

EXTERNAL PROTON AND Li BEAMS

Schuff, J.A.¹, Policastro, L.³, Burlón, A.^{1,2}, Debray, M.E.^{1,2}, Kesque, J.M.¹, Kreiner, A.J.^{1,2,5}, Mazal, A.⁷, Perez de la Hoz, A.², Somacal, H.², Stoliar, P.^{1,2}, Valda, A.², Durán, H.^{2,3}, Molinari, B.L.^{3,5}, O'Connor, S.³, Saint-Martin, G.³, Palmieri, M.³, Naab, F.^{1,2}, Ozafrán, M.J.¹, Vazquez, M.E.¹, Davidson, M.^{4,5}, Davidson, J.^{4,5}, Caneva, S.^{2,7}, Delacroix, S.⁶, Favaudon, F.⁷, Henry, Y.⁷, Nauraye, C.⁶, Brune, E.⁶, Gautier, C.⁶, Habrand, J.L.⁶, Bernaola, O.A.³, Opezzo, O.³, Ruffolo, M.², Muhlmann, M.C.⁵, Tasat, D.R.^{2,3}.

¹*Departamento de Física, Comisión Nacional de Energía Atómica, Avenida del Libertador 8250, CP 1429, Buenos Aires, Argentina.*

²*Escuela de Ciencia y Tecnología. Universidad de San Martín, Argentina.*

³*Departamento de Radiobiología, Comisión Nacional de Energía Atómica.*

⁴*Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.*

⁵*CONICET, Argentina.*

⁶*Centre de Protonthérapie d'Orsay, Francia.*

⁷*Instituto Curie, Francia.*

e-mail: schuff@tandar.cnea.gov.ar

In the frame of a feasibility study to introduce protontherapy in Argentina in a collaborative agreement between the Physics and Radiobiology Departments of the Argentine Atomic Energy Commission and the Centre de Protontherapie d'Orsay, France, external proton and Li beams were produced at the TANDAR accelerator in Buenos Aires. The specific aim of this work was to start radiobiology studies on cell cultures and small laboratory animals. In particular we seek to determine here the relative biological effectiveness, RBE, for proton and Li beams as a function of energy for different tumor and normal cell lines.

The 24 MeV proton beam was diffused using a 25 μm gold foil and extracted through a Kapton window to obtain a homogeneous field (constant to 95%) of about 7 cm in diameter. Measurements were carried out with cuasi-monoenergetic beams (of 20.2 ± 0.07 MeV, 2.9 ± 0.10 MeV y 1.5 ± 0.1 MeV for protons and 21.4 ± 0.4 MeV for Lithiums). Proton fluence and Bragg peaks were measured. The dose delivered in each case was monitored on-line with a calibrated transmission ionization chamber.

Three cell lines PDV, PDVC57 and V79 (as a reference) were irradiated with γ -rays, proton and lithium beams with linear energy transfer (LET) from 2 to 100 keV/ μm . RBE values in the range of 1.2-5.9 were obtained. In addition preliminary studies on cromosomal aberrations and viability of alveolar macrophages were carried out.

HACES EXTERNOS DE PROTONES Y LITIOS

Schuff, J.A.¹, PolICASTRO, L.³, Burlón, A.^{1,2}, Debray, M.E.^{1,2}, Kesque, J.M.¹, Kreiner, A.J.^{1,2,5}, Mazal, A.⁷, Perez de la Hoz, A.², Somacal, H.², Stoliar, P.^{1,2}, Valda, A.², Durán, H.^{2,3}, Molinari, B.L.^{3,5}, O'Connor, S.³, Saint-Martin, G.³, Palmieri, M.³, Naab, F.^{1,2}, Ozafrán, M.J.¹, Vazquez, M.E.¹, Davidson, M.^{4,5}, Davidson, J.^{4,5}, Caneva, S.^{2,7}, Delacroix, S.⁶, Favaudon, F.⁷, Henry, Y.⁷, Nauraye, C.⁶, Brune, E.⁶, Gautier, C.⁶, Habrand, J.L.⁶, Bernaola, O.A.³, Opezzo, O.³, Ruffolo, M.², Muhlmann, M.C.⁵, Tasat, D.R.^{2,3}.

¹*Departamento de Física, Comisión Nacional de Energía Atómica, Avenida del Libertador 8250, CP 1429, Buenos Aires, Argentina.*

²*Escuela de Ciencia y Tecnología. Universidad de San Martín, Argentina.*

³*Departamento de Radiobiología, Comisión Nacional de Energía Atómica.*

⁴*Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.*

⁵*CONICET, Argentina.*

⁶*Centre de Protonthérapie d'Orsay, Francia.*

⁷*Instituto Curie, Francia.*

e-mail: schuff@tandar.cnea.gov.ar

1. OBJETIVOS:

Producción de haces externos de protones y litio usando el acelerador Tandar con las características requeridas para realizar irradiaciones sobre material biológico.

Construcción de una línea experimental para realizar irradiaciones de material biológico con iones livianos a bajas energías.

Realización de estudios sobre los efectos radiobiológicos de haces de partículas cargadas pesadas (por ejemplo determinación de eficacia biológica relativa) sobre líneas celulares tumorales, macrófagos alveolares y aberraciones cromosómicas.

Conformación de un grupo de físicos y radiobiólogos para la eventual introducción en la Argentina de terapias con partículas pesadas cargadas.

2. INTRODUCCION

Las partículas pesadas cargadas tienen excelentes propiedades físicas para su uso en radioterapia permitiendo una muy buena precisión en la distribución espacial de dosis tanto en la dirección lateral como en profundidad. En contraste con otros tipos de radiación, los protones tienen una profundidad de penetración en medios dispersores bien definida, conocida como rango, dejando ahí una energía máxima por unidad de camino recorrido, generando un pico conocido como el pico de Bragg, y siendo la dosis prácticamente nula más allá de este pico. Este comportamiento esencialmente diferente al de los fotones abre la posibilidad de utilizar haces de iones pesados en radioterapia con importantes ventajas comparativas en lo que a localización de dosis se refiere. Las propiedades de las partículas pesadas y cargadas para su uso en tratamientos han sido descritas por muchos autores^{1,2,3,4}. Por esta razón se ha iniciado un estudio de factibilidad para la eventual introducción de la protonterapia (denominación dada a la radioterapia con protones) en nuestro país. Como primer paso se produjeron haces externos de protones y de litios con el acelerador TANDAR y se los ha comenzado a usar en estudios radiobiológicos.

3. MATERIALES Y METODOS

El haz de protones es producido en el acelerador TANDAR. El dispositivo experimental (figura 1) está constituido por un sistema de dispersión y homogeneización estático compuesto por una folia difusora de Au (de 25 μ m de espesor) ubicada en la cámara N°1 a la entrada de la línea experimental. La ventana de salida del sistema de vacío (circular y de 9 cm de diámetro fabricada con Kapton de 75 μ m de espesor) se ubicó a 5.9 m de la folia difusora. Mas allá de la ventana se colocó una cámara de ionización de transmisión y folias atenuadoras que se utilizaron para degradar en energía el haz. A continuación y a 24.5 cm de la cámara N° 2 en las irradiaciones con protones y a 10 cm en las irradiaciones con litio se ubicó el material biológico.

Se utilizó una cámara de ionización plano paralela tipo NACP con la que se midieron picos de Bragg, la sección transversal del haz y su uniformidad, una copa de Faraday externa (figura 2) con la que se midieron curvas de fluencia y se realizó la dosimetría para las irradiaciones con haces de litio, además se utilizó un sistema de posicionamiento X-Y, pantallas centelladoras, electrómetros Keithley y cámaras de video.

4. RESULTADOS

Perfil perpendicular del haz: Se midió el perfil transversal del haz con la cámara NACP montada en el sistema X-Y, colocando sobre ella un colimador de plomo con un orificio de 2.5 mm de diámetro, se tomaron mediciones realizando un barrido transversal a la dirección del haz obteniéndose perfiles de 9 cm de diámetro con una zona de homogeneidad al 95% de 7 cm de diámetro (figuras 3a y 3b).

Curva de Bragg: Con la cámara NACP ubicada en el centro del haz de protones y a 22.5cm de la ventana se tomaron mediciones interponiendo láminas de lexan de diferentes espesores. La cámara NACP fue polarizada con una tensión de 300V y la señal emitida por ésta fue leída en un electrómetro Keithley, obteniéndose la curva de la figura 4.

Curva de fluencia: Para medir la curva de fluencia de protones se usó una copa de Faraday externa con una ventana de Kapton de 13 μ m de espesor y 1.5 cm de diámetro, imanes permanentes de 1000 gauss, supresora (polarizada a -500 Volts) y un sistema de vacío independiente (de $3 \cdot 10^{-4}$ mbar). La curva de fluencia se midió interponiendo láminas de lexan inmediatamente delante de la copa de Faraday obteniéndose valores consistentes con la curva de Bragg (figura 5).

Calibración de las cámaras de ionización: La cámara plano paralela fue calibrada en dosis en el Centro de Protonterapia de Orsay en Francia (CPO), utilizando una cámara de ionización Wellhöfer IC15, a una energía similar a la usada en los experimentos. Para esto fue necesario atenuar el haz de protones del CPO de 200 MeV a 25 MeV interponiendo placas de plexiglas. A su vez la cámara de transmisión se calibró al comienzo de cada irradiación con la cámara plana posicionada en la misma ubicación de las células en las tres condiciones de irradiación con protones, Plateau, pico de Bragg y caída Distal. La cámara de transmisión se usó para monitorear el haz y medir la dosis durante las irradiaciones.

Mediciones de RBE: En años recientes la eficiencia biológica relativa (EBR o RBE en inglés) asociada con iones livianos se ha comenzado a investigar con cada vez mayor interés debido a su creciente uso en radioterapia y con el objetivo de proveer información sobre la dependencia de la eficiencia biológica de estas partículas especialmente a bajas energías donde su efecto biológico relativo se espera que sea mayor que uno. Se realizaron irradiaciones de cultivos celulares PDV, PDVC57 y V79 exponiendo los mismos a tres energías diferentes de protones (ver tabla 1) que

corresponden a los puntos 1, 2 y 3 en la curva de Bragg de la figura 2, con las cuales se trazaron curvas de sobrevivencia (figuras 6a, 6b y 6c) con el objeto de determinar la eficiencia biológica relativa de protones de diferentes energías (es decir para diferentes valores de la transferencia lineal de energía o LET “*linear energy transfer*”). Además se hizo una determinación análoga para un haz de litio de 21.5 MeV (ver las mismas figuras).

Aberraciones cromosómicas: Dado los pocos antecedentes que existen en trabajos citogenéticos sobre irradiación con protones, se han irradiado células A_L (CHO + Hu # 11) con el fin de observar la calidad de aberraciones cromosómicas que se obtienen. La irradiación a 20.2 ± 0.07 MeV con 1 y 3 Gy tuvo por finalidad poder seleccionar la dosis que permitiera evaluar el efecto final sin causar la muerte prematura de las células, lo que se consiguió con ambas dosis.

Las células fueron bloqueadas en mitosis y observadas con microscopio óptico en fijaciones citogenéticas.

En la figura 7a se muestran cromosomas normales mientras que en la figura 7b se observan distintos tipos de las aberraciones obtenidas luego de la irradiación de este tipo de células.

Técnicas de Aislamiento y Cultivo de Macrófagos Alveolares (MAPs): Los macrófagos alveolares se obtuvieron a partir de lavados bronqueoalveolares de ratas Wistar jóvenes (1-2 meses de edad) y adultas (8-9 meses de edad) utilizando una solución salina suplementada con EDTA al 0.04%. Este método permite obtener una población altamente purificada de MAPs (90-95%). Los MAPs aislados se cultivaron durante 24 horas en medio RPMI-1640 suplementado con 10% de suero fetal bovino y antibióticos de amplio espectro (penicilina y estreptomycin). Los MAPs fueron irradiados a 20.2 ± 0.07 MeV con un haz de protones con las siguientes dosis: 10-50-100 y 200 Gy.

Los parámetros evaluados 20 hs. post-irradiación en los cultivos celulares fueron los siguientes: viabilidad celular mediante el test de exclusión de azul Tripán (Figura 8), producción de nitritos (NO_2) utilizando el método de Griess (figura 9a y 9b) y la generación de anión superóxido (O_2^-) a través del test del NBT (nitroblue tetrazolium) (Figura 10).

5. CONCLUSIONES

Se obtuvieron haces externos de protones de hasta 23.4 MeV, con secciones transversales de 8 cm de diámetro. Se midió la sección transversal del haz, su uniformidad, la corriente, la energía del haz y se levantaron curvas de Bragg y fluencia. Se hicieron irradiaciones sobre cultivos de células PDV, PDVC57, V79 a tres energías diferentes 20.20 ± 0.07 MeV, 2.9 ± 0.1 MeV y 1.5 ± 0.1 MeV, cultivos primarios de macrófagos alveolares provenientes de ratas Wistar jóvenes y adultas, células A_L (CHO + Hu11) y animales de laboratorio a 20.20 ± 0.07 MeV. Se obtuvieron también haces externos de ^6Li de 21.4 ± 0.8 MeV con los cuales se hicieron irradiaciones sobre cultivos celulares PDV, PDVC57, V79. Se trazaron curvas de sobrevivencia (figura 3) y se extrajeron valores de RBE (tabla 1). También se iniciaron estudios sobre aberraciones cromosómicas inducidas por estos haces.

Se ha conformado un grupo de físicos y radiobiólogos que se espera constituya el germen para el logro de la introducción de la protonterapia en la Argentina.

6. REFERENCIAS

¹M.Goitein, M.Abrans, R.Gentry, M.Urie, L.Verhey, M.Wagner. "Planning treatment with heavy charged particles", *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 8 (12) 2065-2070, December 1982

²W.T.Chu, B.A. Ludewigt, and T.R. Renner. Instrumentation for treatment of cancer using proton and light-ion beams. *Rev. Sci. Instrum.* 64 (8), August 1993

³J. R. Castro, "Treatment of cancer with Heavy Charged Particles," Lawrence Berkeley Laboratory, February 1991, PUB-5301 (1991)

⁴G. Coutrakon, J.Cortese, A.Ghebremedhin, J.Hubbard, "Microdosimetry spectra of the Loma linda proton beam and relative biological effectiveness comparisons", *Med. Phys.* 24 (9) September 1997

7. TABLAS Y GRAFICOS

		Energía promedio (MeV)	LET _d promedio (keV/μm)	RBE (10%)		
				PDV	PDVC57	V79
Protones	Plateau	20.2 ± 0.07	2.69 ± 0.08	1.05 ± 0.3	1.19 ± 0.15	1.25 ± 0.6
	Pico de Bragg	2.9 ± 0.1	14 ± 1	1.26 ± 0.4	1.86 ± 0.15	1.36 ± 0.7
	Caída Distal	1.5 ± 0.1	24 ± 2	3.34 ± 1.1	3.06 ± 0.6	-
Litio		21.4 ± 0.8	95 ± 5	4.12 ± 1.5	5.9 ± 0.7	5.6 ± 1.7

Tabla 1. Valores medios de energía, LET_d y eficiencia biológica relativa (RBE).

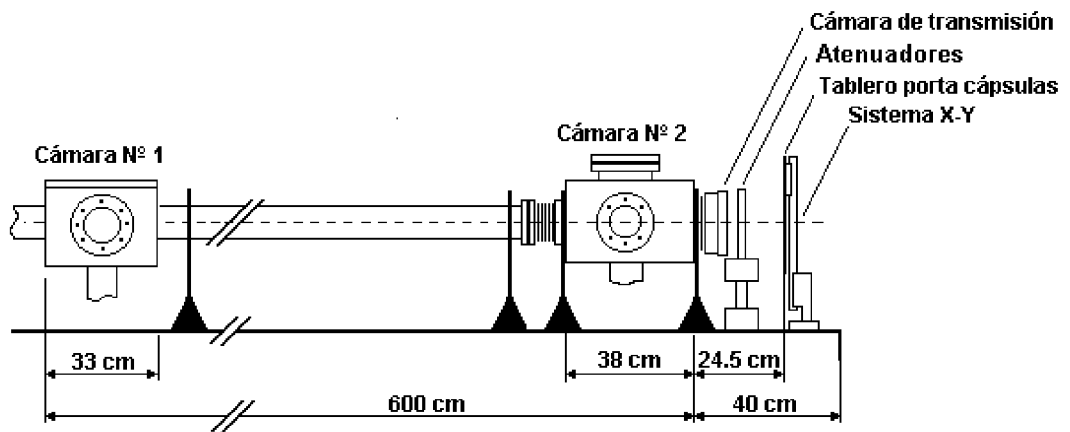


Figura 1. Esquema de la línea de irradiación.

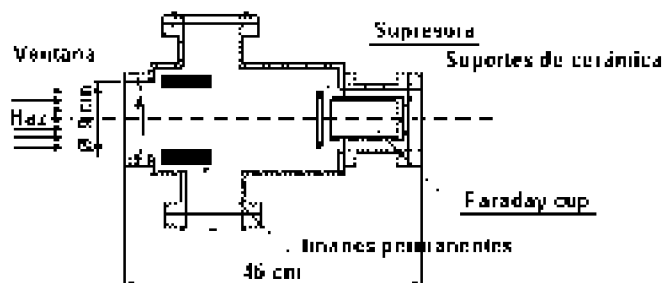


Figura 2. Esquema de la copa de Faraday.

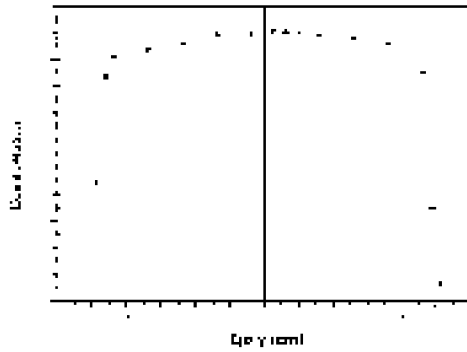


Figura 3a. Perfil transversal del haz de protones eje horizontal

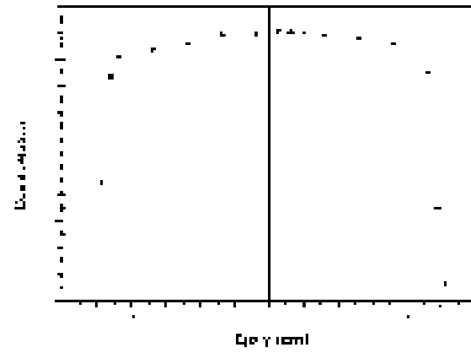


Figura 3b. Perfil transversal del haz de protones eje vertical

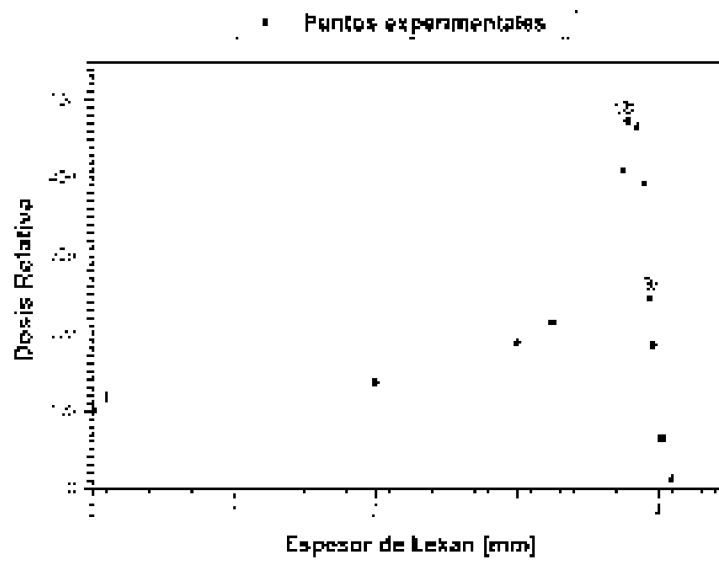


Figura 4. Curva de Bragg de protones ajustada con el programa GEANT.

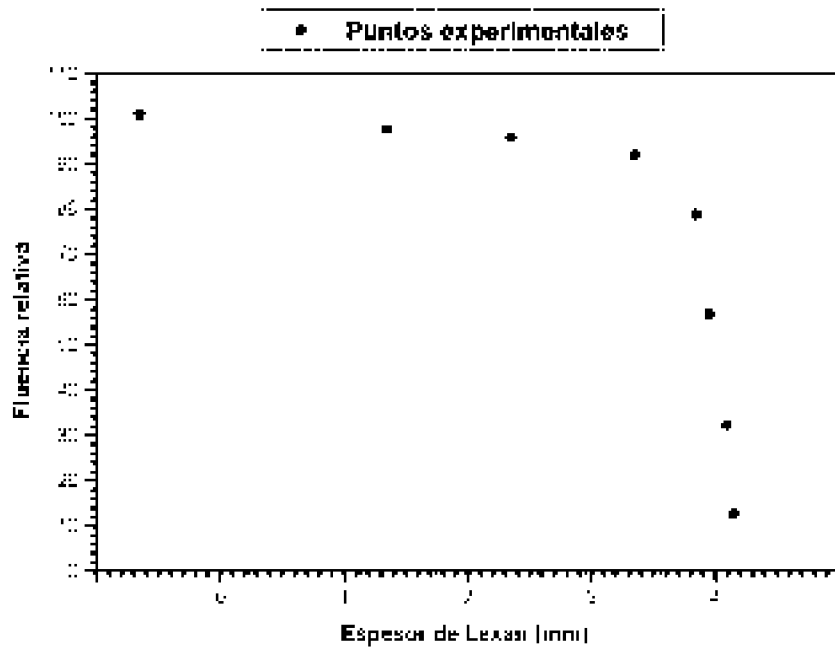


Figura 5. Curva de fluencia de protones ajustada con el programa GEANT.

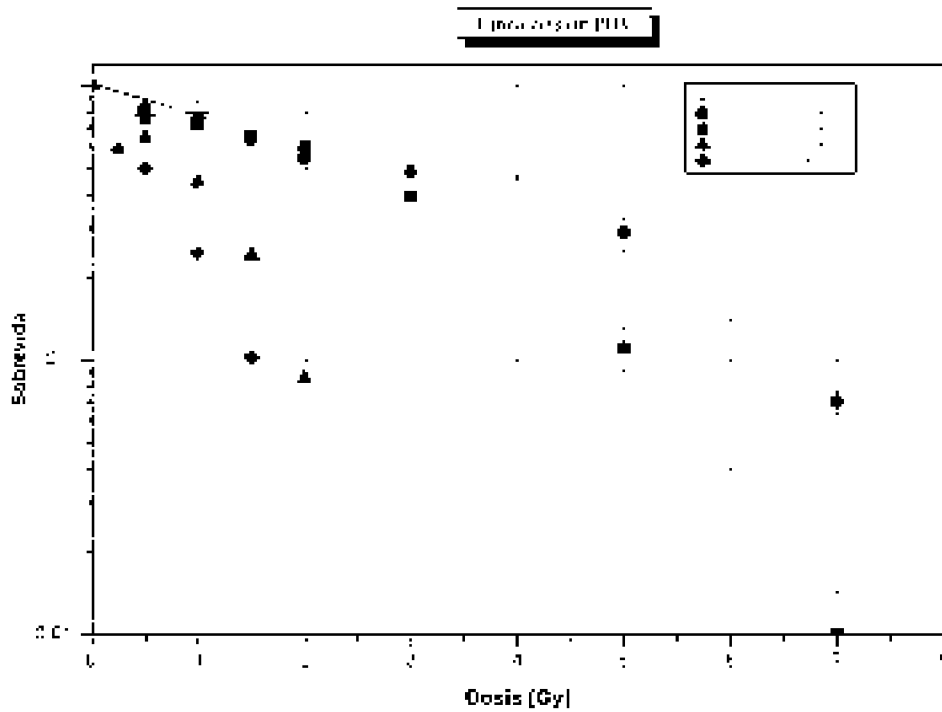


Figura 6a. Curva de sobrevivida de la línea celular PDV

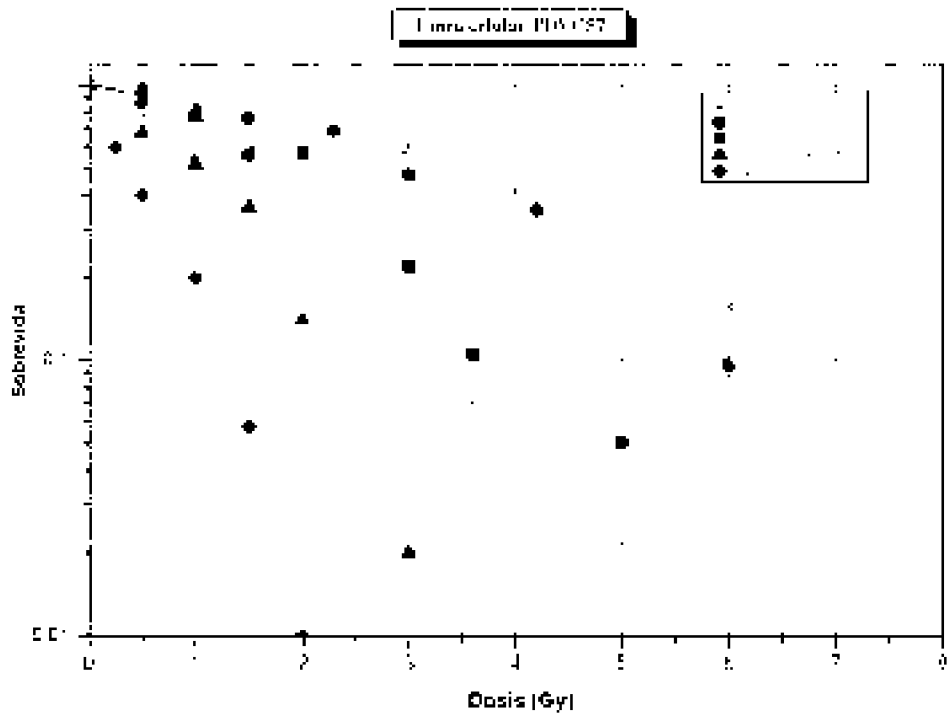


Figura 6b. Curva de sobrevivida de la línea celular PDVC57

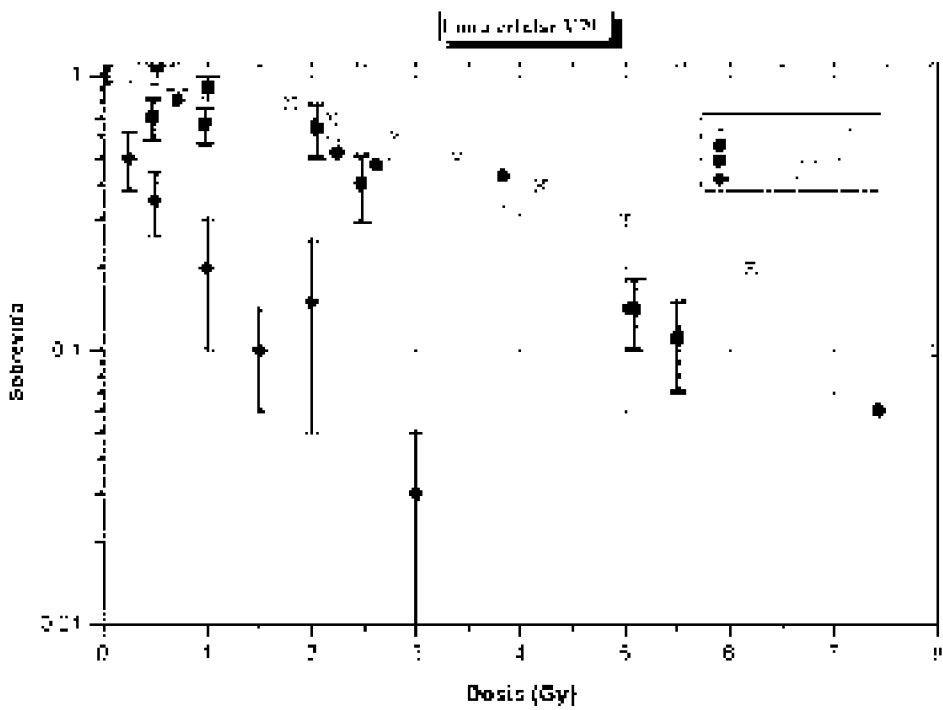


Figura 6c. Curva de sobrevivida de la línea celular V79



Figura 7a. Cromosomas normales de células A_L (CHO + Hu # 11)



Figura 7b. Cromosomas aberrantes de células A_L (CHO + Hu # 11)
 A: Fragmento acéntrico
 B: Decondensación
 C: Anillo decondensado

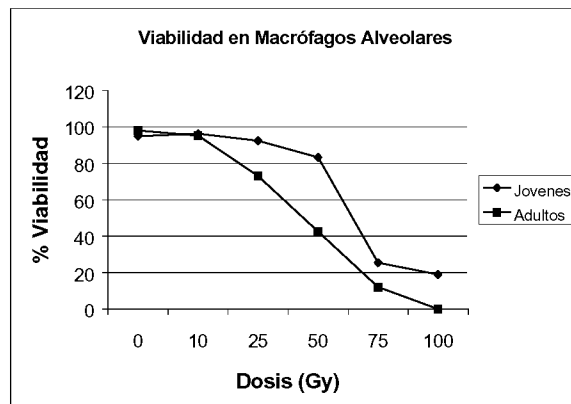


Figura 8. Macrófagos Alveolares: viabilidad celular

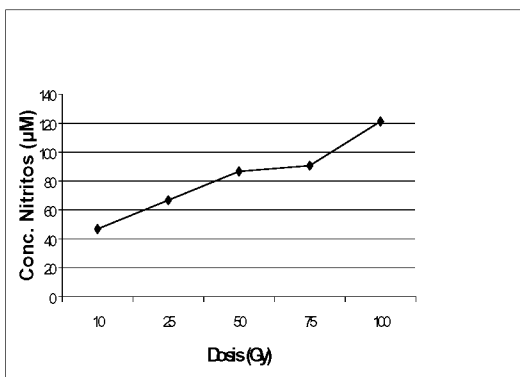


Figura 9a. Macrófagos Alveolares: producción de nitritos en animales adultos

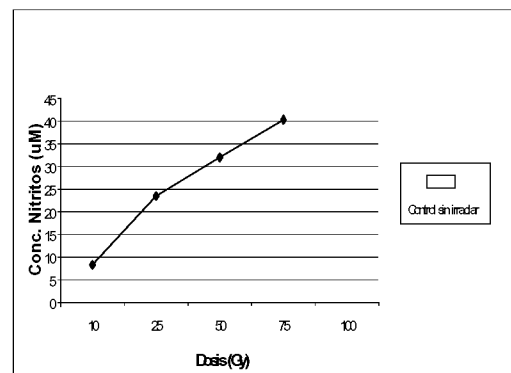


Figura 9b. Macrófagos Alveolares: producción de nitritos en animales jóvenes

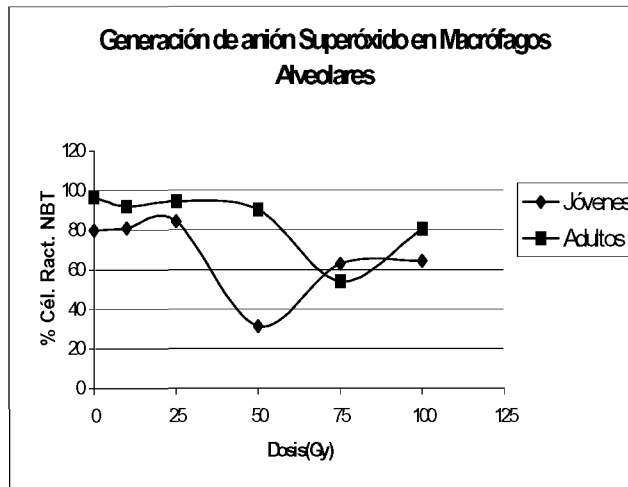


Figura 10. *Macrófagos Alveolares: generación de anión superóxido*