



Saverio Altieri

Dipartimento di  
Fisica Nucleare e  
Teorica, Università  
degli Studi, Pavia

## La cura delle metastasi epatiche diffuse mediante il metodo TAOOrMINA

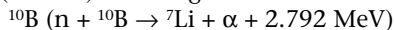
### ABSTRACT

TAOOrMINA (Advanced Treatment of Organs by Neutronic Irradiation and Autotransplantation) is a technique developed at the University of Pavia for treating diffuse cancer in explantable organs. Neutron capture is the most selective among the treatments based on irradiation. First the affected cells are enriched in  $^{10}\text{B}$ , then the organ is removed and irradiated in a nuclear reactor. The received dose is lethal for the sick cells while the dose received by the healthy tissue is too low to make damage. After a short historical introduction, the article describes the first case of this therapy on a human liver that, after 18 months, is still in an excellent state.

Il 19 dicembre del 2002 sul *New Scientist* si leggeva: "... Per la prima volta al mondo il cancro è stato curato rimuovendo un organo dal corpo, sottoponendolo a radioterapia e reimpiantandolo ... In Italia hanno usato questa tecnica per trattare un uomo di 48 anni con metastasi multiple nel suo fegato. Un anno dopo l'intervento, che è durato 21 ore, l'uomo è vivo e sta bene. Il suo fegato sta funzionando normalmente e gli ultimi controlli non hanno rivelato nessuna traccia di tumore..." La notizia veniva ripresa da varie agenzie internazionali e faceva il giro del mondo.

La tecnica in questione è quella del metodo TAOOrMINA (Trattamento Avanzato di Organi Mediante Irraggiamento Neutronico ed Autotrapianto) messa a punto presso l'Università degli Studi di Pavia con i finanziamenti dell'Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (INFN). La ricerca di base è durata circa quindici anni ed ha visto coinvolti ricercatori di varie strutture e discipline<sup>1</sup>.

La caratteristica fondamentale di questa terapia antitumorale è la selettività, ossia la possibilità di colpire le cellule tumorali risparmiando quelle sane; la tecnica, basata sulla BNCT (Boron Neutron Capture Therapy) consta di due fasi: nella prima le cellule tumorali vengono arricchite di  $^{10}\text{B}$ , nella seconda l'organo che contiene queste cellule viene estratto dal corpo e immerso in un campo di neutroni di bassa energia (termici) che vengono catturati dai nuclei di



liberando particelle ionizzanti che distruggono il tumore (figg. 1-2).

Questa reazione presenta varie caratteristiche che la rendono particolarmente adatta alla radioterapia:

1. ha un'elevata sezione d'urto di cattura per neutroni di bassa energia (3840 barn<sup>2</sup> a 0.025 eV) e un Q-valore positivo ( $Q = 2.792 \text{ MeV}$ );
2. i prodotti di reazione (una particella  $\alpha$  e un nucleo di  $^7\text{Li}$ ) rilasciano tutta la loro energia entro un raggio di pochi  $\mu\text{m}$  dal punto in cui sono stati creati (6.5 e 4  $\mu\text{m}$  rispettivamente), ossia praticamente all'interno della cellula in cui avviene la reazione;
3. la dose di radiazione viene rilasciata solo durante l'irraggiamento neutronico dell'organo dato che i prodotti di reazione non sono radioattivi; quindi il resto del corpo del paziente non riceve dosi di radiazioni indesiderate.

Poiché anche le cellule sane assorbono il  $^{10}\text{B}$ , la selettività della terapia è assicurata dal maggiore assorbimento di Boro nel

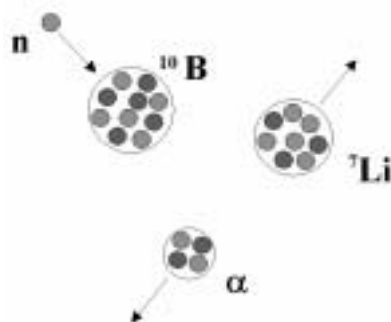


Figura 1. La reazione di cattura di un neutrone da parte del  $^{10}\text{B}$  con produzione di una particella  $\alpha$  e un nucleo di  $^7\text{Li}$  che rilasciano fino a 2.792 MeV di energia nelle vicinanze del punto di produzione.

tumore rispetto al tessuto sano. Per impartire una dose letale alle cellule tumorali, mantenendo quelle sane al di sotto della soglia di tolleranza, bisogna che, durante il bombardamento neutronico, la concentrazione,  $C_T$ , di  $^{10}\text{B}$  nelle cellule tumorali sia maggiore della concentrazione,  $C_S$ , in quelle sane; il rapporto  $T = C_T/C_S$  è un indice della selettività della terapia (fig. 3).

I valori delle concentrazioni  $C_T$  e  $C_S$  e del rapporto  $T$  che assicurano una buona terapia vengono stabiliti tenendo conto che un tessuto sano, quando viene irraggiato con neutroni termici, assorbe una dose di radiazione attraverso:

1. il fondo indesiderato di  $\gamma$  (o di neutroni di alta energia) presente nella posizione di irraggiamento;
2. le reazioni che i neutroni inducono sui nuclei degli elementi da cui il tessuto è composto (H, C, O, N e vari altri elementi secondari); le principali reazioni indotte dai neutroni termici sono quelle di cattura sull'Idrogeno che libera raggi  $\gamma$   $^1\text{H}(n, \gamma)^2\text{H}$  e sull'Azoto che libera protoni  $^{14}\text{N}(n, p)^{14}\text{C}$ ;
3. la reazione  $^{10}\text{B}(n, \alpha)^7\text{Li}$  sul  $^{10}\text{B}$  eventualmente contenuto nei tessuti sani.

La terapia risulta tanto più selettiva quanto più è basso il fondo ( $\gamma$  e/o di neutroni veloci) presente nella posizione di irraggiamento, e quanto più è alto il rapporto  $T$  delle concentrazioni di  $^{10}\text{B}$  fra il tessuto tumorale e quello sano; un alto valore della concentrazione di  $^{10}\text{B}$  nel tumore garantisce tempi di irraggiamento brevi.

L'idea di usare i neutroni per la cura dei tumori fu avanzata per la prima volta da Gordon J. Locher nel 1936, appena 4 anni dopo la scoperta del neutrone da parte di Chadwick e due anni dopo che E. Fermi aveva misurato l'elevata sezione d'urto di cattura dei neutroni termici da parte del  $^{10}\text{B}$ . Le prime applicazioni cliniche vennero effettuate negli Stati Uniti al BNL nel 1951, seguite da altri tentativi fra il '59 e il '61 al BNL e al MTI. Tuttavia, a causa della scarsa capacità di penetrazione dei neutroni termici negli strati profondi del tessuto e del basso valore di  $T$  dei composti borati, queste prime applicazioni cliniche produssero risultati molto scoraggianti e, perciò, furono interrotte.

Nel 1968 H. Hatanaka, in Giappone, riprese la BNCT introducendo un nuovo composto borato ( $\text{Na}_2\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}$ ), noto come BSH o dodecaborato, e con l'irraggiamento intraoperatorio. Negli anni '90 le sperimentazioni cliniche sono riprese negli Stati Uniti sia con l'introduzione di un altro composto, la Borophenilalanina (BPA), sia con l'uso di neutroni con maggiore capacità di penetrazione: i neutroni epitermici. Alla fine degli anni '90 sono diventati operativi anche due centri europei (uno nel '97 a Petten e uno nel '99 in Finlandia).

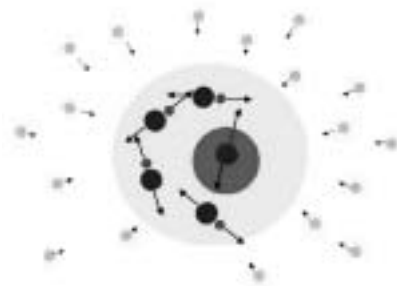


Figura 2. Produzione di particelle  $\alpha$  e nuclei di  $^7\text{Li}$  in una cellula contenente  $^{10}\text{B}$  e irraggiata con neutroni. Il rilascio di energia da parte dei prodotti di reazione avviene quasi esclusivamente all'interno della cellula che contiene il  $^{10}\text{B}$ .

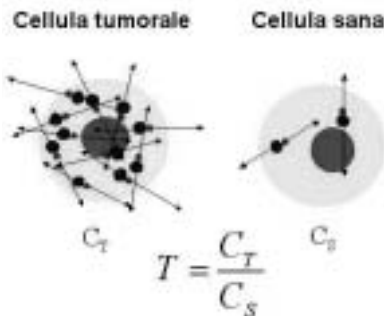


Figura 3. L'esposizione ad una stessa fluenza neutronica  $\psi_n$  di una cellula tumorale ed una sana produce il rilascio in ciascuna di esse di una diversa dose di radiazione a seconda della concentrazione ( $C_T$  o  $C_S$ ) di  $^{10}\text{B}$  in esse contenuta. Per determinati valori di  $T = C_T/C_S$  è possibile impartire una dose letale alle cellule tumorali e una dose al di sotto del valore di tolleranza alle cellule sane.

I risultati fin qui ottenuti nel trattamento dei tumori al cervello con la BNCT, tuttavia, pur essendo nettamente superiori a quelli degli anni '50-60, non sembrano superiori a quelli ottenibili con la radioterapia convenzionale. Un aiuto considerevole potrebbe derivare sicuramente dall'introduzione di nuovi composti, attualmente allo studio, in grado di fornire valori di  $T$  superiori a quelli dei composti fin qui utilizzati.

Mentre il resto del mondo ha concentrato tutti i suoi sforzi nella cura dei gliomi cerebrali e dei melanomi della pelle con fasci collimati di neutroni epitermici, Pavia si è dedicata alla cura di organi espantabili mediante il loro irraggiamento in un campo di neutroni termici; il primo organo preso in considerazione è stato il fegato.

L'Adenocarcinoma del Colon è uno dei tumori più frequenti che colpiscono l'uomo. Nel mondo intero vengono stimati circa 600.000 casi per anno, di cui 152.000 negli Stati Uniti d'America. Il tasso di sopravvivenza a 5 anni dalla diagnosi è inferiore al 40-50%; ciò è dovuto anche al fatto che in un terzo dei casi la diagnosi è tardiva. L'esito letale della patologia in questione è dovuto, per i due terzi del totale, all'insorgenza di metastasi epatiche che spesso si presentano multiple e diffuse, quindi non asportabili chirurgicamente. È particolarmente increscioso e frustrante l'impossibilità di intervenire in modo decisivo in un quadro clinico ove un tumore primario, facilmente resecabile, si presenta associato a metastasi confinate esclusivamente nel fegato. Le statistiche evidenziano che in Italia i pazienti affetti da tale patologia incurabile sono circa 3400 all'anno.

Il primo problema affrontato è stata la ricerca di un buon composto borato; fra i vari veicolanti del Boro studiati con un modello animale (metastasi epatiche da adenocarcinoma del colon nel ratto) i migliori risultati li ha forniti la Borofenilalanina (BPA). L'assorbimento del  $^{10}\text{B}$  è stato studiato quantitativamente misurando la concentrazione in campioni sottili di tessuto epatico. I risultati dell'analisi quantitativa della cinetica del Boro condotto su una popolazione di 100 ratti sono riassunti nella figura 4; in essa sono riportati l'andamento delle concentrazioni del  $^{10}\text{B}$  nelle cellule tumorali e in quelle sane e l'andamento del rapporto  $T$  delle suddette concentrazioni; il tempo  $t$  rappresenta l'intervallo fra la somministrazione della Borofenilalanina (BPA) e il sacrificio del ratto. Come si vede, almeno fino a 12 ore la concentrazione nel tumore è più alta di quella nel tessuto sano; e nell'intervallo fra 2 e 4 ore si ottengono per il rapporto  $T$  valori compresi fra 4 e 6. Prendendo come riferimento i valori riscontrati al tempo  $t = 2$  ore ( $C_T \approx 30$  ppm e  $C_H \approx 6$  ppm) con una fluensa neutronica  $\psi_n = 5 \cdot 10^{12} \text{ cm}^{-2}$ , le dosi al tessuto tumorale e a quello sano sono, rispettivamente,  $D_T \approx 60 \text{ Gy-Eq}$  e  $D_S \approx 11 \text{ Gy-Eq}$ ; il primo di questi valori risulta abbondantemente al di sopra di quello letale (40 Gy-Eq) per le cellule tumorali, mentre il secondo è abbondantemente al di sotto del valore di tolleranza (30 Gy-Eq) per il tessuto epatico. Ciò indica che con questi valori è possibile eseguire una buona terapia delle metastasi epatiche.

L'assorbimento selettivo del Boro nelle cellule tumorali è stato dimostrato anche visivamente mediante la radiografia neutronica. La figura 5 mostra affiancate le immagini di due fettine contigue di fegato di ratto; a sinistra il campione co-

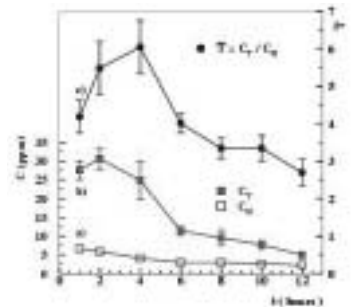


Figura 4. Andamento delle concentrazioni di  $^{10}\text{B}$  nelle cellule tumorali ( $C_T$ ) e in quelle sane ( $C_H$ ) del ratto e del rapporto medio  $T$  fra le suddette concentrazioni. Il tempo  $t$  rappresenta il numero di ore trascorse fra l'iniezione del BPA e il sacrificio del ratto.

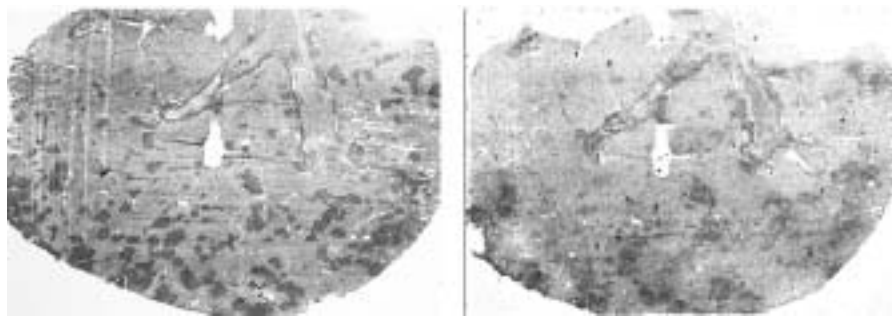


Figura 5. Confronto fra le immagini di due campioni adiacenti di fegato di ratto con metastasi; a sinistra il campione colorato per analisi istologica, a destra l'immagine della radiografia neutronica del secondo campione; la corrispondenza fra le macchie scure a sinistra (metastasi) e quelle a destra (zone con maggiore densità di Boro) indica chiaramente il maggiore assorbimento del Boro nel tumore rispetto al tessuto sano.

lorato per l'analisi istologica, a destra l'immagine della radiografia neutronica. Si può notare come le macchie scure a destra (che indicano una maggiore concentrazione di  $^{10}\text{B}$ ) coincidano con le zone scure a sinistra che corrispondono a tessuto tumorale.

Come sorgente neutronica viene usato il reattore nucleare Triga Mark II dell'Università di Pavia; un reattore di ricerca che raggiunge una potenza di 250 KW in regime stazionario e di 250 MW in regime pulsato. La posizione in cui viene irraggiato l'organo espianato è stata progettata e realizzata nella colonna termica del reattore (fig. 6).

Lo studio della distribuzione del flusso neutronico nella posizione di irraggiamento e all'interno del fegato è stato effettuato per mezzo del codice MCNP, un Monte Carlo che trasporta neutroni (da  $10^{-5}$  eV a 20 MeV), elettroni (da 1 KeV a 1 GeV) e  $\gamma$  (da 1 KeV a 1 GeV) in geometrie anche molto complesse e con strutture ripetute come il nocciolo di un reattore; MCNP possiede, inoltre, una vasta libreria di sezioni d'urto per singoli elementi e per materiali compositi. Le simulazioni sono state ampiamente testate con varie misure sperimentali mediante l'attivazione di targhette sottili di Cu. Il flusso neutronico termico misurato in aria, nella posizione di irraggiamento, è pari a  $1.4 \cdot 10^{10} \text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$  con una contaminazione da neutroni epitermici minore di circa un fattore 1000.

L'intensità della dose  $\gamma$  nella stessa posizione è stata ridotta da 8.232 Gy/min a 0,134 Gy/min con l'inserimento di due schermi di Bismuto ciascuno dello spessore di 10 cm. Per rendere più uniforme la distribuzione del flusso neutronico all'interno dell'organo, durante l'irraggiamento il fegato viene ruotato di  $180^\circ$  intorno all'asse verticale; in questo modo la disuniformità fra la periferia e il centro del fegato viene contenuta entro il 30% circa.

Il 19 dicembre del 2001 il metodo TAO-RMINA è stato applicato, per la prima volta al mondo, su un paziente di 48 anni affetto da

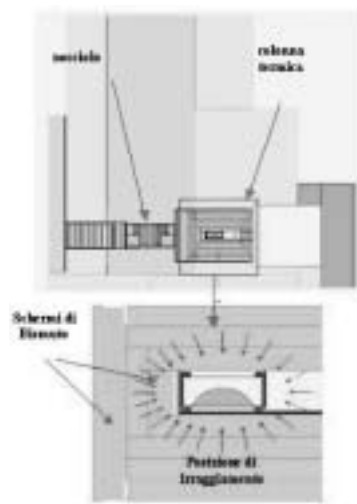


Figura 6. Sezione verticale del reattore Triga Mark II dell'Università di Pavia; nel riquadro sottostante è mostrato il fegato, all'interno del contenitore di teflon, nella posizione di irraggiamento; sono indicati anche due schermi di Bismuto usati per abbattere il fondo  $\gamma$  proveniente dal nocciolo del reattore.

metastasi epatiche da adenocarcinoma del colon. Il fegato, dopo l'infusione di BPA, è stato espantato, racchiuso in due sacchetti sterili di teflon e posto in un contenitore rigido anch'esso di teflon. Trasportato al reattore, il contenitore è stato posto su un carrello semiautomatico (fig. 7) utilizzato per inserire il fegato nel reattore fino alla posizione d'irraggiamento. Prima dell'espianto, e durante l'infusione del BPA, sono stati prelevati dei campioni di fegato sano e di metastasi per misurare la concentrazione del Boro contenuto in essi. La concentrazione nel tessuto tumorale e in quello sano è risultata rispettivamente pari a  $C_T = 47 \pm 2$  ppm e  $C_H = 8 \pm 1$  ppm, rispettivamente; l'irraggiamento durato 11 minuti, con queste concentrazioni ha portato all'assorbimento di una dose  $D_T = 62 \pm 2$  Gy - Eq e  $D_H = 8.6 \pm 0.5$  Gy - Eq nel tumore e nel sano.

Le figg. 8 e 9, infine, mostrano le immagini ottenute col metodo della radiografia neutronica sui campioni di tessuto epatico contenenti metastasi prelevati dal paziente durante l'infusione di BPA e prima del trattamento. In entrambe sono ben visibili le zone scure corrispondenti al tessuto tumorale; esse risultano scure grazie alla maggiore concentrazione di  $^{10}\text{B}$  nelle metastasi; la fig. 8, costituita da una sequenza di sottili fettine prelevate ogni 40 mm da uno stesso campione, mostra l'evoluzione della zona tumorale man mano che si scende in profondità nel nodulo; la fig. 9, invece, mettendo in evidenza l'immagine di una piccola metastasi (qualche decimo di mm), nella quale è presente un'elevata concentrazione di  $^{10}\text{B}$ , dimostra come con questa tecnica si possano raggiungere e curare anche metastasi molto piccole normalmente non rivelabili con gli attuali mezzi diagnostici.

Dopo 10 giorni dal trattamento una TAC ha mostrato che il fegato sano era in buone condizioni mentre le 14 metastasi rilevate con l'ecografia intraoperatoria erano in stato di necrosi. Il trattamento neutronico ha agito su tutto il fegato e tutte le metastasi, piccole o grandi che fossero, sono state trattate con efficacia.

Il paziente è stato dimesso il 25 gennaio del 2002, 37 giorni dopo il trattamento. Prima di lasciare il Policlinico aveva recuperato tutte le sue funzioni e le condizioni generali apparivano buone; i controlli successivi, effettuati ogni tre mesi, hanno registrato il progressivo miglioramento dello stato di salute del paziente. Dopo circa 20 mesi due piccole metastasi sono state rilevate fuori dal fegato ed asportate chirurgicamente. Nel luglio del 2002 è stato trattato un secondo paziente; anche in questo caso è stato registrato un ottimo assorbimento selettivo del B da parte del tumore e l'irraggiamento neutronico ha provoca-



Figura 7. Il carrello semiautomatico che porta il fegato (all'interno del contenitore cilindrico di teflon) nella posizione di irraggiamento, nella colonna termica del reattore.

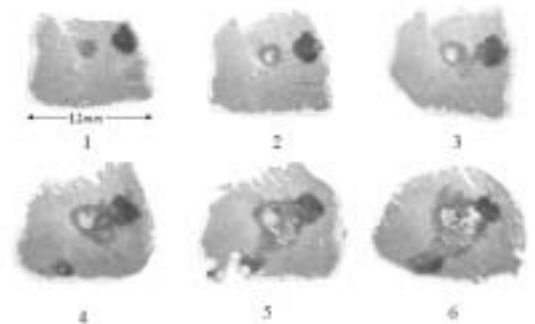


Figura 8. Radiografia neutronica di un nodulo metastatico prelevato dal paziente durante l'infusione di BPA; i vari campioni da 1 a 6 sono 6 fettine sottili tagliate ogni 40  $\mu\text{m}$ ; la sequenza mostra l'evoluzione della forma e delle dimensioni del tumore man mano che si scende in profondità nel nodulo.

to la distruzione delle metastasi (sebbene alcune fossero dell'ordine di qualche cm di diametro); purtroppo, dopo un mese il paziente è deceduto per complicazioni postoperatorie.

Queste prime due applicazioni del metodo TAOOrMINA sull'uomo, sebbene applicate su pazienti terminali, hanno dimostrato chiaramente l'efficacia del metodo nella distruzione locale del tumore; tuttavia, affinché questo metodo possa entrare nella pratica medica, è necessario effettuare un'accurata sperimentazione

clinica; in Italia il Comitato Etico dell'Ospedale Maggiore di Milano ha approvato la sperimentazione su venti pazienti e il Policlinico S. Matteo di Pavia è fortemente interessato alla sperimentazione; attualmente è in corso la messa a punto, in collaborazione col Ministero della Salute, di una strategia generale per l'avvio di una sperimentazione clinica. Altri centri esteri sono interessati all'avvio della sperimentazione anche nei loro Paesi.

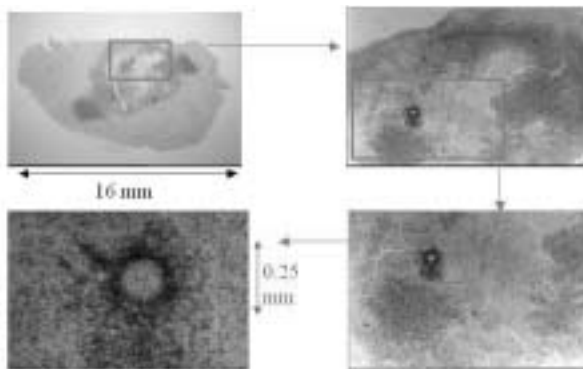


Figura 9. Radiografia neutronica di un nodulo metastatico prelevato dal paziente durante l'infusione di BPA; successivi ingrandimenti di una zona in cui è messa in evidenza una piccola metastasi (qualche decimo di  $\mu\text{m}$  di diametro); questa sequenza mostra come il  $^{10}\text{B}$  sia in grado di raggiungere anche metastasi molto piccole; la BNCT, quindi, è in grado di curare anche metastasi che gli attuali mezzi diagnostici non sono in grado di mettere in evidenza.

**Note** <sup>1</sup> T. Pinelli\*, S. Altieri\*, P. Bruschi\*, F. Fossati\*, A. Zonta<sup>o</sup>, C. Ferrari<sup>o</sup>, U. Prati<sup>o</sup>, L. Roveda<sup>o</sup>, S. Barni<sup>f</sup>, P. Chiari<sup>f</sup>, R. Nano<sup>f</sup>.

\* INFN sezione di Pavia e Dipartimento di Fisica Nucleare e Teorica Università degli Studi, Pavia.

<sup>o</sup> Dipartimento di Chirurgia, Div. di Chirurgia Generale, Università di Pavia e Policlinico S. Matteo, Pavia.

<sup>f</sup> Dipartimento di Biologia Animale, Università di Pavia e Centro di Studi per l'Istochimica, CNR, Pavia.

<sup>2</sup> Il barn è l'unità di misura comunemente usata per la sezione d'urto e vale  $10^{-28}$  m<sup>2</sup>. Per il concetto di sezione d'urto si veda ad esempio: B. Povh, K. Rith, C.Scholz, F. Zetsche, *Particelle e nuclei*, Bolyati Boringhieri, 1998, p. 48 [N.d.R.].

## Bibliografia

- [1] ALTIERI, S. *et al.* Evaluation of a selective boron absorption in liver tumours. *Proceedings of the Third International Symposium on Neutron Capture Therapy for cancer Bremen, May 31st-June 3rd 1988*. *Strahlentherapie und Onkologie*, 165, 170-172 (1989).
- [2] PINELLI, T. *et al.* Development of a method to use Boron Neutron Capture Therapy for diffused tumors of liver (Taormina Project). *Proceedings of the Sixth International Symposium on Neutron Capture Therapy for Cancer, Kobe (Japan), Oct. 31st-Nov. 4th 1994*, Y. Mishima Ed. Plenum Press, New York, 783-794 (1994).
- [3] PINELLI, T. *et al.* Operative modalities and effects of BNCT on liver metastases of colon adenocarcinoma: a microscopical and ultrastructural study in the rat. *Frontiers in Neutron Capture Therapy* Edited by Hawthorne, M.F. Shelly, K and Wiersema, R.J. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York (2001).
- [4] PINELLI, T. *et al.* TAOOrMINA: From the first Idea to the Application to the Human Liver. *Research and Development in Neutron Capture Therapy* pp 1065-1072 Edited by Sauerwein W., Moss R., Wittig A. Monduzzi Editore, Bologna (2002).