Genomica e proteomica in radioterapia: dal laboratorio alla clinica

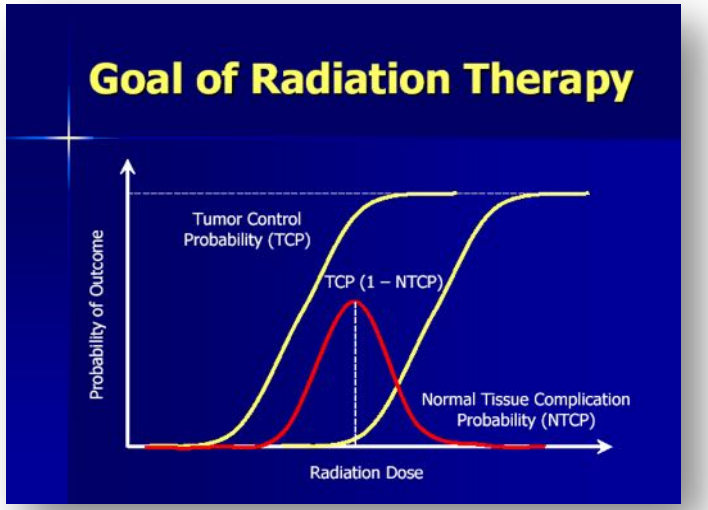
- *Relatore: Rolando Polico*
  U.O. RADIOTERAPIA IRCCS IRST MELDOLA

ISTITUTO SCIENTIFICO ROMAGNOLO PER LO STUDIO E LA CURA DEI TUMORI

SERVIZIO SANITARIO REGIONALE
EMILIA-ROMAGNA
Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori
Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico

RADIOTERAPIA

a. La Radioterapia è la disciplina clinica che si serve delle radiazioni ionizzanti per la cura dei tumori . Essa nasce alla fine del 1800 dalle scoperte fondamentali di W.C. Roentgen (1895), di H. Becquerel (1896) e di M. e P. Curie (1898).
b. L' obiettivo della radioterapia è quello di erogare al volume neoplastico, in un tempo definito, una dose di radiazioni adeguata al suo controllo, compatibile tuttavia con la preservazione della vita del paziente e della qualità della sua vita attraverso il rispetto dei limiti di tolleranza dei tessuti sani limitrofi

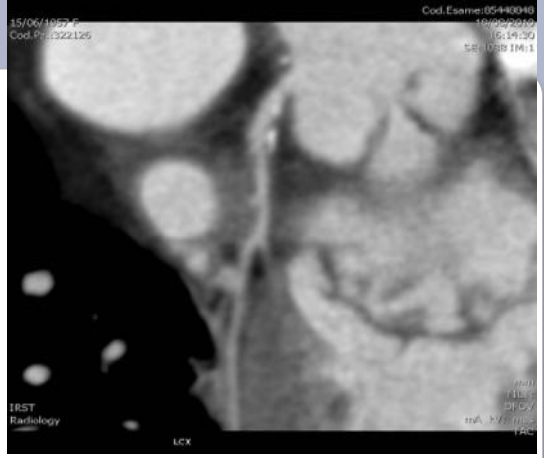


Ad oggi la migliore risorsa per il raggiungimento dell'obiettivo definito consiste nello "stressare" la procedura di ottimizzazione della radioterapia:

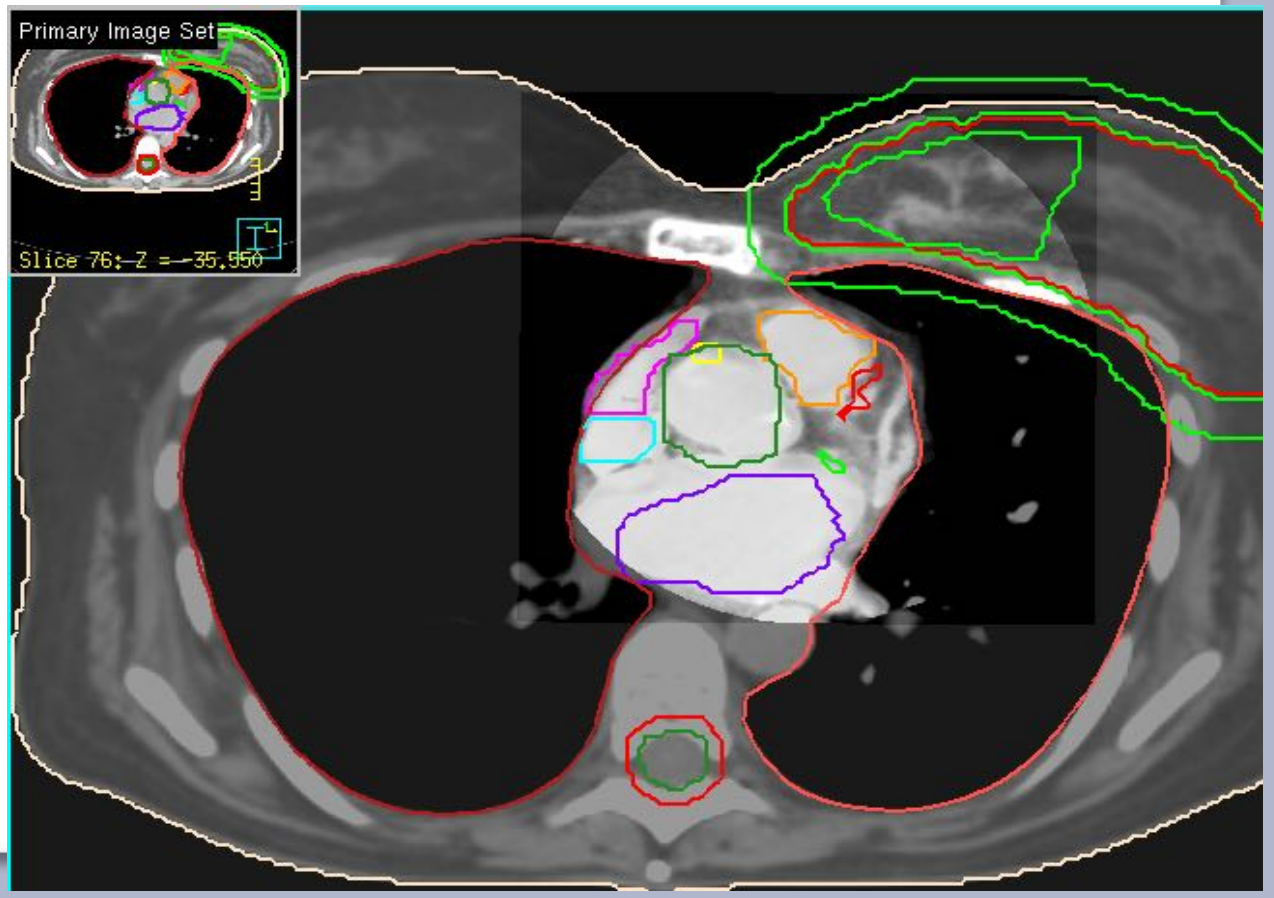
- Imaging
- Planning medico (contouring)
- Planning fisico (distribuzione di dose)
- Analisi dei DVH per accettazione del piano di cura

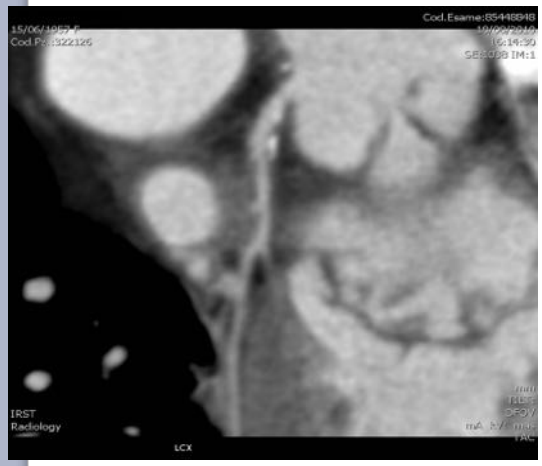
Contribuirà a migliorare ulteriormente il processo di ottimizzazione della radioterapia la personalizzazione del piano di cura mediato dalla conoscenza della radiosensibilità/radioresistenza individuali

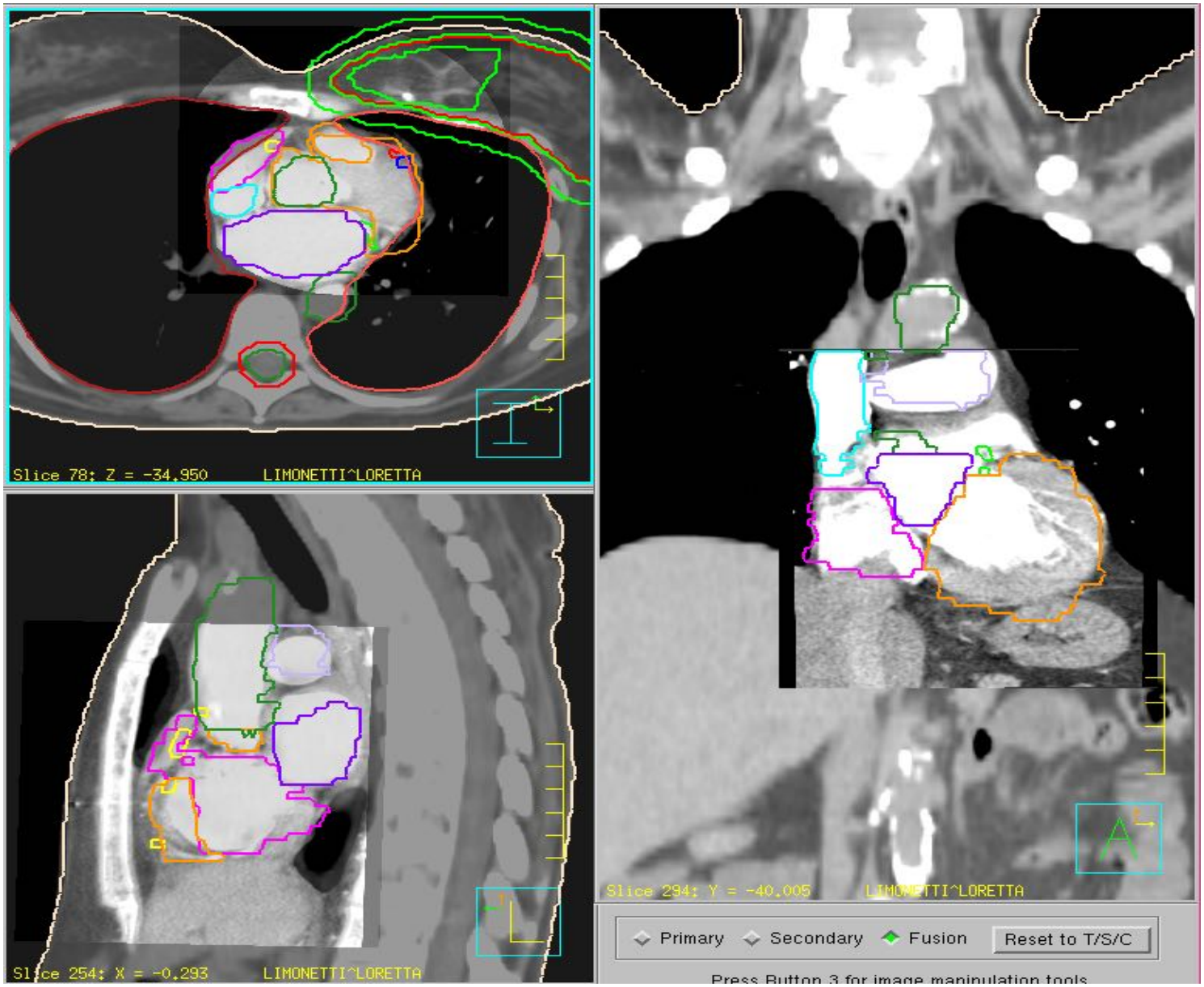
Cod.Esame:05448048
18/08/2010
16:14:30
SE:1037 IM:1
IRST
Radiology
LAD

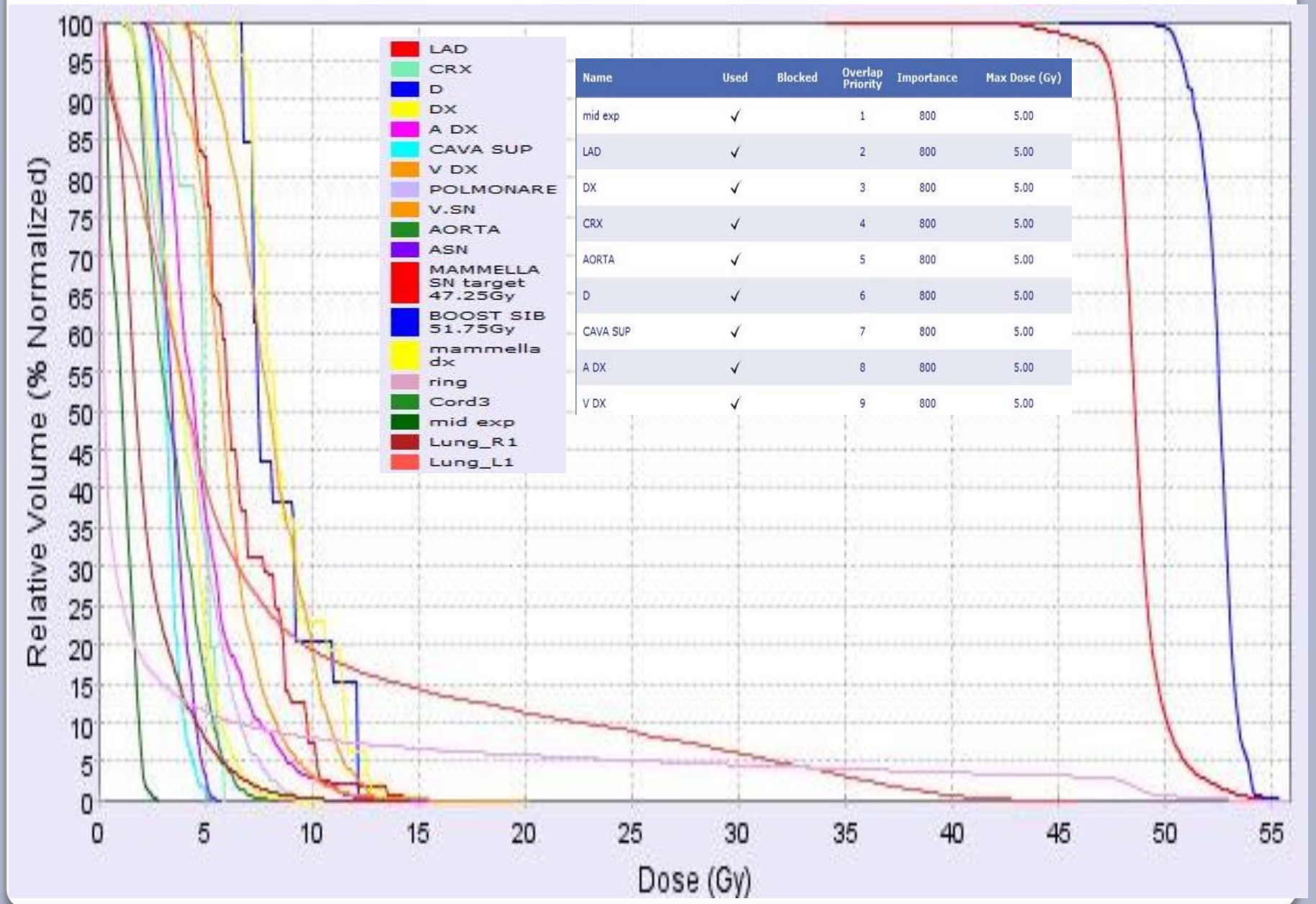

Cod.Esame:05448048
IRST
Radiology
LCX

Cod.Esame:05448048
IRST
Radiology
LAD


Primary Image Set
Slice 76: Z = -35.950


Cod.Esame:05448048
IRST
Radiology
LCX


Slice 78: Z = -34.950
LIMONETTI^LORETTA
Slice 254: X = -0.293
LIMONETTI^LORETTA
Slice 294: Y = -40.005
LIMONETTI^LORETTA
Primary
Secondary
Fusion
Reset to T/S/C
Press Button 3 for image manipulation tools



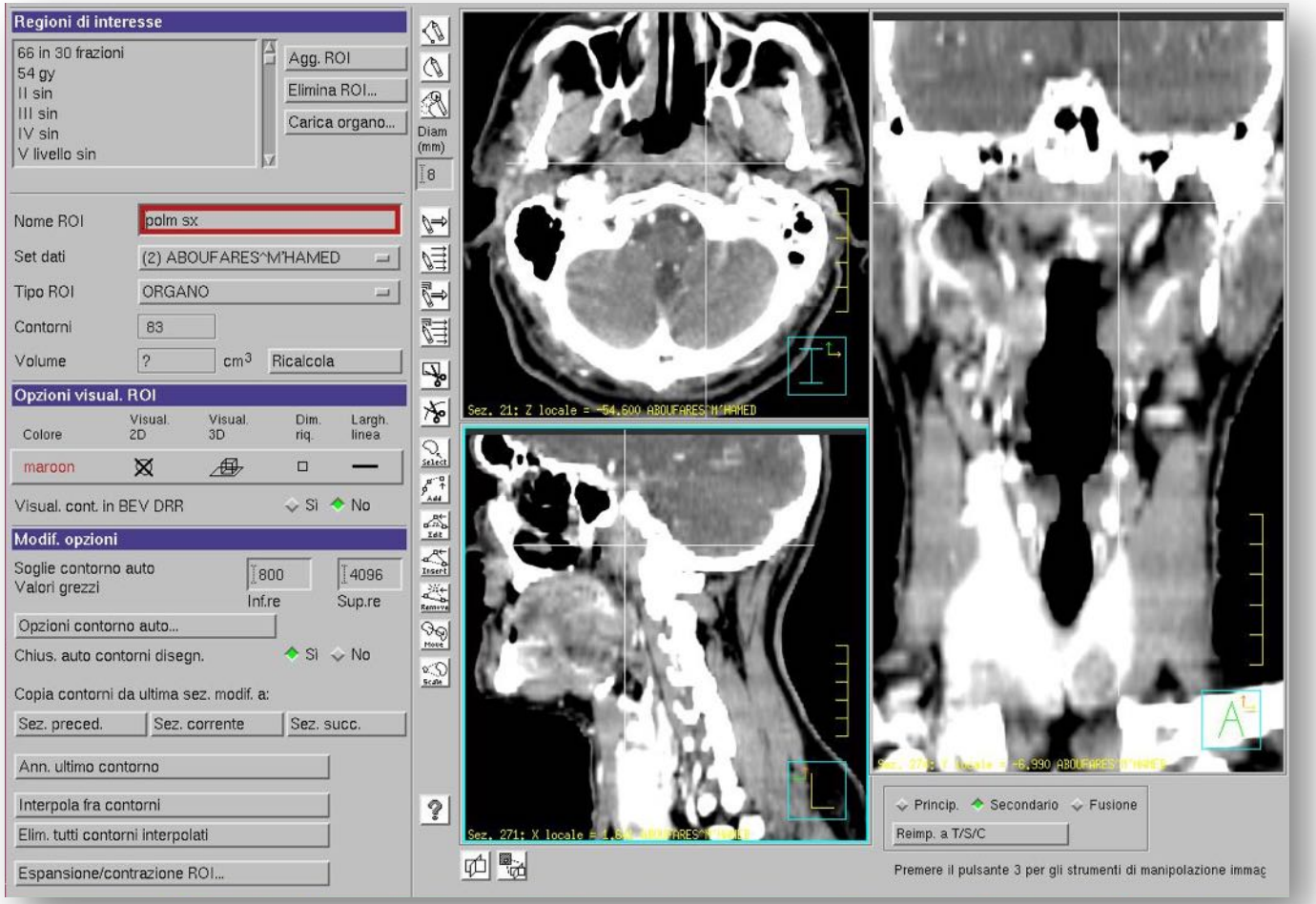
Name	Used	Blocked	Overlap Priority	Importance	Max Dose (Gy)
mid exp	✓		1	800	5.00
LAD	✓		2	800	5.00
DX	✓		3	800	5.00
CRX	✓		4	800	5.00
AORTA	✓		5	800	5.00
D	✓		6	800	5.00
CAVA SUP	✓		7	800	5.00
A DX	✓		8	800	5.00
V DX	✓		9	800	5.00

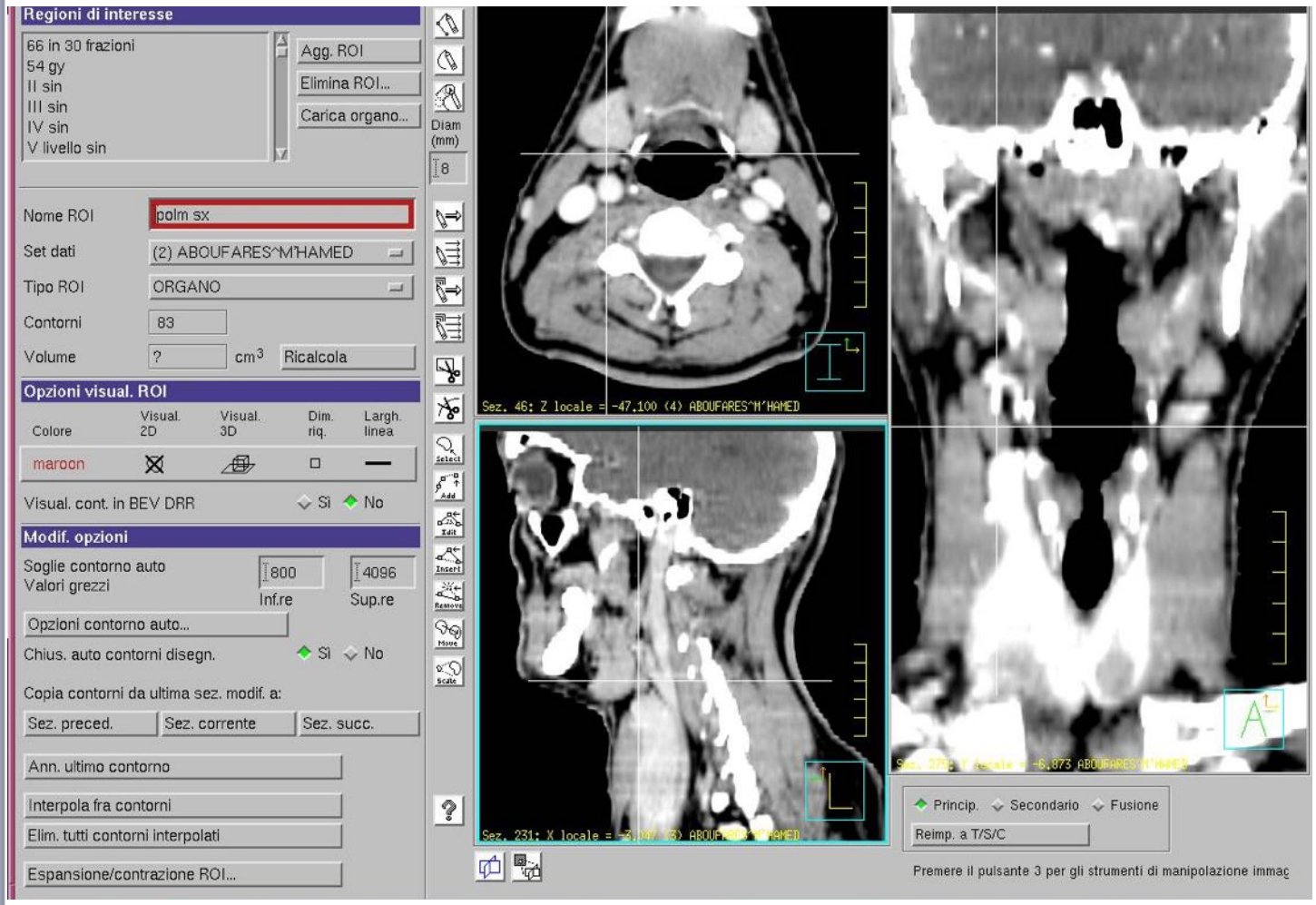
Planning radioterapico:

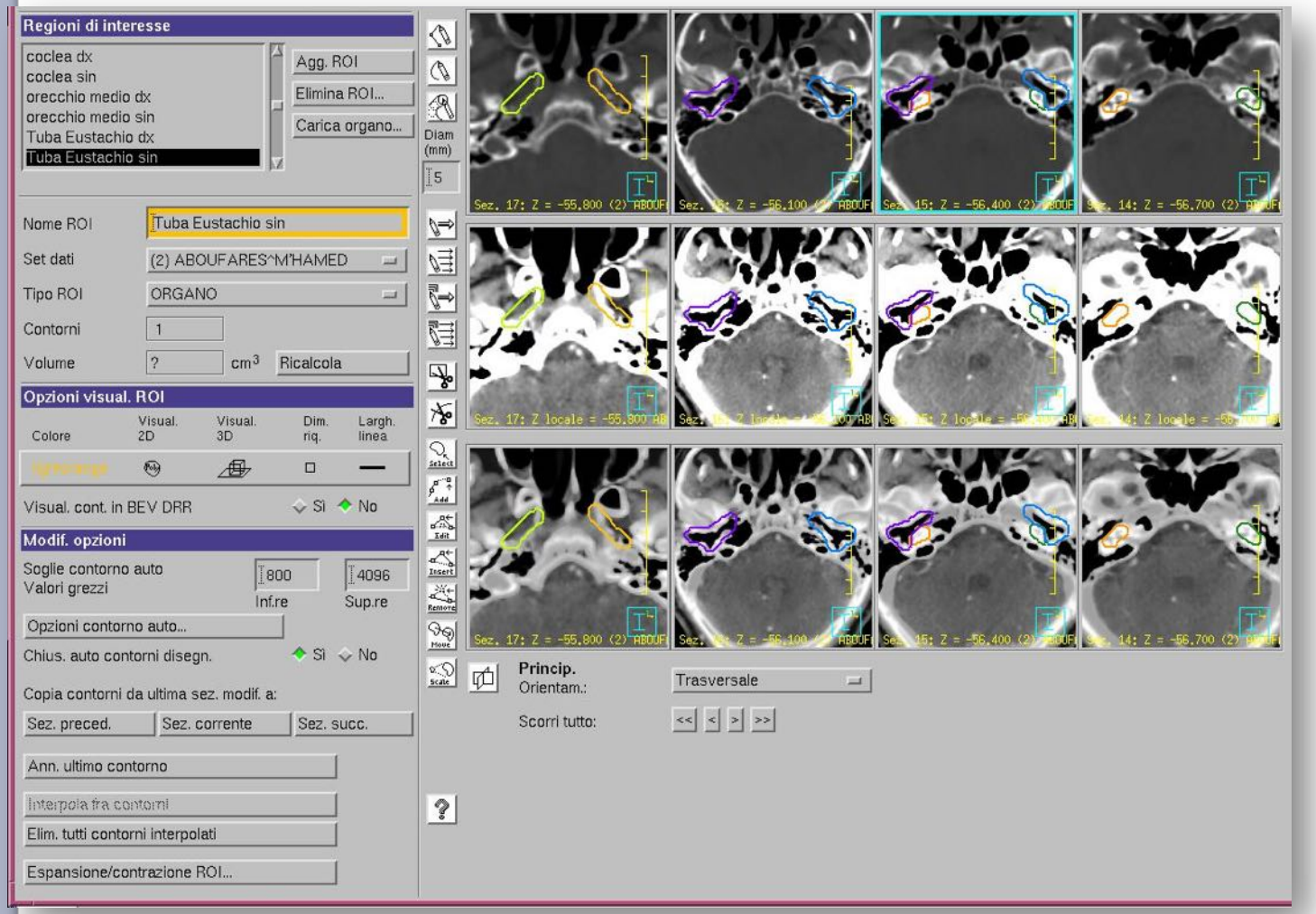
1. identificazione inequivoca dei VOI e degli OAR (imaging in radioterapia)
2. Scelta della tecnica radioterapica che consente la ridistribuzione di dose più favorevole tra VOI e OAR

Work-flow

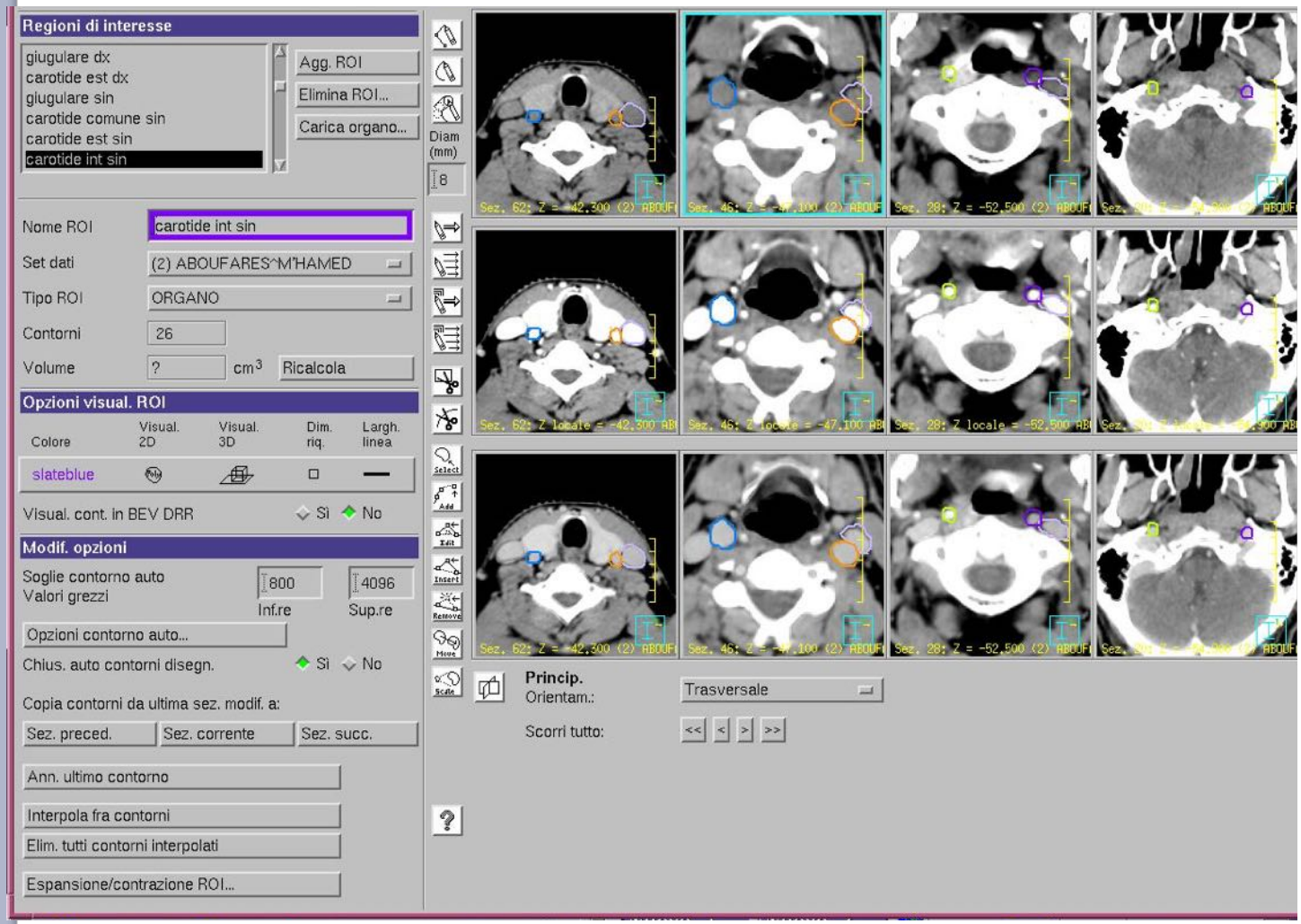
- ✓ TAC multifasica con mdc
- ✓ Contouring: VOIs definiti in tutte le fasi della TC <u>non fuse</u>




Regioni di interesse
66 in 30 frazioni
54 gy
II sin
III sin
IV sin
V livello sin
Agg. ROI
Elimina ROI...
Carica organo...
Diam (mm)
8
Nome ROI
polm sx
Set dati
(2) ABOUFARES^M'HAMED
Tipo ROI
ORGANO
Contorni
83
Volume
?
cm3
Ricalcola
Opzioni visual. ROI
Colore
Visual. 2D
Visual. 3D
Dim. riq.
Largh. linea
maroon
Visual. cont. in BEV DRR
Sì
No
Modif. opzioni
Soglie contorno auto
Valori grezzi
800
4096
Inf.re
Sup.re
Opzioni contorno auto...
Chius. auto contorni disegn.
Sì
No
Copia contorni da ultima sez. modif. a:
Sez. preced.
Sez. corrente
Sez. succ.
Ann. ultimo contorno
Interpola fra contorni
Elim. tutti contorni interpolati
Espansione/contrazione ROI...
Sez. 46: Z locale = -47,100 (4) ABOUFARES^M'HAMED
Sez. 231: X locale =
Princip.
Secondario
Fusione
Reimp. a T/S/C
Premere il pulsante 3 per gli strumenti di manipolazione immag



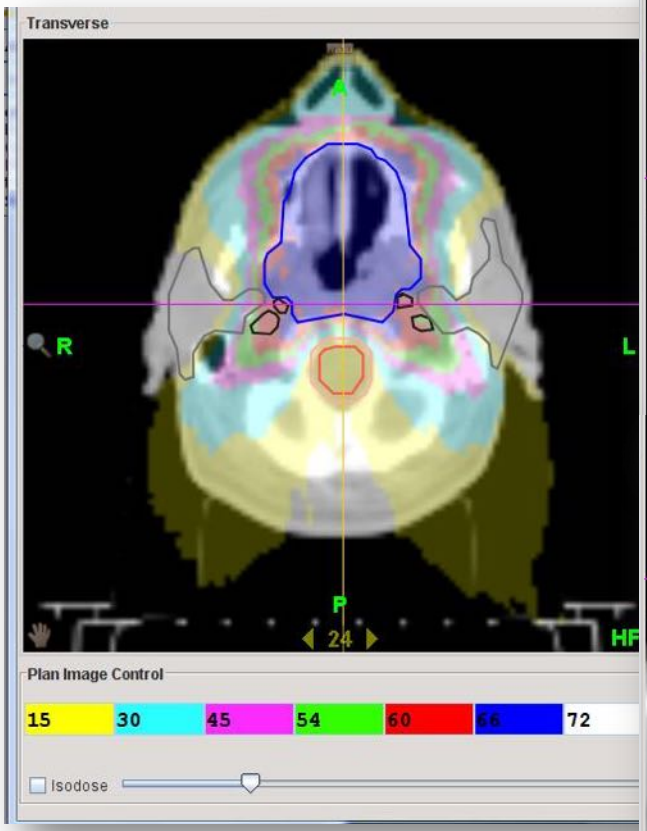
Tube di Eustachio
Orecchio medio dx e sn
Coclea dx e sn

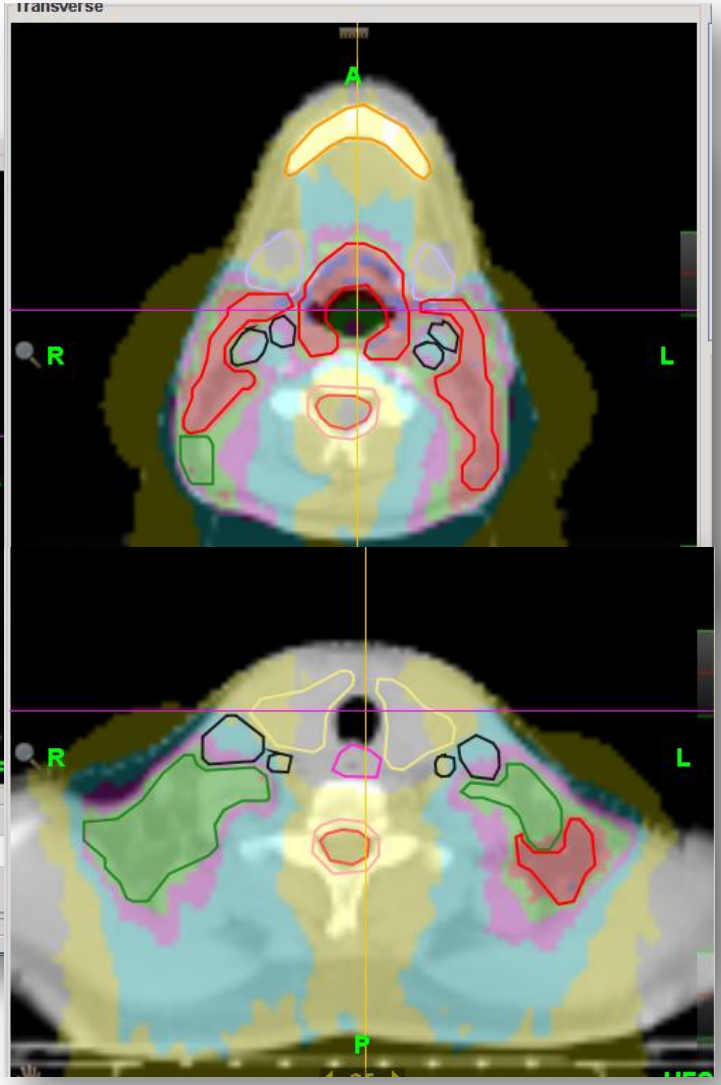


Carotide comune dx e
Carotide interna dx e s
Giugulare dx e sn

Planning radioterapico:

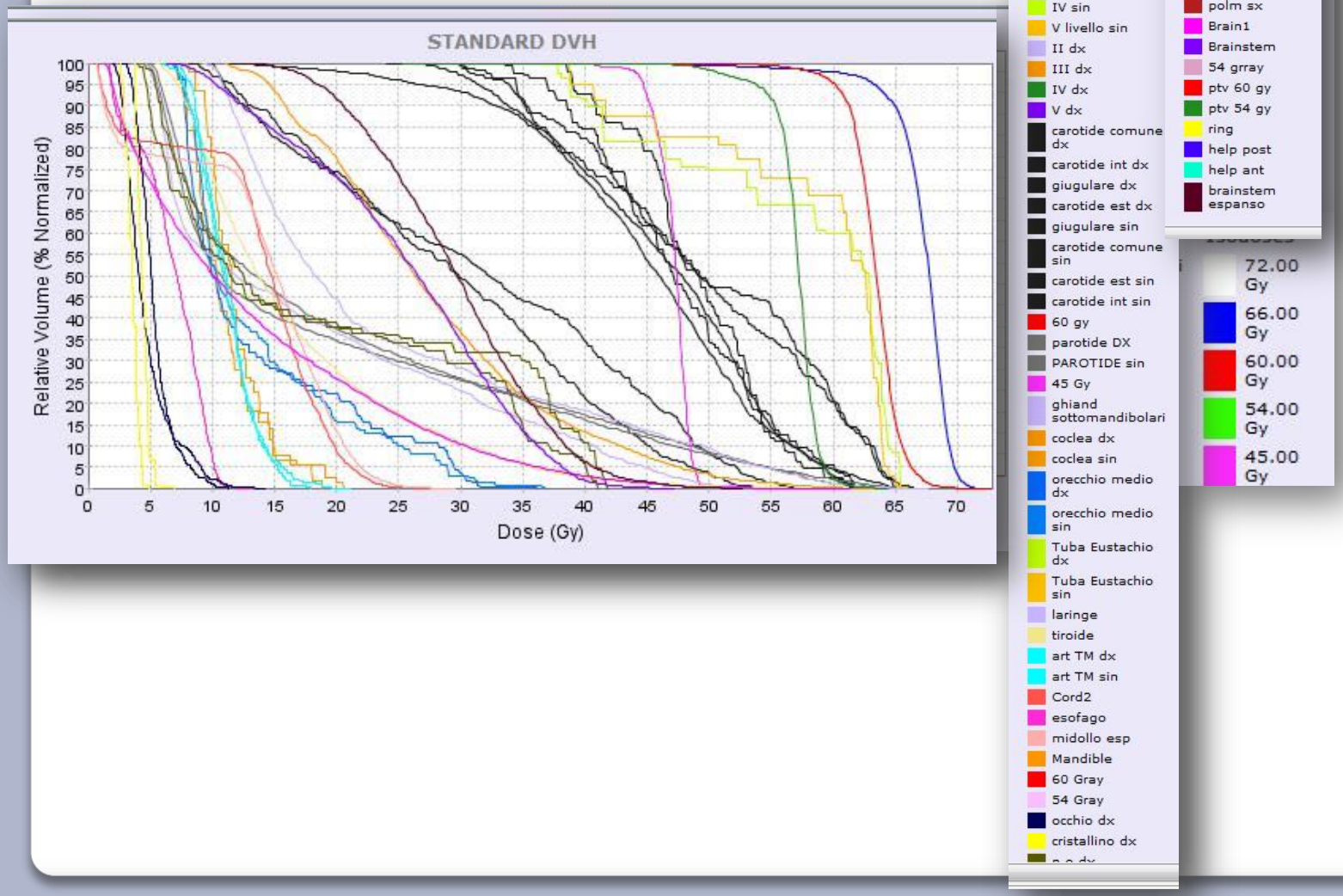
2. Scelta della tecnica radioterapica che consente la ridistribuzione di dose più favorevole tra VOI e OAR



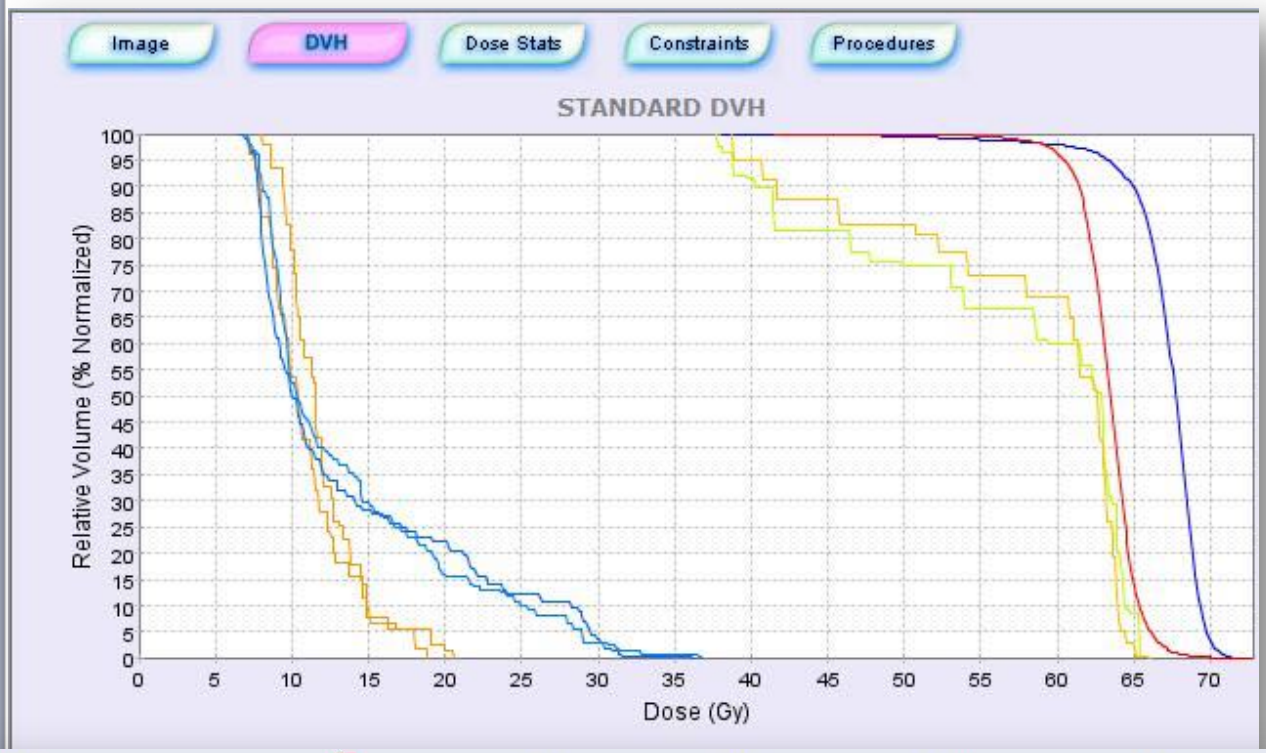


Distribuzione di dose

4. Accettazione del piano di cura



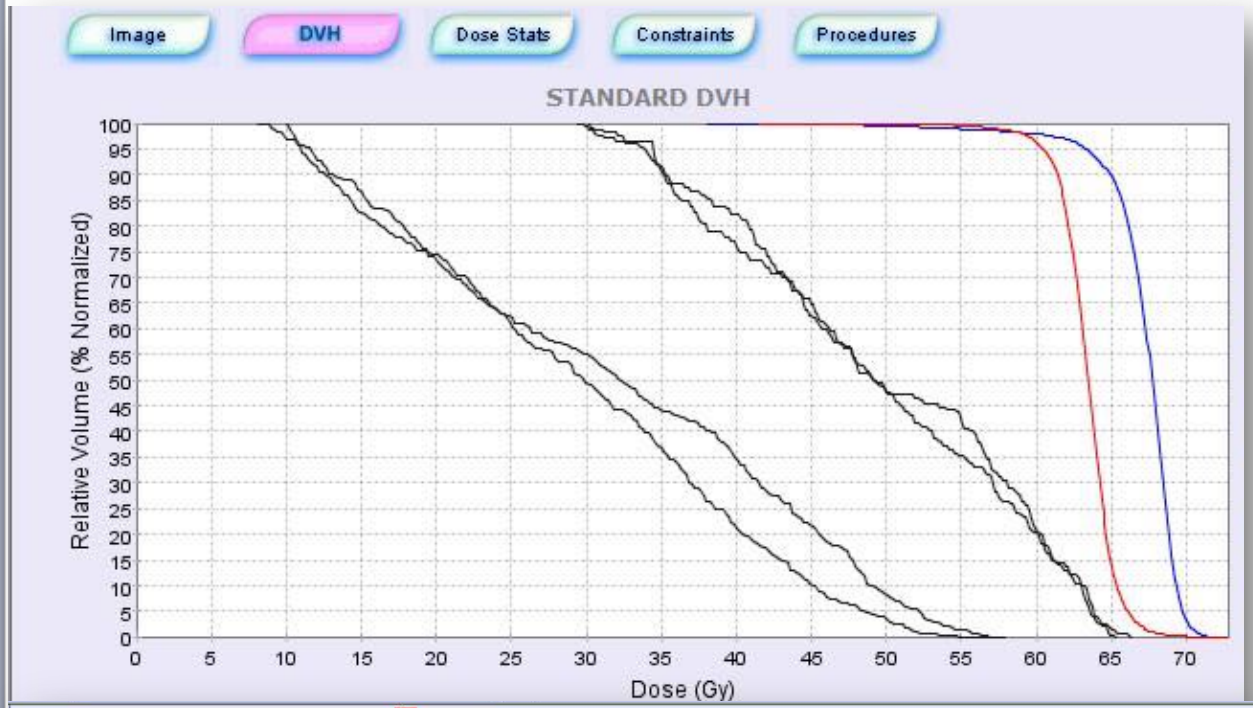
Istogrammi dose volume



Istogrammi dose volume

Coclea dx e sn
Orecchio Medio dx e sn
Tuba di Eustachio dx e sn

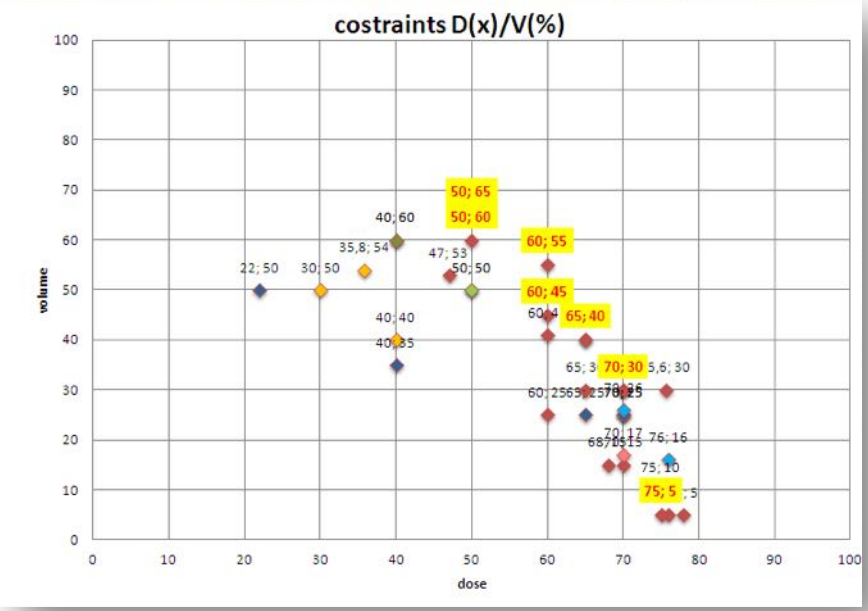
coclea dx		20.55	7.11	10.80	11.02	3.10	0.40
coclea sin		18.81	8.03	11.62	11.86	2.48	0.35
orecchio medio dx		36.13	6.53	10.06	13.56	7.37	1.84
orecchio medio sin		36.86	7.09	10.27	13.69	6.78	1.98
Tuba Eustachio dx		66.04	37.71	63.06	57.00	9.60	0.38
Tuba Eustachio sin		66.02	38.75	62.87	58.08	8.40	0.38



Istogrammi dose volume

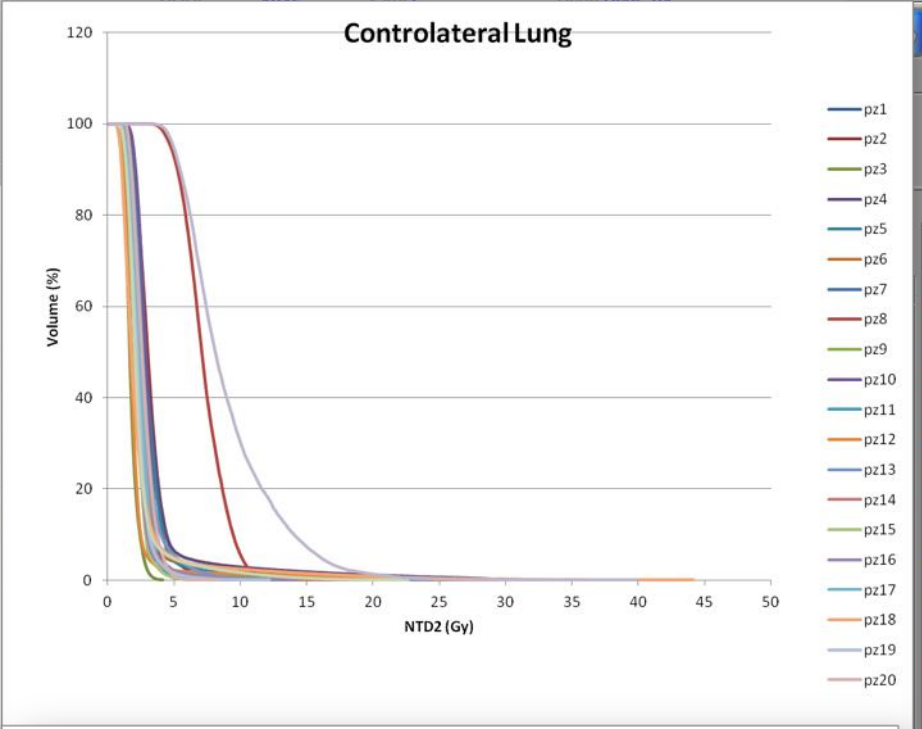
Carodide comune dx
Carotide comune sn
Carotide interna dx
Carotide interna sn

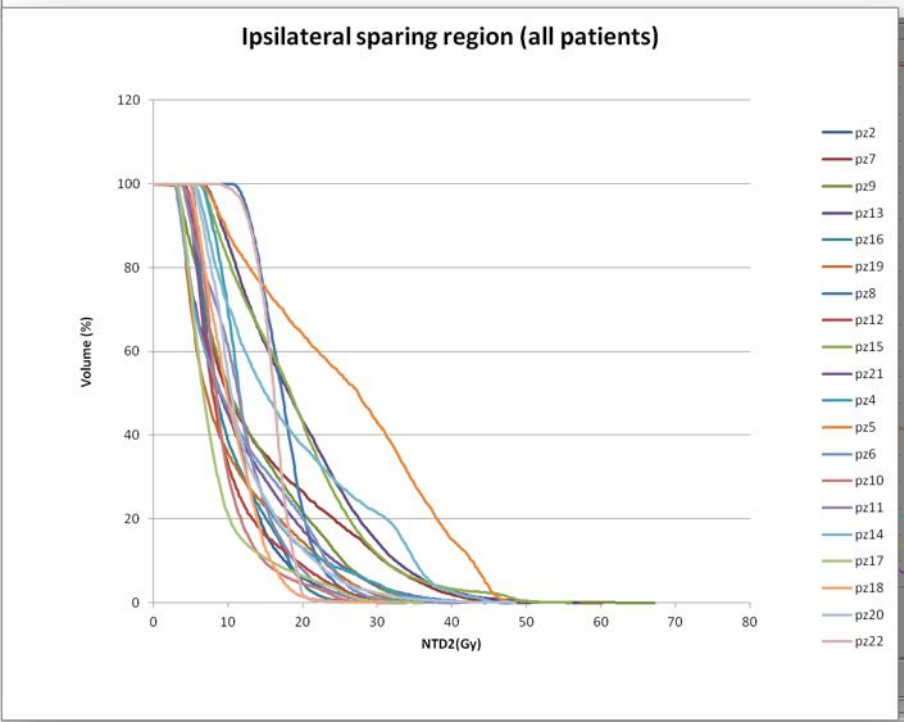
carotide int dx		65.33	29.36	49.17	49.69	10.35	1.94
giugulare dx		67.06	24.07	47.77	46.45	8.61	28.12
carotide est dx		66.50	37.70	49.28	49.11	5.60	0.74
giugulare sin		63.76	11.22	45.98	44.95	9.53	19.14
carotide comune sin		57.83	9.95	29.99	29.37	11.91	4.88
carotide est sin		62.17	32.67	47.49	47.58	6.96	1.08
carotide int sin		66.31	30.18	49.19	49.54	9.81	2.80



71. Valdagni R, Rancati T, Fiorino C:
Predictive models of toxicity with external radiotherapy for prostate cancer: clinical issues.
Cancer 2009, 115:3141-3149.

72. Dehing-Oberije C, De Ruysscher D, Petit S, Van Meerbeeck J, Vandecasteele K, De Neve W, Dingemans AM, El Naqa I, Deasy J, Bradley J, Huang E, Lambin P:
Development, external validation and clinical usefulness of a practical prediction model for radiation-induced dysphagia in lung cancer patients.
Radiother Oncol 2010, 97:455-461.





Adjust Fractionization Schedule

- Modify the fraction count or adjust details for each fraction as necessary.
- Run **Final Dose**.

When you are satisfied with the plan, click Final Accept.

Dose Display

Isodose

25

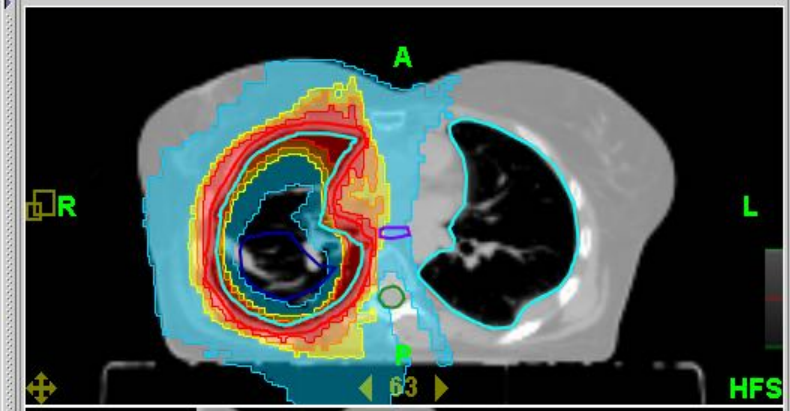
22.5

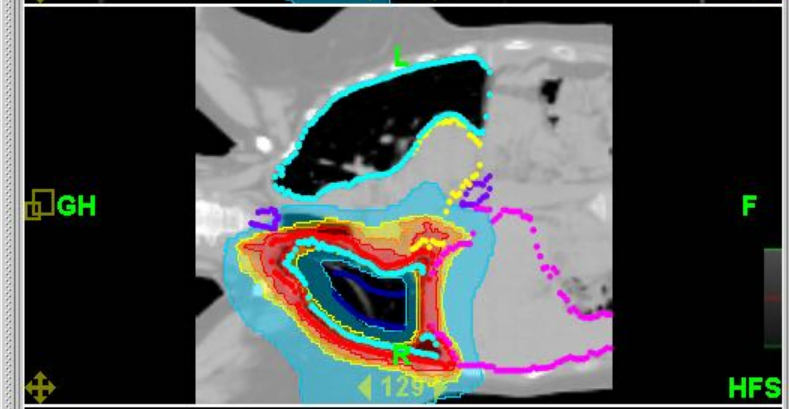
20

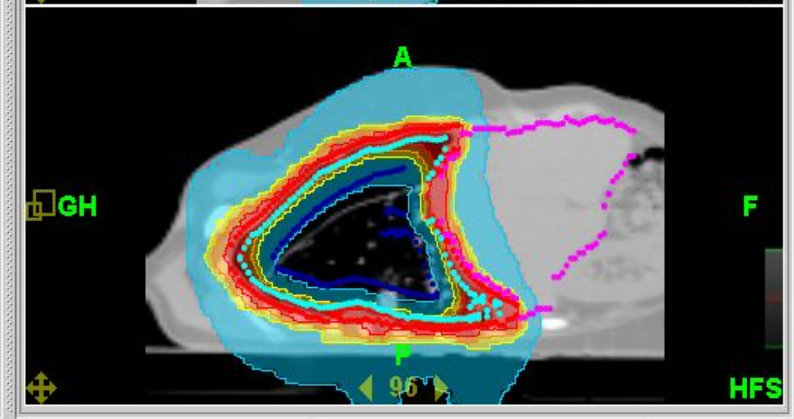
10

< 30.0 >

Patient Images

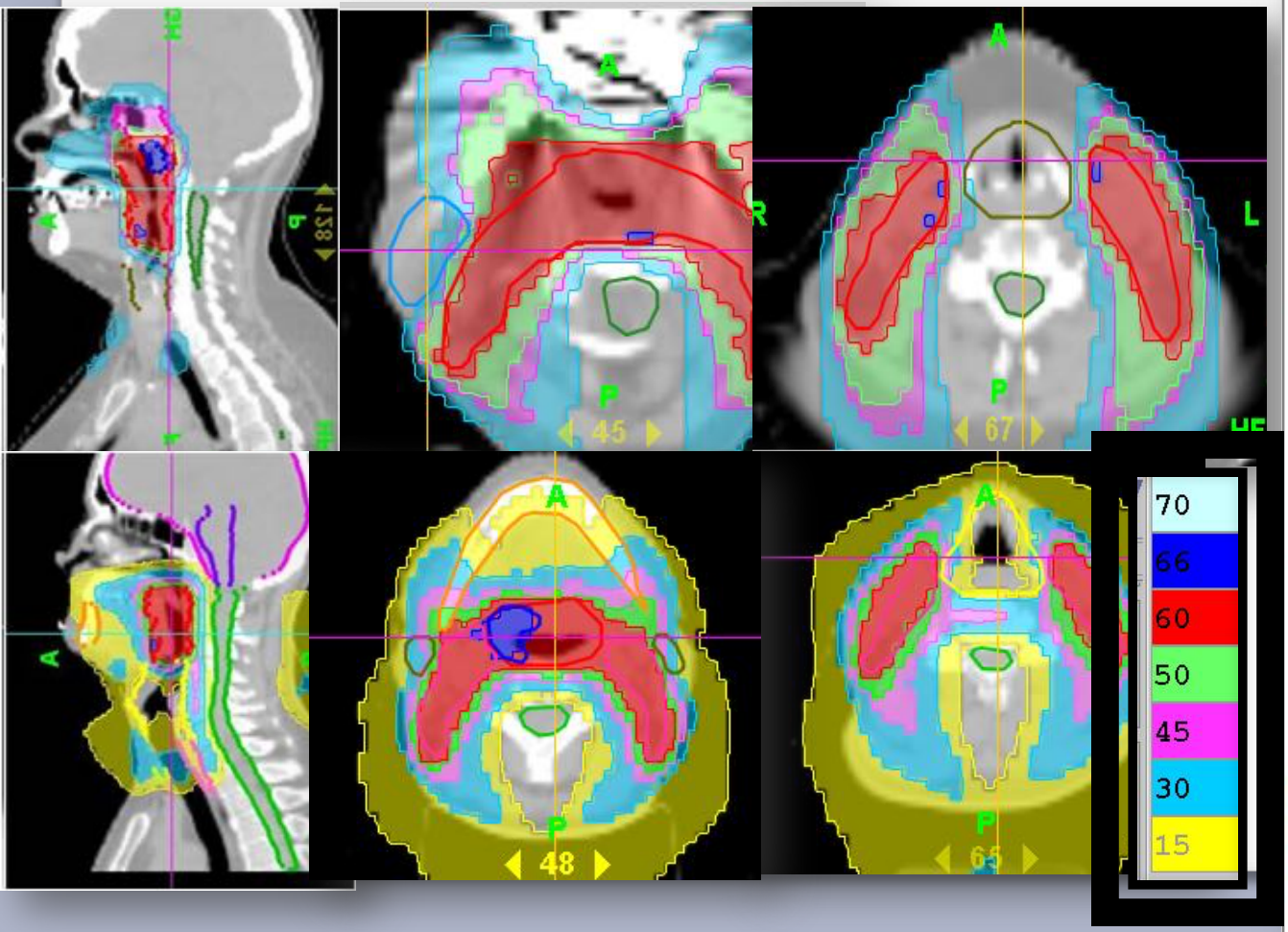


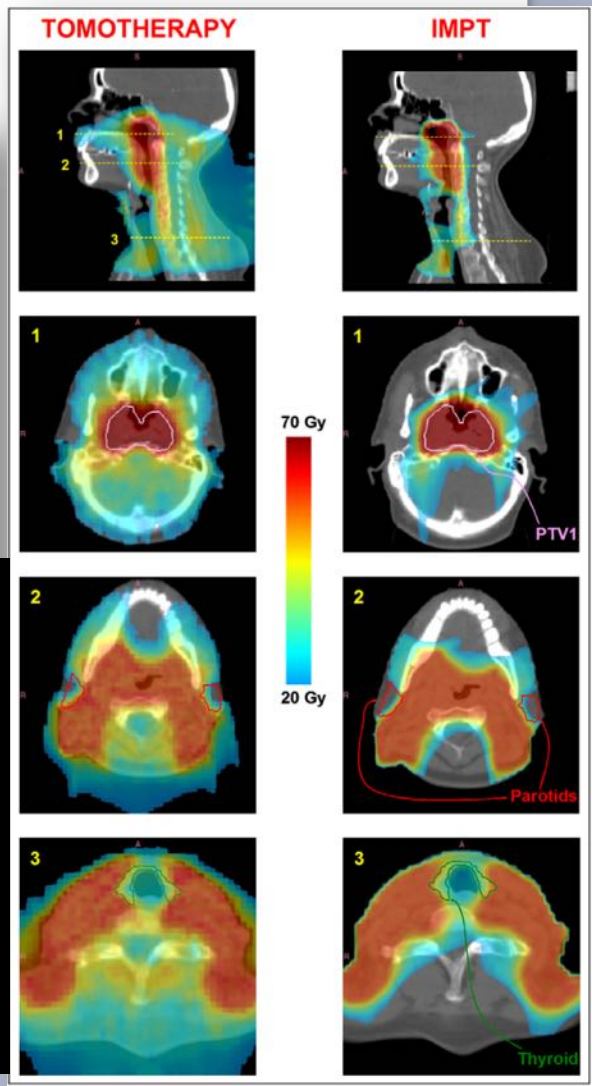




3. Scelta della tecnica radioterapica che consente la ridistribuzione di dose più favorevole tra VOI e OAR

Il “migliore relativo”: stretta collaborazione tra Medico e Fisico





Perché abbiamo bisogno della ricerca biologica
applicata alla radioterapia?

Applicando un trattamento radioterapico circa uguale ad una serie
di pazienti apparentemente omogenei per condizioni generali e con neoplasia
apparentemente simile (per sede, volume, istotipo, grading…), dovremmo
attenderci un risultato uniforme.
……..Similmente per la radio-tossicità sugli OAR

Ma non è così nella comune esperienza

ASTRO 54TH ANNUAL MEETING

Advancing Patient Care through INNOVATION

ASTRO ANNUAL MEETING SCIENCE BASED. PATIENT DRIVEN

MEETING DATES: OCTOBER 28-31, 2012 | EXHIBIT DATES: OCTOBER 28-30, 2012 | BOSTON CONVENTION AND EXHIBITION CENTER | BOSTON

Lung session IV: Fractionation and Toxicity

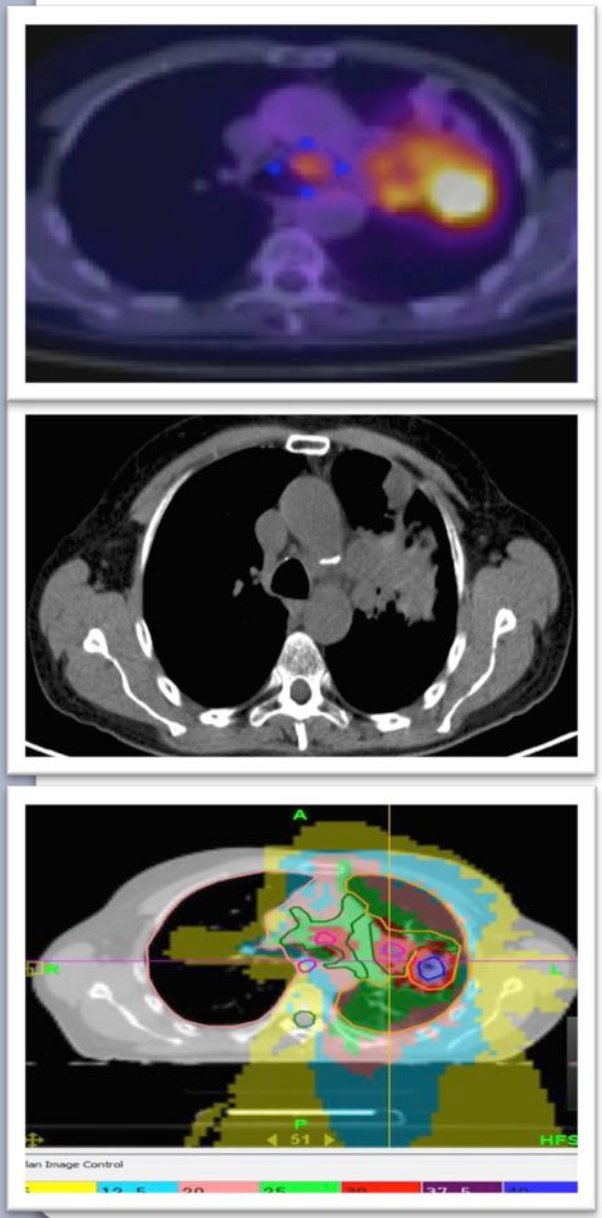
Accelerated hypofractionated radiotherapy using Tomotherapy plus chemotherapy for inoperable locally advanced lung cancer: preliminary results of a prospective phase II trial

ELISABETTA PARISI
Department of Radiation Oncology
IRCCS Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori
Meldola (FC) ITALY

ISTITUTO SCIENTIFICO ROMAGNOLO PER LO STUDIO E LA CURA DEI TUMORI

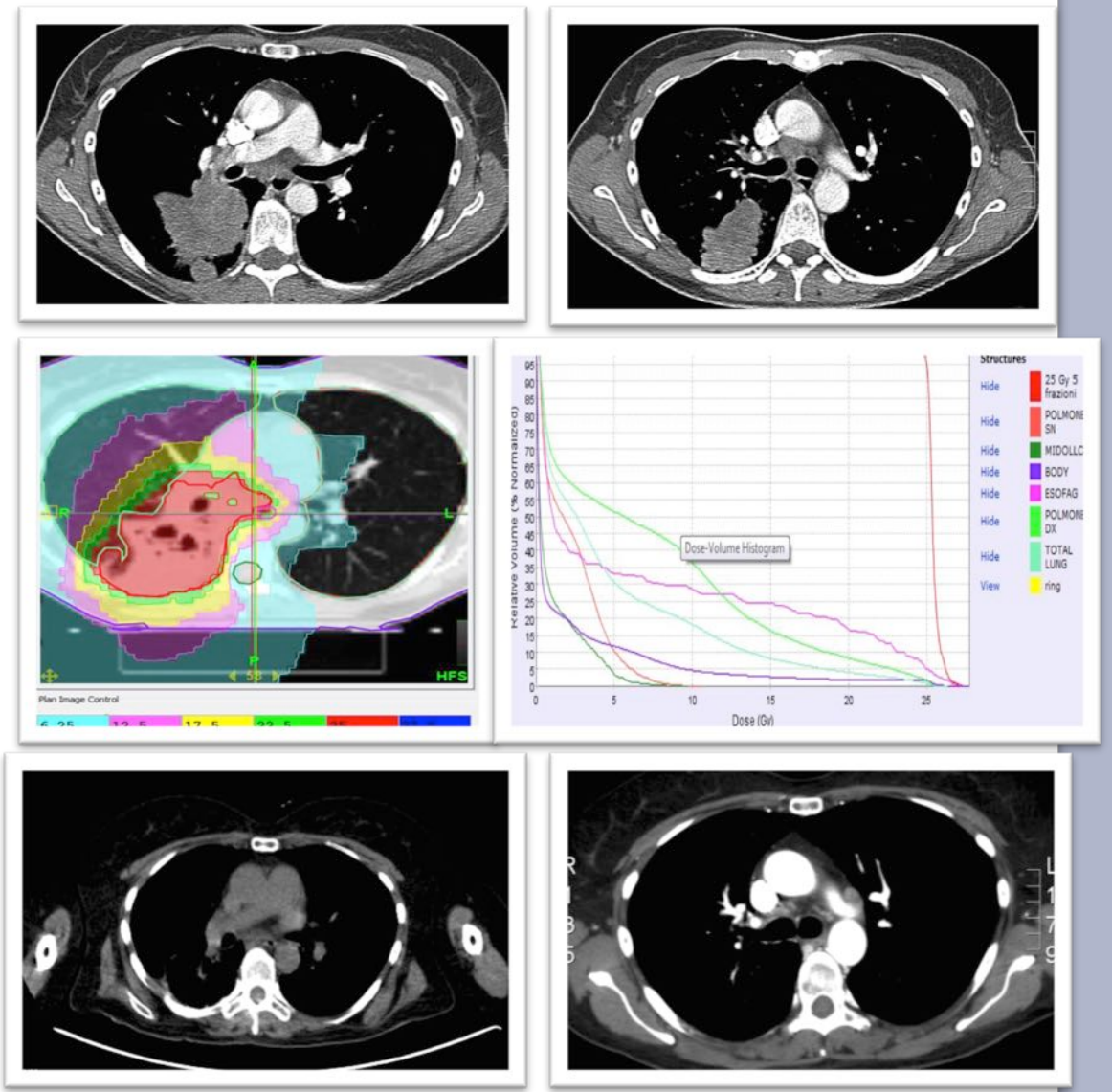
SERVIZIO SANITARIO REGIONALE
EMILIA-ROMAGNA

cT4 cN3 M0 squamous carcinoma



ypT0 ypN0(0/34) ypMx

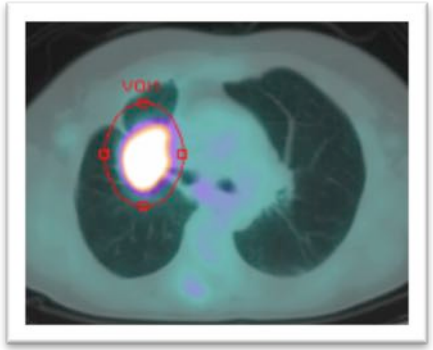
cT4 cN3 M0 adenocarcinoma

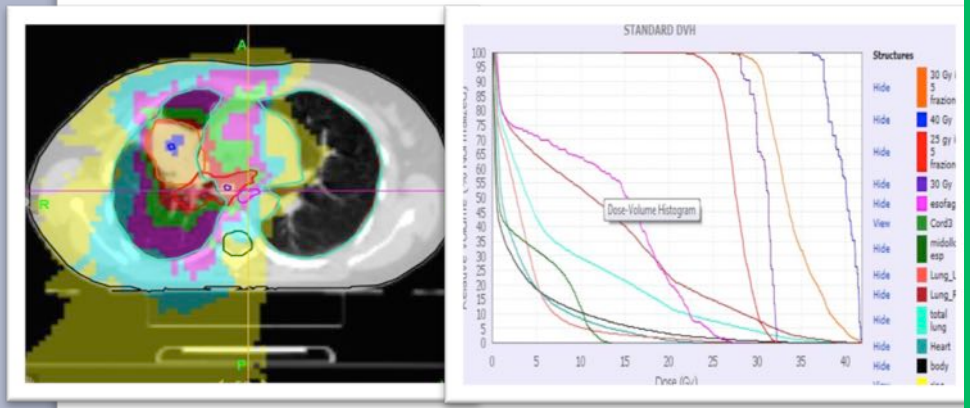


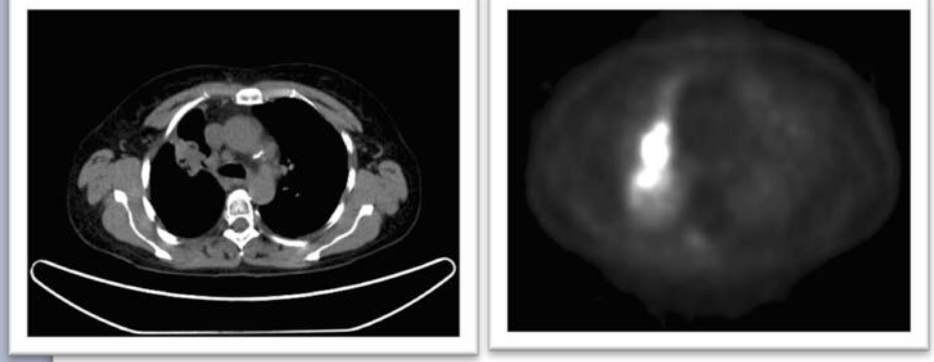
ycT0 ycN0 yMx

ASTRO

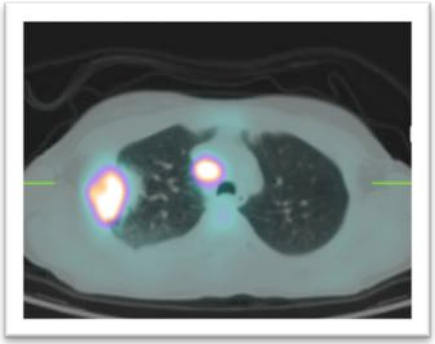
cT4 cN3 cM0 adenocarcinoma

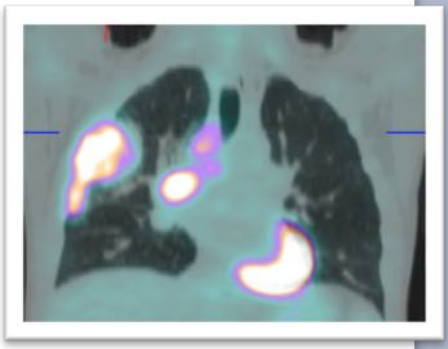


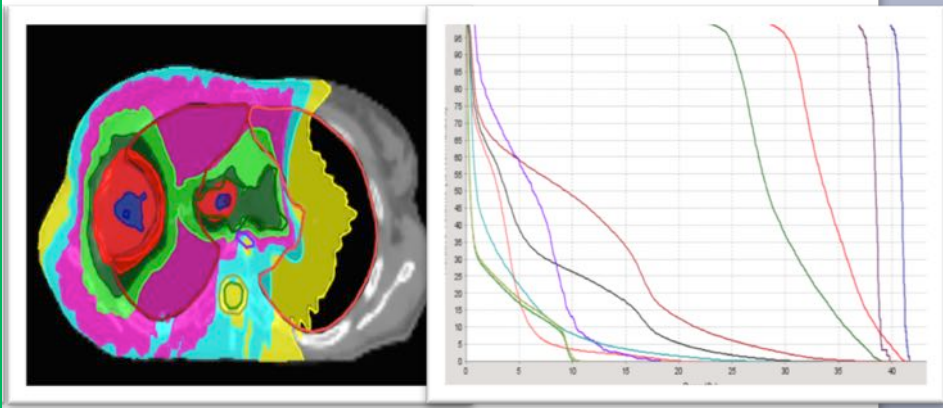


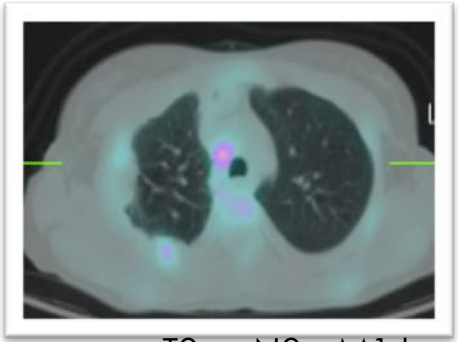


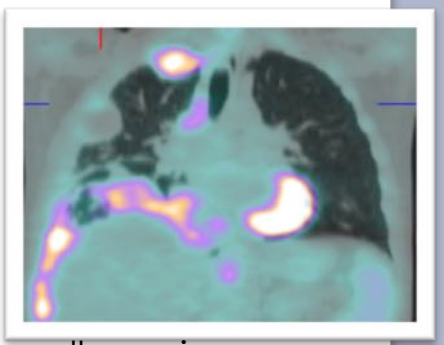
cT3cN2 cM0 large cell carcinoma











ycT4 ycN0 cM0 adenocarcinoma

ycT0 ycN0 cM1 large cell carcinoma

Restaging results

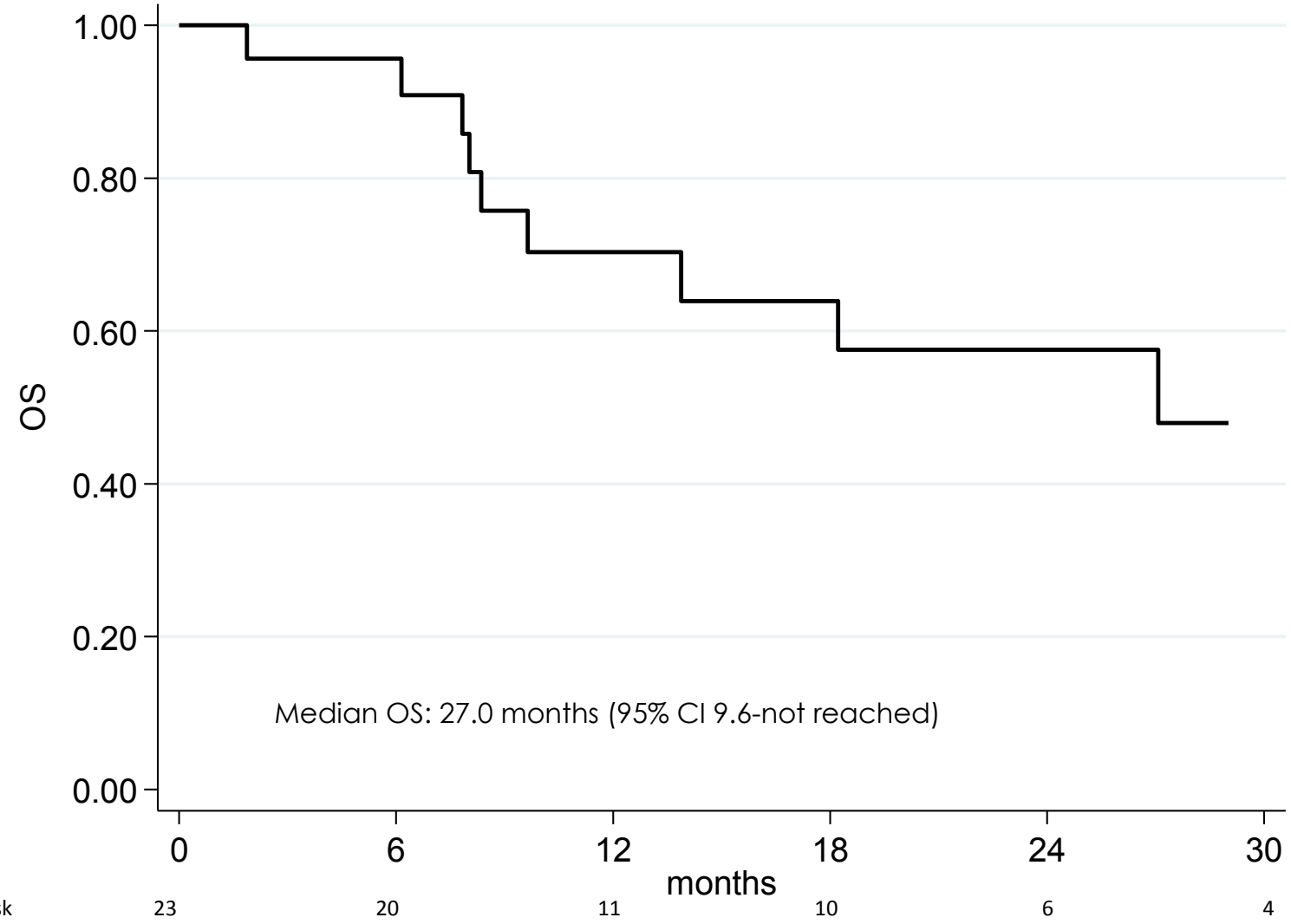
CASES	Date Diagnosis	Histology	cT cN (6th AJCC 6th Ed)	Stage	ycT ycN (6th AJCC 6th Ed)	Restage
1	2009	Adk	T4 N3	IIIB	T0 N0	0
2	2009	Adk	T4 N2	IIIB	T4 N0	IIIB
3	2009	Squa	T2 N2	IIIA	T0 N0	0
4	2009	Squa	T4 N3	IIIB	T0 N0	0
5	2009	Adk	T4 N3	IIIB	T2 N0	IB
6	2009	Squa	T4 N2	IIIB	T4 N2	IIIB
7	2009	Squa	T4 N2	IIIB	T2 N1	IIB
8	2009	Squa	T4 N2	IIIB	T4 N0	IIIB
9	2009	Adk	T4 N2	IIIB	T4 N0	IIIB
10	2009	Squa	T4 N2	IIIB	T4 N2	IIIB
11	2010	Adk	T2 N3	IIIB	T1 N3	IIIB
12	2010	Adk	T4 N2	IIIB	T4 N0	IIIB
13	2010	Adk	T2 N2	IIIA	T2 N0	IB
14	2010	Adk	T4 N2	IIIB	T2 N2	IIIA
15	2010	Adk	T4 N3	IIIB	T4 N0	IIIB
16	2010	Squa	T4 N2	IIIB	T0 N0	0
17	2011	Adk	T4 N3	IIIB	T4 N3	IIIB
18	2011	Squa	T4 N0	IIIB	T4 N0	IIIB
19	2011	Large cell carc	T3 N2	IIIB	T0 N0	0

(5 cases Stage 0, 2 stage I B, 1 stage IIB, 1 stage IIIA, 10 stage III B; 47% downstaging (9/19 cases))

ASTRO

Overall Survival

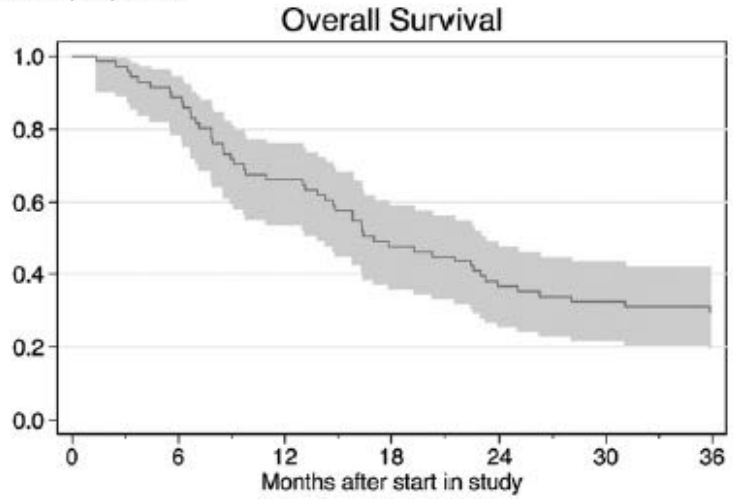
(median follow-up : 23 months, range 2-42)



Overall Survival for LA-NSCLC

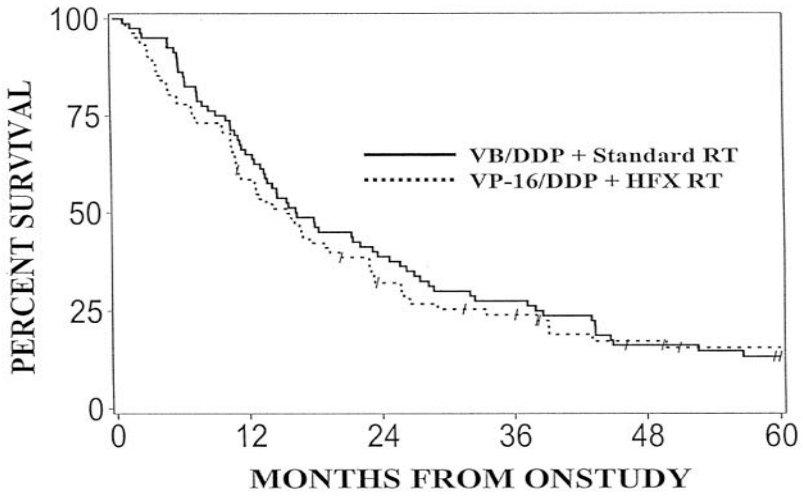
Concurrent cetuximab and radiotherapy after docetaxel–cisplatin induction chemotherapy in stage III NSCLC: Satellite–A phase II study from the Swedish Lung Cancer Study Group

Lung Cancer 71 (2011) 166–172



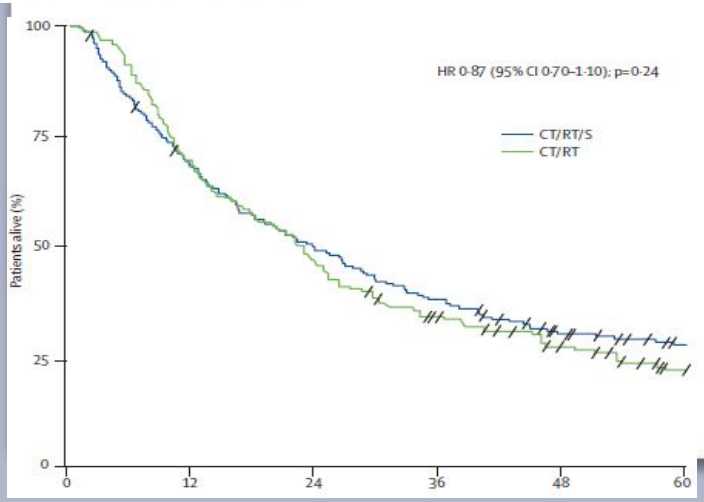
RANDOMIZED PHASE II CHEMOTHERAPY AND RADIOTHERAPY TRIAL FOR PATIENTS WITH LOCALLY ADVANCED INOPERABLE NON–SMALL-CELL LUNG CANCER: LONG-TERM FOLLOW-UP OF RTOG 92-04

I. J. Radiation Oncology ● Biology ● Physics Volume 53, Number 3, 2002



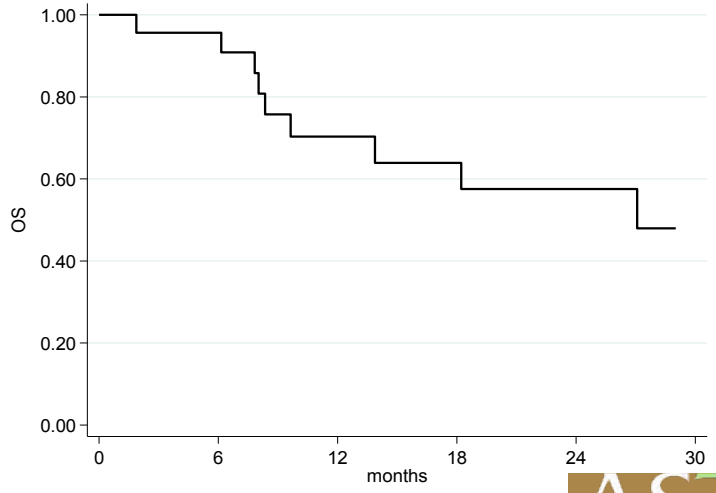
Radiotherapy plus chemotherapy with or without surgical resection for stage III non-small-cell lung cancer: a phase III randomised controlled trial

www.thelancet.com Vol 374 August 1, 2009



Accelerated hypofractionated radiotherapy using Tomotherapy plus chemotherapy for inoperable locally advanced lung cancer: preliminary results of a prospective phase II trial

ASTRO 2012



BIOLOGIA
Genetica moderna

Nasce con Gregor Mendel (1822-1884), biologo e matematico, monaco del monastero di Brno, in Moravia. I suoi esperimenti di selezione artificiale su piante di pisello lo portarono a formulare le "leggi dell'ereditarietà", un modello intuitivo che ha permesso di comprendere tutti i processi che per molto tempo erano stati usati dagli agricoltori e dagli allevatori per la selezione artificiale di piante ed animali. Pubblicato nel 1865, il lavoro di Mendel passò all'inizio inosservato: fu solo all'inizio del nostro secolo, con la scoperta dei cromosomi e con la genetica moderna, che gli esperimenti descritti da Mendel vennero correttamente interpretati, entrando a far parte della storia della genetica moderna

Nel 2001 è stata pubblicata [*] la struttura generale del genoma umano e dall'aprile 2003 si è resa disponibile [**], l'intera sequenza.
C'è la convinzione che questa rivoluzione genomica, vale a dire il sequenziamento del genoma umano e l'evoluzione della tecnologia high-throughput, annunci un futuro di medicina personalizzata.
Per l'oncologia clinica, questo progresso dovrebbe aumentare la possibilità di prevedere le risposte dei singoli pazienti alla radioterapia

* Lander ES, Linton LM, Birren B, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 2001;409:860e921.

** Collins FS, Green ED, Guttmacher AE, et al. A vision for the future of genomics research. Nature 2003;422:835e847

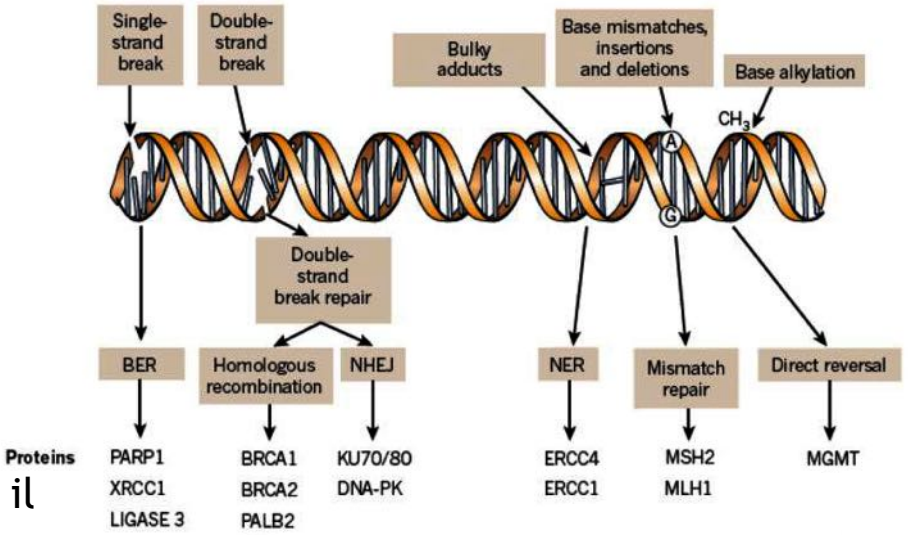
Il miglioramento della conoscenza del Genoma Umano è stato reso possibile per lo sviluppo di nuove tecniche di analisi ad alto rendimento-rapido sequenzamento, che consentono l'analisi di un grande numero di geni, o addirittura dell'intero genoma.in tempi contenuti

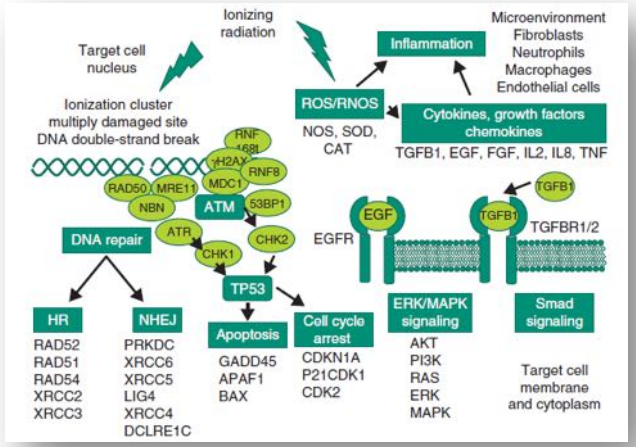
Esse possono esere applicate a livello del DNA (genomica), del'RNA (trascrittomica) e delle proteine (proteomica).

Gli studi di genetica moderna e di biologia molecolare si sono indirizzati alla comprensione sia dei meccanismi di radiosensibilità dei tessuti sani che dei tessuti neoplastici

DNA DAMAGE RESPONSE (DDR) MECHANISMS

Il danneggiamento del DNA prodotto dall'irradiazione, attiva una serie di meccanismi fisiolgici presenti nelle cellule per superare, riparare il danno.





Ci sono due pathways principali per riparare i DSBs:
non-homologous end joining (NHEJ)
e
homologous recombination (HR)

I geni di interesse comprendono non solo quelli coinvolti nel riconoscimento e nella riparazione del danneggiamento del DNA (ad esempio TP53, XRCC1, XRCC3, LIG4, APEX), ma anche quelli coinvolti nel controllo del checkpoint del ciclo cellulare (ad esempio CDKN1A), nella risposta allo stress ossidativo (es. SOD2), nell' l'induzione di apoptosi (es. BCL2) e nella produzione di citochine (ad es TGFB1).

Genomica e radiosensibilità dei tessuti sani

Mutazioni del gene ATM

Le mutazioni del gene ATM in soggetti con atassia teleangiectasia (e le mutazioni genetiche di altre malattie rare, come la Sindrome di Riddle, di Nijmegen…)) costituiscono la base genetica della nota radiosensibilità clinica di questi individui. Essi presentano rare mutazioni della linea germinale in geni specifici deputati al riparo del danno del DNA (DNA damage repair) Sebbene la radiosensibilità alterata nella sindrome atassia teleangectasia sia collegata con il troncamento della proteina codificata dal gene, studi successivi sul gene clonato (nel 1995), eseguiti utilizzando un “protein truncation” test non sono riusciti a dimostrare un collegamento tra lo “status” mutato del gene ATM e lo sviluppo di radiosensibilità in pazienti normali ed in radioterapia.

Attualmente la radiosensibilità del tessuto normale è considerato un fenotipo ereditato [*], un tratto complesso che dipende dalla interazione di più geni e prodotti genici

Roberts SA, Spreadborough AR, Bulman B, et al. Heritability of cellular radiosensitivity: a marker of low-penetrance predisposition genes in breast cancer? Am J Hum Genet 1999;65: 784e794.

Studio delle variazioni spontanee della sequenza: single nucleotide polymorphisms (SNPs)

Il polimorfismo di un singolo nucleotide rappresenta circa il 90% delle variazioni spontanee della sequenza all'interno della popolazione

Il polimorfismo di un singolo nucleotide è evolutivamente stabile, si verifica in almeno l'1% della popolazione e le varianti si osservano ogni 200_300 basi lungo il genoma umano, costituito da 3 bilioni di basi.

Il termine "radiogenomica" è stato coniato per lo studio di tale variazione genetica.

In considerazione dell'importanza dei geni della riparazione del danno al DNA e dell'importanza del loro coinvolgimento nella risposta cellulare e tessutale, i SNPs che si osservano in tali geni sono stati al centro di molte ricerche, dato che essi potrebbero spiegare le differenze di radiosensibilità tra gli individui

Table 2 — Studies correlating single nucleotide polymorphisms and radiotherapy toxicity

Reference	Gene(s) investigated	*n*	Finding
[20]	*XRCC1*	247*	*XRCC1* -77T->C variant not associated with radiosensitivity in breast cancer patients
[21]	*TP53, p21*	446	*TP53* 72Pro variant associated with acute toxicity in normal weight breast cancer patients
[22]	*XRCC3, XRCC2, NBS1*	446	No association with acute toxicity in breast cancer patients
[18]	*ATM*	41	*ATM* codon 1853 Asn/Asp and Asn/Asn genotypes associated with grade 3 fibrosis in breast cancer patients
[23]	*TGFβ1*	218	Homozygous variant TGFβ1 −1.552delAGG, −509TT and 10Pro genotypes associated with severe clinical radiosensitivity after gynaecological radiotherapy
[24]	*LIG4, ERCC2, CYP2D6*	83	*LIG4* (T>C, Asp(568)Asp), *ERCC2* (G>A, Asp(711)Asp), CYP2D6*4 (G>A, splicing defect) associated with toxicity in prostate cancer patients
[25]	*TGFβ1, SOD2, XRCC1, XRCC3, APEX, ATM*	120	No associations with the risk of radiation-induced subcutaneous fibrosis
[26]	*ERCC4*	130	*ERCC4* T2505C (codon 835 Ser/Ser (silent)) associated with a reduced need for a long-term feeding tube after radiotherapy
[27]	*XRCC1, APEX, XPD*	446	*XRCC1* 399Gln and *APE1* 148Glu alleles associated with a reduced risk of acute side-effects in normal weight breast cancer patients
[28]	*TGFβ1, SOD2, XRCC1, XRCC3, APEX, ATM*	52*	*TGFβ1* codon 10 Pro allele and *TGFβ1* position -509 T allele associated with an increased risk of altered breast appearance
[29]	*XRCC1, XRCC3, OGG1*	62	*XRCC3* IVS5-14 associated with the risk of late toxicity in cervix/endometrial cancer patients, more than three *XRCC1* and *XRCC3* risk alleles leads to increased toxicity, *XRCC1* codon 194 is protective
[30]	*XRCC1*	254	194Trp and 399 Gln alleles together are associated with toxicity in breast cancer patients
[31]	*TGFβ1*	103	−509T and +869C alleles are associated with the risk of fibrosis in breast cancer patients
[32]	*TGFβ1, SOD2, XRCC1, XRCC3, APEX*	41	*TGFβ1* Pro/Pro genotype in codon 10 and T/T genotype in position -509, *SOD2* codon 16 Ala and *XRCC1* codon 399 Arg are associated with the risk of fibrosis in breast cancer patients
[33]	*ATM*	254	1853 Asn/Asn genotype associated with the risk of acute and late toxicity in breast cancer patients
[34]	*SOD2*	80*	Val16Ala variant not associated with radiation-induced alteration of breast appearance
[35]	*RAD21*	19	Non-conservative G1441A polymorphism found in 1/19 and a T1440C substitution found in 6/19 radiosensitive patients

*Case-controlled studies.

Uno studio Danese su 41 pazienti sottoposte a mastectomia e radioterapia ipofrazionata ha evidenziato una correlazione significativa tra SNPs che si verificano in TGFB1, SOD2, XRCC1, XRCC3, RAD21 e APEX e la fibrosi sottocutanea [32].

Un successivo studio di convalida pubblicato nel 2006, coinvolgente 120 pazienti della stessa coorte storica di ipofrazionamento post-mastectomia non è in grado di identificare le correlazioni presentate nel 2003 [25]

West and Barnett *Genome Medicine* 2011, **3**:52
http://genomemedicine.com/content/3/8/52

Genome Medicine

REVIEW

Genetics and genomics of radiotherapy toxicity: towards prediction

Catharine M West*[1] and Gillian C Barnett[2]

Genetic variation and radiotherapy toxicity

Numerous studies have reported associations between genetic variation reported as SNPs in the candidate genes described above and radiotherapy toxicity (Table 5). However, most studies have involved only small patient numbers and no replication. The only replication study carried out failed to validate previous findings [59]. The lack of independent validation for any of the SNPs studied makes it impossible to say with certainty whether any predispose a patient to suffer toxicity. Due to the generally small numbers studied and overestimation of risks associated with rare alleles, the studies have lacked the statistical robustness required for changing patient management [45,60].

First genome-wide association studies

With the rapid reduction in cost of genotyping, there is increasing interest in carrying out GWASs to identify new genes associated with toxicity.

In a study of African-American patients with prostate cancer, 27 who developed erectile dysfunction after radiotherapy were compared with 52 controls. The SNP rs2268363 in the follicle-stimulating hormone receptor gene (*FSHR; involved in testes development and spermatogenesis) was associated with erectile dysfunction with a P-value that reached genome-wide significance (P = 5.5 × 10-8) and an odds ratio of 7.0 (95% confidence interval 3.4 to 12.7). Of course, we cannot state with certainty that the FSHR SNP is associated with radiotherapy toxicity until the finding is validated.*

With the caveat that the findings require validation, the study of Kerns *et al. represents an important first step for the radiotherapy community and it is interesting that the SNP possibly identified is tissue specific.*

A second GWASs looked at 277 lymphoblastoid lines to identify SNPs associated with radiosensitivity measured *in vitro. The work employed pharmacogenetic methods measuring viability after graded radiation doses (up to 45 Gy) and analyzed area under dose response curves to measure radiosensitivity, none of which is a standard radiobiology approach. The following genes were identified and suggested to influence radiosensitivity using siRNA (in tumor cell lines): C13orf34, MAD2ll, PLK4, TPD52 and DEPDC1B [63]*

The two GWASs described above all have their limitations; it remains to be seen whether the findings are validated and no firm conclusions can be drawn.

DNA Assays to Predict Tumour Response

Sebbene il goal, lo scopo degli ampi studi di genotipizzazione sia quello di collegare I SNPs" con la risposta dei tessuti normali, tuttavia c'è anche interesse nel collegare tali dati con il controllo di malattia e con la sopravvivenza (come possibili indicatori di outcome). I geni più largamente studiati sono quelli delle pathways del DNA repair e quelli dell'apoptosi ed I campioni in studio possono essere sia linfociti del sangue periferico che DNA estratto dalle cellule tumorali

Per esempio

- SNPs della linea germinale in IASPP (inhibitor of apoptosis stimulating proteins of P53) ottenuto dalla caratteizzazione genotipica su campion I di sangue periferico sono stati associati ad una buona risposta alla chemioradioterapia in 230 pazienti con NSCLC[43].

Altri studi hanno associato varianti polimorfiche e outcame della radioterapia:

- TP53 in endometrial carcinoma[46];
- RECQ1, RAD54L, ATM, XRCC1 and XRCC2 in pancreatic cancer [47,48];
- ERCC1, ERCC5 and XPA in head and neck cancer [49];
- XPD and XRCC1 in muscle-invasive bladder cancer [50];
- EGFR in rectal tumours [51].

Gli studi citati mostrano che le variazioni genetiche legate al processo del DNA repair e dell'apoptosi possono influenzare la risposta del tumore alla radioterapia. Questi studi usano il modello del " gene candidato", che, prevedendo la conoscenza a priori dello SNP e della funzione del gene, è guidato dall'ipotesi

Vi sono probabilmente geni coinvolti in altre pathways biologiche che tuttavia possono concorrere nel determinare la risposta del paziente alla radioterapia e sicuramente molti di loro non sono stati ancora identificati.

Si ritiene che la mappa degli aplotipi del genoma umano, la HapMap possa essere una risorsa chiave per l'identificazione di geni regolatori della salute, della malattia e della risposta ad agenti citotossici.

WEST and Barnett "Therefore, newer studies must be designed to exploit the emerging detection technologies, such as increasingly affordable high-throughput whole genome SNP arrays. Genome-wide scans are already underway to discover cancer susceptibility genes.
It is important to be aware, however, that it is estimated that as many as 30 000 patients would be required in order to achieve the necessary statistical power to identify significant relationships with clinical radiosensitivity"

Trascrittomica
RNA Microarrays

Descritti per la prima volta nel 1995 da un gruppo di Stanford [54], i microarrays di espressione genica forniscono la possibilità di monitorare, rapidamente e simultaneamente I livelli di espressione dell'RNA di migliaia di geni o dell'intero genoma.

è indispensabile una combinazione di competenze biologiche, matematiche e statistiche per affrontare e interpretare l'analisi di grandi insiemi di dati.

"La rilevanza per l'oncologia clinica sta nel loro uso per studiare i profili di espressione genica associati alla radiosensibilità dei tumori e dei tessuti normali, per la identificazione di biomarcatori predittivi sia del controllo locale che della tossicità da radioterapia.
Vi è anche interesse per lo sviluppo di biomarcatori di esposizione alle radiazioni

Transcriptional Response of Normal Tissues to Radiation

Reference	Cell/tissue	Gy	Time	Up-regulated genes*	Down-regulated genes*
[58]	Human lymphoblastoid	0.5	4 h	***STAT3***, *CAMKK2*, *SIRT1*, *CREM*, *MAPK3K7IP2*, *GPR56*, *CHD6*, *CRSP3*, *SNURF*, *CTR9*, *MIZF*	*WASF2*, *LCP1*, *MSN*, *NIPSNAP1*, *KIF2C*, *MCM2*, *MCM3*, *MCM7*, *XRCC4*
[59]	Mouse bone marrow	6.5†	6 h	Jun, Bax, Apaf1, Ccng1, p21, **Stat3**	Rb1, Sirt1, Ccne1, Cdk9, Cdk4, Cdk2, Mcm5, Mcm4, Rad1, **Top2A**, Top2B, Rad541, Pold2
[60]	Human fibroblasts	2	2 h	***GADD45A***, *BTG2*, *PCNA*, *IER5*, ***CDKN1A***, *PPMID*, *SERTAD1*, *PLK2*, *PLK3*, *BBC3*, ***TP53INP1***, *SH2D2A*, *SLIC1*, *GDF15*, *THSD1*	*CYR61*, *AMOTL2*
[61]	Rat hepatocytes	8	6 h	Mif, Mdr1, Gnb2, Prl1, Cabp2, Eif2a	None detected
[62]	Human fibroblasts	3.5/3 × 3.5	2, 24 h	***TP53INP1***, ***CDKN1A***, ***DDB2***, *SOD2*, *SOD3*, *CYP1B1*, *COL15A1*	*H2AX*, ***TOP2A***, *CCNA2*, *EGR1*, *MMP3*
[63]	Mouse kidney	16	1–30 weeks	Gulo, Klf5, Jag1, Ggps1, Pcm1, Xpo4, CyclinG, Tsc22d1	Slc22a7, Hba-a1, Syn1, Akp2
[64]	Mouse rectum	16	1–30 weeks	Klf5, Jag1, Xpo4, **RhoB**	Hba-a1, Syn1, Akp2
[65]	Bowel tissue	45–60	1–75 months	***RHOB***, *CD47*, *MMP1*, *MMP3*, *MMP14*, *TIMP1*, *TIMP2*, *IGFBP2*, *ERF1*, *POLA*, *CD27*	*TNF*, *ITGB4*, *EPHA1*, *DPP4*, *PTPRF*
[66]	Human lymphocytes	1.5–3†	6, 24 h	***CDKN1A***, ***GADD45A***, ***DDB2***	
[67]	Human lymphoblastoid	3, 10	1–24 h	***CDKN1A***, ***GADD45A***, ***DDB2***, *TNFRSF10B*, *TNFRSF6*, *PIG3*, *FDXR*, *HSPCB*, *HSPE1*, *ATF3*, *PPM1D*	*CCNB1*
[68]	Human lymphoblastoid	5	4 h	***CDKN1A***, ***GADD45A***, *FAS*, *PCNA*, *CCNG1*, *MDM2*	*TNF*, *KIF23*, *MYC*
[69]	Human lymphoblastoid	1	4 h	*SRPK1*, *RENBP*, *TAN1*, *F2R*, *ETV3*, *MYB*, *MAPK1*, *CCNE1*, *MAPK3*, *HTR3A*, *TNK1*	*CSK*, *VEGFB*, *MT3*, *FLT3*, *DLK1*, *SFRP2*, *IGHMBP2*, *ICSBP1*

Genes highlighted in bold were up- or down-regulated in more than one study. *Selected genes — for full lists see reference. †Total body irradiation.

A number of observations can be made from these first studies

Reference	Cell/tissue	Gy	Time	Up-regulated genes*	Down-regulated genes*
[58]	Human lymphoblastoid	0.5	4 h	***STAT3***, *CAMKK2, SIRT1, CREM, MAPK3K7IP2, GPR56, CHD6, CRSP3, SNURF, CTR9, MIZF*	*WASF2, LCP1, MSN, NIPSNAP1, KIF2C, MCM2, MCM3, MCM7, XRCC4*
[59]	Mouse bone marrow	6.5†	6 h	Jun, Bax, Apaf1, Ccng1, p21, **Stat3**	Rb1, Sirt1, Ccne1, Cdk9, Cdk4, Cdk2, Mcm5, Mcm4, Rad1, **Top2A**, Top2B, Rad541, Pold2
[60]	Human fibroblasts	2	2 h	***GADD45A***, *BTG2, PCNA, IER5,* ***CDKN1A***, *PPMID, SERTAD1, PLK2, PLK3, BBC3,* ***TP53INP1***, *SH2D2A, SLIC1, GDF15, THSD1*	*CYR61, AMOTL2*
[61]	Rat hepatocytes	8	6 h	Mif, Mdr1, Gnb2, Prl1, Cabp2, Eif2a	None detected
[62]	Human fibroblasts	3.5/3 × 3.5	2, 24 h	***TP53INP1***, ***CDKN1A***, ***DDB2***, *SOD2, SOD3, CYP1B1, COL15A1*	*H2AX,* ***TOP2A***, *CCNA2, EGR1, MMP3*
[63]	Mouse kidney	16			Akp2
[64]	Mouse rectum	16			
[65]	Bowel tissue	45–60			
[66]	Human lymphocytes	1.5–3†			
[67]	Human lymphoblastoid	3, 10		*TNFRSF10B, TNFRSF6, PIG3, FDXR, HSPCB, HSPE1, ATF3, PPM1D*	
[68]	Human lymphoblastoid	5	4 h	***CDKN1A***, ***GADD45A***, *FAS, PCNA, CCNG1, MDM2*	*TNF, KIF23, MYC*
[69]	Human lymphoblastoid	1	4 h	*SRPK1, RENBP, TAN1, F2R, ETV3, MYB, MAPK1, CCNE1, MAPK3, HTR3A, TNK1*	*CSK, VEGFB, MT3, FLT3, DLK1, SFRP2, IGHMBP2, ICSBP1*

Genes highlighted in bold were up- or down-regulated in more than one study. *Selected genes — for full lists see reference. †Total body irradiation.

CDKN1A (a regulator of cell cycle progression at G1) is the most consistently up-regulated genes after irradiation.

A number of observations can be made from these first studies

Reference	Cell/tissue	Gy	Time	Up-regulated genes*	Down-regulated genes*
[58]	Human lymphoblastoid	0.5	4 h	***STAT3***, *CAMKK2*, *SIRT1*,	*WASF2*, *LCP1*, *MSN*, *NIPSNAP1*, *KIF2C*,
[59]	Mous			ZF tat3	*MCM2*, *MCM3*, *MCM7*, *XRCC4* Rb1, Sirt1, Ccne1, Cdk9, Cdk4, Cdk2, Mcm5, Mcm4, Rad1, **Top2A**, Top2B, Rad541, Pold2
[60]	Hum				*CYR61*, *AMOTL2*
[61]	Rat h			Eif2a	None detected
[62]	Hum				*H2AX*, ***TOP2A***, *CCNA2*, *EGR1*, *MMP3*
[63]	Mous				Slc22a7, Hba-a1, Syn1, Akp2
[64]	Mouse rectum	16	1–30 weeks	Klf5, Jag1, Xpo4, **RhoB**	Hba-a1, Syn1, Akp2
[65]	Bowel tissue	45–60	1–75 months	***RHOB***, *CD47*, *MMP1*, *MMP3*, *MMP14*, *TIMP1*, *TIMP2*, *IGFBP2*, *ERF1*, *POLA*, *CD27*	*TNF*, *ITGB4*, *EPHA1*, *DPP4*, *PTPRF*
[66]	Human lymphocytes	1.5–3†	6, 24 h	***CDKN1A***, ***GADD45A***, ***DDB2***	
[67]	Human lymphoblastoid	3, 10	1–24 h	***CDKN1A***, ***GADD45A***, ***DDB2***, *TNFRSF10B*, *TNFRSF6*, *PIG3*, *FDXR*, *HSPCB*, *HSPE1*, *ATF3*, *PPM1D*	*CCNB1*
[68]	Human lymphoblastoid	5	4 h	***CDKN1A***, ***GADD45A***, *FAS*, *PCNA*, *CCNG1*, *MDM2*	*TNF*, *KIF23*, *MYC*
[69]	Human lymphoblastoid	1	4 h	*SRPK1*, *RENBP*, *TAN1*, *F2R*, *ETV3*, *MYB*, *MAPK1*, *CCNE1*, *MAPK3*, *HTR3A*, *TNK1*	*CSK*, *VEGFB*, *MT3*, *FLT3*, *DLK1*, *SFRP2*, *IGHMBP2*, *ICSBP1*

Genes highlighted in bold were up- or down-regulated in more than one study. *Selected genes — for full lists see reference. †Total body irradiation.

RHOB (ras homolog gene family, member B), involved in protein signalling transduction and required for DNA damage-induced apoptosis, was shown to be up regulated late (weeksemonths) in response to high doses of radiation in both mouse [64] and human [65] bowel

A number of observations can be made from these first studies

Reference	Cell/tissue	Gy	Time	Up-regulated genes*	Down-regulated genes*
[58]	Human lymphoblastoid	0.5	4 h	***STAT3***, *CAMKK2, SIRT1, CREM, MAPK3K7IP2, GPR56, CHD6, CRSP3, SNURF, CTR9, MIZF*	*WASF2, LCP1, MSN, NIPSNAP1, KIF2C, MCM2, MCM3, MCM7, XRCC4*
[59]	Mouse bone marrow	6.5†	6 h	Jun, Bax, Apaf1, Ccng1, p21, **Stat3**	Rb1, Sirt1, Ccne1, Cdk9, Cdk4, Cdk2, Mcm5, Mcm4, Rad1, **Top2A**, Top2B, Rad541, Pold2
[60]	Human fibroblasts	2	2 h	***GADD45A***, *BTG2, PCNA, N1A, PPMID, PLK2, PLK3, 53INP1, SH2D2A, F15, THSD1*	*CYR61, AMOTL2*
				, Gnb2, Prl1, Cabp2, Eif2a	None detected
				, ***CDKN1A, DDB2***, *03, CYP1B1, COL15A1*	*H2AX*, ***TOP2A***, *CCNA2, EGR1, MMP3*
				, Jag1, Ggps1, Pcm1, linG, Tsc22d1	Slc22a7, Hba-a1, Syn1, Akp2
				, Xpo4, **RhoB**	Hba-a1, Syn1, Akp2
				47, MMP1, MMP3, IMP1, TIMP2, RF1, POLA, CD27	*TNF, ITGB4, EPHA1, DPP4, PTPRF*
				GADD45A, DDB2	
				GADD45A, DDB2, *B, TNFRSF6, R, HSPCB, HSPE1, 1D*	*CCNB1*
				GADD45A, *FAS, PCNA, CCNG1, MDM2*	*TNF, KIF23, MYC*
[69]	Human lymphoblastoid	1	4 h	*SRPK1, RENBP, TAN1, F2R, ETV3, MYB, MAPK1, CCNE1, MAPK3, HTR3A, TNK1*	*CSK, VEGFB, MT3, FLT3, DLK1, SFRP2, IGHMBP2, ICSBP1*

Genes highlighted in bold were up- or down-regulated in more than one study. *Selected genes — for full lists see reference. †Total body irradiation.

STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) increases transcription in response to cytokines and growth factors and plays a key role in many cellular processes, such as cell growth and apoptosis. It has been shown to be up-regulated early after irradiation in both human lymphoblastoid cells and mouse bone marrow

A number of observations can be made from these first studies

Re					
[58]	Human lymphoblastoid	0.5	4 h	***STAT3***, *CAMKK2*, *SIRT1*, *CREM*, *MAPK3K7IP2*, *GPR56*, *CHD6*, *CRSP3*, *SNURF*, *CTR9*, *MIZF*	*WASF2*, *LCP1*, *MSN*, *NIPSNAP1*, *KIF2C*, *MCM2*, *MCM3*, *MCM7*, *XRCC4*
[59]	Mouse bone marrow	6.5†	6 h	Jun, Bax, Apaf1, Ccng1, p21, **Stat3**	Rb1, Sirt1, Ccne1, Cdk9, Cdk4, Cdk2, Mcm5, Mcm4, Rad1, **Top2A**, Top2B, Rad541, Pold2
[60]	Human fibroblasts	2	2 h	***GADD45A***, *BTG2*, *PCNA*, *IER5*, ***CDKN1A***, *PPMID*, *SERTAD1*, *PLK2*, *PLK3*, *BBC3*, ***TP53INP1***, *SH2D2A*, *SLIC1*, *GDF15*, *THSD1*	*CYR61*, *AMOTL2*
[61]	Rat hepatocytes	8	6 h	Mif, Mdr1, Gnb2, Prl1, Cabp2, Eif2a	None detected
[62]	Human fibroblasts	3.5/3 × 3.5	2, 24 h	***TP53INP1***, ***CDKN1A***, ***DDB2***, *SOD2*, *SOD3*, *CYP1B1*, *COL15A1*	*H2AX*, ***TOP2A***, *CCNA2*, *EGR1*, *MMP3*
[63]	Mouse kidney	16	1–30 weeks	Gulo, Klf5, Jag1, Ggps1, Pcm1, Xpo4, CyclinG, Tsc22d1	Slc22a7, Hba-a1, Syn1, Akp2
[64]	Mouse rectum	16	1–30 weeks	Klf5, Jag1, Xpo4, **RhoB**	Hba-a1, Syn1, Akp2
[65]	Bowel tissue	45–60	1–75 months	***RHOB***, *CD47*, *MMP1*, *MMP3*, *MMP14*, *TIMP1*, *TIMP2*	*TNF*, *ITGB4*, *EPHA1*, *DPP4*, *PTPRF*
[66]	Human				
[67]	Human				*CCNB1*
[68]	Human				*TNF*, *KIF23*, *MYC*
[69]	Human				*CSK*, *VEGFB*, *MT3*, *FLT3*, *DLK1*, *SFRP2*, *IGHMBP2*, *ICSBP1*

Genes highlighted in bold were up- or down-regulated in more than one study. *Selected genes — for full lists see reference. †Total body irradiation.

TOP2A (topoisomerase II alpha), involved in DNA repair, was shown to be down-regulated early (hours) in response to radiation in both mouse bone marrow [59] and human fibroblasts [62].

Tutti questi studi mettono in evidenza il potenziale dei microarrays di espressione genica per migliorare la comprensione dei meccanismi molecolari alla base della risposta fisiologica dei tessuti alle radiazioni, e di identificare nuovi targets per la radioprotezione e per il miglioramento della tossicità radioindotta

Uno studio su linfociti di sangue periferico raccolto prima e dopo il trattamento da pazienti con cancro della prostata con diversa tolleranza al trattamento radiante ha evidenziato che I 19 geni candidati diversamente espressi furono ATM, BRCA1, BRCA2, ERCC1, FHIT, LIG3, MDM2, POLK, RAD23B, RAD52, TOP3A, TOP3A / 2 e TP53 e che i pazienti Con elevata espressione genica non ha avuto effetti avversi durante la radioterapia.

Derivation of Gene Signatures to Predict Tumour Response to Radiotherapy

Stanno uscendo diverse pubblicazioni che identificano geni trascritti associati con la risposta tumorale

Kitahara O, Katagiri T, Tsunoda T, et al. Classification of sensitivity or resistance of cervical cancers to ionizing radiation according to expression profiles of 62 genes selected by cDNA microarray analysis. Neoplasia 2002;4:295-e303.

Otomo T, Hishii M, Arai H, et al. Microarray analysis of temporal gene responses to ionizing radiation in two glioblastoma cell lines: up-regulation of DNA repair genes. J Radiat Res (Tokyo) 2004;45:53e60..

Proteomics and Tissue Microarrays

La Proteomica è lo studio della funzione di tutte le proteine espresse. La promessa della proteomica sta nella identificazione di biomarcatori che possono influenzare favorevolmente la diagnosi della malattia, così come la nostra capacità di valutare la risposta al trattamento e, quindi, la prognosi.

Alcuni tra I molti studi:

- Sreekumar A, Nyati MK, Varambally S, et al. Profiling of cancer cells using protein microarrays: discovery of novel radiationregulated proteins.

Cancer Res 2001;61:7585e7593

Up-regulation of apoptotic regulators was seen [91].

- Allal AS, Kahne T, Reverdin AK, et al. Radioresistance-related proteins in rectal cancer. Proteomics 2004;4:2261e2

Radioresistance-related proteins were identified in a proteomic study of pre-radiotherapy tumour biopsies from 17 patients with rectal cancer. Radioresistanceassociated proteins included heat shock protein 42, betatubulin, annexin V and Rad51L3 [92].

- Changes in TGF-b1 levels during radiotherapy have been linked with the development of radiation pneumonitis in lung cancer patients [93,94] and with radiation toxicity in nasopharyngeal carcinoma patients [95]. After surgery, preradiotherapy levels were predictive of toxicity in breast cancer patients [96]. It is important to be aware that plasma/serum markers can reflect tumour burden.

Single markers are unlikely to be robust [97], but high-throughput proteomic methods should identify novel proteins and enable the derivation of prognostic/ predictive profiles and will probably be more robust.

ISTITUTO SCIENTIFICO ROMAGNOLO PER LO STUDIO E LA CURA DEI TUMORI

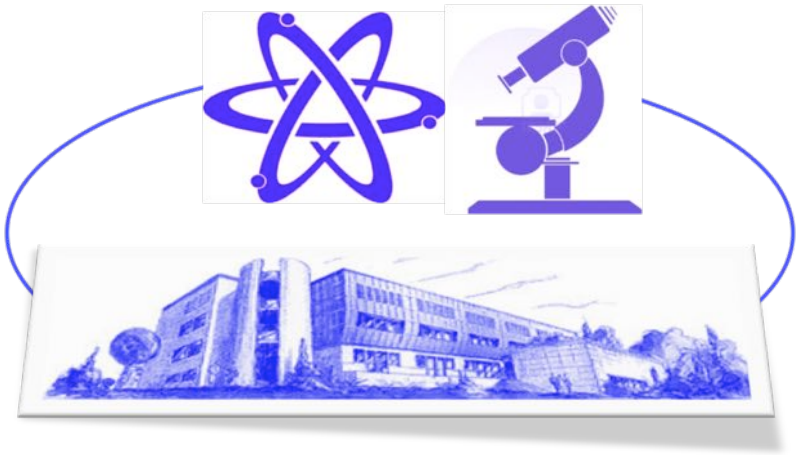
SERVIZIO SANITARIO REGIONALE
EMILIA-ROMAGNA

RADIOBIOLOGY LABORATORY

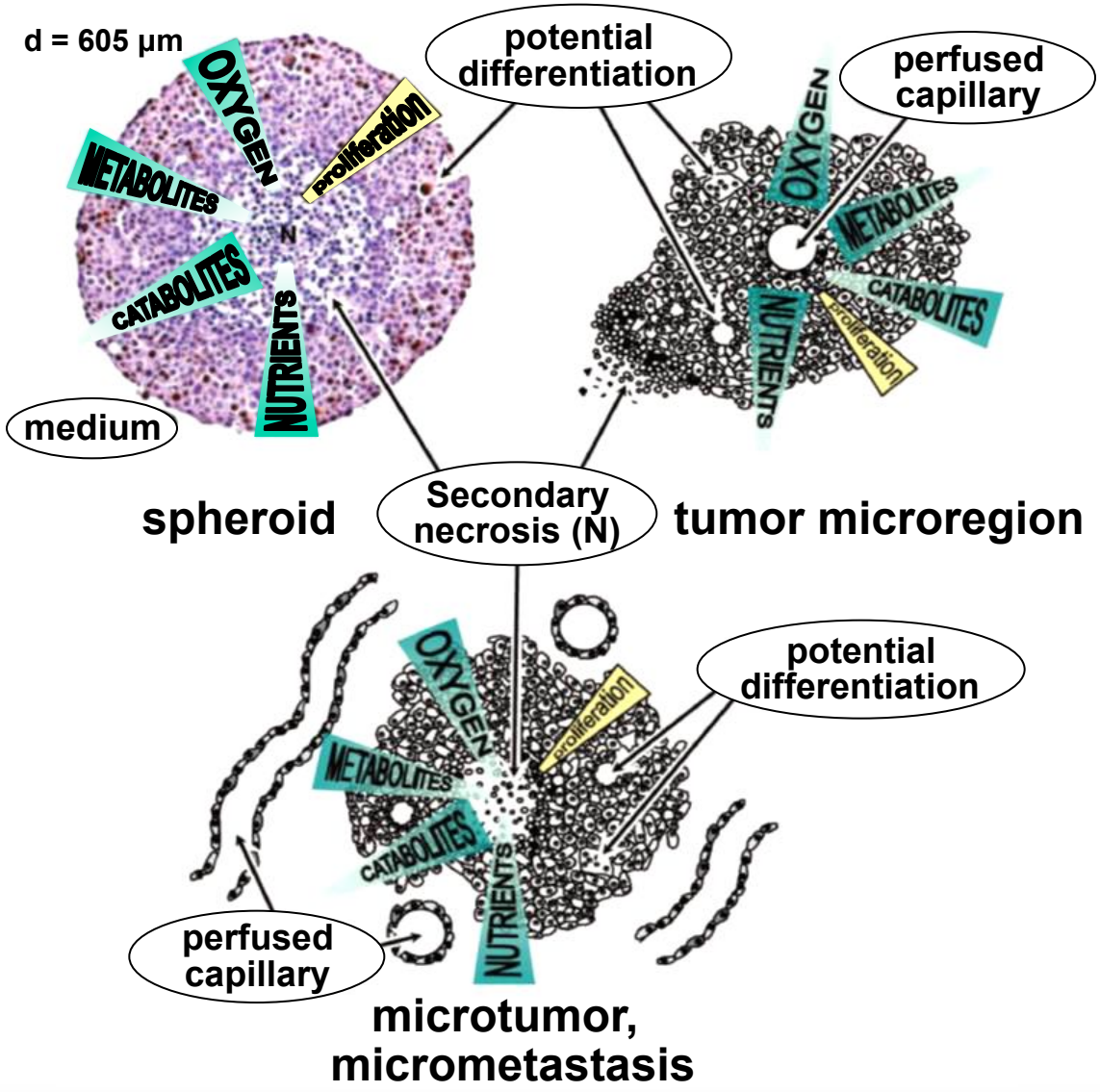
AT IRCCS IRST, Meldola, Italy

Linee di indirizzo della ricerca

1. **Metodologia della rappresentazione in vitro delle neoplasie (colture e cocolture tridimensionali)**
2. **Effetti biochimici e biomolecolari dell'irradiazione su cellule neoplastiche e sul cellule sane**
3. **Studi morfometrici correlate con i punti 1 e 2**
4. **Traslazione in clinica dei punti 3**
5. **Effetti immunogeni della radioterapia**
6. *Rigenerazione dei tessuti radiolesi*
7. **Meccanismi della radioresistenza**
8. **Meccanismi della radiosensibilità**
9. *Radiosensibilizzazione chimica*



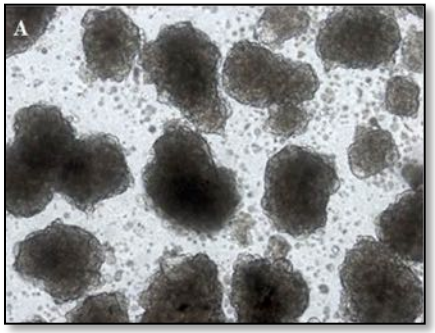
MULTICELLULAR TUMOR SPHEROIDS (MCTS): A VALID *IN VITRO* MODEL



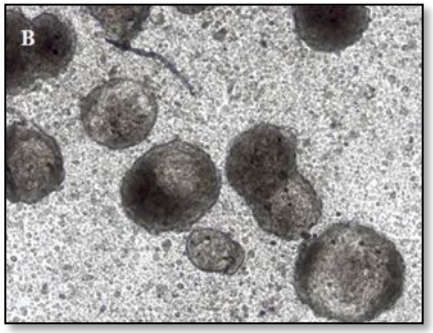
Friedrich J Int J Rad Biol 2007

MCTS FROM EPIDERMOID CANCER OF THE LUNG

CULTURES (brightfield observation)

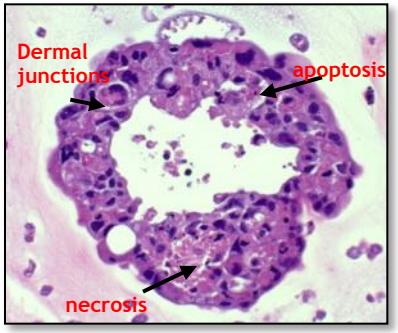


4x



4x

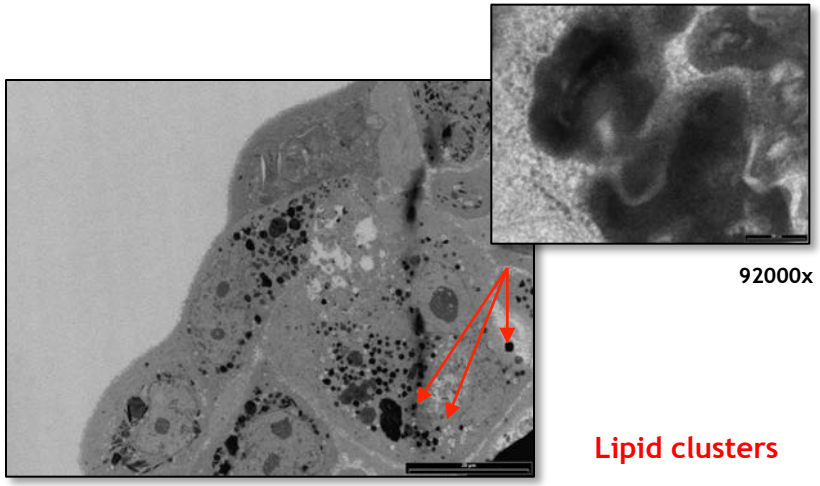
FIXED AND STAINED



40x

40x

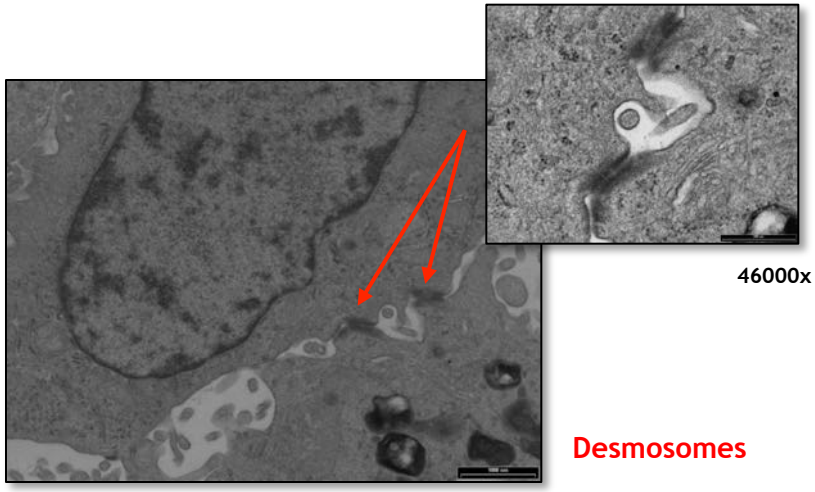
ELECTRON MICROSCOPY



92000x

1100x

Lipid clusters

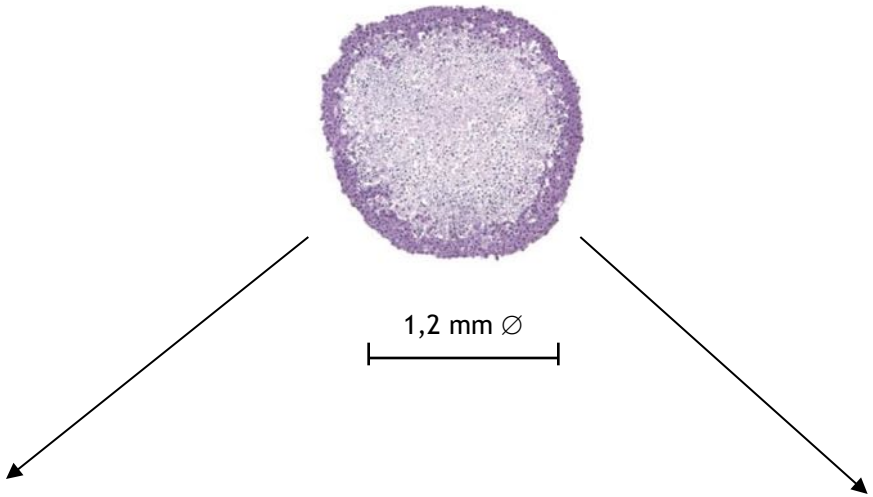


46000x

13500x

Desmosomes

MCTS: RESEARCH APPLICATIONS



Whole spheroid

- Growth kinetics (APH assay)
- Histology
- Evaluation of infiltration capacity and cytotoxicity by immune cells

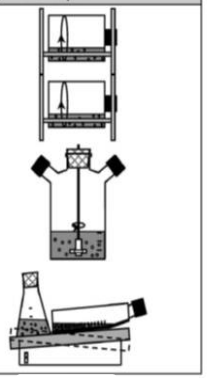
Dissociated spheroid

- Molecular analysis (RNA/DNA/Protein assay)
- Regrowth analysis (clonogenic assay)
- Flow cytometry
- Biochemical assay

Dubessy C et al. Critical Rev Oncol Hematol 36 (2000) 179–192

MCTS TECHNIQUES USED TO GROW MULTICELLULAR SPHEROIDS FROM CELL LINES OR PRIMARY CELLS

large scale production



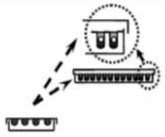
Roller tube

Spinner flask

Gyratory shaker

mother dish, short term culturing

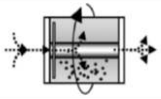
single spheroid monitoring, co-culturing



Soft agar, liquid overlay

Hanging drop

primary cell spheroid culturing

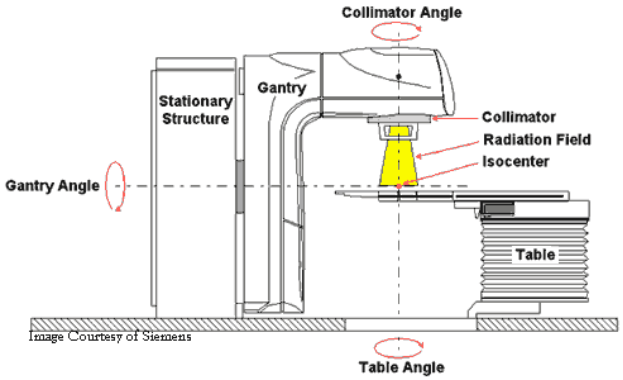


Rotating wall vessel (NASA bioreactor)

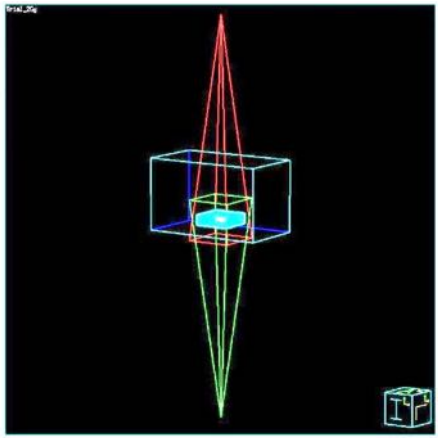
SETTING UP OF AN IRRADIATION STATION FOR MCTS

SOURCE AXIS DISTANCE (SAD) = 100 cm

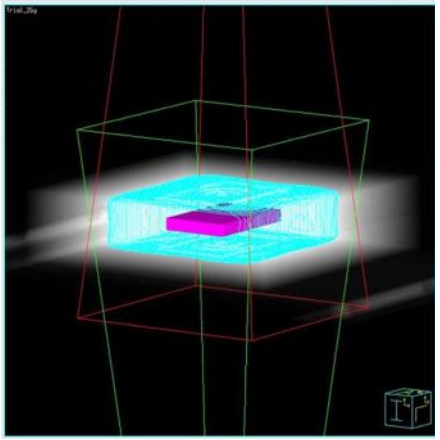
X- RAY SOURCE



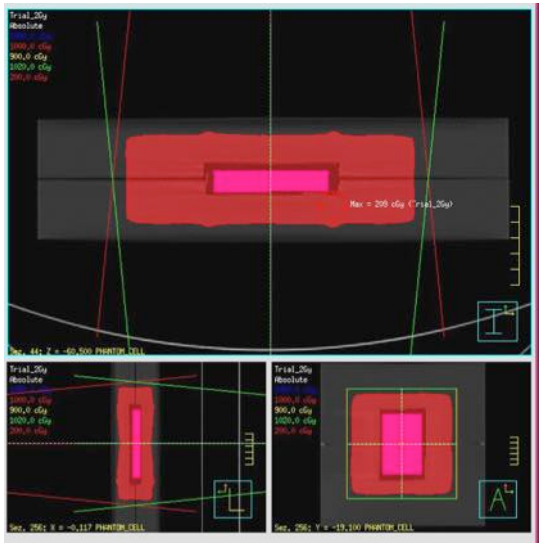
ELEKTA SYNERGY



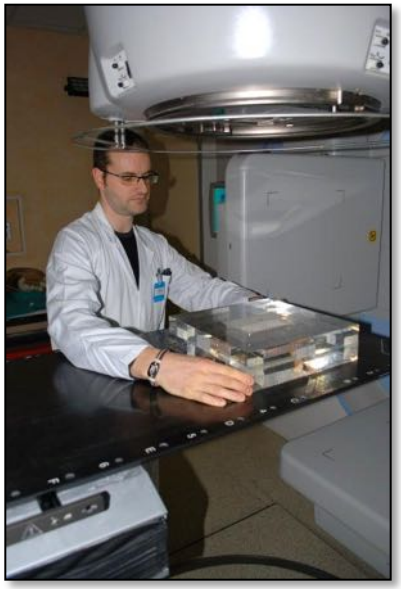
FIELD SIZE FOR TARGET COVERAGE BY GIVEN ISODOSE LINES

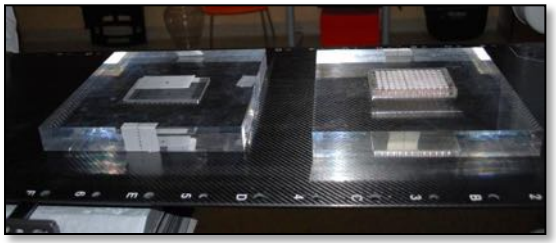


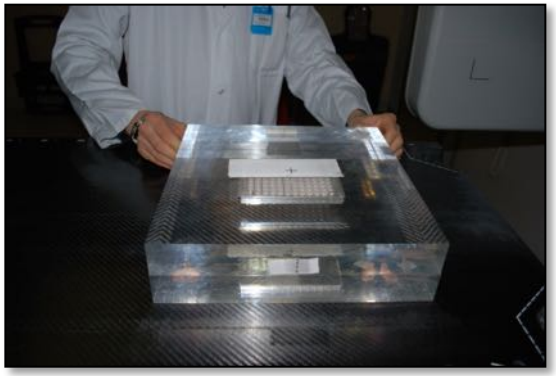
3-D PLEXIGAS PHANTOM CELL

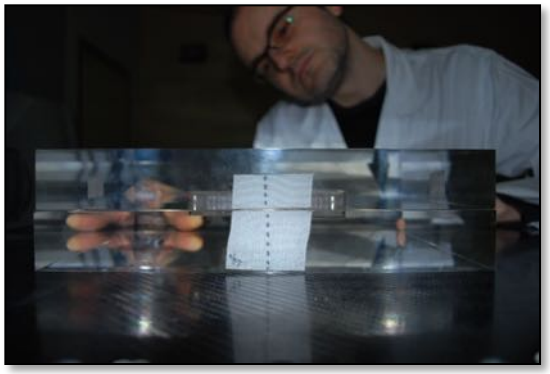


SETTING UP OF AN IRRADIATION STATION FOR MCTS



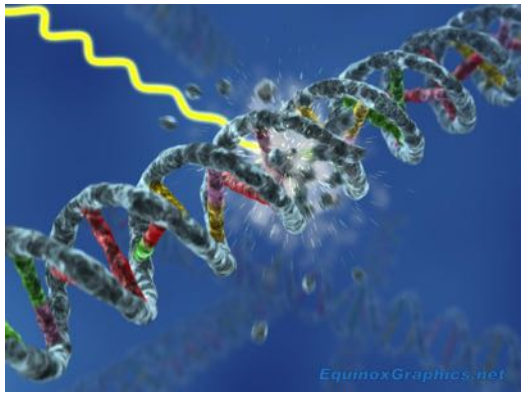


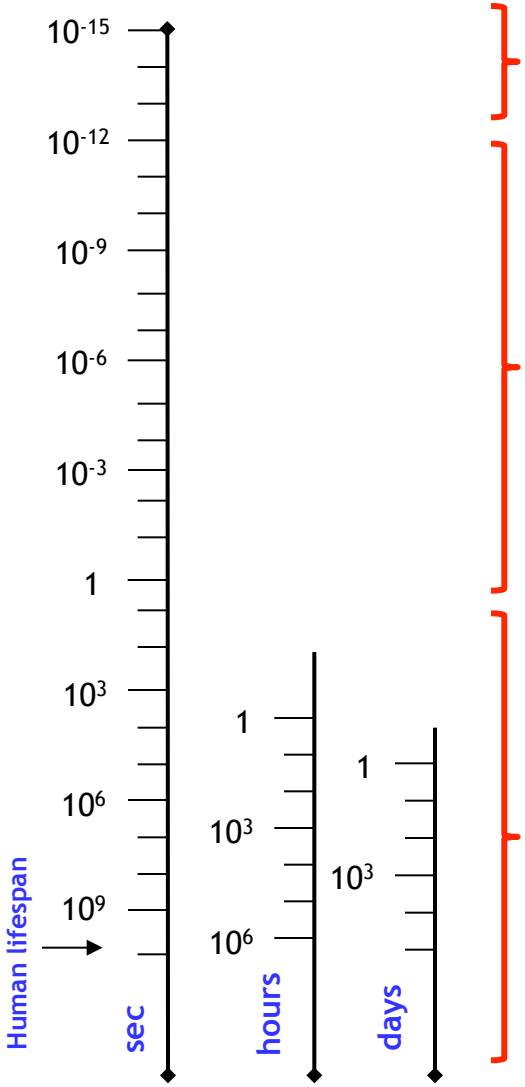




ONGOING STUDIES

DNA DAMAGE BY IRRADIATION: EVENTS AND TIMING





Physical phase: energy deposition, excitation/ionization

Physicochemical phase: free-radical formation, chemical reaction, initial DNA damage

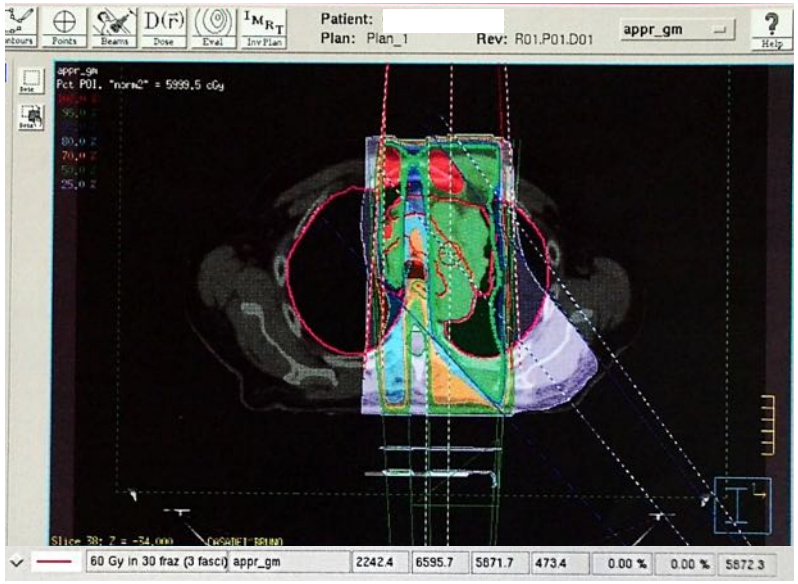
Biological phase: enzyme reactions, DNA repair, apoptosis, stem cell killing, carcinogenesis, etc

NSCLC

CONVENTIONAL FRACTIONATION

60 Gy delivered in 30 fractions of 2 Gy

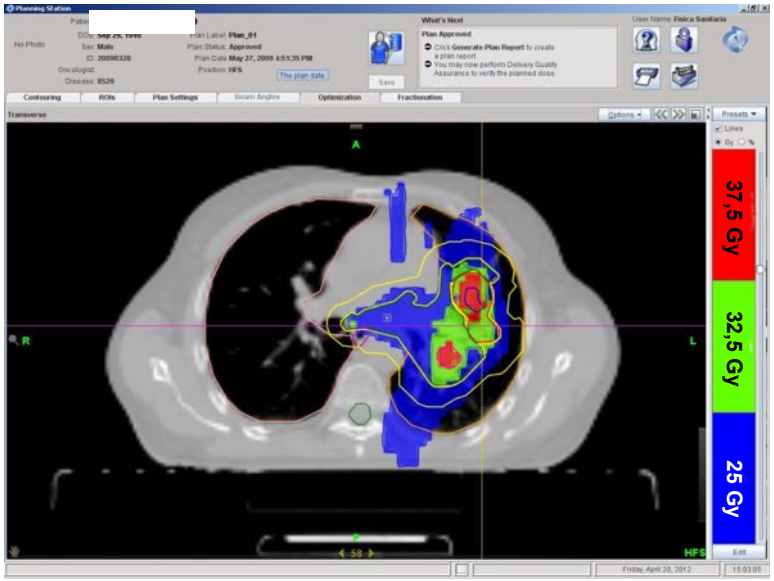
over 6 weeks



HYPOFRACTIONATION WITH DISHOMOGENOUS DOSE DISTRIBUTION:

37,5 Gy	delivered in 5 fractions of	7,5 Gy
32,5 Gy		6,5 Gy
25 Gy		5 Gy

over 1 week



IRST PROTOCOL

Objective:

Investigate comparatively the biomolecular effects of accelerated hypofractionated vs conventionally fractionated radiotherapy in different experimental models

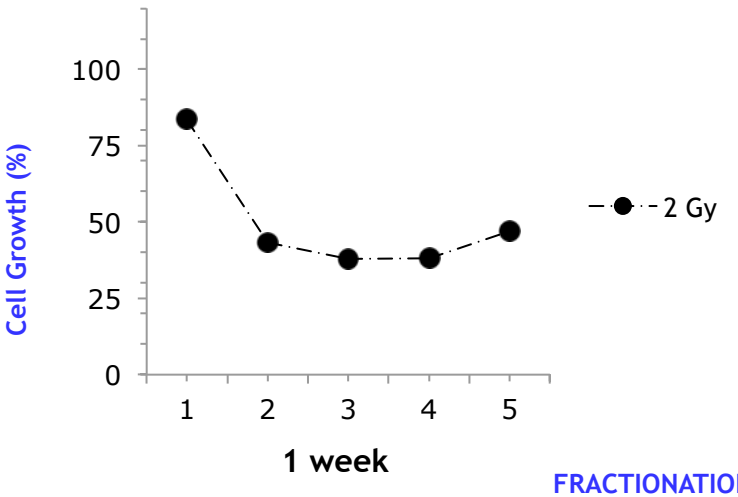
Human fibroblast cells from normal human lung

Immortalized human endothelial cell line

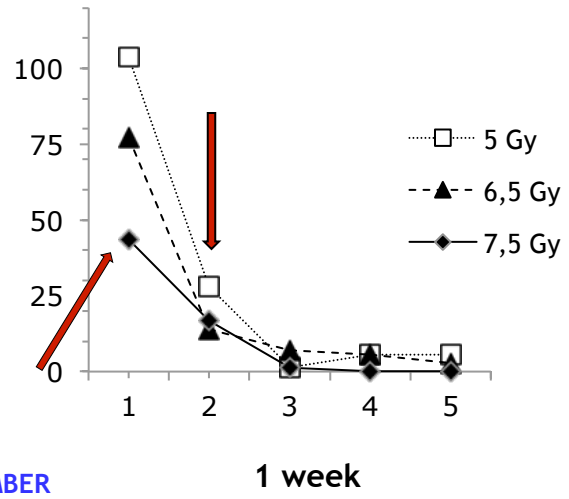
Tumor spheroids from established NSCLC cell lines

CELL GROWTH EVALUATED BY CLONOGENIC ASSAY* 12 DAYS AFTER:

Conventional fractionation



Hypofractionation

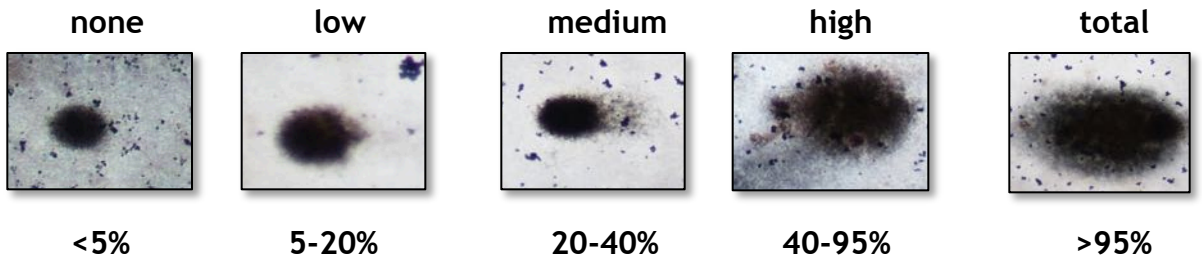


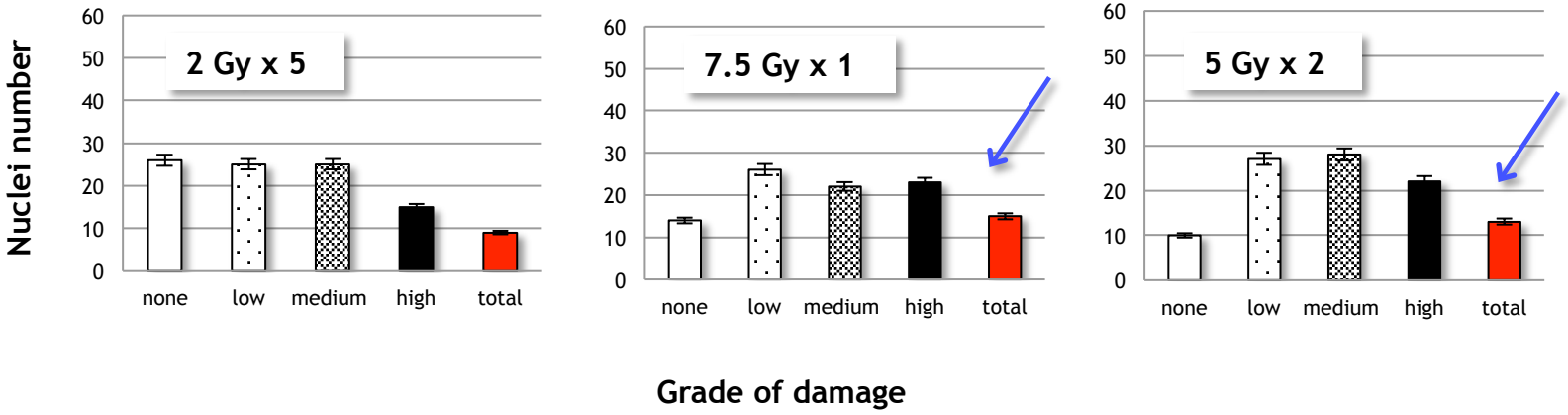
FRACTIONATION NUMBER

*only colonies with ≥ 50 cells

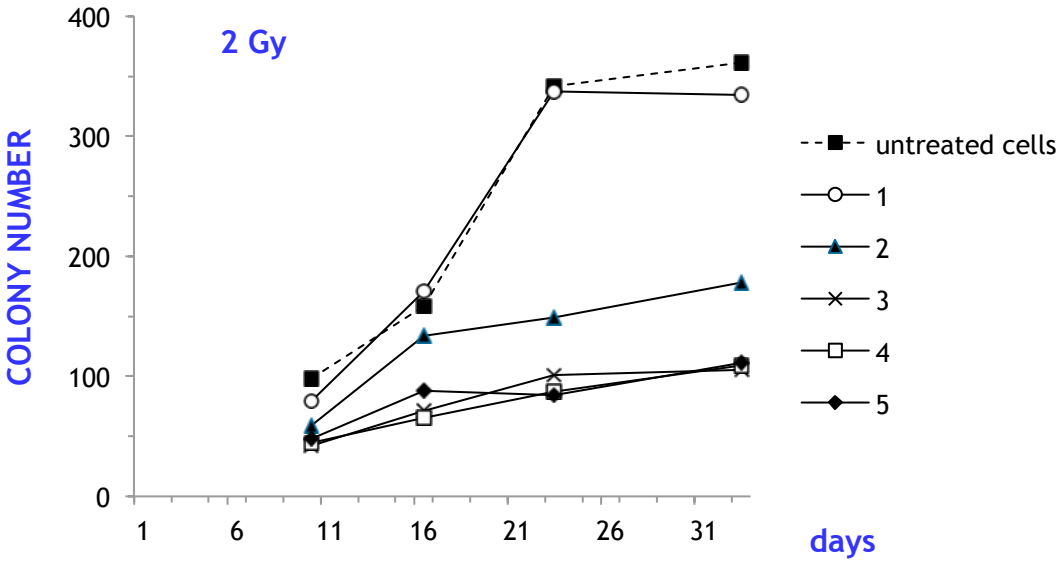
DNA DAMAGE ANALYSIS BY COMET ASSAY

Grade of DNA damage

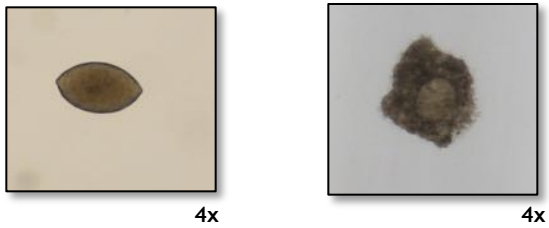




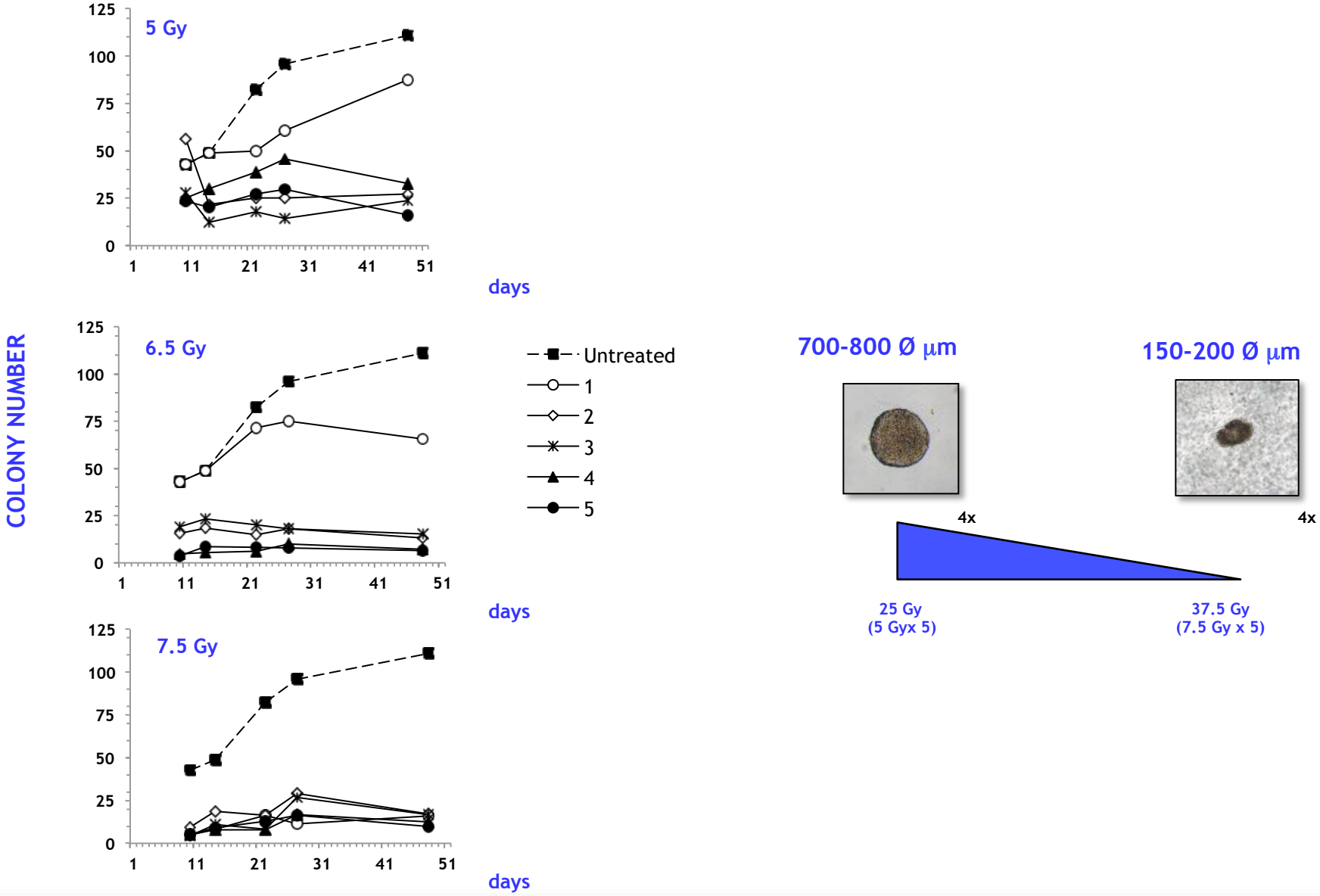
COLONY GROWTH AT 10-33 DAYS AFTER THE END OF DIFFERENT 2 Gy FRACTIONS



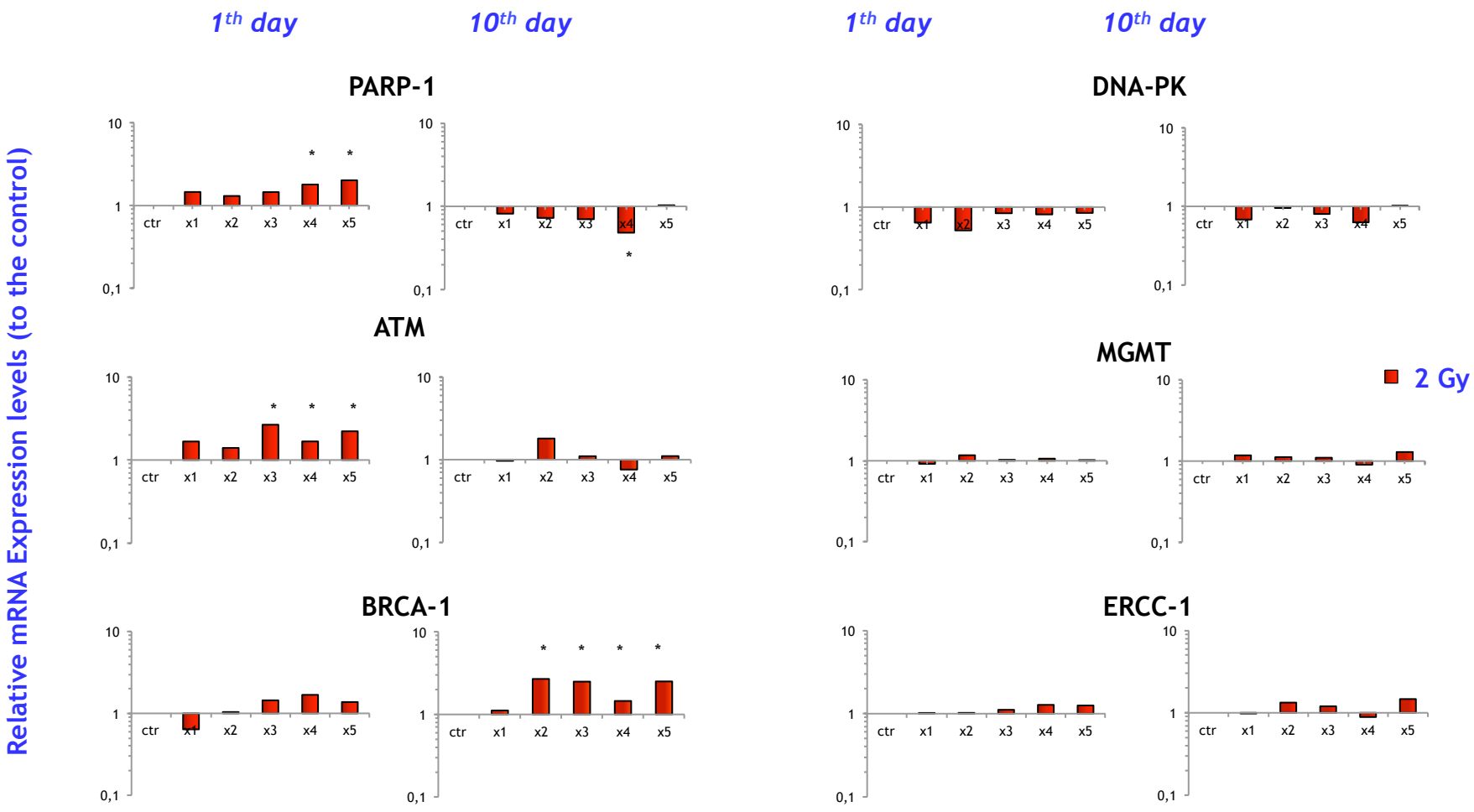
500-600 Ø μm



COLONY GROWTH AT 10-48 DAYS AFTER THE END OF MULTIPLE FRACTIONS OF DIFFERENT DOSES

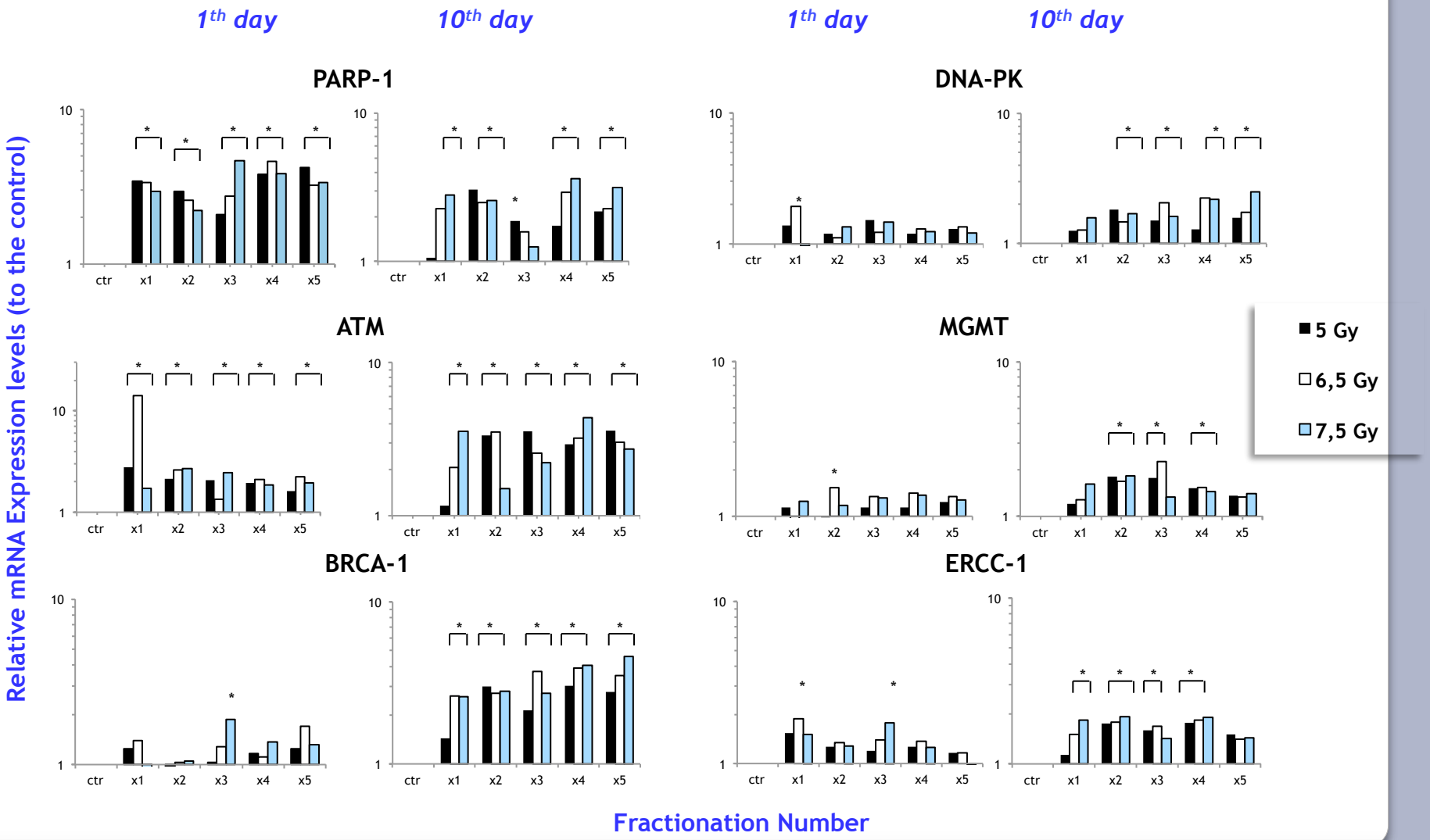


EXPRESSION OF GENES INVOLVED IN DNA DAMAGE REPAIR (DDR) MECHANISMS AFTER 2Gy FRACTIONS



* P < 0,05

EXPRESSION OF DIFFERENT ENZYMES INVOLVED IN DDR MECHANISMS AFTER DIFFERENT RADIATION FRACTIONS



* P < 0,05

ANALISI TEMPORALE DI CARATTERISTICHE MORFOMETRICHE ESTRATTE DA IMMAGINI DI SFEROIDI TUMORALI MULTICELLARI SOTTOPOSTE A DIFFERENTI TRATTAMENTI RADIOTERAPICI

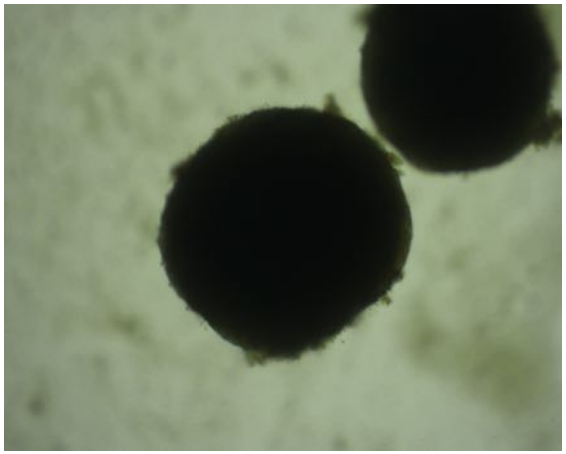
Microscopio OLYMPUS IX51

Telecamera Nikon Digital Sight DS-Vi1

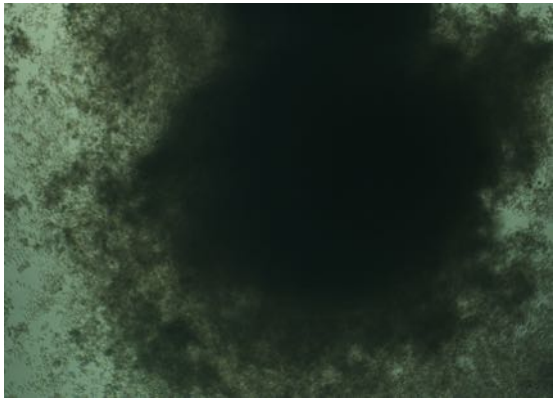
Analisi morfometrica

L'analisi quantitativa delle caratteristiche Morfologiche di tutti gli sferoidi acquisiti in questo esperimento, ha rappresentato un valido strumento di correlazione dei diversi trattamenti radioterapici conseguiti. In particolare, sono state ricavate le seguenti caratteristiche morfologiche:

- Area
- Perimetro
- Lunghezza Asse Maggiore
- Lunghezza Asse Minore
- Rapporto tra gli Assi

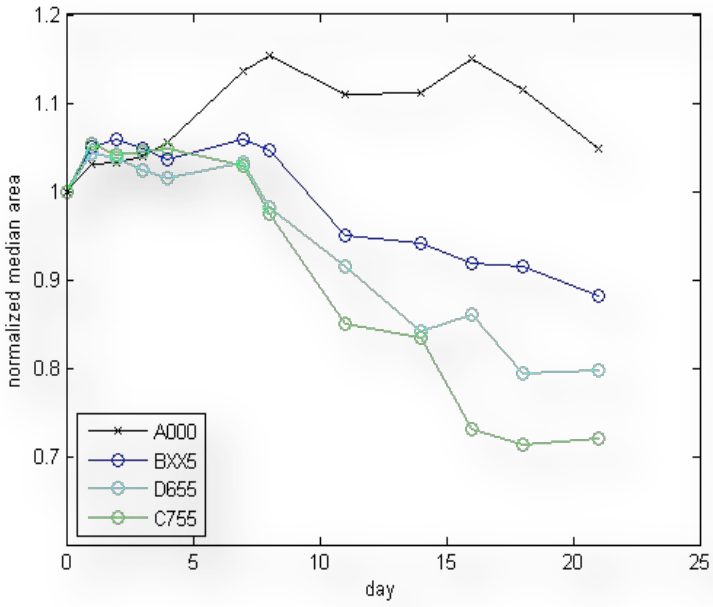


4.16 Immagine relativa al pozzetto E5 della piastra C755, acquisita il terzo giorno, contenente più di uno sferoide



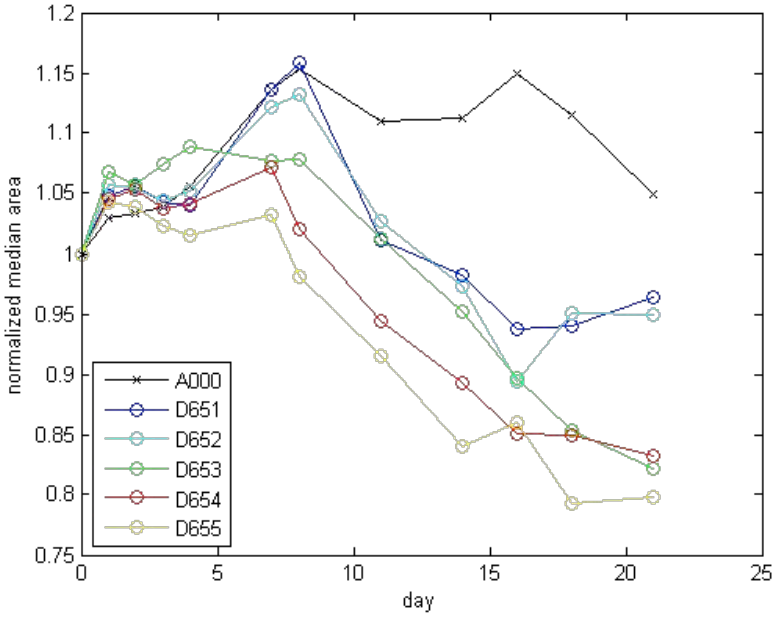
4.18 Immagine relativa al pozzetto E6 della piastra C755, acquisita l'ottavo giorno, contenente uno sferoide completamente disgregato

Confronto diversi trattamenti a pari numero di sedute



Confronto diversi trattamenti a pari numero di sedute

Confronto trattamenti a differente numero di sedute



Confronto dei trattamenti a 6.5 Gy eseguiti con differente numero di sedute

Ricerca traslazionale in Radioterapia

Può essere un futuro ragionevole?

1. Metodologia della rappresentazione in vitro delle neoplasie

Lettera d'Intenti per Progetto IRST (da compilare in italiano)	
Titolo del progetto:	**Messa a punto di nuovi modelli sperimentali in vitro di tumore umano e di tessuto sano per il loro utilizzo nella valutazione citotossica indotta dal trattamento radiante**
Linea di Ricerca:	Radiobiologia/ Approcci radioterapici innovativi
Ricercatore Principale:	Anna Tesei (IRCCS-IRST)
E-mail:	Anna.tesei@irst.emr.it
Altri Ricercatori coinvolti:	Sara Pignatta(IRCCS-IRST), Anna Sarnelli(IRCCS-IRST), Giulia Paganelli(IRCCS-IRST), Antonino Romeo(IRCCS-IRST)
U.O. IRST partecipanti:	Laboratorio di Bioscienze; U.O. Radioterapia; U.O. Fisica Sanitaria
Altri enti coinvolti oltre IRST:	

Lettera d'Intenti per Progetto IRST (da compilare in italiano)	
Titolo del progetto:	**Studio degli effetti biomolecolari di nuovi schemi di frazionamento nel NSCLC**
Linea di Ricerca:	Radiobiologia/ Approcci radioterapici innovativi
Ricercatore Principale:	Anna Tesei (IRCCS-IRST)
E-mail:	anna.tesei@irst.emr.it
Altri Ricercatori coinvolti:	Chiara Arienti co-responsabile (IRCCS-IRST), Sara Pignatta (IRCCS-IRST), Elisa Gabucci (dottoranda IRST), Giulia Paganelli (IRCCS-IRST) Anna Sarnelli (IRCCS-IRST), Antonino Romeo (IRCCS-IRST)
U.O. IRST partecipanti:	Laboratorio di Bioscienze; U.O. Radioterapia; U.O. Fisica Sanitaria
Altri enti coinvolti oltre IRST:	

2. **Effetti biochimici e biomolecolari dell'irradiazione su cellule neoplastiche e su cellule sane**

Lettera d'Intenti per Progetto IRST (da compilare in italiano)	
Titolo del progetto:	**Studio degli effetti molecolari delle radiazioni ionizzanti su tessuti sani e su componenti del microambiente tumorale**
Linea di Ricerca:	Radiobiologia/Approcci radioterapici innovativi
Ricercatore Principale:	Chiara Arienti (IRCCS-IRST)
E-mail:	
Altri Ricercatori coinvolti:	Anna Tesei co-responsabile (IRCCS-IRST), Sara Pignatta (IRCCS-IRST), Giulia Paganelli (IRCCS-IRST), Anna Sarnelli (IRCCS-IRST), Antonino Romeo (IRCCS-IRST), dr.ssa Elisa Gabucci (dottoranda IRST)
U.O. IRST partecipanti:	Laboratori odi Bioscienze, U.O. Radioterapia, U.O. Fisica Sanitaria
Altri enti coinvolti oltre IRST:	

2. **Effetti biochimici e biomolecolari dell'irradiazione su cellule neoplastiche e su cellule sane**

3. Traslazione in clinica dei punti 1 e 2

Lettera d'Intenti per Progetto IRST

(da compilare in italiano)

Titolo del progetto:	**Sviluppo di uno strumento non invasivo, basato su analisi di immagini, per la quantificazione degli effetti della radioterapia in linee cellulari umane tumorali cresciute in 3-D**
Linea di Ricerca:	Radiobiologia/Fisica Sanitaria/Radioterapia
Ricercatori Principali:	Dott.ssa Anna Tesei (IRST)
E-mail:	alessandro.bevilacqua@unibo.it
Altri Ricercatori coinvolti:	Prof. Alessandro Bevilacqua co-responsabile Dott.ssa Anna Sarnelli (IRCCS-IRST), Antonino Romeo (IRCCS-IRST), Elisa Gabucci (dottoranda IRST), Ing. Filippo Piccinini(Università Bologna),
U.O. IRST partecipanti:	U.O. Laboratorio di Bioscienze, U. O. Fisica Sanitaria U.O. Radioterapia
Altri enti coinvolti oltre IRST:	Università di Bologna

Lettera d'Intenti per Progetto IRST

(da compilare in italiano)

Titolo del progetto:	**EFFETTO IMMUNOGENO DELLA RADIOTERAPIA: RUOLO DEI ncRNAs NEL *CROSS-TALK* TRA CELLULE TUMORALI E CELLULE DEL SISTEMA IMMUNITARIO**
Linea di Ricerca:	Radiobiologia/ Approcci radioterapici innovativi
Ricercatori Principali:	dr.ssa Anna Tesei (IRCCS-IRST, Meldola),
E-mail:	anna.tesei@irst.emr.it
Altri Ricercatori coinvolti:	prof. Muller Fabbri co-responsabile del progetto (IRCCS-IRST), dr.ssa Lidia Strigari co-responsabile (IFO), dr.ssa Francesca Fanini (IRCCS-IRST), dr. Ivan Vannini (IRCCS-IRST), dr.ssa Chiara Arienti(IRCCS-IRST), dr.ssa Sara Pignatta (IRCCS-IRST) Dr. Antonino Romeo, dr.ssa Anna Sarnelli (IRCCS –IRST),
U.O. IRST partecipanti:	Laboratorio di Bioscienze, Radioterapia, Laboratorio *non-coding* RNAs,
Altri enti coinvolti oltre IRST:	IFO, Roma, IOR Forlì, CHLA, University of Southern California

4. Effetti immunogeni della radioterapia

Lettera d'Intenti per Progetto IRST

Titolo del progetto:	**Melanoma: studio dei meccanismi di radio resistenza.**
Linea di Ricerca:	Radiobiologia/ Approcci radioterapici innovativi
Ricercatore Principale:	Chiara Arienti (IRCCS-IRST, Meldola),
E-mail:	c.arienti@irst.emr.it
Altri Ricercatori coinvolti:	Anna Tesei(IRCCS-IRST, Meldola), Giulia Paganelli (IRCCS-IRST) Anna Sarnelli (IRCCS-IRST, Meldola), Antonino Romeo(IRCCS-IRST, Meldola), Silvia Carloni (IRCCS-IRST, Meldola)
U.O. IRST partecipanti:	Laboratorio di Bioscienze, U.O.Radioterapia, U.O. Fisica Sanitaria
Altri enti coinvolti oltre IRST:	

6. Meccanismi della radioresistenza

ISTITUTO SCIENTIFICO ROMAGNOLO PER LO STUDIO E LA CURA DEI TUMORI

SERVIZIO SANITARIO REGIONALE
EMILIA-ROMAGNA

RADIOBIOLOGY LABORATORY

AT IRCCS IRST, Meldola, Italy

dr. Anna Tesei:
Biologo Responsabile

dr Antonino Romeo:
Medico Radioterapista coordinatore

Dr. Anna Sarnelli:
Fisico Medico coordinatore

dr. Chiara Arienti:
Biologo coordinatore

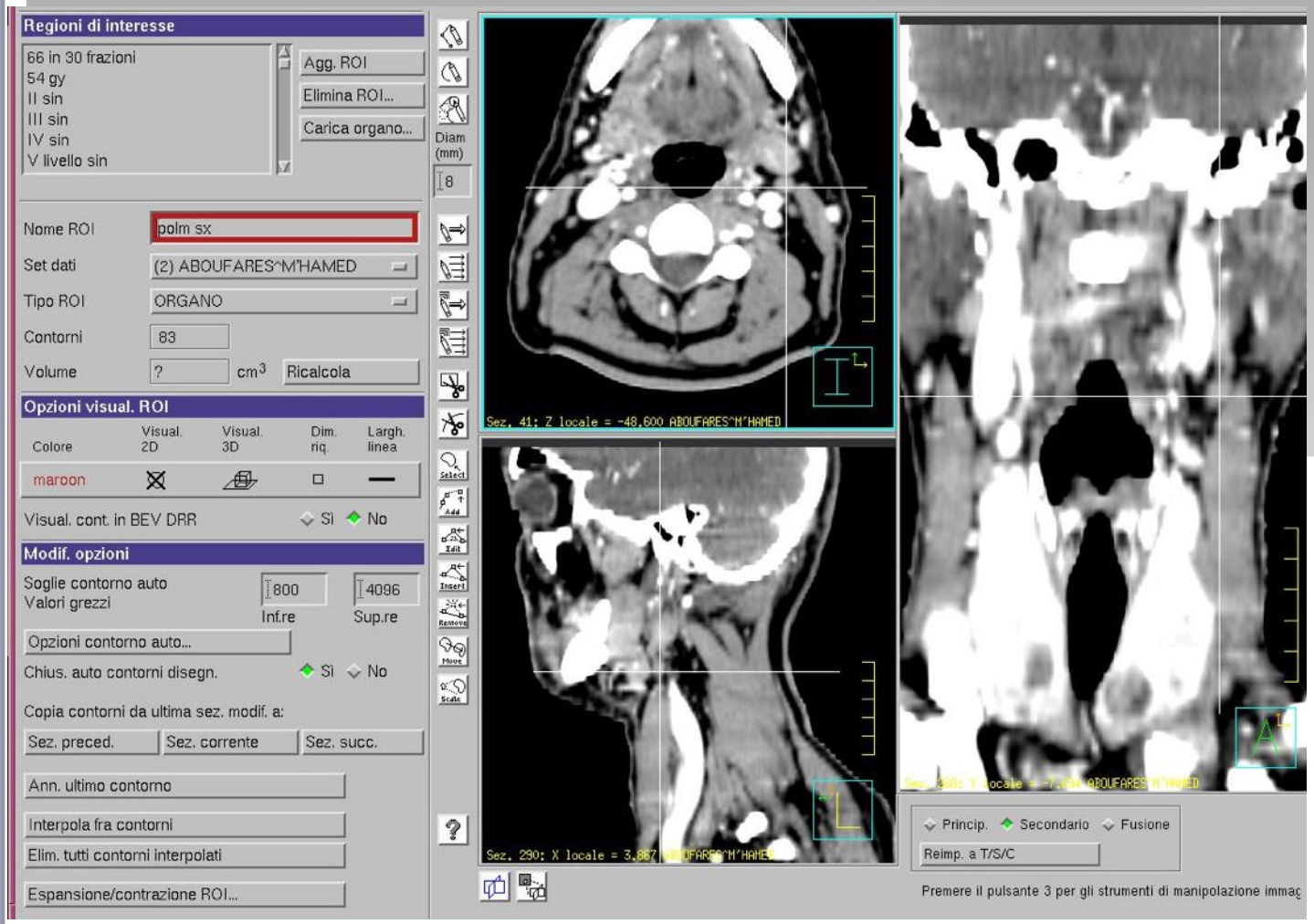
ISTITUTO SCIENTIFICO ROMAGNOLO PER LO STUDIO E LA CURA DEI TUMORI

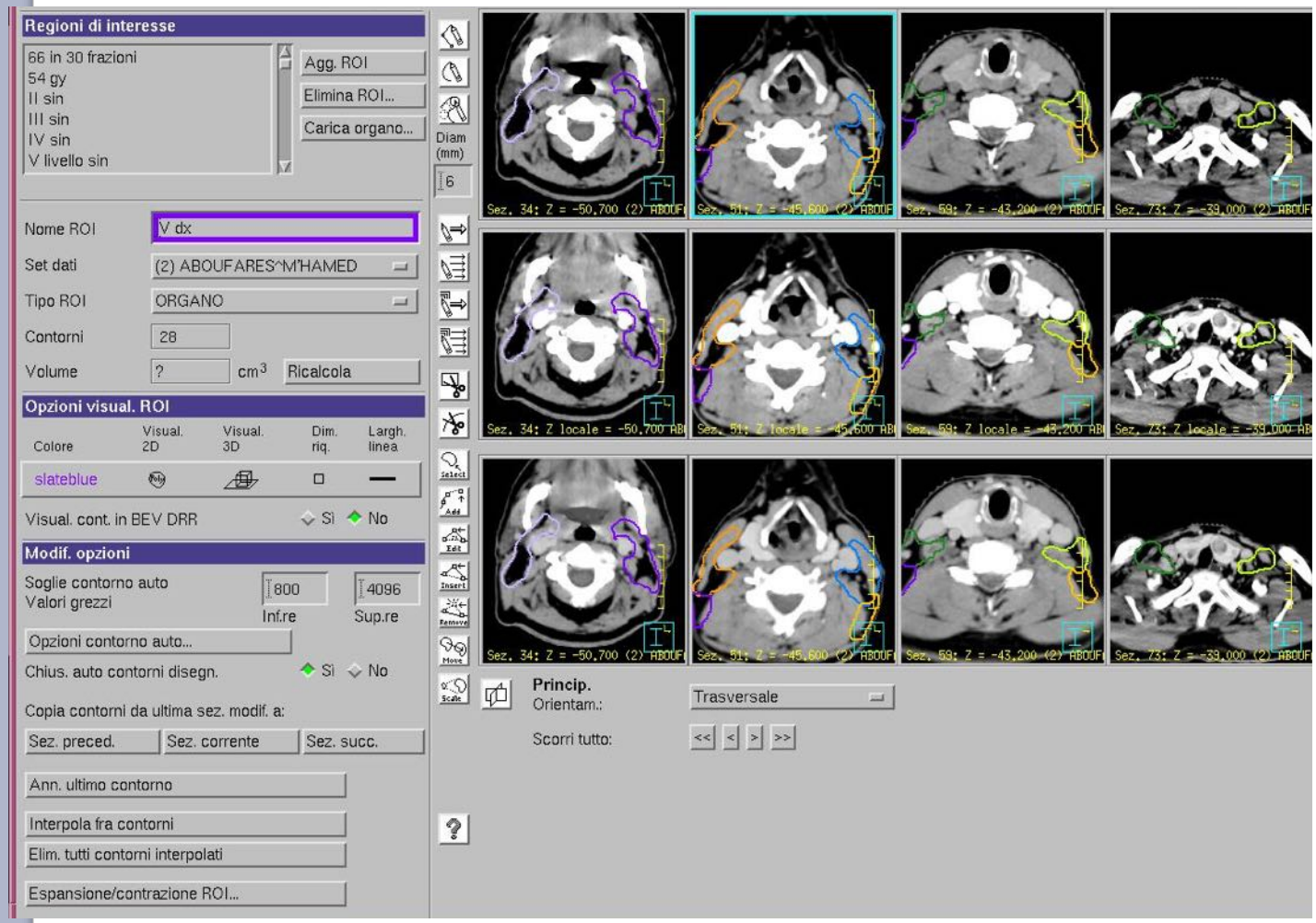
SERVIZIO SANITARIO REGIONALE
EMILIA-ROMAGNA

Collaboratori
dr. Sara Pignatta, dr.Giulia Paganelli, dr. Elisa Gabucci (laboratorio)
Dr Elisabetta Parisi, dott. Elisa Neri, dott. Giulia Ghigi (radioterapia)
Dott. Enrico Menghi, dott. Annelisa d'Angelo (Fisica Medica)

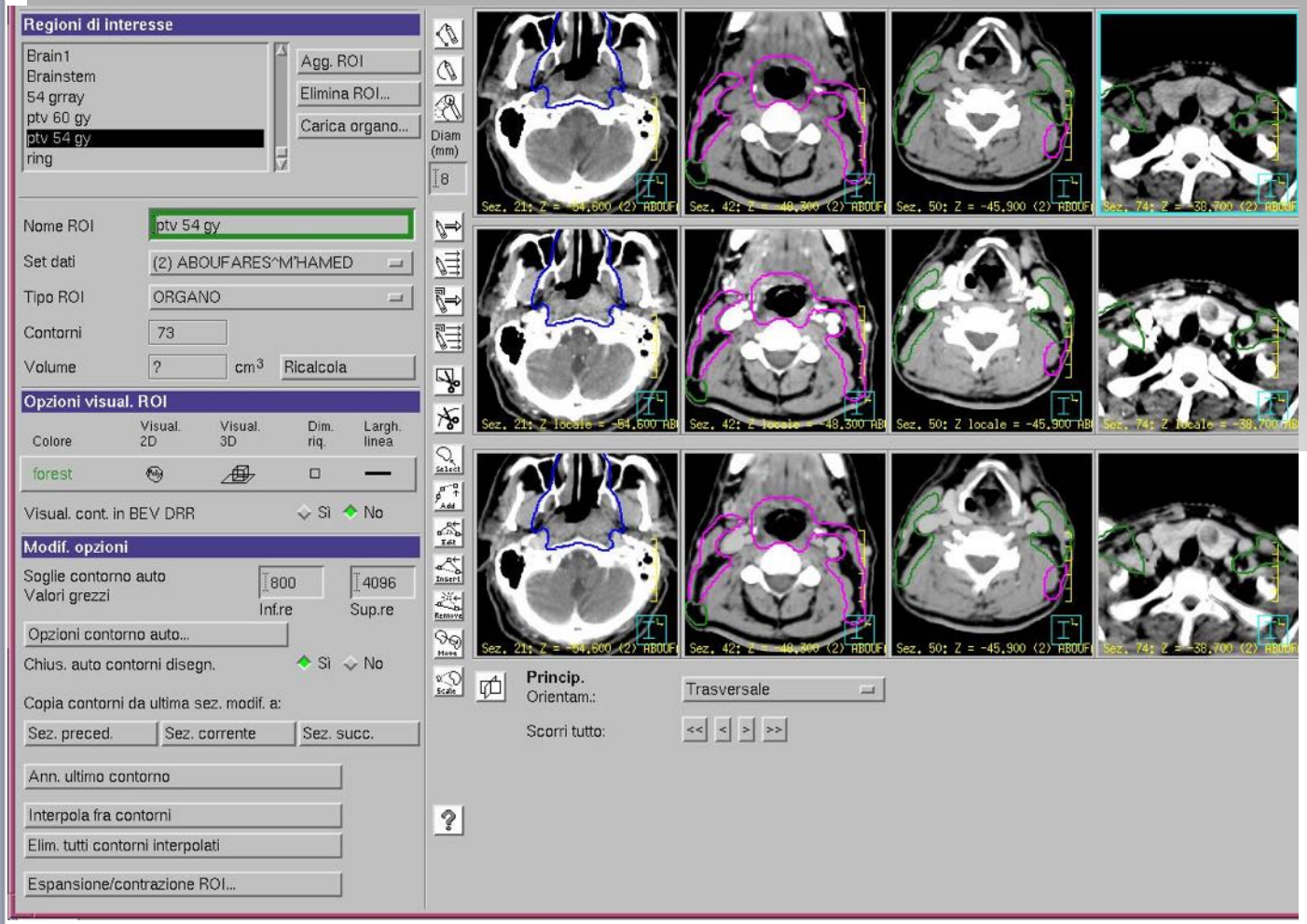
Collaborazioni esterne
Prof. Alessandro Bevilacqua (ingegneria Medica Unibo)
Dott. Lidia Strigari (IFO-Roma)
Dott. Muller Fabbri (CHLA, universitry of Southern California)

Grazie dell’attenzione


Regioni di interesse
66 in 30 frazioni
54 gy
II sin
III sin
IV sin
V livello sin
Agg. ROI
Elimina ROI...
Carica organo...
Diam (mm)
8
Nome ROI
polm sx
Set dati
(2) ABOUFARES^M'HAMED
Tipo ROI
ORGANO
Contorni
83
Volume
?
cm3
Ricalcola
Opzioni visual. ROI
Colore
Visual. 2D
Visual. 3D
Dim. riq.
Largh. linea
maroon
Visual. cont. in BEV DRR
Sì
No
Modif. opzioni
Soglie contorno auto
Valori grezzi
800
4096
Inf.re
Sup.re
Opzioni contorno auto...
Chius. auto contorni disegn.
Sì
No
Copia contorni da ultima sez. modif. a:
Sez. preced.
Sez. corrente
Sez. succ.
Ann. ultimo contorno
Interpola fra contorni
Elim. tutti contorni interpolati
Espansione/contrazione ROI...
Sez. 41; Z locale = -48.600 ABOUFARES^M'HAMED
Sez. 290; X locale = 3.867
Princip.
Secondario
Fusione
Reimp. a T/S/C
Premere il pulsante 3 per gli strumenti di manipolazione immag



Retrofaringei
II livello dx e sn
III livello dx e sn
IV livello dx e sn
V livello dx e sn
Sovraclaveari dx e sn
(I livello A)
(I livello B dx e sn)



CTV 1
CTV 2
CTV 3
CTV 4

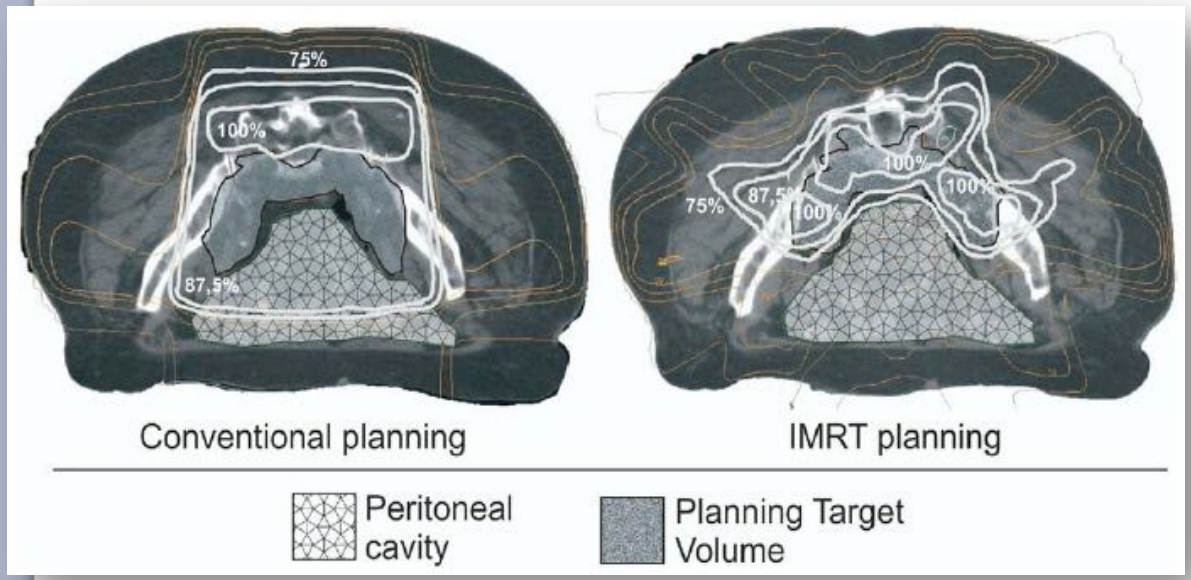
Massimamente concorrono al raggiungimento dell'obiettivo definito

- L'evoluzione delle Tecniche di radioterapia
- L'evoluzione della Tecnologia applicata alla radioterapia

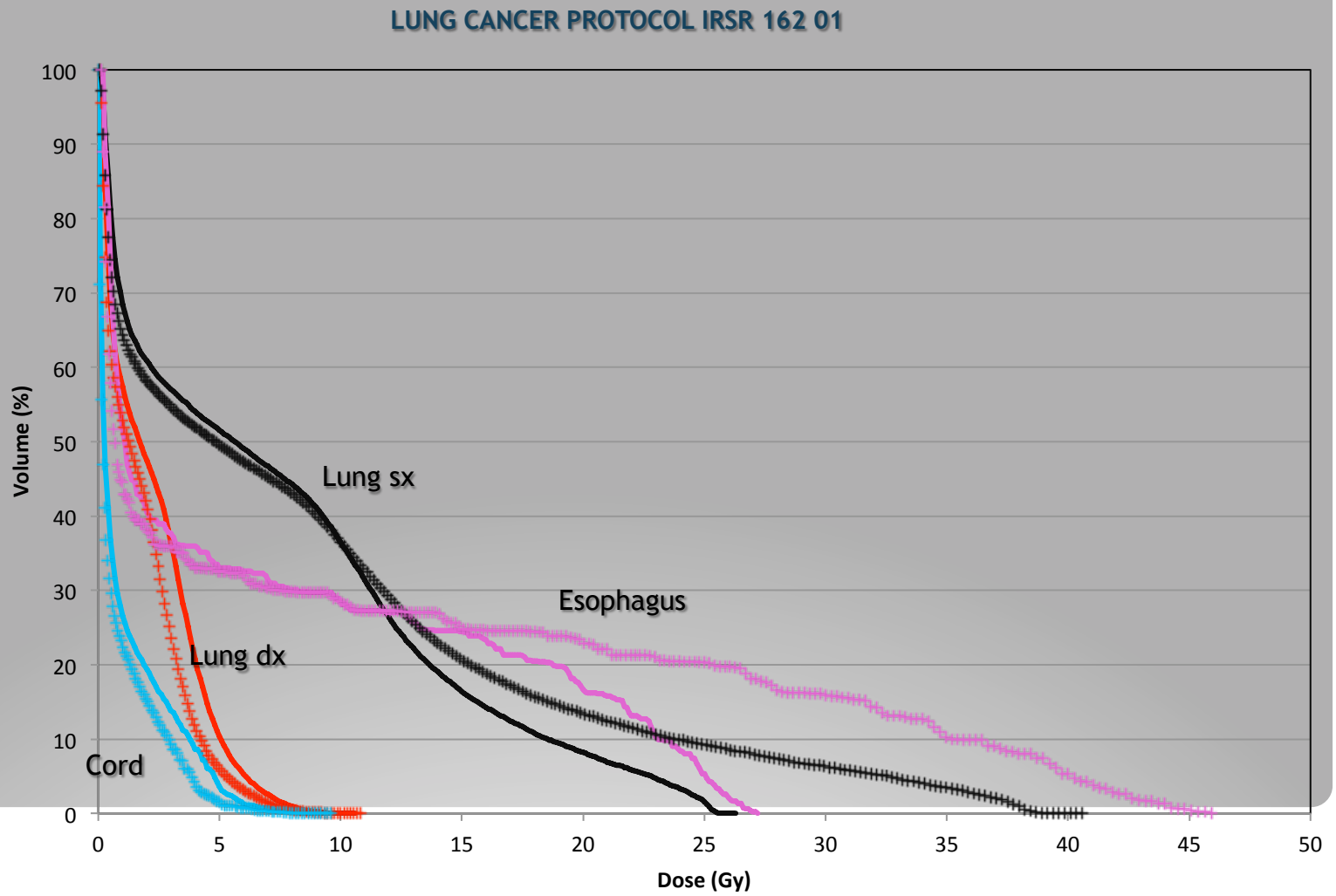
ISTITUTO SCIENTIFICO ROMAGNOLO PER LO STUDIO E LA CURA DEI TUMORI

DEFINITION AND DELINEATION OF THE CLINICAL TARGET VOLUME FOR RECTAL CANCER

SARAH ROELS, M.D., WIM DUTHOY, M.D., KARIN HAUSTERMANS, M.D., PH.D.,



3. l'accuratezza tecnica può prevenire importanti malattie radio-indotte. comportanti dolore e disagio psicologico e sociale.

prevenzione della enterocolite da radioterapia e delle sindromi da malasorbimento e necrosi di anse intestinali

CORRELATION DVH OAR