

Università degli Studi di Padova
Facoltà di Ingegneria

Corso di Laurea Triennale in Ingegneria Biomedica
A.A. 2009/2010

Tesi di laurea

**Trattamenti dei gliomi con radiofrequenze:
tecniche in uso e parametri per valutarne
l'efficacia**

Relatore : Prof. Alfredo Ruggeri
Laureando : Alberto Merola

28 settembre 2010

INDICE

✓ **Introduzione**

∴ Obiettivi e descrizione generale..... p. 3

✓ **Gliomi**

∴ Descrizione generale p. 5

_ Tumori astrocitari..... p. 5

_ Oligodendrogliomi..... p. 10

_ Ependimomi p. 12

∴ Tabella riassuntiva p. 13

✓ **Trattamenti radioterapici**

∴ Descrizione ed effetti biologici..... p. 14

∴ Panoramica su radiazioni e
macchine in uso

_ Raggi γ e cobaltoterapia..... p. 15

_ Elettroni / raggi X e acceleratori lineari..... p. 17

✓ **Tecniche di ipertermia con radiofrequenze**

∴ Princìpi di funzionamento
e apparecchiature p. 20

✓ **Trattamenti con campi elettrici**

∴ TTF

_ Funzionamento, principi biologici
e risultati..... p. 23

_ Strumentazione p. 26

∴ PEF

_ Funzionamento, principi biologici
e risultati..... p. 28

_ Strumentazione p. 36

✓ **Parametri per la valutazione dei trattamenti**

∴ Aspetti generali p. 38

∴ Evidenze diagnostiche..... p. 39

∴ Effetti collaterali e qualità
della vita p. 41

∴ Parametri biologici p. 42

✓ **Conclusioni** p. 44

✓ **Riferimenti bibliografici** p. 46

INTRODUZIONE

Obiettivi e descrizione generale

Questa tesina ha l'obiettivo di indagare, attraverso uno studio della letteratura scientifica disponibile a riguardo, quali siano le tecniche terapeutiche per il trattamento dei tumori cerebrali primari (essenzialmente gliomi) basate su radiofrequenze ed in particolare quali siano i parametri considerati per valutarne l'efficacia.

Per farlo è necessario addentrarsi in parte nel campo della **radioterapia oncologica**, la quale sfrutta gli effetti biologici delle radiazioni ionizzanti per indurre la morte cellulare delle formazioni neoplastiche. Anche se le tecniche che li utilizzano non sono propriamente l'obiettivo della nostra discussione, ci pare utile offrire una panoramica sulle tipologie di radioterapia oggi diffuse, in quanto essa rimane la principale arma utilizzata nella lotta ai tumori cerebrali. Inoltre, dall'analisi degli studi qui condotta si ricaverà che la maggior parte dei parametri considerati per valutarne l'efficacia è comune a quelli considerati anche per le altre tecniche.

Un caso un po' particolare di tecnica per la cura dei tumori è poi la **termoterapia**, attuata tramite correnti e campi elettrici, che provoca la morte delle cellule tumorali non già mediante gli effetti della ionizzazione o dei cambiamenti morfologici indotti dall'alternarsi di campi, bensì trasferendo energia al tessuto bersaglio con lo scopo di causare un sensibile aumento della temperatura e provocare una serie di effetti biologici che portano alla morte cellulare oppure lo rendono più sensibile ai trattamenti tradizionali.

Accanto alla radioterapia oncologica vengono considerati trattamenti basati su **campi elettrici**. Si intendono in particolare campi elettrici non ionizzanti, cioè quelli con energia non sufficiente a ionizzare gli atomi che colpiscono; le loro frequenze sono inferiori a quelle dei raggi ultravioletti (attorno ai 10^{16} Hz). Delle loro caratteristiche e dei loro effetti, che costituiscono il focus del lavoro, parleremo più diffusamente.

I GLIOMI

Descrizione generale

I tumori che si sviluppano nel sistema nervoso centrale (SNC), che vediamo in parte riportati nella fig. 1, possono avere diversa natura: distinguiamo innanzitutto i tumori primari, originati nel parenchima encefalico e nei suoi involucri, dai tumori secondari, ovvero metastasi dovute a neoplasie localizzate in altri organi oppure recidive di primari.

All'interno dei primi si può operare un'ulteriore suddivisione in base alla caratterizzazione istologica. E' noto infatti che la differenziazione dei tessuti del SNC a partire dal neuroepitelio primitivo porta da una parte alla formazione dei neuroni, cellule nervose eccitabili, e dall'altra si ha evoluzione in senso gliale, con le cellule che costituiscono la cosiddetta nevroglia: astrociti, oligodendrociti ed ependimociti.

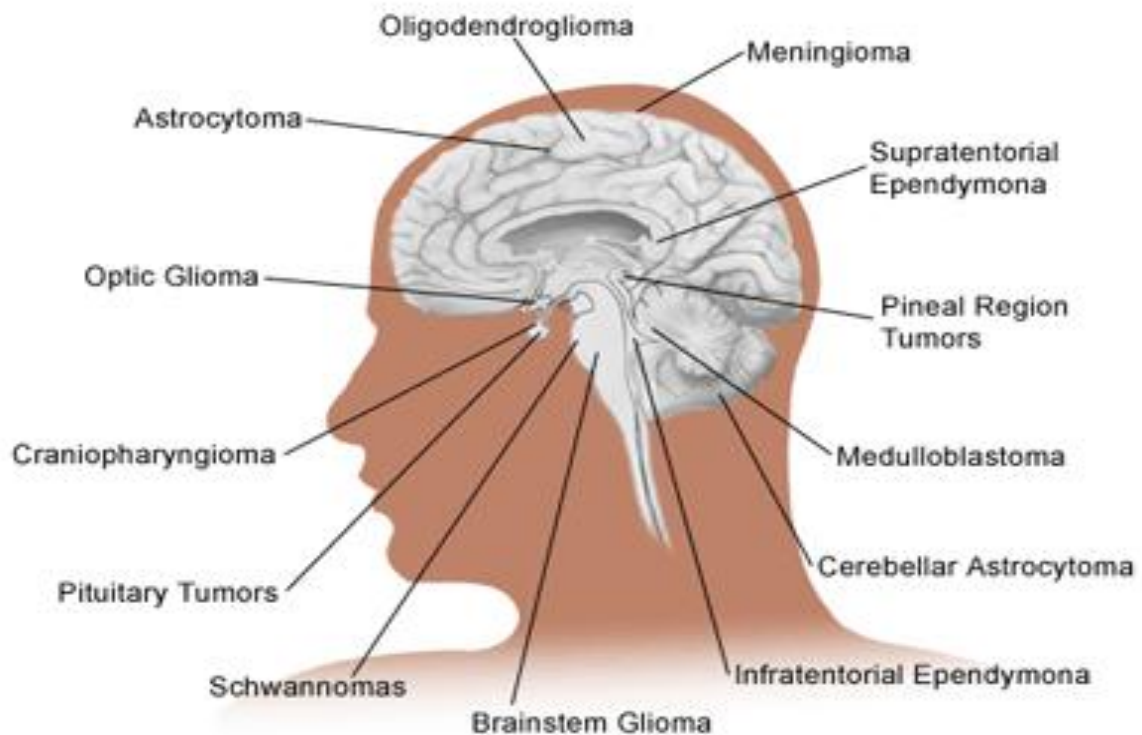


Fig. 1: alcuni dei principali tumori del SNC e loro dislocazione

Le prime, grazie ai caratteristici prolungamenti detti pedicelli vascolari, ricoprono i capillari e formano la barriera emato-encefalica; le seconde sono la componente principale della sostanza bianca e forniscono la guaina mielinica che ricopre gli assoni isolandoli; infine le ultime fungono da rivestimento delle cavità ventricolari e del canale midollare.

Pertanto, è possibile distinguere gangliocitomi e gliomi propriamente detti, definiti rispettivamente come tumori delle cellule nervose e dei tessuti gliali. Questi ultimi, a seconda della citologia, si possono appunto dividere in tumori astrocitari, oligodendrogliomi e ependimomi. La totalità dei gliomi rappresenta il gruppo più numeroso e più importante da un punto di vista clinico, costituendo circa il 70% di tutte le neoplasie del SNC.

Diamo, di seguito, una breve descrizione di ciascun tipo di glioma e delle classificazioni stabilite dall'OMS (WHO) per distinguerne la malignità.

TUMORI ASTROCITARI

Gli astrocitomi (o tumori astrocitari) rappresentano le neoplasie più comuni del SNC. In tale gruppo vengono distinte due categorie.

La prima è costituita dalle **forme diffuse** che coprono il 75% del totale. Queste sono ulteriormente suddivise in astrocitoma, astrocitoma anaplastico e glioblastoma multiforme, e costituiscono il gruppo con la prognosi peggiore perché tendono a subire una progressiva trasformazione maligna e ad infiltrare diffusamente il tessuto cerebrale circostante. La classificazione è ottenuta sulla base del grado di progressiva anaplasia, in quanto risulta che le neoplasie astrocitarie con microcisti e scarsa cellularità abbiano un decorso clinico molto lungo mentre quelle a elevata cellularità, con polimorfismo nucleare, mitosi, proliferazione vascolare e necrosi (vedi glioblastoma multiforme) abbiano una sopravvivenza più breve.

Astrocitoma: Nella maggioranza dei casi insorge nella terza-quarta decade di vita. Alla TAC si presenta con una lesione ipodensa che non capta il mezzo di contrasto e alla RMN come un'area a elevato segnale di intensità in T2, come possiamo vedere dalla fig. 2. La capacità infiltrativa della neoplasia è evidente macroscopicamente in

quanto i limiti della stessa sono indefinibili; questo pregiudica ovviamente l'efficacia dei trattamenti di cura in quanto, specie per radioterapia ed asportazione chirurgica, risulta difficile individuare un'area da trattare senza compromettere il tessuto sano circostante. Spesso, perciò, la scelta è tra colpire anche piccole fasce potenzialmente sane o rischiare di non colpire zone contenenti infiltrazioni non rilevabili, ma che potrebbero originare recidive.

Per definizione, negli astrocitomi ben differenziati proliferazione vascolare e necrosi sono assenti in quanto la loro presenza indica un processo di de-differenziazione verso forme di grado più elevato.

Un astrocitoma che rimane ben differenziato può permettere una sopravvivenza di molti anni. Purtroppo però frequentemente esso vira verso forme più maligne. La sopravvivenza media degli astrocitomi ben differenziati è di 8 anni.

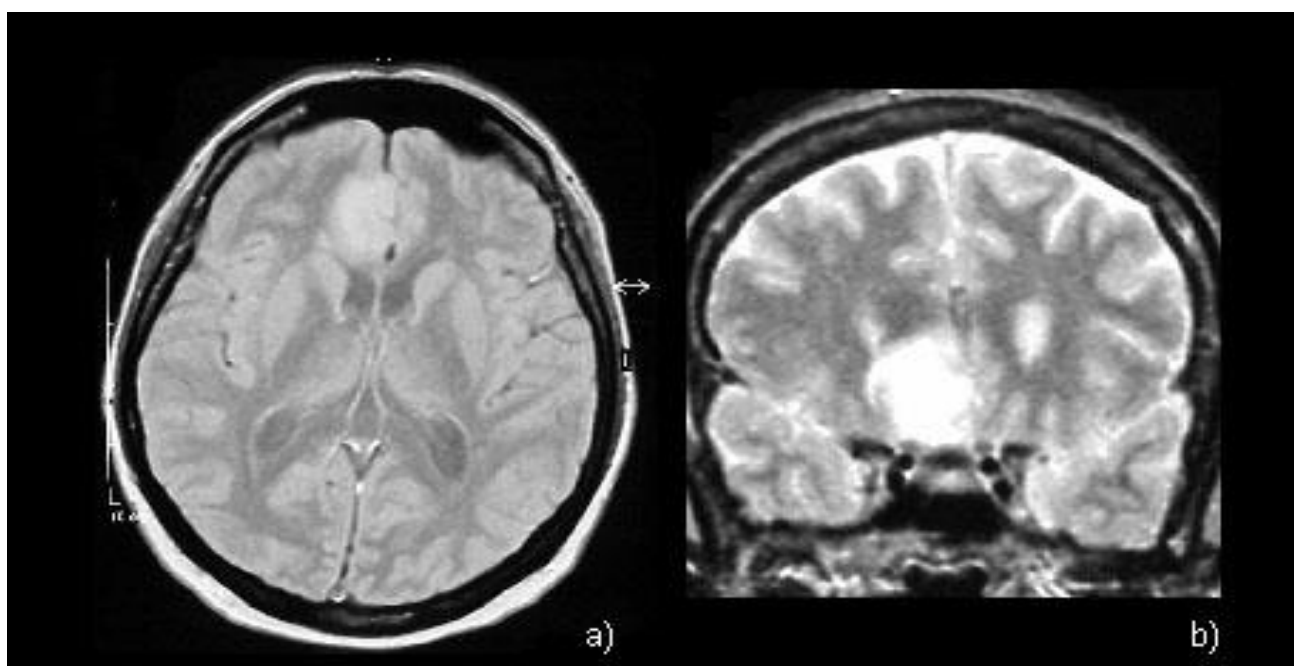


Fig. 2: risonanza magnetica di un astrocitoma fibrillare frontale destro in sezione assiale (a) e laterale (b)

Astrocitoma anaplastico: La progressione da astrocitoma ad astrocitoma anaplastico si osserva in circa il 50-75% delle recidive tumorali. Sebbene a volte sia difficile porre una linea di demarcazione tra una forma ben differenziata e una anaplastica poiché siamo di fronte a uno spettro continuo di neoplasia, la forma anaplastica si caratterizza per cellularità aumentata, spiccato pleomorfismo nucleare, ipercromatismo nucleare più evidente e presenza di mitosi. Focolai necrotici con o

senza pseudopalizzate (particolare disposizione delle cellule) fanno spostare la neoplasia nella categoria di maggiore malignità cioè il glioblastoma multiforme. La sopravvivenza media dei pazienti con astrocitoma anaplastico è di 36 mesi.

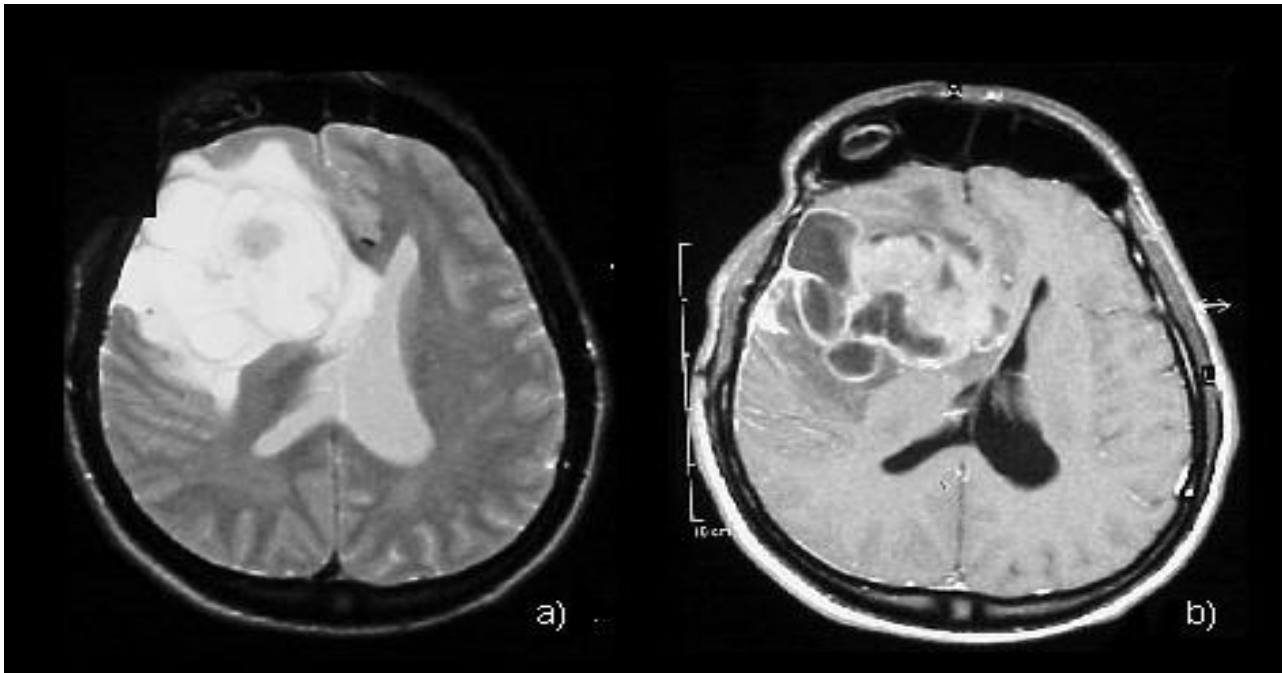


Fig. 3: risonanza magnetica di un glioblastoma fronto-insulare destro in sezione assiale prima (a) e dopo mezzo di contrasto (b)

Glioblastoma multiforme. Il glioblastoma multiforme rappresenta dunque la più grave delle neoplasie astrocitarie diffuse e sfortunatamente anche la più frequente. E' caratterizzato, in particolare, da grande attività neoplastica e grande diffusività, come ci è testimoniato dalla fig. 3. Insorge per lo più nella quinta e sesta decade con un'incidenza nella sesta decade di 7,3 / 100.000 casi, mentre in totale si attesta sui 3,55 / 100.000 casi.

Solitamente i glioblastomi sono secondari in quanto rappresentano l'evoluzione di neoplasie astrocitarie di grado inferiore. Esistono anche neoplasie che originano dal nulla, così come sono relativamente frequenti forme multicentriche. Istologicamente il glioblastoma multiforme è caratterizzato da estremo polimorfismo cellulare, elevata cellularità, mitosi e necrosi. Quest'ultima può essere bordata o meno da pseudopalizzate. I tipi cellulari che compongono il glioblastoma multiforme sono estremamente vari. Le grandi cellule bizzarre e mostruose che spesso lo

caratterizzano sono quelle inattive mitoticamente, mentre le piccole e anaplastiche sono quelle responsabili della diffusione e della crescita in quanto cineticamente più attive. Anche la proliferazione vascolare, sebbene non esclusiva del glioblastoma multiforme, è in questa neoplasia particolarmente esuberante.

Vengono riconosciute due varianti del glioblastoma multiforme: il glioblastoma a cellule giganti e il gliosarcoma.

La prima è caratterizzata da una prevalenza di cellule giganti mostruose, multinucleate. Si presenta macroscopicamente come una lesione ben circoscritta. I pazienti con questa forma hanno sopravvivenze più lunghe rispetto a quelli con glioblastoma multiforme classico. Il gliosarcoma è una neoplasia che presenta accanto a una componente astrocitaria francamente maligna una mesenchimale con franchi aspetti sarcomatosi. Il gliosarcoma rappresenta circa il 2% dei glioblastomi multiformi e il suo comportamento biologico è sovrapponibile a quello delle forme senza componente sarcomatosa.

La maggioranza dei pazienti affetti da glioblastoma multiforme trattati con chirurgia e radioterapia muore entro 24 mesi dalla diagnosi.

La seconda categoria potremmo definirla di **astrocitomi localizzati** in quanto hanno una ridotta capacità invasiva, una limitata capacità di crescita e una scarsa propensione alla trasformazione maligna. Questo gruppo di neoplasie con prognosi più favorevole comprende l'astrocitoma pilocitico, lo xantoastrocitoma pleomorfo e l'astrocitoma subependimale gigantocellulare.

Astrocitoma Pilocitico. Insorge prevalentemente in età pediatrica ma può colpire anche soggetti adulti. La sede caratteristica è quella degli emisferi cerebellari. Tuttavia la neoplasia può interessare anche le strutture profonde emisferiche quali il talamo, il nervo e il chiasma ottico; a volte si presenta come una lesione cistica emisferica. La RMN mostra una lesione cistica ben demarcata con aumentato segnale in T1 e T2. Si osservano frequentemente aspetti degenerativi che comprendono pleomorfismo nucleare con cellule giganti plurinucleate e proliferazione vascolare con aspetti di iperplasia glomeruloide. Nonostante l'aspetto macroscopico circoscritto, l'astrocitoma pilocitico può infiltrare il tessuto circostante e le

leptomeningi. A differenza di quanto avviene nelle forme diffuse, atipie cellulari, proliferazione vascolare e focolai di necrosi non implicano una trasformazione maligna della neoplasia.

Xantoastrocitoma pleomorfo (PXA). E' una variante di astrocitoma che in genere insorge in bambini e giovani adulti, ma eccezionalmente si osserva in soggetti avanti con l'età. E' una lesione emisferica, superficiale, con predilezione per il lobo temporale. Microscopicamente è caratterizzato da una proliferazione astrocitaria marcatamente pleomorfa con cellule giganti. Quest'ultime possono contenere vacuoli lipidici che conferiscono un aspetto xantomatoso, che sebbene frequente non è patognomonico della lesione in quanto si può osservare anche in ordinari glioblastomi. A differenza del glioblastoma multiforme, la necrosi è assente, le mitosi sono rare ed è presente una ricca trama reticolinica che circonda le singole cellule. Biologicamente è una neoplasia con una prognosi favorevole. Tuttavia una minoranza dei casi progredisce verso il glioblastoma.

Astrocitoma subependimale gigantocellulare (SEGA). Il SEGA insorge nelle prime due decadi di vita ed è, spesso ma non sempre, associato alla sclerosi tuberosa. A volte il tumore può essere la prima manifestazione della malattia, ma nella maggioranza di casi vi è una lunga storia di epilessia legata alla presenza di tubercoli corticali. Generalmente il SEGA è una lesione nodulare ben circoscritta rispetto al cervello adiacente.

Origina frequentemente dalla parete dei ventricoli laterali a livello dei gangli basali. Istologicamente è costituito da una popolazione eterogenea che comprende cellule grandi di aspetto fusiforme o piramidale spesso con una caratteristica disposizione perivascolare, cellule poligonali con abbondante citoplasma simili a gemistociti e cellule giganti mono o plurinucleate simili a cellule gangliari. Le mitosi sono rare. Non sono stati riportati casi di evoluzione maligna di questa neoplasia [1,2].

OLIGODENDROGLIOMI

Gli oligodendrogliomi rappresentano circa il 10-15% di tutti i gliomi. L'età di insorgenza di tali neoplasie mostra due picchi: uno, più piccolo, in età pediatrica, l'altro, di maggiori dimensioni, che corrisponde circa alla quinta decade. L'aspetto neuroradiologico alla TAC spesso è caratterizzato da grossolane calcificazioni con una distribuzione curvilinea che corrisponde alle circonvoluzioni cerebrali. La sede solitamente è la sostanza bianca degli emisferi cerebrali in particolare il centro semiovale del lobo frontale e temporale. Macroscopicamente tali tumori producono un'espansione della corteccia, mentre la sostanza bianca sottostante assume aspetto gelatinoso. Istologicamente la neoplasia mostra un limite abbastanza netto rispetto alla sostanza bianca adiacente e ha spiccata tendenza a infiltrare la sostanza grigia formando un tipico alone chiaro, come è evidente dalle immagini della fig. 4.

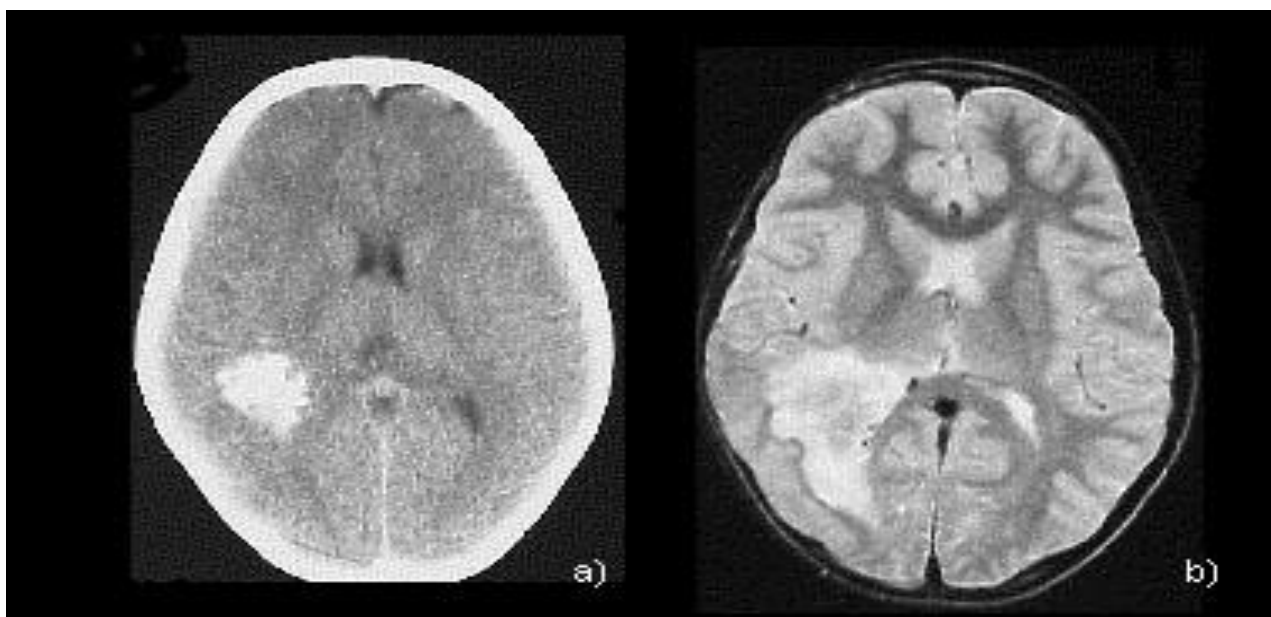


Fig. 4: olidendrioglioma peritrigonale destro in sezione assiale: TC (a) e RM (b)

La classificazione per malignità degli oligodendrogliomi è stata oggetto di numerosi studi atti a definire quali aspetti morfologici correlino con la prognosi. Come nel caso degli astrocitomi, l'aumento della cellularità, l'attività mitotica e la necrosi sono generalmente associati a un tempo medio di sopravvivenza inferiore, mentre la presenza di degenerazione microcistica correla con una prognosi migliore.

Dunque ai fini prognostici gli oligodendrogliomi vengono divisi in oligodendroglioma ben differenziato, caratterizzato da uniformità nucleare, rare mitosi, assenza di necrosi e proliferazione vascolare, e oligodendroglioma anaplastico, caratterizzato da importante aumento della cellularità, pleomorfismo e ipercromatismo nucleare, numerose mitosi, proliferazione vascolare e, in molti casi, necrosi. La sopravvivenza a 5 anni per le due forme è superiore a quella degli astrocitomi diffusi di grado analogo.

Menzioniamo a parte il **glioma misto (oligo-astrocitario)**. Nella nuova classificazione dell'OMS sono stati inseriti anche i gliomi misti, intesi come neoplasie miste oligo e astrocitarie, nelle quali le due popolazioni neoplastiche sono ugualmente rappresentate (la componente neoplastica astrocitaria deve essere circa il 50%). Da un punto di vista biologico le forme oligo-astrocitarie si comportano come gli oligodendrogliomi [1,2].

EPENDIMOMI

Gli ependimomi prendono origine dall'ependimocita, la cellula di rivestimento delle cavità ventricolari e del canale midollare. L'incidenza di tali tumori varia nelle casistiche riportate dal 2 al 6 % di tutti i gliomi. Colpiscono ogni età, ma sono più frequenti nelle prime due decadi, rappresentando circa il 10% di tutte le neoplasie cerebrali dell'infanzia e dell'adolescenza. Gli ependimomi rappresentano la neoplasia gliale più frequente del midollo spinale e sono prevalentemente localizzati nella regione lombosacrale. L'aspetto macroscopico è vario: le forme intraventricolari hanno aspetto papillare, le forme intraparenchimali sono generalmente ben delimitate e spesso cistiche. Gli ependimomi midollari, anche se non posseggono una vera capsula, sono talmente ben circoscritti da renderne possibile una asportazione chirurgica completa. Istologicamente, gli ependimomi esprimono aspetti strutturali sia di tipo gliale che di tipo epiteliale.

Dell'ependimoma si riconoscono numerose varianti: ependimoma cellulare, ependimoma papillare, ependimoma a cellule chiare ed ependimoma mixopapillare. Le calcificazioni sono comuni a tutte le forme.

Gli ependimomi classici sono di basso grado, hanno generalmente lenta crescita e si trasformano in senso maligno più raramente degli astrocitomi. Occorre ricordare che la presenza di atipie citologiche, di occasionali mitosi e di zone di necrosi non sono indicatori sicuri di malignità. La sopravvivenza media a 5 anni è dell'ordine dell'85%. Gli ependimomi anaplastici (maligni), posseggono alto numero di mitosi, marcata iperplasia endoteliale e ampie aree di necrosi. La sopravvivenza media a 5 anni è dell'ordine del 30%.

Citiamo anche i **subependimomi**, tumori benigni intraventricolari generalmente piccoli e asintomatici [1,2].

Schema riassuntivo

Riportiamo di seguito uno schema che riporta la visione d'insieme della classificazione:

⇒ ASTROCITOMI (80-85%)

→ FORME DIFFUSE :

- Astrocitoma
- Astroc. anaplastico
- Glioblastoma multiforme

→ FORME LOCALIZZATE :

- Astroc. pilocitico
- Xantoastroc. pleomorfo
- Astroc. subependimale
gigantocellulare

⇒ GLIOMI }

⇒ OLIGODENDROGLIOMI (10-15%)

- Ben differenziato
- Anaplastico
- Misto (oligo-astrocitario)

⇒ EPENDIMOMI (2 - 6 %)

- Ependimomi
- Subependimomi

TRATTAMENTI RADIOTERAPICI

Descrizione ed effetti biologici

La radioterapia oncologica sfrutta per i suoi scopi l'utilizzo delle radiazioni ionizzanti, ovvero quelle onde in grado di ionizzare gli atomi. Tali radiazioni si possono distinguere in corpuscolari (elettroni, neutroni, particelle alfa) e non corpuscolari (onde elettromagnetiche); sui trattamenti che fanno uso di queste ultime si concentra in particolare l'analisi, anche perché sono i più diffusi.

Per spiegare l'interazione fra le radiazioni ionizzanti e le molecole biologiche sono stati ipotizzati due meccanismi principali: l'effetto fisico-chimico diretto e quello indiretto.

Nell'effetto diretto si suppone che l'eccitazione e la ionizzazione di un atomo, causando la riorganizzazione degli elettroni, sui quali si basa la coesione e la stabilità della molecola, rendano la stessa suscettibile alla rottura di legami chimici e successivamente provochino la sua distruzione. Nelle cellule gli effetti più importanti si ravvisano nel DNA, con conseguenze tanto gravi da condurre solitamente alla necrosi.

Nell'effetto indiretto l'attenzione è posta sulle molecole di acqua che costituiscono più dell'80% dei tessuti biologici: un atomo di tale molecola, che ha perso un elettrone orbitale a causa della ionizzazione, poiché instabile, tende a interagire con altri atomi o molecole per riconquistare l'equilibrio elettronico. La conseguenza di queste interazioni può essere la formazione di radicali liberi, che sono atomi o molecole con un elettrone libero spaiato. Nell'acqua si formano perciò, per il fenomeno detto di radiolisi ionizzativa, svariati radicali liberi che, essendo altamente reagenti, diffondono a distanza, interagendo a cascata e moltiplicando gli effetti delle radiazioni ionizzanti. I risultati biologici sono analoghi a quelli indotti dall'effetto diretto [1,2].

Panoramica su radiazioni ed i macchinari in uso

Raggi gamma e cobaltoterapia

Le prime radiazioni considerate sono i raggi gamma, i quali nello spettro delle frequenze elettromagnetiche assumono un valore compreso all'incirca tra i 10^{19} ed i 10^{23} Hz. L'apparecchio con cui vengono somministrati contiene all'interno della testata una sorgente di cobalto 60, circondata da un'adeguata schermatura e con una finestra motorizzata per la fuoriuscita, geometricamente controllata, del fascio di radiazioni. Questo radionuclide artificiale emette tali raggi ad energie di 1,17 e 1,33 MeV, sufficienti per una buona penetrazione in profondità del fascio: a 11 cm di profondità la dose si riduce a circa il 50% della dose massima di entrata in superficie. La sorgente ha dimensioni contenute di 1,5-2 cm, per un'attività di 6000-7000 Ci (Curie; unità di misura della radioattività di un isotopo), consentendo di avere fasci con penombra (zona periferica al margine dei campi ove la dose varia dall'80% al 20% della dose al centro del campo) accettabile, dell'ordine di 10-14 mm, ed un'intensità di dose (cGy/minuto erogati) pari a 150-200 cGy/min, quando la sorgente è nuova.

I vantaggi della cobaltoterapia sono di avere una ben definita emivita (periodo nel quale l'attività della sorgente si riduce alla metà con conseguente raddoppio del tempo di trattamento), di avere un'intensità del fascio costante nel tempo e senza le oscillazioni all'uscita tipiche delle macchine elettriche e, infine, di avere un costo di manutenzione alquanto limitato, per la limitata presenza di componenti elettriche complesse, con conseguenti rare interruzioni del funzionamento. Gli svantaggi legati a questa macchina sono la dose relativamente bassa che arriva in profondità rispetto ai moderni acceleratori lineari, la relativa disomogeneità del fascio nei campi larghi, la penombra più ampia di quella degli acceleratori, l'impossibilità di aggiornare tecnologicamente queste macchine, la necessità di dover sostituire la sorgente ogni 4-5 anni, i problemi ambientali legati alla collocazione delle sorgenti decadute e i problemi radioprotezionistici del personale. Poiché gli svantaggi tendono a superare i vantaggi, in molti centri oggi queste macchine sono state abbandonate; tuttavia nelle nostre considerazioni si è più di una volta tenuto conto di studi eseguiti su pazienti trattati proprio con questo tipo di macchinari.

Una particolare tecnica che, analogamente a quella appena esposta, sfrutta gli effetti dei raggi gamma è la cosiddetta **radiochirurgia stereotassica** attuata tramite **gamma knife**. Il termine radiochirurgia stereotattica è nato per indicare l'irradiazione stereotassica tridimensionale con fasci esterni (3D-stereotactic external-beam irradiation, 3D-SEBI), di un bersaglio intracranico, grazie alla presenza di un telaio (frame) semicircolare, fisso ed esterno al cranio, sul quali erano riportate le coordinate delle tre dimensioni: utilizzando campi fissi multipli a diverse angolazioni, focalizzati all'isocentro tumorale dedotto in base alle radiografie convenzionali (o all'angiografia), si otteneva una distribuzione tridimensionale della dose.



Fig. 5: tipico esempio di casco stereotassico

Dalla fine degli anni sessanta è iniziato l'uso clinico di un'unità di cobaltoterapia dedicata alla radiochirurgia denominata appunto gamma-unit o gamma-knife: consiste in 201 piccole sorgenti di cobalto 60 distribuite uniformemente in un'emisfera, in modo che i piccoli fasci di radiazioni che ne escono possano entrare nel cranio attraverso numerosi punti, tanto da ricoprire interamente la convessità. Collimatori esterni variabili in forma e dimensioni consentono di irradiare focolai intracranici, del diametro da 3 a 18 mm con un'accuratezza di circa 0,1 mm.

Il frame o casco stereotassico, che consiste in un anello semicircolare, viene in questi casi fissato con 4 viti e in anestesia locale al cranio del paziente, in modo da

assicurare la massima precisione della localizzazione del bersaglio e del posizionamento; sul casco è inserito il localizzatore stereotassico contenente le coordinate X,Y e Z, visibili sia ai fotoni X che alla RM ed il paziente è quindi sottoposto alle moderne tecniche di imaging quali la TAC, la RM (ed eventualmente angiografia, ma per altri scopi). Il target viene a questo punto accuratamente identificato insieme agli organi sani critici e viene scelto un piano idoneo per ottimizzare la dose.

Dal momento che il sistema di fissazione del cranio è comunque cruento, la radiochirurgia prevede un'unica seduta di trattamento con dose elevata. Visto l'alto costo della gamma-knife, sono state studiate attrezzature e tecniche applicabili agli acceleratori lineari in commercio per effettuare questo tipo di terapia, anche in più sedute e senza sistemi di immobilizzazione cruenti: è stato tuttavia suggerito che il termine radiochirurgia sia esclusivamente riferito alle terapie effettuate con gamma-knife ed in un'unica seduta, denominando invece radioterapia stereotassica i trattamenti eseguiti con gli acceleratori ed in più frazioni [1,2].

Elettroni, raggi X e acceleratori lineari

Gli acceleratori lineari sono oggi le macchine maggiormente diffuse per la radioterapia, poiché consentono di effettuare i trattamenti con le più moderne tecnologie. Queste unità usano un acceleratore a microonde, costituito da un tubo con cavità cilindrica, ove è generata una serie di campi elettromagnetici ad alta frequenza e attraverso il quale è fatto passare un fascio di elettroni che subisce un'accelerazione progressiva. Gli elettroni così accelerati, dopo aver acquistato un'energia stabilita, possono essere direttamente utilizzati per trattare le neoplasie superficiali oppure sono fatti urtare contro un bersaglio, dando origine a fasci di raggi X di energia diversa ed elevata, adatti a trattare neoplasie localizzate profondamente all'interno del corpo. La penombra di questi fasci è dell'ordine di qualche millimetro. Il gantry, o stativo dell'acceleratore, che contiene il tubo di accelerazione e la testata dalla quale fuoriesce il fascio di radiazioni opportunamente collimato, può ruotare su di un asse orizzontale da 0° a 360°; il collimatore del fascio, ovvero il sistema che delimita il fascio di radiazioni consentendo di avere campi di ampiezza variabile, può anch'esso

ruotare a piacere, con un asse che si muove su un piano perpendicolare all'asse del gantry. Il punto di intersezione dell'asse del gantry con l'asse del collimatore è definito isocentro: nella pratica clinica di solito si fa coincidere l'isocentro con il centro del volume bersaglio, ovvero del tumore, in modo che il volume bersaglio sia sempre al centro dei fasci di radiazioni qualunque angolazione venga scelta. Vediamo in fig. 6 un classico esempio di acceleratore lineare con il piano dove viene collocato il paziente. Le energie di fotoni X emessi dagli acceleratori lineari variano da 4 fino a 25 MeV: alcune macchine hanno due o tre livelli a scelta di energie disponibili, generalmente 6, 10 o 15 MeV. Per gli elettroni sono disponibili in ciascuna macchina 4 o più livelli di energia, variabili da 4 fino a 45 MeV. La distribuzione della dose in profondità e la percentuale di dose profonda rispetto alla dose in superficie dipende dall'energia dei raggi X emessi, ma è comunque sempre vantaggiosa rispetto a quella del cobalto 60: per fotoni X di 6 MeV si avrà il 50% della dose a circa 15.6 cm, mentre per fotoni di 8 MeV a circa 17.2 cm. Anche la penombra sarà inferiore, grazie alle ridotte dimensioni della sorgente: per energie di 6 MeV la penombra è dell'ordine di 5 mm.



Fig. 6: tipico esempio di linac

Una tecnica particolare è la **radioterapia conformazionale tridimensionale (3D-CRT)**, che si avvale dell'acquisizione di immagini della regione anatomica interessata dalla malattia, con la TC e/o la RM, elaborandole poi con i sistemi computerizzati per i piani di trattamento (Radiation Treatment Planning). Il bersaglio trattato alle alte dosi è pianificato in modo da comprendere nelle tre dimensioni tutto il volume del tumore, limitando nello stesso tempo la dose nei tessuti sani a rischio. Il 3D-RTP ricostruisce quindi un'immagine tridimensionale della regione anatomica interessata, simula tutti i movimenti della macchina di trattamento, ovvero quelli della testata, del collimatore e del lettino e consente una visione dell'anatomia del paziente con la stessa prospettiva dell'asse del fascio di radiazioni che esce dalla macchina (detta visione con l'occhio del fascio, beam's eye view). Grazie a ciò è possibile selezionare la conformazione, il numero dei fasci di radiazione e la dose: essa è quindi definita punto per punto nell'intero volume di interesse e non più in un solo punto come in precedenza, ovvero all'isocentro dei fasci di radiazione.

Altra tecnica speciale è la **radioterapia con modulazione di intensità (IMRT)**, che rappresenta uno dei più importanti avanzamenti nel settore: può essere considerata l'evoluzione o un nuovo tipo di 3D-CRT, basata sull'impiego di fasci di radiazioni non uniformi con intensità differenti. Anche i piani di trattamento sono diversi da quelli comunemente impiegati, utilizzano una pianificazione inversa (l'attenzione si concentra sull'obiettivo desiderato, che è specificato in termini matematici, e non sul "come" tale obiettivo possa essere raggiunto) e sistemi di 3D-RTP con ottimizzazione computerizzata per scegliere la migliore distribuzione delle intensità lungo il volume bersaglio. E' infatti l'algoritmo di ottimizzazione ad aggiustare automaticamente i parametri dei fasci di radiazioni (specie l'intensità) nel tentativo di ottenere l'obiettivo desiderato [1,2].

TECNICHE DI TERMOTERAPIA CON RADIOFREQUENZE

Principi di funzionamento e apparecchiature

Come già accennato, la termoterapia è un trattamento che agisce sulle cellule dei tessuti tumorali non già attraverso gli effetti della ionizzazione, bensì trasferendo energia al bersaglio, la quale in gran parte induce un sensibile aumento della temperatura e inoltre provoca una serie di effetti biologici che portano alla morte cellulare oppure lo rendono più sensibile ai trattamenti tradizionali (essenzialmente radioterapia e chemioterapia).

I casi di utilizzo di termoterapia in letteratura sono svariati, ma appaiono sempre come tentativi sperimentali, sporadici e quasi “in mancanza d’altro”. Questa considerazione nasce dal fatto che non sembrano esistere tecniche, strumenti o metodi standard per la sua applicazione, né essa viene indicata tra le cure ritenute più efficaci contro il cancro nelle profilassi di routine accettate a livello mondiale.

Perciò, sebbene nella tesina per completezza vengano presi in considerazione risultati ottenuti da ricerche che hanno studiato l’applicazione di tale tecnica a pazienti affetti da tumori cerebrali, bisogna ricordare che la termoterapia è un trattamento del tutto ancillare e, se del caso, complementare alla radioterapia, la quale rimane, dopo la rimozione ed insieme alla chemioterapia, la più importante forma di cura del tumore.

Nello specifico vanno distinte due forme di termoterapia che si differenziano per parametri di applicazione ed effetti biologici evocati.

La prima è l’ipertermia, che induce un riscaldamento del tessuto fino ai 40-44° C con conseguente alterazione della funzionalità di proteine enzimatiche e strutturali, aumento del flusso di ioni transmembrana che porta ad alterarne il potenziale, la pressione ed il metabolismo, con deplezione di molecole ed in particolare di ATP.

La seconda è nota invece come termoablazione e porta ad effetti citotossici più sostanziali, come necrosi, coagulazione e carbonizzazione, attraverso l'innalzamento della temperatura oltre i 44-45° C.

L'una è più indirizzata ad un tipo di cura complementare (infatti spesso è utilizzata come sensibilizzante per radio e chemioterapia), mentre l'altra si propone come trattamento in sé "completo" per la neutralizzazione del tumore. Sebbene dal punto di vista concettuale le due tecniche siano distinte, nella pratica il confine tra l'una e l'altra è piuttosto labile. Questo soprattutto perché spesso gli effetti dell'ipertermia, ovvero in ultima analisi deossificazione ed acidificazione dell'ambiente cellulare, sommati alla maggiore sensibilità al calore del tumore, dovuta al naturale deficit di autoregolazione della rete vascolare proprio della massa neoplasica, portano comunque alla necrosi cellulare.

Solitamente le tecniche di ipertermia attraverso radiofrequenze utilizzano normali generatori di radiofrequenze con frequenza superiore a 0,4 MHz, soglia ritenuta di sicurezza sotto la quale le onde potrebbero produrre stimoli indesiderati sul sistema nervoso centrale e sotto la quale gli effetti termici sono scarsi. Generalmente si è soliti avvalersi di qualche MHz (fino ad un massimo di 20) per un totale di dieci-quinici minuti a seduta; queste sono tenute subito prima o subito dopo la radioterapia o la chemioterapia, proprio per sfruttarne la coazione. Nella zona tumorale vengono raggiunte temperature dai 40 ai 50 °C a seconda delle esigenze, a fronte di appena 36-40°C nell'area peritumorale; si ritengono perciò scongiurati rischi per i tessuti sani adiacenti [7,8,9,10,11,12]. Le radio-frequenze possono essere somministrate sia attraverso l'applicazione di elettrodi sullo scalpo, sia, più spesso, con l'introduzione degli elettrodi nel sito tumorale attraverso cateteri. Se la seconda soluzione è, forzatamente, invasiva, è altresì vero che attenua il limite maggiore del trattamento, ovvero la difficoltà di focalizzare l'innalzamento di temperatura nel solo volume interessato.

Un altro genere di trattamento si basa sull'effetto detto T.E.C. (trasferimento elettrico capacitivo); si ha un elettrodo attivo che, posto sulla cute, forma una sorta di condensatore, in cui esso stesso rappresenta un'armatura, il tessuto biologico l'altra e la copertura isolante dell'elettrodo funge da dielettrico. I campi elettromagnetici alternati (0,8 MHz) generati attraversano i tessuti che, in virtù della loro intrinseca

resistenza, vengono riscaldati dalla dispersione di energia. Simili trattamenti producono un trasferimento energetico tramite accoppiamento capacitivo; essi sono altamente selettivi in quanto sfruttano il fatto che l'assorbimento di energia da parte dei tessuti ad una data frequenza è proporzionale alla conduttività ed inversamente proporzionale alla densità del tessuto stesso (si definisce Specific Absorption Rate l'energia assorbita: $\sigma E^2/d$) [5,12]. Entrambi i parametri assumono valori maggiori proprio nelle cellule cancerose, che quindi subiscono un danno molto maggiore rispetto a quelle sane.

Un'altra tecnica che si propone di arrestare l'attività della neoplasia con l'ausilio del calore è la cosiddetta MFH (magnetic fluid hypertermia). Essa si colloca nell'avanguardia della sperimentazione coniugando l'applicazione esterna di campi magnetici con l'iniezione in situ di sospensioni contenenti metalli sensibili, appunto, all'azione dei campi. Tali metalli non sono altro che nanoparticelle di ossido di ferro (diametro di circa 15 nm) ricoperte da uno strato di ammino-silano (promotore di adesione) che, immerse in un campo magnetico alternato (16-23 mT a 100 kHz), si magnetizzano e generano calore per il processo di rilassamento.

Il tratto peculiare che rende particolarmente efficace tale trattamento, e che sembra eliminare il principale problema legato alle altre tecniche di termoterapia, è senz'altro l'elevata selettività. Le ricerche dimostrano infatti che la particolare copertura delle nanosfere fa sì che siano captate in numero estremamente maggiore dalle cellule tumorali rispetto a quelle gliali sane (fino a 2000 volte di più) [11].

Un ulteriore vantaggio consiste nella possibilità di modulare a piacere l'intensità dei campi elettrici, in modo tale da poter operare sia ipertermia che termoablazione (addirittura si possono raggiungere temperature di 55-60° C). Tale tecnica permette di raggiungere regioni profonde difficilmente trattabili con interventi chirurgici grazie ad aghi molto sottili (0,5 mm) e non ha finora denotato l'insorgenza di effetti collaterali. Infine sottolineiamo che le nanoparticelle sono considerate a tutti gli effetti devices medici e non, come ci si potrebbe aspettare, medicinali.

TRATTAMENTI CON CAMPI ELETTRICI

TTF

Un primo tipo di tecnica che si avvale dell'uso di campi elettrici, con finalità diverse dalla termoterapia, è il cosiddetto trattamento a campi alternati di bassa intensità e frequenza intermedia, meglio noto col nome di TTF (tumor treating fields). E' a tutt'oggi considerata ancora una cura di tipo sperimentale, infatti sono solo di una decina di anni fa i primi studi condotti in vitro ed in vivo su modelli animali; da pochi anni alcuni risultati sono stati ottenuti su pazienti affetti da tumori (per lo più gliomi), ma sempre in ambito sperimentale. Ciò nonostante, sembra essere una delle vie più innovative e promettenti per la lotta ai gliomi, soprattutto nell'uso combinato con radio e chemioterapia.

Funzionamento, princìpi biologici e risultati

Dal momento che le cellule sono per lo più costituite da ioni, molecole polari o cariche e che molti processi biologici coinvolgono proprio fenomeni elettrochimici, è noto da tempo che esse siano sensibili alla presenza di campi elettrici e correnti.

A livello microscopico, osservando cellule immerse in campi elettrici, si assiste a flussi di ioni e ridistribuzioni spaziali delle molecole cariche; a livello macroscopico, invece, correnti elettriche indotte, se sufficientemente elevate, possono stimolare i nervi, il miocardio ed altri siti sensibili. In generale, maggiore è la densità di potenza dovuta al campo elettrico, maggiore è il calore prodotto e dunque il rischio di danno indotto.

Nel caso di campi alternati, ioni e molecole cariche sono soggetti a forze con verso che muta alternativamente, provocando spostamenti ripetuti ed in particolare la continua oscillazione dei componenti che hanno una caratteristica elettrica approssimabile con un dipolo.

Tali fenomeni hanno una velocità di risposta piuttosto lenta rispetto ai tempi caratteristici delle radiofrequenze (kHz-MHz), tanto che si è stati portati a ritenere per

lungo tempo che per perturbazioni superiori ai 10 kHz non sortissero alcun effetto biologico, se non il riscaldamento dei tessuti. Le basi biologiche dalle quali si è partiti per giungere al trattamento dei tumori attraverso TTF si fondano proprio sul rovesciamento di quest'idea, corroborato da nuovi e più specifici tests.

Si è scoperto infatti che i campi elettrici alternati a bassa intensità e media frequenza agiscono sui tessuti modificando il naturale ciclo di vita della cellula, in particolare ostacolando la mitosi.

Tutte le cellule sane dell'organismo sono dotate di particolari meccanismi che regolano e limitano la velocità con la quale possono riprodursi. Nel caso di alcune cellule cancerose, questi delicati equilibri sono alterati e così avviene che esse si duplicano senza controllo, riducendo quel lasso di tempo tra una mitosi e l'altra, ovvero la quiescenza.

Diversi studi hanno infatti dimostrato che campi elettrici alternati a bassa intensità (pari a qualche V/cm) e frequenza variabile sono in grado di colpire selettivamente le cellule in fase di mitosi, causandone la distruzione o prolungando fuori misura la durata del processo, e lasciare inalterate quelle quiescenti [17,18,19]. L'imposizione del campo alternato a frequenze di centinaia di kHz, infatti, provoca all'interno delle seconde un campo uniforme e debole, in virtù dell'alta impedenza offerta dalla doppia membrana lipidica, che non provoca altro se non deboli e innocue oscillazioni degli elementi polari nel citoplasma; nelle prime, invece, il campo interno aumenta di intensità proprio a livello della congiunzione tra le cellule che si vanno formando (come è illustrato qualitativamente nella fig. 7).

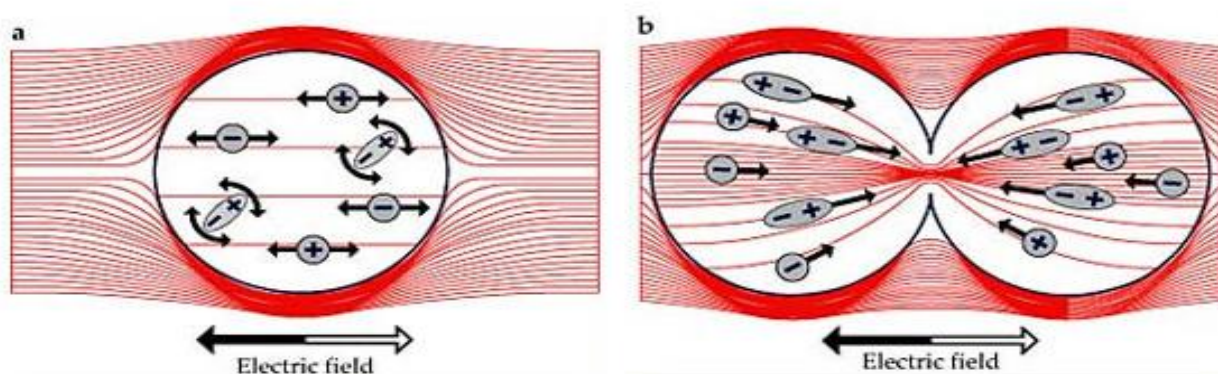


Fig. 7 : rappresentazione schematica della distribuzione delle linee di forza del campo elettrico all'interno di una cellula quiescente (a) e di una sottoposta a mitosi (b)

Ciò genera una forza tale da impedire la conclusione del processo e addirittura la distruzione di entrambe nel caso in cui le strutture microtubulari del fuso mitotico (approssimabili a dipoli) siano perpendicolari al campo stesso.

Com'è congetturabile, ed in ogni modo provato da diversi test [17,18], questi risultati, specie se combinati ad altre terapie volte alla distruzione delle cellule neoplastiche, portano ad un migliore contrasto della malattia, ed in particolare ad un netto rallentamento dello sviluppo.

Incidentalmente, tale trattamento si adatta molto alla cura dei tumori cerebrali, in quanto il distretto di interesse risente in misura minore degli effetti del rallentamento delle mitosi nelle cellule sane; l'uso in altri distretti e su altri tessuti caratterizzati da breve turnover cellulare causerebbe infatti un'alterazione troppo gravosa e dunque dannosa dello stesso (pensiamo agli effetti che si avrebbero rallentando il ciclo di vita delle cellule epiteliali).

Gli effetti di rallentamento (A) o impedimento (B, C) della mitosi dei TTF ci sono illustrati dalle immagini della fig. 8.

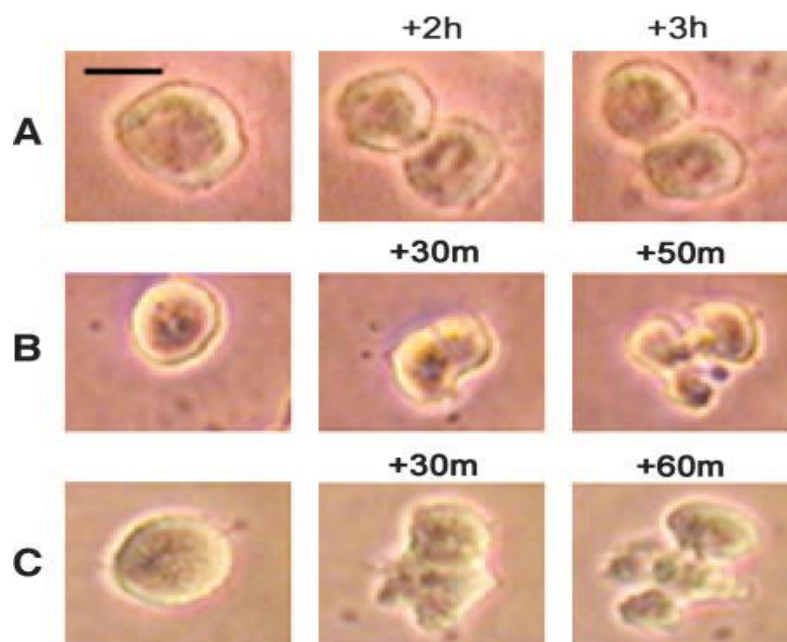


Fig. 8: tre cellule trattate con TTF fotografate durante la mitosi; in A si ha ritardo, in B e C è impedita. (barra = 10 μ m)

Strumentazione

Entrando nello specifico, la somministrazione dei TTF per la cura dei gliomi avviene solitamente tramite l'applicazione di svariati elettrodi sullo scalpo rasato del paziente per un'area complessiva di circa 40 cm². L'intensità dei campi necessaria per l'efficacia (1-2 V/cm) è raggiunta tramite l'erogazione di corrente di circa 80-100 mA a 200 kHz (con una densità di corrente mantenuta attorno ai 30 mA/cm², un terzo della quantità considerata rischiosa per l'integrità della pelle). Le ricerche sembrano evidenziare una certa selettività del tipo di tumore rispetto alla frequenza, che in ogni caso si attesta in un range compreso tra 100 e 300 kHz. Nei modelli in uso esistono sistemi di controllo in grado di diminuire la densità di potenza emessa dal generatore (circa 0,2 – 0,4 W/cm²) nel caso la temperatura in prossimità degli elettrodi raggiunga i 41°C (3-4 gradi al di sotto della soglia di pericolosità).

Per aumentare l'efficacia dell'effetto sulle cellule, che è massima quando le strutture del fuso mitotico risultano perpendicolari alle linee isovalore del campo, in virtù del maggior momento del dipolo, gli elettrodi sono divisi in due coppie di array funzionanti alternativamente lungo due direzioni perpendicolari (di solito dx-sx e anteriore-posteriore) con frequenza di 1Hz.

Un limite della terapia è certamente rappresentato dalla durata dell'applicazione; i test considerati, infatti, hanno coperto un periodo giornaliero di 18 ore continuative per un lasso di tempo sostanzialmente indeterminato (cioè fino alla morte o eventuali impedimenti del paziente). Di contro si ha però la sostanziale assenza di effetti collaterali, se si escludono taluni casi di dermatiti in coincidenza con i siti di collocamento degli elettrodi.

Inoltre i modelli commerciali di apparecchiatura per TTF permettono al paziente di muoversi e agire in relativa libertà concentrando generatore di frequenze e batteria nello spazio di una ventiquattr'ore (vedi fig. 9 ; l'applicazione richiede una completa rasatura per ottenere una buona adesione degli elettrodi). Dobbiamo altresì considerare che le terapie alternative comportano spesso gravosi effetti collaterali (basti pensare a quelli dovuti alla chemioterapia).

Talvolta gli esperimenti in vivo su cavie, soprattutto quelli meno recenti, sono stati condotti optando per un impianto degli elettrodi in prossimità del tumore tramite catetere; non sono state però rilevate prestazioni migliori tali da giustificare una preferenza rispetto all'uso della tecnica non invasiva sopra esposta. Tanto più che non

è necessaria un'esposizione precisa e circoscritta ai campi, visto e considerato che gli effetti biologici provocati sono altamente selettivi e lasciano sostanzialmente inalterate le cellule cerebrali sane.



Fig. 9: esempio di apparecchio per TTF in commercio (NovoCure)

PEF

Un'ulteriore tecnica prevede la generazione di campi sotto forma di impulsi elettrici (Pulsed Electric Field) nei tessuti colpiti dal tumore. Essa è più recente dei TTF e si colloca perciò come protagonista dell'innovazione in questo settore dell'ultimo decennio appena. Differenziandosi completamente dai precedenti trattamenti, non tanto per quanto concerne le tecniche di somministrazione, quanto più per gli effetti biologici prodotti, questo trattamento pare proporsi addirittura come credibile alternativa a radioterapia e chemioterapia nella cura dei tumori. Non è dunque mirata ad un ruolo ancillare, anzi promette la risoluzione completa delle lesioni oncologiche, come effettivamente accade in molti dei primi riscontri scientifici. Ciò almeno in alcune sue modalità (il riferimento è in particolare ai nsPEF, di cui discuteremo) e non escludendo certo il ricorso all'asportazione chirurgica, che rimane fondamentale per la cura.

Funzionamento, principi biologici e risultati

L'efficacia di tale terapia dipende da due diversi parametri elettrici: la durata e l'ampiezza degli impulsi. L'influenza della durata può essere compresa considerando il processo di carica della membrana quando la cellula si trova immersa in un campo elettrico. Infatti, come già accennato in precedenza, gli ioni presenti nel citoplasma tenderanno a muoversi in dipendenza dalla direzione e dal verso del campo elettrico, caricando così la membrana, dotata di alta impedenza, fino a quando altre forze non agiranno in senso opposto. Ciò avviene solo quando la loro redistribuzione genera un campo uguale e contrario, tale per cui il campo elettrico interno netto è pari a zero. Naturalmente ciò richiede un certo tempo, dipendente dalle costanti di carica della membrana plasmatica. Il tempo di carica t_c per cellule ideali (sferiche e con membrana perfettamente isolante) viene calcolato come $t_c = (\rho_c + \rho_a/2) * C_m * D/2$, dove le due ρ sono le resistività rispettivamente del citoplasma e del mezzo di conduzione in cui si trova la cellula, C_m è la capacità della membrana e D è il diametro della cellula. Mediamente, in condizioni fisiologiche, t_c varia in un intervallo tra 0,1 e 1 μ s.

Se l'impulso è più lungo, o dello stesso ordine di grandezza, sortirà i suoi effetti maggiormente sulla membrana plasmatica, provocando la formazione di numerosi pori che permetteranno l'ingresso e l'uscita delle sostanze a minore ingombro sterico, specie l'acqua (fenomeno detto elettroporazione); se invece è più corto, le cariche non avranno il tempo di ridisporsi per contrastare il campo elettrico, il quale perciò penetrerà internamente caricando citoplasma e organelli per un lasso di tempo che dipende, questa volta, anche dalle costanti di carica delle membrane degli organelli stessi. L'elettroporazione in questo caso avverrà per lo più a livello della membrana nucleare e delle membrane degli organelli; infatti l'andamento generale vede una diminuzione dell'insorgenza di elettroporazione esterna al diminuire della durata delle perturbazioni (come riportato dalla fig. 10).

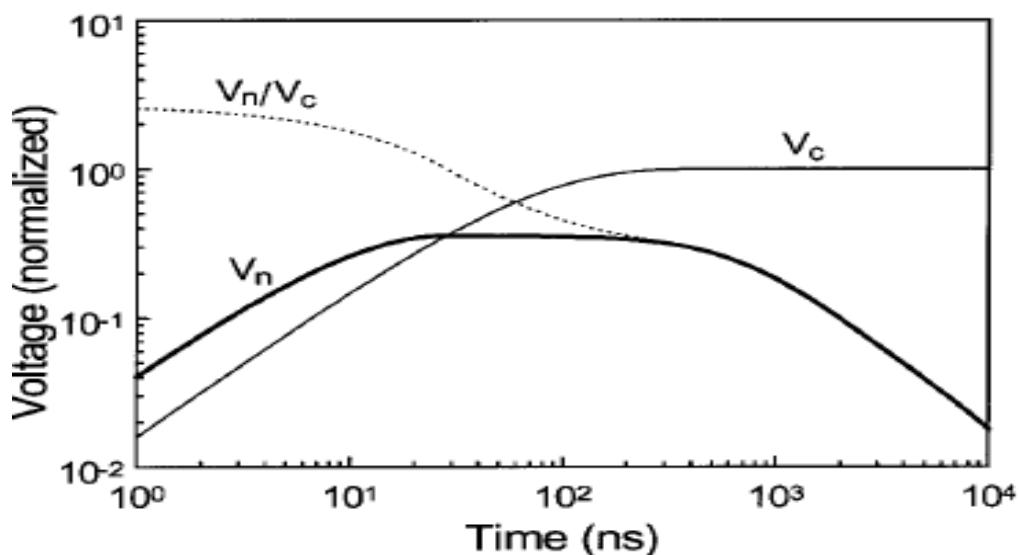


Fig. 10: relazione tra durata degli impulsi e differenze di potenziale normalizzate ai capi delle membrane plasmatiche (V_c) e nucleari (V_n) e loro rapporto

Il secondo parametro caratteristico dei PEF è, come detto, l'ampiezza dell'impulso; infatti da questa dipendono sia la forza esercitata sulle cariche, sia l'elettroporazione delle membrane lipidiche. Quando il campo elettrico attraverso la membrana supera il volt (il che corrisponde a circa 2 kV/cm per una cellula di 10 μm), si formano in essa dei canali, le cui dimensioni ed il cui periodo di permanenza dipendono proprio da durata e ampiezza dello stesso.

Ciò era stato in precedenza sfruttato per utilizzare questa tecnica, al pari di quella a TTF, come trattamento chemio-sensibilizzante; si sottoponeva cioè il tumore alle

perturbazioni elettriche per far sì che poi gli agenti citotossici venissero meglio assorbiti dalle cellule e perciò sortissero un maggior effetto. I risultati ottenuti dalla procedura, nota anche come elettrochemioterapia, sono unanimemente giudicati positivi, ad ulteriore conferma della bontà e della veridicità delle basi biologiche su cui si fonda.

Ulteriori studi hanno però permesso di sfruttare al meglio gli effetti sopra menzionati, portando alla messa a punto di trattamenti basati unicamente su PEF, senza l'ausilio di radio o chemioterapia, con tutti i vantaggi che ciò comporta.

Si è infatti verificato che utilizzando impulsi con campi dell'ordine delle decine di kV/cm (tipicamente 40-60), equivalenti ad una differenza di potenziale di circa 40 V tra due estremi di una cellula con 10 μm di diametro, si ottengono effetti caratteristici che possono portare direttamente alla morte cellulare.

Una prima tecnica agisce andando a stimolare la membrana con impulsi di durata relativamente elevata e di ampiezza modesta (0,1 - 20 ms per campi in un range compreso tra 0,1 e 1 kV/cm). Applicando ripetutamente queste scariche, si cerca di indurre la permeabilizzazione permanente della membrana (permanent permeabilization) che conduce, in tempi lunghi (circa 12h) ed in percentuali elevate, alla necrosi per lo scompenso dell'equilibrio ionico tra ambiente esterno ed interno. Gli effetti indotti da questa tecnica sono noti da tempo e sono sostanzialmente i medesimi che vengono sfruttati per terapie che prevedono la coazione con farmaci (in primis l'elettrochemioterapia).

Un altro trattamento, più recente ed efficace, prevede invece l'uso di impulsi della durata di qualche nanosecondo, meglio noti col caratteristico nome di nsPEF (nano second Pulsed Electric Fields). Tempi di quest'ordine di grandezza permettono in primo luogo di aumentare l'ampiezza dei campi elettrici a parità di potenza erogata (e perciò di calore sviluppato). La differenza fondamentale rispetto ai precedenti risulta comunque essere la modalità di induzione della morte cellulare; i nsPEF sono infatti in grado di attivare i meccanismi dell'apoptosi, che portano dunque la neoplasia bersaglio ad "auto-consumarsi" fino ad una graduale scomparsa. Il salto di qualità che si ottiene riuscendo a innescare questi meccanismi è enorme, come risulta chiaro dalle seguenti considerazioni. E' necessario infatti un piccolo excursus per meglio comprendere come avvenga l'apoptosi, in cosa si distingue dalla necrosi e dove

agiscono i nsPEF per indurla. Innanzitutto riportiamo uno schema che riassume questi aspetti (fig. 11).

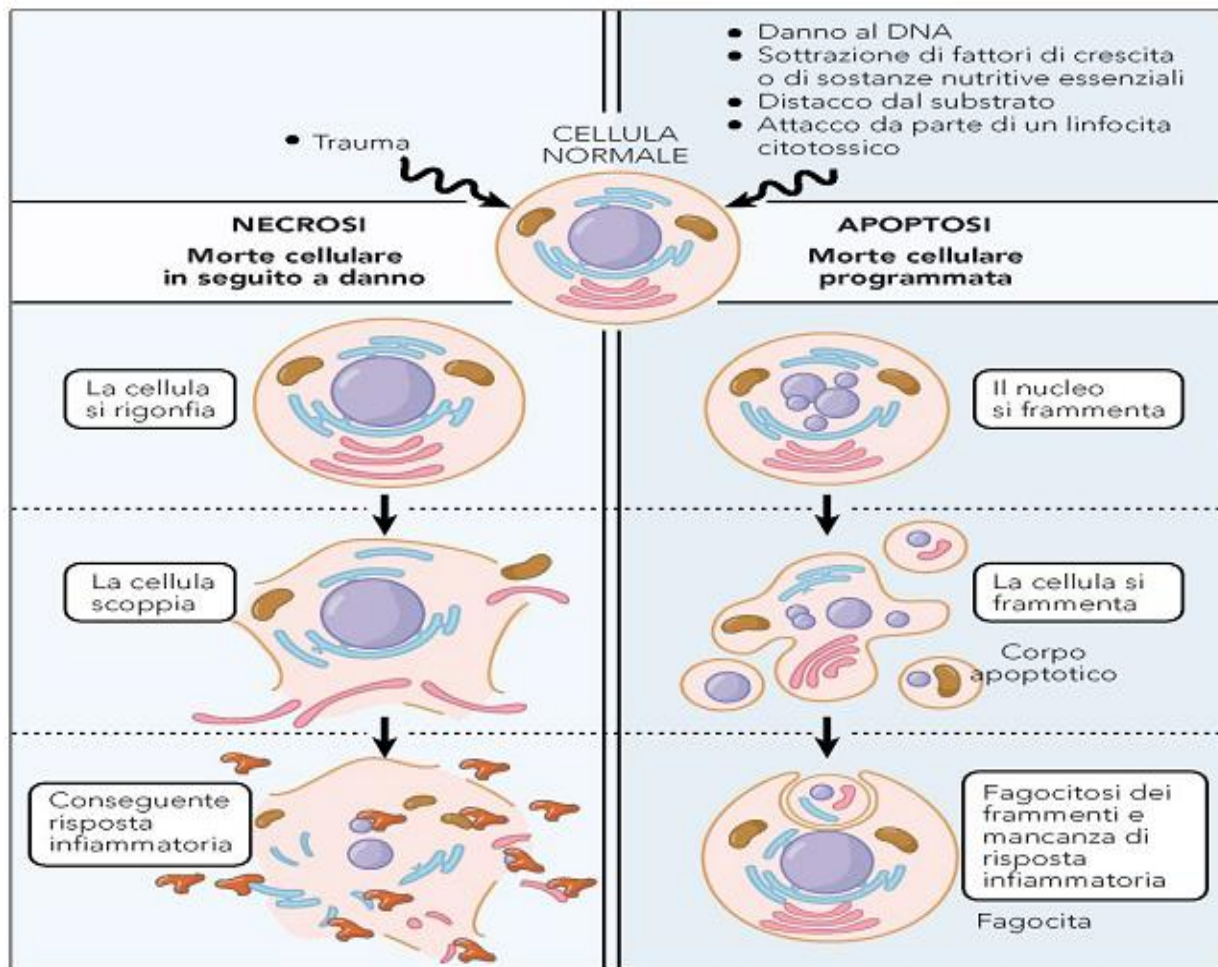


Fig. 11: schema che illustra i cambiamenti subiti dalla cellula durante i processi di necrosi (sx) e apoptosi (dx).

L'apoptosi è un processo fisiologico geneticamente programmato per mezzo del quale cellule vecchie, danneggiate o inutili vengono eliminate. Viene attuata attivamente e si struttura in una serie organizzata di eventi che si susseguono attraverso l'attivazione di una cascata proteolitica. Gioca un ruolo critico per lo sviluppo embrionale e per il mantenimento dell'omeostasi nei tessuti dell'adulto; in particolare è necessaria per distruggere quelle cellule che rappresentano un pericolo per l'integrità dell'organismo, come appunto cellule troppo vecchie, infettate da virus o con mutazioni del DNA (tipicamente tumorali). A livello morfologico si esplica in primo luogo con una diminuzione delle dimensioni cellulari e formazione di protuberanze o veri e propri frammenti cellulari (corpi apoptotici); inoltre si assiste

alla frammentazione del DNA seguita dal compattamento della cromatina in piccole masse dense alla periferia del nucleo, il quale può anche rompersi. Il tutto si conclude con l'eliminazione della cellula per fagocitosi. Essa è un evento ben diverso dalla necrosi, che invece è caratterizzata dall'essere un processo passivo ed incontrollato, in cui si verifica una rottura della membrana plasmatica la quale oltretutto provoca reazioni infiammatorie. Inoltre è generalmente seguita da formazione di tessuto cicatriziale.

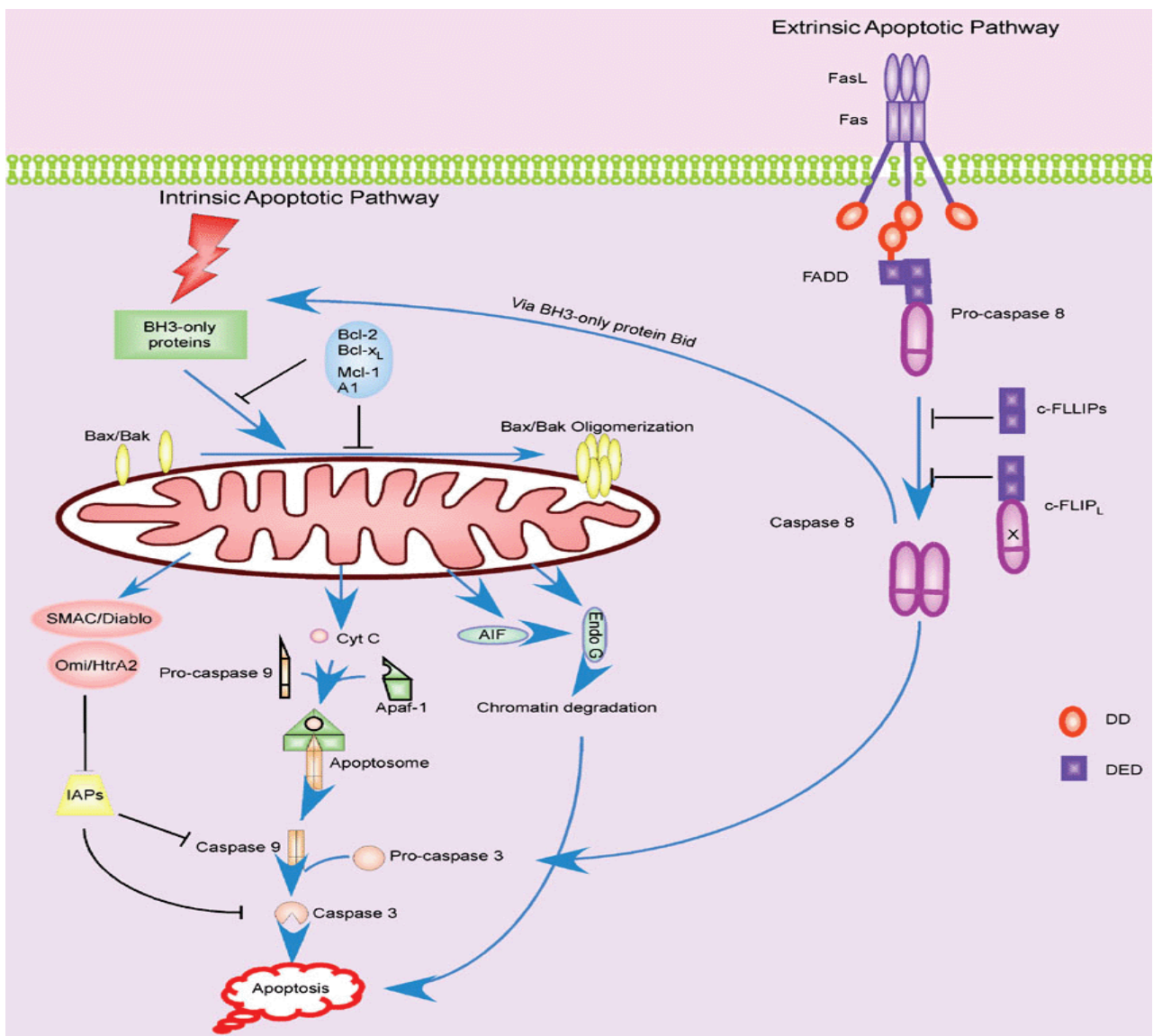


Fig. 12: rappresentazione schematica dei meccanismi che portano all'apoptosi per la via intrinseca ed estrinseca.

Per quanto riguarda le caratteristiche biochimiche, la morte programmata è caratterizzata dall'esternalizzazione della fosfatidilserina ad opera della flippasi e

contemporaneamente ad una frammentazione del DNA che dipende da un evento proteolitico mediato da particolari proteine dette caspasi. Queste controllano l'attività di alcune DNAsi (note come CAD), le quali sono le vere attrici delle scissioni del DNA, andando ad attivarne gli inibitori (detti iCAD) in caso di necessità. L'azione delle caspasi poi è strettamente regolata da due famiglie di proteine: le inhibitors apoptosis proteins (IAPs) e le proteine della famiglia del Bcl2. Le prime e alcune delle seconde hanno un'azione inibitoria, mentre le rimanenti favoriscono l'attivazione, che può essere ottenuta attraverso due vie: quella estrinseca e quella intrinseca.

Quella estrinseca si basa su un sistema di interazione ligando-recettore, in cui cioè è un segnale chimico che giunge sulla membrana a comandare l'avvio del processo. La seconda invece è regolata dal rilascio da parte del mitocondrio, in seguito alla permeabilizzazione della membrana esterna, del citocromo c; questo si lega ad altre proteine formando il cosiddetto apoptosoma, che ha infine il ruolo di attivare le procaspasi e dare perciò il via alla cascata di eventi che porta all'apoptosi (riportiamo un utile schema riassuntivo in fig. 12).

Il trattamento a nsPEF agisce proprio andando ad attivare le caspasi per la via definita intrinseca. Questo ci è confermato da diversi studi in vitro ed in vivo su cavie, dove si evidenzia la registrazione, all'interno delle cellule studiate, di una serie di indizi inequivocabili quali l'aumento della concentrazione del citocromo c, l'alterazione della differenza di potenziale tra le facce della membrana esterna dei mitocondri (riconducibile alla permeabilizzazione di cui si è detto) ed infine, direttamente, l'aumento della presenza di caspasi attive [20,22,23]. Tutto ciò a partire da circa dieci minuti dopo il trattamento. Un esempio dell'aumento della concentrazioni di caspasi attive in seguito all'azione dei nsPEF è riportato in fig. 13.

Un test dimostra in particolare che gli effetti degli nsPEF non sono affatto dovuti all'elettroporazione, fenomeno caratteristico, come detto, delle tecniche con impulsi dell'ordine di microsecondi, comunque presente in minima parte (detto in questo caso nanoelettroporazione per le piccole dimensioni dei pori creati) [23].

Qualora poi si abbia porazione, essa è sempre di breve durata e non porta mai a permeabilizzazione permanente. Prova di ciò è il fatto che cellule sottoposte ai campi rimangono impermeabili a specifici markers. Si avvalora così ancor di più la teoria

descritta, cioè di un'attivazione diretta dell'apoptosi per via intrinseca. In fig. 13 un esempio di test che prova la correlazione tra impulsi e apoptosi andando a valutare l'attivazione delle caspasi.

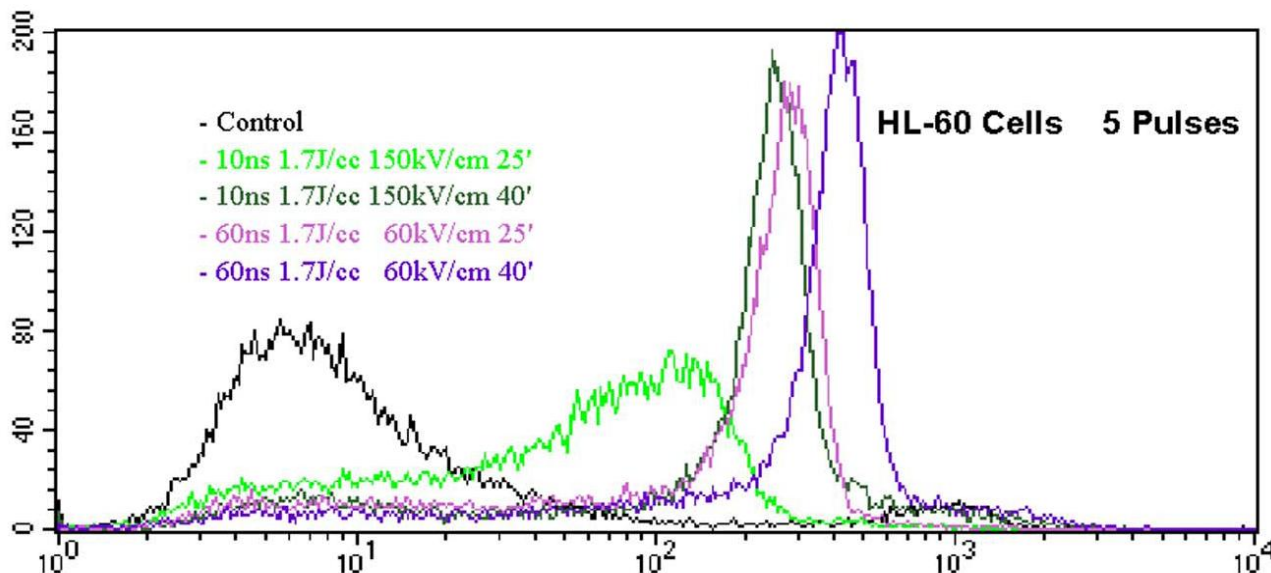


Fig. 13: esempio di corrispondenza tra numero di cellule (asse y) e concentrazione di caspasi attive (asse x; espressa in termini di fluorescenza). Nello specifico si ricava che le caspasi attive aumentano prima in corrispondenza ad impulsi lunghi.

Oltre agli effetti già menzionati, si assiste anche ad un aumento della concentrazione citoplasmatica di ione calcio (come evidenziato dal diagramma in fig. 14) e all'esternalizzazione (intesa come esposizione sulla membrana) della fosfatidilserina; il primo è legato al ruolo che tale ione esercita come secondo messaggero nel processo di apoptosi, mentre il secondo, seppure sintomo inequivocabile dell'avvio dell'apoptosi, pare sia indipendente dall'avvio della morte cellulare programmata e sia solo dovuto agli effetti che la perturbazione elettrica ha sulla membrana [24].

A livello macroscopico, gli effetti dei nsPEF si fanno osservare anche in una riduzione del flusso del sangue al tumore. La spiegazione che è stata data per questo fenomeno trae origine dalle conseguenze sui tessuti epiteliali costituenti i vasi che vanno ad irrorare la neoplasia, ovvero una sorta di atrofizzazione [21]. In particolare, si ipotizza che le cellule epiteliali che formano i capillari siano più sensibili a tali effetti. La diminuzione dell'afflusso sanguigno rende certo più difficili le condizioni di vita del tumore, favorendone pertanto la scomparsa.

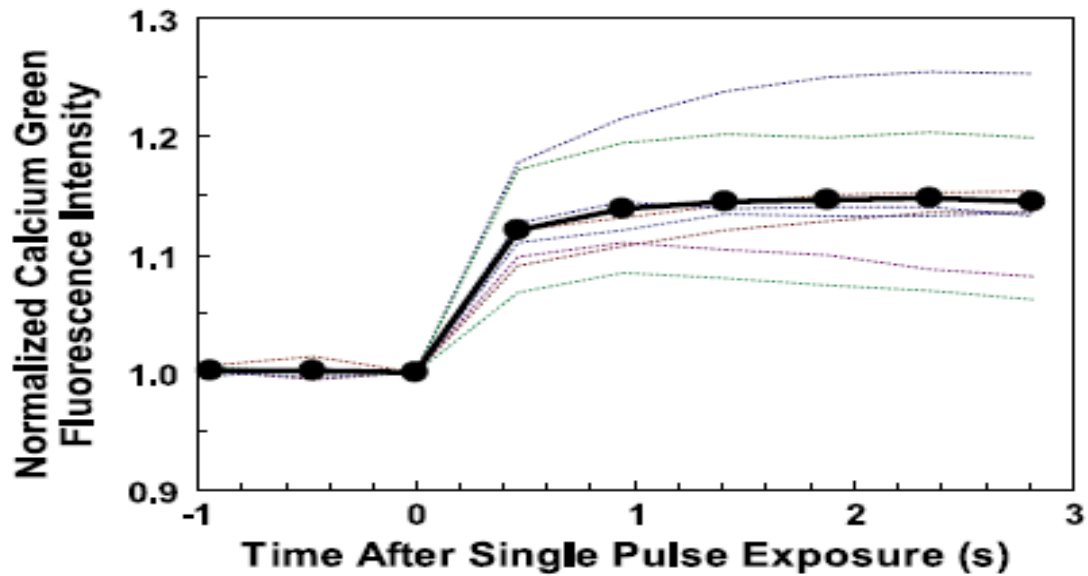


Fig. 14: aumento della concentrazione di Ca^{2+} dopo l'esposizione (espressa tramite fluorescenza dovuta al marker *Calcium Green*)

Da quanto detto si evince che, a differenza di quello con TTF, il trattamento con nsPEF non è selettivo, nel senso che porta a morte tutte le cellule sufficientemente vicine agli elettrodi di applicazione, non distinguendo tra sane e malate. Tale limite è attenuato dal fatto che la morte avviene per apoptosi e dunque si può considerare un'azione di turn over dei tessuti; nel caso si colpiscano tessuti sani si anticiperebbe solamente un processo naturale. In ogni caso, data anche la delicatezza del sito che consideriamo, sarebbe dannoso incidere sul tessuto cerebrale inalterato e pertanto la strumentazione utilizzata ha dimensioni millimetriche, consentendo di ottenere minima invasività e grande precisione.

Strumentazione

Bisogna innanzitutto precisare che, essendo quelle basate su PEF tecniche molto recenti e di fatto ancora applicate a livello sperimentale, è difficile individuare in letteratura una strumentazione standard e procedure comuni. Inoltre, se da una parte generatori di impulsi e dispositivi per la somministrazione in loco utilizzati in diversi esperimenti sono molto simili tra loro, dall'altra non è facile fissare una serie univoca di parametri, quali ad esempio la durata e l'energia dei singoli impulsi, l'ampiezza del campo elettrico generato, la frequenza di ripetizione ed ancora il numero stesso degli impulsi totali.

E' altrettanto vero, poi, che la massima parte dei test dei quali discutiamo e rielaboriamo qui i risultati, sono stati condotti in vitro oppure su modelli animali. Rarissimi sono gli esempi di casi di studio su modelli umani e si riconducono sempre a tumori non cerebrali (specie della pelle), dunque non gliomi. Ci pare comunque importante discutere delle tecniche e strumentazioni riportate, in quanto possono sempre essere adattate e migliorate per il nostro specifico ambito di interesse.

Ciò detto, cerchiamo almeno di fissare dei limiti oltre i quali le evidenze sperimentali hanno testimoniato la non efficacia o peggio la dannosità dei trattamenti basati su nsPEF. La grandezza del campo elettrico applicato si attesta nell'ordine delle decine di kV/cm e talvolta può raggiungere le centinaia, senza mai superare comunque i 300 kV/cm. La durata dell'impulso, poi, può andare dai 10 ai 100 ns, in stretta relazione al parametro precedente; infatti, affinché gli effetti sulle cellule non siano termici, cosa non desiderata in quanto si vuole indurre l'apoptosi, non la termonecrosi, la densità di energia dev'essere tenuta al di sotto dei 2 mJ/cc (solitamente ci si mantiene su 1,7 mJ/cc). La densità di energia W erogata applicando un impulso idealmente di tipo "rect" di durata t è pari a $W = E^2 \cdot t / \rho$, dove E è il campo elettrico e ρ la resistività del tessuto.

Il numero degli impulsi somministrati varia solitamente tra una e poche centinaia, ad una frequenza di circa 0,5-1 Hz, per evitare, anche in questo caso, l'insorgere di effetti termici indesiderati. Abbiamo così che i tessuti sono effettivamente sottoposti a perturbazioni elettriche per un tempo netto di al più un centinaio di microsecondi e che la seduta di trattamento dura al più una decina di minuti. Negli studi citati è stato



Fig. 15: esempio degli elettrodi utilizzati per applicazione di nsPEF

inoltre evidenziato che un numero di tre sedute è sufficiente ad eliminare i residui di tumore nella quasi totalità dei casi.

Tipicamente vengono utilizzate due configurazioni di elettrodi: una a 5 punte applicate all'estremità di un catetere, con quella centrale che funge da anodo e le altre quattro, collegate tra loro, da catodo (fig.15-sx); un'altra a due piastre parallele (fig. 15-dx). Il secondo genere certo si adatta unicamente alla cura di neoplasie della pelle, mentre il primo sembra più adatto ad applicazioni che comportano una penetrazione all'interno del corpo, come appunto è nostro interesse. Inoltre la disposizione dei cinque microelettrodi in un'area così piccola permette una precisione d'intervento dell'ordine del decimo di millimetro.

Sono svariati i generatori di impulsi della durata di nanosecondi disponibili in commercio e rappresentano un settore alquanto specializzato. La loro caratteristica principale è quella di raggiungere in uscita tensioni dell'ordine dei kV con tempi di salita paragonabili al nanosecondo. Tutti si basano sul principio fondamentale di trasformare un input lungo ed a bassa energia in un output breve e ad alta energia. Tipicamente tale fine è raggiunto temporizzando la scarica di uno o più accumulatori di energia (capacitivi o induttivi) attraverso un interruttore (spark gap o stato solido).

PARAMETRI PER LA VALUTAZIONE DEI TRATTAMENTI

Aspetti generali

I tumori cerebrali, ed in particolare dunque i gliomi, rappresentano a tutt'oggi neoplasie particolarmente aggressive, che offrono in generale al malato una breve aspettativa di sopravvivenza. La profilassi universalmente accettata per intervenire in soccorso del paziente prevede innanzitutto, quando possibile, l'asportazione chirurgica della massa tumorale, seguita poi da radioterapia e/o chemioterapia. Solo accanto a queste ultime trovano spazio altre tecniche, come quelle di cui abbiamo fin qui discusso.

In taluni casi la particolare collocazione del tumore rende tanto rischiosa l'operazione da impedire, di fatto, l'asportazione; ciò implica che si ricorra alla radioterapia come unico mezzo per contrastare non più delle piccole porzioni di tessuto tumorale residue, bensì l'intera lesione. Nei casi in cui ciò avvenga, si assiste ad un'ulteriore abbassamento della speranza di sopravvivenza.

Le cure fino ad oggi sviluppate hanno permesso, sì, di allungare l'aspettativa di vita, ma raramente si rivelano risolutive. Nella grande maggioranza dei casi, infatti, anche se c'è una certa variabilità dovuta innanzitutto a fattori di tipo prognostico, questo tipo di tumore si presenta con recidive fatali a distanza di qualche mese o pochi anni. La ragione è dovuta alla natura stessa, particolarmente infiltrativa, delle lesioni; consideriamo infatti che uno dei gliomi maggiormente diffusi è proprio il glioblastoma multiforme, ovvero la forma più grave ed aggressiva. Solitamente piccoli nuclei tumorali, talvolta addirittura invisibili alle stesse immagini di RM, resistono in loco e nell'area adiacente, portando a ricorrenze nefaste.

Un parametro di primaria importanza per valutare la bontà dei trattamenti somministrati è quindi la SOPRAVVIVENZA TOTALE (os: overall survival), tant'è che lo si ritrova praticamente in ogni studio del settore; a questo è strettamente associata la SOPRAVVIVENZA DALLA RICORRENZA della malattia, ovvero il lasso di tempo che intercorre tra il momento in cui si presenta la recidiva e la morte.

In sostanza, rispetto alla prima, identifica in maniera più netta la sopravvivenza legata all'ausilio delle cure.

Non è raro, poi, trovare espressi i suddetti parametri in termini di percentuali di casi di sopravvivenza dopo un certo numero di anni dalla diagnosi della malattia; ad esempio, una os del 50 % a due anni indica che la metà delle persone considerate sono ancora vive dopo due anni [3,4,5].

Date anche le premesse dalle quali siamo partiti, spesso le ricerche su nuovi metodi di cura si concentreranno sul miglioramento della qualità della vita dei pazienti; questo si traduce in particolare nella **RISOLUZIONE DEI SINTOMI**, nel nostro caso neurologici, che li affliggono. Ciò viene di norma valutato in maniera oggettiva attraverso degli standard come, ad esempio, il Karnofsky Performance Status, che associa un punteggio da 0 a 100 allo stato del paziente in base all'autonomia, la possibilità di lavorare, la mobilità ed altri parametri simili. Perciò un aumento di questo indice, o di analoghi, costituisce certamente una prova dell'efficacia del trattamento. Spesso avviene che in caso di punteggio inferiore a 50-60 il paziente sia considerato non più eleggibile ai fini dei trials, tanto ne risulta compromesso lo stato fisico.

Evidenze diagnostiche

Durante il decorso della malattia, l'evoluzione delle zone interessate dalla presenza di gliomi, e dunque di riflesso bersaglio delle terapie, vengono costantemente monitorate principalmente con l'ausilio di immagini radiodiagnostiche (sostanzialmente RM, ma anche CT). Il fine è ovviamente quello di verificare l'eventuale ricomparsa o la progressione del tumore, rispettivamente nei casi di asportazione totale e parziale. Pertanto tutte le evidenze ricavabili dallo studio di tali immagini costituiscono importanti parametri per la valutazione dell'efficacia delle cure.

In primis è considerato il **VOLUME** della neoplasia; spesso non viene misurato direttamente con strumenti di bioimaging 3D, bensì viene ricavato per approssimazione a partire da immagini 2D. Si parla di risposta completa qualora nel tempo ci sia una scomparsa della massa, di risposta parziale in caso di diminuzione in

volume compresa tra 50 e 100%, di stabilizzazione quando la diminuzione è minore del 50% oppure si ha un aumento minore del 25% ed infine di progressione se l'aumento supera il 25%. Non sempre questo tipo di valutazione risulta affidabile, specie nel caso di rilevamenti effettuati nelle settimane immediatamente successive alla terapia; non è raro, infatti, che gli effetti dell'azione terapeutica vengano confusi con progressioni tumorali, non per imperizia del medico nell'effettuare la diagnosi, ma proprio perché gli effetti della radioterapia possono “mimare” quelli della progressione [14]. E' pertanto consigliato attendere almeno un mese prima di attuare tale analisi.

A quest'ultimo è strettamente legato un parametro temporale detto SOPRAVVIVENZA SENZA PROGRESSIONE (pfs: progression free survival), che è definito come il tempo che intercorre tra l'intervento iniziale (oppure l'inizio della terapia se non c'è stato intervento) e l'evidenza di un accrescimento della neoplasia. A parità di altri fattori, risulta certamente migliore quella cura in grado di aumentare la durata del tempo di pfs.

Altri parametri evidenziabili con l'ausilio di immagini radiologiche sono la riduzione dell'EDEMA PERILESIONALE, la riduzione della VASCOLARIZZAZIONE INTRATUMORALE ed infine la NECROSI della massa tumorale; tutte e tre rappresentano in definitiva indici di efficace contrasto alla vitalità dei tessuti malati. Per quanto riguarda poi il caso di trattamenti con TTF è peculiare anche la riduzione, fino addirittura alla scomparsa, della VASCOLARIZZAZIONE PERITUMORALE, dovuta agli effetti esposti nel paragrafo dedicato a questo argomento; essa si esprime nella riduzione in numero e spessore dei vasi afferenti. Nel caso poi di alcuni tipi di tumori non cerebrali (ad esempio, quelli della pelle), si possono ottenere anche riscontri per misurazione diretta dei flussi sanguigni tramite tecniche ecografiche (Doppler).

Nel caso particolare della termoterapia, è molto importante la valutazione della TEMPERATURA intratumorale, in quanto la tecnica è proprio incentrata sugli effetti dovuti al calore generato. A questa si affianca ovviamente anche la misurazione della temperatura del tessuto sano peritumorale, entrambe ottenute solitamente con impianto di elettrodi nelle zone interessate.

Effetti collaterali e qualità della vita

Visto e considerato che lo scopo ultimo di tutte le terapie finalizzate alla cura dei gliomi, al di là della guarigione totale, è quello di assicurare una sopravvivenza quanto più lunga possibile al paziente oncologico e che i risultati fin'ora ottenuti, seppur timidamente, stanno andando in questa direzione, acquista centralità il tema della qualità della vita prospettata in seguito alle terapie. Si può porre cioè, in alcuni casi, il problema della conciliazione di possibilità di guarigione ed aggressività delle cure. Diverse discussioni di carattere bioetico si dividono proprio sull'opportunità di somministrare dei trattamenti se questi comportano sofferenze o comunque disagi, promettendo di contro solo modestissimi aumenti della durata di vita residua oppure sopravvivenza con gravi deficit.

Questa questione in parte si ricollega, come detto, alla valutazione della capacità di risolvere gli eventuali sintomi della neoplasia, ma oltre a ciò spinge a considerare quali siano gli EFFETTI COLLATERALI ad essa associati. Generalmente questi si dividono in acuti (<24 h dopo seduta), a breve termine (< 3-4 mesi dopo seduta) ed a lungo termine (> 3-4 mesi). I primi possono essere ad esempio mal di testa, nausea, vomito, ustioni; i secondi sonnolenza, apatia; gli ultimi addirittura cambiamenti di umore, disturbi della memoria e perdita delle facoltà intellettive. Se quelli prossimi sono tutto sommato lievi e temporanei, gli ultimi sono invece irreversibili ed incidono pesantemente sull'autonomia del paziente, che infatti il più delle volte è costretto all'ospedalizzazione o ad altre forme simili di assistenza prolungata.

Ciò trova corrispondenza a livello macroscopico con una progressiva ATROFIZZAZIONE della materia bianca, che si manifesta come consistente perdita di volume [6,16]. Si ha corrispondenza pure a livello microscopico, dove si registra una generale diminuzione della concentrazione nei tessuti di alcuni metaboliti o sostanze che vengono abitualmente considerate indici di "vitalità" e "salute" delle cellule. Queste sono ad esempio il glucosio [13] ed alcuni metaboliti quali NAA, Cho e Cr [15].

Parametri microbiologici

A differenza degli altri, gli studi sull'efficacia dei trattamenti basati su campi elettrici non ionizzanti, dunque in particolare quelli su TTF e PEF, sono soliti concentrarsi molto sulla capacità di indurre la morte nelle cellule tumorali. Questo probabilmente perché è ormai assodata la conoscenza degli effetti delle radiazioni ionizzanti, mentre non è così ampio il sapere sulle tecniche più recenti.

Perciò l'analisi è focalizzata sull'individuazione dell'alterazione di tutti quei parametri biologici che manifestano l'avvio del processo di apoptosi o, nel caso dei TTF, che sono prodromici alla necrosi. Ciò richiede generalmente studi citologici sulle cellule tumorali trattate e successivamente asportate tramite biopsia; evidentemente tale operazione non sempre è possibile, specie nei casi, non rarissimi, di gliomi localizzati in aree sensibili o difficilmente raggiungibili. Le tecniche utilizzate per l'analisi di laboratorio sono quelle caratteristiche della citometria a flusso.

Un primo parametro è senz'altro lo stato di INTEGRITA' del DNA; ricordiamo infatti che uno dei maggiori sintomi dell'apoptosi è la frammentazione del DNA operata tramite le caspasi.

Proprio l'aumento della concentrazione nel citoplasma delle CASPASI ATTIVE e delle relative PROTEINE che ne regolano l'attivazione (cioè le IAPs e Bcl2) costituiscono il secondo parametro di valutazione. Per valutare la prima delle due condizioni si può sfruttare ad esempio il fatto che il trattamento accresce l'attività idrolitica del composto DEVD-afc (Aspartate-Glutamate-Valine-Aspartate-AFC) [23].

Altri riguardano l'attività di ulteriori protagonisti di tale processo, ovvero i mitocondri. Di questi viene valutata da una parte la variazione di IMPEDENZA (tramite patch clamp), e dall'altra il rilascio di CITOCROMO C, entrambe informazioni utili per verificare l'andamento dell'apoptosi indotta per via intrinseca.

Poco frequente è invece la misura della concentrazione dello IONE CALCIO nel citoplasma, che si suppone in alcune occasioni rilasciato dal reticolo endoplasmatico per fungere da secondo messaggero nel processo.

Infine ricordiamo anche l'esternalizzazione della fosfatidilserina, che solitamente caratterizza l'avvio della morte cellulare programmata, pur non essendo ad oggi chiaro se questo effetto sia prodromico al processo stesso o se, come accennato, sia semplicemente dovuto alle alterazioni morfologiche indotte sulla membrana da parte degli impulsi.

Se questi erano più legati agli effetti prodotti dai nsPEF, un parametro che certo caratterizza maggiormente i trattamenti tramite TTF è l'alterazione (definitiva o temporanea) della PERMEABILITA' della membrana cellulare, che si riscontra anche in una variazione dell'impedenza offerta dalla stessa. La misura della permeabilità viene effettuata solitamente tramite l'utilizzo di markers biologici, quali ad esempio l'etidio omodimero (EthD-1), un "colorante" molecolare cui la membrana è normalmente impermeabile; nel caso in cui questa diventi permeabile, tale sostanza altera l'ambiente citoplasmatico rendendolo di un caratteristico rosso fluorescente.

CONCLUSIONE

Conclusioni e considerazioni finali

Giunti al termine dell'analisi, non resta che trarre le conclusioni su quanto abbiamo cercato di indagare. L'esigenza informativa che la tesina si propone di soddisfare, come già esposto all'inizio, è essenzialmente una conoscenza dettagliata dei parametri che sono utilizzati dalla comunità scientifica internazionale per valutare l'effetto dei trattamenti terapeutici basati su radiofrequenze per la cura dei gliomi.

Essendo emerso che questi ultimi costituiscono un settore minoritario, e in molti casi d'avanguardia, ci è parso opportuno studiare anche il funzionamento e le caratteristiche delle tecniche che sfruttano radiazioni ionizzanti, delle quali oltretutto è disponibile una più ampia letteratura.

Tale decisione è stata giustificata inoltre dal fatto che sono molteplici gli elementi comuni ai due ambiti per quanto riguarda i nostri scopi. Si tratta di tutta quella serie di parametri riscontrabili a livello GENERALE, ovvero: sopravvivenza totale e risoluzione dei sintomi indotti.

Un seconda categoria di parametri, che analogamente si possono utilizzare per valutare l'efficacia di tutti i trattamenti basati su campi elettromagnetici, valuta gli effetti indotti a livello MACROSCOPICO, tramite: misura volume della neoplasia, computo del tempo alla progressione e della sopravvivenza dalla ricorrenza, individuazione di edema peritumorale, necrosi e riduzione della vascolarizzazione intra o peritumorale. Nel caso di trattamenti ipertermici è importante anche la conoscenza della temperatura del tessuto bersaglio ed adiacente.

Un'ultima serie di parametri raccoglie quei fattori biochimici, riscontrabili dunque a livello MICROSCOPICO, che indicano l'imminenza della realizzazione di processi

di necrosi e, soprattutto, apoptosi. Delle tre quest'ultima è di certo la categoria che maggiormente soddisfa la nostra esigenza informativa; riunisce infatti una serie di parametri che caratterizzano unicamente quei trattamenti basati su radiazioni elettriche non ionizzanti (cioè in definitiva TTF e PEF).

Essi sono sostanzialmente delle misure di concentrazioni di sostanze biologiche: caspari attive, proteine caspari-regolatrici (IAPs e Bcl2), citocromo c, fosfatidilserina (nella sua esternalizzazione) e ione calcio; e di differenze di potenziale transmembrana: impedenza della membrana cellulare e impedenza della membrana esterna dei mitocondri.

Un ulteriore parametro, che di fatto comprende entrambe le categorie, è la misura dell'integrità del DNA.

Per quanto visto e considerato, concludiamo che, volendo introdurre un nuovo trattamento basato su radiofrequenze in questo ambito, devono essere considerate due diverse prospettive di studio dell'efficacia dello stesso.

La prima è caratterizzata da tempi relativamente brevi e dati ottenuti da misure di laboratorio; si tratta cioè della valutazione di quei parametri che abbiamo definito “di livello microscopico”.

La seconda invece coinvolge quegli aspetti che abbiamo denotato come “generalisti” e “di livello macroscopico” e pertanto necessita di periodi di studio lunghi (diversi anni) e di un elevato numero di casi clinici.

Ciò detto, ne consegue che, se la prima prospettiva fornisce senz'altro un punto di partenza positivo per la valutazione, solo tramite la seconda si può stabilire con certezza e sicurezza l'efficacia del trattamento.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- [1] G. Cittadini, G. Cittadini J., Sardanelli – “Diagnostica per immagini e radioterapia” - ECIG, 937-969; 2008.
- [2] G. Tolone - “Oncologia generale” - Medical Books, 19-27, 287-316; 2008.
- [3] Karim AB, Maat B, Hatlevoll R, Menten J, Rutten EH, Thomas DG, Mascarenhas F, Horiot JC, Parvinen LM, van Reijn M, Jager JJ, Fabrini MG, van Alphen AM, Hamers HP, Gaspar L, Noordman E, Pierart M, van Glabbeke M. - “A randomized trial on dose-response in radiation therapy of low grade cerebral glioma: european organization for research and treatment of cancer (EORTC) study 22844” - Int J Radiat Oncol Biol Phys. 1996 Oct 1; 36(3):549-56.
- [4] Karim AB, Afra D, Cornu P, Bleehan N, Schraub S, De Witte O, Darcel F, Stenning S, Pierart M, Van Glabbeke M - “Randomized trial on the efficacy of radiotherapy for cerebral low-grade in the adult: european organization for for research and treatment of cancer (EORTC) study 22845, with the medical research council study BRO4: an interim analysis” - Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2002 Feb 1;52(2):316-24.
- [5] van den Bent MJ, Afra D, de Witte O, Ben Hassel M, Schraub S, Hoang-Xuan K, Malmström PO, Collette L, Piérart M, Mirimanoff R, Karim AB; EORTC Radiotherapy and Brain Tumor Groups and the UK Medical Research Council - “Long-term efficacy of early versus delayed radiotherapy for low-grade astrocytoma and oligodendroglioma in adults: the EORTC 22845 randomised trial” - Lancet. 2005 Sep 17-23;366(9490):985-90.
- [6] A.A. Brandes, A. Rigon, S. Monfardini - “Current controversies in cancer: brain radiotherapy in elderly patients” - European J of Cancer 36 (2000) 443-452.
- [7] A.Ley, J.M. Cladellas, S. Colet, P. de Las Heras, J. Prim, J. Roussos, A. Ariza, J. Cablet - “Trasferencia electrica capacitiva (TEC). Tecnica no invasiva de

- Hyperthermia profunda en el tratamiento de los gliomas cerebrales. Resultados preliminares.” - Neurochirurgia 1992; 3: 118-123.
- [8] A. Ley, Valle - “Hyperthermia intracranial no invasiva mediante la tecnica de Traslencia Electrica Capacitiva (TEC) - Resultados dela termometria cerebral e intratumoral” - Neurochirurgia 2003; 14: 41-45.
- [9] Hiroaki Koga, Kazuo Mori, Yoshiharu Tokunaga - “Interstitial Radiofrequency Hyperthermia for Brain Tumors - Preliminary Laboratory Studies and Clinical Application” - Neurol Med Chir (Tokyo). 1993 May; 33(5):290-4.
- [10] Sabine Müller - “Magnetic fluid hyperthermia therapy for malignant brain tumors - an ethical discussion” - Nanomedicine. 2009 Dec; 5(4):387-93. Epub 2009 Feb 13.
- [11] Sahinbas H, Baier JE, Groenemeyer DHW, Boecher E, Szasz A - “Retrospective clinical study for advanced brain-gliomas by adjuvant oncothermia (electro-hyperthermia) treatment” - BMC Cancer, 2006.
- [12] G. Fiorentini, A. Szasz - “Hyperthermia today: electric energy, a new opportunity in cancer treatment” - Cancer Journal - J Cancer Res Ther. 2006 Apr-Jun;2(2):41-6 .
- [13] Bruehlmeier M, Roelcke U, Amsler B, Schubert KH, Hausmann O, von Ammon K, Radü EW, Gratzl O, Landmann C, Leenders KL - “Effect of radiotherapy on brain glucose astrocytoma metabolism in patients operated on for low grade” - J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1999 May;66(5):648-53 .
- [14] M. C.Y. de Wit, H. G. de Bruin, W. Eijkenboom, P. A.E. Sillevius Smitt and M. J. Van den Bent - “Immediate post-radiotherapy changes in malignant glioma can mimic tumor progression” - Neurology. 2004 Aug 10;63(3):535-7.
- [15] Sundgren PC, Nagesh V, Elias A, Tsien C, Junck L, Gomez Hassan DM, Lawrence TS, Chenevert TL, Rogers L, McKeever P, Cao Y - “Metabolic alterations: a biomarker for radiation-induced injury of normal brain. An MR Spectroscopy study” - J Magn Reson Imaging. 2009 Feb;29(2):291-7.
- [16] Denise D. Correa - “Neurocognitive function in brain tumors” – Curr Neurol Neurosci Rep. 2010 May; 10(3): 232-9.

- [17] Eilon D. Kirson, Vladimír Dbaly, František Tovarys, Josef Vymazal, Jean F. Soustiel, Aviran Itzhaki, Daniel Mordechovich, Shirley Steinberg-Shapira, Zoya Gurvich, Rosa Schneiderman, Yoram Wasserman, Marc Salzberg§, Bernhard Ryffel, Dorit Goldsher, Erez Dekel, and Yoram Palti – “Alternating electric fields arrest cell proliferation in animal tumor models and human brain tumors” – Proc Natl Acad Sci USA 2007 Jun 12; 104(24):10152-7. Epub 2007 Jun 5.
- [18] Eilon D. Kirson, Zoya Gurvich, Rosa Schneiderman, Erez Dekel, Aviran Itzhaki, Yoram Wasserman, Rachel Schatzberger, and Yoram Palti – “Disruption of Cancer Cell Replication by Alternating Electric Fields” - Cancer Res. 2004 May 1;64(9):3288-95.
- [19] G. Sersa, M. Cemazar, C.S. Parkins and D.J. Chaplin - “Tumour Blood Flow Changes Induced by Application of Electric Pulses” - Eur J Cancer. 1999 Apr;35(4):672-7.
- [20] Nuccitelli R, Pliquett U, Chen X, Ford W, James Swanson R, Beebe SJ, Kolb JF, Schoenbach KH - “Nanosecond pulsed electric fields cause melanomas to selfdestruct” - Biochem Biophys Res Commun. 2006 May 5;343(2):351-60. Epub 2006 Mar 10.
- [21] Nuccitelli R, Chen X, Pakhomov AG, Baldwin WH, Sheikh S, Pomicter JL, Ren W, Osgood C, Swanson RJ, Kolb JF, Beebe SJ, Schoenbach KH. - “A new pulsed electric field therapy for melanoma disrupts the tumor’s blood supply and causes complete remission without recurrence” - Int J Cancer. 2009 Jul 15;125(2):438-45.
- [22] Beebe SJ, Ford WE, Ren W, Chen X, Schoenbach KH. - “Non-Ionizing Radiation with Nanosecond Pulsed Electric Fields as a Cancer Treatment: In Vitro Studies” - Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2009;2009:6509-12.
- [23] Beebe SJ, Fox PM, Rec LJ, Willis EL, Schoenbach KH. - “Nanosecond, high-intensity pulsed electric fields induce apoptosis in human cells” - FASEB J. 2003 Aug;17(11):1493-5. Epub 2003 Jun 17.
- [24] Vernier PT, Sun Y, Marcu L, Salemi S, Craft CM, Gundersen MA. - “Calcium bursts induced by nanosecond electric pulses” - Biochem Biophys Res Commun. 2003 Oct. 17;310(2):286-95.