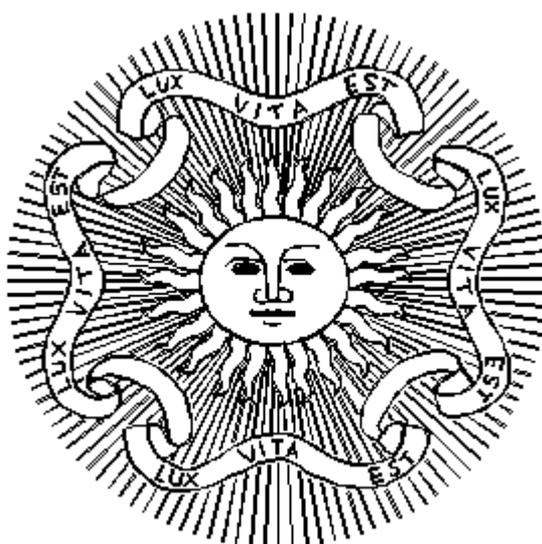




Consiglio Nazionale delle Ricerche

Dipartimento di Scienze e
Tecnologie Avanzate, Alessandria

Istituto di Biofisica
Pisa



Società Italiana di Fotobiologia

Sezione Nazionale della International Union for Photobiology

Congresso Annuale
Camera di Commercio
Alessandria, 22 – 24 Maggio 2003

Programma

Riassunti delle comunicazioni

Comitato Scientifico

Roberto Barbato

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Avanzate,
Università del Piemonte Orientale *Amedeo Avogadro*, Alessandria

Giovanni Bottioli

Istituto di Genetica Molecolare CNR, Sezione Istochimica e Citometria, Pavia

Sergio Caffieri

Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Padova

Gianfranco Canti

Dipartimento di Farmacologia, Università di Milano

Francesco Ghetti

Istituto di Biofisica CNR, Pisa

Marcella Guarrera

DISEM Sezione di Dermatologia, Università di Genova

Giuseppe Palumbo

Dipartimento di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare,
Università di Napoli *Federico II*

Antonella Sgarbossa

Istituto di Biofisica CNR, Pisa

Paola Taroni

Dipartimento di Fisica, Politecnico di Milano

Segreteria Scientifica

Antonella Sgarbossa

Istituto di Biofisica
Consiglio Nazionale delle Ricerche
Area della Ricerca di Pisa
Via G. Moruzzi 1, 56124 PISA

Tel: 050 3153021, Fax: 050 3152760, E-mail: antonella.sgarbossa@ib.pi.cnr.it

Segreteria Organizzativa

Flora Andreucci, Roberto Barbato, Donata Vigani

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Avanzate
Università del Piemonte Orientale *Amedeo Avogadro*
Corso Borsalino 54, I-15100 Alessandria
Tel: 0131 283858, Fax: 0131 254410, E-mail: rbarbato@ciclad.unipmn.it

Il Congresso è organizzato con il contributo di
Università del Piemonte Orientale Amedeo Avogadro
Associazione Territorio e Formazione, Provincia di Alessandria
Camera di Commercio di Alessandria

ed il patrocinio di
Università del Piemonte Orientale Amedeo Avogadro
Camera di Commercio di Alessandria
ESP, European Society for Photobiology

Programma

Giovedì 22 Maggio

14.00-15.00 **Registrazione e accoglienza**

15.00 **Apertura dei lavori**

Saluto ai partecipanti del Professor Fabio Gastaldi (Presidente della Facoltà di Scienze MFN dell'Università di Alessandria)

In memoria di Laura Polo: Consegna del Premio "Laura Polo" per una tesi di laurea di argomento fotobiologico

Simposio - Fotobiologia ambientale (I)

Chairperson: **F. Ghetti** (Pisa)

15.40 **D.-P. Häder** (Erlangen, Germany)

Effects of solar UV radiation on rice field ecosystems (*pag. 11*)

16.30 Coffee break

17.00 **E. Petrini**, L. Palombi, R. Pratesi, G. Agati, G. Cecchi, D. Lognoli, I. Mochi, V. Raimondi, L. Lazzara, F. Fusi, M. Abbate (Firenze)

Immagini tridimensionali in autofluorescenza di cellule fitoplanctoniche per il controllo ambientale (*pag. 12*)

17.15 **C. Bagnoli**, F. Ghetti, M. Cantonati, M. Tardio, D. Spitale (Pisa, Trento)

Ecofisiologia del dinoflagellato *Glenodinium sanguineum* (*pag. 13*)

17.30 **E. Lanzillotta**, C. Ceccarini, R. Ferrara, F. Dini (Pisa)

Stima dell'emissione in atmosfera del mercurio foto-prodotto nel Mar Mediterraneo (*pag. 14*)

Comunicazioni orali

Chairperson: **A.C. Croce** (Pavia)

17.45 G. Miolo, **S. Caffieri**, A. Ricci, E. Fasani, A. Albini (Padova; Pavia)

Fotostabilità e fototossicità del Fluocinolone acetone (*pag. 15*)

18.00 **C. Bastianon**, R. Zanoni, G. Miolo, S. Caffieri, E. Reddi (Padova)

Bersagli cellulari e meccanismi della citotossicità di fenotiazine (*pag. 16*)

18.15 **F. Bettio**, F. Baccichetti, C. Marzano, M. Simonato, F. Bordin (Padova)

Fotoinattivazione del batteriofago T4 con furocumarine ed omologhi (*pag. 17*)

18.30 **M. Iovino**, L. Varriale, N. Marino, A. Colasanti, G. Palumbo (Napoli)

Effetto combinato del cis Platino e dell'Azione Fotodinamica della radiazione Infrarossa/Verde indocianina su cellule di adenocarcinoma mammario umano (*pag. 18*)

Venerdì 23 Maggio

Chairperson: **E. Reddi** (Padova)

9.10 **M. Folini** (Milano)

Internalizzazione fotochimica (PCI): un nuovo sistema per la veicolazione intracellulare di macromolecole (*pag. 19*)

10.00 Coffee break

Comunicazioni orali

Chairperson: **G. Miolo** (Padova)

10.30 **P.G. Calzavara-Pinton**, M. Venturini, R. Sala, R. Capezzeria, C. Zane (Brescia)

Polipodium leucotomos versus NB-UVB: valutazione degli effetti fotoprotettivi (*pag. 20*)

10.45 **M. Venturini**, R. Sala, C. Seddio, R. Capezzeria, C. Zane, P.G. Calzavara-Pinton (Brescia)

Sclerodermia localizzata e CREST trattate con UVA1 (*pag. 21*)

11.00 **R. Capezzeria**, C. Zane, M. Venturini, A. Marchioni, G. Prandelli, L. Spiazzi, P.G. Calzavara-Pinton (Brescia)

Radiospettrofotometria di una Lampada UV per fototerapia (*pag. 22*)

11.15 **M. Ratto**, L. Turbino, M. Guarrera (Genova)

Determinazione della capacità antiossidante in pazienti con patologie dermatologiche (*pag. 23*)

11.30 **A. Tarozzi**, A. Marchesi, G. Cantelli Forti, P. Hrelia (Bologna)

Attività fotocitoprotettiva della cianidina 3-0- β glucopiranoside in cheratinociti umani in coltura (*pag. 24*)

11.45 **A.C. Croce**, C. Soldani, M.G. Bottone, A. Frascini, P. Pagliara, P. Mita, L. Dini, C. Pellicciari, G. Bottiroli (Pavia, Lecce)

Rosa bengala acetato come substrato fluorogenico: studio citochimico dei siti subcellulari di localizzazione e di fotodanno (*pag. 25*)

12.00 **S. Fiorani**, A.C. Croce, I. Freitas, V. Bertone, R. Bertone, A. Ferrigno, M.P. Vairetti, D. Neri, G. Bottiroli (Pavia, Padova)

Spettroscopia di autofluorescenza: monitoraggio delle condizioni metaboliche del fegato durante le fasi di trapianto (*pag. 26*)

13.00 **Colazione di lavoro**

Venerdì 23 Maggio

15.00-18.00 Tavola rotonda - Fotodiagnosi: applicazioni e prospettive

Moderatore: **G. Bottioli** (Pavia)

P. Taroni, G. Danesini, A. Pifferi, L. Spinelli, A. Torricelli, R. Cubeddu (Milano)
Studio clinico sulla mammografia ottica risolta nel tempo (*pag. 27*)

R. Marchesini (Milano)
Diagnosi di melanoma assistita a computer: c'è un futuro? (*pag. 28*)

G. Bottioli (Pavia)
L'autofluorescenza come parametro intrinseco di cellule e tessuti per fini diagnostici (*pag. 29*)

M. Monici, F. Fusi, R. Pratesi (Firenze)
Microscopia di autofluorescenza e tecniche di *multicolour imaging* bi- e tri-dimensionale nella valutazione diagnostica di cellule e tessuti (*pag. 30*)

P.G. Calzavara-Pinton (Brescia)
Fotodiagnostica con ALA in dermatologia

16.30 Coffee break

18.00 **Assemblea dei soci**

20.00 **Cena sociale**

Sabato 24 Maggio

Simposio - Fotobiologia ambientale (II)

Chairperson: **R. Barbato** (Alessandria)

9.10 **E.-M. Aro** (Turku, Finland)

Regulation of LHCII kinase activation, deactivation and inhibition: a possible link in chloroplast redox signalling

10.00 Coffee break

10.30 S. Rossini, **A.P. Casazza**, R. Barbato, C. Soave (Milano, Alessandria)

La ELIP1 di *A. thaliana* (espressione e possibile interazione con D1) (pag. 31)

10.45 V. Calderone, M. Trabucco, A. Vujičić, R. Battistutta, G.M. Giacometti, F. Andreucci, **R. Barbato**, G. Canotti (Alessandria, Padova)

Crystal structure of the PsbQ polypeptide of photosystem II from higher plants (pag. 32)

11.00 **C. Pagliano**, P. Dorlait, R. Barbato (Alessandria, Padova)

Effetti di Cadmio e Zinco sull'apparato fotosintetico di spinacio (pag. 33)

Comunicazioni orali

Chairperson: **F. Ricchelli** (Padova)

11.15 F. Ricchelli, **S. Secreti**, P. Nikolov, S. Gobbo, E. Reddi (Padova; Sofia, Bulgaria)

Distribution pattern and photosensitising properties of meso-substituted cationic porphyrins in mitochondria (pag. 34)

11.30 **M. Camerin**, S. Rello, A. Villanueva, M.A.J. Rodgers, E. Reddi, G. Jori (Padova; Madrid, Spain; Bowling Green, OH, USA)

Studi sul meccanismo d'azione di sensibilizzatori fototermici a livello cellulare (pag. 35)

11.45 **S. Ferro**, C. Fabris, M. Soncin, E. Friso, F. Giuntini, G. Jori, G. Roncucci, P. Colautti (Firenze, Padova)

Boroftalocianine: potenziali candidati come sensibilizzatori per una terapia combinata BNCT + PDT di tumori (pag. 36)

12.00 **M. Magaraggia**, G. Miotto, G. Tognon, S. Gobbo, G. Jori, A. Visonà, A. Pagnan, M. Della Barbera, A. Angelini (Padova)

Azione fotosensibilizzatrice di Zn(II)-ftalocianina su arterie di coniglio: studi di microscopia elettronica e di fluorescenza (pag. 37)

Riassunti delle comunicazioni

EFFECTS OF SOLAR UV RADIATION ON RICE FIELD ECOSYSTEMS

Donat-P. Häder

Friedrich-Alexander-Universität, Institut für Botanik und
Pharmazeutische Biologie, Staudtstr. 5, D-91058 Erlangen
E-mail: dphaeder@biologie.uni-erlangen.de

The high energetic, short-wavelength solar UV radiation exerts detrimental effects on many wild and agriculturally important plants including rice. UV affects growth, flowering, photosynthesis and other physiological parameters. However, the degree of damage depends on other climatic and meteorological factors as well as on the strain of rice. Cyanobacteria are major members in flooded rice field ecosystems. In contrast to all eukaryotic photosynthetic organisms, these prokaryotes are capable of fixing atmospheric nitrogen into a form which can be absorbed by higher plants. This metabolic pathway contributes a major share to the nitrogen supply. The free-living cyanobacteria, the majority of which are heterocystous and nitrogen-fixing, contribute on an average 20-30 kg N ha⁻¹. In tropical and subtropical rice growing regions, such as India, also the symbiotic complex of the water fern *Azolla* and the endophytic cyanobacterium *Anabaena* is used for N₂-fixing, where values up to 600 kg ha⁻¹ have been measured. Both cyanobacteria and the *Anabaena-Azolla* complex are artificially added to freshly planted rice fields to enhance nitrogen availability. Solar radiation affects the cyanobacteria in many ways. The photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, carotenoids and the auxiliary phycobiliproteins) are bleached, proteins are degraded and the cellular genetic material (DNA) is damaged. The organisms have developed several biochemical mechanisms to mitigate the detrimental effects. A light-dependent enzyme, photolyase, is employed to repair the DNA. Enhanced biosynthesis produces proteins and pigments to replace damaged cellular material. In addition, many cyanobacteria produce UV-absorbing substances, which screen the incoming solar radiation and prevent further damage. Likewise, the rice plants produce screening pigments which absorb a large fraction of the damaging solar UV radiation in the epidermal layers before it can reach the photosynthetic tissues.

**IMMAGINI TRIDIMENSIONALI IN AUTOFLUORESCENZA
DI CELLULE FITOPLANCTONICHE PER IL CONTROLLO AMBIENTALE**

Eliana Petrini¹, Lorenzo Palombi¹, Riccardo Pratesi¹
Giovanni Agati², Giovanna Cecchi², David Lognoli², Iacopo Mochi², Valentina Raimondi²,
Luigi Lazzara³, Franco Fusi⁴, Marinella Abbate⁵

¹Dipartimento di Fisica - Università degli Studi di Firenze

²Istituto di Fisica Applicata "Nello Carrara" - Consiglio Nazionale delle Ricerche

³Dipartimento di Biologia Animale "Leo Pardi" - Università degli Studi di Firenze

⁴Dipartimento di Fisiopatologia Clinica - Università degli Studi di Firenze

⁵Centro Ricerche Ambiente Marino "S. Teresa" - Ente Nazionale Energia e Ambiente

Un problema fondamentale per la caratterizzazione delle popolazioni fitoplanctoniche in mare tramite tecnica di telerilevamento lidar è la valutazione degli effetti sullo spettro di autofluorescenza del fitoplancton dovuti a diversi fattori. Il segnale di fluorescenza emesso da una singola cellula di fitoplancton è, infatti, soggetto all'attenuazione dovuta alla colonna d'acqua, che modifica il profilo dello spettro di fluorescenza, al riassorbimento da parte delle altre cellule fitoplanctoniche e ad effetti di diffusione.

A tal fine è stata iniziata un'attività di ricerca volta a valutare tali effetti sulle misure telerilevate partendo dallo studio dello spettro di fluorescenza di singola cellula, tenendo conto anche della forma della cellula, valutata tramite immagini 3D, e dell'eventuale effetto di impacchettamento relativo alle cellule fitoplanctoniche.

In questo lavoro, che mostra i primi risultati di tale attività, sono presentate immagini 3D in autofluorescenza di cellule fitoplanctoniche ottenute con una tecnica di misura che consente un'illuminazione del campione utilizzando intensità minori rispetto a quelle richieste da tecniche di microscopia confocale riducendo così l'effetto di *photo-bleaching*. A tale scopo è stato utilizzato un microscopio tradizionale per ottenere immagini 2D in fluorescenza corrispondenti a una serie di sezioni della cellula. L'immagine 3D, ricostruita componendo le immagini 2D preventivamente corrette con un algoritmo di *deblurring*, ha permesso di identificare la localizzazione e le dimensioni delle strutture fluorescenti per vari tipi di cellule fitoplanctoniche. Oltre alle immagini 3D sono state realizzate misure di spettri di fluorescenza *in vivo* di singola cellula. Tali spettri sono messi in relazione sia con la forma delle cellule ottenuta dalle immagini di fluorescenza 3D sia con gli spettri di fluorescenza ottenuti con uno spettrofluorimetro su sospensioni a diverse concentrazioni delle cellule. In particolare tale confronto ha consentito di valutare gli effetti dovuti all'attenuazione dell'acqua ed all'effetto di impacchettamento.

ECOFISIOLOGIA DEL DINOFLAGELLATO *GLENODINIUM SANGUINEUM*

Costanza Bagnoli¹, Francesco Ghetti¹, Marco Cantonati², Massimiliano Tardio²,
Daniel Spitale²

¹CNR, Istituto di Biofisica, Pisa; ²Museo Tridentino di Scienze Naturali, Trento.

Il Lago di Tovel (Dolomiti di Brenta, Trento) è conosciuto fin dalla fine dell'Ottocento per l'arrossamento di ampie porzioni della sua superficie causato dall'intensa fioritura del dinoflagellato *Glenodinium sanguineum* Marchesoni, che si verificava nelle ore centrali delle più calde giornate estive. L'ultimo anno in cui questo fenomeno è stato osservato con la consueta intensità è stato il 1964.

Dal 1997 sono in corso ricerche sperimentali *in situ* sulla popolazione fitoplanctonica del lago e nel 2001 è iniziato il progetto SALTO (Studio sul mancato Arrossamento del Lago di Tovel), suddiviso in sei filoni di ricerca, che si propone lo studio multidisciplinare di questo particolare ambiente lacustre, della sua ecologia, delle cause della diminuita fioritura algale e della scomparsa del fenomeno dell'arrossamento. Uno dei sottoprogetti riguarda lo studio ecofisiologico del *G. sanguineum* attraverso l'utilizzo di mesocosmi; tale metodologia ha permesso di evidenziare l'importanza del nutriente fosforo e di condizioni di alto irraggiamento nel favorire la proliferazione dell'alga.

Durante la campagna di campionamenti dell'estate 2002 si è studiato il popolamento di *G. sanguineum* in mesocosmi arricchiti con fosforo in funzione della competizione con la diatomea *Fragilaria tenera* (W. Smith) Lange-Bertalot e del *grazing* da parte dello zooplancton.

Si è valutata l'efficienza fotosintetica globale in campioni prelevati dai mesocosmi in vari momenti della giornata, misurando il rendimento quantico fotosintetico ottimale (F_v/F_m), per mezzo di un fluorimetro PAM (Pulse Amplitude Modulated Fluorescence). Campioni prelevati nello stesso modo venivano conservati con Lugol e successivamente veniva svolta un'analisi qualitativa e quantitativa al microscopio delle componenti fito- e zooplanctoniche.

Si è avuta conferma del ruolo chiave del fosforo nella crescita del *G. sanguineum*, mentre non sono state osservate significative correlazioni tra l'efficienza fotosintetica globale dei vari mesocosmi e il diverso arricchimento in nutrienti.

**STIMA DELL'EMISSIONE IN ATMOSFERA DEL MERCURIO FOTO-PRODOTTO
NEL MAR MEDITERRANEO**

Lanzillotta E.¹, Ceccarini C.¹, Ferrara R.¹, Dini F.²

¹CNR-Istituto di Biofisica, Area della Ricerca, via Moruzzi 1, Pisa

²Università di Pisa, Dipartimento di Etologia, Ecologia ed Evoluzione, via Volta 6, Pisa

Particolare attenzione in questi ultimi anni è stata rivolta allo studio delle emissioni di mercurio dalla superficie marina verso l'atmosfera; recenti ricerche indicano, infatti, che gli oceani contribuiscono per circa il 30% al ciclo globale del mercurio.

Gli studi sugli scambi di mercurio all'interfaccia aria/acqua evidenziano una produzione di mercurio volatile (essenzialmente mercurio elementare) nella colonna d'acqua per effetto della radiazione solare responsabile della riduzione dell' Hg^{2+} presente in mare associato alla materia organica. Questi processi di foto-riduzione rivestono particolare importanza nel bacino del Mediterraneo che, come è noto, è caratterizzato da un'estesa anomalia geologica (depositi di cinabro), elevate temperature ambientali e intensa radiazione solare per molti mesi dell'anno.

Determinazioni in campo della concentrazione di mercurio elementare in aree costiere Tirreniche hanno mostrato un andamento giornaliero dipendente dall'intensità della radiazione solare (20-60 pg/L), con valori notevolmente inferiori durante le ore notturne (10-15 pg/L). Il flusso di mercurio all'interfaccia acqua/aria dipende dalla differenza di concentrazione di mercurio tra acqua e aria, e dal suo coefficiente di diffusività nell'acqua; anche le determinazioni di flusso di mercurio da noi eseguite con la tecnica della camera a flusso hanno rivelato un andamento giornaliero (-0,5-20 ng/m²h) simile a quello della concentrazione di mercurio elementare nell'acqua. Una stima dell'emissione di mercurio estesa a tutta la superficie del Mediterraneo ha portato ad un valore superiore a 60 tonnellate annue.

Il ruolo degli organismi marini nella produzione di mercurio elementare è attualmente indagato in laboratorio su colture fitoplanctoniche (*Chaetoceros sp.* e *Dunaliella salina*) arricchite fino ad una concentrazione di 600 ng/L di mercurio (nitrato) ed irraggiate con lampade a luce fredda (PAR = 40 W/m²).

FOTOSTABILITÀ E FOTOTOSSICITÀ DEL FLUOCINOLONE ACETONIDE

Giorgia Miolo¹, **Sergio Caffieri**¹, Andrea Ricci², Elisa Fasani², Angelo Albini²

¹Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Padova,

²Dipartimento di Chimica Organica, Università di Pavia.

Il **Fluocinolone** è un corticosteroide di sintesi recente dotato di attività antinfiammatoria e immunosoppressiva. Viene solitamente utilizzato nella forma di acetonide nel trattamento di dermatosi acute, subacute e croniche di natura infiammatoria o allergica.

E' stata studiata la stabilità del farmaco alla luce UVA e UVB allo stato solido, in diversi solventi ed in una forma farmaceutica. Il Fluocinolone irradiato con luce UVA forma principalmente due fotoprodotti stabili, derivanti dal riarrangiamento dell'anello del cicloesadienone: un prodotto biciclico (**lumifluocinolone**), che a sua volta si fototrasforma in un nuovo fotoprodotto (**fololumifluocinolone**). Con la luce UVB si ha una ancor più marcata degradazione della molecola, che subisce prevalentemente una frammentazione omolitica (tipo Norrish I) del chetone in posizione 20, con formazione di un radicale intermedio e di due fotoprodotti stabili, uno per estrazione di idrogeno (**androfluocinolone**), l'altro per addizione di ossigeno (**idroperossifluocinolone**).

La velocità di fotodegradazione dipende dal solvente (nell'ordine: PBS>MeOH>MeCN), mentre allo stato solido il composto è fotostabile. In una lozione commerciale, il Fluocinolone si fotodegrada in misura elevata ($\approx 45\%$, $2,5 \text{ J/cm}^2$ UVB; $\approx 20\%$, 15 J/cm^2 UVA), dando come prodotto principale l'idroperossi derivato.

Il Fluocinolone ha dimostrato effetti fototossici, localizzati principalmente a livello della membrana cellulare, derivanti dalla formazione di specie attivate dell'ossigeno e di fotoprodotti stabili. Tra questi, l'idroperossido si è dimostrato il più tossico, provocando emolisi sia in presenza che in assenza di luce. Dato il meccanismo di scissione radicalica, non si esclude il contributo anche di specie radicaliche transienti.

In conclusione, il Fluocinolone deve essere tenuto al riparo dalla luce, sia durante la sua conservazione che la sua assunzione, come conseguenza del fatto che : 1) l'instabilità alla luce comporta perdita della sua attività, per rimozione di gruppi determinanti per l'attività terapeutica; 2) la sua interazione con la luce provoca effetti fotosensibilizzanti, indotti dal farmaco stesso e da specie stabili e transienti, aventi tossicità superiore al composto di partenza.

BERSAGLI CELLULARI E MECCANISMI DELLA CITOTOSSICITÀ DI FENOTIAZINE

Chiara Bastianon¹, Roberta Zanoni¹, Giorgia Miolo², Sergio Caffieri², Elena Reddi¹

¹Dipartimento di Biologia; ²Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Padova

Le fenotiazine, come altre categorie di farmaci, sono responsabili della comparsa di reazioni di fotosensibilizzazione cutanea in seguito all'esposizione alla luce. Su queste basi si è ritenuto opportuno effettuare uno studio sull'attività fotosensibilizzante di tre fenotiazine (flufenazina, perfenazina, tioridazina) correntemente utilizzate come antipsicotici. L'attività fotosensibilizzante dei tre farmaci è stata determinata in fibroblasti murini della linea 3T3 incubati al buio per 24 ore con il farmaco alle concentrazioni 5 o 10 μM e successivamente esposti a dosi crescenti di luce UVA.

I risultati hanno dimostrato che la sopravvivenza di fibroblasti 3T3 incubati per 24 ore al buio con i farmaci diminuisce aumentando la dose di luce UVA durante l'irradiazione. Tra le tre fenotiazine considerate, la flufenazina presenta il maggior grado di fototossicità; essa induce, infatti, una completa mortalità cellulare con dosi di luce intorno ai 4 J/cm^2 , mentre con la perfenazina e la tioridazina dosi di luce di 6-8 J/cm^2 riducono la sopravvivenza cellulare di circa l'80%. La morte di fibroblasti 3T3 indotta dal trattamento con i farmaci e luce UVA viene probabilmente attuata attraverso un meccanismo di necrosi e non di apoptosi come dimostrato da studi di microscopia di fluorescenza. Il processo necrotico potrebbe essere favorito da un danno diretto sulla membrana plasmatica, dimostrato dall'incremento del rilascio dell'enzima citosolico lattico deidrogenasi (LDH) nel mezzo di coltura, che provoca lisi cellulare. I mitocondri rappresentano un ulteriore bersaglio dell'azione citotossica delle fenotiazine poiché l'attività della NADH deidrogenasi nelle cellule trattate con i farmaci e luce viene drasticamente ridotta immediatamente dopo l'irradiazione.

È stato dimostrato che le tre fenotiazine utilizzate esercitano la loro azione fototossica attraverso la produzione di specie radicaliche. Infatti, la vitamina E, scavenger radicalico lipofilo, e la superossido dismutasi proteggono parzialmente le cellule dall'azione fototossica dei tre farmaci. Al contrario la N-acetilcisteina, scavenger radicalico idrofilo, non svolge alcun ruolo protettivo. Questi risultati suggeriscono che O_2^- ed altre specie radicaliche generate in siti cellulari lipofili siano coinvolti nelle reazioni di fotosensibilizzazione che si sviluppano in seguito alla fotoeccitazione delle fenotiazine.

FOTOINATTIVAZIONE DEL BATTERIOFAGO T4 CON FUROCUMARINE ED OMOLOGHI

F. Bettio, F. Baccichetti, C. Marzano, M. Simonato, F. Bordin

Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Padova

Recentemente le furocumarine sono state proposte come agenti per la sterilizzazione di emoderivati, operazione molto delicata in cui è indispensabile l'eliminazione di vari tipi di microrganismi, tra cui i virus, in particolar modo l'HIV. Per questo motivo si è cercato di chiarire il meccanismo di inattivazione dei virus da parte delle furocumarine, utilizzando come modello il batteriofago T4. Le furocumarine, presentando due siti fotoreattivi, possono fotolegarsi covalentemente al DNA nelle cellule di mammifero, formando monoaddotti (MA), legami crociati inter-strands (ISC) e legami covalenti DNA-proteine (DPC), a seconda della loro struttura e del loro comportamento. La reazione delle furocumarine con il DNA fagico, sembra si verifichi in modo diverso a causa della struttura arrotolata e compatta della macromolecola dei fagi lambda e della serie T. Secondo Kittler, ricercatore tedesco, le furocumarine oltre alla classica intercalazione, potrebbero interagire all'esterno del DNA virale, reagendo con due timine lontane l'una dall'altra lungo i due filamenti del DNA, ma vicine ai due siti fotoreattivi a causa dell'impacchettamento virale. Questo tipo di lesione, viene detto "cross-link di tipo II" e costituisce un loop che impedirebbe al DNA fagico di passare attraverso la stretta coda virale inibendone l'iniezione nei batteri ospiti. Un altro tipo di lesione che porterebbe ad un analogo risultato, consiste nella formazione, ad opera delle furocumarine, di DPC tra il DNA fagico e la struttura proteica della testa, che impedisce l'iniezione del DNA virale nel battere ospite.

Al fine di ottenere informazioni inerenti l'induzione di queste lesioni, si è analizzato il comportamento di alcune furocumarine, lineari e angolari, ed omologhi furochinolinonici nei confronti del fago T4, studiando le conseguenze della fotosensibilizzazione sul virione maturo, nel quale il DNA è fortemente impaccato, e sulla sua forma vegetativa (cioè il DNA virale penetrato all'interno dei batteri ospiti), in cui il DNA è in una forma più rilassata.

**EFFETTO COMBINATO DEL CIS PLATINO E DELL' AZIONE FOTODINAMICA DELLA
RADIAZIONE INFRAROSSA/VERDE INDOCIANINA SU CELLULE DI ADENOCARCINOMA
MAMMARIO UMANO**

Mariangela Iovino, Linda Varriale, Natascia Marino,
Alberto Colasanti, Giuseppe Palumbo

Dipartimento di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare, Università di Napoli Federico II

Malgrado la indubbia efficacia della terapia dei tumori basata sull'uso di farmaci citotossici, essa è fortemente limitata dagli effetti collaterali che spesso sono tanto gravi da divenire insopportabili per il paziente neoplastico. La possibilità di ridurre questi effetti, mantenendo alta l'efficacia terapeutica del trattamento, è certamente un importante obiettivo da conseguire. Al momento il nostro gruppo collabora con ricercatori delle Università di Milano e Padova in un progetto che tende ad ottenere questo risultato associando la chemioterapia alla terapia fotodinamica nel visibile. Il lavoro qui presentato, si muove nella stessa ottica, ma estende questi studi alle lesioni non raggiungibili dalla radiazione visibile utilizzando una sorgente laser infrarossa. Le basi razionali su cui si fonda il nostro progetto derivano dalla constatazione che le radiazioni IR sono capaci di penetrare i tessuti umani per alcuni centimetri e raggiungere ed eccitare il fotosensibilizzatore contenuto nella massa tumorale relativamente profonda.

In questo lavoro abbiamo analizzato in cellule MCF-7, gli effetti molecolari e cellulari che derivano dal loro trattamento fotodinamico in presenza di dosi non letali di cis Pt. Lo stesso trattamento fotodinamico è stato eseguito impiegando concentrazioni di fotosensibilizzatore e fluenze luminose al di sotto di quelle considerate efficaci. Abbiamo utilizzato a questo scopo: 1. una radiazione laser a 820 nm (fluenza 20 J/cm²) e come fotosensibilizzante un colorante (Verde indocianina) non tossico già usata nella diagnostica umana e noto con il nome commerciale di Cardiogreen; 2. Cis-Pt ad una concentrazione pari a circa il 50% di quella normalmente usata *in vitro* per ottenere esplicito effetto citotossico (8µM). Gli effetti prodotti dai singoli trattamenti sono stati confrontati con quelli prodotti dalla loro combinazione. A questo scopo abbiamo valutato innanzitutto gli effetti di vitalità cellulare attraverso i classici saggi di *Trypan Blue dye exclusion*, *MTT* e *cloning forming assay*. Accanto a questi studi abbiamo valutato e confrontato gli effetti dei trattamenti (singoli e combinati) dal punto di vista metabolico. In particolare abbiamo determinato e comparato la capacità delle cellule trattate nelle varie condizioni, di incorporare ³H-Timidina nel proprio DNA e ³⁵S-Metionina nelle proteine neosintetizzate. Poiché le cellule neoplastiche hanno notoriamente una richiesta aumentata di glucosio, abbiamo anche valutato comparativamente la capacità residua di incorporare ¹⁴C-deossiglucosio tanto in condizione basale che sotto stimolo di insulina. Oltre ad alcune determinazioni dirette sulla distribuzione delle sottopopolazioni cellulari (ciclo cellulare) attraverso la utilizzazione di un FACS, abbiamo eseguito una serie di esperimenti di immunoblotting (western blots). Questi ultimi tests ci hanno permesso di misurare comparativamente le alterazioni (ove riscontrate) nella espressione di alcune delle proteine coinvolte nella gestione ciclo cellulare, nella risposta allo stress (HSP-70) e nella attivazione di processi pro o antiapoptotici (Bcl-2, Bcl-XL, Bax, p53, PARP). Il complesso dei risultati, sebbene poco più che preliminari, indica che il trattamento combinato PDT/chemioterapia può essere considerato una buona ipotesi di lavoro per giungere a nuove soluzioni terapeutiche per le lesioni neoplastiche non necessariamente superficiali.

**INTERNALIZZAZIONE FOTOCHIMICA (PCI):
UN NUOVO SISTEMA PER LA VEICOLAZIONE INTRACELLULARE DI MACROMOLECOLE.**

Marco Folini

Dipartimento di Oncologia Sperimentale
Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori di Milano.

La tecnica della internalizzazione fotochimica (PCI) è stata messa a punto allo scopo di aumentare l'efficienza del trasporto a livello citosolico delle molecole veicolate all'interno delle cellule mediante endocitosi. Questa tecnica è basata sulle reazioni fotochimiche iniziate da alcuni fotosensibilizzatori, quali tetrafenilporfirinadisolfato [TPPS_{2a}] o alluminioftalocianinadisolfato [AlPcS_{2a}], che si localizzano preferenzialmente nella membrana degli endosomi. La localizzazione a livello della stessa vescicola endocitotica del fotosensibilizzatore e della molecola terapeutica da internalizzare, permette il rilascio di quest'ultima in seguito alla rottura della membrana degli endosomi, passaggio che viene ottenuto mediante esposizione delle cellule ad un campo luminoso. Il rilascio citosolico di molecole antitumorali mediante PCI è stato già ampiamente dimostrato in diversi modelli sperimentali *in vitro* ed *in vivo*. In particolare, l'efficienza della tecnologia della PCI come sistema di veicolazione è stata verificata in diversi modelli sperimentali in seguito a transfezione e trasduzione con vettori plasmidici e adenovirali esprimenti la proteina GFP o la β -galattosidasi; in cellule NHIK 3025 trattate con la tossina proteica gelonina in combinazione con TPPS_{2a} e luce ed in tumori umani xenotrapiantati in topi BALB/c. In particolare, negli animali trattati con gelonina e sottoposti a PCI è stata ottenuta una risposta completa nel 67% dei tumori 20 giorni dopo il trattamento fotochimico. Recentemente la PCI si è dimostrata un sistema efficiente per la veicolazione di peptidi degli acidi nucleici (PNA) diretti contro l'mRNA codificante per la subunità catalitica hTERT della telomerasi umana. E' stata, infatti, osservata una significativa inibizione dell'attività catalitica della telomerasi nelle cellule di carcinoma della prostata DU145 trattate con hTERT-PNA e TPPS_{2a} in seguito ad esposizione alla luce. L'inibizione dell'attività catalitica dell'enzima non si verificava invece nelle cellule soggette al trattamento combinato, ma non esposte alla luce. Questi risultati riflettono la capacità dell'internalizzazione fotochimica di aumentare la biodisponibilità delle molecole di PNA nelle cellule, e quindi di permettere a queste molecole di raggiungere più facilmente il loro bersaglio.

***POLIPODIUM LEUCOTOMOS* VERSUS NB-UVB:
VALUTAZIONE DEGLI EFFETTI FOTOPROTETTIVI**

PG Calzavara-Pinton, M Venturini, R Sala, R Capezzer, C Zane

U.O. Dermatologia, Spedali Civili, Brescia

Polipodium leucotomos (PL) è una felce originaria della foresta pluviale centroamericana. Recentemente l'attività antiossidante, immunoprotettiva, antinfiammatoria e sull'invecchiamento cutaneo dell'estratto del rizoma è stata evidenziata non solo su colture cellulari e su cute di modelli murini, come già avvenuto con β -carotene (β -C) e Thé verde (TV), ma anche in vivo su volontari sani dopo esposizioni solari e a PUVA. Tali effetti sono stati considerati utile ausilio durante elioterapia e fotochemioterapia. Abbiamo valutato gli effetti fotoprotettivi di PL(960 mg/die) in associazione con β -C (40 mg/die) e TV (200 mg/die), dopo esposizione a lampade UVB a banda stretta (312 ± 2 nm), la fonte luminosa più utilizzata nei paesi europei per fototerapia.

10 aree di 8x12 mm di cute sulla parte volare di avambraccia di 13 volontari sani (4M; 9F; età media 34.4 anni; range 24-54 anni) sono stati esposti a una serie crescente di 10 dosi UVB-312 comprese tra 0.2 e 1.5 J/cm². La MDE (minima dose eritemigena) risultava significativamente aumentata (0.42 ± 0.61 vs 0.61 ± 0.33 J/cm²). L'aumento della MDM (minima dose melanogenica) (0.59 ± 0.27 vs 0.65 ± 0.50 J/cm²) non era invece significativo. In conclusione, PL, in associazione con β -C e TV, ha dimostrato attività fotoprotettiva e antinfiammatoria dopo esposizione a UVB-312 pare interferire in modo significativo con i processi di melanogenesi.

SCLERODERMIA LOCALIZZATA E CREST TRATTATE CON UVA1

M Venturini¹, R Sala¹, C Seddio², R Capezzera, C Zane, PG Calzavara-Pinton¹

¹U.O. Dermatologia; ² Il Servizio di Radiologia, Spedali Civili di Brescia

Recenti studi hanno dimostrato l'efficacia di UVA1 fototerapia (340-400nm) in pazienti affetti da morfea e sclerodermia sistemica. Scopo del nostro studio è stato quello di valutare l'efficacia terapeutica di UVA1 in pazienti affetti da sclerodermia localizzata e CREST. Abbiamo pertanto trattato 18 pazienti con sclerodermia localizzata (13 con morfea in placche, 4 con morfea lineare, 2 con morfea generalizzata) e una paziente con CREST con esposizioni UVA1 3 volte a settimana, per un valore mediano di 25 sedute (intervallo interquartile di 18 sedute). L'efficacia terapeutica è stata valutata con score clinico in tutti i pazienti e con quantificazione ecografica dello spessore cutaneo in 6 pazienti, tramite sonda multifrequenza VF 5-13 MHz (SONOLINE Elegra Siemens, Erlangen, Germany), con risoluzione assiale di 50 μ e laterale di 100 μ . Al termine del ciclo di fototerapia si è rilevata una diminuzione statisticamente significativa dello score clinico e dello spessore cutaneo.

In conclusione la fototerapia con UVA1 è efficace e ben tollerata nel trattamento della sclerodermia localizzata e della CREST. L'efficacia del trattamento sembra essere riconducibile alla sua capacità di indurre l'espressione di collagenasi-1 nei fibroblasti.

RADIOSPETTROFOTOMETRIA DI UNA LAMPADA UV PER FOTOTERAPIA

R Capezzer¹, C Zane¹, M Venturini¹, A Marchioni², G Prandelli², L Spiazzi², PG Calzavara-Pinton¹

¹ U.O. Dermatologia, AO Spedali Civili di Brescia; ² U.O. Servizio di Fisica Sanitaria, AO Spedali Civili di Brescia

Un Centro di Fototerapia è attrezzato con una notevole gamma di apparecchiature e ha la necessità di dotarsi di un radiospettrofotometro o in alternativa di una gamma di radiometri a banda stretta per il controllo dell'emissione delle diverse sorgenti UV. Nella fase di accettazione di una lampada è consigliabile verificare le caratteristiche spettrali, la geometria spaziale, la ripetibilità e la costanza dell'emissione. Viene riportato come esempio il caso di apparecchiatura emittente UVA1 (340-400 nm) per terapia locale (MUV, Alpha Strumenti, Milano) che trova il suo impiego nella morfea. MUV è dotata di due manipoli con filtri a banda stretta a 311nm e a 365 nm con spot di irradiazione di 1 cm² e 10 cm² rispettivamente. Sono state eseguite le seguenti misure mediante radiospettrofotometro Macam: a) Spettro non filtrato; b) Spettro luce filtrata per i due manipoli; c) Linearità di emissione rispetto alla potenza impostata; d) Linearità di emissione rispetto al tempo impostato; e) Verifica dell'emissione a diverse distanze; f) Taratura in condizioni di riferimento

Queste misure hanno dapprima permesso di verificare incongruenze di emissione dichiarata ed effettiva misurata, ed hanno consentito di costruire un quadro di riferimento con cui verificare la costanza di emissione nel tempo della lampada e soprattutto di porre le basi per una corretta dosimetria clinica UV.

**DETERMINAZIONE DELLA CAPACITÀ ANTIOSSIDANTE
IN PAZIENTI CON PATOLOGIE DERMATOLOGICHE**

Maura Ratto, Laura Turbino, Marcella Guarrera

Disem, Sezione di Dermatologia, Università di Genova

È noto come l'alterato equilibrio tra le difese antiossidanti e la produzione di ROS si manifesti con lo stress ossidativo. Uno stress transitorio intenso e di breve durata (come l'esposizione intensa ed acuta agli UV) aumenta il potere antiossidante (PAO), mentre condizioni di stress di lunga durata (come determinate patologie cardiache) lo impoveriscono.

È stato dimostrato che nella Dermatite Polimorfa Solare (DPS) e nell'orticaria solare (OS) alcuni antiossidanti enzimatici e non (catalasi, SOD, Vitamina E) sono quantitativamente diminuiti rispetto a soggetti sani.

Nel seguente lavoro è stato quantificato il PAO, mediante un metodo spettrofotometrico, in alcune dermatiti fotosensibili (DPS, OS, Lupus) e in altre patologie non influenzabili dagli UV. In alcuni pazienti con DPS è stato inoltre quantificato il PAO anche dopo intensa irradiazione con UV.

Vengono presentati e commentati i risultati.

**ATTIVITÀ FOTOCITOPROTETTIVA DELLA CIANIDINA 3-O- β GLUCOPIRANOSIDE
IN CHERATINOCITI UMANI IN CULTURA**

Tarozzi A., Marchesi A., Cantelli Forti G., Hrelia P.

Dipartimento di Farmacologia, Centro per le Ricerche Cosmetologiche Applicate,
Università degli Studi di Bologna

La tipica conseguenza di una ustione solare da radiazioni ultraviolette è la formazione di cheratinociti apoptotici a livello dell'epidermide. Recenti studi, hanno evidenziato l'azione fotocitoprotettiva che alcune sostanze di origine naturale sono in grado di svolgere a livello cutaneo. La ricerca si è posta l'obiettivo di valutare l'attività fotocitoprotettiva della cianidina 3-O- β glucopiranoside (C-3-G), un'antocianina presente in grande quantità nel succo delle arance rosse, nei confronti di un danno cellulare indotto da una esposizione acuta di radiazioni UVB e UVA. Lo studio è stato condotto mediante un approccio integrato di test *in vitro* che utilizza una linea cellulare di cheratinociti umani (HaCaT), rappresentativa dell'epidermide, e permette la valutazione di meccanismi cellulari diversi che sottendono l'apoptosi indotta dalle radiazioni UVB e UVA, quali l'attivazione delle caspasi 8, 9, 3 e la frammentazione del DNA. Prove preliminari di pre-trattamento e di co-trattamento delle cellule HaCaT con C-3-G (25-100 $\mu\text{g/ml}$) in assenza di UVB e UVA non hanno mostrato indurre l'attivazione delle caspasi e dell'apoptosi. Il co-trattamento delle cellule HaCaT con C-3-G (50-100 $\mu\text{g/ml}$) in presenza di UVB (40 mJ/cm^2) e UVA (40 J/cm^2), ha dimostrato la capacità di bloccare l'attivazione delle caspasi 8, 9, 3 e di proteggere le cellule dall'apoptosi indotta solo dalle radiazioni UVB. Tale effetto si è dimostrato dose dipendente e statisticamente significativo ($p < 0,01$). La massima inibizione dell'apoptosi (81%) è stata osservata alla concentrazione di 100 $\mu\text{g/ml}$. Il pre-trattamento di 4 h delle cellule HaCaT con le medesime concentrazioni di C-3-G ha mostrato effetti protettivi solo nei confronti dell'apoptosi indotta dalle radiazioni UVA. Anche in questo caso, l'effetto si è dimostrato dose-dipendente e statisticamente significativo ($p < 0,01$) per tutte le concentrazioni considerate, con un massimo di inibizione dell'apoptosi (54%) alla concentrazione di 100 $\mu\text{g/ml}$. I risultati indicano che l'azione fotocitoprotettiva della C-3-G nei confronti delle radiazioni UVB e UVA sottende meccanismi extracellulari ed intracellulari e suggeriscono un utilizzo della C-3-G in preparazioni dermatologiche ad uso topico nella prevenzione del danno cutaneo indotto da radiazioni ultraviolette.

Finanziamento: Progetto FIRB 2001

ROSA BENGALA ACETATO COME SUBSTRATO FLUOROGENICO: STUDIO CITOCHIMICO DEI SITI SUBCELLULARI DI LOCALIZZAZIONE E DI FOTODANNO

A.C.Croce¹, C. Soldani¹, M.G. Bottone¹, A.Fraschini¹, P. Pagliara², P. Mita², L. Dini²,
C. Pellicciari¹, G. Bottioli¹

¹Dipartimento di Biologia Animale e IGM del CNR (Sez. Istochimica e Citometria) Università di Pavia; ²Dipartimento di Biologia, Università di Lecce.

Il Rosa Bengala (RB) è un derivato xantenico che, per opportuna eccitazione, ha un'alta efficienza di produzione di ossigeno singoletto. L'aggiunta di un gruppo acetato (RB acetato, RBAc) inattiva sia le proprietà di autofluorescenza che di fotoattività e facilita l'ingresso della molecola nelle cellule. Qui RBAc si comporta come un substrato fluorogenico. L'attività di esterasi specifiche ripristina la molecola di RB con le sue proprietà fotofisiche originali. L'accumulo intracellulare di RB risulta dal bilancio di tre processi: internalizzazione del substrato, la sua idrolisi e l'efflusso del prodotto, in dipendenza dalle proprietà biologiche delle cellule. Cellule Hela sono state usate in questo lavoro per studiare i siti-bersaglio di accumulo e di fotodanno del RB, in relazione alla capacità di indurre apoptosi. Le cellule, cresciute su vetrino, erano incubate con RBAc (da 1×10^{-6} a 5×10^{-5} M), per tempi da 2 min a 12 h; in queste condizioni, non si riscontrava tossicità al buio. L'irraggiamento era condotto con una sorgente innovativa (LED) a 530 ± 15 nm, per dosi da 0,1 a $1,6 \text{ J/cm}^2$. In microscopia di fluorescenza si osserva che la localizzazione di RB cambia (da perinucleare, a polare, a diffusa) con l'aumentare del tempo di incubazione. Dopo irraggiamento, le cellule vanno incontro ad alterazioni la cui entità, così come il numero di cellule coinvolte, dipende dalle condizioni di trattamento. Gli eventi più precoci riguardano le alterazioni morfologiche. Già dopo 30 min, la microscopia a contrasto di fase in condizioni vitali evidenzia, infatti, emissione di filopodi, seguita da formazione di protrusioni citoplasmatiche e successivo rilascio di corpi apoptotici, ed alterazioni di nucleo e nucleolo. La presenza di apoptosi è stata verificata mediante tecniche convenzionali, quali marcatura con annessina V/Ioduro di Propidio ed analisi ultrastrutturale. Quest'ultima tecnica ha evidenziato anche il reticolo endoplasmatico come principale bersaglio del fotodanno. Tecniche immunocitochimiche hanno anche evidenziato alterazioni dell'organizzazione del citoscheletro ai tempi lunghi di incubazione, in accordo con la rilocalizzazione del RB durante l'incubazione.

Lavoro finanziato da: MIUR (PRIN 2002) e Fondo di Ateneo per la Ricerca (FAR 2002, Università di Pavia).

SPETTROSCOPIA DI AUTOFLUORESCENZA: MONITORAGGIO DELLE CONDIZIONI METABOLICHE DEL FEGATO DURANTE LE FASI DI TRAPIANTO

S. Fiorani¹, A.C. Croce¹, I. Freitas¹, V. Bertone¹, R. Bertone¹,
A. Ferrigno², M.P. Vairetti², D. Neri³, G. Bottiroli¹.

¹IGM, Sezione Istochimica e Citometria, Dip. Biologia Animale,

²Dip. Medicina Interna e Terapia, Università di Pavia, Pavia;

³Dip. Chirurgia Generale, Università di Padova, Padova.

Le fasi di conservazione e di reimpianto dell'organo nel trapianto di fegato influenzano l'equilibrio metabolico del tessuto epatico con possibili danni che possono condizionare il successo del trapianto stesso. Scopo di questo lavoro è verificare le potenzialità della spettroscopia di autofluorescenza per un monitoraggio minimamente invasivo, in tempo reale, delle condizioni metaboliche del fegato durante il trapianto. L'analisi spettrofluorimetrica è stata condotta mediante sonda a fibra ottica (exc. 366 nm) inserita nel tessuto su fegati di ratto espantati e preservati in condizioni standard riconosciute valide per una buona conservazione dell'organo (perfusione 20 min e conservazione 12 h con soluzione Università di Wisconsin a 0°C) o in condizioni volutamente "dannose" (perfusione 20 min, conservazione 20-72 h con soluzione di Eurocollins) e sottoposti a successiva riossigenazione (KrebsHenseleit, 37°C). Le condizioni di conservazione erano verificate mediante analisi dei quadri istologici del tessuto epatico e dei dati biochimici del perfusato (rilascio di LDH e perossidazione lipidica). Durante l'ischemia fredda l'ampiezza del segnale di fluorescenza aumentava di ~80%, per tornare ai valori basali dopo riossigenazione a 37°C, con $t_{1/2} = 1,1$ min in condizioni standard e $t_{1/2} = 9,5$ min in condizioni "dannose". Il fitting spettrale hanno evidenziato un aumento del contributo relativo del NAD(P)H all'emissione globale e un decremento delle flavine durante l'ischemia, con un ritorno ai valori basali dopo riossigenazione nelle condizioni standard. Nelle condizioni "dannose" si notavano la riduzione del NAD(P)H e l'incremento delle flavine ai tempi più lunghi, oltre alla comparsa di una banda di emissione attribuibile a derivati porfirinici (catabolismo dei sali biliari). I risultati ottenuti hanno mostrato la stretta correlazione tra proprietà di autofluorescenza e condizioni funzionali del tessuto (temperatura e disponibilità di ossigeno). Dati preliminari ottenuti durante il trapianto di fegato nel maiale, con reimpianto dell'organo nel ricevente, hanno mostrato anche variazioni delle proprietà di autofluorescenza durante la preparazione del fegato per il reimpianto e il reimpianto stesso, indicative di alterazioni metabolico funzionali anche durante la fase di ischemia calda. ("CNR-Target Project Biotechnology" e "COFIN 2001")

STUDIO CLINICO SULLA MAMMOGRAFIA OTTICA RISOLTA NEL TEMPO

P. Taroni¹, G. Danesini², A. Pifferi¹, L. Spinelli¹, A. Torricelli¹ e R. Cubeddu¹

¹INFM-Dipartimento di Fisica, Politecnico di Milano e IFN-CNR, Milano;

²Dipartimento di Radiologia, Casa di Cura S.Pio X, Milano

E' in corso uno studio clinico multicentrico europeo per la valutazione delle capacità diagnostiche della mammografia ottica risolta nel tempo (Progetto EU "Optimamm"). Il mammografo realizzato dal Politecnico di Milano è il primo strumento ad operare anche a lunghezze d'onda superiori ai 900 nm (683, 785, 913 e 975 nm), in un intervallo spettrale importante per discriminare il contenuto di acqua e lipidi del tessuto e quindi ottenere anche informazioni più accurate sul volume di sangue e sul suo stato di ossigenazione. I dati di trasmittanza risolta nel tempo sono interpretati con la teoria del Random Walk per un mezzo omogeneo, che fornisce una stima delle proprietà ottiche (assorbimento e scattering) medie alle quattro lunghezze d'onda di misura. Il protocollo attualmente utilizzato per la localizzazione e caratterizzazione delle lesioni della mammella prevede l'analisi delle immagini di scattering (sensibili alla struttura del tessuto) e delle immagini di intensità ottenute con rivelazione "gated". In particolare, raccogliendo solo i fotoni trasmessi a tempi lunghi, si ottengono immagini sensibili alle variazioni di assorbimento e, quindi, alla composizione del tessuto. Per una migliore quantificazione delle proprietà ottiche delle lesioni e dei parametri fisiologici da queste derivati, viene poi utilizzato un approccio non lineare (metodo perturbativo). Lo studio clinico retrospettivo ha finora coinvolto circa 130 pazienti con lesioni sia maligne che benigne.

DIAGNOSI DI MELANOMA ASSISTITA A COMPUTER: C'È UN FUTURO ?

Renato Marchesini

Istituto Nazionale Tumori, Milano

Una diagnosi precoce di melanoma e l'immediato intervento di escissione sono i requisiti essenziali per una prognosi molto favorevole alla sopravvivenza del paziente. La diagnosi clinica di lesioni melanocitiche è attualmente basata sull'osservazione visiva delle sue caratteristiche di colore e di forma, la così detta regola dell'ABCD (asimmetria, bordo, colore, dimensione). Tuttavia, queste valutazioni sono soggettive e strettamente legate all'esperienza del clinico. Nel tentativo di superare questa limitazione e poter fornire misure quantitative dei parametri morfologici e di colore delle lesioni, sono state sviluppate differenti tecniche strumentali di imaging e relative analisi computerizzate i cui processi sono principalmente quelli di simulare rispettivamente l'occhio ed il cervello di un clinico esperto. I risultati di sensibilità e di specificità riportati in letteratura indicano che la diagnosi assistita a computer di melanoma è confrontabile, indipendentemente dalla metodologia usata, con le capacità diagnostiche di un clinico esperto. Inoltre, molte delle variabili estratte dalle procedure di imaging ed utilizzate per la classificazione diagnostica non sono riconoscibili e/o quantificabili dall'occhio umano. Tuttavia, esistono ancora alcuni interrogativi sull'effettiva utilità di queste diagnosi assistite a computer quali, ad esempio: può un sistema automatico migliorare le capacità diagnostiche di un clinico? Ci può essere il rischio che l'utilità di queste diagnosi venga o enfatizzata o demonizzata? Considerando che la diagnosi automatica non può sostituire né il clinico né l'istopatologia, a cosa può servire? A queste e ad altre domande si tenterà, se possibile, di dare una risposta nel corso della presentazione.

**L'AUTOFLUORESCENZA COME PARAMETRO INTRINSECO
DI CELLULE E TESSUTI PER FINI DIAGNOSTICI**

Giovanni Bottioli

IGM, Sezione Istochimica e Citometria, Dipartimento di Biologia Animale,
CNR, Università degli Studi, Pavia

I fluorofori endogeni sono molecole coinvolte sia in processi metabolici e funzionali (coenzimi quali NADH e FAD, flavoproteine, lipopigmenti, porfirine) che negli aspetti organizzativi (proteine costitutive, collagene, elastina) di cellule e tessuti. Poiché fluorescenza di un tessuto è dipendente dalla natura, dalla concentrazione, dalla distribuzione spaziale e dal microambiente dei fluorofori endogeni, è logico attendersi che l'insorgenza di situazioni patologiche, alterando le caratteristiche biochimiche e istologiche del tessuto, possa determinare modificazioni delle caratteristiche della fluorescenza stessa che sono significative delle alterate condizioni biologiche del tessuto. Su queste basi, la spettroscopia di autofluorescenza è attualmente oggetto di notevole interesse per lo sviluppo di tecniche minimamente invasive o non invasive in grado di caratterizzare in tempo reale parametri biologici dei tessuti suscettibili di utilizzo a fini diagnostici.

Tra i diversi settori di applicazione delle tecniche di autofluorescenza, la diagnosi dei tumori è quello che ha ricevuto maggiore attenzione. Variazioni sia di intensità di fluorescenza che di forma spettrale sono stati riscontrati in tumori di diversi tessuti e organi, quali colon, cervice, bronchi esofago e cervello.

Studi *in vivo* eseguiti su materiale *ex vivo* (sezioni istologiche e omogenati) hanno consentito di avanzare ipotesi interpretative per i risultati ottenuti *in vivo* su pazienti. In particolare si è potuto verificare che nel caso di tessuti epiteliali multilayer la disorganizzazione del tessuto provocata dall'invasività del tumore, che comporta alterazione del contributo relativo delle diverse specie autofluorescenti all'emissione globale, è la causa principale delle modificazioni di autofluorescenza osservate nelle lesioni rispetto al tessuto sano circostante. Nel caso di tessuti non multilayer (es. cervello) le variazioni di autofluorescenza riscontrabili nei tumori sembrano riconducibili ad alterazioni delle condizioni metaboliche oltre che alla variazione delle proprietà dei tessuti. Esempi di applicazione della spettroscopia di autofluorescenza saranno presentati come spunto per la valutazione delle potenzialità e dei limiti della tecnica diagnostica.

**MICROSCOPIA DI AUTOFLUORESCENZA E TECNICHE DI “MULTICOLOUR IMAGING”
BI- E TRI-DIMENSIONALE NELLA VALUTAZIONE DIAGNOSTICA DI CELLULE E TESSUTI**

Monica Monici¹, Franco Fusi² e Riccardo Pratesi³

¹CEO - Centro di Eccellenza Optronica, Firenze; Sez. INFM di Firenze

²Dip. di Fisiopatologia Clinica, Univ. di Firenze; Sez. INFM di Firenze

³Dip. Di Fisica, Univ. di Firenze; Sez. A, INFM di Firenze

Dall'analisi dell'autofluorescenza di cellule e tessuti si possono ricavare dettagliate informazioni sulle caratteristiche morfologiche e funzionali dei campioni esaminati. Perciò, le tecniche di microscopia di autofluorescenza, associate a tecniche di acquisizione, ricostruzione ed elaborazione dell'immagine, mostrano notevoli potenzialità per il futuro sviluppo di applicazioni in campo diagnostico.

La tecnica di “multicolour imaging”, con l'acquisizione di immagini monocromatiche a diverse bande spettrali e la ricostruzione tricromatica, permette di incrementare notevolmente la capacità di discriminazione spaziale dei fluorofori, la cui emissione è associata alle bande scelte.

Con tecniche di deconvoluzione digitale e' possibile acquisire più immagini in sequenza a varie profondità di fuoco e ricostruire l'immagine tridimensionale.

Sono riportati, come esempio, studi condotti su cellule ematiche e tessuto linfatico.

LA ELIP1 DI *A. THALIANA* (ESPRESSIONE E POSSIBILE INTERAZIONE CON D1)

Silvia Rossini¹, Anna Paola Casazza¹, Roberto Barbato², Carlo Soave¹

¹Dip. di Biologia, Sez. di Fisiologia e Biochimica delle Piante, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 26; ²Dip di Scienze e Tecnologie Avanzate, Università del Piemonte Orientale “Amedeo Avogadro”, Corso Borsalino 54, Alessandria

Le ELIP (Early Light Inducibile Proteins) sono proteine tilacoidali codificate da geni nucleari positivamente regolati dalla luce, caratterizzate da una cinetica di accumulo transiente. In piante mature esse si accumulano in condizioni fotoinibitorie (forti irraggiamenti o basse intensità luminose associate a bassa temperatura) e durante l'adattamento da bassa ad alta luce. La funzione delle ELIP non è stata ancora chiarita, ma nonostante l'elevata omologia con le proteine CAB (Chlorophyll *a/b* binding proteins), si pensa che esse siano coinvolte non tanto nella cattura dell'energia luminosa, quanto piuttosto nei meccanismi di fotoprotezione. E' stato, infatti, osservato che quanto più è elevata la quantità di ELIP che si accumula in condizioni di stress, tanto più è rapido il recupero dell'attività di PSII una volta che le piante vengono riportate in condizioni normali. Inoltre le ELIP si localizzano a livello delle lamelle intergranali, ove è noto avvenire il riassetto dei complessi danneggiati, in particolare D1. Scopo di questo lavoro è quindi quello di verificare se la ELIP1 di *A. thaliana* sia coinvolta nel ciclo di riparo di PSII e se esista o meno una interazione diretta con D1. Poiché in letteratura non esistono dati riguardo all'espressione delle ELIP in piante mature di *A. thaliana*, è stato prima necessario studiarne il pattern in piante cresciute in condizioni “normali” o esposte a trattamenti fotoinibitori. E' stata quindi studiata l'espressione della ELIP1 in condizioni che prevenivano la resintesi di D1 (trattamento con lincomicina) e in condizioni intermedie (forti irraggiamenti e bassa temperatura) che promuovono un massiccio accumulo di ELIP1 e non precludono il ciclo di riparo di PSII. Risultati preliminari hanno mostrato che la presenza di lincomicina, non solo previene l'accumulo della ELIP1 ma ne promuove la degradazione a carico di una proteasi non ancora identificata. Inoltre poiché la degradazione proteolitica di ELIP1 in presenza di lincomicina, avviene anche al buio, sembra che i due fenomeni (accumulo di ELIP1 e resintesi di D1) non siano correlati. A supporto di questa affermazione si aggiunge il risultato di una elettroforesi bidimensionale su proteine tilacoidali preparate da piante fotoinibite (alta luce e bassa temperatura) che mostra chiaramente come le due proteine ELIP1 e D1 non interagiscano tra loro. Sembra invece che ELIP1 sia presente sia in forma monomerica, sia come parte di un complesso, la cui composizione deve essere verificata.

**CRYSTAL STRUCTURE OF THE PSBQ POLYPEPTIDE OF
PHOTOSYSTEM II FROM HIGHER PLANTS**

Vito Calderone¹, Michela Trabucco¹, Andreja Vujičić¹, Roberto Battistutta^{1,3},
Giorgio Mario Giacometti², Flora Andreucci³ **Roberto Barbato**³, Giuseppe Zanotti^{1,4}

¹Dipartimento di Chimica Organica e Centro Biopolimeri del CNR,
Università di Padova, Via Marzolo 1, 35131 Padova, Italy

²Dipartimento di Biologia, Via Bassi 58B, 35131 Padova, Italy

³Dipartimento di Scienze e Tecnologie Avanzate, Università del Piemonte Orientale
"A. Avogadro" Corso Borsalino 54, 15100 Alessandria, Italy

⁴Venetian Institute of Molecular Medicine (VIMM), Via Orus 2, 35129 Padova, Italy

The smallest extrinsic polypeptide of the water oxidizing complex (PsbQ) was extracted and purified from spinach photosystem II membranes. It was then crystallized in the presence of Zn²⁺ and its structure determined by X-ray diffraction at 1.95 Å resolution, using the MAD method with the zinc ion as anomalous scatterer. The crystal structure reveals that the core of the protein is a four-helix bundle, whereas the N-terminal portion, which probably interacts with the rest of the photosystem, is disordered in the crystal.

EFFETTI DI CADMIO E ZINCO SULL'APPARATO FOTOSINTETICO DI SPINACIO

Cristina Pagliano¹, Pierre Dorlait², Roberto Barbato¹

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Avanzate,
Università del Piemonte Orientale 'Amedeo Avogadro', Alessandria

²Dipartimento di Chimica-Fisica, Università di Padova, Padova

Zinco e Cadmio sono due tra i più diffusi inquinanti e hanno un numero elevato di effetti dannosi sugli organismi vegetali. In questo studio sono stati analizzati gli effetti di questi due metalli pesanti sulla funzionalità e stabilità sulle membrane plastidiali di spinacio. Entrambi i metalli agiscono sul fotosistema II, diminuendo, anche se con I_{50} diverse, la velocità di riduzione del diclorofenoloindofenolo. Mediante spettroscopia EPR, è stato osservato che il cadmio causa la perdita del segnale multilinea, indicando che questo metallo esercita il suo effetto a livello del cluster del manganese, nella donor side del fotosistema. Quando membrane trattate con questi metalli vengono illuminate e analizzate mediante immunoblotting con anticopri anti-D1, si può osservare che in cadmio determina uno shift nella mobilità elettroforetica di D1, tipicamente osservabile durante fotoinibizione tipo donor side, mentre nel caso dello zinco questo effetto non si manifesta, suggerendo che esso favorisca fotoinibizione di tipo acceptor side.

**DISTRIBUTION PATTERN AND PHOTSENSITISING PROPERTIES
OF MESO-SUBSTITUTED CATIONIC PORPHYRINS IN MITOCHONDRIA**

Fernanda Ricchelli¹, **Silvia Secreti**¹, Peter Nikolov², Silvano Gobbo¹ and Elena Reddi³

¹CNR Inst. of Biomedical Technologies; ²Inst. of Organic Chemistry, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia (Bulgaria); ³Dept. of Biology, University of Padova, Padova (Italy)

A series of derivatives of 5,10,15,20-tetrakis-(4-N-methylpyridyl)-porphine, where one N-methyl group was replaced by a hydrocarbon chain endowed with 6, 14 and 22 carbon atoms (C6, C14, C22), were characterized for their distribution and photosensitizing properties in isolated mitochondria (from liver of Wistar rats). These cationic porphyrin derivatives did not accumulate in the mitochondrial matrix along membrane potential gradients, as observed for several positively charged compounds. Accordingly, the fluorescence quantum yields of the different porphyrins in energized mitochondria did not change upon mitochondrial depolarisation. Loss of the differential which caused the initial accumulation should lead to dye redistribution to the external medium and fluorescence modification. The mitochondrial distribution pattern of C6, C14 and C22 was rather dependent on the degree of dye lipophilicity. Porphyrin localisation was deduced from the nature of the damage of mitochondrial components after irradiation of the dye-loaded mitochondria in the 600-700 nm spectral region (fluence rate = 100 mW/cm²). As parameters of the inner membrane integrity we followed the oxygen consumption in state 4 (mitochondria energized with succinate as substrate) and state 3 (energized mitochondria plus ADP) before and after irradiation. State 4 and state 3 respirations reflect the functionality of the enzymes of the respiratory chain and oxidative phosphorylation. Outer membrane integrity was tested by measuring the monoaminoxidase activity. The photosensitizing effects of C6, C14 and C22 were compared for the same amounts of dye taken up by mitochondria. Based on the different inhibitory effects of the three dyes on the mitochondrial functional parameters, we deduced that the most hydrophobic derivative, C22, showed a preferential affinity for the highly apolar outer mitochondrial membrane whereas C6 and C14 preferentially localized in the protein-rich, polar inner membrane. The binding sites of C6 and C14, however, were not the same, as ascertained by studying the photodynamic action of the two dyes on the mitochondrial permeability transition (PT), a process which constitutes a fundamental step in the signalling cascade leading to programmed cell death. Oxidative stress by photoactivated C14 and C6, respectively favoured and prevented the PT.

**STUDI SUL MECCANISMO D'AZIONE DI SENSIBILIZZATORI FOTOTERMICI
A LIVELLO CELLULARE**

M. Camerin¹, S. Rello², A. Villanueva², M.A.J. Rodgers³, E. Reddi¹, G. Jori¹

¹Dipartimento di Biologia, Università di Padova;

²Dipartimento di Biologia, Università di Madrid;

³Center for Photochemical Sciences, Bowling Green State University,
Bowling Green Ohio (USA).

La sensibilizzazione fototermica è un processo conseguente alla fotoeccitazione di un cromoforo con una sorgente laser operata in regime pulsato al nanosecondo. Queste condizioni di irradiazione possono provocare un intenso aumento di temperatura (100-150° C) nel microintorno ove si localizza il fotosensibilizzante, che genera un'onda acustica con conseguenti estesi danni chimici e meccanici alla cellula. Tale processo può essere promosso da fotosensibilizzatori caratterizzati da tempi di vita brevi (dell'ordine dei picosecondi) degli stati eccitati, elevata fotostabilità e una buona efficienza di decadimento per via non radiativa. Il cromoforo scelto per questa ricerca è la Ni(II)-octabutossi-naftalocianina (NiNc) che possiede in misura ottimale queste caratteristiche e presenta un picco di assorbimento a 850 nm (ϵ dell'ordine di 10^5). Il meccanismo di sensibilizzazione fototermica da parte della NiNc è stato studiato in cellule sia murine che umane. Studi preliminari di accumulo mostrano che la quantità di NiNc legata alle cellule generalmente aumenta variando il tempo d'incubazione (18 e 48 h) e la quantità incubata nell'intervallo 1.3 - 7.7 μ M. L'analisi delle cellule incubate per mezzo di microscopia elettronica ha consentito di evidenziare la distribuzione della NiNc all'interno della cellula in funzione del tempo d'incubazione. Questo parametro è stato correlato con i risultati di esperimenti di sensibilizzazione fototermica eseguiti mediante un laser a Ti: zaffiro operato in regime pulsato (pulso di 30 ns, 10 Hz, 200mJ/pulso). Tramite la microscopia elettronica e a scansione si sono cominciati studi sul tipo di danno cellulare. Sono inoltre iniziati studi di sensibilizzazione fototermica in vivo su tumori di melanoma amelanotico impiantati in topi C57BL/6. Nonostante il carattere tuttora preliminare delle nostre ricerche, è possibile concludere che la sensibilizzazione fototermica apre buone prospettive come terapia antitumorale, data l'elevata fotosensibilità dimostrata da alcune linee cellulari e soprattutto dal melanoma amelanotico *in vivo*.

**BOROFTALOCIANINE: POTENZIALI CANDIDATI COME SENSIBILIZZATORI
PER UNA TERAPIA COMBINATA BNCT + PDT DI TUMORI**

S. Ferro¹, C. Fabris², M. Soncin², E. Friso¹,
F. Giuntini¹, G. Jori¹, G. Roncucci², P. Colautti³.

¹Dipartimento di Biologia, Università di Padova; ²Molteni Farmaceutici, Firenze;
³INFN, Legnaro, Padova.

L'utilizzo della terapia fotodinamica in campo oncologico sta suscitando un interesse sempre più accentuato che ha portato ad un allargamento del campo di applicazione di questa tecnica. In particolare, sono stati proposti alcuni approcci per combinare la PDT con altre modalità terapeutiche, come per es. la BNCT (boron neutron capture therapy): porfirine e ftalocianine possono agire come veicoli per l'accumulo di boro all'interno di cellule tumorali. In questa prospettiva è stata sintetizzata una ftalocianina boronata tetrasostituita (B₄-Pc) la cui attività fotosensibilizzatrice è stata studiata sia *in vitro* che *in vivo*. In particolare è stata determinata la resa quantica di ossigeno di singoletto, il principale intermedio fotoreattivo in questi processi, la k di velocità di fotoossidazione di substrati modello e la fotostabilità in dimetilformammide per valutare l'importanza del processo di fotobleaching. Su queste basi abbiamo testato la B₄-Pc su cellule di melanoma melanotico murino (B16F1). I risultati ottenuti dimostrano che non c'è una sostanziale differenza nella resa quantica di ossigeno di singoletto tra B₄-Pc e la Zn Pc non sostituita. La k_v di fotoossidazione di substrati modello è dell'ordine di 10⁴ s⁻¹ in accordo con dati di letteratura per efficienti fotosensibilizzatori. Le cellule di melanoma pigmentato murino vengono efficacemente inattivate dalla B₄-Pc. La posizione dei quattro sostituenti non sembra incidere sulla capacità fotosensibilizzatrice della molecola, infatti, dopo 10 minuti di irradiazione la percentuale di sopravvivenza cellulare cala del 100% circa. Sono stati, inoltre, effettuati esperimenti *in vivo* su topi C57 BL/6 portatori di melanoma pigmentato B16F1. Dopo somministrazione sistemica, la B₄-Pc si accumula nel tumore in quantità simili a quelle ottenute con altri fotosensibilizzatori in grado di indurre necrosi della massa neoplastica. Inoltre il grado di selettività per il tessuto tumorale rispetto alla cute, che rappresenta il tessuto peritumorale sano, sembra essere relativamente elevato. Appare quindi evidente che la B₄-Pc esibisca un'abilità fotosensibilizzatrice sufficientemente elevata, avvalorando l'ipotesi che questi composti possano agire come agenti sia radio che foto-sensibilizzanti.

**AZIONE FOTOSENSIBILIZZATRICE DI ZN(II)-FTALOCIANINA SU ARTERIE DI CONIGLIO:
STUDI DI MICROSCOPIA ELETTRONICA E DI FLUORESCENZA**

M. Magaraggia¹, G. Miotto¹, G. Tognon², S. Gobbo², G. Jori¹,
A. Visonà³, A. Pagnan³, M. Della Barbera⁴; A. Angelini⁴.

¹Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Padova;

²Centro CNR, Metallo Proteine, sezione di Padova;

³Dipartimento di Medicina Interna e Vascolare, Università degli Studi di Padova;

⁴Dipartimento di Anatomia Patologica, Università degli Studi di Padova

Diverse evidenze sperimentali hanno dimostrato che fotosensibilizzatori idrofobici, tra cui porfirine e ftalocianine, sono accumulati in concentrazioni significative e per periodi di tempo prolungati da parte di cellule iperproliferanti. E' per questo motivo che recentemente la terapia fotodinamica (PDT) è stata applicata a livello sperimentale per la prevenzione dell'iperplasia e la restenosi delle arterie dopo angioplastica percutanea transluminale (PTA). La PTA rappresenta il principale trattamento non chirurgico per la ricanalizzazione di lesioni arteriali non ostruttive. Il successo di questa procedura è limitato dall'insorgenza di iperplasia neointimale e restenosi delle arterie, fenomeni questi che possono portare a sintomi ischemici.

Scopo di questo studio è di valutare l'efficacia della PDT nella riduzione di iperplasia ed indagare il meccanismo d'azione. Come modello sperimentale è stata utilizzata un'arteria di coniglio lesionata mediante sonda a palloncino. La Zn(II)-ftalocianina (ZnPc) incorporata in vescicole liposomali veniva somministrata alla concentrazione di 10 µg/ml sull'area lesionata tramite una sonda opportunamente costruita per rilascio topico del fotosensibilizzatore su un segmento di arteria di 4 cm. Subito dopo la deposizione della ftalocianina l'arteria veniva irradiata con laser a diodi (675 nm) ad una velocità di fluensa di 180 mW/cm² per una dose totale di luce di 300 J/cm². Studi di microscopia di fluorescenza hanno dimostrato come, in seguito alla PTA, la ZnPc si deposita soprattutto nella tonaca media che risulta quindi il principale sito di azione della PDT. Analisi di microscopia elettronica hanno evidenziato, in seguito a fototrattamento, il depopolamento cellulare della tonaca media e hanno fornito informazioni sul meccanismo di morte cellulare. Questi dati dimostrano come la PDT, applicata immediatamente dopo il danno all'arteria, mostra efficacia nella riduzione dell'iperplasia neointimale, causando una diminuzione delle cellule della parete vasale.

Indice degli Autori

Abbate M.	12	Dini L.	25
Agati G.	12	Dorlait P.	33
Albini A.	15	Fabris C.	36
Andreucci F.	32	Fasani E.	15
Angelini A.	37	Ferrara R.	14
Baccichetti F.	17	Ferrigno A.	26
Bagnoli C.	13	Ferro S.	36
Barbato R.	31, 32, 33	Fiorani S.	26
Bastianon C.	16	Folini M.	19
Battistutta R.	32	Fraschini A.	25
Bertone R.	26	Freitas I.	26
Bertone V.	26	Friso E.	36
Bettio F.	17	Fusi F.	12, 30
Bordin F.	17	Ghetti F.	13
Bottiroli G.	25, 26, 29	Giacometti G.M.	32
Bottone M.G.	25	Giuntini F.	36
Caffieri S.	15, 16	Gobbo S.	34, 37
Calderone V.	32	Guarrera M.	23
Calzavara-Pinton P.G.	20, 21, 22	Häder D.-P.	11
Camerin M.	35	Hrelia P.	24
Canotti G.	32	Iovino M.	18
Cantelli Forti G.	24	Jori G.	35, 36, 37
Cantonati M.	13	Lanzillotta E.	14
Capezzera R.	20, 21, 22	Lazzara L.	12
Casazza A.P.	31	Lognoli D.	12
Ceccarini C.	14	Magaraggia M.	37
Cecchi G.	12	Marchesi A.	24
Colasanti A.	18	Marchesini R.	28
Colautti P.	36	Marchioni A.	22
Croce A.C.	25, 26	Marino N.	18
Cubeddu R.	27	Marzano C.	17
Danesini G.	27	Miolo G.	15, 16
Della Barbera M.	37	Miotto G.	37
Dini F.	14	Mita P.	25

Mochi I.	12	Secreti S.	34
Monici M.	30	Seddio C.	21
Neri D.	26	Simonato M.	17
Nikolov P.	34	Soave C.	31
Pagliano C.	33	Soldani C.	25
Pagliara P.	25	Soncin M.	36
Pagnan A.	37	Spiazzi L.	22
Palombi L.	12	Spinelli L.	27
Palumbo G.	18	Spitale D.	13
Pellicciari C.	25	Tardio M.	13
Petrini E.	12	Taroni P.	27
Pifferi A.	27	Tarozzi A.	24
Prandelli G.	22	Tognon G.	37
Pratesi R.	12, 30	Torricelli A.	27
Raimondi V.	12	Trabucco M.	32
Ratto M.	23	Turbino L.	23
Reddi E.	16, 34, 35	Vairetti M.P.	26
Rello S.	35	Varriale L.	18
Ricchelli F.	34	Venturini M.	20, 21, 22
Ricci A.	15	Villanueva A.	35
Rodgers M.A.J.	35	Visonà A.	37
Roncucci G.	36	Vujičić A.	32
Rossini S.	31	Zane C.	20, 21, 22
Sala R.	20, 21	Zanoni R.	16

