

**XVI Convegno Nazionale della Società Italiana per le Ricerche sulle
Radiazioni**

**Università degli Studi di Pavia
7 – 8 novembre 2014**

Raccolta degli abstract

Sessione I

Adroterapia

L'acceleratore lineare TOP-IMPLART per protonterapia

C. Ronsivalle ⁽¹⁾

⁽¹⁾ *ENEA-CRE Frascati*

Il Progetto TOP-IMPLART (“Intensity Modulated Proton Linear Accelerator”) condotto da ENEA in collaborazione con l’Istituto Superiore di Sanità (ISS) e IFO (Istituti Fisioterapici Ospedalieri)-IRE (Istituto Nazionale tumori Regina Elena) ha come obiettivo la realizzazione di un impianto prototipale di protonterapia da installarsi a Roma presso IFO basato sull’impiego di una sequenza di acceleratori lineari a radiofrequenza. Il Progetto si articola in due fasi: la prima fase finanziata dalla Regione Lazio prevede la realizzazione della parte fino a 150 MeV, energia dedicata alla cura dei tumori superficiali e testa-collo e la seconda fino a 230 MeV che consentirà il trattamento dei tumori profondi. Sono previste anche stazioni di irradiazione per studi di radiobiologia in “vitro” e in “vivo”. Il segmento di acceleratore fino a 150 MeV è in corso di costruzione e test presso i Laboratori dell’ENEA di Frascati. Si descrivono le principali caratteristiche della macchina e si presentano i primi risultati sperimentali relativi ai test di irraggiamento col fascio di protoni di bassa energia e alla fase di “commissioning” dell’acceleratore.

Effetti citotossici dell'irraggiamento con fasci di protoni combinato con chemioterapici in cellule umane tumorali coltivate in vitro.

Bettega D.^{1,2} , Calzolari P.^{1,2} , Ciocca M.³ , Facoetti A.³ , Gigliotti C. ⁴ , Lafiandra M.^{1,2} , Loria A.^{1,2} , Marchesini M.¹ , Molinelli S.³ , Pignoli E.⁵ , Vischioni B. ³ .

¹ *Università degli Studi di Milano*

² *INFN Sezione di Milano*

³ *Fondazione CNAO Pavia*

⁴ *Università di Pavia*

⁵ *Fondazione IRCCS - Istituto Nazionale dei Tumori, Milano*

Negli anni recenti l'esperienza clinica con fotoni ha dimostrato che per tumori particolarmente resistenti ed invasivi l'uso combinato di radioterapia e chemioterapici ha comportato un aumento significativo della sopravvivenza dei pazienti. Questo ha stimolato lo sviluppo di nuovi farmaci caratterizzati da diversi meccanismi di interazione con la radiazione con cui sono stati condotti numerosi studi preclinici con fasci terapeutici di fotoni. Più scarsi sono invece gli studi condotti con fasci radioterapici di particelle cariche, che sono caratterizzate da proprietà fisiche e biologiche diverse e da quelle dei fotoni. Questo lavoro descrive i risultati di uno studio sugli effetti citotossici del trattamento di cellule tumorali umane di adenocarcinoma polmonare (linea A549) coltivate in vitro, con il fascio terapeutico di protoni disponibile presso CNAO, combinato con il chemioterapico Epotilone B, agente microtubulo stabilizzante, potenziale radiosensibilizzante in quanto in grado di arrestare le cellule nella fase del ciclo cellulare G2/M, fase particolarmente radiosensibile. Campioni cellulari in monostrato, trattati e non con Epotilone B ad una concentrazione di 0.075 nM durante le 24 ore precedenti l'irraggiamento, sono stati esposti al fascio di protoni a picco di Bragg allargato (da 12 a 18 cm di profondità in acqua) ad una profondità di 15 cm. Le cellule sono state irraggiate nell'intervallo 0-5 Gy o 0-4 Gy rispettivamente nel caso del trattamento con la sola radiazione o del trattamento combinato con il chemioterapico. La sopravvivenza cellulare è stata determinata con la tecnica standard del test clonogenico a circa 14 giorni dall'irraggiamento. Le curve di sopravvivenza ottenute per le due modalità di trattamento sono state analizzate alla luce di alcuni modelli di interazione di agenti citotossici descritti in letteratura. I dati, benché preliminari, sembrano indicare un'azione sinergica nel caso del trattamento combinato protoni-Epotilone B, risultato analogo a quello trovato in esperimenti precedenti condotti sulla stessa linea cellulare con il fascio terapeutico da 6 MV disponibile presso l'Istituto Tumori di Milano.

Un modello biofisico di morte cellulare basato sulle lesioni a cluster del DNA e le aberrazioni cromosomiche: implicazioni sui meccanismi e applicazioni nell'ambito dell'adroterapia

Mario Carante^{1,2}, Francesca Ballarini^{1,2}

¹ Università degli Studi di Pavia, Dipartimento di Fisica

² INFN, Sezione di Pavia

Verrà presentato un modello biofisico che connette, anche a livello di meccanismi di base, il danno complesso al DNA indotto da radiazioni, a *endpoint* di particolare importanza quali le aberrazioni cromosomiche e la morte cellulare. Più in dettaglio, si assume che le “*cluster lesions*” (CL) del DNA inizialmente indotte entro una distanza di soglia d possano causare aberrazioni cromosomiche, a seguito di *mis-rejoining* di frammenti cromosomici, e che certe aberrazioni (dicentrici, anelli e delezioni visibili in Giemsa) conducano alla morte cellulare clonogenica. Gli unici due parametri liberi utilizzati sono il numero medio di $CL \cdot Gy^{-1} \cdot Cell^{-1}$ e la distanza di soglia d . Il modello, implementato nella forma di un codice Monte Carlo chiamato BIANCA (BIophysical ANalysis of Cell death and chromosome Aberrations) [1,2], fornisce curve di sopravvivenza simulate, le quali sono state confrontate con dati sperimentali su linee cellulari caratterizzate da differente radioresistenza (AG1522 e V79) esposte a fotoni, protoni, particelle alfa e ioni pesanti, tra cui carbonio e ferro. L'accordo tra simulazioni e dati supporta l'ipotesi di un ruolo fondamentale delle lesioni a cluster del DNA, mediato da *mis-rejoining* di frammenti cromosomici alla scala del μm . Inoltre, il confronto tra i numeri di CL utilizzati e gli *yield* di frammenti di DNA riportati in letteratura [3,4] suggerisce la possibilità di indentificare il danno critico al DNA con *cluster* di DSB (Double-Strand Break) alla scala del kilobase-pair, legata all'organizzazione dei nucleosomi nella fibra di cromatina. Nell'ambito delle applicazioni all'adroterapia, sarà infine mostrato l'andamento della morte cellulare prevista dal modello lungo il picco di Bragg allargato per protoni e ioni carbonio; particolare attenzione sarà dedicata alla regione distale del picco nel caso dei protoni, valutando l'aumento e lo shift del picco biologico derivanti dalla maggiore efficacia dei protoni di bassa energia presenti in quella regione, che possono costituire un rischio per i tessuti sani.

Referenze

1. F. Ballarini et al., A model of radiation-induced cell killing: insights into mechanisms and applications for hadrontherapy. *Radiat. Res.*, 180, 307-315 (2013)
2. F. Ballarini et al., The BIANCA model/code of radiation-induced cell death: application to human cells exposed to different radiation types. *Radiat. Environ. Biophys.*, 53, 525-533 (2014)
3. B. Rydberg, Clusters of DNA damage induced by ionizing radiation: Formation of short DNA fragments. II. Experimental detection. *Radiat. Res.*, 145, 200-209 (1996)
4. A. Campa et al., DNA DSB induced in human cells by charged particles and gamma rays: Experimental results and theoretical approaches. *Int. J. Radiat. Biol.*, 81, 841-854 (2005)

Potentialities of scanned pencil beam radiotherapy for eye cancer treatments

Giuseppe Magro^{1,2,3}, Silvia Molinelli³, Andrea Mairani³, Alfredo Mirandola³, Denis Panizza³, Francesca Valvo³, Mario Ciocca³

¹*Department of Physics – University of Pavia*

²*Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (INFN) – Pavia*

³*Centro Nazionale di Adroterapia Oncologica (CNAO Foundation) – Pavia*

The CNAO facility is currently moving to activate a clinical trial for ocular cancer treatments with scanned proton beams, which requires both a beam-line dedicated configuration and a TPS (Treatment Planning System) validation for the irradiation of small superficial targets. We studied the accuracy of our general purpose TPS in optimizing both dose distributions and particle fluence with scanned proton beams for small superficial targets, with the aim of benchmarking its analytical algorithm against the Monte Carlo (MC) code FLUKA [1], [2] and experimental data. TPS capabilities in computing dose distributions for small superficial targets were first tested in homogeneous conditions in a water phantom by defining regular structures of increasing sizes, in order to assess the potential dependence of relevant dosimetric quantities as a function of the target volume. Tissue inhomogeneities were then introduced by working on a real patient CT-scan (Computed Tomography), for which patient-specific procedures were required, including the development of a homemade software to model the beam collimator, which cannot be handled by our TPS. This tool, not only provides technical information for the collimator design, but also acts as a required interface between our general-purpose TPS and the in room positioning and position verification systems [3]. 3D dose deviations were quantified with a Homogeneity- and a Gamma-Index analysis. MC simulation also served to evaluate the impact of those assumptions made by the standard eye-dedicated TPS Eyeplan [4], concerning the purely geometrical modeling of the eye bulb and the beam lateral widening neglectation during the planning and the dose computation phase. Studies are still ongoing in comparing the standard passive against the fully active irradiation techniques and in improving as well the quality of the active scanned beam in terms of scatter reduction by changing different ion species used for the irradiation.

1. G. Battistoni et al., Proceedings of the Hadronic Shower Simulation Workshop 2006 at Fermilab, AIP Conference Proceeding, 896, 31-49 (2007).
2. A. Ferrari et al., Fluka: a multi-particle transport code, CERN-2005-10 INFN/TC_05/11 SLAC-R-773 (2005).
3. M. Desplanques et al., A comparative study between the imaging system and the optical tracking system in proton therapy at CNAO, Journal of radiation research, 54(1), i129-i135 (2013).
4. M. A. Sheen, Review of EYEPLAN at Clatterbridge, In XX PTCOG Meeting, 16-18 (1994).

Development and characterization of a beam monitor for carbon ions and protons at the CNAO hadrontherapy facility

Aurora Tamborini¹, Mario Ciocca², Luigi Raffaele³, Alfredo Mirandola², Claudio Viviani²

¹ University of Pavia and INFN-Section of Pavia

² National Centre for Oncological Hadrontherapy (CNAO), Pavia

³ National Laboratories of South (LNS) & INFN-Section of Catania

At the National Centre for Oncological Hadrontherapy (CNAO) a 2D scintillation detector for beamline characterization and Quality Assurance (QA) was developed. The aims are the *online* reconstruction of beam lateral profiles and the verification of the accuracy of beam deflection.

The use of this system will allow to perform periodic dosimetric quality checks and commissioning of beamlines with a relevant time and cost saving, with respect to the currently used method (EBT3 films), at least at the same level of accuracy and reproducibility.

The detector consists of a thin plastic scintillating screen (EJ212, 250 mm x 250 mm x 2 mm) coupled with a CCD camera through an optical mirror. The CCD camera collects the visible light emitted by the scintillator when exposed to the particles beam. An external covering box was provided to fully protect the system from the environmental light.

A LabView application perform the synchrotron-triggered acquisition and data processing: the program acquires each image as a 12-bit matrix.

Once optimal working distances were set, we measured the pixel size of the CCD-acquired image to be 0.254 mm (corresponding to the detector's spatial resolution), comparable with EBT3 films (0.2 mm). No geometrical image distortion was observed using a test object, while signal intensity inhomogeneity within the image was corrected by applying a flat field filter. Before image analysis, a routine performs the background removal.

The system characterization included dosimetric tests of linearity, short-term reproducibility and homogeneity and gave satisfactory results. Measurements were carried out both for protons and carbon ions beams

The lateral profiles of pencil beams and the scanned radiation fields' homogeneity were measured with the detector placed at the isocenter of the treatment room and through measurements of planar relative dose distributions. The detector's response was evaluated by using newly implemented automatic routines and comparing the obtained results with those ones of the standard EBT3 radiochromic films.

A nice agreement was found between the scintillator and EBT3 films, both for individual pencil beams and for scanned fields, for different energies.

For particle beams close to the Bragg peak depth, a remarkable quenching effect was highlighted: for protons, the value is compatible with the one found by Torrissi [1]. For carbon ions, the result is quite original since there are no similar measurements in literature.

References

1. L. Torrissi, Plastic scintillator investigations for relative dosimetry in proton-therapy, NIM B 170, 523-530 (2000).

Dosimetria ESR con alanina per adronterapia con protoni e ioni carbonio

A. Carlino^{1,2,4}, S. Gallo^{1,3}, M. Marrale¹, M. Brai¹, A. Longo¹, S. Panzeca¹, A. Bolsi⁴,
C. Goma⁴, J. Hrbacek⁴, M. Kramer², C. La Tessa², T. Lomax⁴, E. Scifoni²,
M. Durante^{2,5}

¹Dipartimento di Fisica e Chimica – Università di Palermo, Viale delle Scienze, Ed. 18, 90128 Palermo (Italia) e INFN Sezione Catania, Via Santa Sofia 64, 95123 Catania (Italy)

²Biophysics department, GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH Planckstraße 1, 64291 Darmstadt (Germany)

³PH3DRA Laboratories (PHysics for Dating Diagnostic Dosimetry Research and Applications), Dipartimento di Fisica e Astronomia, Università di Catania.

⁴Center for Proton Therapy, PSI, Villigen, Switzerland

⁵Physics Department, Technische Universität Darmstadt Germany

E-mail: salvatore.gallo05@unipa.it

L'ottimizzazione delle procedure che utilizzano radiazioni ionizzanti in campo medico costituisce un elemento chiave per la sicurezza del paziente e l'esito dei trattamenti. In particolare è fondamentale arrecare il danno minore possibile ai tessuti sani circostanti la neoplasia da trattare. Rispetto ai campi di radiazione convenzionali utilizzati in radioterapia (fotoni), le particelle cariche pesanti (protoni e ioni carbonio) offrono diversi vantaggi come la bassa dispersione laterale, l'alta efficacia biologica (RBE) nella regione del picco di Bragg ed un profilo di dose caratteristico in profondità del tutto differente di quello dei fotoni. Queste caratteristiche rendono particolarmente vantaggioso l'uso di queste particelle per il trattamento di tumori radio-resistenti localizzati vicino a organi a rischio.

Tra i rivelatori a stato solido usati in ambito dosimetrico, trovano largo utilizzo i dosimetri ESR a base di alanina per le loro caratteristiche dosimetriche quali la tessuto-equivalenza, la linearità di risposta alla dose in un ampio range, l'alta stabilità nel tempo segnale radio-indotto, la non distruttività del segnale durante le procedure di lettura, l'indipendenza dal dose-rate, nessun trattamento del campione prima della misura ESR e il basso costo.

Queste caratteristiche, associate alla possibilità di riconoscere le varie componenti di un campo misto di radiazioni, rendono l'alanina un buon candidato per effettuare stima di dose durante l'uso di fasci di protoni ed ioni carbonio.

L'obiettivo principale del presente lavoro è quello di studiare la risposta di *pellets* di alanina analizzati tramite Risonanza Elettronica di Spin (ESR) irradiati con fasci di protoni e di ioni carbonio utilizzati in ambito clinico. Nello specifico, per gli ioni carbonio sono stati condotti studi dosimetrici in acqua ed in presenza di disomogeneità del mezzo (come all'interfaccia osso-acqua) per simulare uno scenario quasi-clinico. Per i protoni è stata studiata la risposta dell'alanina sottoposta ad un fascio modulato passivamente (energia massima 70 MeV) utilizzato nel trattamento del melanoma oculare e ad un fascio modulato attivamente (energia massima 230 MeV) usato per il trattamento di tumori in profondità.

A novel monitoring technique for on line dose profiling in hadrontherapy treatments

A. Sarti
for the ARPG group

Università di Roma "La Sapienza"

Hadrontherapy is a technique that uses accelerated charged ions for cancer treatment. The high irradiation precision and conformity achievable with heavy ions, enhance the Radio Biological Effectiveness (RBE) of such therapy while helping sparing the surrounding healthy tissues and Organs At Risk (OAR). To fully profit from the improved therapy spatial selectiveness, a novel monitoring technique, capable of providing a high precision in-treatment feedback on the dose release position, is required. Here we propose a novel approach based on the simultaneous detection of secondary protons and prompt photons that are emitted at large angles with respect to the therapeutical beam incoming direction and are correlated with the Bragg Peak (BP) position and the related dose release.

In the first part of this contribution we will review briefly the measured flux and energy spectra for secondary particles produced by ^4He , ^{12}C and ^{16}O ion beams of therapeutical energies impinging on thick PMMA phantoms. Such measurements afford a solid evidence that the rate of produced protons on prompt photons is large enough to supply the particle sample needed for a fast online monitor operating during a typical treatment that will be capable to provide the required O(mm) spatial resolution.

In the second part of this contribution we will present the novel dual mode hadrontherapy monitor, named "DoseProfiler" (DP), exploiting, simultaneously, the backtracking of secondary charged particles and prompt photons emitted during the irradiation of the patient. The DoseProfiler, whose final layout has been optimized using a dedicated Monte Carlo simulation based on the aforementioned experimental results, combines a tracker detector made of scintillating fibers and a calorimeter built with pixelated LYSO crystals, for gamma detection and energy measurements. Six tracker squared layers, built from two orthogonal planes of squared scintillating fibers, will provide the particle direction information, while the LYSO crystals will measure the particle energy.

A first tracker layer has already been assembled and a preliminary evaluation of the detector performances has been done using cosmic rays. The fibers system detection efficiency and the optical cross talk as well as other preliminary performances obtained with dedicated test beams will be reviewed.

A theranostic approach based on the use of a dual boron/Gd agent to improve the efficacy of Boron Neutron Capture Therapy in the pulmonary metastasis treatment.

Simonetta Geninatti Crich^a, Diego Alberti^a, Nicoletta Protti^{b,c}, Antonio Toppino^d, Annamaria Deagostino^d, Stefania Lanzardo^a, Silva Bortolussi^{b,c}, Saverio Altieri^{b,c}, Silvio Aime^a

^a*Department of Molecular Biotechnology and Health Sciences; University of Torino, Torino, Italy.*
^b*Department of Nuclear and Theoretical Physics, University of Pavia, Pavia, Italy;* ^c*Nuclear Physics National Institute (INFN), Pavia, Italy;* ^d*Department of Chemistry, University of Torino, Torino, Italy;*

This study aims at investigating a new theranostic approach for the treatment of disseminated pulmonary metastasis based on the use of BNCT that combines low energy neutron irradiation with the presence of boron-containing compound at the targeted cells. Neutrons are captured by nonradioactive ¹⁰B that disintegrates into alpha particles and lithium nuclei causing non-reparable damage to the cell where they were generated, sparing the surrounding healthy ones. This fact makes BNCT a promising option for the treatment of pleura metastasis disseminated in the thoracic cavity that cannot be treated by methods requiring a precise localization, such as surgery or conventional radiotherapy. The innovation of this study lies on the development of novel theranostic agents, able to maximize the selective uptake of boron atoms in tumor cells and, at the same time, to quantify boron distribution in the tumor and in other tissues by MRI. The measurement of local boron concentration is crucial to determine the optimal neutron irradiation time, to calculate the delivered radiation dose and to evaluate the toxicity of the treatment by determining differences in boron concentration between tumor and healthy tissues. To this purpose a new dual BNCT/MRI agent has been synthesized and delivered to tumor cells using Low Density Lipoproteins as specific carriers. Pulmonary metastasis mouse model have been obtained by injecting mammary carcinoma cells intravenously in syngenic mice. BNCT has been performed after MRI analysis at the TRIGA-Mark II reactor at the University of Pavia. Two groups of animals underwent the irradiation. A third group of non-irradiated mice was used as control to assess tumor growth in the absence of any treatment. With respect to controls, in boron treated group, tumor growth was significantly slower. The efficacy of the treatment has been proved also “in vitro” on mammary carcinoma cultured cells.

This study is a typical example in which a highly selective therapy takes advantages from imaging to improve its efficacy. In fact, the imaging of boron distribution by MRI before the irradiation permits to be very precise in assessing the treatment plan and dosimetry. The selectivity of BNCT is guaranteed by a differential targeting of the tumor cells rather than by the radiation beam as it occurs in conventional radiotherapies. This makes BNCT a promising option for tumors disseminated and infiltrating tumors.

Boron Neutron Capture Therapy for lung metastasis in an experimental animal model

C.Rovelli^{1,4}, F.Ballarini^{2,3}, S.Bortolussi^{2,3}, P.Bruschi², L.Cansolino⁴, A.Clerici⁴, I.Postuma^{2,3}, N.Protti^{2,3}, R.Nano¹, C.Zonta⁴, C.Ferrari⁴, D.W.Nigg⁵, S.Altieri^{2,3}.

1 Department of Biology and Biotechnology, University of Pavia, via Ferrata 9, 27100 Pavia, Italy

2 Department of Physics, University of Pavia, via Bassi 6, 27100 Pavia, Italy

3 National Institute of Nuclear Physics, section of Pavia, via Bassi 6, 27100 Pavia, Italy

4 Department of Surgery, University of Pavia, via Ferrata 9, 27100 Pavia, Italy

5 Idaho National Laboratory, P.O. Box 1625, Idaho Falls ID 83415 USA

Within the NETTUNO (Neutron Capture Therapy of Thoracic Tumors with new formulations) project we are evaluating the efficacy of BNCT against lung spread metastasis. BNCT is a binary radiotherapy that allows selective delivery of high-LET radiation to neutron irradiated boron-loaded cells. Following preliminary *in vitro* studies to check the effectiveness of the therapeutic approach, the procedure has been tested *in vivo* on the animal model, previously developed at the Experimental Surgery Laboratory of the Pavia University. Briefly, the colonadenocarcinoma (DHDK12TRb) cells were injected in BDIX rats through the inferior vena cava; tumour nodules developed in 3-4 weeks. For the selective ¹⁰B enrichment of neoplastic cells, BPA-f was intraperitoneally administered (300mg/kg b.w.) to rats 4 hours before neutron irradiation at Triga Mark II of Pavia. Irradiation set up and the shield to protect the other organ from radiation were studied by the physicists of INFN and of the Physics Department. Irradiations were performed at maximum power of 250 kW for three different selected times (5-10-15 minutes). Non irradiated neoplastic rats were studied as control. Moreover healthy rats were irradiated with or without previous BPA injection to monitor the safety of the procedure.

At fixed times after irradiation rats were sacrificed and the most important and radiosensitive organs were explanted and fixed in 10% formalin for subsequent histological analyses aimed to evaluate early and late radiation effects. At first, lung tissue samples were included in paraplast and sectioned, the sections were stained with ematoxylin and eosin.

All the animals survived after neutron irradiation thus assessing the feasibility of the procedure and the property of the irradiation set up.

No macroscopical radiation damages were evidenced at all times of irradiation exposure; healthy lungs did not show signs of radiation damage and fibrosis at the histological analysis. Eosinophilic infiltrate related to the time elapsed after irradiation was highlighted. Histological analysis on

metastatic lung samples, still in progress, showed signs of cellular damage at the neoplastic nodules level thus suggesting the real effectiveness of the therapy on tumor cells without normal tissues damage.

Sessione II

Radiofarmaci, Medicina Nucleare e Dosimetria

RADIONUCLIDI TERAGNOSTICI IN MEDICINA NUCLEARE

Marco Chinol

Divisione di Medicina Nucleare
Istituto Europeo di Oncologia, Milano

Idealmente, il radiofarmaco più utile in clinica è quello formato da una molecola targeting avente un'elevata affinità per il bersaglio tumorale marcata con un radionuclide per diagnosi (imaging) così da permettere la valutazione della biodistribuzione e dosimetria del radiocomposto e poi magicamente passare da un radionuclide diagnostico ad uno terapeutico senza alterare le caratteristiche della molecola. La coppia $^{111}\text{In}/^{90}\text{Y}$ è stata storicamente la prima ad essere usata in sperimentazioni cliniche sebbene anche il ^{188}Re e il ^{177}Lu , che possiedono sia fotoni utili per imaging sia emissione di particelle beta ad alta energia, rappresentino il vero esempio di radionuclidi teragnostici.

L'importanza di un accurato studio dosimetrico con ^{111}In prima di intraprendere una terapia con un nuovo radiofarmaco apparve evidente quando iniziò la terapia di tumori neuroendocrini con peptidi radiomarcanti (PRRT) e si verificarono casi di tossicità renale in pazienti dopo la somministrazione di ^{90}Y -DOTATOC.

L'obiettivo in PRRT di dare un'elevata dose di radiazioni al tumore e allo stesso tempo evitare seri danni renali, è sempre più raggiungibile con l'applicazione di peptidi marcati con un radionuclide teragnostico come il ^{177}Lu .

Studi di biodistribuzione e dosimetria con basse attività di ^{177}Lu -DOTATATE seguiti da una terapia con alte attività hanno permesso di somministrare, in vari cicli, allo stesso paziente fino a 30 GBq di ^{177}Lu senza riscontrare tossicità renale e ottenendo ottimi risultati terapeutici.

Recentemente è stato introdotto un algoritmo nel management dei tumori neuroendocrini che prevede l'uso di vari radionuclidi con caratteristiche di emissione diverse: il ^{68}Ga -DOTA-peptide per verificare la captazione tumorale mediante PET imaging, l' ^{111}In per effettuare studi dosimetrici se si prevede di trattare tumori di grandi dimensioni mentre il ^{177}Lu associato con il peptide viene usato quando il paziente presenta una malattia diffusa e di piccole dimensioni.

Imaging medico nucleare e terapia radiorecettoriale nelle neoplasie neuroendocrine

G. Trifirò

Fondazione F. Maugeri

Negli ultimi anni, la disponibilità di analoghi radiomarcanti della somatostatina ha consentito lo sviluppo di approcci diagnostici innovativi per lo studio dei tumori neuroendocrini. Infatti, la scintigrafia dei recettori per la somatostatina (SRS) ha dimostrato un elevato grado di accuratezza diagnostica ed un significativo impatto sulla gestione dei pazienti affetti da queste neoplasie. Ulteriore sviluppo è stato favorito dall'introduzione di analoghi radiomarcanti emettitori di positroni, che hanno consentito di utilizzare l'elevata sensibilità delle metodiche di tomografia ad emissione di positroni (PET), anche in queste neoplasie.

Il presupposto biologico per l'utilizzazione degli analoghi radiomarcanti della somatostatina è l'elevata espressione dei recettori per la somatostatina nei tumori neuroendocrini GEP. Come noto, è stata dimostrata l'esistenza di cinque diversi tipi di recettori, chiamati SSR1, SSR2, SSR3, SSR4, SSR5, dei quali i tipi 2 e 5 si sono dimostrati quelli maggiormente espressi nei tumori GEP.

La possibilità di visualizzare gli SSR si è realizzata grazie alla disponibilità di analoghi della somatostatina naturale, primo fra tutti l'octreotide. L'octreotide è un octapeptide sintetico, caratterizzato da un'emivita biologica maggiore rispetto alla somatostatina, ampiamente utilizzato nella terapia medica dei tumori GEP. Il radionuclide, che si è dimostrato inizialmente più adatto per le applicazioni diagnostiche di medicina nucleare è stato l'¹¹¹In, caratterizzato da un'emivita fisica ottimale per garantire la visualizzazione in vivo degli SSR. Per il legame fra octreotide e radionuclide è necessario un chelante, come il DTPA, quindi il radiofarmaco più utilizzato per le applicazioni scintigrafiche è l'¹¹¹In-DTPA-octreotide.

Le pubblicazioni disponibili riportano una sensibilità elevata, tra l'80% e 100%, per la localizzazione di lesioni primitive e la valutazione dell'estensione di malattia.

Grazie all'elevata sensibilità dimostrata dalla SRS per i tumori neuroendocrini la metodica è largamente utilizzata nella gestione dei pazienti affetti da queste neoplasie.

Oltre all'elevata sensibilità legata alle caratteristiche biologiche del radiofarmaco, la SRS ha il vantaggio di essere una metodica total-body e di consentire quindi con un unico esame, la valutazione sull'intero corpo del paziente. Eventuali sedi di localizzazioni possono essere meglio valutate con acquisizioni tomografiche dedicate dei distretti di interesse con un incremento dell'accuratezza diagnostica rispetto all'acquisizione di immagini planari total-body, particolarmente per lesioni di dimensioni < 1.5 cm.

Le indicazioni cliniche della SRS possono essere così riassunte:

- stadiazione e ristadiazione;
- ricerca del tumore primitivo in pazienti con metastasi di origine sconosciuta o con elevazione dei marcatori;
- monitoraggio e valutazione della terapia;
- selezione di pazienti che possono beneficiare di un trattamento con analoghi radiomarcanti e non radiomarcanti della somatostatina;
- valutazione prognostica in base all'espressione recettoriale.

La crescente disponibilità dei tomografi PET/TC e dei moduli necessari per la sintesi dei peptidi radiomarcanti con emettitori di positroni fanno prevedere che nel prossimo futuro questa tecnica sostituirà la SRS.

Il radionuclide di scelta per la radiomarcatura di questi peptidi è il ⁶⁸Ga, che presenta caratteristiche fisico-chimiche ideali a questo scopo.

Il ⁶⁸Ga-DOTA-NOC si è dimostrato il radiofarmaco migliore: la bio-distribuzione del ⁶⁸Ga-DOTA-NOC nel paziente è analoga a quella del ¹¹¹In-DTPA-octreotide.

Naturalmente, il maggior costo e la minor disponibilità della PET rendono, al momento, questo un esame di seconda linea rispetto alla SRS. Tuttavia l'accuratezza diagnostica di questo esame, superiore a quella della SRS, rende la metodica di prima scelta.

Nuove tecniche di dosimetria interna

L. Strigari

IFO

Verranno illustrati i moderni approcci fisico-dosimetrici finalizzati alla quantificazione della dose rilasciata al tumore ed ai tessuti sani coinvolti, che sono applicati nel caso di trattamenti medico nucleari. Verranno quindi illustrate le principali tecniche e metodiche applicate nel caso di immagini planari e tridimensionali usando sistemi SPECT, SPECT/CT o PET/CT. Saranno inoltre illustrate le principali tecniche di dosimetria al midollo e al sangue. Verranno inoltre introdotti i principali concetti di radiobiologia al fine di trasformare la dose fisica, determinata applicando i vari fattori di correzione, in dose biologicamente equivalente. Ciò al fine di consentire il confronto tra due schemi di trattamento o di approcci terapeutici personalizzati per il paziente.

Gel dosimeters for radiotherapy applications

Francesco d'Errico,¹ Luigi Lazzeri,¹ Mario Mariani,² Armando Buttafava,³
Maurizio Marrale,⁴ Paolo Randaccio,⁵ Giancarlo D'Agostino⁶

¹Università di Pisa, ²Politecnico di Milano, ³Università degli Studi di Pavia,

⁴Università degli Studi di Palermo, ⁵Università degli Studi di Cagliari,

⁶Istituto Nazionale di Ricerca Metrologica

Italy has a long tradition of research on the development of gel dosimeters for three-dimensional mapping of the radiation doses delivered in radiotherapy. Early work was done at the Istituto Superiore di Sanità, and at the Universities of Pisa and Milan. Several institutes now collaborate on this topic with support from the Italian Ministry for University and Research (MIUR) through Grant PRIN SNALEM2010 "Development and application of new materials for ionizing radiation dosimetry". This presentation describes this research, which aims at developing new formulations of hydrogel matrices with improved characteristics of stability, sensitivity and spatial resolution compared to those of earlier Fricke-gel and polymer-gel systems. An additional goal of the project is the simplification of the manufacturing processes in order to facilitate the diffusion of this technology and its upgrade from laboratory scale to wider use.

Produzione di radionuclidi per applicazioni in teragnostica

F. Groppi^a, S. Manenti^a, L. Gini^a, M.L. Bonardi^a

^a Università degli Studi di Milano & INFN, Laboratorio L.A.S.A.: via F.lli Cervi, 201, Segrate (MI), Italy, I-20090

La medicina teragnostica è un nuovo sistema terapeutico integrato che permette di diagnosticare, erogare la terapia mirata e monitorare la risposta alla terapia, utilizzando lo stesso radiofarmaco. Bisogna quindi produrre dei radionuclidi che presentino caratteristiche fisiche (modalità di decadimento, energia dei fotoni, tipo ed energia delle particelle cariche e tempi di decadimento) idonee contemporaneamente per la diagnostica e per la radioterapia metabolica. Molti radionuclidi neutron "rich" idonei per la radioterapia metabolica vengono prodotti mediante reattore nucleare a bassissima attività specifica - A_S . In casi selezionati possono essere prodotti anche mediante bombardamento dei targets con fasci di particelle cariche, in modalità No Carrier Added - NCA - ad altissima A_S .

Alcuni dei radionuclidi che emettono sia fotoni per l'imaging sia particelle cariche e che possono potenzialmente rappresentare una ottima scelta per la radioterapia metabolica e le applicazioni in teragnostica sono riportati in Tabella 1.

Table 1. Principali radionuclidi idonei per essere impiegati in radioterapia metabolica e in teragnostica

Radionuclide	Half-life (d)	β^- max (MeV)	Range soft tissue (mm)	E_γ (keV)
Dy-165	0.1	1.29 (83%); 1.19 (15%)	5.7	95 (4%)
Sm-156	0.4	0.7 (51%); 0.4 (44%)	2.5	none
Re-188	0.7	2.12 (72%); 1.96 (25%)	11.0	155 (15%)
Ho-166	1.2	1.85 (51%); 1.77 (48%)	8.5	81 (6%)
Rh-105	1.5	0.57 (75%); 0.25 (20%)	2.0	319 (19%)
Sm-153	1.9	0.67 (78%); 0.81 (21%)	2.5	103 (28%)
Au-198	2.7	0.96 (99%)	3.6	411 (96%)
Y-90	2.7	2.28 (100%)	11.0	none
Re-186g	3.7	1.07 (74%); 0.93 (21%)	3.6	137 (10%)
Yb-175	4.2	0.47 (87%)	1.7	396 (7% ⁹)
Lu-177g	4.2	0.48 (78%)	1.7	208 (11%)

Sino dagli anni '70 presso il Laboratorio di Radiochimica del LASA è stata studiata e prodotta una vasta gamma di radionuclidi in modalità NCA ad alta A_S mediante acceleratori di particelle.

In particolare in questo lavoro si presenteranno i risultati e relativi alla produzione mediante fasci di deuteroni di Re-186g e Lu-177g, mettendo in rilievo i vantaggi/svantaggi rispetto ad una produzione con reattore nucleare o con fasci di protoni. In particolare l'utilizzo di fasci di deuteroni presenta degli indiscussi vantaggi, quali le sezioni d'urto decisamente maggiori rispetto alle razioni nucleari indotte da protoni, con conseguente vantaggio: 1) nella maggiore produzione del radionuclide di interesse con una minore quantità di targhetta irraggiata, 2) nelle separazioni radiochimiche su a quantità minori di materiale, 3) dal punto di vista radioprotezionistico per il personale e per il waste. Il problema legato a questa modalità di produzione è quello di avere a disposizione macchine acceleratrici di deuteroni con energie e intensità di fasci adeguate.

AN INNOVATIVE RADIO-GUIDED SURGERY TECHNIQUE FOR COMPLETE RESECTION OF BRAIN TUMOURS

Riccardo Faccini (presenter) (a,b), Guido Baroni(c), Valerio Bocci(b), Francesco Collamati (a,b), Marta Cremonesi(d), Paolo Ferroli (e), Chiara Grana(d), Silvio Morganti(b), Luigi Recchia, Andrea Russomando (f), Marco Schiariti(e), Elena Solfaroli(f)

- a) Dip Fisica, Univ. Di Roma “La Sapienza”
- b) INFN sezione di Roma
- c) Dip. Bioingegneria, Politecnico di Milano
- d) Istituto Europeo di Oncologia
- e) Fondazione Istituto Neurologico Carlo Besta
- f) Istituti Italiano di Tecnologia

The radio-guided surgery (RGS) is a surgical technique that enables the surgeon to perform complete lesion resections, minimizing healthy tissue removed. Established methods make use of a γ radiation detection probe, but other radiation detection devices, exploiting β^+ decaying tracers, are under development.

To extend the applicability of the radio-guided surgery, we are developing an alternative: the use of the β^- radiation[1]. It penetrates only a few millimetres and this implies both a smaller radio-pharmaceutical dose and the possibility to apply the technique also to cases with a large uptake of nearby healthy organs. The low background rate is also correlated to a low exposure for the medical team.

As first application of this technique we are investigating brain tumors. The goal is to apply the technique to gliomas or neuro-endocrine tumors or metastases, but the first study case are meningiomas because for them an efficient tracer is already available, namely ^{90}Y -DOTATOC.

In order to implement this technique we have developed several prototypes of a beta-probe differing by size, within 2-5 mm of diameter of the sensitive area made of a scintillating crystal, and light collection method: the scintillation light can either be collected by a SiPM directly on the crystal or guided to a photo-multiplier tube by optical fibers. The electronics is portable and customized to match the surgeon needs. A wireless data transfer to the PC is also implemented.

This presentation will discuss the innovative aspects of the method, the status of its development and tests and the implications on radioprotection. Preclinical tests and full Monte Carlo simulations with the FLUKA program have already estimated that in the case of meningiomas if we require to identify in 1s a residual of 0.1 ml a radio-pharmaceutical activity of about 3~MBq/kg is to be administered to the patient. In this case, the exposure of surgeon was found to be 0.14 μSv /hour on the whole body, 0.7 μSv /hour on the hands. It is to be noted that before and after the operation the core of the radiation is screened by the body itself.

Ex-vivo tests on meningioma patients are imminent and the results will be presented in this contribution, together with the feasibility studies on gliomas and neuro-endocrine tumors.

References

1. E. Solfaroli-Camillocchi et al, “A novel radioguided surgery technique exploiting β^- decays”, Sci. Rep. 4, 4401 (2014)

Eventi in cui un nucleo cellulare, posizionato per decenni accanto ad una sorgente interna di Torio, viene colpito da due o più particelle α entro intervalli di tempo di ordine 1 s.

Andrea Bianconi^{1,2},

¹ *Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione dell'Università degli Studi di Brescia.*

² *INFN, Gruppo Collegato di Brescia della Sezione di Pavia.*

Negli anni 1930-60 un agente di contrasto (Thorotrast) contenente ThO₂ fu usato su decine di migliaia di pazienti, con conseguente formazione di depositi compatti, attivi e permanenti in fegato, milza ed altri organi, e migliaia di casi di tumori distribuiti dal 1949 ad oggi, con incubazioni tipiche di diversi decenni [1]. Il meccanismo con cui la debole attività di questi depositi porta sul lungo periodo ai tumori rimane sconosciuto. Esperimenti selettivi [2] hanno mostrato che eventi nei quali un nucleo cellulare è colpito da almeno due particelle α entro un tempo di scala 1 s hanno potenziale mutagenico molto superiore ad eventi in cui una sola particella attraversa il nucleo cellulare. In alcuni recenti lavori (simulazioni numeriche [3], e calcoli analitici [4]) abbiamo dimostrato che ad eventi multipli di questo tipo (due o più hit entro 1 s) è soggetto un nucleo cellulare che si trovi per alcuni decenni entro un micron circa da un deposito di ThO₂. Questi eventi sono dovuti a decadimenti seriali dello stesso nucleo ed hanno frequenza molto superiore alla stima Poissoniana. In questa presentazione tali eventi vengono connessi con alcuni modelli multi-stage per la carcinogenesi da Thorotrast e da contaminanti interni [5,6].

Referenze

1. N.Becker, D.Liebermann, H.Wesch, G.V.Kaick, "Mortality among Thorotrast-exposed patients and an unexposed comparison group in the German Thorotrast study", *European Journal of Cancer*, 1259-1268 (2008).
2. Miller R.C., Randers-Pehrson G., Geard C.R., Hall E.J., and Brenner D.J., "The oncogenic transforming potential of the passage of single α particles through mammalian cell nuclei". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 19-22 (1999).
3. A.Bianconi, "Thorotrast and in vivo thorium dioxide: Numerical simulation of 30 years of α radiation absorption by the tissues near a large compact source", *Physica Medica: European Journal of Medical Physics* 30, 489-496 (2014).
4. A.Bianconi, "Thorotrast problem: analytical study of multi-hit short-time correlations in the absorption of α radiation from a thorium dioxide in vivo source", preprint submitted for publication.
5. Y.Yamamoto, N.Usuda, T.Takatsuji, Y.Kuwahara, and M.Fukumoto, "Long incubation period for the induction of cancer by thorotrast is attributed to the uneven irradiation of liver cells at the microscopic level", *Radiat. Res.* 171, 494503 (2009).
6. W.F. Heidenreich, U.Nyberg, and P.Hall, "A biologically based model for liver cancer risk in the Swedish Thorotrast patients", *Radiat Res* 159, 656662 (2003).

Innovative tumor-target nanodevices based on e-beam crosslinked PVP nanogels

N. Grimaldi¹, M. A. Sabatino¹, D. Bulone², G. Adamo³, G. Ghersi³, G. Spadaro¹,
C. Dispenza^{1,3}

¹ *Dipartimento di Ingegneria Chimica, Gestionale, Informatica, Meccanica. Università degli Studi di Palermo, Viale delle Scienze, Edificio 6, 90128 Palermo, Italy.*

² *Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche, Chimiche e Farmaceutiche, Università degli Studi di Palermo, Viale delle Scienze, Edificio 16, 90128 Palermo, Italy*

³ *CNR - Istituto di Biofisica (IBF) UOS Palermo, Via U. La Malfa 153, 90146 Palermo, Italy.*

Nanogels have been extensively proposed in the literature as nanocarriers for biomedical applications. Despite their success in the applications, these systems still show some drawbacks related to the synthetic strategies proposed for their production, often too long and complex.

In this work, Poly-N-(Vinyl-Pyrrolidone) (PVP)-based nanogels have been synthesized by irradiating N₂O-saturated semi-diluted PVP aqueous solutions using electron-beam with doses within the sterilization dose. A large family of nanogels with a wide range of possible particle sizes (R_h , from 20 to 300 nm; PDI=0.2-0.3) and average molecular weights (MW, from 0.4 to 13 MDa) has been generated. AFM images have confirmed that nanogels have a globular shape. FT-IR, Raman, solid state NMR and XPS measurements have shown that irradiation of semi-diluted PVP solutions at relatively high doses introduce new functionalities, such as succinimide and carboxyl groups. The latter are responsible for the development of a negative surface charge density that promotes colloidal stability of the generated nanoparticles. PVP-based nanogels have been used as building blocks for the assembly of tumor-target “composite” nanodevices. Ligands with various biological functions and drugs have been conjugated to the nanogels as well as fluorescent probes. Biocompatibility and localization pattern of the base and “decorated” nanocarriers in cell cultures have been evaluated. More recently, metal-ions chelating agents have been covalently attached to the nanogels to bind paramagnetic and/or radioactive ions. The research is now progressing in the direction of evaluating these nanocarriers in relevant animal models to study their biodistribution in complex organisms as well as pharmacodynamics and pharmacokinetics of the loaded drugs.

Il L.E.N.A. - Laboratorio Energia Nucleare Applicata dell'Università degli Studi di Pavia – Descrizione delle facility di irraggiamento neutronico e principali attività di ricerca.

Daniele Alloni^{1,2}, Gianfranco Bellani¹, Michelangelo Giordano¹, Fabrizio Lana¹, Giovanni Magrotti^{1,2}, Sergio Manera¹, Fausto Marchetti¹, Michele Prata^{1,2}, Andrea Salvini^{1,2}, Gabriele Vinciguerra¹

¹ *LENA, Laboratorio Energia Nucleare Applicata, Università degli Studi di Pavia, Via Aselli 41, 27100, Pavia, Italia*

² *INFN, Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione di Pavia, Via Bassi 6, 27100, Pavia, Italia*

Il prossimo anno si celebrerà il 50° anniversario della prima criticità del Reattore di Ricerca TRIGA[®] Mark II del Laboratorio Energia Nucleare Applicata (LENA) dell'Università degli Studi di Pavia, raggiunta il 15 novembre 1965. Nei decenni passati il Centro Servizi LENA, che gestisce il reattore di ricerca, ha contribuito sia dal punto di vista tecnico che scientifico ad innumerevoli attività che hanno toccato diversi campi della ricerca, con collaborazioni nazionali ed internazionali, mettendo a disposizione sia strutture sperimentali che competenze tecnico-scientifiche. Ad oggi l'attività del Centro è largamente presente nel panorama delle facility di irraggiamento nazionali ed internazionali come supporto alla ricerca scientifica in diversi settori. Dopo una descrizione delle caratteristiche principali delle facility di irraggiamento presenti al LENA, vengono presentate le principali attività scientifiche e didattiche insieme ad una panoramica dei progetti e delle attività programmate per i prossimi anni.

Caratterizzazione dosimetrica della facility a neutroni termici del reattore TRIGA di Pavia: studio della dose da fotoni mediante rivelatori ESR

N.Protti^{1,2}, M.Ferrari^{1,2}, F.Ballarini^{1,2}, S.Bortolussi^{1,2}, M.P.Carante^{1,2},
A.De Bari^{1,2}, E.Giroletti^{1,2}, I.Postuma^{1,2}, S.Gallo^{3,4}, M.Marrale^{3,4}, A.Longo^{3,4}, S.Panzeca³,
G.Iacoviello⁵, S.Altieri^{1,2}

¹*Dipartimento di Fisica, Università degli Studi di Pavia, Via Bassi 6, 27100 Pavia.*

²*Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (INFN), sezione di Pavia, via Bassi 6, 27100 Pavia.*

³*Dipartimento di Fisica e Chimica, Università degli Studi di Palermo, Viale delle Scienze, Ed.18, Palermo.*

⁴*Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (INFN) Gruppo V - Sezione di Catania.*

⁵*U.O.C. Fisica Sanitaria - A.R.N.A.S. Ospedale Civico Palermo.*

La terapia per cattura neutronica con boro (BNCT, Boron Neutron Capture Therapy) è una forma sperimentale di radioterapia basata sull'irraggiamento, con neutroni di bassa energia, di un tumore che ha captato, mediante l'uso di un veicolante selettivo, l'isotopo stabile B10. Il campo di radiazione della BNCT è un campo misto in cui coesistono radiazioni a basso e ad alto LET che necessita di un'attenta caratterizzazione dosimetrica con separazione della componente neutronica da quella fotonica.

I rivelatori a stato solido ESR (Risonanza di Spin Elettronico) a base di alanina stanno trovando impiego nella caratterizzazione dei campi/fasci misti per BNCT. Questo è dovuto principalmente al fatto che i rivelatori all'alanina presentano diversi vantaggi come la tessuto-equivalenza, la linearità della risposta in un ampio intervallo di dose, l'elevata stabilità dei radicali liberi radioindotti, la non distruttività della lettura del dosimetro e il basso costo dei dispositivi.

In questo lavoro si presenteranno le originali procedure che sono state testate presso la facility a neutroni termici del reattore TRIGA Mark II dell'Università di Pavia per determinare la componente fotonica del campo di radiazione mediante letture ESR di dosimetri di alanina; la suddetta facility è dedicata ad un'intensa attività sperimentale nel campo della BNCT.

I dosimetri di alanina utilizzati sono prodotti dalla GmbH (Germania) e sono stati irradiati in tre differenti posizioni all'interno della facility; inoltre, per evitare l'uso di portacampioni contenenti idrogeno, gli irraggiamenti sono stati eseguiti all'interno di fantocci di grafite.

Le misure ESR sono state effettuate mediante spettrometro Bruker ECS106 dotato di una cavità rettangolare TE₁₀₂ situato presso il Laboratorio di Dosimetria ESR/TL del Dipartimento di Fisica e Chimica dell'Università degli Studi di Palermo.

Al fine di isolare la componente fotonica del campo misto sono stati effettuati due tipi di irraggiamento: all'interno di uno schermo per neutroni di carbonato di litio e al di fuori di esso.

Sono state condotte anche simulazioni Monte Carlo con il codice MCNP ricostruendo le diverse geometrie del set-up di irraggiamento. Questo tipo di studio ha permesso di acquisire informazioni sui contributi delle varie componenti di dose presenti nel campo misto.

I valori sperimentali sono confrontati con le simulazioni Monte Carlo e i risultati sono stati discussi sulla base delle caratteristiche del campo misto e sulla risposta dei dosimetri di alanina alle radiazioni a diverso LET.

Dosimetria mediante rilassometria magnetica nucleare: caratterizzazione preliminare dell'apparecchiatura di diagnostica utilizzata

G. D'Agostino¹, A. Buttafava², R. Di Liberto³, D. Dondi², D. Merli³, M. Oddone², F. Pennechi¹ e M. Sassi¹

¹ *Istituto Nazionale di Ricerca Metrologica*

² *Dipartimento di Chimica, Università di Pavia*

³ *Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo*

L'utilizzo dell'imaging a risonanza magnetica (Magnetic Resonance Imaging, MRI) come metodo di misura non distruttivo di un segnale dosimetrico è stato proposto inizialmente da Gore *et al* [1] con l'evidenza sperimentale che i dosimetri chimici a base di solfato ferroso sviluppati da Fricke e Morse [2] potevano essere letti mediante rilassometria magnetica nucleare. In dettaglio, Gore *et al* dimostrarono che le costanti di rilassamento spin-reticolo e spin-spin λ_1 , λ_2 dipendevano dalla concentrazione relativa degli ioni Fe^{2+} e Fe^{3+} , cioè dalla dose assorbita dalla soluzione. I risultati ottenuti sono stati propedeutici alla dosimetria tridimensionale basata sulla risonanza magnetica nucleare (Nuclear Magnetic Resonance NMR) [3]. In quest'ambito, al fine di valutare il contributo all'incertezza dovuta alla misura di λ_1 abbiamo caratterizzato una macchina di misura NMR da 1.5 T. Sono state preparate 5 diverse soluzioni variando la concentrazione relativa di Fe^{2+} e Fe^{3+} in modo da simulare dosimetri irraggiati a diverse dosi in un intervallo da 0 Gy a circa 300 Gy. I valori di λ_1 delle soluzioni sono stati misurati utilizzando sia una sequenza Spin Echo (SE) che Inversion Recovery (IR). I parametri di entrambe le sequenze sono stati ottimizzati in funzione del rapporto segnale/rumore. Per l'elaborazione delle immagini NMR è stato sviluppato un software in ambiente Labview. I risultati preliminari hanno evidenziato che la sequenza IR, nonostante richieda un maggior tempo di misura per l'acquisizione del segnale di rilassamento, permette risultati significativamente migliori in termini di omogeneità spaziale. In particolare, per circa 80 mm lungo la direzione perpendicolare al campo magnetico abbiamo registrato differenze di segnale dosimetrico dovute all'apparecchiatura di diagnostica utilizzata che corrispondono a differenze relative del 2% nella stima della dose per valori maggiori di 10 Gy. Tali risultati preliminari non escludono la possibilità di utilizzo della specifica apparecchiatura per misure dosimetriche nella radioterapia conformazionale, dove l'incertezza richiesta nella dose impartita nei trattamenti è di circa 5% [4].

Acknowledgments

L'attività svolta è stata cofinanziata dal Programma di Ricerca di Interesse Nazionale PRIN 2010-2011 "Sviluppo ed applicazione di nuovi materiali dosimetrici per radiazioni ionizzanti".

Referenze

1. J.C. Gore, Y.S. Kang and R.J. Schulz, Measurement of radiation dose distributions by nuclear magnetic resonance (NMR) imaging. *Phys. Med. Biol.*, 29, 1189-97 (1984)
2. H. Fricke and S. Morse, The chemical action of Roentgen rays on dilute ferrosulphate solutions measure of dose. *Am. J. Roentgenol. Radium Therapy Nucl. Med.*, 18, 430-2 (1927)
3. Y. De Deene, Review of quantitative MRI principles for gel dosimetry. *Journal of Physics: Conference series* 164 012033 (2009)

4. S. Olsson, E. Lund and R. Erickson, Dose response and fading characteristics of alanine-agarose gel. *Appl. Radiat. Isot.*, 47, 1211-17 (1996)

Teeth and fingernails as radiation markers: X-band *in vitro* detection of effects of laser-based clinical treatments and hardening treatments

S. Della Monaca^{*1}, G. Palaia², A.A. Romanyukha³, U. Romeo², F. Trompier⁴, P. Fattibene¹

1. Department of Technologies and Health, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy
2. Department of Oral and Maxillofacial Sciences, "Sapienza" University of Rome, Rome, Italy
3. Naval Dosimetry Center, US Navy, Bethesda, MD, USA
4. Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire, Fontenay-aux-roses, France

**sara.dellamonaca@iss.it*

Electron Paramagnetic Resonance detection of ionizing radiation-induced radicals in teeth and fingernails is a consolidated method for dose assessment in individuals potentially and accidentally exposed to radiation. Therapeutic and cosmetic practices can induce in tooth tissues and in nails other types of radicals that may act as confounding factors in dose assessment. The overall goal of the proposed study is the analysis of counter effects induced by two emerging practices, which are used for cosmetic and caring purposes: laser-based dental care techniques and nail hardening. Laser irradiation and hardening treatments could affect the concentration of radio-induced radicals or generate EPR signals overlapping the radio-induced signals, thus leading to a misvaluation of the received dose.

Dental lasers are known to heat tooth tissues (enamel, dentine and cementum) to temperatures as high as several hundreds of degrees. The area irradiated by lasers reaches temperatures higher than 1000°C, with a negative gradient as the distance from the surface increase. This study aims at identifying the temperature reached within the tooth tissues and at characterizing the EPR signals to be included in the EPR spectrum analysis. A database of X-band EPR signals induced in enamel and dentine at various temperatures and different heating times after uniform heating in a furnace has been created at the Istituto Superiore di Sanità and it represents a good source of reference signals for the comparison. In this study we will present the EPR spectra induced 1) by heating between 100°C and 1000°C and 2) by dental treatment with various types of laser, in tooth enamel, dentine and root and will show how this information can be useful in the EPR dosimetry with teeth.

Nail hardening treatments are expected to modify the properties of nail by altering the level of hydration of the nail matrix. Water soaking is a critical step in the currently used protocol for EPR dosimetry of fingernails. Plasticizing effect of fixative hardeners influences the permeation of water through the nail matrix and so could: 1) negate or limit the effect that the water treatment has on removing undesired signals by restricting water penetration; 2) alter the dose-response and stabilities of the radiation-induced signal in the fingernail. In this study we will present preliminary data on the first aspect.

The authors would like to acknowledge funding from the Pilot Project Program of the Dartmouth Physically Based Center for Medical Countermeasures Against Radiation, with NIH funding from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases (U19-AI091173).

La rivelazione della radiazione ionizzante mediante fibre ottiche scintillanti con emissione nell'infrarosso

Ivan Veronese¹, Cristina De Mattia¹, Mauro Fasoli², Norberto Chiodini², Eleonora Mones³, Marie Claire Cantone¹, Anna Vedda²

¹Dipartimento di Fisica, Università degli Studi di Milano

²Dipartimento di Scienza dei Materiali, Università degli Studi di Milano-Bicocca,

³Medical Physics Department, Azienda Ospedaliera Maggiore della Carità, Novara

Le fibre ottiche scintillanti sono uno strumento promettente per il monitoraggio della radiazione ionizzante. Esse sfruttano il fenomeno della radioluminescenza (RL), ossia la luminescenza generata a seguito dell'interazione della radiazione ionizzante con il materiale. Possono pertanto consentire un monitoraggio della radiazione in tempo reale (dosimetria on-line), in un punto ben preciso (rivelazione puntuale) e anche a notevole distanza dal campo di radiazione (monitoraggio remoto).

Uno dei più interessanti campi di applicazione di tali dispositivi è la dosimetria dei moderni fasci di radioterapia. In questo caso tuttavia vi è un aspetto problematico da prendere in considerazione: la discriminazione tra il segnale di scintillazione e la luce Cerenkov e altri segnali spuri di luminescenza (generalmente raggruppati sotto la definizione di “*stem effect*”) che, sovrapponendosi al segnale di scintillazione, compromettono la valutazione precisa della dose da radiazione.

Un metodo efficiente per ottenere un segnale dosimetrico privo di *stem effect* consiste nell'impiego di uno scintillatore drogato con un emettitore nel vicino infrarosso [1]. In questo lavoro vengono presentate e discusse le proprietà luminescenti e dosimetriche di fibre ottiche in silice amorfa, prodotte via tecnica sol-gel e drogate con Yb. L'emissione RL dell'Yb³⁺ consiste in una stretta banda a circa 975 nm dovuta alla transizione $^2F_{5/2} \rightarrow ^2F_{7/2}$, ben separabile otticamente dai segnali spuri di luminescenza che, pur piccati nell'UV e blu, si estendono anche alle lunghezze d'onda maggiori nella regione del visibile [2].

I risultati promettenti in termini di linearità, riproducibilità e sensibilità delle fibre scintillanti drogate con Yb³⁺, aprono la strada all'impiego di tali fibre, fino ad ora ampiamente usate nelle tecnologie laser, anche per il monitoraggio della radiazione ionizzante laddove è richiesta un'efficiente rimozione dello *stem effect* come nel caso di campi di radiazioni estesi e radiazioni di alta energia.

Referenze

1. I. Veronese, C. De Mattia, M. Fasoli, N. Chiodini, E. Mones, M.C. Cantone, and A. Vedda, Infrared luminescence for real time ionizing radiation detection, Appl. Phys. Lett. 105, 061103 (2014).
2. I. Veronese, M.C. Cantone, M. Catalano, N. Chiodini, M. Fasoli, P. Mancosu, E. Mones, F. Moretti, M. Scorsetti and A. Vedda, Study of the radioluminescence spectra of doped silica optical fibre dosimeters for stem effect removal, J. Phys. D: Appl. Phys. 46, 015101 (2013).

Sessione III

Radiobiologia

Adroterapia e radiobiologia clinica al GSI, Darmstadt

W. Tinganelli

GSI

Dal 1997 al 2008, il GSI ha trattato, in collaborazione con il Dipartimento di Radiologia dell'Università di Heidelberg, l'Istituto Tedesco per la Ricerca sul Cancro (DKFZ) e il Centro di Ricerca Rossendorf nei pressi di Dresda 450 pazienti affetti da tumore al basicranio con fasci di carbonio.

Monitorando i pazienti per i successivi cinque anni, si è visto che tra il 75 e il 90% dei pazienti, a seconda dei casi, sopravviveva ai 5 anni post-trattamento. Gli studi pilota sono proseguiti con pazienti con tumore alla colonna vertebrale e alla prostata.

La terapia è oggi accettata in diversi centri sia in Europa che nel mondo. Sono oramai tanti i centri specializzati per trattare pazienti con ioni carbonio e con protoni: il Centro Nazionale di Adroterapia Oncologica (CNAO), l'Heidelberg Ion Therapy (HIT) a Heidelberg, Germania, il National Institute of Radiological Sciences (NIRS) in Giappone sono solo alcuni dei centri all'avanguardia nella adroterapia.

Nel dipartimento di biofisica del GSI, la ricerca punta a migliorare le capacità, le qualità e la potenzialità della tecnica adroterapica.

In questo lavoro, dopo una generale introduzione, saranno presentati i recenti risultati del gruppo di radiobiologia clinica del GSI.

In primo luogo parleremo degli effetti delle radiazioni ionizzanti sulle staminali tumorali, estratte da pazienti affetti da glioblastoma multiforme presso il centro di neurochirurgia dell'Università di Mainz. Saranno poi presentati i primi risultati riguardanti la verifica di un nuovo modello di treatment planning biologico/fisico per ioni elio a scansione attiva.

Infine presenteremo i primi dati sperimentali al mondo riguardo la dipendenza dell'(OER) a diverse concentrazioni di ossigeno dai linear energy transfer (LET), utilizzati per sviluppare un modello di estensione del treatment planning system TRiP98, utilizzato nel progetto pilota del GSI e tutt'ora alla base dei pianificatori dei sistemi di trattamento commerciali per adroterapia a scansione attiva, TRiP98-OER.

Infine mostreremo la verifica finale del suddetto modello considerando l'irraggiamento con carbonio di un target esteso che simula un tumore complesso a tre diverse concentrazioni di ossigeno.

Inflammation-related response to irradiation in different human skin culture systems

Simoniello Palma¹, Wiedemann Julia^{1,2}, Thoennes Eva¹, Durante Marco^{1,2}, Podda Maurizio³
and Fournier Claudia¹.

¹*GSI, Darmstadt, Germany;* ²*Technische Universitaet Darmstadt, Germany;* ³*Dept. of Dermatology, Darmstadt Hospital*
p.simoniello@gsi.de

During radiotherapy, inflammatory skin irritation is a frequent acute side effect. On the other hand, exposure to low intensities of UV light or low doses of α -particles emitted during Radon decay e.g. in spa treatment can alleviate the symptoms of chronic inflammatory diseases as Eczema and Psoriasis, suggesting an anti-inflammatory effect. The anti-inflammatory effects of UV are quite well investigated, whereas the clinically observed anti-inflammatory effects of ionizing irradiation, in particular α -particles from Radon decay, remain to be elucidated. As for UV, it can be expected that the effects are dependent on the level and quantity of damage induced and on the interaction between irradiated cells and their environment.

In this study we investigate cellular and molecular changes induced by low and moderate doses of ionizing radiation that are potentially related to the inflammatory response in skin. Human model systems of different levels of complexity were used: monolayer cultures of primary keratinocytes (NHEK), co-cultures of primary keratinocytes and fibroblasts and human full thickness skin equivalents (MatTek). Samples were exposed to ionizing irradiation (X-ray and Carbon ions, which are similar physical properties as α -particles) and UV-B, comparing low versus high and single versus fractionated doses. Apoptosis, known to have immune suppressive and anti-inflammatory effects, was detected after high UV-B exposure in monolayer cultures of NHEK, but not after X-ray and C-ion irradiation. In co-cultures and skin equivalents, apoptosis did not occur, regardless of the radiation quality applied, suggesting that apoptosis in keratinocytes is reduced in the presence of other skin cells and is not a trigger for the release of anti-inflammatory cytokines. In the skin equivalents, radiation induced morphological changes indicating reorganization and impairment of the keratinocyte differentiation process were observed for high doses. Cytokines with putative pro- and anti-inflammatory effects could be detected after radiation exposure. Noteworthy, the pattern of cytokine release is dependent on the keratinocyte-fibroblast interaction, pointing to the importance of using three dimensional model systems to study irradiation effects. The observed changes will be discussed with respect to their potential pro- or anti-inflammatory effect.

Work supported by GREWIS No. 02NUK017A, DFG (GRK 1657) and HGS-HIRE.

Facility di irradiazione di cellule coltivate in vitro con raggi gamma a basso rateo di dose

Giuseppe Esposito^{1,2}, Alessandro Campa^{1,2}, Ilaria Pecchia¹, Maria Antonella Tabocchini^{1,2}

¹*Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

²*INFN Roma1-Gr. Coll. Sanità, Roma*

Un task dedicato del progetto europeo DoReMi, “LIBIS”, ha finanziato la costruzione presso l’Istituto Superiore di Sanità (ISS) di una facility di irradiazione con raggi gamma per l’esposizione di cellule coltivate in vitro a ratei di dose che variano da qualche $\mu\text{Gy/h}$ ad alcune decine di mGy/h . Gli irraggiamenti avverranno all'interno di un incubatore cellulare in condizioni controllate di temperatura, di concentrazione di CO_2 e di umidità. Tutta la struttura (geometria di irraggiamento, irradiator contenenti le sorgenti radioattive, schermatura dell'incubatore, sistema di movimentazione in remoto degli irradiator) è stata progettata presso l'ISS utilizzando il codice di simulazione Monte Carlo Geant4. Dopo alcuni studi di verifica e validazione, la facility sarà aperta a tutta la comunità di radiobiologia per esperimenti pianificati attraverso accordi appropriati. Questi esperimenti a basso rateo di dose potranno dare interessanti informazioni soprattutto nei due settori della radioprotezione e della radioterapia (risposta tardiva dei tessuti sani). La facility di irradiazione è stata da poco completata e in questo contributo mostriamo i dettagli della sua progettazione, le sue caratteristiche fisiche e il suo funzionamento.

Acknowledgements

DoReMi Network of Excellence

Effetto delle radiazioni ionizzanti sulla neurogenesi dell'ippocampo

F. Antonelli¹, A. Casciati¹, M. Tanori¹, E. Pasquali¹, M. Mancuso¹, S. Leonardi¹, P. Giardullo², I. De Stefano², B. Tanno¹, A. Saran¹, S. Pazzaglia¹

¹*Laboratorio di Biologia delle Radiazioni e Biomedicina, Agenzia Nazionale per le Nuove Tecnologie, l'Energia e lo Sviluppo Economico Sostenibile (ENEA) CR Casaccia, Roma*

²*Dipartimento di Fisica delle Radiazioni, Università degli Studi G. Marconi, Roma*

Nel sistema nervoso centrale (SNC) dell'uomo la formazione di neuroni avviene entro i primi anni di vita, ad esclusione di due specifiche aree del cervello in cui cellule staminali neurali mantengono la capacità di generare neuroni per tutta la vita. Una di queste è il giro dentato (DG) dell'ippocampo, dove la produzione di nuovi neuroni e la loro corretta integrazione nei circuiti nervosi, è stata associata a processi cognitivi quali apprendimento e memoria.

Le radiazioni ionizzanti (IR) restano il trattamento elettivo per i tumori del SNC. L'esposizione a dosi terapeutiche, però, può causare deficit cognitivi, della memoria e dell'apprendimento, in particolare nei pazienti pediatrici. Uno dei meccanismi possibili, alla base di tali deficit, è l'induzione di alterazioni nel processo di neurogenesi dopo irraggiamento.

Lo scopo di questo lavoro è stato quindi quello di studiare gli effetti prodotti dalle IR sulla neurogenesi ippocampale. Topi di 10 giorni d'età sono stati esposti a raggi X e le alterazioni nella composizione cellulare del DG sono state valutate utilizzando markers (GFAP, Sox2, PCNA e DCX) espressi durante stadi specifici della neurogenesi. I risultati ottenuti mostrano una modulazione delle dinamiche di divisione cellulare e una riduzione nella generazione di nuovi neuroni dopo irraggiamento.

La neurogenesi avviene sotto il controllo di moltissimi fattori. Alcuni, critici durante lo sviluppo embrionale del SNC, continuano a modulare l'attività delle cellule staminali neurali anche in età adulta. Uno di questi è Sonic Hedgehog (Shh), un morfogeno implicato in molti aspetti dello sviluppo del SNC, compreso il DG, dove è necessario per l'espansione dei neuroni dei granuli e per la specificazione delle cellule staminali neurali. Poichè recenti evidenze hanno indicato un possibile effetto di radioresistenza conferito da Shh, questo studio ha valutato come alterazioni radiondotte della neurogenesi dell'ippocampo vengano modulate dalla deregolazione della via di segnale di Shh. A tale scopo è stato impiegato un modello murino eterozigote per il gene *Patched (Ptc1)*, il recettore di Shh. In questi animali l'inattivazione di un allele *Ptc1* determina una iperattivazione della via di segnale di Shh. Risultati preliminari suggeriscono una possibile modulazione delle alterazioni radiondotte nella neurogenesi da Shh. Una comprensione più completa dei meccanismi regolatori della neurogenesi può avere implicazioni importanti per interventi terapeutici in grado di mitigare il danno cognitivo da radiazioni.

The telomeric G-quadruplex-stabilizing agent RHPS4 induces telomeric dysfunction and enhances sensitivity to ionising radiation in glioblastoma cells

F. Berardinelli, S. Siteni, C. Tanzarella, A. Sgura, A. Antoccia

Dip. Di Scienze, Università “Roma Tre”, V.le G. Marconi 446, 00146 Roma, Italy

G-quadruplex (G4) ligands are compounds able to bind to and stabilize secondary structures located in genomic G-rich regions such as telomeres. Stabilization of G4 leads to telomere architecture disruption and consequent detrimental effect on cell proliferation. RHPS4 is one of the most effective compound belonging to this class of ligands, with a very high specificity for telomeric G4. In this work we tested the “*in vitro*” efficacy of RHPS4 in glioblastoma multiforme (GBM) radioresistant cell lines and then evaluated whether RHPS4, destabilizing telomeres, may act as a potential radiosensitizing agent.

The response to RHPS4 alone or in combination with ionizing radiation was investigated in four human GBM cell lines (U251MG, U87MG, T67 and T70) and in two normal primary fibroblast strains (AG01522 and MRC5).

GBM cells exposed to RHPS4 displayed cell growth delay/block, phosphorylation of H2AX histone and induction of telomere-induced dysfunctional foci (TIF) despite the absence of telomere length modulation. Combined effect of submicromolar concentrations of RHPS4 and X-rays was assessed in U251MG cells. Long term growth curves, cell cycle analysis and cell survival experiments, clearly showed the synergistic effect of the combined treatment. Interestingly the effect is greater in cells displaying a higher number of dysfunctional telomeres. DNA double-strand breaks rejoining after irradiation revealed delayed repair kinetics in cells pre-treated with the drug and a synergistic increase in chromosome-type exchanges and telomeric fusions. These

findings provide the first evidence that exposure to RHPS4 radiosensitizes glioblastoma cells through telomere destabilization and suggest the prospect of future therapeutic applications.

ACKNOWLEDGEMENTS

Supported by INFN CSN5 (Experiment RDH).

Progetto BioQuaRT (Biologically weighted Quantities in RadioTherapy): valutazione del danno cromosomico indotto da particelle alfa dopo irraggiamento con “microbeam”

Clarice Patrono¹, Octavia Monteiro Gil², Ulrich Giesen³, Frank Langner³, Valentina Palma¹, Hans Rabus³, Antonella Testa¹

¹ *Unità Tecnica di Biologia delle Radiazioni e Salute dell’Uomo, ENEA, Roma*

² *IST/CTN, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, Lisbona, Portogallo*

³ *Physikalisch-Technische Bundesanstalt (PTB), Braunschweig, Germania*

Obiettivo del progetto BioQuaRT (Biologically weighted Quantities in RadioTherapy) è lo sviluppo di nuove tecniche per misurare e caratterizzare la struttura di traccia di particelle cariche mediante un approccio multi-scala e di correlare, a livello cellulare, gli effetti biologici da radiazioni con la struttura di traccia stessa. Per gli esperimenti di radiobiologia nell’ambito del progetto BioQuaRT è stata scelta la tecnologia del “microbeam” a singolo-ione, che permette di irradiare il nucleo o il citoplasma di ogni singola cellula con un numero prestabilito di particelle cariche e di correlare quindi il danno cromosomico indotto con la qualità e l’energia della radiazione, nonché con il numero di ioni per cellula. In particolare, è stato utilizzato come piattaforma sperimentale il “microbeam” installato presso gli acceleratori del PTB (Physikalisch-Technische Bundesanstalt). A tale scopo è stato appositamente sviluppato un nuovo protocollo *in situ* per l’analisi del danno cromosomico indotto da radiazioni, che permette di eseguire simultaneamente il test del micronucleo e il test delle aberrazioni cromosomiche sullo stesso campione di cellule irraggiate. Utilizzando questo protocollo, cellule CHO sono state esposte a particelle alfa con energie di 10 MeV (LET ~90 keV/μm) e 20 MeV (LET ~37 keV/μm).

I risultati sperimentali costituiranno una parte dei dati biologici da utilizzare per la validazione del modello multi-scala realizzato nell’ambito di BioQuaRT.

Questo lavoro è stato svolto nell’ambito del progetto “BioQuaRT”, Joint Research Project SIB06, supportato dall’EMRP (European Metrology Research Programme).

Identification and validation of microRNAs targeting genes of DNA-Damage Response in human lymphocytes irradiated with γ -rays

Mognato M¹, De Pittà C¹, Calura E¹, Girardi C¹, Romualdi C¹, Celotti L^{1,2}

¹*Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Padova, Italy*

²*Laboratori Nazionali di Legnaro, INFN, Legnaro, Padova, Italy*

Ionizing radiation (IR) used in radiotherapy to treat cancer cells is a source of DNA damage, among which double-strand breaks (DSBs) represent the most deleterious lesions. The major problems encountered when treating cancer patients with radiotherapy are toxic side effects and lack of efficacy owing to radioresistance. Many human tumors have a strong DNA repair capacity and so radiation therapy has low efficacy against cancer cells displaying radioresistant phenotypes. Therefore, the possibility to inhibit DNA repair pathways, and in particular DSB repair, may represent an efficient way to sensitize human cells to IR induced killing. In presence of DSBs eukaryotic cells activate a highly regulated system pathway-the DNA-Damage Response (DDR)-which encompasses damage sensors, mediators, signal transducers and effectors of cell cycle progression/arrest, DNA repair and apoptosis. The expression of DDR genes is modulated by microRNAs (miRNAs), small non-coding RNAs that act as post-transcriptional regulators of gene expression by direct association with target transcripts.

The aim of our study is to assess the potential applicability of miRNA delivery in combination with ionizing radiation to increase the cytotoxic effects of IR in cancer cells. Indeed, the delivery into cancer cells of synthetic miRNAs that mimic endogenous miRNAs targeting genes of DDR pathway should perturb such process, making cells more sensitive to IR. To this purpose we are identifying and validating miRNAs targeting genes of DNA repair in human peripheral blood lymphocytes (PBLs) irradiated with γ -rays. We identified miRNA expression changes at two different times after irradiation (4 and 24h), with two different doses of radiation (0.2 and 2Gy) [1]. To improve the detection of target genes of radio-responsive miRNAs we analyzed mRNA expression profiles in irradiated PBLs and we integrated the transcriptome and microRNome to identify miRNAs modulating the expression of DDR genes. Our results show that few miRNA species are candidate to be essential regulators of genes of DDR, in particular, miRNAs targeting ATM, BAX, STAT5A, and genes of DNA repair DDB2, XPC, GADD45A, FANCF, LIG1. The *in vitro* validation with quantitative real-time PCR (qRT-PCR) and luciferase reporter assay confirmed several of the miRNA-mRNA interactions identified.

Referenze

[1] C. Girardi, C. De Pittà, S. Casara, G. Sales, G. Lanfranchi, L. Celotti, M. Mognato, Analysis of miRNA and mRNA expression profiles highlights alterations in ionizing radiation response of human lymphocytes under modeled microgravity. PLoS ONE 7(2):e31293, 2012.

Effetto dell'esposizione a raggi X sulla proliferazione e sul ciclo cellulare in cellule linfoblastoidi derivate da pazienti affetti da sindrome di Shwachman-Diamond.

Morini J^{1,2,3}, Babini G^{2,3}, Baiocco G^{2,3}, Nacci L¹, Maccario C⁴, Liotta M⁵, Tabarelli de Fatis P⁵, Minelli A¹, Savio M⁴, Ottolenghi A^{2,3}, Danesino C¹

¹*Dipartimento di Medicina Molecolare, Sezione di Biologia e Genetica Medica, Università di Pavia, via Forlanini 14, Pavia, Italy*

²*Dipartimento di Fisica, Università di Pavia, via Bassi 6, Pavia, Italy*

³*INFN-Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione di Pavia, via Bassi 6, Pavia, Italy*

⁴*Dipartimento di Medicina Molecolare, Sezione di Immunologia e Patologia Generale, Università di Pavia, via Ferrata 9, Pavia, Italy*

⁵*Servizio di Fisica Sanitaria, Fondazione Salvatore Maugeri-IRCCS, via Maugeri 10, Pavia, Italy*

Introduzione: La sindrome di Shwachman-Diamond è una patologia ereditaria caratterizzata da insufficienza pancreatica esocrina, anomalie scheletriche, neutropenia, leucemia e mielodisplasia [1]. La proteina SBDS è coinvolta in processi quali risposta a stress, biogenesi ribosomiale e metabolismo del DNA. A causa dell'elevato numero di radiografie alle quali i pazienti sono soggetti, e dell'elevata probabilità di trapianto di midollo osseo, si rende indispensabile una maggiore conoscenza dei meccanismi coinvolti nella risposta alle radiazioni in modelli SDS.

Scopo della Ricerca: Valutare la radiosensibilità di cellule linfoblastoidi derivate da pazienti SDS, ad es. attraverso la proliferazione cellulare ed analisi del contenuto di DNA.

Materiali e Metodi: Dopo isolamento ed immortalizzazione di linfociti da sangue periferico, le linee cellulari sono state irraggiate con raggi X (2÷5Gy). La proliferazione cellulare e la distribuzione lungo il ciclo cellulare sono state valutate nell'arco di 48h dall'irraggiamento.

Risultati: La proliferazione delle cellule SDS è molto variabile tra i pazienti analizzati: due tra questi presentano un andamento simile al controllo, mentre un terzo mostra una proliferazione ridotta. L'analisi del contenuto di DNA nel controllo mostra un aumento di cellule in G2/M, che torna alla normalità in 48h. Dopo l'irraggiamento, le cellule SDS mostrano un incremento nella frazione G2/M e solo un paziente recupera la distribuzione originale.

Conclusioni: Nei pazienti, l'esposizione a radiazioni ionizzanti influenza la proliferazione cellulare, inducendo anche modificazioni nell'analisi del contenuto di DNA compatibili con l'attivazione di checkpoint. I dati suggeriscono un ruolo di SBDS nei pathway di risposta al danno, evidenziando come le cellule SDS siano più sensibili all'esposizione a raggi X.

Acknowledgments: Questo lavoro è stato parzialmente finanziato dall'Associazione Italiana Sindrome di Shwachman (AISS) e dalla Commissione Europea (EC Contract FP7 EURATOM "DoReMi").

[1]HL Ball. Shwachman-Bodian Diamond syndrome is a multi-functional protein implicated in cellular stress responses. *HumMolGenet*, 18:3684-95(2009).

STUDIO IN VITRO DELLA PERTURBAZIONE INDOTTA DALLA RADIAZIONE SULLA RISPOSTA INFIAMMATORIA

Babini G.^{1,2}, Morini J.^{1,2,3}, Mariotti L.^{1,2}, Siragusa M.^{1,2}, Baiocco G.^{1,2}, Liotta M.⁴,
Tabarelli de Fatis P.⁴, Ottolenghi A.^{1,2}

¹*Dipartimento di Fisica, Università di Pavia, Pavia, Italy*

²*INFN, Sezione di Pavia, Pavia, Italy*

³*Dipartimento di Medicina Molecolare, Sezione di Biologia e Genetica Medica,
Università di Pavia, Pavia, Italy*

⁴*Servizio di Fisica Sanitaria, Fondazione Salvatore Maugeri-IRCCS, Pavia, Italy*

La risposta infiammatoria è stata ampiamente studiata nel corso degli scorsi 25 anni, mostrando le sue complesse interazioni con le principali funzioni cellulari, dalla sopravvivenza ai meccanismi legati alla morte della cellula stessa, nonché il suo coinvolgimento attivo nell'insorgenza di malattie croniche e tumori.

Uno degli aspetti chiave di questo pathway, e in particolare del suo principale protagonista NF- κ B, è la capacità di reagire a una grande varietà di stimoli, sia in termini di tipologia (proteine di segnalazione, stress ambientale, radiazioni ionizzanti) che di intensità, alterando le funzioni cellulari e di conseguenza l'equilibrio globale, per esempio con l'induzione di meccanismi apoptotici.

In questo contesto, in letteratura sono presenti numerosi articoli in cui è stato studiato l'effetto di diverse qualità della radiazione (e.g. [1]), del ruolo dell'LPS nell'indurre una risposta infiammatoria acuta o cronica ed infine del ruolo di altre molecole e proteine in grado di attivare una cascata di segnali che, a loro volta, causano il rilascio di una miriade di segnali intra- ed extra- cellulari.

In questo lavoro è stato adottato un approccio integrato teorico/sperimentale per studiare questo complesso scenario, per comprendere meglio le dinamiche temporali non-lineari delle varie molecole coinvolte.

Alcune molecole coinvolte nel pathway dell'NF- κ B sono state misurate in seguito ad esposizione a raggi X (fino a 5Gy) o trattamento con LPS (0, 5 e 50 ng/ml), attraverso saggio ELISA, Western Blot o immunofluorescenza, per carpire la loro localizzazione spaziale e la loro dinamica temporale di attivazione.

Risultati preliminari mostrano come l'esposizione a raggi X non sia il maggior stress ad incidere sulle cellule, e possa essere nascosto da altri stimoli co-esistenti (es. cambio di terreno, trattamento con LPS, stress ambientale).

Questi risultati confermano pertanto l'enorme complessità del pathway infiammatorio, suggerendo l'ipotesi secondo cui la sua attivazione potrebbe essere indotta non solo dalla risposta al danno al DNA indotto da radiazioni ionizzanti, ma anche da una disfunzione mitocondriale o del reticolo endoplasmatico.

Acknowledgments: Questo lavoro è stato supportato parzialmente dalla Commissione Europea (EC Contract FP7 EURATOM Projects "DoReMi" and "EpiRadBio").

[1] Hellweg CE et al. "Activation of the nuclear factor κ B pathway by heavy ion beams of different linear energy transfer" Int J Radiat Biol., 2011 Sep;87(9):954-63.

Caratterizzazione dell'origine fisica dell'efficacia biologica dei neutroni

G. Baiocco^{1,2}, D. Alloni^{1,2,3}, G. Babini^{1,2}, L.G. Mariotti^{1,2}, J. Morini^{1,2,4},
E. Schmitt⁵, P. Kunderát⁵, W. Friedland⁵, A. Ottolenghi^{1,2}

¹ *Dipartimento di Fisica dell'Università di Pavia, Pavia, Italia*

² *INFN Sezione di Pavia, Pavia, Italia*

³ *LENA, Università di Pavia, Pavia, Italia*

⁴ *Dipartimento di Medicina Molecolare, Sezione di Biologia e Genetica Medica,
Università di Pavia, Pavia, Italia*

⁵ *Institute of Radiation Protection, Helmholtz Zentrum München – German Research Center for
Environmental Health, Neuherberg, Germania*

I dati epidemiologici disponibili relativi alla carcinogenesi nell'uomo indotta da esposizione a neutroni non permettono di stabilire con certezza una relazione di tipo dose-risposta, e allo stadio attuale l'efficacia biologica dei neutroni è stabilita sulla base di misure radiobiologiche su linee cellulari e modelli animali. L'efficacia biologica relativa (RBE) dei neutroni dipende fortemente dall'energia, ed è massima per neutroni da ~1 MeV. Ciò si riflette nella scelta dei fattori di peso w_R ai fini della radioprotezione. I w_R sono fissati indipendentemente dall'*endpoint*, dal tipo di tessuto, dal *dose rate* e dalle condizioni di esposizione: prevedibilmente, un confronto tra i diversi standard adottati (ICRP, U.S.NRC) rivela che il valore assoluto di tali fattori dipende dal set di dati biologici utilizzati per la valutazione.

In questo contesto, lo studio presentato si prefigge lo scopo di risalire all'origine fisica del danno biologico indotto da neutroni, attraverso la modellizzazione del danno al DNA e di come questo varia al variare delle caratteristiche del campo di neutroni incidente. È noto che il danno al DNA non esaurisce in alcun modo la gamma di effetti cellulari legati all'azione della radiazione, ma viene qui proposto come un pratico strumento per quantificare le proprietà di *clustering* della radiazione e determinare in modo univoco l'efficacia biologica dei campi di radiazione presi in esame.

La caratterizzazione dell'efficacia biologica dei neutroni passa attraverso una prima fase di modellizzazione a livello microscopico del campo misto di radiazione secondaria generato dalle interazioni dei neutroni stessi: a questo scopo è necessario ricorrere a codici di trasporto Monte Carlo, ad esempio PHITS. I risultati della simulazione di trasporto possono poi essere utilizzati come input per un codice di struttura di traccia che sia in grado di tener conto delle basse energie delle particelle secondarie in gioco, e che sia accoppiato a una descrizione realistica del DNA come bersaglio della radiazione. Il codice PARTRAC soddisfa tali requisiti, ed è stato dunque utilizzato in maniera combinata con il codice di trasporto PHITS per ottenere una stima del danno biologico indotto da neutroni con energie attorno al MeV.

L'attività di ricerca è finanziata nell'ambito del VII Programma Quadro - Progetti Euratom DOREMI (INITIUM) e ANDANTE.

Gamma sterilization of pharmaceuticals: evaluation of the effects on polymer based products

R. Dorati, I. Genta, T. Modena, B. Conti

Dept. drug Sciences, University of Pavia, Viale Taramelli 12, 27100, Pavia

Gamma irradiation is the most popular and well established method for sterilizing polymer-based medical devices. Indeed, it is the best choice for the sterilization of polymeric drug delivery systems such as micro, nano-particles and implants intended for parenteral administration [1]. Prior to using gamma radiations for sterilization of healthcare products, it is essential to determine whether the radiation treatment may have any effect on the materials. Because each polymer reacts differently to ionizing radiation, it is important to verify that the maximum dose administered during the sterilization process does not adversely affect the quality, the safety and the performance of the product throughout its shelf life [2].

It is well-known that radio-sterilization introduces structural changes that may be detrimental to the integrity and performance of the polymer or polymeric system, limiting their useful working life [3, 5]. High-energy radiations generally produce radicals, which in turn may produce more radicals through chain scission, chain transfer quench radicals recombination, or cross linking. The stabilization process occurs during, immediately after, or even days, weeks, or months after irradiations and often results in physical and chemical cross linking or chain scission reactions. Irradiation can modify many important physical and chemical properties of polymers such as molecular weight, chain length, polydispersity, branching and chain termination. Understanding how and to which extent these characteristics can be altered as a function of the level of radiation exposure (dose) is crucial to predict the performance of irradiated polymers and consequently of polymeric systems [4].

25 kGy represent the minimum absorbed dose considered adequate for the purpose of sterilizing pharmaceutical products without providing any biological validation [6]. Lower doses can be used if a validation study has been carried out [6].

Main aspects to be considered include the effect of the sterilization technique on drug and polymer, potential drug-polymer interaction, changes in their physico-chemical properties, degradation and functional properties. On this purpose, some recently developed experimental work focused on biodegradable microparticulate drug delivery systems will be discussed.

[1] Silindir M. et al *PDA J Pharm Sci Technol.* 66(2), 184-99, 2012.

[2] Hasanain F. et al *PDA J Pharm Sci Technol.* 68(2), 113-37, 2014.

[3] Dorati R. et al *J. Biomat. Science* 23: 2223–2240, 2012.

[4] Dorati R. et al *AAPS PharmSciTech* 9(2), 718-725, 2008.

[5] Dorati R. et al *AAPS PharmSciTech* 9(4), 110-1118, 2008.

[6] Conti B. et al *Drug Delivery Science and Technology* 19(2), 73-152, 2009.

Poster

Effect of the telomeric G-quadruplex ligand RHPS4 in NHEJ-proficient (M059K) and -deficient (M059J) glioblastoma cell lines

F. Berardinelli, M. De Piano, C. Tanzarella, A. Sgura, A. Antoccia

Dip. di Scienze, Università “Roma Tre”, V.le G. Marconi 446, 00146 Roma, Italy

G-quadruplex (G4) interacting agents are a class of ligands able to bind to and stabilize secondary structures located in genomic G-rich regions such as telomeres. Stabilization of G4 leads to telomere architecture disruption and consequent detrimental effects on genome stability and cell proliferation, since dysfunctional telomeres are recognized as DSBs. To analyze the relationship between dysfunctional telomeres and the function of non-homologous end-joining pathway (NHEJ), M059K and M059J human glioblastoma cells (proficient and deficient in DNA-PKcs activity, respectively) were exposed to RHPS4, one of the most effective and studied G4 ligands with a very high specificity for telomeric G4.

Preliminary data will be presented regarding the impact of micromolar concentrations of RHPS4 on cell growth reduction, cell cycle, phosphorylation of H2AX histone, induction of telomere-induced dysfunctional foci and cytogenetic effects.

ACKNOWLEDGEMENTS

Supported by INFN CSN5 (Experiment RDH).

Studio EPR di dosimetri Fricke (gel e soluzioni) irraggiate con raggi gamma a bassa temperatura

A. Buttafava¹, D. Dondi¹, G. D'Agostino², G. Liosi³, A. Zeffiro¹

¹ Dipartimento di Chimica, Università di Pavia

² Istituto Nazionale di Ricerca Metrologica

³ Dipartimento di Energia, Politecnico di Milano

La dosimetria col metodo di Fricke è basata su una soluzione acida di ferro ammonio solfato. Per irraggiamento della soluzione, si ha una conversione dello ione ferroso, Fe^{2+} , in ione ferrico, Fe^{3+} , grazie alla presenza dell'ossigeno disciolto [1, 2]. L'esigenza di preparare dosimetri in grado di valutare la distribuzione spaziale della dose, determinata dalla crescente complessità delle tecniche radioterapiche, ha portato allo sviluppo di matrici geliformi, contenenti la tradizionale soluzione di Fricke [3]. L'intenso lavoro che ha portato al miglioramento delle proprietà dosimetriche dei gel-Fricke, non è tuttavia stato sostenuto da un'adeguata comprensione dei fenomeni radiolitici derivanti dall'introduzione dei vari additivi [4]. Lo sviluppo è quindi avvenuto con un approccio prevalentemente fenomenologico, senza approfondire i meccanismi chimici alla base dei fattori che influenzano le proprietà del dosimetro. I campioni sono stati congelati a 77K e irraggiati alla stessa temperatura con raggi gamma. Successivamente si è riscaldato il campione e riportato a bassa temperatura per la misura. Questa procedura è stata utilizzata per lo studio dei radicali primari formati a seguito dell'irraggiamento. Riscaldando il campione, l'incrementata mobilità radicalica permette lo sviluppo di reazioni chimiche. In questo modo è possibile studiare lo sviluppo di specie secondarie assieme alla loro caratterizzazione. L'irraggiamento a bassa temperatura porta, come aspettato, alla formazione delle specie radicaliche OH e HO₂ (secondo il noto meccanismo di radiolisi del ghiaccio). E' anche apprezzabile la formazione di specie radicaliche appartenenti alla matrice organica, anche se questa è presente in concentrazione ridotta (3% w/w). Queste specie potrebbero formarsi sia da una radiolisi diretta della matrice sia dalla radiolisi dell'acqua legata alla matrice. Riscaldando il campione, le specie reattive dell'acqua reagiscono formando radicali perossidici alchilici (più stabili). Da notare come questo avvenga decisamente prima della fusione del ghiaccio, fatto che indica una elevata mobilità delle specie.

1. Fricke H., Morse S., The chemical action of Roentgen rays on dilute ferrosulphate solutions as a measure of dose, *Am. J Roent. Radium Ther. Nucl. Med.*, 18 430–432 (1927)

2. Sutton H. C., A calibration of the Fricke chemical dosimeter, *Physics in Medicine and Biology*, 1 153 (1956)

3. Gore J.C., Yang Y.S., Schulz R.I., Measurement of radiation dose distributions by nuclear magnetic resonance (NMR) imaging, *Phys. Med Biol.* 29, 1189-97 (1984)
4. Schreiner L.J., Review of Fricke gel dosimeters, *Journal of Physics: Conference Series* 3, 9-21 (2004)

La radioprotezione in medicina: quale (in)formazione?

Campanella F¹, Giroletti E², Micheletti P³, Rossi L¹, Villani S³

¹*Scuola di Specializzazione in Igiene e Medicina Preventiva - Università di Pavia*

²*Dipartimento di Fisica - Università di Pavia e INFN sezione di Pavia*

³*Dipartimento di Sanità Pubblica, Medicina Sperimentale e Forense - Università di Pavia*

L'introduzione di nuove tecnologie di radiodiagnostica in medicina ha causato un rapido aumento annuo delle procedure eseguite e una notevole crescita della dose collettiva di esposizione. Tale incremento implica che il rischio associato all'esposizione a radiazioni ionizzanti, sebbene contenuto a livello individuale, si possa tradurre in futuro in un aumento nel numero di tumori nell'intera popolazione esposta.

Per evitare l'inappropriata esposizione del paziente, il medico che prescrive o esegue indagini che comportano l'utilizzo di radiazioni ionizzanti deve essere in grado di giustificarle, utilizzando le proprie nozioni riguardo le dosi impartite e i possibili detrimenti da esse conseguenti. I dati della recente letteratura sottolineano tuttavia una conoscenza inadeguata dei medici riguardo le dosi e gli effetti delle radiazioni ionizzanti derivanti dalle metodiche diagnostiche.

Lo scopo principale del nostro studio è valutare le conoscenze dei medici della Provincia di Pavia riguardo l'esposizione alle radiazioni ionizzanti dei pazienti sottoposti a comuni procedure radiologiche.

Lo studio è stato realizzato con la collaborazione dell'Ordine dei Medici Chirurghi e Odontoiatri della provincia di Pavia ed approvato dal Comitato Etico dell'Università di Pavia.

L'indagine è stata condotta da marzo a maggio 2013. I soggetti sono stati arruolati tramite posta ordinaria e/o e-mail. Le informazioni sono state raccolte in formato anonimo attraverso un questionario accessibile su piattaforma on-line tramite inserimento di login e password.

Hanno partecipato all'indagine 419 medici. Lo score medio sulle conoscenze è risultato essere di 62,29% sull'intero campione. Gli specialisti in Radiologia, Medicina Nucleare e Radioterapia hanno ottenuto un punteggio significativamente maggiore rispetto ai medici con altra specializzazione. Solamente il 3,34% dei rispondenti ha indicato correttamente la dose efficace, in termini di RX torace equivalenti, di una serie di comuni procedure radiologiche. Il 54,89% ha individuato nella TC la metodica che contribuisce maggiormente alla dose collettiva per la popolazione italiana. L'8,35% ordina correttamente le tre fonti indicate (procedure mediche, incidente di Chernobyl e Fukushima, fondo naturale) in base al contributo di dose alla popolazione.

I risultati dello studio mostrano un livello di conoscenza dei medici complessivamente superiore ai dati emersi dalla letteratura internazionale, tuttavia si sono evidenziati gap su specifici argomenti che rilevano la necessità di implementare le conoscenze attraverso corsi di formazione e di aggiornamento specifici.

Il cross-talk tra Shh e TGF- β promuove lo sviluppo di cataratta radio-indotta in topi *Ptch1*^{+/-}

I. De Stefano², B. Tanno¹, P. Giardullo², S. Leonardi¹, E. Pasquali¹, F. Antonelli¹, M. Tanori¹, A. Casciati¹, S. Pazzaglia¹, A. Saran¹ and M. Mancuso¹

¹ENEA, Roma, Italia; ² Università Guglielmo Marconi, Roma, Italia

La cataratta rappresenta la malattia oculare più diffusa al mondo; essa può avere varie cause, tra le quali vi sono l'invecchiamento, i traumi, malattie oculari e sistemiche (quali il diabete), difetti ereditari o congeniti, l'assunzione di farmaci e l'esposizione a radiazioni. L'occhio è uno dei tessuti più radiosensibili del corpo ed infatti l'esposizione ad alte dosi (> 2 Gy) di radiazioni ionizzanti causa insorgenza di cataratta. Studi dell'ultimo decennio indicano che esiste il rischio di opacizzazione del cristallino a dosi inferiori a 1 Gy e molto recentemente l'ICRP ha accettato la soglia di 0,5 Gy.

Per indagare sui meccanismi molecolari che guidano l'insorgenza di cataratta in seguito ad esposizione a radiazioni ionizzanti è stato utilizzato un noto modello murino estremamente radiosensibile, eterozigote per il gene *Ptch1* (*Ptch1*^{+/-}), il principale regolatore negativo del pathway di Shh. Irraggiando topi *Ptch1*^{+/-} in diversi momenti della vita post-natale, abbiamo osservato la mancanza di cataratta quando l'irraggiamento è avvenuto ai giorni di vita postnatale (P)10 e P56, rispettivamente corrispondenti ad un quasi completo sviluppo della lente e ad un giovane adulto. Al contrario, irraggiando a P2 (una fase molto precoce di sviluppo della lente), i topi sviluppano cataratta con una incidenza pari al 45%, rispetto ai topi *Ptch1*^{+/-} non irraggiati. Questi risultati indicano una chiara finestra di suscettibilità e suggeriscono un sinergismo tra la deregolazione del pathway di Shh e le radiazioni ionizzanti, tale da alterare la transizione epitelio-mesenchimale (EMT) con formazione di cataratta classificata come subcapsulare anteriore. L'analisi istologica e immunoistochimica delle cellule epiteliali della lente (LEC) a P2 e a tempi diversi post-irraggiamento, ha mostrato un legame tra la proliferazione e la proprietà staminali delle LEC, rigorosamente controllato da Shh. Inoltre, l'analisi molecolare condotta a tempi brevi dall'irraggiamento sulla lente di topi *Ptch1*^{+/-} ha evidenziato l'attivazione della via di segnalazione TGF- β /Smad e l'incremento dell'espressione di due marcatori mesenchimali quali Zeb1 e Vim.

Nell'insieme i risultati ottenuti suggeriscono un feedback positivo tra il pathway di SHH e TGF- β che, convergendo entrambi sul fattore di trascrizione Nanog, determinano l'attivazione aberrante dell'EMT, principale meccanismo molecolare di sviluppo della cataratta da radiazione.

Una nuova tecnologia richiede una nuova radiobiologia?

Dini Valentina^{1,2}, Pecchia Ilaria¹, Esposito Giuseppe^{1,2}, Anello Pasquale¹, Balduzzi Maria^{2,3}, Fratini Emiliano⁴, Ricci-Vitiani Lucia⁵, Biffoni Mauro⁵, Runci Daniele⁵, Pallini Roberto⁶, Strigari Lidia⁷, D'Andrea Marco⁷, Tabocchini Maria Antonella^{1,2}

¹ *Dip. Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

² *INFN Sez. Roma1-Gr. coll. Sanità, Roma*

³ *ENEA-CASACCIA, Roma*

⁴ *Museo storico della fisica e Centro Studi e Ricerche "E. Fermi", Roma*

⁵ *Dip. Ematologia Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

⁶ *Dip. Neurochirurgia, Università Cattolica di Roma*

⁷ *Lab. di Fisica Medica e Sistemi Esperti dell'Istituto Regina Elena, Roma*

Lo sviluppo di acceleratori lineari senza filtro di appiattimento (Flattening Filter, FF) per radioterapia ha aperto la possibilità di aumentare la dose istantanea al paziente. Utilizzando campi relativamente piccoli, l'irradiazione senza FF accorcia i tempi di trattamento riducendo le problematiche legate al movimento del paziente e aumentandone il comfort.

Dati radiobiologici riguardanti queste tipologie di esposizione sono molto limitati e i pochi risultati discordanti. E' quindi importante ottenere ulteriori informazioni sugli effetti biologici di questa rispetto ad altre modalità di esposizione, utilizzando sistemi cellulari modello. Nel presente studio è stato utilizzato l'acceleratore lineare TrueBeamTM dell'Istituto Regina Elena (Roma) per studiare l'effetto sull'inattivazione cellulare di diversi dose-rate e diversa frequenza di ripetizione dell'impulso (4 Gy/min con o senza FF e 24 Gy/min senza FF). L'effetto principale della rimozione del FF in un campo 4x4 cm² è un ammorbidimento globale dello spettro di energia sopra la zona irradiata con un aumento della fluenza dei fotoni.

Gli esperimenti sono stati condotti usando fibroblasti polmonari di Hamster cinese V79. Queste cellule sono molto stabili, ampiamente utilizzate in letteratura e rappresentano un sistema biologico robusto e sensibile per mettere in evidenza eventuali piccole differenze di diversi trattamenti. Curve dose-risposta per la sopravvivenza cellulare sono state ottenute nell'intervallo di dose 1-10 Gy. Ulteriori esperimenti sono stati condotti utilizzando due linee cellulari staminali di glioblastoma (GSCs), denominate GSC#1 e GSC#83, isolate da campioni chirurgici provenienti da pazienti con simile localizzazione del tumore, sesso ed età, ma diverso esito clinico. Entrambe le linee sono state irradiate nell'intervallo di dosi 5-40 Gy.

I risultati ottenuti da esperimenti condotti con le V79 e GSCs non hanno mostrato differenze significative tra le diverse modalità di irradiazione impiegate. Nel complesso i dati suggeriscono che il vantaggio di ridurre i tempi di trattamento con fasci senza FF non è inficiato da cambiamenti significativi di efficacia radiobiologica.

Phase state effects on the chemical radiation damage of biological systems

D. Dondi¹, A. Buttafava¹, A. Zeffiro¹, R. Cherubini², V. DeNadal², S. Gerardi², A. Faucitano¹

¹ Dipartimento di Chimica, Università di Pavia, Italy

² Laboratori Nazionali di Legnaro, INFN, Padova, Italy

The radiation damage in solid heterogeneous biological systems is bound to be severely influenced by the phase microstructure which may control the distribution, life time and reaction probability of the primary reactive species. This is a consequence of the fact that each solid phase behaves like an isolated reactor from which, only on melting or at the softening of the matrix, the originally trapped species are partially released and made available for interphase reactions. During long storage in a cryogenic state cells are exposed to the effects of environmental radiations (0.1 Sv/50y) in conditions which are very peculiar with respect to room temperature storage. With few exceptions (H atoms, electrons) radiolytic species will remain inactive and accumulate in the frozen medium up to the melting. On warming, such species will be released at once giving rise to unusual reaction kinetics for the indirect radiobiological damage which favour radical couplings with respect to radical-molecule reactions [1-3]. Object of the investigation are 2.5×10^7 cells/mL V-79 cells suspensions in a freezing medium with 10% DMSO (dimethyl sulfoxide). The irradiations were carried out at 77 K with 60-Co γ rays in the dose range 0.5 Gy – 10 kGy. The investigation has been focused on the reactive paramagnetic species which were studied by matrix EPR spectroscopy. The EPR measurements on the solid state radiolysis of pure H₂O/DMSO mixtures showed the absence of low-dose effects in the range 0.5 - 6×10^3 Gy. The experiments with V-79 cells have afforded evidence of contributes to radical damage arising from both the direct and indirect radiolysis mechanisms. Moreover, the coupling reaction with the stable nitroxyl radical TEMPOL (2,2,6,6-tetramethyl-piperidin-4-olo-N-oxyl) has been used to test the ability of DMSO and H₂O radicals to react, on phase melting, with external substrates.

1. D. Dondi, A. Buttafava, A. Zeffiro, R. Cherubini, V. DeNadal, S. Gerardi, A. Faucitano, 2011, *The origin of the radiobiological damage in cells stored in cryostatic conditions*

Radiat. Phys. Chem., 81, 9, 1445-1450 (2012)

2. D. Dondi, A. Buttafava, A. Faucitano, R. Cherubini, V. De Nadal, S. Gerardi

EPR study on the effect of the cryoconservation state on the free radical radiobiological damage to cells. International EUCHEM Conference on Organic Free Radicals, Bologna, June 28-july 2 (2010)

3. D. Dondi, A. Buttafava, A. Faucitano, R. Cherubini, V. De Nadal, S. Gerardi

The solid state radiolysis of the H₂O/DMSO binary system: the origin of radiobiological damage of cells in cryostatic conditions; 12th Tihany Symposium on Radiation Chemistry, Zalakaros, Hungary, August 27-September 1 (2011)

Nuovi composti fenolici per dosimetria a risonanza di spin elettronico (ESR) in campo misto neutroni-gamma

M.Marrale^{1,2}, M.Brai^{1,2}, A.Longo^{1,2}, S.Panzeca¹, S.Gallo^{1,2}, E.Tomarchio³, A. Buttafava⁴, D. Dondi⁴, A. Parlato³, A. Zeffiro⁴

¹*Dipartimento di Fisica e Chimica (DiFC), Viale delle Scienze, Ed.18, 90128 Palermo, Italy*

²*Gruppo V, INFN, Sezione di Catania, Catania, Italy.*

³*Dipartimento Energia, Ingegneria dell'Informazione e Modelli Matematici (DEIM), Viale delle Scienze, Ed.6, 90128 Palermo, Italy*

⁴*Università di Pavia e INFN, Sezione di Pavia, Pavia*

Email: alberto.zeffiro@unipv.it

Il crescente interesse mostrato, negli ultimi decenni, dalla comunità scientifica verso la radioterapia a cattura neutronica (Neutron Capture Therapy – NCT) per il trattamento del cancro ha stimolato diverse attività di ricerca finalizzate alla caratterizzazione dei fasci utilizzati e all'ottimizzazione delle procedure radioterapiche. Per il corretto esito del trattamento NCT e il controllo continuo della dose impartita non si può tralasciare la valutazione delle varie componenti del fascio impiegato (neutronica e fotonica). È noto che durante le procedure di moderazione dei neutroni si ha produzione di fotoni, risulta pertanto fondamentale stimare i rischi a cui sono soggetti i tessuti sani sottoposti al campo misto. In questo lavoro abbiamo studiato la risposta di particolari composti fenolici con e senza aggiunta gadolinio (Gd) tramite Risonanza di Spin Elettronico (ESR). I campioni sono stati esposti ad un campo misto (neutroni, gamma) composto principalmente da neutroni termici e ad un fascio di fotoni da ⁶⁰Co. In particolare è stato studiato il fenolo *octadecyl-3-(3,5-di-tert.butyl-4-hydroxyphenyl)-propionate* che ha mostrato interessanti risultati in termini di applicazioni dosimetriche. Questo composto in seguito ad irraggiamento dà un fenossi-radiale stabile. Inoltre, il suo elevato peso molecolare, la bassa volatilità e la compatibilità con il materiale che funge da legante (paraffina) rappresentano particolari vantaggi rispetto a fenoli con peso molecolare inferiore. La scelta del gadolinio come additivo è motivata dalla sua elevata sezione d'urto per il fenomeno della cattura di neutroni termici. È stata condotta un'indagine preliminare sulle caratteristiche dosimetriche di questi nuovi materiali in termini della loro risposta ESR. In particolare, abbiamo analizzato gli spettri ESR di questi composti, la loro dipendenza dalla potenza a microonde e dall'ampiezza di modulazione scelte per la registrazione del segnale, la risposta all'irraggiamento a gamma e neutroni, i limiti di rilevazione per entrambe le tipologie di fascio e la stabilità del segnale ESR dopo l'irraggiamento.

The IRIDE and Virtual-IRIDE projects

R. Faccini^{1,2}, A. Pietropaolo³, L. Quintieri⁴, P. Valente²

1. Università La Sapienza di Roma, 2. INFN-Sez. di Roma, 3. ENEA-C.R. Frascati, 4. ENEA-C.R. Casaccia

We will discuss the idea and the status of the IRIDE project, a proposed innovative tool for multi-disciplinary investigations in a wide field of scientific, technological and industrial applications[1]. IRIDE is designed to be a high intensity “particle factory”, based on a combination of a high duty cycle radio-frequency superconducting electron linac and of high energy lasers. The produced radiation spans from photons (from THz to X-rays), electrons, neutrons and positrons. Conceived to provide unique research possibilities for particle physics, for condensed matter physics, chemistry and material science, for structural biology and industrial applications, IRIDE will open completely new research possibilities and advance our knowledge in many branches of science and technology. IRIDE will contribute to open new avenues of discoveries and to address most important riddles: What does matter consist of? What is the structure of proteins that have a fundamental role in life processes? What can we learn from protein structure to improve the treatment of diseases and to design more efficient drugs? But also how does an electronic chip behave under the effect of radiations? How can the heat flow in a large heat exchanger be optimized?

The scientific potential of IRIDE is far reaching and justifies the construction of such a large facility in Italy in synergy with the national research institutes and companies and in the framework of the European and international research. It will impact also on R&D work for ILC, FEL, and will be complementary to other large scale accelerator projects. IRIDE is also intended to be realized in subsequent stages of development depending on the assigned priorities.

Since the project is still awaiting to be funded, a version of the project that makes use of the existing facilities is under study. The idea is to setup a catalogue of the radiation sources available and share these resources, by means of dissemination and administrative help in accessing the infrastructures, with applied and industrial research. Such project, called virtual-IRIDE, will also be discussed.

Bibliography

1. M. Ferrario et al, IRIDE: Interdisciplinary research infrastructure based on dual electron linacs and lasers, NIM A **740**, 138 (2013)

Radiosensitivity differences of adherent vs suspended cell lines exposed to BNCT, Neutrons and Gamma Rays radiations

L. Cansolino^{1,5}, A.M. Clerici¹, P. Dionigi^{1,5}, G. Mazzini², R. Di Liberto⁵, S. Altieri^{3,4}, F. Ballarini^{3,4}, S. Bortolussi^{3,4}, M.P. Carante^{3,4}, M. Ferrari^{3,4}, I. Postuma^{3,4}, N. Protti^{3,4} and Ferrari C.¹

¹*Department of Clinico-Surgical Sciences, Experimental Surgery Laboratory, University of Pavia;*

²*IGM-CNR and Department of Biology and Biotechnologies “L. Spallanzani”, University of Pavia;*

³*Department of Physics, University of Pavia, Italy;*

⁴*INFN (National Institute of Nuclear Physics) Section of Pavia;*

⁵*IRCCS S. Matteo Hospital, Pavia, Italy*

The Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) is a binary radiotherapeutic modality for cancer treatment based on the effects induced to neoplastic cells by high LET particles originated by neutron irradiation of boron loaded cells, $^{10}\text{B}(n,\alpha)^7\text{Li}$. Characterized by a high selectivity its peculiarity is to act at cellular level, delivering a therapeutic dose and thus eradicating cancer cells while sparing normal tissues. *In vitro* studies represent the first step to evaluate the applicability of this alternative radiotherapeutic modality. Cell lines growing as adherent monolayer, can be irradiated following two exposure modalities: adherent to the culture flasks; suspended inside vials. In order to investigate the existence of differences in radiosensitivity, cell survival and cell cycle perturbations were studied respectively by plating assay and flow cytometric DNA analysis. Experiments were set up in the frame of the *in vitro* studies aimed to investigate the feasibility of BNCT applied to liver and lung coloncarcinoma metastases and to limb osteosarcoma; therefore the rat coloncarcinoma, DHDK12TRb, and the osteosarcoma, UMR-106, cell lines were selected.

For ^{60}Co treatment of cell suspensions, subconfluent cells were trypsinized, counted and transferred into polythene tubes housed in a special Plexiglas stand. Adherent cells were irradiated in culture flasks containing the growing medium and subsequently resuspended by trypsinization. Irradiation was performed in electronic equilibrium conditions, at 3.5, 5, 7 and 10 Gy.

Neutron irradiation was performed on untreated and ^{10}B Boronophenylalanine (^{10}BPA) enriched (80 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 4h) cell lines. Cell suspensions were exposed to the neutron flux in polythene tubes housed in a Teflon stand while adherent cells in the culture flasks. In both cases the absorbed dose range was 0.1Gy – 12 Gy.

Cell survival results evidence an higher radiosensitivity of adherent cells to both low and high LET radiations. DNA analyses display an enhanced block in G_2 phase and a delay in cell cycle progression of suspended cells, suggesting the presence of an higher repair capability. The modality of cell exposure to irradiation must therefore be considered as factor influencing cell survival to radiation treatments also in case of BNCT treatment.

Esposizione al sole e abbronzatura artificiale, dosimetria e percezione del rischio

Francesco Frigerio, Fondazione Salvatore Maugeri, Centro di Ricerche Ambientali, Pavia
Massimo Borra, INAIL Laboratorio Agenti Fisici Monte Porzio Catone, Roma

Riassunto

Vengono presentati i metodi per definire l'esposizione a radiazione solare e le unità di misura utilizzate nella dosimetria.

Anche per il pubblico è oggi possibile ottenere una quantificazione del rischio di eritema da informazioni ricavabili sui siti meteo; queste valutazioni possono essere paragonate con i parametri che i centri estetici devono rispettare in base ad un Decreto emanato nel 2011.

Si dimostra facilmente che l'abbronzatura artificiale, se ottenuta entro i parametri legali, è confrontabile con esposizioni naturali difficilmente sono raggiungibili nel contesto italiano.

Per diverse ragioni legate al costume e alla scarsa informazione sulla questione, la maggior parte dei centri estetici utilizza apparecchiature che comportano un'esposizione ben superiore a quella consentita dalla norma.

Sensibilità e stabilità dei dosimetri gel di tipo Fricke esposti ai fotoni nel range clinico in funzione della concentrazione di ferro e degli additivi presenti: 3D MRI per applicazioni dosimetriche

S.Gallo¹, M.Marrale¹, M. Brai¹, C.Gagliardo³, A.Longo¹, L.Tranchina⁴, F.d'Errico⁵

¹*Dipartimento di Fisica e Chimica, Viale delle Scienze, Ed. 18, 90128 Palermo, Italy e Gruppo V INFN - Sezione di Catania, Catania, Italy.*

²*PH3DRA Laboratories (PHysics for Dating Diagnostic Dosimetry Research and Applications), Dipartimento di Fisica e Astronomia, Università di Catania.*

³*Dipartimento di Biopatologia e Biotecnologie Mediche e Forensi - Sezione di Scienze Radiologiche, Università di Palermo, Via del Vespro, 127, 90127 Palermo, Italy.*

⁴*Laboratorio di Fisica e Tecnologie Relative - UNINETLAB, Università di Palermo Viale delle Scienze, Edificio 18, 90128 Palermo, Italy.*

⁵*Dipartimento di Ingegneria Civile e Industriale, Università di Pisa, Largo Lucio Lazzarino, 2 56126 Pisa, Italy.*

email: Salvatore.gallo05@unipa.it

L'esito positivo dei trattamenti radioterapici è fortemente influenzato dal corretto impiego delle radiazioni ionizzanti utilizzati e dalla pianificazione del trattamento in termini di dose somministrata nei tessuti e la sua mappatura in tre dimensioni.

L'interesse sulle applicazioni dei gel di tipo Fricke in ambito dosimetrico è in continuo aumento per via dei particolari vantaggi associati all'uso di questa tipologia di dosimetro. La dosimetria con gel Fricke si basa sulla ossidazione degli ioni ferrosi (Fe^{2+}) in ioni ferrici (Fe^{3+}) all'interno di una matrice gelatinosa a seguito di irraggiamento. La matrice di gel rallenta la diffusione degli ioni ferrosi (Fe^{2+}) e ferrici (Fe^{3+}) permettendo un'analisi della distribuzione spaziale di dose anche dopo un certo intervallo di tempo dall'irraggiamento. Inoltre, il gel favorisce l'ossidazione degli ioni ferrosi durante l'irraggiamento, in modo da aumentare la resa chimica degli ioni ferrici e quindi la sensibilità dei dosimetri.

I gel Fricke utilizzati nel presente sono stati irradiati con fasci di fotoni (LINAC) nel range clinico tra 0 e 20 Gy presso il reparto di radioterapia dell'Ospedale Civico di Palermo.

Lo scopo di questo lavoro è l'analisi tramite risonanza magnetica nucleare (NMR) delle proprietà di rilassamento protonico dei gel dosimetrici da noi preparati, al variare della concentrazione dei centri paramagnetici (Fe^{3+}) prodotti al variare della dose di irraggiamento.

Le analisi NMR sono state affiancate da acquisizioni di *imaging* a Risonanza Magnetica Nucleare (MRI) utilizzata in ambito ospedaliero.

Per valutare la sensibilità a fotoni, abbiamo studiato la dipendenza dei tempi di rilassamento nucleari longitudinali dalla dose, dalla concentrazione di solfato di ammonio ferroso contenuto all'interno dei gel (da 0.5 mM a 5.0 mM) e dalla presenza di indicatori ottici degli ioni metallici. Inoltre, è stata monitorata la stabilità del segnale per diversi giorni dopo l'irraggiamento. Le acquisizioni MRI sono state finalizzate alla mappatura 3D della dose su fantocci estesi. Al fine di massimizzare il contrasto delle immagini MRI pesate in T_1 acquisite tramite sequenze di inversion recovery è stato effettuato uno studio dei parametri caratterizzanti le sequenze di misura (tempo di ripetizione e tempo di inversione). Vengono presentati e discussi i risultati ottenuti in relazione ad applicazioni dei dosimetri gel Fricke in ambito radioterapico. Questo lavoro evidenzia come valutazioni dosimetriche non possono prescindere dall'ottimizzazione della concentrazione degli additivi.

GENE AMPLIFICATION IN MAMMALIAN CELL LINES HYPERSENSITIVE TO IONIZING RADIATION

Alexandra Smirnova, Lela Khoriauli, Marco Santagostino, Solomon Nergadze and Elena Giulotto

Department of Biology and Biotechnology, University of Pavia, Via Ferrata, 1, 27100 – Pavia, Italy

Gene amplification, the increase in the copy number of a portion of the genome, is a key mechanism in carcinogenesis and tumour progression since it leads to oncogene-activation and drug-resistance. We previously showed that DNA double-strand breaks (DSBs) play a key role in initiating gene amplification and that the propensity of cells to amplify their DNA is influenced by their genetic background. In particular, we demonstrated that human cells defective in *DNA-PKcs* [1, 2] (a gene involved in the Non Homologous End Joining pathway) or in *RAD54* [3] (involved in Homologous Recombination, HR), are hyper-sensitive to ionizing radiations and have an increased frequency of gene amplification.

In this work we studied the probability of occurrence of gene amplification in cell lines hyper-sensitive to IR and deficient in other genes involved in the HR pathway (*BRCA2* or *Rad51C*) or in Base Excision Repair (*XRCC1*). To study their propensity to gene amplification we measured the frequency of colonies resistant to PALA (N-(phosphonoacetyl)-L-aspartate). All defective cell lines showed an increased frequency of PALA resistant colonies compared to their parental wild-type cell lines. To test whether resistance to PALA was caused by gene amplification we performed fluorescent *in situ* hybridization (FISH) experiments on metaphase spreads from isolated clones. The results confirmed that, in the majority of clones, the *CAD* (carbamyl-P-synthetase/aspartate transcarbamylase/dihydroorotase) gene was amplified and that the amplified DNA was localized on isochromosomes or homogeneously staining regions.

Taken together these results demonstrate that gene amplification is favored by defects in genes involved in diverse pathways of DNA-repair.

1. A. Salzano, N. Kochiashvili, S.G. Nergadze, L. Khoriauli, A. Smirnova, A. Ruiz-Herrera, C. Mondello and E. Giulotto, Enhanced gene amplification in human cells knocked down for DNA-PKcs. *DNA Repair (Amst)*, 8, 19-28 (2008).
2. C. Mondello, A. Smirnova and E. Giulotto, Gene amplification, radiation sensitivity and DNA double-strand breaks. *Mutat Res*, 704, 29-37 (2010).
3. A. Ruiz-Herrera, A. Smirnova, L. Khoriauli, S.G. Nergadze, C. Mondello and E. Giulotto, Gene amplification in human cells knocked down for RAD54. *Genome Integr.*, 2, 5 (2011).

Estrazioni a microonde di principi attivi da matrici vegetali

Cristina Leonelli¹, Roberto Rosa¹, Carla Villa², Paolo Veronesi¹

¹ *Dipartimento di Ingegneria "Enzo Ferrari", Università di Modena e Reggio Emilia, Via Vignolese 905/A, 41125, Modena*

² *Dipartimento di Farmacia, Università di Genova, Viale Benedetto XV 3, 16132 Genova*

L'estrazione assistita da microonde (2.45 GHz, potenze da 300 W a 3 kW), anche nota con l'acronimo inglese MAE [1], può essere considerata una nuova classe di procedure di estrazione sostenibili o "verdi" che stanno guadagnando un crescente interesse in una realtà già commerciale sia per quanto riguarda la preparazione di analiti da una gamma diversificata di matrici inorganiche solide che per quanto riguarda l'estrazione di composti organici da matrici vegetali.

La procedura MAE possiede numerosi vantaggi rispetto alle altre tecniche di estrazione convenzionali, come la riduzione dei tempi di estrazione, i volumi di solventi e il consumo energetico, accoppiato ad una migliore efficienza di estrazione ed una più alta qualità di estratto. Queste caratteristiche peculiari dipendono principalmente dalla natura volumetrica e selettiva del riscaldamento a microonde derivante dall'interazione microonde-materia [1]. Inoltre esso è caratterizzato da una capacità relativamente facilitata di essere scalata a livelli industriali [2].

Il presente lavoro descrive quali sono le peculiarità di un forno a microonde e del suo reattore specificamente disegnati per la realizzazione di estrazioni senza solvente di principi attivi (licopene, fenoli, etc.) di uso in cosmetologia e nutraceutica da matrici vegetali [3,4].

Il forno è costituito da una cavità multimodale dotato di un magnetron operante a 2,45 GHz, due fibre ottiche per la misura della temperatura e di controllo e un'unità di controllo specificamente progettato che permette di gestire e modulare diversi parametri del processo quali potenza emessa, tempo e temperatura.

1. C.H. Chan, R. Yusoff, G.C. Ngoh, F.W.L. Kung, Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants, *Journal of Chromatography A*, 1218, 6213-6225 (2011).
2. N. Bousbia, M. A. Vian, M. A. Ferhat, E. Petitcolas, B. Y. Meklati, F. Chemat, Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity, *Food Chemistry*, 114, 355-362 (2009).
3. C. Villa, B. Trucchi, A. Bertoli, L. Pistelli, A. Parodi, A.M. Bassi, B. Ruffoni, Salvia somalensis essential oil as a potential cosmetic ingredient: Solvent-free microwave extraction, hydrodistillation, GC-MS analysis, odour evaluation and in vitro cytotoxicity assays, *Journal of Cosmetic Science*, 31 (1), 55-61 (2009).
4. C. Villa, R. Rosa, P. Veronesi, A. Corradi, C. Leonelli, E. Ferrari, M. Saladini, A. Cappi, L. Salda, Industrial prototype for microwave hydrodiffusion and gravity, for extraction of organics from food matrices, *Proceedings of CHISA 2010 and ECCE7, Summaries 2, Separation processes, 28.08.2010-01.09.2010, Prague, pp. 545-546, ISBN 978-80-02-02247-3.*

P.Montagna, P.Vitolo
Dip.Fisica Univ.Pavia
INFN Sez.Pavia

La radioattività è tutta intorno a noi: conviene conoscerla...
Un approccio didattico sperimentale

Abstract

Si presentano misure di radioattività (fondo ambientale, assorbimento di radiazione gamma in piombo, spessore di dimezzamento) attraverso gli spettri energetici del decadimento gamma di radioisotopi, realizzate con un sistema di rivelazione (scintillatori NaI) e acquisizione compatto e "portatile" e con materiali radioattivi di uso comune o naturali, in parte reperiti dagli autori.

L'esperienza è stata presentata in alcune scuole superiori di Pavia e provincia, e in un formato più completo, che permette anche di valutare con apprezzabile precisione la vita media del ^{238}U dal decadimento gamma di una roccia uranifera naturale - viene proposta anche nell'ambito di uno stage estivo per le scuole superiori organizzato dal Dip.di Fisica – Univ.Pavia.

Effects of Plasma Focus beams on MCF-7 human breast carcinoma cells.

Pasi Francesca^{1,6}, Virelli Angela^{1,2}, Facchetti Angelica³, Mazzini Giuliano⁴, Castellani Gastone^{1,2}, Sumini Marco^{5,7}, Nano Rosanna⁶, Orecchia Roberto¹.

¹*IEO, Via G. Ripamonti 435, 20141 Milano;*

²*Department of Physics and Astronomy, University of Bologna, Viale Berti Pichat 6/2, 40127 Bologna;*

³*CNAO Foundation, Strada Campeggi, 53, 27100 Pavia;*

⁴*IGM-CNR, Via Ferrata 9, 27100 Pavia;*

⁵*Department of Industrial Engineering, University of Bologna, Via dei Colli 16, 40136 Bologna;*

⁶*Department of Biology and Biotechnology "L. Spallanzani", University of Pavia, Via Ferrata 1, 27100 Pavia;*

⁷*INFN, Viale Berti Pichat 6/2, 40127 Bologna.*

Plasma Focus (PF) is a special pulsed-power device capable of generating, accelerating and pinching a plasma through the fast electrical discharge of a high voltage capacitor bank. During the compression phase, a fast pulsed electron beam is generated. The system can deliver several Gy/pulse producing the extremely high dose-rate peculiar of the device. A PF device was optimized at the Montecuccolino research laboratory of the Industrial Engineering Dept. of the Bologna University as an X-ray generator (PFMA-3) in which the electron beam is converted into a low-energy X-ray beam. Producing essentially the same plasma and dynamic characteristics of larger machines, small tabletop-sized PF devices would be suitable to be used Intra Operative Radiation Therapy (IORT).

MCF-7 breast carcinoma cells were irradiated by PFMA-3 to evaluate its biological effectiveness and comparative data were collected using a radiation source emitting X-rays at lower dose-rate (XRT) properly calibrated to mimic PFMA-3 energy spectrum.

Cells were treated at 2 Gy and the control samples were maintained and processed in the same conditions except for the exposure to radiation. May Grunwald-Giemsa staining, Hoechst-Propidium Iodide, Annexin-Propidium Iodide assays were performed on cells in order to evaluate the effects of radiation treatment.

Results showed that control cells had a cobblestone-like phenotype with strong cell-cell adhesion and they had capable of forming domes. Irradiated cells appeared to be more isolated, the domes were less and the cell density was much lower than the controls. Regarding XRT treatment, no significant difference was observed in control and treated cells. The percentage of damage was very low: about 8% of treated cells resulted damaged compared to the 4% of the control cells. Interestingly, with PF treatment the percentage of damaged cells arose to about 20%. These results indicate that the extremely high dose rate irradiation produced by PF is more effective to induce biological effects on the irradiated cells and it is more powerful in producing cell damage than conventional RT.

Acknowledgments

Authors thank Italian Association for Cancer Research who supported this work ["Analysis of characteristics of Plasma Focus beams: its future oncological applications", IG10559 to R.O.]

Sviluppo di placche aterosclerotiche in topi ApoE^{-/-} dopo esposizione acuta e cronica alle radiazioni ionizzanti

E. Pasquali¹, A. Pannicelli¹, I. Braga-Tanaka III², S. Tanaka², K. C.M. Gulay², P. Giardullo³, S. Pazzaglia¹, M. J. Atkinson⁴, Anna Saran¹ and M. Mancuso¹

¹ENEA, Roma, Italia; ²IES, Rokkasho, Aomori, Giappone; ³Università Guglielmo Marconi, Roma, Italia; ⁴Helmholtz Zentrum, München, Germania.

L'aterosclerosi è responsabile ogni anno di circa un terzo di tutti i decessi che si verificano per cardiopatia coronarica o ictus negli Stati Uniti e in Europa. Tra i fattori di rischio modificabili che influenzano questa patogenesi (fumo, ipertensione, sedentarietà e obesità) sta sempre più delineandosi un ruolo importante indotto dall'esposizione a radiazioni ionizzanti. Studi epidemiologici hanno infatti stabilito una forte associazione tra l'insorgenza di malattie cardiovascolari e l'esposizione del cuore o dei grossi vasi sanguigni a dosi di 500 mGy di radiazioni. Questi studi fanno riferimento soprattutto ai sopravvissuti alla bomba atomica di Hiroshima e Nagasaki così come alla popolazione di lavoratori esposti nelle centrali nucleari. Nella comunità medica e scientifica vi è attualmente una grande attenzione per i potenziali rischi a lungo termine dell'esposizione radiologica medica. Ulteriore preoccupazione desta l'aumento di patologie cardiovascolari nei pazienti sottoposti a radioterapia.

Per stabilire il ruolo delle radiazioni ionizzanti nell'aterogenesi, abbiamo utilizzato un noto modello murino di aterosclerosi, deficiente della apolipoproteinaE (topi ApoE^{-/-}). Quando alimentati con una dieta a normale contenuto di grassi, questi topi mostrano un notevole aumento dei livelli plasmatici di colesterolo e sviluppano lesioni aterosclerotiche simili a quelle osservate nell'uomo.

Gruppi di topi ApoE^{-/-} sono stati irraggiati cronicamente per 300 giorni con raggi γ a diversi ratei di dose (1 e 20 mGy/giorno) raggiungendo una dose finale totale di 0.3 o 6 Gy, rispettivamente. Gruppi aggiuntivi sono stati esposti ad una singola dose di 0.3 e 6 Gy di raggi X, quindi sacrificati dopo 300 giorni dall'irraggiamento. Da ogni animale in esperimento è stata prelevata l'aorta toracica discendente e valutato lo sviluppo di placche aterosclerotiche mediante un approccio istologico e morfometrico.

I risultati ottenuti mostrano un aumento statisticamente significativo dell'aterogenesi dopo irraggiamento con una dose pari a 6 Gy di radiazioni, indipendentemente dalla modalità di irraggiamento (acuta o cronica). L'esposizione a basse dosi di radiazioni (0.3 Gy) aumenta significativamente lo sviluppo di placche solo dopo esposizione acuta, suggerendo un ruolo chiave dell'intensità della dose erogata nella progressione di questa patogenesi.

Supportato dal progetto "PROCARDIO", grant agreement n° 295823.

Effetti biologici in cellule staminali di glioblastoma irradiate con ioni carbonio presso la facility di adroterapia del CNAO

Pecchia Ilaria¹, Dini Valentina^{1,2}, Esposito Giuseppe^{1,2}, Anello Pasquale¹, Balduzzi Maria^{2,3}, Fratini Emiliano⁴, Ricci-Vitiani Lucia⁵, Biffoni Mauro⁵, Runci Daniele⁵, Pallini Roberto⁶, Molinelli Silvia⁷, Facoetti Angelica⁷, Ciocca Mario⁷, Tabocchini Maria Antonella^{1,2}

¹ *Dip. Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

² *INFN Sez. Roma1-Gr. coll. Sanità, Roma*

³ *ENEA-CASACCIA, Roma*

⁴ *Museo storico della fisica e Centro Studi e Ricerche "E. Fermi", Roma*

⁵ *Dip. Ematologia Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

⁶ *Dip. Neurochirurgia, Università Cattolica di Roma*

⁷ *Fondazione CNAO, Pavia*

La radioterapia con particelle cariche, in particolare con ioni carbonio, rappresenta un trattamento promettente per tumori radio-resistenti a causa della maggiore capacità di depositare localmente dosi elevate (all'interno del picco di Bragg) e della maggiore efficacia biologica rispetto alla radioterapia fotonica convenzionale.

In questo lavoro sono presentati dati relativi ad uno studio della risposta molecolare e cellulare all'irraggiamento con ioni carbonio in due linee di cellule staminali di glioblastoma (GSCs), indicate come #1 e #83, isolate da biopsie derivanti da pazienti aventi simile localizzazione del tumore, sesso ed età ma diverso esito clinico.

L'irradiazione con ioni carbonio è stata effettuata presso il CNAO utilizzando un fascio SOBP di 2 cm. Il campione è stato posto ad una profondità di 43 mm, corrispondente ad un LET medio di 92,2 keV/μm, ed irradiato nell'intervallo di dosi 5-40 Gy.

I risultati ottenuti hanno mostrato una diversa risposta radiobiologica tra le 2 linee per i diversi endpoint. In particolare, è stato osservato un forte effetto citostatico nelle GSC#1, nelle quali la crescita cellulare si blocca a partire dalla dose di 5 Gy. L'effetto è dose indipendente, a differenza di quanto si riscontra nelle GSC#83. Inoltre, se dopo l'arresto nella crescita le cellule vengono riseminate in presenza di terreno fresco la crescita lentamente riparte.

GSC#83 mostrano un blocco post irradiazione in G2/M dose dipendente, coerentemente con la modulazione dell'espressione delle cicline chk1 e chk2; GSC#1 mantengono invece un pattern della distribuzione delle fasi del ciclo inalterato. Anche i dati relativi all'induzione e al riparo del danno al DNA sembrano suggerire una diversa radio-sensibilità tra le due GCSs. Le curve di sopravvivenza mostrano, per entrambe le linee, la presenza di un plateau a dosi superiori a 10 Gy suggerendo la presenza di una sottopopolazione altamente radioresistente. Questo effetto è particolarmente pronunciato a seguito di irradiazione con ioni carbonio. Ulteriori esperimenti sono in corso per consolidare questi dati e per ottenere ulteriori informazioni sui meccanismi alla base della radioresistenza delle GSCs.

Lavoro in parte finanziato dal progetto INFN RADIOSTEM

Geant4 study of BNCT mixed field energy deposit in an approximated healthy tissue geometry

I.Postuma^{1,2}, S.Bortolussi^{1,2}, N.Protti^{1,2}, F.Ballarini^{1,2}, M.P.Carante^{1,2}, M.Ferrari¹, S.Altieri^{1,2}

¹ *University of Pavia, Department of Physics, via A.Bassi 6, IT-27100 Pavia, Italy*

² *National Institute of Nuclear Physics INFN, section of Pavia, via A.Bassi 6, IT-27100 Pavia, Italy*

It is established that the clinical outcome of Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) is related to the ^{10}B concentration and spatial distribution at cellular and subcellular level. This is due to complex interactions between the mixed radiation field of BNCT and the involved tissue structure. Therefore, different home-made Monte Carlo (MC) methods were developed to study the effects of different boron distributions in simple geometrical models of neoplastic tissue or capillary cells. Many physical parameters of the mixed radiation field were taken into account in these works: the most characterizing ones are cell hits, nucleus hits, hits by particles originating from inside the cell, hits from particles arising in neighbouring cells, energy deposit distribution in the nucleus and cytoplasm, Linear Energy Transfer (LET) distribution in the nucleus and cytoplasm.

The purpose of the present work, is to study the parameters listed above in a new geometrical approach where real tissue structures such as: lung, muscle, bone, skin and hepatic tissue are reproduced with the highest possible precision. Boron distribution is set as uniform in different parts of the geometry, for example in the whole cell, only in the nucleus, only in the cytoplasm and concentrated in the cell surface. The study is computed with Geant4.10 which is a toolkit that can transport ionizing particles (electrons, protons, alpha, lithium) through matter at low energies (few eV for electrons and protons).

The outcomes of these calculations are presented, comparing the mean parameters obtained in different tissues according to the different assumptions adopted concerning the boron distribution.

Genotoxic effects of *in vitro* THz radiation exposure by the micronucleus assay in human fibroblasts

A. Sgura¹, A. De Amicis², S. De Sanctis², S. Di Cristofaro², V. Franchini², E. Regalbutto², G.P. Gallerano³, A. Doria³, E. Giovenale³, R. Bei⁴, M. Fantini⁴, M. Benvenuto⁴, L. Masuelli⁵, C. Cicia¹, E. Coluzzi¹, F. Lista².

¹University "Roma Tre" Dept. of Science – Viale G. Marconi 446, 00146 Rome

²Army Medical and Veterinary Research Center, Rome

³ENEA - Radiation Sources Laboratory, Frascati Research Center

⁴University of Rome "Tor Vergata" – Dept. of Clinical Sciences and Translational Medicine – Rome

⁵University of Rome "Sapienza" – Dept. of Experimental Medicine - Rome

In the last years, Terahertz (THz) radiation are increasingly used in security, military and medical applications. However, few studies have been performed on the biological effects associated with these electromagnetic radiation and a number of open questions remain as the target of the radiation and the mechanism of biological response. Hintzsche et al., [1] showed no statistically significant induction of DNA strand breaks, investigated by Comet assay in two different types of skin cells exposed to THz radiation. The micronucleus frequency was also not affected by the terahertz radiation exposure in both cell types, confirming the results of other previous studies [2]. Conversely, some authors suggested that THz radiation exposure could result in mitotic disturbance, giving rise to aneuploidy in daughter cells [3]. The aim of this study is to evaluate the potential genotoxic effects in human primary fibroblasts exposed "in vitro" [4] to low frequency THz radiation by several end-points; among them Micronucleus assay, CREST, non-disjunction and Telomere length analysis. "In vitro" irradiation has been performed in a wide band between 100 and 150 GHz using the ENEA Compact Free Electron Laser. Here we report the preliminary results of this study.

References

[1] H. Hintzsche, C. Jastrow, T. Kleine-Ostmann, U. Kärst, T. Schrader, H. Stopper. Terahertz electromagnetic fields (0.106 THz) do not induce manifest genomic damage in vitro. PLoS One. 2012;7(9):e46397.

[2] O. Zeni, GP. Gallerano, A. Perrotta, M. Romanò, A. Sannino, M. Sarti, M. D'Arienzo, A. Doria, E. Giovenale, A. Lai, G. Messina, MR Scarfì. Cytogenetic observations in human peripheral blood leukocytes following in vitro exposure to THz radiation: a pilot study. Health Phys. 2007 Apr;92(4):349-57.

[3] A. Korenstein-Ilan, A. Barbul, P. Hasin, A. Eliran, A. Gover, R. Korenstein. Terahertz radiation increases genomic instability in human lymphocytes. Radiat Res. 2008 Aug;170(2):224-34.

[4] MR. Scarfì, M. Romanò, R. Di Pietro, O. Zeni, A. Doria, GP. Gallerano, E. Giovenale, G. Messina, A. Lai, G. Campurra, D. Coniglio, M. D'Arienzo. THz Exposure of Whole Blood for the Study of Biological Effects on Human Lymphocytes. J Biol Phys. 2003 Jun; 29(2-3):171-6.

Genotoxic effects on mice irradiated with ELF magnetic fields and X-rays during the fetal and neonatal stages

Ion Udroui¹, Antonio Antoccia¹, Caterina Tanzarella¹, Livio Giuliani², Antonella Sgura¹

¹*Dipartimento di Scienze, Università "Roma Tre", V.le Marconi 446, 00146 Roma*

²*Centro Ricerche Inail, Via Fontana Candida 1, 00040 Monte Porzio Catone (Roma)*

Extremely low frequency magnetic fields (ELF-MF) are almost ubiquitous in homes, cities and workplaces. However, there are few reports on *in vivo* genotoxic effects using micronucleus (MN) assay and the results are contradictory. So far, only two works investigated genotoxic effects in newborn rodents, giving opposite results. Moreover, no study have been conducted *in vivo* on the genotoxic effects of ELF-MF combined with X-rays.

The aim of this study was to investigate the possible synergistic effect of ELF-MF and X-rays, during a very sensitive period such as the fetal and neonatal life, performing the MN test on neonatal blood samples taken at different times.

Pregnant mice were divided into four groups, comprising two dams each. One group was unexposed and served as control (*C*); another one (*E*) was exposed to ELF-MF from day 12 post conception (p.c.) until weaning, for a total of 30 days; another group (*XE*) was X-irradiated (1 Gy) on day 12 p.c. and immediately exposed to ELF-MF until weaning (30 days in total); the last group (*X*) was X-irradiated (1 Gy) on day 12 p.c. The 50 Hz, 650 μ T magnetic field was generated by a solenoid working 24 h per day. The MN test was performed on blood smears from infant mice at birth and on day 11, 21, 40 and 140 after birth.

The MN frequencies of the *X* and *XE* groups were significantly higher than *C* and *E* at birth and 11d. These frequencies were almost equal between *X* and *XE* and decreased similarly from birth until 21d, when they were the same as *C* and *E*. The fading of the genotoxic effect is due to the dilution of the X-irradiated erythrocytes into those produced during postnatal erythropoiesis. As *E* is equal to *C* and *XE* is equal to *X*, ELF-MF seem to have no effect at least at this time of exposure.

Remarkably, at 42d the MN frequencies of all the exposed groups were significantly higher than *C*. *X* and *XE* (being identical between them) were higher than *E*. At 140d, *E* decreased to the *C* value, while *X* and *XE* were higher than *C* and *E*. These data seem to indicate that exposure to ELF-MF alone induced a genotoxic insult only after the maximum time of exposure (one month), as evidenced at 42d, and this damage disappeared later. Differently, in the *X* and *XE* groups a delayed effect appeared at 42d and was persistent up to 140d. In order to better understand the possible synergistic contribution of ELF-MF and the nature of the X-ray induced delayed effect further analysis will be performed.

ATTIVITÀ SPERIMENTALE DI DOSIMETRIA E RADIOBIOLOGIA CON IL FASCIO DI PROTONI DI BASSA ENERGIA DELL'ACCELERATORE TOP-IMPLART

C. Snels¹, F. Ambrosini⁴, A. Ampollini², M. Balduzzi¹, F. Bonfigli², R. Cicchetti⁴, C. De Angelis³, G. Esposito³, C. Marino¹, F. Marracino², R. M. Montereali², P. Nenzi², L. Picardi², M. Piccinini², C. Ronsivalle², V. Surrenti², M. A. Tabocchini³, M. Vadrucci², M. A. Vincenti².

¹ *ENEA Casaccia, Roma*

² *ENEA Frascati, Roma*

³ *ISS, Roma*

⁴ *DIET-Università Sapienza di Roma*

Presso il centro ENEA di Frascati è in corso di realizzazione un acceleratore lineare (LINAC) per la protonterapia nell'ambito del progetto TOP-IMPLART condotto dall'ENEA in collaborazione con l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) e l'Istituto Nazionale dei Tumori Regina Elena-IFO [1], il cui primo segmento a bassa energia è in funzione con energia variabile (3-11.6 MeV) e corrente impulsata (0.1-100 μ A).

Il LINAC è composto da un iniettore commerciale che raggiunge i 7 MeV e lavora a 425 MHz, e una sequenza di strutture acceleranti Side-Coupled Drift Tube Linac (SCDTL) operanti in banda S (3 GHz). E' stato effettuato il test di accelerazione del fascio sul primo modulo SCDTL che ha dimostrato la bontà della progettazione [2].

La modularità della macchina la rende versatile per l'irraggiamento di campioni di diversa natura: fino ad ora è stata utilizzata per esperimenti di radiobiologia, sviluppo di rivelatori ed irraggiamento di materiali.

Gli esperimenti di radiobiologia sono dedicati allo sviluppo di modelli "in vivo" ed "in vitro" per lo studio dei meccanismi cellulari coinvolti nella carcinogenesi. Inoltre essi permettono una caratterizzazione biologica del fascio in termini di Efficacia Biologica Relativa, tasso di sopravvivenza cellulare, tempo di riparazione cellulare, attività proliferativa cellulare e riassorbimento osseo post trattamento.

In questo lavoro mostriamo le tecniche di dosimetria utilizzate al variare dell'energia e della fluensa del fascio. In particolare gli strumenti utilizzati per la dosimetria di protoni a bassa energia includono pellicole GafChromic EBT3 e cristalli e film sottili di LiF. Presentiamo i risultati sperimentali ottenuti sulla linea a bassa energia (3-7 MeV): l'utilizzo di pellicole EBT3 [3] per la dosimetria durante l'irraggiamento delle cellule V79 e test preliminari su rivelatori di LiF, che mostrano una risposta di luminescenza lineare su diversi ordini di grandezza di fluensa [4].

1. Ronsivalle C. et al.: "The TOP IMPLART Project", Eur. Phys. J Plus (2011) 126, 7, 68.
2. Ronsivalle C. Relazione a invito sull'acceleratore lineare TOP-IMPLART per protonterapia, Congresso SIRR 2014.
3. Vadrucci M. et al.: "Characterization of GafChromic EBT3 films with ⁶⁰Co and low energy protons dosimetry for radiobiology", Biophysics @ Rome 2014.

4. Piccinini M. et al.: "Solid state detectors based on point defects in lithium fluoride for advanced proton beam diagnostics", J. Lumin. 156 (2014) 170-174.

Criteri di valutazione dell' idoneità al rischio da esposizione a radiazioni ionizzanti nei lavoratori con pregressa patologia neoplastica

G. Taino¹, E. Giroletti², A. Delogu³, M. Imbriani³

¹ IRCCS Fondazione S. Maugeri di Pavia - Medico autorizzato

² Dipartimento di Fisica, Università di Pavia - Esperto qualificato

³ Dipartimento di Sanità pubblica, Medicina Sperimentale e Forense, Università di Pavia – IRCCS Fondazione S. Maugeri - Pavia

L'aumento della durata della vita lavorativa e, conseguentemente, l'incremento di prevalenza di patologie neoplastiche nella popolazione lavorativa, rende sempre più frequente la possibilità che il Medico Autorizzato venga chiamato ad esprimere un giudizio di idoneità al rischio da esposizione a sorgenti ionizzanti in lavoratori affetti da patologia neoplastica. Pur accettando la validità cautelativa della correlazione lineare senza soglia (LNT) per gli effetti stocastici, si sono considerati i dati di letteratura che evidenziano un non incremento del rischio stocastico alle bassissime dosi e che sostengono l'ipotesi secondo la quale l'esposizione occupazionale potenziale a basse dosi, anche nei soggetti con pregressa neoplasia, è tale da non essere in grado di introdurre un significativo fattore di rischio addizionale di tumore [1,2]. Lo studio vuole proporre un percorso per la formulazione di un giudizio in merito al reinserimento occupazionale del lavoratore con patologia neoplastica pregressa. Sono stati individuati elementi di giudizio quanto più possibile "oggettivi" e relativi alla malattia del lavoratore, all'attività di lavoro svolta, alle condizioni psicologiche del lavoratore e al suo interesse professionale e volontà nel continuare a svolgere una attività a rischio da radiazioni ionizzanti, ai principali riferimenti e linee guida [3,4]. In particolare, abbiamo considerato l'attenzione che riteniamo si debba attribuire alle condizioni psicologiche e all'interesse professionale del lavoratore con pregressa patologia neoplastica rispetto allo svolgimento di un'attività di lavoro a potenziale rischio radiogeno. Il problema si pone soprattutto nel momento in cui il rischio occupazionale è, a priori e in normali condizioni di lavoro, del tutto potenziale e, anche se presente, basso e limitato a livello normativo da valori di dose protettivi rispetto al rischio stocastico. Il percorso di valutazione, applicato ad alcuni casi clinici, rappresenta un primo approccio razionale e giustificabile al problema della elaborazione del giudizio di idoneità nel lavoratore affetto da patologia neoplastica pregressa, fermo restando la necessità di una gestione personalizzata per ogni singolo individuo [4].

Bibliografia

1. National Research Council. Health Effects of Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation: BEIR V. Washington, DC: The National Academies Press, 1990.
2. Institut de France, Accadémie des Sciences. La relation dose-effect et l'estimation des effects cancérogènesdes faibles doses de rayonnements ionisants, Rapport adopté à l'unanimité par l'Accadémie des Sciences, Paris, 2005.
3. IAEA Safety standards series. Occupational Radiation Protection. 2004.
4. Associazione Italiana Radioprotezione Medica, Linee guida AIRM: sorveglianza medica dei lavoratori esposti a radiazioni ionizzanti. IPSOA, 2013.

IL CONTRIBUTO ITALIANO AL PROGETTO “RENEB” (REALIZING THE EUROPEAN NETWORK OF BIODOSIMETRY)

A. Testa¹, C. Patrono¹, V. Palma¹, P. Fattibene², E. Bortolin², C. De Angelis², S. Della Monaca², M.C. Quattrini², F. Palitti³, S. Filippi³, R. Meschini³

¹ Agenzia Nazionale per le Nuove Tecnologie, L' Energia e lo Sviluppo Economico Sostenibile (ENEA), Roma

² Dipartimento Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

³ Dipartimento di Scienze ecologiche e biologiche, Università della Tuscia, Viterbo

RENEB (*Realizing the European Network of Biodosimetry*, www.reneb.eu) è una Coordination Action EURATOM (7PQ), partita nel 2012 e coordinata dal Bundesamt für Strahlenschutz (Salzgitter, Germania). Il progetto mira a creare una rete sostenibile di dosimetria biologica con l'obiettivo a lungo termine di contribuire a migliorare la capacità di risposta europea a incidenti o emergenze radiologiche su grande scala, per gli aspetti di valutazione della dose e di trattamento medico delle vittime. Il consorzio è formato da ventitre laboratori di 16 paesi europei. I partner italiani sono ENEA, ISS e Università della Tuscia. Il progetto è suddiviso in cinque gruppi di lavoro finalizzati rispettivamente alla standardizzazione dei metodi di biodosimetria consolidati, all'identificazione di nuovi metodi, alla creazione di un sistema di gestione della qualità e di un programma di istruzione e formazione, all'individuazione di strategie di finanziamento per garantire la sostenibilità a lungo termine, e alla cooperazione con altre organizzazioni.

Il Progetto RENEB è supportato da EU 7th Framework Programme, grant agreement no. 295513.

Misura con tecniche biochimiche del danno ossidativo radio-indotto in CHO

Pietraforte Donatella¹, Paulicelli Eleonora², Testa Antonella³, Patrono Clarice³, Palma
Valentina³, Fattibene Paola²

*Dipartimenti di ¹Biologia Cellulare e Neuroscienze e ²Tecnologia e Salute, Istituto Superiore
di Sanità, Roma*

³Unità di Biologia delle Radiazioni e Salute dell'Uomo, ENEA Casaccia, Roma

La scelta di biomarcatori sensibili è un punto chiave per lo studio degli effetti delle radiazioni ionizzanti (IR) nei sistemi biologici. Infatti, tali effetti risultano difficilmente misurabili perchè blandi e/o transitori. Le specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto (conosciute come Reactive Oxidizing Species, ROS) sono importanti biomarcatori di citotossicità indotta da IR, perché sono in grado non solo di ossidare componenti chiave delle cellule alterandone le attività, ma di modificare la fitta rete di segnali intra- ed extracellulari decretando la sopravvivenza o la morte cellulare. La tecnica di immuno-spin trapping (IST) [Mason, 2004] permette di rilevare ed identificare componenti cellulari ossidati. Il metodo si basa sul legame covalente dello spin trap 5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide (DMPO) con i radicali secondari formati sui componenti cellulari (proteine e acidi nucleici) dai ROS primari indotti da IR. L'uso di uno specifico antisiero anti-DMPO permette successivamente di evidenziare i componenti cellulari marcati con il DMPO tramite saggi immunologici di legame antigene-anticorpo (enzyme-linked immunosorbent assay e/o Western blotting).

In questo studio, abbiamo utilizzato la tecnica di IST per studiare la formazione di biomarcatori di stress ossidativo (componenti cellulari ossidati marcati con il DMPO) nella linea cellulare CHO dopo trattamento con IR. I risultati ottenuti mostrano che gli anticorpi anti-DMPO riconoscono il legame del DMPO con specifiche proteine nelle CHO trattate con IR, legame non presente nelle cellule di controllo non irraggiate. Inoltre, utilizzando un saggio spettrofotometrico (DTNB), abbiamo misurato un aumento della concentrazione di glutatione, il più importante antiossidante intracellulare, in CHO trattate con IR rispetto alle cellule di controllo. Questi risultati suggeriscono che le IR inducono un danno ossidativo a carico dei componenti intracellulari, danno al quale le cellule contrappongono un aumento delle difese antiossidanti nel tentativo di riparare i componenti ossidati e ripristinare le normali attività cellulari.

REFERENCES

Mason, R.P. (2004) Using anti-5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide (anti-DMPO) to detect protein radicals in time and space with immuno-spin trapping. *Free Radic. Biol. Med.* 36, 1214.

Will Resveratrol and natural derivatives act as radiosensitizers or radioprotectors?

Gianandrea Traversi¹, Emiliano Basso¹ and Renata Cozzi¹

¹Dipartimento di Scienze, Università "Roma TRE", Roma, Italia

Resveratrol (3,5,4'-trihydroxy-trans-stilbene) is a natural molecule detected in more than 70 plant species. Analyzing the structure of resveratrol it has been found that the substitution of the hydroxyl groups with methoxyl groups results in a significant increase in the cytotoxic activity, as well as in an improved bioavailability and lipophilicity of its derivatives [1].

One of the most studied naturally-derived compound is pterostilbene (trans-3,5-dimethoxy-4-hydroxystilbene), an antioxidant agent mainly present in blueberries, several types of grapes, and tree wood [2]. A large body of evidence indicated the protective function exerted by pterostilbene against DNA damage induced by oxidative stress in cells cultured *in vitro*; in particular pterostilbene showed to be more effective than resveratrol [3].

According to the literature many health properties have been attributed to resveratrol and its derivatives: in fact they should be useful in suppressing reactive compound formation (free-radical scavengers), detoxifying radiation-induced species, targeting stabilization of vital biomolecules, and enhancing the repair and recovery processes [4]. Since ionising radiation (IR) is an invaluable diagnostic and treatment tool used in various clinical applications, efforts are going on to find chemical compounds that when present prior to or shortly after the irradiation exposure could protect normal tissues from IR-induced damage.

The aim of our study was to determine the effectiveness of resveratrol and its derivatives as radioprotective or radiosensitizing agents. In particular we investigated their ability in modulating DNA strand breaks induced by IR as measured through cytogenetic and molecular assays on CHO-K1 cells *in vitro*. The data seem to confirm our previously results [3] showing that pterostilbene exerts a high protective action against induced DNA damage.

1. F. Brisdelli, G. D'Andrea, and A. Bozzi, Resveratrol: a natural polyphenol with multiple chemopreventive properties. *Curr Drug Metab*, 10(6): p. 530-46 (2009).
2. D. McCormack, and D. McFadden, Pterostilbene and cancer: current review. *J Surg Res*, 173(2): p. e53-61 (2012).
3. M. Rossi, F. Caruso, R. Antonioletti et al., Scavenging of hydroxyl radical by resveratrol and related natural stilbenes after hydrogen peroxide attack on DNA. *Chem Biol Interact*, 2013. (2): p. 175-85 (2006).
4. V.S. Kuntic, M. B. Stankovic', Z. B. Vujic'et al., Radioprotectors - the evergreen topic. *Chem Biodivers*, 10(10): p. 1791-803 (2013).

Dosimetria a risonanza di spin elettronico (ESR) tramite composti organici (alanina e tartrato di ammonio) per campi misti neutroni-gamma

M.Marrale^{1,2}, M.Brai^{1,2}, A.Longo^{1,2}, S.Panzeca¹, S.Gallo^{1,2}, E.Tomarchio³, A. Buttafava⁴, D. Dondi⁴, A. Parlato³, A. Zeffiro⁴

¹*Dipartimento di Fisica e Chimica (DiFC), Viale delle Scienze, Ed.18, 90128 Palermo, Italy*

²*Gruppo V, INFN, Sezione di Catania, Catania, Italy.*

³*Dipartimento Energia, Ingegneria dell'Informazione e Modelli Matematici (DEIM), Viale delle Scienze, Ed.6, 90128 Palermo, Italy*

⁴*Università di Pavia e INFN, Sezione di Pavia, Pavia*

Email: alberto.zeffiro@unipv.it

Parallelamente allo sviluppo della Neutron Capture Therapy (NCT) e all'utilizzo di neutroni termici per fini radioterapeutici, molti sforzi sono stati dedicati alla caratterizzazione del fascio al fine di ottimizzare le procedure di terapia. Misurazioni dosimetriche affidabili dovrebbero essere in grado di determinare i vari componenti (neutroni e fotonici) del fascio misto usualmente impiegato per la terapia.

In questo lavoro si studia l'effetto di nuclei additivi quali gadolinio e ¹⁰B-acido borico sulla sensibilità ai neutroni di dosimetri organici (alanina e altri composti) a risonanza di spin elettronico (ESR) esposti ad un campo misto (n, gamma) composto principalmente da neutroni termici. La scelta di ¹⁰B e Gd come nuclei additivi è dovuta alla loro sezione d'urto di cattura molto elevata per neutroni termici. Inoltre, dopo la reazione nucleare con neutroni termici vengono emesse particelle, che a loro volta rilasciano la loro energia in prossimità del sito di reazione.

Gli irraggiamenti in campo misto sono stati effettuati all'interno della colonna termica del reattore TRIGA dell'Università degli Studi di Pavia, quelli in campo fotonico sono stati effettuati presso l'irradiatore IGS-3 del Dipartimento Energia, Ingegneria dell'Informazione e Modelli Matematici (DEIM) - UniPa, mentre le letture di Risonanza di Spin Elettronico (ESR) sono state effettuate mediante spettrometro Bruker ECS106 situato presso il Laboratorio di Dosimetria ESR/TL del Dipartimento di Fisica e Chimica - UniPa.

Abbiamo trovato che l'aggiunta di gadolinio permette di aumentare notevolmente la sensibilità dei dosimetri per neutroni termici. In particolare, una bassa concentrazione (5% in peso) di ossido di gadolinio determina un miglioramento della sensibilità neutroni di più di 10 volte. Inoltre, per questo basso contenuto di gadolinio ($Z_{GD} = 64$) l'equivalenza del tessuto non è molto ridotta.

Sono state effettuate simulazioni Monte Carlo finalizzate a ottenere informazioni circa l'affidabilità di questo potente strumento nel predire il miglioramento risposta ottenibile con l'aggiunta di gadolinio e ¹⁰B-acido borico in dosimetri di alanina. Questi valori computazionali ottenuti mediante simulazione sono confrontati con i risultati sperimentali.