

ALMA MATER STUDIORUM · UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Scuola di Scienze
Dipartimento di Fisica e Astronomia
Corso di Laurea in Fisica

**SVILUPPO E APPLICAZIONI DELLA
*BORON NEUTRON
CAPTURE THERAPY***

Relatore:
Prof.ssa Paola Fantazzini

Presentata da:
Claretta Guidi

Anno Accademico 2015/2016

A Giulia

Abstract

La *Boron Neutron Capture Therapy* è una tecnica terapeutica altamente selettiva, utilizzata in oncologia, che si basa sulla reazione di cattura neutronica $^{10}\text{B}(n,\alpha)^7\text{Li}$. Tale selettività è garantita dal maggior assorbimento di boro, tramite specifici veicolanti, da parte delle cellule tumorali rispetto alle cellule sane, che si mantengono inalterate. I prodotti della reazione di cattura sono particelle ad alto LET, quindi poco penetranti, e questo consente un rilascio energetico letale per i tessuti malati. L'obiettivo di questa tesi è fornire un quadro generale sulla *Boron Neutron Capture Therapy*, sottolineandone gli aspetti positivi e negativi. In particolare si illustrano, dopo un breve excursus storico, le principali caratteristiche fisiche e chimiche della terapia, quali la reazione di cattura neutronica da parte del boro, gli agenti di trasporto del boro e le sorgenti di neutroni. Si forniscono le principali informazioni riguardo al problema dosimetrico legato alla terapia e si analizzano le principali applicazioni cliniche in Italia e nel mondo, con particolare attenzione sul progetto TAOOrMINA. Dal lavoro svolto si può concludere che la BNCT risulta efficace per la cura di molti tumori resistenti alle tradizionali terapie e fornisce una prospettiva positiva alla lotta contro le neoplasie. Tuttavia il raggiungimento della totale efficienza di questa tecnica appare ancora lontano a causa, principalmente, della mancanza di adeguate attrezzature nei centri ospedalieri e della necessità di migliorare ulteriormente la selettività e l'efficacia dei composti veicolanti del boro.

Indice

Introduzione	3
1 Storia della BNCT	5
2 Caratteristiche fisiche e chimiche della terapia	9
2.1 Reazione nucleare	9
2.2 Agenti di trasporto del boro	10
2.3 Sorgenti di neutroni	13
3 Dosimetria	17
4 Applicazioni cliniche nel mondo e in Italia	21
4.1 Principali applicazioni cliniche e risultati ottenuti all'estero	21
4.2 BNCT in Italia e progetto TAOOrMINA	25
Conclusioni	31
Bibliografia	33

Introduzione

La “Boron Neutron Capture Therapy” (BNCT) è una terapia altamente selettiva, impiegata in oncologia, che sfrutta la reazione di cattura neutronica $^{10}\text{B}(n,\alpha)^7\text{Li}$.

L’efficacia è dovuta al fatto che i prodotti della reazione di cattura neutronica sono particelle ad alto LET, poco penetranti. Il rilascio energetico risulta, quindi, cospicuo in una regione spazialmente limitata (tipicamente 5-9 μm) e questo permette di compromettere le funzioni vitali delle cellule tumorali.

La selettività è garantita dal maggior assorbimento di boro da parte dei tessuti neoplastici rispetto a quelli sani, tramite specifici composti veicolanti.

Lo scopo di questo lavoro è fornire un quadro generale su questa terapia, rivolgendo particolare attenzione al progetto TAOOrMINA che si è sviluppato a Pavia e che ha permesso l’applicazione della BNCT con autotrapianto per la prima volta al mondo su un essere umano. In particolare, dopo un breve percorso storico (Capitolo 1), nel Capitolo 2 si analizzeranno le principali caratteristiche fisiche e chimiche della terapia, ovvero la reazione di cattura neutronica che ne è alla base, i possibili agenti di trasporto del boro ed infine le possibili sorgenti di neutroni. Nel Capitolo 3 si analizzerà brevemente il problema dosimetrico, fornendo gli elementi base per capire ciò che verrà illustrato nel successivo Capitolo 4. In quest’ultimo si esporranno le principali applicazioni cliniche nel mondo per poi fornire maggior attenzione al progetto italiano TAOOrMINA.

Capitolo 1

Storia della BNCT

La prima idea di BNCT nacque grazie a G.L.Locher del Franklin Institute of Pennsylvania nel 1936, poco dopo la scoperta del neutrone da parte di J.Chadwick (1932) e dell'alta sezione d'urto di cattura neutronica del ^{10}B da parte di Enrico Fermi (1934). L'idea di Locher fu proprio quella che ancora oggi è alla base della BNCT: introdurre quelli che lui chiamava "assorbitori neutronici" (come per esempio un composto solubile e non tossico di boro, litio, gadolinio od oro) nella zona in cui si vuole liberare energia di ionizzazione tramite bombardamento con neutroni termici [1].

I primi esperimenti su animali iniziarono con Kruger e Goldhaber nel 1938, i quali capirono che le radiazioni emesse dal processo di cattura neutronica risultavano confinate in un raggio di pochi μm dalla zona in cui tale reazione avveniva [2].

Le prime applicazioni cliniche avvennero a partire dal 1951 quando W.H. Sweet al BNL (Brookhaven National Laboratory, negli Stati Uniti) trattò 10 pazienti affetti da glioblastoma, utilizzando come composto borato il borace ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e come sorgente di neutroni il reattore nucleare del BNL. Egli (in collaborazione con Brownell [3]) divise i pazienti in due gruppi: 5 di loro ricevettero la dose precedentemente calcolata in una sola sessione, gli altri 5 vennero sottoposti a più sessioni frazionando la dose totale. I risultati furono piuttosto deludenti: tutti i pazienti morirono da 6 a 24 settimane dopo il primo trattamento.

Un successivo tentativo venne effettuato al Massachusetts Institute of Technology (MIT) con diversi composti borati (ma ancora fra quelli che vennero successivamente definiti come composti di prima generazione), ma anche in questo caso i 18 pazienti trattati morirono in un periodo dai 10 giorni agli 11 mesi dopo la terapia [5]. Un'analisi post-mortem effettuata su 14 di loro rivelò che la causa del decesso era una necrosi cerebrale estesa da radiazioni, tuttavia senza la presenza di tumori residui nel cervello. Si capì quindi che il problema risiedeva nei composti borati che risultavano ancora troppo poco selettivi: rimanendo in quantità eccessive nel flusso sanguigno durante l'irraggiamento, provocavano una reazione che modificava i vasi sanguigni. Tale modifica ostruiva la corretta circolazione del sangue, determinando così la necrosi cerebrale.

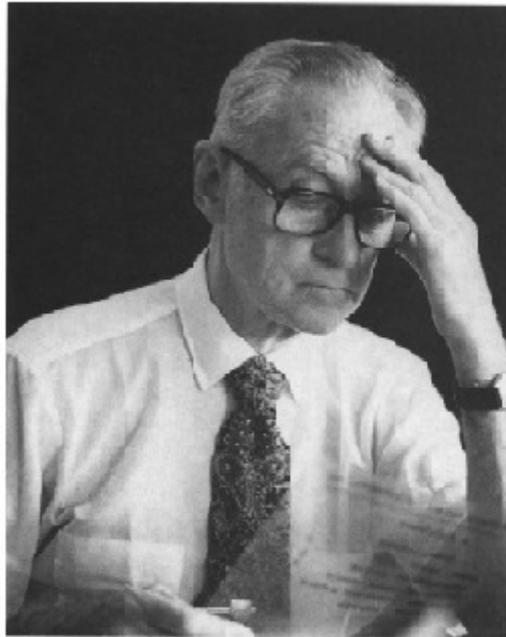


Figura 1.1: William H. Sweet. Presa da [4].

Ulteriori esperimenti clinici vennero effettuati da Farr, Yamamoto e collaboratori al BNL dal 1959 al 1961, con risultati ancora negativi.

La serie di insuccessi, dovuta all'inadeguatezza sia dei reattori, sia dei composti borati utilizzati, portò all'interruzione delle sperimentazioni cliniche. Questo spinse Soloway e Hatanaka ad accelerare le proprie ricerche, iniziate al Massachusetts General Hospital negli anni '50, che condussero alla sintetizzazione del BSH [6]. Nel 1968 questo nuovo composto venne usato da Hatanaka per riprendere gli studi clinici sperimentali riguardo alla BNCT all'Università di Tokyo. Trattò 90 pazienti affetti da glioma maligno dividendoli in due gruppi: 40 di essi furono trattati con BNCT mentre i restanti 50 con una combinazione di radioterapia e chemioterapia. Nonostante Hatanaka sapesse che tumori a profondità maggiori di 6 cm non sarebbero stati sradicati (a causa della bassa energia del fascio di neutroni), i risultati per i pazienti con glioma a profondità minore furono sorprendenti: il 58% di quelli trattati con BNCT aveva un tasso di sopravvivenza medio di 5 anni, pari a circa 4 volte il tasso di sopravvivenza medio di quelli trattati con la terapia combinata [7]. Fu, pertanto, un risultato che portò una grande spinta verso la ricerca in tale campo.

A partire dal 1994 iniziarono numerose sperimentazioni cliniche (riassunte in Tabella 4.1 nel capitolo "Applicazioni cliniche nel mondo e in Italia") per la cura di tumori cerebrali con un nuovo composto borato sintetizzato, la para-L-borofenilalanina, e con l'utilizzo di neutroni epitermici che garantivano una migliore penetrazione nei tessuti.

Ripresero i progetti negli Stati Uniti e in Giappone e ne nacquero in tutto il mondo: Finlandia, Svezia, Repubblica Ceca, Argentina e Taiwan. Purtroppo l'utilizzo di reattori nucleari, che sono troppo costosi e non si possono porre direttamente in ospedale, ha portato all'abbandono di alcuni di questi progetti.



Figura 1.2: Hiroshi Hatanaka. Presa da [4].

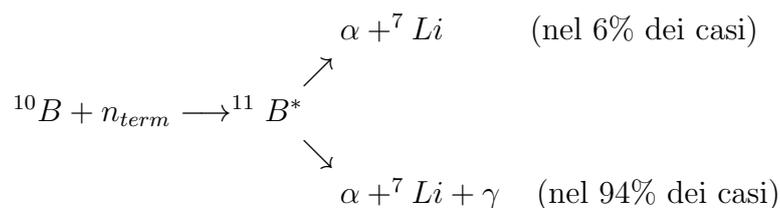
Attualmente la ricerca sulla BNCT si concentra principalmente sullo sviluppo di nuovi composti borati più selettivi e di nuove sorgenti di neutroni.

Capitolo 2

Caratteristiche fisiche e chimiche della terapia

2.1 Reazione nucleare

La BNCT sfrutta il processo di cattura neutronica che avviene irraggiando il ^{10}B , un isotopo non radioattivo del boro, con un fascio di neutroni termici (energia $E < 0.5$ eV): il ^{10}B , infatti, possiede un'alta sezione d'urto di cattura neutronica (3838 barn a 0.025 eV [8]) rispetto agli altri elementi che compongono i tessuti biologici. Il processo di cattura porta alla produzione di un nucleo di ^{11}B eccitato, il quale decade quasi immediatamente in due particelle altamente ionizzanti: ^7Li e particella α (nucleo di ^4He). Il processo può avvenire in due diverse modalità:



I prodotti della reazione presentano un alto valore di LET (Linear Energy Transfer): $150 \text{ keV}\mu\text{m}^{-1}$ per le particelle α e $175 \text{ keV}\mu\text{m}^{-1}$ per i nuclei di ^7Li . Tale parametro è utilizzato per indicare la quantità di energia per unità di lunghezza rilasciata da una particella che attraversa un materiale. Per unità di lunghezza, quindi, particelle ad alto LET rilasciano una maggiore quantità di energia rispetto alle particelle a basso LET, tuttavia la loro penetrazione nel materiale sarà minore. Infatti il percorso del ^7Li nel tessuto biologico è di circa $5 \mu\text{m}$ mentre quello delle particelle α è di circa $9 \mu\text{m}$ e, poiché le dimensioni cellulari sono di circa $12 \mu\text{m}$, questo consente di danneggiare irreversibilmente le cellule tumorali provocandone l'apoptosi (suicidio cellulare controllato), preservando

tuttavia quelle sane. In realtà l'effetto distruttivo vero e proprio è dovuto alle particelle α : il ${}^7\text{Li}$, pur essendo una particella ad alto LET, presenta un percorso minore all'interno della cellula e solo raramente può provocare danni gravi al nucleo cellulare.

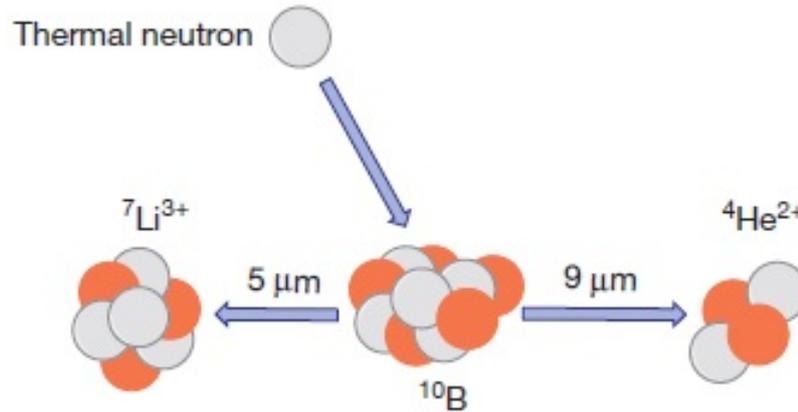


Figura 2.1: Reazione di cattura elettronica del ${}^{10}\text{B}$. Presa da [9].

2.2 Agenti di trasporto del boro

Per prima cosa, il ${}^{10}\text{B}$ è un ottimo elemento per le terapie a cattura neutronica, come appunto la BNCT, in quanto non è tossico, non è radioattivo ed è abbastanza abbondante in natura. Affinché la BNCT abbia risultati positivi in ambito terapeutico, occorre trasportare tale elemento nel sito in cui si trovano le cellule tumorali. Un buon agente di trasporto del boro deve avere le seguenti caratteristiche:

- bassa tossicità;
- un'alta capacità di essere assorbito dal tessuto malato e una bassa capacità di essere assorbito dal tessuto sano, in particolare la concentrazione nel tumore deve raggiungere i $20\ \frac{\mu\text{g}^{10}\text{B}}{\text{g}_{\text{tumore}}}$. Inoltre, considerando tumori al cervello, i rapporti di concentrazione tumore/cervello e tumore/sangue devono essere maggiori di 3 o 4;
- deve essere espulso rapidamente dai tessuti sani e dal sangue e persistere, invece, nei tessuti malati per tutta la durata della BNCT.

Durante i primi sviluppi della BNCT, attorno agli anni '50/'60, si sono utilizzati i cosiddetti agenti di prima generazione: il borace, il pentaborato, l'acido bórico e i suoi

derivati. Tali composti sono chimicamente stabili e facilmente reperibili, tuttavia non sono abbastanza selettivi, hanno una bassa capacità di concentrarsi nelle cellule tumorali con un conseguente basso rapporto tumore/cervello [10, 11].

Negli anni '60 si sono sviluppati due composti detti di seconda generazione: la para-L-borofenilalanina (L-BPA) che, a causa della sua bassa solubilità a pH fisiologico, viene spesso legata ad un complesso detto D-fruttosio e il borosodiocaptato (BSH). Questi hanno consentito una maggiore selettività, un rapporto tumore/cervello e tumore/sangue maggiore di uno ed ancora oggi sono considerati validi agenti per la BNCT. Il BSH è stato il primo composto ad essere sintetizzato ed è stato a lungo utilizzato per la cura del glioblastoma multiforme (GBM), una grave tipologia di tumore cerebrale [12]. Questo viene assorbito dalle cellule tumorali in maniera passiva attraverso la vascolarizzazione del tumore, a differenza della L-BPA che viene assorbita dalle cellule tumorali in maniera attiva, cioè tramite le membrane cellulari, a causa dell'anomalo apporto di amminoacidi richiesto dal tessuto malato. La L-BPA deriva dall'amminoacido fenilalanina ed è strutturalmente simile ai precursori della melanina, per questo si presta bene alla cura di melanomi, ma si usa anche per altri tipi di tumore [13, 14, 15]. Poiché nessuno dei due agenti consente di raggiungere i rapporti tumore/cervello e tumore/sangue che sarebbero ottimali, si sono effettuati studi su ratti riguardo all'uso combinato di BSH e L-BPA [16, 17] che hanno dimostrato un aumento della concentrazione di boro nel sito del tumore e una maggiore sopravvivenza dopo il trattamento con la BNCT. La L-BPA e il BSH sono ad oggi gli unici due composti approvati dagli organi di competenza internazionali (FDA ed EMEA) per il trattamento clinico tramite BNCT.

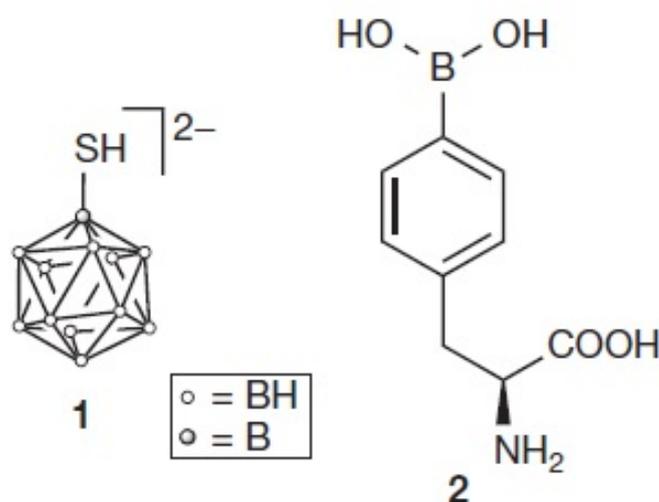


Figura 2.2: Struttura degli agenti BSH (1) e L-BPA (2). Presa da [9].

Negli ultimi vent'anni si sono sviluppati gli agenti detti di terza generazione nel tentativo di raggiungere tutti i requisiti elencati per un buon agente di trasporto del boro [18, 19, 20]. In genere si tratta di composti contenenti cluster di atomi di boro legato ad altri composti chimici, ai quali è richiesta la capacità di concentrare il boro direttamente nel DNA o negli organelli vitali delle cellule, quali mitocondri o lisosomi, perché questo consente una riduzione della dose necessaria durante la terapia. Per svolgere questo compito, occorre che gli agenti siano particolarmente solubili, in modo da poter essere somministrati per via sistemica (nella maggior parte dei casi per via endovenosa), e quelli che devono agire nella zona cerebrale devono possedere anche una certa lipofilia per poter attraversare la barriera emato-encefalica. Per questo gli agenti di terza generazione sono di norma composti anfifilici (sia idrofili che lipofili). Tuttavia i composti con basso peso molecolare vengono incorporati in veicoli di trasporto, quali liposomi o micelle polimeriche, quindi la loro anfifilicità non risulta essere una caratteristica così necessaria [20]. I liposomi [Figura 2.3] sono vescicole composte da un doppio strato di fosfolipidi dal diametro variabile tra i 20 nm e 1 μm ed offrono una grande flessibilità in quanto la loro superficie può essere modificata con frazioni di “tumor-targeting”, quali antibiotici e peptidi, per migliorare la loro localizzazione nelle cellule tumorali e possono essere introdotti nel corpo umano senza provocare reazioni immunitarie. I composti contenenti boro più idrofili vengono posti all'interno della vescicola, mentre quelli più idrofobi vengono posti all'interno del doppio strato fosfolipidico.

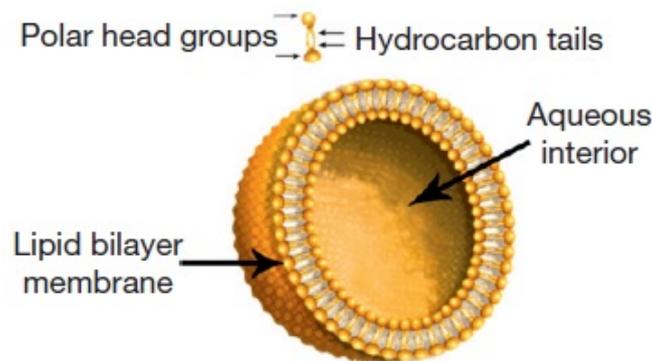


Figura 2.3: Struttura schematica di un liposoma. Presa da [9].

Tale classe, pur risultando efficiente negli esperimenti effettuati, non ha ancora raggiunto una valutazione clinica, pertanto non è utilizzabile sui pazienti.

2.3 Sorgenti di neutroni

Come precedentemente accennato, affinché avvenga il processo di cattura neutronica occorre che il fascio con cui si irraggia il sito del tumore (precedentemente arricchito di ^{10}B) sia composto da neutroni termici. In realtà, poiché questi prima di raggiungere il sito devono penetrare nel tessuto biologico perdendo di conseguenza buona parte della loro energia, si preferisce produrre un fascio di neutroni epitermici ($0.5 \text{ eV} < E < 10 \text{ keV}$) in modo che l'energia nel momento in cui viene raggiunto il ^{10}B sia nel range ottimale ($E < 0.5 \text{ eV}$). Per produrre tale fascio si usano sostanzialmente due apparati:

- a) reattori a fissione nucleare;
- b) acceleratori di particelle.

I reattori nucleari [Figura 2.4] sono stati i più utilizzati fino ad ora, molto probabilmente a causa del fatto che ci sono in tutto il mondo reattori nucleari attivi che possono essere momentaneamente modificati per poter essere utilizzati per la BNCT [21]. Ci sono infatti due diversi modi per adattarli: il cosiddetto approccio diretto consiste nel moderare e filtrare neutroni prodotti direttamente nel nucleo del reattore, mentre l'approccio indiretto consiste nella produzione da parte dei neutroni del nucleo di una fissione all'interno di una lastra convertitrice. Questo produce un fascio che viene collimato fino a raggiungere la porta in corrispondenza della quale viene posta la regione del paziente che necessita della terapia.

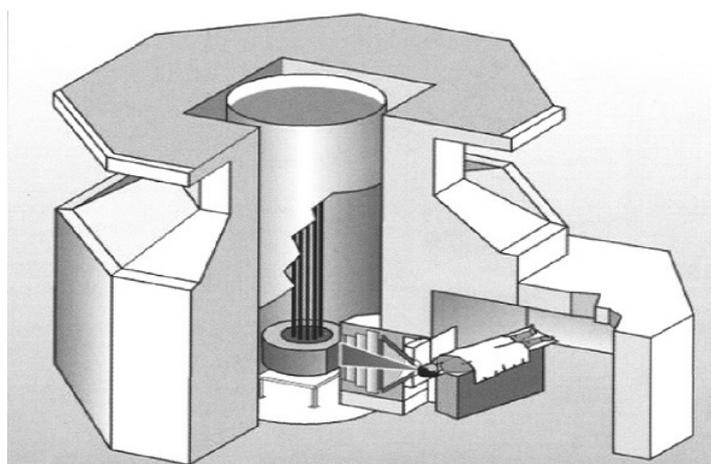


Figura 2.4: Schema di un reattore nucleare modificato per la BNCT. Presa da [21].

Ultimamente si cerca di spostare sempre di più l'attenzione sugli acceleratori in quanto presentano molti vantaggi rispetto ai reattori: innanzitutto possono essere tenuti in una

struttura ospedaliera, riducono al minimo (in alcuni casi proprio a zero) il problema della radioattività residua, possono essere spenti più facilmente quando non si utilizzano e l'installazione e la manutenzione risultano essere più semplici. Esistono diversi tipi di acceleratori ad energie diverse (da quelli a bassa energia elettrostatica ai ciclotroni a più alta energia fino ai Linac e ai sincrotroni con energia ancora maggiore), ma in generale con un acceleratore si riesce a produrre un fascio di neutroni sfruttando la collisione di protoni, o di deuterio, su uno specifico bersaglio. Infine un collimatore provvede ad indirizzare verso la zona del paziente interessata il fascio di neutroni ottenuto. I bersagli più utilizzati sono il ${}^7\text{Li}$ e il ${}^9\text{Be}$ che, se usati come bersaglio per protoni accelerati, danno luogo alle reazioni endotermiche ${}^7\text{Li}(p, n){}^7\text{Be}$ e ${}^9\text{Be}(p, n){}^9\text{B}$. Tuttavia la prima reazione produce ${}^7\text{Be}$ che è radioattivo e la seconda richiede un'energia dei protoni troppo elevata, quindi eccessivi costi di gestione dell'acceleratore. Per questi motivi in alcuni casi si preferisce far collidere un fascio composto da deuterio (d) su un bersaglio sottile di ${}^9\text{Be}$, innescando la reazione ${}^9\text{Be}(d, n){}^{10}\text{B}$ i cui prodotti non sono radioattivi [22]. Esistono numerosi progetti in tutto il mondo volti a realizzare la BNCT basata sugli acceleratori, detta AB-BNCT dall'inglese: "Accelerator Based - Boron Neutron Capture Therapy". In Tabella 2.1 vengono riassunti tali progetti riguardanti sia gli acceleratori per BNCT già attivi che quelli in fase di costruzione (nel 2013).

Tabella 2.1: Stato e prestazioni dei principali acceleratori per l'AB-BNCT in tutto il mondo nell'anno 2013 [23].

Istituto, Luogo	Acceleratore	Reazione	Energia del fascio (MeV)
Budker institute, Russia	Vacuum insulated Tandem	${}^7\text{Li}(p, n)$	2.0
IPPE-Obninsk, Russia	Cascade generator KG-2.5	${}^7\text{Li}(p, n)$	2.3
Birmingham Univ., Regno Unito	Dynamitron	${}^7\text{Li}(p, n)$	2.8
KURRI, Giappone	Cyclotron	${}^9\text{Be}(p, n)$	30
Soreq, Israele	RFQ-DTL	${}^7\text{Li}(p, n)$	4
Legnaro INFN, Italia	RFQ (in costruzione)	${}^9\text{Be}(p, n)$	45
Tsukuba, Giappone	RFQ-DTL (in costruzione)	${}^9\text{Be}(p, n)$	8
CNEA	Singleended	${}^9\text{Be}(d, n)$	1.4
Argentina	Tandem Electrostatic Quadrupole (in costruzione)	${}^7\text{Li}(p, n)$	2.5

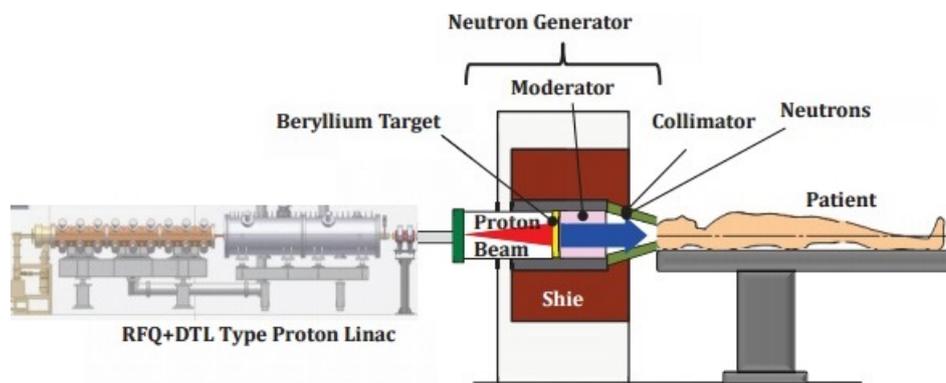


Figura 2.5: Schema di un acceleratore lineare con bersaglio al berillio che è in fase di sviluppo in Giappone. Presa da [24].

Capitolo 3

Dosimetria

I neutroni sono particelle considerate indirettamente ionizzanti, cioè non producono una ionizzazione diretta attraversando la materia. Infatti sono privi di carica e non interagiscono con gli elettroni degli atomi, ma interagiscono con i nuclei. L'interazione può avvenire in molti modi diversi e per questo la dosimetria per la BNCT risulta essere particolarmente complessa. La dose assorbita dal tessuto investito da neutroni risulta quindi dovuta a varie componenti, dipendenti dall'energia del fascio e dal tipo di atomi presenti nel volume irraggiato. I neutroni termici si propagano nella materia fino a quando non vengono catturati da un nucleo con una probabilità dipendente dalla sezione d'urto di cattura, a sua volta dipendente dall'energia del fascio e dall'elemento chimico interessato nel processo. I prodotti della reazione di cattura possono essere particelle a loro volta ionizzanti direttamente o indirettamente. I principali prodotti delle reazioni di cattura neutronica durante una sessione di BNCT sono raggi γ e protoni, i primi dovuti alla reazione con l'idrogeno (${}^1\text{H}(n, \gamma){}^2\text{H}$) e i secondi alla reazione con l'azoto (${}^{14}\text{N}(n, p){}^{14}\text{C}$) [25]. I fotoni prodotti con la prima reazione possono cedere la loro energia al tessuto anche a grandi distanze dal punto di produzione a causa del basso LET che possiedono, per quanto detto nel Capitolo 2 di questa tesi. I protoni derivanti dalla seconda reazione, invece, rilasciano energia in un breve range di distanza dal loro punto di produzione. I neutroni termici interagiscono anche con altri nuclei presenti nel tessuto investito, provocando reazioni quali ${}^{14}\text{N}(n, \gamma){}^{15}\text{N}$, ${}^{16}\text{O}(n, \gamma){}^{17}\text{O}$ e ${}^{17}\text{C}(n, \gamma){}^{18}\text{C}$, ma l'energia rilasciata da tali prodotti non è particolarmente significativa a causa o della bassa concentrazione o della bassa sezione d'urto di cattura degli elementi coinvolti. Nel caso in cui si utilizzino neutroni epitermici, occorre considerare anche la dose di energia rilasciata dai protoni di rinculo che si generano dall'interazione tra il fascio e l'idrogeno dei tessuti. Occorre, in entrambi i casi, considerare anche la presenza di raggi γ presenti nel fascio stesso di neutroni, dovuti all'interazione di questi ultimi con i materiali di cui sono composti gli strumenti utilizzati, e l'RBE (Efficacia Biologica Relativa) propria di ogni radiazione coinvolta nel calcolo della dose totale assorbita. Possiamo quindi concludere che la dose detta di "background" che un tessuto riceve durante una sessione di BNCT è data da:

$$D_b = \text{RBE}_H D_H + \text{RBE}_N D_N + \text{RBE}_\gamma D_\gamma \quad (3.1)$$

con:

- D_H = dose assorbita dal tessuto a causa dei protoni di rinculo e RBE_H = efficacia biologica relativa di tali protoni;
- D_N = dose assorbita dal tessuto a causa della reazione dei protoni prodotti dall'interazione con l'azoto e RBE_N = efficacia biologica relativa di tali protoni;
- D_γ = dose assorbita a causa dei raggi gamma prodotti dall'interazione con l'idrogeno e a causa di quelli presenti nel fascio e RBE_γ = efficacia biologica relativa di tali fotoni.

Ovviamente durante una sessione di BNCT si ha che la dose principale assorbita dal tessuto malato è dovuta alla reazione di cattura neutronica da parte del ^{10}B precedentemente veicolato nel sito del tumore. I prodotti sono ad alto LET, quindi molto dannosi e confinati in una regione ristretta dello spazio. La selettività è proprio il punto di forza di questa terapia ma, affinché risulti efficace, occorre che il rapporto T tra la concentrazione del boro nel tessuto sano (C_S) e quella nel tessuto malato (C_T) sia alto [26]. Seppur tale rapporto sia volutamente alto, non è possibile eliminare completamente la presenza del boro nel tessuto sano circostante il tumore e, quindi, si ha un'ulteriore componente da aggiungere alla dose "indesiderata" che le cellule sane assorbono (D_B). Abbiamo quindi che, sia per il tessuto malato che per il tessuto, la dose totale assorbita è data dalla seguente relazione e misurata in Gy-eq ("Gray-equivalent") [27].

$$D_{\text{TOT}} = C_{T_B} D_B + \text{RBE}_H D_H + \text{RBE}_N D_N + \text{RBE}_\gamma D_\gamma \quad (3.2)$$

dove con CT si indica il "Compound Factor", ovvero un parametro analogo all'RBE ma che tiene in considerazione anche il tipo di tessuto che il fascio sta attraversando.

La dose totale deve risultare letale per il tessuto malato, salvaguardando invece le cellule di quello sano. Esistono in particolare soglie specifiche di tolleranza, per ogni diverso tipo di tessuto, sotto le quali deve rimanere il valore di D_{TOT} .

Il calcolo della dose di radiazioni rilasciata durante il trattamento con BNCT è fondamentale per garantire una buona efficacia della terapia, evitando effetti collaterali e danneggiamenti importanti. Per tale calcolo si utilizza di norma un'analisi su un fantoccio tessuto-equivalente formato da strati di gel contenente la stessa percentuale di massa dei vari elementi chimici, che determinano le reazioni sopra elencate, di cui è composto il tessuto umano interessato [25]. Tale fantoccio viene sottoposto all'irraggiamento con fasci di neutroni termici ed epitermici e viene poi effettuata un'analisi NMR per ottenere la distribuzione spaziale 3D della dose totale assorbita. L'analisi si basa sul fatto che la

radiazione incidente sul fantoccio converte gli ioni ferrosi in ioni ferrici e questo altera i tempi di rilassamento del momento magnetico degli ioni metallici. I tempi di rilassamento (T_1 e T_2) dei nuclei di idrogeno, nella soluzione contenente sali di ferro in cui si trovano, vengono di conseguenza ridotti. Questa variazione di T_1 e T_2 è facilmente misurabile tramite le tecniche NMR standard [28]. Successivamente si combinano le analisi NMR in due dimensioni di ogni slice del fantoccio, tramite un apposito software [29], per ottenere la suddetta distribuzione spaziale 3D. Per semplicità le varie componenti della relazione (3.2) possono essere divise in tre soli gruppi: dose dovuta alla presenza del boro, dose dovuta alla presenza dei raggi γ e dose dovuta alle reazioni con l'idrogeno e con l'azoto. In questo modo la tecnica sopra citata è in grado di distinguere la distribuzione spaziale di tutte e tre le componenti nel fantoccio tessuto-equivalente utilizzato. Infatti, si effettua prima un'analisi su un fantoccio standard (senza ^{10}B) e, successivamente si inietta nello stesso fantoccio la stessa quantità di ^{10}B che si inietterebbe al paziente per la terapia, ripetendo poi l'analisi NMR.

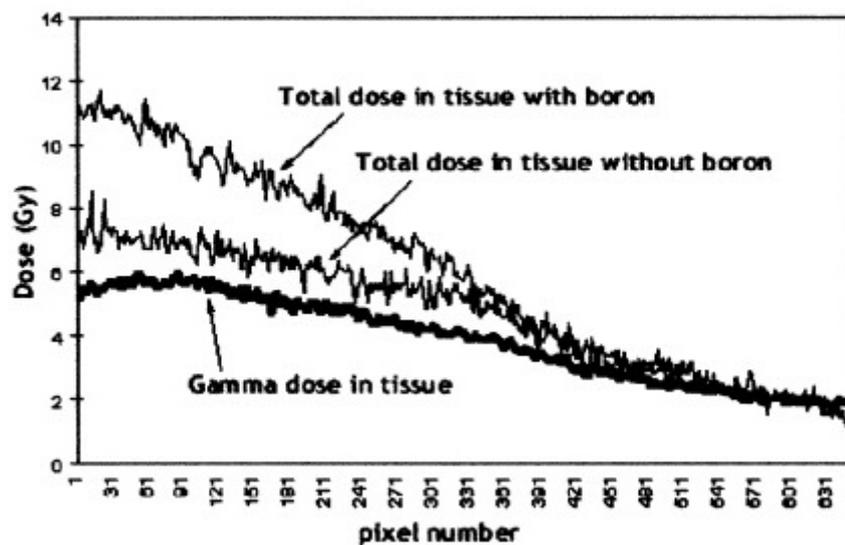


Figura 3.1: Distribuzione spaziale della dose totale assorbita dal fantoccio tessuto-equivalente durante uno studio effettuato al reattore TAPIRO vicino a Roma. Presa da [25].

Capitolo 4

Applicazioni cliniche nel mondo e in Italia

4.1 Principali applicazioni cliniche e risultati ottenuti all'estero

Dagli anni '90 ad oggi si sono sviluppati centri per la cura di tumori tramite BNCT in tutto il mondo [Tabella 4.1]: Stati Uniti, Giappone, Finlandia, Svezia, Olanda, Repubblica Ceca, Argentina. La prima applicazione clinica europea è avvenuta nel 1997 a Petten, in Olanda.

Tutti i centri hanno utilizzato come sorgente di neutroni un reattore nucleare. Si trattano di seguito i principali risultati ottenuti.

Stati Uniti. Gli studi del BNL e del MIT dal 1994 al 1999 riportano i risultati su 71 pazienti affetti da GBM (53 del BNL e 18 del MIT), trattati con BNCT (utilizzando come composto borato la BPA) e successivamente con una terapia alternativa [30, 31, 32, 33, 34]. Il tasso di sopravvivenza medio è risultato pari a 13 mesi per i pazienti del BNL, pari a 12 mesi per i pazienti del MIT ed entrambi i gruppi come effetto collaterale hanno manifestato sonnolenza da radiazioni per una dose media di radiazioni sull'intero cervello di 5.5 Gy [35].

Svezia. In Svezia è stato effettuato uno studio su 17 pazienti affetti da GBM somministrando un'alta dose di BPA nell'arco di circa 6 ore [36]. La tolleranza a tale lunga somministrazione è stata buona e il tempo di sopravvivenza medio è risultato essere pari a 18 mesi, dopo aver ricevuto una dose media di radiazioni dai 3 Gy ai 6 Gy. Poichè i pazienti svedesi non sono stati sottoposti ad alcuna terapia sostitutiva, i risultati ottenuti con questo studio non risentono dell'influenza di altri tipi di cura e rispecchiano la vera efficacia della BNCT.

Tabella 4.1: Principali studi sulla cura di tumori tramite BNCT in vari paesi del mondo [37, 38].

Struttura	Pazienti	Periodo	Malattia	Composto borato
MIT, USA	18	1994-1999	GBM	BPA
BNL, USA	53	1994-1999	GBM	BPA
Espoo, Finlandia	22	2008 (pubblicazione)	GBM	BPA
Espoo, Finlandia	30	2012 (pubblicazione)	tumore della testa e del collo	BPA
Studvisk, Svezia	17	2002	GBM	BPA
Osaka, Giappone	26	2008	tumore della testa e del collo	BPA
Osaka, Giappone	11	2002-2006	GBM	BPA e BSH
Osaka, Giappone	10	2002-2006	GBM	BPA
JJR-4, Giappone	15	2009 (pubblicazione)	GBM	BPA e BSH
THOR, Taiwan	10	2010 (pubblicazione)	tumore della testa e del collo	BPA

Finlandia. In Finlandia i trattamenti con BNCT utilizzando BPA e neutroni epitermici si sono svolti tra 1999 e il 2012, anno in cui il reattore nucleare di Espoo, vicino ad Helsinki, è stato chiuso. La particolarità del metodo finlandese risiedeva nella somministrazione di piccole dosi settimanalmente per anni, per un totale di dose media sull'intero cervello poco minore di 6 Gy. In un recente studio effettuato su 22 pazienti affetti da GBM ricorrente [39], sottoposti precedentemente alle terapie classiche, la sopravvivenza mediana (OS, dal termine inglese "Overall Survival"), definita come il lasso di tempo in cui decede il 50% dei pazienti, è risultata essere di 7 mesi e il tempo mediano di progressione, definito come il lasso di tempo che va da una specifica data (di solito la data di inizio del trattamento) alla data in cui si manifesta una progressione della malattia da trattare, è risultato pari a 3 mesi. In un ulteriore studio su 30 pazienti affetti da tumori recidivi ed inoperabili della testa e del collo [40, 41], si riportò una sopravvivenza media senza progressione di malattia (PFS, dal termine inglese "Progressiv-Free Survival") pari a 7.5 mesi.

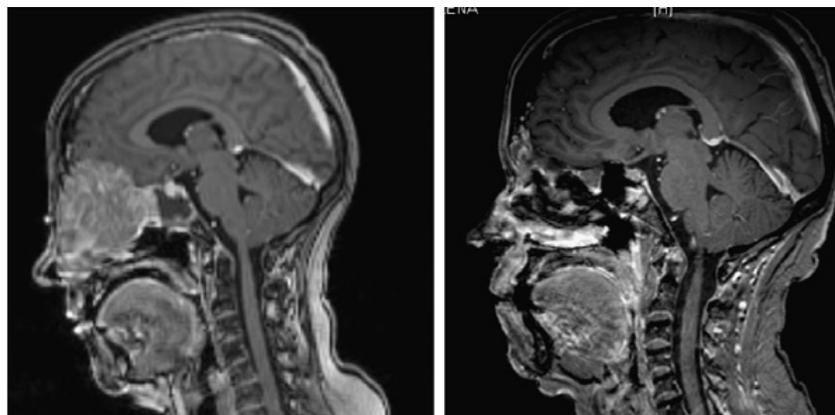


Figura 4.1: Confronto tra MRI effettuata prima della BNCT (sinistra) e dopo la BNCT (destra). Si nota la riduzione del tumore nella regione intracranica. Presa da [41].

Giappone. In Giappone a causa del disastro di Fukushima del 2011 moltissimi reattori, inclusi quelli a scopo terapeutico, sono stati chiusi. Da allora l'unico che è ancora in grado di essere utilizzato per la BNCT è il Kyoto University Research Reactor (KURR), che conta ad oggi più di 400 irraggiamenti effettuati per la BNCT a scopo clinico [37]. Un importante risultato giapponese dell'ultimo decennio è stato ottenuto dal gruppo dell'Università di Osaka nel 2008 [42]: 26 pazienti con tumori ricorrenti della testa e del collo sono stati trattati con BNCT, dopo il tentativo effettuato con le terapie standard. Il tempo medio di sopravvivenza è stato stimato pari a 33.6 mesi. Un ulteriore lavoro da ricordare è stato fatto da due differenti gruppi giapponesi su pazienti con glioblastoma ricorrente tramite differenti tecniche [43, 44]. Il primo gruppo [43] ha trattato 21 pazienti con una somministrazione combinata di BPA e BSH, 10 di loro sono stati sottoposti alla BNCT standard e i restanti 11 sono stati sottoposti ad una terapia ad irraggiamento di raggi X ("X-ray irradiation therapy", XRT) dopo la BNCT. La sopravvivenza media complessiva è risultata essere dai 15 ai 20 mesi, quindi con entrambe le tecniche la BNCT ha dato risultati positivi. Il secondo gruppo [44] ha trattato un totale di 15 persone con una combinazione di BPA e BSH, ottenendo un tasso di sopravvivenza medio di circa 12 mesi. Sono stati effettuati studi anche su pazienti affetti da glioma maligno e meningioma, in entrambi i casi con risultati positivi [45, 46]. Oltre a questi risultati, il Giappone è attualmente molto impegnato nella ricerca volta a migliorare l'efficienza di questa tecnica terapeutica. Oltre a studi sull'utilizzo della BPA come composto borato utilizzabile per il cancro gastrointestinale ricorrente, è stato effettuato un esperimento riguardo un nuovo composto contenente BSH, detto emulsione WOW (dall'inglese "water-in-oil-in-water"), con buoni risultati per il momento [47]. È stata inoltre valutata la possibilità di curare il tumore ai polmoni tramite BNCT [48].

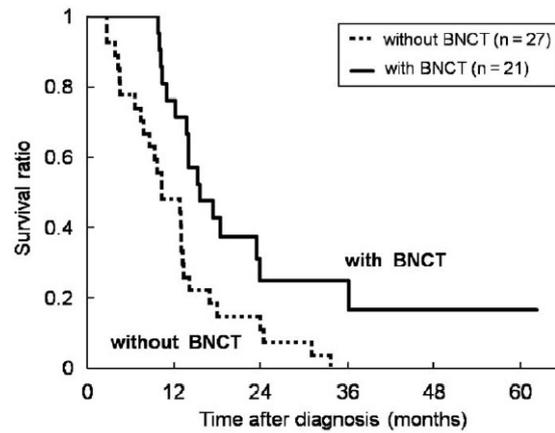


Figura 4.2: Tasso di sopravvivenza senza BNCT e con BNCT. Presa da [43].

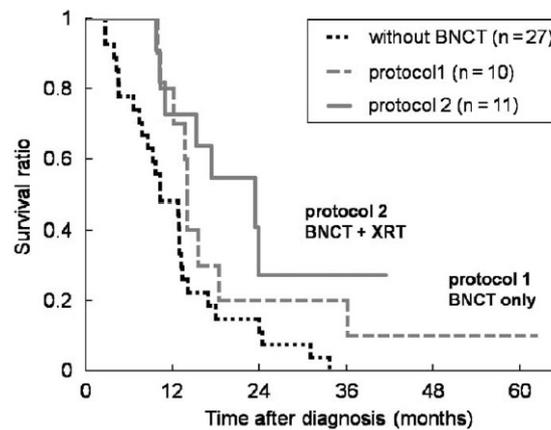


Figura 4.3: Tasso di sopravvivenza senza BNCT, con BNCT e con terapia combinata BNCT + XRT. Presa da [43].

Taiwan. Anche Taiwan ha sviluppato dal 2010 la BNCT basata sui reattori e al momento sono stati trattati 10 pazienti con uno stadio avanzato di tumore ricorrente della testa e del collo al reattore della National Tsing Hua University [49, 50]. I risultati di tale lavoro sono decisamente positivi: dopo 11 mesi dalla terapia 3 pazienti sono completamente guariti, 2 hanno riportato una stabilità nella malattia, 2 hanno riportato una progressione e i 3 rimanenti hanno risposto solo parzialmente alle cure.

4.2 BNCT in Italia e progetto TAOOrMINA

In Italia gli unici reattori di ricerca attivi sono i due reattori a Casaccia, vicino a Roma (uno termico, il TRIA RC-1, e uno veloce, il TAPIRO), il reattore AGN-201 “CO-STANZA” a Palermo e i due reattori a Pavia (TRIGA MARK II e SM-1). Il reattore di Casaccia che può essere utilizzato per la BNCT è il TAPIRO, ma attualmente sta ancora attraversando una fase di test preliminari. È ancora in costruzione l’acceleratore di Legnaro pensato per la AB-BNCT (“Accelerator Based - Boron Neutron Capture Therapy”). Il reattore di Palermo è usato per scopi didattici e per la produzione di radioisotopi mediante attivazione neutronica. Un ulteriore progetto italiano è il progetto PhoNeS, dall’inglese “Photo Neutron Source”, che coinvolge l’Università di Torino, l’Università di Trieste, l’Università dell’Insubria-Como, l’INFN di Torino e Trieste e l’Università di Pavia. Tale progetto si propone di sviluppare un efficace adattamento dei LINAC ospedalieri affinché possano essere utilizzati come sorgente di neutroni per la BNCT (tramite l’utilizzo dei raggi γ prodotti dall’acceleratore per la produzione di fotoneutroni), ma è attualmente ancora in fase di sperimentazione preclinica [27]. Il TRIGA di Pavia, in particolare, è stato protagonista nel pionieristico progetto TAOOrMINA: la prima BNCT al mondo effettuata su un organo espianato e poi reimpiantato.

Il progetto TAOOrMINA (“Trattamento Avanzato di Organi Mediante Irraggiamento Neutronico ed Autotrapianto”) è nato all’Università di Pavia nel 1987, quando sono cominciati gli studi su neoplasie epatiche multifocali (una forma di tumore al fegato), durati all’incirca 15 anni. Queste neoplasie risultano molto complicate da trattare con le terapie tradizionali. Infatti, in presenza di metastasi diffuse molto vicine ad altri organi vitali, l’esportazione chirurgica risulta impraticabile o troppo rischiosa, in più, se anche le metastasi dovessero essere ben confinate nel fegato, la disponibilità di organi per un trapianto è in generale sempre scarsa ed il trattamento antirigetto potrebbe provocare recidive o nuovi tumori [51]. La chemioterapia risulta spesso inefficace e molto invasiva e la tradizionale BNCT, nel caso in cui ci sia un numero molto elevato di metastasi, potrebbe non essere abbastanza efficace. Infatti alcune potrebbero essere talmente piccole da non essere rilevate dall’operatore, inducendo così una recidiva tumorale. Di fatto, esporre l’intero organo espianato al fascio neutronico presenta numerosi vantaggi [51]:

- non è indispensabile conoscere l’esatta localizzazione del tumore, in quanto a parità di flusso neutronico (utilizzando un fascio di neutroni isotropi) la dose assorbita dipende dalla concentrazione di ^{10}B , maggiore nelle cellule tumorali. Questa tecnica quindi, a differenza della tradizionale BNCT che utilizza fasci di neutroni termici collimati nel sito del tumore, garantisce una minor probabilità di recidiva: permette, infatti, di danneggiare irreversibilmente tutte le metastasi presenti, indipendentemente dalla loro dimensione e posizione nell’organo;

- il fegato, una volta espianato, viene perfuso con un agente di conservazione che priva l'organo del contenuto di sangue, espellendo così anche l'eventuale boro residuo nel flusso sanguigno ed abbassando quindi la dose di "background";
- si evita di irraggiare con neutroni altri tessuti radiosensibili, abbassando così ulteriormente la dose di "background".

Questa tecnica, naturalmente, deve essere in grado di mantenere inalterato il tessuto epatico sano in quanto, dopo il reimpianto, l'organo deve riprendere efficacemente tutte le proprie funzioni. Pertanto sono state individuate quattro condizioni necessarie ad ottenere tale risultato, mantenendo l'efficacia della terapia [51]:

- 1) la dose assorbita dal tessuto malato deve essere maggiore di quella assorbita dal tessuto sano di almeno un fattore 2;
- 2) la dose massima assorbita dal tessuto epatico sano deve essere inferiore alla soglia di tolleranza, pari (per questo tessuto) a 15 Gy-eq;
- 3) la dose minima assorbita dal tessuto tumorale deve essere non inferiore a 30 Gy-eq;
- 4) la durata dell'irraggiamento neutronico deve essere inferiore al tempo massimo di sopravvivenza del paziente in condizione anepatica (cioè in anestesia totale con il fegato rimosso).

Ovviamente per rispettare tali requisiti si ha la necessità di definire condizioni pratiche per applicare al meglio la terapia. Pertanto sono stati effettuati studi preliminari per definire tali condizioni [51, 52]. Per prima cosa è stato modificato il reattore Triga Mark II del LENA (Laboratorio Energia Nucleare Applicata) di Pavia per poter raggiungere un flusso neutronico con distribuzione uniforme con valori medi di circa $6 \times 10^9 \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Sono stati effettuati quindi studi *in vivo* su ratti con metastasi epatiche indotte e *in vitro* su cellule del carcinoma del colon dei suddetti ratti [51, 52]. Gli studi *in vivo*, volti a determinare il più consono composto borato da utilizzare e a verificare la fattibilità della terapia, hanno portato ai seguenti risultati. Per prima cosa il più adatto composto borato si è dimostrato essere la L-BPA legata al complesso D-fruttosio. Questo composto è stato iniettato endovena nei ratti con una dose pari a 300 mg/kg di peso corporeo. I risultati ottenuti hanno evidenziato che:

- la concentrazione di ^{10}B nel tessuto epatico sano (C_S) e in quello tumorale (C_T) dipende dall'intervallo di tempo t che intercorre fra l'iniezione del composto e il momento in cui viene prelevato il campione tissutale per l'analisi. Inoltre, per soddisfare la prima condizione del precedente elenco, occorre che il rapporto $T = C_T/C_S$ sia maggiore di 4;

- la concentrazione C_S massima, nell'intervallo t da 1 a 12 ore, è di 5.8 ppm;
- il massimo valore di T si ha nell'intervallo t compreso tra 2 e 4 ore. In tale intervallo la probabilità che T sia maggiore di 4 è pari all'80% e C_T risulta compresa tra 17.4 e 34.8 ppm, mentre C_S risulta circa 5.8 ppm.
- il tempo ottimale di irraggiamento risulta essere pari a 10-30 minuti (largamente compatibile con la sopravvivenza di un organismo in condizione anepatiche, che risulta di circa 8 ore), con una fluensa neutronica (cioè il numero di neutroni incidenti su unità di superficie) di $5 \times 10^{12} \text{ cm}^{-2}$;

In queste condizioni, stimando la dose di "background" pari a 7.3 Gy-eq ed utilizzando le formule (4.1) e (4.2), sono state calcolate la dose di radiazione assorbita dal tessuto sano (D_S) e la dose di radiazione assorbita dal tessuto tumorale (D_T):

$$D_S = 7.3 + 0.59 C_S \quad (4.1)$$

$$D_T = 7.3 + 1.71 C_S T \quad (4.2)$$

dove 0.59 Gy-eq/ppm è la dose assorbita dal tessuto sano con una concentrazione di boro pari a 1 ppm ed 1.71 Gy-eq è la dose specifica relativa al tessuto malato. Se nella prima delle equazioni si introduce il valore $C_S = 5.8 \text{ ppm}$, si ottiene una dose massima assorbita dalle cellule sane pari a 10.7 Gy-eq (al di sotto quindi della soglia di tolleranza per il tessuto epatico). Le dosi assorbite dal tessuto tumorale variano da 37.0 Gy-eq a 66.7 Gy-eq, inserendo nella seconda equazione valori di T compresi tra 3 e 6.

Durante gli studi *in vitro* la coltura cellulare è stata lasciata per 18 ore in una soluzione con BPA e, dopo essere stata sciacquata, è stata sottoposta ad una fluensa neutronica pari a $7 \times 10^{12} \text{ cm}^{-2}$ per 10 minuti [52]. La procedura ha evidenziato il decesso delle cellule tumorali (a causa di apoptosi cellulare, necrosi ed alterazioni del patrimonio genetico indotte dal trattamento radiante), accompagnato dall'assenza di danni nelle cellule sane.

Successivamente è stata testata su un ratto l'intera procedura, comprensiva di espian-to e reimpianto, tramite una tecnica di microchirurgia. Sono state quindi inoculate nell'animale 2×10^7 cellule di carcinoma del colon e, dopo dieci giorni di incubazione, è stata iniettata per via endovenosa una soluzione di BPA-fruttosio per una dose totale di 300 mg/kg di peso corporeo. Il lobo sinistro del fegato del ratto in esame era stato previamente clampato (cioè chiuso temporaneamente), pertanto, al contrario del lobo destro, non è stato aggredito dalle metastasi diffuse. Dopo due ore dall'infusione l'animale è stato sacrificato e il fegato irraggiato con una fluensa neutronica pari a $7 \times 10^{12} \text{ cm}^{-2}$. Successivamente è stato reimpiantato in un ratto diverso dal donatore sul quale era stata precedentemente effettuata l'epatectomia (rimozione del fegato). La dose calcolata di radiazioni assorbita dal tessuto malato e dal tessuto sano è risultata pari a 82.5 Gy-eq e 15 Gy-eq rispettivamente. In seguito sono stati trattati 39 fegati, provenienti da 12

ratti sani e 27 ratti malati, trapiantati poi in altrettanti ratti diversi dai donatori. Dopo sei mesi dall'irraggiamento gli animali sono stati uccisi per evitare complicanze dovute al rigetto e sono stati analizzati campioni di fegato sano e di fegato malato. I risultati hanno dimostrato l'efficacia della terapia: le cellule tumorali sono risultate in stato di necrosi o apoptosi, mentre quelle del tessuto epatico sano sono risultate prive di danni rilevanti.

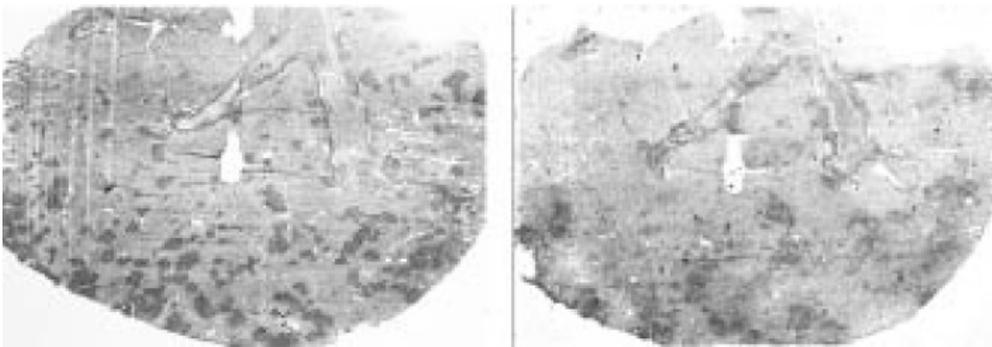


Figura 4.4: A sinistra il campione di fegato di ratto colorato per l'analisi istologica, a destra l'immagine della radiografia neutronica del secondo campione, adiacente al primo. Le macchie scure a sinistra sono metastasi, mentre le macchie scure a destra sono zone con maggior densità di boro: la corrispondenza indica il maggior assorbimento del boro da parte del tessuto tumorale rispetto al tessuto sano. Presa da [26].

Una volta appurata l'efficacia della tecnica terapeutica e dopo l'approvazione da parte del Ministero della Salute e del Comitato della Bioetica dell'IRCCS (Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico) Policlinico San Matteo di Pavia, è stata avviata la procedura per la prima applicazione clinica al mondo su un essere umano [51, 52]. Il paziente, maschio di 48 anni affetto da adenocarcinoma, era stato prima sottoposto, presso un altro ospedale, ad un'operazione di rimozione chirurgica che non ha dato risultati positivi. È stato quindi sottoposto ad una TAC total body per controllare lo stato della malattia e questa ha rivelato la presenza di metastasi solo all'interno del fegato. A questo punto è stato sottoposto a dieci cicli di chemioterapia, ma, anziché notare miglioramenti, si è notato un aumento delle metastasi: un chiaro caso clinico in cui le tradizionali terapie sono risultate inefficaci. Da qui è partita la proposta di applicare l'innovativo metodo precedentemente testato. Il 19 dicembre 2001 il paziente ha iniziato il percorso per sottoporsi alla prima BNCT al mondo con autotrapianto epatico. Per prima cosa è stata effettuata un'ecografia con contrasto micrograsso per ottenere una mappa in più possibile completa delle metastasi: se ne sono potute individuare 14. A questo punto è stata somministrata per via endovenosa una soluzione di BPA e fruttosio (300 mg/kg in 750 ml di fruttosio 0.14 M). Ad un'ora e, successivamente, a due ore dall'inizio dell'infusione

di BPA sono state eseguite due biopsie sia sul tessuto sano che sul tessuto tumorale per verificare e monitorare il rispettivo grado di acquisizione del boro. Si è potuta verificare nel tessuto malato e nel tessuto sano una concentrazione di ^{10}B a due ore dall'infusione pari a 47 ± 2 ppm e 8 ± 1 ppm, rispettivamente. È stata quindi praticata l'epatectomia ed il fegato è stato prima lavato su banco e poi posto all'interno di due sacchetti di Teflon (uno dentro l'altro) con una soluzione refrigerante. È stato successivamente posto in un ulteriore contenitore di Teflon con all'interno ghiaccio secco per mantenere la temperatura a circa $4\text{ }^\circ\text{C}$ durante il trasporto al rettore (a poche centinaia di metri dal Policlinico). A questo punto è stato sottoposto per 11 minuti al fascio neutronico con fluenza pari a $4\times 10^{12}\text{ cm}^{-2}$, determinando una dose di radiazioni assorbita pari a 66 ± 2 Gy-eq per il tessuto neoplastico e 9 ± 1 Gy-eq per il tessuto sano. Il fegato è stato quindi riportato al Policlinico per il reimpianto. La durata totale dell'intervento chirurgico è stata di 21 ore, con una fase anepatica di 5 ore e 30 minuti. Dopo l'intervento il paziente ha manifestato una leggera trombosi ed un'insufficienza renale ed epatica, tutti sintomi risolti gradualmente senza complicanze in una decina di giorni. A 9 mesi dalla terapia il paziente risultava in buone condizioni generali e le analisi mediante TAC e PET non hanno rivelato la presenza di metastasi.

Dopo questo successo, nel 2003 è stata proposta la stessa terapia ad un altro paziente affetto da adenocarcinoma [52]. Egli, maschio di 39 anni, presentava una situazione clinica più complessa in quanto le funzioni vitali residue del fegato risultavano essere del 58% (nel primo paziente erano del 63%) ed era affetto da cardiomiopatia dilatativa (una patologia cardiaca che non consente il corretto pompaggio del sangue agli altri organi). Le metastasi individuate con un'analisi ad ultrasuoni risultavano 11. La procedura è stata eseguita come per il primo paziente, con l'unica differenza nella durata dell'operazione chirurgica: 18 ore e 40 minuti, con un periodo anepatico di 6 ore e 10 minuti. Dopo l'intervento il paziente ha presentato sintomi molto simili al primo trattato, quali insufficienza renale e trombosi, che hanno portato ad un secondo intervento chirurgico. Alla fine del primo mese successivo alla terapia le condizioni del paziente sono notevolmente peggiorate e 33 giorni dopo l'intervento è deceduto. Un'autopsia ha potuto confermare la necrosi del tessuto neoplastico ed ha evidenziato una fibrosi di terzo grado nel tessuto epatico normale, probabilmente dovuta alle radiazioni assorbite e presente anche nel primo paziente. In quest'ultimo, 20 mesi dopo la terapia, è stato individuato un ulteriore nodulo, esterno al lobo sinistro del fegato, che è stato chirurgicamente rimosso. Il paziente, che aveva sempre rifiutato trattamenti antineoplastici successivi alla BNCT, è stato sottoposto ad un ciclo di chemioterapia. Nell'agosto 2004 è stato individuato un nuovo nodulo al fegato che ha costretto l'uomo ad affrontare ancora una volta il trattamento chemioterapico, purtroppo con scarsi risultati. Nel febbraio 2005 sono state individuate metastasi diffuse, alcune inoperabili e nell'arco di qualche mese il quadro clinico è precipitato. Nell'agosto 2005 il paziente, a 44 mesi dalla BNCT, è deceduto.

Ad oggi TAO_rMINA è stato abbandonato a causa della lunga durata della procedura e della sua complessità (<http://www.bnct.it/wp/about/>), ma ha portato alla conferma della grande efficacia e selettività della BNCT in ambito oncologico, consentendo ad un uomo con un'aspettativa di vita di 4-10 mesi (secondo la letteratura [53, 54]) di sopravvivere in buone condizioni fino a 44 mesi dopo il trattamento. Le ricorrenze neoplastiche sono sicuramente un aspetto negativo, tuttavia gli autori del progetto [52] ritengono che possano essere dovute a cellule refrattarie alla BNCT che, seppur con una probabilità molto bassa (1 cellula su 2000 secondo i loro studi su colture cellulari [52]), possono esistere.

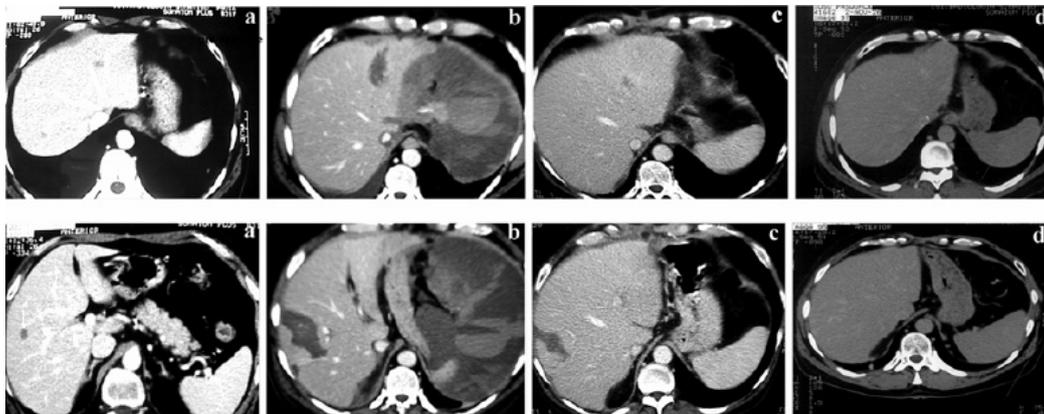


Figura 4.5: Sequenza di immagini CT del fegato soggetto a BNCT del primo paziente, a livello craniale (sopra) e caudale (sotto). (a): prima dell'operazione; (b): a 7 giorni; (c): a 6 mesi; (d): a 12 mesi dalla procedura. Presa da [52].

Conclusioni

Con questo lavoro si voleva fornire un quadro generale sulla *Boron Neutron Capture Therapy*, mettendo in evidenza gli aspetti positivi e le complicanze legate alla terapia. In particolare, si può concludere che la BNCT risulta efficace per la cura di tanti tumori non trattabili con le ordinarie terapie, come è stato illustrato nell'ultimo capitolo di questa tesi, e questo apre ad un'interessante prospettiva nella lotta contro le neoplasie, oltre alla possibilità (e questa è la cosa che preme maggiormente) di garantire una vita più lunga e dignitosa ai pazienti affetti.

Sicuramente la strada verso la totale efficienza di questa tecnica è ancora lunga, principalmente a causa della mancanza di attrezzature adeguate nei centri ospedalieri e alla necessità di migliorare gli agenti di trasporto del boro, come illustrato nel Capitolo 2, per renderli sempre più selettivi ed efficaci.

Bibliografia

- [1] Gordon L Locher. Biological effects and therapeutic possibilities of neutrons. *Am. J. Roentgenol*, 36(1):1–13, 1936.
- [2] P Gerald Kruger. Some biological effects of nuclear disintegration products on neoplastic tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 26(3):181–192, 1940.
- [3] Manucher Javid, Gordon L Brownell, and William H Sweet. The possible use of neutron-capturing isotopes such as boron10 in the treatment of neoplasms. II. Computation of the radiation energies and estimates of effects in normal and neoplastic brain. *Journal of Clinical Investigation*, 31(6):604, 1952.
- [4] Rolf F. et al. Barth. Dedication to Sweet and Hatanaka. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 28(5):1057–1058, 1994.
- [5] William H Sweet. Early history of development of boron neutron capture therapy of tumors. *Journal of neuro-oncology*, 33(1):19–26, 1997.
- [6] AH Soloway, H Hatanaka, and MA Davis. Penetration of brain and brain tumor. VII. Tumor-binding sulfhydryl boron compounds. *Journal of medicinal chemistry*, 10(4):714–717, 1967.
- [7] K. Sano. *Boron Neutron Capture Therapy for Brain Tumors*. Nishimura Co., 1986. Niigata, Japan.
- [8] S Altieri, T Pinelli, P Bruschi, F Fossati, A Zonta, C Ferrari, U Prati, L Roveda, S Barni, P Chiari, et al. Le basi fisiche della terapia per cattura neutronica. *Il Giovane Artigiano, Pavia*, 2003.
- [9] F Issa, JA Ioppolo, LM Rendina, J Reedijk, and K Poeppelmeier. 3.30 Boron and Gadolinium Neutron Capture Therapy. *Comprehensive Inorganic Chemistry II*, pages 877–900, 2013.

- [10] Lee E Farr, William H Sweet, JS Robertson, CG Foster, HB Locksley, DL Sutherland, ML Mendelsohn, and EE Stickley. Neutron capture therapy with boron in the treatment of glioblastoma multiforme. Technical report, Brookhaven National Lab., 1953.
- [11] John T Godwin, Lee E Farr, William H Sweet, and James S Robertson. Pathological study of eight patients with glioblastoma multiforme treated by neutron capture therapy using boron 10. *Cancer*, 8(3):601–615, 1955.
- [12] H. Hatanaka. *Clinical Results of Boron Neutron Capture Therapy*, pages 15–21. Springer US, Boston, MA, 1990. Harling, Otto K. and Bernard, John A. and Zamenhof, Robert G. (ed).
- [13] Masamitsu Ichihashi, Takafumi Nakanishi, and Yutaka Mishima. Specific killing effect of $^{10}\text{B}_1$ -Para-boronophenylalanine in thermal neutron capture therapy of malignant melanoma: In vitro radiobiological evaluation. *Journal of Investigative Dermatology*, 78(3):215 – 218, 1982.
- [14] H. Fukuda, J. Hiratsuka, C. Honda, T. Kobayashi, K. Yoshino, H. Karashima, J. Takahashi, Y. Abe, K. Kanda, M. Ichihashi, and Y. Mishima. Boron Neutron Capture Therapy of Malignant Melanoma Using ^{10}B -Paraboronophenylalanine with special reference to evaluation of radiation dose and damage to the normal skin. *Radiation Research*, 138(3):435–442, 1994.
- [15] J.A. Coderre, R.G. Fairchild, P.L. Micca, D.D. Joel, J.D. Glass, and I. Fand. Selective delivery of boron by the melanin precursor analogue p-Boronophenylalanine to tumors other than melanoma. *Cancer Research*, 50(1):138–141, 1990. cited By 68.
- [16] Weilian Yang, Rolf F. Barth, Joan H. Rotaru, Melvin L. Moeschberger, Darrel D. Joel, Marta M. Nawrocky, Joseph H. Goodman, and Albert H. Soloway. Boron neutron capture therapy of brain tumors: Enhanced survival following intracarotid injection of sodium borocaptate with or without blood-brain barrier disruption. *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics*, 37(3):663 – 672, 1997.
- [17] Rolf F. Barth, Weilian Yang, Joan H. Rotaru, Melvin L. Moeschberger, Darrel D. Joel, Marta M. Nawrocky, Joseph H. Goodman, and Albert H. Soloway. Boron Neutron Capture Therapy of Brain Tumors: Enhanced survival following intracarotid injection of either Sodium Borocaptate or Boronophenylalanine with or without Blood-Brain Barrier disruption. *Cancer Research*, 57(6):1129–1136, 1997.
- [18] Masao Takagaki, Walda Powell, Anop Sood, Bernard F Spielvogel, Narayan S Hosmane, Mitsunori Kirihata, Koji Ono, Shin-Ichiro Masunaga, Yuko Kinashi, Shin-

- Ichi Miyatake, et al. Boronated dipeptide borotrimethylglycylphenylalanine as a potential boron carrier in boron neutron capture therapy for malignant brain tumors. *Radiation research*, 156(1):118–122, 2001.
- [19] Hiroyuki Nakamura, Yusuke Miyajima, Toshiaki Takei, Satoshi Kasaoka, and Kazuo Maruyama. Synthesis and vesicle formation of a nido-carborane cluster lipid for boron neutron capture therapy. *Chem. Commun.*, pages 1910–1911, 2004.
- [20] Kazuo Maruyama, Osamu Ishida, Satoshi Kasaoka, Tomoko Takizawa, Naoki Uto-guchi, Atsuko Shinohara, Momoko Chiba, Hisao Kobayashi, Masazumi Eriguchi, and Hironobu Yanagie. Intracellular targeting of sodium mercaptoundecahydro-dodecaborate (BSH) to solid tumors by transferrin-PEG liposomes, for boron neutron-capture therapy (BNCT). *Journal of Controlled Release*, 98(2):195 – 207, 2004.
- [21] Otto K Harling and Kent J Riley. Fission reactor neutron sources for neutron capture therapy—a critical review. *Journal of neuro-oncology*, 62(1):7–17, 2003.
- [22] Andres Juan Kreiner, Javier Bergueiro, Daniel Cartelli, Matias Baldo, Walter Castell, Javier Gomez Asoia, Javier Padulo, Juan Carlos Surez Sandn, Marcelo Igarzabal, Julian Erhardt, Daniel Mercuri, Alejandro A. Valda, Daniel M. Minsky, Mario E. Debray, Hector R. Somacal, Mara Eugenia Capoulat, Mara S. Herrera, Mariela F. del Grosso, Leonardo Gagetti, Manuel Suarez Anzorena, Nicolas Canepa, Nicolas Real, Marcelo Gun, and Hernn Tacca. Present status of Accelerator-Based BNCT. *Reports of Practical Oncology & Radiotherapy*, 21(2):95 – 101, 2016. 7th Young {BNCT} meeting.
- [23] A.J. Kreiner, M. Baldo, J.R. Bergueiro, D. Cartelli, W. Castell, V. Thatar Vento, J. Gomez Asoia, D. Mercuri, J. Padulo, J.C. Suarez Sandin, J. Erhardt, J.M. Kesque, A.A. Valda, M.E. Debray, H.R. Somacal, M. Igarzabal, D.M. Minsky, M.S. Herrera, M.E. Capoulat, S.J. Gonzalez, M.F. del Grosso, L. Gagetti, M. Suarez Anzorena, M. Gun, and O. Carranza. Accelerator-based BNCT. *Applied Radiation and Isotopes*, 88:185 – 189, 2014. 15th International Congress on Neutron Capture Therapy Impact of a new radiotherapy against cancer.
- [24] Tetsuya Yamamoto, Koji Tsuboi, Kei Nakai, Hiroaki Kumada, Hideyuki Sakurai, and Akira Matsumura. Boron neutron capture therapy for brain tumors. *Translational Cancer Research*, 2(2):80–86, 2013.
- [25] G. Gambarini, S. Agosteo, P. Marchesi, E. Nava, P. Palazzi, A. Pecci, G. Rosi, and R. Tinti. Discrimination of various contributions to the absorbed dose in BNCT: Fricke-gel imaging and intercomparison with other experimental results. *Applied Radiation and Isotopes*, 53(45):765 – 772, 2000.

- [26] S. Altieri. La cura delle metastasi epatiche diffuse mediante il metodo TAO_rMINA. *La fisica nella scuola*, Numero speciale(4):150–155, ottobre-dicembre 2003.
- [27] Gianrossano Giannini, Fernando Liello, Franco Calligaris, Renata Longo, Giovanni Scian., Alba Zanini, Ugo Nastasi, Elisabetta Durisi, Floriana Fasolo, Angelo Piermattei, Andrea Fidanzio, and Claudia Dell’Omo. PhoNeS (Photo Neutron Source). Sorgente per (γ, n) BNCT.
- [28] J.C. Gore, Y. S. Kang, and R.J. Schulz. Measurement of radiation dose distributions by nuclear magnetic resonance (NMR) imaging. *Phys. Med. Biol.*, 29(10):1189–1197, 1984.
- [29] G Gambarini, G Gomasasca, R Marchesini, A Pecci, L Pirola, and S Tomatis. Three-dimensional determination of absorbed dose by spectrophotometric analysis of ferrous-sulphate agarose gel. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 422(13):643 – 648, 1999.
- [30] R. Bergland, E. Elowitz, J. A. Coderre, D. Joel, and M. Chadha. *A Phase 1 Trial of Intravenous Boronophenylalanine-Fructose Complex in Patients with Glioblastoma Multiforme*, pages 739–745. Springer US, Boston, MA, 1996. Mishima, Yutaka (ed).
- [31] Jeffrey A Coderre, Arjun D Chanana, Darrel D Joel, Eric H Elowitz, Peggy L Micca, Marta M Nawrocky, Manjeet Chadha, Jan-Olaf Gebbers, Magdy Shady, Nancy S Peress, et al. Biodistribution of boronophenylalanine in patients with glioblastoma multiforme: boron concentration correlates with tumor cellularity. *Radiation research*, 149(2):163–170, 1998.
- [32] Arjun D Chanana, Jacek Capala, Manjeet Chadha, Jeffrey A Coderre, Aidnag Z Diaz, Eric H Elowitz, Junichi Iwai, Darrel D Joel, Hunguan B Liu, Ruimei Ma, et al. Boron neutron capture therapy for glioblastoma multiforme: interim results from the phase I/II dose-escalation studies. *Neurosurgery*, 44(6):1182–1192, 1999.
- [33] P Busse, R Zamenhof, O Harling, Irving Kaplan, Cynthia F Chuang Jody Kaplan, John T Goorley, WS Kiger III, Kent J Riley, Lujia Tang, Guido R Solares, et al. The Harvard-MIT BNCT program. *Frontiers in neutron capture therapy*, pages 37–60, 2001.
- [34] Matthew R Palmer, J Timothy Goorley, WS Kiger, Paul M Busse, Kent J Riley, Otto K Harling, and Robert G Zamenhof. Treatment planning and dosimetry for the Harvard-MIT Phase I clinical trial of cranial neutron capture therapy. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 53(5):1361–1379, 2002.

- [35] JA Coderre, JW Hopewell, JC Turcotte, KJ Riley, PJ Binns, WS Kiger, and OK Harling. Tolerance of normal human brain to boron neutron capture therapy. *Applied radiation and isotopes*, 61(5):1083–1087, 2004.
- [36] Jacek Capala, Britta H.-Stenstam, Kurt Sköld, Per Munck af Rosenschöld, Valerio Giusti, Charlotta Persson, Eva Wallin, Arne Brun, Lars Franzen, Jörgen Carlsson, Leif Salford, Crister Ceberg, Bertil Persson, Luigi Pellettieri, and Roger Henriksen. Boron neutron capture therapy for glioblastoma multiforme: clinical studies in Sweden. *Journal of Neuro-Oncology*, 62(1):135–144, 2003.
- [37] Rolf F Barth, Jeffrey A Coderre, M Graça H Vicente, and Thomas E Blue. Boron neutron capture therapy of cancer: current status and future prospects. *Clinical Cancer Research*, 11(11):3987–4002, 2005.
- [38] Raymond L Moss. Critical review, with an optimistic outlook, on Boron Neutron Capture Therapy (BNCT). *Applied Radiation and Isotopes*, 88:2–11, 2014.
- [39] L Kankaanranta, H Kiovanoro, T Seppala, et al. Outcome of the first twelve patients with locally recurred inoperable head and neck cancer treated in the Finnish head and neck cancer BNCT trial. In *Proceedings of 13th International Congress on Neutron Capture Therapy, Florence, Italy, November*, pages 2–7, 2008.
- [40] Sauli Savolainen, Mika Kortensniemi, Marjut Timonen, Vappu Reijonen, Linda Kuusela, Jouni Uusi-Simola, Eero Salli, Hanna Koivunoro, Tiina Seppl, Nadja Linnroth, Petteri Vlimki, Heini Hyvnen, Petri Kotiluoto, Tom Sern, Antti Kuronen, Sami Heikkinen, Antti Kosunen, and Iiro Auterinen. Boron neutron capture therapy (BNCT) in Finland: Technological and physical prospects after 20 years of experiences. *Physica Medica*, 29(3):233 – 248, 2013.
- [41] Leena Kankaanranta, Kauko Saarilahti, Antti Mäkitie, Petteri Välimäki, Mikko Tenhunen, and Heikki Joensuu. Boron neutron capture therapy (BNCT) followed by intensity modulated chemoradiotherapy as primary treatment of large head and neck cancer with intracranial involvement. *Radiotherapy and Oncology*, 99(1):98–99, 2011.
- [42] N.Fuwa, M.Suzuki, Y.Sakurai, K.Nagata, Y.Kinashi, S.Masunaga, A.Maruhashi, Y.Imahori, T.Kodaira, H.Tachibana, T.Nakamura, and K.Ono. Treatment results of boron neutron capture therapy using intra-arterial administration of boron compounds for recurrent head and neck cancer. *The British Journal of Radiology*, 81(969):749–752, 2008. PMID: 18541628.
- [43] Shinji Kawabata, Shin-Ichi Miyatake, Naosuke Nonoguchi, Ry. Hiramatsu, Kyoko Iida, Shiro Miyata, Kunio Yokoyama, Atsushi Doi, Yuzo Kuroda, Toshihiko Kuroi-

- wa, Hiroyuki Michiue, Hiroaki Kumada, Mitsunori Kirihata, Yoshio Imahori, Akira Maruhashi, Yoshinori Sakurai, Minoru Suzuki, Shin-Ichiro Masunaga, and Koji Ono. Survival benefit from boron neutron capture therapy for the newly diagnosed glioblastoma patients. *Applied Radiation and Isotopes*, 67(78, Supplement):S15 – S18, 2009. 13th International Congress on Neutron Capture Therapy BNCT: a new option against cancer.
- [44] Tetsuya Yamamoto, Kei Nakai, Teruyoshi Kageji, Hiroaki Kumada, Kiyoshi Endo, Masahide Matsuda, Yasushi Shibata, and Akira Matsumura. Boron neutron capture therapy for newly diagnosed glioblastoma. *Radiotherapy and Oncology*, 91(1):80 – 84, 2009.
- [45] Shin-Ichi Miyatake, Shinji Kawabata, Kunio Yokoyama, Toshihiko Kuroiwa, Hiroyuki Michiue, Yoshinori Sakurai, Hiroaki Kumada, Minoru Suzuki, Akira Maruhashi, Mitsunori Kirihata, and Koji Ono. Survival benefit of Boron neutron capture therapy for recurrent malignant gliomas. *Journal of Neuro-Oncology*, 91(2):199, 2008.
- [46] George W. Kabalka, Gary T. Smith, Jonathan P. Dyke, William S. Reid, and et al. Evaluation of fluorine-18-BPA-fructose for boron neutron capture treatment planning. *The Journal of Nuclear Medicine*, 38(11):1762–7, 11 1997. Copyright - Copyright Society of Nuclear Medicine Nov 1997; Ultimo aggiornamento - 2012-02-25; CODEN - JNMEAQ.
- [47] Hironobu Yanagie, Syushi Higashi, Koji Seguchi, Ichiro Ikushima, Mituteru Fujihara, Yasumasa Nonaka, Kazuyuki Oyama, Syoji Maruyama, Ryo Hatae, Minoru Suzuki, Shin ichiro Masunaga, Tomoko Kinashi, Yoshinori Sakurai, Hiroki Tanaka, Natsuko Kondo, Masaru Narabayashi, Tetsuya Kajiyama, Akira Maruhashi, Koji Ono, Jun Nakajima, Minoru Ono, Hiroyuki Takahashi, and Masazumi Eriguchi. Pilot clinical study of boron neutron capture therapy for recurrent hepatic cancer involving the intra-arterial injection of a 10BSH-containing WOW emulsion. *Applied Radiation and Isotopes*, 88:32 – 37, 2014. 15th International Congress on Neutron Capture Therapy Impact of a new radiotherapy against cancer.
- [48] Minoru Suzuki, Osamu Suzuki, Yoshinori Sakurai, Hiroki Tanaka, Natsuko Kondo, Yuko Kinashi, Shin-ichiro Masunaga, Akira Maruhashi, and Koji Ono. Reirradiation for locally recurrent lung cancer in the chest wall with boron neutron capture therapy (BNCT). *International Cancer Conference Journal*, 1(4):235–238, 2012.
- [49] Y.-W.H Liu, T.T Huang, S.H Jiang, and H.M Liu. Renovation of epithermal neutron beam for BNCT at THOR. *Applied Radiation and Isotopes*, 61(5):1039 – 1043, 2004. Topics in Neutron Capture Therapy: Proceedings of the Eleventh World Congress on Neutron Capture Therapy (ISNCT-11).

- [50] LW Wang, SJ Wang, PY Chu, CY Ho, SH Jiang, YW Hsueh Liu, YH Liu, HM Liu, JJ Peir, FI Chou, et al. BNCT for locally recurrent head and neck cancer: preliminary clinical experience from a phase I/II trial at tsing hua open-pool reactor. *Applied Radiation and Isotopes*, 69(12):1803–1806, 2011.
- [51] A.Zonta, T.Pinelli, U.Prati, L.Roveda, F.Fossati, A.Altieri, R.Nano, S.Barni, C.Ferrari, F.Caramella, A.Sgarella, M.Alessiani, P.Chiari, G.Grugnetti, T.S.Ngntingeu, J.Bakeine, S.Zonta, P.Valsecchi, A.DeRoberto, P.Marotta, C.Rossella, R.Grignani, F.Trotta, G.Bernardi, P.Bruschi, C.Zonta, A.Clerici, A.Boninella, and S.Rota. La terapia per cattura neutronica (BNCT) dei tumori epatici diffusi: prima applicazione clinica. In *Recenti acquisizioni del traumatizzato cranio-vertebrale ed addominale*, 2003.
- [52] A Zonta, U Prati, L Roveda, C Ferrari, S Zonta, Am Clerici, C Zonta, T Pinelli, F Fossati, S Altieri, S Bortolussi, P Bruschi, R Nano, S Barni, P Chiari, and G Mazzini. Clinical lessons from the first applications of BNCT on unresectable liver metastases. *Journal of Physics: Conference Series*, 41(1):484, 2006.
- [53] BM Jaffe, WL Donegan, F Watson, and JS Spratt. Factors influencing survival in patients with untreated hepatic metastases. *Surgery, gynecology & obstetrics*, 127(1):1–11, 1968.
- [54] T Pinelli, A Zonta, S Altieri, S Barni, A Braghieri, P Pedroni, P Bruschi, P Chiari, C Ferrari, and C Zonta. TAOrMINA: from the first idea to the application to the human liver. *Research and development in neutron capture therapy (Se 8-13, 2002, Essen, Germany)*. Moduzzi Editore, pages 1065–72, 2002.