



# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Fisica e Astronomia “Galileo Galilei”

Corso di Laurea in Fisica

Tesi di Laurea

Misure di biodistribuzione di molecole caricate a Cu-64 per  
l'esperimento ISOLPHARM

Relatore

Prof. Marcello Lunardon

Correlatore

Dr. Luca Morselli

Laureanda

Mariagrazia Lijoi

Anno Accademico 2021/2022



# Abstract

L'obiettivo del progetto ISOLPHARM è sfruttare le potenzialità del metodo ISOL (Isotope Selection On Line) a SPES per creare nuovi radiofarmaci ad altissima attività specifica e purezza isotopica. Questo metodo, oltre a una serie di radionuclidi già impiegati in medicina nucleare, permette di accedere a nuovi radioisotopi non convenzionali, tipo l'Ag-111 e il Cs-136. Il programma di ISOLPHARM è iniziato con lo sviluppo di un radiofarmaco basato sull'Ag-111, un radio-isotopo beta-emettitore che si prevede di produrre in quantità rilevante a SPES, potenzialmente adatto sia ad un uso terapeutico che diagnostico (o "teranostico" come si usa dire). Il progetto tocca tutti i differenti aspetti della creazione del radiofarmaco, dalla produzione del radioisotopo, alla sua purificazione radiochimica, alla sintesi delle molecole che ingabbiano il radioisotopo e lo trasportano fino alle cellule cancerose, fino ai test pre-clinici in-vitro e in-vivo per verificare tutti gli step principali delle diverse fasi dello sviluppo del farmaco. Recentemente è stato eseguito un primo test in-vivo di biodistribuzione di molecole caricate a Cu-64, un radioisotopo di uso comune in medicina nucleare che ha diverse affinità chimiche con l'Ag-111. L'attività nei diversi organi dei topi a cui è stato somministrato il composto è stata misurata a diversi tempi con tecniche di spettroscopia gamma.

# Indice

<b>1</b>	<b>Introduzione</b>	<b>IV</b>
1.1	Il progetto ISOLPHARM . . . . .	IV
1.1.1	Esperimento a Catania, Novembre 2021 . . . . .	V
1.2	Metodologia e strumentazione . . . . .	V
<b>2</b>	<b>Analisi Dati</b>	<b>VI</b>
2.1	Caratterizzazione del rivelatore . . . . .	VI
2.1.1	Calibrazione e risoluzione energetica . . . . .	VI
2.1.2	Curva di efficienza . . . . .	IX
2.2	Analisi dei campioni . . . . .	XII
<b>3</b>	<b>Conclusioni</b>	<b>XIX</b>
	<b>Bibliografia</b>	<b>XXI</b>

# Capitolo 1

## 1 Introduzione

### 1.1 Il progetto ISOLPHARM

L'obiettivo del progetto ISOLPHARM è quello di produrre radioisotopi di elevatissima purezza tramite la facility SPES, in costruzione ai Laboratori Nazionali di Legnaro. Tale progetto coinvolge varie branche di ricerca tra cui quelle in ambito chimico, fisico, biologico e farmaceutico. SPES (*Selective Production of Exotic Species*), poc'anzi menzionato, è una facility ISOL (*Isotope Separation On Line*), dedicata allo studio dei nuclei esotici<sup>1</sup> e ad applicazioni con fasci radioattivi. Per quanto concerne il suo funzionamento, SPES sfrutta un ciclotrone con cui si accelera un fascio intenso di protoni di bassa energia dai quali si ottengono, tramite fissione, i radionuclidi di interesse, poi estratti e ionizzati. Gli ioni prodotti vengono poi accelerati andando a costituire il *Radioactive Ion Beam*, un fascio di nuclei instabili, da cui si ricava un fascio isobarico tramite un separatore elettromagnetico di massa. Gli ioni prodotti sono poi raccolti sfruttando la collisione del fascio con un apposito bersaglio (*ion collector*), il quale, grazie ad un successivo processo di separazione chimica, viene poi dissolto e purificato permettendo di selezionare solo l'isotopo di interesse. Lo schema seguente riassume i passaggi poc'anzi presentati:

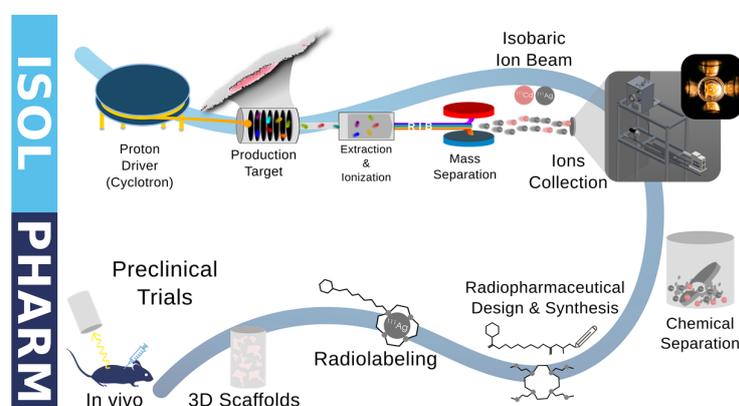


Figura 1: Schema del metodo ISOLPHARM.

I vantaggi della tecnica descritta sono molteplici, e tra di essi troviamo, oltre alla possibilità di produrre radioisotopi selezionati altamente puri, il fatto che SPES consenta di ottenere fasci di ioni ricchi di neutroni e dunque fortemente instabili, difficili da ottenere con tecniche meno evolute, insieme alla minor produzione di scorie da smaltire rispetto alla produzione in un reattore, grazie alla minor quantità di materiale fissile richiesta per la produzione del target.

<sup>1</sup>Nuclei caratterizzati da un forte sbilanciamento tra numero di protoni e numeri di neutroni .

### 1.1.1 Esperimento a Catania, Novembre 2021

Tra le varietà di metalli di transizione rilevanti dal punto di vista medico, il rame suscita grande interesse nella comunità della medicina nucleare, in quanto possiede un'interessante combinazione di isotopi ideali sia per applicazioni diagnostiche che terapeutiche, cioè teranostiche. L'approccio teranostico rappresenta una strategia molto promettente, in grado di prevedere se un paziente trarrà beneficio dalla terapia evitando così trattamenti non necessari o inefficaci. In particolare il  $^{64}\text{Cu}$  ( $T_{1/2}=12,7$  ore) possiede un raro profilo di emissione che combina  $\beta+$ ,  $\beta-$  ed emissioni di cattura di elettroni. Tuttavia il  $^{64}\text{Cu}$  mantiene un gran potenziale per applicazioni teranostiche quando viene accoppiato con l'emettitore  $\beta-$  puro  $^{67}\text{Cu}$  ( $T_{1/2} = 61,9$  ore).

In questo caso, per lo studio in vivo, sono stati utilizzati nove topi "nudi" BALB/c femmine di sei settimane che sono stati divisi in tre gruppi. Dopodichè, ai topi sono stati somministrati 7-14 MBq di  $^{64}\text{Cu}$  in soluzione, mediante iniezione endovenosa caudale. La quantità esatta di radioattività iniettata è stata determinata utilizzando un calibratore di dose. I dati Micro PET/CT sono stati raccolti a 1, 4 e 24 ore dopo l'iniezione, utilizzando un Bruker Albira Si. Immediatamente dopo la scansione PET/CT i topi sono stati sottoposti a eutanasia, per lussazione cervicale, e gli organi e i tessuti di interesse sono stati raccolti e pesati. La radioattività associata agli organi è stata misurata utilizzando uno spettrometro  $\gamma$  basato su un LBC (*Lanthanum BromoChloride*) cilindrico, ovvero uno scintillatore inorganico, accoppiato a un tubo fotomoltiplicatore.

## 1.2 Metodologia e strumentazione

Per effettuare l'esperimento in laboratorio è stato utilizzato lo stesso scintillatore inorganico LBC cilindrico da 1×1 pollici accoppiato ad un PMT più performante rispetto a quello impiegato durante le misure di biodistribuzione, elaborate a Catania nel Novembre del 2021.

Inizialmente la presa dati si è concentrata sul confronto della risoluzione tra tre digitizer a disposizione, con caratteristiche leggermente diverse, ovvero:

- CAEN DT5720, con frequenza di campionamento 250 MHz e 12 bit di risoluzione verticale;
- CAEN DT5725, con frequenza di campionamento 250 MHz e 14 bit di risoluzione verticale (usato anche a Catania);
- CAEN DT5751, con frequenza di campionamento di 1 GHz e 10 bit di risoluzione verticale.

Per tale confronto è stato acquisito lo spettro delle sorgenti di  $^{137}\text{Cs}$  e  $^{22}\text{Na}$  variando il long gate (la finestra di integrazione del segnale in samples) da 30 a 512 samples per i digitizer 5720 e 5725, mentre da 120 a 1024 samples per il digitizer 5751, per ottenere equivalenti finestre di integrazione. Inoltre le seguenti sorgenti sono state utilizzate anche per la calibrazione in energia dell'apparato strumentale.

Dopodichè, dopo aver notato la differenza nella risoluzione dei digitizer ai vari long gate, è stato scelto il DT5725 con long gate pari a 30 per elaborare lo spettro della sorgente di  $^{152}\text{Eu}$ . Quest'ultima è stata utilizzata per determinare la curva di efficienza dell'apparato, la quale è stata poi confrontata con la curva di efficienza della strumentazione usata a Catania.

## Capitolo 2

### 2 Analisi Dati

#### 2.1 Caratterizzazione del rivelatore

##### 2.1.1 Calibrazione e risoluzione energetica

Gli spettri di  $^{137}\text{Cs}$  e  $^{22}\text{Na}$  sono stati acquisiti in unità arbitrarie<sup>2</sup> [*a.u.*] di energia dall'apparato sperimentale, è quindi necessario procedere a ricalibrare tali misurazioni in *keV*, al fine di ottenere valori confrontabili con la letteratura<sup>3</sup>. Una volta plottato lo spettro di  $^{137}\text{Cs}$  e  $^{22}\text{Na}$ , si è eseguita un'interpolazione di tipo gaussiano più retta<sup>4</sup> attorno ai picchi d'emissione più visibili di ciascuna sorgente, annotando la posizione del centroide con relativo errore<sup>5</sup>. A questo punto si esegue un'interpolazione lineare ponendo in ascissa i valori dei centroidi in [*a.u.*] e in ordinata i valori noti delle energie di emissione dalla letteratura in *keV*; i parametri della retta interpolante forniranno un dizionario per trasformare nel proseguo le misurazioni dalle unità arbitrarie in *keV*.

Si riporta un esempio<sup>6</sup> di retta di calibrazione:

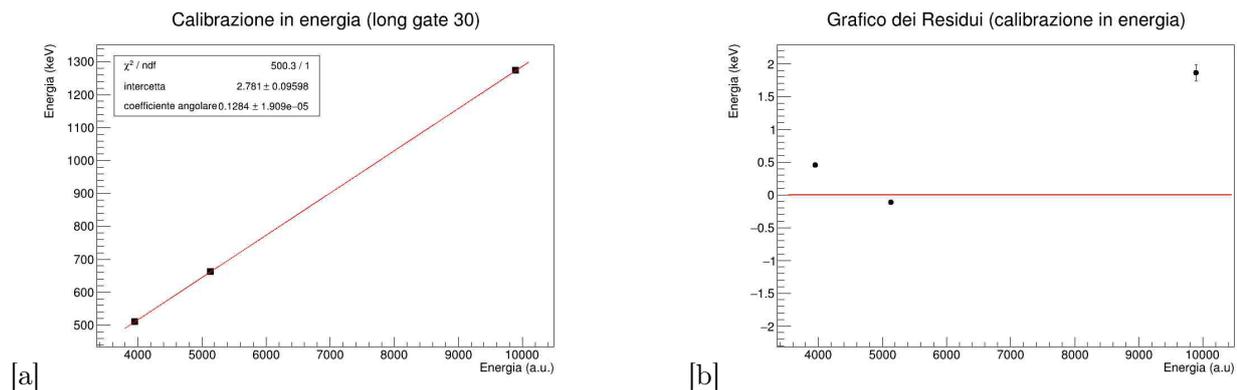


Figura 2: Calibrazione energetica con long gate 30.

<sup>2</sup>Dove con questa scrittura si intendono gli *adc counts* del rivelatore.

<sup>3</sup>Il valore noto delle energie di emissione del sodio e del cesio è consultabile ai link: [http://www.nucleide.org/DDEP\\_WG/Nuclides/Na-22\\_tables.pdf](http://www.nucleide.org/DDEP_WG/Nuclides/Na-22_tables.pdf), [http://www.nucleide.org/DDEP\\_WG/Nuclides/Cs-137\\_tables.pdf](http://www.nucleide.org/DDEP_WG/Nuclides/Cs-137_tables.pdf)

<sup>4</sup>Ciò per considerare anche l'eventuale componente di fondo che assumiamo in prima approssimazione lineare.

<sup>5</sup>Questa procedura è stata eseguita per ciascun digitizer e per ogni long gate considerato.

<sup>6</sup>La calibrazione energetica è stata effettuata per ogni digitizer e per ogni long gate.

Dai grafici sovrastanti si nota che i residui sono distribuiti abbastanza casualmente, nonostante ciò nessuno di essi rientra nel range con la propria barra d'errore e di conseguenza il valore del  $\chi^2$  è molto elevato. Tutto ciò è associabile alla presenza di errori sistematici nella procedura di fit dei picchi non considerati in questo contesto, in quanto non significativi rispetto all'obiettivo finale.

Per poter determinare la stima della risoluzione energetica del detector sono stati analizzati il picco a 511 keV del  $^{22}\text{Na}$  e l'unico picco del  $^{137}\text{Cs}$ . Sono stati eseguiti dei nuovi fit gaussiani più retta sui due picchi, in modo tale da ottenere dei nuovi centroidi espressi in keV e anche i valori relativi al parametro  $\sigma$ , il quale dipende dalla risoluzione del detector.

Un esempio del fit effettuato è il seguente<sup>7</sup>:

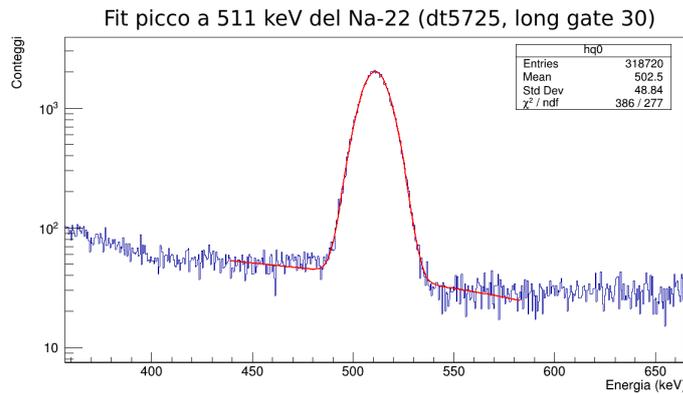


Figura 3: Esempio fit gaussiano+retta del picco a 511 keV del  $^{22}\text{Na}$ .

Infatti per poter stimare la risoluzione energetica del detector è stata applicata la seguente formula:

$$\mathcal{R} = \frac{\Delta E_\gamma}{E_\gamma} = \frac{FWHM_{peak}}{mean_{peak}} = \frac{\sqrt{8\log(2)}\sigma}{mean_{peak}}$$

in cui con  $FWHM$  si intende il valore della larghezza della gaussiana a metà altezza. Inoltre questa serie di uguaglianze risulta essere valida solo in assenza di offset, ovvero solo dopo aver ricalibrato l'asse  $x$  per mezzo della retta di calibrazione.

In seguito i valori della risoluzione per il  $^{22}\text{Na}$  e per il  $^{137}\text{Cs}$ , ottenuti nelle diverse circostanze, sono stati riportati all'interno di un unico grafico per effettuare un vero e proprio confronto tra i tre digitizer.<sup>8</sup>

<sup>7</sup>L'asse  $y$  è in scala logaritmica.

<sup>8</sup>Per quanto riguarda il digitizer 5751, il quale lavora ad una frequenza di 1 GHz, è stato necessario dividere ogni long gate per 4, così da poter fare un reale paragone con gli altri due.

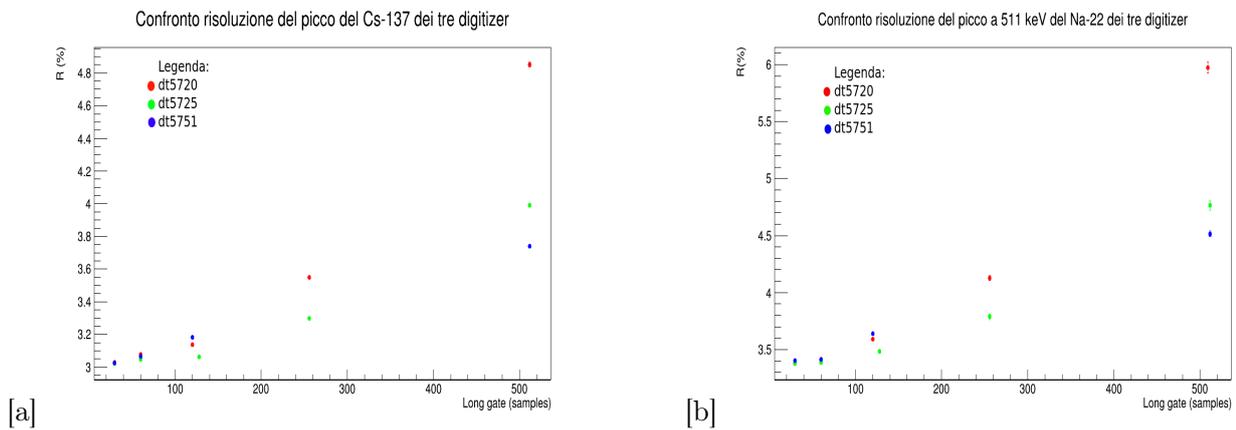


Figura 4: Confronto risoluzione dei tre digitizer per il  $^{22}\text{Na}$  e per il  $^{137}\text{Cs}$ .

La larghezza dei picchi dovuti alle emissioni  $\gamma$  dipende principalmente dalla risoluzione energetica dell'apparato, più il valore della risoluzione è piccolo più sarà stretta la relativa gaussiana, e di conseguenza le fluttuazioni intorno al valore noto del centroide saranno minori. Dai grafici sovrastanti si nota che la risoluzione del digitizer 5725 è più bassa per quasi tutti i long gate considerati. In particolare il valore del long gate realmente interessante è 30, poichè scegliendo valori più piccoli verrebbero tagliate parti fondamentali del segnale, mentre scegliendo valori più alti verrebbe considerato anche del rumore di fondo, il quale falserebbe le varie misure.

Per quest'ultimo motivo e per avvalorare la scelta del digitizer 5725, è stato effettuato uno zoom dei grafici precedenti nella zona in cui il long gate è pari a 30.

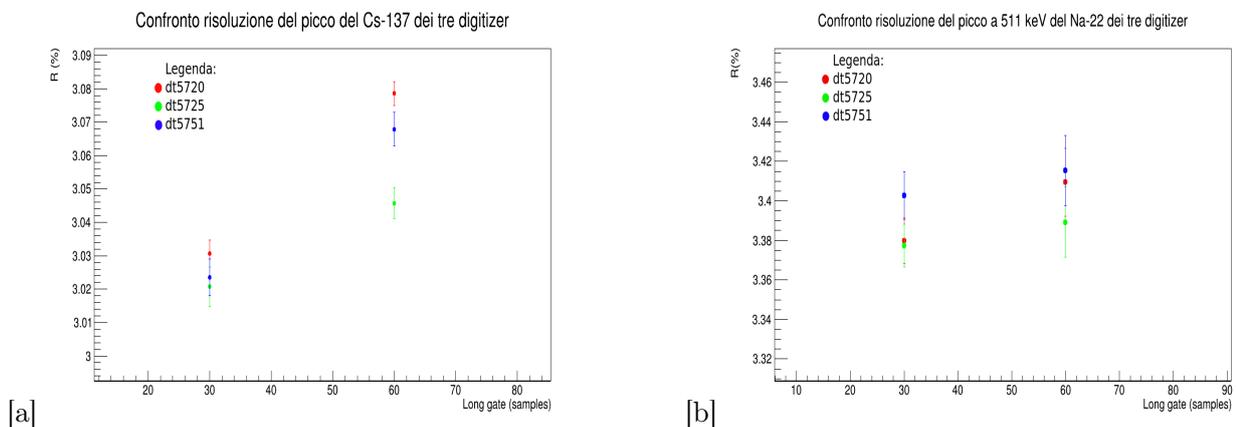


Figura 5: Zoom risoluzione dei tre digitizer per il  $^{22}\text{Na}$  e per il  $^{137}\text{Cs}$ .

Dai grafici sovrastanti si nota ulteriormente che il DT5725 presenta la migliore risoluzione e che la scelta del valore del long gate è confermata dal fatto che, per entrambe le sorgenti, la più buona risoluzione si ha proprio per il long gate pari a 30.

Inoltre il fotomoltiplicatore usato a Catania prevedeva una risoluzione del 3.6% del picco a 511 keV, mentre invece con quest'ultimo PMT usato, ovvero il super-bi-alkali, è stata migliorata la risoluzione di oltre un 15%.

## 2.1.2 Curva di efficienza

Per poter studiare la curva di efficienza della strumentazione è stato necessario analizzare lo spettro delle emissioni  $\gamma$  della sorgente di  $^{152}\text{Eu}$ , posizionando il rivelatore prima a 5 cm di distanza e poi a contatto con la sorgente stessa.<sup>9</sup>

Quindi, dopo aver acquisito un gran numero di eventi, così da avere una statistica abbastanza alta, sono stati elaborati i due grafici effettuando diversi fit gaussiani, combinati con una retta, per ogni picco visibile. I due spettri rivelati<sup>10</sup> sono i seguenti:

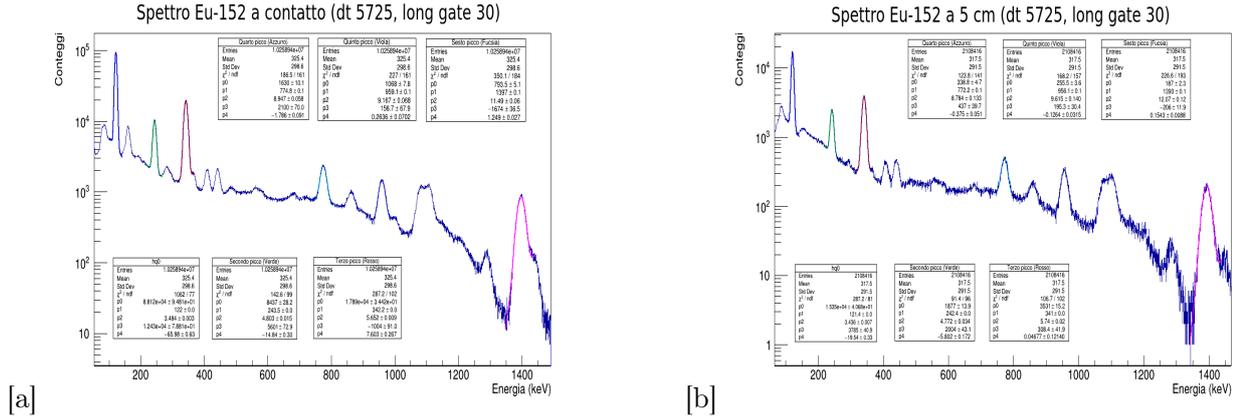


Figura 6: Spettro dell' $^{152}\text{Eu}$  rispettivamente a contatto e a 5 cm.

E' stato necessario effettuare dei fit gaussiani, combinati con una retta, per poter ottenere principalmente il valore dell'integrale per ogni picco visibile, a cui viene in seguito sottratto il numero dei conteggi dovuto al fondo, il quale si ipotizza lineare. Quest'ultimo procedimento è utile poichè l'efficienza assoluta, per una radiazione  $\gamma$  di energia  $E_\gamma$ , viene stimata nel modo seguente:

$$\epsilon_T = \frac{N}{AB_\gamma T}$$

in cui  $N$  è proprio l'integrale del picco sottratto il fondo<sup>11</sup>,  $B_\gamma$  è il branching ratio di quella determinata emissione,  $T$  è il tempo di collezionamento dei dati<sup>12</sup> e infine  $A$  è l'attività della sorgente al momento della misura.

E' noto che:

$$A(t) = A_0 \exp\left(-\frac{\ln(2)\Delta t}{T_{1/2}}\right) [Bq]$$

in cui  $A_0$  è il valore dell'attività della sorgente ad un certo  $t$  stabilito come valore iniziale, ed è dato dal fornitore della sorgente stessa,  $T_{1/2}$  è il tempo di dimezzamento della sorgente e infine  $\Delta t$  è il tempo trascorso dal momento in cui è stata prodotta la sorgente e il giorno in cui sono state effettuate le

<sup>9</sup>Non è stato possibile effettuare misure a maggiori distanze a causa della debole attività della sorgente di  $^{152}\text{Eu}$ .

<sup>10</sup>L'asse y è in scala logaritmica.

<sup>11</sup>L'integrale è stato calcolato in un intervallo simmetrico rispetto al centroide e largo  $3\sigma$ .

<sup>12</sup>E' stato scelto come relativo errore la sensibilità della misura stessa.

misure (08/06/2022).

Questo parametro  $\varepsilon_T$  consente essenzialmente di quantificare il rapporto tra il numero di  $\gamma$  rivelati dal detector nel fotopicco ed il numero di  $\gamma$  emessi dalla sorgente.

Qui di seguito vengono presentati i valori di  $\varepsilon_T$  ottenuti in entrambe le circostanze:

$^{152}\text{Eu}$ a contatto		
Attività (kBq)	Tempo di collezionamento (s)	
$82.5 \pm 1.2$	$829.656 \pm 0.001$	
Braching ratio (%)	Integrale (kcounts)	$\varepsilon_T$
$28.41 \pm 0.13$	$1494.1 \pm 1.2$	$0.0768 \pm 0.0012$
$7.55 \pm 0.04$	$196.4 \pm 0.4$	$0.0380 \pm 0.0006$
$26.59 \pm 0.12$	$490.3 \pm 0.7$	$0.0269 \pm 0.0004$
$12.97 \pm 0.06$	$70.7 \pm 0.3$	$0.00797 \pm 0.00013$
$14.50 \pm 0.06$	$47.5 \pm 0.2$	$0.00479 \pm 0.00007$
$20.85 \pm 0.08$	$44.4 \pm 0.2$	$0.00311 \pm 0.00005$

Tabella 1: Stima dell'  $\varepsilon_T$  per l' $^{152}\text{Eu}$  a contatto con il rivelatore .

$^{152}\text{Eu}$ a 5 cm		
Attività (kBq)	Tempo di collezionamento (s)	
$82.5 \pm 1.2$	$1541.12 \pm 0.01$	
Braching ratio (%)	Integrale (kcounts)	$\varepsilon_T$
$28.41 \pm 0.13$	$257.1 \pm 0.5$	$0.00712 \pm 0.00011$
$7.55 \pm 0.04$	$43.4 \pm 0.2$	$0.00452 \pm 0.00008$
$26.59 \pm 0.12$	$99.6 \pm 0.3$	$0.00295 \pm 0.00005$
$12.97 \pm 0.06$	$14.50 \pm 0.12$	$0.000879 \pm 0.000016$
$14.50 \pm 0.06$	$11.72 \pm 0.11$	$0.000636 \pm 0.000012$
$20.85 \pm 0.08$	$11.02 \pm 0.11$	$0.000416 \pm 0.000008$

Tabella 2: Stima dell'  $\varepsilon_T$  per l' $^{152}\text{Eu}$  a 5 cm dal rivelatore .

La funzione di fit attesa per la curva di efficienza ha la seguente espressione:

$$\varepsilon_T = a_1[\exp(-a_2 E^{a_3}) + \exp(a_4 E^{a_5})] \cdot (1 - \exp(a_6 E^{a_7}))$$

Si nota facilmente che il fit dipende da sette parametri, mentre invece i picchi identificati per lo spettro dell' $^{152}\text{Eu}$  sono solo sei. Pertanto è stato necessario utilizzare una funzione con una forma più semplice, la quale rappresentasse ugualmente la curva di efficienza nel modo più giusto nella regione di interesse

(300 – 600 keV). Per tale motivo è stata usata la seguente formula, ovvero un'esponenziale combinato con una retta:

$$\mathcal{E}_T = \exp(a_1 + a_2x) + a_3 + a_4x$$

I grafici elaborati, con i relativi residui, sono i seguenti:

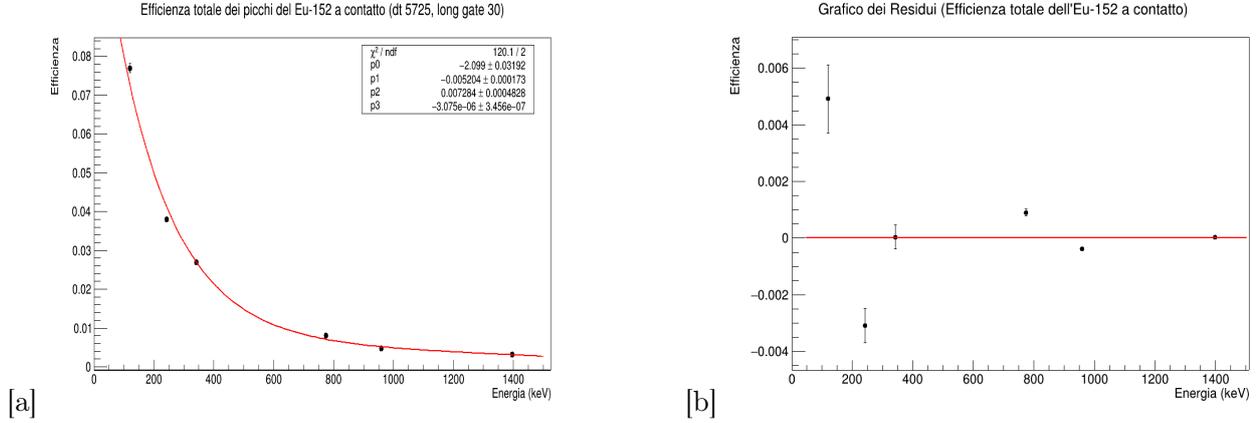


Figura 7: Curva di efficienza per l' $^{152}\text{Eu}$  a contatto.

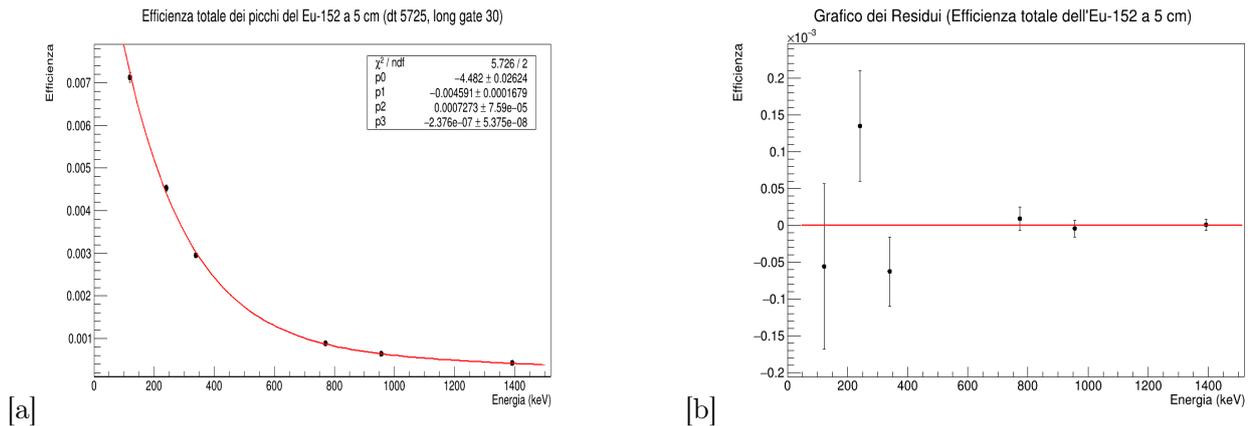


Figura 8: Curva di efficienza per l' $^{152}\text{Eu}$  a 5 cm.

In entrambe le circostanze i residui sono distribuiti abbastanza casualmente anche se alcuni punti non passano per lo zero, ciò forse è dovuto alle barre d'errore molto piccole. Quest'ultimo fattore, insieme all'esiguo numero di punti, si ripercuote anche sull'elevato valore del  $\chi^2$  nel caso in cui la sorgente di  $^{152}\text{Eu}$  è a contatto con il rivelatore. Invece nel secondo caso il valore del  $\chi^2$  è nettamente migliore. Si conclude quindi che il fit funziona abbastanza bene.

L'obiettivo di quest'ultima analisi dovrebbe essere il confronto con il valore dell'efficienza calcolato durante l'esperimento svolto a Catania. Tuttavia si tratta in realtà di un confronto molto approssimativo, poichè la strumentazione utilizzata nelle due circostanze presenta delle diversità, e inoltre l'analisi eseguita a Catania si basa sullo studio del picco a 511 keV del  $^{64}\text{Cu}$ . Quindi sarebbe opportuno avere a disposizione un valore di  $\varepsilon_T$  intorno ai 511 keV, il quale non può essere estratto direttamente dallo spettro dell' $^{152}\text{Eu}$ ; pertanto è stato necessario utilizzare il fit elaborato per la curva di efficienza nel

caso del rivelatore messo a contatto con la sorgente. Così facendo si ottiene che, a  $511 \text{ keV}$ , il valore è  $\varepsilon_T = 0.0143 \pm 0.0010$ .

In conclusione l'efficienza calcolata per l'esperimento eseguito a Catania è  $\varepsilon_T = 0.0293$ <sup>13</sup> ed è evidente che i due valori sono abbastanza differenti, e ciò è stato causato probabilmente dalla diversa geometria con cui è stato effettuato l'esperimento.

## 2.2 Analisi dei campioni

Per lo studio in vivo è stato iniettato del  $^{64}\text{Cu}$  in soluzione in nove topi divisi in tre gruppi. Dopodichè, per mezzo di uno spettrometro  $\gamma$ , sono state effettuate delle misure di biodistribuzione su vari organi dei topi posti in delle provette, in tre slot orari differenti per monitorare l'andamento dell'attività radioattiva. I topi 1, 2 e 3 sono stati esaminati dopo 1 ora dall'iniezione, i topi 4, 5 e 6 dopo 4 ore e infine i topi 7, 8 e 9 dopo 24 ore. Per poter ottenere il valore dell'attività radioattiva nei vari organi, è stato necessario estrapolare il numero dei conteggi del picco a  $511 \text{ keV}$  del  $^{64}\text{Cu}$  per ogni file di misura. Anche in questo caso è stato utile fare un fit gaussiano combinato con una retta per poter eliminare la parte relativa al fondo, il quale si assume sempre lineare. Qui di seguito si riporta un'esempio del procedimento<sup>14</sup> svolto per ogni acquisizione effettuata:

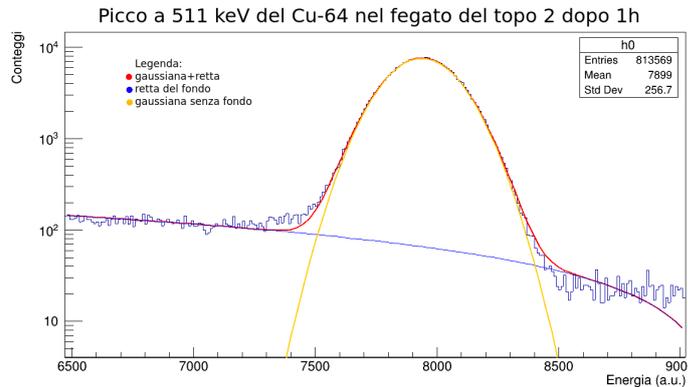


Figura 9: Procedimento per estrapolare il valore dell'integrale relativo al picco a  $511 \text{ keV}$  del  $^{64}\text{Cu}$ .

Dopo aver eseguito tale analisi per ogni organo esaminato e per ciascuno dei nove topi, è stato possibile calcolare l'attività radioattiva invertendo la formula vista precedentemente per determinare l'efficienza totale:

$$\mathcal{A} = \frac{N}{\varepsilon_T B_\gamma T}$$

in cui per  $\varepsilon_T$  sono stati utilizzati due valori differenti, calcolati entrambi per mezzo di un programma. E' stato usato un ulteriore valore per l'efficienza poichè qualche misura  $\gamma$  è stata effettuata in circostanze diverse. Infatti alcuni degli organi esaminati tendevano a porsi in fondo alla provetta e perciò è stato

<sup>13</sup>L'errore associato si considera trascurabile, poichè il valore di  $\varepsilon_T$  è stato calcolato per mezzo di un programma.

<sup>14</sup>Non è stato necessario eseguire una calibrazione energetica, poichè ciò che interessa è il valore dell'integrale del picco. In particolare l'asse  $y$  è in scala logaritmica.

usato un distanziatore in plastica per appoggiare la provetta e per allineare l'organo con il detector.

I risultati ottenuti<sup>15</sup> sono i seguenti<sup>16</sup>:

<b>Topo 1</b>				
<b>Zona</b>	<b>Integrale (kcounts)</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Efficienza</b>	<b>Attività (kBq)</b>
Sangue (distanziatore)	$23.59 \pm 0.15$	122	0.0268	$20.6 \pm 0.2$
Osso	$21.61 \pm 0.15$	237	0.0293	$8.89 \pm 0.10$
Rene (distanziatore)	$249.7 \pm 0.5$	83	0.0268	$320 \pm 3$
Fegato (distanziatore)	$850.1 \pm 0.9$	77	0.0268	$1176 \pm 10$
Polmone (distanziatore)	$937.6 \pm 1.0$	103	0.0268	$969 \pm 8$
Polmone (formalina)	$20.81 \pm 0.14$	64	0.0293	$317.1 \pm 0.3$
Muscolo (distanziatore)	$50.1 \pm 0.2$	199	0.0268	$26.8 \pm 0.3$
Pancreas (distanziatore)	$38.1 \pm 0.2$	147	0.0268	$27.6 \pm 0.3$
Milza (distanziatore)	$44.6 \pm 0.2$	330	0.0268	$14.40 \pm 0.14$

Tabella 3: Misure di biodistribuzione per il topo 1.

<b>Topo 2</b>				
<b>Zona</b>	<b>Integrale (kcounts)</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Efficienza</b>	<b>Attività (kBq)</b>
Sangue (distanziatore)	$17.94 \pm 0.13$	305	0.0268	$6.26 \pm 0.07$
Osso (distanziatore)	$15.65 \pm 0.13$	333	0.0268	$5.00 \pm 0.06$
Cervello (distanziatore)	$12.74 \pm 0.11$	423	0.0268	$3.21 \pm 0.04$
Cuore (distanziatore)	$20.23 \pm 0.14$	199	0.0268	$10.82 \pm 0.12$
Rene (centrato)	$129.8 \pm 0.4$	61	0.0293	$207.6 \pm 1.8$
Fegato (distanziatore)	$271.8 \pm 0.5$	58	0.0268	$499 \pm 4$
Polmone (distanziatore)	$50.4 \pm 0.2$	186	0.0268	$28.9 \pm 0.3$
Muscolo (distanziatore)	$18.49 \pm 0.14$	372	0.0268	$5.29 \pm 0.06$
Pancreas (distanziatore)	$19.87 \pm 0.14$	163	0.0268	$12.98 \pm 0.14$
Milza (distanziatore)	$16.47 \pm 0.13$	138	0.0268	$12.71 \pm 0.15$

Tabella 4: Misure di biodistribuzione per il topo 2.

<sup>15</sup>Con il termine "centrato" si intende che l'organo si trovava al centro della provetta durante la misura.

<sup>16</sup>In tabella non è riportato il valore di  $B_\gamma = (35.04 \pm 0.03)\%$  poiché è il medesimo per ogni attività calcolata.

<b>Topo 3</b>				
<b>Zona</b>	<b>Integrale (kcounts)</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Efficienza</b>	<b>Attività (kBq)</b>
Osso (distanziatore)	$32.44 \pm 0.18$	388	0.0268	$8.90 \pm 0.09$
Cervello (distanziatore)	$10.48 \pm 0.10$	834	0.0268	$1.338 \pm 0.017$
Cuore (distanziatore)	$37.06 \pm 0.19$	279	0.0268	$14.14 \pm 0.14$
Rene (distanziatore)	$1002.5 \pm 1.0$	335	0.0268	$319 \pm 3$
Fegato	$542.4 \pm 0.7$	61	0.0293	$867 \pm 8$
Polmone (distanziatore)	$26.42 \pm 0.16$	90	0.0268	$31.3 \pm 0.3$
Muscolo (distanziatore)	$16.67 \pm 0.13$	179	0.0268	$9.92 \pm 0.11$
Pancreas (distanziatore)	$23.26 \pm 0.15$	70	0.0268	$35.4 \pm 0.4$
Milza (distanziatore)	$20.95 \pm 0.15$	189	0.0268	$11.80 \pm 0.13$

Tabella 5: Misure di biodistribuzione per il topo 3.

<b>Topo 4</b>				
<b>Zona</b>	<b>Integrale (kcounts)</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Efficienza</b>	<b>Attività (kBq)</b>
Sangue (distanziatore)	$20.47 \pm 0.14$	102	0.0268	$21.37 \pm 0.18$
Osso (distanziatore)	$5.10 \pm 0.07$	785	0.0268	$0.692 \pm 0.006$
Cervello (distanziatore)	$11.07 \pm 0.11$	260	0.0268	$4.53 \pm 0.04$
Cuore (distanziatore)	$30.20 \pm 0.17$	131	0.0268	$24.6 \pm 0.2$
Rene (centrato)	$74.2 \pm 0.3$	32	0.0293	$226 \pm 2$
Fegato (distanziatore)	$763.3 \pm 0.9$	74	0.0268	$1098 \pm 9$
Polmone (distanziatore)	$48.3 \pm 0.2$	67	0.0268	$76.7 \pm 0.7$
Muscolo (distanziatore)	$13.76 \pm 0.12$	391	0.0268	$3.75 \pm 0.05$
Pancreas (distanziatore)	$465.2 \pm 0.7$	513	0.0268	$96.6 \pm 0.8$
Milza (distanziatore)	$46.8 \pm 0.2$	170	0.0268	$29.3 \pm 0.3$

Tabella 6: Misure di biodistribuzione per il topo 4.

<b>Topo 5</b>				
<b>Zona</b>	<b>Integrale (kcounts)</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Efficienza</b>	<b>Attività (kBq)</b>
Sangue (distanziatore)	$55.2 \pm 0.2$	241	0.0268	$24.4 \pm 0.2$
Osso (centrato)	$92.5 \pm 0.3$	808	0.0293	$11.16 \pm 0.10$
Cervello (distanziatore)	$15.67 \pm 0.13$	375	0.0268	$4.45 \pm 0.05$
Cuore (distanziatore)	$20.62 \pm 0.14$	266	0.0268	$8.25 \pm 0.09$
Rene (distanziatore)	$107.4 \pm 0.3$	67	0.0268	$170.7 \pm 1.6$
Fegato	$358.5 \pm 0.6$	45	0.0293	$777 \pm 7$
Polmone (centrato)	$55.5 \pm 0.2$	102	0.0293	$53.1 \pm 0.5$
Muscolo (centrato)	$18.60 \pm 0.14$	179	0.0293	$10.14 \pm 0.11$
Pancreas (distanziatore)	$27.08 \pm 0.16$	138	0.0268	$20.9 \pm 0.2$
Milza (distanziatore)	$71.8 \pm 0.3$	549	0.0268	$13.93 \pm 0.13$

Tabella 7: Misure di biodistribuzione per il topo 5.

<b>Topo 6</b>				
<b>Zona</b>	<b>Integrale (kcounts)</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Efficienza</b>	<b>Attività (kBq)</b>
Sangue (distanziatore)	$1.86 \pm 0.14$	147	0.0268	$13.42 \pm 0.15$
Osso (distanziatore)	$8.08 \pm 0.09$	471	0.0268	$1.83 \pm 0.03$
Cervello (distanziatore)	$10.29 \pm 0.10$	1065	0.0268	$1.029 \pm 0.013$
Cuore (distanziatore)	$22.38 \pm 0.15$	170	0.0268	$14.02 \pm 0.15$
Rene (distanziatore)	$172.9 \pm 0.4$	141	0.0268	$130.6 \pm 1.2$
Fegato (distanziatore)	$175.3 \pm 0.4$	35	0.0268	$533 \pm 5$
Polmone (distanziatore)	$26.73 \pm 0.16$	77	0.0268	$37.0 \pm 0.4$
Muscolo (distanziatore)	$7.02 \pm 0.08$	519	0.0268	$1.44 \pm 0.02$
Pancreas (distanziatore)	$17.31 \pm 0.13$	157	0.0268	$11.74 \pm 0.13$
Milza (distanziatore)	$21.90 \pm 0.15$	1541	0.0268	$16.54 \pm 0.18$

Tabella 8: Misure di biodistribuzione per il topo 6.

<b>Topo 7</b>				
<b>Zona</b>	<b>Integrale (kcounts)</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Efficienza</b>	<b>Attività (kBq)</b>
Sangue (distanziatore)	$22.15 \pm 0.15$	231	0.0268	$10.21 \pm 0.11$
Osso (distanziatore)	$20.21 \pm 0.14$	356	0.0268	$6.05 \pm 0.07$
Cervello (distanziatore)	$20.18 \pm 0.14$	260	0.0268	$8.26 \pm 0.09$
Cuore (distanziatore)	$25.29 \pm 0.16$	163	0.0268	$16.52 \pm 0.18$
Rene (distanziatore)	$76.0 \pm 0.3$	67	0.0268	$120.8 \pm 1.1$
Fegato	$292.0 \pm 0.5$	51	0.0293	$558 \pm 5$
Polmone (distanziatore)	$26.52 \pm 0.16$	67	0.0268	$42.2 \pm 0.4$
Muscolo (distanziatore)	$22.10 \pm 0.15$	266	0.0268	$8.85 \pm 0.10$
Pancreas	$24.37 \pm 0.16$	112	0.0293	$21.2 \pm 0.2$
Milza (distanziatore)	$29.07 \pm 0.17$	183	0.0268	$16.92 \pm 0.18$

Tabella 9: Misure di biodistribuzione per il topo 7.

<b>Topo 8</b>				
<b>Zona</b>	<b>Integrale (kcounts)</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Efficienza</b>	<b>Attività (kBq)</b>
Sangue (distanziatore)	$22.13 \pm 0.15$	321	0.0268	$7.34 \pm 0.08$
Osso (centrato)	$20.61 \pm 0.14$	337	0.0293	$5.97 \pm 0.07$
Cervello (distanziatore)	$18.10 \pm 0.14$	510	0.0268	$3.78 \pm 0.04$
Cute sana (distanziatore)	$19.67 \pm 0.14$	276	0.0268	$7.59 \pm 0.08$
Cute ulcerata (centrato)	$21.50 \pm 0.15$	83	0.0293	$25.3 \pm 0.3$
Cuore (distanziatore)	$21.32 \pm 0.15$	176	0.0268	$12.90 \pm 0.14$
Rene (distanziatore)	$28.04 \pm 0.17$	35	0.0268	$85.3 \pm 0.9$
Fegato	$128.9 \pm 0.4$	32	0.0293	$393 \pm 4$
Polmone (distanziatore)	$22.97 \pm 0.15$	90	0.0268	$27.2 \pm 0.3$
Muscolo (distanziatore)	$20.301 \pm 0.14$	401	0.0268	$5.39 \pm 0.06$
Pancreas (distanziatore)	$21.68 \pm 0.15$	212	0.0268	$10.89 \pm 0.12$
Milza (distanziatore)	$21.25 \pm 0.15$	244	0.0268	$9.27 \pm 0.10$

Tabella 10: Misure di biodistribuzione per il topo 8.

<b>Topo 9</b>				
<b>Zona</b>	<b>Integrale (kcounts)</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Efficienza</b>	<b>Attività (kBq)</b>
Sangue (distanziatore)	$20.75 \pm 0.14$	147	0.0268	$15.03 \pm 0.17$
Osso	$19.89 \pm 0.14$	417	0.0293	$4.65 \pm 0.05$
Cervello (distanziatore)	$18.87 \pm 0.14$	423	0.0268	$4.75 \pm 0.05$
Cute sana	$21.79 \pm 0.15$	119	0.0293	$17.9 \pm 0.2$
Cuore (distanziatore)	$20.19 \pm 0.14$	163	0.0268	$13.19 \pm 0.15$
Rene (centrato)	$42.9 \pm 0.2$	35	0.0293	$119.6 \pm 1.2$
Fegato	$139.9 \pm 0.4$	29	0.0293	$470 \pm 4$
Polmone (centrato)	$235.8 \pm 0.5$	61	0.0293	$377 \pm 3$
Muscolo (centrato)	$20.84 \pm 0.14$	273	0.0293	$7.45 \pm 0.08$
Pancreas (centrato)	$24.18 \pm 0.16$	189	0.0293	$12.48 \pm 0.13$
Milza (distanziatore)	$21.78 \pm 0.15$	173	0.0268	$13.40 \pm 0.15$

Tabella 11: Misure di biodistribuzione per il topo 9.

Le tabelle sovrastanti evidenziano che in seguito all'iniezione di  $^{64}\text{Cu}$ , la sua attività si intensifica principalmente in alcuni organi, e ciò si nota ancor di più osservandone l'andamento al variare del tempo trascorso.

Nei topi 1, 2 e 3 l'attività si concentra soprattutto nel fegato, nei reni e anche nei polmoni. Prendendo in considerazione anche i topi relativi ai successivi slot orari si osserva una situazione simile per fegato e reni, mentre per i polmoni l'attività è un po' meno intensa. Inoltre persino il pancreas e la milza assorbono una buona parte della radioattività iniettata, anche se in ciascun topo gli organi che primeggiano rimangono il fegato e in seguito i reni e i polmoni. Per poter riassumere tutti i dati relativi alle misure di biodistribuzione nelle tabelle sovrastanti, è stato molto utile elaborare una sorta di grafico riassuntivo, in cui viene mostrato un confronto della frazione dell'attività iniziale depositata in un certo organo per unità di massa, nei tre slot orari differenti <sup>17</sup>.

---

<sup>17</sup>Pertanto dopo aver ottenuto la frazione di attività iniziale per unità di massa è stato necessario effettuare una media tra i tre topi (appartenenti allo stesso slot orario) per ogni organo considerato.

Il grafico ottenuto è il seguente:

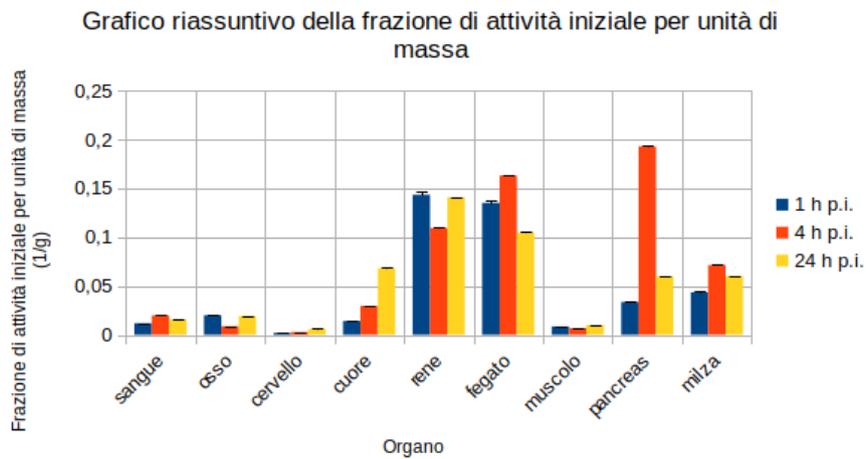


Figura 10: Misure di biodistribuzione nei topi a 1, 4 e 24 ore dopo l'iniezione.

In conclusione si può notare che il grafico rispecchia abbastanza i risultati ottenuti per mezzo delle misure  $\gamma$ . Tuttavia è stato necessario omettere i valori riguardanti l'analisi del polmone, poichè sono emersi dei dati contrastanti e quest'ultima difficoltà è stata riscontrata anche nel caso del pancreas. Infatti tali fluttuazioni anomale potranno essere approfondite solo per mezzo di ulteriori indagini future.

# Capitolo 3

## 3 Conclusioni

Nella sezione 2.1, tramite la caratterizzazione del rivelatore, si conclude che per ciò che concerne la risoluzione energetica la scelta migliore è l'utilizzo del digitizer DT5725, impostando un long gate pari a 30 in modo tale da osservare la parte fondamentale di ogni segnale raccolto. Inoltre si ricorda che il fotomoltiplicatore usato in laboratorio migliora la risoluzione del picco a 511 *keV* del  $^{22}\text{Na}$  al %15, rispetto a quello di Catania che prevedeva una risoluzione del 3.6%. Dopodichè dalla curva di efficienza, anche se non è stato possibile mappare la zona a bassa energia, si evince che l'apparato strumentale usato in laboratorio ha un'efficienza non confrontabile a quella relativa alla strumentazione di Catania, a causa della diversa geometria degli esperimenti.

Nella sezione 2.2, per mezzo delle misure di biodistribuzione effettuate sui 9 topi a distanza di diverse ore, si verifica che l'iniezione in soluzione del  $^{64}\text{Cu}$  causa un'intensa attività radioattiva in determinati organi come il fegato, i reni e in seguito i polmoni, il pancreas e la milza. Per verificare ulteriormente la veridicità dei valori ottenuti per mezzo delle misure  $\gamma$ , sarebbe stato utile analizzare le immagini PET acquisite durante l'esperimento svolto a Catania. Per poter elaborare queste immagini viene utilizzato uno script python che permette di creare un grafico bidimensionale del corpo del topo in cui, facendo variare il range delle x e delle y, è possibile individuare rispettivamente delle sezioni trasversali o orizzontali così da isolare gli organi scelti. Dal grafico che viene generato si può notare immediatamente dove l'attività del  $^{64}\text{Cu}$  è più intensa in base alla sua luminosità, anche se si tratta in ogni caso di una prima analisi approssimativa.

Qui di seguito vengono proposti alcuni esempi<sup>18</sup>:

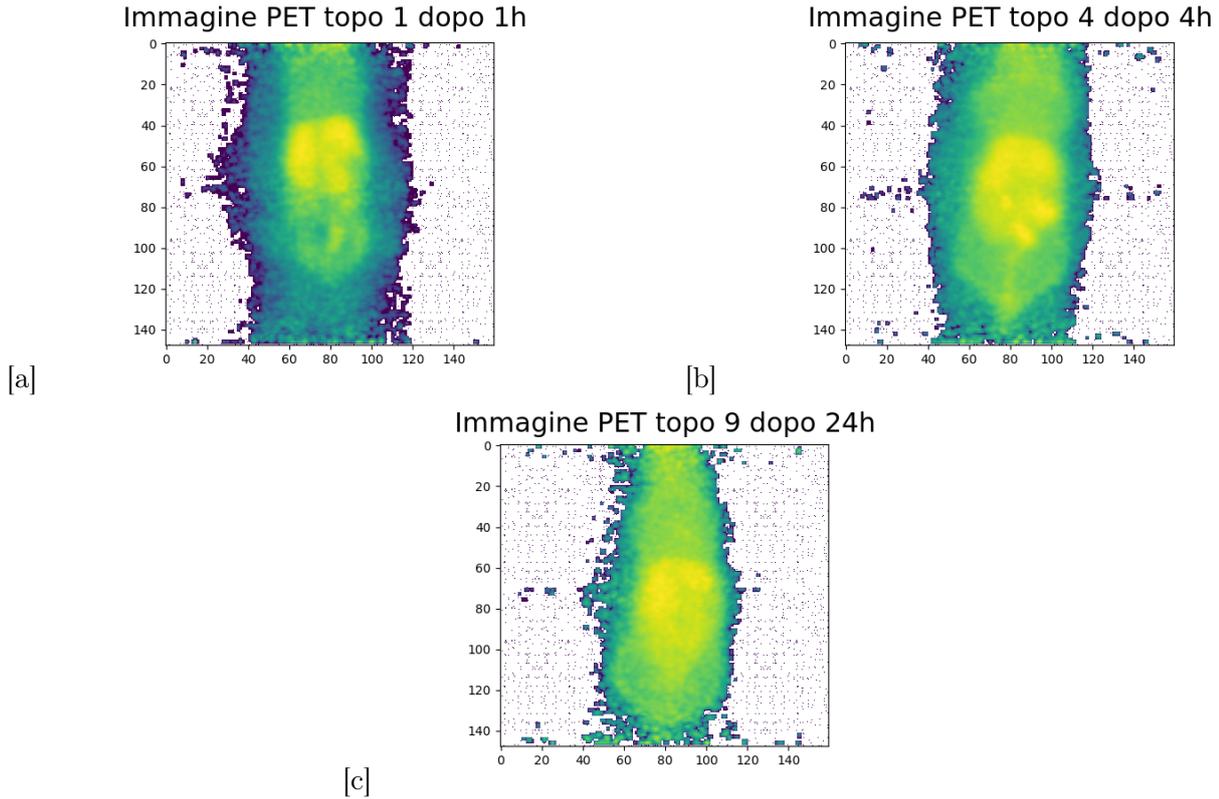


Figura 11: Esempi di immagini PET dei topi 1, 4 e 9.

In verità il miglior modo per poter fare un confronto tra le misure  $\gamma$  e le immagini PET sarebbe stato calcolare il valore dell'integrale relativo a ciascun organo significativo, partendo dall'immagini PET. Tuttavia osservando gli esempi sovrastanti si comprende che è alquanto difficoltoso distinguere le forme dei vari organi nella sezione centrale (in particolare ciò è evidente nel topo 9) e inoltre sarebbero necessarie ulteriori informazioni specifiche. Pertanto, per evitare di proporre dei risultati falsati, è stato possibile fare unicamente un'analisi dal punto di vista qualitativo. Quindi, dalle immagini PET, si può osservare il modo in cui procede l'assorbimento della radioattività. Dopo 1 ora dall'iniezione la luminosità si concentra principalmente su fegato, polmoni e reni. Dopo 4 ore l'attività è sempre più intensa negli organi citati, ma si nota una luminosità più generalizzata in tutta la zona circostante e ciò è ancora più accentuato dopo 24 ore. Si ipotizza che quest'ultima condizione sia dovuta alla stabilizzazione della radioattività nel sangue dei topi, che infatti presenta un valore medio-alto.

<sup>18</sup>In particolare: l'immagine PET del topo 1 è una sezione orizzontale con  $y \in [85, 100]$ ; l'immagine PET del topo 4 è una sezione orizzontale con  $y \in [95, 107]$  e infine l'immagine PET del topo 9 è una sezione orizzontale con  $y \in [95, 105]$ . In particolare l'asse delle x e delle y sono espresse in pixel.

## Bibliografia

- [1] MARIANNA TOSATO, MARCO VERONA, CHIARA FAVARETTO, MARCO POMETTI, GIORDANO ZANONI, FABRIZIO SCOPELLITI, FRANCESCO PAOLO CAMMARATA, LUCA MORSELLI, ZEYNEP TALIP, NICHOLAS P. VAN DER MEULEN, VALERI DI MARCO, MATTIA ASTI, 28 Giugno 2022, *Chelation of Theranostic Copper Radioisotopes with S-Rich Macrocycles: From Radiolabelling of Copper-64 to In Vivo Investigation*, molecules, URL: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/13/4158/htm>, 5 Ottobre 2022.