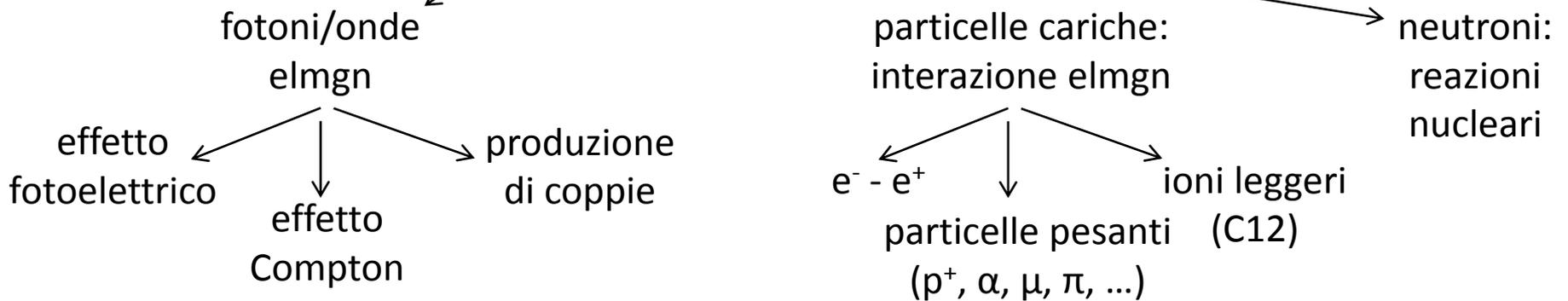
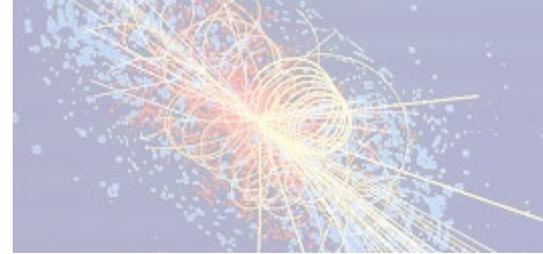
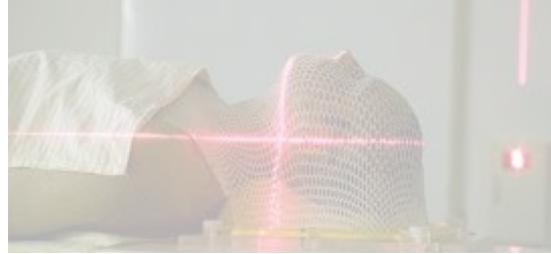


# Introduzione

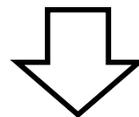
- **Ieri** avete imparato qualcosa su come le radiazioni (ionizzanti) interagiscono con la **materia**

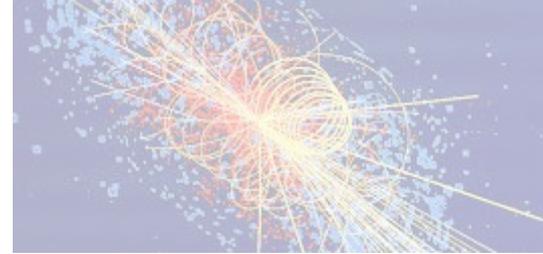
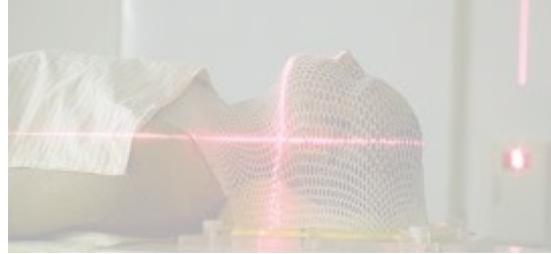


- **Oggi** ci occuperemo di quello che succede quando la **materia è biologica**

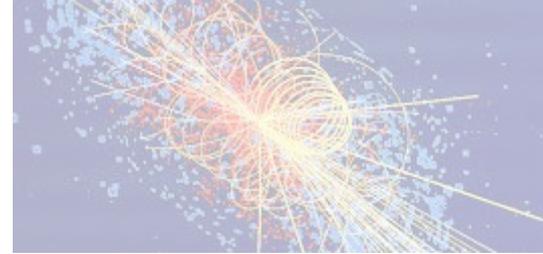
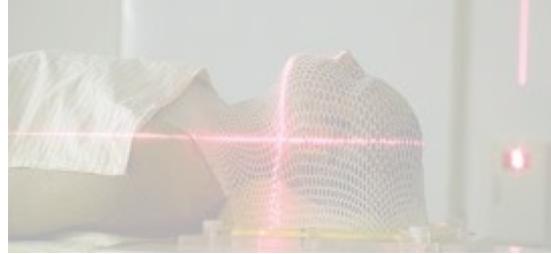


- *Radiazione ionizzante* (IR) = radiazione carica o neutra in grado di ionizzare gli atomi e le molecole della materia attraversata, ossia liberare uno o più elettroni
- *Radiobiologia* = la scienza, altamente interdisciplinare tra biologia fisica e chimica, che studia l'azione delle IR sugli esseri viventi (partendo dalle proteine fino all'uomo)



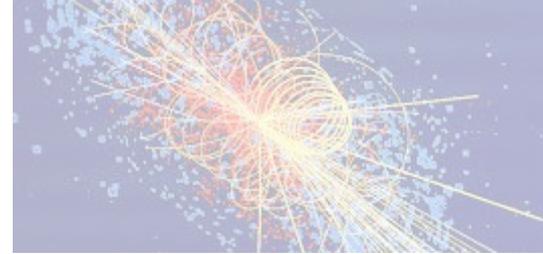
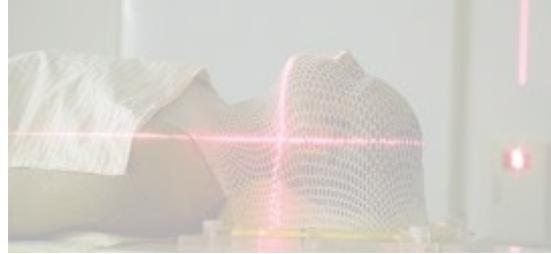


- *Radioterapia* = l'uso delle IR a scopo terapeutico per curare un tumore (solido)
  - *un atomo/molecola ionizzata è altamente reattiva e va incontro ad una rapida cascata di reazioni chimiche che possono portare alla rottura dei suoi legami e quindi alla disaggregazione/disattivazione della molecola stessa*
  - *in determinate condizioni (tipo ed energia della IR) i siti di ionizzazione sono multipli e molto ravvicinati = CLUSTER DI IONIZZAZIONI -> aspetto peculiare delle IR*



- *Radioterapia (RT)*= l'uso delle IR a scopo terapeutico per combattere un tumore (solido)
  - *bersaglio biologico per eccellenza delle IR in RT = molecola di DNA*
  - *Wasters & Hofer 1977 -> solo quando il DNA è coinvolto si osserva una riduzione nella vitalità delle cellule*
  - *perché il DNA è così importante? Altre proteine nella cellula (es., mRNA, tRNA, ecc...) sono presenti in numerosissime copie e hanno un naturale rapido turn-over*

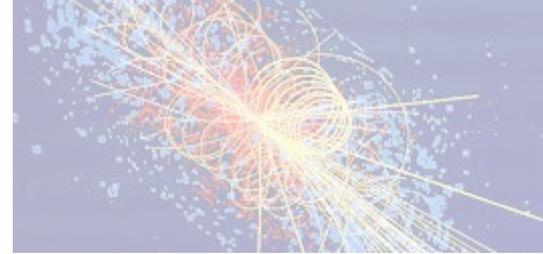
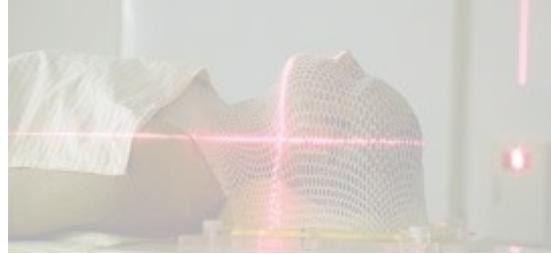
<VS>



- *Radioterapia* (RT)= l'uso delle IR a scopo terapeutico per combattere un tumore (solido)

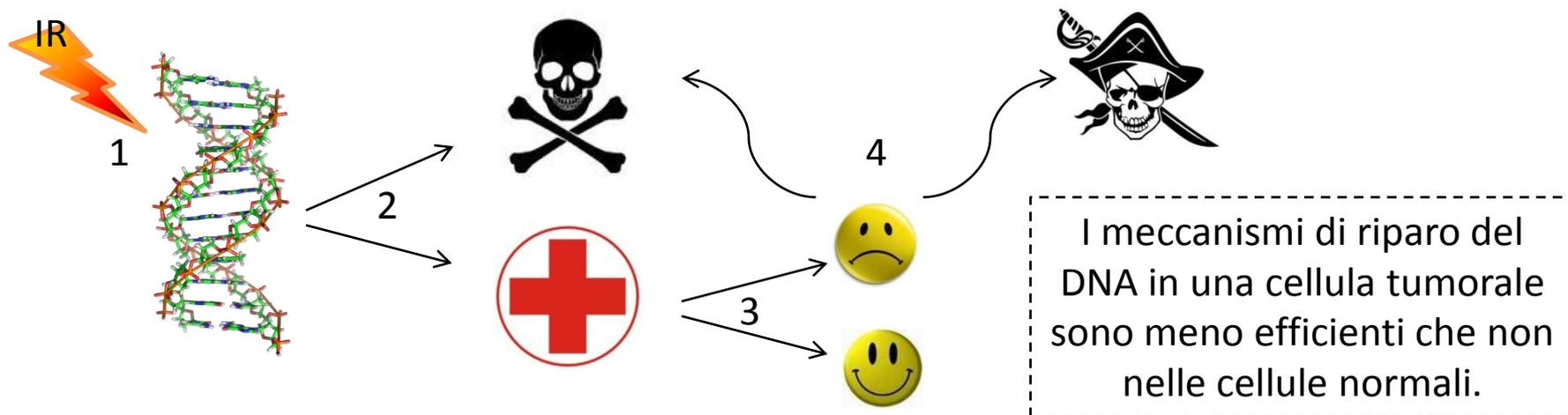
- *DNA è presente in una sola copia; non ha un proprio turnover anzi viene in parte tramandato di generazione in generazione; è la più grande molecola dentro la cellula quindi è il miglior obiettivo per il “tiro al bersaglio” della IR; ha un insostituibile ruolo regolatore, dicendo alla cellula chi è e che cosa deve fare, come e quando*

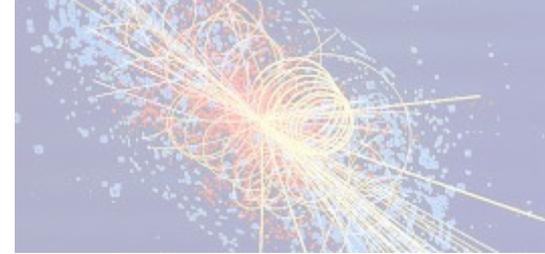
*danni permanenti al DNA risultano di solito seri e/o letali*



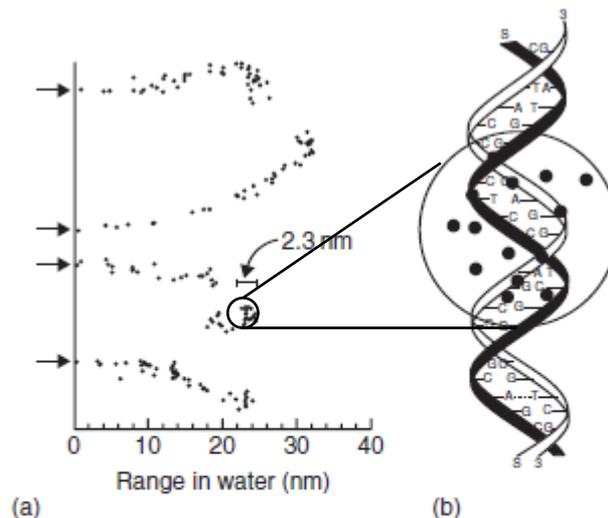
- *Radioterapia* (RT)= l'uso delle IR a scopo terapeutico per combattere un tumore (solido)

*- dato l'ambiente naturalmente contaminato da IR in cui viviamo, l'evoluzione ha sviluppato dei meccanismi di controllo e riparo del DNA cellulare*

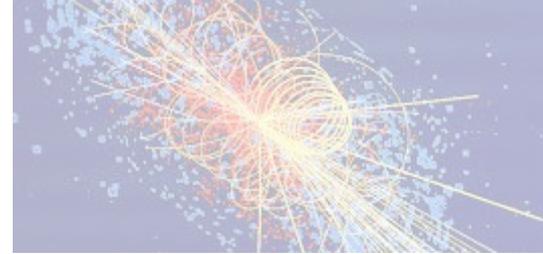
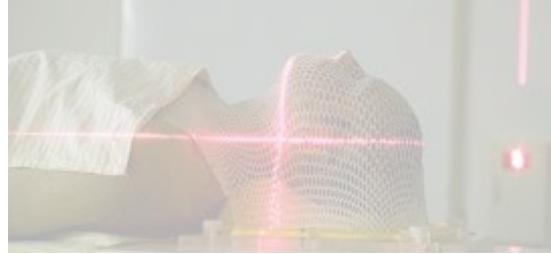




- *Radioterapia* (RT)= l'uso delle IR a scopo terapeutico per combattere un tumore (solido)



**Figure 2.1** (a) Computer-simulated tracks of 1 keV electrons. Note the scale in relation to the 2.3 nm diameter of the DNA double helix (adapted from Chapman and Gillespie, 1981). (b) Illustrating the concept of a local multiply-damaged site produced by a cluster of ionizations impinging on DNA.



- grandezza operativa misurabile (anche se non è facile!!!) per quantificare l'entità dell'interazione della IR con la materia (biologica) = deposizione di energia a livello locale

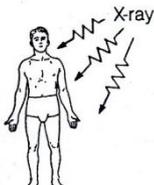
$$\text{DOSE } D = E/m \rightarrow [D] = \text{J/kg} = \text{Gy (grey)}$$

**Total-Body Irradiation**

Mass = 70 kg  
LD/50/60 = 4 Gy  
Energy absorbed =

$$70 \times 4 = 280 \text{ joules}$$
$$\frac{280}{4.18} = 67 \text{ calories}$$

Xray



**A**

**Drinking Hot Coffee**

Excess temperature (°C) = 60° - 37° = 23°  
Volume of coffee consumed to equal the energy in the LD/50/60 =  $\frac{67}{23}$

$$= 3 \text{ mL}$$
$$= 1 \text{ sip}$$

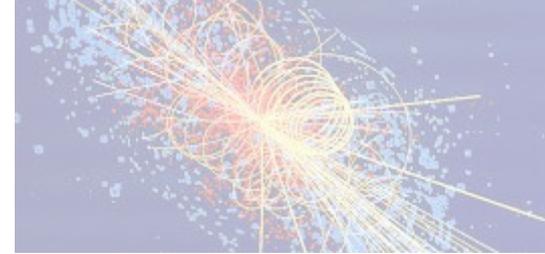
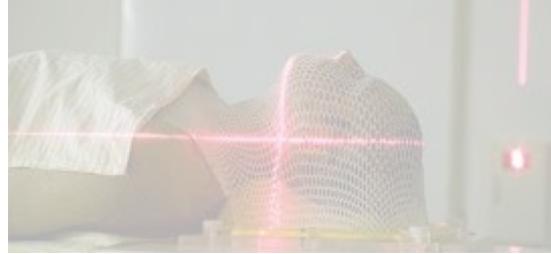

**B**

**Mechanical Energy: Lifting a Person**

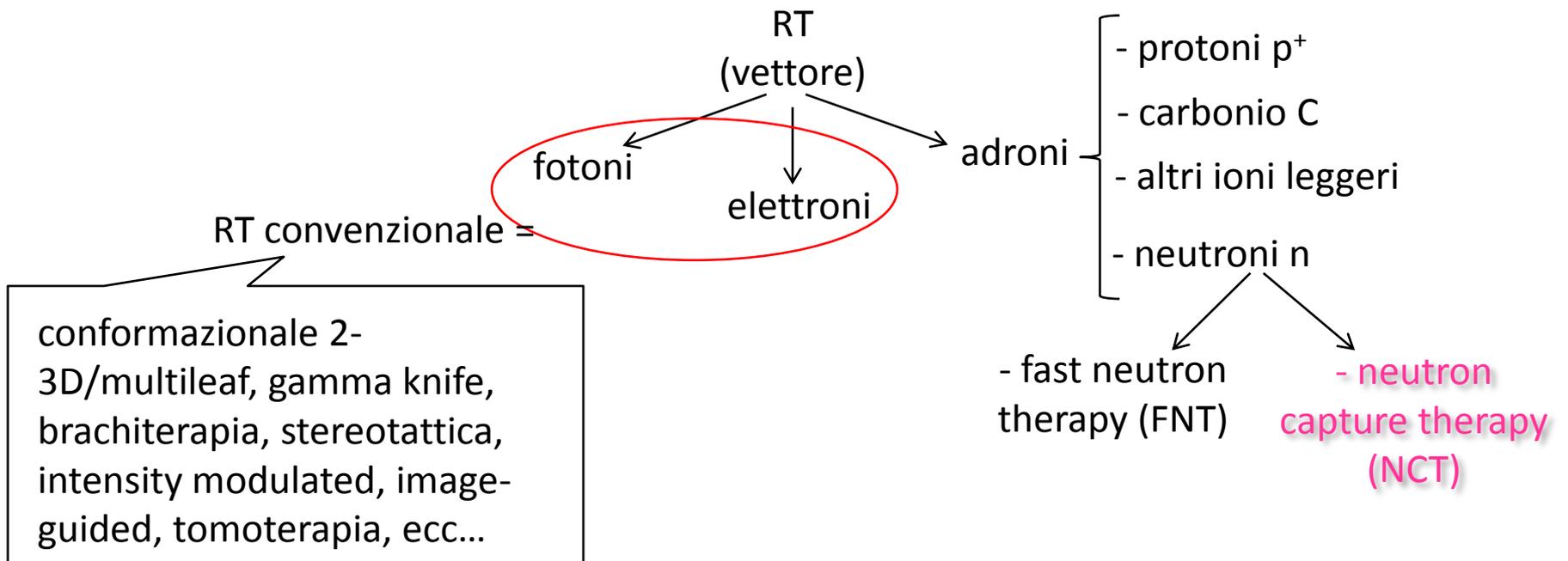
Mass = 70 kg  
Height lifted to equal the energy in the

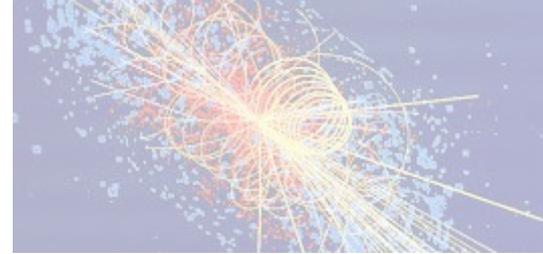
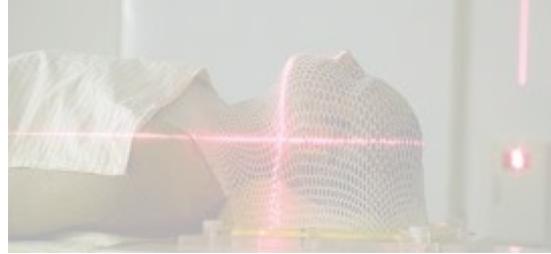
$$\text{LD/50/60} = \frac{280}{70 \times 0.0981}$$
$$= 0.4 \text{ m (16 inches)}$$


**C**



- Oggi esiste uno “zoo di RT”, ciascuna con le sue singole peculiarità dovute ai diversi tipi di IR e alle loro specifiche modalità di interazione con la materia





- Non solo tumori: malformazioni artero-venose intracraniche; artrite reumatoide; ...
- **ATTENZIONE** alle due facce della medaglia!
  - IR inducono effetti collaterali, anche gravi, tra cui tumori secondari;
  - è necessaria una attenta radioprotezione degli operatori coinvolti nella pratica radiogena.





# Neutron Capture Therapy (NCT)

- La NCT è una forma sperimentale di radioterapia binaria, basata sulla reazione nucleare di cattura neutronica di un opportuno isotopo indotta da neutroni termici



# [Interazione neutrone-materia]

- Caratteristiche del neutrone  $n$ 
  - scoperto da J.Chadwick nel 1932
  - massa = 1.008664... Amu
  - carica elettrica nulla  $\rightarrow$  proibite le interazioni elmgn con gli elettroni orbitali;  $n$  interagisce solo mediante reazioni nucleari



$Q$  valore della reazione:

$Q > 0$  = rea esotermica

$Q < 0$  = rea endotermica



# [Interazione neutrone-materia]

- Principali tipi di reazioni nucleari con cui neutrone interagisce con materia biologica:
  - diffusione o scattering elastico
  - diffusione o scattering inelastico

$$\langle E_{n,persa} \rangle = \frac{1}{2}(1 - \alpha)E_{in}$$

con  $\alpha = [(A-1)/(A+1)]^2$

nucleo	A	alfa	$\bar{E}_{persa}$
H	1	0	0.5E
D	2	0.111	0.445E
O	16	0.779	0.111E
Fe	56	0.931	0.0345E
U	238	0.981	0.0095E

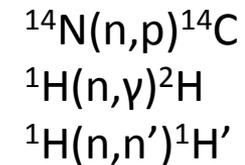
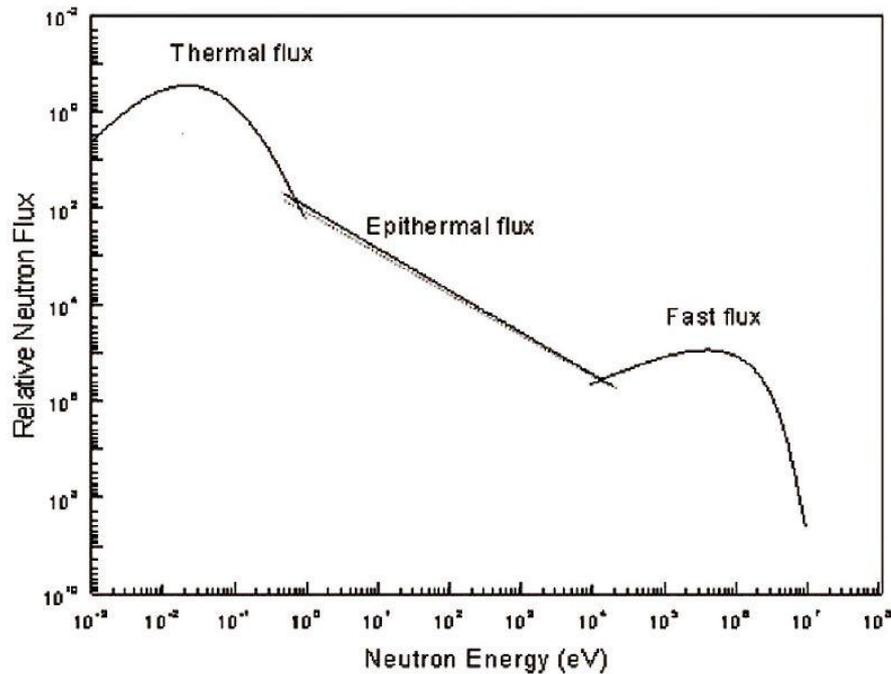
# [Interazione neutrone-materia]

- Principali tipi di reazioni nucleari con cui neutrone interagisce con materia biologica:
  - *reazioni di cattura radiativa* = il neutrone viene assorbito dal nucleo X e scompare dalla scena; l'energia in eccesso del nucleo di rinvolo Y viene emessa come radiazione elettromagnetica
  - *reazioni di cattura con emissione di particelle cariche* = il neutrone viene assorbito dal nucleo X e scompare dalla scena; l'energia in eccesso del nucleo di rinvolo Y viene emessa come energia cinetica di una particella carica secondaria

Approssimazione di tessuto	$C_5H_{40}NO_{18}$
Uomo standard	H (10%), C (18%), N (3%), O(65%), altri elementi (4%)
Tessuto molle	H(10%), C (12%), N(4%), O(63%), altri elementi (1%)

# [Interazione neutrone-materia]

- Classificazione di riferimento del neutrone in base alla sua energia:
  - n termico:  $E < 1 \text{ eV}$
  - n epitermico:  $1 \text{ eV} < E < 10 \text{ keV}$
  - n veloce:  $E > 10 \text{ keV}$

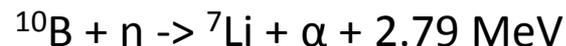


# Neutron Capture Therapy (NCT)

- Reazioni di cattura neutronica con la più alta frequenza di accadimento in vari isotopi

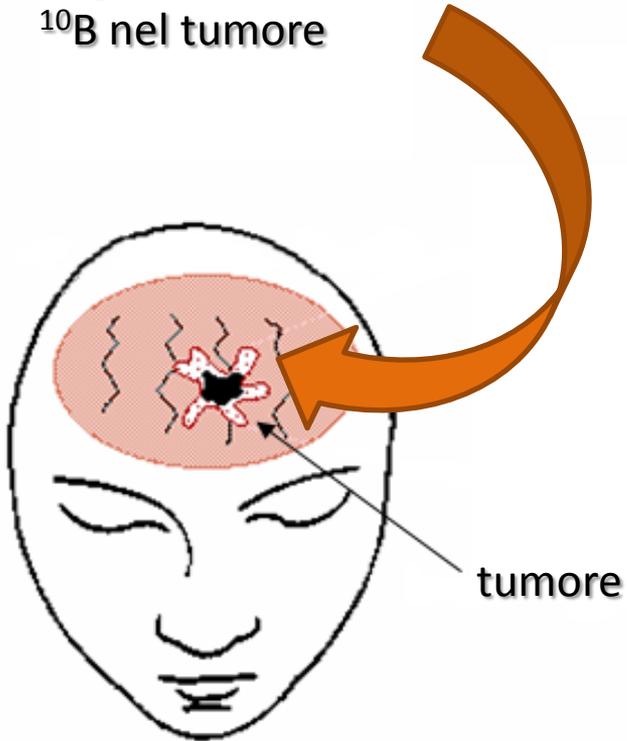
<i>Nuclide</i>	<i>Reaction</i>	<i>Cross section<sup>(*)</sup></i> $\sigma(b)$	<i>Nuclide</i>	<i>Reaction</i>	<i>Cross section<sup>(*)</sup></i> $\sigma(b)$
$^3\text{He}$	(n,p)	$5327 \pm 10$	$^{155}\text{Gd}$	(n, $\gamma$ )	$56200 \pm 1000$
$^6\text{Li}$	(n, $\alpha$ )	$936 \pm 6$	$^{157}\text{Gd}$	(n, $\gamma$ )	$242000 \pm 4000$
$^{10}\text{B}$	(n, $\alpha$ )	$3840 \pm 11$	$^{174}\text{Hf}$	(n, $\gamma$ )	$1500 \pm 1000$
$^{113}\text{Cd}$	(n, $\gamma$ )	$20000 \pm 300$	$^{199}\text{Hg}$	(n, $\gamma$ )	$2500 \pm 800$
$^{135}\text{Xe}^*$	(n, $\gamma$ )	$(2.72 \pm 0.11) \cdot 10^6$	$^{235}\text{U}^*$	(n,f)	$690 \pm 8$
$^{149}\text{Sm}$	(n, $\gamma$ )	$40800 \pm 900$	$^{241}\text{Pu}^*$	(n,f)	$1400 \pm 80$
$^{151}\text{Eu}$	(n, $\gamma$ )	$7700 \pm 80$	$^{242}\text{Am}^*$	(n)	$8000 \pm 1000$

(\*) The reported cross sections refer to the absorption reaction and to the neutron energy of 0.025 eV.

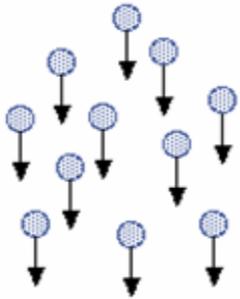


# Terapia **BINARIA?**

Fase 1:  
somministrazione al  
paziente di una sostanza  
in grado di accumulare  
 $^{10}\text{B}$  nel tumore



neutroni incidenti

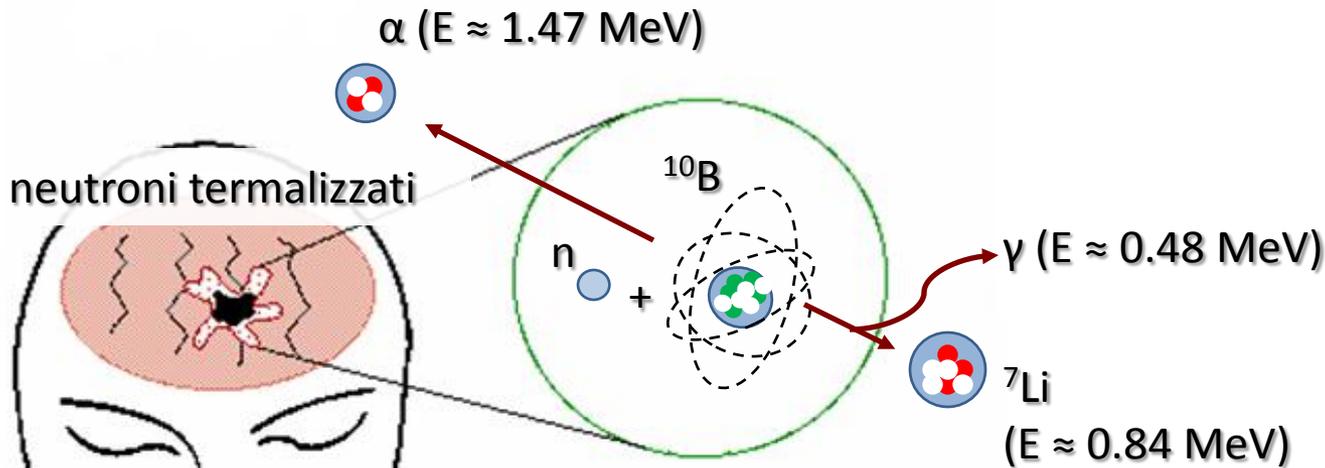


Fase 2:  
irraggiamento con un  
fascio di neutroni di  
opportuna energia



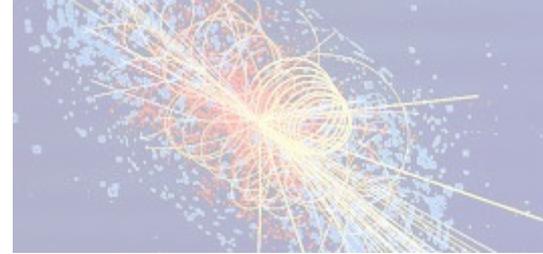
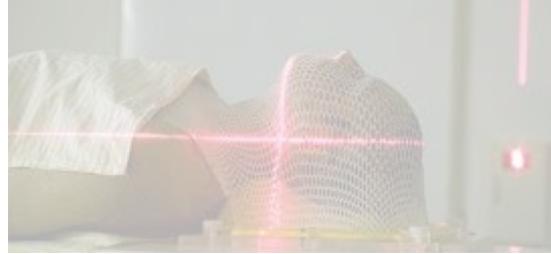
**Terapia**  
**BINARIA?**

# Terapia **BINARIA?**



range dei prodotti di reazione:  
 $R(\alpha) = 6.5 \mu\text{m}$   
 $R({}^7\text{Li}) = 4 \mu\text{m}$   
( $\varnothing$  medio cellulare  $\approx 10 \mu\text{m}$ )

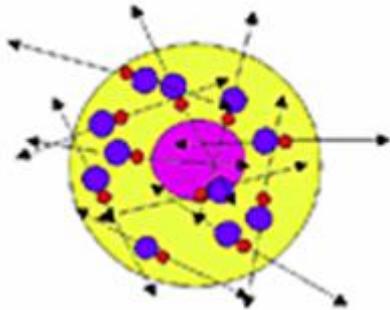
radiazione  
secondaria di alto  
LET



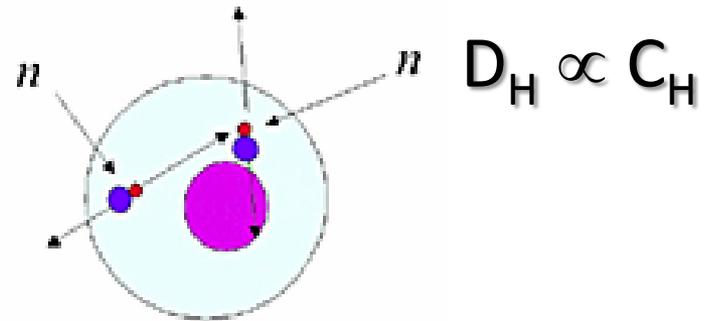
Il razionale terapeutico della (B)NCT:

cellula tumorale

$$D_T \propto C_T$$



cellula sana



$$D_H \propto C_H$$

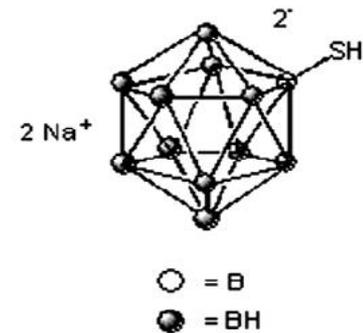
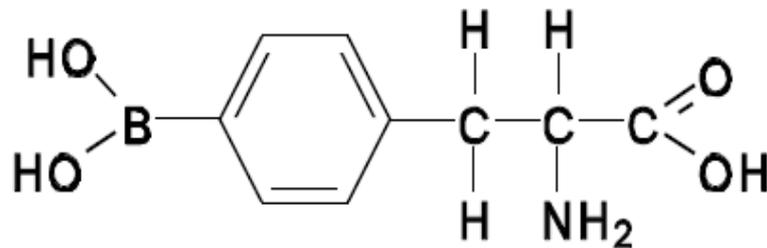
se  $C_T > C_H \Rightarrow$  dose letale SOLO nelle cellule tumorali

$R = C_T/C_H =$  indice di fattibilità della terapia

selettività  $\propto$  biodistribuzione  $^{10}\text{B}$

# L'aspetto cruciale della (B)NCT: i veicolanti (del $^{10}\text{B}$ )

- limitata tossicità nelle cellule e nei tessuti normali
- alta affinità con il tumore (per es., tramite recettori tumori specifici)
- lunga permanenza nelle cellule della neoplasia, ma rapida eliminazione dai tessuti sani e dal sangue
- alti rapporti di concentrazione tumore/parenchima, tumore/sangue





# Cosa fa un “fisico della BNCT”?

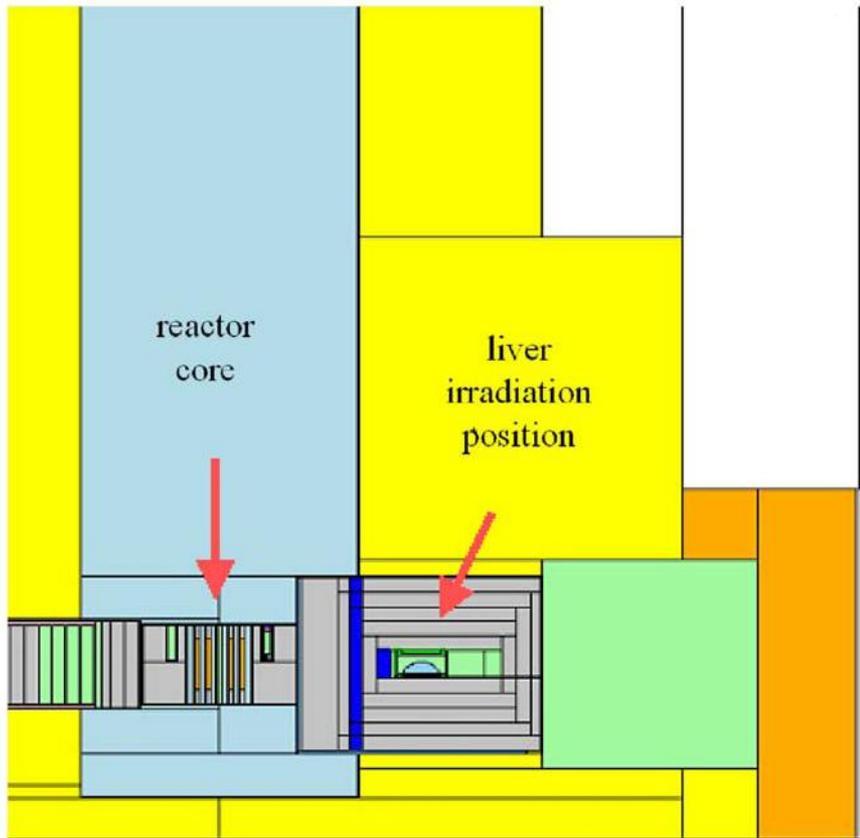
- progetta e realizza la sorgente di neutroni
- misura la concentrazione di B10 accumulatosi nelle cellule (tumorali e sane)
- visualizza il B10 accumulatosi nei tessuti e nelle cellule
- sviluppa algoritmi per calcolare la dose trasferita nei tessuti durante l’irraggiamento (Treatment Planning System, TPS)
- progetta e sviluppa rivelatori in grado di monitorare in tempo reale le caratteristiche fisiche e dosimetriche dell’irraggiamento
- ...

# Il progetto TAO rMINA: trattamento di metastasi epatiche

- Irraggiamento in un campo neutronico isotropo del solo organo affetto dalle metastasi
- prima fase chirurgica: perfusione del fegato con  $^{10}\text{BPA-f}$ , raccolta di campioni bioptici per verificare un adeguato rapporto di concentrazioni di  $^{10}\text{B}$ , espianto dell'organo e avvio della circolazione extra-corporea
- fase radioterapica: lavaggio del fegato, trasporto e irraggiamento per 10 minuti c/o la colonna termica del reattore TRIGA
- fase chirurgica finale: reimpianto dell'organo

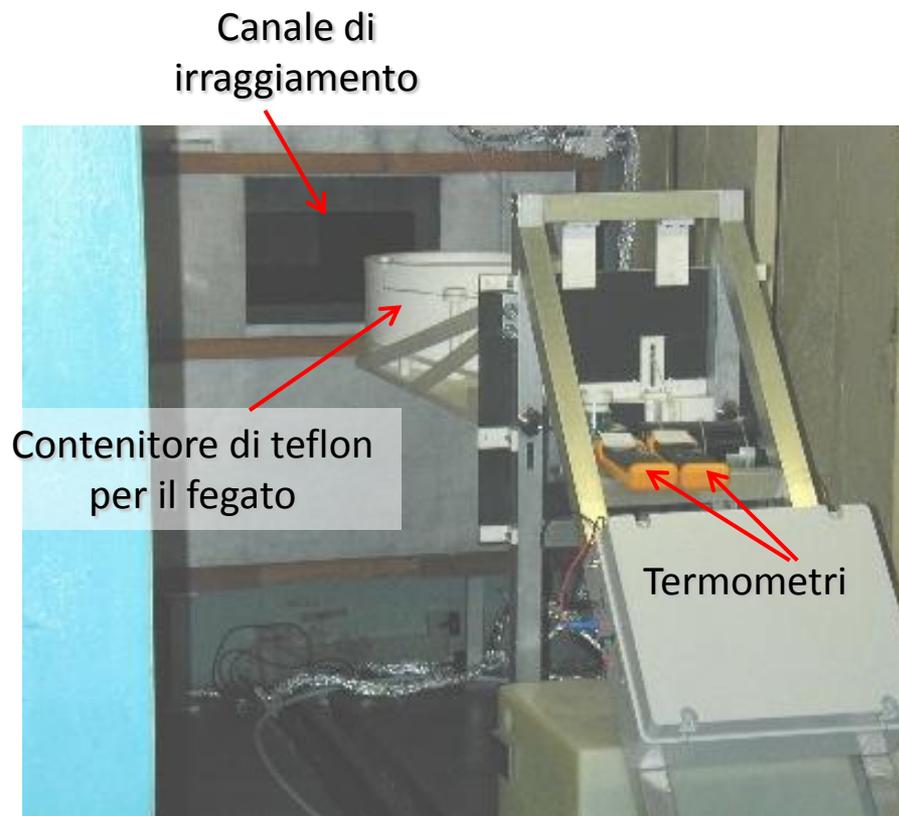
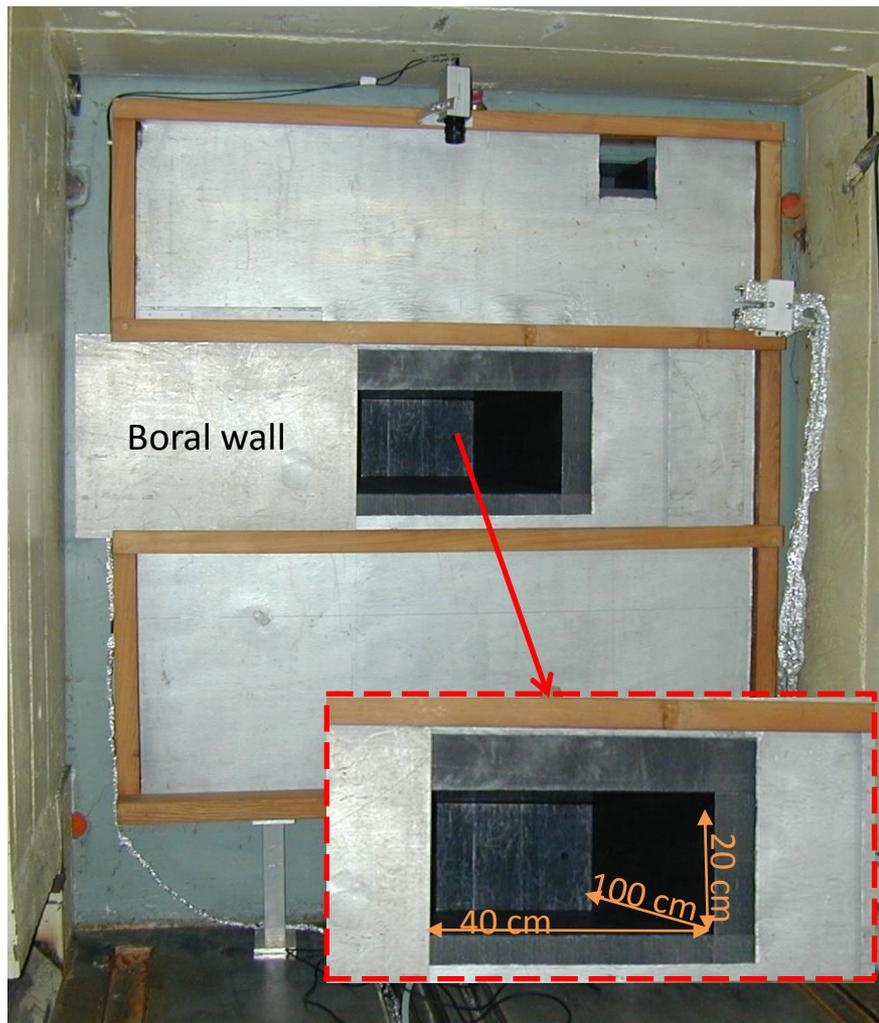


# Il progetto TAO rMINA: trattamento di metastasi epatiche



Sezione sagittale della posizione di irraggiamento c/o il reattore TRIGA del LENA di Pavia

# Il progetto TAO rMINA: trattamento di metastasi epatiche

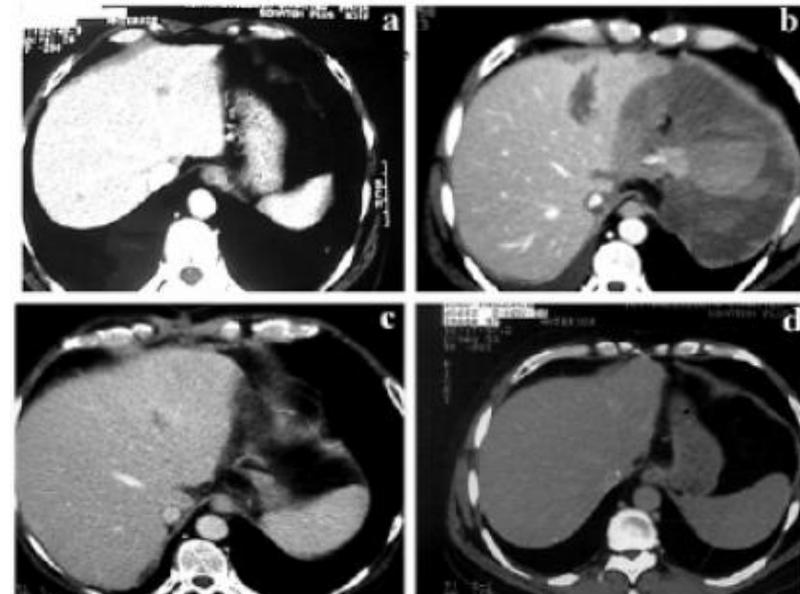


# Il progetto TAO rMINA: trattamento di metastasi epatiche

- 2 pazienti affetti da metastasi epatiche da colon adeno-carcinoma trattati tra il 2001 e il 2003:
  - 1° paziente: maschio, 48 anni; 21 ore; buona qualità di vita per 44 mesi; deceduto per recidive diffuse (cellule quiescenti)
  - 2° paziente: maschio, 39 anni, cardiomiopatia; 18 ore e 40 minuti; deceduto al 33-esimo giorno post-operatorio per insufficienza cardiaca

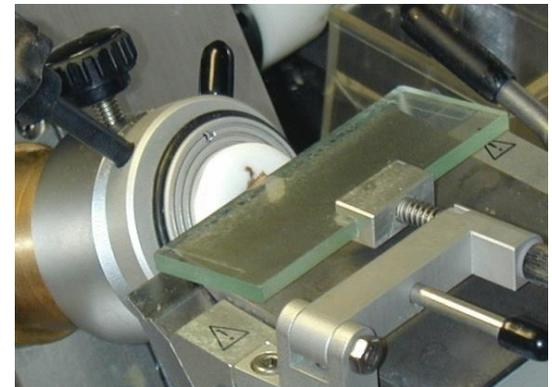
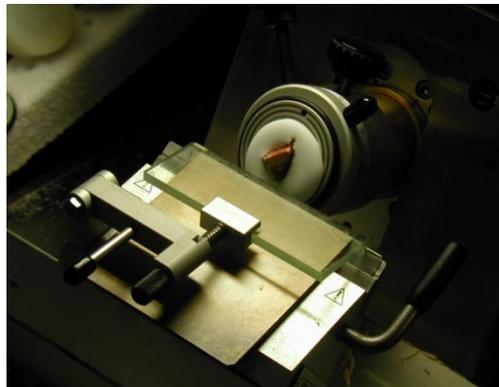
Boron concentration (ppm)	Absorbed dose (Gy)			
	First patient	Second patient		
Tumor	47 ± 2	45 ± 5	18 ± 1	18 ± 1
Liver	8 ± 1	8 ± 1	6 ± 0.3	6 ± 0.3
Tumor/liver	5.9	5.6	3	3

Immagini CT (a) pre-operatoria, (b) a 7 giorni, (c) a 6 mesi e (d) a 12 mesi post-operatori del primo paziente; le metastasi si sono evolute in zone necrotiche

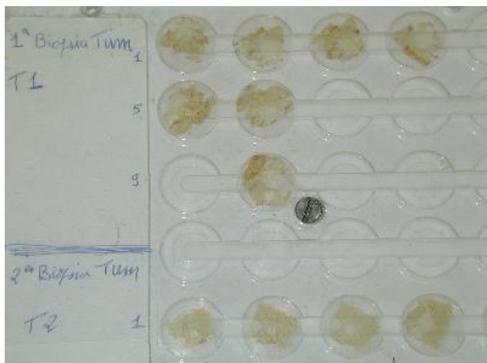


# Tecniche di misura del $^{10}\text{B}$ a Pavia per BNCT

- Preparazione del campione (biopsia da paziente, modello animale, ...): taglio criostatico del campione (10-60  $\mu\text{m}$ )



**$\alpha$  SPETTROMETRIA**



sezioni di tessuto depositate su dischetti di mylar (per  $\alpha$ -spettrometria)

**AUTORADIOGRAFIA NEUTRONICA**

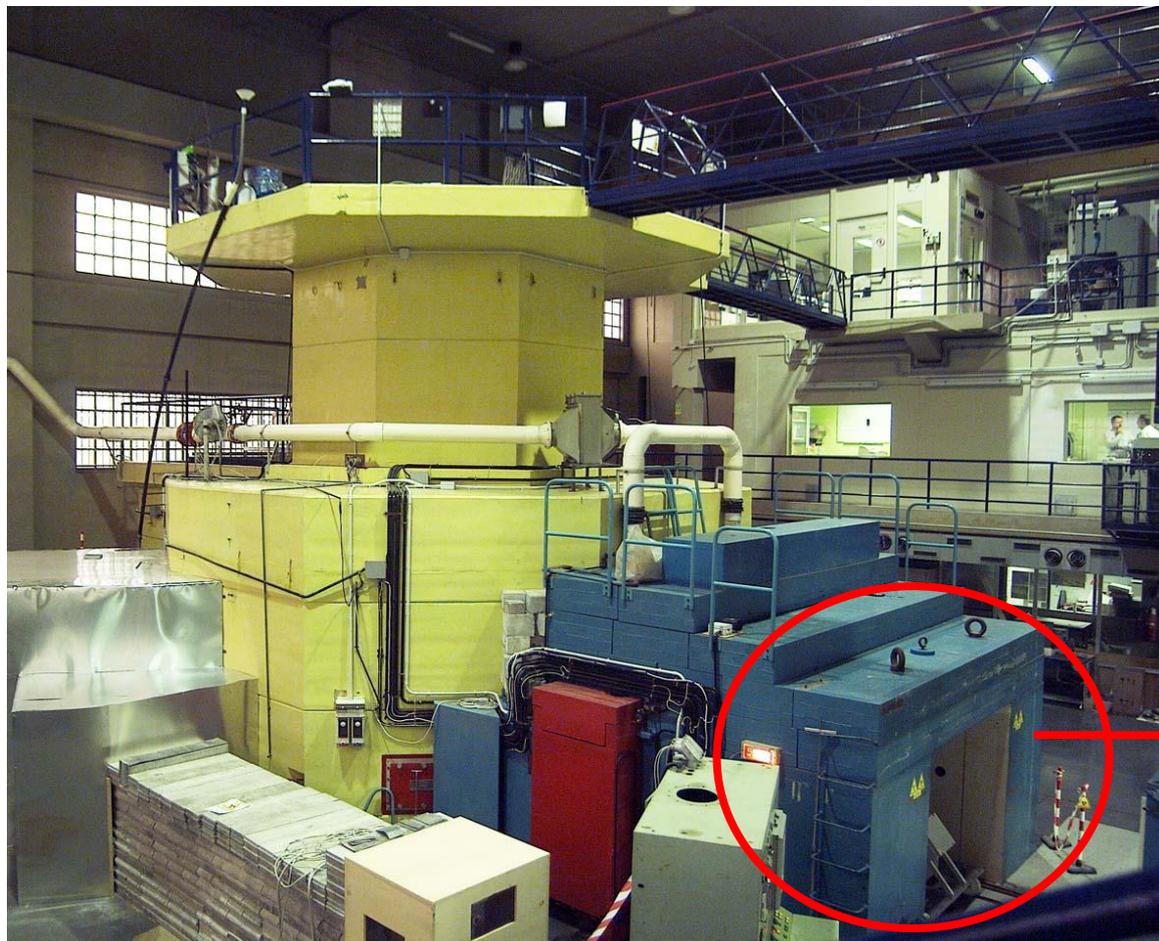
fettina di tessuto

supporto: CR39



rappresentazione schematica di un campione per auto-radiografia

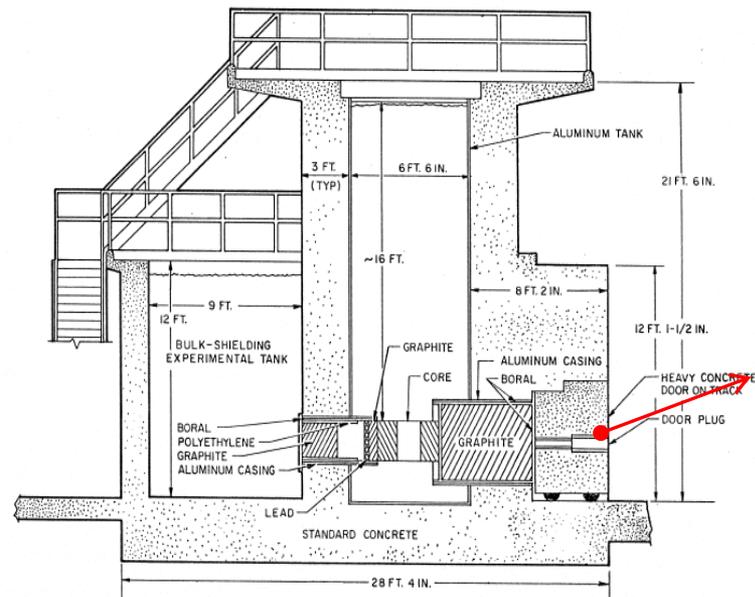
# Irraggiamento dei campioni in colonna termica



colonna termica

# Spettrometria $\alpha$

- Quantificazione della concentrazione di B10 in un campione sottile di tessuto mediante l'analisi dello SPETTRO di ASSORBIMENTO delle particelle cariche emesse per cattura neutronica nel campione stesso: irraggiamento sotto vuoto presso la colonna termica del TRIGA ( $2 \cdot 10^9$  n/cm<sup>2</sup>s) di campioni sottili (60  $\mu$ m) di tessuto biologico

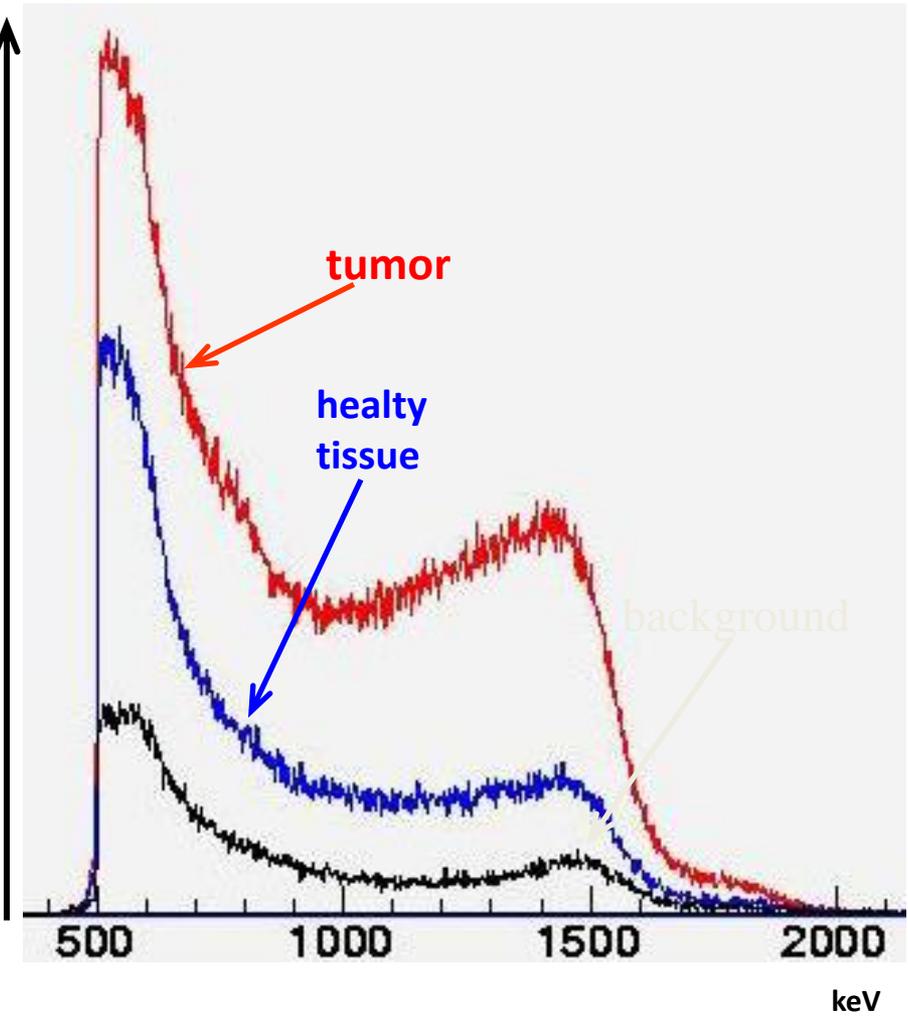
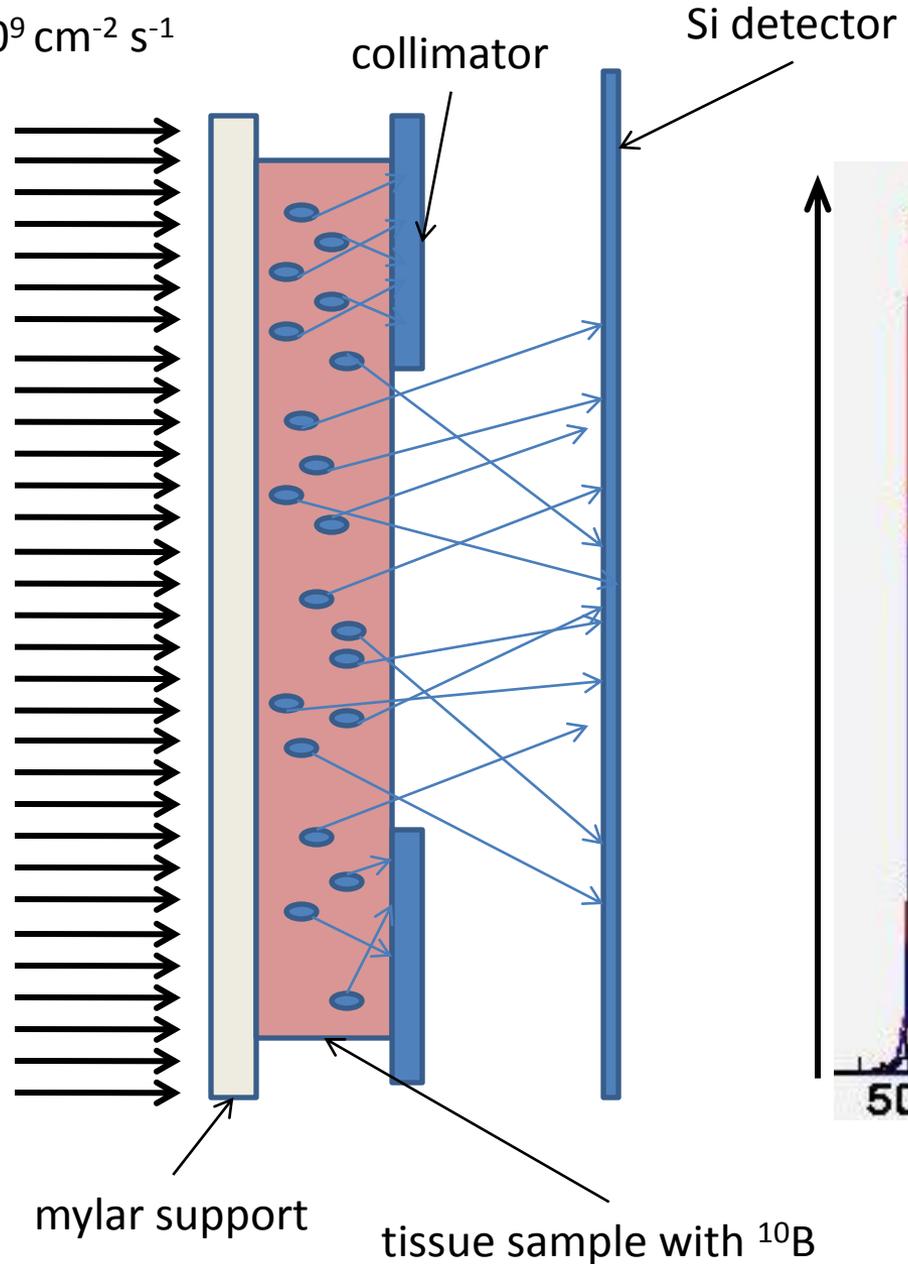


portacampioni in teflon (12 posizioni)

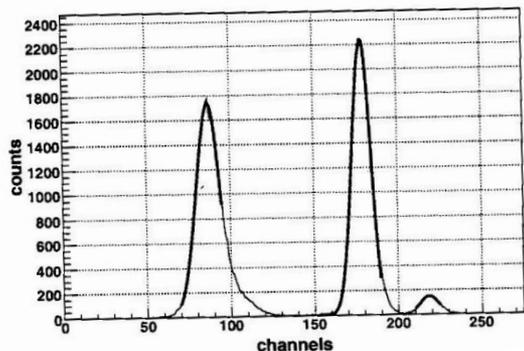


supporto rotante con controllo remoto

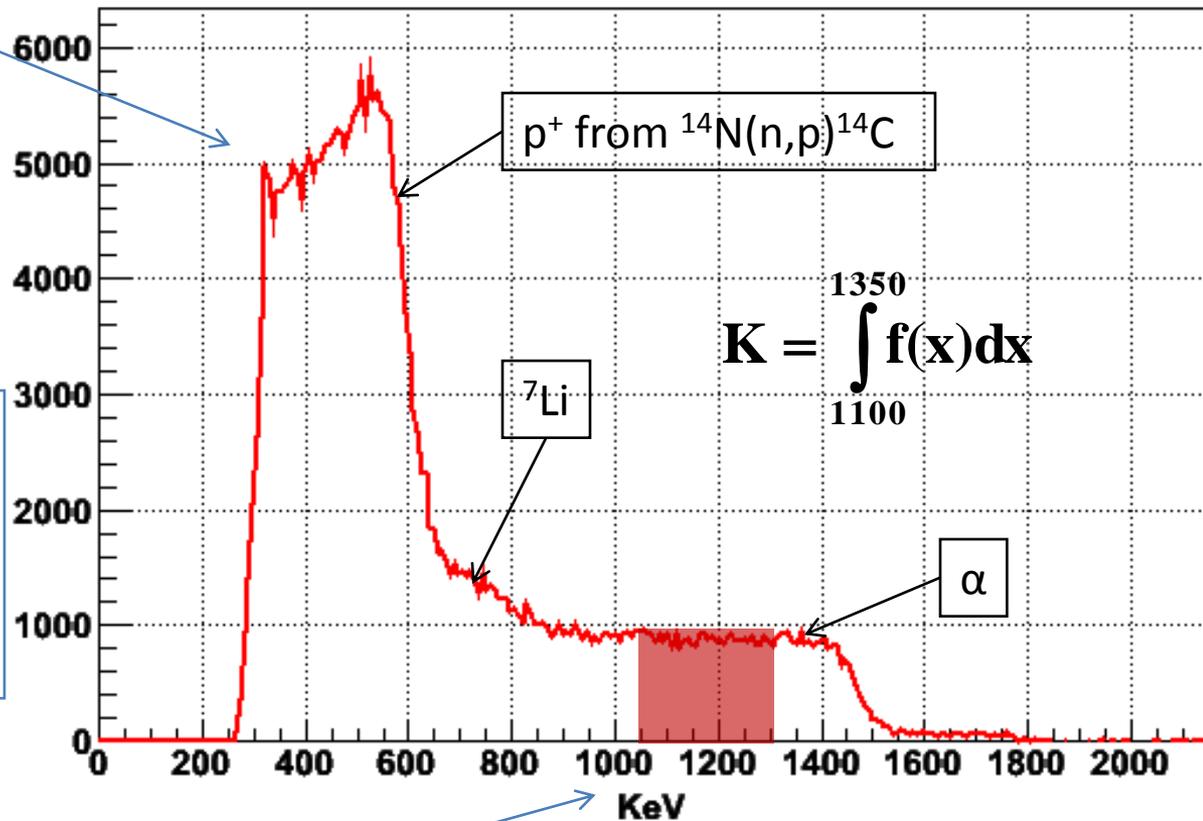
thermal neutron flux  
 $2 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$



Uno spettro di emissione si dice assorbito quando, a causa dello spessore del campione  $\gg$  del massimo cammino della particella in tessuto, questa viene parzialmente rallentata nel fuoriuscire dal campione stesso.



$\alpha$  contribution to the spectra  $\Rightarrow$  the highlighted zone represents the particles that arrived at the detector with RESIDUAL ENERGY BETWEEN 1100 and 1350 keV.



A calibration sample made up of a  $^{10}\text{B}$  implantation in Si is used to calibrate the experimental spectra in energy.

$$(\text{ppm})_F = \frac{K}{\eta\sigma\Phi S} \frac{\Delta E}{\Delta(\rho x)} \frac{A_w}{N_A} \frac{m_{\text{dry}}}{m_{\text{fresh}}}$$

Where:

$K$  is the number of events in the interval  $\Delta E$ ;

$\Delta E/\Delta(\rho x)$  is the  $\alpha$  stopping power in dry tissue;

$\eta$  is the efficiency of the detection system;

$\sigma$  is the cross section of the thermal n reaction on  $^{10}\text{B}$ ;

$\phi$  is the thermal neutron flux;

$S$  is the surface of the sample seen by the detector;

$A_w$  is the atomic weight of  $^{10}\text{B}$ ;

$N_A$  is the Avogadro number.

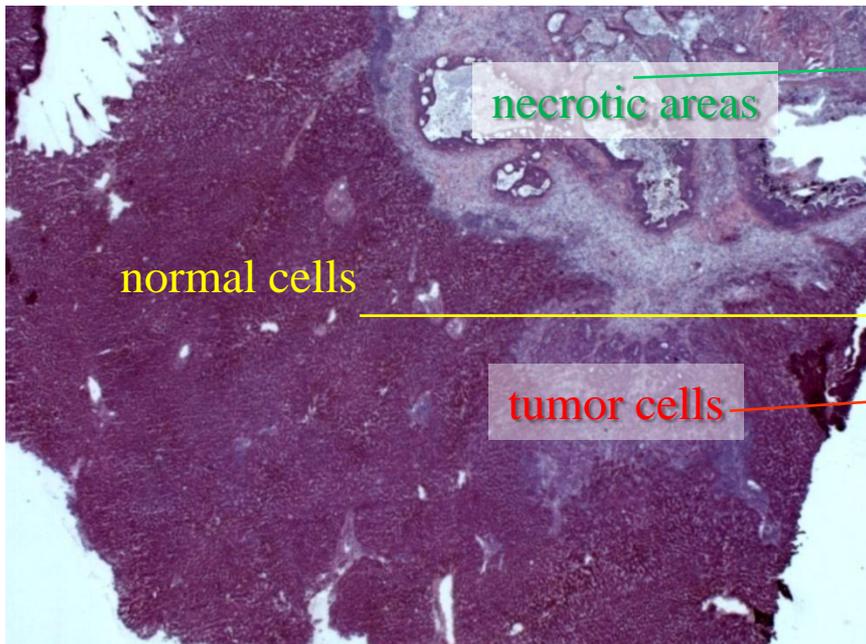
measured value

# The mixed sample analysis

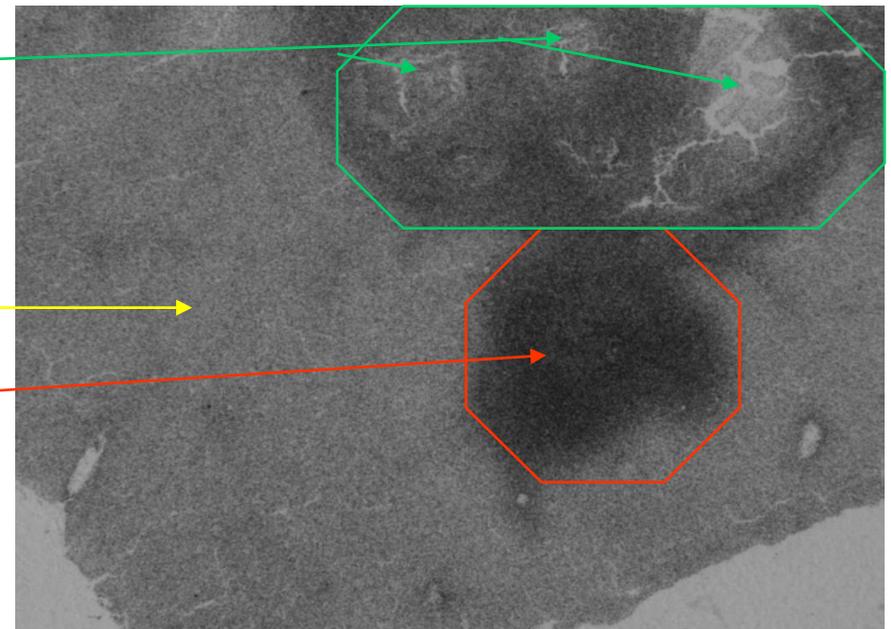
Inside this sample of a human metastatic nodule we see that within an area of a few squared millimeters we can find: tumour cells, normal cells, necrotic material, ...

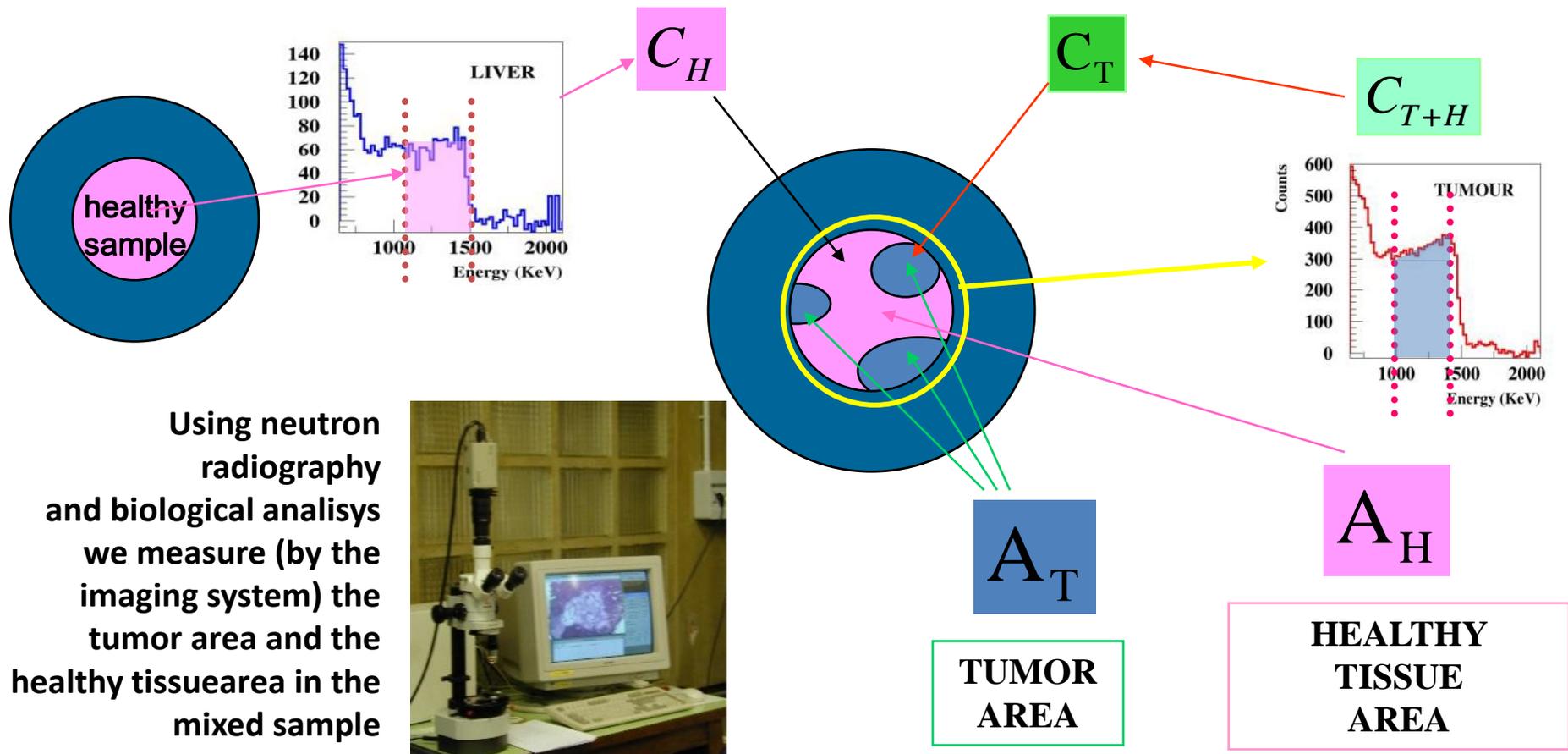
and neutron radiography shows us that in this sample the boron concentration is very different depending on the tissue type:

histological image



neutron radiography image





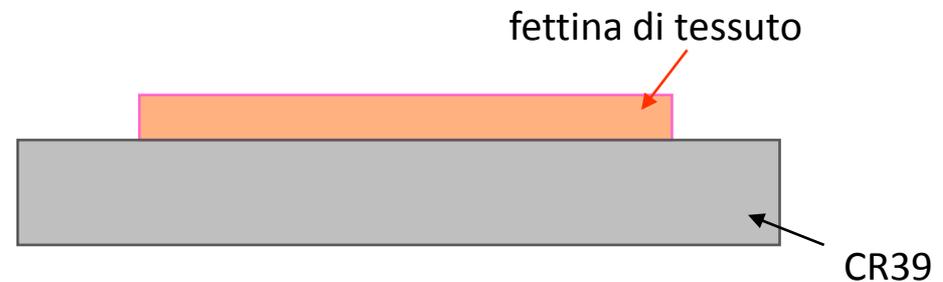
$$C_T = C_H \frac{A_H}{A_T} \left[ \frac{C_{T+H}}{C_H} + \frac{A_T}{A_H} - 1 \right]$$



$$R = \frac{C_T}{C_H}$$

# L'autoradiografia neutronica qualitativa

- Il CR39 è un Solid State Nuclear Track Detector = SSNTD, cioè è una plastica trasparente, sensibile alle particelle cariche ma non ai fotoni emessi dalle reazioni nucleari dei neutroni all'interno della fettina di tessuto;



- durante l'irraggiamento, i prodotti carichi della reazione  $^{10}\text{B}(n,\alpha)^7\text{Li}$  incidono lo spessore di CR39;

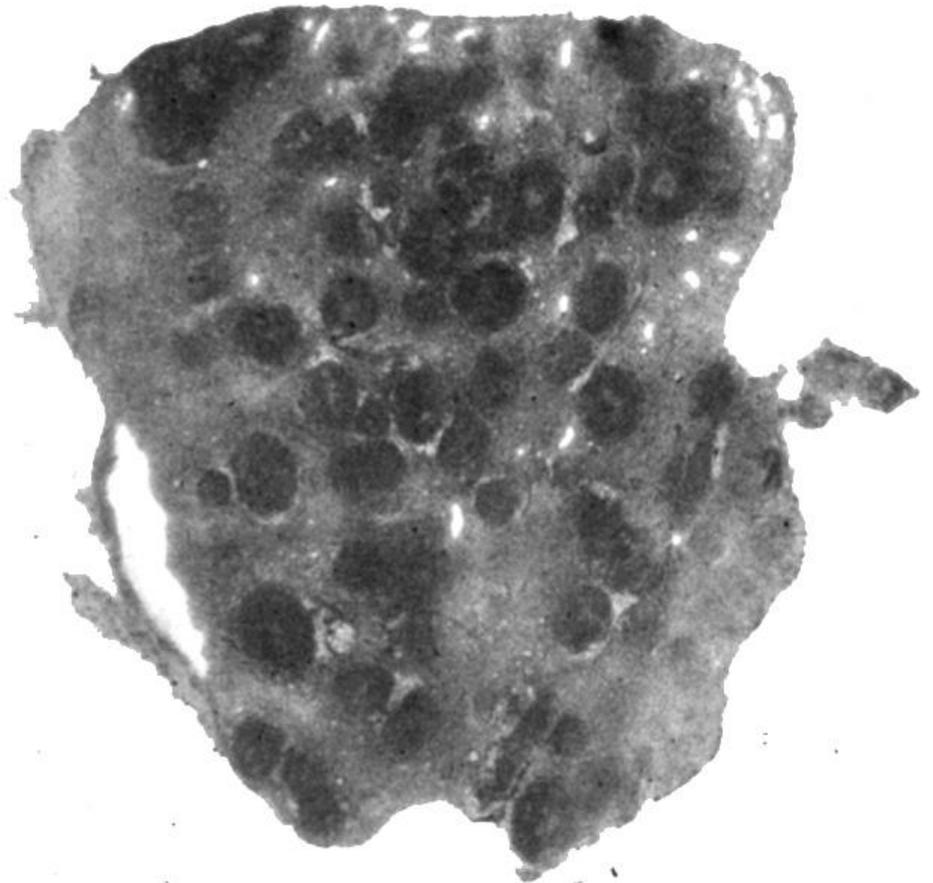
- queste microfratture latenti diventano visibili, come puntini, mediante una procedura di sviluppo con una soluzione di soda caustica (NaOH), simile allo sviluppo delle foto su pellicola...

# L'autoradiografia neutronica qualitativa

... Si ottiene la mappa 2D della distribuzione di B10 nel campione irraggiato

regioni scure/nere:  
 $\max(n^\circ \text{ tracce}) = \max(C_B)$

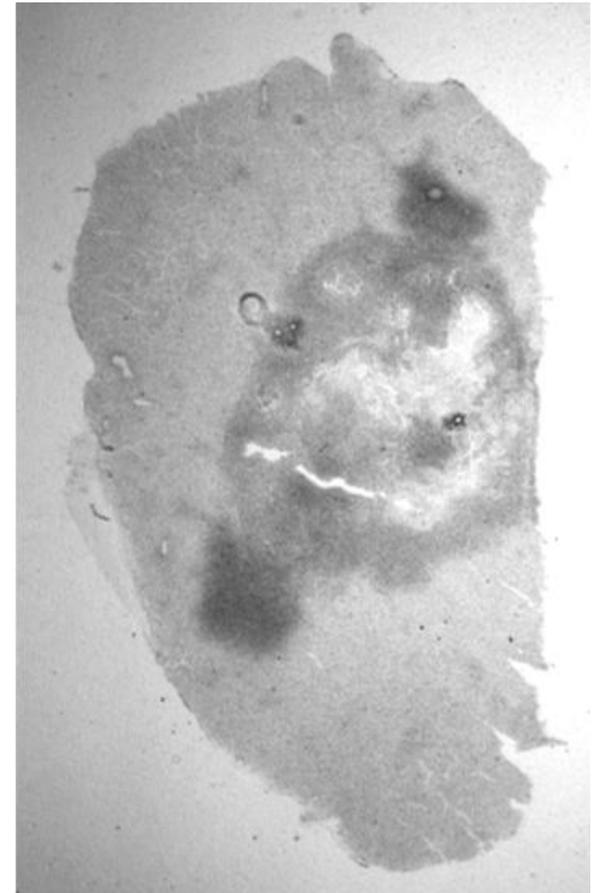
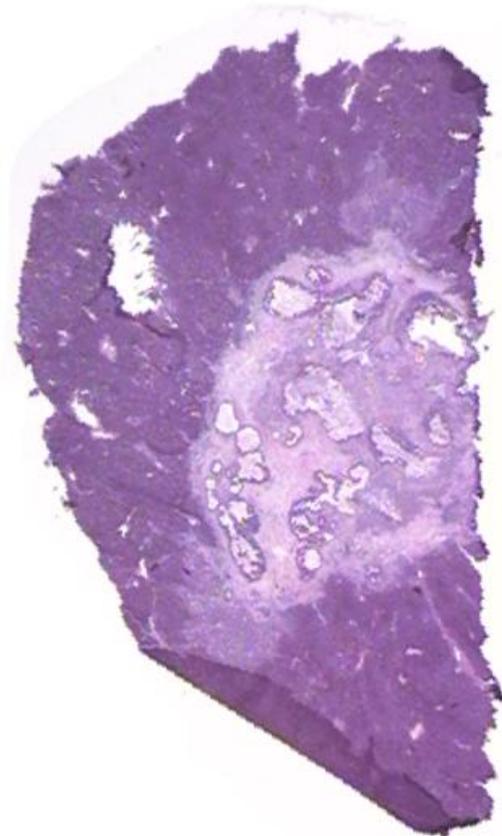
regioni chiare/grige:  
 $\min(n^\circ \text{ tracce}) = \min(C_B)$



# L'autoradiografia neutronica qualitativa

... Si ottiene la mappa 2D della distribuzione di B10 nel campione irraggiato nel campione irraggiato

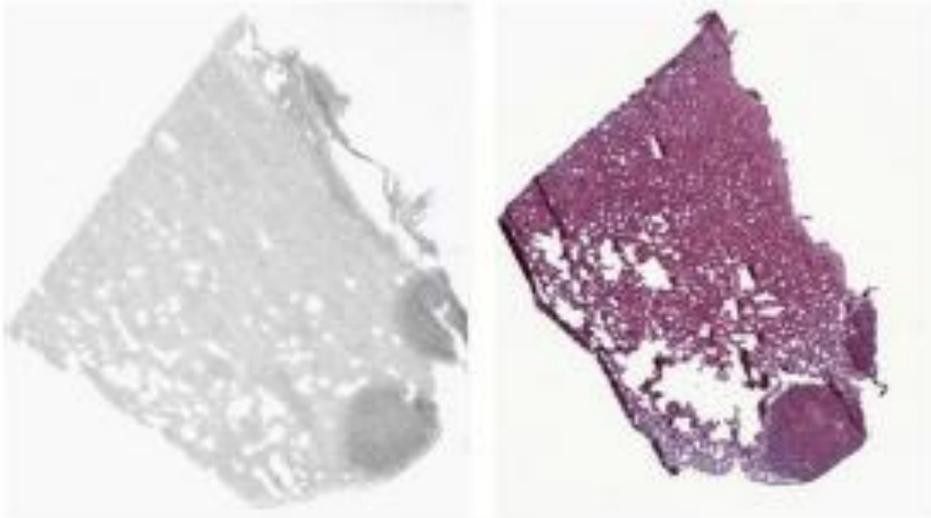
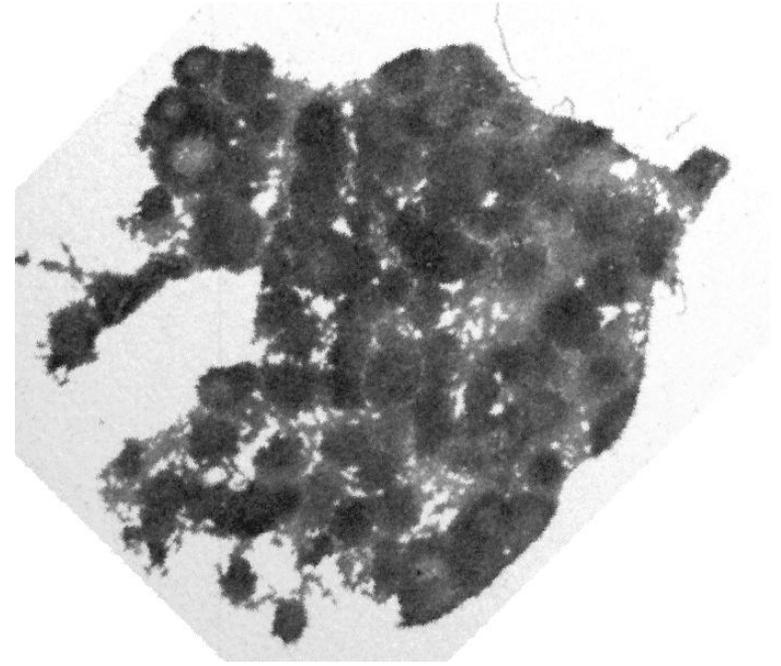
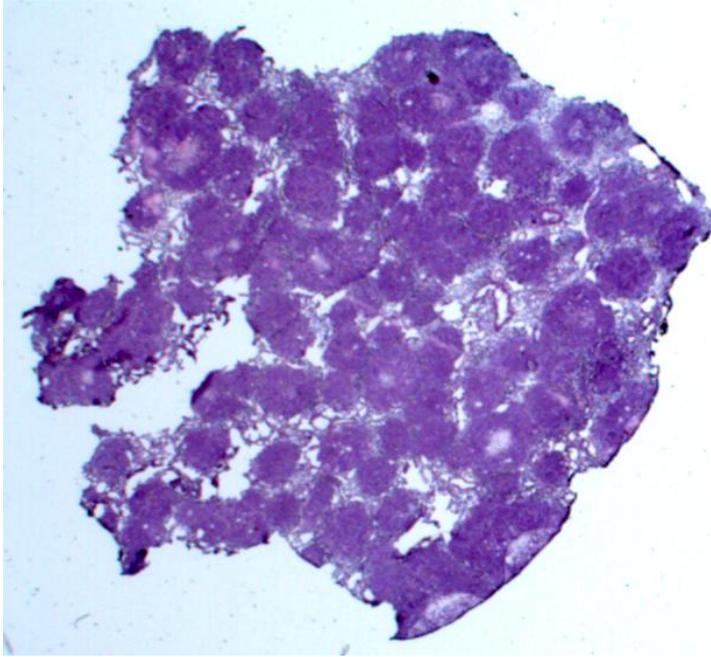
confronto tra un  
campione  
istologico  
(sinistra) e  
l'adiacente  
radiografia  
(destra)



||

V

riconoscimento  
regioni tumorali



rat lung metastases + BPA-f

*... al lavoro!!!*