

DAÑO PROGRESIVO EN LA PIEL DE RATA INDUCIDO POR PROTONES.

B.L. Molinari^{3,5}, A. Perez de la Hoz¹, J.A. Schuff², G. Saint-Martin³, O. Bernaola³, M. Ruffolo¹, A. Burlón^{1,2}, M.E. Debray^{1,2}, J.M. Kesque², A.J. Kreiner^{1,2,5}, A. Mazal⁶, H. Somacal¹, P. Stoliar^{1,2}, A. Valda¹, D. Tasat¹, H. Durán^{1,3}, L. Policastro³, S. O'Connor³, M. Palmieri³, F. Naab^{1,2}, M.J. Ozafrán², M.E. Vazquez², M. Davidson^{4,5}, J. Davidson^{4,5}.

- ¹Escuela de Ciencia y Tecnología. Universidad Nacional de General San Martín, Argentina.
- ²Departamento de Física, Comisión Nacional de Energía Atómica, Buenos Aires, Argentina.
- ³Departamento de Radiobiología, Comisión Nacional de Energía Atómica.
- ⁴Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- ⁵CONICET, Argentina.
- ⁶Centre de Protontherapie, Orsay, Francia

1. INTRODUCCIÓN.

Numerosos trabajos han sido realizados analizando la respuesta de material biológico frente a haces de protones generados por aceleradores, sin embargo es escasa la información sobre los efectos en la piel, que es el primer órgano impactado en una irradiación terapéutica. En este trabajo y como continuación del publicado en las Actas de la 27ª Reunión Anual de la AATN se analiza la respuesta de la piel del dorso de ratas Wistar de cinco días de edad frente a un haz de protones degradado progresivamente por una cuña de lucite ubicada sobre el dorso del animal a fin de entregar un rango de dosis variable (0-100 Gy) en la piel del mismo. La respuesta se estudió en función del tiempo post-irradiación. El monitoreo de la dosis *on-line* se realizó con una cámara de transmisión previamente calibrada con una cámara plano paralela NACP. Además se utilizaron folias de Makrofol E, como detectores de estado sólido para trazas nucleares (SSNTD) aportando correlación espacial y dosimétrica (1).

2. MATERIALES Y MÉTODOS:

Se expuso el conjunto experimental descripto precedentemente, a un haz de protones de 22,41 MeV generados por el acelerador TANDAR.

Se irradiaron sectores de piel de la zona dorsal de ratas Wistar de 5 días de vida con el haz de protones mencionado con una dosis predeterminada de aproximadamente 20 Gy y monitoreado con la cámara de transmisión ubicada inmediatamente después de la ventana de salida. Las irradiaciones se realizaron sobre un repliegue de piel del dorso de los animales que fue apoyado sobre un soporte de parafina de manera que sobresaliera del blindaje realizado con placas de 14.5 mm de acrílico. Se utilizaron 2 folias de Makrofol E, de 300 µm de espesor, como detectores de estado sólido para trazas nucleares (SSNTD): una debajo y otra sobre el pliegue de piel. Sobre esta última folia se colocó una cuña de Lucite de 6.8 mm de ancho y 22,2 mm de largo, para actuar como degradador del haz de espesor variable.

Los animales se irradiaron con una dosis única de 20 Gy y se sacrificaron a los 2, 5, 6, 7 y 9 días después de la irradiación. La muestra de piel de la zona irradiada, cuya superficie fuera debidamente identificada en el momento de la irradiación, se procesó con técnicas convencionales de inclusión en parafina. Los cortes histológicos debidamente orientados fueron coloreados con hematoxilina y eosina. Sobre estos cortes

se realizaron mediciones con un ocular micrométrico a fin de caracterizar cuantitativamente la respuesta del tejido a las distintas condiciones experimentales.

Las folias irradiadas fueron procesadas químicamente (etching). Con microscopio óptico se realizaron mediciones del número de trazas a las que se adjudicaron espacialmente valores de dosis. La distribución de dosis en planos paralelos a la base de la cuña a diferentes profundidades de tejido y sobre la superficie de las folias se calculó por simulación teórica, utilizando el programa SRIM 2000 (2). Esta permitió determinar espacialmente la energía entregada en las distintas zonas de los materiales atravesados por el haz, tanto Lucite como Makrofol y tejidos.

3. RESULTADOS

a) Evaluación biológica

De la observación de los cortes histológicos de la piel del dorso de la rata luego de la irradiación, se pudieron identificar 5 zonas con daño tisular variable (Fig. 1):

1. Zona con dosis igual a 0 Gy donde las partículas no atraviesan el espesor de la cuña. No se observa daño tisular. Esta zona se considera control no irradiado.
2. Zona correspondiente a la caída distal del pico de Bragg (zona de alto LET). Daño intermedio dado que el haz no atraviesa toda la profundidad del tejido.
3. Zona correspondiente al pico de Bragg. La piel es atravesada por el pico de Bragg. Daño máximo, no se observan anexos (folículos pilosos, glándulas sebáceas etc.). La epidermis está muy alterada.
4. Zona correspondiente al *plateau* de la curva de Bragg. Se extiende hasta el final de la cuña. Daño intermedio, comienzan a desarrollarse progresivamente los anexos.
5. Existe una quinta zona donde el haz atraviesa solamente el espesor de la folia antes de atravesar la piel. Corresponde a la zona de más alta energía (mínimo LET). Daño mínimo

A medida que transcurren los días post-irradiación la observación microscópica del tejido irradiado refleja alteraciones morfológicas importantes entre áreas irradiadas con dosis equivalentes.

Las mediciones con microscopía óptica permitieron obtener datos cuantitativos que permiten caracterizar las distintas zonas del área irradiada (tabla 1).

b) Evaluación del detector

La configuración experimental utilizada permite observar en el SSNTD distintas zonas de acuerdo a la energía de la partícula incidente:

- a) zona carente de proyectiles o zona de dosis cero. Espesor de la cuña mayor que el rango de los protones.
- b) zona de protones de baja energía cuyas trazas se observan directamente: “protones directos”.
- c) zona de núcleos compuestos y protones directos.
- d) zona de núcleos compuestos.
- e) zona de núcleos compuestos además de la contribución que se genera en el extremo de la cuña producida por la dispersión

Estas zonas se corresponden con las cinco zonas arriba descriptas en el tejido irradiado. La contribución correspondiente a los puntos b, c, y d se muestra en la figura 2.

Se observa concordancia cualitativa con la distribución espacial del daño observado en los tejidos. Tanto en la zona correspondiente al pico de Bragg, como en la afectada por los protones directos estas trazas pueden ser fácilmente observadas, incluso a simple vista. Aunque por su alta densidad no pueden ser cuantificadas se corresponden con zonas de tejido con un daño biológico compatible con la baja energía del proyectil y por ende su bajo LET.

En la folia ubicada por debajo del tejido es posible observar el comportamiento del haz al atravesar la piel ya que se observa, en la zona de protones directos ó pico de Bragg, el desplazamiento del pico con respecto a la folia superior. Este desplazamiento es producido por el pliegue de piel interpuesto pudiéndose medir el espesor real del mismo.

4. CONCLUSIONES

- Se determinaron diferentes zonas de daño tisular en la piel de ratas neonatas en función del tiempo post-irradiación. El daño tisular es compatible con la dosis recibida y con la profundidad alcanzada luego que el haz de protones atravesara el prisma de lucite.
- La utilización de una cuña como degradador de energías de espesor variable, permitió que los tejidos de los animales irradiados fueran afectados a diferentes profundidades y dentro de un amplio rango de dosis además de determinar una zona control, dentro del área irradiada. Esto permitió realizar evaluaciones experimentales y controles en el mismo animal.
- La utilización de SSNTD permitió evaluar la configuración espacial de la dosis, su determinación cuantitativa y su correlación con los efectos biológicos observados. Los resultados experimentales concuerdan con lo previsto teóricamente.
- El importante efecto del *scattering* en los bordes del blindaje fue minimizado en este caso por el material utilizado. Los tejidos fueron alterados notablemente menos en los extremos de la cuña con relación a otras irradiaciones en las que se había utilizado plomo para el blindaje. La participación de este daño se detectó claramente con el uso de SSNTD.

1. Bernaola, R. Mazzei, G. Massera, B. Molinari de Rey and M. A. Guerin; Alpha and deuteron dosimetry using Makrofol-E detectors; Nucl. Tracks, Vol 7, No4, 179-183,1983.
2. SRIM versión 2000.39; Ziegler, J. F. and Biersack, J. P.

Días postirradiacion	Espesor de piel μ			Espesor del epitelio μ			Longitud zona de Bragg μ
	1	2	3	1	2	3	
2	640	470	447	17,5	98,5	23,5	1150
5	572	400	607	14	57,5	47	2100
6	1200	750	850	19	104	79	2800
7	820	422	640	20,5	117,5	62,5	2800
9	1400	960	900	15,4	108	61,5	1800

1: zona 1. Control

2: zona 2. Pico de Bragg

3: zona 3. Plateau

Tabla 1: medidas realizadas en un microscopio óptico sobre las muestras de piel irradiada y procesadas a los 2,5,6,7, y 9 días postirradiación.

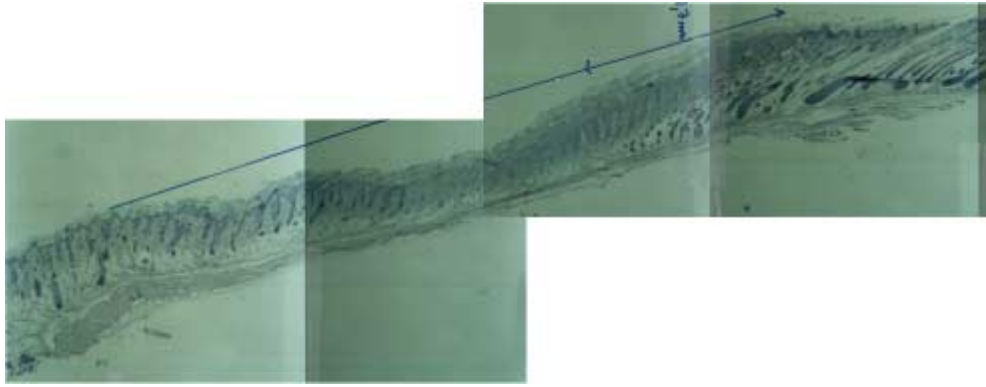


Figura 1: Fotomontaje de un corte transversal de la piel irradiada mostrando. A la derecha la zona control no irradiada (zona 1). En el centro la zona alcanzada totalmente por el pico de Bragg (zona 3). A la izquierda la zona alcanzada por el plateau.

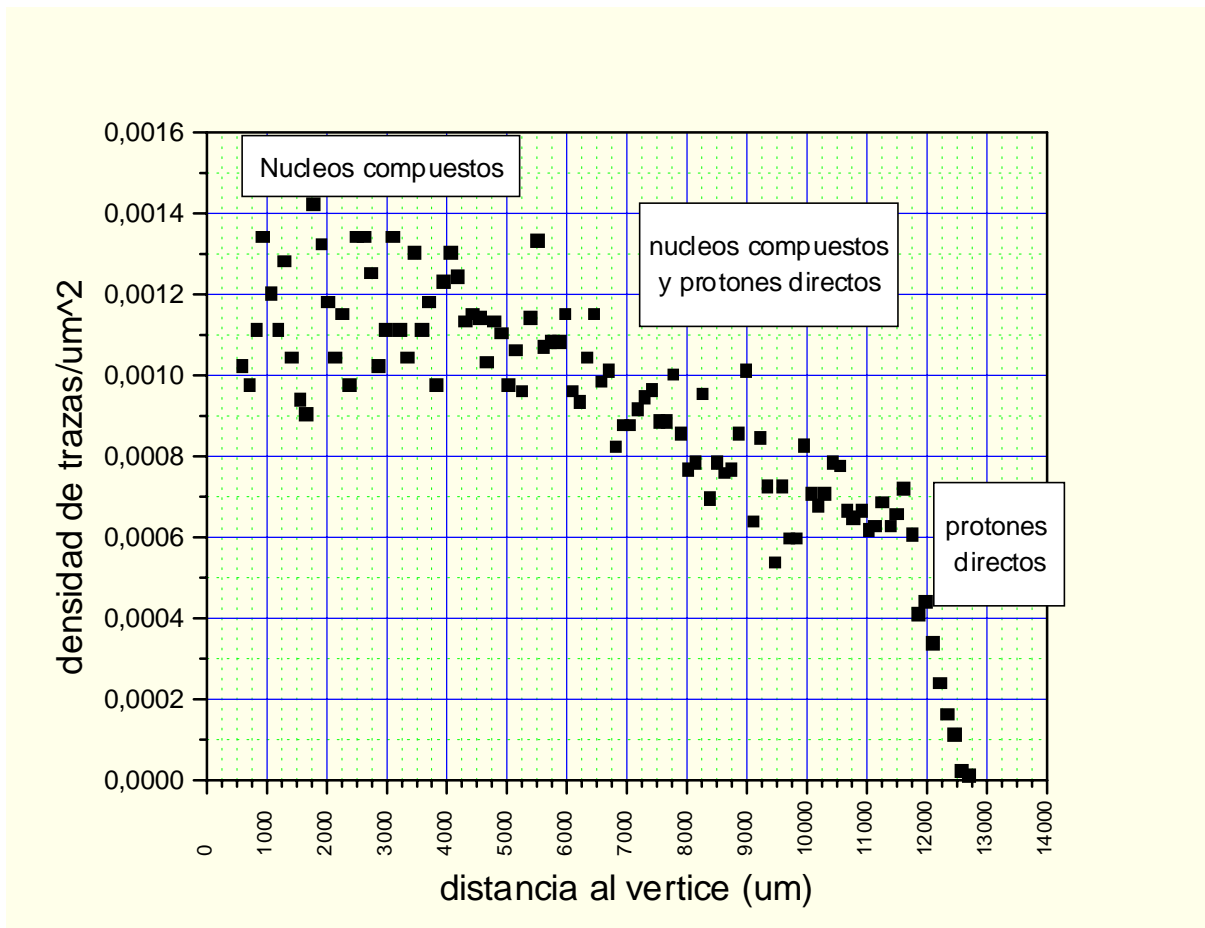


Figura 2: evaluación del detector midiendo el número de trazas de núcleos compuestos en función de la distribución espacial

PROGRESSIVE DAMAGE TO RAT SKIN INDUCED BY PROTONS

ABSTRACT

Wistar rats were locally irradiated with proton beams. Dorsal portions of the skin were irradiated to a dose of 20 Gy employing a plastic wedge as a variable thickness energy degrader. The animals were sacrificed 2,5,6,7, and 9 days post-irradiation. The doses were monitored with a transmission camera. Solid track detectors (Makrofold E) were placed on the area to be irradiated to determine spatial correlation with the dose. Tissue reactions were clearly observed and were quantitatively assessed as a function of dose. Track detectors proved to be valuable to determine the correlation between the dose and tissue damage.

This biological experimental model proved useful to analyze the response of tissues to a gradient of doses yielded by a proton beam.