

Proiectul Dr Laser, prezentat la al 36-lea Congres al Societății Române de Radioterapie și Oncologie Medicală, Brașov, 9 octombrie 2025



Partenerii proiectului Dr Laser au fost invitați, în cadrul unei secțiuni special dedicate proiectului (Research Section 1, Dr Laser Project, Round Table, 9 octombrie 2025 14.00-18.30), să prezinte comunității medicale la nivel național obiectivele, etapele, rezultatele așteptate și perspectivele aplicațiilor medicale ale laserilor de mare putere. (v. SRROM Scientific Programme <https://srrom2025.medevents.ro/scientific-program/>)



Dr. Dan Stutman (ELI-NP/IFIN-HH)



Dr. Lucian Tudor (ELI-NP/IFIN-HH)



Dr. Iani Mitu (ELI-NP/IFIN-HH)

Radiobiologia iradierii cu ioni de carbon (CIRT) comparativ cu iradierea cu fotoni

Ioana Brie, Daniela Martin

Institutul Oncologic „Prof. Dr. Ion Chiricuță” Cluj-Napoca (IOC/N)

CIRT utilizează particule de carbon și posedă proprietăți care o fac potrivită pentru tratamentul cancerului datorită distribuției fizice a dozei și efectelor biologice crescute.

Cea mai mare diferență dintre fasciculele de ioni de carbon de înaltă energie și razele X convenționale este curba dozei în profunzime. Formarea in vivo a zonelor cu doze mari (denumite „vârfuri Bragg”) facilitează iradierea tintita a tumorii: administrarea majorității dozei la sfârșitul intervalului, urmată de scadere brusca spre zero, duce la o mai bună protecție a țesutului normal din jurul zonei tumorale.

Al 35-lea Congres al Societății Române de Radioterapie și Oncologie Medicală
 Al 11-lea Congres al Federației Societăților Române de Cancer
 ROMANIA AND HOSTESS RADIOLOGY AND RADIOTHERAPY

Radiobiology of Carbon Ion vs Photon Irradiation

Dr. LASER Project – round table

Ioana Brie, Daniela Martin
 Institute of Oncology Prof. Dr. I. Chiricuța
 Cluj-Napoca

CIRT uses carbon particles and possesses properties that make it suitable for the treatment of cancer due to its improved physical dose distribution and biological effects.

Comparison of dose-distribution between an X-ray and carbon ion beams

Comparison of dose-distribution between X-ray and carbon ion beams (skull base tumors)

Intensity-modulated X-ray therapy (irradiated from 3 angles)

Carbon ion radiotherapy (irradiated from 3 angles)

There is less extensive irradiation of normal tissue with carbon ion radiotherapy.

Dose distribution: red, 96%; green, 50%; blue, 30%; purple, 10%

Congres SRROM 2025

9-11 octombrie, Brașov

Biological principles of CIRT

- Ionizing radiation primarily causes single-base damage, single strand break damage, and double strand break damage. The first two types of damage are mainly repaired by the base excision repair (BER) pathway. Homologous recombination (HR) and non-homologous end joining (NHEJ) are both involved in the repair of DNA double-strand breaks (DSBs).
- Carbon ion beams can cause serious and clustered damage to tumor cells by their unique Bragg peak and most of the cells can't be repaired in time, resulting in apoptosis.
- Irradiation can kill the DSB repair-deficient cells, also resulting in apoptosis.
- Also, radiotherapy can promote the release of neoantigens as well as of nuclear and mitochondrial DNA, increasing the play of innate immune function through cGAS-STING and jointly promote the death of tumor cells.
- Finally, one of the most asked questions in clinical radiobiology of C ions concerns the speculations that these irradiations may enhance tumor immunogenicity and, consequently, whether abscopal effects and the combination CIRT with IT can produce better clinical outcomes.

Congres SRROM 2025

9-11 octombrie, Brașov

Summary of the physical and radiobiological properties of C ions along the Bragg curve

Property	Normal tissue	Tumor
Energy	high	low
LET	low	high
Dose	low	high
RBE	< 1	> 1
QER	> 3	< 3
Cell-cycle dependence	high	low
Fractionation dependence	high	low
Angiogenesis	increased	decreased
Immune effects	Weak	Strong

Potential advantages

- High tumor dose, normal tissue sparing
- Effective for radioresistant tumors
- Effective against hypoxic tumors
- Radioresistant (S) phase cells are sensitized
- Fractionation spares normal tissue more than tumor
- Reduced angiogenesis and metastatization
- Systemic effects in combination with immunotherapy

The figures on top right show a sketch of the quality of DNA damage and the corresponding γH2AX foci distribution with carbon ions and X-rays.

Congres SRROM 2025

9-11 octombrie, Brașov

Avantajele CIRT comparativ cu RT cu fotoni constau in: distribuție fizică mai bună a dozei, reducere mai mare a împrăstierii laterale, eficiența biologică relativă mai mare și raport de creștere al oxigenului mai mic, dependență redusă de fracționare și de stadiul ciclului celular.

Aceste avantaje balistice și radiobiologice față de radioterapia convențională bazată pe fotoni fac ca CIRT să fie extrem de eficientă în cazul tumorilor rare, radiorezistente, hipoxice, localizate în zone critice și dificil de tratat.

CIRT ne aduce mai aproape de „Sfântul Graal” al radioterapiei: maximizarea dozei de radiații în tumoră cu protejarea în același timp a țesuturilor sănătoase din jur.

Metode pentru evaluarea leziunilor ADN induse de radiații utilizate în IOCN

Maria Perde-Schrepler, Piroska Virág, Ioana Brie

Institutul Oncologic „Prof. Dr. Ion Chiricuță” Cluj-Napoca (IOCN)

Efectele biologice ale radiațiilor rezultă în principal din deteriorarea ADN-ului, care reprezintă cea mai importantă țintă din interiorul celulei. Rupturile de catene ADN (SBs – *strand breaks*) reprezintă forma generică de deteriorare a ADN

Testul cometei este utilizat la nivel mondial ca metodă standard pentru detectarea deteriorării ADN-ului în celule eucariote individuale, în testele de genotoxicitate, inclusive cea produsa de radiatii, precum și în studiile de biomonitorizare umană.

AI 30-lea Congres al Societății Române de Radiofizică și Oncologie Medicală
AI 19-lea Congres al Federației Societăților Române de Cancer
INNOVATIVE AND PROMISING IN DETECTION AND BIOMONITORING

Methods for the evaluation of radiation induced DNA lesions used in IOCN

Maria Perde-Schrepler, Piroska Virág, Ioana Brie

Comet assay principle

- The principle of the comet assay is based on the spatial organization of DNA in the nucleus in the form of DNA loops: attachment of the linear molecule at certain intervals to the nuclear matrix and further winding of the double helix around protein cores to form nucleosomes.
- By removing the proteins during the lysis step, the DNA remains in a compact supercoiled state.
- The occurrence of a DNA break will lead to the relaxation of these loops.
- By exposure to an electric field, these loops still attached to the nuclear matrix are attracted towards the anode, forming the characteristic "comet tail", observed under the fluorescence microscope.

✦ The relative amount of total DNA in the tail reflects the frequency of breaks.

Organization of Eukaryotic Chromosomes

- DNA double helix
- DNA wrapped around histone
- Nucleosomes collect into a chromatin fiber
- Further condensation of chromatin
- Duplicated chromosome

Congres SRROM 2025 9-11 octombrie, Braşov

Assay protocol

Processing gels for the standard alkaline comet assay

Cells in culture / blood cells

Isolated cells

Embedding of the cells in low melting point agarose

Immersion of the slides with the cells in lysis solution

Alkaline treatment (pH=13) for DNA unwinding (20 mins, 300 mA, 25 V)

Neutralization and washing

Staining with fluorescent dyes

Electrophoresis: DNA loops containing SBs, with supercoiling relaxed, migrate towards the anode (DNA is negatively charged) forming the tail of the comet. DNA without SBs does not move. Total DNA in the comet tail is a quantitative indicator of the frequency of DNA breaks.

Staining and microscopic evaluation

Standard condition or buffer incubation

Enzyme incubation

Sample

Comets are visualized by fluorescence microscopy, and analyzed using semi-automated or fully automated scoring software, or by visual scoring.

Congres SRROM 2025 9-11 octombrie, Braşov

Evaluation of comets- visual analysis

- The simplest visual analysis is to assess the proportion of short/medium/long-tailed comets per 100 cells.
- The comets are classified into five categories, based on the length of migration. A numerical value is assigned to each migration class, representing 5 stages of damage, from 0 (no migration, therefore no damage) to 4 (almost all DNA has moved to the comet tail).
- Two parameters of the degree of DNA damage are calculated for each sample (100 comets):
 - The lesion score (LS)** = the sum of relative units (RU) - the product of the number of cells at a certain stage and the category of comet
 $LS [RU] = A \cdot 0 + B \cdot 1 + C \cdot 2 + D \cdot 3 + E \cdot 4 / 100$
 - The tail factor (TF)** associating a relative proportion of DNA in the tail to each comet class. It is calculated according to the relationship:
 $TF [\%] = A \cdot F_0 + B \cdot F_1 + C \cdot F_2 + D \cdot F_3 + E \cdot F_4 / 100$ where A...E = number of cells classified in stages 0...5, $F_0 \dots F_4$ = average proportion of DNA migrated into the comet tail

Stage 0: intact nucleoid, no migration
 $F_0 = 0-5\%$

Stage 1: a small amount of DNA migrating from the head, forming a small tail.
 $F_1 = 5-20\%$

Stage 2: a more distinct head and tail, with increased migration.
 $F_2 = 20-40\%$

Stage 3: a larger tail, visibly smaller head, indicating more DNA fragmentation.
 $F_3 = 40-95\%$

Stage 4: extreme damage, very small, shrunken head and a long, prominent tail.
 $F_4 = 95-100\%$

Congres SRROM 2025 9-11 octombrie, Braşov

Avantajele testului cometei

- Sensibilitate și versatilitate ridicată – detectează niveluri scăzute de deteriorare a ADN.
- Aplicabilitate extinsă, atât **in vitro** cât și **in vivo**.
- Rapid și cu cost redus comparativ cu alte teste de genotoxicitate.
- Necesită un număr mic de celule pentru date fiabile.
- Analiza la nivel de celulă individuală permite o evaluare statistică mai precisă.
- Evaluează și capacitatea de reparare a ADN-ului, esențială pentru înțelegerea răspunsului celular la agenții genotoxici, inclusive radiatii ionizante.
- Potential high-throughput: automatizabil pentru screening-ul unui număr mare de compuși sau pentru studii de biomonitorizare.

Rezultate de etapa privind efectele iradierii *in vitro* asupra celulelor de cancer mamar

Piroska Virág, Ioana Brie, Maria Perde-Schrepler

Institutul Oncologic „Prof. Dr. Ion Chiricuță” Cluj-Napoca (IOCN)

Obiective. Doi compuși hibridi nou-sintetizati (5a și 5b) au fost testați, alături de un medicament chimioterapeutic standard - Cisplatin (Cis) - pe linia celulara de cancer mamar triplu negativ MDA-MB-231 în contextul iradierii celulelor cu radiații ionizante. Au fost evaluate și leziunile ADN-ului induse de acești compuși și, respectiv, de radiațiile ionizante, precum și dinamica procesului de reparare a leziunilor ADN-ului.

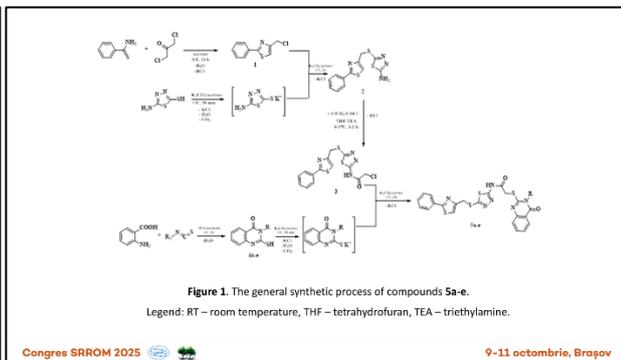
Material si metoda. Celulele au fost însămânțate în plăci cu 96 de godeuri și iradiate la acceleratorul liniar Clinac iX Silhouette, E=16 MV, câmp= 6x6 cm, distanță față de sursă 97 cm, doză de iradiere: 4 Gy. Efectele iradierii, în prezența și absența celor 2 compuși și a Cisplatinului, au fost evaluate prin Testul Cometei efectuat imediat, la 2h și la 24h de la iradiere.

Al 30-lea Congres al Societății Române de Radioterapie și Oncologie Medicală
Al 11-lea Congres al Federației Societăților Române de Cancer
INNOVATION AND PROGRESS IN RADIOLOGY AND RADIOTHERAPY

First results of *in vitro* investigation of breast cancer cells' irradiation

Piroska Virág, Ioana Brie, Maria Perde-Schrepler
The Oncology Institute "Prof. Dr. I. Chiricuța"
Cluj-Napoca

Congres SRROM 2025 9-11 octombrie, Braşov

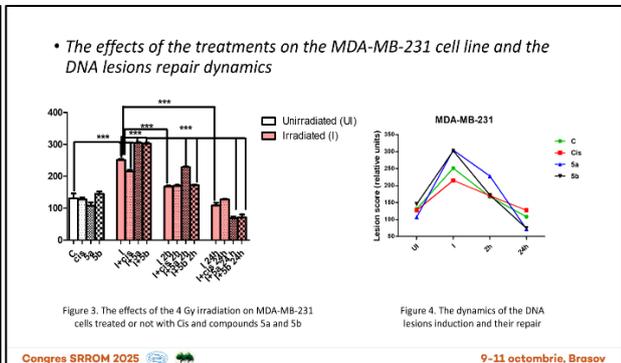


• Irradiation of the cells for the DNA lesions evaluation

- The 96 well plate designed for irradiation (I) was inserted in the phantom prepared by the Physics Unit of the IOCN; the source of the irradiation was Clinac iX Silhouette Linear Accelerator, E=16 MV, field= 6x6 cm, distance from the source 97 cm, irradiation dose: 4 Gy;

Figure 2. Irradiation of the cells with Clinac iX Silhouette Linear Accelerator in the 96 well plates inserted in the phantom

Congres SRROM 2025 9-11 octombrie, Braşov



Rezultate. Iradierea *in vitro* cu doza de 4 Gy induce leziuni semnificative ale ADN-ului în toate situațiile, dar cele mai mari în grupurile tratate cu compușii 5a sau 5b. Leziunile radioinduse ale ADN scad semnificativ la 2h și complet la 24h după iradiere în toate situațiile, dar cel mai important în cazul compușilor nou sintetizați.

Concluzii. Adăugarea oricărui dintre cei 2 compuși nou sintetizați amplifică inducerea leziunilor suplimentare ale ADN-ului prin iradiere în linia celulară de cancer mamar testată, prin urmare pot fi exploatați în continuare ca potențiali radiosensibilizatori.

14:00-16:00		Research Session 1 - Dr LASER Project, Round Table
Moderators: Rodica Anghel, Daniela Martin, Liviu Bîlteanu, Ioana Brie		
14:05-14:25	Preclinical Considerations and Clinical Premises of High-Power Laser Medical Applications in Romania – National and International Perspectives	Rodica Anghel
14:25-14:45	Dr LASER Project - Research on Medical Applications of High-Power Lasers at ELI-NP	Dan Stutman
14:45-15:00	Hadrontherapy for Breast Cancer: Benefits and Challenges	Daniela Martin
15:00-15:15	Carbon Ion Radiotherapy in Triple Negative Breast Cancer, Exploiting Radiobiological Advantages for Preclinical Progress	Adina Stanciu
15:15-15:30	Mathematical and Computational Models of the Molecular-Level Interaction of Heavy Particle Beams with Cellular Media	Liviu Bîlteanu
15:30-15:45	Inflammation and the Tumor Microenvironment in the Irradiation of Animal Models – Investigative Methods and Exploratory Premises	Andreea Iren Șerban
15:45-16:00	Discussions	
16:00-16:30		Coffee Break
16:00-18:00		Research Session 2
Moderators: Rodica Anghel, Daniela Martin, Liviu Bîlteanu, Ioana Brie		
16:00-16:15	Physical Characteristics of Laser-Accelerated Hadron Beams Compared to Conventional Acceleration	Lucian Tudor
16:15-16:30	Dosimetry of pulsed radiation fields	Iani Mitu
16:30-16:45	Radiobiologic Features of Carbon Ion vs Photon Irradiation	Ioana Brie
16:45-17:00	Cellular Irradiation with High Energy Photon Beams: Phantom Design, Treatment Planning and Dose Delivery	Cristina Gheară, Cristina Bălan
17:00-17:15	Methods for Evaluation of Radiation-induced Cellular Effects in IOCN	Maria Perde
<hr/>		
Home Event Info ▾ Scientific Info ▾ Partners Contact  EN ▾		
17:30-17:45	In Vitro Exploration of Photon Radiotherapy Effects on Triple-Negative Breast Cancer Cells: Preliminary Results and Future Directions	Paula Stache, Manuela Opreșan
17:45-18:00	The Use of Phase-Contrast X-Ray Imaging for Image Guidance and Treatment Planning in Hadron Therapy	Dan Stutman
18:00-18:15	Through Beams of Light - Discoveries and Innovation in Laser-Based Isotope	Cristina Moisescu
18:15-18:30	Discussions	
19:30		Opening Ceremony & Welcome Cocktail