
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

SILVIA BACCHETTI, FRANCESCO MAURO

Effetti dei Raggi Beta emessi dal tritio su Escherichia coli

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 34 (1963), n.4, p. 458–464.

Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1963_8_34_4_458_0

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Radiobiologia. — *Effetti dei Raggi Beta emessi dal tritio su Escherichia coli.* (*) Nota di SILVIA BACCHETTI e FRANCESCO MAURO, presentata (**) dal Corrisp. G. MONTALENTI.

L'uso del tritio, introdotto assai di recente in radiobiologia per quel che riguarda la sua azione mutagena e letale anziché la sua proprietà di marcatore biochimico, presenta aspetti notevolmente interessanti. Infatti, somministrando il tritio agli organismi in esame sotto forma di THO (acqua tritiata, ossia acqua in cui uno degli atomi di idrogeno è stato sostituito da un atomo di tritio), i raggi beta che esso emette costituiscono, sia per il loro LET (*linear energy transfer*) relativamente alto, sia per la uniformità dell'irradiazione degli organismi trattati (in quanto l'acqua tritiata si distribuisce uniformemente, insieme all'acqua normale, all'interno delle cellule, seguendo le normali vie del metabolismo idrico) (Spalding et al., 1956), un agente fisico in grado di fornire dati notevolmente interessanti sulle caratteristiche del danno indotto.

Sul danno indotto dai raggi beta del tritio sono stati condotti, sino ad oggi, solo pochi esperimenti sia su piante o animali superiori sia su microorganismi e i dati forniti sono, in genere, tutti a carattere preliminare (Brüggemann e Giesecke, 1961 e 1962; Giovannozzi-Sermanni et al., 1962 *a* e 1962 *b*): le sole curve di sopravvivenza che si abbiano sono state fornite nel 1962 dalla prima coppia di Autori citati e riguardano alcuni batteri anaerobi del rumine dei bovini.

La dosimetria dell'emissione beta del tritio è relativamente semplice, dato che le caratteristiche del radioisotopo sono ben note (Hardwick, 1952; Moss, 1954; Ponzio, 1957; Strauss, 1958; Lea, 1959; Brüggemann e Giesecke, 1962) e che sono state messe a punto tecniche molto precise per la determinazione dell'attività dell'acqua tritiata (Wilzbach et al., 1953 *a*, 1953 *b* e 1954). È inoltre interessante notare che il « range » medio dei raggi beta emessi dal tritio è di circa 1 micron (Lea, 1959), ossia dello stesso ordine di grandezza dei diametri batterici.

Il calcolo della dose assorbita è stato così effettuato (sostanzialmente in accordo con Spalding et al., 1956, e con Brüggemann e Giesecke, 1962):

- (1) 1 curie = $3,7 \times 10^{10}$ disintegrazioni/secondo;
- (2) W (energia media) = 6×10^3 eV = $6 \times 10^3 \times 1,6 \times 10^{-12}$ erg;
- (3) 1 rad = 100 erg;

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Genetica dell'Università di Roma, con il contributo del Consiglio Nazionale delle Ricerche e del Comitato Nazionale Energia Nucleare.

(**) Nella seduta del 20 aprile 1963.

$$(4) \text{ rad} = \text{curie} \times 3,7 \times 10^{10} \times t_{\text{sec}} \times 6 \times 10^3 \times 1,6 \times 10^{-12} \times 10^{-2} = \\ = \text{curie} \times 3,55 \times t_{\text{sec}}.$$

L'uso del t_{sec} , ossia della durata del trattamento con la soluzione radioattiva misurata in secondi, è reso possibile dal lungo periodo di dimezzamento del radioisotopo (circa 12 anni e mezzo) e dal fatto che la metà del tempo di diffusione dell'acqua tritiata all'interno delle cellule degli organismi viventi è così breve da poter essere trascurata (Spalding et al., 1956).

L'acqua tritiata, di cui è stata determinata l'attività, viene aggiunta ad una sospensione batterica, ottenuta mediante una triplice centrifugazione e risospensione con soluzione M/15 di KH_2PO_4 ($\text{pH} = 7,1$) di germi fatti

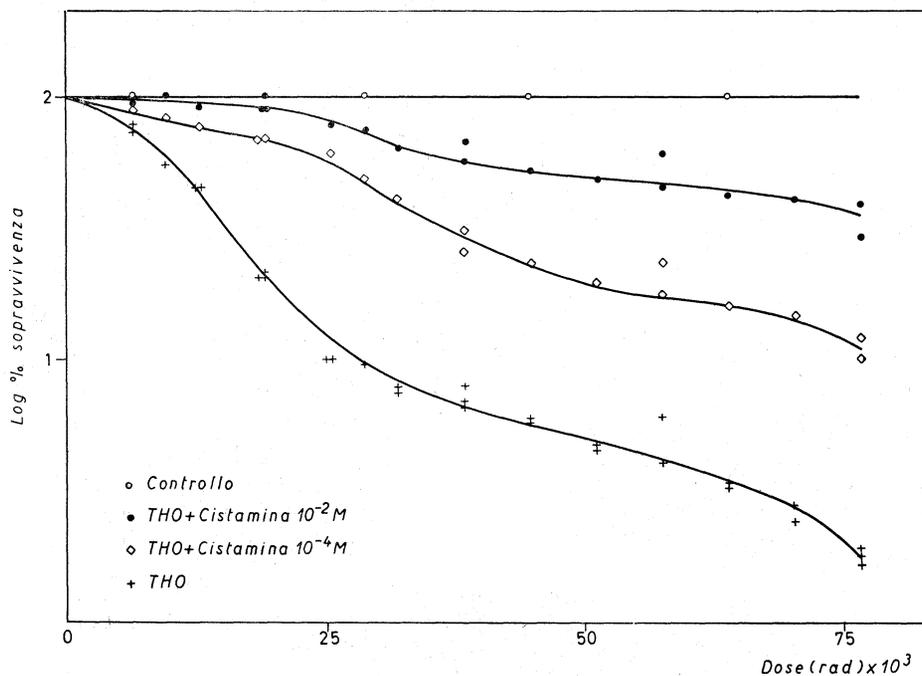


Fig. 1.

crescere in areazione fino al massimo della fase esponenziale della curva di crescita: trascorso il tempo necessario alla somministrazione della dose desiderata, i batteri vengono nuovamente centrifugati e lavati più volte nella soluzione tampone, per allontanare l'acqua tritiata, e quindi vengono piastrati al fine di determinare, mediante la conta delle colonie, le percentuali di sopravvivenza.

Il batterio usato è un ceppo di *E. coli* BB, gentilmente fornito dal Laboratorio Internazionale di Genetica e Biofisica di Napoli. L'acqua tritiata usata nel presente lavoro aveva un'attività specifica di circa 0,06 curie/ml, misurata prima e dopo il trattamento. Tutta la parte dosimetrica degli esperimenti è stata fatta in collaborazione con l'Istituto di Chimica Farmaceutica dell'Università di Roma.

TABELLA I.

E. coli trattato con THO.

(N. B. Ciascun numero di colonie $[\bar{n}]$ è stato ottenuto dalla media dei conteggi di due piastre; gli \bar{n} contrassegnati da (+) sono stati calcolati da piastramenti con diluizione 10^{-3} e gli altri \bar{n} con 10^{-4}).

ESPERIMENTO 1			ESPERIMENTO 2			ESPERIMENTO 3		
dose (rad.)	\bar{n}	$\bar{n} \%$	dose (rad.)	\bar{n}	$\bar{n} \%$	dose (rad.)	\bar{n}	$\bar{n} \%$
0	440 ± 12	100,0	0	207 ± 1,4	100,0		207 ± 1,4	100,0
9600	243 ± 7	55,2	6400	165 ± 35,4	79,7		151 ± 4,2	72,9
19200	90 ± 3	20,4	12800	94 ± 3	45,4		94,5 ± 1	45,6
28800	(+) 42,3 ± 0,3	9,6	19200	47 ± 7	22,7	vedi Esperi- mento 2	44 ± 3	21,2
38400	(+) 34,8 ± 1,2	8,0	25600	(+) 21,2 ± 1,7	10,2		(+) 22 ± 1,4	10,6
57600	(+) 26,7 ± 1,3	6,1	32000	(+) 16,0 ± 1,1	7,7		(+) 16,5 ± 0	7,9
76800	(+) 7,6 ± 0,2	1,7	38400	(+) 14,3 ± 0	6,9		(+) 14,0 ± 0,1	6,7
			44800	(+) 12,1 ± 2,5	5,8		(+) 12,5 ± 2	6,0
			51200	(+) 9,9 ± 0	4,7		(+) 9,6 ± 0,5	4,6
			57600	(+) 8,7 ± 1,1	4,2		(+) 8,5 ± 0,6	4,1
			64000	(+) 7,2 ± 4,0	3,4		(+) 7,0 ± 0,1	3,3
			70400	(+) 5,0 ± 2,0	2,4		(+) 5,8	2,8
			76800	(+) 3,9 ± 3,0	1,8		(+) 4,1 ± 0,2	1,9

E. coli trattato con THO + cistamina 10^{-2} M.

ESPERIMENTO 1			ESPERIMENTO 2		
dose (rad.)	\bar{n}	$\bar{n} \%$	dose (rad.)	\bar{n}	$\bar{n} \%$
0	440 ± 12	100,0	0	207 ± 1,4	100,0
9600	449 ± 4,2	102,4	6400	193 ± 1,4	93,2
19200	448 ± 17	101,8	12800	190,5 ± 1	92,0
28800	330	75,0	19200	188 ± 3	90,8
38400	299,5 ± 1	68,1	25600	163 ± 4,3	78,7
57600	269	61,1	32000	134,5 ± 5	64,9
76800	131 ± 3	29,7	38400	119,5 ± 16,3	57,7
			44800	111 ± 11,3	53,6
			51200	101 ± 0	48,7
			57600	95 ± 5,7	46,8
			64000	88 ± 1,4	42,5
			70400	85 ± 7	41,1
			76800	81 ± 3	39,1

E. coli *trattato con THO + cistamina* 10^{-4} M.

ESPERIMENTO 1			ESPERIMENTO 2		
dose (rad.)	\bar{n}	\bar{n} %	dose (rad.)	\bar{n}	\bar{n} %
0	440 ± 12	100,0	0	207 ± 1,4	100,0
9500	369 ± 13	83,9	6400	186 ± 3	89,8
19200	304 ± 11	69,9	12800	159 ± 12,7	76,8
28800	219 ± 4	49,8	19200	142 ± 11,3	68,5
38400	112 ± 18	25,4	25600	122 ± 3,7	58,9
57600	102,5 ± 2	23,3	32000	85 ± 5,7	41,1
76800	46 ± 3	10,4	38400	64 ± 7	30,9
			44800	40 ± 0	23,1
			51200	(+) 40,8 ± 1,2	19,7
			57600	(+) 36,8 ± 2,7	17,7
			64000	(+) 33,5 ± 0,6	16,1
			70400	(+) 30,6 ± 0,5	14,7
			76800	(+) 24,8 ± 1,1	11,9

I risultati degli esperimenti con acqua tritiata sono riportati in Tabella I e la relativa curva di sopravvivenza in fig. 1. In Tabella I sono riportati anche i dati di esperimenti in cui è stato aggiunto alla sospensione batterica, oltre all'acqua tritiata, un agente radioprotettente, la cistamina, in due diverse concentrazioni (10^{-4} e 10^{-4} M): le relative curve di sopravvivenza sono riportate sempre in fig. 1. In Tabella II sono riportati due esperimenti fatti con raggi X (180 kvp, 6 mA, 3 mm Al eq., 250 e 400 r/min), allo scopo di ottenere qualche indicazione sulla RBE (*relative biological effectiveness*) dei raggi beta emessi dal tritio. In fig. 2 è riportata la curva di sopravvivenza ai raggi X insieme, per confronto, a quella ai raggi beta.

Dopo aver trasformato le percentuali di sopravvivenza nei loro logaritmi, i dati di Tabella I sono stati sottoposti all'analisi della varianza e al controllo della linearità delle curve di regressione: come è possibile osservare anche per mezzo della interpolazione grafica di fig. 1, le curve in carta semi-logaritmica sono risultate non lineari, ossia l'andamento del fenomeno non è descrivibile mediante una semplice equazione esponenziale. La curva di sopravvivenza ai raggi X (fig. 2) risulta invece chiaramente lineare su carta semi-logaritmica, ossia l'andamento del fenomeno è nettamente esponenziale, il che è in pieno accordo con i dati esistenti in bibliografia (Lea et al., 1937; Hollaender et al., 1957; Bacq e Alexander, 1961).

TABELLA II.

E. coli *trattato con raggi X*.(N. B. Gli \bar{n} contrassegnati da (+) sono stati calcolati da piastramenti con diluizione 10^{-3} e gli altri \bar{n} con 10^{-4}).

ESPERIMENTO 1			ESPERIMENTO 2		
dose (r) (250r/min)	\bar{n}	\bar{n} %	dose (r) (400r/min)	\bar{n}	\bar{n} %
0	500	100,0	0	420	100,0
7500	311	62,2	12000	187	44,5
15000	199,5	39,9	24000	92	21,9
22500	112,5	22,5	36000	(+) 46	10,9
30000	(+) 73,5	14,7	48000	(+) 20	4,8
45000	(+) 35,5	7,1			

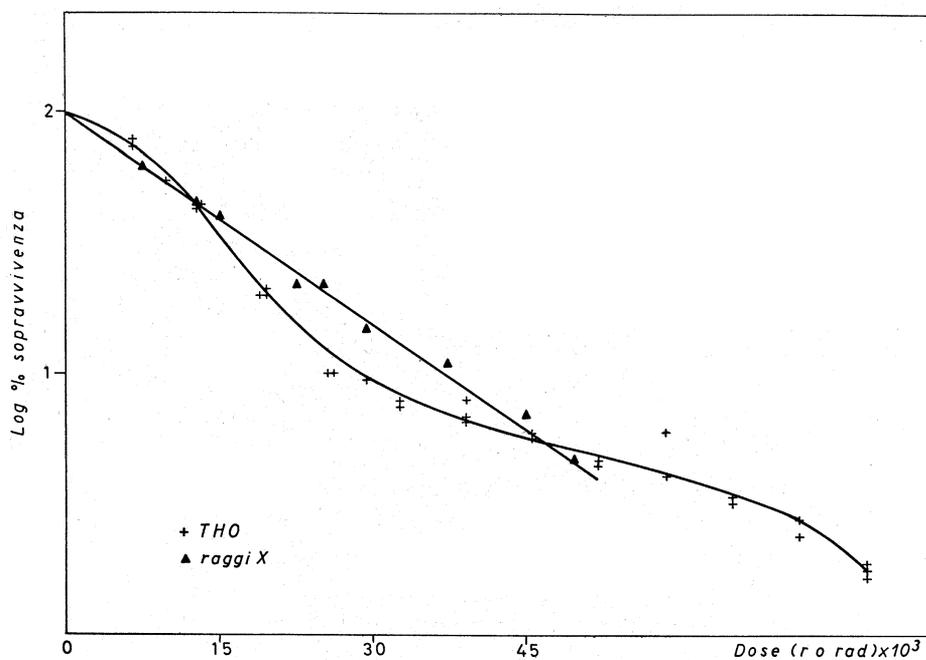


Fig. 2.

Le ragioni del particolare andamento che assumono le curve per i raggi beta, sia in presenza sia in assenza dell'agente radioprotettente, vanno probabilmente ricercate solo fra le varie condizioni sperimentali presenti (Hollaender et al., 1957): infatti, per quanto si sia cercato di eseguire gli esperimenti con i raggi X con le stesse modalità di quelli con i raggi beta, nel primo caso si tratta di un irradiazione per mezzo di una sorgente esterna di radiazioni e nel secondo per mezzo di una sorgente sparsa uniformemente all'interno della stessa sospensione batterica. È probabile che con particolari accorgimenti sperimentali si possano ottenere curve per i raggi beta emessi dal tritio con andamento esponenziale semplice, come si è ottenuto per i raggi X.

È chiaro che, dati i risultati di questi esperimenti, parlare di RBE o di dosi letali ha un senso solo indicativo: ad ogni modo, è interessante notare che, dai dati riportati, pare che la RBE dei raggi beta emessi dal tritio dell'acqua tritiata, rispetto ai raggi X a 180 kvp, sia di circa 1. Questo dato è in ottimo accordo con la RBE per questo tipo di raggi beta, calcolata da 1,0 a 1,6 per piante ed animali superiori da diversi Autori (Jennings e Brues, 1951; Furchner e Storer, 1953; Worman et al., 1954; Spalding et al., 1956; Mauro, 1963).

Infine, per quel che riguarda l'azione della cistamina, i dati ottenuti rappresentano un'ulteriore conferma delle proprietà radio-protettenti di questa sostanza (Bacq et al., 1951) e danno una notevole indicazione sulla concentrazione di cistamina necessaria per ottenere una soddisfacente radio-protezione.

Gli AA. ringraziano l'Istituto di Chimica Farmaceutica dell'Università di Roma per l'acqua tritiata fornita e la relativa dosimetria.

BIBLIOGRAFIA.

- BACQ Z. M., HERVE A., LECOMTE J., FISHER P., BLAVIER J., DECHAMPS G., LE BIHAN H., e RAYET P., « Arch. Intern. Physiol. », 59, 442 (1951).
- BACQ Z. M. e ALEXANDER P., *Fundamentals of Radiobiology*, Pergamon Press, Oxford (1961).
- BRÜGGEMANN J. e GIESECKE D., in *Symp. on Detection and Use of Tritium*, in *Physical and Biological Sciences*, IAEA, Vienna (1961).
- , in *Symp. on Tritium*, in *Physical and Biological Sciences*, vol. II; IAEA, Vienna (1962).
- FURCHNER J. E. e STORER J. B., Los Alamos Scient. Lab. Report. LA-1641 (1953).
- HARDWICK T. J., « Disc. Faraday Soc. », 12, 203 (1952).
- HOLLAENDER A. E., STAPLETON G. E. e MARTIN F. L., « Nature », 167, 103 (1957).
- GIOVANNOZZI-SERMANNI G. e CACCIARI I., « Int. J. Rad. Biol. », 4, 533 (1962).
- GIOVANNOZZI-SERMANNI G., MASIRONI R. e CACCIARI I., « Int. J. Rad. Biol. », 5, 485 (1962).
- JENNINGS F. L. e BRUES A. M., Argonne Natl. Lab. Report ANL-4625 (1951).
- LEA, D. E., HAINES R. B. e COULSON C. A., « Proc. Roy. Soc. », B 123, 1 (1937).
- LEA D. E. e JAEGER R. G., in *Dosimetrie und Strahlenschutz*; Thieme, Stuttgart (1959).
- MAURO F., in corso di pubblicazione (1963).

MOSS W. S., «Nucleonics», 12, 46 (1954).

PONZIO M., «Zbl. ges. Radiol.», 53, 8 (1957).

SPALDING J. F., LANGHAM W. e ANDERSON E. C., «Rad. Res.», 4, 221 (1956).

STRAUSS B. S., «Rad. Res.», 8, 234 (1958).

WILZBACH K. E., KAPLAN L. e BROWN W. G., Argonne Natl. Lab. Report ANL-5056 (1953).

WILZBACH K. E., VAN DYKEN A. R. e KAPLAN L., «Analytical Chemistry», 26, 880 (1954).

WILZBACH K. E., KAPLAN L. e BROWN W. G., «Science», 118, 522 (1953).

WORMAN F. C. V., TURNEY D. F. e LOTZ V., Los Alamos Scient. Lab. Report LA-1641 (1954).