



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione

Analisi di caratteristiche di tessuti in trattamenti di elettroporazione

Relatore: Ch.mo Prof. Fabrizio Dughiero
Correlatore: Dott. Ing. Elisabetta Sieni

Laureando: Nicola Bottaro

Anno Accademico 2011-2012

INDICE

1 INTRODUZIONE.....	5
1.1 Cronistoria dell'elettroporazione.....	5
1.2 Analisi delle caratteristiche elettriche passive dei tessuti.....	5
2 ELETTROPORAZIONE.....	7
2.1 Elettroporazione reversibile (RE)	8
2.2 Dispositivi per elettroporazione.....	8
2.2.1 Generatore d'impulsi.....	9
2.2.2 Applicatori.....	9
3 TIPI DI TESSUTI IN ANALISI.....	11
3.1 Neoplasie.....	11
3.1.1 Melanoma.....	12
3.1.2 Neoplasia alla mammella.....	13
3.1.3 Basalioma.....	13
3.1.4 Carcinoma squamoso.....	14
3.1.5 Sarcoma.....	15
3.2 Cheloidi.....	16
4 DESCRIZIONE DI SEGNALI DI ECT.....	19
4.1 Tensioni applicate ai tessuti.....	19
4.1.1 Casi particolari.....	20
4.2 Tipi di elettrodi per l'elettrochemioterapia.....	21
4.2.1 Descrizioni degli applicatori.....	21
4.2.2 Tensione applicata ai tessuti.....	22
4.2.3 Dati memorizzati.....	23
4.3 Proprietà passive dei tessuti biologici.....	24
4.3.1 Modellizzazione del tessuto.....	24
4.3.2 Effetti dell'elettroporazione.....	25
4.4 Problematiche della determinazione delle caratteristiche elettriche.....	26
4.4.1 Variabilità del trattamento.....	26
4.4.2 Fattori biologici che influenzano il trattamento.....	27
5 DESCRIZIONE DEL SOFTWARE.....	29
5.1 Input.....	29
5.2 Elaborazione.....	29
5.3 Output.....	31
5.4 GUI.....	34
5.5 Esempi.....	35
6 ANALISI DI CASI REALI.....	37
6.1 Analisi di dati di trattamenti su cheloidi.....	37

6.1.1 Analisi per nodulo.....	39
6.1.2 Analisi per localizzazione.....	41
6.2 Analisi di dati di trattamenti su tessuti tumorali.....	43
6.2.1 Elettrodo lineare (N-20-4B).....	44
6.2.1.1 Analisi per diagnosi.....	44
6.2.1.2 Analisi per nodulo.....	47
6.2.2 Elettrodo esagonale (N-20-HG).....	49
6.2.2.1 Analisi per diagnosi	49
6.2.2.2 Analisi per localizzazione	52
6.2.2.3 Analisi variabilità dei tessuti.....	54
6.3 Ulteriori analisi.....	57
6.4 Confronto per dati di cheloidi e tumori per localizzazione.....	59
7 CONCLUSIONI	61
APPENDICE.....	63
BIBLIOGRAFIA.....	69

1 INTRODUZIONE

1.1 Cronistoria dell'elettroporazione

L'elettroporazione solo negli ultimi tempi ha guadagnato interesse nei campi della medicina e della biotecnologia. Questo fenomeno è stato descritto per la prima volta intorno al 1750; tuttavia solo negli ultimi trenta anni si è visto aumentare l'interesse per questo tipo di fenomeno.

Il primo esperimento teorico di elettroporazione su una doppia membrana lipidica è stato condotto negli anni '70 del secolo scorso. Questo ha portato alla pubblicazione nel 1982 da parte di Neumann et al. di un articolo sulla trasferesi di geni nelle cellule. Subito dopo sono stati sviluppati i primi elettroporatori e il fenomeno dell'elettroporazione venne largamente studiato come strumento per far entrare macromolecole nelle cellule.

Nel 1993 è stato documentato da Belehradec et al. L'elettroporazione è usata per aumentare l'assunzione di agenti chemioterapici nei tumori. Prima di allora molti studi e pubblicazioni si erano mossi per trovare applicazioni cliniche per l'elettroporazione. In particolare l'introduzione di farmaci e geni nelle cellule per il trattamento del cancro. [1]

1.2 Analisi delle caratteristiche elettriche passive dei tessuti

Lo studio delle proprietà elettriche passive dei tessuti biologici è uno strumento di analisi per la ricerca biomedica e per la pratica medica. Dal momento che i diversi tipi di tessuti presentano diversa conduttività, è facile immaginare che esso possa essere applicato per caratterizzare i tessuti. La tabella in Fig 1.1, usata nei modelli numerici per le simulazioni di trattamenti elettroporativi, da un'idea di come ogni tipo di tessuto possa essere identificato da un valore di conducibilità. Una classificazione dei tessuti in base ai loro valori di conducibilità sarebbe utile per la diagnosi dei tumori. Purtroppo, anche se questa idea è nata molto tempo fa, solo alcuni significativi risultati sono stati ottenuti fino ad ora [2].

L'elaborato confronta le caratteristiche elettriche passive di alcuni tessuti elettroporati.

Tessuto	Conducibilità γ (S/m)
Pelle	0,04
Adiposo	0,046
Muscolo	$\gamma_{xx}=0,225$
	$\gamma_{yy}=0,225$
	$\gamma_{zz}=0,9$
Ossa	0,025
Tessuto connettivo	0,025
Intestino	0,550
Reni	1,01
Fegato	0,333
Polmone	0,07
Cuore	$\gamma_{xx}=0,2$
	$\gamma_{yy}=0,2$
	$\gamma_{zz}=0,9$
Tumore	0,125

Tab.1.1 Tabella valori di conduttività elettrica di tessuti usata in un modello di topo con tumori sottocutanei [2]

2 ELETTROPORAZIONE

L'elettroporazione è il fenomeno di formazione di pori nelle membrane cellulari in seguito all'applicazione di adeguati campi elettrici.

L'elettroporazione è una tecnica innovativa, minimamente invasiva, che attraverso impulsi elettrici della durata di alcuni microsecondi altera la permeabilità delle membrane della cellula, formando difetti o pori di grandezza nanometrica.

Se l'impulso applicato ha un'ampiezza di alcune centinaia di Volt, dopo un certo tempo la membrana cellulare torna allo stato iniziale si parla di elettroporazione reversibile (RE). L'elettroporazione reversibile è sfruttata nell'elettrochemioterapia come metodo per migliorare l'assorbimento di farmaci da parte della cellula.

Se i pori formati sulla membrana della cellula sono permanenti si parla di elettroporazione irreversibile (IRE). Infatti campi elettrici più intensi di quelli applicati nella RE possono causare la rottura della membrana cellulare, portando alla morte delle cellule. Recentemente, l'elettroporazione irreversibile (IRE) viene studiata come strumento di ablazione di cellule che può essere utilizzata nel trattamento di alcuni tipi di tumore [1].

I dati analizzati in questo elaborato si riferiscono ad applicazioni dell'elettroporazione reversibile.

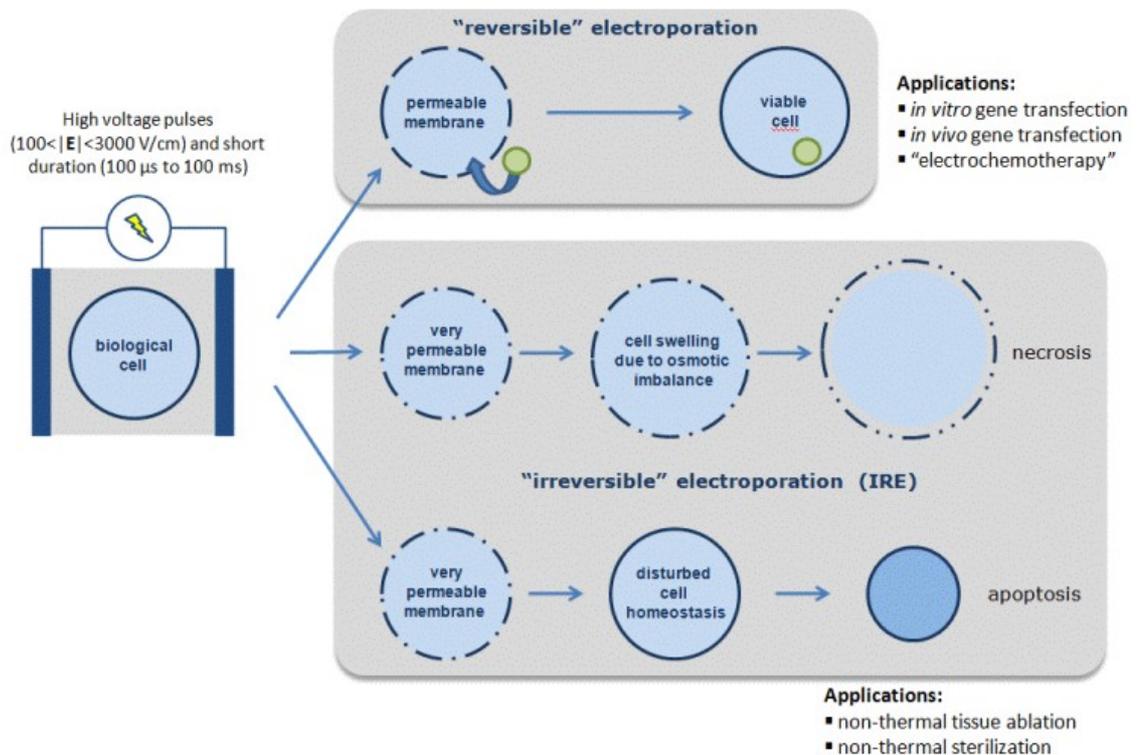


Fig.2.1 Tipi di elettroporazione e relative applicazioni [3].

2.1 Elettroporazione reversibile (RE)

Gli impulsi elettrici vengono generati da un generatore di impulsi di tensione a onda quadra di corrente continua. Si può variare indipendentemente l'ampiezza, la lunghezza, il numero di impulsi generati, la frequenza dell'impulso.

L'applicazione di un campo elettrico su una cellula ne altera il potenziale transmembrana. Quindi, la struttura a doppio stato lipidico viene interrotta, e piccoli, provvisori nanopori si formano permettendo il trasporto di micro e macromolecole verso l'interno della cellula per gradiente di concentrazione. L'apertura temporanea della membrana cellulare permette alle cellule di sopravvivere.

La RE permette a geni, farmaci, coloranti e proteine di entrare nella cellula, cosa che in assenza di campo elettrico non avviene. La RE è usata nel processo di elettrochemioterapia, dove gli agenti chemioterapici penetrano nella cellula grazie all'elettroporazione.

Gli impulsi nella RE hanno un'intensità nell'ordine di un centinaio di volt

Silve et al. Hanno dimostrato che l'elettroporazione reversibile delle cellule aumenta l'assorbimento cellulare di bleomicina, un anticancerogeno non permeabile altamente citotossico. Sesa et al. Hanno validato queste affermazioni asserendo che bleomicina e cisplatina assieme a impulsi elettrici generati per trattare i tumori hanno un ruolo cruciale nel controllo locale del cancro. L'autore afferma che il trattamento è facile da effettuare, ed è efficace nel trattamento del melanoma cutaneo, cancro al seno e altri tumori della pelle in metastasi. L'utilità del RE nell'elettrochemioterapia è stata confermata da Mathiessen et al., i quali hanno concluso che questa tecnica per tumori maligni può essere una cura palliativa o sostituirsi alla chirurgia. Tuttavia l'autore afferma che ulteriori ricerche sono necessarie per avere ulteriori linee-guida.

Come mostrato nei molti casi riportati nella ricerca di Sersa et al., l'elettrochemioterapia può essere usata con beneficio nel trattamento delle metastasi sanguinanti. Un altro progresso è stato fatto nell'applicazione di farmaci e geni nei tessuti cerebrali umani usando RE, come dimostrato da Agerholm-Larsen et al. [1].

2.2 Dispositivi per elettroporazione

In generale, ci sono tre elementi clinicamente collegati per i trattamenti basati sull'elettroporazione; il protocollo, il generatore e l'applicatore di impulsi. Un agente terapeutico (come la bleomicina) potrebbe essere coinvolto se previsto dal protocollo. Ogni elemento ha uno specifico ruolo. In ogni trattamento l'uso di questi tre assicura i risultati voluti. La figura 2.2 mostra le due componenti hardware che compongono l'elettroporatore.

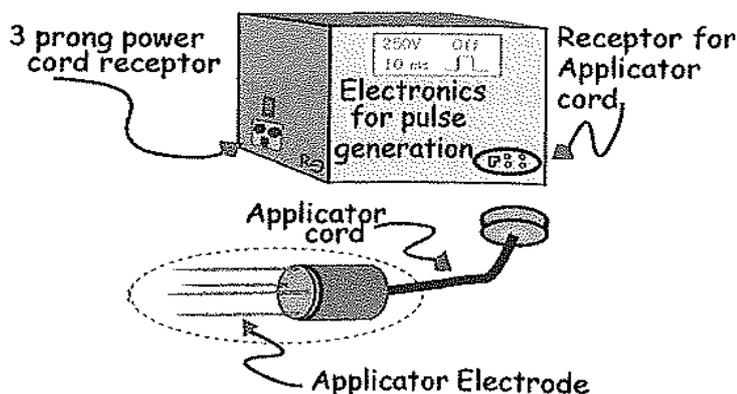


Fig.2.2 Parte hardware di in generico elettroporatore[4]

Il generatore, genera gli impulsi elettrici responsabili dell'effetto di elettroporazione. Essenzialmente è un'apparecchiatura elettronica controllata da una PC: quest'ultimo è l'interfaccia tra lo strumento e l'utilizzatore. L'applicatore è responsabile della trasmissione della tensione ai tessuti interessati (Fig.2.2) ed è formato da elettrodi ad aghi. Si può cambiare la forma e il numero degli elettrodi a seconda della terapia. L'hardware può essere combinato con agenti terapeutici, e il procedimento è governato da un protocollo. Una breve visione di questi componenti, nelle seguenti sottosezioni, servono a fare un sunto del sistema di EP.

2.2.1 Generatore d'impulsi

Il generatore d'impulsi deve creare il segnale elettrico applicato agli elettrodi con adeguata ampiezza e con un numero di impulsi sufficiente a far avvenire l'elettroporazione.

La combinazione di ampiezza, durata, ripetizione degli impulsi determinano il segnale per avere elettroporazione. Il segnale assieme alla geometria degli elettrodi determinano la forma del campo elettrico applicato ai tessuti. Alcuni produttori permettono di modificare la pulsazione del segnale, mentre altri offrono strumenti per trattamenti specifici.

Gli impulsi sono delle onde quadre la cui ampiezza è regolata a seconda del trattamento che si vuole eseguire. Alcuni generatori possono erogare impulsi con altre forme d'onda.

2.2.2 Applicatori

La scelta dell'applicatore deve tenere conto della porzione di tessuto da trattare e pertanto le possibilità sono diverse.

In Fig. 2.3 è mostrato un tipico applicatore: comprende la connessione al generatore, un'impugnatura e l'unità dell'elettrodo. L'uso di una unità elettrodo monouso, staccabile abbassa i costi di trattamento e molti fornitori hanno adottato questo design.

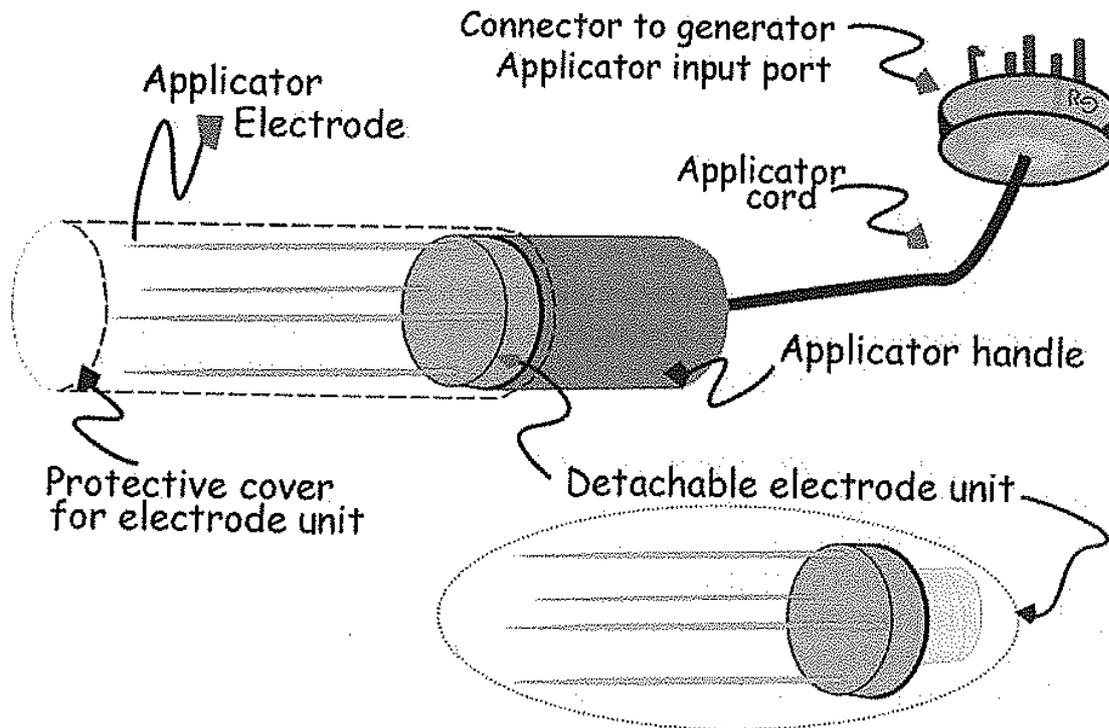


Fig.2.3 Componenti di un applicatore[4]

Gli applicatori possono essere divisi in penetranti e non penetranti. I classici non penetranti consistono in due lamine di acciaio inossidabile. Le lamine sono serrate contro i lati del tessuto, e il campo elettrico è imposto dalla piastra sinistra a quella destra o viceversa. Sono di maggiore interesse per la trattazione gli elettrodi penetranti: progettati per sostenere gli impulsi provenienti dal generatore dell'elettroporatore, creando un campo elettrico con le stesse caratteristiche degli applicatori non penetranti. L'elettrodo penetrante è formato da un ago con una punta progettata per penetrare attraverso i tessuti e permette di trattare tessuti più profondi.

Un rassegna della letteratura dei protocolli originali pubblicati negli anni '90 può portare alla conclusione che la scelta dell'applicatore non è cruciale. L'enfasi è posta sul successo dell'effetto del campo elettrico congiunto ai farmaci nelle cure antitumorali. La realtà attuale da molto più risalto agli applicatori e al loro impatto nei protocolli.

Nell'ECT, la risposta desiderata è la presenza dell'agente terapeutico nelle cellule da curare. Questo avviene se le cellule sono esposte ad un adeguato campo elettrico e a una sufficiente dose di agenti terapeutici. Se queste condizioni non vengono rispettate non tutte le cellule verrebbero adeguatamente trattate. Questo è importante per i trattamenti tumorali dove è cercata la massima efficacia del trattamento, anche ai margini del volume trattato [4].

3 TIPI DI TESSUTI IN ANALISI

3.1 Neoplasie

Tumore o neoplasia o neoformazione è una massa anomala di tessuto che si forma in seguito alla proliferazione patologica delle cellule di una zona del corpo. Un tumore è benigno quando non invade i tessuti contigui, è ben separabile da essi, non dà metastasi a distanza e non recidiva dopo asportazione chirurgica, farmacologica o radioterapeutica; contrariamente è maligno[5].

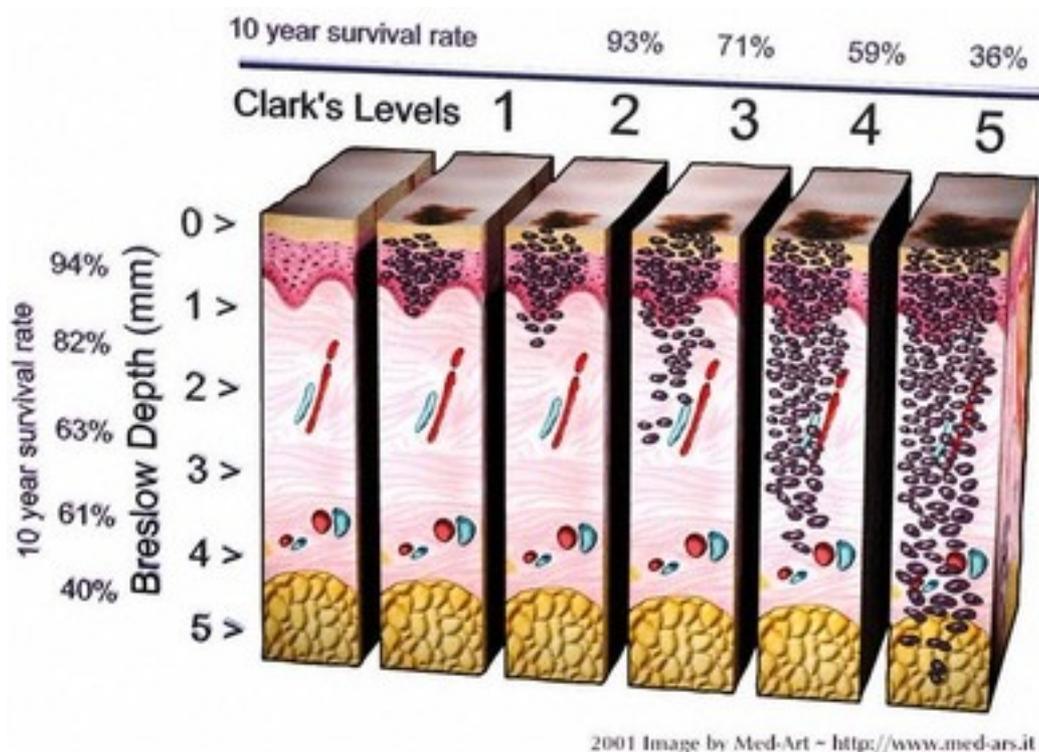


Fig.3.1 Rappresentazione dell'evoluzione di un melanoma[6]

Questo elaborato si occupa di alcune neoplasie maligne trattate con ECT. In particolare:

- Melanomi
- Tumori alla mammella (breast)
- Basalioma
- Carcinoma squamoso
- Sarcoma

3.1.1 Melanoma

Il melanoma è un tumore maligno che origina dal melanocita, cellula della cute che è preposta alla sintesi della melanina. Il melanoma può insorgere in tutti i distretti corporei in cui sono normalmente presenti i melanociti, quindi la cute, le mucose, le meningi e l'occhio. Ha una maggiore incidenza nel lato sinistro del corpo [7].

Questo tumore si è visto essere poco più frequente nelle donne rispetto agli uomini, l'età di incidenza massima va da 35 ai 65 anni (raro in adolescenza ed età infantile). È 17 volte più frequente nei soggetti con pelle chiara e nel 5% dei casi si presenta con lesioni multiple. In occidente negli uomini colpisce prevalentemente il tronco mentre nella donna gli arti, il collo, il cuoio capelluto e il volto. Negli uomini di colore si riscontra perlopiù nella pianta dei piedi [8].



Fig.3.2 Melanoma cutaneo [8]

3.1.2 Neoplasia alla mammella

Il seno è costituito dall'insieme di ghiandole e tessuto adiposo ed è posto tra la pelle e la parete del torace.

In realtà non è una ghiandola sola, ma un insieme di strutture ghiandolari, chiamate lobuli, unite tra loro a formare un lobo. In un seno vi sono da 15 a 20 lobi. Il latte giunge al capezzolo dai lobuli attraverso piccoli tubi chiamati dotti galattofori (o lattiferi).

Il tumore del seno è una malattia potenzialmente grave se non è individuata e curata per tempo. È dovuto alla moltiplicazione incontrollata di alcune cellule della ghiandola mammaria che si trasformano in cellule maligne: hanno la capacità di staccarsi dal tessuto che le ha generate per invadere i tessuti circostanti e, col tempo, anche gli altri organi del corpo. In teoria si possono formare tumori da tutti i tipi di tessuti del seno, ma i più frequenti nascono dalle cellule ghiandolari (dai lobuli) o da quelle che formano la parete dei dotti.

Il tumore del seno colpisce 1 donna su 10. È il tumore più frequente nel sesso femminile e rappresenta il 25% di tutti i tumori che colpiscono le donne.

È la prima causa di mortalità per tumore nel sesso femminile, con un tasso di mortalità del 17 % di tutti i decessi per causa oncologica [9].

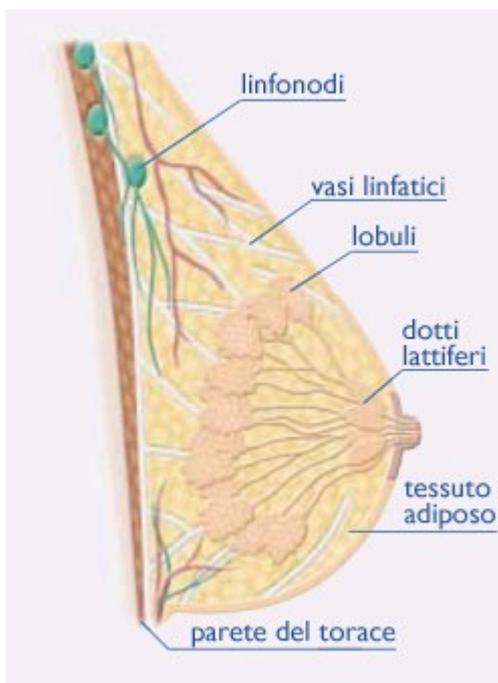


Fig.3.3 Anatomia del seno [10]

3.1.3 Basalioma

Il basalioma o carcinoma basocellulare (BCC) rientra nella categoria di neoplasia cutanea, ed è fra di esse la forma maligna più diffusa. Colpisce in prevalenza zone del corpo fotoesposte, soprattutto il viso. Il termine basocellulare deriva dal fatto che si compone di cellule molto simili a quelle dello strato basale dell'epidermide.

Più predisposta alla formazione di basalioma è la popolazione anziana, anche se si mostra anche in età pediatrica. Tuttavia, si manifesta raramente prima dei 20 anni. Colpisce soprattutto l'etnia bianca e il sesso maschile.

Rimane la prima forma di massa tumorale cutanea, rappresentando circa il 75% dei casi [11].



Fig.3.4 Immagine istopatologica di un basalioma [12]

3.1.4 Carcinoma squamoso

Oltre il 90% dei tumori maligni della testa e del collo sono rappresentati da carcinomi squamocellulari.

Lo sviluppo del carcinoma squamocellulare della testa e del collo è frequentemente preceduto, come per i carcinomi squamosi di altre sedi, da lesioni intraepiteliali precancerose: esse sono riconoscibili, almeno in parte, sia clinicamente sia dal punto di vista istopatologico; ad esse corrispondono, a livello genetico e molecolare, alterazioni in parte già identificate.

Pur non essendoci in quest'ambito una classificazione ed una terminologia univoca, possono essere individuate, a livello istopatologico, le seguenti lesioni precancerose, con un crescendo di alterazioni morfologiche e, da un punto di vista biologico-clinico, di potenzialità evolutive: la cheratosi e la iperplasia squamosa benigna, la displasia da lieve a severa. Quest'ultima è considerata anche sinonimo di carcinoma in situ [13].

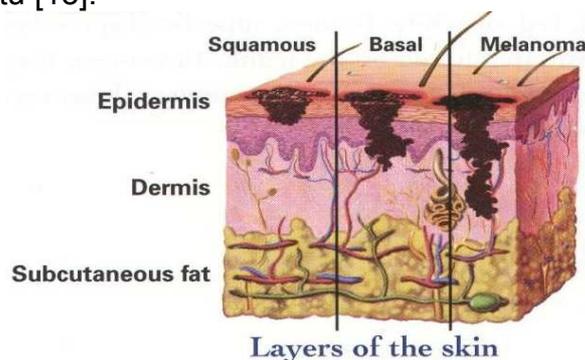


Fig.3.5 Differenze tra melanoma, carcinoma squamoso e basalioma[14]

3.1.5 Sarcoma

I sarcomi dei tessuti molli nell'adulto sono forme tumorali che compaiono quando le cellule maligne si formano all'interno di un tessuto molle dell'organismo, indipendentemente dalla sede.

I tessuti interessati possono essere i muscoli, i tessuti connettivi, i vasi sanguigni o linfatici, i nervi, i legamenti e il tessuto adiposo. Solo la biopsia permette di scoprire di quale tipo di sarcoma si tratta e da quale tessuto ha avuto origine.

Metà dei sarcomi si forma a livello degli arti superiori o inferiori, gli altri possono interessare il tronco, la testa, il collo, gli organi interni o il retroperitoneo, ovvero la parte posteriore della cavità addominale, ricca di tessuto adiposo e connettivo.

I sarcomi dei tessuti molli sono tumori piuttosto rari.

Negli adulti, secondo i dati forniti dal Progetto Oncologia del CNR, i sarcomi dei tessuti molli colpiscono 2 persone ogni 100.000 [15].

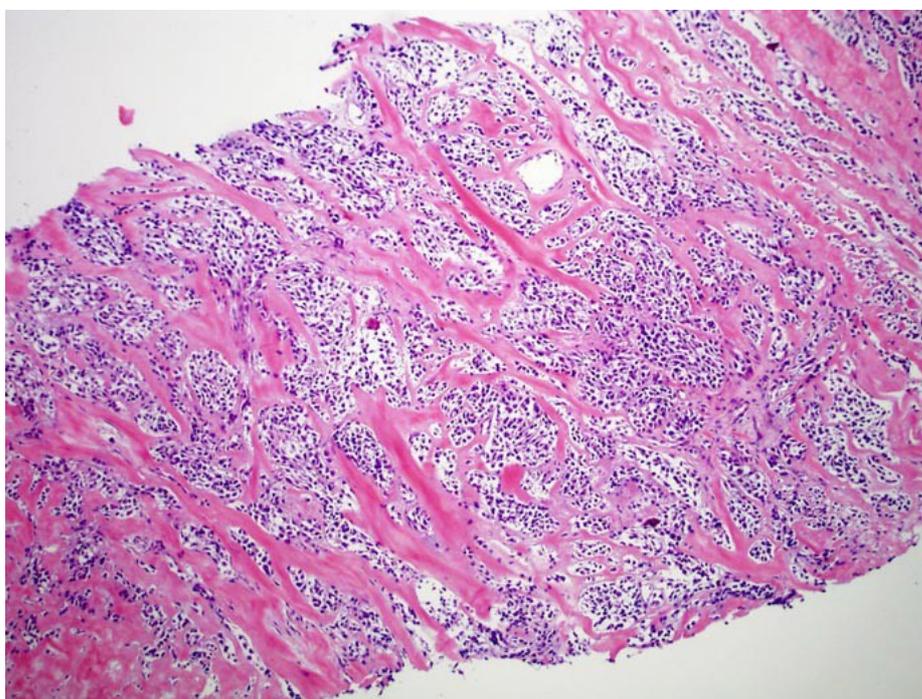


Fig.3.6 Immagine istopatologica di un sarcoma [16]

Il sarcoma di Kaposi è un tumore che prende origine dalle cellule che ricoprono l'interno dei vasi sanguigni o linfatici (cellule endoteliali) e può manifestarsi a livello di cute, mucose e organi interni.

La crescita incontrollata delle cellule endoteliali genera la comparsa di macchie rosso-violacee a livello della pelle, chiamate in gergo tecnico lesioni, che di solito non danno sintomi particolari, ma possono mutare fino a trasformarsi in veri e propri noduli. Il primo a descrivere questo tumore fu l'ungherese Moritz Kaposi nella seconda metà dell'Ottocento: da lui prende il nome la malattia .

Il sarcoma di Kaposi è un tumore piuttosto raro che in Italia rappresenta lo 0,2% di tutti i tumori diagnosticati negli uomini e lo 0,1% di quelli diagnosticati nelle donne.

Ogni anno nel nostro Paese meno di 2 (1,8) uomini su 100.000 e meno di 1 (0,7) donna su 100.000 ricevono una diagnosi di sarcoma di Kaposi anche se l'incidenza, cioè il numero di nuovi casi in un anno, aumenta con l'aumentare dell'età e varia notevolmente tra le diverse aree geografiche della penisola, con incidenza più alta nel sud Italia[17].

3.2 Cheloidi

I cheloidi sono cicatrici fibrose in rilievo che si espandono al di là dei bordi della lesione (generalmente una ferita) originaria, che non recedono e si ripresentano dopo l'escissione. Il termine proviene dal greco cheloides ovvero chela di granchio. Le cicatrici ipertrofiche sono simili, ma confinate nei bordi della ferita e generalmente regredisce nel tempo. Le cicatrici ipertrofiche appaiono solitamente a un mese dalla lesione, mentre i cheloidi impiegano da tre mesi fino ad alcuni anni per svilupparsi. Entrambi rappresentano una risposta anormale a una ferita cutanea, con una eccessiva deposizione di collagene la quale passa per tre stadi:

1. Infiammazione (i primi 3-10 giorni)
2. Proliferazione (successivi 10-14 giorni)
3. Maturazione e rimodellazione (da alcune settimane ad anni)

I trattamenti per cheloidi e cicatrici ipertrofiche sono simili ma le cicatrici ipertrofiche hanno prognosi migliori.

Il rischio primario per i cheloidi è la pelle scura probabilmente a causa di anomalie dell'ormone stimolante dei melanociti. I cheloidi sono comuni nelle persone con meno di 30 anni, con un picco per le età comprese tra 10 e 20 anni e nei pazienti con elevati livelli ormonali (come nella pubertà e nella gravidanza).

Le zone anatomiche maggiormente soggette sono la pelle dello sterno, le spalle, gli arti superiori, i lobi auricolari e le guance.

Certi tipi di trauma e guarigioni ritardate (più di tre settimane) aumentano l'incidenza dei cheloidi, la presenza di ustioni innalza ulteriormente l'incidenza. L'acne, il piercing alle orecchie, la varicella, le vaccinazioni, procedure di biopsia e lacerazioni possono causare una produzione eccessiva di tessuto cicatriziale.

I cheloidi sono più che sgradevoli esteticamente, spesso danno prurito e sono dolorosi [18].

I cheloidi possono anche essere definiti come tumori del derma benigni privi di qualsiasi potenziale maligno.

Istologicamente i cheloidi hanno strati epidermici normali, abbondantemente vascolarizzati, una densità mesenchimale maggiore della norma che si nota nell'ispessimento del derma, e una infiltrazione maggiore di cellule infiammatorie.

La strato reticolare del derma è composto principalmente da collagene e fibroblasti, il danneggiamento di questi contribuisce alla formazione dei cheloidi.

I fasci di collagene nel derma della pelle normale appaiono rilassati e presentano un'orientazione casuale; i fasci di collagene nei cheloidi sono più spessi e abbondanti, organizzati in strutture nodulari acellulari nelle regioni dermali profonde. Oltre al collagene, i protoglicani sono uno dei componenti presenti in

maggior quantità nella matrice extracellulare (ECM), depositati in eccesso nelle cicatrici dei cheloidi.

L'apoptosi, la morte programmata delle cellule, è una parte importante della cicatrizzazione delle ferite. Vi è un bilanciamento tra la proliferazione delle cellule e l'apoptosi. Si è notato che nei cheloidi è alterata la regolazione di questi due processi[19].



Fig.3.7 Esempio di cheloide [20]

4 DESCRIZIONE DI SEGNALI DI ECT

Questo capitolo spiega le basi teoriche su cui si basano l'implementazione del software e la successiva analisi dei dati ricavati dall'elettroporatore.

4.1 Tensioni applicate ai tessuti

La forma del segnale di tensione generato dall'elettroporatore relativo a un generico protocollo medico per l'ECT è rappresentato in Fig 4.1: un'onda quadra di tensione formata da impulsi ciascuno di periodo di $200\mu\text{s}$ con frequenza di 5kHz . La parte alta dura $100\mu\text{s}$.

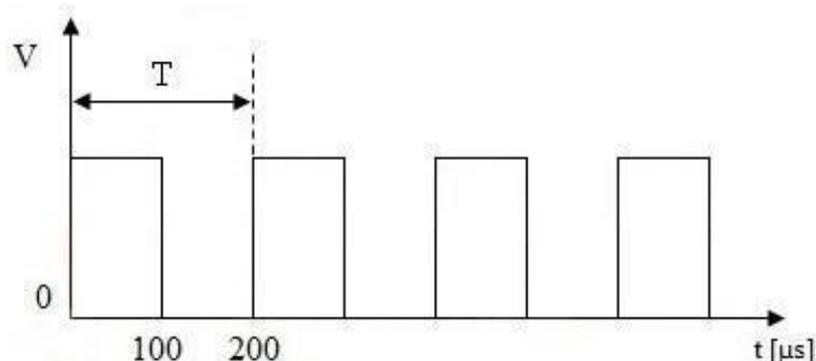


Fig.4.1 Impulsi ideali generati dall'elettroporatore

L'elettroporatore per uso clinico è in grado di memorizzare il segnale di tensione e la corrispondente corrente che attraversa l'elettrodo. Per motivi di spazio di memoria, vengono memorizzati 1230 campioni di tensione e altrettanti di corrente. Per quanto riguarda il segnale di tensione i campioni memorizzati si suddividono così: 100 per la salita, 900 per il plateau nella parte alta del segnale e 200 per la discesa. Viene invece omessa la parte bassa dell'onda quadra rappresentata da 30 campioni. Il passo di campionamento è di $0.1\mu\text{s}$ (Fig 4.2).

In questo tipo di applicazione l'ampiezza dell'impulso generato è direttamente proporzionale alla distanza degli elettrodi. Generalmente si applica una tensione di 1000 V/cm .

L'andamento temporale di un impulso di tensione è riportato in Fig. 4.2a. Si nota l'assenza di un plateau sulla parte alta dell'impulso. L'algoritmo precedentemente proposto per l'analisi dei segnali di ECT prevedeva di individuare la parte piatta dell'impulso analizzando l'andamento della derivata[21]. In questo caso il segnale presenta un andamento non costante attorno a 400V con una variazione di circa $\pm 7\text{V}$, rendendo non realizzabile l'analisi del segnale secondo la derivata.

In ogni applicazione vengono generati un treno di otto impulsi con la stessa ampiezza e frequenza.

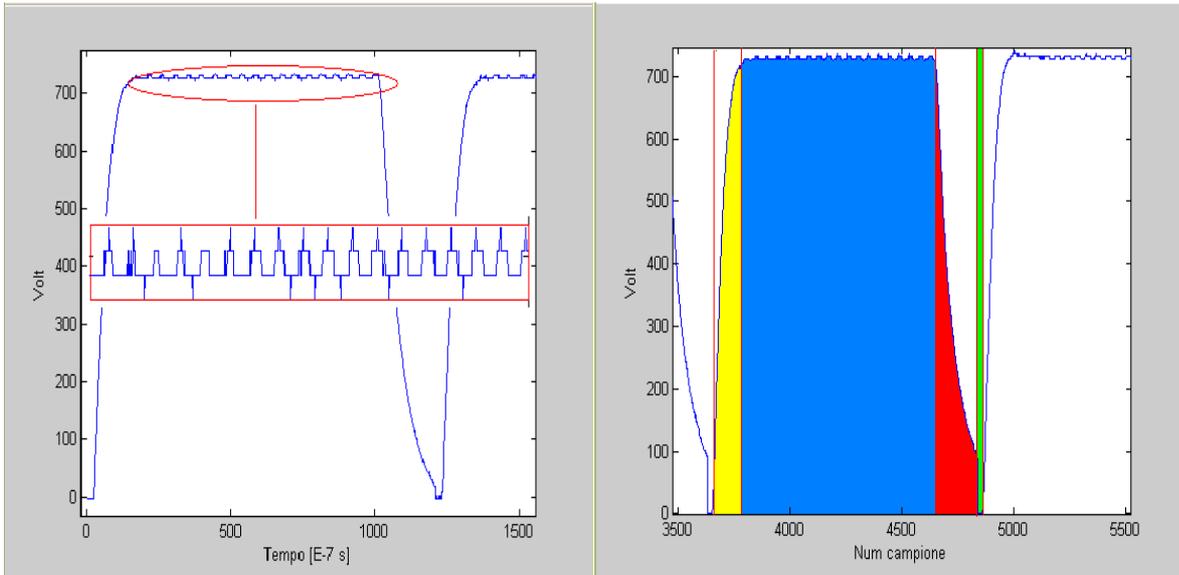


Fig.4.2 Impulso di tensione tra una coppia di elettrodi di un applicatore esagonale.

- a) il segnale evidenziato nei valori di plateau
- b) evidenziata la salita, il plateau, la discesa e la pausa

4.1.1 Casi particolari

Occorre notare che durante i trattamenti si possono avere dei picchi non desiderati come in Fig. 4.3a, dove i valori effettivi superano di molto la tensione tipica del trattamento, che nel caso in analisi è 400V. In questo caso si raggiunge un picco di 421 V.

In altri casi, per ragioni di sicurezza del paziente e/o del dispositivo la serie di impulsi viene interrotta. Se l'elettrodo è di tipo lineare non vengono generati gli impulsi fino all'ottavo, mentre se è esagonale non vengono generati gli impulsi solo ai capi della coppia di elettrodi dove si è riscontrata l'anomalia. Un esempio è riportato in Fig.4.3b.

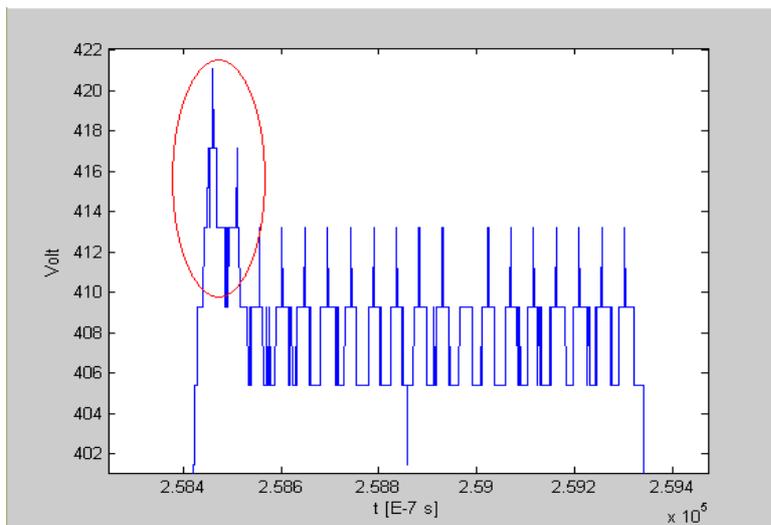


Fig.4.3a Picco del segnale di tensione

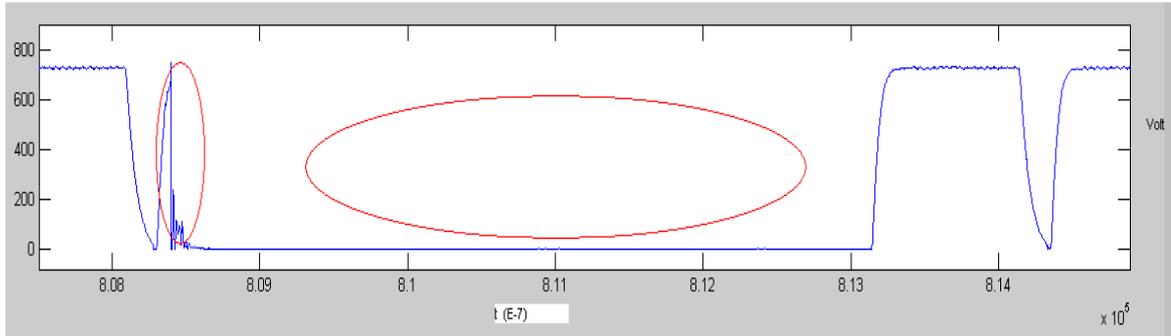


Fig.4.3b Generazione parziale di impulso e mancata generazione di 3 impulsi

4.2 Tipi di elettrodi per l'elettrochemioterapia

L'elettroporazione della membrana cellulare si verifica se la cellula è esposta ad un campo elettrico sufficientemente elevato. Tale condizione dipende dalla distribuzione del campo elettrico applicato a livello dei tessuti e funzione della geometria degli elettrodi utilizzati e del tessuto cellulare (Fig.4.4). Nel caso di tumori superficiali si fa ricorso ad elettrodi a piattine, mentre per tumori a maggiore profondità una buona distribuzione del campo elettrico è assicurata dall'utilizzo di elettrodi ad ago che penetrano il tessuto circondando la zona tumorale [22].



Fig.4.4 Tipologie di elettrodi utilizzati in elettrochemioterapia [23].

- a) disposizione esagonale elettrodi ad ago b) disposizione lineare elettrodi ad ago
c) applicatore lineare con elettrodi piatti

4.2.1 Descrizioni degli applicatori

Gli applicatori si differenziano per disposizione, numero e lunghezza degli elettrodi. Si contraddistinguono con una stringa alfanumerica data dalla concatenazione del tipo di elettrodi (N ad ago e P a lamelle), la lunghezza degli aghi in mm e dalla geometria degli elettrodi (HG esagonali, 4B lineari).

Si dispongono di dati ottenuti con elettrodi del tipo:

- N-20-HG: esagonale con aghi lunghi 20 mm
- N-30-HG: esagonale con aghi lunghi 30 mm
- N-10-4B: lineare con aghi lunghi 10 mm
- N-20-4B: lineare con aghi lunghi 20 mm

In questa trattazione vengono considerati i dati di trattamenti con elettrodi:

- N-20-HG : Applicatore con sette elettrodi, di cui sei disposti a esagono regolare e il settimo al centro. Gli elettrodi sono lunghi 20mm e ogni coppia adiacente è distanziata di 7mm.
- N-20-4B: Applicatore con otto elettrodi disposti su due file parallele distanziate di 4mm. Gli elettrodi hanno lunghezza di 20mm.

4.2.2 Tensione applicata ai tessuti

I protocolli dei trattamenti ECT prevedono l'applicazione di 8 impulsi ai capi di ogni coppia di elettrodi.

- N-20-HG : Vengono applicati ad ogni coppia di elettrodi adiacenti 4 impulsi di ampiezza 730V. Poi si ripetono le scariche con polarità invertita, per un totale di 96 scariche (Fig.4.5a).
- N-20-4B: Vengono applicati 8 impulsi di tensione con ampiezza 400V simultaneamente a tutte le quattro coppie di elettrodi (Fig.4.5c).

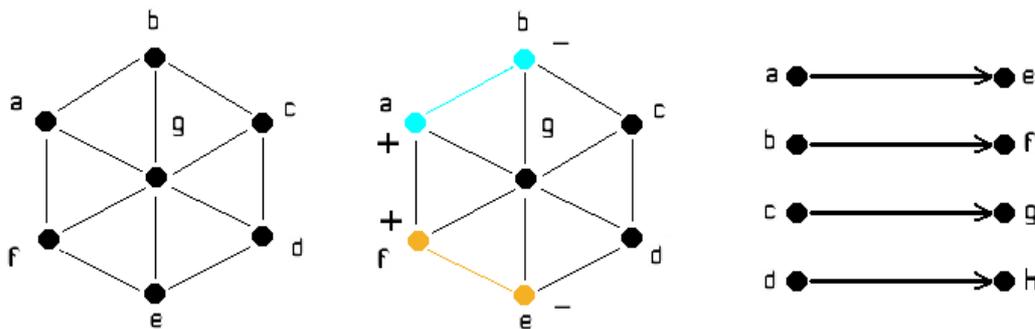


Fig.4.5 a) Disposizione degli elettrodi esagonali
 b) Visualizzazione di due possibili coppie di elettrodi
 c) Disposizione lineare degli elettrodi

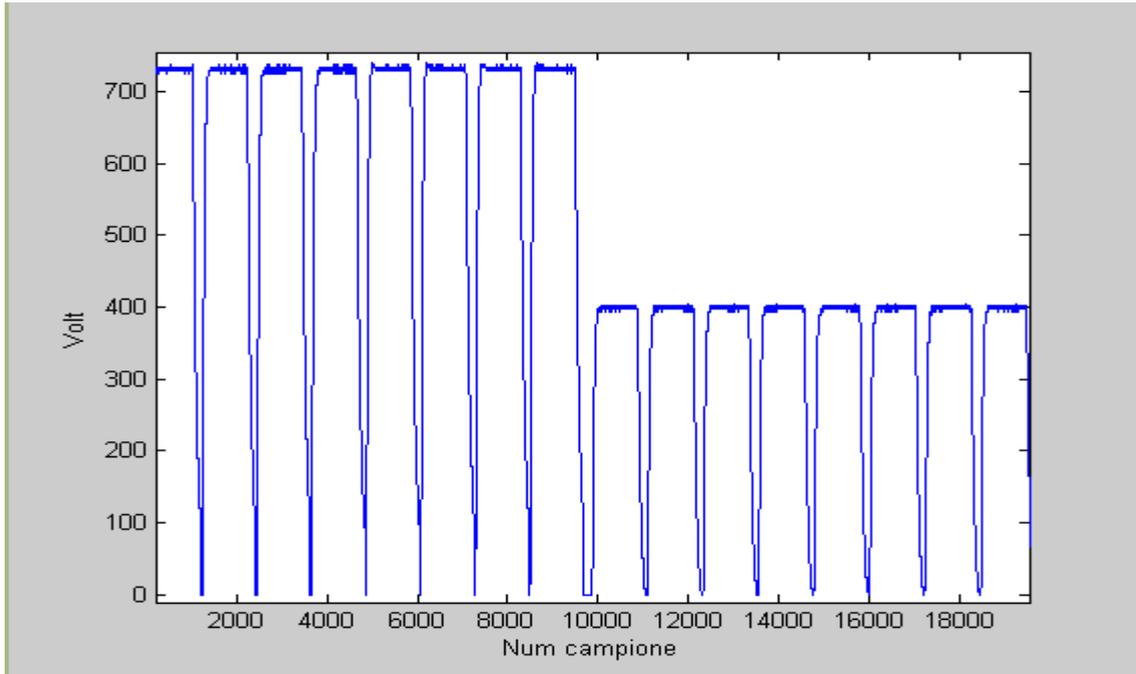


Fig.4.6 Grafico della tensione di due singoli trattamenti di BS_K_8. Sono stati usati elettrodi diversi (N-20-HG e N-20-4B).

4.2.3 Dati memorizzati

Il dispositivo per ECT memorizza tensione e corrente tra tutte le possibili coppie di elettrodi. Vengono memorizzati 9840 campioni di tensione e altrettanti di corrente, con passo di campionamento $0.1\mu\text{s}$. Sono memorizzati solamente otto impulsi. Pertanto vi sono differenze nei dati.

- N-20-HG: Vengono memorizzati i primi quattro e gli ultimi quattro impulsi. Queste due sequenze corrispondono ciascuna a una zona diverse del tessuto . Pertanto i dati ottenuti vanno analizzati separatamente (Fig.4.5b).
- N-20-4B: La sequenza è formata da otto impulsi quindi i dati si riferiscono alla stessa zona di tessuto. Ci si aspetta una progressiva diminuzione (all'interno degli 8 impulsi) della resistenza calcolata, in quanto l'elettroporazione aumenta la conducibilità dei tessuti (paragrafo 4.3).

4.3 Proprietà passive dei tessuti biologici

4.3.1 Modellizzazione del tessuto

Un tessuto biologico è costituito da diversi strati di cellule, che hanno proprietà elettriche differenti dovute alla conformazione delle cellule: la loro geometria, il contenuto d'acqua, lo stato fisiologico. Queste differenze si riflettono sulle proprietà elettriche di ogni strato in cui possiamo suddividere il campione di tessuto analizzato. Infatti possiamo rappresentare il sistema "tessuto" come composto da diversi strati di materiale omogeneo, ad ognuno dei quali sarà associato un valore di conducibilità (o alternativamente resistività). I tumori, in particolare, possono essere caratterizzati da un contenuto d'acqua e di pressione interstiziale maggiore rispetto al tessuto normale, sono formati da cellule molto irregolari e inoltre possono esserci zone fibrose o sacche di liquido nella zona tumorale. Dal punto di vista elettrico il tessuto si può rappresentare come una resistenza.

Questa premessa è valida pure per la caratteristiche dielettriche del tessuto. In questo caso l'insieme tessuto-elettrodo può essere descritto come un condensatore.

Dalla letteratura, si apprende che l'equivalente elettrico del tessuto biologico in cui sono inseriti gli elettrodi metallici è una rete elettrica RC passiva, ovvero un circuito elettrico costituito da resistenze e condensatori connesse a un generatore. Per le caratteristiche del tessuto biologico di conducibilità e di resistività, il tessuto tra due elettrodi può essere sintetizzato da un parallelo di una resistenza con un condensatore. In Fig.3.6 viene raffigurato il modello della rete elettrica equivalente, formata da un generatore di tensione, da una resistenza e dal parallelo della resistenza con il condensatore.

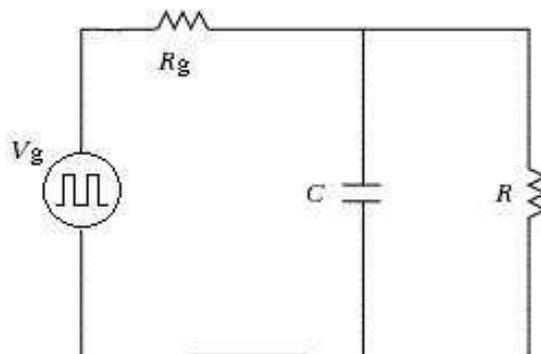


Fig.4.7 Circuito RC equivalente che modella un tessuto biologico in cui sono applicati gli elettrodi per ECT[24].

4.3.2 Effetti dell'elettroporazione

L'applicazione di impulsi di tensione di adeguata intensità comporta un aumento della permeabilità della membrana cellulare portando all'aumento della conducibilità elettrica. L'incremento di conducibilità è dovuto ad un maggiore flusso di ioni che per diffusione iniziano a muoversi attraverso i pori che si vengono a creare sulla membrana della cellula. L'aumento di conducibilità inizia a manifestarsi al superamento della soglia di campo elettrico per cui la cellula inizia a permeabilizzarsi.

Si è osservato che dopo l'applicazione di un impulso elettrico avviene un aumento temporaneo della conducibilità, la quale ritorna al valore iniziale quando non sono più applicati stimoli esterni. La fase in cui la cellula cerca di riportarsi nelle condizionali iniziali è detta di "recovery" e termina con la chiusura dei pori che si erano creati sulla membrana in seguito all'impulso elettrico. Per alte frequenze di impulsi oppure per campi elettrici elevati, la fase di recovery non riesce a raggiungere il valore iniziale tra un impulso e l'altro [2].

Questo porta all'aumento della conducibilità ad ogni impulso, come si nota nella Fig.4.7, specie per impulsi di ampiezza maggiore a 1 KV/cm

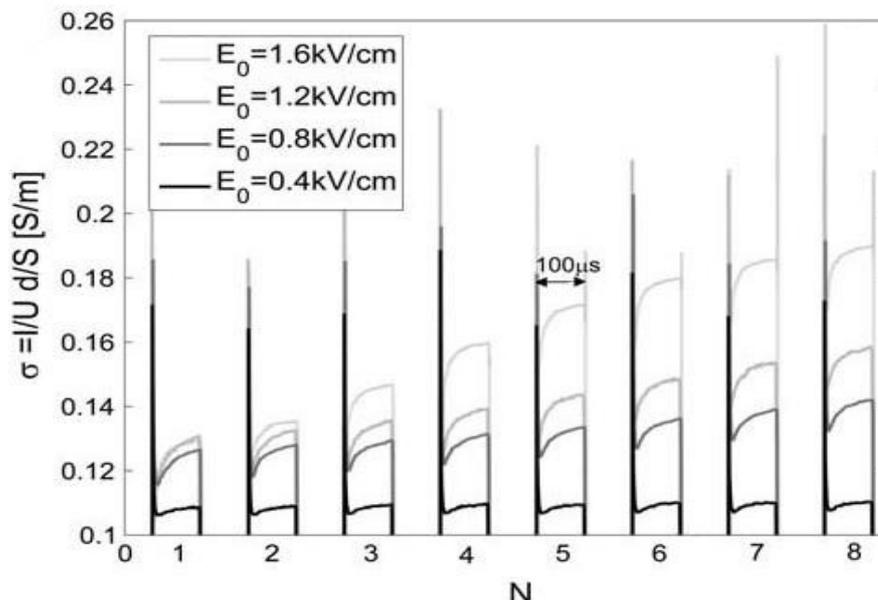


Fig.4.8 Misura della conducibilità in cellule soggette a differenti campi elettrici durante un treno di 8 impulsi di lunghezza 100µs [25]

4.4 Problematiche della determinazione delle caratteristiche elettriche

I dati ricavati dal dispositivo per ECT presentano grande variabilità, dovuta sia a fattori biologici sia di esecuzione del trattamento.

4.4.1 Variabilità del trattamento

Ci sono dei casi in cui le condizioni di applicazione del trattamento non sono ideali:

- La parte anatomica in cui è avvenuto il trattamento: le superfici non piate del corpo umano impediscono un esatto posizionamento dell'elettrodo, nella specie gli elettrodi ad ago non vengono inseriti per tutta la loro lunghezza nei tessuti.
- Precedenti trattamenti: si verifica se il paziente è già stato sottoposto ad altri trattamenti come l'asportazione chirurgica, pertanto i tessuti trattati con ECT possono avere caratteristiche cicatriziali.
- I movimenti del paziente: possono modificare, anche leggermente, la posizione degli elettrodi.

Nella Fig.4.8 si nota nell'andamento del valore della resistenza (terzo grafico) un picco intorno a 10000Ω . È facile notare come la corrente sia pressoché nulla.

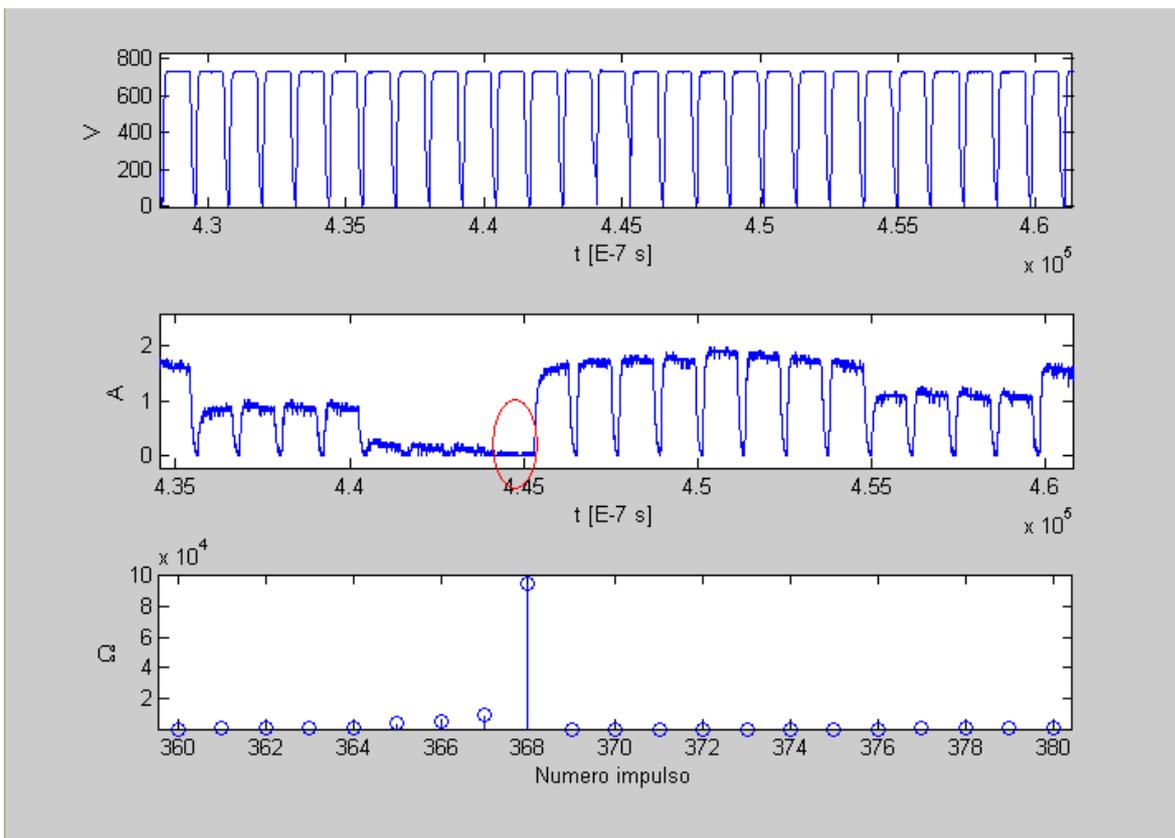


Fig.4.9 a) tensioni ai capi degli elettrodi
 b) correnti sugli elettrodi
 c) resistenza calcolata

4.4.2 Fattori biologici che influenzano il trattamento

I seguenti fattori biologici possono incidere sulla misura del valore della resistenza in modo diverso:

- Presenza di più tessuti: certamente vengono attraversati lo strato corneo e il tessuto epiteliale e normalmente sono presenti terminazioni nervose e vasi sanguigni che si sovrappongono ai tessuti patologici.
- Anisotropia: le caratteristiche elettriche di alcuni tessuti dipendono dalla loro orientazione rispetto al campo elettrico (es. fibre muscolari). Ciò si estende anche alle singole cellule.
- Fattori Fisiologici: qualsiasi cambiamento fisiologico nel tessuto comporta cambiamenti nelle proprietà dielettriche. La temperatura influisce ad esempio sulla mobilità degli ioni come conseguenza del cambiamento di viscosità del fluido extracellulare. La variazione della quantità molecole d'acqua e di grasso presenti sono fattori che influiscono sulla conducibilità
- Polarizzazione dell'elettrodo: le cariche molecolari presenti nel tessuto tendono a organizzarsi all'interfaccia dell'elettrodo, compromettendo la misurazione del valore della resistenza del tessuto. L'effetto è tanto maggiore quanto maggiore è la conducibilità del tessuto in analisi. In vivo si aggiunge che la penetrazione degli aghi comporta un rilascio di elettroliti che inficiano ulteriormente la misura. In applicazioni in vitro per effettuare una misurazione più accurata si aspetta un certo intervallo di tempo dopo aver inserito l'elettrodo nel tessuto prima di effettuare la registrazione [26].

5 DESCRIZIONE DEL SOFTWARE

Il software descritto in questo capitolo è stato implementato con lo scopo di ottenere dati utili per l'analisi di tessuti sottoposti a trattamenti di ECT. In particolare interpreta i dati memorizzati dal dispositivo.

5.1 Input

I dati di ogni paziente sono memorizzati in file di tipo xml. La stringa alfanumerica che individua il nome del file è il risultato della concatenazione della sigla della provincia dell'ospedale di riferimento, il tipo di tessuto in analisi (T se tumorale, K se cicatriziale nella forma di cheloide), e un numero progressivo. Questi sono suddivisi per singolo trattamento: ogni volta che viene generato un treno di otto impulsi, viene creata una Application che contiene:

- Il numero di nodulo: viene inserito manualmente da chi esegue la terapia, numeri diversi indicano zone del corpo lontane o diverse tra loro.
- Il codice degli elettrodi (N-20-HG, N-20-4B)
- Dati dell'asse temporale (numero campioni, passo campionamento)
- I dati di corrente e tensione
- Parametri del dispositivo (IDSession e IDApplication)

I dati significativi sono quelli di corrente, tensione, nodulo e codice d'elettrodo. I dati quantizzati di corrente e tensione (U_Data e I_Data) sono riportati in notazione esadecimale. Stringhe di caratteri di lunghezza fissa di tre caratteri di U_Data e I_Data determinano un campione della misura.

I valori di tensione e corrente interpretati sono riportati in due array distinti. Oltre a questo vengono riportate per trattamento il codice dell'applicatore utilizzato e il numero di impulsi per applicazione

5.2 Elaborazione

Da quanto asserito nel paragrafo 4.3, per calcolare la resistenza del tessuto elettroporato si devono prendere in esame solo gli ultimi campioni dell'impulso di tensione. In quanto si è sicuri che la parte transitoria del segnale di corrente dipendente dagli effetti capacitivi dei tessuti sia nulla o quasi.

Le fasi di elaborazione dei dati sono le seguenti:

1. Si divide il segnale della tensione in modo da valutarne ogni singolo impulso
2. Si pone come livello di riferimento la tensione ideale applicata. Questa è posta a 730V nel caso di elettrodi esagonali e a 400V se sono lineari.
3. Si verifica se il dispositivo non abbia interrotto il treno d'impulsi. Per ogni singolo impulso si ricava il massimo valore di tensione e si determina se è

maggiore della soglia pari all'85% del valore di riferimento (determinato al punto 2.).

4. Ci si pone a metà dell'impulso e lo si scorre fino a quando i valori sono minori del riferimento posto come il massimo locale meno 5 livelli di quantizzazione. A questo punto si scartano gli ultimi 12 campioni, e si controlla quanti dei 119 campioni precedenti siano validi (ovvero maggiori del riferimento).
5. Se i campioni validi sono più di 20 si procede al calcolo della resistenza, in caso contrario l'impulso non è adeguato: la resistenza viene posta a zero e si passa all'impulso successivo. Nel tipo di trattamenti in esame è molto raro incorrere in una simile evenienza.
6. Ciascun valore di tensione viene diviso per il corrispondente valore di corrente, ottenendo un valore di resistenza¹.
7. Si calcola la media dei valori di resistenza: sarà questo a essere utilizzato nelle analisi successive.
8. Dall'insieme delle resistenze calcolate per ogni impulso si estrapola la resistenza minima, quella massima e la standard.
9. Alla fine di ogni singolo trattamento, ogni otto impulsi, vengono calcolati i valori statistici di: resistenza massima, minima e media delle otto resistenze.

Il codice dettagliato è consultabile nell'Appendice.

¹I dati descrivono l'andamento della resistenza in un tempo tra i 2 μ s e i 12 μ s, pertanto i valori riportati sono simili, a meno di situazioni critiche.

5.3 Output

Il software crea un file excel omonimo del file xml dato come input. Il file xls è composto da due fogli di calcolo:

Il primo foglio riporta le proprietà singoli impulsi (Fig. 5.1a):

- R Max: massima resistenza
- R Min: minima resistenza
- R Med: resistenza media
- Dis: distanza tra gli elettrodi su cui è avvenuta la scarica
- Std: deviazione standard delle resistenze calcolate

Il secondo foglio riporta i dati di ogni singolo trattamento(Fig. 5.1b):

- R Max: massima resistenza della serie di 8 impulsi
- R Min: minima resistenza della serie di 8 impulsi
- N°: resistenza media del N-esimo impulso del trattamento
- #Nodule: indica il numero della zona interessata
- IDSess e IDApp: parametri del database del dispositivo
- El: sigla alfanumerica che contraddistingue il tipo di elettrodo

Nel caso in cui i file xml abbiano dimensioni maggiori a 1Mb si sconsiglia l'uso della funzione analizza, in quanto il grafico prodotto è di difficile interpretazione. Per osservazioni e confronti il programma crea una figura in cui vengono riportati i valori della tensione, della corrente e delle resistenze medie (Fig5.1c).

a)

STATISTICA RESISTENZA DEI SINGOLI IMPULSI					
	R Max	R Min	R Med	Dis [mm]	Std
1	204.2006	194.2745	197.6563	4	1.972207
2	200.3134	189.6648	195.3273	4	2.308681
3	207.5594	189.6648	194.6846	4	2.591918
4	200.3134	190.5763	196.3555	4	1.688262
5	213.1473	192.4254	197.6803	4	2.36429
6	213.1473	195.3236	202.3617	4	1.717087
7	213.1473	197.2188	201.465	4	2.355055
8	207.5594	194.2745	202.1182	4	3.131081
9	144.9523	137.2164	141.3521	4	1.10468
10	146.2243	136.165	139.0331	4	1.291276
11	142.3706	135.149	139.7129	4	1.209811
12	146.2243	135.149	139.7959	4	1.386084
13	147.6295	137.2164	139.7026	4	1.462983
14	146.2243	136.165	139.6623	4	1.452944
15	143.5727	136.165	140.1462	4	1.273322
16	143.5727	137.4734	140.3993	4	1.209449
17	199.1139	178.7462	183.8878	4	2.092614
18	194.2745	175.3757	180.9868	4	2.576448
19	192.4254	173.2238	179.0604	4	1.942699
20	194.2745	173.2238	178.2423	4	2.477174
21	187.8596	171.5751	177.1064	4	2.336393
22	187.8596	171.5751	175.6165	4	1.69631
23	179.3484	169.5495	174.7992	4	1.597064
24	177.625	169.5495	174.5188	4	1.636574
25	142.193	136.165	139.0502	4	1.204695
26	142.3706	132.902	135.6947	4	1.045906
27	136.165	128.6248	133.5582	4	1.01852
28	137.4734	129.4841	132.1509	4	1.091495
29	136.165	128.2399	131.0966	4	1.150902
30	139.8791	127.4005	130.7515	4	1.295829
31	133.8627	126.5878	130.03	4	1.089456
32	131.637	125.3829	129.1157	4	0.869754
33	159.4058	150.4074	155.1715	4	1.404969
34	162.6494	148.9758	151.8925	4	1.503326
35	157.8886	147.5442	151.0803	4	1.327909
36	159.4058	146.2243	148.9105	4	1.416383
37	153.2918	144.8192	148.2337	4	1.259171
38	150.4074	142.3706	147.0152	4	1.470442
39	148.9758	142.193	145.9866	4	0.904699
40	156.289	142.193	145.7227	4	1.5783
41	169.5495	159.5533	161.6944	4	1.509998
42	162.8673	157.8886	160.6015	4	1.050957
43	169.5495	156.289	160.1769	4	1.659813
44	164.4476	156.289	160.3492	4	1.393412
45	166.0278	156.289	160.7587	4	1.29229
46	164.4476	154.8015	160.6651	4	1.245723
47	171.5751	157.8886	161.0066	4	1.619918
48	161.1014	156.289	160.037	4	1.384155

b)

App	R Max	R Min	R Med	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	#Nodule	IDApp	IDSess	El
1	202.3617	194.6846	198.4561	197.6563	195.3273	194.6846	196.3555	197.6803	202.3617	201.465	202.1182	1	3346	73	N-20-4B
2	141.3521	139.0331	139.9755	141.3521	139.0331	139.7129	139.7959	139.7026	139.6623	140.1462	140.3993	1	3347	73	N-20-4B
3	183.8878	174.5188	178.0273	183.8878	180.9868	179.0604	178.2423	177.1064	175.6165	174.7992	174.5188	1	3348	73	N-20-4B
4	139.0502	129.1157	132.681	139.0502	135.6947	133.5582	132.1509	131.0966	130.7515	130.03	129.1157	1	3349	73	N-20-4B
5	155.1715	145.7227	149.2516	155.1715	151.8925	151.0803	148.9105	148.2337	147.0152	145.9866	145.7227	1	3350	73	N-20-4B
6	161.6944	160.037	160.6612	161.6944	160.6015	160.1769	160.3492	160.7587	160.6651	161.0066	160.037	1	3351	73	N-20-4B

Fig.5.1 a) Primo foglio del file BS_K_17.xls
b) Secondo foglio del medesimo file

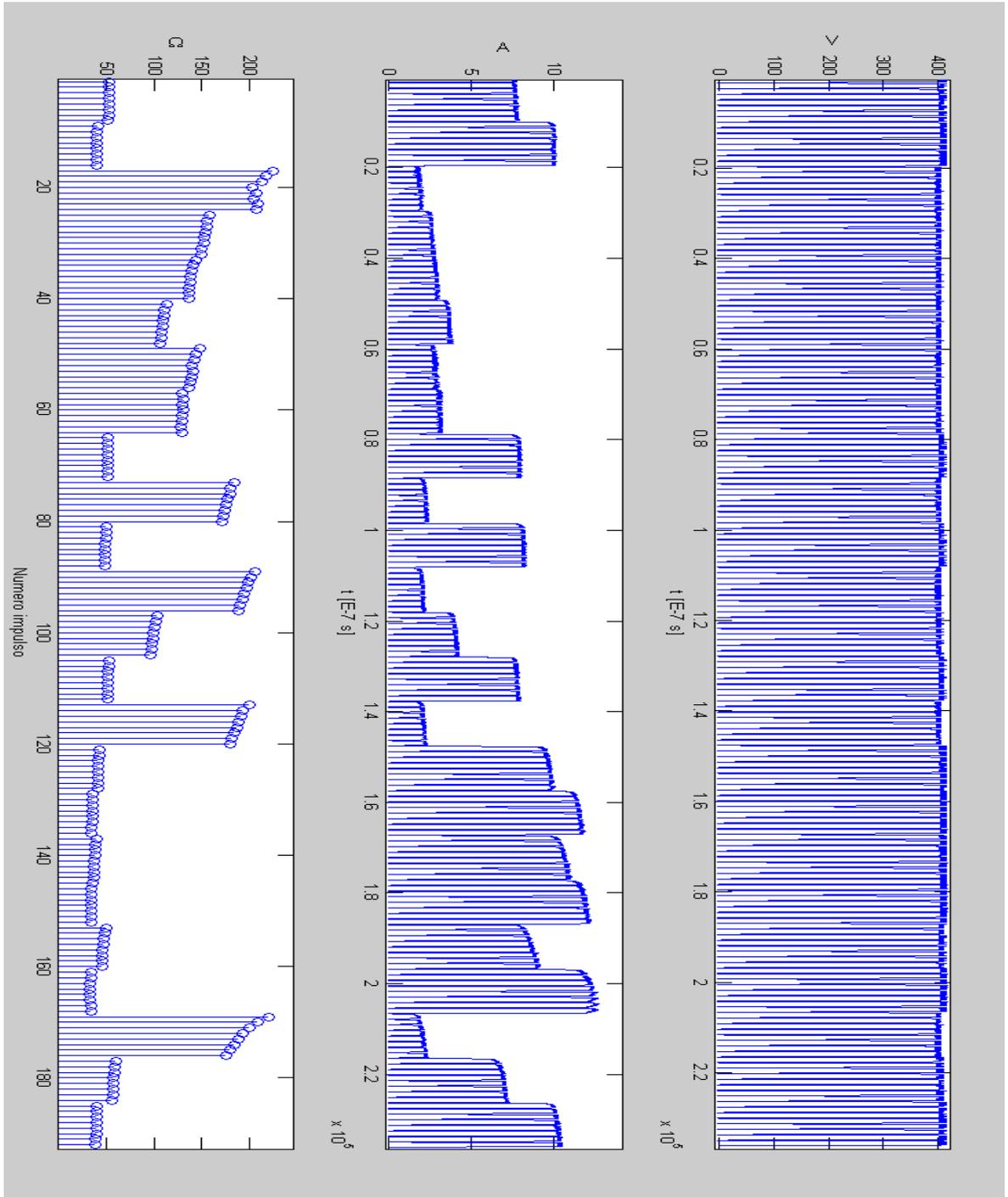


Fig.5.1c Riporta i dati di tensione, corrente e resistenza calcolata sugli impulsi del file PD_T_1

5.4 GUI

Il programma è stato sviluppato in ambiente Matlab ed è uno strumento per ottenere i dati di resistenza da dati che si riferiscono a tensioni e correnti prodotte da un dispositivo di ECT.

Una volta avviato il software viene visualizzata la finestra iniziale, visibile in Fig 4.2. All'inizio, l'unica operazione ammessa è il caricamento dei file; per procedere a tale operazione è necessario cliccare sul pulsante "Carica" e successivamente selezionare il percorso del file desiderato. Si possono caricare fino ad un massimo di 4 file.

È presente la possibilità di togliere un file caricato dalla lista dei file da analizzare attraverso la pressione del pulsante "Elimina".

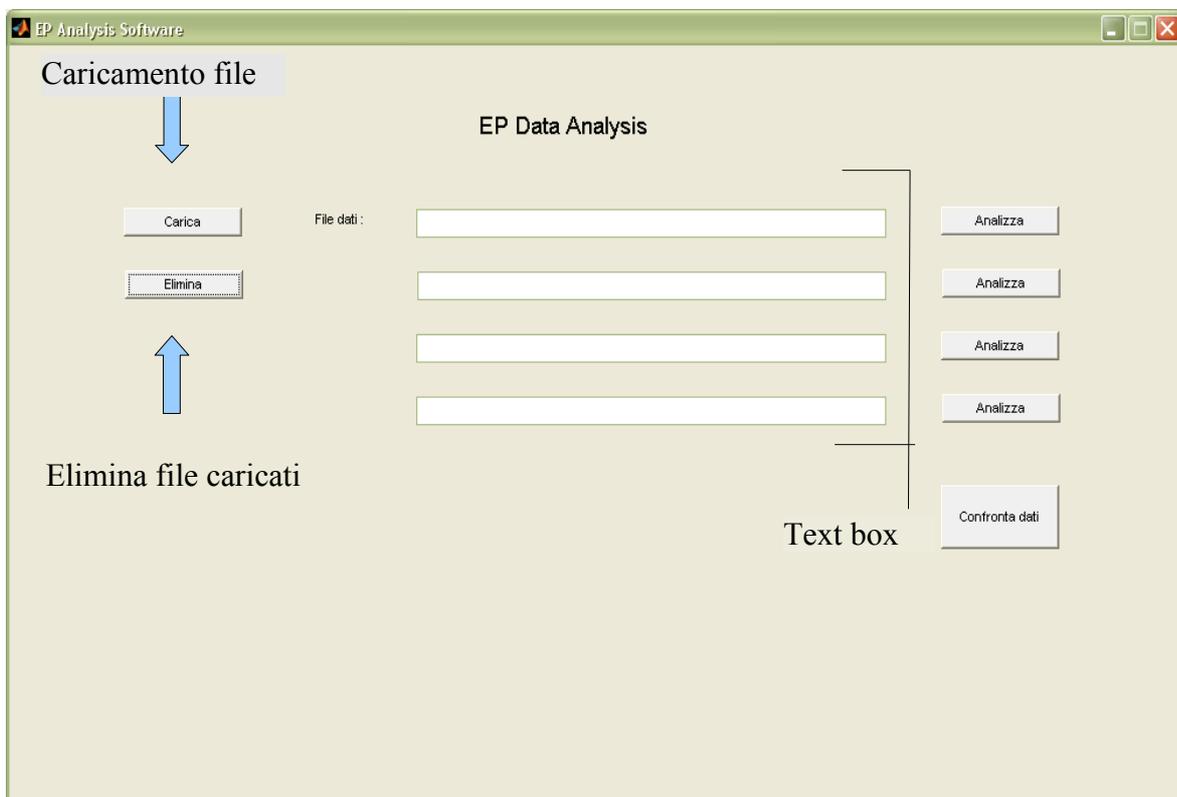


Fig.5.2 Finestra principale

Se l'operazione di caricamento è andata a buon fine, apparirà sulla prima casella di testo il percorso del file caricato (Fig 5.3).

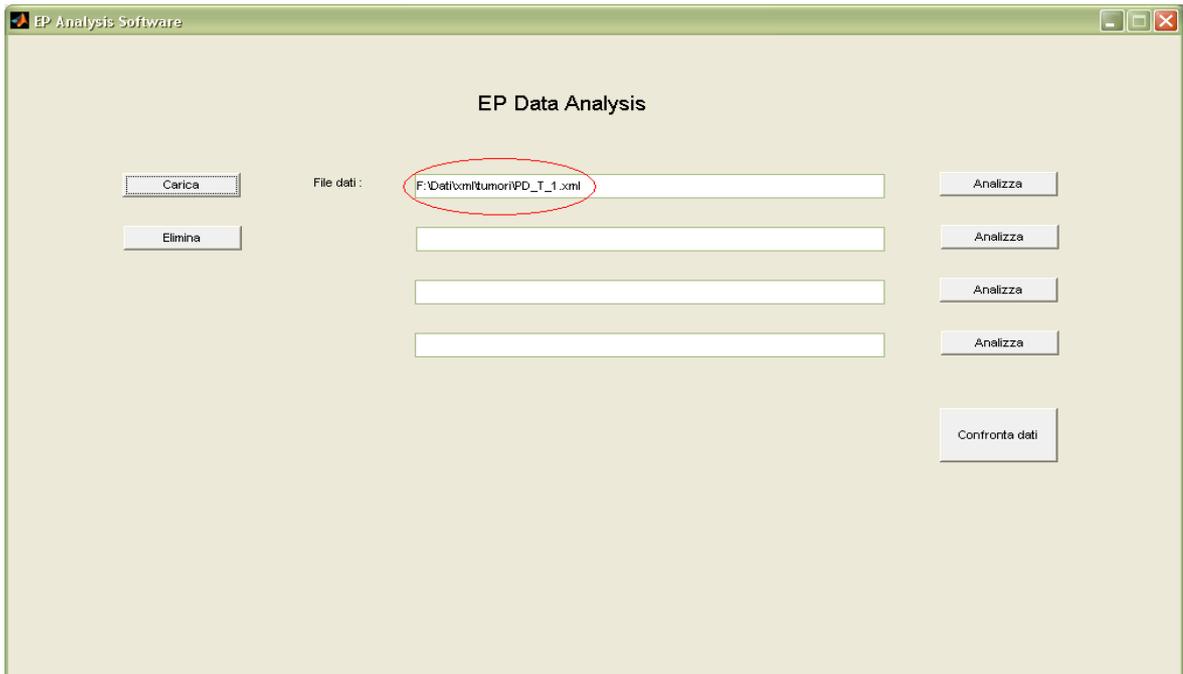


Fig.5.3 Finestra principale dopo il caricamento di un file

5.5 Esempi

Come descritto nel paragrafo 3.4 possono verificarsi delle condizioni in cui uno o più impulsi non siano generati. Nei casi qui analizzati non insorgono queste problematiche ma per dimostrare la solidità della programmazione prendiamo in analisi il file dove sono presenti i dati riportati in Fig. 5.4b.

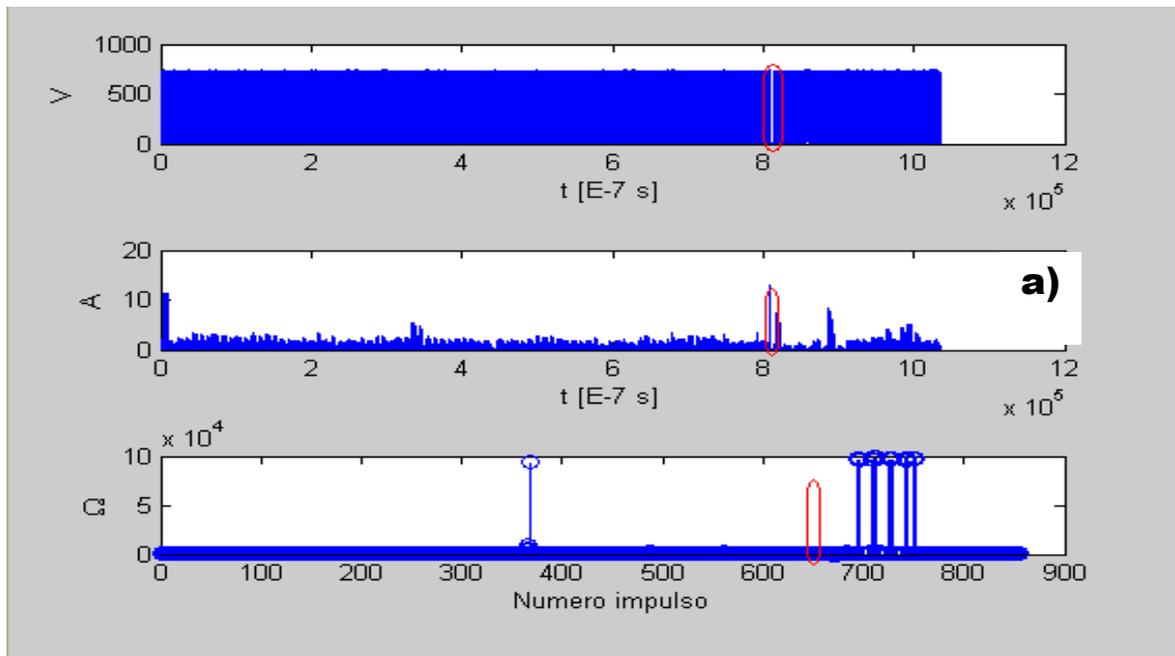


Fig.5.4 a) descrizione dei segnali di tensione e corrente

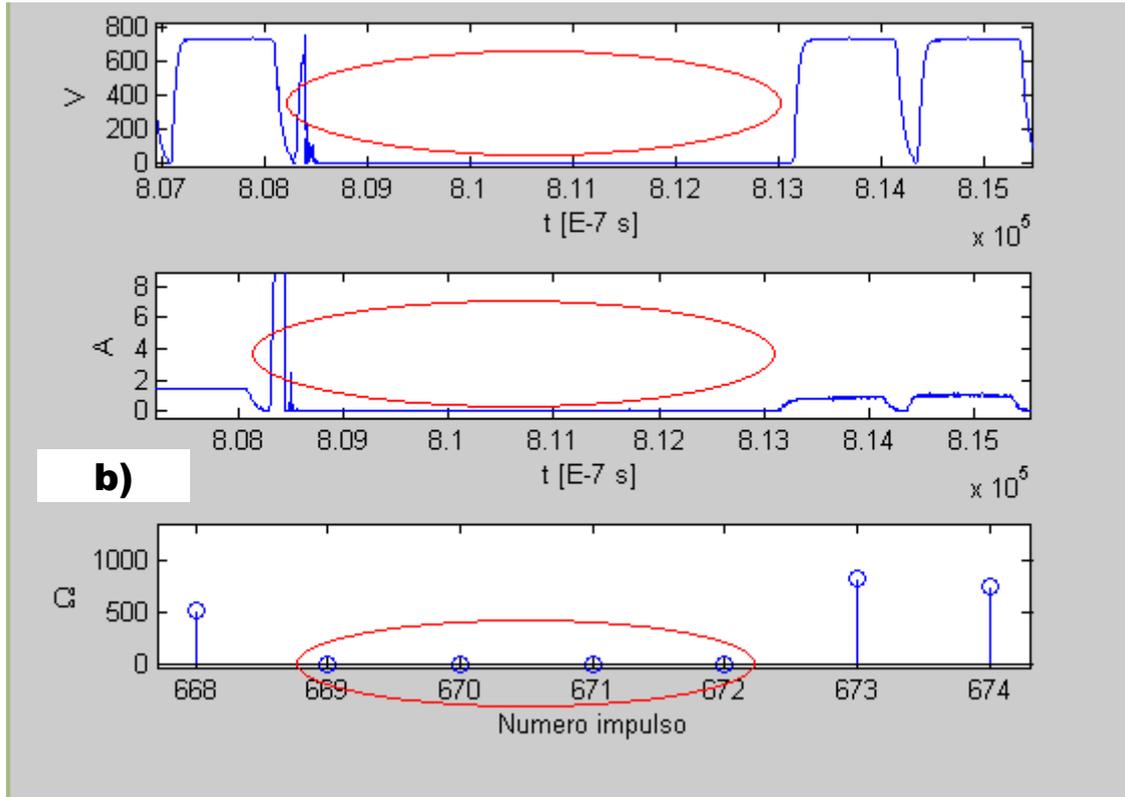


Fig.5.4b) Ingrandimento nella zona d'interesse di Fig.5.4a)

Il programma riconosce la mancata o la parziale generazione dell'impulso (come si nota in Fig5.4a e nell'ingrandimento 5.4b). Di seguito viene riportata la riga del file excel generato dal software (Fig.5.5). Si nota che i valori di resistenza corrispondenti agli impulsi dal quinto all'ottavo dell'84^a applicazione, ovvero quelli relativi alla finestra in analisi, sono posti a zero.

App	R Max	R Min	R Med	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°
84	526,51	0	504,85	499,39	480,92	512,59	526,51	0	0	0	0

Fig.5.5 Dati della resistenza posti in output

6 ANALISI DI CASI REALI

Prima di descrivere l'analisi dei dati di ECT si rende necessaria una definizione dei termini usati:

- *Applicazione (singolo trattamento)*: serie di otto impulsi con gli elettrodi in una determinata posizione, nell'analisi vengono riportate le corrispondenti otto resistenze calcolate
- *Trattamento*: insieme di più applicazioni sullo stesso paziente. Applicazioni diverse nello stesso trattamento avvengono su zone anatomiche diverse

L'oggetto di questa analisi sono le ottave resistenze di ogni applicazione. Vengono considerate in quanto è più probabile che sia avvenuta l'elettroporazione delle cellule del tessuto. Nei casi di trattamenti con elettrodo esagonale viene presa in considerazione anche la quarta resistenza per determinare la variabilità delle caratteristiche del tessuto in analisi.

Come prima analisi sono stati ignorati i dati superiori a 2500Ω , in quanto attribuibili ad errori di esecuzione del trattamento (come descritto al paragrafo 3.4).

Per comodità si è scelto di effettuare i confronti su fogli excel.

6.1 Analisi di dati di trattamenti su cheloidi

I trattamenti su cheloidi vengono effettuati con elettrodi lineari, in particolare con quelli di tipo "N-20-4B". Pertanto i dati in analisi sono le resistenze corrispondenti all'ottavo impulso del singolo trattamento. I dati analizzati sono i seguenti:

- BS_K_1
- BS_K_2
- BS_K_4
- BS_K_5
- BS_K_7
- BS_K_8
- BS_K_9
- BS_K_10
- BS_K_11
- BS_K_12
- BS_K_14
- BS_K_15
- BS_K_16
- BS_K_17
- BS_K_18

Nell'analisi si è tenuto conto della divisione in noduli operata da chi eseguiva il trattamento. Come già descritto in precedenza, la variazione di questo parametro, inserito manualmente, indica una zona del corpo diversa. In Fig 6.1 sono rappresentate i valori delle ottave resistenze di ogni applicazione. Sull'asse delle ascisse sono riportate le stringhe alfanumeriche che identificano il paziente, mentre sulle ordinate sono riportati i valori in Ohm delle resistenze.

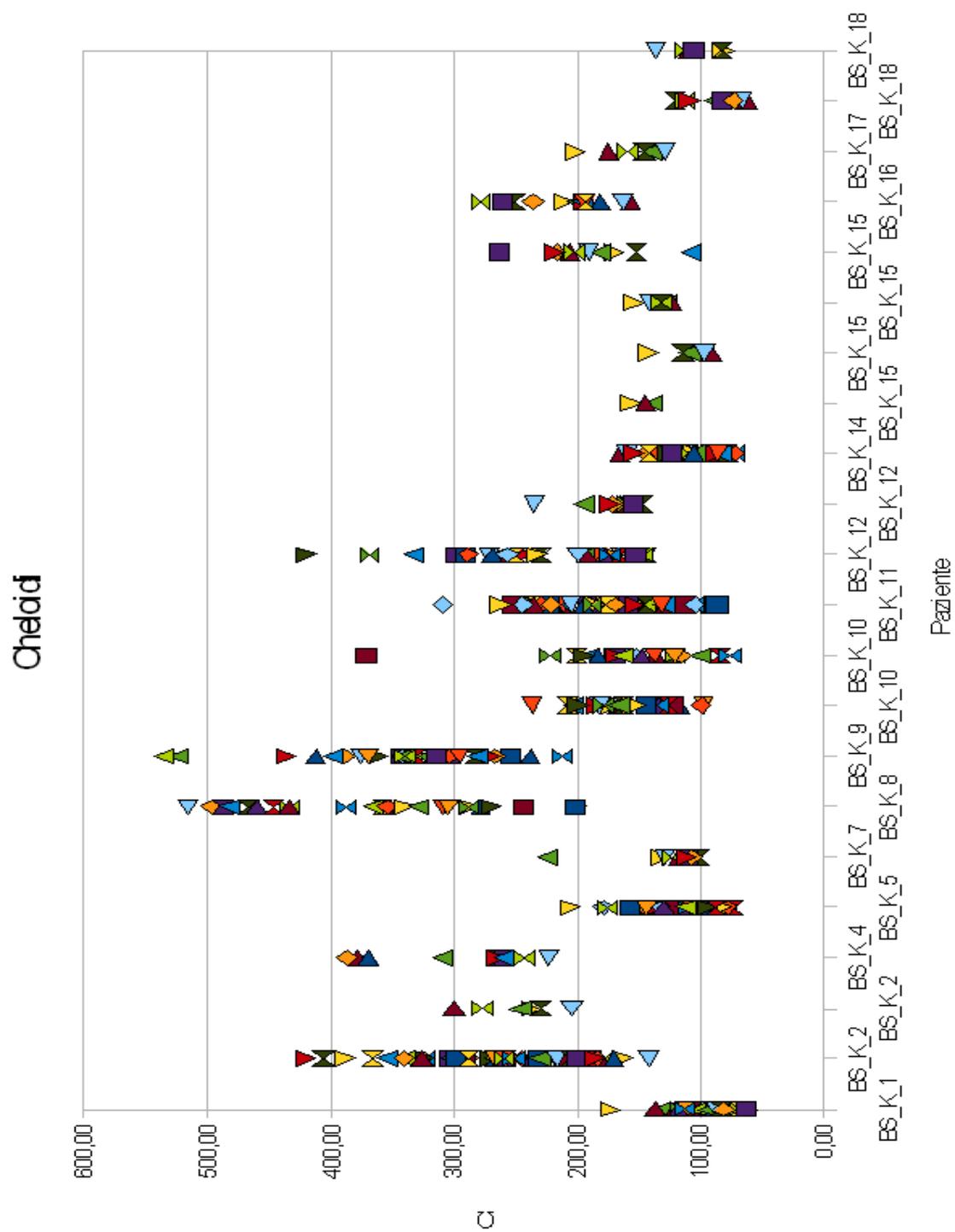


Fig.6.1 Rappresentazione delle resistenze

I dati rappresentati in Fig. 6.1 hanno una elevata variabilità, più accentuata in alcuni casi. Ripetendo molte volte il trattamento ci si sposta su zone distanti tra loro, per cui è plausibile ottenere valori di resistenza anche diversi tra loro (paragrafo 4.4) perché i tessuti possono essere localizzati in zone anatomiche diverse (volto, zigomo, spalla, etc...).

6.1.1 Analisi per nodulo

Da quanto scritto sopra non è possibile determinare un valore di resistenza per ciascun trattamento, quindi l'analisi deve concentrarsi sui dati dei singoli pazienti. La distinzione maggiormente significativa dei dati dei pazienti è quella fatta nodulo per nodulo.

Si consideri BS_K_15, di cui in Fig.6.2, sono riportati i valori delle resistenze suddivisi nei quattro noduli trattati. I dati dei primi tre noduli sono composti rispettivamente da tre, cinque e sei applicazioni. Raffrontandoli si nota che la loro è una distribuzione quasi omogenea attorno a valori medi simili ma non identici (rispettivamente 150Ω , 110Ω , 130Ω). Per quanto riguarda il quarto nodulo si presenta nuovamente la problematica della variabilità dei dati. Esclusi i dati con valore maggiore e minore, si distingue anche qui una distribuzione abbastanza omogenea dei dati attorno a un valore medio (circa 190Ω) diverso da quello dei precedenti noduli. In ogni caso i dati considerati del quarto nodulo sono otto. Questa maggiore numerosità di applicazioni potrebbe identificare un nodulo di dimensioni maggiori rispetto ai precedenti.

Nel grafico in Fig.6.2 sulle ascisse sono riportate le localizzazioni anatomiche dei noduli: si nota la somiglianza dei dati di resistenza relativi alle guance e la diversità di queste rispetto ai dati di resistenza provenienti dalle applicazioni alla spalla.

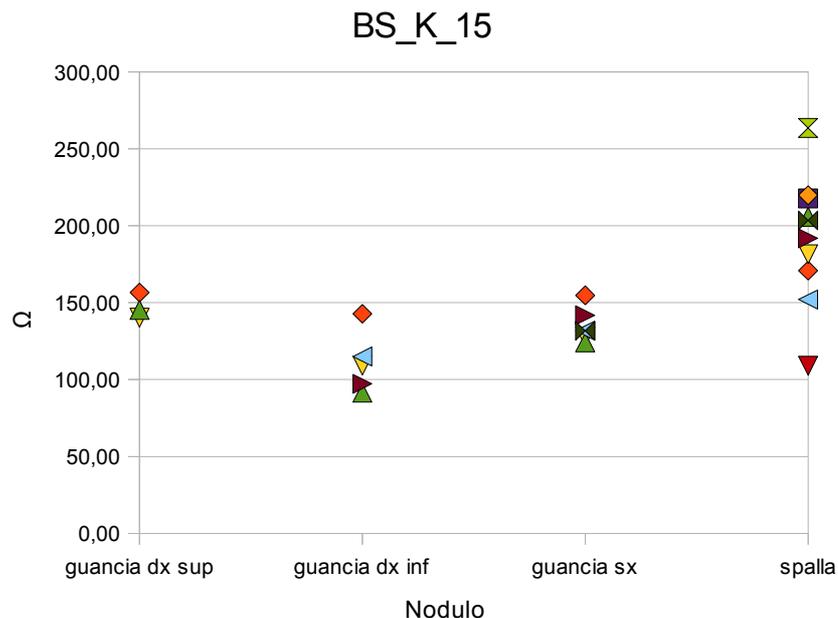


Fig.6.2 Valori delle resistenze in analisi di BS_K_15

Per quanto riguarda i dati degli altri pazienti per sedi anatomiche le distinzioni non sono così nette come nel caso precedente. Si nota che i dati di resistenza per lo stesso paziente divisi per nodulo sono molto simili, specie per quelli della guancia destra e sinistra del paziente BS_K_10 (Fig.6.3d). I valori di resistenza di quest'ultimo caso sono simili a quelli relativi alle guance di BS_K_15 ma differiscono da quelli delle guance di BS_K_12 anche se la localizzazione del trattamento è la stessa.

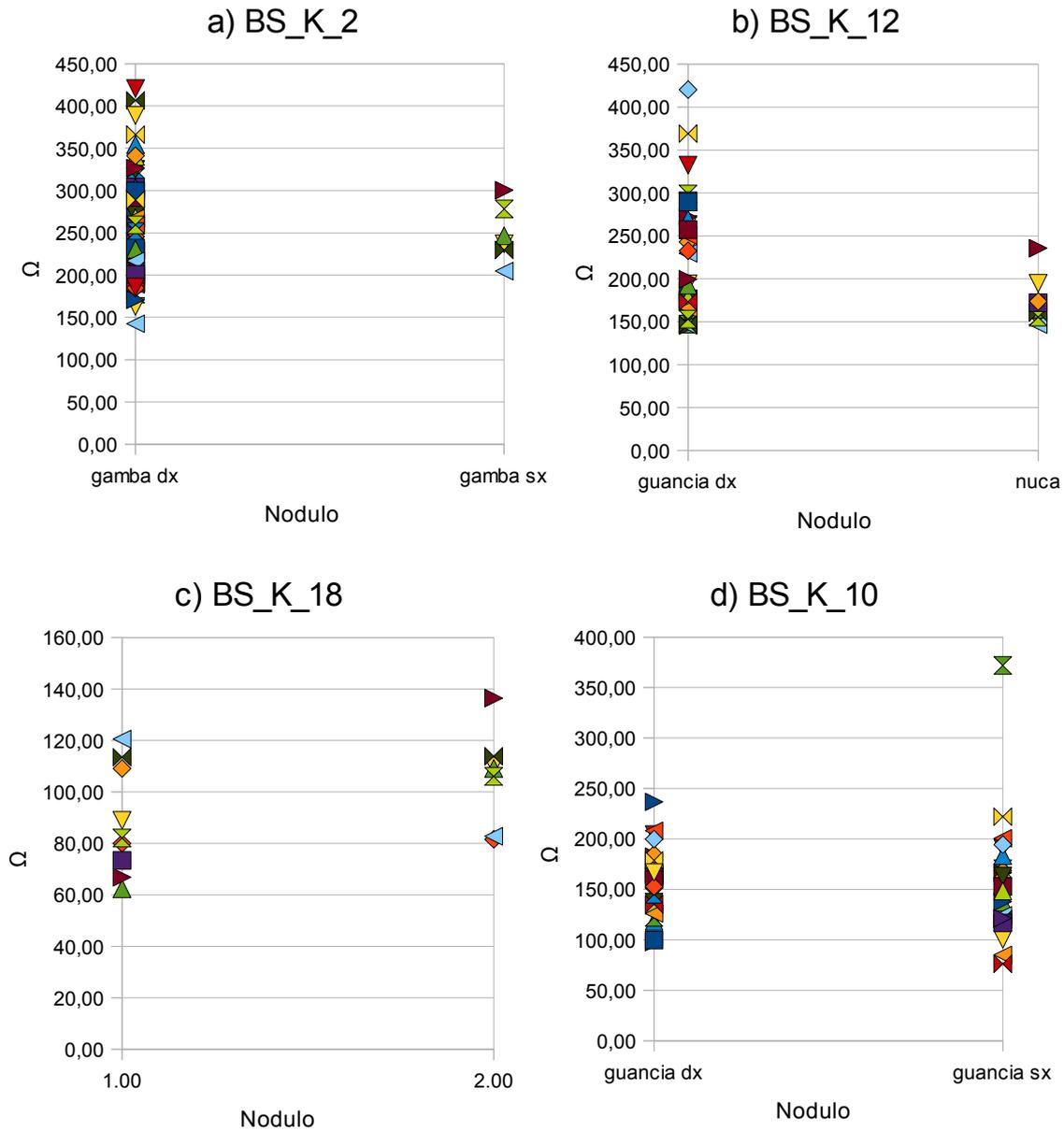


Fig.6.3a-d Valori delle resistenze divise per paziente e per nodulo

6.1.2 Analisi per localizzazione

Si effettua un'analisi delle resistenze dei cheloidi suddividendo i dati delle applicazioni per localizzazione del nodulo. In particolare i dati sono raggruppati negli insiemi testa, tronco e arti(spalla). In Fig.6.4 sono riportati valori le resistenze nodulo per nodulo.

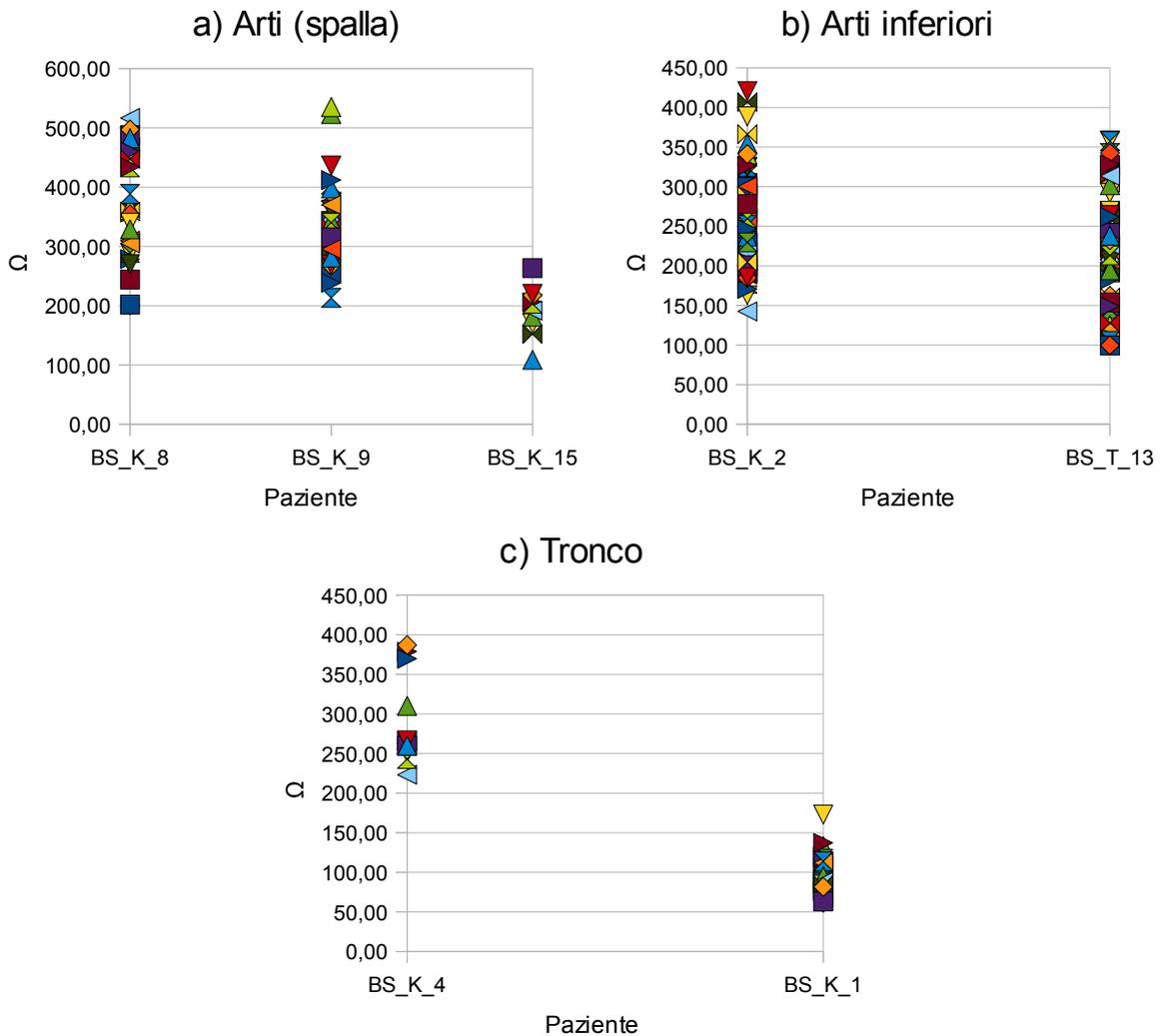


Fig.6.4a-c Valori delle resistenze divise per localizzazione anatomica e per nodulo

I dati delle resistenze riportati in Fig.6.4a sono sovrapponibili tra loro nell'intervallo tra 150Ω e 500Ω , la stessa osservazione si può estendere ai dati delle resistenze di applicazioni effettuate sugli arti inferiori (Fig. 6.4b). Nel grafico in Fig.6.4c si nota come i valori delle resistenze non siano riconducibili a un solo intervallo. Tuttavia si può osservare che in questo caso il trattamento è localizzato sul tronco.

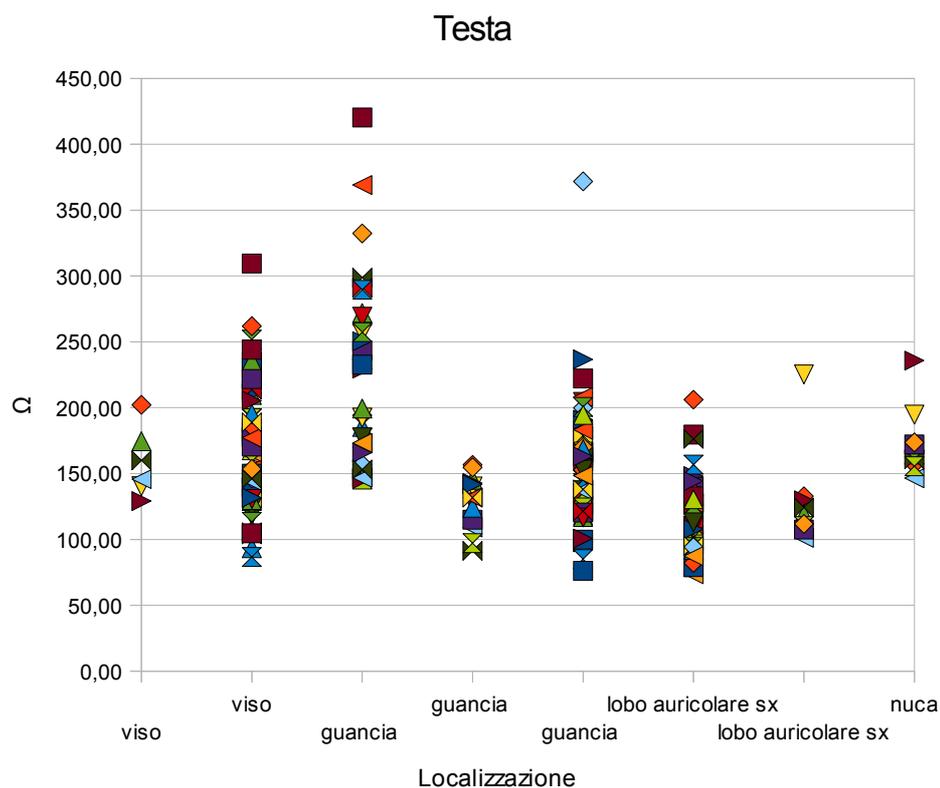


Fig.6.4d valori delle resistenze di trattamenti effettuati sulla testa

I dati delle resistenze delle applicazioni sono riportati in Fig.6.4d. Sull'asse delle ascisse sono riportate le localizzazioni anatomiche dei trattamenti. Si nota che a prescindere dalla localizzazione i dati si distribuiscono tra 90Ω e 300Ω.

6.2 Analisi di dati di trattamenti su tessuti tumorali

I tumori considerati sono di varia natura. Riportiamo qui di seguito i file analizzati, prima raggruppati per tipo di elettrodi e poi per diagnosi

N-20-HG

- PD_T_2
- PD_T_3
- PD_T_5
- PD_T_8
- PD_T_9
- PD_T_10
- PD_T_11
- PD_T_12
- PD_T_13
- PD_T_14
- PD_T_15
- PD_T_16
- PD_T_17
- PD_T_18
- PD_T_19
- PD_T_20
- PD_T_14
- PD_T_15
- PD_T_16
- PD_T_17
- PD_T_18
- PD_T_19
- PD_T_20
- PD_T_24
- PD_T_25
- BS_T_4
- BS_T_5
- BS_T_6
- BS_T_7
- BS_T_8
- BS_T_9
- BS_T_10
- BS_T_11
- BS_T_12

N-20-4B

- BS_T_1
- BS_T_2
- BS_T_3
- BS_T_13
- BS_T_14
- BS_T_15
- BS_T_16
- BS_T_17
- BS_T_18
- BS_T_19
- BS_T_20
- BS_T_21
- BS_T_22
- BS_T_23
- BS_T_24
- PD_T_1
- PD_T_6
- PD_T_7
- PD_T_22
- PD_T_23

Diagnosi
N-20-HG

- breast (mammella): PD_T_2, PD_T_5, PD_T_8, PD_T_14, PD_T_15, PD_T_18
- melanoma: PD_T_3, PD_T_9, PD_T_10, PD_T_11, PD_T_12, PD_T_18, PD_T_19, PD_T_24, PD_T_25, BS_T_4, BS_T_5, BS_T_8, BS_T_9, BS_T_10
- carcinosi: PD_T_13
- basalioma: PD_T_16
- carcinoma squamoso: PD_T_20
- sarcoma: BS_T_6, BS_T_7
- kaposi: BS_T_12

N-20-4B

- melanoma: PD_T_1, PD_T_23, BS_T_13, BS_T_14, BS_T_17, BS_T_19, BS_T_20
- basalioma: PD_T_4, PD_T_22
- carcinoma squamoso: PD_T_6, PD_T_7, PD_T_21
- sarcoma: BS_T_15, BS_T_16
- breast: BS_T_21, BS_T_22, BS_T_23, BS_T_24

6.2.1 Elettrodo lineare (N-20-4B)

6.2.1.1 *Analisi per diagnosi*

Il primo confronto è simile a quello operato per i dati dei cheloidi: si sono confrontati i dati dei valori delle ottave resistenze delle applicazioni, non tenendo conto delle diagnosi. In Fig. 6.5 sono riportati i dati delle resistenze relative agli ottavi impulsi dei singoli trattamenti. Sull'asse delle ascisse sono presenti i codici che rappresentano i pazienti e sulle ordinate il valore in Ohm. In questo caso i noduli sono posti tutti a 1 e pertanto non è possibile differenziare le resistenze secondo la localizzazione nei tessuti.

In questo caso non si nota nulla di significativo. In PD_T_7 e PD_T_23 si possono distinguere rispettivamente quattro e tre gruppi di dati.

Operando un raffronto diretto con i dati dei cheloidi non si riscontra alcuna differenza macroscopica (Fig.6.5).

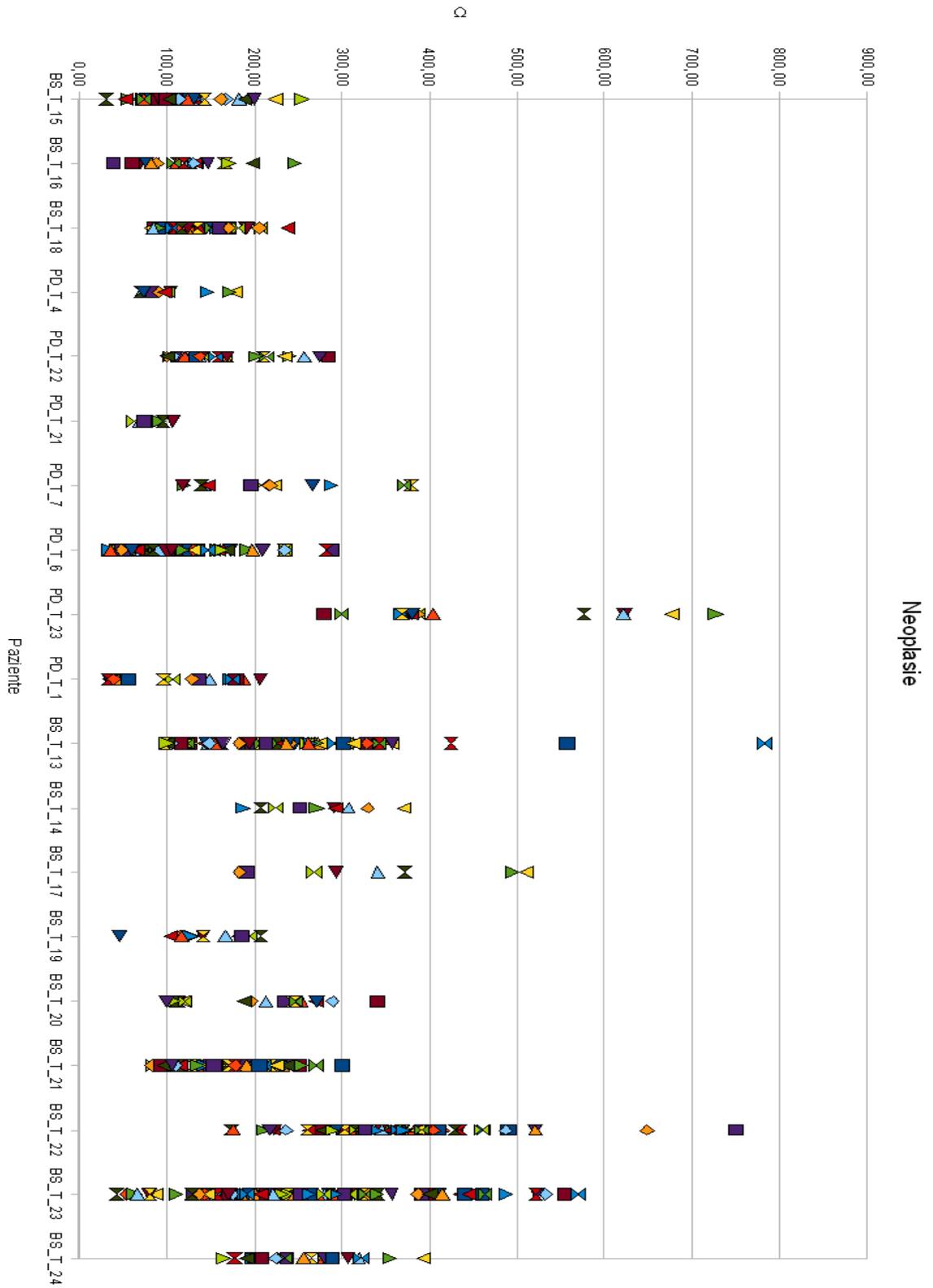


Fig.6.5 Rappresentazione delle resistenze

Un passo ulteriore è analizzare i dati raggruppandoli per diagnosi. In Fig 6.6 sono riportati i dati ottenuti.

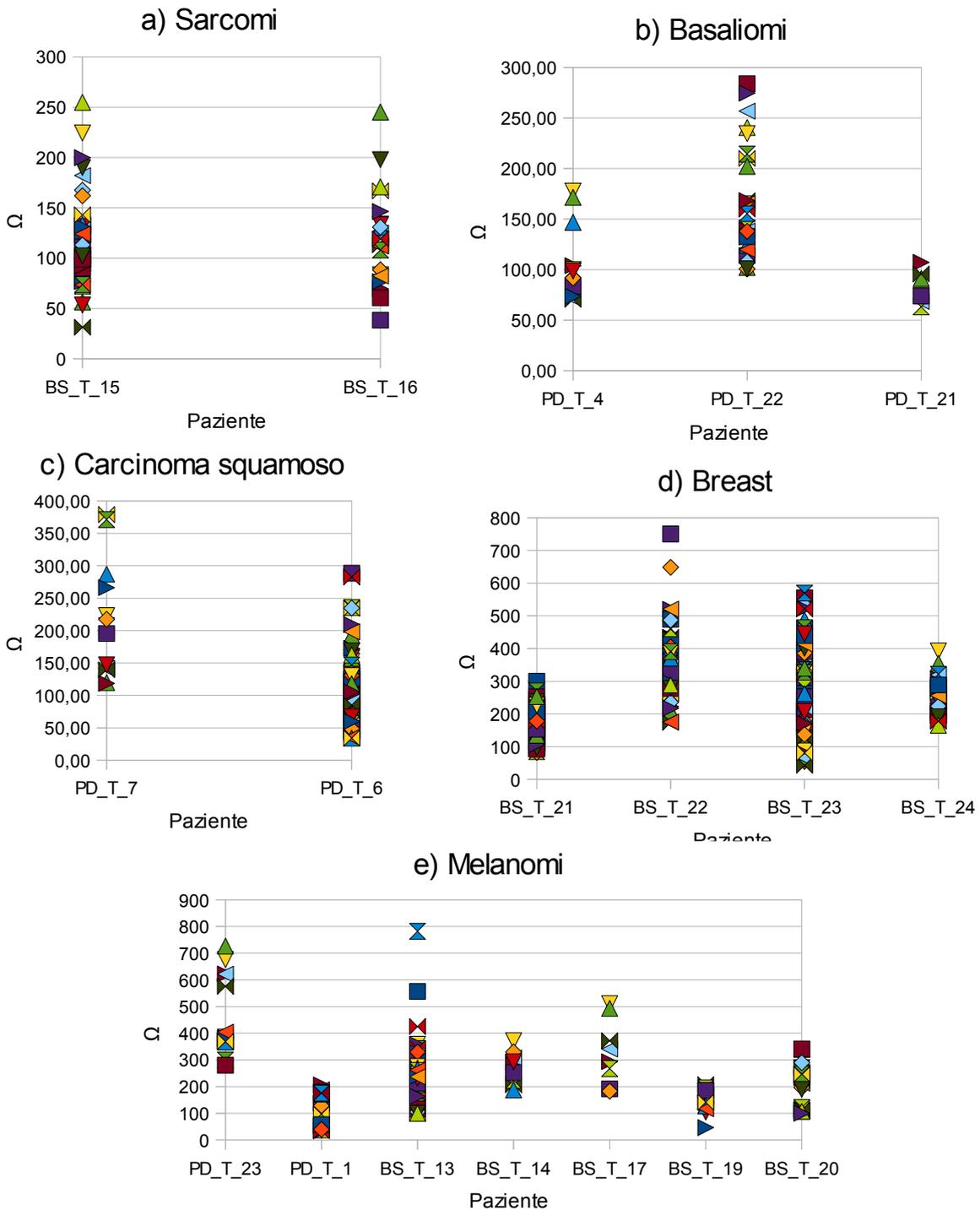


Fig.6.6a-e Dati di resistenza divisi per diagnosi

I dati delle resistenze ricavati da tessuti a cui è stata associata una diagnosi di sarcoma sono sovrapponibili ed hanno una distribuzione tra 50Ω e 200Ω (Fig.6.6a).

In Fig.6.6b si nota che i dati associati al paziente PD_T_22 si distribuiscono in un intervallo (tra 100Ω e 300Ω) diverso rispetto a quelli associati agli altri due pazienti (tra 60Ω e 100Ω).

I dati riportati in Fig.6.6c e fig.6.6d presentano un'elevata varianza che rende difficile l'analisi. Per i dati di tessuti segnati come neoplasia alla mammella si nota un intervallo 150Ω e 300Ω.

In Fig.6.6e sono riportate le resistenze dei casi di melanoma. Si nota come i dati si distribuiscono in intervalli diversi a seconda del paziente in analisi, ad eccezione dei dati relativi a PD_T_1 e BS_T_19.

6.2.1.2 Analisi per nodulo

In alcuni casi era possibile dividere i dati di resistenza per nodulo.

Al fine di evidenziare le variazioni dei dati di resistenza per lo stesso paziente, si pongono a confronto i dati divisi per nodulo.

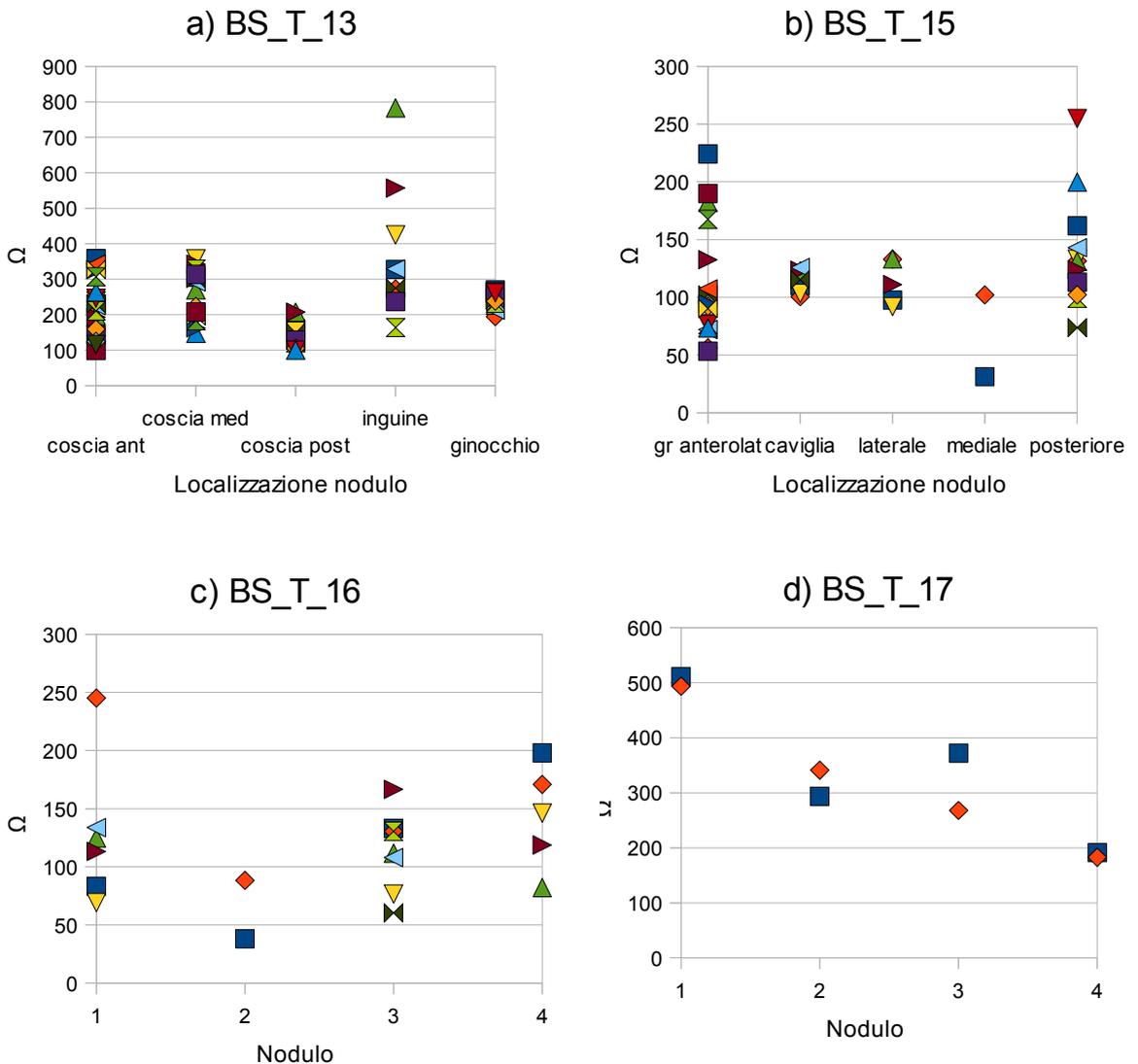


Fig.6.7a-c Dati di resistenze divise per nodulo

anterolaterale e sul “posteriore” hanno un'alta variabilità. Discorso a parte va fatto per i due dati di resistenza ricondotti al nodulo posizionato sul “mediale”, per la esiguità nel numero e variabilità tra loro non sono significativi.

In Fig 6.7c i dati di resistenza ricondotti ai noduli 1, 3 e 4 sono riconducibili allo stesso intervallo (tra 50Ω e 200Ω).

In Fig.6.7d i dati delle resistenze sono distribuiti su un intervallo tra 200Ω e 500Ω, e si notano differenze tra i diversi noduli trattati.

In Fig.6.7e i dati delle resistenze associate ai noduli sono scarsi nel numero e presentano un'alta variabilità.

In Fig.6.7f dati delle resistenze associati ai noduli hanno un'alta variabilità sia tra noduli che nel nodulo stesso eccetto che per i dati ricondotti al nodulo 3, i cui valori sono rispettivamente 107Ω e 99Ω.

In Fig.6.7.g si nota che i dati si distribuiscono tra 150Ω e 250Ω ad eccezione dei noduli ricondotti alla zona della della mandibola e alla zona retroauricolare.

6.2.2 Elettrodo esagonale (N-20-HG)

6.2.2.1 Analisi per diagnosi

Come prima analisi si cercano delle similitudini tra i valori di resistenza raggruppati per diagnosi. Il titolo dei grafici riporta la diagnosi, sulle ascisse è posta la stringa associata al paziente, mentre sulle ordinate sono riportati i valori in Ohm delle resistenze.

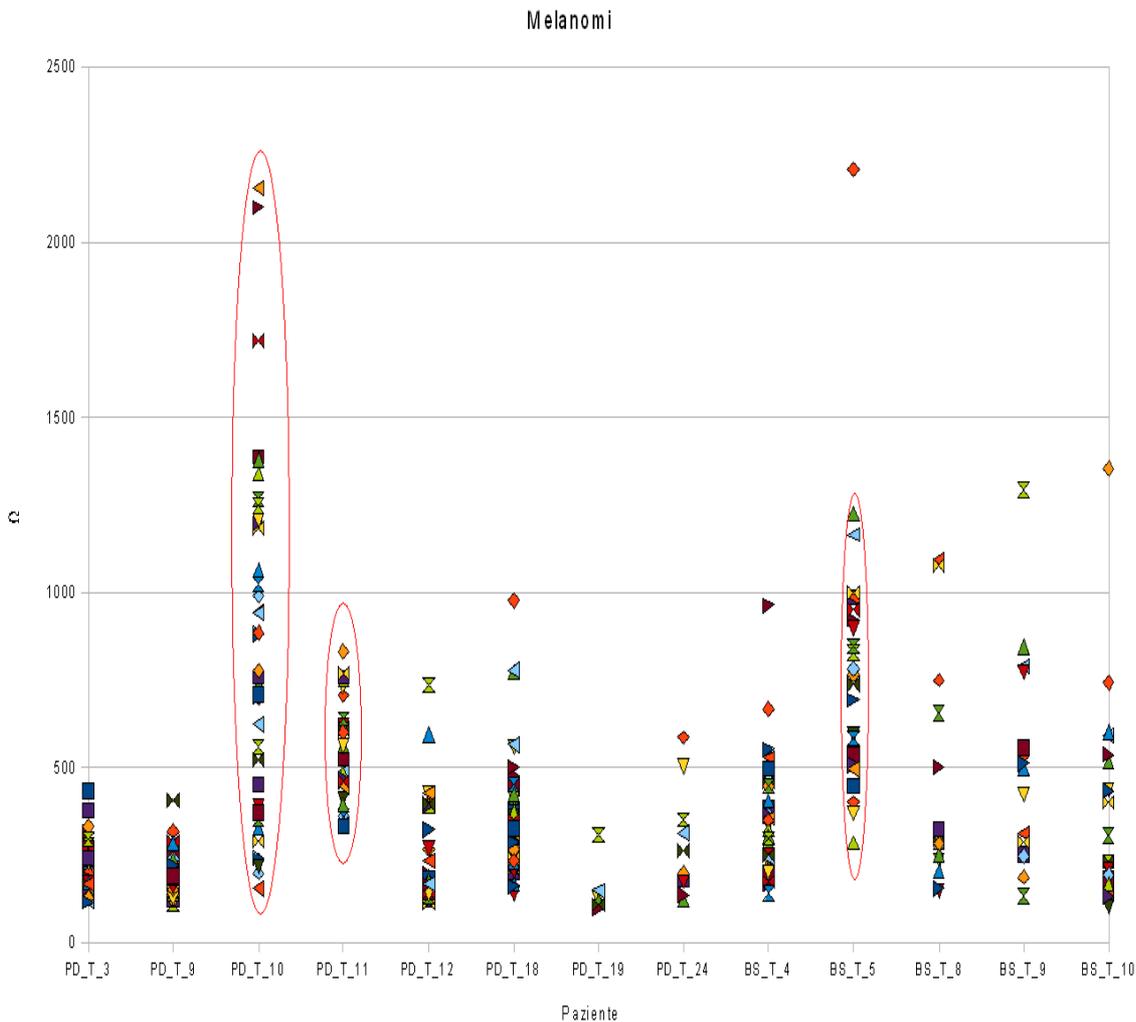


Fig.6.8 Dati di elettroporazione di tessuti affetti da melanoma

Esclusi PD_T_10 e PD_T_11 e BS_T_5, si nota che i dati si distribuiscono principalmente in un intervallo tra 120Ω e 450Ω . Nei dati esclusi (PD_T_10, PD_T_11, BS_T_5) si nota rispettivamente una grande variabilità (nei dati di PD_T_10) e valori mediamente maggiori (per PD_T_11).

In PD_T_10 le incongruenze sono legate all'elevato numero di dati: le singole applicazioni si effettuano spostando l'elettrodo, quindi ad ogni resistenza riportata corrisponde una traslazione sulla superficie epidermica. Questi spostamenti portano ad analizzare tessuti lontani tra loro che facilmente possono avere caratteristiche elettriche diverse.

I dati di resistenza di PD_T_11 e BS_T_5 sembrano indicare che i melanomi in considerazione siano localizzati in una zona diversa rispetto a quella degli altri pazienti. Infatti i valori di resistenza sono simili a quelli dei trattamenti sulle neoplasie alla mammella.

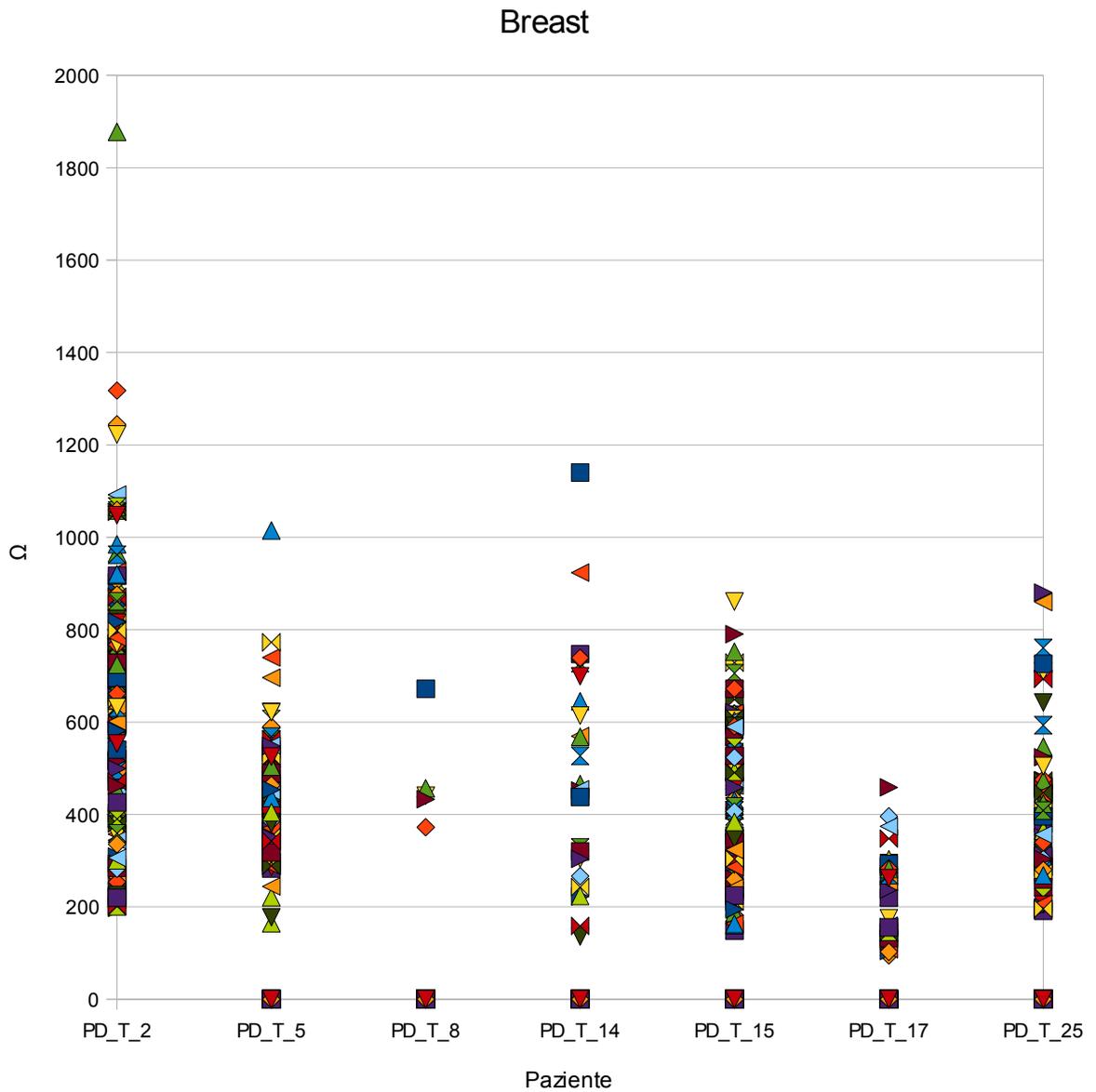


Fig.6.9 Dati di elettroporazione di tumore alla mammella

I dati delle resistenze del tumore alla mammella hanno una variabilità maggiore. In questi casi la variabilità è dovuta alla disomogeneità del tessuto data dalla vicinanza delle ossa della gabbia toracica che rende difficile il posizionamento degli elettrodi. Ma si può affermare che i valori sono compresi tra 150Ω e 1000Ω .

Si nota che i melanomi sono localizzati principalmente negli arti inferiori e sul tallone ad eccezione di PD_T_10 e PD_T_11 (localizzati rispettivamente sulla parete toracica e sul tronco). Si nota che i valori dei dati di melanomi situati negli arti inferiori sono compresi mediamente in un intervallo tra 120Ω e 450Ω (Fig.6.11a). Si nota una grande variabilità dei dati di resistenza localizzati sul piede e altri negli arti inferiori (come i primi tre pazienti).

Inoltre si nota che anche i dati di resistenza che si riferiscono a tessuti tumorali posti sull'avambraccio e sul volto hanno resistenze simili. Anche i dati di resistenza ottenuti dai tessuti del paziente PD_T_17 affetto da tumore alla mammella si distribuiscono nello stesso intervallo.

Gli altri dati di resistenza di tessuti localizzati sul tronco hanno una variabilità molto alta e si distribuiscono su un intervallo tra 90Ω e 1400Ω (Fig.6.11b).

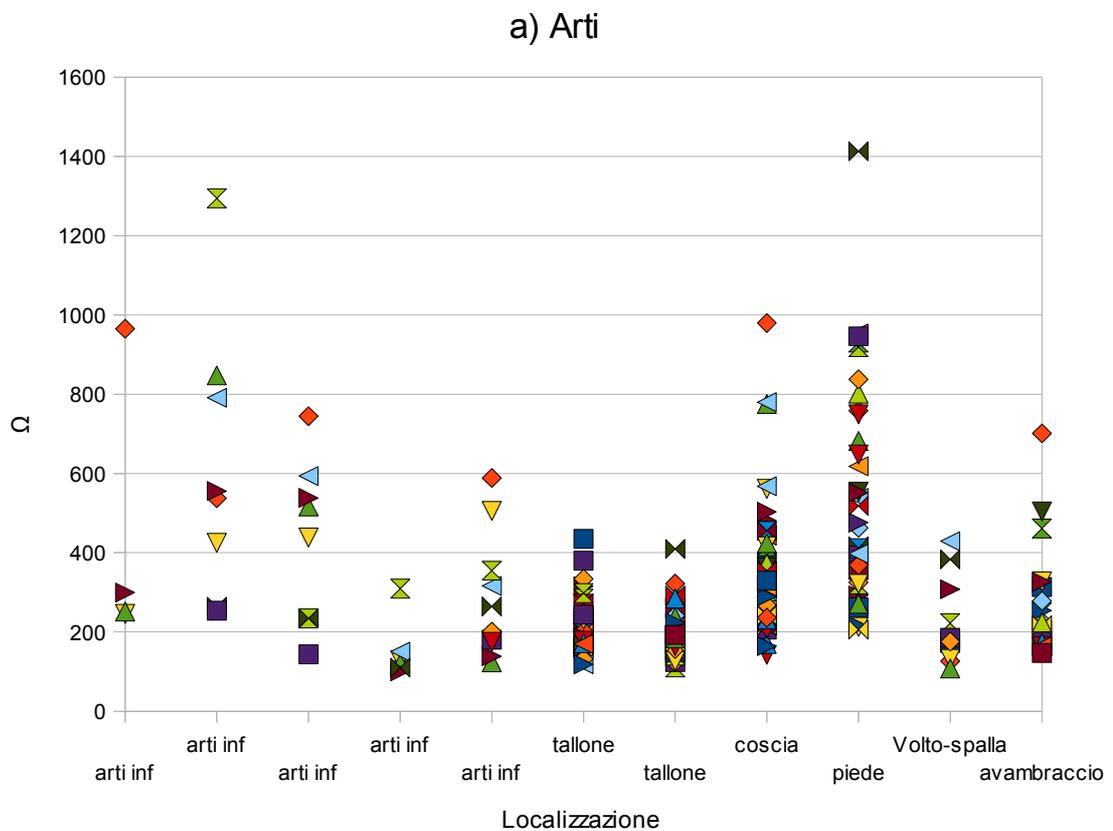


Fig.6.11a Grafico dei dati di resistenza localizzati sugli arti e sul volto

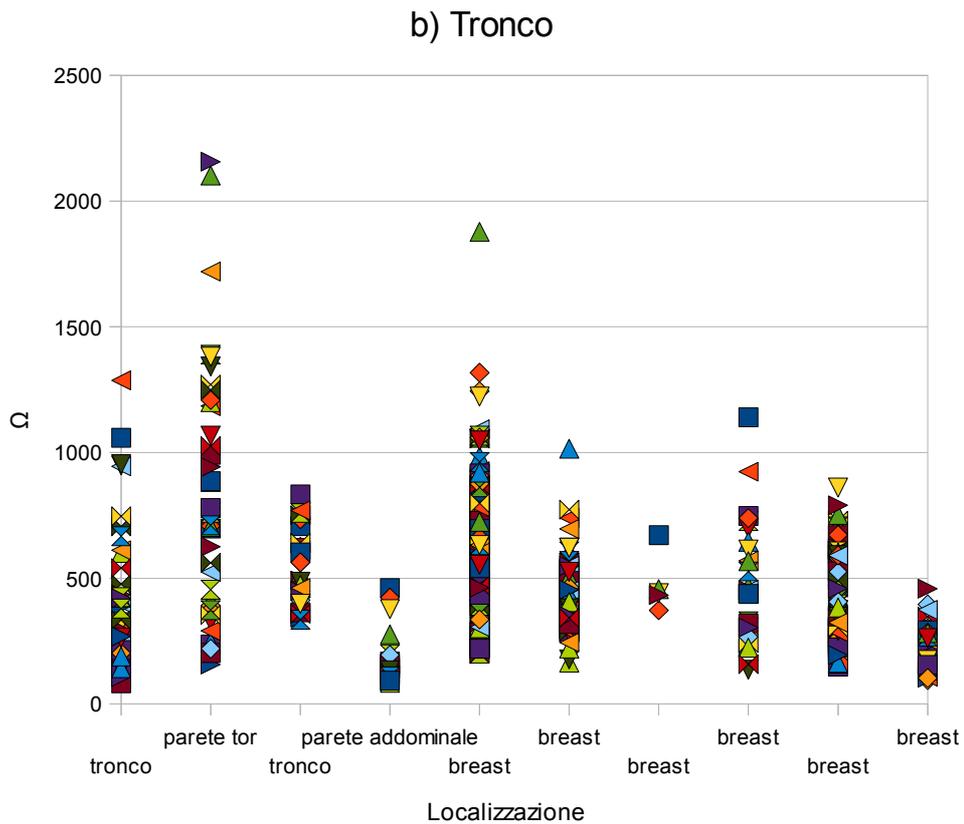


Fig.6.11b Grafico dei dati di resistenza localizzate sul tronco

6.2.2.3 Analisi variabilità dei tessuti

Come già descritto al paragrafo 4.2 nel caso di elettrodi esagonali, i dati di tensione e corrente per ogni applicazione si riferiscono a due zone diverse dello stesso tessuto. Per determinare la variabilità interna dei tessuti si mettono a confronto le resistenze ottenute dai dati memorizzati dal dispositivo relativi al quarto (R_4) e all'ottavo (R_8) impulso per singolo trattamento.

In Fig. 6.12 sono riportati, paziente per paziente, i valori delle resistenze ottenuti. Le barre scure indicano la resistenza ricavata dai dati relativi al quarto impulso, mentre le barre chiare indicano quelle relative all'ottavo impulso. Sull'asse delle ascisse vi è il numero progressivo dei singoli trattamenti effettuati, mentre sulle ordinate vi sono i valori in Ohm delle resistenze.

Nelle seguenti pagine vengono riportati i dati di alcuni pazienti con diverse patologie.

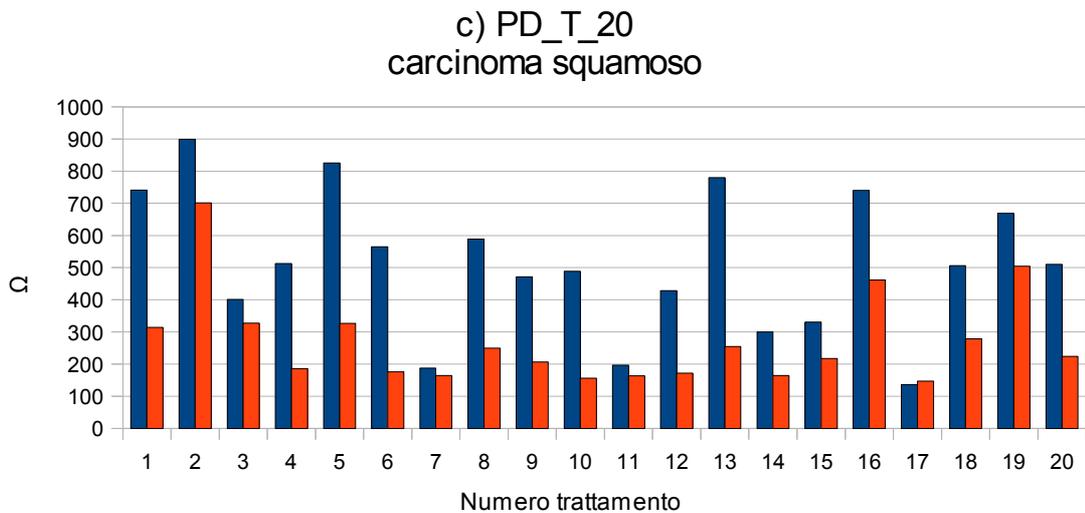
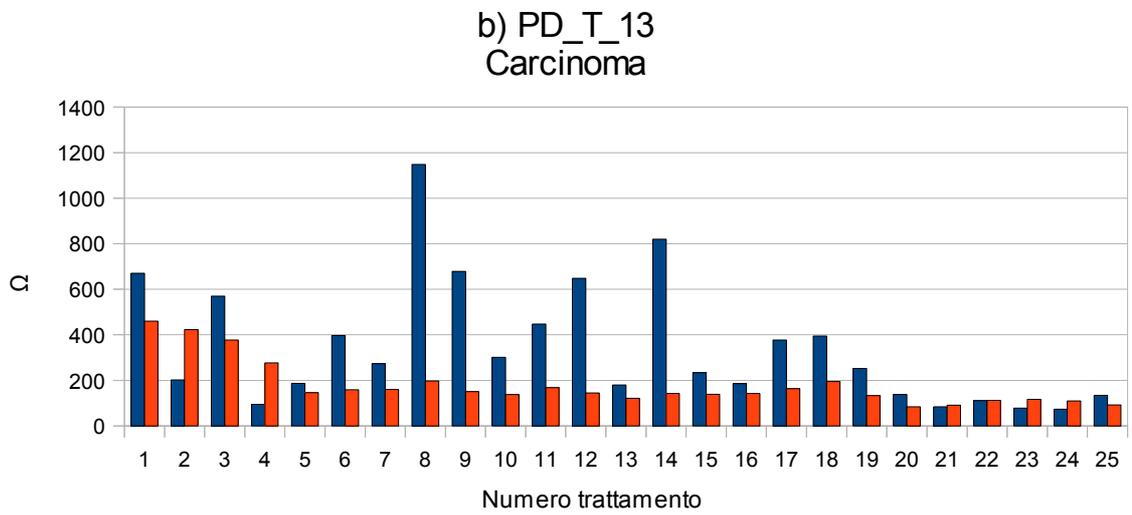
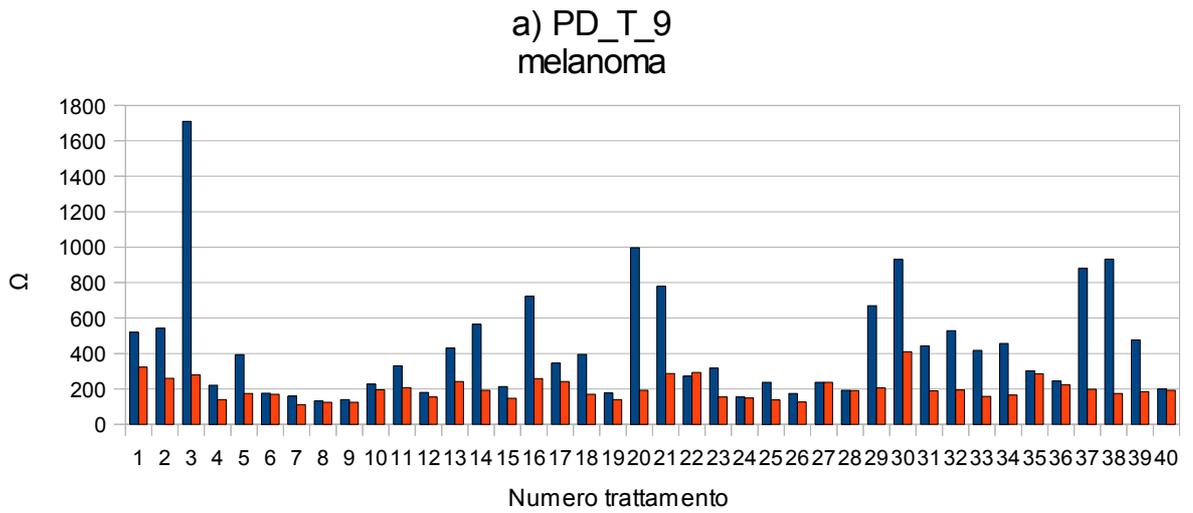


Fig.6.12a-c Istogrammi di ottava e quarta resistenza

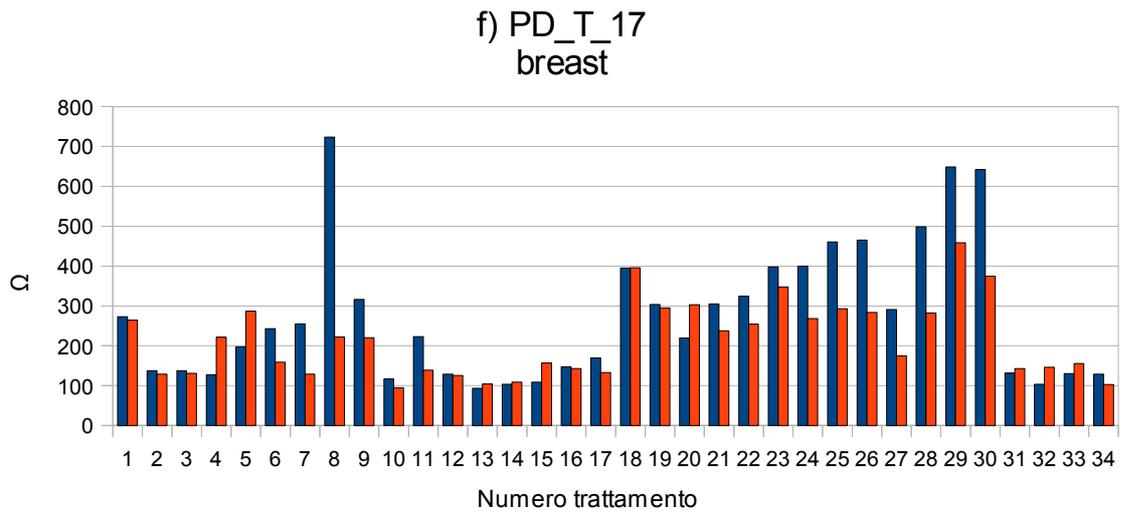
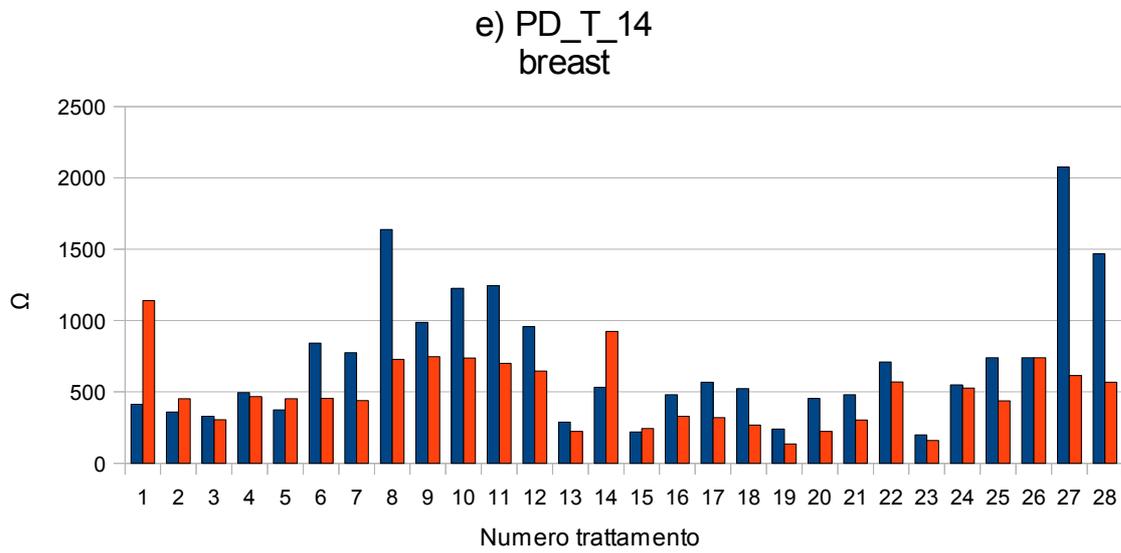
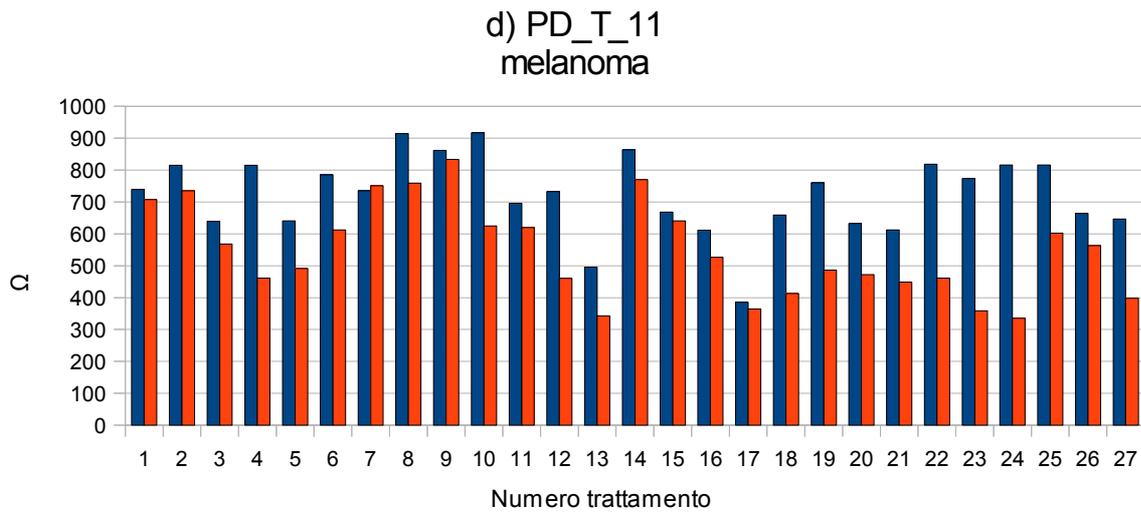


Fig.6.12d-f Istogrammi di ottava e quarta resistenza

Si prendono in analisi i valori di resistenza ottenuti dai dati dei trattamenti di PD_T_16 (riportati in Fig.6.13): le quarte e le ottave resistenze hanno valori simili

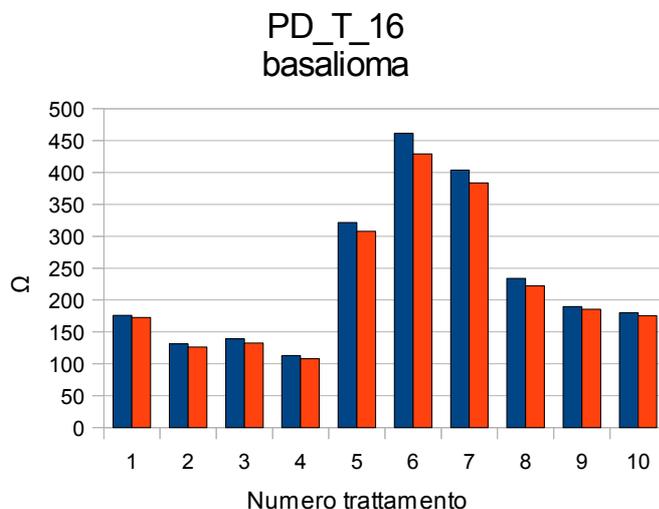


Fig.6.13 Istogramma di quarta e ottava resistenza di PD_T_16

6.3 Ulteriori analisi

Si prendono in analisi i dati di pazienti affetti da basalioma trattati con elettrodi “N-20-4B” (PD_T_4, PD_T_21, PD_T_22). Le zone trattate sono volto-spalla per PD_T_22 e PD_T_4, mentre i dati di PD_T_21 si riferiscono a tessuti nei pressi della bocca.

Considerando questi dati si confrontano i dati delle resistenze calcolate dai dati del quarto e dell'ottavo impulso di ogni applicazione. I dati ottenuti sono molto simili in quanto si riferiscono allo stesso tessuto, essendo l'elettrodo lineare. Anche i dati che si riferiscono ad altri tipi di neoplasie come PD_T_6 e PD_T_7 (carcinomi squamosi) presentano la somiglianza tra i dati della quarta e dell'ottava resistenza. I dati dei basaliomi e dei carcinomi squamosi sono localizzati su tessuti vicini al volto.

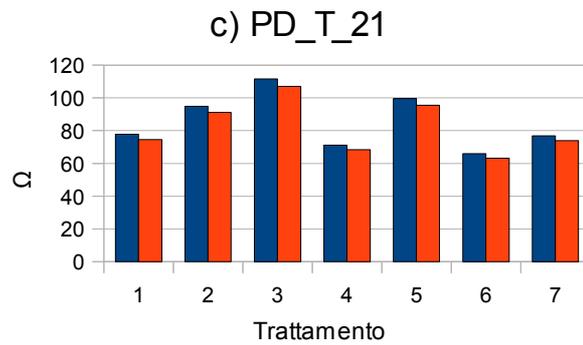
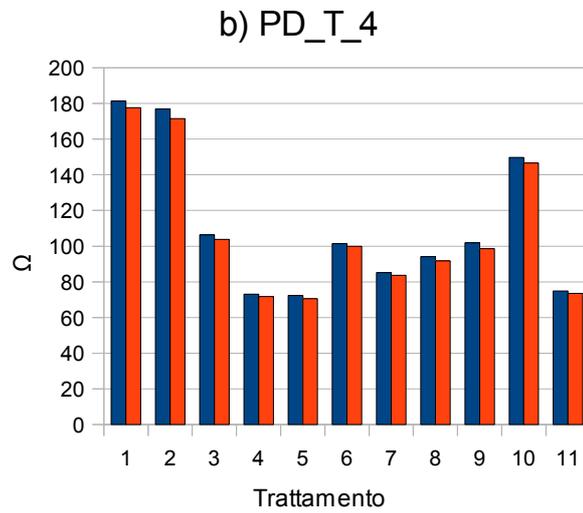
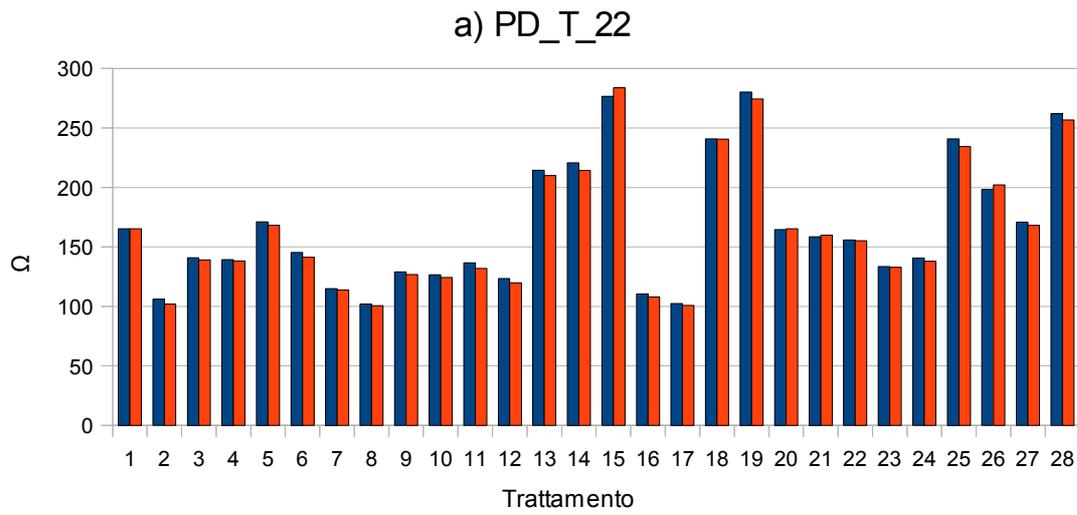


Fig.6.14a-c Dati per trattamenti su basaliomi

6.4 Confronto per dati di cheloidi e tumori per localizzazione

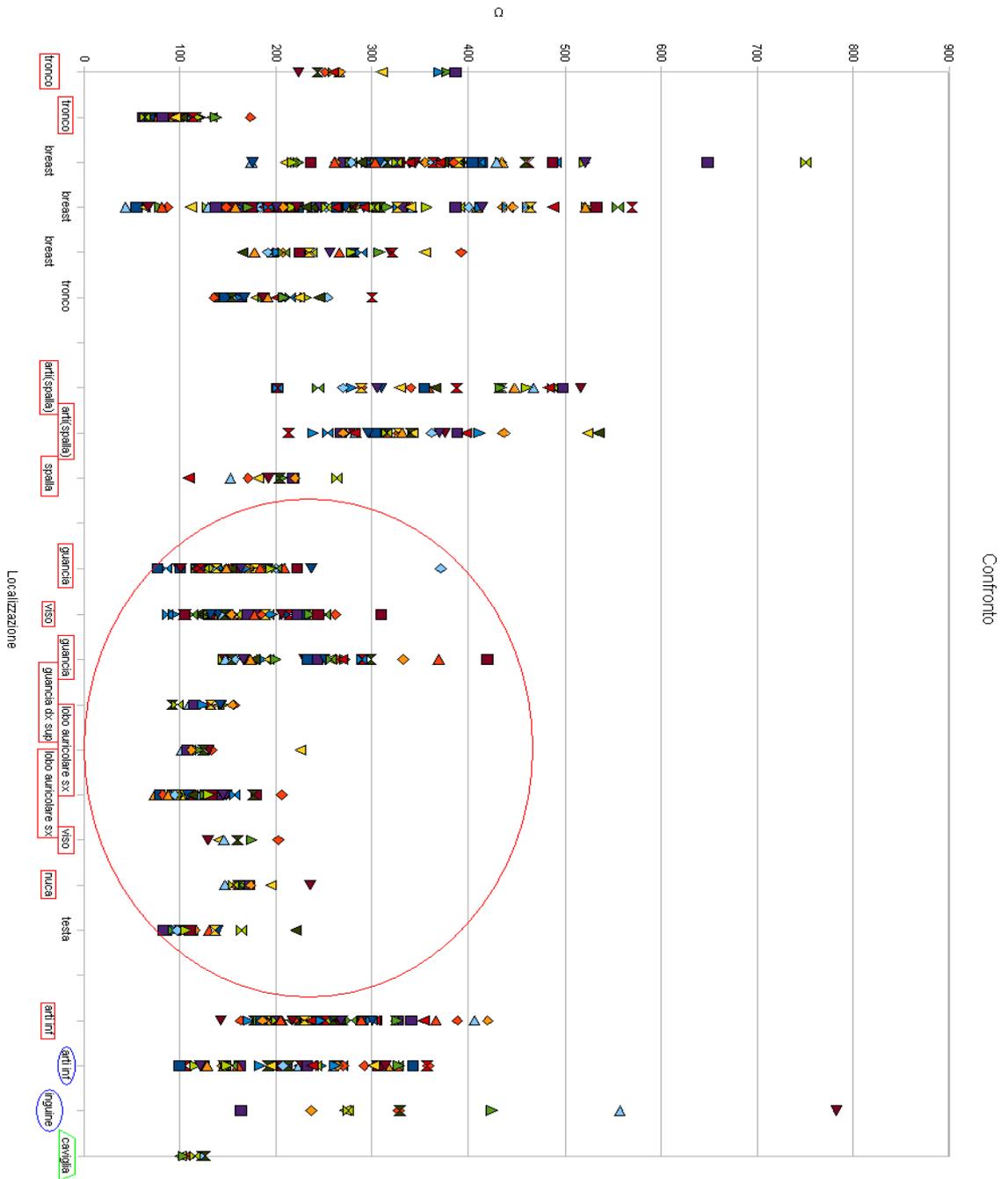


Fig.6.15 Dati di resistenze per elettrodi “N-20-4B”
 le localizzazioni dei cheloidi sono incorniciate con un rettangolo
 le localizzazioni del melanoma sono cerchiato
 le localizzazioni dei sarcomi sono incorniciate con un trapezio
 le rimanenti si riferiscono a tumori alla mammella

In seguito s confrontano i dati di trattamenti di neoplasie e cheloidi suddivisi per localizzazione. I dati confrontabili sono quelli ottenuti da trattamenti con elettrodi "N-20-4B".

In Fig.6.15 si nota che i dati che si riferiscono a noduli situati nel tronco hanno un'alta variabilità a prescindere dalla diagnosi (neoplasia o cheloide) . Si arriva alla stessa conclusione per dati di resistenza associati a noduli posti sugli arti (sia superiori sia inferiori) e sul pube.

Oltre a questo si nota una distribuzione omogenea dei dati di resistenza associati a noduli posti sulla testa (guancia, retroauricolare, viso, nuca, mandibola, lobo auricolare) e sulla spalla. Infatti i dati si distribuiscono in un intervallo tra i 70 Ω e i 300 Ω

7 CONCLUSIONI

In questo elaborato è stata presentata l'analisi di dati di tensione e corrente ricavati da macchine per elettrochemioterapia clinica utilizzata per trattare cheloidi e tumori superficiali. Per questo scopo è stato implementato un software per calcolare la resistenza ai capi degli elettrodi degli applicatori.

I dati così ottenuti sono stati confrontati raggruppandoli per tipo di lesione e per localizzazione. In alcuni casi ne è emersa una grande variabilità dipendente più dalla localizzazione anatomica delle lesioni piuttosto che dal tipo di lesione trattata. Quindi i confronti tra i dati delle resistenze non evidenziano tanto le differenze tra tessuti affetti da patologie diverse, ma le differenze sulle localizzazioni anatomiche delle lesioni trattate. In particolare i dati relativi a noduli di zone anatomiche come la testa e la spalla mostrano una distribuzione omogenea tra 70Ω e 300Ω (per trattamenti effettuati con elettrodi del tipo N-20-4B). I dati che si riferiscono a noduli localizzati in altre zone come tronco, piede, arti e pube mostrano una variabilità molto elevata dovuta probabilmente alle superfici irregolari delle zone.

APPENDICE

CODICE MatLab

VARIABILI GLOBALI

N -- numero dei file dati caricati
PERIODO -- periodo del singolo impulso

Strutture globali

INFOFILE

INFOFILE.FileName -- nome del file caricato
INFOFILE.Pathname -- percorso del file caricato

EP

EP.Volt -- valori tensione estratti dall'elettroporatore
EP.Current -- valori corrente estratti dall'elettroporatore
EP.Time -- valori tempo estratti dall'elettroporatore

PAR

PAR.Amp -- ampiezza impulso
PAR.PulseL -- periodo di un impulso
PAR.NPulse -- numero impulsi per blocco
PAR.Dim -- numero di applicazioni
PAR.EI -- stringa identificativa elettrodo applicazione
PAR.Node -- nodulo associato all'applicazione
PAR.IDApp -- numero applicazione
PAR.IDSess -- numero sessione

RES

RES.r -- resistenza = V/I
RES.Dis -- distanza associata alla resistenza

CALCOLO RESISTENZA

CALCOLO RESISTENZA

È il cuore del software, in esso vengono ricavati i valori di resistenza dei file caricati con le relative statistiche, infine i dati ottenuti vengono salvati su un file .xls e vengono creati i grafici con gli andamenti temporali di corrente tensione e un istogramma con valori delle resistenze calcolate.

```
function Resistenza(N)

global RES;
global PAR;
global EP;
global INFOFILE;
global PERIODO;

[l, k]=size(PAR(N).El);
for i=1:l
    if (strfind(PAR(N).El(i,:), 'HG'))
        PAR(N).NPulse(i)=2*PAR(N).NPulse(i);
    end
end
%calcolo del numero di campioni per impulso
PERIODO= floor(max(EP(N).Time)/sum(PAR(N).NPulse));
handles = guidata(gcbo);
% tutti i blocchi siano formati dallo stesso numero di impulsi
pulseN = max(PAR(N).NPulse); % numero di impulsi per blocco
TotImp = floor(max(EP(N).Time)/PERIODO); % numero totale degli impulsi

% inizializzazione struttura RES
RES(N).r = zeros(1,TotImp);
RES(N).Dis = zeros(1,TotImp);

% inizializzazione delle prime righe delle due tabelle excel
exc(1,:) = {'','STATISTICA RESISTENZA DEI SINGOLI IMPULSI','','',''};
exc(3,:) = {'','R Max','R Min','R Med','Dis [mm]','Std'};

Riga = java_array('java.lang.String', pulseN+7);
for por=4:pulseN+4
    if por==4
        Riga(1)=java.lang.String('App');
        Riga(2)=java.lang.String('R Max');
        Riga(3)=java.lang.String('R Min');
        Riga(4)=java.lang.String('R Med');
        Riga(pulseN+7)=java.lang.String('IDSess');
        Riga(pulseN+6)=java.lang.String('IDApp');
        Riga(pulseN+5)=java.lang.String('#Nodule');
    else
        cnt=int2str(por-4);
        cnt=[cnt '°'];
        Riga(por)=java.lang.String(cnt);
    end
end

Colonna=java_array('java.lang.String', length(PAR(N).NPulse)+3);
for por=3:length(PAR(N).NPulse)+3
```

```

if por==3
    Colonna(1)=[];
    Colonna(2)=[];
    Colonna(3)=java.lang.String('E1');
else
    Colonna(por)=java.lang.String(PAR(N).El(por-3,:));
end
end

excl(3,:) = cell(Riga);
%inizializzazione array delle resistenze per ogni singolo impulso
rSample = zeros(PERiodo,1);
zero = 0; % contatore delle resistenze nulle
minR_block = 0; % minima resistenza del blocco impulsi
maxR_block = 0; % massima resistenza del blocco impulsi
%applicazione corrente blocco di 8 impulsi
ii=1;
% ciclo lettura dei singoli impulsi
for i=1:TotImp
    c = 0; % contatore campioni validi
    maxV_periodo = max(EP(N).Volt(1+PERiodo*(i-1):PERiodo*i)); % tensione
    massima nell'impulso
    % numero di impulsi già analizzati
    chiusi=sum(PAR(N).NPulse(1:ii-1));
    %Pone i riferimenti massimi di tensione a seconda del tipo di
    elettrodo
    if (strfind(PAR(N).El(ii,:), 'HG'))
        maxRif=730;
    elseif (strfind(PAR(N).El(ii,:), '4B'))
        maxRif=400;
    end

    % controllo che sia generato l'impulso
    if maxV_periodo >= maxRif*0.75
        %discrimina dove la curva inizia a decrescere
        count=floor(PERiodo/2+PERiodo*(i-1));
        while (EP(N).Volt(count)>=maxV_periodo-5*EP(N).Inc(1,ii))
            count=count+1;
        end
        %si deterina l'intervallo di segnale da analizzare
        count=count-131;
        fine=count+119;
        while (EP(N).Volt(count)<=maxV_periodo-5*EP(N).Inc(1,ii))
            count=count+1;
        end
        if (fine-count > 30)
            for iii=count:fine
                c = c+1; % incremento contatore campioni validi
                % calcolo della resistenza
                rSample(c) = EP(N).Volt(iii) / EP(N).Current(iii);
            end
        end
    end
end

rMean = mean(rSample(1:c)); % resistenza media 'singolo impulso'
DevStd = std(rSample(1:c)); % deviazione standard 'singolo impulso'

% rapporto tra resistenza e distanza

```

```

if (strcmp(PAR(N).El(ii,:), 'N-30-HG') || strcmp(PAR(N).El(ii,:), 'N-
20-HG'))
    RES(N).Dis(i) = 7;
end
if strcmp(PAR(N).El(ii,:), 'N-20-4B')
    RES(N).Dis(i)=4;
end
% verifica raccolti sufficienti campioni
if(c<20 || rMean<0)

    % se questo non si verifica si imposta la resistenza a zero
    RES(N).r(i) = 0;
    exc(i+3,:) = {i,0,0,0,RES(N).Dis(i),0};
    zero = zero + 1; % incremento contatore resistenze nulle
else
    % altrimenti si procede con i calcoli
    % statistica resistenza del 'singolo impulso'
    rMax = max(rSample(1:c));
    rMin = min(rSample(1:c));
    %tengo traccia della resistenza media durante impulso
    RES(N).r(i) = rMean;
    minR_block = rMean; % resistenza minima del blocco di impulsi
    % riga di dati che andrà salvata sul file excel
    exc(i+3,:) = {i,rMax,rMin,rMean,RES(N).Dis(i),DevStd};
end
%calcolo RMin
if((minR_block > RES(N).r(i)) && RES(N).r(i)~=0 )
    minR_block = RES(N).r(i);
end
% calcolo RMax
if((maxR_block < RES(N).r(i)) && RES(N).r(i)~=0 )
    maxR_block = RES(N).r(i);
end
% statistica resistenza per ogni blocco di impulsi
if(rem(i-chiusi, PAR(N).NPulse(ii))==0)
    % salvataggio massima resistenza del blocco impulsi
    RES(N).rMax(ii) = maxR_block;
    % salvataggio minima resistenza del blocco impulsi
    RES(N).rMin(ii) = min(RES(N).r(i-PAR(N).NPulse(ii)+1:i));
    % calcolo della media del blocco tenendo conto di eventuali
resistenze nulle
    RES(N).rMean(ii) = sum(RES(N).r(i-PAR(N).NPulse(ii)+1:i)) /
(PAR(N).NPulse(ii)-zero);
    if ( isnan(RES(N).rMean(ceil(i/pulseN))) )
        RES(N).rMean(ceil(i/pulseN)) = 0;
    end
    % alla fine di ogni blocco si riportano i valori a zero
    zero = 0;
    minR_block = 0;
    maxR_block = 0;
    ii=ii+1;
end

end

% creazione della struttura cell che poi sarà il secondo foglio Excel
for i=1:PAR(N).Dim
    dblArray= javaArray('java.lang.Double', max(PAR(N).NPulse)+7);
    if PAR(N).NPulse(i)==max(PAR(N).NPulse)

```

```

for ii=4:max(PAR(N).NPulse)+4
    if ii==4
        dblArray(1)=java.lang.Double(i);
        dblArray(2)=java.lang.Double(RES(N).rMax(i));
        dblArray(3)=java.lang.Double(RES(N).rMin(i));
        dblArray(4)=java.lang.Double(RES(N).rMean(i));
        dblArray(pulseN+7)=java.lang.Double(PAR(N).IDS(i));
        dblArray(pulseN+6)=java.lang.Double(PAR(N).IDApp(i));
        dblArray(pulseN+5)=java.lang.Double(PAR(N).Node(i));
    elseif ii-4<=PAR(N).NPulse(i)
        dblArray(ii)=java.lang.Double(RES(N).r(ii-
4+sum(PAR(N).NPulse(1:i-1))));
    elseif ii-4>PAR(N).NPulse(i)
        dblArray(ii)=[];
    end
end
end
end

    exc1(i+3,:) = cell(dblArray);
end
%crea la figura d'uscita
figure(1)
subplot(3,1,1)
plot(EP(N).Volt)
subplot(3,1,2)
plot(EP(N).Current)
subplot(3,1,3)
stem(RES(N).r)

% passaggi per dare il nome al file excel che verrà creato
n = strfind(INFOFILE(N).Filename, '.');
INFOFILE(N).Filename = strcat(INFOFILE(N).Filename(1:n), 'xls');
exc1(:, pulseN+8)=cell(Colonna);
%creazione file excel
xlswrite(INFOFILE(N).Filename, exc, 'Foglio1');
xlswrite(INFOFILE(N).Filename, exc1, 'Foglio2');

guidata(gcbo, handles);

end

```


BIBLIOGRAFIA

- [1] E.W. Lee, J. Gehl, S. T. Kee, «Introduction to electroporation», pagg. 1-4
- [2] G. Pakhomov e D. Miklavčič, «Modeling electric field distribution „in vivo», in *advanced electroporation techniques in biology and medicine*, .
- [3] <http://sites.googlegroups.com/site/antoniivorra/home/electroporation/>
- [4] L.G. Staal, R. Gilbert, «Generators and applicators: Equipment for electroporation», pagg.48-50
- [5] AA. VV., «Garzantina medica»
- [6] http://www.amicoperlapelle.it/nevi_e_melanoma.html
- [7] Brewster DH et al., «Left-sided excess of invasive cutaneous melanoma in six countries»
- [8] <http://it.wikipedia.org/wiki/Melanoma>
- [9] Agnese Codignola, Antonio Ghidini, Luisa Granziero, Gian Galeazzo Riario Sforza, Daniela Ovadia, «Tumore al seno», <http://www.airc.it/tumori/tumore-al-seno.asp>
- [10] <http://andosparma.wordpress.com/le-domande-piu-frequenti/>
- [11] Diepgen TL, Mahler VM., «The epidemiology of skin cancer.»; 146 (suppl 61): 1-6.
- [12] <http://it.wikipedia.org/wiki/Basalioma>
- [13] R. Molinari et al., «Basi Scientifiche per la Definizione di Linee Guida in Ambito Clinico per i Tumori Epiteliali della Testa e del Collo», <http://progettooncologia.cnr.it/bridge/testaecollo/prefazione-tc.html>
- [14] <http://loralitzelman.wordpress.com/2010/03/04/the-signs-of-melanoma/>
- [15] Agnese Codignola, Antonio Ghidini, Luisa Granziero, Gian Galeazzo Riario Sforza, Daniela Ovadia, <http://www.airc.it/tumori/sarcoma.asp>
- [16] <http://www.sarcomaimages.com/index.php?v=Clear-Cell-Sarcoma>
- [17] Agnese Codignola, Antonio Ghidini, Luisa Granziero, Gian Galeazzo Riario Sforza, Daniela Ovadia, <http://www.airc.it/tumori/sarcoma-di-kaposi.asp>
- [18] G. Juckett and H. Hartman-Adams «Management of Keloids and Hypertrophic Scars», pagg. 1-2
- [19] Paris D Butler, Michael T Longaker, George P Yang «Current Progress in Keloid Research and Treatment», pagg. 1 e 4
- [20] G. Juckett and H. Hartman-Adams «Management of Keloids and Hypertrophic Scars», pagg. 2 (*Copyright © Logical Images, Inc.*)
- [21] D. Corradini, «Software per l'analisi nei trattamenti di elettroporazione», pag. 43, Tesi triennale, Laurea in Ing. Informatica, Relatore Prof. F. Dughiero Correlatore Ing. E. Sieni, Università di Padova, A.A. 2011/2012.
- [22] D. Miklavcic, S. Corovic, G. Pucihar, e N. Pavselj, «Importance of tumour coverage by sufficiently high local electric field for effective electrochemotherapy», *European Journal of Cancer Supplements*, vol. 4, Nov. 2006, pagg. 45-51.
- [23] S. Kee, J. Gehl, e E.W. Lee, *Clinical Aspects of Electroporation*, Springer, 2011.

[24]F. Baron, «Analisi dei dati nei trattamenti di elettroporazione», pag. 21, Tesi triennale, Laurea in Ing. Biomedica Relatore Prof. F. Dughiero Correlatore Ing. E. Sieni, Università di Padova, A.A. 2011/2012.

[25] M. Pavlin et al., «Effect of Cell Electroporation on the Conductivity of a Cell Suspension», *Biophysical Journal*, vol. 88, pagg. 4378-4390, Giu 2005.

[26] D. Miklavčič e N. Pavšelj, «Electric Properties of Tissues and their Changes During Electroporation», presented at the International SCIENTIFIC WORKSHOP and POSTGRADUATE COURSE (November 15-21, 2009). Proceedings of the Electroporation based Technologies and Treatments

Grazie a :

Il Prof. Fabrizio Dughiero per avermi concesso l'opportunità di lavorare su questo progetto e l'Ing. Elisabetta Sieni per la disponibilità e pazienza con cui mi ha seguito ed aiutato nella stesura di questa tesi.

A chi in questi anni mi ha camminato affianco, reale o immaginario che fosse.