

---

ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITÀ DI BOLOGNA  
CAMPUS DI CESENA  
DIPARTIMENTO DI  
INGEGNERIA DELL'ENERGIA ELETTRICA E  
DELL'INFORMAZIONE  
*“GUGLIELMO MARCONI”*

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

TITOLO DELL'ELABORATO

*Metastasi ossee: epidemiologia, caratteristiche meccaniche e  
metodi di indagine*

Elaborato in:

*Comportamento meccanico dei materiali (CMM)*

Relatore:

Luca Cristofolini

Presentata da:

Luca Pavirani

---

Anno accademico 2019/2020

*Non come chi vince sempre,  
ma come chi non si arrende mai.*

*Frida Khalo*

## Indice

1. Introduzione .....	5
2. Epidemiologia .....	8
2.1. Meccanismi di proliferazione .....	9
2.2. Incidenze.....	11
2.3. Sopravvivenza media .....	13
3. Metodi diagnostici .....	15
3.1. Scintigrafia .....	15
3.2. Radiografia.....	16
3.3. Tomografia computerizzata .....	18
3.4. Mielografia .....	19
3.5. Risonanza magnetica .....	19
3.6. Tomografia ad emissione di positroni.....	21
3.7. Biopsia .....	23
4. Tecniche per la valutazione delle proprietà meccaniche.....	24
4.1. Criterio di Mirels.....	24
4.2. SINS .....	25
4.3. Test meccanici.....	26
4.3.1. Prove su osso intero .....	27
4.3.2. Test di resistenza tissutale .....	30
4.3.3. Micro-indentazione.....	30
4.3.4. Nano-indentazione.....	31
4.4. Metodo degli elementi finiti (FEM).....	32
5. Caratteristiche meccaniche .....	34
6. Trattamenti.....	45
6.1. Radioterapia.....	45
6.2. Chemioterapia e ormonoterapia .....	46
6.3. Bifosfonati .....	47

6.4. Chirurgia .....	48
7. Conclusioni .....	49
8. Bibliografia e sitografia .....	50
9. Ringraziamenti .....	55

# 1. Introduzione

I tumori ossei metastatici sono molto diffusi e rappresentano un problema da analizzare in quanto possono sfociare in gravi lesioni patologiche anche a seguito di lievi esposizioni meccaniche.

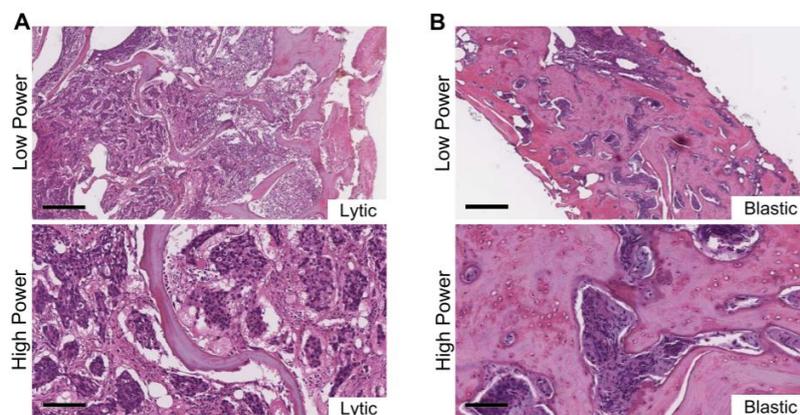
Il cancro al seno, alla prostata, ai polmoni e altri tipi possono espandersi e quindi metastatizzare nelle ossa, nuocendo l'integrità meccanica e aumentando così il rischio di fratture patologiche (Kaneko et al., 2003). Questo aspetto avviene circa tra un terzo e la metà dei tumori (Coleman, 2006) e per questo risulta di particolare interesse affrontare lo studio delle proprietà meccaniche che derivano da un'infiltrazione tumorale di questo tipo.

Il tumore osseo metastatico è una malattia che non prende origine dall'osso stesso, ma è causato dalla migrazione di cellule tumorali in questa sede a seguito di un tumore primario (Ratasvuori et al., 2013).

La normale funzionalità dell'osso è mantenuta grazie ad un particolare processo che permette di mantenere un equilibrio tra la quantità di tessuto osseo che viene persa e quella che viene formata. In particolare è garantito dall'azione sinergica degli osteoblasti e osteoclasti. I primi hanno un ruolo attivo nel rimodellamento in quanto secernono componenti organiche della matrice e regolano la deposizione di sali minerali. I secondi hanno l'obiettivo principale di riassorbimento osseo al fine di formare un compartimento extracellulare midollare dove inducono un aumento di secrezione di acido cloridrico, enzimi proteolitici ed altre proteine acide necessarie all'acidificazione e digestione della matrice organica ed inorganica dell'osso (Milano et al., 2010). Nel momento in cui la massa tumorale colpisce il tessuto osseo, l'equilibrio viene perso, con conseguente impoverimento delle proprietà meccaniche (Mercadante, 1997). Esistono diversi tipi di tumori metastatici i quali vengono classificati in base a come influenzano l'equilibrio di rimodellamento osseo: osteolitico, presenta un forte indebolimento dell'osso in quanto si ha la distruzione dello stesso e di conseguenza comporta un alto rischio di fratture; osteoblastico, caratterizzato da un'eccessiva formazione di tessuto osseo privo di una struttura ordinata e per questo meno resistente; misto, nel caso siano presenti sia caratteri osteolitici che osteoblastici (Macedo et al., 2017). La diagnosi avviene principalmente tramite radiografia, dove è possibile identificare il tipo di lesione subito dal paziente. Per quanto possa essere immediato il riconoscimento di una riduzione di qualità ossea nel caso di tumore

osteolitico, a causa della riduzione di tessuto osseo, lo stesso non si può dire per lesioni blastiche e miste. Infatti, essendo presente un aumento di osso non è possibile definire a priori quanto sia degradato. Ciò è dovuto al fatto che radiograficamente si osserva una porzione di osso semplicemente più sviluppata.

Tra i vari tipi di tumori, le metastasi ossee sono quelle che comportano un maggior dolore (Coleman, 2006) e per questo è importante intervenire in modo tale da assicurare una buona qualità di vita al paziente. Nonostante ciò, alcuni pazienti non riportano alcun tipo di dolore (Ratasvuori et al., 2013). Le metastasi ossee, oltre a causare dolore, possono comportare la compressione della radice del nervo o del midollo spinale, fratture vertebrali o periferiche, ipercalcemia e infine infiltrazione del midollo osseo che porta alla citopenia (Turpin et al., 2020).



*Figura 1. Analisi istologica di metastasi ossea a seguito di tumore prostatico. L'utilizzo di ematossilina e eosilina permette di evidenziare i caratteri distruttivi del tumore litico (A) e la nuova formazione di tessuto osseo con eccesso di matrice e collagene nel blastico (B) (Ihle et al., 2019).*

Per quanto riguarda le effettive proprietà meccaniche ad oggi rilevate, sono presenti ancora molti dubbi e in letteratura non si hanno dati certi. Gli studi hanno però dimostrato che il cancro provoca un danno maggiore alla robustezza in compressione rispetto a trazione di circa il 15% (T.S. Kaneko et al.). Questa evidenza appare significativa in quanto le ossa vengono maggiormente caricate in compressione piuttosto che a trazione.

La maggior parte delle ricerche vengono effettuate su ossa prelevate da cadaveri i quali presentavano lesioni metastatiche o tumori primari, oppure su animali ai quali vengono iniettati cellule tumorali che andranno poi a metastatizzare nelle ossa. A causa della carenza di provini di ossa affette da metastasi e soprattutto per l'impossibilità di valutare l'integrità dell'osso con test meccanici su pazienti in vita, i dati

ottenuti sperimentalmente vengono generalmente confrontati con dati ottenuti tramite analisi numerica in modo tale da verificare la compatibilità e l'affidabilità riportata da questi ultimi. I tumori ossei metastatici vanno a indebolire l'osso compromettendo le proprietà meccaniche e ciò può portare a lesioni patologiche spontanee. Per questo motivo, molti studi vengono eseguiti apportando carichi atti a mimare situazioni di soggetto in piedi o movimenti comuni quali camminare.

Ad oggi, uno dei problemi più significativi in questo ambito risulta essere proprio la caratterizzazione delle proprietà meccaniche al fine di fornire la miglior diagnosi specifica per ogni paziente. Questo permette di evitare l'intervento chirurgico in pazienti nei quali non risulta strettamente necessario e allo stesso tempo prevenire ingenti danni in soggetti ad alto rischio. Uno dei metodi maggiormente utilizzati è il criterio di Mirels, esso consiste nell'utilizzo di un sistema di punteggio ponderato per valutare il rischio di fratture ossee a seguito di lesioni metastatiche (Mirels, 1989). Recentemente, sono stati sviluppati altri metodi più accurati come la tomografia computerizzata (TC) che permette di considerare la specifica geometria e di localizzare le zone affette da metastasi al fine di valutarne le proprietà meccaniche. Essa include il metodo degli elementi finiti (FE), talvolta questo tipo di analisi risulta inadeguata in letteratura in quanto per valutare le condizioni delle ossa affette da metastasi, si utilizzano parti di ossa sane con difetti ottenuti artificialmente per ricreare la lesione, ma è stato dimostrato discostarsi molto dalla realtà.

Alcuni pazienti affetti da cancro potrebbero avere un indebolimento meccanico dell'osso come se avessero delle metastasi, anche se non ci sono evidenze radiografiche dello sviluppo metastatico.

L'effettiva presenza di lesioni può anche essere rilevata, oltre alla CT scan, tramite l'utilizzo di risonanza magnetica (MRI) che fornisce un'elevata risoluzione spaziale ed è una metodica non invasiva, o ancora, tramite tomografia ad emissione di positroni (PET). Quest'ultima metodica risulta leggermente meno utilizzata in quanto si ha l'inserimento endovenoso di un isotopo radioattivo e perciò risulta essere invasiva. Infine potrebbe essere riscontrata effettuando una biopsia ossea. Ad oggi, non esiste alcuna tecnica che è in grado, singolarmente, di stimare ogni tipo di metastasi ossea proveniente dai vari tumori (Turpin et al., 2020).

Come precedentemente riportato le lesioni metastatiche sono particolarmente dolorose e per questo motivo i primi approcci per il trattamento delle stesse sono generalmente di tipo palliativo. Per esempio si utilizzano tecniche quali chemioterapia,

radioterapia, ormonoterapia o bifosfonati a seconda di quale sia il tumore primario (Szendrői et al., 2017). Inoltre, si ricorre all'intervento chirurgico nel caso in cui si ritenga che il paziente sia ad elevato rischio di frattura patologica.

La sopravvivenza media è fortemente condizionata dal tipo di tumore primario, ad esempio per quanto riguarda il cancro alla prostata e al seno, la stima della sopravvivenza media varia dai 4 ai 6 anni dal momento in cui vengono diagnosticati (Coleman, 2006).

## 2. Epidemiologia

Il cancro è la seconda causa principale di morte, infatti secondo i dati riportati dal World Health Organization (WHO) nel 2018 circa 9.6 milioni di persone sono morte di cancro, in altre parole una morte su 6 rispetto ai decessi totali. Durante gli ultimi anni, i casi che riportano questa malattia sono aumentati di circa il 18%, ma con una mortalità pressoché costante (+2%)(Ratasvuori et al., 2013). Questo significa che nonostante la malattia si stia espandendo, le conoscenze su di essa e su come trattarla vanno a pari passo.

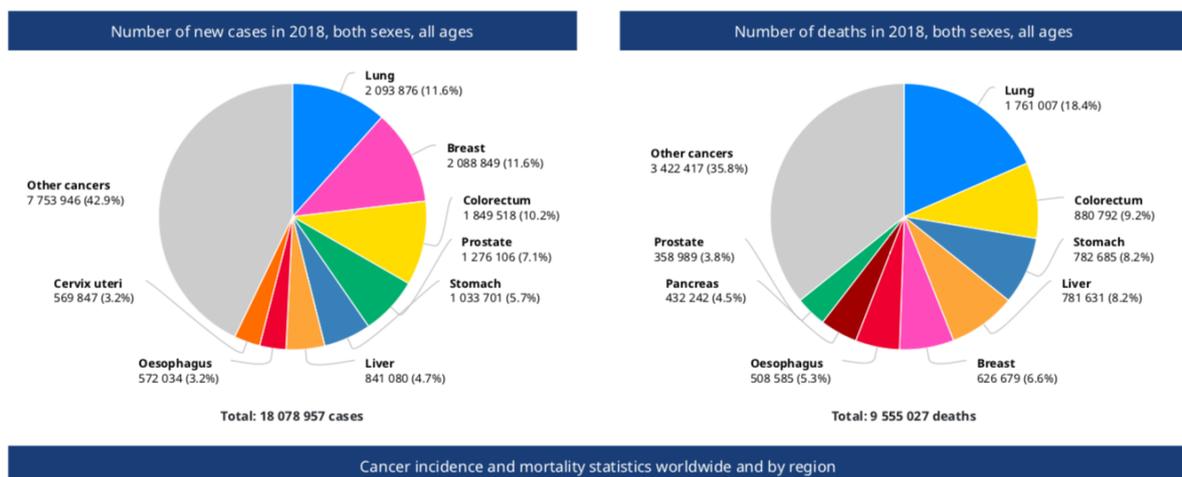


Figura 2. Numero di nuovi casi di cancro e numero di morti nel 2018. Dati ottenuti dal WHO (World Health Organization, 2018).

È ormai noto che la determinazione degli organi colpiti dalle metastasi è fortemente influenzata dalla posizione e dal tipo di cancro primario. Per esempio il cancro al seno

e alla prostata hanno una maggior probabilità di metastatizzare nelle ossa, mentre il cancro al colon spesso colpisce il fegato (Chambers et al., 2002).

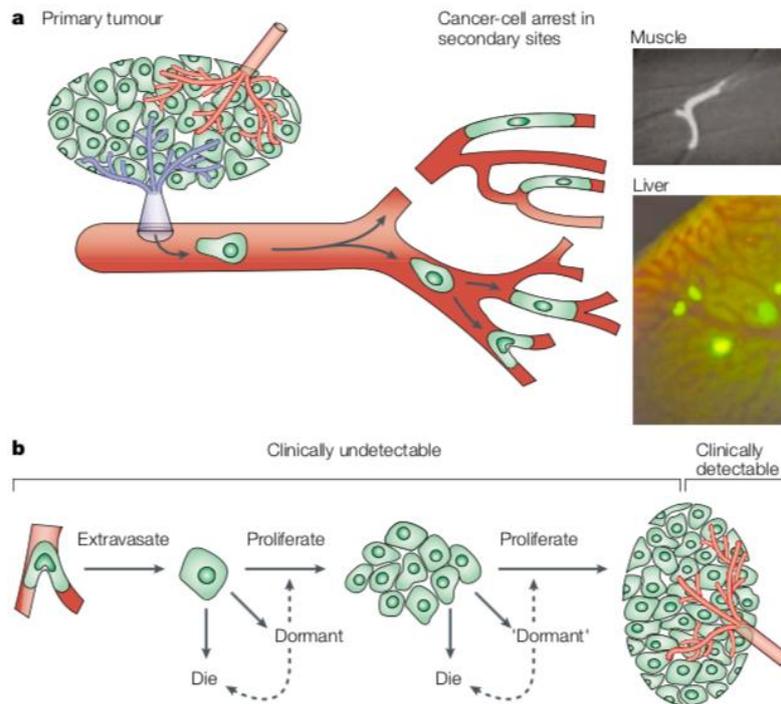
Il sistema scheletrico è uno dei siti maggiormente colpiti dopo i polmoni e il fegato (Szendrői et al., 2017), questo è dovuto al fatto che le cellule tumorali sono particolarmente attratte dall'osso in quanto è una zona molto vascolarizzata e in più il microambiente osseo è ricco di fattori di crescita i quali permettono la loro sopravvivenza e proliferazione (Milano et al., 2010). Si tratta infatti di una percentuale elevatissima di tumori metastatici che colpiscono le ossa, tra il 60-84% dei casi (Mercadante, 1997).

## **2.1 Meccanismi di proliferazione**

Il processo di espansione tumorale in altri distretti corporei è formato da diverse fasi, tutte ugualmente importanti per la completa diffusione delle cellule. Innanzitutto, a seguito dello sviluppo del tumore primario, la massa tumorale deve consentire un apporto sanguigno sufficiente a soddisfare il fabbisogno metabolico – processo chiamato angiogenesi. I vasi sanguigni vengono sfruttati anche per la propagazione, a livello del sistema circolatorio, delle cellule tumorali – intravasazione. Inoltre, la diffusione delle cellule malate può avvenire mediante il sistema linfatico. A questo punto, le cellule devono sopravvivere all'interno dell'apparato circolatorio finché non incontrano un organo target dove si legheranno alla membrana basale endoteliale. Qui avverrà la penetrazione del parenchima del tessuto sottostante – extravasazione. Infine, come ultimo step, si ha una progressiva crescita cellulare (Chambers et al., 2002; Milano et al., 2010).

Esperimenti basati sullo studio della proliferazione delle metastasi riportano che i fattori principali che determinano lo sviluppo delle cellule tumorali in particolari organi target sono dovuti sia a fattori meccanici, quali la quantità di cellule che vengono consegnate a un organo e la loro dimensione, sia rispettando la teoria del “seed and soil” (Chambers et al., 2002). Quest'ultima venne proposta da Stephen Paget nel 1889 per spiegare il comportamento non casuale delle metastasi tumorali (Kakhki et al., 2013). Egli affermava infatti che, certe cellule tumorali (il seme) crescono più facilmente in un particolare microambiente che dipenderà dall'organo selezionato (il terreno) e quindi che le metastasi si sviluppano solamente quando “il seme” arriva nel suo “terreno” preferito (Langley & Fidler, 2011). Come detto precedentemente, questa teoria non

descrive completamente lo sviluppo metastatico. Essa è infatti affiancata dalla teoria sviluppata qualche decennio dopo da Ewing la quale riporta che la proliferazione delle



*Figura 3. a) cellule tumorali fuoriescono dal sito primario, si diffondono nel sistema circolatorio e si fanno trasportare fino ad un nuovo organo. A questo punto entreranno nei capillari dove si bloccheranno a causa delle dimensioni e saranno sottoposti a differenti pressioni. In figura sono riportate immagini di muscoli e fegato, il primo ad alta pressione mentre il secondo a bassa pressione. b) una volta che le cellule raggiungono il sito anatomico, possono presentarsi in forma singola, metastasi pre-angiogenica o in una vasta comunità cellulare. Generalmente le cellule singole o micrometastasi non sono identificabili tramite tecniche di imaging. Le cellule hanno 3 possibili processi e a seconda di quale prevarrà saranno presenti differenti destini: morire, rimanere in uno stato dormiente oppure proliferare e accrescere gradualmente la massa tumorale. (Chambers et al., 2002)*

cellule tumorali è in primis un evento meccanico. Secondo Ewing, le cellule tumorali giungono a determinati siti anatomici a discrezione delle vie preferenziali fornite dal sistema circolatorio, quindi dipendentemente dal volume di sangue, e dal sistema linfatico (Kakhki et al., 2013). Queste due teorie non si escludono a vicenda, ma rispondono entrambe alle domande sulle scelte dei siti colpiti da determinati tumori. Successivamente, per quanto riportato da Tantivejkul et al., Isaiah Fidler (2002) ha apportato modifiche alla teoria del “seed and soil”, in particolare ha aggiunto 3

importanti aspetti: i tessuti tumorali sono composti da gruppi eterogenei di cellule che si differenziano per la loro diversa capacità di proliferare, per le loro proprietà meccaniche e per l'angiogenesi; inoltre il processo metastatico è selettivo per la capacità di sopravvivere nel circolo sanguigno fino a zone distali; infine il successo delle cellule ad aderire al nuovo organo dipende fortemente dall'abilità delle stesse di interagire e sfruttare il terreno (Tantivejkul et al., 2004).

## 2.2 Incidenze

In letteratura, è ormai noto che la colonna vertebrale è il sito scheletrico a maggior frequenza di metastasi (Georgy, 2008; Jacobs & Perrin, 2001; Kakhki et al., 2013; Szendrői et al., 2017), questo è dovuto al fatto che è la regione più vicina ai siti anatomici dichiarati essere ad elevato rischio come seno, polmoni, prostata, reni, apparato gastrointestinale e tiroide (Tab. 1). In particolare Georgy et al. evidenzia che circa il 40% dei pazienti affetti da tumore sviluppano metastasi spinali, Jacobs et al. fino al 70% e Kakhki et al. pari al 18.8%. Ogni anno circa il 5% dei pazienti affetti da cancro sviluppano metastasi alla colonna vertebrale (Georgy, 2008).

Anatomical site	Total	Breast cancer	Prostate cancer	GI cancer	Lung cancer
Spine	30 (18.8%)	18/103 (16.8%)	5/27 (15.6%)	5/13 (38.5%)	2/7 (25%)
Ribs	23 (14.4%)	16/103 (15.0%)	2/27 (6.3%)	2/13 (15.4%)	3/7 (37.5%)
Pelvis	15 (9.4%)	9/103 (8.4%)	5/27 (15.6%)	1/13(7.7%)	0/7
Sternum	12 (7.5%)	12/103 (11.2%)	0/27 (0%)	0/13	0/7
Femur	8 (5.0%)	6/103 (5.6%)	2/27 (6.3%)	0/13	0/7
Scapula	6 (3.8%)	4/103 (3.7%)	2/27 (6.3%)	0/13	0/7
Skull	6 (3.8%)	5/103 (4.7%)	1/27 (3.1%)	0/13	0/7
Humerus	3 (1.9%)	3/103 (2.8%)	0/27 (0%)	0/13	0/7
Clavicle	2 (1.3%)	1/103 (0.9%)	1/27 (3.1%)	0/13	0/7
Tibia and fibula	1 (0.6%)	0/103 (0%)	1/27 (3.1%)	0/13	0/7

*Tabella 1. Distribuzione delle metastasi ossee da tumori primari nel seno, prostata, apparato gastrointestinale e polmoni (Kakhki et al., 2013).*

In tabella 1 è possibile notare la somiglianza in termini di incidenza percentuale tra il tumore prostatico e al seno. La colonna vertebrale è particolarmente influenzata dal tumore gastrointestinale e ai polmoni con percentuali rispettivamente di 38.5% e 25%.

Il tumore al seno colpisce maggiormente, oltre alla spina dorsale, costole e pelvi. Per quanto riguarda il femore invece esso è maggiormente affetto da tumore prostatico. Secondo quanto dichiarato dal Scandinavian Skeletal Metastasis Registry (Tab. 2), escludendo le vertebre, il femore è la zona scheletrica maggiormente colpita (64%), seguito dall'omero (21%) e dalla pelvi (9%); infine le regioni quali mani e piedi riportano basse ricorrenze (meno dell'1%)(Ratasvuori et al., 2013).

Localization	n	%	Femur	n	%	Humerus	nr	%
Femur	763	64	Proximal	308	40	Proximal	73	29
Humerus	248	21	Inter trochanteric	100	13	Diaphysis	143	58
Pelvis	106	9	Subtrochanteric	179	26	Distal	20	8
Tibia	41	3	Diaphysis	104	14	Missing	12	5
Ulna	7	1	Distal	54	7			
Scapula	8	1	Combination	4	0.5			
Radius	7	1	Missing	14	2			
Other	15	1						
Total	1195	100	Total	763	100	Total	248	100

*Tabella 2. Localizzazione di metastasi scheletriche periferiche (Ratasvuori et al., 2013).*

È possibile affermare che le zone a maggior rischio sono quindi femore e colonna vertebrale, i quali possono portare anche a gravi danni sia posturali che neurologici (Szendrői et al., 2017), e di conseguenza richiedono una diagnosi e prognosi prioritaria. Lesioni alla colonna vertebrale possono causare instabilità spinale.

Essa è definita come “la perdita di integrità a seguito di un processo neoplastico è associata a dolore correlato al movimento, deformità sintomatica o progressiva e/o compromissione neurale sotto carichi fisiologici” (Fisher et al., 2010).

	No pain	Symptom of bone pain	Total
No bone metastasis	49 (77.8%)	53 (54.6%)	102 (63.8%)
Evidence of bone metastasis	14 (22.2%)	44 (45.4%)	58 (36.2%)
Total	63 (100%)	97 (100%)	160 (100%)

*Tabella 3. Ricorrenza di dolore e partecipazione ossea metastatica (Kakhki et al., 2013).*

In tabella 3 sono stati riportati pazienti che presentano o meno metastasi ossee e quali tra questi riportano dolore.

Il meccanismo fisiopatologico nei pazienti che non riportano lesioni metastatiche è ancora molto incerto (Mercadante, 1997).

Nonostante la maggior parte delle metastasi sia riconducibile a un tumore primario, esiste un 30% dei casi in cui non sia possibile identificare l'organo malato al momento della diagnosi. Relativamente a questa percentuale di pazienti risulta spesso difficile la sopravvivenza in quanto le tecniche utilizzate per la cura non sono molto mirate e per questo, a volte, inefficaci (Piccioli et al., 2015). Hemminki et al. hanno scoperto che la maggior parte dei pazienti affetti da tumore metastatico privi di informazioni riguardo al tumore primario, presentavano tumore ai polmoni (Hemminki et al., 2013). Alcuni studi clinici indicano che l'incidenza delle metastasi aumenta con la progressione del cancro, ma questo potrebbe essere dovuto all'evoluzione delle tecniche di imaging le quali permettono di osservare in maniera più precisa le lesioni metastatiche (Turpin et al., 2020).

Secondo uno studio, attualmente circa il 20% dei pazienti che soffrono di neoplasia ad interessamento osseo riportano fratture patologiche (Szendrői et al., 2017).

Un altro importante fattore da tenere in considerazione oltre alle fratture patologiche è l'ipercalcemia spesso denominata anche come "ipercalcemia maligna". Essa è conseguente alla produzione di mediatori umorali i quali vengono secreti dal tumore ma ad azione sistemica con principale focus di mira su osso, rene e intestino. L'ipercalcemia ricorre nell'80% dei pazienti con metastasi ossee (Milano et al., 2010). Nonostante in passato era ritenuta essere un problema significativo, ad oggi non vengono registrate prominenti differenze in termini di sopravvivenza. Questo potrebbe essere dovuto all'aumento delle tecniche oncologiche basate su trattamenti di bifosfonati i quali risultano molto efficaci (Nathan et al., 2005).

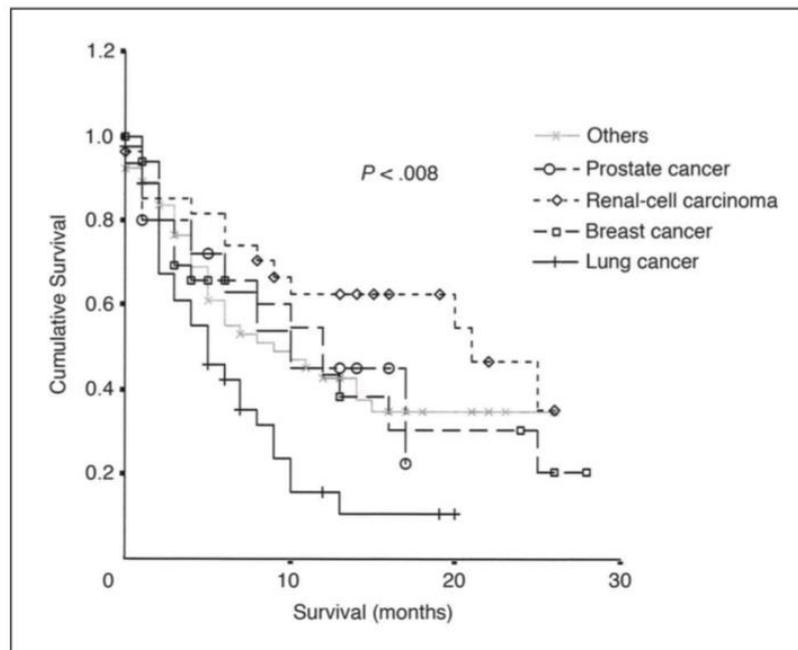
## **2.3 Sopravvivenza media**

La stima della sopravvivenza media dei pazienti è un interessante parametro dal punto di vista clinico in quanto permette di influenzare la scelta sul tipo di trattamento da attuare: nel caso in cui il paziente abbia lunghe aspettative di vita, è pensabile intervenire con metodi durevoli; al contrario, nel caso in cui la sopravvivenza sia precaria è preferibile utilizzare tecniche poco invasive (Nathan et al., 2005). Gli stessi

autori hanno stimato la sopravvivenza di vari tipi di tumori quali polmoni, seno, prostata, reni e altri, evidenziando una peggior aspettativa di vita per tumore primario ai polmoni rispetto a tumore renale (Fig. 4).

I pazienti con cancro di cui non si conosce il sito primario (CUP, Cancer of Unknown Primary) hanno una sopravvivenza stimata di circa 3 mesi (Hemminki et al., 2013).

Tuttavia, ad oggi risulta ancora molto difficile stimare, in termini di mesi e anni, la sopravvivenza dei pazienti affetti da tumore alle ossa. Sono presenti molti fattori in gioco e ciascuno potrebbe determinare differenti sorti. Molti autori sostengono che il



*Figura 4. Evidenze di sopravvivenza in termini di mesi di cancro ai polmoni, seno, reni, prostata e altri. È possibile notare la chiara differenza tra cancro ai polmoni (basse aspettative di vita) e carcinoma renale, il quale mostra una panoramica migliore (Nathan et al., 2005).*

tipo di tumore primario sia uno dei fattori maggiormente predittivi per valutare la sopravvivenza (Szendrői et al., 2017). Sembrerebbe essere invece di trascurabile importanza la differenza di sesso e età dove non sono state evidenziate chiare opposizioni (Nathan et al., 2005). La detezione della massa tumorale in uno stadio primitivo è molto importante in quanto permette una maggiore probabilità di cura. Al contrario, quando il cancro viene localizzato in uno stadio avanzato le tecniche sono principalmente a scopo palliativo e le possibilità di guarigione minime (Chambers et al., 2002).

Lo sviluppo di nuove tecniche sempre più accurate hanno come obiettivo quello di alleviare il dolore del paziente, prevenire fratture, effettuare l'osteosintesi nei casi di fratture patologiche, ristabilire la corretta mobilità del paziente e quindi di migliorarne la qualità della vita. La presenza di fratture patologiche e dolore straziante sono chiari sintomi di necessità di intervento chirurgico (Szendrői et al., 2017).

### **3. Metodi diagnostici**

L'aumento delle metastasi ossee può in parte essere dovuto al forte sviluppo in campo di tecniche di imaging. Ciascuna tecnica di imaging ha ottenuto una maggiore importanza in singoli aspetti, perciò ad oggi non esiste una tecnica sufficientemente esaustiva per le differenti considerazioni effettuabili a livello metastatico (Turpin et al., 2020). Nel capitolo seguente vengono descritte le principali tecniche diagnostiche per rintracciare zone affette da cancro.

#### **3.1. Scintigrafia**

La medicina nucleare ad oggi viene utilizzata maggiormente per trattare disturbi oncologici, pur essendo nata per valutare meccanismi di perfusione. Le tecniche di medicina nucleare si basano su informazioni fornite da un farmaco marcato con un radionuclide emettitore di radiazioni gamma o di positroni. Nel caso di scintigrafia si utilizzano le prime, il processo avviene a seguito dell'iniezione del farmaco. La differente distribuzione a livello corporeo del farmaco determina l'immagine che è formata da una scala di grigi. Questo approccio fornisce prevalentemente immagini di tipo funzionale piuttosto che morfologiche. Il termine scintigrafia deriva dal fatto che è proprio il paziente ad emettere le radiazioni gamma, le quali vengono poi raccolte da apposite apparecchiature (gamma camera) in grado di ricreare l'immagine corrispondente. La scelta sul tipo di radiofarmaco da utilizzare viene fatta in modo opportuno a seconda dell'indagine richiesta e del tipo di organo selezionato.

Nel complesso il processo si basa sostanzialmente sul decadimento a cui è sottoposto il radionuclide all'interno del paziente. Esso genera un fotone, il quale attraversa i tessuti e nel mentre diminuisce la propria energia e la sua presenza viene individuata da una gamma camera. L'immagine viene ricostruita unendo i vari profili di radioattività.

È una tecnica con alta sensibilità ma generalmente riconosciuta come una tecnica a bassa specificità, infatti il range di falsi positivi riscontrati si aggira attorno al 40%. È comunque una tecnica più sensibile e specifica delle semplici lastre e della tomografia computerizzata (TC) ma inferiore all'imaging di risonanza magnetica (MRI) per quanto riguarda la distinzione del tumore vertebrale.

Gli importanti pregi di questa tecnica sono riscontrabili a livello di attività osteoblastica e vascolarizzazione scheletrica in quanto sono facilmente osservabili, in particolare per quanto riguarda le zone con crescita ossea le quali riportano reazioni metaboliche importanti (Macedo et al., 2017). Molto utilizzata anche per la valutazione del carico totale della malattia nel sito anatomico analizzato. La scintigrafia ossea permette di individuare la neoplasia anche in fase prematura, a differenza di tecniche quali la radiografia in cui la rilevazione non può avvenire prima del 40% di cambiamento della densità ossea. Infatti, essa permette l'individuazione con sufficiente cambiamento del 5-10%. Nonostante ciò, questa tecnica risulta essere inferiore rispetto alla TC nel riconoscimento delle metastasi osteolitiche. (Mercadante, 1997)

## **3.2. Radiografia**

La radiografia tradizionale è stata la prima tecnica di imaging biomedico e nel corso degli anni ha subito numerosi sviluppi ed evoluzioni, passando a radiologia computerizzata e infine digitale. È un'indagine che sfrutta le particolari proprietà di un tipo di radiazioni ionizzanti, i raggi X, di impressionare una pellicola, o lastra, per ottenere immagini corporee relative a specifici siti anatomici come ossa ed altri organi. I raggi X hanno la capacità di attraversare i tessuti in quantità diverse dipendentemente dalla loro densità e composizione: le ossa, ad esempio vengono attraversate meno facilmente rispetto ai tessuti molli, come le fibre muscolari. Questo è dovuto al fatto che le ossa sono formate da una maggiore densità di sostanza, e per questo appariranno chiare nella lastra radiografica. Al contrario, tessuti che vengono attraversati quasi totalmente dai raggi X, ad esempio i polmoni, appaiono scuri. Esistono 3 tipi di radiografie: tradizionale, computerizzata e digitale. Il principio alla base è lo stesso, ovvero è presente un tubo radiogeno in vetro e mantenuto sottovuoto, al cui interno troviamo un anodo e un catodo. Quest'ultimo è generalmente composto da un filamento di tungsteno e collegato elettricamente ad un generatore. Il catodo viene scaldato e per effetto termoionico avviene la produzione di elettroni, i quali

vengono opportunamente accelerati dalla differenza di potenziale. Essi andranno a incidere sull'anodo dove avverrà la produzione di raggi X. La differenza sostanziale tra le 3 tipologie è costituita dal sistema di rivelazione. Nel caso di radiografia tradizionale si sfrutta una pellicola radiografica costituita da uno schermo di rinforzo e uno strato di emulsione (singola o doppia); i raggi X incidono sulla pellicola impressionandola, successivamente viene portata in camera oscura per lo sviluppo. La radiografia computerizzata invece, sfrutta come rivelatore l'imaging plate, composto da fosfori fotostimolabili che assorbono i fotoni X incidenti originando un'immagine latente dell'oggetto. Essa viene poi scansionata a laser e tramite convertitore analogico/digitale sarà possibile ottenere l'immagine digitale. Infine, la radiografia digitale sfrutta rivelatori allo stato solido a semiconduttore che comportano un aumento della qualità dell'immagine.

Attualmente, sono in continuo sviluppo e diffusione le radiografie digitali in cui l'immagine radiografica viene elaborata dal computer il quale permette una successiva visualizzazione ed archiviazione in forma digitale, garantendo un notevole risparmio di tempo e di spazio. Durante l'esame, gli operatori sanitari sono opportunamente protetti da schermi o situati in una camera adiacente.

I principali vantaggi associati a questa metodica sono la rapidità, il basso prezzo e la disponibilità che è in grado di offrire per la diagnosi delle metastasi ossee. La radiografia deve senz'altro essere uno dei primi metodi adottati in caso di presunta metastasi, nonostante sia una tecnica con alta specificità pecca nella sensibilità, infatti non è possibile rintracciare parti tumorali ancora allo stato brado. Questo spiacevole fatto è dovuto all'incapacità dei raggi X di rilevare masse tumorali di dimensione inferiore al cm, inoltre la visibilità della lesione dell'osso trabecolare è possibile solo quando essa ha distrutto almeno la metà dello stesso. Le lesioni maggiormente riscontrabili sono quelle midollari a causa del poco contrasto a confronto con l'osso corticale.

Per quanto riguarda l'effettiva individuazione delle lesioni, una volta catturate dall'immagine, sono facilmente riconoscibili. Lesioni osteolitiche si presentano come un buco scuro rispetto all'osso che è di colore biancastro. Lesioni osteoblastiche sono invece macchie più chiare a confronto con zone circostanti. (Macedo et al., 2017)

### 3.3. Tomografia computerizzata (CT)

Questa tecnica è nata dall'esigenza di avere a disposizione tecniche di imaging 3D, questo perché la radiologia convenzionale o digitale permettono la visualizzazione bidimensionale di una struttura. Questo fatto porta ad una difficoltà di differenziazione dei tessuti molli e la mancanza di informazioni quantitative sulla densità dei tessuti. Ad oggi viene spesso erroneamente chiamata TAC. Il principio alla base di questa tecnica è identico a quello della radiologia convenzionale, con la sola differenza del numero di acquisizioni. Infatti, per ottenere un'immagine tridimensionale, occorre un elevato numero di acquisizioni, effettuate da diverse angolazioni che verranno poi sommate al fine di ottenere l'immagine. Durante l'esame il paziente viene investito e attraversato da un fascio di raggi X, al di là del quale è presente un ricevitore che tramite un sistema elettronico permette poi la ricostruzione dell'immagine. Essa è formata da voxel, ovvero l'unità tridimensionale del pixel formata da una scala di grigi. Il colore dipende dall'attenuazione media del tessuto investito. Tessuti ad alta intensità come l'osso risultano chiari (bianco) in quanto assorbono molto la radiazione, mentre tessuti molli vengono facilmente attraversati dai raggi X e sono perciò di colore più scuro. Nell'immagine vengono rappresentati i CT number i quali vengono espressi nella scala di Hounfield (HU). Essa serve per determinare in maniera quantitativa la radio-densità di un materiale, cioè la relativa proprietà di trasparenza del materiale al passaggio della radiazione X. Il coefficiente di HU viene calcolato tramite il coefficiente di attenuazione del tessuto o materiale analizzato, posto a confronto con il coefficiente di attenuazione lineare dell'acqua a pressione e temperatura standard (1 bar e 0°C rispettivamente) e quello dell'aria, il tutto moltiplicato per mille.

Essa riporta un buon grado di sensibilità per la valutazione delle metastasi ossee con un valore tra 71-100%. È particolarmente utilizzata per la localizzazione delle lesioni al fine di effettuare una biopsia, svolge anche un ruolo importante nella produzione di immagini di tessuti molli offrendo un buon contrasto (Macedo et al., 2017). Inoltre ricopre un ruolo fondamentale nell'indagine del grado tumorale a cui è sottoposto l'osso corticale e permette una visualizzazione dell'estensione della lesione. Per incrementare la completezza dell'immagine ottenuta, viene spesso associata alla risonanza magnetica o, nei casi in cui essa non sia disponibile, alla mielografia. La mielografia TC risulta essere molto più completa delle due tecniche prese separatamente, con un particolare miglioramento a livello morfologico (Jacobs &

Perrin, 2001). Tra gli svantaggi di questa tecnica occorre sicuramente citare l'elevata probabilità di errore di rilevazione, dovuta alla sensibilità a numerosi artefatti quali sogliatura – porta all'effetto di volume parziale, secondo il quale è difficile stabilire i confini morfologici per la presenza di una scala di grigio interposta nell'immagine; artefatti da movimento – è necessario che il paziente rimanga immobile durante l'acquisizione dell'immagine, nonostante ciò anche micro movimenti possono portare ad errori; ricostruzione software – talvolta può essere utile per limitare gli artefatti precedentemente riportati, in altre situazioni essa può fornire informazioni sbagliate.

### **3.4. Mielografia**

La mielografia è un esame radiologico effettuato con mezzo di contrasto radio-opaco che serve a visualizzare midollo spinale, nervi ed altri tessuti presenti nel canale vertebrale. Viene utilizzata in oncologia per accertare la presenza di un tumore a livello spinale. L'esame consiste nell'iniezione a livello lombare di un mezzo di contrasto che verrà poi visualizzato. Fino ad alcuni anni fa era considerato il gold standard a livello di imaging vertebrale, ad oggi quasi interamente sostituito da risonanza magnetica (RM) (Jacobs & Perrin, 2001). Uno dei principali svantaggi di questa metodica deriva dalla sua invasività, che la rende sconsigliabile in alcuni casi (Mercadante, 1997).

### **3.5. Risonanza magnetica**

La risonanza magnetica è una tecnica diagnostica che permette la visualizzazione di sezioni del corpo sfruttando un fenomeno quantistico associato al comportamento di certi tipi di atomi, opportunamente eccitati da onde a radiofrequenza (RF) in presenza di un campo magnetico esterno. Essa ha origini molto antiche, inizialmente Pauli nel 1924 scoprì il momento magnetico, successivamente divenne strumento di immagine fisica e chimica. Negli anni '70 è stata introdotta come tecnica di imaging.

Essa si basa sostanzialmente sullo spin, ovvero una proprietà caratteristica di alcuni nuclei che permette la loro rotazione attorno al proprio asse. La peculiarità degli spin è che sono quantizzati: uno spin può assumere solo un numero finito e discreto di valori. Un nucleo con numero di spin  $I$  può essere osservato in  $(2I+1)$  diversi stati. La sostanza principalmente utilizzata è l'idrogeno, in quanto è una sostanza presente in grandi quantità all'interno del nostro corpo e caratterizzata da spin  $\frac{1}{2}$ . Questo significa che può essere osservato in 2 posizioni, chiamate parallela e antiparallela. In

condizioni normali, gli spin si trovano in una condizione isotropa nello spazio, vale a dire che non sono caratterizzati da una direzione preferenziale. L'applicazione di un campo magnetico statico ( $\leq 1.5$  T) invece, cambia radicalmente la situazione. Gli spin tendono ad allinearsi lungo l'asse del campo magnetico applicato portandosi in una delle due condizioni sopra citate. A questo punto le energie dei due stati divengono differenti, si disporranno su due livelli separati da un gap energetico. Il sistema di spin si comporta come un corpo caldo per il cui raffreddamento è necessario un contatto termico con un corpo a temperatura inferiore. Infatti, il sistema tende a raggiungere una condizione di equilibrio termodinamico, esso si ottiene grazie al trasferimento di energia tra spin e reticolo il quale è possibile solo in presenza di un canale di decadimento. Ciò significa che è necessaria la presenza di un modo in cui l'energia fluisca dal sistema di spin al microambiente circostante, ovvero il reticolo. È possibile definire il tempo di rilassamento  $T_1$  come il parametro che indica l'entità di connessione termodinamica tra sistema di spin e reticolo. Oltre al campo magnetico statico sono presenti altri due campi magnetici: radiofrequenza e gradiente. Quando viene inviato l'impulso a radiofrequenza alla stessa frequenza di quella di precessione degli spin, essi riescono a guadagnare un'energia tale da poter saltare al livello energetico più alto. A livello fisico, questo comporta un distacco dell'asse dei nuclei dall'asse z (applicazione campo statico) e graduale crescita della componente nel piano x-y. Quindi, l'impulso perpendicolare a radiofrequenza determina un maggior distacco del vettore magnetizzazione dall'asse z, tanto maggiore è il tempo di applicazione. In realtà, essendo il campo magnetico disomogeneo, non si genereranno dei veri e propri livelli, ma questi ultimi avranno un determinato spessore e vengono perciò definite bande. Il gap energetico tra le due bande a questo punto presenterà un certo livello di incertezza, da cui è possibile definire il tempo di rilassamento spin-spin  $T_2$ . Esso fornisce informazioni sulla disomogeneità del campo. Il segnale di risonanza magnetica è un segnale multi-parametrico, infatti dipende da svariati parametri quali: densità dei nuclei, tempo di rilassamento spin-reticolo  $T_1$ , tempo di rilassamento spin-spin  $T_2$ . Inoltre, presenta un sistema di acquisizione complesso in quanto è possibile diversificare l'acquisizione a seconda dei fattori scelti. Infatti, è possibile scegliere immagini pesate in  $T_1$  oppure in  $T_2$ . Questo viene fatto mediante l'utilizzo di sequenze che permettono di modificare il numero di impulsi inviati, le angolazioni degli stessi, i tempi di ripetizione (TR), tempi di eco (TE) e tempi di interpulso (TI). Infine, la selezione dello strato da acquisire avviene per mezzo di un gradiente di selezione, esso è un

campo magnetico il quale varia la sua intensità proporzionalmente alla distanza. Questa particolarità incide sulla frequenza in quanto essa dipende dal campo magnetico, in questo modo è possibile differenziare in frequenza ciascuno strato corporeo e, tramite l'impulso a radiofrequenza, è possibile selezionarne uno. Tramite algoritmi di acquisizione e ricostruzione si ottiene poi l'immagine rappresentativa dello strato acquisito.

Questa tecnica trova principale applicazione nella rilevazione delle metastasi spinali e nell'osservazione del processo tumorale a livello del midollo spinale. È una delle tecniche con maggiore risoluzione spaziale, emergente grazie alla sua alta sensibilità e specificità, rispettivamente di range 82-100% e 73-100% (Macedo et al., 2017). In primis la sua funzionalità è interessante per la detezione delle metastasi spinali in stadi iniziali. Risulta avere una maggiore sensibilità rispetto alla scintigrafia ossea nella detezione delle metastasi vertebrali (Algra et al., 1991).

La sua potenzialità vanta anche l'utilizzo non solo in ambito diagnostico, ma anche per quanto riguarda la pianificazione chirurgica. Alcuni studi hanno evidenziato che i risultati ottenuti dalla MR sono molto utili per le decisioni terapeutiche da prendere, in particolare riguardo all'utilizzo della radioterapia. (Jacobs & Perrin, 2001)

Uno tra i motivi per cui ha sostituito la mielografia è sicuramente la sua non invasività. D'altra parte però, ad oggi risulta essere una delle tecniche più costose. (Mercadante, 1997)

### **3.6. Tomografia ad emissione di positroni**

È una tecnica di imaging indiretta in quanto la visualizzazione dell'immagine è garantita dalla diffusione sanguigna. Questa metodica sfrutta infatti molecole che normalmente entrano nel metabolismo tissutale, come ad esempio glucosio, carbonio, ossigeno e azoto. Il risultato è possibile a causa del fatto che in presenza di una patologia cambia il metabolismo cellulare anche quando la patologia non si è espressa a livello macroscopico. In particolare, in ambito oncologico, le cellule crescono a livello incontrollato. La loro crescita necessita di una grande quantità di substrato (materiale energetico) e quindi forti richieste di glucosio. A questo proposito la richiesta di glucosio dalle cellule malate sarà maggiore rispetto a quelle sane. Il glucosio precedentemente marcato, tipicamente con Fluoro-18, permette di vedere quali porzioni corporee ne richiedono una maggiore quantità. L'immissione nel corpo della sostanza avviene

generalmente per via endovenosa. L'utilizzo di radionuclidi emittenti positroni (elettroni positivi), permette di marcare le molecole biologiche sostituendo uno o più isotopi stabili con il loro isotopo radioattivo, con il pregio di non modificarne in alcun modo le altre caratteristiche fisiche e chimiche, mantenendo quindi invariate la bio-distribuzione e la funzione. L'acquisizione avviene mediante uno scanner tomografico il quale registra i segnali che i traccianti emettono durante il loro percorso nel corpo; questi segnali sono più o meno intensi a seconda che il marcatore si nidifichi o meno in un determinato organo o regione corporea. I segnali ricevuti vengono elaborati in modo tale da costruire un'immagine che conterrà informazioni funzionali sugli organi sensibili alla sostanza biologica marcata e iniettata nel corpo. Nel caso della PET vengono rilevati i positroni, essi sono l'antiparticella dell'elettrone. Il fenomeno alla base di questa tecnica è l'annichilazione, questo processo nasce dallo scontro tra un positrone ed un elettrone adiacente. L'annichilazione produce due radiazioni gamma le quali vengono emesse a 180° l'una dall'altra. Vengono perciò rilevati i raggi gamma che sono indicatori del positrone e di conseguenza del fenomeno di decadimento radioattivo. L'acquisizione dei raggi gamma viene effettuata tramite un ring di rivelatori posti attorno al paziente e dai quali sarà possibile ricostruire l'immagine.

La risoluzione della PET è fortemente influenzata dal tipo di radiofarmaco utilizzato, dalla non co-linearità dei fotoni e dalla dimensione dei rivelatori. A causa di questi 3 parametri la risoluzione della PET risulta essere di circa 4-5 mm.

Talvolta viene utilizzata la tomografia ad emissione di positrone singolo (SPECT). Essa utilizza radionuclidi gamma emittenti come la scintigrafia e sfrutta l'acquisizione di un singolo fotone tramite un rivelatore che ruota in direzione assiale attorno al paziente. In ambito oncologico trova particolare applicazione in diagnosi precoce e rappresentazione delle metastasi.

Il <sup>18</sup>Fuoro – fluorodeossiglucosio (FDG) è una delle sostanze traccianti maggiormente utilizzate in oncologia grazie al suo tempo di emivita (110 min) ottimale rispetto ad altre sostanze (Delbeke, s.d.).

Negli ultimi anni si è cercato di utilizzare apparecchiature PET-CT per mettere insieme la natura morfologica della CT e la natura funzionale della PET. L'unione delle due tecniche comporta inoltre una riduzione della dose radioattiva somministrata al paziente.

Ad oggi una delle apparecchiature maggiormente studiate è la PET-RM, data dall'assemblaggio con la risonanza magnetica in quanto preferibile rispetto ad una CT.

La sua principale attività riguarda l'individuazione del tumore sfruttando come indice l'attività metabolica. A livello di sensibilità risulta essere superiore alla scintigrafia per quanto riguarda la diagnosi di metastasi ossee provenienti da tumore al seno e ai polmoni. Il basso assorbimento del fluorodesossiglucosio-18 disturba la capacità di detezione tumorale derivante da malattia renale e prostatica.

Un altro aspetto importante è la possibilità di accertare diffusione tumorale in altri siti (Macedo et al., 2017). Questo tipo di imaging permette una significativa riduzione dell'utilizzo di tecniche più costose e interventi invasivi per diagnosticare la malattia se utilizzato con i corretti parametri (Delbeke, s.d.).

### **3.7. Biopsia**

La biopsia ossea è una procedura diagnostica che consiste nel prelievo e nell'analisi di un campione di tessuto osseo. Generalmente, per il prelievo, sono da preferirsi ossa situate appena sotto la superficie cutanea e distanti da organi o grossi vasi sanguigni; una delle sedi maggiormente utilizzate per eseguire questo esame è difatti la cresta iliaca.

In ambito oncologico, viene utilizzata principalmente in pazienti cui non sembra dare frutti l'utilizzo di tecniche terapeutiche e soprattutto in casi in cui risulta sconosciuta la sede primaria della neoplasia. Generalmente viene prima effettuato una CT scan o risonanza magnetica (Mercadante, 1997). Purtroppo, secondo quanto affermato da Rougraff et al., nel 60% dei casi la biopsia da sola non è in grado di rintracciare il tumore primario. Per questo viene spesso associata ad un esame istologico, il quale permette con una maggiore precisione di raggiungere il risultato (Piccioli et al., 2015).

## **4. Tecniche per la valutazione delle proprietà meccaniche**

Una significativa riduzione di morbilità e spese di guarigione associate a fratture ossee metastatiche può essere riscontrata a seguito di una corretta prevenzione di eventi non traumatici (Nazarian et al., 2008). La caratterizzazione della struttura ossea è uno dei parametri più importanti per effettuare scelte cliniche volte a intervenire con metodi palliativi o, in casi più gravi, interventi chirurgici. Lo scopo principale di queste tecniche è la prevenzione di eventi traumatici, i quali possono avvenire non solo per sovraccarichi della zona interessata, ma anche per sollecitazioni quotidiane come ad esempio la camminata. Le proprietà meccaniche dell'osso sono una delle variabili quantitative più rilevanti per l'analisi della qualità ossea (Bailey & Vashishth, 2018). La qualità ossea, o competenza meccanica, è definita come "tutte le misure quantitative dell'osso che prevedono il rischio di frattura, ad eccezione della quantità ossea (cioè massa ossea, densità minerale ossea)" (Fyhrie & Christiansen, 2015a). In questo capitolo sono riportate le tecniche maggiormente utilizzate per la valutazione della struttura ossea.

### **4.1. Criterio di Mirels**

Il criterio di Mirels è uno dei metodi maggiormente utilizzati per la stima clinica della resistenza meccanica di un osso. Esso consiste nell'utilizzo di un sistema di punteggio ponderato per valutare il rischio di fratture ossee attraverso lesioni metastatiche. L'analisi del rischio viene effettuata mediante punteggi relativi a diversi aspetti della lesione metastatica quali: dimensione, posizione, natura della lesione e infine livello di dolore dichiarato dal paziente. Viene registrato un punteggio da 1 a 3 per ogni caso e infine viene effettuata la somma. Nel caso il risultato sia minore di 7, il paziente deve essere gestito con prudenza ma non vi è necessità immediata di effettuare un intervento chirurgico. Al contrario, per un punteggio totale superiore a 9, si raccomanda la fissazione chirurgica. Per un punteggio pari a 8 non è ancora stata ben definita la procedura da seguire in quanto è dichiarato come dilemma clinico. L'utilizzo di questa tecnica è stato dimostrato essere non ottimale, in quanto è caratterizzata da una specificità del 35%, questo è dovuto al fatto che il criterio di Mirels causa una

sovrastima degli interventi chirurgici, i quali talvolta venivano prescritti pur non essendo altamente necessari (Mirels, 1989; Sternheim et al., 2018; Yosibash et al., 2014).

## **4.2. SINS**

Il SINS (Spinal Instability Neoplastic Score) è un sistema di classificazione utilizzato per differenziare gli approcci chirurgici dovuti a interventi spinali. Esso permette di identificare pazienti che soffrono di instabilità spinale ovvero una perdita di integrità spinale dovuta ad un processo tumorale. Essa può portare a gravi deficit neurologici, forte dolore e aumento progressivo delle deformazioni. Gli studi su questo criterio sono molto importanti perché, prima di esso, non era presente alcuna tecnica in grado di stimare l'instabilità spinale dovuta a neoplasie. Questo metodo indaga su diverse informazioni e ad ognuna associa un punteggio tra 0 e 18. I parametri presi in considerazione sono: posizione, dolore, tipo di lesione, allineamento radiografico della spina dorsale, collasso vertebrale espresso in percentuale, partecipazione posterolaterale degli elementi spinali. Vengono sommati i punteggi relativi a ciascun componente. Un punteggio inferiore o uguale a 6 indica stabilità, da 7 a 12 risultato indeterminato (possibile instabilità), compreso tra 13 e 18 denota instabilità. Per i pazienti che riportano un punteggio superiore a 7 è consigliato l'intervento chirurgico. L'analisi del paziente necessita quindi una precedente diagnosi tramite tomografia computerizzata, risonanza magnetica o radiografia. Il criterio viene applicato alle varie regioni spinali: cervicale, toracica, lombare. (Fourney et al., 2011)

A causa della perdita di componente ossea, le lesioni litiche sono sicuramente quelle a maggior rischio di collasso (Fisher et al., 2010).

Secondo quanto riportato da Fourney et al. il SINS riporta un'elevata sensibilità, pari al 95,7% (Fourney et al., 2011). Il problema del SINS è la bassa specificità e l'ampia zona grigia intermedia che risulta di difficile identificazione.

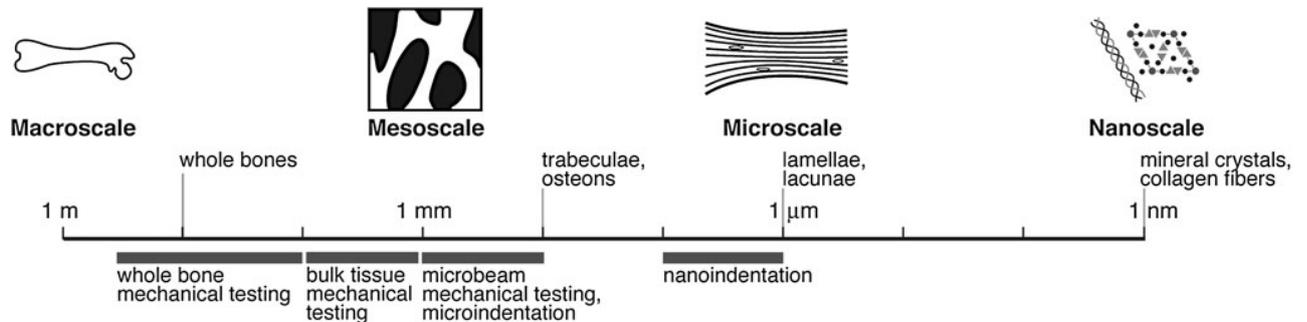
SINS Component	Score
<b>Location</b>	
Junctional (occiput-C2, C7-T2, T11-L1, L5-S1)	3
Mobile spine (C3-C6, L2-L4)	2
Semirigid (T3-T10)	1
Rigid (S2-S5)	0
<b>Pain*</b>	
Yes	3
Occasional pain but not mechanical	1
Pain-free lesion	0
<b>Bone lesion</b>	
Lytic	2
Mixed (lytic/blastic)	1
Blastic	0
<b>Radiographic spinal alignment</b>	
Subluxation/translation present	4
De novo deformity (kyphosis/scoliosis)	2
Normal alignment	0
<b>Vertebral body collapse</b>	
> 50% collapse	3
< 50% collapse	2
No collapse with > 50% body involved	1
None of the above	0
<b>Posterolateral involvement of spinal elements†</b>	
Bilateral	3
Unilateral	1
None of the above	0

*Tabella 4. Tabella riassuntiva degli elementi costitutivi del SINS (Fourney et al., 2011).*

### 4.3. Test meccanici

A differenza del SINS e del criterio di Mirels, i test meccanici vengono utilizzati in laboratorio, non possono perciò essere applicati clinicamente sul paziente. La stima del comportamento meccanico di un materiale è effettuata in vitro tramite prove a flessione, trazione, compressione in modo monotono o ciclico. L'applicazione di un carico monotono o quasi-statico permette di caratterizzare le proprietà meccaniche, generalmente questo tipo di test viene effettuato fino a rottura del materiale. È quindi possibile creare un grafico stress-strain che riporta l'andamento del materiale nella regione lineare ed eventualmente in quella non lineare. La tecnica di cui sopra è una delle più semplici esistenti per la valutazione delle proprietà meccaniche, anche se nella realtà il fallimento dell'osso è principalmente dovuto a veloci applicazioni di carichi o per fatica. Per quanto riguarda i test ciclici, essi si basano su una rottura diversa del materiale. Vengono applicati ripetutamente carichi non distruttivi fino a quando il materiale inizia ad indebolirsi con l'insorgere di alcune cricche che porteranno alla

completa rottura dell'osso (Bailey & Vashishth, 2018). Di seguito sono descritti i test principali per l'analisi delle proprietà meccaniche suddivisi a seconda della dimensione analizzata.



*Figura 5. Struttura gerarchica dell'osso suddivisa schematicamente su scala logaritmica con distinzione delle tecniche per la caratterizzazione meccanica per ciascuna grandezza (Donnelly, 2011).*

### 4.3.1. Prove su osso intero

La caratterizzazione meccanica a livello dell'intero osso permette di effettuare un'analisi a livello macroscopico delle proprietà ossee includendo la geometria dello stesso. Vengono effettuate tipicamente prove a trazione, compressione, flessione e a carichi ciclici principalmente su ossa lunghe e vertebre (Hunt & Donnelly, 2016). In ognuna di esse viene determinata una curva forza-spostamento la quale viene tipicamente convertita in un grafico stress-strain per poter confrontare due provini differenti (Fyhrie & Christiansen, 2015b). Questo passaggio è abbastanza complesso dal punto di vista pratico in quanto la geometria dell'osso è estremamente irregolare. Il limite di queste prove è la possibilità di effettuarle solamente su ossa di animali o cadaveri umani, non è perciò possibile caratterizzare le proprietà meccaniche in vivo sull'uomo.

La prova a trazione è un metodo per caratterizzare i materiali che consiste nel sottoporre un provino di dimensioni note di un materiale ad un carico monoassiale inizialmente nullo che viene incrementato fino a un valore massimo che determina la rottura del materiale.

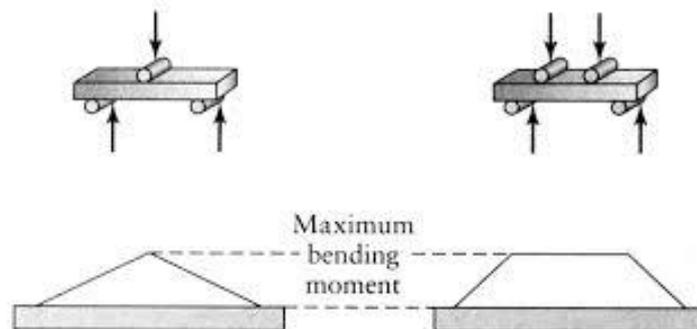
È considerata una prova monotona, ovvero si applicano delle tensioni al provino fino a quando non si rompe. I provini, che possono essere circolari o rettangolari, sono provvisti di due estremità allargate in modo tale da avere una maggiore superficie di afferraggio e soprattutto per evitare l'insorgere di sovrastollecitazioni.

Nel caso in cui il provino durante la prova si rompa nelle zone esterne, il test non è considerato valido. Al contrario, è considerato valutabile nel caso in cui il punto di rottura sia compreso nel tratto utile. Nella transizione tra zona larga e zona stretta è presente un raggio di raccordo piuttosto ampio il quale è opportunamente definito dalle normative in modo tale da rendere le tensioni trascurabili. Gli estremi del provino vengono opportunamente collegati alla macchina di prova, in particolare fissati tramite due afferraggi: uno fisso e uno mobile. Il provino così incastrato è in condizioni iperstatiche. La macchina misura lo spostamento e la forza applicata al provino tramite la cella di carico che è positiva nel caso di trazione e negativa per l'applicazione di una compressione. La cella di carico è uno strumento che effettua una misura indiretta della forza e stima la deformazione all'interno del provino tramite estensimetri. Infatti, le celle di carico presentano una distribuzione di estensimetri collegati nel ponte di Wheatstone. La macchina funziona in controllo di spostamento ovvero viene controllata la velocità manualmente. Dalla prova si ottiene una matrice di valori suddivisa in 3 colonne: tempo – espresso in secondi e indice del tempo trascorso dall'inizio della prova fino alla rottura del materiale; allungamento attuatore; carico espresso in Newton (N). Da questi parametri è possibile ricavare, tramite calcoli ingegneristici, il grafico stress-strain. Esso è composto da due regioni: lineare e non lineare. La prima è caratterizzata da una retta, la cui pendenza è indice del modulo di elasticità o modulo di Young. In questa regione di grafico il materiale si comporta in maniera elastica, ciò significa che se viene interrotto il carico applicato, il provino tornerà nella sua condizione iniziale senza alcuna deformazione residua. Al di là della regione lineare, in materiali duttili come l'osso, è presente una regione non lineare distinguibile da un punto chiamato punto di snervamento. Questa regione è caratterizzata da un tratto plastico, indice dello snervamento del provino. Una volta raggiunta questa porzione del grafico, il provino rimarrà deformato in maniera irreversibile. La curva si interrompe nel punto di rottura che non necessariamente corrisponde alla tensione più elevata. Da questo grafico è possibile valutare parametri molto significativi come il punto di snervamento, tensione di rottura, modulo di Young. Inoltre è possibile definire la duttilità, elasticità e tenacità di un materiale. La tenacità è

definita come la capacità di un materiale di assorbire energia prima della rottura ed è calcolabile come area sotto la curva stress-strain. Per fare questo vengono tipicamente utilizzati metodi di approssimazione come il metodo dei rettangoli o dei trapezi. Occorre inoltre definire il coefficiente di Poisson ( $\nu$ ) che è un valore rappresentativo della deformazione trasversale a seguito di un'applicazione di carico longitudinale. Tipicamente viene posto al valore costante di 0,3.

La prova a compressione funziona allo stesso modo della prova a trazione ma con l'applicazione del carico con verso opposto. Generalmente questo tipo di prova viene effettuata su vertebre per ricreare la sua funzione in vivo (Bailey & Vashishth, 2018). Anche in questo caso i provini vengono caricati fino a rottura.

La prova a flessione viene tipicamente utilizzata per ossa lunghe. La caratteristica di questa prova è la presenza simultanea di trazione e compressione nelle due facce opposte del provino. Esistono due tipi di prove a flessione: a 3 punti e a 4 punti. Nella prima il provino è posizionato su due appoggi laterali e caricata gradualmente al centro da un terzo blocco meccanico. Il punto di forza della prova a 3 punti è la sua semplicità d'impiego (Bailey & Vashishth, 2018). A differenza della prova a 3 punti, in quella a 4 punti non è presente un solo punto sottoposto alla massima sollecitazione, bensì un'intera zona intermedia compresa tra i due blocchi mobili centrali.



*Figura 6. Immagine rappresentativa di una prova a flessione a 3 e 4 punti poste rispettivamente a sinistra e a destra.*

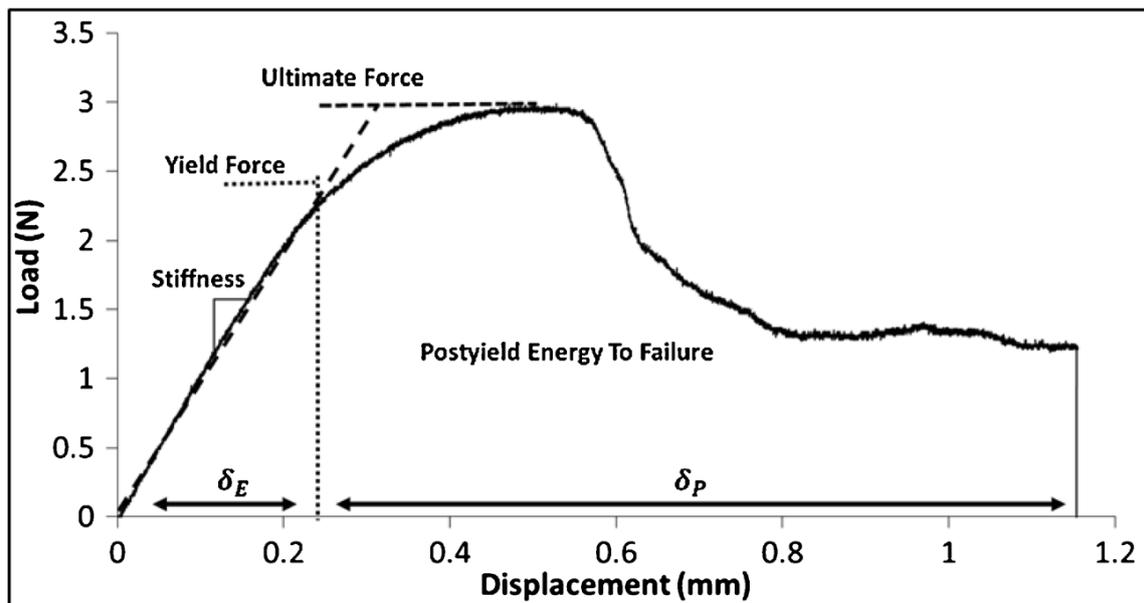


Figura 7. Grafico forza-spostamento ricavato da un test a trazione effettuato sul radio di un topo (Bailey & Vashishth, 2018).

Probabilmente il test ciclico è il più fedele alla realtà in vivo in quanto si utilizzano carichi non distruttivi fino alla comparsa di cricche sul provino. Questo tipo di test viene effettuato sia su ossa intere che in provini di osso opportunamente selezionati. Può essere effettuato ripetendo compressioni, trazioni, flessioni o torsioni. Viene imposto un determinato stress o strain e a partire da questi valori è possibile ricavare il numero di cicli effettuati fino al fallimento del materiale. I valori di stress o strain applicati vengono poi plottati in un grafico insieme al numero di cicli (diagramma di Wöhler). Alcuni studi in letteratura hanno dimostrato che l'età influisce molto sulla resistenza dell'osso a fatica, infatti provini di pazienti giovani erano molto più resistenti mentre provini di persone anziane fallivano molto più facilmente (Bailey & Vashishth, 2018).

### 4.3.2. Test di resistenza tissutale

I test precedentemente elencati possono essere effettuati non solo a livello macroscopico dell'osso, ma anche a livello tissutale distinguendo quindi tra osso corticale e trabecolare. In questo caso vengono utilizzati provini prelevati da parti di tessuto osseo. Tramite l'utilizzo di modelli matematici ed ingegneristici è possibile analizzare le proprietà meccaniche dei singoli tessuti ottenuti. A differenza di prima, dove venivano valutate le proprietà macroscopiche, in questo caso è possibile includere nell'analisi anche parametri come porosità, microarchitettura, densità

apparente e frazione di volume osseo (BV/TV). Le dimensioni generalmente utilizzate per i provini sono di circa 100 micrometri per altezza e larghezza, e di 100-1000 micrometri per la lunghezza. L'analisi delle proprietà meccaniche a livello tissutale riporta grandi vantaggi in quanto permette di capire in maniera accurata le differenze a livello meccanico tra tessuto sano e patologico. Di conseguenza permette la discriminazione, sia per tessuto trabecolare che per tessuto corticale, tra zone danneggiate e zone in cui il tessuto è intatto (Dall'Ara et al., 2012).

Per sviluppare questo tipo di test occorre prestare molta attenzione in quanto è soggetto a numerosi artefatti e alle difficoltà di generazione dei provini (Hunt & Donnelly, 2016).

### **4.3.3. Micro-indentazione**

È un metodo che consente di testare la durezza di un materiale basandosi sulla scalfitura. Consiste in un sistema automatizzato che produce piccole rientranze in posizioni precise su una superficie del campione mentre monitora in maniera continua i carichi e gli spostamenti dell'indentatore. Il complesso è situato all'interno di una cabina isolata per evitare instabilità termica e sospesa su un tavolo antivibratorio per evitare vibrazioni esterne.

La microindentazione può essere utilizzata per la stima del comportamento meccanico a livello delle singole trabecole e degli osteoni. La tecnica si basa sull'utilizzo di una punta di penetrazione, chiamata indentatore, che ha dimensioni in questo caso microscopiche e che viene posta in contatto con la zona da analizzare. Viene quindi sottoposta ad un carico statico con conseguente registrazione di forza e spostamento applicati. Dai test meccanici vengono ricavati la durezza e il modulo elastico del materiale per ogni indentazione effettuata (Bailey & Vashishth, 2018). La durezza è definita come il rapporto tra la forza e l'area sviluppata dall'indentatore e indica la resistenza alle deformazioni plastiche (Donnelly, 2011). Il modulo elastico è dato dalla pendenza della curva di indentazione. I principali vantaggi relativi a questa tecnica sono la possibilità di effettuare misure in un elevato numero di posizioni all'interno del provino e la risoluzione spaziale. Quest'ultima permette di capire importanti alterazioni del tessuto dovute al tumore. Un fattore negativo è invece il fatto di poter ottenere pochi parametri in uscita (Hunt & Donnelly, 2016).

La microindentazione è sicuramente una tecnica promettente per la valutazione in vivo della struttura ossea in maniera poco invasiva. Infatti, non solo può essere utilizzata per stimare la fragilità ossea, ma potrebbe anche essere utile come controllo in pazienti con un potenziale rischio di frattura (Schoeb et al., 2020).

#### **4.3.4. Nano-indentazione**

Utilizza lo stesso principio della microindentazione ma in questo caso la punta per la penetrazione è sensibile alla profondità ed ha dimensioni dell'ordine dei 100 nm, inoltre è possibile ottenere una risoluzione spaziale di circa 1  $\mu\text{m}$  per il tessuto osseo. Fornisce informazioni sulla struttura meccanica a livello delle lamelle e delle regioni intralamellari (Hunt & Donnelly, 2016).

Inoltre è in grado di distinguere le direzioni longitudinali e trasversali dell'osso corticale in modo tale da poterne definire l'effettiva anisotropia. Anche in questo caso dalla prova è possibile ricavare un grafico per ogni porzione analizzata e calcolare le rispettive durezze e i moduli elastici (Bailey & Vashishth, 2018). Uno dei principali problemi è legato alla necessità di avere a disposizione una strumentazione molto specializzata con provini molto lisci. Offre però la diagnosi strutturale a livello delle lamelle con captazione localizzata di cambiamenti delle proprietà meccaniche a livello microstrutturale (Donnelly, 2011). È molto importante, per qualsiasi scala di grandezza utilizzata nell'indentazione, controllare accuratamente l'idratazione del tessuto, la morfologia della punta, la rugosità della superficie, la velocità di carico e l'orientamento del provino al fine di limitare gli errori dovuti alla prova (Hunt & Donnelly, 2016).

#### **4.4. Metodo degli elementi finiti (FEM)**

Il metodo degli elementi finiti nasce dalle esigenze ingegneristiche di affrontare problemi complessi suddividendoli in parti elementari. In ambito biomeccanico trova ampio spazio nella valutazione delle proprietà meccaniche dell'osso in vivo. È una tecnica di simulazione volta a risolvere problemi mediante l'utilizzo di equazioni differenziali alle derivate parziali.

Il processo consiste in diverse fasi volte a comporre un modello adeguato allo studio. Inizialmente è presente una fase di pre-processing durante la quale viene scelta la geometria della mesh, specificate le proprietà del materiale e le condizioni di carico. La tomografia computerizzata è una delle tecniche principalmente utilizzate in questa

fase per la costruzione del modello geometrico. Gli algoritmi di segmentazione si basano tipicamente sulla scala di grigio definita dai voxel. L'acquisizione CT viene elaborata tramite algoritmi tridimensionali in grado di ricreare la superficie discretizzata secondo forme precise quali ad esempio: esaedri, tetraedri, quadrilateri o triangoli. Le proprietà da associare al materiale vengono ricavate in letteratura. Infatti, sono stati effettuati molti studi in cui vengono dimostrate relazioni ad esempio, tra la densità di cenere d'osso e le proprietà meccaniche. Dopo la creazione del modello e la definizione dei parametri, segue una fase di post-processing durante la quale vengono effettuate le simulazioni di carico. Uno dei principali vantaggi è dato sicuramente dal fatto che è possibile ricreare un numero teoricamente illimitato di condizioni di carico. Di conseguenza, una volta creato il modello, esso può essere facilmente ripetibile a differenze delle prove distruttive in laboratorio.

Sin dall'inizio però, questo metodo riporta alcune incertezze, come ad esempio l'incapacità di distinguere i voxel ottenuti dalla scala di Hounsfield tra osso corticale e trabecolare. Un altro problema associato a questa tecnica è la scelta dei parametri da associare all'osso, essi si basano su altri studi i quali, però, non sono universali. La scelta di queste proprietà dell'osso ricreato influenza notevolmente il risultato finale (Yosibash et al., 2014). Purtroppo, a causa dei numerosi artefatti, questi modelli sono ancora in fase di validazione per l'accertamento dei risultati ottenuti.

La tecnica ha dimostrato una sensibilità maggiore rispetto a stime cliniche effettuate da esperti. Questo permette una maggiore accuratezza decisionale ai fini degli interventi chirurgici. Al momento riveste un ruolo importante soprattutto per la detezione di interventi chirurgici non necessari (Eggermont et al., 2018).

Oltre alla CT, si è dimostrato che anche la MRI può essere utilizzata per generare modelli tridimensionali per l'analisi agli elementi finiti (Hunt & Donnelly, 2016). L'utilizzo di questa tecnica sarebbe un buon passo avanti in quanto si eviterebbe l'invasività dovuta alla CT.

Uno studio basato sul confronto tra modelli tridimensionali effettuati sia con RMI sia con  $\mu$ CT ha evidenziato un alto grado di correlazione tra i valori meccanici risultati dai due studi, ciò introduce il fatto che modelli ricreati tramite RMI siano adatti all'analisi con elementi finiti (Rajapakse et al., 2009).

Ad oggi, questo metodo riporta una buona stima per la valutazione dei rischi di frattura ma necessita di ulteriori aggiustamenti prima di poter essere utilizzato come strumento clinico. Innanzitutto occorre ridurre i tempi necessari alla creazione del modello i quali

sono ancora troppo lunghi. Inoltre, ulteriori test dovranno essere effettuati per validare il modello in siti anatomici differenti e in svariate situazioni cliniche. Un altro fattore importante è il costo economico ancora molto alto e che dovrà essere diminuito ad un valore ragionevole (Yosibash et al., 2014).

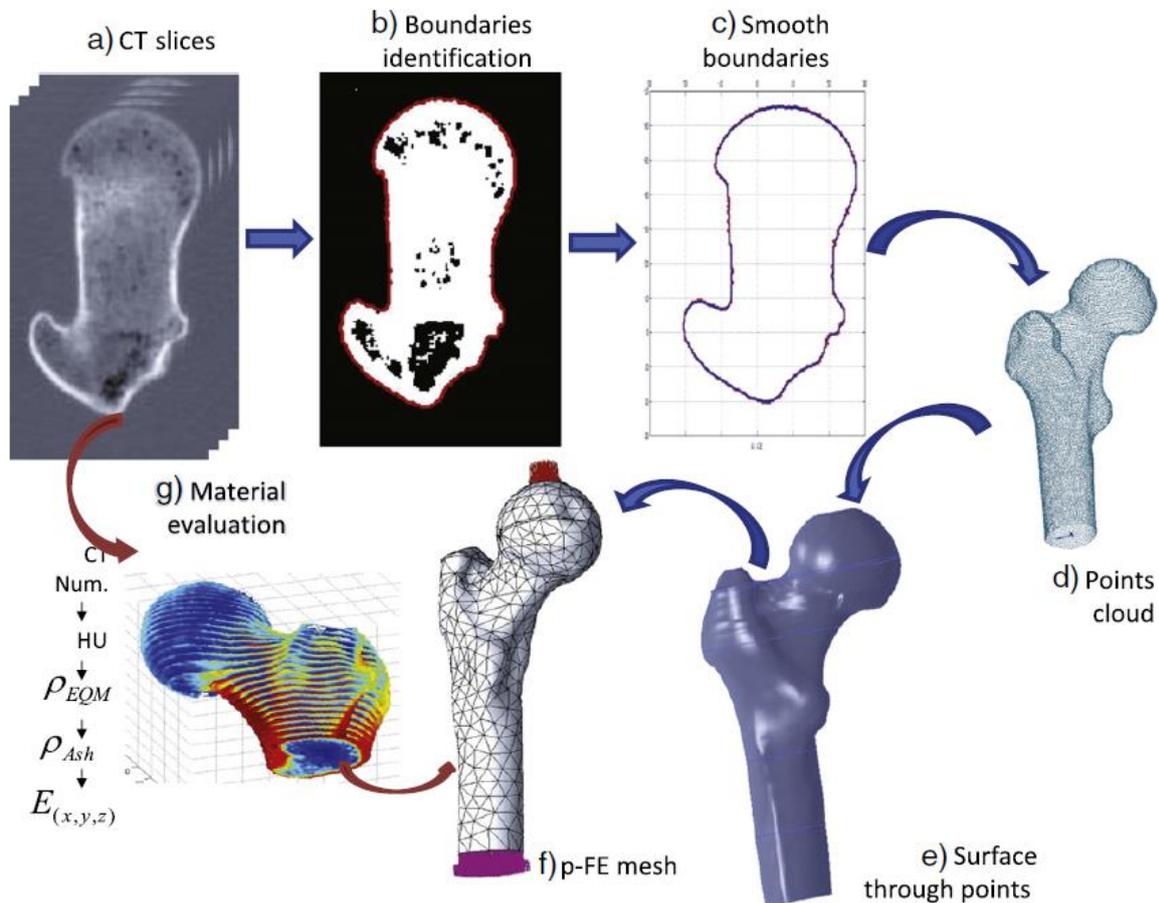


Figura 8. Schema illustrativo dei passaggi caratteristici per la creazione del modello (Yosibash et al., 2014).

## 5. Caratteristiche meccaniche

Per ottenere una corretta diagnosi e quindi prevenire fratture patologiche occorre analizzare cambiamenti nella struttura dell'osso sostenuti a seguito dell'interazione tra la metastasi e l'osso ricevente. Una riduzione nella resistenza dell'osso causata dalla neoplasia e dal carico applicato influenza fortemente il rischio di rottura. Oltre alle proprietà del materiale, ciò che influenza la struttura meccanica e di conseguenza la resistenza dell'osso, sono la forma e la geometria della sezione trasversale dell'osso. Noto il fatto che la metastasi provoca un aumento di fragilità del tessuto osseo, è

possibile affermare che la resistenza del tessuto osseo adiacente alla lesione metastatica sia degradato e/o la diffusione dello stress a seguito di un caricamento meccanico sia aumentato a causa delle modificazioni della geometria dell'osso. Per questo motivo le tecniche di prevenzione di fratture devono tenere in considerazione sia cambiamenti nelle proprietà meccaniche dell'osso sia della geometria (Nazarian et al., 2008).

Analizzando le proprietà meccaniche dell'osso trabecolare e corticale affetti da metastasi, è possibile avere una visione completa su come trattare questo tipo di malattia. Altri importanti parametri da tenere in considerazione sono le relazioni tra le proprietà del materiale e la densità misurata tramite tomografia computerizzata quantitativa ( $\rho_{QCT}$ ), e tra densità di cenere d'osso ( $\rho_{ash}$ ) e  $\rho_{QCT}$  (Kaneko et al., 2003). Nello studio di T.S. Kaneko et al. sono stati analizzati 9 femori prelevati da donatori che morirono di cancro alla prostata, seno, polmoni o per altre cause e congelati fino al momento dell'esperimento.

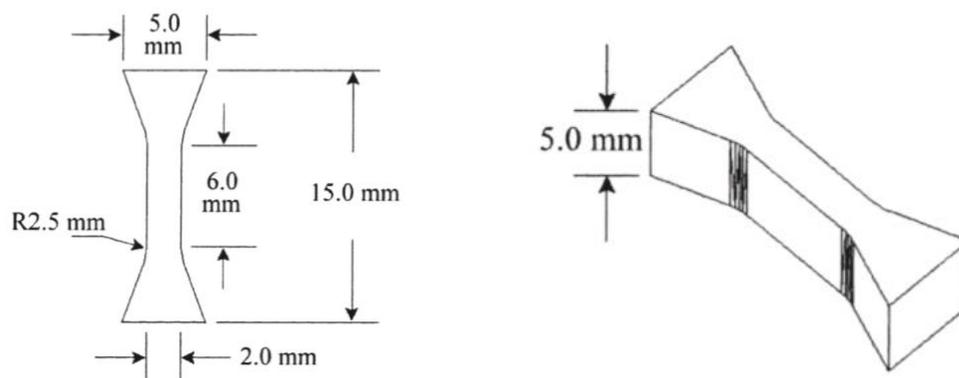


Figura 9. Campione con dimensioni nominali (Kaneko et al., 2003).

La valutazione delle proprietà meccaniche è stata effettuata su campioni con estremità allargate (vedi fig.9) e su cubetti di dimensioni 5x5x5 mm per evidenziare le relazioni tra densità di cenere ( $\rho_{ash}$ ) e densità d'osso ( $\rho_{QCT}$ ) ricavata mediante tomografia computerizzata quantitativa. Le dimensioni di ciascun cubo sono state misurate tramite calibro. Inoltre ognuno di essi è stato bruciato in una fornace a 600 °C e  $\rho_{ash}$  è stata ricavata come peso della cenere diviso il volume originale del cubo.

I provini sono stati suddivisi in 3 gruppi – gruppo ML se il campione presentava lesioni metastatiche; gruppo NL se non riportavano lesioni ma il paziente è morto di cancro; gruppo NC se il paziente non è morto a causa del cancro. Sono state effettuate prove

Property	Group	n	Mean	Median	Minimum	Maximum	SD
$E_t$ (GPa)	All	80	19.5	20.4	4.9	26.3	4.2
	NC	16	22.7	22.7	19.3	26.3	1.7
	NL	14	22.5	22.6	21.0	23.8	0.9
	ML	50	17.7	18.9	4.9	24.9	4.3
$E_c$ (GPa)	All	80	19.8	20.7	5.1	26.4	4.3
	NC	16	23.0	22.7	20.4	26.4	1.8
	NL	14	22.7	22.5	21.1	25.7	1.3
	ML	50	18.0	19.3	5.1	24.4	4.3
$S_{yt}$ (MPa)	All	39	79.0	81.3	27.8	99.0	14.4
	NC	7	83.9	81.0	72.5	97.2	8.8
	NL	7	89.0	88.7	79.4	99.0	6.7
	ML	25	74.9	80.9	27.8	93.7	15.7
$S_{yc}$ (MPa)	All	38	121.1	129.3	28.7	166.5	34.4
	NC	7	153.0	158.4	117.4	166.5	16.5
	NL	7	138.8	139.2	127.5	149.6	7.6
	ML	24	106.6	110.8	28.7	155.5	34.6
$S_{ut}$ (MPa)	All	41	91.6	96.2	35.5	114.4	17.5
	NC	8	95.6	96.4	73.2	108.6	10.9
	NL	7	107.3	103.8	103.0	114.4	5.0
	ML	26	86.2	91.7	35.5	112.0	18.7
$S_{uc}$ (MPa)	All	39	131.5	140.3	35.0	170.5	33.9
	NC	8	161.8	161.3	151.0	170.5	5.9
	NL	7	152.0	155.6	140.3	158.7	7.0
	ML	24	115.5	121.3	35.0	166.9	34.1
$\epsilon_{yt}$ (mm/mm)	All	39	0.0060	0.0061	0.0051	0.0070	0.0003
	NC	7	0.0057	0.0058	0.0051	0.0061	0.0003
	NL	7	0.0059	0.0059	0.0057	0.0062	0.0002
	ML	25	0.0062	0.0061	0.0058	0.0070	0.0002
$\epsilon_{yc}$ (mm/mm)	All	38	0.0081	0.0080	0.0061	0.0097	0.0007
	NC	7	0.0086	0.0089	0.0071	0.0097	0.0008
	NL	7	0.0080	0.0080	0.0078	0.0082	0.0002
	ML	24	0.0079	0.0079	0.0061	0.0093	0.0007
$\epsilon_{ut}$ (mm/mm)	All	36	0.0158	0.0155	0.0055	0.0272	0.0048
	NC	5	0.0129	0.0134	0.0055	0.0180	0.0047
	NL	6	0.0140	0.0142	0.0100	0.0169	0.0026
	ML	25	0.0168	0.0165	0.0065	0.0272	0.0050
$\epsilon_{uc}$ (mm/mm)	All	27	0.0132	0.0126	0.0097	0.0199	0.0026
	NC	7	0.0118	0.0114	0.0097	0.0156	0.0019
	NL	6	0.0134	0.0131	0.0101	0.0168	0.0027
	ML	14	0.0137	0.0130	0.0105	0.0199	0.0027
$\epsilon_{(u-y)t}$ (mm/mm)	All	36	0.0097	0.0094	0.0003	0.0211	0.0047
	NC	5	0.0073	0.0079	0.0003	0.0120	0.0043
	NL	6	0.0081	0.0082	0.0040	0.0112	0.0025
	ML	25	0.0106	0.0103	0.0004	0.0211	0.0051
$\epsilon_{(u-y)c}$ (mm/mm)	All	27	0.0050	0.0044	0.0008	0.0129	0.0029
	NC	7	0.0033	0.0025	0.0008	0.0085	0.0024
	NL	6	0.0053	0.0049	0.0023	0.0087	0.0028
	ML	14	0.0058	0.0046	0.0029	0.0129	0.0029
Cube $\rho_{Ash}$ (mg/cm <sup>3</sup> )	All	60	1048	1080	637	1198	137
	NC	8	1145	1139	1114	1174	20
	NL	7	1175	1174	1139	1198	19
	ML	45	1011	1052	637	1176	139
Cube $\rho_{QCT}$ (mg/cm <sup>3</sup> )	All	60	1108	1140	539	1293	154
	NC	8	1169	1165	1116	1218	32
	NL	7	1260	1256	1223	1293	25
	ML	45	1074	1114	539	1283	162
Dumbbell $\rho_{QCT}$ (mg/cm <sup>3</sup> )	All	80	1157	1210	416	1342	169
	NC	16	1233	1229	1176	1271	27
	NL	14	1289	1293	1251	1323	23
	ML	50	1096	1142	416	1342	187

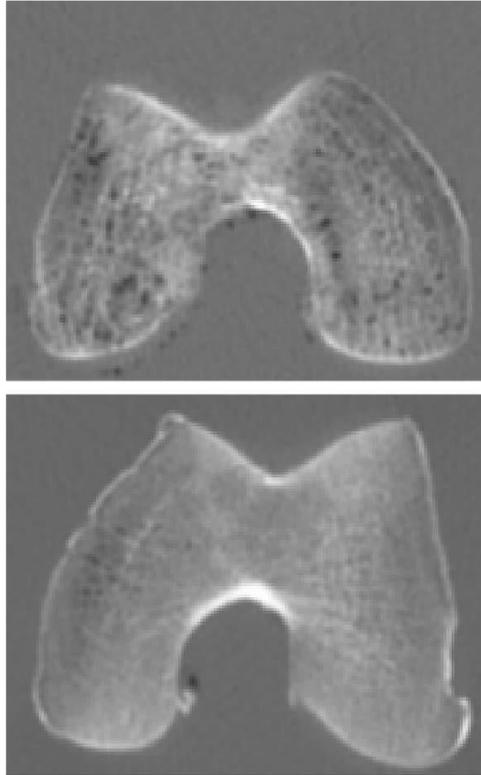
*Tabella 5. Dati ricavati dall'esperimento. Gruppo ML – pazienti con lesioni metastatiche; gruppo NL – pazienti senza lesioni ma affetti da cancro; gruppo NC – pazienti senza cancro. Con n è stato indicato il numero di provini utilizzati. Sono stati inoltre calcolati media, mediana, valore minimo e massimo e deviazione standard (Kaneko et al., 2003).*

a trazione e a compressione dalle quali è stato possibile ricavarne le specifiche proprietà.

Il modulo elastico ( $E$ ) in tensione ( $E_t$ ) e in compressione ( $E_c$ ) sono stati ricavati rispettivamente prendendo l'inclinazione del grafico stress-strain nella porzione iniziale di carico prima della rottura. Il punto di snervamento è stato ricavato seguendo il metodo dello 0.2% di offset. Sono stati ricavate le tensioni di snervamento ( $S_y$ ) in trazione ( $S_{yt}$ ) e in compressione ( $S_{yc}$ ) e deformazioni di snervamento ( $\epsilon_y$ ) in tensione ( $\epsilon_{yt}$ ) e in compressione ( $\epsilon_{yc}$ ) nel punto di snervamento. Inoltre sono stati portati i provini a rottura dove si è calcolato tensione di rottura ( $S_u$ ) in trazione ( $S_{ut}$ ) e in compressione ( $S_{uc}$ ) e deformazione di rottura ( $\epsilon_u$ ) in trazione ( $\epsilon_{ut}$ ) e in compressione ( $\epsilon_{uc}$ ).

Con questo studio è stato dimostrato che  $E$  longitudinale,  $S_{yc}$ ,  $S_{uc}$  e  $\epsilon_{yt}$  presi dall'osso corticale con lesioni metastatiche, differiscono dagli stessi indicatori riguardanti ossa sane. Al contrario, non sono stati riscontrati effetti significativi per quanto riguarda:  $S_{yt}$ ,  $S_{ut}$ ,  $\epsilon_{u-y}$  e  $\epsilon_u$ . La parte quindi maggiormente danneggiata risulta essere quella a compressione rispetto a trazione che sembra non essere influenzata significativamente dalla presenza di metastasi. Questo risultato è importante visto la natura delle ossa che si vedono apportare carichi meccanici prevalentemente in compressione. Un altro parametro evidenziato in questo studio è che con l'avanzamento della metastasi litica, la quale provoca un'erosione dell'osso corticale, si incrementa la sua duttilità quando sottoposto a compressione (Kaneko et al., 2003). Questo genera un maggiore assorbimento di energia e diminuzione dello stress che riduce la probabilità che si verifichino fratture patologiche. L'aspetto appena descritto potrebbe essere la causa del dolore avvertito dai pazienti durante il sovraccarico dell'osso.

Lo stesso autore (T.S. Kaneko et al., 2004) effettuò anche una ricerca per valutare le proprietà meccaniche dell'osso trabecolare tramite l'utilizzo degli stessi metodi precedentemente riportati. Le metastasi possono ridurre le proprietà meccaniche dell'osso andando a ridurre la porzione di osso corticale e/o compromettere la microstruttura dell'osso trabecolare (Fig. 10).



*Figura 10. Acquisizione tramite CT scan del femore distale immerso in acqua. In alto femore rappresentativo di un paziente con lesioni metastatiche (gruppo L) e in basso è possibile notare il contrasto con un femore sano (gruppo NC) (Kaneko et al., 2004).*

Il calcolo del modulo elastico ( $E$ ) è stato testato in modo non distruttivo in tutte le direzioni anatomiche quali superiore-inferiore (SI), antero-posteriore (AP), e medio-laterale (ML). Il modulo elastico è stato calcolato come pendenza del grafico stress-strain mentre la tensione di snervamento ( $S_y$ ) è stata determinata dalla curva stress-strain utilizzando il criterio dello 0.2% di offset. La tensione di rottura ( $S_u$ ) invece, è stata calcolata come valore massimo del picco in ordinata (stress).

Anche in questo caso, alla fine del test meccanico, i cubi utilizzati per gli esperimenti sono stati bruciati a 600 °C per 24 ore.  $\rho_{ash}$  è stata calcolata come peso della cenere diviso il volume originale.

Material property	Group	N	Mean	Median	Range	Std. dev.
$E_{SI}$ (MPa)	All	49	1090	999	222–3350	619
	L <sub>mixed</sub>	2	518	518	497–540	30.3
	L <sub>lytic</sub>	2	1030	1030	974–1080	77.5
	L <sub>blastic</sub>	6	1240	1090	551–2540	674
	NL	20	1100	866	297–3350	690
	NC	19	1110	999	222–2690	591
$E_{AP}$ (MPa)	All	51	701	607	77.3–1880	424
	L <sub>mixed</sub>	2	204	204	181–226	31.4
	L <sub>lytic</sub>	2	620	620	490–750	184
	L <sub>blastic</sub>	7	828	607	241–1530	551
	NL	20	705	553	261–1880	453
	NC	20	710	795	77.3–1300	371
$E_{ML}$ (MPa)	All	50	448	419	37.1–1060	256
	L <sub>mixed</sub>	2	132	132	94.5–169	52.6
	L <sub>lytic</sub>	2	353	353	172–534	256
	L <sub>blastic</sub>	6	581	559	193–1060	348
	NL	20	440	401	113–868	199
	NC	20	457	534	37.1–907	276
$E_{Mean}$ (MPa)	All	49	756	704	167–1990	383
	L <sub>mixed</sub>	2	284	284	272–297	17.1
	L <sub>lytic</sub>	2	667	667	582–753	121
	L <sub>blastic</sub>	6	915	930	337–1580	430
	NL	20	749	626	357–1990	407
	NC	19	774	855	167–1570	360
$S_y$ (MPa)	All	50	7.52	7.41	1.64–15.3	3.25
	L <sub>mixed</sub>	1	3.93	3.93	3.93–3.93	—
	L <sub>lytic</sub>	3	4.47	4.44	3.58–5.39	0.907
	L <sub>blastic</sub>	8	7.64	8.27	2.44–13.0	3.70
	NL	18	8.11	7.05	3.51–15.3	3.15
	NC	20	7.59	7.46	1.64–13.4	3.29
$S_u$ (MPa)	All	52	7.71	7.40	1.36–16.2	3.52
	L <sub>mixed</sub>	1	4.04	4.04	4.04–4.04	—
	L <sub>lytic</sub>	3	4.67	4.56	3.67–5.79	1.07
	L <sub>blastic</sub>	9	7.41	7.85	1.36–14.5	4.38
	NL	19	8.33	7.09	3.83–16.2	3.29
	NC	20	7.89	7.73	1.73–14.2	3.49
Ash density (mg/cm <sup>3</sup> )	All	56	214	214	102–331	59.3
	L <sub>mixed</sub>	2	138	138	133–143	7.37
	L <sub>lytic</sub>	3	173	173	149–198	24.4
	L <sub>blastic</sub>	9	202	199	102–299	75.1
	NL	20	234	227	178–331	44.4
	NC	22	214	223	114–311	63.3
QCT data (mg/cm <sup>3</sup> )	All	56	172	177	38.5–307	70.0
	L <sub>mixed</sub>	2	88.7	88.7	80.1–97.4	12.2
	L <sub>lytic</sub>	3	122	128	93.9–144	25.4
	L <sub>blastic</sub>	9	158	156	47.8–264	81.0
	NL	20	197	187	132–307	50.0
	NC	22	169	187	38.5–278	79.0

*Tabella 6. Dati ottenuti dall'esperimento.  $E_{SI}$ ,  $E_{AP}$ ,  $E_{ML}$  sono i moduli elastici testati rispettivamente nelle direzioni SI, AP e ML.  $E_{mean}$  è la media tra  $E_{SI}$ ,  $E_{AP}$  e  $E_{ML}$  per ogni cubo.  $S_y$  e  $S_u$  sono rispettivamente la tensione di snervamento e la tensione di rottura. Sono riportati i valori di densità di cenere d'osso e dati ricavati da QCT. N è il numero di cubi. Sono stati calcolati anche media, mediana, range (minimo valore-massimo valore) e deviazione standard (Kaneko et al., 2004).*

Regression equation	<i>N</i>	Range	<i>R</i>	<i>p</i>	SE <sub>log(coefficient)</sub>	SE <sub>exponent</sub>
$E_{SI} = 0.161\rho_{ash}^{1.61}$	49	222 < $E_{SI}$ < 3350	0.775	<0.001	0.427	0.18
$E_{AP} = 0.00578\rho_{ash}^{2.15}$	51	77.3 < $E_{AP}$ < 1880	0.844	<0.001	0.380	0.16
$E_{ML} = 0.00155\rho_{ash}^{2.30}$	50	37.1 < $E_{ML}$ < 1060	0.741	<0.001	0.486	0.21
$E_{Mean} = 0.0308\rho_{ash}^{1.85}$	49	167 < $E_{Mean}$ < 1990	0.890	<0.001	0.271	0.12
$S_y = 0.000831\rho_{ash}^{1.68}$	50	1.64 < $S_y$ < 15.3	0.939	<0.001	0.230	0.10
$S_u = 0.000592\rho_{ash}^{1.75}$	52	1.36 < $S_u$ < 16.2	0.941	<0.001	0.212	0.09

*Tabella 7. Relazione tra proprietà meccaniche e densità di cenere d'osso per i differenti gruppi (Kaneko et al., 2004).*

Lo studio ha dimostrato che le metastasi ossee non alterano in maniera significativa la relazione tra le proprietà meccaniche e la densità di cenere dell'osso trabecolare del femore. Inoltre è possibile notare che la malattia non affligge significativamente l'anisotropia dell'osso, infatti la relazione tra modulo elastico e densità d'osso nelle varie direzioni anatomiche non dipende dal gruppo.

Nonostante la maggior parte delle fratture patologiche abbiano origine nella parte prossimale del femore, in questo studio è stata valutata la zona distale in quanto presenta una maggiore quantità di osso trabecolare e quindi ha permesso di ottenere provini più cospicui. Inoltre lo studio ha evidenziato la capacità della tomografia computerizzata quantitativa (QCT) di analizzare le proprietà meccaniche in maniera adeguata sia in ossa affette da metastasi sia in ossa sane.

Nello studio condotto da Nazarian et al. i provini utilizzati sono provenienti da pazienti con cancro metastatico a prostata, seno, polmoni, ovaie e colon. Essi sono stati prelevati da zona spinale o zona prossimale del femore. In totale si sono ottenuti 41 provini cilindrici anormali. Inoltre, per il controllo, sono stati utilizzati 96 provini provenienti da pazienti donatori senza cancro. Le dimensioni dei provini sono state misurate con calibro, e il volume ( $V_{BONE}$ ) tramite picnometro. I provini sono stati visualizzati in  $\mu$ CT e testati meccanicamente. Per i test sono stati sottoposti a nanoindentazione, tramite il metodo di Oliver-Pharr si è determinato il modulo di elasticità, la durezza e la funzione dell'area indentata. Le aree selezionate per la nanoindentazione sono state prese nelle isole trabecolari o incroci adiacenti ai siti di frattura trabecolare provocati da prove meccaniche tradizionali. Inoltre è stata utilizzata una tecnica di imaging a retroproiezione di elettroni (BSE), in particolare il microscopio a scansione elettronica (SEM). Le immagini ottenute sono state analizzate e suddivise in base all'intensità del grigio. Infine i provini sono stati testati meccanicamente a compressione, in questo modo è stato possibile ricavare: modulo elastico – misurando la pendenza del grafico stress strain nella regione elastica; tensione e deformazione

di snervamento – calcolati nel punto in cui la linearità del grafico cessa; punto di snervamento – individuato mediante il metodo dello 0,2% di offset.

Variable	Unit	Metastatic cancer (n = 41)	Normal (n = 61)	Osteoporosis (n = 35)
Tissue density ( $\rho_{\text{TISSUE}}$ ), pycnometry	$\text{g cm}^{-3}$	$1.68 \pm 0.22^*$	$1.82 \pm 0.12$	$1.81 \pm 0.11$
Average bone volume fraction (BV/TV <sub>AVG</sub> ), $\mu\text{CT}$	%	$24.29 \pm 12.26^*$	$36.46 \pm 15.38$	$25.03 \pm 6.22^*$
Gray level weighted average (BSE-WA), BSE	–	$114.82 \pm 15.75^*$	$142.91 \pm 13.84$	$135.36 \pm 12.14$
Hardness (H), nanoindentation	GPa	$0.24 \pm 0.03^*$	$0.52 \pm 0.09$	$0.47 \pm 0.08$
Tissue elastic modulus ( $E_{\text{NANO}}$ ), nanoindentation	GPa	$0.22 \pm 0.03^*$	$0.47 \pm 0.07$	$0.42 \pm 0.07$
Modulus of elasticity (E), mechanical testing	MPa	$201.5 \pm 59.68^*$	$356.2 \pm 89.7$	$189.9 \pm 95.4^*$
Yield strength ( $\sigma_Y$ ), mechanical testing	MPa	$40.4 \pm 10.1^*$	$100.5 \pm 21.8$	$40.5 \pm 22.4^*$

\*  $P < 0.05$ , where the reported values for the metastatic cancer and osteoporosis groups are different from normal

*Tabella 8. Proprietà strutturali dei provini affetti da metastasi e sani indicati come media  $\pm$  deviazione standard (Nazarian et al., 2008).*

È possibile notare dai risultati ottenuti tramite BSE che l'osso affetto da metastasi è ipomineralizzato a confronto con l'osso sano. La media del  $\rho_{\text{TISSUE}}$  per i provini malati è 11% inferiore a quella dei provini sani. Inoltre anche il contenuto minerale evidenziato tramite BSE dei provini malati è inferiore del 19% rispetto a quelli sani. Per quanto riguarda la durezza e rigidità dei due gruppi di provini, risulta che i provini sani sono il doppio più duri (H) e rigidi ( $E_{\text{NANO}}$ ) rispetto a quelli metastatici. La frazione del volume osseo dei provini malati è 33% più bassa paragonata a quelli sani. Dai test meccanici si evidenzia un decremento di circa 60% della tensione di snervamento per i provini malati. Con questo esperimento è stato dimostrato che la sezione trasversale dell'osso con la minima frazione di volume determina l'intero comportamento meccanico di provini metastatici e sani. Al contrario, la densità di tessuto minerale presa singolarmente non è un corretto indicatore delle proprietà meccaniche dell'osso (Nazarian et al., 2008).

In letteratura è stato condotto uno studio sui ratti in cui è stato ricreato un tumore metastatico alle ossa tramite l'iniezione di una sostanza (Ace-1). Questi studi si discostano dalla realtà umana in quanto risulta più difficile la caratterizzazione delle proprietà meccaniche dovuto alle piccole dimensioni dell'apparato scheletrico. I risultati di questi studio indicano infatti che nonostante sia avvenuta una corretta proliferazione tumorale a livello osseo, ed in particolare nella spina dorsale, le proprietà meccaniche non hanno subito grosse differenze. "La qualità complessiva dell'osso ha mostrato proprietà strutturali ridotte senza una significativa riduzione dell'integrità meccanica". (Wise-Milestone et al., 2012)

Nel 2014 lo studio condotto da Z. Yosibash et al. ha riportato importanti novità, infatti a differenza della maggior parte degli studi effettuati fino a quel momento, i quali riportavano l'utilizzo del metodo degli elementi finiti (FEM) su ossa sane ma con difetti ricreati artificialmente al fine di valutare le proprietà meccaniche, lo studio si è concentrato sulla previsione delle proprietà meccaniche su ossa affette realmente da metastasi. In particolare sono stati utilizzati 14 femori con lesioni metastatiche reali i quali presentavano metastasi di diverso tipo dovuto a tumori primari situati in polmoni, colon, pancreas, reni, prostata, seno e cervicale. In questo caso i femori ottenuti da donatori sono stati direttamente testati meccanicamente. I femori sono stati caricati nella parte superiore (testa) e fissati nella parte distale. Il carico è stato sottoposto a 3 diverse angolazioni ( $0^\circ, 7^\circ, 15^\circ$ ).

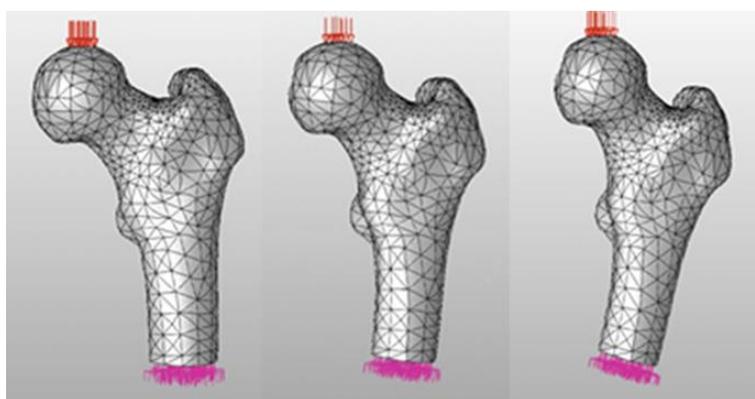


Figura 11. Condizioni al contorno dell'esperimento:  $0^\circ, 7^\circ, 15^\circ$  rispettivamente (Yosibash et al., 2014).

L'utilizzo del metodo degli elementi finiti è stato paragonato con le osservazioni sperimentali per capire la precisione con cui è in grado di valutare le proprietà meccaniche e dove ha inizio la frattura.

Femur #	Deviation from linearity (N)	Deviation from 5% linearity (N)	Ultimate force (N)	Fracture type	Location of fracture initiation	Tumor on fracture surface
FFM1R	11800	11800	>12000	T	UNHJ	Lytic adenocarcinoma near fracture surface
FFM1L	10300	11500	>12000	T	Upper middle neck	Lytic adenocarcinoma
FFM2R	3650	3950	4000	U	Upper middle head	None
FFM2L	1650	1650	1700	T	UNHJ	None
FFM3R	7500	8200	10150	T	UN	None
FFM3L	8600	9000	9700	T	UN	None
FFM4R	5600	5600	5600	T	UN	Lytic breast cancer
FFM4L	3650	3650	3800	T	UNHJ ( $7^\circ$ )	Lytic breast cancer
FFM5R	3800	4200	4550	T	UNHJ	Lytic renal cell cancer
FFM5L	3400	4200	4500	T	UNHJ	Lytic renal cell cancer
FFM6R	3200	3200	3400	T	Proximal part, under greater trochanter	Blastic prostate cancer
FFM6L	7800	8400	9100	U	Upper middle head	Blastic prostate cancer
FFM7R	4100	4600	5300	U	UN	None
FFM7L	3000	3700	4670	T	UNHJ	None

T = Tension, U = Unknown, UN = Upper neck, UNHJ = Upper neck-head junction.

Tabella 9. Sommario dati esperimento (Yosibash et al., 2014).

Il modulo di Young è stato calcolato tramite densità di cenere d'osso. Quest'ultima è stata ricavata grazie ai vari colori dei pixel ottenuti dall'immagine della CT scan con l'utilizzo della scala di Hounsfield. Tutti i pixel con numero di HU superiore a 475 sono considerati osso corticale. Quindi, utilizzando la connessione empirica tra  $K_2HPO_4$  (posizionata vicino a ogni femore mentre immersi in acqua durante l'acquisizione CT) e l'idrossiapatite è stato possibile ricavare la densità d'osso ( $\rho_{ash}$ ). Infine il modulo elastico (E) è stato ricavato con i dati in letteratura:

$$\rho_{K_2HPO_4} = 10^{-3} (0.8072 \times HU - 1.6) \text{ [gram/cm}^3\text{]}$$

$$\rho_{ash} = 0.877 \times 1.21 \times \rho_{K_2HPO_4} + 0.08 \text{ [gram/cm}^3\text{]}$$

$$E_{cort} = 10200 \times \rho_{ash} \text{ [MPa]}, \rho_{ash} \geq 0.486$$

$$E_{trab} = 2398 \text{ [MPa]}, 0.3 < \rho_{ash} < 0.486$$

$$E_{trab} = 33900 \times \rho_{ash} \text{ [MPa]}, \rho_{ash} \leq 0.3$$

Il coefficiente di Poisson è stato posto al valore costante di  $\nu=0.3$ .

L'accuratezza del metodo degli elementi finiti è stata comparata con i risultati sperimentali.

Bone (label)	Linear correlation	$R^2$	Mean error (%)	Mean absolute error (%)
FFM1R	FE = 1.059 × EXP + 2.96	0.982	-4	14
FFM1L	FE = 0.956 × EXP - 9.30	0.976	-2	13
FFM3R	FE = 0.935 × EXP - 2.79	0.951	0	14
FFM3L	FE = 1.016 × EXP - 0.68	0.981	-5	14
FFM4R	FE = 0.917 × EXP + 33.05	0.981	-1	15
FFM4L	FE = 1.038 × EXP + 34.86	0.980	-12	15
FFM5R	FE = 0.997 × EXP + 16.35	0.992	-2	14
FFM5L	FE = 0.926 × EXP - 19.74	0.990	-9	8
FFM6R	FE = 0.838 × EXP - 51.53	0.952	9	19
FFM6L	FE = 0.960 × EXP - 0.70	0.982	-2	12
FFM7R	FE = 1.096 × EXP - 153.0	0.946	-13	23
FFM7L	FE = 0.950 × EXP - 103.3	0.980	13	16
All	FE = 0.949 × EXP - 25	0.957	-0.8	14.8

*Tabella 10. Corrispondenza tra risultati FE e osservazioni sperimentali (Yosibash et al., 2014).*

I dati riportati nella precedente tabella escludono i provini FFM2 in quanto hanno riportato un andamento del tutto anomalo e al quale si attribuisce un errore sperimentale.

FFM	1R	1L	2R	2L	3R	3L	4R	4L	5R	5L	6R	6L	7R	7L
5% EXP	11800	11500	3950	1650	8200	9000	5600	3650	4200	4200	3200	8400	4800	3700
FE	5620	5510	3100	1250	6600	5600	4110	2920	4700	2810	3650	7400	3730	3800
Exp Ult	>12000	>12000	4000	1700	10150	9700	5550	3800	4550	4500	3400	9100	5300	4700
Location	✘	✓	☆	✓	✓	✓	✘	✓	✓	✘	✓	☆	✘	✓

*Tabella 11. Carico di snervamento ottenuto dall'esperienza, stimato tramite analisi FE e carico di rottura ricavato sperimentalmente (N) (Yosibash et al., 2014).*

In tabella 11 sono stati riportati i dati relativi al carico di snervamento previsto dall'analisi FE a confronto con il carico di snervamento stimato e la forza di rottura. Inoltre per valutare la corrispondenza tra la zona in cui è stata ipotizzata la rottura e dove è avvenuta effettivamente è stata riportata la simbologia di seguito spiegata: ✓ indica che l'analisi FE ha previsto in maniera corretta la zona dove ha avuto inizio la frattura sperimentalmente; ✘ indica un disaccordo tra l'analisi FE e il punto di rottura; ☆ indica una frattura della testa sotto la piastra di carico che non era stata modellata correttamente nell'analisi FE.

Come si può notare, l'analisi FE riporta risultati leggermente sottostimati rispetto ai dati ottenuti sperimentalmente. Nonostante ciò, il metodo FE riporta buoni risultati che potrebbero essere utilizzati clinicamente. A favore di quanto riportato vi è l'osservazione dei dati per quanto riguarda femori con bassi carichi di rottura, infatti in questi casi i dati ottenuti tramite analisi degli elementi finiti e prove sperimentali sono molto più simili. A livello clinico, questo aspetto riveste grande importanza perché occorre valutare in maniera più accurata ossa che sono a rischio di frattura patologiche per carichi modesti piuttosto che ossa in grado di sostenere carichi più elevati.

Un altro aspetto riportato risulta essere la localizzazione della frattura, nella maggior parte dei casi infatti, essa ha avuto origine nelle zone affette da metastasi o in prossimità di esse. Non importa il tipo di tumore (litico o blastico) ma la zona in cui esso colpisce.

Purtroppo questo metodo non può essere tutt'ora utilizzato come strumento clinico a fronte del fatto che riporta molteplici carenze di processo quali i tempi di creazione del modello FE che devono essere accorciati, la tecnica che deve essere validata per altri siti anatomici e differenti tipi di fratture, il costo economico molto alto il quale deve essere portato a una soglia abbordabile, infine l'adattamento del sistema a dispositivi elettronici di comunicazione che la renderebbe di facile uso e confronto per i clinici (Yosibash et al., 2014).

## 6. Trattamenti

I metodi di intervento variano molto a seconda dello specifico caso, infatti possiamo avere situazioni in cui è conveniente effettuare un intervento chirurgico ed altri casi in cui è preferibile intervenire con tecniche palliative. In particolare occorre considerare la gravità delle lesioni e le aspettative di vita del paziente a seconda del tipo di tumore primario, dallo stato di avanzamento e dallo stato generale di salute del paziente.

Tipicamente i primi approcci sono di tipo palliativo per migliorare la qualità di vita del paziente. Si ricorre alla chirurgia quando il paziente presenta un dolore intollerabile o riporta fratture patologiche. Lo scopo degli interventi chirurgici è quello di prevenire fratture catastrofiche, fissare i segmenti ossei dovuti a una frattura, ripristinare la mobilità del paziente e diminuire il dolore. Quando vengono effettuati interventi chirurgici occorre tenere in considerazione che un intervento eccessivamente aggressivo potrebbe ulteriormente ridurre l'aspettativa di vita del paziente e perciò, è necessario evitare un secondo intervento (Ratasvuori et al., 2013).

La risposta cellulare al trattamento utilizzato è di difficile valutazione nel caso di metastasi ossee, molto più che negli altri siti metastatici (Mercadante, 1997).

Nel caso di metastasi ossee gli interventi palliativi maggiormente utilizzati sono la radioterapia, chemioterapia, ormonoterapia e bifosfonati (Szendrői et al., 2017).

### 6.1. Radioterapia

Uno dei primi metodi di approccio palliativo per le metastasi ossee, specialmente singole, è la radioterapia (Mercadante, 1997). Essa è una disciplina altamente tecnologica che richiede l'impiego di dotazioni complesse e sofisticate volte a localizzare il tumore, generare radiazioni ionizzanti e somministrare alte dosi di queste al volume bersaglio. L'utilizzo terapeutico effettuato tramite radiazioni ionizzanti può essere composto da raggi gamma, raggi X, elettroni e particelle pesanti chiamate adroni (protoni). Questa tecnica viene utilizzata per agire localmente come appunto nel caso di metastasi ossee. La radioterapia può essere utilizzata per diversi scopi quali curativo (eradicare il tumore) nel caso il paziente abbia possibilità di guarire; adiuvante (precauzionale) ad esempio a seguito di un intervento chirurgico dove nonostante sia stato eliminato il tumore, ci sia la possibilità di una ricomparsa; oppure palliativo nel caso di metastasi ossee in quanto provocano forte dolore. Gli effetti

biologici della radioterapia dipendono dalla distribuzione della dose, dal volume trattato, dal dose-rate, dal frazionamento e dalla durata del trattamento.

La dose viene misurata in Gray e varia in funzione del tipo di tumore e tessuto da trattare, questo perché ciascun tessuto assorbe in maniera differente la radiazione incidente. Inoltre, il frazionamento è un parametro importante in quanto le radiazioni non colpiscono solamente le cellule malate, ma anche quelle sane. Di conseguenza è necessario frazionare il trattamento per permettere alle cellule sane di recuperare rispetto alle cellule malate che presentano difficoltà in questo processo. Il volume bersaglio comprende la zona di tumore solido più un certo margine di sicurezza che tiene in considerazione movimenti fisiologici e incertezze relative al posizionamento.

Nel caso di metastasi multiple provenienti ad esempio da cancro prostatico, la zona da irradiare è molto ampia e perciò comprende inevitabilmente un'area maggiore di tessuto sano. In questo modo è possibile che si verifichino complicanze dovute al trattamento come nausea, vomito, anoressia, problemi cutanei.

La radioterapia viene spesso utilizzata come appoggio agli interventi ortopedici per diminuire il rischio di fratture, a tale proposito vengono tipicamente utilizzate dosi di circa 20-40 Gy per una settimana. Alcuni studi hanno riportato che la maggior parte dei pazienti ottiene beneficio dopo essere stati sottoposti al trattamento, ma solo un 50% di essi smette di provare dolore. Per casi di collasso vertebrale questa tecnica non è particolarmente consigliata, in quanto poco efficace. (Mercadante, 1997)

Tipicamente, se entro 6 settimane dall'inizio della terapia, il paziente non riporta miglioramenti, è altamente improbabile che essi si verifichino. (Macedo et al., 2017)

L'utilizzo di radiazioni in alcuni casi può essere l'unico metodo di approccio come ad esempio per tumori sensibili alle radiazioni, in pazienti dove non risulta conveniente effettuare un intervento chirurgico oppure per pazienti con basse aspettative di vita (Georgy, 2008).

## **6.2. Chemioterapia e ormonoterapia**

Nonostante la radioterapia e la chirurgia siano preferibili per il trattamento di volumi tumorali localizzati, nel caso in cui la malattia si sia espansa a livello incontrollato, è necessario utilizzare agenti citotossici, terapie target, ormonoterapia o una combinazione di queste. Tipicamente il primo passo da effettuare è la privazione degli ormoni che permettono la proliferazione cellulare (Gdowski et al., 2017).

L'ormonoterapia, infatti, si basa sulla somministrazione di ormoni nel microambiente cellulare in modo tale da privare le cellule degli stimoli necessari alla crescita. I benefici di questa tecnica sono stati comprovati per seno, prostata e cancro endometriale. Rispetto alla chemioterapia, essa presenta un minor livello di tossicità e per questo consigliabile come primo approccio in caso di tumore al seno. È stato dimostrato che l'applicazione di ormonoterapia in pazienti con metastasi ossee provoca una diminuzione del dolore, ma non si sono ancora capiti gli effetti riportati su pazienti con lesioni avanzate. (Mercadante, 1997)

La chemioterapia è una tecnica che sfrutta la somministrazione, tipicamente per via endovenosa, di agenti citotossici i quali arrivano al volume bersaglio e provocano la morte delle cellule malate. Il lato negativo è dovuto al fatto che colpiscono anche le cellule sane con conseguenze importanti sul paziente. Uno dei farmaci chemioterapici storici è il docetaxel, esso infatti è stato il primo farmaco a dimostrare benefici sui pazienti. Più recentemente è stato sviluppato il cabazitaxel, ovvero un derivato semisintetico del taxoide naturale. Esso viene principalmente utilizzato in pazienti che sono stati precedentemente sottoposti a docetaxel.

Purtroppo, queste tecniche promettono buoni risultati inizialmente, ma con il tempo il corpo del paziente diventa resistente e perciò perdono di efficacia. (Gdowski et al., 2017)

### **6.3. Bifosfonati**

I bifosfonati hanno una particolare proprietà data dal loro legame P-C-P che li rende resistenti per lunghi periodi all'idrolisi. Essi sono un derivato stabile del pirofosfato, un componente che si trova facilmente all'interno del corpo e che permette al bifosfonato di legarsi ai cristalli di idrossiapatite (Mercadante, 1997). Questo tipo di sostanze sono particolarmente utili clinicamente quando è presente uno squilibrio tra la formazione di nuovo tessuto osseo mediata dagli osteoblasti e la distruzione di tessuto ad opera degli osteoclasti (Drake et al., 2008). I bifosfonati causano l'inibizione del processo chimico che porterebbe al riassorbimento osseo. Inoltre, generano l'apoptosi osteoclastica e da alcuni studi è stato rilevato che potrebbero condurre anche all'apoptosi delle cellule tumorali. Per quanto riguarda l'ambito oncologico, essi sono una nuova tecnica terapeutica per le metastasi ossee in quanto permettono una riduzione del dolore e le possibilità di fratture. Le ricerche dimostrano che i bifosfonati siano ben accettati nel

corpo: i sintomi più comuni sono febbre, debolezza, mialgia, anemia, dispnea, edema periferico, nausea. Lo svantaggio di questa tecnica è che non può essere utilizzata su tutti i pazienti, infatti viene effettuata una clearance renale della sostanza e pazienti con disfunzioni ai reni non possono sottoporvisi. Questo è dovuto al fatto che la parte di sostanza che non permane nel sistema scheletrico viene espulsa dai reni (Drake et al., 2008). Tra questi bifosfonati, quello che sembra essere attualmente migliore è l'acido zoledronico con un'efficacia fino a 100 volte superiore rispetto ad altri bifosfonati (Macedo et al., 2017). Un parametro che influisce molto sulla potenza del trattamento è il tipo di somministrazione: infatti, la somministrazione per via orale presenta un'effettiva riduzione di riassorbimento osseo dopo circa 3 mesi, ovvero un tempo piuttosto significativo a confronto con una somministrazione endovenosa che è stato verificato essere molto più rapida (Drake et al., 2008).

L'azione esercitata da queste sostanze tratta l'interruzione del circolo vizioso formato da un aumento dell'osteolisi unito a una crescita del volume tumorale. Questo comporta che i "bifosfonati possono preservare la salute delle ossa e ritardare la progressione delle lesioni". Un ulteriore vantaggio è dato dal potenziamento dell'efficacia degli altri trattamenti in atto quali, ad esempio, radioterapia e chemioterapia (Macedo et al., 2017). Durante la terapia è molto importante l'assunzione di vitamina D e calcio per evitare squilibri (Drake et al., 2008).

## **6.4. Chirurgia**

La chirurgia non è tipicamente il primo approccio consigliato nel caso di metastasi ossee, infatti viene effettuata su pazienti che sono considerati ad alto rischio di complicazioni significative (fratture). Si utilizza l'intervento chirurgico per malattie radioresistenti, instabilità spinale, compressione del midollo spinale, deterioramento neurologico acuto o progressivo, eccessivo dolore e aspettative di vita di almeno 3 mesi. Le operazioni eseguite per metastasi spinali hanno principalmente i seguenti obiettivi: decompressione radicale del nervo, stabilizzazione spinale e ricostruzione del sito anatomico danneggiato (Georgy, 2008). I trattamenti effettuati su ossa lunghe includono posizionamento di protesi, fissazione interna ed esterna (Gdowski et al., 2017).

In generale, le finalità della chirurgia sono l'aumento della qualità di vita del paziente e la prevenzione di fratture patologiche (Georgy, 2008).

## 7. Conclusioni

Il sistema scheletrico è il terzo sito di metastasi preferito dalle cellule tumorali e il suo indebolimento è un fattore molto disabilitante per un paziente. Per questo motivo è importante conoscere in maniera più chiara le conseguenze a cui possono portare lesioni del tessuto osseo. Uno dei principali problemi, oltre al forte dolore, è la comparsa di fratture patologiche per le ossa lunghe e instabilità per la zona vertebrale. In conclusione è possibile affermare che il trattamento delle metastasi segue una serie di step formati dalla diagnosi, valutazione dell'integrità meccanica e terapia. La diagnosi viene effettuata principalmente mediante radiografie nonostante siano di difficile individuazione le masse tumorali ancora in uno stadio acerbo. Per sfuggire a questa mancanza è possibile ricorrere alla scintigrafia che ha anche il vantaggio di poter valutare il carico totale di malattia nel sito anatomico colpito. Un'altra tecnica diagnostica rinomata è la TC in quanto permette di valutare volumi anatomici con particolare attenzione sull'evoluzione delle lesioni. A questa tipicamente si affianca la risonanza magnetica per migliorare la qualità delle acquisizioni. Nonostante l'elevato costo, essa fornisce un'ottima risoluzione spaziale ed è una delle tecniche maggiormente significative per l'indagine di metastasi spinali.

Il passo successivo è la caratterizzazione della struttura meccanica dell'osso, la quale è sicuramente indebolita a causa della malattia, ma il punto cruciale è capire se può sfociare o meno in lesioni patologiche. Ovviamente il miglior approccio sarebbe quello di testare meccanicamente l'osso tramite l'utilizzo delle varie prove riportate nei capitoli precedenti quali test a trazione, compressione, flessione e a carichi ciclici. Altrettanto intuibile è il fatto che questo approccio non possa essere utilizzato nel caso di una caratterizzazione specifica per ogni paziente in vivo. Perciò si ricorre tipicamente al metodo degli elementi finiti, il quale sfruttando le proprietà del tessuto ottenute da test meccanici, è in grado di ricreare un modello in silico dell'intero osso. Purtroppo questa tecnica non fornisce ancora risultati certi e per questo è necessario effettuare altri studi per migliorare la veridicità dei risultati e diminuire la complessità di creazione del modello.

Infine, l'ultimo step è il trattamento della malattia. Esso comprende metodi palliativi, adjuvanti, chirurgia o un insieme di questi. Per ottimizzare l'efficacia dei trattamenti è

importante effettuare ulteriori studi volti a comprendere l'interazione tra le cellule tumorali e il microambiente osseo.

Le opzioni ad oggi disponibili in ognuno di questi 3 campi sono molto promettenti e forniscono la speranza di poter stabilire con precisione le caratteristiche del tumore e il suo seguente trattamento.

## 8. Bibliografia e sitografia

Algra, P. R., Bloem, J. L., Tissing, H., Falke, T. H., Arndt, J. W., & Verboom, L. J. (1991). Detection of vertebral metastases: Comparison between MR imaging and bone scintigraphy.

*RadioGraphics*, 11(2), 219–232. <https://doi.org/10.1148/radiographics.11.2.2028061>

Bailey, S., & Vashishth, D. (2018). Mechanical Characterization of Bone: State of the Art in Experimental Approaches—What Types of Experiments Do People Do and How Does One Interpret the Results? *Current Osteoporosis Reports*, 16(4), 423–433.

<https://doi.org/10.1007/s11914-018-0454-8>

Chambers, A. F., Groom, A. C., & MacDonald, I. C. (2002). Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nature Reviews Cancer*, 2(8), 563–572. <https://doi.org/10.1038/nrc865>

Coleman, R. E. (2006). Clinical Features of Metastatic Bone Disease and Risk of Skeletal Morbidity. *Clinical Cancer Research*, 12(20), 6243s–6249s. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-0931>

Dall'Ara, E., Schmidt, R., & Zysset, P. (2012). Microindentation can discriminate between damaged and intact human bone tissue. *Bone*, 50(4), 925–929.

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2012.01.002>

Delbeke, D. (s.d.). *Oncological Applications of FDG PET Imaging: Brain Tumors, Colorectal Cancer Lymphoma and Melanoma*. 13.

Donnelly, E. (2011). Methods for Assessing Bone Quality: A Review. *Clinical Orthopaedics and Related Research*®, 469(8), 2128–2138. <https://doi.org/10.1007/s11999-010-1702-0>

Drake, M. T., Clarke, B. L., & Khosla, S. (2008). Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice. *Mayo Clinic Proceedings*, 83(9), 1032–1045.

<https://doi.org/10.4065/83.9.1032>

Eggermont, F., Derikx, L. C., Verdonschot, N., van der Geest, I. C. M., de Jong, M. A. A., Snyers, A., van der Linden, Y. M., & Tanck, E. (2018). Can patient-specific finite element models better predict fractures in metastatic bone disease than experienced clinicians?: Towards computational modelling in daily clinical practice. *Bone & Joint Research*, 7(6), 430–439.

<https://doi.org/10.1302/2046-3758.76.BJR-2017-0325.R2>

Fisher, C. G., DiPaola, C. P., Ryken, T. C., Bilsky, M. H., Shaffrey, C. I., Berven, S. H., Harrop, J. S., Fehlings, M. G., Boriani, S., Chou, D., Schmidt, M. H., Polly, D. W., Biagini, R., Burch, S., Dekutoski, M. B., Ganju, A., Gerszten, P. C., Gokaslan, Z. L., Groff, M. W., ... Fourney, D. R. (2010). A Novel Classification System for Spinal Instability in Neoplastic Disease: An Evidence-Based Approach and Expert Consensus From the Spine Oncology Study Group. *Spine*, 35(22), E1221–E1229. <https://doi.org/10.1097/BRS.0b013e3181e16ae2>

Fourney, D. R., Frangou, E. M., Ryken, T. C., DiPaola, C. P., Shaffrey, C. I., Berven, S. H., Bilsky, M. H., Harrop, J. S., Fehlings, M. G., Boriani, S., Chou, D., Schmidt, M. H., Polly, D. W., Biagini, R., Burch, S., Dekutoski, M. B., Ganju, A., Gerszten, P. C., Gokaslan, Z. L., ... Fisher, C. G. (2011). Spinal Instability Neoplastic Score: An Analysis of Reliability and Validity From the Spine Oncology Study Group. *Journal of Clinical Oncology*, 29(22), 3072–3077.

<https://doi.org/10.1200/JCO.2010.34.3897>

Fyhrie, D. P., & Christiansen, B. A. (2015a). Bone Material Properties and Skeletal Fragility. *Calcified Tissue International*, 97(3), 213–228. <https://doi.org/10.1007/s00223-015-9997-1>

Fyhrie, D. P., & Christiansen, B. A. (2015b). Bone Material Properties and Skeletal Fragility. *Calcified Tissue International*, 97(3), 213–228. <https://doi.org/10.1007/s00223-015-9997-1>

- Gdowski, A. S., Ranjan, A., & Vishwanatha, J. K. (2017). Current concepts in bone metastasis, contemporary therapeutic strategies and ongoing clinical trials. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research : CR*, 36. <https://doi.org/10.1186/s13046-017-0578-1>
- Georgy, B. A. (2008). Metastatic Spinal Lesions: State-of-the-Art Treatment Options and Future Trends. *American Journal of Neuroradiology*, 29(9), 1605–1611. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A1137>
- Hemminki, K., Riihimäki, M., Sundquist, K., & Hemminki, A. (2013). Site-specific survival rates for cancer of unknown primary according to location of metastases. *International Journal of Cancer*, 133(1), 182–189. <https://doi.org/10.1002/ijc.27988>
- Hunt, H. B., & Donnelly, E. (2016). Bone Quality Assessment Techniques: Geometric, Compositional, and Mechanical Characterization from Macroscale to Nanoscale. *Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism*, 14(3), 133–149. <https://doi.org/10.1007/s12018-016-9222-4>
- Ihle, C. L., Provera, M. D., Straign, D. M., Smith, E. E., Edgerton, S. M., Van Bokhoven, A., Lucia, M. S., & Owens, P. (2019). Distinct tumor microenvironments of lytic and blastic bone metastases in prostate cancer patients. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 7(1), 293. <https://doi.org/10.1186/s40425-019-0753-3>
- Jacobs, W. B., & Perrin, R. G. (2001). Evaluation and treatment of spinal metastases: An overview. *Neurosurgical Focus*, 11(6), 1–11. <https://doi.org/10.3171/foc.2001.11.6.11>
- Kakhki, V. R. D., Anvari, K., Sadeghi, R., Mahmoudian, A.-S., & Torabian-Kakhki, M. (2013). Pattern and distribution of bone metastases in common malignant tumors. *Nuclear Medicine Review*, 16(2), 66–69. <https://doi.org/10.5603/NMR.2013.0037>
- Kaneko, T. S., Bell, J. S., Pejic, M. R., Tehranzadeh, J., & Keyak, J. H. (2004). Mechanical properties, density and quantitative CT scan data of trabecular bone with and without metastases. *Journal of Biomechanics*, 37(4), 523–530. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2003.08.010>

- Kaneko, T. S., Pejcić, M. R., Tehranzadeh, J., & Keyak, J. H. (2003). Relationships between material properties and CT scan data of cortical bone with and without metastatic lesions. *Medical Engineering & Physics*, 25(6), 445–454. [https://doi.org/10.1016/s1350-4533\(03\)00030-4](https://doi.org/10.1016/s1350-4533(03)00030-4)
- Langley, R. R., & Fidler, I. J. (2011). The seed and soil hypothesis revisited-The role of tumor-stroma interactions in metastasis to different organs. *International Journal of Cancer*, 128(11), 2527–2535. <https://doi.org/10.1002/ijc.26031>
- Macedo, F., Ladeira, K., Pinho, F., Saraiva, N., Bonito, N., Pinto, L., & Gonçalves, F. (2017). Bone metastases: An overview. *Oncology Reviews*, 11(1). <https://doi.org/10.4081/oncol.2017.321>
- Mercadante, S. (1997). Malignant bone pain: Pathophysiology and treatment: *Pain*, 69(1), 1–18. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(96\)03267-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(96)03267-8)
- Milano, A., Stucci, S. L., Strippoli, S., & Silvestris, F. (2010). Le metastasi ossee: Aspetti patogenetici e clinici. *biochimica clinica*, 34(1), 8.
- Mirels, H. (1989). Metastatic disease in long bones. A proposed scoring system for diagnosing impending pathologic fractures. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 249, 256–264.
- Nathan, S. S., Healey, J. H., Mellano, D., Hoang, B., Lewis, I., Morris, C. D., Athanasian, E. A., & Boland, P. J. (2005). Survival in Patients Operated on for Pathologic Fracture: Implications for End-of-Life Orthopedic Care. *Journal of Clinical Oncology*, 23(25), 6072–6082. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.08.104>
- Nazarian, A., von Stechow, D., Zurakowski, D., Müller, R., & Snyder, B. D. (2008). Bone Volume Fraction Explains the Variation in Strength and Stiffness of Cancellous Bone Affected by Metastatic Cancer and Osteoporosis. *Calcified Tissue International*, 83(6), 368–379. <https://doi.org/10.1007/s00223-008-9174-x>
- Piccioli, A., Maccauro, G., Spinelli, M. S., Biagini, R., & Rossi, B. (2015). Bone metastases of unknown origin: Epidemiology and principles of management. *Journal of Orthopaedics and Traumatology*, 16(2), 81–86. <https://doi.org/10.1007/s10195-015-0344-0>

- Rajapakse, C. S., Magland, J., Zhang, X. H., Liu, X. S., Wehrli, S. L., Guo, X. E., & Wehrli, F. W. (2009). Implications of noise and resolution on mechanical properties of trabecular bone estimated by image-based finite-element analysis. *Journal of Orthopaedic Research*, *27*(10), 1263–1271. <https://doi.org/10.1002/jor.20877>
- Ratasvuori, M., Wedin, R., Keller, J., Nottrott, M., Zaikova, O., Bergh, P., Kalen, A., Nilsson, J., Jonsson, H., & Laitinen, M. (2013). Insight opinion to surgically treated metastatic bone disease: Scandinavian Sarcoma Group Skeletal Metastasis Registry report of 1195 operated skeletal metastasis. *Surgical Oncology*, *22*(2), 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.suronc.2013.02.008>
- Schoeb, M., Hamdy, N. A. T., Malgo, F., Winter, E. M., & Appelman-Dijkstra, N. M. (2020). Added Value of Impact Microindentation in the Evaluation of Bone Fragility: A Systematic Review of the Literature. *Frontiers in Endocrinology*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00015>
- Sternheim, A., Giladi, O., Gortzak, Y., Drexler, M., Salai, M., Trabelsi, N., Milgrom, C., & Yosibash, Z. (2018). Pathological fracture risk assessment in patients with femoral metastases using CT-based finite element methods. A retrospective clinical study. *Bone*, *110*, 215–220. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2018.02.011>
- Szendrői, M., Antal, I., Szendrői, A., Lazáry, Á., & Varga, P. P. (2017). Diagnostic algorithm, prognostic factors and surgical treatment of metastatic cancer diseases of the long bones and spine. *EFORT Open Reviews*, *2*(9), 372–381. <https://doi.org/10.1302/2058-5241.2.170006>
- Tantivejkul, K., Kalikin, L. M., & Pienta, K. J. (2004). Dynamic process of prostate cancer metastasis to bone. *Journal of Cellular Biochemistry*, *91*(4), 706–717. <https://doi.org/10.1002/jcb.10664>
- Turpin, A., Duterque-Coquillaud, M., & Vieillard, M.-H. (2020). Bone Metastasis: Current State of Play. *Translational Oncology*, *13*(2), 308–320. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2019.10.012>
- Wise-Milestone, L., Akens, M. K., Rosol, T. J., Hojjat, S.-P., Grynpas, M. D., & Whyne, C. M. (2012). Evaluating the effects of mixed osteolytic/osteoblastic metastasis on vertebral bone quality in a new rat model. *Journal of Orthopaedic Research*, *30*(5), 817–823. <https://doi.org/10.1002/jor.21577>

Yosibash, Z., Plitman Mayo, R., Dahan, G., Trabelsi, N., Amir, G., & Milgrom, C. (2014). Predicting the stiffness and strength of human femurs with real metastatic tumors. *Bone*, *69*, 180–190.

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2014.09.022>

<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>

## 9. Ringraziamenti

È doveroso ringraziare le persone che mi hanno accompagnato in questo percorso universitario fino al compimento dell'elaborato finale. In primis, un ringraziamento speciale al mio relatore Cristofolini Luca per la sua disponibilità, per le conoscenze tramesse durante il percorso di stesura della tesi e per i suoi consigli. Inoltre vorrei ringraziare la mia collega e fidanzata Lucrezia, per avermi sempre supportato e aiutato nei momenti difficili, per la sua pazienza e per essere stata sempre presente. Ringrazio anche tutti i miei colleghi universitari più stretti, il loro aiuto è stato fondamentale. Cito in particolare Riccardo, mio amico sin dall'infanzia, con il quale ho condiviso questo percorso dall'inizio alla fine. Grazie a tutti i miei amici, quelli di sempre e quelli incontrati durante gli anni, per avermi sempre sostenuto e per aver condiviso con me i momenti di svago più felici.

Ringrazio di cuore i miei genitori, i miei fratelli e i miei parenti che mi hanno sempre assecondato nelle mie scelte contribuendo giorno per giorno alla realizzazione del mio futuro.

Dico un grazie anche a me stesso, per la mia tenacia e voglia di dare sempre il massimo in ciò che faccio che mi ha permesso di arrivare fino a questo punto.