

EPICA

Effetti delle particelle cariche: meccanismi di induzione di danno molecolare e cellulare, e modulazione del signalling intercellulare

- **Sigla: EPICA (Effetti delle Particelle Cariche)**
- **Sezioni partecipanti: Pavia e Roma1-Gruppo collegato Sanità**
- **Durata del progetto: 3 anni (2006-2008)**
- **Responsabile Nazionale: A. Ottolenghi**

EPICA

Effetti delle particelle cariche: meccanismi di induzione di danno molecolare e cellulare, e modulazione del signalling intercellulare

Sigla: **EPICA** (Effetti delle **P**articelle **C**ariche) – Resp. Nazionale: A. Ottolenghi

Durata del progetto: 3 anni (2006-2008)

Sezioni partecipanti

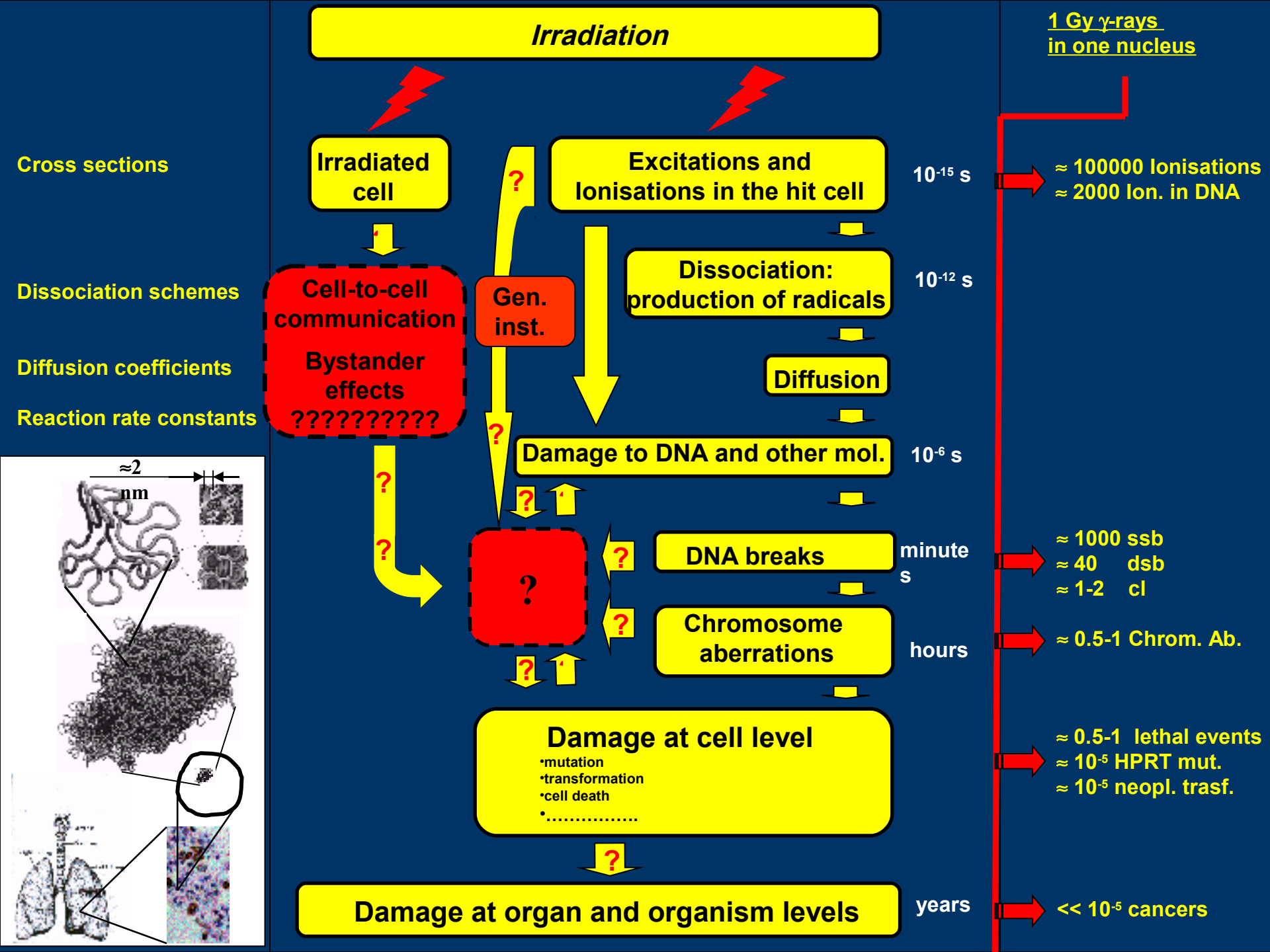
Pavia			Roma 1 – Gruppo Collegato Sanità (Resp: Mauro Belli)	
		%		%
Ballarini Francesca	Ricercatore	100	Francesca Antonelli	100%
Bertolotti Alessia	Assegnista	100	<u>Mauro Belli</u>	100%
D'Ercole Loredana	Fis. Med. S.Matteo	100	Alessandro Campa	70%
Facoetti Angelica	Ricercatore	100	Valentina Dini	100%
Liotta Marco	Specializzando	100	Giuseppe Esposito	100%
Lisciando Francesco	Fis. Med. S.Matteo	100	Sveva Grande	100%
Mariotti Luca	Dottorando	100	Alessandra Palma	100%
Pasi Francesca	Dottoranda	100	Laura Guidoni	100%
Mantovani Laura	Fis. Med. S.Matteo	100	Antonella Rosi	100%
Nano Rosanna	Prof. Ordinario	100	Orazio Sapora	70%
Ottolenghi Andrea	Prof. Associato	100	Giustina Simone	100%
Trovati Stefania	Dottoranda	20	M. Antonella Tabocchini	100%
Scannicchio Domenico	Prof. Ordinario	100	Vincenza Viti	100%
			Claudio Giovannini	20%
			Anna Maria Lucani	100%
			Eugenio Sorrentino	100%
TOTALE partecipanti Pavia		13	TOTALE partecipanti ISS	14+2
TOTALE Ric. Equivalenti Pavia		12,2	TOTALE Ric. Equivalenti ISS	12.6+2.0

Obiettivo generale

- *Investigare (a livello teorico e sperimentale) i meccanismi di azione delle radiazioni ionizzanti sulle strutture biologiche, dalle interazioni fisiche al danno biologico a livello sub-cellulare, cellulare e sovracellulare.*

In particolare:

- *ruolo della qualità della radiazione*
- *ruolo degli effetti*
 - targeted*
 - non targeted*



ESPERIMENTO MIDPAC 2003-2005

RADIATION-INDUCED DNA DAMAGE

a) Local damage (~ 10 bp)

- role of the environment Scavenging Capacity and of the target structure
- role of track structure >> damage complexity

b) Local damage (~ kbp - Mbp)

- role of track structure:
- protons more effective than γ rays in inducing small fragments
- implementation of spatial correlation effects within single tracks

c) Regional damage (~ 100 Mbp. i.e. ~ 1 μ m)

- Role of track structure: average number of chromosomes hit by a single track
- Chromosome aberration induction

RADIATION-INDUCED DAMAGE TO TARGETS OTHER THAN DNA

a) Oxidative damage

(late metabolic effects in human cells after irradiation with 62 MeV protons and γ rays, measured with MRS)

- Variation in the concentration of triglycerides: 10 Gy protons produced the same effects of 20 Gy γ rays.

PROPOSTA DI ESPERIMENTO EPICA 2006-2008

1. Effetti in cellule direttamente irraggiate (effetti *targeted*)

1.1 Misure sperimentali

1.1.1. ISS - *Danno al DNA ed effetti a livello cellulare*

- *Danno al DNA.*
- *Induzione di micronuclei (MN).*
- *Morte riproduttiva.*

1.1.2 ISS - *Effetti sui lipidi e sul metabolismo ossidativo*

1.1.3 Pavia - *Rilascio di citochine ed espressione di recettori di membrana*

1.2 Modelli teorici e simulazioni

1.2.1 Pavia – *modelli meccanicistici*

- *Danno al DNA.*
- *Aberrazioni Cromosomiche.*

1.2.2 ISS – *modelli fenomenologici*

2. Conseguenze dell'irraggiamento sulla comunicazione cellulare ed effetto bystander (effetti *non-targeted*)

2.1 Misure sperimentali

2.1.1 ISS – *Danno molecolare e cellulare in cellule bystander*

2.1.2 ISS - *Meccanismi di signalling intercellulare studiati mediante la MRS*

2.1.3 Pavia - *Signalling*

2.2 Modelli teorici e simulazioni

2.2.1 Pavia-ISS

ESPERIMENTO EPICA

1. DANNO AL DNA IN FUNZIONE DELLA QUALITÀ DELLA RADIAZIONE

1.1 Simulazione Monte Carlo della frammentazione del DNA indotta da ioni ferro da 115 MeV/u in fibroblasti umani e confronto con le misure sperimentali effettuate dal gruppo di ricerca con la tecnica PFGE (Pulsed Field Gel Electroforesis)

1.2 Valutazione del danno al DNA (e di effetti a livello cellulare) indotto da radiazione gamma e ioni Carbonio mediante l'analisi delle cinetiche di fosforilazione-defosforilazione dell'istone H2AX

2. EFFETTI SUL METABOLISMO CELLULARE

Effetti sui lipidi

Effetti sul glutatione

3. MODULAZIONE RADIOINDOTTA DEI MEDIATORI DI COMUNICAZIONE CELLULARE

4. EFFETTI “NON TARGETED” DELLE RADIAZIONI IONIZZANTI: BYSTANDER EFFECT

ESPERIMENTO EPICA

1. DANNO AL DNA IN FUNZIONE DELLA QUALITÀ DELLA RADIAZIONE

1.1 Simulazione Monte Carlo della frammentazione del DNA indotta da ioni ferro da 115 MeV/u in fibroblasti umani e confronto con le misure sperimentali effettuate dal gruppo di ricerca con la tecnica PFGE (Pulsed Field Gel Electroforesis)

1.2 Valutazione del danno al DNA (e di effetti a livello cellulare) indotto da radiazione gamma e ioni Carbonio mediante l'analisi delle cinetiche di fosforilazione-defosforilazione dell'istone H2AX

2. EFFETTI SUI LIPIDI E SUL METABOLISMO CELLULARE

Effetti sui lipidi

Effetti sul glutatione

3. MODULAZIONE RADIOINDOTTA DEI MEDIATORI DI COMUNICAZIONE CELLULARE

4. EFFETTI “NON TARGETED” DELLE RADIAZIONI IONIZZANTI: BYSTANDER EFFECT

PARTRAC code

(GSF, Munich, Germany — University of Pavia and INFN, Pavia, Italy)

1. Irradiation conditions

- Description of specific experimental arrangements or model scenarios by homogeneous bodies described via complex combinatorial geometry

2. Track structure calculations (Physical stage)

- Electrons (Inelastic-scattering cross sections in liquid water [*Dingfelder et al., 1998*])
- Photons (interaction cross section according to elemental composition of bodies)
- Protons (Inelastic-collision cross sections in liquid water [*Dingfelder et al., 2000*])
- Ions

3. Track structure time evolution (Physico-chemical and chemical stages)

- Step by step approach for water radical transport (*Ballarini et al, 2000*)

4. DNA Target model (6 levels of organization) (*Friedland et al, 1998, 1999*)

- Nucleotides (atomic description)
- DNA double helix (including hydration shells)
- Nucleosomes
- Chromatin fiber (various arrangements tested)
- Chromatin fiber loops
- Loops connected to form chromosomes (organized in domains)

5. Damage induction models (e.g. ssb and dsb)

- Ionisations inside van der Waals radii of DNA strand atoms (direct effect)
- Ionisations inside water shell attached to phosphate and sugar (quasi-direct effect)
- Interaction of OH-radical with deoxyribose (indirect effect)

6. Scoring of (*Friedland et al, 1999*):

- Number and complexity of ssbs, dsbs, base damages
- Spatial distribution of ssbs and dsbs and resulting size distribution of small DNA fragments (< 5 kbp from single tracks) and large DNA fragments (including inter-track effects and chromosomal breaks)
- Patterns of partial and total deletions of HPRT exons induced in human fibroblasts

7. Biological end-points at cell level:

-

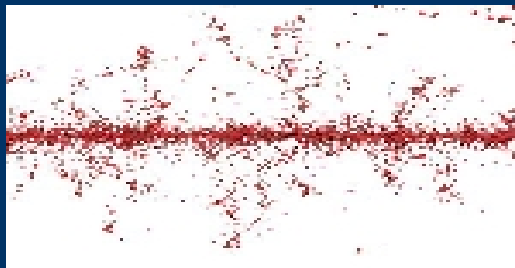
Heavy Ion cross sections (scaling from proton cross sections) in PARTRAC

$$\frac{d^2\sigma_{ion}(v)}{dE_dq} = Z_0^2 \frac{d^2\sigma_{proton}(v)}{dE_dq}$$

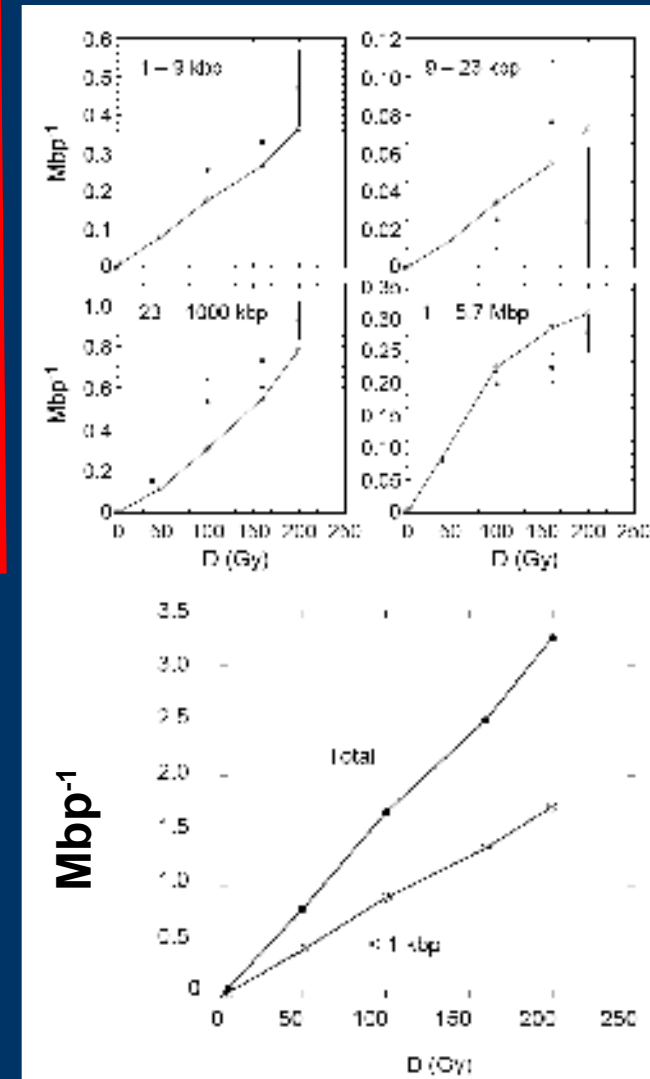
Z_0 = ion nuclear charge
 v = ion/proton velocity

$$Z^* = Z \cdot \left[1 + \exp\left(\frac{125\beta}{Z^2}\right) \right]$$

$$\lambda_{ion} = \lambda_{proton} \cdot \frac{1}{(Z_{Ion}^*)^2}$$



DNA fragmentation induced in human fibroblast by 115-MeV/u Fe-56 ions

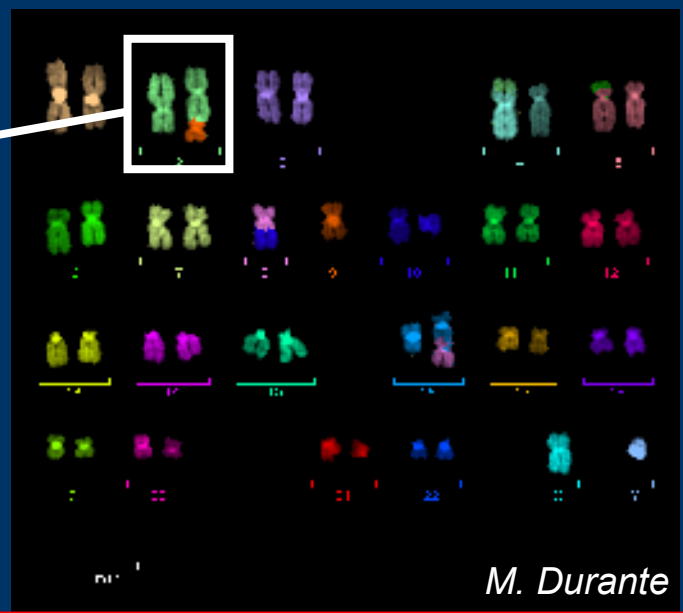
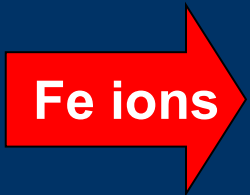
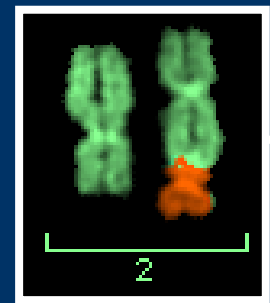
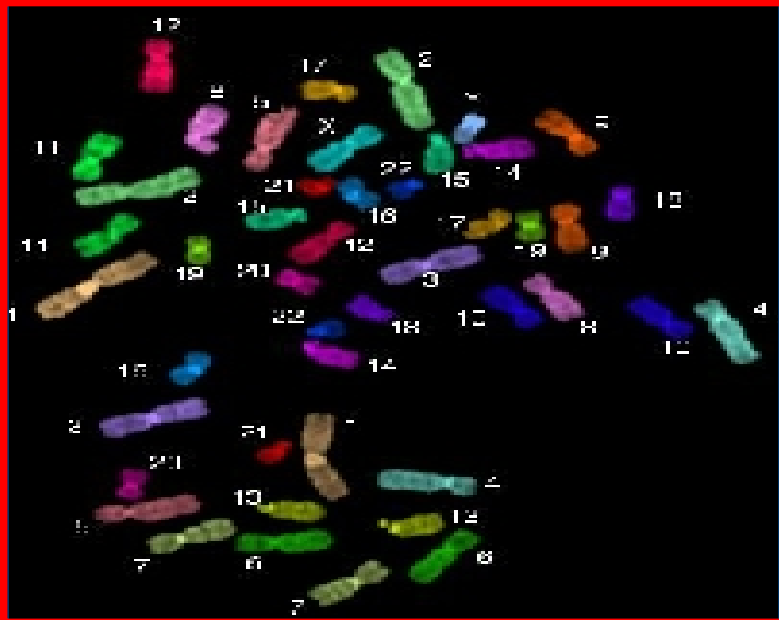


- Where measures are available (1-5700 kbp), PARTRAC predictions are in good agreement with experimental data.
- Fragments < 1 kbp (in the non measured range) predicted by PARTRAC are \approx half of the total number of ion induced DNA fragments

$\Rightarrow \Rightarrow \Rightarrow$ experimental RBE for dsb (1-5700 kbp): 1.34
 calculated RBE for dsb (all sizes) : 2.39

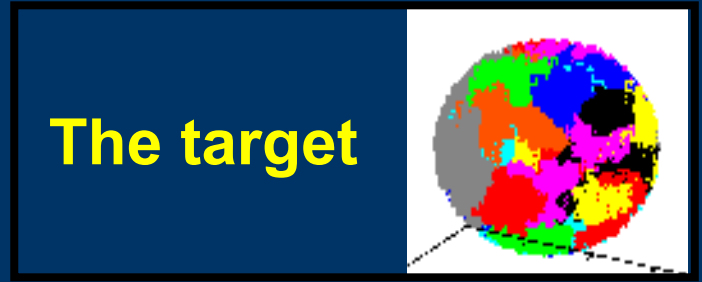
Radiation induced chromosome aberrations

experiments



simulations

A Monte Carlo code for the induction of chromosome aberrations

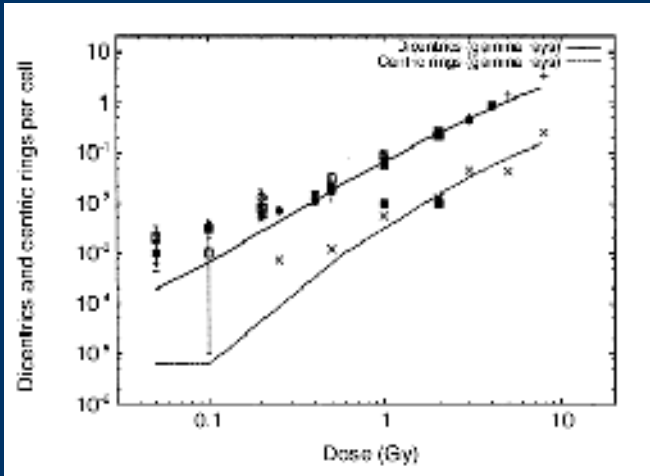


Basic assumptions

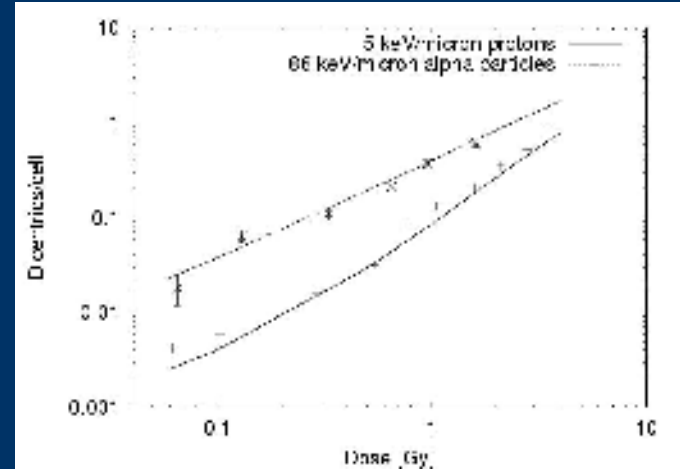
- Chromosome aberrations arise from clustered DNA breaks
- a chromosome exchange requires (at least) 2 radiation-induced lesions
- only free ends in neighbouring chromosome territories or in the same territory can give rise to an exchange

Model validation

I. Photons and light ions



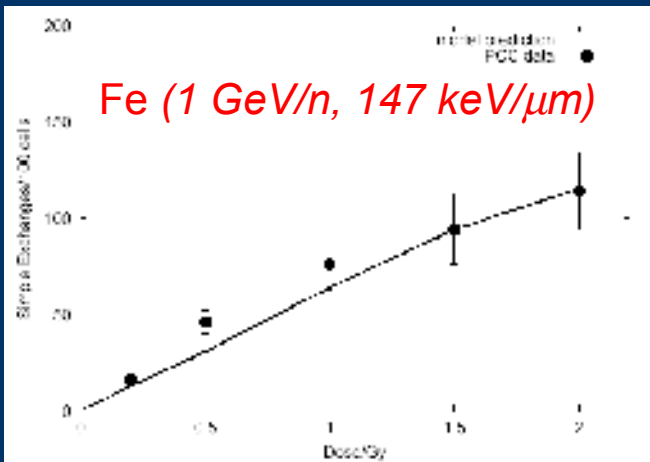
Ballarini et al 2002, Rad Prot Dosim 99



Ballarini & Ottolenghi 2003, Adv Space Res 31

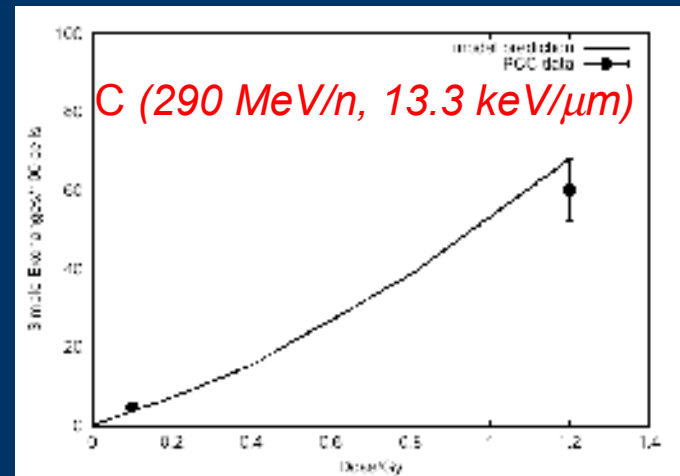
II. Heavy ions

(First results on CA induced by heavy ions (milestone 2008))



Ballarini et al Adv Space Res, 2007

PCC data !



ESPERIMENTO EPICA

1. DANNO AL DNA IN FUNZIONE DELLA QUALITÀ DELLA RADIAZIONE

1.1 Simulazione Monte Carlo della frammentazione del DNA indotta da ioni ferro da 115 MeV/u in fibroblasti umani e confronto con le misure sperimentali effettuate dal gruppo di ricerca con la tecnica PFGE (Pulsed Field Gel Electroforesis)

1.2 Valutazione del danno al DNA (e di effetti a livello cellulare) indotto da radiazione gamma e ioni Carbonio mediante l'analisi delle cinetiche di fosforilazione-defosforilazione dell'istone H2AX

2. EFFETTI SUI LIPIDI E SUL METABOLISMO CELLULARE

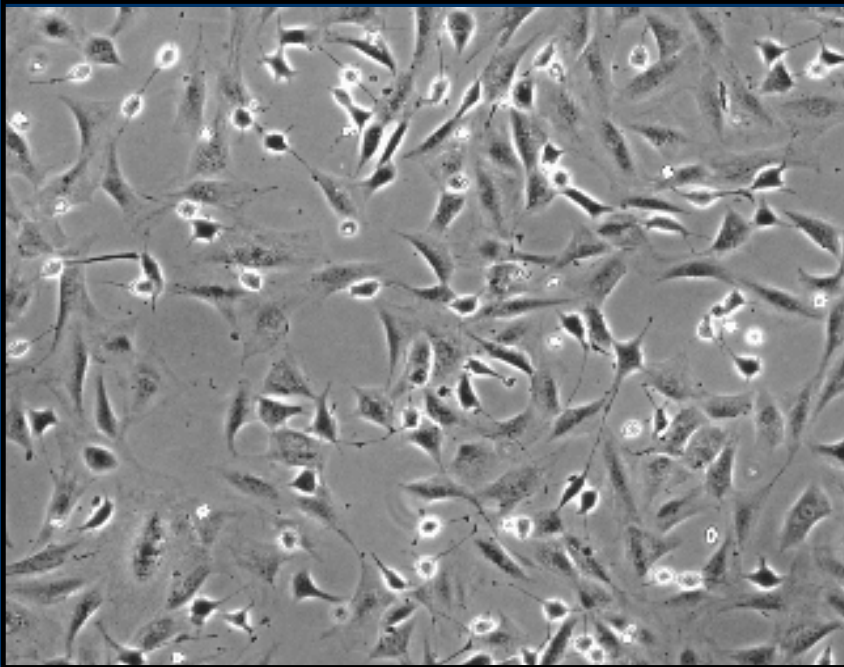
Effetti sui lipidi

Effetti sul glutatione

3. MODULAZIONE RADIOINDOTTA DEI MEDIATORI DI COMUNICAZIONE CELLULARE

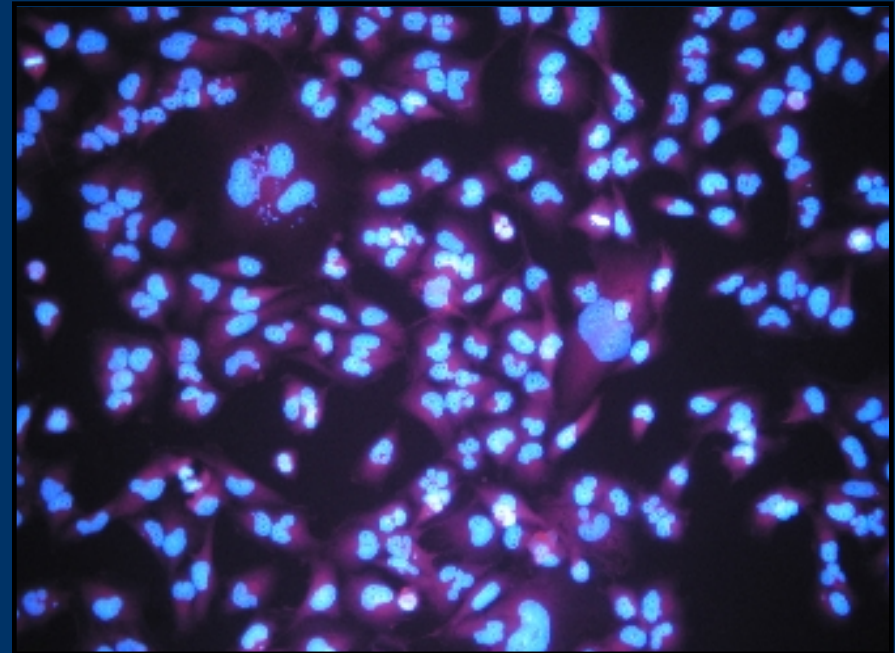
4. EFFETTI “NON TARGETED” DELLE RADIAZIONI IONIZZANTI: BYSTANDER EFFECT

AG1522 (fibroblasti umani)

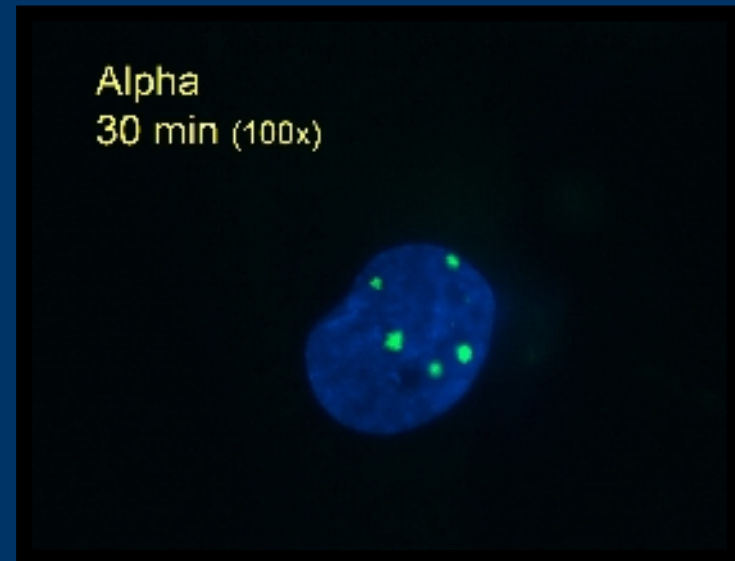
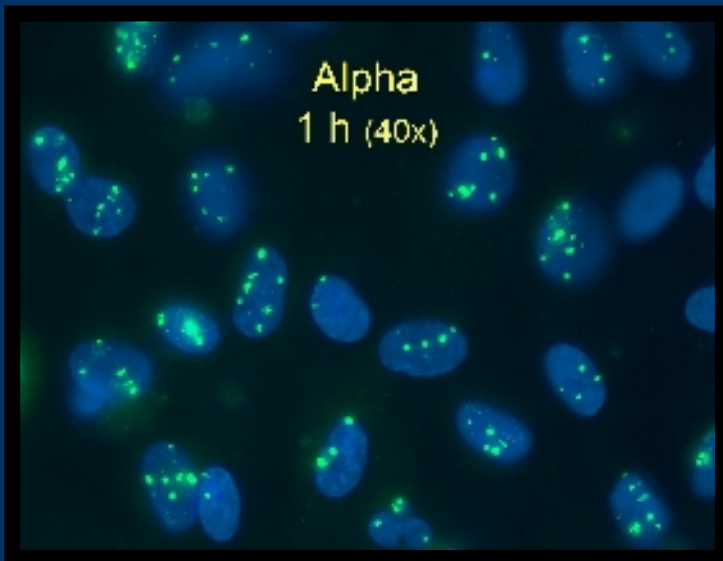
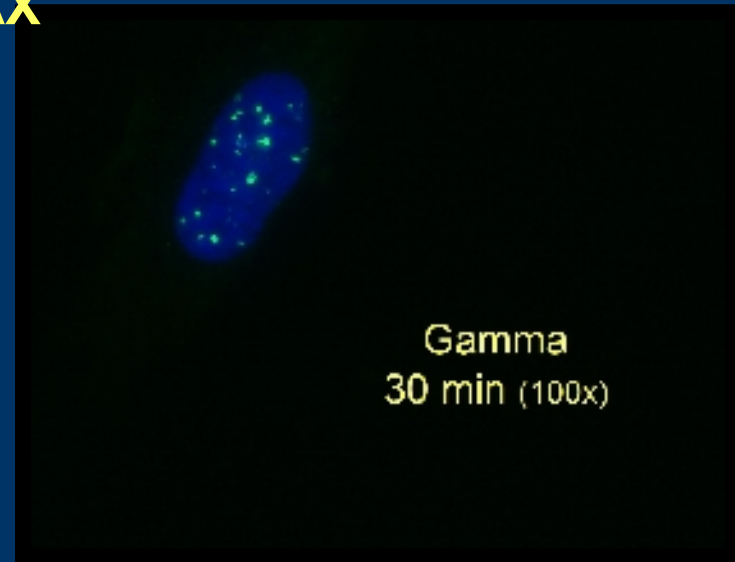
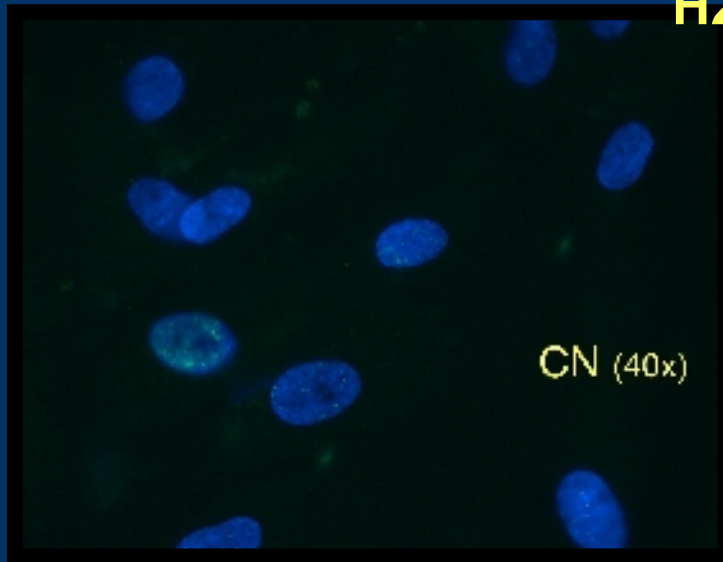


LINEE CELLULARI

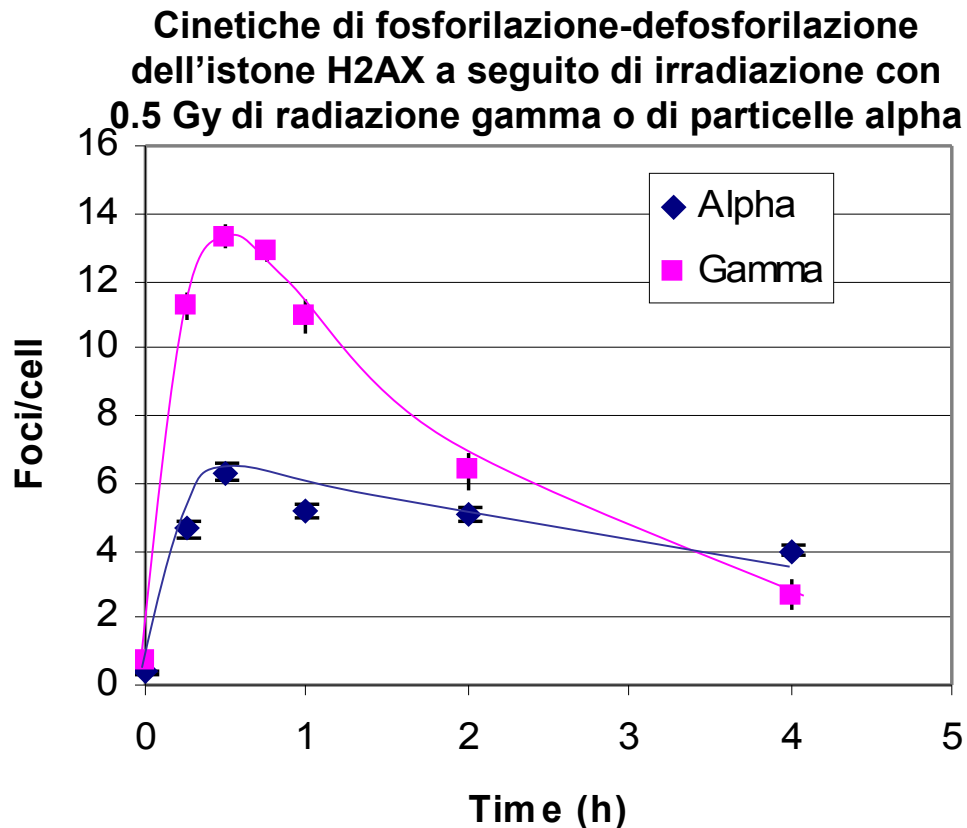
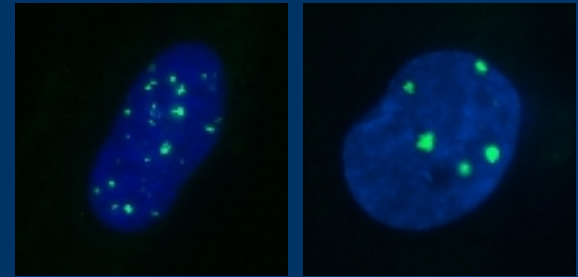
T98G (glioblastoma umano)



Danno al DNA di cellule AG1522 indotto da radiazione gamma e da particelle alpha mediante l'analisi della fosforilazione dell'istone H2AX



Danno al DNA di cellule AG1522 indotto da radiazione gamma e da particelle alpha mediante l'analisi della fosforilazione dell'istone H2AX



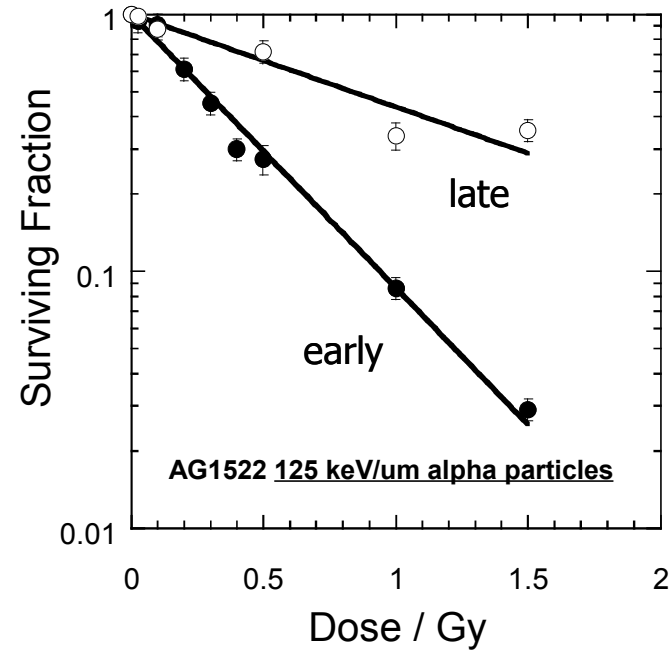
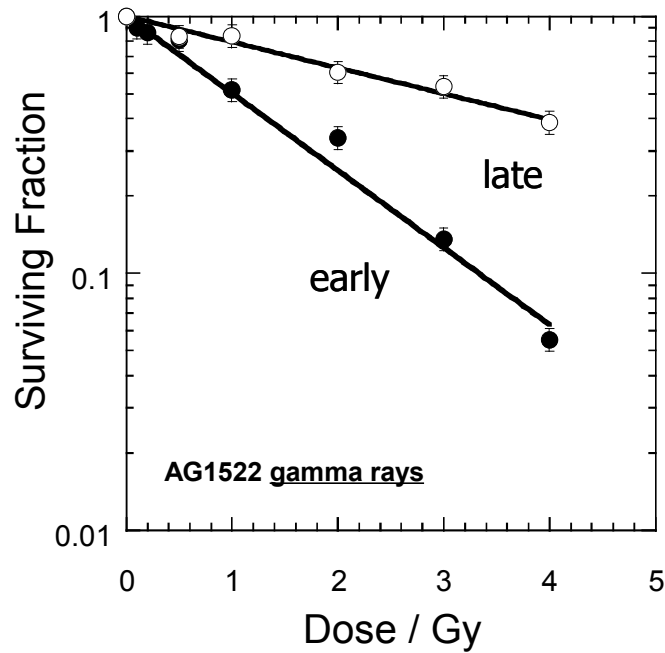
N max foci consistente con il n di tracce che producono almeno 1 DSB

Riparazione delle DSB valutata dal "Persistence Ratio"* dei foci radioindotti, più efficiente per raggi gamma rispetto a particelle alpha

	*PR 2h	*PR 4h
Gamma	0.48	0.20
Alpha	0.81	0.77

$$*Persistence\ Ratio\ (PR) = \frac{n\ radiation\ induced\ foci\ t_t}{n\ radiation\ induced\ foci\ t_0}$$

Morte riproduttiva “early” e “late” di AG1522 irradiate con dosi crescenti di raggi gamma e particelle alfa



RBE early 3.6 ± 0.1 RBE late 3.7 ± 0.4

1. DANNO AL DNA IN FUNZIONE DELLA QUALITÀ DELLA RADIAZIONE

1.1 Simulazione Monte Carlo della frammentazione del DNA indotta da ioni ferro da 115 MeV/u in fibroblasti umani e confronto con le misure sperimentali effettuate dal gruppo di ricerca con la tecnica PFGE (Pulsed Field Gel Electroforesis)

1.2 Valutazione del danno al DNA (e di effetti a livello cellulare) indotto da radiazione gamma e ioni Carbonio mediante l'analisi delle cinetiche di fosforilazione-defosforilazione dell'istone H2AX

2. EFFETTI SUL METABOLISMO CELLULARE

Effetti sul glutatione, radioprotettore endogeno dai ROS (reactive oxigen species)

Effetti sui lipidi

3. MODULAZIONE RADIOINDOTTA DEI MEDIATORI DI COMUNICAZIONE CELLULARE

4. EFFETTI “NON TARGETED” DELLE RADIAZIONI IONIZZANTI: BYSTANDER EFFECT

Metabolism by Magn. Reson. Spectroscopy (MRS)

Signals, detectable in vivo, related to selected biological outcomes
1mm microprobe, sample volumes 12 μ l

Biology

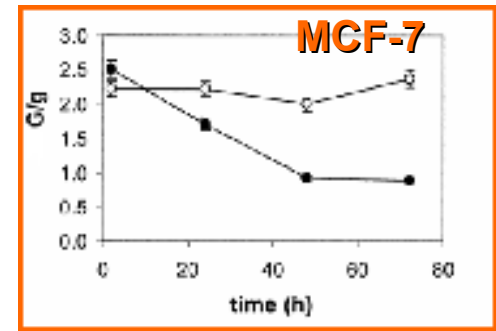
Cells with different radiosensitivity

1) From breast cancer	MCF 7
cervix cancer	HeLa
2) From glioma	T98G
	A172

- Cell killing
- Cell death by apoptosis
- Cell cycle

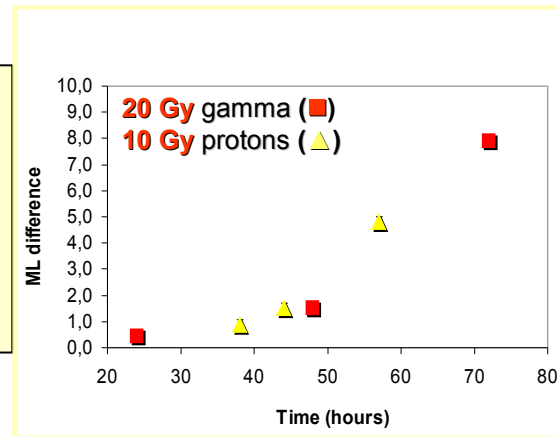
MRS

1 Reduced glutathione (GSH) major antioxidant



- Increased activity of the γ -glutamyl cysteine synthetase
- GSH consumption by detoxification reactions

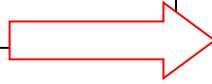
2 Mobile lipids (ML) mostly triglycerides



ML signal increase is LET dependent

Apoptosis

in comparison with gamma rays
protons shift to later times
Effect of LET (1)



HeLa

gamma	protons
24 h	48 h

MCF 7

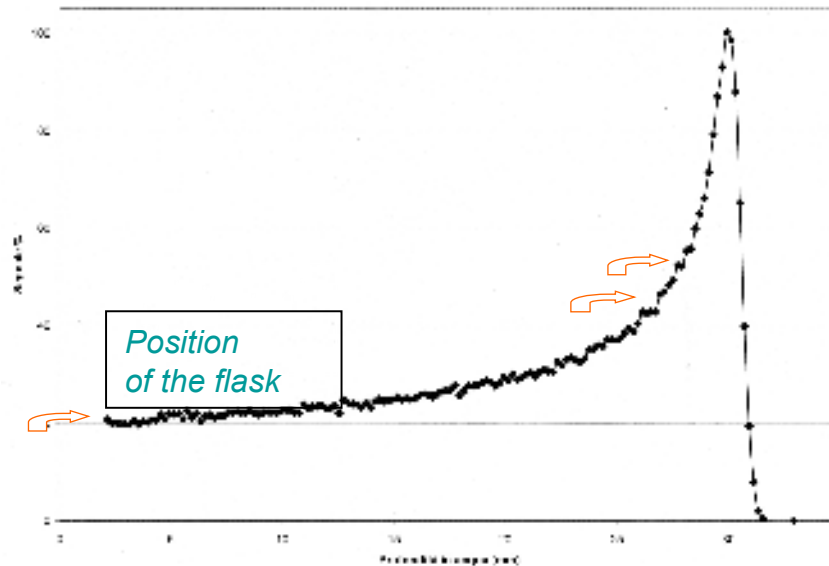
not significant

MCF 7 after
inhibition GSH synthesis

24h	48h
-----	-----

Proton beams . % apoptosis at the
entrance and close to Bragg peak
Effect of LET (2)

Flask positions



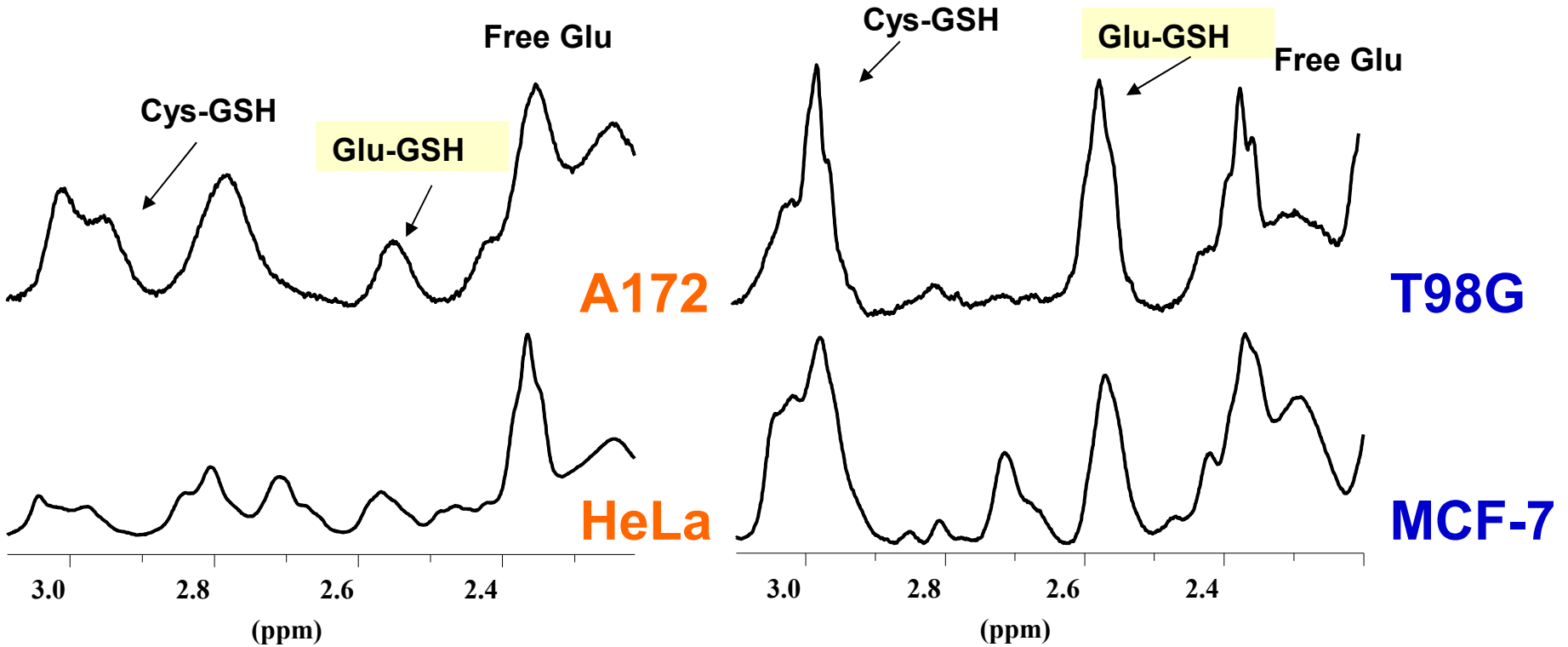
Position
of the flask

Position
of the flask

MRS DATA ON GSH AND RADIORESISTANCE

Radiosensitive

Radioresistant



A172: human glioblastoma
HeLa: human uterine cervix
LOW GSH
LOW γ -glutamyl cysteine Synthetase activity

T98G: human glioblastoma
MCF-7: mammary carcinoma
HIGH GSH
HIGH γ -glutamyl cysteine Synthetase activity

ESPERIMENTO EPICA

1. DANNO AL DNA IN FUNZIONE DELLA QUALITÀ DELLA RADIAZIONE

1.1 Simulazione Monte Carlo della frammentazione del DNA indotta da ioni ferro da 115 MeV/u in fibroblasti umani e confronto con le misure sperimentali effettuate dal gruppo di ricerca con la tecnica PFGE (Pulsed Field Gel Electroforesis)

1.2 Valutazione del danno al DNA (e di effetti a livello cellulare) indotto da radiazione gamma e ioni Carbonio mediante l'analisi delle cinetiche di fosforilazione-defosforilazione dell'istone H2AX

2. EFFETTI SUI LIPIDI E SUL METABOLISMO CELLULARE

Effetti sui lipidi

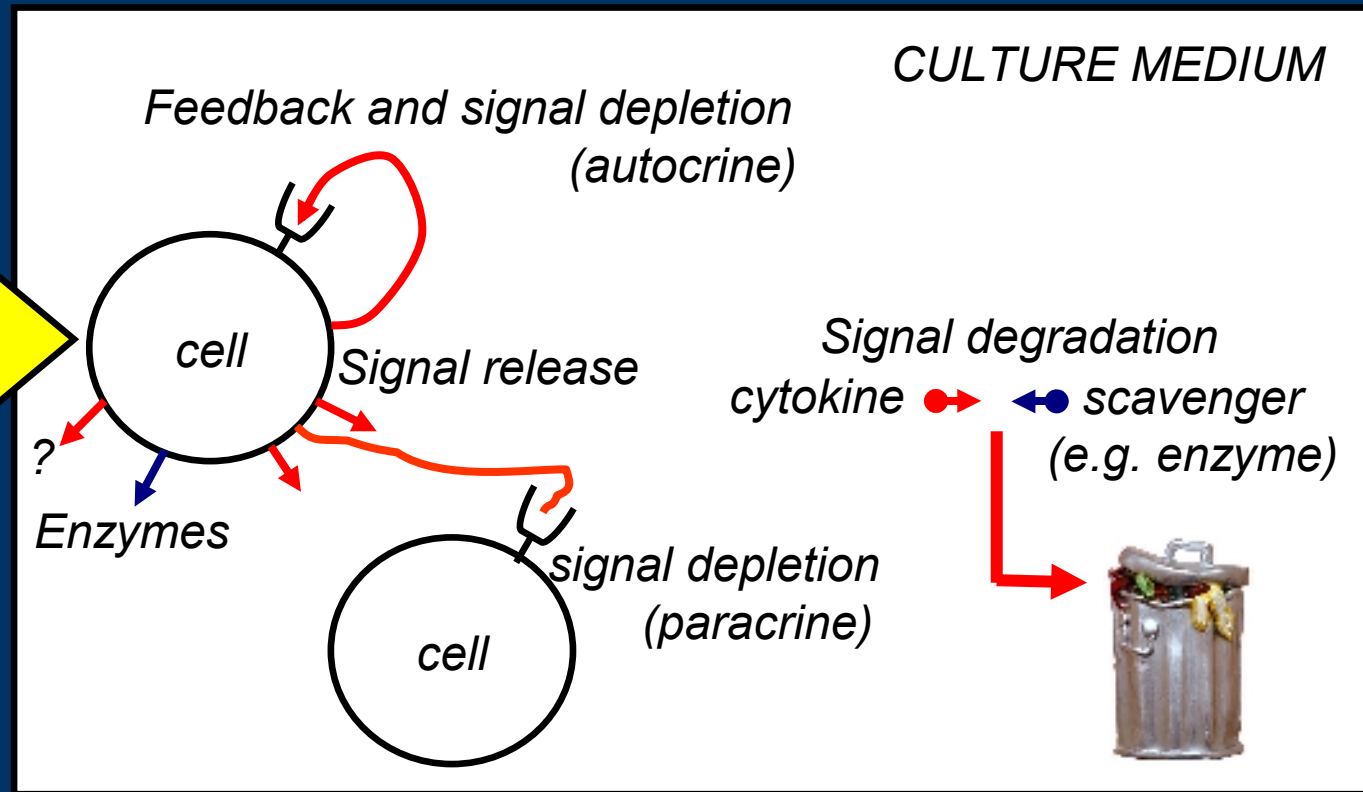
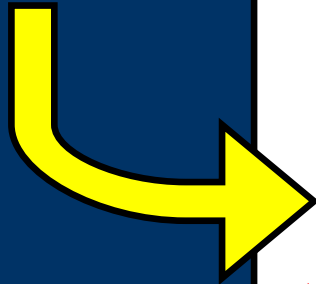
Effetti sul glutatione

3. MODULAZIONE RADIOINDOTTA DEI MEDIATORI DI COMUNICAZIONE CELLULARE

4. EFFETTI “NON TARGETED” DELLE RADIAZIONI IONIZZANTI: BYSTANDER EFFECT

MODULAZIONE RADIOINDOTTA DEI MEDIATORI DI COMUNICAZIONE CELLULARE

*Perturbing agents
(radiation)*



Quantification of cytokines in cell medium after irradiation

A theoretical approach based on differential equations

The time increment of cytokines can be expressed as the difference between the production rate and the decay.

- The production rate at time t is proportional to the number of cells at time t
- The decay rate is proportional to the number (or mass) of cytokine molecules at time t .

$$\frac{dM}{dt} = k_1 N - k_3 M$$

where:

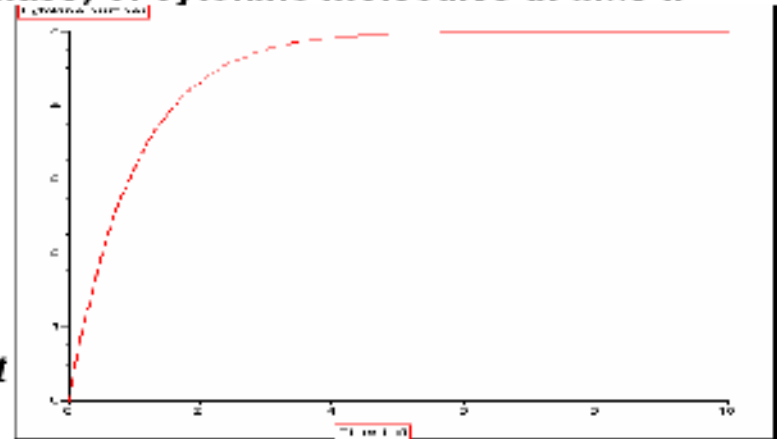
t = time, $t = 0$ when the culture medium is changed

M = number (or mass) of cytokine molecules at time t

N = number of cells at time t

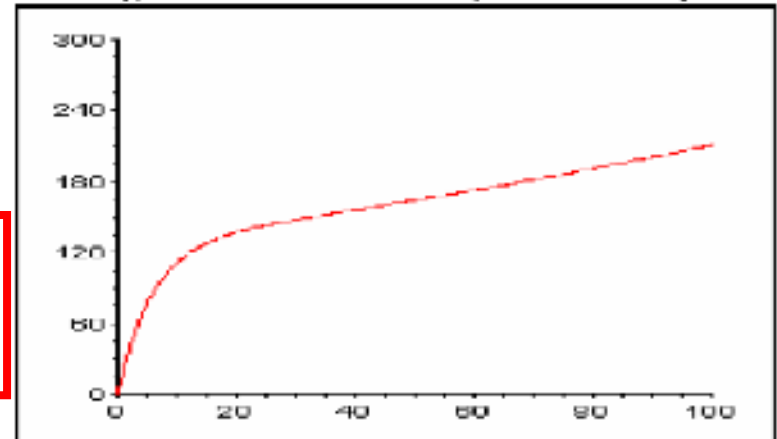
k_1 = cytokine production rate per cell (generally not constant with time!)

k_3 = decay rate of the cytokine molecules (generally not constant with time!)



If cells are in exponential growth (i.e. far from confluence), we have $N = N_0 e^{k_2 t}$ and equation (1) becomes:

$$\frac{dM}{dt} = k_1 N_0 e^{k_2 t} - k_3 M$$

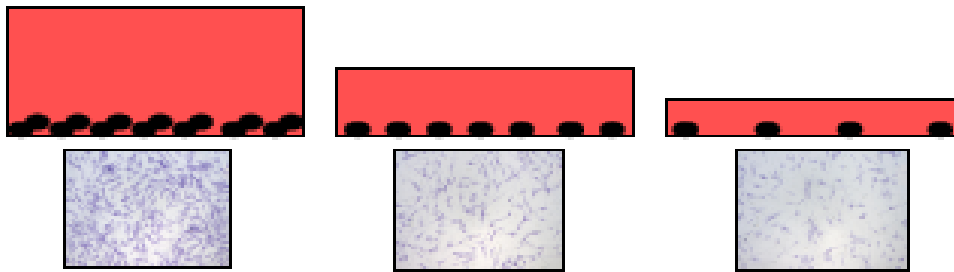


- How do the parameters k_1 , k_2 , and k_3 depend on time, cytokine concentration, other factors etc.?
- How do radiation modify these parameters?

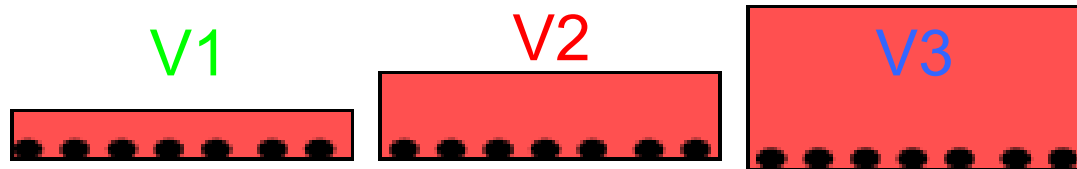
Quantification of cytokines in cell medium after irradiation

Measurements to quantify experimental conditions effects

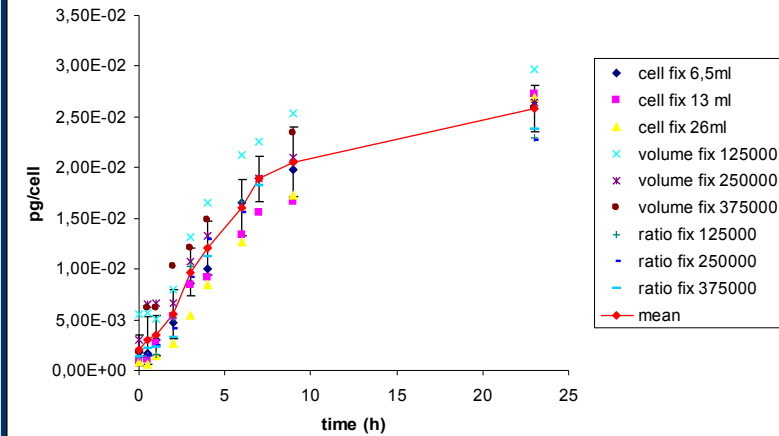
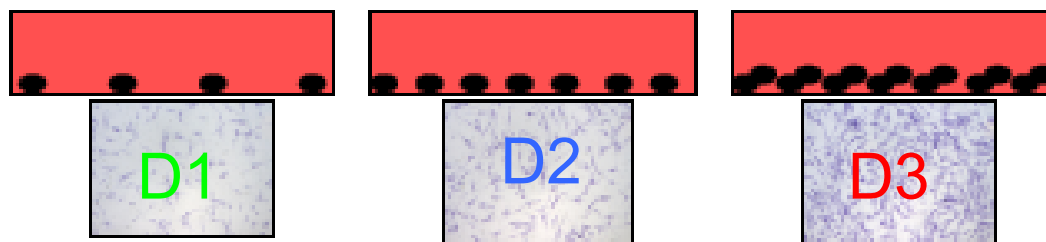
✓ Does exist a "cell-number effect"?
(cell/volume ratio fixed)



✓ Does exist a "dilution effect"??



✓ Does exist a "cell density effect"?

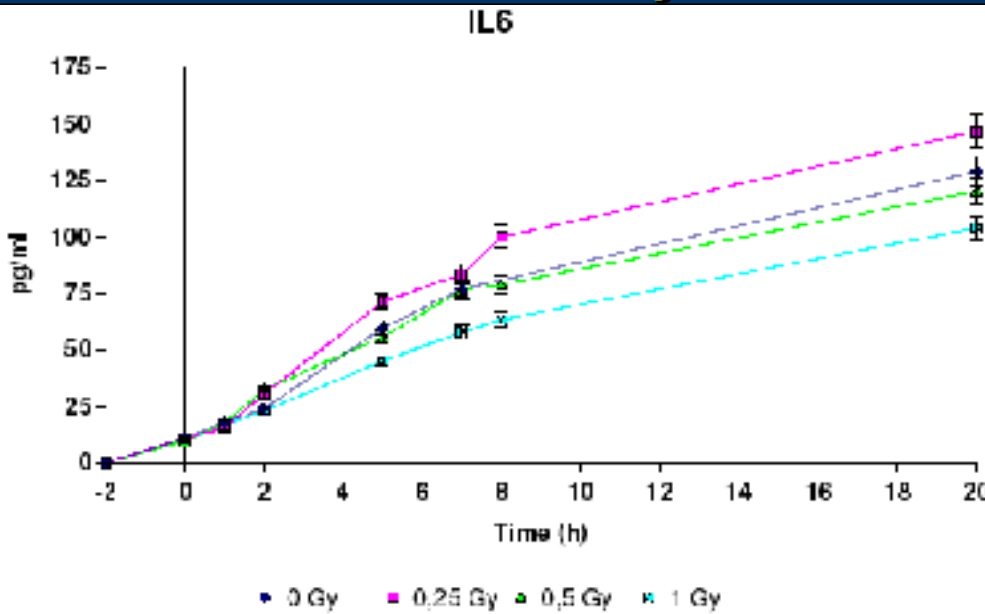


Apparently (at least in these experimental conditions) the release of the signal "IL6" is independent of the medium volume and the cell density.

Quantification of cytokines in cell medium after irradiation

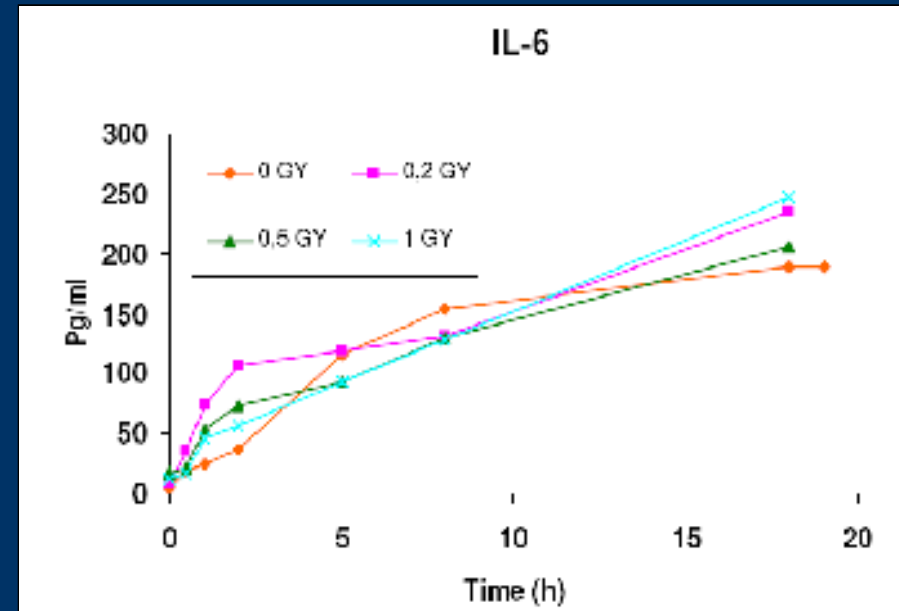
Examples of dependence on dose and radiation quality

Gamma rays



Dose dependence: maximum release at 0.25 Gy

Carbon ions



Radiation quality dependence: at relative short times (< 5 h) the cytokine release is faster

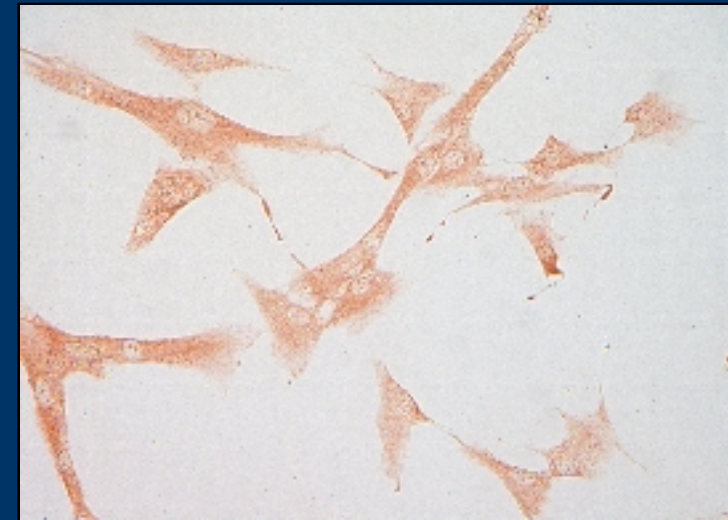
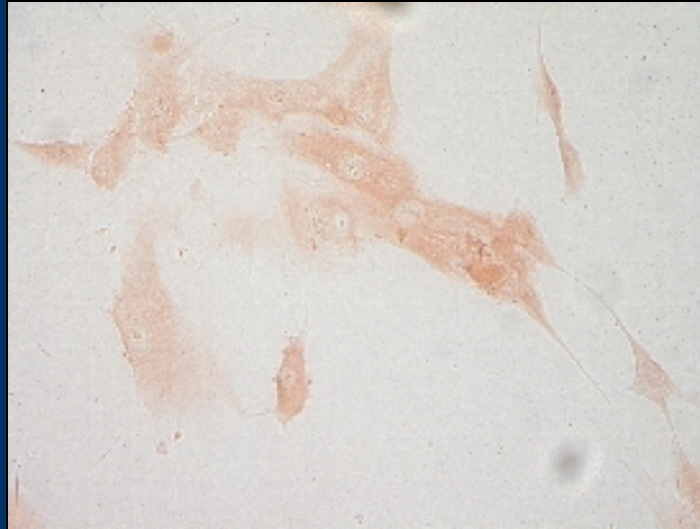
Effects of radiation on the expression of cytokine receptors

0 Gy

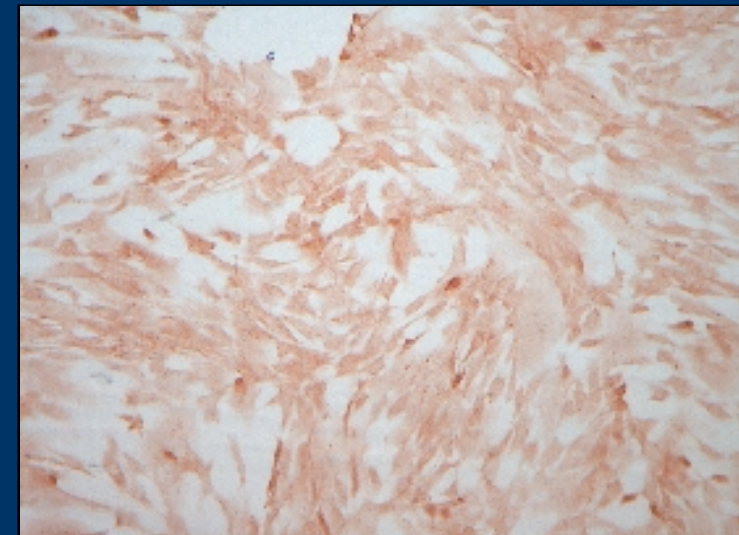
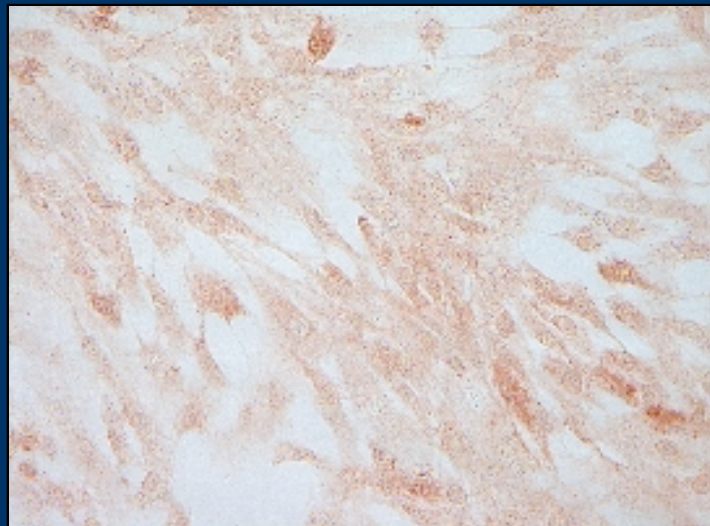
AG1522

0.5 Gy

Directly irradiated



Bystander (20h)



Gamma rays

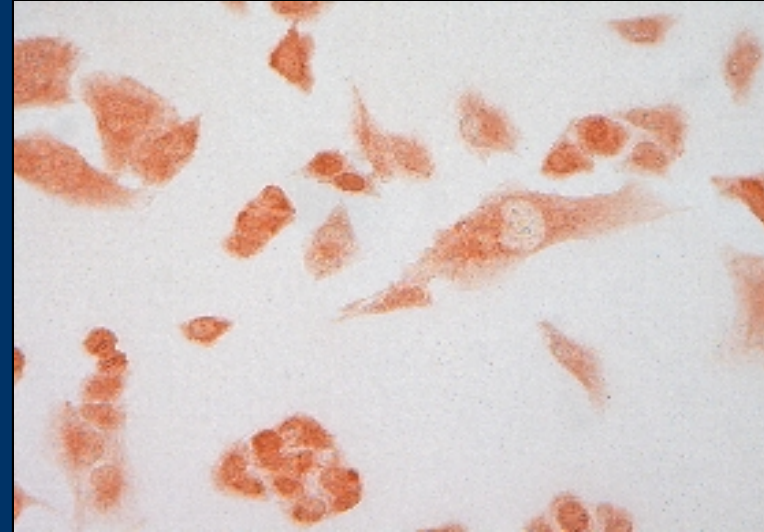
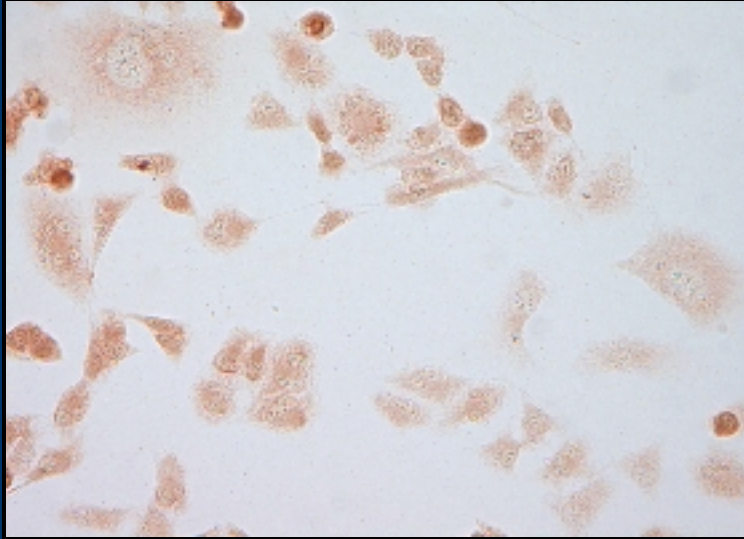
Effects of radiation on the expression of cytokine receptors

0 Gy

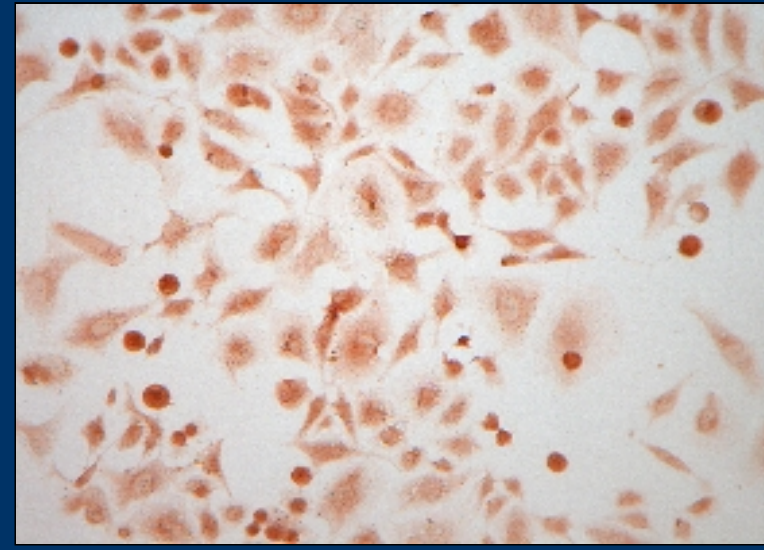
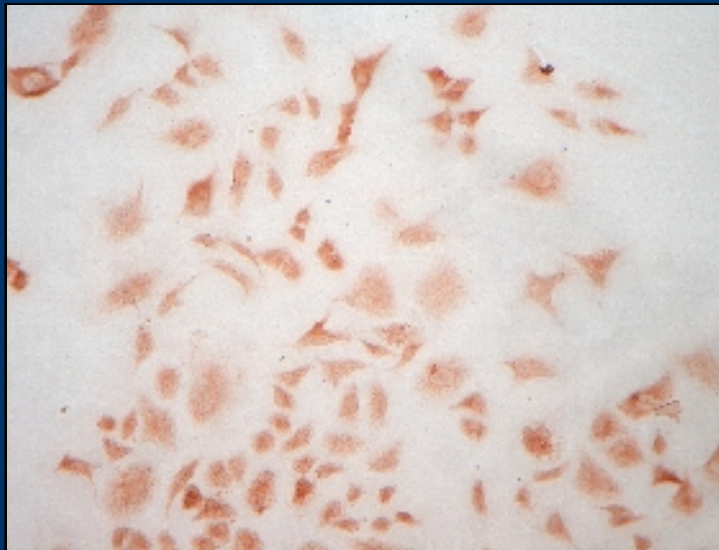
T98G

0.5 Gy

Directly
irradiated



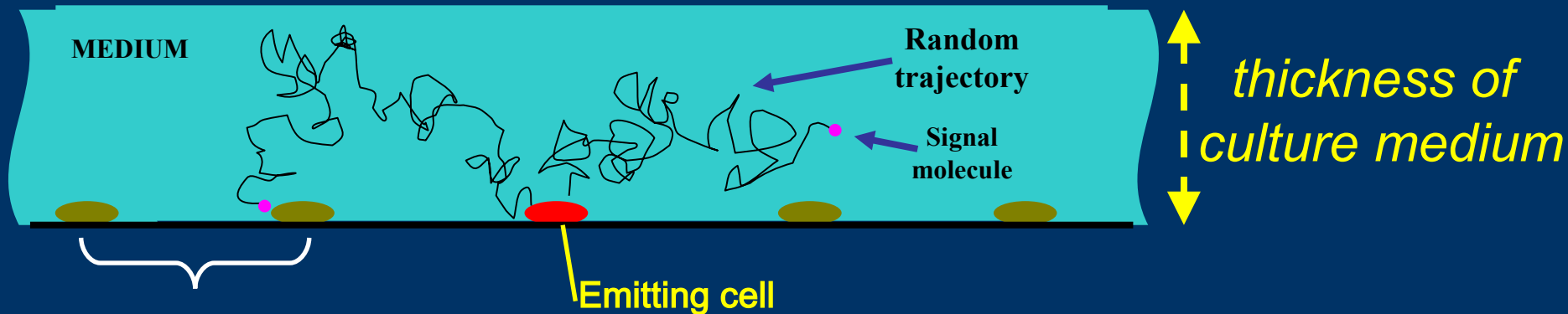
Bystander
(20h)



Gamma rays

Quantification of cytokines in cell medium after irradiation

A Monte Carlo approach

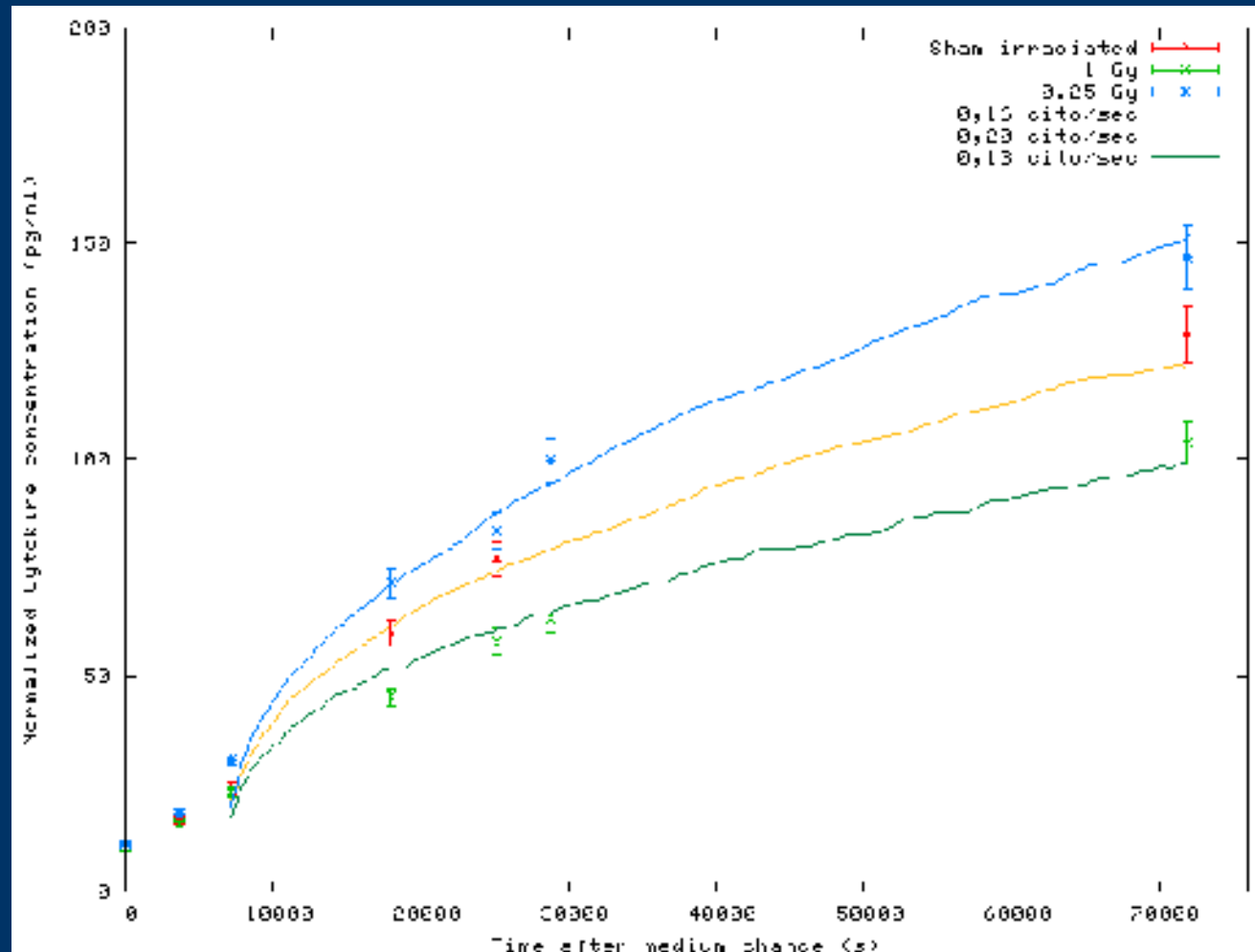


Basic assumptions

- each cell releases a certain no. of signalling molecules (cytokines) with constant rate
- the signals move in the culture medium according to pure diffusion
- whenever a signal falls below a distance d from a cell, it is internalized by that cell

- $J(x,t) = -D \nabla C(x,t)$
- Step by step random walk simulation
- $\lambda = \sqrt{r^2} = \sqrt{6D\Delta t}$
- Time step $\Delta t = 0.1$ s

Simulazioni Monte Carlo e misure della concentrazione della citochina IL-6 nel terreno di fibroblasti umani ($10000 \text{ cellule/cm}^2$) nei casi "sham irradiated", 0.25 Gy e 1 Gy



ESPERIMENTO EPICA

ATTIVITÀ SVOLTA LUGLIO 2006-GIUGNO 2007

1. DANNO AL DNA IN FUNZIONE DELLA QUALITÀ DELLA RADIAZIONE

1.1 Simulazione Monte Carlo della frammentazione del DNA indotta da ioni ferro da 115 MeV/u in fibroblasti umani e confronto con le misure sperimentali effettuate dal gruppo di ricerca con la tecnica PFGE (Pulsed Field Gel Electroforesis)

1.2 Valutazione del danno al DNA (e di effetti a livello cellulare) indotto da radiazione gamma e ioni Carbonio mediante l'analisi delle cinetiche di fosforilazione-defosforilazione dell'istone H2AX

2. EFFETTI SUI LIPIDI E SUL METABOLISMO CELLULARE

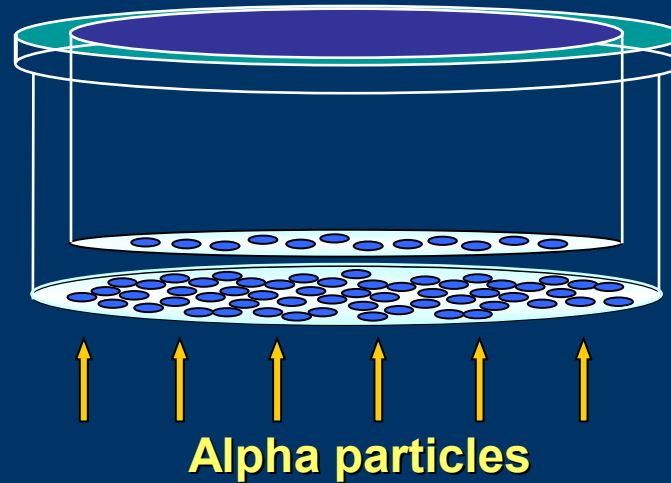
Effetti sui lipidi

Effetti sul glutatione

3. MODULAZIONE RADIOINDOTTA DEI MEDIATORI DI COMUNICAZIONE CELLULARE

4. EFFETTI “NON TARGETED” DELLE RADIAZIONI IONIZZANTI: BYSTANDER EFFECT

IRRADIATORE ALPHA REALIZZATO IN ISS



Monte Carlo simulation



Irradiatore di particelle α da ^{241}Am
(Esposito et al., Health Physics 2006)

***Capsule Petri in acciaio
realizzata per irradiazione
di colture cellulari con la
sorgente α***

22 mm dia
17.7 mm h

10.8 mm dia
16.8 mm h

56 mm dia

35 mm dia
17.7 mm h

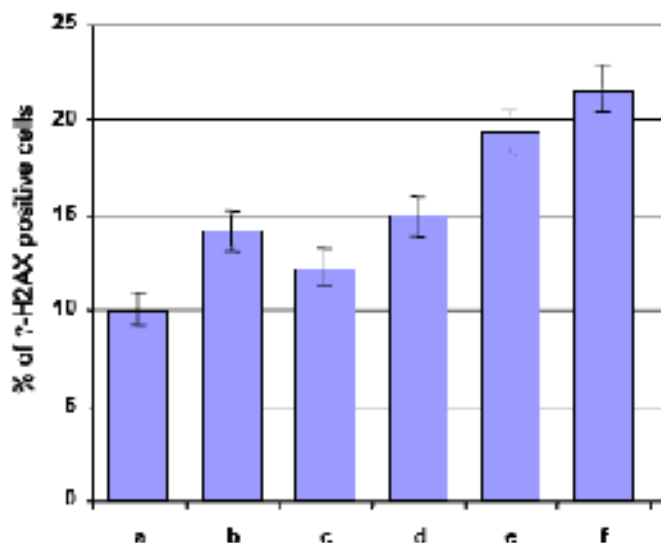
23 mm dia
16.8 mm h



DNA damage observed in bystander cells (alpha dose to irradiated cells: 0.5 Gy)

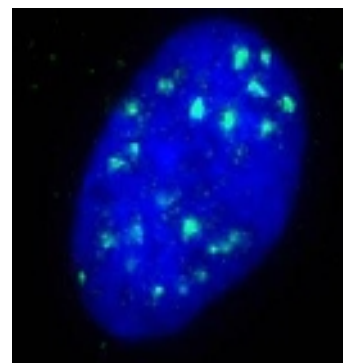
H2AX ASSAY

For each experimental condition, 3 independent experiments were performed, with ~1100 cells scored in total.



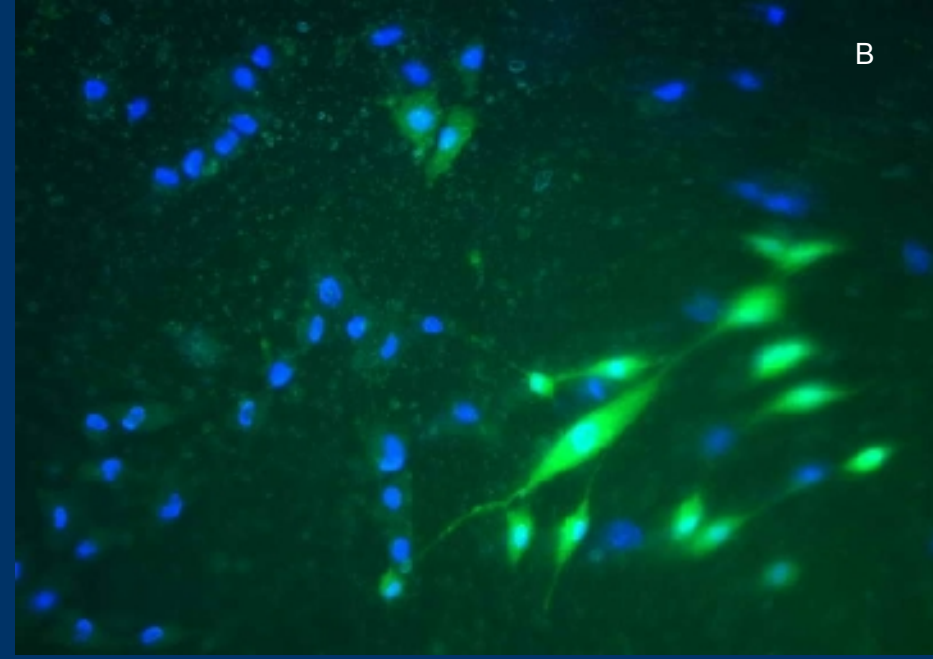
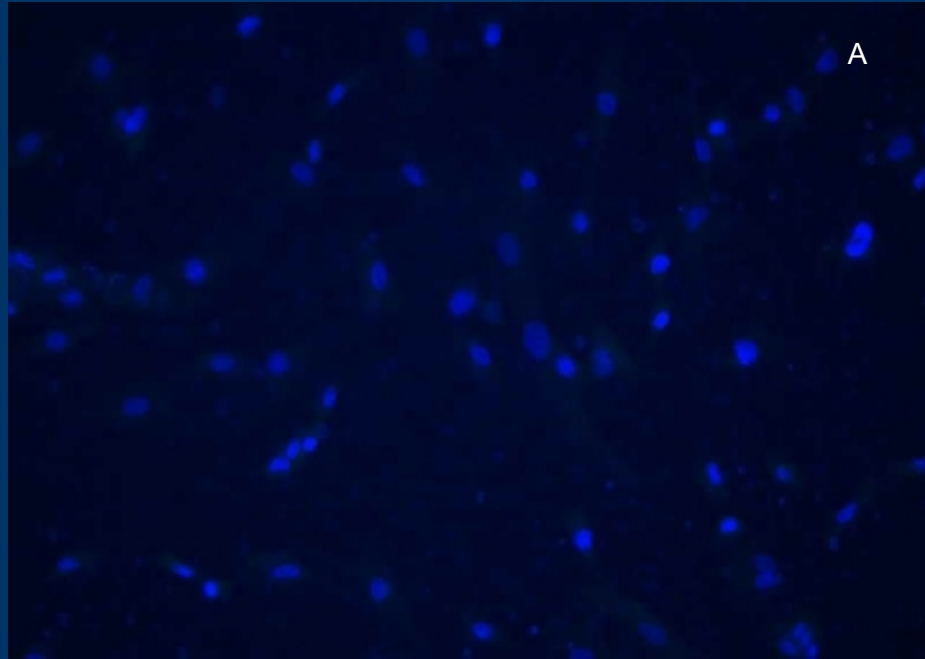
Significance of differences with respect to the sham irradiated control (a) were assessed using the Student's *t* test. All the conditions, b) through f), were significantly different from a) at probability level $p=0.01$.

- a) Sham: 1 h on the alpha source with closed shutter
- b) $t_1 = 30 \text{ min} + t_2 = 0$ Total time : 30 min
- c) $t_1 = 30 \text{ min} + t_2 = 1.5 \text{ h}$ Total time : 2 h
- d) $t_1 = 1 \text{ h} + t_2 = 0$ Total time : 1 h
- e) $t_1 = 1 \text{ h} + t_2 = 1 \text{ h}$ Total time : 2 h
- f) $t_1 = 2 \text{ h} + t_2 = 0$ Total time : 2 h



% of bystander cells showing H2AX foci, in different experimental conditions

Misura dell'ossido di azoto (NO) in cellule bystander

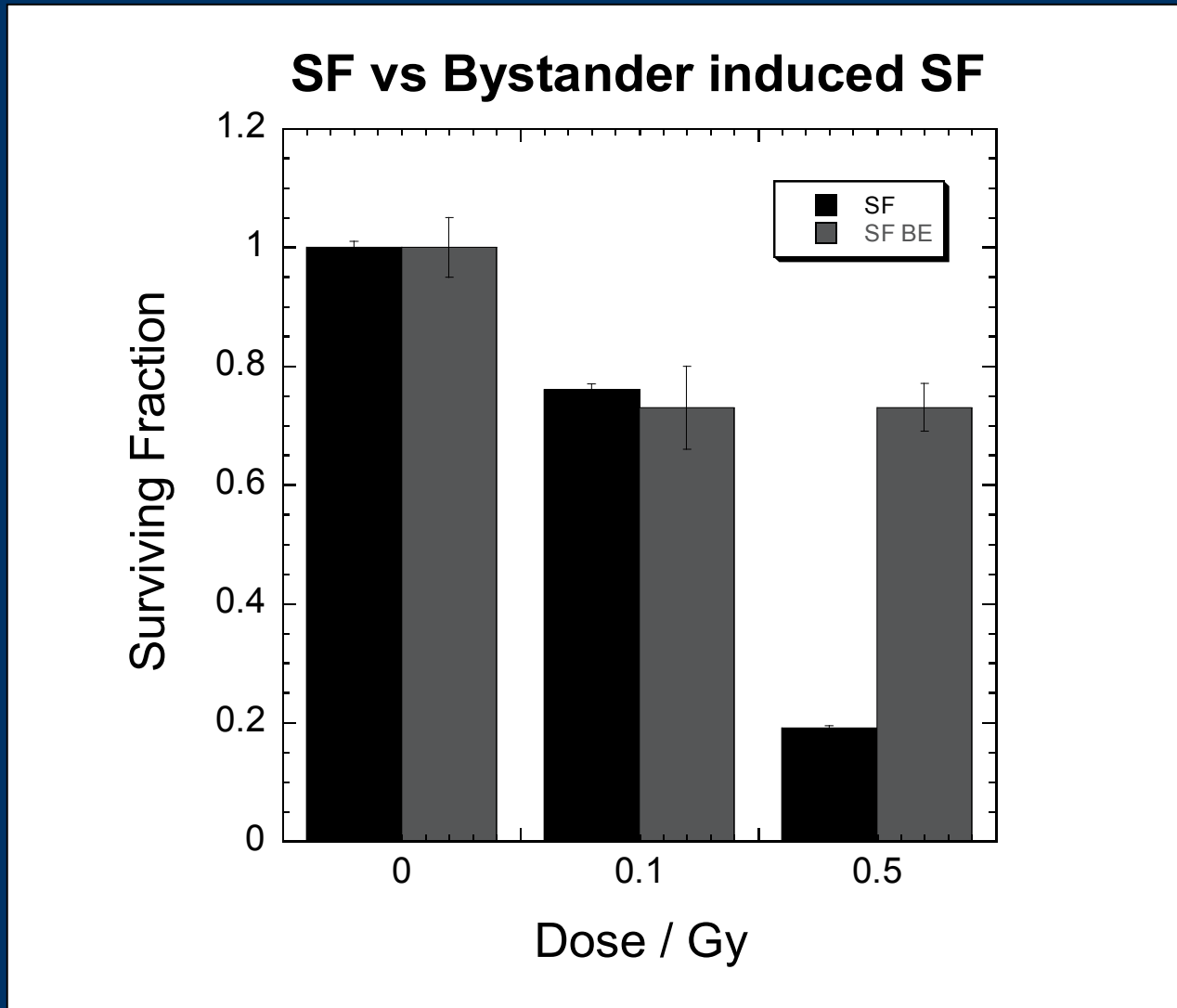


A: cellule AG1522 di controllo.

B: cellule AG1522 "bystander" incubate per 30 min in presenza di cellule AG1522 irradiate con 0.5 Gy di particelle α .

La colorazione verde delle cellule indica la produzione di NO.

Cell killing: directly induced by alpha particles or observed in bystander cells after incubation in the presence of medium from cells alpha irradiated and kept for 1h at 37°C



Publicazioni internazionali EPICA (2006-2007)

- Esposito G, Belli M, Simone G, Sorrentino E, Tabocchini MA, A curium-244 irradiator for protracted exposure of cultured mammalian cells with alpha-particles. *Health Physics* 90, 66-73 (2006).
- Belli M, Campa A, Dini V, Esposito G, Furusawa Y, Simone G, Sorrentino E, Tabocchini MA, DNA Fragmentation Induced in Human Fibroblasts by Accelerated 56Fe Ions of Differing Energies. *Radiation Research* 165, 713-720 (2006).
- Ponomarev AL, Belli M, Hahnfeldt PJ, Hlatky L, Sachs RK, Cucinotta FA, A robust procedure for removing background damage in assays of radiation-induced DNA fragment distributions. *Radiat Res* 166, 908-916 (2006).
- Esposito G, Belli M, Campa A, Cherubini R, Cuttone G, Dini V, Furusawa Y, Gerardi S, Simone G, Sorrentino E, Tabocchini MA, DNA Fragments Induction In Human Fibroblasts By Radiations Of Different Qualities. *Radiat Prot Dosimetry* 122, 166-168 (2006).
- S.Grande, C.Giovannini, L.Guidoni, A.M.Luciani, A. Palma, A. Rosi, O.Sapora, V.Viti. "1H MRS signals from glutathione may act as predictive markers of apoptosis in irradiated tumor cells". *Radiat Prot Dosimetry* 122(1-4):205-6, 2006.
- S.Grande, C.Giovannini, A.M.Luciani, A.Palma, A.Rosi, O.Sapora, V.Viti, L.Guidoni. "Radiation Effects in Cultured Tumor Cells Examined by 1H MRS: Mobile Lipids Modulation and Proliferative Arrest" *Radiat Prot Dosimetry*, 122(1-4):202-4, 2006.
- S. Grande, A.M. Luciani, A. Rosi, A. Palma, C. Giovannini, O. Sapora, L. Guidoni, V. Viti. "Metabolism of glutathione in tumour cells as evidenced by 1H MRS". *FEBS Letters* 581 (2007) 637–643.
- A.Rosi, S.Grande, A. M.Luciani, A.Palma, C.Giovannini, L.Guidoni, O.Sapora, V.Viti "Role of glutathione in apoptosis by irradiation as evidenced by 1H MR spectra of cultured tumour cells".. *Radiat Res*. 2007 Mar;167(3):268-82.
- L. Guidoni, S. Grande, A. M. Luciani, A. Palma, A. Rosi, V. Viti, C. Giovannini, O. Sapora, F. Di Rosa, P. A. Lojacono, V. I. Patti, L. Raffaele, and L. M. Valastro. "Tumour cells irradiated with gamma rays and proton beams: a 1H MRS study on lipid signals." *Proc. Joint Annual Meeting ISMRM-ESMRMM – Berlin 19-25 MAY 2005 – pag 2748*
- V. Viti, A. Palma, C. Giovannini, S. Grande, L. Guidoni, A. M. Luciani, A. Rosi, and O. Sapora. - "Metabolism of glutathione in tumour cells before and after irradiation as evidenced by 1H MR spectra". *Proc. Joint Annual Meeting ISMRM-ESMRMM – Berlin 19-25 MAY 2005 – pag 2747*
- F. Ballarini, D. Alloni, A. Facoetti, A. Mairani, R. Nano and A. Ottolenghi. *Modelling radiation-induced bystander effect and cellular communication*. *Radiat Prot Dosimetry* 122: 244-251. (2006).
- D. Alloni , F. Ballarini , W. Friedland , M. Liotta , S. Molinelli , A. Ottolenghi , H. G. Paretzke and M. Rossetti. *Role of DNA/chromatin organisation and scavenging capacity in USX- and proton-induced DNA damage*. *Radiat Prot Dosimetry* 122: 141-146. (2006).
- Facoetti , F. Ballarini , R. Cherubini , S. Gerardi , R. Nano , A. Ottolenghi , K. M. Prise , K. R. Trott , and C. Zilio. *Gamma ray-induced bystander effect in tumour glioblastoma cells: a specific study on cell survival, cytokine release and cytokine receptors*. *Radiat Prot Dosimetry* 122: 271-274. (2006).
- W. Friedland , P. Jacob , H. G. Paretzke , A. Ottolenghi , F. Ballarini and M. Liotta. *Simulation of light ion induced DNA damage patterns*. *Radiat Prot Dosimetry* 122: 116-120. (2006).
- F. Ballarini, G. Battistoni, F. Cerutti, A. Ferrari, E. Gadioli, M.V. Garzelli, A. Mairani, A. Ottolenghi, L.S. Pinsky, P.R. Sala, S. Trovati. *Physics to understand biology: Monte Carlo approaches to investigate space radiation doses and their effects on DNA and chromosomes*. *Proc of the 11th International conference on nuclear reaction mechanisms, Varenna, Italy, June 12-16, 2006*, edited by E. Gadioli in "Ricerca Scientifica ed Educazione Permanente" suppl. 126, pp. 591-600.
- L. Mantovani, L D'Ercole, F Lisciandro, P Quaretti, A Azzaretti, Giuseppe Rodolico, C Massa Saluzzo, A Spinazzola, F Di Maria, A Ottolenghi, F Zappoli Thyron and L Andreucci. *Radiochromic Films for Improved Evaluation of Patient Dose in Liver Interventions*, *J Vasc Interv Radiol* 2006; 17:855–862 (2006).
- D. Alloni, F. Ballarini, M. Belli, A. Campa, G. Esposito, W. Friedland, M. Liotta, A. Ottolenghi and H.G. Paretzke *Modeling of DNA fragmentation induced in human fibroblasts by 56Fe ions*. *Adv. Space Res.* 40 (2007).
- F. Ballarini, D. Alloni, A. Facoetti, A. Mairani, R. Nano, A. Ottolenghi, *Radiation risk estimation: modelling approaches for "targeted" and "non-targeted" effects*. *Adv. Space Res.* 40 (2007)
- Ranza E, Facoetti A, Morbini P, Benericetti E, Nano R Exogenous platelet-derived growth factor (PDGF) induces human astrocytoma cell lines proliferation. *Anticancer Research*, 27 (4): 2007, in press
- Scorsetti M., Navarria P., Facoetti A., Bignardi M., Lattuada P., Urso G., Mirandola A., Ferraroli G.M., Alloisio M. and Ravasi G.. Effectiveness of SBRT in the treatment of inoperable early stage lung cancer. *Anticancer Res*, 2007 in press
- R. Cherubini , F.A. Cucinotta , S. Gerardi , H.G. Menzel , P. O'Neill and A. Ottolenghi. *Fourteenth International Symposium on Microdosimetry*. *Radiat Prot Dosimetry* 122: 1-2. (2006).
- F. Ballarini , M.V. Garzelli, G. Givone, A. Mairani, A. Ottolenghi, D. Scannicchio , S. Trovati, A. Zanini, Modelling the radiation action for the estimation of biological effects in humans. *Proc. Int. Conf. On Nuclear Data for Science and Technology 2007, Nice, France, April 2007*, in press
- W. Friedland, HG Paretzke, F. Ballarini, A Ottolenghi, G. Kreth, C Cremer, *First steps towards systems radiation biology studies concerned with DNA and chromosome structure within living cells*. *Radiat Environ Biophys*, in press.
- F Ballarini, A Ottolenghi 2008, *Chromosome Aberrations by Heavy Ions*. *COST Monograph*, in press.
- M.Belli, A. Campa, G. Simone, M.A. Tabocchini, F. Ballarini, A. Facoetti, A. Ottolenghi, *Radiobiological basis of hadrontherapy*, *Rivista Medica*, 14, 31-42 (2008)

Presentazioni a conferenze (2006-2007)

- A. Rosi, S. Grande, A.M. Luciani, A.Palma, C. Giovannini, L. Guidoni, O.Sapora, V.Viti. "Ruolo del glutatone nell'induzione di apoptosi in seguito ad irraggiamento di cellule tumorali in coltura: studi di 1H MRS. Atti del Convegno AIRB Pisa 15-16 novembre 2006
- Antonella Rosi, Sveva Grande, Anna Maria Luciani, Alessandra Palma, Claudio Giovannini, Laura Guidoni, Orazio Sapora and Vincenza Viti. "Studi di 1H MRS sul ruolo del glutatone nell'apoptosi dopo irraggiamento in cellule tumorali in coltura". SIRR Bologna 21-24 Novembre 2006 Atti su Radiazioni - Ricerca e Applicazioni, Supplemento al Vol. IX n.2, Agosto 2006, p.
- L. Guidoni, C. Giovannini, S. Grande, A.M. Luciani, A. Palma, A. Rosi, O. Sapora, V. Viti "Applicazioni della spettroscopia 1H MR allo studio degli effetti delle radiazioni in cellule in coltura". SIRR Bologna 21-24 Novembre 2006 pub su Radiazioni - Ricerca e Applicazioni, Supplemento al Vol. IX n.2, Agosto 2006,
- S. Grande, L.Guidoni, A. M. Luciani, A. Palma, A. Rosi, V.Viti, C. Giovannini, O. Sapora. "Studio 1H MRS degli effetti delle radiazioni ionizzanti su cellule tumorali in coltura: analisi di marker spettroscopici di radiosensibilità" AIFM Castelvechio Pascoli, 17-20 settembre 2007
- Antonella Rosi, Sveva Grande, Anna Maria Luciani, Alessandra Palma, Claudio Giovannini, Laura Guidoni, Orazio Sapora and Vincenza Viti. "Role of glutathione in apoptosis by irradiation as evidenced by MR spectra of cultured tumour cells". ESTRO Barcellona settembre 2007
- F. Antonelli, M. Belli, A. Campa, V. Dini, G. Esposito, Y. Furusawa, B. Rydberg, G. Simone, E.Sorrentino, M.A. Tabocchini. Induction of DNA DSB in human fibroblasts irradiated with iron ions: energy dependence and shielding efficiency (poster). 1° Convegno Nazionale Biomedicina e Spazio, 14-15 marzo 2006 Monte Porzio Catone, Roma
- F. Antonelli, M. Belli, A.Campa, V. Dini, G. Esposito, Y. Furusawa, G. Simone, E. Sorrentino, M.A. Tabocchini. DNA Fragmentation and DSB correlation Induced in Human Fibroblasts by Accelerated ⁵⁶Fe Ions of Differing Energies (oral). 36th COSPAR Scientific Assembly, Beijing, China, 16-23 July, 2006
- F. Antonelli, M. Belli, G. Cuttone, F. Di Rosa, G. Esposito, Y. Furusawa, G. Simone, E. Sorrentino, M. A. Tabocchini. Permanenza del danno indotto nel DNA umano da ioni carbonio di diverse energie. (rel. orale). XIII Convegno Nazionale della Società Italiana per le Ricerche sulle Radiazioni (SIRR), Bologna, 21-24 novembre 2006. Radiazioni - Ricerca e Applicazioni, Supplemento al Vol. IX n.2, Agosto 2006, p. 34
- F. Antonelli, M. Belli, A. Campa, V. Dini, G. Esposito, G. Simone, E. Sorrentino, M.A. Tabocchini. Fibroblasti umani normali irradiati con ioni ferro accelerati a differenti energie: correlazione delle doppie rotture del DNA. (poster). XIII Convegno Nazionale della Società Italiana per le Ricerche sulle Radiazioni (SIRR), Bologna, 21-24 novembre 2006. Radiazioni - Ricerca e Applicazioni, Supplemento al Vol. IX n.2, Agosto 2006, p. 55
- Campa, D. Alloni, F. Ballarini, M. Belli, G. Esposito, W. Friedland, M. Lotta, A.Ottolenghi, H. Paretzke. Modellizzazione della frammentazione del DNA indotta in fibroblasti umani da ioni Fe-56 (poster). XIII Convegno Nazionale della Società Italiana per le Ricerche sulle Radiazioni (SIRR), Bologna, 21-24 novembre 2006. Radiazioni - Ricerca e Applicazioni, Supplemento al Vol. IX n.2, Agosto 2006, p. 57
- F. Ballarini, D. Alloni, A. Facoetti, A. Mairani, R. Nano, A. Ottolenghi, Theoretical models and simulation codes to investigate bystander effects and cellular communication at low doses. 36th COSPAR Scientific Assembly, Beijing, China, July 2006. Published on CD-ROM.
- F. Ballarini, M. Belli, A. Campa, G. Esposito, W. Friedland, A. Ottolenghi, H. Paretzke, Modelization of DNA fragmentation induced in human fibroblasts by Fe-56 ions. 36th COSPAR Scientific Assembly, Beijing, China, July 2006. Published on CD-ROM.
- W. Friedland, P. Jacob, H. Paretzke, A. Ottolenghi, F. Ballarini, M. Dingfelder, Simulation of ion induced radiation damage in cells. 36th COSPAR Scientific Assembly, Beijing, China, July 2006. Published on CD-ROM.
- A.Ottolenghi, D. Alloni, F. Ballarini, A. Mairani, D. Scannicchio, S. Trovati *Mechanistic and phenomenological models of radiobiological damage* Discussion Seminar About Radiation Quality Assessment in Hadrontherapy - Legnaro, 30-31 October 2006
- A. Campa, D. Alloni, F. Ballarini, M. Belli, G. Esposito, W. Friedland, M. Liotta, A. Ottolenghi, H. Paretzke, *Modellizzazione della frammentazione del DNA indotta in fibroblasti umani da ioni Fe-56*. Convegno SIRR, Bologna, Novembre 2006, Book of Abstracts.
- A Facoetti, F. Ballarini, L. D'Ercole, E. Gino, F. Lisciando, L. Mantovani, R. Nano, S. Siviero, A. Ottolenghi, *Meccanismi dell'effetto bystander: modulazione della produzione di citochine, indotta da radiazioni ionizzanti*. Convegno SIRR, Bologna, Novembre 2006, Book of Abstracts.
- A Facoetti, D. Alloni, F. Ballarini, A. Mairani, L. Mariotti, R. Nano, A. Ottolenghi, *How do experimental conditions and radiation affect cytokine signals ?* Int Cong. Radiat Res, S. Francisco, July 2007, Book of Abstracts.
- D. Alloni, F. Antonelli, F. Ballarini, M. Belli, A. Campa, V. Dini, G. Esposito, W. Friedland, M. Liotta, A. Ottolenghi, H. G. Paretzke, G. Simone, E. Sorrentino, M. A. Tabocchini, *Small DNA fragments induced in human fibroblasts by 56Fe ions: experimental data and MC simulations*. Proc. "Ion Beams in biology and medicine, Heidelberg, 26-29 September 2007, edoted by J Debus, K Henrichs, G Kraft, p 164

ESPERIMENTO INFN EPICA (2006-2007) - RELAZIONI SU INVITO

- 1.F. Ballarini, D. Alloni, A. Facoetti, A. Mairani, R. Nano, A. Ottolenghi, Theoretical models and simulation codes to investigate bystander effects and cellular communication at low doses. 36th COSPAR Scientific Assembly, Beijing, China, July 2006.
- 2.W. Friedland, P. Jacob, H. Paretzke, A. Ottolenghi, F. Ballarini, M. Dingfelder, Simulation of ion induced radiation damage in cells. 36th COSPAR Scientific Assembly, Beijing, China, July 2006.
- 3.A. Ottolenghi, D. Alloni, F. Ballarini, A. Mairani, D. Scannicchio, S. Trovati *Mechanistic and phenomenological models of radiobiological damage* Discussion Seminar About Radiation Quality Assessment in Hadrontherapy - Legnaro, 30-31 October 2006
- 4.F. Ballarini, C. Cremer, G. Kreth, A. Ottolenghi, *Biophysical models of chromosome radiation effects*. 1st Int. Workshop on Systems Radiation Biology, Neuherberg/Munich, Germany, Feb 2007.
- 5.F. Ballarini, G. Battistoni, F. Cerutti, A. Ferrari, E. Gadioli, M.V. Garzelli, A. Mairani, A. Ottolenghi, L.S. Pinsky, P.R. Sala, S. Trovati, *Modelling the radiation action for the estimation of biological effects in humans*. Int. Conf. on Nucl. Data for Science and Technology, Nice, France, April 22-27 2006.
- 6.A. Ottolenghi, F. Ballarini, C. Cremer, G. Kreth, *Models and simulations of radiation induced chromosome damage* Radiation Damage in Biomolecular Systems, The Royal College of Surgeons, Dublin, Ireland 19th - 22nd June 2007
- 7.A. Ottolenghi, D. Alloni, F. Ballarini, A. Facoetti, A. Mairani, R. Nano, S. Trovati, D. Scannicchio. *Aspetti fisico-radiobiologici: conoscenze attuali e attività di ricerca* La radioterapia con adroni: basi razionali e impiego clinico, Giornata Seminariale Inter-Universitaria. Novara, 7 luglio 2006
- 8.F. Ballarini and A. Ottolenghi, *Modeling radiation-induced chromosome aberrations*. ICRR conference, S Francisco, CA, July 2007
- 9.F. Antonelli, M. Belli, A.Campa, V. Dini, G. Esposito, Y. Furusawa, G. Simone, E. Sorrentino, M.A. Tabocchini. DNA Fragmentation and DSB correlation Induced in Human Fibroblasts by Accelerated ⁵⁶Fe Ions of Differing Energies 36th COSPAR Scientific Assembly, Beijing, China, 16-23 July, 2006
10. M. Belli, *Radiobiological Bases of Hadrontherapy: some lessons learnt from basic radiobiology* Workshop “Neuroradiobiology meets Neurotherapies in Neurooncology (2nd Meeting)”, Villa Monastero, Varenna, 5-7 July 2006
11. M. Belli. *Il rischio alle basse dosi: conoscenze scientifiche e legislazione* Convegno “Radioprotezione e Salute Pubblica” 15 settembre 2006, Palazzo Baleani, ROMA
12. M. Belli *Radiobiological data and physical radiation quality* Discussion Seminar About Radiation Quality Assessment in Hadrontherapy - Legnaro, 30-31 October 2006
13. M.A. Tabocchini, *DNA damage and repair in human cells following exposure to charged particles* 13th International Congress of Radiation Research, San Francisco, USA, July 8-12, 2007
14. M. Pinto, F. Ballarini, A. Ottolenghi, M. Belli, *Effetti biologici delle radiazioni ionizzanti a livello cellulare e multi cellulare*. Convegno AIFM, Lucca, Settembre 2007
15. A. Ottolenghi, F. Ballarini, M. Belli, A. Facoetti, D. Scannicchio, *Problematiche attuali della ricerca in adroterapia*. Convegno AIFM, Lucca, Settembre 2007

Maggior chiarezza su:

Danno subcellulare e cellulare radioindotto

- Dipendenza dalla dose, tipo di radiazione e condizioni sperimentali del danno al DNA e della sua evoluzione temporale (riparo, aberrazioni cromosomiche, ecc.)

Modulazione radioindotta del segnale extracellulare

- Dipendenza dalla dose, tipo di cellula, tipo di radiazione e condizioni sperimentali nel rilascio e ricezione di segnali intercellulari (NO, citochine, ecc)

Risposta a segnali extracellulari radioindotti

- Dipendenza dalla dose, tipo di cellula, tipo di radiazione e condizioni sperimentali nella modulazione dei recettori in cellule *targeted* e non *targeted*
- Danni subcellulari e cellulari (vedi sopra) in cellule bystander

Per il futuro:

Obiettivo generale

- *Investigare (a livello teorico e sperimentale) i meccanismi di azione delle radiazioni ionizzanti sulle strutture biologiche, dalle interazioni fisiche al danno biologico a livello sub-cellulare, cellulare e sovracellulare.*

In particolare più enfasi su:

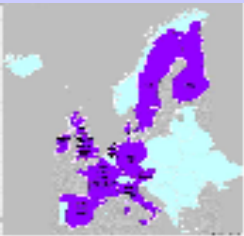
- *non-DNA-targeted damage (importante per il danno alle basse dosi)*
- *passaggio dai sistemi cellulari 2D ai sistemi 3D*
- *interazioni tra agenti fisici e agenti chimici*
- *particelle cariche pesanti (e.g. ioni carbonio)*

Attività sul medesimo argomento in essere
con collaborazioni internazionali in atto
(ad esempio FP VI- UE)



RISC-RAD

DNA damage responses, genomic instability and radiation-induced Cancer: the problem of risk at low and protracted doses



PROJECT

Duration 4 years : 2004-2008

Coordinator CEA / **Dr. Laure Sabatier**

Partners 11 European countries, 5 specialized scientific Work Packages (WP).













→ **29 organisations :**

- ✓ 10 national research entities
- ✓ 3 national radioprotection institutes
- ✓ 12 universities
- ✓ 3 national cancer institutes
- ✓ 1 private not-for-profit organisation

→ **a multidisciplinary task force specialised in radiobiology, genetics, molecular biology, cellular biology, biophysics and oncology, *ie* 33 laboratories or a network of 400 researchers.**

Total scientific effort in the project is estimated at more than € 15 million with an EC contribution of € 10 million.

PARTNERSHIP

	AUSTRIA	• UNSLZ	Dr. W. F. Gorman
	DENMARK	• SDI	Dr. N. Sehested
	FINLAND	• STUK	Dr. S. Savolainen
	FRANCE	• ASTRAC • CEA • CNRS • FNSI • INSTM	Prof. M. Tardieu Dr. L. Sabatier Dr. B. Chabalier Dr. M. Souchon Dr. V. G. Igo Dr. B. Pons
	GERMANY	• GSI • HELIX-IP	Dr. M. Allering Dr. J. F. Burdette Dr. C. G. Over
	GREECE	• NTG	Dr. N. Tselis
	IRELAND		
	ITALY		
	THE NETHERLANDS		
	SPAIN	• CNIO • UAB • UPM	Dr. M. Herraiz Dr. A. Gonzalez Dr. J. Santibanes Dr. J. Barco
	SWEDEN	• SL	Dr. M. Tomas Berglund
	UNITED KINGDOM	• GCR • ICR • MRC • ICRF • ICR • ICR • ICR	Dr. N. A. Little Dr. M. Little Dr. J. T. Lawrence Dr. S. D. Scudler Dr. A. L. Horsfield Dr. J. S. H. Davies Dr. J. S. H. Davies

• ENEA
• INT
• UniPv

A. Saran
T. Dragani
A. Ottolenghi



NOTE - TOWARDS A NEW PARADIGM

Non targeted effects of ionising radiation *Integrated Project*

- Start date : 1 September 2006
- Duration: 48 months
- Coord. organisation: STUK
- Project coord.: Sisko Salomaa

No	Organisation name	Acronym	Country	Scientific contact person
1	Radiation and Nuclear Safety Authority	STUK	Finland	Prof. Sisko Salomaa
2	University of Dundee	UNIVDUN	UK	Prof. Eric G. Wright
3	Leipzig University	UL	Germany	Dr. Guido Hildebrandt
4	MRC Radiat and Genome Stability Unit	MRC	UK	Dr. Munira Kadhim
5	Imperial College	ICFM	UK	Dr. Mark Little
6	Gray Cancer Institute	GCI	UK	Dr. Kevin M. Prise
7	Belgian Nuclear Research Centre	SCK-CEN	Belgium	Dr. Paul Jacquet
8	Dublin Institute of Technology	RESC	Ireland	Dr. Fiona Lyng
9	<i>National Institute of Health</i>	<i>ISS</i>	<i>Italy</i>	<i>Dr. M. Antonella Tabocchini</i>
10	University of Leicester	ULEICS	UK	Prof. Yuri Dubrova
11	McMaster University	MAC	Canada	Prof. Carmel Mothersill
12	Atomic Energy of Canada Limited	AECL	Canada	Dr. Ron Mitchel
13	Nat. Res. Inst Radiobiology and Radiohygiene	NRIRR	Hungary	Dr. Géza Sáfrány
14	Nat. Res. Centre for Environment and Health	GSF	Germany	Dr. Werner Friedland
15	<i>University of Pavia</i>	<i>UniPv</i>	<i>Italy</i>	<i>Prof. Andrea Ottolenghi</i>
16	University of Erlangen-Nuremberg	FAU	Germany	Dr. Franz Roedel
17	University of Duisburg-Essen	UDE	Germany	Prof. George Iliakis
18	Norwegian Radium Hospital	RR HF	Norway	Dr. Jostein Dahle
19	Ottawa Heart Institute Research Corporation	OHIRC	Canada	Dr. Stewart Whitman

FP7 –EURATOM

Future calls on radiobiology (Low Dose Risk Research)

La Commissione ha recentemente istituito un “High Level Group (HLEG) on European Low Dose Risk Research” dove sono rappresentate le nazioni europee maggiormente attive nel settore.

Gli obiettivi dell’HLEG sono:

- formulare e concordare gli scopi generali della ricerca sui rischi alle basse dosi;
- sviluppare una pianificazione strategica e una “road map” per le ricerche europee su tali rischi;
- stabilire nel settore un quadro operativo sostenibile per l’Europa.

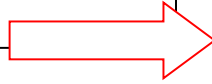
H L E G - Members

Name	Country
Wolfgang Weiss	Germany
Michael J. Atkinson	Germany
Mauro Belli	Italy
Jean-Marc Cosset	France
Roger Cox	UK
A.T.Elliott	UK
Dudley Goodhead	UK
Janet Hall	France
Mats Harms-Ringdahl	Sweden
George-Neale Kelly	Commission
Jean-René Jourdain	France
Pierre Legrain	France
Andrea Ottolenghi	Italy
Jacques Repussard	France
Sisko Salomaa	Finland
Hilary Walker	UK

Grazie per l'attenzione!

Apoptosis

in comparison with gamma rays
protons shift to later times
Effect of LET (1)



HeLa

gamma	protons
24 h	48 h

MCF 7

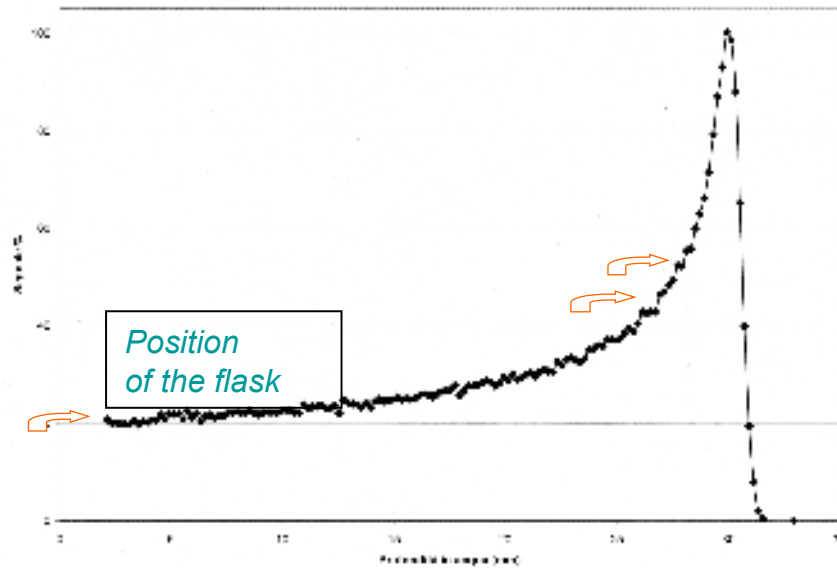
not significant

MCF 7 after
inhibition GSH synthesis

24h	48h
-----	-----

Proton beams . % apoptosis at the
entrance and close to Bragg peak
Effect of LET (2)

Flask positions



Position
of the flask

Position
of the flask

Apoptosis

in comparison with gamma rays
protons shift to later times
Effect of LET (1)

HeLa

gamma 24 h
protons 48 h

MCF 7

not significant

MCF 7 after
inhibition GSH synthesis

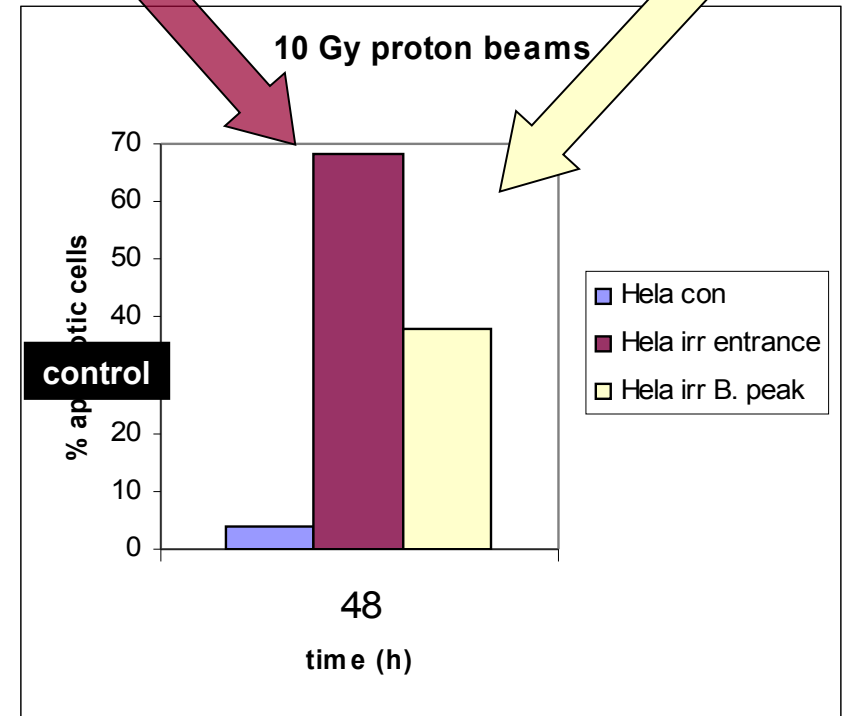
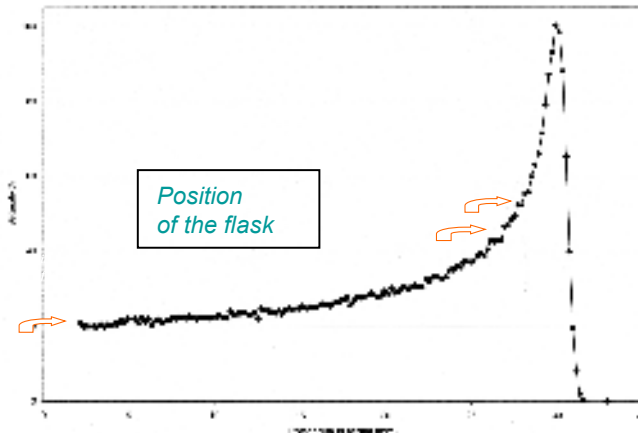
24h 48h

Proton beams . % apoptosis at the
entrance and close to Bragg peak
Effect of LET (2)

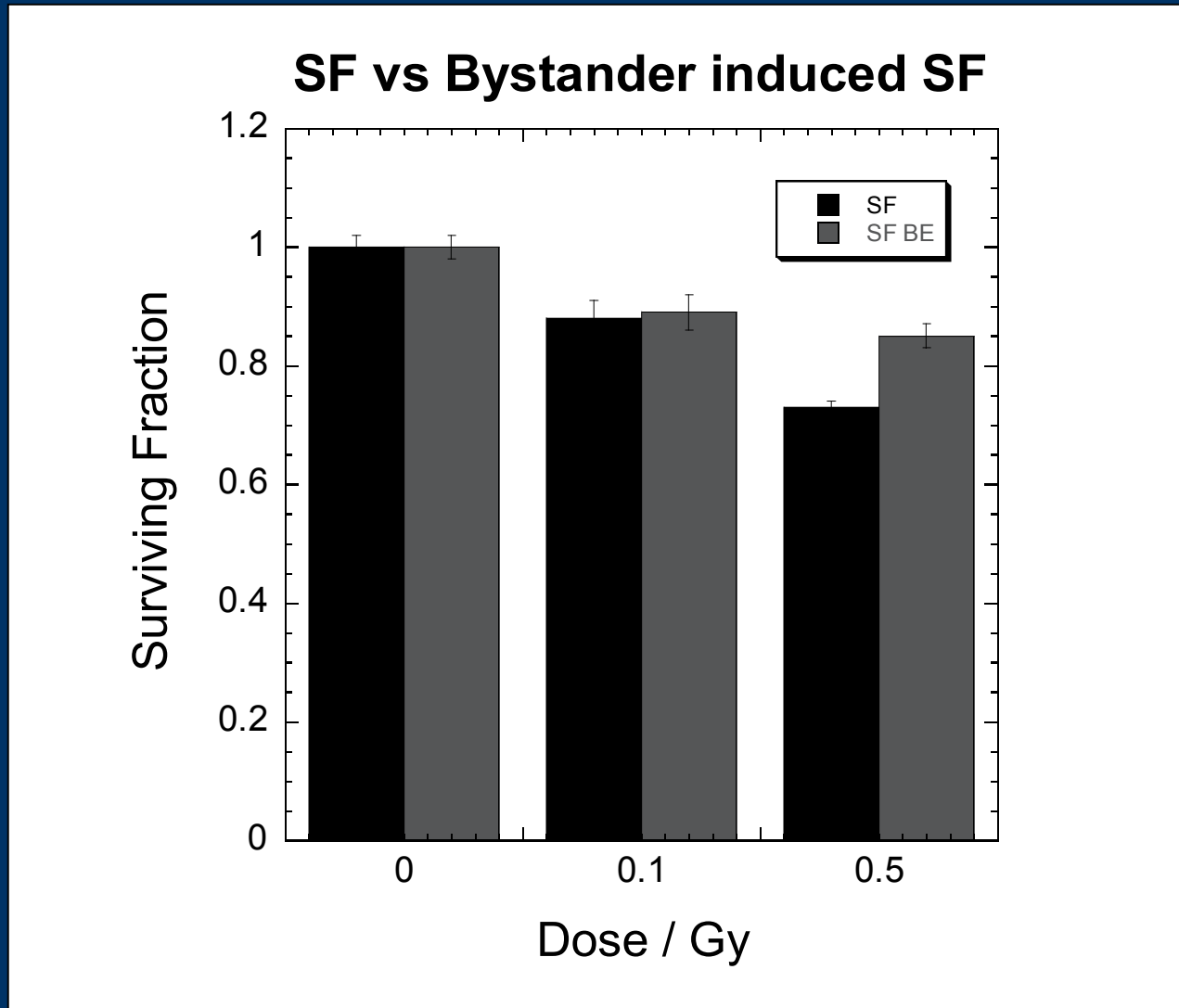
Entrance
Dose 10 Gy

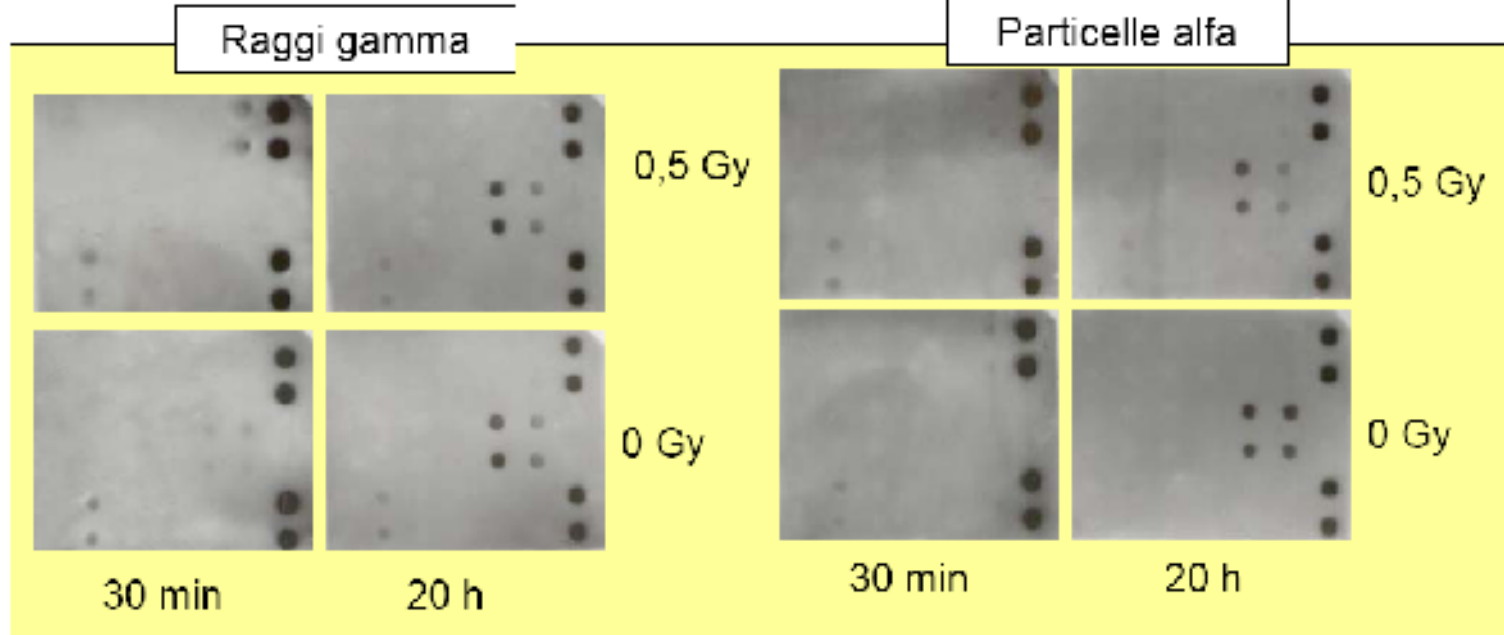
Close to Bragg peak
Dose 5 Gy

Flask positions



Cell killing: directly induced by gamma rays or observed in bystander cells after incubation in the presence of medium from cells gamma irradiated and kept for 1h at 37°C





Human Cytokine Set 1 Cartesian Array™ Map

	a	b	c	d	e	f	g
1	Eotaxin	GM-CSF	IP-10	INF- α	RANTES	Leptin	Pos ⁺ (***)
2	Eotaxin	GM-CSF	IP-10	INF- α	RANTES	Leptin	Pos ⁺
3	IL-1 α	IL-1 β	IL-3	IL-4	IL-6	IL-8	Neg ^{**}
4	IL-1 α	IL-1 β	IL-3	IL-4	IL-6	IL-8	Neg ^{**}
5	IL-10	IL-12	IL-17	MIP-1 α	MIP-1 β	MIP-5	Pos ⁺
6	IL-10	IL-12	IL-17	MIP-1 α	MIP-1 β	MIP-5	Pos ⁺

* Positive Control Wells

** Negative Control Wells

Chemiarrays per la rilevazione di citochine nel terreno di coltura.

- **Terreno raccolto 30 minuti e 20 ore dopo 0,5 Gy di irraggiamento gamma (Cobalto-60, Policlinico di Pavia) e con particelle alfa (presso ISS).**
- **mappa della localizzazione delle diverse citochine sulle membrane.**