

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI “FEDERICO II”

Scuola Politecnica e delle Scienze di Base

Area Didattica di Scienze Matematiche Fisiche e Naturali

Dipartimento di Fisica



Laurea triennale in Fisica

Titolo

**Il Modello Linear-no-Threshold (LNT) in radioprotezione:
basi radiobiofisiche e questioni aperte**

Candidato:

Giuseppe Della Peruta
Matricola N85001209

Relatori:

Prof. Lorenzo Manti
Dott. Valerio Ricciardi

Anno Accademico 2019/2020

Sommario

Introduzione	3
1 Le radiazioni Ionizzanti (RI).....	4
1.1 Azione diretta ed indiretta delle RI.....	5
1.2 Generalità sugli effetti biologici delle RI	6
1.3 Tipologie di effetti	8
1.3.1 Effetti deterministici delle RI	8
1.3.2 Effetti stocastici delle RI	11
1.4 Principali grandezze radioprotezionistiche	12
1.5 Carcinogenesi radio-indotta	13
2 Il modello Linear-no-Threshold (LNT)	15
2.1 Razionale del modello LNT.....	15
2.2 Teoria del target e sua evoluzione	16
2.3 Life Span Study (LSS).....	18
3 Questioni aperte sul modello LNT	24
3.1 Effetti extra-bersaglio	25
3.1.1 Risposta adattiva	26
3.1.2 Effetto bystander	27
Conclusioni.....	28
Bibliografia	29

Introduzione

L'esposizione umana alle radiazioni ionizzanti (RI) è praticamente ineludibile. Al fondo naturale, vanno aggiunti i contributi derivanti dall'impiego delle RI in diagnostica e terapia. Ciò comporta la necessità di regolamentare l'esposizione dato il ben noto dualismo delle RI, che sono un potente agente carcinogenico ma, allo stesso tempo, un ausilio indispensabile in ambito biomedico. Le attuali linee guida in radioprotezione si ispirano al cosiddetto modello *Linear-no-Threshold* (LNT).

Questo modello, il cui impianto concettuale è fondamentalmente imperniato sui risultati dello studio epidemiologico sui sopravvissuti delle esplosioni atomiche di Hiroshima e Nagasaki (il Life Span Study, o LSS), presuppone che il rischio di tumori radio-indotti cresca linearmente al crescere della dose assorbita, qualunque essa sia. Da ciò segue che il modello LNT non preveda nessun tipo di soglia di esposizione, al di sotto della quale, l'assorbimento di RI non sia nocivo per l'organismo. Pertanto, in linea di principio, un incremento del rischio di contrarre un tumore è già presente alle dosi di 3 mSv all'anno, ossia quelle corrispondenti al fondo di radioattività naturale. Ovviamente, in questo caso, discernere tumori putativamente radio-indotti dall'insorgenza tumorale "spontanea" è di fatto impossibile essendosi la vita evoluta in presenza delle RI. La questione diventa, invece, molto più delicata per quell'ampia fascia della popolazione che annualmente si sottopone a diversi esami diagnostici, per le quali la dose cumulativa equivalente diventa significativamente più elevata (nell'ordine dei cGy), pur restando ordini di grandezza inferiore alla dose assorbita, per esempio, dal tessuto sano di pazienti sottoposti a radioterapia. Nella complessa tematica della definizione del rischio legato all'esposizione alle cosiddette "basse dosi" (in genere al di sotto di 0.1 Sv) entrano in gioco diversi fattori radiobiofisici, di cui è necessario tener conto insieme al modello LNT, e legati per esempio alla natura stessa della carcinogenesi radio-indotta, il fenomeno tardivo stocastico per eccellenza dell'esposizione alle RI; inoltre, l'esistenza di altri fenomeni, cosiddetti extra-bersaglio (non-targeted effects) contribuisce ad alimentare un dibattito che ha da sempre contestato l'effettiva validità del modello LNT proprio nella regione che è di maggiore interesse per il più ampio numero di individui, ossia le basse dosi di cui sopra.

Il presente lavoro di tesi si prefigge di spiegare il modello LNT e, soprattutto, illustrare i principali argomenti in suo favore e le principali obiezioni.

Nel primo capitolo verranno introdotte le RI, in riferimento ai loro principali effetti e i loro meccanismi di azione biologica alla base della carcinogenesi radio-indotta, e quindi la definizione degli effetti deterministici e stocastici. In questo capitolo vengono poi introdotti il concetto di dose fisica e il suo equivalente in radioprotezione attraverso l'introduzione di fattori di ponderazione che tengono conto della diversa efficacia a seconda della qualità della radiazione e della diversa radiosensibilità di organi/tessuti.

Il capitolo successivo tratterà nel dettaglio il razionale alla base del modello LNT, con le sue basi, con particolare riferimento al succitato LSS. Verrà anche illustrata la teoria del target, su cui si basa l'interpretazione classica degli effetti biologici della RI. Ciò è funzionale per quanto trattato invece nel terzo capitolo in quanto alcune delle principali argomentazioni contro il modello LNT traggono spunto proprio da fenomeni in apparente contraddizione con la teoria del target. Tale capitolo è seguito dalle conclusioni.

1 Le radiazioni Ionizzanti (RI)

L'assorbimento della radiazione da parte di un materiale biologico può portare a due fenomeni quali l'*eccitazione* o la *ionizzazione*. Nel primo caso si verifica la transizione di un elettrone di un atomo ad uno stato quantico di maggiore energia (stato eccitato). Gli stati eccitati sono caratterizzati da una vita limitata; infatti, essi decadono in uno stato di minore energia in modo spontaneo o per l'azione di fattori esterni (emissione stimolata, laser). Nel decadimento viene rilasciata la stessa quantità di energia assorbita in precedenza e il fenomeno si presenta come radiazione elettromagnetica, calore, vibrazione o moto.

Si parla di radiazioni non ionizzanti (RNI) nel caso di radiazioni di natura elettromagnetica che non trasportano energia sufficiente a ionizzare atomi o molecole (per esempio, la radiazione nel campo degli infrarossi, le microonde e le onde radio); in tal senso, le RNI riescono solamente ad eccitare un elettrone ad uno stato energetico superiore.

Quando, invece, le radiazioni elettromagnetiche o particelle sono dotate di una quantità di energia sufficiente a "ionizzare" la materia con la quale interagiscono, causando l'espulsione di uno o più elettroni orbitali, si parla di radiazioni ionizzanti (RI).

In questo lavoro di tesi ci si soffermerà unicamente sugli effetti biologici delle RI dal momento che sono queste ad essere universalmente riconosciute come un potente agente carcinogenico e, più in generale, è per le RI che esiste un'imponente mole di dati che ne dimostra l'azione cito-genotossica, mentre per le RNI non è stato ancora provato un nesso causale inconfutabile con la loro capacità di causare effetti biologici quali appunto, tumori radio-indotti e sono al momento classificate come un agente "potenzialmente" carcinogenico.

Le RI, possono avere origine naturale, e contribuiscono quindi all'esposizione dovuta al fondo naturale, oppure artificiale.

Alla prima categoria appartengono ad esempio i raggi cosmici, prodotti da particelle provenienti dal cosmo, le particelle alfa emesse dal gas radon indoor e la radiazione emessa dai processi di decadimento radioattivo. Alla seconda categoria appartengono invece le radiazioni prodotte da tubi radiogeni, come nel caso dei raggi X, oppure da acceleratori di particelle come nel caso dei radiofarmaci (che pure sfruttano radiazione alfa, beta, o gamma del decadimento di nuclidi radioattivi) o delle particelle alfa usate in adroterapia [1].

L'energia media dissipata per ionizzazione è di circa 33 eV, molto più elevata delle energie necessarie per rompere legami tra atomi (a titolo di esempio, l'energia necessaria per rompere il doppio legame carbonio-carbonio, C=C, è di circa 4,9 eV) [1].

Le conseguenze cellulari o a livello dell'organismo dell'esposizione alle RI sono tipicamente correlate con la dose assorbita, indicata con D , che è una grandezza fisica definita come la quantità di energia assorbita da un mezzo per unità di massa:

$$D = \frac{dE}{dm}$$

La dose assorbita è misurata in Gray (Gy) nel Sistema internazionale, dove 1 Gy rappresenta 1 J di energia assorbita da 1 kg di massa. Prima dell'introduzione del Gray, come unità di misura era impiegato il rad (1 Gy = 100 rad). La dose assorbita è una grandezza macroscopica. Le conseguenze biologiche dell'esposizione alle RI sono profondamente influenzate dai processi di deposizione su scala microscopica e nanometrica (quelle del nucleo cellulare e del DNA ivi contenuto), i quali a loro volta sono intrinsecamente disomogenei. Ecco perché per una rigorosa caratterizzazione del danno radio-indotto sarebbe più opportuno servirsi di parametri microdosimetrici; tuttavia, ai fini di quantificare tale danno mediante delle relazioni funzionali semplici, le curve dose-effetto, la dose viene comunemente utilizzata. Altri parametri fisici intervengono comunque nel determinare la radiorisposta di un organismo o un tessuto organico, il più importante dei quali è qualità della radiazione, che appunto riflette i diversi processi fisici con cui le RI depositano la propria

energia alle scale dimensionali di interesse biologico. In particolare, il danno sarà profondamente diverso se a causarlo è un fotone o una particella carica densamente ionizzante, ed infatti una stessa quantità di energia assorbita da un organismo (dose) produce danni biologici di differente severità a seconda del tipo di radiazione a cui è stato esposto. Una dose di 1 Gy da particelle alfa è circa 20 volte più dannosa di un'eguale dose dovuta a fotoni, per esempio [2].

1.1 Azione diretta ed indiretta delle RI

Le RI possono essere, per comodità e convenzione, classificate in *elettromagnetiche* e *corpuscolari*: le prime consistono in raggi X, raggi gamma o parte dello spettro dell'ultravioletto (a seconda che abbiano origine atomica o nucleare, rispettivamente per le prime due tipologie), mentre le seconde in protoni, neutroni, elettroni, positroni e ioni.

Un'ulteriore classificazione delle RI riguarda il loro meccanismo preferenziale di interazione con le sue macromolecole biologiche. In particolare, si suole suddividere le RI in base alla modalità con cui la sua azione produce un effetto, e che può essere *diretta* o *indiretta*: nel primo caso, la RI deposita la sua energia direttamente sulla molecola di interesse, ad esempio il DNA, ivi producendo alterazioni dei legami chimici; nell'azione indiretta, il danno è prodotto principalmente dalle specie radicali reattive che vengono generate in seguito all'interazione della radiazione con l'ambiente circostante, costituito essenzialmente, nel caso di organismi, da molecole d'acqua (Figura 1) [1].

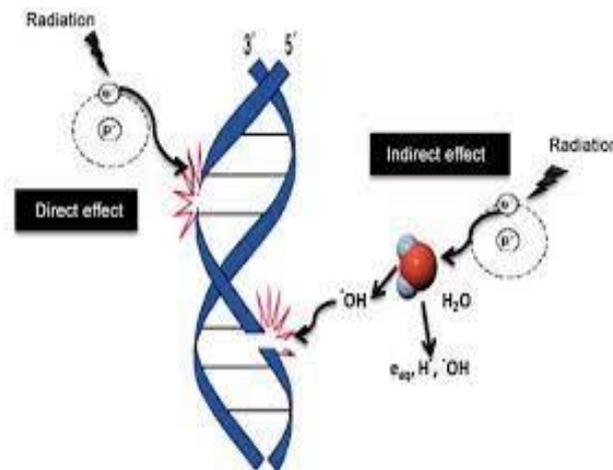


Figura 1: Meccanismo di danno diretto e indiretto delle RI [3].

Le radiazioni corpuscolari possono, in generale, ionizzare la materia direttamente tramite interazione coulombiana e sono pertanto considerate direttamente ionizzanti. Le radiazioni elettromagnetiche, elettricamente neutre, come i raggi X o gamma, producono effetti di ionizzazione soltanto indirettamente tramite ionizzazione secondaria. Fanno eccezione i neutroni, i quali, seppure corpuscolari, non essendo dotati di carica elettrica, interagiscono con i nuclei, provocando l'emissione di particelle cariche o neutre, e di raggi gamma, le quali a loro volta, possono ionizzare e danneggiare le biomolecole. I neutroni sono, quindi, un esempio di radiazioni indirettamente ionizzanti (Tabelle 1 e 2) [3].

In termini di modalità di azione, i fotoni agiscono prevalentemente mediante l'azione indiretta, mentre gli ioni ed i neutroni danneggiano le strutture biologiche prevalentemente mediante meccanismi diretti.

Tabella 1: Classificazione dei diversi tipi di radiazioni in funzione della loro lunghezza d'onda (λ) e della loro energia ($h\nu$) [3].

Tipo di radiazione	Lunghezza d'onda (λ)	Energia ($h\nu$)
Onde elettriche	$< 3 \cdot 10^5$ cm	$< 4,1 \cdot 10^{-30}$ eV
Radio-onde	10^{-1} cm a $3 \cdot 10^5$ cm	$4,1 \cdot 10^{-30}$ eV a $1,24 \cdot 10^{-3}$ eV
Raggi infrarossi	0,78 μ m a 1000 μ m	0,00124 eV a 1,59 eV
Luce visibile	400 nm a 780 nm	1,59 eV a 3,10 eV
Raggi ultravioletti	100 nm a 400 nm	3,10 eV a 12,40 eV
Raggi X, gamma	< 100 nm	$> 12,40$ eV

Tabella 2: Alcune caratteristiche dei principali tipi di radiazioni e particelle ionizzanti [3].

Tipo di radiazione	Simbolo	Carica (relativa)	Mc ² (MeV)
Elettroni, particelle β^-	e^- , β^-	-1	0.510999
Positroni, particelle β^+	e^+ , β^+	1	0.510999
Protoni	p	1	938.2731
Deutoni	d	1	1875.61339
Particelle Alfa	α	2	3727.315
Neutroni	n	0	939.56563
Raggi X e gamma	X, γ	0	

1.2 Generalità sugli effetti biologici delle RI

Il DNA è il bersaglio più importante per gli effetti delle RI dal momento che esso contiene l'informazione genetica, che deve essere trasmessa fedelmente di generazione in generazione, ed è presente in un'unica copia. Le RI sono peculiari fra i diversi agenti genotossici dal momento che sono in grado di generare un'ampia gamma di alterazioni a livello del DNA: dalla formazione di legami trasversali, al danneggiamento di una base azotata o di uno zucchero, fino, nei casi più radiobiologicamente gravi, alla rottura della singola elica, o *single-strand break* (SSB) e a quella della doppia elica, o *double-strand break* (DSB); si può avere la formazione di cluster di lesioni (tipicamente danni alle basi, SSB e DSB ravvicinati fra loro) specie nel caso di ioni pesanti e neutroni.

Il lasso di tempo che intercorre tra l'interazione tra la radiazione ed un organismo biologico ed il manifestarsi degli effetti, può essere addirittura di anni, come nel caso di tumori radio-indotti, ma ciò che determina l'entità del danno iniziale avviene su una scala di tempi piccolissima: i processi fisici di assorbimento energetico avvengono nell'ordine dei 10^{-15} s, quelli chimici, in cui il danno viene "fissato" nell'ordine dei 10^{-15} s (a causa della vita media dei radicali, come riportato in seguito).

Il danno al DNA può tradursi, a livello cellulare, in una serie di effetti, causando alterazioni nella duplicazione, nella trascrizione o nella traduzione. La ionizzazione della molecola di DNA può causare mutazioni o amplificazioni geniche, riarrangiamenti cromosomici responsabili di carcinogenesi e/o morte cellulare per apoptosi, necrosi [1].

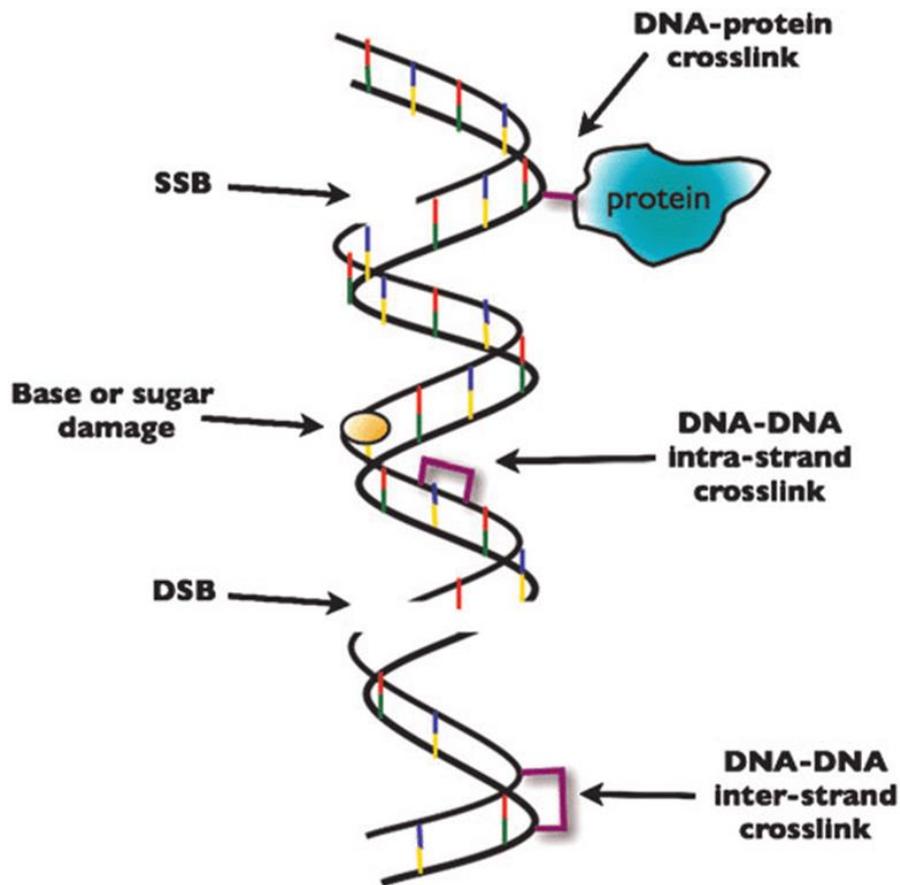
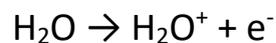


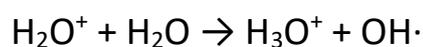
Figura 2: Rappresentazione dei danni al DNA [4].

Un radicale libero è un atomo o una molecola che possiede un elettrone spaiato nel suo guscio più esterno, a questo è abbinata una forte instabilità chimica che si presenta con una forte reattività chimica.

La formazione di radicali liberi derivanti da molecole d'acqua, come precedentemente citato, riveste un ruolo particolare nell'interazione con la radiazione, come raggi X, gamma o particelle cariche, poiché le cellule ne sono composte per circa l'80 %; l'interazione con la radiazione può portare alla creazione di specie ioniche altamente reattive come dalla formula chimica che segue:



H_2O^+ è uno ione radicale, carico positivamente proprio perché è stato privato di un elettrone e altamente reattivo poiché possiede un elettrone spaiato. Il tempo medio di vita di un radicale libero è di circa 10^{-10} secondi. Tali specie ioniche a loro volta possono decadere in altri radicali liberi, privi di carica, ma che comunque presentano elettroni spaiati. Nel caso dell'acqua, lo ione H_2O^+ reagisce con una molecola di H_2O , formando il radicale ossidrilico ($\text{OH}\cdot$), molto reattivo, come segue:



Si stima che circa i 2/3 dei danni al DNA, causati da raggi X, sia attribuibile proprio ai radicali ossidrilici $\text{OH}\cdot$ [1].

Per analizzare l'energia trasferita da una radiazione ionizzante ad un materiale, è importante introdurre il concetto di *Linear Energy Transfer* (LET). Il LET fornisce una stima della densità di eventi di ionizzazione lungo la traccia dello ione incidente. Esso è definito dalla relazione:

$$L = \frac{dE}{dl}$$

dove con dE si intende la quantità di energia ceduta localmente per collisioni dalla particella lungo un segmento di traccia dl , avendo considerato esclusivamente trasferimenti di energia inferiori ad un valore soglia (cut-off). In radiobiologia si usa comunemente il LET_{100} , dal momento che fino a 100 eV gli elettroni secondari hanno un range nell'ordine di pochi nm in acqua, quindi di interesse per il danno al DNA (la cui doppia elica è distanziata di circa 2 nm). L'unità di misura più utilizzata per il LET è il $keV \cdot \mu m^{-1}$ [2]. A valori di LET maggiori corrisponde una più alta densità di ionizzazione e quindi una maggiore capacità di produrre danno clusterizzato; le particelle alfa, quali quelle emesse dal radon o gli ioni carbonio usati in adroterapia sono radiazioni ad alto LET mentre i raggi X e gamma sono invece a basso LET.

1.3 Tipologie di effetti

In genere, gli effetti biologici delle radiazioni ionizzanti sono maggiori al crescere della dose a cui si è esposti, e quindi dell'energia che si deposita nei tessuti. I possibili effetti delle radiazioni ionizzanti sono di due tipi:

- Deterministici;
- Stocastici [5].

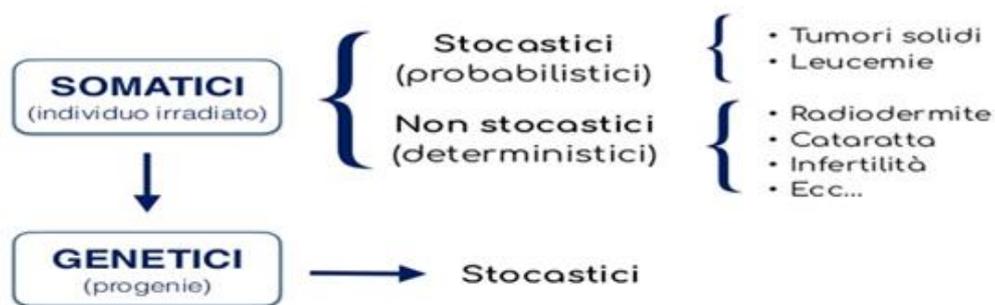


Figura 3: Schema generale e distinzione dei danni somatici e genetici con conseguenti patologie [6].

1.3.1 Effetti deterministici delle RI

Per effetti deterministici causati dalla RI, si intendono quelli in cui la frequenza e letalità dell'effetto variano in funzione della dose, che presenta una soglia oltre la quale si manifestano gli effetti [7].

La relazione che intercorre tra effetti e dose è mostrata in figura 4.

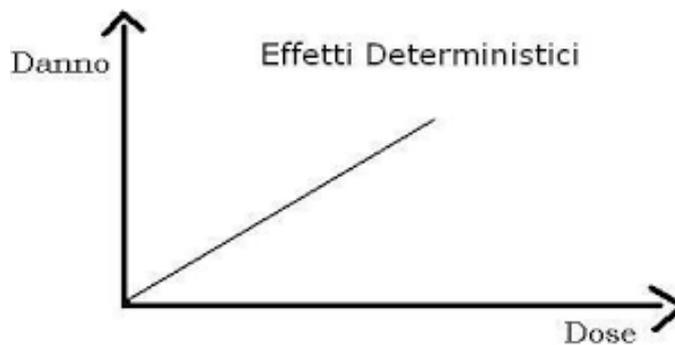


Figura 4: Rappresentazione grafica del danno deterministico in funzione della dose di radiazione assorbita [3].

Il principale danno cellulare è la morte della cellula stessa. Essa può manifestarsi in due modi: inibizione della capacità riproduttiva cellulare (morte proliferativa), oppure, in caso di dosi elevatissime (come decine di Gy), morte causata dalla distruzione delle strutture cellulari. La morte cellulare è, tuttavia, un fenomeno complesso e la definizione di “morte” non è univoca, in quanto esso dipende dalla particolare funzione che viene a cessare nella cellula cosiddetta morta o dal meccanismo attraverso cui l’integrità della cellula viene persa. Il concetto di morte proliferativa rappresenta il pilastro del razionale dell’utilizzo delle RI in radioterapia, in quanto l’arresto della proliferazione cellulare causa la regressione delle malattie neoplastiche. Una delle modalità “classiche” per valutare l’effetto letale in senso antiproliferativo della radiazione è la costruzione di una curva di sopravvivenza clonogenica (Figura 5), in cui si misura la frazione di cellule sopravvissute, il cui acronimo è SF (Surviving Fraction), in funzione della dose.

Il primo approccio col concetto di sopravvivenza cellulare fu adottato da Puck e Marcus nel 1956 [8]; il concetto è il seguente: se una cellula irradiata riesce a generare una colonia di almeno 50 individui, si può dire che sia sopravvissuta, dal momento che per generare una tale colonia la cellula irradiata deve essere capace di attraversare dai 5 ai 6 cicli di duplicazione, e quindi si ritiene che abbia preservato la capacità di proliferare. La morte cellulare, oltre a dipendere dalla dose, dipende anche dal tipo di cellula presa in esame (radiosensibilità intrinseca) e dal LET. I dati sperimentali sulla dipendenza della sopravvivenza cellulare dalla dose per radiazioni a basso LET sono ben descritti dall’equazione lineare-quadratica:

$$SF(D) = e^{(-\alpha D - \beta D^2)}$$

Alla componente αD è associato un danno non riparabile mentre alla componente βD^2 un danno riparabile (danno sub-letale). Il rapporto α/β fornisce il valore della dose in corrispondenza del quale i contributi della componente lineare e di quella quadratica sono uguali; esso dipende dal tipo di radiazione e viene assunto come indice della radiosensibilità della linea cellulare.

Le curve di sopravvivenza per radiazioni a basso LET sono rappresentate da un andamento lineare-quadratico, come mostrato in figura, presentante una spalla a basse dosi (< 1 Gy), e un andamento sempre più lineare, con pendenza negativa, man mano che il LET aumenta [1].

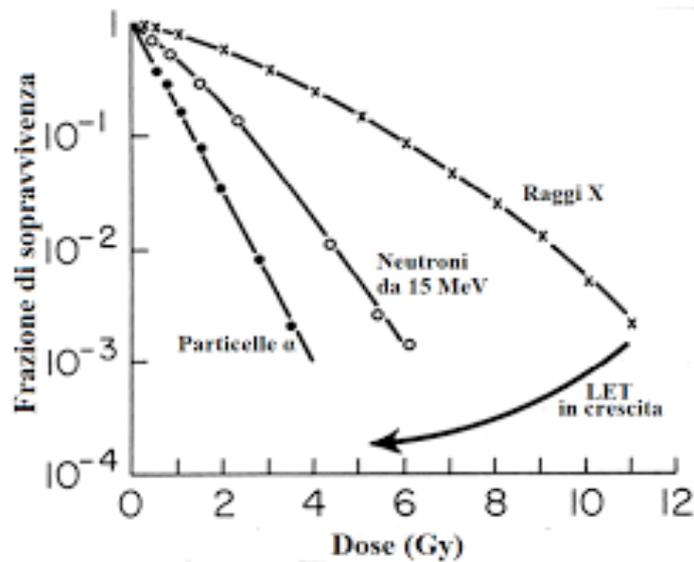


Figura 5: Andamento delle curve di sopravvivenza relative a cellule esposte a tre diversi tipi di RI; la frazione di sopravvissuti è riportata in scala semilogaritmica, mentre la dose in scala lineare [9].

La radiosensibilità di un tessuto è direttamente proporzionale all'attività mitotica e inversamente proporzionale al grado di differenziazione delle cellule che lo compongono.

Consequente alla morte cellulare in particolari tessuti, vi sono effetti, temporali o permanenti, al crescere della dose; nei testicoli e nelle ovaie si presenta sterilità, nel cristallino appaiono opacità visibili o cataratta e all'interno del midollo osseo una depressione dell'ematopoiesi [1].

Tabella 3: Dose-soglia degli effetti deterministici su alcuni tipi di tessuti [10].

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

Nell'irradiazione cronica della pelle (soprattutto in corrispondenza delle mani), l'esperienza clinica ha dimostrato che sono necessarie dosi di qualche decimo di Gy alla settimana e per periodi di molti mesi o anni

per causare una radiodermite cronica. Qualora l'irradiazione acuta avvenga al corpo intero o a larga parte di esso, viene a determinarsi, per dosi sufficientemente elevate, la sindrome acuta da irradiazione, che può portare a morte, a causa di perdita irreparabile di un elevato numero di cellule in uno o più organi vitali del corpo [1].

1.3.2 Effetti stocastici delle RI

Gli effetti stocastici sono tali che la variabile, dipendente dalla dose, sia la sola probabilità di accadimento e non la letalità; questi effetti non presentano una soglia minima e si distribuiscono casualmente in una popolazione esposta. La probabilità di comparsa di danni stocastici, in funzione della dose assorbita è riportata in figura 6 [1].

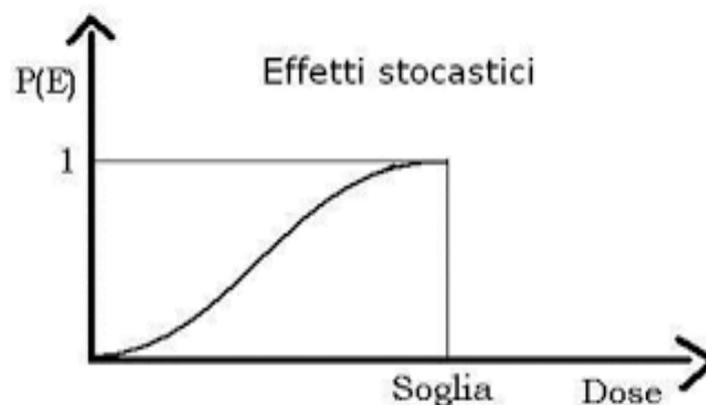


Figura 6: Rappresentazione grafica degli effetti stocastici in funzione della dose di radiazione assorbita [3].

A differenza degli effetti deterministici, quelli stocastici possono manifestarsi anche dopo anni dall'esposizione a radiazioni. Il tumore rappresenta l'effetto stocastico radio-indotto più studiato e temuto

La valutazione del rischio di carcinogenesi radio-indotta avviene tramite il modello cardine della radioprotezione: il modello *Linear-no-Threshold* (LNT). Esso non prevede una dose di soglia al di sotto della quale le RI non producano effetti maligni. Secondo questo modello, il rischio è una funzione lineare della dose.

Sono stati introdotti poi altri modelli alternativi a questo, in quanto, gli studi epidemiologici su individui esposti a dosi di radiazione più elevati rispetto alla media, hanno dimostrato incidenze di patologie tumorali radio-indotte notevolmente più basse rispetto a quanto previsto dal LNT. Uno di questi prevede che l'organismo non presenti danni apprezzabili per radiazioni al di sotto di una certa dose assorbita. Secondo altri modelli, invece, il danno presenterebbe un andamento non-lineare alle basse dosi: l'organismo, non riuscendo a riparare il danno debolmente indotto, risulterebbe più esposto. In radioprotezione, tuttavia, si considera tuttora il LNT come il modello più affidabile [7].

Gli effetti stocastici, infine, possono essere distinti in: somatici, in cui il danno è inflitto alle cellule del soma (il corpo), in modo tale che esso si espanda anche alle cellule figlie, dando vita a patologie che possono essere trasmesse, e in genetici in cui il danno avviene sulle cellule germinali con la possibilità che la mutazione possa essere trasmessa alla progenie [3].

1.4 Principali grandezze radioprotezionistiche

L'efficacia di una radiazione differisce per unità di dose assorbita. Quest'ultima, come già detto precedentemente, viene misurata in Gray (Gy), definito come il rapporto tra energia assorbita su unità di massa del tessuto. Stesse dosi di diverse radiazioni su uno stesso tessuto non produrranno gli stessi effetti: 1 Gy di neutroni produce un effetto molto più letale rispetto a 1 Gy di raggi X. Ciò che differenzia questi due tipi di radiazione è la diversa deposizione di energia su scala microscopica.

Si definisce, dunque, *l'efficacia relativa biologica* (RBE) come rapporto tra una dose di radiazione di raggi X, D_{250} di 250 kV, e una radiazione di test di dose D_r (D_{250}/D_r). Questa definizione, però, presenta difficoltà nella sua applicazione in specifici limiti di dosi nell'ambito della radioprotezione; per considerare più semplicemente l'efficacia di diversi tipi di radiazione fu introdotto il *fattore di ponderazione della radiazione* (W_R) dalla International Commission on Radiological Protection (ICRP). Si tratta di un parametro che tiene conto della differente pericolosità delle varie radiazioni, a parità di dose assorbita, rispetto alla radiazione di riferimento (fotoni), cui viene assegnato per definizione $W_R = 1$ [1].

La quantità ottenuta poi dal prodotto tra W_R e la dose assorbita è la *dose equivalente*, calcolata in Sievert (Sv). Essa è indicata dalla seguente formula:

$$H_{T,R} = W_R \cdot D_{T,R}$$

Dove:

- $D_{T,R}$ è la dose assorbita dal tessuto T e dovuta alla radiazione R;
- W_R è il fattore di ponderazione della radiazione.

I fattori di ponderazione della radiazione sono scelti dal ICRP basandosi sui valori dell'RBE. Per radiazioni ad alto LET, come ad esempio le particelle alfa, si ha un fattore di 20 rispetto a radiazioni a basso LET (raggi X, elettroni).

Il Gray e il Sievert sono unità derivate dal Sistema Internazionale SI e presentano la stessa nomenclatura (rapporto tra energia assorbita su unità di massa). Questa fu adottata per prevenire confusioni fra dosi assorbite e dosi equivalenti [1].

Tabella 4: Valori W_R per alcuni tipi di radiazioni [10].

Type and energy of radiation R	Radiation weighting factor, w_R
Photons, all energies	1
Electrons and muons, all energies	1
Neutrons:	
<10 keV	5
10 to 100 keV	10
> 0.1 to 2 MeV	20
> 2 to 20 MeV	10
> 20 MeV	5
Protons, other than recoil protons, $E > 2$ MeV (protons and charged pions)	5 (2)
Alpha particles, fission fragments, heavy nuclei	20

1.5 Carcinogenesi radio-indotta

I danni genetici al DNA dovuti alle radiazioni sono classificabili in:

- mutazioni genetiche (o puntiformi);
- aberrazioni cromosomiche.

Le prime sono modifiche della sequenza nucleotidica del DNA, le seconde sono variazioni strutturali o nel numero dei cromosomi. Le RI hanno la caratteristica di poter incrementare il tasso di mutazioni nelle piante e negli animali. Le mutazioni cromosomiche attaccano per lo più cellule germinali, con conseguente morte della prole o gravi danni somatici. I principali tipi di aberrazioni cromosomiche (Figura 7) sono:

- Duplicazione: quando una parte del cromosoma è raddoppiata, causando la presenza di materiale genetico in eccesso;
- Delezione: quando una parte del cromosoma è mancante;
- Inversione: quando una regione di un cromosoma inverte il proprio orientamento causando un'inversione dell'ordine dei geni;
- Traslocazione: quando una regione di un cromosoma viene trasferita in un'altra posizione dello stesso cromosoma o di un altro [11].

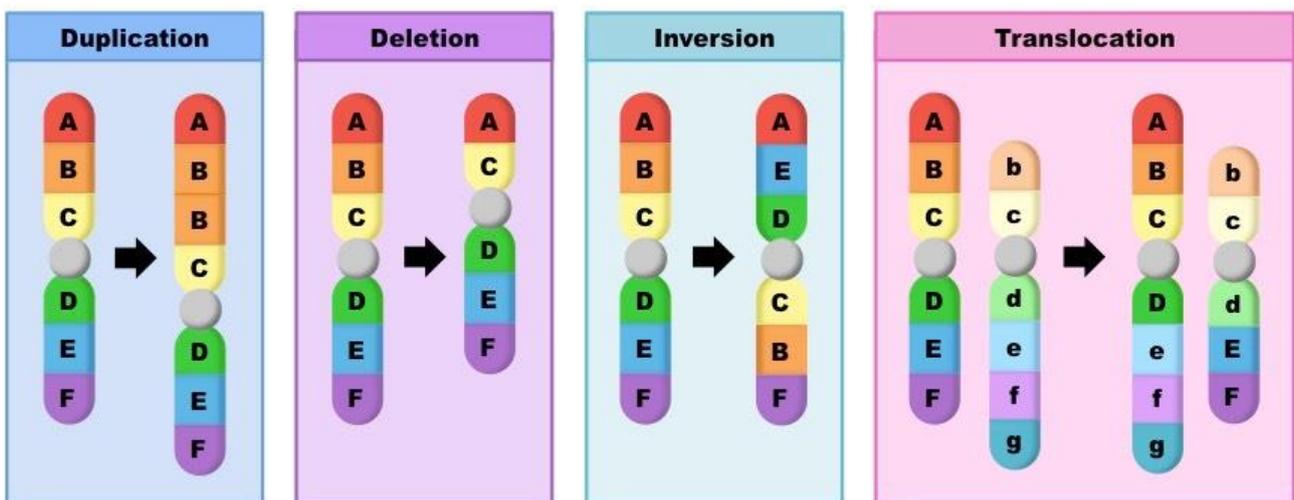


Figura 7: Principali tipi di aberrazioni cromosomiche [11].

Uno dei possibili effetti delle modificazioni molecolari del DNA è la cosiddetta carcinogenesi radio-indotta; come detto sopra, essa è un esempio di effetto stocastico e tipicamente associata, in radioprotezione, all'esposizione a basse dosi prolungate nel tempo (le esposizioni croniche).

Il presupposto della trasformazione neoplastica radio-indotta è un danno al DNA non o mal riparato (vedi, appunto, le aberrazioni cromosomiche). Inoltre, deve accadere che la cellula mutata non venga attaccata e distrutta dal sistema di difesa dell'organismo e, infine, che, a partire dalla mutazione, si sviluppi una neoplasia clinicamente evidente. Questa catena di eventi ci consente di parlare di probabilità di danno post-esposizione

a RI [3]. Le stime di rischio di carcinogenesi sono principalmente basate non su dati provenienti da esperimenti ma dall'esperienza umana; i dati quantitativi sul cancro radio-indotto provengono, infatti, da popolazioni irradiate a scopo medico o esposte accidentalmente, o ancora, sopravvissute all'impiego di armi nucleari. Nel caso di irraggiamento a scopo terapeutico si tratta prevalentemente di soggetti esposti ad alte dosi la cui suscettibilità agli effetti delle radiazioni può essere influenzata dalle proprie condizioni mediche; approssimativamente il 60% dei pazienti con malattie tumorali riceverà un trattamento di radioterapia durante il decorso della malattia e sfortunatamente, a distanza di anni dal trattamento, una parte di loro può sviluppare un secondo tumore.

Un recente studio inglese ha stimato che 1346 casi di tumore, vale dire lo 0,45% circa dei 298.000 nuovi casi registrati nel Regno Unito nel 2007, erano associati a trattamento radioterapeutico per una neoplasia precedente. Per la maggior parte, le seconde neoplasie correlate alla radioterapia erano rappresentate dal tumore del polmone (23,7%), dell'esofago (13,3%) e della mammella (10,6%) [12].

Le persone invece esposte a raggi gamma o neutroni, provenienti da armi nucleari, rappresentano una più ampia selezione di individui in termini di età e condizioni di salute. In entrambi i casi, però, i dati si riferiscono ad alti tassi di dosaggio e i tempi di esposizione brevi [1]. L'esempio principale è il cosiddetto Life Span Study sui sopravvissuti ai bombardamenti di Hiroshima e Nagasaki durante la Seconda Guerra Mondiale di cui si tratterà in seguito [13].

La natura stocastica della carcinogenesi radio-indotta rende estremamente difficile stabilire un preciso nesso causale tra l'insorgenza del tumore e l'esposizione alle RI. Allo stato attuale, il succitato modello LNT rappresenta il meglio che si sia in grado di fare oggi. Restano ancora notevoli incertezze, tuttavia, associate a dosi molto basse, tipiche appunto dell'impiego delle RI in diagnostica o a situazioni in cui l'esposizione è cronica; l'andamento del rischio di tumore radio-indotto nel modello LNT è, infatti, estrapolato dal regime delle alte dosi, in cui il modello è stato di fatto elaborato, ed è per questo oggetto di accese discussioni tutt'oggi.

2 Il modello Linear-no-Threshold (LNT)

2.1 Razionale del modello LNT

Come accennato nell'introduzione, il modello LNT è un modello Dose-Effetto che descrive il rischio di carcinogenesi radioindotta in funzione della dose. Esso presuppone che:

- 1– Il rischio di contrarre una neoplasia radio-indotta sia direttamente proporzionale alla dose assorbita;
- 2– L'assenza di una dose di soglia (no threshold);

Ciò implica che, l'esposizione alle RI comporta un incremento del rischio nell'insorgenza di tumori [14].

La maggior parte delle informazioni sugli effetti stocastici, su cui si basa questo modello, si riferisce a dosi maggiori di 100 mSv; infatti, al di sotto di questa, il modello LNT estrapola l'andamento lineare osservato nel regime delle alte dosi [6]. Alle basse dosi, i dati sperimentali ed epidemiologici disponibili sono affetti da notevoli incertezze [15]. In figura 8 è riportata una rappresentazione del modello LNT, insieme con i possibili andamenti alternativi proposti per il regime di basse dosi, per i quali ulteriori dettagli sono riportati nel capitolo 3.

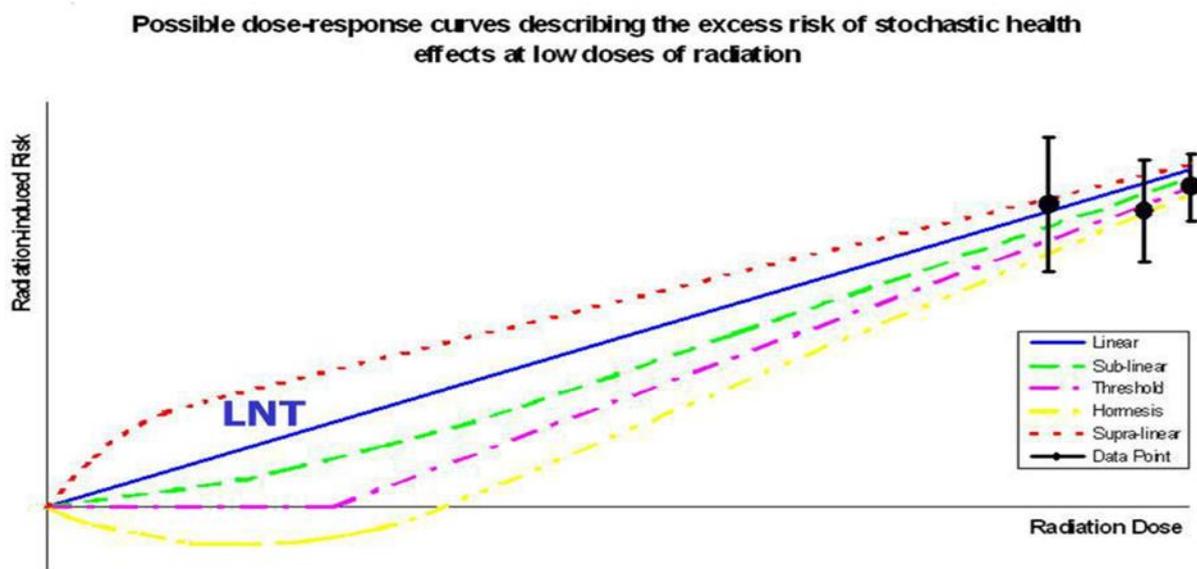


Figura 8: Rappresentazione del LNT e dei suoi possibili andamenti alternativi nella regione delle basse dosi. Da come mostrato nel grafico, alcuni degli andamenti proposti presentano una dose di soglia all'interno o addirittura un "rischio negativo", ossia effetti benefici da radiazione (ormesi, curva gialla) [3].

Per oltre 40 anni questo modello è stato adoperato per proteggere lavoratori e persone da potenziali effetti dannosi delle radiazioni e allo stesso tempo bilanciare i benefici che derivano dagli usi in campo medico di

queste, in base al principio giustificativo noto come ALARA (As Low As Reasonably Achievable), per cui l'esposizione deve essere tenuta in ogni caso al livello più basso possibile senza però pregiudicarne i possibili vantaggi. Il modello LNT pertanto estremamente prudente, in linea con i principi ispiratori della radioprotezione. I dati più solidi riguardanti i rischi carcinogenici della radiazione sono quelli ottenuti dal Life Span Study effettuato sui sopravvissuti alle bombe atomiche a Hiroshima e Nagasaki. Le popolazioni esposte ai raggi gamma ed ai neutroni delle armi nucleari rappresentano un campione variegato in termini di età e salute ed una delle criticità principali dello studio è la difficoltà nel calcolo della dose assorbita e del contributo dei diversi tipi di radiazione, poiché non è possibile definire in modo certo la dose erogata al momento dell'esposizione. [16]

I dati raccolti da questo studio, discusso in dettaglio nel paragrafo 2.3, ed i fattori di rischio relativi, continuamente in fase di rivalutazione, sono i punti cardine su cui il modello LNT si fonda [17].

Ulteriori dati a favore del modello, che evidenziano l'assenza di una soglia di dose fanno riferimento a studi cellulari e molecolari: lo studio dei fenomeni di carcinogenesi al livello molecolare ha permesso di estrapolare informazioni riguardo la formazione di tumori nel regime di basse dosi. Il processo per il quale una cellula si trasforma in un tumore metastatico è composto da più fasi, dove ognuna è caratterizzata da un'alterazione genetica. Queste, secondo il modello di Hanahan e Weinberg [18], sono sei, possono provenire da una mutazione genetica o alterazione cromosomica e conferiscono alla cellula la capacità di un incontrollato potenziale proliferativo. I dati ottenuti da studi sulle mutazioni radio-indotte possono fornire ulteriori informazioni riguardo i tumori radio-indotti ed è una particolare applicazione delle curve dose-effetto a basse dosi. Questa visione è supportata dal fatto che tutte le tipologie di mutazioni o alterazioni cromosomiche, comunemente osservate nei casi di tumori, possano essere indotte dalle RI. Le mutazioni genetiche possono essere osservate nelle cellule animali o nelle colture cellulari; dalle seconde si sono estrapolate moltissime informazioni riguardo gli andamenti delle curve dose-effetto, senza aver riscontrato la presenza di una soglia. Inoltre, se il cancro radio-indotto proviene direttamente da una mutazione, allora i dati raccolti non denotano nessun tipo di soglia [19].

2.2 Teoria del target e sua evoluzione

Da quanto detto finora, si evince che sia i modelli di carcinogenesi (radio-indotta) che, a maggior ragione, il modello LNT, si basano sul dogma centrale della radiobiofisica, ossia che il DNA sia il bersaglio sensibile. Ciò è alla base della *teoria del target*.

La teoria del target spiega il danno cellulare indotto dalla radiazione su basi probabilistiche ed assume che ci siano dei "siti" sensibili nel nucleo cellulare che devono essere "colpiti" per inattivare la cellula.

I fattori cardine, alla base di questa teoria, introdotti da Crowther e Lee [18], sono infatti i cosiddetti *hits* e *targets*: i primi rappresentano la produzione di un evento effettivo nel target; quest'ultimo è una parte di cellula o la sua totalità, la quale una volta colpita acquisisce l'effetto (della radiazione ionizzante in questo caso) di morte o perdita di crescita cellulare. Sebbene la teoria del target affermi che gli effetti di dosi assorbite siano indipendenti dal rateo delle radiazioni emesse, all'atto pratico ciò non è propriamente vero: inoltre, fattori biologici come la fase del ciclo cellulare in cui la cellula si trova al momento dell'esposizione e, soprattutto i processi enzimatici di riparo sono fattori determinanti nella radiosensibilità cellulare.

Un'ulteriore limitazione del modello teorico a singolo target è resa evidente da esperimenti di calcolo delle dimensioni del target nel caso di organismi con filamenti di DNA estesi; sono state osservate, infatti, discrepanze tra le misure di volumi di questi filamenti utilizzando metodi biofisici già per virus a doppia elica, rispetto a quelli a singola elica. In tal senso, fu proposta la teoria del multitarget [20].

Le assunzioni della teoria del multitarget sono le seguenti:

- 1- Ogni cellula contiene n target distinti;
- 2- Ogni target può essere reso inattivo, dunque privato di alcune sue funzioni, al passaggio di una particella carica (hit);
- 3- L'inattivazione di un target è un evento subletale;
- 4- Tutti gli n target vanno resi inattivi affinché la cellula muoia.

Oggi, il modello del target si è evoluto nella sua forma universalmente riconosciuta e nota come modello lineare quadratico. La curva di sopravvivenza corrispondente presenta inizialmente una regione meno sensibile a dosi basse e mostra un andamento esponenziale nel regime di alte dosi, come mostrato in figura 9 [20].

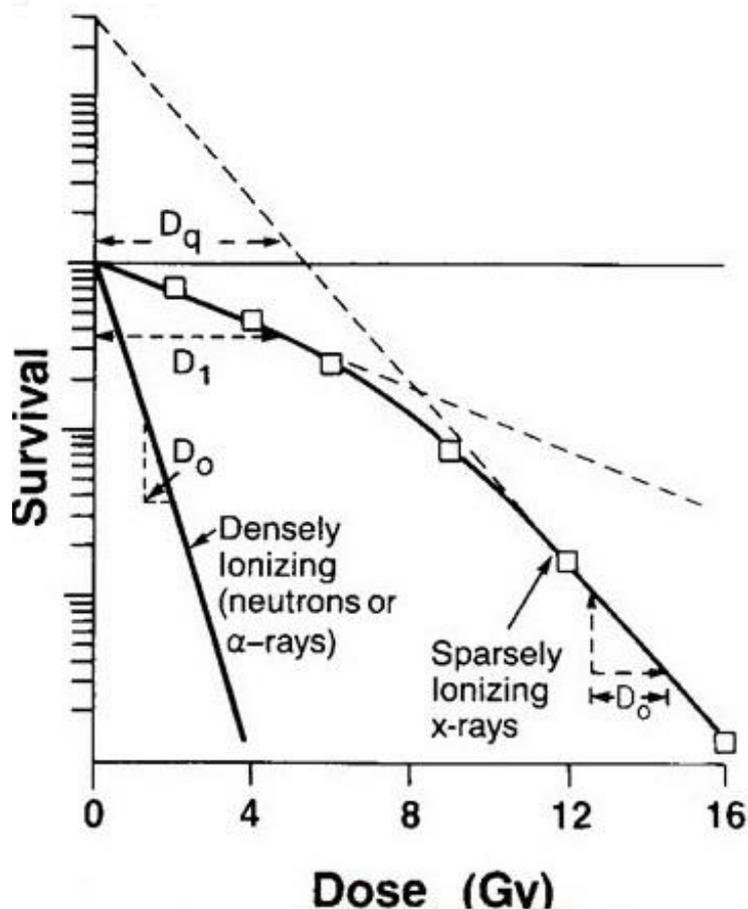


Figura 9: Curva di sopravvivenza di cellule mammifere dopo esposizione a radiazioni di diversa qualità (LET), in funzione della dose [21].

Storicamente, viene indicata con D_0 la dose che conferisce mediamente un hit per ogni target, si introduce una costante $k = 1/D_0$. Successivamente si ottiene la frazione di cellule sopravvissute come:

$$S = e^{-D/D_0}$$

Nel caso in cui $D = D_0$, ne consegue che $S = e^{-1} \approx 0.37$. In questo modo, si ottiene una percentuale del 37% di organismi che sopravvivono all'irradiazione, quando si ha mediamente un hit per ogni target [19]. Questa espressione è infatti alla base del suddetto modello lineare quadratico.

La teoria del target è stata messa in discussione a partire dagli anni '90 del secolo scorso, quando una serie di fenomeni radiobiologici noti come effetti extra-bersaglio (non-targeted effects) furono per la prima volta descritti, il più famoso dei quali è forse l'effetto bystander, a sfavore del modello LNT; ciò verrà trattato in modo approfondito nel capitolo 3 insieme ad ulteriori tematiche [20].

2.3 Life Span Study (LSS)

Un'importante parte dei dati relativi all'insorgenza di tumori causati dalla RI, fa riferimento ai sopravvissuti ai bombardamenti atomici avvenuti in Giappone nel 1945 con conseguenze esposizione a dosi medio-alte o acute di radiazioni. Tali dati sono stati raccolti nel *Life Span Study* (LSS) [12]. L'indagine, iniziata dall'Atomic Bomb Casualty Commission (ABCC) nel 1950, riorganizzata poi come Radiation Effects Research Foundation (RERF) nel 1975, consiste nello studio degli effetti sulla salute per l'intera durata della vita di una coorte di circa 120000 individui selezionati tra i 284000 sopravvissuti alle bombe atomiche e composta da circa 93000 individui esposti e 27000 individui, provenienti da Hiroshima e Nagasaki, ma non presenti nelle due città al momento dei bombardamenti (es. a una distanza > 10 km dagli ipocentri delle esplosioni), per i quali le dosi stimate di radiazioni assorbite potevano considerarsi trascurabili.

Per lo studio furono selezionate tre sotto-coorti di individui: il primo gruppo era costituito da soggetti situati nel raggio di 2500 metri dall'ipocentro dell'esplosione, quindi esposti alla radiazione in modo significativo, a sua volta diviso in due sottogruppi, fino a 2000 metri (in prossimità interna) e tra 2000 e 2500 metri (in prossimità esterna); il secondo comprendeva individui distribuiti nel raggio tra i 2500 ed i 10000 metri dall'ipocentro; il terzo gruppo, infine, annoverava persone che si trovavano a distanza superiore ai 10000 metri oppure erano immigrate a Hiroshima e Nagasaki negli anni appena successivi all'esplosione delle bombe atomiche.

I soggetti dei vari gruppi furono accoppiati in modo tale da poter studiare gli effetti delle radiazioni sugli individui appartenenti al primo gruppo rispetto a quelli del secondo e del terzo confrontando, per quanto possibile, dati provenienti da individui aventi stesso sesso o età al momento dell'esposizione.

Fattori d'interesse furono, infatti, l'età e il genere dei soggetti, i quali differenziavano gli effetti delle radiazioni; in figura 10 sono riportati le distribuzioni dei soggetti interessati dallo studio per genere, età all'epoca dei bombardamenti e distanze dagli ipocentri delle esplosioni. Ulteriori coorti di feti *in utero* al momento dei bombardamenti (3600) e figli di genitori esposti, concepiti successivamente (77000 soggetti), sono stati inseriti nello studio.

Ad oggi, 50000 individui sono ancora vivi, con un'età media di 74 anni; la totalità di coloro che al momento dei bombardamenti avevano circa 40 anni è deceduta; mentre invece più dell'80 % degli individui con meno di 10 anni, ai tempi, è ancora oggetto di studio [22].

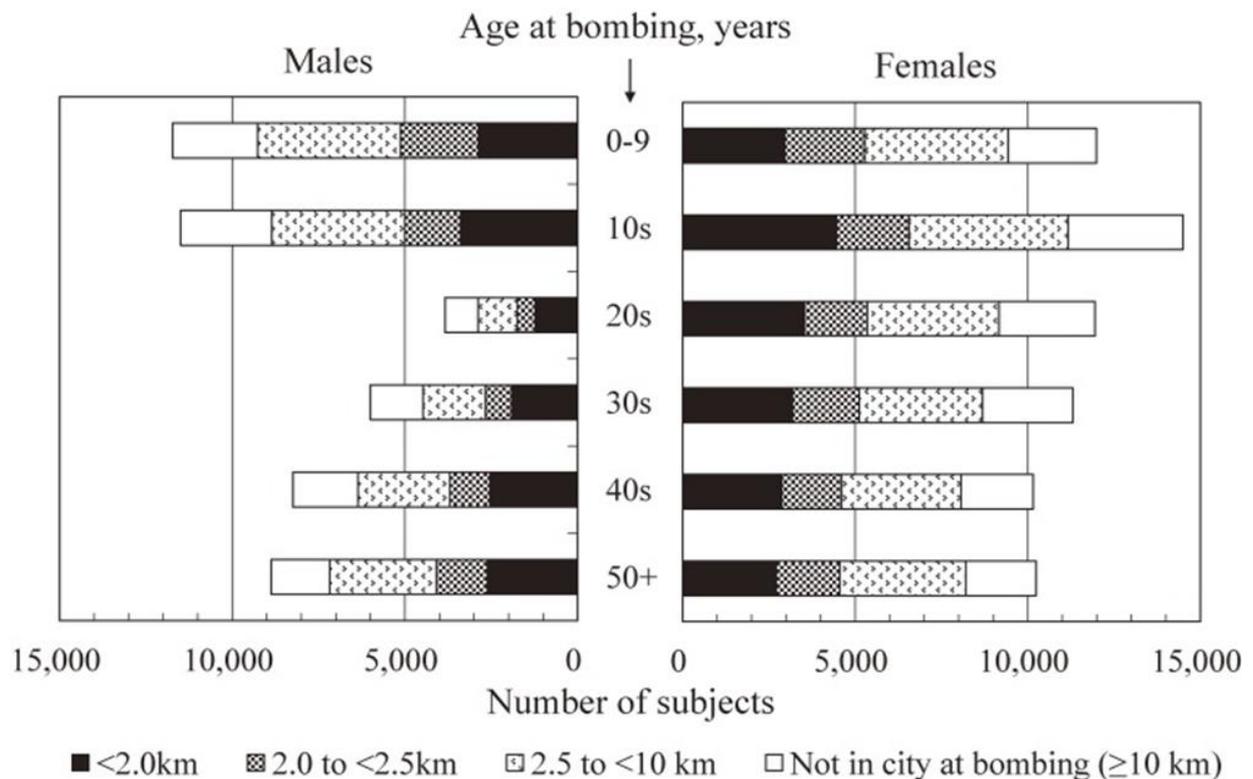


Figura 10: Distribuzione dei soggetti interessati dallo studio per genere, età all'epoca dei bombardamenti e distanze dagli ipocentri [22].

I risultati ottenuti da questo studio sono basati sul sistema dosimetrico adottato nel 1986 (DS86), sostituito poi dal revisionato sistema DS02, adottato nel 2004 [3].

Il DS86 si avvale di una caratterizzazione delle componenti delle radiazioni per il calcolo delle stime delle dosi; in esso, così come per il suo modello successore, DS02, si assume che l'esposizione alle radiazioni sia simmetrica rispetto ad un asse su cui giacciono ipocentro ed epicentro e che il trasporto delle radiazioni attraverso l'aria sia governato da una geometria bidimensionale cilindrica. Le caratteristiche di questo sistema sono: i termini di sorgente, il modello di trasporto e il modello di schermatura. I termini di sorgente descrivono l'energia e la distribuzione angolare dei raggi gamma e dei neutroni emessi dall'esplosioni, mentre il modello di trasporto descrive come questa energia viene propagata nello spazio per via della propagazione delle radiazioni attraverso l'aria. Infine, il modello di schermatura ne regola ulteriormente le distribuzioni tenendo conto del potere schermante di edifici, terreno e del corpo umano.

Il flusso di radiazioni schermato dagli edifici e dal terreno è stato calcolato con simulazioni che utilizzano il metodo Monte Carlo. Per studiare la propagazione delle radiazioni, si è seguita l'interazione, in termini probabilistici, tra raggi gamma o neutroni con modelli tridimensionali di circa 21 strutture edili rappresentative per le due città fino a punti d'interesse all'interno di queste; i fattori di trasmissione (quantità di energia che è trasmessa attraverso il materiale schermante) per i raggi gamma, calcolati dal DS86, in riferimento a case di legno è di circa 0,46 per Hiroshima e 0,49 per Nagasaki, rispettivamente [23].

Il nuovo sistema DS02 introdusse metodi avanzati per il calcolo di dose da radiazioni composte da fotoni e aggiustamenti per gli effetti di schermaggio degli edifici industriali o scolastici, a cui si aggiunse una revisione di dati raccolti precedentemente ed un'aggiunta delle nuove evidenze emerse con il progredire degli strumenti di indagine nell'ambito dell'analisi dei materiali esposti alle radiazioni.

La prima motivazione del passaggio dal DS86 al DS02 è dovuta alla cosiddetta “discrepanza neutronica” riguardante i dati relativi al bombardamento di Hiroshima; infatti, sono state rilevate discrepanze tra i valori di dose previsti dalla dosimetria ed i dati ottenuti da misure di attivazione di materiali presenti ai tempi dei bombardamenti da parte dei neutroni termici (neutroni aventi energia cinetica di 0,025 eV in condizioni di temperatura ambientale pari a 20 °C), effettuate successivamente alla data di inizio di utilizzo del sistema DS86; in particolare questi dati presentavano una differenza nel calcolo dei rapporti tra l'attivazione dei neutroni termici misurata e quella calcolata in funzione della distanza, che suggeriva che i primi valori erano inferiori ai secondi calcolati nei pressi dell'ipocentro, diventando, invece, più elevati, per un certo range a distanza crescente. Il nuovo sistema DS02 introduce una nuova stima per la quantità di radiazione emessa dalle due bombe, un aggiornamento delle costanti utilizzate per i modelli di trasporto e per Hiroshima, una revisione dell'altitudine rispetto al suolo della bomba al momento dello scoppio, parametro strettamente correlato all'andamento delle dosi in funzione della distanza [24], [25]. A Hiroshima, l'energia teorica rilasciata dall'esplosione è stata aumentata da 15 kt a 16 kt, con un aumento proporzionale, essenzialmente uniforme, di circa il 7% per la fluenza delle radiazioni rispetto a quanto previsto dal modello DS86. Inoltre, l'altezza di detonazione è stata aumentata da 580 a 600 m, il che tende a diminuire le fluenze vicino all'ipocentro ma ha un effetto minore a lunghe distanze, dove la modifica dell'altitudine dello scoppio diventa meno influente. L'altro fattore importante nel caso di Hiroshima è un aumento della fluenza dei raggi gamma prodotti per chilotone nel termine di sorgente. Le ragioni di questo aumento riguardano l'ampliamento dell'intervallo di tempo nelle simulazioni dell'esplosione nucleare (aumentato di un intero secondo grazie ai progressi in campo computazionale) in DS02, l'inclusione di raggi gamma di energia superiore (tra 10 MeV e 20 MeV) non considerati in DS86, costanti fisiche più recenti per le probabilità di interazioni dei neutroni, l'inclusione di più parti metalliche nel modello della bomba e sviluppi tecnici nella modellazione delle interazioni delle particelle nei materiali della bomba. I primi tre di questi fattori hanno tutti una relazione importante con la produzione di raggi gamma dall'interazione dei neutroni con i nuclei degli atomi di azoto nell'aria attorno alla bomba. La variazione netta complessiva è che il kerma dei raggi gamma nel sistema DS02, mostrato nel pannello superiore della figura 11, è ridotto vicino all'ipocentro, dove predomina l'effetto dell'aumentata altezza dello scoppio, mentre oltre i 500 m circa, gli altri effetti iniziano a predominare e il kerma aumenta di un fattore che si avvicina al 10% a distanze maggiori; il kerma dei neutroni di DS02 è inferiore a DS86 vicino all'ipocentro, aumenta a valori leggermente superiori al 10% al di sopra di DS86 a distanze medie dell'ordine di 1 km e scende a valori inferiori a distanze oltre 2 circa km, a causa di piccole differenze nel modello di trasporto dei neutroni: cambiamenti nello spettro dell'energia dei neutroni e nuove costanti fisiche per la diffusione dei neutroni nell'aria.

Per la città di Nagasaki invece non ci sono state rivalutazioni per quanto riguarda l'altezza dal suolo della bomba al momento dello scoppio mentre modifiche simili a quelle effettuate per Hiroshima sono state effettuate per quanto riguarda i termini di sorgente e trasporto; l'effetto di queste variazioni sulla stima della dose però risulta in questo caso, in proporzione, maggiore poiché i raggi gamma maggiormente energetici rappresentano una proporzione molto più alta della fluenza totale dei raggi gamma a Nagasaki rispetto a Hiroshima, a causa delle diverse caratteristiche dei due ordigni usati. Il corrispondente aumento del kerma dei raggi gamma è più uniforme sulla distanza rispetto ad Hiroshima mentre si osserva una riduzione complessiva del kerma dei neutroni, dovuto alle già citate modifiche del modello di trasporto (Figura 11, pannello inferiore) [23].

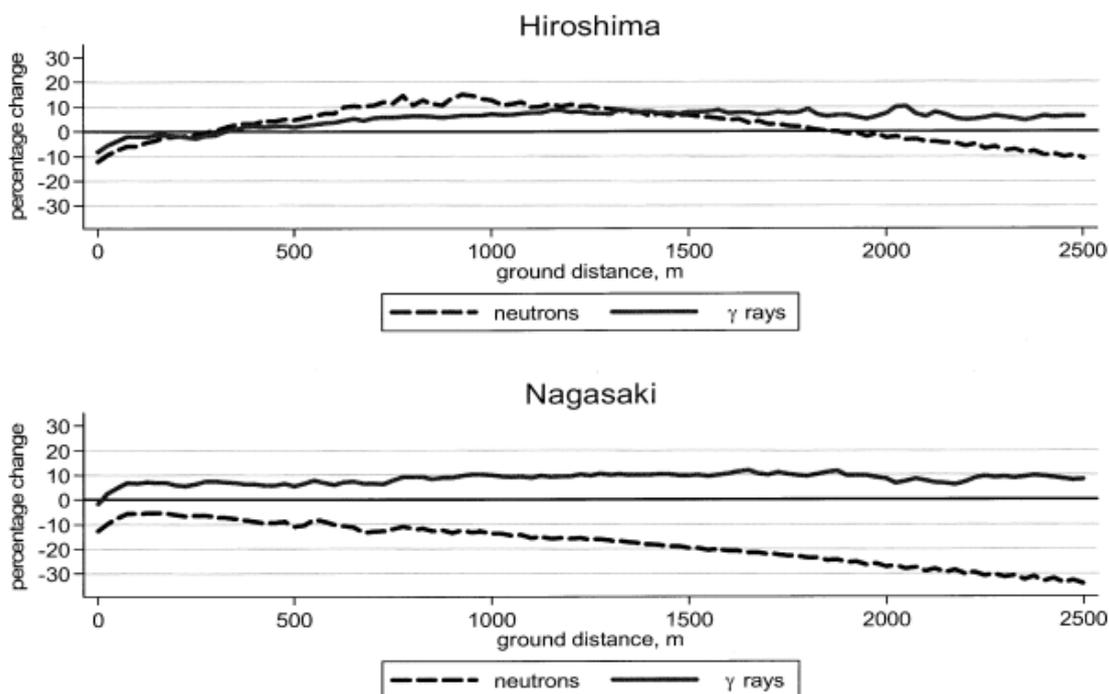


Figura 11: Variazione percentuale del kerma tra sistema DS86 e DS02 per le città di Hiroshima (pannello superiore) e Nagasaki (pannello inferiore) [23].

L'LSS è probabilmente meno soggetto ad ulteriori rivalutazioni, rispetto ad altri tipi di studi, poiché uno dei fattori determinati, utilizzato per il calcolo della dose, è appunto la distanza dal punto di impatto della bomba (lo studio coinvolge soggetti che si trovavano fino ad una distanza di 10 km dagli ipocentri delle esplosioni), presentando un ripido gradiente decrescente della dose all'aumentare della distanza [20], oltre al fattore dovuto alla distanza, come già accennato, dati riguardanti la presenza di eventuali fonti di schermatura dalla radiazione (struttura degli edifici, posizione dei soggetti esposti all'interno di questi) sono stati ottenuti da analisi di campioni di materiali esposti alle radiazioni nelle due città ed attraverso interviste ai sopravvissuti effettuate nei primi anni successivi ai bombardamenti ed utilizzati successivamente per il calcolo delle dosi.

Entro il raggio di 1 km dagli ipocentri delle esplosioni, la dose di radiazione a cui fu sottoposta la popolazione di Hiroshima e Nagasaki è risultata essere pari, rispettivamente, a 7 Gy e 10 Gy circa di cui la maggior parte (4,2 Gy e 8,6 Gy rispettivamente) derivanti da esposizione ai raggi gamma e la restante parte dovuta ad irraggiamento da neutroni; alla distanza di 2,5 km, per entrambe le città, non era apprezzabile la dose specifica dovuta ai neutroni, mentre la dose dovuta ai raggi gamma scendeva 0,013 e 0,023 Gy, rispettivamente [22]; in tabella 5 sono riportate le dosi rispetto alle distanze dagli ipocentri per le due città.

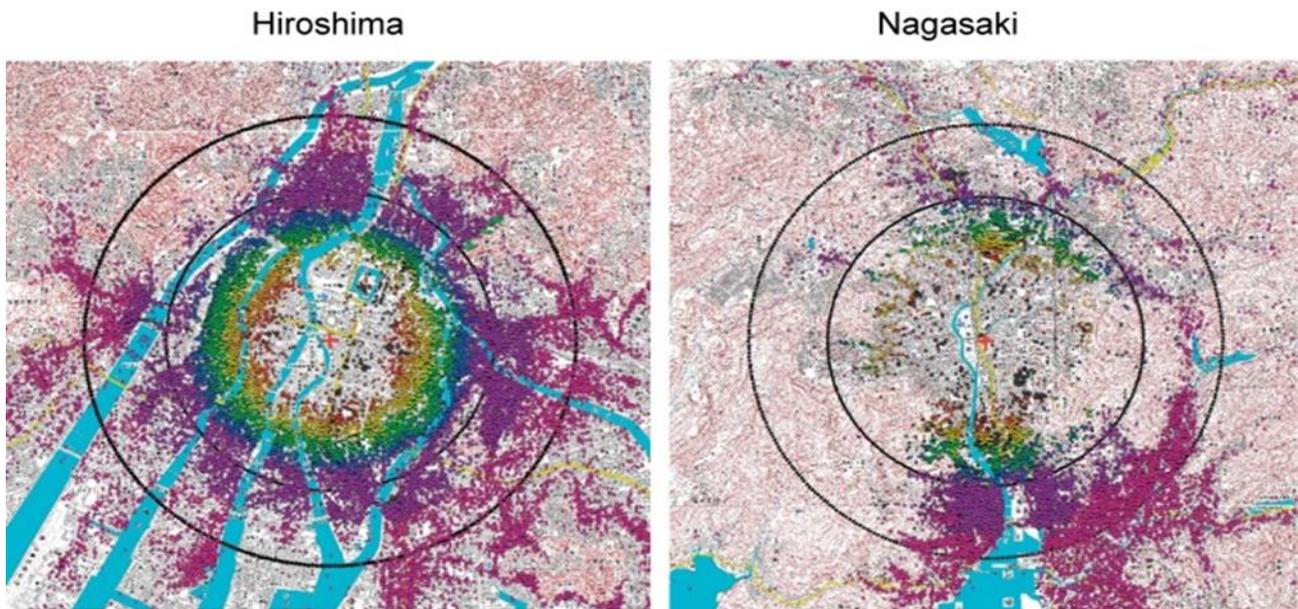


Figura 12: Distribuzione spaziale dei soggetti dell'LSS dall'epicentro dell'esplosione con stime delle dosi di radiazioni (rosa per dosi < 5 mGy; viola per dosi tra 5 e 100 mGy; blu tra 100 e 200mGy; verde tra 200 e 500 mGy; giallo tra 0.5 e 1 Gy; arancione tra 1 e 2 Gy; rosso per dosi superiori a 2 Gy). Le circonferenze nere sono poste a 2 e 3 km dall'ipocentro [22].

Tabella 5: Dose della radiazione (Gy) in assenza di schermaggio in funzione della distanza dall'ipocentro dell'esplosione [3]; alla dose base totale quella dovuta ai neutroni contribuisce dopo una moltiplicazione per un fattore di ponderazione pari a 10, rispetto alla dose relativa ai raggi gamma (si veda tabella 4).

Distanza (m)	Hiroshima			Nagasaki		
	Neutroni	Raggi gamma	Totale (X10 Neutrone)	Neutroni	Raggi gamma	Totale (X10 Neutrone)
1000	0,260	4,22	6,82	0,125	8,62	9,87
1200	0,067	1,81	2,48	0,034	3,49	3,83
1500	0,0090	0,527	0,617	0,0051	0,983	1,03
1800	0,0013	0,165	0,178	0,0008	0,299	0,307
2000	0,0004	0,076	0,080	0,0002	0,138	0,140
2500	0,0000	0,013	0,013	0,0000	0,023	0,023

L'aumento del rischio di insorgenza del cancro è stato calcolato tramite l'*Excess Relative Risk* (ERR), un indice utilizzato in studi caso-controllo. Esso è definito come:

$$ERR = Relative Risk - 1$$

Dove il *Relative Risk*, adimensionale, è il rapporto tra il tasso di malattia tra un gruppo di soggetti presentanti un qualche fattore rischio, come le radiazioni, e il tasso di un gruppo che non presenta questo fattore. L'ERR è un modo conveniente per esprimere la natura del rischio di radiazioni, che si presume essere proporzionale al numero di cellule danneggiate dall'esposizione alle radiazioni; ad esempio, un ERR di 0,5 indica un aumento del 50 % del tasso di insorgenza di patologie legate all'esposizione da radiazioni

rispetto al tasso naturale. L'ERR risulta essere efficace nell'LSS di Hiroshima e Nagasaki, in quanto ha reso possibile stimare il rischio di insorgenza di cancro in numerosi organi, proprio perché i sopravvissuti furono sottoposti alle radiazioni della bomba su tutto il corpo. I più alti valori riportati ($> 0,8$, o $> 80\%$ per Gy) erano inerenti all'insorgenza di tumori al seno (12,2%), colon (7,5%), fegato (10,7%) e polmoni (8,3%); mentre invece valori di ERR relativamente alti (0,5-0,8 o 50%-80% per Gy) facevano riferimento a tumore al cervello/sistema nervoso centrale, ovaie, tiroide ed esofago. Lo stomaco, invece, è stato il sito di tumore più comune, sia nelle donne (21,3% dei casi totali) che negli uomini (29,5%) [26].

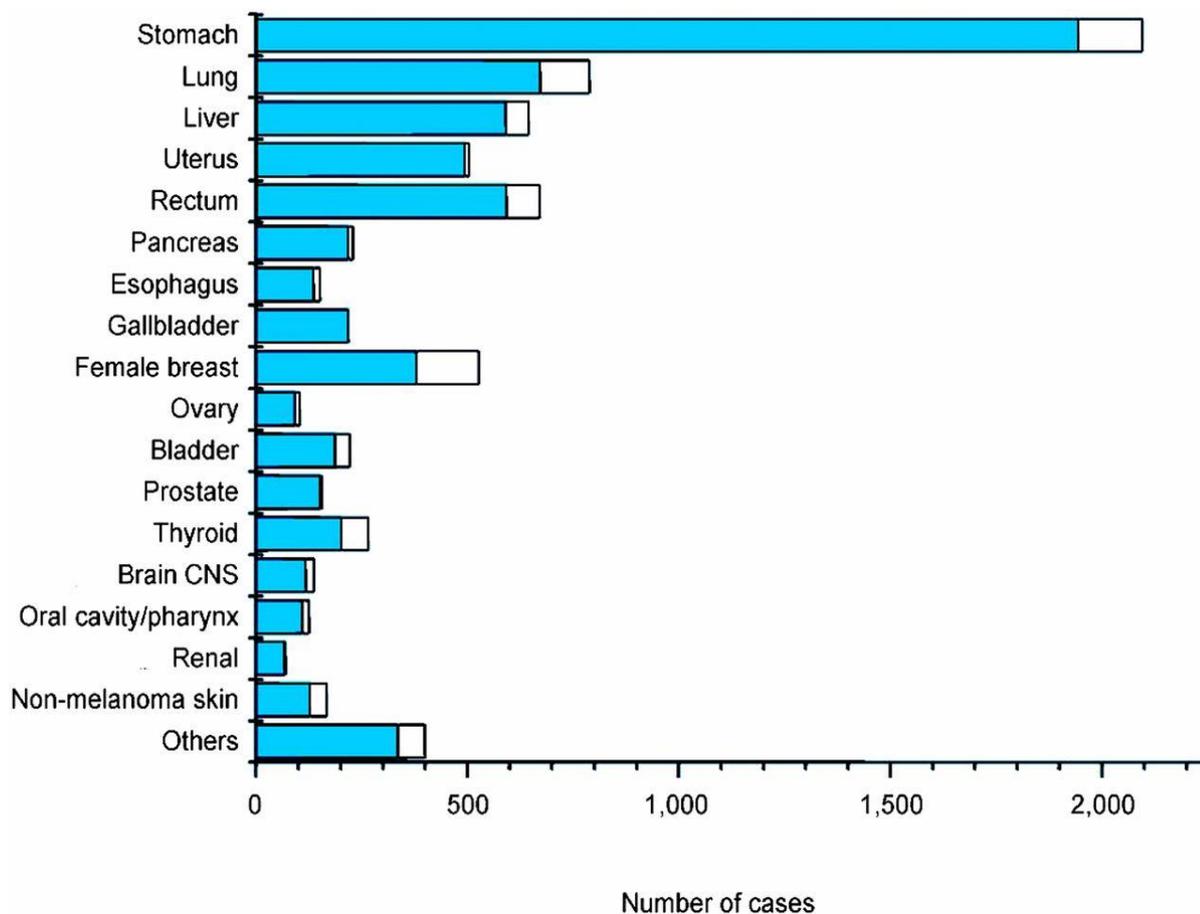


Figura 13: Numero di casi di tumori ai vari organi osservati nel 1998; la porzione bianca indica i casi in eccesso associati alle radiazioni [27].

Le analisi dei casi di tumore, che si sono sviluppati nei soggetti irradiati, sono state utili per ottenere informazioni e modelli basati su un grande numero di pazienti; i dati sulla mortalità si basavano su circa 9335 casi di morti da cancro verificatisi tra il 1950 e il 1997, mentre le analisi di incidenza della malattia includevano 8613 casi tra il 1958 e il 1987. Si stimò che circa l'8% dei 5502 decessi legati a tumori, tra quelli con dosi superiori a 0,005 Sv, fosse dovuto alle radiazioni, dunque molto meno rispetto alle morti per leucemia (44%). Si notò inoltre che si presentarono dei considerevoli rischi anche alle dosi di circa 0,05-0,1 Sv. Per questi ultimi valori di dose, sono stati riscontrati circa 206 casi di tumori di tutti i tipi in un gruppo di 3173 persone; è chiaro che ci sia un'insorgenza di tumori nelle persone fortemente irradiate, ma questa categoria è meno del 10% dei casi totali [23].

Per entrambi i dati sulla mortalità e quelli di incidenza, il rischio di cancro aumenta progressivamente per dosi oltre i 3 Sv, con un andamento non lineare nelle curve dose-risposta nel range di 0-3 Sv, in particolare per i casi di leucemia, che mostravano una componente quadratica (una curvatura verso l'alto). Per qualsiasi

altro tipo di tumore, invece ci sono poche prove che attestino la curvilinearità nella risposta alla dose in riferimento a radiazioni di basso LET [28].

Infine, dalle analisi dei dati della coorte dei feti in utero e di figli concepiti dopo i bombardamenti, si è manifestato un incremento del rischio di insorgenza di malattie mortali, al contrario dei secondi, per i quali non è stato riscontrato nessun tipo di rischio, ma l'indagine continua tutt'oggi [23].

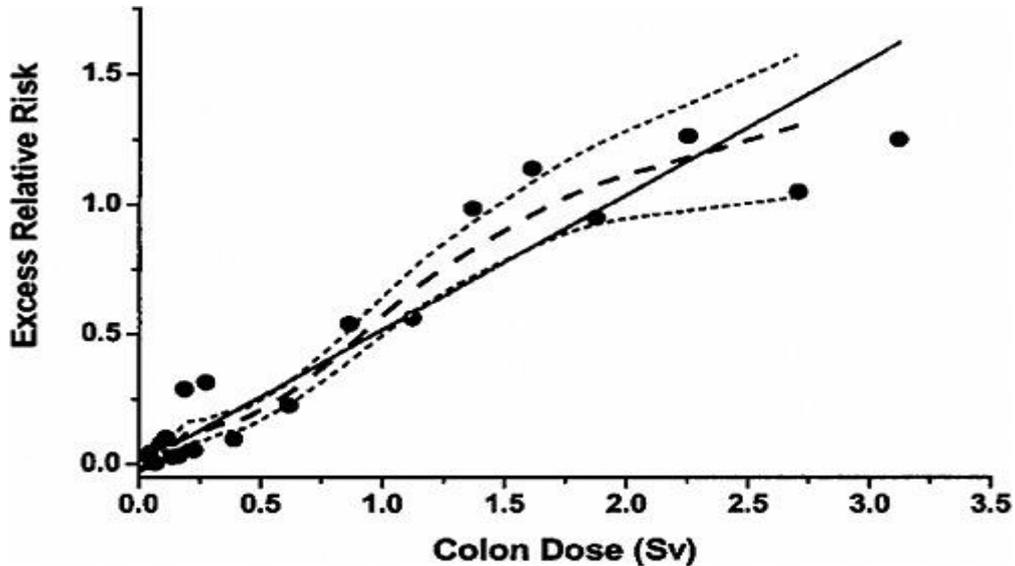


Figura 14: Curva di dose-risposta della mortalità per tumore al colon mediata sul sesso, all'età di 70 anni, dopo esposizione all'età di 30 [26].

Questo studio però presenta delle limitazioni: il controllo dei soggetti che vivevano a distanze maggiori dall'esplosione non tiene conto delle differenze tra lo stile di vita urbano e quello rurale. Si aggiungono inoltre i fattori di rischio legati al fumo, indagati solo successivamente nei soggetti, attraverso questionari autosomministrati non completamente affidabili. Tutto ciò non portò a risultati accurati e precisi. Un ulteriore fattore di incertezza è ovviamente rappresentato dalle stime delle dosi, dovute alla non perfetta ricostruzione dell'ubicazione di parte dei sopravvissuti e delle loro condizioni di schermatura; quest'ultima presenta a sua volta incertezze, in quanto i maggiori studi sugli effetti di schermatura fanno riferimento alla città di Hiroshima, più densamente abitata, al contrario di Nagasaki, i cui dati offrono meno informazioni a riguardo.

Nonostante queste limitazioni, l'LSS sui sopravvissuti alla bomba atomica rappresenta uno degli studi più importanti per valutare la relazione dose-effetto per la carcinogenesi radio-indotta [26]. Esso rappresenta il pilastro del modello LNT.

3 Questioni aperte sul modello LNT

Per quanto il modello LNT sia il più accreditato per stimare il rischio di insorgenza di tumori radio-indotti, la sua validità è ancora tutt'oggi messa in discussione a causa della ricorrente osservazione che la risposta di un organismo esposto a dosi elevate di radiazioni è differente da quella che si è osservata a basse dosi. Sostanzialmente, in mancanza di dati robusti quanto quelli per dosi più elevate corrispondenti a quelle del LSS, la comunità radioprotezionistica ha preferito estrapolare l'andamento lineare ivi riscontrato.

Questa diatriba, dunque, tende a contrapporre il modello LNT con i modelli ormetici, i quali suggeriscono addirittura che nel regime di basse dosi vi sia una soglia, al di sotto della quale si riscontrino effetti benefici sull'organismo irradiato, attivando meccanismi riparatori [17].

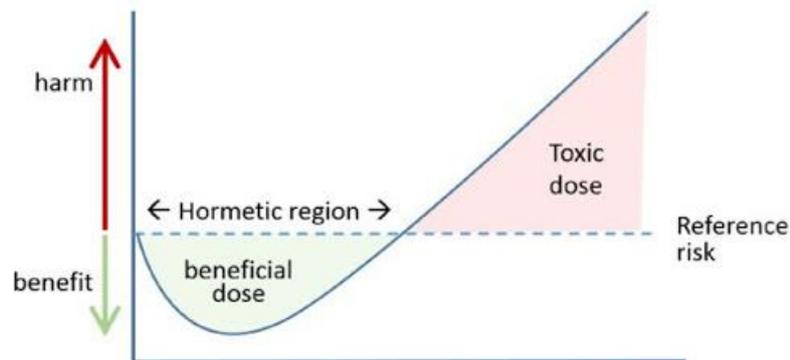


Figura 15: Rappresentazione del modello ormetico [29].

Gli oppositori del modello LNT hanno inoltre evidenziato che le popolazioni che abitano le *High Background Radiation Areas* (HBRAs), cioè zone del pianeta, dove sono registrati livelli di radioattività naturali più alti della media (es. Ramsar in Iran con 131 mSv/anno, Yangjiang in Cina con 6.4 mSv/anno e Kerala in India con 35 mSv/anno) non mostrano un significativo aumento dell'insorgenza di cancro o effetti teratogeni, come invece ci si aspetterebbe, per esempio, proprio dal modello LNT. Dalle analisi del DNA si sono rilevati maggiori danni alla molecola, sotto forma di aberrazioni cromosomiche, ma non un aumento dell'incidenza di malattie collegabili a queste [16]; ciò avvalorerebbe il fenomeno dell'adattamento cellulare (risposta adattiva), secondo il quale la continua esposizione a dosi più alte di quelle "consuete" incrementerebbe l'efficienza dei meccanismi di riparazione cellulare [17].

Un ulteriore fattore contro il modello senza soglia è la sua inapplicabilità al singolo individuo; infatti, esso presenta la sua massima efficienza se applicato ad una popolazione sufficientemente elevata tale da mediare sull'età, il sesso, lo stile di vita e la radio-sensibilità di ogni singola persona [30].

3.1 Effetti extra-bersaglio

I rischi delle radiazioni a basse dosi sono ampiamente discussi anche per via di esiti di recenti esperimenti atti a comprendere il comportamento delle cellule irradiate e di quelle nelle vicinanze (dunque, non direttamente sottoposte alle RI). Questi tipi di effetti che influenzano le cellule in cui non si è di fatto avuta una deposizione di energia rispetto a quelle direttamente colpite sono noti come *effetti extra-bersaglio*, i quali appaiono essere significativi alle basse dosi e sono caratterizzati da andamenti di non linearità. Due tra questi tipi di effetti sono, come menzionato: la *risposta adattiva* e l'*effetto bystander* [17].

Studi riguardanti questi effetti, se confermati in vivo, porterebbero il modello LNT a sovrastimare il rischio (nel caso della risposta adattiva) o a sottostimarne (nel caso dell'effetto bystander). Questo perché, nel primo caso dosi basse (o molto basse) di RI indurrebbero radioresistenza cellulare, mentre nel caso del bystander, molte più cellule di quelle effettivamente colpite esibirebbero danni, il che a sua volta si tradurrebbe in una supra-linearità nel rischio, per esempio, di trasformazione neoplastica.

3.1.1 Risposta adattiva

La risposta adattiva è un effetto extra-bersaglio, generalmente indotto da radiazioni a basse dosi (*Low-Dose-Radiation, LDR*), descritto come l'induzione di resistenza cellulare a effetti genotossici causati da successive esposizioni ad alte dosi di radiazioni (*High-Dose-Radiation, HDR*). Le dosi capaci di indurre questo tipo di effetto sono anche note come *Adaptive Response (AR) doses* o *adapting doses* [29].

Fino ad oggi, la risposta adattiva è stata studiata sia in vitro, con cellule umane e di altri mammiferi, come linfociti o cellule tumorali, che in vivo con cellule provenienti dal midollo spinale dei topi. Le suddette *adapting doses* rendono le cellule più resistenti non solo alle radiazioni, ma anche al perossido di idrogeno (H_2O_2); similmente la risposta adattiva causata dall'esposizione a basse dosi (o comunque non tali da causare danni ingenti) o ad agenti non radioattivi (H_2O_2), può proteggere le cellule stesse da danni radio-indotti. Il range delle *AR doses* si aggira tra 0,05 Gy e 0,20 Gy ed oltre questo secondo valore, la risposta adattiva ha una correlazione negativa con le *AR doses* [30].

I meccanismi alla base di questo effetto nel range delle basse dosi sono ancora poco chiari, ma sono state considerate molteplici ipotesi: le *LDR* accrescono i meccanismi di riparo del DNA e le attività antiossidanti, producendo proteine e minimizzando gli effetti indiretti dannosi di una susseguente esposizione a *HDR* [30].

Tra gli esperimenti effettuati che hanno permesso di individuare questo fenomeno, vi è stata l'esposizione di colture di linfociti umani prima a dosi molto basse (1cGy) (*priming dose*) di raggi X e successivamente a dosi nell'ordine di 1Gy (*challenge dose*). I risultati hanno mostrato che i campioni pre-irraggiati con basse dosi presentano una riduzione del 50 % del numero di aberrazioni cromosomiche rispetto a quelli irraggiati direttamente con le dosi più alte. Una possibilità, avanzata dai sostenitori del modello oremico, è dunque quella di utilizzare l'irraggiamento a basse dosi come forma di "pre-condizionamento", irraggiando volontariamente l'organismo con una bassa dose, così da permettere al sistema immunitario di sviluppare/potenziare una capacità difensiva contro future possibili esposizioni a dosi ben più elevate; se questa ipotesi venisse confermata, allora questo meccanismo potrebbe rivelarsi efficace contro la carcinogenesi spontanea e radio-indotta [17].

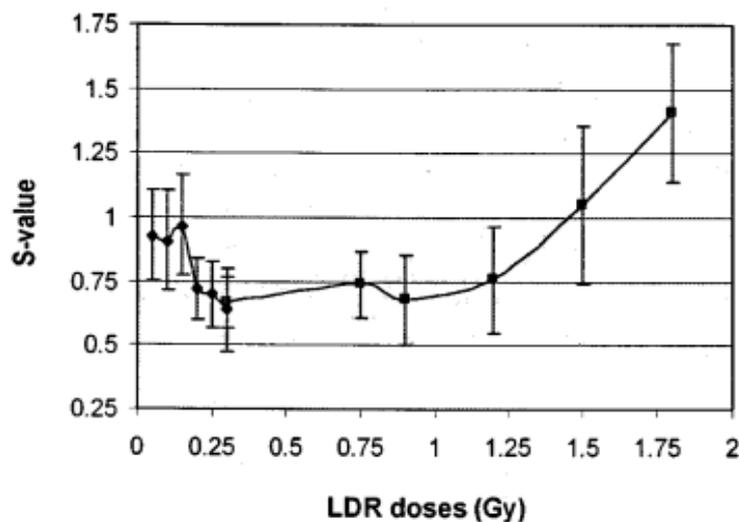


Figura 16: S-value in funzione delle LDR in esperimenti sulla risposta adattiva [30].

Ulteriori esperimenti sono stati effettuati invece con linfociti animali: essi sono stati pre-esposti a LDR (0,05 Gy per 9 ore al giorno) e successivamente a HDR (circa 1,5 Gy) durante la fase G₂ del ciclo cellulare (preparazione alla mitosi in cui avviene la divisione cellulare); l'esposizione cronica ad AR doses ha permesso di indurre sul sistema biologico una risposta adattiva. In figura 17 è riportato l'S – value (rapporto tra aberrazioni cromosomiche dovute all'irraggiamento con dosi uguali alla somma di HDR e LDR e quelle dovute unicamente alle HDR) in funzione delle LDR [31].

3.1.2 Effetto bystander

L'effetto bystander, anche noto come Radiation-Induced Bystander Effect (RIBE), è definito come un insieme di effetti biologici espressi dopo l'irradiazione in cellule i cui nuclei non sono stati colpiti, ossia in cui non c'è stato un deposito di energia da parte della radiazione, ma che al momento dell'irraggiamento o subito dopo, erano nelle vicinanze di cellule direttamente irraggiate o sono state messe a contatto con il mezzo in cui le cellule direttamente colpite si trovavano. Tra le conseguenze principali ci sono: danno al DNA, instabilità cromosomica, e morte cellulare [17].

I meccanismi alla base del RIBE non sono noti con certezza. Per studiarli, si sono adottate principalmente due tecniche: nella prima, il RIBE viene studiato dopo il trasferimento del mezzo di coltura (medium-trasfer) da cellule irradiate su una coltura non irradiata, lasciandolo per un certo periodo di tempo (conditioning); la seconda categoria si avvale di irraggiamenti effettuati con micro-raggi a singola particella, che permette, con elevata risoluzione, di irraggiare in una popolazione cellulare, selettivamente solo alcune in modo tale da studiarne gli effetti sulle cellule che si trovano nelle immediate vicinanze.

Grazie a metodiche di questo tipo, si ritiene che questo effetto sia mediato dalla secrezione di fattori solubili che le cellule irradiate rilasciano o tramite *gap junction* (tramite cui passano mediatori di basso peso molecolare quindi anche i radicali liberi dell'ossigeno); nel caso di questo secondo meccanismo, l'effetto bystander è risultato molto più marcato rispetto a quanto osservato negli esperimenti basati sul medium-trasfer [32].

Questo effetto extra-bersaglio si è manifestato per radiazioni ad alto e basso LET, ma risulta molto più marcato per radiazioni densamente ionizzanti, come le particelle alfa [1]. Per questo, essendo le alfa il prodotto dell'esposizione ambientale al radon indoor, ed essendo un tipo di esposizione cronico, il contributo del RIBE potrebbe avere ripercussioni importanti in radioprotezione e quindi coinvolge la questione della applicabilità del modello LNT alle basse e bassissime dosi. Per analizzare in modo quantitativo l'azione dell'effetto bystander, è stato introdotto il modello biofisico *ByStander Diffusion Modelling* (BSDM), secondo il quale la risposta oncogena osservata nelle cellule non irradiate direttamente si origina da specifiche molecole simili a proteine, provenienti da cellule inattive; queste molecole si diffondono in tutta la coltura tramite moto Browniano. Il modello BSDM predice che l'effetto bystander possa essere rilevato anche per alte dosi; infatti, è stato mostrato come questo effetto extra-bersaglio incrementi all'aumentare della dose e possa essere osservato sia ad alte che a basse dosi. La validità di questa conclusione è supportata da analisi di esperimenti con micro-raggi ad alto LET [32].

Conclusioni

Il modello di rischio lineare senza soglia (LNT), rappresenta lo standard correntemente utilizzato in radioprotezione per stimare il rischio di tumori radio-indotti. E' il prodotto di risultati di studi in vitro ed in vivo, ma soprattutto di osservazioni epidemiologiche su individui esposti alle radiazioni ionizzanti (RI) in ambito lavorativo o accidentale. In particolare, si poggia principalmente sulle conclusioni del Life Span Study (LSS) sulla coorte dei sopravvissuti giapponesi alle atomiche. Il LSS ha permesso di concludere che, per un range limitato di dosi, fra l'altro amministrate in maniera acuta, il rischio carcinogenico è una funzione lineare della dose. In mancanza di dati altrettanto robusti, tale andamento è stato estrapolato per coprire anche la regione delle basse dosi (e bassi ratei di dose) che rappresentano lo scenario di esposizione che riguarda praticamente l'intera popolazione, soprattutto nei casi di esposizioni per motivi diagnostici. Se da un lato questa scelta è ovviamente prudente e cautelativa, in linea con i principi ispiratori della radioprotezione, ha attratto nel corso degli anni numerose critiche, soprattutto sul razionale scientifico dell'estrapolazione alle basse dosi. Diversi studi radiobiologici hanno infatti dimostrato, per esempio, che gli effetti a livello cellulare, e quindi a livello sistemico, possono differire significativamente se la stessa dose è assorbita in condizioni acute o croniche, per esempio. Tuttavia, nonostante le sue limitazioni e i dibattiti sollevati circa il rischio di esposizione a basse dosi di radiazioni ionizzanti, rimane lo strumento migliore applicabile nel mondo della radioprotezione. Gli argomenti presentati, riguardanti il cancro radio-indotto sugli umani, studiati in modo solido dall'LSS e sperimentalmente in sistemi animali forniscono un quadro molto dettagliato.

In anni più recenti, tuttavia, nuovi fenomeni radiobiologici sono stati osservati, quali la cosiddetta risposta adattativa, che appaiono in opposizione al modello LNT, in alcuni casi rinforzando vecchie ipotesi, tra cui quello ormetico, secondo cui addirittura alle basse dosi l'organismo godrebbe di effetti benefici. Altre osservazioni esistono che tendono a mettere in discussione le basi dell'LNT, come ad esempio i dati estrapolati dalle popolazioni delle HBRAs (aree del pianeta che presentano un fondo di radioattività naturale più elevato della media) tra cui non sembrano emergere maggiori incidenze di carcinogenesi, quindi supportando la possibilità di dosi soglia al di sopra delle quali il rischio di tumore radio-indotto aumenti. Infine, il cosiddetto effetto bystander, per cui anche cellule non direttamente colpite dalla radiazione, possono manifestare effetti avversi, avvalorerebbe una deviazione dalla linearità, ma in senso peggiorativo, ossia una sottostima del rischio da parte del modello LNT alle basse e bassissime dosi. Tutte queste argomentazioni a sfavore, però, non hanno per ora portato ad una revisione del modello LNT in modo tale da metterne in discussione l'utilizzo, e resta quindi la migliore raccomandazione, in senso cautelativo, soprattutto in ambito lavorativo in cui gli individui sono esposti per tempi prolungati e in modo costante a livelli bassi di radiazioni.

Ovviamente, gli studi effettuati sulle radiazioni a basse dosi e la limitazione circa il calcolo delle stime di rischio derivanti dall'esposizione a queste non sono ancora esaustivi; ciò motiva una ricerca in tal senso che resta molto attiva. Il tempo dirà se ulteriori dati rafforzeranno il modello LNT, rendendolo ancora più affidabile, o ne porteranno ad una rivisitazione.

Bibliografia

- [1] E. J. Hall, «Radiobiology for the Radiologist», Lippincott Williams & Wilkins, 2018.
- [2] Consiglio dell'Unione Europea, «Direttiva 2013/59 Euratom», Bruxelles, Belgio, 2013. Accessibile online: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/HTML/?uri=CELEX:32013L0059&from=IT>.
- [3] M. Buono, «Radiazioni ionizzanti e danno cardiovascolare», Tesi di laurea triennale, Università degli studi di Napoli, Federico II, 2015 .
- [4] J. N. Kavanagh, K. M. Redmond, G. Schettino, K. M. Prise «DNA Double Strand Break Repair: A Radiation Perspective», *Antioxidant & Redox Signaling*, 18(18), 2013. doi: 10.1089/ars.2012.5151.
- [5] E. A. Blakely, «Biological Effects of Cosmic Radiation: Deterministic and Stochastic effects», *Health Physics*, 79(5): pp. 495-506. 2000. doi: 10.1097/00004032-200011000-00006.
- [6] «Radioprotezione per odontoiatri» Accademia Tecniche nuove, 2018. [Online]. Accessibile online: <https://accademiagn.it/odontoiatria/corso/radioprotezione-per-odontoiatri/>.
- [7] IFSN (Ispettorato Federale della Sicurezza Nucleare), «Serie sulla radioprotezione: effetti biologici delle radiazioni ionizzanti», Brugg, Svizzera, 11 Gennaio 2017. [Online]. Accessibile online: <https://www.ensf.ch/it/2017/01/11/serie-sulla-radioprotezione-effetti-biologici-delle-radiazioni-ionizzanti/>.
- [8] T.T. Puck, P.I. Marcus, «Action of X-rays on mammalian cells», *Journal of Experimental Medicine*, 103(5), 1956. doi: 10.1084/jem.103.5.653.
- [9] E. Ridente, «Effetti biologici delle radiazioni ionizzanti: effetti non-targeted e le loro implicazioni per la radioprotezione e la clinica», Tesi di laurea triennale, Università degli studi di Padova, Dipartimento di Fisica ed Astronomia Galileo Galilei, 2015.
- [10] G. Mougabure-Cueto, V. Sfara, «The analysis of dose-response curve from bioassays with quantal response: Deterministic or statistical approaches?», *Toxicology Letters*, 248: pp. 46-51, 2016. doi: 10.1016/j.toxlet.2016.03.001.
- [11] P. Wexler, «Encyclopedia of Toxicology», Academic Press, 2014.
- [12] F. Chiara, S. Indraccolo, «Filling the gap between risk assessment and molecular determinants of tumor onset», *Integrative Cancer Research*, 42: pp. 507-516, 2021, doi: 10.1093/carcin/bgaa135.
- [13] A. Caraceni, «Le complicazioni neurologiche in oncologia», Springer Milan, 2007.
- [14] RERF (Radiation Effects Research Foundation), «Life Span Study», 2013. [Online]. Accessibile online: <https://www.rerf.or.jp/en/programs/researchactivities/outline/proglss-en/>.
- [15] J.R. Preston, J. D. Boice et al., «Uncertainties in estimating health risks associated with exposure to ionising radiation», *Journal of Radiological Protection*, 33(3): pp. 573-588, 2013. doi: 10.1088/0952-4746/33/3/573.
- [16] C. Kaminski, M. Dattoli, «Replacing LNT: The Integrated LNT-Hormesis Model», SAGE Publishing, 18(2), 2020. doi: 10.1177/1559325820913788.
- [17] M. Evidente, «Le basi radiobiologiche del modello LNT in radioprotezione», Tesi di laurea magistrale, Università degli studi di Napoli, Federico II, 2020.
- [18] D. Hanahan, R.A. Weinberg, «The Hallmarks of Cancer», *Cell*, 100(1), 57-70, 2000. doi: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9.

- [19] R. J. Preston, «The LNT is the best we can do today», *Journal of Radiobiological Protection*, 23(3):263-268, 2003. doi: 10.1088/0952-4746/23/3/303.
- [20] S. Chawla, «Biological basis of radiotherapy», MSC of Health and Medical Physics, Panjab University, Chandigarh, India, 24 Febbraio 2018. [Online]. Accessibile online: <https://www.slideshare.net/salonichawla95/presentation1-88835060>. [Consultato il giorno 29 Aprile 2021].
- [21] S. Larocca, «La risposta cellulare ai diversi tipi di radiazione tramite espressione genica e radiobiologia sistemica», Tesi di laurea magistrale, Università degli studi di Bologna, Alma Mater Studiorum, 2014.
- [22] K. Ozasa, E. J. Grant, K. Kodama, «Japanese Legacy Cohorts: The Life Span Study Atomic Bomb Survivor Cohort and Survivors' Offspring», *Journal of Epidemiology*, 28(4):162-169, 2018. doi: 10.2188/jea.JE20170321
- [23] H. M. Cullings, S. Fujita, «Dose Estimation for Atomic Bomb Survivor Studies», *Radiation Research Society*, 166: 219-254, 2006. doi: 0033-7587/06.
- [24] R. W. Young, G.D. Kerr, «Reassessment of the atomic bomb radiation dosimetry for Hiroshima and Nagasaki: DS02», *RERF*, 1, 2005.
- [25] H. M. Cullings, «The way to DS02: Resolving the neutron discrepancy», *RERF Update*, 14: pp. 17-23, 2003.
- [26] E.B. Duple, K. Mabuchi, «Disaster Medicine and Public Health Preparedness», Cambridge University Press, Cambridge, 2013.
- [27] B. R. Jordan, «The Hiroshima/Nagasaki Survivor Studies: Discrepancies Between Results and General Perception», *Genetics*, 203(4): pp. 1505-1512, 2016. doi: 10.1534/genetics.116.191759.
- [28] M. P. Little, C. R. Muirhead, «Curvilinearity in the Dose Response Curve for Cancer in Japanese Atomic Bomb Survivors», *National Radiological Protection Board, Chilton, Oxon, United Kingdom*, 105(6): pp. 1505-1509, 1997. doi: 10.2307/3433661.
- [29] National Research Council, «Health Risks from Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation: BEIR VII Phase 2», The National Academies Press, Washington, DC, 2006. doi: 10.17226/11340.
- [30] L. Cai, «Research of the adaptive response induced by low-dose radiation,» *Human & Experimental Toxicology*, vol. 18, n. 7, pp. 429-425, 1999. doi: 10.1191/096032799678840291.
- [31] J.D. Shadley, S. Wolff, «Very low doses of X-rays can cause human lymphocytes to become less susceptible to ionizing radiation», *Mutagenesis*, 2(2):95-96, 1987. doi: 10.1093/mutage/2.2.95.
- [32] H. Nikjo, I. Khvostunov, «Biophysical model of the radiation-induced bystander effect», *International Journal of Radiation Biology*, vol.79, n. 1, pp. 43-52, 2003. doi: 10.1080/0955300021000034701.