratore naturale in questo settore è risultato essere l'IRE, utilizzatore in futuro della macchina acceleratrice per la radioterapia sulla base degli impegni finora sottoscritti.

Si sono inoltre attuate proficue collaborazioni con la Fondazione TERA e con l'INFN che, attraverso i suoi programmi nazionali ATER1 e ATER2, ha finanziato anche parte delle ricerche svolte negli anni passati.

Per quanto riguarda le risorse finanziarie finora assicurate al progetto, il primo finanziamento, fissato in 6 miliardi di lire (corrispondenti a circa 3,1 milioni di euro), fu deliberato dal Comitato Amministrativo dell'ISS in data 28 dicembre 1993 e registrato alla Corte dei Conti il 6 marzo 1995. A questo finanziamento ne seguì un secondo, pari a 2330 milioni di lire (corrispondenti a circa 1,2 milioni di euro), in realtà suddiviso in due parti. Per motivi legati al flusso temporale delle spese e al periodo di validità del finanziamento stesso, del primo

finanziamento solo una parte fu effettivamente utilizzata nei tempi previsti (pari a 5018 milioni di lire) ma, della parte andata momentaneamente in economia, fu poi riassegnata al progetto una quota di 900 milioni di lire, corrispondenti a circa 465000 euro. In definitiva, sotto diverse forme il Ministero della Sanità (oggi della Salute) ha assicurato al progetto un finanziamento globale di 8248 milioni di lire (corrispondenti a circa 4,3 milioni di euro), da impegnare improrogabilmente entro il 21 ottobre 2002.

Il piano economico-finanziario relativo a questi finanziamenti prevedeva cinque voci, corrispondenti a: 1) Spese generali di funzionamento e attrezzature, 2) Convegni, 3) Missioni, 4) Incarichi di collaborazione e 5) Trasferimenti.

In Tabella 4 è indicato come il finanziamento totale sia stato distribuito sulle cinque voci di spesa, mentre la Tabella 5 indica come, sempre per le cinque voci di spesa, lo stesso finanziamento sia stato suddiviso nei singoli Sottoprogetti o utilizzato per scopi di interesse generale (Varie).

Tabella 4. Finanziamenti assegnati al Progetto "Sviluppo dell'uso di protoni in terapia oncologica"

Voci di spesa <i>(in milioni di lire)</i>	Finanziamento assegnato <i>(in milioni di lire)</i>	% del finanziamento totale
Spese generali di funzionamento e attrezzature	449,1	5%
Convegni	10,3	0,1%
Missioni	337,9	4%
Incarichi di collaborazione	1296,7	15,9%
Trasferimenti	6154	75%
Totale	8248	100%

Tabella 5. Distribuzione dei finanziamenti (in milioni di lire) fra Sottoprogetti (SP) e spese generali

Finalità	Spese generali e attrezzature	Convegni	Missioni	Incarichi di collaborazione	Trasferimenti	Totale
SP 1	246	-	92,8	712	5190	6240,8
SP 2	-	-	66,4	189,7	389	645,1
SP 3	38,2	-	115,6	227,5	235	616,3
SP 4	33,3	-	40,5	161,6	120	355,4
SP 5	91,3	-	7,4	-	-	98,7
SP 6	-	-	-	-	220	220
SP 7	-	-	-	-	-	-
Varie	40,3	10,3	15,2	5,9	-	71,7
Totale	449,1	10,3	337,9	1296,7	6154	8248

Occorre ancora una volta ricordare che, come verrà chiarito in seguito, alcune delle attività di ricerca svolte nell'ambito dei Sottoprogetti sono state in parte finanziate anche dall'INFN attraverso i suoi progetti ATER1 e ATER2.

Il Progetto TOP, come sarà ancora più evidente dalla lettura del seguito di questo rapporto, è stato fino ad oggi corroborato dai risultati positivi di una serie di attività svolte negli ultimi anni dalle istituzioni coinvolte, che hanno portato fino ad oggi a numerose pubblicazioni scientifiche e alla realizzazione di alcuni prototipi delle parti che richiedevano il maggiore sviluppo tecnologico. È su questa base che gli estensori di questo rapporto, preoccupati per l'andamento temporale decrescente degli effettivi finanziamenti erogati e ritenendo che un progetto di tale natura non possa svolgersi se non che in presenza di una forte volontà di realizzarlo in tempi

ragionevoli e, quindi, con un flusso di risorse finanziarie suscettibile di fornirgli il necessario impulso, intendono oggi farsi promotori di questo progetto nei riguardi della dirigenza delle istituzioni di appartenenza e dell'autorità politica regionale, l'unica quest'ultima in grado di assicurare le risorse necessarie al suo completo successo.

Passando ad analizzare le prospettive future del Progetto TOP, è utile descrivere le richieste di spazio e di risorse umane e finanziarie necessarie affinché eventuali interlocutori interessati alla realizzazione di quanto finora progettato, e solo in piccola parte già realizzato, possano avere un quadro realistico dell'impegno loro richiesto.

L'impianto dell'acceleratore di protoni ipotizzato si compone di quattro sezioni e, di questo, è necessario tenere conto nell'analizzare le richieste di spazio e la natura degli ambienti destinati ad accoglierlo.

La prima sezione, comprendente l'iniettore, il sistema per la produzione di radioisotopi per la PET e il sistema per studi di radiobiologia e dosimetria, utilizza protoni di energia compresa tra 2 e 7 MeV e necessita di uno spazio non inferiore a 180 m², considerando anche le strutture murarie e le sale di controllo.

La seconda sezione si compone della struttura accelerante, che consente di portare il fascio di protoni da un'energia di circa 7 MeV a un'energia fissa compresa tra 60-70 MeV, utile per trattare con fascio fisso tumori fino ad una profondità in tessuto di 2,5-3 cm (tipico trattamento il melanoma dell'occhio). Tale sezione, con relativo bunker per trattamento, necessita di un'area non inferiore a 170 m², considerando anche le strutture murarie, le sale di controllo e la sala sperimentale.

La terza sezione si compone della struttura accelerante, che consente di portare il fascio di protoni da un'energia fissa compresa tra 60-70 MeV a un'energia variabile fino ad un massimo di 250 MeV, utile per trattare tutti i casi clinici. Questa sezione, con il relativo bunker per protonterapia con fascio fisso, necessita di una superficie non inferiore a 280 m², comprese le strutture murarie e le sale di controllo. Per la realizzazione di questa sezione potrebbe essere in futuro molto importante la collaborazione con la Fondazione TERA, che recentemente ha sviluppato un progetto di elevato valore tecnologico in questo settore.

La quarta sezione si compone del sistema per protonterapia con fascio rotante, capace di irradiare il paziente da varie angolazioni. Questa sezione, con il relativo bunker, necessita di una superficie non inferiore a 200 m², comprese le strutture murarie e le sale di controllo.

In aggiunta agli spazi sopra indicati, per le quattro sezioni devono essere considerati i seguenti ulteriori ambienti:

- Servizi generali (ventilazione, condizionamento, sistemi di controllo delle macchine, deposito rifiuti radioattivi), con una superficie di 300 m²;
- Ambienti per la preparazione di sistemi di immobilizzazione del paziente, con una superficie di 100 m²;
- Ambienti per sale di attesa, visita pazienti, dosimetria, piani di trattamento e personale medico, fisico e tecnico, con una superficie di 300 m²;
- Area per la produzione di radioisotopi, con una superficie di 120 m²;
- Ambienti per laboratorio di radiochimica, attesa visita e preparazione pazienti, con una superficie di 220 m².

La realizzazione di un centro di radioterapia con protoni quale quello previsto dal Progetto TOP, con la produzione di radioisotopi per la PET e lo sviluppo della relativa ricerca biomedica, necessita quindi complessivamente di una superficie non inferiore a 1800 m² per poter avviare e sviluppare le attività in maniera adeguata per i pazienti e competitiva a livello internazionale.

Per quanto riguarda l'utilizzo in radioterapia dell'acceleratore, come indicato in Figura 1 è prevista un'uscita del fascio di protoni, all'energia di 65 MeV, mediante la quale potrà essere indirizzato verso una sala (Sala 1) attrezzata con una sedia per la terapia del melanoma oculare.

Lo stesso fascio, una volta accelerato fino all'energia necessaria per la radioterapia dei tumori profondi (130-200 MeV), alimenterà altre due sale, in una delle quali sarà indirizzato solo orizzontalmente (Sala 2) mentre in un'altra (Sala 3) è previsto possa arrivare sul paziente sia orizzontalmente che dall'alto. Solo in tempi successivi potrebbe essere realizzata un'ulteriore sala, dotata di testata isocentrica rotante, in cui sarà possibile fare la scelta ottimale per la direzione d'incidenza del fascio.

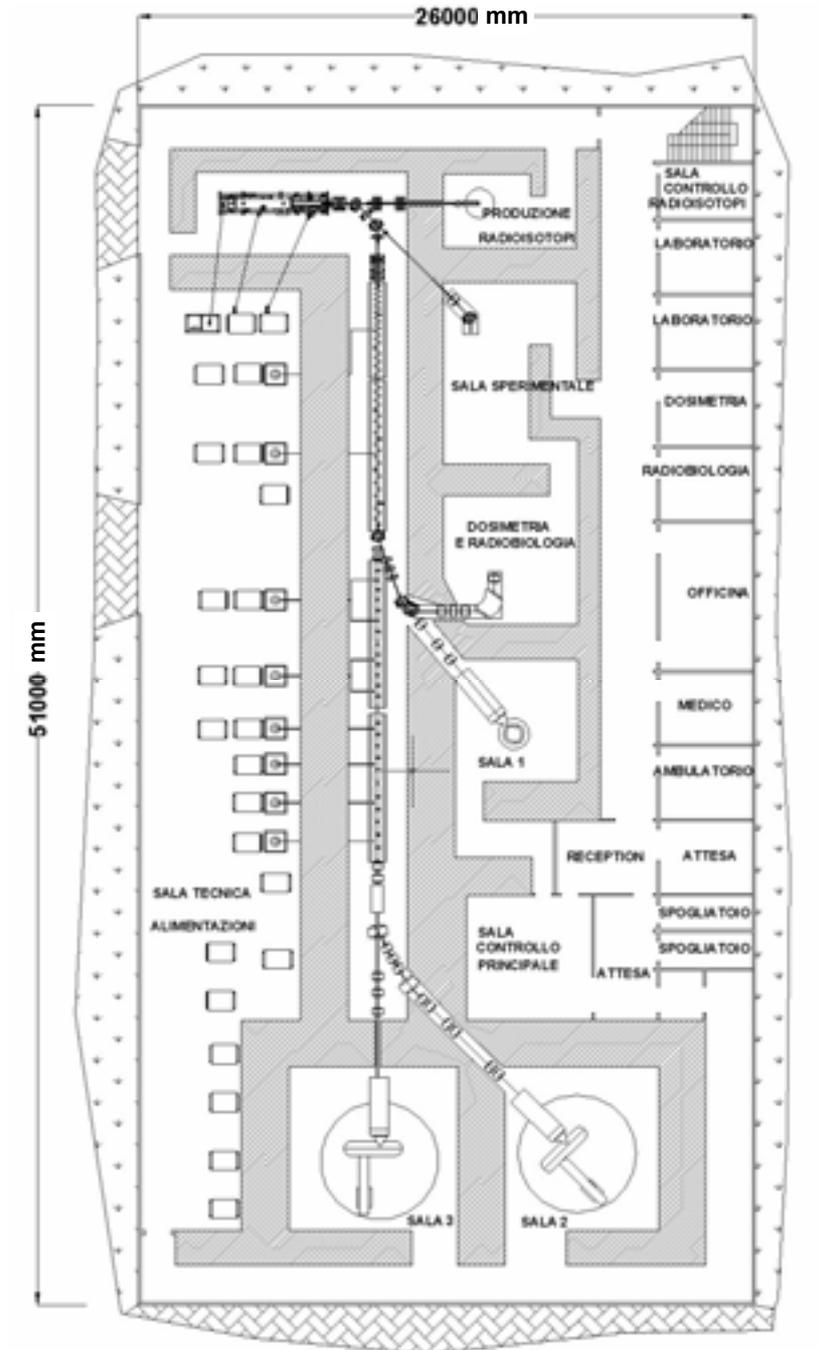


Figura 1. Pianta del bunker contenente l'acceleratore lineare per protoni e le sale di trattamento

Come indicato in Tabella 6, a partire dalla data di effettiva disponibilità dei fondi necessari per il completamento del progetto, la costruzione dell'acceleratore lineare potrà essere realizzata in almeno due fasi, essendo questo per sua natura un'apparecchiatura modulare, precedute da una "fase zero" della durata di circa un anno, necessaria per sviluppare il progetto esecutivo completo e effettuare importanti test su alcuni dei prototipi già realizzati.

Tabella 6. Distribuzione negli anni (suddivisi in semestri) delle attività previste per la costruzione dell'acceleratore

Attività	Anni dal finanziamento					
	1°	2°	3°	4°	5°	6°
Progettazione esecutiva e test di prototipi	X	X				
Fase 1 – Costruzione fino a 65 MeV	X	X	X	X	X	X
Fase 2 – Completamento dell'acceleratore				X	X	X
Utilizzo clinico della Sala 1				X	X	X
Utilizzo clinico delle Sale 2 e 3						X

Nella fase 1, in un tempo stimato in 3 anni, si prevede la costruzione di tutto l'edificio, la realizzazione dell'acceleratore, sino a un'energia di 65 MeV, e l'operatività della Sala 1 per la terapia del melanoma oculare.

Nella fase 2, in un tempo stimato sempre in 3 anni a partire dalla fine della fase 1, si prevede la costruzione delle sezioni acceleranti tra 65 e 200 MeV, la realizzazione di tutti i sistemi di rilascio di dose e l'operatività delle Sale 2 e 3 per la terapia dei tumori profondi. Sono anche previste interruzioni saltuarie, per sei mesi, nelle fasi di installazione e collaudo della sezione ad alta energia.

Il Progetto TOP è stato corroborato dai risultati positivi di una serie di attività svolte negli ultimi anni dalle istituzioni coinvolte, che hanno portato a numerose pubblicazioni scientifiche, all'acquisizione di un iniettore da 7 MeV e alla realizzazione di alcuni prototipi delle parti che richiedevano il maggiore sviluppo tecnologico, fra cui la struttura accelerante (struttura SCDTL, *Side Coupled Drift Tube LINAC*).

Le specifiche tecniche per la protonterapia hanno reso l'iniettore, di proprietà ISS, una macchina altamente sofisticata, momentaneamente localizzata presso il Centro Ricerche dell'ENEA di Frascati.

Il LINAC SCDTL si basa su di un'avanzatissima struttura accelerante (brevettata dall'ENEA) a 3 GHz, molto compatta, che può accelerare protoni nel segmento di energia tra 7 e 30-65 MeV e di cui, sempre presso il Centro Ricerche di Frascati, esiste già un prototipo.

L'ultima parte dell'acceleratore sarà costituito da una serie di moduli, noti come moduli SCL (*Side Coupled LINAC*). Il primo di questi moduli è già stato costruito dalla Collaborazione LIBO (LINac BOoster) fra il CERN (*Conseil Européen pour la Recherche Nucléaire*), le Università e Sezioni INFN di Milano e Napoli e TERA ed è stato provato nel novembre del 2000, con ottimi risultati, nel tunnel dell'acceleratore LEP Injector LINAC del CERN (Ginevra).

Orientativamente i costi per la realizzazione dell'acceleratore e delle relative strutture di contenimento e funzionamento necessarie per iniziare il trattamento dei pazienti sono stimati in 31 milioni di euro, suddivisi secondo quanto indicato in Tabella 7.

Utilizzando, com'è ovvio, ciò che è stato già realizzato o è in corso di realizzazione tramite il Progetto TOP, cioè tutta l'attività di ricerca e sviluppo necessaria, l'iniettore, il sistema per la produzione di radioisotopi e la linea di trasporto a bassa energia, i costi si riducono a circa 28,2

milioni di euro. Questi costi non includono né il personale di staff nella fase di costruzione, né la manutenzione annuale dell'impianto, comunque stimabili intorno al 10% del valore delle apparecchiature, ma tengono conto, per completezza, anche del costo degli edifici. Poiché la macchina dovrebbe essere localizzata in un'area a ciò appositamente riservata dall'istituzione interessata al suo utilizzo clinico, si è invece considerato gratuito il terreno su cui la struttura verrebbe edificata.

Tabella 7. Analisi dei costi dell'impianto TOP LINAC

Voci di spesa	Milioni di euro, IVA inclusa
Alta tecnologia	22,50
Iniettore (7 MeV)	2,3
Linea di trasporto del fascio a 7 MeV	0,5
Sezioni acceleranti tra 7 e 65 MeV	2,9
Linea di trasporto del fascio a 65 MeV	0,4
Linee di radiobiologia e dosimetria	0,6
Sezioni acceleranti da 65 a 200 MeV	6,1
Linee di trasporto fascio a 200 MeV in Sala 2 e in Sala 3	2,1
Nozzles e sistemi di scansione	2,7
Monitoraggio, dosimetria, piani di trattamento, posizionamento del paziente	4,6
Costi di sviluppo dell'alta tecnologia (5%)	1,10
Riserve sull'alta tecnologia (10%)	2,20
Edifici e impianti convenzionali	5,20
Costi del personale durante la costruzione (30 unità)	---
Totale	31,00

Una volta iniziati i trattamenti dei pazienti, i costi saranno legati alle necessità di personale e alla gestione della struttura.

Nell'ipotesi di un solo turno lavorativo per un periodo di tempo pari a 15 anni, i costi possono essere valutati in:

– Costo personale per 15 anni (circa 52000 euro/anno/addetto, 44 addetti per 15 anni)	34.500.000 euro
– Costo di gestione per 15 anni (550000 euro/anno per manutenzione, materiali di consumo, elettricità, ecc.)	8.250.000 euro
Totale	42.750.000 euro

I ricavi possono essere valutati, come minimo, sulla base della tariffa fissata dal Ministero della Sanità con il decreto n. 216 pubblicato sulla *Gazzetta Ufficiale* del 14/09/96, ma è chiaro che essi dovrebbero essere valutati *ad hoc*, come trattamenti di alta specialità e complessità.

Valutando tutte le voci che oggi vengono realmente considerate per la radioterapia conformazionale, cioè il trattamento in linea di principio maggiormente assimilabile alla protonterapia, ogni trattamento dovrebbe essere rimborsato dalla Regione con una cifra compresa all'incirca tra 4000 e 5200 euro per paziente (una media di 4600 euro), mentre ogni esame PET verrebbe rimborsato con una cifra di circa 1050 euro, di cui circa la metà a coprire il costo del radioisotopo utilizzato.

In realtà, il rimborso per un trattamento di protonterapia dovrebbe essere più elevato. Per esempio, quando nel febbraio 2002 è diventato operativo a Catania, come già detto in

precedenza, il primo fascio di protoni utilizzato in Italia a scopi medici, la Regione Sicilia ha ritenuto congruo, per ognuno di questi trattamenti, un rimborso di circa 13000 euro.

In sintesi:

– Ricavi per il trattamento di 750 pazienti/anno (per 15 anni)	51.750.000 euro
– Ricavi per diagnosi PET (1500 pazienti/anno per 15 anni)	11.812.500 euro
	<hr/>
Totale	63.562.500 euro

Il bilancio dei ricavi e dei costi, valutati sia pure in modo approssimato, mostra come, dopo circa 15 anni di funzionamento della struttura, l'investimento iniziale verrebbe sostanzialmente recuperato e si inizierebbe allora ad avere degli utili. Questo nel caso della sola realizzazione del prototipo perché se, come sarebbe auspicabile, potesse essere interessata alla produzione di più esemplari una ditta con specifiche competenze nel settore, il ritorno del capitale investito avverrebbe in tempi molto più rapidi.

L'aspetto più importante che deve essere però considerato non è quello meramente economico, ma quello sanitario e di ricerca clinica e sperimentale che lo sviluppo di questo progetto può portare. Si deve tenere conto infatti che l'acceleratore, per la sua collocazione in un'area ad alta densità di ricerca biomedica, avrebbe un notevole bacino di utenza su tutta l'area romana e oltre. L'Italia si doterebbe in tal modo di uno strumento che consentirebbe ai ricercatori di confrontarsi, a pari dignità scientifica, con i Paesi industrialmente più avanzati.

La presenza, nei prossimi anni, di un centro a Roma di protonterapia consentirebbe di colmare, almeno parzialmente, le necessità attuali e favorirebbe la ricerca clinica sull'applicabilità della protonterapia a un numero di tumori sempre più elevato.

Bibliografia

1. Particles-The Journal of the Particle Therapy Coordination Group (PTCOG), 2004 (disponibile all'indirizzo <http://ptcog.web.psi.ch/ptles33.pdf>).
2. D'Ambrosio C. *Studio delle modalità di irradiazione di un LINAC per protonterapia*. Roma: Università degli Studi Roma 3 – Tesi di laurea in fisica; 2004.
3. Gademan G. Socioeconomic aspects of hadrontherapy. In: Amaldi U, Larsson B (Ed.). *Atti del Corso Hadrontherapy in Oncology*. Excerpta Medica, International Congress Series 1077. Amsterdam: Elsevier; 1994.
4. Cuttone G. *Protoni per radioterapia delle patologie oculari: primi trattamenti clinici ai Laboratori Nazionali del Sud*. Catania: Istituto Nazionale di Fisica Nucleare; 2002. (INFN Notizie n. 11).
5. Amaldi U, Silari M. *The Blue Book: The TERA project and the center for oncological hadrontherapy*. Frascati: Istituto Nazionale di Fisica Nucleare; 1995. (Rapporto INFN-LNF, TERA).
6. Amaldi U, Grandolfo M, Picardi L. *The Green Book: The RITA network and the design of compact accelerator*. Frascati: Istituto Nazionale di Fisica Nucleare; 1996. (Rapporto INFN-LNF, TERA).
7. Frullani S, Grandolfo M, Mancini L, Picardi L, Ronsivalle C, Vignati A. The TOP LINAC for the protontherapy project of the Italian National Institute of Health (ISS). In: Amaldi U, Larsson B, Lemogne Y (Ed.): *Atti del Corso Advances in Hadrontherapy*. Excerpta Medica, International Congress Series 1144. Amsterdam: Elsevier; 1997.

Sottoprogetto
DOSIMETRIA E MICRODOSIMETRIA

Responsabile: Sandro Onori

INTRODUZIONE

Sandro Onori

Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Il successo della terapia con protoni, così come quello delle tecniche terapeutiche che utilizzano fasci convenzionali (fotoni o elettroni), dipende strettamente dalla capacità di fornire la dose di progetto alla massa tumorale da irraggiare (volume bersaglio). Infatti, la risposta dei tessuti umani all'irraggiamento è tale che un piccolo cambiamento della dose all'interno del volume bersaglio e nei tessuti sani circostanti può comportare un cambiamento significativo nella probabilità di controllo del tumore e una maggiore incidenza di complicazioni. L'incertezza totale nel valore di dose fornita al volume bersaglio dovrebbe essere inferiore al 5%. Numerose fonti di errore contribuiscono all'incertezza totale, tra cui: la localizzazione del volume bersaglio, la calibrazione del fascio (dosimetria di base), la determinazione sperimentale della distribuzione di dose in fantocci omogenei (dosimetria clinica), il calcolo della distribuzione di dose all'interno del paziente (piani di trattamento) e la riproducibilità di ciascun trattamento. Lo sviluppo di idonei programmi di garanzia di qualità è estremamente importante nella radioterapia per assicurare il rispetto della dose di progetto al volume bersaglio e per minimizzare la dose ai tessuti sani. La misura di dose costituisce una fase centrale in questi programmi e ciò implica l'utilizzo di sistemi dosimetrici aventi ottime caratteristiche di riproducibilità e accuratezza, riferibili a standard primari. Da qui la necessità di sviluppare una catena metrologica che garantisca la necessaria affidabilità delle misure dosimetriche.

Nel caso della radioterapia con fasci di protoni esistono problemi specifici e peculiari cui dare adeguata soluzione. Innanzi tutto la mancanza di uno standard di riferimento primario in grado di fornire direttamente il fattore di taratura, N_p , dei sistemi dosimetrici secondari (camere a ionizzazione o altro) in fasci di protoni in termini di dose in acqua. I protocolli di dosimetria emanati a livello internazionale (*European Clinical HEavy particle Dosimetry group*, ECHED; *American Society for Testing and Materials*, ASTM) a partire dal 1995, ICRU 59 dell'*International Commission on Radiation Units and Measurements* del 1998 e più recentemente quello emanato dalla *International Atomic Energy Agency* (IAEA) nel 2000 (*Technical Reports Series 398*), raccomandano, per la determinazione della dose riferita all'acqua in fasci di protoni, l'impiego del fattore di taratura ottenuto in fasci di fotoni o elettroni corretto per opportuni fattori che tengano conto della diversa qualità dei fasci impiegati. Tuttavia, è indubbia l'enorme semplificazione concettuale e pratica legata alla calibrazione diretta in fasci di protoni. Il Progetto TOP (Terapia Oncologia con Protoni) ha affrontato il problema attraverso la progettazione e realizzazione di un calorimetro ad acqua sigillata che lavora a 4 °C. Le prestazioni del sistema in termini di riproducibilità, stabilità e sensibilità, così come determinate in misure di caratterizzazione preliminare, sono soddisfacenti. Tuttavia, il sistema necessita ancora di una sperimentazione sistematica prima di poterne stabilire prestazioni e accuratezza.

In radioterapia, indipendentemente dal tipo di fascio utilizzato, vi è la necessità di effettuare interconfronti dosimetrici periodici fra i vari centri. Gli interconfronti costituiscono, infatti, un elemento fondamentale nel processo globale del miglioramento continuo della qualità delle prestazioni radioterapiche, garantendo, inoltre, una comune riferibilità dei dati dosimetrici. Nel caso dei centri di protonterapia, è necessario individuare un sistema dosimetrico robusto (gli interconfronti avvengono per via postale), altamente riproducibile e con dipendenza dall'energia trascurabile. Sulla base dei risultati emersi nell'ambito del Progetto TOP, la dosimetria

alanina/EPR (*Electron Paramagnetic Resonance*), messa a punto presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS), si è dimostrata ottimo candidato quale riferimento per audit esterni. Con la collaborazione del CCO (*Clatterbridge Centre for Oncology*, Gran Bretagna), l'ISS opererà quale centro di riferimento per un interconfronto fra tutti i centri di protonterapia dell'occhio operanti su scala mondiale utilizzando l'alanina come sistema di trasferimento.

Nel campo della dosimetria clinica, l'utilizzo di fasci di protoni implica la presenza di forti gradienti, di fasci di dimensioni trasversali ridotte, di LET (*Linear Energy Transfer*) e rateo di dose variabili con la profondità che impongono condizioni molto stringenti ai sistemi dosimetrici. I film gafrocromici, i diamanti naturali, i diodi al silicio e i sistemi a gel sono stati studiati nel Progetto TOP con risultati molto promettenti. I primi tre sistemi possono essere usati con profitto per misure di profili e dosi in profondità nell'ambito dei controlli di qualità sui fasci. La quasi totale assenza di dipendenza della sensibilità dal LET e le loro dimensioni estremamente ridotte pongono, allo stato attuale delle conoscenze, i diodi al silicio come candidati elettivi per la dosimetria dei fasci terapeutici per la terapia delle neoplasie oculari (60 MeV). Tuttavia, i diamanti naturali, a causa della loro tessuto equivalenza e elevata robustezza alle radiazioni, offrono vantaggi di notevole interesse che potrebbero indicarne l'uso per i fasci di protoni utilizzati per il trattamento dei tumori profondi (fino a 250 MeV). Comunque, nell'ambito del Progetto TOP, è stato sviluppato un metodo per riprodurre correttamente i valori di dose in profondità in fasci modulati a partire dalla conoscenza della dipendenza della sensibilità del rivelatore dal LET, ottenuta nel corrispondente fascio non modulato, e della distribuzione spettrale del fascio alle diverse profondità.

Un prerequisito fondamentale per una garanzia di qualità del trattamento è inoltre legato alla stabilità del fascio di protoni prodotti. A questo scopo è necessario individuare opportuni sistemi di monitoraggio del fascio stesso, da posizionare all'interno della testata. In questo ambito il Progetto TOP ha proposto due soluzioni originali. La prima, attraverso l'uso di una camera a *pad* per il monitoraggio del fascio TOP per l'occhio, che è degradato passivamente. La seconda, per il monitoraggio del fascio attivo a scansione e modulazione di energia per la cura dei tumori profondi.

Oltre agli aspetti sopra citati, risulta anche di preminente importanza lo studio e la misura della deposizione di energia da parte del fascio di protoni nella materia biologica, su una scala di dimensioni ridotte (10^{-6} - 10^{-9} metri) per poter correlare il dato microdosimetrico con l'effetto biologico. Da questo punto di vista la microdosimetria si pone come un importante ponte tra la dosimetria e la radiobiologia. La correlazione tra i risultati delle misure microdosimetriche e i dati radiobiologici e terapeutici già noti e che si andranno aggiungendo nel prossimo futuro, potrebbero costituire un importante mezzo per l'ottimizzazione dell'uso di fasci di protoni in relazione alla loro efficacia terapeutica. Nell'ambito del Progetto TOP è stato sviluppato un progetto di microdosimetro adatto alla struttura temporale dei fasci del TOP LINAC. È necessario sviluppare un prototipo del microdosimetro prima di realizzare lo strumento definitivo per la misura sia della dose in volumi dell'ordine di qualche decina di nanometri di diametro che delle relative distribuzioni microdosimetriche generate da fasci terapeutici di protoni di varia energia.

Il Sottoprogetto si è articolato nelle tre seguenti linee di ricerca principali:

- a) Sviluppo e caratterizzazione di metodi dosimetrici per fasci terapeutici di protoni con riguardo alla dosimetria di base e clinica.

Nell'ambito di questa linea sono state portate avanti le seguenti attività:

- Sviluppo di un calorimetro ad acqua per la realizzazione del campione primario di dose assorbita in acqua – in collaborazione con l'ENEA-Casaccia (Ente per le Nuove Tecnologie, l'Energia e l'Ambiente-Centro di Ricerca della Casaccia) nell'ambito di una convenzione specifica.
- Ottimizzazione del sistema dosimetrico alanina/EPR per un suo utilizzo come dosimetria di trasferimento per l'interconfronto dei sistemi dosimetrici utilizzati

presso i vari centri di adroterapia – in collaborazione con i Laboratori Nazionali del Sud dell'Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (INFN-LNS), i Laboratori Nazionali di Legnaro dell'INFN (INFN-LNL), l'Università di Pisa, il *Paul Scherrer Institut* (PSI) in Svizzera e il CCO in Gran Bretagna.

- Sviluppo e caratterizzazione di sistemi dosimetrici a stato solido per dosimetria clinica (nell'ambito di una convenzione dell'ISS con l'Università Cattolica del Sacro Cuore (UCSC) e in collaborazione con l'INFN-LNS, il Dipartimento di Fisiopatologia Clinica dell'Università di Firenze e il CCO).
- b) Sviluppo e costruzione di sistemi dosimetrici per il monitoraggio dei fasci del TOP LINAC, sia degradati passivamente che attivi, in grado di fornire gli adeguati controlli per quanto riguarda la dose impartita, l'uniformità e la simmetria del fascio, il rateo di dose e l'energia (nell'ambito di una convenzione con gli Spedali Civili di Brescia e in collaborazione con l'INFN, Sezione di Torino).
- c) Sviluppo di sistemi microdosimetrici per la valutazione della qualità del fascio attraverso lo studio della deposizione locale di energia (INFN-LNL).

Una parte significativa delle ricerche elencate ha visto la partecipazione dell'INFN in termini di collaborazioni specifiche (anche se non inquadrate in una convenzione) o di finanziamenti nell'ambito del progetto ATER (AdroTERapia) approvato nell'ambito del gruppo V. In particolare, sono state finanziate dall'INFN, nella fase iniziale, le attività connesse con lo sviluppo del calorimetro ad acqua, della dosimetria ad alanina e della dosimetria Gel-Fricke. Si sono inoltre instaurate varie collaborazioni fra ricercatori dell'ISS e dell'INFN che, insieme, hanno affrontato i problemi connessi con lo studio e lo sviluppo di sistemi dosimetrici per misure cliniche (INFN-LNS), per lo sviluppo di sistemi di monitoraggio (Sezione INFN di Torino) e per la progettazione di un sistema di microdosimetria (INFN-LNL). Queste collaborazioni hanno avuto un supporto finanziario da parte del Progetto TOP tramite il conferimento di contratti a termine per ricercatori. Di particolare rilevanza è stata la collaborazione dell'ISS con gli LNS di Catania e il Dipartimento di Fisiopatologia Clinica dell'Università di Firenze, poiché questa ha generato nuovi interessi e nuove idee che si sono concretizzati nella comune partecipazione ad ulteriori progetti INFN, quali lo sviluppo di rivelatori a diamante sintetico e la caratterizzazione dosimetrica del fascio terapeutico di protoni generato dal ciclotrone superconduttore per il trattamento delle neoplasie dell'occhio (fascio CATANA).

Certamente è stato fatto molto nell'ambito del Progetto TOP, ma non tutto. Alcuni settori hanno prodotto prototipi (calorimetro ad acqua, sistemi di monitoraggio) che, anche se a un livello diverso, necessitano di ulteriore sperimentazione e/o caratterizzazione per poter essere utilizzati. Nel settore della microdosimetria e del monitoraggio del fascio a scansione si deve passare dalla fase di progettazione alla realizzazione di prototipi e allo sviluppo del sistema finale. Più avanzate sono le conoscenze acquisite nell'ambito della dosimetria relativa, sia di riferimento che clinica, dove è stato raggiunto un quadro di informazioni esaustivo. Tuttavia, restano numerosi problemi da risolvere legati alla corretta dosimetria dei fasci a scansione che, a causa delle dimensioni ridotte dei fasci, dell'energia e intensità variabile da punto a punto e della loro natura dinamica, richiedono l'utilizzo di rivelatori con proprietà non sempre tutte riscontrabili nei sistemi dosimetrici noti.

Al di là dei risultati specifici raggiunti, il Progetto TOP ha avuto il merito di aver coagulato interessi e competenze nel settore della dosimetria, divenendo un punto di riferimento per la dosimetria in fasci terapeutici di protoni. L'esperienza maturata non deve venire dispersa. Al contrario, ed è questo uno dei compiti principali di questo rapporto, deve essere resa fruibile e servire di base per sviluppi futuri.

CALORIMETRO AD ACQUA REALIZZATO PER IL PROGETTO TOP

Antonio Stefano Guerra (a), Elisabetta Gargioni (a), Raffaele Fedele Laitano (a),
Alessandra Petrocchi (a), Maurizio Quini (a), Paola Fattibene (b), Sandro Onori (b), Erminio Petetti (b)
(a) Istituto Nazionale di Metrologia delle Radiazioni Ionizzanti, ENEA-Casaccia (Roma)
(b) Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

Nell'ambito del Progetto TOP (Terapia Oncologica con Protoni) è stato realizzato un calorimetro ad acqua a seguito di una collaborazione fra l'Istituto Nazionale di Metrologia delle Radiazioni Ionizzanti dell'Ente per le Nuove tecnologie, l'Energia e l'Ambiente (INMRI-ENEA) e il Laboratorio di Fisica (oggi confluito nel Dipartimento di Tecnologie e Salute) dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS). Il calorimetro è stato realizzato per effettuare misure di dose assorbita in acqua in fasci orizzontali di protoni per radioterapia, a profondità variabili in acqua da 3 a 25 cm, per campi di radiazione delle dimensioni di 10 cm x 10 cm.

A questo scopo, l'ampolla calorimetrica, al cui interno sono collocati i microtermistori per la misura della temperatura, può essere spostata lungo l'asse del fascio all'interno della vasca d'acqua. Sono stati effettuati dei calcoli sul trasporto di calore per determinare gli effetti dei gradienti termici che si hanno alle varie profondità in acqua, dove l'ampolla può essere posta. Ciò è stato necessario sia per definire le dimensioni ottimali (spessore delle pareti e diametro) richieste per l'ampolla calorimetrica, sia per valutare gli effetti termici in condizioni di irraggiamento con fasci orizzontali. Le distribuzioni di temperatura con fasci orizzontali sono infatti diverse da quelle generate da fasci verticali (1, 2). Un altro importante aspetto studiato è quello relativo alla scelta del modo di operazione del sistema di misura associato al ponte del calorimetro. Tale sistema può essere alimentato sia in corrente continua (*Direct Current*, DC) che alternata (*Alternate Current*, AC) e, in linea di principio, la scelta della tipo di alimentazione e amplificazione dovrebbe essere basata sulle caratteristiche del metodo piuttosto che sulla disponibilità di un sistema di misura rispetto all'altro (3). Sono quindi state fatte misure preliminari con entrambi i sistemi al fine di scegliere il metodo con il miglior rapporto segnale-rumore e quindi la migliore precisione. Nella configurazione AC il risultato della misura può dipendere dalla reattanza della circuiteria. La reattanza dipende a sua volta dal tipo e lunghezza dei cavi utilizzati per il trasporto del segnale. Si è reso quindi necessario uno studio del segnale in uscita dal ponte di Wheatstone in funzione della frequenza di alimentazione, per trovare la frequenza ottimale di lavoro per l'alimentazione del ponte. Inizialmente, il calorimetro era stato progettato per misure a temperatura ambiente. Questa scelta era stata suggerita dalla possibilità di realizzare un apparato più semplice e di dimensioni più contenute rispetto a un calorimetro operante a 277,15 K. Le caratteristiche di semplicità si rivelano importanti nel caso il calorimetro debba essere spostato in diversi impianti di irraggiamento. Successivamente, anche al fine di poter confrontare le prestazioni del calorimetro alle due temperature di lavoro, è stato realizzato un sistema di misura, con associato un sistema di termostatazione a circolazione forzata di acqua (4), in grado di operare anche a 277,15 K.

Caratteristiche del calorimetro

Il calorimetro TOP è del tipo ad acqua sigillata, nel senso che la massa d'acqua in cui si effettua la misura di dose assorbita è sigillata in una ampolla di vetro (volume di circa 120 cm³) entro cui l'elevato grado di purezza dell'acqua può essere accuratamente controllato. L'ampolla calorimetrica è a sua volta posta all'interno di un fantoccio ad acqua esteso, delle dimensioni di 30 cm x 30 cm x 30 cm. Per poter controllare e determinare il cosiddetto difetto di calore (l'energia della radiazione non convertita in calore) l'acqua nell'ampolla deve essere miscelata opportunamente con un gas (5). Per il calorimetro TOP, il gas prescelto a questo scopo è l'idrogeno. La misura della dose assorbita con un calorimetro è basata su una misura della variazione di temperatura provocata dall'interazione della radiazione nel mezzo. I sensori di temperatura utilizzati sono dei microtermistori, la cui resistenza R varia al variare della temperatura T secondo una legge nota.

Lo schema del calorimetro ad acqua sigillata è mostrato in Figura 1.

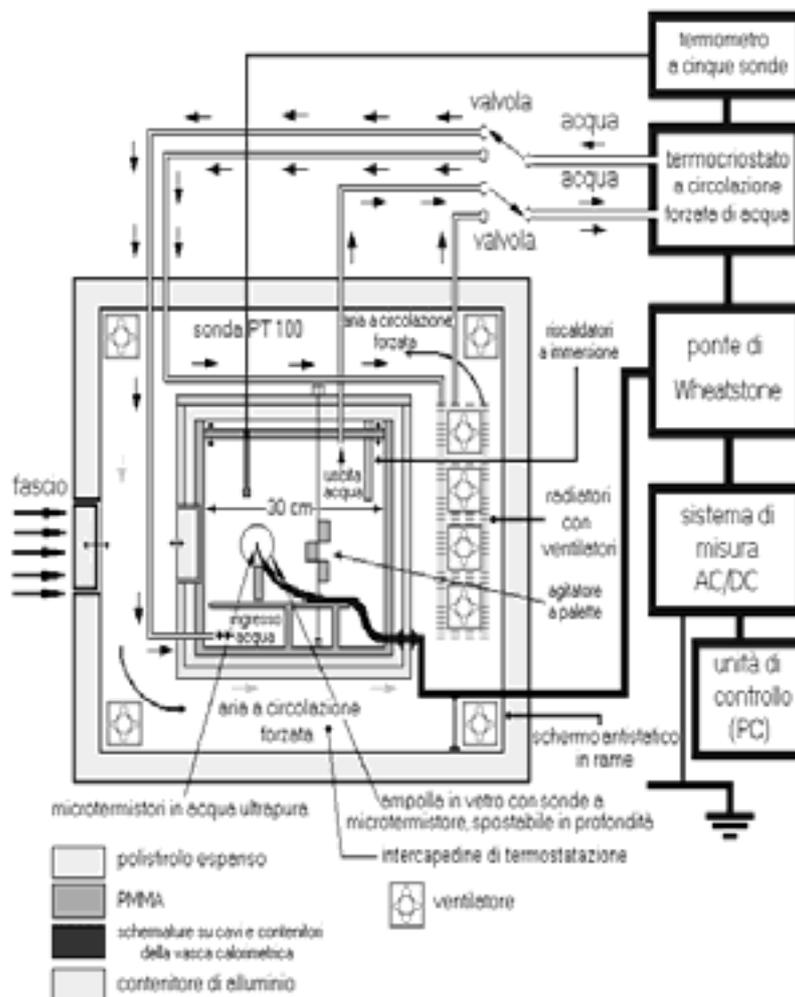


Figura 1. Schema del calorimetro ad acqua sigillata realizzato nell'ambito del Progetto TOP (non in scala)

Nel seguito sono brevemente descritte le caratteristiche dei principali componenti di questo sistema di misura.

Vasca calorimetrica

La vasca calorimetrica è un cubo di 30 cm di lato, con pareti spesse 1 cm, realizzata in polimetilmetacrilato (PMMA). Al centro della parete frontale della vasca è stata realizzata mediante fresatura una finestra per l'ingresso del fascio di dimensioni 11 cm x 11 cm e di 3 mm di spessore. La vasca, riempita con acqua distillata ma non necessariamente pura come quella dell'ampolla, è chiusa superiormente da un coperchio in PMMA. Delle lastre di materiale isolante (polistirolo espanso) di 5 mm di spessore ricoprono tutte le sei pareti della vasca e sono rigidamente contenute in un contenitore di alluminio di 5 mm di spessore. Il contenitore di alluminio è racchiuso a sua volta in un contenitore cubico realizzato con fogli di polistirolo espanso di 10 cm di spessore. Nello spazio compreso fra questi due contenitori (intercapedine di termostatazione) si realizza una circolazione forzata di aria ad una temperatura prossima alla temperatura di lavoro del calorimetro, mediante ventilatori e radiatori connessi al sistema esterno di termostatazione (vedi Figura 1). La superficie interna del contenitore in polistirolo espanso è ricoperta da uno schermo di lastre di rame dello spessore di 1,5 mm che ha la funzione di schermare le interferenze elettromagnetiche e agisce come schermo antistatico. Lo schermo di rame ha anche una funzione equilibratrice della temperatura dell'aria circolante nell'intercapedine. La temperatura di lavoro del calorimetro è di 277,15 K o, in alternativa, 297,15 K. La stabilità della temperatura di lavoro è ottenuta tramite un sistema di termostatazione costituito da un termocriostato a circolazione forzata di acqua e da un sistema di radiatori. La temperatura nella vasca calorimetrica e nell'intercapedine di termostatazione viene misurata mediante quattro sonde termometriche a resistenza di platino, disposte nella vasca calorimetrica e nell'intercapedine.

Ampolla di vetro e sonde di temperatura a microtermistore

L'ampolla di vetro sigillata contiene circa 120 cm³ di acqua di elevata purezza; l'ampolla è simile a quella descritta da Domen (1) e un suo schema è riportato in Figura 2. Le dimensioni dell'ampolla sono state ottimizzate mediante i calcoli di trasporto di calore cui si fa cenno in seguito. L'ampolla ha un diametro esterno di 36 mm e una lunghezza di 120 mm, con uno spessore della parete di 0,3 mm \pm 10%. All'interno dell'ampolla, come illustrato in Figura 2, sono poste due sonde di temperatura (sonde a microtermistore) tramite le quali sono misurate le variazioni di temperatura dell'acqua correlate alla dose assorbita che s'intende determinare. La distanza fra i due microtermistori è di circa 1 cm. Il punto effettivo di misura è al centro dell'ampolla.

Le sonde di temperatura a microtermistore sono costituite da un capillare di vetro con diametro esterno di 0,4 mm (Figura 3) al cui interno è inserito il microtermistore con i suoi terminali dal diametro di 0,025 mm. I microtermistori hanno un diametro di circa 0,25 mm e una resistenza nominale di 10 k Ω a 298,15 K e 24 k Ω a 277,15 K. La lunghezza totale della sonda è di 110 mm, mentre quella della parte capillare è di 40 mm.

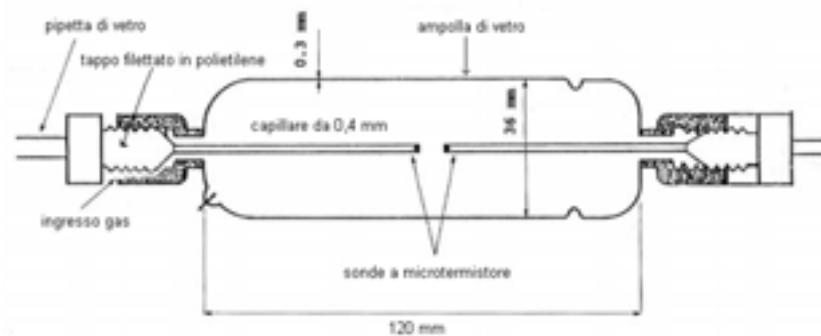


Figura 2. L'ampolla calorimetrica in cui è sigillata acqua ultrapura. Sono visibili le sonde a microtermistore e i condotti attraverso cui è possibile immettere gas idrogeno nell'acqua



Figura 3. Sonda calorimetrica in cui è incluso il microtermistore

Supporto dell'ampolla

Il supporto dell'ampolla (vedi Figura 1) è realizzato in PMMA e consente una rotazione dell'ampolla intorno al suo asse principale. La rotazione dell'ampolla è necessaria per garantire il posizionamento dei due microtermistori alla stessa profondità in acqua. Il supporto può essere spostato lungo l'asse del fascio in modo da portare il punto di misura a diverse profondità in acqua nell'intervallo 3-25 cm. La profondità di misura voluta si ottiene attraverso misure di distanza tra la finestra di ingresso e un punto di riferimento sul supporto dell'ampolla.

Sistema per il flussaggio del gas

Il sistema per immettere l'idrogeno nell'acqua dell'ampolla consiste di una bombola di idrogeno con un regolatore di pressione, un flussimetro e un cilindro di vetro (300 cm³) per far gorgogliare idrogeno nell'acqua contenutavi. L'ampolla di vetro, con all'interno i microtermistori, viene connessa al cilindro di vetro per mezzo di un adattatore progettato per evitare ogni contaminazione dell'acqua dell'ampolla da parte dell'aria. L'acqua idrogenata passa dal cilindro all'ampolla attraverso le tubazioni del circuito, realizzate in teflon o vetro.

Il sistema usato per la produzione dell'acqua ad elevata purezza è costituito da un demineralizzatore, da un sistema di filtrazione a osmosi inversa, da un contenitore di 60 litri in polipropilene equipaggiato con una lampada UV a 254 nm per la fotoossidazione delle eventuali impurezze organiche e da una unità di ultrafiltrazione. L'acqua ad elevata purezza prodotta da

questo sistema ha una resistività di circa 18,2 MΩ cm a 298,15 K, misurata al momento del prelievo dall'unità di ultrafiltrazione.

Circuito di misura del calorimetro

Ponte di Wheatstone

Il ponte di Wheatstone del calorimetro TOP può operare sia in AC che in DC. Due bracci opposti del ponte sono costituiti da resistori a film metallico di alta precisione (stabilità in temperatura di 0,6 ppm/K, accuratezza dello 0,01%). In ciascuno degli altri due bracci del ponte è montato un microtermistore, per aumentare la sensibilità della misurazione. I microtermistori montati sono stati selezionati all'interno di un gruppo, in modo da presentare, alle temperature di lavoro del calorimetro, valori della sensibilità e della resistenza il più possibile simili. La variazione di resistenza del microtermistore è misurata come una variazione della tensione di uscita dal ponte. Il segnale di tensione in uscita è inviato ad un amplificatore *lock-in* a due fasi (modo AC) o, alternativamente, ad un amplificatore in continua (modo DC). Il ponte è bilanciato con resistori a decade di alta precisione (stabilità in temperatura di 5 ppm/K, accuratezza dello 0,01%).

Caratteristiche dei microtermistori

Per le misure calorimetriche è necessario conoscere come varia, in funzione della temperatura T (a partire da una temperatura di riferimento T₀), la resistenza R dei termistori utilizzati. La relazione fra R e T è:

$$R = R_0 e^{\beta \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right)}$$

dove β è una costante caratteristica del materiale dei microtermistori. I microtermistori usati nel calorimetro e nel circuito del ponte sono stati selezionati in modo da presentare valori della sensibilità e della resistenza molto simili. La misura del parametro β è stata fatta variando la temperatura dell'acqua rispettivamente di ±3 K intorno a 277,15 K e ±5 K intorno a 297,15 K, le due possibili temperature di lavoro. Le temperature sono state misurate con strumenti riferibili ai campioni nazionali di temperatura. La resistenza dei microtermistori è stata misurata utilizzando il ponte di Wheatstone associato al calorimetro.

Calcoli di trasporto di calore

Calcoli del trasporto di calore nelle diverse parti del calorimetro (a seguito dell'irraggiamento) sono stati necessari per ottimizzare le dimensioni dell'ampolla e le procedure relative ad alcune fasi di misura (durata dell'irraggiamento, durata della fase di bilanciamento del ponte, ecc.). Per questi calcoli è stato utilizzato un metodo molto accurato per ottenere le soluzioni numeriche delle equazioni che descrivono il trasporto del calore per conduzione e convezione in un fluido. È stato utilizzato il codice FORTRAN ANSYS (6) tenendo conto degli effetti di conduzione e convezione derivanti in particolare dai gradienti di temperatura dovuti all'eccesso di calore che si genera nei materiali irraggiati diversi dall'acqua.

Per la soluzione delle equazioni non lineari della dinamica dei fluidi è stato utilizzato il metodo numerico agli "elementi finiti" (7) applicato a geometrie complesse a tre dimensioni e in condizioni non necessariamente simmetriche, quali quelle esistenti nelle situazioni sperimentali considerate.

Risultati

Parametri dei microtermistori

La determinazione parametro β dei microtermistori è stato fatta interpolando i dati sperimentali (valori di R in corrispondenza di T) con una curva del tipo:

$$\ln R = \ln R_0 - \beta/T_0 + \beta/T$$

I risultati della determinazione di β sono mostrati in Figura 4 (277.15 K). I valori di β ottenuti per i quattro microtermistori (T3, T6, T7 e T9 nella figura) sono riportati nella legenda di Figura 4.

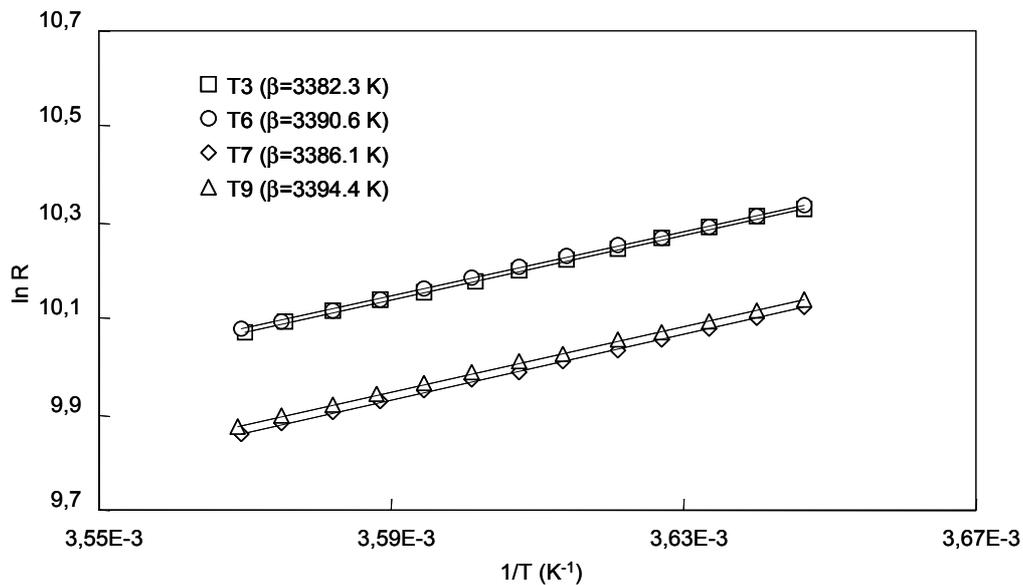


Figura 4. Logaritmo della resistenza del microtermistore in funzione dell'inverso della temperatura (temperatura media 277,15 K, escursione ± 3 K)

Per entrambe le temperature i valori di β (e quindi della sensibilità del microtermistore) dei quattro microtermistori differiscono al più dello 0,3%. Per un dato microtermistore, β varia di circa il +2% cambiando la temperatura di lavoro da 277,15 K a 297,15 K.

Calcoli di trasporto di calore

Le curve in Figura 5 mostrano l'aumento di temperatura al centro dell'ampolla dovuto all'eccesso di calore generato nella parete di vetro dell'ampolla in corrispondenza ad una dose assorbita di 2 Gy, impartita in circa 1 min. La differenza di temperatura tra il vetro dell'ampolla e l'acqua all'interno dell'ampolla determina effetti di conduzione e convezione all'interno dell'ampolla. Gli effetti di convezione sono comunque trascurabili, anche a 297,15 K. L'aumento di temperatura in P dopo un irraggiamento è inferiore allo 0,3% entro 60 s dalla fine dell'irraggiamento. Quindi, per determinare la dose assorbita, un'extrapolazione lineare della

curva di deriva del segnale post-irraggiamento al tempo corrispondente alla metà dell'irraggiamento, può essere effettuata solo se questa estrapolazione è basata sui dati di uscita in tensione del ponte relativi al più ai primi 60 s dalla fine dell'irraggiamento. Per i valori di dose e tempi di irraggiamento comunemente utilizzati come condizione sperimentale, (un singolo ciclo di irraggiamento, dopo il quale è necessario ristabilire le condizioni di equilibrio termico iniziale, ossia una deriva dell'ordine di $0,1 \mu\text{V}/\text{min}$), l'aumento di temperatura in P dovuto all'eccesso di calore nel vetro dell'ampolla è trascurabile, se ci si limita ad utilizzare i dati di uscita relativi ai primi 45 s dopo la fine dell'irraggiamento.

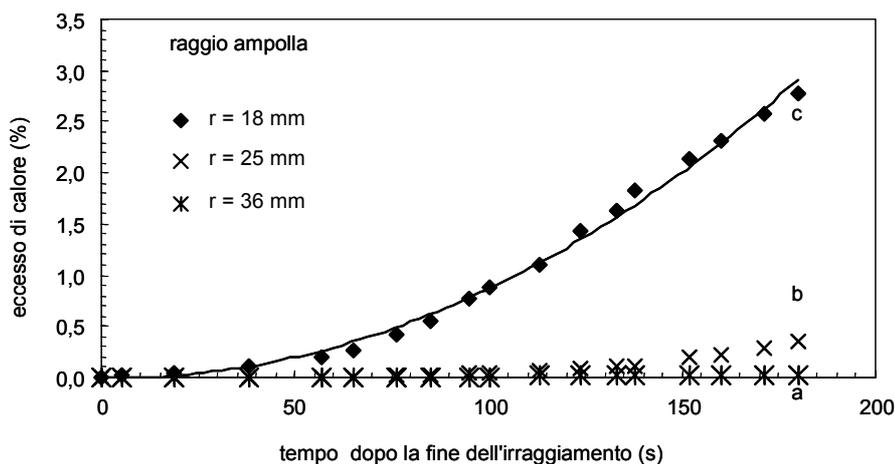


Figura 5. Aumento di temperatura nel punto di misura in acqua per ampole di raggio differente e spessore della parete di 0.3 mm, in funzione del tempo trascorso dalla fine dell'irraggiamento. Le curve si riferiscono ad ampole di raggio pari a 36 mm ("a"), 25 mm ("b") e 18 mm ("c")

Misure con il ponte in AC e in DC

Nel modo di operazione AC, la misura della tensione d'uscita del ponte dipende dalla reattanza del circuito, generata dalla induttanza e dalla capacità dei cavi e resistori. Nell'amplificatore *lock-in* a due fasi, la componente in fase V_x e la componente in quadratura V_y del segnale d'uscita sono determinate, rispettivamente, dai carichi resistivi e induttivi e/o capacitivi del circuito.

Nel modo operativo differenziale il valore ottimale della frequenza di lavoro è risultato essere quello in cui la componente in quadratura del segnale in uscita dal *lock-in*, $(A-B)_y$, è minima.

Per questa analisi sono stati utilizzati cavi di differente lunghezza. La Figura 6 mostra la variazione dell'uscita $(A-B)_y$ in funzione della frequenza, per tre valori della lunghezza di uno stesso tipo di cavo (avente circa $250 \text{ pF}/\text{m}$ di capacità). Le curve $(A-B)_y$ mostrano un minimo ad un valore di frequenza che dipende dalla lunghezza del cavo.

La frequenza corrispondente al minimo diminuisce all'aumentare della lunghezza del cavo e varia da 45 Hz a 8 Hz per valori della lunghezza del cavo tra 1 m e 25 m.

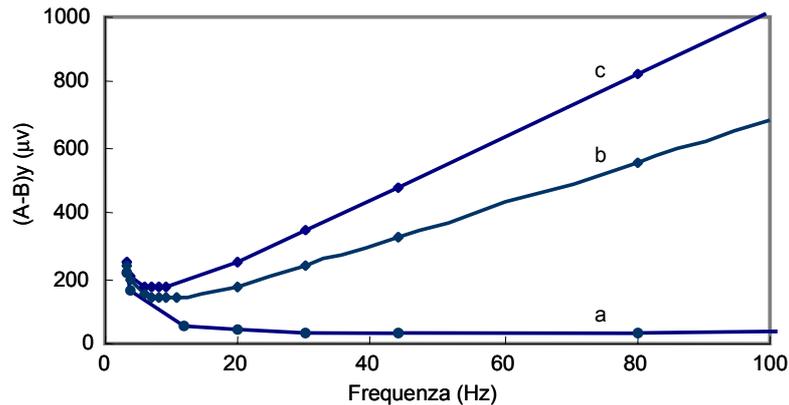


Figura 6. Uscita del *lock-in*, $(A-B)_y$, in funzione della frequenza dell'alimentazione in AC, per tre cavi dello stesso tipo (di circa 250 pF/m) e differente lunghezza: 1 m (curva "a"), 15 m (curva "b") e 25 m (curva "c")

Del fenomeno si ha una migliore comprensione se si considera (Figura 7) il segnale netto (curva "b"), ottenuto sottraendo all'uscita totale $(A-B)_y$, (curva "c") il segnale di uscita "intrinseco" del *lock-in* (curva "a"), determinato inviando ai due canali A e B del *lock-in*, attraverso due cavi di 20 cm di lunghezza, lo stesso segnale fornito dalla sorgente AC del ponte. I risultati sono mostrati in Figura 7, riferita ad un cavo da 250 pF/m di 25 m di lunghezza. Si trova che il segnale netto (curva "b") cresce linearmente con la frequenza.

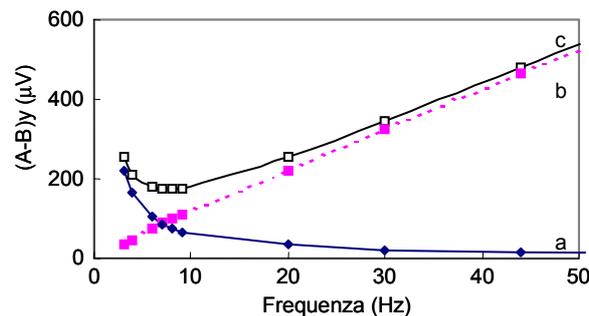


Figura 7. Dipendenza dell'uscita in quadratura del *lock-in*, $(A-B)_y$, in funzione della frequenza dell'alimentazione in AC. La curva "a" mostra il segnale di uscita intrinseco del *lock-in*, la curva "b" mostra il segnale netto di uscita e la curva "c" è il segnale di uscita totale del *lock-in* quando si usi un cavo di 250 pF/m, della lunghezza di 25 m

La scelta fra i modi AC e DC è stata fatta dopo il confronto della riproducibilità di misura ottenuta nelle due configurazioni. È risultato che per valori della potenza dissipata inferiori a 10 μW , la riproducibilità con il sistema in AC è migliore di quella ottenuta in DC. Per potenze dissipate superiori a 10 μW , i modi AC e DC sono sostanzialmente equivalenti.

È stata anche determinata la stabilità del sistema di misura durante una misurazione continua di circa un'ora nei due modi AC e DC (Figura 8). Il vantaggio del sistema AC risulta evidente. I livelli di rumore (circa 0,03 μV) sono risultati simili per i due modi di operazione. Lavorando in configurazione DC è stata osservata una deriva casuale di circa 0.1 μV per ora, mentre tale deriva è risultata trascurabile in configurazione AC.

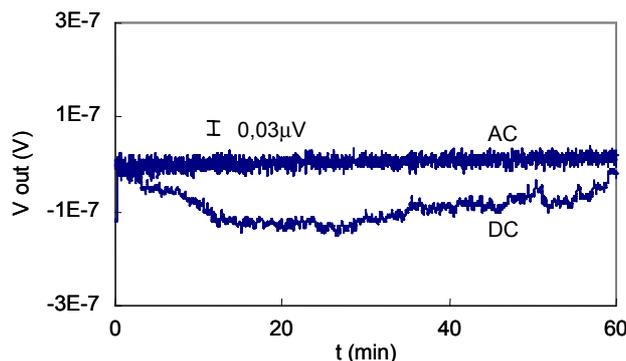


Figura 8. Le curve (AC) e (DC) mostrano la stabilità del sistema per misurazioni (ponte+alimentatore+amplificatore) funzionante (per circa 1 h) rispettivamente in AC e DC

Prestazioni del calorimetro

Controllo della stabilità termica

Il valore ottimale della deriva termica in condizioni di equilibrio, prima di iniziare un irraggiamento singolo, alla temperatura di lavoro di 277,15 K, è di circa 0,03 $\mu\text{V}/\text{min}$, che corrispondono a circa 4,5 $\mu\text{K}/\text{min}$. La stabilità termica del calorimetro raggiungibile a 277,15 K è dell'ordine della decina di microkelvin per minuto, per periodi di 15 ÷ 20 min. Questo livello di stabilità termica si raggiunge tipicamente (partendo dalla temperatura ambiente), dopo 5 ore dall'accensione del sistema di termostatazione, agendo opportunamente sui controlli di cui si dispone per la regolazione fine della temperatura di lavoro, che consistono nel modificare la temperatura del termocriostato a passi di 0,01 K e nell'agitazione dell'acqua nella vasca calorimetrica mediante l'agitatore a palette (vedi Figura 1). La stabilità della temperatura nell'intercapedine è dell'ordine dei centesimi di kelvin per ora, per fluttuazioni tipiche della temperatura ambiente dell'ordine di ± 1 K nel corso di una giornata.

Misure preliminari in fasci di elettroni

Le prove in condizioni di irraggiamento sono state effettuate utilizzando un fascio di elettroni da 18 MeV prodotto dal Microtrone dell'Istituto Nazionale di Metrologia delle Radiazioni Ionizzanti dell'ENEA-Casaccia e con il calorimetro operante a 277,15 K. La scelta di operare alla temperatura di 277,15 K, anziché alla temperatura ambiente, è derivata dal fatto che in certe condizioni sperimentali (fasci con distribuzione di dose ad elevato gradiente nella regione dell'ampolla e nei suoi immediati dintorni) gli effetti convettivi possono risultare di non trascurabile entità. È stato usato un fascio di dimensioni 10 cm x 10 cm con SSD = 100 cm. Il rateo di dose utilizzato è stato di circa 1,8 Gy/min alla profondità in acqua di 3,7 cm. La Figura 9 mostra un esempio di deriva del segnale in uscita dal calorimetro non partendo da una situazione di equilibrio, ma dopo aver effettuato diversi irraggiamenti consecutivi (curva "a"). Anche con questi valori di deriva, dell'ordine di 0,2 $\mu\text{V}/\text{min}$ e sufficientemente lineari nell'intervallo di tempo di 5 min, è possibile effettuare misurazioni con risultati simili a quelli ottenuti in condizioni di deriva termica più ridotta. Il livello di rumore (curva "b") è dell'ordine di 0,1 μV , utilizzando, come parametri tipici del *lock-in*, una tensione di alimentazione di 0,3 V, corrispondente ad una potenza dissipata di circa 1 μW , e una costante di integrazione di 0,5 s.

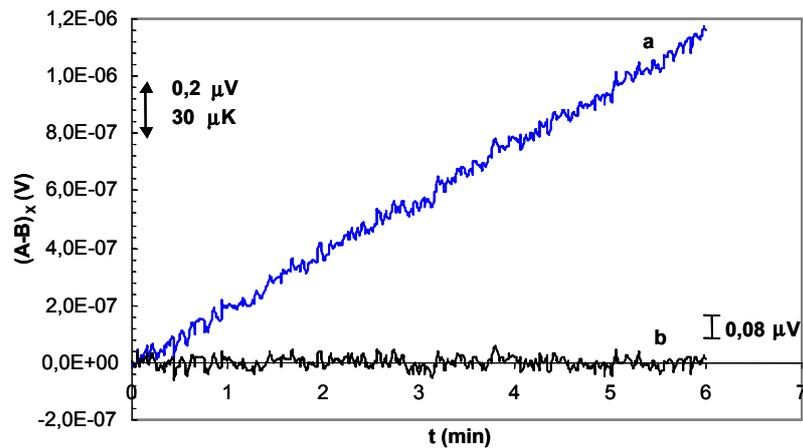


Figura 9. Esempio del segnale in uscita dal calorimetro:
 la curva "a" mostra la deriva di riscaldamento, di $0,2 \mu\text{V}/\text{min}$ (corrispondenti a $30 \mu\text{K}/\text{min}$);
 la curva "b" mostra il segnale che si ottiene sottraendo alla curva "a" il valor medio della deriva,
 e indica il valore del rumore tipico, dell'ordine di $0,1 \mu\text{V}$, ottenuto con i seguenti parametri
 del *lock-in*: $V_{in} = 0,3 \text{ V}$, sensibilità = $2 \mu\text{V}$, costante di tempo = $0,5 \text{ s}$

La Figura 10 mostra il segnale di tensione corrispondente alla variazione di temperatura dell'acqua calorimetrica a seguito di un irraggiamento, alla temperatura iniziale di $277,15 \text{ K}$, in un fascio di elettroni da 18 MeV , con un rateo di dose di circa $2 \text{ Gy}/\text{min}$, alla profondità di misura di $3,7 \text{ cm}$ e una SSD di 100 cm (curva "a"). La potenza elettrica dissipata nei microtermistori è di circa $1 \mu\text{W}$. La deriva termica di pre-irraggiamento è dell'ordine di $0,16 \mu\text{V}/\text{min}$ ($24 \mu\text{K}/\text{min}$) deve essere stata sottratta alla curva "a" per ottenere valori corretti di variazione di T, tramite la curva "b".

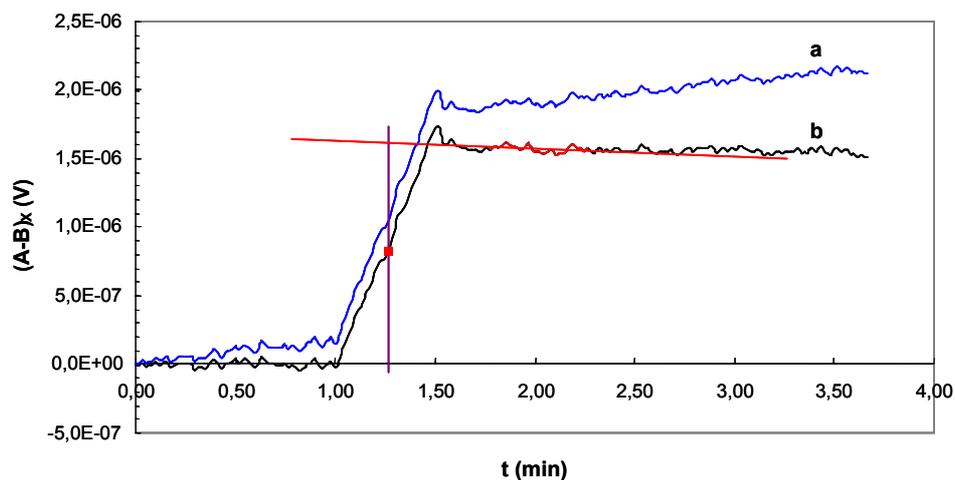


Figura 10. Esempio di una variazione di temperatura dovuta a un irraggiamento con un fascio di elettroni da 18 MeV ad un rateo di dose di circa $2 \text{ Gy}/\text{min}$. Profondità di misura in acqua: $3,7 \text{ cm}$, SSD = 100 cm (curva "a"). La curva "b" è ottenuta sottraendo opportunamente dalla curva "a" la deriva termica

Nei primi secondi dopo la fine dell'irraggiamento si vede come il segnale diminuisca rapidamente in corrispondenza ad un raffreddamento (nel punto di misura) dovuto al calore dissipato per conduzione lungo il capillare e i fili di Pt-Ir del microtermistore. La regione della curva in corrispondenza del raffreddamento non è utilizzata per la determinazione della retta che meglio interpola il segnale di post-irraggiamento.

Conclusioni

Il programma di misure che si prevede di attuare nell'immediato futuro è anzitutto legato allo studio delle condizioni di riproducibilità delle misure calorimetriche e al suo miglioramento. A tal fine possono essere usati fasci di radiazione anche diversa dai protoni (ad es. elettroni o fotoni). Una difficoltà per lo sviluppo di tale programma deriva da problemi di instabilità del fascio di elettroni da 18 MeV del Microtrone dell'ENEA-INMRI. Questi problemi limitano al momento la valutazione del livello di riproducibilità a valori compresi fra l'1 e il 2%. La possibilità di mettere a punto il fascio di radiazione presso l'ENEA-INMRI o di disporre di fasci alternativi è la principale condizione per la definitiva messa a punto del sistema calorimetrico. Pur non avendo ancora effettuato misure dirette in fasci di protoni, dalle prove e dalle caratteristiche dello strumento sopra descritte, si può concludere che il calorimetro può essere utilizzato, con analoghe prestazioni a quelle qui descritte, anche in fasci di protoni purché con energia superiore a 80 MeV. Ad energie più basse si prevede una maggiore incertezza di misura che però non è ancora rigorosamente valutata.

Ringraziamenti

Gli autori esprimono i loro ringraziamenti a Steve Domen (NIST, USA) per i suoi suggerimenti nella fase iniziale di realizzazione del calorimetro.

Bibliografia

1. Domen SR. A sealed water calorimeter for measuring absorbed dose. *J Res Natl Inst Stand Technol* 1994;99:121-141.
2. Seuntjens J, Palmans H. Correction factors and performance of a 4 °C sealed water calorimeter. *Phys Med Biol* 1999;44:627-646.
3. Williams AJ, Rosser KE. A Comparison of A.C. and D.C. Wheatstone Bridges for the Purpose of High Precision Temperature Measurement. In: Williams AJ, Rosser KE (Ed.). *Recent Advances in Calorimetric Absorbed Dose Standards*. Proceedings of the NPL Workshop on Calorimetric Absorbed Dose Standards. Teddington (UK). NPL Report CIRM 42; 2000. p. 120-129.
4. Guerra AS, Fattibene P, Gargioni E, Laitano RF, Onori S, Petrocchi A. Preliminary Measurement Results by Water Calorimetry at ENEA. In: Williams AJ, Rosser KE (Ed.). *Recent Advances in Calorimetric Absorbed Dose Standards*. Proceedings of the NPL Workshop on Calorimetric Absorbed Dose Standards. Teddington (UK). NPL Report CIRM 42; 2000. p. 30-36.
5. Klassen NV, Ross CK. Water Calorimetry: The Heat Defect. *J Res Natl Inst Stand Technol* 1997;102:63-74.
6. ANSYS Code version 5.2 manufactured by ANSYS Inc. 275 Technology Drive, Canonsburg, PA 15317.
7. Reddy JO. *An Introduction to the Finite Element Method*. New York: J Wiley & Sons; 1995.

DOSIMETRIA AD ALANINA

Sandro Onori (a), Paola Fattibene (a), Cinzia De Angelis (a), Erminio Petetti (a), Francesco d'Errico (b), Emmanuel Egger (c), Igor Janovski (d), Roberto Cherubini (e), Giacomo Cuttone (f),

Antonio Bartolotta (g), Andrzej Kacperek (h)

(a) *Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità e Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione Roma 1, Gruppo collegato Sanità, Roma*

(b) *Università di Pisa e Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione di Pisa, Pisa*

(c) *Paul Scherrer Institut (PSI), Villigen, Switzerland*

(d) *Nuclear Research Institute (NRI), Rez, Czech Republic*

(e) *Laboratori Nazionali di Legnaro, Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Legnaro*

(f) *Laboratori Nazionali del Sud, Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Catania*

(g) *Istituto Farmacochimico, Università di Palermo, Palermo*

(h) *Douglas Cyclotron Unit, Clatterbridge Centre for Oncology (CCO), Bebington (UK)*

Introduzione

La prima proposta di utilizzare l'amminoacido alanina come materiale per dosimetria risale al 1962 (1). È, comunque, solo nel 1980 che la dosimetria ad alanina diviene competitiva rispetto ad altri metodi dosimetrici. A questo risultato hanno contribuito molti gruppi di ricerca in campo internazionale, a cominciare dal *Gesellschaft für Strahlen und Umweltforschung* (GSF), in Germania, presso il quale è stato realizzato, ad opera di Regulla e collaboratori, un dosimetro ad alanina a stato solido usando la paraffina come materiale legante (2). In seguito, sulla base di questa esperienza iniziale, molti laboratori, fra i quali l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) in Italia (3), il *National Physical Laboratory* (NPL) in Inghilterra (4), il *National Institute for Standards and Technology* (NIST) in USA (5), hanno contribuito, con un'intensa attività di ricerca e sviluppo, alla definitiva accettazione del metodo da parte della comunità scientifica. La dosimetria ad alanina è internazionalmente riconosciuta come dosimetro di trasferimento per la misura delle alte dosi (applicazioni industriali delle radiazioni ionizzanti) ed è al momento utilizzata come dosimetro di trasferimento nell'ambito dell'*International Dose Assurance Service* (IDAS) gestito dalla *International Atomic Energy Agency* (IAEA) (6). Grazie ai progressi che si sono registrati nel settore negli ultimi anni, la dosimetria ad alanina è oggi oggetto di una norma ISO (7). Fino agli inizi degli anni novanta, tutte le informazioni disponibili erano relative all'utilizzo dell'alanina in fasci di fotoni e elettroni. Ma a causa delle numerose proprietà positive di questi dosimetri, quali l'elevata precisione, la tessuto equivalenza, la debole dipendenza energetica, l'assenza di *fading*, la lettura non distruttiva, era naturale l'interesse per un loro utilizzo anche in fasci di protoni. Alcuni studi preliminari (8-10) suggerirono di approfondire l'argomento. In linea di principio la dosimetria ad alanina poteva avere un campo di applicazione molto vasto, dalla dosimetria di base a quella clinica e di trasferimento. Poiché però altri sistemi dosimetrici, quali camere a ionizzazione, diodi al silicio, rivelatori a diamante e film gaferomici potevano offrire soluzioni più idonee per la dosimetria di base e clinica, nell'ambito del Progetto TOP (Terapia Oncologia con Protoni) si è preferito indagare maggiormente la possibilità di utilizzo dell'alanina come dosimetro di trasferimento. In generale, nella dosimetria di trasferimento proprietà quali la robustezza, la possibilità di essere spediti per posta, l'assenza di *fading*, la precisione sono di preminente importanza. Nel caso specifico della dosimetria in fasci di protoni è inoltre fondamentale disporre di un dosimetro di dimensioni contenute, con una sensibilità non dipendente dall'energia in un ampio intervallo e con caratteristiche di tessuto equivalenza.

Nell'ambito del Progetto TOP è stata effettuata una caratterizzazione dei dosimetri ad alanina prodotti dall'ISS in fasci di protoni, clinici e non, nell'intervallo 1 MeV-200 MeV con l'obiettivo di un loro utilizzo nella dosimetria di trasferimento (11-17).

Descrizione del metodo

L'alanina è un amminoacido in cui la radiazione ionizzante produce radicali liberi stabili. L'alanina disponibile commercialmente è in polvere policristallina e, pertanto, per ottenere un dosimetro a stato solido è necessario un opportuno legante. Il legante dovrebbe essere il più possibile tessuto equivalente e la radiazione ionizzante non deve indurvi radicali. Presso l'ISS inizialmente i dosimetri erano realizzati utilizzando la paraffina come legante (3). La preparazione con paraffina è però piuttosto lunga e laboriosa, per cui negli ultimi anni ci si è orientati verso una miscela a base di polietilene in polvere a densità ultra bassa che ha consentito di ottenere una misura a 10 Gy con un'incertezza complessiva dell'1% (1σ). Dettagli sulla preparazione dei dosimetri alanina-polietilene in pasticche di spessore 1 e 2 mm si possono trovare in De Angelis *et al.* (18). I risultati riportati nel presente rapporto sono stati ottenuti con dosimetri alanina-paraffina realizzati presso l'ISS e i dosimetri di spessore 250 μ m sono invece stati forniti da Janovsky.

I radicali liberi indotti dalla radiazione ionizzante vengono rivelati attraverso la tecnica di risonanza paramagnetica elettronica (*Electron Paramagnetic Resonance*, EPR). La concentrazione di radicali, e quindi l'intensità del segnale EPR, crescono linearmente con la dose fino a circa 5 kGy. I risultati presentati nel seguito sono stati ottenuti con dosimetri tarati con una sorgente di ^{60}Co e sono riferibili ai campioni internazionali di dose in acqua tramite il *National Physical Laboratory* (NPL), Teddington, Inghilterra.

Risultati

Segnale e forma di riga

Il meccanismo, che dall'assorbimento iniziale di energia porta alla formazione del radicale stabile nell'alanina, non è ancora stato chiarito. Esiste la possibilità che radiazioni di diversa qualità inducano radicali stabili diversi. Per questo motivo, preliminarmente alla caratterizzazione della risposta dosimetrica dell'alanina in fasci di protoni, si è proceduto all'analisi del segnale EPR. Non sono state riscontrate differenze nei segnali rivelati in dosimetri irraggiati in fasci di protoni e in fasci di fotoni, da cui si può concludere che entrambe le radiazioni inducono lo stesso tipo di radicale libero (14).

Linearità

La linearità di risposta dell'alanina con la dose è stata verificata in diversi fasci con energia compresa fra 1 e 60 MeV, in differenti intervalli di dose tra 10 e 1000 Gy. In particolare, a 60 MeV la linearità è stata verificata sia in fasci modulati che non modulati (14).

Fading

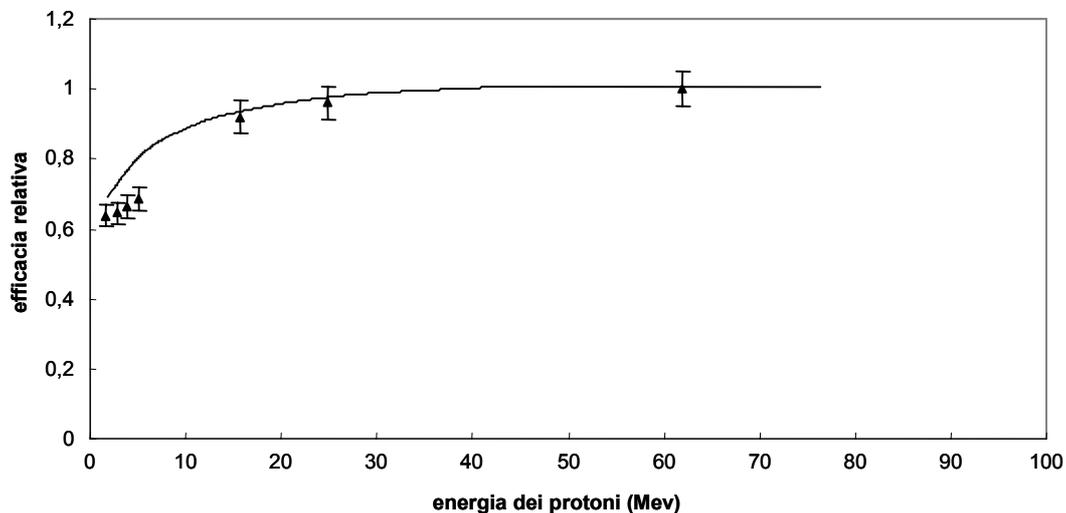
La stabilità dei radicali radioindotti in alanina è stata verificata in dosimetri irraggiati nell'intervallo 50-250 Gy con un fascio clinico da 60 MeV. I dosimetri sono stati ripetutamente

misurati per circa un anno conservandoli in condizioni ambientali. Non si è osservata alcuna significativa riduzione del segnale confermando i risultati ottenuti in fasci di fotoni e elettroni (14).

Efficacia relativa

La maggior parte dell'attività è stata finalizzata alla determinazione dell'efficacia relativa (*Relative Effectiveness*, RE) dei protoni rispetto alla radiazione γ del ^{60}Co nella produzione dei radicali nell'alanina. L'efficacia relativa è stata calcolata come rapporto tra la risposta dell'alanina convertita in dose al cobalto attraverso la curva di taratura e la dose di protoni fornita dalla camera a ionizzazione usata come riferimento. Nel caso vi sia un gradiente di dose all'interno dello spessore dei dosimetri, la RE che si misura è un valore medio.

I dosimetri sono stati alloggiati in fantocci acqua-equivalenti. Nel caso dei fasci clinici gli irraggiamenti sono stati effettuati al centro del picco modulato e/o ad una profondità di 5 mm (acqua-equivalente) nel caso del picco non modulato. Gli irraggiamenti sono stati effettuati direttamente all'ingresso del picco nel caso dei fasci di bassa energia. Dettagli sulle disposizioni sperimentali sono riportati in (11, 12, 14). I risultati complessivi sono mostrati in Figura 1.



**Figura 1. Efficacia relativa media tra 1 e 70 MeV.
Confronto fra modello (linea continua) (19) e dati sperimentali**

A 200 MeV l'efficacia relativa, valutata all'ingresso del picco non modulato, è risultata pari a $1 \pm 6\%$.

A 60 MeV, per tutti i valori di dose, l'efficacia relativa è risultata inferiore ad 1, con un valore medio di 0,97 sia per il fascio modulato che non modulato. Tuttavia, questo valore non può essere considerato significativo perché compreso nell'incertezza sperimentale (6%).

Nell'intervallo 18-26 MeV l'efficacia relativa è stata determinata presso l'acceleratore Tandem degli LNS (Laboratori Nazionali del Sud) utilizzando dosimetri di 1 mm. In questo caso è risultata evidente una dipendenza della sensibilità dell'alanina dall'energia (o dal LET). Si è ottenuto $RE = 0,92$ a 13,7 MeV e $RE = 0,96$ a 24,3 MeV. In questo caso la determinazione della RE è stata affetta da un'incertezza più grande perché, oltre al 5% dell'incertezza stocastica combinata delle letture Markus e alanina, è necessario considerare altri contributi, quali la presenza di gradienti di dose non lineari all'interno dello spessore del dosimetro che rendono

non corretta la scelta del punto effettivo di misura al centro del dosimetro. Questi effetti non sono stati quantificati.

Nell'intervallo 1,6-6,1 MeV gli irraggiamenti sono stati effettuati presso i LNL con un acceleratore Van de Graaff da 7 MeV. Dettagli sulla linea di fascio e la geometria di irraggiamento sono descritti in (11). La perdita di sensibilità dei dosimetri ad alanina al diminuire dell'energia si osserva chiaramente in Figura 2 dove sono riportate le curve dose-risposta a diverse energie. Poiché in questo intervallo di energia il range dei protoni in acqua è inferiore allo spessore dei dosimetri, si è nella condizione di completo assorbimento del fascio.

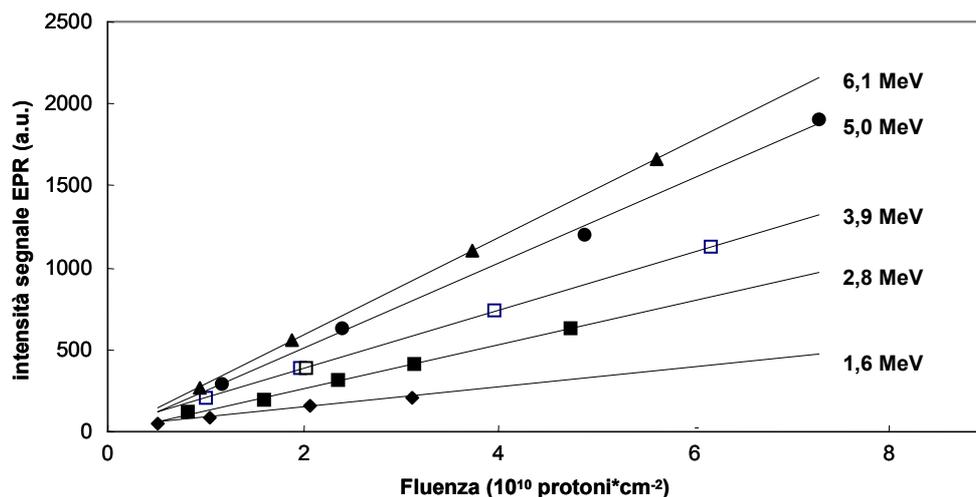


Figura 2. Curve di taratura di dosimetri ad alanina per cinque diversi valori di energia nell'intervallo 1,6-6,1 MeV

Quindi il valore riportato di RE è in effetti un valore mediato sulla porzione del volume del dosimetro effettivamente irraggiata. I valori di RE riportati in Figura 1 non sono stati quindi ottenuti in condizioni omogenee perché a 60 e 200 MeV i dosimetri possono essere considerati sottili e si è nelle condizioni di trasmissione del fascio. Nell'intervallo 13-23 MeV solo una parte dei protoni attraversa il dosimetro e le condizioni di irraggiamento non possono essere considerate né di completo assorbimento né di trasmissione del fascio. Nonostante ciò i dati di Figura 1 mostrano una buona consistenza.

Misure di dose in profondità

Le misure di distribuzione di dose in profondità sono state effettuate nei fasci clinici del PSI (60 MeV, 200 MeV, modulati e non modulati) irraggiando una pila di dosimetri ad alanina contenuti in un opportuno fantoccio acqua-equivalente. In tutti i casi i valori di dose misurati con l'alanina sono stati confrontati con i valori determinati con camera a ionizzazione Markus. Alcuni esempi dei risultati ottenuti in fasci non modulati sono mostrati nelle Figure 3, 4 e 5, mentre in Figura 6 è mostrato un esempio di risultato ottenuto in fascio modulato.

Dall'esame delle Figure 3 e 6 relative al fascio clinico da 200 MeV si può notare un buon accordo fra le dosi misurate con alanina e quelle misurate con camera Markus. La massima differenza è risultata del 2%, inferiore all'incertezza combinata dei due metodi (6%).

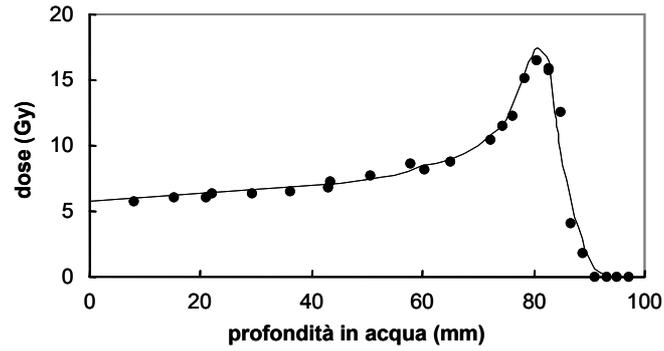


Figura 3. Confronto fra le dosi in profondità misurate in un picco di Bragg non modulato da 200 MeV con dosimetri ad alanina (pallini) e camera Markus (linea continua)

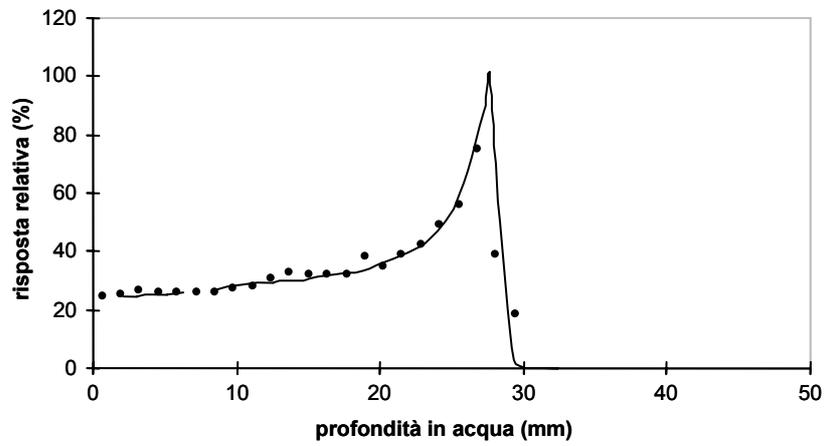


Figura 4. Confronto fra le dosi in profondità misurate in un picco di Bragg non modulato da 60 MeV con dosimetri ad alanina (pallini) e camera Markus (linea continua)

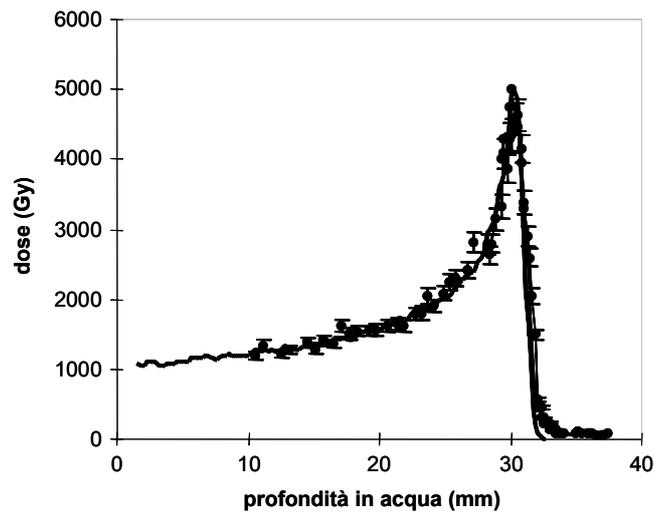


Figura 5. Confronto fra le dosi in profondità misurate in un picco di Bragg non modulato da 60 MeV con film ad alanina (pallini) e camera Markus (linea continua)

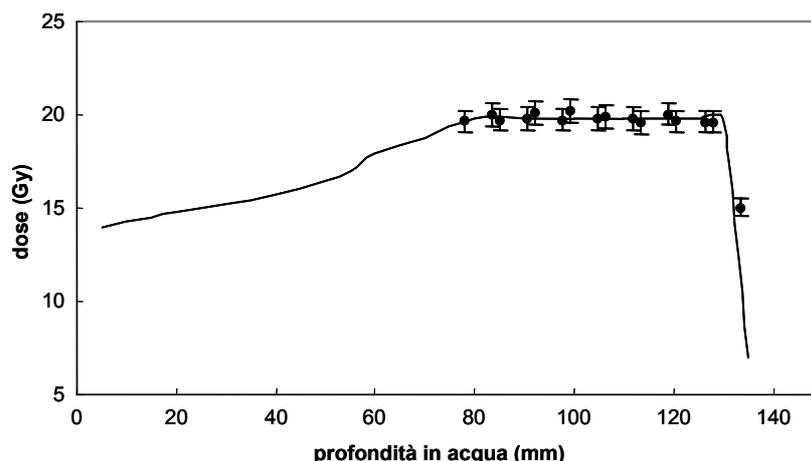


Figura 6. Confronto fra le dosi in profondità misurate in un picco di Bragg modulato da 60 MeV con film ad alanina (pallini) e camera Markus (linea continua)

Nel caso invece del fascio da 60 MeV i dosimetri ad alanina di spessore 1 mm non sono risultati idonei a causa dello spessore troppo elevato che non fornisce la risoluzione adeguata (cfr. Figura 4). Le misure effettuate sullo stesso fascio ma con film ad alanina di 250 mm mostrano invece un sostanziale accordo con i valori di dose ottenuti con camera Markus. Il rapporto dose picco/dose ingresso misurato con alanina è risultato del 5% inferiore a quello misurato con camera Markus in sostanziale accordo con i valori di RE determinati in fasci monoenergetici.

Verifica dei piani di trattamento

I dosimetri ad alanina sono stati utilizzati per la verifica di piani di trattamento, sia in fantoccio omogeneo che antropomorfo, utilizzando il fascio da 60 MeV del PSI. Un esempio di confronto fra le dosi calcolate e quelle misurate in fantoccio antropomorfo Alderson è mostrato in Figura 7.

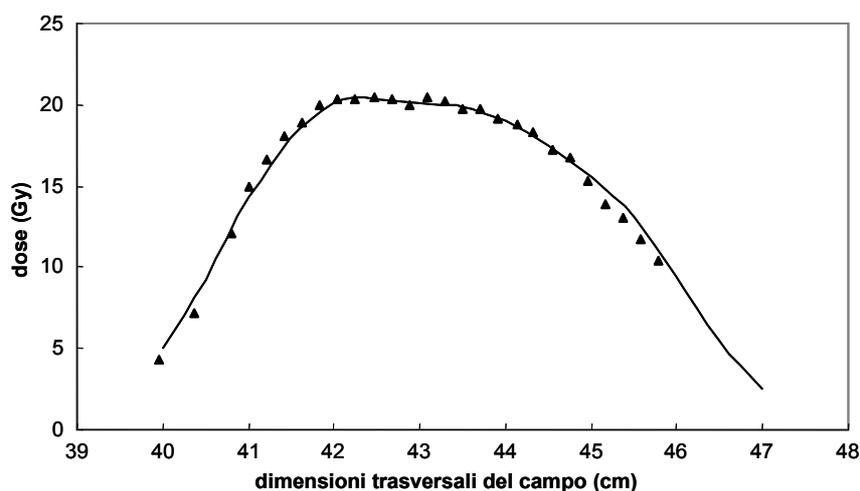


Figura 7. Confronto fra le dosi misurate in un trattamento simulato in fantoccio antropomorfo con fascio da 200 MeV con dosimetri ad alanina (pallini) e i valori calcolati con il sistema di piani di trattamento (linea continua)

Interconfronto

Nel settore della terapia protonica, così come più in generale in tutta la radioterapia, vi è la necessità di effettuare interconfronti dosimetrici periodici fra i vari centri (20). Gli interconfronti costituiscono, infatti, un elemento fondamentale nel processo globale del miglioramento continuo della qualità delle prestazioni radioterapiche, garantendo, inoltre, una comune riferibilità dei dati dosimetrici. Gli interconfronti necessitano di un organismo indipendente esterno che utilizzi il proprio sistema dosimetrico, tarato rispetto al campione nazionale di dose assorbita, come riferimento. Alla luce dei risultati ottenuti nell'ambito del Progetto TOP, in collaborazione con il CCO in Gran Bretagna, è in fase di organizzazione un interconfronto fra tutti i centri di protonterapia dell'occhio utilizzando l'alanina dell'ISS come sistema di riferimento. Verranno confrontati i valori di dose calcolati e misurati utilizzando un opportuno fantoccio in PMMA (polimetilmetacrilato). I dosimetri ad alanina verranno posizionati a varie profondità, corrispondenti all'ingresso di un fascio non modulato e al centro del picco modulato. Si prevede di effettuare l'interconfronto nel corso del 2002.

Conclusioni

I risultati conseguiti nell'ambito del Progetto TOP confermano molti dei risultati precedentemente ottenuti in fasci di fotoni e elettroni. In particolare si è osservata linearità di risposta con la dose per tutte le energie dei protoni nell'intervallo 1-200 MeV, assenza di *fading* e caratteristiche di tessuto equivalenza. Si è invece riscontrata una perdita di sensibilità al diminuire dell'energia fino ad ottenere valori di RE rispetto al ^{60}Co di circa 0.65 a qualche MeV. Con i dosimetri ad alanina è possibile riprodurre correttamente picchi modulati e non modulati da 200 MeV, mentre le dimensioni dei pellet e la dipendenza energetica non consentono una misura adeguata del picco non modulato a 60 MeV.

I dosimetri ad alanina-polietilene di nuova produzione consentono una misura di dose a 10 Gy con un'incertezza dell'1%. Per tale ragione i dosimetri ad alanina dell'ISS verranno utilizzati come dosimetri di trasferimento per un interconfronto fra i Centri di protonterapia delle patologie oculari.

Bibliografia

1. Bradshaw WW, Cadena DG, Crawford GW, Spetzler HAW. The use of alanine as a solid dosimeter. *Rad Res* 1962;17:11-21.
2. Regulla DF, Deffner U. Dosimetry by ESR spectroscopy of alanine. *Appl Radiat Isot* 1982;33:1101-14.
3. Bartolotta A, Indovina PL, Onori S, Rosati A. Dosimetry for cobalt-60 gamma-rays with alanine. *Radiat Prot Dos* 1984;9:277-81.
4. Sharpe P, Sephton J. An automated system for the measurement of alanine/EPR dosimeters. *Appl Radiat Isot* 2000;52(5):1185-8.
5. Desrosiers M, Nagy V, Puhl J. e-Calibrations: using the internet to deliver calibration services in real time at lower cost. In: *Proceedings of the 12th International Meeting on Radiation Processing. Avignon (France), March 25-30, 2001*. Report IMRP190, V-A1 237 (per maggiori dettagli si consiglia di visitare il sito <http://www.mel.nist.gov/namt/projects/radpro/radproof.htm>).
6. Mehta K. High-dose dosimetry programme of the IAEA. In: *Techniques for high-dose dosimetry in industry, agriculture and medicine*. Vienna: International Atomic Energy Agency; 1999. (Rapporto IAEA-TECDOC-1070). p. 11-20.

7. American Society for Testing and Materials. *Standard practice for use of the alanine-EPR dosimetry system*. West Conshohocken, PA: ASTM; 1995. (Annual Book Standards) (Report ASTM 12.02)
8. Nichiporov D, Kostjuchenko V, Puhl JM, Bensen DL, Desrosiers MF, Dick CE, McLaughlin WL, Kojima T, Coursey BM, Zink S. Investigation of applicability of alanine and radiochromic detectors to the dosimetry of proton clinical beams. *Appl Radiat Isot* 1995;46:1355-62.
9. Hansen JW, Olsen KJ. Theoretical and experimental radiation effectiveness of the free radical dosimeter alanine to irradiation with heavy charged particles. *Radiat Res* 1985;104:15-27.
10. Waligorski MPR, Danialy G, Kim Sun Loh, Katz R. The response of the alanine detector after charged-particle and neutron irradiations. *Appl Radiat Isot* 1989;40:923-33.
11. Fattibene P, De Angelis, Onori S, Cherubini, R. Alanine response to proton beams in the 2.5-6.5 MeV energy range. *Radiat Prot Dosim* 2002;101(1-4):462-4.
12. Bartolotta A, Barone Tonghi L, Cuttone G, Fattibene P, Onori S, Raffaele L, Rovelli A, Sabini MG, Teri G. Response characteristics of thermoluminescence and alanine-based dosimeters to 16 and 25 MeV proton beams. *Radiat Protec Dosim* 1999;85(1-4):354-6.
13. Cuttone G, Raffaele L, Barone Tonghi L, Rovelli A, Sabini MG, Egger E, Kacperek A, Brai M, Bartolotta A, Teri G, Onori S, Fattibene P. First dosimetry intercomparison results for the CATANA project. *Physica Medica* 1999;15(3):121-30.
14. Onori S, d'Errico F, De Angelis C, Egger E, Fattibene P, Janovsky I. Alanine dosimetry of proton therapy beams. *Med Phys* 1997;24:447-53.
15. Fattibene P, Calicchia A, d'Errico F, Onori S. Preliminary assessment of LiF and alanine detectors for the dosimetry of proton therapy beams. *Radiat Protec Dosim* 1996;66(1-4):305-9.
16. Onori S, d'Errico F, De Angelis C, Egger E, Fattibene P, Janovsky I. Proton response of alanine based pellets and films. *Appl Radiat Isot* 1996;47:1201-4.
17. De Angelis C, Fattibene P, Onori S, d'Errico F, Egger E, Janovsky I. ISS alanine dosimetry at PSI therapy proton beam facility. In: *Proceedings of the XX PTCOG Meeting. Chester (England), May 16-18, 1994*. p.10-1.
18. De Angelis C, Fattibene P, Onori S, Petetti E, Bartolotta A, Sansone Santamaria A. Transferability of ASTM/NIST alanine-polyethylene recipe at ISS. *Appl Radiat Isot* 2000;52(5):1197-201.
19. Olko P. The microdosimetric one-hit detector model for calculating the response of solid state detectors. *Radiat Meas* 2002;35:255-67.
20. Thwaites D, Scalliet P, Leer JW, Overgaard J. Quality assurance in radiotherapy. European Society for Therapeutic Radiology and Oncology Advisory Report to the Commission of the European Union for the "Europe Against Cancer Programme". *Radiother Oncol* 1995;35:61-73.

DIAMANTI NATURALI

Cinzia De Angelis (a), Sandro Onori (a), Massimiliano Pacilio (a), Erminio Petetti (a), Luigi Azario (b), Andrea Fidanzio (b), Roberto Miceli (b), Angelo Piermattei (b), Giuseppe Antonio Pablo Cirrone (c), Giacomo Cuttone (c), Luigi Raffaele (c,d), Marta Bucciolini (e), Sandra Mazzocchi (e), Andrzej Kacperek (f)
 (a) Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità e Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione Roma 1, Gruppo collegato Sanità, Roma
 (b) Istituto di Fisica, Università Cattolica del S. Cuore, Roma
 (c) Laboratori Nazionali del Sud (LNS), Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (INFN), Catania
 (d) Istituto di Radiologia, Università di Catania
 (e) Dipartimento di Fisiopatologia Clinica dell'Università, e INFN, Firenze
 (f) Cyclotron Unit, Clatterbridge Centre for Oncology, Bebington, Merseyside (UK)

Introduzione

La terapia conformazionale realizzabile con fasci di protoni implica la presenza di forti gradienti di dose ai bordi del volume da trattare. Inoltre, la deposizione di energia dei protoni in un mezzo (picco di Bragg) è caratterizzata da variazioni sia del rateo che della distribuzione locale (LET, *Linear Energy Transfer*). Questo implica che nella dosimetria di fasci clinici di protoni è necessario utilizzare dosimetri di dimensioni ridotte, la cui risposta sia indipendente dal rateo di dose e dal LET. È per questo motivo che nell'ambito del Progetto TOP (Terapia Oncologica con Protoni) si è deciso di studiare le proprietà di rivelatori al diamante naturale prodotti dalla PTW (*Physikalisch-Technische Werkstätten*) che, oltre alle dimensioni molto contenute (spessore del materiale sensibile 0,25 mm), presentano caratteristiche di tessuto equivalenza e risposta online. Quest'ultima caratteristica è di interesse pratico e consente di avere disponibile immediatamente il dato dosimetrico, a differenza dei sistemi integratori passivi quali TLD (*ThermoLuminescence Dosimetry*) o film.

Al di là di un generico interesse, espresso anche dalla *International Commission on Radiation Units and measurements* (ICRU) (1), esistevano però scarse informazioni sulle proprietà dei diamanti naturali per la dosimetria protonica. In particolare, le informazioni sulle variazioni della sensibilità dei rivelatori con l'energia del fascio di protoni erano carenti e contraddittorie. Secondo i lavori di Vatnitsky *et al.* (2, 3) non vi era nessuna variazione di sensibilità passando dall'ingresso al massimo del picco di Bragg di un fascio di protoni di 250 MeV. In apparente contrasto con questi lavori, Oelfke *et al.* (4) hanno mostrato una diminuzione di sensibilità al picco di un fascio da 70 MeV, indicando che le variazioni di sensibilità potevano essere significative a basse energie (l'energia al picco di un fascio da 70 MeV è di circa 10 MeV). Inoltre, nonostante maggiormente studiati e utilizzati (si veda ad esempio 5-12), i rivelatori a diamante naturale prodotti dalla PTW sembravano mostrare proprietà non chiare anche in fasci di fotoni e elettroni. Per esempio è noto che per stabilizzare la risposta di un rivelatore è necessario preirraggiare lo stesso con una dose di qualche Gy. La PTW suggerisce 5-10 Gy come dose di preirraggiamento, ma non è chiaro se questo valore sia idoneo per tutti i rivelatori di un determinato tipo e se la dose debba essere fornita prima di ogni utilizzo del rivelatore, anche se questo non è stato utilizzato per alcuni minuti, così come riportato da Laub *et al.* (13). Anche proprietà come la dipendenza energetica, la dipendenza angolare, la dipendenza dalla temperatura di irraggiamento non erano riportate in modo omogeneo dai vari autori, e spesso in contrasto con quanto indicato dalla PTW. Per esempio, la PTW riporta come comportamento tipico un aumento di sensibilità in fasci di elettroni rispetto ai fasci di fotoni di alta energia del 2-4%, in contrasto con quanto riportato da Laub *et al.* (13).

Di conseguenza, nell'ambito del Progetto TOP, si è affrontato lo studio delle proprietà dei rivelatori a diamante, sia in fasci convenzionali (fotoni e elettroni) che di protoni. Il primo studio – in collaborazione con i Laboratori Nazionali del Sud (LNS) dell'Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (INFN) e con il Dipartimento di Fisiopatologia clinica dell'Università di Firenze) è stato effettuato nell'ottica di determinare le proprietà di base dei diamanti e di definirne la corretta procedura di utilizzo (14). Il secondo studio – in collaborazione con l'Università Cattolica del Sacro Cuore (UCSC) e il *Clatterbridge Centre of Oncology* (CCO) – è stato rivolto alla caratterizzazione dosimetrica in fasci di protoni, sia clinici che di bassa energia (15-22).

Materiali e metodi

Nel corso di questo studio sono stati utilizzati diversi esemplari di rivelatori a diamante naturale prodotti dalla PTW (Riga, tipo 6003). Il materiale sensibile del rivelatore è costituito da un cristallo di diamante naturale ($Z=6$, $\rho=3,51 \text{ g cm}^{-3}$) con area sensibile nell'intervallo $3,8\text{-}4,5 \text{ mm}^2$ e uno spessore del volume sensibile nell'intervallo $0,26\text{-}0,31 \text{ mm}$, a seconda degli esemplari. Per poter immergere il rivelatore in acqua, il materiale sensibile è incapsulato in una protezione a base di polistirene ($1,06 \text{ g cm}^{-3}$), dello spessore di 1 mm in corrispondenza della superficie frontale. I rivelatori a diamante sono stati polarizzati con una tensione di $+100 \text{ V}$.

Lo studio delle proprietà dei rivelatori a diamante in fasci di fotoni e elettroni è stato effettuato presso l'Unità di Radioterapia dell'Università di Firenze utilizzando un LINAC Elekta SLI plus. Sono stati utilizzati fasci di fotoni da 6 MV e 25 MV , corrispondenti a valori del TPR_{10}^{20} di $0,685$ e $0,802$, rispettivamente. Nel caso dei fasci di elettroni sono stati utilizzati fasci di energia nominale pari a 6 , 10 , 15 e 22 MeV con dimensione del campo $10 \times 10 \text{ cm}^2$ e SSD di 100 cm . I dettagli dell'apparato sperimentale usato sono riportati in De Angelis *et al.* (14).

Per lo studio in fasci di protoni gli irraggiamenti sono stati effettuati sia presso l'acceleratore Tandem degli LNS dell'INFN (energia nominale massima di 30 MeV) che presso il fascio da 60 MeV del CCO, sia modulato che non modulato. A causa delle perdite di energia nel diffusore, nella finestra di alluminio e nell'aria, le energie in corrispondenza della superficie del rivelatore utilizzate presso l'acceleratore Tandem sono state comprese nell'intervallo $13,6\text{-}21,5 \text{ MeV}$. I dettagli delle linee di fascio utilizzate e dei relativi apparati sperimentali sono riportati in Onori *et al.* (18) e Fidanzio *et al.* (22). In entrambi i casi, gli irraggiamenti in acqua sono stati effettuati con il fantoccio realizzato presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) e mostrato in Figura 1.

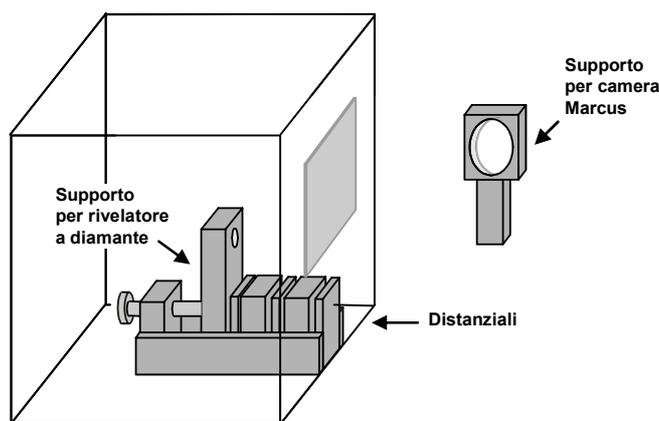


Figura 1. Fantoccio ad acqua realizzato presso l'ISS per l'irraggiamento dei rivelatori (vasca, supporti e distanziali sono realizzati in PMMA, polimetilmetacrilato)

Risultati

Fasci convenzionali (fotoni e elettroni)

Questa parte dell'attività è stata svolta in collaborazione con i Laboratori Nazionali del Sud dell'INFN e con il Dipartimento di Fisiopatologia Clinica dell'Università di Firenze. Sono stati studiati due rivelatori Riga della PTW, modello 60003, per mettere in evidenza le differenze fra esemplari dello stesso tipo. Quello comperato dall'ISS verrà nel seguito indicato come "rivelatore ISS" e quello acquistato dall'INFN come "rivelatore INFN". I risultati ottenuti (14) sono presentati nel seguito in forma schematica:

- Sono state determinate le caratteristiche I-V che mostrano, per valori negativi della tensione applicata, un comportamento non ohmico della corrente del rivelatore. L'effetto è dovuto ai contatti elettrici che sono di tipo bloccante per tensioni applicate negative. La differenza principale nel comportamento dei due rivelatori è nella tensione di saturazione. Il segnale del rivelatore ISS satura per una tensione di polarizzazione di circa 20 V, mentre è necessaria una polarizzazione di circa 50 V per ottenere la saturazione della corrente nel rivelatore INFN.
- Per stabilizzare la risposta di un rivelatore a diamante è necessario irraggiarlo prima del suo utilizzo. Questo effetto è noto come effetto di polarizzazione; la dose di preirraggiamento è necessaria per raggiungere il riempimento delle trappole e dipende dalla loro concentrazione. La dose di preirraggiamento è stata valutata come la dose necessaria ad ottenere una ripetibilità nella risposta del rivelatore dello 0,1%. Per il rivelatore ISS è sufficiente una dose di preirraggiamento di 5 Gy mentre è necessaria una dose di 15 Gy per il rivelatore INFN. Al fine di ottimizzare l'incertezza nelle misure con diamante è necessario che la dose di preirraggiamento venga determinata per ogni singolo esemplare, non essendo sufficiente l'informazione generica della PTW di fornire una dose inferiore a 10 Gy. La dose di preirraggiamento deve essere data ogniqualvolta venga tolta la tensione di polarizzazione.
- La linearità di risposta (carica raccolta) del rivelatore è stata verificata fino a 15 Gy per tutte le qualità dei fasci.
- Entrambi i rivelatori hanno mostrato un'eccellente ripetibilità. La deviazione standard di 10 misure ripetute (dopo preirraggiamento) è risultata dello 0,1%. La riproducibilità delle misure, valutata nell'arco di un'intera giornata e mantenendo sempre polarizzato il rivelatore, è risultata inferiore all'1%. I rivelatori hanno mostrato una buona stabilità anche a lungo termine. Nell'arco di più mesi, dopo una dose assorbita complessiva di circa 300 Gy, la riproducibilità è risultata inferiore all'1%.
- La dipendenza dal rateo di dose è stata studiata nell'intervallo 0,9 Gy/min – 4,65 Gy/min in un fascio di fotoni di 6 MV. Il parametro Δ che descrive la dipendenza della corrente del rivelatore dal rateo di dose (23) è risultato pari a 0,979 (corrispondente ad una diminuzione della sensibilità del 3%) per il rivelatore ISS e pari a 0,987 (corrispondente ad una diminuzione della sensibilità del 2%) per il rivelatore INFN.
- La dipendenza angolare è stata studiata in fasci di fotoni variando l'angolo del *gantry*. Non si sono riscontrate variazioni per rotazioni del *gantry* con asse longitudinale del rivelatore parallelo all'asse di rotazione del *gantry*. La massima variazione è stata del 2% con rotazione del *gantry* con asse longitudinale del rivelatore perpendicolare all'asse di rotazione del *gantry*.
- Le variazioni di sensibilità dei rivelatori in funzione della temperatura di irraggiamento sono state studiate nell'intervallo 15-40 °C. I coefficienti di temperatura sono stati di 0,03% °C⁻¹ e 0,1% °C⁻¹, rispettivamente per il rivelatore INFN e ISS.

- Per quanto riguarda la dipendenza energetica, non è stata osservata nessuna variazione di sensibilità in fasci di fotoni nell'intervallo 6-25 MV e in fasci di elettroni nell'intervallo 6-22 MeV. Invece si è riscontrata una diminuzione di sensibilità in fasci di elettroni rispetto a fasci di fotoni del 5 e 4%, rispettivamente per i rivelatori ISS e INFN.

Lo studio comparato di due rivelatori dello stesso tipo ha messo in evidenza il ruolo della concentrazione di impurezze nel diamante. I diamanti utilizzati dalla PTW sono cristalli naturali cresciuti in condizioni non controllate e presentano pertanto una diversa concentrazione di impurezze e, quindi, di trappole. La dose di preirraggiamento inferiore, necessaria per raggiungere l'equilibrio con la concentrazione di trappole nel rivelatore ISS, indica che questo ha una concentrazione di impurezze inferiore rispetto al rivelatore INFN. Coerentemente con questa deduzione, la raccolta completa delle cariche si raggiunge con una tensione di polarizzazione di soli 20 V, e si osserva una dipendenza dal rateo di dose più marcata rispetto al rivelatore INFN. Questo implica che alcune proprietà specifiche dei rivelatori a diamante, anche se dello stesso tipo, dipendono dal singolo esemplare utilizzato e debbono essere, pertanto, determinate dall'utilizzatore.

Fasci di protoni

L'obiettivo principale è stato quello di studiare la possibilità di utilizzare i rivelatori a diamante per la misura delle distribuzioni di dose in profondità sia di fasci clinici non modulati che modulati. Questo obiettivo implica, in particolare, la determinazione delle variazioni di sensibilità del rivelatore con l'energia dei protoni (e quindi con la posizione in profondità del rivelatore) e con il rateo di dose, che varia di circa un fattore 5 fra l'ingresso e il massimo del picco di Bragg. A questo scopo, in collaborazione con l'UCSC, con gli LNS dell'INFN e con il CCO, sono state studiate le proprietà di risposta dei rivelatori a diamante sia nei fasci clinici disponibili presso il CCO (21, 22) che in fasci monoenergetici prodotti dall'acceleratore Tandem degli LNS (18). Le misure sono state effettuate con un rivelatore in uso presso l'UCSC.

Inizialmente sono state effettuate misure di riproducibilità e linearità che hanno confermato le ottime caratteristiche di risposta dei rivelatori riscontrate in fasci di fotoni e elettroni.

Per quanto riguarda la dipendenza dal rateo di dose, il rivelatore utilizzato ha mostrato una dipendenza molto contenuta con un valore del parametro Δ pari a $0,997 \pm 0,004$, in accordo con il valore 0,994 determinato per lo stesso dosimetro in fasci di fotoni e elettroni (24).

La Figura 2 mostra alcuni esempi di dose in profondità. I dati del diamante sono riferiti al centro del volume sensibile, assunto come punto effettivo di misura. Nel caso del fascio Tandem di bassa energia si ha un'evidente discordanza fra i valori di dose misurati con la Markus e con il rivelatore a diamante. Innanzi tutto si ha una sottostima della dose al picco di circa il 40% che indica una marcata dipendenza della sensibilità del diamante dal LET (il diamante è un tessuto quasi equivalente all'acqua in cui il rapporto degli *stopping* power acqua/carbonio varia solamente dello 0,3% passando dall'ingresso al massimo del picco di Bragg). Il secondo effetto è relativo alla forma e posizione del picco. Il picco risulta deformato e allargato con il massimo spostato di circa 0,4 mm rispetto alla Markus. È questo un effetto dovuto alle dimensioni del rivelatore non ottimali (circa 1 mm acqua equivalente) per misure di distribuzione di dose con fasci di bassa energia. Nel caso del fascio terapeutico di 60 MeV i risultati sono qualitativamente simili. Tuttavia in questo caso la sottostima al picco è pari solamente al 18%, mentre nella regione distale del picco modulato la sottostima è risultata del 17%. La posizione del picco è ben riprodotta, indicando che le dimensioni del volume sensibile del rivelatore, pari a circa il 3% del range pratico dei protoni in acqua, sono idonee per le energie dei fasci terapeutici.

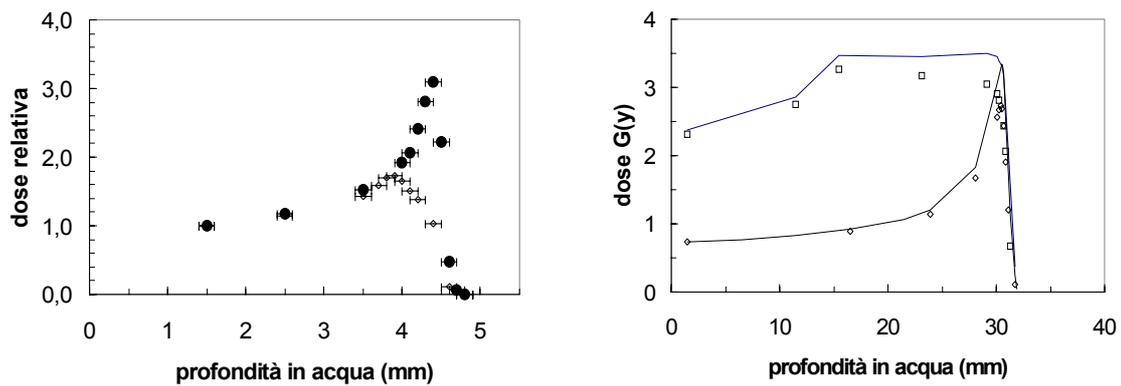


Figura 2. A sinistra: confronto fra dose in profondità misurata con camera Markus (pallini neri) e rivelatore a diamante (rombi) in un fascio non modulato di 21.5 MeV. A destra: confronto di picchi di Bragg di un fascio terapeutico di 60 MeV del CCO misurati con camera Markus (linea continua) e con diamante (quadrati e rombi)

La perdita di sensibilità del rivelatore con la profondità è stata determinata attraverso la determinazione di curve di taratura del rivelatore posto a diverse profondità in acqua, e quindi corrispondente a diverse energie del fascio. Nella zona distale questo approccio non è utilizzabile poiché l'incertezza sulla posizione amplifica l'incertezza sull'energia e sulla dose di taratura. Per ovviare a questo problema, alle basse energie dell'acceleratore Tandem le curve di taratura sono state ottenute irraggiando in aria il rivelatore con fasci monoenergetici (18). Per ogni energia il rivelatore è stato irraggiato a diversi valori di dose. I valori ottenuti sono stati analizzati attraverso il metodo della regressione lineare. La pendenza di ogni curva di taratura è una misura della sensibilità del rivelatore a quella specifica energia, il cui inverso rappresenta il valore del fattore di taratura. Come esempio, la Figura 3 riporta i valori dei fattori di taratura determinati a diverse energie, irraggiando con i fasci clinici del CCO.

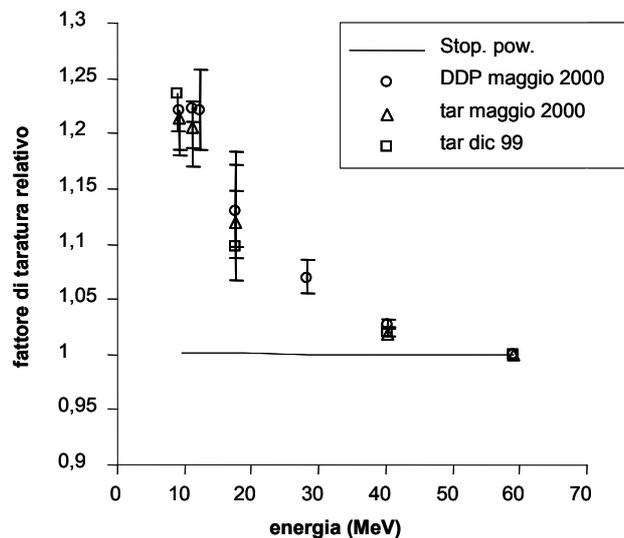


Figura 3. Dipendenza dall'energia del fattore di taratura del rivelatore a diamante naturale della PTW. La linea tratteggiata rappresenta il rapporto degli *stopping power* acqua/carbonio. La normalizzazione è stata effettuata a 60 MeV

Nel grafico sono anche riportati i fattori di taratura ottenuti come semplice rapporto della risposta del rivelatore e della dose Markus, determinato a varie profondità del picco non modulato da 60 MeV. Entro l'incertezza sperimentale le due determinazioni coincidono. I dati evidenziano una marcata dipendenza della sensibilità del rivelatore con l'energia dei protoni al di sotto di circa 40 MeV, cioè per energie di interesse per la terapia delle neoplasie oculari. La possibilità di utilizzo dei rivelatori a diamante in fasci modulati implica la conoscenza del fattore di taratura in funzione dell'energia e la distribuzione in energia dei protoni ad ogni profondità. A questo scopo è stato sviluppato un metodo, implementato su software, che fornisce la corretta distribuzione di dose in profondità in fasci modulati e che verrà presentato e discusso in un altro contributo di questo rapporto.

Conclusioni

I rivelatori a diamante naturale prodotti dalla PTW hanno ottime caratteristiche di ripetibilità (<0,1%) e stabilità a lungo termine (assenza di danneggiamento da radiazioni). Nel complesso costituiscono dei validi sistemi per misure di dose in condizioni di non riferimento (dosimetria clinica), in modo particolare per fasci di fotoni e elettroni. Per diminuire l'incertezza di misura è necessario che alcune proprietà (effetto di polarizzazione, dipendenza dal rateo di dose, dipendenza energetica, dipendenza dalla temperatura) vengano determinate dall'utilizzatore perché non fornite dalla casa produttrice. Nel caso dei fasci di protoni è necessario conoscere le variazioni della sensibilità con l'energia che in fasci di 60 MeV può raggiungere circa il 20% al picco. I rivelatori a diamante possono trovare un'utile applicazione per misure di routine, sia per la verifica periodica dell'*output* dell'acceleratore, in termini di dose per unità monitor, che dell'energia, attraverso la misura della distribuzione di dose in profondità. In considerazione del crescente utilizzo di fasci di dimensioni ridotte, sarebbe opportuno estendere l'analisi delle proprietà dei rivelatori a diamante allo studio della risposta al diminuire delle dimensioni trasversali dei fasci. In queste condizioni, per l'impossibilità di utilizzare le camere a ionizzazione, i rivelatori a diamante potrebbero costituire anche dei validi dosimetri di riferimento.

Lo studio fino ad ora è stato condotto su fasci di protoni, generati da ciclotrone, che hanno una struttura temporale continua e sono degradati passivamente. L'applicazione dei rivelatori a diamante in fasci a scansione, di piccole dimensioni e caratterizzati da elevate dosi per impulso, così come previsto nel TOP LINAC a 250 MeV, dovrà essere oggetto di uno studio specifico.

Bibliografia

1. ICRU REPORT 59. *Clinical proton dosimetry part I: beam production, beam delivery and measurement of absorbed dose*. Bethesda: International Commission on Radiation Units and Measurements; 1998.
2. Vatnitsky SM, Khrunov VS, Fominykh VI, Schuele E. Diamond detector dosimetry for medical applications. *Radiat Prot Dosim* 1993;47:515-8.
3. Vatnitsky SM, Miller D, Siebers J, Moyers M. Application of solid state detectors for dosimetry of therapeutic proton beams. *Med Phys* 1995;22:469-73.
4. Oelfke U, Blackmore E, Gardey K, Lam G. Proton dosimetry at TRIUMF: experimental profiles and PTRAN MC calculations. In: *Proceedings of the XXII PTCOG Meeting*. San Francisco (California, USA). 1995. p. 12-3.

5. Vatnitsky S, Järvinen H. Application of a natural diamond detector for the measurement of relative distributions in radiotherapy. *Phys Med Biol* 1993;38:173-84.
6. Khrunov VS, Martynov SS, Vatnitsky SM, Ermakov IA, Chervjakov AM, Karlin DL, Fominych VI, Tarbeye Yu V. Diamond detectors in relative dosimetry of photon, electron and proton radiation fields. *Radiat Prot Dosim* 1990;33:155-7.
7. Heydarian M, Hoban PW, Bechham WA, Borchardt IM, Beddoe A. Evaluation of a PTW diamond detector for electron beam measurements. *Phys Med Biol* 1993;38:1035-42.
8. Rustgi SN, Frye DMD. Dosimetric characterization of radiosurgical beams with a diamond detector. *Med Phys* 1995;22:2117-21.
9. Rustgi SN. Evaluation of the dosimetric characteristics of a diamond detector for photon beam measurements. *Med Phys* 1995;22:567-70.
10. Heydarian M, Hoban PW, Bechham WA, Beddoe AHA. Comparison of dosimetry techniques in stereotactic radiosurgery. *Phys Med Biol* 1996;41:93-110.
11. Laub WU, Kaulich TW, Nüsslin F. Energy and dose rate dependence of a diamond detector in the dosimetry of 4-25 MV photon beams *Med Phys* 1997;24:535-6.
12. Piermattei A, Azario L, Fidanzio A, Arcovito G. Quasi water-equivalent detectors for photon beams that present lateral electron disequilibrium. *Physica Medica* 1998;14:9-17.
13. Laub WU, Kaulich TW, Nusslin F. A diamond detector in the dosimetry of high-energy electron and photon beam. *Phys Med Biol* 1999;44:2183-92.
14. De Angelis C, Onori S, Pacilio M, Cirrone GAP, Cuttone G, Raffaele L, Bucciolini M, Mazzocchi S. An investigation of the operating characteristics of two PTW diamond detectors in photon and electron beams. *Med Phys* 2002;29(2):248-54.
15. Piermattei A, Miceli R, Azario L, Delle Canne S, De Angelis C, Onori S, Pacilio M, Petetti E, Fattibene P, Cuttone G, Barone Tonghi L, Raffaele L, Sabini MG. Solid state detectors for proton beam dosimetry. In: Kappas C, Del Guerra A, Kolitsi Z, Damilakis Y, Theodoroli K (Ed). *Proceedings of VI International Conference on Medical Physics. Patras (Greece), September 1-4, 1999*. Bologna: Monduzzi Editore; 1999. p. 111-5.
16. Piermattei A, Miceli R, Azario L, Delle Canne S, De Angelis C, Onori S, Pacilio M, Petetti E, Fattibene P, Cuttone G, Barone Tonghi L, Raffaele L, Sabini MG. Solid state detectors for proton beam dosimetry. *Physica Medica* 1999;15(3):170-1.
17. Fidanzio A, Piermattei A, Azario L, Miceli R, Russo A, Onori S, De Angelis C, Pacilio M. Impiego di film radiocromici e rivelatori a diamante per la dosimetria di fasci radioterapici. In: *Atti del LXXXVI Congresso Nazionale Società Italiana di Fisica (SIF)*. Palermo, 6-11 ottobre 2000. Bologna; p. 121.
18. Onori S, De Angelis C, Fattibene P, Pacilio M, Petetti E, Azario L, Miceli R, Piermattei A, Barone Tonghi L, Cuttone G, Lo Nigro S. Dosimetric characterization of silicon and diamond detectors in low-energy proton beams. *Phys Med Biol* 2000;45:3045-58.
19. Fattibene P, Azario L, Barone Longhi L, Bartolotta A, Brai AM, Cirrone GAP, Cuttone G, De Angelis C, delle Canne S, Miceli R, Onori S, Pacilio M, Petetti E, Piermattei A, Raffaele L, Rovelli A, Sabini MG, Teri G. *Characterization of relative dosimetric systems in low energy protons beams*. Catania: Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Laboratori Nazionali del Sud.; 2000. (Activity Report 1996-1999, p. 5)
20. De Angelis C, Onori S, Pacilio M, Petetti E, Azario L, Fidanzio A, Miceli R, Piermattei A, Cuttone G, Raffaele L, Kacperek A. Preliminary results in solid state dosimetry of proton beams for ocular pathology treatment. Proceedings of the International Conference on ocular pathologies therapy with proton beams. Catania, 12-13 ottobre 2000. *Physica Medica* 2001;17:41-4.

21. Pacilio M, De Angelis C, Onori S, Azario L, Fidanzio A, Miceli M, Piermattei A, Kacperek A. Characteristics of silicon and diamond detectors in a 60 MeV proton beam. *Phys Med Biol* 2002;47:N107-N112.
22. Fidanzio A, Azario L, Piermattei A, De Angelis C, Pacilio M, Onori S, Kacperek A. A correction method for diamond detector signal dependence with proton therapy. *Med Phys* 2002;29:669-675.
23. Fowler JF. Solid state electrical conductivity dosimeters. In: Attix FH, Roesch WC (Ed.) *Radiation Dosimetry*. New York: Academic; 1966. p. 291-320.
24. Fidanzio A, Azario L, Miceli R, Russo A, Piermattei A. PTW-diamond detector: Dose rate and particle type dependence *Med Phys* 2000;27:1-5.

DIODI AL SILICIO

Cinzia De Angelis (a), Sandro Onori (a), Massimiliano Pacilio (a), Erminio Petetti (a), Luigi Azario (b), Andrea Fidanzio (b), Roberto Miceli (b), Angelo Piermattei (b), Giuseppe Antonio Pablo Cirrone (c), Giacomo Cuttone (c), Luigi Raffaele (c,d), Andrzej Kacperek (e)

(a) *Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità e Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione Roma 1, Gruppo collegato Sanità, Roma*

(b) *Istituto di Fisica, Università Cattolica del S.Cuore, Roma*

(c) *Laboratori Nazionali del Sud (LNS), INFN, Catania*

(d) *Istituto di Radiologia, Università di Catania*

(e) *Douglas Cyclotron Unit, Clatterbridge Centre for Oncology, Bebington, Merseyside (UK)*

Introduzione

L'impiego di fasci di protoni in radioterapia per il trattamento di tumori, sia superficiali che profondi, si è andato negli anni sempre più consolidando. Una delle richieste principali per la dosimetria di questi fasci, caratterizzati da forti gradienti di dose, è sempre stata quella di poter disporre di rivelatori di piccole dimensioni. Nell'ambito del Progetto TOP (Terapia Oncologica con Protoni), la necessità di studiare e caratterizzare sistemi che avessero questa prerogativa ha indirizzato l'interesse verso sistemi a stato solido quali il diodo al silicio, il diamante naturale e i film gafchromici, già utilizzati ampiamente nella dosimetria di fasci convenzionali di fotoni e elettroni. In particolare il diodo al silicio si presentava nel panorama dei sistemi in uso come potenzialmente idoneo per la dosimetria di fasci di protoni non solo per le sue dimensioni ma, se confrontato con le camere a ionizzazione, anche per esempio, per l'elevata efficienza dovuta alla bassa energia di ionizzazione (3,6 eV) e presentava inoltre il vantaggio come sistema online di non dover essere alimentato. I dati presenti in letteratura per questi sistemi, relativamente alla dosimetria protonica, evidenziavano un interesse rivolto principalmente ai diodi al silicio di tipo n (1-4), che presentano il vantaggio di avere un costo notevolmente inferiore se confrontati con i sistemi di tipo p, ma mostravano una dipendenza dal rateo di dose molto più marcata e soprattutto un danneggiamento da radiazione maggiore che si manifesta con una maggiore perdita di sensibilità con la dose accumulata (5, 6). Tuttavia, si trattava di informazioni non esaustive e in particolare i dati relativi alle variazioni della sensibilità dei diodi con l'energia del fascio di protoni mettevano in luce delle discrepanze. Anche la *International Commission on Radiation Units and Measurements* (ICRU) (6), pur ritenendoli dei sistemi interessanti, invitava alla cautela nell'impiego e sottolineava la necessità di ulteriori studi.

Successivamente, con lo sviluppo e il consolidamento delle tecniche stereotassiche, nella radioterapia con fasci convenzionali, e comunque con l'impiego di fasci di piccole dimensioni, sono stati prodotti silici di tipo p di dimensioni ancora più ridotte (spessore 0,06 mm, diametro 0,6 mm). Ciò ha determinato uno spostamento dell'interesse verso questo tipo di sistemi. Le indagini si sono quindi maggiormente orientate verso lo studio dei sistemi di tipo p con l'obiettivo di chiarire il loro comportamento, soprattutto in termini di dipendenza dall'energia e dipendenza dal rateo di dose al fine di un loro utilizzo anche per la dosimetria di riferimento (7, 8).

Pertanto, nell'ambito del Progetto TOP, si è affrontato lo studio delle proprietà dosimetriche dei diodi al silicio stereotassici di tipo p in fasci di protoni. Questo studio ha preso in considerazione sia i sistemi prodotti per la dosimetria di fasci convenzionali che, in una fase successiva (si tratta in questo caso di uno studio ancora in corso) quelli dedicati alla dosimetria di protoni. Lo studio è stato svolto in collaborazione con i Laboratori Nazionali del Sud (LNS)

dell'Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (INFN), con l'Università del sacro Cuore (UCSC) e il Clatterbridge Centre of Oncology (CCO) ed è stato rivolto alla caratterizzazione dosimetrica dei diodi in fasci di protoni, sia clinici che di bassa energia (9-12).

Materiali e metodi

Lo studio ha visto la caratterizzazione di due tipi diversi di rivelatori al silicio: il tipo SFD modello DB050 e il tipo PFD modello DZA192. Si tratta in entrambi i casi di diodi stereotassici di tipo p, il primo prodotto per la dosimetria di fasci di fotoni mentre il sistema PFD, messo in commercio recentemente, è dedicato alla dosimetria di protoni. Per la caratterizzazione del silicio PFD sono stati presi in considerazione due campioni, allo scopo di evidenziare possibili differenze tra diodi dello stesso tipo. Le caratteristiche principali dei sistemi impiegati sono riportate in Tabella 1. La differenza principale tra i due sistemi risiede nel preirraggiamento effettuato dalla casa costruttrice (Scanditronix). Nel caso del silicio SFD il preirraggiamento è stato eseguito con un fascio di elettroni da 10 MeV con una dose di 8 kGy, mentre per il silicio PFD è stato effettuato con un fascio di protoni da 173 MeV ad una dose non nota.

Tabella 1. Caratteristiche dei diodi stereotassici di tipo p in studio

Diodo	Z	Densità (g/cm ³)	Spessore (mm)	Area sensibile (mm ²)	Volume sensibile (mm ³)	D1 (mm)	D2 (mm)	D3 (mm)
SFD	14	2,32	0,06	0,28	0,017	0,63	0,726	0,79
PFD								
ISS	14	2,32	0,06	0,28	0,017	0,42	0,484	0,546
LNS	14	2,32	0,06	0,28	0,017	0,54	0,622	0,684

Z numero atomico

D1 Spessore del materiale posto davanti al volume sensibile.

D2 Spessore acqua equivalente del materiale posto davanti al volume sensibile.

D3 Distanza acqua equivalente del punto effettivo di misura (centro del volume sensibile) dalla superficie del rivelatore.

La dose al centro del volume sensibile del diodo, riferita all'acqua ad una profondità generica d, è stata determinata facendo uso della seguente relazione:

$$D_w(d) = M_{\text{det}}^{\text{corr}}(d) \cdot N_{w,\text{ref}} \cdot \frac{(s/\rho)_{E_d}^{w,\text{det}}}{(s/\rho)_{E_{\text{ref}}}^{w,\text{det}}}$$

dove:

$M_{\text{det}}^{\text{corr}}(d)$ è la misura del diodo alla profondità d, corretta per la dipendenza dal rateo di dose,

$N_{w,\text{ref}}$ è il fattore di taratura in acqua valutato alla profondità di riferimento

$\frac{(s/\rho)_{E_d}^{w,\text{det}}}{(s/\rho)_{E_{\text{ref}}}^{w,\text{det}}}$ è il rapporto tra i poteri frenanti massici acqua/silicio alla profondità d e alla profondità di riferimento.

I valori dei poteri frenanti massici sono quelli citati dall'ICRU 49 (13).

Per la dosimetria di riferimento è stata impiegata una camera Markus della PTW (*Physikalisch-Technische Werkstätten*) ad elettrodi piani e paralleli. La valutazione della dose all'acqua è stata effettuata seguendo il protocollo dell'*International Atomic Energy Agency* IAEA TRS 398 (14).

La caratterizzazione dei diodi è stata effettuata a energie inferiori a 62 MeV. Irraggiamenti alle basse energie ($E < 30$ MeV) sono stati realizzati impiegando il fascio di protoni erogato dall'acceleratore Tandem degli LNS-INFN di Catania, nell'intervallo 8.3-26.7 MeV valutata all'ingresso del fantoccio. Per le energie più elevate è stato utilizzato il fascio clinico di 60 MeV disponibile presso il CCO di Clatterbridge e, solo recentemente, il fascio degli LNS (CATANA) di 62 MeV, utilizzati entrambi per la terapia oculare. Una descrizione dettagliata delle diverse linee di fascio è riportata in letteratura (15-17). Gli irraggiamenti sono stati eseguiti in acqua utilizzando, nella maggior parte dei casi, un fantoccio di PMMA (polimetilmetacrilato) realizzato presso l'ISS.

Risultati

L'obiettivo iniziale di questa attività è stato quello di verificare l'idoneità del diodo stereotassico per la dosimetria di fasci di fotoni, SFD, nella dosimetria di fasci di protoni. Il grande interesse che si era sviluppato intorno a questo sistema era prevalentemente legato alle sue piccole dimensioni che prospettavano una ottima risoluzione spaziale e, quindi ne facevano un buon candidato per le misure di profili di dose e misure in campi piccoli, oltre che per le misure di distribuzione di dose in profondità. Questo studio è stato effettuato in collaborazione con l'UCSC utilizzando un silicio SFD, in uso presso l'UCSC, sul quale era già stata realizzata, dall'Università stessa, una caratterizzazione in fasci convenzionali. Lo studio della risposta del sistema, in fasci di protoni di bassa energia, è stato condotto in termini di valutazione della ripetibilità del sistema, studio della linearità della risposta con la dose, valutazione della dipendenza dal rateo di dose e dall'energia del fascio. I risultati hanno mostrato linearità della risposta nell'intervallo di dose considerato (1-12 Gy), con deviazioni entro il 2,5%, e una ripetibilità della risposta valutata, con misure successive, sempre migliore dell'1%. Per quanto riguarda la dipendenza dal rateo di dose si è osservata una variazione della sensibilità di circa il 4% nell'intervallo 1-6 Gy/min, con un valore di Δ associato pari a 1.021. La dipendenza della risposta dal LET è stata studiata con fasci monoenergetici nell'intervallo di energia 8.3-21.5 MeV valutata alla superficie del rivelatore, le variazioni osservate del fattore di taratura sono state maggiori del 50%.

Le misure di distribuzione di dose in profondità riportate in Figura 1a mettono in evidenza la dipendenza dall'energia del diodo, i dati riportati in Figura 1a tengono infatti conto della correzione per il rateo di dose e del rapporto tra i poteri frenanti massici acqua/silicio alla profondità generica, d , e alla profondità di riferimento (ingresso). Quello che si osserva è una buona riproducibilità della posizione e dell'ampiezza del picco di Bragg rispetto alla camera di riferimento. Lo studio è stato successivamente esteso alle energie dei fasci clinici. In Figura 1b sono riportate le distribuzioni di dose in profondità ottenute presso il ciclotrone del CCO al fascio di 60 MeV. In Figura 1b sono riportati sia i risultati ottenuti nel fascio modulato che in quello non modulato. In questo caso si osserva una sottostima rispetto alla camera Markus rispettivamente del 3% al picco per il fascio non modulato e del 2% alla fine del SOBP (*Spread-Out Bragg Peak*). Nonostante l'accordo ottenuto nelle misure di distribuzione di dose in profondità nel fascio clinico, è stata riscontrata durante le misure una instabilità della risposta del diodo. In particolare, prima di poter effettuare le misure il silicio SFD doveva essere preirraggiato. Sulla base di questa osservazione sono stati confrontati i fattori di taratura del diodo SFD ottenuti in diverse sessioni di misura alle diverse energie, i risultati sono mostrati in Figura 2. Dalla Figura 2 si evince una incoerenza nel comportamento del rivelatore, infatti si nota una mancanza di riproducibilità del fattore di taratura a parità di energia. Un'analisi dei fattori di taratura con la dose accumulata ha altresì evidenziato una perdita di sensibilità del sistema del 24% dopo una dose accumulata di circa 300 Gy. La causa di questo comportamento

risiede probabilmente nel danneggiamento da radiazione subito dal rivelatore e legato al preirraggiamento, effettuato per questo sistema in fasci di elettroni piuttosto che in fasci di protoni. Questa ipotesi sembrerebbe confermata anche dal lavoro di Vatrinsky *et al.* (7), i quali non riportano problemi di stabilità per un rivelatore dello stesso tipo, preirraggiato in fasci di protoni.

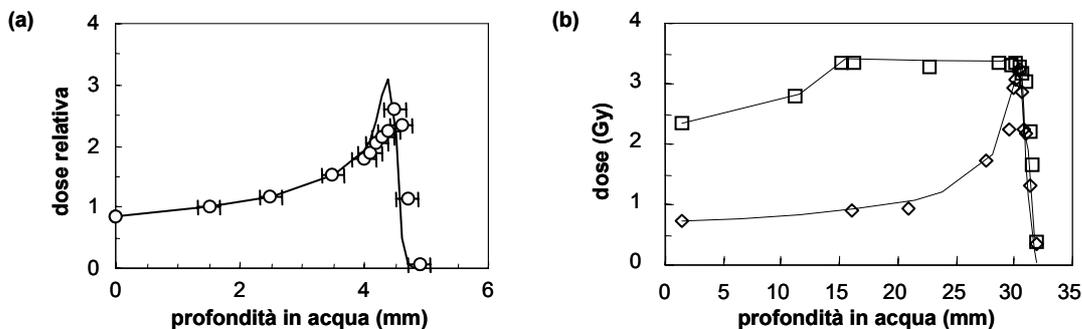


Figura 1. Distribuzioni di dose in profondità ottenute con il silicio SFD e la camera Markus (linea continua), all'energia di 21,5 MeV dell'acceleratore Tandem (a) e con protoni di 60 MeV del CCO (b)

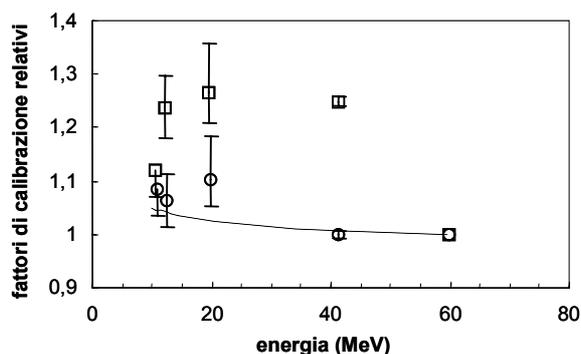


Figura 2. Fattori di calibrazione del silicio SFD, alle diverse energie del fascio di protoni ottenuti in diverse sessioni di misura

Per quanto riguarda il silicio PFD, lo studio è tuttora in corso, e prevede l'impiego di due sistemi PDF, al fine di evidenziare possibili differenze tra sistemi dello stesso tipo. I diodi, indicati con le sigle ISS e LNS, sono in uso rispettivamente presso l'ISS e gli LNS. La caratterizzazione di questi sistemi PFD si sta svolgendo con la collaborazione degli LNS. Presso gli stessi LNS verranno effettuati gli irraggiamenti sia all'acceleratore Tandem che all'acceleratore CATANA da 62 MeV. I risultati finora ottenuti hanno mostrato una ripetibilità della risposta dell'0,1% con 25 misure ripetute ad una dose di 1 Gy ciascuna. La stabilità a lungo termine per una dose accumulata complessiva di circa 600 Gy si è mantenuta costante entro l'1%. La sensibilità relativa è stata $0,99 \pm 0,01$.

In Figura 3 sono riportate le distribuzioni di dose in profondità ottenute con i due sistemi. I dati sono riportati in risposta relativa quindi non corretti per la dipendenza dal rateo di dose e per i rapporti tra i poteri frenanti massici acqua/silicio. Le differenze osservate tra la camera Markus e i due diodi sono del 1% e del 4% rispettivamente per il diodo LNS e quello ISS. Le misure per la determinazione della dipendenza dal rateo di dose sono tuttora in corso come pure

la dipendenza della risposta dall'energia che verrà effettuata con i fasci monoenergetici dell'acceleratore Tandem. In considerazione della buona stabilità del silicio PFD, sono state eseguite misure preliminari di dipendenza della risposta dalle dimensioni del campo.

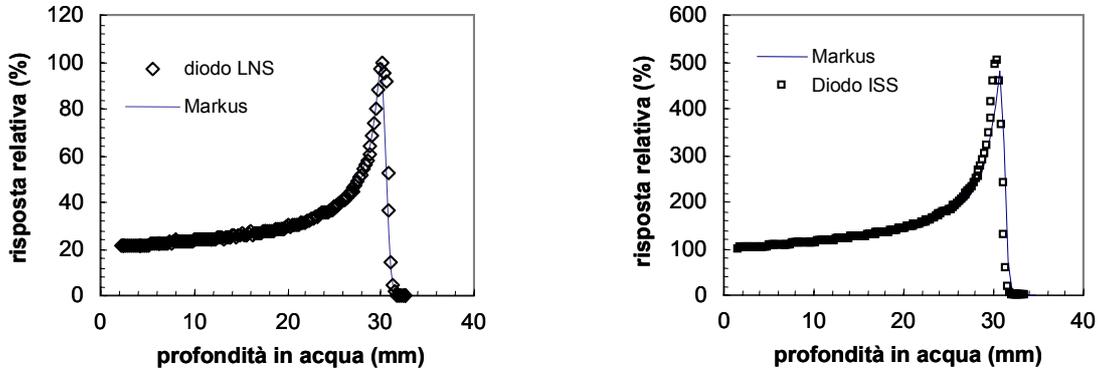


Figura 3. Distribuzioni di dose in profondità nel fascio non modulato di CATANA ottenute con il silicio PFD e con la camera Markus

In Figura 4 è riportato il comportamento del diodo per campi fino a 5 mm di diametro. Per confronto, sono anche riportate le risposte relative ottenute con la camera Markus di riferimento e con altri sistemi che presentano una buona risoluzione spaziale e risultano anch'essi potenzialmente idonei per la dosimetria di fasci piccoli. Il vantaggio derivante dall'impiego del diodo al silicio rispetto ai film gafrocromici e ai TLD, è che trattandosi di un sistema online la sua risposta è immediata e quindi, per i controlli giornalieri del fascio più indicato di un sistema "off-line". I risultati evidenziano un buon accordo, entro il 2%, tra diodo, TLD e film gafrocromici per campi fino a 8 mm di diametro mentre la camera Markus, già per questo valore di campo, presenta una differenza dell'8%. Per campi di 5 mm di diametro, l'accordo tra diodo, TLD e film si perde e la sottostima del diodo risulta pari al 5%.

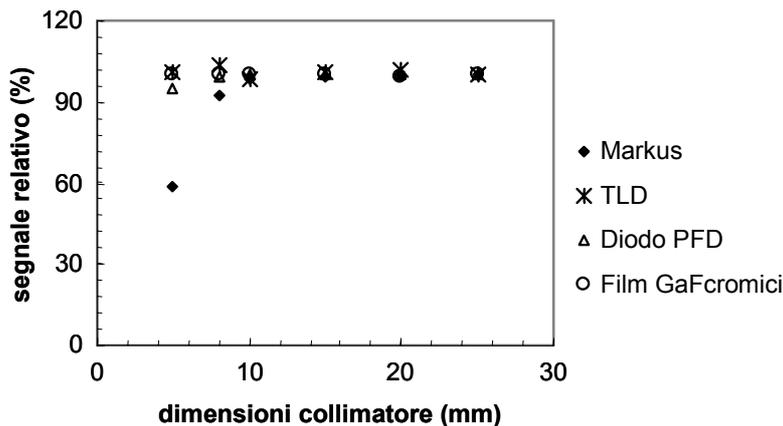


Figura 4. Fattori di campo per fasci di protoni di 62 MeV, per differenti dimensioni trasversali, valutati con diversi sistemi dosimetrici

Conclusioni

I risultati riportati in questo rapporto, in generale, confermano le ottime prestazioni dei diodi stereotassici in termini di risoluzione spaziale sia alle basse energie che alle energie dei fasci clinici. Ciò suggerirebbe un loro impiego sia per la dosimetria di campi di dimensioni ridotte, superiori a 8 mm di diametro, che nelle misure di profili di dose. In riferimento al silicio SFD, la perdita di sensibilità in seguito al danneggiamento da radiazione ne sconsiglia l'impiego per la dosimetria di fasci di protoni.

Per quanto concerne il sistema PFD, prodotto specificatamente per la dosimetria di fasci di protoni, i risultati preliminari non evidenziano un'instabilità della risposta con la dose accumulata come riscontrato per il silicio SFD. Lo studio di questo sistema è ancora in corso, in particolare per ciò che riguarda la determinazione della dipendenza della risposta dal rateo di dose e dall'energia. Tuttavia i dati a disposizione al momento indicano il silicio PFD come un buon candidato per i controlli giornalieri del fascio.

Bibliografia

1. Regis F, Mazal A. Etude des diodes en vue de leur application à la dosimétrie d'une ligne de protons de 200 MeV destinée aux applications cliniques. Stage effectué au Centre de Protontherapie d'Orsay, Diplôme d'Etude Approfondies de Physique Radiologique et Médicale. 1993.
2. Coutrakon G, Bauman M, Lesyna D, Miller D, Nusbaum J, Slater J, Johanning J, Miranda J, DeLuca PM Jr, Siebers J, Ludewigt B. A prototype beam delivery system for the proton medical accelerator at Loma Linda. *Med Phys* 1991;18:1093-9.
3. Oelfke U, Blackmore E, Gardey K, Lam G. Proton dosimetry at TRIUMF: experimental profiles and PTRAN MC calculations. Proceedings of the XXII PTCOG Meeting. San Francisco, (California, USA), 1995. p. 12-3.
4. Oozer R, Mazal A, Rosenwald JC, Belshi R, Nauraye C, Ferrand R, Biensan S. A model for the lateral penumbra in water of a 200-MeV proton beam devoted to clinical applications. *Med Phys* 1997;24:1599-604.
5. Rikner G. Silicon diodes as detectors in relative dosimetry of photon, electron and proton radiation fields. In: Acta Universitatis Upsaliensis (Abstracts of Upsala Dissertation from the Faculty of Science, 695). 1983.
6. ICRU REPORT 59. *Clinical proton dosimetry part I: beam production, beam delivery and measurement of absorbed dose*. Bethesda: International Commission on Radiation Units and Measurements; 1998.
7. Vatnitsky SM, Miller DW, Moyers MF, Levy RP, Schulte RW, Slater JD, Slater JM. Dosimetry techniques for narrow proton beam radiosurgery. *Phys Med Biol* 1999;44:2789-801.
8. Grusell E, Medin J. General characteristics of the use of silicon diode detectors for clinical dosimetry in proton beams. *Phys Med Biol* 2000;45:2573-82.
9. Onori S, De Angelis C, Fattibene P, Pacilio M, Petetti E, Azario L, Miceli R, Piermattei A, Barone Tonghi L, Cuttone G, Lo Nigro S. Dosimetric characterization of silicon and diamond detectors in low-energy proton beams. *Phys Med Biol* 2000;45:3045-58.
10. De Angelis C, Onori S, Pacilio M, Petetti E, Azario L, Fidanzio A, Miceli R, Piermattei A, Cuttone G, Raffaele L, Kacperek A. Preliminary results in solid state dosimetry of proton beams for ocular pathology treatment. *Physica Medica* 2001;17:41-4.

11. Pacilio M, De Angelis C, Onori S, Azario L, Fidanzio A, Miceli M, Piermattei A, Kacperek A. Characteristics of silicon and diamond detectors in a 60 MeV proton beam. *Phys Med Biol* 2002; 47:N107-N112.
12. De Angelis C, Onori S, Pacilio M, Cirrone GAP, Cuttone G, Raffaele L, Kacperek A. Preliminary results on a dedicated silicon diode detector for proton dosimetry. *Radiat Prot Dosim* 2002;101:461-4.
13. ICRU REPORT 49. *Stopping powers and ranges for protons and alpha particles*. Bethesda: International Commission on Radiation Units and Measurements; 1993.
14. IAEA 398. *Absorbed dose determination in external beam radiotherapy: an International code of practice for dosimetry based on standards of absorbed dose to water*. Vienna: International Atomic Energy Agency; 2000.
15. Torrasi L, Cuttone G, Rovelli A, Rifuggiato D, Imbiscuso R, Raffaele L. Bragg curve measurements for 24 MeV protons irradiating plastic water. *Physica Medica* 1997;XIII:112-7.
16. Cuttone G, Amato A, Bartolotta A, Brai M, Cirrone GAP, Giammò A, Lo Nigro S, Nicoletti GA, Ott J, Privitera G, Raffaele L, Rallo ML, Rapicavoli C, Reibaldi A, Rifuggiato D, Romeo N, Rovelli A, Sabini MG, Salamone V, Teri G, Tudisco F. Use of 62 MeV proton beam for medical applications at INFN-LNS: CATANA project. *Physica Medica* 2001;17(3):23-5.
17. Bonnett DE, Kacperek A, Sheen MA, Goodall R, Saxton TE. The 62 MeV proton beam for the treatment of ocular melanoma at Clatterbridge. *Br J Radiol* 1993;66:907-14.

DOSIMETRIA DI FASCI DI PROTONI CON FILM RADIOCROMICI

Angelo Piermattei (a), Andrea Fidanzio (a), Luigi Azario (a), Cinzia De Angelis (b),
Massimiliano Pacilio (b), Sandro Onori (b)

(a) *Istituto Fisica, Università Cattolica S.Cuore, Roma*

(b) *Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Introduzione

L'alta risoluzione spaziale dei film radiocromici (*RadioChromic Film*, RCF) permette il loro uso per la verifica della dose calcolata dai sistemi computerizzati per piani di trattamento (*Treatment Planning System*, TPS) e per la caratterizzazione dosimetrica di fasci sottili di raggi X, elettroni e protoni (1-3). Infatti, questi film sono costituiti di materiali tessuto-equivalenti, possono essere tagliati nella forma desiderata e inseriti all'interno di fantocci antropomorfi, consentono di ottenere una distribuzione di dose 2-D.

I dati riportati in letteratura mostrano che le dosi in profondità ottenute con rivelatori a stato solido (come diodo a silicio, rivelatore a diamante e RCF) per fasci di protoni fino a 70 MeV, differiscono da quelle ottenute con camere di ionizzazione nella regione del picco di Bragg, a causa della dipendenza dei fattori di taratura dei rivelatori a stato solido dal LET (*Linear Energy Transfer*) (2, 4, 5). Inoltre, recenti pubblicazioni (4, 6, 7) mostrano che la densità ottica (*Optical Density*, OD) degli RCF potrebbe dipendere dall'orientamento dei film rispetto all'asse centrale del fascio radioterapico. Questi due problemi invalidano fortemente l'accuratezza della dosimetria ottenuta con gli RCF. Le misure eseguite sul fascio da 28 MeV hanno potuto confermare la dipendenza dei fattori correttivi dal LET del fascio alle varie profondità in fantoccio e dall'energia incidente del fascio protonico.

In particolare è qui riportato il risultato, ottenuto per un fascio modulato da 62 MeV, applicando un metodo che permette la ricostruzione accurata delle mappe di distribuzioni di isodose da confrontare con quelle calcolate da un TPS.

Materiali e metodi

Apparato sperimentale

Le misure sono state realizzate con due fasci di protoni, uno da 28 MeV operante presso i Laboratori Nazionali del Sud (LNS) (Catania) e uno da 62 MeV prodotto dal ciclotrone Scanditronix MC60 presso il Centro di Clatterbridge per l'Oncologia (CCO). I fasci modulati di protoni di energia massima di 62 MeV sono realizzati utilizzando modulatori passivi di perspex (8).

Misure di dose in profondità per fasci di protoni modulati e non-modulati sono state eseguite in un fantoccio d'acqua di 15x15x15 cm³.

Una camera di ionizzazione Markus e gli RCF sono stati irraggiati, uno alla volta, lungo l'asse centrale del fascio a diverse profondità in acqua. La minima profondità ottenibile con la camera a ionizzazione nel fantoccio d'acqua, 1,5 mm, è stata selezionata come profondità di riferimento, d_{ref} , per i due rivelatori nei fasci di protoni modulati e non-modulati.

Camera a ionizzazione

La camera a ionizzazione Markus della PTW (*Physikalisch-Technische Werkstätten*) ad elettrodi piani e paralleli, modello 23343, connessa ad un elettrometro Keithley, modello 35617, è stata utilizzata come dosimetro di riferimento per determinare la dose assorbita lungo l'asse centrale dei fasci di protoni non-modulati (da 28 MeV e 62 MeV) e modulato (da 62 MeV) seguendo il protocollo IAEA 398 della *International Atomic Energy Agency* (9).

Il range pratico, R_p , del fascio di protoni non-modulato è stato determinato a partire dalle misure di dose ottenute con la camera Markus (9). Il range residuo, definito come $R_{res}=(R_p-d)$ del fascio di protoni, è stato utilizzato per valutare l'energia effettiva dei protoni E_{eff} (10). La dose assorbita in acqua per Unità Monitor (UM), $D_{w,Q}$, ad una profondità d in acqua per i fasci di protoni non-modulato e modulato di qualità Q e in assenza della camera è data dalla relazione:

$$D_{w,Q} = M_Q \cdot N_{D,w,Q_0} \cdot k_Q \quad [1]$$

dove M_Q è la lettura per MU della camera a ionizzazione, corretta per le condizioni di pressione, temperatura, e ricombinazione ionica; k_Q è il fattore, specifico per la camera di ionizzazione Markus, che corregge N_{D,w,Q_0} per le differenze tra la qualità di fascio di riferimento ^{60}Co e la qualità dei protoni (9). L'incertezza sulla dose è stata valutata pari al 2,3% (9).

Film radiocromici

In questo lavoro sono stati utilizzati film Radiocromici (11-13) a doppio strato sensibile MD-55-2. Questi film, presentano due strati sensibili di 15 μm ognuno ($Z_{eff} = 6.0-6.7$ $\rho = 1.3 \text{ g/cm}^3$), rivestiti di poliestere ($\rho = 1,38 \text{ g/cm}^3$) su ambo i lati. Lo spessore totale è 278 μm e il punto di misurazione è stato assunto al centro dello spessore complessivo del film.

Le caratteristiche dosimetriche degli RCF, per fasci di radiazioni convenzionali sono riportate in letteratura (3, 14, 15). In questo lavoro è stata utilizzata la tecnica del doppio irraggiamento (11) per migliorare la precisione dosimetrica degli RCF (4, 8).

Le letture di OD sono state ottenute con un microdensitometro PeC (Photoelectron corporation) modello CCD100 ($\lambda=665 \text{ nm}$) connesso a un computer per l'analisi delle immagini (8). Sono state utilizzate dimensioni del *pixel* uguali a $0,33 \times 0,39 \text{ mm}^2$.

Taratura degli RCF e misure di dose

Gli RCF sono stati tagliati in modo da ottenere dei film di $2 \times 2 \text{ cm}^2$, utilizzati per la taratura di RCF in termini di dose assorbita in acqua e per misure di dose a varie profondità in acqua per i fasci di protoni non-modulati e modulato. Film di $4 \times 4 \text{ cm}^2$ sono stati irraggiati parallelamente all'asse centrale del fascio (configurazione parallela) per i fasci di protoni non-modulati e modulati.

In particolare, la taratura è stata ottenuta in fantoccio d'acqua alla profondità di riferimento $d_{ref} = 1,5 \text{ mm}$, posizionando gli RCF perpendicolarmente all'asse centrale del fascio di protoni (configurazione perpendicolare).

I valori di dose per unità monitor in fantoccio d'acqua, ottenute con gli RCF per il fascio di protoni non-modulato d'energia effettiva incidente E_0 , sono stati valutati (4) mediante l'espressione:

$$D_{w,E_0}^{RCF} = NOD \cdot [N_{w,D_{ref}} \cdot P_{lin}(NOD)]_{d_{ref}} \cdot k_{E_0}^{RCF} \quad [2]$$

dove: la NOD è la densità ottica netta, cioè l'OD complessiva del film dopo l'irraggiamento con protoni diminuita dell'OD del film dovuta al preirraggiamento.

$N_{w,D_{ref}}$ è il fattore di taratura degli RCF ottenuto per una dose in acqua di riferimento, D_{ref} (4,8), definito dall'espressione:

$$N_{w,D_{ref}} = \left[\frac{D_{w,Q}}{NOD} \right]_{D_{ref}} \quad [3]$$

$P_{lin}(NOD)$ è un fattore che prende in considerazione la non-linearità della curva di taratura degli RCF, definito dall'espressione:

$$P_{lin} = \frac{[D_{w,Q}/NOD]}{N_{w,D_{ref}}} \quad [4]$$

con il rapporto $D_{w,Q} / NOD$ ottenuto dal valore di dose $D_{w,Q}$.

La grandezza $N_{w,D_{ref}}$ e il fattore P_{lin} , ottenuti irraggiando gli RCF perpendicolarmente all'asse centrale del fascio e alla profondità di riferimento $d_{ref}=1,5$ mm, sono stati utilizzati per convertire in dose in acqua i valori di NOD ottenuti dagli RCF irraggiati sia perpendicolarmente che parallelamente all'asse centrale del fascio di protoni.

$k_{E_0}^{RCF}$ è un fattore di correzione empirico per uno specifico fascio di protoni non modulato (di energia effettiva incidente E_0). Tale fattore è funzione del range residuo, R_{res} e include: le variazioni con la profondità del rapporto dei poteri frenanti acqua-RCF, $S_{w,RCF}$; il fattore di perturbazione che tiene conto delle dimensioni del film e della configurazione di irraggiamento degli RCF (perpendicolare o parallelo) e la variazione del fattore di taratura dovuta ad effetti che dipendono dalla prossimità dei prodotti di radiazione nel film (16). I valori del fattore $k_{E_0}^{RCF}$ sono stati determinati dall'espressione:

$$k_{E_0}^{RCF} = \frac{D_{w,Q}}{NOD[N_{w,D_{ref}} \cdot P_{lin}(NOD)]_{d_{ref}}} \quad [5]$$

con $D_{w,Q}$ la dose in acqua ottenuta dall'espressione (1).

In considerazione di una precisione della NOD dell'1% e dell'incertezza di $D_{w,Q}(d_{ref})$ del 2.3%, dalle espressioni (3), (4) e (5) è stata valutata un'incertezza complessiva del 5% per i valori di D_{w,E_0}^{RCF} .

Risultati

In Figura 1 sono riportate le curve di tarature NOD-dose, ottenute interpolando i punti di taratura, e i valori di P_{lin} ottenuti dall'espressione (4) per i fasci da 28 MeV e 62 MeV.

In Figura 2 è riportato il confronto tra la dose in profondità per unità di monitor ottenuta con la camera a ionizzazione Markus e i valori di d_{w,E_0}^{RCF} ottenuti assumendo $k_{E_0}^{RCF}=1$ con gli RCF posti perpendicolarmente e in parallelo all'asse centrale del fascio di protoni da 28 MeV e 62 MeV. La sottostima della dose, nella regione del picco di Bragg risultava, per il fascio da 62 MeV, variare dall'8% al 52% rispettivamente per gli RCF irraggiati nella configurazione perpendicolare e parallela rispettivamente. Per il fascio di protoni non modulato da 28 MeV la sottostima della dose è risultata pari al 40% irraggiando gli RCF perpendicolarmente all'asse centrale del fascio.

La Figura 3 mostra i due fattori di correzione, $k_{E_0}^{RCF}$, per gli RCF irraggiati nella configurazione perpendicolare e parallela (ottenuti dall'espressione (5)) in funzione di R_{res} per fasci di protoni di 28 e 62 MeV.

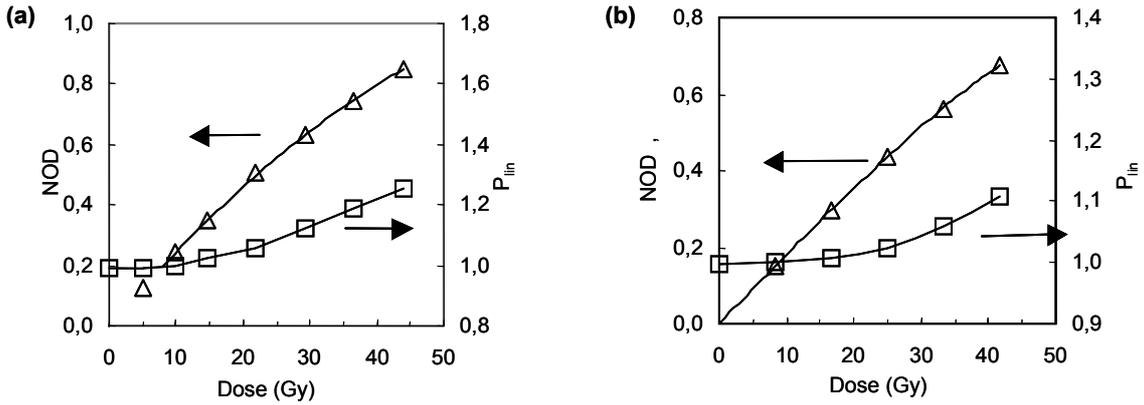


Figura 1. Curve di taratura NOD-dose (Δ) ottenute con gli RCF posizionati perpendicolarmente all'asse del fascio, a $d_{ref} = 1,5$ mm. I valori di P_{lin} (\square) ottenuti dall'equazione [4] possono essere letti sulla scala a destra. (a) $E = 28$ MeV, (b) $E = 62$ MeV

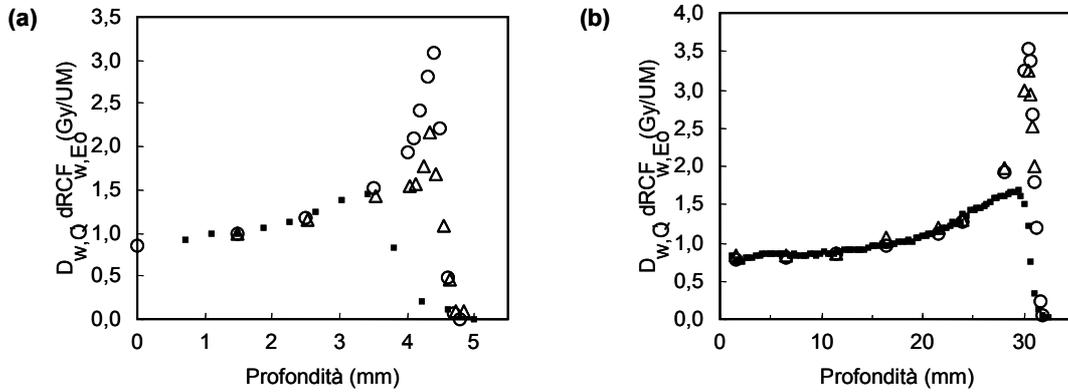


Figura 2. Valori di dose in profondità per unità monitor per i fasci di protoni non-modulati, ottenuti con la camera a ionizzazione Markus $D_{w,Q}$, (O) e i valori di d_{w,E_0}^{RCF} ottenuti irraggiando gli RCF in configurazione perpendicolare (Δ) e parallela (\blacksquare). (a) $E = 28$ MeV, (b) $E = 62$ MeV

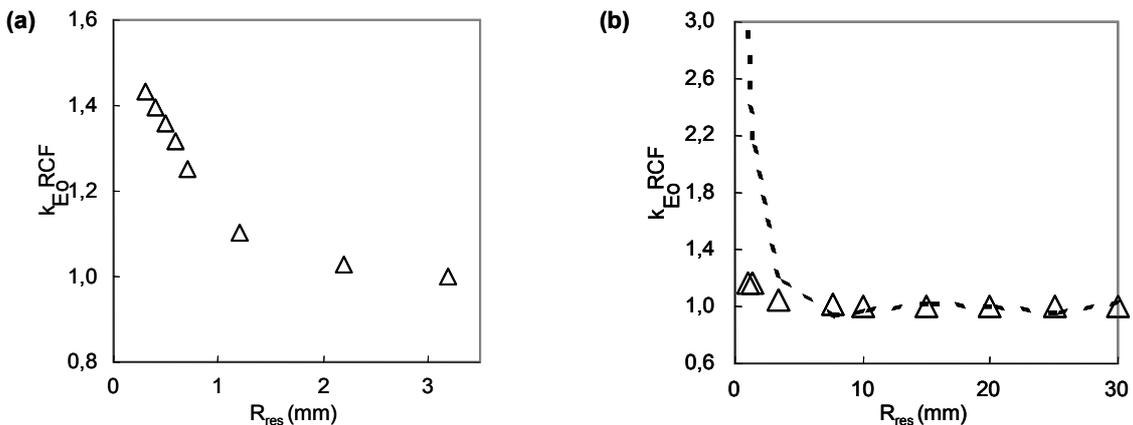


Figura 3. Fattori di correzione, $k_{E_0}^{RCF}$, in funzione di R_{res} ottenuti irraggiando gli RCF in configurazione perpendicolare (Δ) e parallela (\blacksquare). (a) $E = 28$ MeV, (b) $E = 62$ MeV

La Figura 4 riporta la dose in profondità per unità monitor del fascio modulato di protoni da 62 MeV ottenuta con camera di ionizzazione Markus e i valori di d_{w,E_0}^{RCF} ottenuti con gli RCF irradiati perpendicolare e parallelamente all'asse centrale fascio. Per gli RCF irradiati in configurazione perpendicolare la sottostima della dose è pari all'8% alla fine della regione di SOBP (*Spread-Out Bragg Peak*). Per gli RCF irradiati in configurazione parallela la sottostima della dose è pari al 6% e 60% rispettivamente al centro e alla fine della regione di SOBP. Per correggere il disaccordo tra i valori di $D_{w,Q}$ e di d_{w,E_0}^{RCF} ottenuti con gli RCF irradiati in configurazione parallela, è stato applicato il metodo di correzione riportato in letteratura dagli stessi autori (8).

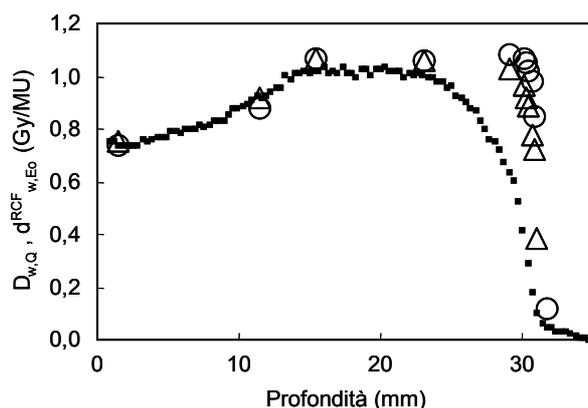


Figura 4. Valori di dose in profondità per MU per il fascio di protoni modulato da 62 MeV, ottenuti con la camera a ionizzazione di Markus $D_{w,Q}$ (O) e i valori di d_{w,E_0}^{RCF} ottenuti irradiando gli RCF in configurazione perpendicolare (Δ) e parallela (■)

La Figura 5 mostra i profili di dose relativi al fascio modulato di protoni da 62 MeV, mentre la Figura 6 mostra il confronto tra le isodosi in termini di d_{w,E_0}^{RCF} e di D_{w,E_0}^{RCF} , ottenute con gli RCF irradiati in configurazione parallela.

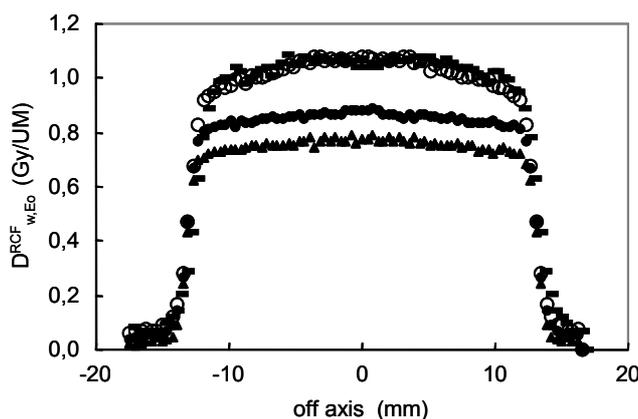


Figura 5. Profili di dose del fascio di protoni modulato da 62 MeV ottenuti con gli RCF irradiati in configurazione parallela. I profili di dose sono stati presi alla profondità di 7 mm (▲▲▲), 11 mm (●●●), 21 mm (---) e 28 mm (○○○)

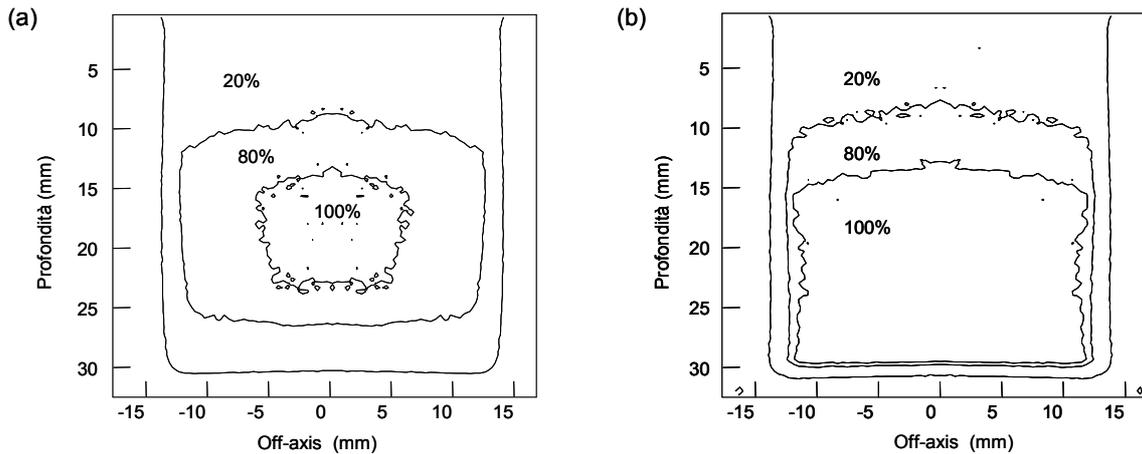


Figura 6. Confronto tra le distribuzioni di isodose in termini di d_{w,E_0}^{RCF} (a) e di D_{w,E_0}^{RCF} (b), ottenute sulla superficie contenente l'asse centrale del fascio di protoni

Discussione e conclusione

Una sottostima dosimetrica come quella riportata in Figura 4 è stata osservata anche da Vatnitsky (2) per un fascio di protoni con $E_0=68$ MeV utilizzando gli RCF MD-55-1 esposti perpendicolarmente all'asse del fascio.

Il metodo qui proposto fa uso di un fattore di correzione empirico $k_{E_0}^{RCF}$ (specifico per fasci di protoni non modulati di energia effettiva incidente E_0) funzione di R_{res} . Deve essere sottolineato che i valori di $k_{E_0}^{RCF}$ in funzione di R_{res} sono specifici di fasci di protoni di determinata energia E_0 . Infatti i dati riportati da Vatnitsky (1), per fasci di protoni con $E_0 \geq 126$ MeV, mostrano un buon accordo tra le dosi in profondità ottenute lungo l'asse centrale del fascio, con gli RCF esposti in configurazione perpendicolare e con camere a ionizzazione. Per tali fasci di protoni si può quindi assumere un $k_{E_0}^{RCF}$ uguale ad uno all'interno degli errori sperimentali per ogni profondità.

La dipendenza della NOD con il LET in funzione dell'orientamento degli RCF è stato confermato dalle presenti misure per fasci di protoni di energia 28 MeV e 62 MeV, irraggiando gli RCF perpendicolarmente e in parallelo all'asse centrale del fascio di protoni. Ciò potrebbe essere giustificato considerando che la dose misurata con gli RCF in configurazione parallela deriva dai protoni primari che viaggiano lungo l'asse centrale del fascio all'interno della lastra e da quelli diffusi dall'acqua circostante il film. La differenza di densità tra il film e l'acqua potrebbe giustificare un diverso peso tra la componente diffusa dall'acqua alla lastra e viceversa che determina un allargamento del picco di Bragg e una riduzione del rapporto tra la dose in ingresso e quella al picco di Bragg all'interno della lastra. A questo effetto si sovrappone la dipendenza della risposta degli RCF dal LET.

In letteratura sono presenti esempi di distribuzioni di isodosi non corrette ottenute con gli RCF posti in fantocci antropomorfi, confrontate con distribuzioni di dosi calcolate da TPS su di un piano contenente l'asse centrale di uno o più fasci di protoni. Il metodo di correzione qui utilizzato permette la verifica del calcolo della dose di un TPS per un fascio di protoni da 62 MeV.

In conclusione, come riportato in Figura 6, errori dosimetrici sostanziali sono possibili se non sono usati fattori correttivi $k_{E_0}^{RCF}$ relativi al fascio di energia incidente E_0 .

Bibliografia

1. Vatnitsky SM, Miller DW, Moyers MF, Levy RP, Schulte RW, Slater JD, Slater JM. Dosimetry techniques for narrow proton beam radiosurgery. *Phys Med Biol* 1999;44:2789-801.
2. Vatnitsky SM. Radiochromic film dosimetry for clinical proton beam. *Appl Radiat Isot* 1997;48:6:43.
3. Piermattei A, Azario L, Fidanzio A, Arcovito G. Quasi water-equivalent detectors for photon beams that present lateral electron disequilibrium. *Physica Medica* 1998;14:9-17.
4. Piermattei A, Miceli R, Azario L, Fidanzio A, Delle Canne S, De Angelis C, Onori S, Pacilio M, Petetti E, Raffaele L, Sabini M.G. Radiochromic film dosimetry of a low energy proton beam. *Medical Physics* 2000;27(7):1655-60.
5. De Angelis C, Onori S, Pacilio M, Petetti E, Fidanzio A, Piermattei A, Azario L, Miceli R, Cuttone G, Raffaele L, Kacperek A. Preliminary results in solid state dosimetry of proton beams for ocular pathology treatment. Catania 12-13 Ottobre 2000 (International conference on ocular pathologies therapy with proton beams). *Physica Medica* 2000;17(Supplement 3):41-4.
6. Butson MJ, Cheung T, Yu PKN. Radiochromic film dosimetry in water phantoms. *Phys Med Biol* 2001;46:27-31.
7. Suchowerska N, Hoban P, Davison A, Metcalfe P. Perturbation of radiotherapy beams by radiographic film: measurements and Monte Carlo simulations. *Phys Med Biol* 1999;44:1755-65.
8. Fidanzio A, Azario L, De Angelis C, Pacilio M, Onori S, Piermattei A. Radiochromic film dosimetry for a 62 MeV clinical proton beam. *Physica Medica* 2002;18(1):15:23.
9. IAEA TRS 398. *Absorbed Dose Determination in External Beam Radiotherapy: An International Code of Practice for Dosimetry based on Standards of Absorbed Dose to Water*. Vienna International Atomic Energy Agency; 2000.
10. ICRU REPORT 49. *Stopping power and ranges for protons and alpha particles*. Bethesda: International Commission on Radiation Units and Measurements; 1993.
11. Meigooni AS, Sanders MF, Ibbott G.S. Dosimetric characteristics of an improved radiochromic film. *Med Phys* 1996;23(11):1883-8.
12. McLaughlin WL, Puhl JM, Sheikhly AI, Christou C.A, Miller A, Kovacs A, Wojnàrovits L, Lewis DF. Novel radiochromic films for clinical dosimetry. Proceedings of the 11th International Conference on Solid State Dosimetry. (vol. 2). Budapest, 1996.
13. Niroomand-Rad A, Blackwell CR., Coursey BM, Gall KP, McLaughlin WL, Meigooni AS, Nath R, Rodgers JE, Soares CG. Radiochromic film dosimetry: Recommendations of AAPM Radiation Therapy Committee Task Group 55. *Med Phys* 1998;25(11):2093-115.
14. Piermattei A, Delle Canne S, Azario L, Fidanzio A, Soriani A, Orvieto A, Fantini M. LINAC Novac 7 electron beam calibration using GafChromic film. *Physica Medica* 1999;15(4):277-83.
15. Zhu Y, Kirov AS, Mishra V, Meigooni AS, Williamson JF. Quantitative evaluation of radiochromic film response for two-dimensional dosimetry *Med Phys* 1997;24(2):223-31.
16. Attix F. *Introduction to radiological physics and radiation dosimetry*. New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore: John Wiley and Sons; 1986.

CORREZIONE DELLA DIPENDENZA DAL LET DELLA RISPOSTA DI UN RIVELATORE A STATO SOLIDO PER UN FASCIO DI PROTONI DA 62 MeV

Angelo Piermattei (a), Andrea Fidanzio (a), Luigi Azario (a), Cinzia De Angelis (b), Massimiliano Pacilio (b), Sandro Onori (b), Andrzej Kacperek (c)

(a) *Istituto di Fisica, Università Cattolica del S.Cuore, Roma*

(b) *Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(c) *Douglas Cyclotron Unit, Clatterbridge Center for Oncology, Bebington (UK)*

Introduzione

I rivelatori a stato solido sono largamente utilizzati nella dosimetria dei piccoli fasci, dove è presente un alto gradiente di dose, nelle procedure per i controlli di qualità periodici, nella dosimetria *in vivo* e in generale in tutte quelle situazioni in cui può essere difficile usare una camera a ionizzazione. C'è quindi interesse nello studio di procedure di taratura dosimetrica per tali rivelatori anche per fasci di protoni (1-4). I dati dosimetrici disponibili, nell'intervallo di energie di protoni tra 28 MeV e 62 MeV ottenuti con rivelatori a diamante naturale e film radiocromici mostrano che questi rivelatori presentano risposte dipendenti dal LET (*Linear Energy Transfer*) della radiazione incidente. In questo lavoro è proposto un metodo che valuta la dipendenza dal LET del fattore di taratura di un rivelatore a diamante (*Diamond Detector*, DD), e consente di ottenere accurate distribuzioni di dose in profondità lungo l'asse centrale di un fascio modulato di protoni. Il metodo è stato automatizzato con un software dedicato e può essere applicato anche a rivelatori "off-line" come i film radiocromici.

Materiali e metodi

Apparato sperimentale

Le misure sono state realizzate con il fascio di protoni da 62 MeV del ciclotrone Scanditronix MC60 al Centro di Clatterbridge per l'Oncologia (CCO). I fasci modulati di protoni sono realizzati utilizzando modulatori passivi di perspex che sono fatti ruotare all'interno del fascio (4). Misure di dose in profondità per fasci di protoni modulati e non-modulati sono state eseguite in un fantoccio d'acqua di 15x15x15 cm³. La distanza tra il collimatore finale del fascio e la superficie anteriore del fantoccio (5,5 cm) e il diametro del fascio (2,5 cm) erano mantenuti costanti per tutte le misure. Una Camera a Ionizzazione (CI) Markus e il DD sono stati irraggiati, uno alla volta, lungo l'asse centrale del fascio a diverse profondità in acqua. La minima profondità ottenibile con la CI nel fantoccio d'acqua, 1,5 mm, è stata selezionata come profondità di riferimento, d_{ref} , per i due rivelatori nei fasci di protoni modulati e non-modulati.

Camera a ionizzazione

La CI Markus, prodotta dalla PTW (*Physikalisch-Technische Werkstätten*), ad elettrodi piani e paralleli, modello 23343, connessa ad un elettrometro Keithley, modello 35617, è stata

utilizzata come dosimetro di riferimento (4) per determinare la dose assorbita lungo l'asse centrale del fascio di protoni non-modulato e modulato seguendo il protocollo IAEA 398 della *International Atomic Energy Agency* (5).

Il range pratico, R_p , del fascio di protoni non-modulato (5) è stato determinato a partire dalle misure di dose ottenute con la camera Markus. Il range residuo, definito come $R_{res}=(R_p-d)$ del fascio di protoni, è stato utilizzato per valutare l'energia effettiva dei protoni E_{eff} (6) per il fascio non-modulato ad una certa profondità. La dose assorbita in acqua per Unità Monitor (UM), $D_{w,Q}$, ad una profondità d in acqua per i fasci di protoni non-modulato e modulato di qualità Q e in assenza della camera è data dalla relazione:

$$D_{w,Q} = M_Q \cdot N_{D,w,Q_0} \cdot k_Q \quad [1]$$

dove (5) M_Q è la lettura per UM della camera a ionizzazione, corretta per le condizioni di pressione, temperatura, e ricombinazione ionica; k_Q è il fattore, specifico per la camera a ionizzazione Markus, che corregge il fattore di taratura della camera Markus, N_{D,w,Q_0} , per le differenze tra la qualità del fascio di riferimento ^{60}Co e la qualità dei protoni. L'incertezza sulla dose è stata valutata come 2,3% (5).

Rivelatore a diamante

Il rivelatore a diamante PTW (DD) (tipo 60003) è stato ben descritto da Rustgi (7). Il DD usato in questo lavoro (numero di serie 7-031) ha un'area sensibile di $3,8 \text{ mm}^2$ e uno spessore di $0,26 \text{ mm}$. Il centro del volume sensibile del diamante, posto $1,0 \pm 0,1 \text{ mm}$ sotto la superficie del rivelatore, è stato assunto come punto effettivo di misura. Una tensione di alimentazione di 100 V è stata applicata al DD connesso ad un elettrometro Multidos PTW modello QC6.

Utilizzando un fascio di protoni non-modulato di energia effettiva incidente E_0 , il fattore di taratura, $N_{w,ref}$, del DD è stato ottenuto dall'espressione:

$$N_{w,ref} = \frac{D_{w,Q}(d_{ref})}{M_{E_0}(d_{ref})} \quad [2]$$

dove $D_{w,Q}(d_{ref})$ e $M_{E_0}(d_{ref})$ sono rispettivamente la dose in acqua (ottenuti con la CI Markus) e il segnale ottenuto con il DD (corretto per la dipendenza dal rateo di dose (10)) ottenuto nelle stesse condizioni di irraggiamento alla profondità $d_{ref}=1,5 \text{ mm}$.

Per analizzare la variazione del fattore di taratura di DD in funzione della qualità del fascio di protoni a diverse profondità in acqua, è stato definito un fattore di correzione empirico, $k_{E_0}^{DD}$ in funzione di R_{res} , per il fascio di protoni non-modulato di energia effettiva incidente E_0 :

$$k_{E_0}^{DD}(R_{res}) = \frac{D_{w,Q}(R_{res})}{N_{w,ref} \cdot M_{E_0}(R_{res})} \quad [3]$$

dove $D_{w,Q}(R_{res})$ e $M_{E_0}(R_{res})$ sono rispettivamente la dose in acqua e il segnale del DD ad R_{res} . Così per il fascio di protoni non-modulato la dose in acqua per unità di monitor, $D_{w,E_0}^{DD}(d)$ ad una profondità, d , può essere determinata con un DD tarato utilizzando l'espressione:

$$D_{w,E_0}^{DD}(d) = M_{E_0}(d) \cdot N_{w,ref} \cdot k_{E_0}^{DD}(R_p - d) \quad [4]$$

Il fattore di correzione empirico $k_{E_0}^{DD}(R_{res})$ include la variazione dell'energia media, $w_{c,p}$ necessaria per creare una coppia di ioni in diamante, il rapporto dei poteri frenanti massici acqua-carbonio, $s_{w,c}$, il fattore di perturbazione del rivelatore e la dipendenza dal LET del fattore di taratura (11). Considerando che la precisione del segnale del DD è uguale a 0,3% e l'incertezza di $D_{w,Q}(d_{ref})$ è uguale a 2,3%, dalle espressioni [2] e [3], è stata valutata un'incertezza complessiva del 4% per $D_{w,E_0}^{DD}(d)$.

Utilizzo di $k_{Eo}^{DD}(R_{res})$ per un fascio di protoni modulato

Lo scopo di questo lavoro è quello di mostrare come un DD può fornire una dosimetria accurata di un fascio di protoni modulato utilizzando $k_{Eo}^{DD}(R_{res})$. Un software è stato implementato per correggere, in tempo reale i segnali del DD ottenuti lungo l'asse centrale del fascio di protoni modulato. I dati di ingresso del software sono: (a) il segnale del DD in funzione della profondità in acqua lungo l'asse centrale del fascio di protoni non-modulato, ottenuto con un passo fisso di 0,2 mm; (b) i fattori di correzione $k_{ion,\Delta}$, $k_{Eo}^{DD}(R_{res})$, e il fattore di taratura, $N_{w,ref}$; (c) le altezze relative dei picchi di Bragg che costituiscono il fascio di protoni modulato e lo spessore acqua equivalente dei filtri del modulatore; (d) il segnale del DD in funzione della profondità in acqua lungo l'asse centrale del fascio modulato di protoni, ottenuto con un passo fisso di 0,2 mm.

Nel primo passo il software deconvolve la distribuzione del segnale del DD ottenuta lungo l'asse centrale del fascio di protoni modulato in un numero, N , di componenti (segnali di fasci non-modulati), usando i dati forniti al punto c. In particolare le N componenti non-modulate sono ottenute dalla distribuzione del segnale del DD ottenuto per il fascio non-modulato (punto a) spostando tale distribuzione verso la sorgente di distanze in acqua pari agli spessori acqua equivalenti dei filtri del modulatore, e eliminando la parte assorbita nel modulatore. In questa fase il software esegue una normalizzazione delle N componenti del fascio modulato, per ottenere una loro sovrapposizione che riproduca al meglio la distribuzione di segnale del DD per il fascio di protoni modulato (punto c). Nel secondo passo il software converte le N componenti di segnale non-modulate del fascio in dosi in acqua usando $k_{Eo}^{DD}(R_{res})$ e $N_{w,ref}$ (punto b) e l'espressione [4]. Poi le componenti di dose in acqua sono sovrapposte per ottenere le distribuzioni di dose del fascio di protoni modulato.

Risultati

La Figura 1 riporta i segnali per unità di monitor normalizzati alla profondità $d_{ref}=1,5$ mm, ottenuti con la CI Markus e il DD per il fascio di protoni non-modulato. La profondità del picco di Bragg, R_{Bp} , ottenuta con il DD, è uguale a quella ottenuta con la CI Markus. Questo vuole dire che un effetto di perturbazione eventuale, causato dallo spessore e dalla densità del volume sensibile del DD è mascherato all'interno dell'incertezza del punto effettivo di misura.

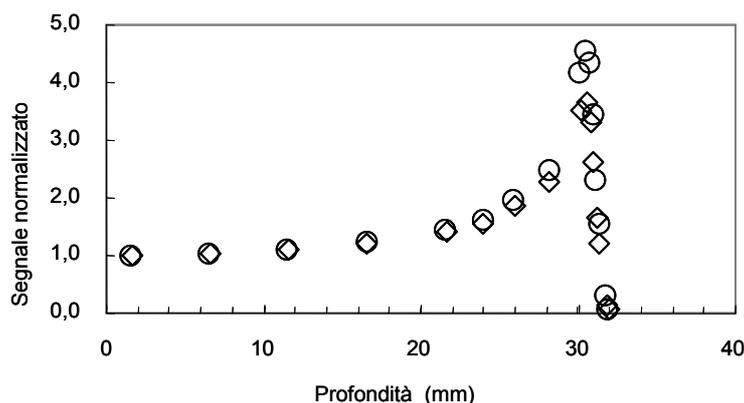


Figura 1. Segnale relativo ottenuto con la CI Markus (○) e con il DD (◇) normalizzato alla profondità $d_{ref}=1,5$ mm. I rivelatori sono stati posti a diverse profondità in acqua lungo l'asse centrale fascio di protoni non-modulato da 62 MeV del CCO

La Figura 1 mostra che segnale relativo del DD sottostima del 18% quello ottenuto con la CI Markus nella regione del picco di Bragg quando entrambi i segnali sono normalizzati a $d_{ref} = 1,5$ mm. È stato determinato un fattore di taratura $N_{w,ref} = 1,736 \times 10^{-7} \text{ Gy C}^{-1}$. Inoltre tale fattore è rimasto costante entro lo 0,3% dopo una dose accumulata di circa 1 kGy.

La Figura 2 mostra il *fit* del fattore di correzione $k_{Eo}^{DD}(R_{res})$.

La Figura 3 riporta, per il fascio di protoni modulato ottenuto da un modulatore con $n=17$ filtri, i valori di $D_{w,Q}$ determinati dall'espressione (1) e i valori di $d_{w,Eo}^{DD}$, ottenuti dall'espressione [4] con $k_{Eo}^{DD}(R_{res})=1$. Il DD sottostima la dose del 7% e 18%, rispettivamente al centro e alla fine della regione del SOBP (*Spread-Out Bragg Peak*). Per correggere il disaccordo tra i valori di $D_{w,Q}$ (d) e $d_{w,Eo}^{DD}$ (d) è stato applicato il metodo di correzione esposto nella sezione precedente.

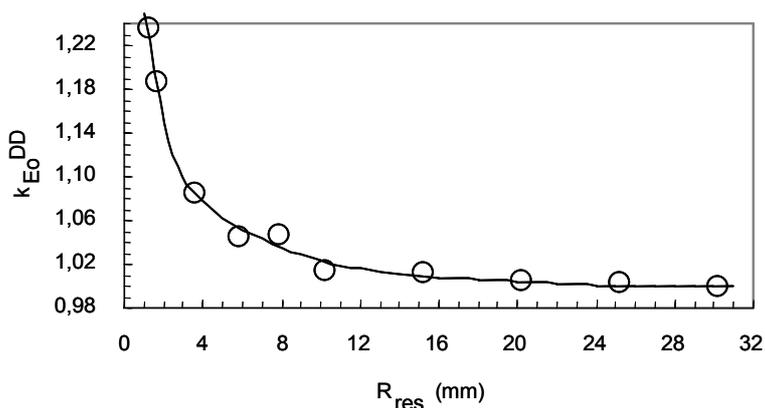


Figura 2. Valori del fattore $k_{Eo}^{DD}(R_{res})$ per il rivelatore a diamante PTW in funzione del range residuo, R_{res} , ottenuti per il fascio di protoni non-modulato da 62 MeV del CCO

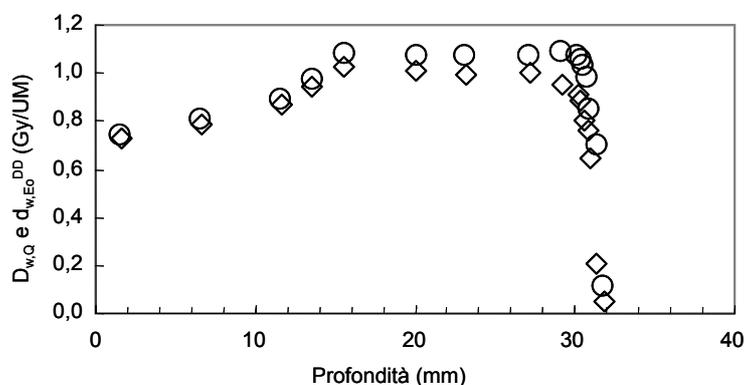


Figura 3. Valori di dose, $D_{w,Q}$, ottenuti con la CI Markus (O) e valori di $d_{w,Eo}^{DD}$ (◇) ottenuti dall'espressione (4) assumendo $k_{Eo}^{DD}=1$. I rivelatori sono stati posti a diverse profondità in acqua lungo l'asse centrale fascio di protoni modulato da 62 MeV del CCO

La Figura 4 mostra il confronto tra i valori di dose per UM, ottenuti con la CI e la distribuzione di dose calcolata con il software. Le differenze osservate (2%) risultano entro l'incertezza sperimentale.

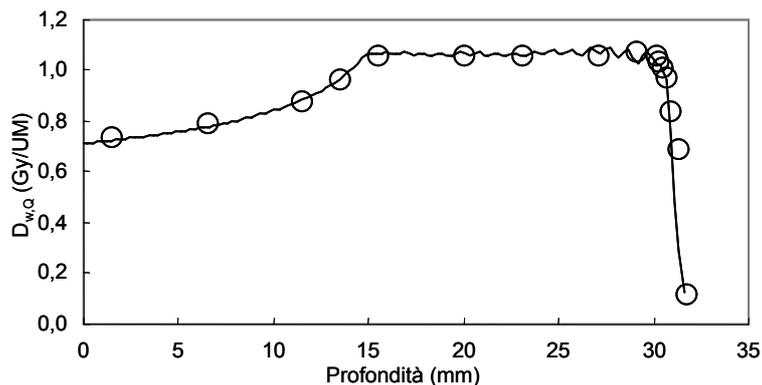


Figura 4. Confronto tra i valori di dose per UM, D_{w,Q_2} , ottenuti con la CI Markus (O) e calcolati dal software (linea continua) per il fascio di protoni modulato da 62 MeV del CCO

Discussioni e conclusioni

Il rivelatore a diamante PTW mostra un fattore di taratura $N_{w,ref}$, stabile con dose accumulata. Comunque, questo fattore varia, per un fascio di protoni da 62 MeV, in funzione della profondità in acqua a causa delle variazioni del LET. In particolare si osserva che la taratura del DD al centro della regione del SOBP di un fascio modulato di protoni da 62 MeV non è adeguata per ottenere una dosimetria accurata lungo l'asse centrale. La procedura dosimetrica qui proposta utilizza un fattore empirico, $k_{E_0}(R_{res})$, funzione del range residuo del fascio di protoni, per descrivere la dipendenza dal LET del fattore di taratura del DD per il fascio di protoni da 62 MeV. Tale fattore esprime la variazione del segnale fornito dal rivelatore a parità di energia assorbita nel suo volume sensibile, in funzione dalla qualità della radiazione incidente (11). Dai dati riportati in letteratura (3, 12, 13) si può osservare come la sottostima della dose ottenuta con il DD nella regione del picco di Bragg aumenti al diminuire dell'energia effettiva incidente, E_0 , del fascio di protoni. Per discutere questa osservazione, la Figura 5 riporta le curve dei *fit* dei valori di $k_{E_0}^{DD}(R_{res}/R_p)$ in funzione del rapporto R_{res}/R_p , per il fascio di protoni con $E_0 = 62$ MeV e per un fascio di protoni con $E_0 = 126$ MeV riportato in letteratura (13).

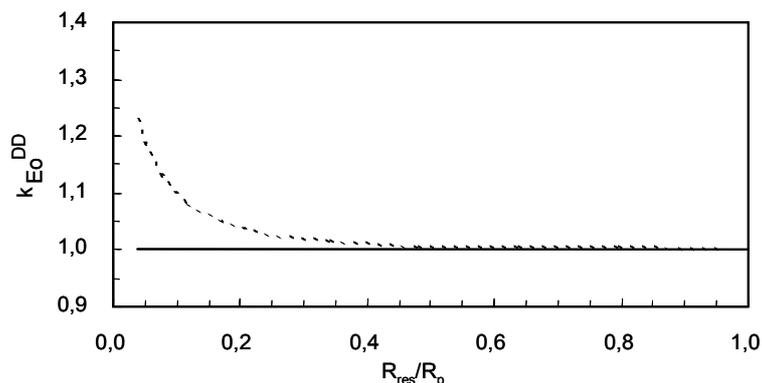


Figura 5. *Fit* dei valori di fattore di correzione $k_{E_0}^{DD}(R_{res}/R_p)$ in funzione del rapporto di R_{res}/R_p per fasci di protoni con energia effettiva incidente E_0 di 62 MeV ($R_p = 31.7$ mm, $R_{Bp} = 30.5$ mm) (-----) e di 126 MeV ($R_p = 103$ mm, $R_{Bp} = 99$ mm) (—) (13)

La Figura 5 mostra che il fattore di correzione è costantemente uguale ad 1 per protoni di alta energia (126 MeV) (13), mentre per fasci di protoni con energia effettiva incidente pari a 62 MeV il fattore di correzione aumenta avvicinandosi alla profondità di R_{Bp} . Questo vuole dire che il parametro R_{res} può essere correlato all'efficienza del DD solamente per una specifica energia effettiva incidente. L'efficienza del DD potrebbe essere correlata allo spettro di energia di protoni o la distribuzione di LET ad una particolare profondità di acqua. Infatti, alla profondità del picco di Bragg, R_{Bp} , l'efficienza del rivelatore decresce per fasci di protoni con energia effettiva incidente minore, così come l'energia effettiva al R_{Bp} che risulta di 10 MeV per un fascio di protoni da 62 MeV, e 20 MeV per un fascio di protoni da 126 MeV. A causa dell'assenza di informazioni dettagliate sulla distribuzione di LET in profondità per i fasci di protoni e sull'esatta correlazione con la risposta del DD, in questo lavoro è comunque stato utilizzato un fattore di correzione, $k_{E_0}^{DD}(R_{res})$ per correggere le distribuzioni di segnale del DD delle componenti del fascio di protoni modulato di $E_0=62$ MeV.

In conclusione la procedura riportata può essere applicata a qualsiasi rivelatore che presenti una dipendenza dal LET del fattore di taratura per ottenere una dosimetria accurata lungo l'asse centrale di un fascio di protoni modulato. Tale metodo infatti è stato applicato anche per ottenere le distribuzioni di isodose da film irraggiati parallelamente all'asse centrale di un fascio di protoni da 62 MeV (4).

Bibliografia

1. Vatnitsky S, Miller D, Siebers J, Moyers MF. Application of solid state detectors for dosimetry of therapeutic proton beams. *Med Phys* 1995;22(4):469-73.
2. Grussel E, Medin J. General characteristics of silicon diode detectors for clinical dosimetry in proton beams. *Phys Med Biol* 2000;45:2573-82.
3. De Angelis C, Onori S, Pacilio M, E. Petetti, Fidanzio A, Piermattei A, Azario L, Miceli R, Cuttone G, Raffaele L, Kacperek A. Preliminary results in solid state dosimetry of proton beams for ocular pathology treatment. Proceedings of the International conference on ocular pathologies therapy with proton beams. *Physica Medica* 2001;17 (Supplement 3):41-44.
4. Fidanzio A, Azario L, De Angelis C, Pacilio M, Onori S, Piermattei A. Radiochromic film dosimetry for a 62 MeV clinical proton beam. *Physica Medica* 2002;18(1):15-23.
5. IAEA TRS 398. *Absorbed Dose Determination in External Beam Radiotherapy: An International Code of Practice for Dosimetry based on Standards of Absorbed Dose to Water*. Vienna International Atomic Energy Agency; 2000.
6. ICRU REPORT 49. *Stopping power and ranges for protons and alpha particles*. Bethesda: International Commission on Radiation Units and Measurements; 1993.
7. Rustgi SN, Frye DMD. Dosimetric characterisation of radiosurgical beams with a diamond detector. *Med Phys* 1995;22:2117-21.
8. Fowler JF. Solid state electrical conductivity dosimeters. In: Attix FH, Roesch WC (Ed.). *Radiation Dosimetry*. New York: Academic; 1966.
9. Hoban PW, Heydarian M, Beckham WA, Beddoe AH. Dose rate dependence of a PTW diamond detector in the dosimetry of a 6 MV photon beam. *Phys Med Biol* 1994;39:1219-29.
10. Fidanzio A, Azario L, Miceli R, Russo A, Piermattei A. PTW-diamond detector: Dose rate and particle type dependence. *Med Phys* 2000;27(11):2589-93.
11. Attix F. *Introduction to radiological physics and radiation dosimetry*. New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore: John Wiley and Sons; 1986.

12. Onori S, De Angelis C, Fattibene P, Pacilio M, Petetti E, Azario L, Miceli R, Piermattei A, Barone Tonghi L, Cuttone G, Lo Nigro S. Dosimetric characterisation of silicon and diamond detectors in low energy proton beams. *Phys Med Biol* 2000;45:3045-305.
13. Vatnitsky SM, Miller DW, Moyers MF, Levy RP, Schulte RW, Slater JD, Slater JM. Dosimetry techniques for narrow proton beam radiosurgery. *Phys Med Biol* 1999;44:2789-801.

DOSIMETRIA DI FASCI PROTONICI CON IL SISTEMA FRICKE-AGAROSIO

Anna Maria Luciani (a), Massimiliano Pacilio (a), Piero Barone (b), Francesco de Pasquale (a), Francesco d'Errico (c), Stefano Di Capua (a), Laura Guidoni (a), Emmanuel Egger (d), Riccardo Manfredi (e), Angelo Piermattei (e), Antonella Rosi (a), Giovanni Sebastiani (b), Vincenza Viti (a)

(a) Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Istituto per le Applicazioni del Calcolo, CNR, Roma

(c) Yale University School of medicine, department of therapeutic radiology, Yale (CT) (USA)

(d) Department of Radiation Medicine, Paul Scherrer Institut, Villigen, Switzerland

(e) Facoltà di Medicina, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

Introduzione

Un problema di fondamentale importanza della dosimetria nell'ambito di tutta l'attività radioterapica, quindi riferendosi non solo alle tecniche speciali quali quelle che adottano l'uso di fasci protonici, ma alla radioterapia nel suo complesso, consiste nella possibilità di effettuare la verifica del piano di trattamento prima della terapia. Questo problema è stato spesso affrontato, ma mai completamente risolto. Il modo più diffuso e il più accreditato dalle commissioni internazionali che stilano i protocolli operativi, è il fantoccio Alderson-Rando, che consiste in un fantoccio antropomorfo di materiale solido, al cui interno si possono collocare un certo numero di dosimetri di tipo passivo – tradizionalmente TLD (*ThermoLuminescence Dosimetry*) ma anche alanina. Tale procedura presenta alcuni limiti intrinseci, sia per il fatto che il fantoccio presenta una struttura omogenea, sia perché in questo modo si ottiene solo un campionamento per punti della distribuzione volumetrica di dose. Sono possibili anche altre tecniche di verifica, tramite fantocci con disomogeneità (tipicamente teflon, alluminio, e sughero sono sufficienti per simulare i vari tipi di ossa e i polmoni) al cui interno sono introdotte delle pellicole radiografiche. Siamo, comunque, molto lontani dalla realizzazione di dosimetria 3D.

Tra le tecniche dosimetriche più promettenti in corso di sviluppo vi è la dosimetria con gel. I sistemi gel sono estremamente interessanti in quanto, in linea di principio, presentano delle caratteristiche generali molto favorevoli ad un impiego dosimetrico. Innanzitutto sono sistemi intrinsecamente acqua-equivalenti (essendo costituiti prevalentemente da acqua), con i quali è inoltre possibile simulare vari tipi di tessuti modificando opportunamente la composizione chimica. In secondo luogo, la dosimetria con gel è una tecnica di tipo passivo che non prevede la realizzazione di singoli dosimetri, ma di sistemi che siano fantocci e dosimetri al tempo stesso, eliminando simultaneamente sia problemi di disomogeneità e di effetti di interfaccia, dovuti alle differenze tra il materiale che costituisce il dosimetro e quello che costituisce il fantoccio, sia effetti dimensionali sulla risposta, dovuti alle dimensioni finite del singolo dosimetro. Quest'ultimo aspetto sarebbe quindi correlato alla risoluzione spaziale intrinseca della tecnica di "lettura" a sua volta connessa al particolare tipo di gel in questione. In terzo luogo, un elemento importantissimo per le finalità della radioterapia, un siffatto sistema impiegato congiuntamente con tecniche di *imaging* renderebbe possibile la verifica dei piani di trattamento personalizzati in 3D, dando come ulteriore contributo un miglioramento dei controlli di qualità sugli algoritmi di simulazione. I problemi di dipendenza direzionale della risposta dosimetrica non vi sarebbero; essendo una tecnica di tipo passivo, che quindi non comporta trasporto e raccolta di cariche di

ionizzazione, gli effetti di ricombinazione potrebbero risultare limitati; la presenza di equilibrio elettronico è ovviamente garantita, quando necessaria. Restano i problemi più tipici delle tecniche di tipo passivo, ovvero l'invecchiamento dell'informazione (*fading*) e la dipendenza della risposta dalla qualità della radiazione. Tuttavia, la possibilità di avere un fantoccio tessuto-equivalente che è simultaneamente anche dosimetro, con la possibilità di modificarne la composizione per simulare molti tipi di tessuti e di adattarlo alle più disparate geometrie, risulta talmente allettante da giustificare più di 20 anni di ricerca in tale campo.

I sistemi gel si suddividono in due grandi categorie. Vi sono sistemi che impiegano la soluzione di Fricke, un ben noto dosimetro che da tempo è uno standard assoluto, con il quale la misura della dose si esegue misurando la concentrazione di ioni che, per ossidazione radioindotta, da ferrosi diventano ferrici. Tale soluzione è dispersa in un gel (gelatina, agarosio o altro), il quale fornisce solo una matrice di "sostegno" per gli ioni, ostacolandone la diffusione e rendendo possibile la determinazione della dose assorbita localmente. Tradizionalmente, con la soluzione di Fricke, la misura di tale concentrazione avveniva con la spettrofotometria d'assorbimento; con i sistemi gel si impiega solitamente la Risonanza Magnetica (RM), dal momento che la variazione delle concentrazioni di ioni paramagnetici modifica sensibilmente i tassi di rilassamento dei protoni dell'acqua (1-3). Quindi, impiegando tali sistemi congiuntamente con la tecnica di *imaging* di RM è possibile ottenere le distribuzioni 3D della dose assorbita.

Altri sistemi gel sono costituiti da sostanze gelificanti che a seguito dell'assorbimento di dose polimerizzano per "cross-linking", come ad esempio gel di poliacrilammide. Ciò comporta una sensibile variazione con la dose assorbita del tasso di rilassamento di RM R_2 , ma anche della Densità Ottica (DO) del sistema; quindi con un'analisi di tipo torbidometrico condotta, ad esempio, con un sistema laser e con tecniche di Tomografia Computerizzata (TC), è possibile ricostruire la distribuzione di dose 3D (4-7).

Entrambi i tipi di dosimetri gel presentano, ovviamente, pregi e difetti. I gel polimerici non presentano grossi problemi di *fading*, ma sono di difficile preparazione in quanto i reagenti sono tossici e cancerogeni e la dipendenza della risposta dal LET della radiazione sembra essere rilevante (8). I gel che impiegano la soluzione di Fricke conservano una parte delle buone proprietà di questo dosimetro tradizionale quali, ad esempio, la facilità di preparazione, la linearità della relazione dose-risposta in un ampio intervallo di dose e una discreta indipendenza della risposta dalla qualità della radiazione; inoltre il loro impiego è immediato in quanto non richiede l'acquisto di apparecchiature dedicate (ogni struttura ospedaliera possiede almeno un tomografo di MRI). Uno dei problemi consisteva nel basso rapporto S/N delle immagini RM. Il maggiore problema rimane la perdita di informazione (*fading*), in quanto la diffusione degli ioni paramagnetici, pur limitata dalla matrice gel, non è del tutto eliminata. Una delle soluzioni può essere lo sviluppo di metodi di deconvoluzione del segnale che possano, tenendo conto dei moti diffusivi, ricostruire la distribuzione di dose iniziale (9-11). A questo scopo, è necessario conoscere con una certa accuratezza il coefficiente di diffusione degli ioni ferrici. Un altro approccio al problema consiste nel modificare la composizione chimica del dosimetro, introducendo una sostanza chelante per gli ioni paramagnetici che ne rallenti i moti diffusivi (12-14); occorre però verificare che tale modifica non alteri le buone proprietà del dosimetro. Qualunque sia la modifica apportata alla composizione, si rende necessaria una nuova caratterizzazione del sistema, sia dal punto di vista dosimetrico, sia dal punto di vista delle proprietà di rilassamento di RM. Tuttavia, pur essendo significativa l'influenza degli agenti chelanti, non è tale da poter ignorare gli effetti diffusivi, quindi entrambi gli approcci al problema vanno perseguiti congiuntamente. Ciò significa che, anche nel sistema modificato con l'introduzione dei chelanti, occorre procedere nuovamente alla misura accurata del coefficiente di diffusione degli ioni chelati, allo scopo di rendere possibile l'applicazione di algoritmi correttivi di deconvoluzione del segnale.

Il presente lavoro consiste in un'attività di ricerca e sviluppo riguardante un sistema dosimetrico di tipo gel, allo scopo di realizzare la verifica dei piani di trattamento con fasci protonici e non. In particolare, è stato effettuato uno studio delle principali proprietà del gel Fricke-agarosio modificato con l'aggiunta del chelante Xylenol Orange.

Dal momento che il gel qui studiato possiede proprietà radiocromiche, è stata effettuata la misura del coefficiente di diffusione anche tramite misure di assorbimento ottico da confrontare con i risultati ottenuti con la RM.

Materiali e metodi

La risposta del sistema alla dose assorbita consiste nell'incremento del rateo di rilassamento longitudinale dei protoni dell'acqua. Il metodo di misura consiste nell'applicazione della sequenza di impulsi a radiofrequenza ($180^\circ - \tau - 90^\circ$) al variare del tempo τ , nota come sequenza di *Inversion Recovery* (IR). Il tempo di misura era di circa 50 min. Nello stesso tempo, vista la diffusione di tecniche alternative di *imaging* dosimetrico basate su tomografia ottica, è sembrato opportuno effettuare una caratterizzazione dosimetrica di base del gel anche tramite misure di assorbimento ottico. In questo caso la risposta del sistema alla dose assorbita consiste nella variazione della densità ottica dovuta alla produzione radioindotta dei cromofori.

Per le misure sono stati utilizzati cilindri di perspex (Figura 1) nei quali veniva inserito il gel. Per le misure ottiche sono state utilizzate le normali cuvette di quarzo con dimensioni 10 mm x 10 mm x 45 mm.

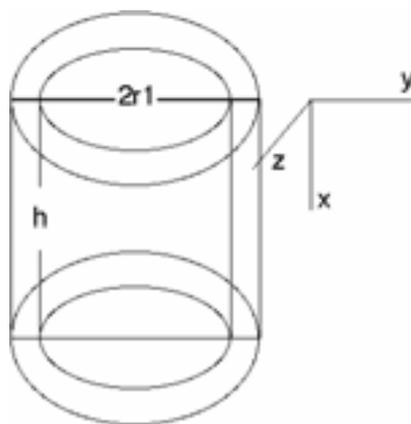


Figura 1. Geometria e dimensioni del campione irradiato con fasci protonici con $2r_1 = 45$ mm e $h = 40$ mm. Il cilindro interno con diametro 34 mm rappresenta la regione irradiata del campione e il rettangolo più grande la fetta acquisita

I campioni erano stati irradiati con il fascio protonico a 62 MeV del PSI (penetrazione in acqua 32 cm) a un rateo di dose di 1 Gy/s con dose variabile tra 0 e 30 Gy. Il fascio aveva una sezione trasversa di raggio 17 cm e il suo asse era allineato all'asse del campione (Figura 1). Il fascio veniva modulato per dare uno *spread out bragg peak* con una estensione di 14 cm. Per la dosimetria di riferimento era stata utilizzata una camera Markus.

I campioni per le misure ottiche erano irradiati con un tubo a raggi X con voltaggio di 145 kV. Le celle, posizionate sul piano radiografico, venivano parzialmente schermate con uno

schermo di piombo di 1 cm. Il bordo dello schermo era perpendicolare alla cella in modo da produrre un gradiente di dose netto. Le celle schermate venivano irradiate con un rateo di dose di 2 Gy/min e una dose di 10 Gy.

Risultati e discussione

Le prime misure erano ottenute irradiando i gel con i suddetti fasci protonici e successivamente estraendo a differenti profondità rispetto alla distanza di penetrazione del fascio, in corrispondenza quindi a diverse dosi di irradiazione, differenti campioni. Le misure di tempi di rilassamento di questi campioni venivano effettuate con la modalità non localizzata e i risultati avevano indicato che i tempi di rilassamento aumentavano con la dose. Gli errori sperimentali, peraltro molto grandi e valutabili attorno al 10% non permettevano di dare una valutazione definitiva sulle variazioni della risposta del dosimetro in funzione del LET (15).

Sono state successivamente effettuate diverse serie di immagini ottenute con un tomografo a RM operante a 4 T su campioni irraggiati con i fasci protonici principalmente modulando il fascio protonico (Figura 2). La risoluzione spaziale ottenibile è dell'ordine di 0,2-0,3 mm che è proprio quella necessaria nei piani di trattamento radioterapici, anche i più sofisticati. Purtroppo con il passare del tempo si può osservare lo sfocamento dell'immagine dovuto alla diffusione degli ioni ferrici. Le misure erano però affette da un errore non trascurabile dovuto ad un livello di rumore molto elevato presente nelle immagini. Per ovviare a questo inconveniente è stato sviluppato un approccio di tipo Bayesano che permetteva sia di ridurre il rumore e di conseguenza anche il tempo di acquisizione delle immagini (11).

Per limitare gli effetti della diffusione degli ioni ferrici che si formano all'interno del gel in seguito all'irraggiamento, si è voluto in primo luogo studiare il comportamento del sistema quando all'interno fossero inseriti chelanti degli ioni ferrici. Dal confronto tra Figura 2, relativa alle immagini ottenute senza chelanti, e Figura 3, relativa ad un campione al cui interno era presente lo Xylenol Orange, si può osservare l'efficacia di tale sistema. Gli esperimenti eseguiti hanno indicato che la possibile diminuzione della resa prodotta da questi agenti è piccola quando i campioni vengono irraggiati con protoni.

La Figura 4 mostra il confronto tra le misure RM per una colonna di dati estratta dal fantoccio contenente Xylenol Orange irraggiato con il fascio protonico modulato e i risultati ottenuti con la camera a ionizzazione. Nella regione prossimale l'accordo tra misure di camera a ionizzazione e misure di RM è molto buono. D'altronde la diffusione è ancora presente soprattutto nella regione distale dove le variazioni di dose sono molto brusche, non permettendo ancora di comprendere quale sia la dipendenza dal LET del nostro dosimetro, anche se da questi primi risultati si può dedurre che essa sia inferiore a quanto prevedibile sulla base di dati presenti in letteratura sulle soluzioni di Fricke (16).

Una prima possibile interpretazione del fenomeno da noi osservato, consistente nella assenza di una dipendenza molto forte della resa dal LET per i protoni di alta energia, potrebbe essere ricercata nell'esistenza di sorgenti di decomposizione dell'acqua che gioca il suo ruolo prevalentemente nelle tracce dense e che controbilancia l'aumentata ricombinazione dei radicali dell'acqua che si presenta in questo tipo di tracce. Questa sorgente extra potrebbe consistere di specie di acqua eccitata che normalmente decade senza decomposizione e produce una reazione chimica netta solo se viene prodotta in siti adiacenti. È chiaro quindi come la comprensione di questi fenomeni sia molto importante non solo per quanto riguarda i sistemi dosimetrici che contengano acqua, come quello che stiamo studiando, ma anche per il discorso relativo alla struttura delle tracce in sistemi acquosi, sotto il profilo della comprensione delle reazioni che avvengono in sistemi biologici per particelle ad alto LET.

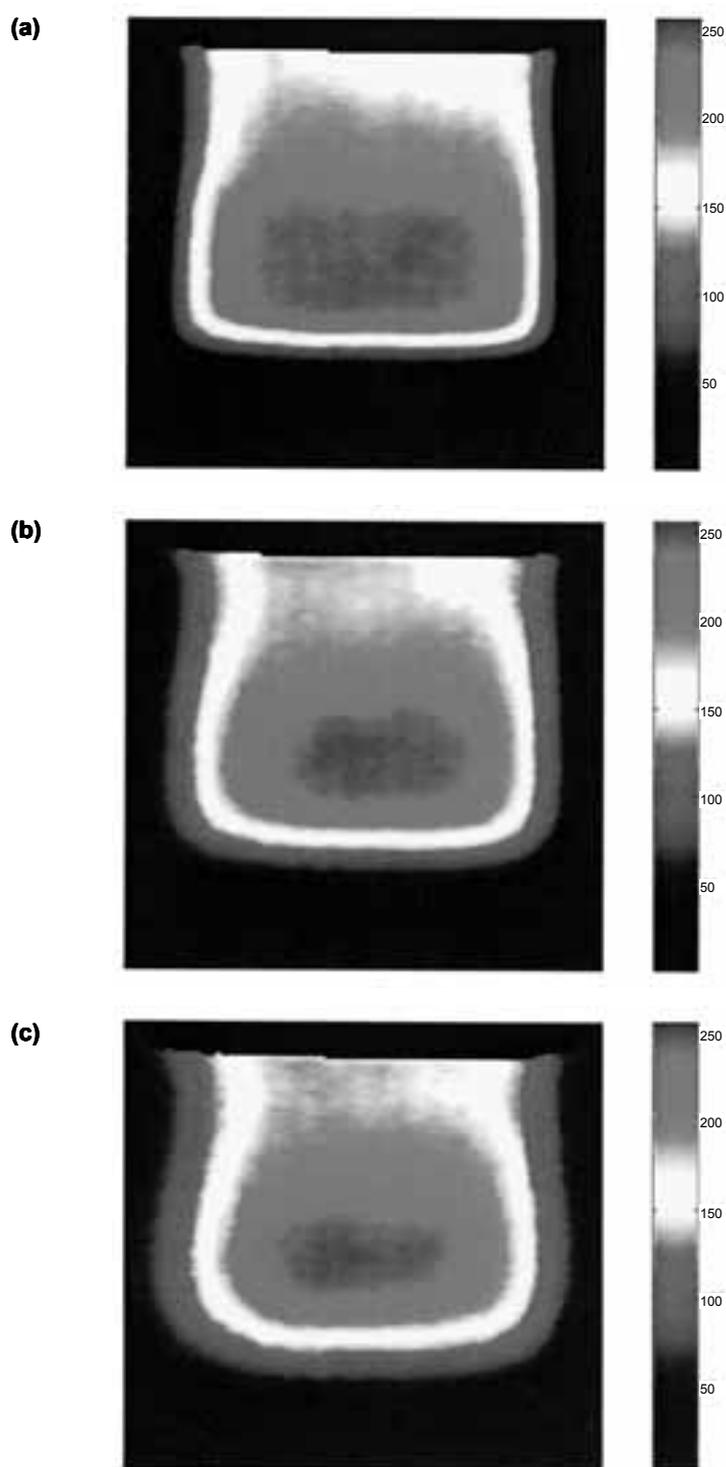


Figura 2. Immagini di ratei di rilassamento R1 del campione senza Xylenol Orange ottenute a tempi diversi dopo l'irraggiamento e precisamente dopo 1 ora (a), dopo 2 ore (b) e dopo 5 ore (c)

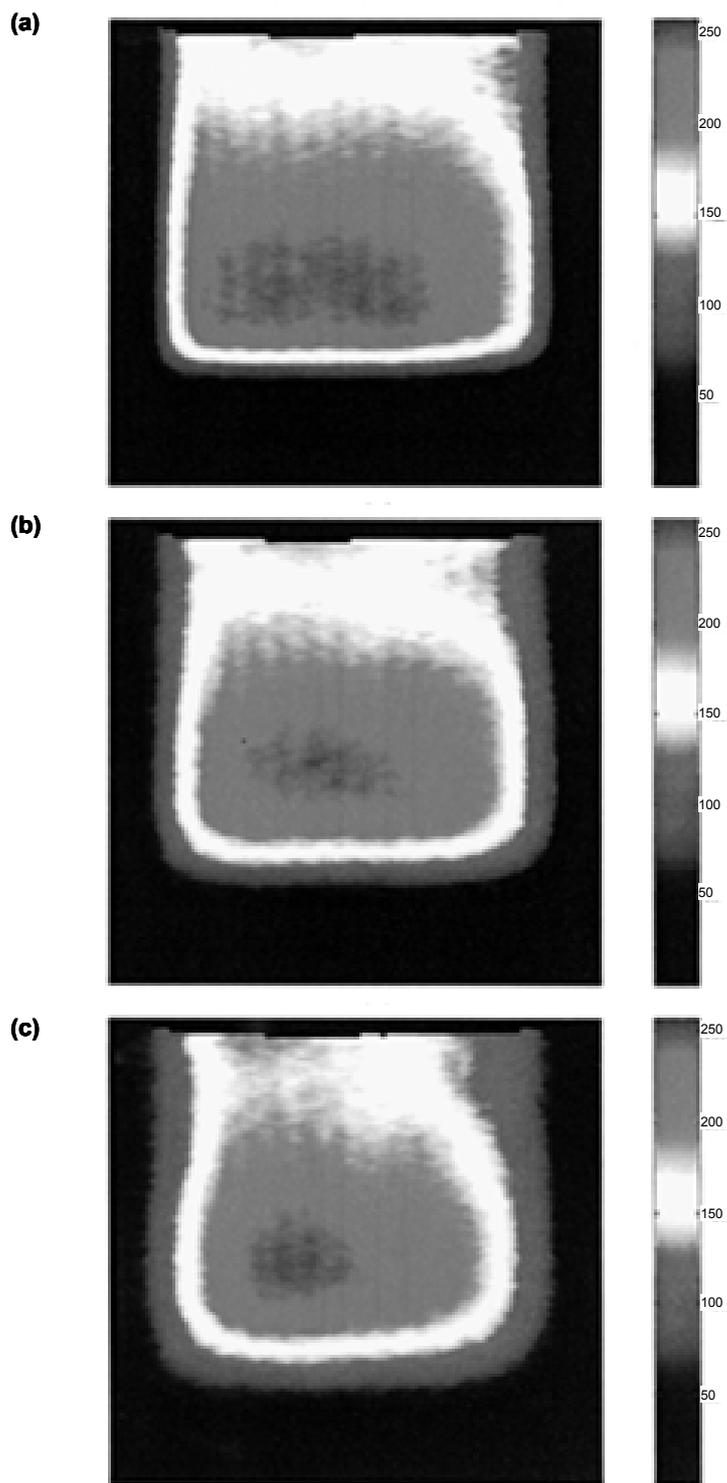


Figura 3. Immagini di ratei di rilassamento R1 del campione con Xylenol Orange ottenute a tempi diversi dopo l'irraggiamento e precisamente dopo 1 ore (a), dopo 2 ore (b) e dopo 5 ore (c)

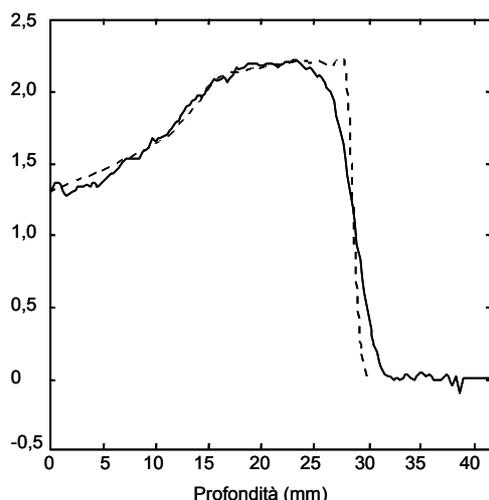


Figura 4. Confronto tra dose di irradiazione calcolata dal rateo di rilassamento (linea continua) e misura con la camera a ionizzazione. Sono riportati i dati relativi ad una colonna delle immagini di MR per un campione contenente Xylenol Orange. I valori dell'asse orizzontale della camera a ionizzazione sono relativi alla profondità in acqua. La sovrapposizione della curva della camera a ionizzazione e della curva dei ratei di rilassamento è stata ottenuta con un fattore moltiplicativo, il cui valore è stato ottenuto minimizzando lo scarto tra le due curve normalizzate

Abbiamo proceduto alla misura dei coefficienti di diffusione, poiché questo parametro può essere introdotto nel calcolo che permette di ricavare la dose a partire dalla misura dei tempi di rilassamento, per cercare di risalire alla distribuzione di dose al tempo zero. Le misure di RM sono state eseguite a tempi diversi dopo l'irraggiamento con il fascio di protoni e il modello utilizzato considera l'evoluzione temporale della concentrazione di ioni ferrici in funzione della concentrazione iniziale. Tale modello è derivato risolvendo la seconda legge di Fick in due dimensioni. Abbiamo eseguito anche misure a tempi diversi dopo irraggiamento X e con due diverse tecniche ottiche. La prima permette la lettura ottica del campione con un microscanner e la seconda, del tutto originale in questo ambito, tramite la lettura ottica con microdensitometro (17).

La Tabella 1 riporta i valori del coefficiente di diffusione ottenuti con queste tre diverse tecniche. L'accordo è pienamente soddisfacente, anche tenendo conto della diversa qualità dei fasci di radiazione utilizzati e delle diverse geometrie di irradiazione.

Tabella 1. Coefficiente di diffusione D per il campione contenente Xylenol Orange ottenuto con tre tecniche di rivelazione diverse

Tecnica di rivelazione impiegata	D ($\text{mm}^2 \text{hr}^{-1}$)
MRI	$1,14 \pm 0,02$
Scanning ottico	$1,11 \pm 0,09$
Microdensitometria	$1,16 \pm 0,09$

Conclusioni

I risultati presentati sottolineano che solamente immagini di RM caratterizzate da un buon rapporto segnale/rumore permettono di sfruttare l'alta risoluzione ottenibile in principio con

questo sistema dosimetrico. D'altronde i problemi ancora presenti a livello di diffusione degli ioni ferrici non ci hanno permesso di caratterizzare il dosimetro per quel che riguarda la sua dipendenza dalla resa. Tali problemi sono dovuti al tempo d'acquisizione della tecnica di lettura che costituisce un limite intrinseco, in quanto non è possibile correggere gli effetti diffusivi avvenuti nel corso dell'acquisizione. Lo sviluppo di sequenze veloci di RM, o di tecniche di lettura a tomografia ottica, che comportano tempi molto rapidi di acquisizione, potrebbero produrre risultati più chiari in questo senso.

Bibliografia

1. Gore JC, Kang YS, Schulz RJ. Measurement of radiation dose distributions by nuclear magnetic resonance (NMR) imaging. *Phys Med Biol* 1984;10:1189-97.
2. Olsson LE, Petersson S, Ahlgren L, Mattsson S. Ferrous sulphate gels for determination of absorbed dose distributions using MRI technique: basic studies. *Phys Med Biol* 1989;1:43-52.
3. Schulz RJ, deGuzman AF, Nguyen DB, Gore JC. Dose-response curves for Fricke-infused agarose gels as obtained by nuclear magnetic resonance. *Phys Med Biol* 1990;12:1611-22.
4. Maryanski MJ, Gore JC, Kennan RP, Schulz RJ. NMR relaxation enhancement in gels polymerized and cross-linked by ionizing radiation: a new approach to 3D dosimetry by MRI. *Magn Reson Imaging* 1993;11:253-8.
5. Maryanski MJ, Ibbott GS, Eastman P, Schulz RJ, Gore JC. Radiation therapy dosimetry using magnetic resonance imaging of polymer gels. *Med Phys* 1996;23:699-705.
6. Maryanski MJ, Zastavker YZ, Gore JC. Radiation dose distributions in three dimensions from tomographic optical density scanning of polymer gels: II. Optical properties of the BANG polymer gel. *Phys Med Biol* 1996;41:2705-17.
7. Maryanski M, Barry M. New supersensitive polymer gel dosimeter. *Med Phys* 1998;25:A178.
8. Hilts M, Jirasek A, Audet C, Duzenli C. X-ray CT polymer gel dosimetry: applications to stereotactic radiosurgery and proton therapy. *Radiotherapy & Oncology* 2000;56:S80.
9. Olsson LE, Westrin BA, Fransson A and Nordell B. Diffusion of ferric ions in agarose dosimeter gels *Phys Med Biol* 1992;37:2243-52.
10. Olsson LE, Back SAJ, Magnusson P, Haraldsson P. 3D dosimetry using gels and MRI In: Hazle JD, Boyer AL (Ed.). *Imaging in radiation therapy*. Madison: Medical Physics Publishing;1998. p. 475-504.
11. de Pasquale F, Sebastiani G, Egger E, Guidoni L, Luciani AM, Marzola P, Manfredi R, Pacilio M, Piermattei A, Viti V, Barone P. Bayesian estimation of relaxation times T_1 in MR images of irradiated Fricke-agarose gels. *Magn Reson Imaging* 2000;18:721-31.
12. Rae WID, Willemsse CA, Lotter MG, Engelbrecht JS, Swarts JC. Chelator effects on ion diffusion in ferrous-sulfate-doped gelatin gel dosimeters as analyzed by MRI. *Med Phys* 1996;23:15-23.
13. Pedersen TV, Olsen DR, Skretting A. Measurement of ferric diffusion coefficient in agarose and gelatine gels by utilization of the evolution of a radiation induced edge as reflected in relaxation rate images. *Phys Med Biol* 1997;42:1575-85.
14. Kron T, Jonas D, Pope JM. Fast T_1 imaging of dual gel samples for diffusion measurements in NMR dosimetry gels. *Magn Reson Imaging* 1997;15:211-21.
15. Di Capua S, d'Errico F, Egger E, Guidoni L, Luciani AM, Rosi A, Viti V. Dose distribution of proton beams with NMR measurements of Fricke-agarose gels. *Magn Reson Imaging* 1997;15:489-95.

16. Back SAJ, Medin J, Magnusson P, Olsson P, Grusell E, Olsson LE. Ferrous sulphate gel dosimetry and MRI for proton beam dose measurements. *Phys Med Biol* 1999;44:1983-96.
17. de Pasquale F, Sebastiani G, Marzola P, d'Errico F, Egger E, Guidoni L, Luciani AM, Pacilio M, Barone P, Viti V. MR images of Fricke-agarose dosimeters irradiated with proton beams. Proceedings of the 1st International Workshop on Radiation Therapy Gel Dosimetry. Lexington (USA), July 21-23, 1999. p. 178-80.

SISTEMI DI MONITORAGGIO

Sergio Belletti (a), Barbara Ghedi (b), Alfredo Fiume (a), Felicita Luraschi (c), Luca Marzoli (d), Roberto Cirio (e), Marco Donetti (e,f), Flavio Marchetto (e), Cristiana Peroni (e), Camino Sanz Freire (e,g)

(a) Servizio di Fisica Sanitaria, Spedali Civili di Brescia, Brescia

(b) Associazione per lo Sviluppo Scientifico e Tecnologico del Piemonte, Torino

(c) Servizio di Fisica Sanitaria, Istituti Ospitalieri, Cremona

(d) Servizio di Fisica Sanitaria, Ospedale di Circolo, Busto Arsizio

(e) Dipartimento di Fisica Sperimentale dell'Università di Torino
e Sezione di Torino dell'Istituto Nazionale di Fisica Nucleare

(f) Fondazione TERA, Novara

(g) Ion Beam Applications, Louvaine-la-Neuve, Belgio

Nell'ambito del Progetto TOP (Terapia Oncologica con Protoni), nel 1997 è nata una proficua collaborazione tra l'Istituto Superiore di Sanità (ISS), la Fondazione TERA (TERapia con Adroni) e il Servizio di Fisica Sanitaria degli Spedali Civili di Brescia. Successivamente tale collaborazione si è estesa all'ASP (Associazione per lo Sviluppo Scientifico e Tecnologico del Piemonte), alla sezione INFN (Istituto Nazionale di Fisica Nucleare) e al Dipartimento di Fisica Sperimentale dell'Università di Torino.

Scopo di tale cooperazione è stato lo studio e la realizzazione di un sistema di monitoraggio del fascio clinico di protoni erogato dall'acceleratore TOP LINAC.

Una richiesta fondamentale della prototerapia è, infatti, il controllo dosimetrico del fascio terapeutico, in modo da garantire la corrispondenza tra la dose prescritta e quella assorbita in un punto di riferimento. Contemporaneamente, si desidera ottenere un controllo bidimensionale e un monitoraggio dei parametri del fascio, quali la simmetria e l'omogeneità.

Tra i rivelatori in grado di soddisfare questi requisiti, una camera a ionizzazione a elettrodi piani e paralleli multisettore a trasmissione è considerata tra i dosimetri più stabili e affidabili.

Fase 1: studio preliminare

Il lavoro preliminare è consistito in uno studio delle caratteristiche geometriche e del comportamento di tale camera monitor in un fascio di protoni di 65 MeV di energia, prodotti in impulsi di breve durata (5 μ s), con una frequenza di ripetizione compresa tra i 10 e i 400 Hz (valore tipico: 200 Hz) e con una corrente media che può raggiungere un valore massimo di 20 nA. La corrente di picco varia in modo da produrre il rateo di dose desiderato. Il valore massimo richiesto è di 10 μ A.

Al fine di valutare le potenzialità di differenti prototipi è stato effettuato uno studio delle caratteristiche costruttive della camera monitor. In primo luogo si è indagata la segmentazione dell'elettrodo collettore, necessaria per ottenere il controllo spaziale (omogeneità e simmetria) oltre che temporale (rateo di dose) del fascio. I vari settori (*pixel* o *pad*) devono avere la stessa area sensibile in modo che il volume di raccolta sia per tutti uguale, così da garantire l'uniformità di risposta. Si sono studiati i materiali con cui realizzare gli elettrodi, formati da una deposizione di un sottile strato metallico (oro, alluminio, rame) su fogli di materiale isolante (mylar, kapton, vetronite). Questi materiali devono essere resistenti al danno da radiazione oltre che a stress meccanici e termici. La vetronite è risultata essere la più vantaggiosa, in quanto

meno incline a deformazioni. Lo spessore degli elettrodi deve essere inoltre tale da influenzare il meno possibile il fascio incidente. È quindi necessario un compromesso fra rigidità e radio-trasparenza. Sono state valutate le caratteristiche dell'anello di guardia, che evita le distorsioni ai bordi del campo elettrico, e i possibili gas di riempimento (aria, gas nobili). Il modello proposto e indagato è una camera ad aria libera, che non presenta quindi problemi di perdita del gas di riempimento, e caratterizzata da una distanza fra gli elettrodi di 3 mm.

Successivamente, è stata investigata la risposta del rivelatore in due punti significativi del sistema di rilascio del fascio di protoni: in M1 e in M2, posti rispettivamente a monte e a valle del sistema passivo di distribuzione (Figura 1).

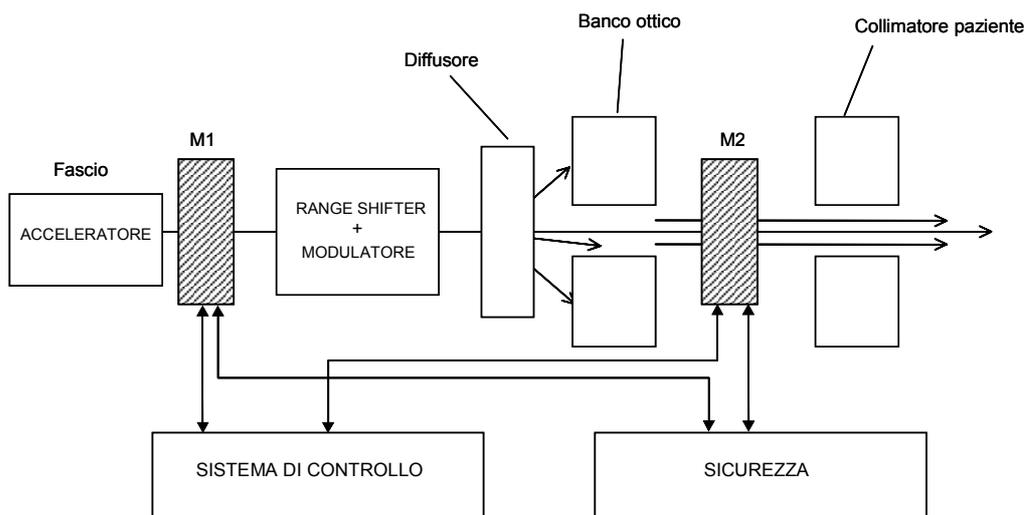


Figura 1. Sistema di monitoraggio del fascio: M1 è posto prima del range-shifter e del modulatore; M2 si trova dopo il sistema di formazione del campo radiante e prima dell'ultimo collimatore personalizzato

Fondamentale è stato lo studio del tempo di risposta e dell'efficienza di raccolta della camera nei due punti.

Tempo di risposta

Il tempo di risposta del rivelatore è determinato dal tempo di raccolta degli ioni prodotti nel gas contenuto nella camera. La velocità di deriva v degli ioni è funzione dei parametri operativi e geometrici del rivelatore. Infatti, v , a pressione atmosferica, è espressa dalla relazione: $v \approx k_{+,-} \cdot E$ ed è quindi funzione sia del gas di riempimento mediante la mobilità ionica ($k_{+,-}$), sia del campo elettrico applicato fra gli elettrodi (E). Con una tensione di almeno 300 V, il tempo di raccolta per la camera sotto indagine è minore di 200 μ s, che costituisce un tempo di risposta sufficientemente breve da permettere lo spegnimento del fascio fra due impulsi successivi (< 2,5 ms per una frequenza di 400 Hz).

Efficienza di raccolta

Sulla base della teoria di Boag, si è studiata l'efficienza di raccolta f per un fascio pulsato in funzione:

- della densità di carica r liberata per impulso nel volume sensibile della camera e correlata alla corrente di picco (Figura 2). Come si vede, all'aumentare della densità di carica, l'efficienza di raccolta diminuisce.
- della tensione applicata tra gli elettrodi (Figura 3) per alcuni valori rappresentativi della corrente di picco e con la camera a ionizzazione posizionata nei due punti M1 e M2. Come si può osservare, in corrispondenza del punto M2, vicino al paziente, e per una corrente di picco tipica di $0,5 \mu\text{A}$, con poche centinaia di volt si può ottenere un'efficienza di raccolta migliore del 95%.

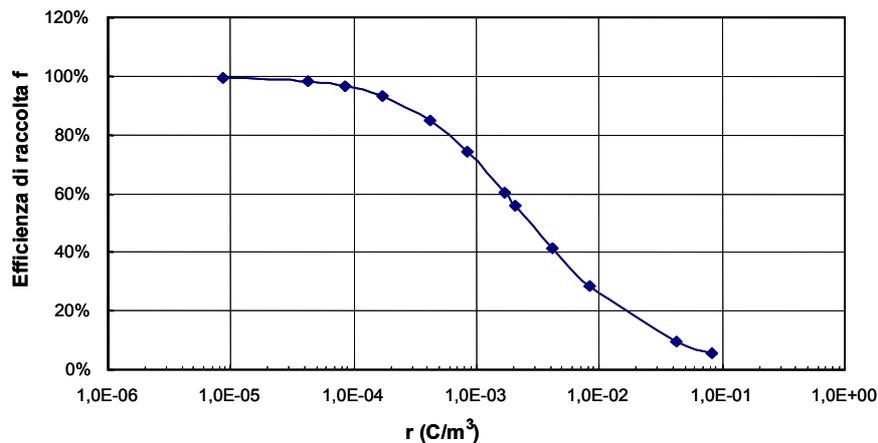


Figura 2. Efficienza di raccolta in funzione della densità di carica prodotta per impulso nell'aria della camera. Tensione di polarizzazione: $\Delta V = 300\text{V}$; distanza tra gli elettrodi: $d = 3 \text{ mm}$

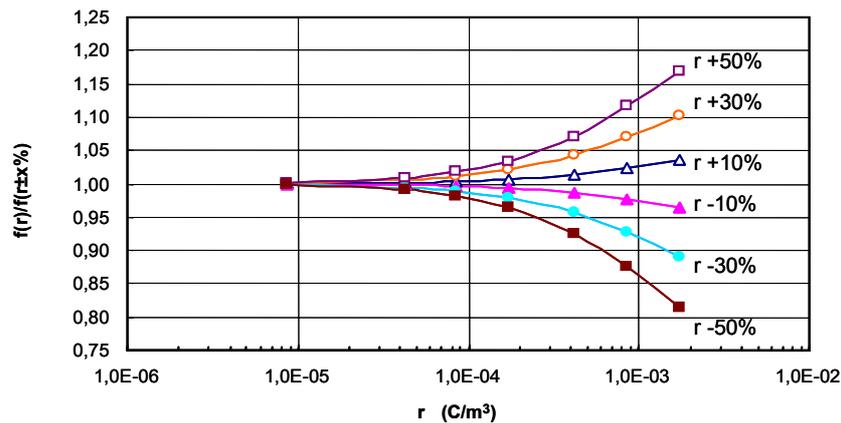


Figura 3. Efficienza di raccolta corrispondente ad alcuni valori rappresentativi della corrente di picco e espressa in funzione della tensione applicata fra gli elettrodi. Curve ottenute considerando la camera sia in M1 che in M2

I risultati di questa analisi hanno dimostrato che in M1, a causa del basso valore dell'efficienza di raccolta, si ha una manifesta difficoltà di impiego della camera per scopi dosimetrici, mentre essa può essere utilizzata per monitorare la posizione del fascio grazie alla segmentazione dell'anodo. Al contrario, in M2 i valori di efficienza di raccolta sono buoni anche a tensioni non molto elevate, quindi in M2 la camera può essere adoperata come sistema per misurare in linea la dose erogata al paziente e interrompere l'irradiazione al raggiungimento della dose prescritta. A tal fine la camera monitor dovrà essere calibrata per confronto con una camera a ionizzazione posta in fantoccio e in condizioni di riferimento.

L'acceleratore non deve però essere soggetto a significative variazioni di corrente di picco, e quindi a variazioni dell'intensità del fascio, che possono indurre fluttuazioni nell'efficienza di raccolta della camera. Aumenti o diminuzioni della corrente di picco portano infatti rispettivamente a una sottostima o sovrastima della dose assorbita. Per questo motivo un'eventuale scelta tra diversi ratei di dose dovrebbe essere resa possibile mediante variazione della frequenza di ripetizione degli impulsi e non della loro intensità. Ovviamente, una certa variabilità dell'intensità di ogni singolo impulso è inevitabile ed è quindi meglio operare a valori di efficienza di raccolta tali che la variazione di intensità porti ad una variazione minima di f .

La Figura 4 mostra, in funzione di r , l'andamento della variazione di f dovuta all'instabilità del fascio nell'ipotesi di variazioni di r del $\pm 10\%$, $\pm 30\%$, $\pm 50\%$. Si può notare che significative variazioni di r intorno a bassi valori (che si ottengono per basse correnti di fascio e alte frequenze di ripetizione) comportano piccole variazioni percentuali dell'efficienza di raccolta. La variazione dell'efficienza di raccolta, dovuta alla fluttuazione del valore della corrente di picco, influenza significativamente l'incertezza della dose assorbita dal paziente. Si è valutato che per correnti di picco di valore intorno a $0,1 \mu\text{A}$, l'effetto delle fluttuazioni dell'intensità dell'impulso sulla incertezza della dose è trascurabile. Per una corrente di picco di valore intorno $5 \mu\text{A}$, una variazione del $\pm 10\%$ produce invece una variazione nella risposta del $\pm 2\%$. Di conseguenza, si può concludere che, per correnti di picco dell'ordine di $5 \mu\text{A}$ o superiori, se si vuole un'incertezza della risposta della camera minore del $\pm 2\%$, variazioni oltre il $\pm 10\%$ nella corrente media di picco non possono essere accettate. Se l'instabilità dell'impulso fosse peggiore del $\pm 10\%$, allora si renderebbe necessario utilizzare una corrente di picco più bassa e una frequenza maggiore (ad esempio 400 Hz anziché 200) al fine di mantenere invariata la corrente media richiesta per il trattamento.

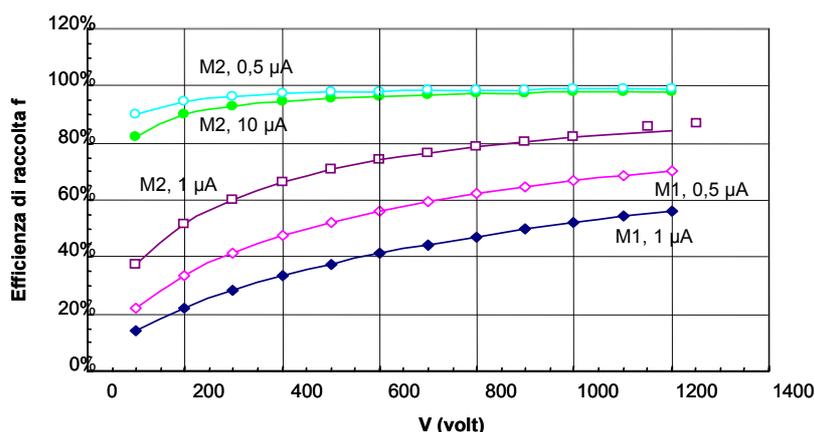


Figura 4. Valori del rapporto $f(r)$ rispetto a $f(r+x\%)$ in funzione della densità di carica liberata per impulso in aria; $f(r)$ e $f(r+x\%)$ sono le efficienze di raccolta corrispondenti alla densità di carica liberata per impulso, r , e a quella variata di un fattore $x\%$

Fase 2: realizzazione e test dei primi prototipi di camera a *pixel*

Nella seconda fase del progetto, la sezione INFN e il Dipartimento di Fisica Sperimentale dell'Università di Torino hanno realizzato un primo prototipo di camera monitor con anodo segmentato a *pad*: 8x8 *pixel* di 5 mm di lato per un'area sensibile di 4x4 cm². L'elettrodo è costituito da una deposizione di 35 µm di rame su un supporto di 1 mm di vetronite. Il catodo è invece formato da un singolo settore. Il *gap* fra gli elettrodi è di 3 mm. La tensione (-300 V) per la raccolta della ionizzazione è applicata al catodo. L'acquisizione è molto veloce: minore di 100 µs per canale.

La risposta del rivelatore è stata indagata sotto fasci di elettroni di diversa energia emessi da un Microtron (MM22) installato presso il Centro di Alte Energie degli Spedali Civili di Brescia. La scelta della sorgente radiante è ricaduta sul MM22 sia per la disponibilità del tempo macchina, sia per la struttura temporale del fascio di elettroni, simile a quella prevista per il fascio di protoni dell'acceleratore TOP (TOP LINAC), ovvero costituita da impulsi della durata di circa 4 µs e con una frequenza di ripetizione variabile tra 50 Hz e 250 Hz.

Tra le prove effettuate per studiare le caratteristiche della camera, i risultati più significativi riguardano la risposta del rivelatore al variare del rateo di dose e la valutazione della sua curva di efficienza di raccolta.

Nel primo caso la camera è stata esposta in aria a fasci di elettroni di energia nominale 9 MeV, impostando campi quadrati 10x10 cm² all'isocentro e variando il rateo di dose fra 50 cGy/min e 350 cGy/min (ratei di dose usualmente utilizzati in radioterapia). La frequenza di ripetizione degli impulsi è stata mantenuta fissa a 100 Hz e ogni irraggiamento è stato effettuato erogando 100 Unità Monitor (UM) e quindi la stessa dose.

Dai dati esposti in Figura 5 si osserva che la risposta della camera, in termini di conteggi, ha evidenziato una variazione del 4% circa nell'intervallo di rateo di dose indagato. Lo stesso tipo di misure sono state effettuate con una camera piatta Capintec, correggendo le letture per le perdite per ricombinazione (con l'usuale metodo delle due tensioni, normalmente utilizzato per le misure dosimetriche in radioterapia).

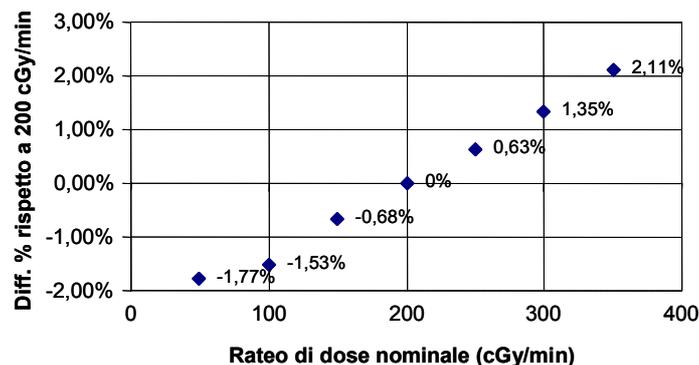


Figura 5. Dipendenza dal rateo di dose della risposta della camera, in termini di conteggi totali.
Frequenza di ripetizione: 100 Hz

Analoghe variazioni, dell'ordine del 3,7%, sono state rilevate anche con questo dosimetro, dimostrando che le differenze registrate dalla camera *pixel* sono effettive differenze di dose

fornite dall'acceleratore, probabilmente dovute a perdite di ricombinazione nella camera monitor del MM22. Infatti, tenendo fissa la frequenza, per aumentare il rateo di dose è necessario aumentare il numero di elettroni per impulso e quindi la carica per unità di volume incidente sul monitor. Le perdite per ricombinazione portano ad una sottostima della dose e ad un conseguente sovradosaggio. Il fatto che la camera a pixels riproduca queste variazioni è una prova indiretta che la risposta della camera è lineare con la dose erogata.

Una prova successiva ha condotto alla determinazione della curva di efficienza di raccolta, cioè della variazione del numero di conteggi al variare della tensione applicata alla camera. La misura è stata ripetuta per due diversi valori di rateo di dose, 100 cGy/min e 200 cGy/min, e con una frequenza di 100 Hz. Come si può osservare in Figura 6, già ad una tensione di 300 V la raccolta è ottimale. Le due curve mostrate in grafico e corrispondenti ad un rateo di 200 cGy/min sono state acquisite con un numero diverso di UM per punto.

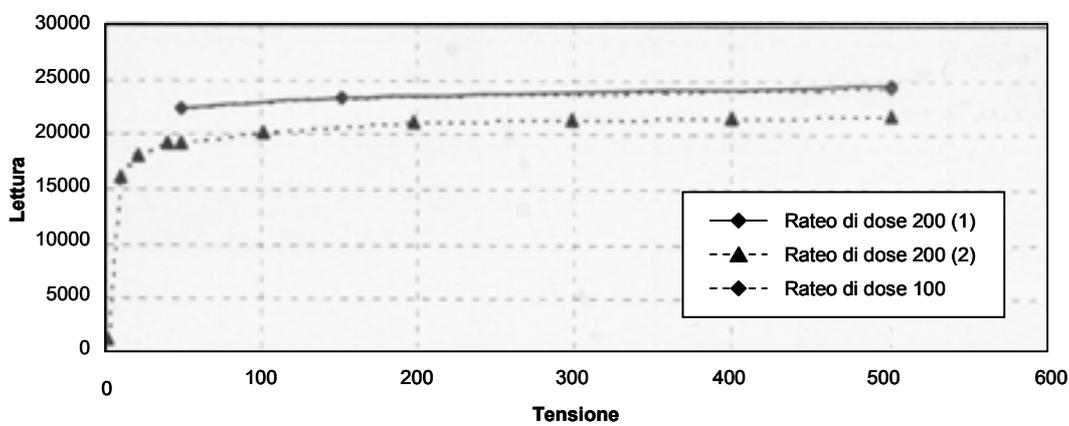


Figura 6. Curve di efficienza di raccolta della camera a due diversi ratei di dose: 100 cGy/min e 200 cGy/min

In un secondo tempo la collaborazione ha proseguito nel progetto realizzando un nuovo prototipo di camera a *pixel*.

Gli elettrodi sono costituiti da una deposizione di 35 μm di rame su un supporto di 100 μm di vetronite, separati da un *gap* di 3 mm. L'anodo è composto da 256 (16x16) *pixel* di lato 1 cm, che ricoprono una superficie di raccolta di 16x16 cm^2 . Di questo nuovo prototipo si è principalmente indagata la stabilità di risposta a lungo termine e la dipendenza dal rateo di dose.

Stabilità a lungo termine

Si è scelto di esporre il rivelatore ad un fascio di fotoni emesso da una sorgente di ^{60}Co (in funzione presso il Centro di Alte Energie degli Spedali Civili di Brescia). Trattandosi di radiazione continua emessa da una sorgente, la stabilità del rateo di dose nel breve periodo (cioè in condizioni di decadimento trascurabile) è assicurata.

Sono state quindi effettuate misure di stabilità a lungo termine (per un mese consecutivo, tre volte al giorno) della risposta della camera, corrette per i valori di temperatura e pressione. Le condizioni di acquisizione sono le seguenti: distanza sorgente-superficie camera di 52,5 cm; rateo di dose in aria pari a 0,387 Gy/min; campo 14 x14 cm^2 ; camera posta in aria, ovvero assenza di materiale di *build-up* e di retrodiffusa.

È stata ottenuta una buona stabilità di risposta della camera, con un valor medio in ciascun canale di circa 0,03 c/s (circa 20 fA) e la variazione della carica totale nel settore centrale della camera coincidente con la zona di irraggiamento è risultata non superiore allo 0,35%.

Si è inoltre studiato l'andamento dei coefficienti di calibrazione di ciascun *pixel* nel tempo. Le variazioni riscontrate, dell'ordine dell'1,5%, sono imputabili esclusivamente a variazioni del *gap* di gas tra i due elettrodi e quindi al volume di raccolta della carica di ionizzazione. Tale problema è stato successivamente risolto.

Risposta al variare del rateo di dose

Sono stati eseguiti alcuni test di caratterizzazione della camera sotto i fasci di fotoni da 10 MV e elettroni da 9 MeV erogati dal MM22.

Anche in questo caso la camera è posta in aria, con assenza di *build-up* e di retrodiffusa. Gli irraggiamenti sono eseguiti con 100 UM per punto e quindi mantenendo costante la dose erogata. La variazione del rateo di dose si ottiene cambiando la frequenza degli impulsi nel caso dei fotoni, agendo sul numero di elettroni contenuti in ciascun impulso per il fascio di elettroni.

Dai risultati ottenuti emerge che il valore della carica raccolta, in fascio di elettroni, varia entro lo 0,3% (1 deviazione standard) come ci si attendeva, dato che la dose totale è sempre la stessa. La camera mostra quindi una risposta in buona approssimazione costante al variare del rateo di dose.

La massima deviazione si registra con il fascio di elettroni a basso rateo di dose (45 UM/min).

Al termine di questa fase del lavoro si può affermare che è stato messo a punto un sistema di monitoraggio del fascio incidente sul paziente la cui risposta è indipendente dal rateo di dose e lineare con la dose.

Nell'immediato futuro si intende proseguire nella caratterizzazione della camera da 256 pixels con i fasci di fotoni e elettroni a disposizione presso il Centro di Alte Energie degli Spedali Civili di Brescia. Lo scopo è quello di ottenere uno strumento che fornisca in tempo reale, istante per istante, una mappatura bidimensionale della distribuzione della dose in un piano, da utilizzare sia per i controlli di qualità di routine, sia in vista dei futuri sviluppi indirizzati verso l'IMRT.

Sviluppi recenti

Utilizzando le tecniche sviluppate per la preparazione delle camere precedenti, si è costruita una versione della camera a *pixel* con un'area sensibile di 24x24 cm² e con *pixel* di 7 mm di lato. Scopo di questa versione del rivelatore è di utilizzarlo con i campi tipici dei trattamenti adroterapici. In Figura 7 si vede una fotografia della camera in laboratorio.

La camera, fissata ad un supporto che ne permette l'uso sui lettini dei LINAC, ha un totale di 1024 *pixel*, ordinati su un quadrato di 32 *pixel* di lato. La forma dei *pixel* è quadrata e il lato è circa 7 mm, per un'area sensibile complessiva di 24 cm². Le 4 schede situate sui lati contengono ciascuna 4 *chip* elettronici per la lettura dei segnali. Ogni singolo *chip* contiene 64 canali di convertitori corrente-frequenza seguiti ciascuno da un contatore a 16-bit. Ogni contatore può essere interlacciato con un segnale di controllo esterno; i 64 contatori sono quindi collegati ad un *multiplexer* per la lettura dei dati da parte di un computer. Un *chip* memorizza la carica raccolta da 64 *pixel* e i 16 *chip* sono collegati in modo da poter misurare la carica raccolta da ciascuno dei 1024 *pixel* in un intervallo di tempo regolato dal sistema di acquisizione dati. La minima carica rivelabile è regolabile nell'intervallo 100-800 fC. In Figura 8 e Figura 9 è mostrata la risposta del *chip* in funzione della corrente di ingresso per due sensibilità, 100 fC e

800 fC. Si vede che alla sensibilità più bassa il *chip* è lineare nell'intervallo 10 pA-0,6 μ A, mentre alla sensibilità di 800 fC l'intervallo di linearità passa a 10 pA-2 μ A.

In entrambi i casi la deviazione dalla linearità è una frazione del percento. Nei paragrafi precedenti è stata discussa la riproducibilità della risposta sia su brevi periodi (ordine delle ore) che su periodi più lunghi (mesi) che è una frazione del percento. Infine la variazione di risposta tra i vari canali all'interno di un *chip* e tra i vari *chip* è meglio del percento. Tenuto conto di queste caratteristiche, l'uso di questa elettronica permette di utilizzare il sistema senza la necessità di calibrazioni frequenti.



Figura 7. La camera a ionizzazione a *pixel* 24x24 cm², 1024 *pixel*

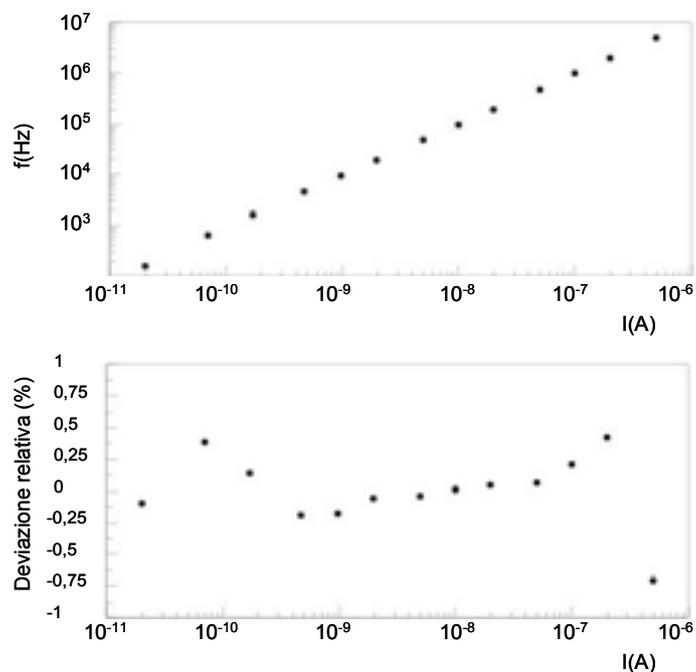


Figura 8. Frequenza in funzione della corrente in ingresso per una sensibilità di 100 fC

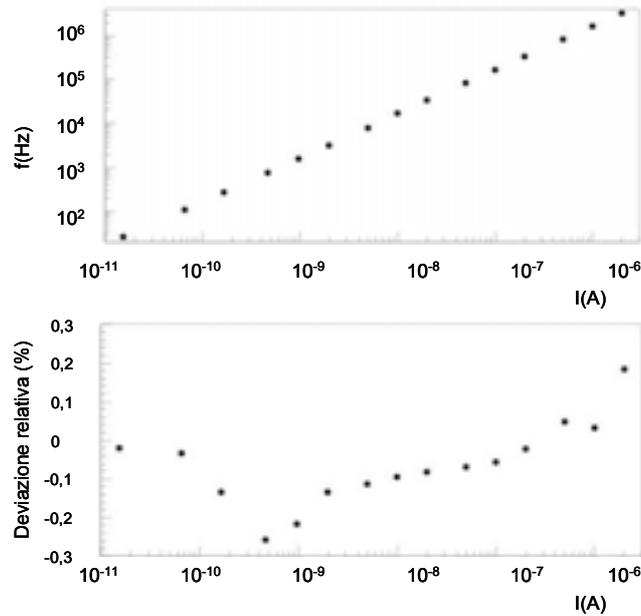


Figura 9. Frequenza in funzione della corrente in ingresso per una sensibilità di 800 fC

Il sistema è stato provato sul fascio di protoni del *Paul Scherrer Institut* (PSI) di Villigen e di ioni carbonio del GSI (*Gesellschaft für Schwerionenforschung mbH*) di Darmstadt. Il fascio di protoni del PSI è accelerato da un ciclotrone fino ad un'energia massima di 340 MeV e la conformazione della dose avviene con un sistema di *spot scanning*, ovvero la deposizione di energia sul volume tumorale è ottenuta con la sovrapposizione di *spot* circolari del diametro di circa 1 cm; la variazione di energia è ottenuta con spessori di plexiglas posti sulla traiettoria del fascio. Nel caso del GSI il fascio è accelerato da un sincrotrone e la conformazione della dose è del tipo *spot scan* con la possibilità di variare in modo dinamico l'energia del fascio a livello di acceleratore. In Figura 10 è mostrato il confronto tra la camera a *pixel* e il sistema di dosimetria del PSI. Il fascio aveva un'energia di 138 MeV e la FWHM (*Full Width at Half Maximum*) dello *spot* era di 7 mm. Come si vede la camera a *pixel* ricostruisce con buona precisione il profilo laterale del fascio.

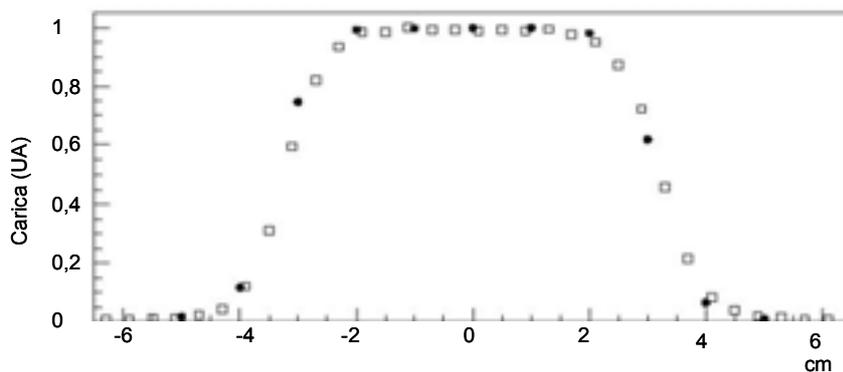


Figura 10. Confronto tra camera a *pixel* e sistema dosimetrico del PSI con protoni da 137 MeV e 7 mm FWHM

I dati relativi alla Figura 11 sono stati presi al GSI con ioni carbonio di 270 MeV/nucleone con un fascio circolare di 8,8 mm FWHM. Il sistema dosimetrico del GSI con il quale ci siamo confrontati ricostruisce la posizione del fascio utilizzando due camere proporzionali multifilo poste orizzontali e verticali nel piano normale alla direzione del fascio. Confrontando, *spot* per *spot*, il baricentro ricostruito con la camera a *pixel* e con il sistema del GSI la risoluzione spaziale che si ottiene è di 200 μm .

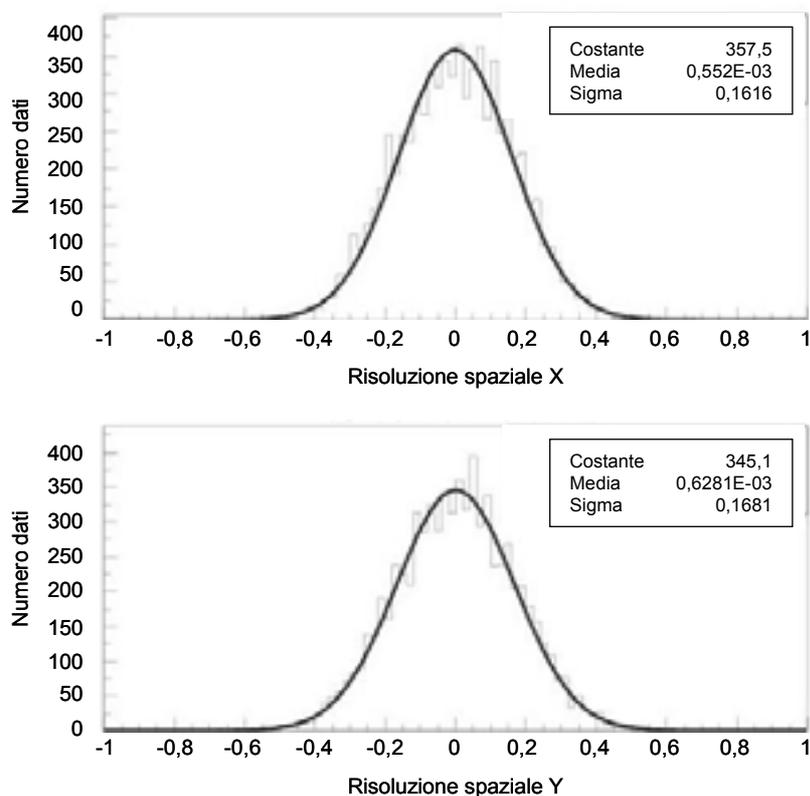


Figura 11. Risoluzione spaziale della camera a *pixel* sul fascio di ioni carbonio di 270 MeV/u e 8,8 mm FWHM

Attualmente è in corso una collaborazione con la *Ion Beam Application* (IBA) di Louvain-la-Neuve allo scopo di sviluppare il sistema di monitor online della loro nuova testata con distribuzione attiva del fascio. In questo sistema saranno utilizzate camere a *strip*, a *pixel* e ad anodo non segmentato, tutte lette con il *chip* elettronico sopra descritto.

MONITOR DI FASCIO PER IL TOP LINAC

Evaristo Cisbani, Stefano Colilli, Massimo Daniele, Salvatore Frullani, Fausto Giuliani, Massimo Gricia, Angelo Mostarda, Sergio Stucchi, Giuseppe Vacca
 Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità e Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione Roma 1, Gruppo collegato Sanità, Roma

Introduzione

Il fascio dell'acceleratore TOP LINAC presenta, rispetto ad altri fasci di protoni usati per la radioterapia e prodotti con altri tipi di acceleratori (ciclotroni o sincrotroni), alcune peculiarità.

La sua struttura temporale è costituita da impulsi di larghezza di circa 5 μ s con frequenza di ripetizione di 200-400 Hz, gli impulsi sono quindi spazati di 2,5-5,0 ms.

Grazie alla buona emittanza che gli acceleratori lineari presentano, le dimensioni trasverse del fascio sono molto ridotte, dell'ordine dei millimetri.

Il progetto dell'acceleratore prevede che ci sia una modulazione attiva oltre che dell'energia anche dell'intensità del fascio, in modo che la carica rilasciata in un impulso (nelle varie posizioni e energie del fascio), nella modalità di *scanning* attivo, sia essenzialmente quella richiesta dal piano di trattamento per il rilascio della dose voluta a quel determinato *voxel*. La modalità di rilascio della dose all'intero volume da trattare prevedrà un numero limitato di successivi passaggi in modo da migliorare la capacità del sistema di *scanning* a conformare la effettiva dose rilasciata a quella prevista dal piano di trattamento. Dalle specifiche formulate da vari gruppi di lavoro (1) sulla base dell'esperienza acquisita in vari centri con lunga esperienza nella radioterapia con protoni si deduce che una possibilità di variazione dell'intensità di corrente di un fattore 10^3 sarebbe auspicabile in modo da ottimizzare le condizioni di omogeneizzazione della dose. Il sistema di monitoraggio deve pertanto avere un intervallo dinamico di almeno un fattore 10^4 per consentire di rivelare il fascio alle diverse intensità e poter discriminare il segnale del fascio dal fondo strumentale.

Il proposito principale del sistema di diagnostica qui descritto è la misura, indiretta, in tempo reale, della dose rilasciata al paziente e la sua distribuzione nella sezione perpendicolare al fascio, al fine di garantire innanzitutto che la dose prescritta dal piano di trattamento non sia superata, ma anzi correttamente raggiunta.

Per questo, il sistema deve essere in grado di inibire l'immissione dell'impulso del fascio nel momento in cui la dose prescritta viene raggiunta ovvero di porre il veto all'acceleratore non appena la misura delle quantità critiche sono ritenute potenzialmente dannose per il paziente.

Infine, le misure diagnostiche sono utilizzate per correggere automaticamente eventuali derive dei parametri del fascio dai valori ottimali impostati.

Questo richiede una veloce e robusta elaborazione da parte dell'elettronica di diagnostica con successiva distribuzione di un segnale veloce al sistema dei magneti, delle cavità a radiofrequenza (RF) e del sistema di sicurezza. Tale elaborazione deve operare in tempi inferiori al tempo che trascorre tra due impulsi successivi del fascio, dell'ordine di qualche millisecondo.

Per poter assolvere a questi compiti, il sistema di diagnostica prevede la misura diretta dell'intensità di ciascun impulso di fascio, la posizione del centroide, il profilo trasverso e la sua direzione (e in qualche modo la sua emittanza). Tramite la misura della carica e la conoscenza dell'energia, dedotta dai parametri di macchina, si stima la dose in modo indiretto.

Di queste quantità, certamente la più critica è la misura dell'intensità (ovvero la carica), sia per la sua importanza nella derivazione della dose, ma anche per il fatto che può variare in un ampio intervallo, come indicato sopra. Questo impone contemporaneamente una elevata sensibilità e un ampio intervallo dinamico, stimati in 1-10 fC e in 10^4 - 10^5 rispettivamente.

La precisione nella misura del centroide e del profilo del fascio deve essere di circa 0,1 mm, valore che determina anche la risoluzione angolare.

Come ogni buon sistema di misura, la diagnostica deve perturbare quanto meno possibile le caratteristiche del fascio.

Infine, considerata la criticità del compito e la sua connessione con la sicurezza del trattamento radioterapeutico, il sistema deve possedere un alto grado di affidabilità, pur nel contenimento, per quanto possibile dei costi.

Per il soddisfacimento di tutte queste richieste si è proposto un sistema basato su camere a ionizzazione a *microstrip* e *pad*, con un'elettronica di front-end innovativo. Il tutto pilotato da un sistema di lettura basato su componentistica standard VME (*Versa Module Eurocard*). Nei prossimi paragrafi, verranno descritte le componenti principali del sistema e verranno riportati i primi risultati su sistemi prototipo. La scelta del regime di ionizzazione è obbligato proprio per limitare gli effetti di saturazione, inevitabili nel regime proporzionali, per la dinamica che si intende avere.

Camere a ionizzazione

Entrambe le tipologie di camere proposte, *microstrip* e *pad*, operano in regime di ionizzazione, con una tensione di circa 1 kV, in una *gap* (distanza anodo-catodo) di 4 mm e una miscela di gas composto da Ar (70%) e CO₂ (30%) flussato continuamente nella camera sigillata. Mentre la camera a *pad* richiede un solo piano attivo (anodo) per la localizzazione bidimensionale del fascio, la camera a *microstrip* ha necessità di due piani, con le *strip* poste in due direzioni di 90 gradi. Lo spaccato esploso della tipica camera a *microstrip* è rappresentato nella Figura 1; si noti la struttura a sandwich del catodo centrale rispetto ai due anodi contenenti le *microstrip*, ideata con l'intento di ridurre il materiale lungo il fascio. Quest'ultimo è stimato essere di circa 35 mg/cm² nel caso peggiore della camera a *pad*, per uno degrado energetico relativo dE/E del fascio di protoni di circa 0,4% a 60 MeV.

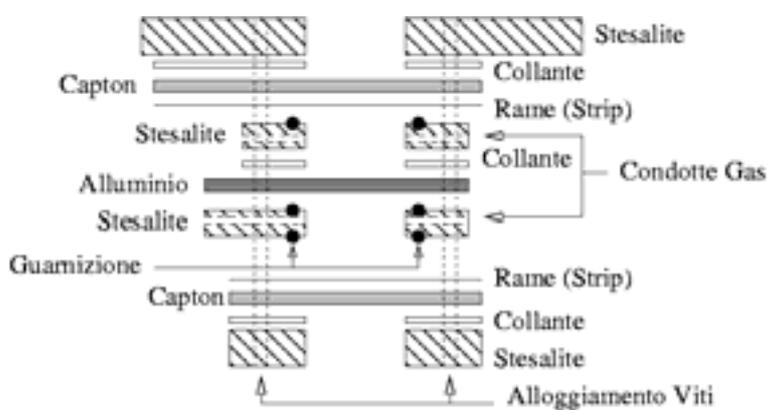


Figura 1. Spaccato del prototipo di camera a ionizzazione a *microstrip*; lo strato molecolare di oro sulle *strip* di rame non è indicato

Gli anodi delle camere sono realizzate con la stessa tecnica chimica di foto-*etching* utilizzata per i tradizionali circuiti stampati; questa scelta permette di minimizzare i costi pur mantenendo una qualità più che accettabile. Il foglio di rame di 35 μm di ciascun anodo è incollato con una colla di resina epossidica, anch'esso di circa 35 μm , su un foglio di kapton di 0,1 mm. Qualche strato molecolare di oro è depositato sulle *strip* di rame. Il catodo è costituito da un sottilissimo foglio di alluminio di spessore di 20 μm .

La Figura 2 mostra schematicamente la dislocazione delle camere a ionizzazione lungo la linea principale del fascio e le linee secondarie di trattamento. Le caratteristiche geometriche sono riassunte nella Tabella 1. La tipologia B è necessaria nella sala di trattamento a bassa energia dove si prevede l'utilizzo di un diffusore passivo, mentre la tipologia C è necessaria nelle sale ad alta energia, dove il fascio verrà modulato con *scanning* attivo e avrà una sezione dell'ordine del millimetro. In quest'ultimo caso per avere anche una misura di direzione sono necessarie almeno due moduli di camere a *microstrip*. Complessivamente, sono previsti circa 8000 canali (elementi attivi, *pad* o *microstrip*).

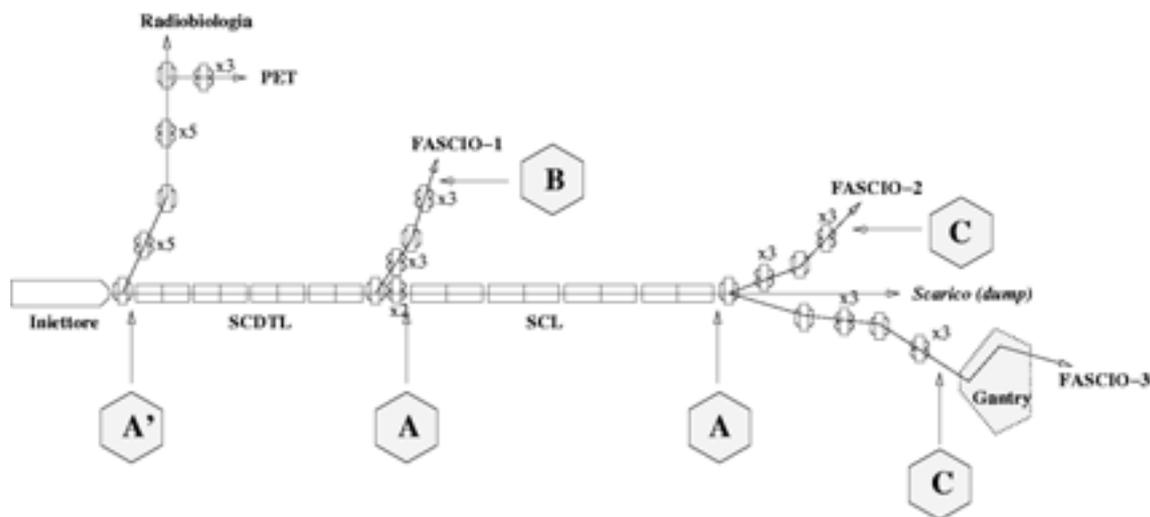


Figura 2. Distribuzione delle camere di diagnostica

Tabella 1. Tipologia delle camere di diagnostica
(vedi Figura 2 per la dislocazione delle camere nelle linee di fascio e i simboli associati)

Camera	Elemento sensibile	Area attiva (cm ²)	Pitch (mm)	Canali per piano	Numero piani
A	<i>microstrip</i> (0,1 mm)	5 x 5	0,3	150	2
B	<i>pad</i> (1,5 x 1,5 mm ²)	5 x 5	1,5	1000	1
C	<i>microstrip</i> (0,1 mm)	15 x 15	0,3	600	2

Elettronica

Ciascun elemento attivo dovrebbe mediamente raccogliere circa 10 pC di carica per impulso di fascio, in un tempo tipico di 10 μs (tenendo conto del tempo di raccolta della carica prodotta nella *gap* della camera). Inoltre, i requisiti di sensibilità e di dinamica riportati nell'introduzione

si traducono in una carica minima di 1-10 fC e una carica massima di 1 nC. Lo schema tradizionale dell'elettronica di lettura della carica raccolta sugli elementi attivi consiste in uno stadio di ingresso che si accoppia con ciascuna *pad* (o *microstrip*) che ne incamera la carica raccolta sulla stessa provvedendo ad una eventuale amplificazione. Segue lo stadio della conversione digitale, quindi la trasmissione del dato allo stadio di processamento e memorizzazione, generalmente assolto da un computer dedicato.

Nell'ambito della terapia oncologica con fasci continui, è ampiamente utilizzato il dispositivo che va sotto il nome di rateometro (2-6), il cui principio di funzionamento è schematizzato nella Figura 3. In esso, la carica raccolta nell'elemento attivo, si trasferisce sulla capacità di feedback dell'amplificatore operazionale, che converte la carica in tensione. Un discriminatore successivo all'operazionale fa sì che quando la carica raccolta sulla capacità supera una soglia prefissata (quanto di tensione V) venga emesso da un circuito 'one-shot' un impulso e conseguentemente venga scaricata la capacità, che è subito pronta a raccogliere un nuovo quanto di carica. L'impulso emesso viene contato da uno scaler. In definitiva il numero di impulsi permette di risalire alla carica complessiva e quindi all'intensità del fascio.

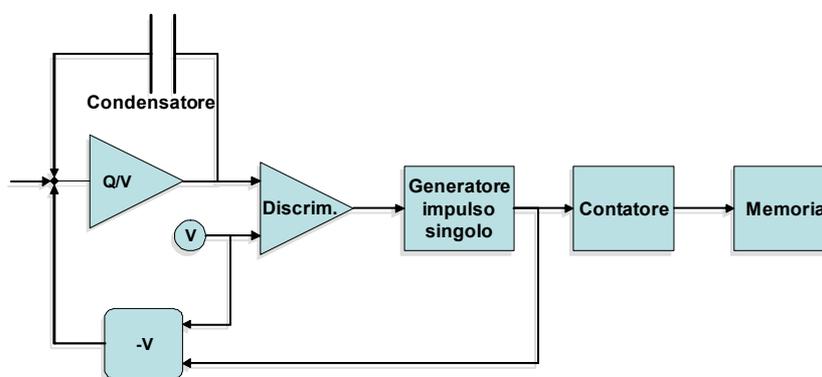


Figura 3. Schema di principio del rateometro

La sensibilità del sistema è data dal quanto di tensione V impostato mentre la dinamica è uguale al numero massimo di impulsi generabile nel tempo di durata della carica di ingresso. Per uno scaler di prestazioni medio alte (100 MHz) e la durata dell'impulso di 10 μ s, tale dinamica non supera 1000, che chiaramente non soddisfa uno dei requisiti più stringenti della diagnostica del TOP. D'altra parte, realizzare 8000 circuiti del tipo appena descritto, con frequenze di 100 MHz o superiori, può rivelarsi particolarmente costoso.

Per queste ragioni ci si è rivolti ad un'elettronica di lettura sostanzialmente diversa, sempre con l'intento di utilizzare per quanto possibile soluzioni esistenti. L'alternativa più promettente si è rivelata quella che utilizza un *multiplexer* per accoppiare lo stadio di ingresso a trans-impedenza che funge da track and hold, a convertitori ADC di buone prestazioni, minimizzando il numero di questi ultimi, generalmente piuttosto costosi. In una catena di questo tipo, la dinamica è limitata dalla saturazione dello stadio d'ingresso e dal numero di bit di campionamento dell'ADC, tipicamente di 10-12 bit, per una dinamica dell'ordine di 1000.

Questo limite è stato superato con lo sviluppo di un innovativo stadio di ingresso, in grado di adeguare dinamicamente la propria portata (in carica) variando la trans-impedenza, ovvero il fattore di conversione carica/tensione. Questo cambiamento avviene non appena la carica di ingresso supera una certa soglia, regolata in prossimità della saturazione dell'*output* in tensione, che istantaneamente diminuisce il guadagno della trans-impedenza; un bit di informazione

permette di conoscere a quale fattore di guadagno è impostato l'ingresso e quindi di risalire alla carica raccolta.

In questo modo, a parità di ADC si è ottenuto un sistema di lettura con una dinamica superiore a 10000.

Stadio di ingresso multi-portata

La cella elementare costituente l'elettronica dello stadio di ingresso o front-end è costituita da un integratore di tipo attivo realizzato con amplificatore operazionale.

Con esso si implementa una conversione carica-tensione (Q/V) integrando la corrente fornita dall'elemento attivo della camera di ionizzazione, sulla capacità di feedback dell'amplificatore operazionale, come indicato nel riquadro evidenziato della Figura 4.

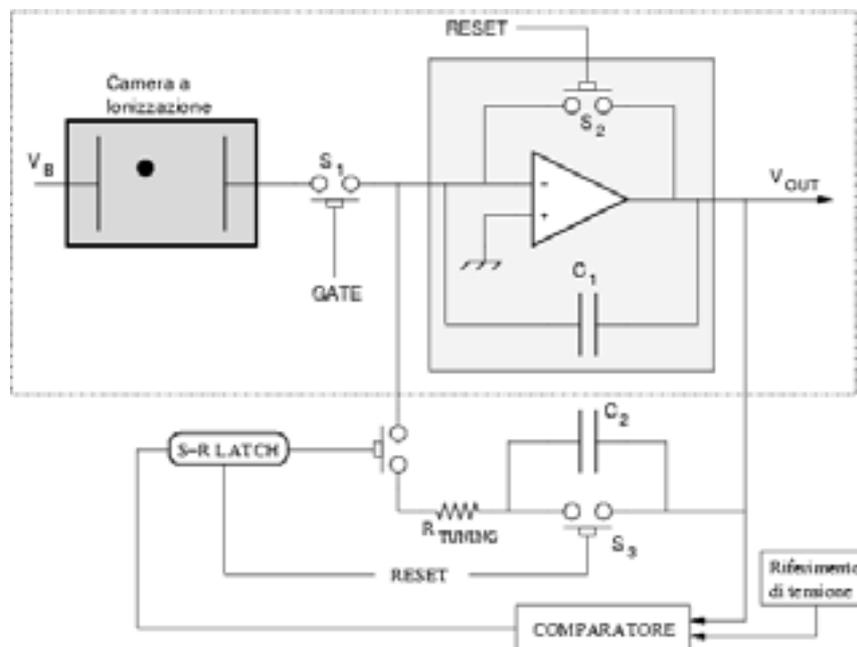


Figura 4. La cella elementare e il circuito per la variazione dinamica della portata; nel riquadro punteggiato è indicata la configurazione tradizionale

Il segnale di GATE chiude l'interruttore elettronico S_1 per tutto il tempo di raccolta della carica nella camera, durante il quale si ha la fase di INTEGRAZIONE sulla capacità C_1 , segue poi la fase di LETTURA del livello finale V_{OUT} , infine il segnale di RESET chiude S_2 e scarica C_1 ripristinando così le condizioni iniziali.

Le uscite delle celle (in numero pari agli elementi presenti nella camera di ionizzazione) risultano canalizzate verso un *multiplexer* (MUX) che a sua volta è controllato da uno *shift-register*.

Il MUX assegna uno slot temporale ad ogni cella durante il quale la stessa viene "interrogata" effettuandone una lettura, ossia una misura della tensione di uscita che viene infine trasformata in formato numerico da un convertitore *analogico-digitale* (ADC).

Le stringenti specifiche, richiedendo la misura della carica Q in un intervallo di oltre 4 ordini di grandezza con un errore massimo del 5%, unite al vincolo introdotto dall'ADC il quale limita

la V_{OUT} (tensione in uscita all'integratore e di ingresso all'ADC) a soli 10V, impediscono l'impiego di un sistema di misura mono-portata, cioè con una unica capacità C_1 .

Occorre infatti un sistema dotato di adeguata sensibilità (l'integrazione della carica dovrà quindi avvenire su una capacità piccola) in modo che l'errore non superi il massimo consentito, ma che nello stesso tempo eviti la saturazione del sistema in presenza di cariche elevate (integrazione su una capacità grossa).

Da ciò ha avuto origine l'idea di implementare un sistema dinamico capace di commutare in modo "automatico" l'opportuno valore di capacità supplementare quando la tensione di uscita V_{OUT} si approssima al valore massimo ammissibile che è fissato dall'ADC in 10 V, realizzando di fatto un autoranging.

Lo schema a blocchi del singolo canale, con l'implementazione della versione multi-portata è schematizzato in Figura 4.

Il LATCH indicato nella Figura 4 permette di rendere disponibile un bit di informazione che indica l'eventuale inserzione della capacità supplementare in modo da poter scalare correttamente V_{OUT} per risalire alla effettiva carica Q raccolta nella camera. Infatti, quando V_{OUT} supera il livello di riferimento, la transizione del comparatore viene memorizzata dal LATCH che nel contempo chiude l'interruttore ad esso collegato. La situazione circuitale che si viene a creare corrisponde ad una nuova portata, maggiore della prima nel rapporto in cui sono legate le capacità C_1 e C_{TOT} , dove $C_{TOT}=C_1+C_2$; l'andamento della tensione di uscita è mostrato nella Figura 5, dove il salto di tensione, all'interno del GATE indica l'istante di cambio portata; al termine del GATE, la tensione di uscita si stabilizza al valore raggiunto durante l'integrazione; è questa la tensione convertita dall'ADC.

All'inizio di ogni ciclo di lettura, le capacità C_1 e C_2 dovranno presentarsi entrambe scariche (accettando un residuo dello 0,01%) in maniera da non viziare le misure successive a causa della presenza di *carica pregressa* appartenente a cicli precedenti: una eventuale carica residua inficerebbe la accuratezza delle misure nel ciclo successivo in quanto si sommerebbe alla carica da integrare, unica aliquota a dover essere valutata.

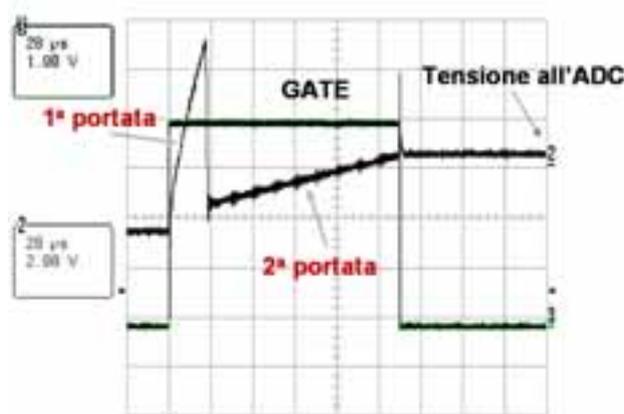


Figura 5. Tipico segnale di uscita dello stadio di ingresso dell'amplificatore multi-portata

Quando avviene l'inserzione dinamica della C_2 (scarica) in parallelo alla C_1 (carica) si verifica un "rimbalzo" dovuto alla redistribuzione della carica tra le due capacità; la caratteristica evidenzia un'oscillazione sovrasmorzata che comprometterebbe linearità e biunivocità a tratti. Per sopperire a questo effetto si è adottato un *tuning resistivo* tra le due capacità (la resistenza R_{TUNING} in Figura 4), in modo da rendere lo smorzamento critico; le due

condizioni con e senza resistenza sono mostrate in Figura 6. Ai fini della misura della carica iniettata non vengono introdotti ulteriori errori perché in regime statico, sulla resistenza di *tuning*, non intervengono fenomeni dissipativi.

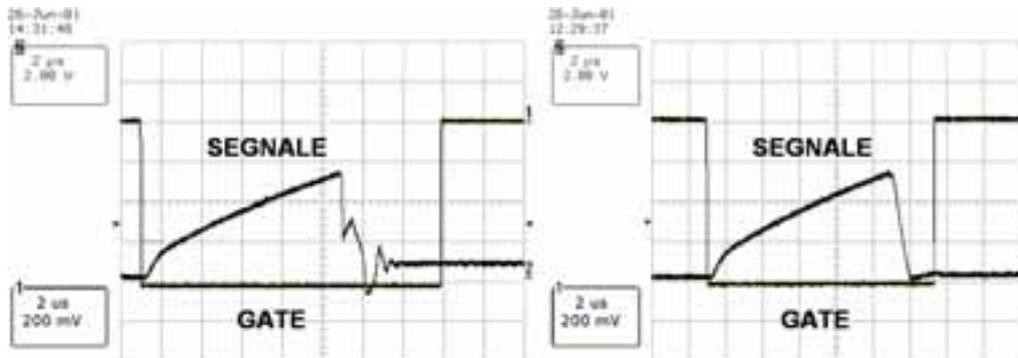


Figura 6. Segnale di uscita dallo stadio di ingresso; a sinistra prima della compensazione, a destra dopo la compensazione con la resistenza di *tuning*

Questa soluzione permette di soddisfare i requisiti di sensibilità e dinamica, come verrà mostrato in seguito, nel paragrafo dei risultati.

Multiplexer e convertitore analogico digitale

L'elettronica di *multiplexer* sviluppata per il prototipo si basa anch'essa su componenti discreti. L'implementazione ha posto particolare attenzione alla minimizzazione del *cross-talk* fra i canali, che si è rilevato critico soprattutto nell'accoppiamento del MUX con l'ingresso dell'ADC e l'uniformità di comportamento dei diversi canali; quest'ultima è affetta soprattutto dalla carica iniettata durante la commutazione degli switch elettronici del MUX e dal tempo di commutazione. Il MUX è realizzato sulla base di uno *shift register* che abilita la connessione elettronica fra la capacità di raccolta della carica dello stadio di ingresso e l'ADC; questo richiede 2 segnali digitali di controllo che si vanno ad aggiungere al GATE e RESET utilizzati per il track and hold dello stadio di ingresso precedentemente descritto: l'ARM che serve ad armare lo *shift register* e il CLOCK che, fa scorrere il bit di abilitazione nello *shift register*; la frequenza massima del CLOCK è nel prototipo di circa 2 MHz.

I segnali di controllo sono gestiti da un *input/output register* in standard VME (CAEN Mod. V770), così come l'ADC. Il *controller* VME è basato su un microprocessore Pentium (VMIC VMIVME 7588) che gestisce l'elaborazione dei dati raccolti e l'interfaccia con l'utente.

Il tempo complessivo T che passa dall'impulso di fascio al segnale di abilitazione del successivo impulso di fascio la somma di molteplici contributi:

- tempo di raccolta dell'elettronica di *front-end* $T_c \approx 100 \mu\text{s}$;
- tempo di conversione dell'ADC per il singolo canale $t_{ADC} \approx 0,2 \mu\text{s}$ (per ADC da 5 MHz), che tenuto conto del fattore di *multiplexing* N_{MUX} , diventa per tutti i canali $T_{ADC+MUX} = t_{ADC} N_{MUX}$;
- il tempo di trasferimento sul bus VME dalla memoria dell'ADC al controllore VME che può scriversi $T_{VME} = t_{VME} N_v$, dove $t_{VME} \approx 0,5 \mu\text{s}$ è il tempo di trasferimento di una parola da 32 bit, mentre N_v il numero di campioni da trasferire. È evidente che conviene dotarsi di ADC con la capacità di sopprimere i piedistalli in modo da ridurre drasticamente N_v .

Il tempo di elaborazione della CPU dell'unità di elaborazione, che si può assumere integrata nel controllore VME. Tale processamene consiste sostanzialmente in calcolo di medie e deviazioni standard, valori cumulati e correlazioni; sul computer in dotazione (Pentium 200 MHz), queste operazioni richiedono mediamente $t_p = 200$ ns/sample e quindi il tempo complessivo è stimato essere $T_p = t_p N_v$.

In definitiva, il tempo totale $T \approx 100 + 0,2N_{MUX} + (0,5 + 0,22)N_v$ μ s che diventa di circa 3,8 ms, considerando ragionevolmente $N_{MUX} = 500$ e $N_v = 5000$. Tale valore non è accettabile per un fascio pulsato da 400 Hz. Per ridurlo è necessario o diminuire il fattore di *multiplexing* ovvero, come indicato sopra, utilizzare ADC con soppressione dei piedistalli; in quest'ultimo caso, risulterebbe $N_v \approx N_{MUX}$ e quindi $T \approx 0,6$ ms, ampiamente nelle specifiche.

Software prototipale di acquisizione

Nello spirito di mantenere la massima flessibilità, ampia possibilità di aggiornamento e manutenzione, il software prototipo che gestisce l'acquisizione e l'analisi dei dati è stato sviluppato per quanto possibile in modo modulare; sono stati individuati diversi moduli o componenti, ciascuno dei quali dedicato ad uno specifico aspetto della catena di elaborazione. Di ciascun componente è quindi stata definita l'interfaccia. In Figura 7 è schematizzato l'intero sistema software.

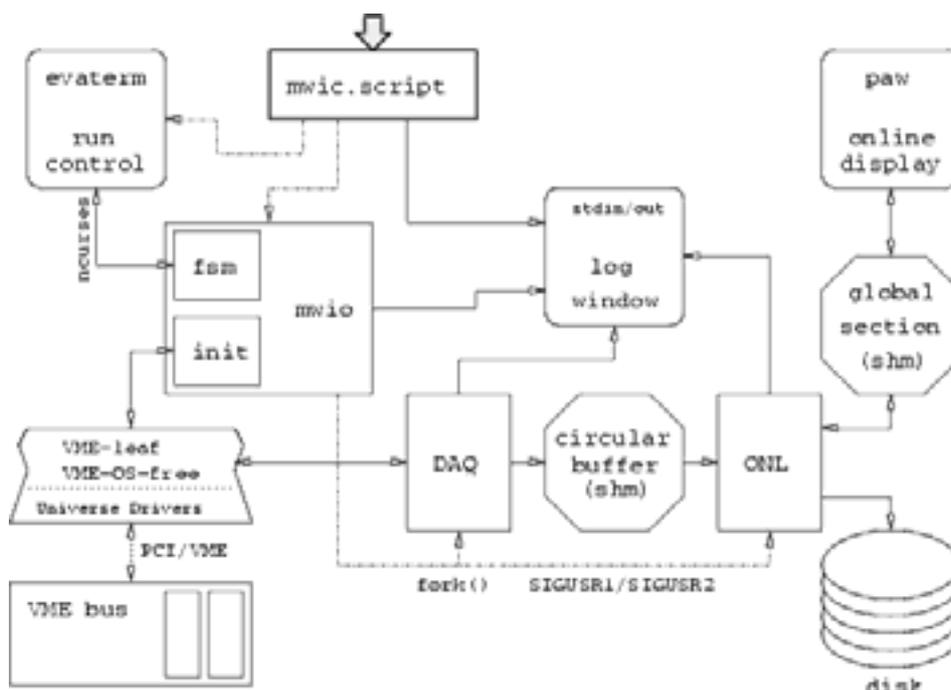


Figura 7. Schema del sistema software di acquisizione, interfaccia con l'operatore e processamento online

I dispositivi fisici (moduli VME, seriali, PCI) sono gestiti da driver di basso livello; il modulo *VME-OS-free* è responsabile dell'interfaccia di questi driver con le routine di alto livello (*VME-leaf*, *serial-leaf*) che restano comunque svincolate dal particolare dispositivo

fisico; in questo modo sarà possibile cambiare, ad esempio, un modulo VME senza dover riscrivere l'intero codice di gestione, ma al più, solo il driver di basso livello e la parte di interfaccia VME-OS-*free* che lo riguarda. Analogamente, il modulo di DAQ si interfaccia al modulo di analisi online per mezzo di un buffer circolare (definito da apposite librerie).

Infine l'operatore può intervenire sul sistema attraverso il modulo di *run control*, basato su un modello FSM (*Finite State Machine*) ovvero attraverso il pacchetto di analisi PAW (7) che interagisce con il modulo online in modo non invasivo per mezzo di memoria condivisa.

Tutto il software viene eseguito sul sistema operativo Linux (8).

Risultati

L'elettronica dello stadio di ingresso è stata analizzata su un prototipo a componenti discreti; le sue caratteristiche sono state misurate su banco; in particolare sono state verificate dinamica e sensibilità (Figura 8). L'ampio intervallo dinamico del segnale in ingresso è stato ottenuto variando il tempo di integrazione.

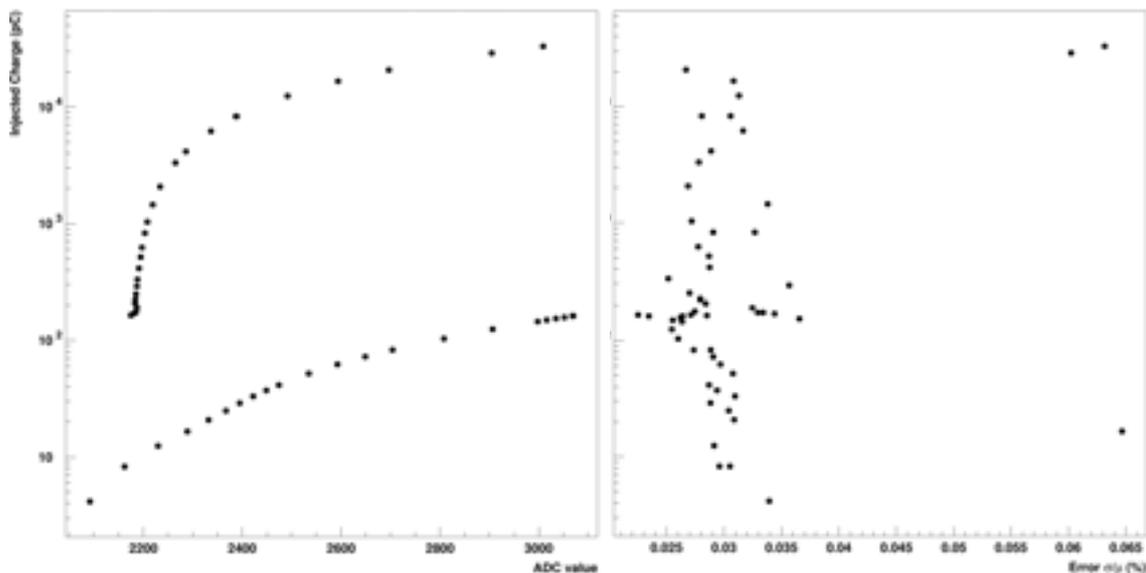


Figura 8. Intervallo dinamico (sinistra) e sensibilità relativa (destra) del prototipo a componenti discreti

Al test del primo stadio dell'elettronica prototipo è seguito un test di tutte le soluzioni adottate, attraverso un fascio collimato di raggi X (40 kV/20 mA) e con una camera a fili (*gap* anodo-catodo di 4 mm e pitch tra fili anodici di 2 mm), utilizzando l'elettronica prototipale, la catena di acquisizione e il software sopra descritti. Le principali quantità misurate sono state l'intensità del fascio e la misura della sezione traversa di questo al variare dell'alta tensione della camera, della composizione del gas (Ar e CO₂ in diverse proporzioni volumetriche), dell'intensità della sorgente di raggi-X (attraverso la variazione dell'alta tensione e della corrente), della frequenza di acquisizione e del tempo di raccolta della carica.

La Figura 9 mostra un tipico riassunto delle misure, dove per dose, si intende, impropriamente, il valore convertito dall'ADC. La dose complessiva è valutata a partire dall'integrale del picco del profilo del fascio presente nell'istogramma in basso a destra; tale integrale può essere stimato attraverso la somma dei contenuti dei singoli *bin* ovvero attraverso l'integrale della gaussiana di *fit*.

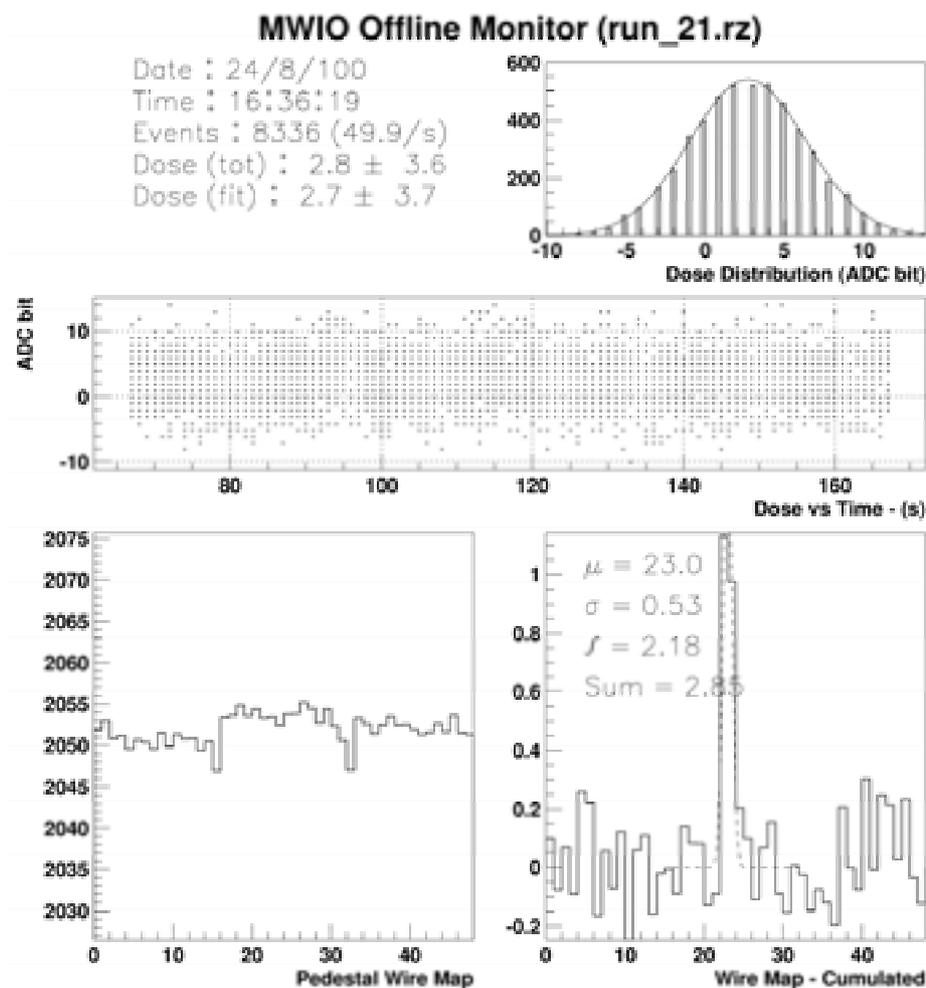


Figura 9. Esempio di monitor online prodotto dal sistema prototipo con fascio di raggi X

Nella Figura 10 è riportato, in funzione della tensione della camera di test, l'andamento della dose misurata (nel senso sopra precisato) ovvero del centroide del fascio di raggi X. La stima del centroide è da intendersi effettiva a partire da circa 1000 V, da quando può considerarsi sostanzialmente stabile; l'errore riportato è relativo alla deviazione standard della gaussiana di *fit*.

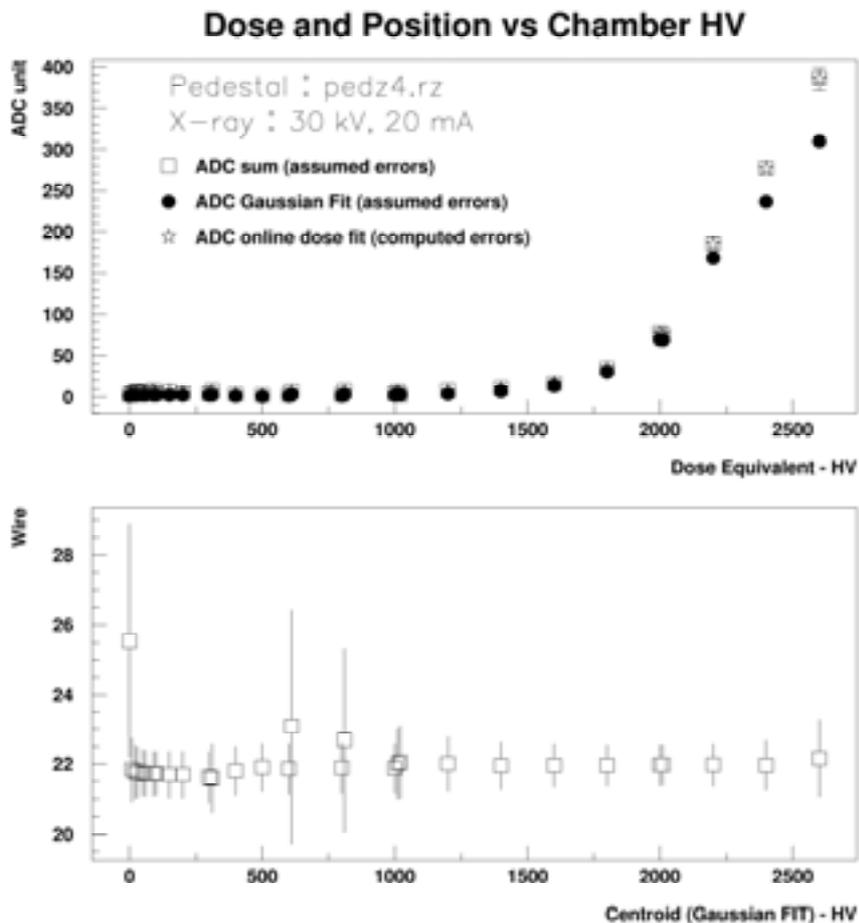


Figura 10. Andamento dell'intensità e della posizione del fascio rispetto all'alta tensione della camera (gli errori nel grafico superiore sono in parte nascosti dal simbolo)

Conclusione e prospettive

I risultati hanno mostrato chiaramente che il prototipo dell'elettronica con elementi discreti risponde alle esigenze del sistema di diagnostica; ai test sotto fascio di raggi X sopra riassunti, seguiranno quelli con fascio di elettroni e/o protoni con l'utilizzo della camera a fili e successivamente della camera prototipo a *microstrip*; in questo modo le condizioni saranno quanto più possibile analoghe a quelle previste per il fascio TOP.

Il naturale sviluppo di un circuito elettronico discreto, strutturato topologicamente come l'insieme di numerose repliche identiche (gli elementi attivi della camera di ionizzazione), risiede certamente nell'implementazione integrata della parte maggioritaria delle funzioni e quindi della componentistica.

L'approccio integrato, infatti, permette di ottimizzare le prestazioni migliorando le *performance* del sistema, poiché, tramite esso, è possibile abbattere il rumore, elevando

l'accoppiamento tra rivelatore e stadio di ingresso. Risulta ridotta anche la disomogeneità tra i vari canali, imputabile alle variazioni parametriche dei componenti.

Attraverso la realizzazione di un circuito integrato ad architettura dedicata, all'incremento della velocità di lettura e dell'affidabilità dei risultati delle misure della carica, è possibile aggiungere una contrazione notevole della geometria che completa il sistema della necessaria compattezza e robustezza.

Bibliografia

1. Chu WT, Staples JW, Ludewigt BA, Renner TR, Singh RP, Nyman MA, Collier JM, Datari IK, Kubo H, Petti PL, Verhey LJ, Castro JR, Alonso JR. *Performance Specifications for Proton Medical Facility*. Berkeley: Lawrence Berkeley Laboratory; 1993. (Report LBL-33749).
2. Lewis IAD, Collinge B. A precision Current Integrator of Medium Sensitivity. *Rev Scient Instr* 1953;24:1113-1115.
3. Shapiro EG. Linear Seven-Decade Current/Voltage-to-Frequency Converter. *IEEE Trans Nucl Scie* 1970;17:335-344.
4. Gottschalk B. Charge-Balancing Current Integrator with Large Dynamic Range. *Nucl Instr Meth* 1983;207:417-42.
5. Bonazzola GC, Cirio R, Donetti M, Marchetto F, Mazza G, Peroni C, Zampieri A. Performances of a VLSI wide dynamic range current-to-frequency converter for strip ionization chambers. *Nucl Instr Meth* 1998;A405:111-120.
6. Bonazzola GC, Bouvier S, Cirio R, Donetti M, Fingus M, Marchetto F, Peroni C, Pernigotti E, Thenard JM, Zampieri A. A VLSI analog pipeline read-out for electrode segmented ionization chambers. *Nucl Instr Meth* 1999;A426:544-550.
7. CERN PAW. *The Physics Analysis Workstation, Reference Manual*. Ginevra: CERN Program Library; 1999. (Long Writeup Q12).
8. La documentazione su Linux è disponibile all'indirizzo: <http://www.linux.org>; ultima consultazione 9/04/2004.

MISURA DELLA QUALITÀ DEL FASCIO TOP CON LA TECNICA DELLA VARIANZA-COVARIANZA

Giulio Magrin (a), Paolo Colautti (a), Laura De Nardo (b)
(a) Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Laboratori Nazionali di Legnaro
(b) Dipartimento di Fisica, Università di Padova

Introduzione

I melanomi oculari e altre patologie dell'occhio possono essere trattate con successo con fasci di protoni (1). Nei centri dove i protoni vengono già utilizzati si è raggiunto un controllo tumorale tra il 90% e il 95%. Tuttavia, per aumentare le possibilità di preservare la visione dopo il trattamento radiante bisogna conoscere con precisione l'effetto biologico relativo (*Relative Biological Effectiveness*, RBE) del fascio, in modo tale da valutare con precisione la sopravvivenza cellulare dei tessuti critici sani attorno al tumore (2). Il fascio terapeutico è composto da protoni di energia diversa, opportunamente modulata. Lo spettro energetico dei protoni cambia con la profondità e con esso cambia l'RBE, che aumenta al diminuire dell'energia dei protoni (3), sicché esso sale a valori non trascurabili proprio al limite della zona di trattamento, là dove possono essere presenti i tessuti sani critici (4, 5).

In Figura 1 è riportata la variazione con la profondità del fascio terapeutico di protoni del centro Antoine-Lacassagne di Nizza.

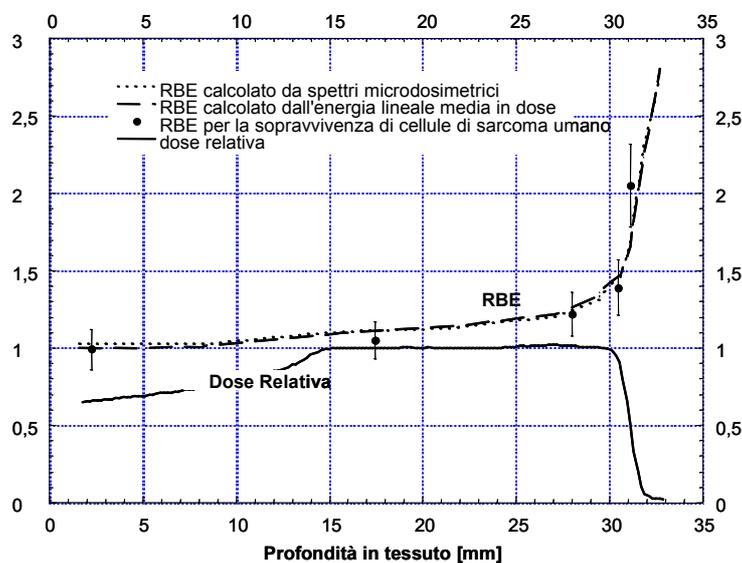


Figura 1. Fascio modulato di protoni del Centro Lacassagne di Nizza: dose relativa e RBE in funzione della profondità

Dalla figura si può facilmente dedurre il vantaggio terapeutico di una radiazione che rilascia una dose costante nella zona tumorale (tra 15 e 30 mm) e nessuna dose oltre i 32 mm, dove si

suppone ci siano solo tessuti sani. Nella stessa figura sono riportate alcune misure di RBE di sopravvivenza cellulare fatte irradiando, con lo stesso fascio di protoni, cellule tumorali umane. L'RBE aumenta di oltre un fattore 2 nella parte terminale della zona di trattamento. Poiché l'effetto biologico che ci si attende è proporzionale al prodotto della dose per l'RBE, quest'ultimo non può non essere preso in considerazione se si vuole ottimizzare il piano terapeutico. Tuttavia, le misure di radiobiologia, come quelle riportate in figura, sono lunghe e complesse e perciò mal si prestano ad essere impiegate frequentemente come misure di qualità del fascio. Al loro posto però possono essere utilizzate delle misure microdosimetriche, che richiedono solo pochi minuti e un'apparecchiatura che può essere resa, almeno in linea di principio, molto semplice. In Figura 1 sono riportate anche due linee, una a tratti e una a punti, che rappresentano due diversi modi di calcolare l'RBE da misure di microdosimetria. I due modi danno risultati sostanzialmente identici che si accordano bene con i dati radiobiologici. Il primo modo (punti) utilizza l'intero spettro microdosimetrico ottenuto monitorando il fascio di protoni con un contatore proporzionale tessuto-equivalente (TEPC) (6); il secondo (tratti) utilizza solo il valor medio di tale spettro. Bisogna precisare che il secondo metodo non ha validità generale, ma si è dimostrato valido per fasci di protoni di 65 MeV (7). Questo rapporto tratta delle caratteristiche che dovrà avere un rivelatore per poter monitorare l'RBE del fascio TOP.

Fascio TOP e limiti di monitoraggio

Il progettato fascio TOP e le sue implicazioni per una dosimetria con camere a ionizzazione sono state già accuratamente descritte. Qui ne ricorderemo solo le principali caratteristiche utili per progettare una misura di microdosimetria. Il fascio sarà pulsato, con impulsi della durata di 5 μ s che avranno un rateo di ripetizione di 200 Hz. Per trattare un tumore è necessario utilizzare correnti medie tra 1 e 20 nA, che corrispondono a 1-20 μ A durante l'impulso. Durante un impulso verranno rilasciati tra i $3,1 \cdot 10^7$ e i $6,2 \cdot 10^8$ protoni su un'area circolare di 35 mm di diametro, che equivale ad una dose per impulso in aria di 5,13-102,6 mGy. Nei 5 μ s dell'impulso il flusso di particelle potrà variare tra $6,4 \cdot 10^9$ - $1,3 \cdot 10^{11}$ $\text{mm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Un TEPC, il cui volume sensibile abbia uno spessore di 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (equivalente a 1 μm alla densità di 1 g/cm^3), può sopportare un rateo di impulsi di 100 kHz o poco più (8); se si considera che il più piccolo TEPC mai costruito ha un volume sensibile dal diametro di 0,5 mm (9), se ne deduce che il massimo flusso di protoni che un contatore proporzionale a gas, realisticamente costruibile, può sopportare non supera i 10^6 $\text{mm}^{-2}\text{s}^{-1}$: valore ben lontano dai flussi di lavoro del fascio TOP. È perciò irrealistico immaginare di raccogliere uno spettro microdosimetrico, cioè di misurare i singoli eventi di energia rilasciati da ogni protone in un sito micrometrico. Si può però far operare una camera di ionizzazione in modo tale da calcolare, dai dati di carica raccolta, il valor medio dello spettro microdosimetrico corrispondente. In seguito verranno ricordate le basi fisico matematiche di tale tecnica, che viene detta tecnica della *varianza-covarianza*.

Tecnica della varianza-covarianza

Una camera a ionizzazione misura la carica generata nel gas dal passaggio di moltissimi protoni; da questa carica si può calcolare con precisione la dose assorbita nel punto dove la camera è stata posizionata. L'effetto biologico dipende però sia dalla dose assorbita sia dall'energia rilasciata nella cellula al passaggio di un singolo protone. Quest'ultima grandezza

oscilla, essendo diversa da protone a protone a causa della natura stocastica dell'interazione della radiazione. Come è illustrato in Figura 1, se si misura lo spettro di oscillazione di questa grandezza, o il suo valor medio, si può calcolare l'RBE con buona precisione. Sul fascio TOP lo spettro di oscillazione non si può misurare, come è spiegato nel capitolo precedente, ma si può misurarne il suo valor medio misurando l'oscillazione relativa della corrente di una camera di ionizzazione. Questo è possibile perché la natura stocastica dell'interazione di un singolo protone dà origine ad una fluttuazione del deposito di energia che si propaga, per quanto ridotta, anche nell'energia depositata dalla sovrapposizione di molte migliaia di protoni.

La qualità biologica del fascio TOP può quindi essere calcolata a partire dall'energia media impartita dal passaggio di un singolo protone $\bar{\mathcal{E}}_{i,D}$, la quale può a sua volta essere calcolata da una misura di energia media impartita dal passaggio di molti protoni $\bar{\mathcal{E}}$ e dalla misura della sua varianza relativa V_{rel} secondo la formula:

$$\bar{\mathcal{E}}_{i,D} = V_{rel} \cdot \bar{\mathcal{E}} \quad [1]$$

Se però il fascio oscilla, com'è normale in un acceleratore, va sottratto il suo contributo alla fluttuazione della corrente della camera a ionizzazione. Questo è possibile solo se un altro rivelatore (camera a ionizzazione) è presente. Anche la corrente di quest'ultimo infatti oscillerà, ma mentre la fluttuazione dovuta all'interazione di un singolo protone, essendo per sua natura stocastica, sarà completamente scorrelata dalla fluttuazione che un singolo protone genera nel primo rivelatore, la fluttuazione dovuta al fascio che aumenta o diminuisce di intensità è correlata con quella corrispondente che avviene nel primo rivelatore. Quest'ultima componente è misurabile combinando opportunamente i responsi dei due rivelatori per calcolare la cosiddetta covarianza relativa C_{rel} . L'energia media impartita dal passaggio di un singolo protone diventa allora:

$$\bar{\mathcal{E}}_{i,D} = (V_{rel} - C_{rel}) \cdot \bar{\mathcal{E}} \quad [2]$$

In pratica la misura viene fatta leggendo la carica raccolta da una camera a ionizzazione ad intervalli regolari di circa 1 ms. Dalla media dei valori letti si ottiene $\bar{\mathcal{E}}$ mentre dalla fluttuazione di tali valori si ricava V_{rel} . Similmente si opera sul secondo rivelatore. In seguito utilizzeremo anche un'altra grandezza che è usata in microdosimetria: il rapporto di $\bar{\mathcal{E}}_{i,D}$ sul diametro medio della cavità, che è chiamato energia lineale media o \bar{y}_D e, similmente al LET, ha dimensioni keV/ μm . Maggiori dettagli sul metodo sono stati pubblicati altrove (10). Anche questo metodo ha dei limiti operativi che saranno ricordati qui di seguito.

Limiti della tecnica della varianza-covarianza

Uno studio dettagliato (10) della tecnica della varianza-covarianza e del funzionamento di una camera a ionizzazione ha portato a definire i seguenti limiti per il progettato fascio TOP.

Rumore elettronico

Bisogna premettere che il valore di $\bar{\mathcal{E}}_{i,D}$ può variare con lo spessore del volume sensibile del rivelatore. Un rivelatore con una cavità di 1 mm di diametro riempita con un gas tessuto-equivalente a circa mezza atmosfera di pressione misura l'energia media che viene impartita dalla stessa radiazione ad un bersaglio biologico dello spessore di 1 μm (cioè lo spessore del braccio di un cromosoma). Se la stessa cavità viene riempita con solo 15 mb di gas, l'energia

media misurata è quella che viene impartita ad una fibra di cromatina (circa 30 nm). Quale sia il deposito energetico meglio correlato con l'effetto biologico, sia esso quello nel cromosoma o nella fibra di cromatina o addirittura nel DNA, è tuttora un argomento oggetto di una vasta ricerca internazionale. Un approccio empirico, basato sul semplice confronto dei dati di RBE di sopravvivenza cellulare e dei dati microdosimetrici ottenuti con rivelatori di 1-2 μm di diametro, ha portato alla buona correlazione di Figura 1. Tuttavia, la sua validità generale non è provata. In particolare il monitoraggio con camere di ionizzazione con cavità minori di 1 μm di diametro potrebbe migliorare la stima dell'RBE.

Il rumore elettronico dà origine ad una fluttuazione della carica misurata, perciò la varianza della carica dovuta alla radiazione deve essere maggiore di quella dovuta al rumore elettronico. Si può dimostrare (10) che la deviazione standard della carica misurata è proporzionale alla dimensione ℓ del rivelatore e allo spessore simulato d , nonché alla radice quadra del prodotto di \bar{y}_D per la dose per impulso. Assumendo che l'energia equivalente alla deviazione standard del rumore sia 50 keV (13), si può calcolare il valore del prodotto ℓd che, per una data dose per impulso e per una data qualità della radiazione, dà origine ad una deviazione standard della carica misurata uguale al rumore elettronico.

Tale valore è riportato in Figura 2 in funzione della qualità \bar{y}_D del campo di radiazione per due dosi. La massima dose per impulso (154 mGy) di TOP sarà quella rilasciata nella zona di plateau (vedi Figura 1) dall'impulso più intenso. In tali condizioni un rivelatore di 1 mm che simula 1 μm potrà misurare ogni valore dell'energia lineale media \bar{y}_D . Ma se lo stesso rivelatore simula uno spessore di 0,1 μm potrà misurare solo valori di \bar{y}_D maggiori di 0,5 keV/ μm . La più piccola dose per impulso è quella che si ha alla massima profondità raggiungibile dai protoni, cioè al limite è zero (vedi Figura 1). Se ci limitiamo ad arrivare ad un quinto della dose di entrata, per l'impulso più debole di TOP, si ottiene circa 1 mGy. In tali condizioni un rivelatore di 1 mm che simula 1 μm potrà misurare accuratamente solo valori dell'energia lineale media \bar{y}_D superiori a 0,8 keV/ μ , e solo quelli superiori a 80 keV/ μm se simula 0,1 μm .

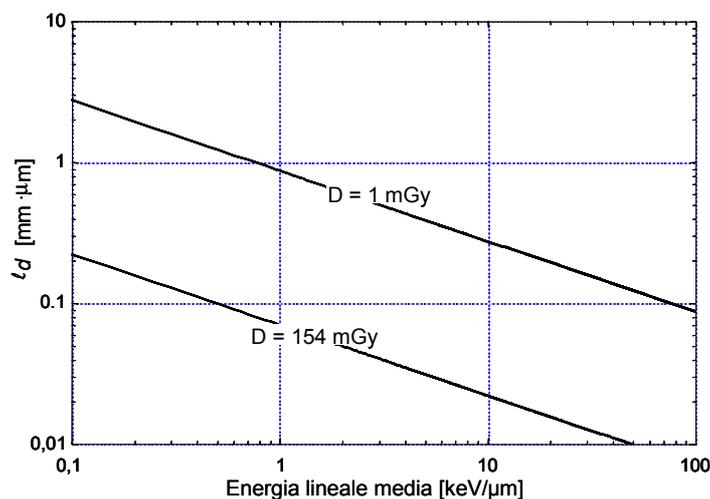


Figura 2. Valori del prodotto ℓd per cui la deviazione standard della carica raccolta, in un campo di data energia lineale media \bar{y}_D , uguaglia la deviazione standard del rumore elettronico. (le due curve si riferiscono a due diverse dosi per impulso; per misurare la qualità \bar{y}_D di un fascio il prodotto ℓd deve avere un valore superiore a quello corrispondente della curva)

Efficienza di raccolta delle cariche

La misura di varianza relativa delle cariche raccolte da una camera a ionizzazione è accurata solo se tutte le cariche vengono raccolte. Tuttavia una frazione di cariche create dai protoni si ricombinerà prima che il campo elettrico abbia il tempo di separare a distanza sufficiente l'elettrone dal suo ione positivo.

L'efficienza di raccolta aumenta con l'aumentare del campo elettrico e con il diminuire della dose per impulso. Tuttavia oltre un certo limite di campo elettrico gli elettroni danno origine a ionizzazione secondaria e la camera a ionizzazione diventa un contatore proporzionale; se così fosse la varianza relativa della carica raccolta sarebbe ulteriormente aumentata dalla fluttuazione della valanga elettronica.

Per evitare tale eventualità, la tensione applicata ad una camera a ionizzazione cilindrica non deve superare quel valore limite che innesca la ionizzazione secondaria sulla superficie dell'elettrodo centrale (dove il campo elettrico è massimo). Tale valore dipende dallo spessore simulato e dal rapporto l/c tra il diametro della cavità e il diametro dell'elettrodo interno del rivelatore. In Figura 3 è riportato il rapporto di tale valore limite con lo spessore del sito simulato dalla camera in funzione di l/c . La figura mostra un massimo per $l/c=2,7$ che equivale a 1200 volt per un sito di 1 μm e a 120 volt per un sito di 120 nm.

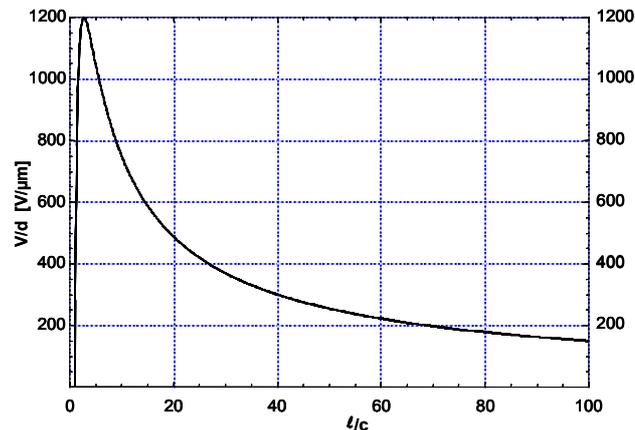


Figura 3. Voltaggio massimo applicabile ad una camera a ionizzazione cilindrica diviso il diametro del sito simulato in funzione del rapporto l/c tra il diametro della cavità e quello dell'elettrodo interno

Si può allora calcolare l'efficienza di raccolta di una camera a ionizzazione cilindrica, che simula uno spessore d , a cui è stato applicato il massimo voltaggio possibile come da Figura 3. L'efficienza di raccolta, per un dato voltaggio, dipende sia dalla separazione dei due elettrodi sia dal rapporto del loro diametro. In Figura 4 è riportata l'efficienza di raccolta massima in funzione della separazione tra i due elettrodi per due valori di l/c e per un impulso di dose massima. L'efficienza di raccolta cala all'aumentare della separazione poiché, per un dato campo elettrico massimo accettabile alla superficie dell'elettrodo interno, il campo elettrico sulla superficie dell'elettrodo esterno diminuisce con l'aumentare della dimensione della cavità, con conseguente aumento della ricombinazione ionica. Si può notare che per avere una efficienza di raccolta maggiore del 90% bisogna avere delle camere a ionizzazione con elettrodo centrale molto grosso (l/c minore di 10) e una spaziatura piccola tra i due elettrodi. Per esempio

una cavità di 1 mm con un elettrodo centrale maggiore o uguale a 0,1 mm. Si noti che le conclusioni riassunte dalla Figura 4 non dipendono né dallo spessore del sito simulato, né dalle dimensioni assolute del rivelatore.

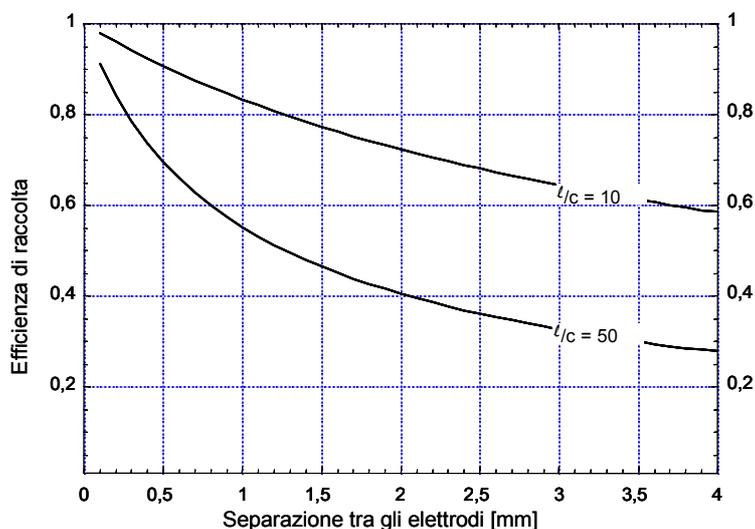


Figura 4. Efficienza massima di raccolta di una camera a ionizzazione cilindrica in funzione della separazione dei due elettrodi per una dose per impulso di 154 mGy e per due rapporti l/c tra il diametro della cavità e quello dell'elettrodo interno

Emissione elettronica secondaria

I protoni, colpendo le pareti interne della camera a ionizzazione, estraggono elettroni dalle pareti generando una carica che si somma a quella dovuta al campo di radiazione. L'emissione secondaria dovuta a ioni (*Ion Induced Electron Emission, IIEE*) dipende dalla forma, dalla grandezza e dal materiale con cui sono fatti gli elettrodi, nonché dal potere frenante dei protoni (11) (un protone di 100 keV di energia estrae in media 2 elettroni, un protone di alta energia in media circa 0,1 elettroni). Tuttavia, il peso relativo dell'emissione secondaria sulla carica totale raccolta non dipende dalle dimensioni del rivelatore, ma solo dallo spessore del sito simulato. Infatti, fissato il valore di quest'ultimo, la carica generata dalla radiazione è proporzionale alla massa del volume sensibile, che è proporzionale al quadrato del diametro del rivelatore; similmente la carica dovuta a IIEE è proporzionale alla superficie degli elettrodi, che è essa pure proporzionale al quadrato del diametro del rivelatore. Per un sito di 1 μm il contributo relativo di IIEE è trascurabile (0,04%). Solo per siti di 10 nm tale contributo raggiunge il 4%. Tuttavia, per minimizzare tale contributo, conviene polarizzare positivamente l'elettrodo maggiore (12), cioè quello esterno, e raccogliere il segnale su quello interno.

Indipendenza dei due rivelatori

La tecnica di utilizzare il responso di due rivelatori, per sottrarre le fluttuazioni di carica dovute alle oscillazioni del fascio accelerato, implica che il responso di un rivelatore non sia in

nessun modo correlato a quello dell' altro se non, per l'appunto, per la sola componente dovuta alla suddetta oscillazione. In altre parole bisogna evitare che lo stesso protone dia origine ad un impulso in entrambi i rivelatori; al contrario, la covarianza sarebbe sovrastimata, quindi ne verrebbe sottostimata la varianza e la conseguente qualità del fascio. Innanzitutto bisogna evitare di allineare i due rivelatori con il fascio, affinché quest'ultimo non attraversi prima uno poi l'altro. Tuttavia anche se essi sono posti trasversalmente al fascio, un protone di alta energia che passi tra loro può iniettare contemporaneamente elettroni in entrambi i rivelatori. Un setto di plastica tessuto-equivalente di 0,3 mm posto tra i due rivelatori è sufficiente per evitare questa eventualità (10).

Conclusione

Il monitoraggio della qualità di un fascio di protoni può portare a significativi vantaggi terapeutici. La struttura pulsata del fascio TOP impedisce però l'uso di TEPC (*Tissue Equivalent Proportional Counter*) per monitorarne la qualità. In questo lavoro abbiamo analizzato la possibilità di utilizzare la tecnica della varianza-covarianza che impiega due camere a ionizzazione. Possiamo concludere che un sistema di due rivelatori è in grado di monitorare la qualità del progettato fascio TOP.

La Figura 5 mostra una vista esplosa di un possibile monitor di qualità composto da due camere a ionizzazione cilindriche. L'elettrodo esterno, di plastica conduttrice tessuto-equivalente, è il blocco scuro al centro della figura con due cavità cilindriche di 1 mm di diametro. I due elettrodi centrali da 0,1 mm di diametro sono retti da due supporti isolanti (i due blocchi chiari). Infine un sottile cappuccio conduttore (il blocco grigio a sinistra) copre il tutto per garantire la tenuta del gas e fare da schermo elettromagnetico.

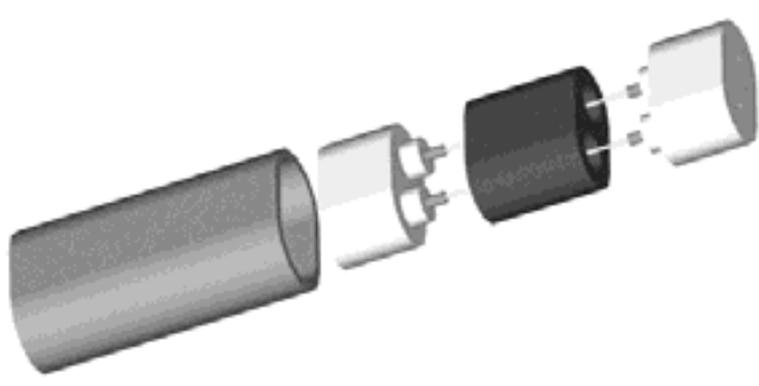


Figura 5. Schema di un possibile rivelatore per monitorare la qualità del fascio TOP

La tecnica della varianza-covarianza consiste nel misurare con precisione le piccole fluttuazioni della carica raccolta dalle due camere a ionizzazione. Misurare piccole oscillazioni di un segnale grande può porre problemi di sensibilità; una risoluzione di 18 bit è perciò consigliabile.

Bibliografia

1. Chauvel P. Treatment of eye tumour. In: *Ion beams in tumour*. Londra: Chapman and Hall; 1995. p. 116-26.
2. Chauvel P, Sauerwein W, Bornfeld N, Friedrichs W, Brassart N, Courdi A, Herault J, Pignol JP, Bondiau PY, Malandain G. Clinical and technical requirements for proton treatment planning of ocular diseases. In: *Radiotherapy of Ocular Disease. Frontiers of Radiation Therapy and Oncology* 1997;30:133-42.
3. Belli M, Cra F, Cherubini R, Haque AMI, Ianzini F, Moschini G, Sapora O, Simone G, Tabocchini MA, Tiveron P. Inactivation and mutation induction in V79 cells by low energy protons: re-evaluation of the results at the LNL facility. *Int J Radiat Biol* 1993;63:331-7.
4. Courdi A, Brassart N, Herault J, Gabillat JM, Mari D, Pignol JP, Chauvel P. Changes in biological effectiveness with depth of the Medicyc neutron therapy beam. *Bull Cancer/Radiother* 1996;83(Suppl.1):47s-49s.
5. Bettega D, Calzolari P, Chauvel P, Courdi A, Herault J, Iborra N, Marchesini R, Massariello P, Poli GI, Tallone L. Radiobiological studies of the 65 meV therapeutic proton beam at Nice using human tumour cells. *Int J Radiat Biol* 2000;76:1297-303.
6. Cesari V, Iborra N, De Nardo L, Querini P, Conte V, Colautti P, Tornielli G, Chauvel P. Microdosimetric measurements of the Nice therapeutic proton beam. *Phys Med* 2001;XVII(suppl 3):67-70.
7. Cesari V, Conte V, Colautti P, De Nardo L, Tornielli G, Iborra N, Herault J, Chauvel P. Investigation about proton beam quality with a mini TEPC. In: *Abstracts of the XXXVI PTCOG Meeting*. Catania, 29-31 maggio 2002, p. 17.
8. Querini P. *Microdosimetri miniaturizzati per il controllo della qualità dei fasci in radioterapia adronica*. Padova: Dipartimento di Fisica dell'Università; 1998. (Tesi di laurea, Anno accademico 1997-1998).
9. Kliuga P. Measurements of single event energy deposition spectra at 5 nm to 250 nm simulated site sizes. *Radiat Prot Dosim* 1990;31:119-23.
10. Magrin G, Colautti P, Tornielli G. *Variance-covariance technique for monitoring the TOP proton beam quality*. Legnaro: Laboratori Nazionali di Legnaro dell'INFN; 2000: (Rapporti LNL-INFN (REP) 156).
11. Hasselkamp D, Rothard H, Groeneweld KO, Kemmler J, Varga P, Winter H. *Particle Induced electron emission II*. Berlino e Heidelberg: Springer-Verlag; 1992.
12. Forsberg B, Lindborg L. Experimental limitations in microdosimetric measurements using the variance-covariance technique. *Radiat Environ Phys* 1981;19:125-35.
13. Grindborg JE, Samuelson G, Lindborg L. Variance-covariance measurements in photon beams for simulated nanometre objects. *Rad Prot Dosim* 1995;61:193-8.

Sottoprogetto
BIOFISICA E RADIOBIOLOGIA DEI PROTONI

Responsabile: Mauro Belli

INTRODUZIONE

Mauro Belli

Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità e Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione Roma 1, Gruppo collegato Sanità, Roma

I fasci di adroni carichi presentano vantaggi potenziali rispetto ai fasci convenzionali fotonici (X o γ) dovuti non solo ad una migliore distribuzione della dose nel bersaglio, ma anche ad alcune favorevoli caratteristiche radiobiologiche, in grado di aumentare l'effetto letale sulle cellule tumorali. Tali caratteristiche dipendono dal tipo di particelle considerate.

Con i fotoni X o γ , a dosi dell'ordine del Gy, l'energia depositata è distribuita in modo abbastanza omogeneo su dimensioni dell'ordine di qualche micrometro, tipiche dei nuclei cellulari. Al contrario, con gli adroni carichi vi possono essere importanti fluttuazioni, poiché l'energia è depositata da ciascuna particella intorno alla sua traiettoria. Gli eventi di cessione di energia (traccia) sono prodotti sia dallo ione primario che da quelli secondari (in genere elettroni della materia attraversata). Sono questi ultimi che cedono al mezzo gran parte dell'energia persa dallo ione primario, ricevuta sotto forma di energia cinetica.

Sebbene queste fluttuazioni non appaiano importanti nella determinazione delle curve isodose (nella radioterapia convenzionale, ad esempio, si richiede in genere una risoluzione spaziale dell'ordine del millimetro), la distribuzione di energia a livello delle dimensioni subcellulari (micrometri o nanometri) è importante per le proprietà radiobiologiche della radiazione, poiché la densità locale d'energia su questa scala determina l'efficacia biologica. Da questo punto di vista le proprietà microscopiche della struttura di traccia risultano quindi determinanti e ciò fa comprendere perché singoli indicatori medi, come il trasferimento lineare d'energia (*Linear Energy Transfer*, LET), si siano rivelati inadeguati ad una precisa caratterizzazione della qualità della radiazione.

È interessante notare che questa inadeguatezza risulta anche da una descrizione di prima approssimazione della struttura di traccia, quale quella effettuata in termini di profilo della densità *media* dell'energia depositata perpendicolarmente alla traccia stessa. La sua massima dimensione radiale, r_{\max} , è determinata dal percorso degli elettroni secondari più energetici. Si osserva che, a parità di LET, particelle cariche di diverso tipo danno luogo a tracce di dimensioni radiali diverse (Tabella 1).

Tabella 1. Massima dimensione radiale (r_{\max}) delle tracce di protoni e di ioni ^4He dello stesso LET non ristretto (L^∞), calcolata con la formula $0,026 [E/n (\text{MeV/u})]^{1,7}$

$L^\infty(1)$ (keV/ μm)	Protoni		Particelle- α (ioni ^4He)	
	E (MeV)	r_{\max} (μm)	E (MeV)	r_{\max} (μm)
10	3,55	1,95	80,0	36,80
20	1,40	0,40	34,2	8,68
30	0,77	0,14	20,6	3,67

⁽¹⁾ In materiale tessuto-equivalente MS20 dell'ICRU.

In effetti il LET fornisce solo la misura della densità di ionizzazione *media* di una particella carica *lungo la sua traiettoria*, senza riferimento alla sua distribuzione radiale che, come si nota dalla tabella, dipende anche dal tipo di particella. Più in generale, le limitazioni del LET come

indicatore della qualità della radiazione discendono dal fatto che esso non tiene conto della natura casuale delle perdite d'energia lungo la traccia, che generano larghe variazioni dell'energia depositata in piccoli volumi, corrispondenti a strutture subcellulari d'interesse biologico (1). Attualmente, nonostante le predette limitazioni, il LET mantiene un valore indicativo per distinguere radiazioni densamente ionizzanti (in generale di alto LET) da radiazioni "sparsamente" ionizzanti (di basso LET).

I fasci terapeutici di protoni, aventi in genere energie iniziali comprese tra 60 e 250 MeV, sono inizialmente di basso LET ma vengono degradati in energia durante l'attraversamento del tessuto. Una parte più o meno significativa della dose è quindi ceduta nel bersaglio da particelle di bassa energia, densamente ionizzanti, vicine alla fine del loro percorso.

La conoscenza delle caratteristiche fisiche del fascio, sia a livello macroscopico (quelle che determinano la distribuzione della dose), sia a livello microscopico (quelle che determinano le caratteristiche radiobiologiche) e delle loro variazioni nei tessuti irradiati è essenziale per valutare l'entità del danno causato a questi ultimi. In linea di principio, tale conoscenza permette di sfruttare al meglio i potenziali vantaggi degli adroni carichi e quindi può essere utilizzata ai fini dell'ottimizzazione dei trattamenti radioterapeutici (Figura 1).

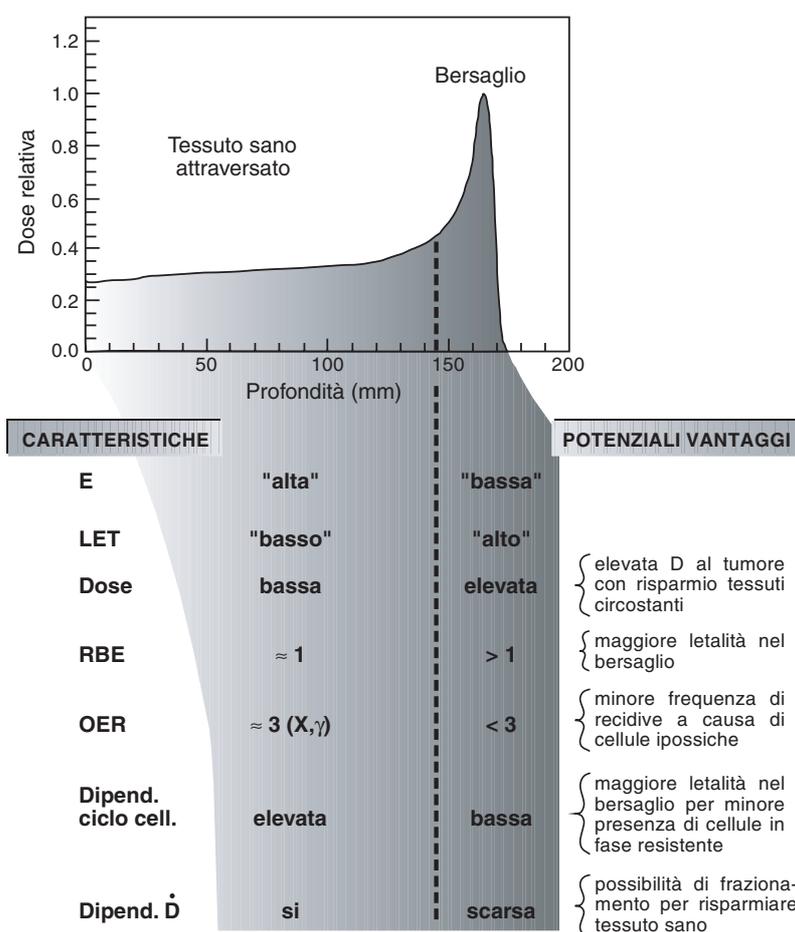


Figura 1. Rappresentazione schematica della variazione delle caratteristiche di un fascio di adroni carichi lungo la curva di Bragg e dei vantaggi terapeutici che ne potrebbero derivare

La frazione delle componenti di bassa energia varia con la penetrazione nel tessuto e dipende fortemente dal tipo di fascio utilizzato. Nel caso di fasci di protoni per terapia profonda con energie iniziali di 200-250 MeV ci si aspetta che nel volume bersaglio la frazione di particelle di bassa energia e alto LET, benché variabile con la posizione, sia relativamente modesta tranne che nella regione distale. Questo contributo appare più marcato per i fasci di protoni per terapia oculare, aventi energie iniziali di 60-70 MeV. Nel caso di ioni più pesanti, come il carbonio, ci si aspetta invece che la variazione del LET medio con la profondità sia più marcata, anche per la produzione più significativa di adroni secondari.

Nel caso della protonterapia la presenza delle componenti di bassa energia è stata sinora considerata nei piani di trattamento attraverso un'assunzione semplificativa consistente nell'applicazione di un valore costante e maggiore di 1 (tipicamente 1,1) per l'efficacia biologica relativa (*Relative Biological Effectiveness*, RBE) del fascio terapeutico all'interno del cosiddetto picco di Bragg allargato o *Spread-Out Bragg Peak* (SOBP), cioè in corrispondenza del tessuto bersaglio.

I dati di letteratura (2, 3) sull'RBE per l'inattivazione di popolazioni cellulari (che è l'effetto maggiormente rilevante per la terapia dei tumori) irradiate con fasci di protoni di energia pari o superiore a qualche decina di MeV forniscono valori compresi tra circa 0,8 e circa 1,6. Queste differenze sono sostanzialmente legate alle condizioni di riferimento, in particolare alla posizione nel fascio, al livello di inattivazione considerato e al tipo di cellule utilizzate negli esperimenti.

Alcuni studi effettuati con fasci terapeutici su sistemi cellulari mostrano chiaramente variazioni significative dell'efficacia biologica all'interno dello SOBP e soprattutto nella sua parte distale (4, 5), legate alla variazione delle caratteristiche del fascio durante l'attraversamento dei tessuti o del degradatore di energia usato per ottenere lo SOBP.

Dettagliate informazioni sulla dipendenza dell'RBE dall'energia dei protoni sono state ottenute dagli studi sistematici condotti, a partire dalla seconda metà degli anni '80 (6, 7), presso i Laboratori Nazionali di Legnaro dell'Istituto nazionale di Fisica Nucleare (INFN) con fasci monoenergetici di bassa energia utilizzando cellule V79 di hamster cinese coltivate *in vitro*, e considerando un intervallo di energia dove si osservano variazioni importanti dell'efficacia biologica.

Esperimenti simili sono stati condotti successivamente su un certo numero di cellule di origine umana tumorale e non (8), come parte di un progetto in collaborazione fra i gruppi dell'Istituto Superiore di Sanità, dei Laboratori Nazionali di Legnaro, delle Università di Napoli e di Milano, nell'ambito dell'esperimento ATER (AdroTERapia) supportato dall'INFN. Quest'ultima attività è descritta in dettaglio in questo stesso rapporto a pagina 123.

Questi studi hanno prodotto un insieme di curve di sopravvivenza per varie linee cellulari di origine umana e di roditore, irradiate con raggi X e con protoni di bassa energia, descrivibili sostanzialmente mediante funzioni lineari-quadratiche, del tipo: $-\ln S = \alpha D + \beta D^2$, dove S è la frazione di cellule sopravvissute alla dose D. Il coefficiente lineare rappresenta l'efficacia della radiazione (effetto per unità di dose) alle basse dosi, da cui si può calcolare, per questa condizione, l'RBE della radiazione rispetto a quella fotonica di riferimento. Per confrontare però la risposta di diverse radiazioni in condizioni di maggiore significato terapeutico, è opportuno ricorrere ad altri parametri, come il valore della dose necessaria a produrre un livello di sopravvivenza pari a quello prodotto da 2 Gy (valore tipico della singola frazione di dose nella radioterapia con dosi frazionate) di radiazione γ ; l'inverso di questo parametro fornisce una misura della radiosensibilità di una determinata popolazione cellulare.

I risultati di tutti questi esperimenti sono sintetizzati nella Tabella 2.

Tabella 2. Valori dell'RBE per inattivazione di cellule V79 di hamster cinese (7) e di varie cellule umane (8) riferiti a fasci di protoni di diverse energie

Linea cellulare	LET* (keV/μm)	RBE** (α/αγ)	RBE** (2 Gy γ)
V79 (fibroblasti di hamster cinese)	7,7	2,22 ± 0,27	1,46 ± 0,29
	11,0	2,88 ± 0,37	1,86 ± 0,38
	20,0	3,64 ± 0,41	2,29 ± 0,47
	30,5	5,59 ± 0,54	3,26 ± 0,69
	34,6	5,06 ± 0,51	2,95 ± 0,63
	37,8	4,50 ± 0,44	2,62 ± 0,56
HF19 (fibroblasti di polmone umano)	7,7	0,86±0,03	0,86±0,03
	19,5	0,85±0,04	0,85±0,04
	29,0	0,82±0,03	0,82±0,03
F5-1M/10 (epitelio mammario umano)	9,1	0,95±0,06	0,95±0,06
	21,4	0,94±0,05	0,94±0,05
	33,0	1,78±0,11	1,78±0,11
SCC25 (tumore epiteliale umano della lingua)	7,7	0,72±0,19	0,95±0,17
	19,7	1,51±0,16	1,36±0,14
	29,5	1,41±0,13	1,27±0,12
SQ20B (tumore epiteliale umano della laringe)	7,7	1,19±0,44	1,07±0,33
	19,8	1,77±0,40	1,43±0,29
	30,0	4,45±0,72	3,19±0,34

* È riportato il valore del LET nel piano mediano del monostrato cellulare.

** RBE(α/αγ) rappresenta il valore di RBE valutato dalle pendenze iniziali della curve di sopravvivenza

*** RBE(2 Gy γ) rappresenta il valore di RBE valutato al livello di sopravvivenza indotto da 2 Gy di raggi γ

È chiaro che l'RBE per l'effetto letale risulta essere un parametro che dipende da molti fattori, come la qualità del fascio (intesa come composizione del fascio rispetto al tipo e all'energia delle particelle), il livello dell'effetto (e quindi la dose), il tipo di cellule o di tessuto considerati. La risposta biologica è inoltre influenzata da altri fattori, come la concentrazione dell'ossigeno intracellulare e la fase del ciclo cellulare (2). È quindi da tener presente che, nel caso di fasci terapeutici di particelle, le caratteristiche dei quali variano nello spazio, l'RBE assume il significato di parametro "locale" e non può essere attribuito, in generale, al fascio nel suo complesso. Pur con le dette limitazioni e avvertenze, può essere utile in casi specifici mantenere un riferimento a tale parametro per i confronti con i dati di letteratura, dato il suo uso ricorrente, e soprattutto per definire criteri di caratterizzazione biologica dei fasci. D'altra parte ci si attende che il progredire dell'esperienza clinica specifica sull'adroterapia renderà superfluo l'attuale riferimento alla terapia fotonica, esemplificato dall'impiego di unità di "dose" del tipo "Cobalt-Gy-equivalent", nelle quali è implicito il concetto di RBE.

L'approfondimento delle conoscenze della proprietà radiobiologiche dei protoni (e delle particelle pesanti cariche in generale) è quindi indispensabile per predire e/o valutare i potenziali vantaggi della protonterapia, per migliorare i piani di trattamento così da passare dalle superfici "isodose" alle superfici "isoeffetto" e per contribuire allo sviluppo di test predittivi della risposta al trattamento radioterapeutico.

Per questo è però fondamentale chiarire il legame tra le caratteristiche fisiche della radiazione, a livello microscopico, e gli effetti biologici, elaborando e sviluppando adeguati modelli sul meccanismo d'azione dei protoni.

Articolazione del sottoprogetto

Il Sottoprogetto “Biofisica e Radiobiologia dei protoni” ha avuto lo scopo di produrre informazioni radiobiologiche utili allo sviluppo del Progetto TOP (Terapia Oncologia con Protoni) e all’impiego ottimale delle *facilities* che il Progetto stesso ha realizzato o progettato.

Le attività del Sottoprogetto si sono articolate sostanzialmente su tre linee di ricerca: a) caratteristiche biofisiche e radiobiologiche dei protoni; b) modelli sui meccanismi d’azione e metodi di valutazione dell’efficacia biologica di protoni nelle condizioni d’interesse terapeutico; c) sviluppo di test predittivi della risposta tumorale alla radioterapia con protoni.

Le varie ricerche afferenti a queste linee sono state condotte in parte attraverso collaborazioni tra gruppi del Laboratorio di Fisica dell’ISS e altri gruppi sia dell’ISS che esterni, e in parte attraverso specifiche Convenzioni per attività affidate a gruppi universitari. Di seguito è riportata sinteticamente l’articolazione delle attività scientifiche afferenti al Sottoprogetto, descritte in dettaglio negli articoli che seguiranno.

Caratteristiche biofisiche e radiobiologiche dei protoni

- Determinazione dell’Efficacia Biologica Relativa di un fascio di protoni per trattamento di melanoma oculare utilizzando cellule tumorali umane coltivate *in vitro*. *Ricerca affidata tramite Convenzione a Milano Ricerche - Dipartimento di Fisica, Università di Milano e effettuata in collaborazione con il Centro Lacassagne di Nizza.*
- Determinazione dell’inattivazione di cellule umane sia di origine tumorale che derivanti da tessuto normale irradiate con protoni di bassa energia. *Ricerca effettuata in collaborazione tra: Laboratorio di Fisica, Istituto Superiore di Sanità; Laboratori Nazionali di Legnaro- Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (INFN); Università di Milano; Università di Napoli; con il supporto dell’INFN-esperimento ATER.*
- Studio della modulazione della risposta del sistema immunitario (misurata dall’attività funzionale delle cellule NK/LAK umane) prodotta da fasci di protoni. *Ricerca effettuata in collaborazione tra: Laboratorio di Fisica e Laboratorio di Immunologia, Istituto Superiore di Sanità.*

Sviluppo di modelli sui meccanismi d’azione e metodi di valutazione dell’efficacia biologica di protoni nelle condizioni di interesse terapeutico

- Modelli biofisici per l’ottimizzazione della radioterapia con protoni. *Ricerca affidata tramite convenzione a: Milano Ricerche - Dipartimento di Fisica, Università di Milano:*
- Determinazione sperimentale mediante analisi ESR del contributo della radiolisi dell’acqua al danno prodotto da protoni sul DNA. *Ricerca affidata tramite convenzione a: Dipartimento di Chimica Generale, Università di Pavia e effettuata in collaborazione con: Laboratorio di Genetica e Evoluzionistica-Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Pavia; INFN-Laboratori Nazionali di Legnaro.*
- Sviluppo di metodi di fisica computazionale per la valutazione dell’RBE nel tessuto bersaglio e nel tessuto interposto utilizzabili per qualsiasi configurazione di fascio terapeutico. *Ricerca effettuata in collaborazione tra: Laboratorio di Fisica, Istituto Superiore di Sanità, Roma; Ente per le Nuove tecnologie, l’Energia e l’Ambiente (ENEA), Bologna e con il supporto dell’INFN-esperimento ATER.*

Sviluppo di test predittivi della risposta tumorale alla radioterapia con protoni

- Valutazione della radiosensibilità cellulare attraverso l'analisi del danno al DNA. *Ricerca effettuata in collaborazione tra: Laboratorio di Fisica, Istituto Superiore di Sanità, Roma; INFN-Laboratori Nazionali di Legnaro.*
- Valutazione e applicazione di parametri chimico-fisici e biochimici relativi a domini lipidici specifici per prevedere la radiosensibilità di cellule tumorali e non. *Ricerca effettuata in collaborazione tra: Laboratorio di Fisica, Istituto Superiore di Sanità, Roma; INFN-Laboratori Nazionali di Legnaro.*
- Sviluppo di un test predittivo della risposta tumorale alla protonterapia basato sull'impiego di tecniche in grado di analizzare il danno in interfase su singoli cromosomi (PCC+FISH). *Ricerca affidata tramite convenzione a: Dipartimento di Fisica, Università di Napoli.*

Oltre alle attività sopra menzionate, al Sottoprogetto ha fatto riferimento la progettazione delle linee di fascio sperimentali, effettuata in collaborazione con il gruppo dell'ENEA di Frascati. La relativa descrizione è riportata, per logica di presentazione, nella Sezione dedicata al Sottoprogetto "Prototipo di acceleratore compatto e di testata isocentrica".

Considerazioni finali

È opportuno concludere qui con alcune considerazioni di carattere generale sull'attività e sui risultati scientifici del Sottoprogetto, essendo quelle specifiche riportate nelle presentazioni delle singole ricerche.

Il Sottoprogetto, come del resto tutto il Progetto TOP, assieme ad altre iniziative per l'adroterapia, ha avuto un ruolo catalitico e di stimolazione per la ricerca nel campo della radiobiologia delle particelle cariche, sia aggregando e supportando gruppi di ricerca italiani, sia favorendo, direttamente od indirettamente, l'inserimento nel panorama internazionale ai livelli più elevati. Un importante elemento è risultato la sinergia con l'Istituto nazionale di Fisica Nucleare, sia in termini di coinvolgimento di gruppi e strutture, quali i Laboratori Nazionali di Legnaro, sia in termini di supporto finanziario tramite l'esperimento ATER del Gruppo V dell'INFN.

L'attività scientifica del Sottoprogetto si è diretta in modo specifico all'identificazione e allo studio di quelle aree dove la conoscenza della radiobiologia dei protoni richiedeva di essere migliorata ai fini dell'ottimizzazione dei piani di trattamento e della selezione dei pazienti.

I risultati scientifici, oltre a fornire dati utili per gli scopi suddetti, hanno identificato direzioni ove si riscontrano ulteriori necessità di ricerca, come risulta chiaramente dai contributi specifici pubblicati in questo Rapporto. Si ritiene importante perseguire queste indicazioni al fine di mettere a frutto più completamente gli investimenti di risorse umane e materiali effettuati in generale dal Progetto TOP e in particolare dal Sottoprogetto "Biofisica e Radiobiologia dei protoni".

Bibliografia

1. Goodhead DT. Relationship of microdosimetric techniques to applications in biological systems. In: Kase KR, Bjarngaard BE, Attix FX (Ed). *The dosimetry of ionising radiations*. Orlando: Academic Press; 1987; vol II. p. 1-89.

2. Belli M, Bettega D, Cherubini R, Ianzini F, Kraft G, Simone G, Tabocchini MA. Physical and radiobiological properties of hadron beams. In: Amaldi U, Silari M (Ed.). *The TERA project and the Centre for oncological hadrontherapy*. Frascati: INFN-LNF; 1994. p.183-203.
3. Skarsgard LD. Radiobiology with heavy charged particles: a historical review. *Physica Medica* 1998;XIV(Suppl.1):1-19.
4. Robertson JB, Williams JR, Schmidt RA, Little JB, Flynn DF., Suit HD. Radiobiological studies of a high energy modulated proton beam utilizing cultured mammalian cells. *Cancer* 1975;35:1664-1677.
5. Courdi A, Brassart N, Hérault J, Chauvel P. The depth-dependent radiation response of human melanoma cells exposed to 65 MeV protons. *The British Journal Radiology* 1994;67:800-4.
6. Belli M, Cherubini, R, Galeazzi G, Mazzuccato S, Moschini G, Sapora O, Simone G, Tabocchini, MA. Proton irradiation facility for radiobiological studies at a 7 MeV Van de Graaff accelerator. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research* 1987; A256:476-80.
7. Belli M, Cera F, Cherubini R, Dalla Vecchia M, Haque AMI, Ianzini F, Moschini G, Sapora O, Simone G, Tabocchini MA, Tiveron P. RBE-LET relationships for cell inactivation and mutation induced by low energy protons in V79 cells: further results at the LNL facility. *International Journal of Radiation Biology* 1998;74:501-9.
8. Belli M, Bettega D, Calzolari P, Cera F, Cherubini R, Dalla Vecchia M, Durante M, Favaretto S, Gialanella G, Grossi G, Marchesini R, Moschini G, Piazzola A, Poli G, Pugliese M, Sapora O, Scampoli P, Simone G, Sorrentino E, Tabocchini MA, Tallone L, Tiveron P. (2000). Inactivation of human normal and tumour cells irradiated with low-energy protons. *International Journal of Radiation Biology* 2000;76(6):831-9.

STUDIO RADIOBIOLOGICO DEL FASCIO DI PROTONI DA 65 MEV USATO NELLA TERAPIA DELL'OCCHIO PRESSO IL CENTRO LACASSAGNE DI NIZZA

Daniela Bettega (a), Paola Calzolari (a), Pierre Chauvel (b), Adel Courdi (b), Lucia Tallone (a)

(a) Dipartimento di Fisica, Università di Milano

(b) Centro Antoine Lacassagne, Batiment du Cyclotron, Nice (France)

Introduzione

I fasci di protoni a picco di Bragg allargato, utilizzati in radioterapia (1), sono caratterizzati da un ampio spettro di energie e di conseguenza di trasferimento lineare di energia (*Linear Energy Transfer*, LET) delle particelle che li costituiscono. La distribuzione di energie, e di LET, dipende inoltre dalla geometria e dalle modalità di allargamento del picco. Come è ben noto l'efficacia biologica dei protoni dipende dal LET (2-4), è pertanto importante determinarla per le specifiche condizioni sperimentali adottate (5-10). In questo lavoro si riportano i risultati di uno studio dell'efficacia biologica relativa (*Relative Biological Effectiveness*, RBE) di un fascio di protoni di 65 MeV a picco di Bragg allargato di 1,5 cm, usato per trattamenti dei tumori dell'occhio, in 5 diverse posizioni lungo l'asse del fascio, due delle quali nella parte discendente della regione distale del picco. Scarsi sono infatti i dati sperimentali disponibili in letteratura per questa regione del picco (11), e le previsioni teoriche (12-15) necessitano di verifica sperimentale. Gli effetti studiati sono l'induzione di mortalità cellulare e la riduzione della capacità proliferativa della progenie delle cellule che sopravvivono all'irraggiamento (16, 17), effetto a più lungo termine, per il quale non esistono a tutt'ora dati in letteratura per i fasci di protoni utilizzati in radioterapia.

Materiali e metodi

È stato studiato il fascio di protoni di 65 MeV prodotto al Ciclotrone Medicyc del Centro Lacassagne di Nizza, usato per trattamenti dei tumori dell'occhio. Le condizioni di irraggiamento e il sistema biologico utilizzato sono descritti in dettaglio nei lavori (6, 18, 19).

I campioni cellulari sono stati irraggiati in 5 diverse posizioni lungo l'asse del fascio, ottenute interponendo spessori di perspex di diverso valore. I valori di profondità studiati sono: 2 mm, ingresso del fascio, con dose pari al 64,5 % di quella nel picco di Bragg allargato, 15,6 e 25 mm, nel picco di Bragg allargato, con dosi 100 e 101,5 %, e infine 27,2 e 27,8 mm, nella parte discendente della parte distale del picco, con dosi relative 91 e 52%. Per l'irraggiamento le cellule, di spessore (5 ± 1) μm , sono state fatte crescere sulla base di Mylar, un'area circolare di $1,3 \text{ cm}^2$ e spessore 52 μm , di appositi contenitori cilindrici di Teflon. La disomogeneità della dose sull'area irraggiata è risultata inferiore all'1%. L'errore sulla dose nelle diverse posizioni è stato il 5% per le profondità comprese tra 2 e 25 mm e il 10 % per 27,2 e 27,8 mm. Le cellule sono state esposte a dosi comprese tra 0,5 e 7 Gy con intensità di 5 Gy/min.

Sono state utilizzate cellule della linea umana SCC25 (20), derivate da carcinoma squamoso della lingua. È stata determinata, in funzione della dose e della profondità, la capacità

proliferativa delle cellule direttamente irraggiate (sopravvivenza) e quella della progenie delle cellule sopravvissute all'irraggiamento. La riduzione della capacità proliferativa della progenie di cellule irraggiate, effetto noto in letteratura come morte riproduttiva ritardata (*Delayed Reproductive Death*), è ritenuto una possibile manifestazione di un'instabilità genomica indotta dalla radiazione. La sopravvivenza delle cellule irraggiate è stata determinata con tecniche standard a 18 giorni dall'irraggiamento. Per lo studio della morte riproduttiva ritardata, 18 giorni dopo l'esposizione, cellule sopravvissute all'irraggiamento sono state ripiastrate a bassa densità e incubate per ulteriori 18 giorni, per determinarne la capacità proliferativa.

Per la determinazione dell'RBE, i risultati ottenuti con il fascio di protoni sono stati confrontati con quelli ottenuti con radiazione γ da ^{60}Co .

Risultati e discussione

Sopravvivenza delle cellule irraggiate

La Figura 1 mostra la sopravvivenza delle cellule direttamente irraggiate in funzione della dose per le diverse profondità studiate (18).

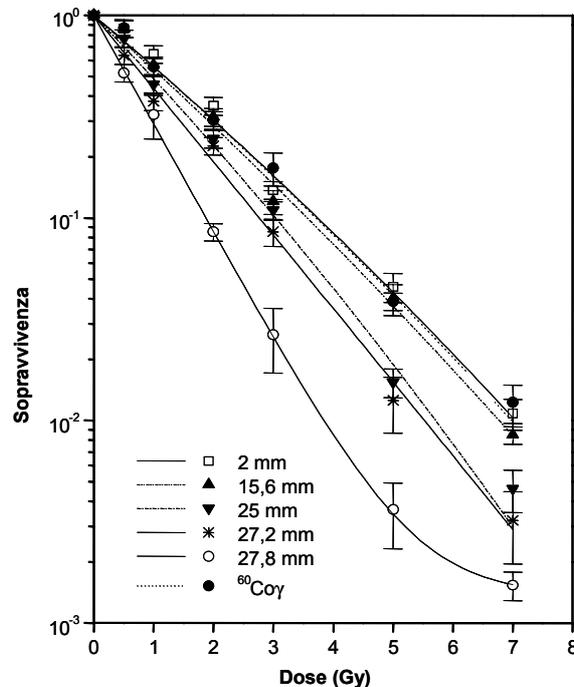


Figura 1. Sopravvivenza in funzione della dose di cellule SCC25 esposte a diverse profondità lungo l'asse del fascio di protoni e, per confronto, a raggi γ da ^{60}Co

Sono stati condotti quattro esperimenti indipendenti, le curve sono state ottenute dal miglior adattamento ai punti sperimentali dell'equazione $S = e^{-(\alpha D + \beta D^2)}$ per le profondità da 2 a 27,2 mm. Nel caso della profondità 27,8 mm, i dati sperimentali indicano la presenza di una coda agli alti valori di dose che potrebbe essere dovuta alla presenza di cellule che non sono state irraggiate, tenuto conto che i protoni, a questa profondità, sono alla fine del loro percorso. È

stata pertanto utilizzata l'equazione $S = f + (1-f) e^{-(\alpha D + \beta D^2)}$, (3), dove il fattore f , risultato pari a $0,001 \pm 0,0001$, rappresenta la frazione di cellule non irraggiate. La Tabella 1 riporta i valori dei parametri α e β delle curve e i valori di RBE determinati in corrispondenza al livello di sopravvivenza a 2 Gy di raggi γ , risultato $0,30 \pm 0,03$.

Tabella 1. Parametri delle curve di sopravvivenza di cellule SCC25 irraggiate con il fascio di protoni (p) alle diverse profondità e con raggi γ e valori di RBE

Radiazione	Profondità (mm)	$\alpha(\text{Gy}^{-1})$	$\beta(\text{Gy}^{-2})$	f	RBE (2 Gy γ)
γ ^{60}Co	-	$0,57 \pm 0,06$	$0,012 \pm 0,009$	-	1
p	2	$0,57 \pm 0,06$	$0,012 \pm 0,011$	-	$1,0 \pm 0,1$
p	15,6	$0,61 \pm 0,05$	$0,010 \pm 0,008$	-	$1,1 \pm 0,1$
p	25	$0,70 \pm 0,06$	$0,018 \pm 0,012$	-	$1,2 \pm 0,1$
p	27,2	$0,83 \pm 0,08$	$0,001 \pm 0,014$	-	$1,4 \pm 0,2$
p	27,8	$1,23 \pm 0,12$	-	$0,001 \pm 0,0001$	$2,1 \pm 0,3$

La maggior incertezza sulla dose per le profondità 27,2 e 27,8 mm (citata nei Materiali e metodi) non ha influenzato il livello di riproducibilità dei risultati, infatti si è trovato che la deviazione standard del parametro α ottenuto nei 4 esperimenti condotti è risultata pari al 12%, da confrontare con quella ottenuta per le altre profondità, risultata compresa tra il 4 e il 12 %. Per il valore della sopravvivenza alla dose di 2 Gy, la deviazione standard è risultata pari al 10 e 7%, a 27,2 e 27,8 mm rispettivamente, da confrontare con valori compresi tra 5 e 15% alle altre profondità.

Si può osservare dalla figura che, a parità di dose, la sopravvivenza decresce al crescere della profondità, l'efficacia del fascio aumenta pertanto all'aumentare della profondità. I valori di RBE sono compresi tra 1 e 1,2 per profondità tra 2 e 25 mm, in buon accordo con i valori usati nella pratica clinica, aumentano poi ad 1,4 e 2 alle profondità di 27,2 e 27,8 mm rispettivamente.

La Figura 2 mostra l'andamento della dose fisica e della dose biologica (pari al prodotto tra la dose fisica relativa e l'RBE), in funzione della profondità (21). La dose biologica relativa è maggiore di quella fisica nella parte distale del picco a causa dell'aumento dell'efficacia del fascio in questa regione.

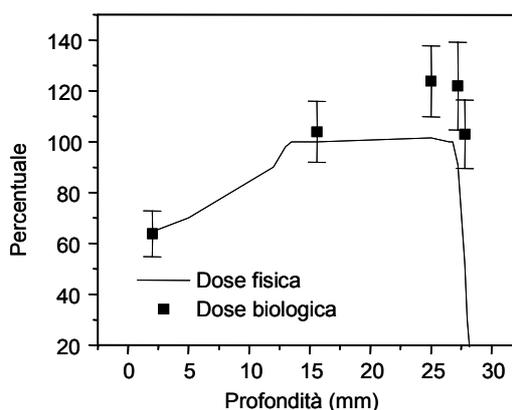


Figura 2. Dose fisica e dose biologica relativa in funzione della profondità

La Figura 3 riporta la sopravvivenza cellulare in funzione della profondità, per valori di dose nel picco allargato (a 15,6 mm) di 2, 5, 7 Gy (21).

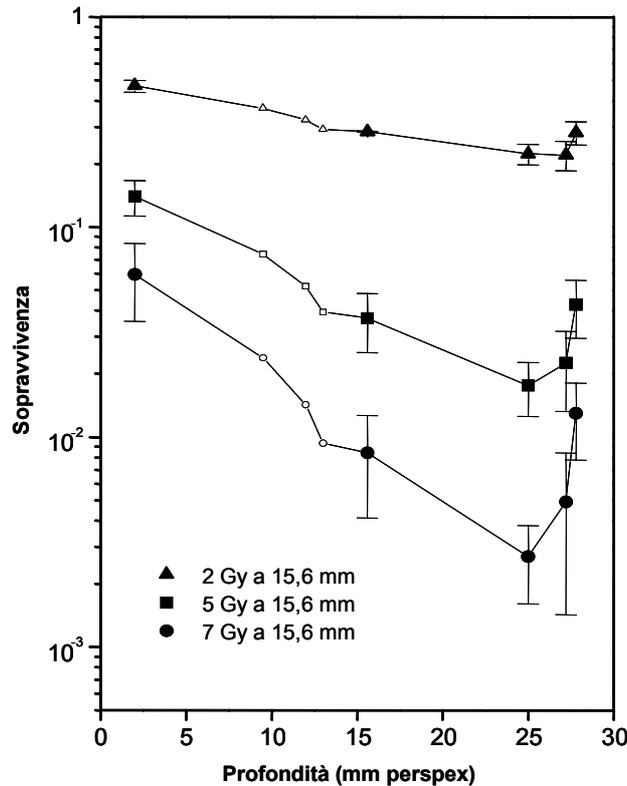


Figura 3. Sopravvivenza in funzione della profondità per dosi di 2, 5 e 7 Gy a 15,6 mm

La sopravvivenza alle diverse profondità è stata calcolata utilizzando il valore della dose fisica riportato nella Figura 2 e le curve di sopravvivenza riportate nella Figura 1. Per le profondità di 9.5, 12 e 13 mm, sono stati utilizzati i parametri α e β della curva misurata a 15.6 mm. La sopravvivenza decresce al crescere della profondità nell'intervallo 2-25 mm. La decrescita è dovuta, tra 2 e 15 mm, all'aumento della dose fisica (pari a circa il 40 %), e tra 15 e 25 mm, all'aumento della dose fisica (circa 1.5 %) e all'aumento dell'RBE (circa 20 %).

Effetti nella progenie delle cellule irraggiate

È stata determinata, in tre esperimenti indipendenti, l'efficienza di clonaggio della progenie di cellule sopravvissute all'irraggiamento con il fascio di protoni, come descritto nei Materiali e Metodi. La Figura 4 riporta i risultati ottenuti in funzione della dose a cui sono stati esposti i progenitori, per i diversi valori di profondità studiati. Tutti i valori sono normalizzati a quelli dei rispettivi controlli (progenie di cellule non irraggiate). L'efficienza di clonaggio della progenie è minore di 1 per tutti i valori di dose e di profondità studiati. Decresce inoltre al crescere della dose ai progenitori e, per la stessa dose, decresce al crescere della profondità, soprattutto nella parte discendente della regione distale del picco. La Tabella 2 riporta per tutte le curve della Figura 4, i valori dei parametri α e β ottenuti dall'analisi mediante il modello lineare-

quadratico, come già descritto per la sopravvivenza delle cellule irraggiate, e dell'RBE, determinata al livello di effetto prodotto da 2 Gy di raggi γ .

Tabella 2. Parametri delle curve efficienza di clonaggio-dose ai progenitori, per la progenie di cellule sopravvissute all'irraggiamento con il fascio di protoni (p) e con raggi γ

Radiazione	Profondità (mm)	α (Gy^{-1})	β (Gy^{-2})	f	RBE (2 Gy γ)
γ ^{60}Co	-	$0,17 \pm 0,03$	$0,015 \pm 0,006$	-	1
p	2	$0,11 \pm 0,01$	$0,024 \pm 0,002$	-	$0,8 \pm 0,1$
p	15,6	$0,19 \pm 0,03$	$0,026 \pm 0,004$	-	$1,1 \pm 0,2$
p	25	$0,14 \pm 0,01$	$0,039 \pm 0,002$	-	$1,1 \pm 0,2$
p	27,2	$0,15 \pm 0,02$	$0,032 \pm 0,004$	-	$1,1 \pm 0,2$
p	27,8	$0,34 \pm 0,19$	$0,15 \pm 0,07$	$0,05 \pm 0,007$	$2,2 \pm 0,7$

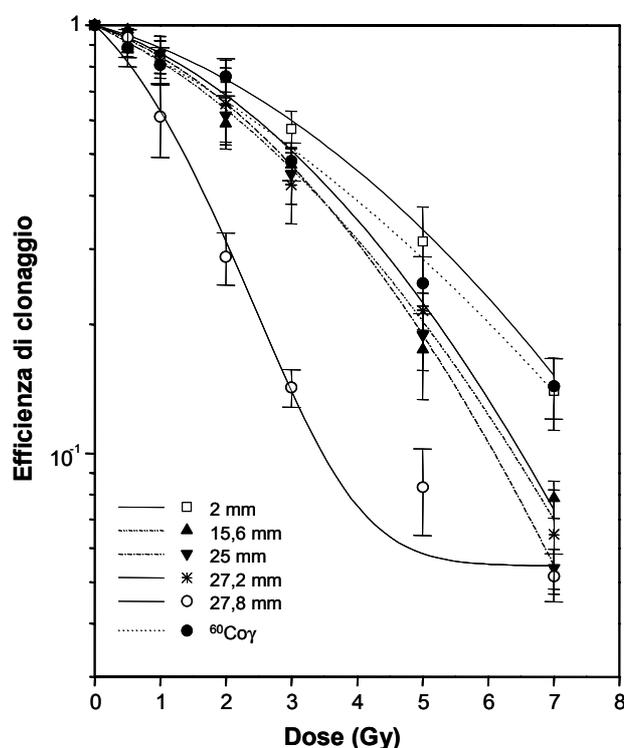


Figura 4. Efficienza di clonaggio della progenie di cellule sopravvissute all'irraggiamento con il fascio di protoni, a diverse profondità, e con raggi γ da ^{60}Co , in funzione della dose ai progenitori

Dal confronto delle curve di sopravvivenza delle cellule irraggiate (Figura 1) con quelle dell'efficienza di clonaggio della progenie (Figura 4) si può osservare che queste ultime presentano, rispetto alle prime, una spalla più pronunciata e corrispondentemente un rapporto α/β significativamente minore. Questo potrebbe essere indicativo di meccanismi diversi all'origine degli effetti immediati e tardivi.

Conclusioni

I risultati di questo studio hanno dimostrato che:

1. I valori di RBE del fascio nel picco di Bragg allargato sono in accordo con i valori di 1-1.2 attualmente utilizzati nella pratica clinica per questi tipi di fasci.
2. Nella parte discendente della regione distale del picco l'RBE aumenta fino a 2 e quindi la mortalità cellulare è confrontabile con quella che si ha all'interno del picco di Bragg allargato, nonostante la dose fisica sia la metà. In termini di effetto, si ha quindi un'estensione del fascio in direzione assiale, che è pari a circa 1 mm.
3. L'effetto di morte riproduttiva ritardata è significativo in a tutte le posizioni studiate. Non è nota a tuttora la sua influenza, qualora venisse dimostrato avvenire anche *in vivo*, sulla cinetica di riduzione del volume tumorale e sul danno ai tessuti sani circostanti.

Ringraziamenti

Si ringrazia Mauro Belli per le stimolanti discussioni e il vivo interessamento dimostrato in tutte le fasi di questo lavoro.

Bibliografia

1. Amaldi U. Hadrontherapy in the world and the programmes of TERA foundation. *Tumori* 1998;84:188-99.
2. Bettega D, Birattari C, Bombana M, Fuhrman Conti AM, Gallini E, Pelucchi T, Tallone Lombardi. Relative biological effectiveness for protons of energies up to 31 MeV. *Radiation Research* 1979 ; 77: 85-97.
3. Belli M, Cherubini R, Finotto S, Moschini G, Sapora O, Simone G, Tabocchini MA. RBE-LET relationship for the survival of V79 cells irradiated with low energy protons. *International Journal of Radiation Biology* 1989;55:93-104.
4. Belli M, Bettega D, Calzolari P, Cera F, Cherubini R, Dalla Vecchia M, Durante M, Favaretto S, Gialanella G, Grossi G, Marchesini R, Moschini G, Piazzolla A, Poli G, Pugliese MG, Sapora O, Scamporrì P, Simone G, Sorrentino E, Tabocchini MA, Tallone L, Tiveron P. Inactivation of human normal and tumour cells irradiated with low energy protons. *International Journal of Radiation Biology* 2000;76:831-40
5. Blomquist E, Russel KR, Stenerlow B, Montelius A, Grussel E, Carlsson J. Relative biological effectiveness of intermediate energy protons. Comparison with ⁶⁰Co gamma-radiation using two cell lines. *Radiotherapy and Oncology* 1993;28:44-51.
6. Courdi A, Brassart N, Herault J, Chauvel P. The depth-dependent radiation response of human melanoma cells exposed to 65 MeV protons. *The British Journal of Radiology* 1994;67:800-4.
7. Gueulette J, Gregoire V, Octave-Prignot M, Wambersie A. Measurements of radiobiological effectiveness in the 85 MeV proton beam produced at the cyclotron CYCLONE of Louvain-La Neuve, Belgium. *Radiation Research* 1996;145:70-4.
8. Matsubara S, Ohara H, Hiraoka T, Koike S, Ando K, Yamaguchi H, Kuwabara Y, Hoshina M, Suzuki S. Chromosome aberration frequencies produced by a 70-MeV proton beam. *Radiation Research* 1990; 123:182-91.

9. Tang JT, Inoue T, Yamazaki H, Fukushima, S, Fournier-Bidoz NN, Koizumi M, Ozekj S, Hatanaka K. Comparison of radiobiological effective depths in 65-MeV modulated proton beams. *British Journal of Cancer* 1997;76:220-5.
10. Wouters BG, Lam GKY, Oelfke U, Gardey K, Durand RE, Skarsgard LD. Measurements of relative biological effectiveness of the 70 MeV proton beam at TRIUMF using chinese hamster V79 cells and the high-precision cell sorter assay. *Radiation Research* 1996;146:159-70.
11. Hall EJ, Kellerer A.M, Rossi H.H, Lam YM. The relative biological effectiveness of 160 MeV of 160 MeV protons – II Biological data and their interpretation in terms of microdosimetry. *International Journal Radiation Oncology Biology Physics* 1978;4:1009-1013.
12. Belli M, Campa A, Ermolli I. A semi-empirical approach to the evaluation of the relative biological effectiveness of therapeutic proton beams. The methodological framework. *Radiation Research* 1997;148:592-8.
13. Egger E, Zografos L, Munkel G, Bohringer T, Bercher L, Chamot L. Results of proton radiotherapy for uveal melanomas. *Frontiers of Radiation Therapy & Oncology* 1997;30:111-123.
14. Loncol T, Cosgrove V, Denis JM, Gueulette J, Mazal A, Menzel HG, Pihet P, Sabbattier R. Radiobiological effectiveness of radiation beams with broad LET spectra: microdosimetric analysis using biological weighting functions. *Radiation Protection Dosimetry* 1994;52:347-52.
15. Paganetti H, Olko P, Kobus H, Becker R, Schmitz, T, Waligorski PR, Filges D, Muller-Gartner HW. Calculation of relative biological effectiveness for proton beams using biological weighting functions. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 1997;37:719-29.
16. Mothersil C, Seymour CB. Lethal mutations and genomic instability. *International Journal of Radiation Biology* 1997;71:751-8.
17. Little JB. Radiation-induced genomic instability. *International Journal of Radiation Biology*, 1998;74:663-71.
18. Bettega D, Calzolari P, Chauvel P, Courdi A, Herault J, Iborra N, Marchesini R, Massariello P, Poli G, Tallone L. Radiobiological studies of the 65 MeV Proton beam at Nice. *International. Journal of Radiation Biology* 2000;76:1297-303.
19. Cambria R, Herault J, Silari M, Chauvelt P. Proton beam dosimetry: A comparison between the Faraday cup and an ionization chamber. *Physics in Medicine & Biology* 1997;4:1185-96.
20. Weichselbaum RR, Beckett MA, Schwartz JL, Dritschilo A. Radioresistant tumour cells are present in the head and neck carcinomas that recur after radiotherapy. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 1988;15:575-9.
21. Bettega D, Calzolari P, Chauvel P, Courdi A, Herault J, Iborra N, Marchesini R, Massariello P, Poli GL, Tallone L. Relative Biological Effectiveness for inactivation in cells irradiated with the 65 MeV proton beam at the Cyclotron Medicyc in Nice. *Physica Medica* 2001;XVII Supplement 3:67-71.

INATTIVAZIONE DI CELLULE UMANE ESPOSTE A FASCI DI PROTONI MONOENERGETICI CON DOSI ACUTE E FRAZIONATE

Francesca Antonelli (a), Mauro Belli (a,b), Daniela Bettega (c), Paola Calzolari (c), Franco Cera (d), Roberto Cherubini (d), Marta Dalla Vecchia (d), Marco Durante (e), Silvia Favaretto (d), Giancarlo Gialanella (e), Gianfranco Grossi (e), Renato Marchesini (f), Giuliano Moschini (d), Anna Piazzola (c), Gianluca Poli (c), Maria Gabriella Pugliese (e), Orazio Sapora (b,g), Paola Scampoli (e), Giustina Simone (a,b), Eugenio Sorrentino (a,b), Maria Antonella Tabocchini (a,b), Lucia Tallone (c), Paola Tiveron (d)

(a) Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione Roma 1, Gruppo collegato Sanità, Roma

(c) Dipartimento di Fisica, Università di Milano

(d) INFN - Laboratori Nazionali di Legnaro, Padova

(e) Dipartimento di Scienze Fisiche, Università di Napoli Federico II

(f) Fisica Sanitaria, Istituto Nazionale dei Tumori, Milano

(g) Dipartimento Ambiente e connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

L'uso di fasci di protoni in radioterapia si è largamente diffuso negli ultimi anni (1) grazie alle caratteristiche fisiche e radiobiologiche delle particelle cariche. Di fatto, studi sulle proprietà radiobiologiche dei protoni sono stati condotti sia in relazione alla radioterapia, sia perché essi costituiscono una componente sostanziale della radiazione nello spazio. Tuttavia è di particolare interesse lo studio condotto con protoni monoenergetici per le informazioni che si possono ricavare in termini di dipendenza dall'energia della loro efficacia biologica, in particolar modo a basse energie, quando ci si aspetta un'efficacia biologica relativa (*Relative Biological Effectiveness*, RBE) sensibilmente maggiore di 1.

Sono stati perciò effettuati studi sistematici per la determinazione dell'RBE per inattivazione di cellule umane e tumorali di differente radiosensibilità alla radiazione γ , esposte a dosi acute di protoni monoenergetici con energie incidenti comprese fra 0,79 e 5,04 MeV, corrispondenti a un trasferimento lineare di energia (*Linear Energy Transfer*, LET) compreso fra 29,6 e 7,6 keV/ μ m.

Le stesse cellule sono state esposte anche a dosi frazionate. In effetti è noto in letteratura (2) che la sopravvivenza cellulare è maggiore se una stessa dose viene somministrata in più frazioni piuttosto che in frazione unica e che irraggiamenti ripetuti di uguali frazioni di dosi producono un effetto di morte cellulare uguale a quello riscontrato dopo ogni frazione se il danno subletale indotto dalla radiazione è stato completamente riparato tra una frazione e l'altra. Di fatto in un trattamento radioterapico la dose viene somministrata in più frazioni, assumendo che la radiosensibilità in ogni frazione non cambi, ipotesi non sempre verificata sperimentalmente.

Nell'ambito di questo lavoro le linee cellulari sono state irraggiate con protoni di bassa energia (LET di circa 8 keV/ μ m e 20 keV/ μ m) e le dosi sono state somministrate in due frazioni uguali, in modo da ottenere informazioni anche sulla relazione che sussiste tra coefficiente di riparazione e la qualità della radiazione.

Materiali e metodi

Quattro linee cellulari umane sono state selezionate per lo studio dell'inattivazione con dosi acute e frazionate. Due di esse sono tumorali, le SCC25 e le SQ20B, e due normali, le HF19 e le H184B5 F5-1M/10 (che chiameremo per brevità M10). Le SCC25 e le SQ20B sono linee cellulari umane derivate dall'epitelio di tumori della lingua e della laringe rispettivamente. Tali cellule sono state cresciute in D-MEM:F12 (75:25) con 0.4 mg/ml di idrocortisone e 20% di siero. In queste condizioni, l'Efficienza di Piastrazione (EP) per le SCC25 è risultata essere del 40%, mentre per le SQ20B del 60%. Il tempo di duplicazione di entrambe le linee cellulari è risultato di 24 ± 2 ore. Le M10 sono invece un subclone di una coltura primaria di epitelio mammario umano. Il loro terreno di coltura è α -MEM, con aggiunta di siero al 10%. La loro EP è risultata del 30%, mentre il loro tempo di duplicazione di 28 ± 2 ore. Infine le HF19 sono fibroblasti del polmone. Tali cellule sono mantenute in coltura con il mezzo Eagle's MEM con siero al 10%. L'EP in queste condizioni è stata del 20% e il tempo di duplicazione di circa 24 ore (3).

Le cellule sono state irraggiate in monostrato in fase esponenziale e gli irraggiamenti sono stati eseguiti con fasci di protoni monoenergetici presso il canale di radiobiologia dell'acceleratore CN Van de Graaff da 7 MV dei Laboratori Nazionali di Legnaro dell'INFN (4) e dell'acceleratore Tandem da 3 MV del Dipartimento di Scienze Fisiche dell'Università di Napoli Federico II (5).

Un interconfronto fra i due fasci di protoni è stato realizzato mediante l'irraggiamento sia a Legnaro, sia a Napoli della linea cellulare V79-753B (4).

Le energie dei fasci e i corrispondenti LET, utilizzati per gli irraggiamenti con dosi acute, sono mostrati in Tabella 1. Nel caso degli irraggiamenti con dosi frazionate, ogni linea cellulare è stata irraggiata con due valori di dose corrispondenti ai livelli di sopravvivenza dell'1% e del 5%. Una stessa dose totale è stata dunque data in singola frazione e in due uguali frazioni separate da un intervallo di tempo di 1,5, 3, 4,5 ore. Il rateo di dose è risultato compreso fra 0,5 e 6 Gy/min nel caso delle dosi acute e di circa 1 Gy/min nel caso degli esperimenti con dose frazionata (6).

Tabella 1. Energia incidente misurata, LET incidente e percorso residuo in tessuto per i tre fasci studiati presso gli acceleratori indicati

Acceleratore	Energia incidente (MeV)	LET incidente (keV/ μ m)	Percorso residuo (μ m)
Van de Graaff 7 MV CN (presso gli LNL INFN, Padova)	5,04 \pm 0,05	7,6 \pm 0,1	378,0 \pm 6,7
	1,49 \pm 0,07	19,0 \pm 0,7	47,6 \pm 3,7
	0,88 \pm 0,08	27,5 \pm 1,71	20,3 \pm 2,9
Tandem (3 MV HVCTT-3) (presso l'Università di Napoli Federico II)	4,05 \pm 0,02	9,06 \pm 0,03	258,3 \pm 2,3
	1,35 \pm 0,04	20,5 \pm 0,4	40,5 \pm 2,0
	0,79 \pm 0,06	29,6 \pm 1,5	17,0 \pm 2,0

Tutte le linee cellulari sono state anche irraggiate con radiazione γ con sorgenti di ^{60}Co o ^{137}Cs .

Dopo l'irraggiamento, effettuato nella fase esponenziale di crescita, le cellule sono state tripsinizzate, diluite e quindi piastrate all'opportuna concentrazione per la determinazione della sopravvivenza clonogenica.

Per ogni esperimento è stata misurata la sopravvivenza clonogenica e la frazione di sopravvivenza $S(D)$ è stata valutata come il rapporto tra l'efficienza di piastrazione alla dose D e l'efficienza di piastrazione estrapolata alla dose 0. Le curve di sopravvivenza per ogni linea cellulare e per ogni valore di LET sono state determinate tramite *best fit*, mediante il metodo dei minimi quadrati pesato, dell'equazione $S(D)=\exp(-\alpha D-\beta D^2)$ o $S=f+(1-f)\exp(-\alpha D)$ ai dati sperimentali (4).

Per gli esperimenti con dosi frazionate, oltre alla sopravvivenza clonogenica è stato valutato anche il rapporto RR secondo la relazione: $RR=S_{\text{fraz}}/S_{\text{acuta}}$.

Infine, nell'ipotesi che le curve di sopravvivenza cellulare possano essere descritte da una funzione lineare-quadratica, è stato calcolato il parametro β_{RR} , che può essere preso come misura della riparazione cellulare, dalla relazione $\ln(RR)=2\beta_{RR}d^2$, dove d è la dose impartita per frazione (6).

Risultati e discussione

Le curve di sopravvivenza delle linee cellulari a seguito dell'irraggiamento con dosi acute di protoni sono riportate in Figura 1 (modificata da Belli *et al.* (3)) insieme alle curve ottenute con irraggiamenti γ .

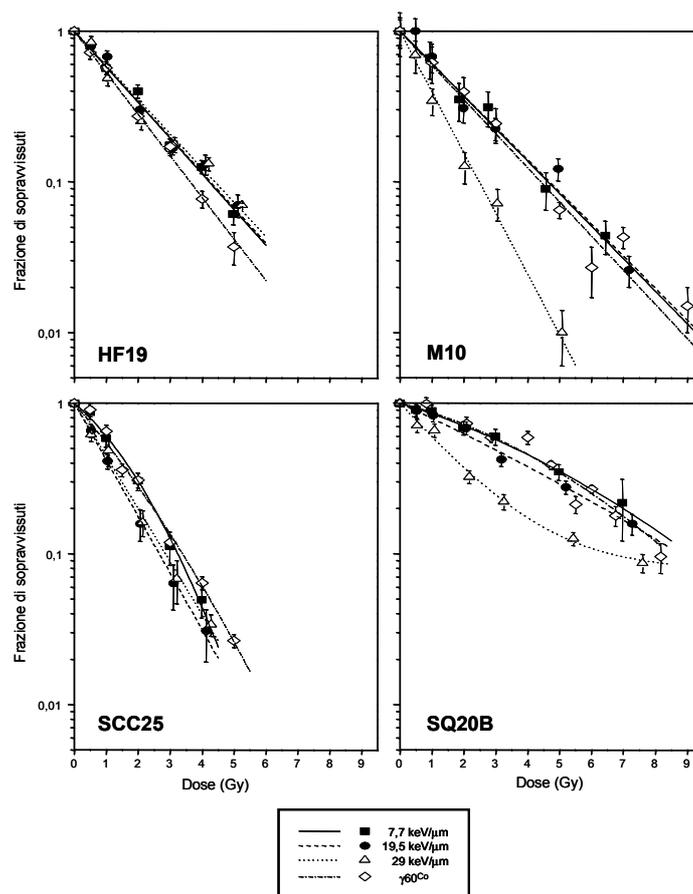


Figura 1. Frazione di sopravvissuti in funzione della dose dopo esposizione a raggi γ e fasci di protoni per le varie linee cellulari

L'efficacia dei protoni di più alto LET è risultata sempre maggiore di quella ottenuta dopo irradiazione γ , con l'unica eccezione della linea cellulare HF19. La curva dose-risposta della linea cellulare SQ20B a seguito dell'irraggiamento con raggi γ ha mostrato una "spalla" molto pronunciata che è invece sensibilmente ridotta dopo l'irraggiamento con protoni, in particolare nel caso di LET pari a 30 keV/ μ m.

I valori dei parametri del fit α e β sono riportati in Tabella 2 insieme all'RBE che è stata valutata sia come rapporto α/α_γ , rappresentativo nel caso di dosi molto basse, sia nella forma più comunemente utilizzata in radioterapia, cioè in termini di rapporto fra 2 Gy e la dose di protoni che produce lo stesso livello di sopravvivenza di 2 Gy della radiazione γ di riferimento.

Tabella 2. Sommario dei parametri della sopravvivenza cellulare e valori di RBE

Spessore linea cellulare (μ m)	LET (keV/ μ m)	α (Gy ⁻¹)	β (Gy ⁻²)	SF(2 Gy)	RBE(α)	RBE(2 Gy γ)
HF19 3,5±0,7	γ ¹³⁷ Cs	0,64±0,02	-	0,28±0,01	1	1
	p 7,7	0,55±0,01	-	0,34±0,01	0,86±0,03	0,86±0,03
	p 19,5	0,54±0,02	-	0,34±0,01	0,85±0,04	0,85±0,04
	p 29,0	0,52±0,01	-	0,35±0,01	0,82±0,03	0,82±0,03
M/10 5,56±1,5	γ ⁶⁰ Co	0,52±0,02	-	0,35±0,01	1	1
	p 9,1	0,50±0,03	-	0,37±0,02	0,95±0,06	0,95±0,06
	p 21,4	0,49±0,02	-	0,37±0,01	0,94±0,05	0,94±0,05
	p 33,0	0,93±0,05	-	0,16±0,02	1,78±0,11	1,78±0,11
SCC25 4,5±1,2	γ ⁶⁰ Co	0,57±0,05	0,031±0,012	0,28±0,03	1	1
	p 7,7	0,41±0,11	0,092±0,036	0,30±0,08	0,72±0,19	0,95±0,17
	p 19,7	0,87±0,05	-	0,18±0,02	1,51±0,16	1,36±0,14
	p 29,5	0,81±0,03	-	0,20±0,01	1,41±0,13	1,27±0,12
SQ20B 5,5±1,5	γ ⁶⁰ Co	0,13±0,02	0,017±0,002	0,72±0,03	1	1
	p 7,7	0,15±0,05	0,011±0,012	0,71±0,08	1,19±0,44	1,07±0,33
	p 19,8	0,23±0,04	0,004±0,007	0,63±0,05	1,77±0,40	1,43±0,29
	p 30,0	0,57±0,05	-	0,37±0,03	4,45±0,72	3,19±0,34

Le linee cellulari derivate da tessuti normali hanno mostrato un'alta radiosensibilità, come una delle due linee tumorali, la SCC25, mentre l'altra linea tumorale, la SQ20B, ha mostrato una notevole radioresistenza. In particolare quest'ultima ha mostrato un notevole aumento di sensibilità con l'aumentare del LET dei protoni, andando da un valore di sopravvivenza a 2 Gy di radiazione γ di 0,72 a un valore di 0,37 nel caso della stessa dose di protoni con LET 30 keV/ μ m.

Nel caso di irraggiamento delle stesse linee cellulari con dosi frazionate di protoni e raggi γ , si è osservato un andamento crescente con il tempo intercorrente tra le due frazioni del rapporto RR e il riparo sembra completo dopo 3 ore, tranne nel caso della linea cellulare M10 esposta alla dose corrispondente a un livello di sopravvivenza del 5% (Figura 2) (6).

Se si definisce la massima riparazione RR_{max} come il più alto dei valori di RR misurati ai vari intervalli di tempo, si può osservare un andamento lievemente decrescente di RR_{max} in funzione della radioresistenza della linea cellulare, in accordo con dati esistenti in letteratura per altre linee cellulari. Infine, in Figura 3 (6) è riportato il parametro β_{RR} , calcolato come indicato nel precedente paragrafo, in funzione della radiosensibilità delle linee cellulari in riferimento ad una dose di 2 Gy di raggi γ ($SF_2-\gamma$). Per ogni linea cellulare si riscontra una correlazione inversa tra β_{RR} e $SF_2-\gamma$ e ciò suggerisce che la radiosensibilità potrebbe non essere legata ad un riparo insufficiente.

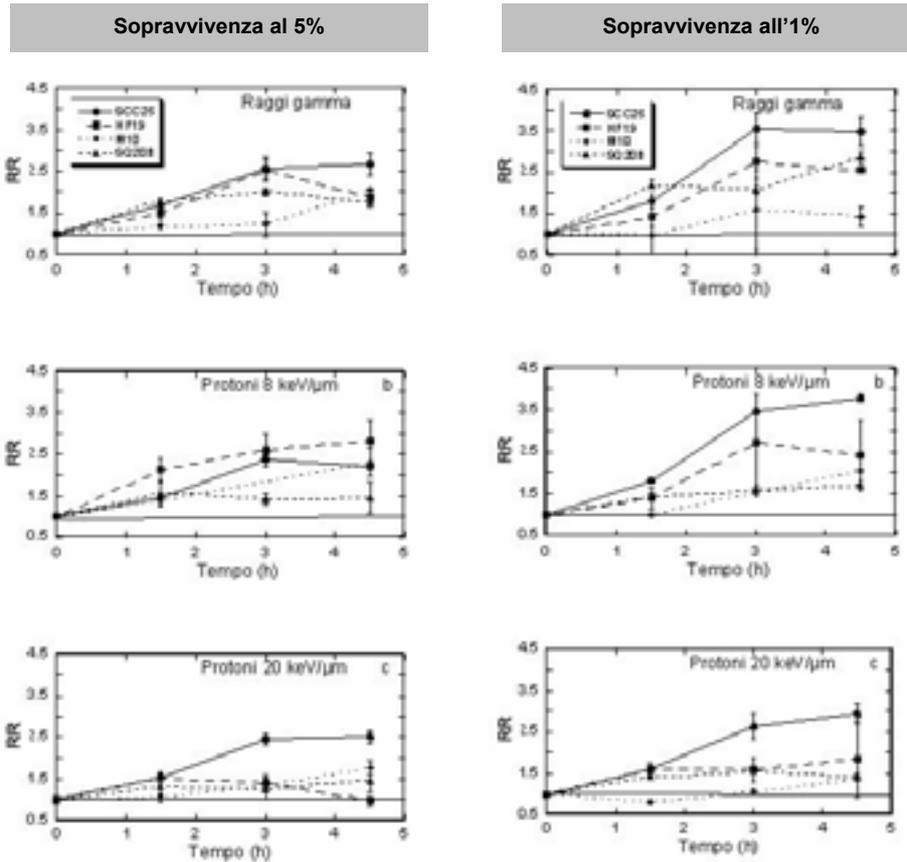


Figura 2. Rapporto di riparo RR per il livello di sopravvivenza al 5% (colonna sinistra) e al 1% (colonna destra) per le varie radiazioni. La linea continua rappresenta il valore RR=1

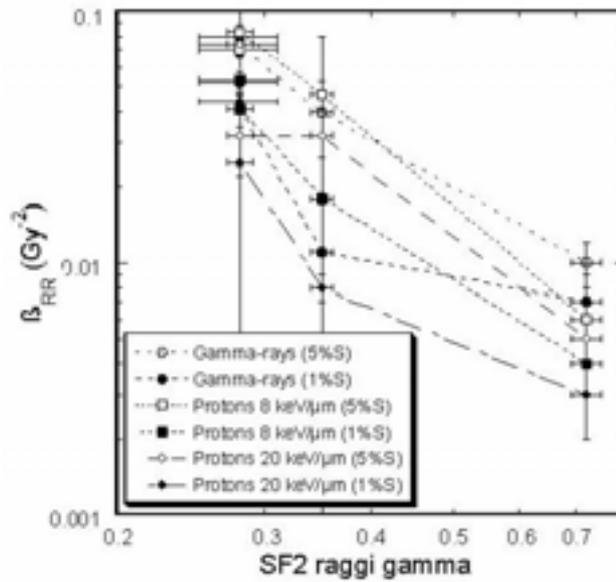


Figura 3. β_{RR} per i due livelli di sopravvivenza calcolato da RR_{max} , in funzione della radiosensibilità a 2 Gy di raggi γ

Conclusione

I risultati dello studio di inattivazione cellulare con fasci di protoni di LET differenti hanno mostrato che l'RBE dei protoni ad alto LET aumenta con la radioresistenza della linea cellulare ai raggi γ e che, in particolare, la linea cellulare con la maggior radioresistenza ai raggi γ ha mostrato la risposta maggiore ai protoni di alto LET.

Per quanto riguarda gli studi con dosi frazionate, i risultati ottenuti suggeriscono che la riparazione successiva all'irraggiamento con protoni aumenta con il tempo intercorrente tra le frazioni e sembra completa dopo 3 ore. Inoltre il massimo rapporto di riparazione RR_{max} sembra decrescere con il diminuire della radiosensibilità. Infine, i valori misurati di β_{RR} confermano che la radiosensibilità intrinseca delle linee cellulari può non essere legata a una minore capacità di riparo.

Bibliografia

1. Amaldi U. Hadrontherapy in the world and the programmes of the TERA foundation. *Tumori* 1998;84:188-99.
2. Suzuki M, Kase Y, Kanai T, Ando K. Change in radiosensitivity with fractionated-dose irradiation of carbon-ion beams in five different human cell lines. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000;48: 251-8.
3. Belli M, Bettega D, Calzolari P, Cera F, Cherubini R, Dalla Vecchia M, Durante M, Favaretto S, Gialanella G, Grossi GF, Haque AMI, Marchesini R, Moschini G, Piazzola A, Poli G, Pugliese M, Sapore O, Scampoli P, Simone G, Sorrentino E, Tabocchini MA, Tallone L, Tiveron P. Inactivation of normal and tumour human cells irradiated with low energy protons. *Int J Radiat Biol* 2000;76: 831-40.
4. Belli M, Cherubini R, Finotto S, Moschini G, Sapore O, Simone G, Tabocchini MA. RBE-LET relationship for the survival of V79 cells irradiated with low energy protons. *Int J Radiat Biol* 1989;55:93-104.
5. Napolitano M, Durante M, Grossi GF, Pugliese M, Gialanella G. Inactivation of C3H10T1/2 cells by monoenergetic high-LET α -particles. *Int J Radiat Biol* 1992;61:813-20.
6. Antonelli F, Bettega D, Calzolari P, Cherubini R, Dalla Vecchia M, Durante M, Favaretto S, Grossi G, Marchesini R, Pugliese M, Scampoli P, Simone G, Sorrentino E, Tabocchini MA, Tallone L, Tiveron P. Inactivation of human cells exposed to fractionated doses of low energy protons: relationship between cell sensitivity and recovery efficiency. *J Radiat Res* 2001;42(N4):347-59.

ATTIVITÀ FUNZIONALE DELLE CELLULE *NATURAL KILLER* UMANE A SEGUITO DI IRRADIAZIONE

Carlo Ramoni (a), Francesca Spadaro (a), Mauro Belli (b), Giustina Simone (b), Eugenio Sorrentino (b), Maria Antonella Tabocchini (b)

(a) *Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità e Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione Roma 1, Gruppo collegato Sanità, Roma*

Introduzione

Sebbene la radioterapia, inclusa quella con fasci protonici, abbia come obiettivo generale la sterilizzazione del tumore (ottenuta attraverso l'inattivazione delle cellule tumorali), essa produce degli effetti collaterali che possono risultare importanti per la risposta complessiva e quindi per il risultato clinico del trattamento. Particolarmente significativo è l'effetto che si ha sulle cellule del sistema immune direttamente impegnate nel contrastare lo sviluppo della massa tumorale. Questo effetto è presente non solo nel tessuto bersaglio, ma anche nei tessuti sani, dove viene assorbita una dose significativa, anche se indesiderata, durante il trattamento. Obiettivo di questa ricerca è quello di approfondire le conoscenze di tali meccanismi, evidenziando eventuali effetti di stimolazione o deplezione della funzionalità delle cellule *Natural Killer* (NK) umane direttamente coinvolte nel riconoscimento e quindi nella lisi delle cellule tumorali. La messa a punto di opportuni metodi di valutazione di questi effetti è indispensabile per poter confrontare, anche sotto questo punto di vista, le risposte al trattamento con protoni e a quello con radiazioni fotoniche convenzionali.

L'infiltrazione nel tessuto neoplastico di cellule linfoidi T e NK attivate viene considerato un meccanismo di immunità locale che contrasta lo sviluppo della massa tumorale (1-3).

Le risposte citotossiche rappresentano uno dei meccanismi difensivi effettori che l'organismo mette in atto per difendersi dalla comparsa di cellule che hanno subito una trasformazione neoplastica. Esistono due tipi di risposte citotossiche che possono essere distinte temporalmente in due fasi: una fase rapida a carico delle cellule NK e una fase tardiva T dipendente, antigene specifica, che porta alla memoria immunologica.

Le cellule NK sono linfociti caratterizzati dal fenotipo CD3⁻, CD16⁺ e CD56⁺ e svolgono un ruolo molto importante come cellule effettrici nella risposta innata non inducibile. Sono infatti descritte funzionalmente in base alla loro capacità di lisare cellule bersaglio sensibili in assenza di una precedente stimolazione e in modo non ristretto dal "Complesso Maggiore di Istocompatibilità". La loro attività citolitica è diretta contro cellule neoplastiche, cellule infettate da virus e da batteri intracellulari e, in alcuni casi, contro cellule normali (4). Il meccanismo più importante di citolisi è la secrezione polarizzata di granuli litici, contenenti perforine, granzymes, Fas L, molecole capaci di indurre la morte della cellula bersaglio per lisi osmotica o per apoptosi.

In aggiunta a questa loro capacità effettrice, le cellule NK sono in grado di regolare numerose risposte immunitarie (attività antimicrobica diretta contro batteri, funghi e parassiti, attività adattiva antigene specifica, ematopoiesi) attraverso la produzione di citochine quali IL-2, IFN γ , TNF, GM-CSF, IL-3 e IL-18 (5-6).

In presenza di interleuchina 2 (IL-2) i precursori delle cellule NK hanno la capacità di generare una popolazione di cellule, definite LAK (*Lymphokine Activated Killer*), altamente reattiva che è alla base dei protocolli di immunoterapia adottiva (7).

Visto il ruolo delle cellule NK/LAK nel controllo della crescita tumorale e gli scarsi dati sugli effetti a livello immunologico riportati dalla letteratura è importante acquisire ulteriori conoscenze sull'effetto del trattamento radioterapico sulle attività funzionali delle cellule NK umane.

Uno studio del 1981 (8) riporta marcati effetti a lungo termine (3 anni dall'irraggiamento) sull'attività citotossica delle cellule NK dopo radioterapia pelvica.

La resistenza alle radiazioni beta delle cellule NK umane sembra essere sotto il controllo di geni codominanti associati al cromosoma X e varia in funzione della dose (9-10). Questa differente radiosensibilità è stata ulteriormente confermata da Rana *et al.* (11), esponendo cellule NK con basse (2-6 Gy) o alte (10-30 Gy) dosi di raggi γ .

In particolare, le cellule LAK sembrano essere relativamente radioresistenti se confrontate con cellule NK coltivate in assenza di IL-2 (12). Questo dato è stato confermato da Seki *et al.* (13), i quali descrivono come l'aggiunta di IL-2, dopo irraggiamento, induca il mantenimento della vitalità delle cellule NK, TCR α/β^+ , TCR γ/δ^+ , caratterizzate dall'espressione del recettore funzionale per IL-2.

Interessanti studi su animali hanno suggerito che, a differenza delle cellule NK mature, più resistenti, i progenitori NK sono relativamente sensibili alla radioterapia (14) e questo potrebbe spiegare perché il sangue periferico, dopo 5 giorni dall'irraggiamento, esprima ancora attività citotossica (15).

Diversi studi eseguiti su soggetti radio-sensibili hanno dimostrato che la funzione litica dei linfociti del sangue periferico umano può essere modulata dopo esposizione a radiazioni ionizzanti. In particolare, con esposizioni superiori a 30 Gy l'attività citotossica naturale viene completamente abrogata mentre a dosi basse (<10 Gy) questa viene aumentata (9, 16).

Il perché le bassi dosi aumentino l'attività citolitica naturale non è stato ancora chiarito (né si conosce il preciso meccanismo che porta a questo aumento).

In cellule linfoidi e ematopoietiche le radiazioni ionizzanti danneggiano il DNA e quindi inducono un programma di morte cellulare, l'apoptosi, un processo fisiologico per il normale mantenimento dei compartimenti cellulari.

Interessanti studi hanno dimostrato che trattamenti con IL-2, IL-4 e IL-7 inibiscono differentemente l'apoptosi indotta da radiazioni in sottopopolazioni linfocitarie. Questi effetti protettivi sembrano essere parzialmente attribuiti ad una aumentata espressione della proteina anti-apoptotica bcl-2 (17).

Il meccanismo di induzione di apoptosi, dopo irraggiamento su cellule NK resta al momento non chiaro.

Data l'importanza della radioterapia nel trattamento clinico delle masse tumorali, ci si domanda se le cellule NK infiltrate oppure vicino al tumore possano, e eventualmente in quale modo, essere influenzate. In altre parole, l'irraggiamento distrugge, oltre le cellule tumorali, la residua capacità citolitica delle cellule NK/LAK? Oppure, l'attività citolitica delle cellule NK/LAK, localizzate alla periferia del fascio di radiazioni e sottoposte a basse dosi di irradiazione, viene incrementata come già visto con altri sistemi di irraggiamento? Risposte a queste cruciali domande richiedono l'approfondimento delle conoscenze sulla risposta di queste cellule alle radiazioni ionizzanti fotoniche e alle particelle cariche.

In questo lavoro si descrive l'attività sin qui effettuata in questa direzione, comprendente la messa a punto del modello biologico sperimentale e alcune misure preliminari utilizzando radiazioni γ .

Purificazione delle cellule effettrici

Le cellule NK sono state isolate e purificate da linfociti del sangue periferico umano come descritto in Perussia *et al.* (18) e modificato da Ramoni *et al.* (19). In breve, linfociti del sangue periferico, isolati con gradiente di Ficoll e fatti passare in una colonnina di nylon per rimuovere le cellule aderenti (linfociti B e monociti), sono stati incubati con una miscela di anticorpi monoclonali OKT3, OKT4 e OKT8. Dopo 30 min di incubazione e lavaggi per rimuovere l'anticorpo in eccesso, le cellule sono state incubate con un anticorpo anti-immunoglobuline di topo legato a biglie di ferro. Il semplice contatto della provetta contenente le cellule con un magnete permetteva di selezionare selettivamente le cellule OKT3⁺, OKT4⁺ e OKT8⁺. La popolazione restante è stata caratterizzata fenotipicamente, al citofluorimetro, con una batteria di anticorpi monoclonali diretti contro marker differenziativi caratteristici delle varie popolazioni linfocitarie. È stato così possibile ottenere una popolazione di cellule NK pure al 95-98%.

Se i linfociti del sangue periferico vengono incubati, per 3 giorni, in presenza di IL-2 (100 unità per ml) è possibile ottenere, dopo purificazione come sopra, una popolazione di cellule caratterizzate, oltre che dai marker differenziativi caratteristici delle cellule NK, anche dai marker di attivazione, CD38, CD7, CD25, CD2, CD69 e CD71, come mostrato in Figura 1.

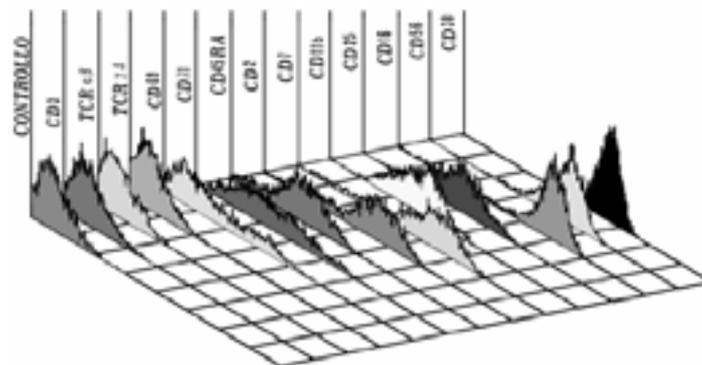


Figura 1. Fenotipo delle cellule NK umane purificate mediante immunodeplezione negativa

Attività citolitica

La linea cellulare radioresistente di origine umana SQ20B, derivante da un tumore epiteliale della laringe, ottenuta da E. Blakely con il permesso di R. Weichselbaum (20), è stata utilizzata come bersaglio per esperimenti di citotossicità, mediante rilascio di ⁵¹Cr, al fine di creare un modello sperimentale utile per chiarire alcuni aspetti legati all'attività citolitica delle cellule NK/LAK dopo irraggiamento γ .

I risultati ottenuti non mostrano una significativa differenza dell'attività citolitica di cellule NK purificate, diretta contro cellule SQ20B precedentemente irraggiate con 2 o 5 Gy di raggi γ rispetto a cellule bersaglio non irraggiate di controllo. Come controllo del test sono state

utilizzate cellule della linea eritroleucemica K562 (Figura 2). La figura mostra un esperimento rappresentativo di cinque eseguiti.

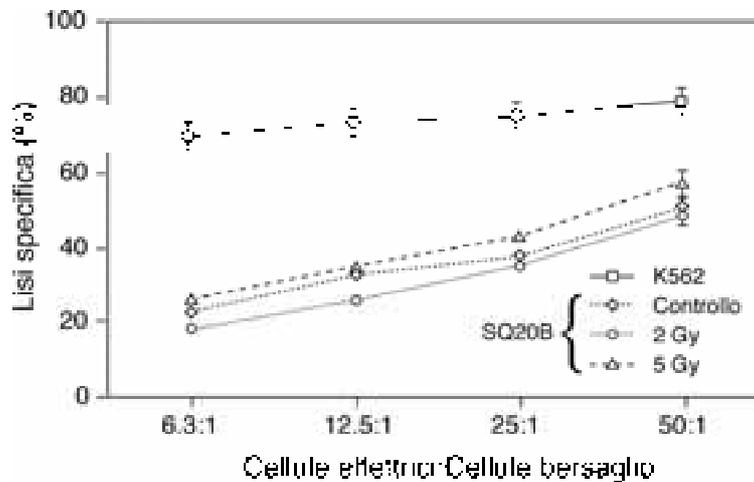


Figura 2. Attività citolitica di cellule NK umane purificate diretta contro cellule della linea tumorale radioresistente SQ20B

Inoltre, non si osservano variazioni significative dell'attività citolitica, sia se si irradiano (con una dose di 5 Gy) solo le cellule effettrici NK o LAK, sia se si irradiano solo le cellule bersaglio SQ20B, sia se si irradiano entrambe (Figura 3). La figura mostra un esperimento rappresentativo di sette eseguiti.

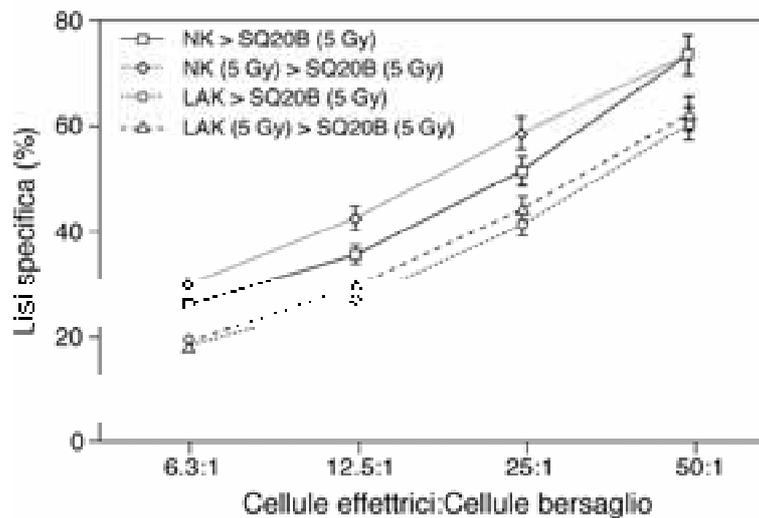


Figura 3. Attività citolitica di cellule irradiate NK umane purificate diretta contro cellule irradiate della linea tumorale SQ20B

Effetto dell'irraggiamento sulla vitalità

Al fine di studiare la capacità protettiva, a seguito di radio-esposizione, di alcune citochine importanti per la vitalità delle cellule NK, sono stati condotti esperimenti preliminari incubando le cellule NK con IL-2 prima dell'irraggiamento e quindi, mediante intercalazione del colorante fluorescente ioduro di propidio, analizzate mediante citofluorimetria a flusso. Come aspettato, le cellule al tempo zero mostrano il caratteristico picco alto e stretto di una popolazione NK in fase di riposo (n) G_0/G_1 .

Dopo 24-48 ore alcune cellule entrano spontaneamente in apoptosi come indica la distribuzione a sinistra del picco alto. La presenza nel terreno di coltura di IL-2, inizialmente mantiene la popolazione cellulare nella fase di riposo G_0/G_1 , successivamente induce proliferazione come indicato dalla comparsa di un secondo picco a destra (doppio in intensità di fluorescenza, avente il significato di cellule con contenuto di DNA doppio, $2n$).

La zona di transizione tra i due picchi mostra le cellule in fase di sintesi (S).

I risultati mostrati in Figura 4 indicano che 100 U/ml di IL-2 sono sufficienti per proteggere le cellule NK da irraggiamenti γ compresi tra 0,8 e 3 Gy.

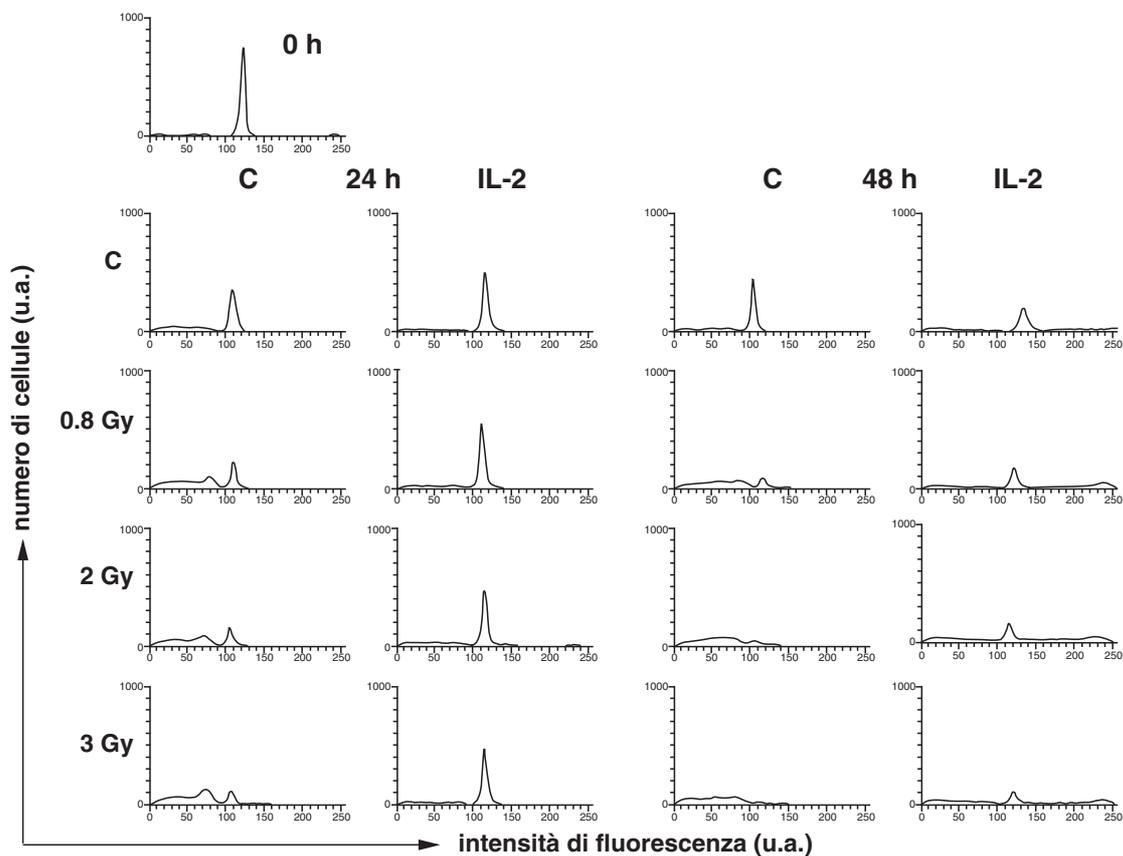


Figura 4. Proliferazione di cellule NK purificate, irradiate e coltivate in presenza di IL-2, rispetto a cellule di controllo (C)

La protezione, da parte di IL-2, non aumenta se si usano quantità doppie o quaduple di citochina, come mostrato dalla Figura 5.

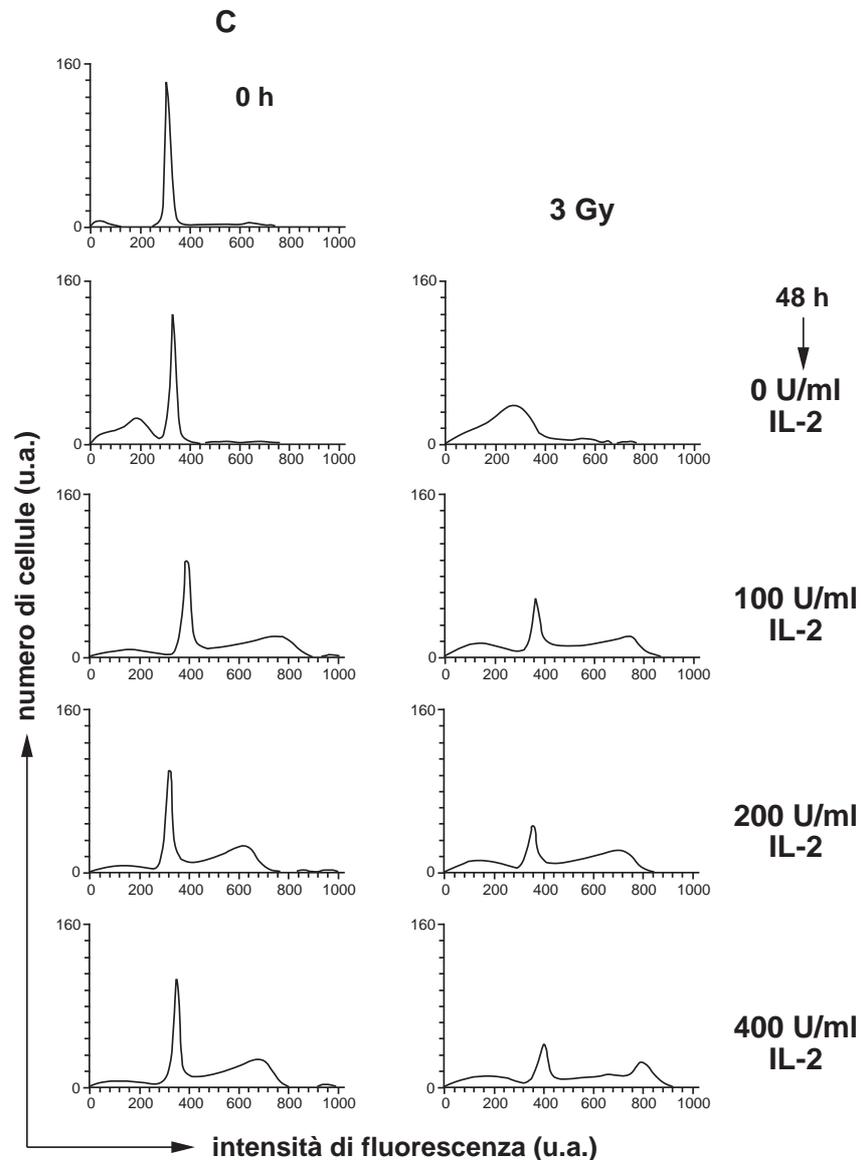


Figura 5. Proliferazione di cellule NK purificate e coltivate in presenza di differenti dosi di IL-2 e irradiate rispetto a cellule di controllo (C) non irradiate. (u.a.= unità arbitrarie)

In conclusione, l'insieme dei dati preliminari qui riportati ha mostrato la possibilità di utilizzare un modello sperimentale per valutare le variazioni della risposta citotossica di cellule NK/LAK a seguito di irradiazione γ o di trattamento con IL-2. Questo lavoro suggerisce inoltre uno studio più approfondito ed eventualmente esteso a fasci di protoni e ad altre citochine e/o chemochine importanti per la regolazione delle risposte immunitarie, al fine di poter utilizzare tali molecole "protettive" come coadiuvanti nella radioterapia.

Ringraziamenti

Desideriamo ringraziare Marco Sabatini per il prezioso aiuto datoci nella elaborazione grafica dei dati durante tutte le fasi del lavoro.

Bibliografia

1. Black MM, Freeman C, Mork T, Harvel S, Cutler SJ. Prognostic significance of microscopic structure of gastric carcinomas and their regional lymphnodes. *Cancer* 1970;27:703-11.
2. Watanabe H, Enjoji M, Imai T. Gastric carcinoma with lymphoid stroma. *Cancer* 1976;38:232-243.
3. Shimokawara I, Imamura M, Yamanaka N, Ishii Y, Kikuchi K. Identification of lymphocyte subpopulations in human breast cancer tissue and its significance. *Cancer* 1982;49:1456-64.
4. Trinchieri G. Biology of natural killer cells. *Adv.Immunol* 1989;47:187-376.
5. Perussia B. Lymphokine-activated killer cells, natural killer cells and cytokines. *Curr Opin Immunol* 1991;3:49-55.
6. Brittenden J, Heys SD, Ross J, Eremin O. Natural killer cells and cancer. *Cancer* 1996;77:1226-43.
7. Grimm EA, Mazumder A, Zhang HZ, Rosenberg SA. Lymphokine-activated killer cell phenomenon. Lysis of natural killer-resistant fresh solid tumour cells by interleukin 2-activated autologous human peripheral blood lymphocytes. *J Exp Med* 1982;155:1823.
8. Onsurd M, Thorsby E. Long term changes in natural killer cytotoxicity after external pelvic radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1981;7:609-14.
9. Dean MD, Pross HF, Kennedy JC. Spontaneous human lymphocyte-mediated cytotoxicity against tumor target cells. III. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 1978;4:633-41.
10. Hochman PS, Cudkowicz G, Dausset J. Decline of natural cell activity in sublethally irradiated mice. *J Natl Cancer Inst* 1978;61:265-8.
11. Rana R, Vitale M, Mazzotti G, Manzoli L, Papa S. Radiosensitivity of human NK cells: binding and cytotoxic activities of NK cell subsets. *Radiat Res* 1990;124:96-102.
12. Zarcone D, Tilden AB, Lane VG, Grossi CE. Radiation sensitivity of resting and activated nonspecific cytotoxic cells of T lineage and NK lineage. *Blood* 1989;73:1615-21.
13. Seki H, Kanegane H, Iwai K, Konno A, Ohta K, Yachie A, Taniguchi N, Miyawaki T. Ionizing radiation induces apoptotic death in human TcRg/d+ T and natural killer cells without detectable p53 protein. *Eur J Immunol* 1994;24:2914-17.
14. Gorelik E, Herberman RB. Depression of natural antitumor resistance of C57BL/6 mice by leukomegenic doses of radiation and restoration of resistance by transfer of bone marrow or spleen cells from normal, but not beige, syngeneic mice. *J Natl Cancer Inst* 1982;69:89-93.
15. Chang ASF, Bier DE, Grimes WJ, Hersh EM. Gamma-irradiated peripheral blood mononuclear cells can express LAK activity. *Int J Cell Clon* 1991;9:65-77.
16. Brovall C, Schacter B. Radiation sensitivity of human natural killer cell activity: Control by X-linked genes. *J Immunol* 1981;126:2236-9.
17. Seki H, Kazuyuki I, Kanegane H, Konno A, Ohta K, Ohta K, Yachie A, Taniguchi N, Miyawaki T. Differential protective action of cytokines on radiation-induced apoptosis of peripheral lymphocyte subpopulations. *Cell Immunol* 1995;163:30-6.
18. Perussia B, Ramoni C, Anegon I, Cuturi MC, Faust J, Trinchieri G. Preferential proliferation of natural killer cells among peripheral blood mononuclear cells cocultured with B lymphoblastoid cell lines. *Natl Immun Cell Growth Regul* 1987;6:171-88.

19. Ramoni C, Spadaro F, Menegon M, Podo F. Cellular localization and functional role of phosphatidylcholine-specific phospholipase C in NK cells. *J Immunol* 2001;167:2642-50.
20. Weichselbaum, RR, Beckett, MA, Schwartz, JL, Dritschilo A. Radioresistant tumour cells are present in the head and neck carcinomas that recur after radio-therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988;15:575-9.

MODELLI E SIMULAZIONI DEI MECCANISMI DI DANNO DA RADIAZIONI ALLE STRUTTURE BIOLOGICHE: INTEGRAZIONE DEI RISULTATI NEL CODICE FLUKA PER STUDI DI OTTIMIZZAZIONE DELLA TERAPIA CON PROTONI

Andrea Ottolenghi (a,b), Francesca Ballarini (a,b), Marco Biaggi (c), Bruno Candoni (c), Alfredo Ferrari (b,d), Domenico Scannicchio (a,b)

(a) Dipartimento di Fisica Nucleare e Teorica, Università degli Studi di Pavia

(b) Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Milano

(c) Dipartimento di Fisica, Università degli Studi di Milano,

(d) European Laboratory of Particle Physics, CERN, Geneva, Switzerland

Introduzione

Massimizzare la probabilità di controllo del tumore (*Tumour Control Probability*, TCP) e minimizzare il rischio di complicanze ai tessuti sani (*Normal Tissue Complication Probability*, NTCP), rappresenta l'obiettivo principale nell'ambito della radioterapia. In particolare, ottenere bassi valori di NTCP è di massima importanza in caso di tumori particolarmente vicini a tessuti o organi critici (1, 2).

L'utilizzo di fasci di protoni, e in generale di ioni, può rappresentare un miglioramento significativo. Infatti le distribuzioni di dose ottenute in seguito a irraggiamento con ioni sono caratterizzate dalla presenza di una regione, detta "picco di Bragg", in cui la quantità di dose assorbita cresce bruscamente, raggiungendo un massimo e scendendo a zero molto rapidamente. Sfruttando la dipendenza della posizione del picco di Bragg dall'energia iniziale del fascio, è possibile conformare la distribuzione di dose al volume bersaglio mediante la sovrapposizione di vari fasci di diversa energia iniziale, che dà luogo al cosiddetto "picco di Bragg allargato" (*Spread-Out Bragg Peak*, SOBP). Tuttavia, esiste tuttora una forte necessità di caratterizzare i fasci terapeutici d'interesse, sia dal punto di vista fisico sia dal punto di vista biofisico. Nello specifico, va valutato in modo quantitativo il ruolo giocato dagli adroni secondari prodotti in reazioni nucleari. Inoltre va tenuto conto che la deposizione di energia nella materia da parte della radiazione è un processo stocastico; pertanto grandezze medie come la dose, il trasferimento lineare di energia (*Linear Energy Transfer*, LET) e l'efficacia biologica relativa (*Relative Biological Effectiveness*, RBE) non sono in grado di fornire una caratterizzazione completa.

In questo contesto (3, 4) possono essere di grande aiuto i modelli meccanicistici e i codici di simulazione Monte Carlo, che permettono di testare diverse assunzioni sugli *step* intermedi del processo che porta dalle deposizioni di energia iniziali all'induzione di *endpoint* biologici sia a livello subcellulare e cellulare (danno al DNA, aberrazioni cromosomiche, inattivazione cellulare, trasformazione neoplastica ecc.), sia a livello sovra-cellulare (danni a tessuti e organi). In particolare nell'ambito del Progetto TOP dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) (convenzione su "Modelli biofisici per l'ottimizzazione della radioterapia con protoni", responsabile scientifico: A. Ottolenghi) sono stati sviluppati modelli e codici in grado di simulare l'induzione di danni al DNA (*Single-Strand Breaks*, SSB, *Double-Strand Breaks*, DSB, e lesioni più complesse) e aberrazioni cromosomiche, nonché di caratterizzare da un punto di vista fisico e

biofisico fasci di protoni utilizzati in radioterapia. Per la modellizzazione di *endpoint* a livello sub-cellulare/cellulare sono stati sviluppati modelli e codici basati su una descrizione “evento-per-evento” della struttura di traccia della radiazione a livello del nanometro, tenendo conto non solo delle deposizioni dirette di energia ma anche dell’evoluzione chimica della traccia stessa, con conseguente produzione, diffusione e interazione di radicali liberi (tra i quali l’OH) e altre specie chimiche. Data l’eccessiva lunghezza dei tempi di calcolo necessari, questo tipo di approccio risulta improponibile a livello di tessuti e organi, per i quali è stato sviluppato un metodo *ad hoc*. Tale metodo è basato sull’integrazione di dati radiobiologici, provenienti sia da simulazioni di tipo “evento-per-evento” sia da risultati sperimentali disponibili in letteratura, in codici di trasporto di tipo *condensed-history* come FLUKA (dal tedesco *FLUKtuierende KAskade*) (5, 6). Questo approccio ha permesso non solo di riprodurre le distribuzioni spaziali di dose relative a specifici fasci di protoni utilizzati in radioterapia, ma anche di simulare distribuzioni di “dose biologica”, caratterizzando così il fascio anche dal punto di vista radiobiologico.

Effetti a livello di DNA e cromosomi

Allo scopo di raggiungere una maggiore comprensione dei meccanismi che governano l’induzione del danno al DNA e di individuare una categoria di lesioni direttamente correlabile con l’evoluzione del danno in termini di endpoint quali mutazioni geniche, aberrazioni cromosomiche, inattivazione cellulare e trasformazione neoplastica, è stata simulata l’induzione di diversi tipi di danno al DNA in seguito a irraggiamento con radiazioni di diversa qualità. La base di partenza per questi lavori è costituita dal codice PARTRAC, sviluppato nell’ambito di una collaborazione con l’istituto *GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit* di Monaco di Baviera. PARTRAC è un codice Monte Carlo di tipo “evento-per-evento” in grado di simulare la struttura di traccia di elettroni, fotoni e protoni in acqua liquida, tenendo conto in modo esplicito della produzione, diffusione e interazione delle specie chimiche prodotte in seguito alla radiolisi dell’acqua. La dipendenza temporale degli *yield* calcolati di radicali liberi ha mostrato un ottimo accordo con dati sperimentali disponibili in letteratura, fornendo così una validazione dei moduli del codice che simulano la struttura di traccia della radiazione e la sua evoluzione fino a 10^{-6} s dall’irraggiamento, quando si può assumere che sia stato raggiunto un equilibrio chimico intra-traccia (7). I moduli di struttura di traccia del codice sono stati accoppiati a un modello di bersaglio in grado di riprodurre l’intero genoma di una cellula umana in interfase a diversi livelli di organizzazione, dalla doppia elica ai loops di fibra cromatinica che costituiscono i territori cromosomici in interfase (8, 9). Tale modello si basa su una descrizione “atomo-per-atomo”, in cui ogni singolo atomo dei costituenti del DNA è identificato dalle sue coordinate spaziali e dal suo raggio di van der Waals. Assumendo che una SSB possa essere prodotta sia da una deposizione diretta di energia nello zucchero-fosfato sia da una reazione del radicale OH con lo zucchero-fosfato stesso, e che due SSB su eliche opposte entro 10 coppie di basi costituiscano una DSB, è stata riprodotta l’induzione di SSB, DSB e frammenti di DNA di diverse dimensioni in seguito a irraggiamento con fotoni (8) e protoni (9). È stata inoltre simulata la dipendenza di SSB e DSB sia dalla struttura del bersaglio (ad esempio DNA lineare o cromatina compatta, in cui gli istoni giocano un ruolo protettivo rispetto all’attacco dell’OH e di altre specie chimiche), sia dalla presenza di *scavenger*, che reagendo con i radicali liberi diminuiscono la probabilità di danno indiretto (10, 11). Poiché le SSB e le DSB, contrariamente a endpoint come mutazioni, aberrazioni e inattivazione, non mostrano una significativa dipendenza dalla qualità della radiazione, è stata simulata anche l’induzione di “Lesioni Complesse” (*Complex Lesions, CL*), clusters di lesioni definite operativamente come

“almeno 2 SSB su ciascuna elica del DNA entro 30 coppie di basi” (12, 13). In accordo con i valori di RBE sperimentali per l’induzione di mutazioni e inattivazione clonogenica, gli *yield* di lesioni complesse hanno mostrato una crescita significativa con il LET; inoltre, a parità di LET, i protoni si sono mostrati più efficaci delle particelle alfa, a causa delle differenze nella distribuzione spaziale delle deposizioni di energia a livello del nanometro.

L’ipotesi che il grado di complessità del danno al DNA giochi un ruolo fondamentale nella successiva evoluzione in termini di endpoint sub-cellulari e cellulari è stata testata e validata mediante lo sviluppo di un modello di inattivazione cellulare (14) e di aberrazioni cromosomiche (15-20). Queste ultime sono un endpoint di particolare interesse, in quanto sono correlate sia con la morte cellulare, d’interesse per la TCP, sia con l’induzione di tumori specifici, d’interesse per l’NTCP. In particolare sono stati sviluppati un modello e un codice in grado di simulare l’induzione di varie categorie di aberrazioni cromosomiche (dicentrici, traslocazioni, anelli, scambi complessi e delezioni) in seguito all’irraggiamento di cellule umane con radiazioni di diversa qualità (fotoni, protoni e particelle alfa di diversa energia), basandosi sull’assunzione che solo le lesioni complesse possono portare ad aberrazioni. Gli *yield* di lesioni complesse per le diverse radiazioni d’interesse sono stati presi da un lavoro precedente (12), e le CL sono state distribuite nei nuclei cellulari sulla base della struttura di traccia della radiazione stessa. Mentre nella prima versione del modello i territori cromosomici sono stati modellizzati adottando un approccio implicito (15, 16), nella seconda versione (17-20) è stato adottato un approccio esplicito. L’ottimo accordo ottenuto con curve dose-risposta sperimentali relative a radiazioni di diversa qualità ha fornito una validazione del modello, nonché un’ulteriore conferma dell’importanza della complessità del danno iniziale.

Effetti a livello di tessuti e organi

I codici di trasporto di tipo “evento-per-evento”, che simulano la struttura di traccia della radiazione a livello del nanometro registrando ogni singola deposizione di energia, non possono essere usati per applicazioni in radioterapia né più in generale per simulare l’induzione di effetti a livello di tessuti e organi, a causa degli enormi tempi di calcolo che sarebbero necessari. Sono pertanto utilizzati i cosiddetti codici *condensed-history* (5, 6, 21), in cui le singole interazioni sono parzialmente raggruppate. Il metodo è molto efficiente e può essere estremamente affidabile; tuttavia un’ovvia conseguenza è la perdita di informazioni sul scale dimensionali inferiori al micron. L’integrazione in codici *condensed-history* di informazioni radiobiologiche ottenute con approcci di tipo “evento-per-evento” rappresenta un buon compromesso.

Caratterizzazione di fasci di protoni utilizzati in radioterapia

Il metodo dell’integrazione è stato adottato per caratterizzare il fascio di protoni utilizzato al *Paul Scherrer Institut* di Villigen (Svizzera) per il trattamento di alcuni tipi di tumori oculari (22). Si tratta di un fascio da 72 MeV, modulato per mezzo di una serie di profili di alluminio montati su una ruota. Generalmente nelle simulazioni il picco di Bragg allargato viene riprodotto effettuando una media pesata dei singoli picchi di Bragg, ognuno corrispondente a un dato spessore del materiale *degrading* (23). In questo lavoro è stato adottato un metodo alternativo, in cui i profili di alluminio, disegnati in una zona laterale della geometria di *input*, sono stati mappati in modo dinamico lungo l’asse del fascio, al fine di riprodurre il movimento

della ruota. Utilizzando il codice FLUKA, la dose depositata dalle varie componenti del fascio (protoni primari, elettroni e adroni secondari) è stata calcolata in funzione della profondità in perspex. La dose totale calcolata ha mostrato un ottimo accordo con quella misurata al PSI. Inoltre le simulazioni hanno mostrato un contributo degli adroni secondari alla dose fisica totale inferiore al 4%, che scompare nella parte finale del SOBP.

Al fine di simulare la “dose biologica”, il codice FLUKA è stato modificato (24) in modo da fornire il numero medio di lesioni complesse per cellula lungo il fascio, moltiplicando la dose depositata da ogni particella (primaria o secondaria) per il corrispondente numero di CL/Gy/cellula ottenuto in precedenza con un approccio “evento-per-evento” (12). Ciò ha permesso di ottenere la distribuzione spaziale di una grandezza (numero medio di lesioni complesse per cellula) assimilabile al concetto di “dose biologica”. Mentre la dose fisica si è mostrata sostanzialmente costante al variare della profondità nel SOBP, la dose biologica ha mostrato un notevole incremento in corrispondenza della regione distale del SOBP, seguito da una rapida discesa a zero. Inoltre, rispetto alla dose fisica, il contributo relativo degli adroni secondari si è mostrato più rilevante, raggiungendo il 12% nella parte prossimale del SOBP. Questi risultati si possono interpretare ipotizzando che, mentre lungo la maggior parte del SOBP il rallentamento dei protoni è compensato dalla diminuzione della componente di adroni secondari, nella parte distale del picco i protoni primari di bassa energia, e quindi alto LET, danno luogo a un significativo aumento dell’efficacia biologica del fascio.

Assumendo che le lesioni complesse siano direttamente correlate con l’inattivazione clonogenica, come suggerito da un lavoro precedente (14), i risultati delle simulazioni relativi all’inattivazione cellulare sono stati confrontati direttamente con i dati sperimentali relativi all’inattivazione clonogenica di cellule V79 (fibroblasti di criceto) ottenuti presso il PSI nel corso di esperimenti *ad hoc*. Ai fini del confronto, è stato simulato in funzione della profondità in perspex il rapporto tra lo *yield* calcolato di lesioni complesse indotte dal fascio (simulato) di protoni e quello relativo a 2 Gy di raggi X. Per diversi valori di profondità in perspex, tale rapporto è stato confrontato con il rapporto tra le lesioni letali per cellula misurate in seguito all’irraggiamento con il fascio di protoni del PSI e quelle indotte da 2 Gy di raggi X. Le previsioni del modello si sono mostrate in ottimo accordo con i dati sperimentali, confermando l’ipotesi che il danno clusterizzato al DNA giochi un ruolo fondamentale nel processo di induzione di inattivazione cellulare clonogenica. Va sottolineato che l’approccio utilizzato in questo lavoro, consistente nel confrontare il rapporto (calcolato) tra CL da protoni e CL da 2 Gy di raggi X con il rapporto (misurato) tra lesioni letali da protoni e lesioni letali da 2 Gy di raggi X può essere adottato in modo affidabile fino a dosi di qualche Gy, corrispondenti a valori di sopravvivenza relativamente alti. Per dosi maggiori bisogna invece tener conto anche della curvatura delle curve di sopravvivenza, e della conseguente dipendenza dell’RBE dalla dose.

Lo stesso tipo di approccio utilizzato per la caratterizzazione del fascio di protoni del PSI è stato utilizzato in un lavoro successivo (25) per la caratterizzazione di un fascio di protoni da 160 MeV, modulato in modo da ottenere un tipico SOBP terapeutico. Nello specifico, la versione modificata del codice FLUKA è stata utilizzata per simulare la dose fisica e la dose biologica depositate a diverse profondità in acqua da un fascio di protoni da 160 MeV. La modulazione del fascio è stata simulata utilizzando lucite. Anche in questo caso i contributi delle diverse componenti del fascio sono stati calcolati separatamente. Le simulazioni relative alla dose fisica hanno mostrato un contributo relativo degli adroni secondari pari al 6% all’inizio del *plateau* e al 3% lungo la maggior parte del SOBP; tale contributo scompare nella parte distale del SOBP. Quanto alla dose “biologica” (numero medio di lesioni complesse per cellula), si è osservato anche in questo caso un brusco incremento nella parte distale del picco; inoltre, rispetto alla dose fisica, il ruolo degli adroni secondari si è mostrato maggiormente rilevante, raggiungendo percentuali del 20% all’inizio del *plateau* e del 15% lungo il SOBP.

Anche in questo caso la componente degli adroni secondari scompare in corrispondenza della parte distale del picco. Come nel caso del fascio del *Paul Scherrer Institut* (PSI), il picco biologico è risultato spostato verso profondità maggiori rispetto al picco fisico, il che può essere di estrema rilevanza specialmente in caso di presenza di organi critici subito dopo il picco di Bragg. L'RBE, calcolato come rapporto tra le CL per cellula indotte dal fascio di protoni e quelle che si otterrebbero assumendo la stessa dose indotta da raggi γ , si è mostrato essenzialmente costante ($\approx 1,2$) con la profondità lungo il plateau e nella maggior parte del SOBP, ma ha mostrato un notevole aumento nella parte distale del picco. A tale proposito vale la pena di notare che nella pratica terapeutica si è soliti utilizzare un valore costante pari a 1,1.

Stima degli effetti di campi misti

Nell'ambito di studi per la caratterizzazione fisica e biologica di campi misti di radiazione, il codice FLUKA è stato sviluppato per lo studio dell'efficacia di campi misti nell'induzione di aberrazioni cromosomiche (26). Come base di partenza è stata utilizzata la *Theory of Dual Radiation Action* (TDRA) sviluppata da Kellerer e Rossi (27), secondo i quali un sistema biologico esposto a più tipi di radiazioni mostra sinergismo, il che implica che il numero totale di lesioni è maggiore della somma delle lesioni prodotte da ogni singola componente del fascio. Nel caso semplice di un'esposizione successiva a due dosi D_1 e D_2 (dove i pedici 1 e 2 si riferiscono a due diversi tipi di radiazione), lo *yield* di lesioni è dato da $Y(D_1, D_2) = \alpha_1 D_1 + \beta_1 D_1^2 + \alpha_2 D_2 + \beta_2 D_2^2 + 2(\beta_1 \beta_2)^{1/2} D_1 D_2$, dove i parametri α e β sono rispettivamente i coefficienti lineare e quadratico che caratterizzano una tipica curva dose-risposta per l'induzione di aberrazioni cromosomiche. Il metodo può essere generalizzato a n dosi da n radiazioni diverse ed è stato applicato al caso dei neutroni: le aberrazioni cromosomiche (in particolare i dicentrici) indotte da neutroni sono state calcolate sulla base di dati sperimentali relativi all'irraggiamento *in vitro* di linfociti umani con fotoni e particelle cariche.

Nello specifico è stato simulato con FLUKA l'irraggiamento di un fantoccio d'acqua con fasci di neutroni di diversa energia (da 0,02 a 100 MeV). Il codice è stato modificato mediante l'integrazione di valori sperimentali dei coefficienti α e β relativi all'induzione di dicentrici da parte di ciascuna delle radiazioni (fotoni, elettroni, protoni e ioni più pesanti) prodotte nel corso dell'interazione dei neutroni primari con l'acqua. È stato calcolato lo *yield* di dicentrici da neutroni in ogni *voxel* del fantoccio-bersaglio. Le previsioni del modello relative al coefficiente lineare α per l'induzione di dicentrici da neutroni si sono mostrate in buon accordo con i corrispondenti valori sperimentali. Ciò ha fornito una validazione del modello e ha indicato che il coefficiente lineare per i dicentrici indotti da neutroni può essere ben riprodotto integrando in FLUKA i valori sperimentali dei coefficienti lineari relativi alla produzione di dicentrici da parte di ioni di rinculo e prodotti di interazioni nucleari. I risultati dello stesso tipo di studio per il coefficiente quadratico β hanno mostrato che per neutroni di energia superiore a 4 MeV non c'è modo di ottenere il coefficiente β sperimentale mediando sui corrispondenti valori relativi agli ioni di rinculo e ai prodotti di interazioni nucleari. Ciò è inevitabile con i dati attualmente disponibili, poiché i valori sperimentali di β per gli ioni di rinculo e per la maggior parte dei prodotti di reazioni nucleari sono generalmente inferiori ai valori sperimentali di β per i neutroni. Ciò può essere dovuto a uno o più dei seguenti motivi: 1) la presenza di tracce molto corte di ioni secondari, che possono indurre lesioni del DNA sparsamente distribuite nel nucleo; 2) la presenza di ioni secondari lenti particolarmente efficaci, che ad alte dosi possono indurre morte interfascica e perturbazioni del ciclo cellulare, influenzando gli *yield* di aberrazioni osservate; 3) α e β sono negativamente correlati, e per molti dati riportati in letteratura non si

può escludere un valore di β pari a zero; 4) potrebbero esserci dei problemi legati alla misura e/o alla stima della dose fisica rilasciata dai neutroni.

Accoppiamento di FLUKA con fantocci antropomorfi

Il codice FLUKA modificato come descritto nei paragrafi precedenti è stato accoppiato a due fantocci antropomorfi, uno matematico (28) e uno a *voxel* (29), per lo studio degli effetti agli organi. L'obiettivo è quello di rendere il codice direttamente utilizzabile per simulazioni e test sia per la radioprotezione, sia per la radioterapia. La sua prima applicazione è stata per lo studio del rischio da radiazioni e come strumento di calcolo di schermature per lunghe permanenze nello spazio.

Sono state calcolate le distribuzioni di dose fisica e biologica nei vari tessuti e organi in seguito all'esposizione alla radiazione spaziale, in particolare alla componente protonica dello spettro del *Solar Particle Event* dell'ottobre 1989 (30). I due tipi di fantocci sono stati collocati all'interno di una struttura schermante di composizione, forma e dimensioni variabili. In particolare è stata utilizzata una schermatura di alluminio di forma cilindrica e spessore variabile tra 1 g/cm² (tutta spaziale) e 20 g/cm² (*storm shelter*, dove rifugiarsi in caso di vento solare). L'irraggiamento è stato simulato mediante emissione isotropa di protoni primari da una sfera di raggio 2 m, esterna alla schermatura. La dose totale, sia fisica sia biologica, ha mostrato una diminuzione significativa all'aumentare dello spessore della schermatura. Per bassi valori di schermatura, la pelle e il cristallino oculare sono risultati gli organi più colpiti; tuttavia la schermatura si è mostrata più efficace per gli organi interni. Il contributo relativo degli adroni secondari alla dose totale si è mostrato inferiore al 10% per tutti gli organi e tessuti e tutti gli spessori di schermatura; tale contributo si è mostrato maggiore per gli organi interni che per la pelle e il cristallino. Lo stesso andamento trovato per la dose fisica è stato riportato anche per la dose biologica. Tuttavia il contributo relativo degli adroni secondari si è mostrato maggiore per la dose biologica che per la dose fisica. Il confronto con i limiti di dose equivalente ai vari organi stabiliti per missioni di breve durata all'interno del campo geomagnetico ha portato alla conclusione che uno spessore di 5 g/cm² sarebbe sufficiente a rispettare tali limiti (1,5 Sv per la pelle e 1 Sv per il cristallino). Va però tenuto presente che questi limiti, stabiliti per missioni brevi di tipo *Low Earth Orbit*, potrebbero non essere validi nel caso di missioni esplorative di lunga durata al di fuori del campo magnetico terrestre, per cui non sono ancora stati stabiliti dei limiti.

Conclusioni

Un'applicazione efficace di nuove tecniche per la radioterapia richiede una migliore conoscenza dei processi che dalle deposizioni iniziali di energia portano ai danni a livello di cellule e di tessuti. D'altra parte l'ottimizzazione delle tecniche e dei piani di trattamento richiede anche un approccio pragmatico, governato dal compromesso tra la necessità di massimizzare la probabilità di controllo del tumore e quella di minimizzare la probabilità di complicanze ai tessuti sani. L'uso di fasci di protoni e ioni come il carbonio ha introdotto, assieme a grandi potenzialità, ulteriori esigenze di ricerca, dovendo tener conto della dipendenza spaziale dell'efficacia biologica. In questi lavori sono stati studiati i meccanismi di base dell'azione delle particelle cariche sulle strutture biologiche a vari livelli e sono state sviluppate tecniche basate su codici Monte Carlo in grado di riprodurre la distribuzione spaziale della dose fisica e della dose "biologica", tenendo conto dei diversi contributi delle varie componenti del fascio.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano l'Istituto Superiore di Sanità (convenzione No. 93/M/T6), la Comunità Europea (Contratti F14P-CT95-0011 e FIGH-CT1999-00005), l'Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (esperimenti DOSBI e ATER.FIBI) e l'Agenzia Spaziale Italiana (Contratto I/R/090/00) per il sostegno a queste attività di ricerca.

Bibliografia

1. Gagliardi G, Lax I, Ottolenghi A, Rutqvist L. Long term cardiac mortality after radiotherapy of breast cancer - Application of the relative seriality model. *The British Journal of Radiology* 1996;69:839-46.
2. Gagliardi G, Bjhle J, Lax I, Ottolenghi A, Eriksson F, Liedberg A, Lind P, Rutqvist LE. Radiation Pneumonitis after breast cancer irradiation: analysis of the complication probability using the relative seriality model. *International Journal of Radiation Oncology and Biology* 2000;46(2):373-81.
3. Ottolenghi A, Ballarini F, Biaggi M. Mechanistic and phenomenological models for the estimate of radiation-induced biological damage. *Physica Medica* 2001;17:3-12.
4. Ottolenghi A, Scannicchio D, Ballarini F, Biaggi M, Valota A. From track structure to biological endpoints: models, codes and MC simulations to investigate radiation action and damage formation. *Frascati Physics Series* 2002;29:9-14.
5. Ferrari A, Sala P. Treating high energy showers. In: Gualdrini G, Casalini L (Ed.). *Use of MCNP in radiation protection and dosimetry*. Roma: ENEA; 1999. p. 233-46.
6. Andersen V, Ballarini F, Battistoni G, Campanella M, Carboni M, Cerutti F, Empl A, Fassò A, Ferrari A, Gadioli E, Garzelli NV, Lee K, Ottolenghi A, Pelliccioni M, Pinsky LS, Ranft J, Roesler S, Sala PR, Wilson TL. The FLUKA code for space applications: recent developments. *Advances in Space Research* 2004;34:1302-10.
7. Ballarini F, Biaggi M, Merzagora M, Ottolenghi A, Dingfelder M, Friedland W, Jacob P, Paretzke HG. Stochastic aspects and uncertainties in the prechemical and chemical stages of electron tracks in liquid water: a quantitative analysis based on M.C. simulations. *Radiation and Environmental Biophysics* 2000;39:179-88.
8. Friedland W, Jacob P, Paretzke HG, Merzagora M, Ottolenghi A. Simulation of DNA fragment distribution after irradiation with photons. *Radiation and Environmental Biophysics* 1999;38:39-47.
9. Friedland W, Jacob P, Bernhardt P, Paretzke HG, Dingfelder M. Simulation of DNA damage after proton irradiation. *Radiation Research* 2003; 159:401-10.
10. Ballarini F, Friedland W, Jacob P, Ottolenghi A, Paretzke HG, Scannicchio D, Valota A. Role of DNA organisation and environmental scavenging capacity in the evolution of radiobiological damage: models and simulations. *Radiotherapy and Oncology*, in press.
11. Valota A, Ballarini F, Friedland W, Jacob P, Ottolenghi A, Paretzke HG. A modelling study on the protective role of OH radical scavengers and DNA higher-order structures in induction of ssb and dsb by γ radiation. *International Journal of Radiation Biology* 2003; 79/8:643-53.
12. Ottolenghi A, Merzagora M, Tallone L, Durante M, Paretzke HG, Wilson WE. The quality of DNA double-strand breaks: a Monte Carlo simulation of the end-structure of strand breaks produced by protons and alpha particles. *Radiation and Environmental Biophysics* 1995;34:239-44.
13. Molinelli S. Simulazione della distribuzione spaziale del danno subcellulare indotto da protoni e particelle alfa. [Tesi]. Pavia: Università degli Studi di Pavia, Dipartimento di Fisica Nucleare e Teorica; 2003.

14. Ottolenghi A, Monforti F, Merzagora M. A Monte Carlo calculation of cell inactivation by light ions. *International Journal of Radiation Biology* 1997;72:505-13.
15. Ballarini F, Merzagora M, Monforti F, Durante M, Gialanella G, Grossi GF, Pugliese M, Ottolenghi A. Chromosome aberrations induced by light ions: Monte carlo simulations based on a mechanistic model. *International Journal of Radiation Biology* 1999;75:35-46.
16. Ottolenghi A, Ballarini F, Merzagora M. Modelling radiation induced biological lesions: from initial energy depositions to chromosome aberrations. *Radiation and Environmental Biophysics* 1999;38:1-13.
17. Ottolenghi A, Ballarini F, Biaggi M. Modelling chromosomal aberration induction by ionising radiation: the influence of interphase chromosome architecture. *Advances in Space Research* 2001;27:369-82.
18. Ballarini F, Biaggi M, Ottolenghi A. Nuclear architecture and radiation-induced chromosome aberrations: models and simulations. *Radiation Protection Dosimetry* 2002;99:175-82.
19. Ballarini F, Ottolenghi A. Modelling radiation-induced chromosome aberrations for space risk assessment. *Microgravity and Space Station Utilization* 2002;3:33-6.
20. Ballarini F, Ottolenghi A. Chromosome aberrations as biomarkers of radiation exposure: modelling basic mechanisms. *Advances in Space Research* 2003;31:1557.
21. Nahum AE. Condensed-history Monte-Carlo simulation for charged particles: what can it do for us? *Radiation and Environmental Biophysics* 1999;38:163-73.
22. Biaggi M, Ballarini F, Burkard W, Egger E, Ferrari A, Ottolenghi A. Physical and biophysical characteristics of a fully modulated 72 MeV therapeutic proton beam: model predictions and experimental data. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 1999;159:89-100.
23. Courdi A, Brassart N, Herault J, Chauvel P. The depth-dependent radiation response of human melanoma cells exposed to 65 MeV protons. *British Journal of Radiology* 1994;67:800-804.
24. Ferrari A, Merzagora M, Ottolenghi A. Analysis of a slowing down 150 MeV proton beam in water: physical characteristics and effectiveness in inducing DNA clustered damage. In: *6th Workshop on heavy-charged particles in biology and medicine*, Baveno (Italy), September 29-30 and October 1 1997. Kraft G, Langbein K Eds, Darmstadt. GSI Report 1997:97-109.
25. Biaggi M, Ballarini F, Burkard W, Egger E, Ferrari A, Ottolenghi A, Scannicchio D. Applications and possible generalisations of a method tested at the OPTIS facility, for analysing physical and radiobiological properties of therapeutic proton beams. *Physica Medica* 2001;17:63-6.
26. Ballarini F, Biaggi M, Edwards A, Ferrari A, Ottolenghi A, Pelliccioni M, Scannicchio D. Estimating mixed field effects: an application supporting the lack of a non-linear component for chromosome aberration induction by neutrons. *Radiation Protection Dosimetry* 2003;103:19-27.
27. Kellerer AM, Rossi HH. A generalized formulation of dual radiation action. *Radiation Research* 1978;75:471-88.
28. Pelliccioni M, Pillon M. Comparison between anthropomorphic mathematical phantoms using MCNP and FLUKA codes. *Radiation Protection Dosimetry* 1996;67:253-6.
29. Zankl M, Wittmann A. The adult male voxel model "Golem" segmented from whole-body CT patient data. *Radiation and Environmental Biophysics* 2001;40:153-162.
30. Ballarini F, Biaggi M, De Biaggi L, Ferrari A, Ottolenghi A, Panzarasa A, Paretzke HG, Pelliccioni M, Sala P, Scannicchio D, Zankl M. Role of shielding in modulating the effects of Solar Particle Events: Monte Carlo calculation of physical and "biological" dose in different organs. *Advances in Space Research* 2004;34:1338-46.

STUDIO EPR SULLA RADIOLISI DIRETTA DEL DNA: CONFRONTO DEL DANNO DA RADIAZIONI CON PROTONI E CON DEUTONI ED EFFETTI DELLA COMPLESSAZIONE CON PT (II)

Antonio Faucitano (a), Armando Buttafava (a), Roberto Cherubini (b), Annalisa Dacò (a),
Antonio Olianias (a)

(a) Dipartimento di Chimica Generale, Università degli Studi, Pavia

(b) Istituto Nazionale di Fisica Nucleare - Laboratori Nazionali di Legnaro (Padova)

Introduzione

Il danno biologico da radiazioni può essere osservato a diversi livelli a seconda della metodologia impiegata e ciascun angolo visuale fornisce informazioni specifiche indispensabili per la ricostruzione della complessa fenomenologia radiolitica. In questa ricerca, gli effetti delle radiazioni sul DNA vengono esaminati attraverso i prodotti radicalici primari, che si accumulano durante la radiolisi a 77 K, e le specie secondarie da essi prodotte durante l'annealing a temperature superiori. Le specie intrappolate a 77 K sono i radicali-ioni e i radicali-anioni generati nelle ionizzazioni primarie e selezionati dai processi di migrazione delle cariche verso i siti di minima energia di ionizzazione (guanina) e massima affinità elettronica (citosina)(1-9).



Le specie $\text{G}^{\bullet+}$ e $\text{C}^{\bullet-}$ reagiscono a temperature >77 K generando le specie secondarie (tra le quali il radicale 6-idro-5-timilico TH^{\bullet}) e modificazioni di struttura di importanza cruciale nel meccanismo del danno radiobiologico, come la rottura dei filamenti nella doppia elica.

Obiettivo di questa ricerca è valutare la potenzialità della spettroscopia EPR (*Electron Paramagnetic Resonance*) come metodo per lo studio degli effetti derivanti dalle differenze di LET nella radiolisi del DNA indotta da fasci di protoni e da deutoni di pari energia.

Secondo obiettivo, legato alla problematica del meccanismo di migrazione delle cariche nella radiolisi del DNA (3, 4) e dei fenomeni di radiosensibilizzazione indotti da chemioterapici a base di Pt(II) (10-12), è l'analisi degli effetti derivanti dalla complessazione del DNA con Pt(II). Il Pt(II) si lega selettivamente alle posizioni N7 della guanina con legami mono e bifunzionali (13-15) determinando alterazioni nella struttura della doppia elica e bloccando l'azione delle guanine come trappole delle cariche positive nel processo di migrazione delle cariche.

Radiolisi con fasci di protoni deutoni

Preparazione dei campioni e irraggiamenti

Si è usato il DNA di sperma di salmone ottenuto dalla ditta Sigma senza ulteriore purificazione. Il DNA idrato da irraggiare è stato preparato mescolando 0,660 g di DNA con 2.3 ml di acqua. La pasta ottenuta è stata raffreddata a -40 °C e compressa in cavità circolari del

diametro di 10 mm e profondità 2 mm ricavate su piastrine di alluminio 2x40 mm. I campioni così preparati venivano conservati in azoto liquido. Le piastrine porta campione venivano fissate mediante viti sulle facce piane di un supporto ottagonale di Cu raffreddato internamente con azoto liquido e montato su una struttura di acciaio inox munita di flangia per la chiusura ermetica a tenuta di alto vuoto. La struttura portacampioni veniva quindi introdotta nell'apposito contenitore flangiato del criostato rotante installato presso l'acceleratore Van de Graaff CN da 7 MV dei Laboratori Nazionali di Legnaro (LNL) dell'Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (INFN). La posizione delle piastrine sul portacampioni era stata in precedenza tarata in modo da centrare con il fascio di ca 2 mm la pastiglia di DNA. Gli irraggiamenti sono stati effettuati sotto vuoto (ca 10^{-6} torr) e a 77 K. Dopo ogni irraggiamento il portacampioni veniva ruotato di 45° per esporre un nuovo campione all'irraggiamento. Sono state eseguite due serie di 4 misure ciascuna, la prima con un fascio di protoni da 5,6 MeV e la seconda con un fascio di deutoni della stessa energia. Sono stati impiegati ratei di dose pari a 3,3 kGy/h e tempi di irraggiamento di 7'30'' corrispondenti a dosi totali di 25 kGy. Le condizioni di irraggiamento sono riassunte nella Tabella 1.

Tabella 1. Condizioni operative degli irraggiamenti del DNA idrato con fasci di protoni e deutoni da 5,6 MeV (gli irraggiamenti sono stati effettuati a 77 K e sotto vuoto presso l'acceleratore Van de Graaff CN 7 MV degli LNL dell'INFN)

Campione	Tempo di irraggiamento (s)	Rateo di dose (Gy/s)	Dose totale (Gy)
Irraggiamento con protoni da 5,6 MeV			
1	450	55,5	24975
2	450	55,5	24975
3	450	55,5	24975
4	450	50,9	22905
Irraggiamento con deutoni da 5,6 MeV			
1	450	50,9	22905
2	450	57,3	25785
3	450	55,5	24975
4	450	60,1	27045

Misure EPR

Durante e dopo l'irraggiamento, sino al completamento della prima registrazione degli spettri EPR, i campioni sono stati tenuti immersi in azoto liquido. Dopo l'irraggiamento, le pastiglie di DNA sono state estratte dai portacampioni e macinate effettuando l'operazione in un mortaio isolato termicamente e contenente azoto liquido. I campioni sono stati poi travasati insieme all'azoto liquido nell'apposito dewar per le misure EPR. Gli spettri sono stati registrati sempre alla temperatura di 77 K, prima e dopo annealing dei campioni alle temperature di -130, -100, -70, -40 e -30 °C. Le misure sono state effettuate in uno spettrometro Varian E-109 in funzione dei tre livelli di potenza di microonde 0,01 mW, 1 mW e 10 mW. Questa procedura era mirata ad ottenere informazioni sull'abbondanza relativa delle specie $C^{\bullet-}$ e $G^{\bullet+}$ i cui spettri EPR sono caratterizzati da una diversa tendenza alla saturazione di potenza.

Risultati

Gli spettri EPR registrati a 77 K e a bassa potenza (0.01 mW) dopo irraggiamento con fasci di protoni e deutoni hanno l'aspetto di doppietti parzialmente risolti di circa 14 G generati dalla sovrapposizione dei segnali di intensità approssimativamente equivalente del radicale anione della citosina $C^{\bullet-}$ (doppietto di 14 G) e del radicale catione della guanina $G^{\bullet+}$ (singoletto). In Figura 1 sono indicate le formule dei radicali prodotti nell'irraggiamento del DNA.

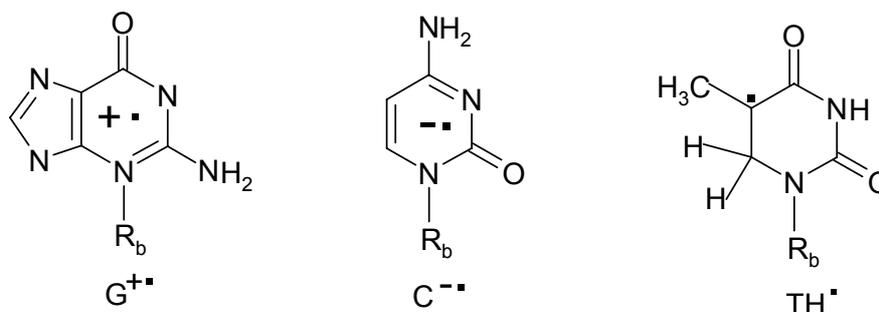


Figura 1. Formule dei radicali cationi, anioni e timilico generati nell'irraggiamento del DNA

A potenze superiori (>1 mW) il segnale del radicale anione si satura diminuendo di intensità mentre acquista importanza il singoletto del radicale catione. L'aumento della temperatura determina il progressivo decadimento delle specie "primarie" $C^{\bullet-}$ e $G^{\bullet+}$ e la loro sostituzione con il radicale 6-idro-5-timilico TH^{\bullet} identificabile dalla caratteristica struttura iperfine a 8 picchi con splitting pari a ca 20 G. La conversione è completa dopo riscaldamento per 5 minuti a -30 °C. L'esame comparativo degli spettri ottenuti dagli irraggiamenti con H^+ e D^+ (Tabella 2) rivela differenze significative nelle rese totali delle specie primarie ma non differenze di abbondanza relativa. In particolare sono più intensi i segnali ottenuti dagli irraggiamenti con protoni e questa differenza si manifesta in tutti e tre i livelli di potenza. Altra differenza significativa riguarda le larghezze di riga (*Line Width*, LW) che sono superiori negli spettri ottenuti da irraggiamento con deutoni (Tabella 2). Le differenze di LW si attenuano progressivamente sino a scomparire dopo annealing dei campioni a -30 °C.

Entrambi gli effetti osservati si possono ricondurre alla differenza di LET nei due tipi di radiazioni. La dipendenza $1/v^2$ del parametro di frenamento nell'equazione di Bethe determina, a parità di energia, una maggiore densità di ionizzazione per i deutoni rispetto ai protoni. Ne consegue un incremento delle concentrazioni spaziali degli intermedi radiolitici nella traccia e una maggiore incidenza delle reazioni di coupling radicalico. Ciò comporta una diminuzione delle rese globali dei radicali identificabili via ESR a 77 K.

L'aumento della densità spaziale delle specie radicaliche, per effetto del meccanismo di interazione dipolare magnetica spin-spin (*dipolar broadening*), causa a sua volta un incremento delle ampiezze di riga che è più marcato nei campioni irraggiati con deutoni. L'aumento della temperatura dei campioni sopra 77 K causa la progressiva diminuzione delle concentrazioni radicaliche e la conseguente attenuazione delle interazioni spin-spin e dei relativi effetti di *dipolar broadening*. Dopo circa 5' a -30 °C la concentrazione totale dei radicali si è ridotta a ca 20% e le differenze di LW sono trascurabili (Tabella 2).

Tabella 2. Caratteristiche di intensità e larghezza di riga (in unità arbitrarie, UA) degli spettri EPR del DNA idrato registrati a 77 K dopo irraggiamento alla stessa temperatura con fasci di protoni e di deutoni (i dati sono normalizzati a $gain = 1$ e dose = 24975 Gy)

Campione	Intensità del segnale EPR (UA)				Larghezza di riga (UA)		
	Potenza	0,01 mW	1,0 mW	10,0 mW	1,0 mW*	0,01 mW	1,0 mW**
Irraggiato con protoni							
1		$5,92 \times 10^{-4}$	$1,71 \times 10^{-3}$	$1,98 \times 10^{-3}$	$1,38 \times 10^{-4}$	1,25	0,38
2		$6,88 \times 10^{-4}$	$1,98 \times 10^{-3}$	$2,31 \times 10^{-3}$	$1,36 \times 10^{-4}$	1,15	0,45
3		$6,60 \times 10^{-4}$	$1,85 \times 10^{-3}$	$2,14 \times 10^{-3}$	$1,10 \times 10^{-4}$	1,09	0,41
4		$6,27 \times 10^{-4}$	$1,85 \times 10^{-3}$	$1,96 \times 10^{-3}$	$1,56 \times 10^{-4}$	1,26	0,39
Media		$6,41 \pm 0,32 \times 10^{-4}$	$1,85 \pm 0,07 \times 10^{-3}$	$2,09 \pm 0,12 \times 10^{-3}$	$1,35 \pm 0,12 \times 10^{-4}$	$1,18 \pm 0,06$	$0,41 \pm 0,02$
Irraggiato con deutoni							
1		$4,06 \times 10^{-4}$	$1,31 \times 10^{-3}$	$1,61 \times 10^{-3}$	$0,87 \times 10^{-4}$	1,32	0,40
2		$5,57 \times 10^{-4}$	$1,73 \times 10^{-3}$	$1,92 \times 10^{-3}$	$1,04 \times 10^{-4}$	1,27	0,38
3		$5,52 \times 10^{-4}$	$1,66 \times 10^{-3}$	$1,84 \times 10^{-3}$	$0,75 \times 10^{-4}$	1,29	0,36
4		$4,67 \times 10^{-4}$	$1,44 \times 10^{-3}$	$1,66 \times 10^{-3}$	$0,93 \times 10^{-4}$	1,30	0,43
Media		$4,95 \pm 58 \times 10^{-4}$	$1,53 \pm 0,13 \times 10^{-3}$	$1,76 \pm 0,13 \times 10^{-3}$	$0,90 \pm 0,09 \times 10^{-4}$	$1,29 \pm 0,02$	$0,39 \pm 0,02$

* campioni portati a -30 °C e registrati a 77 K. I dati riguardano l'intensità del segnale del radicale 6-idro-5-timilico TH*

** campioni portati a -30 °C e registrati a 77 K; l'ampiezza di riga è quella del segnale del radicale 6-idro-5-timilico

Conclusioni

È stato sperimentato un metodo EPR basato sull'analisi delle specie prodotte nella radiolisi del DNA idrato a 77 K allo scopo di studiare gli effetti del LET della radiazione sulla fase primaria del danno radiobiologico. La sperimentazione ha riguardato il confronto degli effetti prodotti dall'irraggiamento di DNA idrato con fasci di H⁺ e D⁺ di uguale energia.

Rispetto all'irraggiamento con protoni, quello con deutoni ha prodotto una riduzione della resa globale delle specie primarie C[•] e G^{•+} (e del loro prodotto di trasformazione, il radicale TH[•]) mentre è risultata inalterata la loro abbondanza relativa. Inoltre, è stato quantificato un aumento dell'ampiezza di riga negli spettri EPR causato da *bipolar broadening*; questo effetto si attenua all'aumentare della temperatura e scompare dopo annealing dei campioni a -30 °C. Entrambi gli effetti si possono attribuire all'aumento della concentrazione intra-traccia delle specie radiolitiche causato dal maggiore valore di LET dei deutoni rispetto ai protoni.

I risultati ottenuti dimostrano che il metodo adottato ha le caratteristiche di sensibilità e di riproducibilità adeguate per fornire informazioni sugli effetti del LET della radiazione sulla resa e distribuzione anche spaziale delle specie primarie della radiolisi.

Radiolisi γ di complessi DNA/Pt(II)

Il DNA di timo di vitello, ottenuto dalla ditta Sigma in forma di sale sodico, è stato purificato mediante trattamento con proteinasi K seguito da estrazione dei residui proteici e doppia precipitazione del DNA da soluzione acquosa per aggiunta di etanolo. Le esperienze sono state eseguite con DNA "anidro" (rapporto moli di H₂O/moli di nucleotidi, $\Gamma =$ circa 3-4) e con DNA idrato ($\Gamma =$ circa 30) ottenuti rispettivamente mantenendo per 24 h il DNA sotto vuoto o in atmosfera satura di umidità a 25 °C.

I complessi del DNA con Pt(II) sono stati preparati facendo reagire per 24 h a 37 °C cisdiclorodiamminoPt(II) (CDDP), transdiclorodiammino Pt(II) (TDDP) e il cloruro di dietilendiammino Pt(II) (DienP) con DNA in soluzione acquosa in rapporti molari Pt(II)/guanina variabili da 1:1 a 1:2.

Per gli irraggiamenti γ si è utilizzata una sorgente di ^{60}Co con un rateo di dose di 1,7 kGy/h e dosi totali di 15-20 kGy. Gli irraggiamenti con fasci di protoni da 5.6 MeV sono stati effettuati con l'acceleratore Van de Graaff CN 7 MV dei Laboratori Nazionali di Legnaro – INFN, Legnaro (Padova), nelle condizioni di seguito specificate. Sia gli irraggiamenti γ che con protoni sono stati effettuati con i campioni mantenuti alla temperatura dell'azoto liquido allo scopo di favorire l'intrappolamento delle specie radiolitiche primarie.

Gli spettri EPR sono stati registrati con un Varian E-109 in un intervallo di temperatura variabile da 77 a 298 K.

Risultati

Irraggiamenti γ del DNA idrato non complessato

Gli spettri registrati a 77 K dopo irraggiamento alla stessa temperatura si presentano come doppietti di ca 14 G parzialmente risolti. La simulazione al calcolatore effettuata combinando linearmente gli spettri di singole specie radicaliche ricostruiti sulla base di parametri EPR riportati in letteratura dimostra la presenza di radicali cationi della guanina $\text{G}^{+\bullet}$ e di radicali anioni della citosina $\text{C}^{-\bullet}$ (7).

È presente anche in minore quantità il radicale di tipo allilico TCH_2^{\bullet} formalmente derivante dalla rottura di legami C-H nei metili della timida:

$$\text{G}^{+\bullet} 43,5\% \quad \text{C}^{-\bullet} 41,2\% \quad \text{TCH}_2^{\bullet} 15,3\%$$

L'aumento della temperatura produce una progressiva diminuzione della popolazione radicalica e l'attesa parziale conversione dei radicali primari in radicali 5,6 dididrotimilici TH^{\bullet} (Tabella 3).

Tabella 3. DNA idrato irraggiato a 77 K. Variazione della concentrazione relativa dei radicali indotta dall'aumento della temperatura dopo l'irraggiamento (tra parentesi sono riportate le percentuali dei radicali TH^{\bullet} rispetto alla concentrazione radicalica totale attuale). I campioni sono stati mantenuti per 1 h alle varie temperature e gli spettri registrati a 77 K

T(K)	% radicali totali	% dei radicali TH^{\bullet} (rispetto alla loro concentrazione iniziale)
77	100	0,8 (0,8%)
93	95,5	1,1 (1,15%)
133	67,4	1,2 (1,78%)
173	52,8	7,9 (15%)
213	18,8	12,0 (63,8%)
243	3,6	3,6 (100%)

Irraggiamenti del DNA anidro non complessato

Lo spettro EPR ottenuto dopo irraggiamento a 77 K presenta differenze significative rispetto al DNA idrato, che riguardano la resa totale dei prodotti radicalici, che risulta più elevata, e la natura della specie anionica principale, che in questo caso è T^{\bullet} invece che $\text{C}^{-\bullet}$:

$$\text{T}^{\bullet} 40,7\% \quad \text{C}^{-\bullet} 9,6\% \quad \text{G}^{+\bullet} 49,6\%$$

L'effetto dell'aumento della temperatura sopra i 77 K è caratterizzato da una cinetica di decadimento dei radicali molto più lenta che nel DNA idrato (Tabella 4).

Tabella 4. DNA anidro irraggiato a 77 K. Variazione della concentrazione relativa dei radicali indotta dall'aumento della temperatura. I campioni sono stati mantenuti per 1 h alle varie temperature e gli spettri registrati a 77 K

T(K)	% radicali totali	% dei radicali TH [•] (rispetto alla loro concentrazione iniziale)
77	100	1,0 (1,0%)
93	95,1	1,1 (1,16%)
133	88,6	1,1 (1,24%)
173	76,9	1,9 (2,47%)
213	71,8	4,4 (6,13%)
243	55,0	5,5 (10%)
298 (6 hr)	42,3	8,2 (19,39%)
298 (96 hr)	42,3	8,2 (19,39%)

Altre differenze significative riguardano la natura e distribuzione delle specie radicaliche secondarie generate per effetto dell'aumento della temperatura dopo l'irraggiamento. In particolare è stato possibile identificare la specie G[•](C8OH) (addizione di radicali OH nella posizione C-8 della guanina), il radicale TH[•] (prodotto con resa inferiore rispetto al DNA idrato), il radicale TCH₂[•], e i radicali G[•](N10-H) e G[•](N1-H), generati per deprotonazione di G⁺ nelle posizioni N1 e nel gruppo amminico esociclico:

G[•](C8OH) 28,1% TH[•] 10,5% T[•] (CH₂) 23,0% G[•](N10-H) 25,8% G[•] (N1-H) 12,8%

Complessi del DNA idrato con Pt(II)

I complessi preparati a partire da rapporti molari guanina/Pt(II) 1:1 presentano oltre l'85% di guanina legata al Pt nella posizione N7. Questo dato è stato acquisito mediante modello cinetico della reazione di complessazione applicando le costanti di velocità riportate in letteratura (13, 14).

Il complesso ottenuto dalla reazione del DNA con dietilendiamminocloroPt(II), dopo irraggiamento a 77 K produce uno spettro EPR simile a quello ottenuto dal DNA puro ma con la caratteristica di una più evidente risoluzione del doppietto. La simulazione al calcolatore ha permesso di dimostrare che questa differenza è causata da un aumento della concentrazione relativa di C[•] rispetto a G⁺:

G⁺ 34,6% C[•] 52,7% (TCH₂)[•] 12,7%

Gli effetti sono tuttavia modesti e ciò è sorprendente considerata l'entità della perturbazione introdotta nella struttura del DNA attraverso la complessazione delle guanine (quasi completamente alterato lo *stacking* parallelo delle basi). Risultati simili sono stati ottenuti anche dai complessi del DNA con cisdiclorodiammino Pt(II) e transdiclorodiammino Pt(II).

Differenze più sostanziali sono invece state osservate per effetto dell'annealing a 213 K sulla resa e distribuzione delle specie secondarie:

G[•](C8OH) 21,0% TH[•] 23,2% T(CH₂)[•] 34,8% G[•](N10-H) 25,8% G[•] (N1-H) 12,7% Fapy-G[•] 8,3%
(radicale formammido pirimidinico generato per decomposizione di G[•](C8OH))

Il dato più significativo è rappresentato dalla diminuzione della resa di radicali TH[•] (Tabella 5) e dall'aumento delle rese dei radicali allilici della timina T(CH₂)[•]. Inoltre, mediante sottrazione degli spettri registrati a bassa e alta potenza, si è ottenuta evidenza della presenza di segnali EPR delle specie paramagnetiche Pt(I) e Pt(III) derivanti rispettivamente da eventi di cattura e perdita di elettroni da parte di Pt(II) complessato.

$$\text{Pt(I)} \text{ g}^{-1} = 2,016 \text{ g} \parallel = 2,047 ; \text{Pt(III)} \text{ g}^{-1} = 2,069 \text{ g} \parallel = 2,001$$

Parte di questi centri paramagnetici sembrano essere già presenti prima dell'annealing sopra 77 K.

Risultati simili a quelli descritti per il complesso con DienPt(II) sono stati ottenuti dagli altri complessi del DNA con cisdiclorodiammino Pt(II) e transdiamminodichloro Pt(II).

Tabella 5. DNA idrato complessato con cisdiclorodiammino Pt(II) irraggiato a 77 K. Variazione della concentrazione relativa dei radicali indotta dall'aumento della temperatura. I campioni sono stati mantenuti per 1 h alle varie temperature e gli spettri registrati a 77 K

T(K)	% radicali totali	% dei radicali TH [•] (rispetto alla loro concentrazione iniziale)
77	100	1,1 (1,1%)
93	88,2	1,2 (1,36%)
133	90,3	1,3 (1,44%)
173	76,1	2,1 (2,76%)
213	33,3	1,7 (5,11%)
243	18,1	0,7 (3,87%)

Conclusioni

Radiolisi del DNA complessato con Pt(II)

Gli effetti della complessazione con Pt(II) sulla radiolisi del DNA sono riassunti nei seguenti punti:

- 1) La complessazione dei residui guanosinici a livello dell'85% induce solo una modesta perturbazione nel processo di migrazione e localizzazione finale delle buche (*hole*). Ciò dimostra che:
 - a) lo *stacking* regolare delle basi nella struttura della doppia elica non è così importante come ipotizzato nei modelli (4);
 - b) la localizzazione finale degli *hole* nel 15% di guanine non complessate implica, in accordo con le conclusioni di Giese (5), che la migrazione delle cariche positive nella struttura del DNA è un processo a lungo raggio.
- 2) Gli effetti del Pt(II) sono molto evidenti sulle reazioni che portano alla formazione delle specie radiolitiche secondarie; in particolare, la riduzione di resa dei radicali 5,6 didrotimilici TH[•] dimostra che ha luogo una significativa inibizione della via anionica che può verificarsi per trasferimento di elettroni da C^{-•} a Pt(II) con formazione dei centri Pt(I) e inibizione della reazione 1 (Figura 2).

L'inibizione della reazione 1 può anche verificarsi per effetto dell'incremento di acidità della guanina legata al Pt(II) che favorisce la protonazione di C^{-•} attraverso il ponte di idrogeno. Le osservazioni sugli effetti chimici della complessazione del DNA con Pt(II) possono costituire una base per l'interpretazione dei fenomeni di radiosensibilizzazione e *cross resistance* riportati in letteratura (10-12).

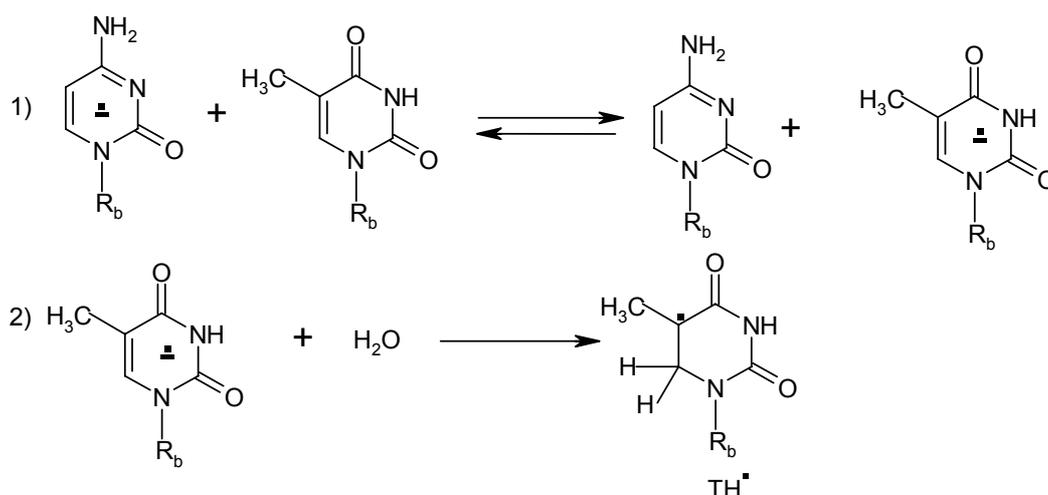


Figura 2. Meccanismo di formazione dei radicali TH• nella radiolisi del DNA

Bibliografia

1. Sevilla MD, Becker D. Radiation damage in DNA. *J Chem Soc* 1997; Annual Report 130.
2. Bernhard WA. Contributions of EPR to the understanding of radiation damage to DNA. Meeting Report. *Radiat* 1997;147:511-25.
3. Becker D, Sevilla MD. The chemical consequences of radiation damage to DNA. *Adv Radiat Biol* 1993;17:121-80.
4. Berlin YA, Burin AL, Ratner MA. Charge hopping in DNA. *J Amer Chem Soc* 2001;2:260-8.
5. Giese B, Wessely S, Spormann M, Lindemann U, Meggers E, Michel-Beyerle ME. On the mechanism of long-range electron transfer through DNA. *Angew Chem Int e* 1999;38(7):996-8.
6. Fautitano A, Mele A, Buttafava A, Martinotti F. The ESR spectrum of irradiated DNA: a novel interpretation based on M.O calculations and computer simulations. *J Chem Soc* 1985;PII:329.
7. Fautitano A, Buttafava A, Martinotti F, Pedrali-Noy G. ESR study of the direct radiolysis of DNA, DNA-histones and DNA-intercalator complexes. *Radiat Phys Chem* 1992;40:357.
8. Fautitano A, Buttafava A, Magnaghi S, Pedrali-Noy G. ESR study of radical processes in irradiated DNA: the effect of complexation with cis-dichlorodiamino Pt(II). *Res Chem Intermed* 1996;4:325.
9. Fautitano A, Buttafava A, Daccò A, Olinas A, Cherubini R. ESR study of the chemical damage in DNA by 60-Co and 5.6 MeV protons. The effect of the mono and bifunctional complexation with Pt(II). *Radiat Phys Chem* 1999;54:175.
10. Oshita F, Fujiwara Y, Sajio N. Radiation sensitivities in various anticancer-drug-resistant human lung cancer cell lines and mechanism of radiation cross-resistance in a cisplatin resistant cell lines. *J Cancer Res Clin Oncol* 1992;119:28-34.
11. Ji-Rong Sun, Brown JM. Lack of differential radiosensitization of hypoxic cells in mouse tumor at low radiation dose per fraction of cisplatin. *Radiat Res* 1993;133:252.
12. Dewit L. Combined treatment of radiation and cis-diamminedichloroplatinum(II): a review of experimental and clinical data. *J Radiat Oncology Biol Phys* 1987;13:403.

13. Kozelka J, Legendre JF, Reeder F, Chottard JC. Kinetic aspects of interaction between DNA and platinum complexes. *Coord Chem Rev* 1999;190:61-82.
14. Bancroft DP, Lepre CA, Lippard SJ. ¹⁹⁵Pt NMR kinetic simulation and mechanistic study of cis and trans-diamminedichloro platinum(II) binding to DNA. *J Amer Chem Soc* 1990;112:6860.
15. Umapathy P. The chemical and biochemical consequences of the binding of the antitumor drug cisplatin and other platinum group metal complexes to DNA. *Coord Chem Rev* 1989;95:129-81.

FASCI TERAPEUTICI: VALUTAZIONE DEGLI EFFETTI BIOLOGICI CON CODICI MONTE CARLO

Mauro Belli (a), Alessandro Campa (a), Ilaria Ermolli (b), Maurizio Rosetti (c)

(a) Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità e Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione Roma 1, Gruppo collegato Sanità, Roma

(b) Osservatorio Astronomico, Roma

(c) Dipartimento Innovazione, Ente per le Nuove tecnologie, l'Energia e l'Ambiente (ENEA), Bologna

Introduzione

Gli effetti biologici che si manifestano in un tessuto attraversato da una radiazione ionizzante, dipendono, oltre che dal valore della dose rilasciata, anche dalle caratteristiche della radiazione, ossia essenzialmente dal tipo di particelle incidenti e dalla loro energia; al variare di queste caratteristiche si parla di un cambiamento della qualità della radiazione. Questo significa che per valutare gli effetti biologici non è sufficiente considerare grandezze che esprimono dei valori medi relativi al fascio incidente, quali appunto la dose rilasciata, od equivalentemente il trasferimento lineare di energia (*Linear Energy Transfer*, LET), ma bisogna aver presente che intervengono altri fattori.

Gli eventi collegati alla ionizzazione, i quali poi producono gli effetti cellulari osservabili, hanno una distribuzione spaziale, a livello microscopico, che dipende dalla qualità della radiazione. Queste differenti distribuzioni si traducono in diverse correlazioni tra gli eventi, ed è ora opinione accettata che questa sia la causa principale che distingue le varie radiazioni, per quanto riguarda gli effetti biologici (1), anche se una precisa caratterizzazione quantitativa del legame fra queste correlazioni e l'effetto biologico è ancora mancante.

Il bersaglio principale, i cui danni a seguito di irraggiamento determinano gli effetti cellulari, è il DNA, e gli eventi più importanti sono le doppie rotture, che causano un'interruzione della catena macromolecolare. Vi sono oggi molte indicazioni che la capacità riparativa delle doppie rotture dipende dalla loro distribuzione spaziale; infatti una concentrazione di esse nell'arco di un segmento non troppo lungo di DNA potrebbe rendere meno efficaci i meccanismi di riparazione. Da questo si può capire come un uguale numero di doppie rotture può avere conseguenze differenti a livello cellulare, a seconda della loro correlazione spaziale o della vicinanza di altre lesioni (doppie rotture complesse). Radiazioni densamente ionizzanti tendono in generale a produrre eventi di ionizzazione tra loro correlati, e in particolare anche doppie rotture spazialmente prossime o complesse. Come conseguenza, passando da raggi γ a protoni, e poi a ioni più pesanti, quali ad esempio carbonio, salendo cioè la scala della densità di ionizzazione, si riscontra una progressiva tendenza ad un aumento dell'efficacia biologica della dose rilasciata. Nel tentativo di caratterizzare numericamente l'efficacia di una radiazione si è introdotta l'efficacia biologica relativa (*Relative Biological Effectiveness*, RBE), ossia l'efficacia biologica relativa, definito come il rapporto, a parità di effetto, tra la dose della radiazione di riferimento (raggi X o γ) e quella della radiazione considerata.

I fatti appena descritti hanno una notevole incidenza sulle questioni legate all'adroterapia. Da un lato, l'uso di protoni o di altri ioni facilita, rispetto alla radioterapia convenzionale, la conformazione della dose rilasciata al volume che interessa colpire (soprattutto se situato in profondità), con un relativo risparmio dei tessuti sani; questo a causa del notevole aumento della ionizzazione specifica a fine percorso (picco di Bragg), che tra l'altro rende possibile una

modulazione del fascio per avere zone soggette ad una dose abbastanza uniforme. Dall'altro lato, il variare dell'efficacia biologica con l'energia della particella fa sì che un'uniformità di dose non si traduce in un'uniformità di effetto, poiché nelle zone in cui è stata rilasciata una stessa dose ciò è avvenuto da parte di particelle con una diversa distribuzione in energia. Inoltre, occorre considerare, anche se questo per i protoni è quantitativamente meno rilevante rispetto a ioni più pesanti, che le interazioni nucleari anelastiche possono creare delle particelle secondarie, che spesso hanno un elevato RBE e che quindi contribuiscono in maniera non trascurabile all'effetto biologico. Quindi i vantaggi che sul piano terapeutico l'adroterapia offre rispetto alla radioterapia convenzionale si accompagnano, per quanto riguarda una esatta previsione quantitativa degli effetti, ad una più difficile valutazione.

Modello di calcolo

Sul fronte della modellizzazione teorica degli effetti delle radiazioni ionizzanti, è possibile assumere diversi atteggiamenti e modi di procedere. Un tipo di approccio, che si può considerare più microscopico, si propone di costruire una teoria che leghi la distribuzione, al livello del nanometro, degli eventi quali le doppie rotture, agli effetti cellulari. Se si riesce a stabilire, per una data qualità di radiazione, quale sia questa distribuzione, allora una tale teoria potrebbe determinare una relazione quantitativa tra le diverse radiazioni e il relativo livello di danno cellulare. Questo è il quadro in cui si muove il gruppo di Milano che partecipa a questo progetto (2). Un altro metodo, più fenomenologico, prende come punto di partenza i dati sperimentali riguardanti gli effetti cellulari a seguito di irraggiamento in condizioni in cui il fascio incidente è facilmente caratterizzabile (ad esempio un fascio monoenergetico), e su di essi tenta di modellizzare gli effetti derivanti da irraggiamento con fasci generici. Il nostro gruppo lavora in questa direzione, e in questa sezione esponiamo gli aspetti del modello. Vogliamo comunque sottolineare che, in entrambi i casi, lo strumento di calcolo che permette di avere valutazioni quantitative è la simulazione attraverso codici Monte Carlo, che permettono di tenere conto della natura essenzialmente probabilistica degli eventi di ionizzazione e quindi degli effetti ad essi conseguenti. Naturalmente il tipo di codice impiegato dipende dalla scala spaziale alla quale si sta affrontando lo studio.

Molti esperimenti su colture cellulari determinano curve dose-risposta a seguito di irraggiamento con fasci monoenergetici. Qui siamo interessati principalmente alla sopravvivenza cellulare, tuttavia è bene precisare che lo stesso tipo di analisi che ora descriviamo è applicabile in principio anche per altri tipi di risposta, quale ad esempio l'induzione di mutazioni. Una volta ottenuti i punti sperimentali si esegue un *fit* con delle funzioni con pochi parametri; queste funzioni derivano da schemi teorici, che qui non possono essere trattati, sul legame tra eventi iniziali e danni cellulari (3). Una espressione tra le più largamente usate ha due parametri, e esprime la frazione di cellule sopravvissute (o equivalentemente la probabilità di sopravvivenza) in funzione della dose ricevuta attraverso la seguente formula:

$$S = \exp \{ -\alpha D - \beta D^2 \} \quad [1]$$

Quindi il logaritmo della sopravvivenza S è una funzione lineare-quadratica della dose D . I due parametri α e β , ottimizzati nel *fit*, dipendono dall'energia delle particelle incidenti, e questo esprime il fatto che l'efficacia biologica dipende dall'energia. Non entriamo qui nel merito dell'intervallo di validità di questa formula, che naturalmente non può estendersi a dosi arbitrariamente grandi, quando si manifesteranno sicuramente fenomeni di saturazione; comunque

essa è generalmente applicabile anche nei casi in cui si considerano dosi dell'ordine di 10 Gy, ed è oggi largamente utilizzata per descrivere in modo empirico le caratteristiche della risposta, indipendentemente dall'assunzione di specifici meccanismi di danno. Conoscendo i parametri della radiazione di riferimento, è possibile, con un semplice calcolo, determinare l'RBE che, è bene puntualizzare, dipende anche dal livello di sopravvivenza rispetto al quale si definisce.

Negli irraggiamenti in adroterapia si è in una situazione molto lontana da quella di un fascio monoenergetico. Infatti, anche se il fascio iniziale è monoenergetico, dopo che esso ha attraversato un certo spessore di materiale, in particolare il tessuto anteposto al volume bersaglio, le particelle che lo costituiscono hanno una distribuzione energetica non più praticamente piccata su di un singolo valore, e la larghezza di questa distribuzione aumenta con lo spessore attraversato; questo è dovuto al fenomeno della dispersione (straggling), ossia alle fluttuazioni attorno al valore medio delle perdite di energia delle particelle del fascio. Nel caso di un fascio modulato si parte direttamente con una distribuzione allargata. Per valutare gli effetti biologici, occorre quindi trovare una generalizzazione dell'espressione [1] adatta a fasci con distribuzioni arbitrarie. Per fare ciò è necessario introdurre delle ipotesi. Il termine lineare nella dose può essere attribuito all'azione concomitante e indipendente delle diverse tracce che attraversano il volume bersaglio, mentre il termine quadratico riflette gli effetti dovuti all'interazione delle diverse tracce. Di conseguenza, mentre una generalizzazione a fasci misti del termine lineare è abbastanza diretta, quella del termine quadratico richiede delle assunzioni sull'interazione di tracce di particelle con energie differenti (4, 5). Per precisare il problema, supponiamo di avere un bersaglio attraversato da particelle con due diversi valori di energia, E_1 e E_2 , a cui corrispondono i parametri α_1, β_1 e α_2, β_2 ; inoltre, siano D_1 e D_2 le dosi rilasciate alle due energie. Il termine lineare nella dose sarà semplicemente $\alpha_1 D_1 + \alpha_2 D_2$; per quanto riguarda il termine quadratico, i due parametri β non contengono l'informazione di come due tracce delle due diverse energie interagiscono ai fini della risposta del bersaglio. Nella nostra modellizzazione noi ipotizziamo che un parametro β "efficace" che descrive questa interazione è dato dalla radice quadrata del prodotto di β_1 per β_2 . Per la relazione dose-risposta si ottiene quindi l'espressione:

$$\begin{aligned} -\ln S &= \alpha_1 D_1 + \alpha_2 D_2 + \beta_1 D_1^2 + \beta_2 D_2^2 + 2\sqrt{\beta_1 \beta_2} D_1 D_2 = \\ &= \alpha_1 D_1 + \alpha_2 D_2 + \left(\sqrt{\beta_1} D_1 + \sqrt{\beta_2} D_2 \right)^2 \end{aligned} \quad [2]$$

Così come l'equazione (1) per fasci monoenergetici, questa espressione può trovare giustificazione in alcuni approcci teorici a livello più microscopico (3, 6), mentre altre formulazioni sono state proposte e comparate con questa (7-9). A questo punto la generalizzazione a distribuzioni arbitrarie di energia è abbastanza diretta. Ipotizzando per il momento di avere, per l'intero intervallo di energia su cui i fasci che dobbiamo analizzare sono distribuiti, i valori dei parametri α e β , relativi alle curve dose-risposta alle diverse energie, la sopravvivenza S sarà data dalla formula:

$$-\ln S = \int \alpha(E) dD(E) + \left(\int \sqrt{\beta(E)} dD(E) \right)^2 \quad [3]$$

dove $dD(E)$ è la dose rilasciata da particelle con energia compresa tra E ed $E+dE$. Prima di affrontare il problema di come questa espressione può essere effettivamente valutata, dobbiamo specificare in che maniera le due funzioni $\alpha(E)$ e $\beta(E)$ possono essere ottenute. Abbiamo detto sopra che questi parametri sono ricavati con dei *fit* sui grafici sperimentali delle relazioni dose-effetto; ma non si possono certo avere a disposizione dati per ogni singola energia dell'intervallo che ci interessa. Perciò le funzioni $\alpha(E)$ e $\beta(E)$ sono determinate a partire dai loro valori per le energie per le quali si dispone di informazioni sperimentali, e facendo

un'interpolazione per i valori intermedi e un'estrapolazione per gli altri valori. In Figura 1 diamo una descrizione visiva del modello adottato. Le simulazioni con codici Monte Carlo danno le distribuzioni in energia, in ogni punto di interesse, dei protoni che rilasciano la dose, e gli esperimenti con protoni monoenergetici permettono di determinare i parametri α e β delle curve di sopravvivenza a diverse energie. Integrando queste informazioni con il modello per l'interazione tra le diverse componenti energetiche, si ha la sopravvivenza a seguito dell'irraggiamento con ogni dato spettro.

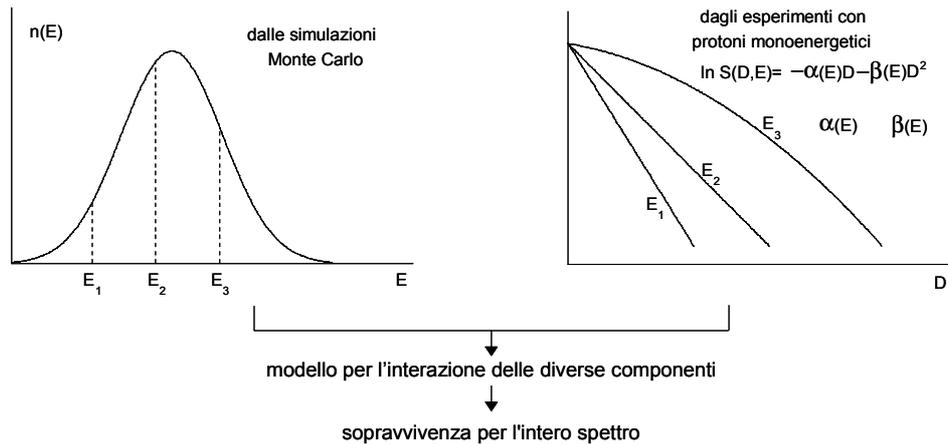


Figura 1. Schema del metodo impiegato per il calcolo della sopravvivenza nei diversi punti del tessuto attraversato dal fascio

Questa procedura ha sicuramente un certo grado di arbitrarietà, poiché niente ci dice con quale criterio l'interpolazione deve essere eseguita (noi abbiamo scelto un'interpolazione lineare); anche per l'estrapolazione ad energie superiori di quelle dei dati sperimentali si è guidati solo dall'ipotesi che per alte energie l'efficacia biologica degli ioni debba ridursi a quella della radiazione γ di riferimento (cioè, l'RBE deve tendere a 1), anche se non si ha sicurezza che quantitativamente questo sia proprio esatto. Tuttavia, si può ritenere, come effettivamente abbiamo verificato nei nostri calcoli, che le piccole variazioni derivanti da procedure diverse di interpolazione non influiscono in maniera apprezzabile nei risultati, nel senso che le variazioni in essi propagate sono trascurabili rispetto agli errori propagati dalle incertezze sperimentali sui parametri α e β alle energie disponibili.

Simulazione e risultati

Come fonte di dati per la dipendenza dall'energia dell'inattivazione cellulare abbiamo impiegato i risultati sulla sopravvivenza di cellule di hamster cinese V79, a seguito di irraggiamento con fasci monoenergetici di protoni di bassa energia prodotti ai Laboratori Nazionali di Legnaro dell'Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (10).

Stabiliti il modello e le espressioni da valutare, occorre ora eseguire i calcoli nelle effettive condizioni dell'irraggiamento con fasci terapeutici. Come già accennato, per questo si fa uso di

codici Monte Carlo. L'*input* è costituito dalle caratteristiche del fascio incidente e dalla geometria e composizione del volume irraggiato; il codice trasporta il fascio tenendo conto della distribuzione probabilistica degli eventi di ionizzazione e quindi delle perdite di energia delle particelle. Come *output* si possono ricavare le distribuzioni in energia delle particelle che attraversano ogni dato volumetto del bersaglio; è quindi possibile calcolare le sopravvivenze nei diversi punti del volume irraggiato, usando una formula perfettamente analoga alla (3), in cui appaiono esplicitamente le distribuzioni di energia anziché quelle in dose. Una trattazione abbastanza estesa si può trovare in Belli *et al.* (4); qui riportiamo una sintesi.

Se in un certo volumetto del tessuto bersaglio i protoni che rilasciano la dose hanno una distribuzione normalizzata di energia $n(E)$, la dose totale rilasciata è data da:

$$D = KN_p \int n(E)L(E)dE \quad [4]$$

dove $L(E)$ è il LET in funzione dell'energia, N_p il numero totale di protoni, e K un fattore di proporzionalità dipendente dalle unità di misura scelte. Utilizzando la distribuzione $n(E)$ la sopravvivenza (3) si esprime con:

$$-\ln S = KN_p \int \alpha(E)n(E)L(E)dE + (KN_p)^2 \left(\int \sqrt{\beta(E)}n(E)L(E)dE \right)^2 \quad [5]$$

Se si vuole conoscere l'effetto per una certa dose, basta ricavare il valore di KN_p dalla [4] e sostituirlo nella [5], dove appaiono le funzioni $\alpha(E)$ e $\beta(E)$ determinate come spiegato sopra. Queste stesse due ultime espressioni possono essere utilizzate per ricavare l'RBE da associare ad una certa distribuzione di energia $n(E)$, per un dato livello di sopravvivenza S_X . Infatti, si può dapprima, dalla formula [1] applicata alla radiazione di riferimento, calcolare l'ammontare di dose D_X rilasciata da quest'ultima e corrispondente a S_X ; inoltre, sostituendo S_X in [5], questa espressione diventa un'equazione quadratica in KN_p . Sostituendo la sua soluzione in [4] si può calcolare la dose D rilasciata da protoni con distribuzione di energia $n(E)$ e che hanno causato un livello di sopravvivenza S_X , e quindi il relativo RBE, uguale a D_X/D .

Naturalmente non è possibile simulare un fascio con un numero di particelle simile a quello del fascio reale, e una simulazione eseguita in tempi ragionevoli può comprenderne un numero dell'ordine di 10^5 . Sorge quindi il problema della rappresentatività statistica della simulazione. Esso può essere affrontato in un modo che al tempo stesso permette di calcolare on line durante la simulazione gli effetti biologici, senza dover effettivamente ricostruire le distribuzioni energetiche e compiere una successiva analisi *off line* (5). Prendiamo, infatti, come esempio il primo degli integrali nell'equazione [3], relativo ad un dato volumetto, e supponiamo che si abbia la sua valutazione dopo il passaggio di n particelle del codice Monte Carlo, indicando il corrispondente valore con $nI(n)$; questo significa che per $I(n)$ occorre considerare la distribuzione in dose normalizzata. Dopo il passaggio della successiva particella si avrà allora:

$$I(n+1) = \frac{nI(n) + \alpha(E_{n+1})\Delta D(n+1)}{n+1} \quad [6]$$

dove $\Delta D(n+1)$ è la dose rilasciata dalla $(n+1)$ -esima particella nel volumetto in questione. Si sarà realizzata una statistica soddisfacente quando di $I(n)$ avrà praticamente raggiunto un valore asintotico, cosa che nelle nostre simulazioni avviene. Per avere il valore effettivo della sopravvivenza nel caso reale basterà moltiplicare $I(n)$ per il numero di particelle del fascio reale, calcolabile sapendo la dose totale che si vuole rilasciare.

Mostriamo ora i risultati ottenuti per due tipi di fascio usati in protonterapia. Nel primo caso consideriamo un fascio esteso (diametro di 3 cm), inizialmente monoenergetico, usato al *Paul Scherrer Institut* (PSI) di Villigen (Svizzera) per trattamento oculare; l'energia iniziale dei protoni è intorno ai 60 MeV. Il codice Monte Carlo impiegato è GEANT (*GEometry And Tracking*),

sviluppato a Ginevra dal CERN (*Conseil Européen pour la Recherche Nucléaire*) e aggiornato regolarmente. Come volume bersaglio abbiamo interposto del PMMA (polimetilmetacrilato), che ha una composizione atomica simile a quella del tessuto biologico. Nel grafico a sinistra di Figura 2 (modificata da Belli *et al.* (4)) è mostrata la dose relativa rilasciata lungo l'asse del fascio in funzione della profondità, mentre il grafico a destra riproduce i risultati relativi alla sopravvivenza, sempre in funzione della profondità, nel caso in cui l'intensità del fascio sia tale che nel punto di sopravvivenza minore essa sia uguale a quella successiva al rilascio di 2 Gy da parte di raggi X da 200 kVp, presa come radiazione di riferimento. Considerando inoltre quest'ultimo livello di sopravvivenza come quello di riferimento, nel grafico a destra abbiamo inserito anche l'RBE, calcolato secondo quanto spiegato in precedenza.

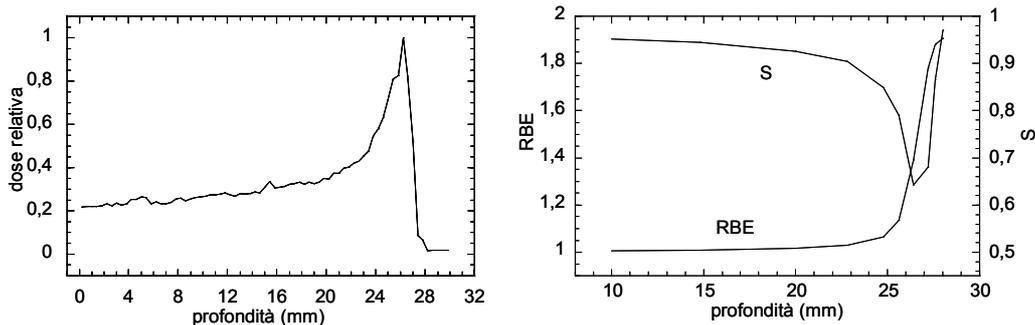


Figura 2. Sinistra: grafico della dose relativa, in funzione della profondità in PMMA, rilasciata da un fascio per trattamento oculare di energia iniziale di 57,7 MeV. Destra: sopravvivenza e RBE

Come secondo caso consideriamo il fascio esteso (diametro di 5 cm nella nostra simulazione) per trattamento di tumori profondi, in uso presso l'Harvard Cyclotron Laboratory, di energia iniziale di circa 158 MeV, modulato in modo da avere un picco di Bragg esteso, che fornisce una dose pressoché uniforme per un ampio intervallo di profondità. I risultati della nostra simulazione sono in Figura 3 (modificata da Belli *et al.*(5)), dove vengono riportati il profilo di dose e la sopravvivenza in funzione della profondità, sempre avendo come riferimento per la sopravvivenza minima quella relativa a 2 Gy della radiazione di riferimento; è importante sottolineare che, a causa della variazione di efficacia biologica con la distribuzione energetica delle particelle, un'uniformità di dose non equivale ad un'uniformità di effetto.

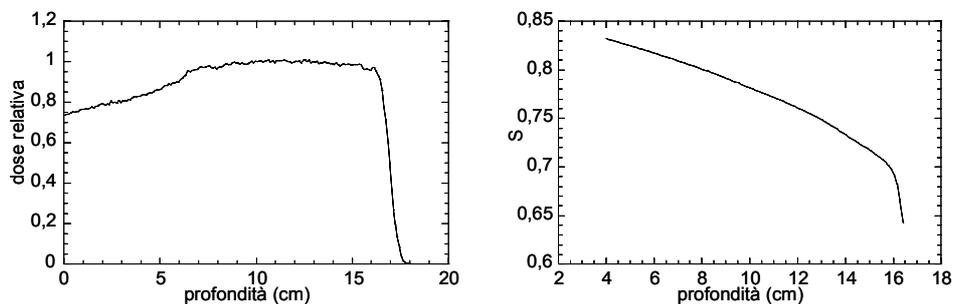


Figura 3. Sinistra: grafico della dose relativa, in funzione della profondità in acqua, rilasciata da un fascio modulato, per trattamento di tumori profondi, di energia iniziale di circa 158 MeV. Destra: sopravvivenza. Nella regione di dose uniforme non si ha un effetto uniforme

Per questo secondo fascio mostriamo anche un esempio di calcolo on line, eseguito secondo lo schema riassunto dall'espressione (6). La Figura 4 (modificata da Belli *et al.* (5)) fa vedere il valore dell'RBE in un dato volumetto del volume bersaglio, in funzione del numero di protoni simulati dal codice Monte Carlo; nel grafico in ascissa viene equivalentemente riportato il tempo di simulazione. Il valore asintotico viene raggiunto abbastanza velocemente.

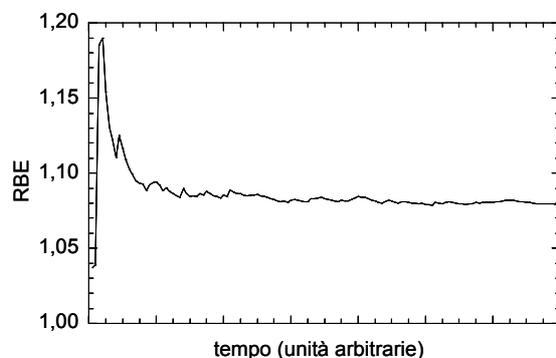


Figura 4. Valore dell'RBE, in un punto del volume bersaglio, in funzione del tempo di simulazione, o equivalentemente del numero di protoni simulati (il punto più a destra del grafico corrisponde alla simulazione di 62500 protoni)

Conclusioni

L'aspetto più importante e da sottolineare dei nostri risultati riguarda le conseguenze a livello terapeutico di un RBE dipendente dalla profondità nel tessuto irradiato, sia nel caso di fasci monocromatici che modulati. Infatti, questo significa che il picco di Bragg "biologico" si estende oltre quello fisico, come già rilevato sperimentalmente (11); la ragione principale di ciò è l'elevata efficacia biologica dei protoni di bassa energia. Questo causa anche la non uniformità di effetto nella regione irraggiata con un fascio modulato in modo da avere una dose uniforme; specialmente nella parte distale del picco di Bragg esteso si può avere un notevole aumento dell'RBE, come anche alcuni risultati sperimentali più recenti mettono in evidenza (12, 13). A tale effetto potrebbe essere necessario prestare attenzione nei casi in cui la configurazione geometrica del volume da colpire venisse a trovarsi, nella parte finale del percorso delle particelle irraggianti, in forte prossimità di strutture o organi critici.

Il modello da noi costruito per il calcolo degli effetti biologici di una qualsiasi configurazione di fascio richiede i dati sperimentali di curve dose-risposta come *input* essenziale; è inoltre chiaro che di quanti più dati di questo tipo si dispone, minori saranno le possibili conseguenze della necessaria arbitrarietà del processo di estrapolazione nella costruzione delle funzioni $\alpha(E)$ e $\beta(E)$. Inoltre, una fonte di approssimazione è dovuta al trascurare, nei calcoli, gli effetti degli ioni secondari prodotti dalle interazioni nucleari anelastiche. Mentre ciò è ininfluenza per fasci di bassa energia (il nostro primo esempio), per i fasci a più alta energia la dose rilasciata dai secondari potrebbe non essere trascurabile, a causa della maggiore probabilità che essi vengano prodotti, nel percorso maggiore compiuto dai protoni. Questo fatto diventa notevolmente più importante se si guarda oltre la protonterapia, per considerare i fasci terapeutici costituiti da ioni più pesanti, come il carbonio; in tal caso tra i

secondari, prodotti molto più frequentemente, occorre considerare anche quelli derivanti dalla frammentazione delle particelle del fascio, e diventa quindi essenziale avere informazioni sugli effetti dei loro rilasci di dose. Questa difficoltà non è caratteristica del nostro modello. Anche un approccio più microscopico, in cui si prendono come punto di partenza gli eventi iniziali che poi causano il danno cellulare, necessita di conoscere come questi variano in funzione dell'energia e della carica dello ione che li produce.

I primi tentativi di adottare un punto di vista intermedio tra quello microscopico e quello descritto in questa sezione sono esposti in (14): senza arrivare al livello del nanometro, si cerca di mettere in corrispondenza i parametri dei *fit* sperimentali delle curve dose-risposta con le informazioni ottenibili da spettri microdosimetrici.

Bibliografia

1. Goodhead DT. Initial events in the cellular effects of ionizing radiation: clustered damage in DNA. *Int J Radiat Biol* 1994;65:7-17.
2. Ottolenghi A, Merzagora M, Paretzke HG. DNA complex lesions induced by protons and α -particles: track structure characteristics determining linear energy transfer and particle type dependence. *Radiat Environ Biophys* 1997;36:97-103.
3. Rossi HH, Zaider M. *Microdosimetry and its applications*. Berlino: Springer; 1996.
4. Belli M, Campa A, Ermolli I. A semi-empirical approach to the evaluation of the relative biological effectiveness of therapeutic proton beams: the methodological framework. *Radiat Res* 1997;148:592-8.
5. Belli M, Campa A, Ermolli I, Rosetti M. RBE evaluation of a modulated 160 MeV proton beam using Monte Carlo codes. *J Jap Soc Therap Radiol Oncol* 1997;9(suppl 2):103-7.
6. Zaider M, Rossi HH. The synergistic effects of different radiations. *Radiat Res* 1980;83:732-9.
7. Paganetti H, Olko P, Kobus H, Becker R, Schmitz T, Waligorski MPR, Filges D, Müller-Gartner HW. Calculation of relative biological effectiveness for proton beams using biological weighting functions. *Int J Radiat Onc Biol Phys* 1997;37:719-29.
8. Tilly N, Brahme A, Carlsson J, Glimelius B. Comparison of cell survival models for mixed LET radiation. *Int J Radiat Biol* 1999;75:233-43.
9. Kellerer AM. Accounting for radiation quality in heavy ion therapy. In: Kraft G, Langbein K (Ed.). *Proceedings of the 6th Workshop on heavy-charged particles in biology and medicine*. Baveno (Italia), 29 settembre-1 ottobre 1997. GSI Report 97-09. Rapporto E-1.
10. Belli M, Cera F, Cherubini R, Dalla Vecchia M, Haque AMI, Ianzini F, Moschini G, Saporà O, Simone G, Tabocchini MA, Tiveron P. RBE-LET relationships for cell inactivation and mutation induced by low energy protons in V79 cells: further results at the LNL facility. *Int J Radiat Biol* 1998;74:501-509.
11. Robertson JB, Williams JR, Schmidt RA, Little JB, Flynn DF, Suit HD. Radiobiological studies of a high energy modulated proton beam utilizing cultured mammalian cells. *Cancer* 1975;35:1664-77.
12. Courdi A, Brassart N, Hérault J, Chauvel P. The depth-dependent radiation response of human melanoma cells exposed to 65 MeV protons. *Br J Radiol* 1994;67:800-4.
13. Wouters BG, Lam GKY, Oelfke U, Gardey K, Durand RE, Skarsgard LD. Measurements of relative biological effectiveness of the 70 MeV proton beam at TRIUMF using Chinese hamster V79 cells and the high-precision cell sorter assay. *Radiat Res* 1996;146:159-70.
14. Belli M, Campa A. A semi-microscopic model for the evaluation of radiation damage. *Radiat Prot Dosim* 2002;99:419-20.

VALUTAZIONE DELLA RADIOSENSIBILITÀ CELLULARE ATTRAVERSO L'ANALISI DEL DANNO AL DNA

Mauro Belli (a,b), Franco Cera (c), Roberto Cherubini (c), Marta Dalla Vecchia (c), Valentina Dini (a), Giuseppe Esposito (a), Giuliano Moschini (c), Orazio Saporà (d,b), Giustina Simone (a,b), Eugenio Sorrentino (a,b), Maria Antonella Tabocchini (a,b), Paola Tiveron (c)

(a) Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione Roma 1, Gruppo collegato Sanità, Roma

(c) Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Laboratori Nazionali di Legnaro, Padova

(d) Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

L'interesse crescente che si è avuto negli ultimi anni nell'uso di particelle cariche come modalità terapeutica per la cura di tumori, è dovuto alle loro caratteristiche biofisiche e radiobiologiche, che potrebbero essere sfruttate per ottenere ulteriori vantaggi terapeutici. Una migliore conoscenza dei loro meccanismi d'azione può quindi portare all'ottimizzazione dei protocolli di trattamento e allo sviluppo di opportuni test predittivi. Problemi chiave sono la quantificazione e l'identificazione di lesioni molecolari prodotte dalle radiazioni ionizzanti a carico del DNA cellulare e la comprensione della loro rilevanza nel determinare gli effetti biologici a livello cellulare.

Le radiazioni ionizzanti producono diversi tipi di danno a carico del DNA: singole (*Single Strand Breaks*, SSB) e doppie rotture (*Double Strand Breaks*, DSB) della catena fosfodiesterica, danni alle basi o allo zucchero, legami crociati sia all'interno della stessa catena che tra due catene, legami crociati tra DNA e proteine. Tra questi diversi tipi di lesioni prodotte, un'attenzione particolare è rivolta alle DSB, considerate il danno precursore di effetti quali le aberrazioni cromosomiche, le mutazioni, la trasformazione oncogenica e la morte cellulare (1).

La qualità della radiazione influisce notevolmente sull'efficacia biologica delle radiazioni ionizzanti (2). Radiazioni densamente ionizzanti, in generale, producono più eventi letali rispetto a radiazioni sparsamente ionizzanti (3, 4). Nell'ipotesi che le DSB abbiano un ruolo cruciale nell'inattivazione cellulare, i fattori che possono spiegare l'aumentata efficacia delle radiazioni densamente ionizzanti a livello cellulare sono due: una maggiore quantità di DSB iniziali e/o una ridotta capacità di ripararle. Questa diminuita capacità di riparare il danno può essere messa in relazione con la presenza di lesioni del DNA raggruppate, prodotte con maggiore frequenza dalle radiazioni densamente ionizzanti rispetto a quelle sparsamente ionizzanti, che danno luogo a lesioni "complesse", difficilmente riparabili (5, 6), o ad una maggiore frequenza di piccoli frammenti (7, 8). In effetti, il numero iniziale di DSB non risulta correlato con l'inattivazione prodotta da radiazioni di diversa qualità (9), indicando che esse possono produrre DSB con diverse conseguenze biologiche.

Esperimenti effettuati utilizzando sistemi biologici e radiazioni ben caratterizzati, inclusi protoni di diversa energia, sono indispensabili per produrre dati utili a chiarire i meccanismi alla base della risposta biologica. Il lavoro qui descritto si inquadra in uno studio sistematico effettuato in collaborazione tra l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) e i Laboratori Nazionali di Legnaro (LNL) dell'Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (INFN) utilizzando cellule di Hamster cinese coltivate *in vitro* irradiate con fasci monoenergetici di ioni leggeri, di diverso

trasferimento lineare di energia (*Linear Energy Transfer*, LET). È stata valutata la sopravvivenza cellulare, il numero iniziale e le cinetiche di ricongiungimento delle DSB, con lo scopo di cercare una possibile correlazione tra danno molecolare e danno cellulare.

Materiali e metodi

Fibroblasti di Hamster cinese V79 sono stati fatti crescere in monostrato in E-MEM addizionato con glutammina, antibiotici e siero fetale al 10%. Gli irraggiamenti sono stati effettuati utilizzando capsule Petri in acciaio con il fondo costituito da un foglio di mylar dove le V79 sono state fatte crescere in monostrato per 18 ore, in modo tale da avere sempre cellule in fase esponenziale di crescita. Per la valutazione delle doppie rotture al terreno è stata aggiunta timidina- ^{14}C ($1,85 \times 10^3 \text{ Bq cm}^{-3}$) in modo tale che le cellule potessero duplicarsi almeno 4 volte in sua presenza prima dell'irraggiamento.

Le irradiazioni sono state effettuate presso la facility per radiobiologia dell'acceleratore Van de Graaff da 7 MV dei Laboratori Nazionali di Legnaro dell'INFN (10), utilizzando fasci monoenergetici di protoni, deutoni, ioni elio-3 e elio-4, ognuno di due diverse energie (Tabella 1). Per la sopravvivenza cellulare è stato utilizzato un rateo di dose di 1 Gy/min, mentre per la valutazione delle DSB un rateo di dose di 15 Gy/min. In quest'ultimo caso le irradiazioni sono state effettuate a 4°C per minimizzare la riparazione delle DSB radioindotte. La cinetica di ricongiungimento delle DSB è stata studiata dopo una dose di $\approx 45 \text{ Gy}$ ($\pm 10\%$) tenendo le cellule a 37°C per un massimo di 2 ore. Come radiazione di riferimento sono stati utilizzati raggi γ da ^{60}Co , presso l'ISS.

Tabella 1. Parametri del fascio incidente e a metà dello spessore cellulare (3 μm)

Radiazione	Energia (MeV)	Energia a 3 μm (MeV)	LET a 3 μm (keV/ μm)	Range a 3 μm (μm)
Protoni	4,50	3,189	10,90	171,5
	3,00	0,743	30,84	15,5
Deutoni	6,50	4,861	13,34	215,4
	3,82	0,512	62,04	6,9
$^3\text{He}^{++}$	11,0	7,343	52,94	83,5
	8,80	4,076	81,27	32,4
$^4\text{He}^{++}$	13,5	9,724	53,02	110,5
	9,00	2,942	123,24	17,6

Per valutare la frazione di cellule che sopravvivono ad una data dose, subito dopo l'irradiazione, effettuata a temperatura ambiente, le cellule state tripsinizzate, opportunamente diluite e lasciate crescere per 6 giorni a 37°C in atmosfera di aria e CO_2 5%. Sono state considerate rappresentative delle cellule sopravvissute tutte le colonie composte da più di 50 cellule. Le curve dose-risposta sono state ottenute interpolando i dati sperimentali con funzioni lineari o lineari-quadratiche della dose (11).

Per valutare il danno al DNA, immediatamente dopo l'irradiazione, o dopo l'opportuno tempo di ricongiungimento, le cellule sono state tripsinizzate a freddo e centrifugate a 4°C. Il pellet cellulare è stato quindi risospeso in agarosio a bassa temperatura di gelificazione e sono stati formati dei blocchetti di gel contenenti la sospensione cellulare che sono stati incubati per almeno

12 ore in soluzione di lisi contenente proteinasi K e detergenti. I blocchetti sono stati quindi lavati con tampone Tris-EDTA (etilendiaminotetraacetato di sodio) e conservati nello stesso tampone a 4 °C. Il numero di DSB, sia iniziali che residue, è stato valutato con la tecnica dell'elettroforesi in campo costante (*Constant Field Gel Electrophoresis*, CFGE) misurando la quantità di radioattività che viene rilasciata nel gel dal pozzetto (*Fraction of Activity Released*, FAR) dove è stato inserito il blocchetto, e utilizzando per l'analisi dati il modello di induzione casuale del danno di Cook e Mortimer (12), modificato (13). Le cinetiche di ricongiungimento delle DSB sono state determinate calcolando la frazione di DSB residue al tempo t e analizzando i dati sperimentali con delle curve esponenziali decrescenti.

Risultati e discussione

Le curve di sopravvivenza, ottenute dalla frazione di cellule sopravvissute in funzione della dose nell'intervallo 0,5-6 Gy, sono abbastanza ben rappresentate da andamenti lineari o lineari-quadratici a seconda del tipo e della qualità della radiazione. Con i raggi γ si ottiene un andamento lineare-quadratico mentre con i protoni, così come con le altre particelle studiate, all'aumentare del LET si osserva una progressiva diminuzione della componente quadratica, fino ad andamenti puramente lineari (11, 14).

I grafici della FAR in funzione della dose (intervallo di dose considerato 5-80 Gy) hanno mostrato, indipendentemente dal tipo di radiazione studiato, un incremento sigmoide che si riflette in un aumento lineare delle DSB in funzione della dose (15).

Nella Tabella 2 sono riportati i valori di efficacia biologica relativa (*Relative Biological Effectiveness*, RBE), intesa come rapporto tra le pendenze iniziali delle curve di sopravvivenza (α/α_γ) per l'inattivazione cellulare, e come rapporto tra il numero di DSB iniziali per Gy e per bp (y/y_γ) o come rapporto tra il numero di DSB residue dopo 2 ore di riparazione (N/N_γ) per la valutazione del danno iniziale o residuo. Dalla Tabella 2 è evidente una dipendenza dal LET per quanto riguarda l'inattivazione cellulare (11, 14 e risultati non pubblicati), e una scarsa dipendenza per quanto riguarda le DSB iniziali (con valori di RBE circa uguali a 1).

Tabella 2. Valori di RBE per i diversi effetti studiati

Radiazione	LET a 3 μm (keV/ μm)	Frazione N_{DSB} residue (misurata dopo 2 h)	RBE		
			<i>inattivazione cellulare</i>	<i>DBS iniziali</i>	<i>DSB residue dopo 2 h</i>
raggi γ		0,14 \pm 0,02	1,00	1,00	1,00
protoni	11	0,21 \pm 0,03	2,9 \pm 0,4	1,2 \pm 0,1	1,8 \pm 0,4
	31	0,59 \pm 0,05	5,6 \pm 0,5	1,5 \pm 0,1	6,0 \pm 1,1
deutoni	13	0,23 \pm 0,04	1,9 \pm 0,3	1,2 \pm 0,1	1,8 \pm 0,5
	62	0,54 \pm 0,03	6,1 \pm 0,6	1,3 \pm 0,1	4,7 \pm 0,6
$^3\text{He}^{++}$	53	0,37 \pm 0,02	5,8 \pm 0,6	1,1 \pm 0,1	2,9 \pm 0,3
	81	0,49 \pm 0,02	5,6 \pm 0,6	1,2 \pm 0,1	3,9 \pm 0,4
$^4\text{He}^{++}$	53	0,39 \pm 0,03	4,6 \pm 0,5	1,2 \pm 0,1	3,3 \pm 0,5
	123	0,68 \pm 0,03	5,3 \pm 0,5	0,8 \pm 0,1	3,8 \pm 0,4

Tra i motivi per cui non si ha correlazione tra le relazioni RBE-LET per la sopravvivenza e per il danno iniziale (DSB), potrebbe esserci una possibile sottostima del numero di DSB iniziali indotte da radiazioni densamente ionizzanti, dovuta all'assunzione di una induzione casuale di danno nell'analisi della FAR (16). Inoltre, le radiazioni densamente ionizzanti, rispetto a quelle sparsamente ionizzanti, inducono non solo un numero maggiore di cluster di DSB (DSB che non vengono risolte dalle tecniche comunemente impiegate per la loro determinazione), ma anche associazioni di DSB con altri danni, come SSB o danni alle basi. Questa aumentata complessità del danno può influire sulla sua riparabilità, con conseguenze sulla risposta a livello cellulare. Lo studio delle cinetiche di ricongiungimento delle doppie rotture può dare indicazioni indirette sull'esistenza di queste lesioni complesse.

I risultati relativi alle cinetiche di ricongiungimento delle DSB indotte dagli ioni leggeri studiati hanno mostrato una netta dipendenza dalla qualità della radiazione. I dati sperimentali ottenuti entro 2 ore di riparazione possono essere bene interpolati da una funzione esponenziale decrescente del tempo, che asintoticamente raggiunge un valore costante (di plateau). Si può ragionevolmente assumere che la funzione esponenziale rappresenti la quantità di DSB che vengono ricongiunte in maniera relativamente veloce (verosimilmente rifletta le DSB "semplici"), mentre il plateau corrisponda alle DSB che non sono riparabili o lo sono molto poco (verosimilmente rifletta le DSB complesse). La scarsa dipendenza della costante di tempo della componente esponenziale dalla qualità della radiazione (costante di tempo ≈ 35 minuti) indicherebbe che esiste una classe di DSB che sono ricongiunte approssimativamente con la stessa velocità, indipendentemente dal tipo di ione da cui sono state indotte, mentre varia in maniera significativa con la qualità della radiazione la quantità di DSB residue, anche dopo un tempo limitato di riparo come sono 2 ore (13).

I valori di RBE, calcolati dai rapporti del numero di DSB determinato sperimentalmente dopo 2 ore di riparazione, sono tutti significativamente maggiori di 1 (Tabella 2) e dipendono dal LET della particella in esame, così come si osserva per la sopravvivenza cellulare. La correlazione tra l'RBE per la sopravvivenza e l'RBE per il danno residuo dopo 2 ore di riparazione è piuttosto buona, nonostante che processi cellulari importanti, come le aberrazioni cromosomiche, coinvolgano una catena di eventi che evolve per diverse ore. Una possibile interpretazione è che vi sia una fase relativamente rapida (dell'ordine dell'ora) nella quale avvengono tutti o gran parte dei processi che sono determinanti per il successivo processamento del danno.

Quanto trovato in questo studio, effettuato analizzando parallelamente effetti a livello molecolare e cellulare sulla stessa linea cellulare e utilizzando la stessa facility, dà un ulteriore contributo all'idea che la maggiore efficacia delle radiazioni densamente ionizzanti, rispetto alle sparsamente ionizzanti, nel provocare l'inattivazione cellulare sia dovuta all'induzione di danni al DNA difficili da riparare a causa della loro maggiore complessità. La cellula, così fortemente danneggiata, potrebbe andare incontro a cambiamenti genetici rilevanti, come ad esempio delezioni o altre aberrazioni cromosomiche, che possono risultare letali. Un altro possibile meccanismo d'azione può essere trovato in una diversa distribuzione delle DSB, con una maggiore quantità di piccoli frammenti di DNA prodotti dagli ioni leggeri rispetto ai raggi γ , nell'ipotesi che più piccoli sono i frammenti, maggiore è il tempo necessario per riportare il DNA alle sue dimensioni originali.

Conclusioni

Questo studio condotto su cellule V79 irradiate con raggi γ , protoni, deutoni, ioni elio-3 e elio-4 di diverso LET, indica che l'efficacia di queste particelle nell'induzione di DSB è

scarsamente dipendente dalla qualità della radiazione, contrariamente a quanto si osserva per l'inattivazione cellulare. Mostra invece un certo parallelismo tra l'RBE valutato sul danno residuo a 2 ore e l'RBE per l'inattivazione cellulare.

L'uso di diversi tipi di ioni leggeri ha suggerito l'esistenza di due grosse classi di DSB: la prima può essere considerata rappresentativa delle DSB più semplici e che vengono ricongiunte in tempi relativamente brevi (dell'ordine dell'ora); la seconda rappresentativa delle DSB più complesse che richiedono più tempo per il loro ricongiungimento o che non vengono ricongiunte affatto.

In generale, questi risultati ottenuti con una stessa linea cellulare e utilizzando radiazioni di diversa qualità, danno una maggiore razionalità e prospettiva all'uso di parametri relativi alle cinetiche di ricongiungimento delle DSB come indicatori della sensibilità cellulare a radiazioni di diversa qualità.

Ringraziamenti

Gli autori desiderano ringraziare I. Motti per l'aiuto dato durante le irradiazioni presso i Laboratori Nazionali di Legnaro dell'INFN e, presso l'ISS, M. Sabatini per l'assistenza tecnica ISS e M. Mattia, che ha implementato il software utilizzato per l'analisi del danno al DNA.

Bibliografia

1. Obe G, Johannes C and Schulte-Frohlinde D. DNA double strand breaks induced by sparsely ionizing radiation and endonucleases as critical lesions for cell death, chromosomal aberration, mutations and oncogenic transformation. *Mutagenesis* 1992;7:3-13.
2. Lett JT. Damage to cellular DNA from particulate radiations, the efficacy of its processing and the radiosensitivity of mammalian cells. *Radiation and Environmental Biophysics* 1992;31:257-77.
3. Belli M, Cera F, Cherubini R, Ianzini F, Moschini G, Sabora O, Simone G, Tabocchini MA and Tiveron P. DNA double-strand breaks induced by low energy protons in V79 cells. *International Journal of Radiation Biology* 1994;65:529-36.
4. Prise KM. Use of radiation quality as a probe for DNA lesion complexity. *International Journal of Radiation Biology* 1994;65:43-8.
5. Goodhead DT. Initial events in the cellular effects of ionizing radiations: clustered damage in DNA, *International Journal of Radiation Biology* 1994;63:7-17.
6. Goodhead DT. Molecular and cell models of biological effects of heavy ion radiation. *Radiation and Environmental Biophysics* 1995;34:67-72.
7. Holley WR and Chatterjee A. Cluster of DNA damage induced by ionizing radiation: formation of short DNA fragments. I. Theoretical modeling. *Radiation Research* 1996;145:188-99.
8. Frankenberg D, Brede HJ, Shrewe UJ, Steinmetz C, Frankenberg-Schwager M, Kasten G and Pralle E. Induction of DNA double strand breaks by ^1H and ^4He ions in primary human skin fibroblasts in the LET range of 8 to 124 keV/ μm . *Radiation Research* 1999;151:540-9.
9. Blöcher D. DNA double-strand breaks repair determines the RBE of α -particles. *International Journal of Radiation Biology* 1988;54:761-77.
10. Belli M, Cherubini R, Galeazzi G, Mazzucato S, Moschini G, Sabora O, Simone G and Tabocchini MA. Proton irradiation facility for radiobiological studies at a 7MV Van de Graaff accelerator. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research* 1987;A256:476-80.
11. Belli M, Cera F, Cherubini R, Dalla Vecchia M, Haque AMI, Ianzini F, Moschini G, Sabora O, Simone G, Tabocchini MA and Tiveron P. RBE-LET relationships for cell inactivation and mutation

- induced by low energy protons in V79 cells: further results at the LNL facility. *International Journal of Radiation Biology* 1998;74:501-9.
12. Cook VE and Mortimer RK. A quantitative model of DNA fragments generated by ionizing radiation and possible experimental applications. *Radiation Research*, 1991;125:102-6.
 13. Belli M, Cherubini R, Dalla Vecchia M, Dini V, Moschini G, Signoretti C, Simone G, Tabocchini MA and Tiveron P. DNA DSB induction and rejoining in V79 cells irradiated with light ions: a constant field gel electrophoresis study. *International Journal of Radiation Biology* 2000;76:1095-104.
 14. Cera F, Cherubini R, Dalla Vecchia M, Favaretto S, Moschini G, Tiveron P, Belli M, Ianzini F, Levati L, Saporita O, Tabocchini MA and Simone G. Cell inactivation, mutation and DNA damage induced by light ions: dependence on radiation quality. In: Goodhead D.T., O'Neill P. and Menzel H.G (Ed): *Microdosimetry: An Interdisciplinary approach*. Cambridge: The Royal Chemical Society; 1997. p. 191-4.
 15. Blöcher D. In CHEF electrophoresis a linear induction of dsb corresponds to a nonlinear fraction of extracted DNA with dose. *International Journal of Radiation Biology* 1990;57:7-12.
 16. Löbrich M, Cooper PK and Rydberg B. Non-random distribution of DNA double-strand breaks induced by particle irradiation. *International Journal of Radiation Biology* 1996;70:493-503.

STUDI DI 1H MRS DELLE MODIFICAZIONI DEL METABOLISMO CELLULARE INDOTTE DALL'IRRAGGIAMENTO CON FASCI DI PROTONI IN CELLULE TUMORALI IN COLTURA

Roberto Cherubini (a), Silvia Gerardi (a), Sveva Grande (b), Laura Guidoni (b), Anna Maria Luciani (b), Antonella Rosi (b), Vincenza Viti (b)

(a) *Laboratori Nazionali di Legnaro, Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Legnaro, Padova*

(b) *Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità e Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione Roma 1, Gruppo collegato Sanità, Roma*

Introduzione

La spettroscopia di risonanza magnetica (*Magnetic Resonance Spectroscopy*, MRS) viene spesso utilizzata, in connessione con l'*imaging* di risonanza magnetica (*Magnetic Resonance Imaging*, MRI), per indirizzare le terapie sulla base di una migliore conoscenza degli aspetti fisiopatologici della malattia e da diversi anni fornisce informazioni preziose sull'estendersi del danno in presenza di malattie neurodegenerative, grazie al riconoscimento di marker specifici di funzionalità neuronale.

Per quanto riguarda le applicazioni allo studio dei tumori vengono pubblicati annualmente molti studi che mostrano come la MRS, nell'approccio multinucleare, sia in grado di fornire al medico informazioni localizzate sulla biochimica e il metabolismo delle cellule tumorali nel tessuto in esame (1-5).

Anche per gli studi di radiosensibilità cellulare è importante poter disporre di indicatori metabolici che permettano di comprendere gli effetti dei trattamenti. La MRS ha messo in evidenza alterazioni del metabolismo lipidico, in concomitanza con trattamenti terapeutici con farmaci e con radiazioni, rilevati come variazioni delle concentrazioni dei fosfomonoesteri e dei fosfodiesteri (6).

L'identificazione di segnali risultanti da metaboliti coinvolti in risposte cellulari al danno da radiazione può, infatti, sia fornire informazioni sul danno metabolico o sul tipo di morte cellulare; inoltre, i segnali corrispondenti a queste molecole possono essere utilizzati come marker spettroscopici per seguire gli effetti del trattamento terapeutico *in vivo*.

La presente ricerca è stata rivolta ad identificare variazioni metaboliche associate al danno indotto da irraggiamento con fasci protonici in diverse condizioni di crescita, mediante lo studio delle variazioni nelle caratteristiche spettrali della MRS in alta risoluzione. Sono stati messi a confronto gli effetti indotti da radiazione γ con quelli derivanti dall'esposizione a fasci protonici di diversa energia e in condizioni di diverso trasferimento lineare di energia (*Linear Energy Transfer*, LET).

Materiali e metodi

Sono state studiate cellule tumorali in coltura, principalmente le cellule HeLa derivanti da un tumore della cervice uterina, e i relativi estratti metabolici e lipidici.

Gli esperimenti di irraggiamento sono stati effettuati presso i LNL con il fascio protonico a 6 MeV, irraggiando le cellule adese su supporti di mylar. Sono stati iniziati anche esperimenti presso gli LNS (Laboratori Nazionali del Sud), effettuati con il fascio a 62 MeV: per queste misure è necessario predisporre le opportune facilities che permettano di irraggiare le cellule.

Gli spettri di ^1H MRS sono stati effettuati mediante lo spettrometro Bruker AMX 400 WB installato presso l'Istituto Superiore di Sanità. Gli spettri degli estratti metabolici sono stati effettuati anche mediante lo spettrometro Bruker AM operante a 600 MHz in altissima risoluzione, presso l'area di ricerca del CNR di Montelibretti, e, più recentemente, anche mediante lo spettrometro Bruker Avance operante 700 MHz presso l'Università di Tor Vergata.

Risultati e discussione

Nello spettro di ^1H MRS sono stati selezionati e assegnati i segnali caratterizzati da area e risoluzione sufficienti per determinarne l'intensità, in quanto questo parametro è proporzionale alla concentrazione della specie.

In Figura 1 sono mostrati gli spettri relativi ad un campione di cellule HeLa a bassa confluenza (traccia superiore) e ai relativi estratti metabolici (traccia intermedia) e lipidici (traccia inferiore).

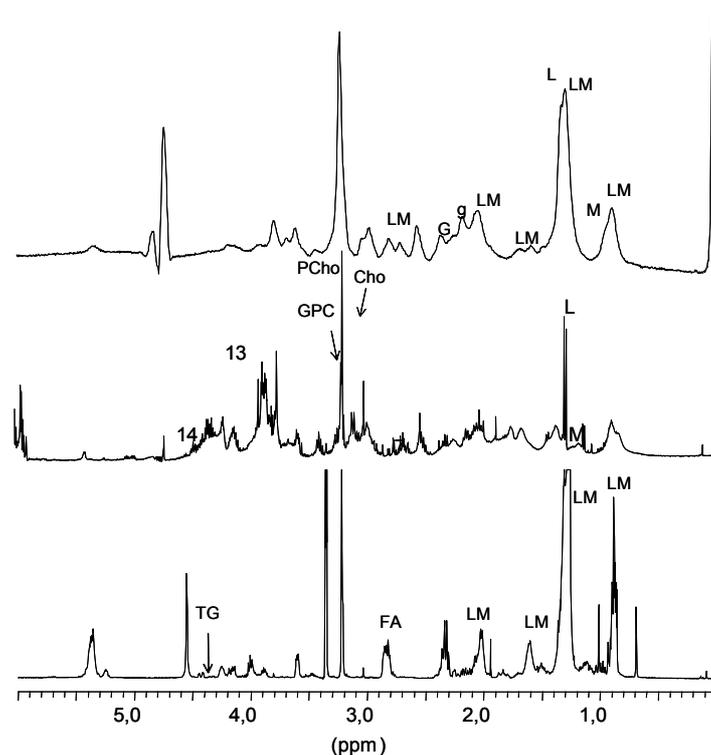


Figura 1. Spettri di ^1H MRS a 400 MHz di cellule HeLa (traccia superiore), degli estratti perclorici (traccia intermedia) e dei lipidi totali (traccia inferiore)

Nella nostra precedente esperienza (7, 8) abbiamo verificato che l'osservazione delle modificazioni di intensità di segnali provenienti da catene lipidiche (LM) nello spettro di

campioni cellulari, provenienti da cellule in coltura, permette di mettere in evidenza l'arresto proliferativo causato dal trattamento con il farmaco citostatico lonidamina. L'arresto proliferativo è risultato anche associato a variazioni nella concentrazione di alcuni metaboliti, sia nelle cellule che nei corrispondenti estratti metabolici e lipidici. In particolare sono risultati modificati gli andamenti della glicerofosforilcolina (GPC), della colina (cho), del glutammato (g e G) e del lattato (L), per quanto riguarda i metaboliti solubili (Figura 1, traccia intermediaria) e dei trigliceridi (TG) e degli acidi grassi polinsaturi (LM, a 2.8 ppm) per quanto riguarda i metaboliti lipidici (Figura 1, traccia inferiore).

Il trattamento con radiazione γ ha dato luogo ad analoghi effetti: in particolare tutto il quadro metabolico mette in luce l'arresto proliferativo, mentre sono selettivamente aumentati il livello della GPC e del glutammico nel glutatione (9-12).

Alcuni di questi effetti sono stati rilevati anche nelle cellule e nei corrispondenti estratti metabolici in seguito ad irraggiamento con fasci protonici. La Figura 2 mostra il dettaglio dello spettro degli estratti metabolici provenienti da campioni irraggiati con il fascio a 6 MeV, nella regione spettrale dei composti della colina, in cui sono presenti tre risonanze, rispettivamente GPC, fosforilcolina (PCho) e colina (cho). La GPC è un composto caratteristico del catabolismo lipidico e dunque il rapporto fra GPC e PCho dà un'indicazione sugli equilibri metabolici.

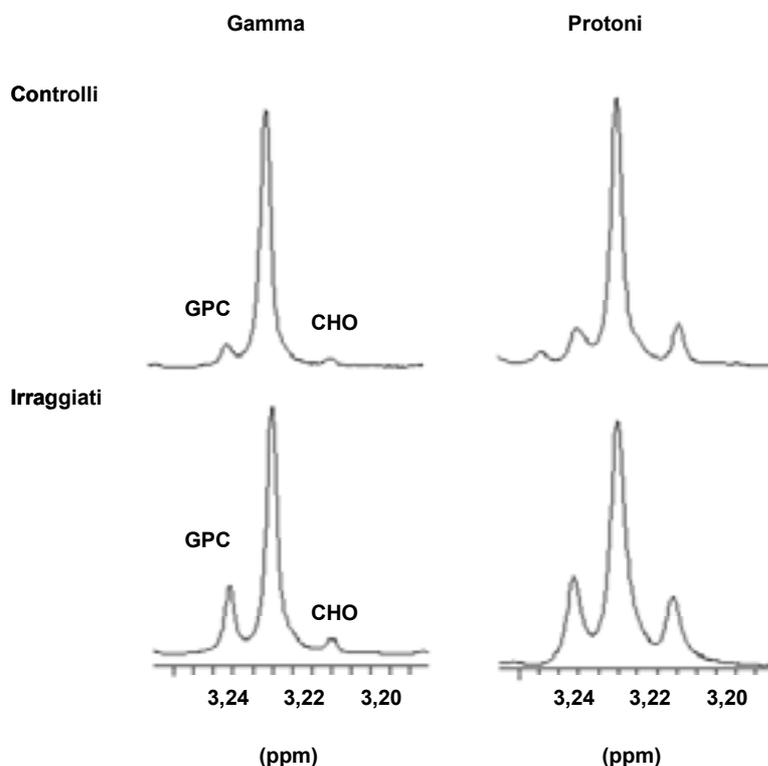


Figura 2. Dettaglio degli spettri di 1H MRS degli estratti perclorici di campioni cellulari irraggiati con radiazione γ , dose 40 Gy (a sinistra) e con protoni, dose 20 Gy (a destra)

Dagli spettri, relativi all'osservazione degli effetti 72 ore dopo l'irraggiamento, appare evidente l'aumento relativo del segnale della GPC, mentre nel caso della colina l'aumento risulta significativo solo per le cellule irraggiate con i protoni. Gli esperimenti sono stati ripetuti

con tempi diversi di osservazione, per verificare la stabilità dell'effetto, e i dati sono stati analizzati.

In Figura 3 sono riportati gli andamenti dei rapporti dell'intensità dei segnali della GPC e PCho negli estratti metabolici preparati dopo intervalli di tempo diversi dopo l'irraggiamento, in cui ogni punto sperimentale è il risultato di cinque diversi esperimenti

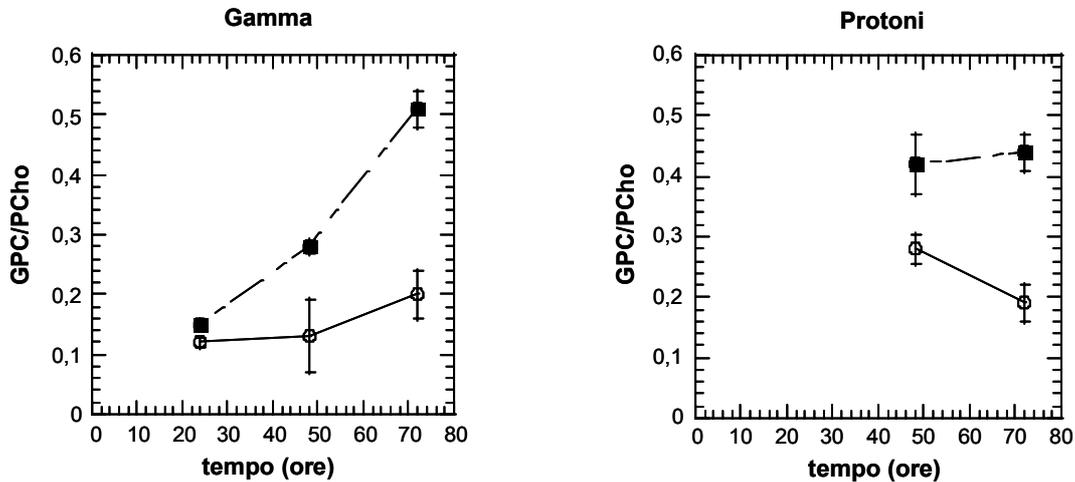


Figura 3. Andamenti dei rapporti fra i segnali della GPC/PCho in estratti perclorici di cellule in seguito ad irraggiamento con radiazione γ , con dose di 40 Gy (a sinistra) e con fasci protonici, con dose di 20 Gy (a destra)

Come si può notare gli effetti sulla variazione del metabolismo relativo della GPC rispetto alla PCho sono della stessa entità, ma prodotti da una dose di 40 Gy per il trattamento con radiazione γ e da una dose di 20 Gy per le cellule irraggiate con fasci protonici (Figura 3).

Effetti analoghi sono stati osservati a carico del lattato e del glutammico nel glutatione.

Le prime evidenze sperimentali in relazione a variazioni dei segnali lipidici (ML) nelle cellule, e parallelamente, nei lipidi totali estratti, sembrano indicare effetti diversi per le radiazioni γ e i fasci protonici, per gli esperimenti effettuati dopo diversi intervalli di tempo. Tuttavia, poiché questi segnali dipendono fortemente dalle condizioni di crescita cellulare, è necessario verificare la generalità dell'effetto utilizzando modelli cellulari più complessi, quali ad esempio gli sferoidi.

Conclusioni

Gli esperimenti di MRS in alta risoluzione hanno permesso di osservare le variazioni indotte dall'irraggiamento protonico a carico dei metaboliti lipidici GPC e cho, del glutatione, e del lattato. Tali variazioni sono state osservate nei campioni di estratti metabolici di cellule in seguito ad irraggiamento sia con radiazione γ che con fasci protonici. Le variazioni sono risultate della stessa entità nei due casi, ma per i protoni sono ottenute con metà dose, indicando un'efficienza biologica doppia per questi effetti metabolici.

Ringraziamenti

Gli autori desiderano ringraziare G. Cuttone e i suoi collaboratori degli LNS/INFN, Catania, per misure preliminari al fascio protonico a 62 MeV.

Bibliografia

1. Hakumaki JM, Kauppinen RA. ¹H NMR visible lipids in the life and death of cells. *Trends Biochem Sci* 2000;25(8):357-62.
2. Mountford CE, Mackinnon WB, Russell P, Rutter A, Delikatny EJ. Human cancers detected by proton MRS and chemical shift imaging ex vivo. *Anticancer Res* 1996;16(3B):1521-31.
3. Ting YT, Sherr D, Degani H. Variations in energy and phospholipid metabolism in normal and cancer human mammary epithelial cells. *Anticancer Res* 1996;16(3B):1381-8.
4. Cooper WA, Bartier WA, Rideout DC, Delikatny EJ. ¹H NMR visible lipids are induced by phosphonium salts and 5-fluorouracil in human breast cancer cells. *Magn Reson Med* 2001;45(6):1001-10.
5. Barba I, Cabañas ME, Arús C. The Relationship between Nuclear Magnetic Resonance-Visible Lipids, Lipid Droplets, and Cell Proliferation in Cultured C6 Cells. *Cancer Res* 1999;59:1861-8.
6. Shukla-Dave A, Poptani H, Loevner LA, Mancuso A, Serrai H, Rosenthal DI, Kilger AM, Nelson DS, Zakian KL, Arias-Mendoza F, Rijpkema M, Koutcher JA, Brown TR, Heerschap A, Glickson JD. Prediction of treatment response of head and neck cancers with P-31 MR spectroscopy from pretreatment relative phosphomonoester levels. *Acad Radiol* 2002;9(6):688-94.
7. Rosi A, Luciani AM, Matarrese P, Arancia G, Viti V, Guidoni L. ¹H-MRS lipid signal modulation and morphological and ultrastructural changes related to tumor cell proliferation. *Magn Reson Med* 1999;42:248-57.
8. Petrucci C, Barone P, Guidoni L, Luciani AM, Rosi A, Viti V. Markers of Proliferation Obtained by Modified Prony Method From ¹H NMR Signals of HeLa Cells in Culture. Proceedings of the ISMRM, V Scientific Meeting and Exhibition. Vancouver, BC (Canada). April 12-18, 1997. Vol 3, p.1434.
9. Guidoni L, Luciani AM, Rosi A, Viti V, Cherubini R. Changes in lipid metabolism detected in HeLa cells and in their PCA extracts after irradiation with low and high LET particles. In: Proceedings of the ISMRM, IV Scientific Meeting and Exhibition. New York (USA), April 27-May 3, 1996. Vol.2, p.11.
10. Rosi A, Guidoni L, Luciani AM, Viti V, Cherubini R. Changes in lipid metabolism are evidenced by NMR spectroscopy, in HeLa cells and in their PCA extracts upon irradiation with low and high LET particles. In: G Spadaro (Ed.). *Proceedings of 2nd National Joint Congress. SIRR-GIR*. Palermo, September 11-14 1996 p. 396-9.
11. Guidoni L, Luciani AM, Rosi A, Viti V, Cherubini R, Dalla Vecchia M. HeLa cells after gamma and proton irradiation: ¹H MRS studies on lipid and perchloric acid extracts. *Proceedings of 9th Meeting of the Italian Society for Radiation Research*. Capri, 3-7 October 1998. p. 177.
12. Grande S, Luciani AM, Rosi A, Cherubini R, Conzato M, Guidoni L, Viti V. Radiation Effects on Soluble Metabolites in Cultured HeLa Cells Examined by ¹H MRS: Changes in Concentration of Glutathione and of Lipid Catabolites Induced by Gamma Rays and Proton Beams. *Int J Cancer (Radiat Oncol Invest)* 2001; 96(S.):27-42.

ANALISI DELLE ABERRAZIONI CROMATIDICHE INDOTTE IN TUMORI UMANI IN FASE G2 ESPOSTI A PROTONI O RAGGI X

Marco Durante, Giancarlo Gialanella, Gianfranco Grossi, Maria Gabriella Pugliese, Paola Scampoli
Dipartimento di Scienze Fisiche, Università di Napoli Federico II, e INFN - Sezione di Napoli

Introduzione

La risposta al trattamento radioterapico è caratterizzata da una forte variabilità inter-individuale. Uno dei problemi principali della ricerca radiobiologica è quello di identificare dei test predittivi della radiosensibilità tumorale, in grado di prevedere, prima del trattamento o poco dopo il suo inizio, la radiosensibilità del tumore in esame, e adattare di conseguenza il piano di trattamento. Il test clonogenico SF2 (1) è stato utilizzato in diversi casi con discreto successo, ma esso presenta due problemi. In primo luogo, poiché il test misura la sopravvivenza *in vitro* del tumore, esso non tiene conto dei fattori *in situ* (ossigenazione, tempo di crescita, contatto intracellulare, ecc.) che influenzano la radiosensibilità del tumore *in vivo*. Inoltre, il test SF2 richiede tempi molto lunghi, normalmente incompatibili con la necessità di intervenire rapidamente sul tumore.

Alternativamente, è stata esplorata la possibilità di utilizzare il danno citogenetico radioindotto per predire la radiosensibilità tumorale. È noto che le aberrazioni cromosomiche sono ben correlate con la inattivazione cellulare (2). Utilizzando la *Premature Chromosome Condensation*, (PCC) è possibile evitare la crescita *in vitro* del campione, un passaggio lungo e difficoltoso. L'uso della PCC nelle biopsie è stato quindi proposto come un possibile test predittivo della radiosensibilità tumorale (3). Tuttavia, la PCC è anch'essa una tecnica complessa, e l'indice di condensazione che si ottiene normalmente con la tecnica della fusione è troppo basso per consentire un'analisi statistica adeguata. È stato recentemente scoperto che la PCC può essere indotta anche da inibitori delle fosfatasi, come la calyculin A (4). Gli indici di condensazione sono in questo caso molto alti e la tecnica è relativamente semplice, anche se l'analisi deve essere ristretta alla fase G2 del ciclo. La tecnica è stata utilizzata per studiare la cinetica del riparo del danno radioindotto in G2 in fibroblasti umani *in vitro* (5). L'idea del presente progetto è quella di applicare questa tecnica alle biopsie tumorali. Lo schema del possibile test predittivo che ne deriverebbe è illustrato in Figura 1.

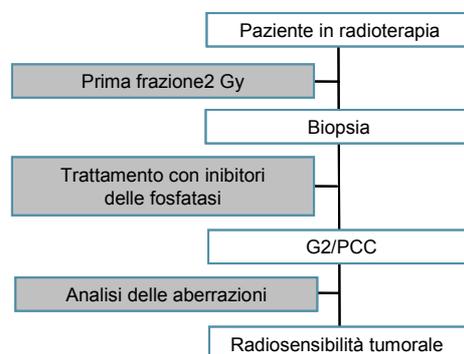


Figura 1. Diagramma di flusso di un test predittivo che utilizzi la tecnica PCC con inibitori delle fosfatasi in biopsie

Nel progetto qui descritto abbiamo effettuato degli esperimenti *in vitro* per verificare la fattibilità del metodo. Si deve infatti dimostrare che specifiche aberrazioni cromatidiche radioindotte sono in effetti correlate con la radiosensibilità intrinseca delle cellule tumorali. Per questo motivo, abbiamo irraggiato *in vitro* due carcinomi squamosi che presentano radiosensibilità differente, e ne abbiamo misurato l'induzione di aberrazioni cromatidiche in G2 a diversi tempi dall'esposizione. Le cellule sono state esposte a raggi X o a protoni di 4 MeV ad una singola dose di 2 Gy.

Materiali e metodi

Abbiamo utilizzato due linee di carcinoma squamoso, le cellule SQ20B (radioresistenti) e SCC25 (radiosensibili). Le caratteristiche di crescita di queste cellule sono descritte in questo stesso rapporto da Antonelli *et al.* Le cellule sono state esposte in fiasche di coltura a 2 Gy di raggi X da 80 kVp o protoni di 4 MeV (LET= 4 keV/μm), accelerati presso l'acceleratore Tandem da 3 MV dell'Università Federico II di Napoli (6). Dopo l'irraggiamento, le cellule sono state incubate a 37 °C per consentire la riparazione del danno radioindotto per un tempo compreso fra 0 e 8 h. I cromosomi sono stati quindi condensati prematuramente in calyculin A come descritto precedentemente (5). Dopo il trattamento, le cellule sono state fissate in soluzione di Carnoy e colorate in Giemsa per l'analisi delle aberrazioni cromatidiche.

Risultati e discussione

In Tabella 1 sono riportate le caratteristiche principali delle cellule utilizzate nei nostri esperimenti. Entrambe le linee sono aneuploidi (ma presentano lo stesso valore modale della distribuzione del numero di cromosomi per cellula), e mostrano una chiara differenza nella sensibilità a raggi X e a protoni da 4 MeV.

Tabella 1. Caratteristiche principali delle cellule utilizzate negli esperimenti

Cellule	Numero modale di cromosomi	Indice di condensazione (%)	Radiazione	Sopravvivenza a 2 Gy (%)
SCC25	65	42	X	32±5
SQ20B	65	46	X	72±4
			H	47±5

Esempi di aberrazioni cromosomiche nelle cellule SCC25 esposte a 2 Gy di protoni da 4 MeV sono riportate in Figura 2.

All'aumentare del tempo di riparo, diminuiscono le delezioni cromatidiche, che vengono riportate, mentre aumentano gli scambi, che sono il prodotto di una ricongiunzione errata delle delezioni cromatidiche. La cinetica di questi processi è mostrata in Figura 3 per cellule esposte a 2 Gy di raggi X.

Si può osservare che la frequenza iniziale di delezioni e scambi cromatidici è simile per le due linee tumorali. Tuttavia, all'aumentare del tempo di riparazione, le cellule radiosensibili SCC25 presentano una maggiore frequenza di delezioni cromatidiche residue e un minor numero di scambi rispetto alle radioresistenti SQ20B. Questi dati suggeriscono che le cellule

radiosensibili SCC25 abbiano una minore efficienza nel riparo delle lesioni cromatidiche, che si riflette anche in un minor numero di eventi di interscambio, che originano anch'essi da ricongiungimento delle lesioni. Simili andamenti si trovano con protoni da 4 MeV (Figura 4).

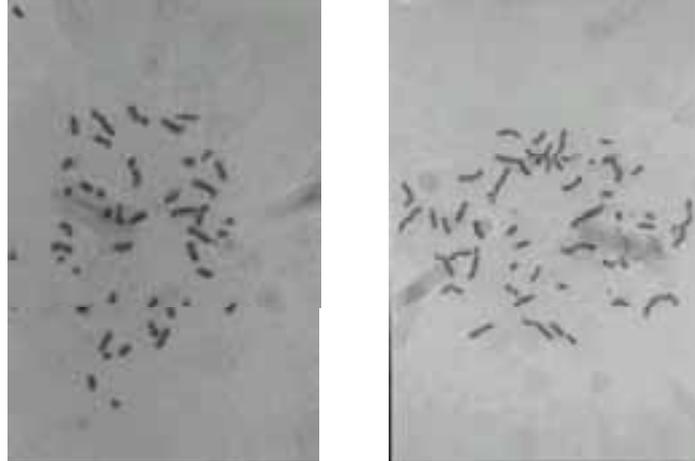


Figura 2. Aberrazioni cromosomiche in cellule SCC25 esposte a 2 Gy di protoni: a sinistra, le cellule sono state fissate dopo 5 min e si notano principalmente delezioni cromatidiche; a destra le cellule sono state fissate dopo 60 min e si osservano molti scambi cromatidici

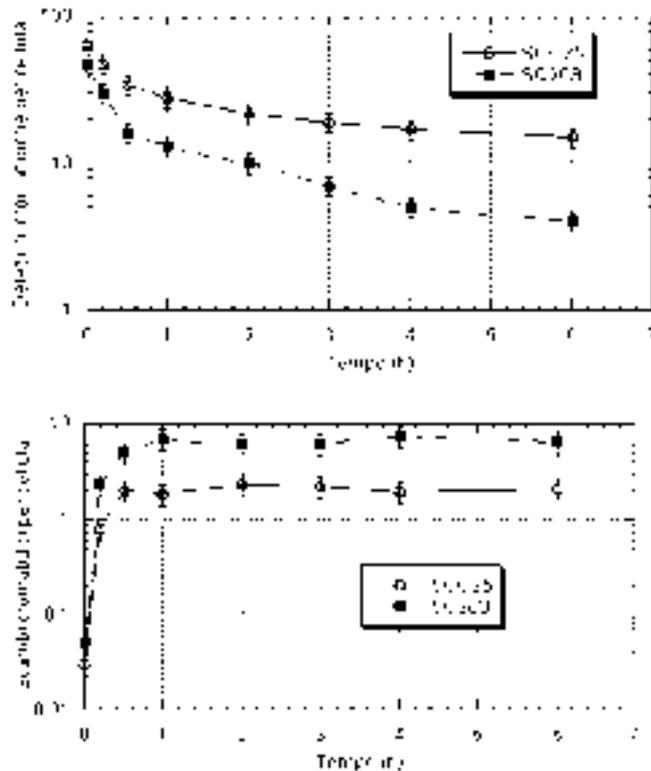


Figura 3. Delezioni e scambi cromatidici in funzione del tempo di riparo in cellule SCC25 e SQ20B esposte a 2 Gy di raggi X

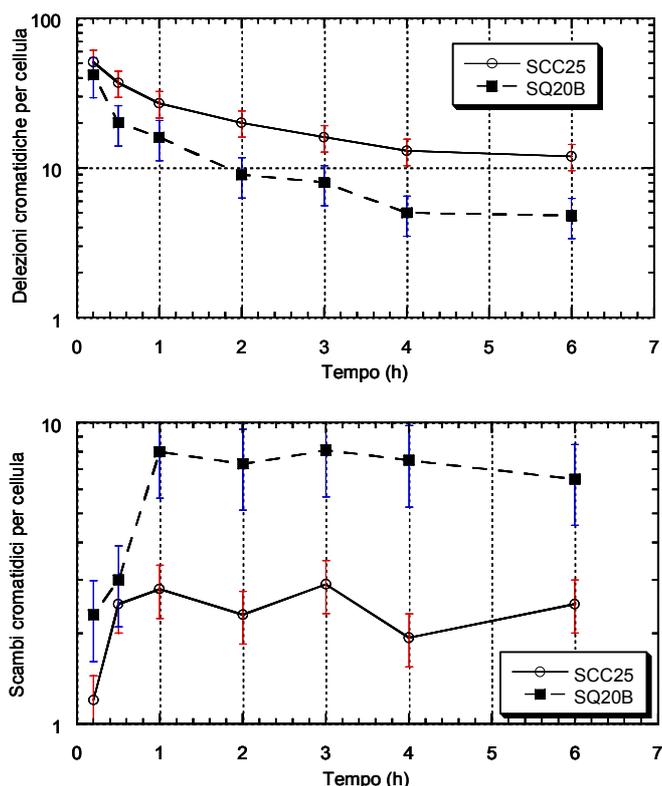


Figura 4. Delezioni e scambi cromatidici in funzione del tempo di riparo in cellule SCC25 e SQ20B esposte a 2 Gy di protoni da 4 MeV

Per essere utilizzati quali test predittivi, la frequenza di delezioni cromatidiche residue (dopo 8 h di riparo) DR o quella di scambi cromatidici finali (dopo 8 h di riparo) EX vanno confrontati con la frequenza di cellule inattivate K (misurata con test clonogenico, vedi Tabella 1) alla stessa dose. I rapporti DR_{SCC25}/DR_{SQ20B} , EX_{SCC25}/EX_{SQ20B} e K_{SCC25}/K_{SQ20B} sono riportati in Tabella 2.

Tabella 2. Rapporti fra la frequenza di diversi effetti biologici misurati in cellule SCC25 e SQ20B dopo esposizione a 2 Gy di raggi X o protoni

Radiazione	Inattivazione cellulare	Delezioni cromatidiche residue	Scambi cromatidici finali
X 80 kVp	$2,2 \pm 0,6$	$3,0 \pm 0,9$	$0,32 \pm 0,16$
Protoni 4 MeV	$1,7 \pm 0,5$	$2,4 \pm 0,9$	$0,71 \pm 0,18$

Si nota che i rapporti per le delezioni cromatidiche residue riflettono quelli relativi all'inattivazione, mentre non vi è correlazione con gli scambi. Per esempio, si osserva una frequenza di delezioni cromatidiche residue tre volte più alta in cellule SCC25 che in cellule SQ20B dopo esposizione a 2 Gy di raggi X e riparo di 8 h, e tale rapporto è simile a quello (pari a 2,2) esistente fra le frazioni di cellule SCC25 e SQ20B inattivate dalla stessa dose (2 Gy) di raggi X.

Conclusioni

I risultati ottenuti suggeriscono che alcune aberrazioni cromatidiche radioindotte, osservate con condensazione prematura dei cromosomi, presentano correlazione con la radiosensibilità intrinseca della linea cellulare studiata. In particolare, non vi è correlazione fra la radiosensibilità e il valore iniziale di scambi o rotture cromatidiche, né con il valore finale di scambi cromatidici. D'altra parte, le delezioni cromatidiche residue, misurate dopo alcune ore dall'esposizione, sembrano essere correlate con la radiosensibilità, almeno limitatamente alle sole due linee tumorali da noi esaminate. Ulteriori studi sembrano giustificati per verificare se la tecnica può essere applicata a biopsie tumorali.

Bibliografia

1. Oppitz U, Baier K, Wulf J, Schakowski R, Flentje M. The in vitro colony assay: a predictor of clinical outcome. *International Journal Radiation Biology* 2001;77:105-110.
2. Coco Martin JM, Mooren E, Ottenheim C, Burrill W, Nunez MI, Sprong D, Bartelink H, Begg AC. Potential of radiation-induced chromosome aberrations to predict radiosensitivity in human tumour cells. *International Journal Radiation Biology* 1999;75:1161-68.
3. Sasai K, Evans JW, Kovacs MS, Brown JM. Prediction of human cell radiosensitivity: comparison of clonogenic assay with chromosome aberrations scored using premature chromosome condensation with fluorescence in situ hybridization. *International Journal Radiation Oncology Biology Physics* 1994;30:1127-32.
4. Durante M, Furusawa Y, Gotoh E. A simple method for simultaneous interphase-metaphase chromosome analysis in biodosimetry. *International Journal Radiation Biology* 1998;74:457-62.
5. Gotoh E, Kawata T, Durante M. Chromatid break rejoining and exchange aberration formation following gamma-ray exposure: analysis in G2 human fibroblasts by chemically induced premature chromosome condensation. *International Journal Radiation Biology* 1999;75:1129-35.

LINEE DI FASCIO PER RADIOBIOLOGIA DEL TOP LINAC

Mauro Belli (a), Giuseppe Esposito (a), Viviana Fanti (a,c), Luigi Picardi (b), Concetta Ronsivalle (b)
(a) *Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità e Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione Roma 1, Gruppo collegato Sanità, Roma*
(b) *Tecnologie fisiche avanzate, Ente per le Nuove tecnologie, l'Energia e l'Ambiente, Frascati*
(c) *Dipartimento di Fisica dell'Università degli Studi di Cagliari e INFN - Sezione di Cagliari*

Caratteristiche di progetto

I fasci utilizzabili per radiobiologia e per altre attività sperimentali, in particolare per dosimetria, che si prevede possa fornire l'acceleratore TOP LINAC (1) sono:

1. Fascio sperimentale a bassa energia (fascio "iniettore");
2. Fascio sperimentale "energia intermedia" (65 MeV, verticale);
3. Fascio "terapia oculare";
4. Fascio "terapia profonda".

Mentre gli ultimi due fasci sono quelli terapeutici, utilizzati direttamente per ottenere informazioni radiobiologiche in condizioni analoghe a quelle terapeutiche, i primi due fasci sono concepiti per sfruttare le potenzialità del TOP LINAC nella sperimentazione radiobiologica finalizzata alla protonterapia e mirante ad ottenere informazioni di base in condizioni ben definite, in particolare con protoni monoenergetici di varie energie. Ciò richiede la progettazione e la costruzione di apposite linee di fascio, che presentino caratteristiche di flessibilità adeguate alla sperimentazione prevista (2, 3) e individuate anche sulla base della vasta esperienza dei gruppi italiani sulla radiobiologia dei protoni di bassa energia (4-6). Le caratteristiche di progetto per i fasci suddetti sono basate sulle seguenti necessità sperimentali:

- Fascio estratto in aria praticamente monoenergetico ($FHWM/E_m < 0,03$);
- Divergenza del fascio estratto in aria minore di 35 mrad;
- Intensità di corrente del fascio estratto in aria dell'ordine delle decine di pA (rateo di dose dell'ordine delle decine di Gy al minuto);
- Uniformità di fluensa del fascio estratto in aria su una superficie circolare di diametro pari a 3 cm, maggiore o uguale di 0,95.

Requisiti aggiuntivi delle linee sono il contenimento degli ingombri e l'assenza di perturbazione sul funzionamento terapeutico del TOP LINAC. Il lavoro svolto finora ha riguardato lo studio della linea di fascio "iniettore" mediante procedure di simulazione.

Fascio iniettore

Il fascio "iniettore" ha una energia che può essere compresa tra 2,5 e 7 MeV che è quella fornita, appunto, dall'iniettore del TOP LINAC (1). Per fissare le idee è stata considerata l'energia di 7 MeV. Inoltre, dal momento che il fascio finale desiderato deve essere di bassa intensità, è considerata la condizione di lavoro corrispondente al valore minimo della corrente di picco uscente dall'iniettore pari a 0.04 mA in impulsi di durata massima di 5 μ s ad una frequenza di ripetizione compresa tra 50 e 400 Hz (7). Ciò corrisponde a una corrente media dell'ordine delle decine di nA. In queste condizioni i parametri del fascio uscente dall'iniettore

relativi allo spazio delle fasi trasverso (parametri di Twiss α_x , β_x , α_y , β_y e emittanze trasverse ϵ_x e ϵ_y) e alla larghezza della distribuzione di energia ΔE sono riportati nella Tabella 1.

Tabella 1. Parametri del fascio fornito dall'iniettore

Variabile	Valore
α_x	0,330
β_x (mm/mrad)	0,093
α_y	-2,648
β_y (mm/mrad)	0,469
ϵ_x (π *mm*mrad)	9,020
ϵ_y (π *mm*mrad)	8,960
ΔE (totale)(keV)	187,9

Partendo da questi dati iniziali bisogna trasportare il fascio di protoni dall'iniettore alla sala di radiobiologia in modo tale che siano soddisfatti gli obiettivi di progetto. La disposizione sperimentale di massima è rappresentata nella Figura 1, basata su una delle possibili opzioni per il TOP LINAC. La linea di radiobiologia è costituita dai due tratti A e B.

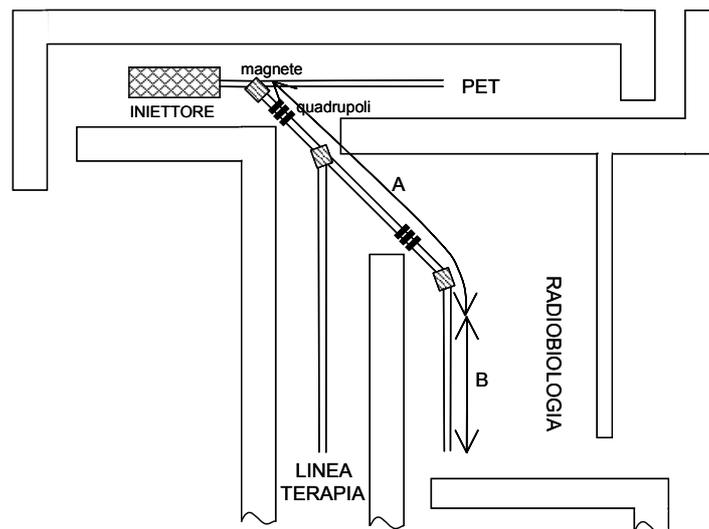


Figura 1. Disposizione sperimentale di massima

Il trasporto dei protoni dall'iniettore al campione da irradiare lungo i tratti A e B del canale di radiobiologia è stato simulato utilizzando il codice di calcolo TRACE (8) e il codice Montecarlo SRIM (*Stopping and Range of Ions in Matter*) (9) basato sui lavori di Ziegler *et al.* (10, 11). TRACE è stato utilizzato nella prima parte del canale di trasporto A e consente di dimensionare gli elementi magnetici (12, 13). SRIM è stato utilizzato nella seconda parte B del canale dove sono presenti solo elementi passivi. L'obiettivo è di ottenere, a partire dai parametri del fascio fornito dall'iniettore, un fascio al termine del tratto A che abbia piccola divergenza e che si propaga in un canale di dimensioni contenute. Lo schema della linea di trasporto ottenuto è descritto di seguito.

All'uscita dall'iniettore il fascio viene curvato di -45 gradi nel piano orizzontale da un magnete con raggio di curvatura di 400 mm seguito da un tratto di *drift* lungo 650 mm e da 3 quadrupoli con lunghezza magnetica di 100 mm e gradienti di -5,237 T/m, 6,466 T/m e -0,840 T/m rispettivamente. Essi sono distanziati l'uno dall'altro di 250 mm e l'ultimo è seguito da un tratto di *drift* di 3650 mm fino ad altri tre quadrupoli. Tali quadrupoli hanno anch'essi lunghezza magnetica di 100 mm, gradienti di 3,642 T/m, -8,530 T/m e 5,600 T/m e sono distanziati l'uno dall'altro di 250 mm e 239 mm rispettivamente. Successivamente vi è un tratto di *drift* lungo 767,5 mm fino a un magnete che devia il fascio di -45 gradi e ha un raggio di curvatura pari a 400 mm. Tale magnete è seguito da un tratto di *drift* lungo 500 mm che conclude la prima parte del canale di trasporto. Nella Figura 2 è riportato l'output di TRACE.

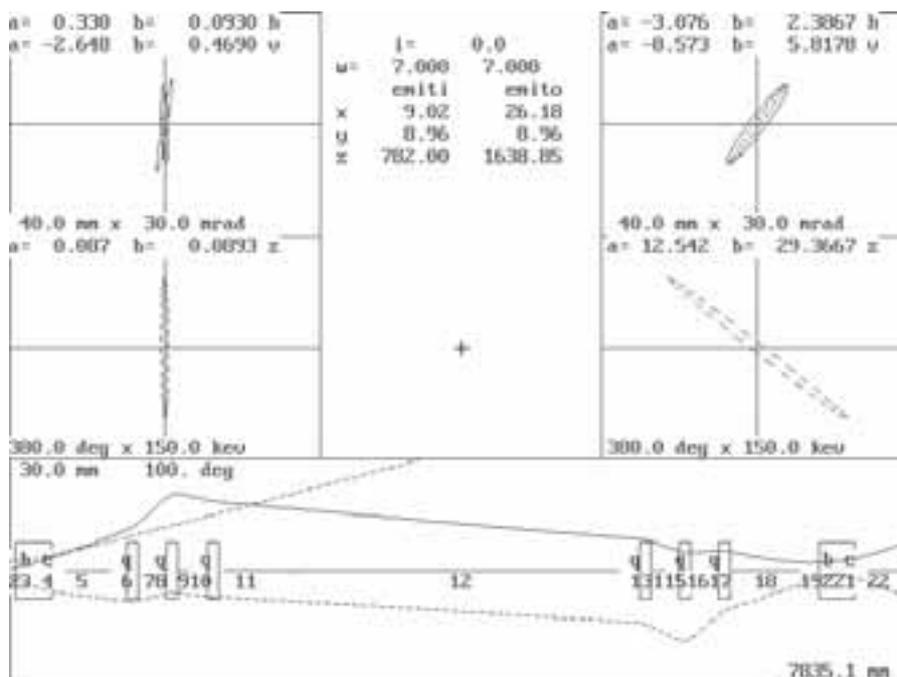


Figura 2. Output di TRACE applicato alla prima parte (A) del sistema di trasporto. Nella parte inferiore sono indicati gli involucri orizzontale (linea continua) e verticale (linea tratteggiata)

Dall'andamento dell'involuppo del fascio si vede che le sue dimensioni sono contenute entro un diametro di 60 mm. I parametri del fascio uscente dall'ultimo tratto di *drift* di 500 mm sono riportati in dettaglio nella Tabella 2.

Tabella 2. Parametri del fascio uscente dall'ultimo tratto di *drift*

Variabile	Valore
X_{\max} (mm)	7,90
X_{\max} (mrad)	10,71
Y_{\max} (mm)	7,22
Y_{\max} (mrad)	10,71
ΔE (totale) (keV)	187,90

Nella tabella x_{\max} e y_{\max} rappresentano i massimi spostamenti orizzontale e verticale dall'asse centrale del fascio, x'_{\max} e y'_{\max} sono le massime divergenze rispetto agli assi orizzontale e verticale e ΔE è la larghezza della distribuzione di energia. Si è stimato che lo spostamento orizzontale x e quello verticale y delle varie particelle rispetto all'asse centrale di propagazione hanno una distribuzione praticamente Gaussiana con deviazione standard pari a $x_{\max}/2$ e $y_{\max}/2$ rispettivamente. Analogamente le divergenze x' e y' e l'energia E delle varie particelle hanno una distribuzione praticamente Gaussiana con deviazioni standard date da $x'_{\max}/2$, $y'_{\max}/2$ e $\Delta E/2$.

Sulla base di queste informazioni è stata simulata con il codice SRIM la propagazione del fascio nella seconda parte del sistema di trasporto (tratto B, ovvero canale di radiobiologia) fino alla finestra di uscita in aria nella sala di radiobiologia. Il file di ingresso dato a SRIM include le informazioni geometriche sulle particelle del fascio. Esso contiene, per ogni particella, la sua energia, la sua posizione, e la sua direzione. I principali elementi che costituiscono detto canale sono riportati schematicamente nella Figura 3.

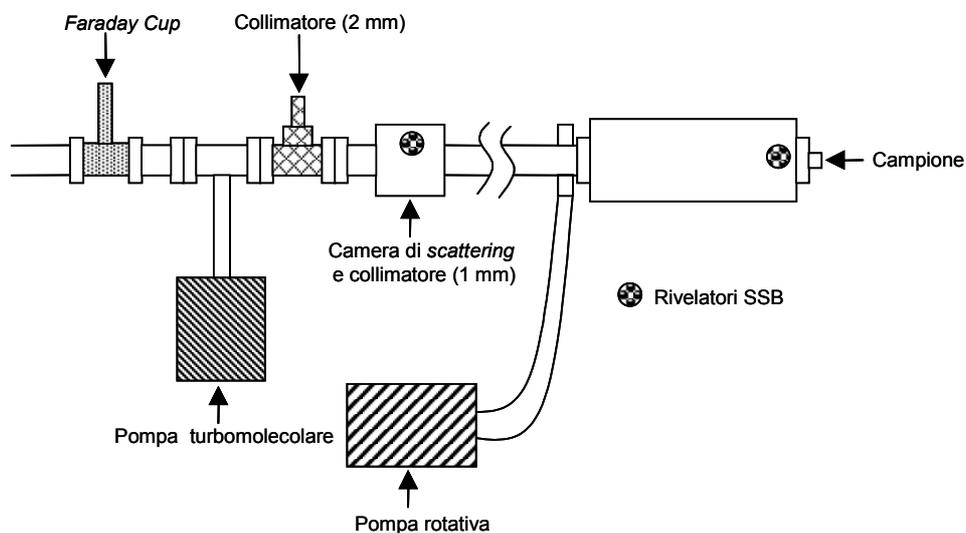


Figura 3. Schema del canale di radiobiologia con i suoi principali elementi

All'ingresso del canale è posta una *Faraday Cup* con cui si può misurare l'intensità del fascio. A 200 mm di distanza da essa il fascio viene collimato passando attraverso due collimatori di 2 mm e 1 mm di diametro rispettivamente che sono posti a una distanza di 200 mm uno dall'altro. Successivamente esso entra in una camera di *scattering* dove è presente un foglietto d'oro con spessore di $0,4 \mu\text{m}$ che ne provoca la diffusione. La distanza tra tale diffusore e il collimatore di 1 mm di diametro è 50 mm. La camera di *scattering* è seguita da un tratto di *drift* lungo 5000 mm. Dopo tale tratto di *drift* c'è un foglio di mylar alluminato con spessore di $5 \mu\text{m}$ attraverso il quale il fascio è estratto in aria. Tale foglio, che segna la fine della seconda parte del canale, è indicato con il nome di "finestra di uscita". Lungo tutto questo percorso il fascio viaggia sotto vuoto al fine di evitare urti indesiderati con le molecole di aria che degraderebbero la sua qualità. Precisamente il livello di vuoto richiesto è almeno di $1,33 \cdot 10^{-4}$ pascal (10^{-6} mmHg) e si ottiene per mezzo di una pompa rotativa a bagno d'olio a due stadi in cascata ad una pompa turbo molecolare. Tramite la simulazione con il codice SRIM si è seguito il fascio nel suo percorso attraverso gli elementi prima specificati fino alla finestra di uscita. In tal modo si sono ottenute tutte le caratteristiche del fascio estratto da tale finestra di uscita.

Caratteristiche del fascio simulato

I risultati relativi al fascio estratto dalla finestra di uscita sono stati valutati su una superficie circolare S di diametro pari a 3 cm che corrisponde alla dimensione prevista dei campioni biologici da irradiare. La distribuzione di energia del fascio estratto dalla finestra di uscita è riportata nella Figura 4. Il valore medio è 6940 keV e la FWHM è 112 keV, che fornisce un rapporto FWHM/ E_m pari a 0,02. La divergenza massima delle particelle del fascio rispetto al suo asse centrale è di 17,3 mrad (quindi il fascio è praticamente parallelo).

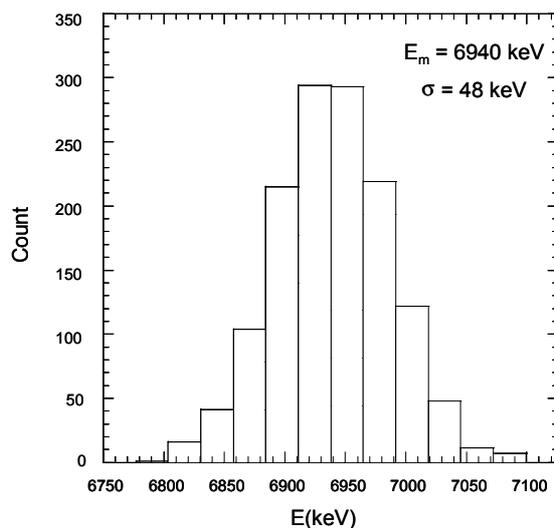


Figura 4. Distribuzione di energia del fascio estratto in aria

La Figura 5 mostra la distribuzione spaziale delle particelle del fascio sulla superficie S, ottenuta dalla simulazione di 60000 particelle all'inizio del tratto B, che si riducono a circa 700 sul campione.

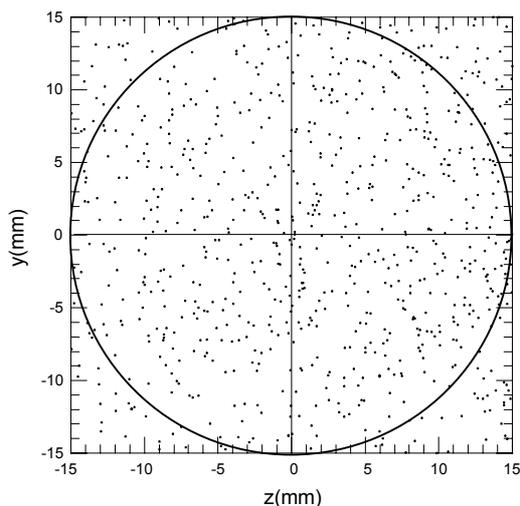


Figura 5. Vista trasversa del fascio sulla superficie S

Da essa si può ricavare l'informazione sull'uniformità di fluenza, valutando la fluenza di particelle F_c al centro della superficie S e la fluenza di particelle $F(r)$ a varie distanze r dal centro. Il rapporto tra F_c e $F(r)$ è una stima dell'uniformità di fluenza del fascio sulla superficie S considerata. Il risultato trovato è illustrato nella Figura 6.

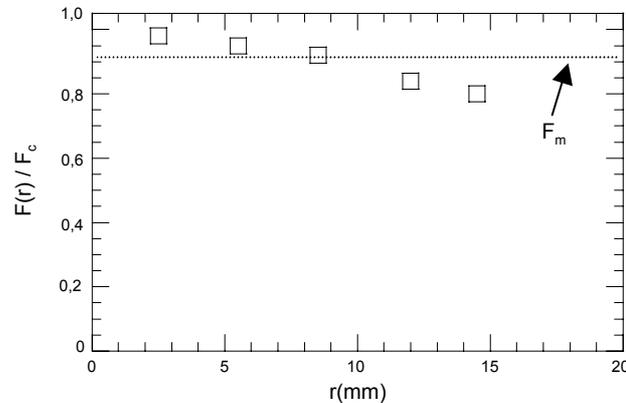


Figura 6. Fluenza del fascio sulla superficie S in funzione della distanza dal centro

La fluenza relativa così definita ha un valore medio $F_m = 0,91$. Le variazioni massime attorno a tale valore medio sono di +9% (al centro) e -11% (al bordo). Da tale andamento si vede che la fluenza a una distanza di 15 mm dal centro è pari a $0,8 F_c$.

Infine, dalla simulazione si trova che il valore dell'intensità di corrente del fascio sulla superficie S è dell'ordine delle decine di pA corrispondente ad un rateo di dose in acqua dell'ordine delle decine di Gy al minuto.

Conclusioni

Questo lavoro è stato finalizzato all'individuazione dei requisiti di una linea di fascio sperimentale utilizzabile in particolare per esperimenti di radiobiologia e alla messa a punto degli strumenti per la sua progettazione.

Il fascio estratto in aria attraverso la linea simulata descritta precedentemente soddisfa i primi tre requisiti riportati nella sezione "Caratteristiche di progetto". Infatti tale fascio ha una distribuzione di energia con $FWHM/E_m$ pari a 0,02, ha una divergenza massima di 17,3 mrad e ha una intensità di corrente dell'ordine delle decine di pA.

Invece la quarta richiesta relativa all'uniformità di fluenza non è soddisfatta dal presente progetto visto che il fascio simulato ha un' uniformità sulla superficie S caratterizzata da differenze di +9% al centro e -11% ai bordi.

Il lavoro futuro sarà quindi focalizzato in primo luogo ad apportare delle modifiche al progetto in modo da soddisfare anche questa quarta richiesta. Ciò può essere fatto variando opportunamente le caratteristiche degli elementi che costituiscono il canale di trasporto e eventualmente introducendo una seconda camera di *scattering*. Questo sarà oggetto di ulteriori approfondimenti sulla base delle indicazioni del presente studio, che è servito a sviluppare adeguati metodi per la progettazione dei canali sperimentali.

Successivamente dovrà essere elaborato il progetto della linea di fascio ad “energia intermedia”. In questo caso è previsto anche un fascio verticale diretto dal basso verso l’alto per studi su campioni di cellule che non crescono aderenti ad un supporto. Cio conferirà al Centro TOP caratteristiche sperimentali attualmente non disponibili presso alcun altro Centro al mondo. Infatti, allo stato attuale, solo l’acceleratore di ricerca presso l’Università di Monaco di Baviera dispone di un fascio verticale per Radiobiologia, ma la massima energia dei protoni è limitata a circa 25 MeV.

Bibliografia

1. Picardi L, Ronsivalle C, Vignati A. *Progetto del TOP LINAC*. Frascati: ENEA; 1997. (Rapporto RT/INN/97/17).
2. Amaldi U, Silari M. *The TERA project and the centre for oncological hadrontherapy. Libro Blu, Blue Book*. Frascati: INFN-LNF-Divisione ricerca; 1994.
3. Amaldi U, Grandolfo M, Picardi L. *The RITA network and the design of compact proton accelerators. Libro Verde, Green Book*. Frascati: INFN-LNF-Divisione ricerca; 1994.
4. Belli M, Cherubini R, Galeazzi G, Mazzucato S, Moschini G, Sapura O, Simone G, Tabocchini MA. Proton irradiation facility for radiobiological studies at a 7 MeV Van de Graaff accelerator. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research* 1987;A256:576-80.
5. Belli M, Cherubini R, Finotto S, Moschini G, Sapura O, Simone G, Tabocchini MA. RBE-LET relationship for the survival of V79 cells irradiated with low energy protons. *International Journal of Radiation Biology* 1989;55(1):93-104.
6. Napolitano M, Durante M, Grossi GF, Pugliese M, Gialanella G. Inactivation of C3H 10T1/2 cells by monoenergetic high LET alpha-particles. *International Journal of Radiation Biology* 1992;61(6) 813-20.
7. Picardi L, Ronsivalle C, Bartolini R. *Schemi di iniezione per il TOP LINAC*. Frascati: ENEA; 1999. (Rapporto RT/INN/99/8),
8. Crandall KR. *TRACE 3-D Documentation*. Los Alamos: Los Alamos National Laboratory; 1990. (Report LA-UR-90-4146).
9. Il codice è disponibile all’indirizzo: <http://www.research.ibm.com/ionbeams/SRIM/SRIMB.HTM>; ultima consultazione 16/06/2004.
10. Ziegler JF, Biersack JP, Littmark U. *The stopping and range of ions in solids*. New York: Pergamon Press; 1985.
11. Ziegler JF, Manoyan JM. The stopping of ions in compounds. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research* 1988;B36:215.
12. Brown KL, Servranckx RV. *First and second order charged particle optics*. Stanford: Stanford Linear Accelerator; 1984. (Rapporto SLAC-PUB-3381).
13. Herrera JC, Bliamptis EE. Symmetry properties of beam handling magnet systems. *The Review of Scientific Instruments* 1966;37(2):183-8.

PROGETTAZIONE E COSTRUZIONE DI UN COLLIMATORE PER L'IRRAGGIAMENTO DI COLTURE CELLULARI CON FASCI PROTONICI

Laura Guidoni, Rolando Fratoni, Anna Maria Luciani, Angelo Mostarda
*Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità e Istituto Nazionale di Fisica Nucleare,
Sezione Roma 1, Gruppo collegato Sanità, Roma*

Introduzione

Le caratteristiche del sistema per l'irraggiamento delle cellule con fasci di protoni sono molto diverse da quelle che vengono utilizzate per gli irraggiamenti con radiazione γ o con fotoni, e generalmente è necessario predisporre un sistema adattato alle condizioni di irraggiamento, in cui va anche considerato che le particelle cariche sono assorbite anche dal materiale in cui le cellule sono contenute, o eventualmente, al materiale su cui sono adese. Nel caso particolare era necessario predisporre un sistema di contenimento del campione biologico, cellule epiteliali con crescita in monostrato, tale da poter essere collocato nel punto desiderato del picco di Bragg e da poter confrontare gli effetti su cellule irraggiate a diverso LET, in condizioni di irraggiamento caratterizzate da un fascio orizzontale di 62 MeV. Inoltre era desiderabile poter conservare le condizioni di crescita ottimale incluse le garanzie di sterilità del campione e fornendo la stessa dose a tutte le cellule del campione. Negli esperimenti che utilizzano la spettroscopia a Risonanza Magnetica (RM) in alta risoluzione, il numero di cellule da trattare può essere rilevante, dell'ordine della decina di milioni, ed è quindi necessario prevedere che le cellule possano permanere nel sistema di crescita per alcuni giorni.

Gli esperimenti presso gli LNS (Laboratori Nazionali del Sud) dell'Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (INFN) sono stati iniziati avvalendosi dell'esperienza degli irraggiamenti effettuati presso gli LNL, e nell'ottica di effettuare un confronto fra effetti ottenuti ad energie diverse. Gli irraggiamenti si sono avvalsi delle strutture predisposte per il fascio terapeutico per l'occhio, con energia di 62 MeV, in assenza di facilities per il trattamento di campioni biologici, non disponibili al momento dell'avvio delle misure. È stato perciò necessario costruire un collimatore portacampione con le caratteristiche opportune per irraggiare le cellule direttamente nelle fiasche. Questo dispositivo permette anche di non sottoporre le cellule a trasferimenti in vials con fondo in mylar, per evitare effetti non desiderati sul metabolismo che potessero sovrapporsi agli effetti dell'irraggiamento.

Caratteristiche costruttive

Le condizioni di irraggiamento fornite dagli LNS sono di un fascio orizzontale allargato in cui il profilo della distribuzione di dose garantisce una omogeneità al 95% nel fascio circolare con diametro di 24 mm. Su questa geometria iniziale si è predisposto un sistema per fornire supporto alle fiasche portacellule tale da garantire l'irraggiamento successivo di settori ben definiti del piano biologicamente rilevante, cioè il fondo della vaschetta stessa. Sono state scelte le fiasche XS, in cui la superficie del fondo è 36 mm x 34 mm.

Il supporto è stato costruito in modo che la parte frontale garantisca la schermatura del fascio ad eccezione del quadrato di lato corrispondente a quello del quadrato inscritto nel cerchio di diametro 24 mm. Pertanto la collimazione è effettuata tramite un quadrato di perspex di 100 x 100 mm, dello spessore di 31 mm, al centro del quale è praticato un foro di 17 mm, attraverso cui le cellule vengono irraggiate. Il quadrato di collimazione può essere usato per effettuare il centraggio del fascio all'inizio delle misure, in quanto risulta totalmente inscritto nel fascio luminoso.

Dietro il collimatore è stato costruito un alloggiamento che consente di posizionare le fiasche in posizioni prefissate corrispondenti ai quadrati selezionati, così da permettere l'irraggiamento successivo di tutte le zone evitando la sovrapposizione di zone già irraggiate, mediante spostamento manuale della fiasca nell'alloggiamento. In una fase più avanzata si prevede che la variazione di posizione delle fiasche potrà essere comandata con un sistema meccanico.

In Figura 1 è mostrata la parte posteriore del supporto con la fiasca alloggiata in una delle posizioni possibili, posizioni che vengono raggiunte, con l'intervento di un operatore, o per scivolamento laterale da bordo a bordo o per eliminazione del supporto mobile. La larghezza dell'alloggiamento è di 61 mm, mentre la base mobile è alta 17 mm. Il foro di collimazione si trova esattamente al centro del quadrato di perspex, e pertanto è stato inserito un ulteriore supporto di 18 mm per operare l'esatto centraggio dei quadrati da irraggiare. Tale supporto può essere reso mobile fornendo due ulteriori posizioni di irraggiamento.

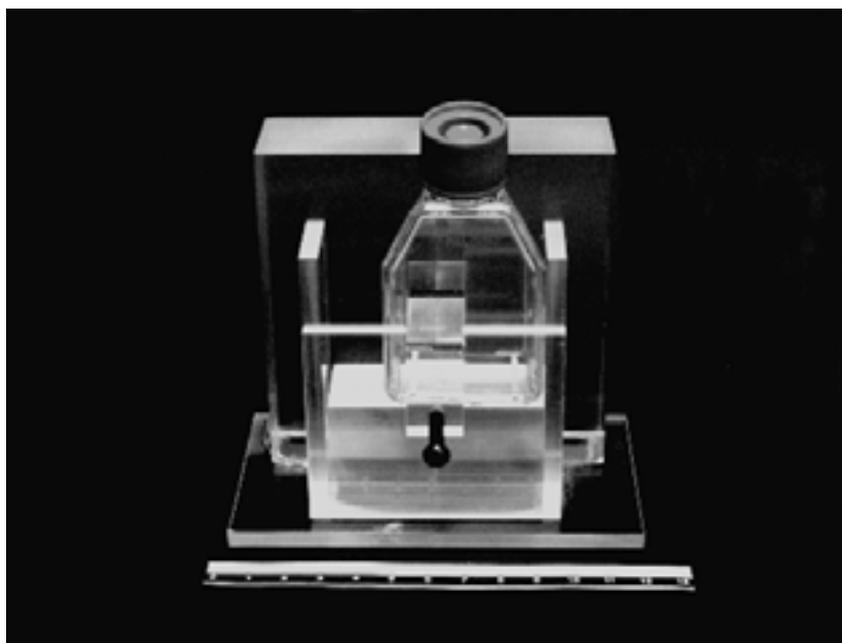


Figura 1. Collimatore con la fiaschetta inserita in una posizione (quadrante inferiore sinistro)

Tutto il sistema portacampioni è fissato su di un piano spesso 5 mm per rendere solidale tutto l'insieme e per permettere l'ancoraggio su un supporto fisso.

La parte frontale del supporto con il foro di collimazione è mostrata in Figura 2, in cui si possono vedere tutti gli elementi del collimatore prima del montaggio definitivo.

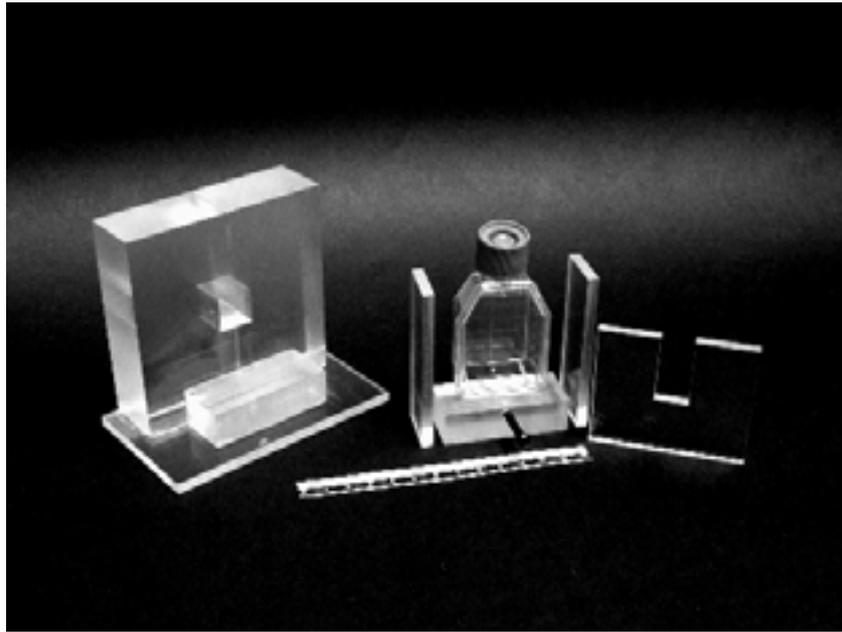


Figura 2. Sistema di contenimento e collimazione prima del montaggio definitivo

Le condizioni costruttive garantiscono l'irraggiamento di tutte le cellule presenti nella fiasca con fasce di sovrapposizione di cellule già irraggiate che dipendono dalle tolleranze nelle caratteristiche costruttive delle fiasche e che sono stimate dell'ordine di 0.5 mm. Le condizioni di schermatura della fiasca sono tali da escludere la parte apicale della fiasca stessa, cioè il tappo, che pertanto non viene attivato dall'irraggiamento.

Il sistema è stato collaudato con diverse prove presso gli LNS, dimostrando di essere in grado di fornire il supporto previsto per il proseguimento dell'attività di radiobiologia per cui è stato progettato.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano Giacomo Cuttone e il suo gruppo operante presso gli LNS dell'INFN, Catania, per il supporto scientifico fornito e per le misure preliminari effettuate con il collimatore.

Sottoprogetti

RETE MULTIMEDIALE PER TERAPIA CON PROTONI

Responsabile: Barbara Caccia

PIANI DI TRATTAMENTO

Responsabile: Marcello Benassi

VALIDAZIONE CLINICA

Responsabile: Giorgio Arcangeli

INTRODUZIONE

Barbara Caccia

Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

In questa sezione vengono illustrate, in forma integrata, le attività svolte e i risultati ottenuti dai tre Sottoprogetti: “Rete multimediale per terapia con protoni”, “Piani di trattamento” e “Validazione clinica”. In particolare, viene descritto quanto sviluppato, nel periodo che va dal 1994 al 2002, in termini di strumenti informatici per l’utilizzo della protonterapia.

Gli approcci radioterapeutici innovativi, basati sull’impiego di nuove modalità di irradiazione con protoni, hanno grandi potenzialità per la loro caratteristica di colpire selettivamente i tessuti malati risparmiando i tessuti sani circostanti. Per poter utilizzare queste potenzialità è necessaria una pianificazione efficace del trattamento che implica la soluzione di problemi computazionali complessi, sia per la definizione delle modalità del rilascio di dose sia per l’analisi delle immagini cliniche, al fine di definire con la massima accuratezza possibile il target tumorale e ottenere il risultato terapeutico desiderato. Infatti, il potenziale vantaggio, offerto dalla rilevante selettività fisica di un fascio di protoni, può comportare un miglioramento reale in termini di risultati clinici solo se combinato con una comparabile selettività fisica in termini di definizione del bersaglio, raggiungibile mediante una tecnica precisa di definizione del tumore e attraverso modalità di rilascio della dose adeguate.

L’attuazione del piano di cura e lo sviluppo degli strumenti per l’utilizzo, la condivisione e la valutazione del trattamento radioterapeutico è quindi una componente essenziale del lavoro che accompagna la progettazione e la realizzazione di un acceleratore per protoni, con un’evidente caratteristica interdisciplinare. Sono, infatti, necessarie competenze fisiche, mediche, biologiche e informatiche integrate insieme per poter sviluppare gli strumenti necessari per rendere efficace l’approccio terapeutico.

L’ottimizzazione dell’utilizzo di un centro di protonterapia è legato, infine, ad una piena ed effettiva condivisione delle risorse radioterapiche nell’ambito del Servizio Sanitario Nazionale, sviluppando prototipi di sistemi informatici per la consultazione remota, l’acquisizione dei dati e le simulazioni numeriche. Nella struttura del Progetto TOP, questa attività si è sviluppata partendo dal sottoprogetto “Rete multimediale per terapia con protoni” (Resp. B. Caccia – Istituto Superiore di Sanità, ISS), e nel corso del tempo si è naturalmente integrata con il sottoprogetto “Piani di trattamento” (Resp. M. Benassi – Istituto Regina Elena), a sua volta connesso con “Validazione dell’efficacia clinica” (Resp. G. Arcangeli – Istituto Regina Elena). Questa convergenza di attività è stata determinante per avviare quell’approccio interdisciplinare, di cui si sono già sottolineate le caratteristiche, necessario a fornire un reale vantaggio per il Servizio Sanitario Nazionale nell’utilizzo di nuovi strumenti radioterapeutici.

L’attività dei Sottoprogetti è stata articolata su alcuni obiettivi strategici:

- Sviluppo di tecniche computazionali per migliorare l’utilizzo delle applicazioni radioterapiche (Piani di Trattamento) e renderle idonee alle caratteristiche fisiche dei fasci di protoni usati a scopo radioterapico (in collaborazione con il Laboratorio di Fisica Medica e Sistemi Esperti dell’Istituto Regina Elena).
- Sviluppo di tecniche per il contornamento dei bersagli tumorali su immagini cliniche, finalizzato a fornire sistemi semiautomatici che potessero essere di ausilio al clinico nella pianificazione del trattamento (Dipartimento di Tecnologie e Salute dell’ISS).
- Diffusione di uno standard (DICOM 3, *Digital Imaging and COmmunications in Medicine*) di trasmissione e archiviazione delle immagini cliniche attraverso lo sviluppo

di strumenti software che ne semplificassero l'uso (Dipartimento di Tecnologie e Salute dell'ISS).

- Sviluppo di sistemi di consulto remoto e multiutente per la pianificazione del trattamento per protoni, allo scopo di rendere possibile un largo accesso alle risorse legate alla protonterapia e favorirne la diffusione (in collaborazione con il Laboratorio di Fisica Medica e Sistemi Esperti dell'Istituto Regina Elena).
- Organizzazione di una cartella clinica multimediale per semplificare l'analisi dei dati relativi al paziente e la verifica di una eventuale eligibilità al trattamento con protoni (in collaborazione con la Fondazione TERA e con il Dipartimento di Fisica dell'Università degli Studi di Genova).

La parte di attività relativa alla definizione di una cartella clinica multimediale è stata in parte finanziata dall'Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (INFN), che ha inoltre fornito il supporto di rete informatica e le proprie competenze in questo settore. Dal 1995 al 2000 l'INFN ha finanziato, con le sigle di progetto Ater-E e Imago, parte delle attività di tipo informatico per terapia con protoni, relativamente alla trasmissione e gestione di dati e immagini.

È necessario ricordare come il Progetto TOP sia nato in una prospettiva nazionale legata alla creazione di un Centro Nazionale per l'Adroterapia (Fondazione TERA: TERapia con Adroni) e una rete di acceleratori per protoni compatti diffusi in più centri per Radioterapia.

Questa prospettiva è legata alla peculiarità del Progetto TOP che propone la diffusione della terapia con protoni tramite la realizzazione di un prototipo di acceleratore per protoni di tipo "compatto", tale cioè da poter essere facilmente collocato in strutture ospedaliere con spazi ridotti per poter consentire la diffusione, a livello nazionale, di centri per il trattamento con protoni in terapia oncologica. Con questo obiettivo, assume una notevole rilevanza la capacità di distribuire, in modo capillare sul territorio, le informazioni e le competenze che consentano l'uso ottimale di questo tipo di macchine. La struttura di rete informatica consente di gestire gli accessi all'utilizzo della protonterapia nei vari centri, riducendo i tempi di attesa. Inoltre permette di scambiare agevolmente dati tra i centri di radioterapia convenzionale e i centri di protonterapia, per poter selezionare i pazienti per i quali la protonterapia presenta dei vantaggi. Questo riveste un particolare significato se si considera la novità, almeno nel panorama radioterapico italiano, di questo tipo di terapia. In base a queste considerazioni, il primo obiettivo è stato lo studio e la realizzazione di un sistema di trasmissione dati e immagini di interesse radioterapico e lo sviluppo di una cartella clinica multimediale. La fase iniziale di questa attività è stata caratterizzata dalla collaborazione scientifica con il Dipartimento di Fisica dell'Università di Genova (Convenzione n. 93/M/T9 del 1997) e con la Fondazione TERA (1) entrambe già impegnate nel progetto RITA (Rete Italiana per Trattamenti Adroterapici) promosso dalla Fondazione TERA.

È necessario illustrare, anche se brevemente, i risultati ottenuti in questa fase iniziale del Progetto TOP, poiché rappresentano un grande sforzo di collaborazione tra enti di ricerca, strutture ospedaliere e università con l'obiettivo comune di integrare le diverse informazioni relative al paziente usando un linguaggio comune. In particolare si è posta l'esigenza di integrare informazioni acquisite attraverso tecniche radiologiche di diverso tipo (dalle immagini ottenute con i raggi X a quelle ottenute con la tomografia computerizzata o con la risonanza magnetica nucleare) nella cartella clinica del paziente. È evidente come la possibilità di gestire la totalità dei dati relativi al paziente attraverso elaboratori distribuiti su una rete che colleghi i vari centri di protonterapia rende più veloce e efficiente il processo diagnostico (2, 3).

Questo è stato l'obiettivo per il quale hanno lavorato congiuntamente fisici e medici, con una partecipazione molto attiva di medici oncologi e radioterapisti dell'Istituto per la Ricerca sul Cancro di Genova e dell'Istituto Nazionale dei Tumori di Milano.

La cartella clinica è stata considerata uno strumento “interdisciplinare” sia dal punto di vista dell’implementazione che dell’utilizzo, quindi è stata particolarmente importante la stretta collaborazione tra fisici e medici radioterapisti per lo svolgimento del lavoro.

Progettata come una sorta di “contenitore” ove introdurre e organizzare una grande quantità di dati, clinici e tecnici, nonché immagini sia diagnostiche sia relative ai piani di trattamento radioterapici, la cartella clinica è stata caratterizzata dai seguenti requisiti:

1. semplicità nell’interfaccia con l’utente sia nella fase di inserimento dei dati che nella consultazione;
2. una struttura interna della cartella basata su diverse sezioni, con una struttura comune “ad albero”, in modo tale da consentire la possibilità di lasciare massima libertà per ulteriori ampliamenti.

L’accesso e lo scambio dei dati riportati nella cartella clinica avviene attraverso la rete con un’architettura *client-server* all’interno del *World Wide Web* (WWW); questa soluzione permette di utilizzare un’interfaccia semplificata per muoversi all’interno dell’archivio tramite una serie di finestre ipertestuali visualizzabili con i browser più diffusi. L’utilizzo del WWW ha reso il sistema indipendente dalla piattaforma, mentre i programmi per l’accesso ai dati sono sviluppati in tutte le piattaforme più diffuse. Gli altri obiettivi strategici dell’attività svolta sono stati condotti presso il Laboratorio di Fisica dell’ISS in collaborazione con l’Istituto Regina Elena, e sono riconducibili ad un progetto molto ambizioso, volto alla realizzazione di un pacchetto software completo per l’elaborazione di piani di trattamento sia per radioterapia convenzionale sia per la protonterapia, avvalendosi di modalità avanzate di visualizzazione dei dati rilevanti.

Il vantaggio di utilizzare un sistema software *home-made* è quello di poter intervenire e modificare le sue componenti in modo da permettere un’evoluzione del codice introducendo nuovi algoritmi di ottimizzazione dei parametri di irraggiamento, di calcolo della dose rilasciata o di segmentazione delle immagini mediche in fase di acquisizione dei dati del paziente. Si è ritenuto importante, inoltre, avere a disposizione uno strumento di lavoro che permettesse in modo agevole di poter confrontare piani di trattamento rivali preparati su uno stesso caso clinico, lasciando comunque aperte le possibilità di utilizzo di algoritmi di calcolo per fasci terapeutici non convenzionali e sistemi di ottimizzazione sviluppati per fasci ad intensità modulata. Il lavoro è stato impostato tenendo conto di alcune considerazioni di tipo generale sulla possibilità di accedere alle risorse. Le strutture ospedaliere sono spesso distribuite su un’area metropolitana estesa e, da qui, la necessità di dare accesso all’utilizzo del sistema di pianificazione del trattamento anche a postazioni di lavoro distanti tra loro.

È stato quindi ipotizzata per il TPS (*Treatment Planning System*) una struttura di tipo *client-server*, che potesse consentire l’utilizzo remoto di almeno una parte delle sue funzionalità e che possa avere stazioni di lavoro anche distanti tra loro. Per tener conto di tutti i possibili sviluppi è stato, infine, necessario avere una struttura modulare in cui fosse possibile inserire, in modo agevole, sistemi di calcolo della distribuzione di dose per fasci terapeutici di tipo diverso (fotoni, elettroni e protoni) e moduli di ottimizzazione da utilizzare con macchine per terapia sia di tipo convenzionale che non, avendo poi la possibilità di confrontare i risultati ottenuti.

In base a queste linee generali sono stati sviluppati strumenti di consultazione remota per sistemi TPS da poter utilizzare all’interno dell’Intranet ospedaliera oppure su Internet (4).

Nella progettazione del sistema per il consulto remoto di un TPS sono stati considerati alcuni punti essenziali. Ad esempio, il sistema deve essere efficiente anche in sistemi con banda passante ridotta, e quindi lo scambio di dati sulla rete deve essere ridotto al minimo, soprattutto per quanto riguarda le immagini. L’interfaccia utente deve essere semplice, fornendo comunque tutti gli strumenti utilizzati necessari per il contornamento del bersaglio e degli organi a rischio. Infine va tenuto conto dei problemi di sicurezza riguardo alla trasmissione in rete di dati riservati. Per stimolare l’ambiente della fisica medica all’utilizzo di uno standard per

L'archiviazione e la trasmissione di immagini mediche, è stato scelto di utilizzare DICOM 3.0 che rappresenta lo standard attualmente accettato a livello internazionale e che è nato per la necessità di costruttori e utenti di gestire e scambiare le immagini mediche digitali in un ambiente distribuito. Per poter sviluppare applicazioni software in grado di utilizzare questo standard di comunicazione, è stata realizzata un'interfaccia di programmazione multiplatforma (jDPI - *Java DICOM Programming Interface*) che consente un dialogo facilitato all'interno di un sistema informativo eterogeneo (5, 6). Infine sono stati sviluppati strumenti per il contornamento degli organi a rischio, per l'ottimizzazione del rilascio di dose per fasci a modulazione di intensità e per il calcolo della distribuzione di dose con fasci di protoni (7-10). I risultati ottenuti sono illustrati nei lavori che seguono questa introduzione.

Gli obiettivi fin qui descritti sono stati raggiunti dal punto di vista del metodo, ma c'è bisogno di molto lavoro di implementazione per poter generalizzare l'utilizzo degli strumenti realizzati. Molte delle attività di ricerca che sono state condotte nell'ambito di questi sottoprogetti hanno un impatto notevole sulla Radioterapia in senso generale, con una importante ricaduta dei risultati ottenuti anche in applicazioni che non facciano uso dei protoni. In tal senso lo sforzo compiuto per avviare attività di ricerca legata agli aspetti modellistici, computazionali e informatici in Radioterapia ha prodotto una solida base per la crescita di tali competenze, che vanno anche oltre gli obiettivi del Progetto TOP. Il lavoro svolto finora ha prodotto i risultati attesi, ma sicuramente, nel corso del lavoro stesso, sono emersi obiettivi ben più impegnativi di quelli posti inizialmente il cui raggiungimento garantisce un utilizzo ottimale per la protonterapia e fornisce comunque competenze e strumenti di rilevante interesse in radioterapia oncologica.

Questa attività si è avvalsa del contributo di molte persone che hanno collaborato durante il lavoro di tesi di laurea o di specializzazione oppure attraverso un contratto di collaborazione bandito sui fondi del Progetto TOP.

Bibliografia

1. Amaldi U, Grandolfo M, Picardi L (Ed.). *The RITA network and the design of compact proton accelerators*. Frascati: INFN-LNF Divisione Ricerca; 1994.
2. Caccia B, Marchi A, Mattia M, Risso P, Squarcia S, Valentini S. Using WWW as a tool to transmit clinical hadrontherapeutic data in the RITA Project. *Phys Med* 1997;13(1):45-7.
3. Bacigalupo A, Caccia B, Gardani G, Ferraris M, Risso P, Squarcia S, Tana S, Vitale V. Un nuovo strumento per la radioterapia: la cartella clinica RITA della fondazione TERA. In: Giovanelli G, Volta C (Ed.). *Atti del Convegno "Biosys 98: Sanità e sistemi medicali: automazione e informatizzazione*. Milano, 2-4 aprile 1998. Milano: Editrice Anipla; 1998. p. 37-47.
4. Caccia B, Capparella R, Fragomeni R, Malatesta T, Mattia M, Russo M, Valentini S. Strumenti informatici in radioterapia: consultazione remota di un sistema di pianificazione del trattamento per fasci di protoni. In: *Atti del Convegno Radiazioni in Medicina: Tecnologie innovative, criteri di qualità, dosi di riferimento*. Gubbio, 2-4 settembre 1998.
5. Caccia B, Mattia M, Valentini S. Visualizzazione di immagini cliniche tramite Web e interrogazione di un server DICOM. In: *Atti del Convegno Radiazioni in Medicina: Tecnologie innovative, criteri di qualità, dosi di riferimento*. Gubbio, 2-4 settembre 1998.
6. Caccia B, Marchi A, Mattia M. Java DICOM programming interface (jDPI): a simple tool to manage medical images through the network. *Phys Med* 2000;16(4):181-6.
7. Benassi M, Caccia B, Del Giudice P, Marzi S, Mattia M. Tecniche di ottimizzazione per fasci radioterapici ad intensità modulata. In: *Atti del X Convegno Nazionale della Società Italiana per le Ricerche sulle radiazioni*. Frascati, 19-22 novembre 2000.

8. Benassi M, Caccia B, Del Giudice P, Marzi S, Mattia M. A comparative study of optimization procedures for intensity modulated beams. *Radiother Oncol* 2000;56(Suppl.1):225-30.
9. Caccia B, Del Giudice P, Marzi S, Mattia M and Benassi M. Optimization of Intensity Modulated Radiation Therapy: assessing the complexity of the problem. *Ann Ist Super Sanità* 2001;37(2):225-30.
10. Caccia B, Del Giudice P, Marzi S, Mattia M and Benassi M. Radioterapia con fasci ad intensità modulata: definizione di una funzione costo per l'ottimizzazione del piano di cura. In: *Atti del II Convegno Nazionale AIFM*. Brescia, 12-16 giugno 2001. p. 217-8.

SVILUPPO DI METODI COMPUTAZIONALI PER LA VALUTAZIONE DEL PIANO DI TRATTAMENTO IN RADIOTERAPIA

Maurizio Mattia (a), Simona Marzi (b), Paolo Del Giudice (a), Barbara Caccia (a), Marcello Benassi (b)

(a) Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Laboratorio di Fisica Medica e Sistemi Esperti del Centro Ricerca Sperimentale, Istituto Regina Elena, Roma

Ricerca del piano di cura ottimale

Il recente sviluppo della radioterapia ha portato, all'interno di contesti clinici nuovi e sofisticati, dei sistemi di irraggiamento che ottimizzano il rilascio di energia sul tumore mantenendo un livello di protezione dei tessuti sani circostanti molto elevato (1). Una delle tecniche più innovative nel panorama delle applicazioni radioterapiche è sicuramente la radioterapia con modulazione di intensità dei fasci (*Intensity Modulated Radiation Therapy*, IMRT), disponibile sia per radiazione convenzionale (elettroni e fotoni) che in terapia con protoni. In questo tipo di terapia ogni fascio di radiazioni viene suddiviso in una matrice di piccoli "fascetti" (*pencil beam*) ognuno dei quali con fluensa regolabile, come mostrato in Figura 1, dove, dei 5 fasci che irraggiano il paziente, sui piani perpendicolari alla linea di propagazione, sono visualizzati i profili di modulazione dei campi impiegati: tanto è più scuro un *pixel* della matrice tanto è più elevata la fluensa del *pencil beam* corrispondente. Ogni fascio è diviso in 13 x 24 *pencil beam* per un totale di 1560 variabili necessarie alla definizione di un piano di cura.

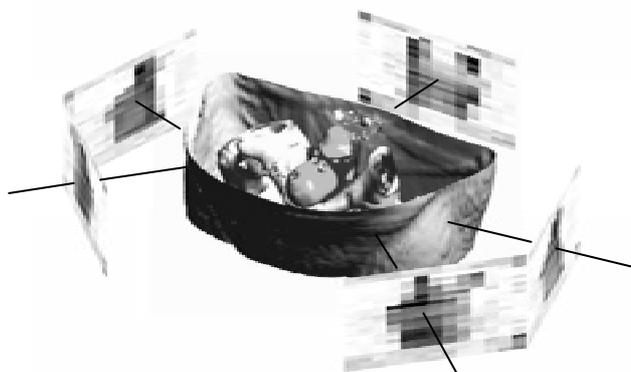


Figura 1. Esempio di trattamento radioterapeutico di un tumore alla prostata con l'utilizzo della IMRT

È evidente il grado di complessità nella determinazione della fluensa ottimale per ognuno dei singoli fascetti al fine di conformare la dose di radiazione terapeutica al bersaglio tumorale. La ricerca del piano di cura ottimo costituisce l'obiettivo della "pianificazione inversa", e richiede

la calibratura caso per caso di questi sistemi di irraggiamento attraverso strumenti analitici e numerici in un approccio al problema interdisciplinare, come documentato dall'estesa letteratura scientifica prodotta nell'arco di un decennio (2). L'impossibilità di risolvere il problema manualmente con successive prove e aggiustamenti nasce in primo luogo dall'elevata dimensionalità dello spazio dei parametri che definiscono un trattamento (ad esempio il numero di fasci impiegati, la loro orientazione e la loro fluenza) che partono da qualche decina, nel caso della radioterapia convenzionale, per arrivare ad un numero dell'ordine del migliaio nel caso della moderna IMRT (vedere Figura 1). In aggiunta, come sarà illustrato nei paragrafi successivi, gli ostacoli che rendono lo studio della pianificazione inversa necessario e non banale possono emergere, almeno in linea di principio, dalla non univocità della soluzione dovuta alla natura intrinseca del problema o alla metodologia utilizzata per risolvere il problema.

Quindi prima ancora di risolvere il problema della ricerca del piano di cura ottimo, con approcci e tecniche mutuati da campi quali la meccanica statistica e lo studio dei problemi inversi, si devono affrontare dei problemi di carattere più generale: fissata la patologia e il paziente, il migliore trattamento radioterapeutico può essere determinato in modo univoco? E se esistono più soluzioni ottimali, che influenza ha questa non univocità nella probabilità di successo della cura? Quale livello di accuratezza, nel processo di ricerca di una eventuale soluzione approssimata del problema inverso, rende invisibile questa degenerazione? O in altre parole, a che scopo spingere oltre un certo limite il processo di ricerca quando il piano di cura ottimo può essere indistinguibile in termini clinici da altre soluzioni approssimate o sub-ottimali?

Nei paragrafi che seguono viene esposto il tentativo di rispondere a queste domande riportando i risultati delle indagini svolte nell'ambito del Progetto TOP (Terapia Oncologia con Protoni) dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) in collaborazione con il Laboratorio di Fisica Medica e Sistemi Esperti dell'Istituto Regina Elena (IRE) (3, 4).

La pianificazione inversa: complessità e incertezza

La ricerca del trattamento radioterapeutico migliore richiede la definizione di una metrica che permetta di confrontare quantitativamente due piani di cura concorrenti. A questo scopo occorre definire una funzione che associ ai parametri di un trattamento (fissato il paziente, il sistema di irraggiamento e la patologia) un indicatore di qualità che stabilisca, a partire dalla distribuzione di dose assorbita dagli organi irraggiati, quanto bene venga controllata la neoplasia e risparmiato il tessuto sano circostante. Nei campi di studio dei problemi inversi questo indicatore viene in genere chiamato "funzione costo" e, nel nostro approccio alla pianificazione inversa, minore è il suo valore e maggiore è la qualità del trattamento corrispondente.

Da questo punto di vista la ricerca del piano di cura ottimo si riduce alla ricerca del minimo assoluto della funzione costo, in corrispondenza del quale sono associati i parametri del trattamento radioterapeutico migliore: la pianificazione inversa è stata quindi ricondotta ad un problema di minimizzazione (ottimizzazione).

La scelta della funzione costo è in generale arbitraria e in letteratura esistono diversi esempi a partire da funzioni di tipo fisico, basate sull'energia assorbita nei singoli elementi di volume in cui è suddiviso il bersaglio, fino ad arrivare a funzioni che integrano informazioni legate alla probabilità che i tessuti colpiti dalla radiazione subiscano un danno biologicamente rilevante (5-9). Esistono comunque delle regole da rispettare, una delle quali viene dalla necessità di ridurre la difficoltà di definizione dei parametri della funzione costo, come le priorità dei vincoli concorrenti nel piano di cura, soprattutto quando questi sono in numero elevato o quando non sia possibile individuare dei criteri che a priori suggeriscano la loro identificazione. Dovrebbe inoltre

essere tenuto in conto che un indicatore di qualità determina inevitabilmente il grado di una eventuale degenerazione della soluzione alla pianificazione inversa, ma in condizioni realistiche la possibilità di valutare a priori la bontà di una scelta rispetto ad altre è in generale impraticabile.

Tali considerazioni, sostanziate da precedenti indagini (3,4), hanno portato all'uso nell'analisi in discussione di una funzione costo non locale (nel senso che dipende dalle distribuzioni di dose) e di tipo biologico: l'indicatore è, infatti, una misura di quanto gli istogrammi cumulativi dose-volume (*Dose-Volume Histogram*, DVH) dei singoli organi coinvolti nell'irraggiamento violano i vincoli dose-volume specificati a partire dalle indicazioni provenienti da indagini epidemiologiche sulla probabilità di controllare il tumore e di avere complicazioni per i tessuti sani coinvolti (10-12). In Figura 2 sono illustrati i DVH risultanti da un piano di cura di un tumore alla prostata sovrapposti ai vincoli dose-volume, indicati come l'unione di zone "grigie", specificati dal radioterapista. Come illustrato in figura, le zone grigie, composte dall'unione di quarti di piano, rappresentano i vincoli ai quali deve sottoporsi il piano di cura perché il trattamento abbia un'alta probabilità di successo: l'invasione di queste zone da parte dell'istogramma produce una penalità codificata con un incremento della funzione costo. Per gli organi a rischio, il vertice in basso a sinistra delle zone proibite rappresenta la percentuale di dose massima che un sottovolume del tessuto può tollerare senza che si manifestino significativi effetti collaterali

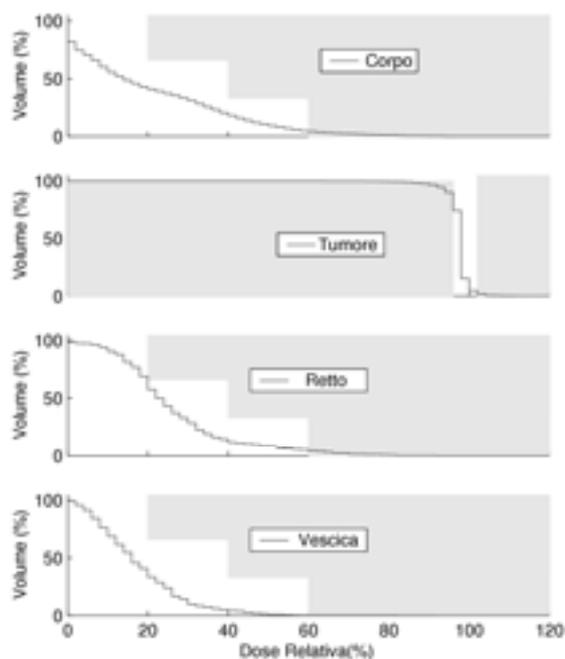


Figura 2. Istogrammi dose-volume integrali per un trattamento del tumore alla prostata. Dal basso verso l'alto sono riportati gli istogrammi per la vescica, il retto, il tumore e il tessuto coinvolto nell'irraggiamento non appartenente ad uno dei precedenti volumi.

Per questo indicatore di qualità il piano di cura ideale è quello in cui i diversi istogrammi dose-volume non attraversino le zone a cui sono associate delle penalità. Nell'approccio ai casi clinici reali la natura frustrata del problema, dovuta alla non indipendenza dei DVH, rende questa configurazione irraggiungibile, e il trattamento ottimale in generale sarà frutto di un compromesso.

La funzione costo può essere vista come lo strumento che codifica le risposte di un sistema complesso: un'ipersuperficie nell'ampio spazio dei parametri del trattamento, di cui un esempio è riportato in Figura 3, che il processo di ricerca del piano di cura ottimo visita con approcci computazionali più o meno sofisticati, scoprendo valli e colline e selezionando quei punti ai quali è associato il "costo" minore. In figura, l'identificazione del punto associato al minimo assoluto in presenza di più minimi dipende in modo cruciale dalla scelta dell'euristica e dalle condizioni iniziali del processo di ricerca. Le frecce bianche rappresentano le traiettorie di una semplice dinamica guidata da forze proporzionali al gradiente della superficie partendo da tre condizioni iniziali differenti: solo in un caso (traiettoria di destra) viene trovato il minimo assoluto, il piano di cura ottimo. Localmente, quindi, ogni minimo è una soluzione ottimale: qualunque perturbazione dei parametri del trattamento peggiora la qualità del piano di cura. Eppure globalmente possono esistere insiemi di parametri ai quali è associato un costo minore rispetto agli altri minimi. La complessità del sistema può allora essere intesa come la quantità di possibili "risposte" (minimi) differenti, anche se sub-ottimali, ad una stessa domanda. Complessità che tanto è più marcata quanto più alla definizione della qualità del trattamento contribuiscono vincoli in competizione, tali da implicare come soluzione ottimale un compromesso. E questo è proprio il caso della radioterapia dove al tumore vuole essere rilasciato il massimo della dose, cercando di soddisfare la richiesta complementare di assenza di irraggiamento per gli organi sani circostanti.

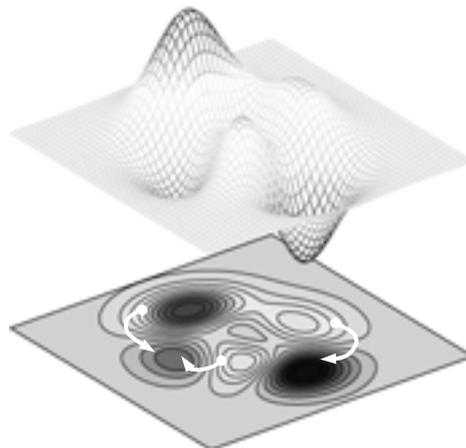


Figura 3. Esempio di funzione costo, definita in uno spazio di parametri bidimensionale (es. l'orientazione di due fasci)

La molteplicità della risposta al problema inverso è in linea di principio risolvibile con una visita esaustiva dello spazio dei parametri, ma data la sua elevata dimensionalità, questa possibilità non è praticabile in tempi accettabili. Approcci analitici al problema riportati in letteratura non portano a risultati soddisfacenti (2), almeno per la forte non linearità del sistema che associa, ad un trattamento, la distribuzione di dose assorbita e quindi la funzione costo. L'unica possibilità, come già accennato, di risolvere il problema è attraverso un approccio computazionale, che per sua natura è approssimato soprattutto se devono essere soddisfatti i tempi di calcolo ristretti dovuti alle esigenze cliniche

A riguardo, se la complessità del problema è elevata, sofisticati algoritmi di ottimizzazione, spesso stocastici, sono necessari per affrontare la ricerca con una buona probabilità di successo,

infatti un ampio numero di studi nei quali il *simulated annealing* (6), e alcune varianti dei molti algoritmi stocastici disponibili (7,8) sono stati applicati nel contesto dell'ottimizzazione del trattamento radioterapeutico. Il costo di questa scelta ricade sui tempi necessari a garantire una soluzione accettabile, che possono essere proibitivi nella pratica clinica.

Anche nel caso più semplice, in cui la funzione costo possiede un solo minimo, occorre tenere conto di una degenerazione della soluzione dovuta all'approssimazione con cui la soluzione viene trovata dall'approccio numerico: il criterio di convergenza per l'algoritmo adottato potrebbe fermare la dinamica di ricerca in un intorno della soluzione ottimale. Nel caso di una discesa del gradiente come quella illustrata in Figura 3 questo errore sarebbe tanto più grande quanto più bassa è la curvatura del minimo.

È facile allora prevedere che in generale la soluzione al problema inverso in radioterapia è affetta da un'"incertezza" intrinseca, che non può essere eliminata a meno di un tempo di calcolo infinito. Questo in parte risponde alla domanda sulla degenerazione del problema inverso: nel seguito dell'articolo l'affermazione verrà sostanziata in modo quantitativo con lo studio di un caso particolare. In tal senso è importante valutare la rilevanza clinica del rimanere intrappolati in un minimo locale o in un intorno del minimo assoluto.

Analisi dell'incertezza nel problema inverso

L'incertezza intrinseca nella soluzione al problema inverso, che sia dovuta alla complessità del sistema o all'approccio computazionale utilizzato, deve essere valutata come elemento di disturbo che può pregiudicare il successo di un trattamento radioterapeutico.

A questo scopo l'analisi dell'andamento della funzione costo con un processo di ottimizzazione semplice, incapace di evitare minimi locali e quindi fortemente dipendente dalle sue condizioni iniziali, può dare indicazioni significative sulla complessità dell'ipersuperficie che caratterizza il problema: scegliendo in modo casuale la condizione iniziale della ricerca nello spazio dei parametri del piano di cura, e ripetendo un numero elevato di volte questo processo, i diversi risultati delle singole ottimizzazioni daranno una rappresentazione accurata dell'incertezza e della presenza di minimi locali, o almeno di quelli capaci di intrappolare l'esplorazione delle singole ottimizzazioni.

L'algoritmo iterativo di minimizzazione scelto in questo studio è una versione stocastica della discesa del gradiente: a partire da un punto nello spazio dei parametri la configurazione successiva viene scelta casualmente in un suo intorno tra i piani di cura che riducono la funzione costo. Il vantaggio di questa discesa "diffusiva" è duplice: è applicabile a funzioni per le quali il calcolo del gradiente richiede uno sforzo computazionale elevato (dato ad esempio l'elevata dimensionalità e la non disponibilità di una sua espressione analitica); e, per effetto della diffusione, permette di esplorare una porzione dello spazio dei parametri più ampia.

Una rappresentazione sintetica dei dati raccolti è fornita dal grafico di correlazione tra la funzione costo del piano di cura ottenuto da una singola ottimizzazione e la distanza di questo piano da un punto di riferimento che può essere la migliore stima del minimo assoluto. Questo strumento illustrato in Figura 4 consente di ridurre la dimensionalità del problema e quindi di studiare alcune caratteristiche d'interesse come la curvatura media dei minimi trovati o l'eventuale presenza di più minimi. Nei grafici riportati in figura, il valore della funzione costo dei singoli risultati è riportato in ascissa, mentre la distanza tra il piano di cura trovato e quello che meglio stima il piano ottimo è l'ordinata del grafico. Sulla sinistra sono riportati tre casi paradigmatici: la forma della distribuzione e il grado di correlazione (la pendenza media della distribuzione), che danno un'indicazione sulla presenza di più minimi (distribuzione non connessa); e la loro curvatura. Un minimo con alta curvatura, ad esempio, avrebbe delle

escursioni di funzione costo ampie al variare della distanza dal minimo, al contrario un minimo quasi-degenere comporterebbe piccole variazioni della funzione costo al variare della distanza. È evidente nella figura la presenza di due insiemi sconnessi associabili all'esistenza di almeno due minimi, uno dei quali sub-ottimale.

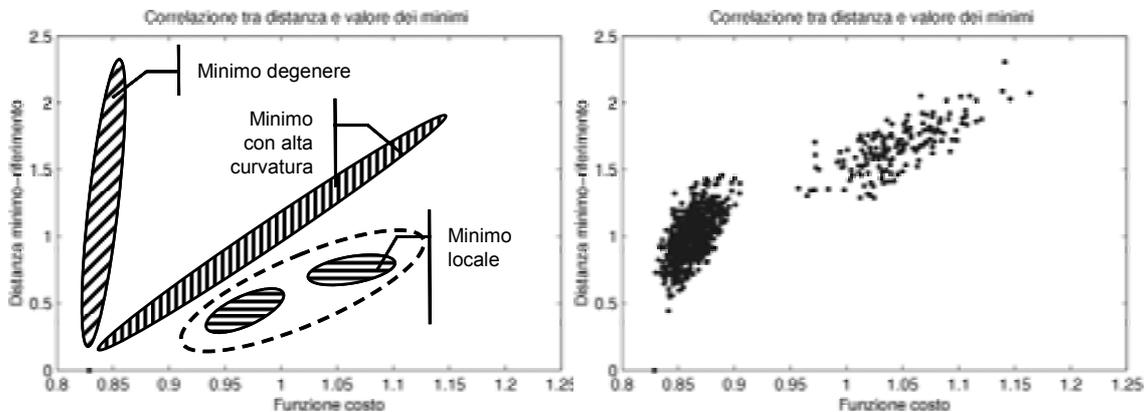


Figura 4. Grafico di correlazione tra la funzione costo delle soluzioni del processo di ottimizzazione e la loro distanza dal minimo assoluto. Sulla sinistra sono descritte delle distribuzioni esemplificative, mentre sulla destra sono riportate le soluzioni di 500 processi di ottimizzazione ognuno con condizione iniziale scelta a caso, per un tumore all'esofago

Ogni realizzazione del processo di minimizzazione sarà un punto nel grafico e l'intrinseca incertezza del problema inverso si manifesterà, come mostrato in Figura 4, nel fatto che i singoli punti saranno distribuiti a distanze e valori di funzione costo differenti. L'esistenza di minimi locali chiaramente non può essere esclusa nel caso non sia evidente nel grafico la presenza di insiemi sconnessi nella distribuzione dei piani di cura: la proiezione dello spazio dei parametri in uno bidimensionale può nascondere dettagli dell'ipersuperficie.

Studio di un caso di tumore alla prostata

L'indagine statistica discussa viene applicata ad un caso di tumore alla prostata fornito dal Laboratorio di Fisica Medica e Sistemi Esperti dell'Istituto Regina Elena, trattato con 5 campi di fotoni modulati in intensità. Per il calcolo della dose assorbita è stato usato il codice di calcolo CARO sviluppato dallo stesso Istituto (13).

I parametri variabili del piano di cura in studio sono le matrici di modulazione dei fasci, mentre vengono mantenuti fissi tutti gli altri parametri del trattamento, come il numero e l'angolazione dei campi. In Figura 5 è mostrata la modulazione dei fasci del trattamento radioterapeutico ottimale, stimata come la media delle modulazioni ottenute dai diversi processi di ottimizzazione utilizzati nell'indagine.

Nella statistica svolta su circa 90 realizzazioni del processo di ottimizzazione con condizioni iniziali scelte a caso, le singole minimizzazioni sono state campionate a differenti stadi della ricerca, al fine di inferire il comportamento asintotico per un tempo infinito di calcolo, e valutare quanto la larghezza della distribuzione delle modulazioni (l'incertezza del problema) possa essere ridotta pur di aspettare un tempo sufficientemente lungo. Gli stadi di evoluzione

della ricerca sono associati al “livello di accuratezza” con cui l’algoritmo di ottimizzazione visita l’ipersuperficie: quando la distanza tra due modulazioni successive è tale da non permettere con una certa frequenza la produzione (casuale) di una migliore modulazione (con funzione costo minore rispetto alla precedente), nel processo iterativo di minimizzazione viene dimezzato il “salto”, passando allo stadio successivo con un livello di accuratezza maggiore.

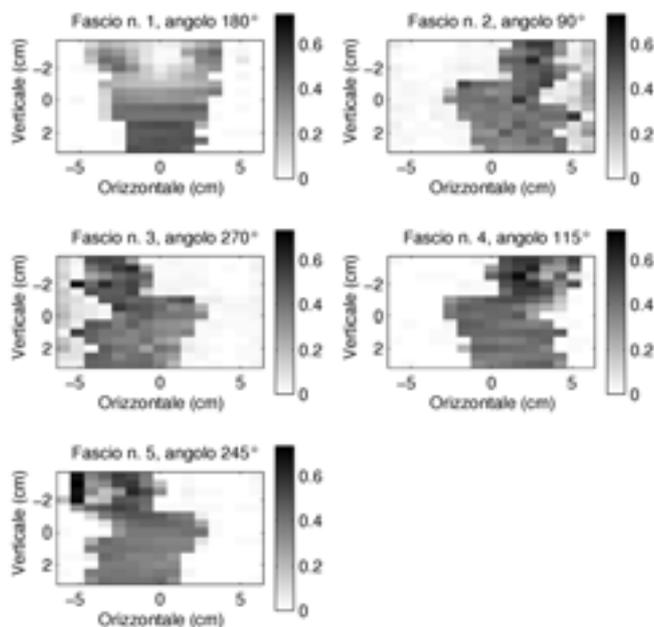


Figura 5. Modulazione dell’intensità ottimale dei 5 fasci di fotoni usati per un trattamento di tumore alla prostata, orientati a 180°, 90°, 270°, 115° e 245°. Ogni matrice ha come elementi la fluena dei corrispondenti *-pencil beam* che costituiscono il fascio: più sono scuri più alta è la fluena. La modulazione ottimale è stata ottenuta mediando le modulazioni risultanti da 91 processi di ottimizzazione indipendenti ognuno con condizioni iniziali casuali differenti

In Figura 6 è riportato (a sinistra) il numero medio di passi richiesti per terminare uno stadio di minimizzazione in funzione della distanza tra due modulazioni successive. È facile convincersi che la dipendenza del tempo di calcolo dalla dimensione del “salto” è approssimativamente esponenziale, la richiesta di visita accurata dello spazio dei parametri necessiterebbe quindi, come già affermato, di un tempo di calcolo eccessivo. Il grafico riportato a destra della Figura 6 mostra la correlazione tra la funzione costo e la distanza per i diversi stadi dell’ottimizzazione. Come previsto le realizzazioni, all’aumentare dell’accuratezza con cui i processi esplorano l’ipersuperficie, si attestano intorno a valori sempre più bassi di funzione costo. Ciononostante è non banale il fatto che le nuvole, oltre a ridurre la loro distanza dal minimo assoluto, siano concentrate intorno allo stesso valore come se distribuite in modo più o meno uniforme su di un’ipersfera di raggio pari alla distanza media tra le modulazioni ottimizzate e il riferimento. Per livelli sufficientemente elevati di accuratezza, come mostrato in figura, il raggio di tale ipersfera è linearmente dipendente dal logaritmo della funzione costo media. Dall’extrapolazione di questo andamento è evidente come la contrazione di questa ipersfera sia limitata: il suo raggio asintoticamente si attesta intorno ad un valore non nullo, a dimostrazione che la pianificazione inversa ottenuta dal singolo processo ha un inevitabile errore, che in linea di principio può essere dovuto anche ad una degenerazione del minimo globale.

Sempre in Figura 6 a destra sono riportati i piani di cura corrispondenti al baricentro delle distribuzioni (il centro delle ipersfere) ai diversi stadi dell'ottimizzazione: a differenza delle distribuzioni, il baricentro converge asintoticamente verso uno stesso punto con funzione costo molto minore dei minimi risultanti dai singoli processi di ricerca, e che per questo motivo viene assunto come migliore stima del minimo assoluto. Il fatto che esistano baricentri che a minor distanza dal piano di cura ottimo abbiano funzione costo maggiore delle soluzioni trovate dalle singole realizzazioni indica la presenza di dettagli, paradossalmente, colti solo dal processo di media. In base a questa osservazione si può dedurre che almeno parte dell'incertezza del sistema sia dovuta alla stocasticità dell'euristica adottata. Questo a sottolineare come l'incertezza intrinseca della soluzione della pianificazione inversa sia la somma di tanti contributi dovuti ai diversi elementi che costituiscono il sistema: dal processo di minimizzazione alla funzione costo, fino al sistema di irraggiamento.

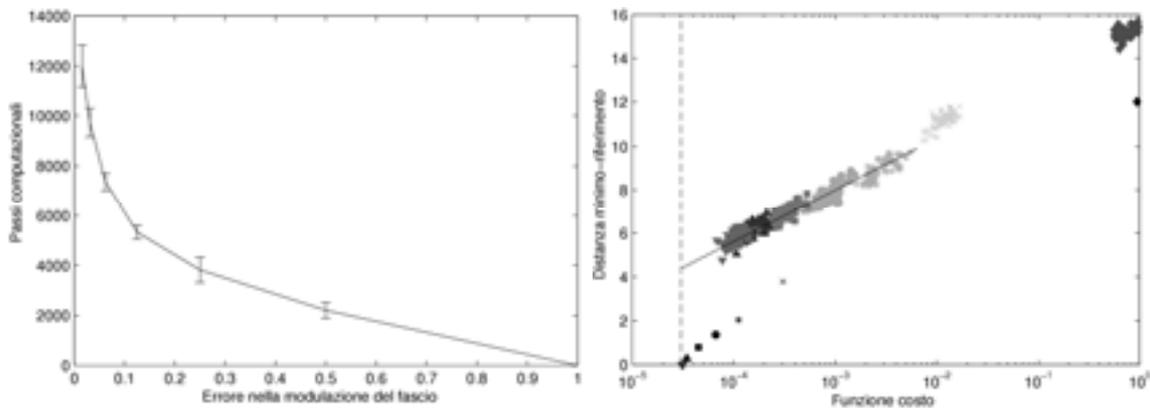


Figura 6. Evoluzione e tempi di esecuzione di diversi processi di ottimizzazione per un tumore alla prostata: differenti livelli di accuratezza in relazione al numero medio di passi necessari all'euristica per raggiungere l'obiettivo (sinistra); correlazione distanza dal minimo assoluto – funzione costo, per gli stessi livelli di accuratezza (destra) (i simboli neri rappresentando i piani di cura che hanno come modulazione la media delle modulazioni ottenute dalle singole ottimizzazioni nei diversi stadi del processo di ricerca)

Analisi radiobiologica dell'incertezza

Occorre ora valutare l'impatto in termini clinici di questa degenerazione nella soluzione della pianificazione inversa. A questo scopo esiste una vasta letteratura che documenta la definizione e l'utilizzo di indicatori biologici basati su modelli semi-empirici che danno, a partire dalla distribuzione della dose assorbita dai tessuti, la probabilità di controllo del tumore (*Tumor Control Probability*, TCP) e la probabilità di indurre complicazioni agli organi sani irraggiati (*Normal Tissue Complication Probability*, NTCP). Nell'analisi che segue sono stati usati dei modelli radiobiologici abbastanza diffusi: il modello Poissoniano di Webb e Nahum per il TCP (14) e quello della "serialità" efficace per l'NTCP introdotto da Kallman, Agren, e Brahme (15). Si è assunto inoltre che la dose assorbita nell'isocentro fosse di 90 Gy circa.

Ad ogni piano di cura, e quindi ad ogni punto nello spazio dei parametri del trattamento radioterapeutico, è possibile allora associare un TCP e tanti NTCP quanti sono gli organi a

rischio: una distribuzione di soluzioni della pianificazione inversa (una nuvola nel grafico di correlazione in Figura 6b corrisponderà quindi ad una distribuzione di TCP e NTCP.

In Figura 7 è illustrata la distribuzione nel piano TCP-NTCP dei trattamenti risultanti dal processo di ricerca dopo l'ultimo stadio (vedere Figura 6): ad ogni piano di cura corrispondono più punti, uno per ogni organo a rischio. Assumiamo che una soluzione del problema sia accettabile se la probabilità di controllare il tumore è superiore al 90% e contemporaneamente se le NTCP di tutti gli organi sani considerati a rischio è inferiore al 5%. Una misura della incertezza sarà allora la stima della probabilità di ottenere una soluzione accettabile a partire dal numero di piani che cadono completamente nella regione definita da questi vincoli e rappresentata in Figura 7 da una zona ombreggiata.

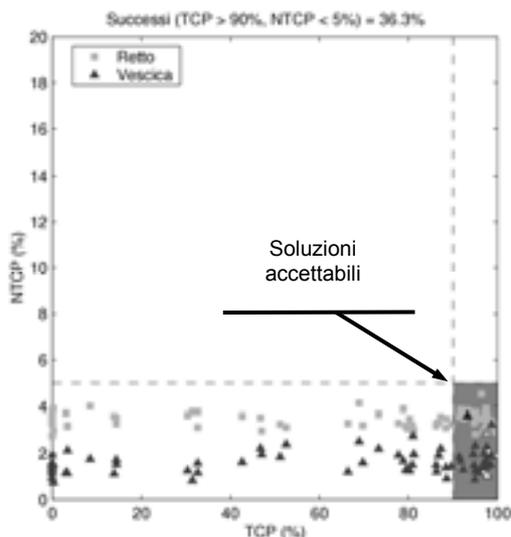


Figura 7. Minimi risultanti dalle 91 realizzazioni del processo di ottimizzazione nel piano TCP-NTCP. Ad ogni piano di cura è associato un quadratino e un triangolo con ascissa comune pari al TCP risultante dal trattamento e per ordinata rispettivamente la NTCP associata al retto e alla vescica. La probabilità di ottenere a questo stadio dell'ottimizzazione una soluzione accettabile viene stimata come la percentuale di piani di cura che per il tumore produca una TCP > 90% e per tutti gli organi a rischio una NTCP < 5%

In Figura 8 la probabilità di successo viene stimata per i diversi stadi del processo di minimizzazione. L'andamento è stato analizzato per tre diversi valori del termine α del modello quadratico-lineare di sopravvivenza delle cellule irraggiate ed è associato alla radioresistenza del tumore: a parità di dose tanto è minore la probabilità di sterilizzare il tumore quanto è più basso α . È abbastanza evidente dalla figura che, dopo il sesto stadio, la probabilità di successo tende a stabilizzarsi intorno ad un valore asintotico, che nel caso di peggiore radioresistenza, si attesta intorno al 40% di soluzioni accettabili. In questo caso quindi l'incertezza intrinseca del sistema può ridurre drammaticamente l'efficacia dell'approccio rendendolo praticamente inutilizzabile. Risultati apprezzabilmente migliori non sarebbero comunque emersi se avessimo fatto avanzare ulteriormente le singole minimizzazioni. La non linearità delle probabilità TCP e NTCP rispetto ai parametri del trattamento da inoltre luogo ad una sensibilità asimmetrica: l'incertezza in termini clinici può quindi essere amplificata, come risulta evidente in Figura 8, nella separazione delle curve a $+\Delta\alpha$ e $-\Delta\alpha$.

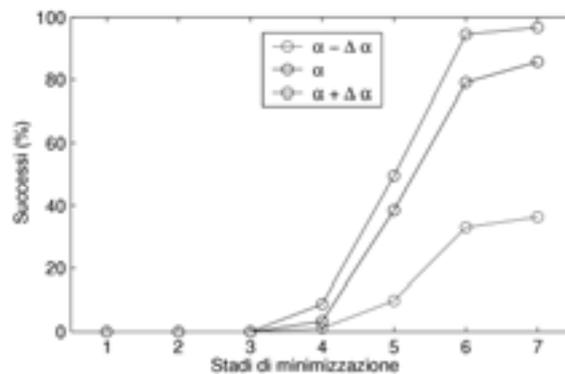


Figura 8. Analisi di sensibilità della probabilità di trovare un piano di cura soddisfacente rispetto alla variabilità del parametro α del tumore ($\Delta\alpha / \alpha = 0,25$), per i diversi stadi del processo di minimizzazione

Ciononostante, le soluzioni codificate nella funzione costo ben descrivono quelle del problema: esistono infatti degli insiemi di parametri capaci di produrre piani di cura accettabili. Se utilizzassimo come processo di ricerca quello che ad ogni stadio di avanzamento riporta la media delle modulazioni trovate dalle singole minimizzazioni già al quarto stadio (la sua variabilità è trascurabile), come mostrato in Figura 9, avremmo ottenuto una soluzione ottima, insensibile alla variabilità della radioresistenza del tumore. Il prezzo che avremmo dovuto pagare in questo caso sarebbe stato quello di aspettare un tempo 90 volte maggiore rispetto a quello impiegato dalle singole realizzazioni di ricerca del minimo. Sempre in Figura 9 è interessante osservare come, con l'evolversi della minimizzazione, il processo tenti di ridurre la probabilità di avere complicazioni per gli organi sani, a spese di una riduzione della TCP: questo comportamento è espressione della frustrazione dovuta alla coesistenza di vincoli in pratica incompatibili nella definizione della qualità del trattamento radioterapeutico, che sono una delle principali sorgenti di complessità del problema.

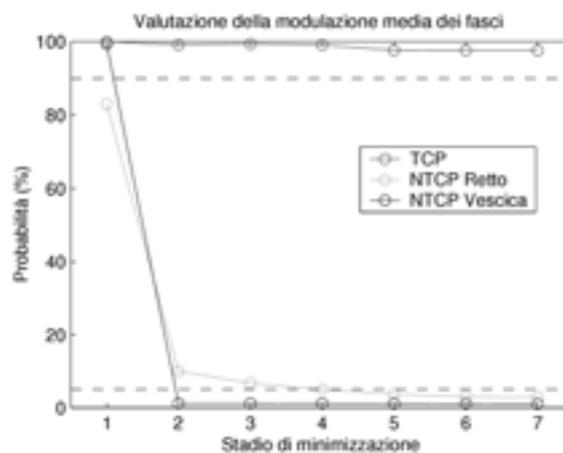


Figura 9. Probabilità di controllare il tumore (TCP) e di non avere complicazioni per gli organi a rischio (NTCP), la vescica e il retto in questo caso, per i piani di cura ottenuti mediando la modulazione di intensità delle 91 realizzazioni del processo di minimizzazione, in funzione dello stadio di avanzamento del processo di ottimizzazione

Oltre a questo studio sul trattamento del tumore alla prostata, sempre all'interno della collaborazione ISS-IRE, analoghe indagini statistiche su altri siti anatomici hanno portato a risultati qualitativamente analoghi, illustrando come l'insidia proveniente da una inevitabile incertezza nella ricerca del piano di cura ottimo sia quantitativamente osservabile in casi reali, e dimostrando come la serie di strumenti introdotti diano un supporto efficace alla caratterizzazione di questa degenerazione, sia per capire in che direzione eventualmente perfezionare il processo di ricerca del piano di cura ottimo, sia per valutare l'impatto clinico dell'errore della pianificazione inversa.

Bibliografia

1. Webb S. *The physics of conformal radiotherapy*. Bristol and Philadelphia: Institute of Physics Publishing; 1997. (Advances in Technology, Medical Science Series).
2. Brahme A. Treatment optimization using physical and radiobiological objective functions. In: Smith AR (Ed.). *Radiation therapy physics*. Berlin: Springer-Verlag; 1995. p. 209-46.
3. Benassi M, Caccia B, Del Giudice P, Marzi S, Mattia M. A comparative study of optimization procedures for intensity modulated beams. *Radiother Oncol* 2000;56(Suppl. 1): S216.
4. Marzi S, Mattia M, Del Giudice P, Caccia B, Benassi M. Optimization of intensity modulated radiation therapy: assessing the complexity of the problem. *Ann Ist Super Sanità* 2001;37(2):225-30.
5. Wu X, Zhu Y. A global optimization method for three-dimensional conformal radiotherapy treatment planning. *Phys Med Biol* 2001;46(10):107-19.
6. Webb S. Optimization of conformal radiotherapy dose distributions by simulated annealing. *Phys Med Biol* 1989;34(10):1349-70.
7. Morril SM, Lane RG, Jacobson G, Rosen II. Treatment planning optimization using constrained simulated annealing. *Phys Med Biol* 1991;36(10):1341-61.
8. Niemierko A. Random Search Algorithm (RONSC) for optimization of radiation therapy with both physical and biological end points and constraints. *Int J Rad Oncol Biol Phys* 1992; 23(1):89-98.
9. Wu Q, Mohan R. Algorithms and functionality of an intensity modulated radiotherapy optimization system. *Med Phys* 2000;27(4):701-11.
10. 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 Rad Oncol Biol Phys* 1991; 21(1):109-22.
11. Burman C, Kutcher GJ, Emami B, Goitein M. Fitting of normal tissue tolerance data to an analytic function. *Int J Rad Oncol Biol Phys* 1991;21(1):123-35.
12. Gagliardi G, Lax I, Ottolenghi A, Rutqvist LE. Long-term cardiac mortality after radiotherapy of breast cancer – application of the relative seriality model. *Br J Radiol* 1996;69(825):839-46.
13. Benassi M, Paoluzi R. An empirical formula, continuous in field parameters and depth dose for axial dose for 60 Co gamma radiation. *Br J Radiol* 1972;45(534):475.
14. Webb S, Nahum AE. A model for calculating tumour control probability in radiotherapy including the effects of inhomogeneous distributions of dose and clonogenic cell density. *Phys Med Biol* 1993;38(6):653-66.
15. Kallman P, Agren A, Brahme A. Tumour and normal tissue responses to fractionated non-uniform dose delivery. *Int J Radiat Biol* 1992;62(2):249-62.
16. Schultheiss TE. Radiation dose-response models. In: Smith AR (Ed.). *Radiation therapy physics*. Berlin: Springer-Verlag; 1995. p. 385-400.

ANALISI E GESTIONE IN RETE DI IMMAGINI CLINICHE

Maurizio Mattia (a), Daniele Del Pinto (a), Andrea Marchi (b), Barbara Caccia (a)

(a) Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Unità Operativa Fisica Sanitaria, AUSL n. 6, Livorno

Introduzione

Lo sviluppo tecnologico necessario per costruire un acceleratore di protoni a uso medico che sia in grado di utilizzare la precisione della terapia con protoni a tutti i siti anatomici non è giustificabile se non si hanno a disposizione strumenti per localizzare i tumori in tali siti con una precisione pari a quella possibile durante l'irradiazione. Infatti il potenziale vantaggio offerto dalla selettività di un fascio di protoni può essere trasformato in un miglioramento reale dei risultati clinici solo se combinato con una tecnica precisa di definizione del tumore e attraverso modalità d'irradiazione di alto livello. I miglioramenti che si sono avuti nell'ultimo decennio nel settore delle modalità convenzionali di diagnostica, in particolare, la tomografia computerizzata (*Computed Tomography*, CT), la tomografia a Risonanza Magnetica (RM), e la tomografia a emissione di positroni (*Positron Emission Tomography*, PET), e di tutti gli strumenti mirati a un'irradiazione conforme giustificano gli sforzi compiuti nella progettazione di nuove macchine per radioterapia.

La possibilità di individuare con grande accuratezza il bersaglio tumorale (*Planning Target Volume*, PTV) e le relative posizioni degli organi a rischio (*Organ At Risk*, OAR) è vincolato allo sviluppo di adeguate tecniche di *imaging* in grado di fornire al medico una visione 3D del tumore e delle strutture anatomiche adiacenti. Negli anni settanta l'introduzione della CT come tecnica diagnostica è stata determinante per lo sviluppo della radioterapia oncologica. Successivamente lo sviluppo di altre tecniche di *imaging*, come la PET o la MRI, ha consentito di avere ulteriori strumenti in grado di definire in modo sempre più accurato la posizione del tumore e la sua funzionalità fino ad arrivare al più recente concetto di BTV come target individuato attraverso immagini biologiche, nel quale identificare settori contraddistinti da differente attività metabolica funzionale a fondamento di una avveniristica MD-CRT (*MultiDimensional-Conformal Radiation Therapy*), basata sull'abilità delle tecniche radioterapiche di conformare il pattern di dose alle caratteristiche fisiche e radiobiologiche del bersaglio (1).

È evidente che l'utilizzo di una tecnica di irraggiamento molto raffinata nelle modalità di rilascio della dose deve essere legata a modalità altrettanto avanzate di determinazione del bersaglio tumorale. Inoltre le tecniche diagnostiche sempre più raffinate mettono a disposizione del medico un numero sempre crescente di immagini. È utile quindi disporre di sistemi affidabili di segmentazione semiautomatica e di efficienti sistemi di archiviazione e trasferimento di immagini.

In questo contesto sono state sviluppate e vengono qui presentati i risultati ottenuti nell'ambito di due attività di ricerca e sviluppo connesse alla analisi e gestione di immagini cliniche, che hanno l'obiettivo di fornire strumenti di lavoro utili alla pianificazione del trattamento radioterapico. In Figura 1 è mostrato lo schema complessivo del sistema di pianificazione del trattamento evidenziando i due blocchi logici relativi all'analisi delle immagini. Il primo blocco si riferisce ai sistemi di acquisizione e archiviazione delle immagini cliniche del paziente. La possibilità di avere sistemi standardizzati per l'archiviazione e la trasmissione di immagini cliniche riveste una particolare importanza se consideriamo come

questa attività coinvolga, all'interno di una stessa struttura ospedaliera reparti diversi e sempre più spesso si utilizza un unico archivio a cui possono far riferimento più operatori.

Il secondo blocco evidenzia invece la delicata fase del contornamento del bersaglio e degli organi a rischio, al fine di determinare i parametri essenziali per la pianificazione del trattamento radioterapico.

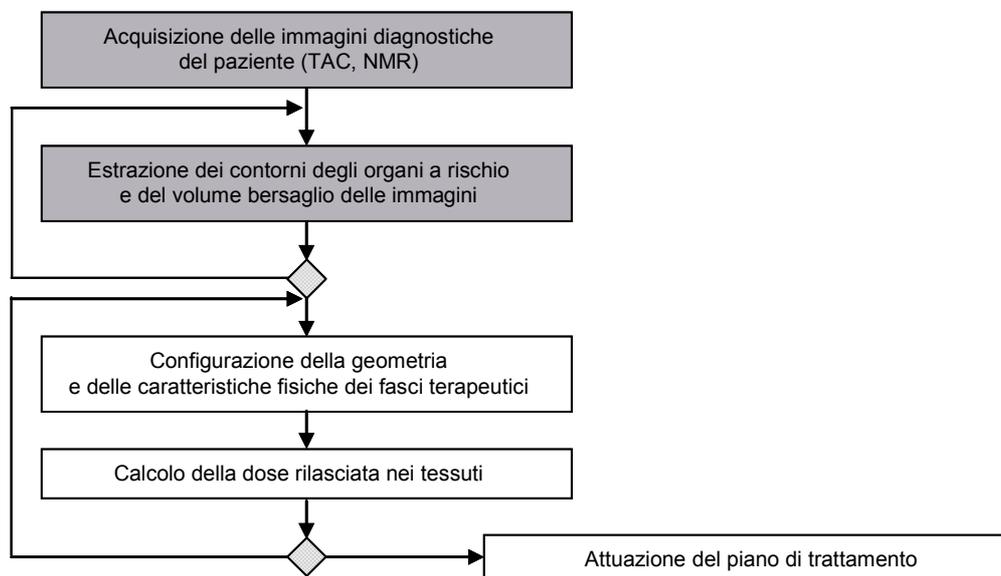


Figura 1. Schema logico della pianificazione di un trattamento radioterapico.
I primi due blocchi dall'alto rappresentano le operazioni che devono essere effettuate sulle immagini che il sistema utilizza come dati di ingresso

Nei due paragrafi seguenti verranno presentati gli strumenti informatici messi a punto per affrontare nel modo migliore almeno alcuni dei problemi che si pongono in questa fase della pianificazione del trattamento.

jDPI: un'interfaccia di programmazione per applicazioni DICOM

Dalla necessità di un accesso ad indagini diagnostiche (CT, NMR, ecc.) e ad informazioni cliniche, provenienti da sistemi prodotti da compagnie private diverse, che convivono normalmente all'interno di una moderna struttura clinico/ospedaliera, nasce e matura lo standard DICOM 3.0 (*Digital Imaging COmmunications in Medicine*) (2, 3), diffuso e accettato a livello internazionale, per la trasmissione e la gestione di immagini mediche e di informazioni ad esse correlate. DICOM è il risultato di una stretta collaborazione tra l'industria (rappresentata dalla NEMA, *National Electrical Manufacturers Association* negli USA) e una comunità di utenti in campo radiologico (ACR, *American College of Radiology*).

Un'apparecchiatura elettromedicale o un'applicazione conforme allo standard DICOM deve fornire dei servizi opportunamente codificati che siano in grado, attraverso modalità differenti

(via rete telematica, *peer-to-peer* o TCP/IP, o via condivisione di memoria di massa), di rispondere alle richieste fatte dall'interlocutore che può essere un'altra applicazione o apparecchiatura conforme a DICOM. Le richieste possono essere di varia natura e riguardano la fase di apertura (chiusura) della comunicazione, in cui occorre stabilire l'identità delle parti in gioco, e la fornitura o l'acquisizione delle informazioni o dei servizi di cui dispone l'applicazione interrogata (ad esempio immagini digitali, dati del paziente, parametri e risultati di un trattamento radioterapeutico o ricerche in un archivio).

L'interfaccia di programmazione in Java per DICOM

La realizzazione di uno standard robusto e ampiamente accettato quale è DICOM implica una struttura complessa e monolitica, che richiede un notevole sforzo di progettazione e sviluppo nella sua implementazione pratica. Dal punto di vista tecnico la varietà di stazioni di lavoro (differenti hardware e sistemi operativi) produce la difficoltà aggiuntiva che lo sviluppo dei servizi conformi a DICOM sarà fortemente dipendente dalla macchina che ospita il sistema.

Java DICOM *Programming Interface* (jDPI) (4) è una proposta di soluzione a questo tipo di problemi essendo un'interfaccia di programmazione per applicazioni che:

- implementa una parte auto-consistente dello standard DICOM 3.0;
- è indipendente dalla piattaforma, aumentandone quindi la possibilità di diffusione;
- fornisce gli strumenti che rendono trasparente all'utente la complessità dello standard.

Per rispondere alle esigenze di indipendenza dalla piattaforma, l'interfaccia è interamente sviluppata in linguaggio Java (5), scelta questa che consente di costruire sistemi robusti, portabili su diverse piattaforme e distribuiti attraverso reti telematiche. Infatti la "Java Virtual Machine" (il motore di esecuzione dei programmi scritti in Java) è disponibile sulle più importanti piattaforme hardware e software attualmente in commercio. L'aspetto più interessante per il progetto dal punto di vista strategico, è la sua nativa affinità verso il *World Wide Web* (WWW), caratterizzata dalle librerie standard a cui ha accesso Java. jDPI usa queste peculiarità del linguaggio per rendere possibile la realizzazione di nuovi servizi anche attraverso la rete pubblica Internet, mantenendo la conformità con DICOM.

jDPI è un pacchetto software costituito da un insieme di librerie di classi Java scritte per manipolare e gestire *DICOM Information Objects* (di cui sono esempi i dati relativi ai pazienti, agli studi e alle immagini CT) come tipi predefiniti del linguaggio. Le librerie forniscono inoltre la possibilità di comunicare attraverso reti telematiche in modo conforme a DICOM, sfruttando il protocollo TCP/IP.

L'uso di questo strumento non richiede una conoscenza completa dello standard. Nella progettazione è stata infatti curata l'integrazione delle nuove classi nei modelli di gestione delle risorse, degli "eventi" e dei dati adottati nelle librerie standard del linguaggio Java.

La struttura del progetto e il codice sorgente è "aperto" quindi liberamente accessibile a chiunque. Questi due aspetti sono stati una richiesta necessaria al fine di rendere jDPI sufficientemente flessibile sia per adeguarsi alle eventuali evoluzioni e estensione dello standard DICOM che per permettere contributi esterni necessari a completare l'implementazione delle specifiche dello standard nell'interfaccia.

Al momento jDPI è costituito da tre librerie che implementano parte degli elementi e servizi specificati da DICOM 3.0:

- *org.iss.dicom.data* e *org.iss.dicom.iod* forniscono gli strumenti per la gestione e la visualizzazione di immagini e dei relativi dati (*Information Object Definition*, IOD) come se fossero oggetti nativi di Java, usando funzioni predefinite nel linguaggio;
- *org.iss.dicom.net* consente di gestire le richieste di comunicazione e implementare le classi di servizi dichiarate dall'applicazione che usa jDPI. Al suo interno si possono

trovare anche le funzioni per la trasmissione dei dati direttamente come messaggi DICOM (DIMSE, *DICOM Message Service Element*).

Usando jDPI come interfaccia di comunicazione e gestione dei dati, una generica applicazione conforme a DICOM può essere schematizzata da due strati: il primo che contiene i servizi dedicati che caratterizzano l'applicazione e il secondo (jDPI) che fornisce al livello più alto i ganci per lo scambio di informazioni con altre applicazioni via rete.

Uno dei principali vantaggi di questo modello è l'indipendenza dell'implementazione dei servizi dal protocollo (*Transmission Control Protocol/Internet Protocol*: TCP/IP; *Hyper-Text Transfer Protocol*: HTTP; *Hyper-Text Transfer Protocol Secure sockets*: HTTPS; ecc.) e dalla struttura della rete che può essere ad esempio una LAN o più in generale Internet. Questa architettura favorisce la costruzione di un sistema *client-server* conforme a DICOM, anche in assenza di una conoscenza profonda della struttura di rete e delle specifiche dello standard. Con queste premesse, si possono immaginare anche applicazioni che gestiscano via Web immagini mediche con un'interfaccia HTML, consentendo lo sviluppo di un nuovo insieme di servizi in ambito medicale.

In Figura 2 sono illustrati alcuni esempi di uso di jDPI in un contesto reale. Allo stato attuale le librerie non sono complete, ma lo scheletro dell'interfaccia è stato completamente progettato ed è accessibile via Web (4) in modo da rendere possibile una continua evoluzione del progetto.

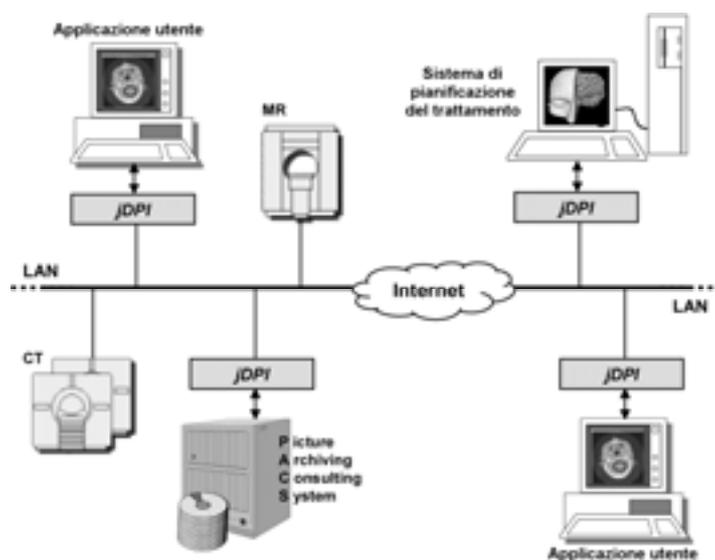


Figura 2. Un possibile sistema distribuito su LAN e Internet che consente l'accesso e la fornitura di servizi attraverso una rete geografica. jDPI è usato come strato per tradurre le richieste e le domande in un formato conforme a DICOM

Applicazioni di jDPI

Le applicazioni che possono richiedere l'uso di jDPI devono trasmettere dati di tipo medico attraverso una rete telematica, informazioni queste che hanno principalmente due caratteristiche: contengono dati di tipo confidenziale, quali ad esempio i dati del paziente, e sono di dimensioni ragguardevoli come nel caso di immagini CT. Conseguentemente si pone il duplice problema di

codificare le informazioni al fine di rendere sicura la trasmissione dei dati attraverso una rete pubblica, e di valutare i tipi di servizi in funzione della capacità di trasmissione tra i due punti interessati dalla comunicazione, considerando eventuali tecniche di compressione dei dati. Ma la gestione di queste problematiche quanto è vincolato dall'uso di jDPI? La risposta è che la soluzione può essere trovata senza richiedere alcuna modifica al progetto, semplicemente aggiungendo degli strati inferiori, disponibili in commercio e ampiamente testati, che filtrano l'informazione incanalata attraverso jDPI, comprimendola e codificandola.

Sia Java, con *Java Cryptography Extension (JCE)*, che le tecnologie Web, quali *Secure-HTTP* e *Secure Socket Layer (SSL) Handshake Protocol*, garantiscono la sicurezza delle informazioni trasmesse attraverso una rete pubblica. Per quanto riguarda la velocità di trasmissione invece è possibile coniugare librerie per la compressione di immagini di pubblico dominio con le nuove tecnologie per lo sviluppo di reti geografiche ad elevato rapporto banda passante/costo quali xDSL.

jDPI quindi può essere utilizzato anche in un contesto reale, favorendo l'uso dello standard DICOM all'interno di strutture mediche e lo sviluppo di nuovi servizi, al fine di incrementare la qualità della cura dei pazienti. Occorre, comunque, ricordare che allo stato attuale ancora del lavoro è richiesto per completare l'implementazione di DICOM nelle librerie e svolgere dei test sull'interfaccia in un contesto reale.

Metodi di segmentazione di immagini cliniche

L'estrazione dei contorni che delimitano una struttura anatomica, e l'integrazione di questi elementi in un modello anatomico coerente, riducendo al minimo l'effetto di elementi indesiderati quali il rumore, gli effetti di volume (ovvero l'apparente sovrapposizione di più organi), l'aliasing o la presenza di riferimenti artificiali usati durante l'acquisizione, sono l'obiettivo nello sviluppo degli algoritmi di segmentazione delle immagini mediche (6, 7).

L'obiettivo di questo lavoro è stato lo sviluppo di un sistema di segmentazione di immagini mediche di tipo CT per ottenere una descrizione anatomica 3D del paziente che possa essere utilizzata in un sistema di pianificazione del trattamento.

Un'immagine medica è una collezione di dati in uno spazio 2-D o 3-D che rappresenta una misura dell'interazione dei tessuti con le radiazioni da essi assorbite (es. per una CT) o comunque dell'interazione tra i tessuti e l'agente fisico primario caratteristico della modalità di esame.

In modo classico definiremo la segmentazione dell'immagine I come il suo partizionamento in N regioni connesse disgiunte S_k omogenee rispetto ad una certa caratteristica (come intensità o *texture*):

$$I = \bigcup_{k=1}^N S_k \quad S_k \cap S_j = \emptyset \quad k \neq j \quad S_k \text{ connesso}$$

Idealmente tali regioni corrisponderanno a strutture anatomiche distinte e a regioni di interesse nell'immagine. Ogni regione viene etichettata in modo indipendente, se necessario, dalla segmentazione. Esistono numerosi metodi di segmentazione riportati in letteratura utilizzati per immagini mediche (8, 9).

Molti metodi possono essere descritti come problemi di ottimizzazione, in cui la segmentazione cercata minimizza una certa funzione costo definita sulla base di *feature* estratte dall'immagine originale. In alcuni casi, come vedremo, il processo di ottimizzazione può essere descritto mediante una analogia fisica, nella quale esso diventa il moto di un sistema sottoposto a vincoli e a condizioni esterne opportune; la funzione costo viene allora spesso chiamata "energia".

Definire questa funzione in modo appropriato è la maggiore difficoltà che si incontra con questi metodi che spesso non sono applicati singolarmente, ma costituiscono la base per tecniche multiple che, esaltando le caratteristiche peculiari di alcuni approcci, cercano di alleviarne i punti deboli usando in modo combinato altre tecniche di segmentazione in fase di *pre-* o *post-processing* dell'immagine.

Nella segmentazione di immagini cliniche appare interessante la possibilità di utilizzare i modelli deformabili (10-12). I modelli deformabili sono *template* geometrici dinamici che posseggono la capacità di combinare la conoscenza a basso livello della struttura anatomica proveniente dall'immagine, con la conoscenza *a priori*, di alto livello, sulla forma, la posizione e le caratteristiche delle strutture anatomiche da riconoscere, potendo inoltre facilmente trattare l'ampio range di variabilità che si manifesta tra individuo e individuo.

In questo approccio, il *guess* iniziale sul contorno della regione da segmentare è lo stato iniziale di una struttura deformabile sotto l'azione di un campo di forze fittizio, opportunamente definito a partire dall'immagine. Il contorno "ottimale" è quindi lo stato asintoticamente raggiunto da questo sistema fisico, nel tempo della sua evoluzione dinamica.

Il fondamento matematico dei modelli deformabili è rappresentato dalla confluenza di concetti geometrici, fisici e di teoria dell'approssimazione. La geometria serve per rappresentare la forma dell'oggetto, la fisica impone i vincoli su come la forma può variare nello spazio e nel tempo, e la teoria dell'approssimazione fornisce il meccanismo formale per adattare il modello ai dati dell'immagine (13, 14).

I modelli deformabili possono essere di due tipi: parametrici e geometrici. I primi utilizzano curve e superfici descritte in forma parametrica durante la deformazione del modello, permettendo una rappresentazione compatta e veloce in termini computazionali, spesso tramite l'uso di *Spline* generalizzate; i secondi invece, basandosi sulla teoria evolutiva delle curve e sulle curve di livello, rappresentano l'evoluzione dei modelli in base a misure geometriche indipendentemente dalla parametrizzazione, rendendo così più semplici eventuali evoluzioni della topologia del modello stesso.

Ognuno di questi approcci possiede caratteristiche che vanno valutate in relazione al tipo di struttura anatomica da segmentare e/o allo specifico contesto. Ad esempio, dovendo operare su strutture ramificate, si può optare per l'approccio con modelli geometrici, poiché c'è una minore dipendenza dalla struttura iniziale del modello deformabile; oppure, avendo necessità di ottenere segmentazioni *real-time* veloci, è preferibile usare un approccio parametrico con formulazione della dinamica delle forze. In questo lavoro è stato scelto di utilizzare modelli deformabili parametricamente.

Strumenti di sviluppo

Il software realizzato non solo implementa l'approccio ai modelli deformabili descritto nel paragrafo precedente, ma permette all'operatore di impostare i parametri di controllo nel modo che ritiene più opportuno.

La tecnologia utilizzata è quella del linguaggio *Java* di Sun, questa scelta è dettata dalla relativa semplicità con cui è possibile trattare sia le immagini sia le componenti di un'interfaccia utente con questo linguaggio. In tal modo è garantita la compatibilità completa con il blocco (1) dello schema a blocchi precedente, anche se l'effettivo collegamento tra i due blocchi non è stato ancora realizzato. Tale blocco, ricordiamo, è in grado di leggere le immagini in formato *DICOM*, uno standard per le immagini mediche. Inoltre *Java* è uno strumento ideale per permettere l'utilizzo di un tool di questo tipo in uno scenario sintetizzato dalla Figura 3 in cui, il database delle immagini mediche è condiviso e si trova su una postazione remota (server), mentre i tool di segmentazione sono distribuiti su vari *client*.

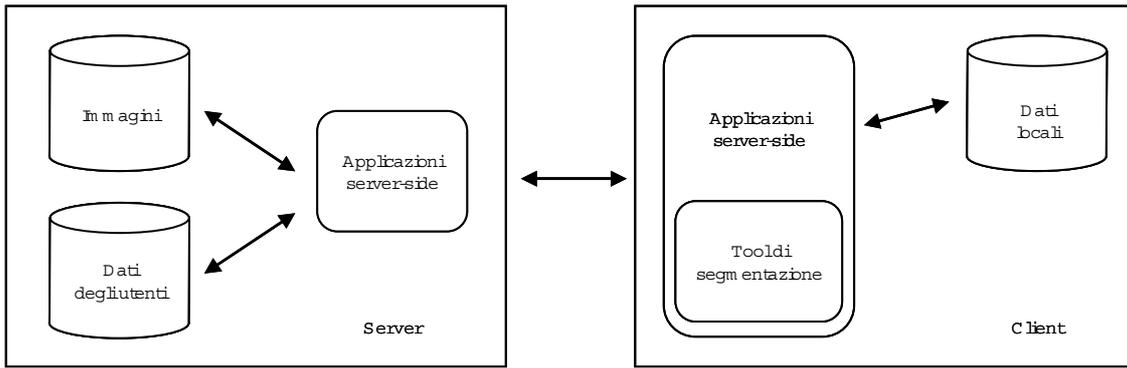


Figura 3. Schematizzazione di architettura client-server. I dati sono archiviati sul server, mentre gli strumenti di analisi sono a disposizione dell'utente (client)

Il software sviluppato può essere visto dunque come un elemento di partenza per l'eventuale sviluppo futuro di un'architettura distribuita per la segmentazione delle immagini nell'ambito di un pacchetto completo per la pianificazione dei piani di trattamento che abbia il suo naturale utilizzo all'interno di una rete LAN di un reparto di radioterapia o in una WAN che si estenda in una struttura ospedaliera più vasta.

Interfaccia

L'interfaccia verso l'utente è stata strutturata in modo da accedere alle funzioni del programma mediante un menù principale organizzato in 5 funzioni logicamente separate, come mostrato in Figura 4.

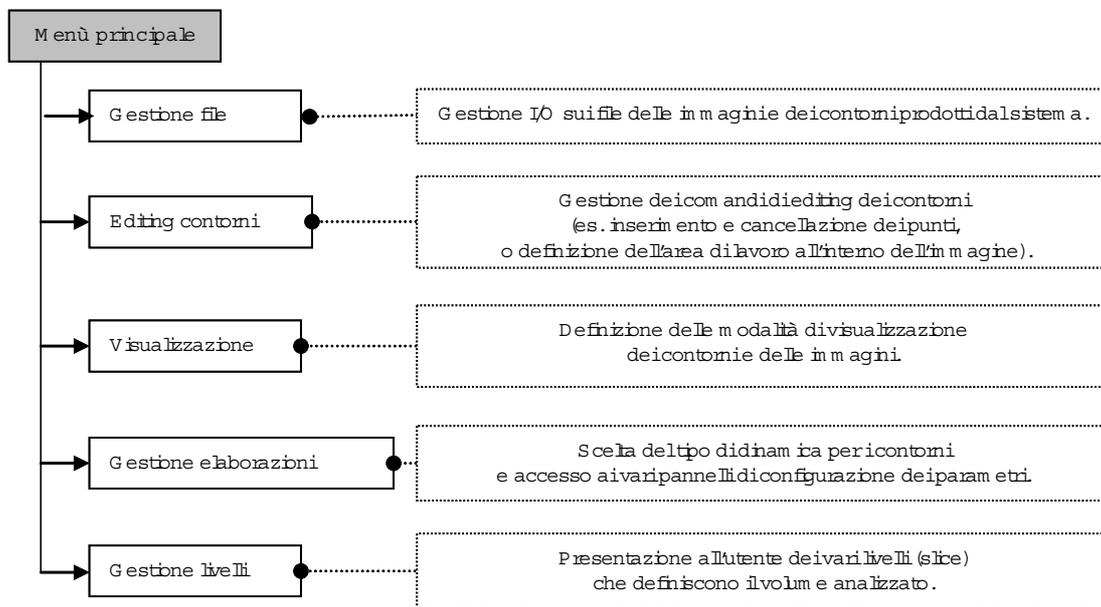


Figura 4. Organizzazione delle funzioni del sistema

Il sistema acquisisce una sequenza di immagini (es. le varie immagini TAC di un distretto anatomico) gestendo più contorni su ogni singola fetta.

Tali regioni successivamente potranno essere definite, in termini di volume, prendendo in considerazione i vari contorni relativi alla singola regione presenti sulle varie fette, e la distanza tra le fette stesse. L'utente definirà i contorni di suo interesse e ne seguirà in modo semiautomatico l'evoluzione sulle varie fette TAC. Per ridurre i tempi di elaborazione su immagini grandi, si può definire un'area di lavoro ridotta che sarà oggetto di tutte le elaborazioni successive del sistema indicandone il vertice in alto a sinistra e quello in basso a destra (Figura 5).



Figura 5. Definizione della zona di lavoro
(si può vedere come, selezionando una zona dell'immagine, sia possibile limitare ad essa l'elaborazione e accelerare così i tempi di lavoro sulla singola slice)

Nella zona di visualizzazione dell'immagine si può scegliere di mostrare l'immagine originale, l'immagine preprocessata, o l'immagine del profilo di energia generato dal sistema, come mostrato in Figura 6.

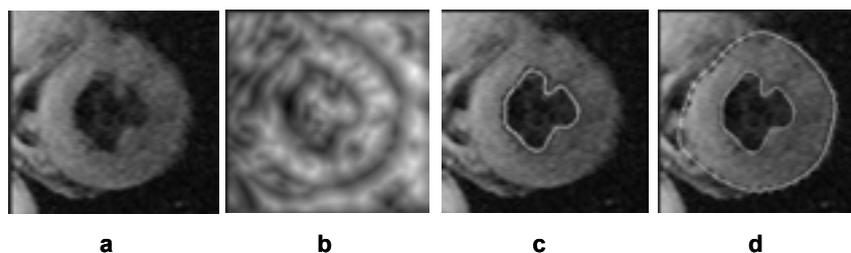


Figura 6. Elaborazioni di slice: immagine non elaborata (a); energia associata all'immagine (b); B-Spline con i suoi punti di controllo (c); B-Spline completo (d)

Per rendere più veloce il processo di segmentazione se tra due fette consecutive possiamo assumere delle variazioni minime del contorno in esame possiamo un procedimento di *guess* sul contorno successivo. Il contorno della *slice* corrente n , che l'operatore ha già modificato e ritiene sufficientemente accurato, viene copiato sulla *slice* successiva $n+1$, questo contorno ora, calcolata la nuova configurazione energetica, e sottoposto al procedimento iterativo che implementa la dinamica impostata, tenderà ad assumere una nuova forma, "vicina" alla

precedente, che corrisponderà proprio al contorno corretto della nuova sezione della regione di interesse in esame, presente sulla *slice n+1* (Figura 7).

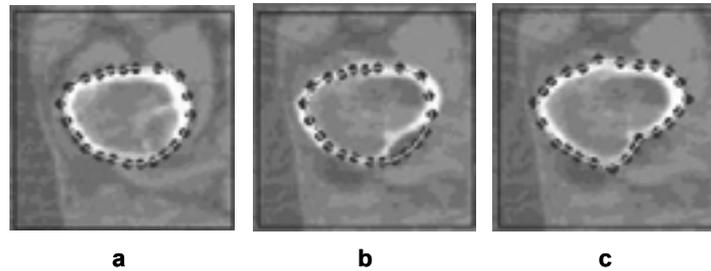


Figura 7. Contorno dell'area di interesse (a) adattata sulla *slice* successiva (b-c)

Ovviamente la bontà del procedimento dipende fortemente da quanto varia velocemente il profilo della sezione longitudinale della regione di interesse che si sta esaminando, anche in relazione della distanza tra le fette.

Il lavoro svolto ha evidenziato come i modelli deformabili siano uno strumento valido per l'elaborazione semiautomatica di immagini TAC e per l'estrazione dei contorni delle strutture di interesse clinico ai fini del trattamento radioterapico. In particolare l'uso delle B-Spline permette all'utente un approccio semplificato alla definizione dei contorni di interesse e al sistema una gestione efficiente e flessibile dei contorni stessi e della loro dinamica.

Conclusioni

Gli strumenti preparati e presentati in questo lavoro rappresentano primi passi per la realizzazione di un sistema per la pianificazione di trattamenti radioterapici avente come caratteristiche peculiari il libero accesso al codice sorgente e la modularità.

jDPI fornisce l'interfaccia verso il mondo DICOM ponendo i presupposti per la codifica e la decodifica di informazioni in formato DICOM RT, standard *de facto* per la gestione di immagini e dati relativi a trattamenti radioterapici, e la creazione di nodi DICOM.

Lo studio sui metodi di segmentazione delle immagini cliniche ha evidenziato come i modelli deformabili siano uno strumento valido per l'elaborazione semiautomatica di immagini TAC e per l'estrazione dei contorni delle strutture di interesse clinico ai fini del trattamento radioterapico.

Elemento comune ai due progetti, il linguaggio di programmazione Java si è mostrato uno strumento estremamente versatile e dalle potenzialità preziose grazie anche alla presenza di librerie standard in grado di gestire i molteplici ambiti trattati (immagini, interfacce grafiche, comunicazioni TCP/IP, ecc.).

Bibliografia

1. Ling CC, Humm J, Larson S, Amols H, Fucks Z, Leibel S, Koutcher J. Towards multidimensional radiotherapy (MD-CRT): biological imaging and biological conformality. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000;47(3):551-60.

2. National Electrical Manufacturers Association. *ACR-NEMA, Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM): Part 1-18*. Rosslyn, VA: NEMA; 2004. Disponibile all'indirizzo: <http://medical.nema.org/dicom/2004.html>; ultima consultazione 31/3/05.
3. Moore SM, Hoffman SA, Beecher DE. DICOM Shareware: A public implementation of the DICOM standard. In: Jost RG (Ed.). *Medical Imaging 1994 – PACS: Design and evaluation*. Proceedings SPIE; 1994; p. 772-81.
4. Caccia B, Marchi A, Mattia M. Java DICOM Programming Interface (jDPI): a simple tool to manage medical images through the network. *Phys Med* 2000;16(4):181-6.
5. Flanagan D. *Java in a nutshell*. Sebastopol, CA: O'Reilly & Associates Inc.; 1997.
6. Pham DL, Xu C, Prince JL. Current Methods in Medical Image Segmentation. *Annu Rev Biomed Eng* 2000;2:315-37.
7. McInerney T, Terzopoulos D. Deformable Models in medical Image Analysis: a survey. *Med Image Anal* 1996;1(2):91-108.
8. Kass M, Witkin A, Terzopoulos D. Snakes: active contour models. *Int J Comp Vision* 1988;1:321-31.
9. Ramani Pichumani. Construction of a three-dimensional geometric model for segmentation and visualization of cervical spine images. Ph.D. thesis in Medical Informatics, Graduate Studies of Stanford University, 1996.
10. McInerney T, Terzopoulos D. Topologically Adaptable Snakes. In: *Proceeding of Fifth Int. Conf. on Computer Vision (ICCV '95)*, Cambridge, MA, USA, June, 1995, 840-5.
11. Unser M. Splines, a perfect fit for signal and image processing. *IEEE Signal Processing Magazine* 1999;16(6):22-38.
12. Unser M, Brigger P. *Multi-scale B-Spline Snakes for General Contour Detection*. SPIEV vol. 3548 Wavelet Applications in Signal and Image Processing VI, 1998.
13. Malladi R and Sethian JA. Level set methods for curvature flow, image enhancement, and shape recovery in medical images. In Hege HC, Polthier K (Ed.). *Proceedings of Conference on Visualization and Mathematics*. Heidelberg: Springer-Verlag; 1995.
14. Pham LD, Xu C, Prince JL. Image segmentation using deformable models. In: J.M. Fitzpatrick JM and Sonka M (Ed). *SPIE Handbook on Medical Imaging*. Volume III: Medical Image Analysis;2000: p. 129-174.

CONFRONTO TRA TECNICHE CONFORMAZIONALI 3D IN RADIOTERAPIA CON FASCI DI FOTONI E DI PROTONI

Simona Marzi

Laboratorio di Fisica Medica e Sistemi Esperti del Centro Ricerca Sperimentale, Istituto Regina Elena,
Roma

Introduzione

La radioterapia conformazionale tridimensionale (*Three-Dimensional Conformal RadioTherapy*, 3DCRT) si basa sulla capacità di calcolare tridimensionalmente la dose all'interno dei tessuti, consentendo di adattarne la distribuzione all'esatta conformazione del volume bersaglio. L'impiego di speciali collimatori multilamellari (*MultiLeaf Collimator*, MLC), in modalità sia statica che dinamica, permette di sagomare i campi di fotoni secondo la vista o BEV (*Beam's Eye View*) del volume bersaglio. In tal modo è possibile schermare i tessuti sani e gli eventuali organi a rischio, posti sia lateralmente che lungo la direzione di propagazione della radiazione, modulando ad esempio l'intensità del fascio in base allo spessore del volume bersaglio e delle strutture critiche interposte.

La radioterapia con modulazione d'intensità (*Intensity Modulated Radiation Therapy*, IMRT) (1) rappresenta la tecnica più avanzata di trattamento con fotoni, poiché consente un evidente risparmio dei tessuti sani rispetto alle tecniche convenzionali e un grado di conformazione della dose in molti casi confrontabile con quello ottenibile con i protoni. A differenza dei fotoni però, l'andamento in profondità della dose rilasciata dai protoni è caratterizzato da un rilascio di dose nei tessuti più elevato vicino alla fine del loro percorso dando luogo al "picco di Bragg", e tale effetto consente una localizzazione di dose tridimensionale superiore a qualsiasi altro tipo di radiazione. La profondità del picco di Bragg dipende dall'energia iniziale dei protoni, variando l'energia durante l'irraggiamento si possono sovrapporre più picchi di Bragg e ottenere un picco allargato (*Spread-Out Bragg Peak*, SOBP).

Anche i fasci di protoni, analogamente ai fotoni, possono essere modulati in intensità utilizzando un numero molto elevato (centinaia) di fascetti o *pencil beam*; il picco di Bragg di ciascun *pencil beam* può essere quindi "pesato" individualmente secondo la conformazione del volume bersaglio (2). Mentre la IMRT con fotoni è considerata di natura bidimensionale, poiché la modulazione è limitata ad un piano ortogonale alla direzione di incidenza del fascio, i protoni offrono la possibilità di una modulazione tridimensionale che interessa anche l'energia dei singoli *pencil beam*, e quindi la posizione in profondità, lungo la direzione d'incidenza, dei picchi di Bragg.

La 3DCRT ha aperto due nuove strategie di trattamento rispetto alle tecniche convenzionali: la prima mira ad una riduzione della probabilità di danno alle strutture critiche (*Normal Tissue Complication Probability*, NTCP) a parità di controllo tumorale (*Tumor Control Probability*, TCP), la seconda prevede un aumento del controllo tumorale, con un incremento della prescrizione di dose (dose escalation), a parità di NTCP. La scelta dell'una o dell'altra strategia dipende dai diversi casi clinici e da una valutazione complessiva sul massimo guadagno terapeutico ottenibile. La 3DCRT ha stimolato quindi una maggiore attenzione verso gli organi a rischio e ha messo in luce la necessità di approfondire la conoscenza delle dosi-soglia tollerate

dai diversi tessuti, anche in funzione della distribuzione tridimensionale di dose ovvero dei volumi parziali irradiati (3, 4). La capacità di quantificare lo spostamento della curva di NTCP verso livelli di dose più alti consentirebbe di valutare l'incremento massimo di dose, avendo stabilito come rischio accettabile di complicanza un valore inferiore o uguale al 5%. In Figura 1 è mostrato l'effetto ipotetico della riduzione di volume di tessuto sano irradiato sulla curva di NTCP.

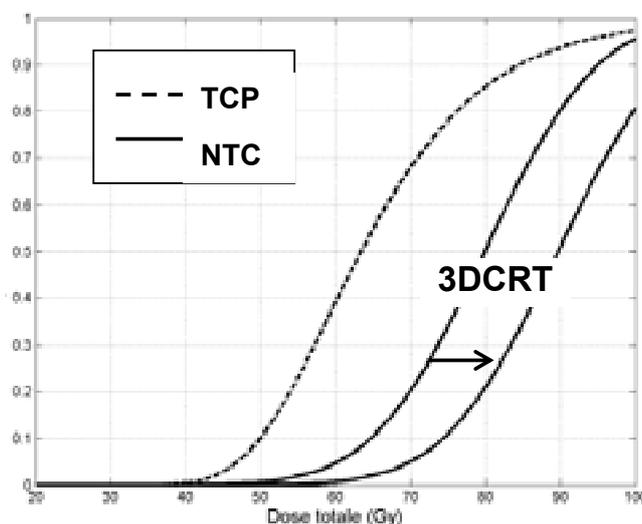


Figura 1. Effetto ipotetico della riduzione di volume irradiato, ottenuta dalle tecniche conformazionali 3D rispetto a quelle standard, sulla probabilità di complicanza del tessuto sano NTCP (linea continua). Se si stabilisce un valore massimo tollerato di NTCP pari, ad esempio, a 0,05, l'incremento di dose consentito (*dose escalation*) va da circa 60 a 70 Gy, con un aumento corrispondente in termini di controllo tumorale TCP (linea tratteggiata) che va da 0,4 a 0,68

Poiché al momento non sono disponibili in letteratura dati clinici sufficientemente estesi e eterogenei sui quali applicare e verificare l'affidabilità dei modelli radiobiologici, la qualità del piano di trattamento e il confronto tra piani rivali sono basati principalmente sull'analisi della distribuzione di dose nelle diverse regioni d'interesse.

Nel paragrafo seguente sono introdotti gli strumenti più comuni di analisi dei piani di trattamento, che saranno utilizzati nella discussione conclusiva per un confronto sull'uso dei fasci di fotoni e di protoni in casi clinici selezionati.

Strumenti di analisi e di confronto dei piani di trattamento

Le nuove tecniche di radioterapia conformazionale oggi disponibili, con fasci convenzionali e di protoni, pongono la necessità di dover confrontare le diverse scelte di trattamento utilizzando strumenti di analisi semplici e affidabili.

Il metodo più diffuso di valutazione e ottimizzazione di un piano di trattamento si basa sull'osservazione della distribuzione di dose all'interno delle strutture d'interesse, attraverso la visualizzazione delle superfici di isodose e degli istogrammi dose-volume (*Dose-Volume Histogram*, DVH). Le prime forniscono un'informazione spaziale sul deposito di dose,

indicando dove si trovano eventuali regioni sottodosate del bersaglio o sovradosate di un organo critico. Il DVH, generalmente in forma cumulativa, riassume le informazioni dedotte dall'osservazione delle isodosi e quantifica la dose ricevuta dai volumi parziali di ogni singola struttura.

Dal DVH è possibile verificare l'eventuale superamento di una dose-soglia o di un vincolo dose-volume, generalmente espresso come un volume massimo che non può ricevere una dose maggiore od uguale ad un valore stabilito. L'impiego dei vincoli dose-volume rappresenta un approccio quasi clinico alla valutazione del piano di trattamento, poiché essi contengono in forma elementare indicazioni sulla diversa radiosensibilità degli organi e sulla loro risposta di volume (organo seriale o organo parallelo) (5).

Attualmente i vincoli dose-volume sono lo strumento più utile su cui basare l'analisi del DVH e costituiscono anche il metodo più affidabile per guidare i processi di ottimizzazione di un piano di trattamento (inverse planning) nell'IMRT (2,6,7).

Un parametro semplice per la valutazione della dose ricevuta da un tessuto sensibile è il volume IV (Irradiated Volume), che riceve una dose considerata significativa in relazione alla tolleranza specifica del tessuto (es. IV50 rappresenta il volume irradiato con il 50% di dose) (8).

Per valutare il grado di conformazione della dose si utilizza invece l'indice di conformazione CI (*Conformity Index*), definito come il rapporto tra il volume TV (*Treated Volume*), ovvero il volume racchiuso da un'isodose di trattamento (ad es. pari al 90% o al 95% della dose prescritta) e il volume da trattare o PTV (*Planning Target Volume*) (8). Questo rapporto è corretto solo quando il TV contiene interamente il PTV. L'indice CI si avvicina ad 1 da valori maggiori, per gradi di conformazione via via crescenti.

Oltre all'uso di modelli radiobiologici per il calcolo delle probabilità TCP e NTCP (5,9-11), può essere utile considerare un concetto intermedio tra la risposta radiobiologica e il valore fisico della dose rilasciata, come ad esempio la dose uniforme equivalente o EUD (*Equivalent Uniform Dose*) (12). L'EUD rappresenta la dose in Gy che, distribuita uniformemente sull'intero volume di un organo o di una regione d'interesse, comporta la stessa probabilità di sopravvivenza cellulare di un'arbitraria distribuzione di dose. In modo particolare con le tecniche 3DCRT, l'uniformità di dose all'interno del volume bersaglio si accompagna a distribuzioni estremamente disomogenee nelle strutture critiche. Per la difficoltà di interpretare l'impatto clinico di tali distribuzioni, può essere utile quindi esprimere, attraverso un valore di dose unico, il coinvolgimento di un organo nel trattamento radioterapico.

In alternativa all'EUD, che rappresenta un valore efficace di dose, si può valutare un volume efficace che riceve uniformemente la dose massima, pesando opportunamente i volumi parziali che ricevono dosi comprese tra zero e il valore massimo (11).

L'insieme di questi, o di altri parametri, offre più chiavi di lettura del piano di trattamento e può aiutare a decidere il metodo di cura clinicamente più vantaggioso.

Discussione e conclusioni

L'aumento della dose prescritta, per migliorare il controllo della malattia, costituisce una sfida in molte situazioni cliniche, nelle quali il volume bersaglio si trova in prossimità, a contatto, o all'interno di strutture da proteggere.

Un caso critico è rappresentato dal tumore della prostata, in cui la vescica e il retto sono adiacenti al PTV e presentano delle zone di sovrapposizione. La dose prescritta è generalmente compresa tra 70 e 80 Gy e rende difficile il rispetto delle dosi di tolleranza degli organi a rischio. Tra i numerosi studi sull'incidenza di tossicità tardiva del retto, sono emersi infatti i seguenti vincoli dose-volume: dose massima di 65 Gy al 40-50% del volume, dose massima di

70 Gy al 30% del volume, dose massima di 75 Gy al 5% del volume (tali vincoli si riferiscono alle pareti del retto essendo quest'ultimo un organo cavo) (13).

In una recente pubblicazione (14) è stata condotta un'analisi comparativa tra quattro diversi schemi di trattamento per il tumore della prostata, con campi di fotoni e di protoni, senza e con modulazione d'intensità del fascio. Dagli istogrammi dose-volume si osserva un grado di conformazione e un livello di copertura del PTV abbastanza confrontabili tra i vari piani (il TCP calcolato è sempre compreso tra il 93% e il 95%). Il DVH del retto assume invece andamenti marcatamente diversi come riportato in Figura 2 (modificata da Cella *et al.* (14)): i volumi coinvolti nella regione delle dosi basse e intermedie sono nettamente inferiori con l'uso dei protoni; nella regione delle alte dosi ($\geq 80\%$ della dose prescritta), sia i fotoni che i protoni modulati in intensità forniscono invece lo stesso istogramma. Questo risultato si rispecchia in valori molto vicini dell'NTCP, pari al 3,6% per i fotoni e al 3% per i protoni. Il modello di NTCP utilizzato (10) è stato sviluppato infatti per prevedere la probabilità di un danno grave, sulla quale influiscono maggiormente i volumi che ricevono le dosi più elevate (non sono attualmente disponibili modelli di previsione per danni lievi o medi, che dimostrerebbero, probabilmente, i vantaggi offerti dai protoni).

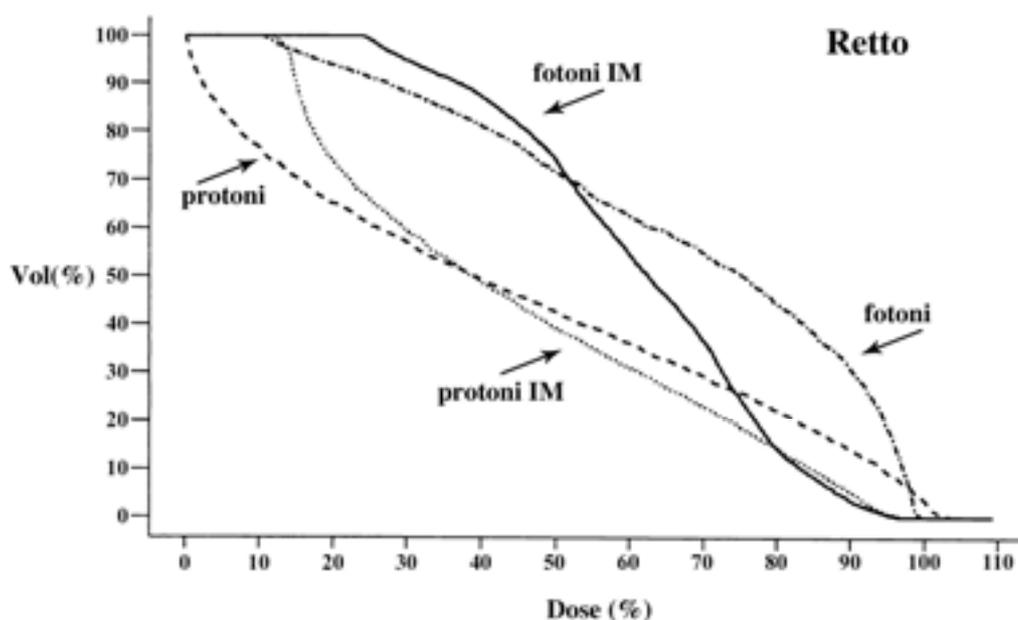


Figura 2. Confronto tra gli istogrammi dose-volume cumulativi del retto in quattro diversi schemi di trattamento della prostata con campi di fotoni e protoni, senza e con IMRT

La maggiore esperienza nell'uso dei protoni per il carcinoma prostatico proviene dall'Università di Loma Linda (15), dove è stato analizzato un gruppo di 643 pazienti ai quali è stata somministrata una dose compresa tra 74 e 75 CGE (*Cobalt Equivalent Gray*), con un frazionamento giornaliero di 1,8-2 Gy. I risultati clinici mostrano che, nel caso di prognosi intermedia, la mancata evidenza di malattia biochimica o bNED (biochemical no evidence of disease) è pari al 72%; questo valore raggiunge l'89% per una prognosi favorevole e scende al 53% nel caso di prognosi sfavorevole. Il bNED viene stabilito sulla base di un esame del livello di PSA, che è un antigene specifico della prostata. La tossicità grave del retto è stata riscontrata in meno dell'1% dei casi.

Una lunga esperienza clinica nell'IMRT con fotoni, per la cura del tumore della prostata, viene dal MSKCC (*Memorial Sloan Kettering Cancer Center*, New York), dove è stato raggiunto un valore del bNED pari all'85% nel caso di prognosi intermedia, con una prescrizione di dose di 81 Gy e un frazionamento giornaliero di 1,8-2 Gy. La tossicità grave del retto si è manifestata in meno del 5% dei casi, essendo scesa da valori del 15% ottenuti nelle tecniche conformazionali standard (16).

Altre situazioni cliniche complesse sono rappresentate dai tumori cerebrali (17), orbitali e paraorbitali (18-20), dove le principali strutture sensibili sono l'occhio (retina e cristallino), nervo ottico e corteccia cerebrale.

Anche nei tumori del testa-collo è richiesta un'elevata conformazione della dose per la presenza del midollo spinale e delle parotidi, caratterizzati entrambi da dosi di tolleranza molto basse (rispettivamente 45 Gy e 32 Gy) se confrontate con la dose prescritta (54-66 Gy).

In una recente pubblicazione (21), sono stati messi a confronto i piani di cura ottenuti con sei diverse tecniche di trattamento di un tumore del testa-collo: 2 campi contrapposti di fotoni combinati con 2 campi contrapposti di elettroni, 5 campi di fotoni conformati con blocchi, 5 campi o 9 campi di fotoni modulati in intensità e equispaziati sull'angolo giro, 3 campi di protoni con e senza modulazione d'intensità. La dose prescritta al PTV è pari a 54 Gy e i vincoli di dose per il midollo spinale e per le parotidi sono rispettivamente pari a 40,5 Gy e 32 Gy, indipendentemente dalla tecnica. In Figura 3 (modificata da Cozzi *et al.* (21)) sono mostrati i valori della EUD nel PTV e del CI in funzione della tecnica.

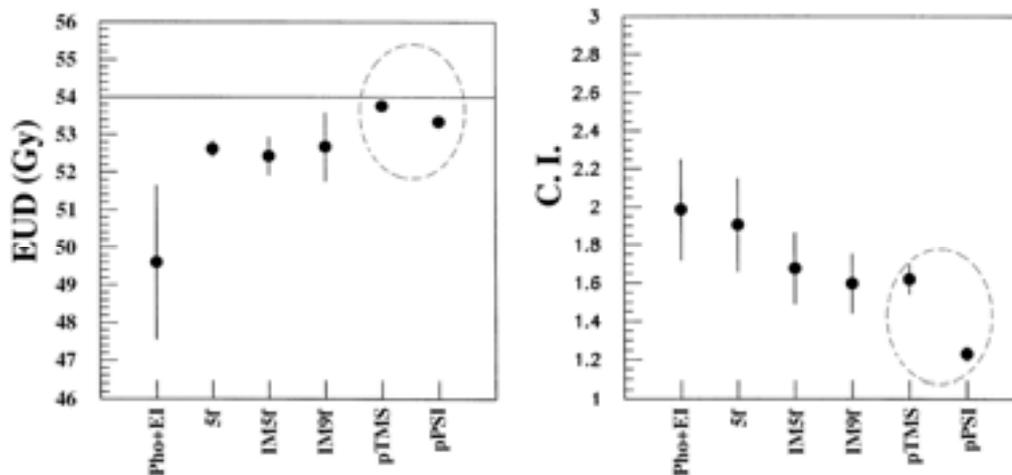


Figura 3. Andamento dell'EUD nel PTV e del CI al variare della tecnica di trattamento: 2 campi di fotoni e 2 campi di elettroni (Pho+EI), 5 campi di fotoni conformati con blocchi (5f), 5 campi di fotoni modulati in intensità (IM5f), 9 campi di fotoni modulati in intensità (IM9f), 3 campi di protoni (pTMS), 3 campi di protoni modulati in intensità (pPSI)

Il primo grafico mette in evidenza un'adeguata copertura del PTV, poiché l'EUD è vicino al valore della dose prescritta, tranne che nel trattamento combinato di fotoni e elettroni; i protoni consentono però di raggiungere i risultati migliori, in particolare se utilizzati nella tecnica a diffusione passiva, senza modulazione d'intensità dei singoli picchi di Bragg. Al contrario, i campi di protoni modulati in intensità forniscono il più basso indice di conformazione della

dose (1,23), rispetto ai valori tra loro confrontabili ottenuti con i fotoni modulati (1,68 con 5 campi; 1,60 con 9 campi) e i protoni (1,62).

La dose massima rilasciata al midollo spinale si riduce sensibilmente utilizzando i protoni (20-22 Gy), mentre con i fotoni, indipendentemente dalla tecnica, si avvicina al valore di dose-soglia stabilito. Se si considerassero anche le incertezze del trattamento, dovute ad un posizionamento del paziente non corretto o a movimenti interni degli organi, questa differenza potrebbe diventare critica e determinare, con i fotoni, la comparsa di una complicanza del midollo. Gli istogrammi dose-volume delle parotidi non si differenziano invece per la dose massima rilasciata ma per l'andamento nella regione intermedia di dose, mostrando un netto risparmio di tessuto con l'impiego dei protoni.

In conclusione, gli studi comparativi condotti tra fotoni e protoni sono principalmente basati sull'analisi dei piani di trattamento e non sono sempre confermati da un'esperienza clinica consolidata. I risultati comuni indicano un vantaggio quasi costante nell'uso dei protoni.

La convenienza maggiore riguarda il risparmio dei tessuti sani nelle regioni di dose bassa e intermedia, mentre i volumi di tessuto sano irradiati alle alte dose risultano spesso confrontabili, in particolare se si utilizza un numero sufficientemente elevato di campi di fotoni (tra 5 e 7). Il significato clinico di questi risultati dovrà essere chiarito, poiché non è sempre noto quale sia l'effetto della riduzione di volume sano irradiato sulla probabilità di una complicanza.

I modelli radiobiologici, TCP e NTCP, e l'EUD possono essere d'aiuto per una valutazione qualitativa del trattamento, soprattutto quando la distribuzione di dose all'interno di un organo è disomogenea e di difficile interpretazione.

In ultimo, le differenze nella distribuzione di dose possono dipendere, oltre che dalla qualità della radiazione anche dalla scelta di campi di trattamento diversi in numero e orientazione, da un diverso algoritmo di calcolo della dose, dalla scelta di un punto diverso del PTV al quale prescrivere la dose.

Bibliografia

1. Webb S. *The physics of conformal radiotherapy, advances in technology*. Bristol and Philadelphia: Institute of Physics Publishing; 1997. (Medical Science Series).
2. Lomax A. Intensity modulation method for proton radiotherapy. *Phys Med Biol* 1999;44(1):185-205.
3. 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(1):109-22.
4. Ten Haken RK (Ed.). Partial Organ Irradiation. *Seminars in Radiation Oncology* 2001;11(3):181-260.
5. Källman P, Ågren A, Brahme A. Tumor and normal tissue responses to fractionated non-uniform dose delivery. *Int J Radiat Biol* 1992;62(2):249-62.
6. Webb S. Optimizing the planning of intensity-modulated radiotherapy. *Phys Med Biol* 1994;39:2229-46.
7. Spirou SV, Chiu CS. A gradient inverse planning algorithm with dose-volume constraints. *Med Phys* 1998;25(3):321-33.
8. International Commission on Radiation Units and Measurements. *Prescribing, recording and reporting photon beam therapy*. Bethesda, MD: ICRU; 1999. (Suppl. ICRU 50, Report 62).
9. Goitein M. The probability of controlling an inhomogeneously irradiated tumor. In: *Report of the working groups on the Evaluation of Treatment Planning for Particle Beam Radiotherapy*. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 1987.

10. Burman C, Kutcher GJ, Emami B, Gotein M. Fitting of normal tissue tolerance data to an analytic function. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991;21(1):123-35.
11. Kutcher GJ, Burman C, Brewster L, Gotein M, Mohan R. Histogram reduction method for calculating complication probabilities for three-dimensional treatment planning evaluations. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991;21(1):137-46.
12. Niemierko A. Reporting and analyzing dose distributions: a concept of equivalent uniform dose. *Med Phys* 1997;24(1):103-10.
13. Liesbeth JB, van den Brink M, Bruce AM, Shouman T, Gras L. Estimation of the incidence of late bladder and rectum complications after high-dose (70-78 Gy) conformal radiotherapy for prostate cancer, using dose-volume histograms. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998;41(1):83-92.
14. Cella L, Lomax A, Miralbell R. Potential role of intensity modulated proton beams in prostate cancer radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001;49(1):217-23.
15. Slater JD, Yonemoto LT, Rossi Jr C, Reyes-Molyneaux NJ, Bush DA, *et al.* Conformal proton therapy for prostate carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998;42(2):299-304.
16. Zelefsky MJ, Leibel SA, Gaudin PB, Kutcher GJ, Fleshner NE, Venkatramen ES, Reuter VE, Fair WR, Ling CC, Fucks Z. Dose Escalation with three-dimensional conformal radiation therapy affects the outcome in prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998;41(3):491-500.
17. Baumert BG, Lomax A, Miltchev V, Davis JB. A comparison of dose distributions of proton and photon beams in stereotactic conformal radiotherapy of brain lesions. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001;49(5):1439-49.
18. Miralbell L, Cella L, Weber D, Lomax A. Optimizing radiotherapy of orbital and paraorbital tumors: intensity-modulated X-ray beams vs. intensity-modulated proton beams. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000;47(4):1111-9.
19. Lomax AJ, Bortfeld T, Gotein G, Debus J, Dykstra C, Tercier P, Coucke PA, Mirimanoff RO. A treatment planning inter-comparison of proton and intensity modulated photon radiotherapy. *Radiother Oncol* 1999;51:257-71.
20. Krenkli M. Indicazioni mediche e risultati in protonterapia. In: *Atti del Corso di Aggiornamento ISE*. Torino, Villa Gualino; 1999.
21. Cozzi L, Fogliata A, Lomax A, Bolsi A. A treatment planning comparison of 3D conformal therapy, intensity modulated photon therapy and proton therapy for treatment of advanced head and neck tumors *Radiother Oncol* 2001;61:287-97.

SVILUPPO DI UN ALGORITMO PER IL CALCOLO DELLA DISTRIBUZIONE DI DOSE IN TESSUTO DI UN FASCIO DI PROTONI DA 62 MeV

Roberto Miceli (a), Marcello Benassi (a), Marco D'Andrea (a), Cinzia De Angelis (b), Sandro Onori (b), Massimiliano Pacilio (b), Luigi Azario (c), Andrea Fidanzio (c), Angelo Piermattei (c)

(a) *Laboratorio di Fisica Medica e Sistemi Esperti del Centro Ricerca Sperimentale, Istituto Regina Elena, Roma*

(b) *Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(c) *Istituto di Fisica, Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma*

Introduzione

Obiettivo di questo lavoro è la realizzazione di un algoritmo di calcolo che permetta di ottenere le distribuzioni di dose, all'interno di un paziente, per un fascio di protoni impiegato per la terapia del melanoma oculare (60-70 MeV). Tale algoritmo sarà inserito nel *Treatment Planning System* (TPS) che verrà affiancato all'acceleratore TOP LINAC.

La procedura di calcolo realizzata permette, a partire da dati sperimentali, legati sia alle caratteristiche costruttive delle macchine acceleratrici (geometria e composizione della sorgente, dei collimatori, dei degradatori e dei modulatori), che a dati di natura dosimetrica, di ottenere le distribuzioni di dose di un fascio di protoni all'interno di un paziente, tenendo conto di eventuali disomogeneità. Tale algoritmo prevede la modellizzazione del fascio a partire dall'istante in cui viene prodotto dalla sorgente, e tiene conto di tutte le interazioni che esso compie nel suo percorso. Più in dettaglio, si tiene conto delle interazioni con i collimatori, i degradatori, il modulatore e i blocchi, per concludere infine con le interazioni all'interno del paziente e quindi, l'influenza delle eventuali disomogeneità sulla distribuzione della dose. Risulta evidente, pertanto, l'importanza di conoscere esattamente quali siano le interazioni e i processi coinvolti nel rilascio di energia alla materia, da parte dei protoni, nel range energetico di interesse. Ad integrare la parte di modellizzazione e calcolo, si unisce una parte sperimentale, relativa alla raccolta di dati per la caratterizzazione dosimetrica dei fasci di protoni. Una prima parte di tali misure dosimetriche costituiscono i dati in ingresso, su cui si fonda l'algoritmo di calcolo; una seconda parte dei dati, è stata impiegata come confronto per verificare la validità dei risultati del calcolo.

Si è impiegato un set di dati sperimentali ottenuto effettuando misure dosimetriche presso il CCO (*Clatterbridge Center of Oncology*, UK), in collaborazione con i gruppi di ricerca dell'Istituto di Fisica dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma e del Laboratorio di Fisica dell'Istituto Superiore di Sanità.

Caratterizzazione dosimetrica del fascio di protoni del CCO

La dosimetria di un fascio clinico di protoni può essere eseguita mediante diversi tipi di rivelatori. In questo lavoro, per la caratterizzazione dosimetrica del fascio lungo il suo asse centrale, si è utilizzata una camera a ionizzazione piatta Markus mod. 23343, prodotta dalla

PTW (*Physikalisch-Technische Werkstätten*), mentre per la determinazione dei profili di dose, si sono impiegati dei film radiocromici MD-55-2, posti parallelamente all'asse centrale del fascio.

Tali film risultano di grande efficacia per le procedure di controlli di qualità dosimetrici, per la verifica del calcolo effettuato da un sistema di piani di trattamento e per la dosimetria di fasci radioerapici stereotassici (12).

Tuttavia, a causa della forte dipendenza della risposta dei rivelatori a stato solido dalla qualità del fascio, come ampiamente riportato in letteratura (2-4), tali film presentavano delle forti sottostime nella determinazione della dose, soprattutto in zone ad alto gradiente di dose, corrispondenti alle zone di alto LET. I dati ottenuti nelle sessioni di misure con i film radiocromici, sono stati quindi elaborati dai gruppi di ricerca dell'Istituto di Fisica dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma e del Laboratorio di Fisica dell'Istituto Superiore di Sanità, che hanno determinato una procedura di correzione (5). Tale procedura, basata sulla determinazione di un fattore empirico funzione del range residuo del fascio di protoni impiegato, permette, a partire dai dati che sono stati misurati, di ottenere delle distribuzioni di dose corrette, sia per il fascio modulato che non modulato.

Il mezzo consigliato per tarare i fasci radioterapici è l'acqua (6). In tale mezzo sono facilmente eseguibili misure lungo l'asse e fuori dell'asse del fascio. Si è quindi utilizzato un fantoccio cubico, ad acqua, di lato 15 cm, e avente le pareti in perspex. Su una delle pareti è stata posta una finestra di ingresso quadrata (3,5x3,5 cm²), dello stesso materiale, di spessore pari a 0,46 mm equivalente a circa 0,5 mm d'acqua, tale quindi da minimizzare possibili perturbazioni all'ingresso del fascio.

Sulla finestra è stato disegnato un riferimento per permettere un accurato allineamento del fascio con il centro del volume sensibile del rivelatore. Per garantire la riproducibilità del posizionamento, gli spostamenti lungo l'asse del fascio (in profondità) sono stati realizzati tramite distanziali, che garantivano un passo di 0,1 mm. Gli irraggiamenti sono stati effettuati a diverse profondità in fantoccio d'acqua. Il dosimetro è stato dotato di un apposito portarivelatore tale da garantire, una volta fissata la profondità tramite i distanziali, che la superficie anteriore del volume sensibile del rivelatore stesso fosse ad una profondità riproducibile.

Algoritmo *pencil beam*

Questo algoritmo approssima il fascio completo per mezzo di un set di *pencil beam* elementari (7, 8). La dose in ogni punto si calcola sommando il contributo che ogni *pencil beam* rilascia in quel punto.

L'algoritmo è composto di due parti: il calcolo della dose nel punto di interesse, dovuto ad un singolo *pencil beam*, e la procedura di somma dei contributi di tutti i *pencil beam*.

Contributo di dose dovuto al singolo *pencil beam*

Per calcolare la dose rilasciata nel punto di interesse da un dato *pencil beam*, si è seguito l'approccio che Hogstrom *et al.* (7) hanno utilizzato per modellizzare un fascio di elettroni. Ovviamente si sono adottate le opportune modifiche, avendo a che fare con un fascio di protoni.

La dose, $d(x',y',z')$, nel punto di interesse (x',y',z') , dovuta ad un singolo *pencil beam* è separata in due contributi (9, 10): uno detto central-axis term, $C(x',y',z')$, relativo all'asse centrale del *pencil*, e uno detto *off-axis term*, $O(x',y',z')$, dovuto all'emissione radiale del fascio di protoni diretti lungo l'asse del *pencil*.

$$d(x',y',z') = C(x',y',z') \cdot O(x',y',z') \quad [1]$$

In questa schematizzazione si è considerato un sistema di coordinate avente l'origine sulla sorgente e l'asse z' lungo l'asse centrale del *pencil beam*.

Il *central-axis term* è semplicemente la *depth-dose* relativa al fascio aperto, misurata in fantoccio ad acqua, corretta per l'inverso del quadrato della distanza:

$$C(x',y',z') = DD(d_{eff}(x',y',z')) \cdot \left(\frac{SSD + d_{eff}(x',y',z')}{z'} \right)^2 \quad [2]$$

dove DD rappresenta la *depth-dose* relativa al fascio aperto, misurata in fantoccio ad acqua, SSD è la distanza sorgente-superficie del fantoccio durante la misura e d_{eff} è la profondità effettiva all'interno del fantoccio (tenendo quindi conto della presenza di eventuali disomogeneità).

Il termine *off-axis*, $O(x',y',z')$, rappresenta la distribuzione laterale di protoni dovuta all'emissione radiale dei protoni diretti lungo l'asse del *pencil*. Tale distribuzione è rappresentata per mezzo di una Gaussiana:

$$O(x',y',z') = \frac{1}{2\pi[\sigma_{tot}(x',y',z')]^2} \cdot \exp\left(-\frac{x'^2 + y'^2}{2[\sigma_{tot}(x',y',z')]^2}\right) \quad [3]$$

dove $\sigma_{tot}(x',y',z')$ è la deviazione standard dell'emissione radiale calcolata sommando in quadratura i contributi della sorgente, dei modificatori del fascio e del paziente (9).

Integrazione dei contributi di tutti i *pencil beam*

La distribuzione di dose del fascio completo si ottiene integrando su tutti i *pencil beam* che danno contributo. Nel sistema di coordinate con l'origine nella sorgente e l'asse z lungo l'asse centrale del fascio incidente, la dose nel punto di interesse (x, y, z) è data da:

$$D(x,y,z) = \iint dx' dy' \Psi_0(x',y') \cdot \frac{C(x',y',z)}{2\pi[\sigma_{tot}(x',y',z)]^2} \cdot \exp\left(-\frac{(x'-x)^2 + (y'-y)^2}{2[\sigma_{tot}(x',y',z)]^2}\right) \quad [4]$$

dove $\Psi_0(x, y)$ è la fluena di particelle normalizzata del fascio aperto, e l'integrazione è sull'area dal fascio. $C(x',y',z)$ è il termine *central-axis* descritto precedentemente.

Procedura di realizzazione dell'algoritmo

L'algoritmo di calcolo è stato implementato mediante un programma in Fortran.

Il programma suddivide lo spazio in una griglia a ventaglio (*fan grid*), in cui i raggi hanno origine nella sorgente dei protoni e i piani sono paralleli al piano di uscita del collimatore.

Ogni piano della griglia è suddiviso in 121×121 *pixel*. Considerando il piano all'uscita del collimatore e denotando con W e H le dimensioni del rettangolo in cui è inscritto il collimatore stesso, le dimensioni dei *pixel* ΔW e ΔH su questo piano sono date da:

$$\begin{aligned} \Delta W &= W * 1,5/120 \\ \Delta H &= H * 1,5/120 \end{aligned}$$

La forma della griglia è motivata dalla necessità di tener conto, a qualsiasi profondità, della divergenza del fascio e del contributo alla dose, dovuto ai protoni emessi radialmente (effetti di penombra).

La scelta di un numero prefissato di punti di campionamento rende il dettaglio della distribuzione di dose dipendente dalle dimensioni del collimatore. Nel caso della terapia del melanoma oculare, date le ridotte dimensioni dei collimatori (diametro fino a un massimo di 3,4 cm (11)), una matrice di campionamento delle dimensioni scelte, permette di ottenere un'ottima risoluzione spaziale ($\Delta W = \Delta H \approx 0,03$ cm).

Le aree dei *pixel* e, di conseguenza, dei piani di calcolo, vengono riscalate ad ogni incremento della profondità di calcolo, con la legge dell'inverso del quadrato della distanza dalla sorgente.

La porzione di spazio in cui si trova la regione di calcolo della dose (volume bersaglio) è, dunque, interna ad una piramide tronca. Il numero di piani di calcolo può essere impostata a seconda della precisione richiesta.

Il programma riceve in *input* le informazioni relative alle caratteristiche dei modificatori del fascio (degradatori, modulatore e modificatori del range) e alla composizione dell'oggetto irraggiato. Le informazioni sui modificatori vengono acquisite nella forma di matrici bidimensionali 121x121. In tale forma viene anche acquisita la curvatura della superficie di ingresso, ovvero, la distanza tra il piano all'uscita del collimatore e la superficie del paziente, su ogni singolo raggio della griglia. Le informazioni relative al bersaglio vengono fornite al programma in forma di una matrice tridimensionale i cui elementi sono le profondità acqua-equivalenti, viste da ciascun raggio della griglia.

L'integrale di calcolo della dose viene effettuato numericamente suddividendo il dominio di integrazione in *pixel* di dimensioni $\Delta W \times \Delta H$.

Naturalmente, il singolo *pencil beam* non darà contributo su tutti i *voxel*. Si è scelto di tagliare le code della gaussiana del *pencil beam*, ad una distanza pari a $4\sigma_{tot}$ dall'intersezione dell'asse del *pencil* con il piano di calcolo che si sta considerando.

Questo vuol dire che, per ogni piano di calcolo, si considera il contributo di ogni *pencil beam*, limitatamente ai *voxel* interni al rettangolo che ricopre interamente una circonferenza di raggio $4\sigma_{tot}$, centrata nel punto di intersezione tra l'asse del *pencil beam* e il piano di calcolo (Figura 1).

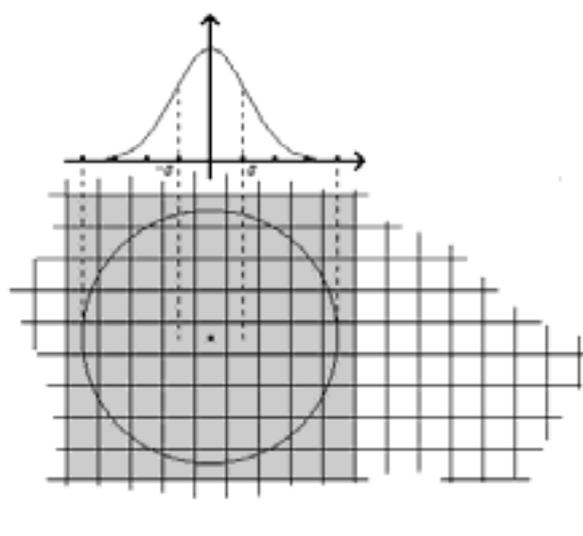


Figura 1. Regione di influenza di un *pencil beam*. Il contributo di dose viene limitato ai *voxel* interni al rettangolo che ricopre interamente una circonferenza di raggio $4\sigma_{tot}$, centrata nel punto di intersezione tra l'asse del *pencil beam* e il piano di calcolo

Confronto con i dati dosimetrici relativi al CCO

In Figura 2 è mostrato il confronto tra la percentuale di dose profonda (*Percentage of Depth Dose*, PDD) calcolata dal programma realizzato, confrontata con la PDD misurata per mezzo della camera a ionizzazione Markus, ambedue riferite all'asse centrale del fascio; è inoltre riportato l'andamento della distribuzione di Bragg per il fascio modulato, sempre lungo l'asse centrale del fascio.

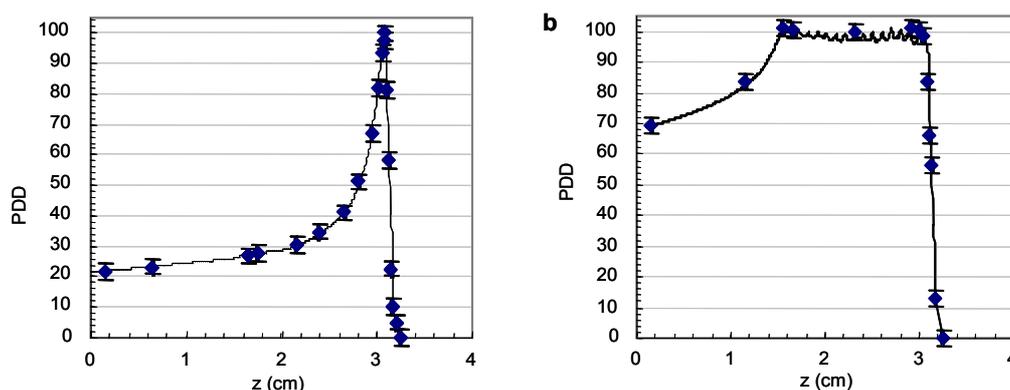


Figura 2. Distribuzioni di dose calcolate dal programma (---), confrontate con i dati sperimentali ottenuti con la camera a ionizzazione Markus (◆) per il fascio non modulato (a) e per il fascio modulato (b). Entrambe le distribuzioni sono relative all'asse centrale del fascio

I *ripple*, presenti nella zona del SOBP (*Spread-Out Bragg Peak*), sono coerenti con quanto riportato in letteratura per il fascio in questione (12, 13). La presenza di tali oscillazioni si evidenzia quando il passo di calcolo è molto piccolo (si ricordi che i dati calcolati sono campionati ogni 0,01 cm), permettendo di distinguere il contributo dei picchi di Bragg relativo a ogni gradino del modulatore. Per quanto riguarda i dati sperimentali, i *ripple* non sono presenti poiché i dati misurati nella zona del SOBP sono pochi e non permettono di evidenziare i contributi dei singoli gradini.

Dai grafici mostrati in Figura 3 si osserva l'accordo, entro gli errori sperimentali, dei profili misurati e calcolati alle diverse profondità. In ordinata è stata rappresentata la dose normalizzata al massimo, in ascissa lo spostamento *off-axis* normalizzato alle dimensioni del collimatore. Man mano che si penetra all'interno del fantoccio, c'è una leggera deviazione, nelle zone di penombra, probabilmente dovuta ad un problema di risoluzione limitata dalle dimensioni del *pixel* di lettura dei film radiocromici. Una volta note le curve di dose percentuale profonda lungo l'asse centrale del fascio e i profili di dose, si hanno tutte le informazioni che permettono di descrivere le distribuzioni di dose all'interno del fantoccio e quindi all'interno di un eventuale paziente. È stato effettuato il calcolo su un set di immagini TAC (Tomografia Assiale Computerizzata). La matrice di *input* dei percorsi equivalenti all'interno del paziente viene estratta dal set di immagini e fornita all'algoritmo di calcolo da un programma realizzato nel Laboratorio di Fisica Medica e Sistemi Esperti (Centro Ricerca Sperimentale dell'Istituto Regina Elena).

Tale programma, a partire dalla mappa di densità ricavata dai numeri CT (*Computed Tomography*) e dalla conseguente distribuzione dei poteri frenanti massici, determina il percorso equivalente dei protoni all'interno del paziente. Viene poi visualizzata la distribuzione delle isodosi su tre piani ortogonali ottenuti sezionando la ricostruzione tridimensionale del paziente nelle direzioni trasversale, coronale e sagittale.

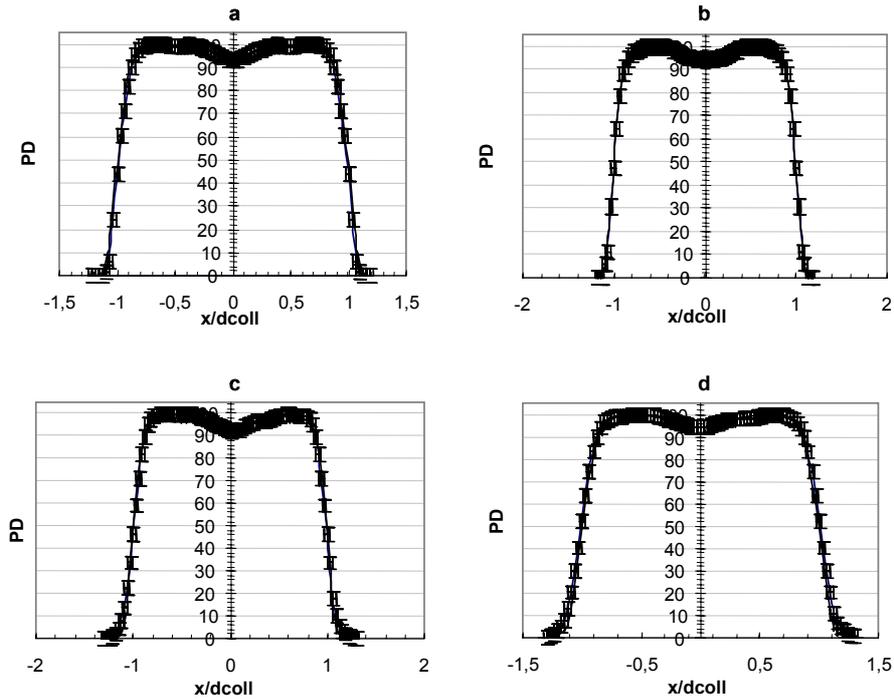


Figura 3. Confronto tra i profili di dose sperimentali (I) e i profili di dose calcolati dal programma (---). Sulle ordinate è stata rappresentata la distribuzione di dose normalizzata al massimo; sulle ascisse lo spostamento *off-axis* (x) normalizzato rispetto alle dimensioni del collimatore (d_{coll})

In Figura 4 sono rappresentate, rispettivamente, le distribuzioni delle isodosi relative ai tagli trasversale, coronale e sagittale di un set di immagini TAC.

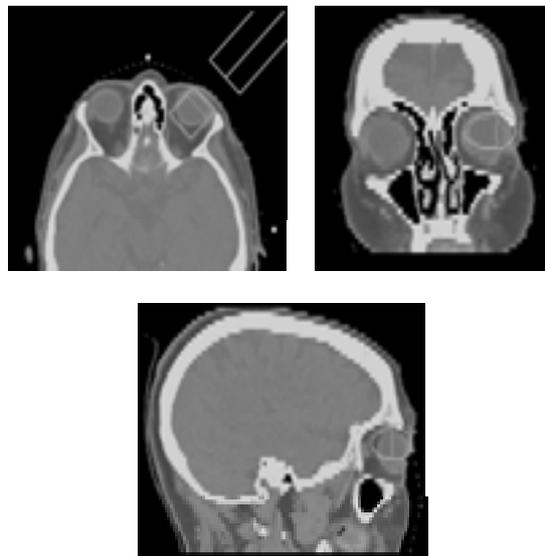


Figura 4. Distribuzione delle isodosi relative ai tagli trasversale, coronale e sagittale di un'immagine TAC: sulle immagini TAC sono state riportate le curve di isodose 10% (curva esterna), 70% (curva intermedia) e 90% (curva interna)

Conclusioni

Scopo di questo lavoro è stato l'implementazione di un algoritmo di calcolo che, a partire da dati sperimentali legati sia alle caratteristiche costruttive delle macchine acceleratrici che a dati di natura dosimetrica, permettesse di ottenere le distribuzioni di dose di un fascio di protoni all'interno di un paziente.

Il confronto con i dati sperimentali ha evidenziato un buon accordo tra le distribuzioni di dose calcolate e quelle misurate, anche in regioni "critiche" come le regioni *off-axis* e di fine range (*distal-edge*).

Tale confronto ha permesso di verificare la consistenza delle distribuzioni calcolate e, di conseguenza, l'applicabilità del programma a situazioni cliniche reali.

I risultati ottenuti per fasci di energia fino a circa 70 MeV incoraggiano il proseguimento del progetto che ha come obiettivo un *up-grade* dell'algoritmo che permetta il calcolo delle distribuzioni di dose prodotte da fasci di energia fino a 200 MeV, ideali per la terapia di tumori profondi. Infatti, il modello del *pencil beam* impiegato, è facilmente utilizzabile per energie fino a 200 MeV sostituendo i parametri del fascio (PDD e σ) per queste energie, e modulando l'intensità del fascio con apparati attivi come quelli previsti dal Progetto TOP.

Una volta ultimata, la routine di calcolo verrà integrata nel Treatment Planning System (TPS) che verrà prodotto dal Centro Ricerca Sperimentale (CRS) del Regina Elena, e che verrà affiancato all'acceleratore TOP LINAC.

La possibilità di avere un sistema di piani di trattamento per un fascio di protoni è di sicuro interesse, e garantisce la possibilità di un impiego terapeutico del fascio di protoni stesso, attività sicuramente innovativa sia dal punto di vista scientifico che clinico. Questa opportunità consentirà, per il singolo paziente, di valutare il piano di trattamento ottimale, potendo scegliere tra fasci di fotoni, elettroni e protoni o una composizione degli stessi.

Bibliografia

1. Vatnitsky SM. Radiochromic film dosimetry for clinical proton beam. *Appl Radiat Isot* 1997;48(5):643-51.
2. Vatnitsky SM, Miller DW, Moyers MF, Levy RP, Schulte RW, Slater JD, Slater JM. Dosimetry techniques for narrow proton beam radiosurgery. *Phys Med Biol* 1999;44(11):2789-801.
3. Piermattei A, Miceli R, Azario L, Fidanzio A, Delle Canne S, De Angelis C, Onori S, Pacilio M, Petetti E, Raffaele L, Sabini MG. Radiochromic film dosimetry of a low energy proton beam. *Med Phys* 2000;27(7):1655-60.
4. De Angelis C, Onori S, Pacilio M, Petetti E, Fidanzio A, Piermattei A, Azario L, Miceli R, Cuttone G, Raffaele L, Kacperk A. Preliminary results in solid state dosimetry of proton beams for ocular pathology treatment. *Phys Med* 2000;17(Supplement 3):41-4.
5. Fidanzio A, Azario L, De Angelis C, Pacilio M, Onori S, Piermattei A. Radiochromic film dosimetry for a 62 MeV clinical proton beam. *Phys Med* 2002;18(1):15-23.
6. International Atomic Energy Agency. *Absorbed dose determination in external beam radiotherapy: an international code of practice for dosimetry based on standards of absorbed dose to water*. Vienna: IAEA; 2000. (TRS No. 398).
7. Hogstrom KR, Mills MD, Almond PR. Electron beam dose calculations. *Phys Med Biol* 1981;26(3):445-59.
8. Brahme A, Lax I, Andreo P. Electron beam dose planning using discrete gaussian beams. Mathematical background. *Acta Radiol Oncol* 1981;20(2):147-58.

9. Mayo CS, Gottschalk B, Wagner M. MonteCarlo studies of edge scattering in proton beams. In: *Proceeding of the XIX Meeting of Proton Therapy Co-Operative Group. Cambridge (MA)*; October 31st- November 2nd 1993.
10. Szymanowski H, Mazal A, Nauraye C, Biensan S, Ferrand R, Murillo MC, Caneva S, Gaboriaud G, Rosenwald JC. Experimental determination and verification of the parameters used in a proton pencil beam algorithm. *Med Phys* 2001;28 (6):975-87.
11. Goitein M, Gentry R, Koehler AM. Energy of proton accelerator necessary for the treatment of choroidal melanomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1983;9(2):256-60.
12. Bonnett DE, Kacperek A, Sheen MA, Goodall R, Saxton TE. The 62 MeV proton beam for the treatment of ocular melanoma at Clatterbridge. *Br J Radiol* 1993;66(790):907-14.
13. Hong L, Goitein M, Bucciolini M, Comiskey R, Gottschalk B, Rosenthal S, Serago C, Urie M. A pencil beam algorithm for proton dose calculations. *Phys Med Biol* 1996;41(8):1305-30.

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
a stampa o online deve essere preventivamente autorizzata.
Le richieste possono essere inviate a: pubblicazioni@iss.it.*

*Stampato da Ditta Grafiche Chicca & C. snc
Via di Villa Braschi 143, 00019 Tivoli (Roma)*

Roma, dicembre 2004 (n. 4) 20° Suppl.