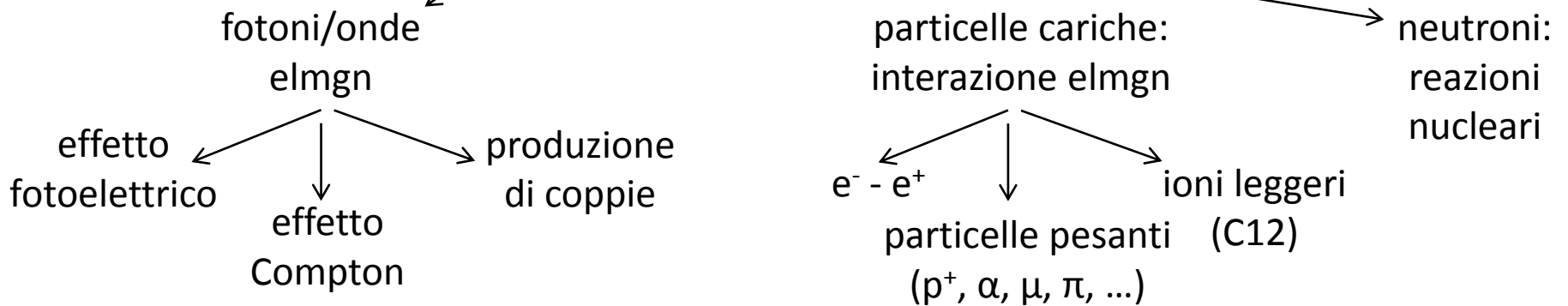


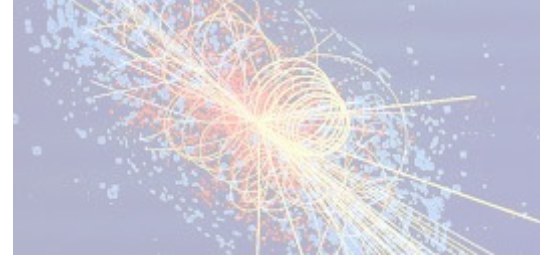
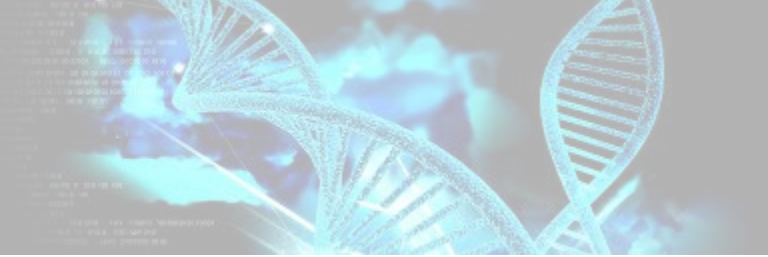


Introduzione

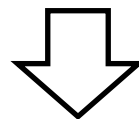
- **Ieri** avete imparato qualcosa su come le radiazioni (ionizzanti) interagiscono con la **materia**

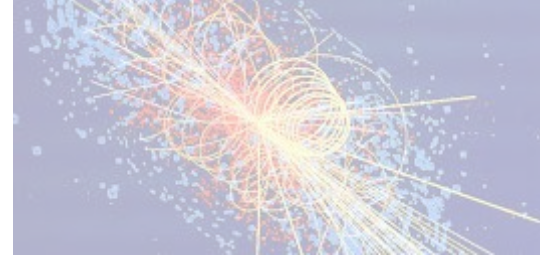
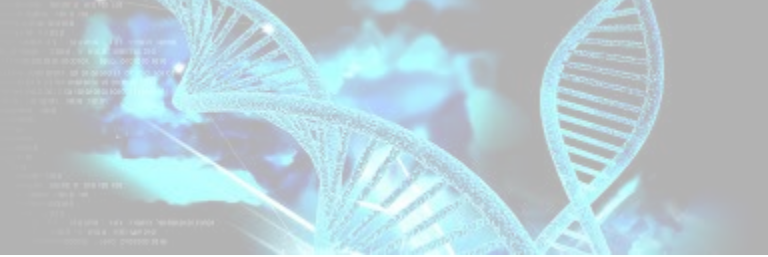


- **Oggi** ci occuperemo di quello che succede quando la **materia è biologica**

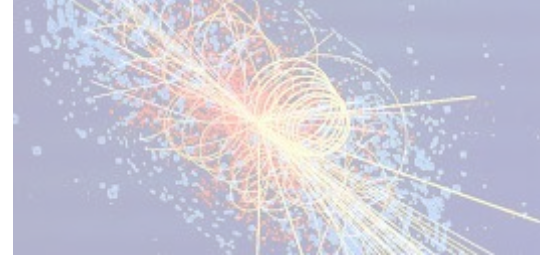
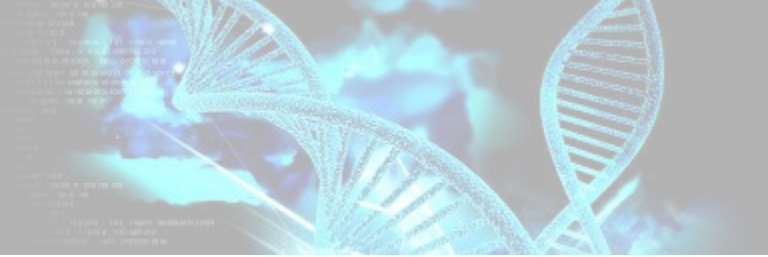


- *Radiazione ionizzante* (IR) = radiazione carica o neutra in grado di ionizzare gli atomi e le molecole della materia attraversata, ossia liberare uno o più elettroni
- *Radiobiologia* = la scienza, altamente interdisciplinare tra biologia fisica e chimica, che studia l'azione delle IR sugli esseri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



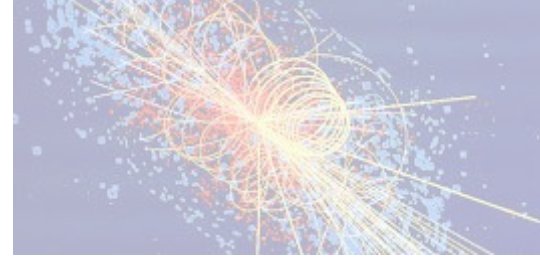
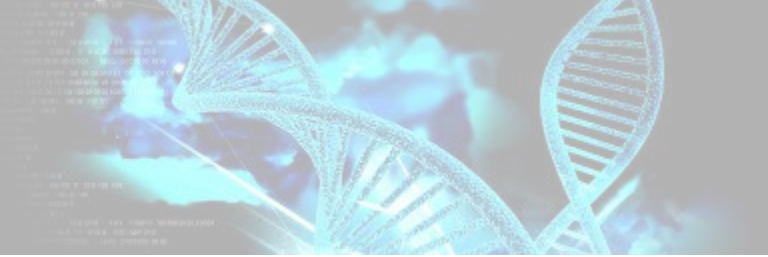


- *Radioterapia* = l'uso delle IR a scopo terapeutico per curare un tumore (solido)
 - *un atomo/molecola ionizzata è altamente reattiva e va incontro ad una rapida cascata di reazioni chimiche che possono portare alla rottura dei suoi legami e quindi alla disaggregazione/disattivazione della molecola 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*

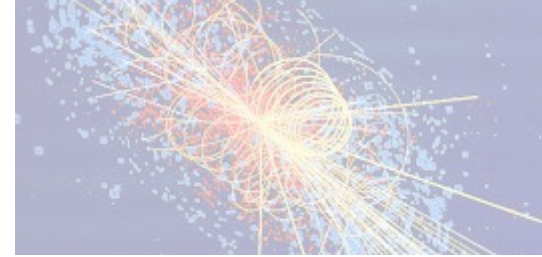
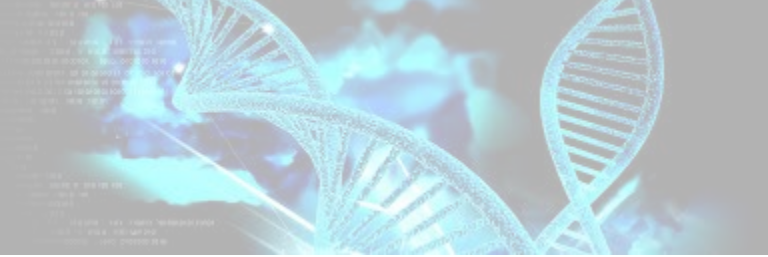
<VS>



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

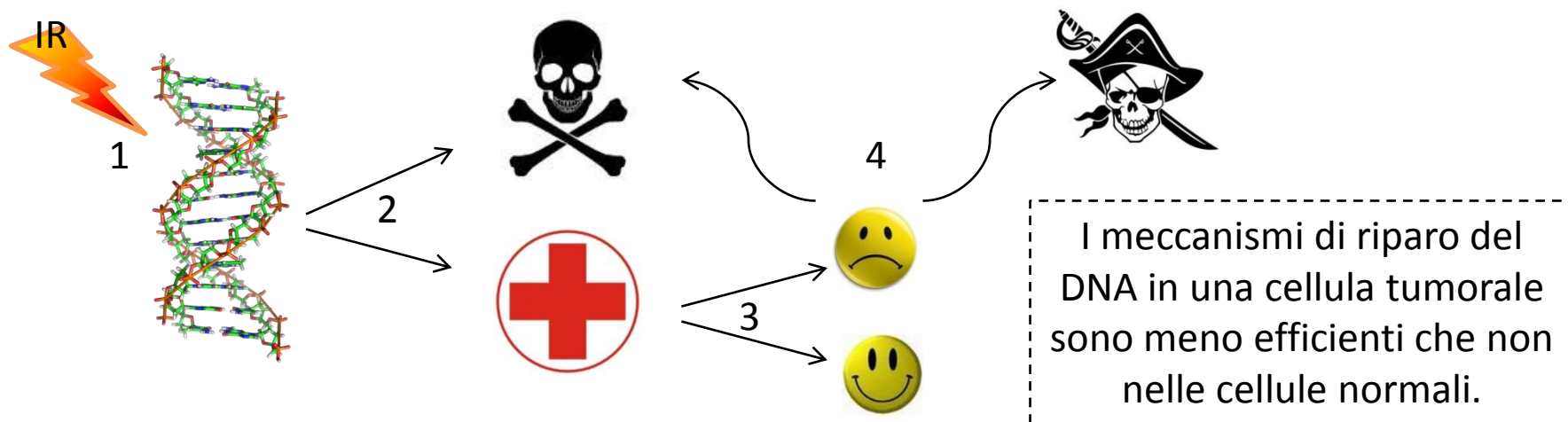
- *DNA è presente in una sola copia; non ha un proprio turnover anzi viene in parte tramandato di generazione in generazione; è la più grande molecola dentro la cellula quindi è il miglior obiettivo per il “tiro al bersaglio” della IR; ha un insostituibile ruolo regolatore, dicendo alla cellula chi è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

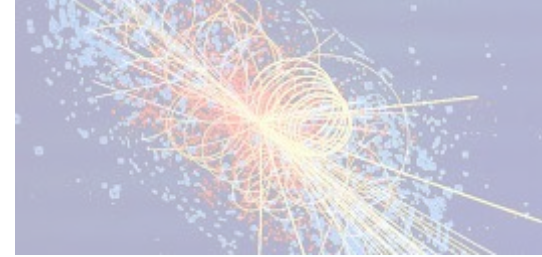
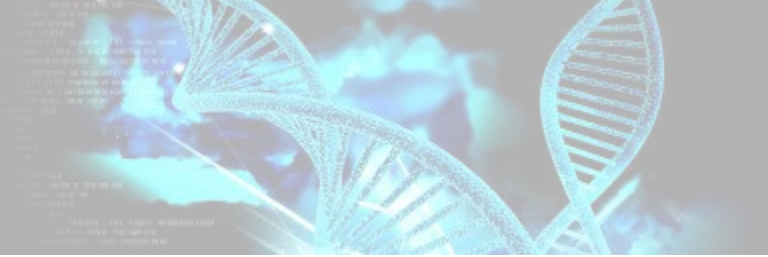
danni permanenti al DNA risultano di solito seri e/o letali



- *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)

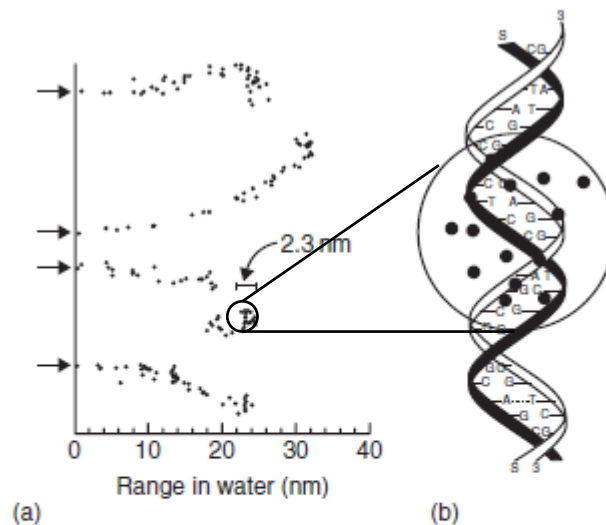
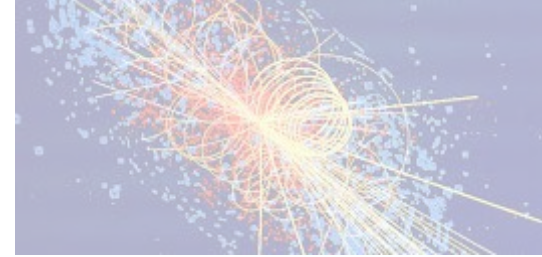
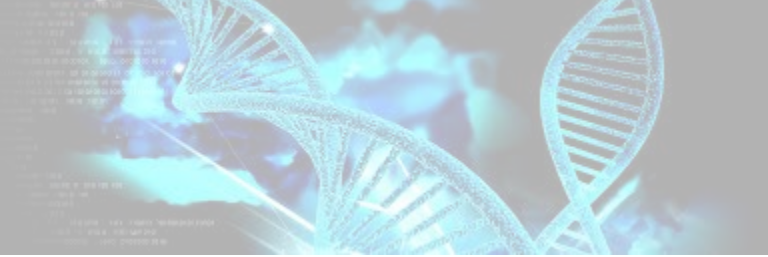


Figure 2.1 (a) Computer-simulated tracks of 1 keV electrons. Note the scale in relation to the 2.3 nm diameter of the DNA double helix (adapted from Chapman and Gillespie, 1981). (b) Illustrating the concept of a local multiply-damaged site produced by a cluster of ionizations impinging on DNA.

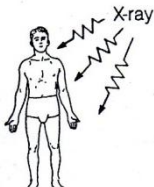


- grandezza operativa misurabile (anche se non è facile!!!) per quantificare l'entità dell'interazione della IR con la materia (biologica) = deposizione di energia a livello locale

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

Total-Body Irradiation


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

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


A

Drinking Hot Coffee


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

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


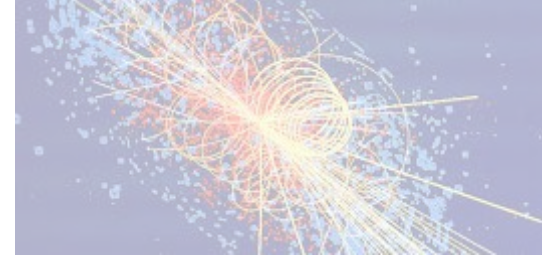
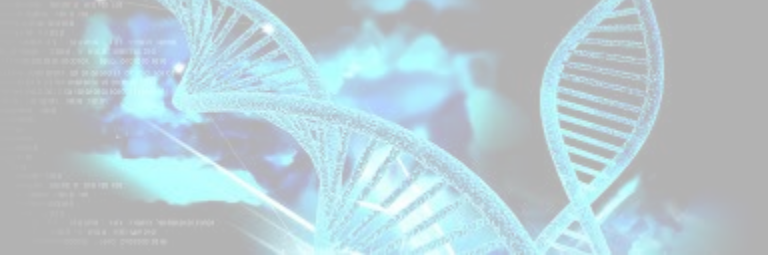
B

Mechanical Energy: Lifting a Person

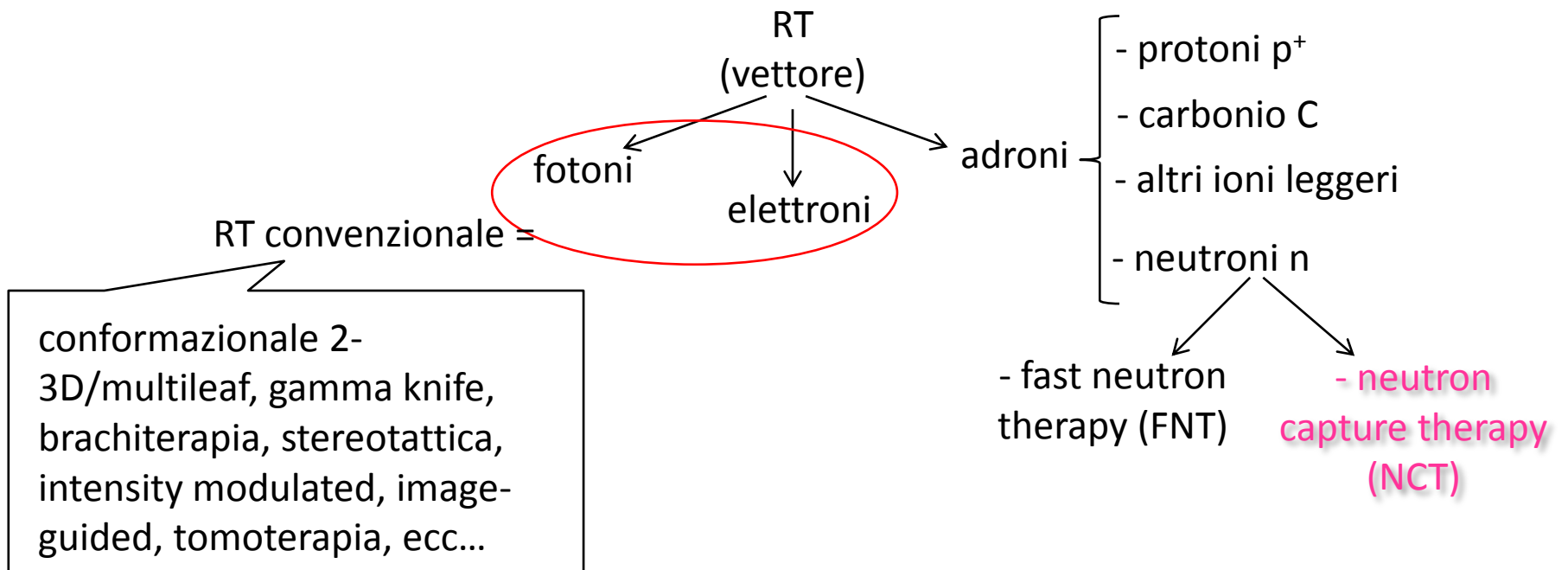
Mass = 70 kg
Height lifted to equal the energy in the

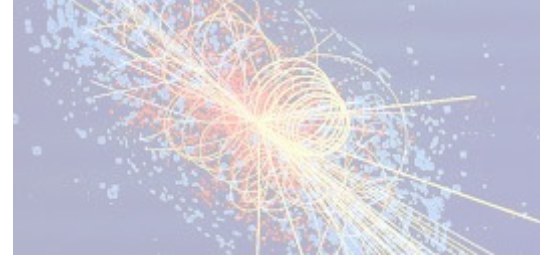
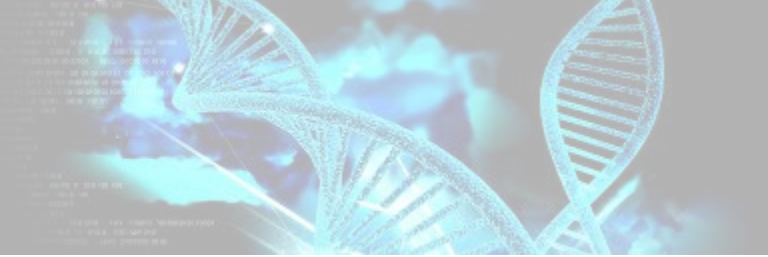
$$\text{LD/50/60} = \frac{280}{70 \times 0.0981}$$
$$= 0.4 \text{ m (16 inches)}$$


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



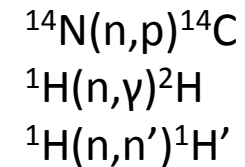
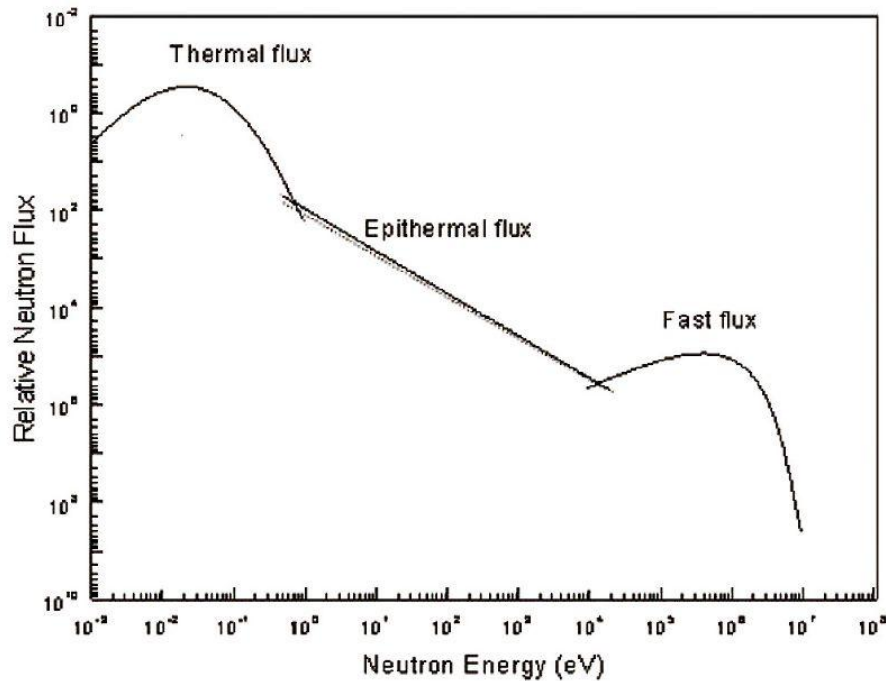
[Interazione neutrone-materia]

- 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: $E > 10 \text{ keV}$

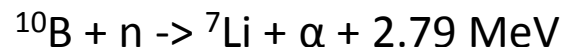


Neutron Capture Therapy (NCT)

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

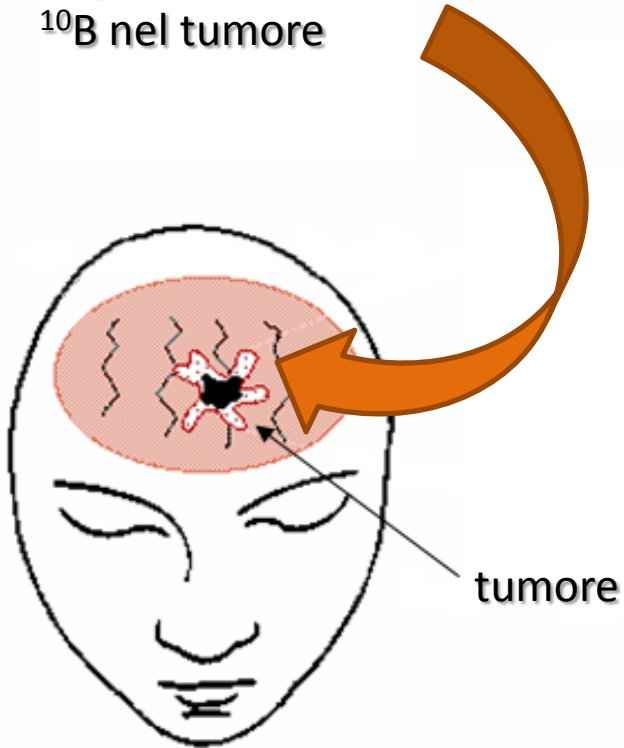
<i>Nuclide</i>	<i>Reaction</i>	<i>Cross section</i> ^(*) $\sigma(b)$	<i>Nuclide</i>	<i>Reaction</i>	<i>Cross section</i> ^(*) $\sigma(b)$
^3He	(n,p)	5327 ± 10	^{155}Gd	(n, γ)	56200 ± 1000
^6Li	(n, α)	936 ± 6	^{157}Gd	(n, γ)	242000 ± 4000
^{10}B	(n, α)	3840 ± 11	^{174}Hf	(n, γ)	1500 ± 1000
^{113}Cd	(n,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

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

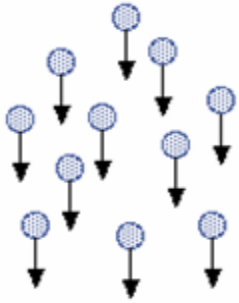


Terapia **BINARIA?**

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



neutroni incidenti

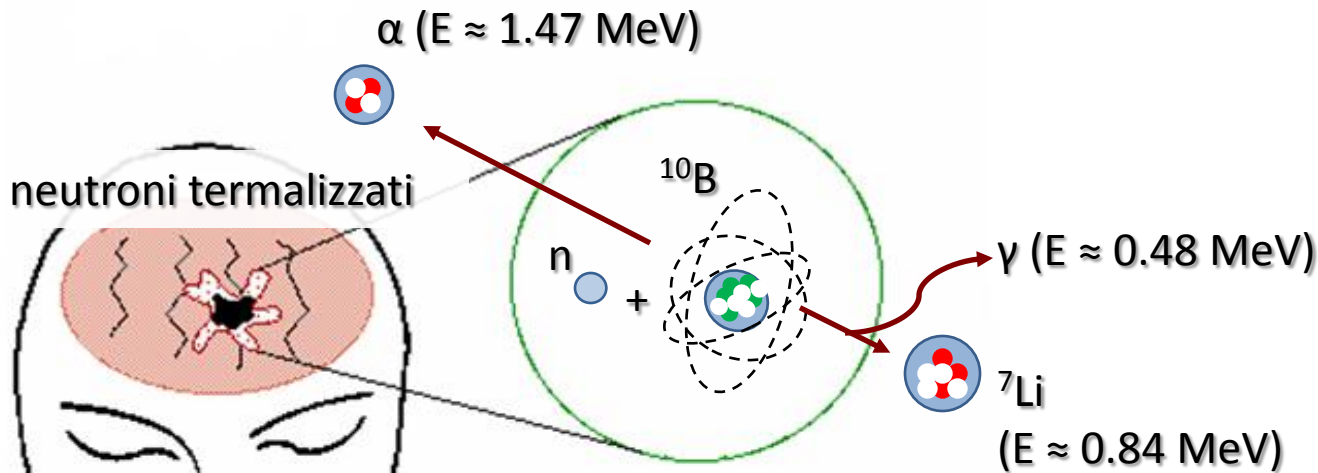


Fase 2:
irraggiamento con un
fascio di neutroni di
opportuna energia



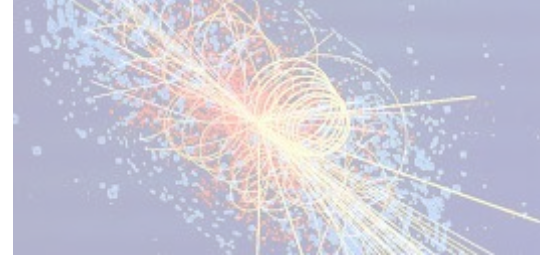
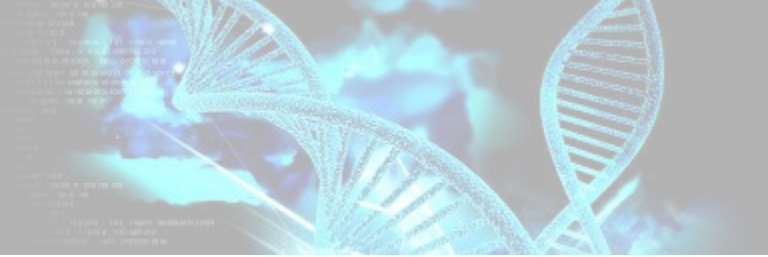
Terapia
BINARIA?

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 $\approx 10 \mu\text{m}$)

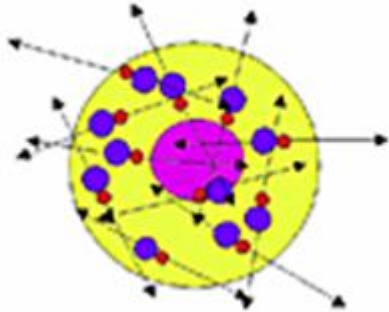
radiazione
secondaria di alto
LET



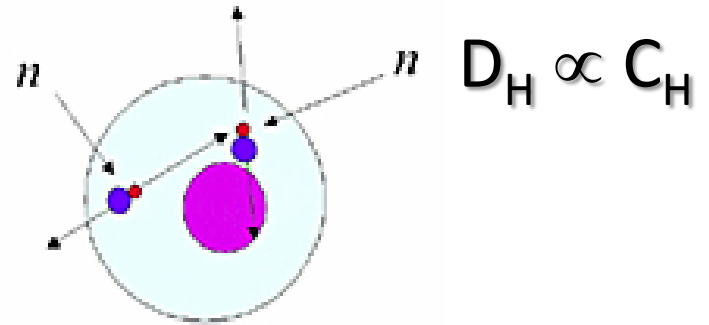
Il razionale terapeutico della (B)NCT:

cellula tumorale

$$D_T \propto C_T$$



cellula sana



$$D_H \propto C_H$$

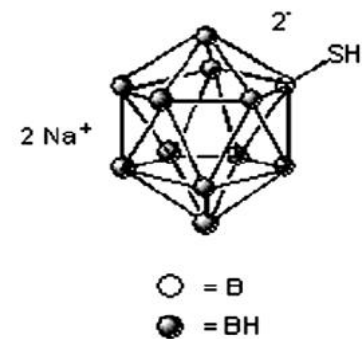
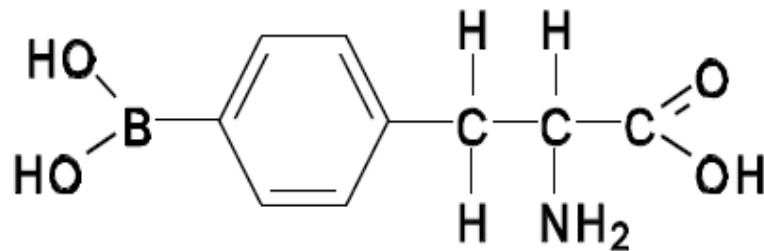
se $C_T > C_H \Rightarrow$ dose letale SOLO nelle cellule tumorali

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

selettività \propto biodistribuzione ^{10}B

L'aspetto cruciale della (B)NCT: i veicolanti (del ^{10}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”?

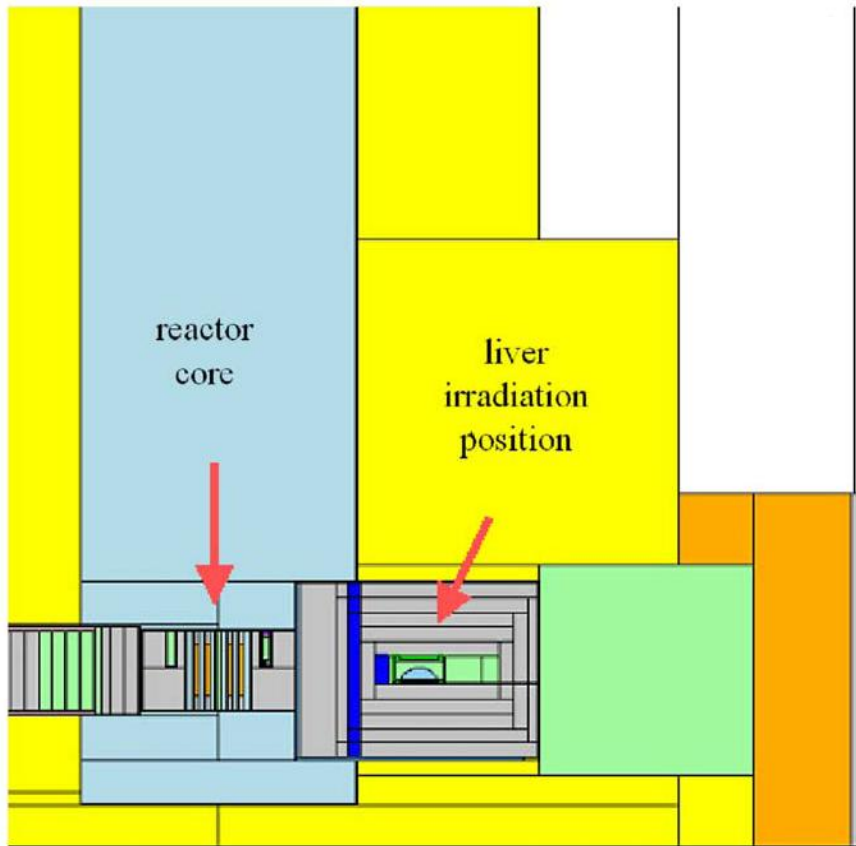
- progetta e realizza la sorgente di neutroni
- misura la concentrazione di B10 accumulatosi nelle cellule (tumoriali e sane)
- visualizza il B10 accumulatosi nei tessuti e nelle cellule
- sviluppa algoritmi per calcolare la dose trasferita nei tessuti durante l’irraggiamento (Treatment Planning System, 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}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

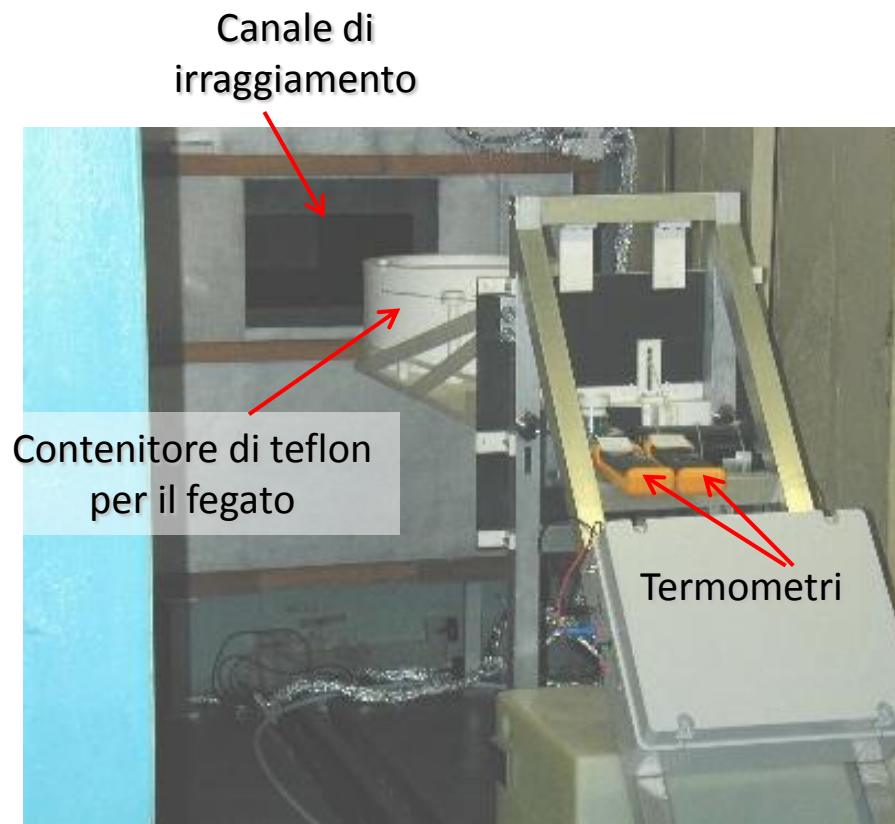
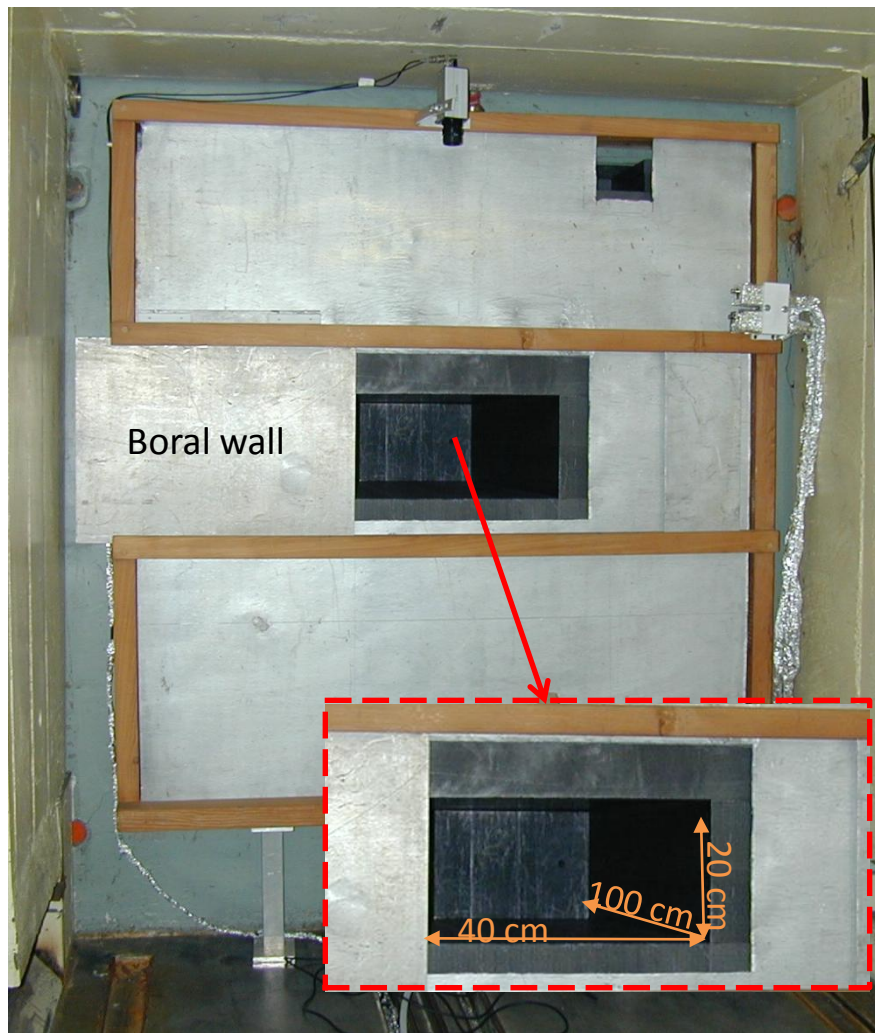


Il progetto TAO rMINA: trattamento di metastasi epatiche



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

Il progetto TAO rMINA: trattamento di metastasi epatiche

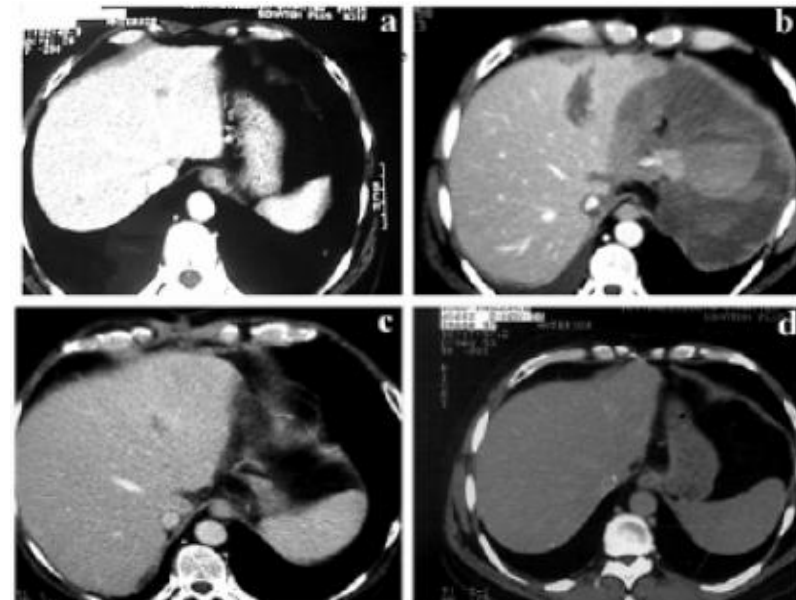


Il progetto TAO rMINA: trattamento di metastasi epatiche

- 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

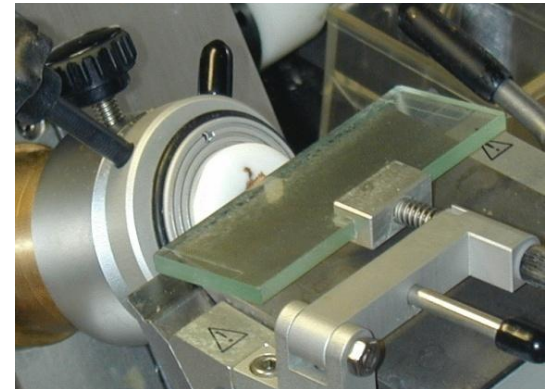
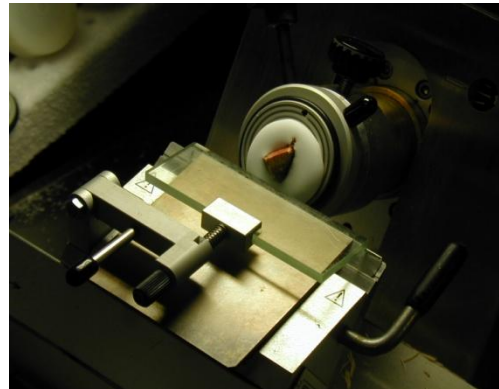
	Boron concentration (ppm)		Absorbed dose (Gy)	
	First patient	Second patient	First patient	Second patient
Tumor	47 ± 2	45 ± 5	18 ± 1	18 ± 1
Liver	8 ± 1	8 ± 1	6 ± 0.3	6 ± 0.3
Tumor/liver	5.9	5.6	3	3

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

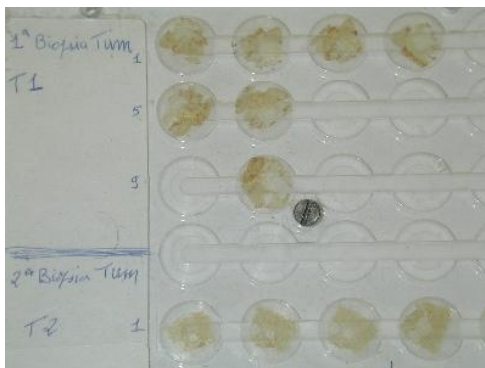


Tecniche di misura del ^{10}B a Pavia per BNCT

- Preparazione del campione (biopsia da paziente, modello animale, ...): taglio criostatico del campione (10-60 μm)



α SPETTROMETRIA

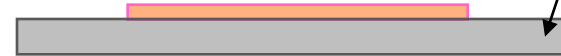


sezioni di tessuto depositate su dischetti di mylar (per α -spettrometria)

AUTORADIOGRAFIA NEUTRONICA

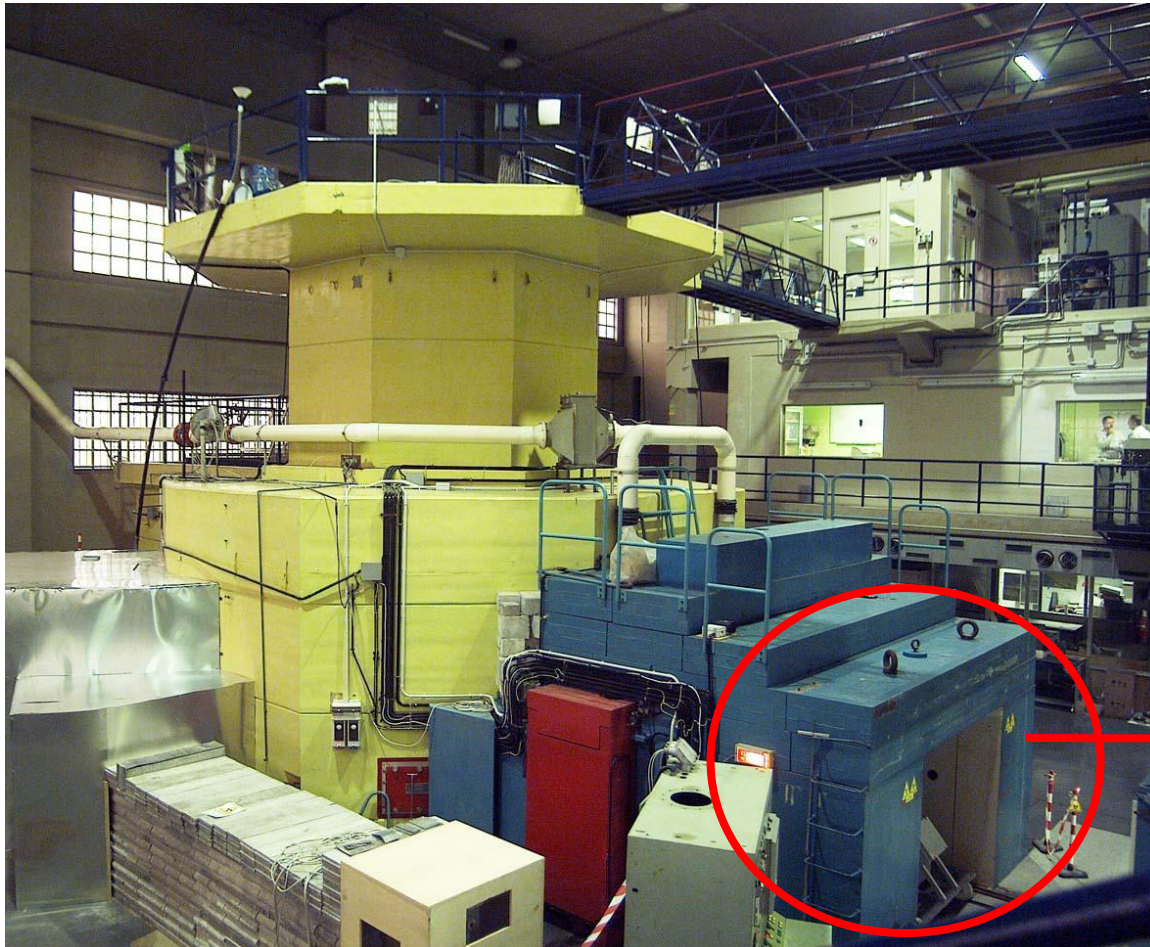
fettina di tessuto

supporto: CR39



rappresentazione schematica di un campione per auto-radiografia

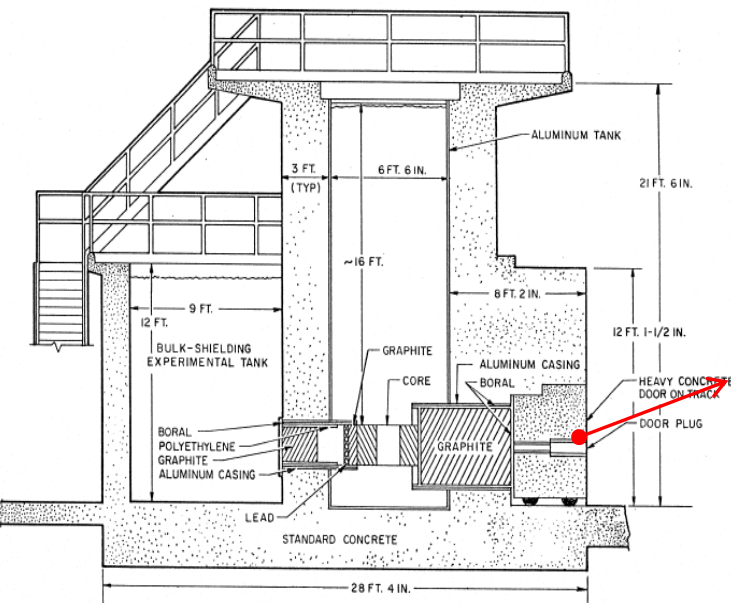
Irraggiamento dei campioni in colonna termica



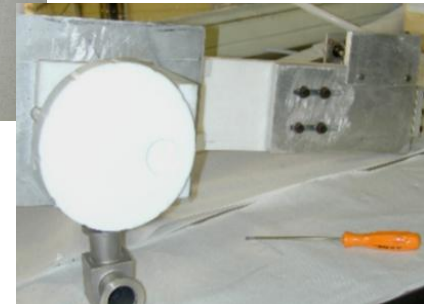
colonna termica

Spettrometria α

- 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/cm²s) di campioni sottili (60 μ m) di tessuto biologico

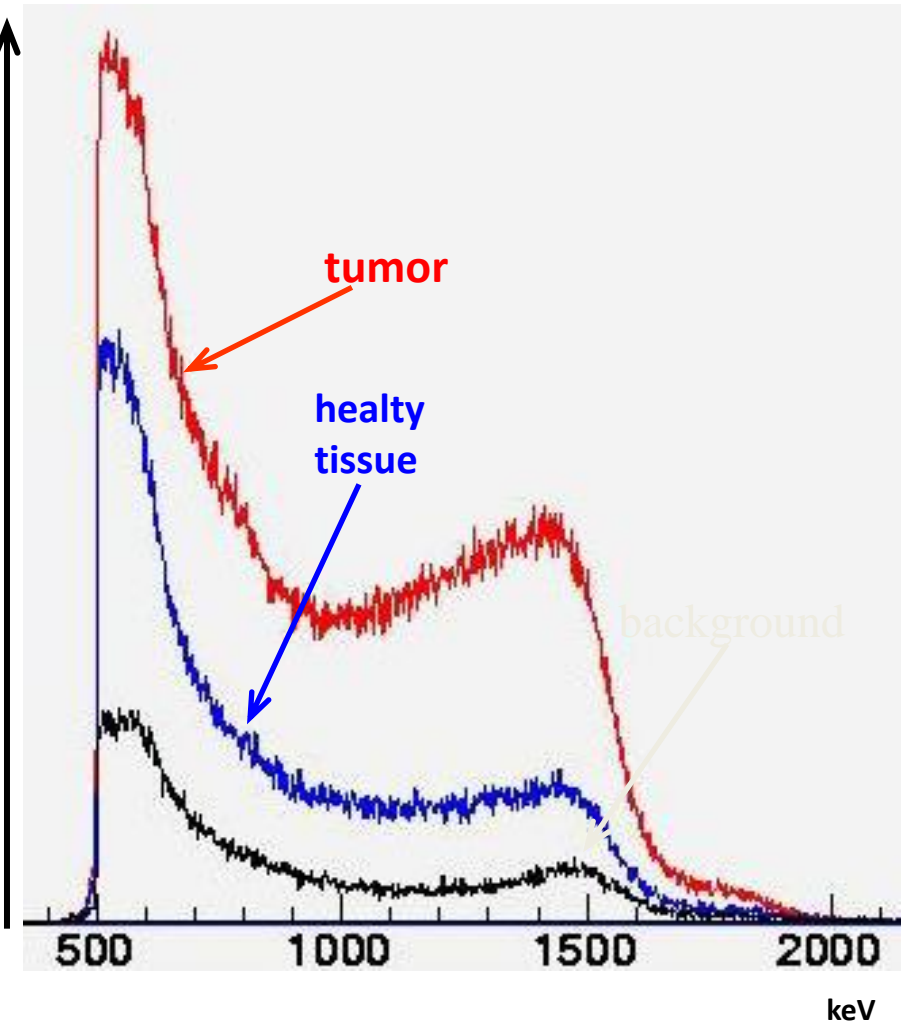
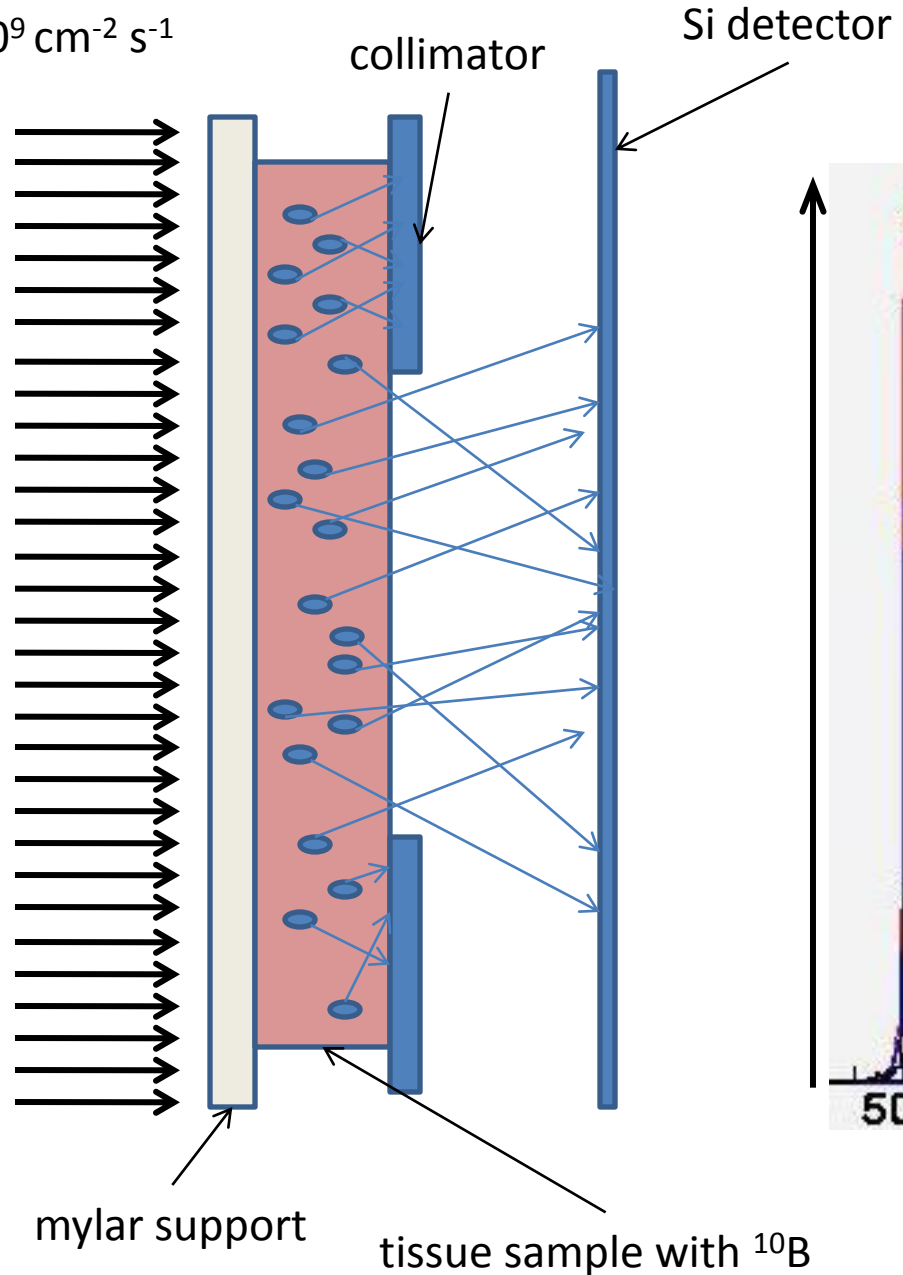


portacampioni in teflon (12 posizioni)

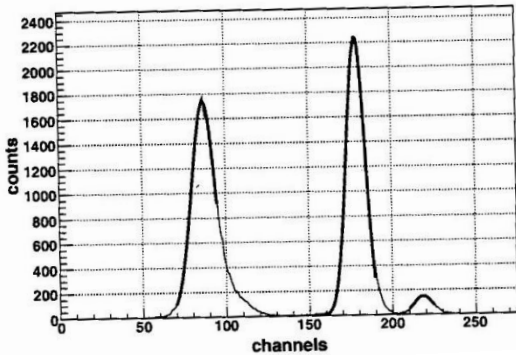


supporto rotante con controllo remoto

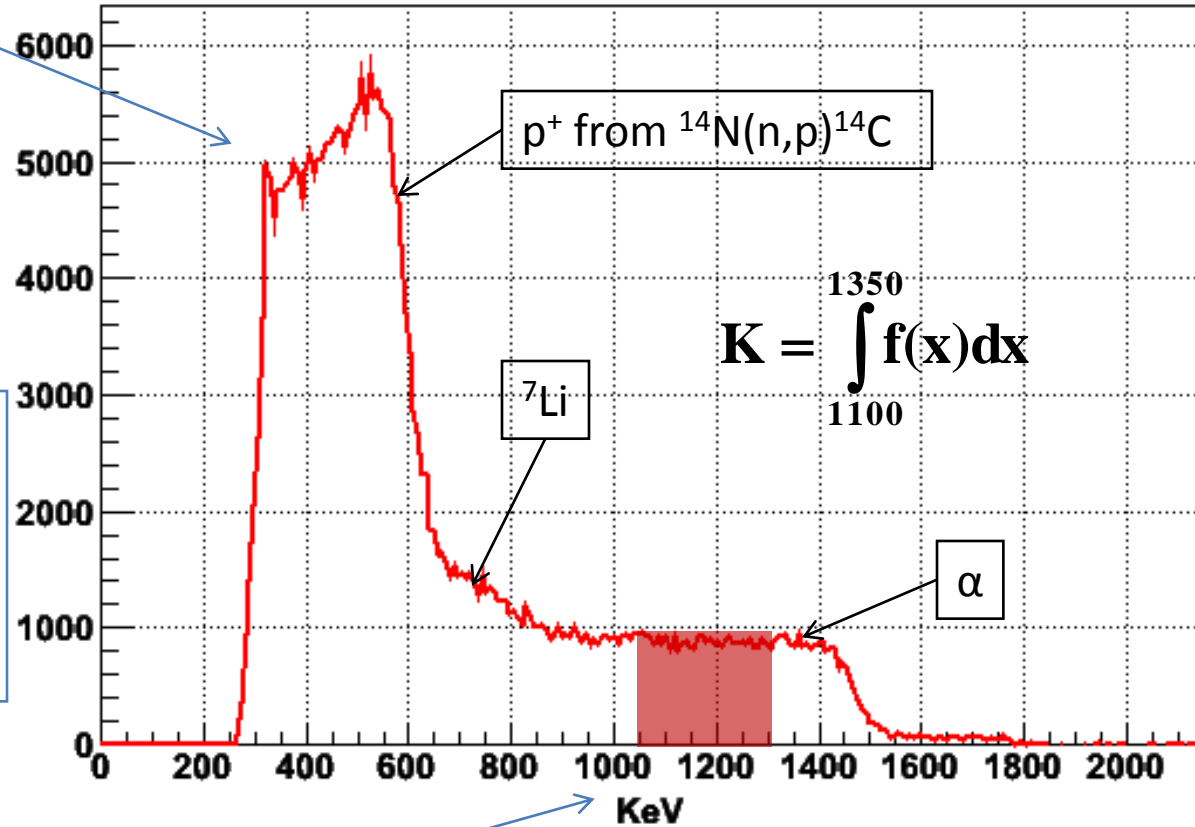
thermal neutron flux
 $2 \cdot 10^9 \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$



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.



α contribution to the spectra => 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}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 ΔE ;

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

η is the efficiency of the detection system;

σ is the cross section of the thermal n reaction on ^{10}B ;

ϕ is the thermal neutron flux;

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

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

N_A is the Avogadro number.

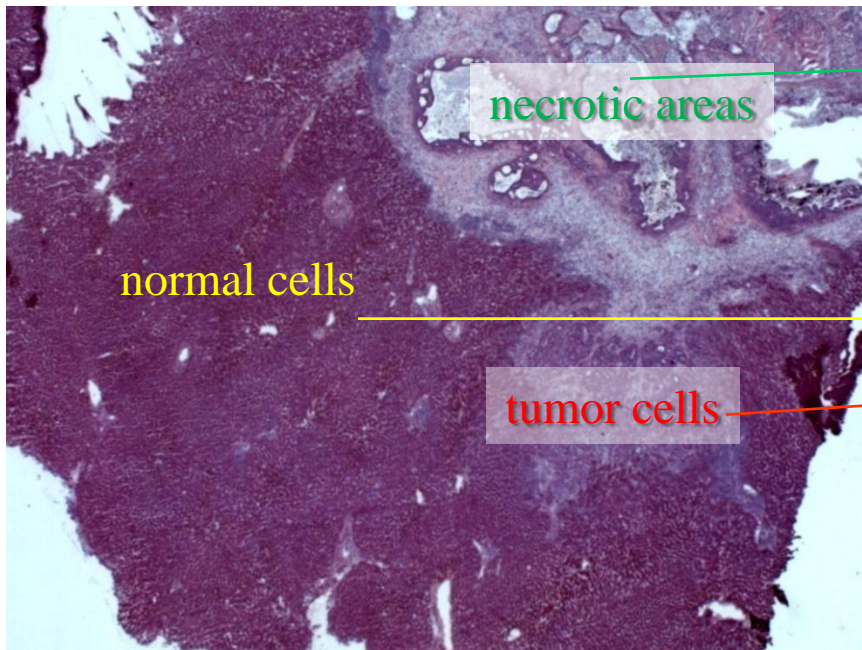
measured value

The mixed sample analysis

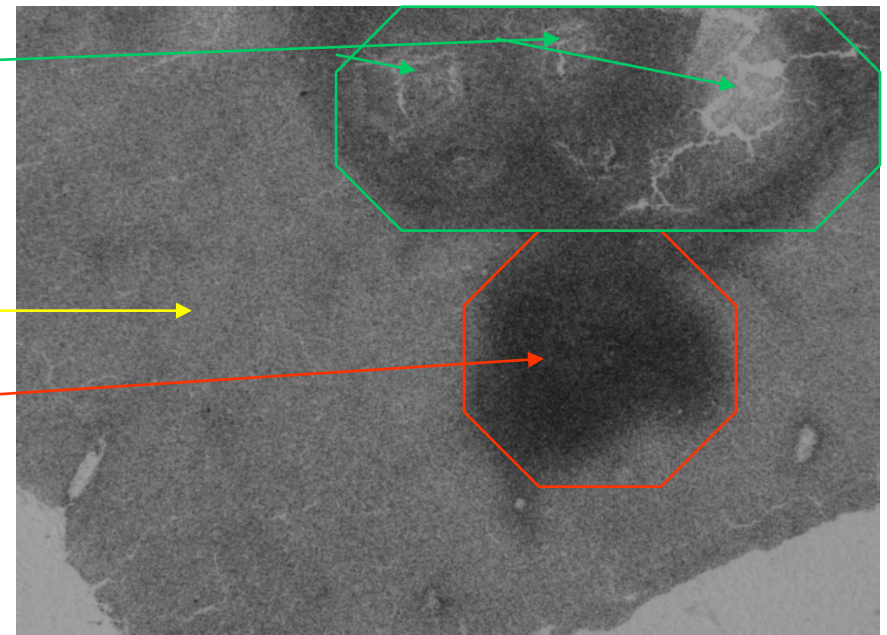
Inside this sample of a human metastatic nodule we see that within an area of a few squared millimeters we can find: tumour cells, normal cells, necrotic material, ...

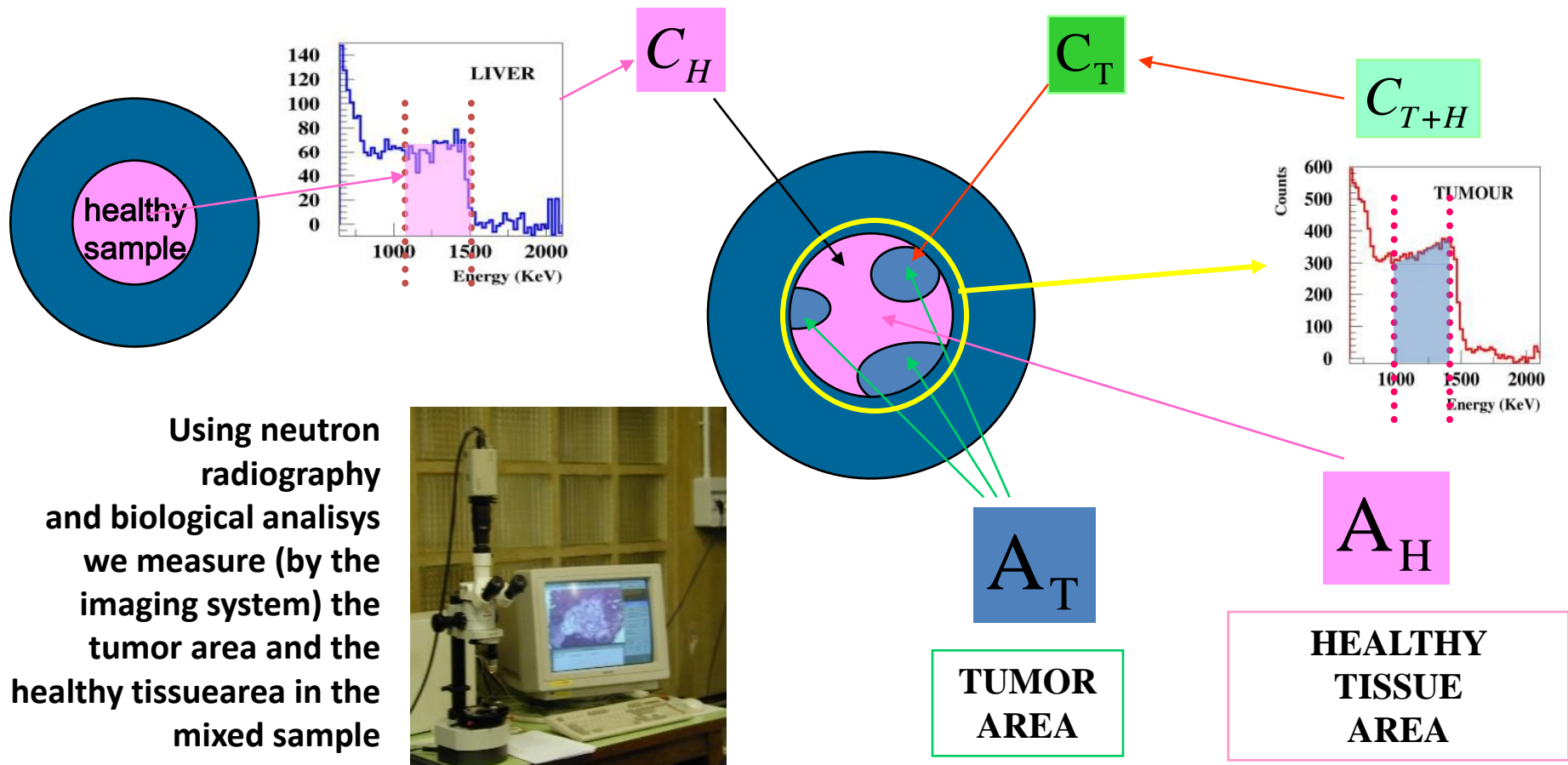
and neutron radiography shows us that in this sample the boron concentration is very different depending on the tissue type:

histological image



neutron radiography image





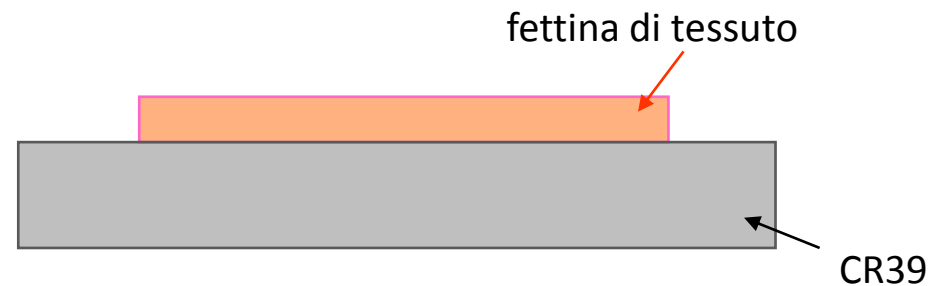
$$C_T = C_H \frac{A_H}{A_T} \left[\frac{C_{T+H}}{C_H} + \frac{A_T}{A_H} - 1 \right]$$



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

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;



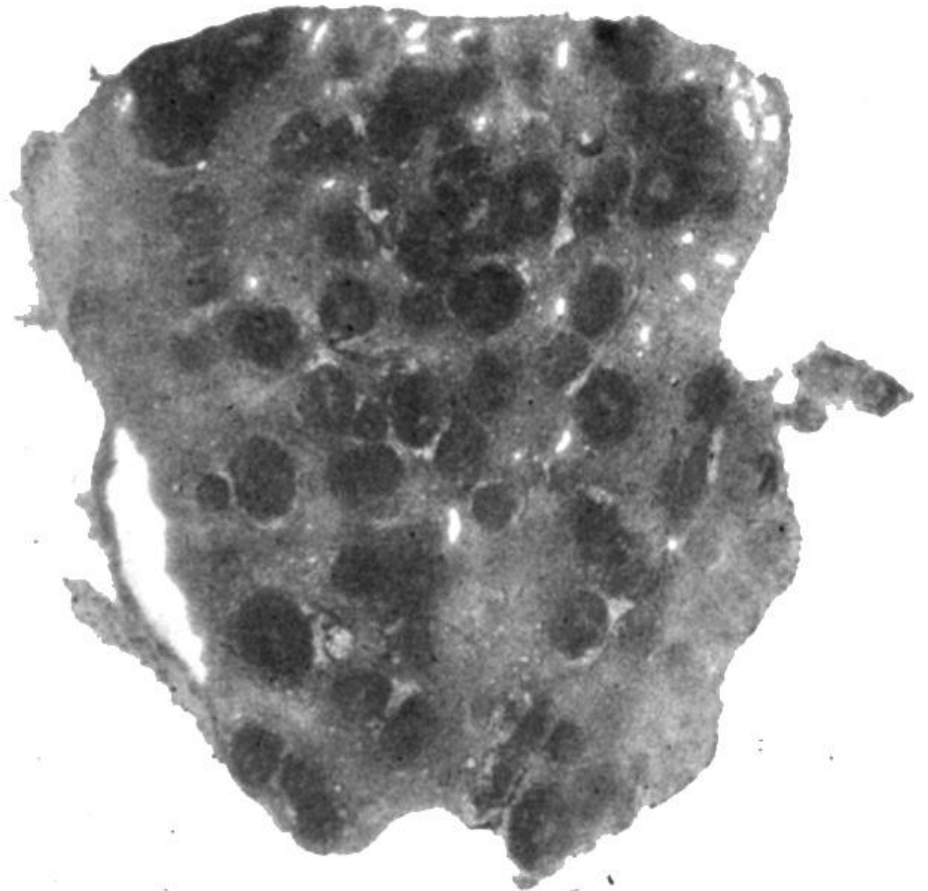
- durante l'irraggiamento, i prodotti carichi della reazione $^{10}\text{B}(n,\alpha)^7\text{Li}$ incidono lo spessore di CR39;
- queste microfratture latenti diventano visibili, come puntini, mediante una procedura di sviluppo con una soluzione di soda caustica (NaOH), simile allo sviluppo delle foto su pellicola...

L'autoradiografia neutronica qualitativa

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

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

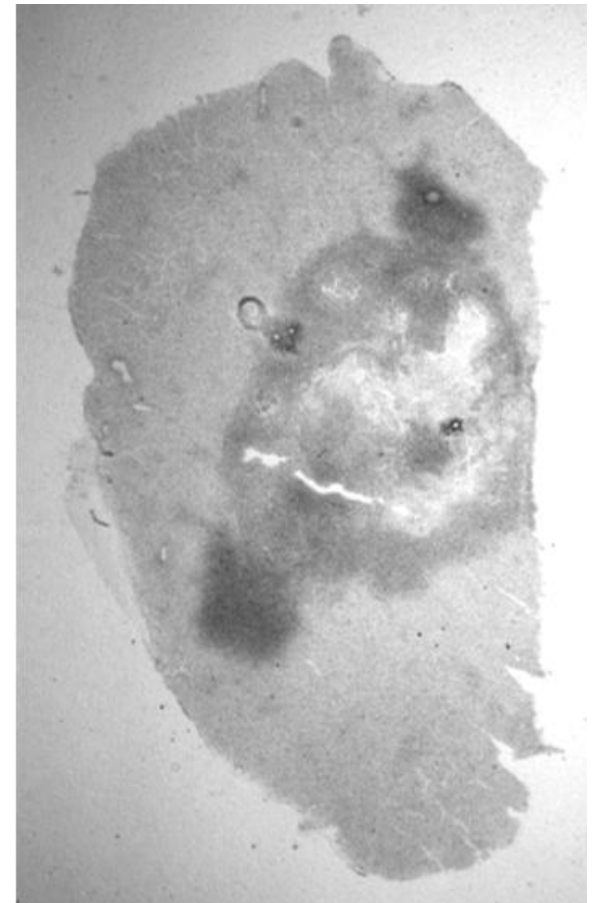
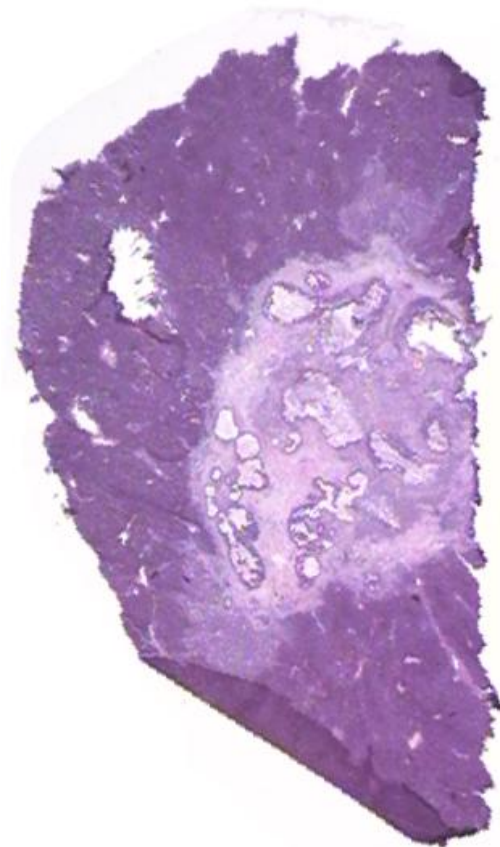
regioni chiare/grige:
 $\min(n^\circ \text{ tracce}) = \min(C_B)$



L'autoradiografia neutronica qualitativa

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

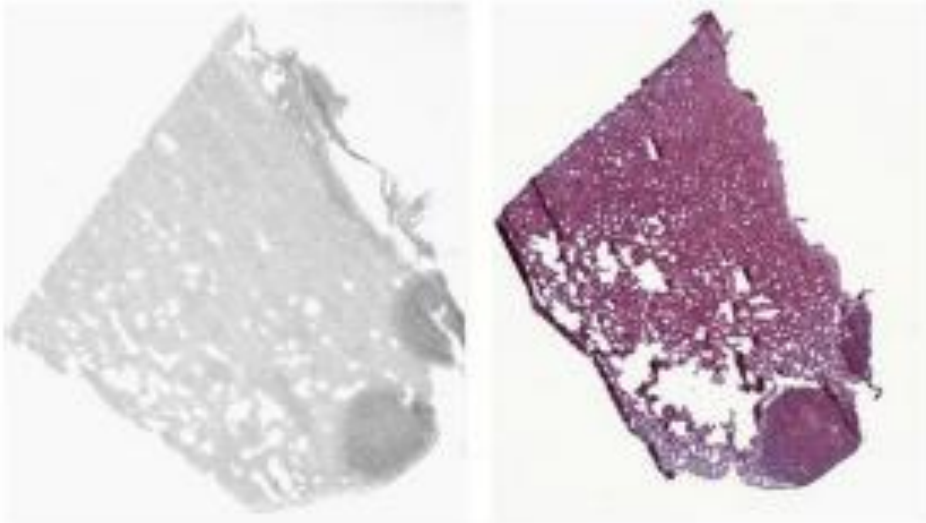
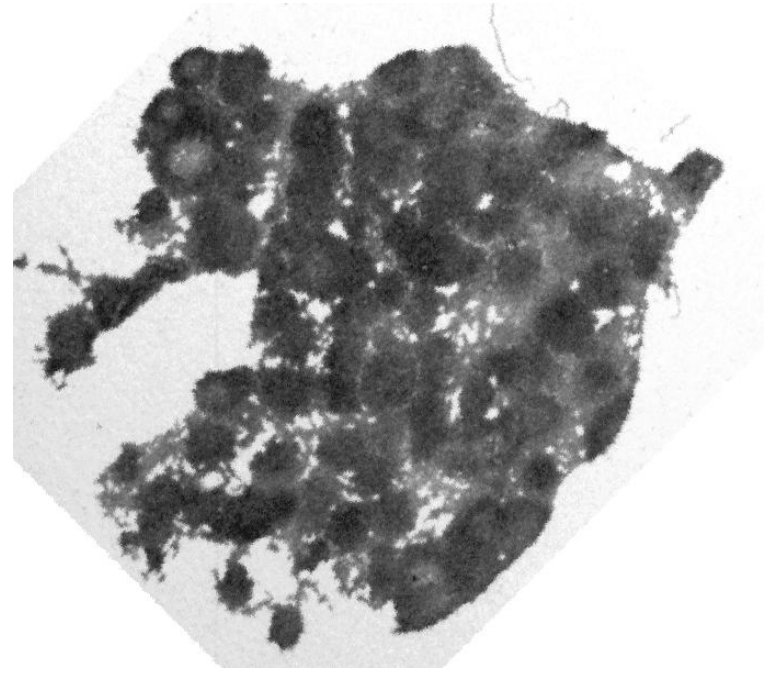
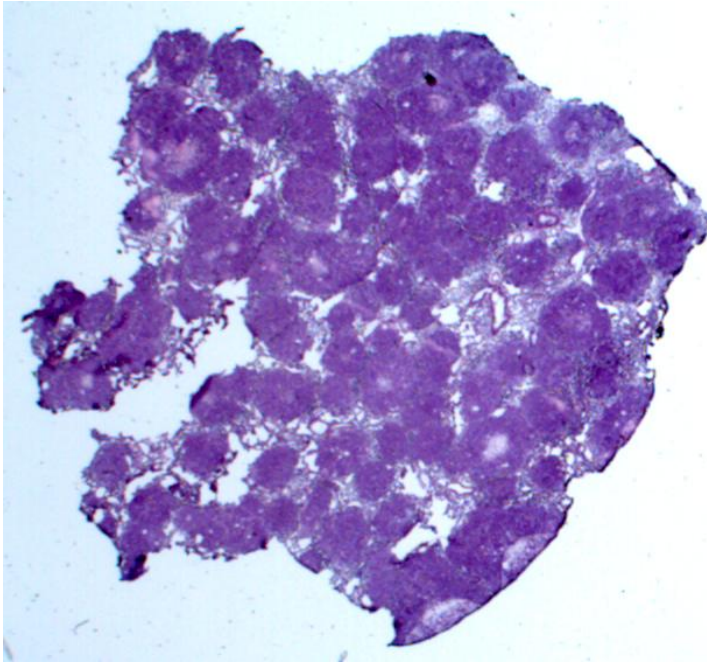
confronto tra un
campione
istologico
(sinistra) e
l'adiacente
radiografia
(destra)



||

V

riconoscimento
regioni tumorali



rat lung metastases + BPA-f

... al lavoro!!!